

176561

T. C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ FAKÜLTESİ

Sideritis congesta Davis et Huber - Morath
ÜZERİNDE FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR

DOKTORA TEZİ

FARMAKOGNOZİ PROGRAMI

Eczacı
Nurten EZER

ANKARA - 1980

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ FAKÜLTESİ

Sideritis congesta Davis et Huber-Morath
ÜZERİNDE FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR

DOKTORA TEZİ
FARMAKOGNOZİ PROGRAMI

Eczacı
Nurten EZER

Rehber Öğretim Üyesi
Doç.Dr. Ekrem SEZİK

ANKARA - 1980



Sideritis congesta Davis et Huber-Morath

Tez konumu seçen ve çalışmalarımın her safhasında bilgi ve yardımları ile beni daima destekleyen Sayın Hocam Doç. Dr. Ekrem SEZİK'e teşekkürü bir borç bilirim.

Çalışmalarım sırasında yakın ilgi, anlayış ve yardımlarından dolayı başta Dr. Akın ÇUBUKÇU olmak üzere bütün çalışma arkadaşlarıma ve kardeşim Teknik Ressam Bülent EZER'e teşekkür ederim.

Enstrümental analizlerin bir kısmının yapılmasını sağlayan Prof. Dr. Benjamin RODRIGUEZ'e; bulgularımızın doğrulanmasında, değerli bilgilerinden yarar gördüğüm Prof. Dr. Ayhan ULUBELEN'e ayrıca teşekkürlerimi sunarım.

İ Ç İ N D E K İ L E R

Sayfa No

| | |
|---|----|
| GİRİŞ VA AMAÇ | 1 |
| BOTANİK BÖLÜM | |
| <i>Labiatae</i> Familyası | 2 |
| <i>Sideritis</i> Cinsi | 3 |
| <i>Sideritis congesta</i> Davis et Huber-Morath | 5 |
| Tanım | 5 |
| Yayıliş1 | 8 |
| Anatomik Özellikleri | 11 |
| Yaprak | 11 |
| Gövde | 11 |
| KİMYASAL BÖLÜM - TEORİK BİLGİLER | |
| Flavonoitler | 15 |
| Genel | 15 |
| İzolasyon ve Saflaşt1rma Yöntemleri | 25 |
| Genel | 25 |
| Total Ekstraksiyon | 26 |
| Kademeli Ekstraksiyon | 28 |
| Kromatografik Yöntemler | 29 |
| Kolon Kromatografisi | 29 |
| Kağıt Kromatografisi | 32 |
| İnce Tabaka Kromatografisi | 34 |
| Diğerleri | 34 |
| Klasik Tanıma Reaksiyonları | 37 |
| Yapı Tayini | 37 |
| Hidroliz Yöntemleri | 42 |
| Asit Hidroliz | 42 |
| Enzimatik Hidroliz | 43 |

| | <u>Sayfa No</u> |
|---|-----------------|
| Alkali Hidroliz | 43 |
| Aglikonun Tanımı | 43 |
| Ozların Tanımı | 47 |
| Flavonozitin Tanımı | 48 |
| Diterpenler..... | 50 |
| Genel | 50 |
| İzolasyon ve Saflaştırma Yöntemleri | 51 |
| Yapı Tayini | 57 |
| Sideritis Türlerinin Kimyasal Birleşimi | 59 |
| Genel | 59 |
| Diterpenlerle İlgili Çalışmalar | 59 |
| Tetrasiklik Diterpenler | 60 |
| Trisiklik Diterpenler | 66 |
| Bisiklik Diterpenler | 66 |
| Flavonoitlerle ilgili Çalışmalar | 72 |
| Diğerleri | 77 |
| Uçucu Yağlar | 77 |
| Kumarinler | 78 |
| Steroller ve Alkanlar | 78 |
| Triterpenik Asitler | 80 |
| KİMYASAL BÖLÜM - PRATİK ÇALIŞMALAR | |
| MATERYAL | 81 |
| YÖNTEM | 82 |
| Ekstraksiyon | 82 |
| Petrol Eterli Faz Üzerinde Yapılan Çalışmalar | 85 |
| Tanım | 85 |
| İzolasyon | 87 |

| | <u>Sayfa No</u> |
|---|-----------------|
| Diterpen-Yapı Tayini | 91 |
| Metoksiflavon-Yapı Tayini | 92 |
| Etilasetatlı Faz Üzerinde Yapılan Çalışmalar .. | 93 |
| Tanım | 93 |
| Ön Denemeler | 94 |
| İzolasyon | 94 |
| Flavonozitler - Yapı Tayini | 99 |
| (F1) Flavonoziti - Yapı Tayini | 99 |
| Asit Hidroliz | 99 |
| Aglikonun Tanımı | 100 |
| Ozların Tanımı | 101 |
| Permetilleme | 104 |
| (F2) Flavonoziti - Yapı Tayini | 107 |
| Asit Hidroliz | 107 |
| BULGULAR | 109 |
| SONUÇ VE TARTIŞMA | 133 |
| ÖZET | 140 |
| SUMMARY | 142 |
| LİTERATÜR | 144 |
| İNDEKSLER | 163 |

G İ R İ Ş V E A M A Ç

Sideritis türleri, Türkiye'de bilhassa Güney Anadolu bölgesinde son derece yaygın olarak bulunur. Türkiye'de 38 *Sideritis* türü^(a) bulunmaktadır. Bu türlerden 31 tanesi endemiktir. Bu türler üzerinde herhangi bir farmakognozik araştırma bulunmamaktadır.

Güney Anadolu'da yetişen *Sideritis* türleri içinde halk ilacı ve çay olarak en çok *Sideritis congesta*. Davis et Huber-Morath kullanılmaktadır. Bu bitkinin en yaygın bulunduğu ve kullanıldığı bölge, Antalya, Alanya civarındadır.

Diğer taraftan son yıllarda İtalya(125,171), İspanya(2,32,35,48,105,132,133,139,140,173), Kanarya adalarında (53,57,58,61) yetişen *Sideritis* türlerinin kimyasal yapısını aydınlatmak üzere çok sayıda araştırma yapılmış ve yapılmaktadır.

Sideritis türleri üzerindeki araştırmaların yoğunlaşması buna karşılık, Türkiye'deki türler üzerinde herhangi bir çalışma bulunmaması, *S.congesta*'nın halk ilacı ve çay olarak geniş miktarda kullanılması, bizi bu bitki üzerinde araştırma yapmaya yöneltti.

S.congesta'nın morfolojik, anatomik özellikleri ve taşıdığı ana diterpenin ve flavonoidlerin yapısını aydınlatmak araştırmamızın amacını teşkil etmiştir.

^(a) Flora of Turkey, cilt 7, 1981 de yayınlanacak olan ve Doç.Dr.E.SEZİK ile Prof.Dr.P.H.DAVIS arasındaki özel yazışmadan.

BOTANİK BÜLÜM

BOTANİK BÖLÜM

Labiatae Familyası

Bir veya çok yıllık, genellikle otsu, bazen çalimsı nadiren ağaç (*Hyptis spec.*) veya tırmanıcı bitkiler (*Scutellaria spec.*). Gövde dört köşeli. Yapraklar basit veya parçalı, stipulasız; karşılıklı ve dekusat dizilişte. Damarlanma genellikle pennat.

Çiçek durumu çoğunlukla vertisillastrum, bazen panikula, kapitulum, korimbus veya simoz. Çiçekler hermafrodit, zigomorf, genellikle bilabiat. Kaliks kalıcı, gamosepal, 4-5 dişli, kampa-nulat, tubulat, bazen bilabiat. Bu durumda üst dudak 3, alt dudak 2 dişli. Korolla gamopetal, bilabiat, üst dudak 2, alt dudak 3 loblu, bazen üst dudak bulunmaz, 5 lobun hepsi alt dudakta yer alır. Stamenler korollaya bağlı, 4, didinam; bazen 2, nadiren 5. Bu durumda bir tanesi körelmiş. Ovaryum üst durumlu, 2 karpelli, 4 gözlü. Her göz tek ovüllü. Stilus genellikle korollanın dışın-da ginobazik, filiform, uçta bifit.

Meyva 4 nukta ayrılan bir şizokarp. Her nukta bir tohumlu.

Yeryüzünde yaklaşık 200 cins ve 3500 den fazla türü vardır. Türkiye'de 38 cins ve 400 e yakın türü bulunur (9, 160).

Sideritis Cinsi

Sinonimler

Burgadorfia Moench., *Empedoclia* Rafin., *Fracastora* Adans.,
Francastora Steud., *Hesiodio* Moench., *Leucophar* Webb et Berth.,
Marrubiasstrum Teurn. ex Moench., *Navicularia* Heist. ex Adans. (78)

Tanım

Bir veya çok yıllık, otsu veya çalimsı bitkiler. Gövde dik, yükselici, genellikle dallanmış, tabanda odunsu, ekseriya tüylü. Yapraklar genellikle karşılıklı, dekusat, tüylü, damarlanma pennat.

Çiçekler beyaz, sarı, pembe, mor renklerde. Çiçek durumu vertisillastrum. Vertisillatlar ya birbirine yakın veya mesafeli dizilmiş, bazen sık bir spika şeklinde küme meydana getirmiş. Kaliks tubulat, kampanulat, bazen bilabiat, genellikle 4-5 dişli, dişler birbirine eşit veya üst diş diğer 4 diştten büyük ve geniş; uçları aküminat. Kaliks túbünde damarlanma belirgin. Korolla kaliksten kısa, hemen hemen eşit veya uzun; tüp şeklinde, bilabiat. Üst dudak dik, nadiren yatık, tam, retus veya bifit; alt dudak daha kısa, yatık, 3 loblu, orta lob genellikle diğerlerinden geniş. Stamenler korolla tüpü içinde nadiren 2, genellikle 4, didinam, birbirine paralel iki sıra meydana getirmiş; üsttekiler kısa, alttakiler uzun. Stilus korolla túbü içinde, ginobazik, bifit; üst lob kısa, obtus veya trunkat, alt lob genişlemiş, üst lobu sarar durumda. Stamenlerin ve stilusun boyu

korolla túbünden uzun değil. Ovaryum üst durumlu, 2 karpelli, 4 gözlü her gözde bir ovüllü.

Meyva kuruyunca 4 merikarpa ayrılan şizokarp (9, 52, 74, 160).

Sideritis türleri bir yıllık ve çok yıllık olmalarına göre iki bölüme ayrılır: *Hesiodia* (bir yıllık), *Empedoclea* (çok yıllık olanlar) (9).

Flora Orientalis'te (9) Türkiye'de 17, Index Kewensis'de (78) 22 *Sideritis* türünün bulunduğu kayıtlıdır. Flora of Turkey'de ise 38 tür bulunmaktadır. ^(a) Bu türlerin 31 tanesi endemiktir. Endemik türler genellikle Güney Anadolu bölgesinde, Toros dağlarında yayılmıştır.

İsimplendirme

Sideritis türleri, Güney Anadolu bölgesinde (Antalya-Alanya) "yayla çayı", "dağ çayı" diye isimlendirilmektedir. Sadece *S. argyrea*' ya, (Alanya-Gündoğmuş) Güzelbağ civarında "eşek çayı" adı verilmektedir. Yabancı dillerdeki isimlendirmesi ise şöyledir; Thé de campagne, Faux-Marrube, Crapaudine, Sideriné (Fr.); Gliedkraut (Alm.); Siderite, Stregonia (Ital.); Iron-wort (Ing.); Glidkruid, Wondkruid (Flam.) (10, 76).

(a) Flora of Turkey, cilt 7, 1981 de yayınlanacak olan ve Doç. Dr. E. SEZİK ile Prof. Dr. P.H. DAVIS arasındaki özel yazışmadan.

Sideritis congesta Davis et Huber-Morath

Tanım (a)

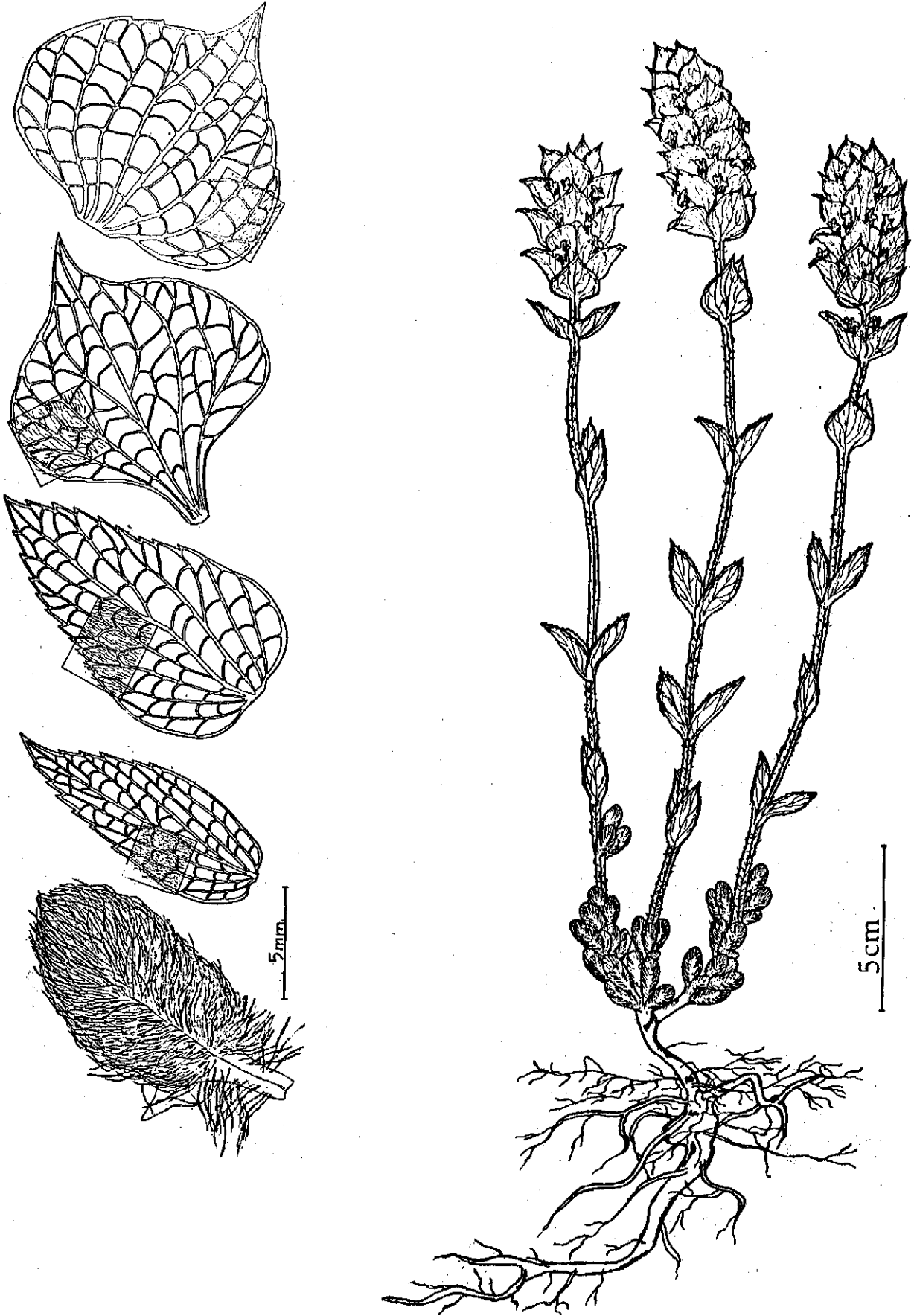
Çok yıllık, 25-60 cm boyunda, gövde dik, yükselici, dört köşeli, tabanda odunsu, basit veya genellikle tabandan itibaren seyrek dallanmış. Gövde tüylü, tüyler tabanda daha sık, beyaz, tomentos, üst kısımlarda sık değil, yeşilimsi, tomentos, salgı tüyleri seyrek.

Yapraklar karışıklıklı, dekusat; taban yaprakları kalın, sık, uzun tüylü, tomentos, 0,7 x 1,5 cm, saplı. Gövdenin orta kısmındaki yapraklar ovat, oblongdan oblong-lanseolata kadar olan şekillerde, 1,5-3 x 0,5-1,2 cm, sapsız; kenarları tabanda tam, ortadan itibaren kenarı krenat-dentikulattan serrata kadar değişik şekillerde; uçta aküminat veya mukronat. Damarlanma belirgin, pennat, yan damarlar orta damar kadar gelişmiş, ağsı görünüşte. Her iki yüz tüylü, tüyler üst yüzde daha uzun ve sık; iç yüzde daha çok damarların etrafında toplanmış. Salgı tüyleri her iki yüzde seyrek.

Internodyumlar tabanda 2,5-3,5 cm, üst kısımda 3-4,5 cm. Yapraklar sap üzerinde kademe kademe farklılaşırlar. (Şekil-1).

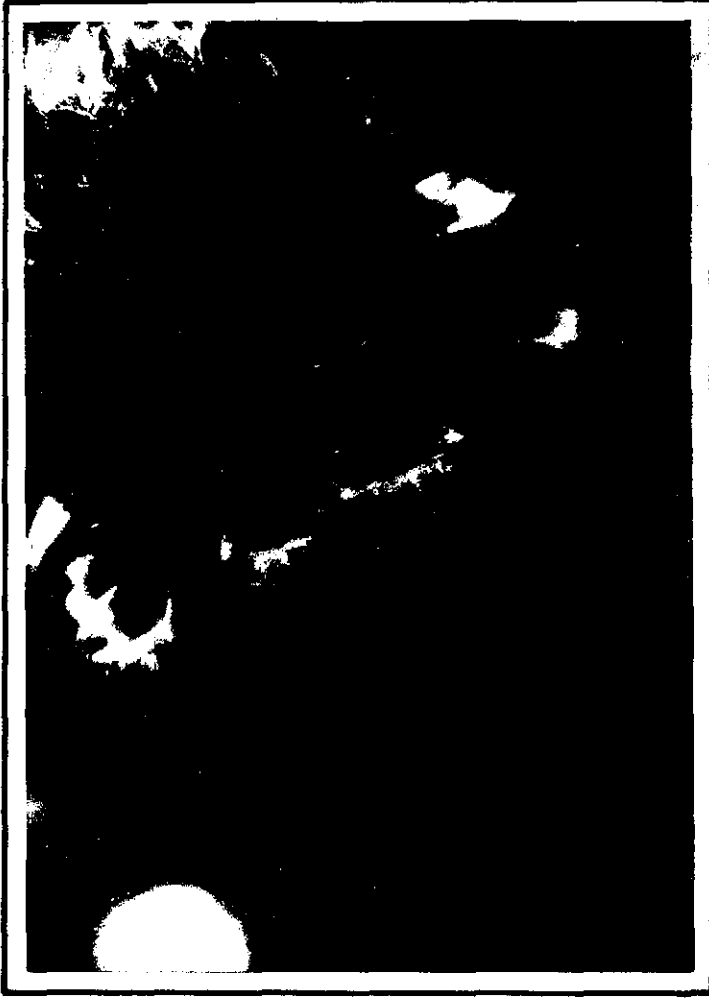
Orta ve üst kısımdaki brakteler sapsız, tabanda daralmış, sarımsı yeşil, geniş ovattan orbikulata kadar olan şekillerde; 1,2-2 x 1-2 cm, tepesi aküminat kenarı tabanda tam, üst

(a) Doç. Dr. Ekrem SEZİK tarafından, Prof. Dr. P.H.DAVIS'ten özel yazışma ile *Flora of Turkey*'in 7. cildinde yayınlanacak *S.congesta* monografisi sağlanmış ve tanımımıza ilave edilmiştir.



Şekil - 1

S. congesta - Bitki, Yaprakların Farklılaşması



Şekil - 2

S. congesta - Çiçek Durumu

kısımda seyrek dentat; damarlanma pennat, belirgin, yandamarlar orta damarlar kadar gelişmiş, ağsı görünüşte. Her iki yüz tüylü, puberulent. Alt kısımdaki brakteler yeşil, tabanda geniş ovat, kenarları seyrek serrat.

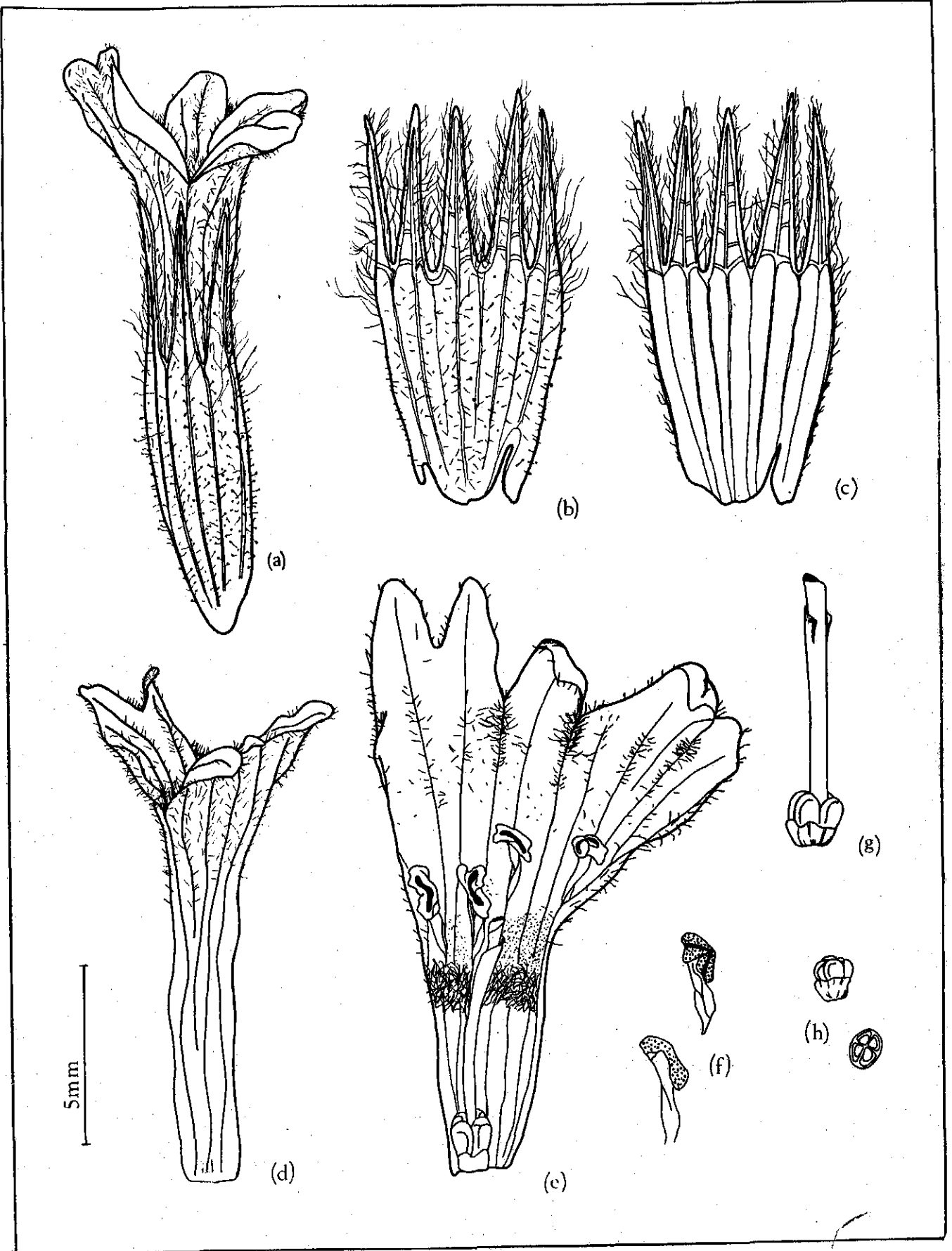
Çiçek durumu vertisillastrum. Vertisillatlar 5-12, her birinde 5-6 çiçek bulunur. Vertisillatların arası tabandan tepeye doğru sıklaşır, tabanda araları 2,5-3 cm, ortalarda 1-1,5 cm ve üst kısımda sık. (Şekil-2).

Kaliks yeşil, 9-13 mm uzunluğunda, aktinomorf, tubulat, gamosepal, birbirine eşit 5 parçalı, parçaların uçları dış şeklinde, dişler kaliksin yaklaşık 1/3ekadar iner; damarlanma belirgin. Dişlerin çevresi uzun örtü tüylü; kaliks tübünün dış yüzeyi kısa, glandular tüylü, iç yüz hemen hemen tüysüz. Korolla sarı, kaliks tübü kadar veya biraz uzun, 12-15 mm, tubulat, gamopetal, bilabiata; üst dudak dik, bifit, ucu obtus; alt dudak yatık, 3 loblu. Korollanın damarlanması belirgin ve her iki lobun iç yüzü kahverengi çizgili. Korolla tübünün dış yüzü üstte tüylü. İç yüzde damarların çevresi tüylü, boyun kısmında uzun tüylerden meydana gelmiş bir halka var, boyundan tabana kadar olan kısım tüysüz.

Stamenler bu halkanın üst kısmında, birbirine paralel iki sıra meydana getirmiş, 4, didinam, korollanın iç yüzüne bağlı, Anterler dorsifiks, konnektif kalınlaşmış. Stilus korolla tübünün içinde, ginobazik, bifit; üst lob uçta trunkat, alt lob geniş üst lobu sarar durumda. Ovaryum üst durumlu, 2 karpelli, 4 gözlü, her gözde bir ovüllü, plasentasyon bazal, (Şekil-3),

Yayıliışı

S.congesta, *P.brutia* ve *Quercus* altında, kalkerli yamaçlarda, kayalıklar arasında 1000 m, ye kadar yetişir.



Şekil - 3

S. congesta - çiçek kısımları

(a) Çiçek, (b) Kaliks Dış Yüzey, (c) Kaliks İç Yüzey,
(d) Korolla Dış Yüzey, (e) Korolla İç Yüzey, (f) Stamen-
ler, (g) Ginekeum, (h) Ovaryum.



Şekil - 4

S.congesta - Habitat

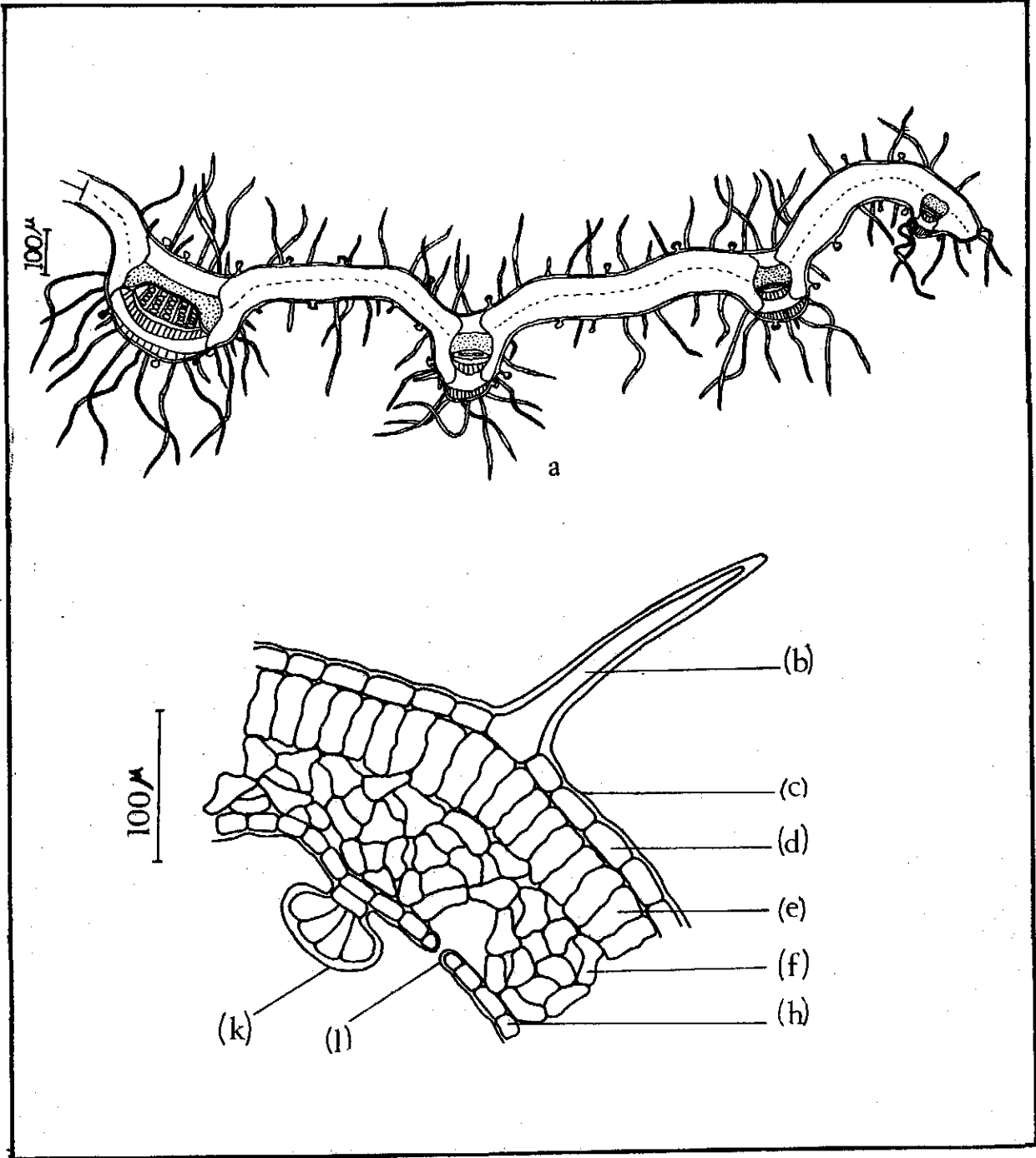
C3 Antalya; Manavgat, Manavgat-Akseki, Akseki'nin 29 km güneyi, 470 m., 20.8.1948, A.Huber-Morath (30); Akseki'nin 47 km güneyi, 250 m., *P.brutia* arasında 20.8.1948, A.Huber-Morath (30). Manavgat-Gençler yol kenarı, 10.7.1974, N.Ezer, (HÜEF 700!).

C4 Antalya; Alanya, Beydam, Geyik dağı yakınında, 1000 m., 26.8.1947, Davis (30); Güzelbağ, Kemer köprüsü civarındaki tepeler, 21.7.1971, G.Sezik, E.Sezik, (HÜEF 197!); Değirmenönü, 13.7.1976, N.Ezer. (HÜEF 1257!); Dimçayı ve köprü civarındaki tepeler, 12.7.1977, N.Ezer, (HÜEF 1256!); Sapa çukuru, tensil sahası, *P.brutia* ormanı, 170 m, 13.5.1971, R.Çetik, (AÜF 3764!). C4 Mersin; Anamur, Kükür vadisi, Kükür ile Sarıdana arası, 19,8.1949, Davis (30); Kükür, 700 m, 18.8.1949, Davis (30).

Anatomik Özellikleri

Y a p r a k : Bifasyal, üst ve alt epiderma tek hücreli, ince bir kütikula ile örtülü. Üst epiderma hücreleri genellikle alt epidermadan büyük, kenarları daha az dalgalı. Her iki epiderma da örtü ve salgı tüyleri taşır. Örtü tüyleri tek veya 2-3 hücreli, çok hücreli olanlar tek hücrelilerin 4-5 katı uzunlukta [Şekil-6(d₁, d₂, d₃, d₄)]. Salgı tüyleri değişik şekillerde: *Labiatae* tipi, başı çok hücreli sapı uzun, başı tek hücreli kısa veya uzun saplı. Bunlardan sapı baş hücresinin 3 katından daha uzun olan tüyler *Sideritis* genusu için karakteristiktir (109) [Şekil-6 (a₁, a₂, a₃, a₄, a₅)]. Stomalar *Labiatae* tipi ve sadece alt epidermada. Palizat parenkiması tek sıralı, kenarları hafif dalgalı. Sünger parenkiması, gevşek, hücreler arası boşlukları fazla, uzamış, değişik şekillerdeki hücrelerden meydana gelmiştir (Şekil-5,6).

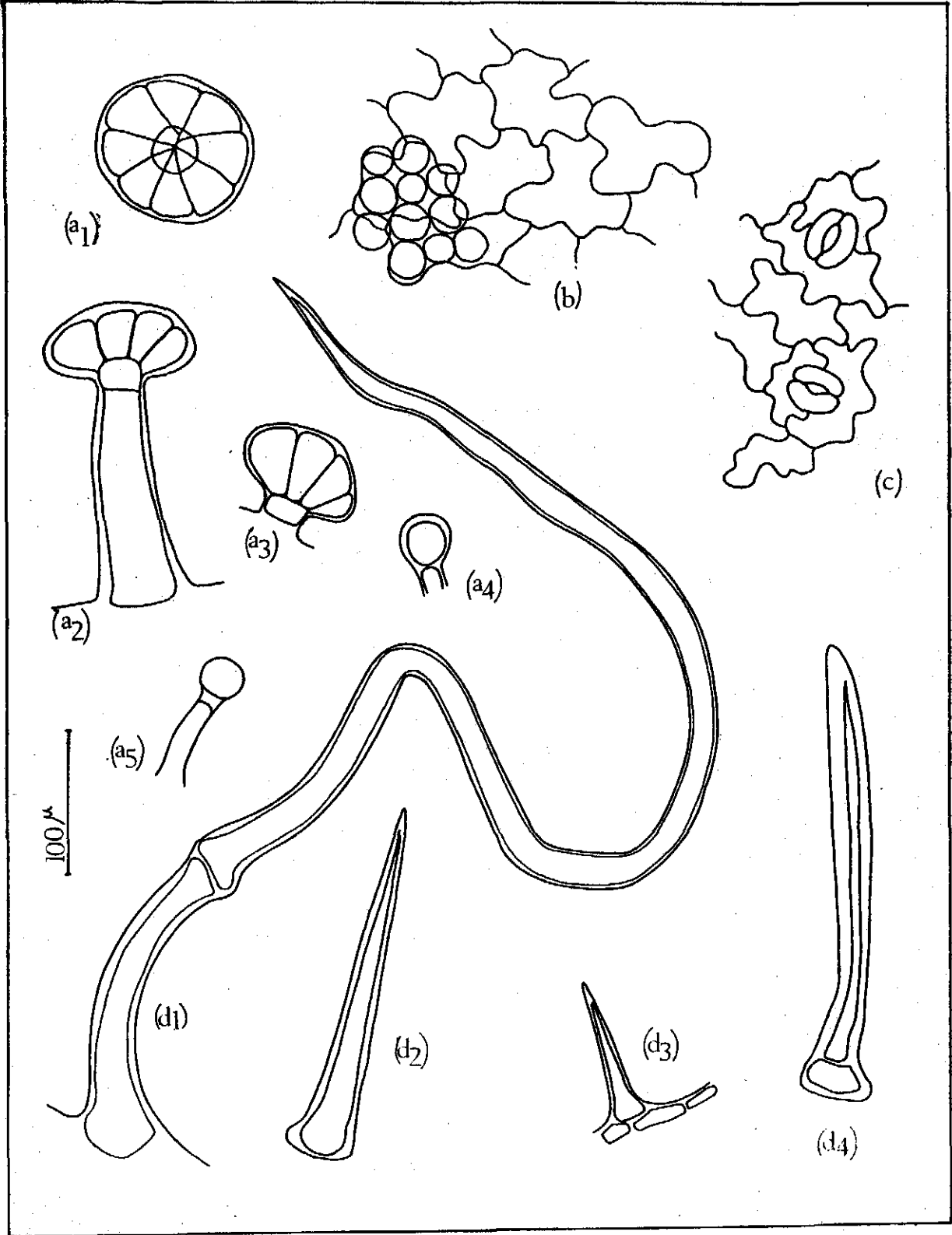
G ö v d e : Dört köşeli, köşelerde gayri muntazam şekillerde kalınlaşmış, geniş kollenkima tabakası taşır. Tabanda içi boş, çiçek durumuna yakın kısımda dolu. Epiderma tek sıralı dar uzun hücreli, üzeri kütikula ile örtülü, çok sayıda örtü ve salgı tüyü taşır. Epidermanın altında 4-5 sıralı, ergastik maddeler bakımından zengin, kabuk parenkiması görülür. Endoderma tek sıralı, izodiametrik hücrelerden meydana gelmiş bir halka şeklinde. Perisikl, endodermanın altında, sklerenkima demetleri taşıyan bir tabaka halinde. Floem yer yer ezilmiş, kambiyum hücreleri nadiren belirgin, genellikle ezilmiş. Ksilem, köşelerde daha geniş bir tabaka halinde. Öz parenkimatik, ince cidarlı (Şekil-7).



Şekil - 5

S. congesta - Yaprak, Enine Kesit

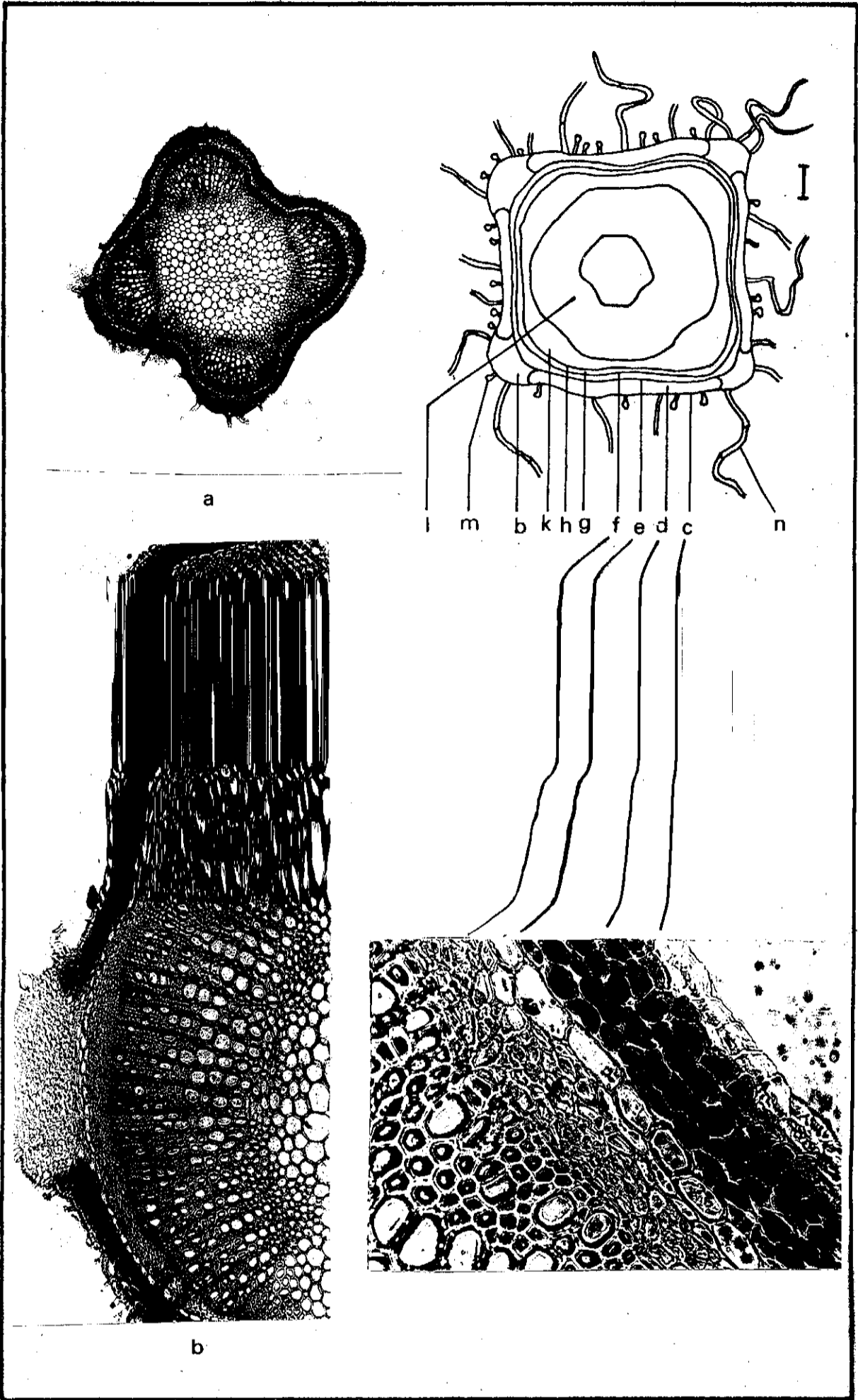
(a) Genel Görünüş, (b) Örtü Tüyü, (c) Kutikula, (d) Üst Epiderma, (e) Palizat Parenkiması, (f) Sünger Parenkiması, (h) Alt Epiderma, (k) Salgı Tüyü, (l) Stoma.



Şekil-6

S. congesta - Yaprak Tozu

(a₁), (a₂), (a₃), (a₄), (a₅) Salgı Tüyleri, (b) Üst Epiderma ve Palizat Dokusu, (c) Alt Epiderma ve Stomalar, (d₁), (d₂), (d₃), (d₄) Örtü Tüyleri.



Şekil-7

S. congesta - Gövde, Enine Kesit

K İ M Y A S A L B Ö L Ö M
T E O R İ K B İ L G İ L E R

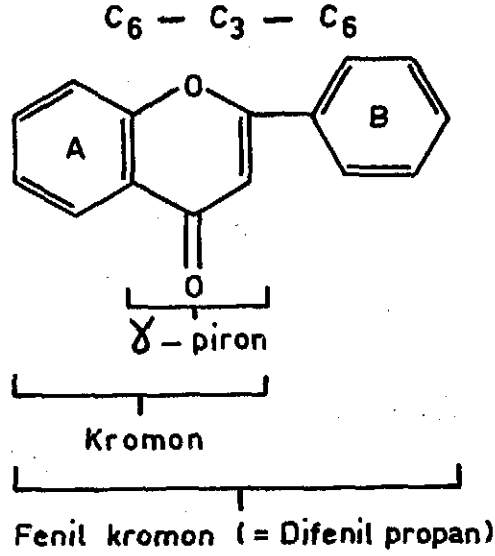
Flavonoitler

Genel

Flavonoitler, tabiatta son derece yaygın polifenolik yapıdaki bileşiklerdir. Flavon ana yapısı, 15 C atomlu bir karbon iskeletinden meydana gelmiştir. İki fenil halkası (A ve B) birbirine üç karbon atomlu bir zincirle bağlanmıştır: $C_6-C_3-C_6$. İki fenil halkası ya düz zincir halinde (kalonlar) veya beşli (avronlar) ve altılı (flavonlar) halkalar meydana getirerek birbirlerine bağlanmışlardır. Flavonoit ana yapısı ve bu yapıyı meydana getiren kısımlar (Şekil-8) de gösterilmiştir.

Tabiattan değişik yapılarda flavonoitler izole edilmiş-

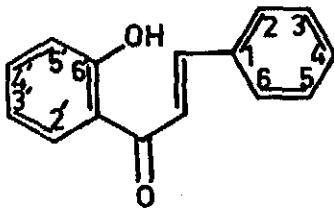
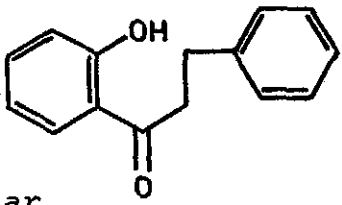
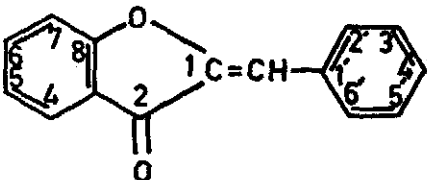
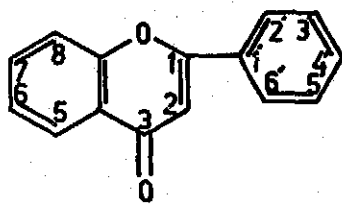
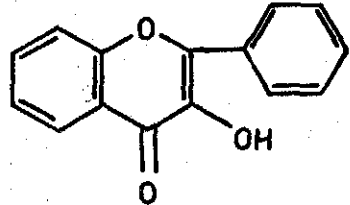
tir. Yapı farklılığına sebep olan genel değişiklikler şunlardır: Fenil grubunun 2 veya 3 konumunda olması, 2. ve 3. karbon atomları arasında çift bağın bulunup bulunmaması, 3. karbon atomunda hidroksil grubunun varlığı, kromon ve B halkasındaki serbest fenol, süstitüe fenol ve diğer grupların yer ve sayılarının değişkenliği, ana flavon halkasının kondanse hatta



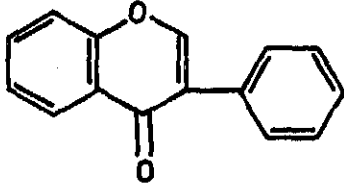
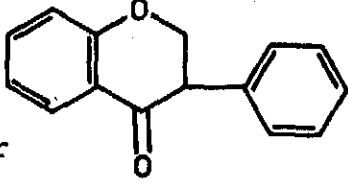
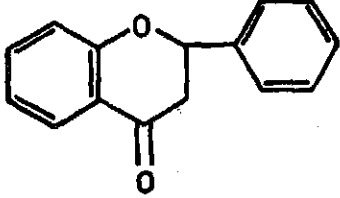
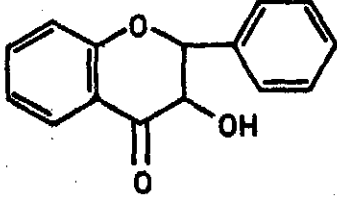
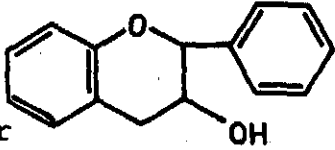
Şekil - 8

Flavonoit - Genel Yapı

polimerize olabilmesi, ozlarla (O) ve (C) heteroziti yapabilmeleri. Buna göre flavonoitlerin sınıflandırılmasında çok kullanılan bir sistem (Tablo - 1, 2, 3) de gösterilmiştir.

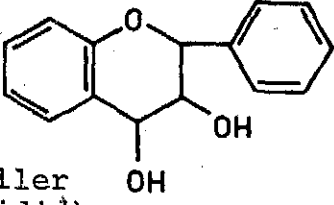
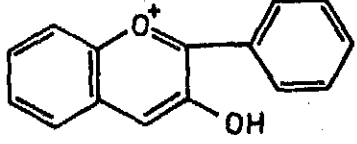
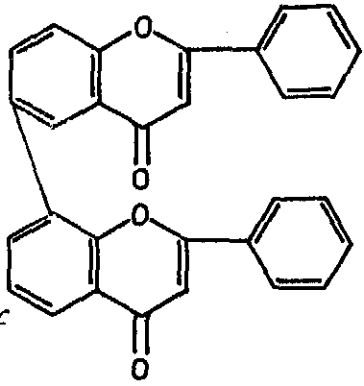
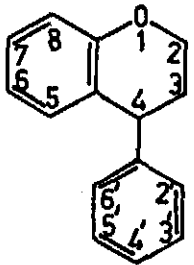
| Flavonoit Tipi | Ana Yapı | Karakteristik Özellikleri |
|-------------------------|---|--|
| Düz Zincir Taşıyanlar | | |
| Kalkonlar |  | Sarı-turuncu, der.sülfürik asit ile turuncu-kırmızı, Siyanidin reaksiyonu negatif. Izolikiritin (<i>Glycyrrhiza spec.; Leguminosae</i>) |
| Dihidrochalkonlar |  | Renksiz veya soluk sarı, der.sülfürik asit ile renksiz veya soluk sarı, siyanidin reaksiyonu negatif. Floridzin (<i>Malus spec.; Rosaceae</i>) |
| Beşli Halka Taşıyanlar | | |
| Avronlar |  | Parlak sarı, der.sülfürik asit ile kırmızı, siyanidin reaksiyonu negatif. Sülfüretin (<i>Dahlia, Bipens spec.; Compositae</i>) |
| Altılı Halka Taşıyanlar | | |
| Flavonlar |  | Açık sarı, der.sülfürik asit ile sarı-turuncu, siyanidin reaksiyonu ile sarı-kırmızı. Apigenin (<i>Antirrhium spec.; Scrophulariaceae</i> ve birçok familyada) |
| Flavonoller |  | Açık sarı, der.sülfürik asit ile sarı-turuncu, siyanidin reaksiyonu ile koyu kırmızı. Kersetin, kemferol (birçok familyada yaygın). |

Tablo - 1
Flavonoitler - Sınıflandırma ve Özellikleri

| Flavonoit Tipi | Ana Yapı | Karakteristik Özellikleri |
|------------------------------------|---|--|
| Izoflavonlar |  | Renksiz veya soluk sarı, der.sülfürik asit ile sarı, siyanidin reaksiyonu ile sarı. Genisteyin (<i>Genista spec.</i> ; <i>Genisteae</i>). |
| Izoflavanonlar |  | Renksiz, der.sülfürik asit ile sarı, siyanidin reaksiyonu negatif. Padmakasteyin. (<i>Prunus spec.</i> ; <i>Rosaceae</i>) |
| Flavanonlar |  | Renksiz, der.sülfürik asit ile turuncu-kırmızı, siyanidin reaksiyonu ile kırmızı-mor. Naringenin, Hesperitin (<i>Citrus Spec.</i> ; <i>Rutaceae</i>). |
| Flavanonoller (Dihidroflavonol) |  | Renksiz, optikçe aktif, der.sülfürik asit ile sarı-kırmızı, siyanidin reaksiyonu ile kırmızı-mor. Taksifolin (<i>Liquidambar spec.</i> ; <i>Hamamelidaceae</i>) |
| Flavan-3-oller (Kateşol) |  | Renksiz, optikçe aktif, der.sülfürik asit ile kırmızı, siyanidin reaksiyonu negatif. Kateşin (<i>Acacia spec.</i> ; <i>Leguminosae</i>) |

Tablo - 2

Flavonoitler - Sınıflandırma ve Özellikleri

| Flavonoit Tipi | Ana Yapı | Karakteristik Özellikleri |
|---|---|---|
| Flavan-3,4-dioller (Lökoantosiyanidin) |  | Renksiz,optikçe aktif, der. sülfürik asit ile kırmızı,siyanidin reaksiyonu ile pembe-kırmızı,hidroklorik asit ile ısıtılınca antosiyanin meydana gelir. Lökorobinetinin. (<i>Robinia spec.</i> ; <i>Leguminosae</i>) |
| Antosiyaninler |  | Kırmızı, mor, der.sülfürik asit ile sarı-turuncu, siyanidin reaksiyonu ile pembe-kırmızı. Delfinidin (<i>Delphinium spec.</i> ; <i>Ranunculaceae</i>) |
| Biflavonoitler |  | Renksiz, siyanidin reaksiyonu sarı-kırmızı. (6-8) Agantisflavon (5-8) Amentoflavon (4-0-6) Hinokiflavon v.b <i>Gymnospermlere</i> özeldir. |
| Neoflavonoitler |  | Bu grup bileşikler değişik yapılara sahiptirler. 4-Arilkroman, dalbergiyon, 4-Arilkumarin vb. Kalofilolid (<i>Calophyllum inophyllum</i> ; <i>Guttiferae</i>) |

Tablo - 3

Flavonoitler - Sınıflandırma ve Özellikleri

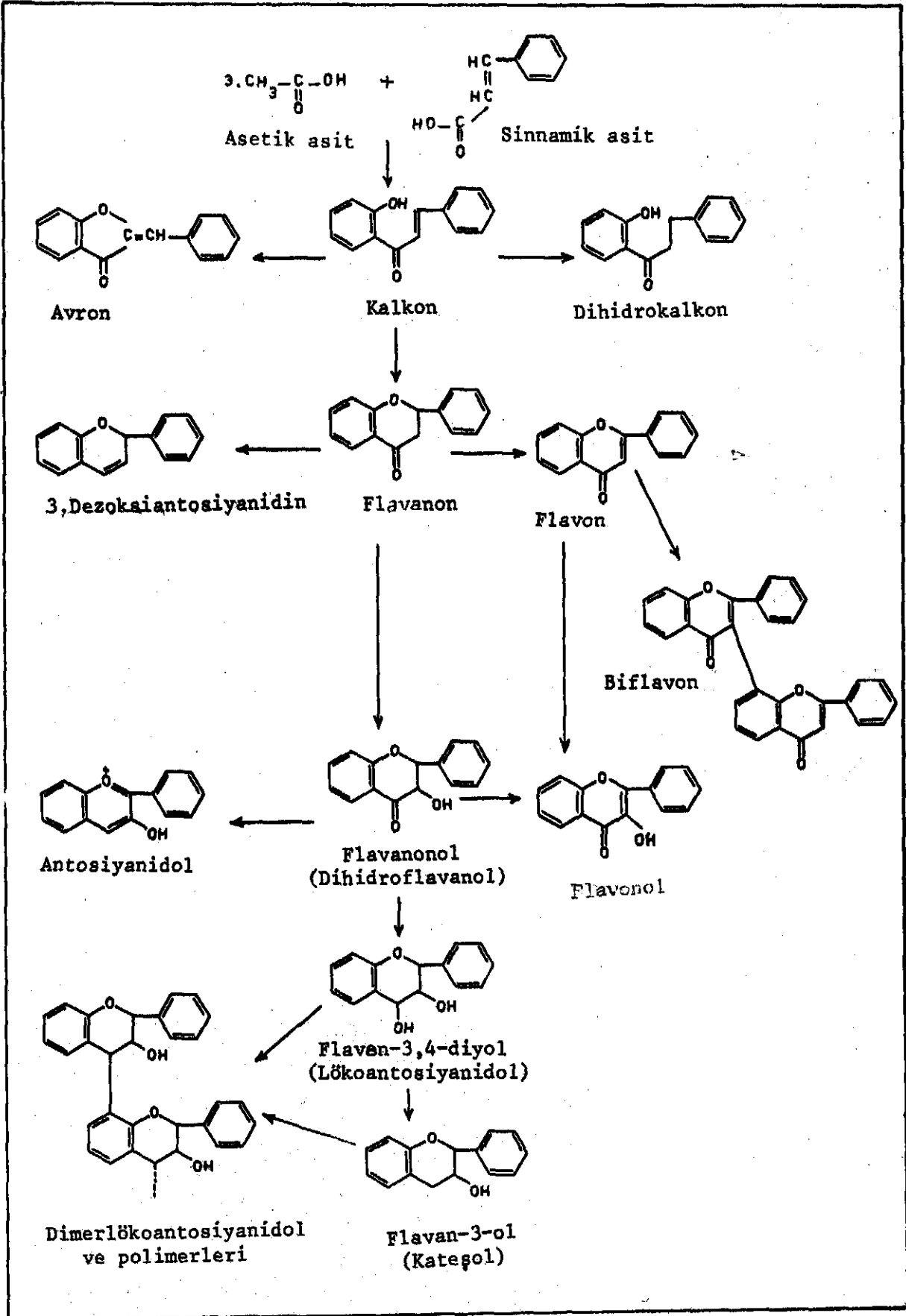
Flavonoitlerin biyosentezi üzerindeki araştırmalar son yıllarda büyük bir yoğunluk kazanmıştır. Bu araştırmaların bulguları da sınıflandırma sistemlerini etkilemektedir. Biyosentez çalışmalarını, flavonoitlerin prekürsörü olan bir kalkondan türediğini kesinlikle göstermiştir. (Şekil-9) (29, 70, 72).

Flavonoitler genellikle Angiospermlerde ve nadiren evölüsyon bakımından geri bitkilerde (algler, yosunlar, eğreltiler gibi) bulunur.

Flavonoitlerin heterozitleri, flavonozit diye isimlendirilir. Flavonozitlerde ozlar, genellikle aglikona yarı asetal bağı ile bağlıdır. Bağlanma, aglikonun genellikle 3. veya 7. karbonundaki hidroksil grubundandır. Oz ile aglikon (C-C) bağı ile de bağlanır. Bu tip flavonozitler, (O) heterozitlerine nazaran tabiatta daha az bulunmuştur.

Flavonozitlerde bulunan ozlar glikoz, galaktoz, ramnoz, arabinoz, ksiloz ve glikuronik asittir. Tek oz taşıyan flavonozitler genel olarak piranoz formundadır. Bazen daha az dayanıklı furanoz formunda da olabilir. Genellikle glikoz, galaktoz, ksiloz, glikuronik asit (D) formunda ve aglikona β -; ramnoz, arabinoz, (L) formunda ve aglikona α - bağı ile bağlanmışlardır. Ayrıca mannoz ve galakturonik asitin de flavonozitlerin yapısında bulunduğu gösterilmiştir. Bazı flavonozitlerde apioz gibi aglikona bağı özel ozlara da rastlanmıştır. (51, 71, 72).

Flavonozitler ozları ya değişik hidroksil gruplarında tek olarak veya oz zincirleri halinde taşırlar. Oz zinciri genellikle diholozit ve triholozit, nadiren tetraholozit olarak



Şekil - 9

Flavonoitler - Biyosentez ve sınıflandırma

tespit edilmiştir.

Flavonozitler yapısında bulunan önemli di ve triholozitler (Tablo-4) de gösterilmiştir. Ozlar genellikle düz zincir, nadiren dallanmış zincirler meydana getirirler. Tabiatda diholozit taşıyan flavonozitlerin genellikle triholozit taşıyanlarla beraber bulunduğu tespit edilmiştir. (72, 144).

Flavonozitlerin yapısında, p-kumarik, ferulik, kafeik, gallik, sinnamik, malonik, benzoik ve p-hidroksi benzoik asitlere de rastlanmıştır (1, 25, 72).

| Adı | Yapısı |
|-------------------|--|
| Diholozit | |
| Soforoz | 2-O-β-D-glikozil-D-glikoz. |
| Laminaribiyoz | 3-O-β-D-glikozil-D-glikoz. |
| Gentiyobiyoz | 6-O-β-D-glikozil-D-glikoz. |
| Rutinoz | 6-O-α-L-ramnozil-D-glikoz. |
| Neohesperidoz | 2-O-α-L-ramnozil-D-glikoz. |
| Triholozit | |
| Soforotriyoz | O-β-glikozil (1 → 2)-O-β-glikozil (1 → 2)-glikoz |
| Gentiotriyoz | O-β-glikozil (1 → 6)-O-β-glikozil (1 → 6)-glikoz |

Tablo - 4

Flavonoitler-Yapılarında bulunan Oligoholozitler

Flavonoitler 5,7 veya sadece 5. karbondaki hidroksil grupları dışında, diğerlerinde metoksil grupları da taşıyabilirler. B halkasında ise daha ziyade 3' ve 5' metoksil grupları bulunur. Çok sayıda metoksil grubu taşıyan flavonoitler tabiatta yaygındır. Flavonoitlerin sülfat tuzları da tabiat-
tan izole edilmiştir (73).

Flavonoitler, farklı yapılarına bağlı olarak değişik etkilere sahiptirler. Bu kısımda bu etkilerden önemli olanlarından kısaca bahsedilecektir.

Flavonoitlerin en önemli etkisi, kapiler permeabilite üzerinedir. Hayvan deneylerinde, vitamin C mevcudiyetinde, genellikle permeabiliteyi azaltıcı etkileri tespit edilmiştir. Bu etki yani P vitamini aktivitesi, 3', 4' hidroksil gruplarından ileri gelmektedir. Bu gruplar oksitlenerek kinonik yapıya dönüşebilmektedir. Vitamin C bir oksidaz etkisi ile dehidroaskorbik asit haline geçmekte, açığa çıkan hidrojen peroksit ise flavonoiti oksitleyip, kinonik yapının meydana gelmesini sağlamaktadır. Bu da adrenalinin otooksidasyonunu inhibe edip, kapillerleri normal kontraksiyon halinde tutmaktadır. Bu etki ile ilgili olarak insanlar üzerinde yapılan deneylerin sonuçları ise hala tartışmalıdır (50, 77, 95).

Flavonlarda koroner genişletici etki de tespit edilmiştir. 7-Hidroksiflavon ve etil bromo asetatın kondensasyon ürünü İtalya'da koroner vazodilatör olarak kullanılmıştır (72). Kol ve bacaklardaki dolaşım bozuklukları ve varis tedavisinde kullanılabileceği ileri sürülmüştür (29).

Flavonoitlerin diğer önemli bir etkisi sitostatik aktivitelerinin olmasıdır. *Eupatorium* türlerinde bulunan metoksiflavonların tümör inhibitörü olduğu tespit edilmiş ve hücre kültüründe insanda nazofarinks kanserlerine karşı orta derecede etkili olduğu gösterilmiştir. Fakat son yıllardaki araştırmalara göre bu etki tartışmalıdır. Hayvan deneylerinde, biyoflavonoitlerinde orta derecede antitümoral etkisi tespit edilmiştir (72, 93, 96).

Flavonoitlerin hayvanlar üzerinde antiviral etkileri tespit edilmiştir. Bu etkinin 3', 4OH gruplarına bağlı olarak meydana geldiği ve gelecekte antiviral kemoterapötik ajanlar olarak kullanılabileceği ileri sürülmektedir (110). İzoflavonların antifungal ve stilbestrollere yakın yapılarından dolayı östrojenik etkileri tespit edilmiştir. Östrojenik etki izoflavonların ya pro-östrojen olarak etkilenmeleriyle veya östrojenlerin prekürsörü olmalarından ileri gelebileceği düşünölmektedir (29, 85, 72).

Invitro bulgularla, flavonoitlerin bazı bitkilerde hastalıklara karşı direnci arttırdığı, hatta bitki büyümesini kontrol ettiği ve belli konsantrasyonda toksik etkisi nedeniyle zararlı böceklere etkili olduğu tespit edilmiştir. İzoflavon türevi olan rotenonlar da insektisit etkilerinden dolayı kullanılmaktadır (29, 70).

Ayrıca flavonoitlerin, hidroksil gruplarının süstitüsyonuna bağlı olarak artan spazmolitik etkileri tespit edilmiş, diüretik ve antihistaminik etkileri de bulunmuştur (92, 72).

İzolasyon ve Saflaştırma Yöntemleri

Genel

Flavonoitler, bitkilerin hemen hemen her organında ve genellikle hücrede vakuol sıvısında çözünmüş olarak bulunurlar. Bitkide tek cins flavonoite rastlamak çok nadirdir. Çoğu kere farklı yapıdaki flavonoitler karışım halindedir. Mesela; çiçek petallerinde bulunan antosiyaninler, flavon ve flavonollerle bir aradadır. Flavonlar, son yıllarda ortak pigment (co-pigment) olarak kabul edilmektedir (71). Bu da flavonoitlerin başka maddelerle beraber bulunmasını ve dolayısıyla izolasyonlarındaki güçlüklerin sebebini açıklar. İzolasyon yöntemi, izole edilecek flavonoitin tipine ve beraber bulunduğu diğer renkli maddelerin yapısına ve materyalin cinsine son derece bağlıdır. Ekstraksiyondan önce flavonozitin hidrolizine sebep olan enzimin inhibisyonu gerekir. Bunun için bitkisel materyal hemen kurutulmalıdır (71, 72).

Bitkisel materyal cinsine göre, klorofil, mumlu maddeler, lipitler, karetonoitler ve proteik yapıdaki maddeler taşıyabilir. Bu maddeler, hekzan veya petrol eteri ile tüketilerek ayrılabilir. Fakat bu ekstraksiyon sırasında bazı izolasyon flavonlar, neoflavonlar hekzanda ve metoksiflavonlar petrol eterinde çözünür. Bu yüzden bu ekstraktların flavon taşıyıp taşımadığı kontrol edilmelidir. Polaritesi düşük solvanlar bilhassa aqlikonların ekstraksiyonunda kullanılır. Flavono-

zitler ve antosiyaninler için çok polar solvanlar seçilme-
lidir.

Materyaldeki flavonoitlerin ekstraksiyonu ve ayırımı
için flavonoitin cinsine göre değişik yöntemler kullanılmış-
tır. Bu yöntemlerde ve hangi yapıda olduğu bilinmeyen flavo-
noitlerin ekstraksiyonunda iki ana yol kullanılmaktadır.
(Tablo-5) (8, 24, 64, 81, 153).

1- Bütün flavonoitleri ekstre edip, bu ekstraktı deği-
şik organik solvanlarla ard_arda ekstre etme (Total ekstrak-
siyon).

2- Değişik organik solvanlarla materyali ekstre edip,
bu organik solvan ekstraktlarına geçen flavonoitleri ayırma
(Kademeli ekstraksiyon).

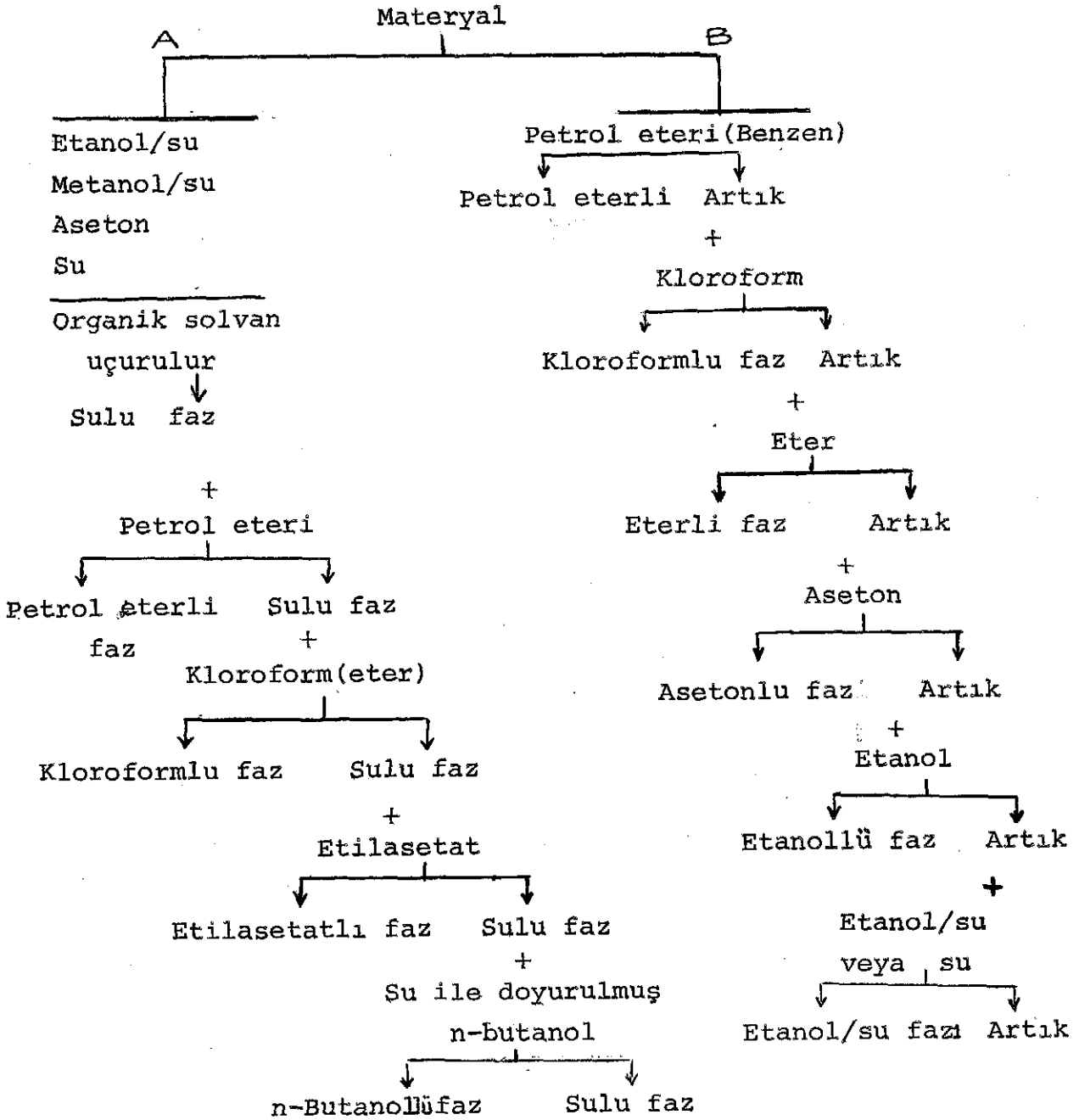
Total Ekstraksiyon

Materyal önce petrol eteri ile ardından etanol/su ya
da metanol/su veya su, nadiren aseton/su (1, 153) ile ekstre
edilir. Bu işlemin tersi de yapılabilir. Yani önce etanol/su,
metanol/su .. vs. ile materyal ekstre edilir, daha sonra bu
ekstrakt petrol eteri ile çalkalanır.

Her iki işlemde de bu kademedен sonra sulu faz üzerin-
den, hemen hemen aynı yol takip edilir. Flavonoit taşıyan
ekstrakt uçurulur. Sulu faz kloroform veya eter, etil asetat,
n-butanol gibi organik solvanlarla ardarda ekstre edilir. Bu

A- Total ekstraksiyon

B- Kademeli ekstraksiyon



Tablo - 5

Flavonoitler - İzolasyon Şeması

ekstraktlar flavonoit yapısında maddeler taşıyabilirler. Flavonoit bulunup bulunmadığı kağıt veya ince tabaka kromatografisi, klasik teşhis reaksiyonları kullanılarak kontrol edilmelidir. Petrol eteri ve eter (kloroform) ekstresinde genellikle aglikonlar, etilasetat ve n-butanol ekstrelerinde ise genellikle heterozitler bulunmaktadır.

Kademeli ekstraksiyon

Materyal önce petrol eteri veya benzen sonra sırasıyla, kloroform, eter, etilasetat veya aseton, etanol ve suyla ekstre edilir. Ekstraktlarda flavonoit varlığı tespit edilirse, ekstrakt uçurulur. Sonra etanol su karışımıyla ekstre edilir.

Bu yöntem ile polar olmayan flavonoitlerden, polar olanlar; aglikonlardan heterozitler ve neoflavonların ayrılması sağlanır.

Total veya kademeli ekstraksiyon ile elde edilen ekstraktlar flavonoitleri ve bazı yan maddeleri karışım halinde taşırlar. Bu ekstraktların temizlenmesi için değişik yöntemler kullanılmıştır. Bu yöntemlerin bazıları aynı zamanda uygun ayırımlar da sağlar. Hem temizleme hem ayırım için en çok kullanılan yöntem, kromatografidir. Bu yüzden bu yöntem ile ilgili bilgiler ayrı bir başlık altında verilmiş, diğer yöntemlerden bu kısımda kısaca bahsedilmiştir.

Flavonoit ekstraktı aktif kömür ile karıştırılır, ısıtılır, süzülür ve yan maddeler bu şekilde uzaklaştırılır (72).

Elektroforez (71, 73), dializ (72), Counter-Current (164) yöntemleri ve iyon değiştirici reğineler (72, 80) kullanılarak bazı flavonozit ekstraktlarının temizlenme ve ayırımı beraberce sağlanır. Bu yöntemlerden elektroforez, iyonize olan veya metal iyonları ile kompleks meydana getiren flavonoitlere uygulanabilir. Bu yöntem ile flavon ve flavonol sülfatları (73) ve flavon-3,4-diollerin cis trans izomerleri (71) birbirlerinden ayrılabilmiştir.

Flavonoit ekstraktlarının iyon değiştirici reçine taşıyan kolonlara tatbiki ile önce suda çözünen diğer maddeler uzaklaştırılır. Sonra flavonoitler metanol ile elüe edilir.

Kromatografik Yöntemler

Kolon Kromatografisi:

Flavonoitlerin ayırımında, genellikle silikajel, poliyamit, sefadesks ve selüloz, alüminyum oksit, magnezol gibi adsorbanlar kullanılır.

Silikajel kolonda, değişik solvan sistemleri kullanılarak, iyi ayırımlar sağlanır (Tablo-6). Bazen flavonoitlerin saf olarak elde edilmesi için bu sistemler yeterli olmayabilir (72).

Selüloz kolon kromatografisinde, kağıt kromatografisinde kullanılan solvanların yanı sıra bunların geliştirilmiş şekilleri de kullanılmıştır (Tablo-8).

Adsorban Solvan Sistemi Kullanıldığı Flavonoit Tipi (Lit.)

Silikajel

| | |
|--|--------------------------------|
| Benzen:aseton (10:1) | Metoksiflavonlar (96,149) |
| Petrol eteri:eter(1:1, 1:3) | Metoksiflavonoller (18) |
| Benzen:kloroform (1:1) |] izoflavonlar (72) |
| Benzen:etilasetat (6:1) | |
| Kloroform, kloroform: aseton (1:1, 9:1) | Neoflavonlar (38) |
| Kloroform:metanol (15:1) | Metoksiflavonlar (102) |
| Kloroform:metanol (33:1) | (135) |
| Kloroform:metanol:su (65:25:4) | (141) Aglikon, heterozitler |
| Etilasetat:formik asit:su (10:1:1) | (111) |
| Benzen:eter (5:1) | (72) |

Elüotropik Seri:Petrol eteri-
Karbon tetraklorür-Benzen-Kloro-
form-Eter-Etilasetat-Piri-
din-Aseton-n-Propanol-Etanol-
Metanol-Su.

Tablo - 6

Flavonoitler - Kolon Kromatografisi

| Adsorban | Solvan Sistemi | Kullanıldığı Flavonoit Tipi (Lit.) |
|----------|----------------|------------------------------------|
|----------|----------------|------------------------------------|

Poliyamid

| | | |
|---|----------------------------|----------------|
| Su, su:metanol (etanol) (10:0,9:1....2:8, 1:9) |] Aglikon, heterozitler | (4,25,104,118) |
|---|----------------------------|----------------|

| | |
|-----------------|-------|
| Etanol:su (1:1) | (131) |
|-----------------|-------|

| | |
|---|------|
| Etilasetat:metanol:su (80:18:2, 10:88:2) | (25) |
|---|------|

| | |
|--|-----------------------|
| Kloroform:metanol:butanon: 2,4 pentanedion(20:10:5:1) | Metoksiflavonlar (72) |
|--|-----------------------|

| | |
|---|---------------------|
| Kloroform:metanol:etilasetat (4:2:1) | Biflavonoitler (72) |
|---|---------------------|

| | | |
|--------------------------------------|--------------|-------|
| Benzen:butanon:metanol (50:25:25) |] Aglikonlar | (111) |
|--------------------------------------|--------------|-------|

| | |
|--|----------|
| Benzen:butanol:metanol (100:00, 85:15:00, 40:35:15) | (89,181) |
|--|----------|

Elüotropik Seri:Su-Metanol-
Aseton-Seyrelik Sodyum
hidroksit-Formamit-Dimetil-
formamit-Seyrelik üre.

Tablo - 7

Flavonoitler - Kolon Kromatografisi

Değişik özellikteki poliyamit kolonlar, son yıllarda saflaştırma işleminde geniş ölçüde kullanılmaktadır (Tablo-7). Kolon kromatografisinde kullanılan başlıca poliyamit tipleri: Perlön (polikaprolaktam), naylon (polihekzametilenaminoadipat), poliklar (polivinilprolidon) tipleridir (72, 86, 115).

Poliyamit-Selit karışımı taşıyan kolonlar da ayırım için iyi sonuçlar vermiştir (72).

Sefadeks kolon kromatografisinde, flavonoitlerin ayrılması ve saflaştırılması için Sephadex G-10,25 ve LH-20 kullanılır. Bu adsorbanda flavonoitler genellikle metanol/su karışımı (8, 18, 72, 90), nadiren metanol/kloroform (7:3) karışımı (134) ile elüe edilir.

Alüminyum oksitin flavonoitlerle kompleks teşkil etmesinden dolayı kolon kromatografisinde kullanılışı sınırlıdır. Ancak nötr alüminyum oksit, benzen, benzen/kloroform, kloroform solvan sistemleriyle metoksiflavonların ayrılmasında kullanılmıştır (8,72). Alüminyum oksit gibi magnesolünde kolon kromatografisinde kullanılışı azdır.(8)

Kağıt Kromatografisi:

Kağıt kromatografisi aglikon ve heterozitlerin hemen hemen bütün tiplerinin tanınma ve ayrılmasında çok kullanılan bir yöntemdir.

Bu yöntem de genellikle Whatman (No: 1, 3, 3MM) ve Schleicher-Schüll kağıtları kullanılmıştır. Kağıt kromatografisinde en fazla kullanılan solvan sistemleri (Tablo-8) de

| Solvan Sistemi | Kullanıldığı Flavonoit Tipi | (Lit.) |
|---|---|----------------|
| Su | Flavon ve flavonol heterozitleri, kateşinler | (39,51) |
| Etilasetat:su ile doyurulmuş | | (23,49) |
| Fenol:su ile doyurulmuş | Aglikon, heterozitler | (23,49) |
| m-Krezol:su ile doyurulmuş | | (23) |
| Asetik asit:%2-5 lik çöz.(su) | Lökoantosiyeninler | (71) |
| Asetik asit:%15-60 lık çöz.(su) | Aglikon, heterozitler | (37,39,71) |
| Asetik asit:su:d.hidroklorik asit(30:10:3) | Flavon ve flavonoller | (8,40,49,75) |
| n-Butanol:asetik asit:su (4:1:5) | | (23,49,71,153) |
| n-Butanol:asetik asit:su (6:1:2) | | (8) |
| n-Butanol:asetik asit:su (4:2:1) | Aglikon, heterozitler | (51) |
| ter-Butanol:asetik asit:su (3:1:1) | | (15,89,144) |
| ter-Butanol:etanol:su(4:1:2,1) | | (72) |
| Etilasetat:formik asit:su (10:2:3) | | (159) |
| Benzen:n-Butanol:piridin:su (1:5:3:3) | Metoksiflavon ve flavonoller | (144) |
| Benzen:piridin:su(100:1:100) | | (51) |
| Benzen:petrol eteri:metanol (50:50:1) | Flavononlar | (8) |
| Benzen:asetik asit:su (125:72:3) | | (40,182) |
| m-Krezol:asetik asit:su (50:2:48) | Aglikon, heterozitler | (49,51) |
| Izopropanol:formik asit:su (2:5:5) | | (40) |
| Izopropanol:su (3:2) | | (23) |
| Izopropanol:su (1:3) | Izoflavonlar | (51) |
| Kloroform:etanol:su(8:2:1) | Flavanonoller | (51) |

Tablo - 8

Flavonoitler - Kağıt Kromatografisi

gösterilmiştir.

Eğer flavonoitler veya karışımları kağıt kromatografisi yoluyla temizlenecekse, genellikle çift dimensiyonlu yöntem uygulanır. Bu yöntemde en çok aşağıdaki solvan sistemleri kullanılır.

1 → n-butanol/asetik asit/su (4:1:5) (üst faz)

ter-butanol/asetik asit/su (3:1:1)

2 → % 2-60 asetik asit/su

İnce Tabaka Kromatografisi

Flavonoitlerin tanımında ve ayrılmasında, ince tabaka kromatografisi, son yıllarda çok kullanılan bir yöntemdir (5, 8, 71, 79). Bu yöntem flavonoitlerin teşhisinde, asit yapılı reaktiflerin de uygulanabilir, olması yönünden geniş bir şekilde kullanılmaktadır. (Tablo-13).

Bu yöntemde en çok kullanılan adsorbanlar, silikajel (G,GF₂₅₄), poliyamit ve selülozdur (19, 72, 84). Magnezolun kullanılışı ise sınırlıdır (97). Poliyamit ve selüloz karışımı taşıyan plaklar, daha çok, çift dimensiyonlu ayırımlarda kullanılmıştır (Tablo-9,10).

Diğerleri

Flavonoitlerin ayrılması ve analizinde gaz-sıvı kromatografisi yöntemi henüz çok kullanılmamaktadır. Bu yöntemde,

| Adsorban | Solvan Sistemi | Kullanıldığı Flavonoit Tipi (Lit.) |
|--|----------------|--|
| Silikajel G | | |
| Benzen:formik asit:piridin (36:5:9) | | Flavonol, flavanon, biflavonoitler (5,71,153) |
| Benzen:piridin:formik asit (72:18:12) | | Aglikon, heterozitler (1,24) |
| Benzen:aseton(4:1) | | izoflavonlar (5,135,153,181) |
| Benzen:aseton(9:1) | | (5) |
| Benzen:etilasetat(3:1) | | Metoksiflavonlar (5) |
| Benzen:metanol:aseton(45:3:2) | | (159) |
| Benzen:eter:etanol:etilasetat (50:40:2:0,2) | | Aglikon (180) |
| Benzen:metanol:asetik asit (7:3:1) | | (157) |
| Dikloroetan:etilasetat: asetik asit(8:1:1) | | Aglikon, heterozitler (1) |
| Kloroform:metanol:su(65:25:4) | | (16,111,157) |
| Kloroform:etilasetat:aseton (5:4:1) | | C-flavonoitler (37,159) |
| Kloroform:metanol(97:3) | | Metoksiflavonlar (16,17) |
| Etilasetat:metanol:su (100:16,5:13,5) | | (5,39,98) |
| Etilasetat:butanon:formik asit:su(5:3:1:1) | | Aglikon, heterozitler (5,98) |
| Etilasetat:formik asit:su (10:2:3) | | (157) |
| Etilasetat:asetik asit:su (45:25:20) | | Avronlar (153) |
| Toluen:kloroform:aseton (8:5:7) | | (98,153) |
| Toluen:etilasetat:metanol (8:6:1) | | Aglikonlar (49) |
| Toluen:etilasetat:metanol (4:2:2) | | (49) |
| Toluen:etilformat:formik asit(5:4:1) | | Biflavonoitler (72) |
| Silikajel GF ₂₅₄ | | |
| Benzen:hekzan(3:2) | | isoflavonlar (19) |
| Benzen:hekzan:aseton(5:4:1) | | (19) |

Tablo - 9

Flavonoitler - Ince Tabaka Kromatografisi

Adsorban Solvan Sistemleri Kullanıldığı Flavonoit Tipi (Lit.)

Poliyamid

| | | |
|--|------------|-------------------------------|
| Benzen:petrol eteri:butanon:metanol (60:26:7:7) | Aglikonlar | (89,181) |
| Benzen:petrol eteri:butanon:metanol (20:70:8:2) | | (181) |
| Benzen:butanon:metanol (6:1:3) | | (89) |
| Benzen:butanon:metanol (50:25:25) | | (39,111,134) |
| Benzen:butanon:metanol:su (55:22:20:3) | | (25) |
| Kloroform:metanol:butanon (9:4:2) | | (18,71,177) |
| Kloroform:metanol:butanon:asetik asit (65:20:11:4) | | (25) |
| Metanol:asetik asit:su (19:1:1) | | 0- ve C- heterozitleri (5,84) |
| Su:metanol:butanon:asetilaseton (13:3:3:1) | | (8,37,98,134) |
| Su:metanol:asetilaseton (4:2:1) | | (49,177) |
| Su:n-butanol:aseton (75:15:15) | (25) | |

Poliyamid (% 5-10 Selüloz)

| | | |
|---|------------------|---------|
| Butanon:toluen:metanol:su:asetik asit (80:10:5:5:3) | Metoksiflavonlar | (15,17) |
| Etilasetat:butanon:amonyak:su (5:3:1:1) | | (15,17) |

Poliyamid (% 15 Selüloz)

| | | |
|--|------------|-------|
| Benzen:petrol eteri:butanon:metanol (60:26:7:7) | Aglikonlar | (180) |
| Diokzan:dimetilformamit:asetik asit:su (30:15:10:15) | | (180) |

Tablo - 10

Flavonoitler - İnce Tabaka Kromatografisi

flavonoitlerin uçucu türevleri (trimetilsilil eter, metil eter ve asetat türevleri) hazırlanır (13, 112). Bu türevlerin hazırlanmasındaki güçlük, yöntemin uygulama sahasının genişlememesine sebep olmaktadır.

Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC: High pressure liquid chromatography) ise flavonoitlerin tanımında ve ayrılmasında kullanılan çok yeni bir tekniktir (72).

Klasik Tanıma Reaksiyonları

Bitkide bulunan flavonoitler, klasik renk reaksiyonları kullanılarak tanımlanır. Bu reaktiflerin bazıları kromatografik yöntemlerde de revelatör olarak (Tablo-12, 13), UV spektral analizlerinde bazı grupların belirlenmesinde kullanılır. Ayrıntılı bilgi ilgili bahislerde verilmiştir, bu kısma dahil edilmemiştir. Flavonoitlerin tanıma için en çok kullanılan klasik reaksiyonlar (Tablo-11) de gösterilmiştir. Bu reaktiflerle sarı turuncudan kırmızıya kadar değişen renkler meydana gelir (51, 151).

Yapı Tayini

Flavonoitlerin yapı tayininde bazı işlemlerin sırasıyla yapılması gerekmektedir. Bunlar; Rf değerlerinin tespiti, hidroliz ile aglikon ve oz kısımlarının ayrılması, ozların belirlenmesi, aglikona bağlanma yerlerinin tespiti, spektral bulgu-

| Reaksiyon Adı | Reaktif | Flavonoit Tipi |
|------------------------|---|---|
| Shinoda (Siyanidin) | Magnezyum talaşı Der.hidroklorik asit | İzoflavanon, dihidro- kalkon, kalkon ve avron dışında bütün tipler |
| Asahina | Sodyum amalgam Der.sülfürik asit | Kateşin ve dihidro- kalkonlar dışında bütün tipler |
| - | Sodyum hidroksitin sulu çözeltisi | Bütün tipler |
| - | Der.sülfürik asit | Bütün tipler |
| - | Zirkonyum oksiklorür metanoldeki çözeltisi | 3,5 dihidroksi ve 3 veya 5 hidroksi flavonoitler |

Tablo - 11

Flavonoitler - Klasik Renk Reaksiyonları

lar ışığında kesin yapının açıklığa kavuşturulması.

Flavonoitlerin klasik reaksiyonları sonucunda meydana gelen renkler, kromatogramlarındaki lekelerin Rf değerleri, bu lekelerin bazı reaktiflerle muamele edilmesinden önce ve sonra UV'de verdikleri renkler, yapı hakkında ön bilgi verir (Tablo-12, 13, 14).

| Reaktif (a) | Kullanıldığı Flavonoit Tipi (Lit.) |
|--|---|
| Amonyak buharları | Antosiyaninler dışında bütün flavonoitler (49,72,75,152) |
| % 1-2 Sodyum karbonat/su | İzoflavon, flavanon dışında bütün flavonoitler (23,49,72,152) |
| % 1 Sodyum hidroksit/metanol | Aglikon, heterozitler (23,49,152) |
| % 1 Sodyum borohidür/ izopropanol | Flavanon, izoflavanon (49,71,51,72) |
| % 1-5 Aluminyum klorür/metanol | Aglikon, heterozitler (8,23,39,152) |
| % 2-5 Aluminyum asetat/ etanol | Flavanoller (49) |
| % 0,5-5 Ferri klorür/metanol | (16,23,49) |
| % 1 Ferri klorür: Potasyum ferrisiyanür (1:1)/su | (49,72,75,152) |
| % 25 Bazik kurşun asetat/su | (23,39,51,72) |
| Magnezyum asetat/metanol | Aglikon, heterozitler (8,51) |
| Bazik bakır sülfat (Benedict Reaktifi) | (23) |
| % 2 Zirkonyum oksiklorür/ metanol | (8,72) |
| Zirkonyum oksiklorür/ sitrik asit | (8,51) |
| % 0.5-1 Difenil borik asitin amino etilesteri/metanol (NA, NEU reaktifi) | (8,39,72,98) 152) |

Tablo - 12

Flavonoitler - Kromatografide Kullanılan Reaktifler

| Reaktif ^(a) | Kullanıldığı Flavonoit Tipi (Lit.) |
|---|--|
| Diozalanmış sülfanilik asit | (72,152,182) |
| Diozalanmış p-nitroanilin | (26,75,149,152) |
| Bis-diozalanmış benzidin | Aglikon, heterozitler (13,143,152) |
| Fosfolibdat/fosfotunstat (Folin Ciocalte Reaktifi) | (71) |
| Çinko/hidroklorik asit ^(b) | Dihidroflavonoller (72) |
| Antimon pentaklorür ^(b) | Kalkonlar (8,152) |
| % 10 Antimon triklorür ^(b) , kloroform | Flavanol, Flavanonlar (72,152) |
| p-Toluen sülfanilik asit ^(b) | Flavan-3,4-diol, 18- koantosiyanidin, kateşin (143) |
| % 70 Seryum sülfat ^(b) , der. sülfürik asit | Biflavonoitler (72) |
| Hidrojen klorür ^(b) | Metoksiflavonlar (72) |
| Der. Sülfürik asit ^(b) | izoflavonlar (72) |

Tablo - 13

Flavonoitler - Kromatografide Kullanılan Reaktifler

(a) Bu reaktifler değişik yapıdaki flavonoitlerle farklı renkler ve (UV 366nm) floresans verirler. Bu renkler tabloya dahil edilmemiştir.

(b) Sadece ince tabaka kromatografisi için kullanılır.

| Gün Işığı | U.V | NH ₃ | NH ₃ /UV | Flavonoit Tipi |
|---------------------------|--------------------------------|---------------------------------------|---|--|
| Sarı | Koyu Kahverengi Sarı | Sarı | Parlak Sarı-Sarı, Kahverengi Parlak Sarı-Yeşil Koyu Kahverengi | Flavon h. Flavonol h. Biflavonlar ve nadiren süstitüe flavonlar |
| Parlak sarı | Koyu Kahverengi Mor | Kahverengi Sarı Turuncu Sarı | Koyu Kahverengi Koyu Kırmızı Parlak Turuncu | 6.Hidroksifla- von, flavonol ve kalkon h. Kalkonlar |
| | Parlak Sarı Sarı Yeşil | Turuncu | Parlak Turuncu Kırmızı | Avronlar |
| Turuncu Kırmızı Mor | Donuk Turuncu Kırmızı - Mor | Mavi | Mavi | Antosiyanidin- 3 h. |
| | Sarı floresans veya pembe | Mavi | Mavi | Antosiyanidin 3,5 dih. |
| Renksiz | Mor | Renksiz | Soluk Kahverengi | Izoflavon ve flavanonoller |
| | Soluk Mavi | | Parlak Mavi | 5-Dezoksi izo- flavon ve 7,8 dihidroksifla- vanonlar |
| | Mor | Renksiz | Parlak Sarı Sarı-Yeşil | Flavanon ve Flavanonol 7 h. |
| | | Renksiz | Açık Mavi Floresans | Kateşin |

Tablo - 14

Flavonoitler-Gün Işığı ve UV de Verdiği Renkler

Hidroliz Yöntemleri

Flavonozitlerin hidrolizi için asit, alkali veya enzim-ler kullanılır.

A s i t H i d r o l i z : Flavonozitlerin hidrolizinde genel olarak seyreltik mineral asitler kullanılmaktadır. Bunlar, hidroklorik asit (% 5 lik, 0.1 N → 2 N) (24, 25, 50, 91, 104, 118), sülfürik asit (% 1-2,1 N) (39, 40, 98) lerdir. C-flavonozitleri için daha derişik asitlere ihtiyaç vardır (2 N sülfürik asit, % 20 lik veya 4 N hidroklorik asit) (37, 91).

Asit hidrolizin süresi kullanılan asitin konsantrasyonuna, uzun cinsine, sayısına ve flavonozitin C-veya O-heteroziti olmasına göre değişiklik gösterir. Flavonozitlerde genel olarak aglikona bağlı pentozlar, heksozlara göre daha kısa sürede hidroliz olurlar. Glikuronitlerin varlığında ise hidroliz süresi daha uzundur.

Flavonozitin di veya triholozit taşınması halinde oz zincirinin yapısının aydınlatılması, kısmi hidrolizle mümkün olabilmektedir. Bu amaçla % 10 luk asetik asit, okzalik, formik asitler ve hidrojen peroksit kullanılmaktadır (46, 144, 175). Bazı araştırmacılar, total asit hidrolizi sağlayan asitleri çok seyreltik çözeltileri halinde, kısmi hidroliz için kullanmışlardır (40, 118, 144). Böylece kademeli yapılan hidroliz sonunda terminal ve ara ozlar belirtebilmektedir.

E n z i m a t i k H i d r o l i z : α -glikozidaz, β -glikozidaz, β -glikuronidaz ile gerçekleştirilen enzimatik hidrolizlerle, sadece oz kısmının aglikondan ayrılması değil, uzun aglikona bağlanma şekli (α veya β) de tespit edilebilmektedir. Ayrıca hidroliz sonucunda di ve triheterozitlerdeki oz zincirinin yapısı da büyük ölçüde açıklığa kavuşur (26,49,102).

A l k a l i H i d r o l i z : Alkali hidrolizden en çok, flavonol 3-heterozitlerini 7 ve 4' heterozitlerinden ayırt edilmesi amacıyla yararlanılır. % 0.5 potasyum hidroksit (72) ve 1 N sodyum hidroksit (144) ile yapılan hidroliz sonunda 7 ve 4' heterozitleri parçalanır, 3 heterozitlerinin yapısında değişiklik olmaz. Bu yöntemle, 7 rutinozit, (kersetin $\alpha 1 \rightarrow 6$ glikoramnozit) parçalanırken, bunun izomeri olan 7-neohesperidozit (kersetin $\alpha 1 \rightarrow 2$ glikoramnozit) hidroliz olmamaktadır. Bundan da alkali hidrolizin bazen diheterozitlerdeki ozidik bağları açıklayabileceği sonucu ortaya çıkmaktadır (72, 97).

Aglikonun Tanımı

Yukarıda anlatılan hidroliz yöntemlerinin herhangi biri ile elde edilen aglikon, hidroliz ortamından, çözündüğü ve genellikle suyla karışmayan organik bir solvan ile tüketilir. Tüketme işleminde, tek bir solvan (eter, izoamilalkol veya etilasetat) veya artan polaritelerdeki bir kaç solvan (eter, etilasetat, suyla doyurulmuş n-butanol) ard arda kullanılabilir (49, 98, 71).

Organik solvana geçen aglikon, preparatif ince tabaka, kağıt kromatografisi, poliyamit veya sefadeks kolonlar kullanılarak saflaştırılır (16, 86). Kromatografik olarak saflığı kontrol edildikten sonra, yapı tayinine geçilir.

Saf olarak elde edilen aglikonun hidroksil ve sübstitüe gruplarının konumunun ve yapısının tayininde UV spektral analizi en önemli yöntemdir. Bu yöntem flavonoidlerin analizinde az miktarda saf maddeye gerek duyulması, özel reaktifler ile hidroksil ve sübstitüe grupların konumunun ve yapılarının aydınlatılması yönünden büyük önem taşır. Aglikonun nötr ortamda, metanol veya etanoldeki çözeltisi hazırlanarak spektrumu alınır. Flavonoidlerin UV spektrumunda genellikle 2 majör absorpsiyon piki mevcuttur. Bunlardan biri 240-285 nm (Band-I) diğeri 300-400 nm (Band-II) dir. Metanol spektrumunda band-I veya II' deki absorpsiyon piklerinin değerlendirilmesi ile aglikonun tipi hakkındaki ilk bilgilere sahip olunur (49, 71, 72, 102). (Tablo-15).

Aglikonun metanol veya etanoldeki çözeltisine sodyum metoksit, sodyum asetat, sodyum asetat/borik asit, alüminyum klorür, alüminyum klorür/hidroklorik asit reaktiflerinin ayrı ayrı ilavesiyle elde edilen spektral kaymalar metanol spektrumuyla karşılaştırılır. Bu bulguların değerlendirilmesiyle normal yapıdaki bir aglikonun yapısı hemen hemen açıklığa kavuşturulabilir. Yapısı belirlenen aglikonun, şahit maddenin spektrumları ile karşılaştırılması sonucu bulgular doğrulanır.

Aglikonun, IR spektrumunun değerlendirilmesiyle, metil, hidroksil ve karbonil gruplarının belirlenmesi sağlanır. IR

| Band-I | Band-II | Flavonoit Tipi |
|---------|-------------|---------------------------|
| 304-350 | 250-270 | Flavon, biflavon |
| 350-390 | 300 250-270 | Flavonol |
| 310-330 | 270-295 | Flavanon, dihidroflavanon |
| 310-330 | 245-270 | İzoflavon |
| 365-390 | 240-260 | Kalkon |
| 370-430 | 240-270 | Auron |
| 475-560 | 275 | Antosiyanin |

Tablo - 15

Flavonoitler - UV Spektrumu Bulguları

spektrumunda ölçmeler, potasyum bromürle yapılır. Bu yöntem de aglikonun spektrumunun, şahit numune spektrumu ile karşılaştırılmasıyla kesin sonuca varılır. Şahit numuneye ihtiyaç gösterdiği için, yapı tayininde uygulanması sınırlıdır (49,88).

NMR spektrumu, aglikonda süstitüe grupların sayısının, cinsinin ve konumunun belirlenmesi yönünden kesin sonuç verir. Çözünürlük bakımından, analizden önce trimetilsilyl türevlerinin hazırlanması uygundur. Eğer aglikon çok sayıda metoksil grubu taşıyorsa, $CDCl_3$ de çözülür, spektrum alınır, C_6D_6 ile alınan spektrum ile karşılaştırılır (72, 102).

Kütle spektrumunun incelenmesi ile aglikonun molekül ağırlığı ve fonksiyonel grupları aydınlatılır (64, 66, 103, 122).

Yapının tam olarak tayini için, aglikonun türevlerinin erime noktaları, kromatografik ve spektral bulgularının karşılaştırılması gerekir.

Flavonoitlerin metil türevi, süsüz aseton da dimetilsülfat, potasyum karbonatla (72, 149) veya dimetilsülfoksit (dimetilformamit), sodyum hidrür ile meydana gelen dimetil sülfonikarbonla, alkoksil teşekkülü sağlanıp, daha sonra metil iyodür ile metillenerek (11, 67) hazırlanır. Diazometan ile metilasyon da 5.C bağı hidroksil grupları etkilenmez, diğerleri metillenir (102, 114).

Aglikonun ve metil türevlerinin, spektral bulguları karşılaştırılarak, fonksiyonel gruplar tespit edilir. Asetilleme ve metoksiflavonlar da ise demetilleme sonunda meydana gelen ürünlerin, kromatografik ve spektroskopik karşılaştırmaları yapılır (15, 81, 114). C H O analizleri de gerektiğinde aglikonun yapısının tayininde kullanılmaktadır.

Yapı tayininde spektral bulgulara ilaveten, aglikonun yıkım ürünlerinin (benzoik asit, floroglusinol, p-metoksibenzoik asit gibi) tespitine veya aglikonun sentezine gerek duyulabilir (42, 102, 117, 118, 147).

Eğer UV, NMR spektroskopik analizleri sonunda yapısı bilinen bir aglikon bulunursa, şahit madde ile doğrudan doğruya kromatografik ve spektroskopik olarak karşılaştırması yapılarak sonuca varılır.

Ozların Tanımı

Asit hidroliz sonunda aglikon ayrılır. Kalan asitli çözelti ozları taşır. Bu çözelti kullanılan asitin cinsine göre, gümüş karbonat, baryum karbonat gibi maddelerle veya iyon değiştirici reçine taşıyan kolonlardan geçirerek (49, 118) ya da di-n-oktilmetilaminin kloroformdaki çözeltisi (49, 71) ile nötralize edilir.

Ozların kalitatif teşhisi için en kolay ve uygun yöntem, inen ve damlayan veya çıkan kağıt kromatografileridir. Ozlar, Whatman 1,3 veya Schleicher-Schül 2043 aMgl kağıtlarında ve değişik solvan sistemlerinde, şahit maddelerle beraber sürüklenir (27, 71, 98).

Aynı amaçla ince tabaka kromatografisinde selüloz (83) veya sodyum asetat, sodyum bisülfid, borik asit, ile doyurulmuş silikajel G (4, 39, 176) kaplı plaklar da kullanılır. Kağıt ve ince tabaka kromatografilerin de ozlar, genellikle β -naftilamin veya anilin hidrojen ftalat reaktifleri ile (105° de 5-10 dakika) meydana gelen renk ve Rf değerlerinden teşhis edilir.

Glikoz ve galaktozun kromatografik olarak, kesin birbirinden ayırımı zordur. Glikozoksidaz veya galaktozoksidaz ile ozlar düşük konsantrasyonlar da bile teşhis edilebilir. Bunun için iki yöntem uygulanır.

a- Muayyen konsantrasyondaki enzim çözeltisi, oz çözeltileri kağıt kromatografisinde sürüklendikten sonra, kromatograma

püskürtülür.

b- Enzim direkt olarak oz çözeltisine ilave edilir, oksitlemesi sağlanır. Çözelti kağıt kromatografisine tatbik edilir, sürüklenir.

Her iki halde de kromatogramlar kurutulur, revelatör püskürtülür. Daha önce glikoz ve galaktoz olduğundan şüphelenilen lekelerden birinin kaybolması ile oz teşhis edilmiş olur (71).

Ozların kalitatif ve kantitatif tayininde kullanılan diğer yöntem, gaz-likit kromatografisidir. Ozların trimetilsilil türevleri veya alditol asetatları hazırlanarak gazlikit kromatografisinde tanımlanır ve sayısı belirlenir (71, 91, 123).

Flavonozitin Tanımı

Aglikon ve ozları belirlenmiş flavonozitin tanımı için, ozların aglikona bağlanma konumunun tayini gerekir. Bunun için aglikon tanımında olduğu gibi flavonozitin de UV spektrumları ve özel reaktiflerle spektral kaymaları tespit edilir. Ayrıca bu spektrumlar, aglikonun aynı reaktiflerle alınan spektrumları ile karşılaştırılarak önemli sonuçlara varılır. Bunun yanında trimetil silil türevlerinin NMR ve metil türevlerinin kütle spektrumları incelenerek aglikona bağlı, fonksiyonel grupların ve ozların cinsi, sayısı ve bağlanma konumları aydınlatılır. C13-NMR spektroskopisi flavonozitlerin yapı tayinin de son yıllar da, ozların ve flavonozitin α ve β durumları hakkında önemli

bilgiler verdiği için, uygulanmaktadır (179).

Flavonozitlerin IR spektrumlarının değerlendirilmesinde aglikona ait bilgiler geçerlidir.

Aglikon da olduğu gibi flavonozitlerin de metil türevleri hazırlanır, uygun şartlarda hidroliz edilir. Hidroliz ürünü olan metillenmiş ozların ve aglikonun kromatografik ve spektroskopik analizleri yapılır. Bu analiz sonuçlarının değerlendirilmesi ve metillemeden önceki bulgularla karşılaştırılması ile ozların aglikona bağlanması ve aglikonun yapısı hakkında önemli bilgiler elde edilir (49).

Molekül ağırlılığının tayini ve yapının doğrulanması için kütle spektrumu alınır. Flavonozitlerin permetil türevlerinin ve hidroliz ürünlerinin kütle spektrumlarından ozların sayısı, konumu tayin edilebilir (11, 146, 148, 172).

Diterpenler

Genel

Diterpenler (Diterpenoitler), 20 karbon atomlu ($C_{20}H_{32}$), tabii bileşiklerdir. Molekül yapısını meydana getiren karbon iskeleti, 4 izopren ünitinden meydana gelmiştir. Diterpenler optikçe aktif maddelerdir. Genellikle suda çözünmezler, organik çözücülerde çözünürler.

Diterpenlerin tabiatta varlığı çok eskiden beri bilinmektedir. Buna rağmen, kimyasal yapılarının tam olarak aydınlatılması ile ilgili çalışmalar, ancak 1960 yılından itibaren başlamıştır. Bu gruptaki maddelerin izolasyonunda kromatografik, yapı tayininde enstrümental yöntemlerin kullanılması, diterpen kimyasında hızlı bir gelişme sağlamıştır. Reçine asitlerinin tartışmalı olan yapılarında hem diterpen kimyasındaki bu gelişmeler, hem de izopren kaidesinin diterpenlere uygulanmasıyla aydınlığa kavuşturulmuştur (68, 116).

Son yıllarda diterpenler biyolojik ve antitümoral aktivitelerinden dolayı önem kazanmıştır (47, 155). Aynı zamanda antifungal, antiviral ve antiseptik etkilerinin olduğu tespit edilmiştir (47). Bazı diterpenlerin hipotansif, pürgatif, insektisit etkilerinin bulunduğu gösterilmiştir. Klinikte sadece vitamin-A kullanılmaktadır (155).

Diterpenler reçine taşıyan bitkilerde çok yaygındır:

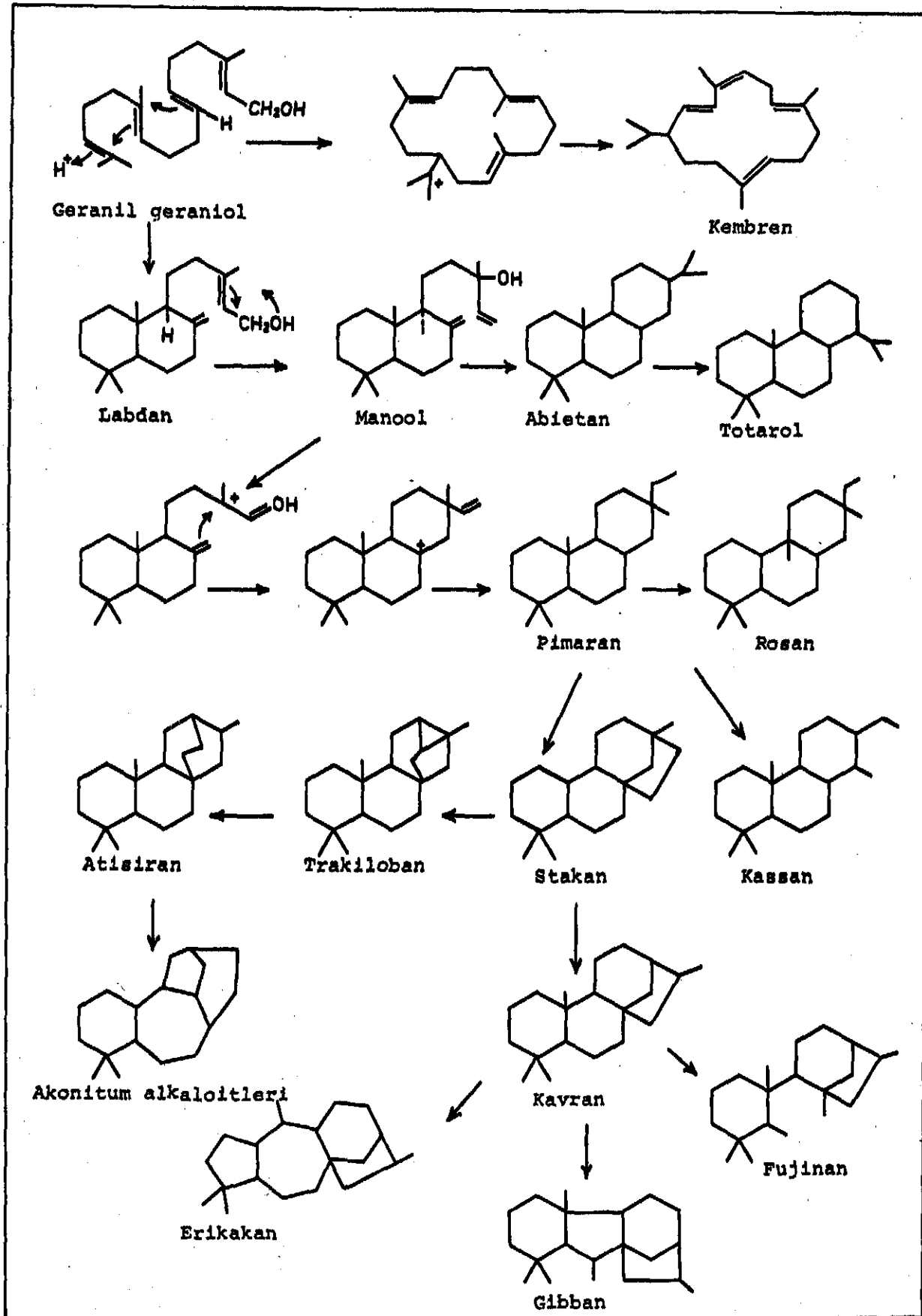
Coniferae, Taxaceae, Pinaceae, Cupressaceae, Podocarpaceae, Euphorbiaceae (133, 155). Son yıllarda Labiatae familyasında bulunan diterpenleri tanımlamak üzere çok sayıda araştırma yapılmıştır (47, 145). Diterpenler funguslardan ve deniz hayvanlarından da (*Pseudoptexaura spec.*) izole edilmiştir (178).

Bu güne kadar biyolojik kaynaklarda, bine yakın diterpen bulunmuştur (155). Diterpenlerin sınıflandırılması için değişik sistemler kullanılmıştır. Bunlardan ikisi en çok kullanılanıdır. Karbon halkasının sayısına (65, 124), kimyasal yapının biyosentez ile karşılaştırılmasına dayanan sistemler (Şekil-10) (36, 116). Bu tasnif sistemlerinin ana hatları tablolar halinde gösterilmiştir (Tablo-16, 17).

Bir çok diterpenin ana yapısı geranil-linalol, geranil-geraniol veya bunların pirofosfatlarının siklizasyonu sonunda meydana gelir. Buna karşılık düz zincirli ve monosiklik yapıda, ancak birkaç diterpen tabiattan izole edilmiştir (Tablo-16) (36, 68, 116).

Izolasyon ve Saflaştırma Yöntemleri

Diterpen taşıyan ekstraktlar, petrol eteri (125, 127, 162, 173), eter (47, 170), aseton (145), etanol (56, 57, 60) gibi solvanlarla, materyalin soxhlet cihazında, tüketilmesiyle elde edilir. Ham ekstraktın ön temizlemesi bu ekstraktı ya değişik solvanlarla ard arda ekstre etmek veya kolon kromatografisine direkt tatbik ile yapılmıştır. Temizlemede solvan kullanıldığında genellikle şu sıra takip edilmiştir :

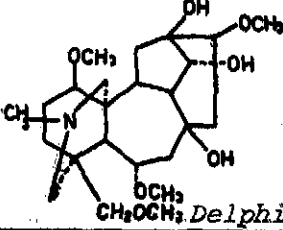
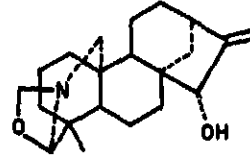
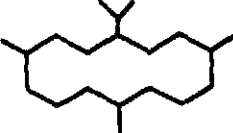
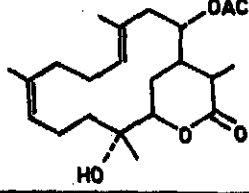
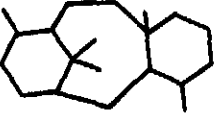
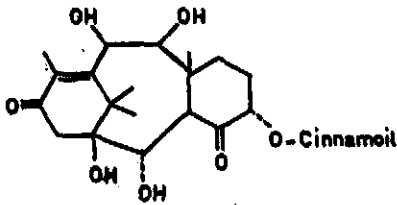
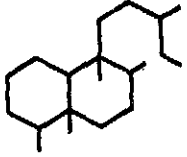
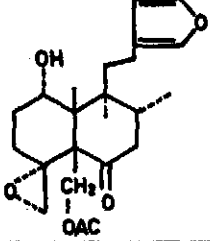
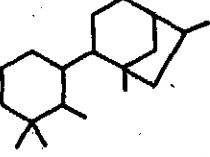
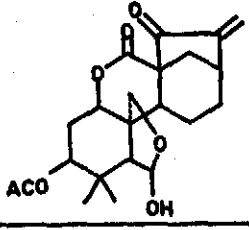
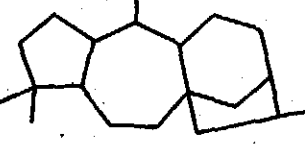
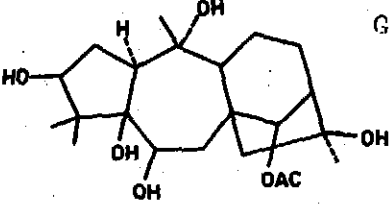
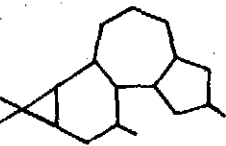
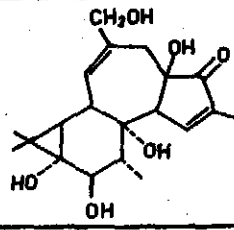


Şekil - 10

Diterpenler - Biyosentez Şeması

| ASIKLIK DITERPENLER | | | |
|------------------------|-----------------------------------|-------------------------|---|
| | | Fitol | Klorofil, Vitamin E, K'nin yan zincirinde (116) |
| MONOSIKLIK DITERPENLER | | | |
| | | Kamforen | <i>Cinnamomum camphora</i> (124) |
| BISIKLIK DITERPENLER | | | |
| Labdanlar | | Vilenatriyol | <i>Sideritis chamaedryfolia</i> (137) |
| | | | |
| | Mancooller | | Sklareol |
| | | | <i>Salvia sclarea</i> (124) |
| TRISIKLIK DITERPENLER | | TETRASIKLIK DITERPENLER | |
| Pimaranlar | | Kayranlar | |
| | Dekstropimarik asit | | Viyerol |
| | <i>Pinus spec.</i> (108) | | <i>Sideritis canariensis</i> (58) |
| Abietanlar | | stakenler | |
| | Abietik asit | | Jativatriyol |
| | <i>Pinus spec.</i> (108) | | <i>Sideritis angustifolia</i> (173) |
| Kasanlar | | Atisirenler | |
| | Kesayidik asit | | Isosideritol |
| | <i>Erythrophloeum spec.</i> (106) | | <i>Sideritis angustifolia</i> (21) |
| Rosanlar | | Trakllohanlar | |
| | Rimuen | | Trakilobanik asit |
| | <i>Dacrydium cupressinum</i> (18) | | <i>Trachylobium verrucosum</i> (68) |
| Totaroller | | Gibban | |
| | Totarol | | Giberellin A |
| | <i>Podocarpus totara</i> (12) | | <i>Giberella fujikuroi</i> (65) |

Tablo - 16
Diterpenler - Sınıflandırma

| DİTERPEN ALKALOİTLERİ | |
|---|--|
| <p>Akonitum Alkaloitleri</p>  <p>Delfonin <i>Delphinium Spec. (68)</i></p> | <p>Kavran Alkaloitleri</p>  <p>Garyin <i>Garrya spec. (68)</i></p> |
| MAKROSİKLIK DİTERPENLER SIKLİZASYON ÜRÜNLERİ | |
| <p>Kembranlar</p>  |  <p>Krassin asetat <i>Pseudoplexaura spec. (178)</i></p> |
| <p>Takzanlar</p>  |  <p>Sinaroyil takzin <i>Taxus bacatta (6)</i></p> |
| <p>Kolevanlar</p>  |  <p>Frutikolon <i>Teucrium fruticans (145)</i></p> |
| <p>Fujinanlar</p>  |  <p>Enmeyin-3-asetat <i>Isodon japonicus (47)</i></p> |
| <p>Erikakanlar</p>  |  <p>Grayanatoksin <i>Ericaceae familyasında (113)</i></p> |
| <p>Tigliyanlar</p>  |  <p>Forbol <i>Croton tiglium (155)</i></p> |

Tablo - 17

Diterpenler - Sınıflandırma

Metanol, su, kloroform (32, 34, 120, 138). Bu şekilde temizlenen ekstre daha sonra kolon kromatografisine tatbik edilir. Kolon kromatografisi, ekstraktın hem temizlenmesini hem de ayırımını sağlar. İnce tabaka ve kolon kromatografilerinde benzer adsorban ve solvan sistemleri kullanılmakla beraber, genellikle miktarlar farklıdır. Bu yüzden ayrı tablolarda gösterilmiştir (Tablo-18, 19).

| Adsorban | Solvan Sistemi | Lit. |
|----------------------------------|-------------------------------|------------|
| Silikajel | Petrol eteri:etilasetat (1:1) | 145 |
| | Benzen:etilasetat (1:1) | 20,145,170 |
| | Benzen:etilasetat (3:7) | 126,127 |
| | Hekzan:benzen (1:2) | 107 |
| | Sikloheksan:etilasetat (1:1) | 170 |
| Alüminyumoksit Silikajel/% 10 | Sikloheksan:benzen (1:1) | 125 |
| Gümüş nitrat | Kloroform:metanol (9:1) | 136 |

| Revelatör | Isı ve Renk |
|---|---|
| 1- Der. H ₂ SO ₄ | (110 ^o , 10') Mordan kahverengine |
| 2- SbCl ₃ 20 g. AcOH 20 ml. CHCl ₃ 60 ml. | (100 ^o , 10') Kırmızı sarıdan, mavi mora |
| 3- % 0.2-0.5 KMnO ₄ /H ₂ O | Kırmızı mor zeminde, sarı kahverengi |

Tablo - 18

Diterpenler - İnce Tabaka Kromatografisi

| Adsorban | Solvan Sistemi | (Lit.) |
|--|---|------------------|
| Silikajel | | |
| | Petrol eteri, petrol eteri-benzen, benzen-etilasetat, etilasetat. | (56,57,61) |
| | Petrol eteri:benzen(99:1) | (126) |
| | Petrol eteri:etilasetat(1:1) | (145) |
| | Petrol eteri:eter(75:25, 5:95) | (170) |
| | Benzen:hekzan(2:1) | (107) |
| | Benzen:etilasetat(95:5) | (58) |
| | Benzen:etilasetat(1:2) | (126) |
| | Siklohekzan:eter(9:1) | (171) |
| | Siklohekzan:eter(1:1) | (167) |
| | Kloroform:metanol(9:1) | (33,120,138,173) |
| | Eter:etilasetat(3:7) | (171) |
| | Eter:etilasetat(1:3) | (167) |
| | Metanol:etilasetat(1:1) | (126) |
| Silikajel/Gümüşnitrat (% 10-40) | | |
| | Benzen:etilasetat(4:1) | (2) |
| | Benzen:etilasetat(19:1) | (173) |
| | Benzen:etilasetat(95:5) | (35) |
| Alüminyum oksit | | |
| | Benzen:etilasetat(19:1) | (35,101) |
| | Benzen:etilasetat(2:1) | (125) |
| | Kloroform:metanol(19:1) | (136) |
| | Kloroform:metanol(9:1) | (62) |

Tablo - 19

Diterpenler - Kolon Kromatografisi

Yapı Tayini

Saf olarak elde edilmiş yeni bir diterpenin yapısı, genel kaidelere uygun olarak tayin edilir: Fonksiyonel grupların, karbon iskeletinin yapısının, bulunan fonksiyonel grupların, bu iskeletteki yerlerinin tespiti ve ardından molekülün stereokimyasal yapısının aydınlatılması.

Karbon iskeletinin yapısının ve fonksiyonel grupların tayininde, dehidrogenasyon önemli bir yöntemdir. Selenyum dehidrogenasyonu ile elde edilen ürünlerin yapısının tayini ana iskelet hakkında bilgi vermektedir. Bu bileşiklerin yapılarının ispatı, yıkım reaksiyonlarına dayanarak veya sentez yoluyla da yapılabilir (69, 87). Doymamış yapıdaki diterpenlerin teşhisinde ise tetranitrometan ile fikir sahibi olunur (82).

Fonksiyonel gruplar ve yerleri UV, IR, ve NMR spektrumlarının değerlendirilmesi ile tespit edilmektedir. Bu grupların uygun şartlarda redüksiyonu, oksidasyonu veya asetilasyonu ile elde edilen ürünlerin, IR ve NMR spektrumları daha öncekilerle karşılaştırılarak kesin yapı doğrulanır (107, 125, 128, 173).

Kütle spektrometresi de fonksiyonel gruplarının ve yapının aydınlatılmasında kullanılmaktadır (41, 162). Uçucu diterpenlerin analizinde gaz-likit kromatografisinden yararlanılmaktadır (28, 71, 73, 156).

Stereokimyasal yapının tam olarak aydınlatılması, ORD (Optical Rotatory Dispersion) ve CDC (Circular Dichroism) ana-

lizlerinin yapıları değerlendirilmesiyle de sağlanmaktadır (3, 68). Yapının kesinleştirilmesinde C13-NMR spektroskopisi (145) ve X ışınları (21, 145) ile yapılan analizler de son yıllarda kullanılmaya başlanmıştır.

Saf halde elde edilen bir diterpenin fiziksel sabitleri (erime noktası, optik çevirmesi), ince tabaka kromatografisi sonuçları bilinen bir diterpen ile benzer ise IR, NMR, kütle spektrumu bulguları ve bazı türevlerinin spektroskopik karşılaştırması diterpenin yapısının tayini için yeterlidir.

Sideritis Türlerinin Kimyasal Birleşimi

Genel

Sideritis türlerinin herbası, drog olarak kullanılmıştır. *S. scardica*, 1938 yıllarında, dekoksiyonu halinde Bulgaristan, Arnavutluk, Makedonya ve Rusya'da (7), ayrıca *S. romana*, Fransa'da (10) çay olarak kullanılmıştır.

Bazı *Sideritis* türlerinin, (*S. hirsuta*, *scardioies*, *hyssopifolia*, *montana*) tonik, ateşli hastalıklarda, histeriye karşı ve emanogog olarak kullanıldığına ait kayıtlar bulunmaktadır (10, 79, 154). Fakat bu etkileri açıklayıcı herhangi bir çalışma bulunmamaktadır.

Güney Anadolu'da, botanik kısımda da belirtildiği üzere, *Sideritis* türleri enfüzyonu halinde çay veya hak ilacı olarak mide hastalıklarında, böbrek taşlarına karşı, idrar söktürücü ve bazen de ateşli hastalıklarda kullanılmaktadır.

Sideritis türlerinin kimyasal yapısını aydınlatmak için yapılan araştırmalarda genellikle diterpen, flavonoid, kumarin, uçucu yağ, steroid, triterpen ve alkanların varlığı gösterilmiştir. Araştırmalar daha çok diterpen ve flavonoidler üzerinde yoğunlaştığı için, konu üç ana başlık altında incelenmiştir:

Diterpenler, flavonoidler, diğer bileşikler.

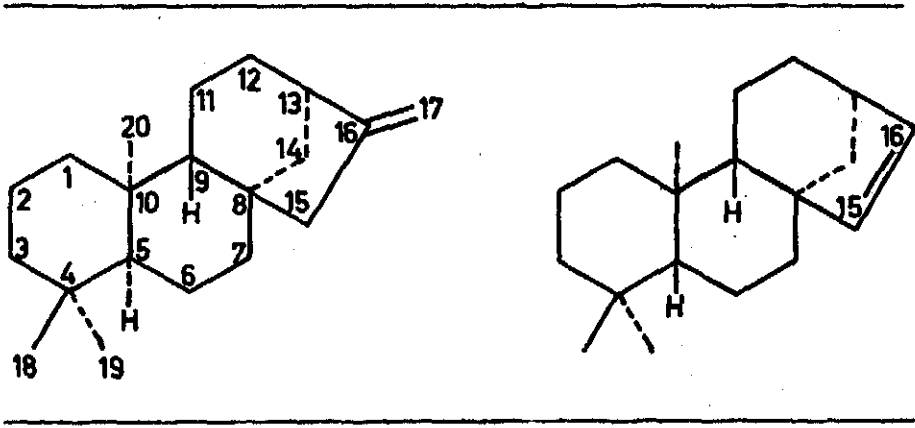
Diterpenlerle ilgili çalışmalar

Sideritis türleri staken, trakiloban, labdan, pimarane ve

bilhassa kavren, izokavren tipi diterpenler bakımından zengin-
dir. Yukarıda belirtilen ana yapılar tetrasiklik, trisiklik ve
bisiklik gruptan maddelerdir. Bu sebeple incelememizde bu tas-
nif esas alınmıştır.

1- T e t r a s i k l i k D i t e r p e n l e r :

Bu grup maddelerden, *Sideritis* türlerinde izole edilip yapısı
aydınlatılan ilk diterpenler, (-)-izokavren ve (-)-kavren sınıfı
diterpenlerdir. İki grubun ana yapısındaki tek fark çift bağla-
rın yerlerinin değişik olmasıdır. (Şekil-11).



(-)-Kavren (ent-16-Kavren)

(-)-İzokavren (ent-15-Kavren)

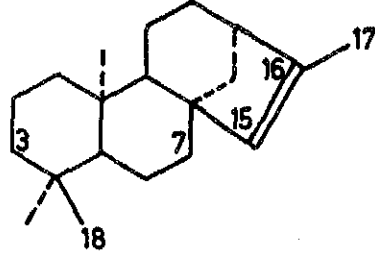
Şekil - 11

Diterpenler (-)-Kavren ve (-)-İzokavren Genel Yapı

Diterpen taşıdığı ve diterpenlerinin yapısı aydınlatı-
lan ilk *Sideritis* türü *S.sicula* 'dır. Bu tür üzerindeki araştırma-
lara, VENTURELLA ve ark. tarafından, 1964 yılında başlanmış
(165) ve 1968 yılında kesin sonuçlara ulaşılmıştır (125).

Bu araştırmalarda bitkinin kurutulmuş korollaları eter
veya petrol eteri ile soxhlet cihazında 48 saat ekstre edilmiş,

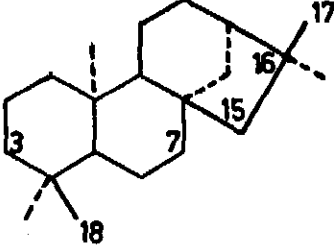
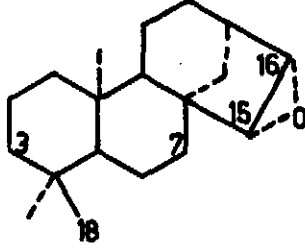
(-)-izokavren



| Diterpen | Kimyasal isimlendirme | Sideritis Türü (Lit.) |
|---|--|--|
| SİDERİDIYOL (C ₂₀ H ₃₂ O ₂) | 7α,18-dihidroksi-(-)- kavr-15-en. | <i>sicula</i> (125), <i>paulii</i> (139) <i>chamaedryfolia</i> (140), <i>gran-</i> <i>diflora</i> (132), <i>lauri</i> (2), <i>theezans</i> (170), <i>incana</i> ssp. <i>virgata</i> (136), <i>roeseri</i> , <i>dis-</i> <i>tans</i> , <i>syriaca</i> , <i>eubea</i> (166) |
| SİDEROL (C ₂₂ H ₃₄ O ₃) | 18-hidroksi-7α-asetok- si-(-)-kavr-15-en. | <i>sicula</i> (125,171), <i>lurida</i> (2) <i>theezans</i> (170), <i>euboea</i> (167) <i>hyssopifolia</i> (140), <i>chama-</i> <i>edryfolia</i> (137), <i>glacialis</i> (60) <i>roeseri</i> , <i>distans</i> , <i>syriaca</i> (166) |
| SİDERİTRİYOL (C ₂₀ H ₃₂ O ₃) | 7α,17,18-trihidroksi- (-)-kavr-15-en. | <i>sicula</i> (127) |
| SİDERİPOL C ₂₂ H ₃₄ O ₃ | 7α-hidroksi-18-asetok- (-)-kavr-15-en. | <i>sicula</i> (171) |
| İZOSİDOL C ₂₂ H ₃₄ O ₄ | 7β,18-dihidroksi-3α- asetoksi-(-)-kavr-15-en | <i>lagascana</i> (33), <i>biflora</i> (48) <i>leucantha</i> (35), <i>theezans</i> (170) |
| İZOFOLİYOL (C ₂₀ H ₃₂ O ₃) | 3α,7β,18-trihidroksi- (-)-kavr-15-en. | <i>chamaedryfolia</i> (137), <i>incana</i> ssp. <i>virgata</i> (136), <i>biflora</i> (48) <i>leucantha</i> (35), <i>theezans</i> (170) <i>lagascana</i> (33), <i>pauli</i> (139) |
| İZOLEVKANTOL (C ₂₀ H ₃₂ O ₄) | 3α,7β,17,18-tetrahid- roksi-(-)-kavr-15-en. | <i>lagascana</i> (33), <i>biflora</i> (48), <i>leucanthae</i> (32) |
| İZOLİNEAROL (C ₂₂ H ₃₄ O ₄) | 3,7-dihidroksi-18- asetoksi-(-)-kavr- 15-en. | <i>leucantha</i> (35), <i>biflora</i> (48), <i>lagascana</i> (33), <i>euboea</i> (166), <i>theezans</i> (170) |

Tablo - 20

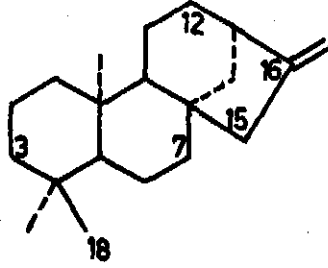
Sideritis Türleri - (-)-izokavren Sınıfı Diterpenler

| (-)-Kavran | Epoksi-(-)-Kavran | |
|---|--|---|
|  |  | |
| Diterpen | Kimyasal isimlendirme | Sideritis Türü (Lit.) |
| VIYEROL (C ₂₀ H ₃₄ O ₂) | 16α,18-dihidroksi-(-) kavran | Canariensis (58) |
| POVEROL (C ₂₀ H ₃₄ O ₂) | 7β, 16α-dihidroksi-(-) kavran- | canariensis (58) |
| SIDEROKSOL (C ₂₀ H ₃₂ O ₃) | 7α,18-dihidroksi-15, 16-epoksi-(-)-kavran | sicula (126), euboea (167), theezans (170), roeseri, distans, syriaca (166) |
| EPOKSİSIDEROL (C ₂₂ H ₃₄ O ₄) | 7α-hidroksi-18-asetoksi-15,16-epoksi- (-)-kavran | sicula (168,171) glacialis (60), euboea (166, 167), roeseri, distans, syriaca (166) |
| EPOKSİ-İZOSİDOL (C ₂₂ H ₃₄ O ₅) | 7α,18-dihidroksi-3-asetoksi-15, 16-epoksi-(-)-kavran | biflora (48) |
| EPOKSİ-İZOPOLIOL (C ₂₀ H ₃₄ O ₄) | 3β,7α,18-trihidroksi-15,16-epoksi-(-)-kavran | paulii (139) |
| EPOKSİ-İZOLINEAROL (C ₂₂ H ₃₄ O ₅) | 3α,7β-dihidroksi-18-asetoksi-15,16-epoksi-(-)-kavran | biflora (48) theezans (170) roeseri (166) |
| EPOKSİSIDERİTRİYOL (C ₂₀ H ₃₂ O ₄) | 7α,17,18-trihidroksi-15,16-epoksi-(-)-kavran | sicula (171) |

Tablo - 21

Sideritis Türleri - (-)-Kavran, Epoksikavran Sınıfı Diterpenler

(-)-Kavren



| Diterpen | Kimyasal isimlendirme | Sideritis Türü (Lit.) |
|---|---|---|
| FOLİYOL (C ₂₀ H ₃₂ O ₃) | 3 α ,7 β ,18-trihidroksi- (-)-kavr-16-en. | <i>biflora</i> (48), <i>lagascana</i> (33) <i>ochroleuca</i> (100), <i>incana</i> , <i>ssp.virgata</i> (136), <i>lutea</i> , <i>chamaedryfolia</i> (140), <i>leu-</i> <i>cantha</i> , <i>linearifolia</i> (35), |
| SİDOL (C ₂₂ H ₃₄ O ₄) | 7 β ,18-dihidroksi-3 α asetoksi-(-)-kavr- 16-en. | <i>linearifolia</i> (35), <i>lute-</i> <i>ola</i> (140), <i>biflora</i> (48), <i>leucantha</i> (35), <i>lagasca-</i> <i>na</i> (33) |
| LINEAROL (C ₂₂ H ₃₄ O ₄) | 3 α ,7 β -dihidroksi-18- asetoksi-(-)-kavr- 16-en. | <i>luteola</i> (140), <i>biflora</i> (48) <i>leucantha</i> (35), <i>lagascana</i> (33) |
| LÖKANTOL (C ₂₀ H ₃₂ O ₄) | 3 α ,7 β -15 α ,18-tetra- hidroksi-(-)-kavr- 16-en. | <i>biflora</i> (48), <i>lagasca-</i> <i>na</i> (33), <i>leucantha</i> (31) |
| EUBOTRİYOL (C ₂₀ H ₃₂ O ₃) | 7 α ,15 β ,18-trihidroksi- (-)-kavr-16-en. | <i>euboea</i> (167) |
| EUBOL (C ₂₂ H ₃₄ O ₄) | 15 β ,18-dihidroksi-7 α asetoksi-(-)-kavr-16-en | <i>euboea</i> (167) |

Tablo - 23

Sideritis Türleri - (-)-Kavren Sınıfı Diterpenler

34, 35, 132, 136, 137, 139, 140). Bu grubun ilk çalışmaları, *S.leucantha* ve *S.linearifolia*'nın diterpenleri üzerindedir. *S.linearifolia*'dan sadece (-)-kavren türevi (linearol, foliyol, sidol) diterpenler, *S.leucantha*'dan ise bu diterpenlerle beraber, (-)-izokavren türevleri de izole edilmiştir (Tablo-20,23). Linearol ve sidolün erime noktası, optik çevirmesi, IR ve NMR bulgularından, foliolün monoasetil türevi olduğu gösterilmiştir (35).

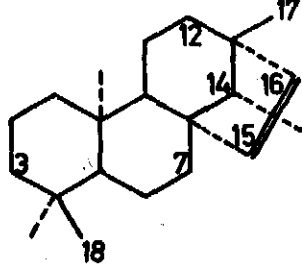
Sideritis türlerinden izole edilen staken, trakiloban ve atisan türevi diterpenler ise (Tablo-24, 25) de gösterilmiştir.

2- T r i s i k l i k D i t e r p e n l e r : RODRIGUEZ ve ark. *S.angustifolia*'dan yeni bir trisiklik diterpen izole etmişlerdir. Bu maddenin yapısı 6, 15, 16-trihidroksi-ent-izopimar-8 (14)-en olarak tayin edilmiştir (119). Daha sonra aynı grubun araştırmalarında yapı 11, 15, 16-trihidroksi 13-epient-15, 16-dihidrorimuen olarak gösterilmiştir (120). *Sideritis* türlerinden izole edilen trisiklik diterpenler (Tablo-26) da gösterilmiştir.

3- B i s i k l i k D i t e r p e n l e r : *Sideritis* türlerinden labdan ve manool türevi, bisiklik diterpenler de izole edilmiştir.

GONZALEZ ve ark. *S.canariensis* ve *S.gomeræ*'nin diterpenlerini araştırmışlardır. *S.canariensis* değişik grup diterpenlerin en önemli kaynağıdır. Bu bitkiden tetrasiklik diterpenlerin yanında, 13-epimanoil oksit, ribenol ($C_{20}H_{32}O_2$) ve tiganon

Staken (Beyeren)

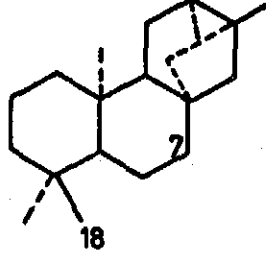


| Diterpen | Kimyasal isimlendirme | Sideritis Türü (Lit.) |
|--|---|---|
| JATİVATRIYOL (C ₂₀ H ₃₂ O ₃) | 1 α ,12 β ,17-trihidroksi-stak-15-en. | <i>angustifolia</i> (137), <i>serrata</i> (34), <i>reverchoii</i> (105) |
| 12-ASETİL JATİVATRIYOL (C ₂₂ H ₃₄ O ₄) | 1 β ,17-dihidroksi-12 α -asetoksi-stak-15-en. | <i>reverchoii</i> (105) |
| KOŞİTRİYOL (C ₂₀ H ₃₂ O ₃) | 7 β ,12 β ,17-trihidroksi-stak-15-en | <i>angustifolia</i> (173), <i>serrata</i> (34), <i>reverchoii</i> (105) |
| TARTESOL (C ₂₂ H ₃₄ O ₃) | 18-hidroksi-14 α -asetoksi-stak-15-en | <i>grandiflora</i> (132) |
| TOBAROL (C ₂₀ H ₃₂ O ₂) | 12 α ,17-dihidroksi-stak-15-en. | <i>reverchoii</i> (105) <i>serrata</i> (34) |
| BENUOL (C ₂₀ H ₃₂ O ₂) | 7 α ,17-dihidroksi-stak-15-en. | <i>reverchonii</i> (105) <i>serrata</i> (34) |
| PUSİLATRİYOL (C ₂₀ H ₃₂ O ₃) | 7 β ,14 α ,18-trihidroksi-stak-15-en. | <i>valverdei</i> (33) <i>pusilla</i> (32) |
| PUSİLATETROL (C ₂₀ H ₃₄ O ₄) | 3 α ,7 β ,14 α ,18-tetrahidroksi-stak-15-en | <i>valverdei</i> (33) <i>pusilla</i> (32) |
| İZOPUSİLATRİYOL (C ₂₀ H ₃₂ O ₃) | 3 α ,14 α ,18-trihidroksi-stak-15-en. | <i>valverdei</i> (33) <i>pusilla</i> (32) |

Tablo - 24

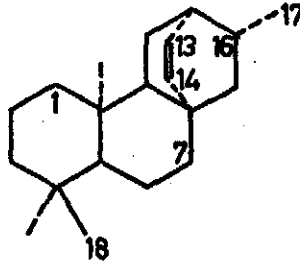
Sideritis Türleri - Staken Sınıfı Diterpenler

Trakiloban



| Diterpen | Kimyasal İsimlendirme | Sideritis Türü | (Lit.) |
|---|-----------------------------------|--------------------|--------|
| TRAKINODİYOL (C ₂₀ H ₃₂ O ₂) | 7β,18-dihidroksitراكيلوبان. | <i>canariensis</i> | (53) |
| TRAKINOL (C ₂₀ H ₃₂ O) | 7β-hidroksitراكيلوبان | <i>canariensis</i> | (53) |
| - | 7β-asetoksi-18-hidroksitراكيلوبان | <i>canariensis</i> | (56) |

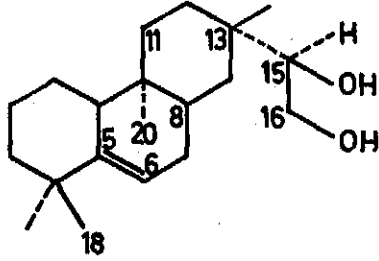
Atisen



| Diterpen | Kimyasal İsimlendirme | Sideritis Türü | (Lit.) |
|---|--------------------------------|---|--------------------------|
| SİDERİTOL (C ₂₀ H ₃₂ O ₃) | ent-13-atisen-1β,16α,17-triol. | <i>serrata</i> <i>angustifolia</i> <i>reverchonii</i> | (35) (3, 20) (105) |
| İZOSİDERİTOL (C ₂₀ H ₃₂ O ₃) | ent-13-atisen-7α,16α,17-triol. | <i>angustifolia</i> | (20, 21) |
| SERRADİYOL (C ₂₀ H ₃₂ O ₃) | ent-13-atisen-16,17-diol. | <i>reverchonii</i> <i>serrata</i> | (105) (35) |

Tablo - 25

Sideritis Türleri - Trakiloban ve Atisen Sınıfı Diterpenler



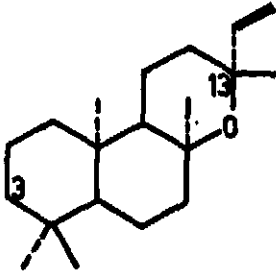
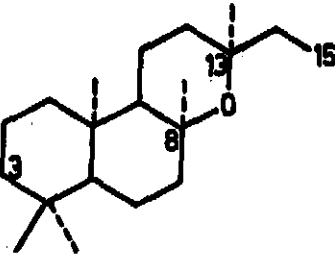
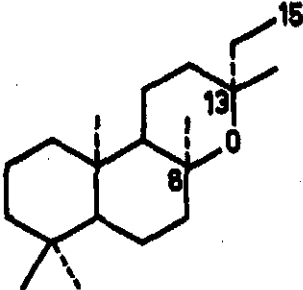
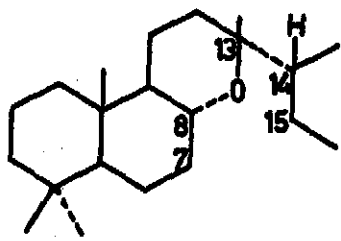
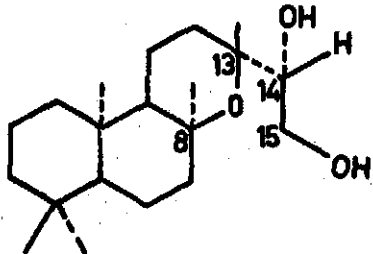
| Diterpen | Kimyasal isimlendirme | Sideritis Türü | (Lit.) |
|---|--|---------------------|--------|
| LAGASKATRIOL (C ₂₀ H ₃₄ O ₃) | 11,15,16-trihidroksi- 13-epi-ent-15,16-dihid- ro-rimuen. | <i>angustifolia</i> | (120) |
| | ent-8,5-friedopimar- | <i>serrata</i> | (34) |
| | 5-ent-18,15,16-triol. | <i>reverchonii</i> | (105) |
| LAGASKOL (C ₂₀ H ₃₄ O ₂) | ent-8,5-friedopimar- | <i>serrata</i> | (34) |
| | 5-en-15,16-diol. | <i>reverchonii</i> | (105) |

Tablo - 26

Sideritis Türleri - Trisiklik Diterpenler

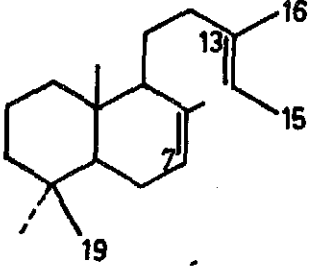
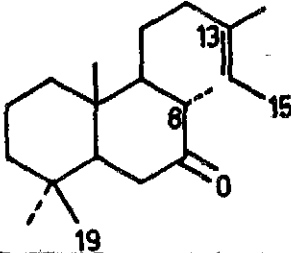
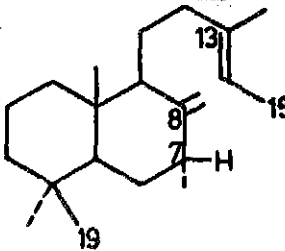
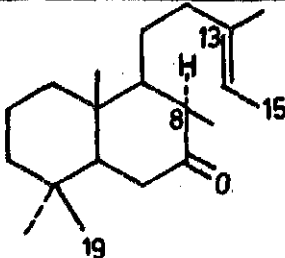
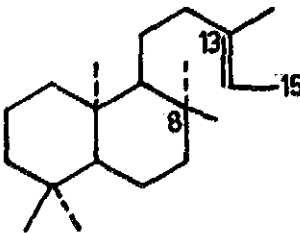
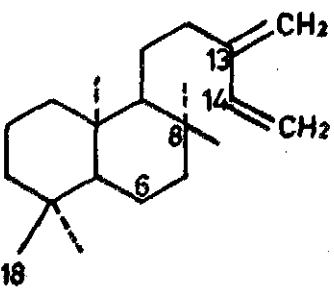
(C₁₉H₃₀O₂) diye isimlendirilen yeni bir diterpenik keton elde edilmiştir. Bu madde ribenole benzer, fakat A halkası beş karbonludur (54).

Bu grup diterpenler (Tablo-27, 28) de gösterilmiştir.

| Diterpen | Kimyasal İsimlendirme | Sideritis Türü (Lit.) |
|---|--|-----------------------------------|
|  | (-)-13-epimanoil oksit | <i>canariensis</i> (56) |
| | RİBENOL 3 α -hidroksit-(-)-13-epimanoil oksit | <i>canariensis</i> (56) |
|  | GOMERALDEHİT ent-8,13-epoksilabdan-15-al. | <i>gomeræ</i> (61) |
| | GOMERİK ASİT ent-8,13-epoksilabdan-15-oik asit. | <i>gomeræ</i> (61) |
|  | 13-EPİGOMERALDEHİT ent-8,13 β -epoksilabdan-15-al. | <i>gomeræ</i> (61) |
| | 13-EPİGOMERİK ASİT ent-8,13 β -epoksilabdan-15-oik asit. | <i>gomeræ</i> (61) |
|  | BORJATRIYOL 7,14,15-trihidroksi-8 α ,13-epoksilabdan. | <i>mugronensis</i> (138) (163) |
|  | BARBATOL 14,15-dihidroksi-ent-8,13 β -epoksilabdan. | <i>arborescens</i> (174) |

Tablo - 27

Sideritis Türleri - Bisiklik Diterpenler

| Diterpen | Kimyasal isimlendirme | Sideritis Türü (Lit) |
|---|--|-----------------------------|
|  | VILENOL 15,19-dihidroksi-labda- 7,13-dien. | <i>chamaedryfolia</i> (137) |
| | 19-Asetil Vilenol | <i>chamaedryfolia</i> (137) |
|  | VILENOLON 15,19-dihidroksi-8 α - labd-13-en-7-on. | <i>chamaedryfolia</i> (137) |
| | 19-Asetil Vilenolon | <i>chamaedryfolia</i> (137) |
|  | VILENATRIYOL 7 α ,15,19-trihidroksi- labd-8(17),13-dien | <i>chamaedryfolia</i> (137) |
|  | VILENATRIYOLON 8 β ,15,19-trihidroksi- labd-13-en-7-on. | <i>chamaedryfolia</i> (137) |
|  | ent-labd-13(14)-en- 8 α ,15-diol. (Eperu-13- ene-8 β ,15-diol). | <i>gomeræ</i> (61) |
|  | ANDALUSOL ent-13(16),14-labda- dien-6 α ,8 α ,18-triol. | <i>arborescens</i> (101) |
| | 6-DEZOKSIANDALUSOL ent-13(16),14-labdédien- 8 α ,18-triol. | <i>arborescens</i> (141) |

Tablo - 28

Sideritis Türleri - Bisiklik Diterpenler

Flavonoitlerle İlgili Çalışmalar

Sideritis türlerinin flavonoitleri ile ilgili ön çalışmalar, 1962 yılından itibaren başlamıştır. THÉDOSSIOU, *Labiatae* familyasındaki triterpenlerle ilgili çalışmalarını sırasında, bazı *Sideritis* türlerinden (*S.attica*, *cretica*, *syriaca*, *sipylea*, *scardica*, *roeseri*, *theezans*) erime noktası yüksek, yeşil renkli kristaller elde etmiş, kromatografik inceleme sonunda bu maddelerin flavonoit yapısında olduğu tespit edilmiştir.

Bu araştırmada bitkilerin herbası 3 değişik yöntemle ekstre edilmiştir:

1- Herbanın % 60 lık metanol veya saf metanol ile tütürü hazırlanmış.

2- Yapraklar soxhlet cihazında petrol eteri, eter, kloroform ile ekstre edilip, artık metanolle ekstre edilmiş.

3- Herba petrol eteri, eter, kloroformla ekstre edildikten sonra, önce etilasetat sonra metanol ile ekstre edilmiştir.

Her üç yöntemle elde edilen ekstralar kağıt kromatografisi yöntemi ile, n-butanol/asetik asit/ su (4:1:5) ve etilasetat/ formik asit/ su (10:2:3) solvan sistemlerinde incelenmiş, şimdiye kadar bilinmeyen, Rf değerleri; 0.96, 0.60, 0.53 olan ve siderozit A, B, C, diye isimlendirilen 3 flavonoit bulunduğu tespit edilmiştir.

Bu maddelerden siderozit A'nın hidrolizi sonunda

yapısında glikoz bulunduğu tespit edilmiştir. Erime noktası: 250-252^o, Rf: 0.60 olan ve UV de sarı leke veren madde, tentürde bulunmamış. Metanol ekstresinde de bu leke tespit edilememiştir. Buradan, ekstraksiyon veya tentürlerin saklanması sırasında bu maddenin meydana geldiği sonucuna varılmıştır (158). Bu araştırma *Sideritis* flavonozitleri üzerinde ilk, fakat eksik bir çalışmadır.

1970 yılında POLATOVA, *S. montana*'nın flavonozitlerini araştırmıştır. Flavonozitlerin izolasyonu için, numune reçinemsi maddeleri uzaklaştırma gayesiyle önce kloroformla, takiben etanol ile ekstre edilmiş, etanol uçurulmuş. Artık sıcak suda çözülmüş, sulu çözelti kloroformla ekstre edilmiş ve kloroformlu faz poliyamit kolona tatbik edilmiş, kolon su ile yan maddelerden temizlenip, etanol/su (1:1) solvan sistemi ile flavonozitler elüe edilmiştir. Kağıt kromatografisinde % 15 lik asetik asit ve n-butanol/asetik asit/su (4:1:5) solvan sistemlerinde üç flavonozit lekesi tespit edilmiştir.

İzole edilen maddeler % 20 lik sülfürik asit ile hidrolize tabi tutulmuş, aglikonlarının aynı olduğu kromatografik olarak gösterilmiş ve şahit maddelerle karşılaştırılarak bu aglikonun luteolin olduğu tespit edilmiştir. Kağıt kromatografisi ile glikoz ve ramnoz varlığı da gösterilmiştir. Bu araştırma da ozların aglikona bağlanması ve flavonozitlerin yapısı hakkında daha ileri bilgiler bulunmamaktadır (131).

FEFER, aynı yıllarda, *S. catillaris* çiçeklerinin 70° lik etanolle elde edilen ekstraktında, 6 değişik flavonoit bulunduğunu tespit etmiştir. Kağıt kromatografisi ve UV analizleri sonunda, bu maddelerden birinin aglikonu, ladanozit olarak bulunmuştur (43). Aynı araştırmacı, 1972 yılında, *S. taurica*, *Marschalliana* ve *ajpetriana*'nin yapraklarından 3 flavonoit izole etmiş, bunlardan birini apigenin diğer ikisini skutellarein türevi olarak tayin etmiştir (44).

Son yıllarda yapılan araştırmalarda *Sideritis* türlerinden daha çok metoksiflavonlar izole edilmiştir (62, 135, 142, 159). Genellikle metoksiflavonlar 5., 7. karbonlardaki veya sadece 5. karbondaki hidroksil grupları dışında, metoksi grupları taşır. B halkasında ise mono ve dimetoksi grupları 3', 4' konumunda bulunur.

GONZALEZ ve ark. 1977 yıllarında *S. bolleana*, *dasygaphala* ve *gomeræ*'de metoksiflavonlar izole etmişlerdir (Tablo 10-29). *S. canariensis*, *macrostachya*, *argosphacelus*, *dendrochacelus*, ve *candidanslia* ise flavonoit bulunmamıştır (62).

RODRIGUEZ, aynı yıllarda *S. mugronensis*'den de tri, tetra, pentametoksiflavonlar izole etmiştir. Bu araştırmada, bitkinin toprak üstü kısımları petrol eteri ile ekstre edilmiş, ekstrakt silikajel taşıyan kolona tatbik edilmiş, kloroform/metanol (33:1) ile elüe edilmiş, eluatlar ince tabaka kromatografisi yöntemi ile saflaştırılmış ve (Tablo-29) daki metoksiflavonlar izole edilmiştir. Bu maddelerin kesin yapıları metil ve asetil türevlerinin,

| Flavonoit | Kimyasal isimlendirme | Sideritis Türü | (Lit.) |
|-----------------------------|---|--|----------------|
| 7,4'-Di-0-metil apigenin | 5-Hidroksi-7-4'-dimetoksiflavon | <i>gomeræ</i> | (63) |
| Sirsimaritin | 5-4'-Dihidroksi-6,7-dimetoksiflavon | <i>dasygnaphala</i> | (63) |
| Pektolinarigenin | 5,7-Dihidroksi-6,4'-dimetoksiflavon | <i>gomeræ</i> | (63) |
| 3,7,4'-Tri-0-metil kemferol | 5-Hidroksi-3,7,4'-trimetoksiflavon | <i>holleana</i> | (63) |
| Ksantomikrol | 5,4'-Dihidroksi-6,7,8-trimetoksiflavon | <i>dasygnaphala</i> | (63) |
| Salvigenin | 5-Hidroksi-6,7,4'-trimetoksiflavon | <i>Serrata</i> <i>gomeræ</i> | (142) (63) |
| Öpatorin | 5,3'-Dihidroksi-6-7,4'-trimetoksiflavon | <i>gomeræ</i> | (63) |
| Sirsilineol | 5,4'-Dihidroksi-6,7,3'-trimetoksiflavon | <i>mugronensis</i> | (135) |
| - | 5,3',4'-Trihidroksi-6,7,8-trimetoksiflavon | <i>leucantha</i> | (159) |
| 3'-0-metil öpatorin | 5-Hidroksi-6,7,3',4'-tetrametoksiflavon | <i>gomeræ</i> <i>mugronensis</i> | (63) (135) |
| 3,4'-Di-0-metil öpalitin | 5-Hidroksi-3,6,7,4'-tetrametoksiflavon | <i>gomeræ</i> | (63) |
| - | 5,4'-Dihidroksi,6,7,8,3'-tetrametoksiflavon | <i>mugronensis</i> <i>leucantha</i> | (135) (159) |
| Gardenin D | 5,3'-Dihidroksi-6,7,8,4 tetrametoksiflavon | <i>mugronensis</i> <i>serrata</i> | (135) (142) |
| Artemetin | 5-Hidroksi-3,6,7,3',4'-pentametoksiflavon | <i>gomeræ</i> | (63) |
| 5-0-Desmetil-nobiletin | 5-Hidroksi-6,7,8,3',4'-pentametoksiflavon | <i>mugronensis</i> | (135) |

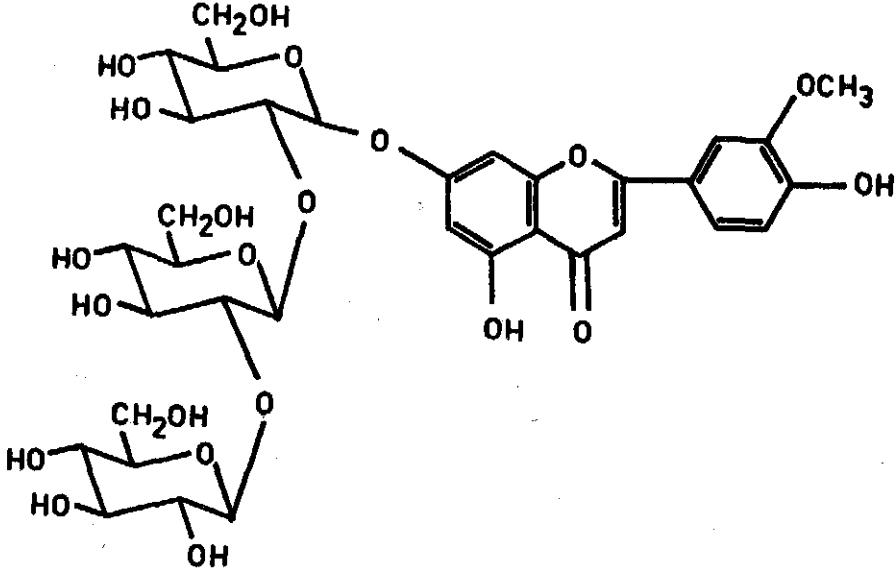
Tablo - 29

Sideritis Türleri - Metoksiflavonlar

UV, IR, NMR bulgularına göre tayin edilmiştir (135).

VENTURELLA ve ark. da 1977 yılında *S. romana*'nın toprak üstü kısımlarının etilasetat, etanol ekstraktlarından yeni bir flavon triheteroziti izole etmişlerdir. Bu madde nin aglikon yapısı UV, NMR, kütle spektrumu analizleri sonucu krizoeriyol (5,7,4'-trihidroksi-3'-trimetoksiflavon) olarak aydınlatılmıştır. Bu çalışma *Sideritis* türlerinde, krizoeriyol aglikonlu, heterozitin varlığının ilk defa gösterilmesi bakımından önemlidir. Araştırmanın bir başka önemli yanı, bu araştırmada izole edilen flavonozitin, 3 mol glikozun aglikona 1→2 bağı ile bağlanmasıyla meydana gelen bir heterozit yapısında olmasıdır. Bu durum tabiatta çok nadirdir (Şekil-12). (172).

1979 yılında TOMAS ve ark. *S. leucantha*'dan, daha önce *S. mugronensis*'de bulunan 5,4'-dihidroksi-6,7,8,3'-tetrametoksiflavonun yanında, 5, 3, 4'-trihidroksi-6,7,8-trimetoksiflavon da izole etmişlerdir. Bu araştırma da materyalin metanol ekstresi, yoğunlaştırılmış, trikloretilenle temizlenmiştir. Saflaştırma için preparatif kağıt ve ince tabaka kromatografileri kullanılmış, yapıları ise UV, NMR ve kütle spektrumları yardımıyla tayin edilmiştir (159).



Şekil - 12

Krizoeriyol-7-β-glikozil-β-1 → 2-glikozil-β-1 → 2-glikoz

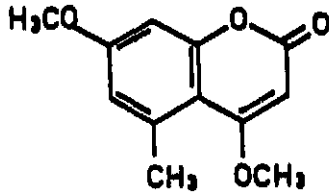
Diğerleri

Sideritis türleri üzerinde az sayıda çalışma bulunan maddeler bu grupta toplanmıştır.

Uçucu Yağlar : *Sideritis* türlerinin yaprak ve çiçeklerinin su buharı distilasyonu ile ancak % 0.008 ve 0.2 oranında uçucu yağ elde edilmiştir (131).

CARRERAS tarafından 1971 de, *S. linearifolia*'nin uçucu yağı araştırılmıştır. Distilasyon sonunda % 0.4 uçucu yağ elde edilmesine karşılık hekzan ile ekstraksiyonunda % 3 civarında verim elde edilmiştir. Gaz kromatografik analizler sonunda bu uçucu yağda m- ve -p-ksilen, β-D-limonen, α-terpinolen, β-pinen, 1-8-sineol, metil-4-izopropiliden-1-sikloheksan bulunmuştur (22).

K u m a r i n l e r : GONZALEZ ve ark. *S.canariensis*' in diterpenoitleri üzerinde çalışırken yeni bir kumarin de izole etmişlerdir. Bu maddenin yapısı önce 6,7-dimetoksi-4-metil kumarin olarak tayin edilmiş (55) ve siderin adı verilmiştir. Daha sonra aynı grup ve VENTURELLA ve ark. *S.romana* herbasi üzerinde yaptıkları araştırmalarda maddenin kimyasal yapısı 4,7-dimetoksi-5 metil kumarin olarak bulunmuştur. Bu bileşiğin sentezi yapılmış ve kesin yapının yukarıda belirtildiği gibi olduğu ispat edilmiştir (Şekil-13) (59, 169).



Şekil - 13

Siderin

S t e r o l l e r v e A l k a n l a r : 1970 yıllarında, VENTURELLA ve ark. *S.sicula* diterpenleri üzerindeki araştırması sırasında, diterpenlerin ayırımı yanında steroller de izole etmişlerdir (168). Aynı araştırmacı grubu, 1973 yılında *S.sicula* ve *S.romana* türlerinin petrol eterli ekstresinden hareketle aynı sterolleri, ayrıca alkan grubu maddeleri izole edip, gaz-likit kromatografisi ile yapılarını tayin etmişlerdir. Buna göre her iki *Sideritis* türünde bulunan steroller ve % değerleri (Tablo-30) de gösterilmiştir.

| | Kampesterol (C ₂₈ H ₄₈ O) (%) | Stigmasterol (C ₂₉ H ₄₈ O) (%) | β-Sitosterol (Lit.) (C ₂₉ H ₅₀ O) (%) |
|-----------------|--|---|--|
| <i>S.sicula</i> | 17.5-20 | 48.7-50 | 33.8-30 (121,168) |
| <i>S.romana</i> | 16.5 | 47.4 | 36.1 (121) |

Tablo - 30

Sideritis Türleri - Steroller

Ayrıca, *S.glacialis* de β-sitosterolün-β-D-glikoziti (60) bulunmuştur.

S.sicula ve *S.romana* türlerinin alkanları ile ilgili araştırmada, C₂₃-C₃₅ alkanları her iki türde de bulunmuş ve % miktarları karşılaştırılmıştır. Buna göre % miktarları en fazla olan C₃₁, C₂₉ ve C₃₃ alkanlarıdır (121).

RODRIGUEZ ve ark. 1975 yıllarında *S.ochroleuca*'da β-sitosterol yanında, C₂₀-C₃₃ alkanlarının bir karışımını da izole etmişlerdir (100).

1953 yıllarında POURRAT ve ark. Labiatae familyası bitkilerin de ursolik asit dağılımını araştırmışlardır. Bu araştırma sırasında *S.hyssopifolia*'nın benzen ekstraktından hareketle, metanol de rekrystalizasyonla temizlenerek, iğne şeklinde kristaller elde edilmiş ve bu madde triyakontan C₃₃H₆₈ (E.N 72⁰) olarak tespit edilmiştir (128).

Bu tür de ursolik asit bulunmamıştır.

T r i t e r p e n i k A s i t l e r : *Sideritis* türlerinden, *Labiatae* familyasında yaygın olarak bulunan oleanolik ve ursolik asitler izole edilmiştir. *S.glacialis* ve *candicans*'da oleanolik ve ursolik asitlerin bir karışımının bulunduğu gösterilmiştir (57, 60).

Sideritis türlerinden izole edilen diğer maddeler *S.canariensis*'de lignan (sesamin) (55), *S.montana* da alkaloid (stakidrin) (130), *S.ochroleuca* da serbest yağ asitleri (100) ve değişik *Sideritis* türlerin de iridoid heterozitlerinin (94) varlığı araştırmacılar tarafından gösterilmiştir.

KİMYASAL BÖLÜM
PRATİK ÇALIŞMALAR

K İ M Y A S A L B Ö L Ö M
P R A T İ K Ç A L I Ş M A L A R
M A T E R Y A L

Sideritis congesta Davis et Huber-Morath bitkisi, 1976-78 yıllarının, 11-15 Temmuz tarihleri arasında, Antalya, Alanya, Değirmenönü ve Dim çayı civarındaki yamaçlardan toplandı. ^(a) Bitkinin, halk arasında çiçekli kısımları ve yaprakları kullanıldığı için, herbasi ayrıldı, gölgede kurutuldu, toz edildi.

Kimyasal çalışmalar, bitkinin petrol eterli (40°-60°) ve etilasetatlı fazlarında yürütüldü. Toplandığı bölgelere ve yıllara göre bu fazların kromatografik karşılaştırması yapıldı, herhangi bir farklılık olmadığı tespit edildi.

(a) *S. congesta* Davis et Huber-Morath (C₄ ANTALYA, Alanya, Değirmenönü (HÜEF 1257 !), Dim çayı civarı (HÜEF 1256 !)).

Y Ö N T E M

Sideritis türlerinin halk arasındaki kullanılışı ve şimdiye kadar yapılan araştırmalar dikkate alınarak, bitkinin diterpen ve flavonoidleri çalışmalarımızın esasını teşkil etti.

Bitkideki diterpenlerin ve flavonoidlerin ekstraksiyonu, tanımı, izolasyonu ve yapı tayini ile ilgili pratik uygulamalar bu kısımda verilmiştir. Kolon, ince tabaka ve kağıt kromatografisi çalışmalarında kullanılan solvan sistemleri, konular ilerledikçe tekrarlardan kaçınmak için, önceden verilmiştir. (Tablo-31) de, çalışmalarımız sırasında kullanılan solvan sistemleri gösterilmiştir. Çalışmanın başlangıcında başka solvan sistemleri de denenmiştir. Uygun sonuç alınmayan sistem ve yöntemlerden bahsedilmemiştir.

Ekstraksiyon

Toz edilmiş materyal, soxhlet cihazında petrol eteri (40° - 60°) ile tüketildi. Silikajel G kaplı plaklar da (solvan sistemi-2,5) ile ekstraksiyonun yeterli olup olmadığı kontrol edildi. Petrol eterli faz ve bekletilmesi ile çöken kısım, kromatografik olarak karşılaştırıldı; herhangi bir fark görülmedi ve petrol eterli fazlar birleştirildi. Petrol eterli fazda diterpenler ve metoksiflavonların bulunup bulunmadığı kromatografik olarak araştırıldı. Bu faz diterpen ve metoksiflavon elde etmek üzere ayrıldı.

350 g. materyal 251 petrol eteri (40° - 60°) ile bir gece maserasyona bırakılır. Soxhlet cihazında 12 saatte bir solvan yenilenerek 48 saat süreyle tüketilir. Bu işlem

| No | Solvan Sistemleri | Oran | Yöntem | (Lit.) |
|-----|--|-----------------|--------|------------------|
| 1. | Kloroform:metanol:su | (65:25:4) | İTK,SK | (16,111,157) |
| 2. | Etilasesat:metanol:su | (100:16,5:13,5) | İTK,SK | (5,39,98) |
| 3. | Benzen:etilasetat | (3:7) | İTK | (126,127) |
| 4. | Benzen:metanol | (98:2) | İTK | (*) |
| 5. | Kloroform:metanol | (97:3) | İTK,SK | (16,17) |
| 6. | Kloroform:eter:metanol | (60:35:5) | İTK | (18) |
| 7. | Kloroform:eter | (9:1) | İTK,SK | (161) |
| 8. | Kloroform:metanol | (9:1) | İTK,SK | (33,120) |
| 9. | Kloroform:aseton | (9:1) | İTK,SK | (38) |
| 10. | n-Butanol:asetik asit:su | (4:1:5) | KK | (23,71,114) |
| 11. | Ter-Butanol:asetik asit:su | (3:1:1) | KK | (15,89,144) |
| 12. | n-Butanol:etanol:su | (4:1:2,2) | KK | (72) |
| 13. | Asetik asit:su | (% 30) | KK | (71) |
| 14. | Benzen:butanon:metanol | (50:25:25) | İTK | (39,111,134,157) |
| 15. | Su:metanol:butanon: asetilaseton | (13:3:3:1) | İTK | (8,37,93,177) |
| 16. | Su, Su:metanol | (9:1,8:2... | PK | (4,25,104,118) |
| 17. | Toluen:etilasetat:metanol | (8:6:1) | İTK | (49) |
| 18. | Toluen:kloroform:aseton | (40:25:35) | İTK | (98,153) |
| 19. | Toluen:etilasetat:metanol | (4:2:2) | İTK | (49) |
| 20. | Etilasetat:asetik asit:su | (40:13:30) | KK | (81) |
| 21. | Asetik asit:su | (1:1) | KK | (81) |
| 22. | n-Butanol:piridin:su | (9:5:4) | KK | (71) |
| 23. | n-Butanol:benzen:piridin:su | (5:1:3:3) | KK | (71) |
| 24. | Etanol:piridin:su | (3,6:1:1,15) | KK | (27) |
| 25. | Etilasetat:piridin:su n-butanol:asetik asit | (5:4:4:10:2) | İTK | (83) |
| 26. | Etilasetat:piridin:su | (12:5:4) | İTK | (83) |
| 27. | Der.hidroklorik asit: asetik asit:su | (30:10:1) | KK | (8,70,75) |
| 28. | Fenol:su | doymuş | KK | (23,49) |
| 29. | Benzen:etanol | (8:2) | İTK | (153) |
| 30. | Kloroform:etilasetat:aseton | (5:4:1) | İTK | (11) |
| 31. | Benzen:aseton | (1:1) | İTK | (153) |
| 32. | Benzen:aseton | (2:1) | İTK | (153) |

Tablo - 31

Araştırma Süresince Kullanılan Solvan Sistemleri

(İTK) İnce Tabaka Kromatografisi, (KK) Kağıt Kromatografisi
(SK) Silikajel Kolon, (PK) Poliyamit Kolon (*) Tarafımızdan geliştirildi.

1,5 kg. materyal için tekrarlanır. Sarı renkteki petrol eterli ekstraktlar birleştirilir, alçak basınç altında yoğunlaştırılır, buzdolabında 48 saat bekletilir, meydana gelen yeşilimsi-sarı çökelti ayrılır. Petrol eterli faz kuruluğa kadar uçurulur (Petrol eterli faz).

Böylece apolar maddelerden temizlenen artık, açık havada kurutuldu. Soxhlet cihazında her defasında saf solvan kullanılarak, 80° lik etanol ile tüketildi. Silikajel G kaplı plaklarda (solvan sistemi-1) kullanılarak, kromatografik olarak ekstraksiyonun tamamlanıp tamamlanmadığı kontrol edildi. Etanol alçak basınç altında kuruluğa kadar uçuruldu.

İlk ekstraksiyondan sonra, açık havada kurutulan materyal, 80° lik etanol ile 24 saat maserasyona bırakılır, Soxhlet cihazında, 3 defa ikişer litre 80° etanol ile toplam 24 saat tüketilir, ekstraktlar birleştirilir, alçak basınç altında kuruluğa kadar uçurulur (Etanollü faz).

Etanollü ekstre, sıcak su ile kısmen çözüldü. Sulu faz sırasıyla eter, etilasetat ve su ile doyurulmuş n-butanol ile ekstre edildi. Ekstraksiyonun tamamlanıp tamamlanmadığı kromatografik olarak kontrol edildi.

Ekstre, sıcak suda kısmen çözülür, alçak basınç altında Büchner hunisinden süzülür, hunide kalan artık sıcak su ile renksiz süzüntü elde edilinceye kadar yıkanır, sulu fazlar birleştirilir, belli bir hacme kadar yoğunlaştırılır, yoğun sulu faz eşit hacimde eter ile mekanik çalkalayıcı da ekstre edilir. Eterle ekstraksiyona, etere

renkli maddeler geçmeyinceye yani renksiz eterli ekstre elde edilinceye kadar devam edilir. Eterli fazlar birleştirilir, susuz sodyum sülfat ile suyundan kurtarılır, yoğunlaştırılır(Eterli faz).

Eterli ekstre edilen sulu faz, eşit hacimde etilasetatla mekanik çalkalayıcıda ekstre edilir. Etilasetat ekstraksiyonuna, etilasetata renkli maddeler geçmeyinceye kadar yani renksiz etilasetatlı ekstrakt elde edilinceye kadar devam edilir, etilasetatlı fazlar birleştirilir, susuz sodyum sülfat ile suyundan kurtarılır, alçak basınçta kuruluğa kadar uçurulur(Etilasetatlı faz).

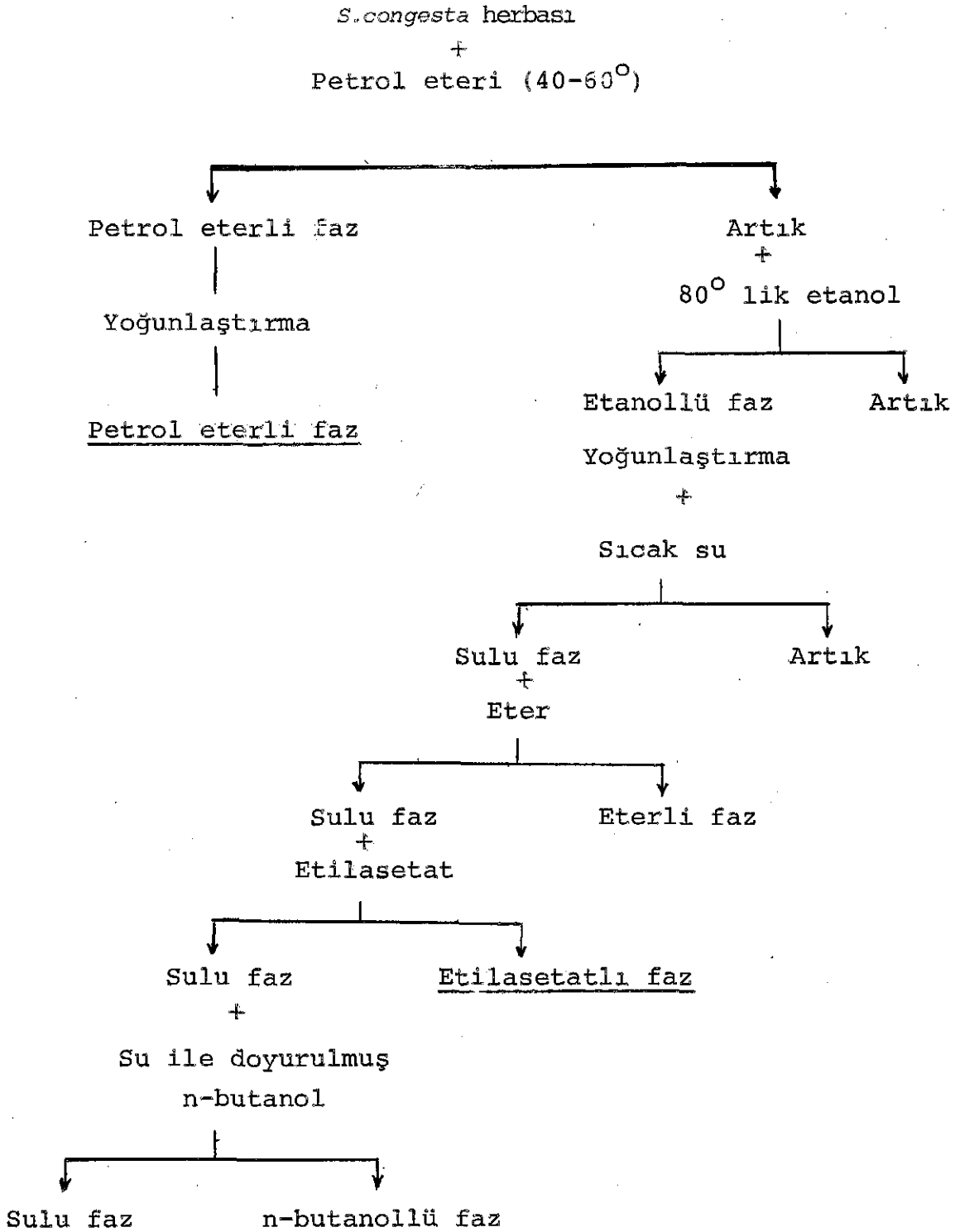
Kalan sulu faz, su ile doyurulmuş n-butanol ile aynı şekilde ekstre edilip, yoğunlaştırılır(n-butanollü faz).

Eter, etilasetat ve n-butanol fazlarında ayrı ayrı siyanidin reaksiyonu yapıldı ve flavonozit varlığı tespit edildi. Bu fazların, (solvan sistemi- 10, 13) kullanılarak kağıt kromatografisi ve (solvan sistemi- 1, 2) ile ince tabaka kromatografisinde karşılaştırması yapıldı. Çalışmalarımız flavonozit taşıyan etilasetatlı faz üzerinde yürütüldü. n- Butanol fazında hemen hemen aynı flavonozitlerin bulunduğu kromatografik olarak tespit edildi. Fakat miktarca az olmasından dolayı ayrıca çalışılmadı, gerektiğinde etilasetatlı faz ile birleştirildi. Bu izolasyon yöntemi (tablo-32) de gösterilmiştir.

Petrol Eterli Faz Üzerinde Yapılan Çalışmalar

Tanım

Yoğunlaştırılmış petrol eterli fazın, ince tabaka kromatografisinde, aşağıdaki solvan sistemleri ve revelatörler kullanılarak kromatografik kontrolü yapıldı (Tablo-33).



Tablo - 32

S. congesta - İzolasyon Şeması

| | |
|--------------------|----------------------------------|
| Adsorban | Kieselgel G Tip 60 (Merck 7731) |
| Kalınlığı | 0,3 mm |
| Aktivasyon | 110°C15-20' |
| Solvan Sistemi - 3 | Benzen:etilasetat(3:7) |
| " " - 4 | Benzen:metanol(98:2) |
| " " - 5 | Kloroform:metanol(97:3) |
| " " - 6 | Kloroform:eter:metanol(60:35:5) |
| " " - 7 | Kloroform:eter(9:1) |
| " " - 8 | Kloroform:metanol(9:1) |
| Revelatörler | % 30 Sülfürik asit |
| | % 20 Antimon triklorür/kloroform |
| | % 20 Fosfotungustik asit/etanol |
| | % 0,5 Potasyum permanganat/su |

Tablo - 33

Diterpen ve Metoksiflavonlar -
İnce Tabaka Kromatografisi Yöntemleri

Bu reaktiflerle gün ışığında ve UV 366 da görülen, (Solvan sistemi-5,8) 10 lekeden 8 inin diterpen olabileceği tespit edildi. Bunlardan bir tanesinin miktarının fazla, diğerlerinin eser miktarda olduğu görüldü. Aynı plaklarda flavonoit özelliği gösteren bir lekenin varlığı da tespit edildi. Petrol eterli fazda metoksiflavon bulunabileceği düşünüldü.

İzolasyon

Petrol eterli fazı yan maddelerden kısmen temizlemek için iki yol takip edildi:

a) Kuruluğa kadar uçurulan petrol eterli faz, sıcak petrol eterinde çözüldü, soğukta çöktürüldü ve bu işlem birçok defa tekrarlanarak kısmen yan maddelerden temizlendi.

b) Petrol eterli faz sulu metanol ile ekstre edildi. Metanol uçuruldu, kalan sulu faz, kloroformla ekstre edildi. Böylece yan maddeler kısmen suda kaldı. Kloroformlu faz alçak basınçta kuruluğa kadar uçuruldu. Bu işlemler yeşil renkli petrol eter fazının, renksiz hale geçmesini sağlar.

300 ml petrol eterli yoğun çözelti, su/metanol (9:1) ile (200 mlX4) tüketilir. 200 ml. ye kadar yoğunlaştırılır. Beyaz bir süspansiyon meydana gelir. Kloroform (100 mlX6) ile tüketilir, kloroformlu fazlar birleştirilir, alçak basınç altında kuruluğa kadar uçurulur (Ham ekstrakt).

Ham ekstraktın kromatografik kontrolü, metoksiflavon ve diterpenler taşıdığını gösterdi. Bu maddeler kolon kromatografisi ile ayrıldı. Bunun için silikajel kolonda değişik solvan sistemleri denendi. Kloroform/metanol (9:1 veya 33:1), kloroform/aseton (9:1), benzen, benzen/etilasetat (9:1,8:2,...5:5) solvan sistemlerinde birbirine oldukça benzer sonuçlar elde edildi. En uygun ayırımın sağlandığı kloroform/aseton (9:1) solvan sistemi ile metoksiflavon ve diterpenlerin karışımı fraksiyonlandı (SK-1).

Kolön Hazırlanması (SK-1)

350 g Kieselgel 60 (0,2-0,5 mm) (Merck), kloroform ile süspansiyon haline getirilerek kolona doldurulur, homojen olarak yerleşmesi sağlanır. Daha sonra 3,75 g ham ekstrakt az miktar kloroformda çözülür, 25 g Kieselgel ilave edilir, karıştırılır, alçak basınçta kuruluğa kadar uçurulur, kurutulur,

havanda homojen hale getirilir, birtabaka teşkil edecek şekilde az miktarda kloroform yardımıyla kolona tatbik edilir. Kloroform/metanol (9:1) solvan sistemi ile elüsyona başlanır. Elüsyonun ilerleyişi, ince tabaka kromatografisinde (solvan sistemi-3,8) ile kontrol edilir.

SK-1

| | |
|------------------|--------------------------------------|
| Adsorban | Kieselgel 60 (0,2-0,5 mm) Merck 7733 |
| Solvan sistemi-8 | Kloroform:metanol (9:1) |
| Fraksiyonlar | 20-30 ml |
| Kolon boyutları | 5,5 X 140 cm |
| Elüsyon hızı | 1,5-2ml/dak. |
| Materyal | Ham ekstrakt |

Kolondan alınan fraksiyonların kontrolünde, ilk fraksiyonlarda metoksiflavon bulunduğu tespit edildi. Bu fraksiyonlar (11-14. fraksiyonlar) birleştirildi, uçuruldu. Metanol ile birçok defa kristallendirilerek temizlendi.

Diğer taraftan miktarı en fazla olan diterpeni (D1) taşıyan fraksiyonlar (23-28. fraksiyonlar) birleştirildi. (D1) diterpenini diğer diterpenlerden ayırmak ve saf olarak elde etmek için, silikajel kolonda, kloroform/aseton (9:1) solvan sistemi kullanıldı.

Kolon Hazırlanması (SK-2)

(SK-1) kolondan alınan (D1) diterpenini taşıyan karışım (180 mg), 6 g adsorban ile karıştırılır. Kloroform/aseton (9:1) solvan sisteminde çözülür. Alçak ba-

sınçta kuruluğa kadar uçurulur. Az miktar solvanda ęözölerek, (SK-1) kolonu gibi hazırlanan ve 50 g adsorban taşıyan kolona tatbik edilir.

SK-2

| | |
|--------------------|--------------------------------------|
| Adsorban | Kieselgel 60 (0,2-0,5 mm) Merck 7733 |
| Solvan sistemi - 9 | Kloroform/aseton (9:1) |
| Fraksiyonlar | 10-15 ml |
| Kolon boyutları | 3,5 X 40 cm |
| Elüsyon hızı | 1,5-2 ml/dak. |
| Materyel | Diterpen Karışımı |

Kolondan alınan fraksiyonlar, silikajel G kaplı plaklarda, (solvan sistemi-3,4,8 de) kontrol edildi. Saf olarak elde edilen diterpen fraksiyonları birleştireildi, yoğunlaştırıldı, (D1) diterpeni az miktarda kloroformda ęözölüdü, metanol ile kristallendirildi.

Petrol eteri fazında bulunan diterpen ve metoksiflavin üzerindeki ęalıřmalar, bu kısımdan sonra diterpen ve metoksiflavin başlıkları altında ayrı ayrı incelenecektir.

Diterpen - Yapı Tayini

Diterpenlerin yapı tayini ile ilgili yöntemlerden, teorik kısmında bahsedilmiştir. Saf olarak elde edilen diterpenin, şahit maddeler ile kromatografik karşılaştırılması, madde hakkında ön bilgi verir. IR, NMR ve kütle spektroskopisi bulgularına göre fonksiyonel gruplar ve sayıları tespit edilir. Yapıda mevcut fonksiyonel gruplara göre türevleri hazırlanır, kromatografik ve spektroskopik analiz sonuçları daha öncekilerle karşılaştırılarak diterpen yapısı doğrulanır.

Kristallendirilen (Dl) diterpeninin, erime noktası, optik çevirmesi ölçüldü. Kromatografik ve spektroskopik analizleri yapıldı. Varlığı tespit edilen fonksiyonel gruplar dikkate alınarak asetil ve deasetil türevleri hazırlandı. Bunlar ince tabaka kromatografisinde şahit maddeler ile karşılaştırıldı.

Asetilleme

35 mg (Dl) diterpeni, 0,5 ml piridin ve 1 ml anhidr asetik asit te çözülür, oda ısısında bekletilir. Asetillemenin tamamlandığı, ince tabaka kromatografisi yöntemi ile (solvan sistemi-3,5) kullanılarak tespit edilir. Asetilleme ürünü 24 saat sonra buzlu suya dökülür, bu karışım, kloroform ile ekstre edilir.

Deasetilleme

70 mg (Dl) diterpeni, 35 ml potasyum hidroksitin % 5 lik etanoldeki çözeltisinde çözülür, oda ısısında 24 saat bekletilir. Deasetillemenin tamamlanıp tamamlanmadığı ince tabaka kromatografisinde (solvan sistemi-3,8) kullanılarak kontrol edilir. Bu sürenin sonunda önce kloroform ve sonra metanol ile ekstre edilir.

Metoksiflavon - Yapı Tayini

Flavonoitlerin yapı tayininde takip edilecek yöntemler teorik kısımda verilmiştir. Yapı tayini sırasında bu husus göz önünde tutulmuştur.

Saf olarak elde edilen metoksiflavonda, asit hidroliz, klasik teşhis reaksiyonları, kromatografik ve spektroskopik analizler yapıldı. Asit hidroliz sonunda yapılan kromatografik kontrolde, oz tespit edilemedi ve aglikon yapısı doğrulandı.

Etil Asetatlı Faz Üzerinde Yapılan Çalışmalar

Tanım

Etilasetatlı fazda flavonozit varlığı, klasik teşhis reaksiyonları, ince tabaka ve kağıt kromatografisi yöntemleri kullanılarak tespit edildi. Kromatografik çalışmalarda değişik solvan sistemleri kullanıldı (Tablo-34). Bu sistemlerden en iyi ayırım yapan seçildi ve çalışmaların ilerleyen kısımlarında kromatografik kontrollerde, bu solvan sistemleri kullanıldı (Sistem-1,2,14).

| | |
|---------------------|--|
| Kağıt | Whatman-1 |
| Solvan Sistemi - 10 | n-Butanol:asetik asit:su (4:1:5) (Üst faz) |
| " " - 11 | ter-Butanol:asetik asit:su (3:1:1) |
| " " - 12 | n-Butanol:etanol:su (4:1:2,2) |
| " " - 13 | % 30 asetik asit/su |
| " " - 28 | Doymuş fenol/su |
| Adsorban | Kieselgel G Tip 60 (Merck) 7731 |
| Solvan sistemi - 1 | Kloroform:metanol:su 65:25:4 |
| " " - 2 | Etilasetat:metanol:su (100:16,5:13,5) |
| Adsorban | Poliyamit 6 (Baker TLC) |
| Solvan sistemi - 14 | Benzen:butanon:metanol (100:50:50) |
| " " - 15 | Su:metanol:butanon:asetilaseton (13:3:3:1) |

Tablo - 34

Flavonozitler - İnce Tabaka ve
Kağıt Kromatografisi Yöntemleri

Etilasetatlı faz, ince tabaka kromatografisi yöntemi ile incelendiğinde UV 366nm'de çok, 14 civarında leke varlığı (solvan sistemi-1,2) tespit edildi. Bu lekelerden 3 tanesi kesin olarak flavonozit özelliği göstermekteydi. İzolasyon işlemlerinde, flavonozit yapısındaki maddeleri, önce diğerlerinden, daha sonra birbirlerinden ayırma amacıyla aşağıda kısaca belirtilen ön denemeler yapılmıştır.

Ön Denemeler

Etilasetatlı faz, kuruluğa kadar uçurulduktan sonra 70° lik etanolde çözüldü. Bu çözeltideki maddeler aşağıda verilen kromatografik yöntemler kullanılarak uygun ayırılmalar sağlanmaya çalışıldı.

| Yöntem | Adsorban | Solvan Sistemi |
|---------------|-------------|---|
| 1-Prep. İTK | Kieselgel G | Etilasetat:metanol:su (100:16,5:13,5) |
| 2-Prep. KK | Whatman-3MM | I-n-Butanol:asetik asit:su (4:1:5) II- 15 Asetik asit/su |
| 3-Kolon Krom. | Kiesel gel | Elüotropik sıra |
| 4-Kolon Krom. | Kieselgel | Kloroform:metanol:su (65:25:4) |

Tablo - 35

Flavonozitler - Ön Denemelerde

Kullanılan Kromatografik Yöntemler

İzolasyon

Yukarıda bildirilen ilk üç yöntem, karışımın ön temizleme işlemi için uygun bulunmadı. Buna karşılık kloroform/metanol/su

(65:25:4) solvan sistemi ile elüsyon yöntemi uygun sonuçlar vermiştir. Daha çok ince tabaka kromatografisinde kullanılan bu solvan sisteminin bazı araştırmacılar tarafından kolon kromatografisinde de uygun ayırımlar verebileceğini belirtilmiştir (111). Ön denemelerimiz bu sistemin kolon kromatografisinde temizleme işlemi için kullanılabileceği sonucunu vermiştir. Kolondan alınan fraksiyonlar ince tabaka kromatografisinde aynı solvan sistemi kullanılarak kontrol edildi.

SK-3

| | |
|------------------|--------------------------------------|
| Adsorban | Kieselgel 60 (0,2-0,5 mm) Merck 7733 |
| Solvan sistemi-1 | Kloroform:metanol:su (65:25:4) |
| Fraksiyon | 30-50 ml |
| Kolon boyutları | 5,5 X 140 cm |
| Elüsyon hızı | 1,5-2 ml/dak. |
| Materyal | Etilasetatlı faz |

Kolon Hazırlanması (SK-3)

300 g silikajel, yeterli miktarda kloroform/metanol/su (65:25:4) solvan sistemi ile süspansiyon haline getirilir, kolona doldurulur. 3,5 g kurutulmuş etilasetat ekstresi aynı solvan sisteminde çözülür. 25 g silikajel ile karıştırılır, karışım alçak basınçta kuruluğa kadar uçurulur, birkaç ml (solvan sistemi-1) ile süspansiyon haline getirilir, kolona nakledilir. Elüsyon aynı solvan sistemi ile yapılır, fraksiyonlar silikajel kaplı plaklarda (solvan sistemi-1,2) kullanılarak takip edilir.

Kolon kromatografisi ile ön temizleme işleminden sonra elde edilen fraksiyonlar incelendiğinde, (Solvan sistemi-1,2,3), flavonoit olabilecek 3 lekenin bulunduğu (F1,F2,F3), bunlardan (F3) diye isimlendirilen maddenin miktarının çok az olduğu tespit edildi. Bu yüzden (F1) ve (F2) diye isimlendirilen maddelerin, zengin buldukları fraksiyonlar üzerinde çalışıldı. (F1) ve (F2) nin birbirinden ayrılabilmesi için pek çok kromatografik yöntem ve solvan sistemleri denenmiştir. Bunlardan en uygun sonuçlar, (F2) maddesinin ayırımı için ; preparatif ince tabaka kromatografisinde, silikajel kaplı plakların kloroform/metanol/su (65:25:4) solvan sistemi ile sürüklenmesi, (F1) maddesi için ; poliyamit kolondaki su ve su-metanol solvan değişimi ile kolondan alınmasıdır.

(F2) Maddesinin Ayırımı - Preparatif İnce Tabaka
Kromatografisi

| | |
|--------------------|------------------------------------|
| Adsorban | Kieselgel G Tip 60 (Merck 7731) |
| Kalınlık | 0,7 mm |
| Aktivasyon | 110°Cde 30' |
| Solvan sistemi - 1 | Kloroform:metanol:su (65:25:4) |
| Reaktif | NH ₃ buharları, -UV 366 |
| Sürüklenme süresi | 50' |
| Materyal | Flavonozit karışımı |

Silikajel kaplı preparatif plaklara, 70° lik etanolde çözülmüş, (F1, F2) karışımı bant halinde tatbik edilir. Kromatografi tankı solvan sistemi ile bir gece doyurulur. Plaklar bu tanklarda sürüklenir. UV-366 nm de önce olduğu gibi, ardından amonyak buharlarına tutulduktan sonra incelenir. (F1) ve (F2) ait sarı-turuncu bantlar işaretlenir ve kazınır. 70° lik etanol ile ekstre edilir. Bu işleme her seferinde saf 70° lik etanol kullanılarak renksiz ekstrakt alınıncaya kadar devam edilir. Ekstraktlar birleştirilir, mavi bantlı süzgeç kağıdından Schleicher - Schüll. No 589) ve Jena G-4 cam filtreden süzülür, berrak süzüntüler birleştirilir, alçak basınçta kuruluğa kadar uçurular, (F2) maddesi elde edilir, preparatif plak yardımıyla saflaştırma işlemi gerekiyorsa tekrarlanır.

(F1) Maddesinin Ayırımı - Poliyamit Kolon Kromatografisi

PK-1

| | |
|-----------------|---|
| Adsorban | Poliyamit (MN Polyamid SC ₆ <0,05 - 0,16 mm) |
| Solvan Sistemi | Su,Su:Metanol (9:1,8:2,.....1:9), Metanol |
| Fraksiyon | 10 ml |
| Kolon boyutları | 3,5 X 50 cm |
| Elüsyon hızı | 1 ml/dak |
| Materyal | Flavonoit karışımı |

Kolon Hazırlanması (PK-1)

35 g poliyamite yeterli miktarda su ilave edilir, mekanik çalkalayıcıda bir saat kadar çalkalanır, homojen bir karışım elde edilir, bu karışım kolona doldurulur, poliyamitin şişmesi ve homojen doldurulmuş bir kolon elde edilmesi için, takriben 12 saat süreyle su geçirilir.

500 mg (F1) ve (F2) karışımı yeterli miktar su ve 2,5g poliyamit ile karıştırılır, iyice çalkalanır, kuruluğa kadar alçak basınçta uçurulur. Az miktarda su ile kolona aktarılır, üst kısımda homojen bir tabaka meydana gelmesi sağlanır. Elüsyon şu sıraya göre yapılır: Su, su/metanol (9:1, 8:2, 7:3, 6:4 1:9), metanol. Fraksiyonlar silika-jen ve poliyamit plaklar kullanılarak ince tabaka kromatografisinde (solvan sistemi-1,2,14) kontrol edilir. Su/metanol (7:3) solvan sistemi kullanılarak yapılan elüsyon sırasında toplanan fraksiyonlar (F1) maddesini saf olarak taşır.

100 mg (Fl) flavonoziti, 7 ml metanolde çözülür. 70 ml %10 sülfürik asit ilave edilip kaynar su banyosunda geri çeviren soğutucu altında ısıtılır. Hidrolizin tamamlanıp tamamlanmadığı, 20-30 dakika aralarla çözeltiden alınan çok az miktardaki örnekler, ince tabaka kromatografisine (sistem-1,17) tatbik edilerek kontrol edilir. Hidroliz tamamlandıktan sonra sarı renkli hidrolizat soğutulur, önce eşit hacimde eter, sonra etilasetat ile üçer defa ekstre edilir. Ekstraktlar birleştirilir, susuz sodyum sülfat ile suyundan kurtarılır, alçak basınçta kuruluğa kadar uçurulur.

A g l i k o n u n T a n ı m ı : Asit hidroliz sonunda elde edilen aglikon kısa bir poliyamit kolonda önce su ile yıkandı. Metanol ile elüe edilen saf aglikon ince tabaka ve kağıt kromatografisinde değişik solvan sistemleriyle sürüklendi (Tablo-36). Rf değerleri ve değişik revelatörlerle görülen renkler tespit edildi. Aglikonun UV ve kütle spektral analizleri

| | |
|---------------------|--|
| Kağıt | Schleicher - Schüll 2043 a Mg1. |
| Solvan sistemi - 10 | n-Butanol:asetik asit:su (4:1:5, üst faz) |
| " " | - 11 ter-Butanol:asetik asit:su (3:1:1) |
| " " | - 27 Der. Hidroklorik asit:asetik asit: (30:10:1) |
| Adsorban | Kieselgel G Tip 60 (Merck 7731) |
| Solvan sistemi - 17 | Toluen:etilasetat:metanol (8:6:1) |
| " " | - 18 Toluen:kloroform:aseton (40:25:35) |
| " " | - 19 Toluen:etilasetat:metanol (4:2:2) |
| Revelatör | UV 366nm NH ₃ buharları, Alüminyum klorür Zirkonyum oksiklorür/Sitrik asit |

Tablo - 36

Aglikon-Ince Tabaka ve Kağıt Kromatografisi Yöntemleri

yapıldı. IR spektrumunda ve kromatografik analizlerde aglikonun şahit madde ile karşılaştırılması kesin sonuç verdi.

Yapısında tespit edilen fonksiyonel gruplar dikkate alınarak aglikonun demetilasyonu yapıldı. Şahit madde ile kromatografik olarak karşılaştırıldı.

Demetilleme

15 mg aglikon, 1 ml susuz asetik asitte çözülür. 1 ml Hidroiyodik asit damla damla ilave edilir. Geri çeviren soğutucu altında üç saat kaynatılır. %5 sodyum bisülfid sulu çözeltisi ilave edilir. Etilasetatla tüketilir, yoğunlaştırılır. Kağıt kromatografisinde (solvan sistemi-20,21) ve ince tabaka kromatografisinde (solvan sistemi -1,17) de şahit numune ile karşılaştırılır.

O z l a r ı n T a n ı m ı : Aglikon ayrıldıktan sonrakalan asitli sulu faz, kullanılan asitin cinsine bağlı olarak baryum veya gümüş karbonatla nötralize edildi, süzüldü, alçak basınç altında kuruluğa kadar uçuruldu.

Sülfürik asitli hidrolizata küçük miktarlardaki baryum karbonat, manyetik karıştırıcıda karıştırılarak ilâve edilir. Merck turnusol kağıdına karşı nötr hale gelinceye kadar bu işleme devam edilir. Çöken baryum sülfat mavi bantlı süzgeç kağıdından (Schleicher-Schüll No. 589) berrak çözelti elde edilinceye kadar birkaç defa süzülür. Süzüntüye eşit hacimde n-butanol ilâve edilir, alçak basınçta kuruluğa kadar uçurulur. Artık, 1 ml kadar piridinde çözülür, oz çözeltisi elde edilir.

(F1) flavonozitinin taşıdığı oz veya ozların kalitatif teşhisi için en uygun yöntem kağıt kromatografisidir. Yapılan ön çalışmalarda inen ve damlayan kağıt kromatografisinde (solvan sistemi 10,21,22,23) de selüloz kaplı plaklarda yapılan ince tabaka kromatografisinde (solvan sistemi-25,26) da uygun sonuçlar alındı. (Tablo-37) Tekleke tespit edildi. Reaktif olarak yapılan araştırmalarda, (4,71,153), uygun renk ayırımı yaptığı için β -naftilamin ve anilin hidrojen ftalat reaktifleri kullanıldı.

(F1) oz numunesi ve şahit maddeler 20X50 cm boyutlarında kesilmiş, Schleicher-Schüll 2043 a Mgl kromatografi kağıtlarına tatbik edilir. Kromatografi kağıtlarının uçları, düzgün sürüklenmeyi ve damlamayı sağlamak amacıyla, 2X2 cm boyutlarında diş şeklinde kesilir. Kağıtlar, 20x50x55 cm boyutlarındaki kromatografi tanklarında 2-3 saat doymaya bırakılır. Ozlar (solvan sistemi-10,21,22 veya 23) de sürüklenir. Gerekli sürenin sonunda, kromatogramlar açık havada kurutulur. Anilin hidrojen ftalat reaktifini püskürtülür. 110° Cde 5-10 dakika bekletilir. Beliren lekeler işaretlenir, şahit maddeler ile karşılaştırılır.

Glikoz ve galaktozun kromatografik ayırımında meydana gelen lekeler birbirine yakındır. Daha kesin bir sonuca ulaşmak ve herhangi bir karışıma meydan vermemek için enzimatik oksidasyon yöntemi kullanıldı. Bunun için glikoz oksidaz taşıyan çözelti kromatograma püskürtüldü, enzimin etkisi sağlandı ve sonuçlar buna göre değerlendirildi.

Inen ve damlayan KK

| | |
|---------------------|---|
| Kağıt | Schleicher-Schüll 2043 a Mg1 (30X50 cm) |
| Solvan sistemi - 10 | n-Butanol:gl.asetik asit:su (4:1:5 üst faz) |
| " " - 21 | n-Butanol:piridin:su (9:5:4) |
| " " - 22 | n-Butanol:benzen:piridin:su (5:1:3:3) |
| " " - 23 | Etanol:piridin:su (3,6:1:1,15) |
| Sürüklenme süresi | Solvan sistemi-10 için 48 saat |
| | Solvan sistemi-21,22 için 24 saat |
| | Solvan sistemi-23 için 20 saat |

ITK

| | |
|---------------------|---|
| Adsorban | Selüloz DSF-0 (Camag) |
| Solvan sistemi - 24 | Etilasetat:piridin:su:n-butanol:asetik asit (5:4:4:10:2) |
| " " - 25 | Etilasetat:piridin:su (12:5:4) |
| Sürüklenme süresi | Sistem - 24 için 2 saat, 2 defa sürüklenir. Sistem - 25 için 1,5 saat, 2 defa sürüklenir. |
| Revelatörler | Anilin hidrojen ftalat, β -naftilamin (110° 10-15°) |

Tablo - 37

Ozlar - Kağıt ve İnce Tabaka Kromatografisi Yöntemleri

Ozları taşıyan çözelti inen ve damlayan kağıt kromatografisinde (solvan sistemi-10) ile sürüklenir. Kromatogram oda temperaturünde kurutulur. Glikoz oksidaz (1,4 U/mg. Merck 8343) % 1 lik sulu çözeltisi kromatograma püskürtülür ve oda temperaturünde 2,5 saat

bekletilir. Bu sürenin sonunda anilin hidrojen ftalat püskürtülür, 110°Cde 5-10 dakika tutulur. Glikoza ait lekenin kaybolduğu görülür. Galaktoz lekesi ise kalıcıdır. Bu bulgular numune ile karşılaştırılır ve sonuca varılır.

(Fl) Flavonozitini Permetilleme:

(Fl) flavonozitinin asit hidrolizi sonunda bulunan ozun sayısını tespit etmek için flavonozit Hakomori yöntemine göre (11,67) metillendi. Permetillenmiş flavonozitin asit hidrolizi yapıldı. Metillenmiş oz numunesi, permetillenmiş ve kısmen metillenmiş şahit ozlar ile değişik solvan sistemleri ile karşılaştırılarak tespit edildi.

Permetilleme

30 mg (Fl) flavonozit, aktivite derecesi 1 olan alüminyum oksit (Merck 1077) kolondan geçirilen, dimetil sülfoksitin 5 ml.sinde çözülür. Çözelti azot atmosferi altında magnetik karıştırıcı ile sürekli karıştırılır. Mineral yağ ile karıştırılmış olan sodyum hidrür, hekzan ile birçok kere yıkanarak yağından kurtarılıp azar azar (Fl) çözeltisine ilâve edilir. 300 mg sodyum hidrürün ilavesinden bir saat sonra, 10 ml metil iyodür damla damla reaksiyon ortamına ilave edilir. 8 saat sonra karışım, 20 ml kloroforma dökülür. Çöken sodyum iyodür süzülür, kloroformlu faz su (50 mlx8) ile yıkanır. Son yıkama, doymuş sodyum tiyosülfat çözeltisi ile yapılır. Kloroformlu faz susuz sodyum sülfat ile suyundan kurtarılıp alçak basınçta kuruluğa kadar uçurulur. Kloroformlu faz silikajel kaplı plaklarda (solvan sistemi-2,29,30) kontrol edilir.

Permetillenmiş (Fl) flavonoziti silikajel kaplı

preparatif plaklara bant halinde tathik edilir. (Solvan sistemi-2) de sürüklenir. UV 366 nm de mavi floresans veren bant işaretlenir ve kazılır. (100 ml x 5) kloroform ile su banyosunda ekstre edilir. Mavi bantlı süzgeç kağıdından (Schleicher- Schüll, No.589) süzülür, susuz sodyum sülfat ile suyundan kurtarılır, alçak basınç altında kuruluğa kadar uçurulur.

Asit Hidroliz

Permetillenmiş (Fl) Flavonoziti hidroklorik asitin susuz metanoldeki % 5 lik çözeltisi ile 2 saat su banyosunda geri çeviren soğutucu altında kaynatılır. Hidroliz süresi ince tabaka kromatografisinde (solvan sistemi-2,29) kullanılarak kontrol edilir. Hidroliz bitiminde eşit hacimde su ilave edilir, metanol alçak basınçta uçurulur. Kalan sulu kısım süzülür, 2 saat daha hidrolize devam edilir. Bu sürenin sonunda gümüş karbonatla nötralize edilir, süzülür. Düşük temparatürde, alçak basınç altında kuruluğa kadar uçurulur. Kloroformda çözülür. İnce tabaka kromatografisinde (solvan sistemi-29, 30, 31) de 2,3,4,6-tetrametil-D-glikoza göre bağlı R_f değerleri (R_G) hesaplanan, metillenmiş ozlarla karşılaştırılır (a).

(a) 2,3,4-trimetil-D-glikoz, Rutozitten hareketle tarafımızdan hazırlanmıştır. Diğerleri için Bilim Dalı koleksiyonundan yararlanılmıştır.

| Metil ozlar | Solvan Sistemleri (R _G) | | |
|-----------------------------|-------------------------------------|------|------|
| | 29 | 31 | 32 |
| 2,3,4,6-tetrametil-D-glikoz | 1 | 1 | 1 |
| 2,3,4-trimetil-D-glikoz | 0,75 | 0,58 | 0,35 |
| 2,3,6-trimetil-D-glikoz | 0,73 | 0,63 | 0,66 |

ITK

| | |
|---------------------|---------------------------|
| Adsorban | Kieselgel 60 (Merck 7731) |
| Solvan Sistemi - 29 | Benzen:etanol (8:2) |
| " " - 31 | Benzen:aseton (1:1) |
| " " - 32 | Benzen:aseton (2:1) |

Tablo - 38

Metil Ozlar - İnce Tabaka Kromatografisi

(F2) Flavonoziti - Yapı Tayini

A s i t H i d r o l i z : (F2) flavonozitinin yapı tayini için ilk kademede, asit hidroliz yapıldı. (F1) flavonozitinden farklı olarak hidrolizde, hidroklorik asit kullanıldı. Bu yöntem sülfürik asit hidrolizi ile aynı sonuçları vermektedir.

(F1) ve (F2) flavonozitlerinin, aglikonlarının aynı olduğu kromatografik ve spektrofotometrik karşılaştırmalarla bulundu.

100 mg (F2) flavonoziti, 75 ml % 15 hidroklorik asit ile kaynar su banyosunda, geri çeviren soğutucu altında hidroliz edilir. (F1) flavonozitinin asit hidrolizinde olduğu gibi (F2) flavonozitinin aglikonu ekstre edilir. (Solvan sistemi-1,17,18) ile ince tabaka, (solvan sistemi-10,11,27) kağıt kromatografilerinde aglikon şahit madde ile karşılaştırılarak teşhis edilir.

Sulu faz gümüş karbonat ile Merck turnusol kağıdına karşı nötralleştirilir. Çöken gümüş klorür süzülerek uzaklaştırılır. Süzüntüye eşit hacim n-butanol ilâve edilerek alçak basınçta yoğunlaştırılır. İnen damlayan kağıt kromatografisinde (solvan sistemi-10,22,23) ve selüloz kaplı plaklarda (solvan sistemi-25,26) kullanılarak (Tablo-37) ozların teşhisi yapılır.

(F2) oz çözeltisinin, kromatografik kontrolünde tek leke tespit edildi ve (F1) oz numunesindeki lekelerle Rf değerleri aynı bulundu.

(F2) oz numunesi, enzimatik oksidasyon yöntemi ile de kontrol edildi. Oz numunesine, glikoz oksidaz ilâve edilerek 37°Cde, yeterli süre tutuldu. İnen damlayan kağıt kromatografi-

sinde sürüklendi. Anilin hidrojen ftalat püskürtülüp, 110°C de 5-10 dakika bekletildiğinde enzim etkisi ile oz lekesine rastlanmadı.

Oz gözeltisine glikoz oksidazın (1,4 U/mg Merck 8340). % 0,1 lik gözeltisinden 10 ml ilâve edilir. 37°C de 10 saat bekletilir. 20x50 cm boyutlarında kesilmiş "Schleicher Schüll 2043 a Mgl kromatografi kağıdına şahit ozlarla beraber tatbik edilir. İnen damlayan kağıt kromatografisinde (solvan sistemi-22,23) de sürüklenir. Kromatogramlar oda temperaturünde kurutulur. Anilin hidrojen ftalat püskürtülür, 100°C 10-15 dakika tutulur. Oz lekelerinin görülüp görülmediği kontrol edilir.

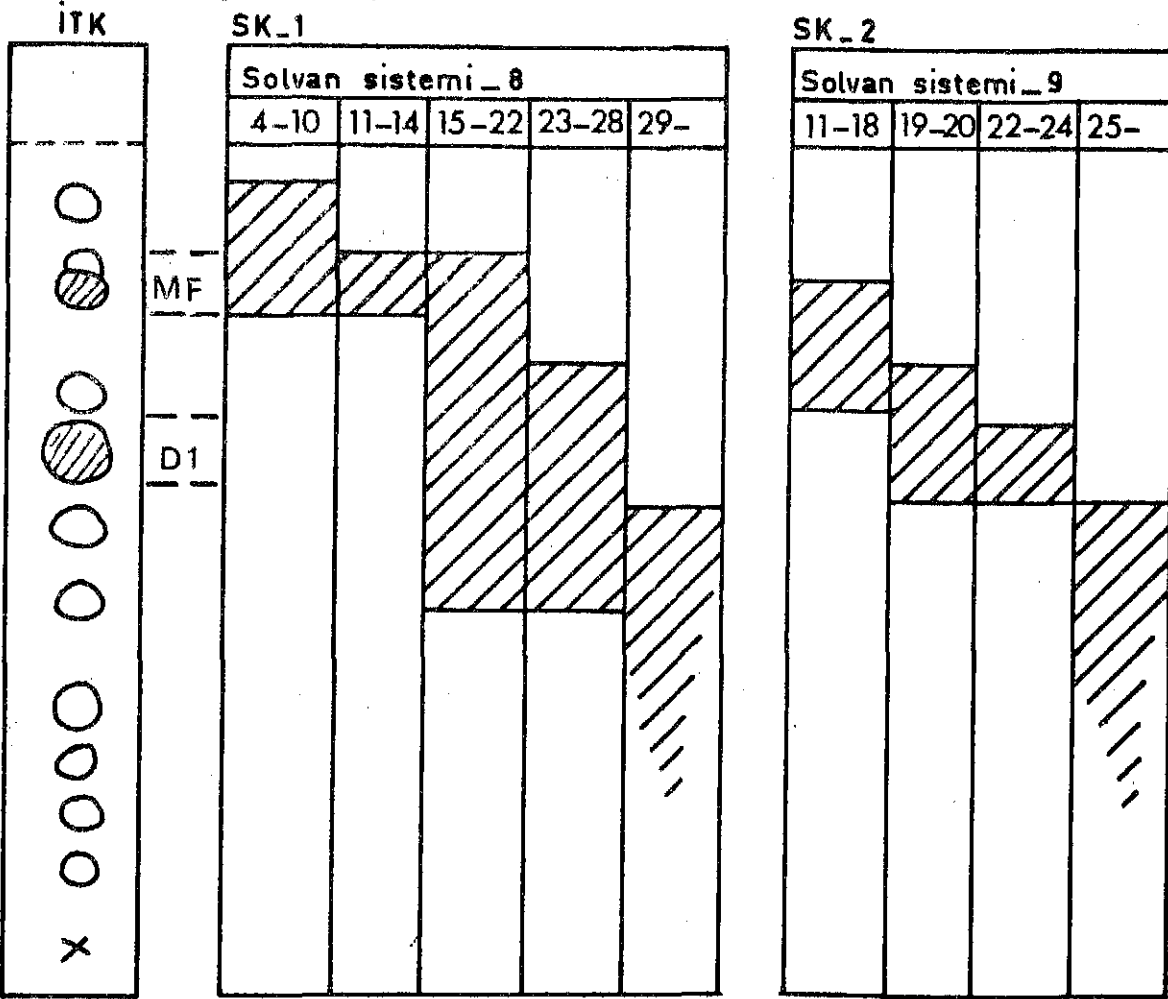
(F2) flavonozitinin ozlarının sayısını tespit etmek için, (F1) flavonoziti için uygulanan permetilleme ve takiben asit hidroliz aynen uygulandı. İnce tabaka kromatografisinde (solvan sistemi-29,31,32) ile metillenmiş ozlarla karşılaştırılarak teşhis edildi. Asit hidroliz bulgusu doğrulandı.

B U L G U L A R

Petrol eterli ve etiasetatlı fazlardaki, araştırmamızın bulguları aşağıdaki sıraya göre sunulmuştur: İzolasyon, tanım, yapı tayini. Yapı tayininde, diterpen, metoksiflavon ve flavonoidlerin yanında flavonozitleri meydana getiren aglikonun ve ozların yapılarının aydınlatılması ile ilgili bilgiler alt başlıklar halinde sırası ile verilmiştir. Bulgular açıklanırken sonuca varılan işlemlerin yapılışı, materyal ve yöntemde verildiği için tekrarlamaya lüzum görülmemiştir.

Petrol Eterli Faz - İzolasyon

Petrol eterli fazda, ince tabaka kromatografisinde tanımlanan (Tablo- 39,41), metoksiflavon ve diterpenlerin karışımı kolon kromatografisinde ayrıldı. Bu ayırım sonucunda diterpenlerden (D1) birinin araştırmamıza yetecek miktarda olduğu tespit edildi. Aynı karışımda metoksiflavon da (MF) izole edildi (Şekil-14).



Şekil - 14

Diterpen ve Metoksiflavon - Kromatografik Ayırımı

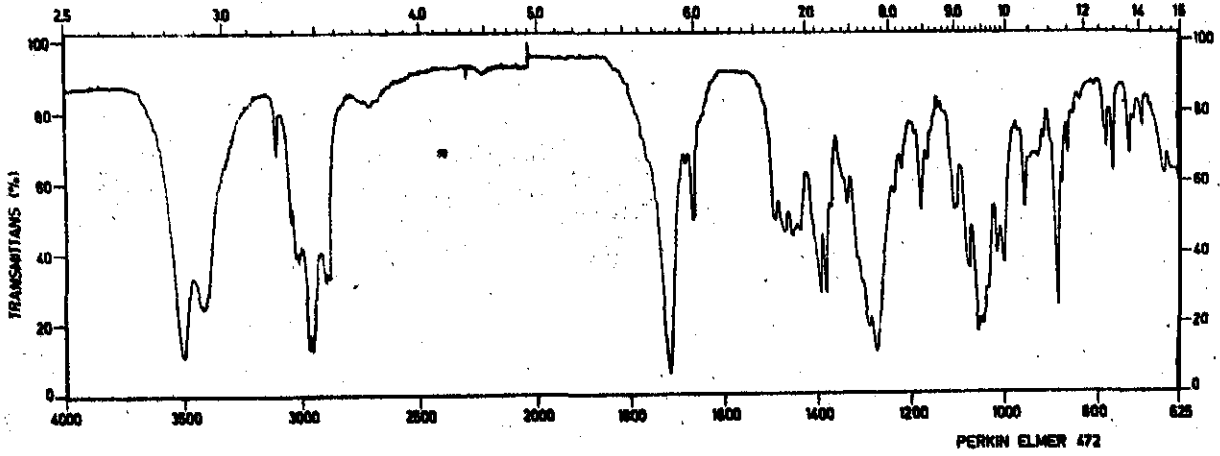
İTK (İnce Tabaka Kromatografisi)

Adsorban Kieselgel G Tip 60 (Merck 7731)

Solvan Sistemi Kloroform:metanol (9:1)

Revelatör % 30 sülfürik asit (110°C 15')

(D1) diterpeninin IR spektrumu (Şekil-15), şahit madde linearolün (a) IR spektrumu (Şekil-16) ile tamamen çakışmaktadır.



Şekil - 16

Linearol - IR Spektrumu

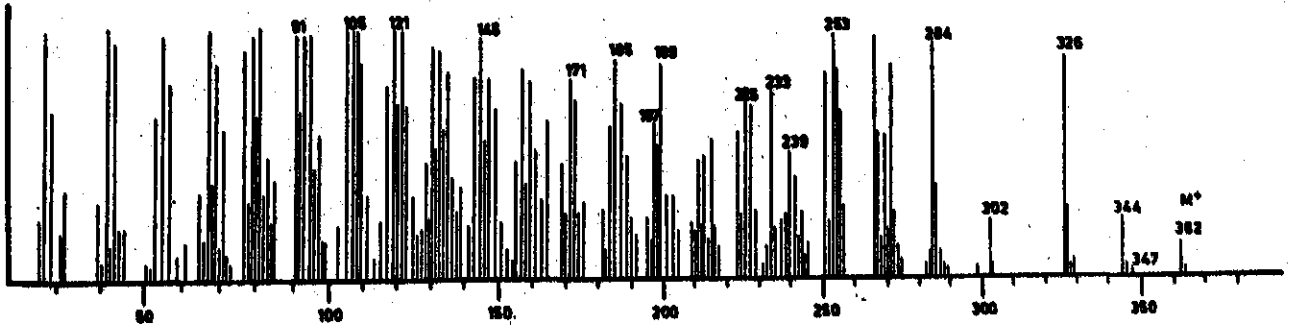
(Perkin Elmer, Model 472, 1 KBr)

Kütle spektrumu: (D1) diterpeninin kütle spektrumunda (Şekil-17), moleküler iyon piki M^+ 362 de görüldü. Molekülün parçalanması ile meydana gelen karakteristik iyonlar (Şekil-18) de gösterilmiştir; (m/e), 347 (M-CH₃), 344 (M-H₂O)

326 (M-2H₂O), 302 (M-2CH₃) (M-OCOCH₃)

284 (M-OCOCH₃-H₂O), 253, 239, 233, 225,

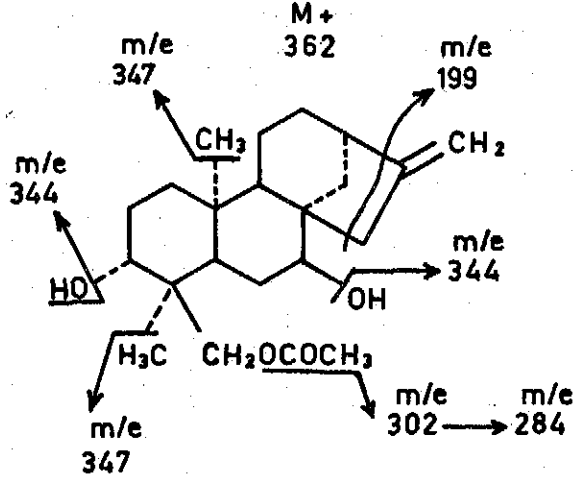
199, 185, 145, 121, 105, 91.



Şekil - 17

(D1) Diterpeni - Kütle Spektrumu

(a) Şahit madde linearol, Prof.Dr. B. RODRIGUEZ den (İspanya) temin edilmiştir.



Şekil - 18

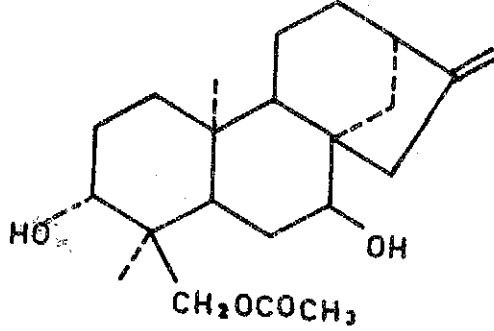
(D1) Diterpeni-Parçalanması ile meydana gelen iyonlar

NMR spektrumu^(a): (60 MHz, DMSO- D_6 , δ) 0,78 ve 1,07 ppm de metil gruplarına (s, C-4 CH_3 , C-10 CH_3), 3,70 ppm de hidroksil gruplarına (C-30H, C-70H), 4,85 ppm de ise ekzosiklik metilen gruplarına (s, 17-C= CH_2) ait pikler tespit edildi.

C H O analizi : ($C_{22}H_{34}O_4$) Diterpeni için hesap edilen; C % 72,93, H % 9,39, O % 17,68, linearol için bulunan; C % 72,89, H % 9,45, O % 17,66 dur.

Bu bulgular, ince tabaka kromatografisinde solvan sistemi-3,4,5) de şahit madde linearol ile aynı Rf değerlerine sahip olan (D1) diterpeninin, linearol (3,7 dihidroksi-18 asetoksi-(-)-kavren) olduğunu gösterdi. (Şekil-19).

(a) NMR spektrumu Prof.Dr. B. RODRÍGUEZ tarafından alınmıştır.



Şekil - 19

Linearol

(DL) diterpeninin asetil türevi hazırlanıp şahit asetil linearol ile ince tabaka kromatografisinde (solvan sistemi-3,5) de karşılaştırıldı. Aynı Rf değerlerinde lekeler görüldü. (Tablo-40)

(DL) diterpenin, deasetil türevi ise, ince tabaka kromatografisinde (solvan sistemi-3,5) de foliol^(a) ile aynı Rf değerlerine sahip olduğu tespit edildi. (Tablo-40).

| Solvan Sistemi | Linearol (Rf) | Foliol (Rf) | Asetil linearol (Rf) |
|-----------------------------|---------------|-------------|----------------------|
| 3- Benzen:etilasetat (3:7) | 0.63 | 0.13 | 0.91 |
| 5- Kloroform:metanol (97:3) | 0.45 | 0.20 | 0.93 |

Tablo - 40

Linearol, Asetillinearol, Foliol-Rf Değerleri (İTK).

Bu bulgularımız, ayrıca hidroksil ve asetil gruplarının varlığını da doğruladı (Şekil-19).

^(a) Foliol deasetil linearoldür. Prof.Dr.B.RODRÍGUEZ den sağlanmıştır.

Metoksiflavinon - Tanım

Metoksiflavinon, siyanidin reaksiyonu ile turuncu-kırmızı renk verdi. Zirkonyum oksiklorür ile meydana gelen sarı renk, sitrik asit ilavesinden sonra değişti. Bu 3 ve 5 veya 5 de serbest bir hidroksil grubunun bulunabileceğini gösterir.

Metoksiflavinonun, kağıt ve ince tabaka kromatografilerinde, değişik solvan sistemlerindeki Rf değerleri ve gün ışığı, UV 366nm de farklı reaktiflerle meydana gelen renkler (Tablo-41) de gösterilmiştir.

| Yöntem | Adsorban | Solvan Sistemleri (Rf) | | | | | | | |
|-----------|-----------------|------------------------|---------------------|--------------------------------|------------------------------------|------|------|------|------|
| | | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 10 | 12 | 13 |
| KK | Whatman 1 | - | - | - | - | - | 0,98 | 0,92 | 0,21 |
| İTK | Kieselgel-G | 0,52 | 0,57 | 0,80 | 0,68 | 0,43 | - | - | - |
| Gün ışığı | NH ₃ | UV ₃₆₆ | NH ₃ /UV | H ₂ SO ₄ | H ₂ SO ₄ /UV | | | | |
| Açık sarı | Mor | Mor | Mor | Koyu sarı | Yeşilimsi-sarı | | | | |

Tablo - 41

Metoksiflavinonun Tanımı - Kromatografik Yöntemler

Metoksiflavinon, sarı renkli kristallerdir.

Erime noktası : 190 - 193°C

UV spektrumu : (Beckman BD - GT spectrophotometer)

Metoksiflavinonun, özel reaktiflerle alınan spektrumlarında görülen maksimum kaymalar (Tablo-42) de gösterilmiştir.

| Reaktif | Band I | λ mak. | | Band II | λ mak. |
|--------------------------------------|--------|----------------|-----|---------|----------------|
| Metanol | 330 | | | 277 | |
| Sodyum metoksit | (375) | 298 | 270 | 260 | (245) |
| Alüminyum klorür | 361 | 302 | | | (266) |
| Alüminyum klorür/ Hidroklorikasit | 353 | 302 | | | (265) |
| Sodyum asetat | 332 | | | | 275 |
| Sodyum asetat/ Borik asit | 332 | | | | 275 |

Tablo - 42

Metoksiflavonun Tanımı - UV Spektrumu Bulguları

Metanol spektrumunda Band I de 330 nm de görülen pik maddenin bir flavon ve B halkasında tek bir oksijen fonksiyonun olduğuna işaret eder (Flavon 304-350 nm, flavonol 352 nm).

Band II de 277 nm deki belirgin pik, 6.karbonda bir (-OCH₃) olabileceği fikrini verir. Sodyum metoksit spektrumunda band III (300-340 nm) olmaması 7. karbonda (-OCH₃) bulunduğuna işaret eder. Alüminyum klorür spektrumunda, metanol spektrumuna göre, Band I de 32 nm lik batokromik kayma serbest (5-OH) grubunun varlığını gösterir. Alüminyum klorür/hidroklorik asit spektrumunda, metanol spektrumuna göre 23 nm lik batokromik kayma (6-OCH₃) bulunduğuna işaret eder.

UV spektrumlarında tespit edilen fonksiyonel gruplar, NMR spektrumunda da gösterildi.

NMR spektrumu^(a): (100 MHz, CDCl₃- D₂O'da) 12,70ppm (1H, s) de bir sinyal (5-OH) grubunu belirtir, 7,92-7,8ppm (d, J=9Hz) de B

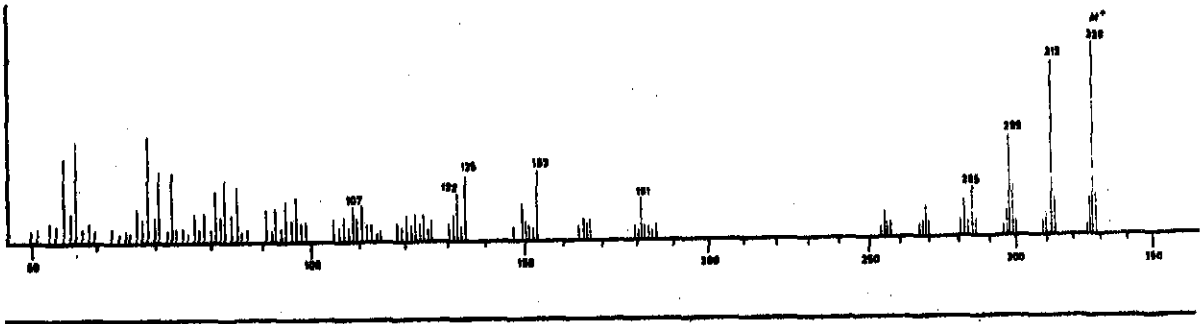
(a) NMR Spektrumu Prof.Dr. B.RODRIGUEZ tarafından alınmıştır.

halkasında H-2' ve H-6', 7.01-6,98ppm (d,J-9Hz), de H-3' ve H-5' protonlarının bulunduğu işaret eder. 6,57-6,53ppm (s,1H) de H-3 ve H-8 protonlarının, 3,96-3,90-3,82 ppm de birer singlet(s) ise metoksil gruplarının varlığını gösterir.

UV ve NMR spektrumları bulgularına göre metoksiflavon, 5-hidroksi-6,7,4'-trimetoksiflavon yapısındadır.

Molekül Ağırlığı : 328 (kütle spektrometrik)

Kütle Spektrumu(m/e) : 328 M, 313(M, 6-OCH₃), 299 (M-CO-H), 285 (M-CH₃-CO), 269 (M-CO-OCH₃), Retro-Diels-Alder Bölünmesine (a) göre; 181, 152, 153, 135, 132, 107.

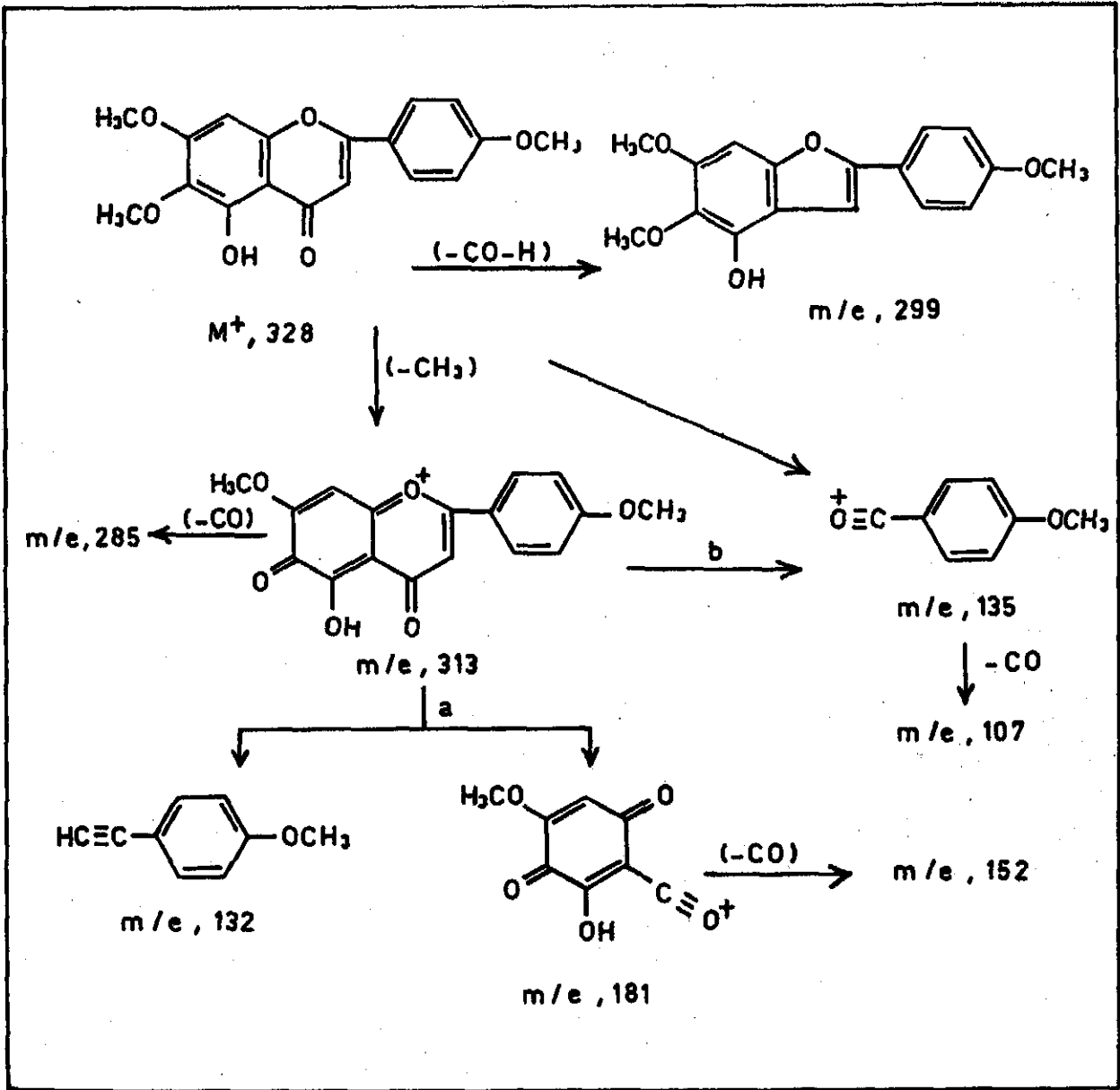


Şekil-20

Metoksiflavon-kütle spektrumu

(Mass LKB, Tip 9000s, 70eV)

Flavonoitler için Retro Diels-Alder bölünmesine göre ye metoksiflavondan (5-hidroksi-6,7,4'-trimetoksiflavon) meydana gelen iyonlar (Şekil-21) de gösterilmiştir. m/e 313 pik 6. karbondaki (-OCH₃) için karakteristiktir.

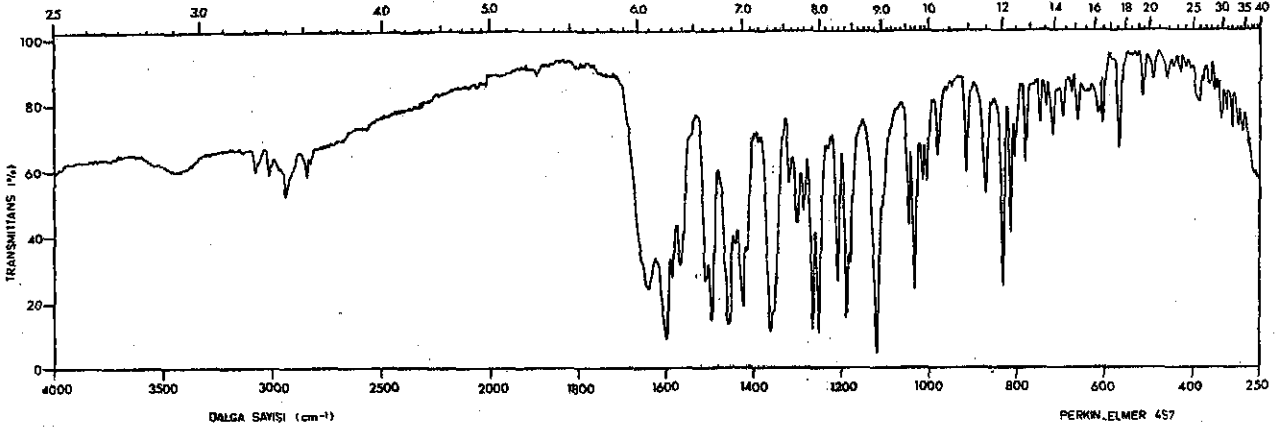


Şekil - 21

Metoksiflavyon - Parçalanması ile Meydana Gelen İyonlar

(a) Retro Diels-Alder Bölünmesi

IR Spektrumu (cm^{-1}) : 3080 (-OH), 1640 (CO, 5-OH)
830 ($4'-OCH_3$)

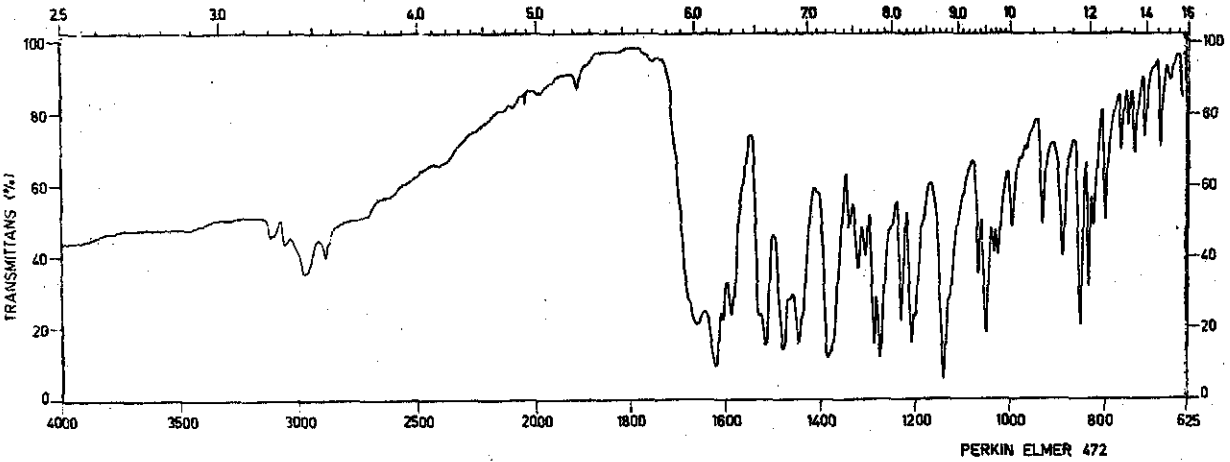


Şekil - 22

Metoksiflavon - IR Spektrumu

(Perkin Elmer, Model 457, % 1 KBr).

5-Hidroksi-6,7,4'-trimetoksiflavonun IR spektrumu (Şekil-22), şahit madde salvigenin^(a) IR spektrumu (Şekil-23) ile karşılaştırıldığında her iki spektrumun birbiri ile çakıştığı görülür.



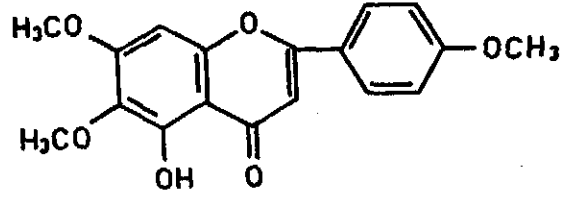
Şekil - 23

Salvigenin - IR Spektrumu

(Perkin Elmer, Model 472, %1 KBr)

(a) Şahit madde salvigenin Prof.Dr. B.RODRÍGUEZ (İspanya) dan temin edilmiştir.

Şahit numune ile kromatografik ve IR spektrometrik karşılaştırmalarımıza, UV, NMR, kütle spektrofotometrik bulgularımıza göre, kesin yapı Salvigenin (Psatirotin (45)) olarak bulunmuştur. (Şekil-24).



Şekil - 24

Salvigenin

Aglikonun Tanımı

Araştırmamız sonucunda (F1) ve (F2) maddelerinin ayrı ayrı asit hidrolizlerinden, elde edilen aglikonun, kromatografik ve UV spektrofotometrik bulgularının aynı olduğu ortaya çıkarılmış ve bu aglikona ait bulgular tek başlık altında verilmiştir.

Aglikon, siyanidin reaksiyonu ile pembe-turuncu renk verdi. Zirkonyum oksiklorür ile sarı renk görülür, sitrik asit ilavesiyle renk değişmektedir. Buda 3 veya 5 de serbest (-OH) grubunun olabileceği fikrini vermektedir.

Aglikonun ince tabaka ve kağıt kromatografilerinde tespit edilen özellikleri (Tablo-43) de gösterilmiştir.

| Yöntem | Adsorban | Solvan Sistemleri (Rf) | | | | | | |
|--------|-------------|------------------------|------|------|------|------|------|------|
| | | 10 | 11 | 12 | 13 | 17 | 18 | 27 |
| KK | Whatman-1 | 0,85 | 0,56 | 0,95 | 0,15 | - | - | 0,70 |
| ITK | Kieselgel G | - | - | - | - | 0,38 | 0,64 | - |

| Gün ışığı | UV | NH ₃ | NH ₃ /UV | AlCl ₃ /UV |
|-----------|--------------|-----------------|---------------------|-----------------------|
| Açık sarı | Turuncu-Sarı | Sarı | Turuncu-Sarı | Parlak sarı |

Tablo - 43

Aglikonun Tanımı - Kromatografik Yöntemler

Aglikon, sarı

Erime noktası : 330°

UV spektrumu : (Unicam SP 1800, Spektrophotometer)

Aglikonun metanol ve özel reaktiflerle alınan spektrumlarında maksimum kaymalar (Tablo-44) de gösterilmiştir.

Molekül ağırlığı : 300 (kütle spektrometrik)

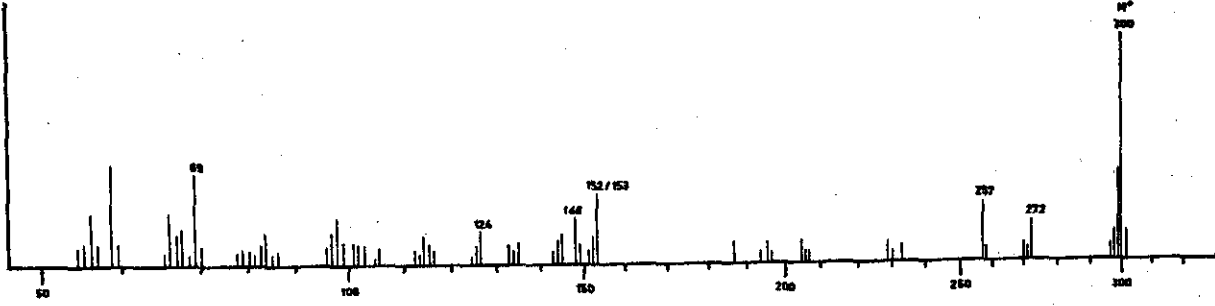
Kütle spektrumu(m/e) : 300 M⁺, 272 (M - CO)

271 (M-CO-H), 257, 229

Retro-Diels-Alder Bölünmesine

(a) göre; 153, 152, 151, 148,

124, 105, 69.

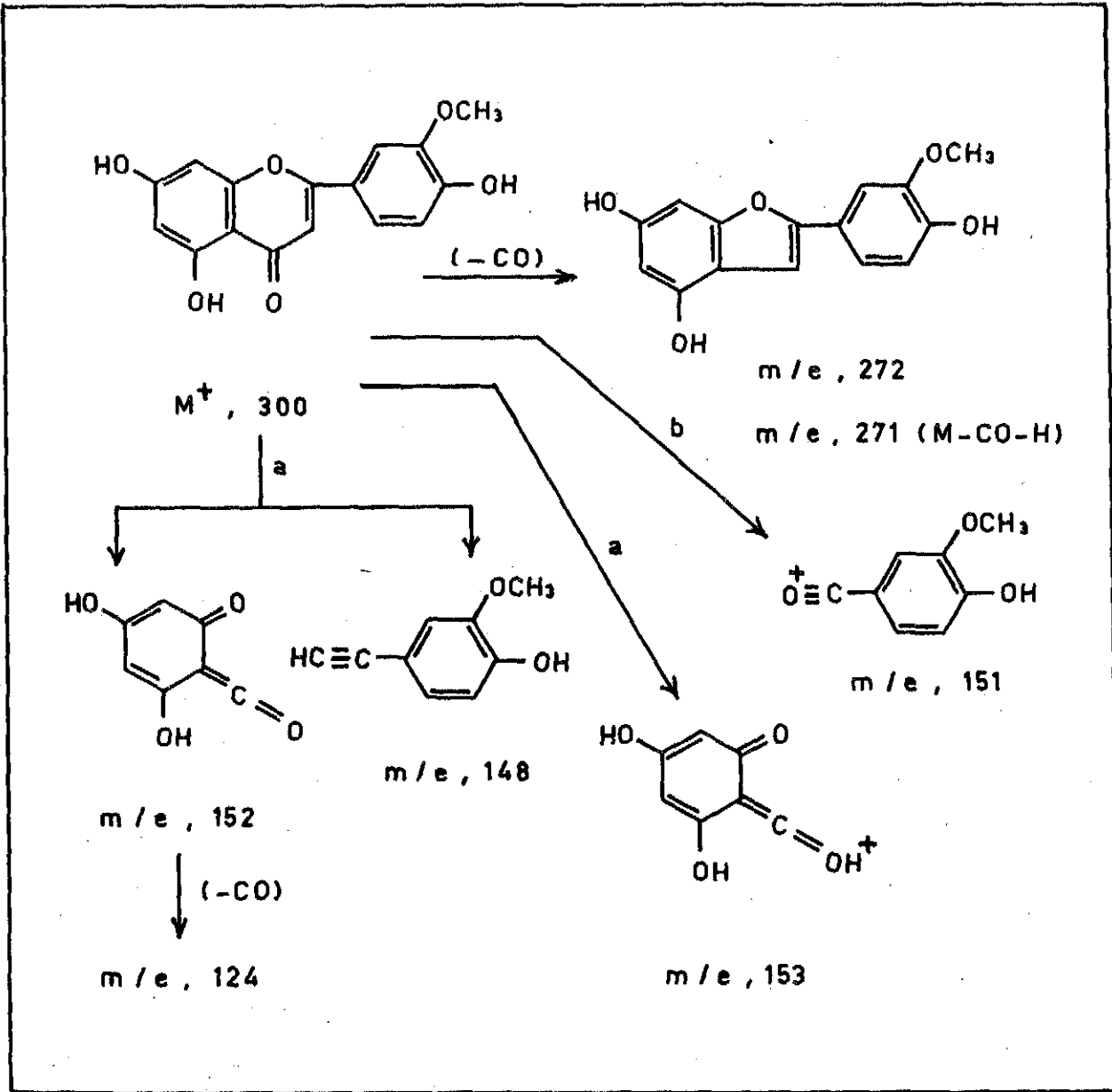


Şekil - 26

Aglikon - Kütle Spektrumu

(Mass LKB Tip 9000 S, 70 eV)

Kütle spektrumunda aglikon iki yoldan parçalanır. Retro Diels-Alder parçalanması (a) ve (b) parçalanması ile meydana gelen iyonlar (Şekil-27) de gösterilmiştir.



Şekil - 27

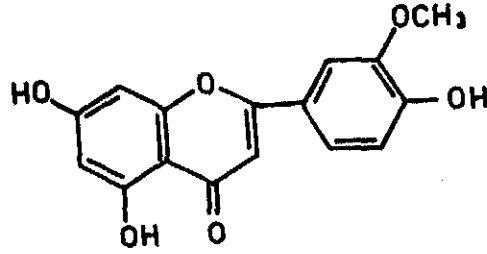
Aglikon - Parçalanması ile Meydana Gelen İyonlar

(a) Retro Diels-Alder Bölünmesi

IR spektrumu (cm^{-1}) : 3340, 3100 (-OH)

2900 (-CH₃), 1640 (CO, 5-OH)

UV, kütle spektrofotometrik bulgularımıza ve şahit madde ile kromatografik ve IR spektrometrik karşılaştırmalarımıza göre aglikon yapısı, krizoeriyol (5,7,4'-trihidroksi-3'-metoksi-flavon) dur.



Şekil - 30
Krizoeriyol

Krizoeriyol luteolinin 3' metileteridir. Aglikonun demetillenmesiyle elde edilen madde, kromatografik olarak luteolin ile karşılaştırıldığında aynı Rf değerleri bulundu (Tablo-45).

| Yöntem | Solvan Sistemi | Krizoeriyol Rf | Luteolin Rf |
|--------|--|----------------|-------------|
| İTK | 1- Kloroform:metanol:su (65:25:4) | 0.65 | 0.28 |
| İTK | 17- Toluen:etilasetat:metanol (8:6:1) | 0.38 | 0.65 |
| KK | 20- Etilasetat:asetik asit:su (40:13:30) | 0.70 | 0.79 |
| KK | 21- Asetik asit:su (1:1) | 0.56 | 0.50 |

Tablo - 45

Krizoeriyol, Luteolin - Rf Değerleri

| Metilozlar | Solvan Sistemleri - R _G | | |
|-----------------------------|------------------------------------|------|------|
| | 29 | 30 | 31 |
| 2,3,6 trimetil-D-glikoz | 0,74 | 0,57 | 0,30 |
| 2,3,4,6 tetrametil-D-glikoz | 1,02 | 1 | 1 |

Tablo - 47

Permetil ozlar - R_G Değerleri

Aglikon ve ozları tayin edilen, (F1) flavonozitinin UV spektrumlarında, ozların aglikona bağlandığı konumun tayini yapıldı. UV bulguları (Tablo - 48) de gösterilmiştir.

| Reaktif | Band I mak. | | | Band II mak. | |
|---------------------------------------|-------------|-----|-------|--------------|-----|
| Metanol | 345 | | | 272 | 252 |
| Sodyum metoksit | 406 | | | (285) | 263 |
| Alüminyum klorür | 392 | 366 | (302) | 277 | 266 |
| Alüminyum klorür/ Hidroklorik asit | 390 | 360 | (300) | 278 | 266 |
| Sodyum asetat | 408 | | | (272) | 260 |
| Sodyum asetat/ Borik asit | 350 | | | | 272 |

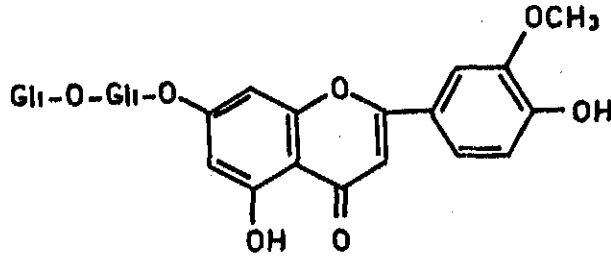
Tablo - 48

(F1) Flavonozitinin Tanımı - UV Spektrumu Bulguları

Metanol spektrumunda Band I de 345 nm de görülen pik, (F1) flavonozitinin flavon yapısında ve B halkasında iki oksijen fonksiyonunun bulunduğunu gösterir. Sodyum metoksit spektrumunda, metanol spektrumuna göre Band I de 61 nm lik batokromik kayma 4'de (-OH), alüminyum klorür spektrumunda, Band I de 47 nm lik batokromik

kayma ise 5 de (-OH) gruplarına işaret eder. Sodyum metoksit spektrumunda, ağılıkonda görülen Band III, (F1) flavonozitinde tespit edilememiş ve sodyum asetat spektrumunda Band II ancak 8 nm lik bir batokromik kayma görülmüştür. Bu bulgular 7. karbondaki hidroksil grubunun süstitüe olduğunu belirtir ve ozlar ağılıkona 7. karbondan bağlanmıştır.

Yukardaki bulgulara dayanarak (F1) flavonozitinin, krizoeriol 7-diglikoziti olduğu gösterildi (Şekil-30).



Şekil - 31

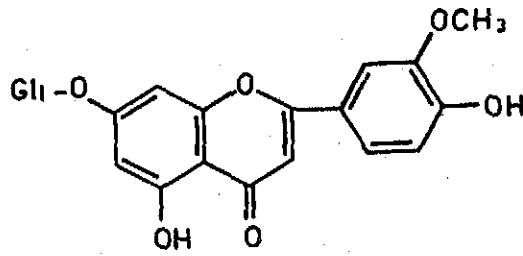
(F1) Flavonoziti

(F2) Flavonoziti - Tanım

(F2) Flavonoziti, siyanidin reaksiyonunda kırmızı renk verdi. Kağıt ve ince tabaka kromatografilerinde, tespit edilen Rf değerleri ve özellikleri (Tablo-49) da gösterilmiştir.

(F2) Flavonozitinin asit hidrolizi sonunda, elde edilen hidrolizatın kağıt ve ince tabaka kromatografisi yöntemleri yapılan kontrolünde sadece glikoz tespit edildi. Glikoz oksidazla yapılan enzimatik oksidasyon sonunda da bu bulgu doğrulandı.

(F2) Flavonozitinin, metanol spektrumunda Band I de 348 nm de görülen pik, flavon yapısına ve B halkasında iki (-OH veya -OCH₃) gruplarının varlığını gösterir. Alüminyum klorür/hidroklorik asit spektrumunda, alüminyum klorür spektrumuna göre Band I de ancak 2 nm lik hipsokromik kaymanın görülmesi, B halkasında iki (-OH) grubunun olmadığını, sodyum metoksit spektrumunda metanol spektrumuna göre Band I de 57 nm lik batokromik kayma sadece 4'de (-OH) 3'de (-OCH₃) olabileceğini gösterir. Alüminyum klorür spektrumunda metanol spektrumuna göre Band I de 41 nm lik batokromik kayma 5 de (-OH) grubuna işaret eder. Aglikonda da tespit edilmiş olan bu bulgulardan farklı olarak, sodyum metoksit spektrumunda, aglikonda görülen Band III (F2) flavonozitinde tespit edilememiştir. Bu da uzun 7. karbondan aglikona bağlı olduğunu gösterir. Buna göre (F2) flavonoziti krizoeriyol-7-glikoz yapısındadır. (Şekil-32).



Şekil - 32

(F2) Flavonoziti

S O N U Ç V E T A R T I Ş M A

Çalışmalarımız Botanik ve Kimyasal olarak iki bölüme ayrılmıştır. Araştırmalarımızın sonuçları da aynı esas göz önünde tutularak tartışılacaktır.

Botanik çalışmalarımız *S.congesta*'nın morfolojik ve anatomik özelliklerini tesbit gayesiyle yapılmıştır. Çalışmalarımız sırasında morfolojik özellikler geniş bir şekilde araştırılmıştır. 1981 yılında çıkacak olan "Flora of Turkey"nin 7. cildinde *S.congesta*'ya ait bilgiler de basımdan önce sağlanıp bulgularımız ile karşılaştırılmıştır.

Diğer taraftan bitkinin yaprak, çiçek, brakte ve diğer kısımlarının resimleri çizilmiş, ayrıntıları iyi bir şekilde ortaya çıkarılmıştır. Böylece *S.congesta* hakkında tam bir taksonomik bilgi birikimi sağlanmıştır.

Bitkinin yaprak ve gövdesinin anatomik yapısı incelenmiştir. Yapraklar da üst ve alt epidermanın tek hücreli, üst epiderma hücrelerinin genellikle alt epidermadan büyük, kenarlarının daha az dalgalı ve her iki epidermanın ince bir kütikula ile örtülü olduğu, örtü ve salgı tüyleri taşıdığı tespit edilmiştir. Örtü tüylerinin tek veya 2-3 hücreli, salgı tüylerinin *Labiatae* tipi, başı çok hücreli sapı uzun, başı tek hücreli kısa veya uzun saplı olduğu gösterilmiştir. *Sideritis* türleri için karakteristik olan başı, sap hücrelerinin 3 katından daha uzun olan tüyler, bu türde de tespit edilmiştir.

Gövdenin dört köşeli, tabanda içi boş, çiçek durumuna yakın kısımda dolu olduğu, kollenkimanın köşelerde geniş, epi-

dermanın tek sıralı, dar uzun hücreli, üzeri kütikula ile örtülü olup çok sayıda örtü ve salgı tüyü taşıdığı, kabuk parenkimasının 4-5 sıralı ve ergastik maddeler bakımından zengin olduğu tespit edilmiştir. Bu tabakanın altında tek sıralı endoderma, perisikl ve iletme demetleri, öz tabakası görülmüştür.

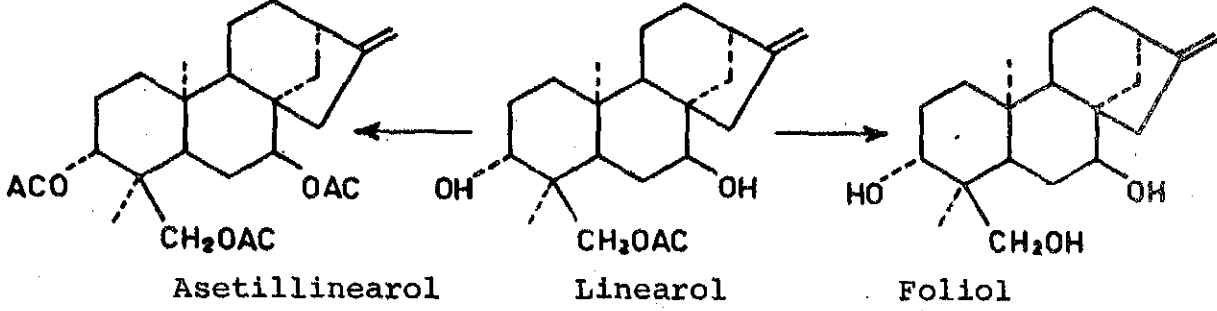
Botanik çalışmalar sonucunda bitkinin taksonomik, anatomik özellikleri tamamen açıklığa kavuşmuş olmaktadır.

Kimyasal çalışmalar sırasında 4 madde izole edilmiş ve yapısı aydınlatılmıştır. Bu maddelerden biri diterpen, diğerleri flavonoit yapısındadır.

Bitkiden izole edilen diterpenin yapısının linearol olduğu kesin bir şekilde açıklanmıştır.

Bu maddeye ait erime noktası, optik çevirme, CHO ve IR NMR, kütle spektrometrik analizleri, şahit linearol ile aynı olduğunu kesin olarak ortaya koymuştur (35). Maddenin linearol olduğu asetilleme ve deasetilleme ürünlerinin karşılaştırılması ile de doğrulanmıştır. Deasetilleme sonucu foliol, asetilleme sonucu asetillinearol elde edilmiş, (Şekil-33), bunlar şahit maddelerle kromatografik olarak karşılaştırılmış ve aynı Rf değerlerine sahip olduğu tespit edilmiştir.

Linearol şimdiye kadar *Sideritis leucantha*, *linearifolia* (31) *lagasana* (34), *luteola*(140), *biflora*(48) türlerinde bulunmuştur. Bu türler İspanya'da yetişmektedir. İspanya'da yetişen *Sideritis* türlerinde daha çok (-)-kavren türevi diterpenlerin bulunduğu çok sayıda araştırma sonucu ortaya konmuştur. (2,31,32,34,57, 48,62,140). Diğer taraftan İtalya ve Yunanistan'da yetişen



Şekil - 33

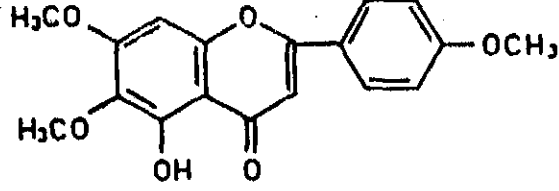
Linearol - Foliol, Asetillinearol Dönüşümü

Sideritis türlerinden izokavren türevi diterpenler izole edilmiştir (165,166,168). Sadece *S.euboea*' dan 1977 yılında kavren türevi diterpenler izole edilmiştir(167). Araştırmacılar, İspanya ve Kanarya adalarında yetişen *Sideritis* türlerinde ana diterpenlerinin kavren, Doğu Akdeniz bölgesinde yetişenlerin ise ana diterpenlerinin izokavren türevi olduğunu ve bunun kemotaksonomik bir bulgu olabileceğini ileri sürmüşlerdir. *S.congesta*' da ana diterpen olarak kavren türevi olan linearol bulmamız, yukarıda belirtilen genellemenin yapılamıyacağını ortaya çıkarması bakımından da önemlidir. Bu şekildeki bir genelleme ancak Türkiye'deki endemik türlerin diterpenleri bakımından incelenmesi sonucu ortaya çıkabilecektir.

Bitkiden, biri petrol eteri ekstraktından, ikisi etilasetat ekstraktından üç flavonoid izole edilmiştir.

Petrol eteri ekstraktında bulunan flavonoid salvigenindir. Bu maddenin UV spektrofotometresi ile yapılan analizi, salvigenin olabileceğini göstermiştir. NMR analizi ve kütle spektrometrik analizleri, yapısındaki metoksil gruplarını kesin olarak ortaya çıkarmıştır.

Maddenin şahit salvigenin ile erime noktası, IR spektrumu ve kromatografik karşılaştırması da bulgularımızı doğrulamıştır.



Salvigenin

Sideritis türlerinden izole edilen metoksiflavonlar tablo-51 de gösterilmiştir.

| Metoksiflavon | <i>gomeræ</i> | <i>dasygraphala</i> | <i>serrata</i> | <i>bolleana</i> | <i>mugronensis</i> | <i>leucantha</i> |
|--|---------------|---------------------|----------------|-----------------|--------------------|------------------|
| 7,4'-Di-O-metil apigenin | + | | | | | |
| Sirsimaritin | | + | | | | |
| Pektolarigenin | + | | | | | |
| 3,7,4'-Tri-O-metil kemferol | + | | | + | | |
| Ksantopikrin | | + | | | | |
| Salvigenin | + | | + | | | |
| Öpatorin | + | | | | | |
| Sirsilineol | | | | | + | |
| 5,3,4'-Trihidroksi-6,7,8-trimetoksiflavon | | | | | | + |
| 3,4'-Di-O-metil öpatolitin | + | | | | | |
| 3'-O-metil öpatorin | + | | | | + | |
| 5,4'-Dihidroksi-6,7,8,3'-tetra metoksiflavon | | | | | + | + |
| Gardenin-D | | | + | | + | |
| Artemetin | + | | | | | |
| 5-O-Desmetil nobiletin | | | | | + | |

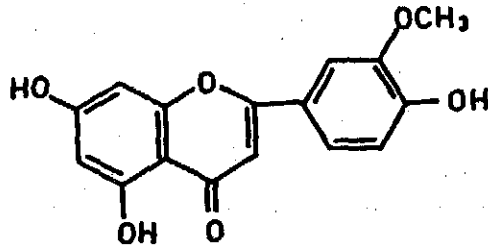
Tablo - 51

Metoksiflavon Bulunan *Sideritis* Türleri

Tablonun incelenmesinden anlaşılacağı üzere salvigenin daha önce iki türden izole edilmiştir. *S.gomerae*(63), *serrata*(142). Bu türler İspanya ve Kanarya adalarında yetişmektedir. Doğu Akdeniz'de yetişen türlerden ilk defa *S.congesta*'da salvigeninin bulunması da kemotaksonomik çalışmalara ışık tutması bakımından önemlidir.

S.congesta dan izole ettiğimiz iki flavonozitin yapısı UV ve kromatografik analizler sonucu aydınlatılmıştır. Flavonozitlerin yapısının tayini için önce total hidroliz yapılmış, aglikon ve oz kısmı elde edilmiştir.

Aglikonun yapısı, UV spektrofotometrik analizleri ile tayin edilmiş, kütle spektrumu alınarak molekül ağırlığı tespit edilmiş, ayrıca yapının krizoeriyol olduğu doğrulanmıştır. Madenin IR spektrumu, erime noktası ve kromatografik davranışı şahit krizoeriyol; demetilleme sonunda elde edilen madde ise luteolin ile mukayese edilmiş ve aglikonun kesin olarak krizoeriyol olduğu anlaşılmıştır.

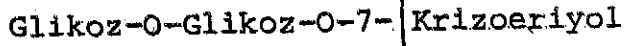


Krizoeriyol

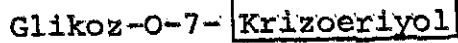
İzole edilen (F1) ve (F2) flavonozitlerinin, asit hidrolizleri sonucu elde edilen aglikonları aynıdır ve oz olarak glikoz taşımaktadır. Glikozun 7. konuma bağlı olduğu aglikonun, flavonozitin UV spektrumu ile karşılaştırılmasıyla bulunmuştur. Aglikonda sodyum metoksit reaktifi ile görülen (Band III)330 nm

piki 7. karbon da serbest hidroksil grubunu belirlediği halde, (F1) ve (F2) flavonozitlerinde bu pik tespit edilememiştir. Bu da flavonozitler de bu grubun kapalı olduğunu göstermektedir.

(F1) Flavonozitinin permetil türevinin, asit hidrolizi ile tetrametil glikoz ve trimetil glikozun kromatografik teşhisi 7 konumuna bir diholozitin bağlı olabileceğini göstermiştir. Bu durumda (F1) flavonozitinin muhtemel yapısı aşağıda gösterilmiştir.



(F2) Flavonozitinin permetil türevinin hidrolizinde, tetrametil glikoz kromatografik olarak tespit edilmiştir. (F2) Flavonozitinin UV analizinde glikozun 7 konumuna bağlı olabileceğini ve (F2), flavonozitinin muhtemel yapısının aşağıda gösterildiği gibi olduğu açıklığa kavuşmuştur.



(F1) ve (F2) flavonozitlerinin bağlı bulunan ozlar bakımından, kesin yapısının tayini C13 NMR, permetil türevlerinin kütle spektrometrik analizleri sonucu ortaya çıkabilecektir.

Sideritis türlerinin flavonozitleri üzerindeki araştırmalar çok azdır. *S.attica*, *S.cretica*, *S.sipylea*, *S.scardica*, *S.roseri*, *S.theezans* üzerinde yapılan araştırmada Siderozit A,B,C adı verilen üç flavonozit izole edilmiştir, fakat yapıları hakkında herhangi bir sonuca ulaşılamamıştır(158). *S.taurica*, *S.ajpetriana* da yapılan çalışmada (44) apigenin, skutellareyin aglikonları tespit edilmiş, fakat oz kısımları üzerinde çalışılmamıştır. *S.catillaris*

ten ladanozit denen bir flavonozit izole edilmişse de yapısı hakkında açıklayıcı bir bilgi verilmemektedir(43). *S.montana*'dan luteolin aglikonuna glikoz ve ramnoz bağlı olan üç flavonozit izole edilmiştir. Bu araştırmada da ozların aglikona bağlanması ve flavonozitlerin yapısı hakkında herhangi bir açıklama bulunmamaktadır(131).

Taşıdığı flavonozitin yapısı tam olarak aydınlatılmış tek çalışma, 1977 de *S. romana* üzerinde yapılmış ve krizoeriyolün 3 mol glikozla yaptığı flavonozit izole edilmiştir(172).

Araştırmamızda *S.congesta*'dan krizoeriyol aglikonuna sahip 1 ve 2 mol glikoz taşıyan iki flavonozit izole etmemiz, bu alanda ikinci çalışma olması bakımından da önem kazanmaktadır.

298, 270, 260, (245), alüminyum klorür; 362, 302, (266) alüminyum klorür/hidroklorik asit; 353, 302, 265, sodyum asetat; 332, 275, sodyum asetat/borik asit; 332, 275, IR 3080, 1640, 830, 710 (cm^{-1}). NMR 12.70, 7.92, 7.84, 7.01, 6.98, 6.57, 6.53, 3.90, 3.96, 3.92 (ppm). Molekül ağırlığı 328. Kütle spektrumu m/e, 313, 299, 285, 269, 181, 152, 135, 132, 107.

Petrol eteri ile ekstre edilmiş materyal, daha sonra 80° lik etanol ile tüketilmiş, etanol uçurulmuş, artık sıcak su ile alınmış, sulu faz sırasıyla eter, etilasetat, n-butanol ile ekstre edilmiştir. Etilasetatlı fazda iki ana flavonozit teşhis edilmiş, kolon ve preparatif ince tabaka kromatografisinde ayrılmıştır. Her iki flavonozitin asit hidrolizleri sonunda, aglikonların aynı olduğu görülmüştür.

Aglikonun kromatografik davranışı, erime noktası, UV, Kütle spektrumlarından Krizoeriyol (5,7,4'-trihidroksi-3'-metoksiflavon) olduğu bulunmuştur. Şahit madde krizoeriyol ile IR spektrumları karşılaştırılarak yapı doğrulanmıştır: E.N. 330°C , UV Metanol; 348, (270), (252), 244, sodyum metoksit; 405, (330), (277), 269, alüminyum klorür; 388, 361, 295, (275), 262, alüminyum klorür/hidroklorik asit; 386, 355, (295), (278), 260, sodyum asetat; 398, 320, 272, sodyum asetat/borik asit; 353, 270, IR 3340, 1640, 2900 (cm^{-1}). Molekül ağırlığı 300. Kütle spektrumu m/e, 272, 271, 257, 229, 153, 152, 148, 124, 105, 69.

Flavonozitlerin oz zinciri glikoz olarak bulunmuş, permetil türevleri hazırlanıp, asit hidrolizleri yapıldığında birinde tek, diğerinde iki oz bulunduğu tespit edilmiştir. Her iki flavonozitin UV spektrumu bulgularından ve aglikon spektrumu ile karşılaştırılarak ozların 7. konumdan bağlı olduğu tespit edilmiştir. Flavonozitlerin yapıları; Krizoeriyol-7-glikozit ve krizoeriyol-7-diglikozit olarak tayin edilmiştir.

S U M M A R Y

Pharmacognosical studies have been performed on the leaves, flowers and the stems of the plant, *Sideritis congesta* Davis et Huber-Morath collected in the vicinities of the hills surrounding Dim çayı, Değirmenönü, Alanya, Antalya during 11th - 15th July from 1976 to 1978.

In botanical studies, the morphological characteristics of the plant and the anatomy of the leaves and the stems were examined.

In chemical studies the leaves, flowers and the stems of *S. congesta* have been used. When it is extracted with petroleum benzene, the extract has one methoxyflavon and diterpenes. The structures of this methoxyflavon and the main diterpene have been identified after separation by column chromatography.

It has been determined that the main diterpene is the same as the authentic sample of linearol (3,7-dihydroxy-18-acetoxy-(-)-kawrene) with respect to its chromatographic behaviour, melting point, optical rotatory. Its analytical definitions are as follows; its mp is 198-201°C, $(\alpha)_D^{20}$ is -63,8. IR peaks are at 3500, 3400, 3080, 1710, 1660, 1270, 1070, 1025 and 882 cm^{-1} . NMR findings are 4.85, 3.70 and 1.07 ppm. Its M_w which is determined by mass spectra is 362. For linearol ($\text{C}_{22}\text{H}_{34}\text{O}_4$) the theoretical quantities of carbon, hydrogen and oxygen are 72,93, 9.39 and 17.68 percent. The practical values of the name components are 72.89, 9.45 and 17.66 percent respectively.

The structure of linearol is confirmed by comparing the acetyl and deacetyl derivatives of linearol prepared with the authentic standarts, acetyl linearol and foliol by chromatography.

The methoxyflavon that the plant contained is determined as salvigenin which is 5-hydroxy-6,7,4'-trimethoxyflavon considering its melting point, UV, IR, NMR and Mass spectra. Its mp is of 190° - 193°C, UV peaks in methanol are seen at 330, 277 nm. In sodium methoxide, peaks are obtained at (375), 298, 270, 260 and (245) nm. In aluminium chloride these values are as 362, 302 and (266) nm. In aluminium chloride and hydrochloric acid mixture, the peaks are at 353, 302, 265 nm, in sodium acetate at 332, 275 and in sodium acetate, boric acid mixture at 332 and 275 nm respectively. It gives, IR peaks at 3080, 1640, 830 and 710 cm^{-1} . Whereas NMR values are of 12,70; 7,92, 7.84,

7.01, 6.98, 6.57, 6.53, 3.90, 3.96 and 3.92 ppm. Its M_w is found as 328.

After extracting with petroleum benzene the material has been treated with 80 % ethanol and the ethanolic phase was evaporated. The residue, then dissolved in hot water and it has been extracted with ether, ethyl acetate and n-butanol respectively. The ethyl acetate phase yields two main flavon heterosides, separated by column chromatography and preparative TLC. However, the acid hydrolysis of these heterosides show that their aglycons are the same.

The aglycon is found as chrysoeriol (5,7,4'-trihydroxy-3'-methoxyflavon). Investigating its chromatographic behaviour, melting point, UV, IR and Mass spectra the following values are obtained; its mp is 330°C , UV spectra in methanol gives peaks at 348, (270), (252), 244 nm. Where as in sodium methoxide, peaks are obtained at 405, (330), (277), 269 nm. In aluminium chloride the peaks are at 388, 361, (295), (275), 262 nm, in aluminium chloride hydrochloric acid mixture at 386, 355, (295), (278), 260 nm and in sodium acetate at 398, 320, 272 nm, in sodium acetate boric acid mixture at 353 and 270 nm. In infrared spectrophotometry the peaks are obtained at 3340, 1640 and 2900 cm^{-1} . Its molecular weight is found as 300.

The ose moiety of the flavon heterosides has been found as glucose. The acid hydrolysis of the permethylated flavon heteroside indicates that one of the heterosides contains one oses and the other heteroside has two.

It has been determined that the ose of the two heterosides have been attached to the aglycons from the seventh position, comparing the UV spectra of the heterosides and the aglycon.

In accordance with the results mentioned above, the structure of the flavon heterosides has been determined as chrysoeriol-7-glucoside and as chrysoeriol-7-diglucoside.

L I T E R A T O R

1. Ansari, F.R., Ansari, W.H., Rahman, W., Seligmann, O., Chari, V.M., Wagner, H., Österdahl, B.G., A New Acylated Apigenin -4'-O- β -D-glucoside from the Leaves of *Lycopodium clavatum* L.. *Planta medica* 36, 196 (1979).
2. Aranguéz, L.M., Rodríguez, B., Diterpenoids from *Sideritis lurida*. *An. Quim.* 74, 522 (1978).
3. Ayer, W.A., Ball, J.H., Rodríguez, B., Valverde, S., The Structure of Sideritol, a Diterpenoid of the ent-Atisane Class. *Can. J. Chem.* 52, 2792 (1974).
4. Bandyukova, V.A., Khalmatov, Kh. Kh., Investigation of the Flavonoids of *Hypericum elongatum* and *H. Scabrum*. (Chem. Nat. Compd.) *Khim. Prir. Soedin.* 2. 214 (1966).
5. Bandyukova, V.A., Shinkarenko, A.L., The Thin-Layer Chromatography of Flavonoids. *Ibid.* 9, 20 (1973).
6. Baxter, J.N., Lythgoe, B., Scales, B., Scrowston, R.M., Trippett, S., Taxine Isolation Studies and the Functional Groups of O-Cinnamoyltaxicin-I, *J. Chem. Soc.* 3, 2964 (1962).
7. Berger, F., *Handbuch der Drogenkunde*. Cilt 4, Verlag Für Medizinische Wissenschaften, Wilhelm Maudrich, Viyana (1954).
8. Bézanger-Beauquesne, L., *La Chromatographie des Flavonoïdes*. *Int. Symp. Chromatogr. Electrophor, Lect. Pap.* 6, 3 (1970).
9. Boissier, E., *Flora Orientalis*. Cilt 4, Cenevre (1879).
10. Bonnier, G., *Flore Complète Illustrée en Couleurs de France, Suisse et Belgique*, Cilt 9, Librairie Générale de L'Enseignement Paris (1927).

11. Bouilland, M. L., Favre-Bonvin, J., Chopin, J., Structural Determination of C-Glycosylflavones by Mass Spectrometry of Their Permethyl Ethers. *Phytochemistry* 14, 2267 (1975).
12. Brandt, C.W., Thomas, B.R., Chemical Differentiation of the Genera *Podocarpus* and *Dacrydium*. *Nature* 170, 1018 (1952).
13. Breto, M., Alberola, J., Casas, A., Chromatografía Gas-Líquido de Trimetilsililderivados de Compuestos Polifenólicos. *Rev. Agroquim. Tecnol. Aliment.* 14, 405 (1974).
14. Bretón, J.L., Gonzalez, A.G., Rocha, J.M., Candicandiol, a New Diterpene from *Sideritis candicans* Ait. var. *eriocephala* Webb. (Labiatae). *Tetrahedron Letters* 7, 599 (1969).
15. Brieskorn, C.H., Biechele, W., Flavone aus *Salvia officinalis* L.. *Arch. Pharm.* 304, 70 (1971).
16. Idem, Zur Unterscheidung Von *Salvia officinalis* und *Salvia triloba*. *Deuts. Apot. -Zeit.* 5, 141 (1971).
17. Brieskorn, C.H., Michel, H., Biechele, W., Die Flavone des Rosmarinblattes. *Deuts. Leb.-Rund.* 69, 245 (1973).
18. Brieskorn, C.H., Riedel, W., Flavonoide aus *Cleus amboinicum*. *Planta medica* 31, 308 (1977).
19. Brink, A.J., Rall, G.J.H., Engelbrecht, J.P., Phenolic *Neorautanenia* Isoflavonoids. *Tetrahedron* 30, 311 (1974).
20. Carrascal, I., Rodriguez, B., Valverde, S., Estructura del Iso sideritol. *An. Quim.* 73, 442 (1977).
21. Carrascal, I., Rodriguez, B., Valverde, S., Fayos, J., X-Ray Crystal and Molecular Structure of a New Diterpenoid of the ent-Atisane Class. *J. Chem. Soc. Chem. Comm.* 815, (1975).
22. Carreras, L.M., Aportaciones a la Quimiotaxonomía del Género *Sideritis*. *Trab. Dept. Botanica y F. Veg.* 3, 39 (1971).

32. Idem, Studies on Diterpenes from *Sideritis* genus-X. Three New Stachene Derivatives from *S. pusilla* (Lag.) Pau. Ibid 70, 239 (1974).
33. Idem, Diterpenes from *Sideritis lagascana* and *Sideritis valverdei*. Phytochemistry 13, 2008 (1974).
34. Idem, Four New Diterpenes from *Sideritis serrata*. Ibid 14, 517 (1975).
35. De Quesada, T.G., Rodriguez, B., Valverde, S., Huneck, S., Six New Diterpenes from *Sideritis leucantha* Cav. and *Sideritis linearifolia* Lam.. Tetrahedron Letters 22, 2187 (1972).
36. Devon, T.K., Scott, A.I., Handbook of Naturally Occurring Compounds, Cilt 2, Academic Press, New York (1965).
37. Dombris, A., Raynaud, J., Sur la Présence de la Di-C-glucosyl-6,8-Lutéoline Chez *Carlina corymbosa* (Composées). Plantes méd. et Phytoth. 11, 109 (1977).
38. Donnelly, D.M.X., O'Reilly, J., Whalley, W.B., Neoflavonoids of *Dalbergia melanoxylon*. Phytochemistry 14, 2287 (1975).
39. El-Alfy, T., Paris, R.R., Sur les Flavonoides de *Ruscus hypoglossum* L. Plantes méd. et Phytoth. 9, 308 (1975).
40. Elbanowska, A., Ellnain, W.M., Kowalewsk, Z., Skrzypczakowa, L., Flavonoids in *Liliaceae* Family. Pol. Pharmacol. Pharm. 25, 285 (1973).
41. Enzell, C.R., Appleton, R.A., Wahlberg, I., Terpenes and Terpenoids. Waller, R.G., Biochemical Applications of Mass Spectrometry, Wiley-Interscience, New York (1972).

42. Farooq, M.O., Varshney, I.P., Rahman, W., Gangwar, P.C., The Synthesis of Chrysoeriol (3-Methyl Ether of Luteolin) and Homoeriodictyol (5,7,4-trihydroxy-3-methoxy Flavanone). *Naturwiss.* 46, 76 (1959).
43. Fefer, J.M., Flavonoids of *Sideritis catillaxis*. *Farm. Zh.* (Kiev) 25, 86 (1970).
44. Idem, Comparative Characteristics of the Flavonoid Content of *Sideritis taurica*, *Sideritis marschalliana* and *Sideritis ajpetriana*. *Ibid.* 26, 86 (1971).
45. Finnegan, R.A., Bachman, P.L., Knutson, D., The Occurrence of 5-Hydroxy-4',6,7,-trimethoxyflavone (Psathyrotin=Salvigenin) in *Psathyrotes annua*. *Lloydia* 35, 457 (1972).
46. Fox, W.D., Savage, W.L., Wender, S.H., Hydrolysis of Some Flavonoid Rhamnoglucosides to Flavonoid Glucosides. *J. Am. Chem. Soc.* 75, 2504 (1953).
47. Fujita, E., Nagao, Y., Node, M., Diterpenoids of *Isodon* and *Teucrium* Plants. *Heterocycles* 5, 793 (1976).
48. Garcia-Alvarez, M.C., Rodriguez, B., Epoxy-Isosidol: A New Diterpenoid from *Sideritis biflora*. *Phytochemistry* 15, 1994 (1976).
49. Gayon, P.R., Gautheret, R.J., *Les Composés Phénoliques des Végétaux*. Dunod, Paris (1968).
50. Gazave, J.M., Parrot, J.L., New Views on the Resistance and Permeability of the Blood Capillaries. *Biochem. Exp. Biol.* 11, 255 (1975).

51. Geissman, T.A., The Chemistry of Flavonoid Compounds. The Macmillan Company New York (1962).
52. George, E., Post, M.D., Edward, J., Dinsmore, M.A., Flora of Syria, Palestine and Sinai. Cilt 2, American Press, Beyrut (1932).
53. González, A.G., Breton, J.L., Fraga, B.M., Luis, J.G., Constituents of Labiatae-IX. Trachinodiol and Trachinol, two New Diterpenes from *Sideritis canariensis* Ait. Tetrahedron Letters 33, 3097 (1971).
54. Idem, Componentes de Labiadas-IX. Tiganona, Nueva Cetona Diterpenica de la *Sideritis canariensis* Ait. An. Quim. 67, 1245 (1971).
55. González, A.G., Fraga, B.M., Hernandez, M.G., Luis, J.G., Siderin, A New Coumarin from *Sideritis canariensis*. Phytochemistry 11, 2115 (1972).
56. Idem, New Diterpenes from *Sideritis canariensis*. Ibid, 12, 1113 (1973).
57. Idem, New Diterpenes from *Sideritis candicans*. Ibid, 12, 2721 (1973).
58. Idem, Constituents of Labiatae-XIV. Vierol and Powerol, two New Diterpenes from *Sideritis canariensis*. Tetrahedron 29, 561 (1973).
59. Idem, Siderin: A Revised Structure. Chem. Ind. 4, 166 (1974).
60. Gonzalez, A.G., Fraga, B.M., Hernandez, M.G., Luis, J.G., Nunez, A., Componentes de la *Sideritis glacialis*. Algunas Reacciones del Siderol. An. Quim. 70, 730 (1974).

70. Harborne, J.B., Evolution and Function of Flavonoids in Plants. Runeckles, V.C., Watkin, J.E., In recent Advances in Phytochemistry. Cilt 4, Appleton Century Crofts, New York (1972).
71. Idem., Phytochemical Methods. Chapman and Hall Ltd., Londra (1973).
72. Harborne, J.B., Mabry, T.J., Mabry, H., The Flavonoids. Chapman and Hall Ltd., Londra (1975).
73. Idem, Flavonoid Sulphates: A New Class of Sulphur Compounds in Higher Plants. Phytochemistry 14, 1147 (1975).
74. Hayek, A., Prodrumus Florae Peninsulae Balcanicae. Cilt 2, Verlag Des Repertorium, Fabeckstr. 49 (1949).
75. Heftmann, E., Chromatography, Reinhold Publishing Corporation, New York (1964).
76. Hegi, G., Illustrierte Flora von Mitteleuropa, Cilt 5, Carl Hanser Verlag, Münih (1964).
77. Higby, H.R., The Chemical Nature of Hesperidin and Its Experimental Medical Use as a Source of Vitamin P. J. Am. Pharm. Assoc. 32, 74 (1943).
78. Hooker, J.D., Jackson, B.D., Index Kewensis. Plantarum Phanerogamarum, Cilt 2-13 Oxford a the Clarendon Press, Oxford (1895-1960).
79. Hoppe, A.H., Drogenkunde, Cilt I, Walter de Gruyter, Berlin (1975).
80. Hori, M., An Automatic Chromatographic Method for the Separation Of Flavonoid Compounds. Bull. Chem. Soc. Japan. 42, 2333 (1969).

81. Horowitz, R.M., Flavonoids of Citrus. I. Isolation of Diosmin from Lemons (*Citrus limon*). J. Org. Chem. 21, 1184 (1956).
82. Hosking, J.R., Zur Kenntnis der Diterpene Kauren und Miren. Rec. Trav. Chim. 49, 1036 (1930).
83. Hoton-dorge, M., Identification des Principaux Aldoses et Polysaccharides par Chromatographie in Couche Mince de Cellulose. J. Pharm. Belg. 30, 405 (1975).
84. Hörhammer, L., Polyamide Chromatography of Flavonoids and Anthroquinones Methods in Polyphenol Chemistry, Proceeding of the Plant Phenolics Group Symposium, Oxford. (1963). Pergamon Press, Londra (1964).
85. Hörhammer, L., Wagner, H., Grasmaier, H., Isolierung eines Oestrogenen Isoflavons aus *Lupinus polyphyllus* Lindl. Naturwiss. 45, 388 (1958).
86. Hörhammer, L., Wagner, H., Leeb, W., Chromatographie von Flavonon an Polyamid. Ibid. 44, 513 (1957).
87. Hugel, G., Lods, L., Mellor, J.M. Theobald, D.W., Qurisson, G., Structure de Ditérpenes Isolés de *Trochylodium verrucosum*. Bull. Soc. Chim. France. (1963, 1974), (1963).
88. Inglett, G.E., Infrared Spectra of Some Naturally Occurring Flavonoids. J. Org. Chem. 23, 93 (1958).
89. Jay, M., Gonnet, J-F., Wollenweber, E., Voirin, B., Sur L'Analyse Qualitative des Aglycones Flavoniques Dans Une Optique Chimiotaxinomique. Phytochemistry 14, 1605 (1975).
90. Johnston, K.M., Stern, D.J., Waiss, A.C., Separation of Flavonoid Compounds on Sephadex LH-20. J. Chromatog. 33, 539 (1968).

91. Kagan, J., Mabry, T.J., Sugar Analysis of Flavonoid Glycosides. Anal. Chem. 37, 288 (1965).
92. Kar, K., Singh, S., Khanna, N.M., A Diuretic Flavon Glycoside from *Millingtonia hortensis* Linn.. Indian J. Pharm. 38, 26 (1976).
93. Kingston, D.G.I., Rao, M.M., Zucker, W.V., Plant Anticancer Agents. IX. Constituents of *Hyptis tomentosa*. Lloydia 42, 496 (1979).
94. Kooiman, P., The Occurrence of Iridoid Glycosides in the Labiatae. Acta Bot. Nerrl. 21, 417 (1972).
95. Kozjek, F., Combier, H., Truc, M.C., Mouries, C., Cros J., Action Sur la Résistance Capillaire de Deux Glycosides Flavoniques Isolés de *Vincetoxicum officinale* Moench.. Plantes méd. et phytoth. 7, 48 (1979).
96. Kupchan, S.M., Sigel, C.W., Hemengway, R.J., Knox, J.R., Udayamurthy, M.S., Tumor Inhibitors-Cytotoxic Flavones from *Eupatorium* Species. Tetrahedron 25, 1603 (1969).
97. Larson, L.R., Magnesol Thin-Layer Chromatography of Flavonoid Compounds. J.Chromatog. 43, 287 (1969).
98. Le Scao, F., Paris, R., Faugeras, G., Sur les Flavonoides du *Thesium divaricatum* Jan. (Santalacées). Plantes méd. et Phytoth. 9, 32 (1975).
99. Litvinenko, V.I., Makarov, V.A., The Alkaline Hydrolysis of Flavonoid Glycosides. (Chem. Nat. Compd.) Khim. Prir. Soedin. 5, 366 (1969).

110. Mucsi, I., Béladi, I., Pusztai, R., Bakay, M., Gabor, M.,
Antiviral Effect of Flavonoids. Proceedings of the 5 th
Hungarian Bioflavonoid Symposium Matrafüred, Macaristan
(1977).
111. Nara, T.K., Gleye, J., Lavergne de Cervel, E., Stanislas,
E., Flavonoïdes de *Phyllanthus niruri* L., *Phyllanthus*
urinaria L., *Phyllanthus orbiculatus* L. C. Rich.. Plantes
méd. et Phytoth. 9, 82 (1977).
112. Narasimhacmari, N., Rudloff, E.V., Gas Liquid Chromatog-
raphy of Some Flavonoid Compounds and Hydroxy Diphenyls.
Can. J. Chem. 40, 1123 (1962).
113. Narayanan, P., Röhrli, M., Zechmeister, K., Hoppe, W.,
Crystal and Molecular Structure of Grayanotoxin. Tetrahed-
ron Letters 45, 3945 (1970).
114. Nasudari, A.A., Kompantsev, V.A., Shinkarenko, A.L., Ogan-
esyan, E.T., A New Flavon Bioside from *Salix caprea* L.,
Khim-Farm. Zh. 24, 40 (1970).
115. Neu, R., Separation of Chalcones, Flavonones and Flavonols
by Chromatography with Polyamide. *Nature* 182, 660 (1958).
116. Nicholas, H.J., The Biogenesis of Terpenes in Plants.
Bernfeld, P., Biogenesis of Natural Compounds. The Macmil-
lan Company, New York (1963).
117. Niemann, G.J., Acid Degradation of Flavonoids as an Aid in
their Identification. *J.Chromatog.* 74, 155 (1972).
118. Okuda, T., Yoshida, T., Ono, I., Two New Flavone Glycosides
from *Catalpa ovata*. *Phytochemistry* 14, 1654 (1975).

119. Panizo, F.M., Rodriguez, B., Valverde, S., Lagascatriol, a New Diterpenoid from *Sideritis angustifolia* Lag. (*Labiatae*). *An. Quim.* 68, 1463 (1972).
120. Idem, Estructura Total Revisada del Lagascatriol, nuevo Diterpeno de *Sideritis angustifolia* Lag. *Ibid.* 70, 164 (1974).
121. Paternostra, M.P., Passannanti, S., Venturella, P., Bellino, A., Alkanes and Sterols from Some *Sideritis*, *Stachys*, *Leontopodium*, *Espeletia* and *Cistus* species. *Atti. Accad. Sci. Let. Art. Palermo.* 32, 39 (1973).
122. Pelter, A., Stainton, P., Barber, M., The Mass Spectra of Oxygen Heterocyclic II. The Mass Spectra of Some Flavonoids. *J. Heterocyclic Chem.* 2, 262 (1965).
123. Petersson, G., Gas Chromatography-Mass Spectrometry of Sugars and Related Hydroxy Acids as Trimethylsilyl Derivatives. *Svensk Papperstidning* 1974, 77 (1974).
124. Pinder, A.R., *The Chemistry of the Terpenes*. Chapman Hall Ltd., Londra (1960).
125. Piozzi, F., Venturella, P., Bellino, A., Mondelli, R., Diterpenes from *Sideritis sicula* Ucria. *Tetrahedron* 24, 4073 (1968).
126. Idem, An Epoxy-diterpene from *Sideritis sicula* Ucria. *Ric. Sci.* 38, 462 (1968).
127. Piozzi, F., Venturella, P., Bellino, A., Selva, A., Struttura del Sideritriolo. *Gazz. Chim. Ital.* 99, 582 (1969).

128. Piozzi, F., Venturella, P., Bellino, A., Marino, L.M., Salvadori, P., Further Reactions of Sideridiol[(-)-Kaur-15-ene-7 β , 19-diol]. J.C.S. Perkin I. 6, 759 (1972).
129. Pourrat, H., Le Men, J., Ursolic Acid. II. Distribution of Ursolic Acid Among the Labiatae. Ann. Pharm. Franc. 11, 190 (1953).
130. Pulatova, T.P., Presence of Alkaloids in Some Plants of the Family Labiatae. Khim. Prir. Soedin. 5, 62 (1969).
131. Pulatova, T.P., Aminov, A., Phytochemical Investigation of Mountain-Ironwort *Sideritis montana*. Uzb. Biol. Zh. 14, 33 (1970).
132. Rabanal, R.M., Rodriguez, B., Valverde, S., Tartessol, a New Diterpene from *Sideritis grandiflora* Salzm. *Experientia* 30, 1977 (1974).
133. Reinhold, L., Lwischitz, Y., Progress in Phytochemistry. Interscience Publishers, New York (1968).
134. Reynaud, J., Becchi, M., Prum, N., Contribution a L'étude des Aglycones Flavoniques Libres de *Kentrophyllum lanatum*. *Plantes med. et Phytoth.* 10, 170 (1976).
135. Rodriguez, B., 5,4'-Dihydroxy-6,7,8,3',-tetramethoxy-flavone from *Sideritis mugronensis*. *Phytochemistry* 16, 800 (1977).
136. Idem, Diterpenes de *Sideritis incana* L. ssp. *virgata* Desf.. *An. Quim.* 74, 157 (1978).
137. Idem, New Labdane Diterpenoids from *Sideritis chamaedryfolia*. *Phytochemistry* 17, 281 (1978).

147. Schmid, R.D., Mues, R., McReynolds, J.H., Velde, G.V., Nakatani, N., Rodriguez, E., Mabry T.J., GS-MS of Perdeuteriomethylated Flavonoid Aglycones. *Ibid* 12, 2765 (1973).
148. Schmid, R.D., Varenne, R., Mass Spectrometry of Flavonoid Trisaccharides. *Tetrahedron* 28, 5037 (1972).
149. Segal, R., Cohen, D., Sokoloff, S., Zaitschek, D.V., A New Flavone from *Artemisia herba-alba*. *Lloydia* 36, 103 (1973).
150. Sessa, D.J., Rackis, J.J., Paper Chromatographic Detection of Plant Phenols with Antimony trichloride. *J.Chromatog.* 23, 487 (1966).
151. Simonyan, A.V., Shinkarenko, A.L., Oganesyanyan, E.T., Use Of the Cyanidine Reaction Products of Flavonoids. *Khim-Farm. Zh.* 6, 59 (1972).
152. Somaroo, B.H., Thakur, M.L., Grant, W.F., a Useful Spray Reagent to Differentiate Common Phenolic Compounds on Thin-Layer Plates and Paper Chromatograms. *J.Chromatog.* 87, 290 (1973).
153. Stahl, E., *Thin Layer Chromatography*. George Allen and Unwin Ltd., Springer Verlag, Berlin (1969).
154. Steinmetz, E.F., *Materia Medica Vegetabilis*, Keizersgrachth 714, Cilt 2, Amsterdam (1954).
155. Sticher, O., *Plant Mono-, Di- and Sesquiterpenoids with Pharmacological or Therapeutical Acticity*. Wagner, H., Woff, P., *New Natural Products and Plant Drugs with Pharmacological Biological or Therapeutical Activity*. Springer-Verlag, Heidelberg (1977).

156. Tabacchi, R., Garnero, J., Buil, P., Sur la Présence d'un Ester du Décadiénol-2 (E),4(Z) et de Diterpènes dans l'Huile Essentielle de Cyprès (*Cupressus sempervirens* L.) *Helv.* 58, 1184 (1975).
157. Tea, K.N., Gleye, J., Fouraste, I., Constituants Chimiques de *Choisya ternata* Kunth.. Flavonoïdes des Pétales. *Plantes méd. et Phytoth.* 9, 187 (1975).
158. Théodossiou, Ph., Sur la Présence de Flavonoïdes Dans Six Espèces du Genre *Sideritis*. *Trav. Soc. Pharm. Montpellier* 21, 221, (1962).
159. Tomas, F., Ferreres, F., Guirado, A., 5,3',4'-Trihidroksi-6,7,8-Trimethoxyflavone from *Sideritis leucanthe*. *Phytochemistry* 18, 185 (1979).
160. Tutin, T.G., et al., *Flora Europaea*. Cilt 3, Cambridge Univ. Press, Cambridge (1972).
161. Ulubelen, A., Öztürk, S., Işıldatıcı, S., A New Flavone from *Salvia triloba* L.f. (*Labiatae*). *J. Pharm. Sci.* 57, 1037 (1968).
162. Usubillaga, A., Nakano, T., Kauranoid Diterpenes in *Ruilopezia margarita*. *Planta medica* 35, 331 (1979).
163. Valverde, S., Rodriguez, B., The Use of C13-NMR in the Determination of Structures: A. Correction of The Structure of Borjatriol. *Phytochemistry* 16, 1841 (1977).
164. Vancraenenbroeck, R., Lontie, R., Separation de Flavonoïdes et d'Acides Chlorogéniques par Repartition a Contre-Courant. *Bull. Liaison, Groupe Polyphenols* 5, 12 (1974).

175. Wagner, H., Iyengar, M.A., Seligmann, O., Beal, J.L., Mitscher, L., A New Flavonol Glycoside from *Hunnemannia fumariaefolia* c.v. sunlite. *Lloydia* 36, 166 (1973).
176. Waldi, D., Dünschicht Chromatographie Einiger Zucker und Zuckeralkohole. *J. Chromatog.* 18, 417 (1965).
177. Wang, K.T., Lin, Y-T., Wang, I.S.Y., Polyamide Layer Chromatography. Gidding, J.C., Keller, R.A., *Advances in Chromatography*. Cilt 11, Macell Dekker, Inc., New York, (1974).
178. Weinheimer, A.J., Matson, J.M., Crassin Acetate, the Principal Antineoplastic Agent in Four Gorgonians of the *Pseudoplexaura* Genus. *Lloydia* 38, 378 (1975).
179. Wenkert, E., Gottlieb, H.E., Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy of Flavonoid and Isoflavonoid Compounds. *Phytochemistry* 16, 1811 (1977).
180. Wollenweber, V.E., Die Verbreitung spezifischer Flavone in der Gattung *Primula*. *Biochem. Physiol. Pflanzen* 166, 419 (1974).
181. Idem, New Flavonoids from *Betula nigra*. *Phytochemistry* 16, 295 (1977).
182. Wong, E., Taylor, A.O., The Chromatography of Flavonoid Aglycones in the Solvent System Benzen-Acetic Acid-Water. *J. Chromatog.* 9, 449 (1962).

İ N D E K S L E R

| Şekiller | <u>Sayfa No</u> |
|--|-----------------|
| Şekil- 1 S.congesta - Bitki, Yaprakların Farklılaşması | 6 |
| - 2 S.congesta - Çiçek Durumu | 7 |
| - 3 S.congesta - Çiçek Kısımları | 9 |
| - 4 S.congesta - Habitat | 10 |
| - 5 S.congesta - Yaprak, Enine Kesit | 12 |
| - 6 S.congesta - Yaprak Tozu | 13 |
| - 7 S.congesta - Gövde, Enine Kesit | 14 |
| - 8 Flavonoit - Genel Yapı | 16 |
| - 9 Flavonoitler - Biyosentez ve Sınıflandırma | 21 |
| -10 Diterpenler - Biyosentez Şeması | 52 |
| -11 Diterpenler α -Kavren ve β -İzokavren Genel Yapı | 60 |
| -12 Krizoeriyol-7- β -glikozil- β -1 \rightarrow 2-glikozil- β - 1 \rightarrow 2-glikoz | 77 |
| -13 Siderin | 78 |
| -14 Diterpen ve Metoksiflavon-Kromatografik Ayırım | 110 |
| -15 (D1) Diterpeni - IR Spektrumu | 111 |
| -16 Linearol - IR Spektrumu | 112 |
| -17 (D1) Diterpeni - Kütle Spektrumu | 112 |
| -18 (D1) Diterpeni - Parçalanması ile Meydana Gelen İyonlar | 113 |
| -19 Linearol | 114 |
| -20 Metoksiflavon - Kütle Spektrumu | 117 |

| | <u>Sayfa No</u> |
|---|-----------------|
| Şekil-21 Metoksiflavon - Parçalanması ile Meydana Gelen İyonlar | 118 |
| -22 Metoksiflavon - IR Spektrumu | 119 |
| -23 Salvigenin - IR Spektrumu | 119 |
| -24 Salvigenin | 120 |
| -25 Flavonozitler - Kromatografik Ayırım | 121 |
| -26 Aglikon - Kütle Spektrumu | 124 |
| -27 Aglikon - Parçalanması ile Meydana Gelen İyonlar | 125 |
| -28 Aglikon - IR Spektrumu | 126 |
| -29 Krizoeriyol - IR Spektrumu | 126 |
| -30 Krizoeriyol | 127 |
| -31 (F1) Flavonoziti | 130 |
| -32 (F2) Flavonoziti | 132 |
| -33 Linearol-Foliol, Asetillinearol Dönüşümü | 135 |

Tablolar

| | |
|--|----|
| Tablo- 1 Flavonoitler - Sınıflandırma ve Özellikleri | 17 |
| - 2 Flavonoitler - Sınıflandırma ve Özellikleri | 18 |
| - 3 Flavonoitler - Sınıflandırma ve Özellikleri | 19 |
| - 4 Flavonoitler - Yapılarında Bulunan Oligoholozitler | 22 |
| - 5 Flavonoitler - İzolasyon Şeması | 27 |
| - 6 Flavonoitler - Kolon Kromatografisi | 30 |
| - 7 Flavonoitler - Kolon Kromatografisi | 31 |
| - 8 Flavonoitler - Kağıt Kromatografisi | 33 |
| - 9 Flavonoitler - İnce Tabaka Kromatografisi | 35 |
| -10 Flavonoitler - İnce Tabaka Kromatografisi | 36 |
| -11 Flavonoitler - Klasik Renk Reaksiyonları | 38 |

| | <u>Sayfa No</u> |
|---|-----------------|
| Tablo-12 Flavonoitler - Kromatografide Kullanılan Reaktifler | 39 |
| -13 Flavonoitler - Kromatografide Kullanılan Reaktifler | 40 |
| -14 Flavonoitler - Gün Işığı ve UV de Verdiği Renkler | 41 |
| -15 Flavonoitler - UV Spektrumu Bulguları | 45 |
| -16 Diterpenler - Sınıflandırma | 53 |
| -17 Diterpenler - Sınıflandırma | 54 |
| -18 Diterpenler - İnce Tabaka Kromatografisi | 55 |
| -19 Diterpenler - Kolon Kromatografisi | 56 |
| -20 Sideritis Türleri - (-)-İzokavren Sınıfı Diterpenler | 62 |
| -21 Sideritis Türleri - (-)-Kavran, Epoksikavran Sınıfı Diterpenler | 63 |
| -22 Sideritis Türleri - (-)-Kavren Sınıfı Diterpenler | 64 |
| -23 Sideritis Türleri - (-)-Kavren Sınıfı Diterpenler | 65 |
| -24 Sideritis Türleri - Staken Sınıfı Diterpenler | 67 |
| -25 Sideritis Türleri - Trakiloban ve Atisen Sınıfı Diterpenler | 68 |
| -26 Sideritis Türleri - Trisiklik Diterpenler | 69 |
| -27 Sideritis Türleri - Bisiklik Diterpenler | 70 |
| -28 Sideritis Türleri - Bisiklik Diterpenler | 71 |
| -29 Sideritis Türleri - Metoksiflavonlar | 75 |

| | <u>Sayfa No</u> |
|---|-----------------|
| Tablo-30 İdentifikasyon Yöntemleri - Steroller | 79 |
| -31 Araştırma Süresinde Kullanılan Adsorban ve Solvan Sistemleri | 83 |
| -32 S.congesta - İzolasyon Şeması | 86 |
| -33 Diterpen ve Metoksiflavon-İnce Tabaka Kromatografisi Yöntemleri | 87 |
| -34 Flavonozitler - İnce Tabaka ve Kağıt Kromatografisi Yöntemleri | 93 |
| -35 Flavonozitler - Ön Denemelerde Kullanılan Kromatografik Yöntemler | 94 |
| -36 Aglikon - İnce Tabaka ve Kağıt Kromatografisi Yöntemleri | 100 |
| -37 Ozlar - Kağıt ve İnce Tabaka Kromatografisi Yöntemleri | 103 |
| -38 Metil Ozlar - İnce Tabaka Kromatografisi | 106 |
| -39 (D1) Diterpenin Tanımı - Kromatografik Yöntemler | 111 |
| -40 Linearol, Asetillinearol, Foliol - Rf Değerleri (İTK) | 114 |
| -41 Metoksiflavonun Tanımı - Kromatografik Yöntemler | 115 |
| -42 Metoksiflavonun Tanımı - UV Spektrumu Bulguları | 116 |
| -43 Aglikonun Tanımı - Kromatografik Yöntemler | 122 |
| -44 Aglikonun Tanımı - UV Spektrumu Bulguları | 123 |
| -45 Krizoeriyol, Luteolin -Rf Değerleri | 127 |
| -46 (F1) Flavonozitinin Tanımı - Kromatografik Yöntemler | 128 |
| -47 Permetil Ozlar - R _G Değerleri | 129 |

| | <u>Sayfa No</u> |
|--|-----------------|
| Tablo-48 (F1) Flavonozitinin Tanımı - UV Spektrumu | 129 |
| Bulguları | |
| -49 (F2) Flavonozitinin Tanımı - Kromatografik | 131 |
| Yöntemler | |
| -50 (F2) Flavonozitinin Tanımı - UV Spektrumu | 131 |
| Bulguları | |
| -51 Metoksiflavon Bulunan Sideritis Türleri | 136 |

H A Y A T H İ K A Y E S İ

1949 yılında Ankara'da doğdum. İlk ve orta öğrenimimi aynı şehirde tamamladım. 1967 yılında Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesine girdim. 1972 yılında, yüksek lisans derecesi ile mezun oldum. 1973 yılında Farmakoloji Bilim Dalına asistan olarak girdim. Halen aynı görevde çalışmaktayım.