



YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Verbascom cheir. boiss'
dizkiel üzer. kim. ve yapı araş.

Doktora Tezi

Sabiha Yalçın

4500
43

T.C.
YILDIZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

VERBASCUM CHEIRANTHIFOLIUM BOISS.
(SCROPHULARIACEAE) BİTKİSİ ÜZERİNDE
KİMYASAL ve YAPI ARAŞTIRMALARI

(Doktora Tezi)

KİM.YÜK.MÜH. SABIHA YALÇIN (MANAV)

İSTANBUL - 1986

YILDIZ ÜNİVERSİTESİ
GENEL KİTAPLIĞI

Kot :
Alındığı Yer : ~~Fen Bil. Enst.~~
Tarih : 10/03/1989
Fatura :
Fiatı : 4500 TL
Ayniyat No : 1/3
Kayıt No : 45957
UDC : 54 378.242
Ek :



İÇİNDEKİLER

VERBASCUM CHEIRANTHIFOLIUM BOISS.
(SCROPHULARIACEAE) BİTKİSİ ÜZERİNDE
KİMYASAL VE YAPI ARAŞTIRMALARI

54

(DOKTORA TEZİ)



KİM.YÜK.MÜH. SABİHA YALÇIN (MANAV)

İSTANBUL-1986



Sayfa

İÇİNDEKİLER

Sayfa

TEŞEKKÜR

ÖZET

SUMMARY

1. GİRİŞ VE ÇALIŞMANIN AMACI	1
2. TEORİK BÖLÜM	2
2.1. Bitkinin Tanımı ve Yayılışı	2
2.1.1. Scrophulariaceae Familyası	2
2.2.2. Verbascum Cinsi	3
2.1.3. Verbascum Cheiranthifolium Boiss.	3
2.2. Verbascum Türlerinin Farmakolojik Et- kileri ve Halk Arasında Kullanımı	5
2.3. Genel Bilgiler	8
2.3.1. Steroidler	8
2.3.1.1. Dağılımları	8
2.3.1.2. Elde Edilmeleri	9
2.3.1.3. Renk Reaksiyonları	10

2.3.1.4. Spektral Yöntemler	10
2.3.1.5. Kimyasal Reaksiyonlar	14
2.3.2. Flavonoidal Bileşikler	14
2.3.2.1. Dağılımları	14
2.3.2.2. Oluşumları	15
2.3.2.3. Elde Edilmeleri	17
2.3.2.3.1. Bitkiden Tüketme	17
2.3.2.3.2. Kromatografik Yöntem- ler	18
2.3.2.4. Tanınmaları	21
2.3.2.4.1. Renk Reaksiyonları	21
2.3.2.4.2. Spektral Yöntemler	25
2.4. Verbascum Türleriyle Bugüne Kadar Ya- pılmış Çalışmalar	41
2.4.1. Steroid ve Terpenoid Maddeler	42
2.4.2. Flavonoid Maddeler	42
3. DENEYSEL BÖLÜM	44
3.1. Genel Teknikler	44
3.1.1. Kromatografik Yöntemler	44
3.1.1.1. Sütun Kromatografisi	44
3.1.1.2. İnce Tabaka Kromatogra- fi si	46
3.1.1.3. Kağıt Kromatografisi	47

3.1.2. Spektrofotometrik Yöntemler	47
3.1.2.1. UV Spektrofotomet-	
resi	47
3.1.2.2. IR Spektrofotometresi ..	48
3.1.2.3. ¹ H NMR Spektrofotometresi	48
3.1.2.4. Kütle Spektrofotometresi ...	48
3.1.3. Erime Derecesi	49
3.1.4. Belirteçler	49
3.1.4.1. Steroid Belirteçleri ...	49
3.1.4.2. Flavonoid Belirteçleri .	50
3.1.4.3. Şeker Belirteci	50
3.1.4.4. UV Spektrumu Kayma Be-	
lirteçleri	51
3.2. Uygulanan Kimyasal Reaksiyonlar	53
3.2.1. Asetilleme	53
3.2.2. Asit Hidroliz	53
3.3. Yapılan İşlemler	54
3.3.1. Bitkinin Tüketilmesi	54
3.3.2. Alkol Ekstresinin İşlenmesi	54
3.3.3. Ekstrelerin Fraksiyonlandırıl-	
ması ve Bileşiklerin İzolas-	
yonu	56
3.3.3.1. Kloroform Ekstresi	56
3.3.3.2. Etil Asetat Ekstresi	56

3.4. Bu Çalışmada Elde Edilen Bileşikler	59
3.4.1. V Bileşiği= β -Sitosterol	59
3.4.2. C ₁ Bileşiği=Viteksin	66
3.4.3. C ₂ Bileşiği=Apigenin	70
3.4.4. C ₃ Bileşiği=Swertisin	74
3.4.5. C ₄ Bileşiği=Luteolin	79
3.5. Elde Edilen Bileşiklerin Spektrum	
Değerleri	83
SONUÇ VE TARTIŞMA	96
KAYNAKLAR	99
ŞEKİL LİSTESİ	106
TABLO LİSTESİ	107
ÖZGEÇMİŞ	

Bana bu çalışmayı yapma olanağını sağlayan ve yürütülmesinde desteğini esirgemeyen sayın hocam Y.Ü. Fen Ed. Fak. Kimya Bölüm Başkanı Doç. Dr. Esin Çurgunlu'ya, çalışmalarım sırasında, denemelerin yapılmasına olanak sağlayan, derin bilgi ve deneyimlerinden daima yararlandığım T.Ü. Eczacılık Fak. Öğretim Üyesi sayın Prof. Dr. Ayhan Ulubelen'e sonsuz saygı ve şükranlarımı sunarım.

ÖZET

Bu çalışmada *Verbascum cheiranthifolium* B. bitkisinin toprak üstü kısımları steroid ve flavonoid bileşikleri yönünden incelendi.

V. cheiranthifolium bitkisi Haziran 1984'de Bozüyük (Bilecik) çevresinden toplandı. Taze halde iken, bitkinin toprak üstü kısımları etil alkol ile 1 hafta maserasyona bırakılarak tüketildi. Ekstre düşük basınçta koyu şurup kıvamına gelene kadar yoğunlaştırıldı. Elde edilen alkol ekstresine kloroform-su arasında partisyon uygulandı. Sulu kısımdan ayrılan kloroform kısmı yoğunlaştırıldı. Kalan sulu kısma etilasetat-su arasında partisyon uygulandı. Ayrılan etilasetat kısmı da yoğunlaştırıldı.

V. cheiranthifolium bitkisinin yapılan ince tabaka kromatografilerinde steroid bileşikler bakımından kloroform ekstresi zengin görüldüğü için bu bileşikler elde etmek amacıyla bu ekstre ile çalışıldı.

Kloroform ekstresi yoğunlaştırılıp silikajel sütuna yerleştirildikten sonra elüsyona benzen ile başlanıp gittikçe artan oranlarda kloroform ve son olarak alkole geçildi.

V. cheiranthifolium bitkisinden elde edilen V (β -sitosterol) alkol ekstresinin kloroform kısmından izole edilmiştir.

β -Sitosterol preparatif ince tabaka kromatografisi ile saflaştırılmıştır.

Elde edilen steroid bileşiğin yapısı spektral yöntemler (IR, NMR ve kütle spektrumu), asetilleme reaksiyonu ve standart örneklerle ince tabaka kromatografisi ve erime derecesi kıyaslanarak aydınlatılmıştır.

Bu bitkiden izole edilen β -Sitosterol daha önce bazı Verbascum türlerinden de elde edilmiştir.

V. cheiranthifolium bitkisinin alkol ekstresi etil asetata çekilerek elde edilen ekstreden flavonoid bileşikler izole edilmişlerdir. Poliklar sütunda

elüsyona Egger $|\text{CHCl}_3\text{-EtOH (2:1)}|$ çözücü sistemi ile başlanıp alkole ve son olarak suya geçildi. Elde edilen bileşikler, C_1 (viteksin), C_2 (apigenin), C_3 (swertisin), C_4 (luteolin), olmak üzere toplam dört flavonoiddir.

Bu bitkiden izole edilen flavonoid bileşikler daha önce bazı *Verbascum* türlerinden elde edilmişlerdir.

Flavonoid bileşikler küçük sefadeks LH-20 sütunlarından geçirilerek veya preparatif ince tabaka kromatografileri yapılarak temizlenip saflaştırılmışlardır.

Saflaştırılan flavonoid bileşiklerin yapılarını aydınlatmak için UV, NMR spektrumları ve ince tabaka kromatografileri standart örneklerle kıyaslanmıştır.

Sonuçta *V. cheiranthifolium* B. bitkisinden bir steroid ve dört flavonoid yapısında bileşik elde edilmiştir.

extract. The solution started with benzene, increasing amounts of chloroform were added into it and the solution completed with alcohol.

SUMMARY

The chloroform part of alcohol extract yielded 101 6-steroids. In this study the above ground parts of *Verbascum cheiranthifolium* B. was investigated for its steroid and flavonoidal compounds.

V. cheiranthifolium was collected from Bozöyük (Bilecik) district in June 1984. The fresh plant, its above ground parts was macerated with ethanol for a week. Acetylation reaction and thin layer chromatographic comparison with authentic sample and by melting point.

The alcohol extract was applied the partition between chloroform and water. The chloroform part was concentrated and the water part was applied the partition between ethylacetate and water. The etil acetat part was concentrated.

Since the chloroform extract of *V. cheiranthifolium* showed most of the steroids in its thin layer chromatography, this extract was used to obtain steroids. A silicagel column was used to separate the chloroform

extract. The elution started with benzene, increasing amounts of chloroform were added into it and the elution completed with alcohol.

The chloroform part of alcohol extract yielded (V) β -Sitosterol.

β -Sitosterol was cleaned by preparative thin layer chromatography.

The identification and structure determination of the steroid was done by spektral methods (IR, NMR and Mass), acetylation reaction and thin layer chromatographic comparison with authentic sample and by melting point.

The steroid from *V. cheiranthifolium* was previously obtained from other *Verbascum* speices.

The alcohol concentrate of *V. cheiranthofolium* was reextracted with ethylacetate to obtain the flavonoidal compounds. The modified Egger solvent (CHCl_3 -EtOH (2:1)) was used to elute the column. (Polyclar), by reducing the amount of chloroform, the polarity was increased, elution was continued with water. Four flavonoids

C₁ (Vitexin), C₂ (Apigenin), C₃ (Swertisin), C₄ (Luteolin) were isolated from this column.

The flavonoids from *Verbascum cheiranthifolium* were previously obtained from other *Verbascum* species.

The flavonoids were cleaned from small Sephadex LH-20 column or by preparative thin layer chromatography.

The purified flavonoids were identified by recording their UV, NMR spectra and thin layer chromatographic comparison with authentic sample.

As a result of this study one steroid and four flavonoids were isolated from *V. cheiranthifolium* Boiss.

1. GİRİŞ VE ÇALIŞMANIN AMACI

Ülkemizde 200 kadar Verbascum türü yetişmektedir (1, S.292).

Verbascum türleri, ülkemizde halk arasında balgam söktürücü göğüs yumuşatıcı olarak infüzyon (%2-5) halinde, kronik bronşit ve anfizemde kullanılmaktadır (2, S.390). Dünyada Verbascum türlerinin farmakolojik aktiviteleri üzerinde pekçok çalışmalar yapılmış ve yapılmaktadır.

Türkiye'de yaygın olarak bulunan ve şimdiye kadar sadece Saponinleri saptanan (3) Verbascum Cheiranthifolium Boiss bitkisi üzerinde kimyasal ve yapı araştırmaları yapılarak, bitkinin steroid ve flavonoid bileşiklerinin incelenmesi amaçlanmış ve çalışma bu yönde yapılmıştır.

2. TEORİK BÖLÜM

2.1. BİTKİNİN TANIMI VE YAYILIŞI

2.1.1. SCROPHULARIACEAE FAMILYASI

Çoğunlukla otsu, bir kısmı küçük çalılar veya parazit bitkilere dir. Yapraklar alması k, karşılıklı veya helezon şeklinde, tam veya parçalıdır. Çiçekler iki cinsli, salkım, başakçık veya talkım panikülleri dir. Kaliks 4-5 parçalı, iki dudaklı veya iki loplu dur. Korolla gamopetal, çoğunlukla zigomorfik ve iki dudaklı, bazen boru şeklinde çıkıntılı veya keselidir. Korolla daima tomurcukta birbiri üstüne konmuş loplardır. Stamenler korollaya yapışık 4 ve didinam, bazen 2 veya 5 tir. Ovaryum, dalın ucunda bulunan çiçeğin dişilik organının sapı ile birlikte üsttedir, çoğunlukla horizontal septumlu iki hücrelidir ve çok ovüllüdür. Meyva, çoğunlukla kapsula, bazen tohum şeklindedir (4, S.458).

Bu familyada yaklaşık 210 cins ve 3000 tür bulunmaktadır. Türkiye'de 25 cinsi ve 500'e yakın türü vardır (1, S.290).

Scrophulariaceae familyasının bitkileri bazı alkaloidler, glikozitler, steroidler, flavonoidler , iridoidler, terpenoidler ve diğer biyolojik aktivite gösteren bileşikleri taşırlar (5).

2.1.2. VERBASCUM CİNSİ

Tek, iki veya çok yıllık otsu bitkilerdir. Çoğunlukla sık tüylüdür ve tüyler dallanmıştır. Yapraklar, bitkinin tabanında rozet şeklinde toplanmış ve gövde üzerinde almasıktır. Çiçekler dik, basit veya dallanmış salkımlar oluştururlar. Korolla sarı renkli, tekerlek şeklinde yayık, stamen 5, iki farklı tipte, 3'ü eş, diğer ikisi eştir. Filamentler ovat şekilli, iki gözlü, septisit bir kapsuladır (1, S.292).

2.1.3. VERBASCUM CHEIRANTHIFOLIUM BOİSS

Bitki iki yıllık, 30-120 cm. boyunda, ince damarlı ve kısa tüylü, çoğunlukla sarımsı, bazen grimsi

veya beyazımsı, yumuşak veya daha çok biraz sertlikte yıldız şeklinde tüylüdür. Gövde ince, uzunlamasına çizgili, genellikle çok dallanmıştır. Ana yapraklar mızraksı şekilden oblonga kadar değişen şekillerde (boyu 7-30 cm, eni 1.5-8 cm), sivri, tek parça veya nadiren tırtıllıdır. Petiol 2-6 cm 'dir. Çiçekler oldukça basit, genellikle çok ince, dik ve yayılmış dallar şeklindedir. Çiçekler oblongtan ovata kadar değişen 2-7 tane gevşek salkım çiçekli panikuldur. Kaliks 1.5-4.5 mm, lineer loplardan, üç köşeli mızrakımsı şekle kadar değişen keskin veya sivri nadiren geniştir. Korolla sarı 20-25 mm çapında, stamenler 5, anterler reniformdur (4, S.587).

Verbascum Cheiranthifolium bitkisinin çiçeklenme mevsimi Mayıs-Ağustos aylarıdır. Ormanlarda, bodur ağaç yetişen yerlerde, bozkırlarda, çayırlarda, kireçtaşı kayalıklarında 680-1930 m yükseklikte yetişirler (4, S.588).

Ülkemizde Kuzey, Güney, Doğu ve Orta Anadolu'da oldukça yaygın olarak, Ege bölgesinin bazı illerinde de nadiren bulunmaktadır.

2.2. VERBASCUM TÜRLERİNİN FARMAKOLOJİK ETKİLERİ VE HALK ARASINDA KULLANIMI

Halk arasında sığırkuyruğu olarak bilinen Verbascum türleri uzun yıllar çeşitli tıbbi amaçlarla kullanılmışlardır.

Bazı Verbascum türlerinin çiçekleri, stamenleri ile birlikte toplanıp gölgede kurutulmuş korollası kullanılır. Bu drog özellikle *V. phlomoides* L., *V. densiflorum* Bertol ve *V. thapsus* L. türleri ile bunların grubunda bulunan diğer türlerden elde edilir. Bu türler 50-200 cm. yükseklikte, parlak sarı çiçekli, büyük ve tüylü yapraklı ve iki yıllık bitkilerdir. Bileşimlerinde müsilaj, uçucu yağ ve flavon glikozitleri vardır.

Bazı verbascum türlerinin, özellikle Türkiye'de yaygın olan *V. sinuatum* L. türünün tohumları taşıdıkları bir saponinden dolayı, balıklar için zehirlidir. Bu türlerin tohumları biraz et ile ezilerek balıklara

yem olarak atılır ve uyuşmuş olan balıklar el ile toplanır. Bu yöntem balık yavrularının toplu halde ölmesine sebep olduğu için çok zararlıdır (6, S.375).

Verbascum türlerinin kurutulmuş yaprakları da bazı tıbbi amaçlar için kullanılır. Drog grimsi yeşil renkli, sık tüylü, kokusuz ve lezzetsiz parçalar halindedir. Bileşimlerinde saponinler, müsilaj, rezin ve acı maddeler vardır.

İnfüzyon halinde terletici, balgam söktürücü, yatıştırıcı, idrar arttırıcı ve kabız olarak kullanılır (6, S.376).

Bazı Verbascum türlerinin farklı gelişme durumları esnasında, toprak üstü kısımlarında, kök, yaprak çiçek ve tohumlarında, azot, protein, lipid, şeker, nişasta, müsilaj, peptik maddeler, hemi selüloz, selüloz, fosfor, kalsiyum, magnezyum, potasyum ve biyolojik aktif maddeleri (alkaloid, saponin, flavonoid, lakton, kumarin ve askorbik asid) içerdikleri saptanmıştır (7).

Verbascum türlerinin bazılarının, fibroblast kültüründe, bazı türlerinde civciv ceninin enflüanza virüsünün

kültüründe antiviral etkiye sahip olduğu saptanmıştır. En kuvvetli antiviral etkiye sahip Verbascum türünün V. thapsus olduğu bulunmuştur (8). V. thapsus çiçeklerinin hem hücre kültüründe, hem de civciv cenninde interferon'a benzer aktivitede bir faktöre sebep olduğu saptanmıştır (9).

V. formanekii'nin hipotensif, V. longifolium'un kardiyak, V. anisophyllum'un kardiyak ve miyotonik etkileri bulunmuştur. V. banaticum, V. lychnis ve V. abielinum anti-muskarinerjik aktivite gösterirler (10).

2.3. GENEL BİLGİLER

2.3.1. STEROİDLER

2.3.1.1. DAĞILIMLARI

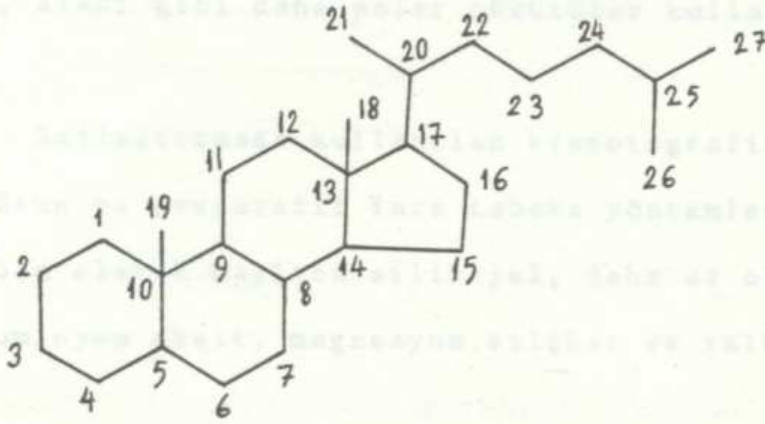
Steroidler, bitkiler ve hayvanlar aleminde çok yaygın olarak bulunan çiklopentanohidroferantren iskeletine sahip bileşiklerdir.

Steroidler, cinsiyet hormonları, adrenal korteks hormonları, kalp glikozitleri, mide ve safra asitleri ile kolestrolun, hatta bazı vitaminlerin yapısını oluşturarak hayati fonksiyonlar üzerinde etkili olan bileşiklerdir.

Doğal veya sentetik steroidler, kemoterapide geniş ölçüde kullanılırlar.

Steroid molekülleri iskelet ve yan gruplardan oluşur. Normal steroid iskeleti aşağıdaki gibi olup,

halkalar A,B,C ve D olarak isimlendirilir ve numaralandırılır (11, S.675).



Bitkisel steroller C_3 'de bir hidroksil grubuna, C_5 'de genellikle bir çifte bağa ve C_{17} 'de yan zincire sahiptirler (12).

2.3.1.2. ELDE EDİLMELERİ

Genel çalışmalarda bitkinin kurutulan ve toz edilen kısımları değişen polaritedeki çözücülerle tüketilerek elde edilen ekstreler kromatografik yöntemlerle

saflaştırılırlar. Çoğu sterol yapılar için tüketme polar olmayan çözücülerle yapılır. Ancak steroidin çok sayıda hidroksil, karboksil gibi gruplar taşıması veya glikozit yapısında olması halinde etil asetat, alkol gibi daha polar çözücüler kullanılır.

Saflaştırmada kullanılan kromatografik yöntemler sütun ve preparatif ince tabaka yöntemleridir. Adsorban olarak başlıca silikajel, daha az olmak üzere alüminyum oksit, magnezyum silikat ve talk kullanılır.

2.3.1.3. RENK REAKSİYONLARI

Steroidlerin tanınma reaksiyonlarında en önemlisi ve en çok uygulananı Liebermann-Burchard reaksiyonudur (13, S.269). Ancak reaksiyon oldukça yavaştır ve rengin mavi-yeşil-mor şeklinde değişmesini dikkatle izlemek gerekir.

2.3.1.4. SPEKTRAL YÖNTEMLER

Steroidlerin yapılarının saptanmasında spektroskopik yöntemlerden yararlanılır.

UV SPEKTRUMU

UV spektrumu steroidler için fazla bilgi vermez, 3-OH'dan ötürü 200 nm'nin altında bir maksimum verirler, çifte bağlar genellikle izole durumda olduğundan 200-210 nm civarında kuvvetli bir uç absorbsiyon verirler (14).

IR SPEKTRUMU

Bir bileşiğin steroid yapıda olduğunu belirtir ve aynı yapıdaki fonksiyonel gruplar hakkında ilk bilgiyi vermesi bakımından önemlidir, ancak bileşiğin yapısı hakkında başka bir fikir vermez. Parmak izi bölgesi ise steroidler için karakteristik ve hayli karışıktır. $3350-3550\text{ cm}^{-1}$ arasında serbest ya da hidrojen bağı yapan hidroksil grupları, $1640-1650\text{ cm}^{-1}$ 'de çifte bağlar izlenebilir.

^1H NMR SPEKTRUMU

NMR spektrumu steroidlerin yapı tayininde çok önemli bir rol oynar. NMR spektrumunda metil bantları

0.5-1.5 ppm arasında çıkar. Steroidlerde metilen pikleri çok karmaşık ve yaygındırlar, bu nedenle metilen bantı yerine metilen zarfı söz konusudur, diğer benzer yapıdaki bileşiklerden bu metilen zarfı ile ayırdedilirler. Hidroksile ve ester gruplarına komşu protonları 3.5-4.5 ppm'de, vinilik protonları 5.0-6.0 ppm arasında gözlenir.

¹³C NMR SPEKTRUMU

Son yıllarda ¹³C NMR spektroskopisi yöntemi doğal ürünlerin yapı tayininde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu yöntem ile moleküldeki karbon atomlarının sayısı ve durumu belirlenir. ¹³C NMR sinyalleri 0-200 ppm gibi geniş bir alanda gözlemlendiklerinden ¹H NMR sinyallerine göre çok daha iyi ayırım verirler (23, S.23). ¹³C NMR spektrumunda yorumlanmasını güçleştirebileceği için ¹H çekirdeğinin ¹³C çekirdeği üzerindeki etkisinin kaldırılmasını sağlayan (proton-noise, decoupling) yöntemler ile spektrum basitleştirilir, böylece molekülde sadece karbon atomlarına ait pikler (singletler şeklinde) gözlenir.

Yorumlamada kolaylık sağlayan ikinci bir yöntemde titreşim alanı dışı decoupling (Off-resonance decoupling) yöntemidir. Bu yöntemde karbon-proton kısa alanlı etkileşmesi saptanmıştır. Bu yöntemde alınan bir spektrumda metil gruplarına ait karbonlar kuvartet, metilen karbonları triplet, metil karbonları duplet, kuarterner karbonlar ise singlet şeklinde görülür (15, S. 238).

sp^3 hibritlerine sahip C içeren metil grupları 0.00-50 ppm, sp^2 hibritlerine sahip C içeren vinilik karbonlar 100-160 ppm, sp hibritlerine sahip asetilenik karbonlar 50-80 ppm'de bulunurlar. Heteroatomlara komşu C'lar 60-80 ppm arasında, karbonil grubu C'ları 160-210 ppm arasında gözlenir.

KÜTLE SPEKTRUMU

Elementel analizle bulunmuş olan kapalı formül, kütle spektrumu yardımıyla doğrulanarak molekül ağırlığı bulunmuş olur. İskelet üzerindeki çifte bağın yeri değişik parçalanmalara neden olur, böylece çifte bağın yerini saptamak mümkün olabilir (16). Ayrıca bileşikte

asit, alkol, hidroksil gibi çeşitli gruplara ve özgün iskelet yapısına göre değişik parçalanmalar olmaktadır, bu parçalanmalara göre bileşiğin yapısı hakkında fikir edinilir.

2.3.1.5. KİMYASAL REAKSİYONLAR

Bileşiğin spektral analizlerinden elde edilen bulguların doğrulanması amacıyla yapılır. Ayrıca spektral analizler ile tam aydınlığa kavuşmamış noktalar varsa bazı kimyasal reaksiyonlarla yapının kesin tayini mümkün olur. Bu amaçla türev hazırlama, çeşitli yükseltgemeler, indirgeme ve halka parçalanması gibi reaksiyonlar yapılır.

2.3.2. FLAVONOİDAL BİLEŞİKLER

2.3.2.1. DAĞILIMLARI

Flavonoidler, fenil kromon grubu taşıyan doğal kaynaklı bileşiklerdir. Flavon iskeleti 15 karbon atomundan meydana gelen benzo γ -piron yapısındadır. Flavonoidler, yosunların büyük bir kısmı ve bakteriler hariç hemen her bitki türünde yaygın olarak bulunurlar. Bitkilerde flavonoid bileşiklerin yayılışı,

hidroksisinnamik asit türevleri ve ligninlerin yayılması ile paraleldir.

Flavonoidler, doğada hidroksil gruplarını serbest olarak ya da metil eteri veya glikozitleri halinde taşıyan ve bitkilerin kök, sap, çiçek, polen, meyve ve tohum gibi hemen her bölümünde bulunan maddelerdir.

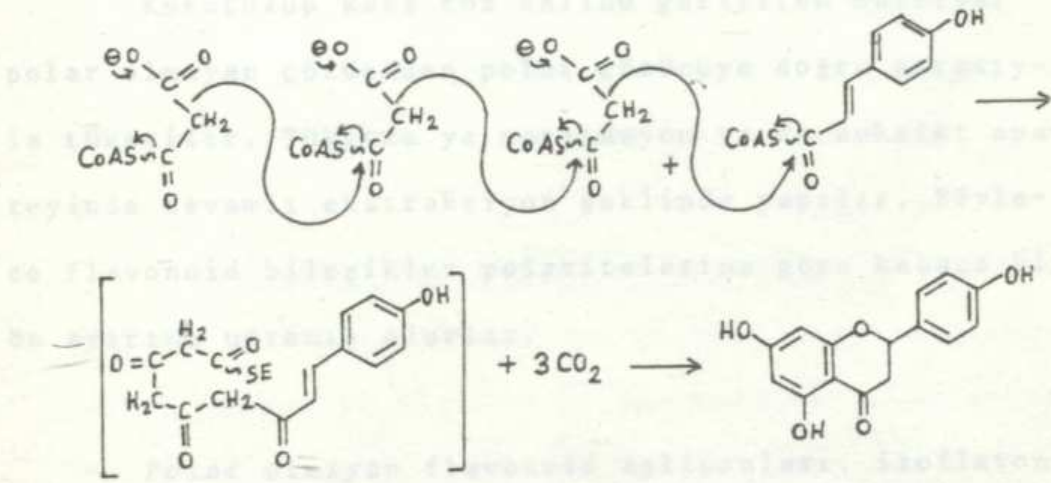
2.3.3.2. OLUŞUMLARI

Flavonoidler bitkilerin ikincil metabolitlerindendir. Bitkilerin fotosentezle oluşturdukları ve hayatsal gereksinimleri için kullandıkları karbonhidrat, amino asitler v.b. gibi birinci metabolitlerden türerler.

Flavonoidlerin karbon iskeleti sırasıyla A, C ve B halkalarına oluşturan $C_6-C_3-C_6$ birimleri şeklindedir. Radyoaktif olarak işaretlenmiş bileşiklerle yapılan deneyler sonucu flavonoidlerin A halkasının asetil koenzim A moleküllerinden veya 3 molekül malonil koenzim A'dan, B ve C halkalarının ise şikimik asit üzerinden oluşan sinnamik asit gibi fenil propanoid

bileşiklerden meydana geldiği saptanmıştır. A halkasını meydana getiren asetat üniteleri ile B ve C halkalarını meydana getiren fenil propanoid bileşiklerin kondensasyonu ile flavonoidler oluşur (17, S.87).

Şekil-1'de bu oluşum görülmektedir.



Şekil-1: Flavonoidlerin oluşumu

Biyosentez esnasında kalkon/flavon izomerizasyonu oksidasyon, çevrilme, alkilasyon ve glikozilleme gibi birçok ara reaksiyonlar da yer alır. Şekil 2'de başlıca flavonoid iskeletleri verilmiştir.

2.3.2.3. ELDE EDİLMELERİ

2.3.2.3.1. BİTKİDEN TÜKETME

Kurutulup kaba toz haline getirilen materyal polar olmayan çözücünden polar çözücüye doğru sırasıyla tüketilir. Tüketme ya maserasyon ya da Sokslet aparatında devamlı ekstraksiyon şeklinde yapılır. Böylece flavonoid bileşikler polaritelerine göre kabaca bir ön ayırma uğramış olurlar.

Polar olmayan flavonoid aglikonları, izoflavonlar, flavononlar, dihidroflavononlar ve metoksi flavonlar, benzen, kloroform veya eter gibi çözücülere kolaylıkla geçebilirler (18). Daha polar flavonoidler, yani polar aglikon ve glikozitleri ise etil asetat, aseton, alkol, su gibi çözücüler ile tüketilerek elde edilirler.

2.3.2.3.2. KROMATOĞRAFİK YÖNTEMLER

Flavonoidlerin ekstraktan ayrılması ve saflaştırılması için kromatografik yöntemler kullanılır. Büyük miktarlarda flavon eldesi için sütun kromatografisi, küçük miktarlar için preparatif ince tabaka ya da kağıt kromatografisinden yararlanılır.

SÜTUN KROMATOĞRAFİSİ

Bu yöntemde poliklar, selüloz, silikajel ve sefadeks en çok tercih edilen adsorbanlardır.

Poliklar (polivinil poliproliden): Flavonoid bileşikleri için yüksek ayırma gücüne sahip olduğundan sütun kromatografisinde en çok kullanılan adsorbandır. Poliklar molekülündeki $-NH_2$ ve $C=O$ grupları fenolik OH' larla hidrojen bağı yaparak flavonların ayrılmasını sağlarlar.

Selüloz (mikrokristal) : Flavonoid aglikon ve glikozitleri için iyi bir adsorbandır. Selüloz sütun kromatografisinde gerek adsorbsiyon, gerekse partisyon yöntemine göre ayırım yapmak mümkündür.

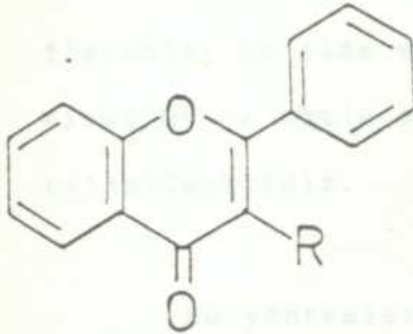
Silikajel: İzoflavonlar, polimetoksi flavonlar, flavononlar ve dihidroflavonoller için kullanılır.

Sefadeks LH-20: Hidroksi propillenmiş dekstran yapısında olup organik çözücü ile çalışma olanağı sağladığından flavonoidlerin ayırımı ve özellikle saflaştırılmasında çok kullanılır.

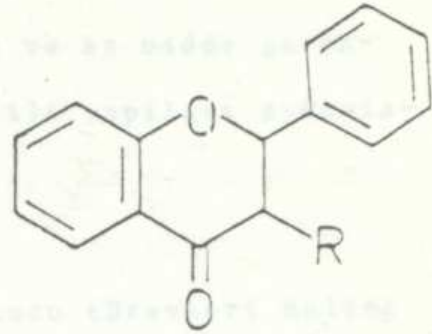
PREPARATİF VE İNCE TABAKA KROMATOĞRAFİSİ

Flavonoidlerin ince tabaka kromatografisi ile peraparatif ayırımında en çok kullanılan adsorbanlar poliklar, selüloz ve silikajeldir (19, S.20).

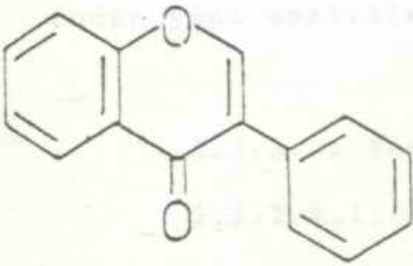
Peraparatif kağıt kromatografisi, flavonoidlerin tanınmalarında ve ayırımlarında kullanılan bir yöntemdir. Preparatif kağıt kromatografisinde analitik çalışmalarda kullanılan tiplerden daha kalın kağıtlar kullanılır (Whatman No. 3 gibi). İyi bir ayırım için çift boyutlu kağıt kromatografisi tercih edilir.



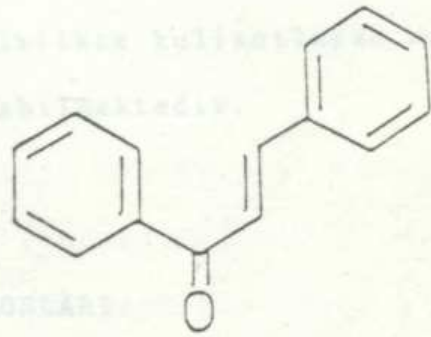
R=H FLAVON
R=OH FLAVONOL



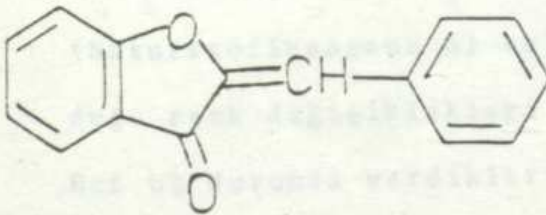
R=H FLAVANON
R=OH DİHİDROFLAVONOL



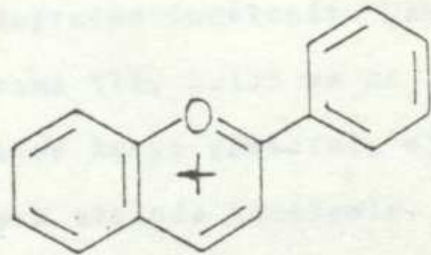
İZOFLAVON



HALKON



AURON



ANTOSİYANİDİN

Şekil 2: Flavonoid

iskeletleri

Preparatif çalışmalarda çok az miktarda olan flavonlar da elde edilebilmekte ve az madde gerektiren UV ve kütle spektrumları ile yapıları aydınlatılabilmektedir.

Bu yöntemlerden başka uçucu türevleri haline getirilmiş flavonoidlerin gaz-likit kromatografisinde ya da yüksek basınçlı sıvı kromatografisinde (HPLC) ayrılmalrı da mümkün olmaktadır. Bazen gaz kromatografisi-kütle spektrumu (GC-MS) birlikte kullanılarak doğrudan yapı analizleri de yapılabilmektedir.

2.3.2.4. TANINMALARI

2.3.2.4.1. RENK REAKSİYONLARI

Flavonoidlerin ince tabaka ve kağıt kromatografisi yapıldıktan sonra elde edilen kromatogramlardaki lekeler önce UV ışık altında doğrudan incelenir. Daha sonra sırası ile HN_3 buharlarına (19, S.13) ve NA (Naturstoffreagenz A) belirtecine karşı göstermiş olduğu renk değişiklikleri UV ışık altında incelenir. Her üç durumda verdikleri floresanslar ile flavonoid bileşiğin tipi ve sübstitüsyonları hakkında ön bilgi edinilir (Tablo 1).

Flavonlar 5-OH durumunda oksidasyon sayılarına bağlı olmaksızın UV ışıktta (336 nm) mor renk verirler. 5,4'- di OH durumunda NH_3 buharları ve NA belirteci ile sarı, 5,4',3'-tri OH durumunda NH_3 buharları ile sarı ve NA belirteciyle turuncu renk verirler.

5-deoksi, 5-O-glikozit ya da 5- OCH_3 olduğunda UV ışık altında parlak mavi, parlak yeşil renk verirler.

Flavonollerde, 3-OH serbest ise UV ışık altında sarı renk vererek flavonlardan ayırdedilirler. 3',4-OH flavonoller NH_3 buharı ve NA belirteci ile sarı, 3',4'-OH flavonoller ise NH_3 buharı ile sarı, NA belirteci ile turuncu renk verirler.

Ayrıca flavonoidlerin sulu NaOH, derişik H_2SO_4 , Mg-HCl ve Na-Hg (sonra asid) belirteçleri ile de verdikleri renk reaksiyonlarından bileşğin tipi ve sübsitüsyonları hakkında ön bilgi edinilebilir (Tablo 2), (20, S.72).

Tablo 1- Flavonoid bileşiklerin renk reaksiyonları

UV	UV/NH ₃	UV/NA	Flavonoid Bileşik
Koyu mor	Koyu mor	Koyu mor	5-OH açık, 3-OH yok ya da kapalı, 3'-4' OH yok veya kapalı.
Koyu mor	Koyu mor	Sarı	5-OH açık, 3-OH ya da kapalı, 4'-OH kapalı, 3'-OH açık.
Koyu mor	Sarı	Sarı	5-OH açık, 3-OH yok ya da kapalı, 4'-OH serbest, 3'-OH yok, ya da kapalı.
Koyu mor	Sarı	Turuncu	5-OH açık, 3-OH yok ya da kapalı, 3'-4' OH açık.
Koyu mor	Koyu kah-verengi	Turuncu	5-6OH var, 3-OH yok ya da kapalı, 3'-4-OH var.
Koyu mor	Koyu kah-verengi	Kahverengi	5-6 OH var, 3-OH yok ya da kapalı, 3' ya da 4'-OH açık.
Sarı	Sarı	Sarı	Serbest 3 ve 5-OH var.
Sarı	Sarı	Kırmızı-turuncu	3 ve 5-OH açık, 3'-4' OH var.
Parlak flo-resan mavi	Parlak flo-resan mavi-yeşil	Mavi	5-OH yok, ya da kapalı, 3-OH yok ya da kapalı.
Parlak flo-resan mavi	Parlak flo-resan mavi-yeşil	Mavi-yeşil	5-OH yok, ya da kapalı, 3-OH yok ya da kapalı, 3'4' OH var.
Parlak flo-resan sarı	Daha parlak flo-resan sarı	Mavi	5-OH yok ya da kapalı, 3'4' OH yok.
Parlak flo-resan sarı	Daha parlak flo-resan sarı	Mavi-yeşil	5-OH yok, ya da kapalı, 3'4' OH var.

Tablo 2: Flavonoid bileşiklerin, renk reaksiyonları

Flavonoid Tipi	Sulu NaOH	Derişik H_2SO_4	Mg-HCl	Na-Hg (sonra asid)
Flavonon	Soğukta; sarı→turuncu, sıcakta; koyu kırmızı veya mor	Turuncu→ koyu kırmızı	Kırmızı, morumsu kırmızı, menekse mavi	Kırmızı
Flavon	Sarı	Şiddetli sarı → turuncu çözeltili sık karakteristik floresans.	sarı → kırmızı	Kırmızı
Flavonol	Sarı → turuncu (hava oksidasyonu ile kahverengi).	Şiddetli sarı → turuncu çözeltili sık karakteristik floresans	Kırmızı → morumsu kırmızı	Sarı → soluk kırmızı
Flavonol	Çok soluk sarı, kahverengiye çok çabuk değişir.	Kırmızımsı sarı	Kırmızı → morumsu kırmızı	Kahverengimsi-sarı

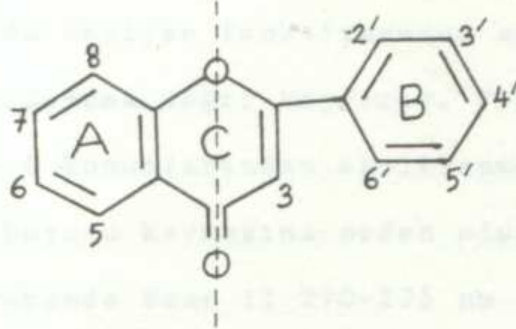
2.3.2.4.2. SPEKTRAL YÖNTEMLER

UV SPEKTROSKOPİSİ

Bu yöntemle çok az miktarda (0.1 mg kadar) madde kullanarak flavonoid bileşiğin yapısı hakkında önemli bilgiler edinilir.

Bileşiğin uygun bir çözücüdeki (özellikle metanol) çözeltinin spektrumu ve özel belirteçler ilâvesi ile spektrumlarda gözlenen kaymalar, bileşiğin ana iskeleti ve süstitüentleri hakkında geniş bilgiler verir (19, S.41).

Flavonoid bileşiklerin UV spektrumunda genel olarak biri uzun dalga boyunda, diğeri kısa dalga boyunda olmak üzere iki büyük absorbsiyon bandı gözlenir. Bunlardan uzun dalga boyunda olup flavonoidin B halkası (sinnaoil) ile ilişkisi olanı Bant I adını alır. Kısa dalga boyunda olanı ise A halkası (benzoil) ile ilişkilidir ve Bant II adını alır.



benzoil sinnamoil

Flavonoid bileşiklerde uzun dalga boylarına kayma (batokromik kayma) A ve B halkalarında hidroksil sayısı ile doğru orantılı olarak artar. Özellikle 3,5 ve 4' konumundaki hidroksil gruplarına sübstitüent girmesiyle Bant I ve Bant II daha kısa dalga boyuna (hıpsokromik kayma) kayar.

METANOL SPEKTRUMU

Flavonoid bileşiğin metanol spektrumu özellikle iskelet tipi hakkında bilgi verir.

Flavonlarda Bant I 304-350 nm arasında, flavonollerde 3-OH grubu serbest ise 352-385 nm arasında, 3-OH

grubu sübstitüe olmuşsa 328-357 nm arasında gözlenir. B halkasında oksijen fonksiyonunun artması Bant I'i uzun dalga boyuna doğru kaydırır. Flavonlarda A halkasının 6 ve 8 konumlarından oksitlenmesi Bant II'nin uzun dalga boyuna kaymasına neden olur. Örneğin 6-OCH₃ sübstitüsyonunda Bant II 270-275 nm arasında gözlenirken 6-OH sübstitüsyonunda 280-285 nm civarına kayar (19, S.45).

Flavonollerde A halkasındaki farklı oksijen fonksiyonları farklı kaymalara neden olurlar. 6-OH flavonollerde 8-12 nm'lik bir hipsokromik kayma gözlenirken 6-OCH₃ flavonollerde kayma gözlenmez. 8-OH flavonollerde ise 13-16 nm'lik bir batokromik kayma gözlenir (21, S.241).

İzoflavon ve flavononlarda Bant I'in absorbsiyonu düşük şiddette, kimi zaman bir omuz halinde görülürken, Bant II'nin şiddeti artar. Bant II izoflavonlarda 245-270 nm arasında, flavonlarda ise 270-295 nm arasında yer alır.

Kalkon ve oronlarda Bant I ana absorbsiyon bandı olarak gözlenir, kalkonlarda 340-390 nm, oronlarda 370-420 nm arasında yer alır.

SODYUM METİLAT SPEKTRUMU

Sodyum metilat kuvvetli bir baz olduğu için flavonoid bileşiklerdeki bütün hidroksil gruplarını iyonize eder. Özellikle molekülde serbest 4'-OH olması halinde Bant I 40-65 nm kadar uzun dalga boyuna kayar ve şiddeti artar. Fakat serbest 3-OH'a sahip flavonoidlerde, 4'-OH serbest olmasa bile 50-60 nm'lik bir kayma gözlenir, ancak bantın şiddeti azalır.

Flavon ve flavonollerde 7-OH grubu serbest halinde ise Bant I'in kısa dalga boyuna bakan kısmında 305-350 nm arasında bazen omuz, bazen de düşük şiddetli bir pik halinde Bant III gözlenir (22).

Flavon ve flavonollerde 5,6,7 veya 5,7,8 trihidroksi, 3,4'-dihidroksi ve 3,3',4' trihidroksi durumları varsa bozunma nedeni ile bant I'in şiddeti zamanla azalır (19, S.47).

ALUMİNYUM Klorür SPEKTRUMU

$AlCl_3$, flavon ve flavonollerde 5-OH, 3-OH ve B halkasındaki orto dihidroksi grupları ile ayrı ayrı kelat



oluşturur. B halkasındaki o-dihidroksi gruplarıyla oluşan kelat zayıf olduğundan seyreltik HCl ilâvesiyle bozunur ve 30-40 nm'lik bir hipsokromik kayma gösterir.

SODYUM ASETAT/20% METANOL SPEKTRUMU:

$AlCl_3/HCl$ belirteciyle flavonoid bileşiklerin C-6'daki sübstitüsyonu aşağıdaki değerlerle anlaşılır: Metanol spektrumuna göre Bant I'de meydana gelen batokromik kayma 5-OH, 6-OCH₃ sisteminde 16-23 nm (23), 5-OH, 6-OH sisteminde 25-30 nm (24), 5-OH, 6-H sisteminde ise 35-55 nm (19, S.54) kadardır.

SODYUM ASETAT SPEKTRUMU:

Sodyum asetat, sodyum metoksitten daha zayıf bir baz olduğu için ancak daha asidik hidroksil gruplarını etkiler.

Flavon ve flavonollerde 7 konumundaki hidroksil grubu serbestse NaOAc'in ilavesiyle gözlenen Bant II, metanol spektrumundaki Bant II'ye göre 5-20 nm'lik bir batokromik kayma gösterir. Ancak, flavonlarda 6 ya da 8 konumlarında oksijen varsa bu durum gözlenmez (19, S.48) (17, S.58). Ayrıca 7-OH grubu serbest olan 4'-hidroksi

flavon ve flavonollerde sodyum asetat ilâvesiyle alınan spektrumun Bant I'i, sodyum metoksit spektrumundaki Bant I'e göre daha düşük dalga boyuna kayar (22).

SODYUM ASETAT/BORİK ASİT SPEKTRUMU

Borik asit, sodyum asetatlı ortamda moleküldeki orto-dihidroksi gruplarıyla kelat yapar. B halkasında 0-dihidroksi durumu varsa flavon ve flavonollerde Bant I, 12-30 nm kadar uzun dalga boyuna kayar. A halkasında 6,7 veya 7,8 konumlarında hidroksil grupları içeren flavonoidlerde bu kayma daha da artar (19, S.51).

¹H NMR SPEKTRUMU

Flavonoid bileşiklerin büyük kısmı polar karakterde olduğundan NMR spektrumlarını almak için bir süre uygun çözücü bulunamamış, ancak apolar karakterdeki flavonoidlerin analizi yapılabilmıştır. Daha sonraları d₆-dimetilsülfoksit gibi polar çözücüler kullanılarak polar karakterdeki flavonoidlerin ¹H NMR spektrumları alınabilmiş, ancak bu çözücünün kaynama derecesinin yüksek oluşu, nem çekici olması gibi özellikleri flavonoid bileşiğin bozunmasına ve geri kazanılmasında güçlüklerle neden olmuştur.

Bugün flavonoid bileşiklerin .NMR spektrumları, trimetilsilil eter türevleri (TMSi) halinde, CCl_4 , CDCl_3 , C_6D_6 , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ veya bunların karışımları gibi polar olmıyan çözücülerde alınmaktadır (19, S.255).

A HALKASI PROTONLARI

5,7-dihidroflavonlarda C_6 ve C_8 meta protonları 5.7-6.9 ppm arasında J değeri 2.5 Hz olan iki ayrı duplet halinde gözlenir. C_6 protonuna ait duplet C_8 dupletinden daha yukarı alanda bulunur, 7-OH grubuna şeker bağlı ise her iki duplet de daha aşağı alana kayar. Eğer 5 ve 7'ye ilâveten 6 veya 8'de de sübstitüent varsa C_6 veya C_8 protonu 6-6.5 ppm arasında bir singlet olarak gözlenir.

Sadece 7-OH grubu taşıyan flavonoidlerde C_5 protonu, 4-keto grubunun negatif gölgeleme etkisi ve C_6 'nın orto etkileşimi ile 8 ppm civarında J değeri 9 Hz olan bir duplet halinde görülürken C_6 ve C_8 protonları ise 5,7-dihidroflavonlara göre daha aşağı alana kayarlar. C_6 protonu hem C_5 , hem de C_8 protonları ile etkileştiği için J değeri 9 (orto) ve 2.5 (meta) Hz olan

duplet-duplet, C_8 protonu ise J değeri 2.5 (meta) Hz olan bir duplet olarak gözlenir.

B HALKASI PROTONLARI

C'_4 'den süstitüe flavonoidlerde B halkasının serbestçe dönebilmesine bağlı olarak C'_2 ve C'_6 ile C'_3 ve C'_5 protonları orto etkileşimli iki duplet halinde 6.5-7.9 ppm arasında görülür. C'_3 ve C'_5 protonlarının dupleti genellikle C'_2 ve C'_6 protonlarından daha üst alanda görülür (19, S.265).

3',4'-disüstitüe flavonlarda C'_5 protonu J değeri 8.5 Hz olan bir duplet halinde 6.7-7.1 ppm arasında çıkar. C'_2 ve C'_6 protonları genellikle 7.2-7.9 ppm arasında görülür ve aletin resolüsyonu az ise birbirinin içine girerler. C'_2 protonu meta etkileşimden dolayı J değeri 2.5 Hz olan bir duplet halinde, C'_6 protonu ise hem orto, hem meta etkileşimden dolayı $J=2.5$ Hz ve 8.5 Hz olan bir çift duplet halinde ve genellikle birbirlerinin üzerinden aştıklarından bir multipleret olarak gözlenirler. C'_2 ve C'_6 protonlarının birbirlerine göre kimyasal kayma değerleri 3' ve 4' konumlarındaki hidroksil gruplarının metillenme durumuna göre değişir. 4'-OCH₃, 3'-OH flavonoidlere

C'₂ protonu C'₆'dan daha yüksek alanda çıkarken 3'-OCH₃, 4'-OH flavonoidlerde ise durum tam tersinedir.

C HALKASI PROTONU

Flavonlarda C halkasındaki C₃ protonu 6.3 ppm civarında keskin bir singlet olarak çıkar. Flavonollerde C₃'de serbest ya da sübstitüe hidroksil bulunduğu için bu bant yoktur.

SEKER PROTONLARI

Flavonoidlerde şekerler ya oksijen üstünden ya da doğrudan doğruya karbona bağlanırlar. Bu bağlanışlara göre O-glikozitleri ve C-glikozitleri diye sınıflandırılırlar.

Flavonoidlerin O-glikozitlerinde şeker protonları 3-4 ppm arasında multipleret olarak çıkarken şekerin H₁ protonu daha aşağı alanda 4.8-6.0 ppm civarında duplet olarak çıkar (19, S.268).

H_1 'in kimyasal kayma değeri, şekerin bağlanma yeri, cinsi ve stereo kimyasal özellikleri hakkında bilgi verir, şeker 5,7 veya 4' konumlarından bağlı ise 4.8-5.2 ppm arasında gözlenir. Flavonollere 3 konumdan glikoz bağlanmasıyla H_1 protonu 5.7-6.0 ppm'de görülür. Aynı konumdan bir metil pentoz olan ramnozun bağlanmasıyla H_1 protonu 5-5.1 ppm de gözlenir, ramnozun metil grubu ise 0.8-1.3 ppm arasında $J=6.5$ Hz olan bir duplet ya da multiplet olarak izlenir.

Şeker β -bağı ile bağlanmışsa şekerin H_1 ve H_2 protonları dieksen etkileşimden dolayı $J=7$ Hz olan α -bağı ile bağlanmışsa diekvatoryal etkileşimden dolayı $J=2$ Hz olan bir duplet olarak gözlenir, eğer şeker molekülünün dönüşü çevre gruplar tarafından kısıtlanıyorsa daha belirgin bir duplet gözlenir (17, S.70).

Birbirine bağlı iki şeker varsa halkaya bağlı şekerin H_1 protonu aromatikliğin etkisiyle aşağı alana kayar ve 5.1-5.9 ppm de gözlenirken ikinci şekerin H_1 protonu daha alifatik yapıda olduğu için 4.65 ppm civarında multiplete benzer pik verir ve geri kalan bütün protonlar 3-4 ppm arasında çıkarlar.

Flavonoidlerin C-glikozitlerinde şeker genellikle C_6 ya da C_8 'den bağlanır. 5.7dihidroksi mono C-glikozitlerin C_3 , C_6 ve C_8 protonlarının veya glikozit asetillendiğinde şekerin C''_2 asetil protonunun gösterdiği farklı kimyasal kaymalardan şekerin 6 veya 8 konumunda olduğunu saptamak mümkün olmaktadır. C-glikozit flavonoid asetatların flavona ait aromatik ve şeker ait alifatik sinyalleri çok karakteristiktir (17, S. 673), (21, S.581).

C-glikozitler, asit hidroliz ile O-glikositlerin hidrolizlendiği şartlarda şeker ve aglikon kısımlarına ayrılmazlar, ancak $FeCl_3$ oksidasyonu veya periyodik asit oksidasyonu ile parçalanabilirler.

Periyodat oksidasyonu yaygın olarak kullanılmış olmasına rağmen sonuçta elde edilen ürünler şekerin bozunma ürünleri olmaktadır. Ferri klorür ile oksidasyonda ise flavon halkasının parçalanmasına rağmen şekerin bozunmadan elde edilmesi mümkündür, bu nedenle C-glikozitlerdeki şekeri tayin etmek için $FeCl_3$ ile oksidasyon yolu daha çok kullanılır (17, S.672), (21, S.480). Ayrıca kütle spektrografisi, şekerleri belirler.

METOKSİ PROTONLARI

Flavonoid çekirdeğine bağlı metoksi gruplarına ait protonlar çözücü olarak CCl_4 , CDCl_3 ve d_6 -DMSO (dötro dimetil sülfoksit) kullanıldığında 3.5-4.1 ppm arasında görülürler. Metoksi gruplarının konumlarını belirlemek için önce TMSi türevi halinde CCl_4 gibi inert bir çözücüde alınan NMR spektrumu daha sonra d_6 -benzen- de alınır, d_6 -benzenin etkisiyle CCl_4 'deki spektruma oranla 3.6 ve 8 konumlarındaki metoksi grupları hemen hiç kaymazlarken B halkasında 3',4',2' ve A halkasında 7 konumlarındaki metoksi grupları üst alana doğru 0.35-0.7 ppm'lik bir kayma gösterirler (25), C_3 -metoksi grubu ve orto durumundaki iki metoksi grubu ya da orto durumundaki metoksi ve hidroksi grupları ise ya çok küçük ya da hiç kayma göstermezler. Kütle bölünme parçalarından -OMe grubunun A ya da B halkasında olmadığı anlaşılır.

^{13}C NMR SPEKTRUMU

Flavonoidin C halkasındaki karbonil grubu 170-210 ppm civarında gözlenir. Aromatik karbonlardan oksijene komşu olanlar 130-165 ppm arasında gözlenirken oksijene komşu olmayanlar 95-130 ppm civarında gözlenirler.

Aromatik OCH_3 karbonları 55-60 ppm civarında çıkar-
ken aromatik C-CH_3 ve $-\text{COCH}_3$ gruplarının metil karbon-
ları daha üst alanda (20 ppm civarında) gözlenirler.
Oksijene komşu olan şeker karbonları 55-105 ppm arasın-
da, oksijene komşu olmayan karbonlar ise 40-80 ppm ara-
sında gözlenirler. Alifatik C-CH_3 metil karbonları ise
(10-20) ppm civarında gözlenir (21, S.21).

Moleküle yeni bir sübstitüent katılması, ya-
nındaki ^{13}C atomunun kimyasal kaymasına neden olur. Ge-
nellikle basit aromatik sistemler için konulan kurallar
flavonoid spektrumlarının yorumlanması için de geçerlidir.
Flavonoidin 3 yerine bir OH katıldığında bu karbon bandı
aşağı alana kayar ve beklenenden 33 ppm kadar aşağı alan-
da çıkar. Bu arada C_2 'deki orto etkisi ise beklenenden
daha büyük çıkarak 17 ppm kadar yukarı alana kayarlar
(26, 27).

Serbest hidroksil gruplarının asetillenmesi
ile flavonoidlerin ^{13}C NMR spektrumunda gözlenebilen fark-
lılıklar meydana gelir. Asetillenen hidroksilin bağlı ol-
duğu karbon atomu 6.6-15 ppm kadar yukarı alana kayarken,
orto konumdaki karbon 4.1-12.1 ppm, para konumdaki karbon
ise 2-7.9 ppm kadar aşağı alana kayar (28).

Serbest hidroksil gruplarının metillenmesi halinde, hidroksilin bağı olduğu karbon 1-4.7 ppm aşağı, orto konumdaki karbon 0.8-3.6 ppm yukarı alana kayar (27).

KÜTLE SPEKTRUMU

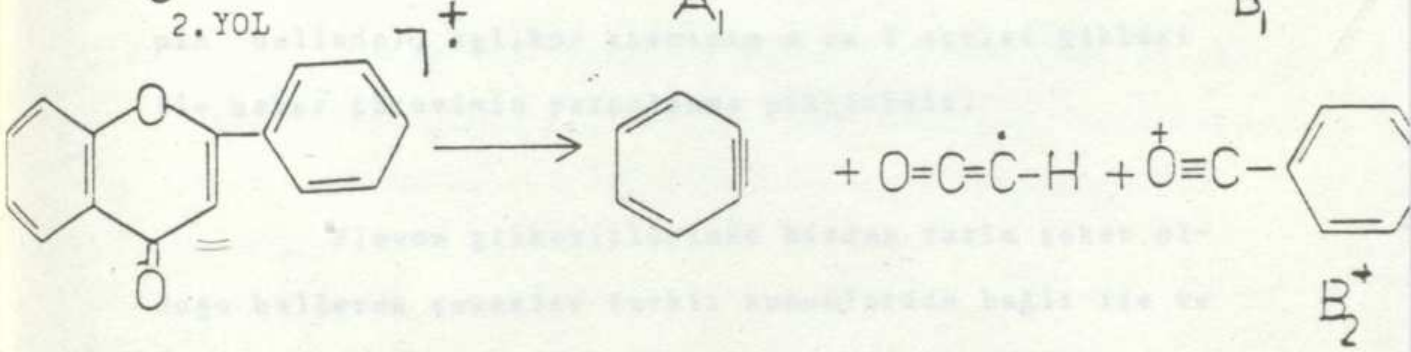
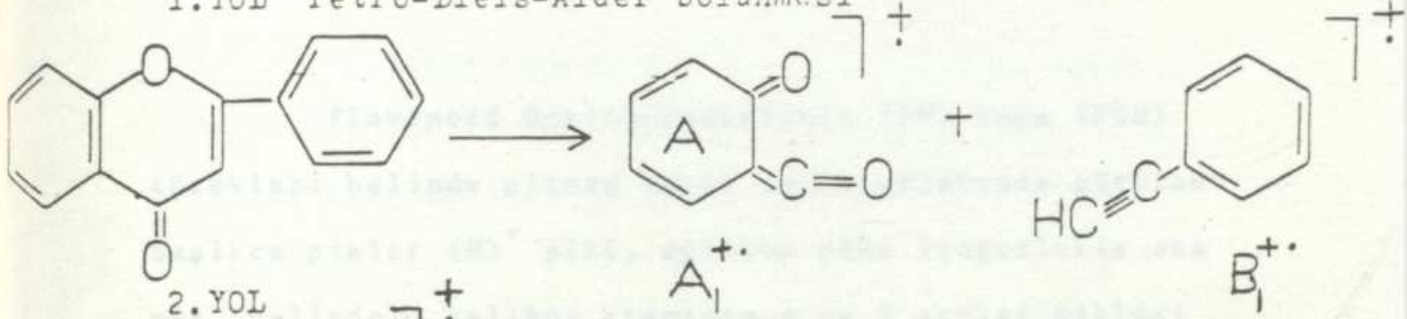
Flavonoid aglikon ve glikozitlerinin yapı tayinlerinde kütle spektrumu çok küçük miktarlara (1 mg'dan az) uygulanabilir olmasından dolayı çok kullanılır.

Elektron bombardımanı yöntemiyle flavonoid aglikonlarının çoğu kevvetli moleküler iyon piki $(M)^+$ verirler, hatta bu genellikle spektrumdaki ana piktir. Flavonoid glikozitleri ise uçucu özelliklerinin az olması nedeniyle nadiren moleküler iyon verirler, bu nedenle kütle spektrumunda uçucu türevleri haline getirilerek incelenirler. En çok kullanılan türevler permetil eteri (PM) ve aglikonda metoksi grubu bulunması halinde perdotrometil eterleridir (PDM) (29).

Flavon aglikonlarının moleküler iyondan başka gözlenen belirgin pikleri $(M-H)^+$, $(M-CO)^+$, metoksi flavonlar için $(M-CH_3)^+$ ve $(M-CO-CH_3)^+$ pikleridir.

Ayrıca A ve B halkaları koparak bir seri iyon oluştururlar. Flavon aglikonları A ve B iyon serilerini genellikle iki yoldan oluştururlar. Bu yollardan birisi retro Diels-Alder bölünmesidir (Şekil 3), (17, S.80).

1.YOL retro-Diels-Alder bölünmesi



Flavonoidlerin kütle spektroskopisinde bölünme yolları

Şekil-3

Kütle spektrumundaki moleküler iyon piki, A ve B serilerinin piklerine karşılık gelen kütle birimleri

ve bu piklerin şiddetleri flavonoid bileşiğin yapısı hakkında bilgi verir.

6-OCH₃ flavonlar ile flavonol 3-metil eterlerinde moleküler pik (M)⁺ %100 şiddette olurken 8-OCH₃ taşıyanlarda ise (M-CH₃)⁺ piki %100 şiddette olmaktadır (30).

Flavonoid O-glikozitlerinin (PM) veya (PDM) türevleri halinde alınan kütle spektrumlarında görülen başlıca pikler (M)⁺ piki, aglikon piki (çoğunlukla ana pik halinde), aglikon kısmının A ve B serisi pikleri ile şeker türevinin parçalanma pikleridir.

Flavon glikozitlerinde birden fazla şeker olduğu hallerde şekerler farklı konumlardan bağlı ise ve ayrıca açillenme söz konusu ise bunlar da türevleri halinde kütle spektrumunda saptanabilirler (31).

Flavon C-glikozitlerinin direkt kütle analizlerinde moleküler pik nadiren gözlenir ana tepe (aglikon+CH₂)⁺ şeklinde çıkar. Ayrıca bir, iki ve üç molekül su kaybına karşılık olan M-(H₂O)_n⁺ pikleri alifatik polihidroksi sistemler için karakteristiktir. C-glikozitlerinin PM ya da PDM türevleri halinde alınan spektrumlarında, moleküler pik küçük de olsa gözlenir.

2.4. VERBASCUM TÜRLERİYLE BUGÜNE KADAR YAPILMIŞ ÇALIŞMALAR

Verbascumlarda steroidler, terpenik maddeler, flavonlar, iridoidler, az miktarda alkaloidler ve doymuş yağ asitleri bulunmuştur.

Verbascum thapsus bitkisi üzerinde yapılan çalışmalardan doymuş yağ asitlerinden palmitik, stearik, oleik, linoleik, araşidik, behenik asidler bulunmuştur (34).

Flavon olarak apigenin ve türevleri, luteolin ve türevleri Verbascum türlerinde çok görülür.

Değişik Verbascum türlerinden elde edilen bileşikler aşağıda verilmiştir.

2.4.1. STEROID VE TERPENOID MADDELER

V. cheiranthifolium: Saponin (3)

V. lasianthum: β - Sitosterol (32)

V. thapsus: Veratrik asid, α -spinasterol, saikogenin A, 5- (etoksi-metil) furfural (33), β -sitosterol, ergosta - 7 - en - 3 β - ol (34).

V. phlomoides: Saponin (35,36), verbaskosaponin, verbaskojenin (35,37), aukubin, katalpol, kafeik asid, β -kumarik asid glikozit, dihiprolakton, β -sitosterol, stigmasterol (38).

V. lychnitis: α -spinasterol, stigmast-22-en-3 β -ol, ursolik asid (39).

2.4.2. FLAVONOID MADDELER

V. phlomoides: Hesperidin (40,41), flavonol-3- glikozit (40), diosmin, tamariksetin 7-0- glikozid, tamariksetin 7-0- rutinozid (41), apigenin, apigenin 7-0- glikozid, luteolin, luteolin 7-0- glikozid, krizoeniol, eriodiktyol, kamferol, kersetin, rutin, tamariksetin 7-0- ramnoglikozid (42)

V. Lychnitis: Apigenin, Luteolin, 3',4',5-trihydroxy-7-methoxyflavone, Luteolin 5-glikozit (43).

Değişik *Verbascum* türlerinden; *V. lychnitis*'-ten aukubosid, katalpol, asasetin, aynarosid, isokatalpol, katalposid (39), liçnitosid (44); *V. sinvatum*'dan 6-0- -L- ramnopiranosilaukubin (45), 6-0-α- sinuato-silaucubin (46), harpagosid, diakiliridoiddiglikosid (45,46), sinuatosid (47); *V. georgicum*'dan verbascosid A, ramnopiranosilkatalpol, aukubin (48); *V. saccatum*'-dan aukubin, 6-α- ramnosyekatalpol, sakkatosid (38); *V. thapsus*'dan aukubin, katalpol (49), *V. thapsus*'dan aukubin, katalpol (49), tapsuin A, tapsuin B, hidroksitapsuin A, hidroksitapsuin B (50) iridoid maddeleri saptanmıştır.

Alkaloid olarak ta; *V. nobile*'den hiyosikamin, papaverin, kuinin (51), verbaskin, verbasin (52); *V. songaricum*'dan anabasin, plantagonin (53) maddeleri bulunmuştur.

Silikajel Sütun

3. DENEYSEL BÖLÜM

3.1. GENEL TEKNİKLER

3.1.1. KROMATOGRAFİK YÖNTEMLER

3.1.1.1. SÜTUN KROMATOGRAFİSİ

ADBORBANLAR

Silikajel 40, parçacık büyüklüğü 0.063-0.2 mm
(70-230 mesh) (E. Merck).

— Poliklar (Polyclar) (Gaf Corporation)

Sefadeks (Sephadex LH-20) (Pharmacia Fine Chemicals).

SÜTUNLARIN HAZIRLANMASI

Ekstre miktarına uygun çap ve uzunlukta cam sütunlar kullanıldı, Örneğin (3.5x60 cm), (3x50 cm), (1.5x20 cm).

Silikajel Sütun:

Sütuna yerleştirilecek ekstrenin yaklaşık 60 katı kadar silikajel tartıldı. Çok az bir kısım silikajel ise yoğunlaştırılmış ekstre çözeltisiyle homojen bir şekilde karıştırılıp önce oda ısısında, sonra vakum etüvünde tamamen kurutuldu. Silikajel adsorban, sütun boyunun 2/3'ünü dolduracak şekilde konulup üzerine kurutulmuş ekstre-adsorban karşımı yerleştirildi, sütun yıkanmaya başlandı.

Poliklar Sütun:

Kloroform-etanol (2:1) çözücü sisteminde en az 24 saat şişirilen poliklar, ekstre miktarına uygun olarak seçilen cam sütunun 2/3'ünü dolduracak şekilde konuldu, polikların yerleşmesi uzun süre akıtılarak sağlandı. Yoğunlaştırılmış ekstre çözeltisi sütunun üzerine bir pipet yardımı ile yavaşça ilave edilerek poliklara emdirildi, tamamen emdirildikten sonra sütun elüsyon çözeltisiyle yıkanmaya başlandı.

Sefadeks Sütun:

Ekstre miktarına uygun sefadeks metanol veya etanol ile 48 saat şişirildikten sonra sütunun 2/3'ünü kaplayacak şekilde yerleştirilip üzerine ekstrenin yoğun çözeltisi dikkatli bir şekilde kapiler bir pipetle ilave edildi.

3.1.1.2. İNCE TABAKA KROMATOĞRAFİSİ

ADSORBANLAR

Silikajel G (Kiesel G.E. Merck Typ 60)

Selüloz (Cellulose Microcrystallin E. Merck).

PLAKLARIN HAZIRLANMASI

70 gram silikajel G, 140 ml distile su ile 5 dakika sürekli çalkalandı. Camag plak kaplama aygıtıyla (5x20 cm) ve (20x20 cm) boyutlarındaki cam plakların üzeri 0.3 mm kalınlıkta kaplandı. Oda ısısında kurutulup 105° C'lik etüvde 1 saat tutularak aktive edildi.

Selüloz plaklar için 30 gram mikrokristalin selüloz, 90 ml distile su ile 5 dakika sürekli çalkalayıp

yine Camag plak kaplama aygıtıyla (5x20 cm) ve (20-20 cm) boyutlarındaki cam plaklara dökülerek 0.3 mm kalınlığında kaplandı ve oda ısısında kurutuldu.

3.1.1.3. KAĞIT KROMATOĞRAFİSİ

Bu yöntem şekerlerin, aminoasitlerin ve fenolik asitlerin tanınması amacıyla, ayrıca çift boyutlu olarak bir ekstrakttaki flavonoid bileşiklerin varlığını kontrol etmek amacıyla kullanılır.

Kullanılan kağıt: Schleicher und Schüll GMBH ve Whatman No 1.

İnen usulde çalışıldı, kromatografi kabı 24 saat çözücü buharlarıyla doyurulduktan sonra kullanıldı. Kromatografi süresi şekerler için genellikle 36 saattir.

3.1.2. SPEKTROFOTOMETRİK YÖNTEMLER

3.1.2.1. UV SPEKTROFOTOMETRESİ

Spektrumlar Varian Techtron 635 aygıtında 1 cm'lik kuvars küvetlerde alındı. Ölçmeler bileşiklerin metanoldeki çözeltilerinde yapıldı. Ayrıca flavonoid bileşiklerin

kayma spektrumlarının alınabilmesi için bileşiğin metanoldeki çözeltisine sırasıyla NaOMe, susuz AlCl_3 , AlCl_3/HCl , eritilerek AcOH'den kurtarılmış NaOAc ve NaOAc/ H_3BO_3 çözeltileri ilave edildi.

3.1.2.2. IR SPEKTROFOTOMETRESİ

IR spektrumları NaCl kristalleri arasında ya da KBr tabletleri halinde "Perkin Elmer 577 Grating Spectrophotometer" aygıtında alındı.

3.1.2.3. ^1H NMR SPEKTROFOTOMETRESİ*

^1H NMR spektrumları 90 MHz ve 200 MHz'lik aletlerde alındı.

Varian EM 390: 90 MHz

NT-FT (Nicholet): 200 MHz

* ^1H NMR ve MS ölçmeleri Austin-Texas Üniversitesinde yapılmıştır. Bu spektrumlar için Prof. Dr. T.J. Mabry'e teşekkür ederiz.

Çözücü olarak CDCl_3 , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ veya $\text{CDCl}_3/\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ karışımı kullandı.

Sesik Belirteci:

Flavonlar trimetilsilil eterleri (TMSi) halinde, steroid bileşik ise doğrudan ölçüldü. İç standart olarak tetrametilsilan ilave edildi.

3.1.2.4. KÜTLE SPEKTROMETRESİ

Du Pont 21-491 aleti kullanıldı.

3.1.3. ERİME DERECEŚİ

Bileşiklerin erime dereceleri Reichert firmasının Kofler model aygıtında temperatur ayarı yapılmadan ölçüldü.

3.1.4. BELİRTEÇLER

3.1.4.1. STEROİD BELİRTEÇLERİ

Liebermann-Burhard Belirteci:

Bileşiğin kloroformdaki çözeltisine birkaç damla asetanhidrit ilave edildikten sonra derişik sülfürik asitle tabakalandırılır.

Steroid bileşimin tanınmasında kullanıldı.

Serik Sülfat Belirteci:

2 gram seryum (IV) sülfatın 100 ml %10'luk sülfirik asitte çözülmesi ile hazırlanır. Belirteç püskürtüldükten sonra kromatografi plağı 100°C'de 5-10 dakika lekeler oluşuncaya kadar bekletilir.

3.1.4.2. FLAVONOİD BELİRTEÇLERİ

NH₃ buharları ve NA (Naturstoffreagenz A, difenil borik asit β-amino etilester) belirteci kullanılır. Bir spatül ucu NA belirteci 100 ml. metanol veya etanolde çözülerek hazırlanır.

Flavonoid bileşiklerin tatbik edildiği kromatografi plağı çözücü sisteminde yürütülüp kurutulduktan sonra NH₃ buharlarına tutulur, daha sonra NA belirteci püskürtülür.

3.1.4.3. ŞEKER BELİRTECİ

Anilin Ftalat Belirteci:

1.66 gram ftalanhidrit ve 0.93 gram taze distillenmiş anilin suyla doyurulmuş butanol ile 100 ml'ye tamamlanarak hazırlanır.

Kromatografi plaklarına anilin ftalat belirteci püskürtüldükten sonra 100° C'de 10-15 dakika bekletilerek oluşan lekeler saptanır.

3.1.4.4. UV SPEKTRUMU KAYMA BELİRTEÇLERİ

Flavonoid bileşikler için kullanıldı.

Sodyum Metilat Belirteci:

2.5 gram temizlenmiş sodyum küçük parçacıklar halinde 100 ml'de saf metanolde çözülerek hazırlanır.

Aluminyum Klorür Belirteci:

5 gram susuz aluminyum (III) klorür 100 ml saf metanolde çözülerek hazırlanır.

Hidroklorik Asit Çözeltisi:

50 ml derişik HCl 100 ml distile suda çözülerek hazırlanır.

Sodyum Asetat Belirteci:

Toz halinde susuz saf sodyum asetat bir krözede eritilerek asetik asitten kurtarılıp kullanılır.

Borik Asit Belirteci:

Toz halinde susuz borik asit kullanılır.

3.2. UYGULANAN KİMYASAL REAKSİYONLAR

3.2.1. ASETİLLEME (54).

5-10 mg bileşik kuru bir erlen içinde 1 ml susuz piridinde çözölüp üzerine 1 ml asetanhydrit ilave edilerek ağzı kapalı olarak oda ısısında 24 saat bekletildi, bu sürenin sonunda 15-20 ml distile suya dökölüp bir ayırma hunisinde kloroform ile tüketildi. Piridinden kurtarmak için birkaç kez su ile yıkanarak kloroformu vakumda uçuruldu.

3.2.2. ASİT HİDROLİZ (55)

10 mg bileşik 5 ml etanolde çözölüp 10 ml %10'luk HCl ile karıştırıldı, armut şeklindeki küçük bir balona konup geri çeviren soğutucu altında su banyosunda ısıtıldı. Reaksiyon tamamlandıktan sonra düşük basınçta etanol uçuruldu, kalan sulu karışımdan uygun bir organik çözölücü (etil asetat, eter gibi) ile aglikon ekstre edildi. Kalan sulu kısım asidinden kurtarılıp yoğunlaştırıldıktan sonra şeker arandı. Organik fazda ise bileşiğin aglikonu saptandı.

3.3. YAPILAN İŞLEMLER

3.3.1. BİTKİNİN TÜKETİLMESİ

Verbascum cheiranthifolium bitkisi Haziran 1984'de Bozüyük (Bilecik) çevresinden toplandı ve bitki Dr. Ertan Tuzlacı tarafından (ISTE 50900) teşhis edildi.

Çalışmada bitkinin toprak üstü kısımları (gövde, çiçek, yapraklar) kullanıldı. Maserasyon yöntemi ile çalışıldı. 5 kg yaş haldeki bitki etil alkol ile 1 hafta maserasyona bırakıldı. Tüketme sonunda bitki ekstresi süzülerek alındı. Ekstre düşük basınçta koyu şurup kıvamına kadar yoğunlaştırıldı.

3.3.2. ALKOL EKSTRESİNİN İŞLENMESİ

Yoğunlaştırılan yaklaşık 300 gram alkol ekstresine önce kloroform - su partisiyonu uygulandı. Sulu

kısımdan ayrılan kloroform kısmı yoğunlaştırıldı ve 3.45 gram ekstre elde edildi. Kloroform kısmından ayrılan sulu kısma etil asetat-su partisyonu uygulandı. Sulu kısımdan ayrılan etil asetat kısmı da yoğunlaştırıldı ve 4.9 gram ekstre elde edildi.

V. cheiranthifolium bitkisinin alkol ekstresinden elde edilen kloroform, etil asetat ve su kısımlarının herbirinin taşıdığı bileşikler hakkında ön fikir edinmek amacıyla selüloz ve silikajel plaklarda ince tabaka kromatografileri ve ayrıca kağıt kromatografileri yapıldı.

Kloroform ekstresi steroid bileşikler bakımından içlerinde en zengini olarak görüldüğünden steroid bileşikleri izole etmek amacıyla bu kısım ile çalışıldı.

Etil asetat ekstresi ise flavanoid bileşikler bakımından zengin görüldüğünden flavonoidal bileşikleri izole etmek amacıyla bu kısım ile çalışıldı.

Sulu kısım ile yapılan ince tabaka kromatografilerinde ise fazla birşey görülemediğinden bu kısım ile çalışılmamıştır.

3.3.3. EKSTRELERİN FRAKSİYONLANDIRILMASI

VE BİLEŞİKLERİN İZOLASYONU

3.3.3.1. KLOROFORM EKSTRESİ

3.45 gram kloroform ekstresi az miktarda kloroformda çözülüp aynı miktar silikajel ile karıştırıldı ve 105° C'lik etüvde kurutulduktan sonra paketleme yöntemi ile (3.5x60 cm) boyutlarındaki silikajel sütuna yerleştirildi. Elüsyona benzen ile başlanıp gittikçe artan miktarlarda kloroforma ve daha alkole geçirildi. 100'er ml olarak toplanan fraksiyonların benzer olanları ince tabaka kromatografisinde kontrol edildikten sonra birleştirildi. Bu ekstrenin (21-22).fraksiyonlarından V steroid bileşiği elde edildi.

Elde edilen bileşiği kirliliklerden kurtarmak için silikajel plaklar kullanarak preparatif ince tabaka yöntemi uygulandı.

3.3.3.2. ETİL ASETAT EKSTRESİ

Alkol ekstresinden etil asetata çekilerek elde edilmiş ve yoğunlaştırılmış 1.5 gram ekstre Egger (kloroform - etanol (2:1)) çözeltisi ile şişirilmiş (3x50 cm)

boyutlarındaki poliklar bir sütünun üzerine bir pipet yardımıyla konularak sütünu emdirildi, elüsyona polikların şişirildiği sistem ile başlanıp gittikçe artan miktarlarda alkole ve son olarak suya geçildi.

Bu ekstreden elde edilen C_1 , C_2 , C_3 , C_4 flavonoid bileşikleri sefadeks LH-20'den geçirilerek veya preparatif ince tabaka kromatografisi ile temizlendi.

V. cheiranthifolium etil asetat ekstresinin poliklar sütunda fraksiyonlandırılması

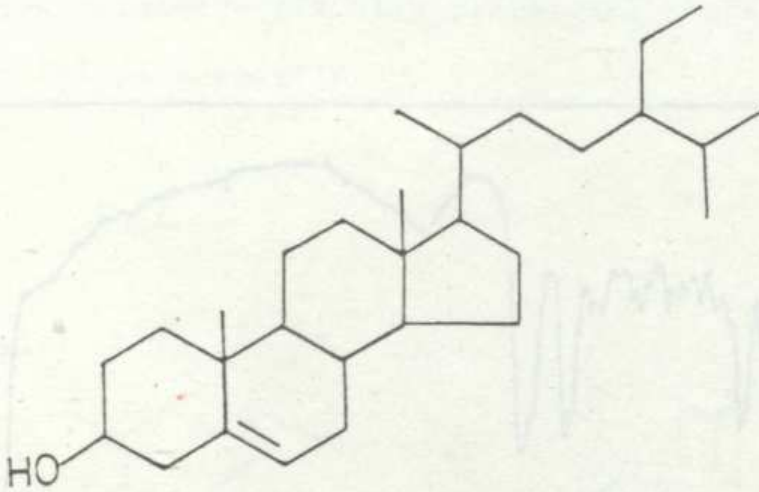
<u>Çözücü Sistemi</u>	<u>Fraksiyon</u>	<u>Elde Edilen Bileşik</u>
Kloroform-Etanol (2:1)	1-5	-
Kloroform-Etanol (6:4)	6-9	C ₁ (Viteksin)
Kloroform-Etanol (1:1)	10-12	C ₁ (Viteksin)
Kloroform-Etanol (1:4)	13-15	C ₃ (Swertisin), C ₂ (Apigenin)
Etanol	16-23	C ₂ (Apigenin)
Etanol-Su (9:1)	24-30	-
Etanol-Su (8:2)	31-35	-
Etanol-Su (7:3)	36-40	-
Etanol-Su (1:1)	41-45	C ₄ (Luteolin)
Su	46-50	-

Bileşğin steroidai bir yapıya sahip olduğunu göstermiştir.

3.4. BU ÇALIŞMADA ELDE EDİLEN BİLEŞİKLER

3.4.1. V BİLEŞİĞİ = β -Sitosterol

1610 cm^{-1} de (yapma-tilik), 1375 cm^{-1} de (gen-tilik), 1060, 1010 cm^{-1} de (C-O) bağları bulunmuştur.



Liebermann-Burchard ile çok yavaş reaksiyon verip belirgin bir renklenmenin görülmemesi (13, S.469) ve kütle spektrumunda moleküler pikin 414'de çıkması

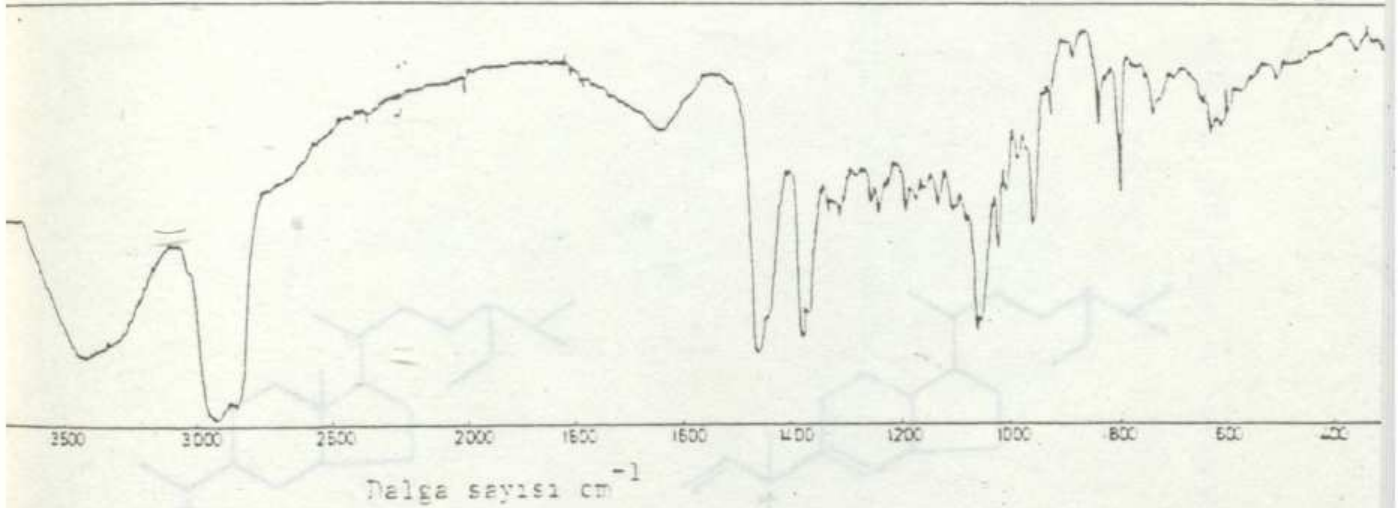
bileşiğin steroidal bir yapıya sahip olabileceğini göstermiştir. 3.5 ppm'de hidroksile bağlı proton,

3.37 ppm'de vinilik proton pikleri bulunmaktadır.

(Şekil 3) BİLEŞİĞİN SPEKTRAL ÖZELLİKLERİ

IR spektrumunda (Şekil 4) 3400 cm^{-1} de (OH), 1650 cm^{-1} de (doymamışlık), 1375 cm^{-1} de (gem dimetil), $1060, 1050\text{ cm}^{-1}$ de (C-O) bantları bulunmaktadır.

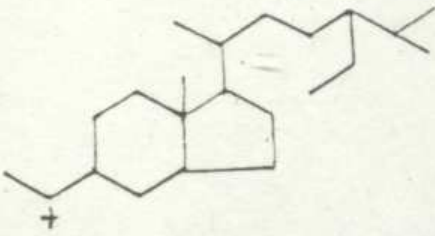
3100 cm^{-1} pikini vermektedir. Ayrıca yalnız Δ^5 steroidler için karakteristik olan perçinleşme piklerini 985 (a) ve 915 (b) de vermektedir.



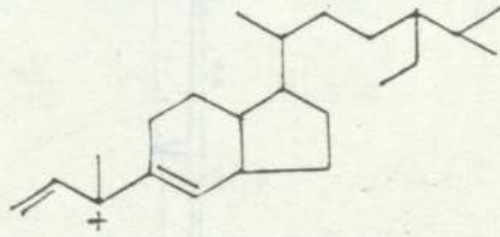
Şekil 4: V Bileşiği IR spektrumu

^1H NMR spektrumunda 0.7-1.00 ppm arasında 6 metil piki, 3.5 ppm'de hidroksile komşu proton, 5.37 ppm de vinilik proton pikleri bulunmaktadır (Şekil 5).

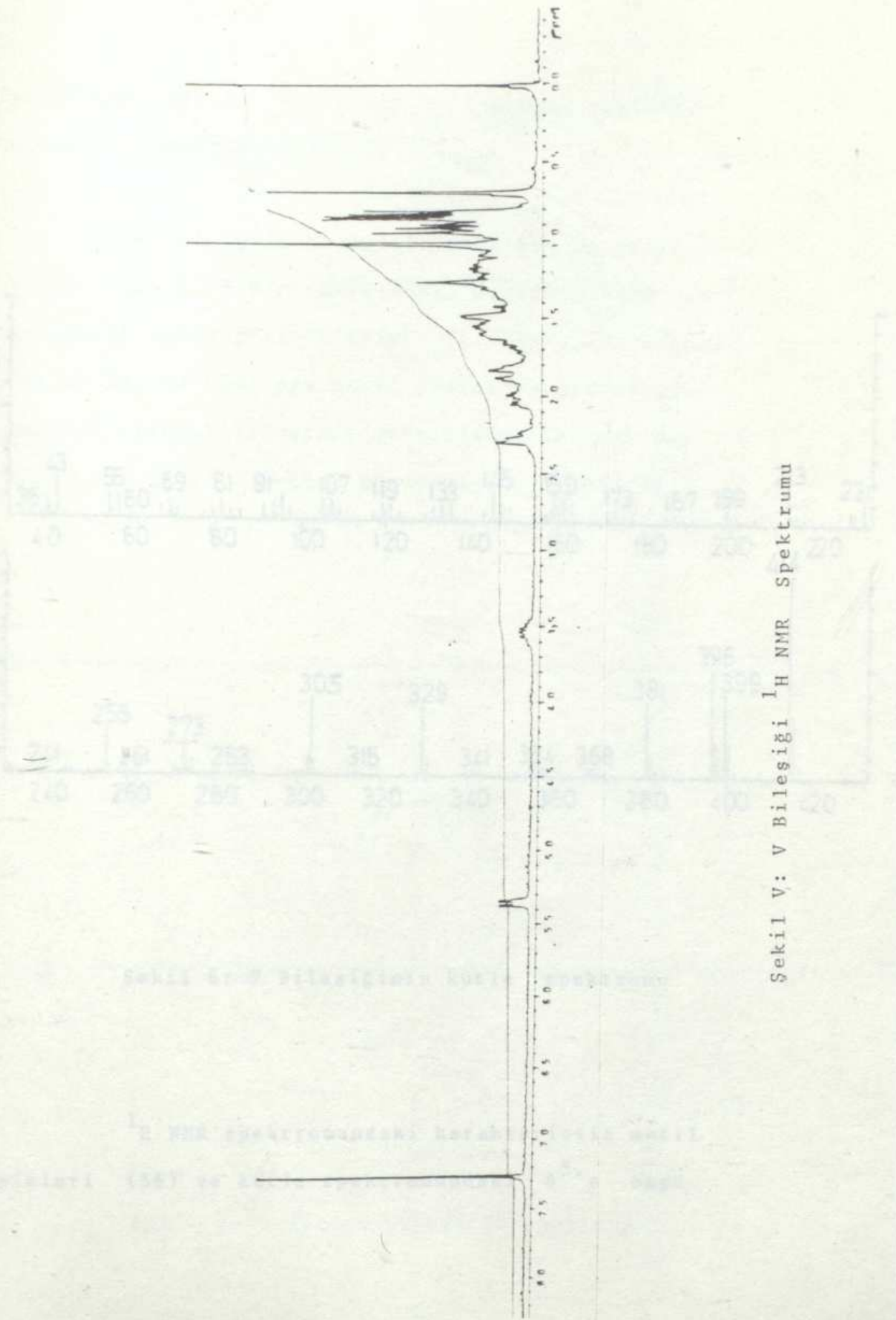
Bileşiğin kütle spektrumu (Şekil 6) baz tepe 414 olarak moleküler piki vermekte ve 399 da $(\text{M}-\text{CH}_3)^+$, 396 da $(\text{M}-\text{H}_2\text{O})^+$, 381 de $(\text{M}-\text{CH}_3-\text{H}_2\text{O})^+$, 273 de $(\text{M}-\text{yan zincir})^+$ pikini vermektedir. Ayrıca yalnız Δ^5 steroller için karakteristik olan parçalanma piklerini 305 (a) ve 315 (b) de vermiştir.



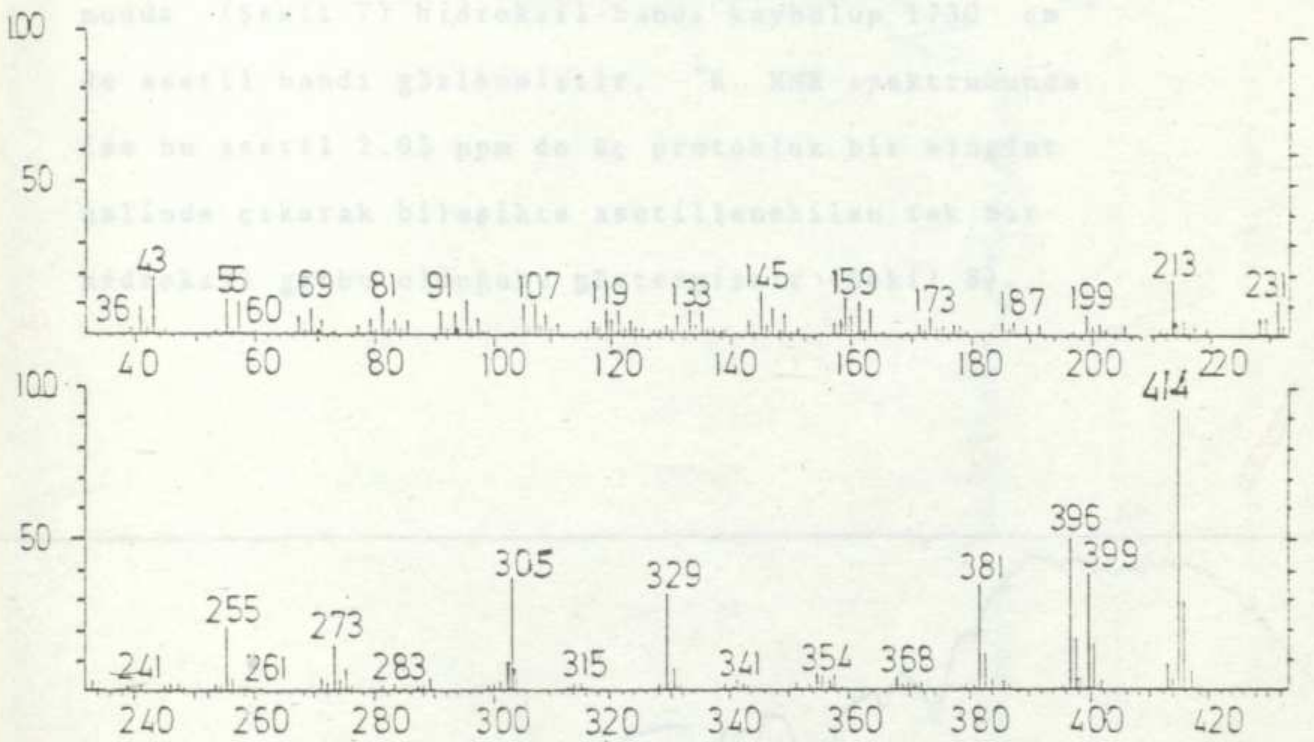
305 (a)



315 (b)



Şekil V: V Bileşiği ^1H NMR Spektrumu

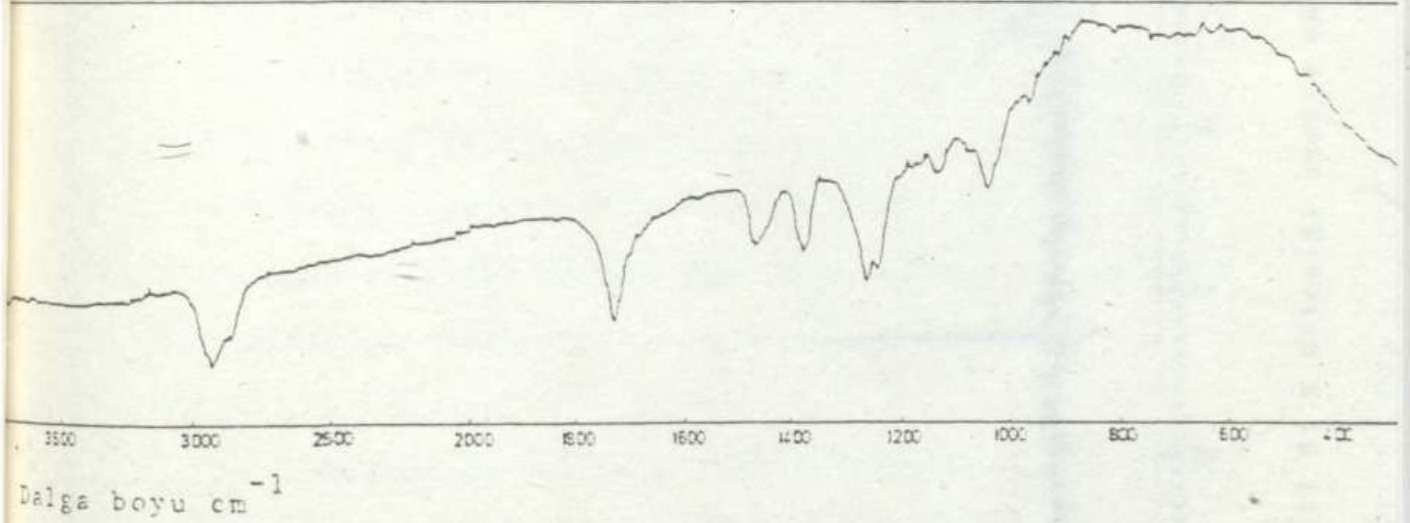


Şekil 6: V Bileşiğinin kütle spektrumu

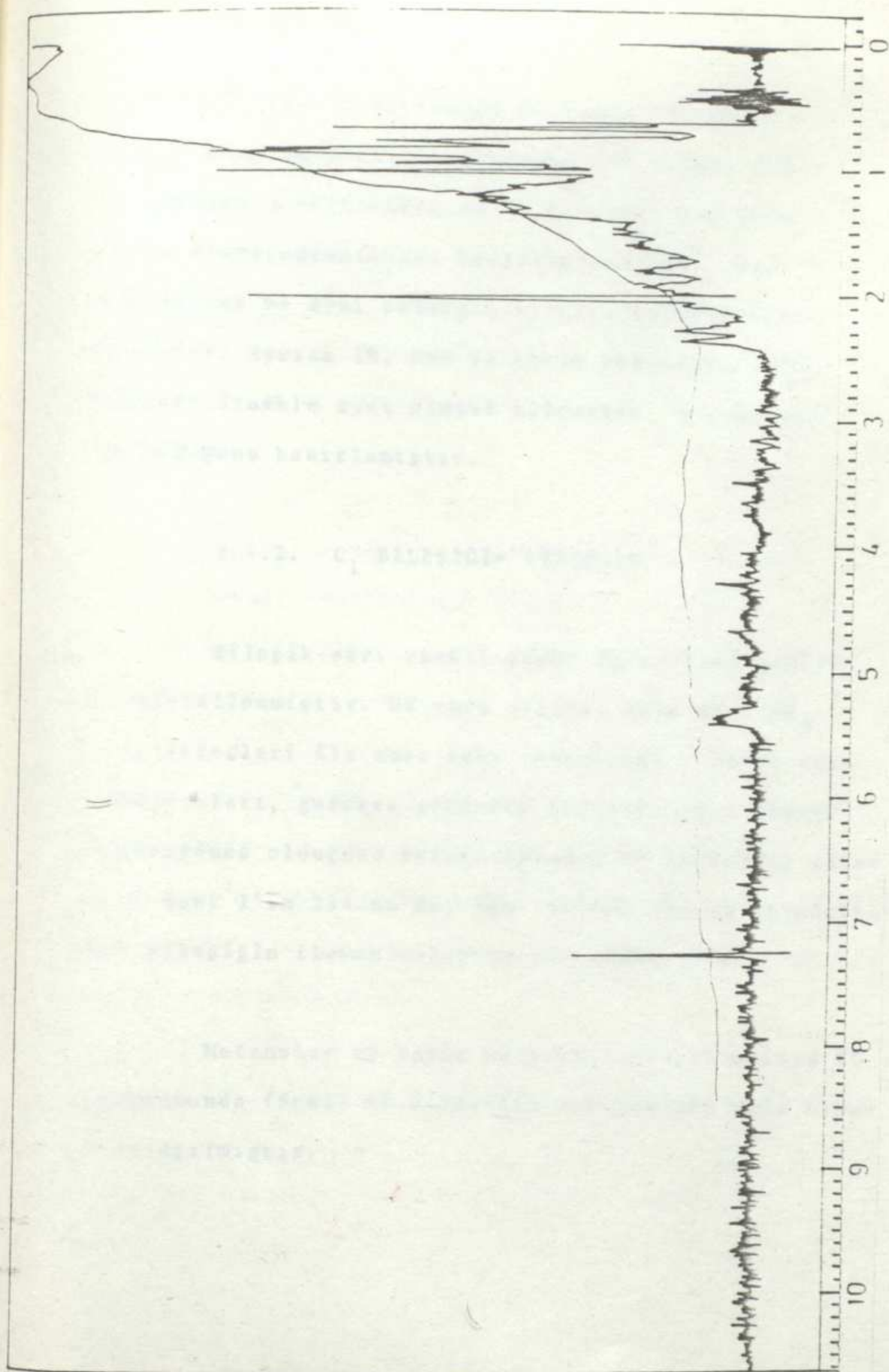
^1H NMR spektromundaki karakteristik metil pikleri (56) ve kütle spektrumundaki Δ^5 'e özgü

parçalanma pikleri bileşiğin Δ^5 sterol yapısında olduğunu göstermektedir (57).

V bileşiğinin asetil türevinin IR spektrumunda (Şekil 7) hidroksil bandı kaybolup 1730 cm^{-1} de asetil bandı gözlenmiştir. ^1H NMR spektrumunda ise bu asetil 2.05 ppm de üç protonluk bir singlet halinde çıkarak bileşikte asetillenebilen tek bir hidroksil grubu olduğunu göstermiştir (Şekil 8).



Şekil 7: V Asetil türevi IR spektrumu



Sekil 8: V Bileşigi asetil türevi ^1H NMR spektrumu

Δ^5 sterol yapısında ve kapalı formülü $C_{29}H_{50}O$ olan ve bitkiler aleminde çok yaygın olarak görülen β -sitosterolün V bileşiği ile ince tabaka kromatografisinde karşılaştırılması aynı Rf değerini ve aynı belirgin kırmızı-turuncu rengi vermiştir. Ayrıca IR, NMR ve kütle bulgularının da standart örnekle aynı olması bileşiğin β -sitosterol olduğunu kanıtlamıştır.

3.4.2. C_1 BİLEŞİĞİ= VİTEKSİN

Bileşik sarı renkli küçük iğnecikler şeklinde kristallenmiştir. UV ışık altında koyu mor, NH_3 ve NA belirteçleri ile sarı renk vermektedir. Gerek renk reaksiyonları, gerekse görünüşü bileşiğin bir flavon karakterinde olduğunu belirttiğinden UV spektrumu alındı ve Bant I'in 334 nm de, Bant II'nin 270 nm de gözlenmesi bileşiğin flavon olduğunu göstermektedir.

Metanolde ve kayma belirteçleri ile alınan UV spektrumunda (Şekil 9) bileşiğin 8 konumunun dolu olduğu anlaşılmıştır.

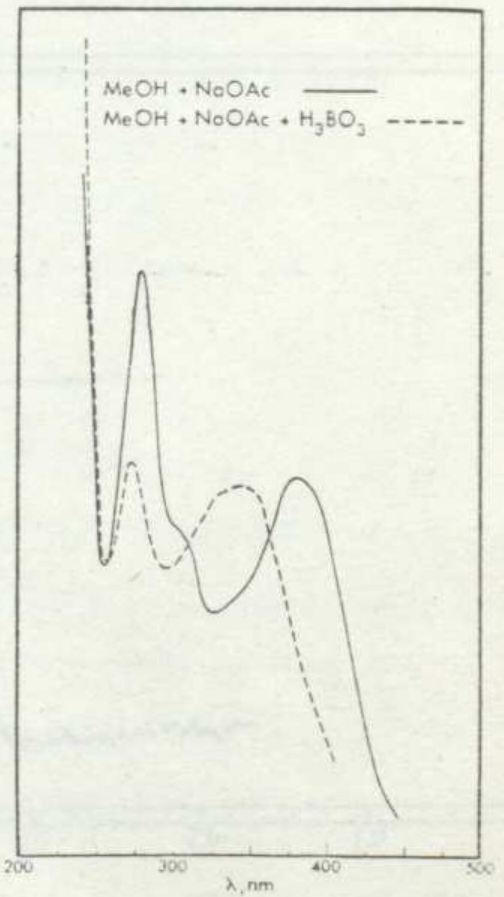
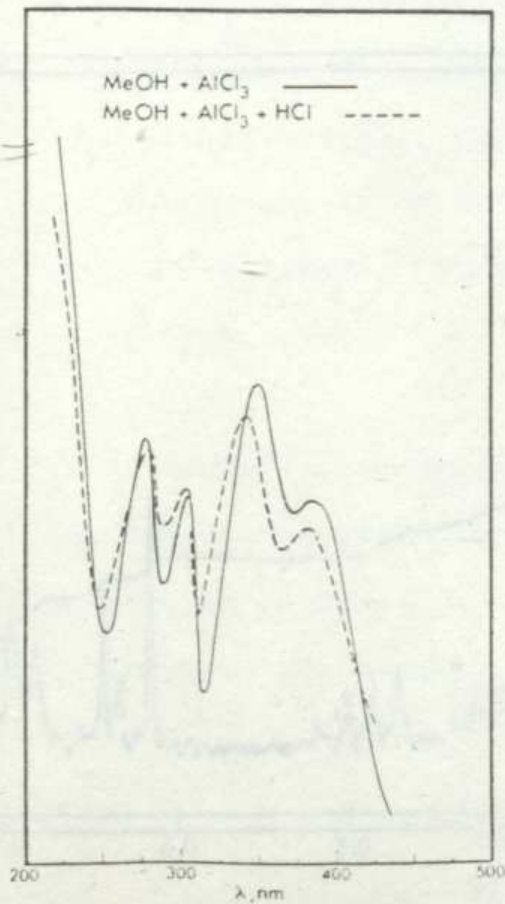
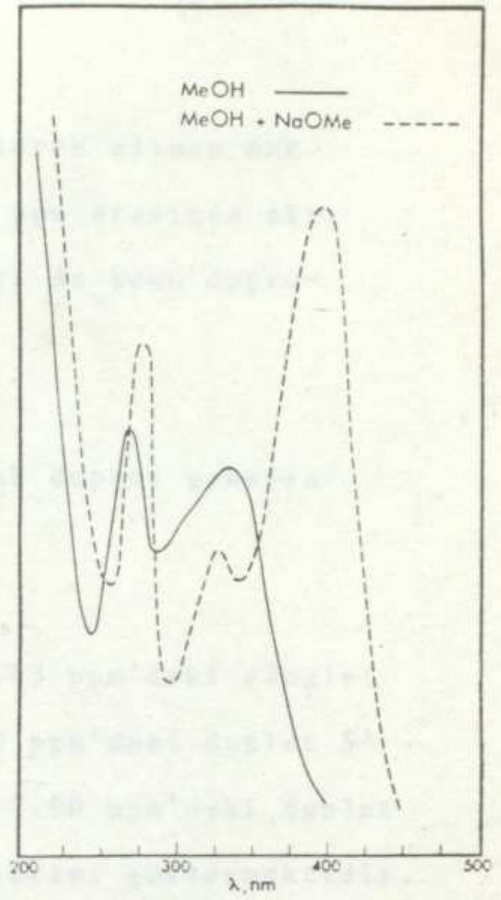
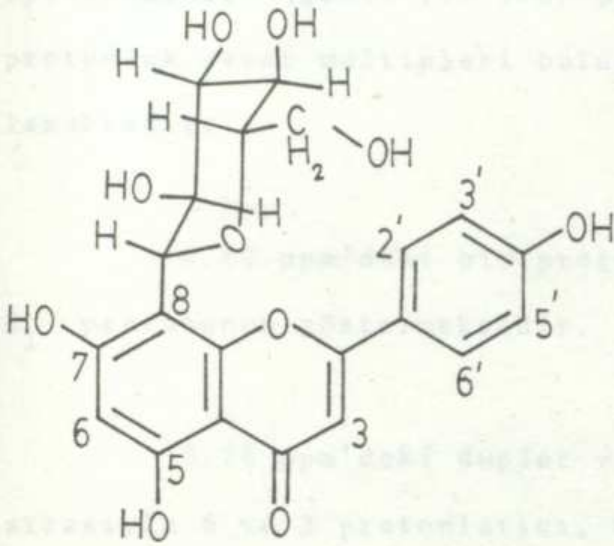
NaOMe spektrumunda Bant I'in 56 nm uzun dalga boyuna kayması ve şiddetinin artması 4'-OH'in açık olduğunu belirtmektedir. Yine NaOMe spektrumunda 334 nm'de Bant III'ün bulunması da 7-OH'in serbest halde olduğunu göstermektedir. Ayrıca NaOAc spektrumunda Bant II'nin MeOH spektrumuna göre uzun dalga boyuna doğru 10 nm kayması 7-OH'in açık olduğunu doğrulamaktadır.

AlCl₃ spektrumunda Bant I'in 53 nm uzun dalga boyuna kayması 5-OH'in açık olduğunu ve AlCl₃/HCl bantında değişiklik olmayışı 6 konumunda süstitüent bulunmadığını gösterir.

NaOAc/H₃BO₃ spektrumunda Bant I'in uzun dalga boyuna doğru belirgin bir kayma göstermeyişi o-dihidroksi durumunun mevcut olmadığını belirtmektedir. AlCl₃ ve HCl spektrumlarının da aynı oluşu o-dihidroksi durumunun olmadığını doğrulamaktadır.

Uygulanan asit hidrolizden sonra bileşiğin bir şeker taşıdığı anlaşılmış ve bu şekerin standart örneklerle kıyaslanmasıyla glukoz olduğu saptanmıştır.

VİTEKSİN

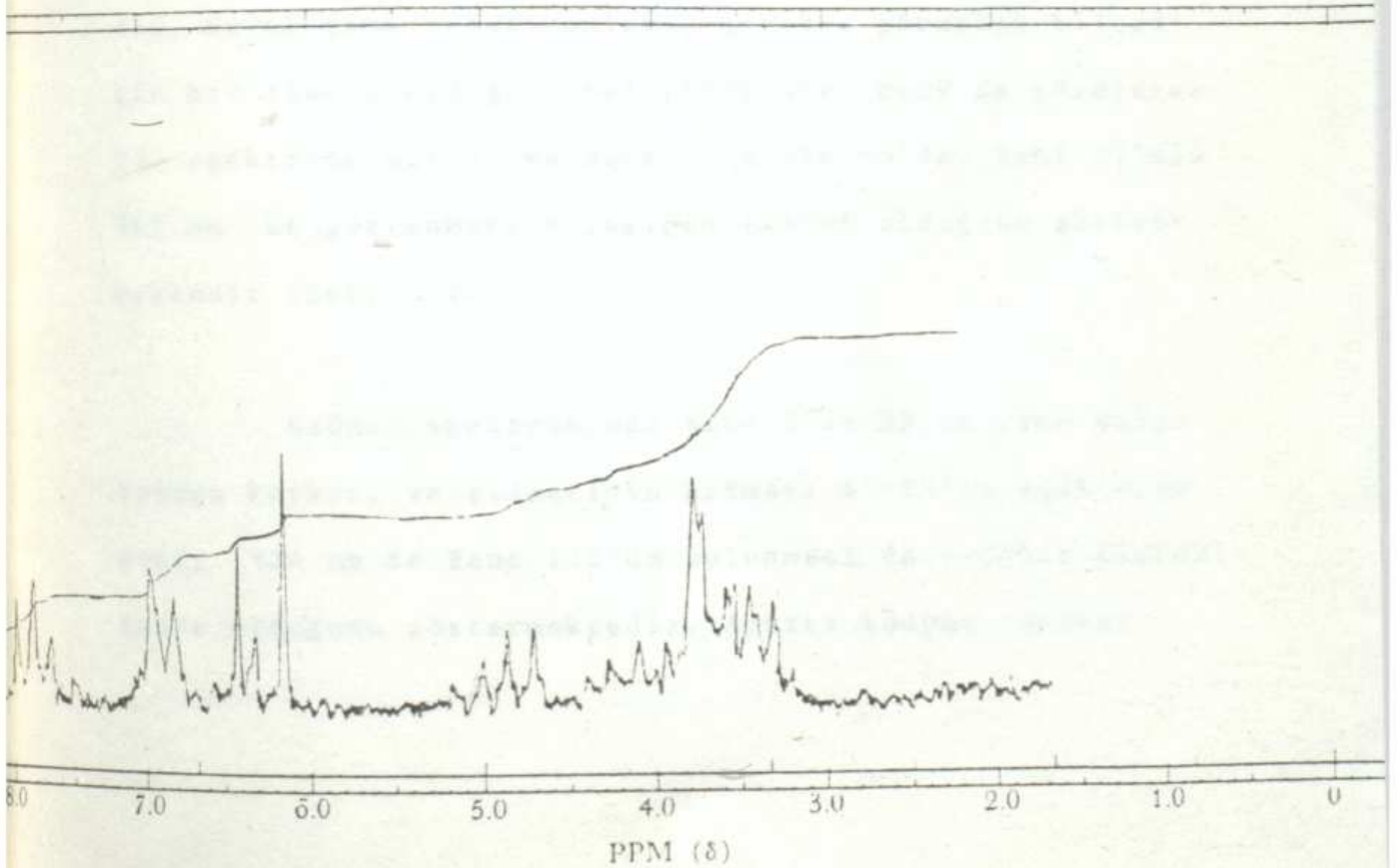


Şekil 9: C_1 Bileşiği UV spektrumu

TMS türevi haline getirilerek alınan NMR spektrumunda (Şekil 10) 3.65-3.85 ppm arasında altı protonluk şeker multipleti bulunması da bunu doğrulamaktadır.

4.80 ppm'deki bir protonluk duplet şekerin H_1 protonunun göstermektedir.

6.18 ppm'deki duplet ve 6.43 ppm'deki singlet sırasıyla 6 ve 3 protonlarını, 6.90 ppm'deki duplet 5' ve 3' protonlarını belirtmektedir. 7.90 ppm'deki duplet ise B halkasındaki 6' ve 2' protonlarını göstermektedir.



Sekil 10: C_1 Bileşiği 1H NMR spektrumu

Viteksin standart örneği ile kromatografik karşılaştırmaların ve spektral bulgularının aynı oluşu C_1 bileşiğinin Viteksin olduğunu kanıtlamaktadır.

Bu çalışmada 40 mg C_1 maddesi elde edilmiştir.

3.4.3. C_2 BİLEŞİĞİ= APIGENİN

Bileşik koyu sarı renkli küçük kristal iğnecikleri görünümünde olup e.n $348-349^{\circ}$ dir. UV ışık altında koyu mor, NH_3 ve NA belirteçleri ile sarı renk vermektedir. Gerek renk reaksiyonları, gerekse görünüşü bileşiğin bir flavon olduğunu belirttiğinden MeOH de çözülerek UV spektrumu alındı ve Bant I'in 334 nm'de, Bant II'nin 267 nm de gözlenmesi bileşiğin flavon olduğunu göstermektedir (Şekil 11).

NaOMe spektrumunda Bant I'in 55 nm uzun dalga boyuna kayması ve şiddetinin artması 4'-OH'in açık olduğunu, 324 nm de Bant III'ün bulunması da 7-OH'in serbest halde olduğunu göstermektedir. Ayrıca sodyum asetat

spektrumunda Bant II'nin MeOH spektrumuna göre uzun dalga boyuna doğru 10 nm kayması 7-OH in açık olduğunu doğrulamaktadır.

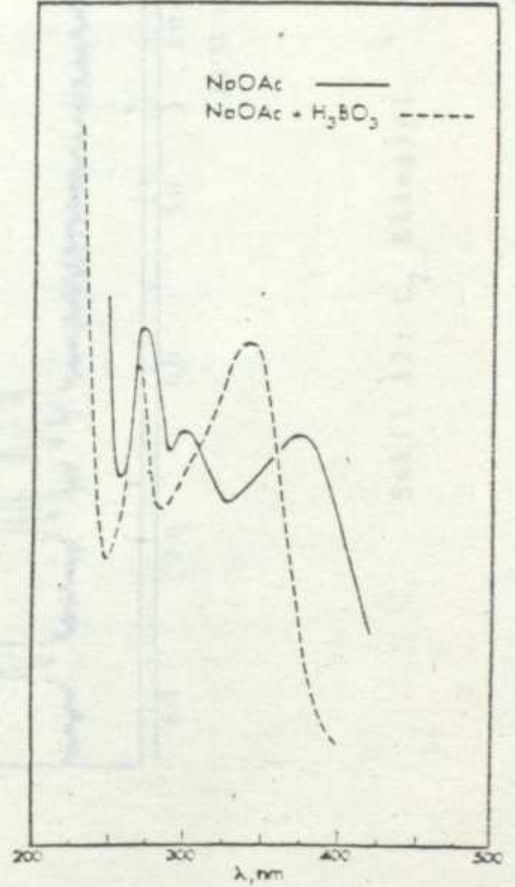
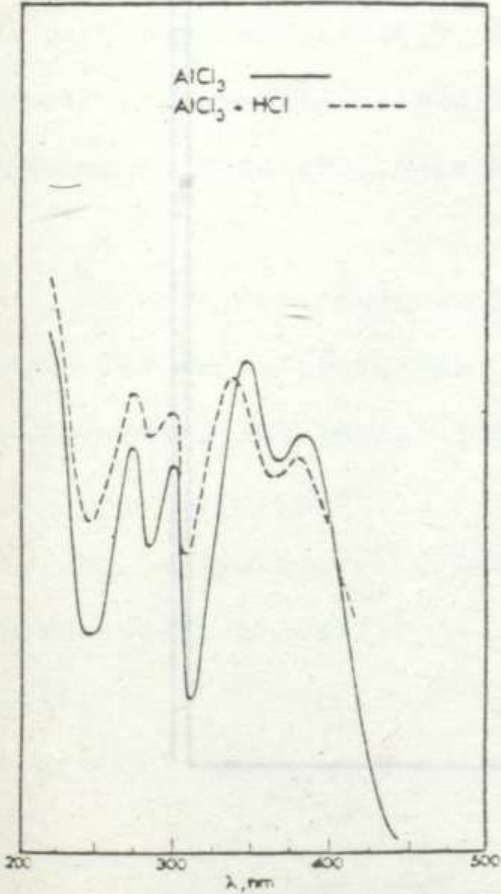
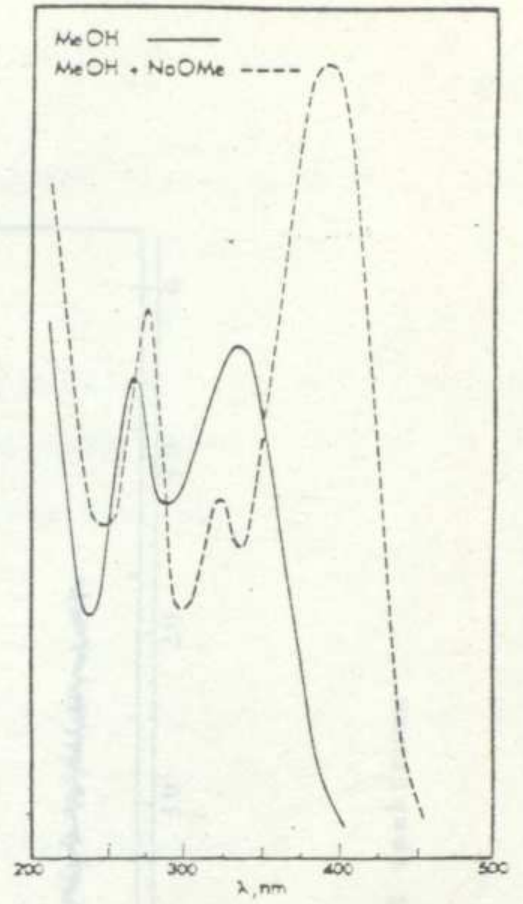
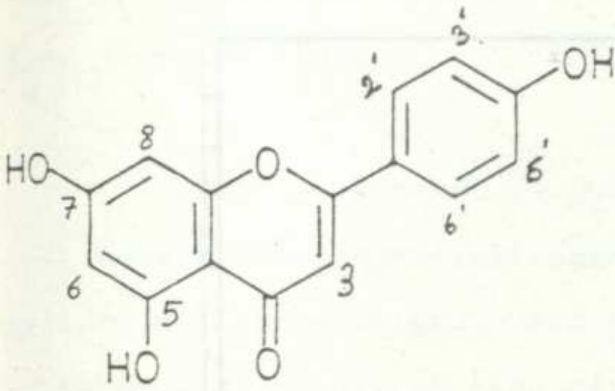
Oc1cc2c(c1)oc3cc(O)ccc3c2 AlCl_3 spektrumunda Bant I'in uzun dalga boyuna 50 nm kayması 5-OH'in açık olduğunu ve AlCl_3/HCl bantındaki değişiklik olmayışı 6 konumunda sübstitüent bulunmadığını gösterir.

$\text{NaOAc}/\text{H}_3\text{BO}_3$ spektrumunda Bant I'in uzun dalga boyuna doğru belirgin bir kayma göstermeyişi o-dihidroksi durumunun mevcut olmadığını belirtmektedir. AlCl_3 ve HCl spektrumlarının da aynı oluşu o-dihidroksi durumunun olmadığını doğrulamaktadır.

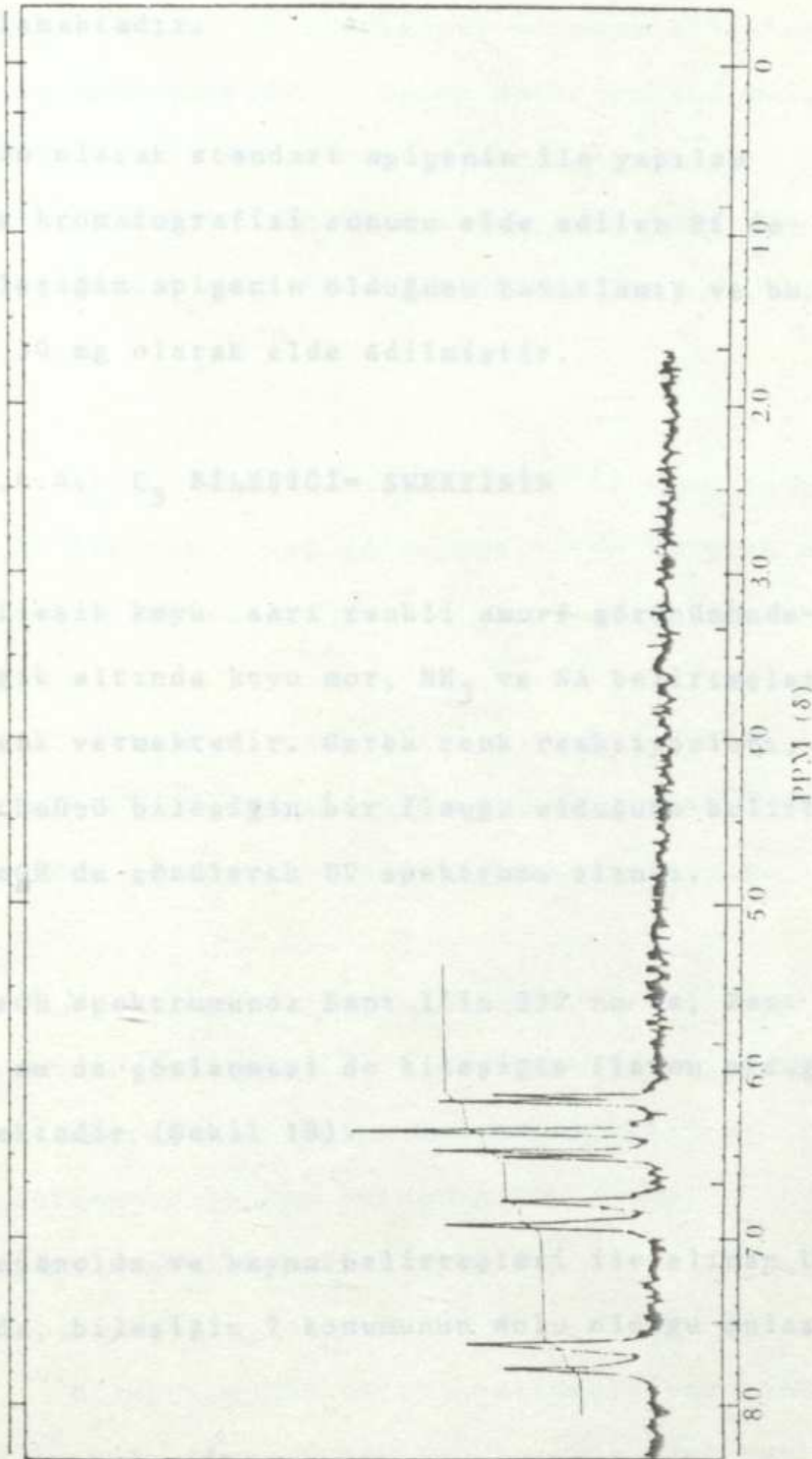
UV spektrumu bileşiğin apigenin tipi olduğunu belirtmektedir.

TMS türevi haline getirilerek alınan NMR spektrumunda (Şekil 12). 7.72 ppm deki duplet B halkasındaki 6' ve 2' protonlarını, 6.85 ppm'deki duplet, 5' ve 3' protonlarını belirtmektedir. 6.50 ve 6.35 ppm'deki dupletler ise A halkasındaki 8 ve 6 protonlarını göstermektedir. A halkasındaki 3 protonu ise 6.27 ppm de

APIGENIN



Şekil 11: C₂ Bileşiği^a UV spektrumu



Sekil 12: C₂ Bilesigi 1 NMR spektrumu

singlet olarak bulunması bu bileşiğin apigenin olduğunu doğrulamaktadır.

Son olarak standart apigenin ile yapılan ince tabaka kromatografisi sonucu elde edilen Rf değerleri bileşiğin apigenin olduğunu kanıtlamış ve bu bileşik 30 mg olarak elde edilmiştir.

3.4.4. C₃ BİLEŞİĞİ= SWERTİSİN

Bileşik koyu sarı renkli amorf görünümündedir. UV ışık altında koyu mor, NH₃ ve NA belirteçleri ile sarı renk vermektedir. Gerek renk reaksiyonları, gerekse görünüşü bileşiğin bir flavon olduğunu belirttiğinden MeOH'de çözülerek UV spektrumu alındı.

MeOH spektrumunda Bant I'in 332 nm'de, Bant II'nin 273 nm'de gözlenmesi de bileşiğin flavon olduğunu göstermektedir (Şekil 13).

Metanolde ve kayma belirteçleri ile alınan UV spektrumunda, bileşiğin 7 konumunun dolu olduğu anlaşılmıştır.

NaOMe spektrumunda Bant I'in 52 nm uzun dalga boyuna kayması ve şiddetinin artması 4'-OH'in açık olduğunu belirtmektedir. NaOMe spektrumunda Bant III'ün bulunmaması 7-OH'in kapalı durumda olduğunu belirler. Ayrıca sodyum asetat spektrumunda Bant II'nin kayma göstermemesi de 7-OH'in dolu olduğunu doğrulamaktadır.

$AlCl_3$ spektrumunda Bant I'in uzun dalga boyuna 48 nm'lik bir kayma göstermesi 5-OH'in açık olduğunu belirtmektedir.

$AlCl_3/HCl$ spektrumunun Bant I'i MeOH spektrumunun Bant I'ine nazaran 46 nm'lik bir kayma göstermesi 6 konumunun kapalı durumda olduğunu belirler.

$NaOAc/H_3BO_3$ spektrumunda Bant I'in metanol spektrumunun Bant I'i ile aynı oluşu bileşikte o-dihidroksi durumunun olmadığını belirtmektedir. $AlCl_3$ ve HCl spektrumlarının da aynı oluşu o-dihidroksi durumunun olmadığını doğrulamaktadır.

Bileşiğin TMS türevi halinde alınan NMR spektrumunda (Şekil 14) 4.78 ppm de bir protonluk duplet C_6 'dan

bağlı bir şeker molekülünün H_1 protonu için karakteristiktir. Şeker molekülünün diğer protonları 3.37-4.24 ppm arasında multipler halinde gözlenmektedir.

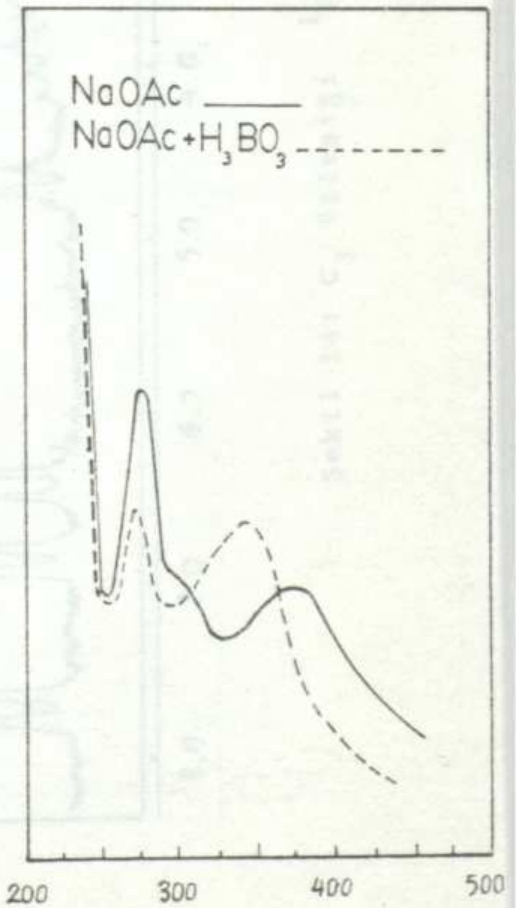
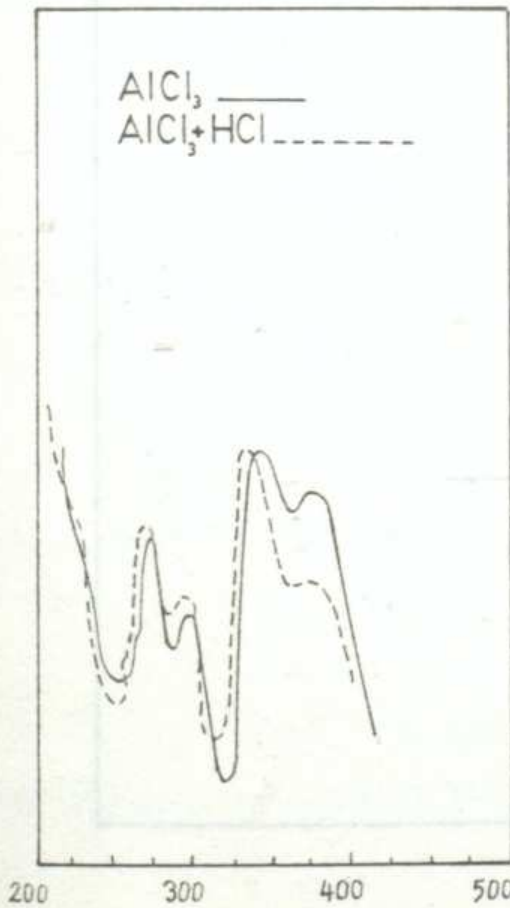
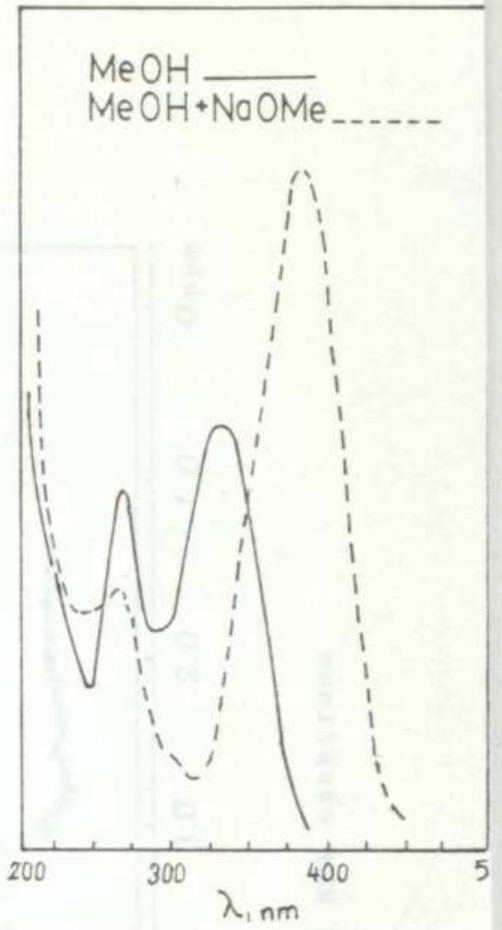
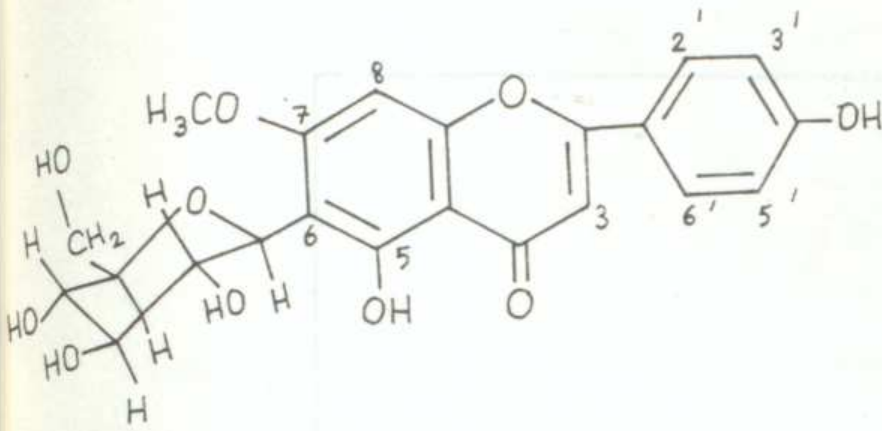
3.90 ppm'deki singlet C_7 'den bağlı metoksi grubunun üç protonunu göstermektedir.

6.34 ppm ve 6.50 ppm'deki singletler sırasıyla C_3 ve C_8 protonlarını, 6.85 ppm'deki duplet B halkasına bağlı C_3 , ve C_5 , protonların, 7.74 ppm'deki duplet ise yine B halkasına bağlı C_2 , ve C_6 , protonlarını belirtmektedir.

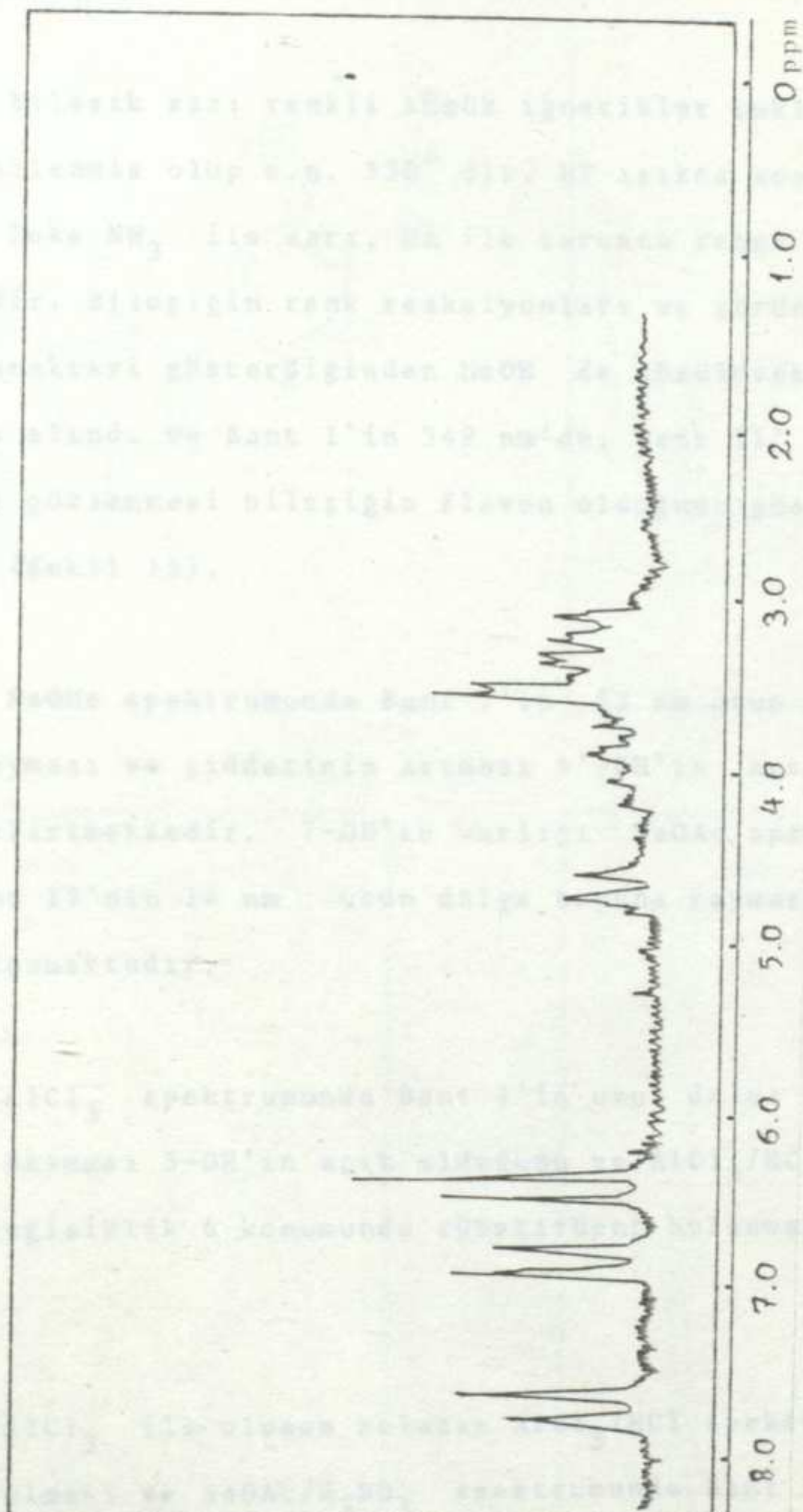
C_3 bileşiğinin aglikon ve şeker kısımlarını birbirinden ayırmak için asit hidroliz yapılmış ve şekerin standart örneklerle karşılaştırılmasıyla glukoz olduğu bulunmuştur.

Standart örnek ile kromatografik karşılaştırmaların ve spektral bulguların aynı oluşu C_3 bileşiğinin Swertisin olduğu saptanmıştır. Bu madde ancak 10 mg olarak izole edilebilmiştir.

SWERTİSİN



Şekil 13: C_3 Bileşiği UV spektrumu



Şekil 14: C_3 Bileşiği ^1H NMR spektrumu

3.4.5. C₄ BİLEŞİĞİ= LUTEOLİN

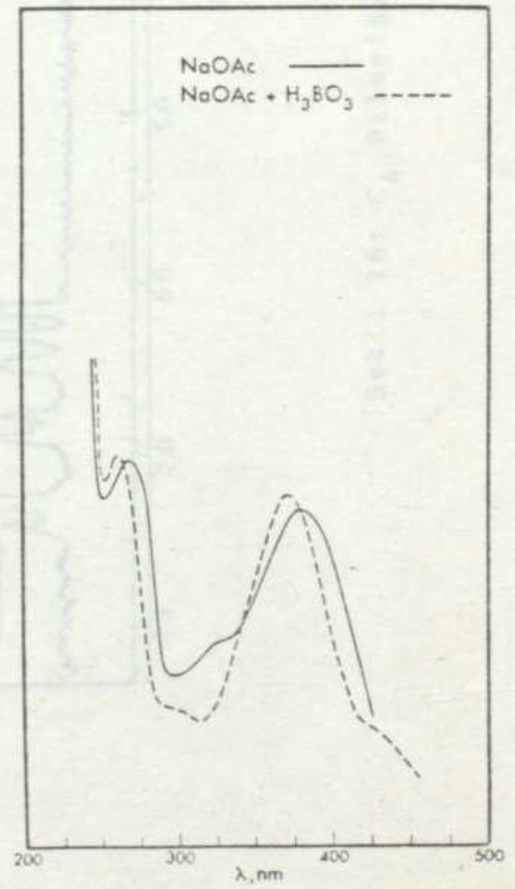
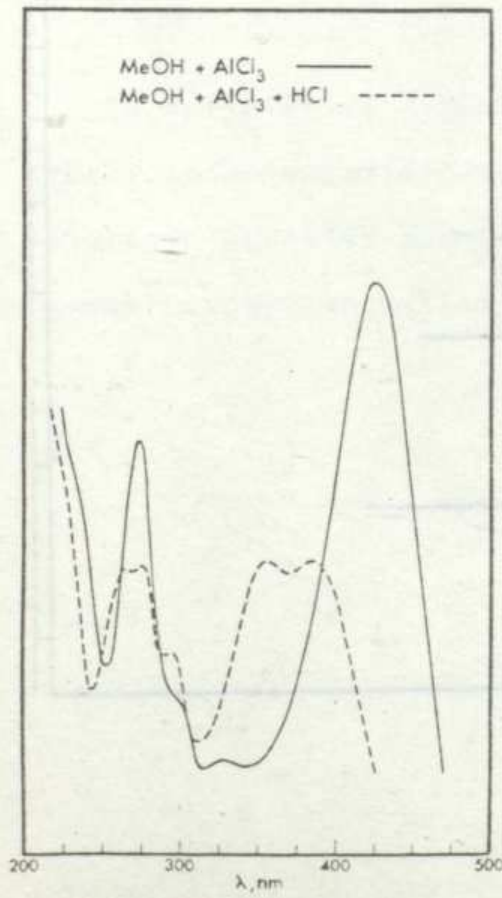
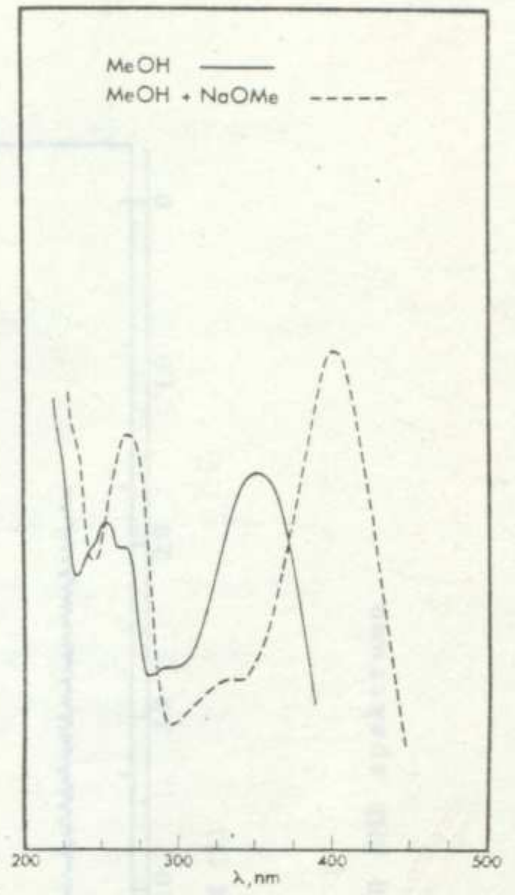
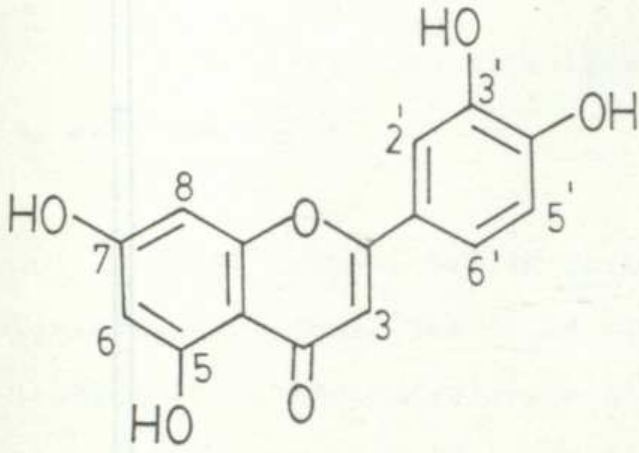
Bileşik sarı renkli küçük iğnecikler şeklinde kristallenmiş olup e.n. 330° dir. UV ışıktaki koyu mor olan leke NH₃ ile sarı, NA ile turuncu renge dönüşmektedir. Bileşiğin renk reaksiyonları ve görünüşü flavon karakteri gösterdiğinden MeOH de çözülerek UV spektrumu alındı ve Bant I'in 349 nm'de, Bant II' nin 267 nm'de gözlenmesi bileşiğin flavon olduğunu göstermektedir (Şekil 15).

NaOMe spektrumunda Bant I'in 53 nm uzun dalga boyuna kayması ve şiddetinin artması 4'-OH'in açık olduğunu belirtmektedir. 7-OH'in varlığı NaOAc spektrumunda Bant II'nin 14 nm uzun dalga boyuna kayması ile doğrulanmaktadır.

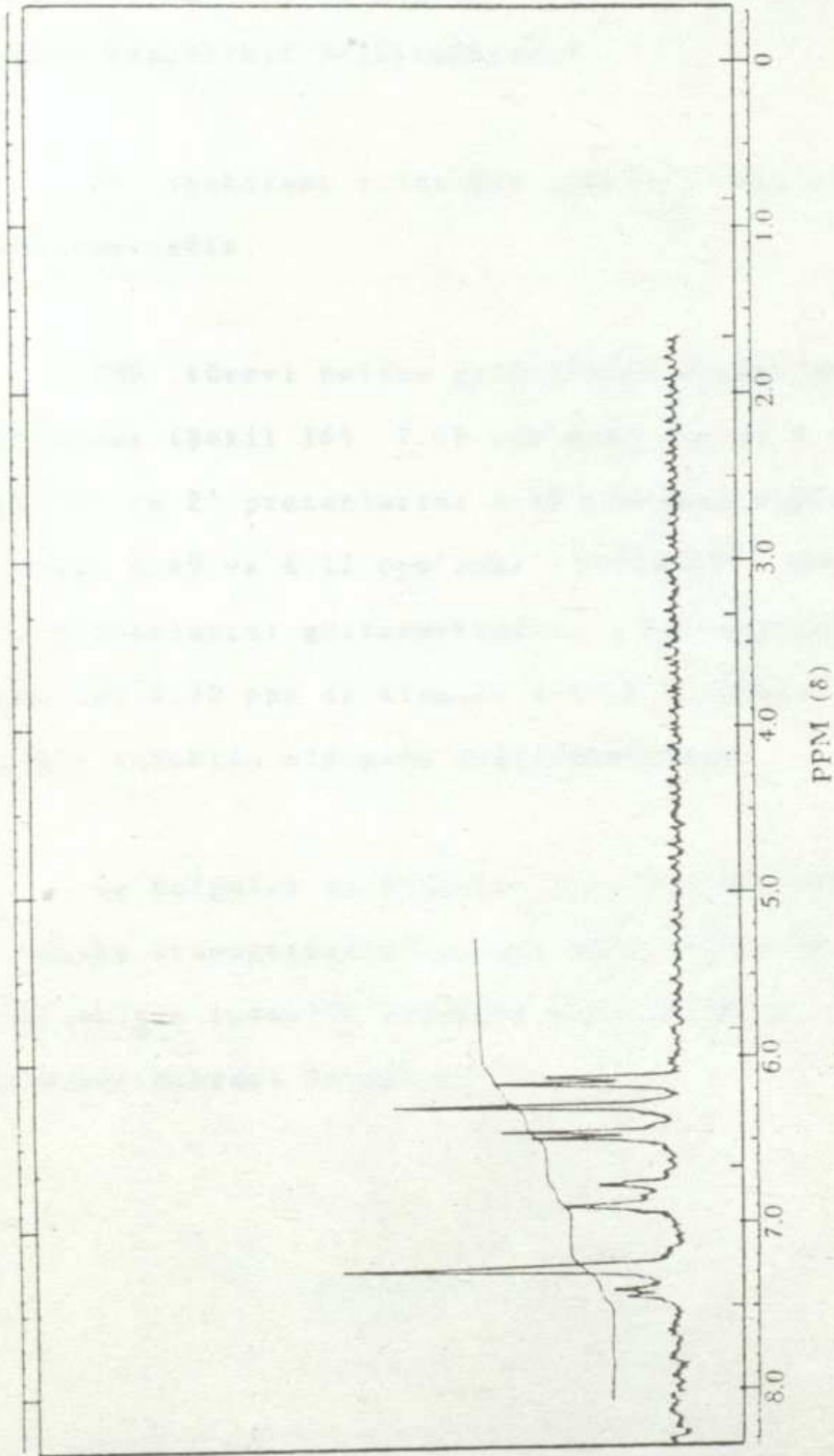
AlCl₃ spektrumunda Bant I'in uzun dalga boyuna 76 nm kayması 5-OH'in açık olduğunu ve AlCl₃/HCl bantındaki değişiklik 6 konumunda süstitüent bulunmadığını gösterir.

AlCl₃ ile oluşan kelatin AlCl₃/HCl spektrumunda bozulması ve NaOAc/H₃BO₃ spektrumunda Bant I'in

LUTEOLİN



Şekil 15: C. Bilesiği UV spektrumu



Sekil 16: C_4 Bileşigi ^1H NMR spektrumu

21 nm uzun dalga boyuna kayması o-dihidroksi durumun varlığını kesinlikle belirtmektedir.

UV spektrumu bileşimin luteolin tipi olduğunu belirtmektedir.

TMS türevi haline getirilerek alınan NMR spektrumunda (Şekil 16) 7.28 ppm'deki duplet B halkasındaki 6' ve 2' protonlarını 6.85 ppm'deki duplet 5' protonunu, 6.49 ve 6.12 ppm'deki dupletler ise 8 ve 6 protonlarını göstermektedir. A halkasındaki 3 protonu ise 6.30 ppm de singlet olarak bulunması bu bileşimin luteolin olduğunu doğrulamaktadır.

Bu bulgular ve standart luteolin ile yapılan ince tabaka kromatografisi sonucu elde edilen Rf değerleri bileşimin luteolin olduğunu kanıtlamıştır. Ele geçen madde miktarı 16 mg'dır.

3.5. ELDE EDİLEN BİLEŞİKLERİN SPEKTRUM DEĞERLERİ

Tablo 3: V bileşiğinin IR spektrum değerleri

V	ν_{max} KB^{-1} (cm^{-1})	Fonksiyonel Grup
β -Sito-sterol	3400	OH
	1650	doymamışlık
	1375	gem dimetil
	1060 ve 1050	C - O gerilim

Tablo 4: V bileşiğinin ^1H NMR spektrum değerleri

V	δ (ppm)	
β -Sito-sterol	3 H (metil)	0.70 s
	3 H "	0.80 s
	3 H "	0.84 d
	3 H "	0.86 d
	3 H "	0.94 d
	3 H "	1.00 d
	1 H (hidroksile komşu)	3.50 t
	1 H (vinilik)	5.37 d

Tablo 5: V bileşiğinin Mass spektrum değerleri

V β-Sito- sterol	Parçalanma Ürünleri	m/e	%
	M ⁺	414	100
	(M-CH ₃) ⁺	399	40
	(M-H ₂ O) ⁺	396	51
	(M-CH ₃ -H ₂ O) ⁺	381	36
	-	329	32
	-	315	3
	-	305	38
	(M-yan zincir) ⁺	273	16
	-	255	21
	-	231	12

Tablo 6: V bileşiği asetil türevinin IR spektrum değerleri

V-asetil	KBr ν max (cm ⁻¹)	Fonksiyonel Grup
	1730 ve 1260	CH ₃ -COO
	1460	CH ₂ eğilim
	1375	gem dimetil
	1045	C-O gerilim

Tablo 7: V bileşiği asetil türevinin
¹H NMR spektrum değerleri

			δ (ppm)
V-asetil	3 H	(metil)	0.70 s
	3 H	"	0.82 s
	3 H	"	0.84 s
	3 H	"	0.90 s
	3 H	"	1.02 s
	3 H	"	1.10 s
	3 H	(asetil)	2.05 s
	1 H	(hidroksile komşu)	3.75 m
	1 H	(vinilik)	5.45 t

Tablo 8: C₁ bileşiminin metanolde ve diğer kayma belirteçleri ile alınan UV spektrum değerleri

	MeOH (nm)	NaOMe (nm)	AlCl ₃ (nm)	AlCl ₃ /HCl (nm)	NaOAc (nm)	NaOAc/H ₃ BO ₃ (nm)
Viteksin C ₁	334	390	387	385	370 (omuz)	340
	310 (omuz)	334	350	343	301	319 (omuz)
	270	279	300	299	280	272
			277	278		

Tablo 9: C₁ bileşiginin ¹H NMR spektrum değerleri

Viteksin C ₁	δ (ppm)	
	H-3	6.43 s
	H-6	6.18 d
	H-3', H-5'	6.90 d
	H-2', H-6'	7.90 d
	C ₈ -R, H-1''	4.80 d
	C ₈ -R, H ₂ ''-6''	3.65-3.85 m

Tablo 10: C₂ bileşiğinin metanolde ve diğer kayma belirteçleriyle alınan UV spektrum değerleri.

	MeOH (nm)	NaOMe (nm)	AlCl ₃ (nm)	AlCl ₃ /HCl (nm)	NaOAc (nm)	NaOAc/H ₃ BO ₃ (nm)
Apigenin C ₂	334	389	384	383	374	336
	302 (omuz)	324	347	340	301	302 (omuz)
	267	275	301	300	275	268
			275	275		

Tablo 11: C₂ bileşığının ¹H NMR spektrum değerleri

Apigenin C ₂	δ (ppm)	
	H-3	6.27 s
	H-8	6.35 d
	H-3', H-5'	6.85 d
	H-2', H-6'	7.72 d
	H-6	6.50 d

Tablo 12: C_3 bileşiminin metanolde ve diğer kayma belirteçleriyle alınan UV spektrum değerleri

	MeOH	NaOMe	$AlCl_3$	$AlCl_3/HCl$	NaOAc	$NaOAc/H_3BO_3$
	(nm)	(nm)	(nm)	(nm)	(nm)	(nm)
Swertisin C_3	332	384	380 (omuz)	378 (omuz)	384	335
	273	306 (omuz)	345	343	295 (omuz)	272
		270	300 (omuz)	300 (omuz)	270	
			279	278		
			265 (omuz)	263 (omuz)		

Tablo 13: C₃ bileşığının ¹H NMR
spektrum değerleri

	δ(ppm)	
Swertisin C ₃	H-3	6.34 s
	C ₇ -OCH ₃	3.90 s
	H-8	6.50 s
	H-3', H-5'	6.85 d
	H-2', H-6'	7.74 d
	C ₆ -R, H-1'	4.78 d
	C ₆ -R, H(2"-6")	3.37-4.24 m

Tablo 14: C_4 bileşiminin metanolde ve diğer kayma belirteçleriyle alınan UV spektrum değerleri

	MeOH	NaOMe	$AlCl_3$	$AlCl_3/HCl$	NaOAc	$NaOAc/H_3BO_3$
	(nm)	(nm)	(nm)	(nm)	(nm)	(nm)
Luteolin C_4	349	402	425	385	362	370
	290 (omuz)	329 (omuz)	300 (omuz)	358	325 (omuz)	300 (omuz)
	267	268	328	295 (omuz)	269	260
	253		275	275		
	241 (omuz)			266 (omuz)		

Tablo 15: C₄ bileşiminin ¹H NMR
spektrum değerleri

Luteolin C ₄	δ (ppm)			
	H-3	H-6	H-8	H-2', H-6'
	6.30 s	6.12 d	6.49 d	7.28 d
				6.85 d

Tablo 16: *Verbascum Cheiranthifolium* bitkisinden elde edilen flavonoid bileşiklerin Rf değerleri ve renk reaksiyonları

Bileşik	Çözücü Sistemleri					Absorbsiyon				
	% 15 ACOH	% 30 ACOH	% 45 ACOH	% 60 ACOH	TBA	BAW	UV Işık	NH ₃ /UV buharı	NA/UV. belirteci	Benzidin/UV bel.
C ₁	0.14	0.42	0.64		0.45		k.mor*	sarı	sarı	kırmızı
C ₂		0.32	0.49	0.59			k.mor	sarı	sarı	
C ₃	0.19	0.64					k.mor	sarı	sarı	
C ₄		0.26		0.43		0.80	k.mor	p.sarı*	turuncu	

TBA (t-butanol:asetik asit:su) (3:1:1)

BAW (n-butanol:asetik asit:su) (4:1:5)

*k. mor (koyu mor)

p. sarı (parlak sarı)

Tablo 17: Şekerlerin kağıt kromatografisindeki Rf değerleri

Çözücü Sistem	Glukoz	Galaktoz	Mannoz	Fruktoz	Ksiloz	Ramnoz
nBuOH:AcOH:H ₂ O (4:1:5) (üst faz)	0.20	0.18	0.26	0.28	0.31	0.49
C ₆ H ₅ N:EtOAc:AcOH:H ₂ O 36:36:7:21	0.22	0.19	0.25	0.28	0.35	0.51

SONUÇ VE TARTIŞMA

Verbascum cheiranthifolium bitkisinin steroid ve flavonoidleri bakımından incelenmesi amacıyla yapılan bu çalışmada bir steroid ile dört flavonoid bileşik elde edilmiştir.

Bitkiden elde edilen V bileşiğinin yapısı, spektral bulgulara dayanılarak ve erime noktası ile Rf değerleri standart örneklerle kıyaslanarak β -sitosterol olarak tespit edilmiştir. Ayrıca V bileşiği asetillenerek hidroksil grubunun yeri saptanmıştır.

Ver. cheiranthifolium bitkisinden elde edilen β -sitosterol bileşiğine *Verbascumlarda* çok sık rastlanır.

Flavonoid bileşiklerin tüketme tekniğine göre bitkinin toprak üstü kısmından hazırlanan alkol ekstresinden dört flavonoid bileşik elde edilmiştir.

C_2 ve C_4 bileşiklerinin aglikon yapısında, C_1 ve C_3 bileşiklerinin ise glikozit yapısında olduğu asit hidrolizi ile saptanmıştır.

Ver. cheiranthifolium bitkisinden elde edilen C_1 bileşiğine uygulanan asit hidrolizinden sonra bileşiğin şeker taşıdığı anlaşılmıştır. Bileşiğin ince tabaka kromatografisi, UV spektrumu ve NMR spektrumunun karşılaştırılması ile yapısının viteksin olduğu saptanmıştır.

C_2 bileşiğinin Verbascumlarda çok rastlanan luteolin olabileceği düşünülmüş, yapısı standart örneklerle UV spektral bulguları, NMR spektrumu ve ince tabaka kromatografilerinin karşılaştırılması ile anlaşılmıştır.

C_3 bileşiğindeki 6 konumunun kapalı olması, $AlCl_3/HCl$ spektrumunun Bant I'inin, MeOH spektrumunun Bant I'ine göre 46 nm'lik bir kayma göstermesinden anlaşılmıştır. C_3 bileşiğinin bir glikozit yapısında olduğu asit hidroliz ile anlaşılmıştır. Aynı zamanda NMR spektrumundaki 3.90 ppm deki singlet C_7 'den bağlı metoksi grubunun üç protonunu göstererek bu

doğrulanmaktadır. Spektral bulguları yanısıra standart örneklerle ince tabaka kromatografilerinin karşılaştırılması ile bu bileşik swertisin olarak saptanmıştır.

C₄ bileşiğinin ise yine Verbascumlarda çok rastlanan luteolin olabileceği düşünülmüştür. NaOAc/H₃BO₃ spektrumunda Bant I'in uzun dalga boyuna kayması bileşikte o-dihidroksi durumunun varlığını kesinlikle belirtmiştir. Standart örneklerle diğer UV spektral bulguları, NMR spektrumu ve ince tabaka kromatografilerinin karşılaştırılması ile C₄ bileşiğinin luteolin olduğu saptanmıştır.



KAYNAKLAR

1. Baytop, A., Farmasötik Botanik, Baha Matbaası, (1972).
2. Baytop, T., Türkiye'nin Tıbbi ve Zehirli Bitkileri, İsmail Akgün Matbaası, İstanbul (1963).
3. Gladhikh, A.S., Gubanov, I.A., and Meshcheryakov, A.A., Ser. Biol. Nauk 1, 22-35 (Russ), (1965). Ref. C.A. (63), 923 d (1965).
4. Davis, P.H., Flora of Turkey and the East Agean Islands, Edinburg University Press, Edinburg (1982).
5. Ninova, P., Paskov, D., (Bulg) (1969), Ref. C.A. 72, 28850 n (1970).
6. Baytop, T.: Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi.
7. S.G., Karimova (USSR), Dikorastushckie Introd. Polezn. Rast. Bashk. 4, 89-105 (Russ) (1974). Ref. C.A. 84, 161762 z (1976).

8. Skwarek, T. (Inst. Clin Pathol., Sch. Med., 20-123 Lublin, Pol.). Ref. C.A. 93, 37018 h (1980).
9. Skwarek, T., Acta Pol. Pharm., 36 (6), 715-20 (Pol) (1979). Ref. C.A. 93, 37019; (1980).
10. Ninova, P.; Kurshkov, I.; Stefanova, B.; Nuryan, L., Farmatsiya (Sofia), 30 (5), 23-8 (Bulg) (1980). Ref. C.A. 94, 153459 x (1981).
11. Oskay, E., Organik Kimya, Sevinç Matbaası (1975).
12. Cram, J.D., Hammond, S.G., Organic Chemistry McGraw-Hill Book Company, New York (1964).
13. Boiteau, P., Pasich, B., Ratsimamanga, A.R., Les Triterpenoids, Gauthier-Villars, Paris (1964).
14. Ulubelen, A., Öksüz, S., Samek, Z. and Holub, M., Tetrahedron Letters 46, 4455 (1971).
15. Hesse, M., Meier, H., Zech, B., Spektroskopische Methoden in der Organischen Chemie, Germany (1979).
16. Budzikiewicz, H., Wilson, J.M. and Djerassi, C., J. Amer. Chem. Soc. 85, 3688 (1963).
17. Harbonre, J.B., Mabry, T.J. and Mabry, H., The Flavonoids Chapman and Hall Ltd. London (1975).
18. Thomas, M.B. and Mabry, T.J., Tetrahedron 24, 3675 (1968).

19. Mabry, T.J., Markham, K.R. and Thomas, M.B.,
The Systematic Identifications of Flavonoids,
Spring-Verlag, Berlin (1970).
20. Geissman, T.A., The Chemistry of Flavonoid Comp-
ounds, The Macmillan Company, New York (1962).
21. Harborne, J.B. and Mabry, T.J., The Flavonoids
Advances in Research, Chapman and Hall Ltd.,
London (1982).
22. Bacon, J.D., Mabry, T.J. and Mears, J.A., Rev.
Latinoamer. Qvim. 7, 83 (1976). Ref. C.A. 86,
15873 m (1977).
23. Sakibara, M. and Mabry, T.J., *ibid* 8, 99 (1977).
Ref. C.A. 88, 117746 f (1978).
24. Mears, J.A. and Mabry, T.J., Phytochemistry 11,
411 (1972).
25. Rodriguez, E., Carmen, N.J. and Mabry, T.J., *ibid*
11, 409 (1972).
26. Markham, K.R. and Ternai, B., Tetrahedron 32,
2607 (1976).
27. Ternai, B., Markham, K.R., *ibid*, 32, 565 (1976).
28. Ward, A.R.S., Gray, I.I., J. Chem. Soc. Perkin
Transcation 1, 2475 (1976).
29. Wagner, H., Seligman, O., Tetrahedron 29, 3029 (1973).

30. Goudard, M., Favre-Borwin, T., Lebreton, P.,
Chopin, J., *Phytochemistry* 17, 145 (1978).
31. Wagner, H., Iyengar, M.A., Seligmann, O., *J. Nat.*
Prod. 36, 166 (1973).
32. Ulubelen, A., Cetin, E.T., Gueran, A., *Planta Med.*
27 (1), 14-17 (Eng) (1975). Ref. C.A. 82,
152176 t (1975).
33. De Pascual Teresa, T.; Diaz, F.; Grande, M., *An*
Quim. 74 (2), 311-14 (Span) (1978). Ref. C.A. 89,
163786 n (1978).
34. De Pascual Teresa, J.; Diaz, F.; Grande, M., *An*
Quim 74 (12), 1566-7 (Span) (1978). Ref. C.A. 91,
35696 n (1979).
35. Tschesche, Rudolf, Sepulveda, Silvia; Braun, Thomas,
M., *Chem. Ber.*, 113 (5), 1754-60 (Ger) (1980). Ref.
C.A. 93, 41532 p (1980).
36. Anil, H., Doga, Seri A, 4 (1), 1-5 (Turk) (1980),
Ref. C.A. 93, 235098 x (1980).
37. Sepulveda, S.; Tschescke, R., *Contrib. Cient. Tecnol.*,
10 (1), 5-14 (Span) (1980). Ref. C.A. 94, 99778 k
(1981).
38. Osvath, Klara; Papay, V.; Toth, L., *Herba Hung.* 21
(2-3), 141-7 (Hung) (1982). Ref. C.A. 99, 85139 u
(1983)

39. De Pascual Teresa, J.; Hernandez, J. Maria; Diaz, F.; Grande, M., An. Quim., Ser. C, 78 (1), 108-11 (Span) (1982). Ref. C.A. 97, 36095 b (1982).
40. Hein, S., Planta Med. 7, 185-205 (1959). Ref. C.A. 54, 2502 h (1960).
41. Tschesche, R.; Delhvi, S.; Sepulveda, S., Phytochemistry 18 (7), 1248 - 9 (Eng) (1979). Ref. C.A. 92, 59163 h (1980).
42. Papay, V.; Toth, L., Pharmazie 35 (5-6), 334-5 (Ger) (1980). Ref. C.A. 93, 164353 p (1980).
43. Serdyuk, L.I.; Dzhumyrko, S.F.; Kompantsev, V.A., Khim. Prir. Soedin. 4, 545-6 (Russ) (1976). Ref. C.A. 85, 189196 n (1976).
44. Bianco, A.; Guizo, M.; Iavarone, C.; Passacantilli, P.; Trogolo, C., Planta Med. 41 (1), 75-9 (Eng) (1981). Ref. C.A. 95, 25509 x (1981).
45. Bianco, A.; Guizo, M.; Iavarone, C.; Passacantilli, P.; Trogolo, C., Phytochemistry 20 (3), 465-8 (Eng) (1981). Ref. C.A. 95, 115919 k (1981).
46. Falsone, G.; Laryea, M.D.; Crea, A.E.G.; Finner, E., Planta Med. 44 (3), 150-3 (Ger) (1982). Ref. C.A. 97, 3573 c (1982).

47. Agababyan, E. Yu.; Arutyunyan, L.S.; Mnatsakanyan, V.A.; Gacs-Bait's, Eszter; Radics, Lajos, Khim. Prir. Soedin 4, 446-51 (Russ) (1982). Ref. C.A. 98, 50343 h (1983).
48. Mnatsakanyan, V.A.; Arutyunyan, L.S.; Eribekyan, M.I., Khim. Prir. Soedin. 1, 38-41 (Russ) (1983). Ref. C.A. 99, 3017r (1983).
49. Groeger, D., Simchen, P., Pharmazie 22 (6), 315-21, (Ger) (1967). Ref. C.A. 67, 105967 g (1967).
50. De Pascual Teresa, T.; Diaz, F.; Grande, M., An. Quim., Ser. C 76 (2), 107-10 (Span) (1980). Ref. C.A. 94, 61693 r (1981).
51. Ninova, P., Nauchni Tr. Visskiya Med. Inst. Sofiya 44 (3), 33-7 (Eng) (1965). Ref. C.A. 65, 5874 h (1966).
52. Ninova, P.; Abdusamatov, A.; Yunusov, S.Yu., Khim. Prir. Soedin. 7 (4), 540 (Russ) (1971). Ref. C.A. 76, 1812_x (1972).
53. Ziyaev, R.; Abdusamatov, A.; Yunusov, S.Yu., Khim. Prir. Soedin. 7 (6), 853-4 (Russ) (1971). Ref. C.A. 76, 1241545 (1972).
54. Okuda, T. et all., Phytochemistry 14, 1509. (1975).

SEITE LISTEN

55. Harborne, J.B., *Ibid* 4, 107 (1965).
56. Shoolery, J.N. and Rogers Max T., *J. Am. Chem. Soc.* 80, 5121 (1958).
57. Wyllie, S.G., *J. Org. Chem.* 42, 725 (1977).

Sekil 2. Flavonoid İlemleri	10
Sekil 3. Flavonoidlerin Yalıtılması	11
Sekil 4. V Bilirubin'in Spektrumu	12
Sekil 5. V Bilirubin'in NMR Spektrumu	13
Sekil 6. V Bilirubin'in UV Spektrumu	14
Sekil 7. V Asitli Turku'ın NMR Spektrumu	15
Sekil 8. V Asitli Turku'ın NMR Spektrumu	16
Sekil 9. C ₁ Bilirubin'in UV Spektrumu	17
Sekil 10. C ₁ Bilirubin'in NMR Spektrumu	18
Sekil 11. C ₂ Bilirubin'in UV Spektrumu	19
Sekil 12. C ₂ Bilirubin'in NMR Spektrumu	20
Sekil 13. C ₃ Bilirubin'in UV Spektrumu	21
Sekil 14. C ₃ Bilirubin'in NMR Spektrumu	22
Sekil 15. C ₄ Bilirubin'in UV Spektrumu	23
Sekil 16. C ₄ Bilirubin'in NMR Spektrumu	24

SEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 1. Flavonoidlerin Oluşumu	16
Şekil 2. Flavonoid İskeletleri	20
Şekil 3. Flavonoidlerin Kütle Spektroskopi- sinde Bölünme Yolları	39
Şekil 4. V Bileşiği IR Spektrumu	60
Şekil 5. V Bileşiği ¹ H NMR Spektrumu	62
Şekil 6. V Bileşiği Kütle Spektrumu	63
Şekil 7. V Asetil Türevi IR Spektrumu	64
Şekil 8. V Asetil Türevi ¹ H NMR Spektrumu	65
Şekil 9. C ₁ Bileşiği UV Spektrumu	68
Şekil 10. C ₁ Bileşiği ¹ H NMR Spektrumu	69
Şekil 11. C ₂ Bileşiği UV Spektrumu	72
Şekil 12. C ₂ Bileşiği ¹ H NMR Spektrumu	73
Şekil 13. C ₃ Bileşiği UV Spektrumu	77
Şekil 14. C ₃ Bileşiği ¹ H NMR Spektrumu	78
Şekil 15. C ₄ Bileşiği UV Spektrumu	80
Şekil 16. C ₄ Bileşiği ¹ H NMR Spektrumu	81

TABLO LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Tablo 1. Flavonoid Bileşiklerin Renk Reaksiyon- ları	23
Tablo 2. Flavonoid Bileşiklerin Renk Reak- siyonları	24
Tablo 3. V Bileşiğinin IR Spektrum Değerleri ...	83
Tablo 4. V Bileşiğinin ¹ H NMR Spektrum Değerleri.	83
Tablo 5. V Bileşiğinin Mass Spektrum Değerleri...	84
Tablo 6. V Bileşiğinin Asetil Türevinin IR Spektrum Değerleri	84
Tablo 7. V Bileşiğinin Asetil Türevinin ¹ H NMR Spektrum Değerleri	85
Tablo 8. C ₁ Bileşiğinin Metanolde ve Diğer Kay- ma Belirteçleri ile Alınan UV Spekt- rum Değerleri	86
Tablo 9. C ₁ Bileşiğinin ¹ H NMR Spektrum Değer- leri	87
Tablo 10. C ₂ Bileşiğinin Metanolde ve Diğer Kay- ma Belirteçleri ile Alınan UV Spekt- rum Değerleri	88
Tablo 11. C ₂ Bileşiğinin ¹ H NMR Spektrum Değer- leri	89

Tablo 12. C_3 Bileşiminin Metanolde ve Diğer Kayma Belirteçleri ile Alınan UV Spektrum Değerleri	90
Tablo 13. C_3 Bileşiminin 1H NMR Spektrum Değerleri	91
Tablo 14. C_4 Bileşiminin Metanolde ve Diğer Kayma Belirteçleri ile Alınan UV Spektrum Değerleri	92
Tablo 15. C_4 Bileşiminin 1H NMR Spektrum Değerleri	93
Tablo 16. V. Cheiranthifolium Bitkisinden El- de Edilen Flavonoid Bileşiklerin Rf Değerleri ve Renk Reaksiyonları..	94
Tablo 17. Şekerlerin Kağıt Kromatografisinde- ki Rf Değerleri	95

ÖZGEÇMİŞ

1954 yılında İstanbul'da doğdum. İlk ve orta öğrenimi mi İstanbul'da tamamladım.

1973-1974 öğretim döneminde İ.Ü. Kimya Fakültesi Kimya Yüksek Mühendisliği Bölümüne girdim ve 1978'de mezun oldum.

1980 yılı Haziran ayında İ.D.M.M.A. Galatasaray Mühendislik Fakültesinde asistan olarak göreve başladım. Halen Y.Ü. Fen-Ed. Fak. Kimya Bölümü Analitik Kimya Anabilim Dalında araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım.

1982-1983 öğretim döneminde Y.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Bölümünde doktora programına başladım ve 1985-1986 öğretim döneminde çalışmalarımı tamamladım.

