

29383

YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Marrubium vulgare L. BİTKİSİNİN
KİMYASAL YAPISININ İNCELENMESİ

ŞİRİN PAKSOY

F.B.E. Kimya Anabilim Dalında Hazırlanan
DOKTORA TEZİ

YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ

İSTANBUL 1993

Bu çalışmayı yapmamda, bitirmemde bana bilgileriyle ve manen destek olan tüm saygıdeğer hocalarıma, meslektaş, arkadaş ve yakınlarıma sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

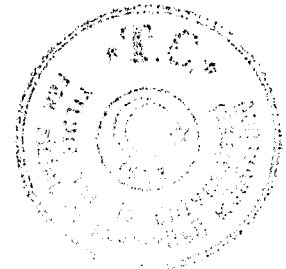
İÇİNDEKİLER

ÖZET

ABSTRACT

1.	GİRİŞ VE ÇALIŞMANIN AMACI	1
2.	TEORİK BÖLÜM	3
2.1.	Bitkinin Tanımı ve Yayılışı	3
2.1.1.	Labiata Familyası	3
2.1.2.	Marrubium L.Cinsi	4
2.1.3.	Marrubium vulgare L. = Horehound	5
2.2.	Genel Bilgiler	6
2.2.1.	Terpenoidler	6
2.2.1.1.	Yapıları ve Dağılımları	6
2.2.1.2.	Bitkiden Elde Edilmeleri	8
2.2.1.3.	Tanınmaları	9
2.2.1.3.1.	Renk Reaksiyonları	9
2.2.1.3.2.	Spektroskopik Yöntemler	9
2.2.2.	Steroidler	11
2.2.2.1.	Yapıları ve Dağılımları	11
2.2.2.2.	Bitkiden Elde Edilmeleri	14
2.2.2.3.	Tanınmaları	14
2.2.2.3.1.	Renk Reaksiyonları	14
2.2.2.3.2.	Spektroskopik Yöntemler	15

2.2.3.	Flavonoid Bileşikler	17
2.2.3.1.	Yapıları ve Dağılımları	17
2.2.3.2.	Bitkiden Elde Edilmeleri	20
2.2.3.3.	Tanınmaları	22
2.2.3.3.1.	Renk Reaksiyonları	22
2.2.3.3.2.	Spektroskopik Yöntemler	25
2.2.4.	Kumarinler	36
2.2.4.1.	Yapıları ve Dağılımları	36
2.2.4.2.	Bitkiden Elde Edilmeleri	37
2.2.4.3.	Tanınmaları	38
2.2.4.3.1.	Renk Reaksiyonları	38
2.2.4.3.2.	Spektroskopik Yöntemler	38
2.3.	LABİATE FAMILİYASI, MARRUBİUM	39
	TÜRLERİ İLE YAPILMIŞ ÇALIŞMALAR	
3.	DENEYSEL BÖLÜM	49
3.1.	Genel Yöntemler	49
3.1.1.	Kromatografik Yöntemler	49
3.1.1.1.	Kolon Kromatografisi	49
3.1.1.2.	İnce Tabaka Kromatografisi	51
3.1.2.	Spektrofotometrik Yöntemler	51
3.1.3.	Belirteçler	52
3.2.	Yapılan İşlemler	55
3.2.1.	Bitkinin Tüketilmesi	55
3.2.2.	Ekstrelerin Fraksiyonlandırılması	56
3.2.2.1.	Aseton Ekstresi	56



3.2.2.2.	Etanol Ekstresi	58
3.3.	Bu Çalışmada Elde Edilen Bileşikler	59
3.3.1.	MV ₁ Bileşiği = β -Sitosterol	59
3.3.2.	MV ₄ Bileşiği = Ursolik Asit	63
3.3.3.	MV ₂ Bileşiği = Premarrubiin	67
3.3.4.	MV ₃ Bileşiği = Siderin	73
3.3.5.	MV ₅ Bileşiği = 6, 7, 3', 4' - tetra- ... metoksi luteolin	79
3.3.6.	MV ₆ Bileşiği = 6,7,di metoksi luteolin .	82
3.3.7.	MV ₇ ve MV ₈ Bileşikleri = Apigenin- 7-O-glikozit Acacetin	85
4.	SONUÇ VE TARTIŞMA	87
KAYNAKLAR		89
ÖZGEÇMİŞ		



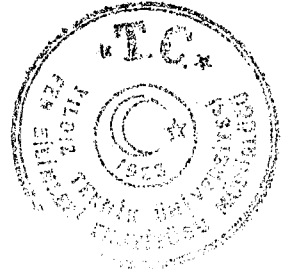
ÖZET

Marrubium Vulgare L. bitkisi kimyasal açıdan incelenmiştir.

Kurutulup, öğütülen bitki, aseton ve etanol ile ayrı ayrı maserasyon yoluyla ekstre edilmiştir. Aseton ekstresi yoğunlaştırılıp, silikajel kolonda, benzen, kloroform ve etanol ile elue edilmiştir. Bu fraksiyonlardan terpen ve steroid yapıda bileşikler izole edilip, (MV₁, MV₂, MV₃, MV₄) şeklinde tanımlanmıştır. Etanol ekstresi ise flavonoidal bileşikler bakımından zengin görülmüştür. Etanol ekstresi de polikar kolonda kloroform ve etanol ile fraksiyonlandırılmıştır. MV₅, MV₆, MV₇, MV₈ bileşikleri saptanmıştır.

Tüm fraksiyonlar silikajel plakalarda veya silikajel, sefadeks kolonlarda saflaştırılmıştır. İzole edilen maddelerin yapıları, UV, IR, H-NMR ve kütle spektrumlarından ; ayrıca standart örneklerle kıyaslanarak belirlenmiştir.

Sonuç olarak, *Marrubium vulgare L.* bitkisinden bir steroid, iki terpen, bir kumarin ve dört flavonoidal bileşik elde edilmiştir.



ABSTRACT

Marrubium vulgare L. plant was examined from chemical aspects. The plant was air dried, then separately extracted with acetone and ethanol by way of maceration. After increasing the density of the acetone extract it was eluted over silicagel adsorbent with benzene, chloroform and ethanol. From these fractions terpenoids and steroids were isolated and defined as MV₁, MV₂, MV₃, MV₄. The ethanol extract proved rich in flavonoids. The ethanol extract was eluted in a polyclar column and fractionated with chloroform and ethanol, solvents from which MV₅, MV₆, MV₇, MV₈ compounds yielded.

All fractions were purified on silicagel plates or silicagel, sephadex columns. The structure of the isolated substances were identified through UV, IR, ¹H-NMR and MASS-spectrums and additionally compared with standard samples.

As a result, one steroid, two terpenoids, one coumarin and four flavonoidal compounds were obtained from the *Marrubium vulgare* L. plant.



1. GİRİŞ ve ÇALIŞMANIN AMACI

Labiata familyasının dünyada 200 cins ve yaklaşık 3200 türü bilinirken, Türkiye' de 38 cins ve 400 'e yakın türü bulunur. (2-s.279). *Labiata* familyasının bazı türlerinin antidiabetik, antiseptik, spazm önleyici, kas gevşetici aktivite gösterdikleri bilinmektedir.

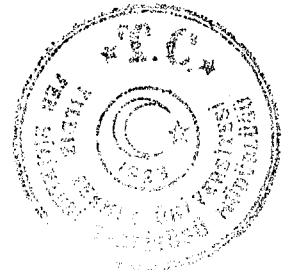
Labiata familyasında bulunan bitkiler; terpenik bileşikler, flavonoidler, uçucu yağlar ve az da olsa alkoloit yapıda bileşikler içerirler.

Marrubium türü, Avrasya ve kuzey Afrika 'da yaygın olan bitkilerdir. (1-s.168) Bu türle ilgili kimyasal araştırmalara literatürde rastlanmaktadır. Değişik türlerinden ana yapısı



diterpenlakton olan bileşikler izole edilmiştir. *Marrubium vulgare* L., den de diterpenlakton yapısında bir madde elde edilip, yapısı aydınlatılıp, marrubiin olarak adlandırılmıştır. Ayrıca durmuş bitkilerde bu maddenin bulunamayacağı da belirtilmiştir. (25)

İdrar arttırıcı, gaz söktürücü ve göğüs yumuşatıcı olarak kullanılan *Marrubium vulgare* L. bitkisi ile ülkemizde fazla çalışılmamıştır. Çalışmada, bitkinin terpen, flavonoid yapıdaki bileşiklerinin kimyasal olarak incelenmesi amaçlanmıştır.



2. TEORİK BÖLÜM

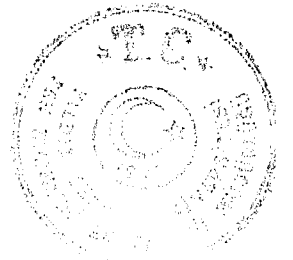
2.1. Bitkinin Tanımı ve Yayılışı

2.1.1. Labiatae Familyası

Labiatae , 200 cins ve 3200 türü olan önemli bir familyadır.

Türkiye 'de 38 cins ve 400 'e yakın türü yetişir. (2-s.279)

Akdeniz Bölgesi 'nde yaygın olan, uçucu yağ içeren , bir veya çok yıllık, otsu veya çalimsı bitkilerdir. Gövde, dört köşeli veya değildir. Yapraklar, basit veya parçalı, daima karşılıklı, dönüşümlü dizilişlidir. Çiçekler, braktelerin koltuğunda vertisiller halindedir ve genellikle erdişidir. Kaliks (çanak yaprağı) genellikle 5 loplu, üstü 3 dişli, altı 2 dişli, nadiren loplar veya dişler 1:1, 1:4 dir. Korolla (taç yaprağı) be-



lirgin olmayan 5 loplu, 2 dudaklıdır.Tohumlar 4, didinam 2 ' -
dir.Meyva, dört (nadiren daha az), kuru (çok ender etli) fın-
dıktan meydana gelir ; şizokarptır.(1-s.36)

Labiatae familyası bitkileri genellikle terpenoid bileşikler
yönünden zengindir.Ayrıca flavonoidleri ve uçucu yağları içe-
rirler.Bazı cinslerinde alkaloidlere de rastlanır.

2.1.2. *Marrubium* L. Cinsi

Tek veya çok yıllık otsu bitkiler.Yapraklar, dişli genellikle
tüylü , nadiren tabanda kalp şeklindedir. Verticilaster 'ler
çiçeksi yapraklar taşımakta ve her çiçek genellikle bir diş ,
iki iç brakte taşır.Çanak yapraklar ters konik, dar,10 damar-
lı, 5-10-30 dişli olup, tüpü dışdan yoğun, ağızda uzun ve yo-
ğun tüylüdür.Taç yaprakları, beyaz, sarımsı veya değişik mor
tonlarında ; dış kısmı tüylü, iki dudaklı ; üst dudak düz iki
parçalı;alt dudak üç parçalıdır.Erkek organlar taç yaprak tü-
pünün içinde, alttaki çift uzun olmak üzere dört tanedir.Fın-
dıksı meyvelerin yüzeyi düz, tepesi kesiktir.

Bitkinin çanak yaprakları dişlerinin sayısı ve şekli sınıf-
landırma için önemli bir özelliktir.

Marrubium türlerinin tüyleri çok sık ve karmaşıktır. Genelde
yıldız şeklinde, yan dallarda çok küçük, ortada çok uzundur.
Tüy tipini saptamak oldukça zordur.(1-s.165)



2.1.3. *Marrubium Vulgare* L. = (Horehound)

Marrubium Vulgare L. (Horehound) gövdesi 20-60 cm uzunluğunda, dik ,gri renkli, senelik otsu bir bitkidir. Yapraklar, petiolat, elipsden yuvarlağa kadar değişen şekillerdedir.

Yaprak yüzeyleri yıldız şeklindeki tüylerle kaplıdır. Alt yüzeyleri beyazımsı veya gri,üst yüzeyleri koyu yeşildir.Çiçekler,vertisiller halindedir.Oraktelos, kaliks tüpü boyunda veya biraz daha uzundur. Kaliks 3,5-4,5 mm boyunda üzeri yıldız şeklindeki tüylerle kaplıdır. Korolla beyaz veya krem rengindedir ve kaliks gibi üzeri yıldız şeklindeki tüylerle kaplıdır.Meyveler yaklaşık 2 mm büyüklüğünde, gri - kahverengindedir.(1-s.168)

Avrasya ve kuzey Afrika 'da yetişen bu bitki,Türkiye 'de Marmara Bölgesi 'nin güneyinde,Ege Bölgesi 'nde, İç Anadolu 'nun batısında, Akdeniz Bölgesi 'nde yaygındır. (1-s.168)

Marrubium Vulgare L. (Horehound) halk arasında Boz otu,İt-sineği, Köpek otu, kukas otu gibi değişik isimlerde tanınmaktadır. Çiçekli dalları, idrar artırıcı, gaz söktürücü ve göğüs yumuşatıcı olarak kullanılmaktadır.(3-s.420)

Marrubium L. türleri genel olarak, eterik yağ, terpen-glikozidler (Marrubiin %0,3-1) ve steroidleri içerirler. Bitkinin kendisinin veya hazırlanan drogların toksit etkisi yoktur.(4-s.118)



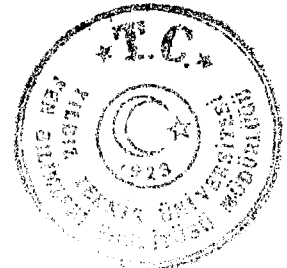
2.2. Genel Bilgiler

2.2.1. Terpenoidler

2.2.1.1. Yapıları ve Dağılımları

Terpenoidler, bitkilerde yaygın olan, 2-8 izopren biriminden meydana gelen bileşikleridir. Bu nedenle yapılarında izopren " $\text{CH}_2 - \text{C}(\text{CH}_3) - \text{CH} - \text{CH}_2$ " birimi bulunan bileşiklere izoprene benzeyen anlamına gelen "izoprenoid" veya "Terpenoid" denir.

Terpenoidlerin çoğu bitki dokularında serbest olarak bulunurlar. Bazıları, glikozid veya organik asit esterleri halinde-



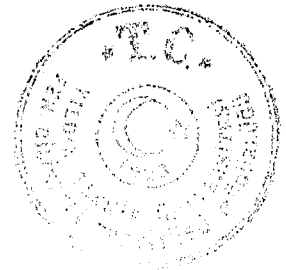
dirler.Ayrıca klorofil, protein gibi primer metabolitlerde de birleşmiş olarak bulunabilirler.(5-s.234) Tabiatda çok yaygın olan eterik yağların yapı taşı terpenhidrokarbonlardır.

L.Ruzicka (1920) tarafından önerilen "izopren kuralı" na göre C5- biriminin iki veya daha fazlasının birleşmesinden oluşmuş olan doğal maddeler terpenoidtirler. Terpenoidlerin ana iskeleti, beş karbonlu izopren molekülü olduğundan,izopren birimlerinin sayısına göre sınıflandırılırlar.

	C- Sayısı	Izopren- Sayısı
Monoterpenler	10	2
Seskiterpenler	15	3
Diterpenler	20	4
Sesterpenler	25	5
Triterpenler	30	6
Tetraterpenler	40	8

Beş ve yedi izopren birimi içeren terpenler bilinmemektedir.
(6-s.1538)

Diterpenler, dört izopren biriminden oluşmuş, yirmi karbon atomu içeren yapılardır.Doğa da bulunan en önemli diterpenler, Phytol, Vitamin A ve Abietin asittir. Phytol, zincir şeklinde bir alkol olup, ester olarak klorofilin yapısında bulunur. A- vitamini , monosiklik doymamış bir alkoldür. Abietik asit ise trisiklik monokarboksilli bir asittir.(7-s.750)



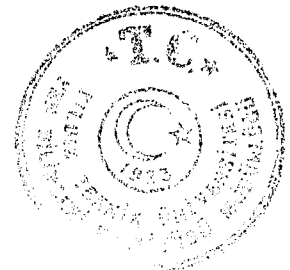
Triterpenler, altı izopren biriminden oluşmuş , otuz karbonlu halkalı bileşiklerdir.Bitkilerde serbest veya bağlı halde bulunurlar. Serbest triterpenler, asit, alkol, aldehit, keton, epoksi ve lakton gruplarından biri veya birkaçını bir arada taşıyabilirler. Sübstitüent taşımayanlara triterpenik hidrokarbon denir. Glikozid halindeki triterpenler, triterpenik asitlerin esterleri,başlıca bağlı triterpenoidlerdir.(44-s.32)

2.2.1.2. Bitkiden Elde Edilmeleri

Bitkinin kurutulan ve toz edilen kısımları, değişik polorite-deki çözücülerle ekstre edilir. Terpenik bileşiklerin çoğu, polar olmayan çözücülerde çözünürler. Ancak terpenin yapsında çok sayıda hidroksil , karboksil gruplarının bulunması veya glikozid yapsında olması halinde etil asetat,alkol gibi polar çözücüler kullanılır.

Elde edilen ekstreler kromatografik yöntemlerle saflaştırılır.Kromatografik yöntem olarak da kolon veya preparatif ince tabaka kromatografisi kullanılır. Adsorban olarak silikajel , daha az olarak da alüminyum oksid, magnezyum silikat kullanılır.

Gaz kromatografisi,uçucu olan veya uçucu bileşiklerine dönüştürülebilen terpenlerin ayrılma ve tanınmasında kullanılır.



2.2.1.3. Tanınmaları

2.2.1.3.1. Renk Reaksiyonları

Diterpenlerin tanınmaları için özel bir renk reaksiyonu yoktur. İnce tabaka kromatografisi ile plakalarda tanımlamak için diğer terpenik yapılarda kullanılan (derişik H_2SO_4 , serik sül-fat, antimon III klorür gibi) belirteçler kullanılır.

Triterpenlerin tanınmasında kullanılan en önemli reaksiyon Liebermann-Burchard renk reaksiyonudur. Mavi-yeşil-mor renk değişimi triterpen varlığını gösterir.

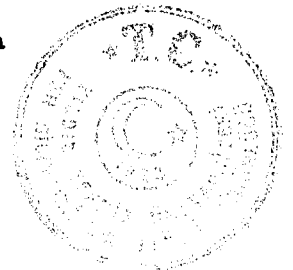
2.2.1.3.2. Spektroskopik Yöntemler

Konjuge çifte bağ veya kromofor grup içeren diterpenler için UV spektrumları yapı analizinde önemlidir.

IR Spektrumu , fonksiyonel gruplar ve aromatik yapı dışında fazla bilgi vermez.

Diterpen bileşiklerinin yapısı hakkında en fazla bilgiyi NMR-spektrumu verir. 1H -NMR spektrumunda metilen zarfı oldukça küçüktür. Ayrıca metil gruplarının iskeletteki durumları, fonksiyonel grupların yeri ve konumları bu yöntemle saptanabilir.

Diterpenlerin kütle spektrumları, bileşiğin taşıdığı iskelete, sübstituentlere , fonksiyonel gruplarının yer ve durumlarına göre karakteristiktir.



Triterpenlerin çoğunda konjuge çifte bağ ve oksokrom gruplar bulunmadığından, UV spektrumu yapı analizinde fazla yararlı olmaz.

IR spektrumu, yapıdaki fonksiyonel gruplar hakkında bilgi verir.

^1H -NMR spektrumu, triterpenlerin yapı tayininde oldukça önemlidir. Karakteristik metilen zarfları ve metil pikleri yapı iskeleti hakkında bilgi verir. (44-s.596)

Kütle spektrumunda, iskelet üzerindeki çifte bağın yeri değişik parçalanmalara neden olur. Ayrıca bileşikteki asit, alkol ve hidroksil gibi çeşitli gruplara göre de değişik parçalanmalar olmaktadır.

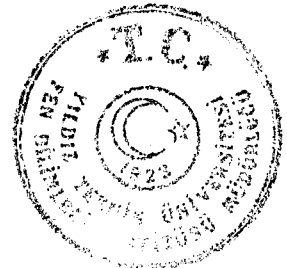
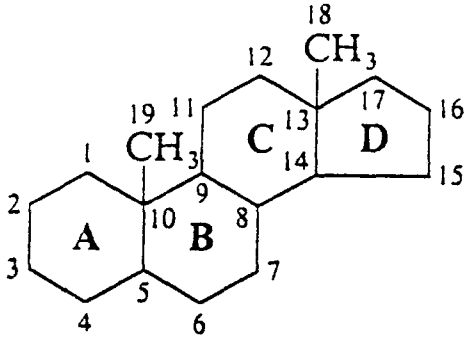


2.2.2. Steroidler

2.2.2.1. Yapıları ve Dağılımları

Steroidler, hayvanlarda ve bitkilerde yaygın olarak bulunan bileşiklerdir. Steroidler, mide ve safra asitleri, cinsiyet ve adrenal korteks hormonları, D-vitamini gibi hayati fonksiyonlar üzerinde etkili maddeler, önemli steroidlerdir. (8-s.517)

Steroidler , siklopentanoperhidrofenantren halka sistemi içerirler. Halkalar A, B, C, D harfleriyle belirtilir ve karbon atomları aşağıdaki gibi numaralandırılır.



Steroller

Steroller , bitkisel ve hayvansal yağların sabunlaşmayan kısmından izole edilebilen kristal yapıda tetrasiklik sekonder alkollerdir.(6-s.1600)

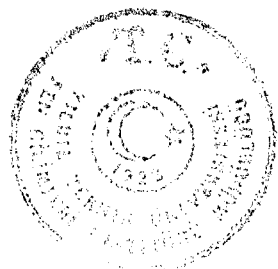
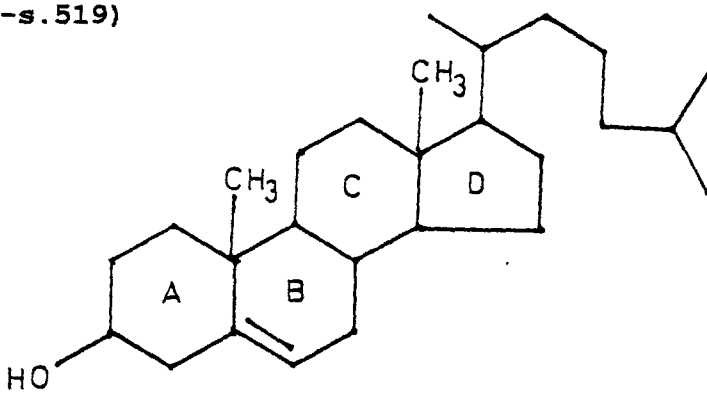
Bitkisel sterollerin yapısında, C-3 'de bir hidroksil grubu, C-5 'de bir çifte bağ vardır.C-17 'den de bir yan zincir bağlanmıştır.Bazı sterollerin yan zincirindeki C-22 'de veya C-24'de doymamışlık gözlenir.Bir kısmında ise C-24 'e metil veya etil grupları sübsititüedir.

Doğada steroller,serbest, ester veya glikozitleri halinde bulunurlar.Bitkilerde sterolin olarak adlandırılan glikozidleri halindedirler.

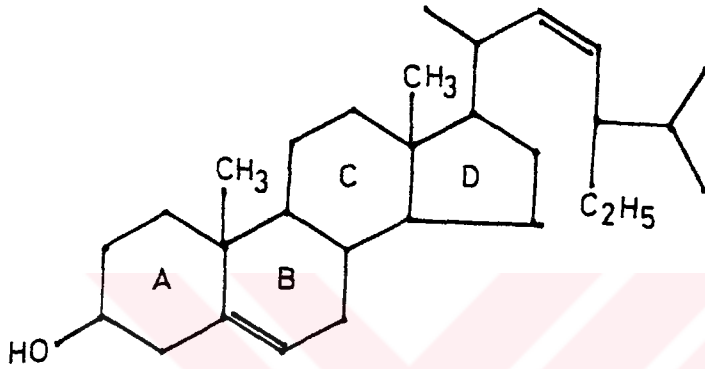
Steroller bulundukları kaynaklara göre sınıflandırılabilirler. (9)

- 1. Zoo-steroller
- 2. Fito-steroller
- 3. Miko-steroller

Hayvansal kaynaklı en önemli sterol, kolesterol ($C_{27}H_{45}-OH$) dir. (8-s.519)



Sitosterol, stigmasterol ve kampesterol yaygın olan fibro-sterollerdir. Bunlar bitkilerde serbest veya glikozitleri halinde bulunurlar. Stigmasterol ($C_{29}H_{47}OH$), kolesterolden yalnızca yan zinciri ile ayrılır. (9-s.557)



Bitki ve deniz organizmalarında yaygın olan β -sitosterol ($C_{29}H_{49}OH$), suda pek çözünmeyen beyaz renkli, tatsız, koksuz bir tozdur.

Steroidler, sterokimyasal değişiklikler gösterirler. Tabiatta bulunan steroidlerde A ve B halkaları cis- ve trans-, B ve C halkaları daima trans-, C ve D halkaları da genellikle trans-, bazende cis- durumundadır. C-10 ve C-13 angular metil grupları C-8 hidrojen atomu ve C-17 'ye bağlı R-yan zinciri cis- durumundadır. Bu gruplar genellikle β -konfigürasyonundadır.

(9-s.555)



2.2.2.2. Bitkiden Elde Edilmeleri

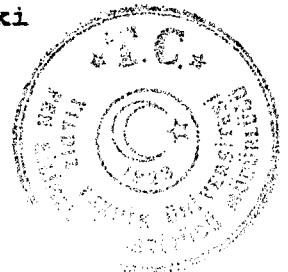
Bitki kurutulup, öğütüldükten sonra, değişik polaritedeki çözücülerle ekstre edilir. Steroller için genellikle polar olmayan çözücüler kullanılır. Ancak steroid molekülünün hidroksil, karboksil gibi gruplar içermesi veya glikozid yapıda olması durumunda alkol , etilasetat gibi daha polar çözücüler kullanılır.

Steroid ekstrelerinin ayrılma ve saflaştırma işlemleri kolon ve preparatif ince tabaka kromatografisi ile yapılır. Adsorban olarak en çok silikajel, daha az olarak da alüminyum oksit, magnezyum silikat, kieseler veya selüloz kullanılır. Bu adsorbanlardan, madde, sırasıyla petroleterleri , karbontefraklorür, benzen, kloroform, dietileter, etil asetat, aseton, etanol, metanol çözücülerini tek veya değişik oranlardaki karışımları ile elde edilir. (39-s.316)

2.2.2.3. Tanınmaları

2.2.2.3.1. Renk Reaksiyonları

Steroller, tanınma ve kantitatif analiz için yararlanılabilen, ancak teşhis için yeterli olmayan bir çok renk reaksiyonu verirler. En çok uygulanan renk reaksiyonları olarak Salowski



Reaksiyonu, Liebermann-Burchard Reaksiyonu ve Roserheim testi sayılabilir.

C. Liebermann ve H.Burchard (1889) incelemeleri sonucunda doymuş ve doymamış steroidleri renk reaksiyonu ile ayırdedebilmişlerdir. Bu reaksiyona göre, kloroformda çözülen sterol numunesine , taze hazırlanmış derişik sülfat asidi asetanhidridi karışımından damlatılır. Reaksiyon yavaş yürüdüğünden , renk maksimum derinliğini ancak yarım saat sonra alır.

(6-s.1601)

2.2.2.3.2. Spektroskopik Yöntemler

Steroidlerin yapılarının saptanmasında spektroskopik yöntemler önemlidir.

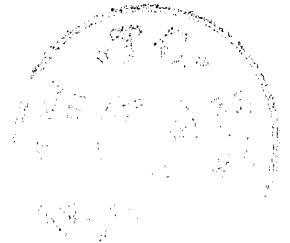
Steroidlerin tanınmasında UV spektrumundan fazla yararlanılmaz. 3-OH 'dan ötürü 200 nm 'nin altında bir maksimum verirler. Genellikle çifte bağlar izole durumda olduğundan 200-210 nm arasında bir absorbsiyon piki verirler.

IR spektrumu , bileşiğin fonksiyonel gruplarının saptanması açısından önemlidir.Parmak izi bölgesi steroidler için karakteristik ve oldukça karışıktır. 3350-3550 cm⁻¹ arasında serbest veya hidrojen bağı yapan hidroksil grupları, 1640-1650 cm⁻¹ de çift bağlar izlenebilir.



^1H -NMR spektrumunda metil bantları 0,5-2,5 ppm arasında görölür. Steroidlerde metilen pikleri çok karmaşık ve yaygındır ; bir metilen zarfı söz konusudur. Triterpenlerden bu metilen zarfı ile ayırdedilirler.

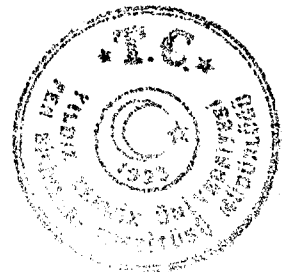
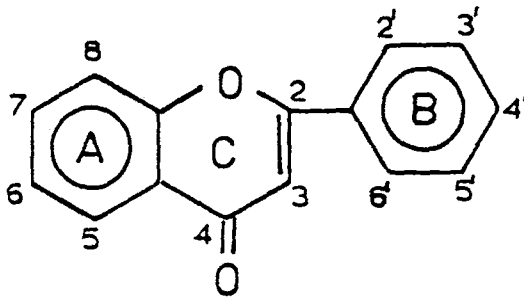
Kütlespektroskopisi, steroidlerin yapı tayini için çok yararlıdır. Steroidler genellikle bu yöntemle , molekül ağırlığını ve molekül formülünü tayin etmeye yarayan moleküler iyon verirler. Bileşikte bulunan asit, alkol, hidroksil gibi çeşitli gruplara göre değişik parçalanmalar olur ve bu parçalanmalara göre bileşiğin yapısı hakkında fikir edinilir. (8-s.529)



2.2.3. Flavonoid Bileşikler

2.2.3.1. Yapıları ve Dağılımları

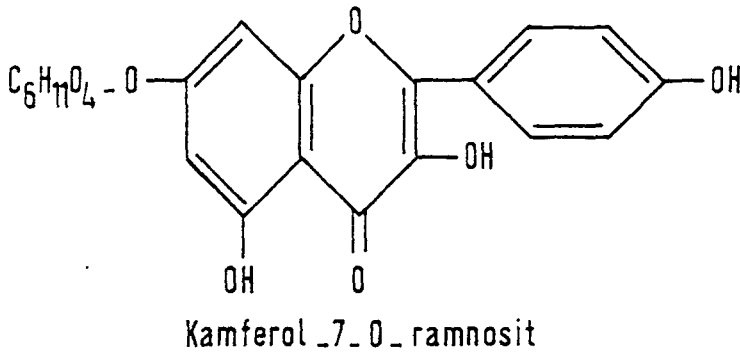
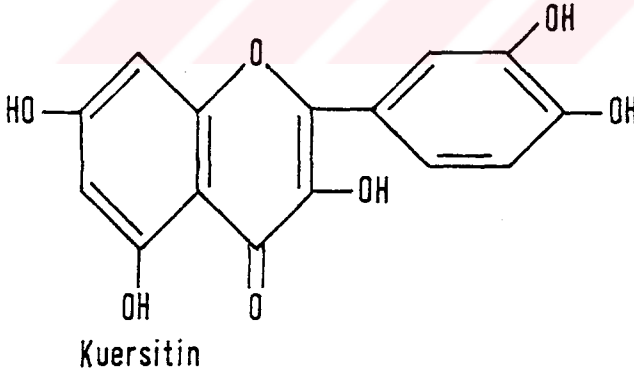
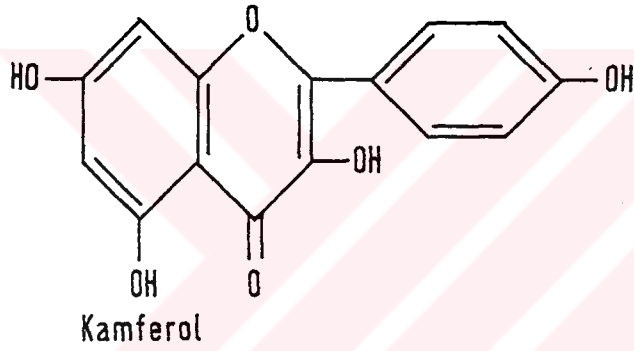
Flavonoidler, yosunların büyük bir kısmı ve bakteriler hariç, bitkilerde yaygın bulunan bileşiklerdir. Flavonlar, fenilbenzopiron iskeleti içerirler.



Flavonun -piron halkasının C-3 üzerindeki hidrojen bir hidroksil grubu ile süstitüe olduğuunda flavonol (3-hidroksiflavon) meydana gelir.

Flavonlar tabiatla hidroksil grupları serbest,metil eteri veya glikozidleri halinde bulunurlar. Şeker grubu genellikle 3- veya 7- durumuna bağlanmıştır.

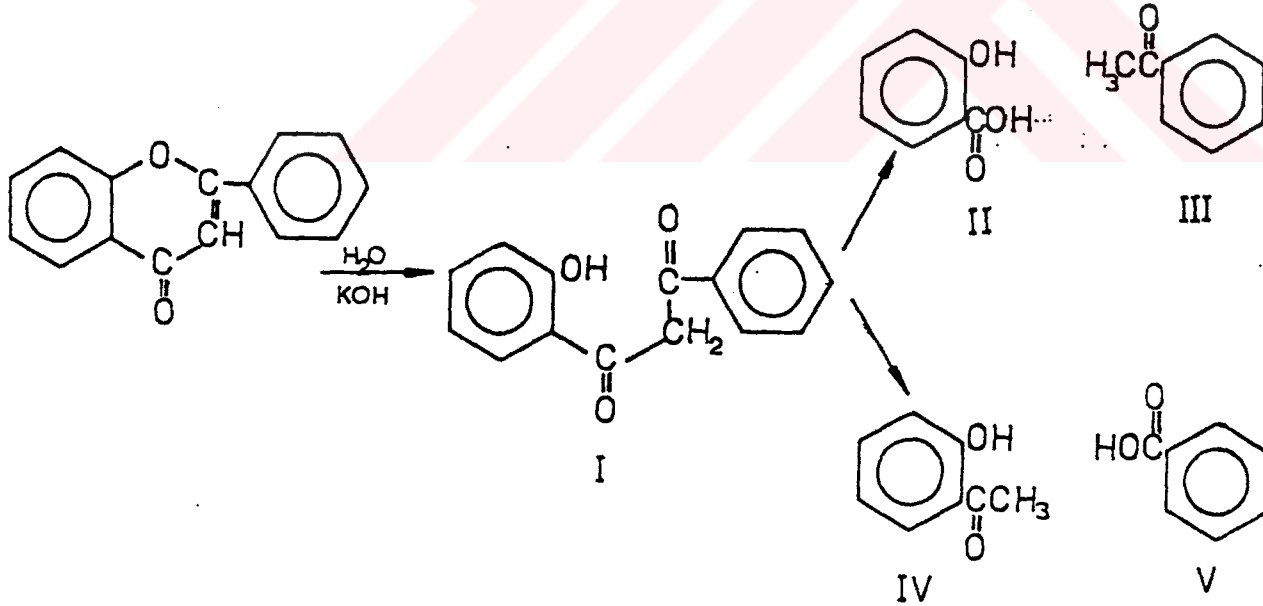
5,7,4' -trihidroksiflavon (apigenin), 5, 7, 3', 4'-tetrahidroksiflavon (luteolin) , 3, 5, 7, 3', 4'-pentahidroksiflavon (kuersitin) en önemli flavonollerdir. Yaygın olan glikosid de kamferol 7-O-ramnosiddir.



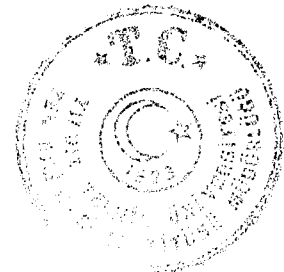
Flavonlar genel olarak sarı renkli , erime noktaları yüksek , kristal yapıda maddelerdir.Suda, alkolde, seyreltik asitlerde ve bazlarda çözünürler.Asitlerdeki çözünürlük, -piron halkasındaki oksijen atomundan ileri gelir ve oksonyum tuzları oluşur. Flavonların oksonyum tuzları çoğunlukla suda kararsızdır.Bu özellikleriyle de antosiyanidinlerden ayrılırlar.Antosiyanidinler, kararlı oksonyum tuzları halinde bitkilerde bulunurlar.

Flavonlar , bazlarda kaynatılınca fenol ve aside bozunurlar.

(Şekil 1) de görüldüğü gibi önce O-hidroksidibenzoilmetan-(I) sonra salisilik asit(II) ile asetofenon(III) ve O-hidroksiasetofenon(IV) ile benzoik asit(V) meydana gelir.



Şekil 1 = Flavonların Bozunma Ürünleri



Flavon molekülünde A ve B halkaları , aromatik halkalar gibi reaksiyona girerler. Özellikle, hidroksiflavonlar ve bunların eterleri , sübstitüsyon reaksiyonlarında fenoller ya da eterleri gibi davranırlar.Bu özelliklerinden yararlanarak , değişik reaksiyonlarla (nitrolama, bromlandırma gibi) özellikle hidroksiflavonların türevleri elde edilmiş ve yapıları aydınlatılmıştır. 5- veya 7- hidroksi grubu, sübstitüentleri 8-pozisyonuna yöneltir.

Piron halkası,bir karbonil grubu içermesine rağmen flavonlar, karbonil reaktifleriyle reaksiyon vermezler. Grignard reaktifleri yine de karbonil grubu ile reaksiyon verir ve yalnızca susuz pirilyum tuzları izole edilebilir.

Flavonlarda bulunan çifte bağ ve karbonil grubu, hidrojen atomunun farklı yollarla katılabileceği konjuge bir sistem oluşturmuştur.

2.2.3.2. Bitkiden Elde Edilmeleri

Kurutulup, öğütülen bitki , maserosyon veya sokslet cihazında ekstre edilir. Ekstraksiyonda kullanılacak çözücüler, non polardan polara doğru seçilir. Isoflavonlar, dihidroflavonlar, flavononlar ve metoksiflavonlar için benzen , kloroform, dieteriler gibi çözücüler kullanılır.Flavonoid glikozidleri, flavoneller, auronlar gibi polar anglikonlar ise bitkiden aseton, etanol su veya bunların değişik oranlardaki karışımlarıyla ekstre edilir.



Flavonoidal bileşiklerin, ekstreden ayrılması ve saflaştırılması için kromatografik yöntemler uygulanır. Büyük miktarlarda flavon eldesi için kolon kromatografisi, küçük miktarlar için preparatif ince tabakadan yararlanılır.

Kolon kromatografisinde silikajel , sellüloz, poliamid, sefadeks en çok, kieselgur, magnezyumsilikat, alüminyum oksit daha az kullanılan adsorbanlardır.

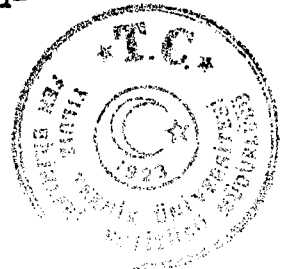
Silikajel, isoflavon, flavonon, dihidroflavonol gibi nonpolar flavonoid anglikonların ayrılmasında kullanılır.Çözücü sistemi ise, polarite artacak şekilde ayarlanır.

Sellüloz,bütün flavonoid ve glikozidlerinin ayrılması için iyi bir adsorbandır. Sellüloz kolon için en yaygın çözücüler , sulu alkol ve asit karışımlarıdır.

Poliamid de tüm flavonoid türlerinin kromatografik ayrılmasını sağlayan adsorbandır. Bu adsorbanın yapısındaki amid ve karbonil grupları, fenolik hidroksil gruplarıyla güçlü hidrojen bağları yaparak ayrılmayı sağlarlar. Uygun çözücü sistemi de değişik oranlardaki metanol-su karışımlarıdır.

Sefadeks , hidroksi propillenmiş dekstran yapısında , molekül büyüklüğüne göre ayrılmayı sağlayan bir adsorbandır. Sefadeks kolonda çözücü olarak genellikle metanol kullanılır.

Flavonoidlerin ince tabaka kromatografisi ile preparatif ayırımında, silikajel,sellüloz ve poliamid en çok kullanılan adsorbanlardır.



Bu yöntemlerden başka kağıt kromatografisi , uçucu türevleri haline getirilmiş flavonoidler için gaz-likid kromatografisi veya yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) kullanılmaktadır. (10-s.3-38)

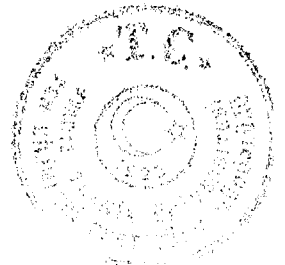
2.2.3.3. Tanınmaları

2.2.3.3.1. Renk Reaksiyonları

Flavonoidler renkli maddeler olduklarından UV ışııkda flourensans verme özelliğı gösterirler.Ayrıca fenolik yapıları nedeniyle de NH_3 ve diğler bazlarla renk değıştirirler.Bu özelliklerinden yararlanarak , flavonoidlerin ince tabaka ve kağıt kromatografisinde elde edilen kromatogramlardaki lekeler,önce UV (366 nm) ışıık altında incelenir.Daha sonra NH_3 buharlarına tutulup, NA (NaturstoffreagenzA) belirteci püskürtölerek,oluşan renk değışimi yine UV ışıık altında gözlenir.(Tablo 1)

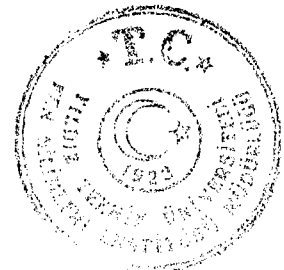
(11-s.13)

Flavonoidlerde hidrokşil grubunun bağılı olduğı yere göre , UV ışııkda, NH_3 ve NA -belirteciyle verdikleri renkler değışir.

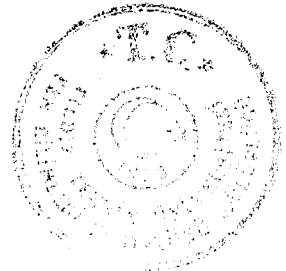


Tablo 1. Flavonoid Yapısı ve Renk Reaksiyonları İlişkileri

Flavonoid Spot Rengi		Flavonoid Tipi
UV	UV/NH3	
Koyu Mor	Sarı-sarı yeşil ya da kahverengi	(a) Genellikle 5-OH ve 4'-OH içeren flavonlar ya da 3-OH'ı sübstitüe olmuş, 5-OH ve 4'-OH içeren flavonoller. (b) 5-OH içeren flavonların bazıları ve B-halkasında hidroksil grupları içermeyen 4'-OH'a sahip kalonlar.
	Renk çok az değişir ya da hiç değişmez.	(a) 4'-OH'ı olmayan veya sübstitüe olan, 5-OH'a sahip flavon ya da flavonoller. (b) İzoflavonlar, dihidroflavonoller ve bazı 5-OH içeren flavonlar. (c) Serbest 2- ya da 4-OH içermeyen 2'- ya da 6'-OH'a sahip kalonlar.
	Hafif mavi	(a) 5-OH'a sahip flavonların bazıları.
	Kırmızı ya da turuncu	Serbest 2- ve/veya 4'-OH içeren kalonlar.



Flavonoid Spot Rengi	Flavonoid Tipi
UV	UV/NH3
Flouresans hafif mavi	Flouresans sarı- yeşil ya da flou- resans mavi-yeşil
	(a) Serbest 5-OH içermeyen flavonlar ve flavonon- lar
	(b) 3-OH'ı süstitüe olmuş, serbest 5-OH içermeyen flavonoller
	Renk çok az deği- şir ya da değişmez
	Serbest 5-OH içermeyen isoflavonlar
	Parlak flouresans, hafif mavi
	Serbest 5-OH içermeyen isoflavonlar
Görünmez	Flouresans hafif mavi
	Serbest 5-OH içermeyen isoflavonlar
Koyu sarı ve sarı ya da flouresans turuncu	Renk çok az değişir ya da değişmez
	Serbest 5-OH ile ya da 5-OH'ı olmayan, 3-OH'a sahip flavonoller.
Flouresans sarı, sarı-yeşil, mavi-yeşil ya da yeşil	Turuncu ya da kırmızı
	Serbest 4'-OH'ı içeren auronlar ve bazı 2-ya da 4-OH'a sahip kalkonlar
	Renk az değişir ya da değişmez.
	(a) Serbest 4-OH içermeyen auronlar ve serbest 5-OH içermeyen flavononlar
	(b) Serbest 5-OH ile ya da 5-OH'sız, serbest 3-OH'a sahip flavonoller
Soluk sarı	Hafif sarı-mor
	Serbest 5-OH içermeyen dihidroflavonoller.



C-5 de hidroksil grubu içeren flavonlar UV ışııkla mor renk verirler.5-, 4'- dihidroksi flavonlar NH₃ buharı ve NA-belirteciyle sarı,5-, 4'-, 3'-, trihidroksi flavonlar da NH₃ buharıyla sarı, NA-belirteciyle turuncu renk verirler.

5- de oksi, 5-O-glikozid veya 5-OCH₃ olduğunda UV ışıık altında parlak mavi, parlak yeşil renkte görünürler.

Flavonoller, (3-OH serbest ise) UV ışıık altında sarı renk vererek flavonlardan ayrılırlar. 3'-, 4-, hidroksi flavonoller NH₃ buharı ve NA-belirteciyle sarı, 3'-, 4'-, dihidroksi flavonoller ise NH₃ buharı ile sarı,NA-belirteciyle turuncu renk verirler.(11-s.13)

Ayrıca flavonoidler,sulu NaOH, derişik H₂SO₄, Mg/HCl ve Na-Hg (sonra asid) belirteçleriyle de renk reaksiyonu verirler. Bu reaksiyonlar bileşiiğın tipi ve sübstitüsyonları hakkında ön bilgi verir.(12-s.72)

2.2.3.3.2. Spektroskopik Yöntemler

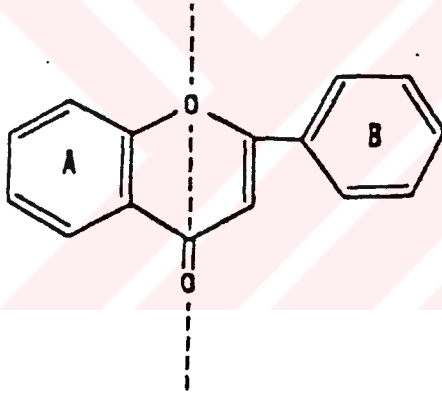
UV. Spektroskopisi

Flavonlar, konjuge aromatik sistem içerdiklerinden,UV-bölgede absorpsiyon bantları verirler. Flavonoidal bileşiklerin yapı tayininde UV spektroskopisi çok önemlidir.Bileşiiğın uygun bir



çözücüdeki (metanol) çözeltisinin spektrumu ve çözeltiye özel belirteçler ilavesiyle alınan çeşitli spektrumlarda gözlenen kaymalar , piklerin şiddeti ve şekilleri arasındaki farklar, flavonoidal bileşiğin ana iskeleti ve sübstitüentleri hakkında geniş bilgi verir.

Flavonoid bileşiklerin UV-spektrumlarında biri uzun , diğeri kısa dalga boyunda olmak üzere iki absorbsiyon bandı vardır. Uzun dalga boyundaki (300-400 nm) pik, flavonoidin B-halkası (sinnaoil) absorbsiyonu ile ilgili olup Bant I adını alır. Kısa dalga boyunda (240-285 nm) olanı da A-halkası (benzoil) absorbsiyonu ile ilgilidir ve Bant II adını alır.(10-s.46)



benzoil

sinnaoil

Flavonlarda hidroksil grubunun yeri ve sayısına göre absorbsiyon bantlarının dalga boyu değişir.



Metanol Spektrumu

Bant I, flavonlarda 304-350 nm, 3-hidroksiflavonolde 352-385 nm arasında gözlenir. 3-hidroksil grubu süstitüe flavonollerde (metilasyon veya glikolizasyon gibi) Bant I (328-357 nm), flavonların Bant I ile çakışabilir ve spektral eğri flavonlarınkine benzer. (11-s.44)

Flavon ve flavonollerde β -halkasına oksijen katılması, Bant I'ın batokromik kaymasına sebep olurken, Bant II de önemli bir değişiklik olmaz. 3'-, 4'- dihidroksi (ve nadiren 3'-, 4'-, 5'-) flavon ve flavonoller 250-275 nm arasında iki absorpsiyon pik (veya omuz içeren bir pik) verirler. Eğer oksijen katılması A-halkasındaysa Bant I zayıftır ve Bant II de batokromik kayma gözlenir. Halkaların her ikisinde de hidroksil grubunun olmaması, genellikle ilgili bantların şiddetlerinin zayıf olmasıyla belli olur.

Flavonoid çekirdeğindeki 3-, 5- ve 4'- hidroksil gruplarının metil veya glikozillenmesi, özellikle Bant I de hipsokromik kaymaya neden olur. 3-, 5- ve 4'- dışındaki hidroksil gruplarının süstitüsyonunun, metanoldeki U.V. spektrumu üzerine etkisi azdır yada yoktur. Isoflavonlarda, Bant II 245-270 nm ve Bant I omuzu 300-340 nm de ortaya çıkar. 6-, 7- dioksijenlenmiş isoflavonlar, oldukça şiddetli Bant I absorpsiyonu gösterirler.

Kalkon ve auronlarda Bant I, ana absorpsiyon bandı olarak gözlenir. Bant I, kalkonlarda 340-390 nm, auronlarda 370-420 nm arasındadır. (10-s.48-51, 11-s.44)



Sodyum Metoksid Spektrumu

Sodyum metoksid, kuvvetli bir baz olduğundan flavonoid çekirdeği üzerindeki bütün hidroksil gruplarını iyonize eder. Sodyum metoksid spektrumu ile flavon ve flavonollerdeki 3- veya 4'- hidroksil grupları saptanır.

Flavon ve flavonollerdeki serbest 4'- hidroksil grubu varlığında Bant I de, şiddet azalmaksızın 40-60 nm 'lik bir batokromik kayma görülür. Serbest 4'-hidroksil grubu içermeyen , ancak serbest 3-hidroksil grubu içerenlerde Bant I de şiddet azalmasıyla birlikte 50-60 nm 'lik batokromik kayma gözlenir.

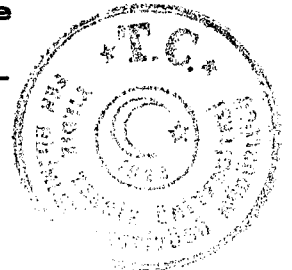
7- durumunda serbest hidroksil içeren flavon ve flavonollerde Bant II de 5-20 nm 'lik batokromik kayma olur.

3-, 4'- dihidroksi, 5-, 6-, 7- ; 5-, 7-, 8- ve 3'-, 4'-, 5'-, trihidroksi flavonoller,bozunma nedeniyle şiddeti gittikçe azalan bant verirler. (10-s.56)

Aluminyum Klorür ve

Aluminyum Klorür / Hidroklorik Asid Spektrumu

C-3 ve C-5 de hidroksil grubu içeren flavon ve flavonoller asit varlığında $AlCl_3$ ile stabil kompleksler oluştururlar. $AlCl_3$ ile A ve B halkalarındaki ortohidroksi grupları arasında meydana gelen kompleksler -birkaçı hariç- asit ilavesiyle bozunurlar. Bunun tersine C-4 keto fonksiyonu ve 3- veya 5-



hidroksil gruplarından biriyle AlCl_3 arasındaki kompleksler asid varlığında da kararlıdırlar. (11-s.51)

Yapılan araştırmalar sonucunda flavonoid bileşiklerin AlCl_3 ile oluşturdıkları kompleksler , kararlılıklarına göre şöyle sıralandırılmıştır. (10-s.59)

3-hidroksi (flavonal) > 5-hidroksi (flavon) > 5-hidroksi (flavonon) > O-dihidroksi grupları > 3-hidroksi (dihidroflavonal)

Flavon ve flavonollerin AlCl_3/HCl spektrumlarında bandlarda genellikle batokromik kayma gözlenir. 5-hidroksi flavonların AlCl_3/HCl spektrumlarında Bant I de 35-55 nm, 3- veya 3- ve 5-hidroksi flavonların AlCl_3/HCl spektrumlarında aynı bantta 50-60 nm batokromik kayma gözlenir.

Flavon ve flavonollerde , B-halkasında O-dihidroksi grubunun varlığı, AlCl_3 ilavesiyle Bant I de 30-40 nm kadar batokromik kayma verirken , HCl ilavesi kompleksi bozar ve kayma tersine döner. 3'-, 4'-, O-hidroksi-metoksi sistemlerinde Bant I 10 nm kayar. A-halkasında O-dihidroksi grupları 20-25 nm kayma verirken, her iki halkada O-dihidroksi gruplarının bulunmasında bu değer öncekilere eklenir.

5-hidroksi grubu içeren isoflavonların AlCl_3/HCl spektrumlarında batokromik kayma Bant II de 10-14 nm, flavonon ve dihidroflavonollerde 20-26 nm kadardır. Yalnızca A-halkasında O-dihidroksi grupları (6-, 7- veya 7-, 8-) bulunduğunda AlCl_3 çözeltisinde Bant II de görülen kaymalar, AlCl_3/HCl çözeltisinde görülenden 11-30 nm daha fazladır.



2'-hidroksi grubu içeren kalkonlar ve 4-hidroksil grubu içeren auronlarda Bant I deki ($AlCl_3/HCl$ 'de) batokromik kayma sırayla 48-64 nm ve 66-70 nm kadardır.

Sodyum Asetat Spektrumu

Sodyum asetat, sodyum metoksitten daha zayıf bir baz olduğundan , yalnızca asidik (fenolik) hidroksil gruplarını iyonize eder.

7-hidroksi flavon ve flavonolde NaOAc ilavesiyle elde edilen spektrumlarda Bant II de 5-20 nm kadar batokromik kayma gözlenir. 6- ve 8- durumunda oksijenlenmiş sübstitüent içeren flavonlarda batokromik kayma çok küçüktür.

3- veya 7- hidroksil grupları serbest olmayan ve 4'-hidroksi grubu içeren flavon ve flavonoller, NaOAc varlığında , genellikle Bant I uzun dalga boyu tarafında belirgin bir omuz gösterirler. 7- hidroksi grubu serbest olan 4'-hidroksi flavon ve flavonoller de Bant I de kayma gözlenir.

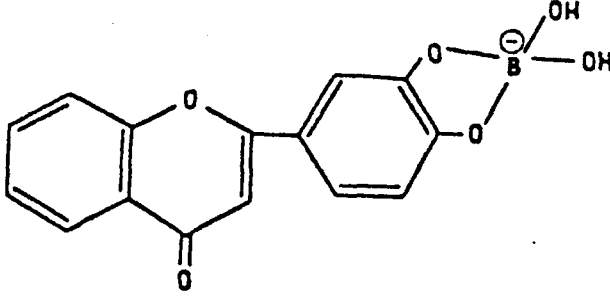
5-, 6-, 7- ; 5-, 7-, 8- ; 3-, 3'-, 4'- , trihidroksi sistemleri gibi bazlara duyarlı gruplar bulunduğunda NaOAc spektrumu kısa bir süre sonra bozunur.

7-hidroksi isoflavonlarda Bant II de 6-20 nm 'lik batokromik kayma; 5-, 7-, dihidroksiflavonon ve dihidroflavonollerde 35 nm; 5-deoksi-flavonon ve dihidroflavonoller de 60 nm 'lik kayma meydana gelir. (10-s.58)



Sodyum Asetat / Borik Asit Spektrumu

Borik asit, sodyum asetatlı ortamda, molekül deki O-dihidroksi grupları ile kompleks oluşturur.



B-halkasında O-dihidroksi grubu içeren flavon ve flavonollerde Bant I 12-30 nm kadar uzun dalga boyuna kayar. A-halkasında O-dihidroksi grupları bulunduğu anda kayma daha da artar.

Isoflavon, flavon ve dihidroflavonoller (yalnızca A-halkasında) Bant II de 10-15 nm kayma gözlenir. Bu kayma 5, 6- dihidroksi gruplarında yoktur.

¹H-NMR Spektrumu

¹H NMR Spektroskopisi, flavonoidlerin yapısal analizinde önemli bir metoddur. Bu metod, polar karakterde olan flavonoid bileşiklerinin çözünbileceği uygun çözücülerin saptanmasıyla yaygınlaşmıştır. Bugün flavonoid bileşiklerinin NMR-spektrumları, trimetilsilil eter türevleri (TMSi) halinde CCl₄, CDCl₃,



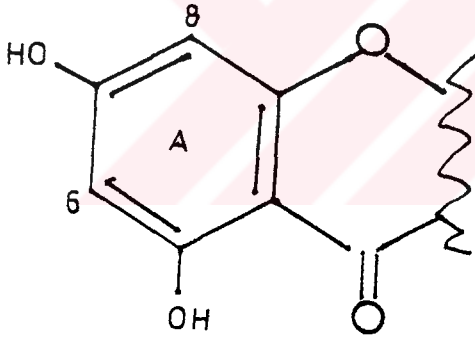
C_6D_6 , C_5D_5N veya bunların karışımları gibi polar olmayan çözücülerde alınmaktadır. (10-s.62)

İMSi türevi haline getirilen tüm flavonoid bileşikler NMR-spektrumunda 0-9 ppm arasında absorpsiyon yaparlar.

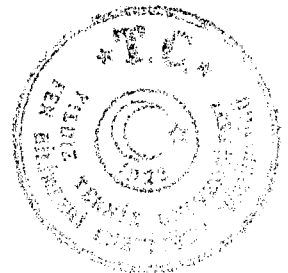
A-Halkası Protonları

5, 7 dihidroksi flavonlarda C6 ve C8 protonları 5,7 - 6,9 ppm arasında iki ayrı dublet ($J=2,5$ Hz) verirler.

C-6 protonuna ait dublet C-8 protonunun dubletinden daha yukarı alandadır. Ayrıca, 7-hidroksi grubunda glikozid varsa, her iki dublet daha aşağı alana kayar.

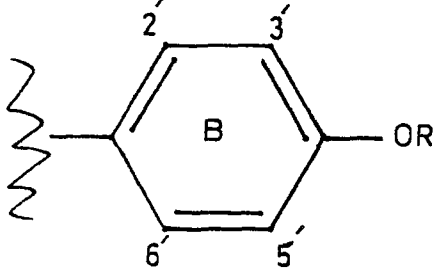


Yalnız 7-hidroksi grubu içeren flavonoid ise C-5 protonu, C-6'nın orto etkileşimi ve 4-keto grubunun negatif gölgeleme etkisi ile 8 ppm civarında bir dublet ($J=9$ Hz) verir. C-6 protonu, C-5 ve C-8 protonları ile etkileştiği için iki dublet ($J=9$ Hz, $J=2,5$ Hz), C-8 protonu ise bir dublet ($J=2,5$ Hz) olarak gözlenir. (10-s.63)



B-Halkası Protonları

4'-süstitüe flavonoidlerde, B-halkasının serbestçe dönebilmesine bağılı olarak C-2', C-3', C-5' ve C-6' protonları orto etkileşmesiyle 6,5 - 7,9 ppm arasında iki dublet ($J=8,5$ Hz) halinde görülür.



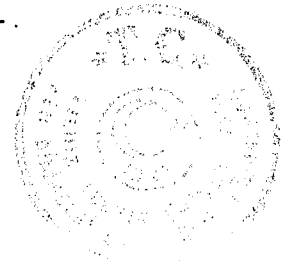
C-3' ve C-5' protonlarının dubleti , oksijen süstitüentinin perdeleme etkisi nedeniyle C-2' ve C-6' protonlarının dubletinden daha üst alanda görülür. (11-s.265)

C-3',C-4' disüstitüe flavonoidlerde C-5' protonu 6,7-7,1 ppm de bir dublet ($J=8,5$ Hz) verir. C-2' protonu bir dublet ($J=2,5$ Hz), C-6' protonu ise çift dublet ($J=2,5$ Hz, $J=8,5$ Hz) olarak gözlenir.

C-3',-4', -5' tri süstitüe flavonoidlerde C-2' ve 6' protonları eşdeğerdir ve 6,5 - 7,5 ppm de singlet verirler.

C-Halkası Protonları

Flavonlarda C-3 protonu 6,3 ppm civarında keskin bir singlet verir. Flavonollerde C-3 de serbest veya süstitüe hidroksil grubu bulunduğundan bu bant yoktur.



Şeker Protonları

Flavonoidlerde şekerler , ya doğrudan ya da oksijen üzerinden bağlanırlar. Flavonoid mono glikozidlerde şeker protonları 3-4 ppm de bir multipleret verirken,şekerin H1 protonu daha aşağı alanda (4,8 - 6 ppm) dublet olarak görülür.

H1 'in kimyasal kayma değeri şekerin, bağlanma yeri, cinsi ve stero kimyasal özellikleri hakkında bilgi verir. Örneğin ; H1 protonu, flavonol-3-O-glikosid de 5,7 - 6 ppm de; flavonol-3-O-ramnosid de 5,0 - 5,1 ppm de görülür. (11-s.268)

Şeker; β-bağı ile bağlanmışsa şekerin H1 ve H2 protonları,di-eksen etkileşmesinden dolayı $J=7$ Hz de bir dublet, _-bağı ile bağlanmışsa diekvatorial etkileşmeden dolayı $J = 2$ Hz den bir dublet verirler.

Birbirine bağlı iki şeker varsa,halkaya bağlı şekerin H1 protonu, aromatikliğin etkisiyle aşağı alana kayar.(5,1-5,9 ppm) İkinci şekerin H1 protonu daha alifatik karakter gösterdiğinden 4,65 ppm civarında multiplete benzer pik verir.

Kütle Spektrumu

Flavonoid aglikon ve glikozitlerinin yapı analizlerinde,kütle spektrumuyla önemli bilgiler sağlanır. Bu yöntem çok küçük (1 mg. dan az) miktarlarla çalışma olanağı verir.



Flavonoid aglikonlarının çoğu şiddetli moleküler iyon piki (M^+) verirler. Bu ana pike ek olarak, flavon aglikonları ($M-H$)⁺ ve ($M-CO$)⁺ piklerini verirler. Metoksi flavon olması halinde ($M-CH_3$)⁺ ve ($M-CO-CH_3$)⁺ pikleri gözlenir.

Flavonoidlerin tanınmasında, A ve B halkalarının koparılarak bir seri iyon oluşturulması, yararlı bir yöntemdir.

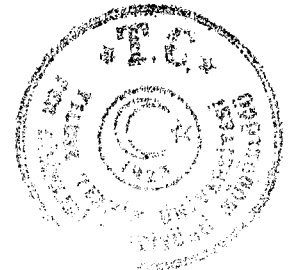
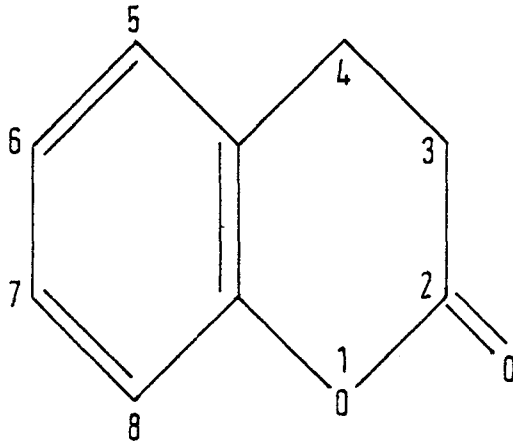
Kütle spektrumundaki moleküler iyon piki, A ve B halkası iyonlarının piklerine karşılık gelen kütle birimleri ve bu piklerin şiddetleri flavonoid bileşiğin yapısı hakkında bilgi verir. (10-s.82)



2.2.4. Kumarinler

2.2.4.1. Yapıları ve Dağılımları

Kumarinler benzo-~~s~~-piron yapısında bileşiklerdir. Doğal kaynaklı kumarinler C-7 de oksijen atomu içerirler. H.von Pechmann ve C.Duisberg tarafından hidroksil içeren kumarin sentezleri geliştirilmiştir. (6-s.1466)



Yapısal özelliklerine göre kumarinler 4 gruba ayrılabilir.

1. Benzen halkasında sübstitüent taşıyan kumarinler.
2. Furano kumarinler.
3. Pirano kumarinler.
4. Piron halkasında sübstitüent taşıyan kumarinler.

Bu gruplardan furano ve pirano kumarinler lineer veya angüler yapı gösterebilirler.

2.2.4.2. Bitkiden Elde Edilmeleri

Kumarinler, bitkide serbest veya glikozidleri halinde bulunurlar. Serbest kumarinler, bitkiden petroleteri, benzen, kloroform veya eter ile tüketilir. Glikozidleri ise, metanol, etanol veya etanol-su karışımıyla ekstre edilir.

Bitki ekstresindeki kumarinler diğer maddelerden asidik veya bazik ortamda çöktürülerek ayrılabilir. Bu yöntem geçerliliğini kaybetmiştir. Kolon kromatografisiyle, uygun adsorban kullanarak kumarinlerin izole edilmesi tercih edilmektedir. Saflaştırma işlemi için de preparatif ince tabaka kromatografisi uygulanır.



2.2.4.3. Tanınmaları

2.2.4.3.1. Renk Reaksiyonları

Kumarinler UV ışııkda floresans gösterirler.

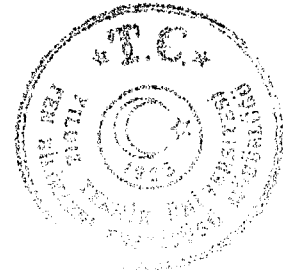
2.2.4.3.2. Spektroskopik Yöntemler

Kumarinler,UV ışııkda floresans gösterdiklerinden UV spektrumları tanınmalarında önemli rol oynar. Genellikle kumarinler, 220 nm ve 320 nm civarında iki kuvvete , 250-260 nm arasında da bir veya iki daha zayıf bant verirler. (45-s.42)

IR spektrumu lakton grubunun varlığını göstermesi bakımından önemlidir. Ayrıca 1600-1500 cm^{-1} de aromatik bantlar gözlenir. Karbonil bantlarının yeri spektrum alırken kullanılan yöntemle göre değişir ve 1780 cm^{-1} civarında gözlenir. 3175-3112 cm^{-1} de gözlenen bantlar ise yalnız furanokumarinler için karakteristiktir.

^1H NMR spektrumunda kumarinlerin C-3 ve C-4 protonları 6,04-6,40 ppm ve 7,49 - 8,20 ppm de ($j=9-10$ Hz) iki dublet verirler.Diğer aromatik protonlar, süstitüsyon durumlarına göre karakteristik bandlar gösterirler.

Kütle spektrumunda moleküler iyon bazı durumlarda çok belirli bazı durumlarda ise hemen hemen yok gibidir. Kütle spektrumu, kumarinlerin moleköl ağırlıklarının ve bölünme ürünlerinin saptanmasında kullanılmaktadır.



2.3. Labiate Familyası, Marrubium

Türleri ile Yapılmış Çalışmalar

Marrubium türlerinde, başta terpenik maddeler ve flavonlar olmak üzere, steroller, alkaloidler, yağlar bulunmaktadır.

Marrubium türlerinde terpenler, esas olarak, diterpen Lakton yapısındadır. Bisiklik diterpen olan marrubiin, furanik ve pre-furanik labdane türevleri olan peregrinine ile preperegrinine belli başlı diterpenlerdir.

Pentasiklik yapıda bir triterpen ursolik asit, oldukça yaygındır. *Marrubium* türlerinden değişik yapıda pek çok triterpen-asit, alkol ve aldehit de elde edilmiştir.



Labiatae familyasının ana flavonu olan apigenin ve türevleri, *Marrubium* türlerinde de görülür. Ayrıca 5,6 dihidroksi-7,4'-dimetoksi ve 4', 5, 6,7-tetrametoksi veya tetrahidroksi flavonlar *Marrubium* türlerinden isole edilmişlerdir.

Sterollerden β -sitosterol, çeşitli alkaloidler, tohumlarda değişik yapıda trigliseridler az da olsa *Marrubium* türlerinde bulunan diğer maddelerdir.

Marrubium türlerinde olan bileşikler aşağıda özetlenmiştir.

A. Terpen ve Steroidler

M. vulgare

= Marrubiin(I) (14,15)

Marrubium ve oksidasyon ürünü

siklik lakton $C_{13}H_{18}O_3$ (16)

Marrubiinin çeşitli oksidasyon ürünleri. (17)

Marrubiin, stigmasterol, seskitерpen ($C_{15}H_{22}O_2$) (18)

ursolikasit, eterik yağ (19)

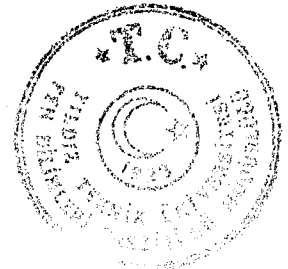
seskiterpen ($C_{15}H_{22}O_{21}$) ursolik

asit, marrubiin ($C_{20}H_{28}O_4$),

stigmasterol (20)

Premarrubiin (II) (21)

Peregrinol, phytol (22,23)



Marrubiin reaksiyonları (46)

Marrubiin sterokimyası (48)

Marrubiin spektroskopik çalışmaları (49, 50)

M.vulgare = *horehound* = Marrubiin (24, 25, 47)

M.peregrinum = peregrinol (III) (26,22)
β-sitosterol, peregrinine
(C₂₀H₂₆O₅) (27, 23)

M.friwaldskyanum = preperegrinine (IV)
peregrinine (V) (28)

M.alysson = β-sitosterol-glikozid (29)
diterpenler (marrubiin) (30)

M.sericeum = marrubiin, marrubenol türevleri (VI) (30)

M.supinum = marrubiin, premarrubenol türevleri (VII) (30)

M.praecox = peregrinol, β-sitosterol,
phytol (22)

M.propinquum praecox = peregrinol, β-sitosterol,
phytol (22)



M. catariaefolium = peregrinol, β -sitosterol,
phytol (22)

M.polyadon = seskiterpenlakton (33)

B. Flavonoid Bileşikler

M. alysson = apigenin-7-O-glikoside, apigenin,
apigenin-7-O-arabinoside (29)

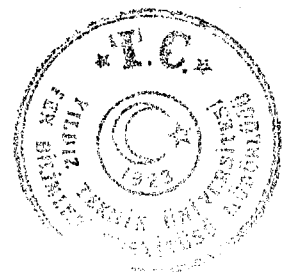
M. friwaldskayanum = 5,6-dihidroksi-7,4'-dimetoksi
flavon (28)

M.nigrum = flavon (31)
luteolin, apigenin, chryseriol,
acacetin (32)
apigenin-7-O-glikoside,
apigenin-6-8-C-diglikoside (34)

M. gamodon = flavonoid (35)

M. peregrinum = 4,5,6,7-tetrametoksiflavon (36)
4,5,6,6-tetrahidroksiflavon (22)

M. vulgare = 4',5,6,6-tetrahydroksiflavon(22)
flavonoidler (38)



M.praecox = 4',5,6,6-tetrahidroksiflavon (22)

M. propinquum praecox = 4',5,6,6 tetrahidroksiflavan(22)

M. catariaefolium = 4',5,6,6 tetrahidroksiflavon(22)

C. Alkoloidler

M. polyadon = alkaloid (33)

M. gamodon = alkaloid (35)

M.alternidens = stachydrine (VIII) (37)

M.vulgare = stachydrine (38)
alkoloid (40)

D. Diğer Bileşikler

M.nigrum = coffeik asit, ferulik asit,
fenol karboksilik asit (32)

M. alysson = choline (IX) (29)

M. gamadon = tanin (35)



M.alternidens

= tohumlarda serbest yağ

asitleri (41)

tohumların trigliserid

bileşimi (42)

M.vulgare

=

horehound

= n.alcan, 2-metil, 3-metil,

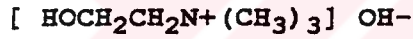
2 (10-1) dimetil, 3-9- veya

3 (10-9) dimetil alcan (43)

askorbik asit,caffeik asit (38),

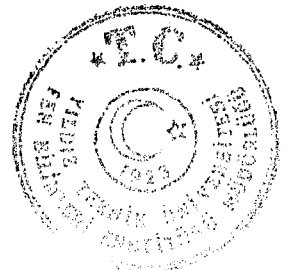
reçine, waksar (20)

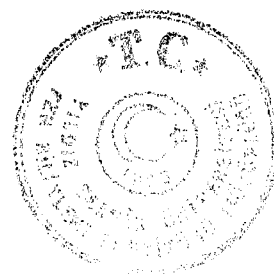
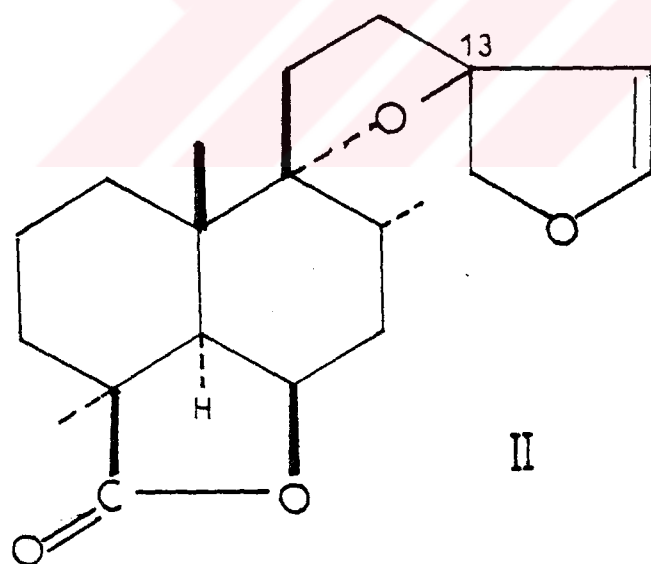
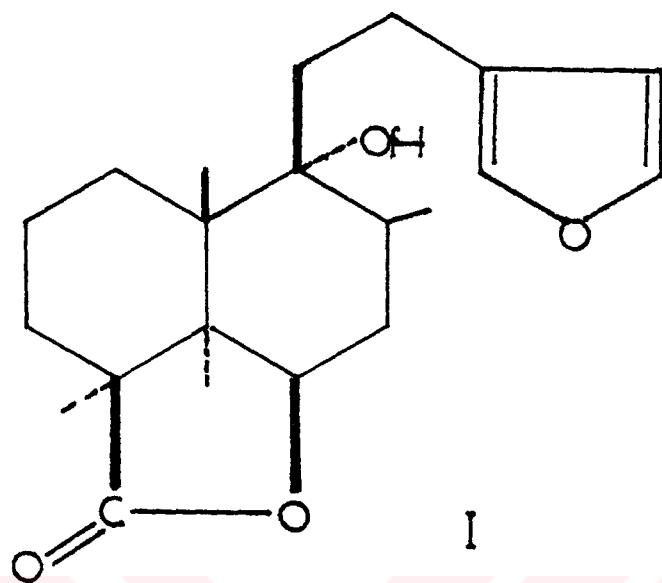
tanin, şeker (40)

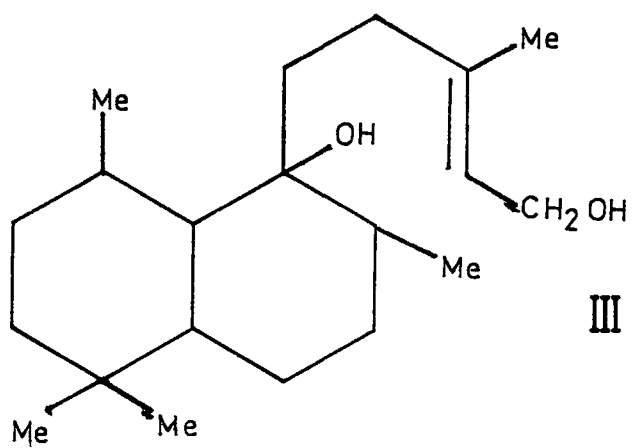


Choline

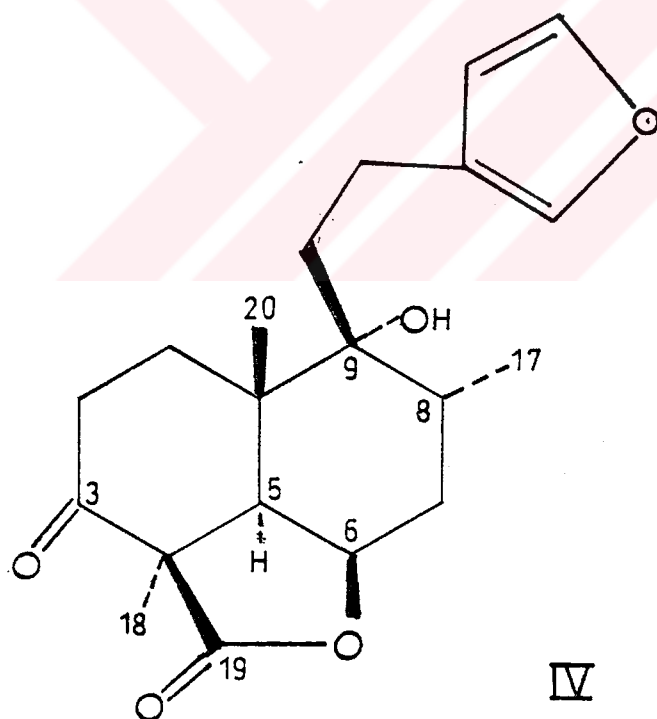
(IX)





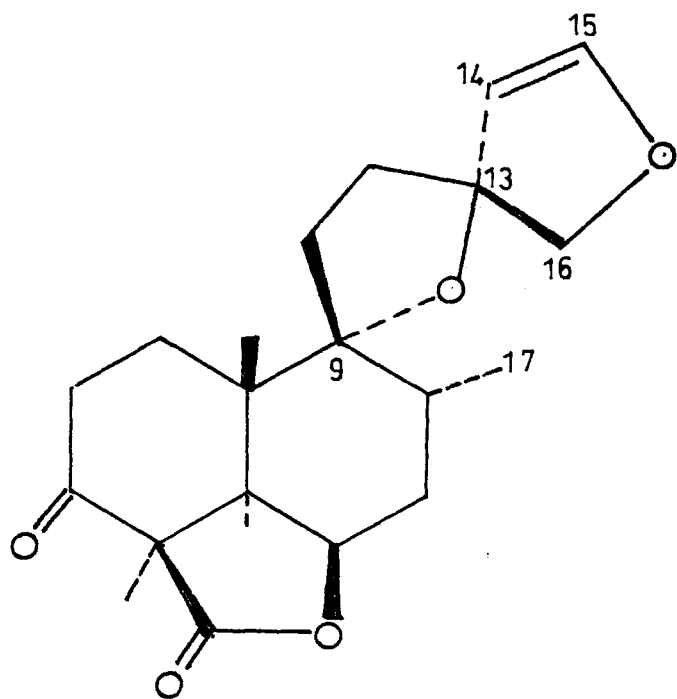


III

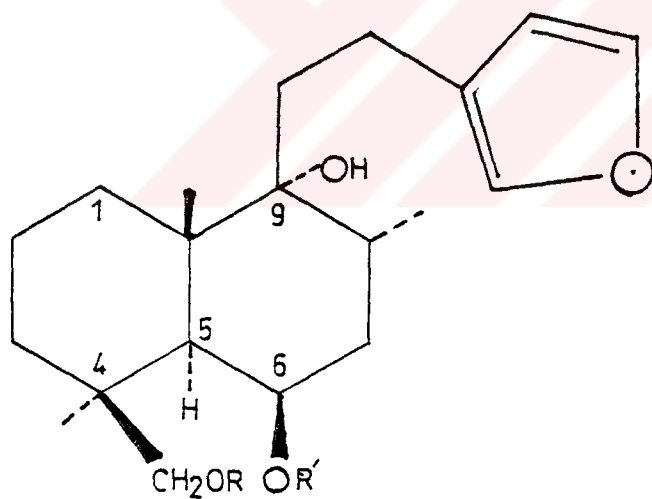


IV



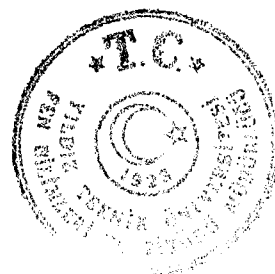


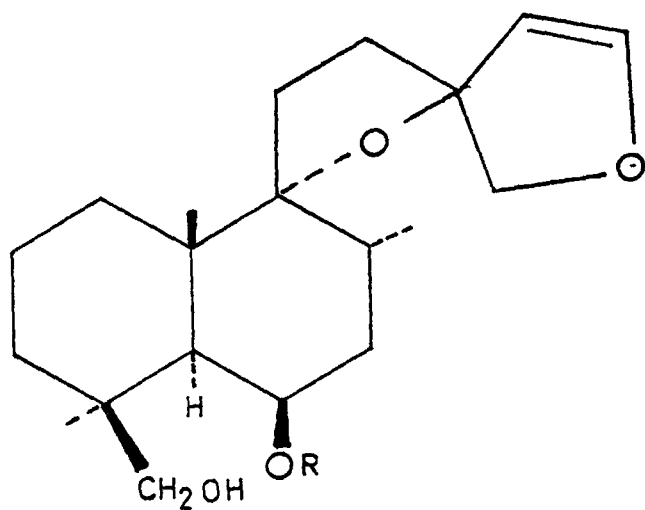
V



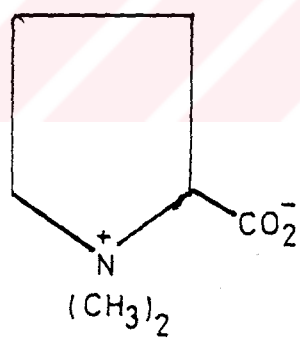
VI

($R=Ac$, $R'=H$; $R=H$, $R'=Ac$)

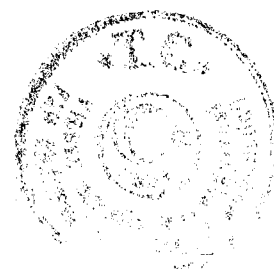




VII (R=H , R=Ac)



VIII



3. DENEYSEL BÖLÜM

3.1. Genel Yöntemler

3.1.1. Kromatografik Yöntemler

3.1.1.1. Kolon Kromatografisi

Adsorbanlar

Silikajel 60 parçacık büyüklüğü 0,063-0,200 mm ((70-230 mesh
ASTM) Merck)

Poliklar (Polyclar - Gaf Corporation)

Sefadeks LH-20 (Sefadeks Pharmacia Fine Chemicals)



Kolonların Hazırlanması

Silikajel Kolon

Kıvamlı ekstre çözeltisine, silikajel katılıp, homojen karışım elde edilir. Ekstrenin yaklaşık 60 katı kadar silikajel kolonun 2/3 si olacak şekilde doldurulur. Üzerine kurutulan ekstre adsorban karışımı konur.

Poliklar Kolon

Kloroform-etanol (1:1) çözücü karışımında en az 24 saat şişirilen poliklar, kolonun 2/3 sini dolduracak şekilde konur. Kolonun yerleşmesi, alttan alınan çözücünün üstten ilave edilmesiyle sağlanır. Ekstre çözeltisi, kolonun üzerine pipet yardımı ile yavaş yavaş aktarılır.

Sefadeks Kolon

Ekstre miktarına uygun sefadeks, metanol veya etanol ile 48 saat şişirildikten sonra kolonun 2/3 sini kaplayacak şekilde doldurulur. Yoğun ekstre çözeltisi pipetle kolona ilave edilir.

Çözücüler

Benzen , kloroform , etanol



3.1.1.2. İnce Tabaka Kromatografisi

Adsorban

Silikajel G (Kieselgel G. Merck)

Plakaların Hazırlanması

60 g. silikajel G, 120 ml su ile 5-10 dakika sürekli çalkalanır. Elde edilen süspansiyonla Camag - plak kaplama aygıtıyla 20 x 20 cm boyutlarındaki 5 cam plaka, 0,3 mm kalınlıkta adsorban ile kaplanır. Önce oda sıcaklığında kurutulur ; sonra 105 °C lik etüvde 1 saat aktive edilir.

Hazır Plakalar

Silicagel 60 F254 (Merck 5554)

Cellulose F (Merck 5574)

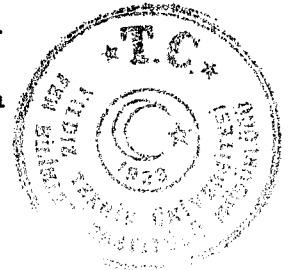
Çözücüler

Benzen, kloroform, dietileter, etilalkol, petrol eteri ya da çeşitli oranlardaki karışımları ; %15, %30, %45, %60 derişimlerinde asetik asit çözeltileri kullanıldı.

3.1.2. Spektrofotometrik Yöntemler

UV Spektrofotometresi

Metanolde çözülen bileşiklerin UV - spektrumları Varian Techtron 635 aletinde 1 cm lik kuvarz küvetlerde alındı. Ayrıca



flavonoid bileşiklerin kayma spektrumlarının alınabilmesi için bileşiklerin metanoldeki çözeltisine sırasıyla, NaOMe, AlCl₃, AlCl₃/HCl, NaOAc ve NaOAc/H₃BO₃ çözeltileri ilave edildi.

IR Spektrofotometresi

Spektrumlar, NaCl kristalleri arasında veya KBr tabletleri halinde Perkin Elmer 577 Grating Spectrophotometer aletinde alındı.

¹H-NMR Spektrofotometresi

Bruker AC 200 MHz aletinde CDCl₃ çözücüsü ve tetrametilsilan (TMS) iç standardı ile ölçüldü.

Kütle Spektrofotometresi

MAT 711 70 eV aleti

3.1.3. Belirteçler

Liebermann - Burchard Belirteci

Bileşiğin kloroformdaki çözeltisine birkaç damla asetanhidrid ilave edildikten sonra derişik sülfirik asit ile faz oluştur.



Seriksülfat Belirteci

Belirteç , 2g seryum (IV) sülfatın 100 ml %10 luk H_2SO_4 'de çözünmesiyle hazırlanır.Kromatografi plağına belirteç püskürtüldükten sonra,lekeler belirginleşinceye kadar (5-10 dakika) 100 °C lik etüvde bakletilir.

NA- Belirteci = (Naturstoffreagenz A)

(difenil borik asit β-amino etil esteri)

100 mg Naturstoffreagenz A 100 ml etanol de çözülür.Flavonoid bileşiklerini içeren plaka önce NH_3 buharına tutulur,sonra NA belirteci püskürtülür.

UV Spektrumu Kayma Belirteçleri

Flavonoid bileşikler için kullanılır.

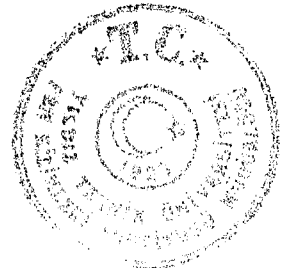
Sodyum Metilat Belirteci

2,5 g. saf sodyum, küçük parçacıklar halinde 100 ml saf metanolde çözülerek hazırlanır.

Aluminyum Klorür Belirteci

5 g. susuz Aluminyum (III) klorür, 100 ml saf metanolde çözülerek hazırlanır.

Hidroklorik Asit Çözeltisi

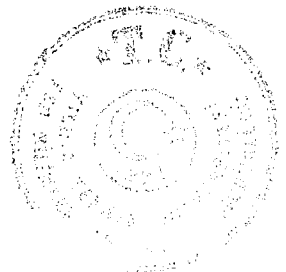


Sodyum Asetat Belirteci

Toz halinde, susuz saf sodyum asetat, bir krogede eritilerek, asetik asitten arındırılarak kullanılır.

Borik Asit Belirteci

Susuz borik asit, toz halinde veya 100 ml saf metanoldeki doymuş çözeltisi kullanılır.

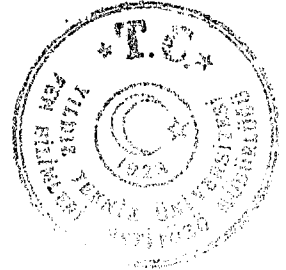


3.2. Yapılan İşlemler

3.2.1. Bitkinin Tüketilmesi

Marrubium vulgare L. bitkisi Manavgat - Antalya civarından toplanıp, (ISTE 50894-50893) numaraları ile İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryum 'una kaydedilmiştir.

Çalışmada bitkinin tüm kısımları (kök, gövde, yaprak) kullanıldı. 1,5 kg kuru bitki öğütüldükten sonra, maserasyon yöntemiyle ekstre edildi. Kuru bitki asetonla bir hafta maserasyona bırakıldı. Tüketme sonunda ekstreler süzülerek alındı. Süzüntü koyu şurup kıvamına kadar yoğunlaştırıldı; 17,16 g ekstre elde edildi. Ayrıca, süzülerek ayrılan bitki bir hafta süreyle de etanol ile maserasyona bırakıldı.



3.2.2. Ekstrelerin Fraksiyonlandırılması

3.2.2.1. Aseton Ekstresi

17,16 g. aseton ekstresi az miktarda kloroform da çözülerek aynı miktarda silikajel ile bir havanda karıştırılıp; 4,5 x 60 cm boyutlarındaki silikajel kolona paketleme yöntemiyle yerleştirildi. Elüsyona benzenle başlandı; artan miktarlarda kloroform ve etanolle devam edildi. 100-150 nm'lik kısımlar halinde 210 fraksiyon toplandı. (Tablo:2)

Tablo:2 *Marribium vulgare* L. Bitkisinin Aseton Ekstresinin Silikajel Kolonda Fraksiyonlandırılması

Çözücü Sistemi	Fraksiyon	Elde Edilen Bileşik
1. Benzen	1 - 26	
2. Benzen:Kloroform (9:1)	27 - 32	MV1
3. Benzen:Kloroform (8:2)	33 - 38	MV1
4. Benzen:Kloroform (7:3)	39 - 49	
5. Benzen:Kloroform (6:4)	50 - 62	
6. Kloroform	62 - 112	MV2 MV3
7. Kloroform:Etanol (9:1)	113 - 123	
8. Kloroform:Etanol (8:2)	124 - 144	MV4
9. Kloroform:Etanol (7:3)	145 - 157	MV4
10. Kloroform:Etanol (6:4)	158 - 178	
11. Etanol	179 - 210	

Fraksiyonlar ince tabaka kromatografisinde UV ve serik sülfat belirteci ile kontrol edilip, benzer olanlar birleştirildi. 11 Ana fraksiyon elde edildi. 1, 4, 5, 7, 10 ve 11. fraksiyonlar madde içermediklerinden kullanılmadı. Birleştirilen benzer fraksiyonlar preparatif ince tabaka veya kolon kromatografileri ile saflaştırıldı.



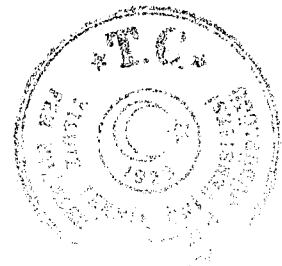
2.-3. ve 8.-9. fraksiyonlar silikajel plakalarda saflaştırıldı. 2.-3. ekstreden MV , 8.-9. ekstreden MV4 bileşikleri izole edildi. 6. fraksiyon preparatif ince tabaka kromatografisi ile tam olarak saflaştırılamadığından, silikajel kolon kullanıldı.

6. Fraksiyon eterde çözülüp 3,5 x 50 cm boyutlarındaki silikajel kolona kondu. Yıkama işlemine heksanla başlanıp, eter, kloroform ve etanol ile devam edilmiştir. Toplam 25 fraksiyon alınmıştır. (Tablo:3)

Tablo : 3 6. Fraksiyon Ekstraksiyonu

Çözücü Sistemi	Fraksiyon	Elde Edilen Bileşik
Heksan	1	
Heksan:Eter	2 - 3	MV2
Eter	4 - 13	MV3
Eter:Kloroform (8:2)	14 - 18	
Eter:Kloroform (1:1)	19 - 20	
Kloroform	21 - 23	
Etanol	24 - 25	

MV2 ve MV3 maddesi kristaller halinde ayrıldı. Diğer fraksiyonlar kullanılmadı. MV2 kristalleri eterde çözülüp; benzen kloroform=1:2 çözücü karışımında preparatif ince tabaka kromatografisi ile tekrar saflaştırıldı. MV3 kristalleri de aynı yöntemle benzen : eter = 1:1 karışımı ile temizlendi. UV, IR, ¹H-NMR ve kütle spektrumları alındı.



3.2.2.2. Etanol Ekstresi

Etanol uçurulan ekstre, etanol:kloroform=1:1 çözülüp, aynı çözücüyle şişirilmiş 3,5 x 50 cm boyutlarındaki polikar kolona pipetle yerleştirildi. Elüsyona etanol:kloroform=1:1 karışımı ile başlayıp etanol ile devam edildi. Kolon UV (366 nm) ışıktaki izlendi. Toplam 60 fraksiyon alındı. Fraksiyonlar sellüloz plakalarda %45 lik CH_3COOH çözeltisinde yürütüldü. UV (366 nm) ışıktaki, NH_3 buharında ve NA-Belirteciyle incelendi. Benzer olanlar birleştirildi. Birleştirilen 1 ve 2. fraksiyon ve 5. fraksiyon sefadeks LH.20 kolondan metanol ile yıkandı. 1. ve 2. fraksiyonlardan MV_5 , 5. fraksiyondanda MV_6 isole edildi.

Tablo : 4 *Marribium vulgare* L. Bitkisinin
Etanol Ekstresinin Polikar Kolonda
Fraksiyonlandırılması

Çözücü Sistemi	Fraksiyon	Elde Edilen Bileşik
1. Kloroform:etanol (1:1)	1 - 12	MV_5
2. Kloroform:etanol (1:2)	13 - 21	MV_5
3. Kloroform:etanol (1:4)	22 - 28	MV_7
4. Kloroform:etanol (1:8)	29 - 35	MV_8
5. Etanol	35 - 60	MV_6

MV_7 ve MV_8 maddelerinin miktarları yeterli olmadığından, sellüloz plakada standartlarla yürütülerek renk reaksiyonları ve R_f değerleri saptanmıştır.



3.3. BU ÇALIŞMADA ELDE EDİLEN BİLEŞİKLER

Terpen ve Steroid Bileşikleri

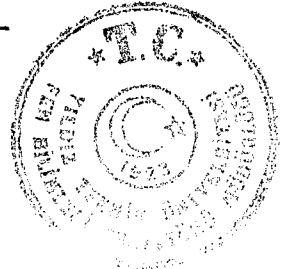
3.3.1. MV₁ Bileşiği = β -Sitosterol



İnce tabaka kromatografisinde, silikajel plakada serik sülfat belirteci ile kırmızı-turuncu renk vermesi, bileşiğin sterol yapısında olabileceğini göstermiştir.

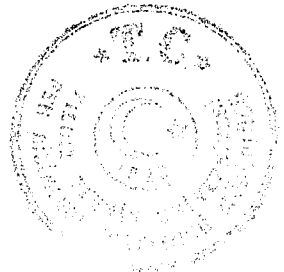
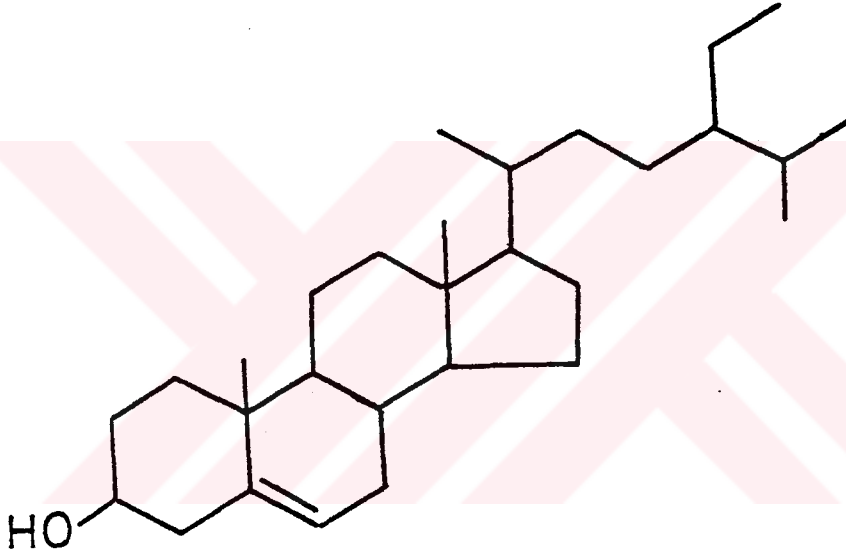
Standart maddeler ile yürütüldü. β -sitosterol ile aynı Rf değerini ve rengi vermiştir. Rf = 0,37 (eterde) Rf = 0,52 (kloroformda)

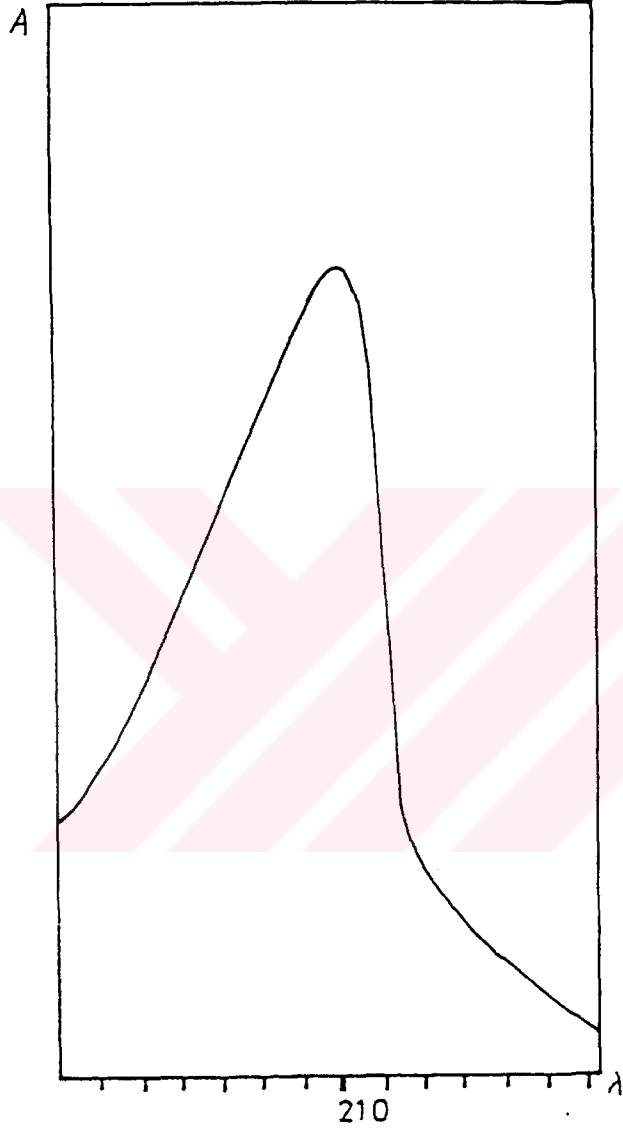
Bileşik, UV spektrumunda (Şekil:2) 205 nm de üç absorbands vermektedir.



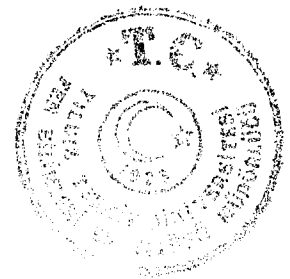
IR spektrumu (Şekil:3) 3400 cm^{-1} de (OH) 1650 cm^{-1} de doymamışlık, 1375 cm^{-1} de gem-dimetil, 1060 ve 1050 cm^{-1} de (C-O) bantlarını göstermektedir.

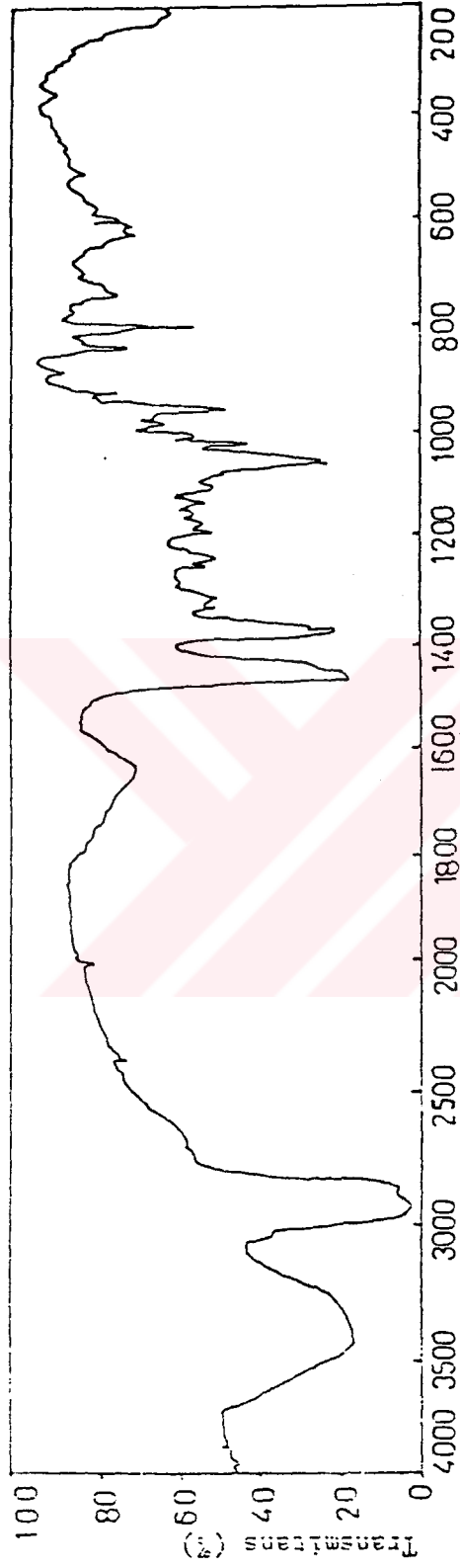
Bu verilere dayanarak bileşiğin, bitkilerde çok yaygın olan β -sitosterol olduğu kanıtlanmıştır.





Şekil 2, MW1 Bilesiğinin UV Spektrumu





Şekil 3. MV 1 Bileşiğinin IR Spektrumu



3.3.2. MV4 Bileşiği = Ursolik Asit

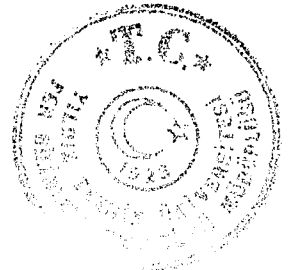
3β-hidroksi ursa-12-en-28 oik asit

İnce tabaka kromatografisinde, silikajel plakada serik sülfat belirteci ile kırmızı-mor renk vermesi bileşiğin bitkilerde çok görülen bir triterpenik asit olabileceğini göstermiştir.

Çeşitli standartlarda, kloroform ile yürütölen madde ursolik asitle aynı renk ve Rf değerini göstermiştir. Rf = 2,5 (kloroformda)

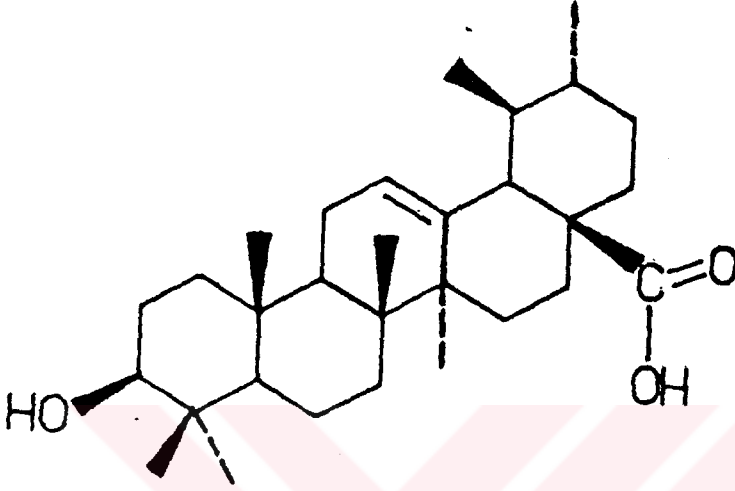
IR spektrumunda 3440 cm⁻¹ de (OH), 1695 cm⁻¹ de (-C=O) 1375 cm⁻¹ de gem-dimetil ve 1050,1035 cm⁻¹ de (C-O) bantları gözlenmektedir. (Şekil:4)

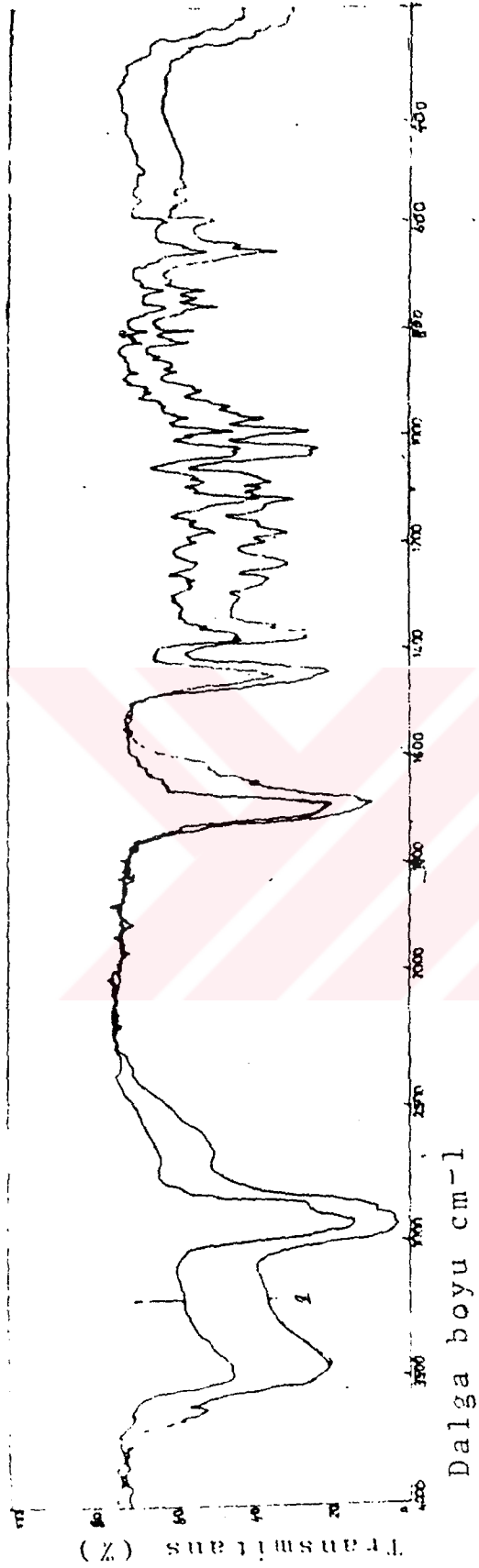
¹H-NMR spektrumunda 0,86-1,07 ppm lerdeki beş metil singleti ve 0,88 ppm ile 0,79 ppm deki iki dublet bileşiğin ursan yapısında olduğunu göstermektedir. 3,25 ppm de de hidroksile



komşu proton izlenmektedir. (Şekil:5)

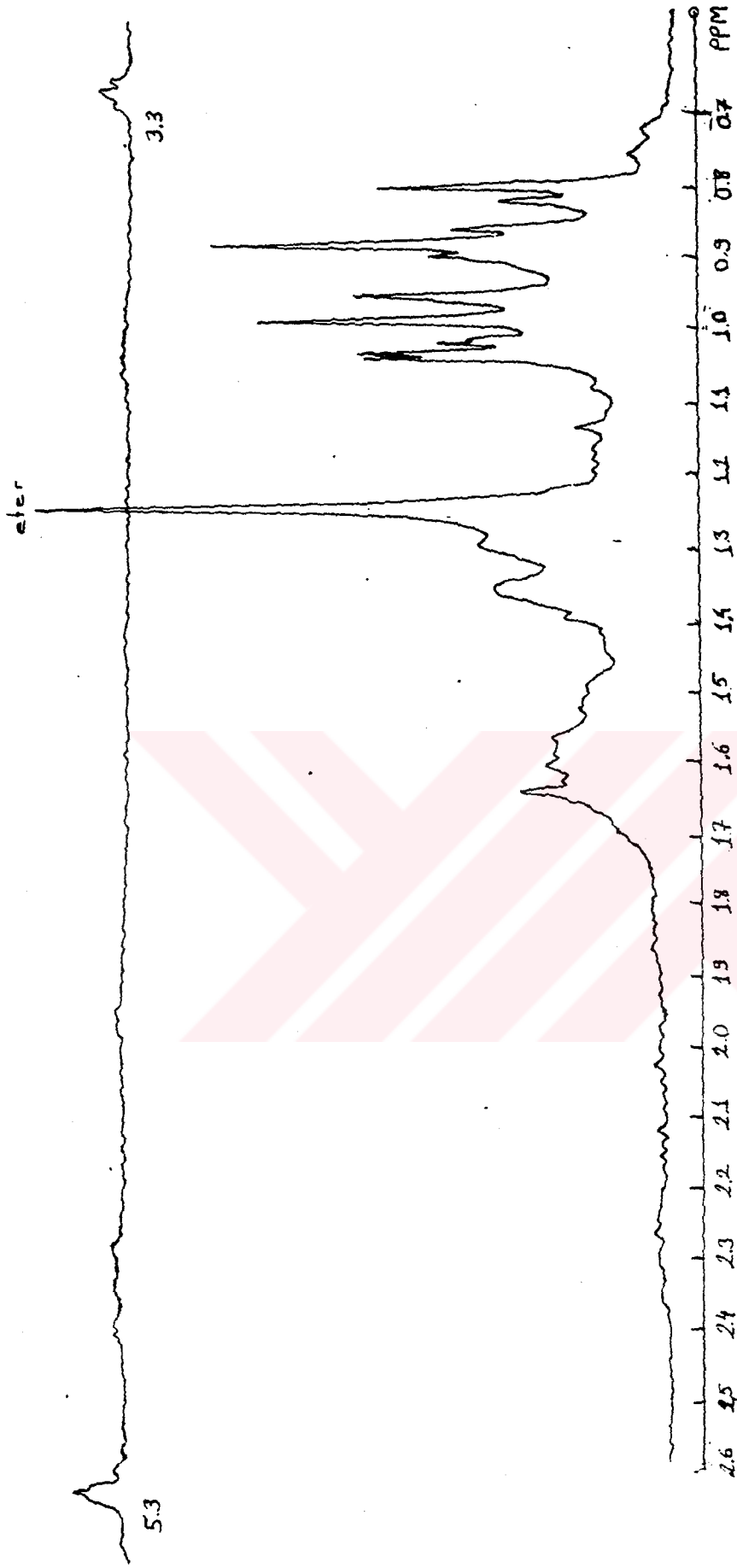
Bu verilere dayanarak bileşiğin ursolik asit olduğu kanıtlanmıştır.



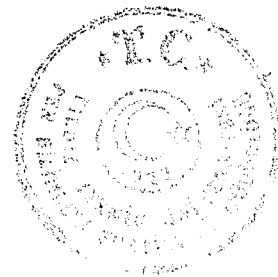


Şekil 4. MV 4 Bileşiğinin Standart Ursolik Asitle Karşılaştırılan IR Spektrumu
(1 - Ursolik Asit, 2- MV 4)





Şekil 5. MV 4 Bilesiğinin ^1H - NMR Spektrumu



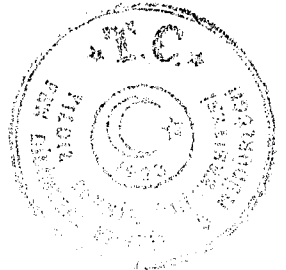
3.3.3. MV2 Bileşiği = Premarrubiin

furantik-labdan-diterpen

Beyaz kristaller şeklinde heksan-eter fraksiyonundan ayrılan madde (Tablo:3) eterde şözölüp, silikajel plakada benzen:kloroform = 1:2 çözücü karışımında yürütölerek saflaştırıldı.UV, IR, ¹H-NMR ve Kütle spektrumlarından yararlanılarak yapısı aydınlatıldı.

Metanoldeki UV spektrumunda 220 ve 225 nm de görölün pikler molekülde konjugasyon olmadığını, doymamışlık olabileceğini gösterir. (şekil:6)

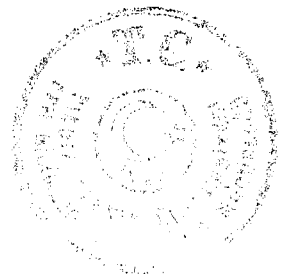
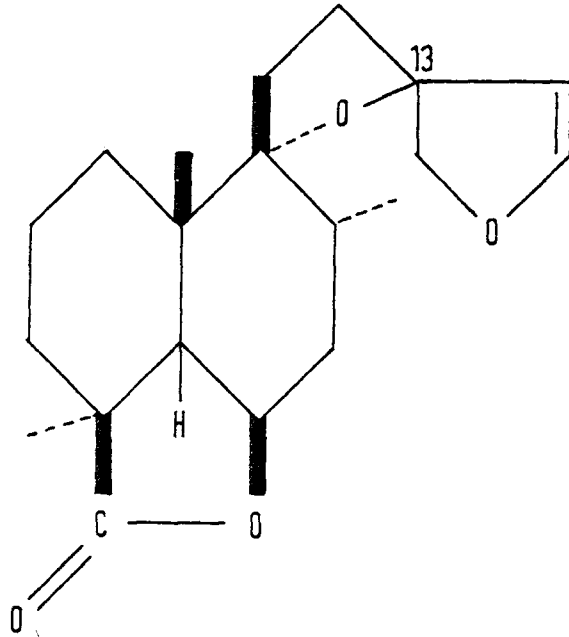
Bileşiğin,kloroformdaki IR spektrumunda 1765 cm⁻¹ de karakteristik lakton karbonil bandı,1150-1070 cm⁻¹ arasında da (C-O) bantları gözlenmiştir. (şekil:7)

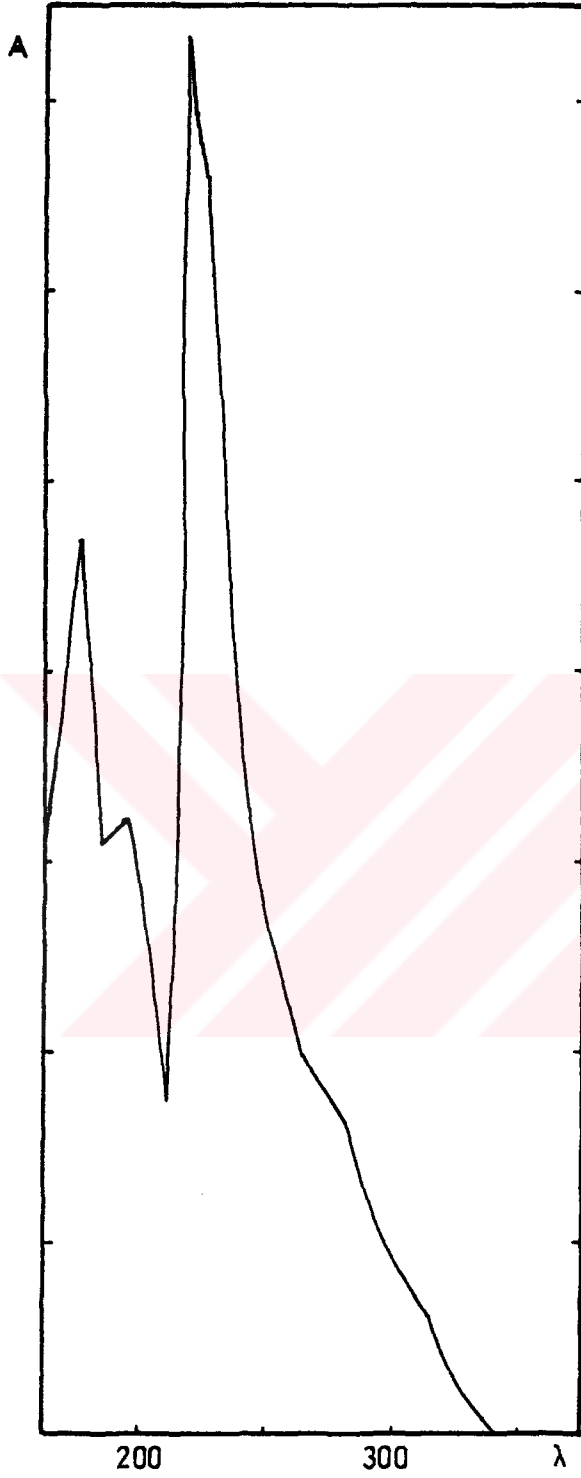


CDCl_3 de alınan ^1H NMR spektrumunda 0,87 ppm de $j=6,5$ Hz olan duplet sekonder metil (C-8 Me) grubunun, 1,02 ppm (C-4 Me) ve 1,15 ppm (C-10 Me) 3H karşılık gelen birer singlet ile iki tersiyer metil grubunun varlığını göstermektedir. 4,56 ppm de tipik genişlemiş triplet H-6 protonunu gösterir. Spektrum 4,33 ppm ve 3,97 ppm 'lerde AB kuartetinin tipik dupletlerini ($J=9$ Hz) vererek, molekülde $\text{CH}_2\text{-O}$ grubunun bulunduğu açıkça belirtilmiştir. 5,05 ppm ve 6,36 ppm 'lerdeki sinyaller ($J=2$ -Hz) dihidrofuran halkasının H-15 ve H-16 protonlarını göstermektedir. (Şekil:8)

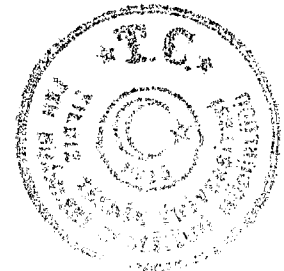
Bileşiğin kütle spektrumunda m/z 332 vererek $\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{O}_4$ kapalı formülünü göstermektedir. Ayrıca m/z 292 ve m/z 112 fragmentleri bu yapının doğruluğunu kanıtlar. (Şekil:9)

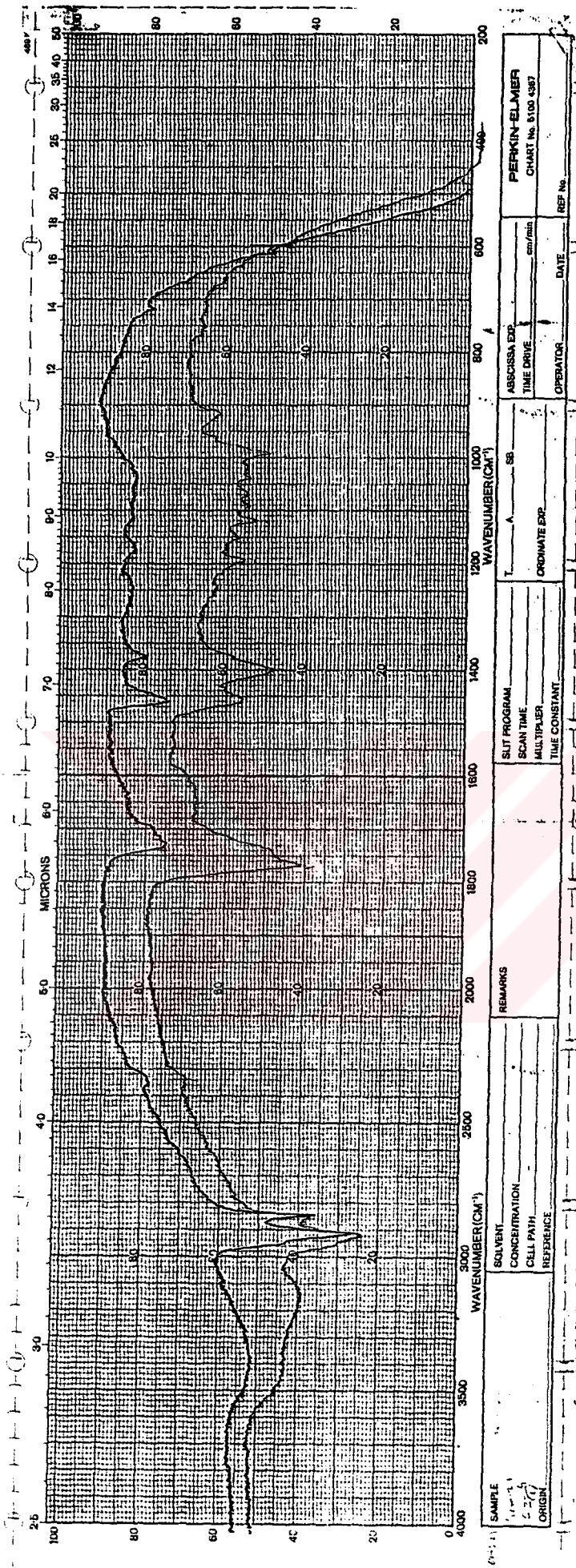
Bu bileşik daha önce Marrubium vulgare L. olan elde edilmiş olup, değerler bulunan değerlere uymaktadır. (21)





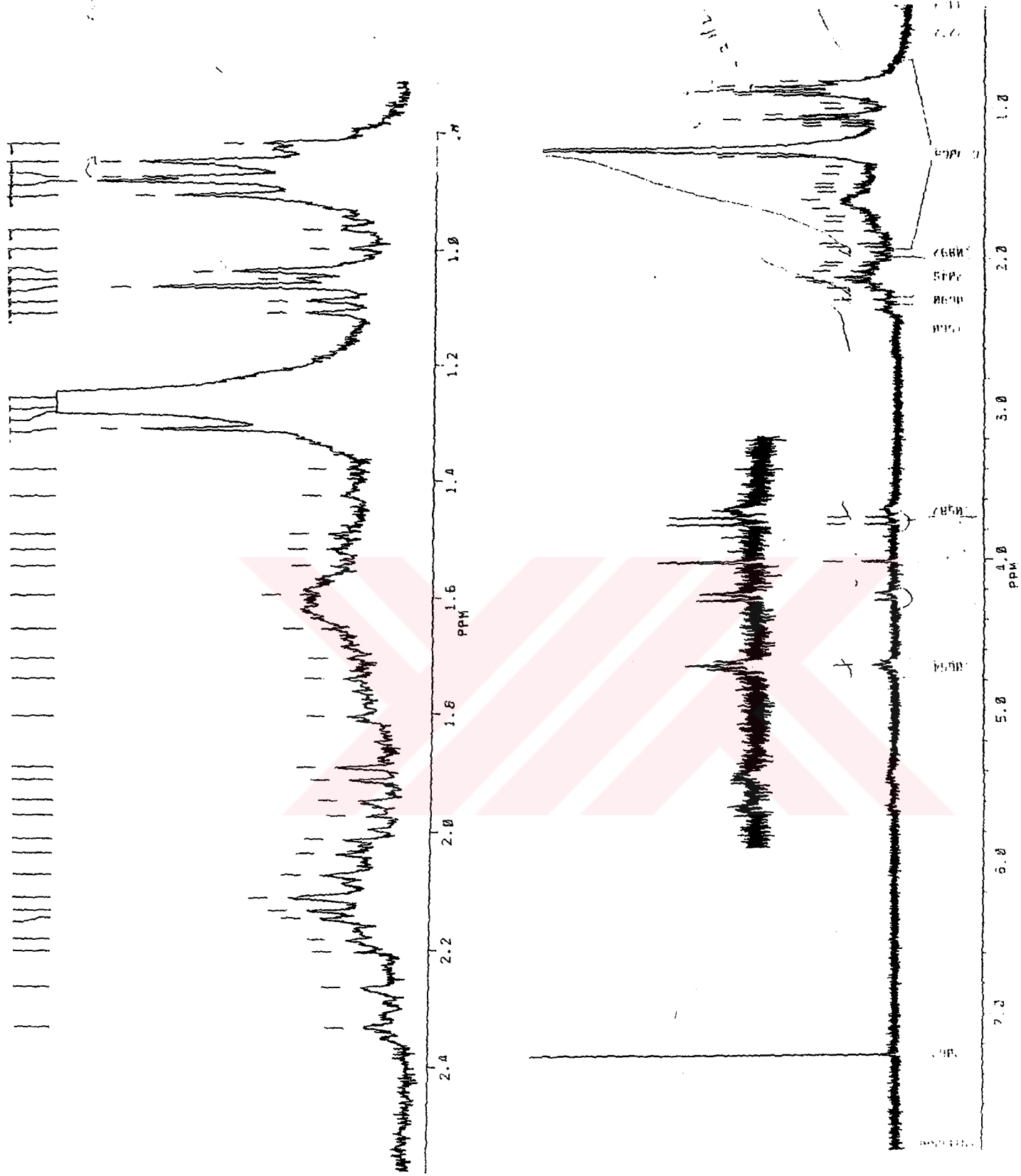
Şekil 6. MV 2 Bileşinin UV Spektrumu



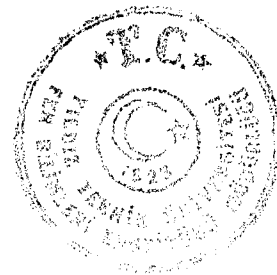


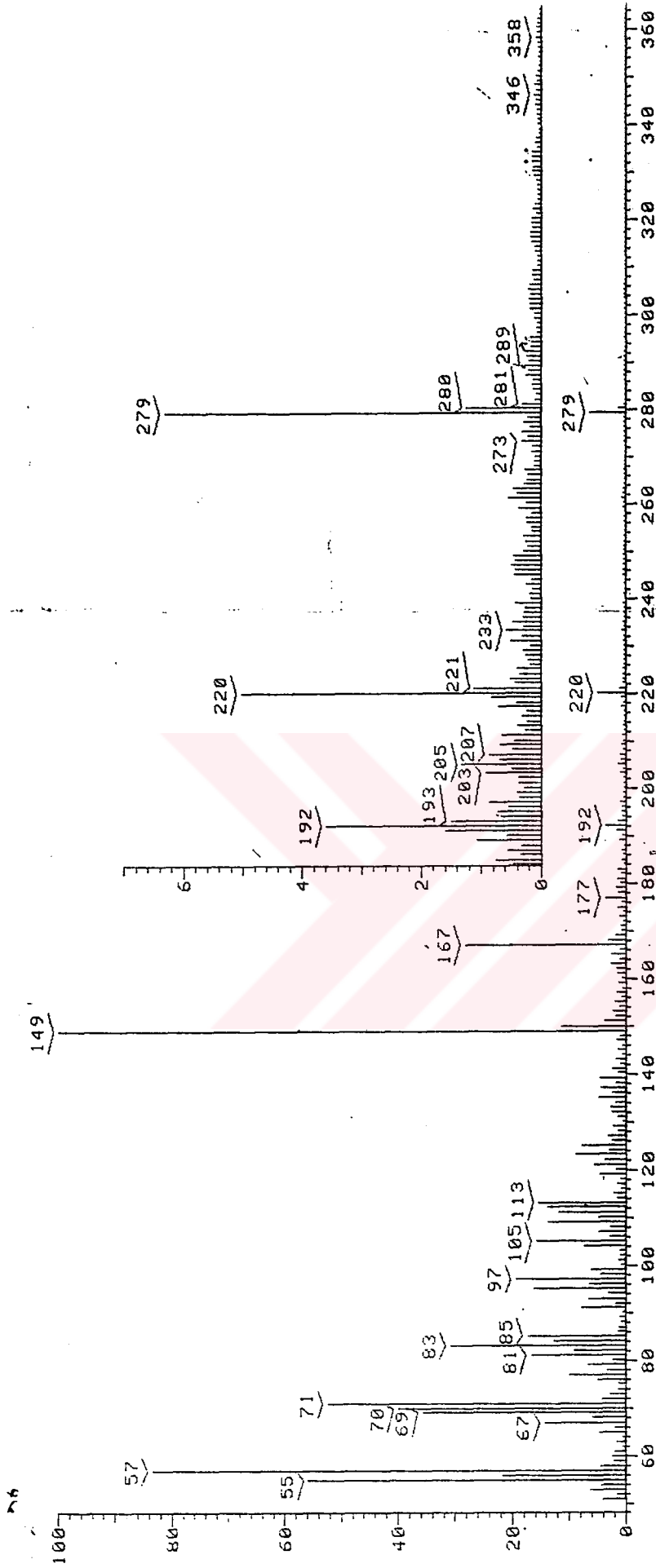
Şekil 7. MV 2 Bileşiğinin IR Spektrumu





Şekil 8. MV 2 Bileşiğinin ^1H - NMR Spektrumu





29-DEC-88 12:48 SPEKTRENBEZEICHNUNG: GOEREN C 3-4
 ANALYSIS NAME: DI.DAT;22 SPEC# 3 NORM: B /SCALE: 260928
 DATE: DEC 29 88 12:50:11 V04.0

Şekil 9. IV 2 Bileşiğinin Kütle Spektrumu



Kumarin Bileşiği

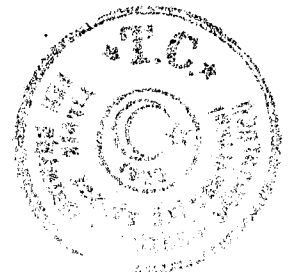
3.3.4. MV3 = Bileşiği = Siderin

4,7-dimetoksi-5-metil-kumarin

Eter fraksiyonundan ayrılan kristaller (Tablo:3) kloroformda çözümlenerek silikajel plakada benzen:eter=1:1 karışımında yürütülerek temizlendikten sonra UV, IR, ¹H-NMR ve kütle spektrumları alınarak yapısı aydınlatıldı.

Metanol de alınan UV spektrumunda 322 nm (omuz) 307 nm, 286 nm 224 nm 'lerde absorbanans gösteren bu bileşiğin, kumarin yapı olabileceğini düşündürmüştür. (Şekil:10)

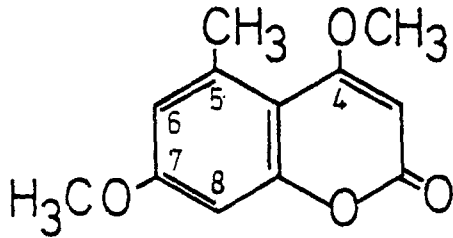
Kloroformda alınan IR spektrumunda, 1722 cm⁻¹ de lakton karbonil bandı, ayrıca 1620 cm⁻¹ ve 380 cm⁻¹ de aromatik yapı bandları vardır. (Şekil:11)

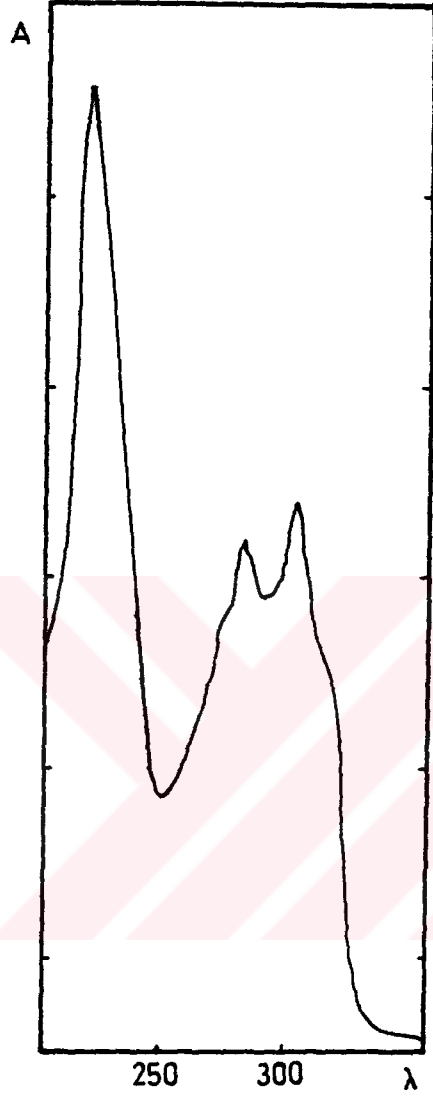


^1H NMR spektrumundaki 2,61 (3H) ppm deki keskin singlet aromatik metil varlığını 3,94 (3H) ppm ve 3,84 (3H) ppm 'lerdeki iki singlet de molekülde metoksi olduğunu kanıtlamaktadır. Ayrıca 5,54 ppm deki singlet 3 protonun tipik kimyasal kaymasını göstermektedir. Daha aşağı alanda gözlenen dar etkileşimli 6,70 ppm ve 6,60 ppm 'deki ($J=2$ Hz) iki duplet, aromatik halkadaki meta etkileşimli iki protonu (H-6 ve H-8) vermektedir. (Şekil:12)

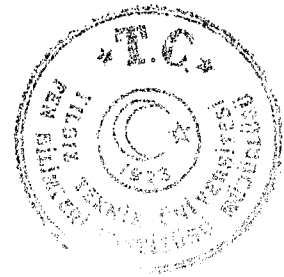
Kütle spektrumunda m/z 220 moleküler pikini vererek $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{O}_4$ kapalı formülünü doğrulamaktadır. Diğer bölünme ürünleri de yapıya uygundur. m/z 192 ($m-28$)⁺, m/z 177 (192-Me)⁺, 111,71, 52 gibi. (Şekil:13)

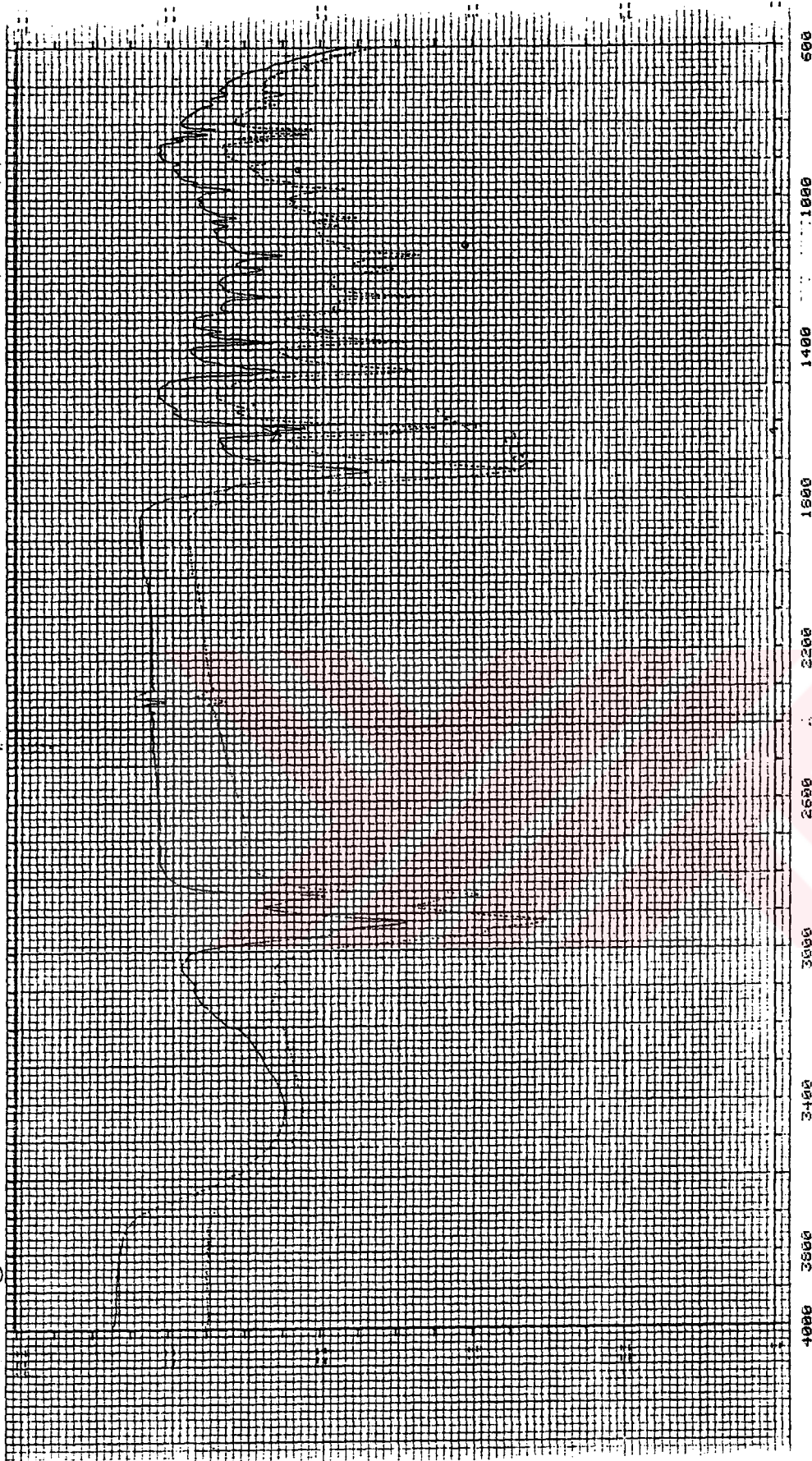
Bütün bu veriler, *Sideritis canariensis* bitkisinden elde edilmiş olan siderin isimli bileşiğin yapısına uygun olduğundan, madde 4,7-dimetoksi-5-metil kumarin (siderin) olarak tanımlanmıştır. (51,52)





Şekil 10. MV 3 Bileşiğinin UV Spektrumu





Şekil 11. MV 3 Bileşiğinin IR Spektrumu



* 12 (1)

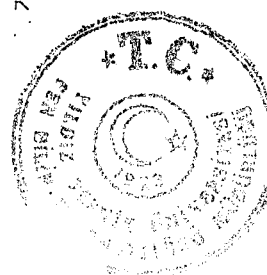
SPC1
DATE 27-4-89
SOLVENT CCl₃
SF 200.132
SV 2463.854
PW 3.0
RD 2.000
RG 3.326
NS 40
HZ/CN 10.000

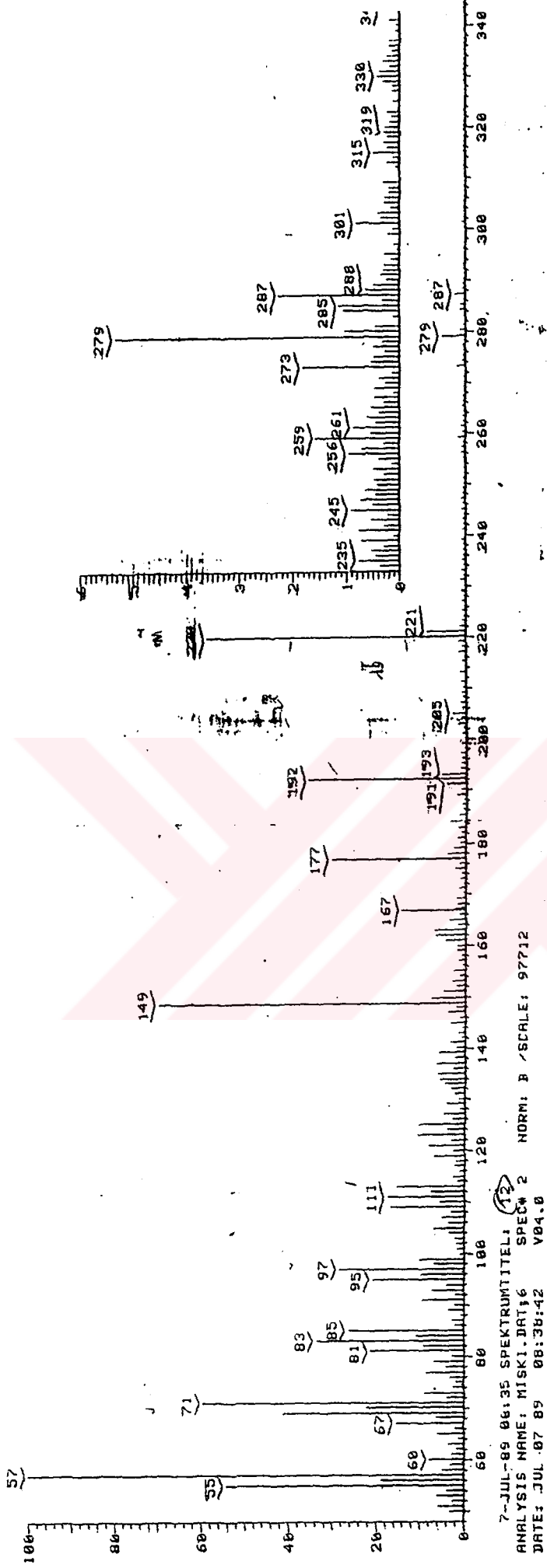
7.80

4.30

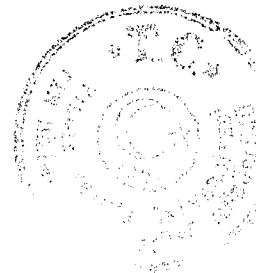
70

Şekil 12. MV 3 Bileşiminin ¹H - NMR Spektrumu





Şekil 13. MV 3 Bileşiğinin Kütle Spektrumu



Flavonid Bileşikler

3.3.5. MV5 Bileşiğı = 6,7,3',4'-

tetrametoksi luteolin

Madde sellüloz plakaya tatbik edilerek, %45 CH_3COOH çözeltisinde yürütüldü. UV ışık altında (366 nm) koyu mor, NH_3 ve NA -belirteçlerinde aynı rengi göstermesi C-3' ve C-4' sübsti-tüe 5-hidroksi flavon olacağını gösterir.

Metanoldeki UV spektrumunda 334 nm 'deki Bant I C-3 boş olduğunu gösterir. Bant II 285 nm 'dedir. NaOMe ile alınan spek-trumda Bant I 380 nm 'ye kaymış, şiddeti azalmıştır. Bant I deki 46 nm 'lik batokromik kayma C-4 'de serbest hidroksil grubunun bulunmadığını gösterir. Bant III 'ün olmaması da C-7 yerinin dolu olduğunu gösterir. AlCl_3 spektrumunda Bant I

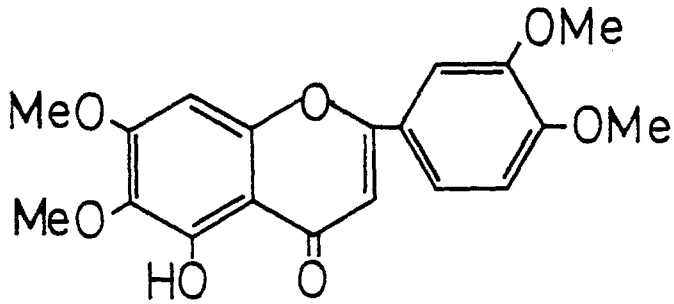
369 nm 'de Bant II 305 nm iken HCl ilavesiyle Bant I 353 nm' ye, Bant II de 300 nm 'ye kaymaktadır. Bant I ile orjinal spektrumdaki Bant I arasındaki 19 nm 'lik batokromik kayma C-6 da metoksi varlığını kesinleştirir. NaOAc ile alınan spektrum, orjinal spektrumla hemen hemen aynıdır. (384 nm omuz, 350 nm, 285 nm) Bu da C-7 'de serbest hidroksil olmadığını gösterir. H_3BO_3 spektrumunda (333 nm, 290 nm) kayma gözlenmediğinden B halkasında orto dihidroksi olamaz. (Şekil:14)

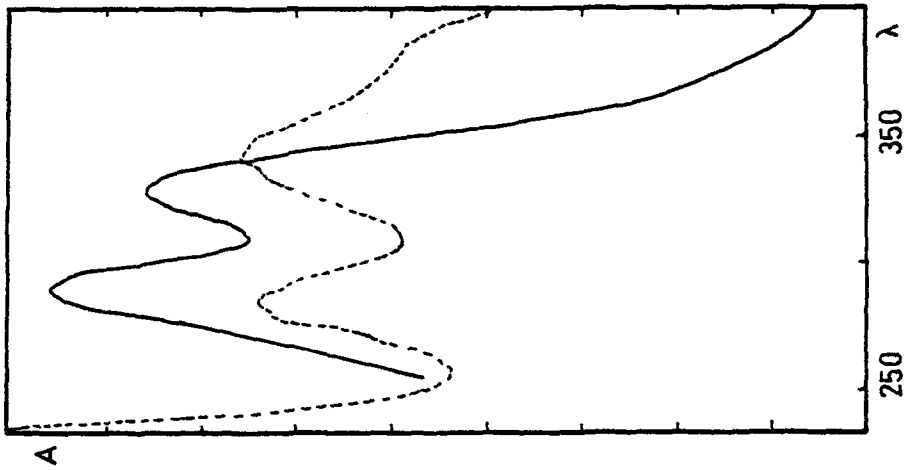
Sellüloz plakada, değişik çözücülerle, standart madde ile karşılaştırılınca aynı R_f değerleri ve aynı renk reaksiyonları gözlenmiştir.

$R_f = 0,43$ (%45 CH_3COOH)

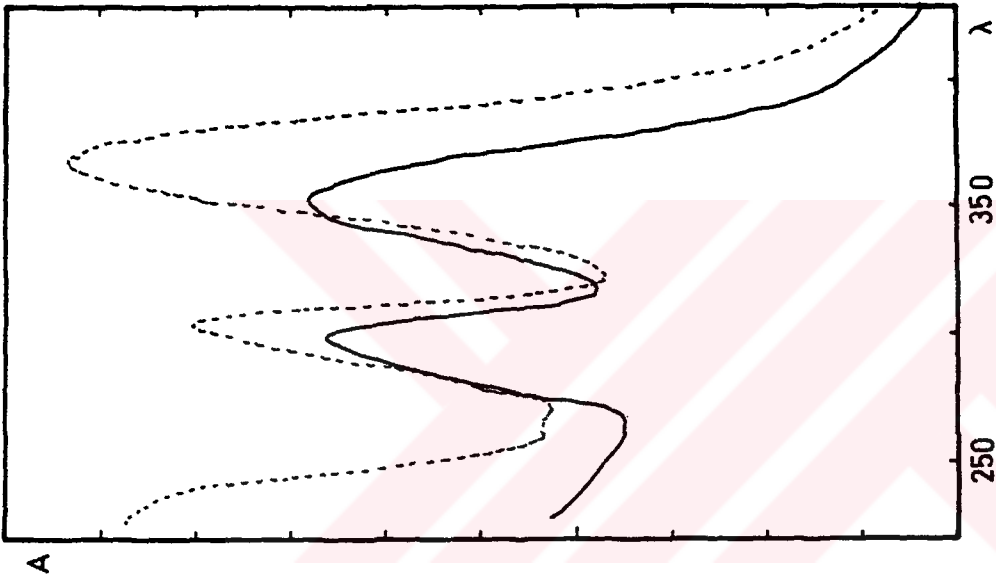
$R_f = 0,69$ (%60 CH_3COOH)

Madde 6,7,3',4', tetrametoksi luteolin olarak tanımlanmıştır.

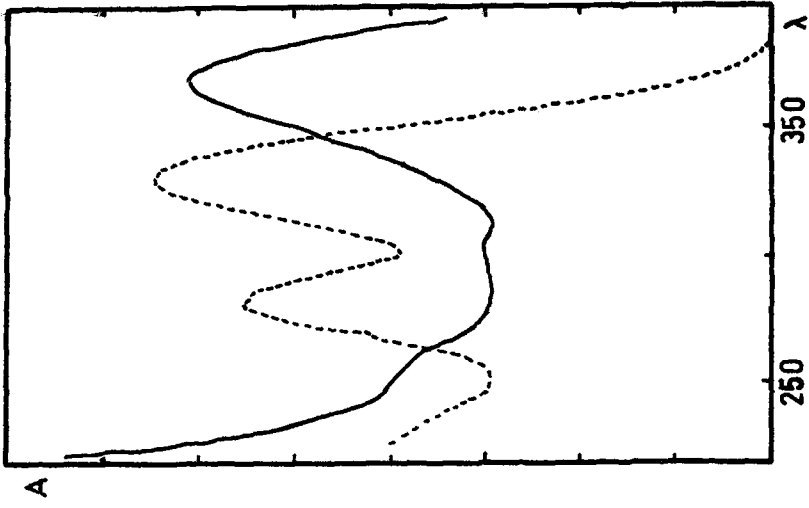




--- NaOAc
— NaOAc / H₃BO₃



--- AlCl₃
— AlCl₃ / HCl



--- MeOH
— MeOH / NaOMe

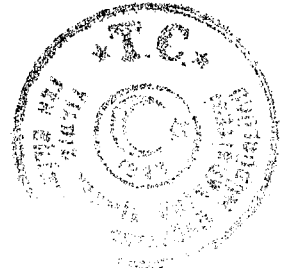
Şekil 14. MV 5 Bileşiğinin UV Spektrumu



3.3.6. MV6 Bileşiğı = 6,7-dimetoksi luteolin

Sellüloz plağı tatbik edilip, %45 CH_3COOH da yürütölen madde- nin, UV ışık altında (366 nm) koyu mor, NH_3 ile sarı ve Na be- lirteciyle turuncu renk vermesi, bileşiğın C-3' ve C-4' yerin- de serbest hidroksil grubu bulunduğunu düşündürmektedir.

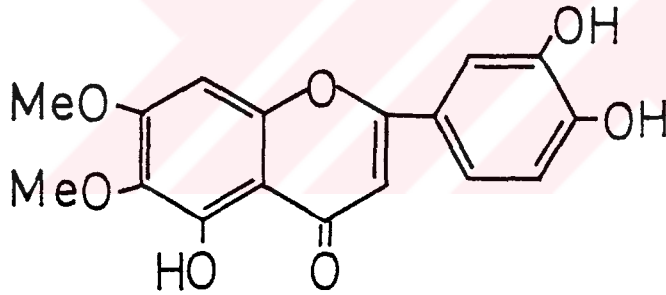
Metanoldeki UV spektrumunda 340 nm civarında Bant I, 270 nm civarında da Bant II izlenmektedir. Bant I 'in 340 nm civarın- da olması, C-3 'ü boş olan bir flavonu gösterir. NaOMe spek- trumunda, 340 nm 'deki Bant I 'in 405 nm 'ye kaydığı ve şid- detin arttığı gözlemlendi. Bu da C-4 'ün boş olduğunu gösterir. AlCl_3 ile alınan spektrumda Bant I 372 nm de Bant II yine 270

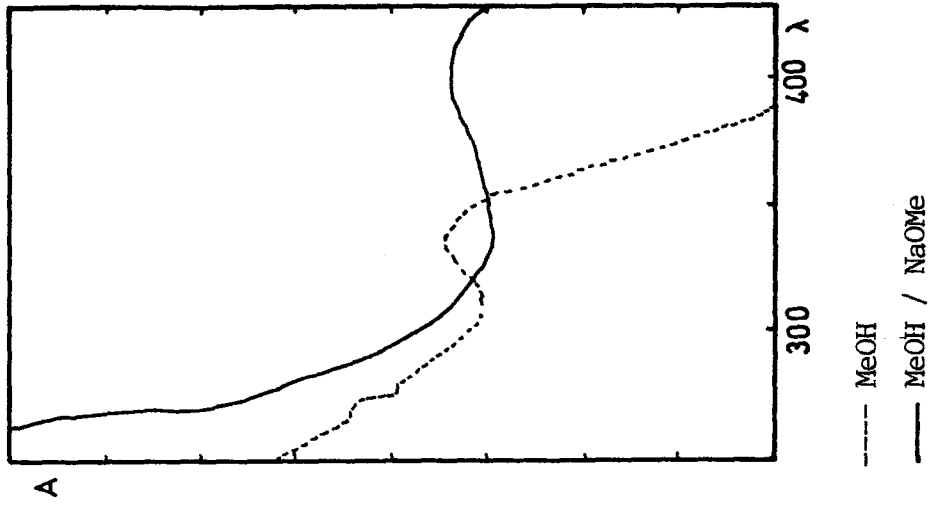
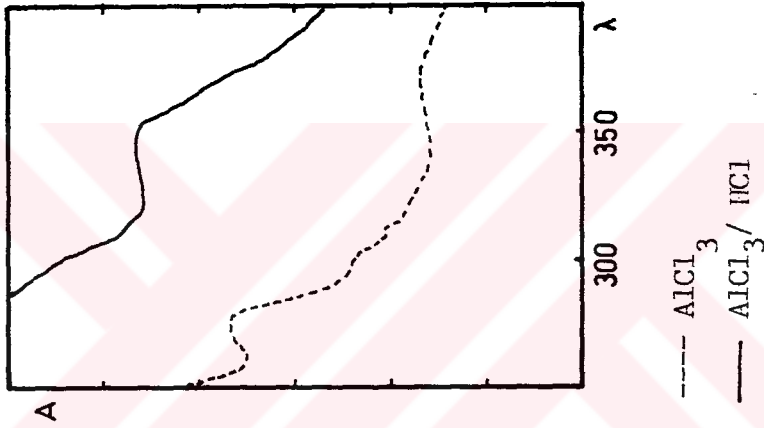
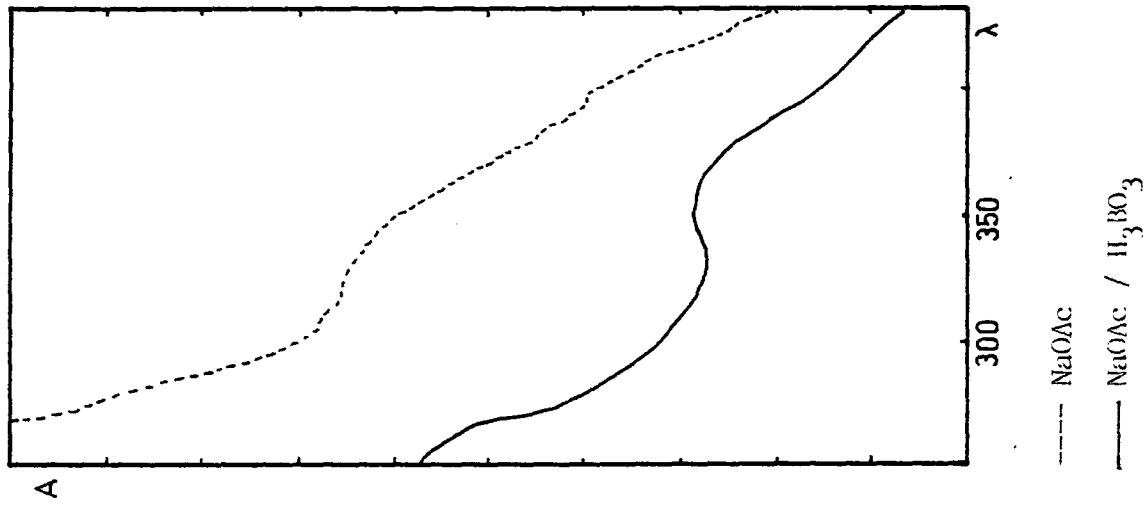


nm olduğu, HCl ilavesiyle 348 nm de bir pik daha oluştuğu göz-
lenince C-6 'da metoksi olabileceği kanıtlandı. NaOAc 'la kay-
ma olmadığından C-7 dolu olduğu anlaşıldı. H₃BO₃ ilavesiyle
Bant I 20 nm batokromik kayma vererek 355 nm 'ye gelmiştir.
Yani orto dihidroksi grupları mevcuttur ve boştur. C-3' ve C-
4' boştur. (şekil:15)

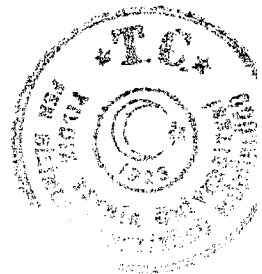
Sellüloz plakada, %45 lik CH₃COOH de standart madde ile karşı-
laştırılınca aynı R_f (R_f=0,40) ve aynı renk reaksiyonları
gözlenmiştir.

Bu verilere dayanarak madde 6,7-dimetoksi luteolin olarak ta-
nımlanmıştır.





Şekil 15. MW 6 Bileşiğinin UV Spektrumu



3.3.7. MV7 ve MV8 Bileşikleri

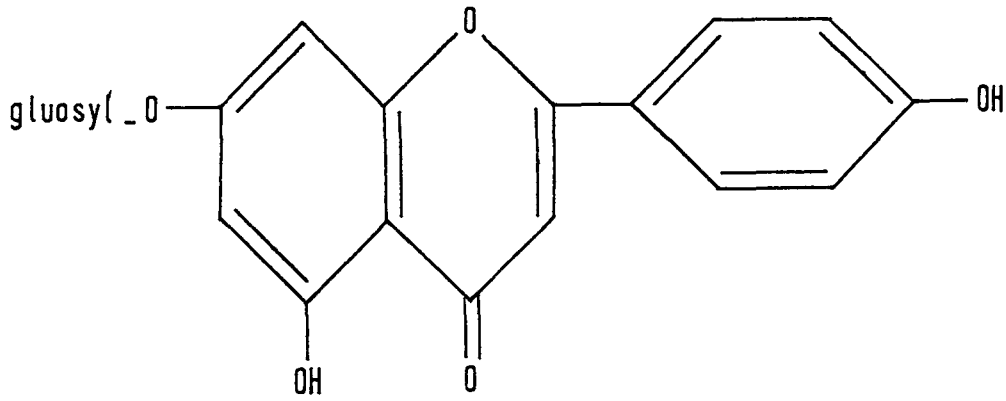
Bu maddelerin miktarları çok az olduğundan UV spektrumları alınamadı. Bitkilerde çok yaygın bulunan bileşikler olduklarından, renk reaksiyonu ve standart ile yapılan ince tabaka kromatogramlarıyla maddeler saptanmıştır.

MV7 Bileşiği = Apigenin-7-O-glikozit

Renk reaksiyonu	UV (366 nm)	koyu mor
	NH ₃	sarı
	NA Belirteci	sarı
Rf değerleri	Rf = 0,55	(%45 CH ₃ COOH)
	Rf = 0,61	(TBA*)

(TBA = t.butanol:asetikasit:su:3:1:1)





MV8 Bileşiğı = Acacetin

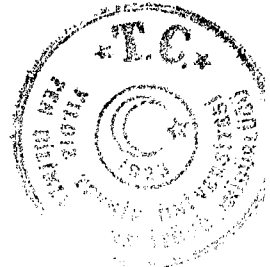
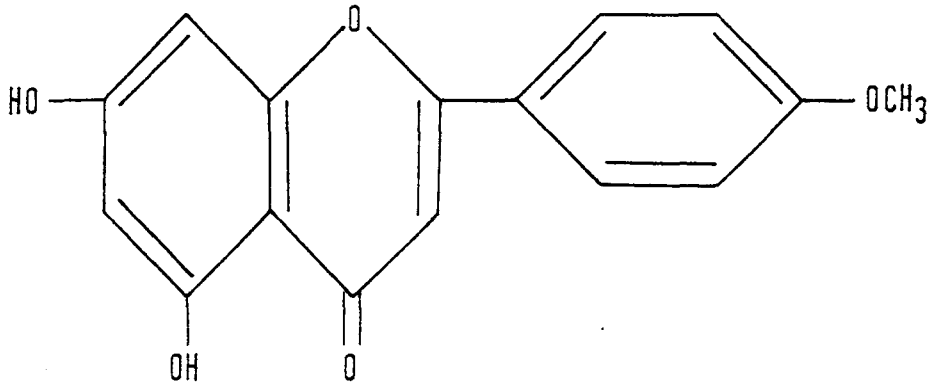
Renk reaksiyonu UV (366 nm) koyu mor

NH₃ koyu mor

NA-Belirteci koyu mor

Rf değeri Rf = 0,26 (%45 CH₃COOH)

Rf = 0,90 (TBA)

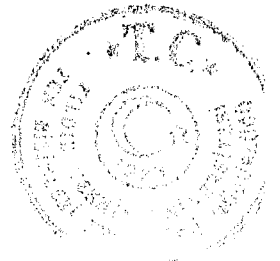


4. SONUÇ

Marribium vulgare L. bitkisinin kimyasal olarak incelenmesi amacıyla yapılan bu çalışmada üç terpen - steroid, bir kumarin ve dört flavonoid bileşiği bulunmuştur.

Tüm bileşikler, bitkinin tamamından (kök, gövde, yaprak) izole edilmiştir. Bitki aseton ve etanol ile ayrı ayrı maserasyona bırakılmıştır.

Bir triterpenik asit olan ursolik asit ve sterol yapısındaki β -sitosterol bitkilerde, *Marribium* türlerinde de yaygın görülen bileşiklerdir. *Marribium vulgare* L. ile yapılmış olan değişik çalışmalarda bu bileşiklere rastlandığı yapılan literatür araştırmalarında görülmüştür. Bu bileşikler kromatografik ve spektroskopik yöntemlerle tanımlanmışlardır.

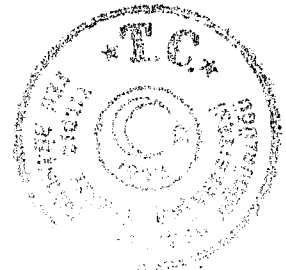


Bir diterpen lakton olan marrubiin,ekstrenin uzun süre durmuş olması nedeniyle bulunamamıştır.Buna karşılık,yine *Marrubium vulgare* 'den izole edilmiş olan benzer yapıdaki premarrubiin izole edilip,tanımlanmıştır.Yapısı UV, IR, NMR ve kütle spektrumlarıyla aydınlatılmıştır.

Bitkiden 4,7-dimetoksi, 5-metil kumarin bileşimindeki siderin isimli kumarin izole edilmiştir. Labiatae familyasında görülen ancak *Marrubium* türlerinde şimdiye kadar rastlanmamış olan bu kumarinin yapısı da UV, IR, NMR ve kütle spektrumları ile belirlenmiştir.*Marrubium vulgare* L. 'den ilk olarak bir kumarin izole edilmiştir.

Luteolin ve türevleri,apigenin ve türevleri *Marrubium* türlerinde en yaygın bulunan flavonoid bileşiklerdir.Alkol ekstresinden iki luteolin türevi (6,7-dimetoksi ve 6,7,3',4' tetrametoksi) kromatografik ve spektroskopik yöntemlerle saptanmıştır. Ayrıca bitkilerde yaygın olan acacetin ve apigenin 7-O-glikozit de renk reaksiyonu ve kromatografik yöntemlerle tanımlanmıştır.

Genel olarak *Marrubium vulgare* L. den elde edilen bileşikler , diğer *Marrubium* türlerinden ve *Marrubium vulgare* L. den elde edilmiş olan bileşiklerle uyum sağlamaktadır. Ancak kumarin türü bir bileşiği rastlanmamıştır.



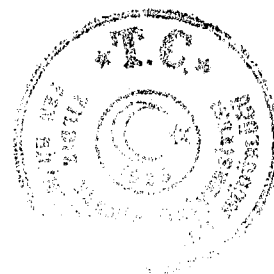
KAYNAKLAR

- 1) Davis, P.H., Flora of Turkey and the East Agean Islands,
7, Edinburg University Press, Edinburg (1982)
- 2) Baytop, A., Farmasötik Botanik İst.Üni. Yayınları No:2311
Eczacılık Fak. Yayınları No:25 İst.(1977)
- 3) Baytop, T., Türkiye 'de Bitkiler ile Tedavi (Geçmişte ve
Bugün) İst.Üni. Yayınları No:4 İst.(1984)
- 4) Braun, H., Heilpflanzen - Lexikon für Ärzte und Apotheker,
Gustov Fischer Verlag-Stuttgart (1968)
- 5) Geissman, T.A., Crout, D.M.G., Organic Chemistry of
Secondary Plant Metabolism, Freeman Cooper and Company,
California (1969)
- 6) Fieser, M. und L., Organische Chemie, Verlag Chemie (1968)
- 7) Christen, H.R., Grundlagen der organischen Chemie, Verlag
Sauerlaender (1972)
- 8) Fınar, I.L., Organic Chemistry Vol.2 V Edition Longman-
London (1975)
- 9) Beyer, H., Organic Chemistry, Verlag Harri Deutsch,
Frankfurt (1963)
- 10) Harborne, J.B., Mabry.T.J., Mabry.H., The Flavonoids,
Chapman and Hall-London (1975)
- 11) Mabry, T.J., Markham, K.R., Thomas, M.B., The Systematic
Identification of Flavanoids, Springer-Verlag,
Berlin (1970)
- 12) Gussman, T.A., The Chemistry of Flavonoid Compounds, The
MacMillan Company-New York (1962)



- 13) Harborne, J.B., Mabry, T.J., The Flavonoids Advances in Research, Chapman and Hall-London (1982)
- 14) Gualterio S., Boll. Chim. farm. 86, 56-9 (1947), Ref. C.A. 41 4893g (1947)
- 15) Bernardi. A., Boll. Chim. farm. 90, 269-71 (1951), Ref. C.A. 45 9898e (1951)
- 16) Bernardi. A., Ghigi. E., Ricerca sci. 17, 937-8 (1947), Ref. C.A. 43 5011b (1949)
- 17) Hardy, D.G., Rigby.W., Moody D.P., J.Chem Soc. 2955-64 (1957)
- 18) Nichols, H.J., J.Pharm. sci 53 (8) 895-9 (1964)
- 19) Bucakorn C.H., Briner M., Schlumprech L., Eberhardt K.H., Arch Pharm. 285, 290-6 (1952) Ref. C.A. 47 7164g (1953)
- 20) Bartarelli M., Boll Chem Farm 105 (11) 787-98 (1966) Ref. C.A. 66 88626e
- 21) Henderson M.S., Mc.Crindle R., J.Chem. Soc (C) 15 2014-15 (1969)
- 22) Salei, L.A., Andruschchenks, O.P., Reinbold, A.I., Popa, D.P., Ref. C.A. 76 144737n (1972)
- 23) Popa D.P., L.A.Salei Ref. C.A. 80 12454r (1974)
- 24) Lawson, A., Eustice E.D., J. Chem Soc. 587-9 (1939)
- 25) Ghigi E., Boll Sci. 6, 40-1 (1948) Ref. C.A. 44 2174g (1950)
- 26) Salei L.A., Popa, D.P., Daleish L., Lazur 'evskii, V., Kim.Prir.Saedin 3(2), 90-5 (1967) Ref. C.A. 67 43948r (1967)

- 27) Salei L.A., Popa, D.P., Lazur 'evskii, V., Kim. Prir. Soedin
Ref. C.A. 66 28923q (1967)
- 28) Savona, G., Bruno M., Rodriguez B., Phytochemistry 23
(1) 191-92 (1984)
- 29) Saleh, M.R.I.; Sorg T.M., Metwally A.M., Rokha A.A.,
Egypt, J. Pharm sci 1980 (Pub. 1982) 21 (3-4) 387-7
Ref. C.A. 98 68860j (1983)
- 30) Savona G., Franco P., Aranguiz L., Rodriguez B.,
Phytochemistry 18(5) 859-60 (1979)
- 31) Gella E.V., Zhukov L.M., Grimova T.A., Litvinenko V.L.,
Pichugin U.V., SV 1,175 483 Ref. C.A. 104 75005e
(1986)
- 32) Zhukov, I.M., Belikov, V.V., Farm Zh. (Kiev) 5,
55-8, (1989) Ref. C.A. 112 18874d (1990)
- 33) Jawad, A.M., Jaffer H.J., Al-Naib, A., Naji, A.,
Int J. Crude Drug Res. 26(4), 185-8 (1988)
Ref. C.A. 110 228625 (1989)
- 34) Darbour, N., Baltassat, F., Raynaud J.,
Pharmazie 41 (8) 605-6 (1986)
- 35) Aynehchi, Y., Sormaghi, M.H., Int. J. Crude Drug Res.
20 (1) 61-70 (1982) Ref. C.A. 97 141755q (1982)
- 36) Salei, L.A., Popa D.P., Lazur 'evskii G.V., Khim
Prir. Soedin, 5 (3) 182-3 (1969) Ref. C.A. 72
9770c (1970)
- 37) Pulatova, T.P., Khim. Prir. Soedin 5 (1) 62-3 (1969)
Ref. C.A. 71 62-3 (1969)



- 38) Pulatova, T.P., Khalmatov, Kh.Kh., Farmatsevt Inst.
4, 32-5 (1966) Ref. C.A. 67 88329f (1966)
- 39) Stah, E., TLC., A Laboratory Handbook Springer Verlag-
Berlin-Heidelberg-NewYork (1969)
- 40) Aliev, R.K., Aliev, A.M., S.M. Kirovz 9, 69-75 (1956)
Ref. C.A. 52 1476h (1957)
- 41) Stepanenks, G.A., Khomova, T.V., Khim. Prir. Soedin (4)
443-6 (1981) Ref. C.A. 96 3645g (1981)
- 42) Panekino, T.V., Gusakova, S.D., Zalevskaya, E.M.,
Umarov, A.U., Inst. Khim. Rustit. 618-25.
Ref. C.A. 94 27403m (1981)
- 43) Brieskorn, C.H., Feilner, K., Phytochemistry 7(3),
485-92 (1968)
- 44) Boiteau, P., Pasich, B., Ratsimamanga, A.R.,
Les Triterpenoids, Gauthier-Villars, Paris (1964)
- 45) Nielsen, B.E., Coumarins of Umbelliferous Plants.
The Royal Danish School of Pharmacy Copenhagen (1970)
- 46) Fulke, J.W.B., Henderson, M.S., Mc. Crindle, R.,
J.Chem.Soc. (C), 807-10 (1968)
- 47) Lawson, A., Eustice E.D., J.Chem.Soc. 587-89 (1939)
- 48) Appleton, R.A., Fulke, J.W.B., Henderson M.S.,
McCrindle, R., J.Chem.Soc. (C) 1943-47 (1967)
- 49) Cocker, W., Cross, B.E., Duff, S.R., Edward, J.T.,
Holley, T.F., J.Chem.Soc. 2540-48 (1953)
- 50) Burn, D., Rigby, W., J.Chem.Soc. 2964-74 (1957)

51) Venturella, P., Bellino, A., Piozzi., F.,

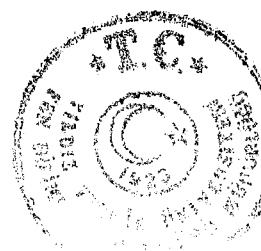
Tetrahedron Letters No.12, 979-81 (1974)

52) Gonzalez, A.G., Fraga, B.M., Hernandez, M.G.,

Luis, J.G., Phytochem 11 2115 (1972)



T.C. YÜREKLERİ KATILIM KURULU
DOKÜMANLARI VE KİTAPLARI



ÖZGEÇMİŞ

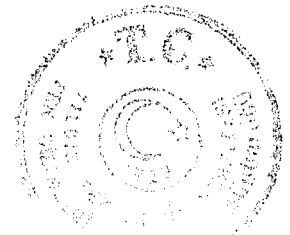
1946 İstanbul doğumluyum. İlk ve Orta öğrenimimi İstanbul'da Özel Kalamış İlkokulunda ve Erenköy Kız Lisesinde 1963 yılında tamamladım. 1964 yılında İstanbul Üniversitesi Fen-Fakültesi Kimya-Fizik Bölümüne kayd oldum. 1968 Haziran döneminde adı geçen fakülteden mezun oldum. Kasım 1968 den Eylül 1969'a kadar Galatasaray Mühendislik Özel Yüksek Okulu 'nda Kalitatif Laboratuvarında asistan olarak çalıştım. Eylül 1969 dan Haziran 1973'e kadar BASF Farben+Fasern AG. (Glasurit) Firmasında kimyager olarak görev aldım. Şubat 1974 de İ.D.M.M.A. Kimya Kürsüsünde Asistan olarak göreve başladım. 1976 yılında " Türkiye 'de Elde Edilen Zeytinyağların Özelliklerinin Bölgelere Göre Değişiminin İncelenmesi " konulu Yeterlilik Çalışmasını tamamladım.

Mayıs 1978 - Ekim 1978 tarihleri arasında misafir araştırmacı olarak Bundesanstalt für Fettforschung Institut'da "Palmöl ve Palmöl Fraksiyonlarının Kromatografik Yöntemlerle Ayrılması " üzerinde çalıştım.

1979 yılında "Türkiye 'de Elde Edilen Zeytinyağlarının Bileşiminin Kromatografik İncelenmesi " konulu çalışma ile doçent ünvanını aldım.

1989 yılında 3455 Sayılı Yasa ile Profesörlüğe yükseltildim.

2.11.1982 'de Anorganik Kimya Anabilim Dalı Başkanlığı 'na ve 1.10.1984 tarihinde Kimya Bölümü Başkan Yardımcılığı görevlerine atandım. 16.9.1988 tarihlerinde özel nedenlerden bu görevlerden ayrıldım. Halen aynı Anabilim dalında görevimi sürdürmekteyim. Almanca ve İngilizce dillerini bilmekteyim.



DÜZELTMELER

Sayfa	Yanlış	Doğru
1,39	Labiatae	Labiatae
5	Marrubium Vulgare L.	Marrubium vulgare L.
6	$\text{CH}_2 - \text{C}(\text{CH}_3) - \text{CH} - \text{CH}_2$	$\text{CH}_2 = \text{C}(\text{CH}_3) - \text{CH} = \text{CH}_2$
14	karbonteflaklorür	karbontetraklorür
14	Salowski Reaksiyonu	Salkowski Reaksiyonu
15	Roserheim testi	Rosenheim testi
19	-piron halkası	δ -piron halkası
26,27,29	β -halkası	B-halkası
38	kuvvete	kuvvetli
50	Slikajel kolon	Silikajel kolon
53	bakletilir	bekletilir
56	100-150 mm'lik	100-150 ml'lik
58	Marribium vulgare L.	Marrubium vulgare L.
59	uç	uç
63	Rf= 2,5 (kloroform)	Rf= 0,25 (kloroform)
68	Marrubium vulgare L. olan	Marrubium vulgare L. den
79	Bant III	Bant II
87	Marribium vulgare L.	Marrubium vulgare L.