

**Bülent KAYA**

**Doktora Tezi**

**KÜ 2009**

T.C.

KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

*ALCHEMILLA* L. (ROSACEAE) CİNSİ TÜRLERİNDE FLAVONOİD

BİLEŞİKLERİNİN TAYİN EDİLMESİ VE BU BİLEŞİKLERİN

TAKSONOMİK OLARAK KULLANILMASI

BÜLENT KAYA

KASIM 2009

T.C.  
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
DOKTORA TEZİ

*ALCHEMILLA* L. (ROSACEAE) CİNSİ TÜRLERİNDE FLAVONOİD  
BİLEŞİKLERİNİN TAYİN EDİLMESİ VE BU BİLEŞİKLERİN  
TAKSONOMİK OLARAK KULLANILMASI

BÜLENT KAYA

KASIM 2009

Fen Bilimleri Enstitü Müdürünün onayı.

Doç. Dr. Burak BİRGÖREN

.../.../.....

\_\_\_\_\_  
Müdür

Bu tezin Doktora tezi olarak **BIYOLOJİ** Anabilim Dalı standartlarına uygun olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. İrfan ALBAYRAK

\_\_\_\_\_  
Anabilim Dalı Başkanı

Bu tezi okuduğumuzu ve Doktora tezi olarak bütün gerekliliklerini yerine getirdiğini onaylarız.

Doç. Dr. Zerrin ERDEMGİL

Doç. Dr. Yusuf MENEMEN

\_\_\_\_\_  
Ortak Danışman

\_\_\_\_\_  
Danışman

Prof. Dr. Mustafa YİĞİTOĞLU

Prof. Dr. Ali DÖNMEZ

Doç. Dr. Yusuf MENEMEN

Doç. Dr. İlhami TÜZÜN

Doç. Dr. Adnan BULUT

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

## ÖZET

*ALCHEMILLA* L. (ROSACEAE) CİNSİ TÜRLERİNDE FLAVONOİD  
BİLEŞİKLERİNİN TAYİN EDİLMESİ VE BU BİLEŞİKLERİN TAKSONOMİK  
OLARAK KULLANILMASI

KAYA Bülent

Kırıkkale Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi

Danışman: Doç. Dr. Yusuf MENEMEN

Ortak Danışman: Doç. Dr. Zerrin ERDEMGİL

Kasım 2009, 237 sayfa

Bu tez çalışmasında *Alchemilla* L. cinsine ait 25 türde ve bu cinse yakın akraba olan *Potentilla* L. cinsine ait bir türde ilk defa flavonoid bileşiklerinin izolasyonu ve tayini gerçekleştirilmiş ve bu bileşiklerin sistematik açıdan önemi değerlendirilmiştir.

Çalışılan *Alchemilla* türleri Türkiye florasında *Alchemilla* cinsi için verilmiş olan teşhis anahtarındaki grupların tamamını temsil etmekte olup, bunlardan 15 tanesi Türkiye için endemik olan türlerdir. Grup A'dan *A. ovitensis* (E), Grup B'den *A. sericata* ve *A. erythropoda*, Grup C'den *A. hirtipedicellata*, *A. armeniaca* (E), *A. orthotricha*, *A. erzincanensis* (E), *A. cimilensis* (E), *A. mollis*, *A. orduensis* (E), *A. ikizdereensis* (E), *A. porrectidens*, *A. oriturcica* (E), *A. bursensis* (E), *A. persica*, *A.*

*speciosa*, *A. hirsutiflora* (E) ve *A. holocycyla* (E), Grup D'den *A. ciminensis* (E), *A. buseriana* (E), *A. trabzonica* (E), *A. tiryalensis* (E), *A. stricta* ve *A. barbatiflora*, Grup E'den *A. procerrima* (E) ve *Potentilla* cinsinden de *P. recta* türlerinin flavonoidleri bu çalışma kapsamında incelenmiştir. Çalışılan *Alchemilla* türleri cinsin *Alchemilla* seksiyonunun *Chirophyllum* Rothm., *Heliodrosium* Rothm. ve *Calycanthum* Rothm. altseksiyonlarına ve *Sericeae* Bus., *Pubescentes* Bus., *Elatae* Rothm. ve *Calycinae* Bus. serilerine aittir.

Flavonoid tayin yöntemi olarak kromatografik yöntemlerden analitik ve preparatif ince tabaka kromatografisi, kolon kromatografisi ve yüksek basınç sıvı kromatografisi kullanılmıştır. Türkiye florasında yer alan *Alchemilla* ve *Potentilla* cinslerine ait türlerde rutin (quercetin-3-rutinoside), orientin (luteolin-8-C-glucoside), vitexin (apigenin-8-C-glucoside), hyperoside (quercetin-3-O-galactoside), isoquercetin (quercetin-3-glucoside), quercitrin (quercetin-3-O-rhamnoside) flavonoidleri tayin edilmiştir.

Tüm örneklere ait flavonoid verileri PAUP 4.0b.10 programı kullanılarak analiz edildi ve çalışılan *Alchemilla* türleri arasındaki akrabalık ilişkilerini gösteren hem parsimoni hem de komşu bağlantı ağacı oluşturuldu. Kimyasal verilerden elde edilen sonuçlar morfolojik karakterlere dayalı sınıflandırma ile karşılaştırılmış ve çalışılan taksonlar arasındaki ilişkiler ortaya konulmaya çalışılmıştır.

Analiz sonuçları, çalışılan türlerden elde edilen flavonoid bileşiklerinin türler arasında ciddi anlamda farklılık göstermediğini, bazı durumlarda tür içi varyasyonun türler arasındaki varyasyondan daha fazla olduğunu göstermiştir.

*Alchemilla* cinsinin *Potentilla* cinsiyle karşılaştırılması sonucunda da benzer sonuçlar elde edilmiştir. *Potentilla* cinsinden elde edilen flavonoidlerin *Alchemilla* cinsiyle benzerlik gösterdiği görülmüştür. Bu durum bu iki cinsin morfolojik karakterlerin yanı sıra kimyasal karakterler açısından da birbirlerine yakın cinsler olduğunu göstermiştir.

**Anahtar Kelimeler :** *Alchemilla* L., Flavonoid, Kromatografi, Taksonomi.

## ABSTRACT

### IDENTIFICATION OF FLAVONOID COMPOUNDS AND THEIR TAXONOMIC USE IN THE SPECIES OF GENUS *ALCHEMILLA* L. (ROSACEAE)

KAYA Bülent

Kırıkkale Üniversitesi

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology, PhD. Thesis

Supervisor :Assoc. Prof. Dr. Yusuf MENEMEN

Co-Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Zerrin ERDEMGİL

November 2009, 237 pages

In this thesis, isolation and identification of flavonoid compounds in 25 species belonging to the genus *Alchemilla* L. and one from the genus *Potentilla* L., closely related to it, was carried out, and taxonomical importance of the substances was assessed with respect to systematics.

*Alchemilla* species studied, of which 15 are endemic for Turkey, represent all groups in the identification key given for *Alchemilla* species in Flora of Turkey. Flavonoids of *A. ovitensis* (E) from Group A, *A. sericata* and *A. erytropoda* from Group B, *A. hirtipedicellata*, *A. armeniaca* (E), *A. orthotricha*, *A. erzincanensis* (E), *A. cimilensis* (E), *A. mollis*, *A. orduensis* (E), *A. ikizdereensis* (E), *A. porrectidens*, *A. oriturcica* (E), *A. bursensis* (E), *A. persica*, *A. speciosa*, *A. hirsutiflora* (E) and *A.*

*holocycla* (E) from Group C, *A. ciminensis* (E), *A. buseriana* (E), *A. trabzonica* (E), *A. tiryalensis* (E), *A. stricta* and *A. barbatiflora* from Grup D, *A. procerrima* (E) from Grup E and *P. recta* from the genus *Potentilla* were examined in the course of this study. *Alchemilla* species studied belong to the subsections of *Chirophyllum* Rothm., *Heliodrosium* Rothm. and *Calycanthum* Rothm., and the series of *Sericeae* Bus., *Pubescentes* Bus., *Elatae* Rothm. and *Calycinae* Bus. of the section *Alchemilla* of the genus.

Analytical and preparative thin layer chromatography, column chromatography and high pressure liquid chromatography were used for the identification of flavonoid compounds as chromatographical techniques. In species of the genera *Alchemilla* and *Potentilla* existing in Flora of Turkey, rutin (quercetin-3-rutinoside), orientin (luteolin-8-C-glucoside), vitexin (apigenin-8-C-glucoside), hyperoside (quercetin-3-O-galactoside), isoquercetin (quercetin-3-glucoside), quercitrin (quercetin-3-O-rhamnoside) flavonoids were identified.

Flavonoid data belonging to all samples were analysed by using PAUP 4.0b.10 program and parsimonious and neighbour joining trees were both generated to display relationships amongst *Alchemilla* species studied. The results obtained from chemical data were compared to the classification based on morphological characters and it was performed to clarify relationships amongst the taxa studied.

As a result, flavonoid compounds obtained from the species studied showed that they do not show sericeous variations amongst the species and even in some cases variation within a species is greater than it is between species.



Similar results were obtained from the comparisons of the genera *Alchemilla* and *Potentilla*. The flavonoid compounds obtained from *Alchemilla* are similar to those from the genus *Potentilla*. This shows that these two genera are closely related genera in terms of chemical characters alongside morphological features.

**Key words:** *Alchemilla* L., Flavonoid, Chromatography, Taxonomy

ANNEME

## TEŞEKKÜR

Tezimin hazırlanması esnasında bilimsel desteği ile beni yönlendiren, maddi ve manevi yardımını esirgemeyen ve çalışma esnasında desteğini hep yanımda hissettiğim, tez yöneticisi hocam, Sayın Doç. Dr. Yusuf MENEMEN'e, teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım için gerekli olan maddi imkanlar konusunda her türlü desteğini gördüğüm manevi olarak yardımlarını esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Adil DENİZLİ'ye, tez çalışmalarım esnasında, bilimsel konularda yardımlarını gördüğüm yardımcı danışman hocam Sayın Doç. Dr. Zerrin ERDEMGİL'e, çalışmalarım sırasında yardımlarını benden esirgemeyen Sayın Doç. Dr. İlhami TÜZÜN'e, tez çalışması sırasında maddi ve manevi desteklerinden dolayı Sayın Yard. Doç. Dr. Muhammet IŐIKLAN'a teşekkür ederim.

Fedakarlıklarıyla bana destek olan arkadaşlarım Ömer SONKAYA, Hilal TOPBAŐ, Nuri SOFİ, Gökben BAŐARAN, Tarık DANIŞMAN, ve Kubilay TOYRAN'a, tezimin birçok aşamasında yardım gördüğüm Biyoloji bölümü ve Kimya bölümü araştırma görevlisi arkadaşlarıma ve fotoğrafların alınması sırasında yardımlarını esirgemeyen Őirin Bahar KARAHASAN'a teşekkür ederim.

Bu araştırma, Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi tarafından (proje no: 2007/44) desteklenmiştir. Desteklerinden dolayı Kırıkkale Üniversitesi ve Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimine teşekkür ederim.

## SİMGELER DİZİNİ

°CIsı birimi

µm HPLC kolonun partikül boyutları

C<sub>3</sub> Flavonoid halkasındaki üç karbonlu zincir

C<sub>6</sub> Flavonoid halkasındaki altı karbonlu halka

γ Halkanın yapı şekli

C<sub>8</sub> 8 karbon içeren yapı

C<sub>18</sub> 18 karbon içeren yapı

F<sub>254</sub> 254 nm'de floresan belirteci

## KISALTMALAR

AIDS: İmmun defansif sendrom

BAW: Butanol/asetik asit/su

CCC: Current counter chromatography

C4H: Cinnamate-4-hidroksilaz

DAD: Diode array dedection

DMID: 7,2'-dihidroksi, 4' metoksi isoflavanol dihidrataz

DNA: Deoksirbonükleik asit

E: Endemik

GC: Gas chromatography

GK: Gaz kromatografisi

HIV: Human immunity defansive virus

HPLC: Yüksek basınç sıvı kromatografi

İTK: İnce tabaka kromatografisi

KK: Kağıt kromatografi

LDL: Düşük dansiteli lipoprotein

MS: Kütle spektrometresi

NP/PEG: Natural product (2-Aminoethyl diphenylborinate)/ poly etilen glycol

PC: Paper chromatography

RAPD: Rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA

$R_f$ : Akış zamanı

Rpm: Bir dakikadaki rotasyon sayısı

$RR_f$  : Gaz kromatografide standart dedektörde görülme zamanı

$RR_V$ : Gaz kromatografide standartın dedektörde görülme zamanı

$R_V$ : Gaz kromatografide gazın dedektörde görülme zamanı

TLC: Thin layer chromatography

## ŞEKİLLER DİZİNİ

### ŞEKİL

1.1. 1,3-difenil propan yapısı ve kalkonun kimyasal yapısı .....	25
1.2. Auron bileşiğinin kimyasal yapısı .....	25
1.3. Flavan ve flavon bileşiklerinin kimyasal yapısı .....	26
1.4. İzoflavan, izoflavon, 3-fenil kumarin ve pterokarpan yapıları <sup>(12)</sup> .....	27
1.5. Neoflavonoid yapısı.....	27
1.6. Flavonoid çeşitleri ve yapı örnekleri .....	<b>Hata! Yer işareti tanımlanmamış.</b>
2.1. Ekstraksiyon metodunun sematik gösterimi <sup>(158)</sup> .....	60
3.1. <i>A. oriturcica</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında güneş ışığında alınan fotoğrafı.....	68
3.2. <i>A. oriturcica</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında U.V.366 nm'de çekilen fotoğrafı.....	69
3.3. <i>A. oriturcica</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında U.V. 366 nm'de çekilen fotoğrafının renk değişimi sonucu elde edilen görüntüsü.....	70
3.4. <i>A. hirtipedicellata</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında güneş ışığında alınan fotoğrafı.....	72
3.5. <i>A. hirtipedicellata</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında U.V. 366 nm'de çekilen fotoğrafı.....	73
3.6. <i>A. hirtipedicellata</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında U.V. 366 nm'de çekilen fotoğrafının renk değişimi sonucu elde edilen görüntüsü.....	74

3.7. <i>A. armeniaca</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında güneş ışığında alınan fotoğrafı.....	76
3.8. <i>A. armeniaca</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında U.V. 366 nm’de çekilen fotoğrafı.....	77
3.9. <i>A. armeniaca</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında U.V. 366 nm’de çekilen fotoğrafının renk değişimi sonucu elde edilen görüntüsü.....	78
3.10. <i>A. stricta</i> türüne ait (1) numaralı örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında güneş ışığında alınan fotoğrafı.....	80
3.11. <i>A. stricta</i> türüne ait (1) numaralı örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında U.V. 366 nm’de çekilen fotoğrafı.....	81
3.12. <i>A. stricta</i> türüne ait (1) numaralı örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında U.V. 366 nm’de çekilen fotoğrafının renk değişimi sonucu elde edilen görüntüsü.....	82
3.13. <i>A. barbatiflora</i> türüne ait (1) numaralı örnekte İTK plağının NP/PEG sonrasında güneş ışığında alınan fotoğrafı.....	84
3.14. <i>A. barbatiflora</i> türüne ait (1) numaralı örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında U.V. 366 nm’de çekilen fotoğrafı.....	85
3.15. <i>A. barbatiflora</i> türüne ait (1) numaralı örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında U.V. 366 nm’de çekilen fotoğrafının renk değişimi sonucu elde edilen görüntüsü.....	86
3.16. <i>A. orthotricha</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında güneş ışığında alınan fotoğrafı.....	88
3.17. <i>A. orthotricha</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında U.V. 366 nm’de çekilen fotoğrafı.....	89

3.18. <i>A. orthotricha</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında U.V. 366 nm’de çekilen fotoğrafının renk değişimi sonucu elde edilen görüntüsü.....	90
3.19. <i>A. erzincanensis</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında güneş ışığında alınan fotoğrafı.....	92
3.20. <i>A. erzincanensis</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında U.V. 366 nm’de çekilen fotoğrafı.....	93
3.21. <i>A. erzincanensis</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında U.V. 366 nm’de çekilen fotoğrafının renk değişimi sonucu elde edilen görüntüsü.....	94
3.22. <i>A. ciminensis</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında güneş ışığında alınan fotoğrafı.....	96
3.23. <i>A. ciminensis</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında U.V. 366 nm’de çekilen fotoğrafı.....	97
3.24. <i>A. ciminensis</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında U.V. 366 nm’de çekilen fotoğrafının renk değişimi sonucu elde edilen görüntüsü.....	98
3.25. <i>A. orduensis</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında güneş ışığında alınan fotoğrafı.....	100
3.26. <i>A. orduensis</i> türüne ait (1) numaralı örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında U.V. 366 nm’de çekilen fotoğrafı.....	101
3.27. <i>A. orduensis</i> türüne ait (1) numaralı örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında U.V. 366 nm’de çekilen fotoğrafının renk değişimi sonucu elde edilen görüntüsü.....	102



3.28. <i>A. cimilensis</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında güneş ışığında alınan fotoğrafı.....	104
3.29. <i>A. cimilensis</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında U.V. 366 nm’de çekilen fotoğrafı.....	105
3.30. <i>A. cimilensis</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında U.V. 366 nm’de çekilen fotoğrafının renk değişimi sonucu elde edilen görüntüsü.....	106
3.31. <i>A. mollis</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında güneş ışığında alınan fotoğrafı.....	108
3.32. <i>A. mollis</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında U.V. 366 nm’de çekilen fotoğrafı.....	109
3.33. <i>A. mollis</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında U.V. 366 nm’de çekilen fotoğrafının renk değişimi sonucu elde edilen görüntüsü.....	110
3.34. <i>A. orduensis</i> türüne ait (2) numaralı örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında güneş ışığında alınan fotoğrafı.....	112
3.35. <i>A. orduensis</i> türüne ait (2) numaralı örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında U.V. 366 nm’de çekilen fotoğrafı.....	113
3.36. <i>A. orduensis</i> türüne ait (2) numaralı örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında U.V. 366 nm’de çekilen fotoğrafının renk değişimi sonucu elde edilen görüntüsü.....	114
3.37. <i>A. buseriana</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında güneş ışığında alınan fotoğrafı.....	116
3.38. <i>A. buseriana</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında U.V. 366 nm’de çekilen fotoğrafı.....	117

3.39. <i>A. busseriana</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında U.V. 366 nm’de çekilen fotoğrafının renk değişimi sonucu elde edilen görüntüsü.....	118
3.40. <i>A. erythropoda</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında güneş ışığında alınan fotoğrafı.....	120
3.41. <i>A. erythropoda</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında U.V. 366 nm’de çekilen fotoğrafı.....	121
3.42. <i>A. erythropoda</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında U.V. 366 nm’de çekilen fotoğrafının renk değişimi sonucu elde edilen görüntüsü.....	122
3.43. <i>A. ikizdereensis</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında güneş ışığında alınan fotoğrafı.....	124
3.44. <i>A. ikizdereensis</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında U.V. 366 nm’de çekilen fotoğrafı.....	125
3.45. <i>A. ikizdereensis</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında U.V. 366 nm’de çekilen fotoğrafının renk değişimi sonucu elde edilen görüntüsü.....	126
3.46. <i>A. procerrima</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında güneş ışığında alınan fotoğrafı.....	128
3.47. <i>A. procerrima</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında U.V. 366 nm’de çekilen fotoğrafı.....	129
3.48. <i>A. procerrima</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında U.V. 366 nm’de çekilen fotoğrafının renk değişimi sonucu elde edilen görüntüsü.....	130

3.49. <i>A. porrectidens</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında güneş ışığında alınan fotoğrafı.....	132
3.50. <i>A. porrectidens</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında U.V. 366 nm’de çekilen fotoğrafı.....	133
3.51. <i>A. porrectidens</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında U.V. 366 nm’de çekilen fotoğrafının renk değişimi sonucu elde edilen görüntüsü.....	134
3.52. <i>A. oriturcica</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında güneş ışığında alınan fotoğrafı.....	136
3.53. <i>A. oriturcica</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında U.V. 366 nm’de çekilen fotoğrafı.....	137
3.54. <i>A. oriturcica</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında U.V. 366 nm’de çekilen fotoğrafının renk değişimi sonucu elde edilen görüntüsü.....	138
3.55. <i>A. bursensis</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında güneş ışığında alınan fotoğrafı.....	140
3.56. <i>A. bursensis</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında U.V. 366 nm’de çekilen fotoğrafı.....	141
3.57. <i>A. bursensis</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında U.V. 366 nm’de çekilen fotoğrafının renk değişimi sonucu elde edilen görüntüsü.....	142
3.58. <i>A. persica</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında güneş ışığında alınan fotoğrafı.....	144
3.59 <i>A. persica</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında U.V. 366 nm’de çekilen fotoğrafı.....	145

3.60. <i>A. persica</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında U.V. 366 nm’de çekilen fotoğrafının renk değişimi sonucu elde edilen görüntüsü.....	146
3.61. <i>A. trabzonica</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında güneş ışığında alınan fotoğrafı.....	148
3.62. <i>A. trabzonica</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında U.V. 366 nm’de çekilen fotoğrafı.....	149
3.63. <i>A. trabzonica</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında U.V. 366 nm’de çekilen fotoğrafının renk değişimi sonucu elde edilen görüntüsü.....	150
3.64. <i>A. tiryalensis</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında güneş ışığında alınan fotoğrafı .....	152
3.65. <i>A. tiryalensis</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında U.V. 366 nm’de çekilen fotoğrafı.....	153
3.66. <i>A. tiryalensis</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında U.V. 366 nm’de çekilen fotoğrafının renk değişimi sonucu elde edilen görüntüsü.....	154
3.67. <i>A. speciosa</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında güneş ışığında alınan fotoğrafı.....	156
3.68. <i>A. speciosa</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında U.V. 366 nm’de çekilen fotoğrafı.....	157
3.69. <i>A. speciosa</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında U.V. 366 nm’de çekilen fotoğrafının renk değişimi sonucu elde edilen görüntüsü.....	158

3.70. <i>A. hirsutiiflora</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında güneş ışığında alınan fotoğrafı.....	160
3.71. <i>A. hirsutiiflora</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında U.V. 366 nm’de çekilen fotoğrafı.....	161
3.72. <i>A. hirsutiiflora</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında U.V. 366 nm’de çekilen fotoğrafının renk değişimi sonucu elde edilen görüntüsü.....	162
3.73. <i>A. stricta</i> türüne ait (2) numaralı örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında güneş ışığında alınan fotoğrafı.....	164
3.74. <i>A. stricta</i> türüne ait (2) numaralı örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında U.V. 366 nm’de çekilen fotoğrafı.....	165
3.75. <i>A. stricta</i> türüne ait (2) numaralı örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında U.V. 366 nm’de çekilen fotoğrafının renk değişimi sonucu elde edilen görüntüsü.....	166
3.76. <i>A. barbatiflora</i> türüne ait (2) numaralı örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında güneş ışığında alınan fotoğrafı.....	168
3.77. <i>A. barbatiflora</i> türüne ait (2) numaralı örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında U.V. 366 nm’de çekilen fotoğrafı.....	169
3.78. <i>A. barbatiflora</i> türüne ait (2) numaralı örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında U.V. 366 nm’de çekilen fotoğrafının renk değişimi sonucu elde edilen görüntüsü.....	170
3.79. <i>A. sericata</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında güneş ışığında alınan fotoğrafı.....	172
3.80. <i>A. sericata</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında U.V. 366 nm’de çekilen fotoğrafı.....	173

3.81. <i>A. sericata</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında U.V. 366 nm’de çekilen fotoğrafının renk değişimi sonucu elde edilen görüntüsü.....	174
3.82. <i>A. ovitensis</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında güneş ışığında alınan fotoğrafı.....	176
3.83. <i>A. ovitensis</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında U.V. 366 nm’de çekilen fotoğrafı.....	177
3.84. <i>A. ovitensis</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında U.V. 366 nm’de çekilen fotoğrafının renk değişimi sonucu elde edilen görüntüsü.....	178
3.85. <i>A. holocycyla</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında güneş ışığında alınan fotoğrafı.....	180
3.86. <i>A. holocycyla</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında U.V. 366 nm’de çekilen fotoğrafı.....	181
3.87. <i>A. holocycyla</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında U.V. 366 nm’de çekilen fotoğrafının renk değişimi sonucu elde edilen görüntüsü.....	182
3.88. <i>Potentilla recta</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında güneş ışığında alınan fotoğrafı.....	184
3.89. <i>Potentilla recta</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında U.V. 366 nm’de çekilen fotoğrafı.....	185
3.90. <i>Potentilla recta</i> türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında U.V. 366 nm’de çekilen fotoğrafının renk değişimi sonucu elde edilen görüntüsü.....	186
3.91. Myricetin flavonoidin kimyasal yapısı ve HPLC kromatogramı.....	192

3.92. Hyperoside flavonoidin kimyasal yapısı ve HPLC kromatogramı.....	193
3.93. İsoquercetin flavonoidin kimyasal yapısı ve HPLC kromatogramı .....	194
3.94. Quercitrin flavonoidin kimyasal yapısı ve HPLC kromatogramı.....	195
3.95. Vitexin flavonoidin kimyasal yapısı ve HPLC kromatogramı.....	196
3.96. Orientin flavonoidin kimyasal yapısı ve HPLC kromatogramı.....	197
3.97. Hesperidin flavonoidin kimyasal yapısı ve HPLC kromatogramı .....	198
3.98. Naringenin flavonoidin kimyasal yapısı ve HPLC kromatogramı .....	199
3.99. Rutin flavonoidin kimyasal yapısı ve HPCL kromatogramı .....	200
3.100. <i>A. Oriturcica</i> 'nın HPLC kromatogramı.....	202
3.101. <i>A. hirtpedicellata</i> 'nın HPLC kromatogramı.....	202
3.102. <i>A. armeniaca</i> 'nın HPLC kromatogramı.....	203
3.103. <i>A. stricta</i> 'nın (1) HPLC kromatogramı.....	203
3.104. <i>A. barbatiflora</i> 'nın (1) HPLC kromatogramı .....	204
3.105. <i>A. orthotricha</i> 'nın HPLC kromatogramı.....	204
3.106. <i>A. erzincanensis</i> 'in HPLC kromatogramı .....	205
3.107. <i>A. ciminensis</i> 'in HPLC kromatogramı .....	205
3.108. <i>A. orduensis</i> 'in (1) HPLC kromatogramı.....	206
3.109. <i>A. cimilensis</i> 'in (1) HPLC kromatogramı .....	206
3.110. <i>A. mollis</i> 'in HPLC kromatogramı.....	207
3.111. <i>A. orduensis</i> 'in (2) HPLC kromatogramı.....	207
3.112. <i>A. buseriana</i> 'nın HPLC kromatogramı.....	208
3.113. <i>A. erythropoda</i> 'nın HPLC kromatogramı .....	208
3.114. <i>A. ikizderensis</i> 'in HPLC kromatogramı .....	209
3.115. <i>A. procerrima</i> 'nın HPLC kromatogramı.....	209
3.116. <i>A. porrectiolens</i> 'nin HPLC kromatogramı.....	210

3.117. <i>A. oriturcica</i> 'nın HPLC kromatogramı.....	210
3.118. <i>A. bursensis</i> 'in HPLC kromatogramı.....	211
3.119. <i>A. persica</i> 'nın HPLC kromatogramı.....	211
3.120. <i>A. trabzonica</i> 'nın HPLC kromatogramı.....	212
3.121. <i>A. tiryalensis</i> 'in HPLC kromatogramı .....	212
3.122. <i>A. speciosa</i> 'nın HPLC kromatogramı.....	213
3.123. <i>A. hirsutiflora</i> 'nın HPLC kromatogramı.....	213
3.124. <i>A. stricta</i> 'nın (2) HPLC kromatogramı .....	214
3.125. <i>A. barbatiflora</i> 'nın (2) HPLC kromatogramı .....	214
3.126. <i>A. sericata</i> 'nın HPLC kromatogramı.....	215
3.127. <i>A. ovitensis</i> 'in HPLC kromatogramı.....	215
3.128. <i>A. holocycla</i> 'nın HPLC kromatogramı .....	216
3.129. <i>Potentilla recta</i> 'nın HPLC kromatogramı.....	216
4.1. 25 <i>Alchemilla</i> ve bir <i>Potentilla</i> türünden elde edilmiş olan flavonoid glikozitlerine dayalı olarak yapılmış maksimum parsimoni analizinden ortaya çıkmış 28 basamaklı 26 ağacın Majority Rule konsensus ağacı.....	222
4.2. 25 <i>Alchemilla</i> ve bir <i>Potentilla</i> türünden elde edilmiş olan flavonoid glikozitlerine dayalı olarak yapılmış maksimum parsimoni analizinden ortaya çıkmış 28 basamaklı 26 ağacın Adams konsensus ağacı.....	223
4.3. 25 <i>Alchemilla</i> ve bir <i>Potentilla</i> türünden elde edilmiş olan flavonoid glikozitlerine dayalı olarak yapılmış komşu bağlantı (neighbour joining) analizi ağacı.....	224



## ÇİZELGELER DİZİNİ

### ÇİZELGE

- 2.1. Çalışılan örneklerin defter kayıt numaraları ve depolandıkları herbaryum.....55
- 3.1. Çalışılan türlere ait İTK plaklarından elde edilen flavonoid bileşikleri.....187

# İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iv
TEŞEKKÜR.....	vii
SİMGELER DİZİNİ.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xxi
İÇİNDEKİLER.....	xxii
1. GİRİŞ.....	i
1.1.    Rosaceae Juss. Familyası.....	6
1.2.    Alchemilla L. Cinsi .....	7
1.2.1.    Türkiyede Yayılış Gösteren <i>Alchemilla</i> Türlerinin Morfolojik Karakterler Kullanılarak Oluşturulmuş Teşhis Anahtarı.....	11
1.3.    Flavonoidler .....	19
1.3.1.    Flavonoidlerin Biyosentezi.....	23
1.3.2.    Flavonoidlerin Yapısı.....	24
1.3.3.    Flavonoidlerin Sınıflandırılması.....	25
1.4.    Kemosistematik.....	31
1.4.1.    Kemosistematik Çalışmalarda Kullanılan Makromoleküller.....	35
1.4.2.    Kemosistematik Çalışmalarda Kullanılan Mikromoleküller.....	36
1.5.    Ekstraksiyon.....	38

1.6.	Kromatografi.....	39
1.6.1.	Kağıt Kromatografisi (KK) <sup>(146)</sup> .....	41
1.6.2.	İnce Tabaka Kromatografisi (İTK).....	44
1.6.3.	Gaz Kromatografisi (GK).....	48
1.6.4.	Yüksek Basınç Sıvı Kromatografisi (HPLC).....	49
1.7.	Çalışmanın Amacı.....	50
2.	MATERYAL VE YÖNTEM.....	52
2.1.	Materyal.....	52
2.1.1.	Kimyasallar.....	52
2.1.2.	İnce Tabaka Kromatografisi Plakları.....	52
2.1.3.	Laboratuvar Malzemeleri ve Cihazlar.....	53
2.1.4.	Bitki Materyali.....	54
2.2.	Yöntem.....	57
2.2.1.	Ekstraksiyon.....	57
2.2.2.	İnce Tabaka Kromatografisi.....	61
2.2.3.	İnce Tabaka Kromatografisi Plaklarının Görüntülenmesi.....	61
2.2.4.	Kolon Kromatografisi.....	62
2.2.5.	Preparatif İnce Tabaka Kromatografisi.....	63
2.2.6.	Yüksek Basınç Sıvı Kromatografisi.....	64
3.	ARAŞTIRMA BULGULARI.....	66
3.1.	İnce Tabaka Kromatografisi Plakalarındaki Rf Değeri ve Renklerine ..	66
	Göre Flavonoid bileşiklerinin Tayin Edilmesi.....	66
3.1.1.	<i>A. oriturcica</i> türünde İTK plak sonucu.....	67
3.1.2.	<i>A. hirtipedicellata</i> türünün İTK plak sonucu.....	71

3.1.3.	<i>A. armeniaca</i> türünün İTK plak sonucu.....	75
3.1.4.	<i>A. stricta</i> (1) türünün İTK plak sonucu.....	79
3.1.5.	<i>A. barbatiflora</i> (1) türünün İTK plak sonucu.....	83
3.1.6.	<i>A. orthotricha</i> türünün İTK plak sonucu.....	87
3.1.7.	<i>A. erzincanensis</i> türünün İTK plak sonucu.....	91
3.1.8.	<i>A. ciminensis</i> türünün İTK plak sonucu.....	95
3.1.9.	<i>A. orduensis</i> (1) türünün İTK plak sonucu.....	99
3.1.10.	<i>A. cimilensis</i> türünün İTK plak sonucu.....	103
3.1.11.	<i>A. mollis</i> türünün İTK plak sonucu.....	107
3.1.12.	<i>A. orduensis</i> (2) türünün İTK plak sonucu.....	111
3.1.13.	<i>A. buseriana</i> türünün İTK plak sonucu.....	115
3.1.14.	<i>A. erythropoda</i> türünün İTK plak sonucu.....	119
3.1.15.	<i>A. ikizdereensis</i> türünün İTK plak sonucu.....	123
3.1.16.	<i>A. procerrima</i> türünün İTK plak sonucu.....	127
3.1.17.	<i>A. porrectidens</i> türünün İTK plak sonucu.....	131
3.1.18.	<i>A. oriturcica</i> türünün İTK plak sonucu.....	135
3.1.19.	<i>A. bursensis</i> türünün İTK plak sonucu.....	139
3.1.20.	<i>A. persica</i> türünün İTK plak sonucu.....	143
3.1.21.	<i>A. trabzonica</i> türünün İTK plak sonucu.....	147
3.1.22.	<i>A. tiryalensis</i> türünün İTK plak sonucu.....	151
3.1.23.	<i>A. speciosa</i> türünün İTK plak sonucu.....	155
3.1.24.	<i>A. hirsutiflora</i> türünün İTK plak sonucu.....	159
3.1.25.	<i>A. stricta</i> (2) türünün İTK plak sonucu.....	163
3.1.26.	<i>A. barbatiflora</i> (2) türünün İTK plak sonucu.....	167
3.1.27.	<i>A. sericata</i> türünün İTK plak sonucu.....	171

3.1.28.	<i>A. ovitensis</i> türünün İTK plak sonucu.....	175
3.1.29.	<i>A. holocycyla</i> türünün İTK plak sonucu.....	179
3.1.30.	<i>Potentilla recta</i> türünün İTK plak sonucu.....	183
3.2.	Yüksek Basınç Sıvı Kromatografisinde (HPLC) Flavonoid Bileşiklerinin Tayin Edilmesi .....	191
3.2.1.	Standartların HPLC Kromatogramları .....	191
3.2.2.	Bitki Ekstraktlarının HPLC Kromatogramları .....	201
4.	TARTIŞMA VE SONUÇ .....	217
5.	KAYNAKLAR.....	227
	ÖZGEÇMİŞ .....	237

## 1. GİRİŞ

Yurdumuz, florasındaki takson sayısı bakımından ılıman kuşakta bulunan ülkeler arasında dünyanın en zengin floraya sahip ülkeleri arasında bulunmaktadır<sup>(1)</sup>. Ülkemiz florasının zenginliğinin temelinde, değişik iklim tiplerinin varlığı, coğrafik durumu, jeolojik yapısı, topoğrafik özellikleri, çeşitli toprak gruplarına sahip olması ve üç değişik fitocoğrafik (Avrupa-Sibirya, İnan-Turan ve Akdeniz bitki coğrafyası) bölgenin birleştiği yerde bulunması yatmaktadır.

Bitkiler ekolojik isteklerine uygun ortamlarda yaşarlar. Bu şartlar zamanla değişirse; mevcut bitki örtüsünün tür çeşidi, türlere ait bireylerinin sayısı ve baskınlığı bakımından değişmeler gözlenir. İklim; bitki yaşamını ve yayılışını etkileyen en önemli ekolojik etmendir. Türkiye’de ve kuzey yarımkürenin orta kuşağında yer alan diğer ülkelerde, Kuaterner’de oldukça köklü ve sık sayılabilecek iklim değişimleri yaşanmıştır. Bu zamanda yaşanan son buzul dönemi öncesinde sıcaklıklarda büyük artışlar olmuş ve buzullar eriyerek deniz seviyesi yükselmiştir. Ancak son buzul döneminde genel bir soğuma meydana gelmiş ve kuzey yarımkürede buzullar orta Avrupa’da Almanya içlerine kadar ilerlemiş, Alpler, Kafkaslar ve Himalayalar buzullarla kaplanmıştır. Buna bağlı olarak yeryüzündeki mevcut suyun bir kısmı buzullarda depolandığından deniz seviyesinde yaklaşık 100 metrelik düşüş olmuştur. Bu iklim değişmelerine bağlı olarak gerek dünyada ve gerekse Türkiye’de bitki örtüsünde farklılaşmalar meydana gelmiştir. Tersiyer ve Kuaterner’de meydana gelen iklim değişimleri nedeniyle yeryüzünde, soğuma ve ısınmalar birbirini takip etmiştir<sup>(2)</sup>.

Türkiye topoğrafyası çok değişken özellik göstermektedir. Çok sık iklim değişiklikleri ve topoğrafyadaki farklılıklar; ülkemizde çok sayıda mikroiklim ve habitat oluşumuna, dolayısıyla birçok relik alan ve endemizm merkezinin ortaya çıkmasına neden olmuştur.

*Alchemilla* L. cinsi türleri Rosaceae familyasına aittir. Rosaceae familyası otsu ve odunsu bitkilerin bulunduğu dikotiledonların büyük ve önemli bir familyasıdır. Bu familyanın 122 cinse dahil 3370 kadar türü vardır. Birçok türü süs bitkisi olarak park ve bahçelerde yetiştirilmektedir. *Alchemilla* Rosaceae familyası içinde Rosoideae alt familyasının *Sanguisorbaeae* tribusunda yer almaktadır<sup>(3)</sup>. 1000'den fazla tür ile temsil edilen *Alchemilla* cinsi genellikle holarktık bölgede yayılmakla beraber, bu bölgenin dışında Seylan, Doğu Hindistan, Ümit Burnu ve Doğu Afrika Dağları'nda da bulunmaktadır<sup>(4)</sup>. *Alchemilla*'nın Avrasya taksonları Rothmaler tarafından iki seksiyona ayrılmıştır. Bu seksiyonlar *Pentaphyllon* Rothm. ve *Brevicaulon* Rothm.'dur. Aynı araştırmacıya göre bunlara ait taksonların bir kısmı geniş yayılışlı, bir kısmı da endemiktir<sup>(5)</sup>.

Türkiye florasındaki kayıtlara göre, Türkiye'de yayılış gösteren *Alchemilla* türlerinin tamamı *Alchemilla* seksiyonuna aittir<sup>(6)</sup>. Bu seksiyon 3 subseksiyon (*Chirophyllum* Rothmn., *Heliodrosium* Rothmn. ve *Calycanthum* Rothmn. ve 6 seriye (*Saxatiles* Bus., *Sericeae* Bus., *Pubescentes* Bus., *Vulgares* Bus., *Elatae* Rothmn. ve *Calycinae* Bus.) ayrılmıştır<sup>(6)</sup>.

Türkiyedeki *Alchemilla* türlerinin çoğunluğu Kuzey Anadolu Bölgesi'nde yayılış göstermektedir. Bunların Kırım, Kafkasya ve İran'daki türlerle yakın akraba olabilecekleri ileri sürülmektedir<sup>(6)</sup>.

*Alchemilla* cinsine ait türler çok sayıdadır ve değişebilir formlar göstermektedir. Yapılan embriyolojik çalışmalarda *Alchemilla*'nın birkaç türü hariç genellikle apomiktik olduğu bilinmektedir<sup>(7,8)</sup>. Bu cinsin Avrasya türlerinin tamamı apomiktir<sup>(9)</sup>.

*Alchemilla* türlerinde görülen yüksek kromozom sayılarının zamanımızda mevcut olmayan ebeveyn türlerden meydana gelmiş olan kompleks ve hibrid orijinli türlerden kaynaklandığı ileri sürülmektedir<sup>(9)</sup>. *Alchemilla* türleri sitolojik çalışmalar için çok zor bir cins olarak kabul edilmektedir<sup>(10)</sup>. Çalışılmış olan tüm türlerin kromozomlarının çok küçük olduğu ve yüksek poliploidi gösterdikleri görülmektedir<sup>(10)</sup>.

Flavonoidler bitki kaynaklı bileşikler olup, doğada yaygın olarak bulunurlar. İlk önceleri limon kabuğundan elde edilen flavonlar P vitamini olarak adlandırılmıştır<sup>(11)</sup>. Kılcal damar geçirgenliğini ve kırılgenliğini düşürmede kullanılması, flavonoidlere olan önemi arttırmış ve bugün için 6000'den fazla flavonoid izole edilerek, yapıları değişik kimyasal metotlarla analiz edilerek tanımlanmıştır<sup>(12)</sup>.

Flavonoidlerin doğada bir milyar yıldan beri bulunduğu ve bu zaman sürecinde organizmalarla etkileşimde bulunmuştur. Flavonoidler doğada geniş yayılış gösteren doğal ürünlerin en önemli grubudur. Bu grup, bitkilerin renklenmesine katkıda buldukları gibi bazı üyeleri fizyolojik aktivite üzerinde son derece etkilidir. Bitkilerde rastlanan bu bileşikler, önceleri çiçeklerin sarı, kırmızı, turuncu, ve benzeri renklerinden sorumlu olan pigmentler olarak bilinirken, daha sonra yapılan bir çok çalışmada flavonoid bileşiklerine; bitkinin meyve, tohum, çiçek, yaprak ve dallarında da rastlanınca sadece bir pigment sistemi olamayacağına



yönelik çalışmalar görüşler ileri sürülmüştür. Yapılan çalışmalarda; flavonoidlerin antioksidan, enzim inhibitörü ve aynı zamanda ışıktan koruma özelliklerinin olduğu Harborne ve arkadaşlarının yaptıkları <sup>(13,14)</sup> çalışmalarda ortaya konmuştur. Smith ve ark.<sup>(15)</sup> yaptıkları çalışmalarda flavonoidlerin bitkilerde enerji dönüşümüne ve büyüme hormonlarına etki ederek, solunum ve fotosentezi düzenleme ve bulaşıcı hastalıklara karşı bitkileri savunma özeliğine sahip olduklarını ortaya koymuşlardır. Daha sonralarda Firmin<sup>(16)</sup>, Peters<sup>(17)</sup>, Zaa't<sup>(18)</sup> gibi araştırmacıların yaptıkları araştırmalarda bitkilerde azotun tutunmasını düzenleyen bakteriyel genlerin aktifleştirilmesi sürecinde yer aldıkları ile ilgili çalışmalar yapılmış ve bunun sonucunda da flavonoidlerle genler arasında belirgin bir ilişki olabileceği bilgisi üzerinde durulmuştur. Yapılan başka bir çalışmada, Ruş ve Kulikov<sup>(19)</sup> bu bileşiklerin kanın bileşenleri üzerine etkisini araştırmışlar ve sonuç olarak flavonoidlerin eritrosit oluşumunu ve lökosit sayısını arttırdığını gözlemişlerdir. Jeney ve Uri<sup>(20)</sup> quercetin, rutin ve bazı diğer flavonoidlerin kalbi kuvvetlendirme, nabızı normalleştirme özelliklerine sahip olduğunu açıklamışlardır. Ayrıca, Şamray'ın<sup>(21)</sup> yaptığı araştırmada flavonoidlerin kolesterol seviyesini düşürdüğü, kanın bileşenleri üzerine etki ettiğini gösterilmişlerdir<sup>(12)</sup>.

Geleneksel veya modern tıpta son yıllarda flavonoidlere karşı ilgi giderek artmış ve flavonoidlerin çok yönlü biyokimyasal ve farmakolojik aktivitelerinin var olduğu tespit edilmiştir. Bors ve Saran (1987)<sup>(22)</sup>, Larson (1988)<sup>(23)</sup>, Moroney ve ark. (1988)<sup>(24)</sup>, Vlaskovska (1990)<sup>(25)</sup>, Pratt ve Hudson (1990)<sup>(26)</sup>, Wagner (1989)<sup>(27)</sup>; Wagner ve ark. (1991)<sup>(28)</sup>, Hikino ve Kiso (1988)<sup>(29)</sup> yaptıkları farklı çalışmalarda flavonoidlerin antioksidatif, antiinflamatuvar, antimikrobiyal, antiülserojen, antiviral, hepatoprotektif ve hipolidemik etkiye sahip olduklarını belirtmişlerdir. Bunlardan başka Kato ve ark. (1983)<sup>(30)</sup>, Huang ve ark. (1983)<sup>(31)</sup>, Verma ve ark. (1988)<sup>(32)</sup>,

Descher ve ark. (1991)<sup>(33)</sup> flavonoid çeşitlerinden Quercetin ve Kaempferol'ün in vitro ve invivo çalışmalarda antineoplastik etkiye sahip olduklarını ortaya koymuşlardır.

Flavonoidlerin sadece medikal alanlarda değil, aynı zamanda endüstride, besin, tekstil, deri, metalurji, tıp, ziraat ve benzer alanlarda kullanımı söz konusudur.

Harborne (1973)<sup>(34)</sup> bitkilerde bulunan sekonder metabolitleri taksonomik açıdan değerlendirirken flavonoidleri geniş kapsamlı olarak kullanmış ve flavonoidlerin, bitki taksonomisinin tüm taksonomik düzeylerinde belirleyici faktör olarak bitki taksonomistleri tarafından kullanılabileceğini belirtmiştir<sup>(34)</sup>. Harborne'un 1973'de *Baptisia* cinsinde doğal bitki hibritlerinin tanımlanmasında flavonoidlerin önemli kanıtlar sunduğu görüşünü takip eden Van sumere ve ark.<sup>(35)</sup> Şerbetçi otu ve Azalea gibi kültür bitkileri ile yaptıkları çalışmalarda; tür ve familya düzeylerinde belli flavonoid bileşiklerini başarı ile kullanılabilceğini göstermiştir.

Flavonoidler büyük yapısal varyasyon göstermekte olup, 12 alt sınıfa bölünmüştür. Her biri glikolizlenme, metillenme ve hidrosillenme derecelerine göre çeşitlenmektedir. Bu özelliklerinden dolayı taksonomik çalışmalarda diğer sekonder metabolitlerden daha fazla sayıda taksonomik öneme sahip karakter meydana getirmektedirler. Flavonoidler evrensel olarak Angiospermlerde, Gymnospermlerde ve Pteridophyta'da herhangi bir sınırlama olmaksızın yaygın olarak bulunabildikleri için kemosistemik işaretleyiciler(marker) gibi kullanılmaktadır. Bunlara ek olarak bitkilerdeki kimyasal karakterlerin en kararlısı olarak görülmektedir. Bununla beraber bu bileşiklerin elde edilmesi ve tanımlanması nispeten hızlı ve kolay olmaktadır. Bitkiler aleminde fenolik bileşikler olarak bilinen grup içerisinde bulunan flavonoidler aynı zamanda sekonder metabolit olarak bilinen mikromolekül

grubunda da bulunmaktadır. Mikromoleküllerin moleküler ağırlıkları düşüktür. Bu sınıfta monomerik bileşikler olarak flavonoidler, alkoloitler, terpenoitler ve aminoasitler bulunur. Kemotaksonomideki gelişmeler, bu mikromoleküllerin kullanımına odaklanmıştır. Cins düzeyinde ve bunun altındaki taksonomik problemlerin çözülmesinde oldukça etkin olarak kullanılmaktadır. Makromoleküller (DNA, RNA, karbohidrat ve proteinler) polimerik bileşikler olarak bilinmektedirler. Makromoleküllerin moleküler ağırlıkları bu bileşiklerin metabolizması sonucunda ortaya çıkan sekonder metabolitlerden daha yüksektir ve taşıdıkları bilgiler, cins ve daha üstü taksonomik düzeylerde bulunan taksonomik problemlerin çözümlenmesinde kullanılır<sup>(36)</sup>.

### **1.1. Rosaceae Juss. Familyası**

*Alchemilla* cinsinin bağlı bulunduğu ve yurdumuzda Gülgiller olarak bilinen bu familyaya ait bitkiler ağaç, çalı veya ot formunda bulunmaktadır. Familyaya ait üyelerin bazıları tırmanıcıdır. Yapraklar alternattır, nadiren de olsa karşılıklı basit veya bileşik olarak görülebilen, genellikle stipüllü, nadiren stipül bulundurmeyen şekilde tarif edilir. Çiçekler genellikle erdişi halinde bulunurken, nadiren tek eşeyli halde bulunmaktadır. Çiçeklerin simetrisi ışınsal olarak bulunurken, nadiren de zigomorf halde görülebilir. Sepaller 4-5 parçalı ve kaide kısmında birleşik görülürken, petaller ise 4-5 parçalı, ya serbest haldedir ya da hiç görülmez. Stamenler bir veya çok sayıda ve bir veya çok dairede görülürler. Ginekeum genellikle bir birleşik pistilli veya dairesel yada spiral dizilişli ve çok pistilli olarak görülürler. Ovaryum üst veya alt durumlu olarak 1-5 lokuslu veya karpellidir.

Ovüller ise bir veya çok sayıda bulunabilir. Meyva aken, folikül, pome, drupa veya agregattır.

Zomlefer<sup>(37)</sup> Rosaceae familyasını monofiletik bir grup olarak tanımlayarak genellikle ginekeum ve meyve karakterleri üzerine 4 alt familyaya ayırmıştır. Daha çok Kuzey yarımkürede yayılış gösteren familyanın yaklaşık 115 cins ve 3500 kadar türü vardır. Ülkemizde 36 cins ve 250 türü bulunmaktadır<sup>(37)</sup>.

Meyvaları gıda maddesi olarak önemlidir. Birçok türü süs bitkisi olarak kullanılmaktadır<sup>(38)</sup>.

## 1.2. *Alchemilla* L. Cinsi

*Alchemilla* cinsi ülkemizde genellikle “aslan pençesi” ismiyle bilinmekte olup, çok sayıda endemik tür ile temsil edilen bir cinstir. Bu cins Rosaceae familyası içerisinde yer almaktadır.

*Alchemilla* cinsi odunsu rizomu bulunan otsu bir bitkidir. Toprak üstünde kalan gövde ve yapraklar çürür, her yıl rizomdan yeni toprak üstü gövde ve yapraklar teşekkül eder. Yapraklar palmat veya palmat yaprak eksenine kadar yarık meydana getirmektedir. Bileşik kimöz tipindeki çiçek durumu üzerinde bulunan sarımsı-yeşilimsi renkteki minik çiçekler genellikle dört, bazen de beş parçadan oluşan kaliks ve epikalikse sahip olmasına rağmen, korollaya sahip değildir. Erkek organlar dört adet olup, hipantiyum üzerinde dişi organın üzerini örten diskin kenarında bulunur. Dişi organ (pistil) bir adet olup, tek bir aken meyva meydana getirir. Olgun meyva kısmen veya tamamen hipantiyumun içerisinde gömülüdür<sup>(39)</sup>.

*Alchemilla* cins ismi Arapça bir kelime olan *Alkemelych* (alchemy = simya) kelimesinden türemiş olup, bitkinin bazı güçlerinin olduğuna inanılmasından dolayı bu ad verilmiştir<sup>(40)</sup>.

*Alchemilla* cinsi ilk olarak Linnaeus (1753) tarafından üç tür ile yayınlanmıştır. Bu türler *A. alpina*, *A. cornucopioides* ve *A. pentaphyllea*'dır, ancak *A. cornucopioides* 1816 yılında Lagendijk tarafından *Aphanes* L. cinsine aktarılmıştır.

Günümüzde 1000'den fazla tür ile temsil olunan *Alchemilla* cinsi taksonomik hiyerarşi içerisinde *Rosoidae* Focke alt familyası ve *Sanguisorbeae* tribusu içerisine konulmuştur<sup>(41)</sup> ve özellikle Avrupa ve Asya'da geniş bir yayılışa sahiptir. Doğu Afrika'da, Kuzey Amerika'da ve Avustralya'da da dağılımının olduğu belirtilmiştir<sup>(41-43)</sup>.

Avrupa'da 300'ün üzerinde türün tanımı yapılmış olmasına rağmen, Walter<sup>(44)</sup> 118 tanesini tür olarak kabul etmiştir. *Alchemilla* cinsi İran florasında 31<sup>(45)</sup>, Irak florasında iki<sup>(46)</sup>, Sovyet florasında 151<sup>(47)</sup> ve Kafkasya florasında 36<sup>(48)</sup> tür ile temsil edilmektedir. Türkiye Florasında 50<sup>(39)</sup> tür kayıtlı olarak gösterilmesine rağmen daha sonradan yayınlanan yeni türler ve yeni kayıtlarla tür sayısı 76 olmuştur<sup>(49-54)</sup>. Türkiye'de yayılış gösteren *Alchemilla* türlerinin tamamı *Alchemilla* seksiyonuna aittir<sup>(39)</sup>. Bu seksiyon 3 subseksiyon (*Chirophyllum* Rothm., *Heliodrosium* Rothm. ve *Calycanthum* Rothm.) ve 6 seriye (*Saxatiles* Bus., *Sericeae* Bus., *Pubescentes* Bus., *Vulgares* Bus., *Elatae* Rothm. ve *Calycinae* Bus.) ayrılmıştır<sup>(39)</sup>. Türkiye'deki *Alchemilla* türlerinin çoğunluğu Kuzey Anadolu Bölgesinde yoğun bir şekilde yayılış göstermekle birlikte, ülkenin tamamına dağılmış durumdadır.

Walters ve Pawlowski<sup>(44)</sup> küçük boylu olan *Alchemilla* türlerinin dağların yüksek kısımlarında, aşırı çok küçük olanların karlı dağlık yerlerde yetiştiğini, orta boylu *Alchemilla* türlerinin yarı-doğal çayır ve otlatma alanlarında, büyük türlerin ise muhtemelen insan faktörüyle şu andaki coğrafik yayılış alanlarına getirilmiş kuzey ve dağ çayır bitkileri olan büyük türler olduğunu belirtmiştir.

*Alchemilla* tohumları çok geç çimlenme özelliğine sahiptir. İskandinavya'da *A. glabra*, *A. glaucescens*, *A. pastoralis* ve *A. subcrenata* türlerine ait tohumlar toprağa ekildikten sonra ilk yıl herhangi bir gelişmenin olmadığı görülmüştür. Sonbaharda ekilen tohumların bir sonraki yılın sonbaharında ortaya çıktıkları ve bitkilerin ancak 3 yılda gelişmelerini tamamlayabildikleri gözlenmiştir<sup>(55)</sup>. Tohumlardan yetiştirilen bitkilerin, tohumların ait olduğu ebeveynlere tıpatıp benzedikleri tespit edilmiştir<sup>(55)</sup>.

Murbeck<sup>(56)</sup> ve Strasburger<sup>(57)</sup> *Alchemilla* cinsi içerisinde çok sayıda türün apomiktik olarak ürediğini belirtmişlerdir, ancak cinsin zorunlu apomiktik mi, yoksa fakültatif apomiktik mi olduğu hususunda farklı görüşler bulunmaktadır. Rubtsova<sup>(58)</sup>, Koltunow<sup>(59)</sup> türlerin büyük bir çoğunluğunun zorunlu apomiktik olduklarını ifade etmelerine rağmen, Glazunova<sup>(60-62)</sup> ve Izmailow<sup>(63-67)</sup> *Alchemilla* türlerinin çoğunluğunun zorunlu olmayıp fakültatif apomiktik olabileceklerini belirtmişlerdir. *Alchemilla* cinsi türlerinin apomiktik olmaları onların poliploid olmalarından kaynaklanmaktadır. Kromozom sayıları türler arasında 64 ve 224 arasında değişebildiği gibi, aynı tür içerisinde bile fazla miktarda kromozom sayısında farklılık bulunmaktadır<sup>(68-75)</sup>.

Baeva ve arkadaşları<sup>(76)</sup> RAPD markırlarla yapmış oldukları DNA çalışmasında DNA, bir türün popülasyonu içerisinde bulunan genetik farklılığın bazen değişik türler arasındaki farklılıklardan daha fazla olduğunu ifade etmişlerdir.

Bu cins agamosperm ve geniş varyasyonu nedeniyle geçen yüzyıldan günümüze kadar çok sayıda araştırmacının ilgisini çekmiştir. Çoğu yazarlar<sup>(77-79)</sup> tür seviyesinde *Alchemilla* mikrotürlerini sınıflandırmada Buser<sup>(80)</sup> i takip etmişlerdir. Ayrıca Walters ve Pawlowski<sup>(44)</sup> Flora Europea'da, Fröhner<sup>(81)</sup> Illustrierte Flora of Mitteleuropa'da bu tür seviyesini kullanmışlardır. Bu uygulama 'bu türler temelde birbirlerinin klonudurlar (zorunlu apomiktik) ve sadece morfolojik olarak farklılık gösterirler ve türler sadece farklı dağılım alanlarına ve ekolojik nişlere sahiptir' fikrini kaynak olarak almaktadır. Bazı yazarlar<sup>(60, 69, 82-84)</sup> bir kaç tane kolektif (toplayıcı) türün tanınması gerektiğini belirtmiştir.

Bu cinsin farklı seksiyon ve serilere ayrılması ile ilgili görüşlerin en yaygın olanı Buser'dır<sup>(80)</sup>. Bu sistem daha sonra başlıca Rothmaler<sup>(77,78)</sup> tarafından geliştirilmiş, Walter ve Pawlowski<sup>(44)</sup> tarafından ufak bir değişiklikle Flora Europea'da sunulmuştur. Plocek<sup>(85)</sup> bunu kritize ederek isimlendirme kurallarına uygun olarak değiştirmiştir. Yuzepchuk<sup>(79)</sup> önceki sistemleri başlangıç noktası olarak ele almıştır ve geliştirerek daha detaylı seksiyon, grup (seriler) ve altgrup (alt seriler) sistemini oluşturmuştur.

Fröhner<sup>(81)</sup> *Alchemilla* cinsinin Avrupa'da kendi arasındaki mümkün olan bütün hibritleri meydana getirmiş olan, 4 tane saf gen havuzunun olduğunu iddia etmektedir.

Pratik olarak doğada *Alchemilla* türleri morfolojik olarak büyük oranda varyasyon göstermekte ve bu cinsin karakterleri sürekli olarak farklılık

göstermektedir. Şu ana kadar bu türleri birbirinden ayırmada sadece morfolojik farklılıklar kullanılmıştır.

**1.2.1. Türkiyede Yayılış Gösteren *Alchemilla* Türlerinin Morfolojik Karakterler Kullanılarak Oluşturulmuş Teşhis Anahtarı (2001/K DPT Proje Raporu'ndan proje yöneticisinin izniyle alınmıştır.)**

1. Yapraklar tabana kadar ya da tabana yakın loblanır.....**Grup A**
  1. Yapraklar en fazla 1/2 (2/3)' e kadar loblanır
  2. Sepaller hipantiyumdan belirgin bir şekilde uzun; epikaliks lobları sepallere kadar uzamış ya da onlardan daha uzun, çok nadiren kısa; akenler hipantiyumdan çok uzun
    3. Gövde ve petiyoller patent, erekto-patent tüylü.....**Grup C**
    3. Gövde ve petiyoller tüysüz veya adpres veya subadpres tüylü
      - 4.Hipantiyumların hepsi en azından kısmen tüylü.....**Grup D**
      - 4.Hipantiyumların hepsi tüysüz.....**Grup E**
  2. Sepaller hipantiyum kadar uzunlukta ya da onlardan kısa; epikaliks lobları çoğunlukla sepallerden kısa; akenler çok hafif hipantiyumdan uzun ya da değil.....**Grup B**

**Grup A**

1. Yaprak segmentleri 2 mm uzunluğunda apikal dişlere sahip.....**1.A. *plicatula***
  1. Yaprak segmentleri derin testere dişli ya da ± loblanmış apekse sahip
    2. Yaprak segmentlerinin hepsi serbest.....**2.A. *sericea***
  2. Yaprak segmentlerinin hepsi veya bir kısmı birleşik
    3. Yaprakların üst yüzeyi yoğun tüylü, gövde yapraklarının orta segmenti serbest, pedisel, hipantiyum, epikaliks ve sepaller yoğun tüylü.....**3.A. *rizensis***
    3. Yaprakların üst yüzeyi tüysüz, gövde yapraklarının segmentleri birleşik, pedisel, hipantiyum, epikaliks ve sepaller tüysüz ya da



seyrek tüylü.....4. *A. Ovitensis*

### Grup B

1. Bitkinin bütün kısımları yoğun tüylü
  2. Petiyoller üzerindeki bazı tüyler ve gövdenin aşağıda kalan yarısındaki tüyler defleks
    3. Yaprak lobları az çok trunkat, belirgin dişsiz yarıklarla ayrılır ve 4-5(6) dişli..... 5.A. *erythropoda*
    3. Yaprak lobları yuvarlağımsı ya da hemen hemen triangular çok yüzeysel yarıklı ve 6-7(8)dişli .....6.A. *lithophila*
  2. Gövde ve petiyoller üzerindeki tüylerin hepsi adpres veya patent defleks değil
    4. Tüyler genellikle adpres ya da  $\pm$  adpres; bitki 30 cm'ye kadar Boylanır.....7.A. *sericata*
    4. Tüyler erekto-patent ya da patent tüylü;bitki 15 (-20) cm'ye kadar boylanır
      5. Tüyler erekto-patent; bazı pediseller tüysüz ya da seyrek tüylü.....8 A. *plicatissima*
      5. Tüyler erekto-patent; pedisellerin hepsi yoğun erekto-patent tüylü
        6. Yapraklar reniform ve açık sinüslü.....9.A. *caucasica*
        6. Yapraklar orbikular-reniform ve dar ya da kapalı sinüslü.....10.A. *gigantodus*
  1. Bitkinin en azından bazı kısımları tüysüz
    7. Hipantiyumlar tüylü
      8. Bazı pediseller en azından dip kısımda tüylü
        9. Yaprığın üst yüzeyi dağınık veya kısmen tüylü, bazen tüysüz.....11.A. *surculosa*
        9. Yaprığın üst yüzeyi homojen olarak yoğun tüylü
          10. Petiyoller ve gövdenin aşağı kısmı erekto-patent tüylü; bodur.....8.A. *plicatissima*
          10. Petiyoller ve gövdenin aşağı kısmı patent veya defleks tüylü; bitki orta boylu
            - 11 Yapraklar orbikular, (7-)9 loblu; pediseller bazen tüysüz

- 12.A. *valdehirsuta*
11. Yapraklar reniform, 7 loblu;  
pedisellerin tümü dip kısımlarında tüylü
- 13.A. *grossheimii*
8. Pedisellerin hepsi tüysüz
12. Yaprak lobları dişsiz derin yarıklarla birbirinden ayrılır;  
dişlerin uzunlukları genişliklerinden fazla.....14.A. *pectiniloba*
12. Yaprak lobları kısa yarıklı ya da yarıksız;  
dişlerin uzunlukları genişlikle aynı
13. Petiyoller ve gövde ve aşağı kısımlarındaki tüylerin bazısı defleks
14. Yapraklar orbikular, sinüsler dar,  
bazal loblar birbirine değer ya da  
üst üste gelir.....15.A. *compactilis*
14. Yapraklar reniform, sinüsler açık,  
bazal loblar geniş bir şekilde birbirinden ayrı
15. Bitki Gövde sert ve ± dayanıklı, 40 cm'ye kadar boylanır;  
yapraklar 10 cm'ye kadar geniş.....16.A. *crinita*
15. Bitki 15 cm'ye kadar boylanır;yapraklar 3-4 cm.....  
.....17.A. *paracompactilis*
13. Petiyoller ve gövde ve aşağı kısımlarındaki tüyler patent veya  
erekto-patent
16. Bitki bodur 8 cm'den kısa; yapraklar reniform ve geniş  
sinüslü.....18.A. *microscopica*
16. Bitki 50 cm'ye kadar boylanır;  
yapraklar orbicular dar ya da kapalı sinüslü
17. Gövde ve petiyoller üzerindeki tüyler erekto-patent;  
hipantiyum yoğun tüylü.....19.A. *stevonii*
17. Gövde ve petiyoller üzerindeki tüyler patent;  
hipantiyum seyrek tüylü.....20.A. *monticola*
7. Hipantiyumlar tüysüz (nadiren birkaç tüy bulunur)
18. Gövdenin aşağı kısmı petiyoller patent veya  
erekto-patent veya defleks tüylü
19. Yaprakların üst yüzeyleri tüysüz ya da  
hafif tüylü.....21.A. *heterophylla*

19. Yaprakların üst yüzeyleri tüylü.....22.A. *oligotricha*
18. Gövdenin aşağı kısmı petiyoller ya tüysüz ya da  
adpres ve hafif adpres tüylü
20. Yaprak dişleri üzerindeki birkaç tüy bulunur ya da bulunmaz;  
yaprakların alt yüzeyindeki ana damarların merkeze uzak  
kısımlarında seyrek olarak bulunan  
adpres tüyler hariç bitki tamamen tüysüz.....23.A. *straminea*
20. Bitkinin en azından, yaz yapraklarının petiyollerinde adpres  
ya da  $\pm$  adpres tüyler bulunur
21. Yapraklar reniform-orbikular, dar ya da kapalı sinüslü,  
dişler  $\pm$  akut ve eşit büyüklükte.....24.A. *minusculiflora*
21. Yapraklar reniform, geniş bazal sinüslü, dişler akut ya da obtus  
eşit büyüklükte değil
22. Yaprakların üst yüzeyi tüysüz.....25.A. *pseudocartalinica*
22. Yaprakların üst yüzeyi kıvrımlarda ve kenarda  
tüylü.....26.A. *daghestanica*

### Grup C

1. Pedisellerin hepsi  $\pm$  yoğun tüylü
2. Sepaller ve epikalix lobları tüysüz
3. Gövde, petiyol ve pediseller patent tüylü;  
yaprak lobları 5-8 az çok eşit dişli.....27.A. *orthotricha*
3. Gövde, petiyol ve pediseller patent tüylü;  
yaprak lobları 7-11 ve düzensiz dişli.....28.A. *erzincanensis*
2. Sepaller ve epikalix lobları seyrek tüylü ya da sadece sepaller tüylü
4. Sepaller ve epikalix lobları seyrek tüylere sahip;  
açık ya da kapalı sinüslü
5. Yaprak lobları semiovat ya da semieliptik,  
genellikle derin yarıklara sahip.....29.A. *speciosa*
5. Yaprak lobları subtriangular,  $\pm$  orbikular ya da parabolik, yarıksız
6. Çiçek kümesi yoğun, çiçek durumu genişliğinin üç katı kadar uzun;  
yapraklar geniş sinüslü.....30.A. *orduensis*
6. Çiçek kümesi seyrek, kısa;

- yapraklar dar ya da kapalı sinüslü.....31.*A. hirtipedicellata*
4. Sadece sepaller tüylü; kapalı sinüslü
7. Yaprak lobları arkuat ya da suborbikular;  
dişler obtus.....32..*A. holotricha*
7. Yaprak lobları akut; dişler akut.....33..*A. smirnovii*
1. Pedisellerin hepsi tüysüz ya da dip kısımlarında seyrek tüylü
8. Yaprakların hepsi heriki yüzeyde yoğun tüylü
9. Yapraklar 1 / 3 den fazla loblanır.....34. *A. hemsinica*
9. Yapraklar 1 / 10 – 1 / 6 ya da 1 / 7 – 1 / 4 loblara sahiptir
10. Yapraklar sadece 1 / 10 – 1 / 6 oranında loblu;  
çoğu zaman çok belirgin değil.....35..*A. holocycla*
10. Yapraklar 1 / 7 – 1 / 4 oranında loblanır, daima belirgin loblu
11. Çiçekler 3.5-5 mm genişlikte,  
pedisellerin tümü veya bir kısmı tüysüz
12. Gövdeler hemen hemen boydan boy tüylü;  
yapraklar dar ya da kapalı sinüslü
13. Yaprak lobları trunkat değil,  
yarıksız ve 6-10 dişli .....36..*A. mollis*
13. Yaprak lobları trunkat, kısa fakat belirgin yarıklı;  
3-5 (6) dişli.....37..*A. bornmuelleri*
12. Gövdenin üst kısımları 1 / 4 – 1 / 3 tüysüz;  
yapraklar oldukça geniş sinüslü
14. Yaprak orbikular-reniform ya da reniform, 30°-60°  
sinüs açıklığına sahip.....38..*A. amoena*
14. Yaprak semi-orbikular, 180° ya da  
daha fazla sinüs açıklığına sahip.....39..*A. boluensis*
11. Çiçekler 4.5-6.5 mm genişlikte, her çiçek kümesinde  
pedisellerin aşağı kısımları seyrek tüylü.....40..*A. porrectidens*
8. En azından yaprakların üst yüzeyleri tüysüz ya da ± seyrek tüylü
15. En azından hipantiyumların bazısı ± tüylü
16. Bazı yaprakların üst yüzeyleri en azından kıvrımlarda tüylü
17. Yaprak lobları arkuat, ± orbikular ya da ± eliptik
18. Gövdenin hemen hemen tamamı tüylü

- 19 Yaprak lobları 9-11,  $\pm$  parabolik, dişler  $\pm$  eşit;  
 çiçekler 3-5 mm genişliğinde.....41.A. *persica*
19. Yaprak lobları 11-13, genellikle yuvarlak, dişler düzensiz;  
 çiçekler 4.5-5.5 mm genişliğinde.....42.A. *oxysepala*
18. Gövde üst kısımlarında  $1/4 - 1/3$  tüysüz,  
 20. yaprak lobları arkuat,  
 kısa fakat belirgin yarıklı.....43.A. *oriturcica*  
 20. yaprak lobları trunkat, yarıkız.....44.A. *ayazii*
17. Yaprak lobları en azından kısmen subtriangular
21. Gövdeler hemen hemen tamamen tüylü,  
 ancak üst kısımlarda dağınık tüylü.....45.A. *hirsutiflora*
21. Gövdelerin üst kısımları  $2/5$  tüysüz;  
 bazal yapraklar ve aşağı kısımda kalan gövde yapraklarının  
 üst yüzeyleri  $\pm$  tüysüz.....46.A. *armeniaca*
16. Bütün yaprakların üst yüzeyleri tüysüz.
22. Yaprakların hepsi  $1/3$  den fazla loblanır
23. Yapraklar reniform, açık sinüslü;  
 loblar uzun parabolik ve semielliptik arasında 47.A. *cimilensis*
23. Yapraklar suborbikular ya da,  
 kapalı sinüslü; loblar  $\pm$  trunkat.....48.A. *hayirlioglii*
22. Yaprakların hepsi  $1/4$  den fazla loblanmaz
24. Yapraklar orbikular dar sinüslü; çiçek kümesi seyrek
25. Gövde aşağıdaki internodlarda yoğun tüylü,  
 yukarıda seyrek ve çiçek durumunda daha seyrek tüylü,  
 üst gövde yaprakları düz arkuat loblara sahip,  
 yarıksız.....49.A. *ikizdereensis*
25. Gövde çiçek durumunun son dallarına kadar yoğun tüylü,  
 sadece pediseller tüysüz; gövde yaprakları  
 parabolik loblara sahip, yarıklı.....50.A. *akdoganica*
24. Yapraklar reniform, reniform orbikular-reniform arasında  
 çiçek kümesi sık
26. Yaprak lobları yuvarlak,  
 yarıyuvarlak veya parabolik.....51.A. *kackarensis*

26. Yaprak lobları  $\pm$  orbikular, arkuat ya da ovat-elliptik
27. Yapraklar 7-9 loblu; dar veya açık sinüslü;  
çiçekler 3.5-4 mm genişliğinde.....52.A. *epipsila*
27. Yapraklar 11 loblu; açık sinüslü;  
çiçekler 4-4.5 mm genişliğinde.....53.A. *bursensis*
15. Hipantiyumların hepsi tüysüz
28. Yapraklar kısa fakat belirgin yarıklara sahip,  
dar veya kapalı sinüslü.....54.A. *elevitensis*
28. Yaprak yarıkları dişsiz yarıklara sahip,  
çok dar ya da geniş sinüslü
29. Gövdenin hemen hemen tamamı tüylü;  
çok dar sinüslü.....55.A. *sintensisii*
29. Gövdelerin üst kısımları tüysüz; geniş sinüslü
30. Yaprak lobları arkuat, semiorbikular ya da hafif trunkat,  
yarıksız.....56.A. *hessi*
30. Yaprak lobları geniş trunkat, belirgin  
yarıklı.....57.A. *beyazoglii*

### Grup D

1. Yapraklar her iki yüzeyde yoğun tüylü;  
her çiçek kümesinde pedisellerin dip kısımları  $\pm$  yoğun subadpressed  
tüylü
2. Epikaliks lobları tüysüz.....58.A. *ziganadagensis*
2. Epikaliks lobları seyrek tüylü.....59.A. *trabzonica*
1. Yaprakların üst yüzeyleri tamamen dağınık tüylü; pedisellerin hepsi tüysüz
2. Yaprakların üst yüzeyleri tamamen dağınık tüylü.....60.A. *sciadiophylla*
2. Yaprakların üst yüzeyleri tüysüz ya da sadece kıvrımlarda tüylü
3. Yapraklar reniform, çok geniş sinüslü
4. Gövde boydan boya adpres tüylü;  
yaprak lobları kısa akut ya da triangular
5. Yapraklar lobları belirgin yarıklı, dişler eşit.....61.A. *ayderensis*
5. Yapraklar lobları yarıksız, dişler eşit değil.....62.A. *abchastica*
4. Gövde aşağıda 1 /10 – 1 / 2 subadpres tüylü, yukarıda tüysüz;

- yaprak lobları yuvarlak ya da parabolik.....63.A. *buseriana*
3. Yapraklar suborbikular ya da orbikular-reniform,  
dar ya da açık çok fazla olmayan sinüslü
6. En azından bazı yapraklar kapalı sinüslü; hipantiyumların hepsi en  
azından tabanda tüylü
7. Hipantiyumlar sadece ilk yarılarında tüylü, bazıları tüysüz
8. Hipantiyumlar ilk yarılarında  
tek tüylü bazıları tüysüz.....64.A. *basakii*
8. Hipantiyumlar sadece ilk yarılarında fazla tüylü
9. Çiçekler 3-4.5 (-5) mm genişlikte.....65.A. *barbatiflora*
9. Çiçekler (4.5-) 5-6 mm genişlikte.....66.A. *tiryalensis*
7. Hipantiyum boydan boya tüylü .....67.A. *ciminensis*
6. Bütün yapraklar açık sinüslü; aynı bitki üzerinde  
hipantiyum tüysüz ya da seyrek tüylü.....68.A. *stricta*

### Grup E

1. Yaprak lobları yuvarlak apekse sahip, yarıksız ya da yüzeysel yarıklı
2. Çiçekler 4.5-5.5 mm genişliğinde.....69.A. *transcaucasica*
2. Çiçekler küçük, 2-4 (-4.5) mm genişliğinde
3. Yapraklar açık fakat dar sinüslü.....70.A. *ancerensis*
3. Yapraklar açık geniş sinüslü
4. Yaprak dişleri dar; çiçek kümesi seyrek.....71.A. *procerrima*
4. Yaprak dişleri geniş; çiçek kümesi yoğun.....72. A. *rivularis*
1. Yaprak lobları  $\pm$  trunkat, belirgin yarıklarla ayrılmış
5. Gövde  $\pm$  tüysüz veya aşağı kısımda 1 / 3 seyrek tüylü
6. Yapraklar 1 / 4 – 3 / 7 oranında loblanır, gövde yaprakları  
küçük ve belirgin loblu.....73.A. *retinervis*
6. Yapraklar 1 / 5 – 1 / 3 oranında loblanır, dişler oldukça büyük  
gövde yaprakları büyük ve yüzeysel loblu.....74.A. *dura*
5. Gövde çiçek durumuna kadar tüylü, aşağıda yoğun tüylü
7. Yapraklar alt yüzeylerinde sadece damarlar üzerinde  
ve sıklıkla bazal loblarda adpres tüylü.....75.A. *ellenbergiana*
7. Yapraklar alt yüzeyleri tamamen yoğun adpres tüylü... ..76.A. *venosa*

### 1.3. Flavonoidler

Fenil alaninden türevlenen fenolik bileşikler grubu içerisinde olan flavonoidler, özellikle Polygonaceae, Rutaceae, Fabaceae, Umbelliferae, Compositae gibi familyalarda yaygın olarak görülen genellikle bitkilerin meyve, tohum, çiçek, yaprak ve gövdelerinde bulunan sarı, kırmızı/mavi renkli pigmentler olarak bilinirler. Flavonoidler, bitkilerde özellikle çiçeklerdeki renklenmeyi sağlayan sekonder bileşiklerdir<sup>(86)</sup>.

Bitkilerin yaşamlarında birçok mekanizmada iş gören flavonoidler, aynı zamanda birçok ülkenin geleneksel halk tıbbında kullandığı karışımların içerisinde bulunmakta ve çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır<sup>(12)</sup>.

Flavonoidler; fenilpropanoid molekülü olan kumaril CoA molekülüne, Malonil CoA'nın eklenmesiyle oluşan, bitkiler aleminde genişçe yayılış gösteren sekonder metabolit olarak sentezlenir<sup>(87-92)</sup>. Bu fenolik bileşikler iki aromatik halkaya (A ve B halkası) bir hetero (C halkası) halkanın bağlanmasıyla karakterize edilir. Flavonoidler bu C halkasının oksidasyon derecesine sınıflandırılarak Flavonoller, antosiyaninler ve flavan-3-ol'leri içerirler. Bu moleküller, diğer aromatik halkaların modifikasyonu ile hidroksilasyon, glukosilasyon, metilasyon, asetilasyon ya da prenilasyonlar gibi kimyasal yapıların oluşumu ile sonuçlanır<sup>(91-93)</sup>. Flavan-3-ol'ün kümeleşmesi ile proantosiyanidinlerin oluşması sağlanır ki bunlar da taninler olarak bilinirler<sup>(90-94)</sup>.

Flavonoidler bitki hayatıyla ilgili bir çok değişik fonksiyon göstermesine rağmen merkezi fonksiyonu bitkinin çevreyle ilişkisini sağlamasıdır<sup>(88,89,91,95)</sup>. Örnek olarak ultraviyole radyasyondan bitkiyi korumak verilebilir. Antimikrobiyal özellikleri



olmasından kaynaklı, insanda bitki kökenli bileşiklerle alınmasıyla en önemli etkisini oksidatif stresin birleştiği dejeneartif rahatsızlıkların önlemesiyle gösterir<sup>(96, 97)</sup>.

Flavonoidlerin değişik oksidasyon-redüksiyon olaylarına katıldığı ve büyümede rol oynadığı bilinmektedir<sup>(86,98)</sup>. Bununla birlikte flavonoidlerin çeşitli oksidatif yapıların; örneğin süperoksit, hidroksil ya da peroksit radikalleri gibi oksidatif ajanların etkilerini giderdiği bilinmektedir<sup>(99)</sup>. Flavonoidler, oksijen radikalinin etkisinin giderilmesi üzerine etkin olabilirler. Sentetik antioksidanların kanserojenik etkileri olması nedeniyle doğal antioksidan özelliğe sahip flavonoidlere ilgi gün geçtikçe artmaktadır. Flavonoidlerin, özellikle quercetinin, süperoksit ve hidroksil radikallerini ortadan kaldırdığı, lipid peroksit radikallerini indirgediği ve lipid peroksidasyonunu inhibe ettiğini ortaya koyan çalışmalar bulunmaktadır<sup>(12)</sup>. Tournaire ve ark.<sup>(100)</sup> farklı gruplardan seçilmiş 13 flavonoidin antioksidant aktivitesini karşılaştırmak için bir metot geliştirmişlerdir.

Flavonoidlerin yapısındaki B halkası üzerindeki bir katekol kısmının varlığı, oksijen atomunun fiziksel olarak oksidatif etkinliğinin kontrolünde temel faktördür. Bununla birlikte 3-hidroksil grubunun varlığı, oksijen atomunun kimyasal reaktivitesi üzerine oldukça etkilidir. Ancak katekol grubunun etkinliği 3- hidroksil grubuna göre daha yüksektir. Das ve Pereira<sup>(101)</sup> 1990 yılında yaptıkları çalışmada karbonil grubu (C4) ve C2-C3 arasındaki çift bağı flavonoidlerin yüksek antioksidant aktivite göstermesi üzerine etkinliğinin temeli olduğunu bildirmişlerdir.

Antioksidan flavonoidler doğal olarak meyveler, sebzeler ve çayda bulunur. Düşük dansiteli lipoprotein (LDL)'in invitro şartlarda oksidasyonunu engellediği bulunmuştur. Frankel arkadaşlarıyla<sup>(102)</sup> kırmızı şaraptaki fenolik bileşiklerle

yaptıkları çalışmada LDL'nin bakır katalizli oksidasyonunu bu bileşiklerin durdurduğunu göstermiştir.

Bunlara ek olarak flavonoidlerin tartışılmayacak fonksiyonlarından birisi antimikrobiyal aktiviteleridir. Polifenolik yapılarıyla alakalı olan bu özellikleri, bitkilerin mikrobiyal saldırılara karşı korunmasında önemli bir rol üstlenmektedir. Fenolik bileşikler bitkinin bünyesinde doğal olarak sürekli bulunmaktadır<sup>(103,104)</sup>. Flavonoidlerin bitkiler aleminde geniş bir şekilde ve farklı özellikli yapılarıyla bulunmasından dolayı bitkiler üzerinde patojenite oluşturacak spor gelişmesine karşı bulunduğu düşüncesi akla aynı zamanda fungal patojeniteye karşı da etkin olabileceği fikrini getirmiş ve böylece bu bileşiklerin insanlardaki fungal hastalıklara karşı da kullanılması önerilmiştir. Hastalık etkenleri üzerindeki araştırmalardan en ilgi çekici olanı, AIDS'in ajanı olan immun sistemini zayıflatan HIV'e karşı kullanılması üzerine yapılan çalışmadır. Stevenson ve Haware<sup>(105)</sup> yaptıkları çalışmada, bir isoflavonoid olan maackiain'in *C. bijugum* bitkisinde enfeksiyon oluşturan *Botrytis cinerea'nın* patojenitesini verdikleri flavonoidle kırarak bitkinin fungal direncinin artacağını göstermişlerdir. Martin ve ark.<sup>(106)</sup> yaptıkları çalışmalarda bir isoflavon olan mucronutolun *Astragalus cicer'in* fungal enfeksiyonun önlenmesinde etkin olduğunu göstermişlerdir. Jensen ve ark.<sup>(107)</sup> yaptıkları çalışmada sulak bölgelerdeki angiospermlerdeki fungus üzerine luteolin uygulandığında fungusun büyümesini flavonoid miktarına göre azalttığını tespit etmiştir. Picman ve ark.<sup>(108)</sup> yaptıkları çalışmada, doğal flavonoidlerin; hidroksil, metoksil ve glikozil alt grupların miktarlarının artmasının antifungal aktiviteyi azaltarak değişmez bir miktarda tuttuğunu göstermiştir. Malhatro ve ark.<sup>(109)</sup> domatesin gelişimini etkileyen virüs üzerine yaptıkları çalışmada, quercetin ve diğer flavonoidlerin virüsün hayat döngüsünün erken safhasında engellemeler yaptığını

gözlemlemişlerdir. Quercetin, rutin, apigenin, hesperidin gibi birçok flavonoidin antiviral özelliği bulunmaktadır<sup>(12)</sup>. Flavonoidlerin bitkilerde mikroorganizma ve böcek saldırılarına karşı koruyucu etkiye sahip olduğu da belirtilmiştir<sup>(110)</sup>.

Ayrıca DNA hasarı sonucu çıkan radikallerin antioksidanlar tarafından yakalanması ile flavonoidlerin antitümoral etki gösterdikleri de ileri sürülmektedir. *Eupatorium* türlerinde bulunan öpatin ve öpatortin ile *Centaurea* türlerinde bulunan sentaureidin ve 6 demetoksi entaureidinin, nazofrenksden alınan karsinomaya karşı orta derecede etkili olduğu bulunmuştur<sup>(86)</sup>.

Flavonoidlerin damar genişletici etkisi de bulunmaktadır. Myrecetin, quercetin ve rhamnnetin kalp üzerine stimülan etki gösterirken, hesperidin kalp depresanıdır. Biyoflavonoid taşıyan bitkiler olarak bilinen *Viburnum prunifolium*, *Juniperus communis*, *Ginkgo biloba*'da damar genişletici etki saptanmıştır<sup>(86)</sup>.

*Gentiana oliveri*'nin metanollü ekstresinin yüksek antidiyabetik aktivite gösterdiği ve aktiviteden sorumlu olan maddenin izoorientin olduğu belirlenmiştir<sup>(111,112)</sup>. Deliorman, Orhan ve ark.<sup>(113)</sup>'nın yaptıkları çalışmada *G. oliveri*'nin antihepatotoksik özelliğinin olduğu kanıtlanmıştır.

Flavonoidlerin düz kaslar, gastrointestinal ve ürogenital sistem üzerinde spazmolitik aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir<sup>(12)</sup>. Ana grup flavonoidlerden isflavanoidlerin örnek olarak da Genistein'in östrojenik aktivitesi iyi bilinmektedir. Daidzein ve biyokanın A, östrajenik aktiviteye sahip olan izoflavonlardandır<sup>(86)</sup>.

Quercetin ve yapısı benzer olan 40 maddenin *Salmonella typhimurium*'a karşı mutajen etkileri araştırılmış ve quercetin, myrecetin ve rhamnnetin gibi flavonoidlerin mutajen etkileri görülmüştür. Akne inflamasyonlarında önemli rol oynayan *Propionibacteriumlar* üzerine yapılan bir çalışmada *S. japonica*'nın çiçek

tomurcuklarından elde edilen ekstrelerdeki etkili maddelerin flavonoid özelliğinde olduğu bulunmuştur<sup>(86)</sup>.

Yapılan nörolojik çalışmalarda; flavonoidlerin nörolojik sistemin en önemli unsuru olan beyin üzerinde nörolojik koruma yaptığı, bununla beraber nörotoksinlerin yapacağı negatif etkilere ve yaralanmalara karşı nöronları koruduğu, nöroinflamasyonu engelleyebildiği ve yapacağı pozitif etkilerle öğrenme ve kavramayı artırabilme üzerine etkisi olduğu ile ilgili bilgilere ulaşılmıştır. Alzheimer ve Parkinson gibi nöral hastalıklarda nörolojik yenilenmenin uyarılması, nörolojik sistemin okidatif stresden korunması ve hastalığın patolojisinin, flavonoidin oluşturduğu pozitif yararlarından faydalanılarak azalabileceği ile ilgili sonuçlara ulaşılmıştır<sup>(114)</sup>.

### **1.3.1. Flavonoidlerin Biyosentezi**

Flavonoidlerle ilgili çalışmalar akademik alanda ve kültürel alanlarda uzunca süre merak edilmiş ve ilgi çekmiştir. Flavonoid metabolitlerinin bu kadar ilgi çekmesinin nedenleri bitkilerde fizyolojik olarak pigmentasyondan sorumlu olması kırmızı, mavi, pembe renklenmeleri oluşturması, bitki sağlığı ve bitkileri kullanarak yaşamlarını devam ettiren diğer canlılar üzerindeki etkileri örnek olarak antioksidant özellikleri ya da beslenme üzerindeki etkileri olarak kısaca ifade edilebilir. Aynı zamanda bitkiler alemi içerisinde bol çeşit ve miktarda bulunması ve genişçe yayılması gibi özellikleri flavonoidleri sekonder metabolitler içerisinde en fazla çalışılan bileşik yapmıştır.

Flavonoid bileşiklerinin oluşumunda görev alan enzimlerin çeşitliliği primer metabolizmadan türevlenmektedir. İlksel formlarının bir sinyal molekülü olarak rol

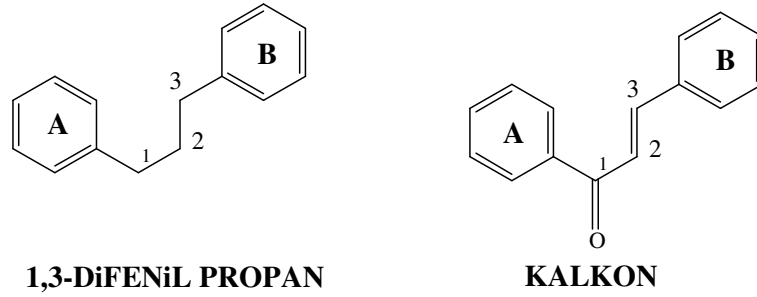
almış olabileceği ifade edilen bu bileşikler; U.V. ışığa direnç, büyüme ve gelişme, herbivor ve patojenlere karşı korunmada, tohumların dağılması ve tozlaşma gibi birçok olayda görev almaktadır. Günümüzde bitkilerdeki flavonoidlerin formlarındaki ve fonksiyonlarındaki dağılım onlarla beslenmeden, ekolojik kimyaya, biyokimyaya, genetiğe, insan sağlığına kadar çok geniş bir alanda araştırmalar yapılmasını sağlamıştır. Horborne ve Baxter 1999 yılında yaptıkları çalışmada 6400 farklı flavonoid bileşiğinin litertürde açıklandığını bildirdiler ve birçok bitki türünde onların sentez mekanizmalarını açıkladılar<sup>(115-119)</sup>.

### **1.3.2. Flavonoidlerin Yapısı**

Bitkilerin sekonder metabolitleri içerisinde önemli bir sınıf olan flavonoidlerin günümüzde 6000'in üzerinde çeşidi bilinmektedir. Flavonoidlerin çok sayıda çeşidinin bulunması, ana iskelet üzerine bağlanan yan grupların pozisyonu ve bağlanma durumunun çeşitliliğinden ve bu grupların sayılarının fazla oluşundan kaynaklanmaktadır. Flavonoidlerin ana iskeletini oluşturan kimyasal yapı 15 karbon atomundan oluşan hetero bir iskelettir. Hetero iskelet iki fenil grubu ve grupları birbirlerine bağlayan bir propan zincirinden oluşmuştur. Bu iskelet difenil propan ( $C_6-C_3-C_6$ ) olarak adlandırılır. Fenil halkalarının propan zincirine farklı konumlardan bağlanmasıyla ve bağlanma sonucunda propan zincirinin farklı şekillerde halkalaşması ile flavonoidler alt sınıflara ayrılırlar. Alt sınıflara ayrılan flavonoidlerin bu gruplar içerisinde çeşitlenmesi ise fenil gruplarına bağlanan metil ve hidroksil gruplarının sayısı ve pozisyonu ile olmaktadır<sup>(12)</sup>.

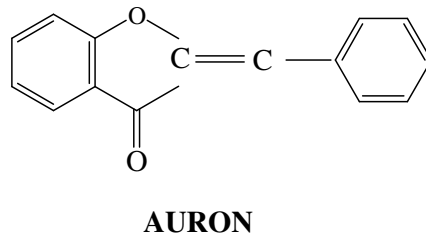
### 1.3.3. Flavonoidlerin Sınıflandırılması

Flavonoid olarak adlandırılan sekonder metabolit grubunun, yapılarının ana iskeletini oluşturan fenil halkalarının aralarında bulunan ve bu halkaların birbirine bağlanmasını sağlayan 3 karbon atomu taşıyan propan zinciri üzerinde aldıkları pozisyona göre sınıflandırılması ve adlandırılması yapılmaktadır. Fenil gruplarının propan zincirine bağlanması 1. ve 3. karbon atomlarından olması durumunda oluşan ve 1,3-difenil propan iskeleti içeren bileşiklerin genel ismi kalkonoidler, en basit üyesi ise kalkondur (Şekil 1.1)<sup>(12)</sup>.



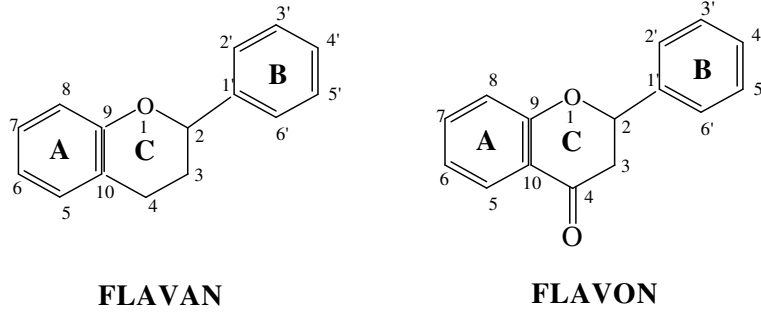
**Şekil 1.1.** 1,3-difenil propan yapısı ve kalkonun kimyasal yapısı

1,3-difenil propan zinciri oksijen atomu ile fenil halkası A ile birleşerek 5 veya 6 halkalı bir heterosiklik 3. bir halka oluşturur. Böylece bir beş üyeli diğerleri 6 üyeli olan 3 halkanın oluşturduğu bir yapının oluşması gerçekleşir. Bu 3 halkalı yapıya auron adı verilir (Şekil 1.2)<sup>(12)</sup>.



**Şekil 1.2.** Auron bileşiğinin kimyasal yapısı

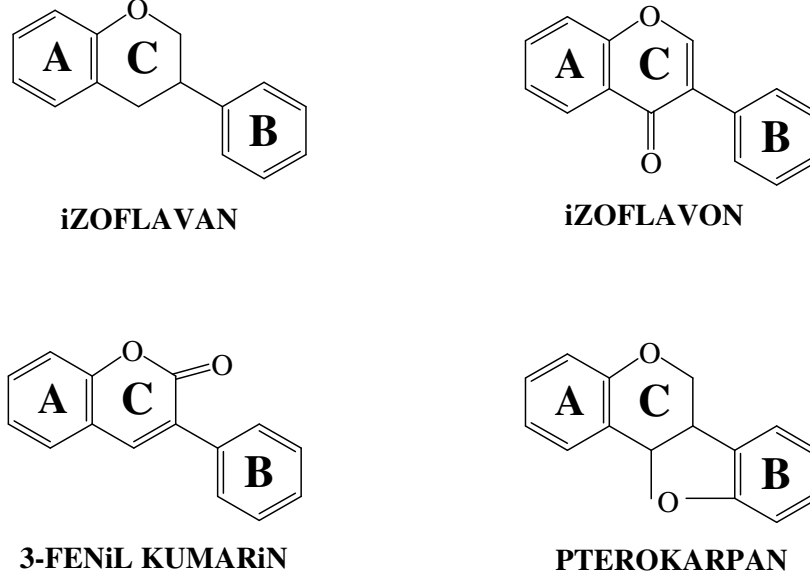
6 halkalı bir hetero halkanın oluşması ile meydana gelen, 3 adet halkalı yapı taşıyan sistem sonradan oluşan hetero halkanın yükseltgenme derecesine bağlı olarak iki farklı yapıda bulunabilir. Bu yapılardan birisi 2-fenilkroman veya fenilbenzopiran iskeletine sahip flavan, öteki ise 2-fenilbenzo- $\gamma$ -piron iskeletine sahip olan flavondur (Şekil 1.3.).



**Şekil 1.3.** Flavan ve flavon bileşiklerinin kimyasal yapısı

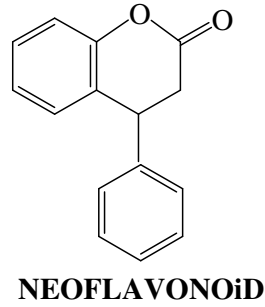
Genellikle flavon türevlerine flavonoidler, flavan türevlerine ise flavanoidler adı verilir. Flavan ve flavon yapılarındaki aromatik halkalar A ve B, hetero halka ise C ile gösterilir. A ve C halkalarındaki numaralandırma oksijen atomundan başlayarak saat yönünde gidilerek yapılır. B halkasındaki atomlar ise üssü işareti (') kullanılarak numaralandırılırlar. Bazı araştırmacılar numaralandırmada halkaların birleştiği bölgede aralarında çift bağın olduğu karbon atomları -ki onlar C-9 ve C-10' dur- onları kendilerinden önce gelen sırasıyla C-8 ve C-4'ün devamı olarak görerek C-8a ve C-4a olarak göstermektedirler. Fenil gruplarının propan zincirine 1,2 pozisyonlarında bağlanması ise bir başka flavonoid yapısını oluşturur. Bu yapıda propan zincirinin uç kısmındaki 3 numaralı karbon atomunun oksijen atomu üzerinden aromatik halka ile siklikleşmesi (halkalaşması) sonucu oluşan hetero halkalı üç halkaya sahip yapı oluşur ki bu yapıda izoflavan ya da bağlanma durumuna göre izoflavon olarak

adlandırılır. İzoflavan yapısındaki hetero halkanın modifikasyonuna bağlı olarak izoflavan, 3-fenil kumarin ve pterokarpan meydana gelir (Şekil 1.4).



**Şekil 1.4.** İzoflavan, izoflavon, 3-fenil kumarin ve pterokarpan yapıları<sup>(12)</sup>

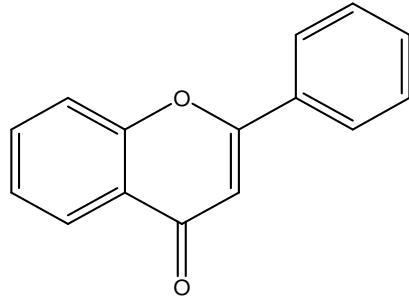
Fenil gruplarının difenil propan iskeletine 1,1 pozisyonunda bağlanmasıyla oluşan ve 1,1-difenilpropan iskeleti içeren bileşikler sınıfına ise neoflavonoidler denir (Şekil 1.5)<sup>(12)</sup>.



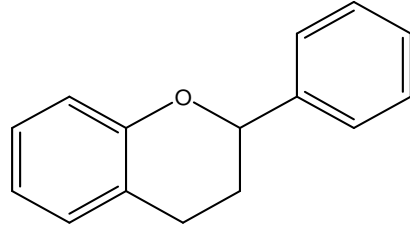
**Şekil 1.5.** Neoflavonoid yapısı.



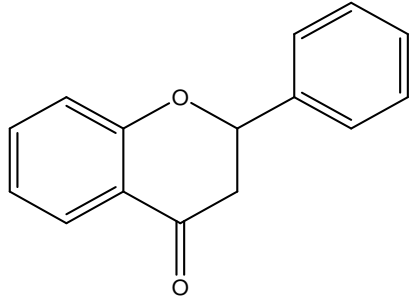
Yukarıda anlatıldığı gibi C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> iskeletine sahip doğal fenil grubu içeren bileşikler fenil gruplarının propan zincirine bağlanma özelliklerine göre flavonoid, izoflavonoid ve neoflavonoidler olmak üzere temelde 3 ana gruba ayrılmaktadırlar. Bu gruplardan C<sub>3</sub> heterohalkasının her biri yapılarında taşıdıkları OH gruplarının bağlanma pozisyonu sayısına göre bu heterohalkanın yükseltgenme derecesidir. Bu durum flavonoidlerin alt sınıflarını belirleyen bir göstergedir. Flavonoidlerin yapı çeşitliliğini sadece difenilpropan iskeleti ve buna bağlı olarak oluşan modifikasyonlar belirlemez. Bununla beraber her sınıfa ait molekülün fenil gruplarına (aromatik halkaya) bağlanan substituentlerin sayısı bağlanma şekillerine göre çeşitlilik göstermektedir <sup>(12)</sup>.



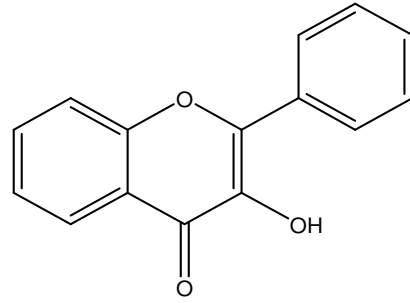
**FLAVON**



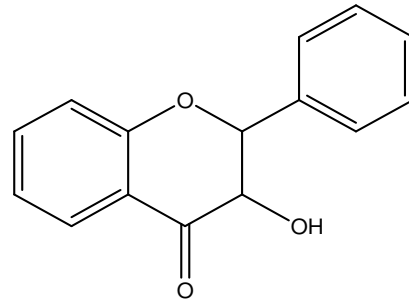
**FLAVAN**



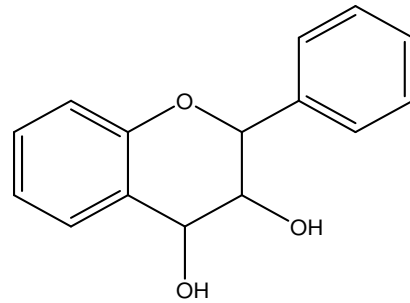
**FLAVANON**



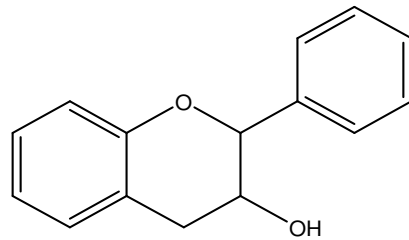
**FLAVONOLLER**



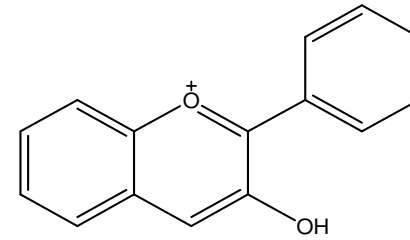
**FLAVANONOLLER**



**FLAVAN 3-4, DIOLLER**



**FLAVAN-3-OLLER**



**ANTOSIYANIDINLER**

**Şekil 1.6.** Flavonoid çeşitleri ve yapı örnekleri <sup>(12)</sup>

Flavonoid yapılarında en fazla ve yaygın olarak bulunan substituentler hidroksil gruplarıdır. Flavonoidlerin yapısında hidroksil gruplarının bulunması yukarıda anlatılan biosentetik yolun sonucudur. Doğal olarak sentezlenen flavonoidlerin yapısında en fazla yedi adet hidroksil grubunun bulunduğu bilinmektedir. A halkasındaki hidroksillenme genelde C-5 ve C-7 noktalarından olmasına rağmen, C-6 ve C-8'den de hidroksillendiği gözlemlenmiştir. B halkasında ise genellikle C-4' çoğu zamanda C-3' ve C-5' pozisyonları hidroksillenmiştir. 3' ve 5' hidroksil grupları çoğu kez metillenmiş halde bulunmaktadır. Aromatik halkalarda genellikle hidroksil grupları içermeyen veya C-2' pozisyonu hidroksillenmiş flavonoidler doğada nadir hallerde bulunur. Flavonoidlerin yapısındaki hidroksil grupları yapısal özelliklerinden dolayı kolay bir şekilde alkilenir yahut glikolizlenir. Bu nedenle, flavonoidlerin glikozil ve metoksi formlarına bitkilerde çok rastlanır. Flavonoidlerin C-5 ve C-7 pozisyonlarındaki hidroksil grupları genelde metillenmez. Bitkilerde genellikle flavonoidler mono-*O*-glikozitler halinde rastlanır. Ancak di- ve trisakkaritlerle glikolizlenmiş flavonoidlerde doğada yaygın olarak bulunurlar. Flavonoidlerin özellikle antosiyanidin ve flavonollerin 3-*O*-glikozitlerine daha sık rastlanır. Ancak C-7, C-4' ve C-5' pozisyonları glikozillenmiş flavonoidlere de doğada rastlanmaktadır. Bitkilerde rastlanan flavonoid glikozitlerin diğer bir türü de C-glikozitlerdir. Doğada farklı bölgelerinden hidroksillenmiş, metoksillenmiş veya glikozillenmiş flavonoidler de bulunmaktadır. Bitkiler aleminde sülfatlanmış flavonoidlere de rastlanmaktadır. Flavonoid yapısına sülfat grupları, hidroksil gruplarının bir veya birkaçı yada şeker grupları bağlanarak bulunabilir. Bitkilerde flavonoidlerin dimer formları da yaygındır. Bu bileşikler bioflavonoidler olarak adlandırılırlar. Bioflavonoidler monomer flavonoid bileşiklerinin -O-, -C- ve ya -C-C- bağı halinde birbirleriyle bağlanmasıyla dimer haline gelirler. Bu bağlar genellikle

farklı iki monomerin aynı halkaları arasında, bazen de farklı halkalar üzerinden olmaktadır<sup>(12)</sup>.

#### **1.4. Kemosistematik**

Reynolds<sup>(120)</sup> yapmış olduğu araştırma ile kemosistematik çalışmaların tarihsel gelişimini açıklamıştır. Ona göre bu alanda ilk yapılan çalışma; Darnley Gibbs'in 1945 yılındaki yaptığı çalışmadır<sup>(121)</sup>. Gibbs 1963 ve 1974 yılında yayınlamış olduğu makalelerde kemosistematik alandaki ilk tanımlamaları yapmıştır<sup>(122,123)</sup>. Gibbs yayınlarında Greshoff'un 1909<sup>(124)</sup> yılında bitkiler üzerine yaptığı kimyasal araştırmalardan bahsetmiştir. O çalışmasında karşılaştırmalı fitokimya kavramından bahsederek, bir cins veya türün eksiksiz bir şekilde açıklanması ve tasnifinin yapılması için, bitkinin kısa kimyasal içeriğinin açıklanmasının gerekliliğini vurgulamıştır.

Kemosistematik; bitkilerin genel doğasının bir kısmı olan kimyayı kapsar. Bitki türleri arasında mevcut kimyasal bileşikleri kullanarak yakınlık ve uzaklıkları analiz ederken, aynı zamanda onların çevreleriyle olan ilişkilerini de inceler. Bitkilerin kendi formlarına ek olarak onların göze çarpan önemli her bir özelliğinin altında yapılarında bulunmakta olan kimyasal bileşikler yer almaktadır. Bitkilerde gözlemlenebilen ilk kimyasal özellik onların renkleridir. Diğer kimyasal özellikleri olarak onların kokuları, tatları hatta beslenme değerleri önem sırasına göre sayılabilir. Yapılan bir çok araştırma, analiz ve tanımlamaya yönelik cihazların geliştirilmesi ve sonrasında inceleme ve araştırmaların daha derin bir şekilde gerçekleştirilmesi ile bitkilerden daha fazla ve farklı kimyasal madde izole edilmiştir.

Bu kimyasal bileşiklerin bitkiden bitkiye farklılık göstermesi sistematik ve taksonomik açıdan önem arz etmektedir. Tabii ki bu bilgiler geleneksel olarak yıllarca belki de yüzyıllar boyunca derece derece resmileşerek, kayıt altına alınarak yahut halk arasında konservatif şekliyle kullanılması ile kullanım amacına göre faydalı, yararlı, zararlı ve inaktif kimyasal bileşiklerin varlığı gibi özelliklerine göre sınıflandırılmışlardır. Bu özellikler sistematik alanda taksonlar için ayrı ayrı belirlenerek sınıflandırmaya bir formül getirilmeye çalışılır. Şu ana kadar elde edilen bilgileri mikroorganizmaların, hayvanların ve bitkilerin sınıflandırılmasının kavranmasına ışık tutmuştur. Analitik cihazların gelişimi, kromatografinin bulunuşu, elektronik araştırma ve tanımlama metotlarının gelişimi ile bu çalışmalar hız kazanmış ve metabolik karakter analizi yapılması (metabolomics) ile en son noktaya ulaşmıştır. Bu gelişmeler sayesinde bitkilerden kimyasal bileşiklerin analizi ve sonrasında büyük miktarda izole edilebilmesi, morfolojik ve sitolojik bilgilerin birleştirilmesi ile organizmanın kendi ortamında doğal tarihinin parçası olarak yerini almasına yönelik sınıflandırmaya gidilmiştir. DNA (genomics), RNA ve protein (proteomics) çalışmaları bir taxona ait genom ile ilgili fenotipik sonuçların ortaya çıkmasında yardımcı olabilmektedir<sup>(125)</sup>.

Geniş anlamda kemosistemik sınıflandırma ve dolayısıyla isimlendirme, bir gruba veya bir aileye ait kimyasal bileşiklerin araştırılması, teşhis edilmesi ve gruplandırılmasının yapılmasıdır. Bu tasnif sayesinde taksonomik grupların birbirleriyle karşılaştırılması mümkün olabilmektedir.

Kemosistematiğe getirilen diğer bir açıklama, organizmanın farklılaşması ve çeşitlenmesinin kimyasal bileşiklerle olan ilişkisinin ortaya konması şeklindedir<sup>(126,127)</sup>. Bu kavram ayrıntılı bir şekilde Puri<sup>(128)</sup> tarafından izah edilmiştir. Özellikle

kemosistematiğin multidisipliner bir alan olduğu ve iki bilim dalının bulunmasının gerekliliği vurgulanmıştır. Yani hem kimyasal hem de botanik incelemenin gerekli olduğu belirtilmiştir. Bhattacharyya ve Johri tarafından 1998<sup>(129)</sup> yılında bitki sistematiğine bakışın gözden geçirilmesiyle ilgili çalışmada multidisipliner çalışmaların gerekliliği tekrar vurgulanmıştır. Bhattacharyya ve Johri kemosistematik yahut kemotaksonomik çalışmaların prensiplerinin bitki yetiştiricileri, kimyacılar, ekologlar, ormancılar ve ziraatçiler tarafından ortaklaşa ayrıntılı olarak tanımlanması, isimlendirilmesi ve sınıflandırılmasının yapılmasının gerekliliğini vurgulamıştır.

Hegnauer<sup>(130)</sup> bitki taksonları arasındaki ilişkileri onların kimyasal içeriklerine bakarak incelemenin iki yolu olduğu belirtilmiştir. Hegnauer bitki içindeki kimyasalların bitkinin bir parçası olduğunu, bu bilgilerin filogenetikte öncülük yaptığını ifade etmiştir.

Alston ve Turner<sup>(131)</sup> Biyokimyasal sistematik olarak bilinen eserlerinde temel olarak kemosistematik tanımları yapıyorlardı. Onlar bitki içerikleri başlığı altında amino asitleri, yağ asitlerini, karbonhidratları, alkolooidleri, siyanogenetik bileşikleri, fenolik bileşikleri, kinonlar ve terpenoidleri incelemişlerdir. Aynı zamanda da makromolekül kısımlarını seroloji başlığı altında incelemişlerdir. Takiben Bate-Smith<sup>(132)</sup> “Bitkilerdeki Fenolik Bileşikler Ve Onların Taksonomik Önemi” adlı makalesini yazmış ve bu makale laboratuvar temelli çalışmalara öncülük yapmıştır. Bu gelişimde yeni sunulan kağıt kromatografisi tekniğinin kullanılması ve kısmen fenolik bileşiklerin çalışılmaya başlanılması ile olmuştur.

Kemosistematik çalışmalar yapılırken çeşitli ekstraksiyon, ayırım, saflaştırma ve tanımla yöntemleri kullanılmaktadır. Bu çalışmalarda kemosistematik önemi olan

bileşimin kimyasal ve fiziksel özelliklerine göre ekstraksiyon işlemleri seçilmelidir. Ekstraksiyon işlemlerini takiben kromatografik analiz yöntemlerini kullanmak vasıtasıyla kalitatif ve kantitatif analizler yapılabilir. Bu analizlerin yapılması için kullanılacak sistemler ilk kullanıma başlayıp gelişmesine göre kolon kromatografisi, kağıt kromatografisi, ince tabaka kromatografisi, gaz kromatografisi, yüksek performans sıvı kromatografisi ve kapiller elektroforez olarak söylenebilir.

Kağıt kromatografisi ve ince tabaka kromatografisi kemosistemantik çalışmalar için ilk kullanılan tekniklerdir. Kağıt kromatografisi 1940' larda bilimsel alanda kullanılmaya başlanmış ve bunu müteakip bitki sekonder metabolitlerinin analizinde kullanılmıştır<sup>(133,134,135)</sup>. Gerçekte Alston ve arkadaşlarının<sup>(136)</sup> ortaya koyduğu kemosistemantik ve kimyasal ekoloji alanındaki iki klasik çalışma bu alanın en önemli çalışmalarıdır ve bu çalışmaların sonuçları bu alanın açılmasını sağlamıştır. Elde ettikleri sonuçlar ise kağıt kromatografisi ile elde edilmiş sonuçlardır<sup>(136,137)</sup>. 1960'ların başında ince tabaka kromatografisinin bulunmasıyla<sup>(138)</sup> doğal ürünlerle ilgili çalışmalarda geniş bir şekilde uygulanmıştır<sup>(139)</sup>. Bugünlerde kağıt kromatografisi hala flavonoidlerin saflaştırılmasında kullanılmaktadır. Hatta bazı zamanlarda analitik bir teknik gibi de kullanılır. İnce tabak kromatografisi ise karşılaştırmalı fitokimyada direk analitik araç olarak nadiren kullanılmaktadır<sup>(140)</sup>. İnce tabaka kromatografisi ise günümüzde doğal ürünlerin izolasyonunda oldukça sık bir biçimde kullanılmaktadır. Bu kadar yaygın olarak kullanılması ise mobil fazın seçimine bağlı olarak bileşikleri çok farklı polarite özelliklerine göre ayırabilme yeteneğine sahip olması, analiz için uygun bir bedel ortaya çıkarması, çoklu fraksiyona sahip karışımların ve bileşiklerin tek bir ince tabaka plağında seçilecek mobil faz sistemine göre boylu boyunca, spotlar, ince çizgiler şeklinde ayırabilmesi gibi avantajları olmasından dolayıdır.

Gaz kromatografisi tekniği ise oldukça etkin ve etkili bir ayırma tekniğidir. Bitki kemosistematik çalışmalarında bileşiklerinin sınıflarının sıralanmasında temel olarak ise, buharlaşabilen ucucu yağlarla ilgili çalışmalarda kullanılmaktadır<sup>(141)</sup>. Bazı durumlarda buharlaşmayan bileşikler asetilasyon gibi modifikasyonlara uğratıldıktan ve buharlaşabilir hale getirildikten sonra gaz kromatografisi ile ayrılabilirler. Bunlar verilecek ilginç örnekler şekerler ve şeker alkoller ile yapılan çalışmalardır<sup>(142)</sup>.

Yüksek performans sıvı kromatografisi (HPLC) doğal ekstraktlarla yapılan çalışmalarda hem analitik hem preparatif olarak kullanılabilmektedir. HPLC'nin temel avantajı suda yada organik solventlerin herhangi bir tanesinde özöllebilen herhangi bir maddenin analiz edilebilmesini sağlamasıdır. Çalışılan bileşikler rengi adsorblayabilir ve bu bileşikleri de bir U.V. dedektör ya da DAD detektör kullanılarak ya da bileşiğin ışık yayabilme yani floresans bir özelliği varsa bunun içinde bir floresan dedektörün sisteme takılmasıyla analiz yapılabilir ve maddeler tayin edilebilir. HPLC alışmaları renk veren veya vermeyen olup olmasını dikkate almadan tüm buharlaşmayan bileşiklerde kullanılabilir.

Yüksek performans sıvı kromatografisi ve gaz kromatografiyi kağıt ve ince tabaka kromatografisi ile karşılaştıracak olursak; çalışması ve analiz başına düşen maliyetleri yüksektir. Ayrıca gaz kromatografisinde ince tabaka kromatografisinde olduğu gibi aynı anda birden fazla örneğin analizini yapma imkanı yoktur.

#### **1.4.1.Kemosistematik alışmalarda Kullanılan Makromoleküller**



Zidorn<sup>(143)</sup> kemosistemik alanda kullanılan makromoleküler çalışmaların temelinde bitkinin değişik genomlarının (kloroplast, mitokondri, çekirdek) DNA dizi analizini içeren çalışmalar ile en az onun kadar genel bir yöntem olan DNA fragmentlerinin jel elektroforezi yöntemi ile çoğaltulmasını sağlayan teknikleri içerdiiinden yapılan bu moleküler çalışmaların direk DNA molekülünün özelliklerini ortaya çıkarmak üzere yapılan çalışmalar olduğunu belirtmiş ve kemosistemik çalışmaların makromolekül alanında büyük bir kısmını oluşturduğundan bahsetmiştir.

Bitki sistemiği çalışmalarında DNA'dan başka makromoleküller de kullanılmaktadır. Bu makromoleküllere örnek olarak; selüloz ve kitin gibi hücre duvarı bileşenleri ve depo karbonhidratlardan dekstran, inülin ve nişasta verilebilir. Bu bileşikler familya, ordo yada alem gibi büyük sistemik grupların sınıflandırılmasında kullanılmaktadır. Diğer bir ifadeyle bu bileşikler yüksek taksonomik düzeyde kemosistemik önem taşımaktadır<sup>(143)</sup>.

## **1.4.2. Kemosistemik Çalışmalarda Kullanılan Mikromoleküller**

### **1.4.2.1. Primer Metabolitler**

Karbohidratlar, proteinler, yağlar ve nükleik asitlerin sentezlenmesi tüm organizmalarda; hangi organizma olduğuna ve taksonomik ilişkisine bakılmaksızın temel olarak incelendiğinde birbirine eş genel bir yoldur. Bu yollar primer metabolizma terimi tarafından özetlenebilir ve bu metabolizmanın içerdii bileşikler de primer metabolitler olarak adlandırılır<sup>(144)</sup>. Bu bileşiklerin tüm organizmalarda

bulunmasından ve benzer bir sentez yolunun olması dolayısıyla, sistematik varlıklarında herhangi bir sınır olmamasından dolayı sistematik çalışmalarda genellikle kullanılamazlar. Ama kimyasal ekoloji alanında bazı karşılaştırmalı araştırmalar çiçek nektarlarının şekerlerinin kompozisyonu ile ilgili yapılan çalışmalar bazı durumlarda primer metabolit bileşiklerinin kullanılabileceğini göstermektedir. Örneğin Galetto ve arkadaşları Arjantin Patogonyasından 50 türde yaptıkları çalışmalarda çiçeklere ait kimyasal nektar kompozisyonlarını araştırmışlardır<sup>(145)</sup>. Bu çalışmada aldıkları sonuçlardan nektarlarda glukoz en çok ortak görülen bileşiktir. Analizi yapılan örneklerin yüksek miktardalarda sükroz, fruktoz ve glukoz karışımını içerdiğini bulmuşlardır. Nektardaki farklı miktardaki şekerlerin oranının, polenin çeşidiyle yakından ilgili olduğunu ancak araştırılan türlerin sistematik özellikleriyle bir ilgisinin olmadığını belirtmişlerdir.

#### **1.4.2.2. Sekonder Metabolitler**

Sekonder metabolit bileşikler mantarlarda, bitkilerde ve hayvanlarda sınırlı olarak dağılmıştır. Sekonder metabolitlerin tüm büyüme şartları altında üretilmeleri gerekli değildir. Bu bileşiklerin bir çok durumda organizma için yararlarının neler oldukları kesin olarak açıklanamamıştır. Genellikle bitkiler, hayvanlar ya da mantar için beslenme ürünü olarak organizmada bulunduğu ve caydırıcı olarak görev aldığı düşünülmektedir<sup>(145)</sup>. Bu durumda organizmanın hayatta kalmasını ve gelişmesini sağladığı şeklinde de değerlendirilmektedir. Diğer etkileri incelendiğinde; komşusu bulunan bitkilerin gelişmesini engellemeleri, UV radyasyon ve ona benzer abiyotik stres faktörlerinin etkilerinin azaltılması veya giderilmesiyle birlikte bakteri ve

mantar mikroplarının engellenmesinin sağlanmasında da görevlidirler. Bu bileşiklerin tüm organizmalarda bulunmamasından dolayı ve birçok sekonder metabolitin geçerli sınıflandırma sistemiyle uyumlu olarak dağılmasından dolayı sekonder metabolitler kemosistematik çalışmalar için tercih edilen bileşiklerdir<sup>(143)</sup>.

### 1.5. Ekstraksiyon

Kusursuz bir ekstraksiyonun yapılması; doğal olarak ekstraksiyonu yapılacak bitki materyalinin su içeriğine ve izole edilecek olan bileşiğin tipine bağlıdır. Bir ekstraksiyon prosedüründe genel olarak fizyolojik ve biyokimyasal işlemlere ev sahipliği yapan canlı yapraklar ya da çiçek dokuları uygun şekilde parçalanır ve alkol ile birlikte kaynatılır. Alkol her durumda ilk ekstraksiyonun yapılması için tüm amaçları karşılayacak çözücüdür. Takiben materyal bir karıştırıcı vasıtasıyla masere edilerek filtre edilir.

Kurutulmuş bitki dokularından (kök, gövde, tohum, yaprak) organik içerikli bileşiklerin elde edilmesi için klasik kimyasal prosedür kullanılır. Bu yöntem devamlı ekstraksiyon şeklindedir ve sokslet aparatı ile yapılmaktadır. Solventin apolardan başlayarak polariteye doğru gitmesiyle oluşan gradient farkından, farklı özellikteki ve polaritedeki hedeflenmiş bileşiklerin ayrılması sağlanır. Başlangıçta benzen ve kloroform (lipit ve terpenoidlerin ayrılması için) tercihe göre ekstraksiyona başlar. Bu metodun çalışma aralığı gram boyutundadır. Bununla beraber bu metotta nadiren tüm bileşiklerin ayrı ayrı olarak ayrılması başarılabilir ve benzer bileşikler birkaç fraksiyonda alınabilir.

Ekstrakt su trombu sayesinde filtre edilerek doku parçalarından ve büyük moleküllerden temizlenir, daha sonra bir rotary evaparatör yardımıyla 30°C, 40°C sıcaklığında koyulaştırılır. Ancak ucucu bileşiklerle çalışılıyorsa ekstraksiyon yönteminde özel ön korumalı işlemlere ihtiyaç olacaktır.

Bazı durumlarda ekstraksiyon prosedürü, çalışmanın amacına göre modifiye edilerek kısaltılabilir. Konsantre edilen ekstrakt kristallenebilir. Eğer böyle bir durum söz konusu olursa, filtrasyon ile toplanabilir ve saflaştırılmaları değişik çözücülerle yapılacak olan kromatografik çalışmalar ile sağlanabilir<sup>(146)</sup>.

## 1.6. Kromatografi

Kromatografi bir karışımda bulunan maddeleri; moleküllerinin ve dolayısıyla da molekülleri oluşturan atomlarının yapı ve kompozisyon özelliklerine dayanarak biri sabit (durağan) diğeri ise hareketli (mobil) olan iki faz yardımıyla herhangi bir karışım içerisinde ayırma yöntemidir. Bu ayırma mantığında sabit faz ile mobil faz olarak birbirlerinin içerisine difuze olabilecek sistemler kullanılmaz.

Yapılan tüm kromatografik ayırımlarda bir mobil faz ve bir katı faz kullanılır. Kromatografinin sınıflandırılması mobil fazın fiziksel doğası üzerine temellenir. Kromatografik ayırma 3 özelliğe göre yapılmaktadır. Bunlardan ilki faz tipine göre yapılan sınıflandırmadır<sup>(147)</sup>.

### ▪ Faz Tipine Göre:

- ◆ SIVI-SIVI
- ◆ SIVI-katı
- ◆ gaz-SIVI

- ◆ gaz-katı

İkinci şekilde yapılacak olan sınıflandırma, uygulama biçimi düşünülerek yapılır.

- **Uygulama Biçimine Göre:**

- ◆ Düzlemsel Kromatografi
  - ❖ Kağıt kromatografisi (KK)
  - ❖ İnce tabaka kromatografisi (İTK)
- ◆ Kolon Kromatografisi
  - ❖ Gaz kromatografisi (GK)
  - ❖ Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC)

Üçüncü şekilde yapılacak olan sınıflandırma ayrılma biçimine göre yapılır.

- **Ayrılma biçimine Göre:**

- ◆ Adsorpsiyon kromatografisi
- ◆ Partisyon kromatografisi
- ◆ İyon değiştirme kromatografisi
- ◆ Jel filtrasyon (Moleküler eleme) kromatografisi
- ◆ İyon çifti kromatografisi
- ◆ Afinite kromatografisi

Bitki bileşiklerinin ayırım ve saflaştırılması kromatografik tekniklerden sadece bir veya iki tanesi kullanılarak gerçekleştirilebileceği gibi, amaca uygun olarak bir kombinasyon şeklinde farklı dört kromatografik teknik kullanılarak da gerçekleştirilebilir. Bu teknikler; kağıt kromatografisi (Paper Chromatography= PC), ince tabaka kromatografisi (Thin Layer Chromatography= TLC), gaz kromatografisi

(Gas Chromatography = GC) ve yüksek performans sıvı kromatografisi (High Performance Liquid Chromatography = HPLC)' dir. Bu tekniklerin hangisinin kullanılacağına seçimi, ayrımı yapılacak olan bileşiğin çözünürlük ve buharlaşma özelliklerine bağlıdır. Kağıt kromatografisi özellikle suda çözülebilme yeteneğinde olan bitki içerikleri için isim olarak belirtmek gerekirse karbohidratlar, amino asitler, nükleik asit bazları (pürin, pirimidin), organik asitler ve fenolik bileşikler için uygundur. İnce tabaka kromatografisi tüm yağda çözülebilen bileşiklerin ayrımı için seçilebilecek uygun bir metottur. Örnek olarak lipitler, steroidler, karatenoidler, basit kinonlar ve klorofiller verilebilir. Bunlara karşın üçüncü teknik olan gaz kromatografisi temel olarak buharlaşabilen bileşikler, yağ asitleri mono ve sesquiterpenler, hidrokarbon ve sülfür bileşikleri için uygulanmaktadır. Bu tekniğe alternatif olarak düşük buharlaşma yeteneğine sahip olan bileşiklerin ayrımı HPLC ile yapılabilir.

### **1.6.1. Kağıt Kromatografisi (KK)<sup>(146)</sup>**

Kağıt üzerinde yapılan kromatografik çalışmaların temel avantajı ayırma işleminin filtre kağıtları üzerinde basit ve oldukça kolaylıkla yapılabilmesidir. Bunu hem hazırlanan mobil faz hemde sabit fazın özellikleri sağlamaktadır. Diğer bir avantajı ise tekrarlanabilirliğinin fazla olmasından dolayı, çok sayıda yapılacak olan kağıtlar üzerinde  $R_f$  değerlerinin karşılaştırılabilir olmasıdır. Bu değerler ise yeni bitki bileşiklerinin açıklanması ve tanımlanmasında kullanılabilir.

Kağıt üzerinde yapılan kromatografi genel olarak partiyon ve adsorpsiyon kromatografisi felsefelerini içerir. Partiyonda bileşikler su ile karışmaz bir sistemin

içerinde ayrılmıştır. Bu sisteme verilebilecek örnek olarak n-bütanol ve sudur. Klasik solvent karışımı olarak n-bütanol-asetik asit-su (4:1:5 bu karışımın üst kısmı) BAW olarak bilinir. Bu sistemde bütanol fazının su içeriği hazırlanan sistemle artırılmış, böylelikle çözücü karışımından faydalanılması ile ayırım gerçekleştirilebilmiştir. Gerçekte BAW sistemi bitki içeriklerinin birçok sınıfı için genel bir çözücü sistemi ya da mobil faz olarak kullanılmaktadır. Bu sistemin uygulanabilirliği bitkisel bir çok bileşiğin ayrılmasında kullanılabilir olmasıdır. Bunun aksine kağıt kromatografisinin çözücü sisteminin temel özelliklerinin bahsedildiğinde kullanılacak olan teorilerden biri adsorpsiyon kuvvetleridir. Saf su polar çok farklı özelliklerinden dolayı bir kromatografi çözücü sistemi ya da mobil fazı olarak kullanılabilir. Farklı özelliklere sahip olan saf su pürin, pirimidin ve fenolik bileşikler ve bitki glikozitleri için genel olarak kullanılabilir.

Epeyce geniş boy ve özellik aralıklarında modifiye edilmiş olarak ticari takdimi bulunan filtre kağıtları ile detaylı kromatografik ayrımların yapılması sağlanmaktadır. Örneğin selülozun polar özellikleri; üzerine bağlanan silicic asit ya da alüminyum ile azaltılabilir ve lipitlerin ayrılması için oldukça uygun hale gelir. Kağıtlar aynı şekilde laboratuvar da modifiye edilebilir. Ayrıca bu filtre kağıtları; reversed-phase kromatografi yapmak için parafin ya da silikon yağı ile iyice ıslatılarak lipitler için kullanılabilir. Eğer büyük ölçekte ayırma yapılacaksa kalın (Whatman no. 3 ya da 3 MM) kromatografi filtre kağıtları mevcuttur ve her bir kağıt tan bir kaç miligram ürün alınabilir.

Kağıt kromatografisinde bileşiklerin analizleri; genellikle spotların renklerine ya da U.V. floresans ışına verip vermemelerine göre yapılabilir. Bunun yanında  $R_f$  ölçümleriyle beraber veya ayrı ayrı da değerlendirilmesi yapılabilir. Bu işlem

reaksiyon sonrasında renklendirici bir belirtecin püskürtülmesi ya da buharına bırakılması yahut da belirtecin içerisine sokulmasıyla yapılmaktadır.

$R_f$  değeri kromatogramda bir bileşiğin hareketi ile aldığı yolun, solventin hareketi ile aldığı yol arasındaki bağıl ilişki olarak ifade edilir. Bileşiğin kromatograma uygulandığı noktanın merkezinden, kromatografi işlemi sonucunda geldiği son noktanın merkezi arasındaki fark, bileşiğin aldığı yol olarak hesaplanır. Bileşiğin aldığı yolun mobil fazın aldığı yola bölünmesi ile ortaya çıkan değerdir. Bu değer her zaman 0,01-0,99 arasında görülür. Bu değerın 100 ile çarpılması  $R_{fS}$  olarak bilinmektedir. Bunu  $R_f(x100)$  ya da  $hR_f$  şeklinde de görmek mümkün olabilmektedir.

Yapı ile ilgili olan bir serinin  $R_f$  değeri karşılaştırılacağı zaman diğer bir sabit kromatografik değer olan  $R_M$  kromatografik değer  $R_f$  ile ilgili bir değerdir<sup>(146)</sup>.

$$R_M = \log \left( \frac{1}{R_f} - 1 \right)$$

Bu değer kimyasal yapının kromatografik sistemdeki hareketiyle ilgilidir.  $\Delta R_M$  değerleri eş bir seride sabit bir değer olarak kullanılabilir. Bu yüzden flavonoid bileşiklerinin kromatogramdaki bir serisinde kullanılabilir.  $\Delta R_{MS}$  yapısında birkaç hidroksil ve glikozil altbirimleri bulunduran moleküller için sabit bir değer ya da kıyas yapmaya yarayacak bir değer olarak kullanılmaktadır<sup>(149)</sup>. Bu prosedür bileşiklerden bir serinin, bilinmeyen bir üyesinin  $R_f$  değerinin hesaplanmasında kullanılabilir. Böylece bitki ekstraktındaki belli bir bileşiğin araştırılmasını kolaylaştırmak maksadı ile kullanılabilir. Böyle bir prosedür Harborne 1969<sup>(150)</sup> tarafından kullanılmıştır. Bu prosedürü kullanarak yeni bir kaempferol metil eter bileşiğini karakterize etmiştir. Burada tahmin edilen ve bulunan gerçek değer birbiri ile tamamen örtüşmüştür.



### 1.6.2. İnce Tabaka Kromatografisi (İTK)

İnce tabaka kromatografisi kağıt kromatografisi ile karşılaştırıldığında kendine özgü avantajları vardır. Avantajları hız, duyarlılık gibi özellikleri ve çok yönlü çalışma imkanı sunması, etkin bir yöntem olarak ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Çok yönlü çalışmanın avantajını sağlayan ince tabaka kromatografisinde bu özellik tabakaların yapı ve çeşitliliğinden kaynaklanmaktadır. Kağıt kromatografisinde kullanılan selülozik adsorbentlere ek olarak cam, alüminyum, naylon plakların üzerine silika, alüminyum oksitler, iyon değiştirici resinler, sefadex, polyamide, silka C<sub>8</sub>- C<sub>18</sub>, gibi bu adsorbentlerin yüklenmesi ile oluşturulan tabakalar kullanılmaktadır. İnce tabaka kromatografisinde plak üzerine doğal adsorbentlerin yüklenmesi ince tabaka kromatografisinin hızlanmasını sağlamakla birlikte kararsız bileşiklerin ayrılmasının sağlanmasında da avantajlıdır. Sonuç olarak ince tabaka kromatografisinin duyarlılığı mikrogram miktarlarından daha az miktarların ayırımını sağlamada başarılıdır.

İnce tabaka kromatografisinin dezavantajlarından biri plaklara düzgün bir şekilde adsorbent yayılması ve takiben plakın her bölgesinde adsorbent miktarının aynı olmasının gerekliliğidir. Bu adsorbent nizamı şekilde yayılması oldukça zor ve zahmetli bir uğraştır. Daha sonra geliştirilen otomatik yayma makinalarının sunulmasıyla bu dezavantaj ortadan kaldırılmıştır.

İnce tabaka kromatografisi (İTK= Thin Layer Chromatography (TLC)) çok farklı polariteye sahip bulunan bileşiklerin bir karışım içinden ayrılmasında etkin bir metottür. Bitki ekstarktları genelde hidroalkolik solusyonlarda alınır. Hidroalkolik solusyonlardaki bitki ekstraktları polarite özelliklerinden dolayı bitkinin doğasında bulunan bileşiklerin karmaşık bir karışımını içerirler. Bunlardan birçoğu hala

tanımlanabilmiş değildirlir. Buna karşın bitki ekstraktları hastalıkların tedavisinde ev tedavisi ya da halk arasında geniş bir yayılış ve inanişla kullanılmaktadır.

Bu drugların kontrolü kalitatif analizler ile gerçekleştirilmektedir. İTK ile yapılan bir kromatogramda elde edilen sonuçlar bitki ekstraktlarının tanımlanmasında çok yararlı bir şekilde kullanılmaktadır. Bu itk plakları üzerindeki kromatogramlar, o bitki ekstarktına ait ‘‘parmak izi’’ gibidir. Yapılan analizin sertifikasının olması için de bir fotoğrafla ekstraktın yanına ataçlanır<sup>(152)</sup>. Yapılan kromatografi sırasında ayrılmış spotların renkleri ve pozisyonları, standart bileşikler ile ilişkilendirilerek ve  $R_f$  değerlerine de bakılarak bitki ekstraktlarının tanımlanmasında önemli karakterler olarak kullanılır. Nicel analizler bu alanda nadiren uygulanır. Nicel analizler daha çok spektrofotometrik ölçümlerin yada preparatif düzey için özel hazırlanan itk plaklarının kullanılması ile gerçekleştirilir<sup>(153)</sup>.

Farklı çalışmalar İTK’da ayırımını bir analiz metodu olarak açıklamaktadır<sup>(154,155)</sup>. Genellikle ayırma işlemleri silika plaklar üzerinde olmaktadır. Bazı çalışmalarda ise silika üzerine hidrokarbonların ( $C_8$ ,  $C_{18}$ ) bağlanmasıyla modifiye edilir. Modifiye edilerek yeni bir yüzey oluşturulan adsorbanlar da ayırım için kullanılabilir. Bitki ekstraktları plak üzerine direk olarak uygulanabilir ya da özellikle bir sınıf çalışılacaksa o sınıfa özgün bir ekstraksiyon metodu seçilerek uygun bir solventle ekstraksiyon yapılarak alınan ekstraktın İTK’sı gerçekleştirilir. Ekstraksiyon için kullanılacak solventin polaritesi, istenilen bileşiklerin polaritesine benzer bir şekilde dizayn edilmelidir. Örnekler plaklar üzerine çeşitli cam kapiller veya uygun aparatlar ile elle ya da ayarlanabilen mikropipetler ve ya otomatik aplikatörler ile uygulanabilir. Örnekleri uygulanma şekli farklılık gösterebilir. Bunun

için spotlar ya da bantlar kullanılır. Bunlar çalışılacak olan bileşik ve mobil fazın özelliğine göre uygulanır. Spotlar yahut ince ve kısa çizilmiş bantlar uygulamanın olduğu bölgeden mobil fazın hareketiyle mobil faz eşliğinde ayrılırlar ve yaklaşık 8-15 cm aralığındaki farklı bir noktaya göç edebilirler<sup>(156)</sup>.

Yükleme öncesinde İTK tank içerisine mobil faz konularak ağız kısmı kapatılır. Böylece tankın içerisindeki alanın mobil faz sisteminin buharlaşması ile dengeye gelmesi sağlanır. İTK'da ayırımı yapılmak istenecek olan farklı bileşiklerin karakteristik özelliklerine uygun mobil faz sistemlerinin kullanılması gerekir. Bitkilerin sınıflandırılmasında farklı sınıfa ait bileşiklerin varlığı hesaba katılarak yapılmakta ve bu durumda ayırımın yapılmasında kullanılan İTK parmak izi gibi tanımlanmaktadır. Bu durum bitkilerin sınıflandırılmasında kimyasal bileşiklerin önemini ortaya koymaktadır. Analiz edilen bileşikler alkaloidler, anthracene (katranda elde edilen bir karbonhidrat (C<sub>14</sub> H<sub>10</sub>) türevleri, kardiyak glikozitler, kumarinler, temel yağları içerenler, flavonoidler, saponinler, triterpenler içerenler ve bunlara benzer olan yapılar olabilmektedir. Örnek olarak verilecek olursa kloroform ve dietilenamin içeren bir karışım İTK kullanıldığında alkaloidlerin ayrılmasını, toluen ve etil asetat içeren bir karışım temel yağların ayrılmasını sağlayacaktır<sup>(146)</sup>.

Yükleme sonrasında plaklar tanktan çıkarılır ve uygun hava akışında ya da oda sıcaklığında kurutulur. Sonrasında UV yada görünür bölge ışıklarında ayrılan bileşiklerin kimyasal doğasına göre verdikleri ya da vermedikleri renklere göre değerlendirilir. Araştırmalar UV ışığında 254 nm ince tabakanın verdiği ışığı emme ile yahutta 366 nm'de bileşiklerin doğal floresansının görülmesi ile gerçekleştirilir. Birkaç alkaloid (kinon, berberin vb.) ,antraglikozitler, kumarin türevleri ya da

flavonoidler doğal floresansa sahiptirler ve 366 nm'de verdikleri renklerle ayrılabilirler. Doğal floresans veren bileşiklerin çeşitli kimyasal bileşiklerin püskürtülmesi ile bu özellikleri artırılabilir. Bu durum düşük arama limitlerini ortaya koyması açısından önemlidir. Flavonoidler NP/PEG püskürtülmesi sonrasında sarı-yeşil, turuncu renkler vermektedir<sup>(150)</sup>.

Bu bileşikler 366 nm dışında floresans yansıması vermez. Ancak yukarıda belirttiğimiz belirteçlerin püskürtülmesi vasıtasıyla görünür bölgede araştırılabilir. Bununla beraber türevlendirme reaksiyonları oda sıcaklığında ya da İTK plaklarının termostatlı bir sıcak plak üzerinde spesifik bir sıcaklıkta 10 dakika süresince ısıtılması ile yapılabilir. Her iki durumda da yapılacak araştırmalar hızlı şekilde yapılmalı ve fotoğraflanmalıdır. Ninhidrin amino asitler ve yapısında birincil derecede amino grubu taşıyan, diğer biyolojik bileşikler için de iyi bir belirteçtir. Bileşikler ninhidrin püskürtülmesi sonrasında 100 °C' de ısıtıldıktan sonra mavi mor spotlar verirler. Terpenoidler ya da saponin kırmızı-mor spotları asidik anisaldehit solüsyonun püskürtülmesi sonrasında yine 100 °C' de ısıtıldıktan sonra verirler.

İTK ayırımında elde edilen renkli spotları onların plak üzerindeki renklerine, düzenlerine göre referans bileşiklerin varlığında göre açıklanırlar. Bu açıklama bitki ekstraktının standart bileşikler ile yapılan İTK karşılaştırılması ile yapılmaktadır. Bu spotların benzerlikleri tıbbi bitkilerin kalitatif nitel analizi için önemlidir. Farmokopilerde adı geçen referans bileşikler, analiz edilen bitki ekstraktlarında bulunan ya da bitki ekstraktından ayrılmış bileşiklerin  $R_f$  değerleri ile karşılaştırılma için kullanılır.

Doğal pigmentler sınıflandırıldığında flavonoidler, antosiyaninler, karatenoidler, klorofiller ve klorofil türevleri, porfirinler, kinonlar, anthrokinonlar,

betalinler en önemli bileşikler olarak hayvanlar alemi ve bitkiler aleminde bol miktarda bulunmaktadır<sup>(146)</sup>.

### 1.6.3. Gaz Kromatografisi (GK)

Bu kromatografi türü kağıt ve ince tabaka kromatografileri ile karşılaştırıldığında gelişmiş bir yöntem olmasıyla ve aynı zamanda daha pahalı bir yöntem olmasıyla ayrılır. Ayrıca diğer kromatografi çeşitlerine göre çok zor bir prosedürü yoktur. Gaz kromatografisi temel olarak 4 ana bileşenden oluşur.

I. Kolon

II. Fırın veya ısıtıcı

III. Gaz akış sistemi

IV. Detektör

Gaz kromatografisinin sonuçları 'retention volume'  $R_V$  terimiyle açıklanabilir. Burada taşıyıcı gazın , bu gazlar azot veya argon olabilir, kolondaki bileşikler yıkamak için gerekli olan hacimdir ve  $R_V$  ile ifade edilebilir. Ya da diğer terimle 'retention time'  $R_f$  ki bu terimde örneğin kolondan yıkanması için gerekli olan zamandır. Bu iki parametre ile analizin sonuçları açıklanabilir. Bu parametreler  $RR_V$ ,  $RR_f$  olarak bilinen standart bileşiklerin parametrelerine bağlı olarak açıklanabilir. Bu bileşikler örnek ekstraktının içerisine eklenebilir ya da çözücü formunu alarak örneğin içerisinde çözülmesi sağlanarak uygulanabilir. Gaz kromatografisinin temel değişkenleri; operasyonun sıcaklığı, kolonun durağan fazının doğası olarak bilinir. Bu değişkenlerin değişimi bileşiklerin buharlaşması ve polaritesine bağlıdır. Buharlaşma özelliğine sahip bulunmayan bir çok bileşik rutin

olarak yapılan işlemlerle (metillenme vb.) türevlendirilerek, buharlaşma özelliği katılarak düşük sıcaklıklar altında ayrışması sağlanır<sup>(146)</sup>.

Gaz kromatografisi çalışmaları ile elde edilen kromatogramlardan hem kantitatif hem de kalitatif çalışmalar yapılabilir. Kromatogram piklerinin altında kalan bölgeler direk olarak o pikin sahibi olan bileşiğin miktarını verir. Bu piklerin altında kalan bölgelerin matematiksel olarak integre edilmesi ile hesaplama yapılabilir. Son yıllarda analiz sonuçları gaz kromatografisine direk olarak kütle spektrofotometrenin (mass spectrometry) bağlanmasıyla yapılmaktadır.

#### **1.6.4. Yüksek Basınç Sıvı Kromatografisi (HPLC)**

Yüksek basınç sıvı kromatografisi gaz kromatografisinin analogu gibidir. Bu yöntem; duyarlı kantitatif ve kalitatif analizi yalnızca tek bir uygulamada sağlama yeteneğindedir. Bu sistemin farkı ise gözenekli formda olan ve yüzey alanı genişletilen polimer yapılarının durağan faz olarak çapı dar olan paslanmaz bir kolonun içerisine depo edilmesi ve içerisindeki basıncın gücüyle sıvı mobil fazın yüksek basınç ile geçirilmesi esasına dayanmaktadır. HPLC aparatları GC aparatlarından oldukça pahalıdır. Uygun bir pompa sistemi ve yüksek basınca dayanabilecek vidalı bağlantı sistemlerinin içermesinden dolayı işletim giderleri maliyetlidir. Mobil faz sistemi birbiri içerisinde çözünebilir solvent karışımı olabilir. Bu solvent karışımının bileşenleri her zaman karışım içerisinde karışmış olarak sabit şekilde kalmalıdır. Bu ayırma yöntemine 'isocratic' ayırım adı verilir. Karışımdaki çözücülerin oranları değiştirilebilir. Sistemin yapısında bulunan bir karıştırma odasında karışım yapıldıktan sonra sisteme verilir, numunenin yüklenmesi ile

numuneyle karıştırılarak kolona gelen madde ayrılır. Bu ayırma yöntemine ise 'gradient' yıkama adı verilir. Bileşikler yıkama sonu ya da ayırma sonrasında örneğin özelliğine göre kolonun sonrasına bağlanacak olan farklı dedektörler vasıtasıyla görüntülenir. Genellikle U.V. dedektörler kullanılır. Son zamanlarda ELSD adı verilen dedektörlerde kullanılmaktadır<sup>(157)</sup>.

HPLC ile GC arasındaki en büyük farklılık ortam sıcaklığında analiz yapılabilmesi ve bileşiklerin işlem süresince herhangi bir sıcaklık düzenlenmesine tabi tutulmamasıdır. HPLC kolonun sıcaklık kontrolü termostatlı bir ceket veya ısıtma ve soğutma özelliklerine sahip uygun bir aparatın seçilmesi ile sağlanabilmektedir. Kolon genellikle oldukça küçük dairesel silika ile kaplanmış veya doldurulmuş olarak durağan faz durumunda bulunur. Bu nedenle safsızlıklarla tıkanma ve patlama riskine çok duyarlıdır. Bu yüzden bitki ekstraktlarının kolona yüklenmeden önce uygun filitreler ya da kartuş sitemleri kullanılarak süzülükten sonra sisteme verilmesi uygundur.

HPLC temel olarak buharlaşma özeliğine sahip bulunmayan bileşiklerin için uygundur. HPLC ile çalışılırken renk veren bir grubun bulunması veya bulunmamasına ihtiyaç duyulmamaktadır.<sup>(146)</sup> Terpenoidler, alkaloidler, yağlar, şekerler ve fenolik grup taşıyan bileşiklerin tümünde çalışılması uygundur. Bu bileşiklerin U.V. ve görünür bölgedeki spektrumları araştırılabilir ve tespit edilebilir.

### **1.7. Çalışmanın Amacı**

**Yapılan bu çalışmanın amaçlarını aşağıdaki şekilde özetlemek mümkündür:**

1. *Alchemilla* cinsine ait türlerdeki flavonoid bileşiklerini ortaya çıkarmak.
2. *Alchemilla* cinsine ait türlerden elde edilen flavonoid bileşiklerinin, tür içi ve türler arası varyasyonunu ortaya koymak.
3. Flavonoid bileşiklerinin bu cinsin sistematığı açısından önemini ortaya çıkarmak.
4. Flavonoid bileşiklerinin bu cinsin türleri arasındaki akrabalık ilişkilerine ışık tutmak.
5. Elde edilen bileşiklerin cinsin sistematığında kullanılan morfolojik karakterlere ilave olarak türlerin teşhisinde kullanılabilir karakterler olup olmadığını tespit etmek.
6. *Alchemilla* cinsinin sistematığında günümüzde kullanılmakta olan morfolojik karakterlerinin, kimyasal karakterler tarafından desteklenip desteklenmediğini ortaya çıkarmak.
7. Mümkün olursa *Alchemilla* cinsinin morfolojik olarak kendisine yakın olan *Potentilla* cinsiyle flavonoid bileşikleri açısından akrabalık derecesini ortaya çıkarmak.



## 2. MATERYAL VE YÖNTEM

### 2.1. Materyal

#### 2.1.1. Kimyasallar

Kimyasal çözücü olarak kullanılan petrol eteri (40°C-60°C ve 60 ° C -70 ° C) etilasetat, etanol, metanol Riedel de Haen (Almanya)'dan HPLC saflıkta metanol, asetik asit, formik asit Merck (Almanya)'dan, poly ethylen glycol (PEG 4000), silika jel 60 GF<sub>254</sub> (İTK), silika jel 60 G (İTK)ve Silika jel 60 (0,063-0,200 mesh) Merck (Almanya), flavonoid standartlarından rutin trihydrate >%95 HPLC saflıkta, isoramnetin >%97 HPLC saflıkta, apigenin %95 (TLC (ince tabaka kromatografisi için)) , 2-aminoethyl diphenylborinate, kaempferol %90 HPLC saflıkta, quercetin dihydrate >%98 HPLC saflıkta Sigma (Almanya)'dan , Flavonoid glikozitleri; quercetin-3-O-glucopyranoside HPLC saflıkta, naringenin HPLC saflıkta, quercitrin HPLC saflıkta, hesperidin HPLC saflıkta, hyperoside HPLC saflıkta, myricetin HPLC saflıkta, vitexin HPLC saflıkta, orientin HPLC saflıkta Extrasyntese (Genay/Fransa) 'den alındı.

#### 2.1.2. İnce Tabaka Kromatografisi Plakları

İnce tabaka kromatografisi için kullanılan kromatografi plakları silica gel 60 F<sub>254</sub> alüminyum ince tabakalar 0,1mm kalınlıkta 20 x 20 cm ebatlarında Merck (Darmstadt/ Almanya) firmasından ve selüloz F<sub>254</sub> cam ince tabaka plakları 0,1 mm

kalınlıkta 20 x 20 cm boyutlarında Fluka (Sigma Aldrich, Almanya) firmasından satın alındı.

### **2.1.3. Laboratuvar Malzemeleri ve Cihazlar**

Bu çalışmada rutin olarak laboratuvarında kullanılan genel araç gereçlerden faydalanıldı. Cam malzemelerden; deney tüpleri, portüp, erlen, beher, muhtelif hacimlerde ayırma hunisi, rotaevaporatöre uygun ağız kısmı 28 x 32 rodajlı dip kısmı yuvarlak balonlar, muhtelif hacimlerde mezürler ince tabaka kromatografisi cam tankları (Camag (Fransa) ve Sigma (Almanya)), ince tabaka ve kağıt kromatografisi cam tankları (Sigma (Almanya)) heparinsiz hematokrit tüpleri (Isolab (Almanya)), özel yaptırılmış 500 mm x 30 mm (boy x çap), 150mm x 10 mm (boy x çap) boyutlarında özel ceketli ve ceketsiz cam ve kuartz kolonlar kullanılmıştır. U.V. 254 nm ve 365 nm lambalar ve lamba aparatları (Camag (Fransa), Hassas terazi (Shimadzu AX 120 (Japonya)), Spektrofotometre (Shimadzu U.V. 1601 (Japonya)), rotaevaporatör (Heidolph model Laborato 4000-efficient (Almanya)), çalkalayıcı ısıtma ve soğutma özellikli inkübatör (Labcon model FSIESPO8 (Amerika Birleşik Devletleri)), Su arıtma ve saf su cihazı (Human marka) kullanıldı.

Analizler için kullanılan HPLC Dionex (Amerika Birleşik Devletleri) otomatik yükleyicili model ASI-100 ve UV/VIS dedektör UVD 170S, kolon fırın STH 585, P580 pompa özelliklerine sahip cihaz kullanıldı. HPLC analizi için gerekli kolon aynı firmaya ait 150 x 4,6 mm boyutlarında 3 µm C 18 silika ile 250 mm x 4,6 mm 5 µm C 18 silika ile yüklenmiş kolonlar kullanılarak yapıldı.

## 2.1.4. Bitki Materyali

### 2.1.4.1. Bitki Örneklerinin Toplanması

Bu tezin araştırma ile ilgili ilk çalışmaları bitki örneklerinin toplanması ile gerçekleştirildi. Tez konusu bitki olan *Alchemilla* cinsi türlerinin hem geniş hem de endemik olarak bol miktarda yayılış gösterdiği Trabzon ve Gümüşhane'yi birbirine bağlayan karayolu üzerinde Zigana geçidine kadar ve Gümüşyayla kayak merkezine giden yol üzerinde örnekleme yapıldı. Örnekler toplanırken herbaryum materyali olacak nitelikli olanları örneklemenin yapıldığı bölgelerde prese alındı. Sonrasında araştırmanın yapılması için gerekli bitkilerin toprak üstü organlarından olan yapraklardan çalışma için yeterli görülen miktarda örnek toplanması gerçekleştirildi. *Alchemilla* cinsi türleri daha çok yamaçlarda, su ve dere akıntılarının bulunduğu nemli bölgelerde gözlemlenmiş, rakım olarak 800 m'den başlayarak 3000 m.'ye kadar bulunabilmiştir. Örneklemenin yapıldığı bölgelerde bu rakımlarda fazla sayıda türle karşılaşmış, aynı zamanda türlere ait bireylerde de miktar olarak artış gözlemlenmiştir. Örnekleme yapıldıktan sonra toplanan bitki örnekleri buldukları yer ve hava şartları itibariyle oldukça nemli oldukları için kısa sürede kurutulmuş ve çok iyi muhafaza edilmesi gerekmiştir. Çalışılan örneklerin defter kayıt numaraları ve depolandıkları herbaryum çizelge 2.1.'de verilmiştir.

**Çizelge 2.1.** Çalışılan örneklerin defter kayıt numaraları ve depolandıkları herbaryum.

Tür adı	Toplayıcı kayıt no	Muhafaza edildiği herbaryum
<i>A. oriturcica</i>	Yusuf 1437	ADO
<i>A. hirtpedicellata</i>	Yusuf 1438	ADO
<i>A. armeniaca</i>	Yusuf 1439	ADO
<i>A. stricta</i> (1)	Yusuf 1443	ADO
<i>A. barbatiflora</i> (1)	Yusuf 1445	ADO
<i>A. orthotricha</i>	Yusuf 1446	ADO
<i>A. orduensis</i> (1)	Yusuf 1453	ADO
<i>A. erzincanensis</i>	Yusuf 1449	ADO
<i>A. ciminensis</i> grup	Yusuf 1451	ADO
<i>A. cimilensis</i>	Yusuf 1456	ADO
<i>A. mollis</i>	Yusuf 1457	ADO
<i>A. orduensis</i> (2)	Yusuf 1458	ADO
<i>A. buseriana</i>	Yusuf 1459	ADO
<i>A. erythropoda</i>	Yusuf 1460	ADO
<i>A. ikizderesis</i>	Yusuf 1461	ADO
<i>A. procerrima</i>	Yusuf 1463	ADO
<i>A. porrectidens</i>	Yusuf 1464	ADO
<i>A. oriturcica</i>	Yusuf 1467	ADO
<i>A. bursensis</i>	Yusuf 1468	ADO
<i>A. persica</i>	Yusuf 1476	ADO
<i>A. trabzonica</i>	Yusuf 1478	ADO
<i>A. tiryalensis</i>	Yusuf 1482	ADO
<i>A. speciosa</i>	Yusuf 1485	ADO
<i>A. hirsutiflora</i>	Yusuf 1490	ADO
<i>A. stricta</i> (2)	Yusuf 1495	ADO
<i>A. barbatiflora</i> (2)	Yusuf 1496	ADO
<i>A. sericata</i>	Yusuf 1505	ADO
<i>A. ovitensis</i>	Yusuf 1506	ADO
<i>A. holocycla</i>	Yusuf 1507	ADO
<i>Potentilla recta</i>	Yusuf 1750	ADO

#### **2.1.4.2. Bitki Örneklerinin Kurutulması**

Araziden toplanan örneklerin teşhislerinin yapılabilmesi için bitkilerin vejetatif ve genaratif kısımları preslendi. Bu presli örnekler de diğer örnekler ile beraber herbaryuma getirildi. Presli örnekler hergün kağıtlarının değiştirilmesi yoluyla kurutuldu.. Diğer kısım ise yaprakları toprak üstü gövdeden ayrılarak oda sıcaklığında temiz kağıtlar üzerine serilerek kurutuldu. Kurumuş örneklerden sıra ile çalışma yapıldı. Kilitli naylon poşetler içinde, nem tutma özelliğine sahip olan silika bilyeler ile birlikte tutuldu. Nem çekme kabiliyetine sahip olan silika bilyeler poşet içerisindeki nemi çekti. Nemin olması durumunda da oluşabilecek mikroorganizma aktivitesi böylelikle engellenmiş oldu. Bitki örnekleri çeşitli zaman aralıklarında kontrol edilerek, gerekli görüldüğü zamanlarda silika bilyeler yenileriyle değiştirilerek ortamın nemi belirli bir oranlar arasında tutulmuştur.

#### **2.1.4.3. Bitki Örneklerinin Hazırlanması**

Kurutulan bitki örneklerinin hassas terazi ile ölçümleri yapıldı. Tartım sonrasında cam bir havanın içerisine alınarak cam bir tokmakla toz haline gelene kadar nazıkçe öğütüldü. Toz haline gelen bitki örnekleri hemen akabinde ekstraksiyon işlemine tabi tutuldu.

## 2.2. Yöntem

### 2.2.1. Ekstraksiyon

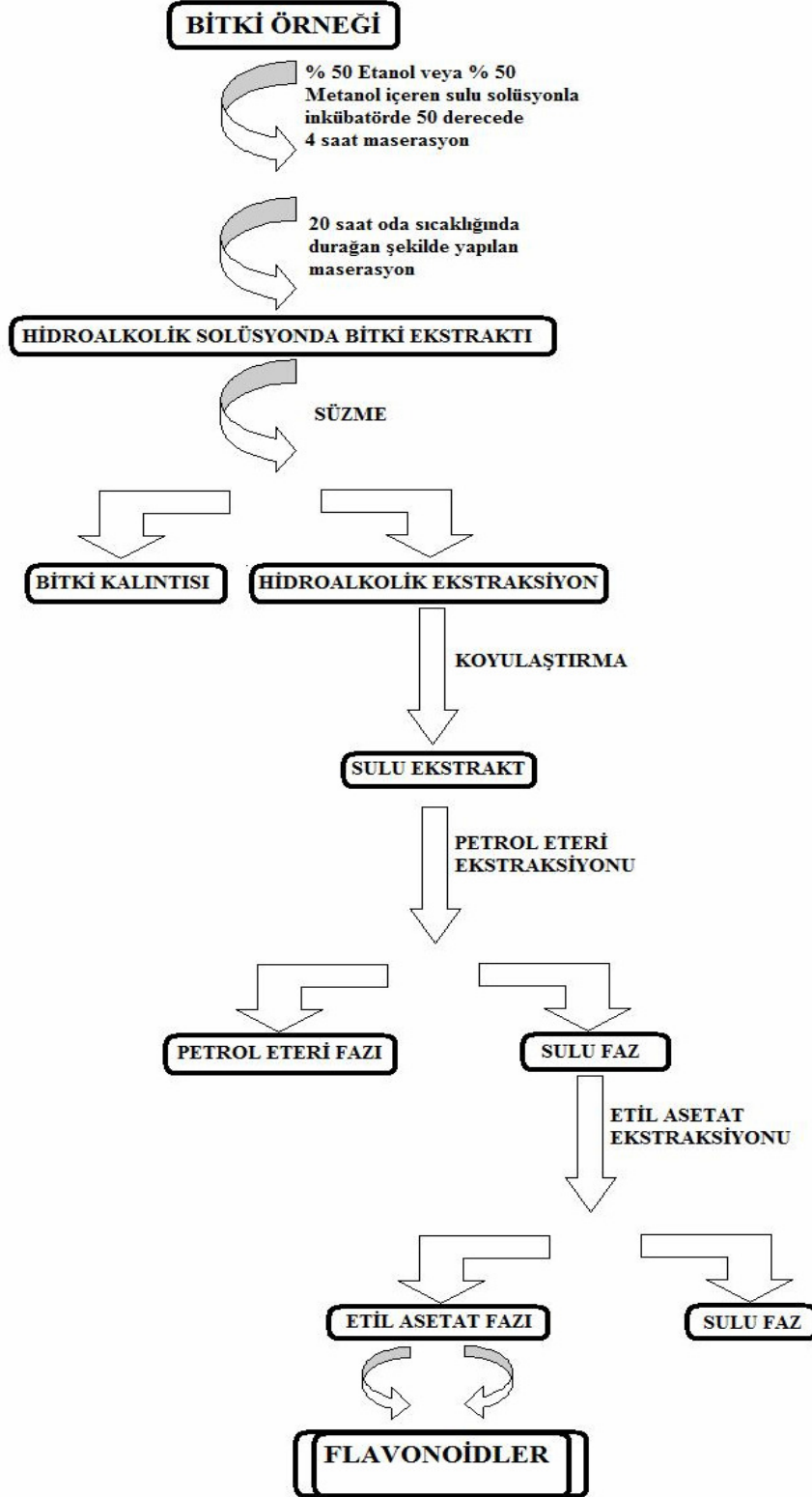
Doğal bileşikler ile çalışılırken ekstraksiyon işlemi için; hedef bileşiğe göre bir metodun bulunması, bir metodun modifiye edilmesi veya yeni bir metodun geliştirilmesi gerekmektedir. Bunun için bitkilerde bulunan doğal bileşiklerin formu iyi bilinmelidir. Bitkilerde bulunan doğal bileşiklerin çoğu bir şeker grubuna bağlı olarak bulunur. Çok nadiren aglikan şeklinde olduğu düşünülerek polar glikozit formlarının ayrımı, saflaştırılması ve diğer apolar kısımların uzaklaştırılması ile seçici bir şekilde ekstraksiyon işlemine başlandı.

Toz haline getirilen bitki türlerinin örnekleri için ekstraksiyon işlemi yapıldı. Ekstraksiyon işlemi için literatürde çok farklı metotlar kullanılmıştır. Bu metotların seçimi istenilen doğal bileşiğin doğasına uygun olarak yapılmalıdır. Bu bileşikler doğal bulunma şekline göre yani glikozit formunda ayrılmak isteniyorsa ona göre bir düzenleme yapılmalıdır. Bitkiler içerisinde bulunacak birçok maddenin yalnızca şeker gruplarına bağlı olarak bulunacağı Harborne ve arkadaşlarının<sup>(147)</sup> yapmış olduğu çalışmaları içerisine alan kitabında belirtilmiştir. Bunun için flavonoidleri glikozit formları şeklinde elde edecek bir ekstraksiyon yöntemine ihtiyaç duyuldu. Bunun içinde Zhao ve arkadaşlarının<sup>(158)</sup> yapmış olduğu ekstraksiyon tekniği kullanıldı. Bu teknik üzerinde yapılan modifikasyonlar sonucunda, laboratuvar şartlarında uygun olarak yapılan iyileştirmeler ile bir metot geliştirildi. Bir erlen içerisine konulan toz halindeki bitki örneği üzerine, ağırlığının hacim olarak yaklaşık 10 katı % 50 etanol-dH<sub>2</sub>O karışımı veya % 50 metanol- dH<sub>2</sub>O karışımı ilave edildi. Erlen 150 rpm'de 50 °C 'de 4 saat süresince çalkalamalı inkübatörde maserasyon

işlemine tabi tutuldu. Takiben 20 saat boyunca oda sıcaklığında maserasyona bırakıldı. 24 saat sonunda bu karışım alınarak su trombuna bağlanmış olan bir buhner hunisi vasıtasıyla mavi bant süzgeç kağıdı kullanılarak süzüldü. Bitki kalıntısı uzaklaştırıldı. Sulu süzüntü rotaevaporatörde 45-50 °C aralığında hidroalkol karışımından alkolü uçurulmak için yaklaşık 15-25 dakika aralığında ters basıncın yaptığı vakum etkisine bağlı olarak tutuldu. Alkolü uçurulmuş, içerisinde su bulunan ekstraksiyon sıvısı içerisinde mevcut olan apolar bileşikler ve klorofilin uzaklaştırılabilmesi için bir ayırma hunisi vasıtasıyla petrol eteri (40 °C-60 °C) ile muamele edildi. Bu reaksiyon sonucunda ayırma hunisinde üstte kalan kısımda açık yeşilden örneğe göre koyu yeşile doğru değişen renklerdeki kısımlar su arasındaki yoğunluk farkından dolayı ayrılması ile alındı. Geriye kalan koyu sarı, kahverengi sulu ekstrakt içerisinde bulunan flavonoidleri almak için etil asetat ile yine ayırma hunisi vasıtası ile karıştırıldı. Reaksiyon sırasında ayırma hunisi bir el üstte diğer el altta olmak suretiyle her iki el ile tutularak farklı yönlerde birbirleri ile ters yönde dairesel şekiller çizmesi ile yavaşça 3 ila 5 dakika arasında karıştırıldı. Bu karıştırmanın sonrasında yoğunluğu sudan daha hafif olan etil asetatlı kısım üstte sarı renk verecek şekilde ayrıldı. Bu ayırım yapıldıktan sonra alttaki sulu faz alınarak liyofilizatöre konulmak için -20 °C dondurucuya alındı. Etil asetatlı fraksiyon alındı, rotaevaporatörde etil asetat kısmı uzaklaştırıldıktan sonra rota balonu içerisinde bulunan fraksiyon tartılarak miktar tayini yapıldıktan sonra az miktarda etil asetat veya etanol içerisinde rota balonundan küçük flakonların içerisine alındı. Bu çözücülerin uçması için 24-48 saat süresince güneş ışığından etkilenerek içerisindeki flavonoidlerin yapısının bozunmasını engellemek için karanlık bir ortamda bırakıldı. Sonra çözücülerin numune kabından buharlaşması ile uzaklaşmasını takiben numuneler buzdolabında + 4 °C'ye alındı. Numuneler; analiz yöntemleri olan kağıt

kromatografisi ve ince tabaka kromatografisi yapılacağı zamana kadar buzdolabında + 4 °C'de tutuldular. Yapılan analizlerin ardından saflaştırma işlemleri için yeniden aynı koruma metodu uygulanarak + 4 °C'de yapılan preparatif ince tabaka kromatografisi çalışmaları için saklandı. Ekstraksiyon işlemi Şekil 2.1'de şematik olarak gösterilmiştir.





Şekil 2.1. Ekstraksiyon metodunun sematik gösterimi<sup>(158)</sup>

### 2.2.2. İnce Tabaka Kromatografisi

Ekstraksiyon ürünleri elde edildikten sonra ince tabaka kromatografisi uygulaması yapıldı. Elde edilen bitkisel ekstraktlar; ticari olarak satın alınan, içerisine UV 254 nm dalga boyunda ışığa yapan indikatör madde eklenerek hazırlanmış olan silika plaklar üzerine ticari olarak alınan flavonoid aglikan ve glikozit formları, ekstraktlar ile beraber aralarında 0,8 - 1 cm kalacak şekilde ince cam kapillerlerle veya heparin içermeyen hematokrit tüpleri ile spot şeklinde ya da ince hat şeklinde yüklemeler yapıldı. Etil asetat: asetik asit: formik asit: su (100:11:11:27) karışımı mobil faz olarak tanka kondu<sup>(152)</sup>. Mobil fazla birlikte yürüyen plak üzerindeki flavonoidlerin gözlenmesi U.V. lamba kullanılarak 254 nm dalga boyunda yapıldı ve standart bileşikler kullanılarak yerleri belirlendi. Standartı bulunmayan bileşikler literatürden  $R_f$  değerleri ile karşılaştırılarak tanımlamaya yardımcı olması için diğer tanımlama yöntemleri ile koordineli bir şekilde değerlendirildi.

### 2.2.3. İnce Tabaka Kromatografisi Plaklarının Görüntülenmesi

İTK plakları yürütme işleminin tamamlanması sonrasında çeker ocakta kurutuldu. Kurumuş olan plaklar UV 254 nm dalga boylu ışıkta incelendi. Burada kullanılan plaklar bu dalga boyuna özgü indikatör maddeyi yapılarında barındırmaktadır. Flavonoidler yapılarında bulundurdukları aromatik halkalardan dolayı 254 nm ve 280 nm dalga boylarındaki ışığı adsorblamaktadır. Plakların üzerine örnekler ile beraber yüklenmiş olan standartlarla karşılaştırmalı olarak, örneklerdeki flavonoidlerin  $R_f$  değerleri ve ışığı tutma özelliklerinden faydalanılarak

yerleri belirlendi. Miktarı az olan ve UV 254 nm ışığı altında görülemeyen flavonoid bileşiklerinin görüntülenmesi için NP/PEG (Natural product (2-Aminoethyl diphenylborinate)/ poly etilen glycol) kullanıldı. Bu belirteç flavonoidler için kullanılan spesifik belirteçtir. Flavonoidlerin yapısındaki B halkası ile ilgili olarak spesifik yerdeğiştirme reaksiyonu verirler. B halkasındaki yanyana iki hidroksil grubu 365 nm dalga boyunda turuncu renk verir. Örnek olarak quercetin ve onun glikozitleri verilebilirler. NP/PEG ile tek serbest hidroksil grubu içeren B halkası ile verdiği reaksiyon sarı yeşil renk verir. Kaempferol ve glikozitleri bu renk ve reaksiyona örnek olarak verilebilir. Flavonoidler bu belirteçle beraber çok düşük miktarlarda nanogram boyutundaki miktarlarda bile renk verirler ve tanımlanmasında, en azından hangi grup olduğunun belirlenmesinde bu önemlidir. 365 nm dalga boyunda karanlık odada ve ya karanlık kabinde fotoğraflanabilir.

#### **2.2.4. Kolon Kromatografisi**

Bitkisel ekstraktlar için ceketli ve ceketsiz kolonlar kullanıldı. Kolon çapları dar tutulan kolonların boyları muhtelif uzunluklarda seçildi. Kolonlar cam ve kuartz olmak üzere farklı materyallerden yapılmış olarak temin edildi. Kolon dolgu malzemesi yada durağan faz olarak Silka gel 60 (0,063-0,200) kullanıldı. Hareketli faz olarak etil asetat:metanol (95:5) oranından başlayarak metanolün oranı toplam hacim içerisinde % 40'a ulaşana kadar artırıldı. Bu şekilde 50 fraksiyon toplandı toplanan fraksiyonlar İTK plağında yürütüldü ve görüntüldü. 1'den 10'a kadar olan fraksiyonlarda klorofil artıkları ve antosiyanidinler, 11-30 arasında aynı tip flavonoidler gözlemdi ve onlar birleştirildi. 30-40 arası ve 40 ila 50 arası aynı şekilde

görüntülendi ve birleştirildi. Sonrasında preparatif ince tabaka ve HPLC çalışmalarına geçildi.

### **2.2.5. Preparatif İnce Tabaka Kromatografisi**

Preparatif İTK çalışmaları ucuz ve oldukça basit bir sistem olması dolayısıyla izolasyon çalışmalarında kullanılmaktadır. Bu teknik ile ayırma ya da izolasyon çalışmalarında; yaklaşık olarak örnek kompozisyonuna bağlı olarak 1 gr (= 1000 mg) a kadar maddenin ayrılabilmesi, dökülen plağın kalınlığına ve seçilen İTK sistemine göre değişmektedir.

Preparatif ince tabaka çalışmalarında kullanılan plaklar ile analitik ince tabaka çalışmalarında kullanılan plaklar iki tekniğin farkının temelini oluşturmaktadır. Çünkü preparatif çalışmalarda plağın adsorbent kalınlığı analitik çalışmalarda kullanılan plaklarınkine nazaran oldukça kalındır. Bununla beraber plakların hazırlandığı adsorbentlerin partikül büyüklükleri arasında da fark vardır.

Preparatif çalışma için gerekli plaklar laboratuarda 20 x 20 cm boyutlarındaki cam plaklar üzerine silikanın kaplanmasıyla hazırlandı. Bu tip preparatif amaçlı İTK plakların hazırlanmasında kullanılan silika adsorbenti iki tip silikadan oluşmaktaydı. Bu adsorbentler silika jel 60 GF<sub>254</sub> ve silika jel 60 G'den eşit miktarlarda alınarak distile su içerisinde bulamaç haline getirilerek hazırlandı. Hazırlanan plaklar etüvde 103° C'de 4 saat aktive edilerek kullanıma hazır hale getirildi. Bu plaklar üzerine kolondan alınan birleştirilmiş fraksiyonlar yüklendi, yükleme işlemi ince cam kapillerler vasıtası ile plak boyunca devamlı düz bir hat şeklinde uygulandı. Aynı şekilde ilk uygulamanın üzerinden 4 kez daha uygulama yapıldı, sonrasında analitik

çalışmalarda kullanılan mobil faz ile plakların yürütülmesi gerçekleştirildi. İşlem sonrasında çeker ocakta veya uygun bir ortamda plakların kurutulması sağlandı. Kuruyan plaklar U.V. lamba altında incelendi ve ayrılan tüm faraksiyonlar  $R_f$  değerlerine göre düz bir şekilde yürümüş olarak birbirlerinden ayrıldı. Ayrılan her bir bölge cam plak üzerinden ucu ince bir spatül yardımıyla kazınarak alındı, kazınan bölgedeki bileşik silika üzerine tutunmuş olarak ayrıştırıldı. Sonrasında ayrıştırılan maddenin alınması için bu kısım 24 saat boyunca metanol içerisinde bırakıldı, sonrasında siyah bant süzgeç kağıdından süzüldü. HNMR, CNMR, HPLC çalışmaları sonucunda yapı tayini çalışmaları yapıldı.

## 2.2.6. Yüksek Basınç Sıvı Kromatografisi

HPLC çalışmalarına ticari olarak satın alınan standart flavonoid bileşikleri için metot geliştirilmesi ile başlandı. Literatür bilgileri, bileşiklerin yapıları ve laboratuvar şartlarına göre isocratic şekilde geliştirilen metot kullanıldı. Solvent sistemi % 62 distile su içerisinde, % 5 asetik asit üzerinde %38 metanol ile hazırlandı. Çalışmada Dionex (Amerika Birleşik Devletleri) firmasından temin edilen C18 3 $\mu$ m 120 Å 150 x 4,6 mm ve C18 5 $\mu$ m 120 Å 250 x 4,6 mm boyut ve tipteki kolonlar kullanıldı. Kolona standart örneklerden 5 $\mu$ l yükleme yapıldı ve 0,7 ml/dak akış hızında 15 dakikalık ve 30 dakikalık iki ayrı programla çalışıldı. Standart flavonoidlerin kolondan geliş zamanına (retention time) göre ayırımı sağlamak için tüm standartların analizi yapıldı. Sonrasında direk ekstraksiyonlar veya kolon kromatografisi sonrasında alınan fraksiyonlar ya da preparatif olarak saflaştırılan kısımlar 0,25-0,40  $\mu$ m boyutundaki filitrelerden geçirilerek kolona yüklendi. Kolondaki ekstraktın ve ekstraktın aynı metot kullanılması suretiyle kolondan geliş

zamanlarına göre tayin edildi. Bu çalışmayı desteklemek üzere İTK plakları üzerindeki  $R_f$  değerleri ile beraber değerlendirilme yapıldı.

### 3. ARAŞTIRMA BULGULARI

#### 3.1. İnce Tabaka Kromatografisi Plakalarındaki *R<sub>f</sub>* Değeri ve Renklerine Göre Flavonoid bileşiklerinin Tayin Edilmesi

İnce tabaka kromatografisinde 25 *Alchemilla* ve bir adet *Potentilla* türüne ait 30 farklı örnekten elde edilen ekstreler, standart olarak kullanılan flavonoid aglikon ve glikozitleri le birlikte yürütülmüştür.

Çalışılan türlerin isimleri şu şekildedir: *A. ovitensis*, *A. erythropoda*, *A. sericata*, *A. hirtipedicellata*, *A. armeniaca*, *A. orthotricha*, *A. erzincanensis*, *A. cimilensis*, *A. mollis*, *A. orduensis*, *A. ikizdereensis*, *A. porrectidens*, *A. oriturcica*, *A. bursensis*, *A. persica*, *A. speciosa*, *A. hirsutiflora*, *A. holocycla*, *A. ciminensis*, *A. buseriana*, *A. trabzonica*, *A. tiryalensis*, *A. stricta* ve *A. barbatiflora*. *A. orduensis*, *A. stricta* ve *A. barbatiflora* türlerinde iki farklı lokaliteden toplanmış örneklerde tür içi varyasyon gözlenmiştir.

Çalışılan örneğe ait ekstre İTK plağı üzerinde yanılmayı önlemek için üç farklı noktadan koşturulmuştur.

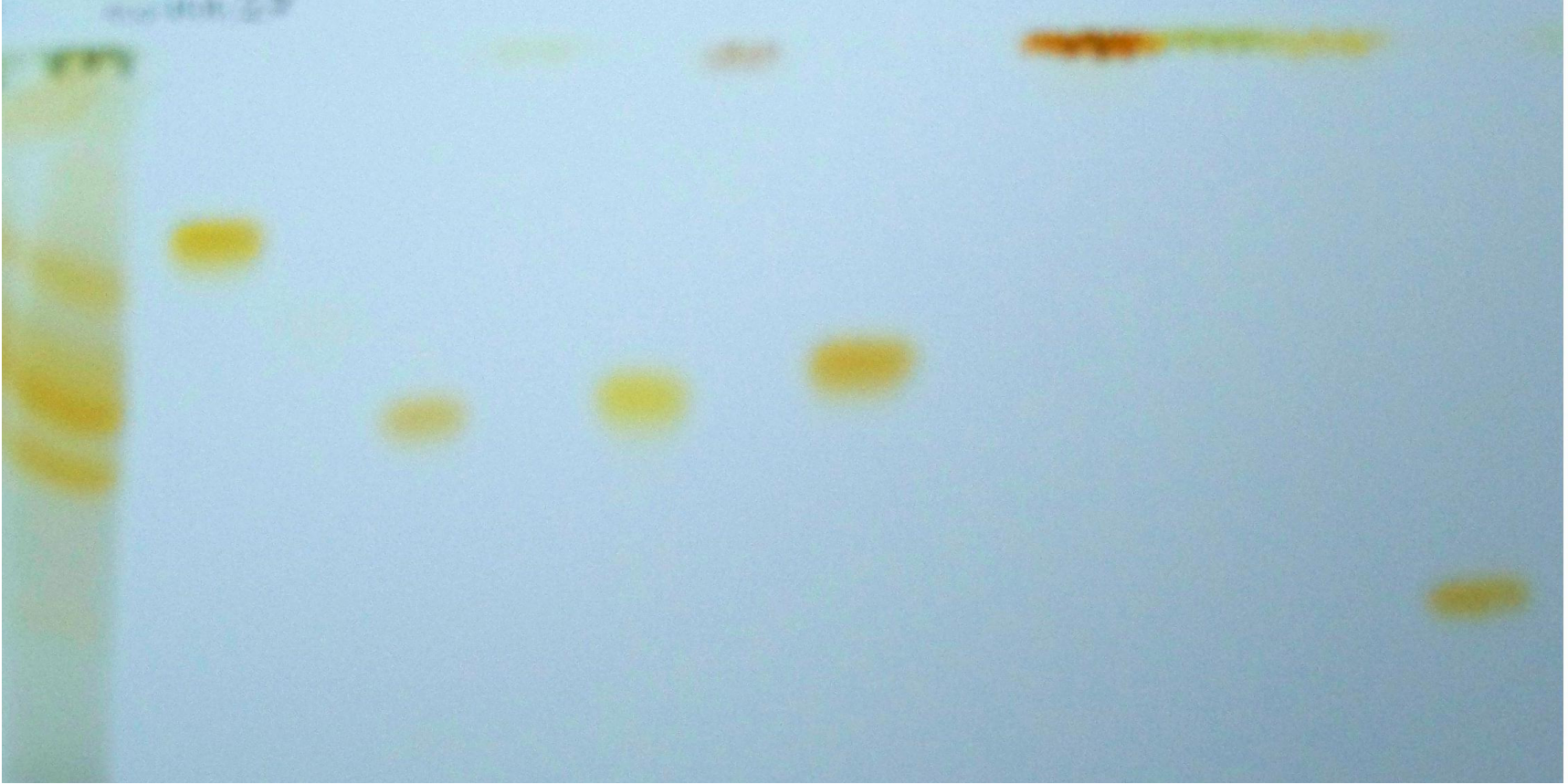
Şekil 3.1.-3.30.'de verilen resimlerde her bir çalışılan bitki örneğine ait İTK plağı ile 3 farklı fotoğraf çalışması yapıldı. Her bir İTK plağının önce flavonoidler için özel belirteç olan NP/PEG ile muamele edildiğinde güneş ışığında çekilen fotoğrafı, sonra karanlık odada U.V. 366 nm dalga boyunda çekilen fotoğrafı, son olarakta karanlık odada U.V. 366 nm dalga boyunda çekilmiş fotoğrafın bilgisayar ortamında renk değişimi sonucu elde edilmiş görüntüsü verilmiştir.

Aşağıdaki fotoğrafların herbirinin altında çalışılan *Alchemilla* ve *Potentilla* türü örnek olarak ifade edilmiştir. Yanlarında kısaltmalar ile verilenlerin her biri ticari olarak elde edilmiş flavonoid glikozit veya flavonoid aglikandır.

### **3.1.1. *A. oriturcica* türünde İTK plak sonucu**

*A. oriturcica* türünde hyperoside, rutin ve isoquercetin bulunmuştur. Şekil 3.1.- 3.3'de verilen fotoğraflarda standartlarla birlikte *R<sub>f</sub>* ve renk özelliklerine dayanarak flavonoid glikozitleri belirlenmiştir. Hyperoside flavonoidin *R<sub>f</sub>* değeri 0,65, rutin flavonoidin *R<sub>f</sub>* değeri 0,44 ve isoquercetin flavonoidin *R<sub>f</sub>* değeri 0,72, olarak bulunmuştur (Şekil 3.1- Şekil 3.3)





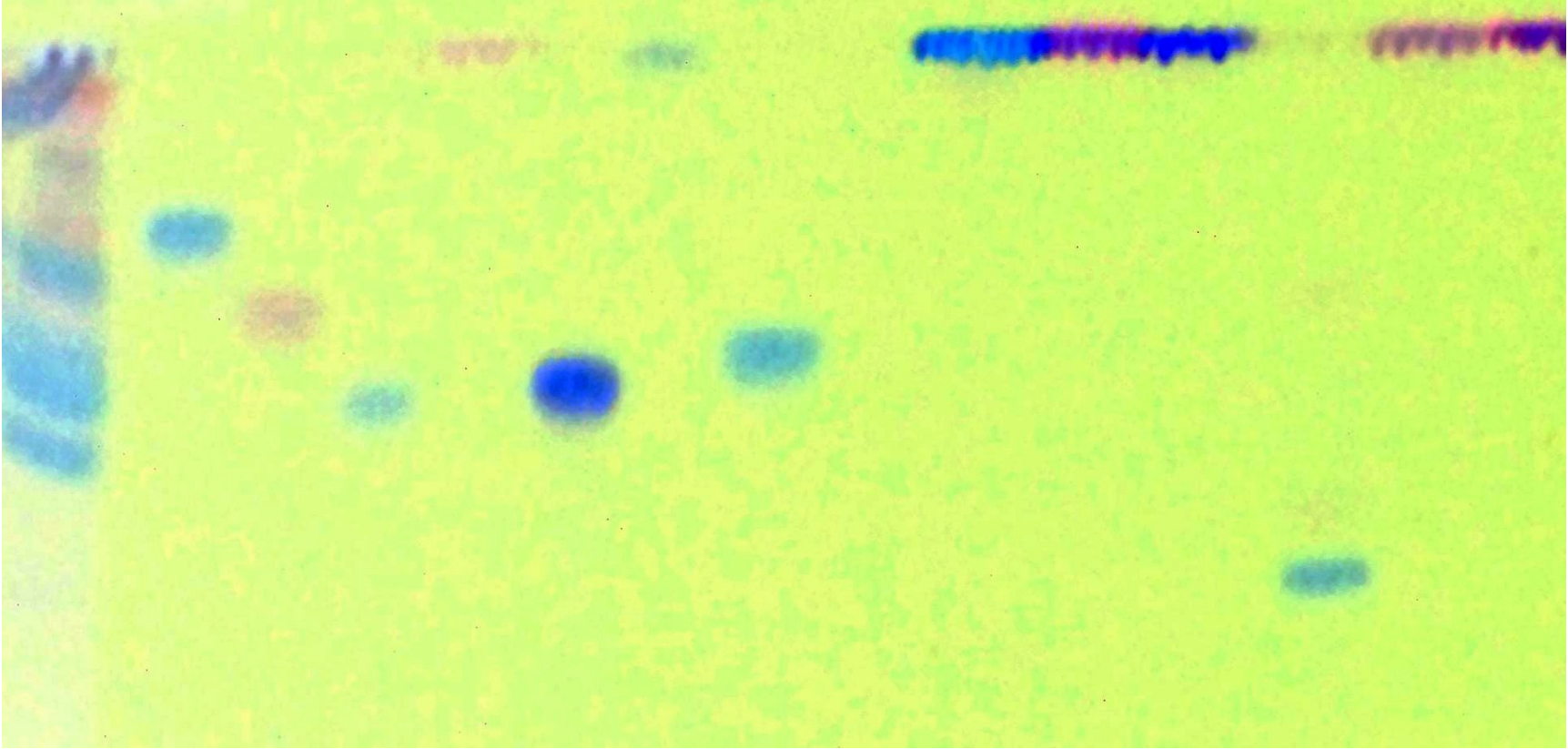
Örnek	Qci	Vit.	Hyp.	Nar.	Ori.	Myr.	İso.	Hes.	Qce.	Kam.	Lut.	Rut.
-------	-----	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------

**Şekil 3.1.** A. oriturcica türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında güneş ışığında alınan fotoğrafı.



Örnek	Qci	Vit.	Hyp.	Nar.	Ori.	Myr.	İso.	Hes.	Qce.	Kam	Lut.	Rut.	Api.	İrh..
-------	-----	------	------	------	------	------	------	------	------	-----	------	------	------	-------

**Şekil 3.2.** A. oriturcica türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında UV. 366 nm'de çekilen fotoğrafı.

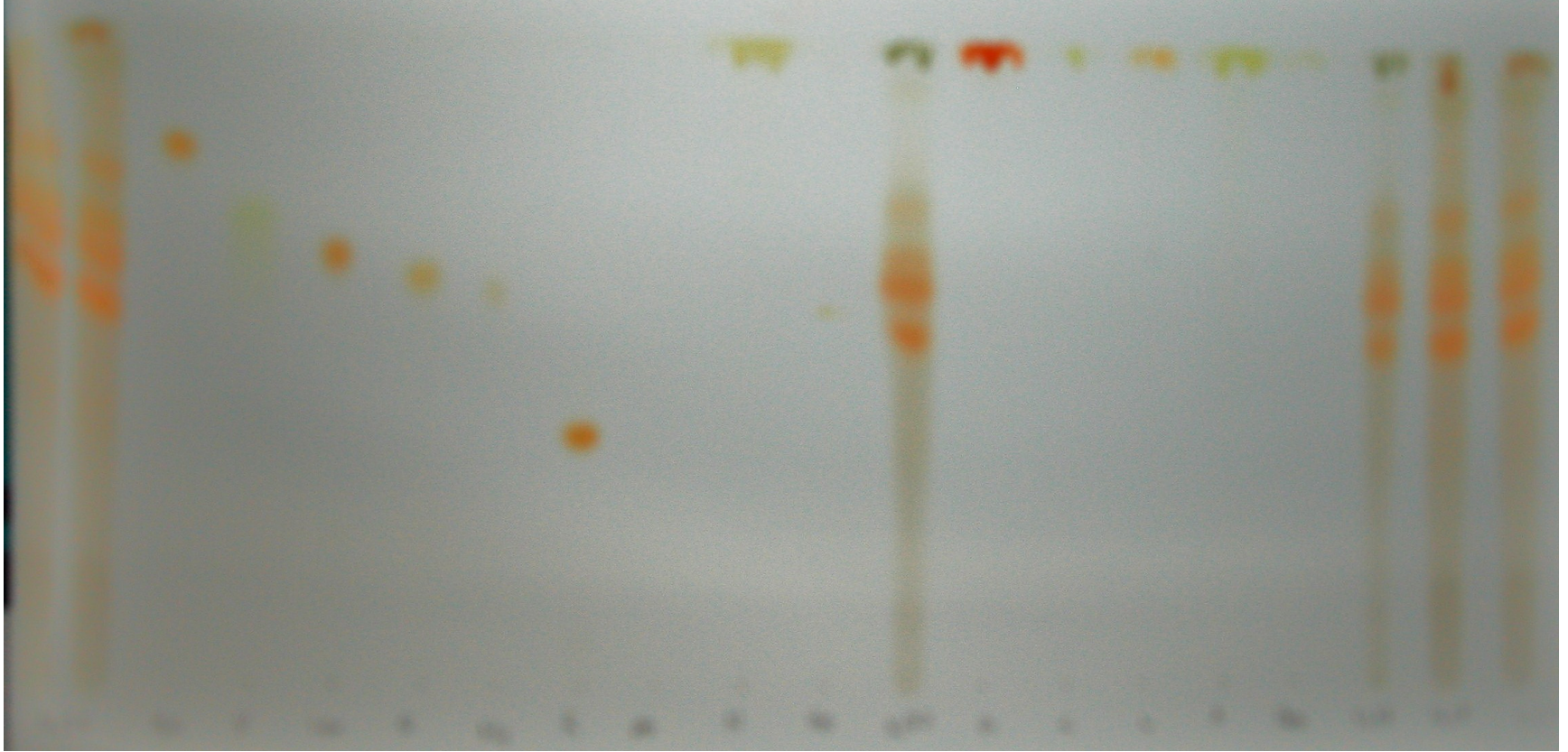


Örnek	Qci	Vit.	Hyp.	Nar.	Ori.	Myr.	İso.	Hes.	Qce.	Kam.	Lut.	Rut.	Api.	İrh..
-------	-----	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	-------

**Şekil 3.3.** A. oriturcica türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında UV. 366 nm'de çekilen fotoğrafının renk değişimi sonucu elde edilen görüntüsü.

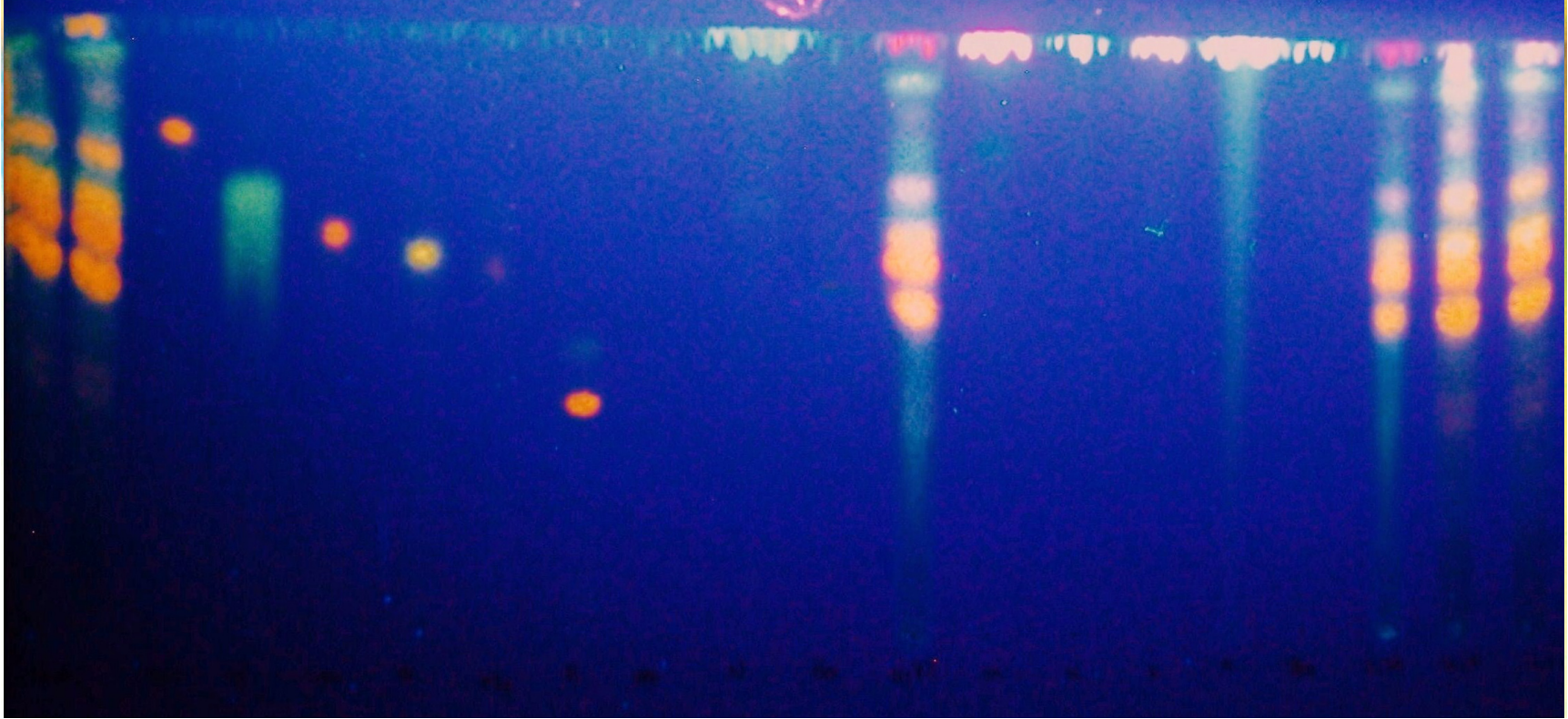
### 3.1.2. *A. hirtipedicellata* türünün İTK plak sonucu

*A. hirtipedicellata* türünde hyperoside, rutin, isoquercetin, quercitrin ve vitexin bulunmuştur. Şekil 3.4.-3.6'de verilen fotoğraflarda standartlarla birlikte *Rf* ve renk özelliklerine dayanarak flavonoid glikozitleri belirlenmiştir. Hyperoside flavonoidin *Rf* değeri 0,65, rutin flavonoidin *Rf* değeri 0,44, isoquercetin flavonoidin *Rf* değeri 0,72, quercitrin flavonoidin *Rf* değeri 0,84 ve vitexin flavonoidin *Rf* değeri 0,77 olarak bulunmuştur (Şekil 3.4.- Şekil 3.5.).



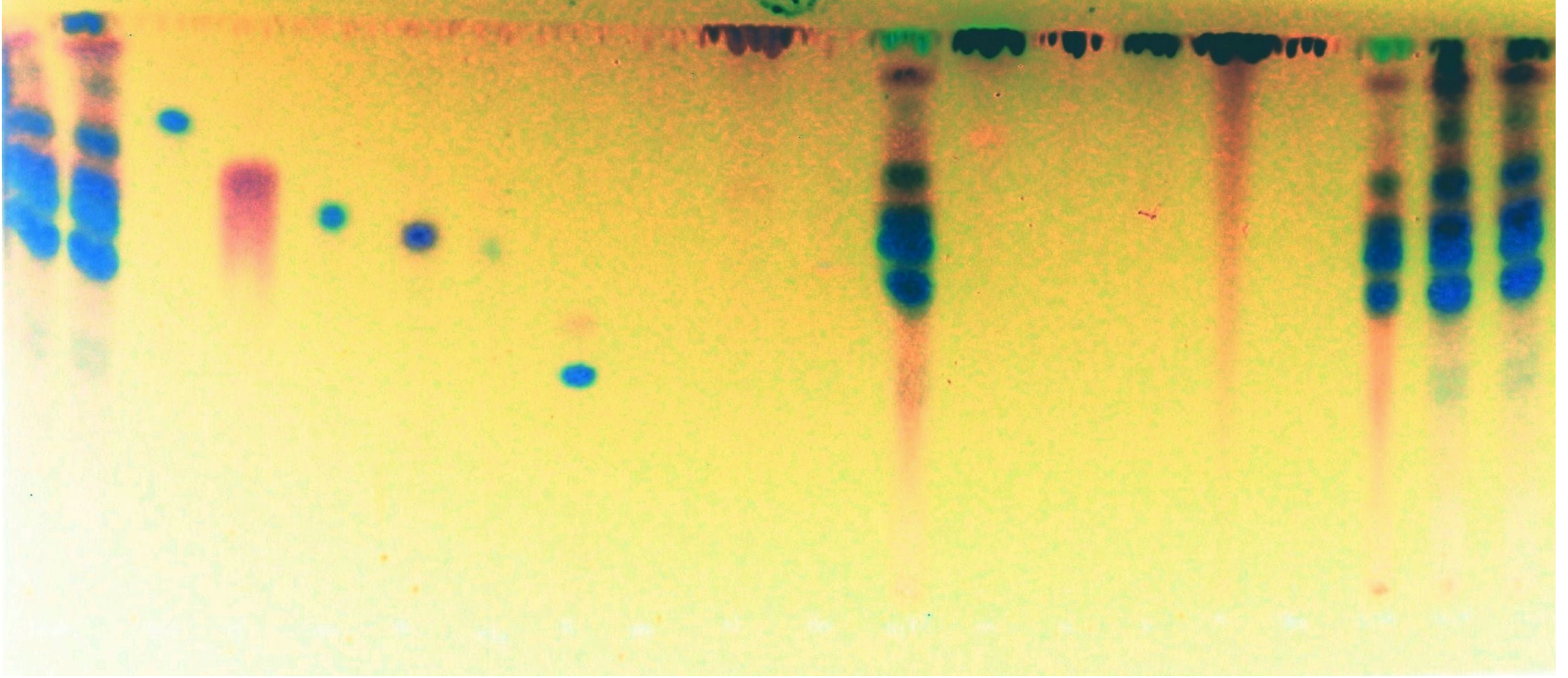
Örnek	Qci	Vit.	İso.	Ori.	Hyp.	Rut.	Myr.	Nar.	Hes.	Örnek	Quer.	Kam.	Api.	Lut.	Isor.	Örnek
-------	-----	------	------	------	------	------	------	------	------	-------	-------	------	------	------	-------	-------

Şekil 3.4. *A. hirtipedicellata* türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında güneş ışığında alınan fotoğrafı.



Örnek	Qci	Vit.	İso.	Ori.	Hyp.	Rut.	Myr.	Nar.	Hes.	Örnek	Quer.	Kam.	Api.	Isor.	Örnek
-------	-----	------	------	------	------	------	------	------	------	-------	-------	------	------	-------	-------

Şekil 3.5. *A. hirtpedicellata* türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında UV. 366 nm'de çekilen fotoğrafı.



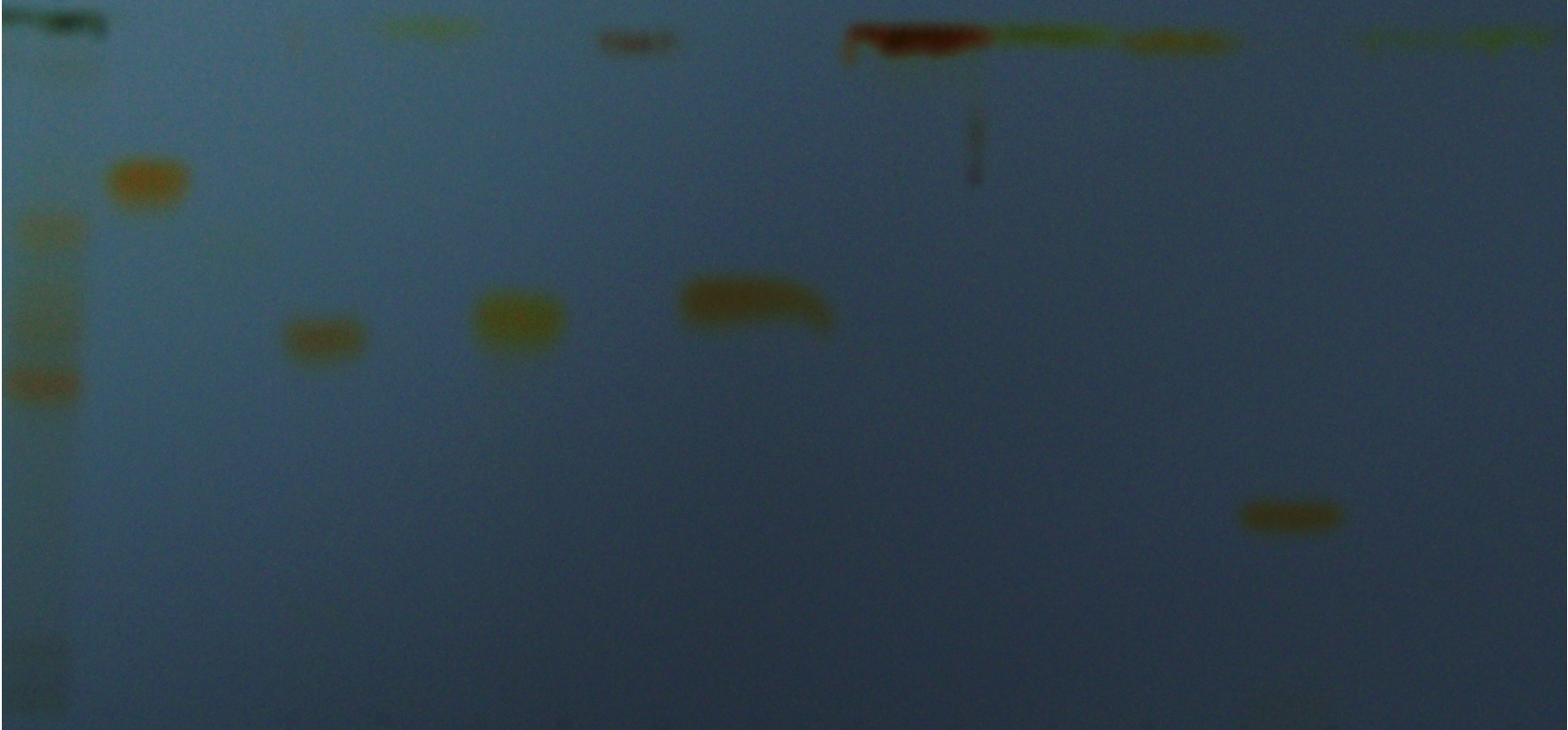
Örnek	Qci	Vit.	İso.	Ori.	Hy.	Rut	My.	Nar.	Hes.	örnek	Quer	Kam	Lut.	Api.	Isor.	Örnek
-------	-----	------	------	------	-----	-----	-----	------	------	-------	------	-----	------	------	-------	-------

**Şekil 3.6.** A. hirtipedicellata türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında UV. 366 nm'de çekilen fotoğrafının renk değişimi sonucu elde edilen görüntüsü.

### 3.1.3. *A. armeniaca* türünün İTK plak sonucu

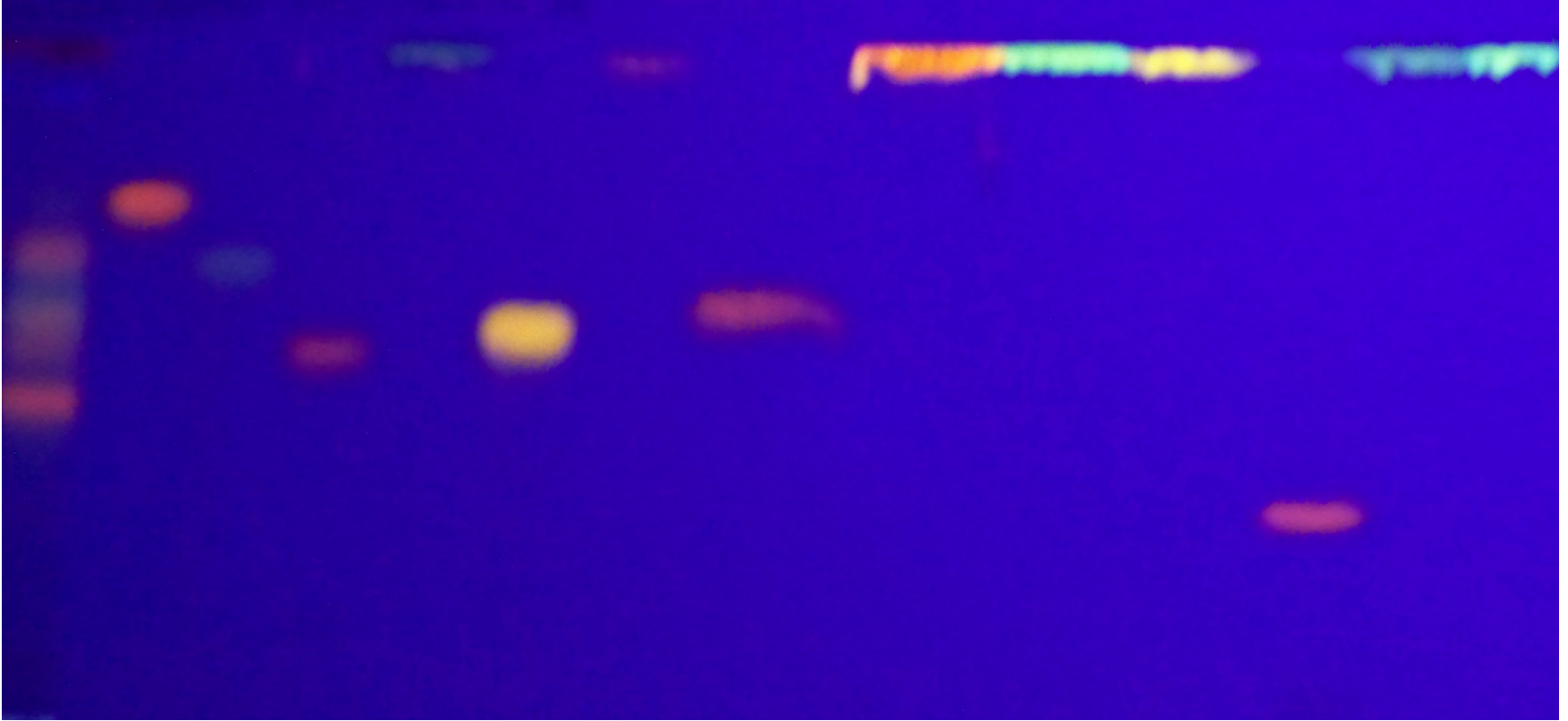
*A. armeniaca* türünde hyperoside, vitexin ve orientin bulunmuştur. Şekil 3.7.-3.9'de verilen fotoğraflarda standartlarla birlikte *Rf* ve renk özelliklerine dayanarak flavonoid glikozitleri belirlenmiştir. Hyperoside flavonoidin *Rf* değeri 0,65, vitexin flavonoidin *Rf* değeri 0,77 ve orientin flavonoidin *Rf* değeri 0,70 olarak bulunmuştur (Şekil 3.7- Şekil 3.9).





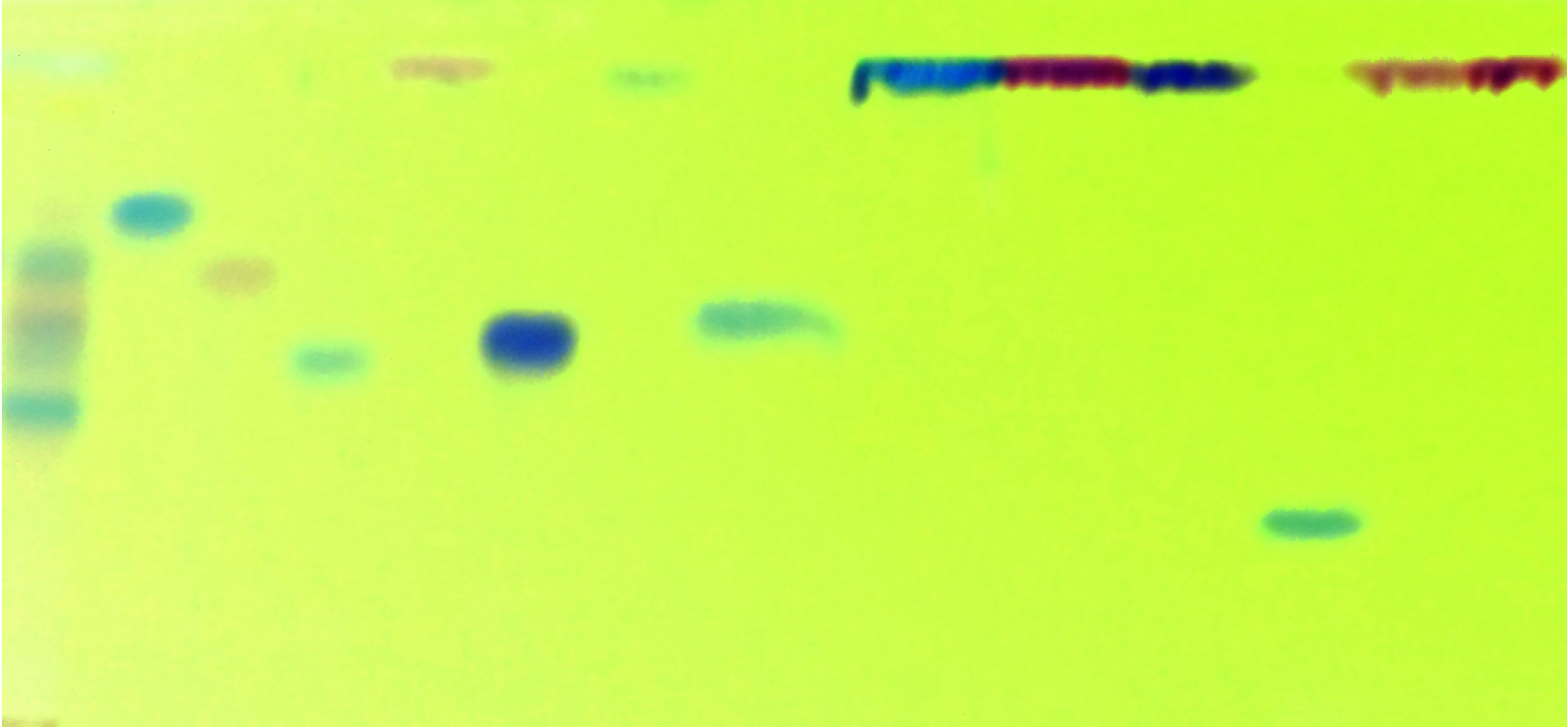
Örnek	Qci	Vit.	Hyp.	Nar.	Ori.	Myr.	İso.	Hes.	Qce.	Kam.	Lut.	Rut.	Api.	Isor.
-------	-----	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	-------

**Şekil 3.7.** *A. armeniaca* türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında güneş ışığında alınan fotoğrafı.



Örnek	Qci	Vit.	Hyp.	Nar.	Ori.	Myr.	İso.	Hes.	Qce.	Kam.	Lut.	Rut.	Api.	Isor.
-------	-----	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	-------

**Şekil 3.8.** *A. armeniaca* türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında UV. 366 nm’de çekilen fotoğrafı.

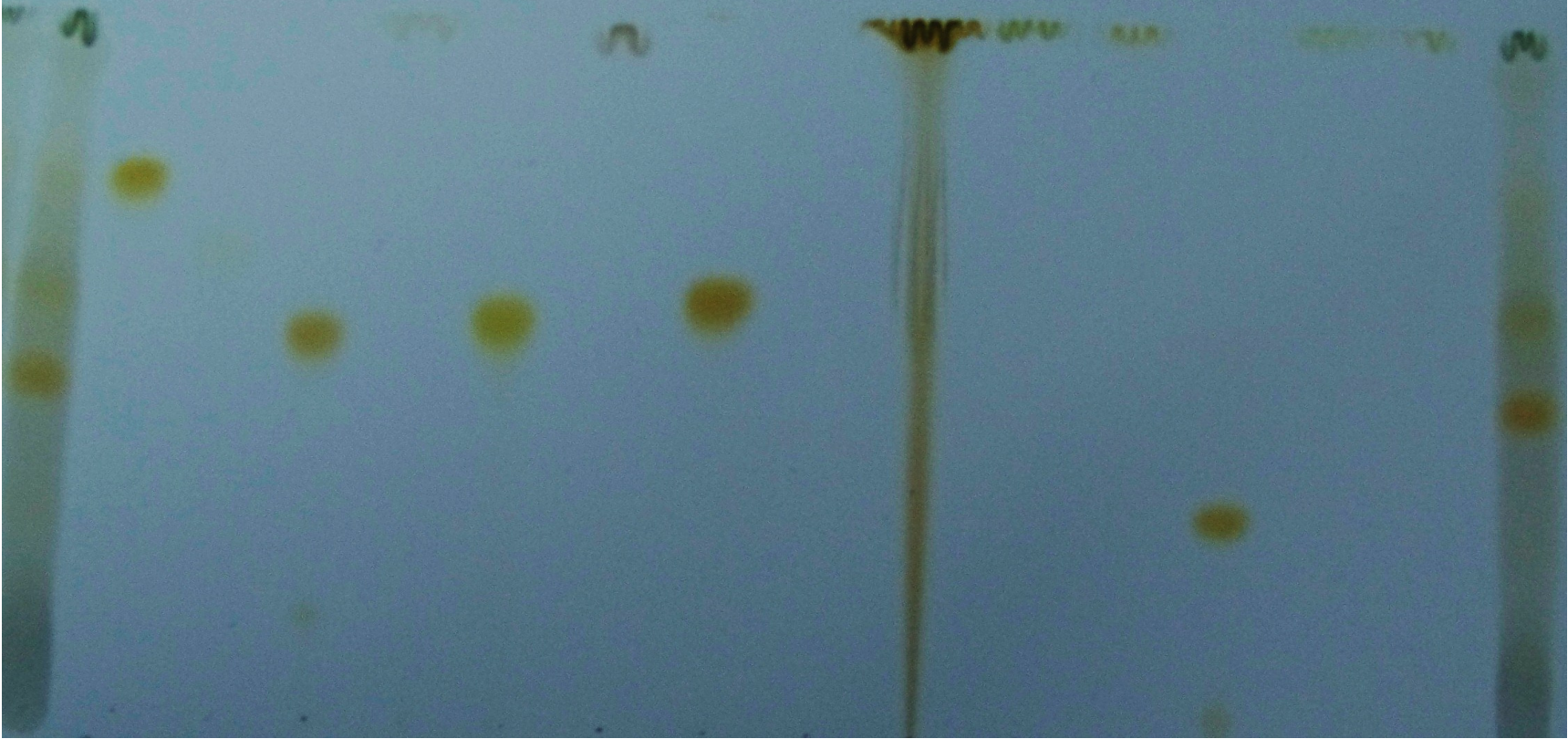


Örnekle	Qci	Vit.	Hyp.	Nar.	Ori.	Myr.	İso.	Hes.	Qce.	Kam.	Lut.	Rut.	Api.	Isor.
---------	-----	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	-------

**Şekil 3.9.** *A. armeniaca* türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında UV. 366 nm'de çekilen fotoğrafının renk değişimi sonucu elde edilen görüntüsü.

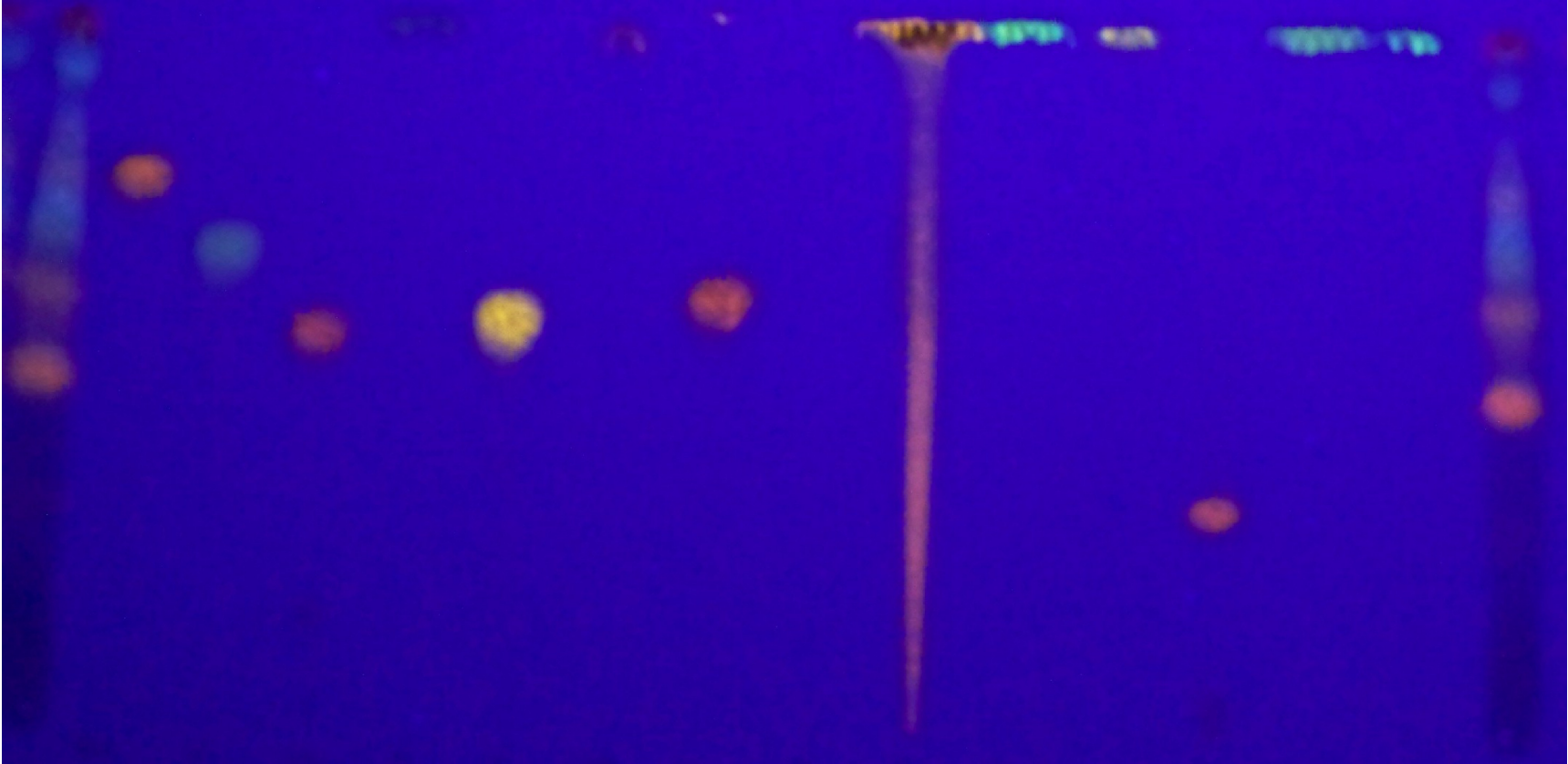
#### **3.1.4. *A. stricta* (1) türünün İTK plak sonucu**

*A. stricta* türünün (1) numaralı örneğinde quercitrin, vitexin, isoquercitrin, rutin bulunmuştur. Şekil 3.10-3.12’de verilen fotoğraflarda standartlarla birlikte  $R_f$  ve renk özelliklerine dayanarak flavonoid glikozitleri belirlenmiştir. Rutin flavonoidin  $R_f$  değeri 0,44, isoquercetin flavonoidin  $R_f$  değeri 0,72, quercitrin flavonoidin  $R_f$  değeri 0,84 ve vitexin flavonoidin  $R_f$  değeri 0,77 olarak bulunmuştur (Şekil 3.10- Şekil 3.12).



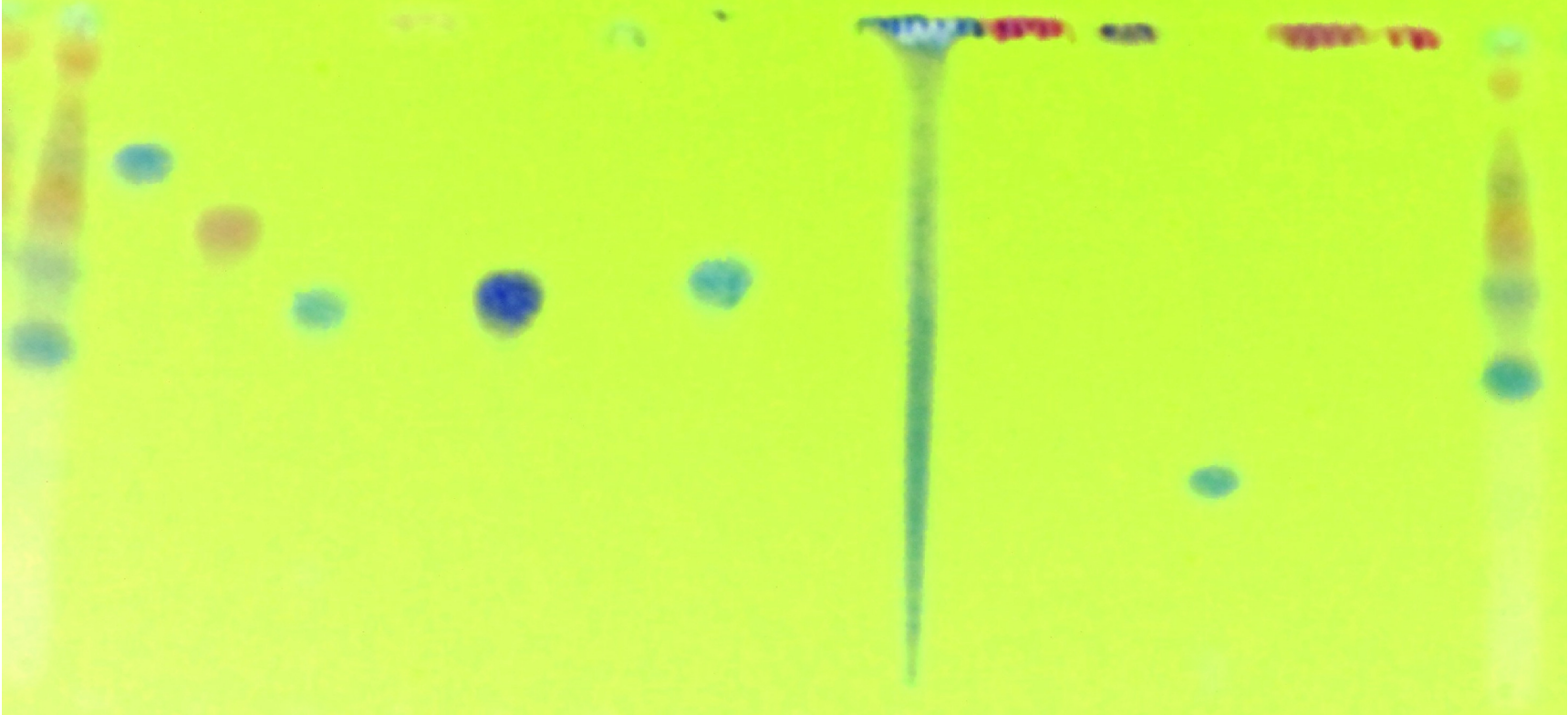
Örnek	Qci	Vit.	Hyp.	Nar.	Ori.	Myr.	İso.	Hes.	Qce.	Kam.	Lut.	Rut.	Api.	Isor.	Örnek
-------	-----	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	-------	-------

**Şekil 3.10.** *A. stricta* türüne ait (1) numaralı örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında güneş ışığında alınan fotoğrafı.



Örnek	Qci	Vit.	Hyp.	Nar.	Ori.	Myr.	İso.	Hes.	Qce.	Kam.	Lut.	Rut.	Api.	Isor.	Örnek
-------	-----	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	-------	-------

**Şekil 3.11.** *A. stricta* türüne ait (1) numaralı örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında UV. 366 nm’de çekilen fotoğrafı.



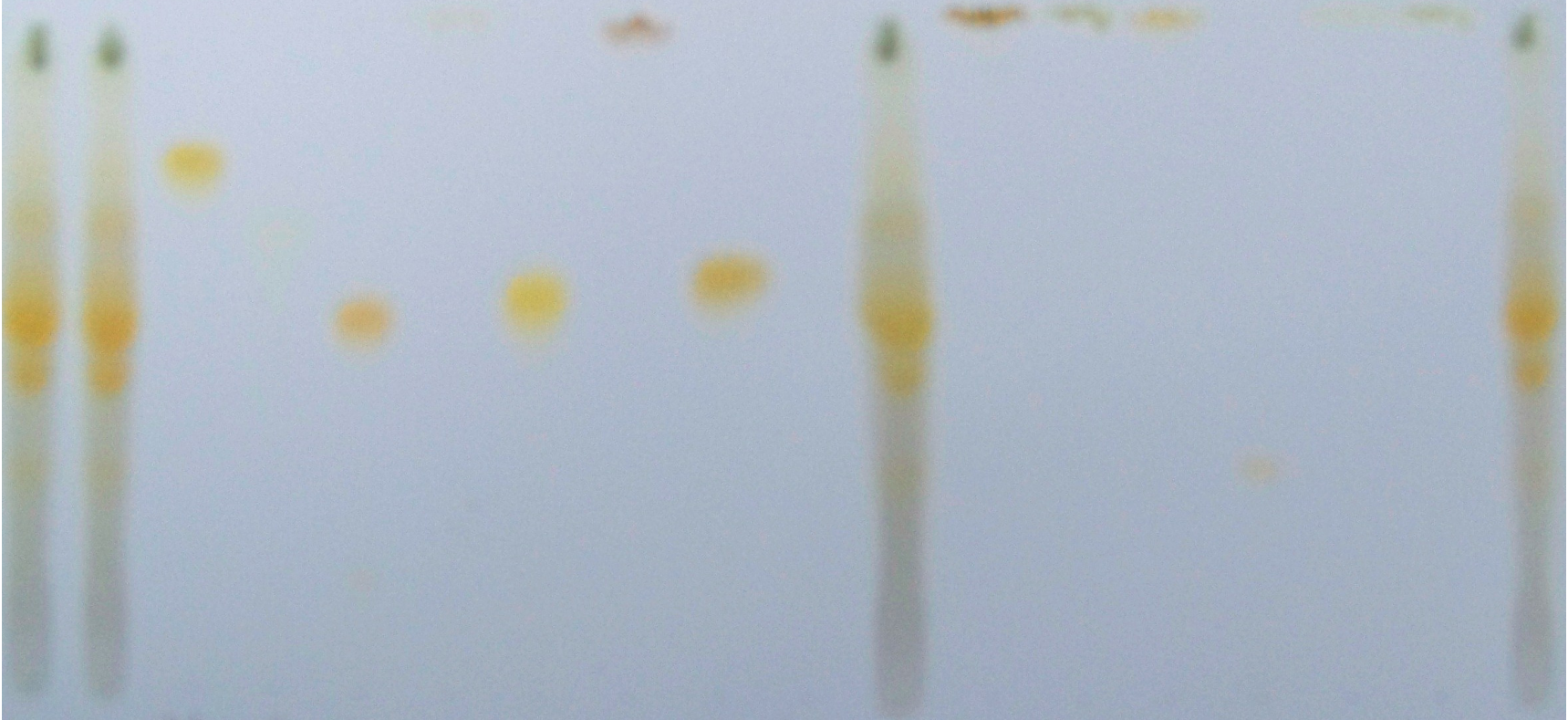
Örnek	Qci	Vit.	Hyp.	Nar.	Ori.	Myr.	İso.	Hes.	Qce.	Kam.	Lut.	Rut.	Api.	Isor.	Örnek
-------	-----	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	-------	-------

**Şekil 3.12.** *A. stricta* türüne ait (1) numaralı örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında UV. 366 nm'de çekilen fotoğrafının renk değişimi sonucu elde edilen görüntüsü.

### 3.1.5. *A. barbatiflora* (1) türünün İTK plak sonucu

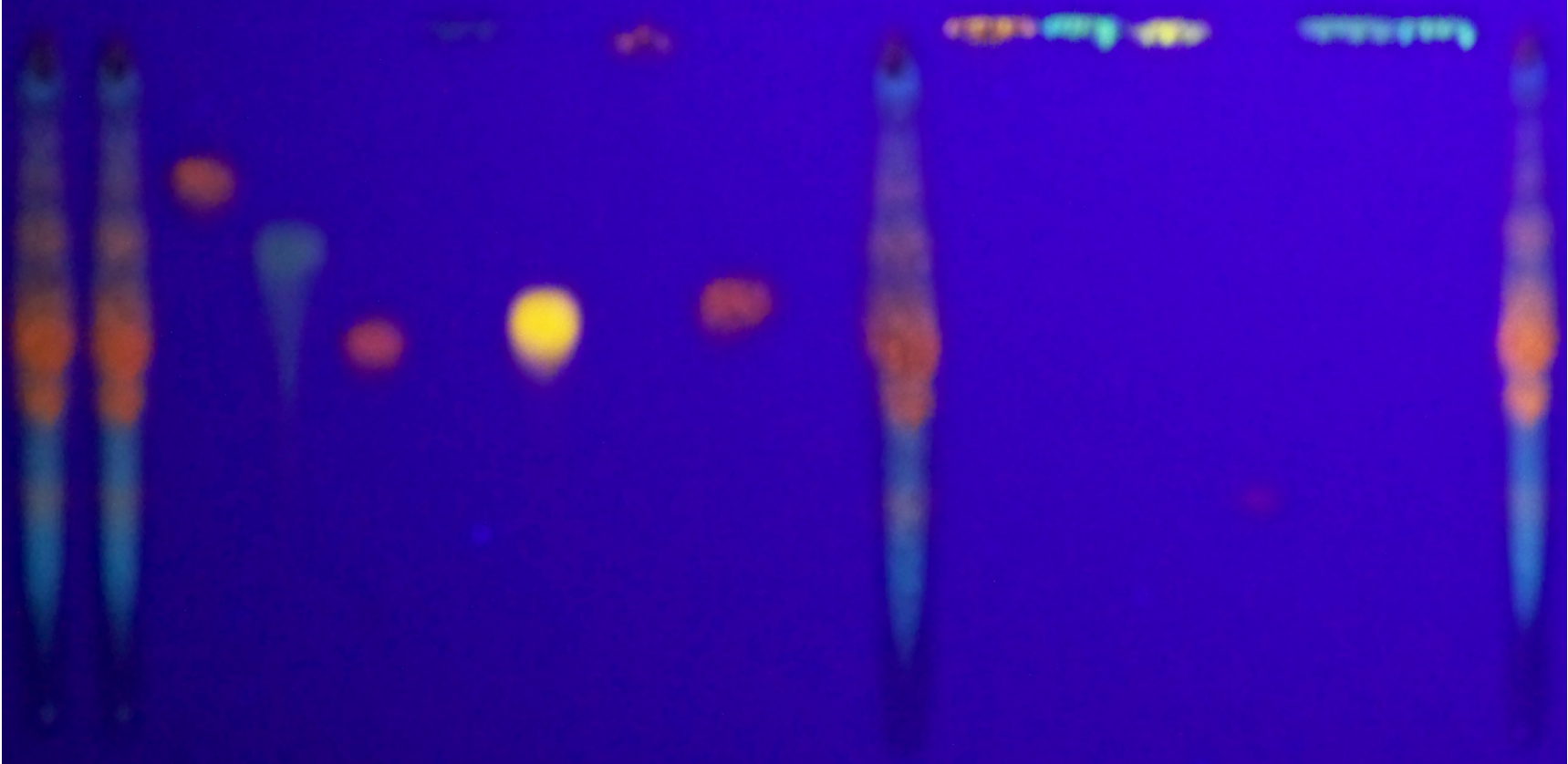
*A. barbatiflora* türünün (1) numaralı örneğinde quercitrin, vitexin, isoquercitrin, rutin, orientin ve hyperoside bulunmuştur. Şekil 3.13.-3.15’de verilen fotoğraflarda standartlarla birlikte *Rf* ve renk özelliklerine dayanarak flavonoid glikozitleri belirlenmiştir. Rutin flavonoidin *Rf* değeri 0,44, isoquercetin flavonoidin *Rf* değeri 0,72, quercitrin flavonoidin *Rf* değeri 0,84, vitexin flavonoidin *Rf* değeri 0,77, orientin flavonoidin *Rf* değeri 0,70 ve hyperoside flavonoidin *Rf* değeri 0,65 olarak bulunmuştur (Şekil 3.13.- Şekil 3.15.).





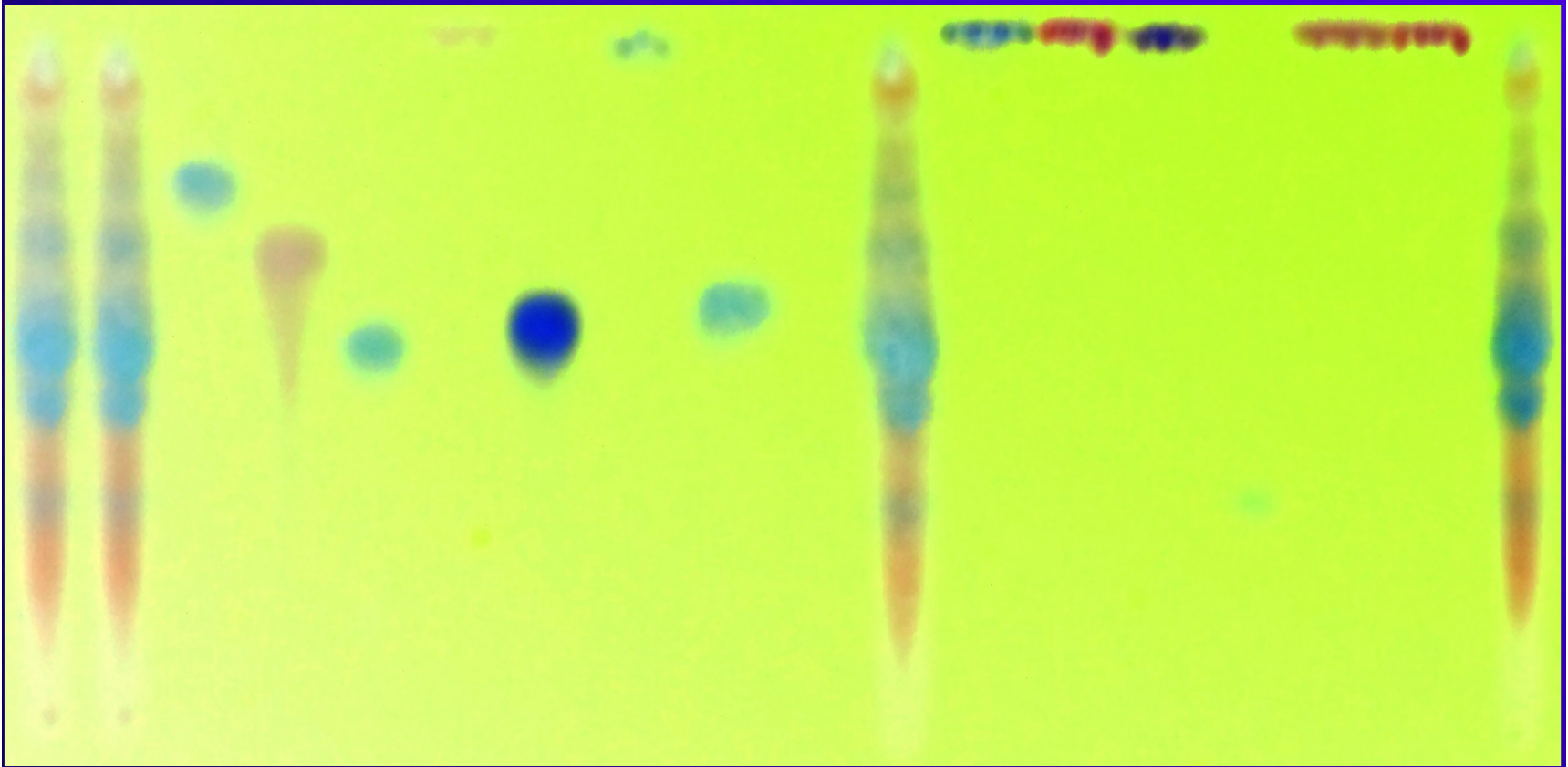
Örnek	Qci	Vit.	Hyp.	Nar	Ori.	Myr.	İso.	Hes	Örnek	Qce.	Kam	Lut	Rut.	Api.	Isor.	Örnek
-------	-----	------	------	-----	------	------	------	-----	-------	------	-----	-----	------	------	-------	-------

**Şekil 3.13.** *A. barbatiflora* türüne ait (1) numaralı örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında güneş ışığında alınan fotoğrafı.



ÖrneK	Qci	Vit.	Hyp.	Nar	Ori.	Myr.	İso.	Hes	ÖrneK	Qce.	Kam	Lut	Rut.	Api.	Isor.	ÖrneK
-------	-----	------	------	-----	------	------	------	-----	-------	------	-----	-----	------	------	-------	-------

**Şekil 3.14.** *A. barbatiflora* türüne ait (1) numaralı örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında UV. 366 nm'de çekilen fotoğrafı.

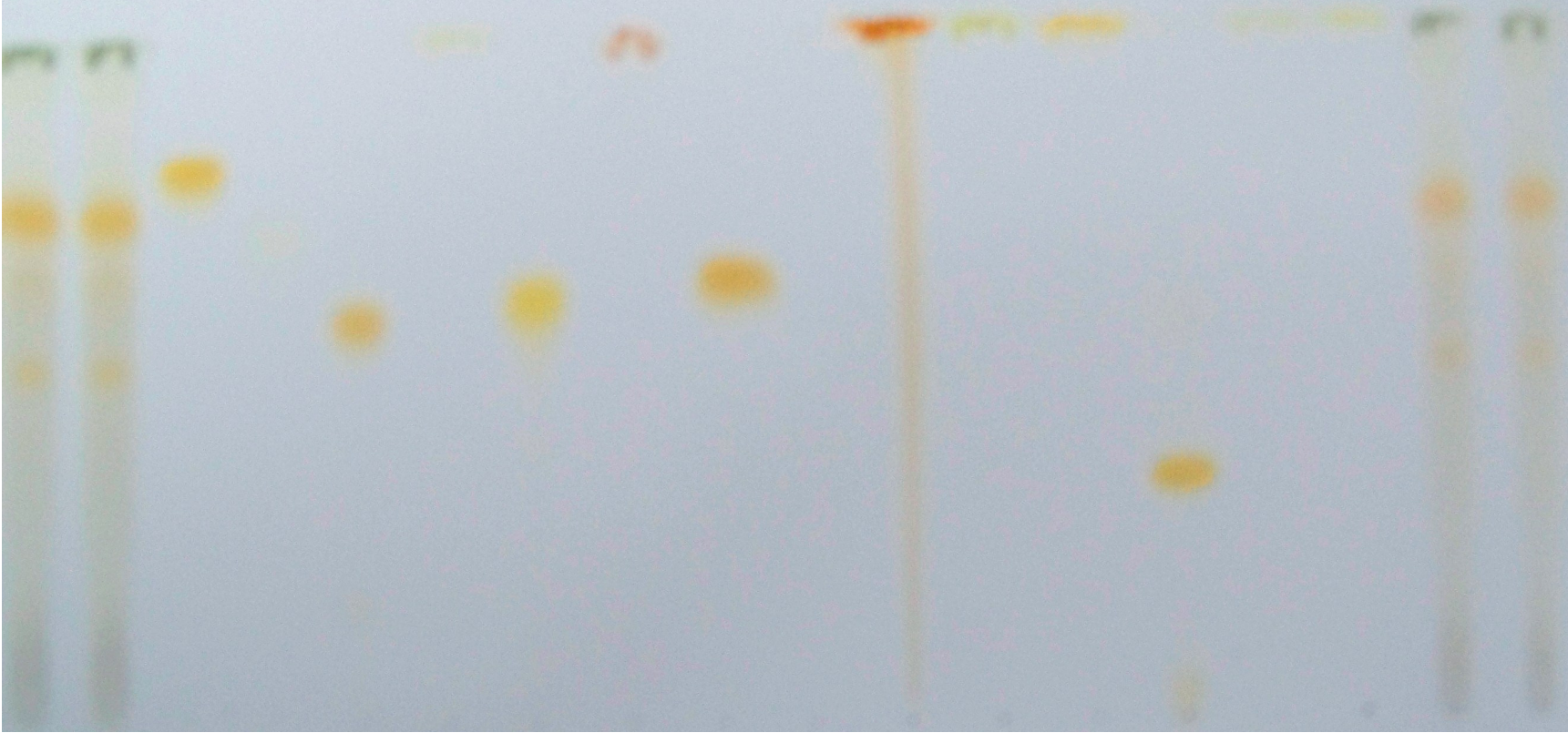


Örnekle	Qci	Vit.	Hyp.	Nar	Ori.	Myr.	İso.	Hes	Örnekle	Qce.	Kam	Lut	Rut.	Api.	Isor.	Örnekle
---------	-----	------	------	-----	------	------	------	-----	---------	------	-----	-----	------	------	-------	---------

**Şekil 3.15.** *A. barbatiflora* türüne ait (1) numaralı örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında UV. 366 nm'de çekilen fotoğrafının renk değişimi sonucu elde edilen görüntüsü.

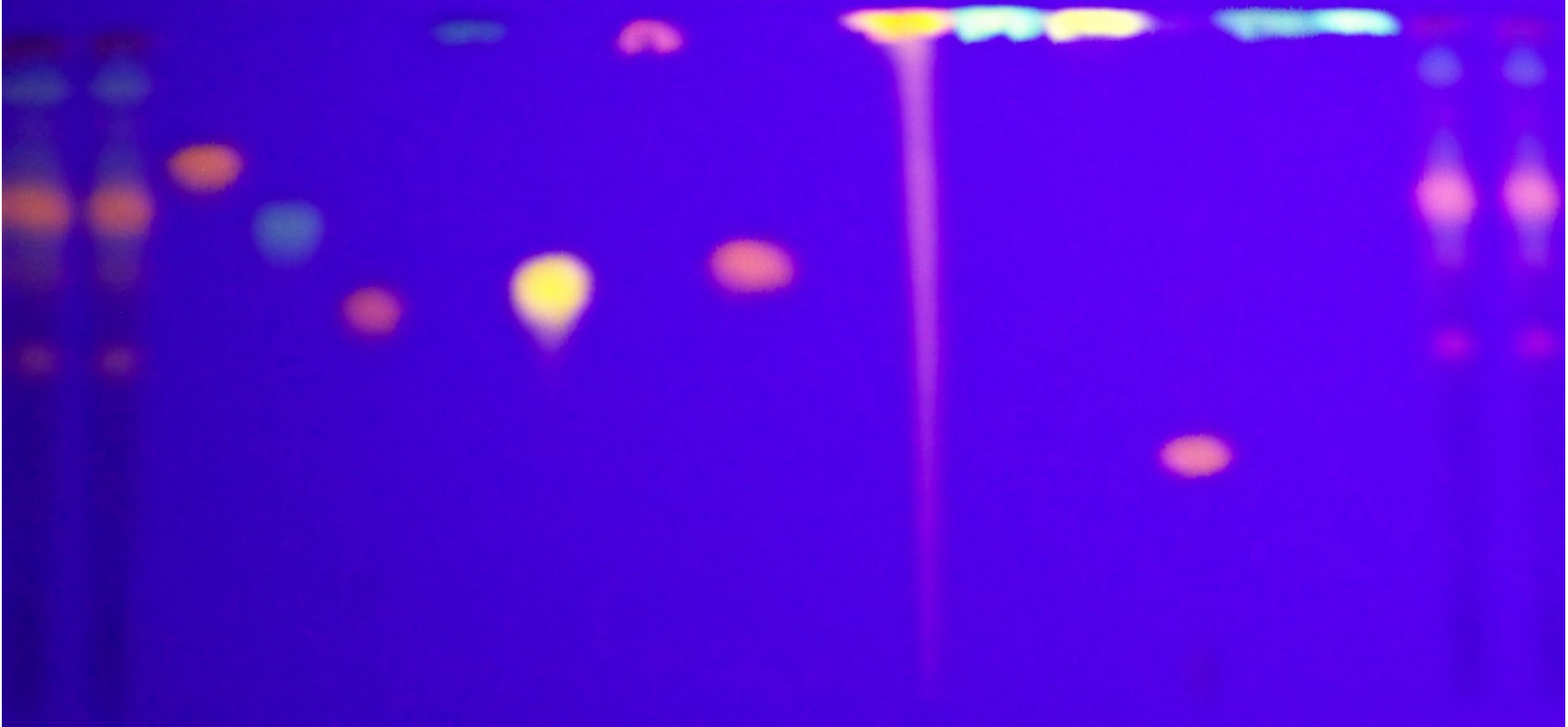
### 3.1.6. *A. orthotricha* türünün İTK plak sonucu

*A. orthotricha* türünde vitexin ve isoquercitrin bulunmuştur. Şekil 3.16.-3.18'de verilen fotoğraflarda standartlarla birlikte *R<sub>f</sub>* ve renk özelliklerine dayanarak flavonoid glikozitleri belirlenmiştir. Isoquercetin flavonoidin *R<sub>f</sub>* değeri 0,72 ve vitexin flavonoidin *R<sub>f</sub>* değeri 0,77 olarak bulunmuştur (Şekil 3.16 - Şekil 3.18).



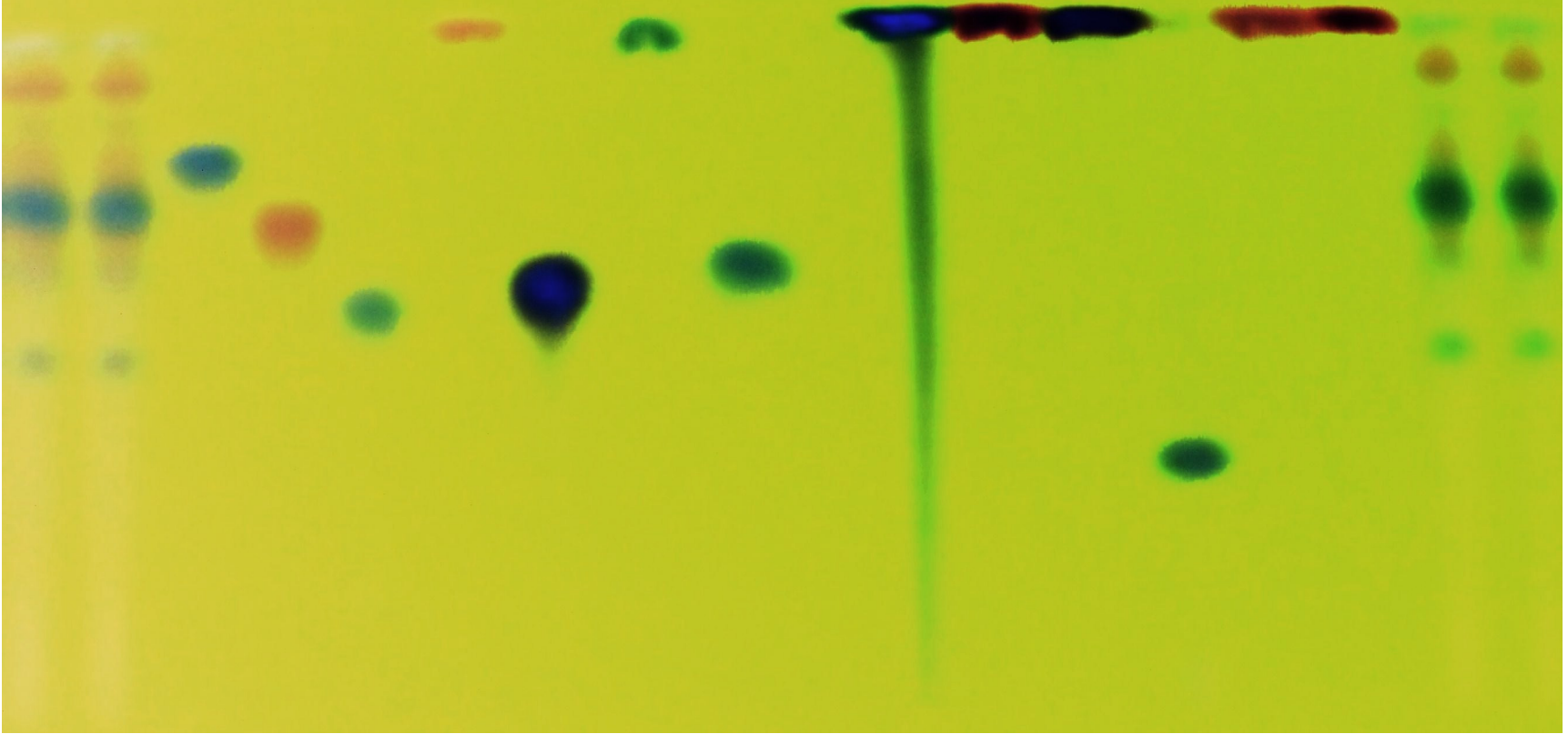
Örnek	Qci	Vit.	Hyp.	Nar.	Ori.	Myr.	İso.	Hes.	Qce.	Kam	Lut.	Rut.	Api.	Isor.	Örnek
-------	-----	------	------	------	------	------	------	------	------	-----	------	------	------	-------	-------

**Şekil 3.16.** *A. orthotricha* türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında güneş ışığında alınan fotoğrafı.



Örnek	Qci	Vit.	Hyp.	Nar.	Ori.	Myr.	İso.	Hes.	Qce.	Kam	Lut.	Rut.	Api.	Isor.	Örnek
-------	-----	------	------	------	------	------	------	------	------	-----	------	------	------	-------	-------

Şekil 3.17. *A. orthotricha* türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında UV. 366 nm’de çekilen fotoğrafı.



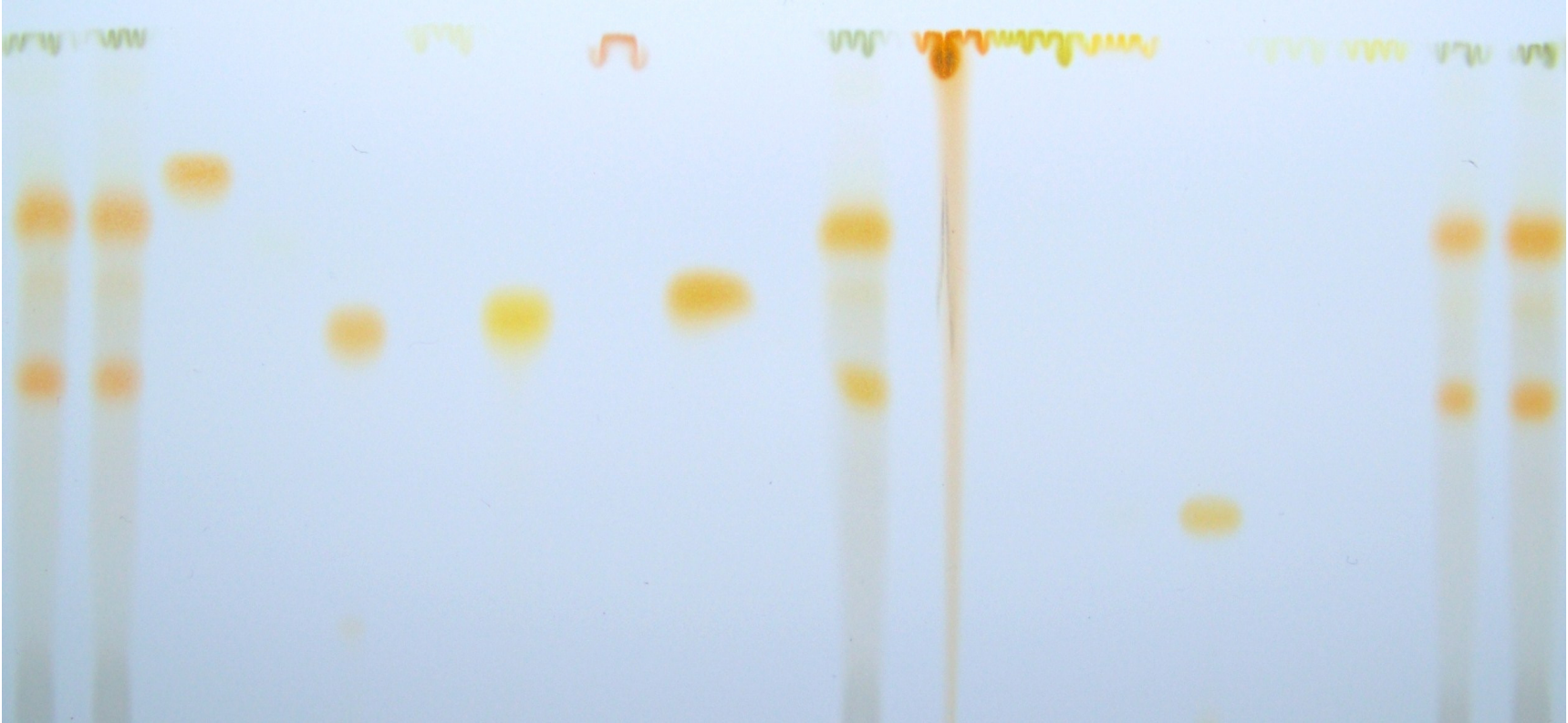
Örnek	Qci	Vit.	Hyp.	Nar.	Ori.	Myr.	İso.	Hes.	Qce.	Kam	Lut.	Rut.	Api.	Isor.	Örnek
-------	-----	------	------	------	------	------	------	------	------	-----	------	------	------	-------	-------

**Şekil 3.18.** *A. orthotricha* türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında UV. 366 nm’de çekilen fotoğrafının renk değişimi sonucu elde edilen görüntüsü.

### 3.1.7. *A. erzincanensis* türünün İTK plak sonucu

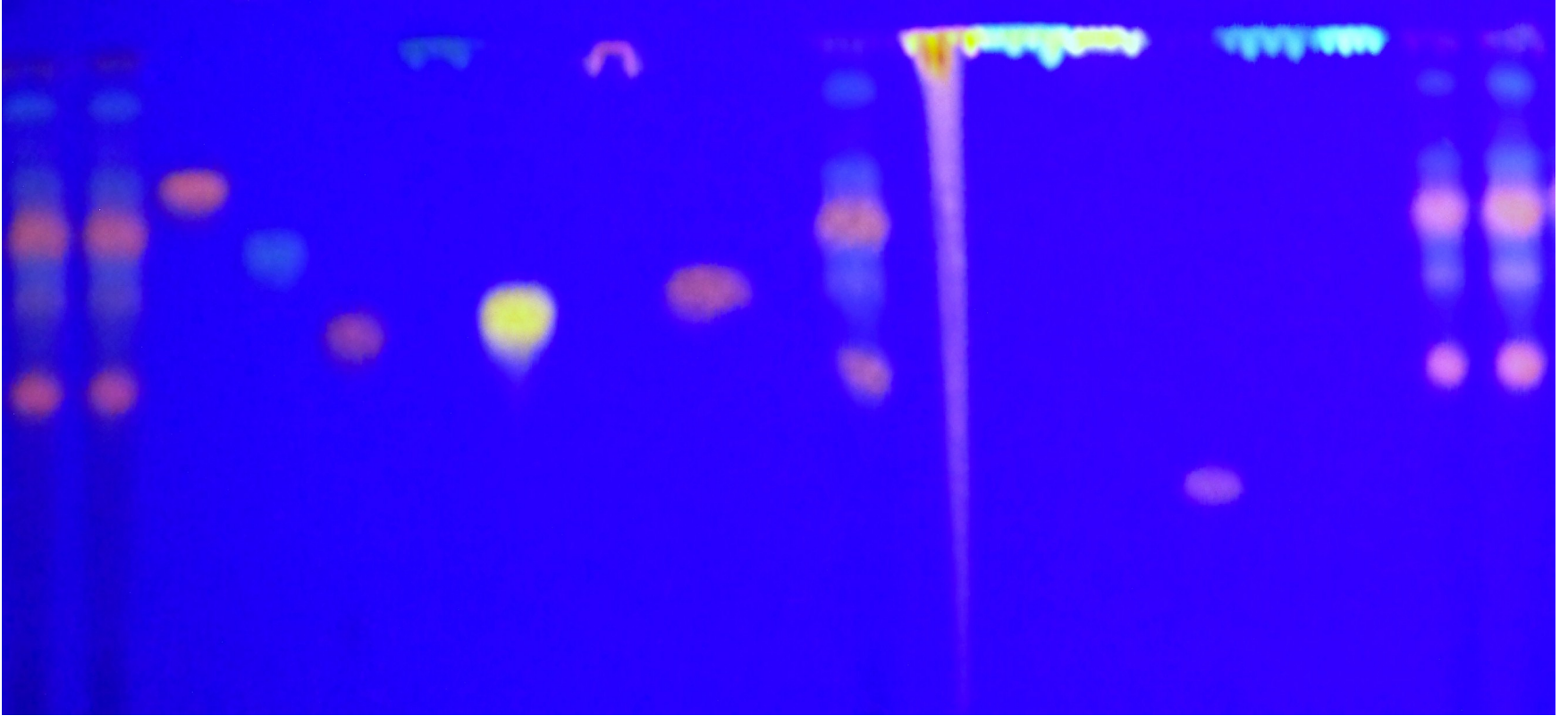
*A. erzincanensis* türünde isoquercetin ve vitexin bulunmuştur. Şekil 3.19-3.21’de verilen fotoğraflarda standartlarla birlikte *R<sub>f</sub>* ve renk özelliklerine dayanarak flavonoid glikozitleri belirlenmiştir. Isoquercetin flavonoidin *R<sub>f</sub>* değeri 0,72 ve vitexin flavonoidin *R<sub>f</sub>* değeri 0,77 olarak bulunmuştur (Şekil 3.19-Şekil 3.21).





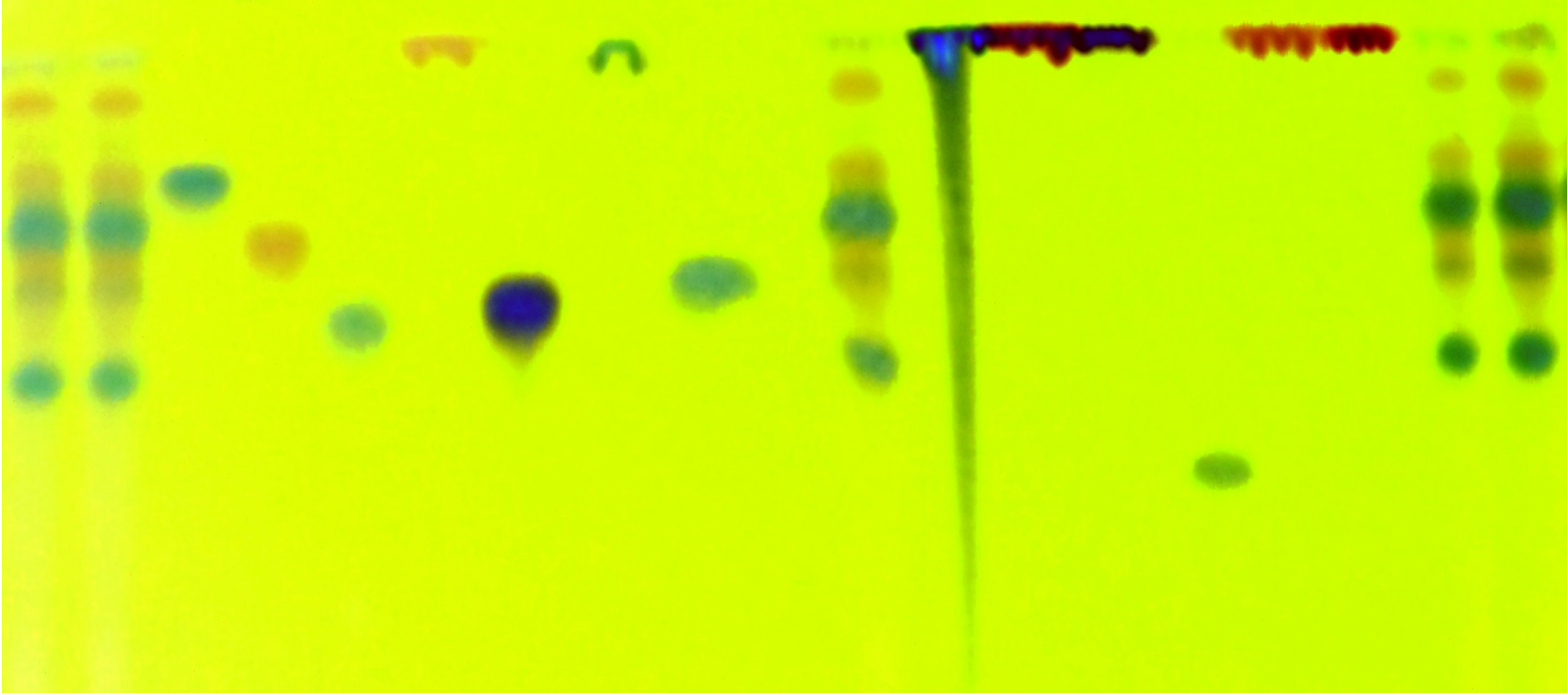
Örnek	Qci	Vit.	Hyp.	Nar	Ori.	Myr.	İso	Hes	Örnek	Qce.	Kam	Lut	Rut.	Api.	Isor	Örnek
-------	-----	------	------	-----	------	------	-----	-----	-------	------	-----	-----	------	------	------	-------

**Şekil 3.19.** *A. erzincanensis* türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında güneş ışığında alınan fotoğrafı.



Örnek	Qci	Vit.	Hyp.	Nar	Ori.	Myr.	İso.	Hes	Örnek	Qce.	Kam	Lut	Rut.	Api.	İrh	Örnek
-------	-----	------	------	-----	------	------	------	-----	-------	------	-----	-----	------	------	-----	-------

**Şekil 3.20.** *A. erzincanensis* türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında UV. 366 nm'de çekilen fotoğrafı.



Örnek	Qci	Vit.	Hyp.	Nar	Ori.	Myr.	İso.	Hes	Örnek	Qce.	Kam	Lut	Rut.	Api.	Isor	Örnek
-------	-----	------	------	-----	------	------	------	-----	-------	------	-----	-----	------	------	------	-------

**Şekil 3.21.** *A. erzincanensis* türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında UV. 366 nm'de çekilen fotoğrafının renk değişimi sonucu elde edilen görüntüsü.

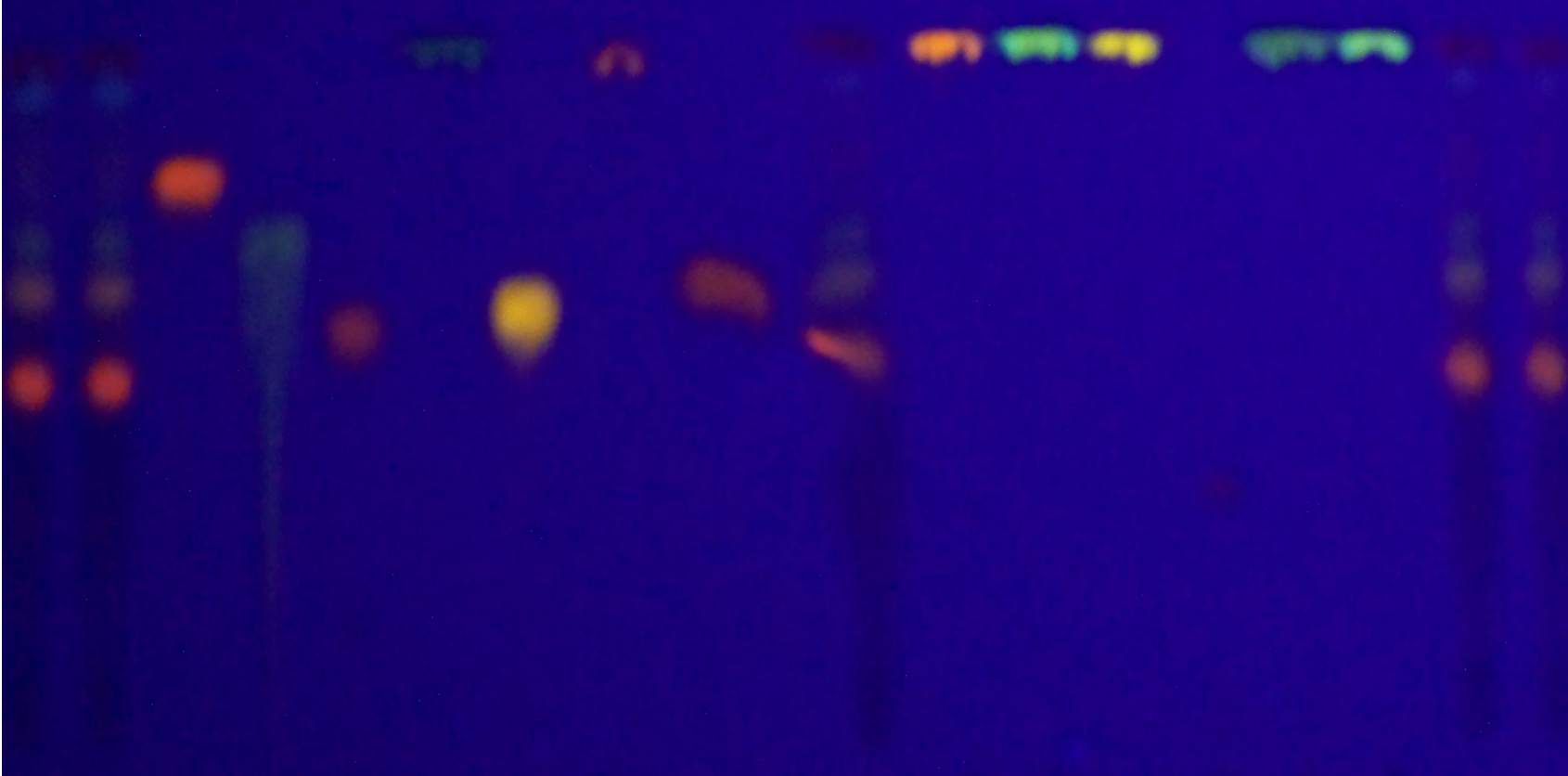
### 3.1.8. *A. ciminensis* türünün İTK plak sonucu

*A. ciminensis* türünde quercitin, vitexin ve orientin bulunmuştur. Şekil 3.22-3.24'de verilen fotoğraflarda standartlarla birlikte *Rf* ve renk özelliklerine dayanarak flavonoid glikozitleri belirlenmiştir. Quercitin flavonoidin *Rf* değeri 0,84, vitexin flavonoidin *Rf* değeri 0,77 ve orientin flavonoidin *Rf* değeri 0,70 olarak bulunmuştur (Şekil 3.22- Şekil 3.24).



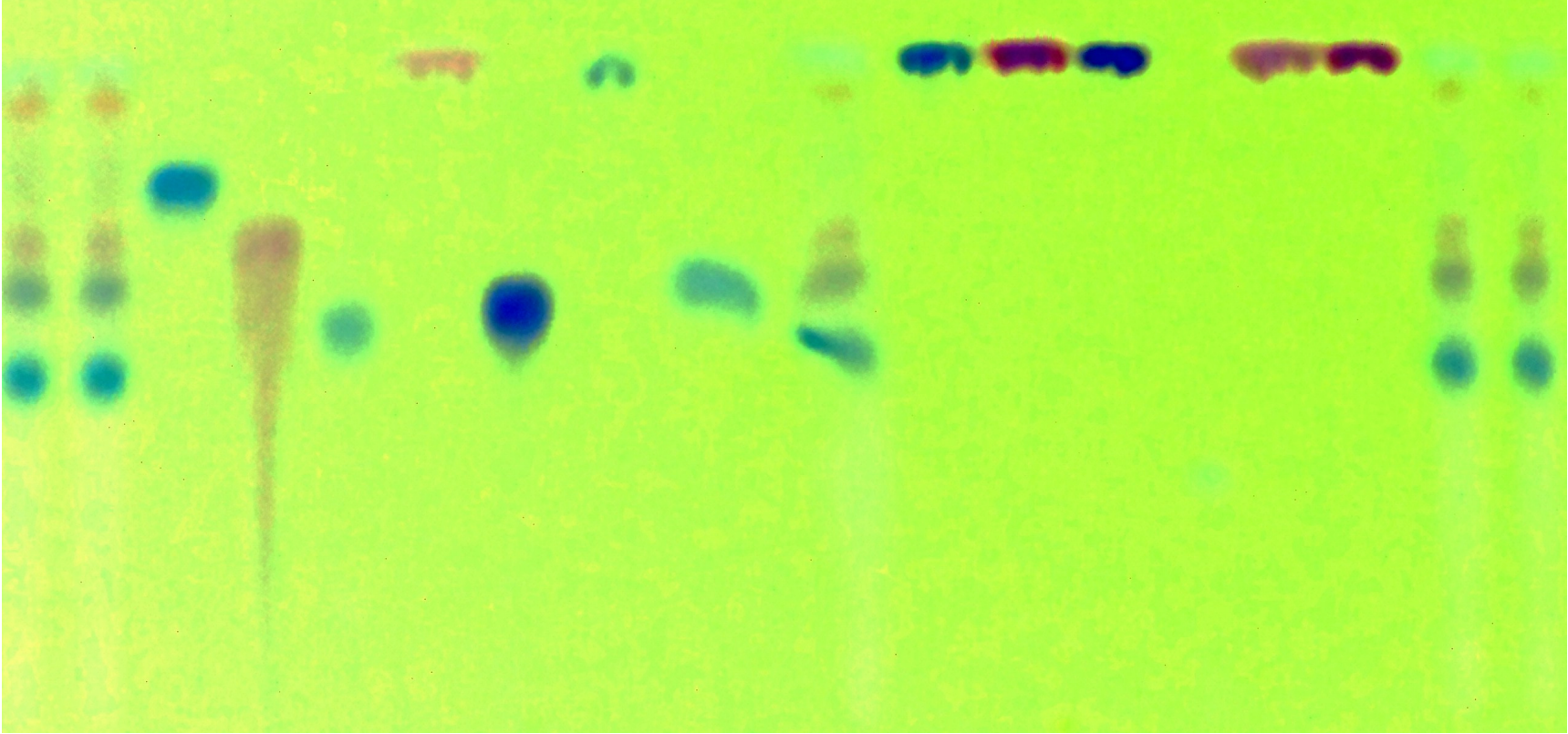
Örnek	Qci	Vit.	Hyp.	Nar	Ori.	Myr.	İso	Hes	Örnek	Qce.	Kam	Lut	Rut.	Api.	Isor	Örnek
-------	-----	------	------	-----	------	------	-----	-----	-------	------	-----	-----	------	------	------	-------

**Şekil 3.22.** *A. ciminensis* türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında güneş ışığında alınan fotoğrafı.



Örnek	Qci	Vit.	Hyp.	Nar	Ori.	Myr.	İso.	Hes	Örnek	Qce.	Kam	Lut	Rut.	Api.	Isor	Örnek
-------	-----	------	------	-----	------	------	------	-----	-------	------	-----	-----	------	------	------	-------

**Şekil 3.23.** *A. ciminensis* türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında UV. 366 nm’de çekilen fotoğrafı.



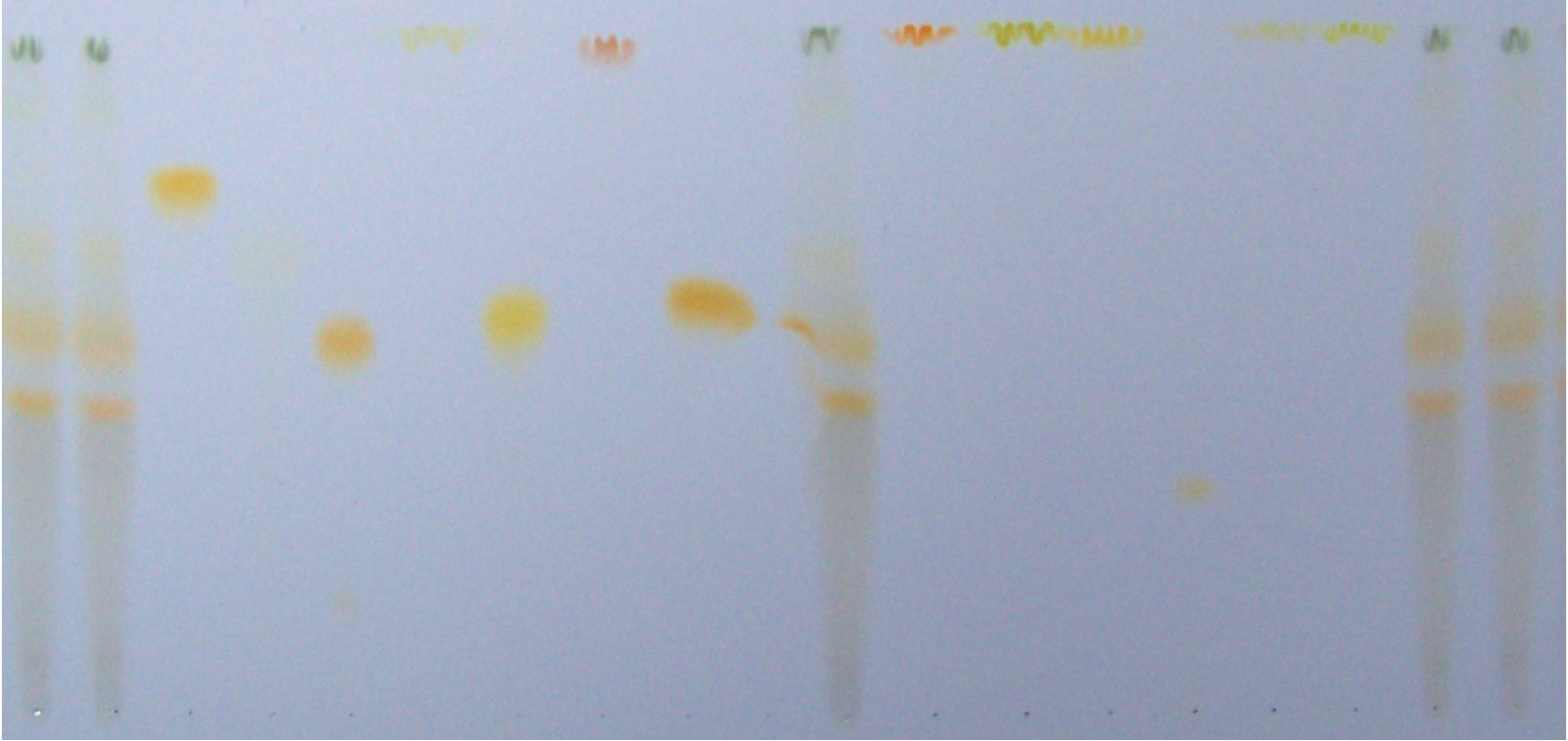
Örnek	Qci	Vit.	Hyp	Nar	Ori.	Myr.	İso.	Hes	Örnek	Qce.	Kam	Lut	Rut.	Api.	Isor	Örnek
-------	-----	------	-----	-----	------	------	------	-----	-------	------	-----	-----	------	------	------	-------

**Şekil 3.1.24.** *A. ciminensis* türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında UV. 366 nm'de çekilen fotoğrafının renk değişimi sonucu elde edilen görüntüsü.

### 3.1.9. *A. orduensis* (1) türünün İTK plak sonucu

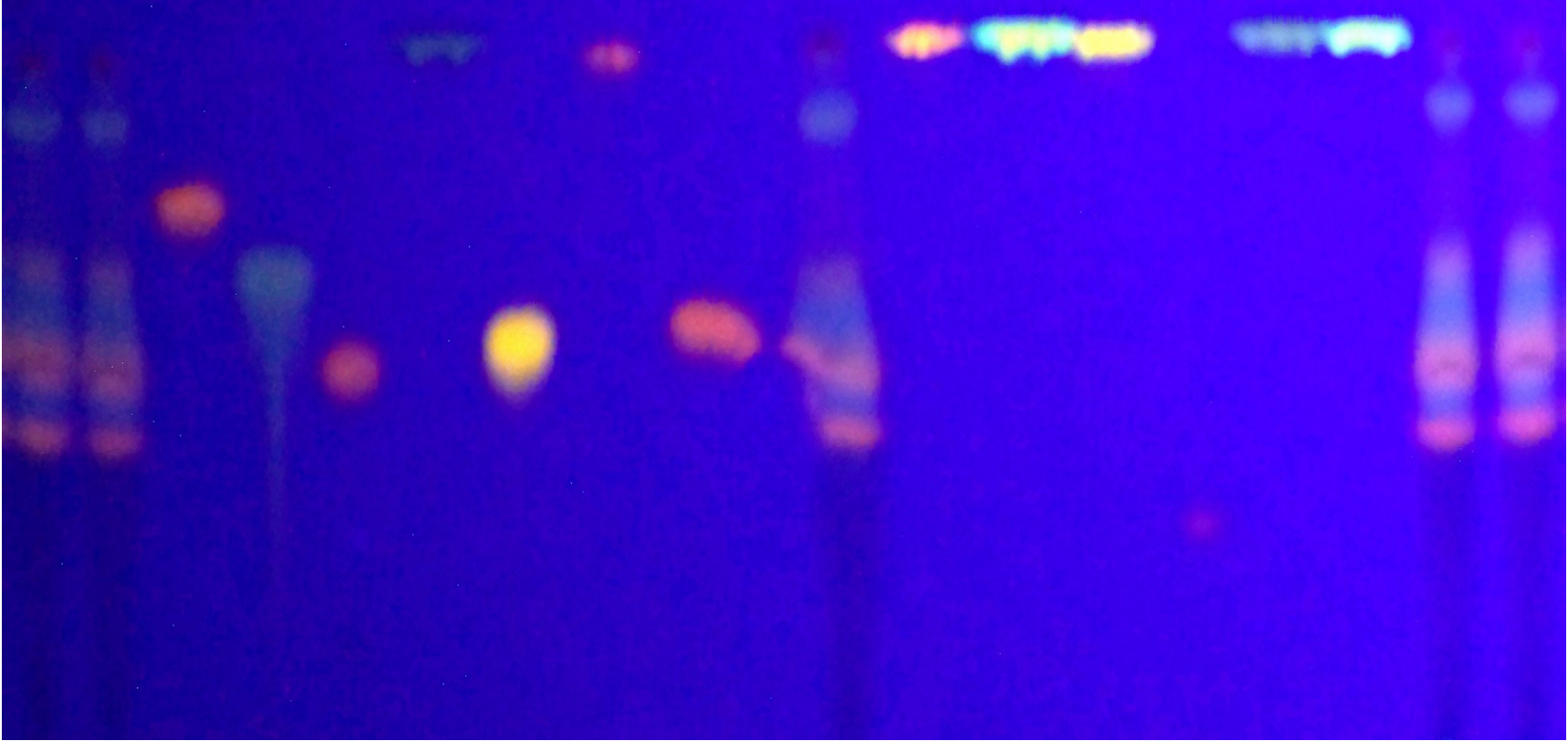
*A. orduensis* türünün (1) numaralı örneğinde hyperoside ve orientin bulunmuştur. Şekil 3.25-3.27’de verilen fotoğraflarda standartlarla birlikte  $R_f$  ve renk özelliklerine dayanarak flavonoid glikozitleri belirlenmiştir. Hyperoside flavonoidin  $R_f$  değeri 0,65 ve orientin flavonoidin  $R_f$  değeri 0,70 olarak bulunmuştur (Şekil 3.25-Şekil 3.27).





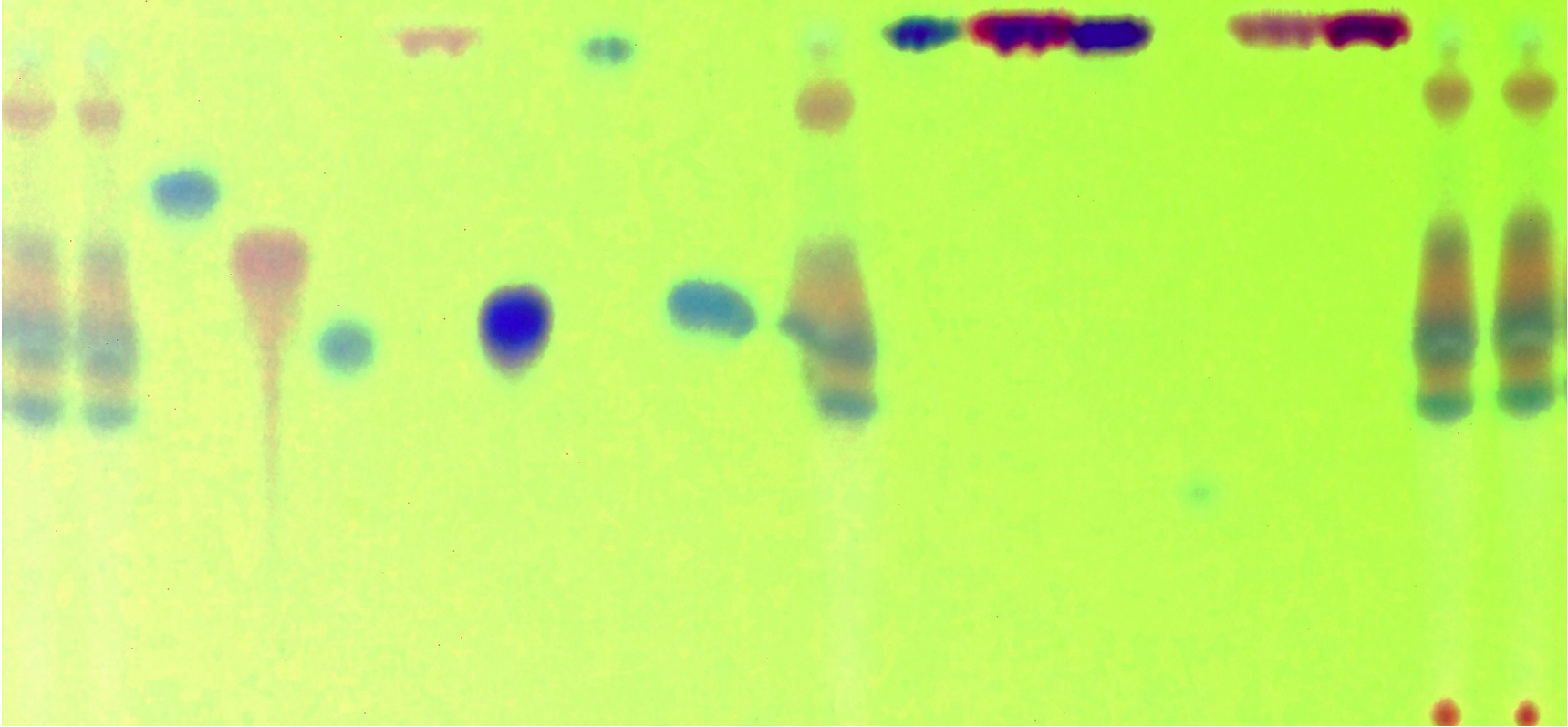
Örnek	Qci	Vit.	Hyp.	Nar	Ori.	Myr.	İso.	Hes	Örnek	Qce.	Kam	Lut	Rut.	Api.	Isor	Örnek
-------	-----	------	------	-----	------	------	------	-----	-------	------	-----	-----	------	------	------	-------

Şekil 3.25. *A. orduensis* türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında güneş ışığında alınan fotoğrafı.



Örnek	Qci	Vit.	Hyp.	Nar	Ori.	Myr.	İso.	Hes	Örnek	Qce.	Kam	Lut	Rut.	Api.	Isor	Örnek
-------	-----	------	------	-----	------	------	------	-----	-------	------	-----	-----	------	------	------	-------

**Şekil 3.26.** *A. orduensis* türüne ait (1) numaralı örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında UV. 366 nm'de çekilen fotoğrafı.

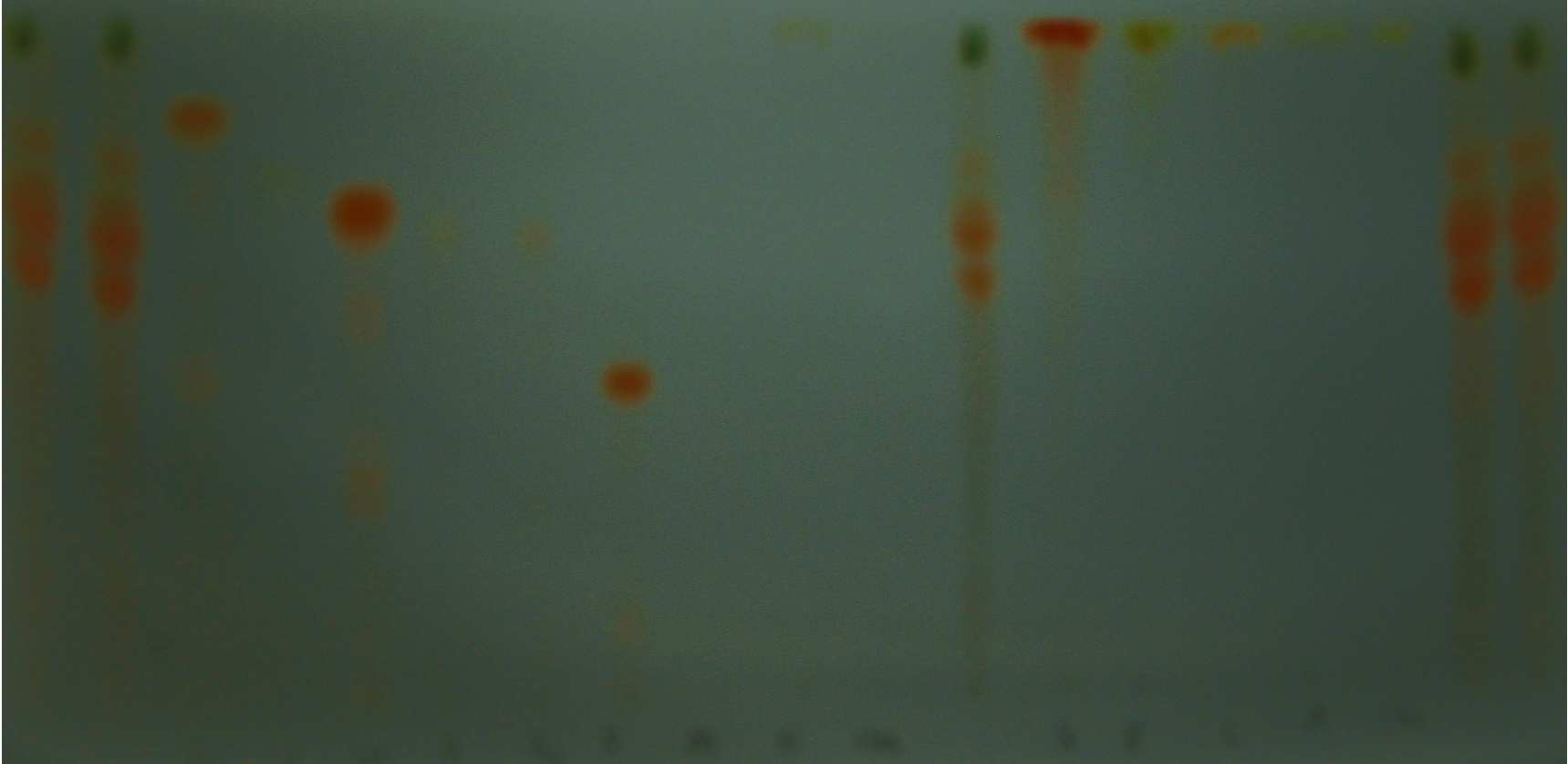


Örnek	Qci	Vit.	Hyp.	Nar	Ori.	Myr.	İso.	Hes	Örnek	Qce.	Kam	Lut	Rut.	Api.	Isor	Örnek
-------	-----	------	------	-----	------	------	------	-----	-------	------	-----	-----	------	------	------	-------

**Şekil 3.27.** *A. orduensis* türüne ait (1) numaralı örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında UV. 366 nm'de çekilen fotoğrafının renk değişimi sonucu elde edilen görüntüsü.

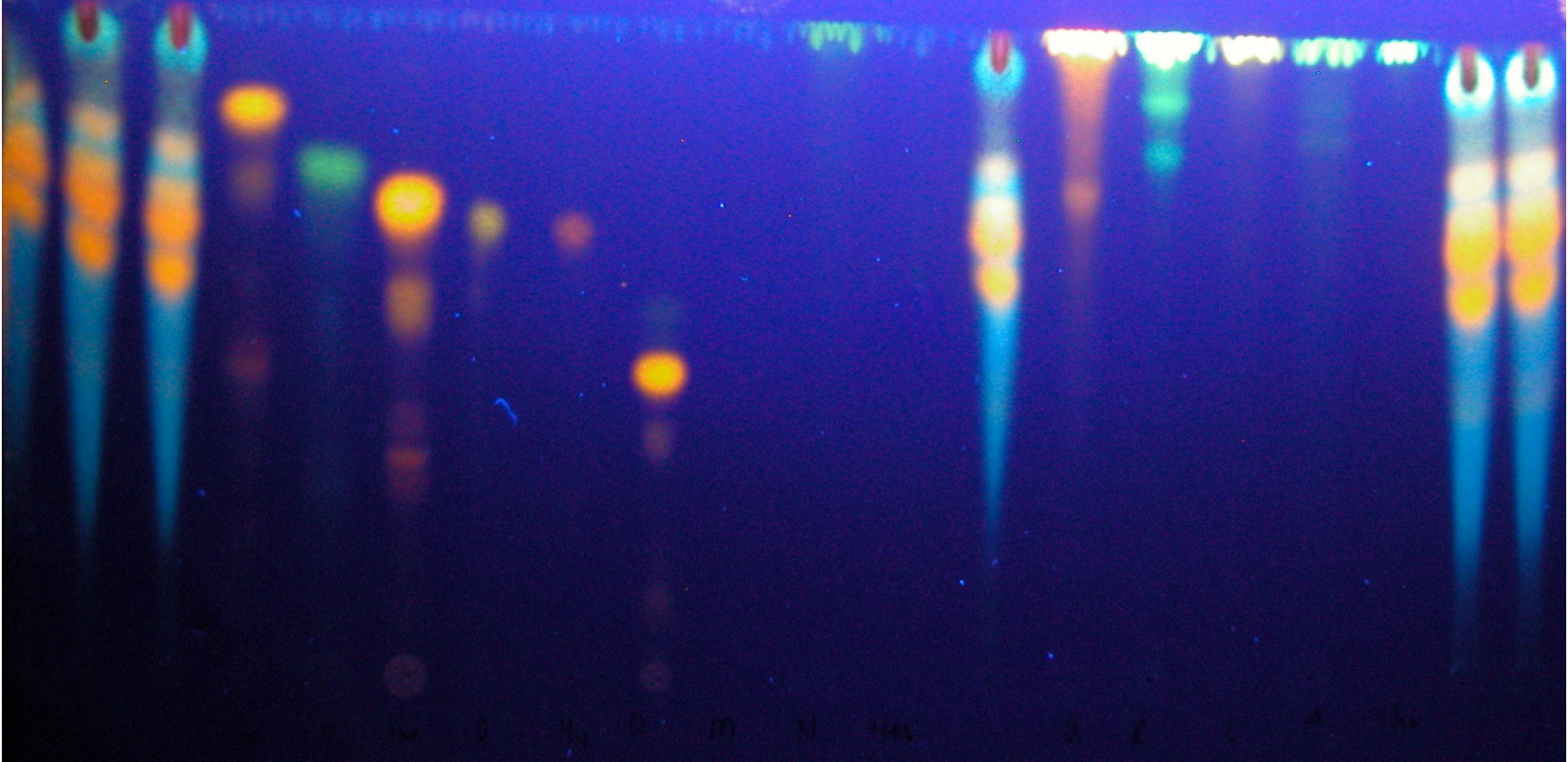
### 3.1.10. *A. cimilensis* türünün İTK plak sonucu

*A. cimilensis* türünde rutin, hyperoside, orientin ve isoquercetin bulunmuştur. Şekil 3.28-3.30'de verilen fotoğraflarda standartlarla birlikte *Rf* ve renk özelliklerine dayanarak flavonoid glikozitleri belirlenmiştir. Rutin flavonoidin *Rf* değeri 0,44, hyperoside flavonoidin *Rf* değeri 0,65, orientin flavonoidin *Rf* değeri 0,70 ve isoquercetin flavonoidin *Rf* değeri 0,72 olarak bulunmuştur (Şekil 3.28 - Şekil 3.30).



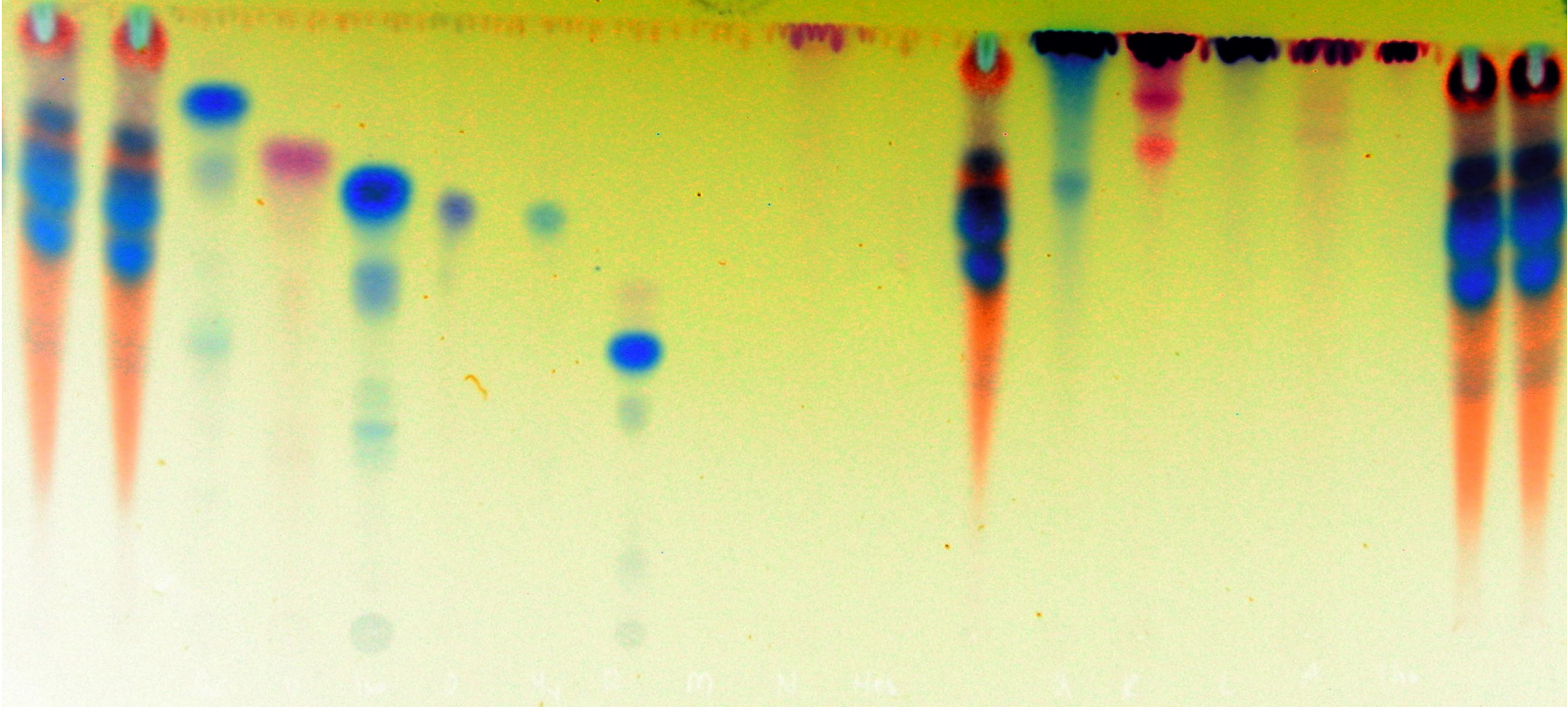
Örnek	Qci	Vit.	Hyp.	Nar	Ori.	Myr.	İso.	Hes	Örnek	Qce.	Kam	Lut	Rut.	Api.	Isor	Örnek
-------	-----	------	------	-----	------	------	------	-----	-------	------	-----	-----	------	------	------	-------

**Şekil 3.28.** *A. cimilensis* türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında güneş ışığında alınan fotoğrafı.



Örnek	Qci	Vit.	Iso.	Ori.	Hyp.	Rut.	My.	Nar.	Hes.	Örnek	Qce.	Kam	Lut.	Api.	Isor	Örnek
-------	-----	------	------	------	------	------	-----	------	------	-------	------	-----	------	------	------	-------

**Şekil 3.29.** *A. cimilensis* türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında UV. 366 nm'de çekilen fotoğrafı.



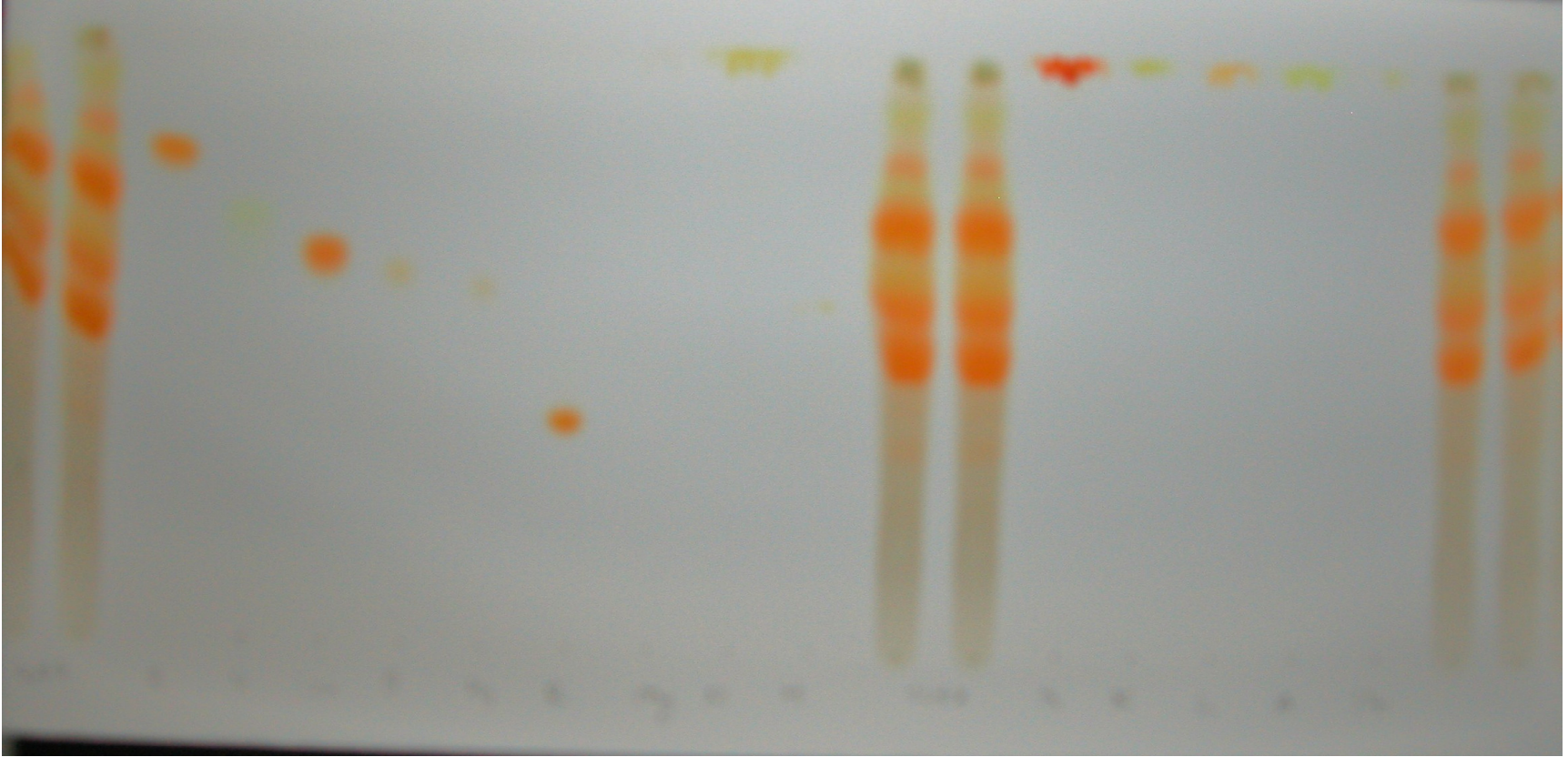
Örnek	Qci	Vit.	Iso.	Ori.	Hyp.	Rut.	My.	Nar.	Hes.	Örnek.	Qce.	Kam	Lut.	Api.	Isor	Örnek
-------	-----	------	------	------	------	------	-----	------	------	--------	------	-----	------	------	------	-------

**Şekil 3.30.** *A. cimilensis* türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında UV. 366 nm'de çekilen fotoğrafının renk değişimi sonucu elde edilen görüntüsü.

### 3.1.11. *A. mollis* türünün İTK plak sonucu

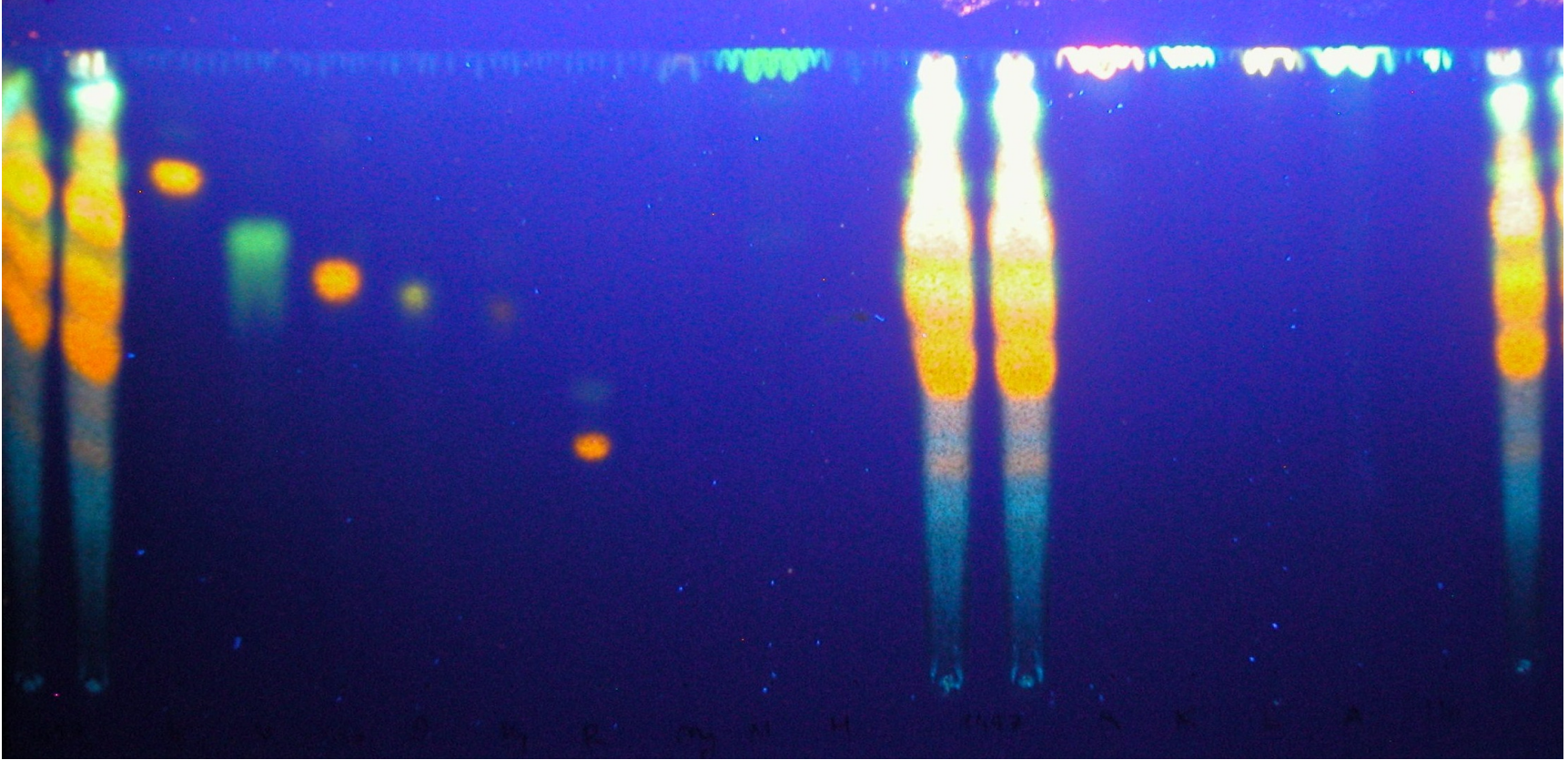
*A. mollis* türünde quercitrin, vitexin, rutin, orientin ve isoquercetin bulunmuştur. Şekil 3.31-3.33’de verilen fotoğraflarda standartlarla birlikte  $R_f$  ve renk özelliklerine dayanarak flavonoid glikozitleri belirlenmiştir. Quercitrin flavonoidin  $R_f$  değeri 0,84, vitexin flavonoidin  $R_f$  değeri 0,77, rutin flavonoidin  $R_f$  değeri 0,44, orientin flavonoidin  $R_f$  değeri 0,70 ve isoquercetin flavonoidin  $R_f$  değeri 0,72 olarak bulunmuştur (Şekil 3.31- Şekil 3.33).





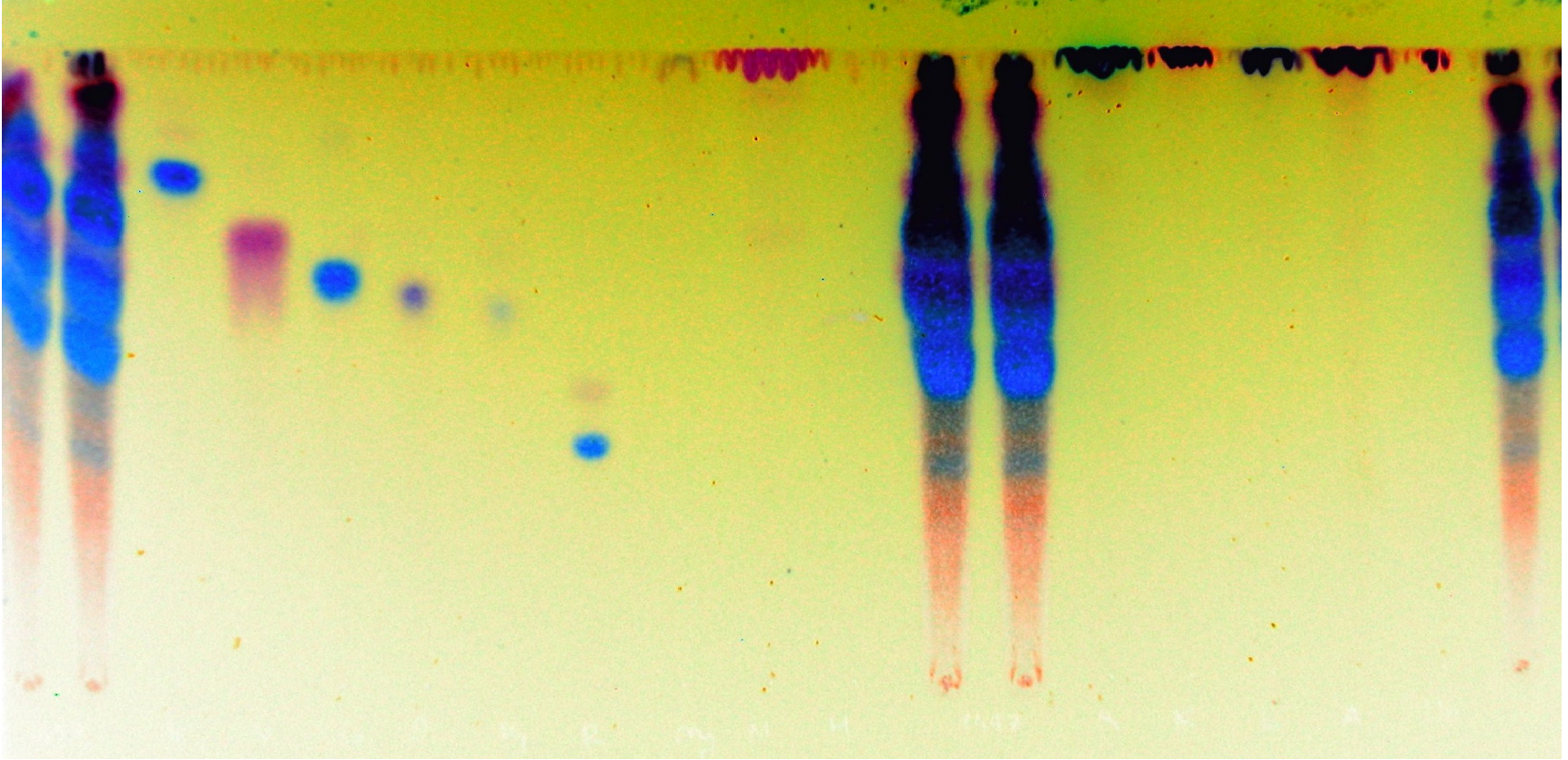
Örnek	Qci	Vit.	Hyp.	Nar	Ori.	Myr.	İso.	Hes	Örnek	Qce.	Kam	Lut	Rut.	Api.	Isor	Örnek
-------	-----	------	------	-----	------	------	------	-----	-------	------	-----	-----	------	------	------	-------

**Şekil 3.31.** *A. mollis* türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında güneş ışığında alınan fotoğrafı.



Örnek	Qci	Vit.	Iso.	Ori.	Hyp.	Rut.	My.	Nar.	Hes.	Örnek	Qce	Kam.	Lut	Api.	Isor	Örnek
-------	-----	------	------	------	------	------	-----	------	------	-------	-----	------	-----	------	------	-------

Şekil 3.32. *A. mollis* türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında UV. 366 nm’de çekilen fotoğrafı.

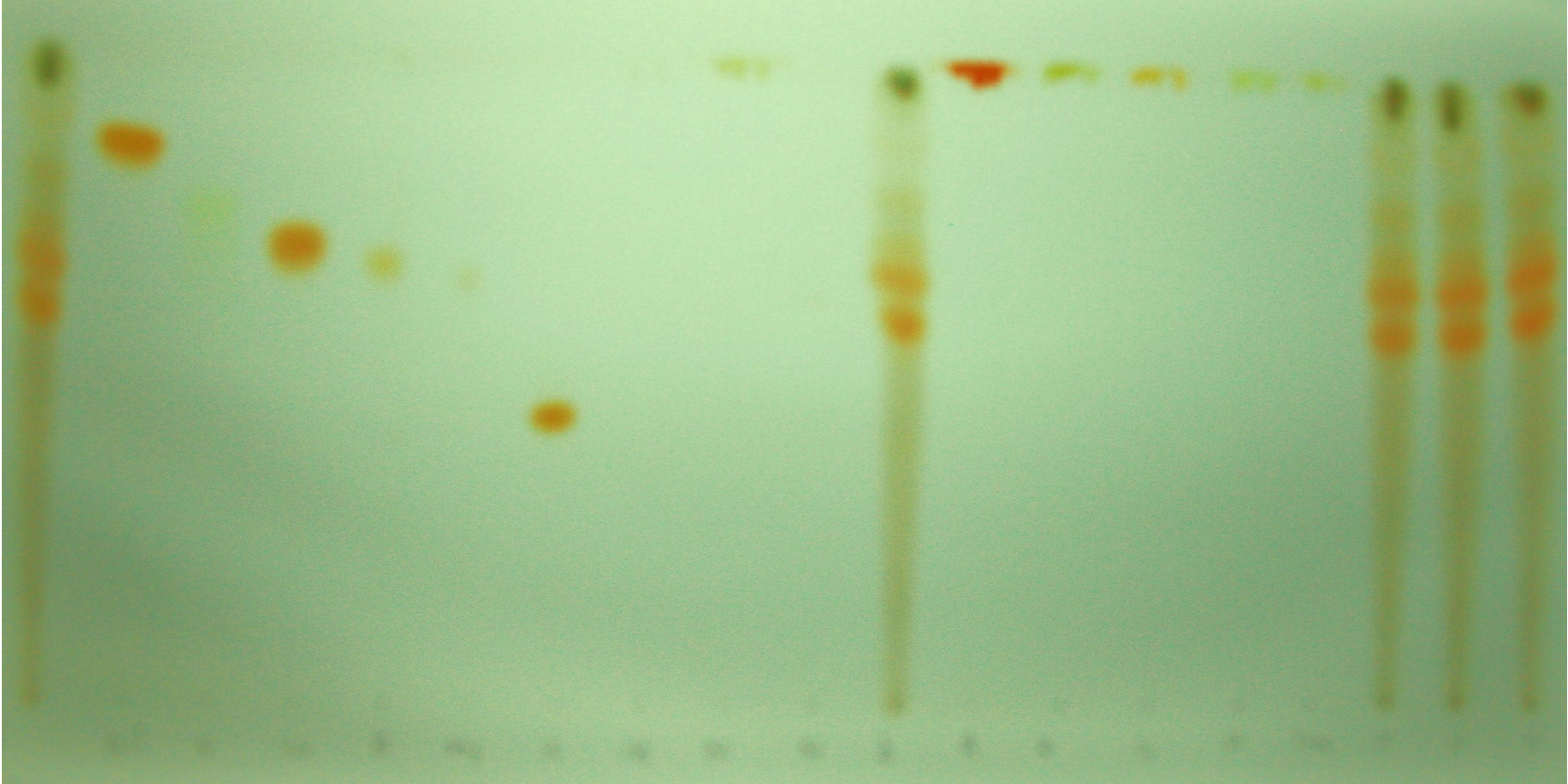


Örnekle	Qci	Vit.	Iso.	Ori.	Hyp.	Rut.	My.	Nar.	Hes.	Örnekle	Qce	Kam.	Lut	Api.	Isor	Örnekle
---------	-----	------	------	------	------	------	-----	------	------	---------	-----	------	-----	------	------	---------

**Şekil 3.33.** *A. mollis* türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında UV, 366 nm’de çekilen fotoğrafının renk değişimi sonucu elde edilen görüntüsü.

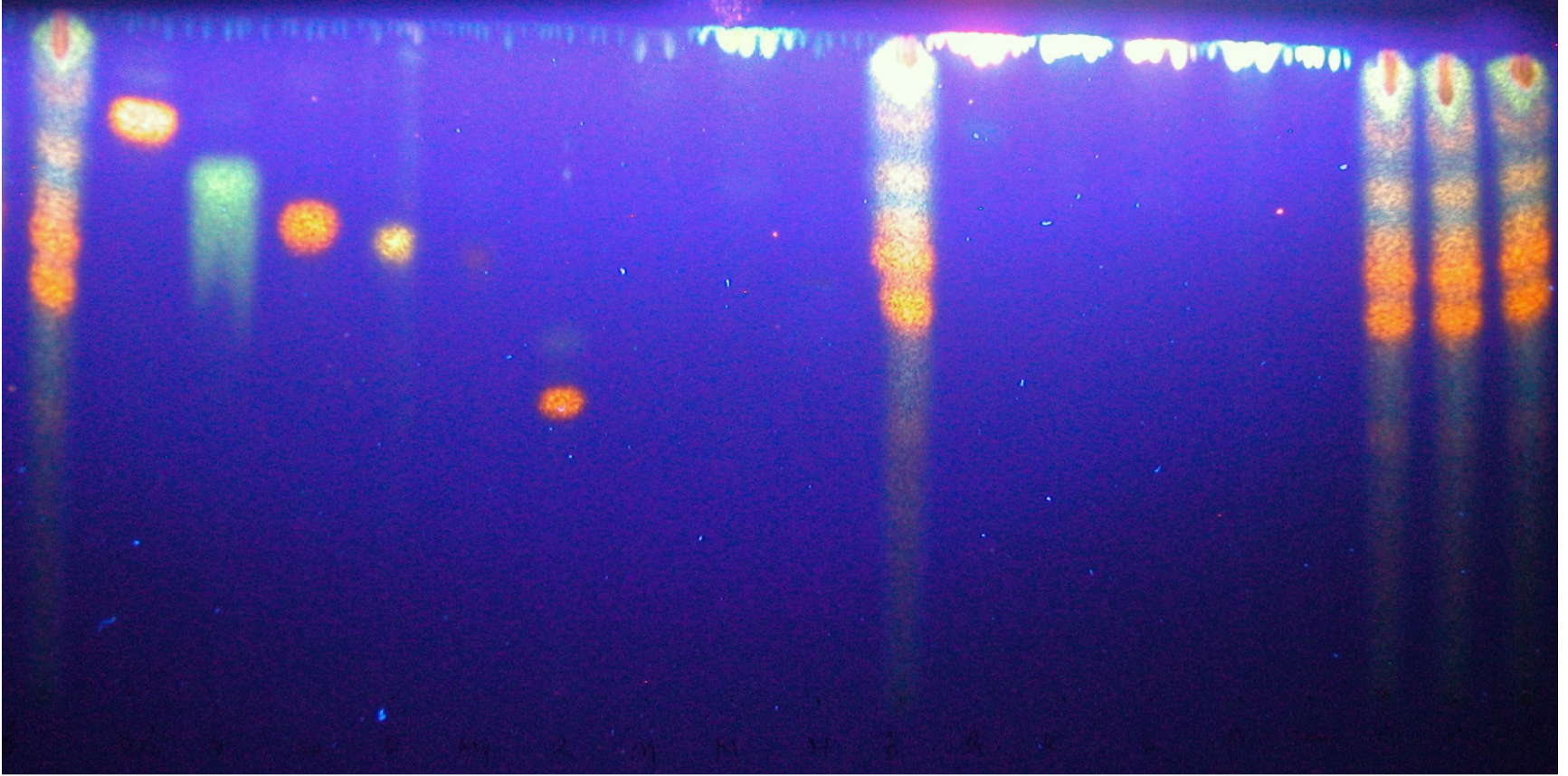
### 3.1.12. *A. orduensis* (2) türünün İTK plak sonucu

*A. orduensis* türünün (2) numaralı örneğinde quercitrin, vitexin, rutin, orientin ve isoquercetin bulunmuştur. Şekil 3.34-3.36'de verilen fotoğraflarda standartlarla birlikte  $R_f$  ve renk özelliklerine dayanarak flavonoid glikozitleri belirlenmiştir. Quercitrin flavonoidin  $R_f$  değeri 0,84, vitexin flavonoidin  $R_f$  değeri 0,77, rutin flavonoidin  $R_f$  değeri 0,44, orientin flavonoidin  $R_f$  değeri 0,70 ve isoquercetin flavonoidin  $R_f$  değeri 0,72 olarak bulunmuştur (Şekil 3.34 - Şekil 3.36).



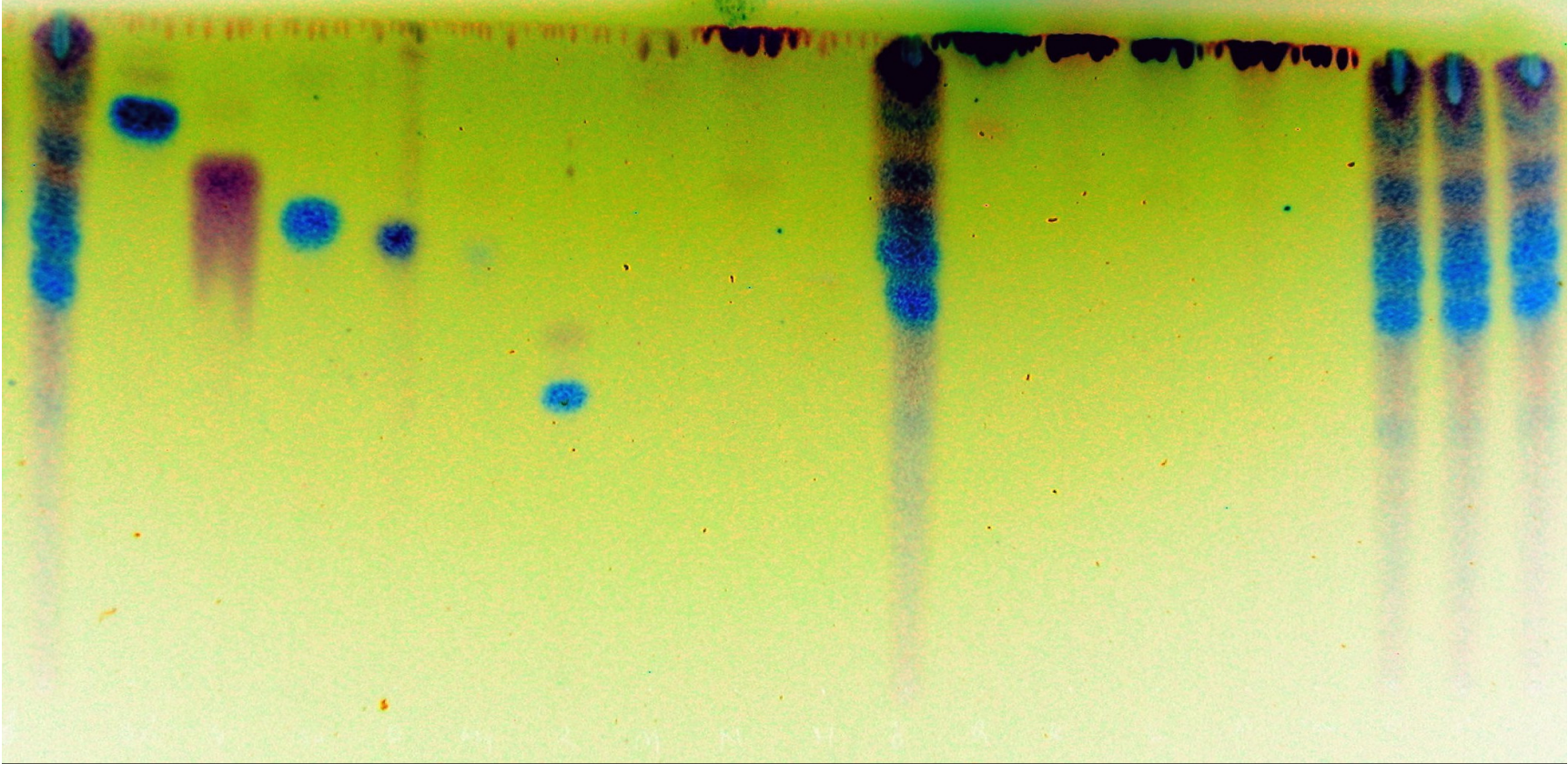
Örnek	Qci	Vit.	Iso.	Ori.	Hyp.	Rut.	My.	Nar.	Hes.	Örnek.	Qce	Kam.	Lut.	Api.	Isor	Örnek
-------	-----	------	------	------	------	------	-----	------	------	--------	-----	------	------	------	------	-------

**Şekil 3.34.** *A. orduensis* türüne ait (2) numaralı örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında güneş ışığında alınan fotoğrafı.



Örnek	Qci	Vit.	Iso.	Ori.	Hyp.	Rut.	My.	Nar.	Hes.	Örnek.	Qce.	Kam.	Lut.	Api.	Isor.	Örnek
-------	-----	------	------	------	------	------	-----	------	------	--------	------	------	------	------	-------	-------

**Şekil 3.35.** *A. orduensis* türüne ait (2) numaralı örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında UV. 366 nm'de çekilen fotoğrafı.



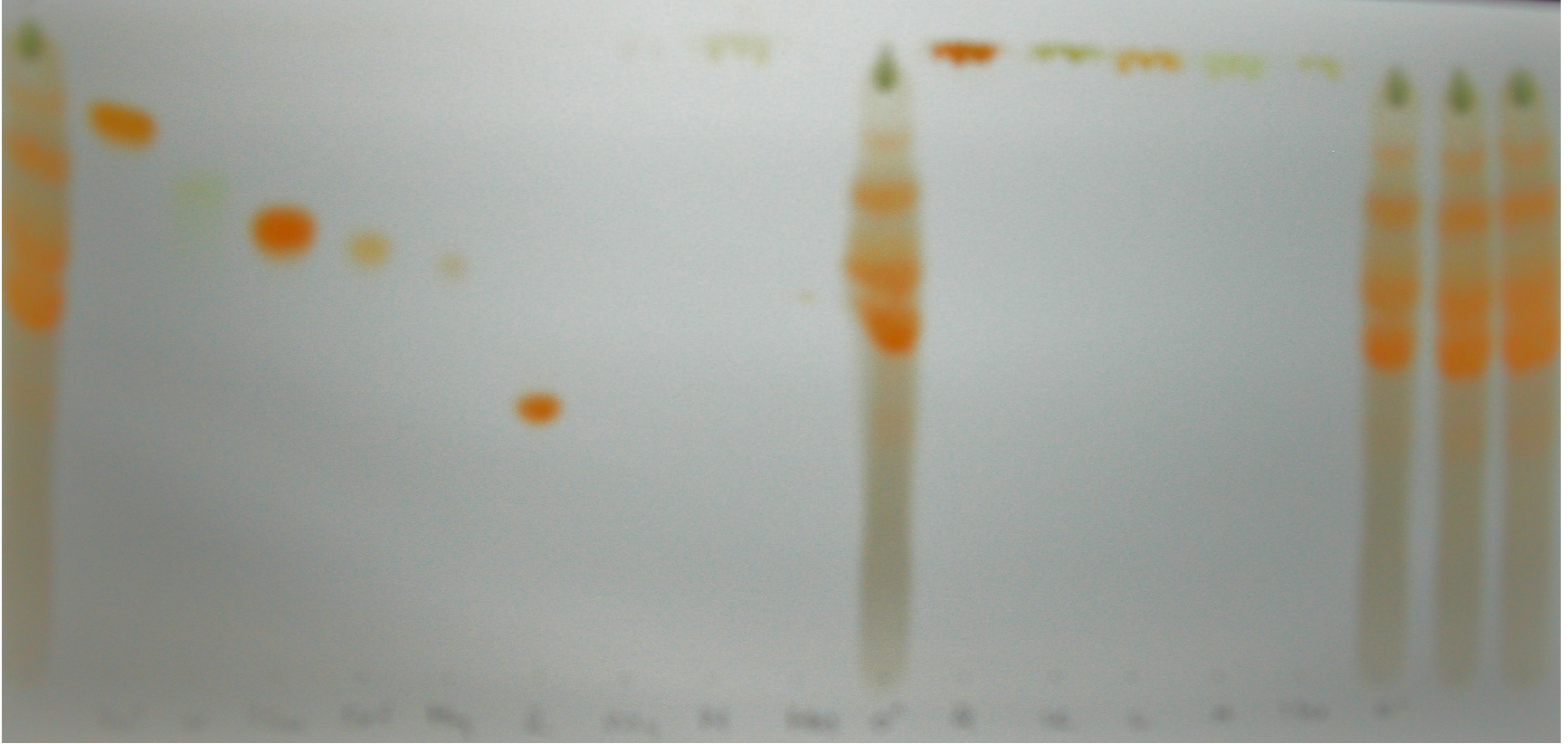
Örnek	Qci	Vit.	Iso.	Ori.	Hyp.	Rut.	My.	Nar	Hes.	Örnek	Qce.	Kam.	Lut.	Api.	Isor.	Örnek
-------	-----	------	------	------	------	------	-----	-----	------	-------	------	------	------	------	-------	-------

**Şekil 3.36.** *A. orduensis* türüne ait (2) numaralı örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında UV. 366 nm'de çekilen fotoğrafının renk değişimi sonucu elde edilen görüntüsü.

### 3.1.13. *A. buseriana* türünün İTK plak sonucu

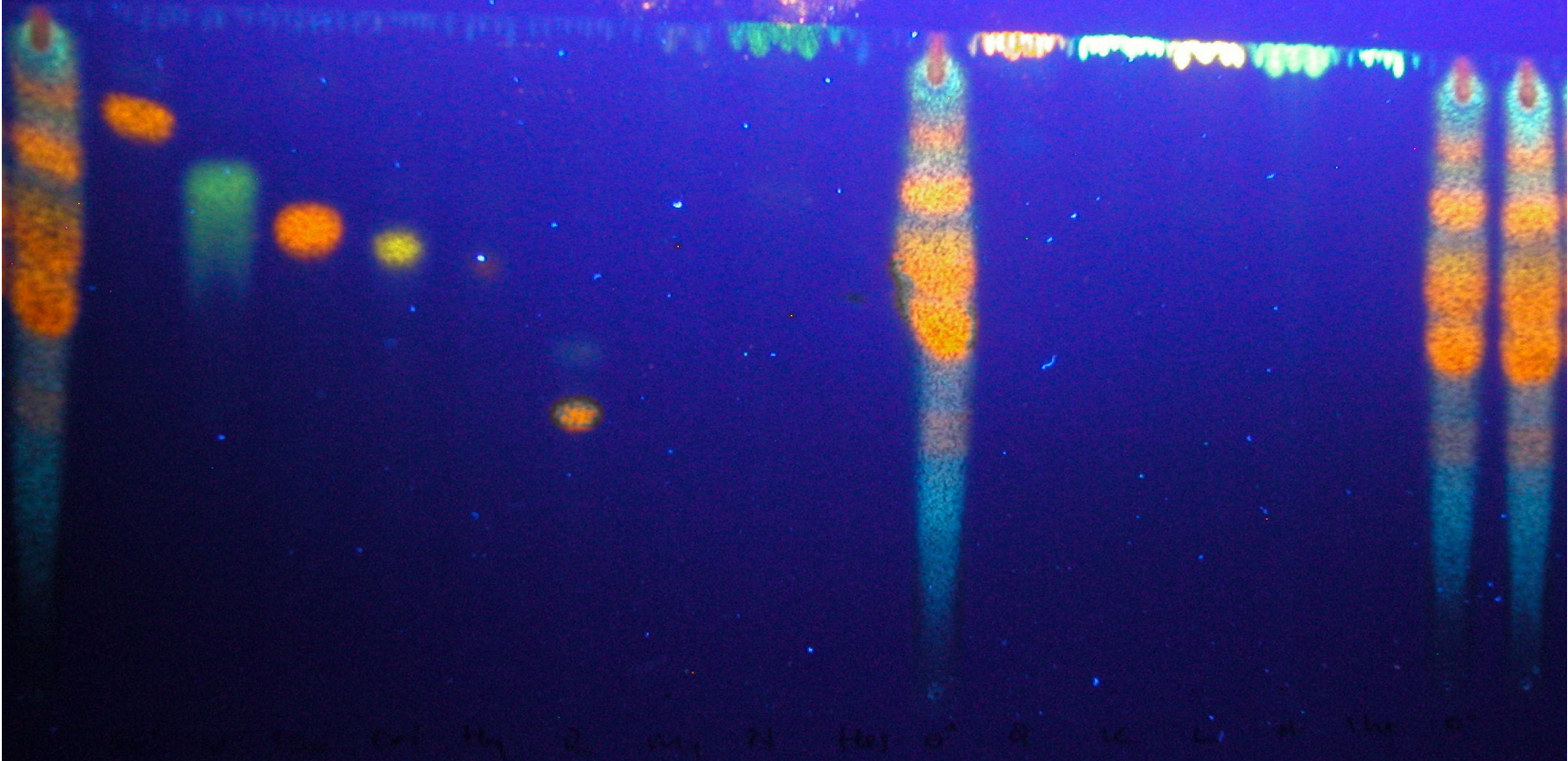
*A. buseriana* türünde quercitrin, rutin, orientin ve hyperoside bulunmuştur. Şekil 3.37-3.39'da verilen fotoğraflarda standartlarla birlikte  $R_f$  ve renk özelliklerine dayanarak flavonoid glikozitleri belirlenmiştir. Quercitrin flavonoidin  $R_f$  değeri 0,84, rutin flavonoidin  $R_f$  değeri 0,44, orientin flavonoidin  $R_f$  değeri 0,70 ve hyperoside flavonoidin  $R_f$  değeri 0,65 olarak bulunmuştur (Şekil 3.37- Şekil 3.39).





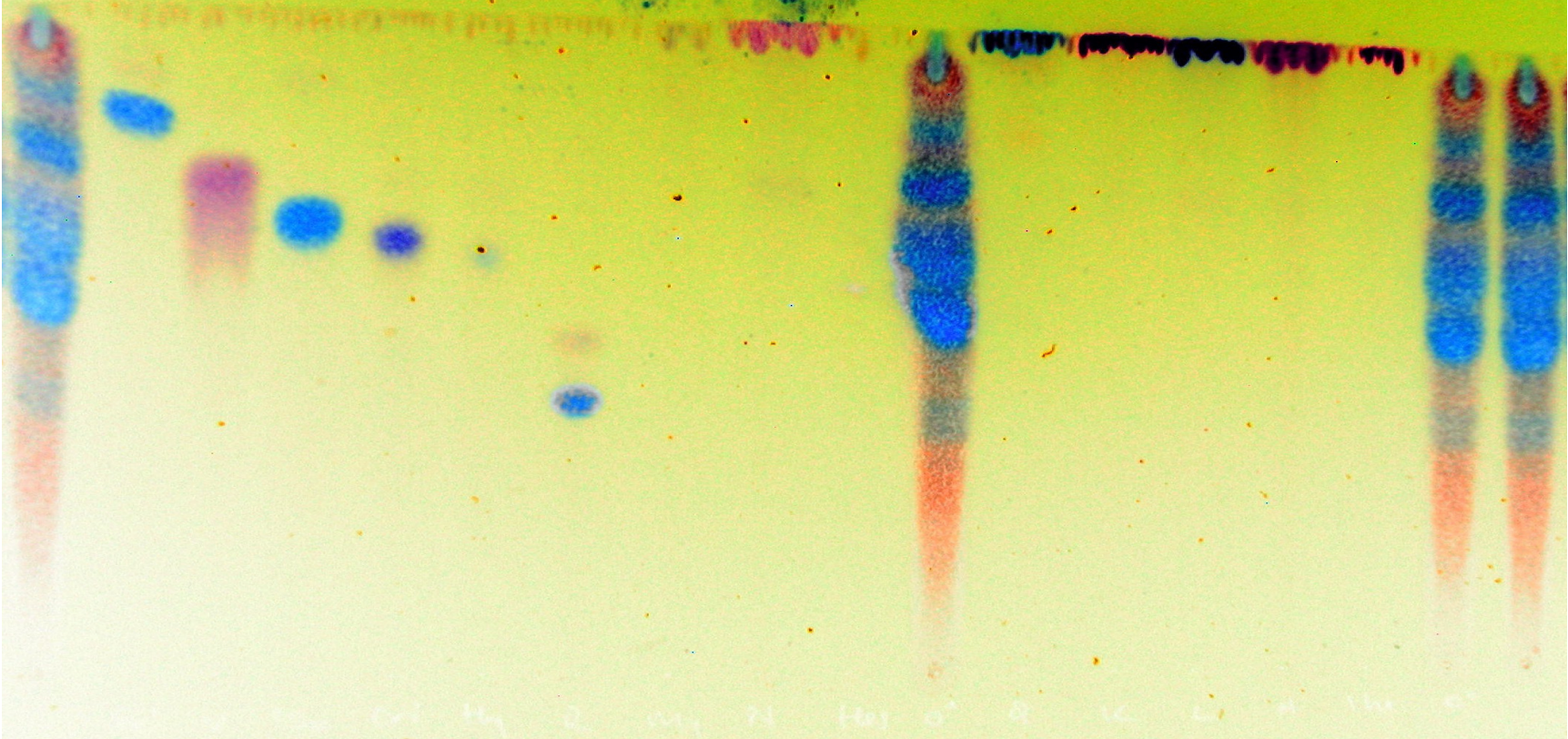
Örnekle	Qci	Vit.	Iso.	Ori.	Hyp.	Rut.	My.	Nar.	Hes.	Örnekle	Qce.	Kam.	Lut.	Api.	Isor.	Örnekle
---------	-----	------	------	------	------	------	-----	------	------	---------	------	------	------	------	-------	---------

Şekil 3.37. *A. buseriana* türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında güneş ışığında alınan fotoğrafı.



Örnek	Qci	Vit.	Iso.	Ori.	Hyp.	Rut.	My.	Nar.	Hes.	Örnek	Qce.	Kam.	Lut.	Api.	Isor.	Örnek
-------	-----	------	------	------	------	------	-----	------	------	-------	------	------	------	------	-------	-------

**Şekil 3.38.** *A. buseriana* türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında UV. 366 nm'de çekilen fotoğrafı.

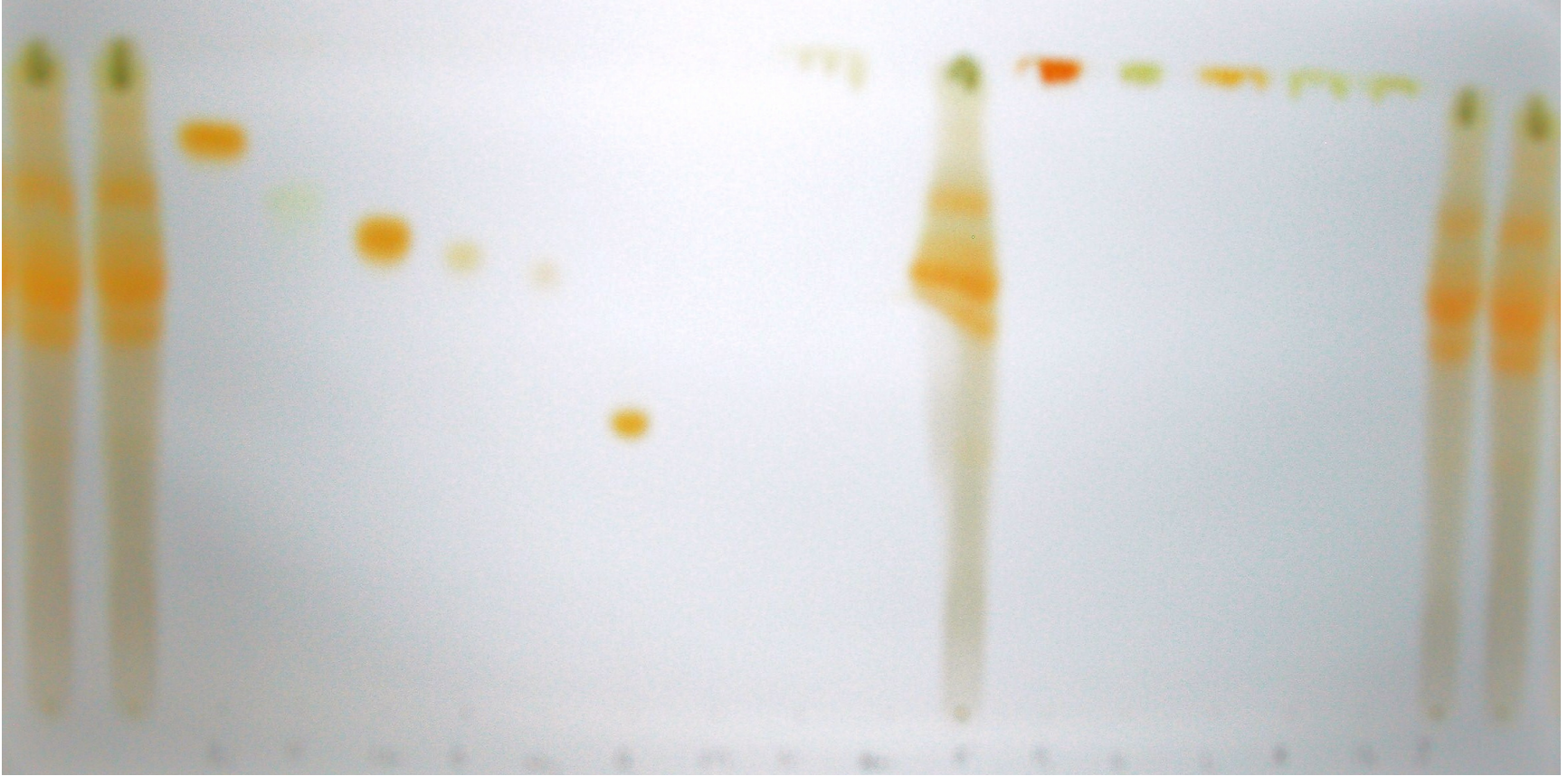


Örnek	Qci	Vit.	Iso.	Ori.	Hyp.	Rut.	My.	Nar.	Hes	Örnek	Qce.	Kam.	Lut.	Api.	Isor	Örnek
-------	-----	------	------	------	------	------	-----	------	-----	-------	------	------	------	------	------	-------

**Şekil 3.39.** *A. buseriana* türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında UV. 366 nm'de çekilen fotoğrafının renk değişimi sonucu elde edilen görüntüsü.

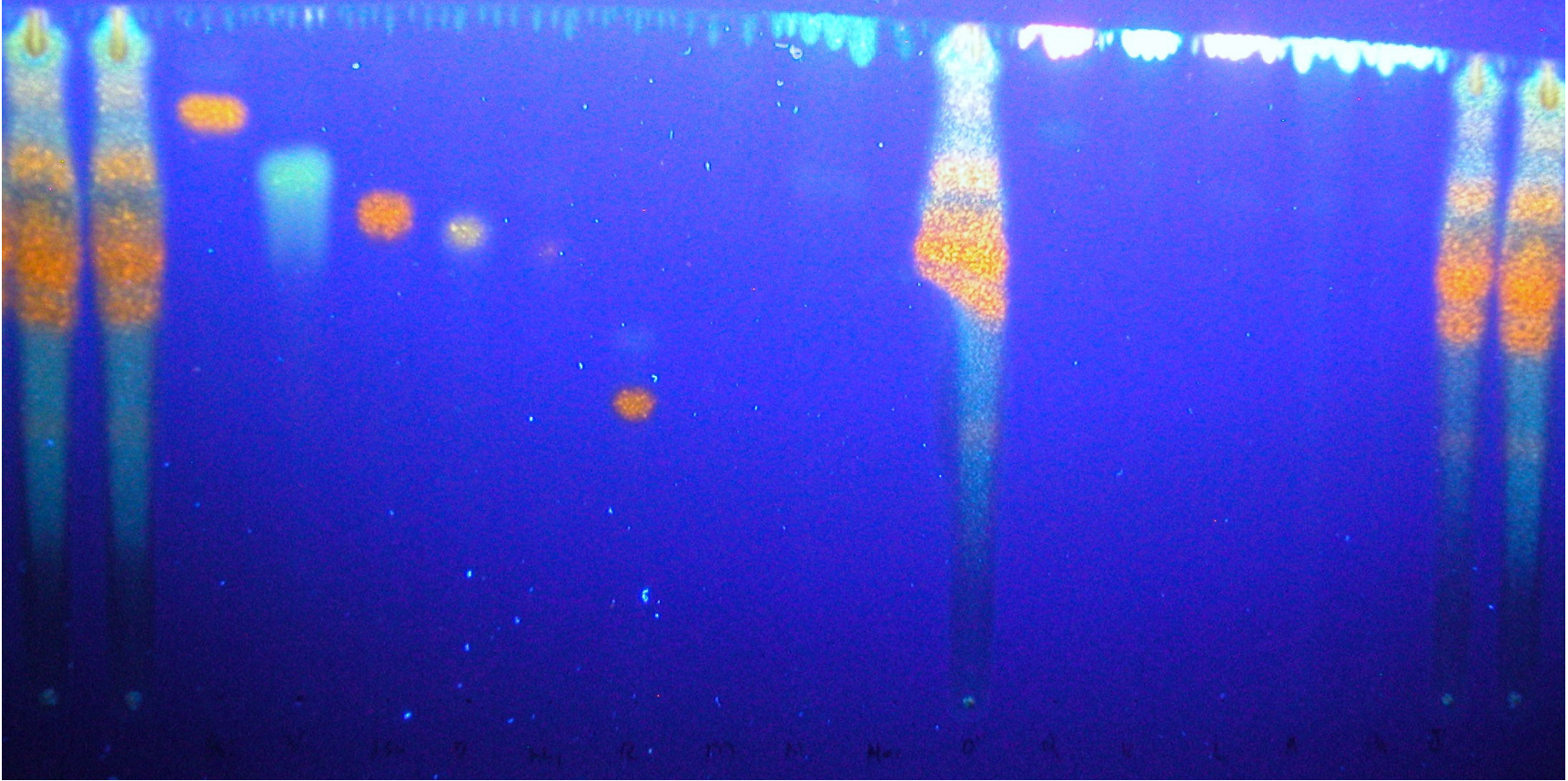
#### **3.1.14. *A. erythropoda* türünün İTK plak sonucu**

*A. erythropoda* türünde isoquercetin, rutin, orientin ve hyperoside bulunmuştur. Şekil 3.40-3.42’de verilen fotoğraflarda standartlarla birlikte *R<sub>f</sub>* ve renk özelliklerine dayanarak flavonoid glikozitleri belirlenmiştir. Isoquercetin flavonoidin *R<sub>f</sub>* değeri 0,72, rutin flavonoidin *R<sub>f</sub>* değeri 0,44, orientin flavonoidin *R<sub>f</sub>* değeri 0,70 ve hyperoside flavonoidin *R<sub>f</sub>* değeri 0,65 olarak bulunmuştur (Şekil 3.40- Şekil 3.42).



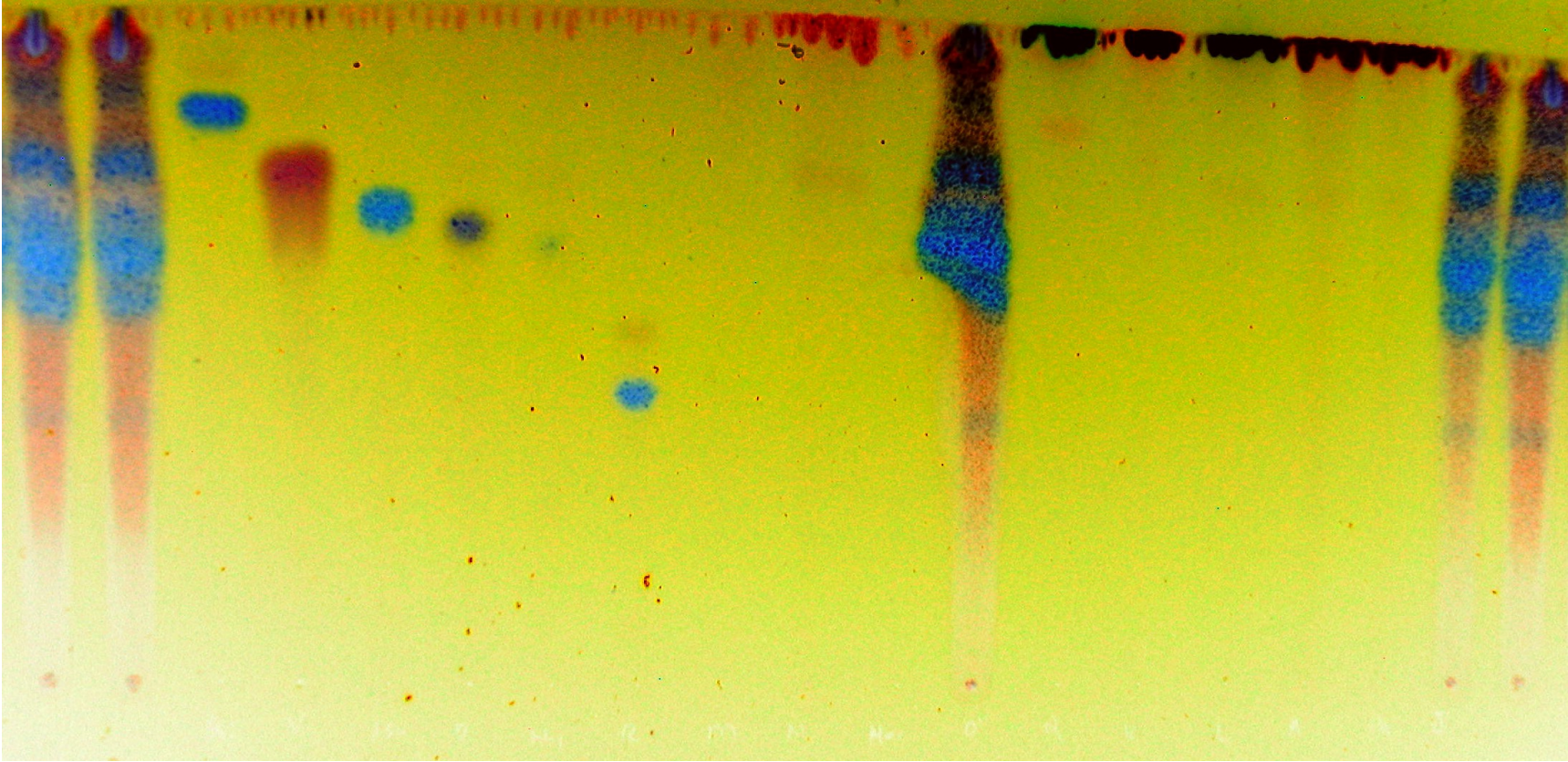
Örnek	Qci	Vit.	Iso.	Ori.	Hyp.	Rut.	My.	Nar.	Hes.	Örnek.	Qce.	Kam	Lut.	Api.	Isor	Örnek
-------	-----	------	------	------	------	------	-----	------	------	--------	------	-----	------	------	------	-------

**Şekil 3.40.** *A. erythropoda* türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında güneş ışığında alınan fotoğrafı.



Örnek	Qci	Vit.	Iso.	Ori.	Hyp.	Rut.	My.	Nar.	Hes.	Örnek.	Qce.	Kam	Lut.	Api.	Isor	Örnek
-------	-----	------	------	------	------	------	-----	------	------	--------	------	-----	------	------	------	-------

**Şekil 3.41.** *A. erythropoda* türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında UV. 366 nm'de çekilen fotoğrafı.



Örnek	Qci	Vit.	Iso.	Ori.	Hyp.	Rut.	My.	Nar.	Hes.	Örnek.	Qce.	Kam	Lut.	Api.	Isor	Örnek
-------	-----	------	------	------	------	------	-----	------	------	--------	------	-----	------	------	------	-------

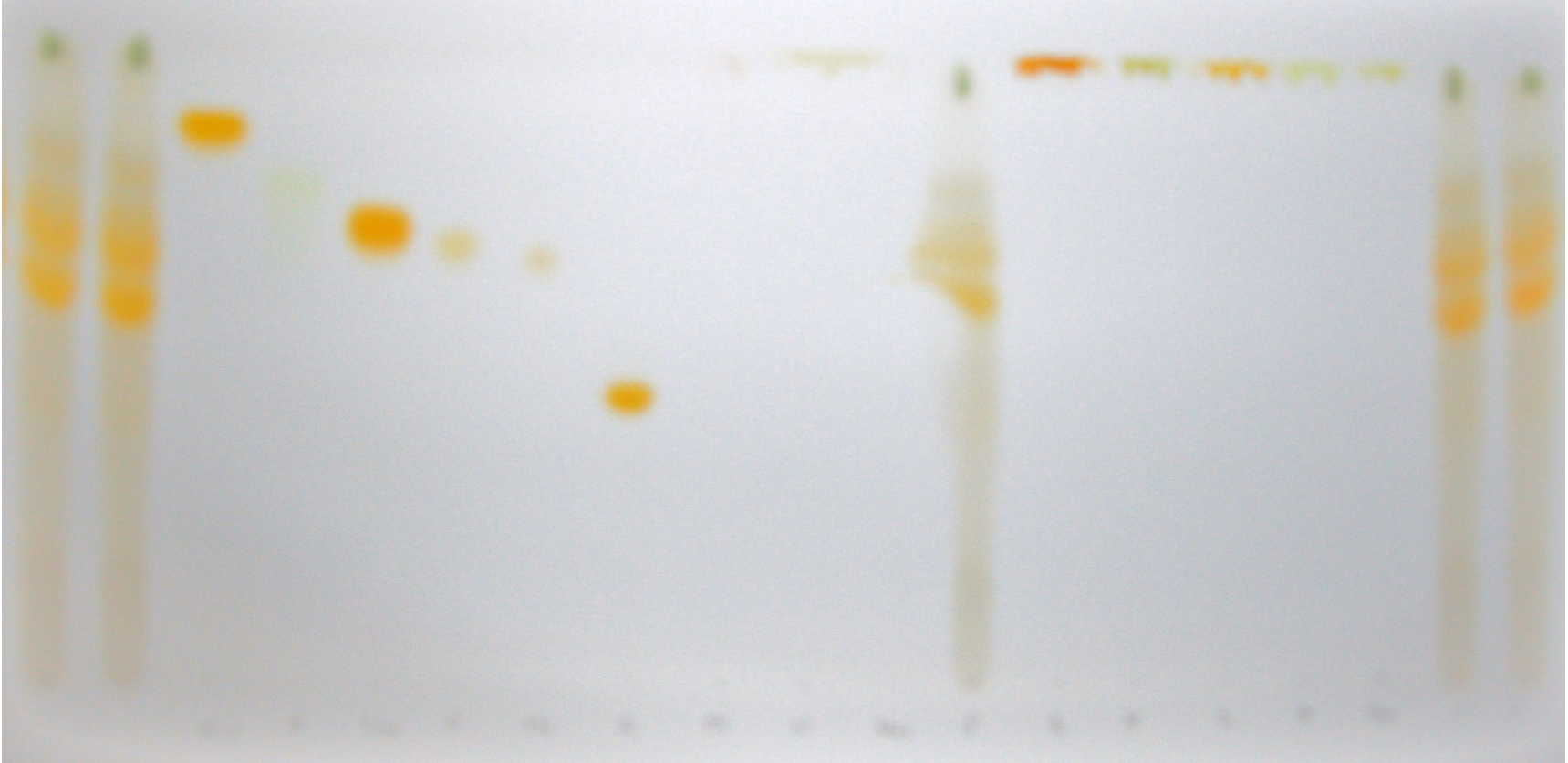
**Şekil 3.42.** *A. erythropoda* türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında UV. 366 nm'de çekilen fotoğrafının renk değişimi sonucu elde edilen görüntüsü.

### 3.1.15. *A. ikizdereensis* türünün İTK plak sonucu

*A. ikizdereensis* türünde vitexin, hyperoside, rutin ve orientin bulunmuştur.

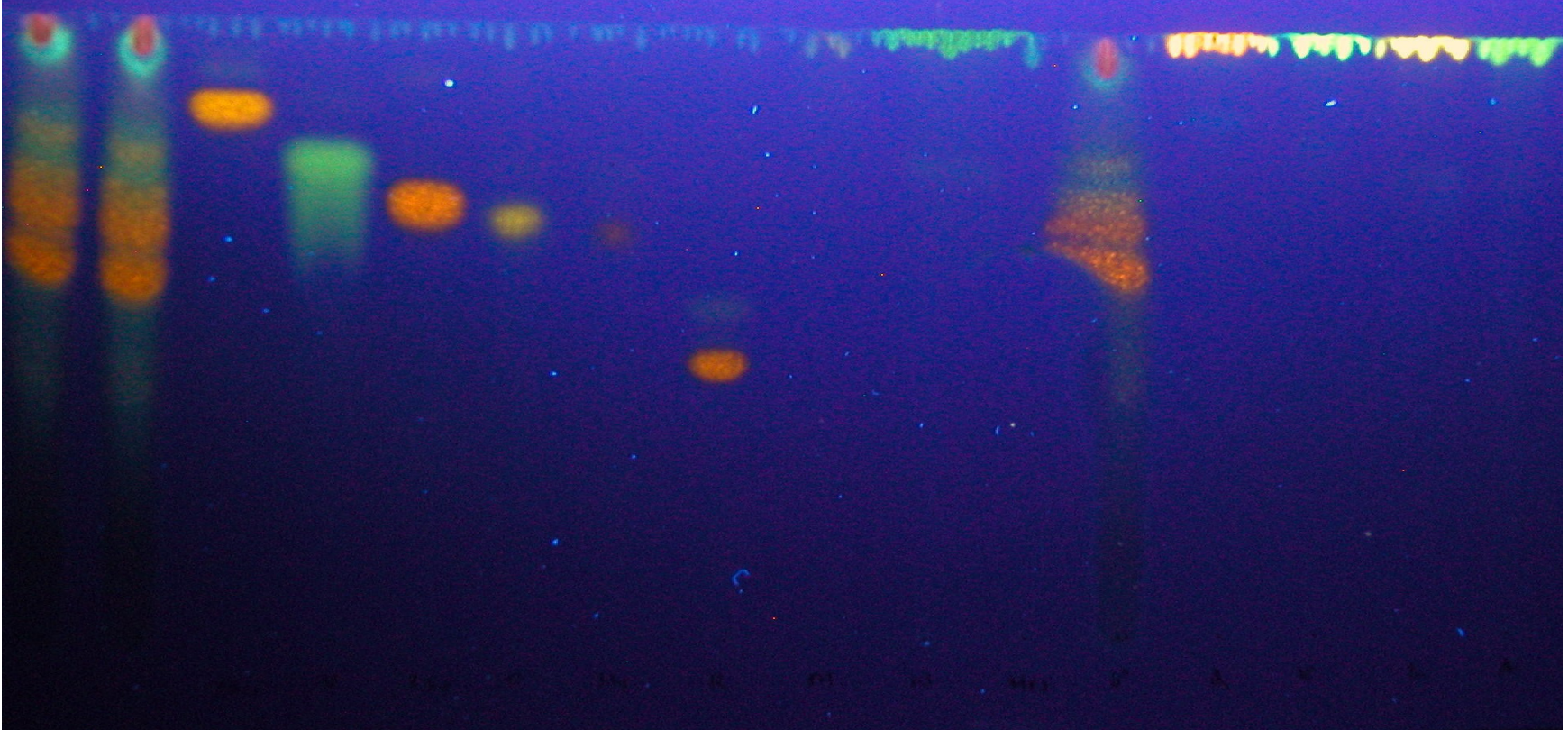
Şekil 3.43-3.45’de verilen fotoğraflarda standartlarla birlikte *R<sub>f</sub>* ve renk özelliklerine dayanarak flavonoid glikozitleri belirlenmiştir. Vitexin flavonoidin *R<sub>f</sub>* değeri 0,77, hyperoside flavonoidin *R<sub>f</sub>* değeri 0,65, rutin flavonoidin *R<sub>f</sub>* değeri 0,44 ve orientin flavonoidin *R<sub>f</sub>* değeri 0,70 olarak bulunmuştur (Şekil 3.43- Şekil 3.45).





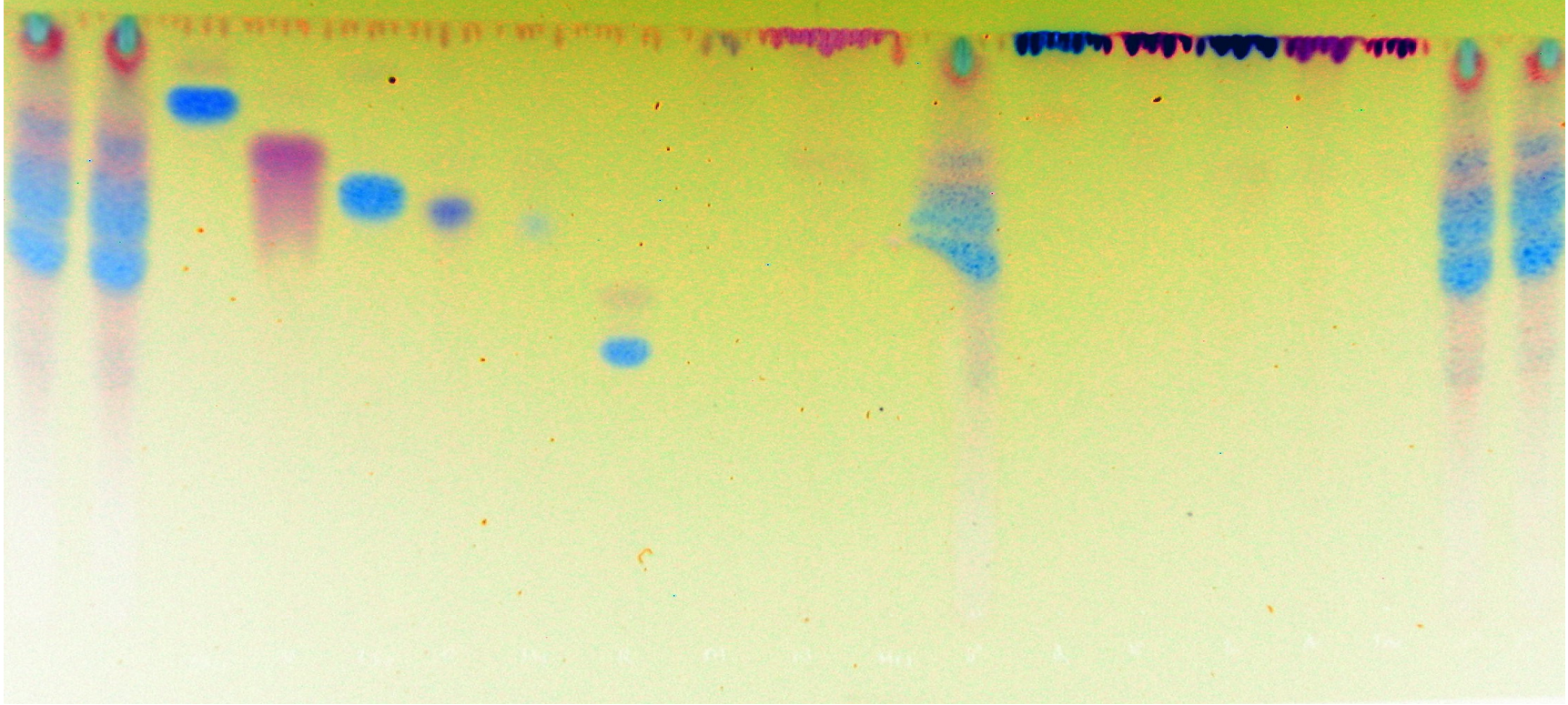
Örnek	Qci	Vit.	Iso.	Ori.	Hyp.	Rut.	My.	Nar.	Hes.	Örnek.	Qce.	Kam	Lut.	Api.	Isor	Örnek
-------	-----	------	------	------	------	------	-----	------	------	--------	------	-----	------	------	------	-------

**Şekil 3.43.** *A. ikizdereensis* türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında güneş ışığında alınan fotoğrafı.



Örnek	Qci	Vit.	Iso.	Ori.	Hyp.	Rut.	My.	Nar.	Hes.	Örnek.	Q.	K.	L.	A.	Irh	Örnek
-------	-----	------	------	------	------	------	-----	------	------	--------	----	----	----	----	-----	-------

Şekil 3.44. *A. ikizdereensis* türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında UV. 366 nm’de çekilen fotoğrafı

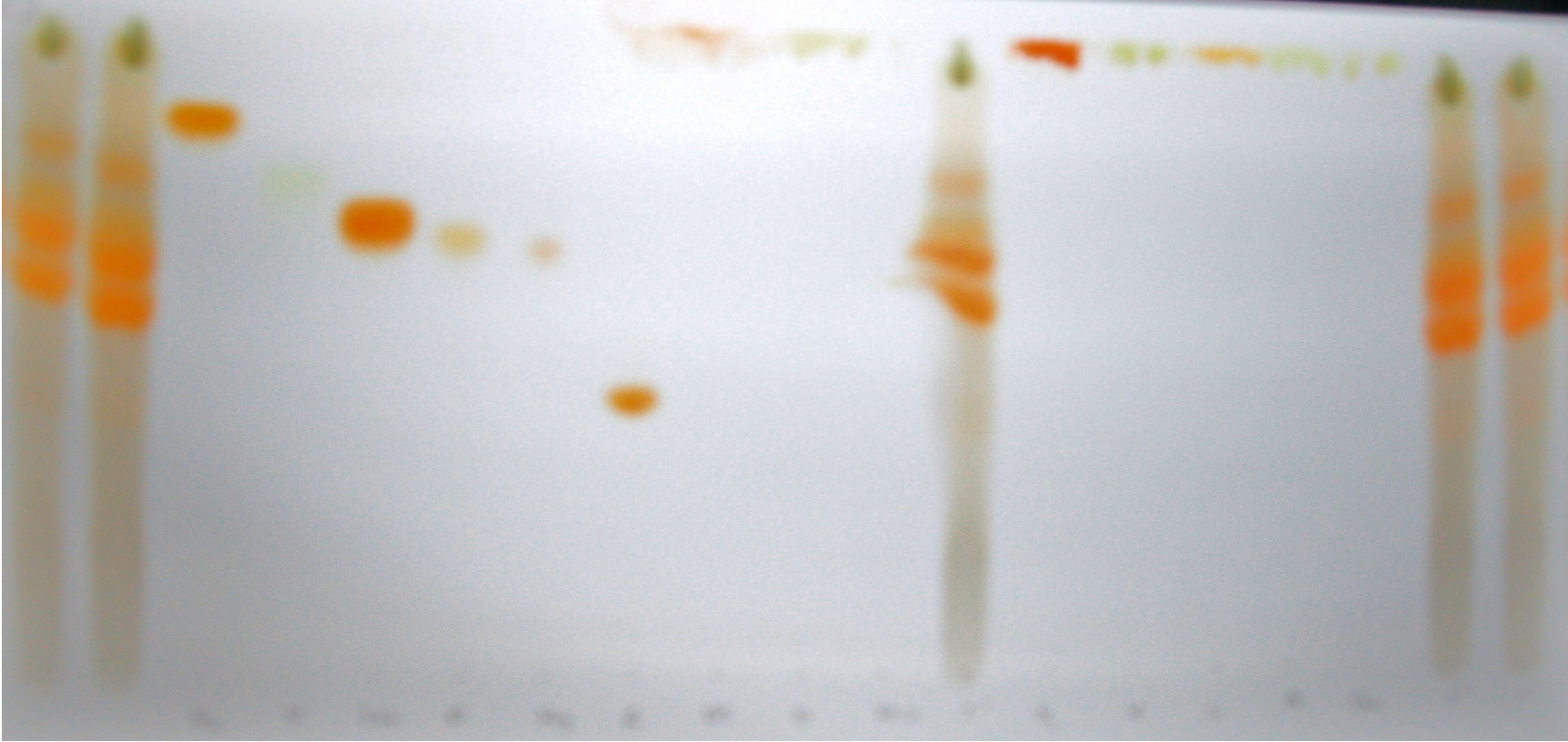


Örnek	Qci	Vit.	Iso.	Ori.	Hyp.	Rut.	My.	Nar.	Hes.	Örnek.	Qce.	Kam.	Lut.	Api.	Isor	Örnek
-------	-----	------	------	------	------	------	-----	------	------	--------	------	------	------	------	------	-------

**Şekil 3.45.** *A. ikizdereensis* türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında UV. 366 nm'de çekilen fotoğrafının renk değişimi sonucu elde edilen görüntüsü.

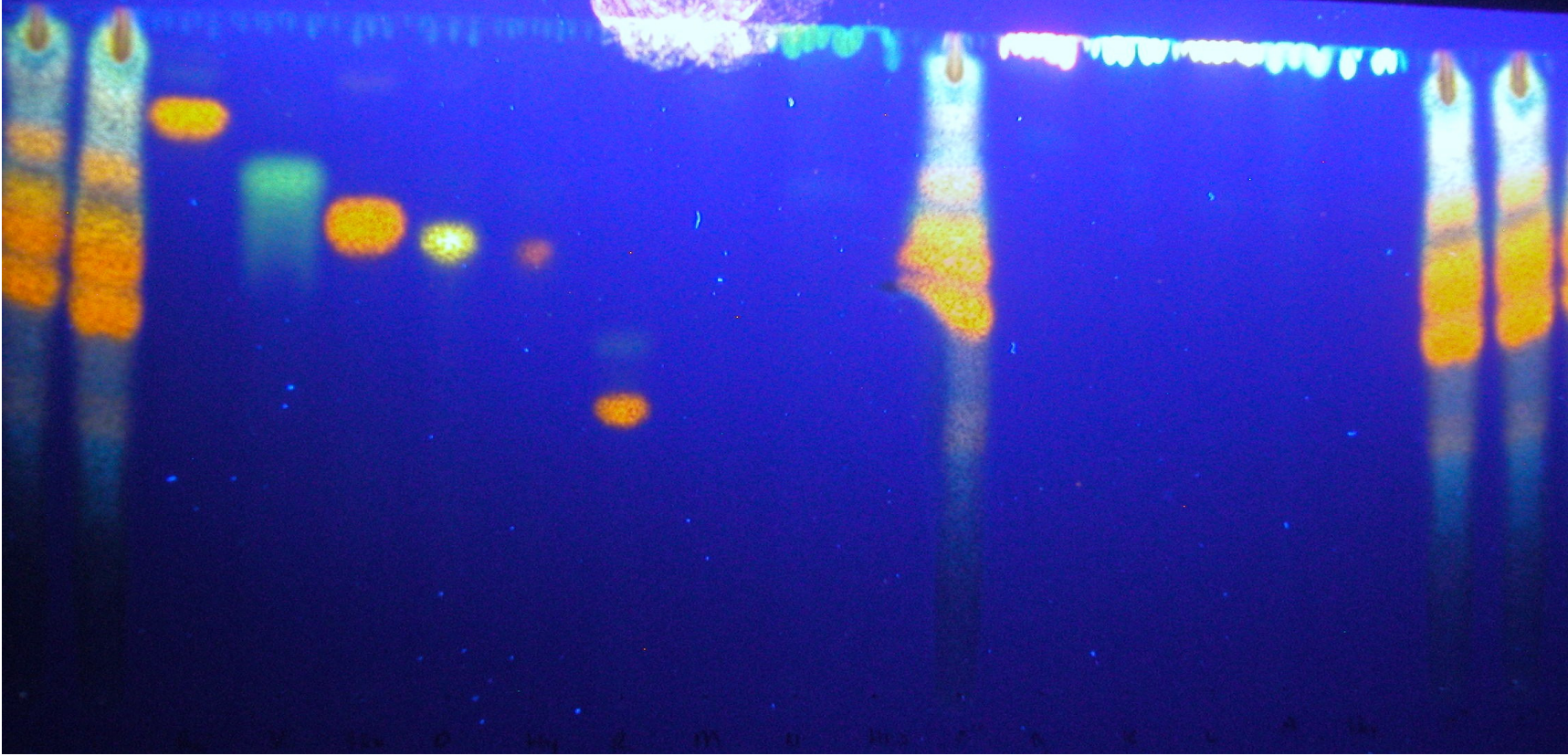
### **3.1.16. *A. procerrima* türünün İTK plak sonucu**

*A. procerrima* türünde hyperoside, rutin ve orientin bulunmuştur. Şekil 3.46-3.48'de verilen fotoğraflarda standartlarla birlikte *Rf* ve renk özelliklerine dayanarak flavonoid glikozitleri belirlenmiştir. Hyperoside flavonoidin *Rf* değeri 0,65, rutin flavonoidin *Rf* değeri 0,44 ve orientin flavonoidin *Rf* değeri 0,70 olarak bulunmuştur (Şekil 3.46- Şekil 3.48).



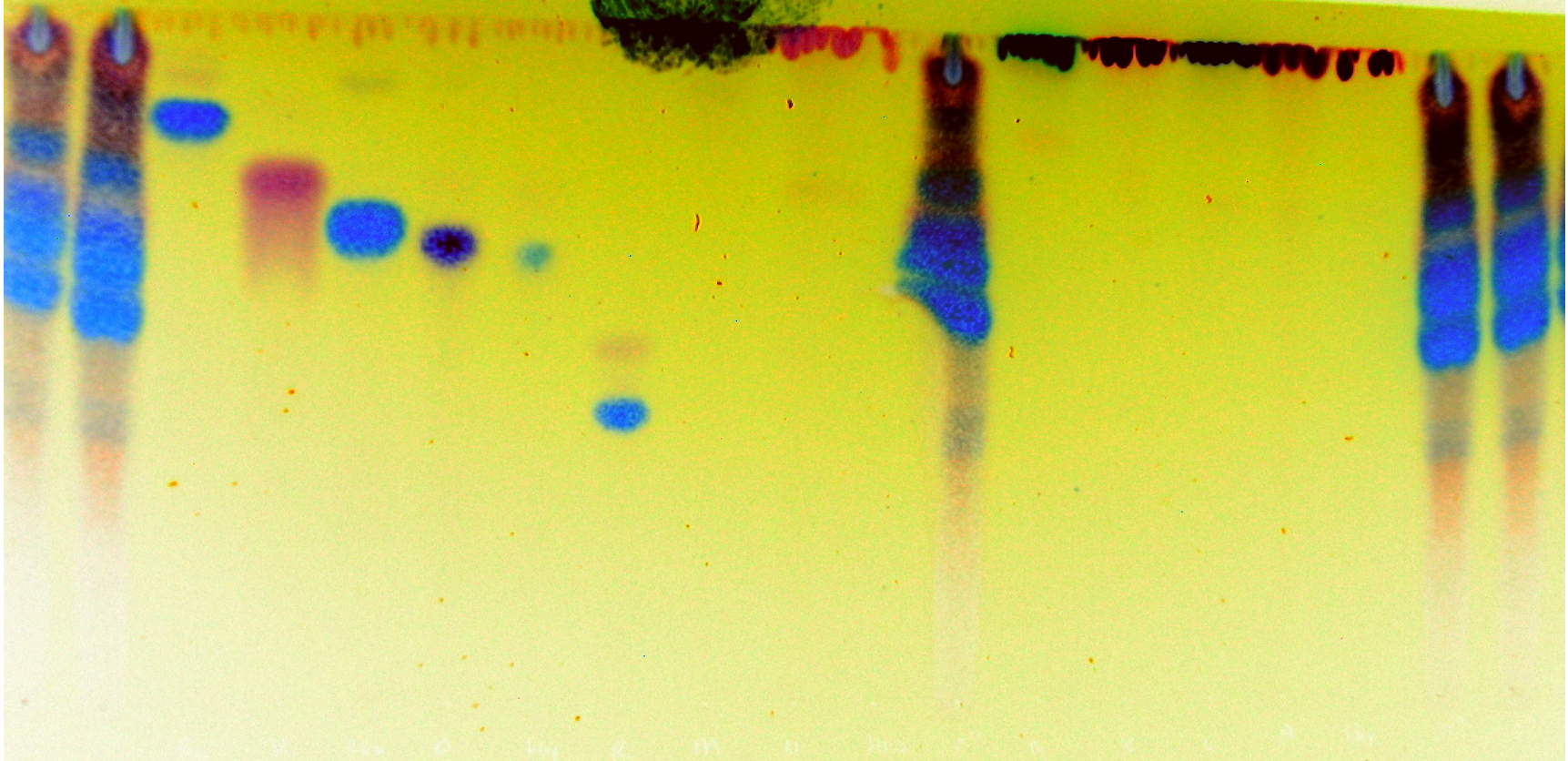
Örnek	Qci	Vit.	Iso.	Ori.	Hyp.	Rut.	My.	Nar.	Hes.	Örnek	Qce.	Kam.	Lut.	Api.	Isor	Örnek
-------	-----	------	------	------	------	------	-----	------	------	-------	------	------	------	------	------	-------

Şekil 3.46. *A. procerrima* türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında güneş ışığında alınan fotoğrafı.



Örnek	Qci	Vit.	Iso.	Ori.	Hyp.	Rut.	My.	Nar.	Hes.	Örnek	Qce.	Kam.	Lut.	Api.	Isor	Örnek
-------	-----	------	------	------	------	------	-----	------	------	-------	------	------	------	------	------	-------

Şekil 3.47. *A. procerrima* türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında UV. 366 nm’de çekilen fotoğrafı.



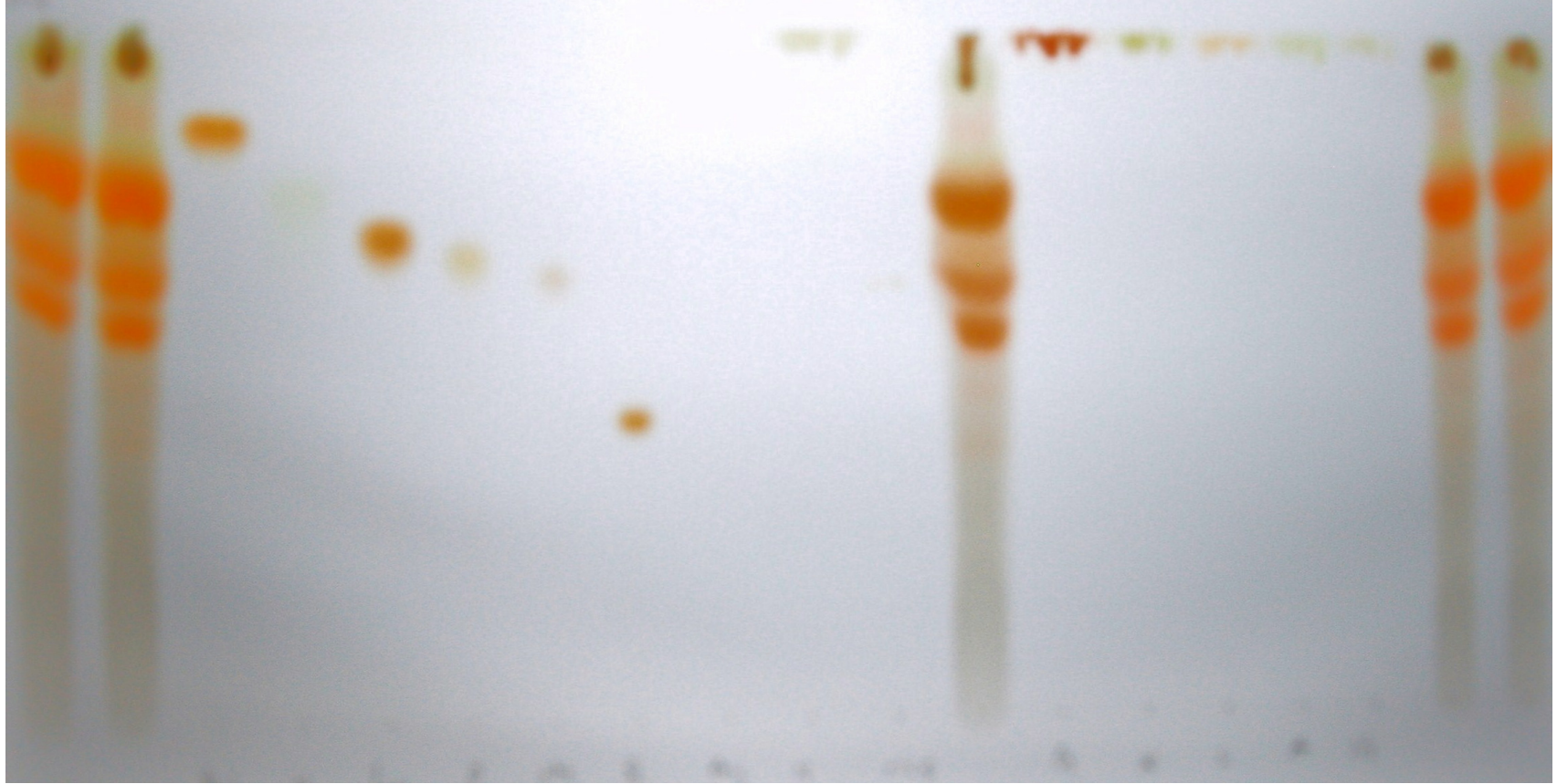
Örnek	Qci	Vit.	Iso.	Ori.	Hyp.	Rut.	My.	Nar.	Hes.	Örnek.	Qce.	Kam.	Lut.	Api.	Isor	Örnek
-------	-----	------	------	------	------	------	-----	------	------	--------	------	------	------	------	------	-------

**Şekil 3.48.** *A. procerrima* türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında UV. 366 nm’de çekilen fotoğrafının renk değişimi sonucu elde edilen görüntüsü.

### 3.1.17. *A. porrectidens* türünün İTK plak sonucu

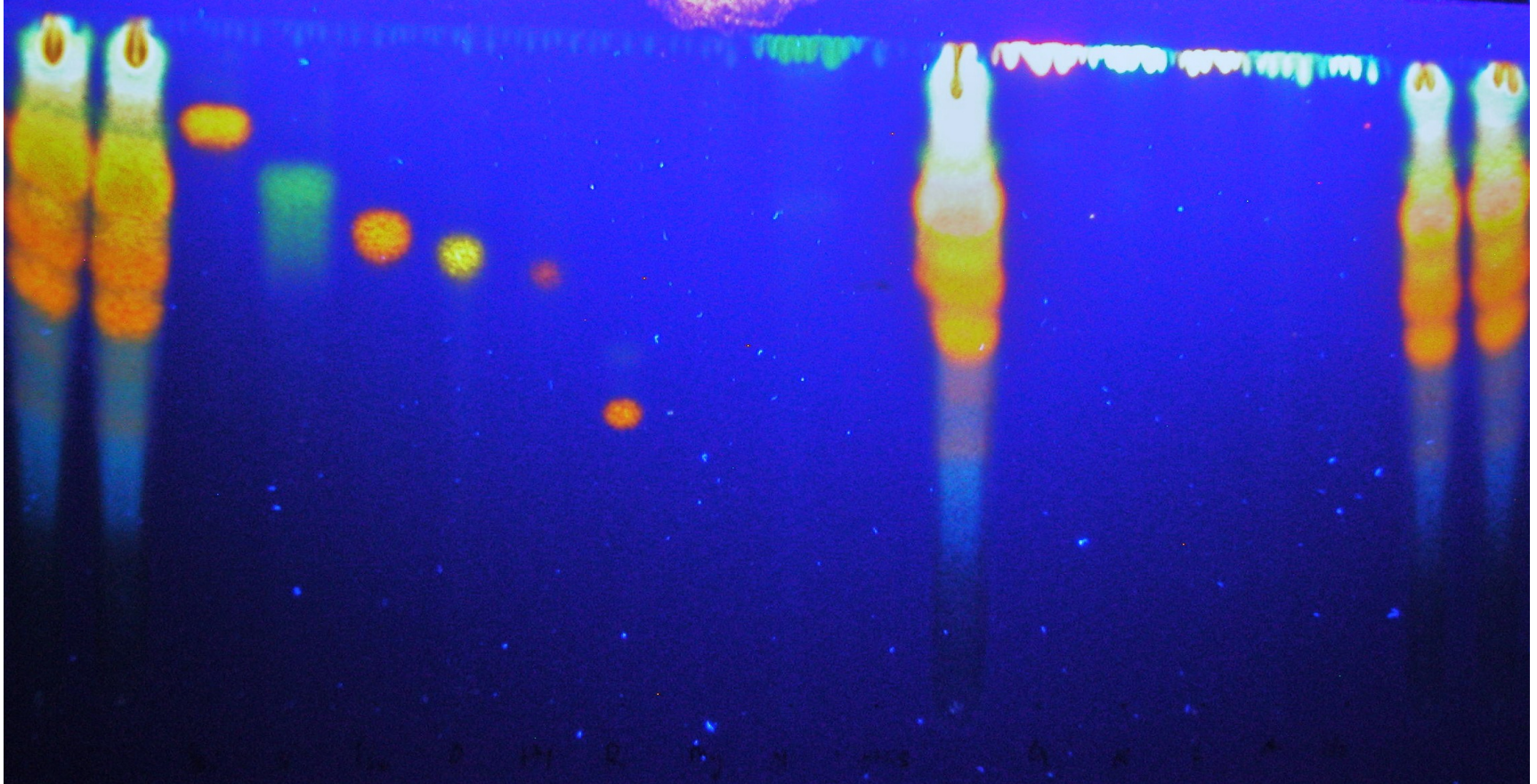
*A. porrectidens* türünde isoquercetin, hyperoside, rutin ve orientin bulunmuştur. Şekil 3.49-3.51’de verilen fotoğraflarda standartlarla birlikte  $R_f$  ve renk özelliklerine dayanarak flavonoid glikozitleri belirlenmiştir. Isoquercetin flavonoidin  $R_f$  değeri 0,72, hyperoside flavonoidin  $R_f$  değeri 0,65, rutin flavonoidin  $R_f$  değeri 0,44 ve orientin flavonoidin  $R_f$  değeri 0,70 olarak bulunmuştur (Şekil 3.49- Şekil 3.51).





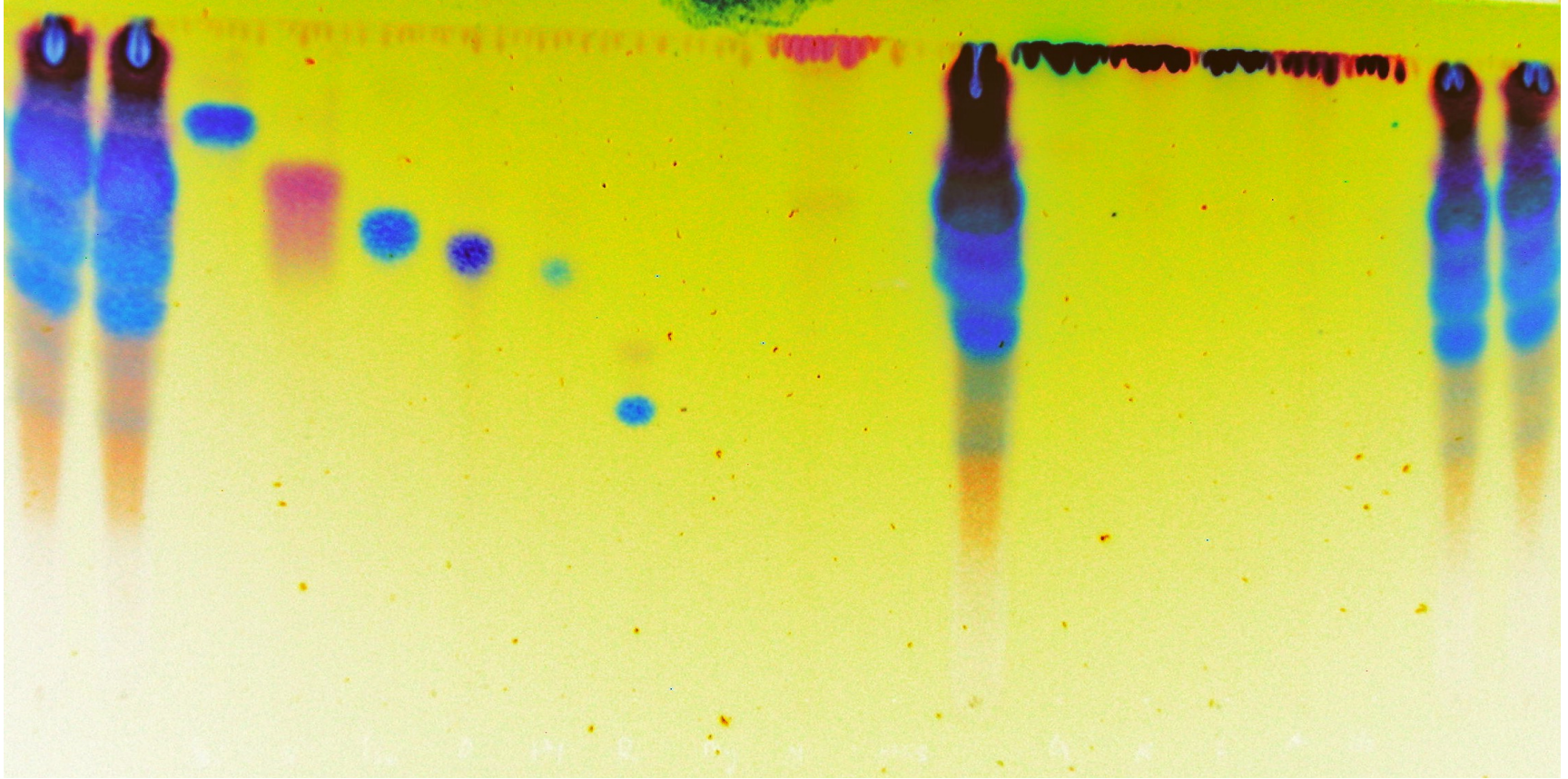
Örnek	Qci	Vit.	Iso.	Ori.	Hyp.	Rut.	My.	Nar.	Hes.	Örnek	Qce.	Kam.	Lut.	Api.	Isor	Örnek
-------	-----	------	------	------	------	------	-----	------	------	-------	------	------	------	------	------	-------

**Şekil 3.49.** *A. porrectidens* türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında güneş ışığında alınan fotoğrafı.



Örnek	Qci	Vit.	Iso.	Ori.	Hyp.	Rut.	My.	Nar.	Hes.	Örnek	Qce	Kam.	Lut.	Api	Isor	Örnek
-------	-----	------	------	------	------	------	-----	------	------	-------	-----	------	------	-----	------	-------

Şekil 3.50. *A. porrectidens* türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında UV. 366 nm'de çekilen fotoğrafı.

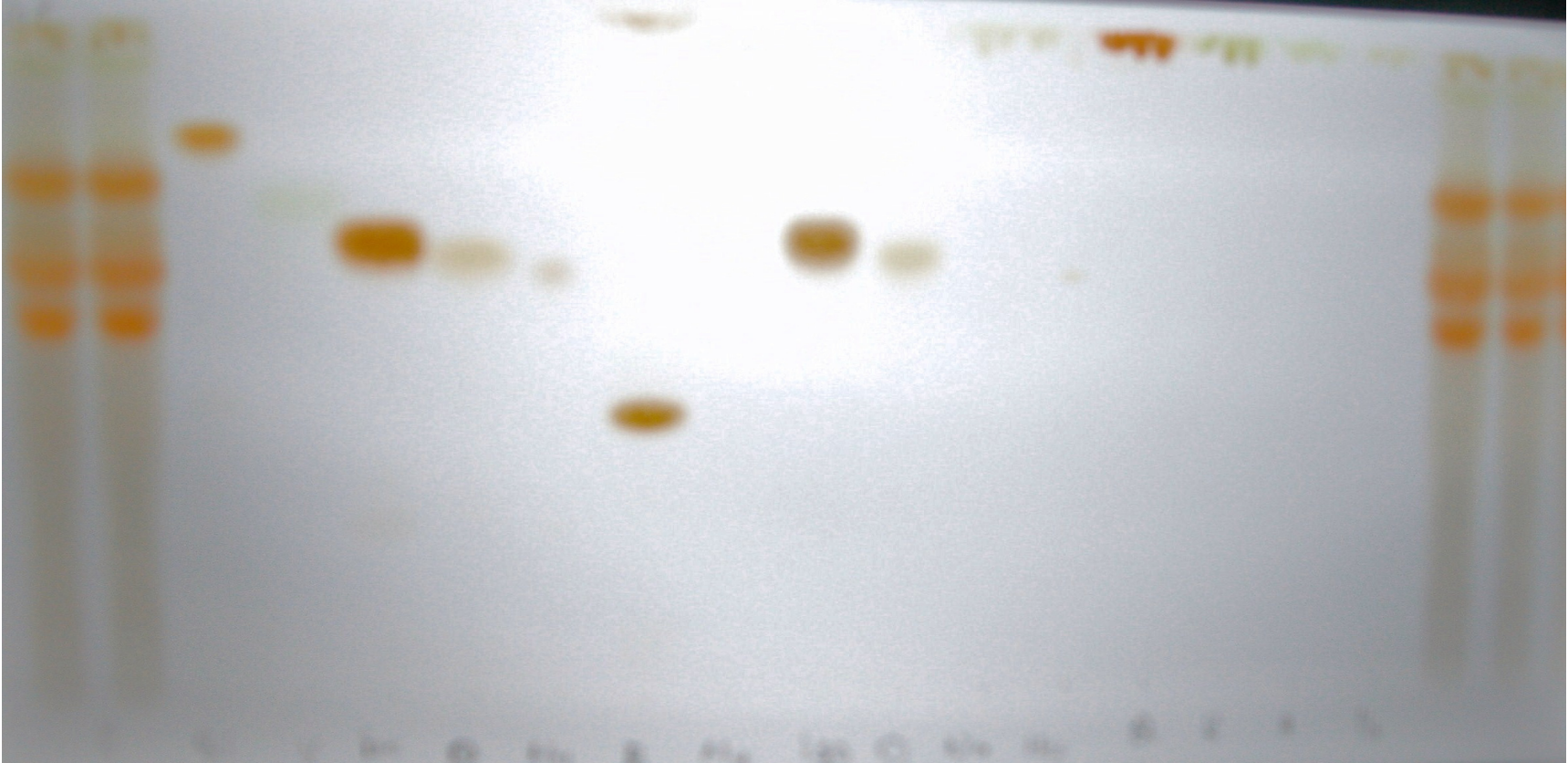


Örnek	Qci	Vit.	Iso.	Ori.	Hyp.	Rut.	My.	Nar.	Hes.	Örnek	Qce	Kam.	Lut.	Api	Isor	Örnek
-------	-----	------	------	------	------	------	-----	------	------	-------	-----	------	------	-----	------	-------

**Şekil 3.51.** *A. porrectidens* türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında UV. 366 nm'de çekilen fotoğrafının renk değişimi sonucu elde edilen görüntüsü.

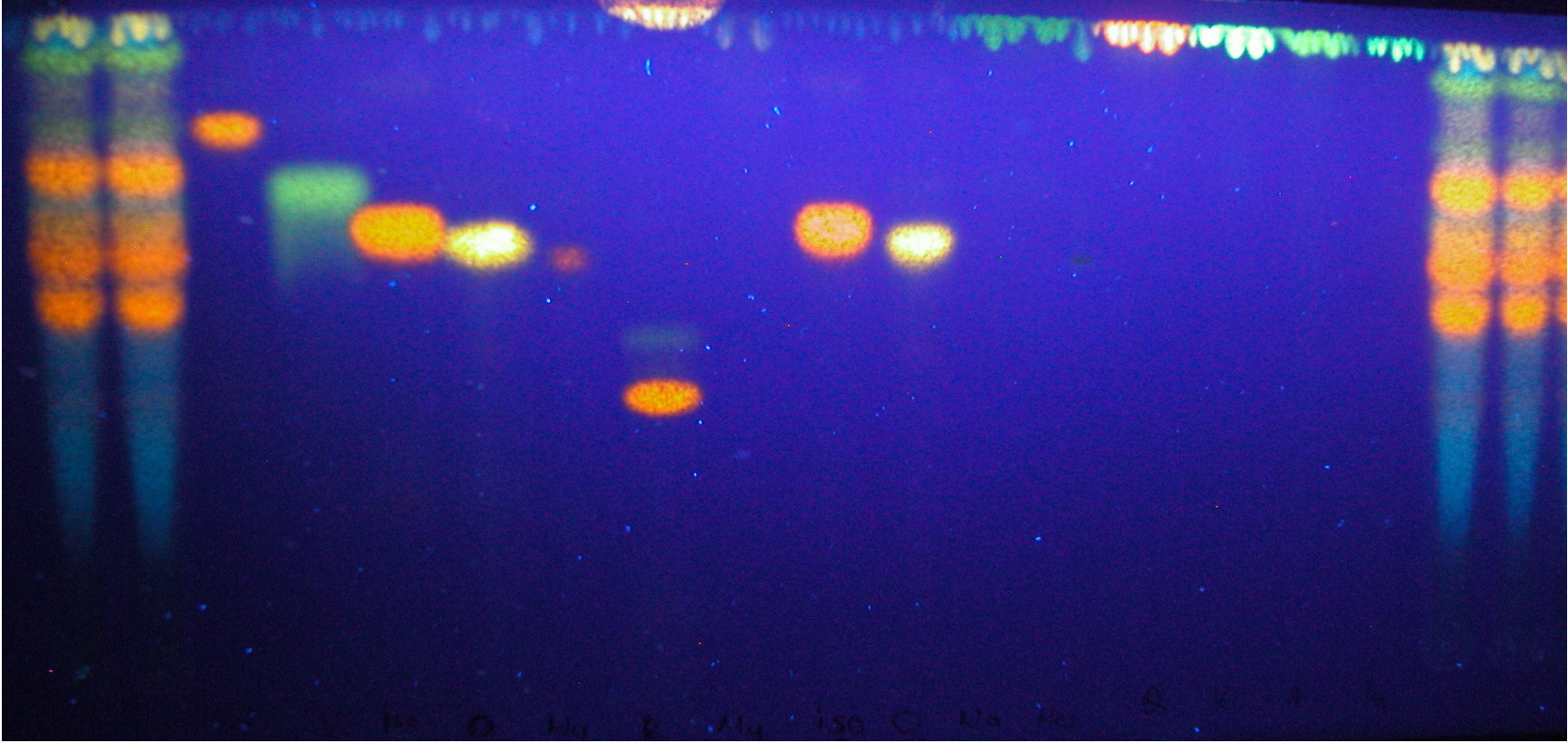
### 3.1.18. *A. oriturcica* türünün İTK plak sonucu

*A. oriturcica* türünde isoquercetin, hyperoside ve rutin bulunmuştur. Şekil 3.52-3.54'de verilen fotoğraflarda standartlarla birlikte  $R_f$  ve renk özelliklerine dayanarak flavonoid glikozitleri belirlenmiştir. Isoquercetin flavonoidin  $R_f$  değeri 0,72, hyperoside flavonoidin  $R_f$  değeri 0,65 ve rutin flavonoidin  $R_f$  değeri 0,44 olarak bulunmuştur (Şekil 3.52- Şekil 3.54).



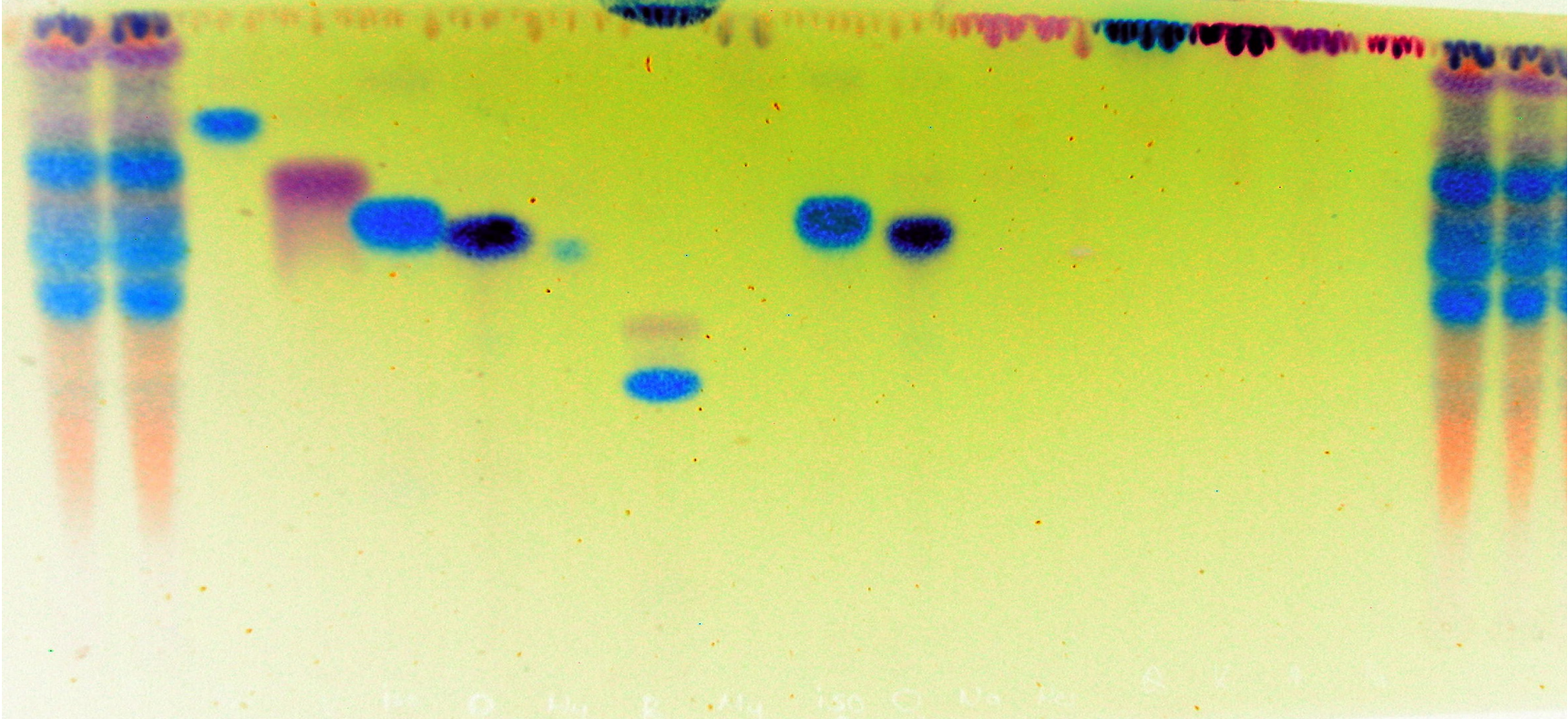
Örnek	Qci	Vit.	Iso.	Ori.	Hyp.	Rut.	My.	Iso	Ori.	Nar.	Hes.	Qce.	Kam	Lut.	Api.	Örnek
-------	-----	------	------	------	------	------	-----	-----	------	------	------	------	-----	------	------	-------

**Şekil 3.52.** *A. oriturcica* türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında güneş ışığında alınan fotoğrafı.



Örnek	Qci	Vit.	Iso.	Ori.	Hyp.	Rut.	My.	Iso	Ori.	Nar.	Hes.	Qce.	Kam	Lut.	Api.	Örnek
-------	-----	------	------	------	------	------	-----	-----	------	------	------	------	-----	------	------	-------

Şekil 3.53. *A. oriturcica* türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında UV. 366 nm'de çekilen fotoğrafı.



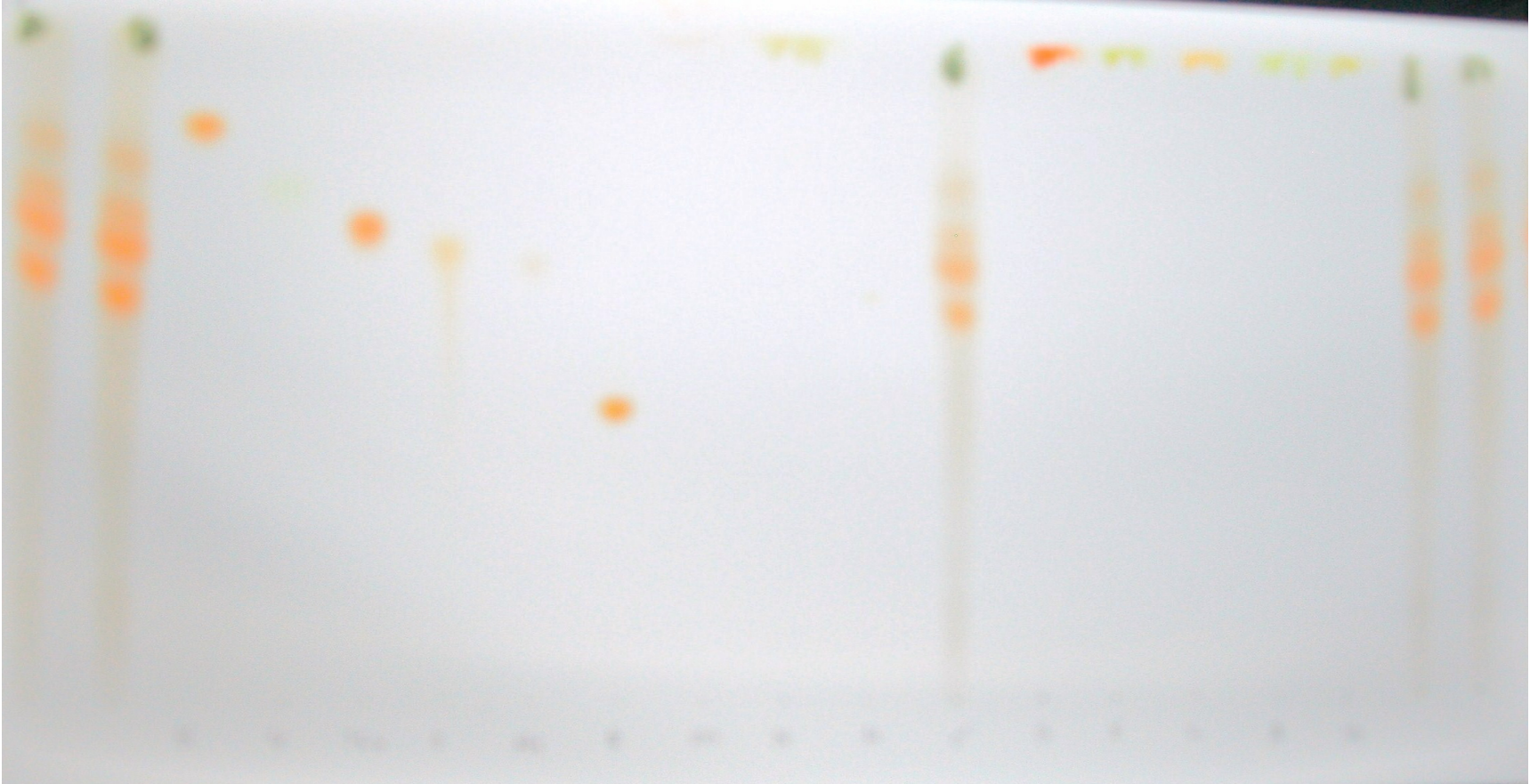
Örnek	Qci	Vit.	Iso.	Ori.	Hyp.	Rut.	My.	Iso	Ori.	Nar.	Hes.	Qce.	Kam	Lut.	Api.	Örnek
-------	-----	------	------	------	------	------	-----	-----	------	------	------	------	-----	------	------	-------

**Şekil 3.54.** *A. oriturcica* türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında UV. 366 nm'de çekilen fotoğrafının renk değişimi sonucu elde edilen görüntüsü.

### 3.1.19. *A. bursensis* türünün İTK plak sonucu

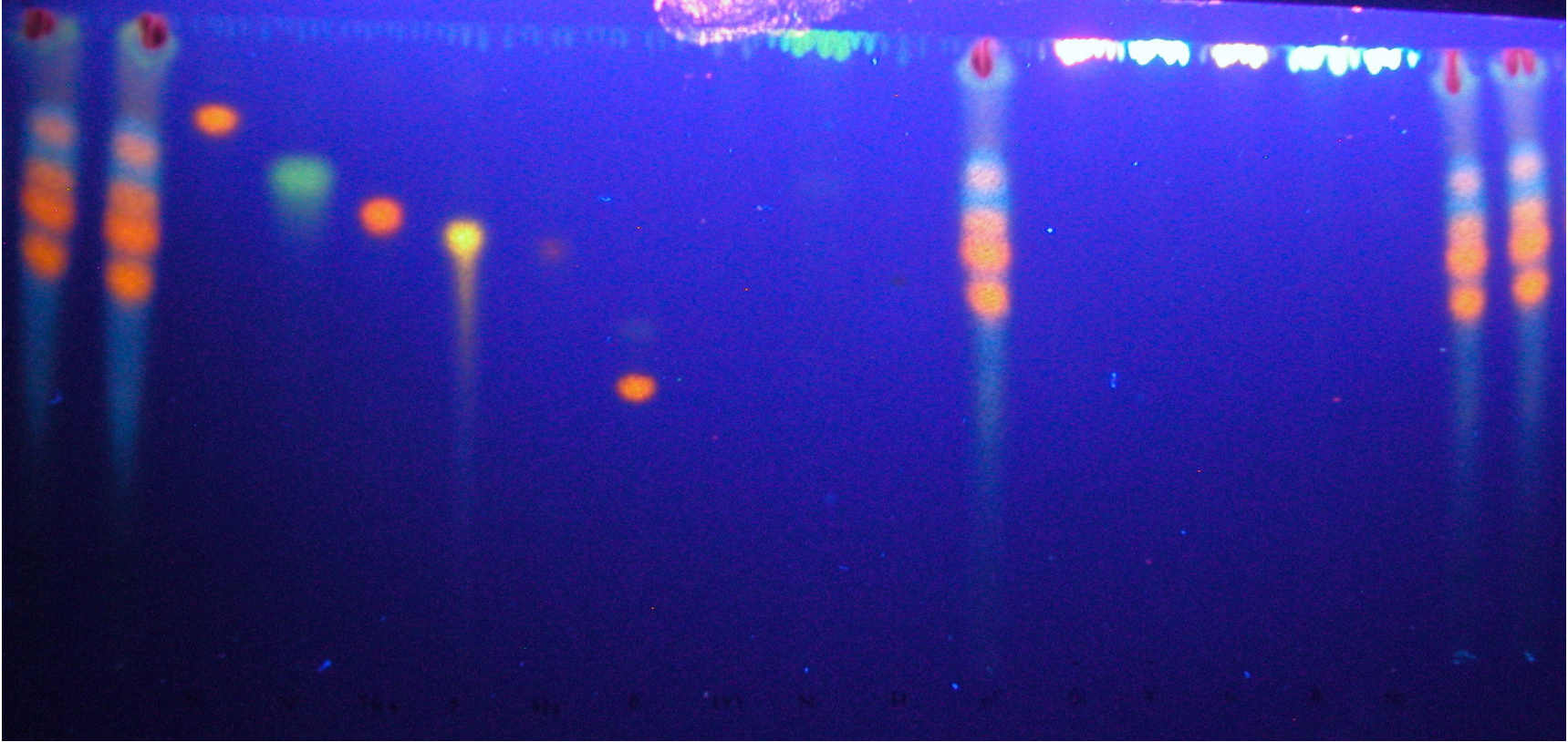
*A. bursensis* türünde isoquercetin, hyperoside ve rutin bulunmuştur. Şekil 3.55-3.57'de verilen fotoğraflarda standartlarla birlikte  $R_f$  ve renk özelliklerine dayanarak flavonoid glikozitleri belirlenmiştir. Isoquercetin flavonoidin  $R_f$  değeri 0,72, hyperoside flavonoidin  $R_f$  değeri 0,65 ve rutin flavonoidin  $R_f$  değeri 0,44 olarak bulunmuştur (Şekil 3.55- Şekil 3.57).





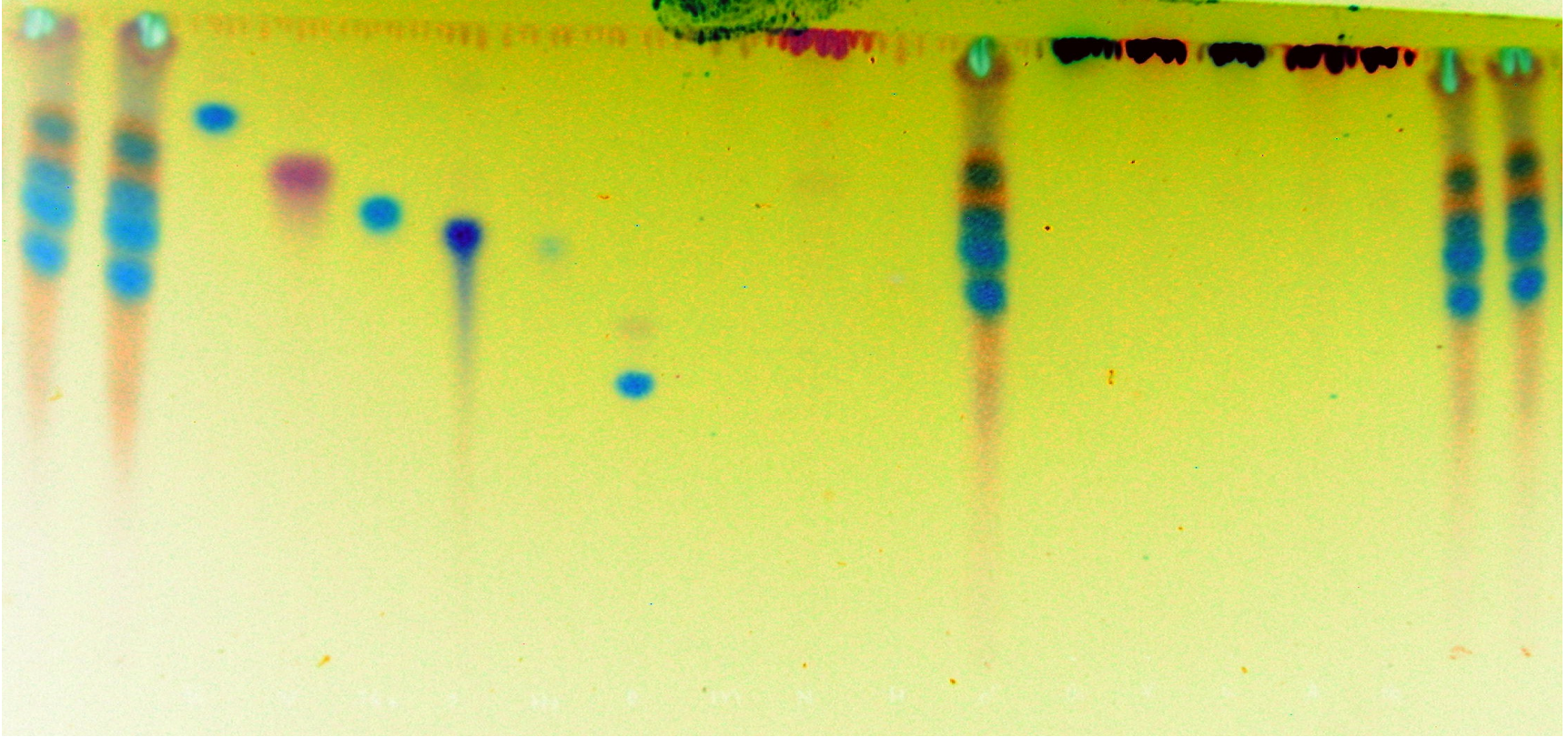
Örnek	Qci	Vit.	Iso.	Ori.	Hyp.	Rut.	My.	Nar.	Hes.	Örnek	Qce.	Kam.	Lut.	Api.	Isor.	Örnek
-------	-----	------	------	------	------	------	-----	------	------	-------	------	------	------	------	-------	-------

**Şekil 3.55.** *A. bursensis* türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında güneş ışığında alınan fotoğrafı.



Örnek	Qci	Vit.	Iso.	Ori.	Hyp.	Rut.	My.	Nar.	Hes.	Örnek	Qce.	Kam.	Lut.	Api.	Isor	Örnek
-------	-----	------	------	------	------	------	-----	------	------	-------	------	------	------	------	------	-------

Şekil 3.56. *A. bursensis* türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında UV. 366 nm'de çekilen fotoğrafı.

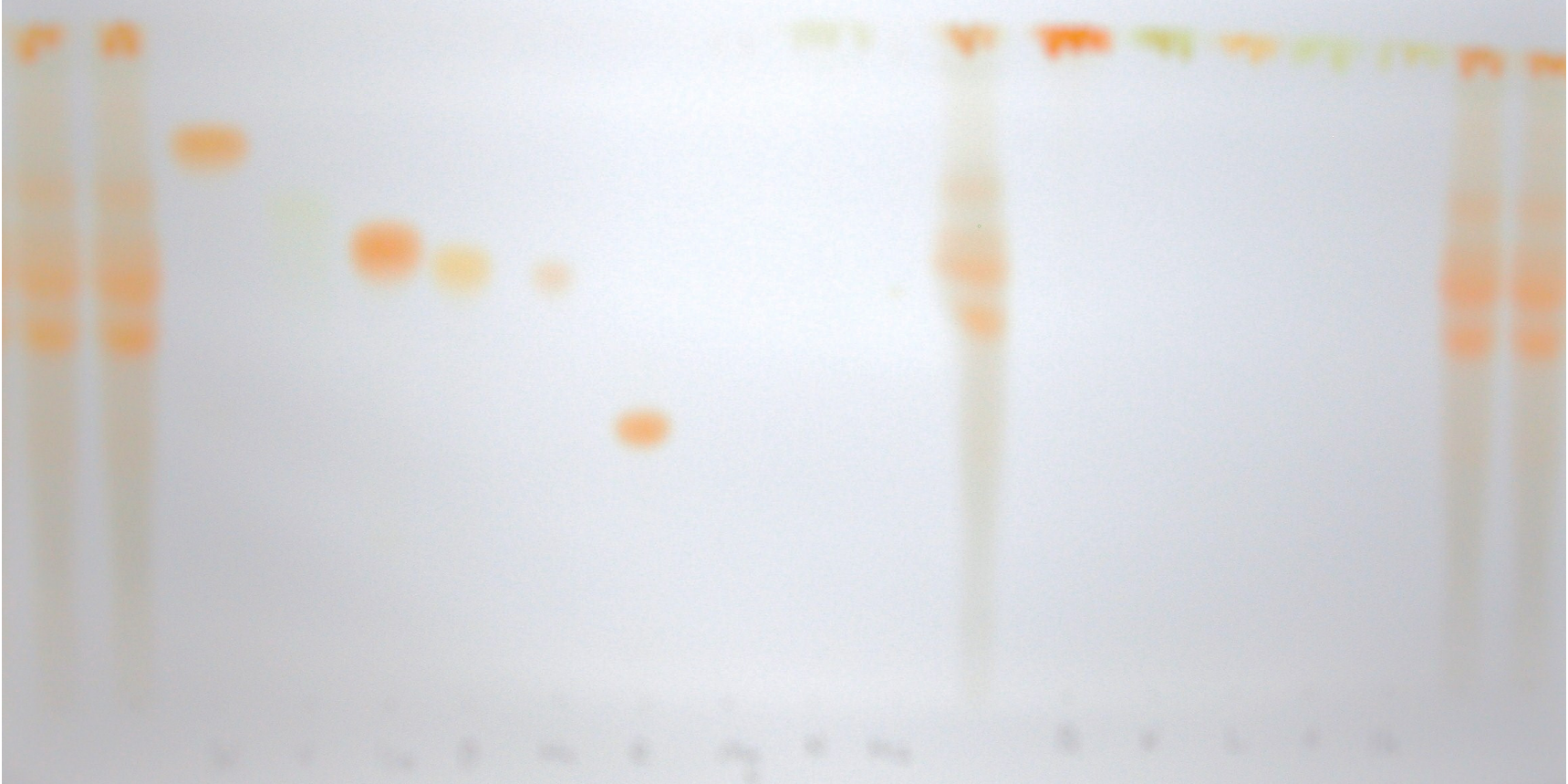


Örnek	Qci	Vit.	Iso.	Ori.	Hyp.	Rut.	My.	Nar.	Hes.	Örnek	Qce.	Kam.	Lut.	Api.	Isor	Örnek
-------	-----	------	------	------	------	------	-----	------	------	-------	------	------	------	------	------	-------

Şekil 3.57. *A. bursensis* türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında UV. 366 nm'de çekilen fotoğrafının renk değişimi sonucu elde edilen görüntüsü.

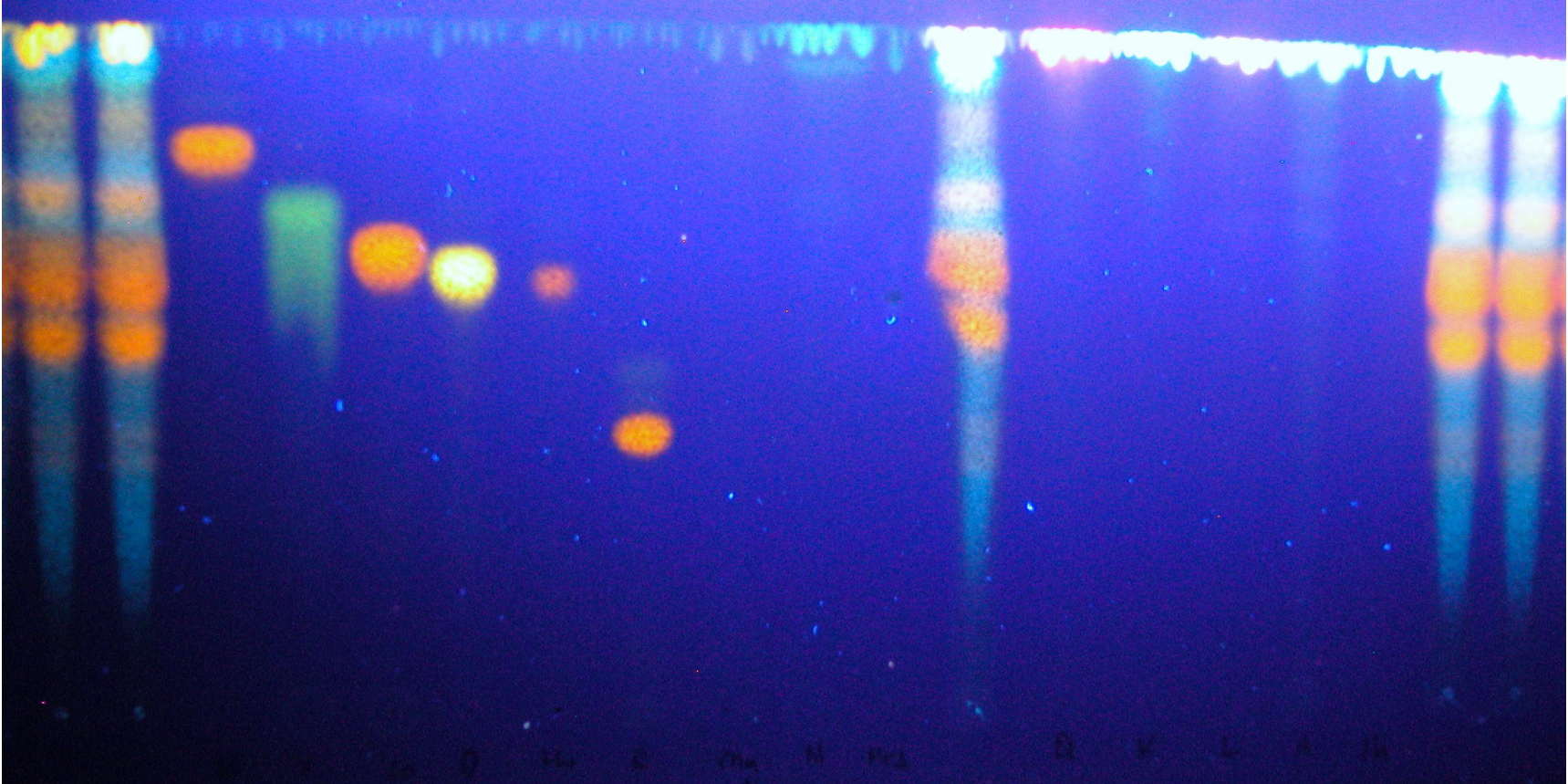
### 3.1.20. *A. persica* türünün İTK plak sonucu

*A. persica* türünde isoquercetin, hyperoside ve rutin bulunmuştur. Şekil 3.58-3.60'da verilen fotoğraflarda standartlarla birlikte *Rf* ve renk özelliklerine dayanarak flavonoid glikozitleri belirlenmiştir. Isoquercetin flavonoidin *Rf* değeri 0,72, hyperoside flavonoidin *Rf* değeri 0,65 ve rutin flavonoidin *Rf* değeri 0,44 olarak bulunmuştur (Şekil 3.58- Şekil 3.60).



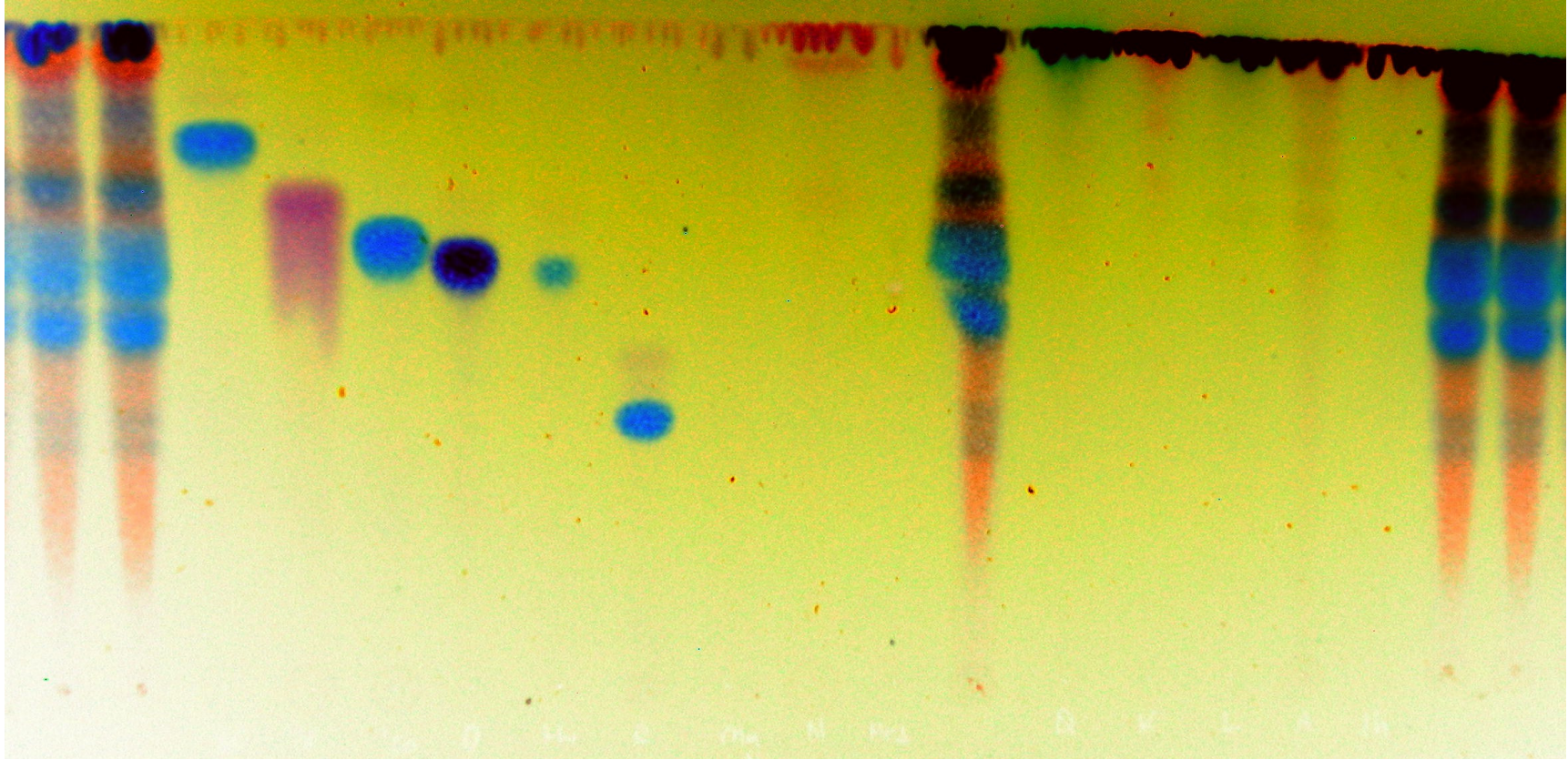
Örnek	Qci	Vit.	Iso.	Ori.	Hyp.	Rut.	My.	Nar.	Hes.	Örnek	Qce.	Kam.	Lut.	Api.	Isor	Örnek
-------	-----	------	------	------	------	------	-----	------	------	-------	------	------	------	------	------	-------

Şekil 3.58. *A. persica* türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında güneş ışığında alınan fotoğrafı.



Örnek	Qci	Vit.	Iso.	Ori.	Hyp.	Rut.	My.	Nar.	Hes.	Örnek	Qce.	Kam.	Lut.	Api.	Isor	Örnek
-------	-----	------	------	------	------	------	-----	------	------	-------	------	------	------	------	------	-------

Şekil 3.59. *A. persica* türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında UV. 366 nm'de çekilen fotoğrafı.



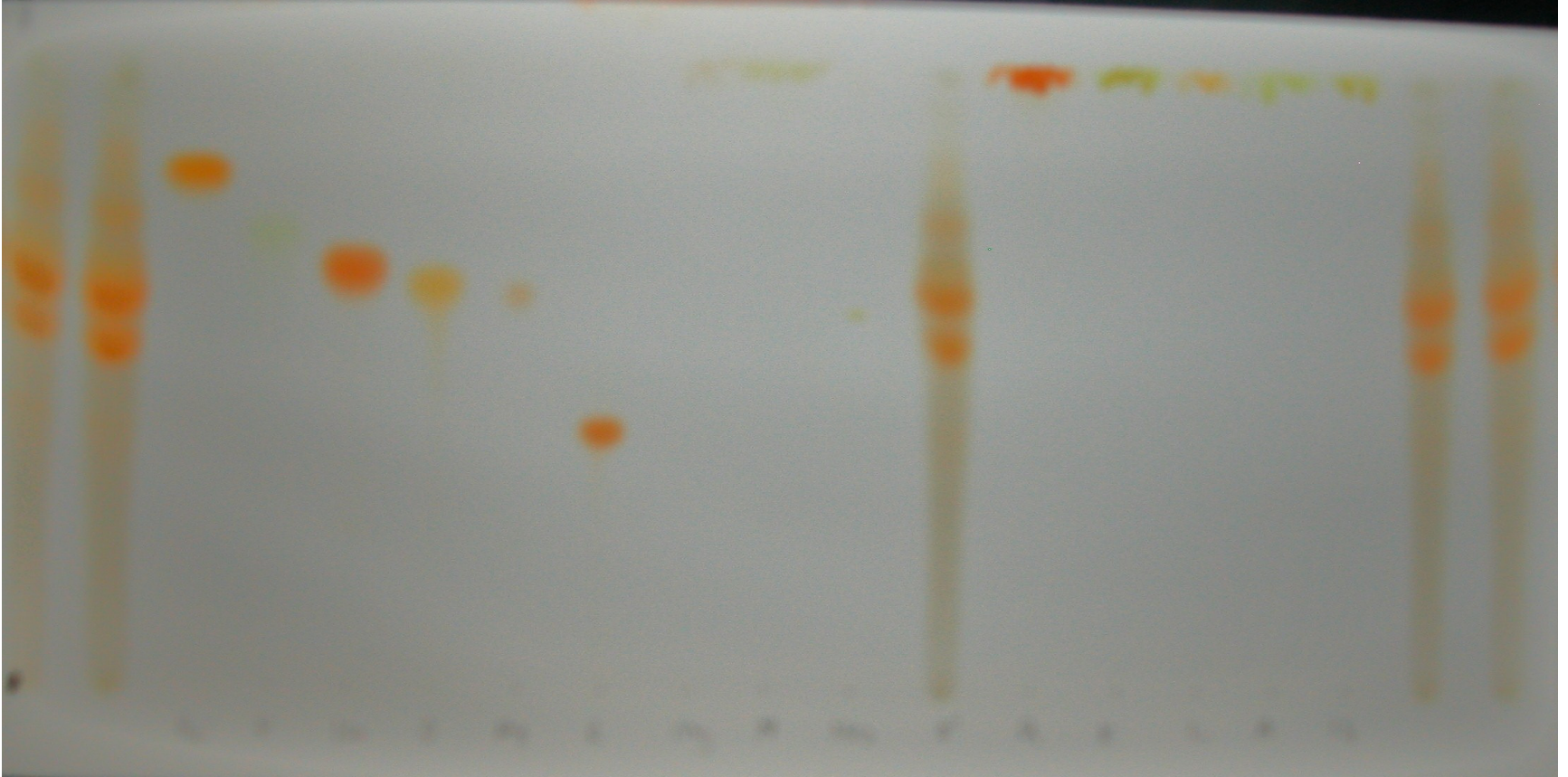
Örnek	Qci	Vit.	Iso.	Ori.	Hyp.	Rut.	My.	Nar.	Hes.	Örnek	Qce.	Kam.	Lut.	Api.	Isor	Örnek
-------	-----	------	------	------	------	------	-----	------	------	-------	------	------	------	------	------	-------

**Şekil 3.60.** *A. persica* türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında UV. 366 nm'de çekilen fotoğrafının renk değişimi sonucu elde edilen görüntüsü.

### 3.1.21. *A. trabzonica* türünün İTK plak sonucu

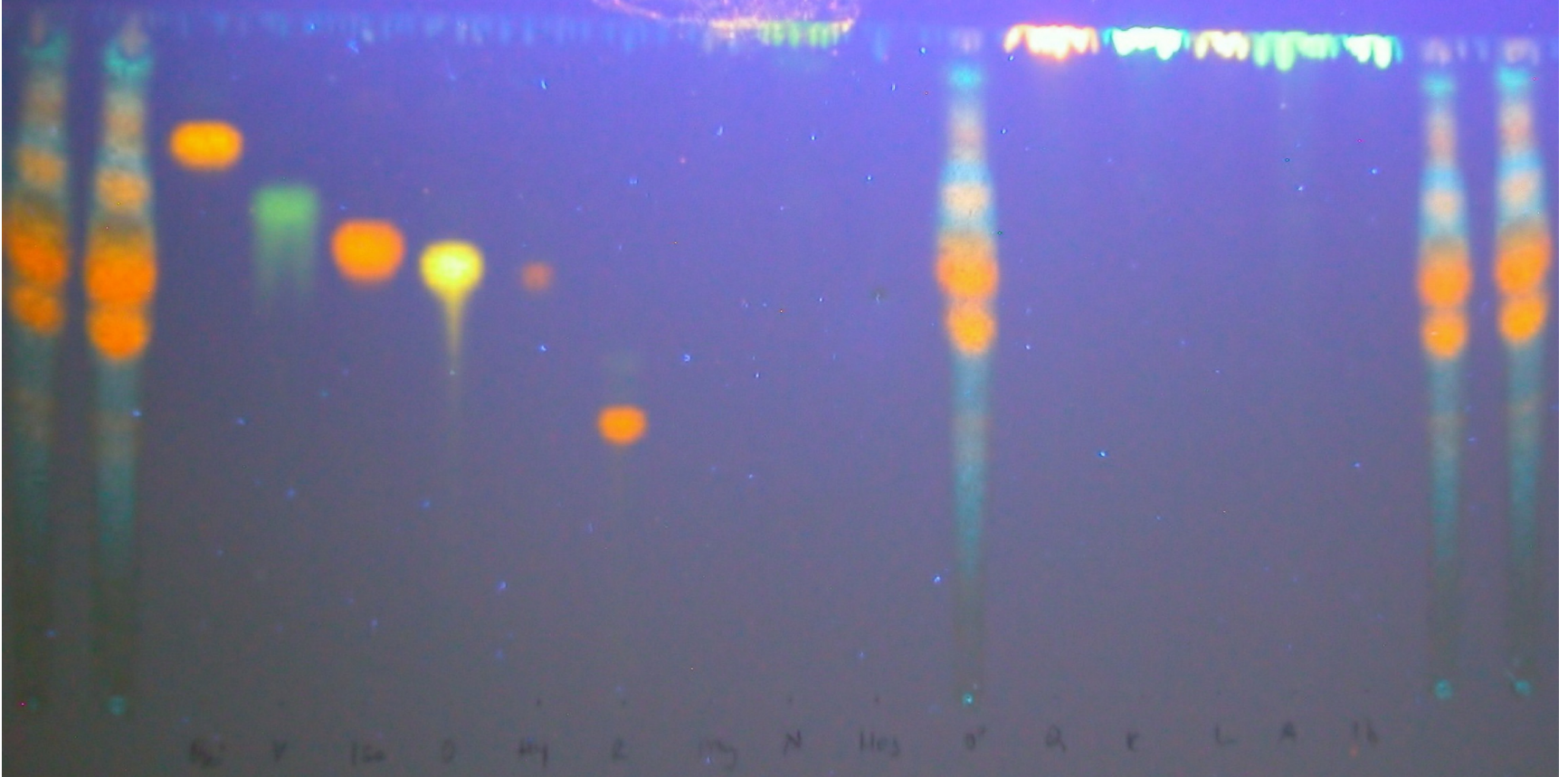
*A. trabzonica* türünde quercitrin, isoquercetin, hyperoside ve rutin bulunmuştur. Şekil 3.61-3.63’de verilen fotoğraflarda standartlarla birlikte  $R_f$  ve renk özelliklerine dayanarak flavonoid glikozitleri belirlenmiştir. Quercitrin flavonoidin  $R_f$  değeri 0,84, isoquercetin flavonoidin  $R_f$  değeri 0,72, hyperoside flavonoidin  $R_f$  değeri 0,65 ve rutin flavonoidin  $R_f$  değeri 0,44 olarak bulunmuştur (Şekil 3.61- Şekil 3.63).





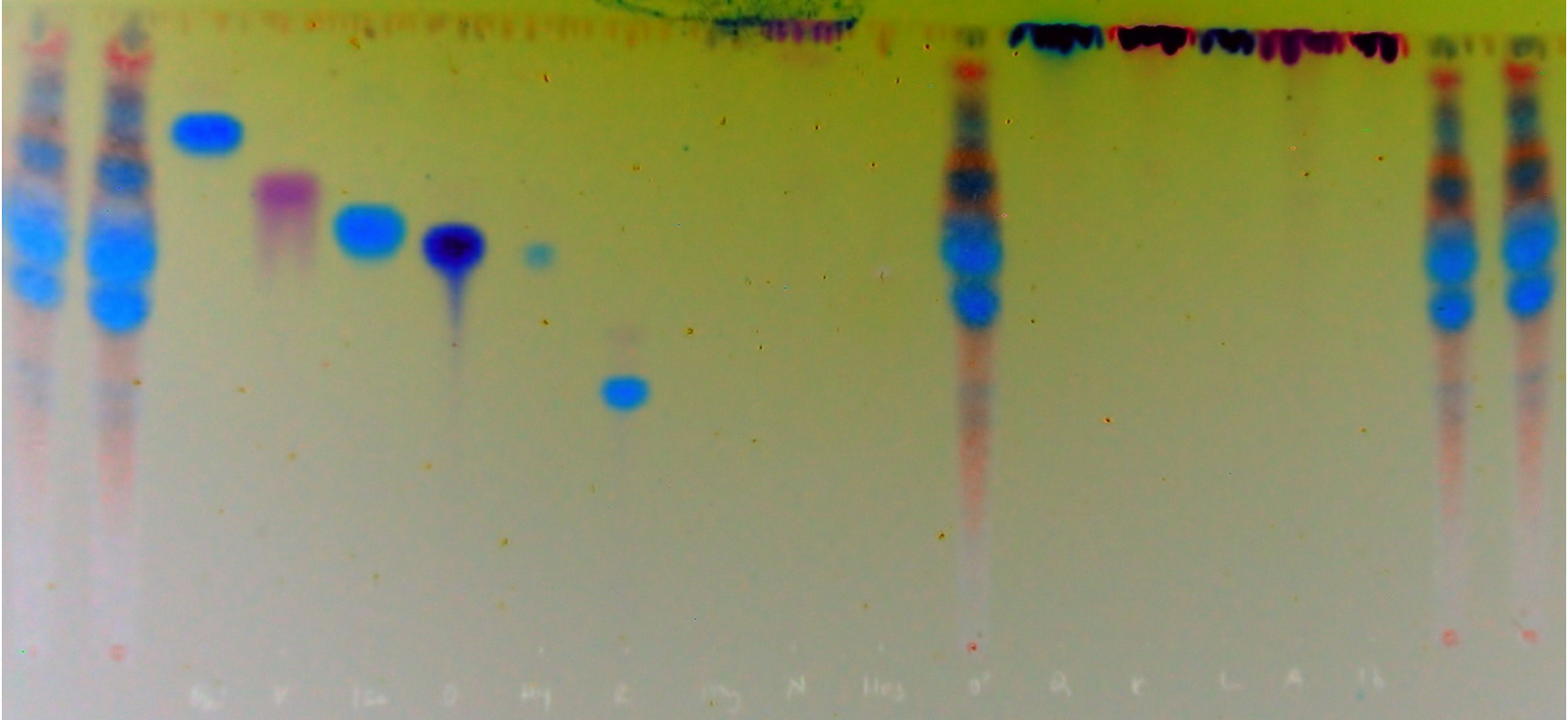
Örnek	Qci	Vit.	Iso.	Ori.	Hyp.	Rut.	My.	Nar.	Hes.	Örnek	Qce.	Kam.	Lut.	Api.	Isor	Örnek
-------	-----	------	------	------	------	------	-----	------	------	-------	------	------	------	------	------	-------

Şekil 3.61. *A. trabzonica* türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında güneş ışığında alınan fotoğrafı.



Örnek	Qci	Vit.	Iso.	Ori.	Hyp.	Rut.	My.	Nar.	Hes.	Örnek	Qce.	Kam.	Lut.	Api.	Isor	Örnek
-------	-----	------	------	------	------	------	-----	------	------	-------	------	------	------	------	------	-------

Şekil 3.62. *A. trabzonica* türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında UV. 366 nm’de çekilen fotoğrafı.

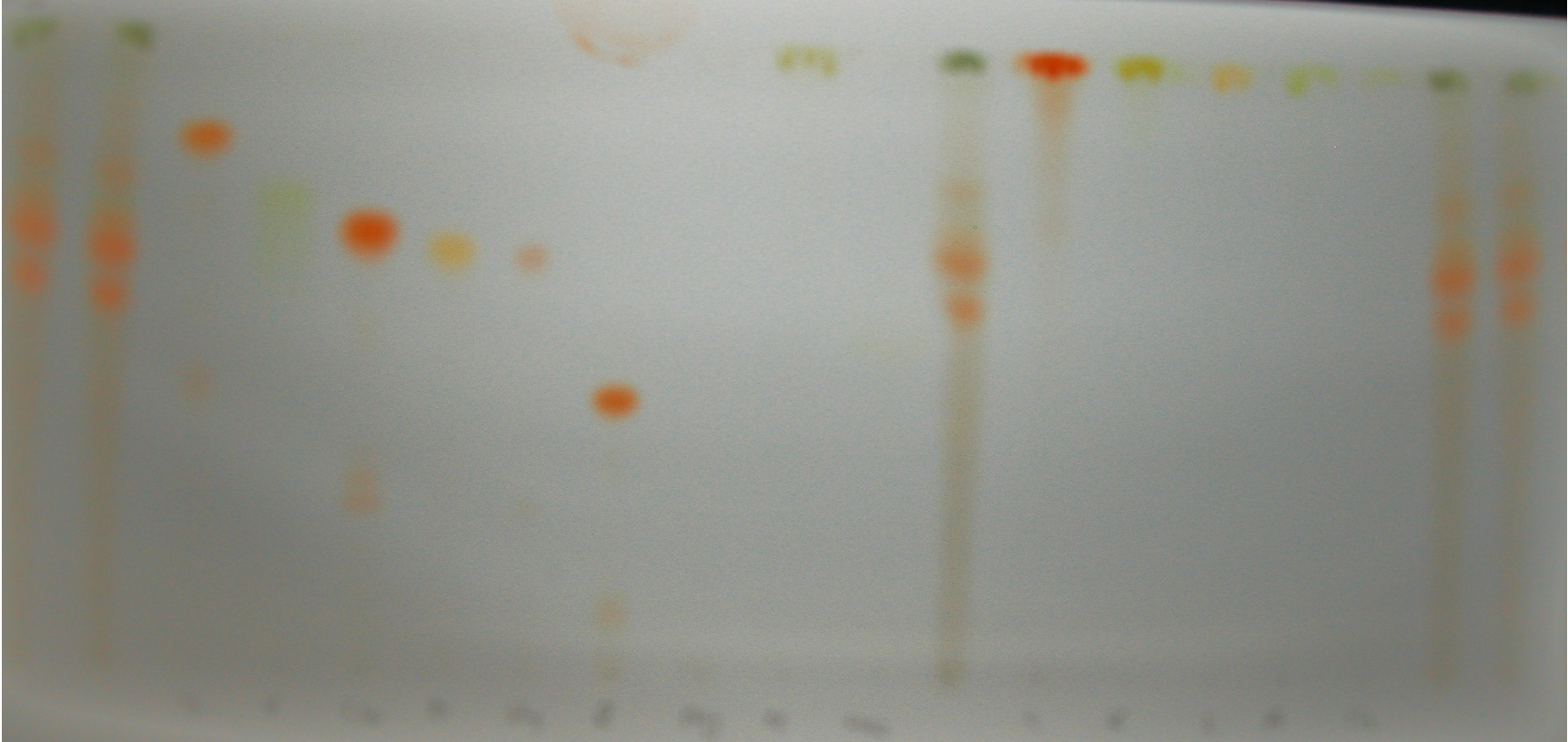


Örnek	Qci	Vit.	Iso.	Ori.	Hyp.	Rut.	My.	Nar.	Hes.	Örnek	Qce.	Kam.	Lut.	Api.	Isor	Örnek
-------	-----	------	------	------	------	------	-----	------	------	-------	------	------	------	------	------	-------

**Şekil 3.63.** *A. trabzonica* türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında UV. 366 nm'de çekilen fotoğrafının renk değişimi sonucu elde edilen görüntüsü.

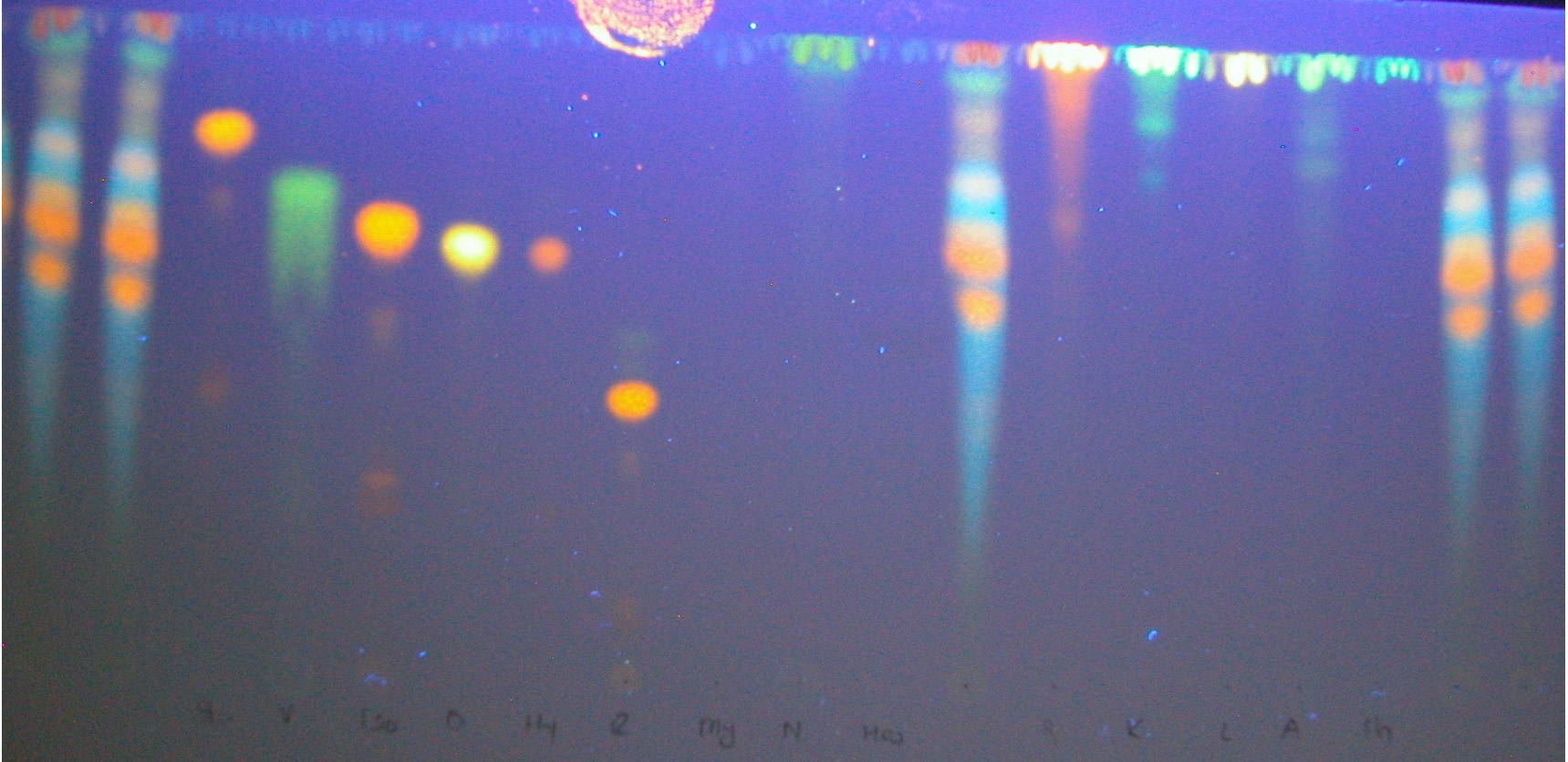
### 3.1.22. *A. tiryalensis* türünün İTK plak sonucu

*A. tiryalensis* türünde orientin, hyperoside ve rutin bulunmuştur. Şekil 3.64-3.66'da verilen fotoğraflarda standartlarla birlikte *Rf* ve renk özelliklerine dayanarak flavonoid glikozitleri belirlenmiştir. Orientin flavonoidin *Rf* değeri 0,70, hyperoside flavonoidin *Rf* değeri 0,65 ve rutin flavonoidin *Rf* değeri 0,44 olarak bulunmuştur (Şekil 3.64- Şekil 3.66).



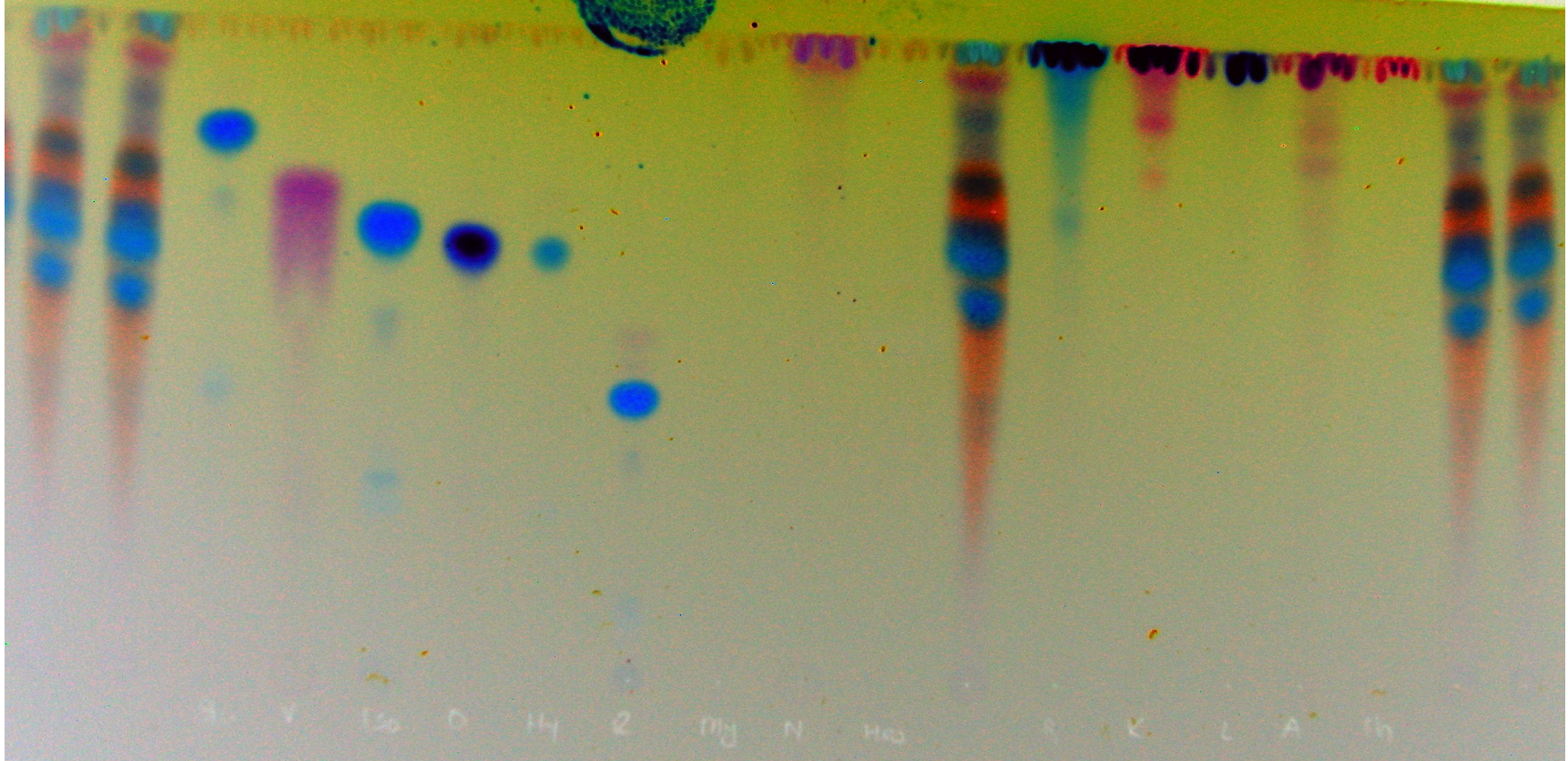
Örnek	Qci	Vit.	Iso.	Ori.	Hyp.	Rut.	My.	Nar.	Hes.	Örnek	Qce.	Kam.	Lut.	Api.	Isor	Örnek
-------	-----	------	------	------	------	------	-----	------	------	-------	------	------	------	------	------	-------

**Şekil 3.64.** *A. tiryalensis* türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında güneş ışığında alınan fotoğrafı.



Örnek	Qci	Vit.	Iso.	Ori.	Hyp.	Rut.	My.	Nar.	Hes.	Örnek	Qce.	Kam.	Lut.	Api.	Isor	Örnek
-------	-----	------	------	------	------	------	-----	------	------	-------	------	------	------	------	------	-------

**Şekil 3.65.** *A. tiryalensis* türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında UV. 366 nm’de çekilen fotoğrafı.



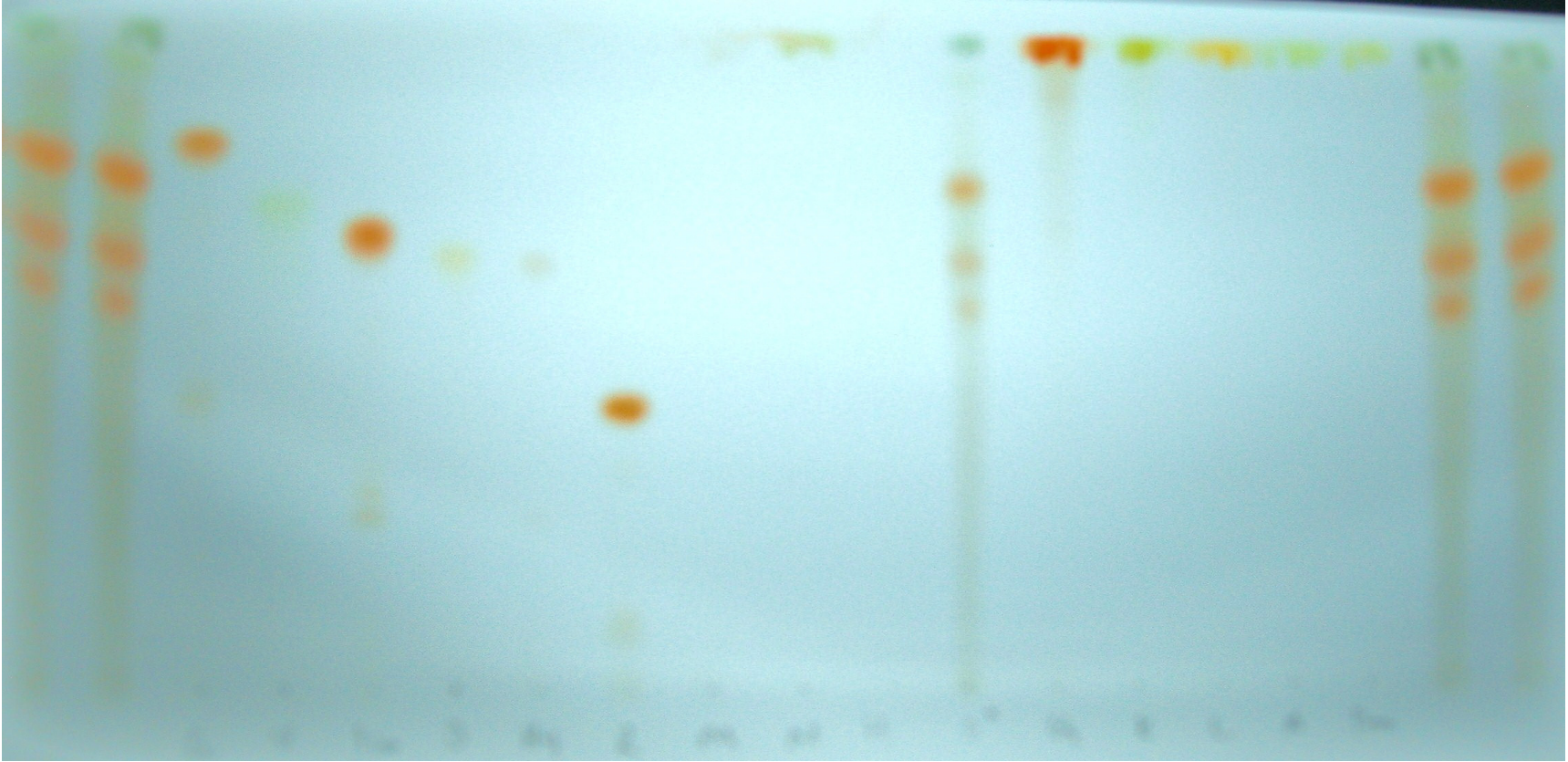
Örnek	Qci	Vit.	Iso.	Ori.	Hyp.	Rut.	My.	Nar.	Hes.	Örnek	Qce.	Kam.	Lut.	Api.	Isor	Örnek
-------	-----	------	------	------	------	------	-----	------	------	-------	------	------	------	------	------	-------

**Şekil 3.66.** *A. tiryalensis* türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında UV. 366 nm’de çekilen fotoğrafının renk değişimi sonucu elde edilen görüntüsü.

### 3.1.23. *A. speciosa* türünün İTK plak sonucu

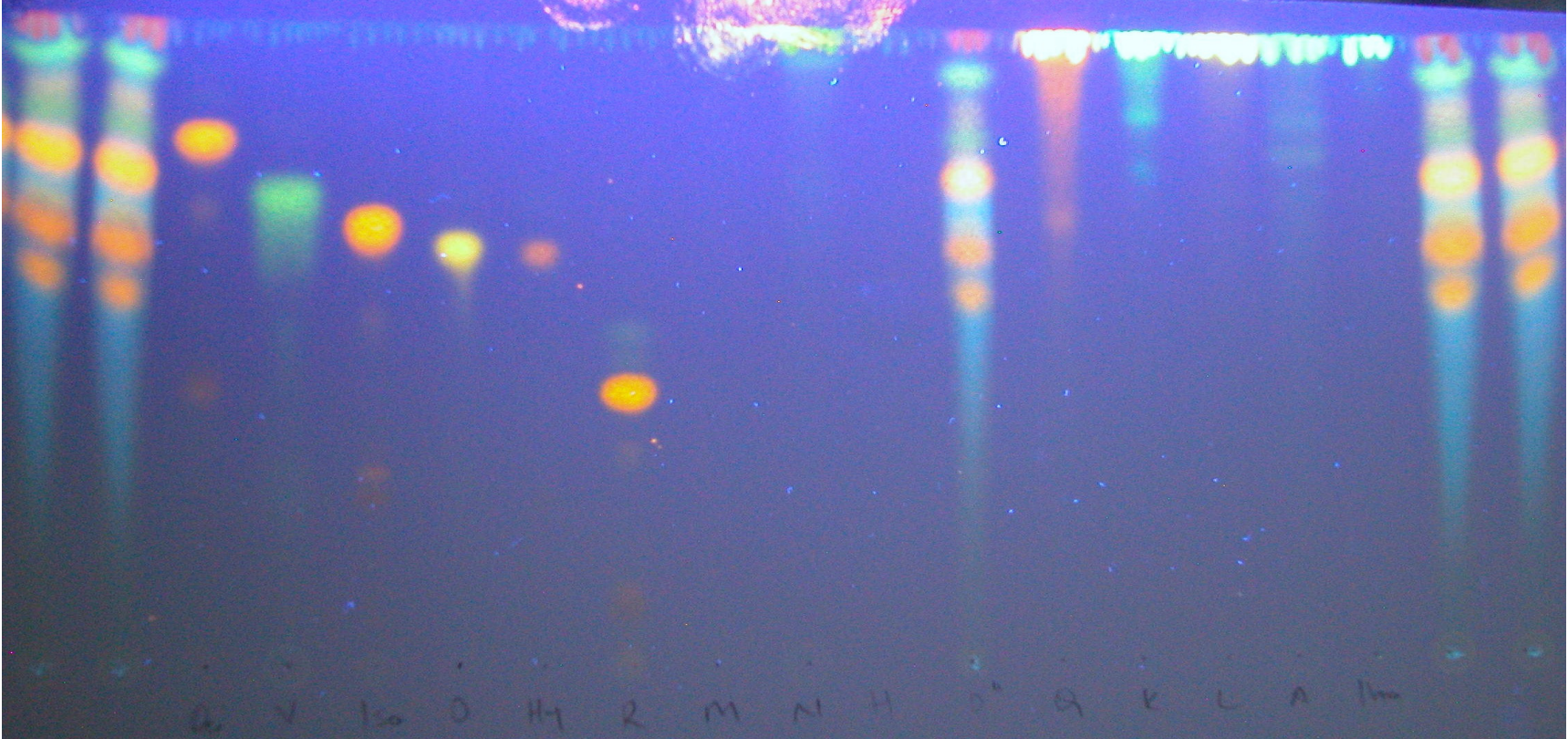
*A. speciosa* türünde orientin ve hyperoside bulunmuştur. Şekil 3.67-3.69'da verilen fotoğraflarda standartlarla birlikte  $R_f$  ve renk özelliklerine dayanarak flavonoid glikozitleri belirlenmiştir. Orientin flavonoidin  $R_f$  değeri 0,70 ve hyperoside flavonoidin  $R_f$  değeri olarak bulunmuştur (Şekil 3.67- Şekil 3.69).





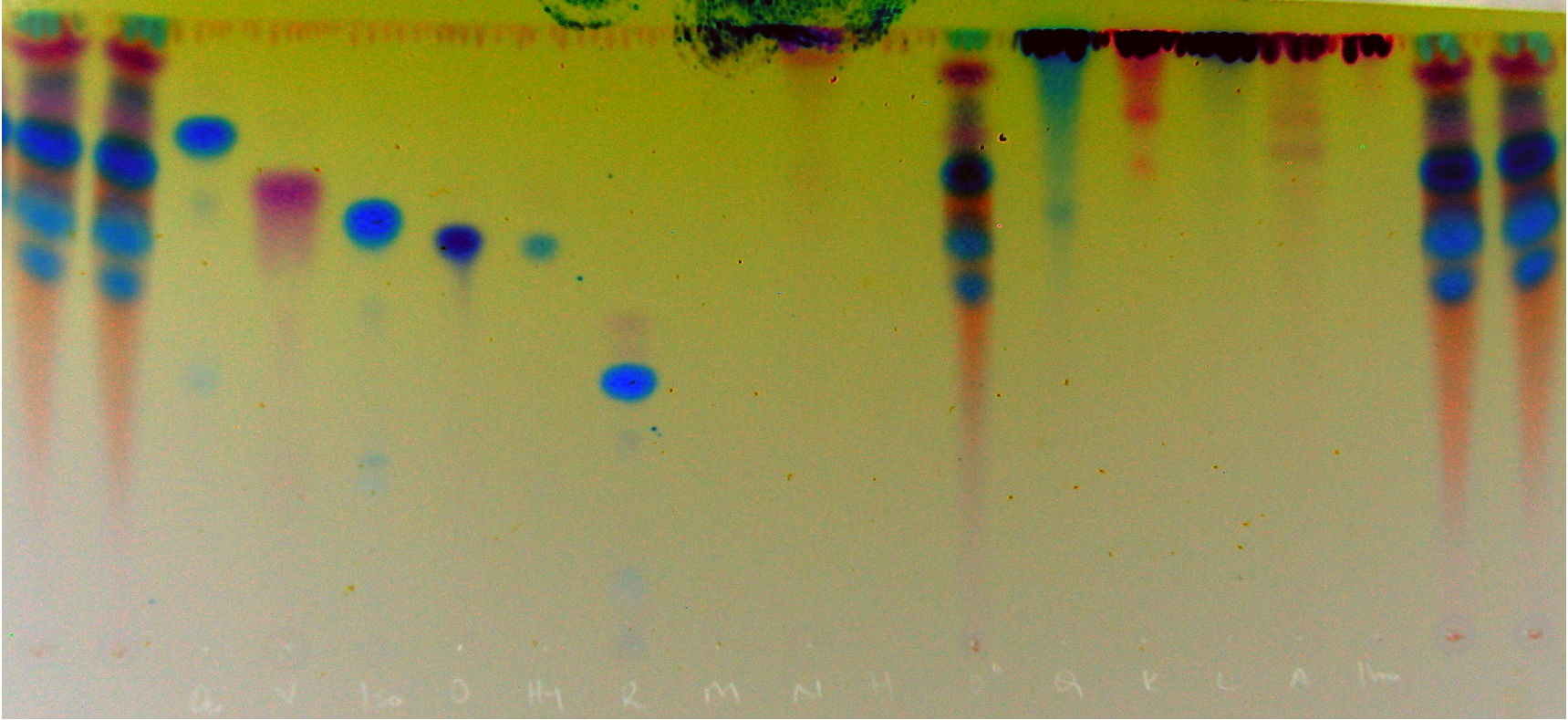
Örnek	Qci	Vit.	Iso.	Ori.	Hyp.	Rut.	My.	Nar.	Hes.	Örnek	Qce.	Kam.	Lut.	Api.	Isor	Örnek
-------	-----	------	------	------	------	------	-----	------	------	-------	------	------	------	------	------	-------

**Şekil 3.67.** *A. speciosa* türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında güneş ışığında alınan fotoğrafı.



Örnek	Qci	Vit.	Iso.	Ori.	Hyp.	Rut.	My.	Nar.	Hes.	Örnek	Qce.	Kam.	Lut.	Api.	Isor	Örnek
-------	-----	------	------	------	------	------	-----	------	------	-------	------	------	------	------	------	-------

**Şekil 3.68.** *A. speciosa* türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında UV. 366 nm'de çekilen fotoğrafı.

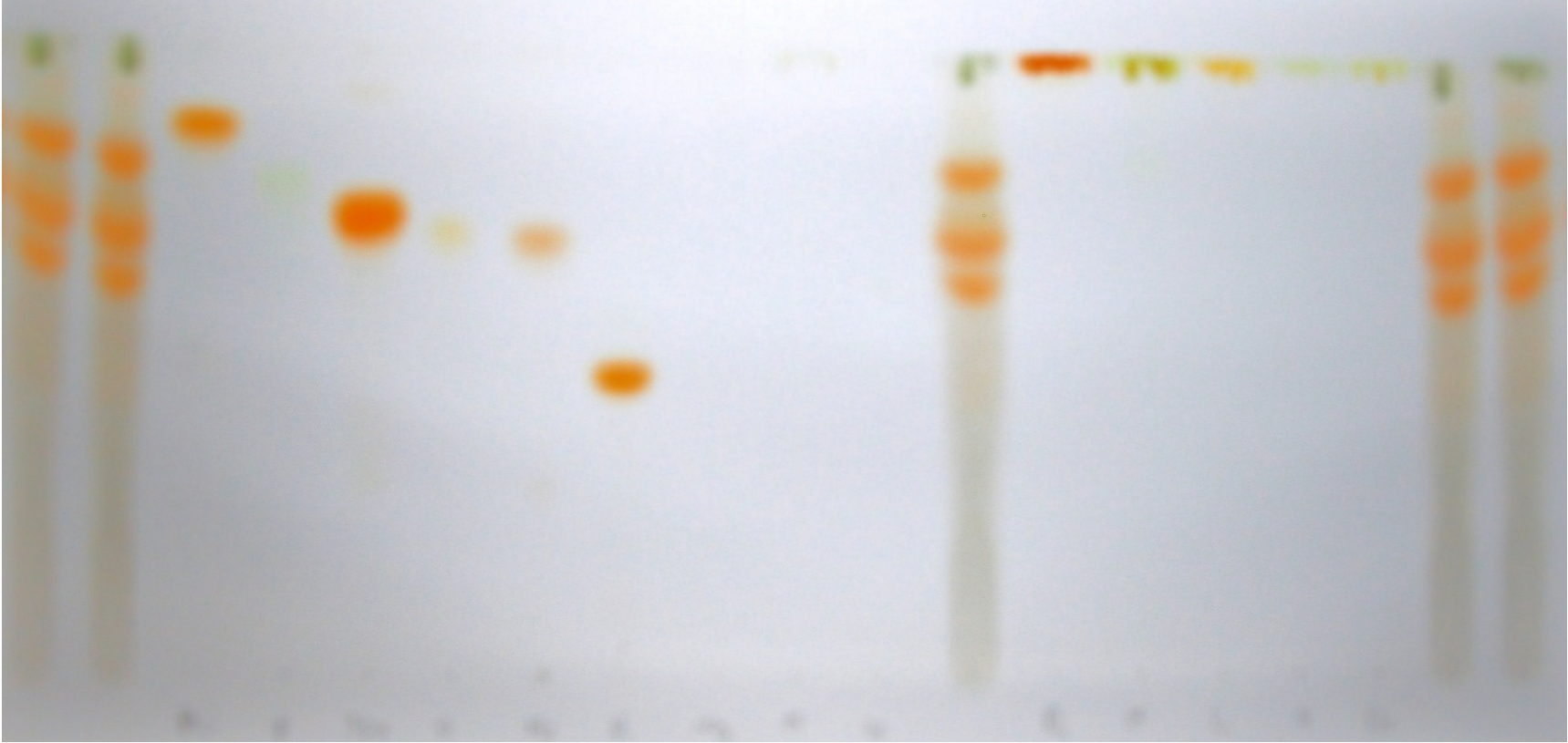


Örnek	Qci	Vit.	Iso.	Ori.	Hyp.	Rut.	My.	Nar.	Hes.	Örnek	Qce.	Kam.	Lut.	Api.	Isor	Örnek
-------	-----	------	------	------	------	------	-----	------	------	-------	------	------	------	------	------	-------

**Şekil 3.69.** *A. speciosa* türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında UV. 366 nm’de çekilen fotoğrafının renk değişimi sonucu elde edilen görüntüsü.

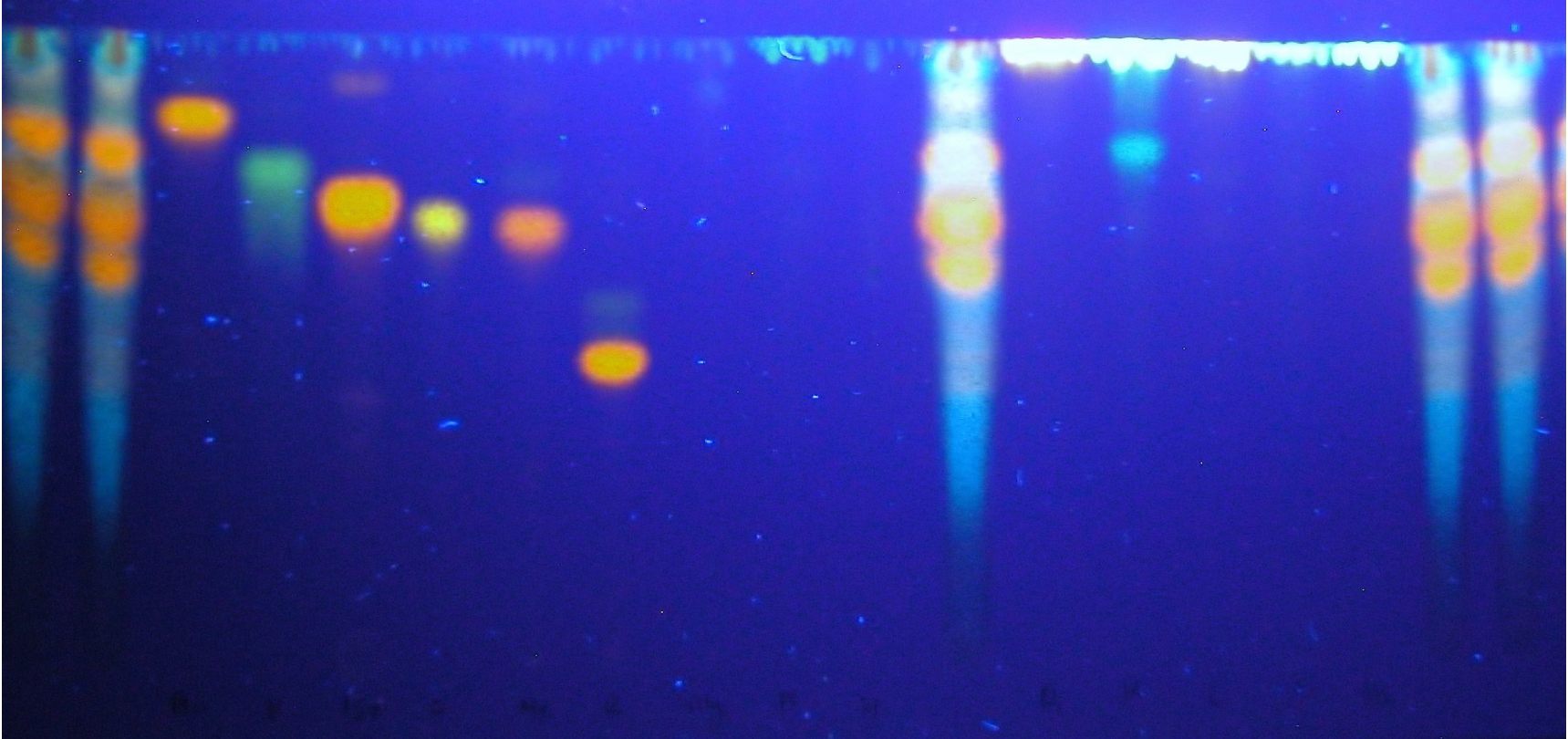
### 3.1.24. *A. hirsutiiflora* türünün İTK plak sonucu

*A. hirsutiiflora* türünde orientin, hyperoside ve rutin bulunmuştur. Şekil 3.70-3.72'de verilen fotoğraflarda standartlarla birlikte *Rf* ve renk özelliklerine dayanarak flavonoid glikozitleri belirlenmiştir. Orientin flavonoidin *Rf* değeri 0,70, hyperoside flavonoidin *Rf* değeri ve rutin flavonoidin *Rf* değeri 0,44 olarak bulunmuştur (Şekil 3.70 - Şekil 3.72).



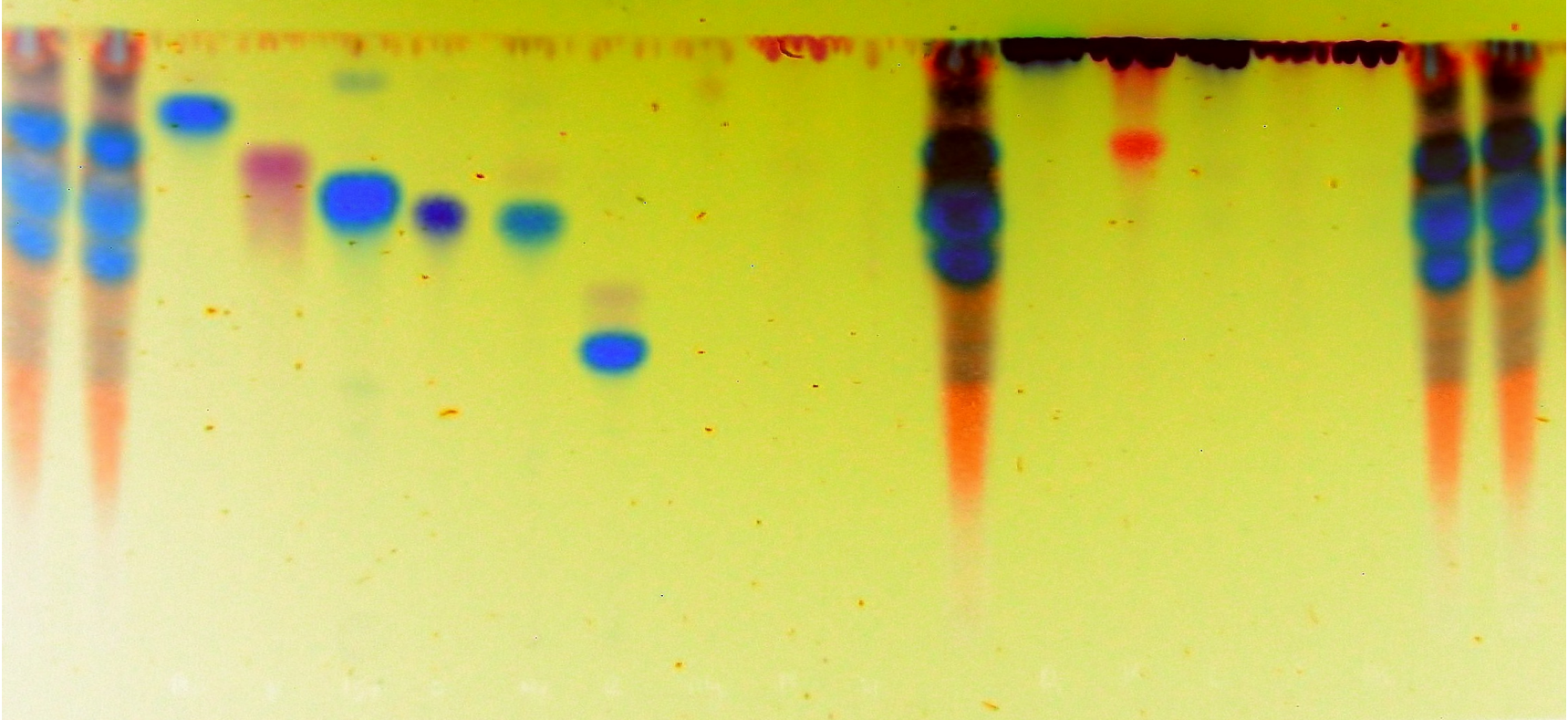
Örnek	Qci	Vit.	Iso.	Ori.	Hyp.	Rut.	My.	Nar.	Hes.	Örnek	Qce.	Kam.	Lut.	Api.	Isor	Örnek
-------	-----	------	------	------	------	------	-----	------	------	-------	------	------	------	------	------	-------

**Şekil 3.70.** *A. hirsutiflora* türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında güneş ışığında alınan fotoğrafı.



Örnek	Qci	Vit.	Iso.	Ori.	Hyp.	Rut.	My.	Nar.	Hes.	Örnek	Qce.	Kam.	Lut.	Api.	Isor	Örnek
-------	-----	------	------	------	------	------	-----	------	------	-------	------	------	------	------	------	-------

Şekil 3.71. *A. hirsutiflora* türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında UV. 366 nm’de çekilen fotoğrafı.



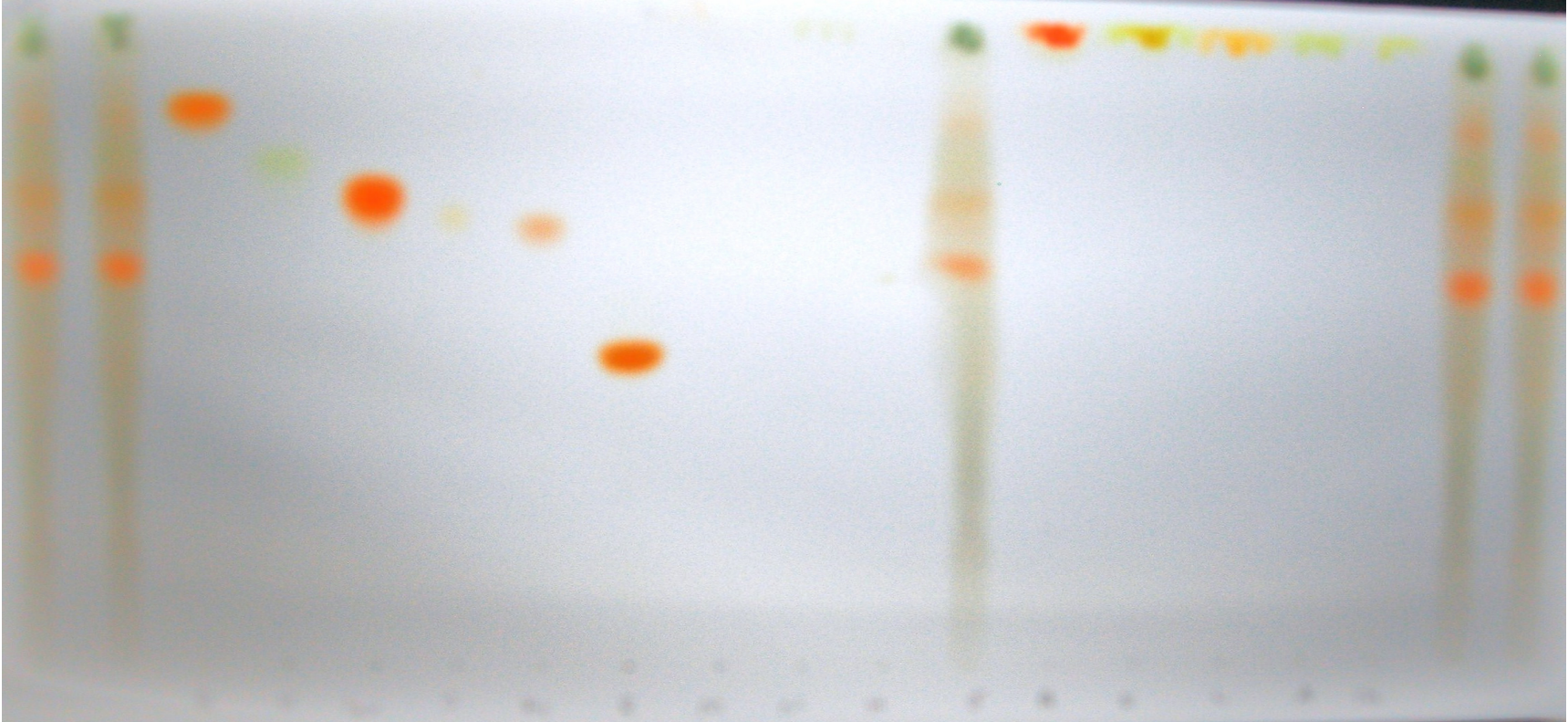
Örnek	Qci	Vit.	Iso.	Ori.	Hyp.	Rut.	My.	Nar.	Hes.	Örnek	Qce.	Kam.	Lut.	Api.	Isor	Örnek
-------	-----	------	------	------	------	------	-----	------	------	-------	------	------	------	------	------	-------

**Şekil 3.72.** *A. hirsutiiflora* türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında UV. 366 nm'de çekilen fotoğrafının renk değişimi sonucu elde edilen görüntüsü.

### 3.1.25. *A. stricta* (2) türünün İTK plak sonucu

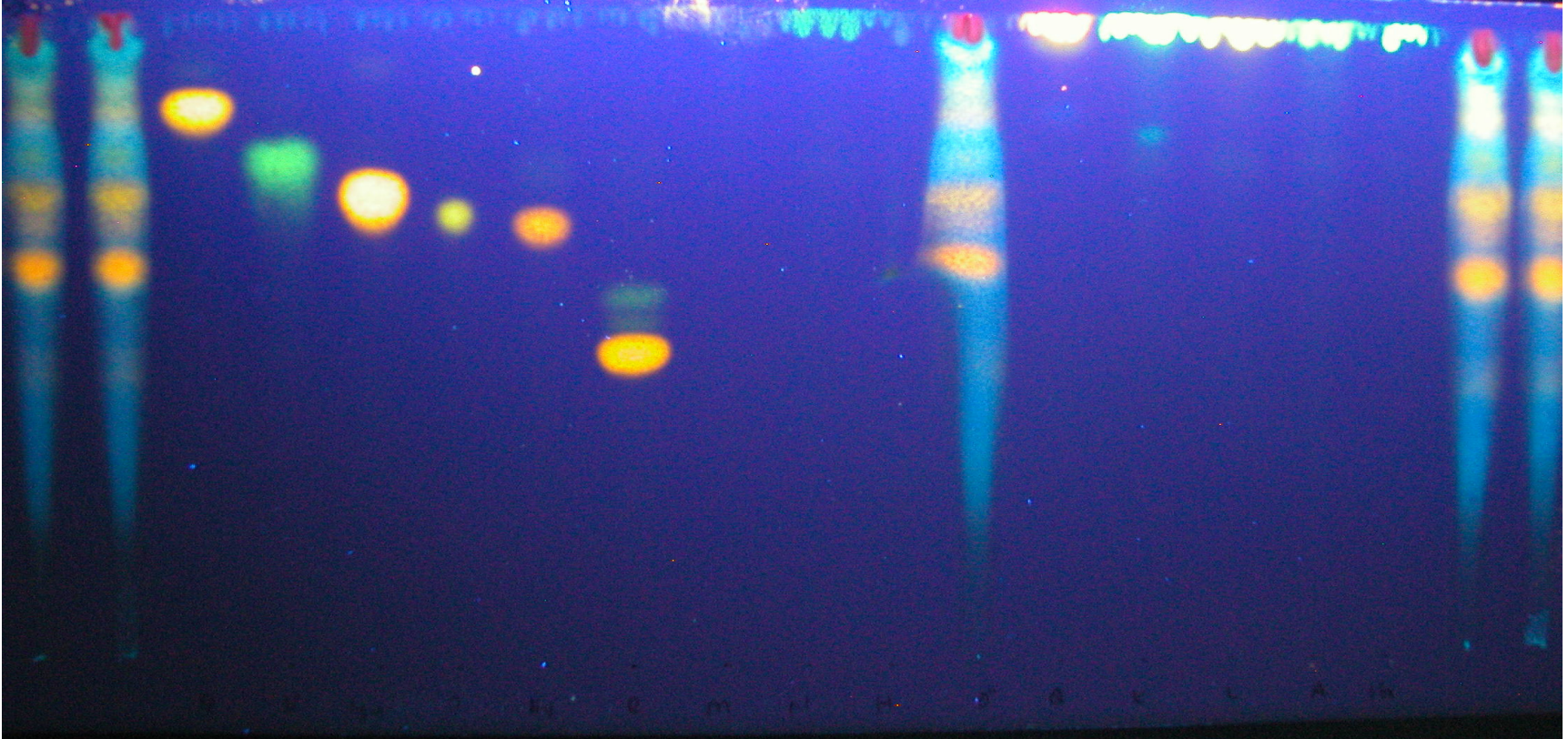
*A. stricta* türünün (2) numaralı örneğinde quercitrin, vitexin, isoquercitrin, orientin ve rutin bulunmuştur. Şekil 3.73-3.75'de verilen fotoğraflarda standartlarla birlikte *Rf* ve renk özelliklerine dayanarak flavonoid glikozitleri belirlenmiştir. Quercitrin flavonoidin *Rf* değeri 0,84, vitexin flavonoidin *Rf* değeri 0,77, isoquercitrin flavonoidin *Rf* değeri 0,84, orientin flavonoidin *Rf* değeri 0,70 ve rutin flavonoidin *Rf* değeri 0,44 olarak bulunmuştur (Şekil 3.73- Şekil 3.75).





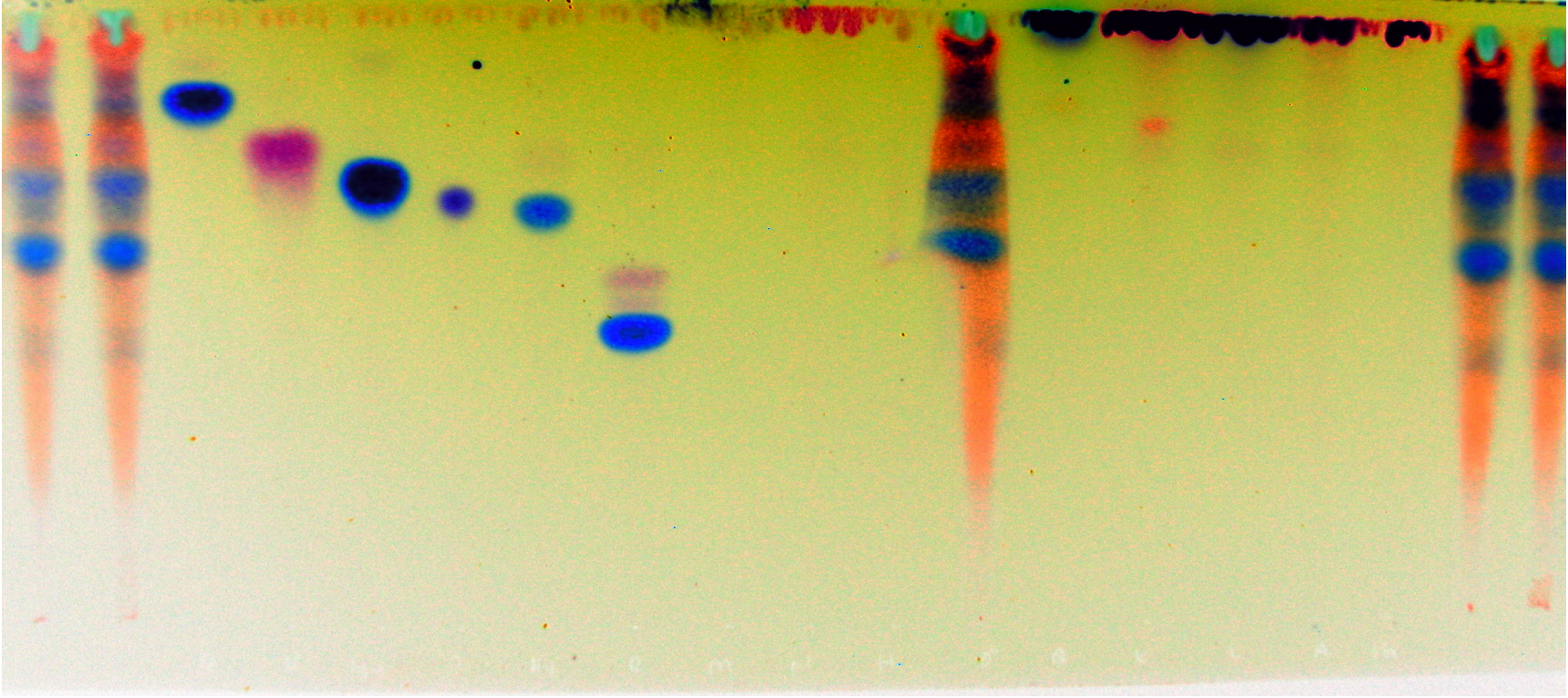
Örnek	Qci	Vit.	Iso.	Ori.	Hyp.	Rut.	My.	Nar.	Hes.	Örnek	Qce.	Kam.	Lut.	Api.	Isor	Örnek
-------	-----	------	------	------	------	------	-----	------	------	-------	------	------	------	------	------	-------

**Şekil 3.73.** *A. stricta* türüne ait (2) numaralı örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında güneş ışığında alınan fotoğrafı.



Örnek	Qci	Vit.	Iso.	Ori.	Hyp.	Rut.	My.	Nar.	Hes.	Örnek	Qce.	Kam.	Lut.	Api.	Isor	Örnek
-------	-----	------	------	------	------	------	-----	------	------	-------	------	------	------	------	------	-------

Şekil 3.74. *A. stricta* türüne ait (2) numaralı örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında UV. 366 nm’de çekilen fotoğrafı.

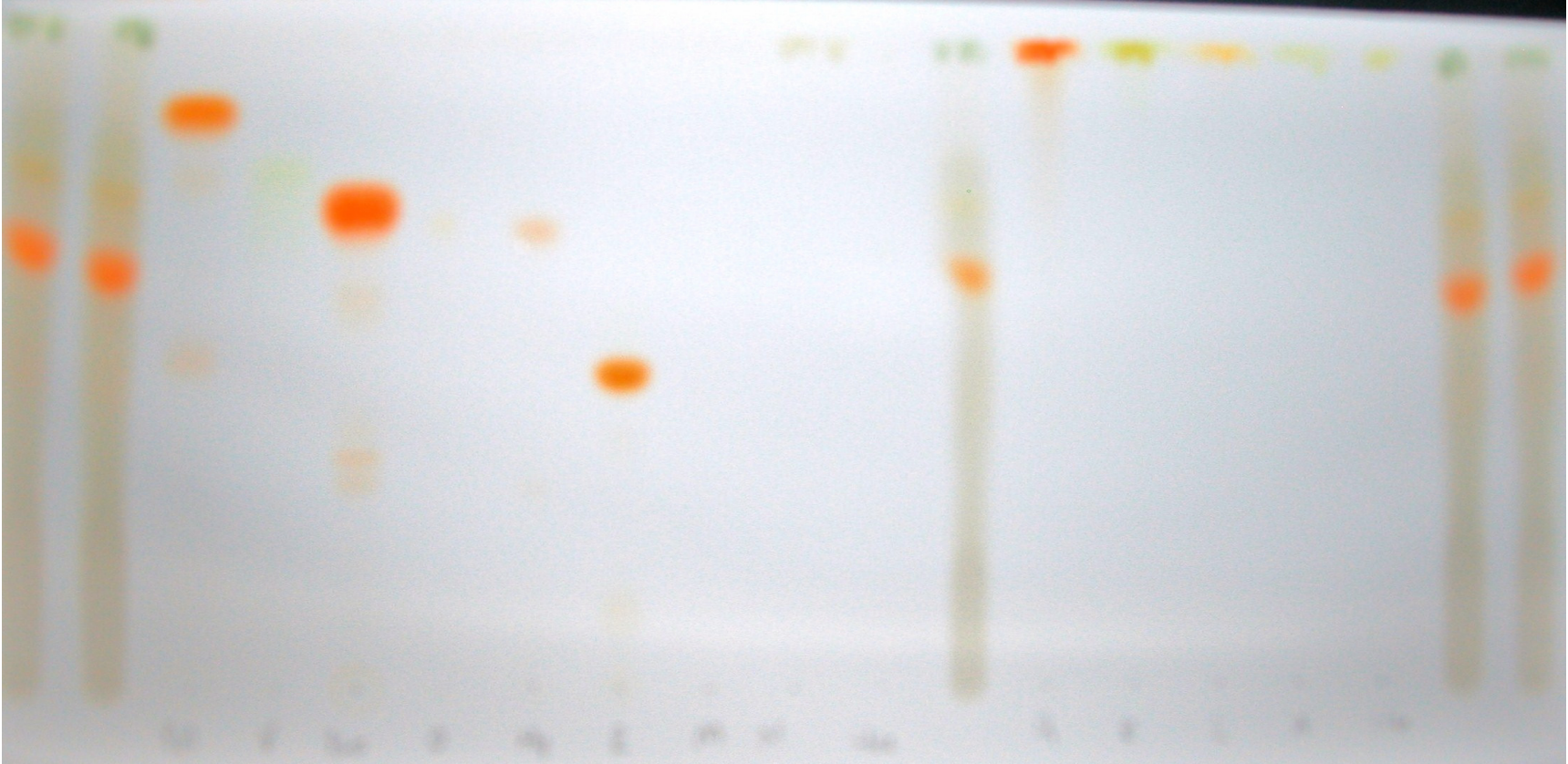


Örnek	Qci	Vit.	Iso.	Ori.	Hyp.	Rut.	My.	Nar.	Hes.	Örnek	Qce.	Kam.	Lut.	Api.	Isor	Örnek
-------	-----	------	------	------	------	------	-----	------	------	-------	------	------	------	------	------	-------

Şekil 3.75. *A. stricta* türüne ait (2) numaralı örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında UV. 366 nm’de çekilen fotoğrafının renk değişimi sonucu elde edilen görüntüsü.

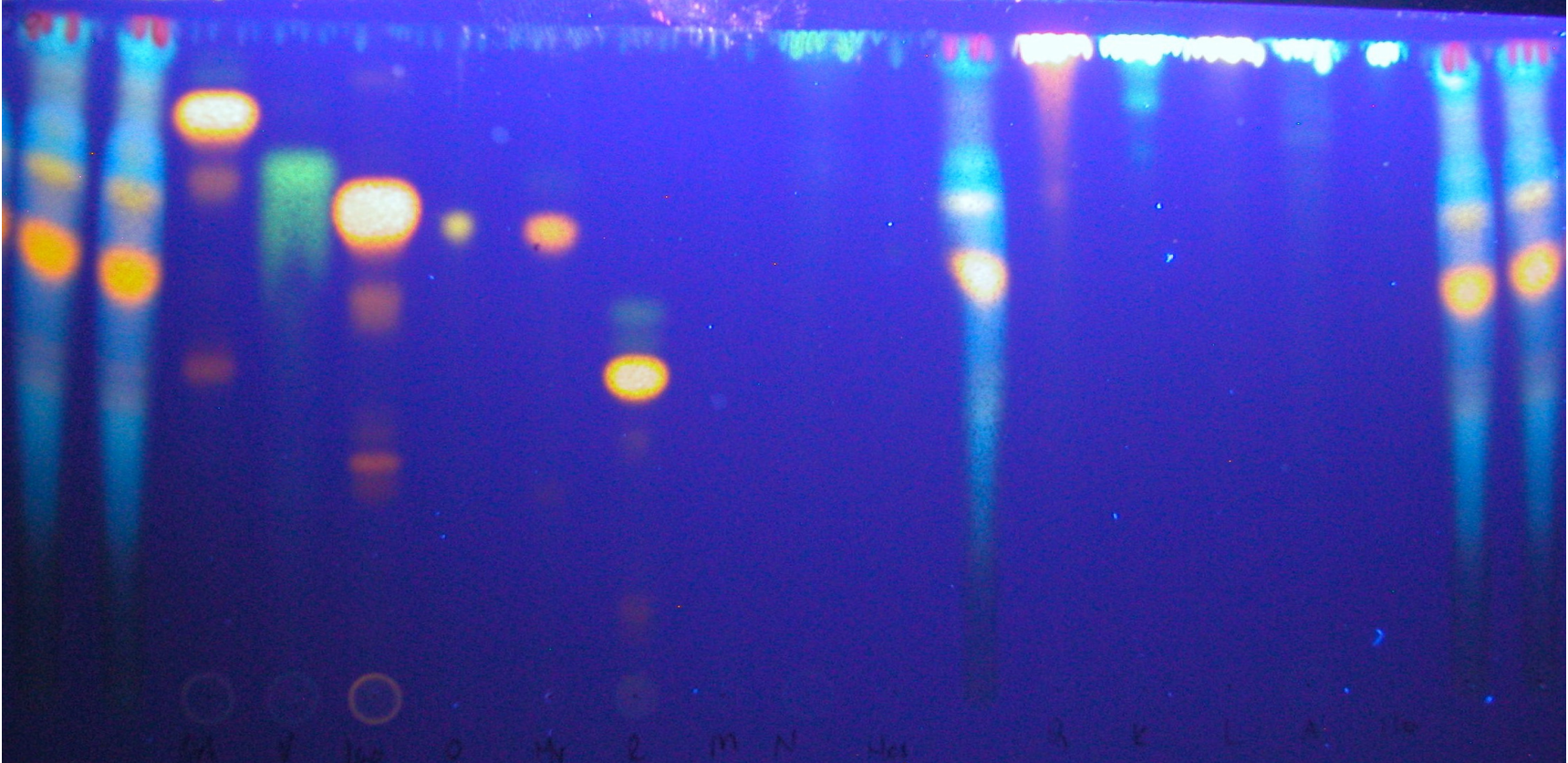
### 3.1.26. *A. barbatiflora* (2) türünün İTK plak sonucu

*A. barbatiflora* türünün (2) numaralı örneğinde isoquercitrin ve rutin bulunmuştur. Şekil 3.76-3.78’de verilen fotoğraflarda standartlarla birlikte  $R_f$  ve renk özelliklerine dayanarak flavonoid glikozitleri belirlenmiştir. Isoquercitrin flavonoidin  $R_f$  değeri 0,84 ve rutin flavonoidin  $R_f$  değeri 0,44 olarak bulunmuştur (Şekil 3.76-Şekil 3.78).



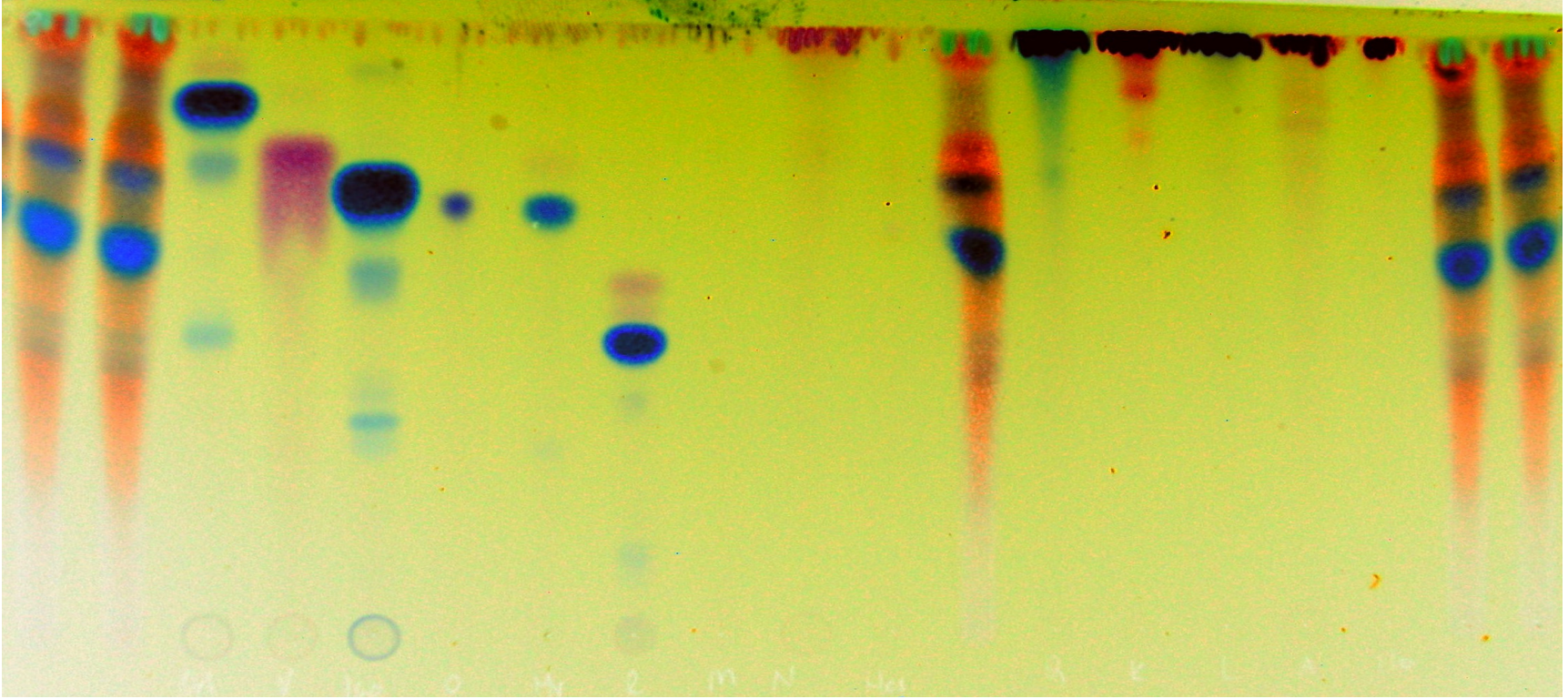
Örnek	Qci	Vit.	Iso.	Ori.	Hyp.	Rut.	My.	Nar.	Hes.	Örnek	Qce.	Kam.	Lut.	Api.	Isor	Örnek
-------	-----	------	------	------	------	------	-----	------	------	-------	------	------	------	------	------	-------

**Şekil 3.76.** *A. barbatiflora* türüne ait (2) numaralı örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında güneş ışığında alınan fotoğrafı.



Örnek	Qci	Vit.	Iso.	Ori.	Hyp.	Rut.	My.	Nar.	Hes.	Örnek	Qce.	Kam.	Lut.	Api.	Isor	Örnek
-------	-----	------	------	------	------	------	-----	------	------	-------	------	------	------	------	------	-------

**Şekil 3.77.** *A. barbatiflora* türüne ait (2) numaralı örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında UV. 366 nm'de çekilen fotoğrafı.



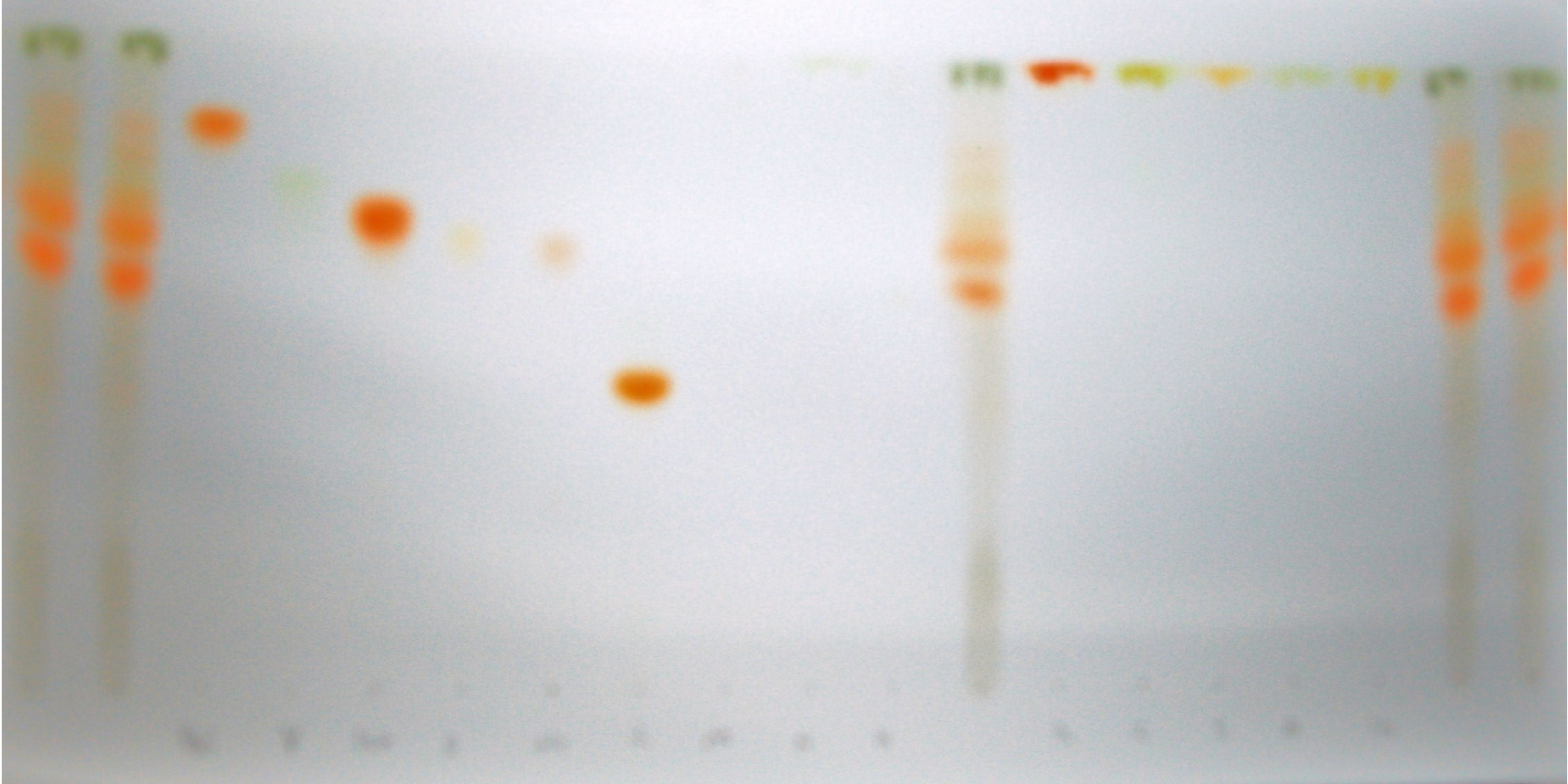
Örnek	Qci	Vit.	Iso.	Ori.	Hyp.	Rut.	My.	Nar.	Hes.	Örnek	Qce.	Kam.	Lut.	Api.	Isor	Örnek
-------	-----	------	------	------	------	------	-----	------	------	-------	------	------	------	------	------	-------

**Şekil 3.78.** *A. barbatiflora* türüne ait (2) numaralı örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında UV. 366 nm'de çekilen fotoğrafının renk değişimi sonucu elde edilen görüntüsü.

### 3.1.27. *A. sericata* türünün İTK plak sonucu

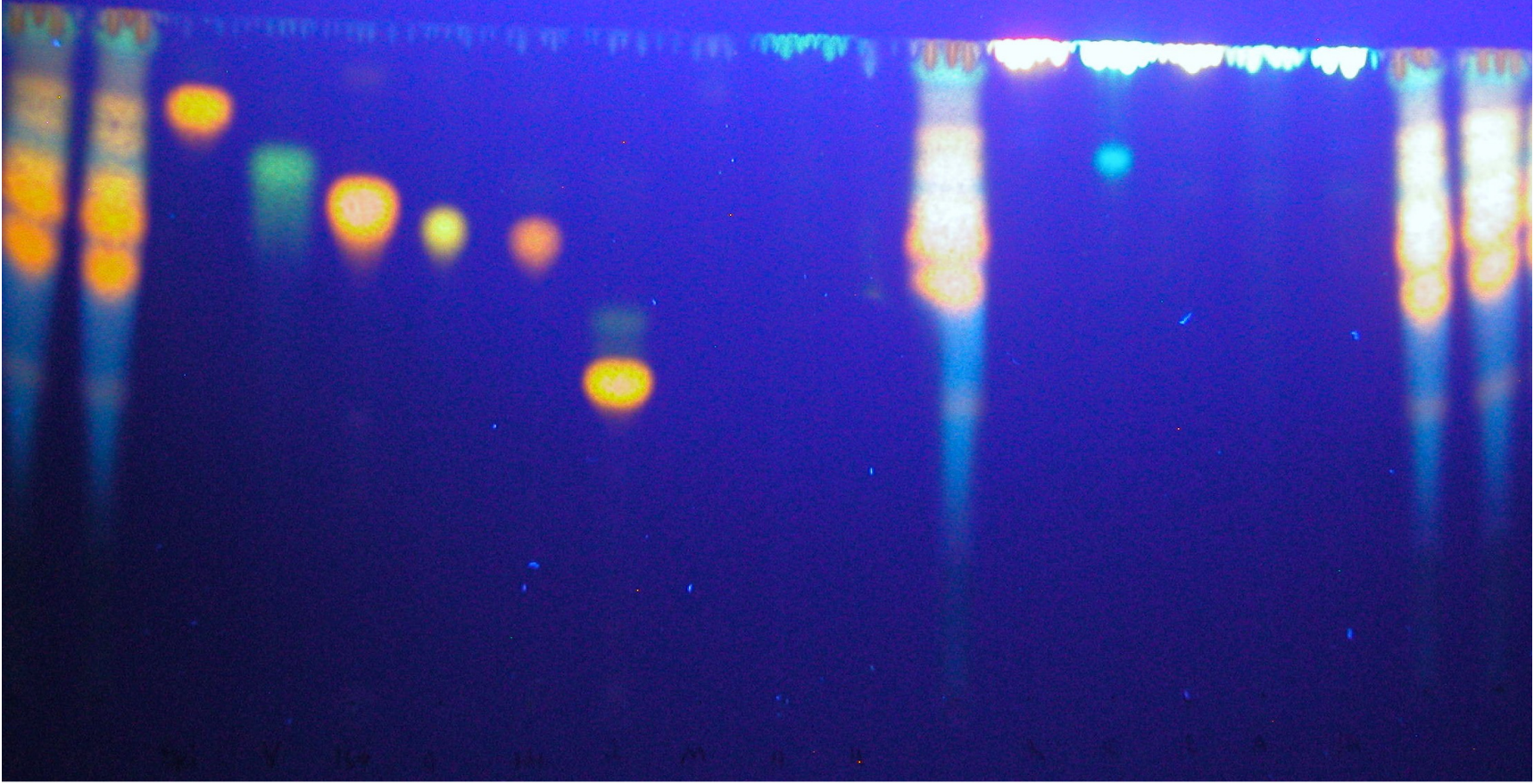
*A. sericata* türünde orientin, hyperoside ve rutin bulunmuştur. Şekil 3.79-3.81’de verilen fotoğraflarda standartlarla birlikte *Rf* ve renk özelliklerine dayanarak flavonoid glikozitleri belirlenmiştir. Orientin flavonoidin *Rf* değeri 0,70, hyperoside flavonoidin *Rf* değeri 0,65 ve rutin flavonoidin *Rf* değeri 0,44 olarak bulunmuştur (Şekil 3.79- Şekil 3.81).





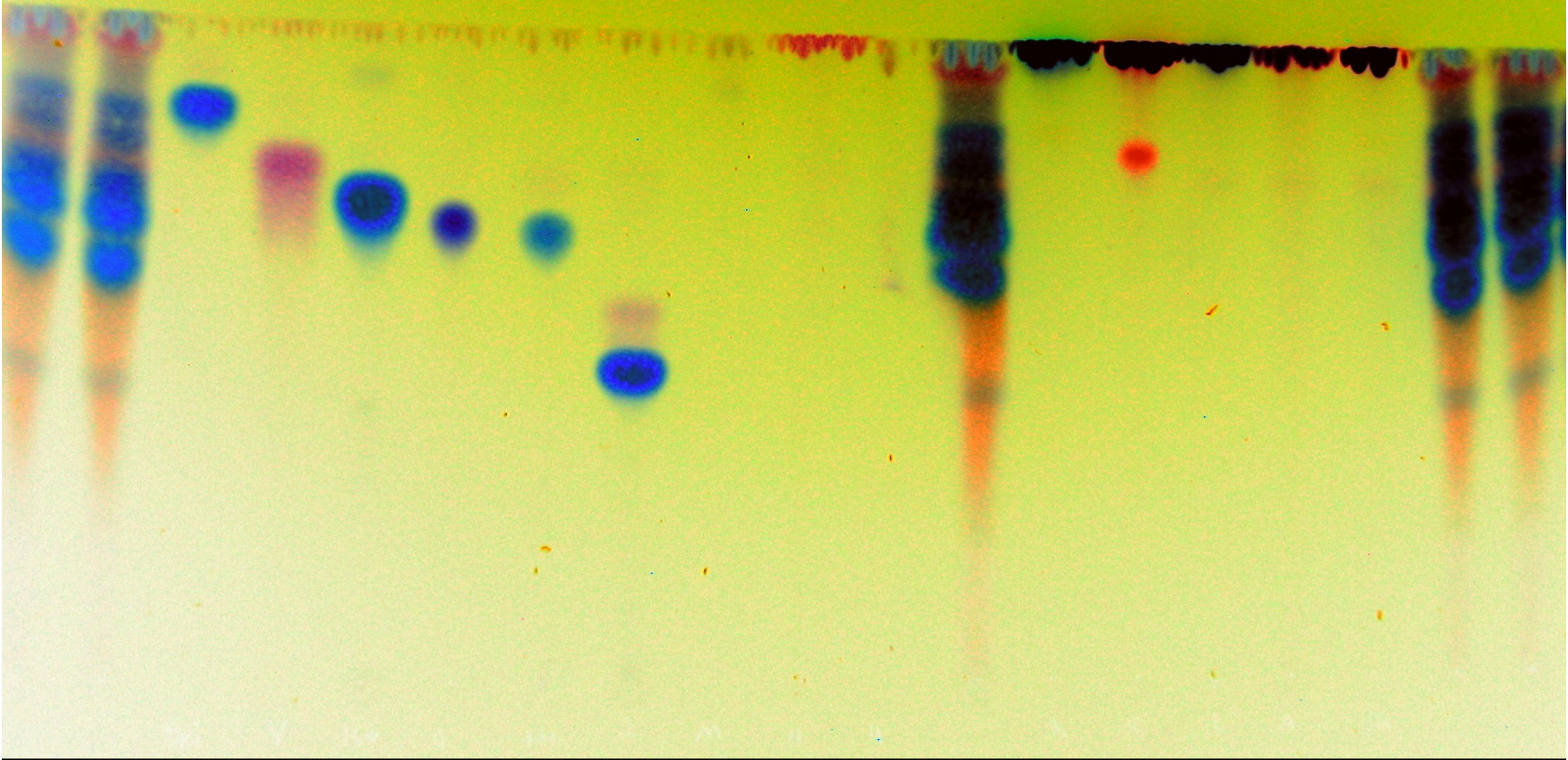
Örnek	Qci	Vit.	Iso.	Ori.	Hyp.	Rut.	My.	Nar.	Hes.	Örnek	Qce.	Kam.	Lut.	Api.	Isor	Örnek
-------	-----	------	------	------	------	------	-----	------	------	-------	------	------	------	------	------	-------

Şekil 3.79. *A. sericata* türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında güneş ışığında alınan fotoğrafı.



Örnek	Qci	Vit.	Iso.	Ori.	Hyp.	Rut.	My.	Nar.	Hes.	Örnek	Qce.	Kam.	Lut.	Api.	Isor	Örnek
-------	-----	------	------	------	------	------	-----	------	------	-------	------	------	------	------	------	-------

**Şekil 3.80.** *A. sericata* türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında UV. 366 nm'de çekilen fotoğrafı.

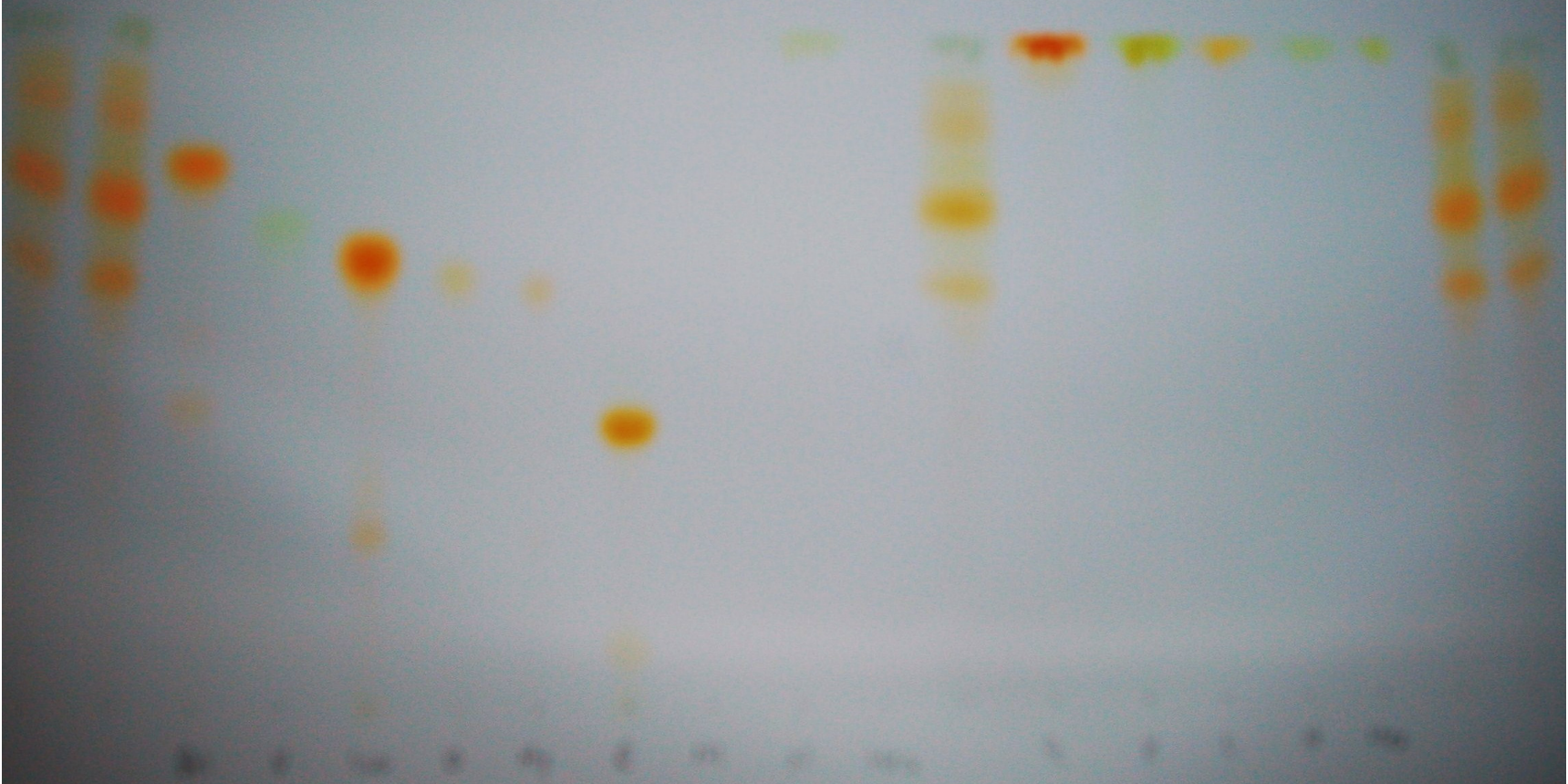


Örnek	Qci	Vit.	Iso.	Ori.	Hyp.	Rut.	My.	Nar.	Hes.	Örnek	Qce.	Kam.	Lut.	Api.	Isor	Örnek
-------	-----	------	------	------	------	------	-----	------	------	-------	------	------	------	------	------	-------

**Şekil 3.81.** *A. sericata* türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında UV. 366 nm'de çekilen fotoğrafının renk değişimi sonucu elde edilen görüntüsü.

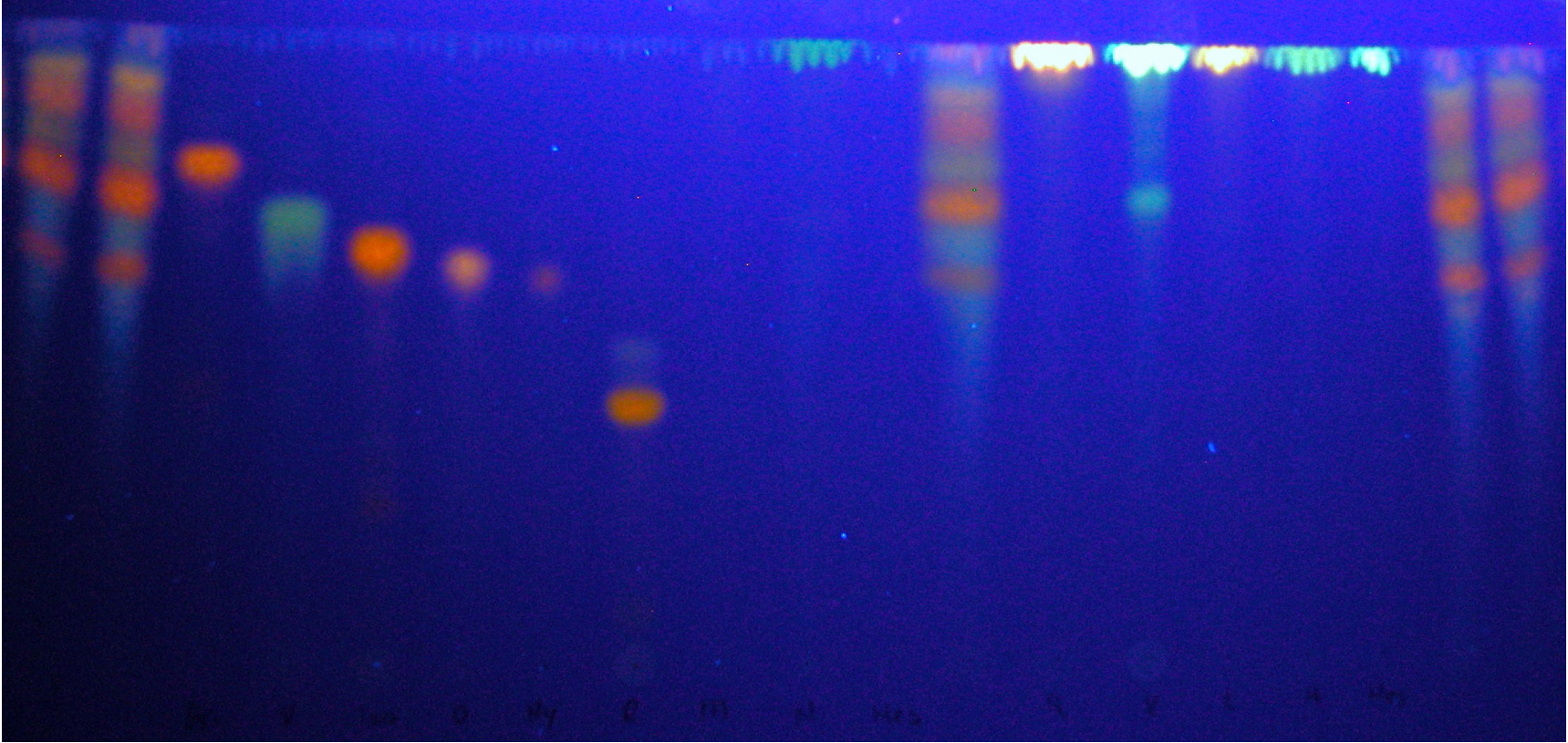
### 3.1.28. *A. ovitensis* türünün İTK plak sonucu

*A. ovitensis* türünde hyperoside ve quercitrin bulunmuştur. Şekil 3.82-3.84'de verilen fotoğraflarda standartlarla birlikte  $R_f$  ve renk özelliklerine dayanarak flavonoid glikozitleri belirlenmiştir. Hyperoside flavonoidin  $R_f$  değeri 0,65 ve quercitrin flavonoidin  $R_f$  değeri 0,84 olarak bulunmuştur (Şekil 3.82- Şekil 3.84).



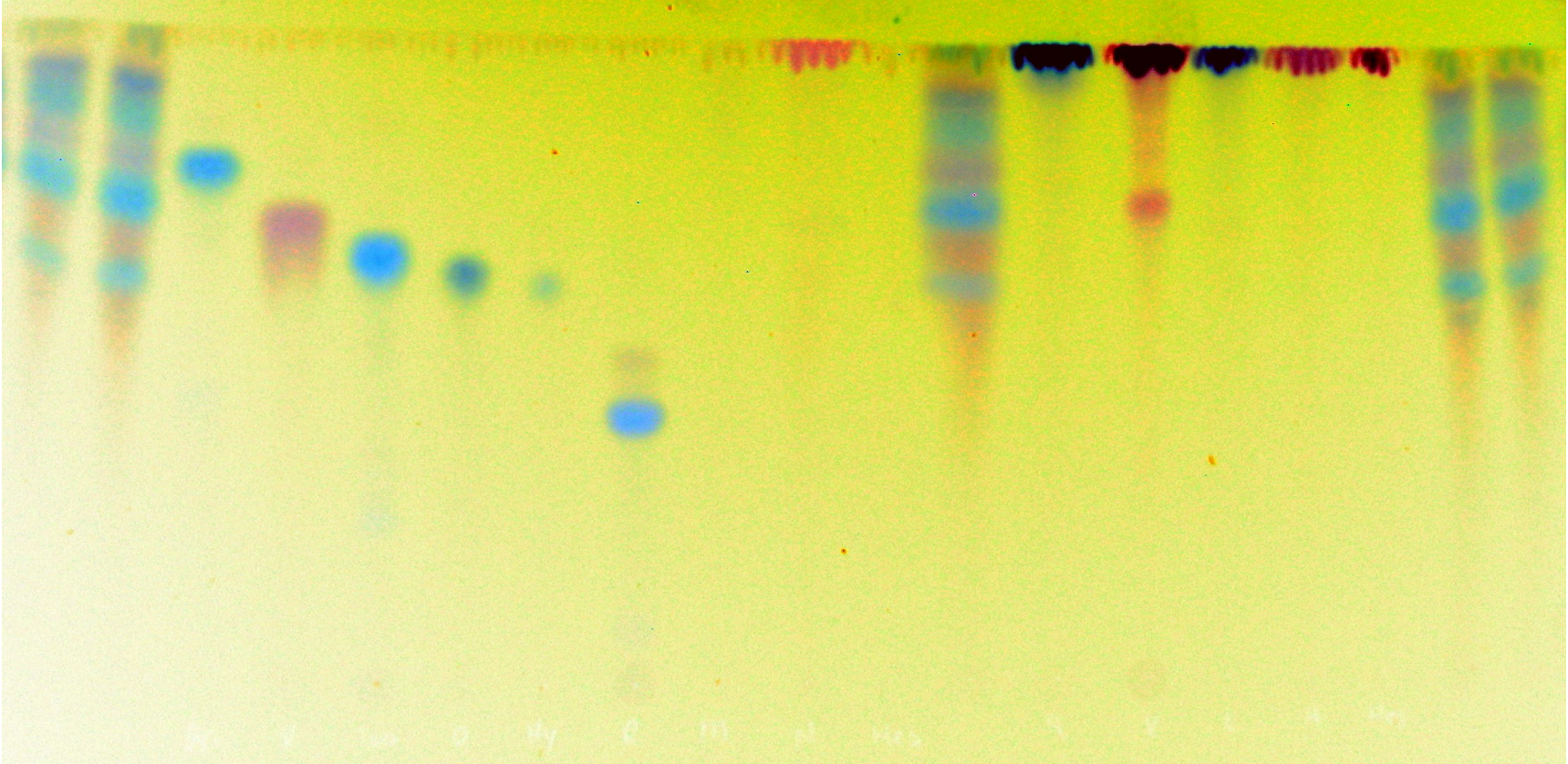
Örnek	Qci	Vit.	Iso.	Ori.	Hyp.	Rut.	My.	Nar.	Hes.	Örnek	Qce.	Kam.	Lut.	Api.	Isor	Örnek
-------	-----	------	------	------	------	------	-----	------	------	-------	------	------	------	------	------	-------

Şekil 3.82. *A. ovitensis* türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında güneş ışığında alınan fotoğrafı.



Örnek	Qci	Vit.	Iso.	Ori.	Hyp.	Rut.	My.	Nar.	Hes.	Örnek	Qce.	Kam.	Lut.	Api.	Isor	Örnek
-------	-----	------	------	------	------	------	-----	------	------	-------	------	------	------	------	------	-------

**Şekil 3.83.** *A. ovitensis* türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında UV. 366 nm’de çekilen fotoğrafı.



Örnek	Qci	Vit.	Iso.	Ori.	Hyp.	Rut.	My.	Nar.	Hes.	Örnek	Qce.	Kam.	Lut.	Api.	Isor	Örnek
-------	-----	------	------	------	------	------	-----	------	------	-------	------	------	------	------	------	-------

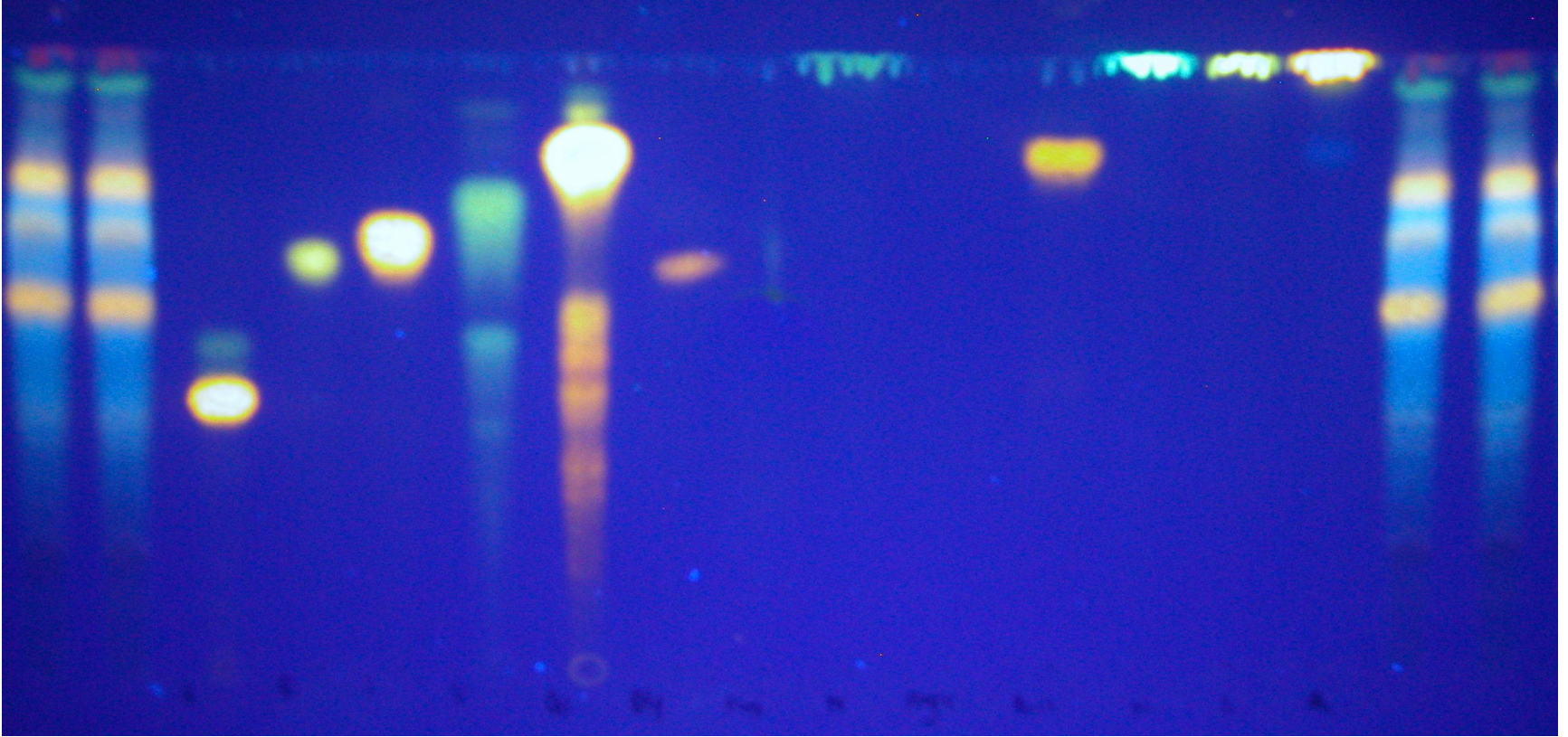
**Şekil 3.84.** *A. ovitensis* türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında UV. 366 nm’de çekilen fotoğrafının renk değişimi sonucu elde edilen görüntüsü.

### 3.1.29. *A. holocycyla* türünün İTK plak sonucu

*A. holocycyla* türünde isoquercetin ve rutin bulunmuştur. Şekil 3.85-3.87’de verilen fotoğraflarda standartlarla birlikte *Rf* ve renk özelliklerine dayanarak flavonoid glikozitleri belirlenmiştir. Isoquercetin flavonoidin *Rf* değeri 0,72 ve rutin flavonoidin *Rf* değeri 0,44 olarak bulunmuştur (Şekil 3.85- Şekil 3.87).

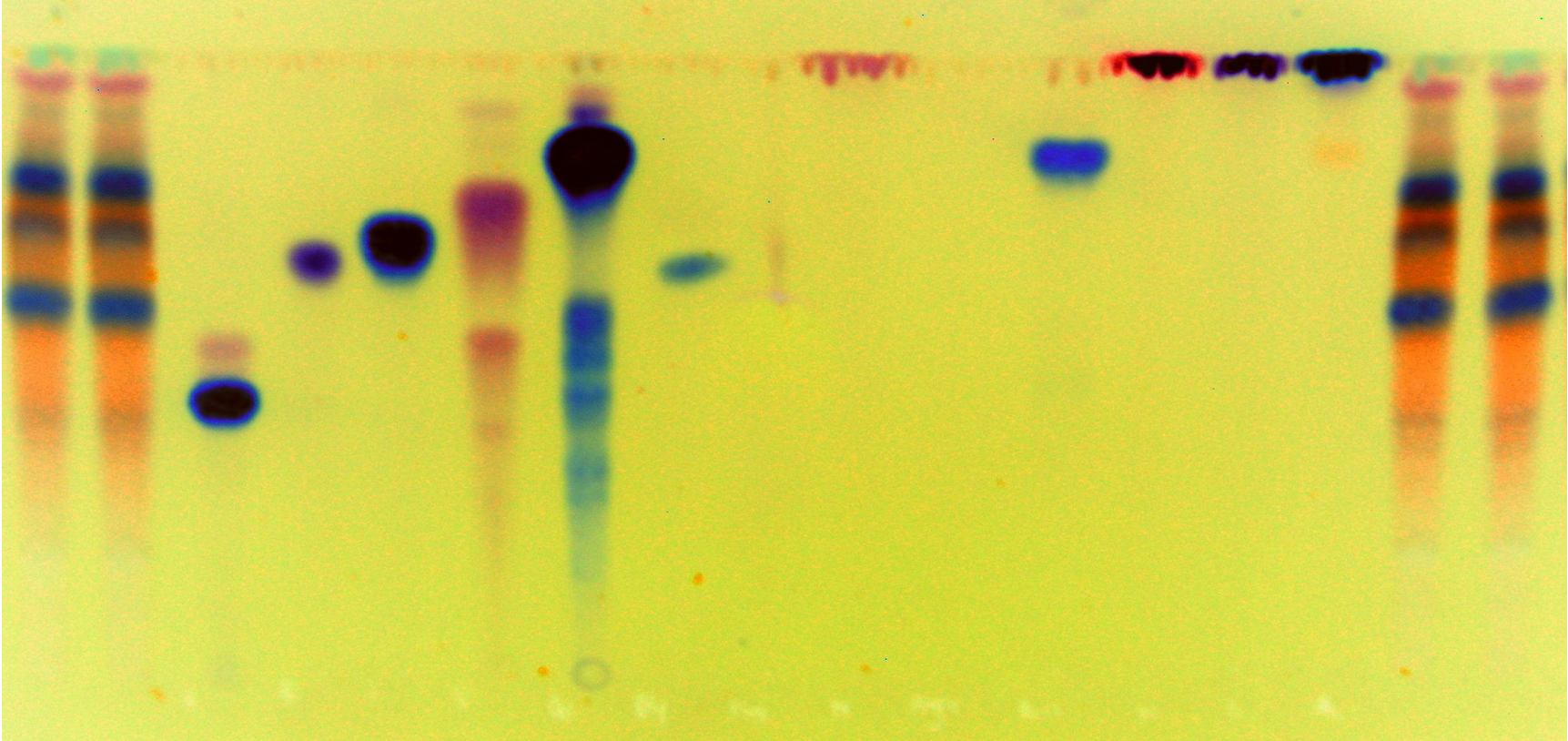






Örnek	Rut.	Ori.	Iso.	Vit.	Qci	Hyp.	Hes.	Nar.	Myr.	Qci	Kam.	Lut.	Qce.	Örnek
-------	------	------	------	------	-----	------	------	------	------	-----	------	------	------	-------

Şekil 3.86. *A. holocycyla* türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında UV. 366 nm'de çekilen fotoğrafı.

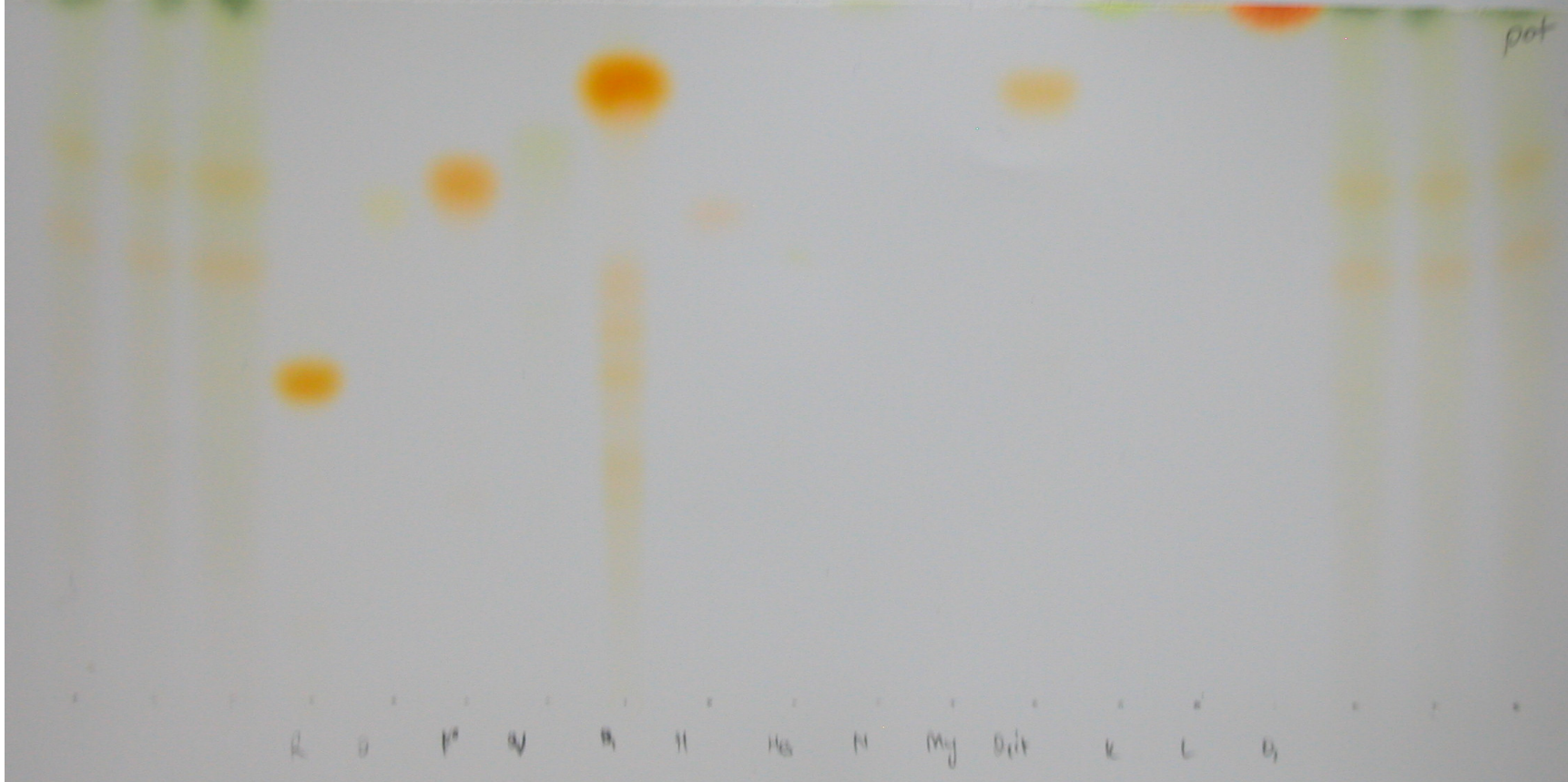


Örnek	Rut.	Ori.	Iso.	Vit.	Qci	Hyp.	Hes.	Nar.	Myr.	Qci	Kam.	Lut.	Qce.	Örnek
-------	------	------	------	------	-----	------	------	------	------	-----	------	------	------	-------

**Şekil 3.87.** *A. holocycyla* türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında UV. 366 nm’de çekilen fotoğrafının renk değişimi sonucu elde edilen görüntüsü.

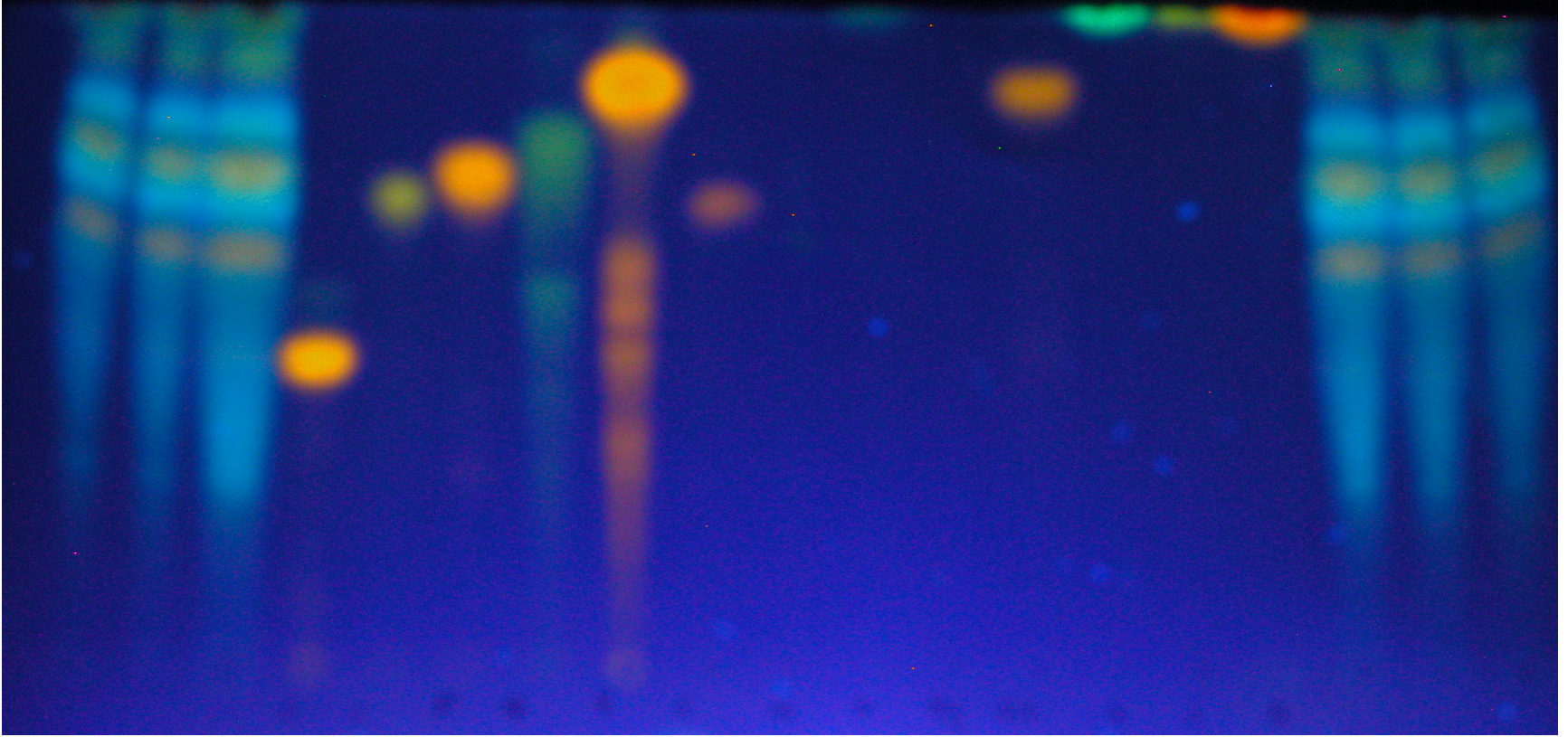
### **3.1.30. *Potentilla recta* türünün İTK plak sonucu**

*Potentilla recta* türünde isoquercetin ve rutin bulunmuştur. Şekil 3.88-3.90'da verilen fotoğraflarda standartlarla birlikte *R<sub>f</sub>* ve renk özelliklerine dayanarak flavonoid glikozitleri belirlenmiştir. Isoquercetin flavonoidin *R<sub>f</sub>* değeri 0,72 ve rutin flavonoidin *R<sub>f</sub>* değeri 0,44 olarak bulunmuştur (Şekil 3.88- Şekil 3.90).



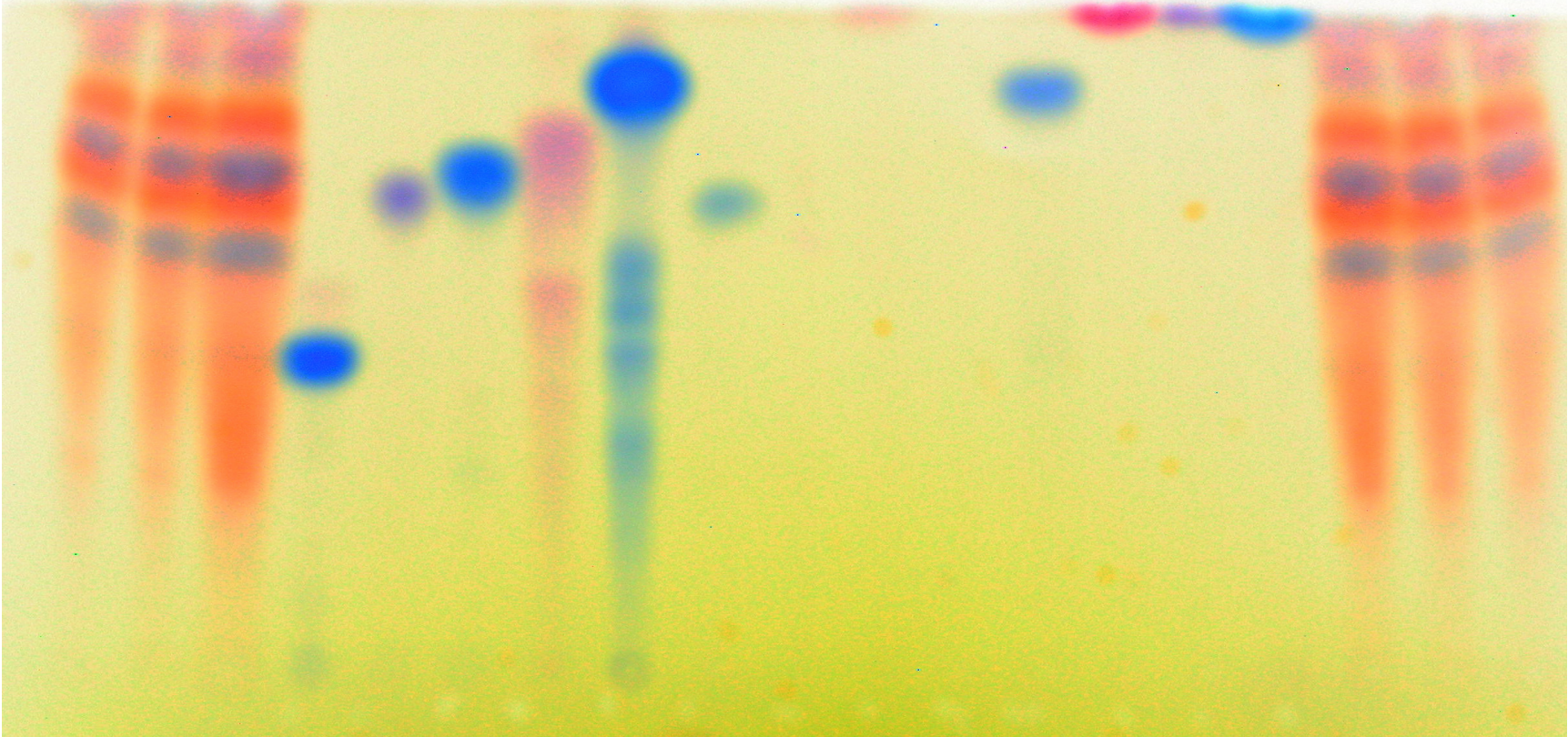
Örnek	Rut.	Ori.	Iso.	Vit.	Qci	Hyp.	Hes.	Nar.	Myr.	Qci	Kam.	Lut.	Qce	Örnek
-------	------	------	------	------	-----	------	------	------	------	-----	------	------	-----	-------

**Şekil 3.88.** *Potentilla recta* türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında güneş ışığında alınan fotoğrafı.



Örnek	Rut.	Ori.	Iso.	Vit.	Qci	Hyp.	Hes.	Nar.	Myr.	Qci	Kam.	Lut.	Qce	Örnek
-------	------	------	------	------	-----	------	------	------	------	-----	------	------	-----	-------

**Şekil 3.89.** *Potentilla recta* türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında UV. 366 nm’de çekilen fotoğrafı.



Örnek	Rut.	Ori.	Iso.	Vit.	Qci	Hyp.	Hes.	Nar.	Myr.	Qci	Kam.	Lut.	Qce	Örnek
-------	------	------	------	------	-----	------	------	------	------	-----	------	------	-----	-------

**Şekil 3.90.** *Potentilla recta* türüne ait örnekte İTK plağının NP/PEG püskürtülmesi sonrasında UV. 366 nm’de çekilen fotoğrafının renk değişimi sonucu elde edilen görüntüsü.

**Çizelge 3.1.** İtk plaklarından elde edilen türlere ait flavonoid bileşikleri

Örnek	Rut.	Ori.	Vit.	Hyp.	Iso.	Qci.	Nar.	Hes.	Rf <sub>1</sub> =0,36	Rf <sub>2</sub> =0,54	Rf <sub>3</sub> =0,68
GRUP A											
<i>A. ovitensis</i>	+	+	--	+	--	+	--	--	--	+	--
GRUP B											
<i>A. erythropoda</i>	--	+	--	+	+	--	--	--	+	+	+
<i>A. sericata</i>	+	--	--	--	+	--	--	--	--	+	+
GRUP C											
<i>A. hirtpedicellata</i>	+	--	+	+	+	+	--	--	+	+	+
<i>A. armeniaca</i>	--	+	+	+	--	--	--	--	--	+	+



Çizelge 3.1. (Devam)

Örnek	Rut.	Ori.	Vit.	Hyp.	Iso.	Qci.	Nar.	Hes.	$Rf_1=0,36$	$Rf_2=0,54$	$Rf_3=0,68$
<i>A. erzincanensis</i>	--	--	+	--	+	--	--	--	--	+	+
<i>A. cimilensis</i>	+	+	--	+	+	--	--	--	+	+	+
<i>A. mollis</i>	+	+	+	--	+	+	--	--	--	+	+
<i>A. orduensis</i> (1)	--	+	--	+	--	--	--	--	+	--	+
<i>A. orduensis</i> (2)	+	+	+	--	+	+	--	--	--	+	+
<i>A. ikizdereensis</i>	+	+	+	+	--	--	--	--	+	+	+
<i>A. porrectidens</i> (1464)	+	+	--	+	+	--	--	--	+	+	+
<i>A. oriturcica</i>	+	--	--	+	+	--	--	--	--	--	--
<i>A. oriturcica</i>	+	--	--	+	+	--	--	--	+	+	+
<i>A. bursensis</i>	+	--	--	+	+	--	--	--	+	+	+
<i>A. persica</i>	+	--	--	+	+	--	--	--	+	+	+
<i>A. speciosa</i>	--	+	--	+	--	--	--	--	--	+	+

Çizelge 3.1. (Devam)

Örnek	Rut.	Ori.	Vit.	Hyp.	Iso.	Qci.	Nar.	Hes.	$Rf_1=0,36$	$Rf_2=0,54$	$Rf_3=0,68$
<i>A. hirsutiflora</i>	+	+	--	+	--	+	--	--	+	+	+
<i>A. holocycyla</i>	+	--	--	--	+	--	--	--	+	--	--
GRUP D											
<i>A. ciminensis</i>	--	+	+	--	--	+	--	--	--	+	--
<i>A. buseriana</i>	+	+	--	+	--	+	--	--	--	+	+
<i>A. trabzonica</i>	+	--	--	+	+	+	--	--	+	+	+
<i>A. tiryalensis</i>	+	+	--	+	--	--	--	--	+	+	+
<i>A. stricta</i> (1)	+	--	+	--	+	+	--	--	--	+	+
<i>A. stricta</i> (2)	+	+	+	--	+	+	--	--	+	+	+
<i>A. barbatiflora</i> (1)	+	+	+	+	+	+	--	--	+	+	+
<i>A. barbatiflora</i> (2)	+	+	--	--	--	--	--	--	+	+	+

**Çizelge 3.1. (Devam)**

Örnek	Rut.	Ori.	Vit.	Hyp.	Iso.	Qci.	Nar.	Hes.	$Rf_1=0,36$	$Rf_2=0,54$	$Rf_3=0,68$
GRUP E											
<i>A. procerrima</i>	+	+	--	+	--	--	--	--	+	+	+
Yakın cinse ait tür örneği											
<i>Potentiella recta</i>	+	--	--	--	+	--	--	--	--	+	--

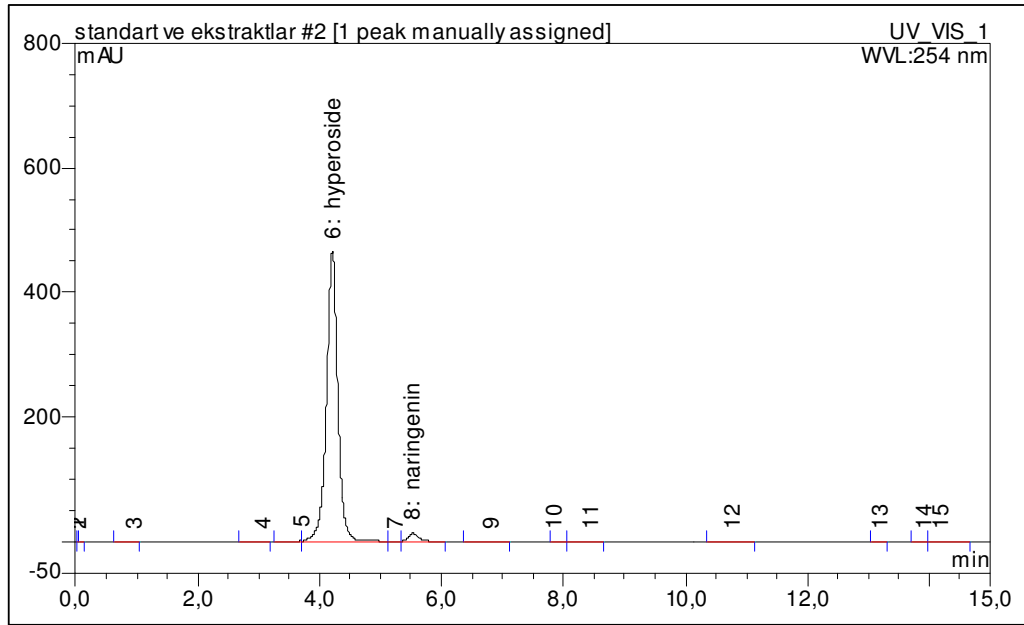
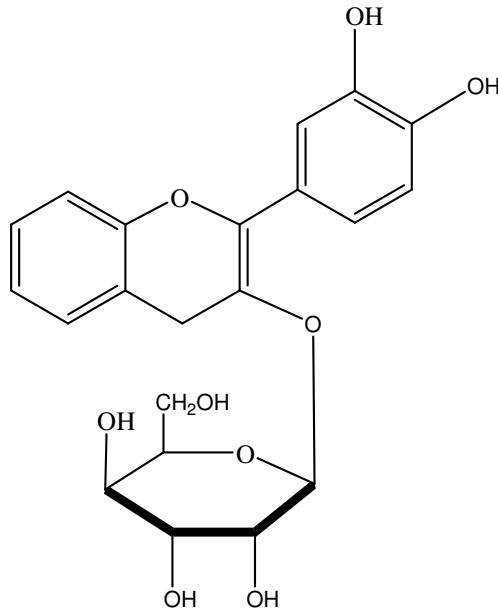
## **3.2 Yüksek Basınç Sıvı Kromatografisinde (HPLC) Flavonoid Bileşiklerinin Tayin Edilmesi**

### **3.2.1. Standartların HPLC Kromatogramları**

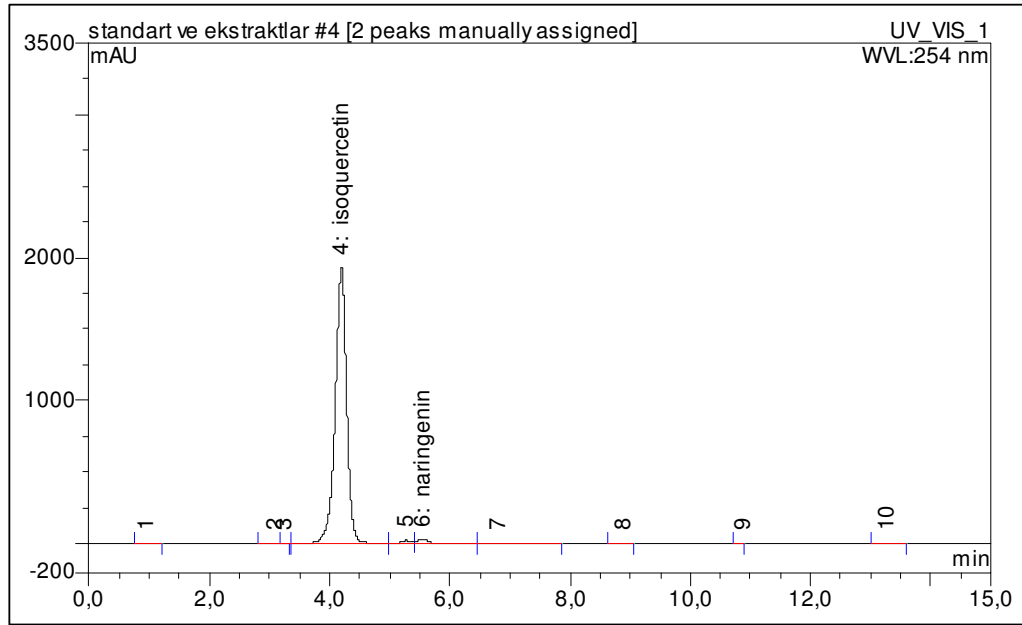
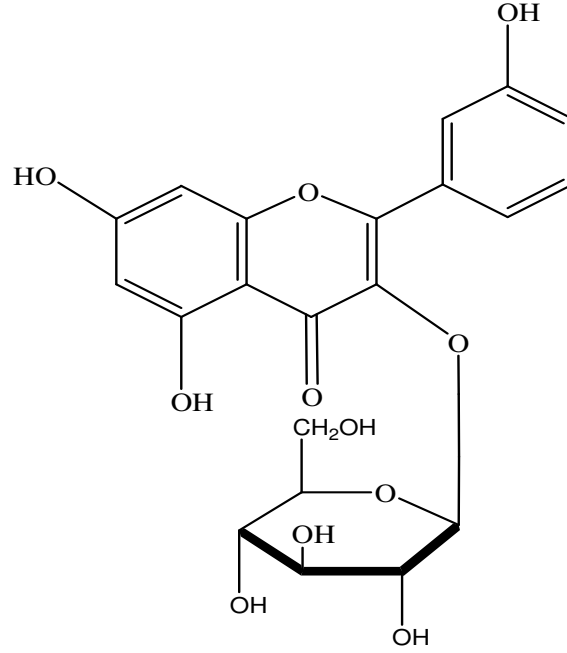
HPLC ile bitki ekstraktları içerisindeki flavonoid glikozitlerinin tayin edilebilmesi için ticari olarak elde edilen standart flavonoid bileşiklerinin kromatografilerinin ortaya çıkarılması gerekmektedir. Bunun için uygun mobil faz olarak metanol: dH<sub>2</sub>O: asetik asit = 80:50:1,25 şeklinde hazırlanan solvent sistemi kullanıldı. Kolon sıcaklığı 25°C'da sabit tutuldu. Akış hızı 0,7 ml/dak. olacak miktarda ayarlandı. Kolon olarak Dionex'ten elde edilen 250 mm x 4,6 mm 5 µm C 18 silika kolon kullanıldı. Standartlar için 3 farklı dalga boyunda U.V. dedektör ile analiz yapıldı. Yapılan bu analizlerin sonucunda standartların Rt belirlendi. Sonrasında örnek bitkilerinin metanolik ekstraktları 0,45 µm'lik kartuşlarla süzülerek HPLC cihazına enjekte edildi.

HPLC cihazında kullanılan standartların kromatogramları Şekil 3.1.- 3.9'da verilmiştir.

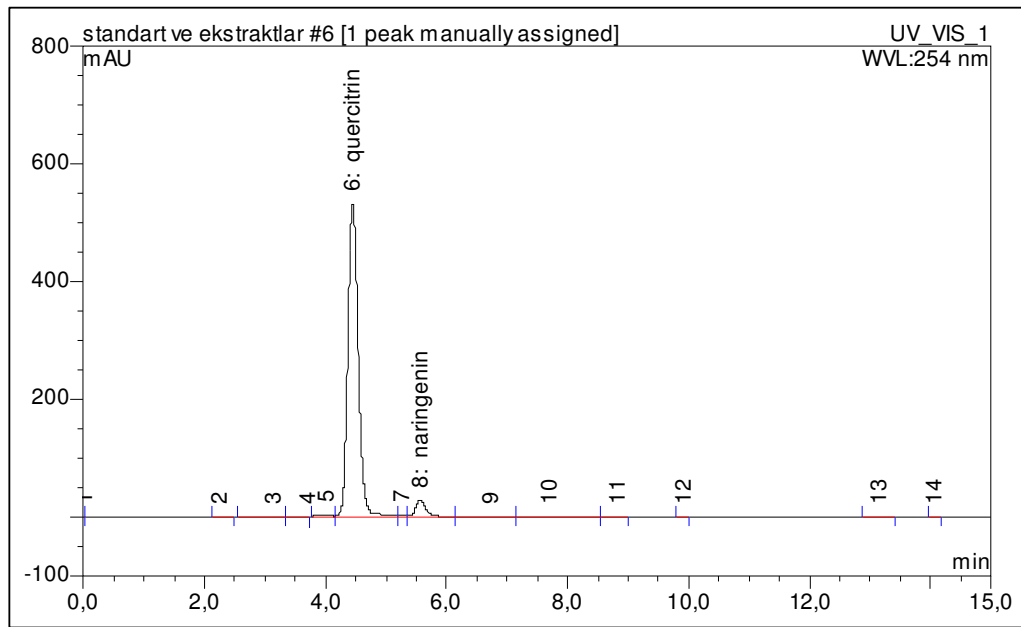
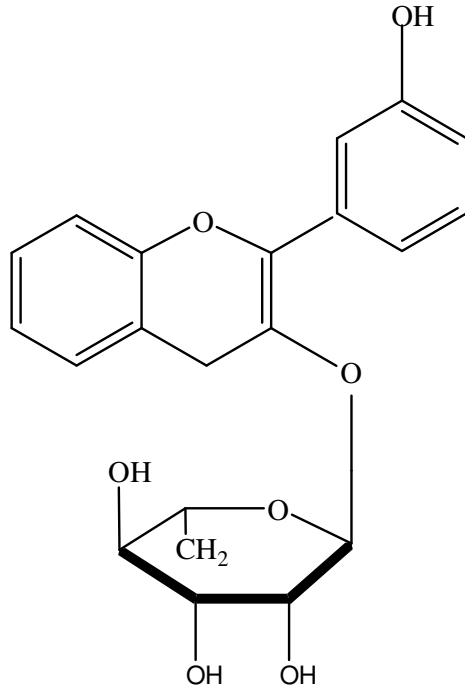




Şekil 3.92. Hyperoside flavonoidin kimyasal yapısı ve HPLC kromatogramı

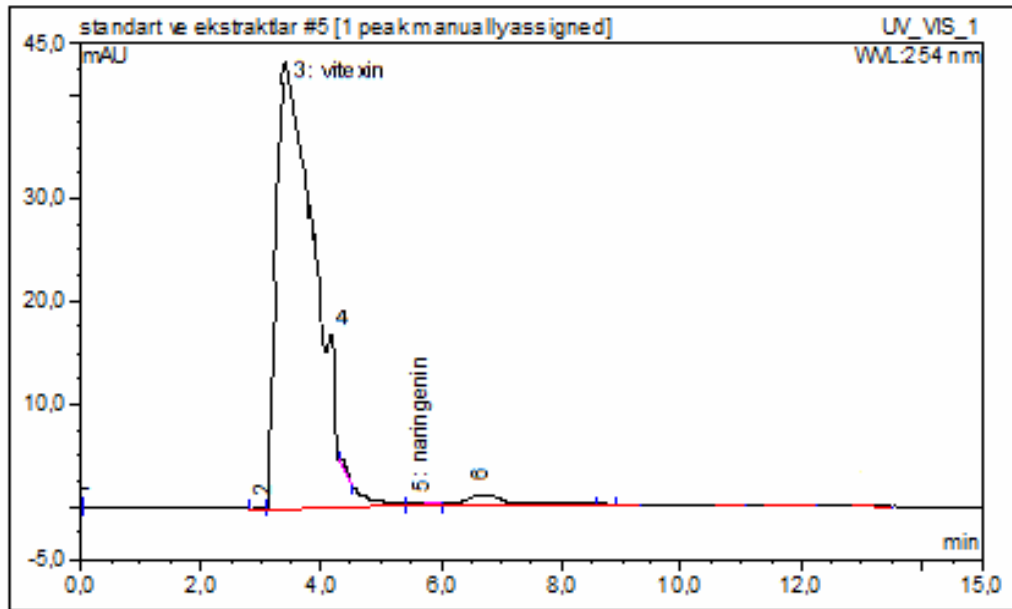
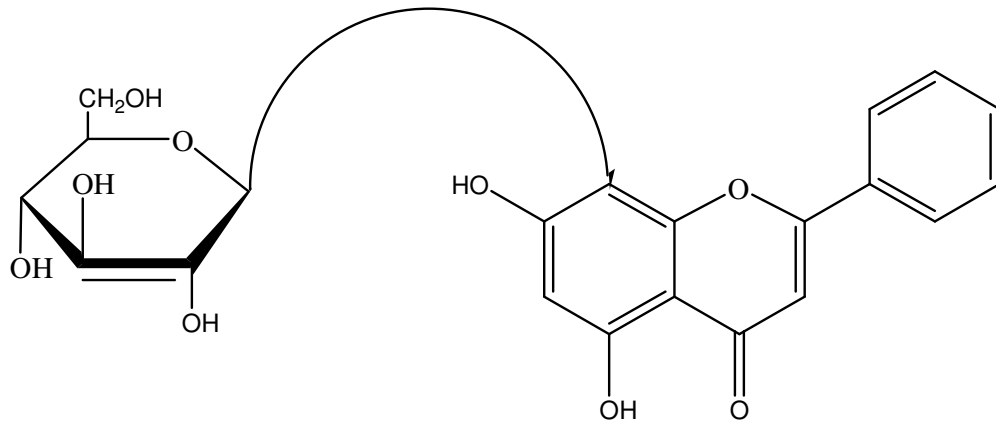


Şekil 3.93. İsoquercetin flavonoidin kimyasal yapısı ve HPLC kromatogramı

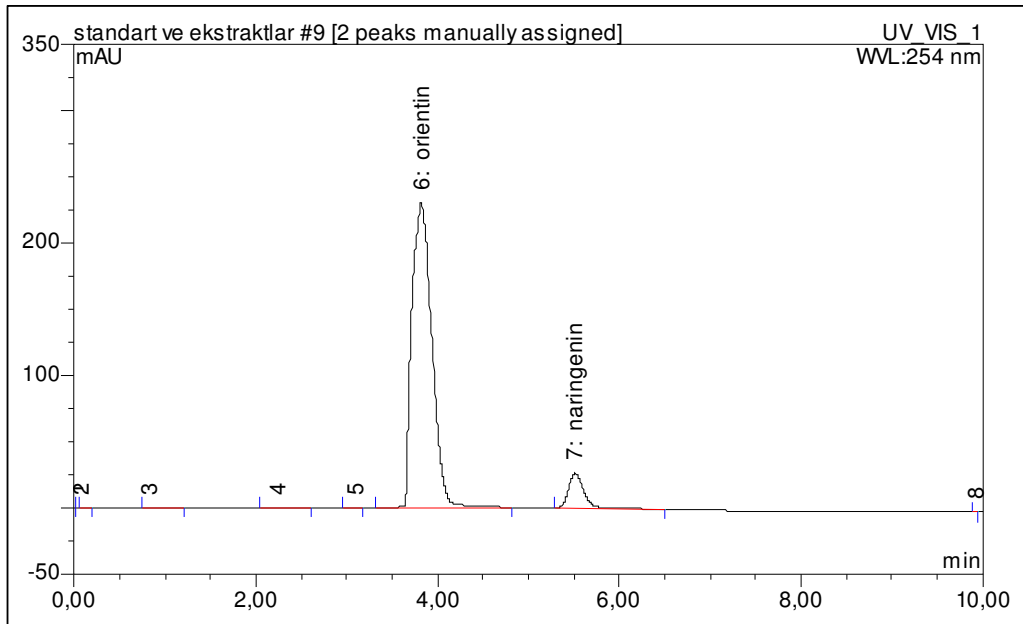
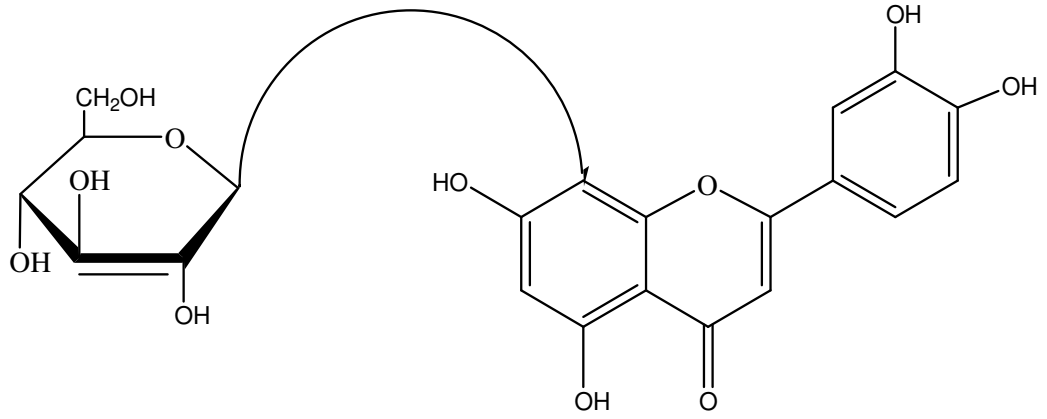


Şekil 3.94. Quercitrin flavonoidin kimyasal yapısı ve HPLC kromatogramı

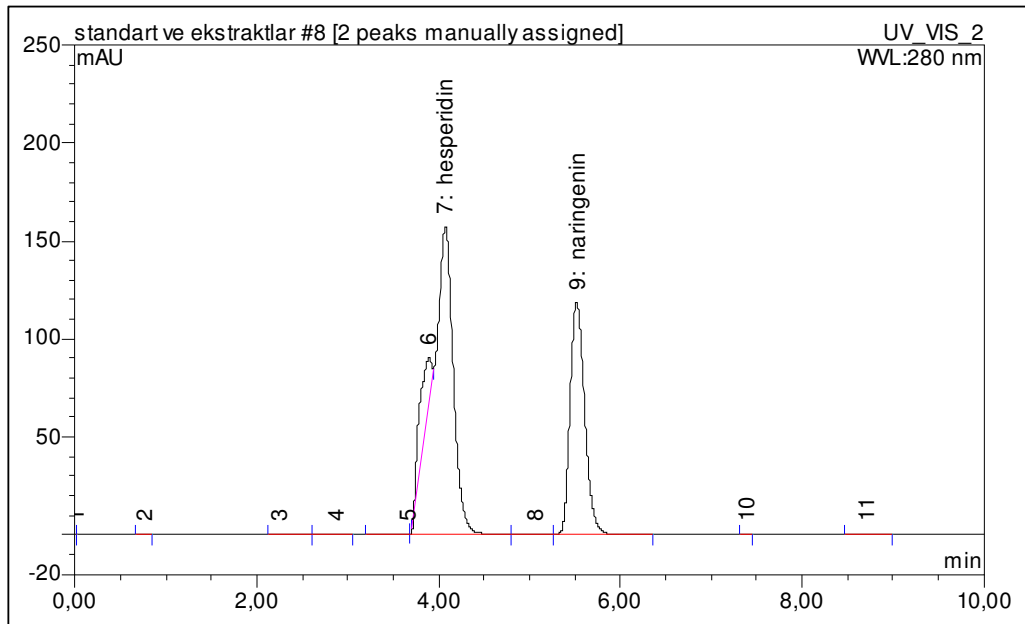
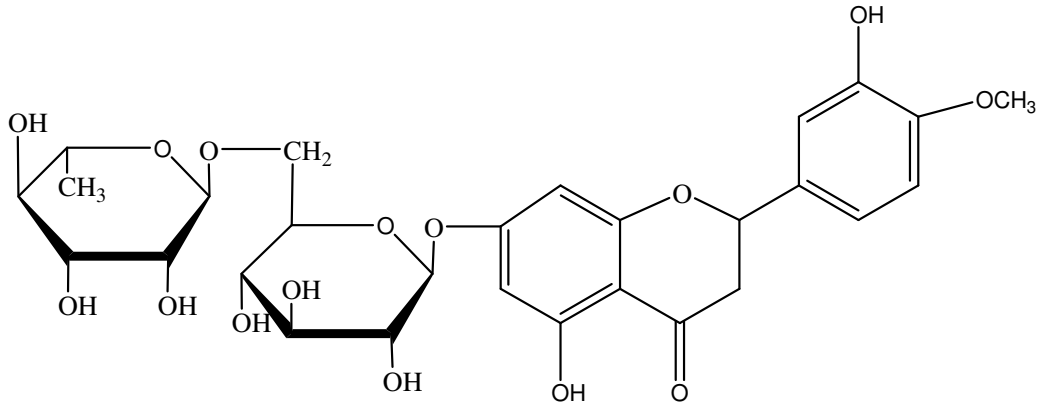




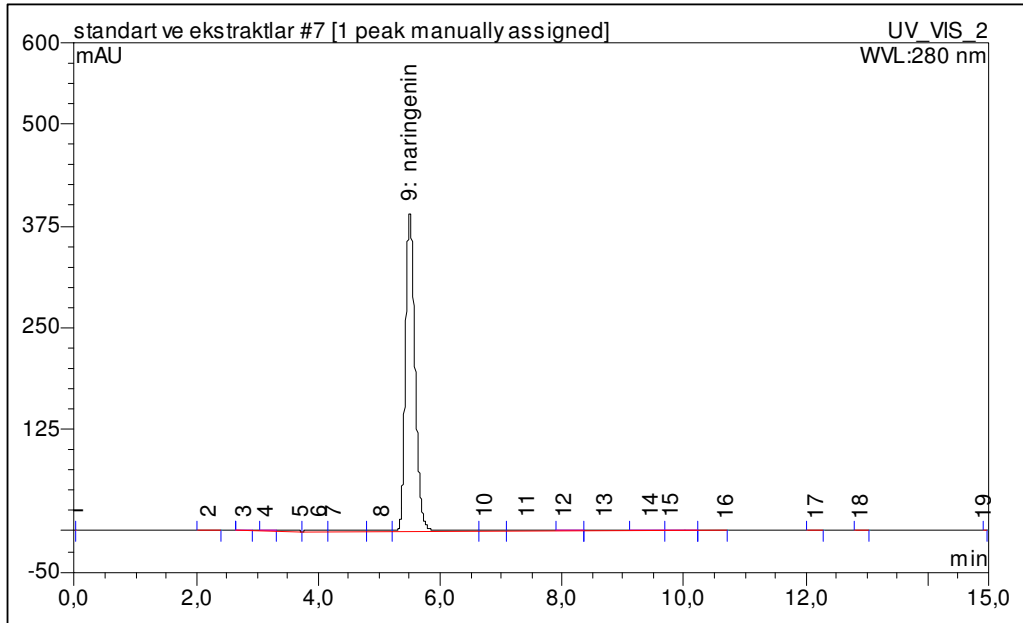
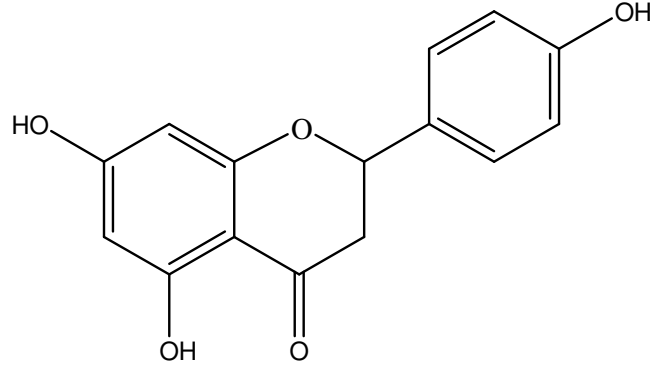
Şekil 3.95. Vitexin flavonoidin kimyasal yapısı ve HPLC kromatogramı



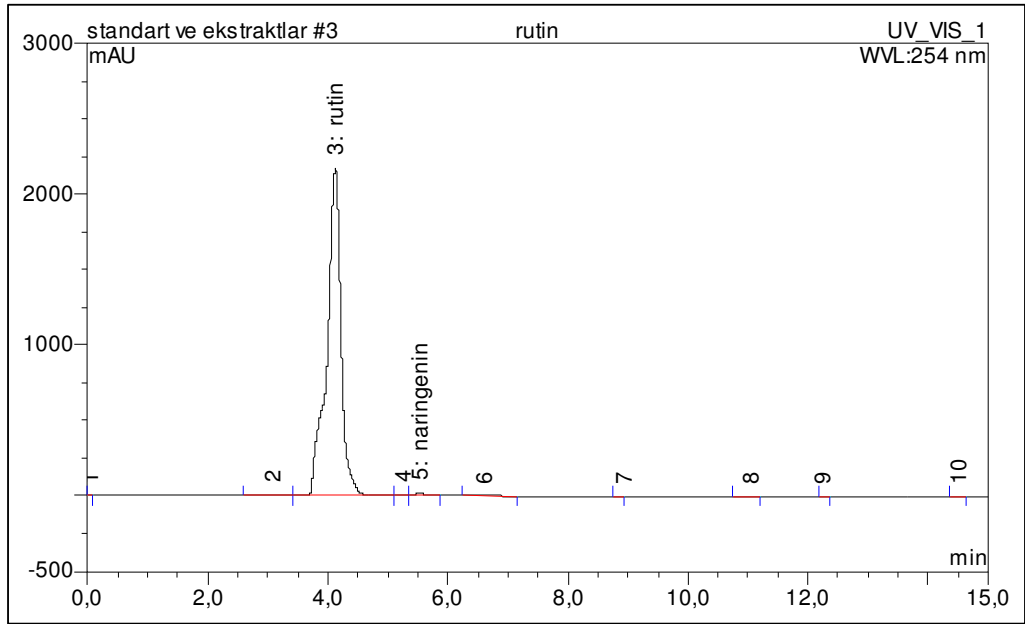
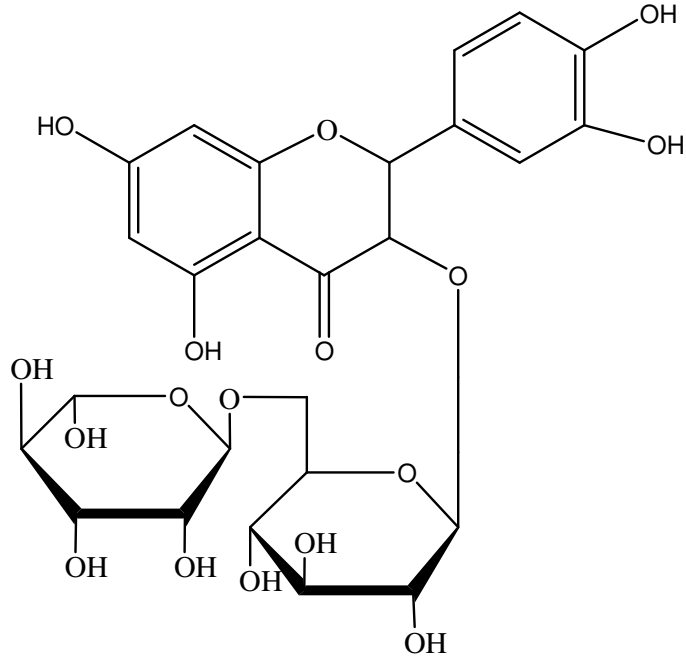
Şekil 3.96. Orientin flavonoidin kimyasal yapısı ve HPLC kromatogramı



Şekil 3.97. Hesperidin flavonoidin kimyasal yapısı ve HPLC kromatogramı



Şekil 3.98. Naringenin flavonodin kimyasal yapısı ve HPLC kromatogramı

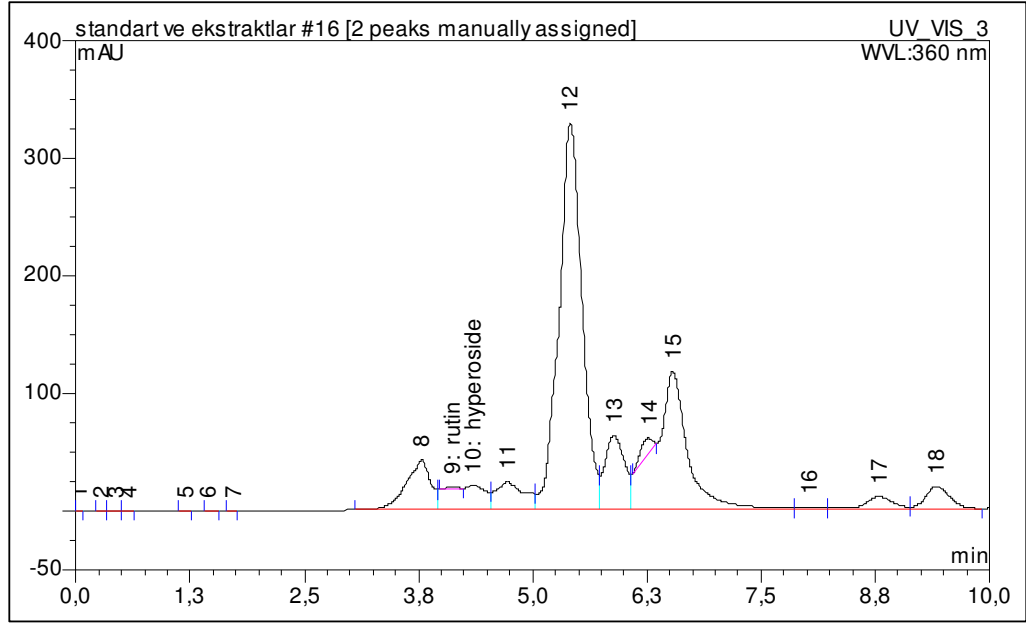


Şekil 3.99. Rutin flavonodin kimyasal yapısı ve HPCL kromatogramı

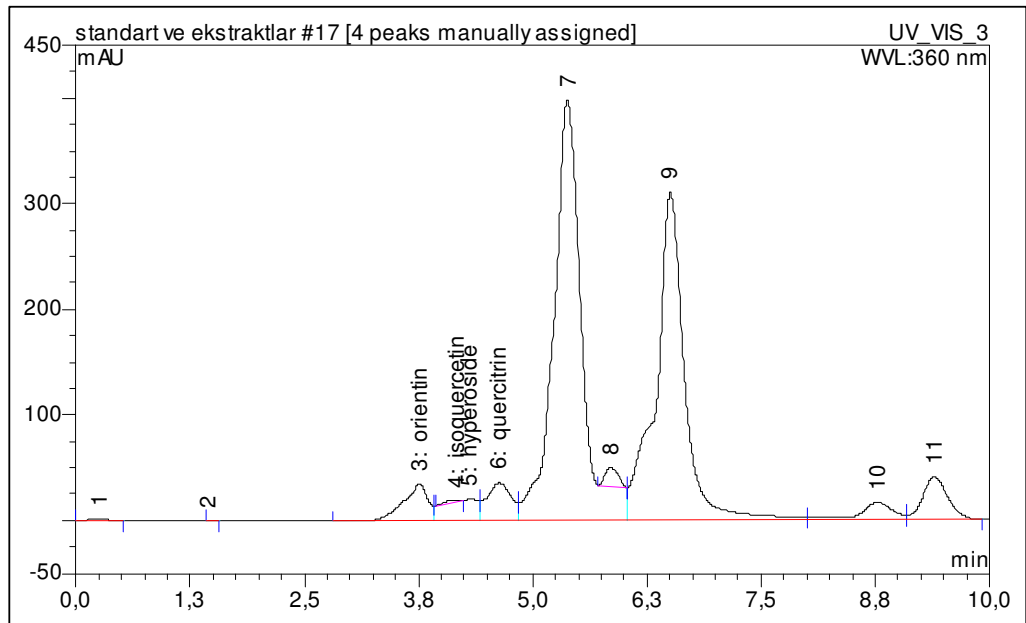
### 3.2.2. Bitki Ekstraktlarının HPLC Kromatogramları

Flavonoid bileşiklerine ait standartların HPLC cihazında yürütüldüğü şartlarda bitki örneklerine ait ekstraktlar yürütülerek çalışılan her bir bitkinin HPLC kromatogramı çıkarılmıştır (Şekil 3.100- 3.129). Buradan elde edilen sonuçlar İTK plaklarında elde edilen sonuçlarla büyük benzerlik göstermektedir.

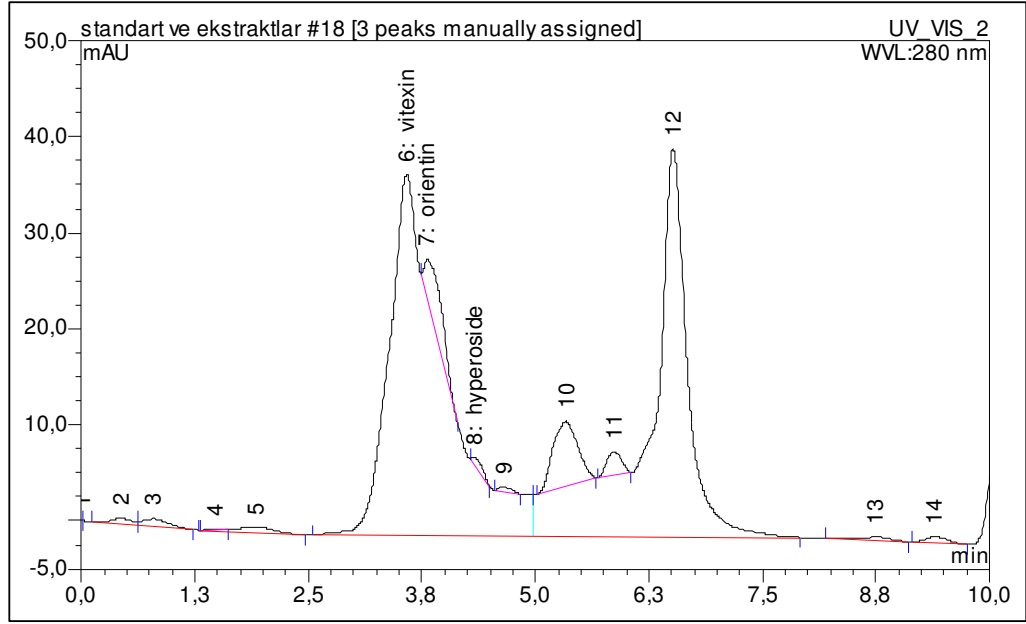
HPLC kromatogramı İnce Tabaka Kromatografisinde olduğu gibi 25 *Alchemilla* ve bir adet *Potentilla* türüne ait 30 farklı örnekte gerçekleştirilmiştir. Çalışılan türlerin isimleri şu şekildedir: *A. ovitensis*, *A. erythropoda*, *A. sericata*, *A. hirtipedicellata*, *A. armeniaca*, *A. orthotricha*, *A. erzincanensis*, *A. cimilensis*, *A. mollis*, *A. orduensis*, *A. ikizdereensis*, *A. porrectidens*, *A. oriturcica*, *A. bursensis*, *A. persica*, *A. speciosa*, *A. hirsutiflora*, *A. holocycla*, *A. ciminensis*, *A. buseriana*, *A. trabzonica*, *A. tiryalensis*, *A. stricta* ve *A. barbatiflora*. *A. orduensis*, *A. stricta* ve *A. barbatiflora* türlerinde iki farklı lokaliteden toplanmış örneklerde tür içi varyasyon gözlenmiştir.



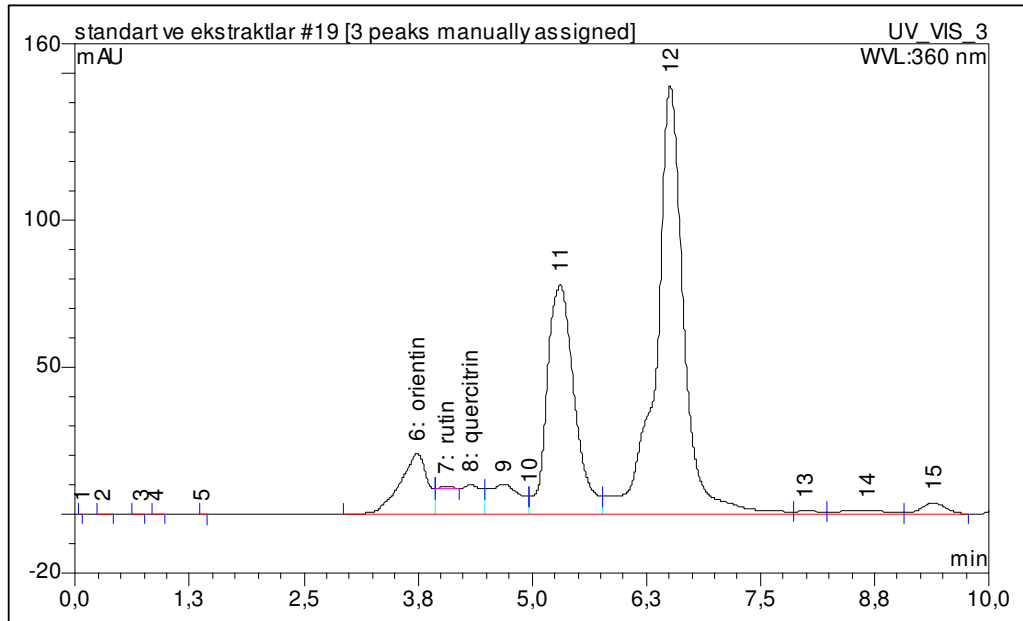
Şekil 3.100. *A. oriturcica*'nin HPLC kromatogramı.



Şekil 3.101. *A. hirtpedicellata*'nın HPLC kromatogramı.

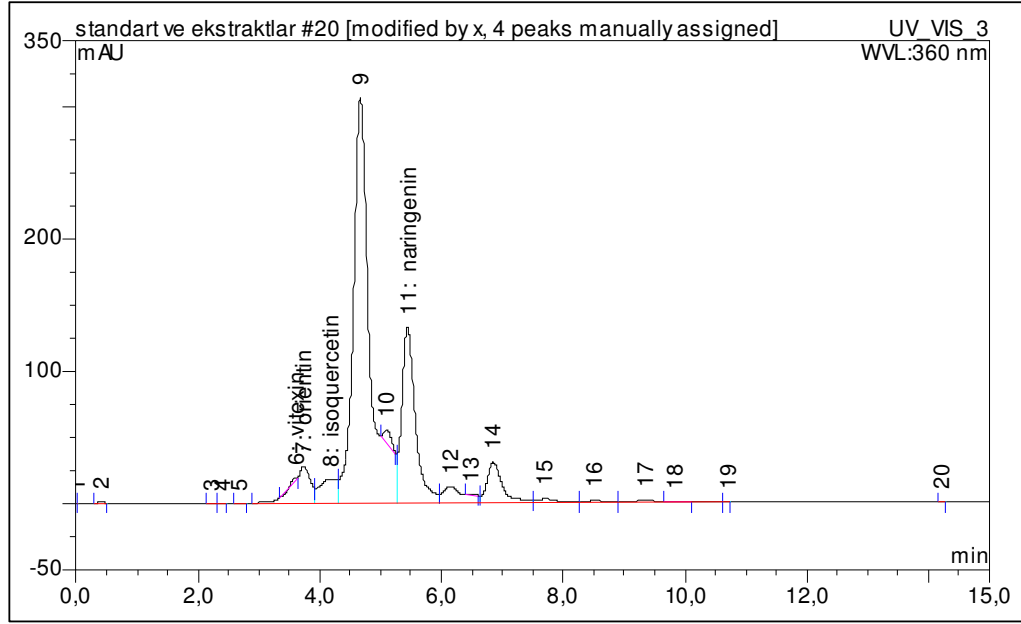


Şekil 3.102. *A. armeniaca*'nın HPLC kromatogramı.

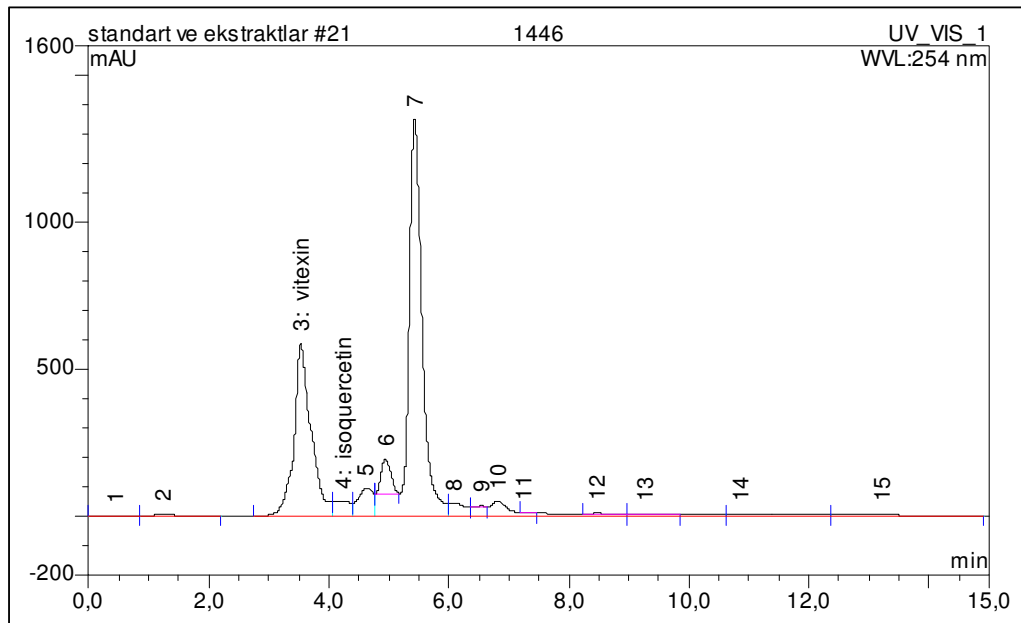


Şekil 3.103. *A. stricta*'nın (1) HPLC kromatogramı.

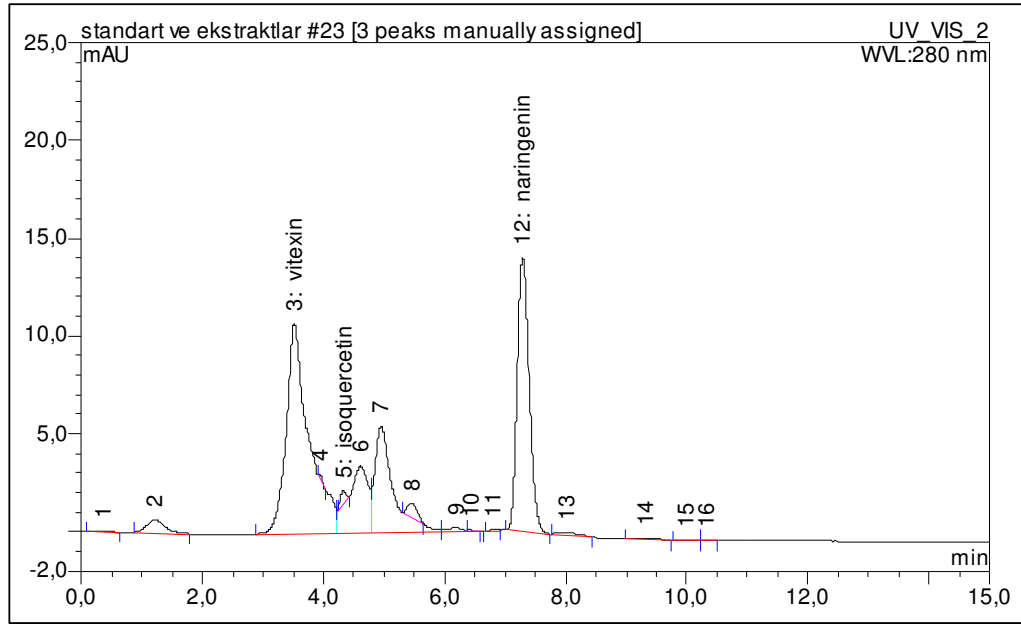




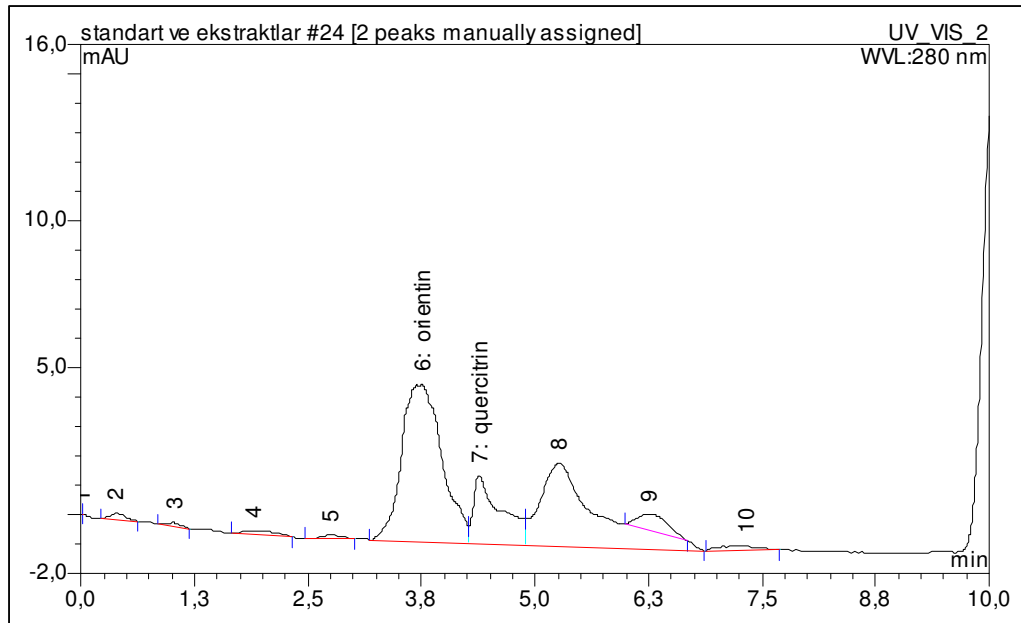
Şekil 3.104. *A. barbatiflora*'nın (1) HPLC kromatogramı



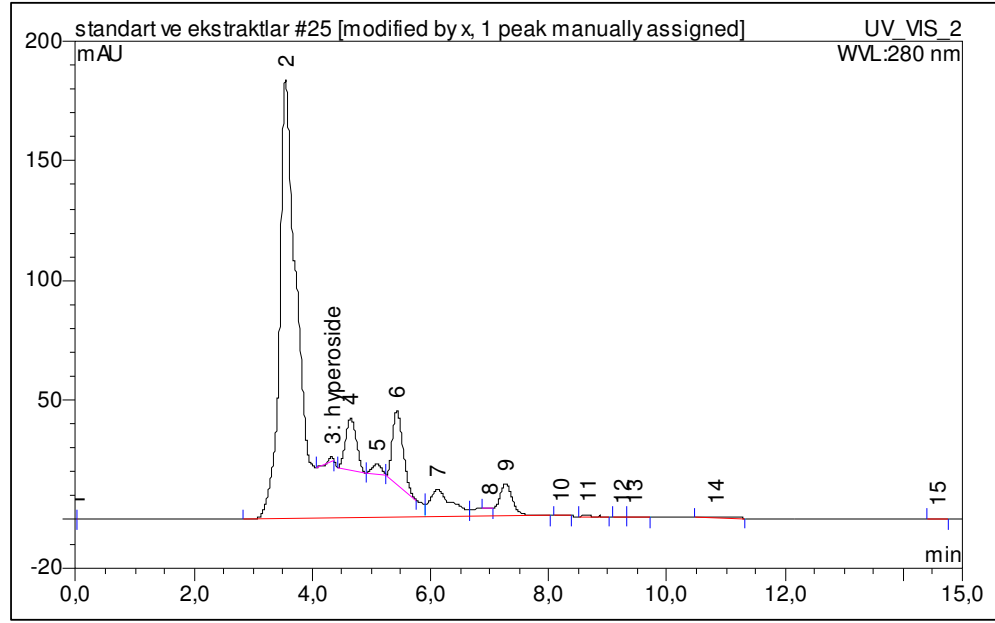
Şekil 3.105. *A. orthotricha*'nin HPLC kromatogramı



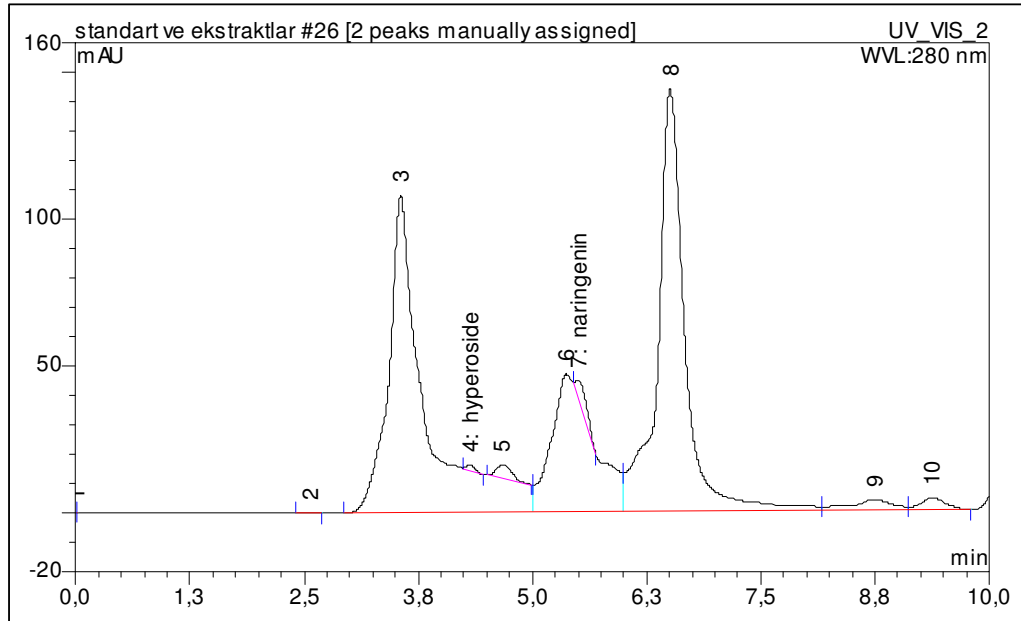
Şekil 3.106. *A. erzincanensis*'in HPLC kromatogramı



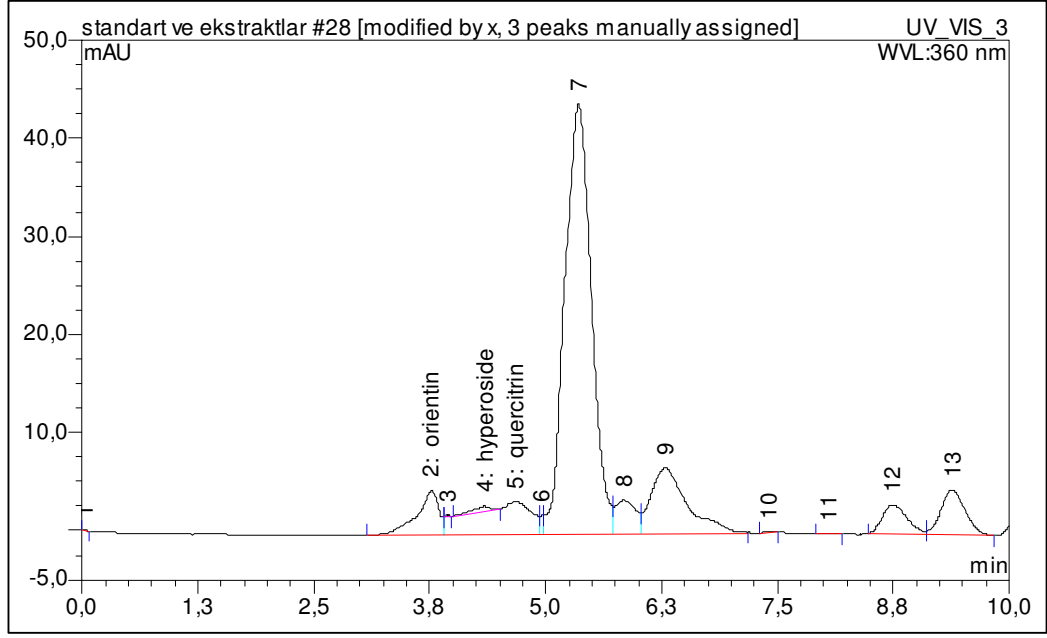
Şekil 3.107. *A. ciminensis*'in HPLC kromatogramı



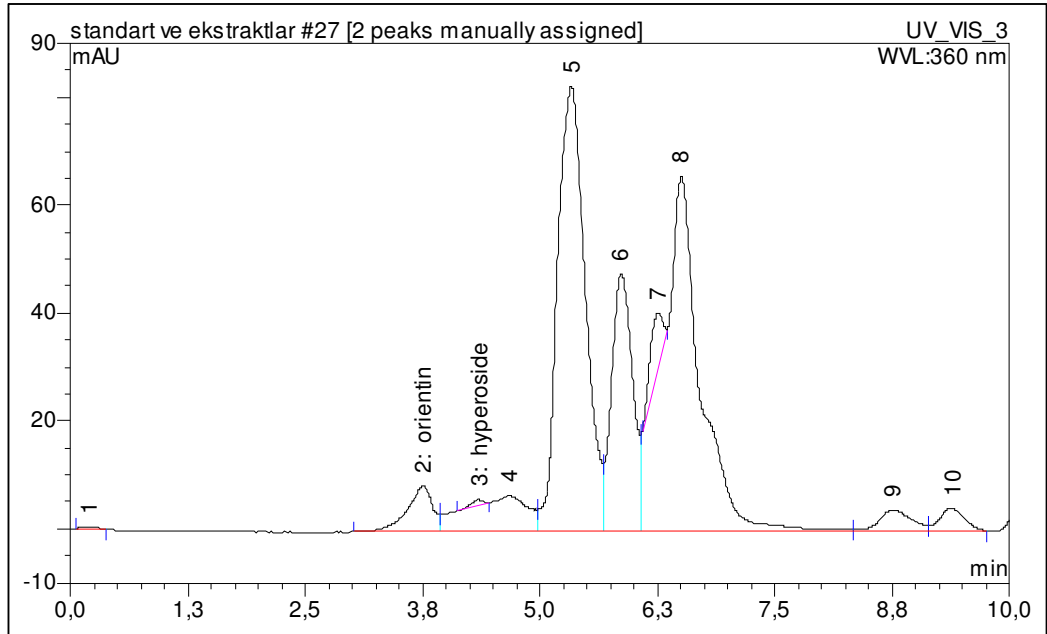
Şekil 3.108. *A. orduensis*'in (1) HPLC kromatogramı



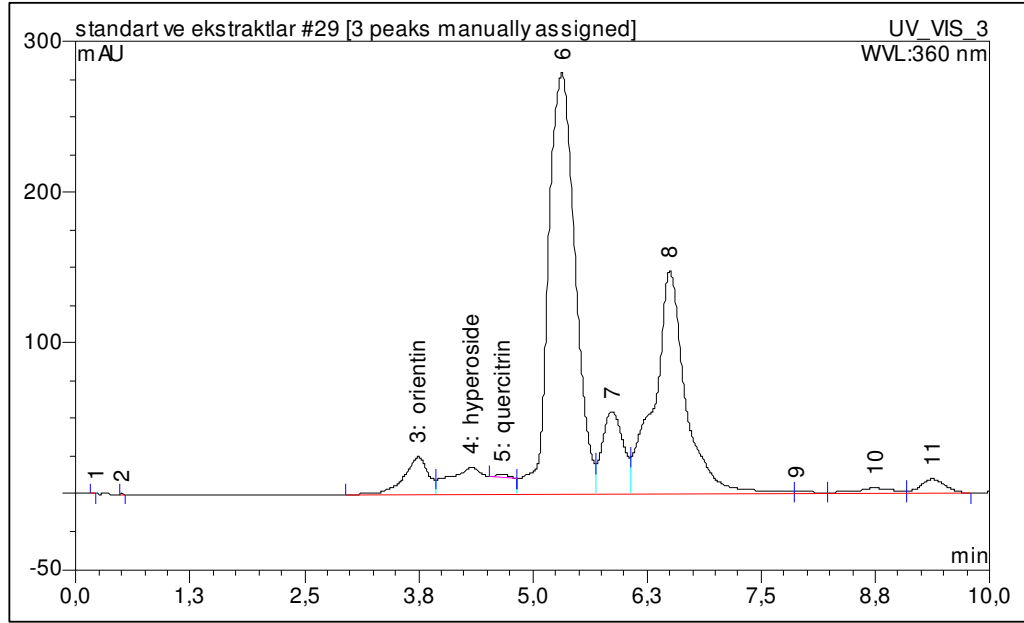
Şekil 3.109. *A. cimilensis*'in HPLC kromatogramı



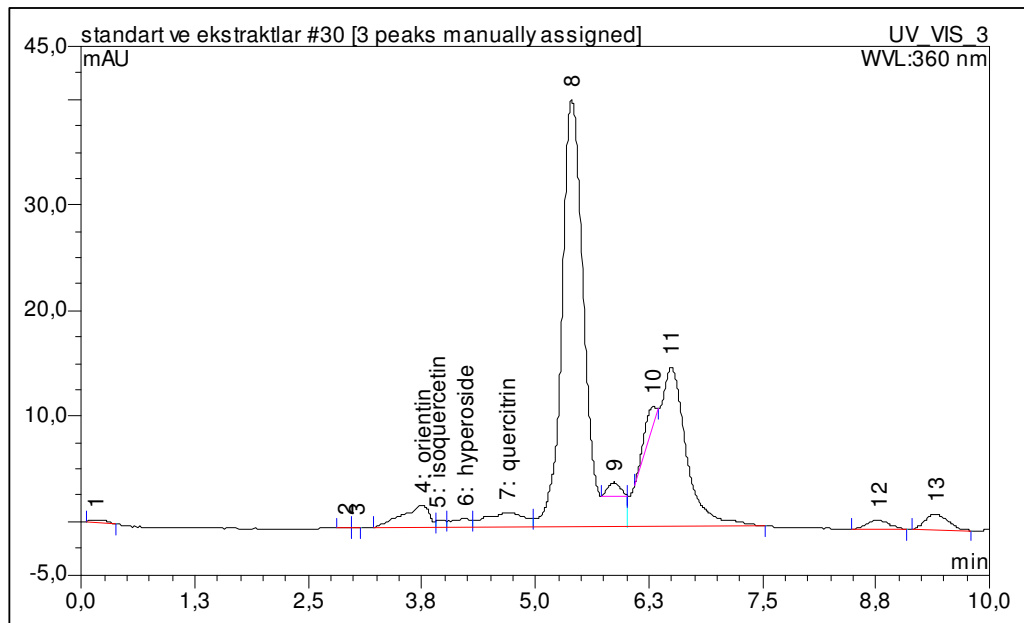
Şekil 3.110. *A. mollis*'in HPLC kromatogramı



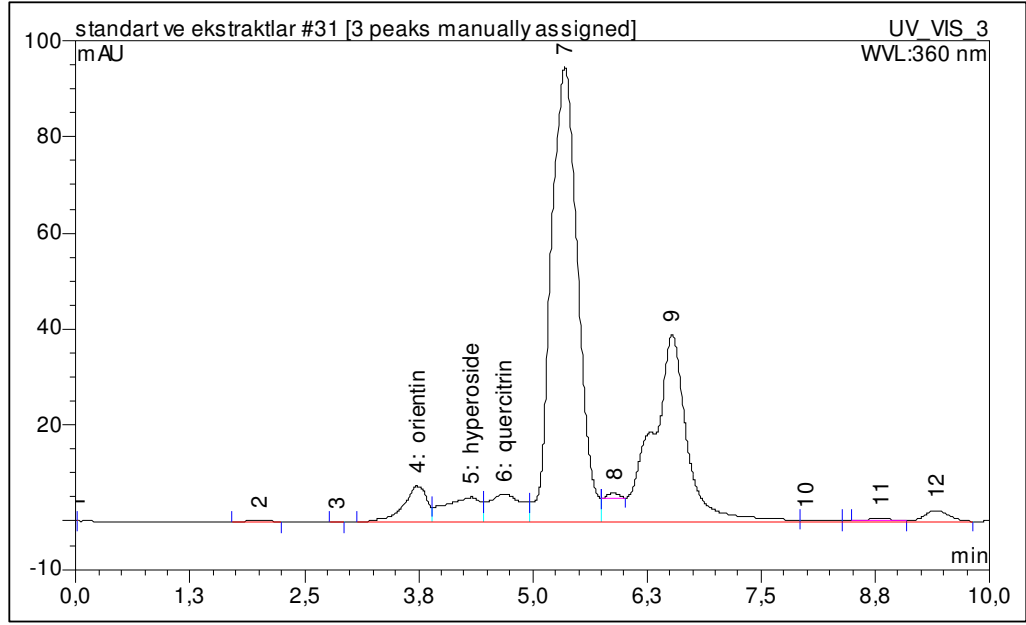
Şekil 3.111. *A. orduensis*'in (2) HPLC kromatogramı



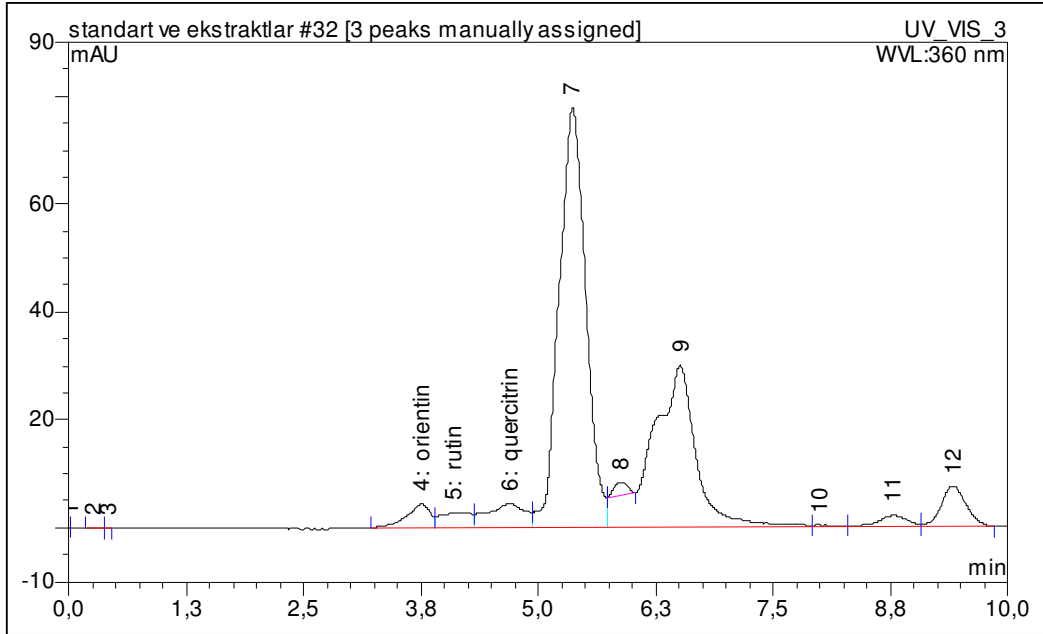
Şekil 3.112. *A. busseriana*'nın HPLC kromatogramı



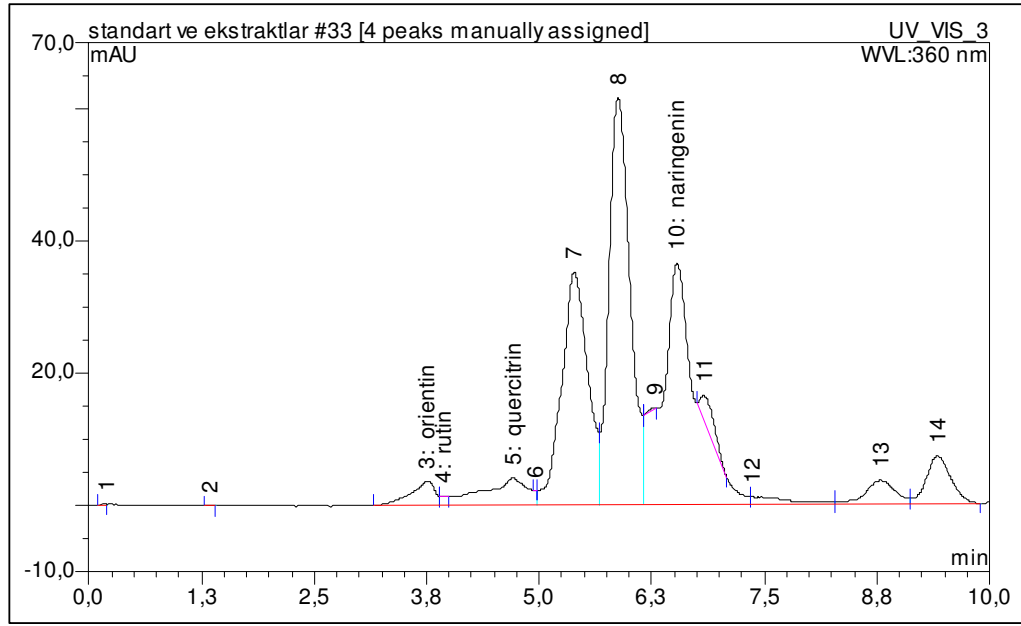
Şekil 3.113. *A. erythropoda*'nın HPLC kromatogramı



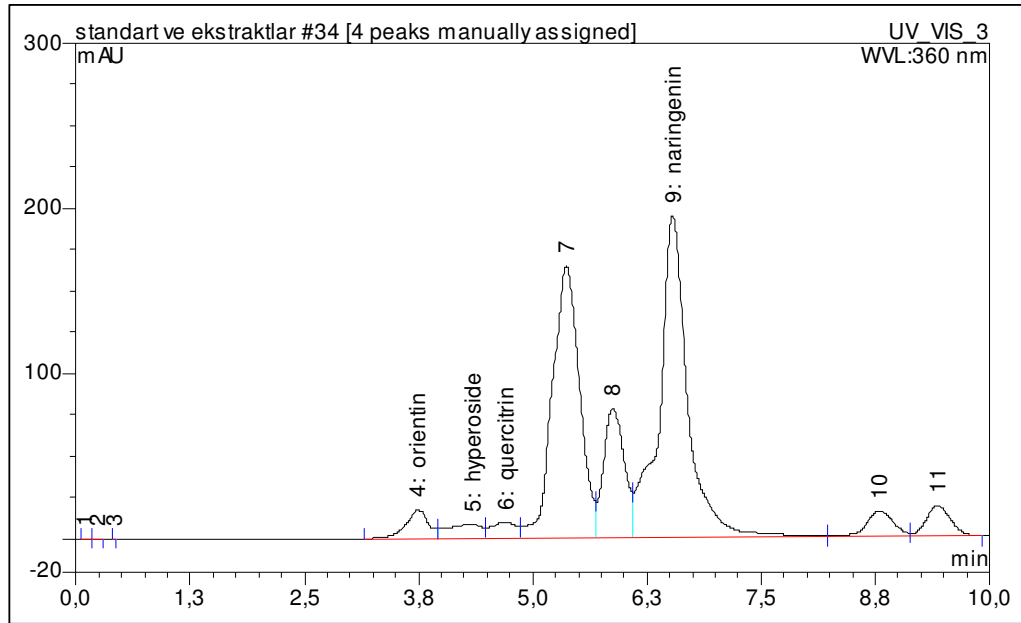
Şekil 3.114. *A. ikizderensis*'in HPLC kromatogramı



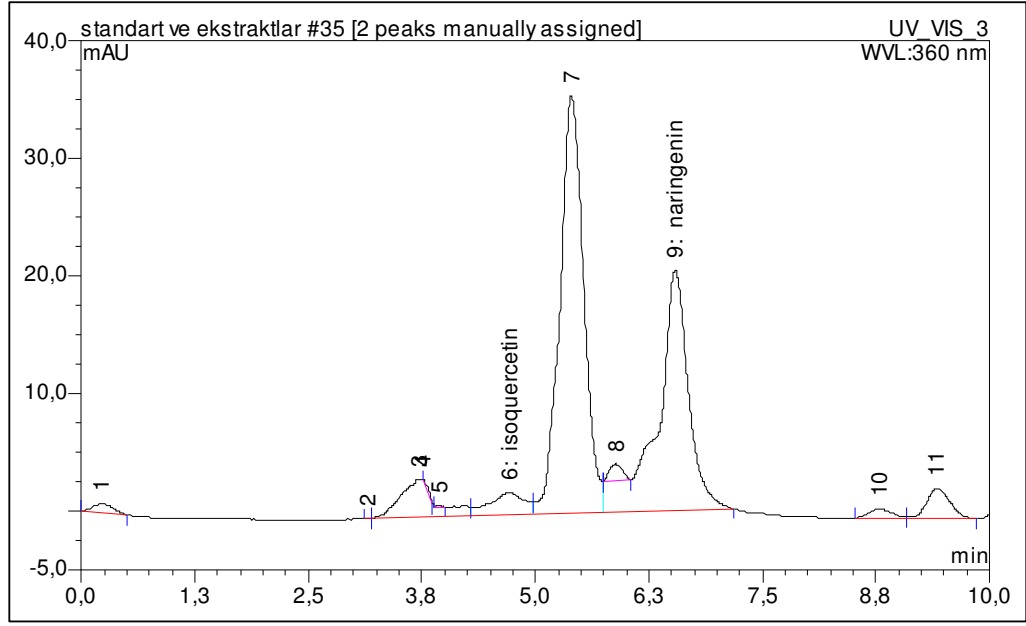
Şekil 3.115. *A. procerrima*'nın HPLC kromatogramı



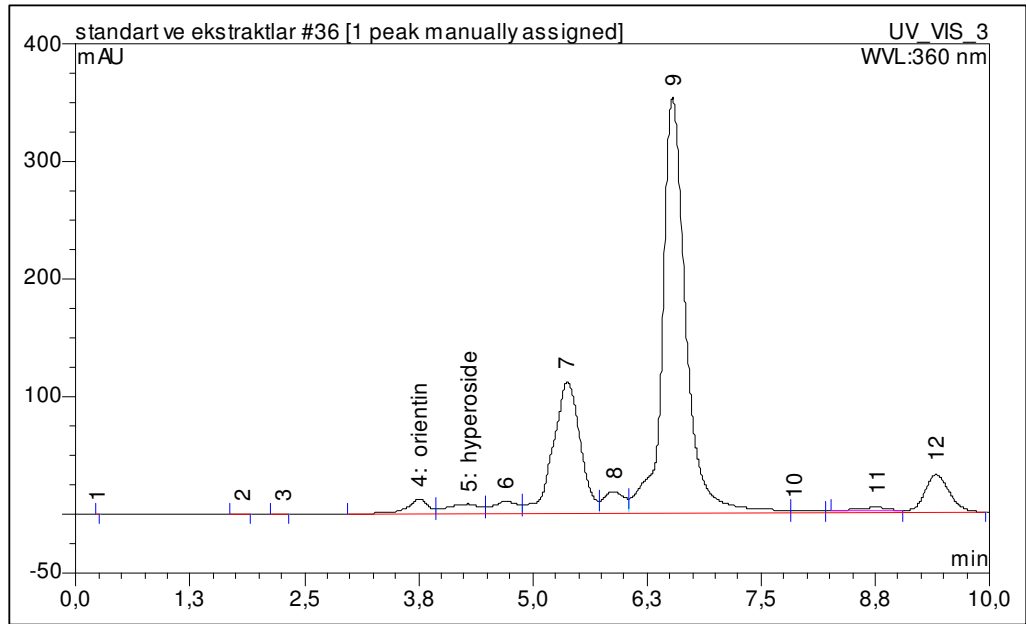
Şekil 3.116. *A. porrectiols'* nin HPLC kromatogramı



Şekil 3.117. *A. oriturcica'* nin HPLC kromatogramı

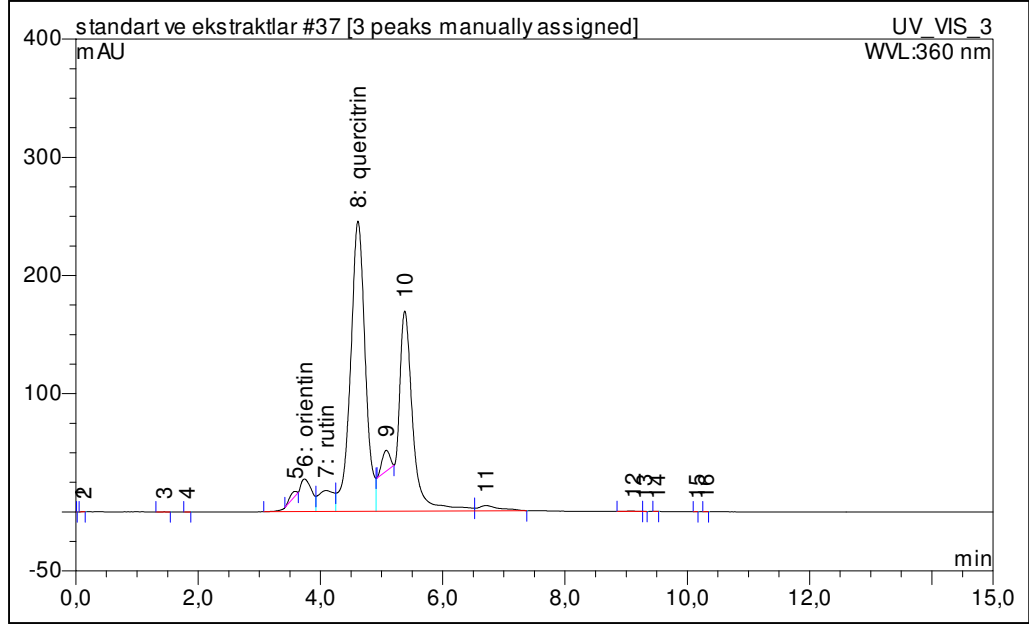


Şekil 3.118. *A. bursensis*'in HPLC kromatogramı

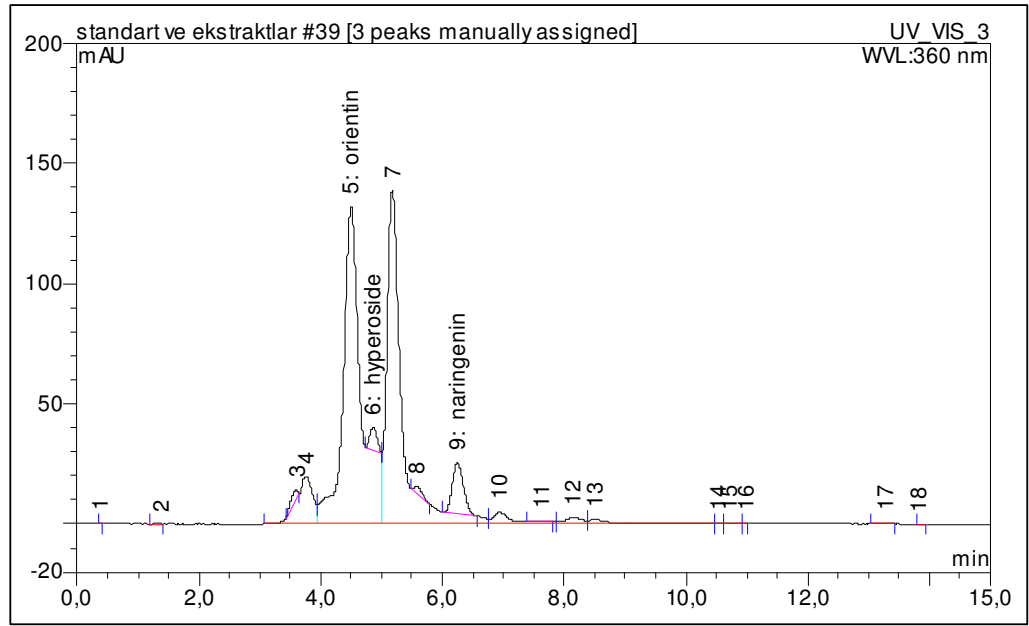


Şekil 3.119. *A. persica*'nın HPLC kromatogramı

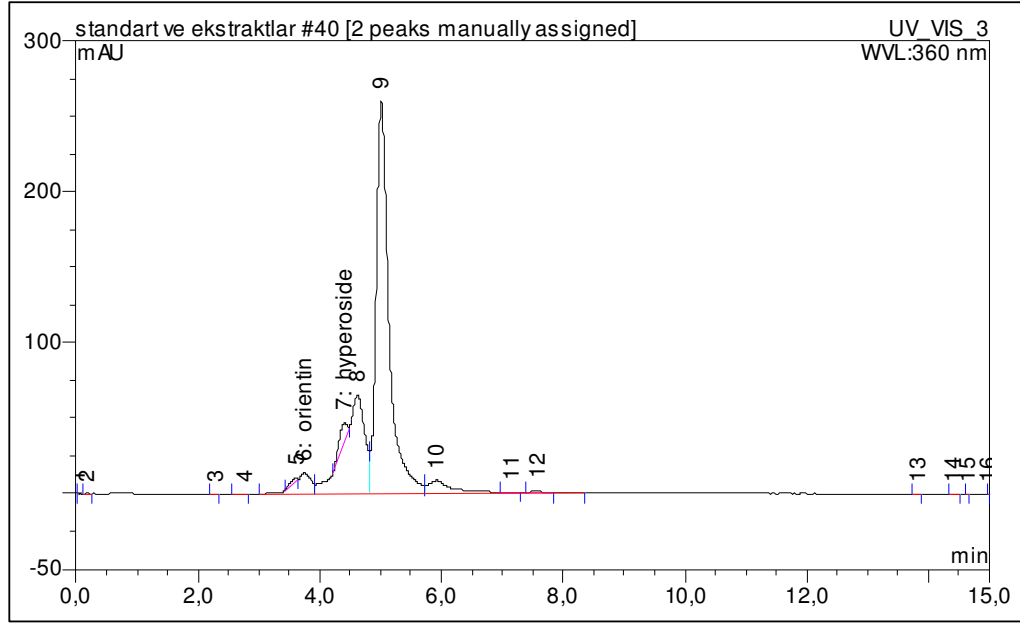




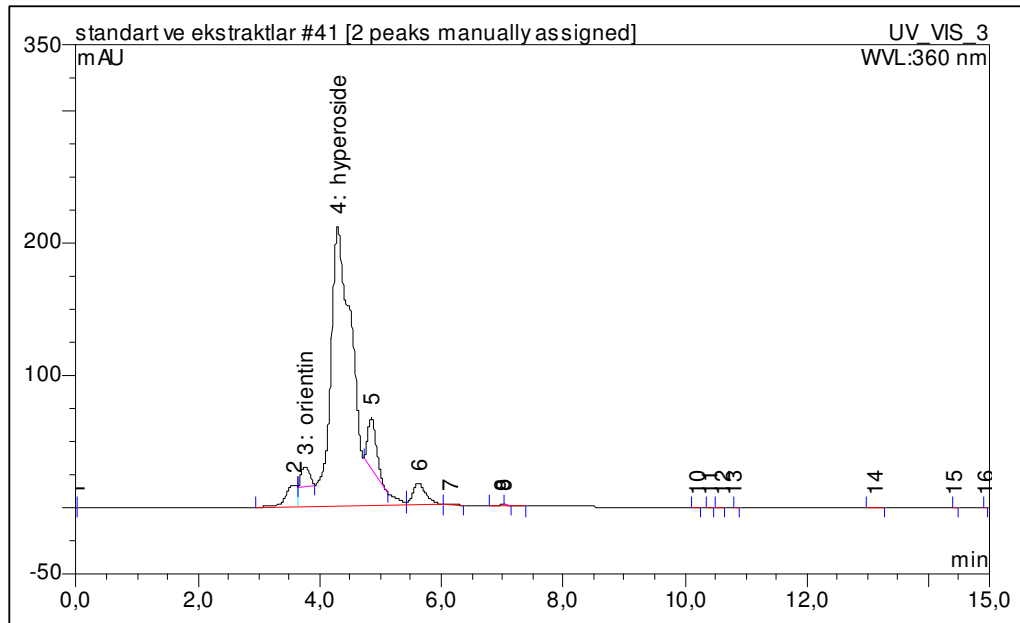
Şekil 3.120. *A. trabzonica*'nın HPLC kromatogramı



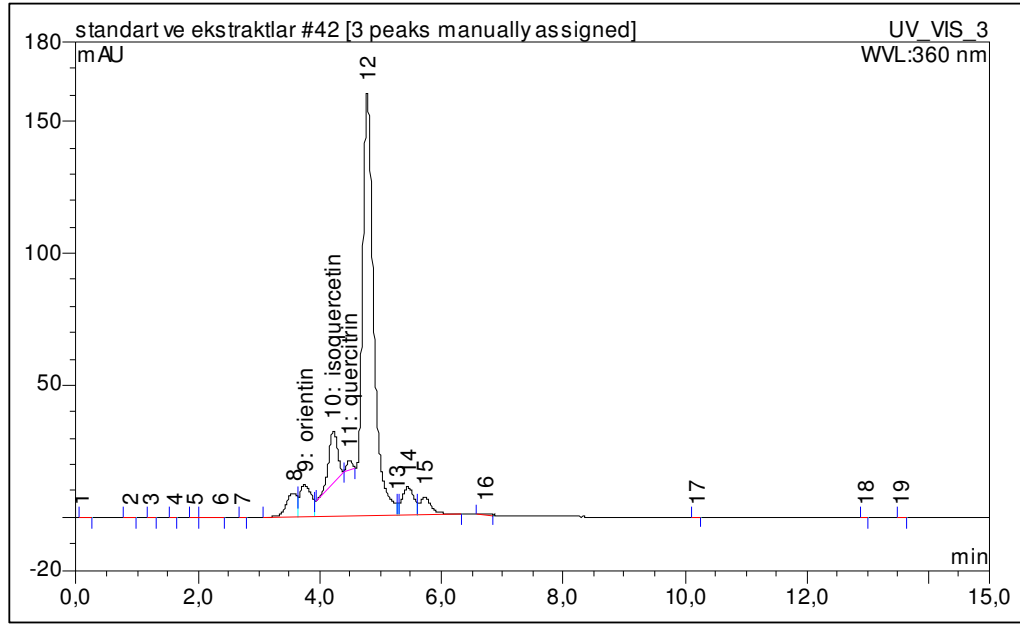
Şekil 3.121. *A. tiryalensis*'in HPLC kromatogramı



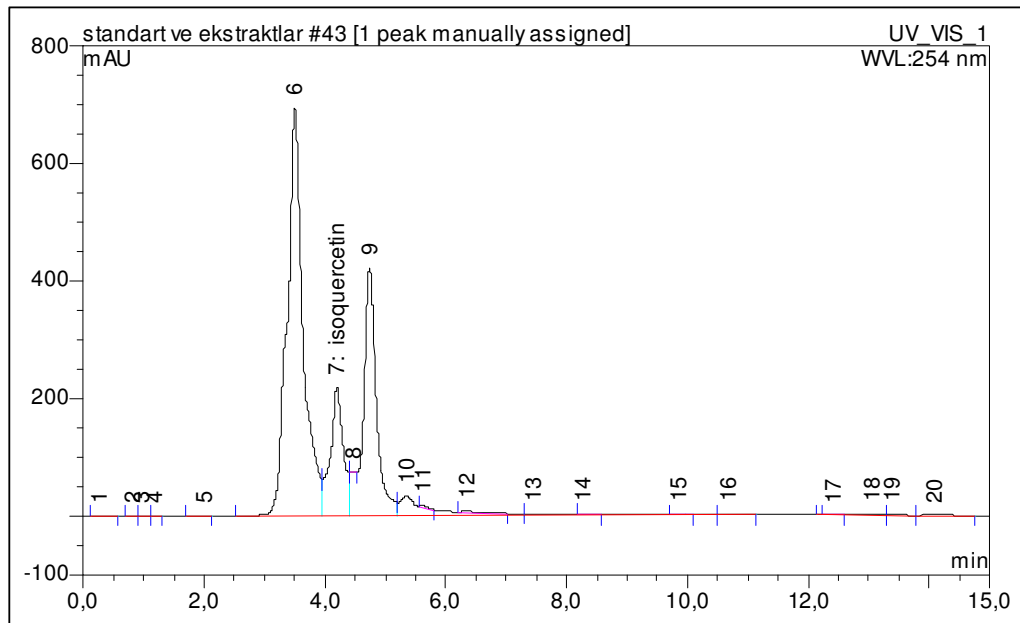
Şekil 3.122. *A. speciosa*'nın HPLC kromatogramı



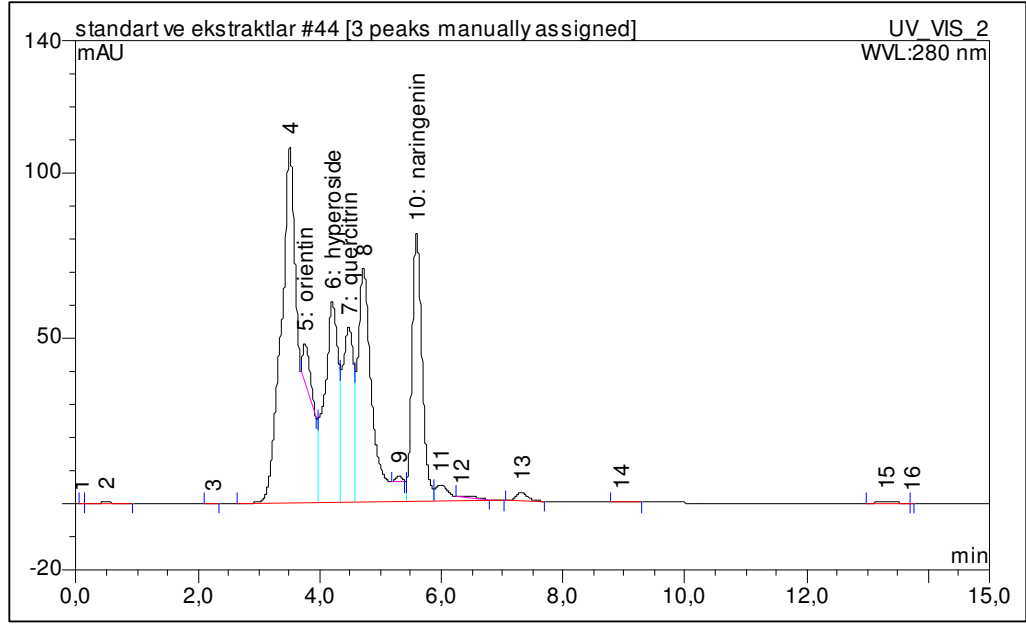
Şekil 3.123. *A. hirsutiflora*'nın HPLC kromatogramı



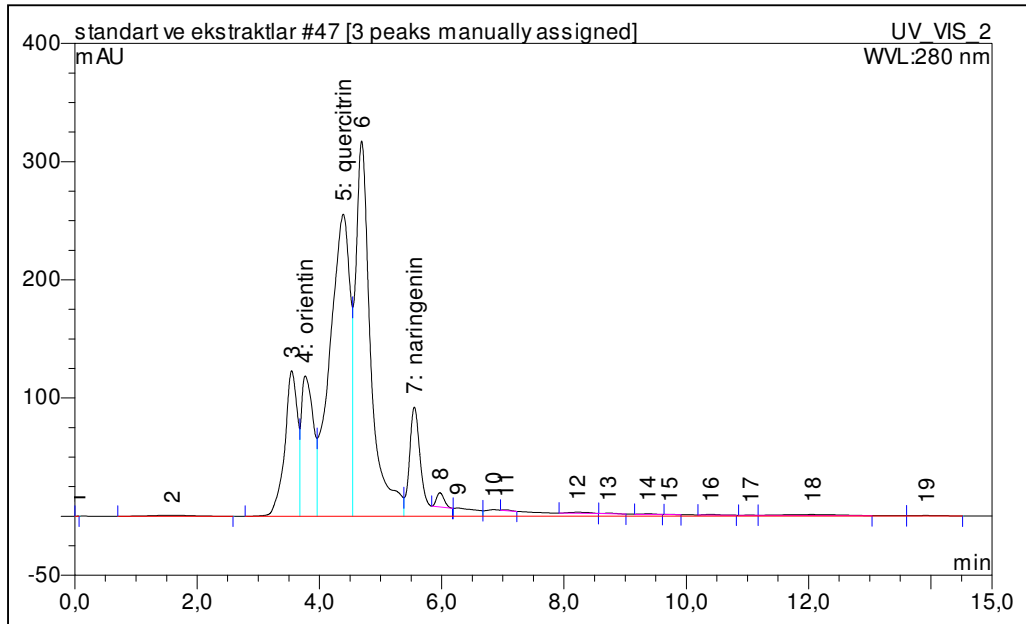
Şekil 3.124. *A. stricta*'nın (2) HPLC kromatogramı



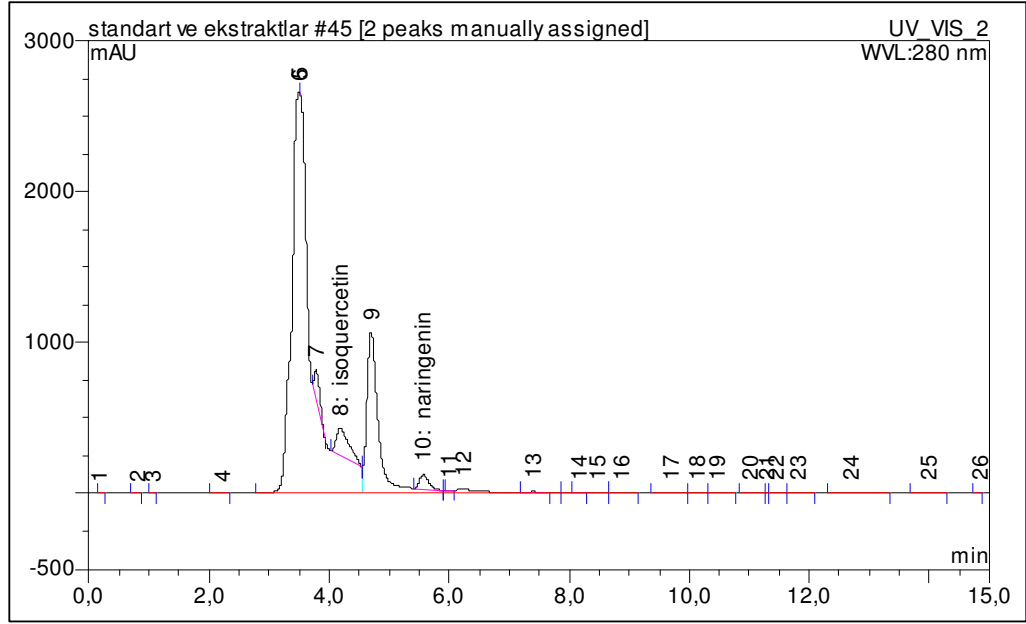
Şekil 3.125. *A. barbatiflora*'nın (2) HPLC kromatogramı



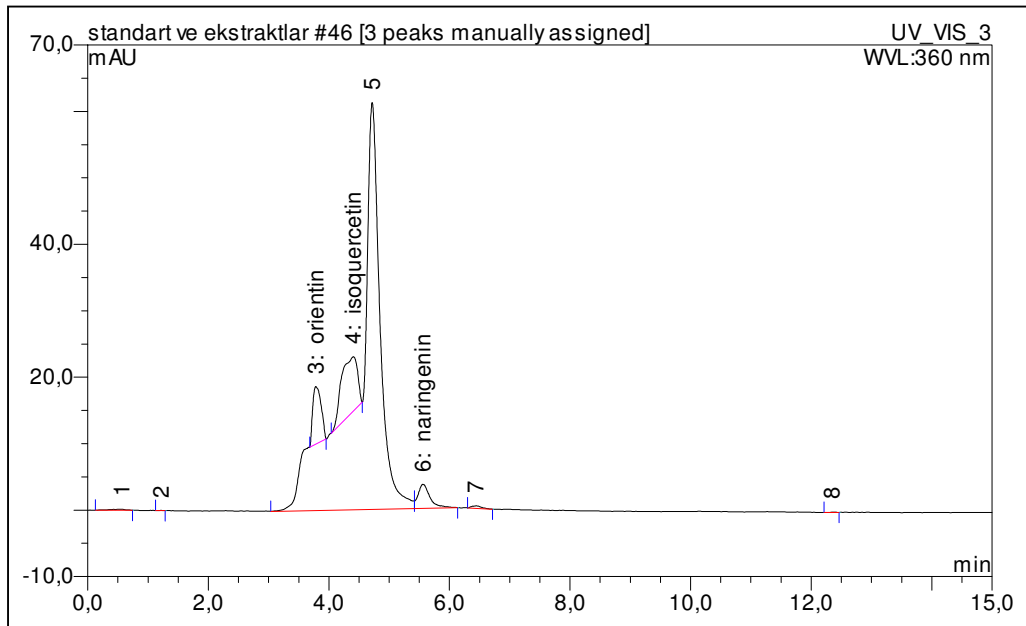
Şekil 3.126. *A. sericata*'nın HPLC kromatogramı



Şekil 3.127. *A. ovitensis*'in HPLC kromatogramı



Şekil 3.128. *A. holocyclus*'nin HPLC kromatogramı



Şekil 3.129. *Potentilla recta*'nin HPLC kromatogramı

#### 4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Yeryüzünde 1000'den fazla türle<sup>(3)</sup> temsil edilmekte olan *Alchemilla* cinsinin yurdumuzda 70'in üzerinde türü bulunmakta olup<sup>(49-54)</sup>, bu türlerin tamamı *Alchemilla* seksiyonuna aittir. Bu seksiyon 3 subseksiyon (*Chirophyllum* Rothm., *Heliodrosium* Rothm. ve *Calycanthum* Rothm.) ve 6 seriye (*Saxatiles* Bus., *Sericeae* Bus., *Pubescentes* Bus., *Vulgares* Bus., *Elatae* Rothm. ve *Calycinae* Bus.) ayrılmıştır.

*Alchemilla* cinsi türlerinin Türkiye Florasındaki tür teşhis anahtarında ilk karakter olarak yaprak lobları verilmiştir. Yaprakları tabana kadar yada tabana yakın bir yere kadar loblanan türler, bu özellikleriyle diğer tüm *Alchemilla* türlerinden ayrılmıştır. Bu türler teşhis anahtarında Grup A içerisinde verilmiştir. Grup A dışında kalan diğer dört grup temel olarak sepallerin hipantiyumdan uzun olup olmamasına göre ikiye ayrılmış olup, sepalleri hipantiyum kadar veya daha kısa olanlar Grup B içerisine konulmuştur. Sepalleri belirgin bir şekilde hipantiyumdan uzun türler de gövde ve petiyollerinin patent, erekto-patent (Grup C) yada tüysüz veya adpres veya subadpres tüylü (Grup D ve E) oluşuna göre iki gruba ayrılmıştır. Grup D ve E hipantiyumlarının hepsinin en azından kısmen tüylü (Grup D) ve hepsinin tüysüz (Grup E) oluşuna göre birbirinden ayrılmıştır.

Günümüze kadar *Alchemilla* türlerini birbirinden ayırmak için sadece morfolojik karakterler kullanılmıştır. Ancak türleri birbirinden ayırmak için kullanılan karakterlerin az sayıda olmasının yanı sıra, türlerin büyük bir kısmının tüy özelliklerine bağlı olarak birbirinden ayrılması, diğer bir ifadeyle zayıf taksonomik karakterlere bağlı olarak yeni türlerin bilim dünyasına tanıtılması herbaryumda bu cinse ait olan bitkilerin teşhisinde problemlerin yaşanmasına neden olmuştur. Bu

nedenle, *Alchemilla* cinsinin taksonomistler tarafından farklı biyosistemik metodlar kullanılarak araştırılması gereği ortaya çıkmıştır.

Baeva ve arkadaşları<sup>(76)</sup> RAPD markırlarla *Alchemilla* cinsinde yapmış oldukları moleküler çalışmada; bir türün popülasyonu içerisindeki genetik farklılığın bazen değişik türler arasındaki farklılıklardan daha fazla olduğunu ifade etmişlerdir.

Murbeck<sup>(56)</sup> ve Strasburger<sup>(57)</sup> *Alchemilla* cinsi içerisinde çok sayıda türün apomiktik olarak ürediğini belirtmişlerdir. *Alchemilla* cinsi türlerinin apomiktik olmaları onların poliploid olmalarından kaynaklanmaktadır. Kromozom sayıları türler arasında 64 ve 224 arasında değişebildiği gibi, aynı tür içerisinde bile fazla miktarda kromozom sayısında farklılık bulunmaktadır.<sup>(68,69,70,71,72,73,74,75)</sup>

*Alchemilla* cinsi ile ilgili flavonoid içerikli çalışmalara literatürde çok az rastlanmıştır. Bunlardan Lamaison ve ark.<sup>(159)</sup> yaptıkları çalışmada *A. xanthochlora*'dan ana flavonoid bileşiği olarak Quercetin 3-*O*-arabinopyranoside saflaştırmayı başarmışlardır. Elin ve ark.<sup>(160)</sup> İzlanda'dan üç farklı *Alchemilla* türü (*A. faeroensis*, *A. alpina* ve *A. ulgaris*) ile yaptıkları çalışmada, flavonoid bileşiklerini bulamadıklarını rapor etmişlerdir.

Bu çalışmada temel olarak *Alchemilla* cinsine ait 25 tür ve *Potentilla* cinsine ait bir türde bulunan flavonoid bileşiklerinin izolasyonu ve tayini yapılmış olup, bu bileşiklerin *Alchemilla* cinsine ait türlerde kemotaksonomik önemi incelenmiştir. Böyle kapsamlı kemotaksonomik bir çalışma bu cins için ilk defa yapılmıştır. Bu çalışmada yer alan türlerin hiçbirinde daha önceden flavonoid çalışması tespit edilememiştir. Ayrıca çalışılan türlerin büyük bir kısmı sadece ülkemiz için endemik türler olup, yurdumuz dışında yayılışa sahip değildir. Bu türlerin isimleri şu şekildedir: *A. ovitensis*, *A. armeniaca*, *A. erzincanensis*, *A. cimilensis*, *A. orduensis*, *A.*

*ikizdereensis*, *A. oriturcica*, *A. bursensis*, *A. hirsutiflora*, *A. holocycyla*, *A. ciminensis*, *A. buseriana*, *A. trabzonica*, *A. tiryalensis* ve *A. procerrima*.

Bu çalışma kapsamında incelenen *Alchemilla* cinsine ait türler Türkiye Florasındaki teşhis anahtarında bulunan gruplamaya göre aşağıda sunulmuştur.

**Grup A' ye ait türler:** *A. ovitensis*

**Grup B' ye ait türler:** *A. erythropoda* ve *A. sericata*

**Grup C' ye ait türler:** *A. hirtipedicellata*, *A. armeniaca*, *A. orthotricha*, *A. erzincanensis*, *A. cimilensis*, *A. mollis*, *A. orduensis*, *A. ikizdereensis*, *A. porrectidens*, *A. oriturcica*, *A. bursensis*, *A. persica*, *A. speciosa*, *A. hirsutiflora* ve *A. holocycyla*

**Grup D' ye ait türler:** *A. ciminensis*, *A. buseriana*, *A. trabzonica*, *A. tiryalensis*, *A. stricta* ve *A. barbatiflora*

**Grup E' ye ait türler:** *A. procerrima*

Bu çalışmada temel olarak iki farklı yöntemle (İTK ve HPLC) kimyasal sonuçlar elde edilmiştir. Çalışılan türlerde rutin (quercetin-3-rutinoside), orientin (luteolin-8-C-glucoside), vitexin (apigenin-8-C-glucoside), hyperoside (quercetin-3-O-galactoside), isoquercetin (quercetin-3-glucoside), quercitrin (quercetin-3-O-rhamnoside) ile teşhis edilemeyen *R<sub>f</sub>* değerlerinin 0,36, 0,54 ve 0,68 olduğu flavonoidler gözlenmiştir (Çizelge 3.1). Adı geçen türlerde tespit edilen bu flavonoidler ilk defa bu çalışma ile bilim dünyasına tanıtılmış olmaktadır.

Bu çalışmada, İTK plaklarından elde edilen flavonoid bileşikleri MacClade 4.03 bilgisayar programına veri olarak yüklendi. *Alchemilla* cinsine ait türler



arasındaki flavonoid varyasyonu ve akrabalık ilişkilerini belirleyebilmek için bir kladistik analiz programı olan PAUP 4.0b.10 kullanıldı.

Yapılan kladistik analizde, maksimum parsimoni kriter olarak alınmıştır. Bu analize göre, 28 parsimoni ağaç topolojisi oluşmuş olup bunlardan 26'si korunmuştur. Oluşan konsensus ağaç, 28 basamaklık (step) bir uzunluğa sahiptir (Şekil 4.1 ve 4.2). Yapılan çalışmada yirmibeş (25) *Alchemilla* ve bir (1) *Potentilla* türüne ait 26 taksonun her birine ait 11 karakterden 2 karakter sabit, 9 karakter değişken ve parsimoni açısından bilgi verici (informatif) dir. *Potentilla recta* dış grup statüsünde çalışmaya dahil edilmiştir. Bütün veri seti ve ağaç topolojisi arasındaki ilişkiyi değerlendirmek için en parsimonik ağaç oluşturulduktan sonra oluşan ağaçların doğruluk indeksi (consistency index, CI) program tarafından hesaplandı. Heuristic search analizi sonucu elde edilen ağaçların tutarlılık indeksi (CI): 0.3214 olarak ve homoplazi indeksi (HI): 0.6786 olarak hesaplanmıştır.

Heuristic search sonucu elde edilen 26 adet ağaç Majority Rule ve Adams konsensus ağaçları seçeneğiyle birleştirilmiştir (Şekil 4.1 ve 4.2) Majority rule ve Adams Konsensus ağaçları taksonların buldukları dallar ve oluşturdukları gruplar açısından birbirlerine çok fazla benzerlik göstermektedir.

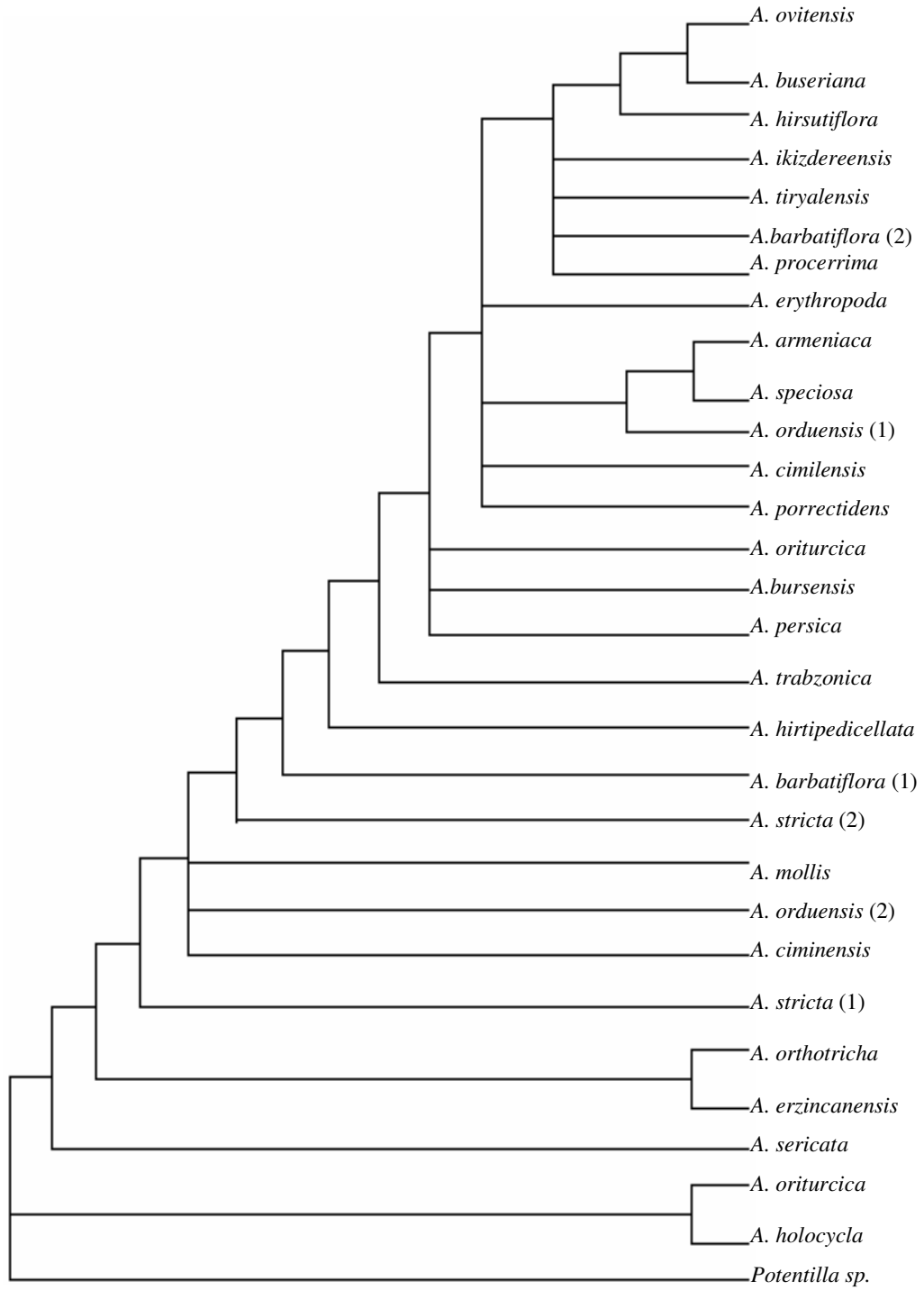
Kladistik analizi mantığına göre elde edilen ağaçlar incelendiğinde *A. ovitensis* en fazla gelişmiş yapıya sahip takson olarak karşımıza çıkmaktadır. Majority rule ve Adams consensus ağaçlarında (Şekil 4.1 ve 4.2) ortak olarak bulunan gruplar şu şekildedir: *A. ovitensis*, *A. buseriana* ve *A. hirsutiflora* türleri birinci grubu, *A. armeniaca* ve *A. speciosa* ikinci grubu, *A. ovitensis*, *A. buseriana*, *A. hirsutiflora*, *A. ikizdereensis*, *A. tiryalensis*, *A. barbatiflora* (2), *A. procerrima*, *A. erythropoda*, *A. armeniaca*, *A. speciosa*, *A. orduensis* (1), *A. cimilensis*, *A. porrectidens*, *A. oriturcica*,

*A. bursensis*, *A. persica*, *A. trabzonica*, *A. hirtipedicellata*, *A. barbatiflora* (1), *A. stricta* (1), *A. mollis*, *A. orduensis* (2), *A. ciminensis* ve *A. stricta* (2) üçüncü grubu, *A. orthotricha* ve *A. erzincanensis* dördüncü grubu, *A. sericata* beşinci grubu ve *A. oriturcica* ile *A. holocycla* altıncı ortak grubu oluşturmaktadır. *Potentilla recta* dış grup statüsünde oluşan ağacın en tabanında yer almıştır.

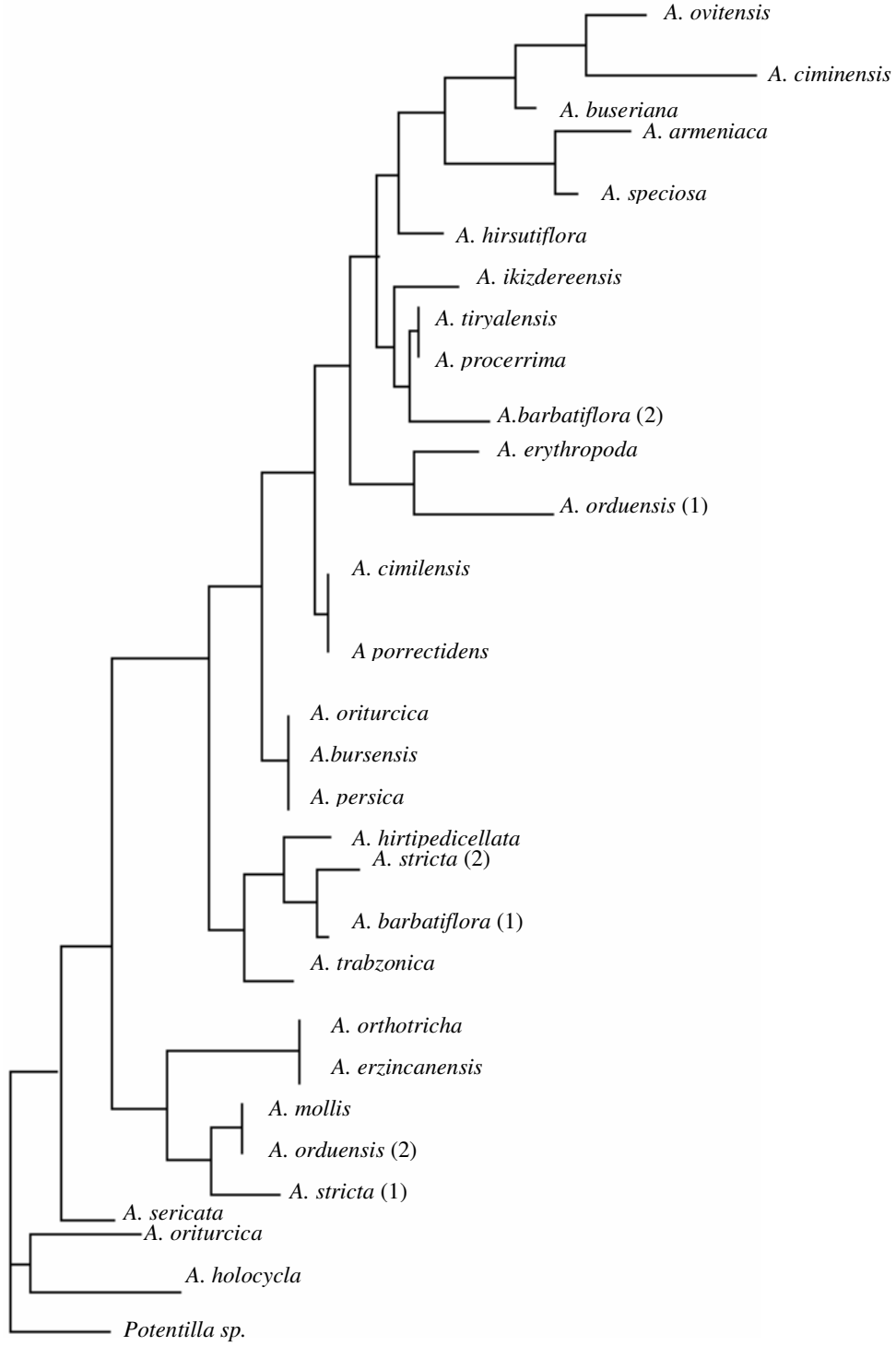
Maksimum parsimoni konsensus ağaçları ile komşu bağlantı (neighbour joining) analizleri de büyük benzerlikler göstermektedir (Şekil 4.1, 4.2 ve 4.3). Ancak bu analizler kimyasal karakterlerin günümüze kadar morfolojik karakterlere dayalı olarak gerçekleştirilmiş olan cinsin sınıflandırmasıyla ne tür seviyesinde ne de cins seviyesinde uyumlu olduğunu göstermiştir. Ayrıca kimyasal karakterlere dayalı olarak gerçekleştirilen analizler cinsin ne grup, ne seri ne de altseksiyon temelinde ayrımını, yani morfolojiye dayalı cinsiçi sınıflandırılmasını desteklemiştir. Bununla birlikte yapılan bu çalışma Baeva ve arkadaşları<sup>(76)</sup> RAPD markırlarla *Alchemilla* cinsinde yapmış oldukları moleküler çalışmada elde edilen sonuçlarla, kromozom sayısı üzerine yapılan çalışmaların<sup>(68,69,70,71,72,73,74,75)</sup> sonuçlarına büyük benzerlik göstermiştir. Örneğin tür içi varyasyonun ikişer örnekle çalışıldığı *A. barbatiflora*, *A. orduensis* ve *A. stricta* türlerinde tür içi varyasyonun türler arasındaki varyasyondan daha fazla olduğu ortaya çıkmıştır. Şekil 4.1-4.3’de görülen maksimum parsimoni ve komşu bağlantı analizlerinde de bu durum açık bir şekilde görülmektedir.

*Potentilla* cinsinden elde edilen flavonoidlerin *Alchemilla* cinsiyle benzerlik gösterdiği görülmüştür. Bu durum bu iki cinsin morfolojik karakterlerin yanısıra kimyasal karakterler açısından da birbirlerine yakın cinsler olduğunu göstermiştir.





**Şekil 4.2.** 25 *Alchemilla* ve bir *Potentilla* türünden elde edilmiş olan flavonoid glikozitlerine dayalı olarak yapılmış masimum parsimoni analizinden ortaya çıkmış 28 basamaklı 26 ağacın Adams konsensus ağacı (CI=0.3214; HI=0.6786 (informatif ve informatif olmayan karakterler dahil)).



**Şekil 4.3.** 25 *Alchemilla* ve bir *Potentilla* türünden elde edilmiş olan flavonoid glikozitlerine dayalı olarak yapılmış komşu bağlantı (neighbour joining) analizi ağacı.

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar kısaca şu şekilde özetlenebilir:

- Çalışma kapsamında iki farklı metot kullanılmış. Bu metotlar türlerdeki flavonoid bileşikleri açısından birbirlerini büyük ölçüde doğrulamıştır.
- Çoğunluğu Türkiye’de endemik olarak bulunan *Alchemilla* L. cinsine ait 25 türün flavonoid glikozitleri ilk bu çalışmayla ortaya çıkarılmıştır.
- Elde edilen sonuçlar açısından Rosaceae familyasına ait olan bu cinsin flavonoid bileşikleri genellikle quercetin ve türevi bileşikler ile *O*-glikozit formundaki şekerleri kapsayan flavonoid glikozitleri olduğu tespit edilmiştir.
- Türkiye florasında yer alan *Alchemilla* ve *Potentilla* cinslerine ait türlerde rutin (quercetin-3-rutinoside), orientin (luteolin-8-C-glucoside), vitexin (apigenin-8-C-glucoside), hyperoside (quercetin-3-O-galactoside), isoquercetin (quercetin-3-glucoside), quercitrin (quercetin-3-O-rhamnoside) ile teşhis edilemeyen *R<sub>f</sub>* değerlerinin 0,36, 0,54 ve 0,68 olduğu flavonoidler tespit edilmiştir.
- Yapılan değerlendirmede elde edilen flavonoid bileşiklerinin türler arasında ciddi anlamda farklılık göstermediği, bazı durumlarda tür içi varyasyonun türler arasındaki varyasyondan daha fazla olduğu tespit edilmiştir.
- Kimyasal karakterlere dayalı olarak gerçekleştirilen analizler cinsin ne grup, ne seri ne de altseksiyon temelinde ayrımını, yani morfolojiye dayalı cins içi sınıflandırılmasını desteklemiştir.
- *Potentilla* cinsinden elde edilen flavonoidlerin *Alchemilla* cinsiyle benzerlik gösterdiği görülmüştür. Bu durum bu iki cinsin morfolojik karakterlerin

yanısıra kimyasal karakterler açısından da birbirlerine yakın cinsler olduğunu göstermiştir.

## 5. KAYNAKLAR

1. P. H. Davis ve I. C. Hedge, *Candollea*, **30**, 331(1975).
2. İ. Atalay, Türkiye Vejetasyon Coğrafyası, Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova-İzmir, 1994.
3. V. H. Heywood, *Flowering plants of the World*, Oxford University Pres., Oxford, London, Melbourne, 1978.
4. R. Izmailow, *Acta. Biol. Cracov. Ser. Bot.*, **23**, 117-130(1981).
5. W. Rothmaler, *Feddes Repert*, **42**. 146-173(1937).
6. S. Hayırhoğlu-Ayaz, Doğu Karadeniz Bölgesinde Yayılış Gösteren *Alchemilla* L. Türlerinin Morfolojik ve Sitotaksonomik Yönden İncelenmesi, Doktora Tezi, KTÜ, Trabzon, 1999.
7. E. Strasburger, *F. Wiss. Bot.*, **41**, 88-164(1905).
8. S. Murbeck, *Parthenogenetische Embryobuildung in der Gattung Alchemilla*, Lunds Univ. Arsskr., Lund, 1901.
9. K. A. Wegener, *Biol. Zentralbl.*, **86**, 771-792(1967).
10. R. Izmailow, *Acta. Biol. Cracov. Ser. Bot.*, **23** 117-130(1981).
11. S. Ryzszak ve A. Szent-Georgy, *Nature*, **27**.,138(1936).
12. G. V. Bilaloğlu ve M. Harmandar, *Flavonoidler*, Aktif Yayınevi, İstanbul, 1999.
13. J. B. Harborne, T. J. Mabry ve H. Mabry, *Flavonoids*, Chapman and Hall, London, 1975.
14. J. B. Harborne ve T. J. Mabry, *The Flavonoids*, Chapman ve Hall, London., 1982.
15. D. A. Smith ve S. W. Banks, *Plant flavonoids in biology and medicine: Biochemical, pharmacological and structure-activity relationships*, Alan R. Liss, New York, 1986.



16. J. L. Firmin, K. E. Wilson, L. Rossen ve A.W. B. Jhonston, *Nature*, **90**, 324(1986).
17. N. K. Peters, J.W. Frost ve Long, S.R., *Science*, **233**, 978(1986).
18. S. A. J. Zaat, C. A. Wijfehman, H. P. Spaink, A. A. N. Van Brussel, R. J. H. Okker ve B. J. J. Lugtenberg, *J. Bacteriol.*, **169**, 198-204(1987).
19. A. F. Ruş ve A. A. Kulikov, *İnstuta Vet.*, **23**, 32(1971).
20. E. Jeney ve J. Uri, *Die Pharmazie*, **9**, 553(1954).
21. E. F. Şamray, *Ukr. Biox. J.*, **42**, 265(1970).
22. W. Bors ve M. Saran, *Free Radical. Res. Commun.*, **2**, 131(1987).
23. R. A. Larson, *Phytochem.*, **27**, 969(1988).
24. M. A. Moroney, M. J. Alcanaz, R. A. Forder, F. Carey ve J. R. F. Hoult, *Pharm. Pharmacol.* **40**,787(1988).
25. M. Vlaskovska, J. A. Johnson, M. N. Gould ve M. Tanner, *Cancer Res.* **48**, 5754(1998).
26. D. E. Pratt ve B. J. F. Hudson, *Food Antioxidants*, Elsevier, London, 1990.
27. H. Wagner, *Pluntu Med.*, **55**, 235(1989).
28. H. Wagner, G. Elbl, H. Lotter ve M. Guinea, *Pharm. Pharmacol.*, **1**,15(1991).
29. H. Hikino ve Y. Kiso, *Economic and Medicinal Plant Research*, Academic Press, London, 1988.
30. R. Kato, T. Nakadate, S. Yamamoto ve T. Sugimura, *Carcinogenesis.*, **4**, 1301(1983).
31. M. T. Huang, A. W. Wood, H. L. Newmark, J. M. Sayer, H. Yagi, D. M. Jerina, A. H. Conney, *Carcinogenesis*, **4**,1631(1983).
32. A. K. Verma, J. A. Johnson, M. N. Goluld, M. Tanner, *Cancer Res.*, **48**, 5754(1988).

33. E. E. Deschner, J. Ruperto, G. Wong, H. L. Newmark, *Carcinogenesis* **7**, 1193(1991).
34. J. B. Harborne, *Chemistry in Botanical Classification. Proceedings of the Twenty-Fifth Nobel Symposium*, Academic Press, Sweden, New York ve London, 1973.
35. C.F. Van Sumere, L. De Cooman, E. Everaert, D. De Keukeleire ve K. Vande Castele, *Polyphenolic Phenomena*, INRA, Paris, 1993.
36. B. L. Turner, *Taxon* **18(2)**, 134-151(1969).
37. W. B. Zomlefer, *Guide to Flowering Plant Families*, University of North Carolina press, North Carolina, 1994.
38. Ö. Seçmen, Y. Gemici, G. Görk, L. Bekat ve E. Leblebici, *Tohumlu Bitkiler Sistematığı*, Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova-İzmir, 2000.
39. B. Pawlowski ve S.M. Walters, *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, Edinburgh Univ. Press, Edinburgh, 1972.
40. I. Hughes, *The Pharmageddon Herbal*, New Zealand, 2005.
41. S. Fröhner, *Flora Iberica. Plantas Vasculares de la Peninsula Iberica e Isles Balears*, Consejo superior de investigaciones científicas, Madrid, 1995.
42. W. Rothmaler, *Feddes Repert.*, **42**, 146-173(1937).
43. W. Rothmaler, *Feddes Repert.*, **50**, 245-255(1941).
44. S.M. Walters ve B. Pawlowski, *Flora Europaea*, Cambridge Univ. Pres. Cambridge, 1968.
45. S. Fröhner, *Flora Iranica*, Akad Druck-u Verlangsat, Graz, 1969.
46. C.C. Townsend ve E. Guest, *Flora of Iraq*, Ministry of Agriculture, Republic of Iraq, Baghdad, 1966.

47. S. W. Juzepczuk, Flora of the SSSR, Izd. Akad. Nauk. SSSR., Moskva-Leningrad, 1971.
48. A. A. Grossheim, Flora Kavkaza, Izdatelctvo, Akademi Nauk SSSR, Moskva-Leningrad, 1952.
49. P. H. Davis, R. R. Mill ve K. Tan, Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Edinburgh Univ. Press, Edinburgh, 1988.
50. H. Kalheber, Sendtnera, **2**, 389-430(1994).
51. S. Hayırlıoğlu ve O. Beyazoğlu, Turk J. Bot., **21**, 309-312. 1997.
52. Y. Menemen ve E. Hamzaoglu, Annal. Botan. Fennici, **39**, 231–234(2002).
53. Y. Menemen ve E., Hamzaoglu Nord. J. Bot., **22 (3)**, 325-328(2002).
54. S. Hayırlıoğlu ve H. Kalheber, Sendtnera, 59-76(2002).
55. A. Lundh-Almestrand, Bot. Not., **3**,587-607(1958).
56. S. Murbeck, Parthenogenetische Embryobildung in der Gattung *Alchemilla*, Lunds Univ. Arsskr., Lund, 1901.
57. E. Strasburger, Jahr. F. Wiss. Bot., **41**, 88-164(1905).
58. Z. M. Rubtsova, Evolyutsionnoe znachenie apomiksisa (Evolutinary significanca of apomixis). Nauka, Leningrad, 1989
59. A.M., Koltunov, The Plant Cell **5**, 1425-1437(1994).
60. K.P., Glazunova, Otd. Biol., **82**, 129-139(1977).
61. K.P., Glazunova, Biol. Nauki, **7**,9-83(1983).
62. K.P. Glazunova, Otd. Biol., **92**, 96-109(1987).
63. R. Izmailow, Acta Biol. Cracov., Ser. Bot., **23**, 117-130(1981).
64. R. Izmailow, Acta Biol. Cracov., Ser. Bot., **24**, 127-141(1982).
65. R. Izmailow, Acta Biol. Cracov., Ser. Bot., **28**, 39-63(1986).
66. R. Izmailow, Pol. Bot. Stud., **8**,61-67(1994).

67. R. Izmailow, Acta Biol. Cracov., Ser. Bot., **36**, 61-67(1994).
68. G. Turesson, Bot. Not., **110**, 413-422(1957).
69. A. Löve ve D. Löve, Op. Bot., **5**,1-581(1961).
70. S. Hayırlıoğlu-Ayaz ve O. Beyazoğlu, Wildenowia, **27**, 191-194(1997).
71. S. Hayırlıoğlu-Ayaz ve O. Beyazoğlu, Caryologica, **50**,77-84(1997).
72. S. Hayırlıoğlu-Ayaz ve Beyazoğlu, O., Turkish Journal of Botany, **21**:385-389(1997).
73. S. Hayırlıoğlu-Ayaz ve O. Beyazoğlu, Nordic Journal of Botany, **21(4)**, 419-425(2001).
74. M. E. Bradshaw, Watsonia, **5**, 304-326(1963).
75. K.A. Wegener, Biol. Zentralbl., **86**, 771-792(1967).
76. V. Baeva, V. K. Bobrova, A. V. Troitskii ve A. S. Antonov, Farmatsiya,1997.
77. W. Rothmaler, Feddes Repert., **38**, 33-43(1935).
78. W. Rothmaler, Svensk Bot. Tidskr., **38**, 102-112(1944).
79. S.V. Yuzepchuk, Flora SSSR, Izd. Akad. Nauk SSSR, Moskva-Leningrad, 1941.
80. R. Buser, Bot. Ges., **4**, 41-80(1894).
81. S. Fröhner, Illustrierte Flora von itteleuropa, Aufl. Blackwell Wiss.–Verl., Berlin-Wien, 1995.
82. G. Turesson, Bot. Not., 413-427(1943).
83. G. Turesson, Bot. Not., **109**,400-404(1956).
84. A. Löve, Feddes Repert. **63**,136-148(1960).
85. A. Plocek, Preslia, **53**,5-53(1982).
86. B. Şener ve G. Toker, Mar. Üniv.Ecz. Der., **2(2)**169-183(1986).
87. E. Grotewold, Annu. Rev. Plant Biol., **57**, 761–78(2006).
88. B. Winkel-Shirley, Curr. Opin. Plant Biol., **5**, 218–223(2002).

89. L. Lepiniec, *Annu. Rev. Plant Biol.*, **57**, 405–430(2006).
90. R. A. Dixon, *New Phytol.*, **165**, 9–28 (2005).
91. B. S. J. Winkel-Shirley, *The Science of Flavonoids*, Springer, New York, 2006.
92. J. M. Routaboul , I. Kerhoas Debeaujon , L. Pourcel , M. Caboche , J. Einhorn , L. Lepiniec, *Planta*, **224(1)**, 96–107(2006).
93. K.E. Schwinn ve K.M. Davies, *Plant Pigmentsand their Manipulation*, Wiley-Blackwell, USA, 2004.
94. M. A. Marles, H. Ray ve M. Y. Gruber, *Phytochem.* **64**, 367–383(2003).
95. D. Treutter, *Environ. Chem. Lett.* **4**, 147–150(2006).
96. C. Santos-Buelga ve A. J. Scalbert, *Sci. Food Agric.*, **80**, 1094–1117(2000).
97. R.J. Williams, J.P. Spencer ve C. Rice-Evans, *Free Radic. Biol. Med.*, **36**, 838–849(2004).
98. L.P. Taylor ve E. Grotewold, *Curr. Opin. Plant Biol.*, **8**,317-323(2005).
99. J. B. Harborne, C.A. Williams, *Phytochem.* **55**,481-504(2000).
100. C. Tournaire, S. Croux, M.-T. Maurette, I. Beck, M. Hocquaux, A.M. Braun, E. Oliveros, *J. Photochem. Photobiol. B Biol.*, **19**, 205-215(1993).
101. N. P. Das, T. A. Pereira, *J. Am. Oil Chem. Soc.* **67**, 255-258(1990).
102. E. N., Frankel, J. Kanner, J. B. German, E. Parks, J. E. Kinsella, *The Lancet* **341**, 454-456(1993).
103. R. J. Grayer, J. B. Harborne, *Phytochem.* **37**, 19-42(1994).
104. J. B. Harborne, *Biochem. Syst. Ecol.* **27**, 335-368(1999).
105. P. C. Stevenson, M. P. Haware, *Biochem. Syst. Ecol.* **27**, 761-767(1999).
106. S. S. Martin, C. E. Townsend, A. W. Lenscen, *Biochem. Syst. Ecol.* **22**, 657-661(1994).

107. P. R Jensen, K. M. Jenkins, D. Porter, W. Fenical, *Appl. Environ. Microbiol.*, **64**, 1490-496(1998).
108. A. K. Picman, E. F. Schneider, J. Pieman, *Biochem. Syst. Ecol.*, **23**, 683-693(1995).
109. B. Malhotra, J. C. Onyilagha, B. A.Bohm, G. H. N. Towers, D. James, J. B. Harborne, C. J. French, *Phytochem.*, **43**, 1271-1276(1996).
110. L. P. Taylor ve E. Grotewold, *Curr. Opin. Plant Biol.*, **8**,317-323(2005).
111. M. Aslan, Şeker Hastalığına Karşı Halk İlacı Olarak Kullanılan Bitkiler Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar, Gazi Üniversitesi Doktora Tezi, Ankara, 2000.
112. E. Sezik, M. Aslan, E. Yesilada ve S. Ito *Life Sciences*, **76**,1223-1238(2005).
- 113 D. Deliorman Orhan, M. Aslan, G. Aktay, E. Ergun. E. Yesilada ve F. Ergun *Life Sciences*, **72**, 2273-2283(2003).
114. D. Vauzour, K. Vafeiadou, A. Rodriguez-Mateos, C. Rendeiro, J. P. Spencer, , *Genes Nutr.*, **3**, 115(2008).
115. J. B. Harborne ve H. Baxter, *Handbook of Natural Flavonoids*, Wiley, Chichester, 1999.
116. J. B. Harborne ve C. A. Williams, *Phytochem.*, **55**, 481-504(2000).
117. R. A. Dixon ve C. L. Steele, *Trends Plant Sci.*, **4**, 394-400(1999).
118. B. Winkel-Shirley, *Plant Physiol.*, **127**, 1399-1404(2001).
119. K. Springob, J. Nakajima, M. Yamazaki ve K. Saito, *Nat. Prod. Rep.*, **20**, 288-303(2003).
120. T. Reynolds, *Phytochem.*, **68**, 2887–2895(2007).
121. R. D. Gibbs, *Trans. Roy. Soc. of Canada*, **39**, 71–103(1945).
122. R. D. Gibbs, *Chemical Plant Taxonomy*. Academic Press, London ve New York, 41–88, 1963.

123. R. D. Gibbs, *Chemotaxonomy of flowering plants*, McGill-Queen's University Press, Montreal ve London, 1974.
124. M. Greshoff, *Bulletin of Miscellaneous Information*, **10**, 397–418(1909).
125. L. Fowden, *Biol. Rev.* **33**, 393–441(1958).
126. V.H. Heywood, *Chemistry in Botanical Classification*, Academic Press, New York, 1973.
127. V.H. Heywood, *Comparative Phytochemistry*, Academic Press, London ve NewYork, 1966.
128. V. Puri, *Phytochemistry and Plant Taxonomy*, CBS Publishers and Distributors Pvt. Ltd., Delhi, 1990.
129. B. Johri, B.M., *Introduction Flowering Plants –Taxonomy and Phylogeny*, Springer Verlag Narosa Publishing House, New Delhi, 1998.
130. R. Hegnauer, *Giorn. Bot. Ital.* **120**, 15–26(1986).
131. R. E., Alston ve B. L. Turner, *Biochem. Syst.* Prentice-Hall Inc., Englewood Cliffs, New Jersey, 1963.
132. E. C. Bate-Smith, *J. Linn. Soc. (Botany)* **58**, 325–355(1962).
133. R. Consden, A. H. Gordon ve A. S. P. Martin, *Biochem. J.*, **38**, 224(1944).
134. J. W. H. Lugg ve B. T. Overell, *Nature*, **160**, 87(1947).
135. Bate-Smith, E.C., *Nature*, **161**, 835(1948).
136. R. E. Alston, T. J. Mabry ve B. L. Turner, *Science*, **142**, 545(1963).
137. J. W. McClure ve R. E. Alston, *Nature*, **201**, 311(1964).
138. M. J. D. Van Dam, G. J. Kleuver ve J. G. Deheus, *J. Chromatogr.*, **4**, 26, (1960).
139. P. R. Bhandari, *J. Chromatogr.*, **16**, 130(1964).
140. J. Onyilagha, A Bala, R. Hallett, M. Gruber, J. Soroka ve N. Westcott, *Biochem. Syst. Ecol.*, **31**, 1309(2003).

- 141 K. W. Hillig, *Biochem. Syst. Ecol.*, **32**, 875, (2004).
142. Z. Fűfzai, Z. F. Katona, E. Kovacs ve I. Molnar-Perl, *J. Agric. Food. Chem.*, **52**, 7444(2004).
143. C. Zidorn, *Thin Layer Chromatography in Phytochemistry*, CRC press Taylor and Francis Group, 2008.
144. P. M. Dewick, *Medicinal Natural Products*, Wiley, Chichester, 2002.
145. G. Bernardello, L., Galetto ve A. Forcone, *Biochem. Syst. Ecol.*, **27**, 779 (1999).
146. J. B. Harborne, *Phytochemical methods*, Chapman ve Hall press, London, Weinheim, New York, Tokyo, Melbourne, Madras, 1984.
147. Raymond P.W. Scott *Techniques and practice of chromatography* (chromatographic science series), Marcel Dekker Inc., USA, 1995.
148. Wink, M., *Phytochem.*, **64**, 3(2003).
149. S., Grass, C., Zidorn, H., Stuppner ve F.R. Blattner, *Phytochem.*, **67**, 122(2006).
150. J. B., Harborne, *J. Chromatogr.*, **2**,581(1959).
151. M. Adams, M. Wiedenmann, G. Tittel ve R. Bauer, *Phytochem. Anal.*, **17**, 279(2006).
152. H., Wagner ve S Bladt, *Plant Drug Analysis*, Springer-Verlag, Berlin, 1996.
153. *Homöopathisches Arzneibuch*, Deutscher Apotheker Verlag, Stuttgart /Govi-Verlag, Frankfurt, 1991.
154. *La Pharmacopée Française, Édition*, Assocoation pour la Recherche Appliqué à la Pharmacopée, Paris, 1989.
155. *Deutsches Arzneibuch 10*, Deutscher Apotheker Verlag, Stuttgart, 1991.
156. *The United States Pharmacopoeia, XXIII Revision*, United States Pharmacopoeial Convention, Rockville, Maryland, 1995.
157. M. Ganzera ve H. Stuppner, *Curr. Pharm. Anal.*, **1**, 135(2005).



158. Z. Mingbo, I. Yoichiro ve T. Pengfei, *J. Chromatogr. A*, **1090**, 193–196(2005).

## ÖZGEÇMİŞ

1975 yılında Ankara'da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Ankara'da tamamladı. 1994 yılında girdiği Ankara Üniversitesi Fen-Fakültesi Biyoloji Bölümünden 1998 yılında mezun oldu. 1999-2002 yılları arasında Kırıkkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisansını tamamladı. 2002-2009 yılları arasında da Kırıkkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalında Doktora öğrenimini tamamladı.

Halen Kırıkkale Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesinde Biyoloji Bölümünde Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktadır.