

278897

T. C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Helichrysum pamphylicum Davis-Kupicha
ÜZERİNDE FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR

DOKTORA TEZİ
FARMAKOGNOZİ PROGRAMI

Eczacı
Zeliha Şükran AKDEMİR

ANKARA — 1985

T. C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***Helichrysum pamphylicum* Davis-Kupicha**
ÜZERİNDE FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR

DOKTORA TEZİ
FARMAKOGNOZİ PROGRAMI

Eczacı
Zeliha Şükran AKDEMİR

Rehber Öğretim Üyesi
Doç. Dr. Ekrem Sezik

ANKARA — 1985



Helichrysum pamphylicum Davis-Kupicha

İ Ç İ N D E K İ L E R

	<u>Sayfa No.</u>
GİRİŞ ve AMAÇ	1
TEORİK BİLGİLER.....	2
BOTANİK BÖLÜM	3
<u>Compositae</u> Familyası.....	3
<u>Helichrysum</u> Cinsi.....	3
Tanım.....	3
İsmlendirme.....	5
<u>Helichrysum pamphylicum</u> Davis-Kupicha.....	6
Tanım.....	6
Habitat.....	7
Yayıllış	9
KİMYASAL BÖLÜM.....	12
Genel	12
Teşhis Reaksiyonları	12
Kromatografik Teşhis Yöntemleri.....	14
Elde Ediliş	14
İzolasyon	20
Kolon Kromatografisi	21
Silikajel	21
Poliyamid	23
Sefadeks	23
Selüloz	25
Yapı Tayini	25
Genel	26

UV Spektrofotometrisi	27
Flavon ve Flavonoller	29
İsoflavon, Flavanon ve Dihidroflavonoller.....	36
Kalkon ve Avronlar	40
<u>Helichrysum</u> Türleri Üzerinde Yapılan Çalışmalar.....	43
<u>H. arenarium</u> Üzerinde Yapılan Çalışmalar.....	44
<u>H. armenium</u> Üzerinde Yapılan Çalışmalar.....	45
<u>H. graveolens</u> Üzerinde Yapılan Çalışmalar.....	46
<u>H. italicum</u> Üzerinde Yapılan Çalışmalar.....	47
<u>H. noe anum</u> Üzerinde Yapılan Çalışmalar	48
<u>H. orientale</u> Üzerinde Yapılan Çalışmalar.....	49
<u>H. pallasii</u> Üzerinde Yapılan Çalışmalar.....	50
<u>H. plicatum</u> Üzerinde Yapılan Çalışmalar.....	51
<u>H. sanguineum</u> Üzerinde Yapılan Çalışmalar.....	52
<u>H. stoechas</u> Üzerinde Yapılan Çalışmalar	53
Farmakolojik Etkileri ve Kullanılışı	54
<hr/>	
DENEYSEL KISIM	
MATERYAL.....	56
YÖNTEM.....	56
Ekstraksiyon	59
Eterli Ekstre Üzerindeki Çalışmalar	62
Teşhis	62
Kolon Kromatografisi	62
Ön Temizleme	62
F1 Maddesinin Ayırımı	63
F2 Maddesinin Ayırımı	65

Yapı Tayini	66
F1 Maddesi	66
F2 Maddesi	66
Etil Asetatlı Ekstre Üzerindeki Çalışmalar	70
Teşhis	70
Kolon Kromatografisi	70
Ön Temizleme	70
F3 Maddesinin Ayırımı	71
F3 Maddesinin Yapı Tayini	73
BULGULAR	74
Eterli Ekstre	75
İzolasyon	75
F1 Maddesi	76
F2 Maddesi	79
Etil Asetatlı Ekstre	87
İzolasyon	87
F3 Maddesi	88
SONUÇ ve TARTIŞMA.....	91
ÖZET	94
SUMMARY	97
LİTERATÜR	99
EKLER	110

G İ R İ Ő v e A M A Ç

Türkiye'de 16 Helichrysum türü bulunmaktadır (18,20,88). Bu türlerden dokuzu endemiktir. Endemik türlerden H.arenarium (7,10,44,45,75,76,94,96,97) ve H. noeanum'un (5,10) flavonoitleri üzerinde araştırmalar bulunmaktadır. H.peshmanicum yeni isimlendirilmiş bir endemik türdür (20). H.chasmolicum, compactum, heywoodianum, chionophilum, artvinense ve pamphylicum üzerinde ise herhangi bir araştırma bulunmamaktadır. H.pamphylicum ve chionophilum dışında kalan endemik türler son derece dar alanlarda yetişmektedir (18). Hattâ bazı araştırmacılar tarafından tekrar toplanamamıştır (83). Helichrysum pamphylicum'un farklı taksonomik özelliklere (renk ve çiçek durumu vb.) sahip ve dolayısıyla kimyasal bakımdan değişik sonuçlara götürebilecek bir endemik tür olması bizi bu konuda araştırma yapmaya sevketti.

H.pamphylicum kapitulumlarının taşıdığı ana flavonoitlerin izolasyonu ve yapılarının tayini araştırmamızın ana gayesini meydana getirmiştir.

Bu çalışmam sırasında araştırmalarımın her safhasında her türlü bilgi ve yardımlarından dolayı değerli hocam Doç. Dr. Ekrem Sezik'e teşekkürü bir borç bilirim. Çalışmalarım sırasında gösterdikleri yardım ve anlayışlarından dolayı başta eşim olmak üzere çalışma arkadaşlarıma teşekkür ederim.

TEORİK BİLGİLER

TEORİK BİLGİLER

Araştırmamızın teorik bilgileri Botanik ve Kimyasal olmak üzere iki kısımda derlenmiştir.

Botanik kısımda Helichrysum pamphylicum Davis-Kupicha bitkisinin Türkiye'deki yayılışı, botanik özellikleri, bitkinin ait olduğu cins ve familyaya ait özellikler verilmiştir.

Kimyasal kısımda ise flavonoidlerle ilgili genel bilgilerin yanında çalışmalarımızda kullanılan yöntemlerle ilgili bilgiler verilmiş; Helichrysum türleri üzerinde yapılan araştırmalarda ise sadece Türkiye'de yetişenlere ait olan bilgiler, izole edilen maddeler bakımından, değerlendirilmiştir.

Kimyasal kısmın sonuna Helichrysum türlerinin kullanılış ve etkileri ile ilgili bir bölüm de ilâve edilmiştir.

B O T A N İ K B Ö L Ü M

COMPOSITAE FAMILYASI

Bu familyada tek, iki ve çok yıllık; otsu veya bazan çalı tipinde bitkiler bulunur. Yapraklar alternan veya karşılıklı; tam kenarlı, loplu veya değişik şekillerde parçalanmış olabilir.

Çiçek durumu kapitulumdur. Kapitulumun tabanında braktelerden yapılmış bir involukrum bulunur. Çiçekler hermafrodit veya tek eşeyli; aktinomorf veya zigomorfdur. Kaliks genellikle papus bazan bir halka veya pul şeklini almıştır, nâdiren bulunmaz. Korolla 5 birleşik petalli, tüp veya dil şeklindedir. Stamenler 5, filamentler serbest, anterler birleşmiştir. Ovaryum alt durumlu, 2 karpelli, bir ovüllüdür.

Meyva papuslu veya kaliks artığı taşıyan veya taşımayan bir akendir.

Bine yakın cins ve 20.000 kadar türü ile çiçekli bitkilerin en zengin familyasıdır. Memleketimizde 130 cins ve 1130 türü yetişmektedir (18).

HELICHRYSUM CİNSİ

Tanım

Bitki çok yıllıktır. Otsu veya yarı çalı şeklinde olabilir. Bitki

yünsü, keçemsi veya glandular tüylerle kaplı olabilir. Rizom kısa, odunsu, ince uzun kökler taşır. Bazı türlerde steril sürgünler ve taban yaprakları bulunur.

Yapraklar basit, tam, lineardan oblanceolata kadar veya spatulat şekillerde ve alternan dizilişindedir. Çiçek durumu korimbustur. Kapitulum 3-12 mm uzunlukta; diskoid, disk, küre, ters piramid veya silindir biçimindedir. İnvolutrum brakteleri çok sıralı, düzenli veya düzensiz imbrikat dizilmiştir. Brakteler beyaz, saman sarısı, portakal, kayısı veya kırmızı renklerde, zarımsı ve kalıcıdır. Reseptakulum düz ve çıplaktır. Çiçekler genellikle sarı hepsi hermafrodittir veya kenarda bir sıra dişi çiçek bulunur. Papus sarımsı veya kirli beyaz renkte; dik, pürüzlü ve yumuşaktır. Korolla tüp şeklinde, 5 parçalı yüzeyi glandulardır. Akenler silindir şeklinde ve az çok glandulardır (83,88).

Helichrysum cinsinin yeryüzünde beş yüzden fazla türü vardır. Flora of Turkey'de, Türkiye'de 16 türe ait 11 alt türün bulunduğu kaydedilmiştir (18). G.Sezik, H.italicum'un Türkiye'de yetiştiğinin kesinlik kazanmadığını belirterek 15 tür bulunduğunu göstermiş, ayrıca isimlendirilmemiş iki yeni alt tür ile alt tür sayısını onüç çıkarmıştır. Daha sonra yapılan bir çalışma ile yeni bir tür bulunmuş, böylece tür sayısı onaltıya ulaşmıştır (20). Bu çalışmaların sonuçlarına (18,20,83) göre Türkiye'de bulunduğu kesin olan türler şunlardır : H.sanguineum, pamphylicum, stoechas ssp. barrelieri, orientale, chasmolicum, compactum, heywoodianum, noeanum, pallasii, chionophilum, graveolens, plicatum ssp. plicatum, plicatum ssp. polyphyllum, plicatum ssp. pseudoplicatum, armenium ssp. armenium, armenium ssp. araxinum, arenarium ssp. rubicundum, arenarium ssp. aucheri, arenarium ssp. erzincanicum, artvinense, peshmanicum.

H. italicum'un ise bulunup bulunmadığı tartışmalıdır (83). Bu türlerden endemik olanlar şunlardır : H.pamphylicum, chasmolicum, compactum, heywoodianum, noeanum, chionophilum, arenarium'un 2 alt türü (ssp. aucheri ve erzincanium), artvinense, pehmanicum. H.plicatum'un G.Sezik tarafından bulunan 2 yeni alt türü ise henüz isimlendirilmemiştir.

İsimlendirme

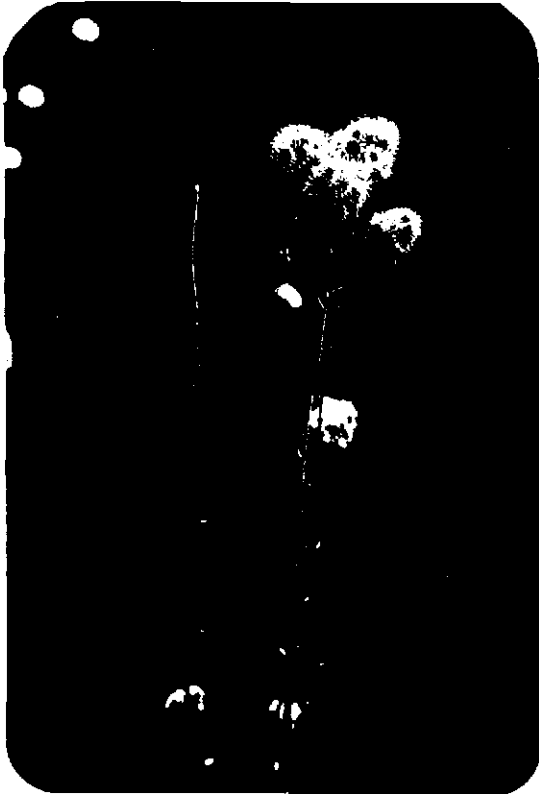
Helichrysum türleri Türkiye'de Kudama çiçeği, daz çiçeği, sevgül (83), altın çiçeği, altın otu, arı çiçeği, güve otu, Haşışeyi layemut, herdemtaze, kovan otu, mantuvar çiçeği, sarı çiçek, yayla çiçeği, yılan çiçeği (3) gibi isimlerle bilinmektedir. Yabancı ülkelerde ise Stromblume, Immortelle, Strombloem (Hollanda); Evighedablomst (Danimarka); Sun-gold, Everlasting (İngiltere); Immortelle, Eternelle (Fransa); Solfini, Fignamica, Elicriso (İtalya); Neven, Molec Smill (Çekoslovakya); Slamjanka(Yugoslavya); Koçanki (Polonya); Cmin (Rusya) (3,98) şeklinde isimlendirilmektedirler.

HELICHRYSUM PAMPHYLICUM DAVIS KUPICHA

(*H. niveum* Boiss et Heldr.)

Tanım

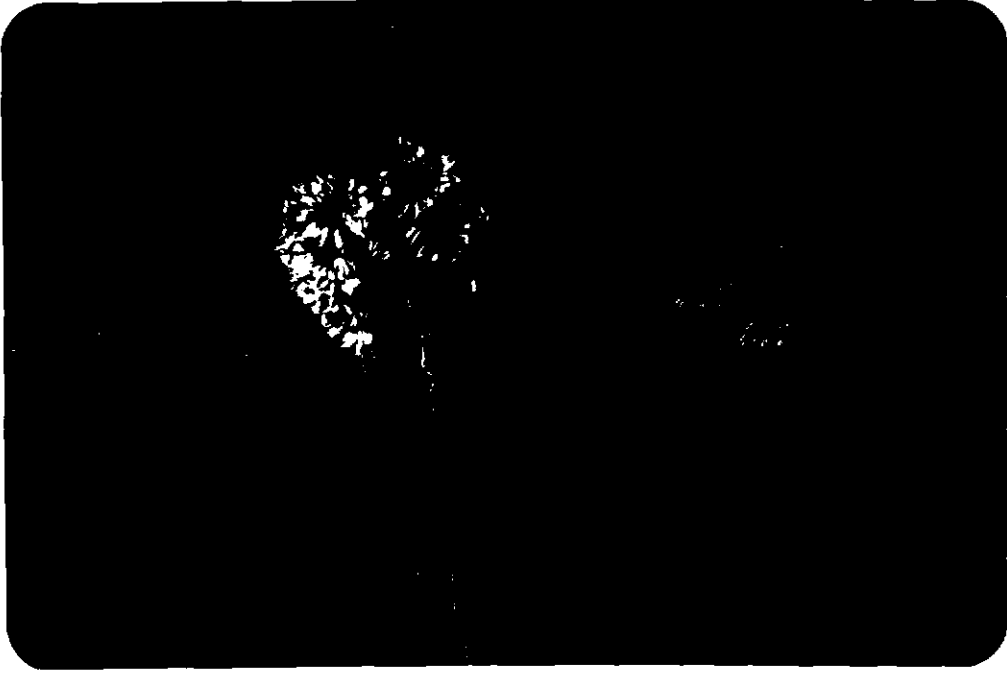
Bitki çok yıllık, otsu ve tomentosdur. Bitki, 15-60 cm, genellikle 30-45 cm boydadır. Rizom kalın, odunsu, 4-7 cm uzunluğunda, 0,5-1 cm çapında; kökler ise 2-3 cm boyunda, 0,5-1 mm çapındadır. Gövde dik ve dallanmamıştır. Steril sürgünler bulunmaz. Taban yaprakları linear-spatulat, 2-3 cm uzunluğunda ve 2-3 mm genişliğindedir. Gövde yaprakları dar, linear-oblanseolat,



Şekil - 1

H. pamphylicum'un Genel Görünüşü

tepesi akuttur. Bitkinin üst kısımlarına doğru yapraklar küçülür. Korimbus globos, sık, 2-2,5 cm. çapındadır, 15-45 kapitulum taşır. Gövdeden çıkan kapitulumların sapı 2,5-3 mm uzunluğundadır. Kapitulum 15-20 çiçekli, şekli ovoid ve 5-6 mm çapındadır. İnvolutrum 4-5 sıra halinde imbrikat dizilmiş 30-35 kadar, donuk, kar beyazı renkte, konkav brakte taşır. En dıştaki brakteler obtus, şeffaf zarımsı, 1 mm genişliğinde, 1,5 mm boyunda ve tabanı tomentosdur. Ortadaki brakteler ise dıştakilerin 3 katı uzunlukta, 1,5 mm genişlikte, obtus, spatulat, uçları yarık, tabanı çıplaktır. En içteki involutrum tabakası ise, 0,7-1 mm genişliğinde ve 4,5-5 mm uzunluğunda, tepesi akut,



Şekil - 2

H. pamphylicum'un Çiçek Durumu

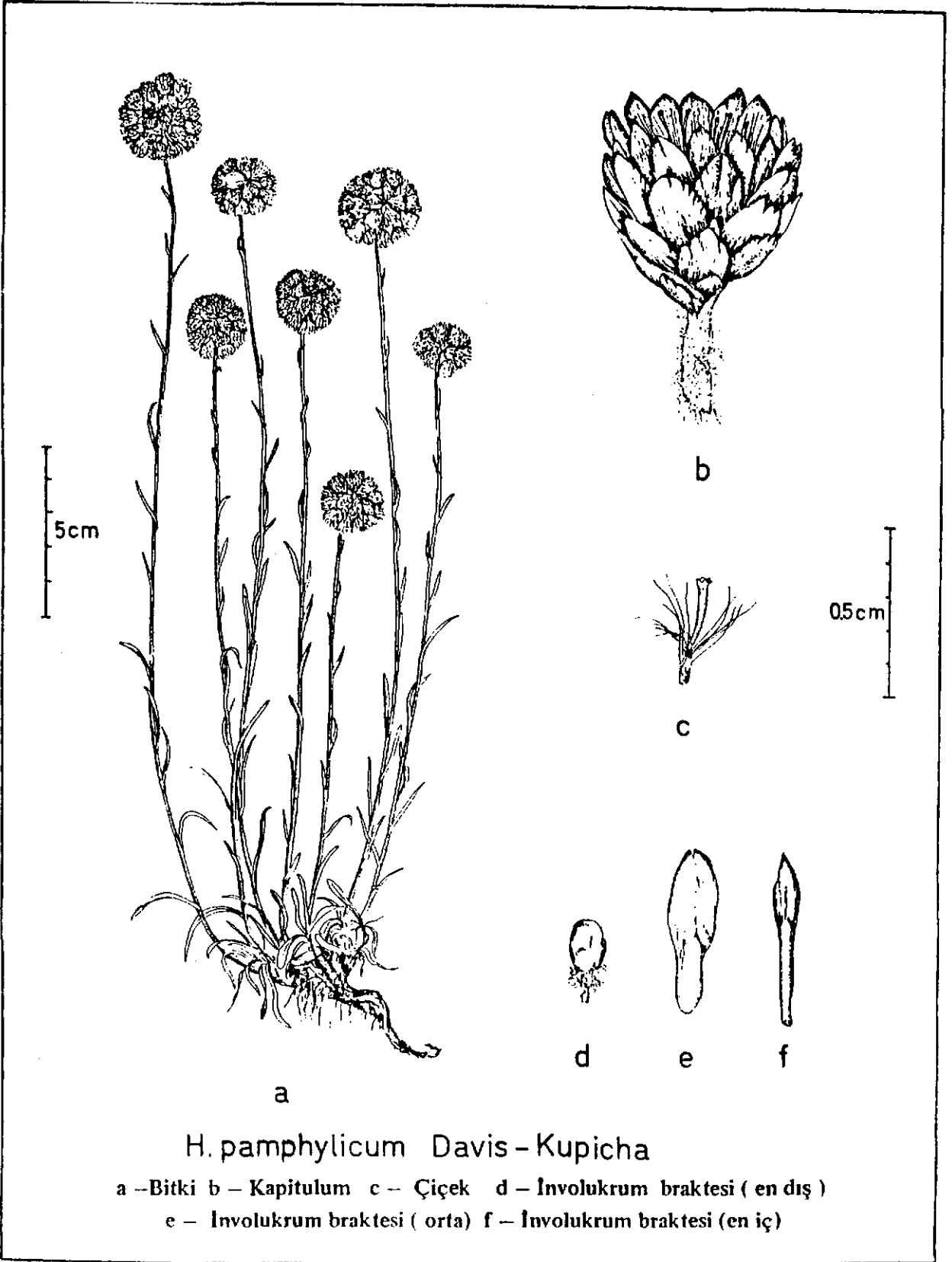
linear-spatulat, attenuat ve tabanı çıplak braktelerden meydana gelmiştir.

Çiçekler 3-4 mm uzunluktadır. Papus 3-3,5 mm boyunda ve düzdür. Korolla yukarıya doğru genişleyen bir tüp şeklinde, üst kısmı alt kısmının 2 katı genişlikte, lopları triangular ve 0,15 mm uzunluğundadır. Dışta dişi çiçekler bulunur (Şekil - 1,2,3)

Bitki Mayıs-Ağustos aylarında çiçek açar (18,83,88).

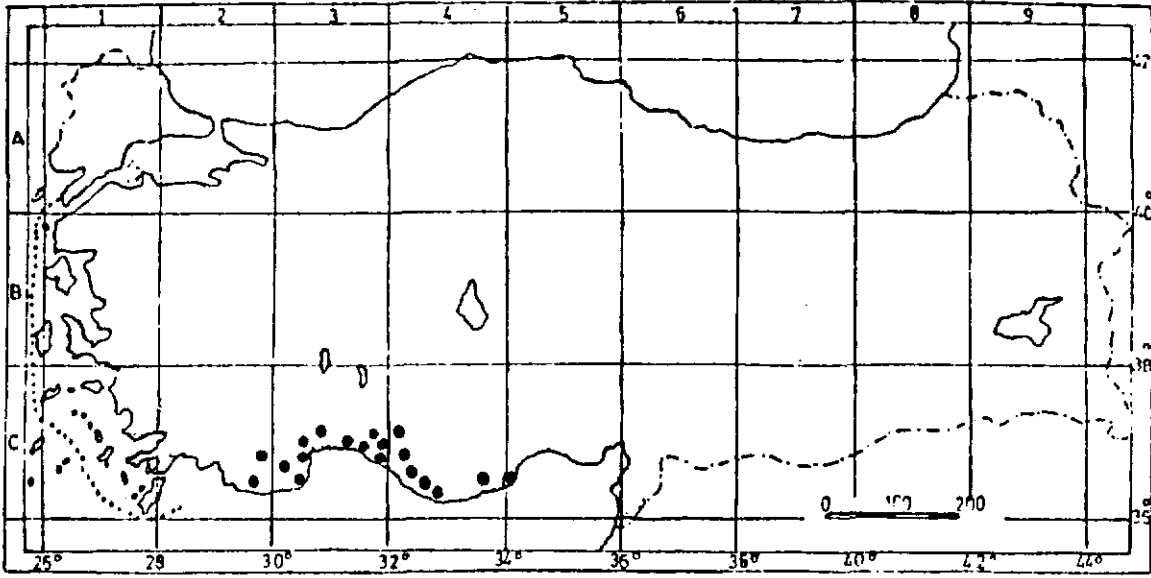
Habitat

Pinus brutia ormanları, kireçli kayalar arasında yetişir. 900-1000 metreye kadar rastlanır. Endemik bir türdür.



Şekil - 3

H. pamphylicum (83)



Şekil - 4

H. pamphylicum'un Yayılışı

Yayılış *

Typus : (Türkiye C3 Antalya) Tauri Pamhylici. Adalya (Antalya), Marla (Akseki), çıplak yamaçlarda, c.910 m VII. 1845, Heldreich.(18).

C2 ANTALYA : Düzlerçamı, F.Demirdöğen (ISTE 2598 !), Tahtalı dağı, Kesme boğazı ile Kuzdere köyü arasında, 15.8.1947, D. (ANK 14075 !), Karmanoğlu, Davis (AE 15147 !), Antalya'nın 13 km batısında, 20 m Sorger, 65-33-14 (18), Kaş, Demre vadisi, 26.7.1960, Khan ve arkadaşları (ANK 196 !) (18).

C3 ANTALYA : Kemer, Faselis koyu ve çevresi 0-150 m, 23.6.1978, H.Peşmen, B.Yıldız, Ş.Kaplan (HUB 4031 !), Kemer-Kesme boğazı, derin kalker vadisi, P.brutia, Cupressus ormanları, 150-300 m, 11.8.1978, H.Peşmen, Ş.Kap-

* Herbarium incelemelerimiz ve topladığımız örnekler de bu kısımda verilmiştir. (!) işareti herbarium örneğinin tarafımızdan incelendiğini ifade etmektedir.

lan (HUB 4726 !), Kemer-Kesme boğazı, derin kalker vadisi, P.brutia, Cupressus sempervirens ormanı, 150-300 m, 11.8.1979, H.Peşmen, Ş.Kaplan (HUB 4733!), Çubuk boğazı, maki formasyonu, 300-400 m, 23.6.1978, H.Peşmen, A.Güner, B.Yıldız, Ş.Yıldırım, O.Güneş (HUB 4001 !), Çakırlar, Akdamar köyü üstleri, Fesleğen yaylası yolu, 200 m, 5.8.1980, N.Özhatay, E.Tuzlacı, B.Çubukçu, A.Meriçli (ISTE 5663 !), Manavgat-Gündoğmuş, Taşkesiği köyü, 10. km'de köy yolu kavşağına varmadan, 4.7.1981, Z.Akdemir (HUEF 1706 !), Manavgat-Taşağıl'a giderken yol kenarlarındaki yamaçlar, 12.7.1983, Z.Akdemir (HUEF 1752 !), Akseki, 6.6.1970, A.Pamukçuoğlu-Quezel, Akseki-Manavgat arası yol ayırımından 10 km Taşkesiği, 250 m, 7.10.1975, T.Baytop (ISTE 33897 !), Akseki-Manavgat arası Taşkesiği köyü yakını, 180 m, 5.8.1980, E.Tuzlacı, B.Çubukcu, A.Meriçli (ISTE 45687 !), Gündoğmuş-Güzelbağ arası, Kemer köprüsüne gelmeden P.brutia orman altı, 4.7.1981, E.Sezik, (HUEF 1704 !) Gündoğmuş-Güzelbağ arası yol kenarları, 5.7.1981, Z.Akdemir, (HUEF 1707 !), Alanya'ya 24 km İncekum, orman işletmesi kampı, 1.7.1982, G.Çakıcılar, A.Öztekin (ISTE 49092 !), Alanya, Güzelbahçe-Gündoğmuş yolu Kemer köprüsünü geçtikten sonraki tepeler, çam orman altı, 1500 m, 21.7.1971, G.Sezik, E.Sezik (AE 5207 !), Alanya-Deretürbenaz yaylası yolu, Alanya'dan 12 km sonra kayalık çam ormanı altı, 5.7.1981, E.Sezik (HUEF 1705 !).

C4 ANTALYA : Alanya, Gündoğmuş-Kemer köprüsü arası, Kemer köprüsüne 7 km kala yol kenarı, 1500 m, 18.7.1973, E.Yeşilada, N.Ezer (HUEF 424 !), Güzelbağ-Gündoğmuş arası, 520 m, 5.8.1980, E.Tuzlacı, B.Çubukcu, A.Meriçli (ISTE 45676 !), Gündoğmuş-Güzelbahçe, Kemer köprüsünü geçtikten sonraki tepeler, 21.7.1981, E.Sezik, G.Sezik, (HUEF 180 !), Alanya - Gazipaşa arası, Alanya'dan 32 km deniz kıyısındaki yamaçlar, 20 m, 6.8.1980, E.Tuzlacı, A. Meriçli (ISTE 45690 !), Alanya-Gazipaşa arası, 35 km, 9.8.1965, N. ve M.

Tanker, E.Sezik (ISTE 8279 !), İÇEL : Mersin, Anamur, P.brutia orman altı, 14.6.1976, Y.Akman, Quezel (ANK 7385 !), Anamur-Silifke arası Silifke'ye 94 km, deniz kıyısındaki yamaçlar, 130 m, 6.8.1980, E.Tuzlacı, A.Meriçli, (ISTE 45696 !), Mersin-Silifke arası Hub. Mor., 1050 Anamur, Kükür, D. (ANK 16340 !), Limonlu 50 m, 23.5.1972, T.Uslu (ANK 102 !) (18).

Helichrysum pamphylicum Davis-Kupicha bitkisinin yayılışına ait bilgiler Şekil - 4'deki haritada gösterilmiştir.

K İ M Y A S A L B Ö L Ü M

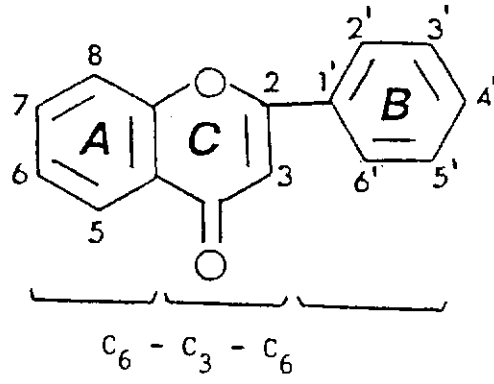
GENEL

Flavonoitler hemen hemen bütün bitkilerde yaygın olarak rastlanan polifenolik yapıda bileşiklerdir. Bu maddeler, iki fenil halkasının üç karbonlu bir zincirle bağlanması sonucu meydana gelen, fenil propanoit (Difenilpropan) yapısındadırlar.

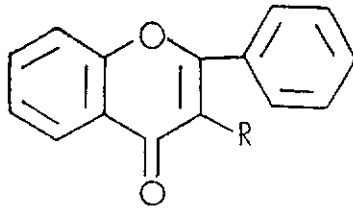
(C) halkasının bulunup bulunmaması; bu halkanın çifte bağ taşıyıp taşınamaması; (B) halkasına bağlanış yeri, hidroksil grubu taşıyıp taşınamaması gibi durumlara bağlı olarak değişik yapıdaki flavonoitler meydana gelmektedir (Tablo -1).

TEŞHİS REAKSİYONLARI

Bir materyalde flavonoitlerin varlığı, klasik renk reaksiyonlarından yararlanılarak tesbit edilir. Bu amaçla, Shinoda (Siyanidin), Asahina, PEW reaksiyonlarının yanında flavonoitlerin derişik sülfürik asit, alkaliler ve zirkonyum oksiklorür ile verdiği renklere dayanan reaksiyonlar yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (24,27,84).

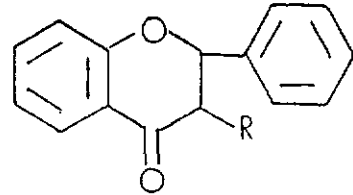


Difenilpropan



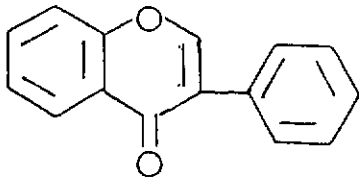
R = H Flavon

R = OH Flavonol

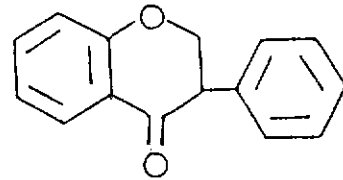


R = H Flavanon

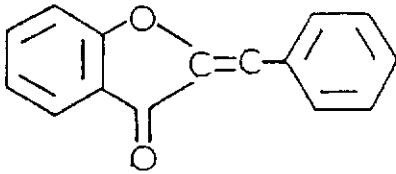
R = OH Flavanonol
(Dihidroflavonol)



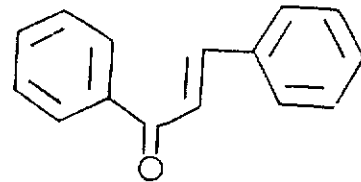
Izoflavon



Izoflavanon



Avron



Kalkon

Tablo - 1

Flavonoitlerin Ana Yapısı

KROMATOGRAFIK TEŞHİS YÖNTEMLERİ

Flavonoitlerin teşhisinde kağıt ve ince tabaka kromatografileri genellikle birbirlerinin bulgularını doğrulayıcı olarak kullanılmaktadır. Flavonoitler değişik yapıda maddeler oldukları için kromatografik davranışları da birbirlerinden çok farklıdır; bu yüzden flavonoitlerin teşhisinde kullanılan çok sayıda solvan sistemi bulunmaktadır. İnce tabaka kromatografisinde adsorban olarak, silikajel, poliyamit ve selüloz; kağıt kromatografisinde ise Whatman 1,3 M, 3 MM kağıtları kullanılmıştır. Değişik yapıdaki flavonoitlerin ayırımında kullanılan solvan sistemleri, kullanılan adsorban esas alınarak tablolar haline getirilmiştir (Tablo-2,3,4,5). Kromatografik ayırım sonucu elde edilen lekeler önce gün ve ultraviyole ışık altında herhangi bir revelatör püskürtmeden incelenir. Daha sonra amonyak, sodyum karbonat, alüminyum klorür, ferri klorür, bazik kurşun asetat, sülfürik asit, benzin, difenilborik asidin etanolamin kompleksi (NA, NEU) gibi revelatörlerle muamele edilir, meydana gelen renkler incelenir. Bu şekilde bir karışımda veya bitki ekstraktlarında bulunan flavonoitlerin hangi gruptan olduğu hakkında değerli sonuçlar elde edilebilir (17,38,40,61,65,100).

Son yıllardaki çalışmalarda NA (Naturstoffe A)'nın flavonoitlerin teşhisinde amonyak gibi önemli bir revelatör olduğu tesbit edilmiştir (38, 61,64,65,100). Bu reaktifle elde edilen renklerin değerlendirilmesi bize flavonoitin tipi ve substitusyonları hakkında da bilgiler vermektedir (Tablo-6).

ELDE EDİLİŞ

Flavonoitlerin elde edilmesinde genellikle benzer yöntemler kullanılmıştır. Bu maksatla toz edilmiş materyal önce ekstre edilir. Flavonoit taşı-

ADSORBAN Solvan Sistemi	Kullanıldığı Flavonoit Tipi	Lit.
SİLİKAJEL G		
Benzen:metanol:n-butil asetat (20:4:1)	MFn ve Fl	38
Benzen:asetik asit (45:4)	Fnn Ag	39
Benzen:piridin:formik asit (36:9:5)	Ag	38,39,51
Benzen:piridin:amonyak (80:20:1) (80:20:1 dam)	Fn ve Fl	38,39
Benzen:dioksan:asetik asit (90:25:4)	Fn ve Fl	38,80
Benzen: etil asetat:formik asit(9:7:4)(45:25:20)	Av ve Ka	38,85
Benzen:asetik asit (100:4)	Fnn Het	39
Benzen:asetik asit:su (125:72:3)	Fnn	38
Benzen:aseton (9:1)(8:2)(49:1)	MFn ve Fl	38,85
Toluen:kloroform:aseton (8:5:7)	Fn ve Fl	38,85
Toluen:etil asetat:metanol (8:6:1)(4:2:2)	Ag	23,86
Kloroform:metanol (15:1)	MFn ve Fl	38,51
Kloroform:metanol (96:4)	Ag	38
Kloroform:asetik asit (9:1)(100:4)	C-metil Fn	37,38,39
Kloroform:asetik asit:metanol (90:5:5)	Fnn Het	39
Kloroform:metanol (92:8)(3:1)(1:1)	IFn	38
Kloroform:metanol:asetik asit (7:1:1)	DFl	38
Kloroform:etil asetat:aseton(5:1:4)	Fn (O) ve (C) Het	39
Kloroform:metanol:su (65:25:4)(65:45:12)	Fn (O) ve (C) Het	39,63
Etil asetat:piridin:su:metanol (80:12:10:5)	(C) Het	38
Etil asetat:butanon:formik asit:su(5:3:1:1)	Het	38,51, 82,85
Etil asetat:metanol:su(100:16,5:13,5)	Ag ve Het	63
n-butanol:2 N hidroklorik asit (1:1, üst faz)	Fn ve Fl	28,38

Tablo - 2

Flavonoitlerin İnce Tabaka Kromatografisi

Ag: Aglikon, Av: Avron, DFl: Dihidroflavonol, Fl: Flavonol, Fn: Flavon, Fnn: Flavanon, Het: Heterozit, IFn: İzoflavon, MFn: Metoksiflavon, Ka: Kalkon, dam: Damla.

ADSORBAN Solvan Sistemi	Kullanıldığı Flavonoit tipi	Lit
POLİYAMİT		
Benzen:butanon:amonyak (4:4:2)	Ag	19
Benzen:butanon:metanol (3:1:1)	Fn ve Fl	38
Benzen:petrol eteri:butanon:metanol (60:27:7:7)(40:50:5:5)	Fn ve Fl	37,43,85
Benzen: 2- butanon: metanol (4:3:3)(6:1:3)	Ag	39,43
Benzen:petrol eteri: 2- butanon: metanol (60:26:7:7)	Ag	39,43
Toluen:metanol: 2- butanon (40:30:20:10)	Ag ve Het	100
Toluen:dioksan:metanol (8:1:1)	Het	100
Kloroform:metanol:butanon (60:26:14)(9:4:2)(12:2:1)	Ag	37,51,85
Kloroform:metanol:aseton: dimetilformamid (4:4:2:1)	Av	38
Etil asetat: 2- butanon: formik asit:su (5:3:1:1)	Fl Ag	81,82
Aseton:su (1:1)	Het	19,51
Etanol:asetik asit (50:1)	Het	38,51
Etanol:su (3:2)	Het	38
Metanol:su:asetik asit (90:5:5)	Het	39,51
Metanol:su (3:7)(4:1)	Fn ve Fl	38,51
Metanol:butanon (6:4)	Fl Ag	85
İ-propanol:su (3:2)	Het	38,51
Su:butanol:aseton:asetik asit (16:2:2:1)	Het	39
Su:etanol:asetilaseton (4:2:1)	Ka	38
Asetik asit:su:d.hidroklorik asit (30:10:3)	Ag	77
Butanon:toluen:asetik asit:metanol:su (80:10:2:5:6)	Het	38
Nitrometan:metanol (3:4)	Fl	39

Tablo - 3

Flavonoitlerin İnce Tabaka Kromatografisi

Ag: Aglikon, Av: Avron, Fl: Flavonol, Fn: Flavon, Het: Heterozit, Ka: Kalkon.

ADSORBAN Solvan Sistemi	Kullanıldığı Flavonoit Tipi	Lit
SELÜLOZ		
Benzen:etil asetat:formik asit:su(9:21:6:5)	Fnn Het	38,51
Benzen:propiyonik asit:su (20:45:15)	F	17
Benzen:asetik asit:su (125:72:3)	Fn Ag	39
Kloroform:asetik asit:su (10:9:1)	Fn Ag	38,39
Kloroform:amonyak:su (50:45:5)	Ag	99
n-Butanol:asetik asit:su (6:1:2)	Fnn	38
n-Butanol:2N hidroklorik asit (1:1)	Fn ve Fl Het	28,38
Butanol:asetik asit:su (4:1:5)	Fn ve Fl Ag	38,39
Butanol:asetik asit:su (30:35:15)	Fn ve Fl Ag	99
İzopropanol:amonyak:su (8:1:1)	Fn ve Fl Het	38
n-Propanol:asetik asit:su (1:1:1)	Av ve Ka	38
Formik asit:su (2:98)	F	17,38
Asetik asit:su (5:95)	(C) Het	1
Etil asetat:formik asit:su (8:2:3)	(C) Het	28,38
Aseton:su:izopropanol (1:4:5)	Av ve Ka	37

Tablo - 4

Flavonoitlerin İnce Tabaka Kromatografisi

Ag: Aglikon, Av: Avron, F: Flavonoit, Fl: Flavonol, Fn: Flavon, Fnn: Flavanon
Het: Heterozit, Ka: Kalkon.

KAĞIT Solvan Sistemi	Kullanıldığı Flavonoit tipi	Lit
WHATMAN 1,3M,3MM		
Benzen:asetik asit:su (125:72:3)	Ag	38
Benzen:piridin:su (100:1:100)	Fn ve Fl	24
Kloroform:asetik asit:su (13:6:1)	Ag	38
Kloroform:etanol:su (8:2:1)	Fnnl	24
Kloroform:i-butanol:su (2:4:4)	Fn	22
Butanol:piridin:su (30:20:15)	Ag ve Het	39
Butanol:etanol:su (5:1:4)(4:1:2,2)	Ag ve Het	27,39
n-Butanol:asetik asit:su (4:1:5)(6:1:2)	Ag ve Het	24,47, 56,85,86
Butanol (Suyla doyurulmuş)	Ag ve Het	38
t-Butanol:asetik asit:su (3:1:1)	Ag ve Het	38,39,51
Asetik asit:su (% 2-15-30-60)	Ag ve Het	22,23,24, 37,38
Asetik asit:d.hidroklorik asit:su (Forestal) (30:3:10)	Fn ve Fl	23,24,37
Fenol:su (4:1)(3:1)	Ag	37,38
Fenol (suyla doyurulmuş)	Ag ve Het	22,39
m-Krezol:asetik asit:su (50:2:48)	Ag ve Het	23,24,80
İzopropanol:su (1:3)	IFn	24
Su	Fn ve Fl	24
Etil asetat:piridin:su (2:1:2)	F	39
Etil asetat:formik asit:su (10:2:3)	Fl Het	24
Etanol:asetik asit :su (40:13:30)	Fn	24

Tablo - 5

Flavonoitlerin Kağıt Kromatografisi

Ag: Aglikon, F: Flavonoit, Fl: Flavonol, Fn: Flavon, Fnnl: Flavanonol,

Het: Heterozit, IFn: İzoflavon.

UV	NH ₃ /UV	NA/UV	FLAVONOİT TİPİ
K.M.	K.M.	K.M.	5-OH açık, 3-OH yok veya kapalı, 3', 4'-OH yok veya kapalı.
K.M.	K.M.	B.	5-OH açık, 3-OH yok veya kapalı, 4'-OH kapalı, 3'-OH açık.
K.M.	S.	S.	5-OH açık, 3-OH yok veya kapalı, 4'-OH açık, 3'-OH yok veya kapalı.
K.M.	S.	T.	5-OH açık, 3-OH yok veya kapalı, 3', 4'-OH açık.
K.M.	K.Kv.	Kv.	5,6-OH açık, 3-OH yok veya kapalı, 3' veya 4'-OH açık.
S.	S.	S.	Serbest 3 ve 5-OH var.
S.	S.	T.-Kr.	3,5-OH açık, 3', 4'-OH var.
P.Mv.F.	P.Mv-Y.F. Mv.		5-OH yok veya kapalı, 3-OH yok veya kapalı.
P.Mv.F.	P.Mv-Y.F. Mv-Y.		5-OH yok veya kapalı, 3-OH yok veya kapalı, 3', 4'-OH var.
P.S.F.	D.P.S.F. Mv.		5-OH yok veya kapalı, 3', 4'-OH var.
P.S.F.	D.P.S.F. Mv-Y.		5-OH yok veya kapalı, 3', 4'-OH var.

Tablo - 6

Flavonoitlerin Değişik Reaktiflerle Verdiği Renkler

(D.) Daha, (F.) Floresans, (K.) Koyu, (Kr.) Kırmızı, (Kv.) Kahverengi, (M.)Mor, (Mv.) Mavi, (P.) Parlak, (S.) Sarı, (T.) Turuncu, (Y.) Yeşil.

yan materyal maserasyon veya devamlı ekstraksiyon yöntemleri ile ekstre edilebilir. Ekstraksiyonda nonpolar solvandan başlanıp en polar olana kademe kademe geçilerek ön ayırımlarının yapılması sağlanabilir. Meselâ : Önce materyal petrol eteri ile daha sonra etanolle ekstre edilir, etanol ekstraktı sırasıyla kloroform, eter, etil asetat, n-butanol ile ekstre edilir, veya materyal önce etanolle masere edilir, sonra etanollü ekstre hekzan, etil asetat, n-butanol ile ekstre edilir. Görüldüğü gibi nonpolardan polara geçiş genellikle materyalin bu solvanlarla ardarda ekstre edilmesi ile değil, nonpolar ve polar olan iki solvanla veya polar olan bir solvanla materyalin ekstraksiyonundan sonra, polar veya nonpolar solvanlarla yapılan ekstraksiyonlar şeklinde olmaktadır. Böylece, flavonoidlerin polaritelerine göre bir ön ayırımı sağlanmaktadır. Yani polar olmayan flavonoidlerden polar olanların, aglikonlardan ise heterozitlerin ayrılması kısmen de olsa sağlanabilmektedir. Ön ayırımı yapılmış flavonoid ekstraktlarının temizlenmesi genellikle değişik kolon kromatografisi yöntemlerinin uygulanması ile sağlanır. Temizleme işlemi bazan preparatif ince tabaka ve kağıt kromatografisi yöntemlerinin kullanılmasıyla da yapılmaktadır.

İZOLASYON

Flavonoidlerin izolasyonunda genellikle kolon, ince tabaka ve kağıt kromatografisinden yararlanılır. Son yıllarda yüksek basınçlı sıvı kromatografisi de flavonoidlerin ayırım ve teşhisinde kullanılmaktadır. Bu yöntemin diğerlerine nazaran avantajları şunlardır (38) :

- a) Ayırım kabiliyeti fazladır.
- b) Analiz süresi kısadır.
- c) Türev hazırlanması gerekmez.

- d) Isı ile bozulma gibi problemler yoktur.
- e) Kantitatif sonuçlar elde edilebilmektedir.

Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemine çalışmalarımız sırasında kullanılmadığı için teorik bilgilerde yer verilmemiştir. İzolasyon kısmında önce kolon kromatografisinde kullanılan adsorbanlar, ardından solvan sistemleri hakkında bilgi verilmiştir. Kromatografik teşhis yöntemleri kısmında bulunan çalışmaların büyük bir kısmı preparatif ince tabaka ve kağıt kromatografisi yardımıyla yapılan izolasyonlarda da kullanılmaktadır. Bu hususun bilgiler değerlendirilirken dikkate alınması gereklidir.

Kolon Kromatografisi

Flavonoitlerin izolasyonunda en çok kullanılan yöntemdir. Flavonoitlerin ayırımında yaygın olarak kullanılan adsorbanlar : Silikajel, poliyamit, sefadeks ve selülozdur.

Silikajel

İzoflavon, flavanon, dihidroflavonol ve polimetoksi flavonların ayırımında tercihan kullanılır. Silikajel kullanıldığında, kolon genellikle sırasıyla şu solvanlarla elüe edilir : Petrol eteri, karbon tetraklorür, benzen, kloroform, eter, etilasetat, piridin, aseton, n-propanol, etanol, metanol, su. Yukarıda belirtilen solvanlar değişik oranlardaki karışımları halinde kullanılmaktadır. Solvan sistemleri ile ilgili çalışmalara ait bilgiler Tablo-7'de gösterilmiştir. Bu solvan sistemlerinin uygulanmasında saf nonpolar solvandan başlanıp, polar solvanla uygun karışımlar yapıldığını ve istenen ayırımın tabloda gösterilen oranlarda sağlandığını belirtmek gereklidir. Polar flavonoitler için muayyen oranda su taşıyan silikajel kullanılması da ayırımların daha iyi olmasını sağlamaktadır.

ADSORBAN Solvan Sistemi	Kullanıldığı Flavonoit Tipi	Lit
SİLİKAJEL		
Kloroform:metanol (20:0,8)	MFn	38
Kloroform:metanol (99,5:0,5) (13:7)	MFn	38,82
Kloroform:metanol:su (80:20:1)	Het	39
Kloroform:metanol:su (65:20:2)	Het	39
Kloroform:aseton (değişik oranlarda)	IFn	39
Kloroform:etil asetat(değişik oranlarda)	IFn	38
Benzen:hekzan (3:1)	MFn	38
Benzen:kloroform (5:2)	MFn	38
Benzen:aseton (8:2)(97:3)	Ag	9,14
Benzen:metanol (9:1)	Het	38
Benzen:etanol (2:1) (4:1)	Het	9,11
Benzen:eter (5:1)	Ag	38
Toluen:etanol (4:1) (3:1)	Het	11
Etil asetat:metanol(19:1)	Fnn,(O) ve (C) Het	38
Etil asetat:aseton:su(25:5:1)	Het	39

Tablo - 7

Flavonoitlerin Kolon Kromatografisi

Ag: Aglikon, Fnn: Flavanon, Het: Heterozit, IFn: İzoflavon, MFn: Metoksiflavon.

Poliyamid

Flavonoitlerin izolasyonunda ayırma kabiliyetinin yüksek olması sebebiyle çok kullanılır. Ayırım, poliyamid molekülündeki ($-NH_2$) ve ($C=O$) gruplarının fenolik hidroksillerle hidrojen bağı yapmasına dayanır. Tutulan maddelerin poliyamid kolondan elüsyonu ise, solvanın fenolü çekme kabiliyetine ve fenolle poliyamitten daha güçlü bağlar yapması ile ilgilidir. Dolayısıyla, elüsyonda hidrofilik solvanlar daha çok kullanılmaktadır.

Poliyamid kolonda, silikajel kolondan farklı olarak, öncelikle polar flavonoitler (mono ve diheterozitler) sonra polar olmayan flavonoitler (aglikonlar) elüe olur. Ana yapılar seviyesinde ise, şu sıralamada bir elüsyon görülür : İzoflavon, dihidroflavonol, flavon ve flavonoller.

Poliyamid kolonda solvanların tatbik sırası : Su, metanol, aseton, seyreltik sodyum hidroksit, formamit, dimetil formamit, seyreltik üre şeklindedir. Bu adsorbanla beraber kullanılan solvan sistemleri (Tablo-8)'de verilmiştir.

Sefadeks

Flavonoitlerin ayırımında ve özellikle temizlenmesinde çok kullanılan dekstran yapısında bir maddedir. Bu adsorban moleküler elenme esasına göre ayırım yapar. Tutulan maddelerin elüe olması genellikle molekül büyüklüğüne bağlıdır.

Sefadeks LH-20, organik çözücüyle çalışma imkânı vermesi ve temizlenerek tekrar tekrar kullanılabilmesi gibi özellikleri sebebiyle flavonoitlerin izolasyonunda tercih edilen bir adsorbandır. Sefadeksin yaptığı ayırımın, adsorpsiyon ve partisyona da bağlı olduğu ileri sürülmektedir. Denenmiş solvan sistemleri (Tablo-9)'da verilmiştir.

ADSORBAN Solvan Sistemi	Kullanıldığı Flavonoit Tipi	Lit
POLİYAMİT		
Su:metanol (artan oranlarda)	IFn, Fn ve Fl Het	14
Metanol	Av,Ka,Fn	38
Kloroform:metanol (3:1)	Fl	38
Kloroform:etil asetat (3:1)	Fl	38
Kloroform:metanol: 2- butanon: aseton (40:20:5:1)	Ag	1,39
Kloroform:metanol:butanon:aseton (20:10:5:1)(10:10:5:1)	Het	38
Benzen:metanol (3:1)(7:3)(6:4)(1:1)	Fnn Het	38
Benzen:petrol eteri: 2- butanon: aseton (60:26:3,5:3,5)	Ag	39
Benzen: 2- butanon: metanol (70:20:10)(60:25:15)(40:35:25)	Ag	43

Tablo - 8

Flavonoitlerin Kolon Kromatografisi

Ag: Aglikon, Av: Avron, Fl: Flavonol, Fn: Flavon, Fnn: Flavanon, Het: Heterozit,
IFn: İzoflavon, Ka: Kalkon.

ADSORBAN Solvan Sistemi	Kullanıldığı Flavonoit Tipi	Lit
SEFADEKS		
Metanol	F ve (C) Het	38,39
Metanol:su (3:7)(8:2)	F	39
Metanol:kloroform (1:1)	Fl	38
Metanol:kloroform:petrol eteri (2:1:1)	Fl	38
Etanol	Fl	39
Etanol:su (değişik oranlarda)	F	38
Etanol:propanol (1:1)	Fl	38
Kloroform:metanol (9:1)	F	39
Aseton:metanol:su (2:1:1)	F	39
t-butanol:metanol (3:1)	Fl Het	38

Tablo - 9

Flavonoitlerin Kolon Kromatografisi

F: Flavonoit, Fl: Flavonol, Het: Heterozit

Selüloz

Flavonoitlerin ayırımında özellikle mikrokristal selüloz kullanılmaktadır. Ayırım hem partiyon hem de adsorpsiyona dayanır. Prensip olarak, kağıt partiyon kromatografisinde kullanılmak üzere geliştirilmiş solvanların önemli bir kısmı kolon partiyon kromatografisi için de uygundur ve pek çoğu başarı ile kullanılmıştır. Selüloz kolonlar için kullanılacak iyi solvanların çoğu kağıt kromatografisinde olduğu gibi sulu alkol ve asit taşırlar. Selüloz kolon kullanılarak yapılan ayırımlara ait solvan sistemlerinden bazıları şunlardır :Etil asetat: metanol: su (50:3:10), etil asetat: metanol: aseton: su (50:3:1:10), asetik asit: su (15:85), n-butanol: asetik asit: su (4:1:5) (6, 38).

Flavonoitlerin ayırımında yukarıda belirtilenlerden başka; alüminyum oksit, magnezyum silikat, katyonik iyon değiştirici reğineler de kullanılmaktadır.

YAPI TAYINI

Genel

Flavonoitler tabiatta ya aglikon veya heterozitleri halinde bulunurlar. Oz veya ozlar aglikona, (O) heterozitlerinde yarı asetal, (C) heterozitlerinde ise C-C bağı ile bağlanmışlardır. Flavonoitlerde en sık rastlanan ozlar : Glikoz, galaktoz, fruktoz, ramnoz, maltoz, glikuronik ve galakturonik asittir.

Flavonoitlerin yapı tayininde, aglikonun, aglikona bağlı bulunan oz veya ozların teşhisi ve bağlanma yerlerinin tesbiti önemlidir.

(O) heterozitlerinde yapı aydınlatılmasında asit, alkali ve enzimatik hidroliz yöntemleri kullanılır. (C) heterozitlerinde ise bu yöntemlerle flavonozit hidroliz olmaz. (C) heterozitleri ferri klorür (% 20 lik çözeltisi) ile okside edilir (51). Oksidasyon sonucu aglikonun yapısı bozular, oz veya ozlar açığa çıkar ve açığa çıkan ozlar kromatografik olarak teşhis edilebilir.

Yukarıda belirtilen yöntemlerin herhangi birinin uygulanması ile elde edilen hidrolizattaki oz veya ozların teşhisi için inen-damlayan kağıt kromatografisi veya selüloz kaplı plaklar kullanılır. Lekelerin belirlenmesi için, β -naftilamin ve anilin ftalat reaktifleri uygun sonuçlar vermektedir (21).

Aglikon ve heterozitin yapı tayininde ultraviyole, infrared, nükleer magnetik rezonans ve gerekiyorsa kütle spektroskopisinden yararlanılır. Belirtilen analizler sonucunda elde edilen spektrumlar değerlendirilerek, flavonoitin yapısı ve eğer heterozit ise ozun bağlanma yeri tesbit edilmiş olur.

Ultraviyole spektrometrisi flavonoitlerin yapı aydınlatılmasında önemli bir yere sahiptir. Çünkü, değişik reaktiflerle elde edilen spektrumların yorumlanması, yapı hakkında değerli bilgiler vermektedir. Bu yüzden ultraviyole spektrometrisi ile ilgili bilgiler ayrıntılı bir şekilde verilecektir.

Flavonoitlerin infrared spektrumları teşhis için tek başına yönlendirici olamaz. Ancak, daha önce elde edilmiş olan ultraviyole spektrumuna ait bulguların bazı gruplar (metil, hidroksil, karbonil gibi) bakımından değerlendirilmesine yardımcı olur. Ayrıca saf olarak elde edilmiş olan flavonoitin infrared spektrumu ile şahit maddeninkinin karşılaştırılması diğer bulguların yanında yapıyı doğrulayıcı bir analizdir.

NMR spektrometrisi, daha önce izole edilenlerden farklı yapıda flavonoitler tabiattan izole edildiği zaman değerli bilgiler vermek üzere kullanılmaktadır (38,51). Aglikonlar döteryum solvanlarda çözülür. Nümûne heterozit ise çözünürlüğünü sağlamak üzere trimetilsilil türevleri hazırlanır.

Türevi hazırlanan heterozitin spektrumu alınırken döteryum çözücüler veya hidrojen taşımayan solvanlar (Karbon tetraklorür gibi) kullanılır. Nükleer magnetik rezonans spektrometrisi ile aglikona bağlı grupların varlığı, cinsi ve konumu hakkında kesin bilgiler elde edilir. Proton magnetik rezonansta 0-9 ppm olan spektrum alanı (C 13) nükleer magnetik rezonansta ise 0-200 ppm (39,46,48,54) dir.

Kütle spektroskopisi ise az miktarda madde bulunduğunda veya diğer analizleri desteklemek amacıyla kullanılır. Nümûne aglikon ise doğrudan, heterozit ise permetil, perasetil veya trimetilsilil türevleri hazırlanarak spektrum alınır. Trimetil ve perasetil türevi hazırlandığı zaman molekül ağırlığı arttığından, büyük molekül ağırlığına çıkabilen aletlerin kullanılması gerekmektedir. Kütle spektroskopisi yapı aydınlatılmasında yararlanılabilecek kesin bilgiler verir.

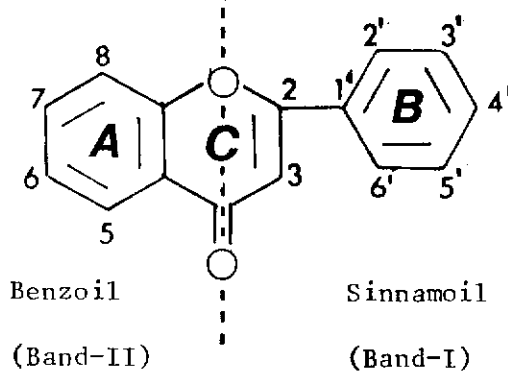
Ultraviyole Spektrofotometrisi

Ultraviyole spektrometrisi, flavonoitlerin yapılarının aydınlatılmasında kullanılan en önemli tekniktir. Bu yöntemde, az miktarda madde kullanılarak değişik şartlarda çekilmiş spektrumların değerlendirilmesi ile kısa sürede elde edilen bulgular, yapı hakkında önemli bilgiler verir. Teorik bilgilerin bu kısmında, ultraviyole spektrometrisi kullanılarak flavonoitlerin yapılarının tayinine ait temel bilgiler, ana flavonoit yapıları esas alınarak, verilecektir.

Saf halde elde edilen flavonoitin önce metanoldeki spektrumu alınır. Bu spektrumun bulunduğu kağıda, flavonoitin metanoldeki çözeltisine sodyum metilat ilâve edilmesiyle elde edilen, ikinci spektrum çekilip, küvetteki çözelti atılır. Daha sonra küvete flavonoitin metanoldeki çözeltisi konur, üzerine sodyum asetat ilâve edilir, spektrum alınır, ardından borik asit ilâve edilir, spektrumu sodyum asetat spektrumunun üzerine çekilir. Bu çö-

zelti de atılır. Kükete tekrar flavonoitin metanoldeki çözeltisi konur, bu çözeltiliye önce alüminyum klorür sonra hidroklorik asit ilâve edilir, reaktif ilâvelerinden sonra spektrum çekilir ve her iki spektrum için de aynı kağıt kullanılır. Görüldüğü gibi, değerlendirmede kolaylık sağlamak üzere ilgili olanlar, spektrum alma sırasında, birleştirilmektedir.

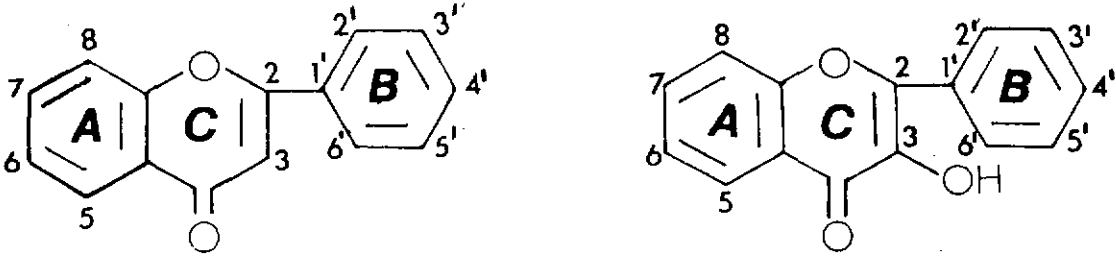
Flavonoitlerin ultraviyole spektrumlarında iki maksimum absorpsiyon piki bulunur. Bunlardan biri uzun dalga boyunda meydana gelen ve flavonoit yapısının B halkası yani sinnamoil sistemiyle alâkalı olan Band-I pikidir. Diğeri ise kısa dalga boyunda meydana gelen, A halkası yani benzoil sistemiyle ilgili olan Band-II pikidir. Band-I piki 300-400 nm arasında, Band-II piki ise 240-285 nm arasında elde edilir.



Yukarıda belirtilen reaktiflerle alınan spektrumlarda Band-I ve Band-II'nin daha uzun veya daha kısa dalga boylarına kaydıkları görülür. Daha uzun dalga boyuna olan "batokromik kayma", daha kısaya olan ise "hipsokromik kayma" olarak ifâde edilir.

Spektrumların değerlendirilmesi ile ilgili bilgiler "Flavon ve Flavonoller", "İsoflavon, Flavanon ve Dihidroflavonoller", "Kalkon ve Avronlar" başlıkları altında verilmiştir.

Flavon ve Flavonoller



Metanol Spektrumu : Band-I'in değerlendirilmesi, madenin flavon veya flavonol yapısında olduğunu belirtir. Şöyleki: Flavonlarda Band-I 304-350 nm arasında, flavonollerde ise 352-385 nm civarında görülür.

Herhangi bir halkada hidroksil gruplarının bulunmaması ilgili bandın pik şiddetinde azalmaya sebep olur (38,51). Flavon ve flavonollerde A halkasında hidroksilasyon artışı Band-II'de batokromik kaymaya sebep olduğu halde Band-I üzerine az etkilidir (51).

B halkasında hidroksil varlığı kaymaya sebep olmaz. Ancak, Band-II ya tek veya II a ve II b diye iki pik halinde görülebilir. Bunlardan II a, daha uzun dalga boyundadır. 3', 4' - dihidroksil taşıyan flavonlar omuzlu bir pik (omuzu daha uzun dalga boyu tarafında) veya 2 pik verir (38).

4' - hidroksiflavonlar ise tek pik verirler (38). Yani Band-II, 270 nm de tek pik verirse B halkasında tek sübstitüsyon, Band-II iki pik veya bir pik (258 nm) ve bir omuz (270 nm) şeklinde ise iki veya üç sübstitüsyon düşünülür (39).

6. konumda hidroksil varlığı flavonollerde ve 3-O- metilflavonollerde Band-I de 8-12 nm lik, flavonlarda 9 nm lik hipsokromik kaymaya sebep olur (39).

Flavonollerde 8. karbonda hidroksil varlığı Band-I'de 13-16 nm lik bir batokromik kaymaya sebep olur ve 330 nm de de ilâve bir pik görülür. Flavonlarda ise, 8. konumda hidroksil bulunması 7 nm lik bir hipsokromik kaymaya sebep olur (39).

3- hidroksil grubu, metil veya oz ile süstitüe olan flavonollerde Band-I 328-357 nm de görülür (38,51). 3. konumdaki hidroksilin süstitüsyonunda 12-17 nm olan bu hipsokromik kayma, 5- deoksiflavonollerde 22-25 nm, 4'- hidroksil grubu süstitüe olanlarda 3-10 nm, 5- hidroksil grubu süstitüe olanlarda ise 5-15 nm (38,51) dir.

3-0 -metilflavonollerde 6 konumunda hidroksil grubunun varlığı, 12 nm lik hipsokromik kaymaya, 6. karbonda metoksil bulunması ise 9 nm lik bir kaymaya sebep olur (39). Yani 3-0- metilflavonollerle bunların 6-0-substitüe türevlerinin spektrumları farklıdır. Buna karşılık 8-metoksil grubu varlığında yukarıda belirtilen kaymalar çok azdır.(39).

Flavonoitlerin asetilasyonu, spektrumlarda fenolik hidroksillerin etkisini kaldırır. Bu yüzden asetilasyon, alkoksi gruplarının yerini tesbitte önemli bir tekniktir (38,51).

S o d y u m M e t i l a t S p e k t r u m u : Flavonoit çekirdeğindeki bütün hidroksil grupları kuvvetli bir baz olan sodyum metilat ile iyonize olur. Bu sebeple fazla hidroksil taşıyan flavonoitlerde her iki bandın da daha uzun dalga boyunda pik verdiği görülür.

Flavon ve flavonollerde 4'-hidroksil grubu bulunması Band-I'de pik şiddetinde azalmaya sebep olmaz, 40-65 nm lik bir batokromik kayma meydana gelir (38,39,51). 4'-hidroksil grubu taşımayan veya substitüe olarak taşıyan

flavonollerde sodyum metilat ile Band-I'de 50-60 nm lik bir batokromik kayma görülür. Bu kaymaya sebep, maddenin 3 konumunda taşıdığı hidroksil grubudur. Bu şekildeki kaymada pik şiddetinde azalma görülür (38,39,51).

3,4' ve 3,3',4' konumlarında serbest hidroksil grubu taşıyan flavonollerin sodyum metilat ile yapısı bozulur. Bu bozulma 3,3',4' hidroksil taşıyanlarda daha hızlı olmaktadır. Diğer taraftan alkali etkisi ile yapı değişikliği 5,6,7; 5,7,8 ve 3',4', 5' de serbest hidroksil bulunması halinde de görülür (39,51). Reaktif ilâvesinden hemen sonra çekilen spektrumda normal pikler elde edilir, fakat kısa bir süre sonra tekrar çekildiğinde spektrum değişir. Bu husus, maddenin yukarıda belirtilen konumlarda serbest hidroksil taşıyıp taşımadığını tesbit bakımından önemlidir.

7- hidroksil grubunun serbest olduğu durumlarda 320-330 nm de Band-III diye isimlendirilen bir absorpsiyon piki görülür. Bu hidroksil grubuna, oz bağlı ise Band-III görülmez (38,39).

S o d y u m A s e t a t S p e k t r u m u : Sodyum asetat, sodyum metilattan daha zayıf bir alkalıdır. Daha ziyade 3,7 ve 4' konumlarında bulunan ve asidik özellik gösterebilen hidroksil gruplarını iyonize eder (38,51).

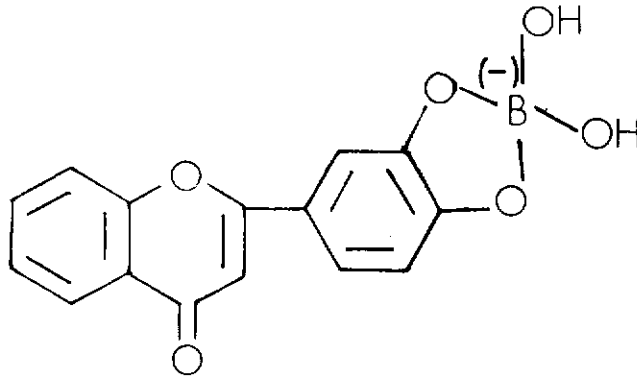
7. konumdaki hidroksil grubunun iyonizasyonu Band-II yi 3 ve 3', 4' de hidroksil bulunması ise Band-I'i etkiler. 7. konumda hidroksil grubu bulunması halinde flavon ve flavonollerde, Band-II'de 5 -20 nm'lik batokromik kayma görülür. Diğer taraftan 6 ve 8 konumlarında veya bunlardan birinde metoksilveya metil grubu taşıyan flavonlarda, 7 konumunda hidroksil bulunsa bile kayma ya 5 nm dir veya görülmez. Bunun sebebi, 7-hidroksil grubunun azalan asitliğidir (39). 7-hidroksi -5- deoksiflavonlarda ise Band-II b belirgin de-

ğildir, kaymalar Band-II a'da görülür (51). 3', 4'-dihidroksil taşıyan yapılarda Band-II b'de 20-25 nm lik batokromik kayma görülür (51).

4' konumunda hidroksil grubu bulunan, fakat 3 veya 7 konumlarında hidroksil taşımayan veya substitüe olan flavon ve flavonollerde, Band-I daha uzun dalga boylarında görülür.

5,6,7; 5,7,8 ve 3,3',4' konumlarında hidroksil grubu taşıyan flavon ve flavonoller alkaliye duyarlı bileşiklerdir. Bu sebeple belirtilen grupları taşıyan flavon ve flavonollerde 7. konumdaki hidroksil grubunun tesbiti isteniyorsa sodyum asetat küvete ilâve edildikten hemen sonra spektrum alınmalıdır (51). Aksi takdirde, belirtilen hidroksil gruplarının etkisiyle yanlış değerlendirmeye sebep olacak spektrum elde edilir.

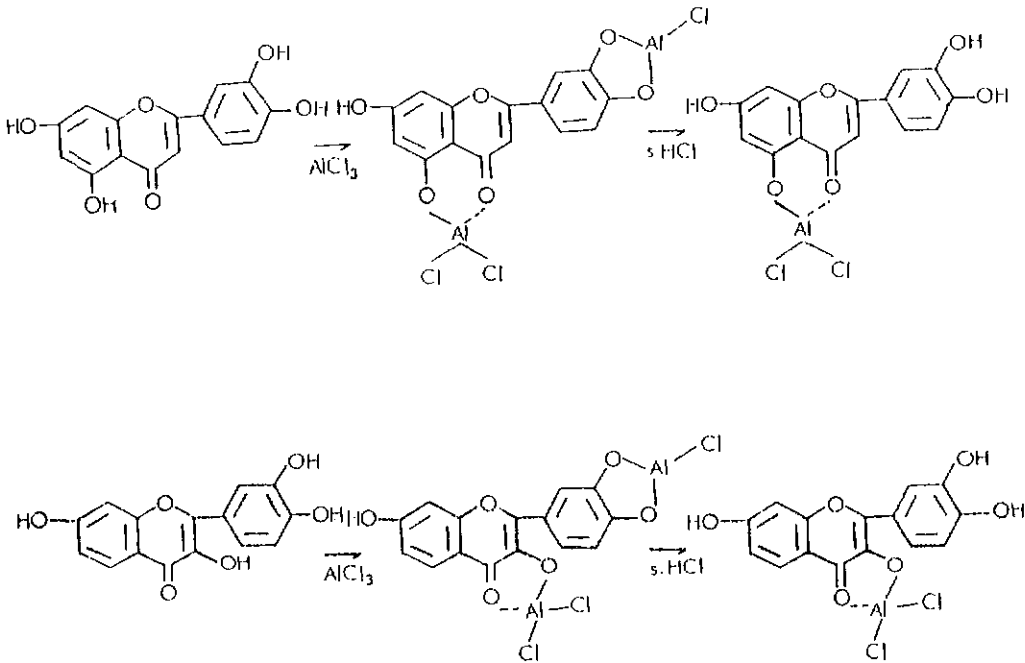
S o d y u m A s e t a t / B o r i k A s i t S p e k t r u m u :
o-Dihidroksil taşıyan bütün flavonoidlerde bu durumun teşhisi için (sodyum asetat/ borik asit) spektrumundan yararlanılır (38). Hidroksil grupları 5 ve 6 konumlarında ise, bu yöntemle tesbit edilemez (51). B halkasında o-dihidroksil grubu varsa, Band-I'de 12-30 nm lik batokromik kayma görülür (38,51). o-dihidroksil grubu ile borik asit şu şekilde bağlanmaktadır :



A halkasında σ -dihidroksil durumu varsa (6,7 veya 7,8 de) 5-10 nm lik kaymalar görülür (38,51).

Alüminyum Klorür - Alüminyum Klorür / Hidroklorik Asit Spektrumları : Alüminyum klorür ile 3. ve 5. karbonda hidroksil grubu taşıyan flavon ve flavonoller asite dayanıklı kompleksler meydana getirirler. Ancak σ -dihidroksil durumu bulunan flavonoidlerde alüminyum klorürle aside dayanıksız kompleksler meydana gelir (51). Metanol yerine etanol kullanılan çalışmalarda, ortamda su bulunması alüminyum- σ -dihidroksil kompleksinin meydana gelmesini engeller. Bu yüzden σ -dihidroksil gruplarının tesbitinde metanol kullanılması tercih edilmelidir (38). Meydana gelen komplekslerin stabiliteleri farklıdır. Bu farklılık hidroksil gruplarının konumuna ve ana yapılarına göre şu şekilde sıralanabilir (38) : 3-hidroksil (flavonol) > 5-hidroksil (flavon) > 5-hidroksil (flavanon) > σ -dihidroksil grupları > 3-hidroksil (dihidroflavonol).

Meydana gelen komplekslerin muhtemel yapısı ise şu şekildedir (38,51):



Kompleksler, görüldüğü gibi, 5-hidroksi -4-keto, 3-hidroksi -4-keto ve o-dihidroksil grupları arasında meydana gelmektedir. Flavonoitte 3 ve 5 konumlarında hidroksil grubu varsa alüminyum klorür ile 5-hidroksi -4-keto kelatı meydana gelmez, 3-hidroksi -4-keto kelatı meydana gelir (38). Eğer, 3 veya 5 konumlarında hidroksil grupları ile beraber o-dihidroksil durumu varsa çift kompleks hâsıl olur (38,51). Ortama hidroklorik asit ilâvesi ile alüminyum klorürle meydana gelen komplekslerden sadece o-dihidroksil grubunun meydana getirdiği kompleks parçalanır. Spektrumların değerlendirilmesinde bu olay önemli bilgiler verir.

3-hidroksiflavonlarda Band-I de metanole göre 60 nm olan batokromik kayma, 3,5-dihidroksiflavonlarda 50-60 nm arasındadır (38,51). 5 konumunda hidroksil bulunması halinde 3 konumundaki hidroksili tesbit etmek için (zirkonyum oksiklorür/sitrik asit) reaktifi kullanılır (38). 5-deoksi-7-hidroksi flavonlarda Band-I den yaklaşık 60 nm daha uzun dalga boyunda ve orta şiddette bir pik daha görülür (51).

Bir 5-hidroksiflavonun (alüminyum klorür/hidroklorik asit) spektrumunda tipik olarak 4 pik görülür: Band I a, I b, II a, II b. Bunlar metanoldeki orijinal piklere göre daha uzun dalga boyunda meydana gelirler (38,39). 5 konumunda hidroksil taşıyan flavon ve flavonollerde, 3 konumunda hidroksil bulunması veya substitüe olması halinde, (alüminyum klorür/hidroklorik asit)le elde edilen Band-I metanoldekine göre, 35-55 nm lik bir batokromik kayma gösterir (38).

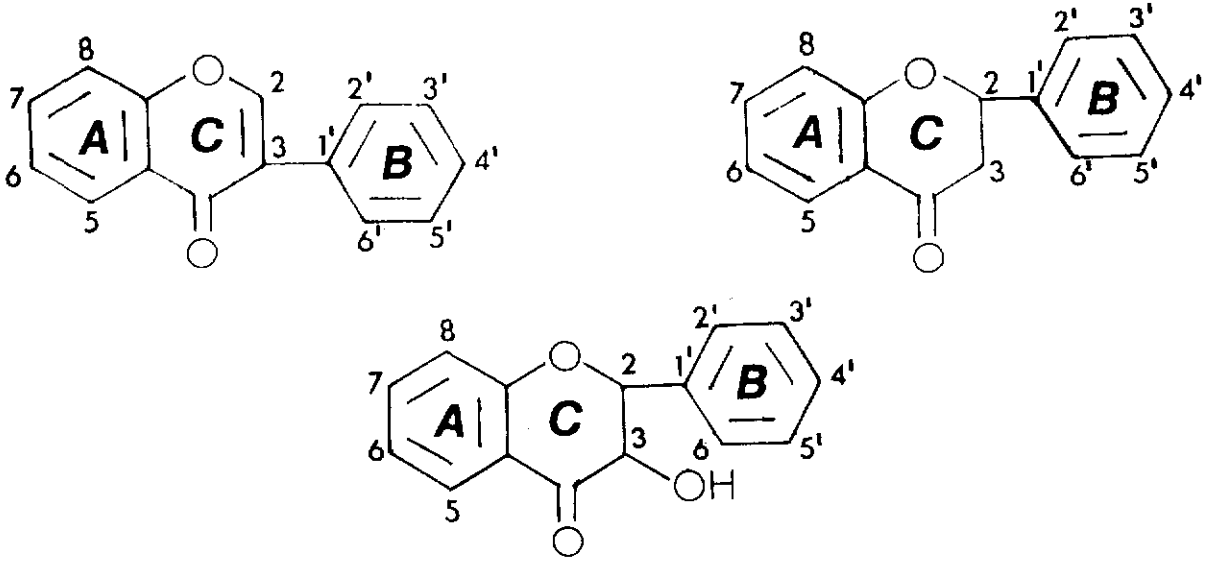
6 konumunda hidroksil varlığında, (alüminyum klorür/hidroklorik asit) ile elde edilen Band-I deki kayma 25-30 nm dir (38,39). Bazı araştırmacılar bu değerin 45 hattâ 57-62 nm ye varabileceğini ileri sürmektedirler (39).

6. karbonda metil bulunması durumunda 5-hidroksil grubundan ileri gelen sterik engelden dolayı, alüminyum klorür ile meydana gelen reaksiyonda zayıflama görülür ve 20 nm lik bir kayma meydana gelir (39). 8. karbonda hidroksil taşıyan flavon ve 3 konumunda hidroksil grubu süstitüe olan flavonollerde ise bu kayma 55-75 nm civarındadır (39).

B halkasında σ -hidroksil gruplarının bulunduğu şu şekilde tesbit edilir : (Alüminyum klorür/hidroklorik asit) ile elde edilen Band-I in alüminyum klorür ile elde edilene göre 30-40 nm lik hipsokromik kayma meydana getirmesi ile tesbit edilir. Başka bir deyişle alüminyum klorür ile elde edilen Band-I de, (alüminyum klorür/hidroklorik asit) ile elde edilene göre 30-40 nm lik bir batokromik kayma meydana gelir (38,51). B halkasında 3 komşu hidroksil grubu bulunması alüminyum klorür çözeltisine asit ilâvesiyle sadece 20 nm lik bir hipsokromik kaymaya sebep olur (39,51).

A halkasının 5 konumunda bulunan hidroksil grubu dışındaki σ -dihidroksil grupları (6,7 ve 7,8) da (alüminyum klorür/hidroklorik asit) ile, alüminyum klorür spektrumuna göre bir hipsokromik kaymaya sebep olur (51). Ancak, bu durumda hem A hem de B halkalarında σ -dihidroksil grubu taşıyanların alüminyum klorür spektrumunda, metanol spektrumuna göre 20-25 nm lik batokromik kayma görülür (38).

İzoflavon, Flavanon ve Dihidroflavonoller



M e t a n o l S p e k t r u m u : İzoflavon, flavanon ve dihidroflavonoller de, A ve B halkaları arasında konjugasyon bulunmaması veya çok az olması sebebiyle benzer UV spektrumları elde edilir. Bunlar flavon ve flavonollerden ultraviyole spektrumları ile kolayca ayrılabilirler. Bu maddelerin spektrumlarında Band-II de tipik, şiddetli bir pik, Band-I de ya bir omuz veya zayıf bir pik meydana gelir (38,51).

Bu bileşikler B halkasındaki oksijenasyon ve substitüsyondan çok fazla etkilenmez, ancak A halkasında oksijenasyonun artması Band-II de batokromik kaymalara sebep olur (38,51).

İzoflavonlarda Band-II, 245-270 nm de bir pik, Band-I ise 300-340 nm de bir omuz şeklinde görülür. Band-II nin 265-270 nm de olması A halkasında üç hidroksil grubunun varlığını gösterir. 5. konumda hidroksil taşımayan izoflavonlarda, Band II de 7-17 nm lik hipsokromik kayma meydana gelir (38,51). 5 hidroksil grubu substitüe izoflavonlarda ise, bu kayma 5-10 nm dir (51). 6,7-dihidroksiizoflavonlarda ise Band-I çok şiddetlidir, flavonlarınkine benzer bir spektrum elde edilir. Kağıt kromatografisi ve NMR yöntemleriyle bu maddelerin izoflavon olduğu kolayca belirlenebilir (38,51).

Flavanon ve dihidroflavonollerde ise Band-II 270-295 nm de çıkar. 5 konumunda serbest hidroksil taşımayan flavanon ve dihidroflavonoller de 10-15 nm lik hipsokromik kayma meydana gelir. Dolayısıyla kayma sonucu 245-270 bölgesine doğru bir yanaşma meydana gelmiş olur. Bu bölge ise, izoflavonlara ait piklerin elde edildiği bölgedir (38,51).

S o d y u m M e t i l a t S p e k t r u m u : A halkasında hidroksilasyon yoksa Band-II de herhangi bir kayma görülmez (38). A halkasında hidroksil bulunan izoflavonlarda Band-II de batokromik kayma meydana gelir. Sodyum metilat spektrumunda zamanla meydana gelen şekil değiştirme 5,6,7 ve 5,7,8 konumlarında hidroksil mevcudiyetini gösterir (51). Bu, 3', 4'-dihidroksil taşıyan izoflavonlar ve flavanonlar için de geçerlidir (38,51).

A halkasında hidroksil bulunan bütün flavanon ve dihidroflavonollerin UV spektrumlarında Band-II'de sodyum metilat ile batokromik kayma meydana gelir. Dihidroflavonollerde bu kaymanın değeri, 5. karbondaki serbest hidroksil bulunup bulunmamasına bağlıdır. Şöyleki: 5,7-dihidroksidihidroflavonollerde Band-II'de 35-40 nm lik batokromik kayma meydana geldiği halde, serbest 5-hidroksil grubu taşımayan 7-hidroksidihidroflavonollerde bu kayma 55-60 nm dir. Her iki halde de pik şiddetinde bir artış görülür (51).

5,7-dihidroksil grubu taşıyan flavanonlarda 35 nm lik batokromik kayma, 7 konumunda hidroksil taşıyan flavanonlarda 60 nm dir. Bu kaymalarla beraber Band-II nin şiddetinde de artma meydana gelir (38,51).

5 konumunda serbest hidroksil grubu bulunmayan flavanonlar, alkali ile kalkonlara izomerize olur. Bu da 400 nm bölgesinde bir Band-I piki meydana gelmesine sebep olur (38,51).

5,6,7 veya 6,7,8 konumlarında hidroksil taşıyan flavanonlar sodyum metilat ile dekompoze olur; 3', 4'-dihidroksiflavanonlar ise sodyum hidroksit ile çabucak dekompoze oldukları halde sodyum metilat ile dekompozisyon meydana gelmez (51).

S o d y u m A s e t a t S p e k t r u m u : Sodyum asetat spesifik olarak izoflavonların 7-hidroksil grubunu iyonize eder. İzoflavonlar, bir çok flavon ve flavonolden farklı olarak iyonize olabilen 3 ve 4' hidroksil grupları taşımadıklarından spektral bulguların değerlendirilmesi kolaylaşmıştır (51). 7-hidroksiizoflavonların UV spektrumlarında Band-II de 6-20 nm lik bir batokromik kayma görülür (38,51).

Flavanon ve dihidroflavonollerde serbest 7-hidroksil grubunun varlığı da Band-II deki kaymalar değerlendirilerek tesbit edilebilir (51). 5,7-dihidroksiflavanonlar ve 5,7-dihidroksidihidroflavonoller için Band-II deki kayma 34-37 nm; bunların 5 konumunda hidroksil taşımayan türevlerinde ise 51-60 nm dir (38,51). 5,6,7- trihidroksiflavanonlarda ise zamanla bozulma meydana gelir (51).

A halkasında alkaliye duyarlı grupların varlığı da sodyum asetat spektrumunda zamanla değişmeye sebep olur (38).

S o d y u m A s e t a t / B o r i k A s i t S p e k t r u m u : İzoflavon, flavanon ve dihidroflavonollerin UV spektrumlarında (sodyum asetat/borik asit) reaktifi ile B halkasındaki o-dihidroksil grupları tayin edilemez (51).

İzoflavon, flavanon ve dihidroflavonollerdeki A halkası Band-II de 10-15 nm lik bir kaymaya sebep olur (38). 6,7 konumunda dihidroksil grupları

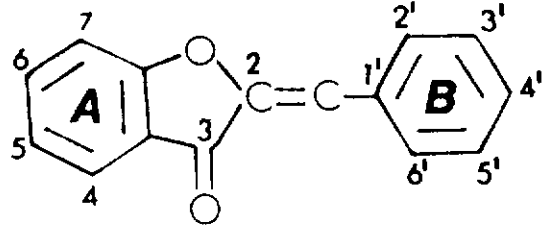
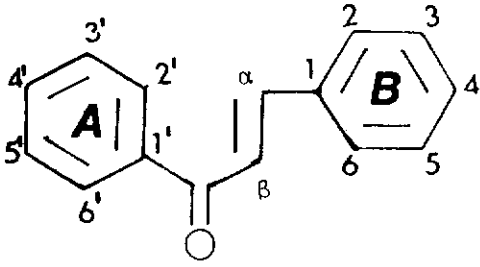
Band-II de 10-15 nm lik bir kaymaya sebep olurken (51), 5,6 konumlarındaki dihidroksil grupları taşıyanlarda bu kayma görülmez (38).

A l ü m i n y u m K l o r ü r - A l ü m i n y u m K l o r ü r /
H i d r o k l o r i k A s i t S p e k t r u m u : (Alüminyum klorür/hidro-
klorik asit) spektrumunda 5. konumda hidroksil taşıyan izoflavonlar (2-kar-
boksi-5,7-dihidroksiizoflavon hariç) da Band-II de 10-14 nm lik batokromik
kayma meydana gelir (38,51). 5 konumunda serbest hidroksil taşımayanlarda bu
kayma görülmez (51).

5-hidroksiflavanon ve 5-hidroksidihidroflavonollerde Band-II de (alü-
minyum klorür/hidroklorik asit) reaktifi ile 20-26 nm lik bir batokromik kay-
ma meydana gelir (38,51). 5. konumda serbest hidroksil taşımayan dihidroflavo-
nollerin alüminyum klorür spektrumunda 3-hidroksil grubu Band-II de 30-38 nm
lik batokromik kaymaya sebep olur (38). Bu kayma sodyum asetat ilavesi
ile görülmediğinden, o-dihidroksil gruplarına ait kaymalardan ayırdedilebilir
(38).

İzoflavon, flavanon ve dihidroflavonollerdeki 3', 4' konumlarındaki
hidroksil grupları eksik konjugasyon sebebiyle UV spektrumunda alüminyum
klorür ile tayin edilemez (51). Ancak, A halkasındaki 6,7 veya 7,8 pozisyon-
larındaki o-dihidroksil grupları, alüminyum klorür ile elde edilen spektruma
göre 11-30 nm lik batokromik kayma ile belirlenir (38).

Kalkon ve Avronlar



M e t a n o l S p e k t r u m u : Kalkon ve avronların UV spektrumlarında Band-I kuvvetli, Band-II zayıf pikler halinde görülür (38,51).

Kalkonlarda Band-I 340-390 nm de, Band-II ise 220-270 nm de görülür. A ve B halkalarındaki sübstitüsyon Band-I de batokromik kaymalara sebep olur (38,51). 2' konumunda metil ve oz ile sübstitüsyon 15-20 nm lik hipsokromik kaymaya sebep olur, bunun dışındaki konumlarda ise spektrum çok az etkilenir (38).

Avronlarda Band-I 370-430 nm de görülür (38,51). 6-hidroksil ve 5,7-dihidroksil taşıyan basit yapıda avronlar daha kısa dalga boyunda pik verirler (51). 6,7-dihidroksiavronlarda, 7 konumundaki hidroksil grubunun sübstitüsyonu durumunda (-CH₃) Band-I de görülen 18 nm lik hipsokromik kayma dışında avron çekirdeğindeki hidroksil gruplarının metil ve oz sübstitüsyonunun spektruma etkisi azdır. 4 konumunda hidroksil grubu sübstitüe avronlarda, spektrumlardaki hipsokromik kaymanın kaybolabileceği dikkate alınmalıdır (38,51).

S o d y u m M e t i l a t S p e k t r u m u : Kalkon ve avronların çoğu sodyum metilat varlığında kırmızı veya portakal rengine döner (51). 4-hidroksikalkonlarda pik şiddeti artar ve Band-I de 60-100 nm lik

batokromik kayma görülür. 4 konumunda hidroksil taşımayan kalkonlar ve 2 veya 4-hidroksil taşıyan kalkonlar ise 60-100 nm lik kayma verir fakat pik şiddeti artmaz (38,51). Kalkonlarda 4 konumundaki hidroksilden ileri gelen kaymalar, 2 konumunda hidroksil veya 4 konumunda alkoksil grubu varlığında 40-50 nm kadar azalır (38).

4'-hidroksiavronlarda Band-I de görülen 80-95 nm lik batokromik kayma, 6. konumda serbest hidroksil taşıyanlarda 60-70 nm dir (38,51).

6,4' konumlarında dihidroksil ve 6 konumunda hidroksil 4' konumunda alkoksil grubu bulunduğu durumlarda ise bu kaymalar çok daha azdır (38,51).

S o d y u m A s e t a t S p e k t r u m u : Kalkonlarda 4 veya 4' veya her iki konumda hidroksil bulunması halinde Band-I de batokromik kaymalar görülür (38,51). Üç komşu hidroksil grubu taşıyan kalkonların sodyum asetat spektrumunda bozulma meydana gelir (51).

4' veya 6 veya her iki konumda da hidroksil bulunan avronlarda Band-I de batokromik kaymalar görülür . Kalkon ve avrondaki bu kaymalar bazan Band-I in uzun dalga boyu kenarında bir omuz vermesi şeklinde de görülebilir (38,51).

S o d y u m A s e t a t / B o r i k A s i t S p e k t r u m u : Kalkon ve avronlarda Band-I de görülen 28-36 nm lik kayma B halkasında o-dihidroksil durumunun varlığını gösterir. A halkasındaki o-dihidroksil gruplarının varlığı ise daha küçük kaymalara sebep olur (38,51).

A l ü m i n y u m K l o r ü r - A l ü m i n y u m K l o r ü r / H i d r o k l o r i k A s i t S p e k t r u m u : Kalkon ve avronların her ikisinde de B halkasında o-dihidroksil gruplarının bulunması halinde

(alüminyum klorür / hidroklorik asit) ile elde edilen Band-I e göre, alüminyum klorür ile elde edilen Band-I de 40-70 nm lik batokromik kayma görülür. A halkasında o-dihidroksil grupları varlığında ise bu kaymalar daha azdır (38,51).

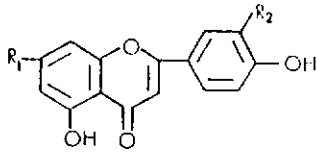
2'-hidroksikalkonlarda Band-I de (alüminyum klorür / hidroklorik asit) görülen 48-64 nm lik batokromik kayma, 3'-hidroksikalkon ve 2', 3', 4'-tri-hidroksikalkonlarda 40 nm dir (38,51).

4-hidroksiavronlarda Band-I de (alüminyum klorür / hidroklorik asit spektrumuna göre) 60-70 nm lik batokromik kayma görülür (38).

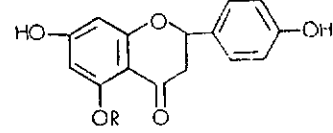
HELICHRYSUM TÜRLERİ ÜZERİNDE

YAPILAN ÇALIŞMALAR

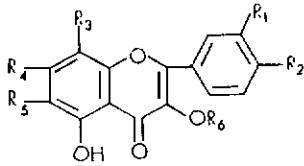
Helichrysum türlerinin kimyasal yapısı ile ilgili araştırmalardan, sadece Türkiye'de yetişenlere ait olanlar tablolar haline getirilmiştir. Bu tablolarda flavonoidler, ana yapılarına göre, sınıflandırılarak formülleriyle takdim edilmiş; diğer maddeler ise, mümkün olduğu nisbette büyük kimyasal grup başlıkları altında sadece isimleri ile verilmeye çalışılmıştır.



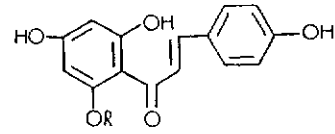
FLAVON	R ₁	R ₂	Lit
Apigenin	OH	H	45,96
Luteolin	OH	OH	75
Luteolin-7-glikozit	O-Gl	H	96



FLAVANON	R	Lit
Naringenin	H	75,94,97
Helikrisin A	GH	7,45
Helikrisin B	Gl	7,44,45,96
Naringenin-5-diglikozit	Cl-Cl	96



FLAVONOL	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	Lit
Galangin	H	H	H	OH	H	H	94,97
Kemferol	H	OH	H	OH	H	H	44,75,97
Kersetin	OH	OH	H	OH	H	H	75,76
Astragalın	H	OH	H	OH	H	Gl	44,45,94
Mansol bileşik B	H	H	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	H	10 ¹ ,94
Kemferol-3-diglikozit	H	OH	H	OH	H	Cl-Cl	96



KALON	R	Lit
İsoalipurposid	Gl	76,96

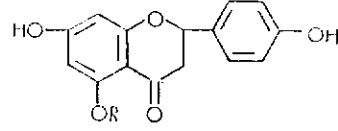
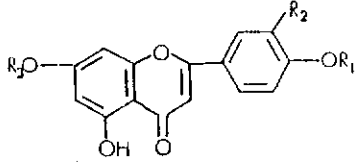
DİĞERLERİ

α-Piron : Arenol (95,97)	Ftalit : 5,7 - dihidroksiftalit (41,96,97)
Homöarenol (95,97)	5-metoksi-7-hidroksiftalit (45,96,97)
Melipiron (94)	5-metoksi-7- glikozilftalar (96)
Norhelipiron (94)	Arenoftalit A (Ftalitksiloid) (93)
Bisnorhelipiron (94)	Hidrokarbon : Hentriakontan (45)
Kumrin : Auronen (35,36)	Triterpen : β- sitosterol (45)
Skopoletin (33)	β- Sitosterolglukuronit (92)

Tablo - 10

H. arenarium Üzerinde Yapılan Çalışmalar

* Çalışma H. arenarium (ssp. aucheri, erzincanicum ve rubicumdum) üzerinde yapılmıştır.

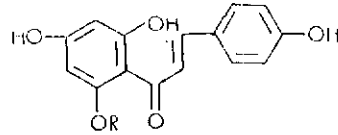
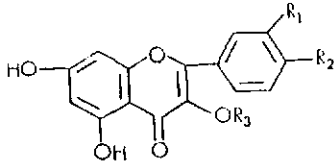


FLAVON

	R ₁	R ₂	R ₃	ssp.	Lit.
Apigenin	H	H	H	I ve II**	16
Luteolin	H	OH	H	I ve II	16
Apigenin-6'-glikozit	Cl	H	H	I ve II	16
Apigenin-7-glikozit	H	H	Cl	I	16
				II	10,16

FLAVANON

	R	ssp.	Lit.
Nacigenin	H	I ve II	16
Helikrisin A	Cl	I ve II	16
Helikrisin B (salipurposid)	Cl	I ve II	16



FLAVONOL

	R ₁	R ₂	R ₃	ssp.	Lit.
Kemferol	H	OH	H	I ve II	16
Kerasetin	OH	OH	H	I ve II	16
Galangin-3-metil eter	H	H	OH ₃	II	10,16
Astragalın	H	OH	Cl	I ve II	16
Kerasetin-3-glikozit	OH	OH	Cl	I ve II	16

KALKON

	R	ssp.	Lit.
Isosalipurposid	Cl	I ve II	16

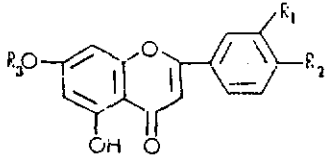
DİĞERLERİ

Seskiterten : Seskiterten lakton (79)

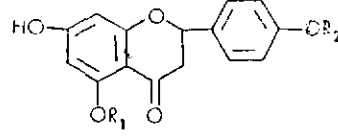
Tablo - 11

H. armenium Üzerinde Yapılan Çalışmalar

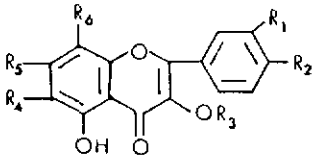
* H.armenium ssp. armenium, ** H. armenium ssp. araxinum.



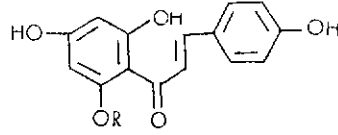
FLAVON	R ₁	R ₂	R ₃	Lit
Apigenin	H	OH	H	13
Luteolin	OH	OH	H	13
Apigenin-7-glikozit	H	OH	Gl	13
Luteolin-7-glikozit	OH	OH	Gl	13



FLAVANON	R ₁	R ₂	Lit
Naringenin	H	H	13
Naringenin-4'-glikozit	H	Gl	13
Helikrisin B (Salipurposid)	Gl	H	13



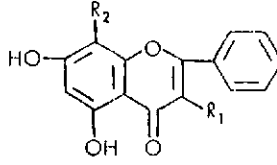
FLAVONOL	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	Lit
Kersetin	OH	OH	H	H	H	H	13
Galangin-3-metileter	H	H	CH ₃	H	OH	H	13
Hansel bileşik B	H	H	H	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	10,30,32



KALKON	H	Lit
Isosalipurposid	Gl	13

Tablo - 12

H. graveolens Üzerinde Yapılan Çalışmalar



FLAVONOL
Gnsfolin

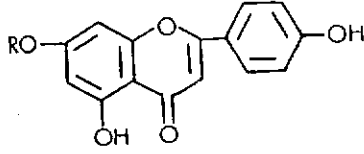


DİĞERLERİ

Triterpen	: Ursolik asit (59,72) Ursolik asit lakton (59,69) α -amirin (59,69) Uvaol (59,69) β -sitosterol (59,60)	Hidrokarbon	: n-parafin (4)
α -piron	: Helipiron (29,66) Metilen-bis-trianetik asit lakton (66) Obtusifolin (66) Italipiron (29) Italidipiron (29) 23-metilitalidipiron (29)	Uçucu Yağ	: (+) α -pinen (51,102) (-) β -pinen (51,102) Nerol (53) Neril asetat (53) Linalol (53) Öjenol (53)
Yağ asiti	: Propiyonik asit (89) i-bütirik asit (89) α -metilbutirik asit (89)	Seskitерpen	: Hentriokontan (62)
Fenolik asit	: Kaprilik asit (62) Kafeik asit (62,71)	Fenil	: 5-m-tokal-7-hidroksifralit (67) 5,7-dimetoksifralit (67)
		β -diketon	: 4-metilnonan-3,7-dion (53) 4,5-dimetiloktan-3,6-dion (53) 2,5-dimetiloktan-4,6-dion (53) 4-metilnonan-3,5-dion (53) 3,5-dimetiloktan-4,6-dion (53) 2,4-dimetilheptan-3,5-dion (53) 4,7-dimetil-6-oktan-3-on (39)

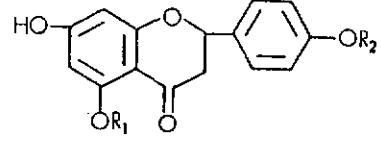
Tablo - 13

H. italicum Üzerinde Yapılan Çalışmalar



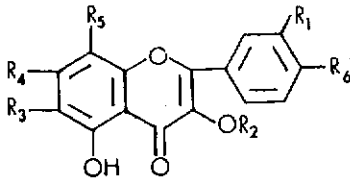
FLAVON

Apigenin
Apigenin-7-glikozit



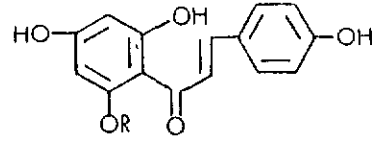
FLAVANON

Naringenin
Naringenin-4'-glikozit
Helikrisin A
Helikrisin B (Salipurposid)



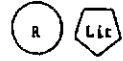
FLAVONOL

Kemferol
Astragalın
Kersetin-3-glikozit
Hansel bilogik B



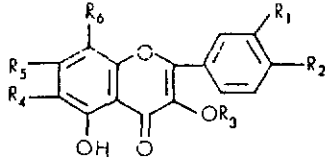
KALKON

Isosalipurposid



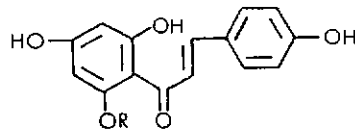
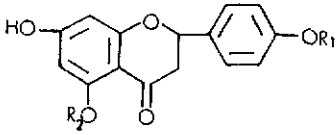
Tablo - 14

H. noeanum Üzerinde Yapılan Çalışmalar



FLAVONOL

	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	Lic
Kemferol	H	OH	H	H	OH	H	9
Kersetin	OH	OH	H	H	OH	H	9
Astragalın	H	OH	Cl [*]	H	OH	H	9
Isoastragalın	H	OH	Cl ^{**}	H	OH	H	11
Tillirozit	H	OH	Cl-A	H	OH	H	9
Hansel bileşik B	H	H	H	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	9,10
Kersetin-3-glikozit	OH	OH	Cl	H	OH	H	11



FLAVANON

	H ₁	R ₂	Lic
Naringenin	H	H	11
Helikrisin A	H	Cl	11
Helikrisin B (salipurposid)	H	Cl	11
Naringenin-5'-glikozit	Cl	H	11

KALKON

	R	Lic
Isosalipurposid	Cl	11

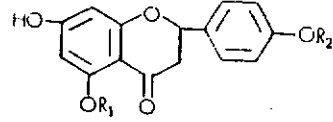
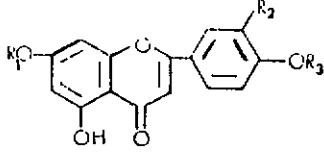
DIĞERLERİ

Kumarin : Skopoletin (9)

Tablo - 15

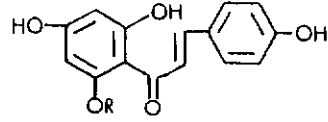
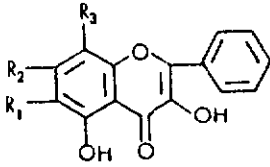
H. orientale Üzerinde Yapılan Çalışmalar

* piranoz formunda ** furanoz formunda A : p-kumarik asit



FLAVON	R ₁	R ₂	R ₃	Lit
Apigenin	H	H	H	12
Luteolin	H	OH	H	12
Apigenin-7-glikozit	Gl	H	H	12
Luteolin-7-glikozit	Gl	OH	H	12
Luteolin-6'-glikozit	H	OH	Gl	12

FLAVANON	R ₁	R ₂	Lit
Naringenin	H	H	12
Helikretin A	Cl	H	12
Helikretin B (Salipurposid)	Cl	H	12
Naringenin-6'-glikozit	H	Cl	12

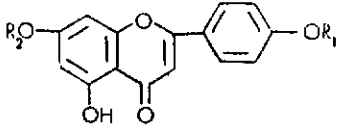


FLAVONOL	R ₁	R ₂	R ₃	Lit
Mansel biyoçik B	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	10

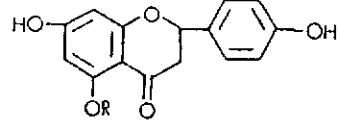
KALKON	R	Lit
Isosalipurposid	Cl	12

Tablo - 16

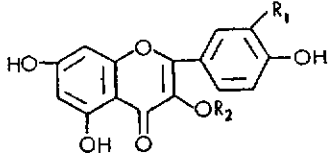
H. pallasii Üzerinde Yapılan Çalışmalar



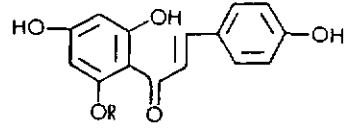
FLAVON	R ₁	R ₂	ssp.	Lit
Apigenin	H	H	I*	14
Apigenin-4'-glikozit	Gl	H	II**	15
Apigenin-7-glikozit	H	Gl	II	15



FLAVANON	R	ssp.	Lit
Naringenin	H	I	14
		II	15
Helikrisin A	Gl	I	14
		II	101
Helikrisin B (Salipurposid)	Gl	I	14
		II	15



FLAVONOL	R ₁	R ₂	ssp.	Lit
Kemferol	H	H	II	15
Karsetin	OH	H	I	14
			II	15
Aetragalin	H	Gl	I	14
			II	15
Karsetin-3-glikozit	OH	Gl	I	14
			II	15



KALKON	R	ssp.	Lit
Isosalipurposid	Gl	I	14
		II	15

DİĞERLERİ

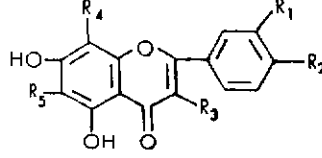
Ftalit	: 5-metoksi-7-hidroksiftalit	II (57,101)
o-piron	: Plikatipiron	I (29)
	Helipiron	I ve II (57)

Tablo - 17

H. plicatum Üzerinde Yapılan Çalışmalar

* H. plicatum ssp. plicatum

** H. plicatum ssp. polyphyllum



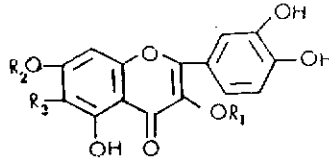
FLAVONOL	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	Lit
Kemferol	H	OH	OH	H	H	58
Kersetin	OH	OH	OH	H	H	58
Gnafalin	H	H	OCH ₃	OCH ₃	H	10,58
3-demetil-6-metoksi- Gnafalin	H	H	OH	OCH ₃	OCH ₃	10,58
Astragalın	H	OH	O-Gl	H	H	58
Kerasetin-4'-glukozit (Spiraeozid)	OH	O-Gl	OH	H	H	58

DİĞERLERİ

Autosiyantin : Pelargonidin-3-glukozit (58)
Peonidin-3-glukozit (58)

Tablo - 18

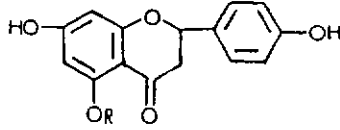
H. sanguineum Üzerinde Yapılan Çalışmalar



FLAVONOL

- Kerasetegetol-7- glikozit
- Kerasetegetol-7-diglikozit
- Kerasetol-7-arabinoksilogalaktozid

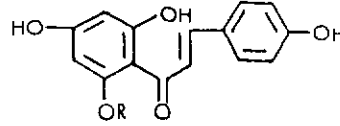
R ₁	R ₂	R ₃	Lit
H	Cl	OH	74
H	Cl-Cl	OH	74
H	Ar-Ks-Cal	OH	74



FLAVANON

- Helikrisin A
- Helikrisin B (Satiapurposid)

R	Lit
Cl	31
Cl	31



KALKON

- Isosalipurposit

R	Lit
Cl	34

DİCENLERİ

Asetozenon	: p-Alkoksi-metaalkohilasetofenon (50,78)	Triterpan	: Ursolik asit (78,91)
	4-Hidroksil- 3-(isopent-2-il)-asetofenon (50,78)		Oleanolik asit (78)
Uçucu Yağ	: α -pinen (25,73)		Uvaol (78)
	β -pinen (73)		Kelitrodil (78)
	Kamfen (73)		B -sitosterol (78)
	Mirsen (73)		Stigmasterol (78)
	4,7 - dimetil-6-okten-3-on (73)		B -sitosterol- β -D-glikopiranoz (55,70)
	Linalol (73)		Stigmasterol - B -glikozit (55,70)
	Geraniol (73)		
	Üjenol (73)	α -piron	: 20-(3,3'-dimetilallil)-lcalipiron (29)
	Tarpinenol (7) (73)	Benzofuran	: Dihidrobenzofuran (49,91)
	Meril asetat (7) (73)	Yağ asit	: Linoleik asit (50,78)
	Merol (7) (73)		Palmitik asit (50,78)
Kumarin	: 2,2-Dimetil-3-hidroksi-6-asetilkroman (26,78)		Oleik asit (50,78)
	6-asetil-2 (3-hidroksiiisopropenil) kroman (26)		

Tablo - 19

H. stoechas Üzerinde Yapılan Çalışmalar

(?) Araştırmacılar bu maddelerin varlığını şüpheli olarak belirtmişlerdir.

FARMAKOLOJİK ETKİLERİ VE KULLANILIŞI

Flavonoitler, diüretik, safra düzenleyici (10), kum ve böbrek taşı düşürücü, terletici, antispazmodik ve P vitamini etkilerinden dolayı kullanılırlar (52,60). Flavonoit yönünden zengin olan Helichrysum türleri de benzer etkilere sahiptirler (2,3,16).

Anadoluda, böbrek taşlarını düşürücü olarak, infüzyon veya dekoksasyonları yemeklerden önce bir fincan içilir. Bu şekildeki kullanılışa on gün devam edilir. On gün aradan sonra bu kullanılış tekrarlanır (3).

H. arenarium kapitulumları da çay olarak kullanılmaktadır (10). Helichrysum arenarium'un çiçekleri İsviçre, S.S.C.B. (10,16) ve Polonya Farmakopelerinde kayıtlıdır (7). Bu bitkinin infüzyonu, dekoksyonu ve taşıdığı flavonoitlerin farmakolojik etkileri ayrı ayrı incelenmiş ve şu sonuçlara ulaşılmıştır: Apigenin, astragalin, naringenin-5-glikozit gibi flavonoitler ve bunların galenik preparatlarının akut safra fistülü olan sıçanda safra sekresyonunu artırdığı ve izolekobay safra kesesinde ve sıçan ve tavşanların barsaklarından alınan düz kaslarda spazmolitik etki gösterdiği bulunmuştur. Ancak flavon taşımayan ekstrelerin safra sekresyonuna etkileri olmadığı halde düz kaslara etkili oldukları görülmüştür. Hem flavonoitler hem de bunların galenik preparatlarının kan basıncını azaltıcı etkileri ve kısa süren diürez yaptıkları, ancak bu etkinin sadece intravenöz uygulamadan sonra meydana geldiği gösterilmiştir. Bu bulgular flavonoit varlığı ile farmakolojik etki arasında bir bağlantı olduğunu açıkça göstermektedir (87). Bu bitkiden elde edilen kersetinin karaciğerin detoksifikasyon gücünü artırdığı ve antienflematuar aktivitede olduğu belirtilmiştir (76). İzole edilen salipurposid, astragalin karışımı da spazmolitik aktivite ve zayıf kollagog etki gösterir (44,87).

H. arenarium, kronik kolesistitte, böbrek ve safra taşlarına karşı ve anti-hepatoksik olarak kullanılmaktadır (42,88).

H. italicum'un infüzyonu diüretik, böbrek taşı düşürücü olarak, allerjik deri hastalıklarında, safra hastalıklarında ve migrende kullanılmaktadır (68,88). Bu bitki Grek ve Romalılar zamanında allerjik hastalıkların (konjuktivit, egzema, psoriazis ve bronşial astım) tedavisinde kullanılmıştır. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda hipofiz ve sürrenal bezlere etkili olduğu, antiflojistik aktivite gösterdiği ve bu etkilerinde taşıdığı steroidal terpenlerin rol oynadığı bulunmuştur (59). Avrupa'da bu bitkinin dekoksasyonu halk arasında ekspektoran, antitüssif, koloretik, antienflamatuar ve antiallerjik olarak kullanılmaktadır (53).

H. stoechas kapitulumlarından hazırlanan infüzyon diüretik ve taş düşürücü olarak halk arasında kullanılmaktadır (88).

H. graveolens kapitulumlarının infüzyonu da diüretik, böbrek taşı düşürücü olarak, ayrıca astım ve karaciğer hastalıklarında kullanılmaktadır (13,88).

D E N E Y S E L K I S I M

M A T E R Y A L

Helichrysum pamphylicum Davis-Kupicha bitkisi 1981-1983 yıllarının 15-25 Temmuz tarihleri arasında Antalya, Serik-Taşagıl civarında, yol kenarındaki yamaçlardan toplanmıştır. Bitkinin kapitulumları ayrılmış, gölgede kurutulup toz edilmiş ve kimyasal çalışmalarda kullanılmıştır.

Kimyasal çalışmalar, bitkinin eterli ve etil asetatlı ekstralarında yapılmıştır. Toplandığı yıl ve bölgelere göre kromatografik karşılaştırma ile farklılık olmadığı tesbit edilmiş, bundan sonra, değişik zamanlarda toplanan materyal karıştırılarak kullanılmıştır.

Y Ö N T E M

Helichrysum pamphylicum bitkisinin flavonoidlerinin ekstraksiyonu, tanımı, izolasyonu ve yapı tayini ile ilgili pratik uygulamalar bu kısımda verilmiştir. İnce tabaka ve kağıt kromatografisi çalışmalarında kullanılan sistemler konular ilerledikçe tekrarlardan kaçınmak gayesiyle tablolar haline getirilmiş (Tablo 20,21) ve yöntem kısmında ilgili konuların başlangıcında verilmiştir. Bu tablolarda ön denemelerimizde uygun sonuç alınan ve çalışmalarımız sırasında kullanılan sistemler bulunmaktadır.

ADSORBAN

Sistem	Lit
SİLİKAJEL (Kieselgel G Tip 60 Merck 7731)	
1 Toluen: etil asetat:metanol (8:6:1)	23,86
2 Toluen: etil asetat:metanol (4:2:2)	23,86
3 Toluen: kloroform:aseton (40:25:35)	38,85
4 Benzen:aseton (8:2)	14,15
5 Benzen:etanol (2:1)	9,14,15
6 Benzen:piridin:amonyak (80:20:1)	38
7 Kloroform:metanol:su (65:25:4)	63
8 Etil asetat:metanol:su (100:16,5:13,5)	63
SELÜLOZ (Cellulose DSF-0, Camag)	
9 Asetik asit:su (15:85)	24
10 Asetik asit:su (30:70)	24
11 Asetik asit:su (60:40)	24
POLİYAMİT (Polyamide 6 Baker TLC 605470)	
12 Toluen: 2- butanon:metanol (60:25:15)	100
13 Toluen:metanol: 2-butanon :asetilaseton (40:30:20:10)	100
14 Toluen:dioksan:metanol (8:1:1)	39
KAĞIT (Whatman 1, 3MM)	
15 n-butanol:asetik asit:su (4:1:5,üst faz)	28,56
16 t-butanol:asetik asit:su (3:1:1)	38,51
17 Asetik asit:su (15:85)	22,37
18 Asetik asit:su (30:70)	22,37
19 Asetik asit:su (60:40)	22,37
20 Su	37
21 d.Hidroklorik asit:asetik asit:su (3:30:10)	23,24

REVELATÖRLER

UV (366 nm)

Amonyak Buharları

Difenilborik asit etanolamin kompleksi (NA,NEU, Naturstoffe) (% 1-5)

Sülfürik asit (% 30) (110°C de 10 dakika)

Tablo - 20

Araştırmamız Sırasında Kullanılan Kromatografi Sistemleri

P-KUMARİK ASİT	
ADSORBAN, KAĞIT	
Sistem	Lit
İTK, SİLİKAJEL (Kieselgel G Tip 60 Merck 7731)	
22 Toluen:kloroform:aseton (40:25:35)	85
23 Kloroform:metanol (9:1)	21
KK, KAĞIT (Whatman 1)	
15 n-butanol:asetik asit:su (4:1:5, üst faz)	28
24 Benzen:asetik asit:metanol (45:4:8)	90
REVELATÖRLER	
UV (366 nm)	
Demir-III-klorür (% 1)	
Sülfürik asit (% 30)	
OZLAR	
ADSORBAN, KAĞIT	
Sistem	Lit
İNEN-DAMLAYAN KAĞIT KROMATOĞRAFISI, KAĞIT (Schleicher-Schüll 2043 aMg1)	
15 n-butanol:asetik asit:su (4:1:5, üst faz)	28,37
25 n-butanol:piridin:su (9:5:4)	21
İTK, SELÜLOZ (Cellulose DSF-0, Camag)	
26 Etil asetat:piridin:su (12:5:4)	21
27 n-butanol:benzen:piridin:su (5:1:3:3)	37
REVELATÖRLER	
Anilin hidrojen ftalat (110° C da 10-15 dakika)	
β- Naftilamin (110° C de 10-15 dakika)	

Tablo - 21

p-Kumarik Asit ve Ozların Teşhisinde Kullanılan Kromatografi Sistemleri

EKSTRAKSİYON

Toz edilmiş materyal, önce Soxhlet cihazında petrol eteri (40° - 60°C) ile ekstre edilmiştir. Ekstraksiyonun tamamlanıp, tamamlanmadığı kontrol edildikten sonra petrol eterli fazlar birleştirilip yoğunlaştırılmış, klasik (siyanidin) ve kromatografik yöntemlerle bu ekstrenin flavonoit taşımadığı tesbit edilmiştir. Petrol eteri ile ekstraksiyon yan maddelerin bir kısmından kurtulmak için çalışmalarımız sırasında mutlaka tatbik edilmiştir. Böylece apolar maddelerden temizlenen materyal, açık havada kurutulduktan sonra Soxhlet cihazında, her defasında saf solvan kullanılarak, 80° lik etanol ile ekstre edilmiştir. Ekstraksiyonun yeterli olup olmadığı kromatografik olarak kontrol edilmiştir. Etanollü ekstrakt alçak basınç altında kıvamlı bir ekstre elde edilmeye kadar uçurulmuştur.

Etanollü ekstrakt, sıcak su ile ekstre edilmiş, elde edilen sulu ekstrakt, sırasıyla; kloroform, eter, etil asetat ve su ile doyurulmuş n-butanol ile ekstre edilmiştir. Ekstraksiyonların tamamlanıp tamamlanmadığı kromatografik olarak kontrol edilmiştir (Tablo-22).

300 g materyal petrol eteri (40° - 60°C) ile bir gece maserasyona bırakılır. Soxhlet cihazında 30 saat süreyle ekstre edilir. Elde edilen petrol eterli ekstraktlar birleştirilir, alçak basınç altında yoğunlaştırılır (petrol eterli ekstre). İlk ekstraksiyondan sonra, açık havada kurutulan materyal, 80° lik etanol ile 24 saat maserasyona bırakılır, Soxhlet cihazında 80° lik etanolla 24 saat ekstre edilir, ekstraktlar birleştirir, alçak basınç altında kuruluğa yakın yoğunlaştırılır (etanollü ekstre).

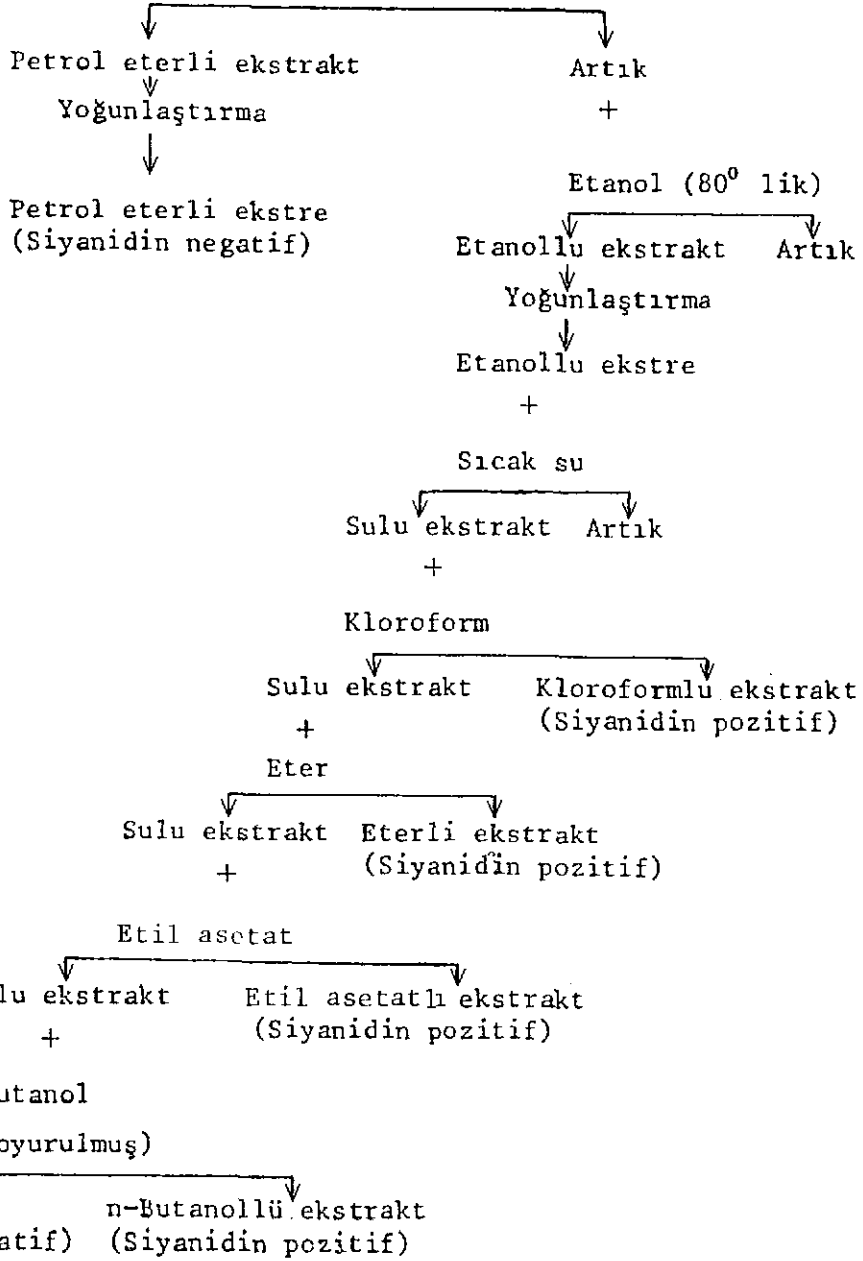
Etanollü ekstre sıcak suda çözülür, sıcakken süzülür

Helichrysum pamphylicum

Kapitulumlari

+

Petrol eteri (40°-60° C)



Tablo - 22

H. pamphylicum'dan Flavonoitlerin İzolasyonu İçin
Kullanılan Yolun Şeması

ve çökelti sıcak su ile renksiz süzüntü elde edilinceye kadar yıkanır. Sulu ekstraktlar birleştirilir, belli hacme kadar yoğunlaştırılır. Yoğunlaştırılmış sulu ekstrakt eşit hacimde kloroform ile mekanik çalkalayıcıda renksiz çözelti elde edilinceye kadar ekstre edilir. Kloroformlu ekstraktlar birleştirilir, susuz sodyum sülfat ile suyundan kurtarılır, yoğunlaştırılır (kloroformlu ekstre). Kloroformla ekstre edildikten sonra kalan sulu kısım önce eterle, ardından etil asetatla, en son su ile doyurulmuş n-butanol ile ekstre edilir. Bu ekstraksiyonlar kloroformla yapılan ekstraksiyon ile aynı şekilde ve şartlarda yapılır. Sonuç olarak "eterli ekstre", "etil asetatlı ekstre" ve "n-butanollü ekstre" ler elde edilmiş olur.

Kloroform, eter, etil asetat ve n-butanol ekstralarının flavonoit taşıyıp taşımadığı klasik ve kromatografik teşhis reaksiyonları ile kontrol edilmiş ve hepsinin flavonoit yapısında maddeler taşıdığı tesbit edilmiştir. Kloroformlu ekstre ile eterli, n-butanollü ekstre ile etil asetatlı ekstralar kromatografik olarak benzerlik göstermektedir. Bu yüzden bu ekstralar, eterli ve etil asetatlı olanlarla gerektiğinde birleştirilmiştir.

ETERLİ EKSTRE ÜZERİNDE ÇALIŞMALAR

Teşhis

Eterli ekstrede flavonoit bulunup bulunmadığı klasik teşhis reaksiyonlarının yanında ince tabaka ve kağıt kromatografisi yöntemleri kullanılarak tesbit edilmiştir. Kromatografik çalışmalarda sistem 1, 2, 4, 7, 8, 15, 16, 18 ve 19 teşhis amacıyla kullanılmıştır. Değişik sistemlerin ve revelatörlerin kullanılması sonucu eterli ekstrenin kromatogramlarında 12 leke bulunduğu tesbit edilmiştir. Bu lekelerden flavonoit karakterine sahip olanlardan 3'ü yoğun olarak görülmüştür. Diğer taraftan bu lekelerle tekabül eden maddelerden biri kloroform diğeri etil asetat ekstrelerinde de bulunmaktadır. Eterli ekstrede bulunan flavonoitleri diğer maddelerden temizlemek ve ayrı ayrı elde edebilmek için değişik kromatografik yöntemler denenmiştir. Bu yöntemlerin ayırımı sağlamış olanları kolon kromatografisi başlığı altında verilmiştir.

Kolon Kromatografisi

Ön Temizleme

Eterli ekstre silikajel kolonda kloroform/metanol solvan sistemi ile temizlenmiştir. Kolondan alınan farksiyonlar silikajel kaplı plaklar kullanılarak başlangıçta sistem 1 ve 2 daha sonra sistem 7 ve 8 ile kromatografik olarak kontrol edilmiştir. Böylece apolar ve polar maddeler için yapılarına uygun solvan sistemlerinin kullanılması sağlanmıştır.

Ön Temizlemede Kullanılan Kolon Sistemi (K 1)

Adsorban	: Kieselgel 60 (0,063-0,2 mm) Merck 7734
Solvan sistemi	: Kloroform: Metanol (% 2,5,10,20,50,75, metanol)
Fraksiyon	: 75 - 100 ml
Kolon Boyutları	: 4,5 X 130 cm
Elüsyon hızı	: 1,5 - 2 ml/dakika
Materyal	: Eterli ekstre

K o l o n h a z ı r l a n m a s ı : 250 g silika-jel, yeterli miktarda kloroform ile süspansiyon haline getirilir. Kolona doldurulur. 8 g kurutulmuş eter ekstresi metanolde çözülür, 25 g silikajel ile karıştırılır, alçak basınçta kuruluğa kadar uçurulur. Kolonda bulunan solvan adsorbanının üst kısmında bir kaç mililitre kalana kadar akıtılır. Silikajele emdirilip kurutulan ekstre bir cam huhi yardımıyla kolona aktarılır, homojen olarak yerleşmesi sağlandıktan sonra kloroformla elüsyona başlanır. Fraksiyonlar silikajel G kaplı plaklarda sistem 1,2,7,8 kullanılarak kontrol edilir.

Kolon kromatografisi ile ön temizleme işleminden sonra elde edilen fraksiyonlar incelendiğinde, flavonoit olabilecek üç lekenin (F1, F2, F3) bulunduğu görülmüştür. Bunlardan F3 diye numaralanan maddenin etil asetat ekstresinde daha fazla bulunduğu, F1 in ise kloroformlu ekstrede de bulunduğu tesbit edilmiştir. Bu yüzden F1 maddesi için kloroformlu ekstreden de yararlanılmıştır.

F1 Maddesinin Ayırımı

Bu maddenin temizlenmesinde önce poliyamit daha sonra sefadeks dol-

durulmuş kolonlar kullanılmıştır.

F1 Maddesinin Ayırımında Kullanılan Kolon Sistemi (K2)

Adsorban	: Poliyamit (MN Polyamid SC 6,0,05-0,15 mm)
Solvan sistemi	: Su, su:metanol (% 1,2,5,10,20,50,75), metanol
Fraksiyon	: 10 ml
Kolon boyutları	: 2,5 X 50 cm
Elüsyon hızı	: 1 ml/dakika
Materyal	: F1 flavonoidini taşıyan fraksiyonlar

K o l o n H a z ı r l a n m a s ı : 20 g poliyamit yeterli miktar su ile karıştırılır, mekanik çalkalayıcıda bir saat kadar çalkalanır, elde edilen homojen karışım cam kolona doldurularak, poliyamitin şişmesi ve kolona yerleşmesi için 10-12 saat süreyle su geçirilir. F1 flavonoitini taşıyan yoğun çözelti (2-3 ml) kolona tatbik edilir. Elüsyon şu sırayla yapılır; su, su/metanol, metanol. Fraksiyonlar silikajel G kaplı plaklar kullanılarak 1, 2, 7, 19 nolu sistemlerle kontrol edilir. Su/metanol (% 75) alınan fraksiyonlar F1 maddesini kirli olarak taşır.

F1 Maddesinin Saflaştırılmasında Kullanılan Kolon Sistemi (K3)

Adsorban	: Sephadex LH-20 (Pharmacia Fine Chemicals AB 25-100 µ)
Solvan sistemi	: Metanol
Fraksiyon	: 5 ml
Kolon Boyutları	: 2 X 50 cm
Elüsyon hızı	: 1 ml/dakika
Materyal	: F1 flavonoiti

*K o l o n H a z ı r l a n m a s ı : 15 g sefa-
dekse yeterli miktar metanol ilâve edilip, şişmesi
sağlanır. Hazırlanan adsorban cam kolona doldurulur.
F1 flavonoidinin metanoldeki çözeltilisi (1-2 ml) ko-
lona tatbik edilir. Metanolla elüe edilir. Fraksi-
yonlar 1,2,7,19 nolu sistemler ile kontrol edilir.
Ayrıca kolona UV (366 nm) tatbiki ile maddenin ko-
londa ilerlemesinin görülmesi sağlanır. Böylece F1
maddesi saf olarak elde edilir.*

F2 Maddesinin Ayırımı

*F2 maddesinin temizlenmesinde iki yol kullanılmıştır. Bun-
lardan birinde toplanan fraksiyonlar kristallenmeye bırakılmış,
elde edilen kristaller sefadeks doldurulmuş kolondan geçirilerek
saflaştırılmıştır. Diğerinde ise ; F2 maddesini taşıyan fraksiyon-
lar önce poliyamit ardından sefadeks doldurulmuş kolonlarda elüs-
yona tabi tutularak saflaştırılmıştır. Her iki şekilde de elde e-
dilen F2 maddesinin kristallendirilerek son temizlemesi sağlan-
mıştır.*

*F2 maddesini taşıyan fraksiyonlar kuruluğa kadar u-
çurulduktan sonra, kloroform/metanol (9:1) karışımın-
da çözümlü, soğukta kristallenmeye bırakılır. Elde
edilen kristaller süzülerek alınır, metanolde çözülür,
sefadeks kolona (K3) tatbik edilir. Fraksiyonlar sis-
tem 7,8,18 ile kontrol edilir. F2 maddesinin bulunduğu
fraksiyonlar uçurulur, kloroform/metanol (9:1) karı-
şımında çözümlü soğukta kristallendirilir.*

Yapı Tayini

İzole edilen maddeler flavonoit yapısındadır. Bu maddelerin yapılarının tayininde öncelikle ultraviyole spektrometrisinden yararlanılmıştır. Eğer gerekiyorsa infrared, nükleer magnetik rezonans (NMR), C 13 NMR spektroskopik analizleri ve değişik hidrolizler uygulanmış, bütün bulgular bir arada değerlendirilerek maddelerin yapıları kesin olarak tayin edilmiştir.

F1 Maddesi

Saf olarak elde edilen F1 maddesinde, asit hidroliz, klâsik teşhis reaksiyonları, kromatografik, UV ve IR spektrometrik analizleri yapılmıştır. Asit hidroliz sonunda yapılan kromatografik (sistem 4, 15, 19, 21, 25, 27) kontrolde oz tesbit edilememiş ve maddenin hidroliz ürünü ile aynı R_f de leke verdiği yani aglikon yapısında olduğu gösterilmiştir.

F2 Maddesi

Saf olarak elde edilen F2 flavonoidi için ilk kademede, hidroklorik ve sülfürik asitlerle, asit hidroliz yapılmıştır. Her iki asitle de aynı sonuçlar alınmıştır. Hidrolizin tamamlanıp tamamlanmadığı kromatografik olarak kontrol edilmiştir. Hidroliz sonucu elde edilen aglikon, ortamdan eter ve etil asetatla ekstre edilmiş, eter ve etil asetatlı kısımlar birleştirilip yoğunlaştırılmış ve bir poliyamit kolondan geçirilerek temizlenmiştir. Sulu kısım ise ozların teşhisinde kullanılmıştır.

Elde edilen aglikonun UV ve IR spektrometrik ve kromatografik analizleri yapılmış, yapısı tayin edilmiştir. Hidroliz sonucu elde edilen sulu kısım ise nötrale edildikten sonra taşıdığı ozlar kağıt ve ince tabaka kro-

matografisi ile analiz edilmiştir. Yapıda bulunduğu tesbit edilen asidin tayini için iki değişik alkali hidroliz yöntemi uygulanmıştır. Isı tatbiki ile yapılan alkali hidrolizde, yapıdaki oz ve asidin ayrı ayrı, oda ısısında olana ise sadece asidin açığa çıkması sağlanmış ve hem asit, hem de maddeden asit ayrıldıktan sonraki yapı ayrı ayrı elde edilmiştir. Bulduğu tesbit edilen asidin yapısı kromatografik, IR ve UV spektrometrik analizlerle tayin edilmiştir.

A s i t H i d r o l i z : 70-80 mg F2 maddesi, 10 ml metanolde çözülür, 75 ml 1 N sülfürik asit (veya 2 N hidroklorik asit) ilâve edilip kaynar su banyosunda geri çeviren soğutucu altında ısıtılır. Hidrolizin tamamlanıp tamamlanmadığı 20-30 dakikalık aralarla alınan örneklerin kromatografik (sistem 1, 2, 7, 8) kontrolü ile yapılır. Hidroliz tamamlandıktan sonra, sarı renkli hidrolizat soğutulur, meydana gelen çökelti ayrılır; çökme olmamışsa hidrolizat önce eter, sonra etil asetatla (genellikle üçer defa) ekstre edilir. Ekstraktlar birleştirilir, susuz sodyum sülfatla suyundan kurtarılır, alçak basınçta kuruluğa kadar uçurulur. Elde edilen aglikon poliyamit kolona tatbik edilir. Sulu kısım ise oz teşhisinde kullanılır.

Aglikonun Saflaştırılması : 3 X 1 cm bir poliyamit kolon hazırlanır, aglikon 0,5-1 ml metanolde çözülüp kolona tatbik edilir. Nötr oluncaya kadar su geçirilir, daha sonra metanol ile elüe edilir. Alınan fraksiyonlar 1, 2, 15, 19 nolu sistemler ile kontrol edilir. Elde edilen saf aglikonun yapısı daha önce açıklandığı şekilde tayin edilir.

Ozların Teşhisi : Aglikon ayrıldıktan sonra kalan sülfürik asitli hidrolizata küçük miktarlarda baryum

karbonat (hidroklorik asit kullanılmışsa gümüş karbonat) manyetik karıştırıcı ile karıştırılarak ilâve edilir. Universal indikatör kağıdı ile pH = 7 ye ayarlanır. Çöken baryum sülfat (veya gümüş karbonat), mavi bantlı süzgeç kağıdından (Schleicher-Schüll no 589) berrak çözelti elde edilinceye kadar bir kaç defa süzülür. Süzüntüye eşit hacimde n-butanol ilâve edilip alçak basınç altında kuruluğa kadar dikkatle uçurulur. Artık 1 ml piridinde çözülür, oz çözeltisi elde edilir.

F2 flavonoidinin taşıdığı ozun tayininde daha önceki araştırmalarımızda iyi sonuçlar alınan solvan sistemleri ve revelatörler kullanılmıştır (21).

F2 oz numunesi için kağıt kromatografisinde 15,25 nolu sistemler kullanılır. Kağıt kromatografisi uygulanan kromatografi kağıtlarının uçları düzgün sürüklenmeyi ve damlamayı sağlamak amacıyla 2 X 2 cm boyutlarında diş şeklinde kesilir. Numune ve şahit maddeler 30 X 50 cm boyutlarındaki bu kağıtlara tatbik edilir, 20 X 50 X 50 cm boyutlarındaki kromatografi tanklarında 2-3 saat doymaya bırakılır, ardından sürüklenir. Sürüklenme tamamlandıktan sonra (sistem 15 için 48 saat, sistem 25 için 24 saat) çıkarılır, açık havada kurutulur, revele edilir, belirlenen lekeler şahit maddelerle karşılaştırılır. Selüloz kaplı plaklar kullanıldığında 26,27 nolu sistemlerle gerekli kromatografik teşhis yapılır (Sürüklenme süreleri : sistem 26 için 1,5 saat; sistem 27 için 3 saat) (Tablo-21).

A l k a l i H i d r o l i z : (ısı tatbiki ile) : 30 mg F2 maddesi, 5 ml metanolde çözülüp üzerine 25 ml % 0,5 sodyum hidroksit ilâve edilir, kaynar su banyosunda geri çeviren soğutucu altında ısıtılır. Hidro-

lizinin tamamlanıp tamamlanmadığı silikajel G kaplı plaklarda 2 ve 8 nolu sistemler kullanılarak kontrol edilir. Hidroliz tamamlandıktan sonra çözelti 0,1 N hidroklorik asit ile Universal indikatör kağıdı kullanılarak pH = 7 olacak şekilde nötralleştirilir. Sulu çözelti sırası ile üçer defa eter ve etil asetatla ekstre edilir. Sodyum sülfatla suyundan kurtarılan ekstraktlar yoğunlaştırılır, eterli kısım 3,15,23,24 nolu sistemlerle, etil asetatlı kısım ise 2 ve 8 nolu sistemler kullanılarak şahit maddelerle karşılaştırılır (Tablo-20,21). Ekstraksiyonlar sonucu geriye kalan sulu kısım, süzülür, yoğunlaştırılır ve "ozların teşhisi" nde olduğu gibi kromatografik analize tabi tutulur.

A l k a l i H i d r o l i z (oda ısısında) : 10 mg F2 maddesi 3 ml etanolde çözülür, üzerine 15 ml alkol-lü potas ilâve edilir, hidrolizinin tamamlanıp tamamlanmadığı sistem 8 kullanılarak kontrol edilir. Hidroliz tamamlandıktan sonra çözelti 0,1 N hidroklorik asitle nötralleştirilir. Hidrolizat eter ve etil asetatla ekstre edilir, eterli ekstraktlar birleştirilir, 3 nolu sistemle; etil asetatlı ekstraktlar da birleştirildikten sonra 7 ve 8 nolu sistemler kullanılarak şahit maddelerle karşılaştırılır (Tablo-20,21).

ETİL ASETATLI EKSTRE ÜZERİNDE ÇALIŞMALAR

Teşhis

Etilasetatlı ekstrede flavonoit varlığı klasik teşhis reaksiyonları, ince tabaka ve kağıt kromatografisi yöntemleri kullanılarak tesbit edilmiştir. Kromatografik çalışmalarda sistem 5, 7, 13, 15, 16, 17, 18, 19 denenmiştir. Bunlardan en iyi ayırım yapan seçilerek çalışmalarımızda kullanılmıştır. Etil asetatlı ekstre, 7 ve 8 nolu sistemler kullanılarak incelendiğinde kromatogramlarda 10 leke bulunduğu tesbit edilmiştir. Bunlardan dördü flavonoit yapısının özelliklerini göstermektedir. Bu lekelerden birinin daha önce eter ekstresinden elde edilen F2 maddesi ile aynı olduğu tesbit edilmiştir. Diğer 3 lekeden ikisinin verdiği renk şiddeti ancak yoğun tatbikler sonucu elde edilebilmiştir. Dolayısıyla materyaldeki miktarları düşük olarak değerlendirilmiştir. F3 diye numaralanan madde ise ekstrede yoğundur. Bu sebepten bu ekstrede sadece F3 maddesi izole edilmiştir.

Etil asetatlı ekstrede bulunan flavonoitleri diğer maddelerden temizlemek ve ayrı ayrı elde edebilmek için değişik kromatografik yöntemler denenmiştir. Bu yöntemlerden iyi ayırım sağladığı için çalışmalarımız sırasında kullanılmış olanlar kolon kromatografisi başlığı altında verilmiştir.

Kolon Kromatografisi

Ön Temizleme

Etil asetatlı ekstre silikajel kolonda benzen/etanol solvan sistemi ile temizlenmiştir. Kolondan alınan fraksiyonlar sistem 5,8 ile kontrol edilmiştir.

Ön Temizlemede Kullanılan Kolon Sistemi (K4)

Adsorban	: Kieselgel 60 (0,063-0,2 mm) Merck 7734
Solvan sistemi	: Benzen/etanol (% 1, 2, 5, 10, 20, 25, 50, 75, 100)
Fraksiyon	: 75-100 ml
Kolon boyutları	: 4,5 X 130 cm
Elüsyon hızı	: 1,5 - 2 ml/dakika
Materyal	: Etil asetatlı ekstre

K o l o n H a z ı r l a n m a s ı : 400 g silikajel yeterli miktarda benzenle süspansiyon haline getirilip, kolona doldurulur, 13 g kurutulmuş etil asetat ekstresi metanolde çözülür, 40 g silikajel ile karıştırılır, alçak basınçta kuruluğa kadar uçurulur. Kolonda bulunan solvan adsorbanın üst kısmında bir kaç ml kalana kadar akıtılır. Silikajele emdirilip kurutulan ekstre bir cam huni yardımıyla kolona aktarılıp homojen olarak yerleşmesi sağlanır. Benzenle elüsyona başlanır. Fraksiyonlar 5,8 nolu sistemlerle kontrol edilir.

F3 Maddesinin Ayırımı

F3 maddesinin temizlenmesinde sırasıyla poliyamit doldurulmuş kolon, preparatif kağıt kromatografisi ve sefadeks doldurulmuş kolondan yararlanılmıştır.

F3 maddesinin poliyamid kolonda (K2) sistemi kullanılarak ilk saflaştırması yapılır. Fraksiyonlar 8 ve 19 nolu sistemlerle kontrol edilir. Benzer fraksiyonlar birleştirilir ve preparatif kağıt kromatografisi

ve sistem 19 kullanılarak ikinci temizleme işlemi yapılır.

F3 Maddesinin Ayırımında Kullanılan Kağıt Kromatografisi Yöntemi (S. 19)

Kağıt : Whatman 3 MM
Solvan sistemi : Asetik asit : su (60:40)
Revelatör : Amonyak buharları, UV (366 nm), NA
Yöntem : Çıkan kağıt kromatografisi
Materyal : F3 taşıyan flavonoit çözeltisi

20 X 30 cm boyutlarındaki kağıtlara 70⁰ lik etanolde çözülmüş F3 maddesini taşıyan flavonoit fraksiyonu band halinde tatbik edilir. Solvan sistemi ile, bir gece doyurulmuş kromatografi tankında, sürüklenir. Sürüklenme bitiminde kağıtlar çıkarılır, kurutulur, F3 maddesine ait band (UV de 366 nm de kahverengi olarak görülür) işaretlenir. Ayrıca kağıttan boyuna kesilen bir şerit NA reaktifi ile muamele edilir ve işaretlenen bandın yerinin uygunluğu kontrol edilir. Belirlenen band kesilir, ufak parçalara bölünür, metanol ile ekstre edilir. Ekstraksiyona renksiz çözelti elde edilinceye kadar devam edilir, ekstraktlar birleştirilir, mavi bantlı süzgeç kağıdından(Schleicher-Schüll no 589) süzülür, berrak süzüntüler birleştirilir, yoğunlaştırılır. Yoğun ekstre sefadeks kolona (K3) tatbik edilir. Fraksiyonlar 8 ve 19 nolu sistemler ile takip edilir, böylece F3 maddesi saf olarak elde edilmiş olur.

F3 Maddesinin Yapı Tayini

İzole edilen F3 flavonoitinin yapısının tayininde öncelikle UV spektrometrisinden yararlanılmıştır. Ayrıca madde hidroliz edilmiş aglikon ve bağılı oz tayin edilmiş; hidrolizden önce ve sonra alınan IR spektrumları şahit madde ile mukayese edilerek bulgular değerlendirilmiştir. Bu maddenin asit hidrolizi F2 maddesinden farklı olarak hidroklorik asitle yapılmıştır. Ayrıntı F2 maddesinde "asit hidroliz" başlığı altında verildiği için bu kısımda tekrarlanmamıştır.

B U L G U L A R

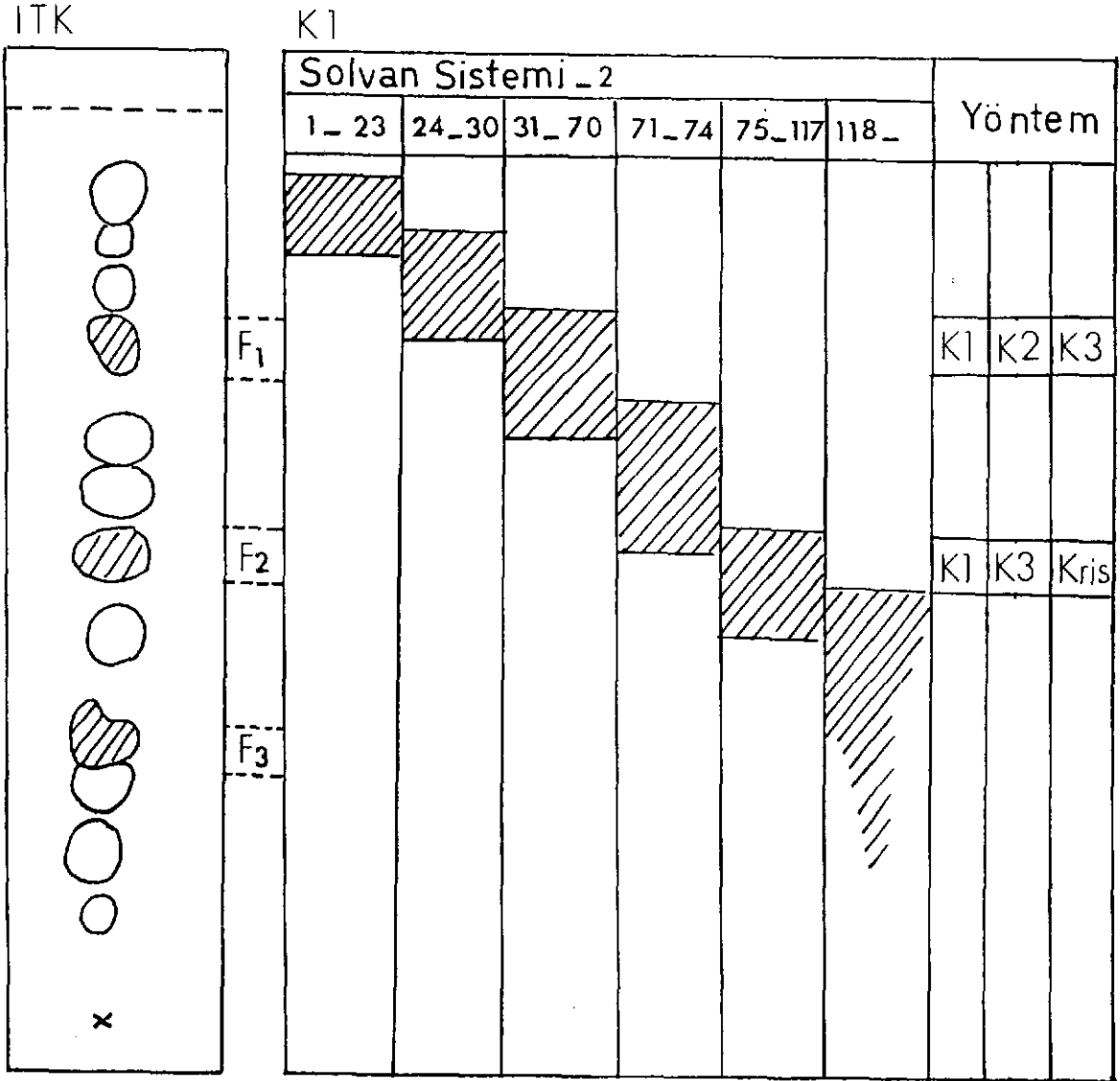
B U L G U L A R

Eter ve etil asetatlı ekstrelerde bulunan flavonoit yapısındaki maddeler üzerindeki araştırmamızın bulguları aşağıdaki sıraya göre sunulmuştur : İzolasyon, teşhis, yapı tayini. Bu ekstrelerden izole edilen aglikon ve flavonozitlerin yapılarının aydınlatılması ile ilgili bilgiler, yapının özelliğine bağlı olarak, alt başlıklar halinde verilmiştir. Bulgular açıklanırken; sonuçların elde edilmesini sağlayan işlemlerin yapılışı, materyal ve yöntemde verildiği için tekrarlanmamıştır.

ETERLİ EKSTRE

İzolasyon

Eterli ekstrede bulunduğu kromatografik olarak tesbit edilen flavonoitler, diğer maddelerden kolon kromatografisi ile kısmen temizlenmiştir. Şekil 5'de eterli ekstrenin ince tabaka kromatografisi ve ön temizleme işlemi ile ilgili fraksiyonlama gösterilmiştir.



Şekil - 5

Eter Ekstresindeki Flavonoitlerin Kromatografik Ayırımı

ITK (İnce Tabaka Kromatografisi), Adsorban : Kieselgel G tip 60 (Merck 7731),

Solvan sistemi: Toluen:Etil asetat:metanol (4:2:2)

F1 Maddesi

F1 maddesi siyanidin reaksiyonu ile flavonollere has kırmızı bir renk vermektedir. F1'in kromatografi ile ilgili bulguları Tablo - 23'de gösterilmiştir.

Yöntem	Adsorban	(Sistem) R _f Değerleri				
		15	19	21	1	4
KK	Whatman-1	0,88	0,50	0,59	-	-
İTK	Kieselgel G	-	-	-	0,70	0,69

<u>Gün ışığı</u>	<u>UV</u>	<u>NH₃</u>	<u>NH₃/UV</u>	<u>NA/UV</u>
Sarı	Sarı	Sarı	Sarı	Sarı

Tablo - 23

F1 Maddesinin Tanımı ile İlgili Kromatografik Bulgular

F1 Maddesi: Sarı, Erime noktası: 276-278⁰ C

F1 maddesinin metanol ve özel reaktiflerle alınan spektrumlarında elde edilen maksimum kaymalar Tablo - 24'de gösterilmiştir.*

Metanol spektrumunda Band-I de 368 nm'de görülen pik maddenin bir flavonol olduğunu ve B halkasında tek hidrosil taşıdığını gösterir. Sodyum metoksit spektrumunda Band-III (318 nm) olması 7. karbondan serbest hidrosil grubunun varlığını, metanol spektrumuna göre Band-I de 60 nm lik batokromik kayma ve pik şiddetindeki artma ise 4' konumunda hidrosil grubu bulunduğunu

* UV spektrumları, Pye-Unicam SP 1700 de alınmıştır.

Reaktif	Band-I (λ maks.)		Band-II (λ maks.)
Metanol	368	(322)	(254) 270
Sodyum metoksit	428	318	285
Alüminyum klorür	425	330	(260) 275
Alüminyum klorür/hidroklorik asit	425	330	(260) 275
Sodyum asetat	400	310	275
Sodyum asetat/borik asit	370		270

Tablo - 24

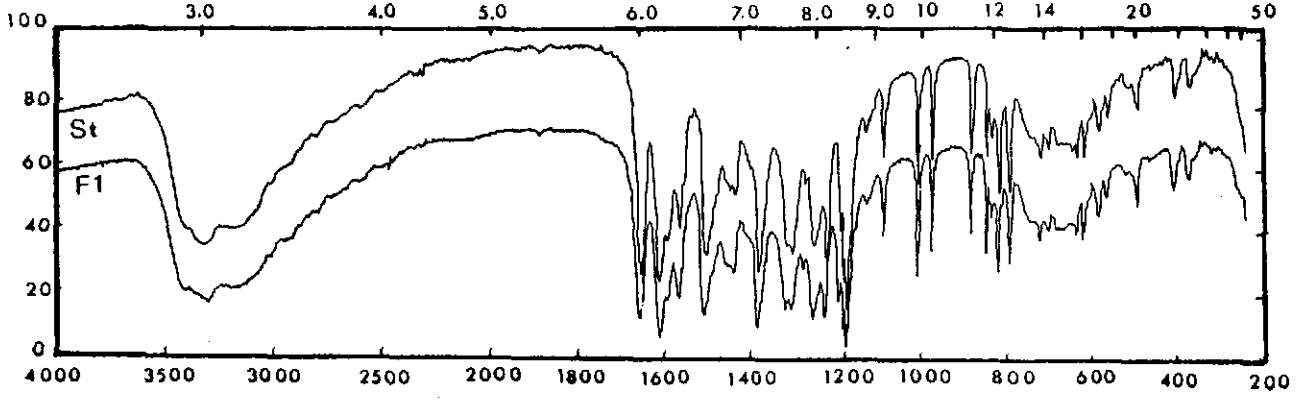
F1 Maddesinin UV Spektrumuna Ait Bulgular

gösterir. Alüminyum klorür spektrumunda metanol spektrumuna göre Band-I de 57 nm lik batokromik kayma 5 konumunda hidroksil grubunun bulunduğunu gösterir. 7 konumunda hidroksil grubunun varlığı sodyum asetat spektrumunda görülen Band-III (310 nm) piki ile de belirlenir.

Bu bulgulara göre aglikonun yapısında 3, 5, 7, 4' konumlarında hidroksil grupları bulunduğu tesbit edilmiştir. Ayrıca asit hidroliz sonucu yapıda değişme olmadığı da tesbit edilmiştir. Bu bulgular F1 maddesinin bir aglikon ve kemferol olabileceğini göstermiştir.

F1 maddesinin IR spektrumu (cm^{-1})^{*}: 3580-2500 (O-H gerilim), 1655 (C = O gerilim), 1610,1555, 1500 (C = C gerilim), 1250, 1225 (C - O - C gerilim), 845 (1,2,3,5 - tetrasübstitüebenzen), 820 (1,4 - disübstitüebenzen).

* IR spektrumları Perkin Elmer, Model 457 de alınmıştır.



Şekil - 6

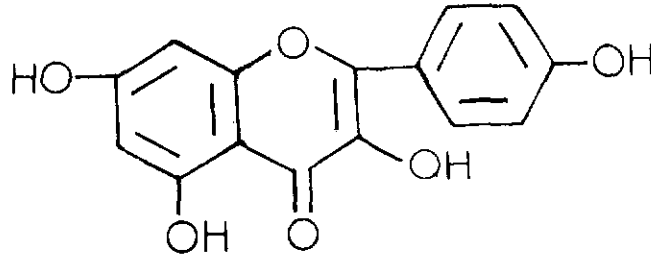
F1 Maddesinin IR Spektrumu

F1: F1 maddesinin IR spektrumu

St: Kemferolun IR spektrumu

5,7,4'- Trihidroksiflavonolün IR spektrumu, şahit madde (kemferol) IR spektrumu (Şekil - 6) ile karşılaştırıldığında her iki spektrumun birbiriyle çakıştığı görülmüştür.

UV spektrumlarının değerlendirilmesinin yanında IR spektrumunun ve maddenin kromatografik davranışının şahit madde (kemferol) ile karşılaştırılması sonucu F1 maddesinin kemferol (5,7,4'-trihidroksiflavonol) olduğunu ortaya çıkarmıştır.



Kemferol

F2 Maddesi

F2 maddesinin siyanidin reaksiyonu ile kırmızı renk vermesi flavonol türevi olduğunu göstermiştir. F2 maddesinin kromatografik yöntemler kullanılarak tesbit edilen özellikleri Tablo - 25 de verilmiştir.

Yöntem	Adsorban	(Sistem) R _f Değerleri					
		17	18	5	7	8	13
KK	Whatman-1	0,19	0,45	-	-	-	-
İTK	Kieselgel G	-	-	0,64	0,89	0,74	-
İTK	Polyamid	-	-	-	-	-	0,41

<u>Gün Işığı</u>	<u>UV</u>	<u>NH₃</u>	<u>NH₃/UV</u>	<u>NA/UV</u>
Sarı	Mor	Sarı	Koyu Sarı	Koyu Sarı

Tablo - 25

F2 Maddesinin Tanımı ile İlgili Kromatografik Bulgular

F2 Maddesi : Sarı kristal, Erime noktası : 210-213⁰C

F2 maddesi asit ve alkali hidrolize tabi tutulmuştur. Asit hidroliz sonucu aglikon elde edilmiştir. Bu aglikona bağlı olması gereken oz veya ozlar bu grup maddeler için kullanılan kromatografik sistemlerde tesbit edilememiştir. Bunun üzerine alkali hidroliz yapılmıştır. Alkali hidroliz oda ısısında veya ısı tatbiki ile uygulanmıştır. F2 maddesi oda ısısında alkali hidrolize tabi tutulduğunda sadece maddeye bağlı olduğu düşünülen p-kumarik asidin yapıdan ayrılması ve saf olarak elde edilmesi sağlanmıştır. F2 maddesine bağlı asidin ayrılmasından sonra kalan yapı da temizlenmiş ve

bu yapının F3 maddesi ile aynı kromatografik bulguları verdiği görülmüştür. Isı tatbiki ile yapılan alkali hidroliz sonucunda ise aglikon, bağlı oz ve asit ayrı ayrı elde edilmiş, saflaştırılmış ve kromatografik kontrolleri yapılmıştır. Bu bulgular aglikona önce glikozun bağlandığını düşündürmektedir. Bu hidroliz işleminden sonra, fenolik asitler için uygun kromatografik sistemler kullanılarak elde edilen p-kumarik asitle ilgili bulgular Tablo - 26 da verilmiştir.

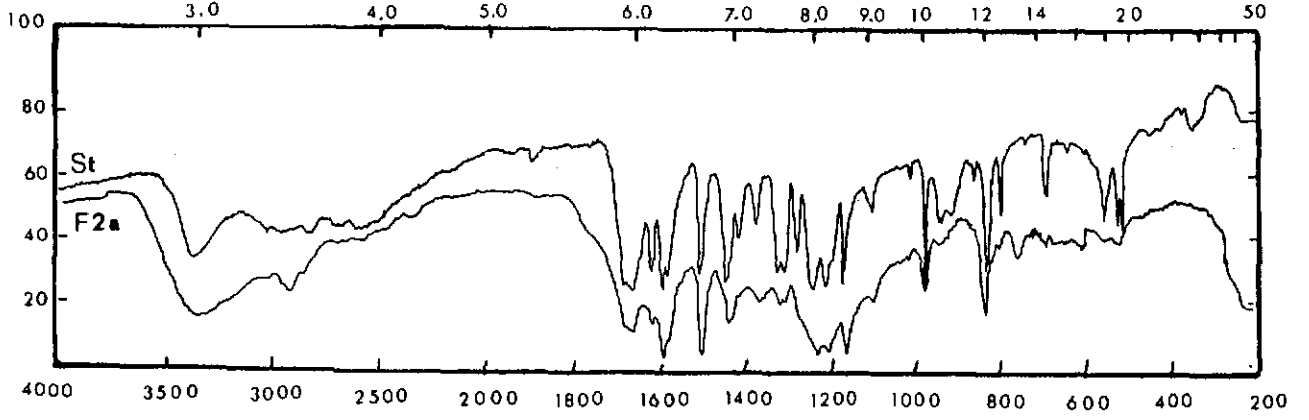
Yöntem	Adsorban	(Sistem) R _f Değerleri			
		15	24	22	23
KK	Whatman-1	0,92	(inen kr)	-	-
ITK	Kieselgel G	-	-	0,37	0,59
Gün Işığı	UV	FeCl ₃	H ₂ SO ₄		
Renksiz	Mavi-Mor	Koyu Yeşil	Kahverengi		

Tablo - 26

F2 Maddesine Bağlı Asidin Tanımı ile İlgili Kromatografik Bulgular

F2 maddesine bağlı asidin IR spektrumu (cm⁻¹) : 3560-2500 (O-H gerilim), 1670 (C = O gerilim), 1625 (C = C gerilim, alifatik), 1600, 1510 (C = C gerilim, aromatik), 835 (1,4-disübstitüebenzen).

F2 maddesine bağlı asidin metanolde alınan UV spektrumunda 225 ve 290 nm de maksimum absorpsiyon pikleri vermesi de maddenin fenolik asit olabileceğini gösterir. Diğer taraftan maddenin IR spektrumu şahit madde (p-kumarik asit) ile mukayese edildiğinde (Şekil-7); spektrumların benzer olduğu görülmüştür. Fenolik asidin kromatografik özellikleri, UV ve IR spektrometrik bulgularının değerlendirilmesi bu maddenin p-kumarik asit olduğunu göstermiştir.



Şekil - 7

F2 Maddesine Bağlı Asidin IR Spektrumu

F2 a: F2 maddesine bağlı asidin IR spektrumu

St : p-kumarik asitin IR spektrumu

F2 maddesinin UV spektrumuna ait değerler Tablo - 27 de görülmektedir. *

Reaktif	Band-I (λ maks.)		Band-II (λ maks.)	
Metanol	365	320	(306)	274
Sodyum metoksit	380	324	(260)	284
Alüminyum klorür	405	(325)	310	280
Alüminyum klorür/hidroklorik asit	405	(325)	310	280
Sodyum asetat	375	314	(300)	280
Sodyum asetat/borik asit	360	318	(300)	270

Tablo - 27

F2 Maddesinin UV Spektrumuna Ait Bulgular

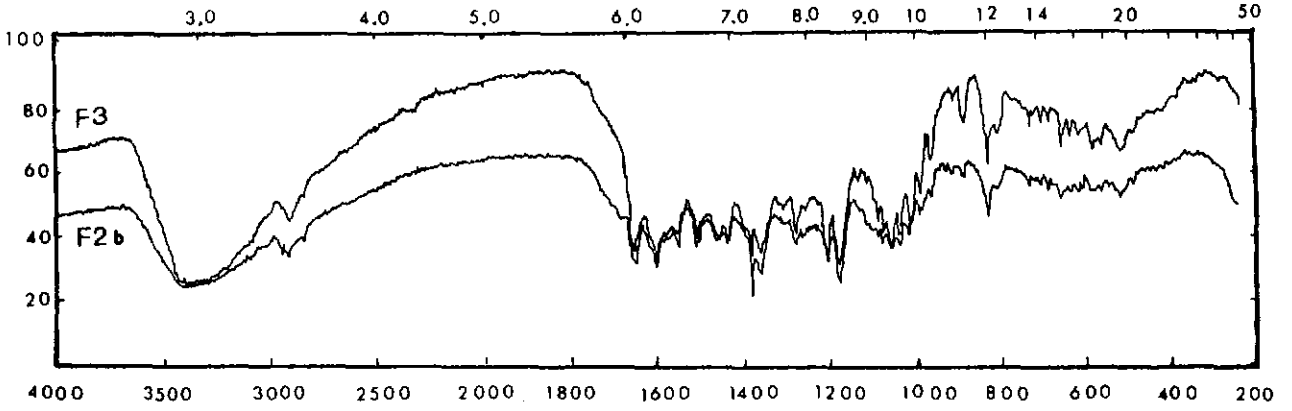
* Aglikon kemferole ait bulgular, F1 maddesi ile aynı olduğu için tekrar verilmemiştir. UV spektrumları Pye-Unicam SP 1700 de alınmıştır.

Metanol spektrumunda Band-I de 365 nm de elde edilen pik F2 maddesinin flavonol yapısında olduğunu ve B halkasında tek oksijen fonksiyonunun bulunduğunu gösterir. Sodyum metoksit spektrumunda Band-III (324 nm) olması 7. karbondan serbest hidroksil grubunun bulunduğunu gösterir. Alüminyum klorür spektrumunda, Band-I'de 40 nm lik batokromik kayma 5 de hidroksil grubunun varlığına işaret eder. Alüminyum klorür/hidroklorik asit spektrumundaki Band-I in alüminyum klorür ile elde edilen Band-I le aynı değerde olması B halkasında tek hidroksil bulunduğunu gösterir. Sodyum asetat spektrumunda görülen Band-III (314 nm), F2 maddesinde 7. karbondaki hidroksil grubunun serbest olduğunu belirtir.

F2 maddesinin IR spektrumu (cm^{-1})^{*}: 3610-2500 (O-H gerilim), 1680 (C = O gerilim, asit), 1655 (C = O gerilim), 1625 (C = C gerilim, alifatik), 1610, 1555, 1500 (C = C gerilim, aromatik), 1250, 1210 (C - O - C gerilim, aromatik), 1040 (C - O - C gerilim, alifatik), 850 (1, 2, 3, 5 - tetrasübstitüebenzen), 820 (1, 4 - disübstitüebenzen).

F2 flavonoidinin ve alkali hidroliz (oda ısısında yapılan) sonucu flavonozitten asit ayrıldıktan sonra kalan yapının ve F2 maddesinin IR spektrumları şahit maddelerle (astragalın, tilirosit) çakışmaktadır (Şekil - 8, 9).

^{*} IR spektrumları Perkin Elmer, Model 457 de alınmıştır. Şahit maddeleri gönderen Dr.E. Wollenweber'e teşekkür ederiz.

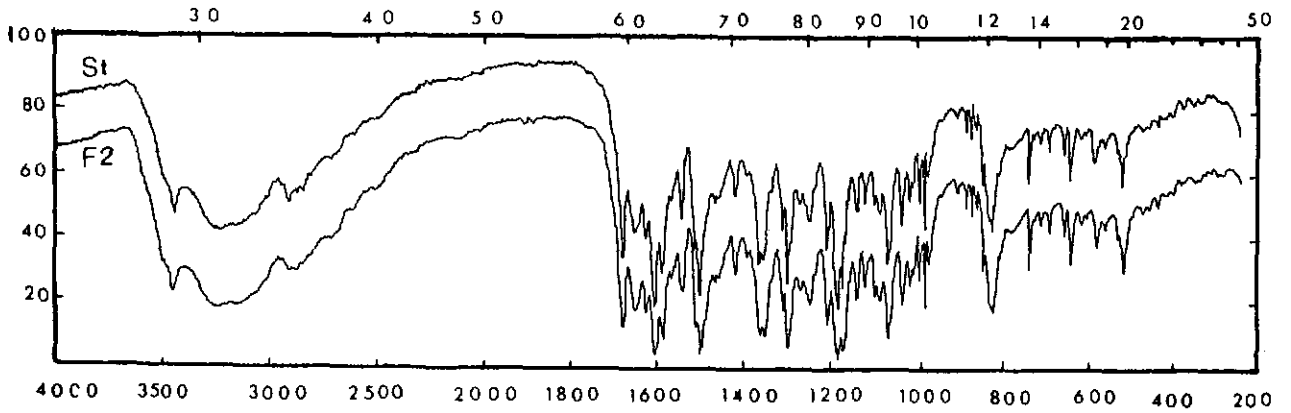


Şekil - 8

F2 Maddesinin Alkali Hidroliz Ürününün IR Spektrumu

F2 b : F2 flavonoidinin alkali hidroliz ürününün IR spektrumu

F3 : F3 flavonoidinin IR spektrumu



Şekil - 9

F2 Maddesinin IR Spektrumu

F2 : F2 flavonoidinin IR spektrumu

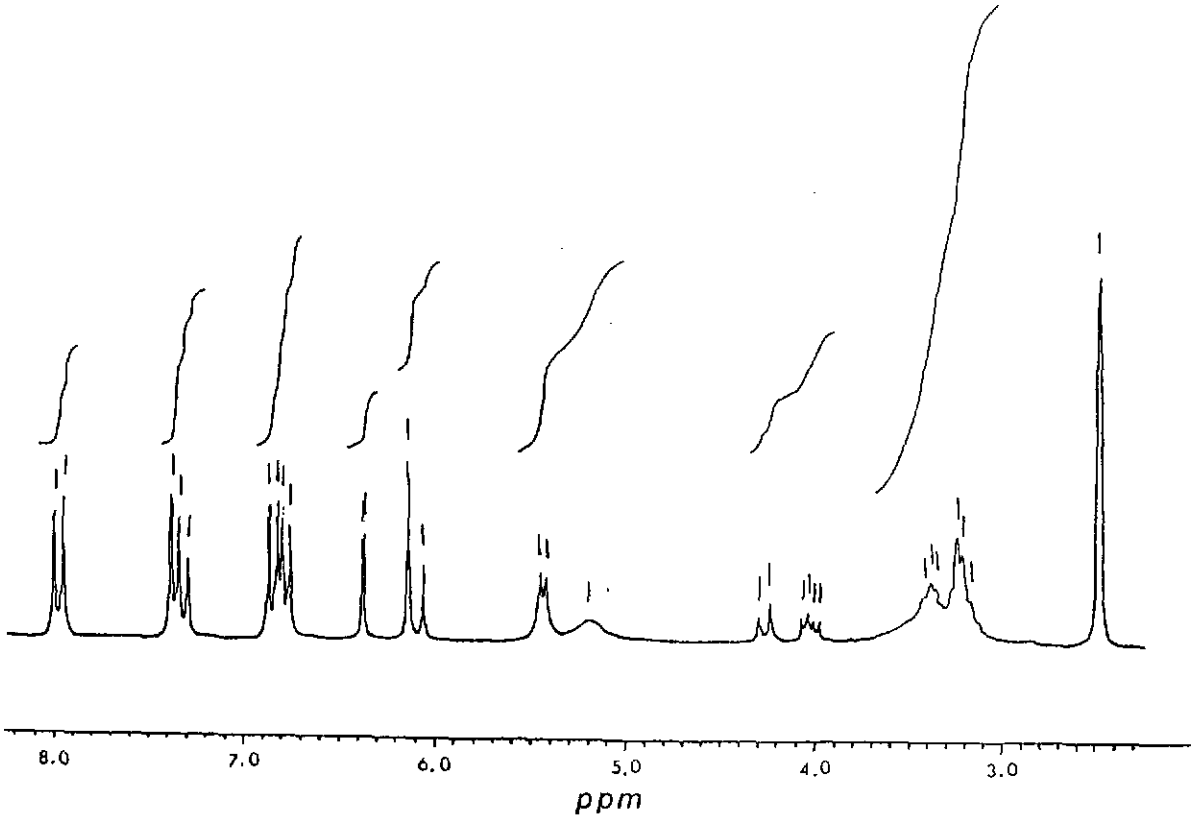
St : Tilirosit IR spektrumu

F2 maddesinin H NMR spektrumu alınmış (Şekil - 10) ve bulgular değerlendirilmiştir : *

H NMR : (Dimetilsülfoksit- d_6)

δ 3.4 (7 H, m, Glikoz Protonları), 4.16 (2 H, m, Glikoz Protonları), 5.46 (1 H, d, $H^{1''}$, $j = 7$), 6.1 (1 H, d, $-OOC-\underline{CH} = CH$ -fenil, $j = 16.2$), 6.14 (1 H, d, H^6 , $j = 1.6$), 6.38 (1 H, d, H^8 , $j = 1.9$), 6.78 (2 H, d, $H^{3''''-5''''}$, $j = 8$), 6.85 (2 H, d, $H^{3'-5'}$, $j = 8.9$), 7.34 (1 H, d, $-OOC-CH = \underline{CH}$ -fenil, $j = 16.5$), 7.37 (2 H, d, $H^{2''''-6''''}$, $j = 8$), 8 (2 H, d, $H^{2'-6'}$, $j = 8.9$)

ppm de pikler elde edilmiştir.



Şekil - 10

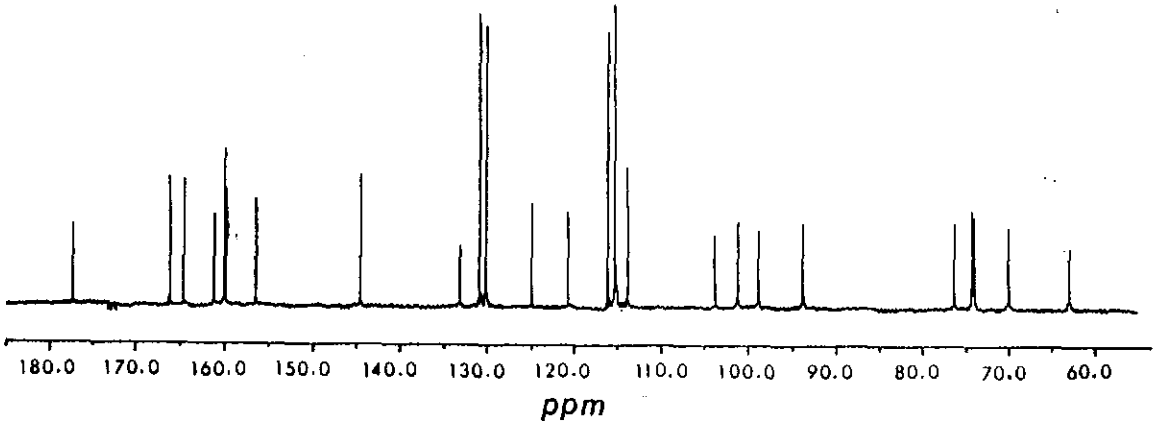
F2 Maddesinin H NMR Spektrumu

* H NMR spektrumu Bruker Analytische Messtechnik GMBH tarafından alınmıştır. (H NMR ve C 13 NMR spektrumlarının alınmasını sağlayan Dr.F.Formacek'e teşekkür ederiz.

F2 maddesine ait C 13 NMR spektrumu da (Şekil - 11) alınmış ve spektruma ait bulgular değerlendirilmiştir : *

C 13 NMR (Dimetilsülfoksit - d₆)

156.35 (C-2), 133.05 (C-3), 177.3 (C-4), 161.08 (C-5), 98.73 (C-6), 164.26 (C-7), 93.6 (C-8), 156.3 (C-9), 103.76 (C-10), 120.73 (C-1'), 129.99 (C-2'), 114.99 (C-3'), 159.9 (C-4'), 114.99 (C-5'), 129.99 (C-6'), 101.02 (C-1''), 74.19 (C-2''), 74.06 (C-3''), 69.95 (C-4''), 76.2 (C-5''), 62.9 (C-6''), 124.88 (C-1'''), 130.68 (C-2'''), 115.68 (C-3'''), 159.68 (C-4'''), 115.68 (C-5'''), 130.68 (C-6'''), 144.45 (C-7'''), 113.6 (C-8'''), 166.04 (C-9''') ppm de pikler elde edilmiştir.

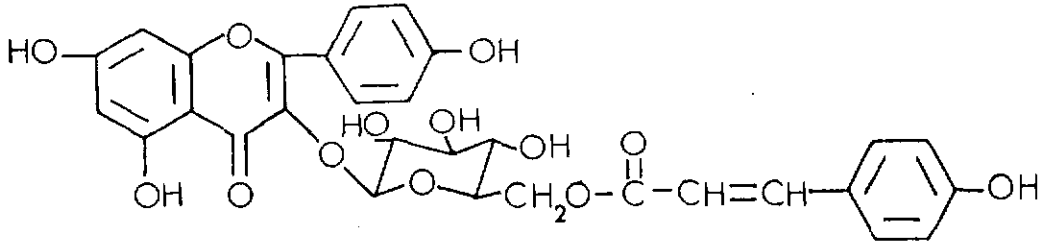


Şekil - 11

F2 Maddesinin C 13 NMR Spektrumu

* C 13 NMR spektrumu Bruker Analytische Messtechnik GMBH tarafından alınmıştır.

F2 maddesinin UV, IR, H NMR, C 13 NMR bulguları ve sahit madde (tilirozit) ile karşılaştırılması, bu maddenin tilirozit (kemferol-3-O-6''-p-kumaroil glikozit) olduğunu kesinlikle ortaya çıkarmıştır.

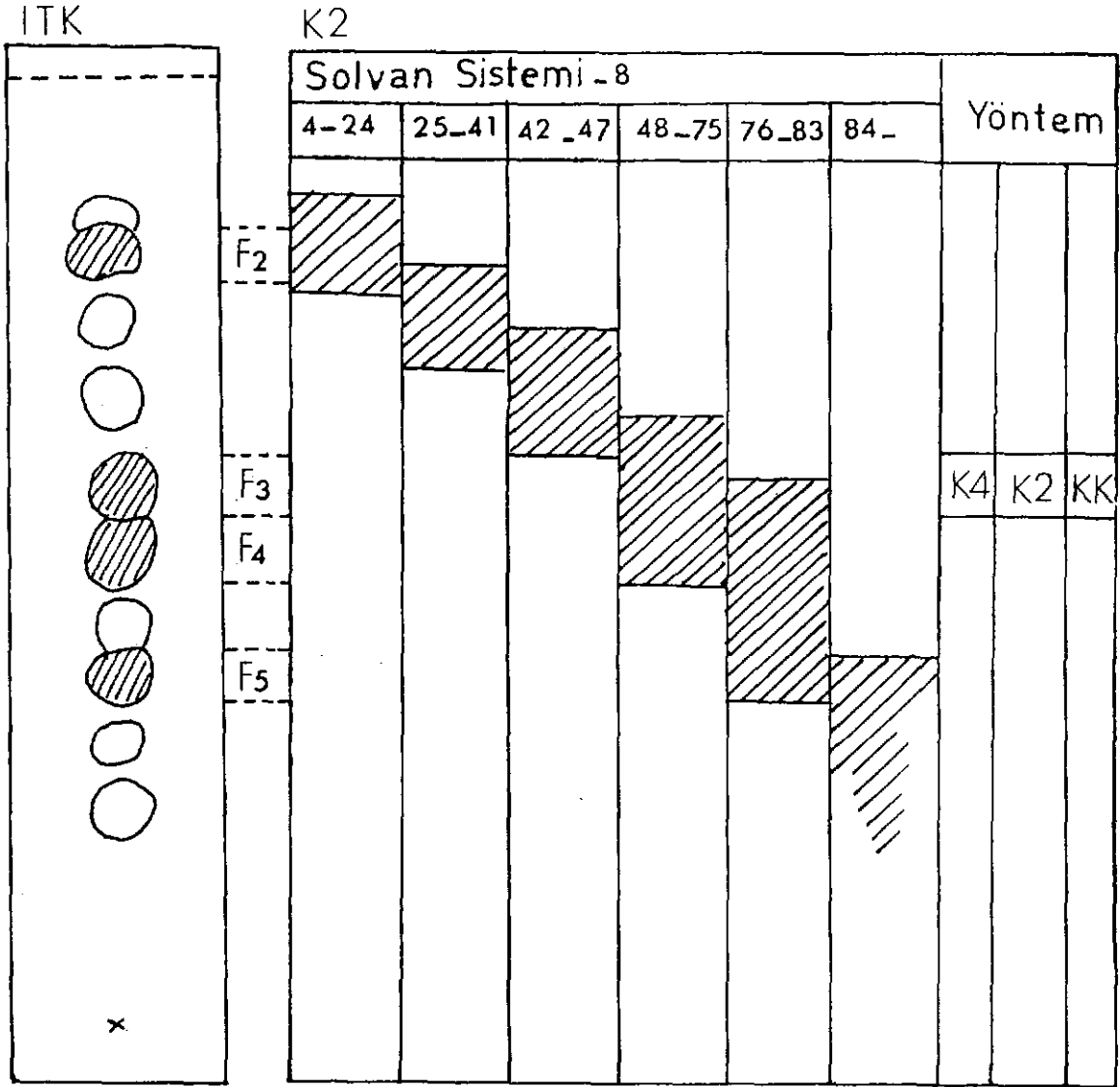


Tilirozit

ETİL ASETATLI EKSTRE

İzolasyon

Etil asetatlı ekstrede bulunduğu kromatografik olarak tesbit edilen flavonoit, diğer maddelerden kolon kromatografisi ile kısmen temizlenmiştir. Şekil - 12'de etil asetatlı ekstrenin ince tabaka kromatografisi ve ön temizleme işlemi ile ilgili fraksiyonlama gösterilmiştir.



Şekil - 12

Etil asetat Ekstresindeki Flavonoitlerin Kromatografik Ayırımı
ITK (İnce Tabaka Kromatografisi), Adsorban : Kieselgel G tip 60 (Merck 7731)

Solvan sistemi :Etil asetat:metanol:su (100:16,5:13,5)

F3 Maddesi

F3 maddesi siyanidin reaksiyonu ile kırmızı renk vermiştir. F3 maddesinin kromatografik özellikleri Tablo - 28'de gösterilmiştir.

Yöntem	Adsorban	(Sistem)		R _f Değerleri			
		17	18	5	7	8	13
KK	Whatman-I	0,43	0,54	-	-	-	-
ITK	Kieselgel G	-	-	0,47	0,65	0,59	-
ITK	Polyamid	-	-	-	-	-	0,50

<u>Gün ışığı</u>	<u>UV</u>	<u>NH₃</u>	<u>NH₃/UV</u>	<u>NA/UV</u>
Açıksarı	Mor	Koyusarı	Koyusarı	Koyusarı - kahverengi

Tablo - 28

F3 Maddesinin Tanımı ile İlgili Kromatografik Bulgular

F3 Maddesi : Sarı, Erime noktası : 175-178⁰C

F3 maddesi asit hidrolize tabi tutulmuş, aglikon ve oz kısmı kromatografik olarak incelenmiştir. Oz kısmının kromatografik analizi glikoz bulunduğunu göstermiştir. Diğer taraftan aglikon elde edilmiş ve UV, IR spektrumları çekilerek yapının, kemferol (5,7,4'- trihidroksiflavonol) olduğu gösterilmiştir. * F3 maddesinin UV spektrumuna ait değerler Tablo - 29'da verilmiştir.

* Kemferole ait bulgular F1 maddesi ile aynı olduğu için tekrar verilmemiştir. UV spektrumları Pye-Unicam SP 1700 de alınmıştır.

Reaktif	Band-I (λ maks.)		Band-II (λ maks.)
Metanol	352	330	(300) 268
Sodyum metoksit	406	318	278
Alüminyum klorür	400	352	(306) 276
Alüminyum klorür/hidroklorik asit	400	350	(306) 276
Sodyum asetat	365	305	275
Sodyum asetat/borik asit	355	(300)	270

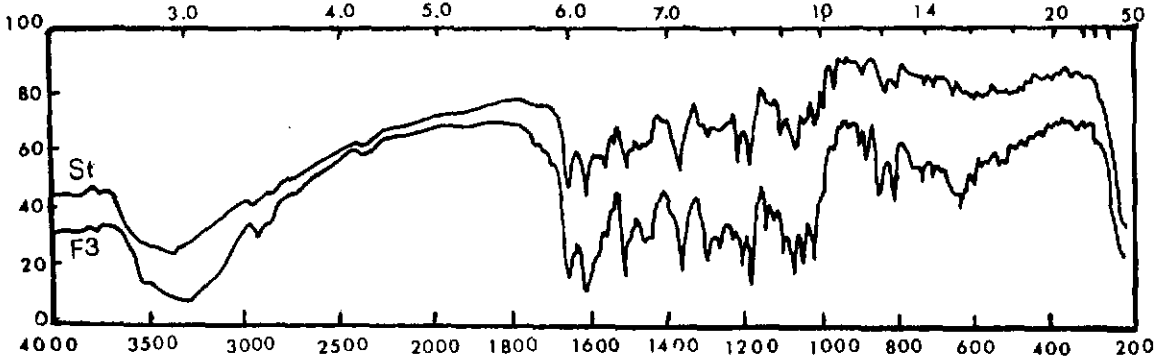
Tablo - 29

F3 Maddesinin UV Spektrumuna Ait Bulgular

Metanol spektrumunda Band-I de 352 nm de görülen pik, F3 maddesinin flavonol yapısında olduğunu ve B halkasında tek hidroksil fonksiyonunun bulunduğunu gösterir. Sodyum metoksit spektrumunda, metanol spektrumuna göre Band-I de 54 nm lik batokromik kayma, 4' de hidroksil, alüminyum klorür spektrumunda Band-I de 48 nm lik batokromik kayma ise 5 de hidroksil gruplarının varlığını belirler. Alüminyum klorür/hidroklorik asit spektrumundaki Band-I in alüminyum klorür ile elde edilen Band-I le aynı değerde olması B halkasında tek hidroksil bulunduğunu gösterir. Sodyum metoksit ve sodyum asetat spektrumlarında, aglikonda görülen Band-III (318 nm) ün F3 maddesinde de görülmesi 7. karbondaki serbest hidroksil grubu olduğunu gösterir.

Aglikonun kemferol olması ve oz kısmının kromatografik analiz sonucu glikoz bulunması, maddenin bir kemferol glikoziti, ayrıca UV ve F2 maddesine ait bulguların değerlendirilmesi yapının astragalın olabileceğini göstermiştir. Bu yüzden maddenin ve şahitin (astragalın) IR spektrumları alınmış ve karşılaştırılmıştır. Şekil - 13'de görüldüğü gibi bu spektrumlar farklılık göstermemektedir.

F3 Maddesinin IR spektrumu (cm^{-1})^{*}: 3620 -2500 (O-H gerilim), 1655 (C = O gerilim), 1605, 1550, 1505 (C = C gerilim, aromatik), 1280, 1220 (C-O-C gerilim, aromatik), 1070 (C-O-C gerilim, alifatik), 840 (1, 2, 3, 5 - tetra-sübstitüebenzen), 830 (1, 4-disübstitüebenzen).



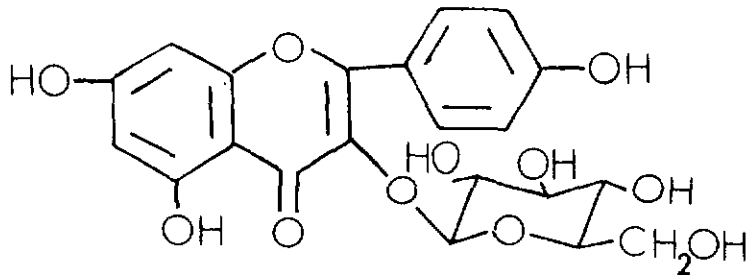
Şekil - 13

F3 Maddesinin IR Spektrumu

F3 : F3 Maddesinin IR spektrumu

St : Astragalinin IR spektrumu

F3 maddesinin UV IR bulguları ve şahit madde (astragalin) ile karşılaştırılması bu maddenin astragalin (kemferol-3-glikozit) olduğunu kesinlikle ortaya çıkarmıştır.



Astragalin

* IR spektrumları Perkin Elmer, Model 457 de alınmıştır.

S O N U Ç v e T A R T I Ő M A

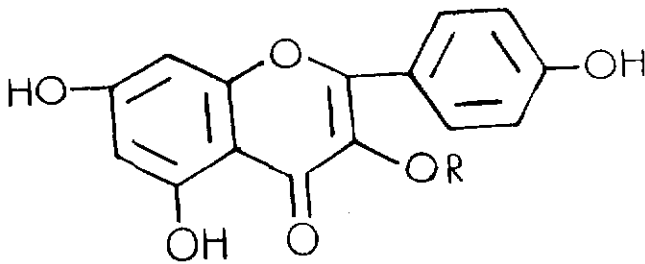
Araştırmamızda H. pamphylicum'un kapitulularında bulunan flavonoit yapısındaki maddelerden major olanlar izole edilmiş ve yapıları aydınlatılmıştır. Eterli ekstreden iki, etil asetatlı ekstreden ise bir flavonoit izole edilmiştir. Bu maddelerin izolasyonunda silikajel, poliyamit ve sefadeks doldurulmuş kolonlar ve preparatif kağıt kromatografisi yöntemlerinden değişik Şekillerde yararlanılmıştır.

F1 maddesinin yapısı UV spektrometrik analizleri ile tayin edilmiştir. Maddenin IR spektrumu, erime noktası ve kromatografik davranışı Şahit kemferol ile mukayese edilmiş, ve maddenin kemferol olduğu anlaşılmıştır.

F3 maddesinin yapısını tayin için önce UV spektrometrik analizi yapılmış, daha sonra asit hidrolize tabi tutulmuş, aglikon elde edilmiştir. Aglikonun yapısının UV spektrometrik analizi sonucu F1 maddesi ile aynı yani kemferol olduğu tesbit edilmiştir. Maddenin taşıdığı ozun glikoz olduğu kromatografik olarak gösterilmiştir. Glikozun 3. konuma bağlı olduğu aglikonun ve flavonozitin UV spektrumlarının karşılaştırılması ile bulunmuştur. Bu durumda F3 maddesinin yapısı astragalın (Kemferol-3-glikozit) olarak tesbit edilmiştir. Maddenin UV ve IR spektrometrik analiz sonuçları, erime noktası ve kromatografik davranışları Şahit astragalın ile mukayese edilerek bulgularımız doğrulanmıştır.

F2 maddesinin UV spektrometrik analizi yapının aydınlatılması için yeterli olmamıştır. Bunun üzerine önce asit hidroliz yapılmış, sadece aglikon elde edilebilmiş, oz kısmının kromatografik davranışı ise farklı bulunmuştur. Elde edilen aglikonun yapısı, UV spektrometrik analizi ile tayin edilmiş ve kemferol olarak bulunmuştur. Bu bulgu madde ile şahit kemferolün IR spektrumlarının karşılaştırılmasıyla da doğrulanmıştır. F2 maddesi oda ısısında alkali hidrolize tabi tutulduğunda yapıdan bir asidin ayrıldığı tesbit edilmiştir. Asit ayrıldıktan sonra kalan yapı izole edilmiş ve kromatografik davranışının F3 maddesi ile aynı olduğu yani astragalın olabileceği görülmüştür. Diğer taraftan F2 maddesi ısı tatbiki ile alkali hidrolize tabi tutulmuş, hem asidin hem de ozun ana yapıdan ayrılması sağlanmıştır. Oz glikoz, asit ise p-kumarik asit olarak tayin edilmiştir. UV, IR spektrometrik ve kromatografik yöntemlerle izole edilen asidin şahit p-kumarik asitle karşılaştırılması neticesinde asidin yapısı p-kumarik asit olarak aydınlatılmıştır. Bu bulgular bizi F2 maddesinin tilirozit olabileceği düşüncesine yöneltmiştir. Bu hususu aydınlatmak üzere NMR ve C 13 NMR spektrumları alınmış, değerlendirilmiş ve yapının tilirozit olduğu kesin olarak gösterilmiştir. F2 maddesinin IR spektrumu, erime noktası ve kromatografik davranışı şahit tilirozit ile da ayrıca mukayese edilmiştir.

İzole edilen maddelere ait bulgular literatürdeki değerlere de uygunluk göstermektedir (9,39). F1, F2 ve F3 maddelerine ait bulgular her üç flavonoidin de aşağıdaki aynı temel yapıya sahip olduğunu göstermektedir :



R = H	KEMFEROL
R = Gl	ASTRAGALİN
R = Gl-p-kumarik asit	TİLİROZİT

Tür / Madde	Kemferol	Astragalin	Tilirozit
H.arenarium	+	+	
H.armenium			
ssp.armenium	+	+	
ssp. araxinum	+	+	
H.orientale	+	+	+
H.sanguineum	+	+	
H.noeanum	+	+	
H.plicatum			
ssp.plicatum		+	
ssp.polyphyllum	+	+	

Tablo - 30

Türkiye'de Yetişen Helichrysum Türlerinde Kemferol, Astragalin ve Tilirozit Varlığı

Tablo-30 da görüldüğü üzere, Türkiye'de yetişen altı Helichrysum türünde kemferol ve astragalin varlığı daha önce tesbit edilmiştir. Tilirozit ise sadece H. orientale'den izole edilmiştir. Çalışmamız sonucu buna H.pamphylicum da ilâve edilmiş olmaktadır. Tilirozit gibi, yapıda p-kumarik asit taşıyan flavonoidler Helichrysum türlerinde yaygın değildir. Helikrisosin (Kersetin-3-p-kumaroilglükosid) adlı flavonoid sadece H. kraussii'den izole edilmiştir (8). H. pamphylicum'da tilirozit tesbitimiz bu gruptan flavonoidlere yeni bir ilâve yapılmış olması bakımından önem kazanmaktadır.

Sonuç olarak araştırmamızda Türkiye'de yetişen beyaz çiçekli tek Helichrysum türünün taşıdığı flavonoidler (kemferol, astragalin, tilirozit) tayin edilmiş olmaktadır.

Ö Z E T

Serik-Taşagıl (Antalya) civarında yetişen Helichrysum pamphylicum Davis-Kupicha bitkisi üzerinde farmakognozik bir araştırma yapılmıştır.

Botanik çalışmalar sırasında bitkinin daha önce ayrıntılı bir şekilde incelenen taksonomik özellikleri değerlendirilmiştir.

Kimyasal çalışmalar, bitkinin kapitulumları üzerinde yapılmıştır. Materyal önce petrol eteri daha sonra etanolle ekstre edilmiş, etanollü ekstre sırasıyla kloroform, eter, etil asetat ve su ile doyurulmuş n-butanol ile ekstre edilmiş, kimyasal çalışmalar flavonoidlerin yoğun bulunduğu eter ve etil asetatlı ekstrelerde yürütülmüştür.

Eterli ekstrede yoğun olarak bulunan flavonoid yapısındaki iki madde izole edilmiş ve yapıları kemferol ve tilirosit olarak tayin edilmiştir.

Kemferolün yapısı UV spektrometrik bulguları, IR spektrumunun ve kromatografik davranışının şahit madde kemferol ile karşılaştırılması ile tayin edilmiştir : E.N. 276-278⁰C, UV Metanol; 368, (322), (254), 270, sodyum metoksit; 428, 318, 285, alüminyum klorür; 425, 330, (260), 275, alüminyum klorür/hidroklorik asit; 425, 330, (260), 275, sodyum asetat; 400, 310, 275, sodyum asetat/borik asit; 370, 270 nm, IR (% 1 KBr); 3580-2500

(O-H gerilim), 1655 (C = O gerilim), 1610, 1555, 1500 (C = C gerilim), 1250, 1225 (C-O-C gerilim), 845 (1, 2, 3, 5-tetrasübstitüebenzen) 820 (1,4-disübstitüebenzen) cm^{-1} .

Tilirositin yapısı asit ve alkali hidroliz, UV, erime noktası, NMR, C 13 NMR spektrumlarının değerlendirilmesi ve kromatografik davranışının ve IR spektrumunun şahit tilirosit ile karşılaştırılmasıyla aydınlatılmıştır : E.N. 210-213⁰C, UV Metanol; 365, 320, (306), 274, sodyum metoksit; 380, 324, (260), 284, alüminyum klorür; 405, (325), 310, 280, alüminyum klorür/hidro-klorik asit; 405, (325), 310, 280, sodyum asetat; 375, 314, (300), 280, sodyum asetat/borik asit; 360, 318, (300), 270 nm, IR (% 1 KBr), 3610-2500 (O-H gerilim), 1680 (C = O gerilim, asit), 1655 (C = O gerilim), 1625 (C=C gerilim, alifatik), 1610, 1555, 1500 (C = C gerilim, aromatik), 1250, 1210 (C-O-C gerilim, aromatik), 1040 (C-O-C gerilim alifatik), 850 (1, 2, 3, 5-tetrasübstitüebenzen), 820 (1,4-disübstitüebenzen) cm^{-1} , H NMR (DMSO-d₆), δ , 3,4 (7 H,m, glikoz protonları), 4.16 (2 H, m, glikoz protonları), 5.46 (1 H,d, Glikoz-1". j = 7), 6.1 (1 H,d, -OOC-CH = CH-fenil, j = 16.2), 6.14 (1 H,d, H⁶, j = 1.6), 6.38 (1 H,d, H⁸, j = 1.9), 6.78 (2 H,d, H^{3''-5''}, j = 8), 6.85 (2 H,d, H^{3'-5'}, j = 8.9), 7.34 (1 H,d, -OOC-CH = CH-fenil, j = 16.5), 7.37 (2 H,d, H^{2''-6''}, j = 8), 8 (2 H,d, H^{2'-6'}, j = 8.9) ppm, C 13 NMR (DMSO-d₆), 156.35 (C-2), 133.05 (C-3), 177.3 (C-4), 161.08 (C-5), 98.73 (C-6), 164.26 (C-7), 93.6 (C-8), 156.3 (C-9), 103.76 (C-10), 120.73 (C-1'), 129.99 (C-2'), 114.99 (C-3'), 159.9 (C-4'), 114.99 (C-5'), 129.99 (C-6'), 101.02 (C-1''), 74.19 (C-2''), 74.06 (C-3''), 69.95 (C-4''), 76.2 (C-5''), 62.9 (C-6''), 124.88 (C-1'''), 130.68 (C-2'''), 115.68 (C-3'''), 159.68 (C-4'''), 115.68 (C-5'''), 130.68 (C-6'''), 144.45 (C-7'''), 113.6 (C-8'''), 166.04 (C-9''') ppm.

Tilirosit yapısında bulunan p-kumarik asidin UV ve IR değerleri:UV Me-
tanol, 225, 290 nm IR (% 1 KBr) 3560-2500 (O-H gerilim), 1670 (C = O gerilim),
1625 (C = C gerilim, alifatik), 1600, 1510 (C = C gerilim,aromatik), 835
(1,4-disübstitüebenzen) cm^{-1} .

Etil asetat ekstresinde yoğun olarak bir flavonoit bulunmaktadır. Bu
maddenin yapısı astragalin olarak tayin edilmiştir. Astragalinin yapısı asit
hidroliz, erime noktası, UV spektrumlarının değerlendirilmesi ve kromatogra-
fik davranışı ile IR spektrumuna ait bulguların şahit astragalin ile mukayese-
si sonucu tayin edilmiştir : E.N. 175-178⁰C, UV Metanol; 352, 330, (300),
268, sodyum metoksit; 406, 318, 278, alüminyum klorür; 400, 352, (306), 276,
alüminyum klorür/hidroklorik asit; 400, 350, (306), 276
sodyum asetat; 365, 305, 275, sodyum asetat/borik asit; 355, (300), 270 nm,
IR (%1KBr), 3620-2500 (O-H gerilim), 1655 (C = O gerilim), 1605, 1550, 1505
(C = C gerilim, aromatik), 1280, 1220 (C-O-C gerilim, aromatik), 1070 (C-O-C
gerilim, alifatik), 840 (1, 2, 3, 5 - tetrasübstitüebenzen), 830 (1, 4 - di-
sübstitüebenzen) cm^{-1} .

Çalışmamız sonucunda Türkiye'de yetişen beyaz çiçekli tek Helichrysum
türünün flavonoitleri kemferol, astragalin (Kemferol-3-glikozit) ve tilirosit
(Kemferol-3-p-kumaroilglikozit) olarak tayin edilmiştir. Kemferol ve astra-
galin Helichrysum türlerinin bir kısmında yaygındır, ancak tilirosit şimdiye
kadar sadece bir türde bulunmuştur. H.pamphylicum tilirozit izole edilen
2. tür olmaktadır.

S U M M A R Y

Pharmacognostical studies have been performed on the plant , Helichrysum pamphylicum Davis-Kupicha growed in the surroundings of Serik-Taşagıl(Antalya).

In botanical studies, the taxonomical characteristics of the plant, which had been examined in detail previously, were evaluated.

Chemical studies were carried out on the capitulum of the plant. Initially, material was extracted by petroleum ether and then ethanol; ethanolic extract was extracted respectively by chloroform, ether, ethyl acetate and n-butanol saturated with water. Chemical studies were performed on ethyl acetate and ether extract in which flavonoids were found intensively.

Two compounds were isolated which were found intensively in ether extract and identified as kaempferol and tiliroside.

The structure of kaempferol was elucidated by UV spectroscopic data and by comparing its IR spectrum and chromatographic behaviours with the reference kaempferol: m.p. 276-278^oC, UV methanol; 368, (322), (254), 270, sodium methoxide; 428, 318, 285, aluminum chloride; 425, 330, (260), 275, aluminum chloride/hydrochloric acid; 425, 330, (260), 275, sodium acetate; 400, 310, 275, sodium acetate/boric acid; 370, 270 nm, IR (KBr 1 %); 3580-2500 (O-H stretching), 1655 (C = O stretching), 1610, 1555, 1500 (C = C stretching), 1250, 1225 (C-O-C stretching), 845 (1,2,3,5-tetrasubstituted benzene), 820 (1,4-disubstituted benzene)cm⁻¹.

The structure of tiliroside was elucidated by acid and alkaline hydrolysis and by examining UV, NMR, C^{13} NMR spectroscopical data and by comparing its IR spectrum and chromatographic behaviours with the reference tiliroside. m.p. 210-213°C, UV methanol, 365, 320, (306), 274, sodium methoxide 380, 324, (260), 284, aluminum chloride; 405, (325), 310, 280, aluminum chloride/hydrochloric acid; 405, (325), 310, 280, sodium acetate; 375, 314, (300), 280, sodium acetate/boric acid; 360, 318, (300), 270 nm, IR (KBr 1%); 3610-2500 (O-H stretching) 1680 (C=O stretching, acide) 1655 (C=O stretching), 1625 (C=C stretching, aliphatic) 1610, 1555, 1500 (C=C stretching, aromatic) 1250, 1210 (C-O-C stretching, aromatic), 1040 (C-O-C stretching, aliphatic), 850 (1,2,3,5-tetrasubstituted benzene), 820 (1,4-disubstituted benzene) cm^{-1} . H NMR (DMSO- d_6), δ , 3,4 (7H, m, glucose protons), 4,16 (2 H, m, glucose protons), 5.46 (1 H, d, Glucose -1'', $j=7$), 6.1 (1 H, d, -OOC-CH=CH-phenyl, $j=16.2$), 6.14 (1 H, d, H^6 , $j=1.6$), 6.38 (1H, d, H^8 , $j=1.9$), 6.78 (2 H, d, $H^{3''-5''}$, $j=8$), 6.85 (2H, d, $H^{3'-5'}$, $j=8.9$), 7,34 (1 H, d, -OOC-CH=CH-phenyl, $j=16.5$), 7.37 (2 H, d, $H^{2''-6''}$, $j=8$), 8 (2 H, d, $H^{2'-6'}$, $j=8.9$) ppm, C 13 NMR (DMSO- d_6), 156,35 (C-2), 133.05 (C-3), 177.3 (C-4), 161.08 (C-5), 98.73 (C-6), 164.26 (C-7), 93.6 (C-8), 156.3 (C-9), 103.76 (C10), 120.73 (C-1'), 129.99 (C-2'), 114.99 (C-3'), 159.9 (C-4'), 114.99 (C-5'), 129.99 (C-6'), 101.02 (C-1''), 74.19 (C-2''), 74.06 (C-3''), 69.95 (C-4''), 76.2 (C-5''), 62.9 (C-6''), 124.88 (C-1'''), 130.68 (C-2'''), 115.68 (C-3'''), 159.68 (C-4'''), 115.68 (C-5'''), 130.68 (C-6'''), 144.45 (C-7'''), 113.6 (C-8'''), 166.04 (C-9''') ppm.

The values of UV and IR spectrum of p- coumaric acid which is found in the structure of tiliroside; UV methanol; 225,290 nm, IR (KBr 1%); 3560-2500 (O-H stretching), 1670 (C = O stretching), 1625 (C = C stretching, aliphatic), 1600, 1510 (C = C stretching,aromatic), 835 (1,4-disubstituted benzene) cm^{-1} .

Another flavonoid was isolated, which was found intensively in ethyl acetate extract. The structure of this substance was elucidated as astragaline. The structure of astragaline was elucidated by UV spectroscopic data, acid hydrolysis, melting point and by comparing its IR spectrum and chromatographic behaviours with the reference astragaline. m.p. 175-178^oC, UV, methanol; 352, 330, (300) 268, sodium methoxide; 406, 318, 278, aluminum chloride; 400, 352,(306), 276, aluminum chloride/hydrochloric acid; 400, 350 (306), 276, sodium acetate; 365, 305, 275, sodium acetate/boric acid; 355, (300), 270 nm, IR (KBr 1%); 3620-2500 (O-H stretching), 1655 (C = O stretching), 1605, 1550, 1505 (C = C stretching,aromatic), 1280,1220 (C - O - C stretching, aromatic), 1070 (C - O - C stretching,aliphatic), 840 (1,2,3,5-tetrasubstituted benzene), 830 (1,4-disubstituted benzene) cm^{-1} .

As a result of our study, flavonoids of Helichrysum pamphylicum, which is the only white flowered specy growing in Turkey are determined as kaempferol, astragaline (Kaempferol - 3 - glucoside) and tiliroside (Kaempferol - 3 - p - coumaroil glucoside). Kaempferol and astragaline are widely found in most of the Helichrysum species, whereas tiliroside has been found in only one specy of Helichrysum so far. As a consequence of our study, Helichrysum pamphylicum is the second species which is contained tiliroside.

L İ T E R A T Ü R

1. Ateş, N., Ulubelen, A., Clark, W.D., Brown, G.K., Mabry, T.J., Dellamonica, G., Chopin, J., Flavonoids of *Haplopappus scrobiculatus* and *Haplopappus sericeus*, *J. Nat. Prod.*, 45, 189 (1982).
2. Baytop, A., *Helichrysum graveolens*, *Folia Pharm.*, 5, 594 (1963).
3. Baytop, T., Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi (Geçmişte ve Bugün), İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları No:40, İstanbul (1984).
4. Bicchi, C., Nano, G.M., Tira, S., n-Paraffin Components of Some *Gnaphalieae*, *Planta Med.*, 28, 389 (1975).
5. Bingöl, S., Çubukçu, B., Flavonoids of *H. noeanum* Boiss, (Asteraceae), *Sci. Pharm.*, 52, 127 (1984)
6. Biol, M.C., Bouillant, M.L., Planche, G., Chopin, M.J., C-arabinosylation de la Vitexine: Synthèse de la C- α -L - arabinopyranosyl -6-C - β -D- glucopyranosyl - 8 - apigenin, *C.R. Acad. Sc. Paris*, 279, 409 (1974).
7. Borkowski, B., Pasich, B., Isolation of 1-naringenin - 5 β -D-glucoside from *Helichrysum arenarium* Blossoms, *Acta Polon. Pharm.*, 18, 91 (1961).
8. Candy, H.A., Wright, W., Helichrysoside: A New Acylated Flavonoid Glycoside from *Helichrysum kraussii* sch. BIP., *J.S. Afr. Chem. Inst.*, 28, 215 (1975).
9. Çubukçu, B., Flavone and Coumarin Derivatives from *Helichrysum orientale* (L.) Gaertner, *Plantas Med. et Phytoth.*, 10, 44 (1976).
10. Idem., Anadolu'da Yetişen *Helichrysum* Türlerinin Lipofil Flavonoidleri Üzerinde Araştırmalar, *Doğa*, Seri A. 6, 83 (1982).

11. Çubukçu, B., Bingöl, S. *Helichrysum orientale* Flavonoitleri Üzerinde Yeni Bir Araştırma, *İstanbul Ecz. Fak. Mec.*, 17, 86 (1981).
12. Idem., Pharmacognostical Investigations on *Helichrysum pallasii* (Sprengel) Ledeb., *Plantae Méd. et Phytoth.*, 18, 28 (1984).
13. Çubukçu, B., Damatyan, B., An Anatolian Folk Medecine: *H. graveolens*, *Planta Med.*, 39, 258 (1980).
14. Çubukçu B., Meriçli, A.H., Flavonoids from *Helichrysum plicatum* DC., *Plantae Méd. et Phytoth.*, 11, 294 (1977).
15. Idem., Flavonoides d'*Helichrysum plicatum* DC. ssp. *polyphyllum* (Ledeb.) Davis-Kupicha, *Ibid.*, 13, 107 (1979).
16. Çubukçu, B., Yüksel, V., Constituents of Anatolian Medicinal Plants; Flavonoids of *H. armenium*; *J. Nat. Prod.*, 45, 137 (1982).
17. Dass, H.C., Weaver, G.M., Celulose Thin -layer Chromatography of Phenolic Substances, *J. Chromatogr.*, 67, 105 (1972).
18. Davis, P.H., *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, Cilt 5, Robert Cunningham and Sons Ltd., Edinburgh (1975).
19. Drawert, F., Pivernetz, H., Leupold, G., Ziegler, A., Saulen - und Dünnischichtchromatographische Trennung und Spectralphotometrische Bestimmung von Rutin, Hesperidin und Naringin Besonders in Citrus Frachten, *Chem. Mikrobiol. Technol. Lebensm.*, 6, 131 (1980).
20. Erik, S., Three New Taxa from Anatolia, *Notes RBG Edinb.*, 40, 511 (1983).
21. Ezer, N., *Sideritis congesta* Davis et Huber - Morath Üzerinde Farmakognozok Araştırmalar, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi, Doktora Tezi (1980).

22. Gage, T.B., Douglass, C.D., Wender, S.H., Identification of Flavonoid Compounds by Filter Paper Chromatography, *Anal. Chem.*, 23, 1582 (1951).
23. Gayon, P.R., Gautheret, R.J., *Les Composés Phénoliques des Végétaux*. Dunod, Paris (1968).
24. Geissmann, T.A., *The Chemistry of Flavonoid Compounds*, The Mac Millan Company, New York (1962).
25. Gildemeister, E., Hoffman, Fr., *Die Aetherischen Öle*, Cilt 7, Akademie Verlag, Berlin (1961).
26. Gonzalez, B.R., Lopez, S.V., Un Nuevo Cromano con Interes Biogenetico, *Quimica*, 67, 455 (1971).
27. Goodwin, T.W., *Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments*, Cilt 1-2, Academic Press, Londra (1976).
28. Gupta, S.B., Thin-layer Chromatographic Separation of Flavonoids in Medicago (Papilionaceae), *J. Chromatogr.*, 36, 258 (1968 b).
29. Hänsel, R., Cybulski, E., Çubukçu, B., Meriçli, A.H., Bohlmann, F. Zdero, C., Neue Pyron-derivate aus Helichrysum arten, *Phytochemistry*, 19, 639 (1980).
30. Hänsel, R., Çubukçu, B., 3,5-Dihydroxy-6,7,8-trimethoxyflavon aus Helichrysum graveolens, *Ibid.*, 11, 2632 (1972).
31. Hänsel, R., Heise, D., Two Glykosides aus Flores Stoechados, *Arzneimittel-Forsch.*, 8, 245 (1958).
32. Hänsel, R., Khaliëfi, F., Pelter, A., 3,5-Dihydroxy - 6,7,8-trimethoxyflavone from Helichrysum graveolens. Bestätigung der Konstitution, *Z. Naturforsch.*, 36 B, 1171 (1981).

33. Hänsel, R., Langhammer, L., Albrecht, A.G., Notiz über das Vorkommen von Scopoletin in den Blütenköpfen von *Helichrysum arenarium* D.C., *Sci. Pharm.*, 31, 88 (1963).
34. Hänsel, R., Pinkewitz, G., Langhammer, L., Heise, D., Das gelbe Pigment der Flores *Stoechados*, *Arch. Pharm.*, 293, 485 (1960).
35. Hänsel, R., Rimpler, H., Schwarz, R., Erstmaliger Nachweis eines Auronols (aroylcumaranon) in Pflanzenreich, *Tetrahedron Letters*, 1965, 1545 (1965).
36. Idem., *Helichrysum auronol*, A Correction, *Ibid.*, 1967, 735 (1967).
37. Harborne, J.B., *Phytochemical Methods (A guide to Modern Techniques of Plant Analysis)*, Chapman and Hall, Londra (1973).
38. Harborne, J.B., Mabry, T. J., *The Flavonoids*, Chapman and Hall, Londra (1975).
39. Idem., *The Flavonoids: Advances in Research*, Chapman and Hall, Londra (1982).
40. Hecht, F., Kaiser, R., Pungor, E., Simon, W., *Methoden der Analyse in der Chemie*, Cilt 12, Akademische Verlagsgesellschaft, Frankfurt(1971).
41. Hegnauer, R., *Chemotaxonomie der Pflanzen*, Cilt 3, Birkhauser Verlag, Stuttgart (1964).
42. Heywood, V.H., Harborne, J.B., Turner, B.L., *The Biology and Chemistry of the Compositae*, Cilt 1, Academic Press, Londra (1977).
43. Jay, M., Gonnet, J.F., Wollenweber, E., Voirin, B., *Sur L'analyse Qualitative des Aglycones Flavoniques dans une Optique Chimiotaxinomique*, *Phytochemistry*, 14, 1605 (1975).

44. Jerzmanowska, Z.I., Grzybowska, J.T., Flavonoid Compounds in the Inflorescence of *Helichrysum arenarium*, *Nature*, 186, 807 (1960).
45. Idem., Inflorescence of *Helichrysum arenarium* L., *Dissertationes Pharm.*, 15, 43 (1963).
46. Jha, H.C., Zilikon, F., Breitmaier, E., Carbon - 13 Chemical Shift Assignments of Chromones and Isoflavones, *Can. J.Chem.*, 58, 1211(1980).
47. Krishnamoorthy, V., Seshadri, T.R., Occurrence of 3,4,2',4',6'- Penta-hydroxychalcone in the Petals of *H.bracteatum*, *Current Sci.*, 35, 609 (1966).
48. Levy, G.C., Lichter, R.L., Nelson, G.L., Carbon-13-Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy, John Wiley and Sons, New York (1980).
49. Lopez, S.V., Gonzalez, B.R., Derivado de Benzofurano Aislado del *Helichrysum stoechas* (L.) D C.: Estructura Y Reaccionabilidad., *Quimica*, 67, 879 (1971).
50. Lotti, G., Paradossi, C., Trigliceridi e Acidi Grassi Liberi in *Orobanchaceae* Cresciute su ospiti Diversi, *Agric. Ital.*, 107, 301 (1978).
51. Mabry, T.J., Markham, K.R., Thomas, M.B., The Systematic Identification of Flavonoids, Springer-Verlag, New York (1970).
52. Mabry, T.J., Ulubelen, A., Chemistry and Utilization of Phenylpropanoids Including Flavonoids, Coumarins and Lignans, *J.Agric. Food Chem.*, 28, 188 (1980).
53. Manitto, P., Monti, D., Two New β - diketones from *Helichrysum italicum* *Phytochemistry*, 11, 2112 (1972).

54. Markham, K.R., Ternai, B., Carbon-13-NMR of Flavonoids. II. Flavonoid Other Than Flavone and Flavonol Aglycones, *Tetrahedron*, 32, 2607 (1976).
55. Martin, P.F., Rodriguez, B., Valverde, S., Martin, L.M., Steroidal Glucosides from *Helichrysum stoechas*, *An. Quim.*, 68, 211 (1972).
56. Masood, M., Pandey, A., Tiwari, K.P., A Novel Spray Reagent for Flavones and Quinones, *J. Indian. Chem. Soc.*, 58, 722 (1981).
57. Meriçli, A.H., Helipyronone and 5-methoxy-7-hydroxyphthalide from *Helichrysum plicatum* DC., *Istanbul Ecz. Fak. Mec.*, 19, 65 (1983).
58. Meriçli, A.H., Çubukçu, B., Dortunç, T., Investigations of the Anatolian Medicinal Plants; the Flavonoids and Anthocyanins of *Helichrysum sanguineum*, *Fitoterapia*, 55, 112 (1984).
59. Mezzetti, T., Orzalesi, G., Rossi, C., Bellavita, V., A New Triterpenoid Lactone, α - Amyrin and Uvaol from *Helichrysum italicum*, *Planta Med.*, 18, 326 (1970).
60. Middleton, E.Jr., The Flavonoids, *TIPS*, 5, 335 (1984).
61. Miski, M., *Salvia tomentosa* mill Bitkisinin Flavonoid ve Terpenoid Bileşikleri, İstanbul Eczacılık Fakültesi, Doktora Tezi (1980).
62. Modica, G.D., Tira, S., Sostanze Isolate da "*Helichrysum italicum* G. Don": Frazioni neutre. Nota 1, *Ann. Chim.*, 48, 681 (1958).
63. Nara, T.K., Gleye, J., Lavergne de Cerval, E., Stanislas, E., Flavonoides de *Phyllanthus niruri* L. *Phyllanthus urinaria* L. *Phyllanthus orbiculatus* L. C. Rich., *Plantes Méd. et Phytoth.*, 11, 82 (1977).
64. Neu, R., Ein neues Reagenz zum Nachweis und zur Unterscheidung von Flavonen in Papier Chromatogramm, *Naturwissenschaften*, 43, 82 (1956).

65. Idem., Chelate von Diarylborsäuren mit Aliphatischen Oxyalkylaminen als Reagenzien für den Nachweis von Oxyphenyl-benzo- γ -pyronen, *Ibid.*, 44, 181 (1957).
66. Opitz, L., Hansel, R., Helipyron ein Methylen-bis-triacetsäurelacton aus *Helichrysum italicum*, *Tetrahedron Letters*, 1970, 3369 (1970).
67. Idem., Phthalide aus *Helichrysum italicum*, *Arch.Pharm.*, 304, 228 (1971).
68. Opitz, L., Ohlendorf, D., Hänsel, R., 5,7- Dihydroxy-3,8-dimethoxyflavon aus *Helichrysum italicum*, *Phytochemistry*, 10, 1948 (1971).
69. Orzalesi, G., Mezzetti, T., Bellavita, V., Un Nuovo Lattone Triterpenico Naturale, α -Amirina e Uvaolo da "*Helichrysum italicum*" (G.Don)., *Boll. Chim. Farm.*, 108, 540 (1969).
70. Panizo, F.M., Radriquez, B., Valverde, S., Lomas, M.M., Glucosidas Esteroidales del "*Helichrysum stoechas*" (L) D.C., *Química*, 68, 211 (1972).
71. Passerini, M., Pappini, P., Melani, E., Flower Stands of *Helichrysum italicum*, *Sperimentale, Sez. Chim. Biol.*, 2, 75(1951).
72. Passerini, M., Ridi, M., Papini, P., Sopra Alcune Sostanze Isolate da Estratti Vegetali, *Ann. Chim.*, 44, 783 (1954).
73. Peyron, L., Roubaud, M., Everlasting (Immortelle) Oil from the Esterel, *Soap. Perfum. Cosmet.*, 43, 726 (1970).
74. Pinkas, M., Torck, M., Bezanger-Beauquesne, L., Recherche Sur les Flavonoides des Fleurs D'*helichrysum stoechas* DC., *Plantes Méd. et Phytoth.*, 7, 332 (1973).
75. Prokopenko, A.P., Spiridonov, V.N., Litvinenko, V.I., Chernobai, V.T., Flavonoid Aglycons from *H. arenarium*, *Khim. Prir. Soedin.*, 5, 649 (1972).

76. Prokopenko, A.P., Spiridonov, V.N., Litvinenko, V.I., Chernobai, V.T., Obolentseva, G.V., Khadzhai, Y.I., Tatarko, Z.I., Phenol Compounds of Helichrysum and their Biological Activity, Farm. Zhur. (Kiev), 27, 37 (1972).
77. Quarmby, C., The Use of Polyvinylpyrrolidone in the Thin-Layer Chromatographic Separation of Flavonoids and Related Compounds, J.Chromatogr., 34, 52 (1968).
78. Quesada, T.G., Rodriguez, B., Valverde, S., The Constituents of Helichrysum stoechas, Phytochemistry, 11, 446 (1972).
79. Revazova, L.V., Sesquiterpene Lactones in Compositae of Armenian Flora, Biol. Zh. Arm., 23, 101 (1970).
80. Rimpler, H., Hansel, R., Zweineue Chalkonpigmente aus Helichrysum bracteatum (Vent.) Willd., Arch. Pharm., 298, 838 (1965).
81. Sakushima, A., Hisada, S., Agata, I., Nishibe, S., Studies on the Constituents of Apocynaceae Plants. Flavonoids from Trachelospermum jasminoides var. pubescens and T. difforme, Shoyakugaku Zasshi, 36, 82 (1982).
82. Sakushima, A., Nishibe, S., Hisada, S., A new Flavonol Glycoside from Cerbera manghas, Phytochemistry, 19, 712 (1980).
83. Sezik, G., Türkiye'de Yetişen Helichrysum Türleri Üzerinde Farmasötik Botanik Yönünden Araştırmalar, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Doktora Tezi (1977).
84. Shimizu, M., A New Method for Distinguishing Flavonol-3-glucoside from Flavonol, J.Pharm. Soc. Japan, 71, 1329 (1951).
85. Stahl, E., Thin Layer Chromatography, George Allen and Unwin Ltd., Springer-Verlag, Berlin (1969).

86. Stambouli, A., Paris, R., Les Flavonoïdes du Platane (*Platanus occidentalis* L.) Isolement du Tiliroside a Partir des Feuilles et d' hyperoside des Inflorescences Males, *Ann. Pharm. Fr.*, 19, 732 (1961).
87. Szadowska, A., Pharmacology of Galenic Preparations and Flavonoid Isolated from *H. arenarium*, *Acta. Polon. Pharm.*, 19, 465 (1962).
88. Tanker, N., Sezik, G., Türkiye'de Yetişen *Helichrysum* Türleri Üzerinde Farmasötik Botanik Yönünden Araştırmalar, *Ankara Ecz.Fak.Mec.*, 8, 19 (1978).
89. Tira, S., Modica, G.D., New β - diketones from *Helichrysum italicum* G.Don, *Tetrahedron Letters*, 1967, 143 (1967).
90. Ulubelen, A., Cole, J.R., Preliminary Phytochemical Investigation of *Maytenus trichotomus* (Celastraceae) *J.Pharm. Sci.*, 54, 1763 (1965)
91. Valverde, L.S., Rodriguez, G.B., Benzofuranderivative Isolated from *Helichrysum stoechas*, Structure and Reactivity, *An. Quim.*, 67, 879 (1971).
92. Vrkóč, J., Plant Substances. XIV. β - Sitosterolglucuronide, Collection Czechoslov. Chem. Commun., 27, 1345 (1962).
93. Vrkóč, J., Budensinky, M., Dolejs, L., Vasickova, S., Arenophtalide A: A new Phthalide Glycoside from *Helichrysum arenarium* Roots, *Phytochemistry*, 14, 1845 (1975).
94. Vrkóč, J., Dolejs, L., Budensinsky, M., Methylene-bis-2H-Pyran-2-ones and Phenolic Constituents from the Root of *Helichrysum arenarium*, *Ibid.*, 14, 1383 (1975 b).
95. Vrkóč, J., Dolejs, L., Sedmera, P., Vasickova, S., Sorm, F., The Structure of Arenol and Homoarenol, α - pyrone Derivatives, *Tetrahedron Letters*, 1971, 247 (1971).

96. Vrkóč, J., Herout, V., Sorm, F., Über Pflanzenstoffe X. Isolierung der Kristallinen Bestandteile der Sandstrohblume (*Helichrysum arenarium* Mch), Collection Czechoslov. Chem. Commun., 24, 3938 (1959).
97. Vrkoc, J., Ubik, K., Sedmera, P., Phenolic Extractives from the Achenes of *Helichrysum arenarium*, Phytochemistry, 12, 2062 (1973).
98. Wagenitz, G., Hegi, G, Illustrierte Flora von Mitteleuropa, Cilt 6, Lieferung 2, Carl Hanser Verlag, Münih (1965).
99. Wildanger, W., Herrmann, K., Qualitativnachweis und Quantitative Bestimmung von Flavonolen und Flavonen, J. Chromatogr., 76, 433 (1973).
100. Wollenweber, E., Thin-Layer Chromatography of Flavonoids on Polyamide, GIT Fachz. Labor. Supplement Chromatographie, 1982, 50 (1982).
101. Zapesochnaya, G.G., Barikovskii, A.I., Nakaidze, A.Ku., Flavonoids of *Helichrysum polyphyllum*, Khim. Prir. Soedin., 8, 804 (1972).
102. Zola, A., Vanda, J.P., Quelques Huiles Essentielles en Provenance de la Corse, Rivista Italiana Essenze, Profumi Piante officinali, Aromi, Saponi, Cosmetici, Aerosoli, 57, 467 (1975).

Ş E K İ L L E R

<u>Şekil</u>		<u>Sayfa No.</u>
1	H. pamphylicum'un genel görünüşü	6
2	H. pamphylicum'un çiçek durumu	7
3	H. pamphylicum	8
4	H. pamphylicum'un yayılışı	9
5	Eter ekstresindeki flavanoitlerin kromatografik ayırımı	75
6	F1 maddesinin IR spektrumu	78
7	F2 maddesine bağlı asidin IR spektrumu	81
8	F2 maddesinin alkali hidroliz ürününün IR spektrumu	83
9	F2 maddesinin IR spektrumu	83
10	F2 maddesinin H NMR spektrumu	84
11	F2 maddesinin C 13 NMR spektrumu	85
12	Etil asetat ekstresindeki flavanoitlerin kromatografik ayırımı	87
13	F3 maddesinin IR spektrumu	90

T A B L O L A R

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa No</u>
1 Flavonoitlerin ana yapısı	13
2 Flavonoitlerin ince tabaka kromatografisi, adsorban: silikajel	15
3 Flavonoitlerin ince tabaka kromatografisi, adsorban: poliyamit	16
4 Flavonoitlerin ince tabaka kromatografisi, adsorban: selüloz	17
5 Flavonoitlerin kağıt kromatografisi	18
6 Flavonoitlerin değişik reaktiflerle verdiği renkler	19
7 Flavonoitlerin kolon kromatografisi, adsorban:silikajel	22
8 Flavonoitlerin kolon kromatografisi,adsorban:poliyamit	24
9 Flavonoitlerin kolon kromatografisi,adsorban: sefadeks	24
10 H. arenarium üzerinde yapılan çalışmalar	44
11 H. armenium üzerinde yapılan çalışmalar	45
12 H. graveolens üzerinde yapılan çalışmalar	46
13 H. italicum üzerinde yapılan çalışmalar	47
14 H. noeantum üzerinde yapılan çalışmalar	48
15 H. orientale üzerinde yapılan çalışmalar	49
16 H. pallasii üzerinde yapılan çalışmalar	50
17 H. plicatum üzerinde yapılan çalışmalar	51
18 H. sanguineum üzerinde yapılan çalışmalar	52
19 H. stoechas üzerinde yapılan çalışmalar	53
20 Araştırmamız sırasında kullanılan kromatografi sistemleri	57
21 p- kumarik asit ve ozların teşhisinde kullanılan kromatografi sistemleri	58

22	H. pamphylicum'dan flavonoidlerin izolasyonu için kullanılan yolun şeması	60
23	F1 maddesinin tanımı ile ilgili kromatografik bulgular	76
24	F1 maddesinin UV spektrumuna ait bulgular	77
25	F2 maddesinin tanımı ile ilgili kromatografik bulgular	79
26	F2 maddesine bağlı asidin tanımı ile ilgili kromatografik bulgular	80
27	F2 maddesinin UV spektrumuna ait bulgular	81
28	F3 maddesinin tanımı ile ilgili kromatografik bulgular	88
29	F3 maddesinin UV spektrumuna ait bulgular	89
30	Türkiye'de yetişen Helichrysum türlerinde kemferol, astragalın ve tilirosit varlığı	93

KULLANILAN REAKTİFLERİN HAZIRLANMASI

S o d y u m M e t o k s i t : (NaOMe): Yeni kesilmiş 2.5 g metalik sodyum azar azar spektroskopik metanole (100 ml) ilâve edilir. Bu çözelti, ağzı plastik kapakla iyice kapatılan cam şişede saklanır. Bazı Fransız araştırmacılar, sodyum metilat yerine sodyum hidroksit (1M) kullanılmasını tavsiye etmektedirler(39)

A l ü m i n y u m K l o r ü r : ($AlCl_3$): Alüminyum klorür sarı-yeşil renkte ve suyla şiddetli reaksiyon veren bir maddedir. 5g anhidr alüminyum klorür spektroskopik metanole (100 ml) ilâve edilir. Başlangıçta çöken alüminyum klorür yirmidört saat sonra çözünür.

H i d r o k l o r i k A s i t : (HCl): 50 ml derişik hidroklorik asit 100 ml distile su ile karıştırılır. Bu çözelti cam kapaklı şişede saklanır.

S o d y u m A s e t a t : (NaOAc): Anhidr sodyum asetat, piyasada bulunan ve değişik oranlarda asetik asit taşıyan sodyum asetatтан hareketle hazırlanır. Sodyum asetat bir beherde bunzen beki üzerinde ergitilir ve 10 dakika erimiş halde tutulur. Sonra havana alınıp katılaşıncaya kadar karıştırılır. Toz edilen sodyum asetat kapaklı bir şişede saklanır.

B o r i k A s i t : (H_3BO_3): Yöntem I uygulamak gerekiyorsa anhidr borik asit, Yöntem II kullanılması gerekiyorsa anhidr borik asid ile doyurulmuş metanol çözeltisi kullanılır. Bu çözelti de kapaklı bir şişede saklanmalıdır.

H A Y A T H İ K A Y E S İ

1955 yılında Trabzon'da doğdum. İlk ve orta okulu Gümüşhane'de, liseyi Nevşehir'de bitirdim. 1972 yılında Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesine girdim. 1977 yılında, yüksek lisans derecesi ile mezun oldum. 1978 yılında Farmakognozi Bilim Dalı'na asistan olarak girdim. Halen aynı Anabilim dalında araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım. Evli ve bir çocuk annesiyim.