

YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Ranunculus cons. d'urv.
bitk. kimy. olarak inc.

Yüksek Lisans Tezi

Belkıs Bilgin

20

Kimya

YILDIZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

36/81

68

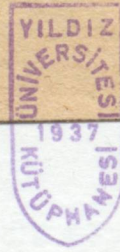
**RANUNCULUS CONSTANTINOPOLİTANUS (DC.) d'Urv.
BİTKİSİNİN KİMYASAL OLARAK İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYAGER BELKİS BİLGİN

İstanbul - 1990

YILDIZ ÜNİVERSİTESİ
GENEL KİTAPLIĞI

Kot : R 361
Alındığı Yer : ... Fen Bil. Enst. ... 81
Tarih : 12.12.1990
Fatura :
Fiatı : 24.000 TL
Ayniyat No : 1/28
Kayıt No : 47404
UDC : 54 378.242
Ek :



İÇİNDEKİLER

YILDIZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



ÖZET
ABSTRACT

1. GİRİŞ VE ÇALIŞMANIN AMANUŞI 1

2. TEORİK KISIM 2
2.1. RANUNCULUS CONSTANTINOPOLITANUS (DC.) d'Urv. 2

2.1.1. BİTKİSİNİN KİMYASAL OLARAK İNCELENMESİ 2

2.1.2. Kimyasal Yapı 3

2.1.3. Kimyasal Özellikleri 3

2.1.4. Kimyasal Özellikleri 3

2.1.5. Kimyasal Özellikleri 3

2.1.6. Kimyasal Özellikleri 3

2.1.7. Kimyasal Özellikleri 3

2.1.8. Kimyasal Özellikleri 3

2.1.9. Kimyasal Özellikleri 3

2.1.10. Kimyasal Özellikleri 3

2.1.11. Kimyasal Özellikleri 3

2.1.12. Kimyasal Özellikleri 3

2.1.13. Kimyasal Özellikleri 3

2.1.14. Kimyasal Özellikleri 3

2.1.15. Kimyasal Özellikleri 3

2.1.16. Kimyasal Özellikleri 3

2.1.17. Kimyasal Özellikleri 3

2.1.18. Kimyasal Özellikleri 3

2.1.19. Kimyasal Özellikleri 3

2.1.20. Kimyasal Özellikleri 3

2.1.21. Kimyasal Özellikleri 3

2.1.22. Kimyasal Özellikleri 3

2.1.23. Kimyasal Özellikleri 3

2.1.24. Kimyasal Özellikleri 3

2.1.25. Kimyasal Özellikleri 3

YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYAGER BELKİS BİLGİN

İÇİNDEKİLER	35
2.3.4.5.1. Renk Reaksiyonları	35
2.3.4.5.2. Spektrel Yöntemler	36
2.3.4.6. Farmakolojik Etkileri	52
ÖZET	
ABSTRACT	53
1. GİRİŞ VE ÇALIŞMANIN AMACI	1
2. TEORİK BÖLÜM	2
2.1. BİTKİNİN TANIMI VE YAYILIŞI	2
2.1.1. Ranunculaceae Familyası	2
2.1.2. Ranunculus Cinsi	3
2.1.3. R. constantinopolitanus (DC.) d'Urv.	3
2.2. RANUNCULACEAE FAMILİYASINDA RANUNCULUS TÜRLERİ İLE YAPILAN ÇALIŞMALAR	5
2.3. GENEL BİLGİLER	12
2.3.1. Hidrokarbonlar	12
2.3.2. Laktonlar	14
2.3.3. Steroidler	17
2.3.3.1. Yapıları ve Dağılımları	17
2.3.3.2. Stereokimyası	20
2.3.3.3. Kimyasal Reaksiyonları	22
2.3.3.4. Bitkiden Elde Edilmeleri, Ayrılmaları ve Saflaştırılmaları	22
2.3.3.5. Tanınmaları	23
2.3.3.5.1. Renk Reaksiyonları	23
2.3.3.5.2. Spektroskopik Yöntemler	23
2.3.4. Flavonoidler	25
2.3.4.1. Yapıları ve Dağılımları	25
2.3.4.2. Fiziksel, Kimyasal Özellikleri ve Reaksiyonları	29
2.3.4.3. Bitkiden Elde Edilmeleri	31
2.3.4.4. Ayrılmaları ve Saflaştırılmaları	32
2.3.4.4.1. Kolon Kromatografisi	32
2.3.4.4.2. İnce Tabaka Kromatografisi	34

2.3.4.5. Tanınmaları	35
2.3.4.5.1. Renk Reaksiyonları	35
2.3.4.5.2. Spektral Yöntemler	38
2.3.4.6. Farmakolojik Etkileri	52
3. DENEYSSEL BÖLÜM	53
3.1. GENEL YÖNTEMLER	53
3.1.1. Kromatografik Yöntemler	53
3.1.1.1. Kolon Kromatografisi	53
3.1.1.2. İnce Tabaka Kromatografisi	54
3.1.2. Spektrofotometrik Yöntemler	55
3.1.3. Belirteçler	55
3.1.3.1. Steroid Belirteçleri	55
3.1.3.2. Protoanemonin Belirteci	56
3.1.3.3. Flavonoid Belirteçleri	56
3.1.3.4. UV Spektrumu Kayma Belirteçleri	56
3.1.4. Uygulanan Kimyasal Reaksiyon	57
3.2. YAPILAN İŞLEMLER	58
3.2.1. Bitkinin Tüketilmesi ve Ekstrelerin Elde Edilmesi	58
3.2.2. Ekstrelerin Fraksiyonlandırılması ve Bileşiklerin İzole Edilmesi	59
3.2.2.1. Bitkinin Toprak Üstü Kısımları	59
3.2.2.2. Bitkinin Kök Kısmı	60
3.3. BU ÇALIŞMADA ELDE EDİLEN BİLEŞİKLER	65
3.3.1. GH ₁ Bileşiği: Uzun Zincirli Alifatik Hidrokarbon	65
3.3.2. GH ₂ Bileşiği: Alifatik Hidroksi Yağ Ketonu	69
3.3.3. KH ₂ Bileşiği: Uzun Zincirli Alifatik Hidrokarbon	72
3.3.4. KH ₃ Bileşiği: Alifatik Yağ Ketonu	75
3.3.5. GL ₁ Bileşiği: AN Bileşiği: Anemonin	78
3.3.6. GS ₁ Bileşiği: β-Sitosterol	82
3.3.7. GF ₁ Bileşiği: Apigenin	86
3.3.8. GF ₂ Bileşiği: Nepetin	91
3.3.9. GF ₃ Bileşiği: Viteksin	96
3.4. ELDE EDİLEN BİLEŞİKLERİN FİZİKSEL VE SPEKTRAL ÖZELLİKLERİ	101
SONUÇ VE TARTIŞMA	106
KAYNAKLAR	108
ÖZGEÇMİŞ	117

Bana bu çalışmayı yapma olanağını sağlayan ve her aşamasında bilgi ve önerileri ile büyük katkıda bulunan Sayın hocam **Prof.Dr.Süheyla Uzman'a**, çalışmalarım sırasında, denemelerin yapılmasına olanak sağlayan, derin bilgi ve deneyimlerinden daima yararlandığım İ.Ü. Eczacılık Fakültesi Öğretim Üyesi Sayın **Prof.Dr.Ayhan Ulubelen'e** sonsuz saygı ve şükranlarımı sunarım.

Herbaryumlarımı kullanma olanağını sağlayan ve bitkinin tanınmasında değerli yardımlarını esirgemeyen M.Ü. Eczacılık Fakültesi Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Ersoy Tuzunoğlu'na, daima bilgilerimde yararlandığım Sayın Prof. Sirhan Faksoy'a teşekkürlerimi bir kez daha sunarım.

DZET

8. constantinopolitanus (DC.) a' l' r' s' bitkisinin toprak ve su ekstraktları hidrokarbon, lakton, steroid ve flavenoid bileşikleri açısından incelenmiştir.

Bu çalışma 1966'da İstanbul Fethi Paşa Korusu'ndan toplanan *Constantinopolitanus* bitkisi, kurutulduktan sonra toprak ve su ekstraktları olarak iki kısma ayrılıp, iki kısma halinde incelenmiştir. Bitki ekstraktları, sırasıyla petrol eteri, kloroform, etanol ve su ile ekstrakte edilmiştir. Ekstraktlar, önce kalite kontrolünde incelenmiş bitkinin toprak ve su ekstraktları petrol eteri ile kloroform ekstraktları hidrokarbonlar ve steroidler yönünden, toprak ve su ekstraktları flavenoidler yönünden zengin görülmüştür.

Toprak ve su ekstraktları, petrol eteri ve kloroform ekstraktlarında bulunan bileşikleri belirlemek için ekstraktlar kromatografik, Herbaryumlarını kullanma olanağını sağlayan ve bitkinin tanınmasında değerli yardımlarını esirgemeyen M.Ü. Eczacılık Fakültesi Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr.Ertan Tuzlacı'ya, daima bilgilerinden yararlandığımı Sayın Prof.Şirin Paksoy'a teşekkürü bir borç bilirim.

Bu çalışma, İstanbul Fethi Paşa Korusu'ndan toplanan bitkinin toprak ve su ekstraktları, hidrokarbonlar, lakton, steroid ve flavenoidler yönünden zengin görülmüştür.

renk reaksiyonlarından ve UV, IR spektrumlarından yararlanılarak, bu bileşiklerin kimlikleri hakkında bilgiler edinilmiştir.

GH₁ bileşiği ise kloroform ekstraktından ayrıştırılarak elde edilmiştir. Bitkiden elde edilen buharlı ekstraktın ile elde edilen ve anemone olduğu düşünülen bu bileşiğin UV, IR spektrumları ve renk reaksiyonları ile GH₁ bileşiğinin kimliği doğrulanmıştır.

Ekstrelerin kloroform ve etanol ekstraktlarından GS₁ bileşiği elde edilmiştir. Bu bileşiğin kimliği UV, IR spektrumları ve renk reaksiyonları ile doğrulanmıştır.

ÖZET

R. constantinopolitanus (DC.) d' Urv. bitkisinin toprak üstü ve kök kısımları hidrokarbon, lakton, steroid ve flavonoid bileşikleri açısından incelenmiştir.

Nisan 1988'de İstanbul Fethi Paşa Korusu'ndan toplanan R. constantinopolitanus bitkisi, kurutulduktan sonra toprak üstü ve kök kısmı olmak üzere iki bölüme ayrılarak, iki kısım halinde incelenmiştir. Bitki öğütülerek, sokslet cihazında petrol eteri, kloroform, etanol ve su ile ekstre edildi. Yoğunlaştırılan ekstratlar, ince tabaka kromatografisinde incelendi: bitkinin toprak üstü ve kök kısımlarının petrol eteri ile kloroform ekstratları hidrokarbonlar ve steroidler yönünden, toprak üstü kısmın etanol ekstresi flavonoidler yönünden zengin görüldü.

Toprak üstü kısmın, petrol eteri ve kloroform ekstratlarında benzer bileşikler görüldüğü için ekstratlar birleştirilerek, silikajel adsorban üzerinden polaritesi gittikçe artan çözücülerle fraksiyonlandırıldı. Bu ekstratların petrol eteri ve benzen fraksiyonlarından GH₁, GH₂ ve GL₁ bileşikleri elde edildi. GH₁ bileşiğinin bitkinin kök kısmından elde edilen KH₁ ile aynı bileşik olduğu saptandı.

GH₁ ve GH₂ bileşiklerinin ince tabaka kromatografilerindeki

renk reaksiyonlarından ve UV, IR spektrumlarından yararlanılarak, bu bileşiklerin hidrokarbon yapısında oldukları bulunmuştur.

GL₁ bileşiği ise Ranunculus türlerinde yaygın olarak bulunan, bitkiden su buharı destilasyonu ile elde edilen ve anemonin olduğu düşünülen AN bileşiği ile aynı özellikleri göstermiştir. Renk reaksiyonları ve spektrum (UV, IR) bulguları bileşiğin anemonin olabileceğini doğrulamıştır.

Ekstrelerin kloroform-etanol ile alınan bölümünden GS₁ bileşiği (β -sitosterol) izole edilmiş ve preparatif ince tabaka kromatografisinde saflaştırılmıştır. Elde edilen steroid bileşiğin yapısının aydınlatılmasında, IR spektrumundan, asetilleme reaksiyonundan faydalanılmıştır. Ayrıca standart örnek ile ince tabaka kromatogramı ve erime noktası karşılaştırılmıştır.

β -Sitosterol, daha önce Ranunculus'un bir diğer türü olan R. quelpaertensis bitkisinden de elde edilmiştir.

Toprak üstü kısmın, etanol ekstresi poliklar kolona alındı ve elüsyona Egger çözücü sistemi (kloroform-etanol (2:1)) ile başlanıp artan miktarlarda etanol'a geçildi. Bu ekstrelerden GF₁ (Apigenin), GF₂ (6-Metoksiluteolin) ve GF₃ (Viteksin) bileşikleri izole edilmiştir.

Elde edilen flavonoid bileşikleri küçük sefadeks kolonlarda saflaştırılmıştır. Saflaştırılan bu bileşiklerin yapıları, UV spektrumları ve ince tabaka kromatogramlarının standart örneklerle kıyaslanması ile saptanmıştır.

GF₃ bileşiği (Viteksin) daha önce R. repens ve R. polyanthemos bitkilerinden izole edilmiştir. Fakat Ranunculus türleri ile yapılan diğer çalışmalarda GF₁ (Apigenin) ve GF₂ (6-Metoksiluteolin) bileşiklerine rastlanmamıştır.

Bitkinin kök kısmının petrol eteri ve kloroform ekstrelerinin benzer olduğu görülmüş ve birleştirilerek incelenmiştir. Ekstreler silikajel kolona alınarak, elüsyona hekzan ile başlanıp benzen, kloroform ve son olarak alkole geçildi. Bu ekstrelerden, KH_1 , KH_2 ve KH_3 bileşikleri izole edilmiştir. Bileşikler preparatif ince tabaka kromatografisi ile saflaştırılmıştır. Yapılarını aydınlatmak amacıyla UV, IR spektrumları kullanılarak bileşiklerin hidrokarbon yapısında oldukları bulunmuştur.

Sonuç olarak; ilk kez çalışılan *R. constantinopolitanus* bitkisinden, hidrokarbon yapısında olan dört bileşik, bir lakton, bir steroidal ve üç flavonoidal bileşik elde edilmiştir.

... shown similar characteristics with compound AY
... given distillation from the plant and proved to
... which is found extensively in Ranunculus
... reactions and spectral data (UV, IR) have
... characteristics.

... fractions of the extracts have
... which was purified by TLC. In the
... of this steroid, IR spectrum
... were made use of. The TLC
... of the sample were compare with

ABSTRACT

R. constantinopolitanus (DC.) d'Urv. plants was examined for hydrocarbons, lactones, steroids and flavonoids.

R. constantinopolitanus plants were collected in April 1988, in İstanbul Fethi Paşa Park. The plants were air dried, then separated into above ground (stems + flowers + leaves) and under ground (roots) parts, and thus examined. The plant parts were ground, and extracted with petrol ether, chloroform, ethanol and water in the Soxhlet Apparatus. The concentrated extracts were examined by TLC. The petrol ether and chloroform extracts of both parts were found to be rich in hydrocarbons and steroids. The ethanol extract of the above ground parts was rich in flavonoids.

Since similar compounds were observed in the petrol ether and chloroform extracts of the above ground parts, these were combined and later fractionated over silicagel adsorbent using solvents of increasing polarity. The compounds GH₁, GH₂ and GL were obtained from the petrol ether and benzene fractions. GH₁ was found to be identical with KH₁ obtained from the under ground parts.

Through the color reactions of their TLC chromatograms and their UV and IR spectra, GH₁ and GH₂ were found to be hydrocarbons.

GL₁ has shown similar characteristics with compound AN obtained by steam distillation from the plant and proved to be anemonin which is found extensively in *Ranunculus* species. Color reactions and spectral data (UV, IR) have helped with the identification.

The chloroform-ethanol fractions of the extracts have yielded GS₁ (β -sitosterol) which was purified by TLC. In the identification of the structure of this steroid, IR spectrum and acetylation reaction have been made use of. The TLC chromatogram and the m.p. of the sample were compared with those of standard (β -sitosterol).

β -Sitosterol has been previously obtained from *R. quelpaer-tensis*.

The ethanol extracts of the above-ground parts were eluted in a polyclar column, starting with the Egger solvent system (chloroform-ethanol, (2:1)) and ending with pure ethanol. This extract yielded GF₁ (Apigenin), GF₂ (6-methoxyluteolin) and GF₃ (Vitexin).

These flavonoidal compounds were purified in small sefadex columns, and their structures were determined by use of their UV spectra, TLC chromatograms compared to those of the standards.

GF₃ (Vitexin) has been previously isolated from *R. repens* and *R. polyanthes* but no reports exist on the presence of GF₁ (Apigenin) and GF₂ (6-Methoxyluteolin) in *Ranunculus* species.

The petrol ether and chloroform extracts of the underground parts have yielded similar results and were therefore combined. The combined extracts were eluted in a silicagel column with hexane, benzene, chloroform and finally ethanol. Compounds KH₁, KH₂ and KH₃ have been isolated and purified

by TLC. Their IR and UV spectra have shown the compounds to be hydrocarbons.

The investigation of the chemical composition of *R. constantinopolitanus* which has not been previously studied has yielded 4 hydrocarbons, 1 lactone, 1 steroid and 3 flavonoids.

1. GİRİŞ VE ÇALIŞMANIN AMACI

R. constantinopolitanus türü Türkiye'de (Davis, 1947, 1948)...

Türkiye'de, özellikle İstanbul çevresinde, oldukça yaygın olarak bilinen ve genellikle kışın toplanan bitki türüdür. Bitki, özellikle kışın toplanır ve kurutulur. Bitki, özellikle kışın toplanır ve kurutulur. Bitki, özellikle kışın toplanır ve kurutulur.

Türkiye'de, özellikle İstanbul çevresinde, oldukça yaygın olarak bilinen ve genellikle kışın toplanan bitki türüdür. Bitki, özellikle kışın toplanır ve kurutulur. Bitki, özellikle kışın toplanır ve kurutulur.

1. GİRİŞ VE ÇALIŞMANIN AMACI

Ülkemizde 80 kadar Ranunculus türü yetişmektedir (Davis, 1965; 1988).

Ranunculus türleri, ülkemizde halk arasında Orta Çağ'dan beri hemeroid'e karşı kullanılmaktadır. Dahilen infüzyon, tentür veya hülasa, haricen ise hülasesı kavak merhemi ile birlikte verilmektedir. Ayrıca, haricen kızartıcı ve kan toplayıcı olarak da kullanıldıkları ve süt arttırıcı etkilerinin de bulunduğu bildirilmektedir (Baytop, 1984). Ranunculus türlerinin farmakolojik aktiviteleri üzerine pek çok çalışmalar yapılmıştır ve yapılmaya da devam edilmektedir.

Türkiye'de, özellikle İstanbul çevresinde yaygın olarak bulunan ve günümüze kadar kimyasal olarak çalışılmamış olan Ranunculus constantinopolitanus bitkisinde hidrokarbon, lakton, steroid ve flavonoid bileşiklerinin kimyasal olarak incelenmesi amaçlanmış ve çalışma bu yönde yapılmıştır.

Trease, et al., 1972; Davis, 1965; 1988; Baytop, 1963; Baytop, 1984).

2.1.2. Ranunculaceae Cinsi (Düğün Çiçeği, Tağ Çanığı)

Bir veya çok senelik otsu, gövdeli, kera veya bir kısmı su bitkileridir. Çagunna kökleri yumrular halinde şikindir. Yapraklar alternan, çoğunlukla tabanda bulunurlar. Çiçekler az çok panikula şeklinde ya da tek başına bulunur, aktinomorfik yapıdadır, sarı, karanı veya beyaz renklidir. Periant 2 seriden oluşur, dıştaki segmentler sepalooid, içteki-

2. TEORİK BÖLÜM

2.1. BİTKİNİN TANIMI VE YAYILIŞI

2.1.1. Ranunculaceae Familyası

Ranunculaceae 47 cins ve 2000 türü içine alan (Trease, et al., 1972), zehirli bitkiler taşıyan önemli bir familyadır. Ülkemizde 17 cins ve 170'ye yakın tür yetişir (Davis, 1965; 1988).

Kuzey yarımkürenin ılıman bölgelerinde yetişen, Nisan-Temmuz ayları arasında, genellikle parlak sarı, nadiren beyaz renkli çiçekler açan, bir veya çok senelik otsu bitkilerdir. Bir kısmı çalı şeklinde veya tırmanıcıdır. Yapraklar; alternan dizilişli ve stipulasız bazen tümü tabanda, ender olarak stipulalı veya karşılıklı, genellikle parçalı ve palmat damarlı. Çiçekler; hermatrodit, hipogin, aktinomorf veya zigomorf. Periant tek örtü halinde veya kaliks (5 parçalı) ve korolla (5 veya daha çok parçalı) şeklinde ayrılmış, parçalar serbest. Genellikle nektaryum var. Stamenler çok adette, spiral şeklinde düzenlenmiş, anterler ekstrors. Ginekeum apokarp, çok nadiren sinkarp veya 1-karpelden oluşmuş. Meyva aken veya folikül toplulukları halinde ender olarak bakka ya da bir folikülden oluşur. Birçok meyva küremsi veya uzunca silindir şeklinde biraraya toplanır (Tutin, et al., 1964;

Trease, et al., 1972; Davis, 1965; 1988; Baytop, 1983; Baytop, 1984).

2.1.2. *Ranunculus Cinsi* (Düğün Çiçeği, Yağ Çanağı)

Bir veya çok senelik otsu, gövdeli, kara veya bir kısmı su bitkileridir. Çoğunun kökleri yumrular halinde şişkindir. Yapraklar alternan, çoğunlukla tabanda bulunurlar. Çiçekler az çok panikula şeklinde ya da tek başına bulunur, aktinomorfik yapıdadır, sarı, kırmızı veya beyaz renklidir. Periant 2 seriden oluşmuş, dıştaki segmentler sepaloid, içtekiler petaloid. Sepaller genellikle 3 ya da 5, petaller genellikle 5 ya da daha çoktur. Petallerin üst yüzünde, taban kısmında çoğu kez bir pul tarafından korunan nektaryum bulunur. Stamenler genellikle çok sayıda. Karpeller birkaç veya çok sayıdadır. Akenler birkaç adet ya da çok sayıda, genelde tüysüz ve meyvada kalıcı stilusludur (Tutin et al., 1964; Davis, 1965; 1988; Baytop, 1983; Baytop, 1984).

Ülkemizde 80 *Ranunculus* türü yetişmektedir (Davis, 1965; 1988). Bunlar zehirli bitkilerdir, yaprakları cildi tahriş edici özelliktedir. Bitkilerin suyu, yüksek derecede stabil olmayan γ -lakton, protoanemonin oluşmasından dolayı irritan özelliktedir (Stahl, 1969; Baytop, 1983).

2.1.3. *R. constantinopolitanus* (DC.) d'Urv.

Çok yıllık, 20-75 cm boyunda, otsu bitkilerdir. Gövdeleri üst tarafta dallanmış, genellikle petioller gibi sık tüylüdür. Üç parçalı yapraklar taşır. 2-çok çiçeklidir. Gövdenin dip tarafındaki yapraklar tabanda kordat, lamina 3 parçalı, 3-10 cm genişliğinde yatık tüylüdür. Parçalar geniş veya dar kuneattır ve dişli lobludur. Çiçekler 15-25 mm çapında. Sepaller geriye doğru kıvrık, petaller 8-15 mm boyunda. Akenler basık ve yarım dairemsi şekilde 3-4 mm boyunda ve omurgalıdır. Meyvanın gaga kısmı kıvrık, 1-1,5 mm boyundadır. Nemli yerlerde, özellikle sulak çayırlarda, deniz sevi-

yesinden 2000 m'ye kadar olan yüksekliklerde yetişir.

Ülkemizde İstanbul, Bursa, Bolu, Kastamonu, Ankara, Sinop, Trabzon, Tokat, Rize, İzmir, Eskişehir, Kahramanmaraş, Elazığ, Erzincan, Konya ve İçel'de bulunduğu kaydedilmiştir.

Ülkemiz dışında bu tür; Romanya, Balkanlar, Kırım, Kafkasya, Kuzey Irak, İran, Kıbrıs ve Batı Suriye'de bulunmaktadır (Tutin, et al., 1964; Davis, 1965; 1988).

2.2. RANUNCULACEAE FAMILYASINDA RANUNCULUS TÜRLERİ İLE YAPILAN ÇALIŞMALAR

Ranunculaceae familyası ile ilgili gündüze kadar yapılan taksonomik çalışmalarda karbohidrat, şeker alkolileri, siyanogenetik glikozitler, saponin, tannin, kinon, alkaloid, kumarin, terpenoid, steroid, lakton, fenolik ester ve esterler belirlenmiştir. Fakat saponinlerin çoğunun triterpenoid yapıda olduğu gözlemlenmiştir ayrıca kardiyak glikozitleri ve laktonların genellikle Ranunculus türlerinde bulunduğu saptanmıştır (Gibba, 1974).

Zehirli bitkiler olarak kabul edilen Ranunculus türlerinin en özellikleri, hemen hemen bütün türlerinde bulunan protoanemonin ve anemonin'den kaynaklanmaktadır.

Genellikle Ranunculaceae'da flavonoller daha bol, flavonlar ise daha nadirdir. Özellikle flavonol-3,7-diglikozitler çok yaygındır. Bunlardan, bitkilerde doğal olarak bulunan flavonol-3,7-diglikozit'in zamanla hidrolizle oluşan kaferol ve quercetin-7-glikozit'in yapısı aydınlatılmıştır.

Familiyada antosiyanidin glikozitlerine de sık rastlanır, bunlar 3-glikozit ve de 3,7-diglikozit yapılarından biri halinde bulunurlar. Bu familiyada antosiyanidinlerin yapısı basittir. Pigment olarak kullanılan en özelliklerinden birinin

nda delphinidin'dir (Harborne, 1967).

Ranunculaceae üzerine yapılan fitokimyasal çalışmalarda: *R. auriculatus* L.'de saponinlerin bulunduğu, alkaloid, tannin ve flavonoidlerin olduğu (Aynahchi, et al., 1985), *Adonis vernalis* L.'de saponin, flavonoid ve tanninlerin bulunduğu (Aynahchi, et al., 1982) ve *R. brudotii* türünde fenolik asitler, flavonoidler ve tanninlerin varlığı (Barandiaran, et al., 1967) saptanmıştır. Aynı şekilde, balırcı Ranunculus türleri üzerine yapılan çalışmada ise: pirogalol ve pirokatekol gruplarının tanninleri, alkaloidler, kardiak gliko-

2.2. RANUNCULACEAE FAMILİYASINDA RANUNCULUS TÜRLERİ İLE YAPILAN ÇALIŞMALAR

Ranunculaceae familyası ile ilgili günümüze kadar yapılan taksonomik çalışmalarda karbohidrat, şeker alkolleri, siyanogenetik glikozitler, saponin, tannin, kinon, alkaloid, kumarin, terpenoid, steroid, lakton, fenolik ester ve eterler bulunmuştur. Fakat saponinlerin çoğunun triterpenoid yapıda olduğu anlaşılmış ayrıca kardiak glikozitleri ve laktonların genellikle *Ranunculus* türlerinde bulunduğu saptanmıştır (Gibbs, 1974).

Zehirli bitkiler olarak kabul edilen *Ranunculus* türlerinin bu özellikleri, hemen hemen bütün türlerinde bulunan proto-anemonin ve anemonin'den kaynaklanmaktadır. D-fruktoz, sakkaroz (Yoshihiko, et al., 1972).

Genellikle Ranunculaceae'da flavonoller daha bol, flavonlar ise daha nadirdir. Özellikle flavonol-3,7-diglikozitler çok yaygındır. Bunlardan, bitkilerde doğal olarak bulunan flavonol-3,7-diglikozit'in tamamlanmamış hidroliziyle oluşan kamferol ve quersetin-7-glikozit'in yapısı aydınlatılmıştır.

KAROTENOİDLER

Familyada antosiyanidin glikozitlerine de sık rastlanır, bunlar 3-glikozit ya da 3,5-diglikozit şekillerinden biri halinde bulunurlar. Bu familyada antosiyaninlerin yapısı basittir. Pigment olarak kullanılan en önemlilerinden birinin

adı delphinin'dir (Harborne, 1967).

Ranunculaceae üzerine yapılan fitokimyasal çalışmalarda: *R. muricatus* L.'da saponinlerin bulunduğu, alkaloid, tannin ve flavonoidlerin olmadığı (Aynehchi, et al., 1985), *Adonis aestivalis* L.'de saponin, flavonoid ve tanninlerin bulunduğu (Aynehchi, et al., 1982) ve *R. baudotii* türünde fenolik asidler, flavonoidler ve tanninlerin varlığı (Barandiaran, et al., 1987) saptanmıştır. Aynı şekilde, belirli *Ranunculus* türleri üzerine yapılan çalışmada ise; piragallol ve piroka-teşinol gruplarının tanninleri, alkaloidler, kardiyak glikozitler, saponin ve flavon bileşikleri bulunmuştur (Kolesnik, 1961). Seitz, 1980 yılında Ranunculaceae üzerine kemosistematik bir çalışma yapmıştır.

KİMYASAL BİLEŞİK GRUPLARI ÜZERİNE YAPILAN ÇALIŞMALAR

KARBOHİDRATLAR

Ranunculaceae familyasının hemen hemen bütün türlerinde sakkaroz ve bunun parçalanması ile oluşan glukoz ve diğer glikozitler bulunmuştur (Remeaud, 1907).

Örneğin:

R. ternatus var. *glaber* I: D-glukoz, D-fruktoz, sakkaroz (Yoshihiko, et al., 1972).

R. ternatus var. *glaber* II: D-glukoz (Iriki, et al., 1975).

R. ficaria verna: ramnoz, glukoz, arabinoz (Fiquirkin, et al., 1976).

KAROTENOİDLER

Pigment olarak kullanılan karotenoid bileşikleri *Ranunculus* türlerinde çokça bulunmuştur.

R. blossoms: ksantofil, likopin (Escher, 1928).

R. acer: flavoksantin, ksantofil, krisantemaksantin, taraksantin, α - ve β -karoten (Karrer, et al., 1945), lutein (Egger, 1968), lutein epoksid (Toth, et al., 1970), 5,6-dihidroksi-5-6-dihidrolutein, neokrom (Buchecker, et al., 1976).

R. ficaria: α -karoten, β -karoten, ksantofil, rutin, α -karoten epoksidleri (Cameroni, et al., 1957).

R. carpaticus: taraksantin, violaksantin, flavoksantin, anteraksantin, eloksantin, lutein, fisoksantin, α -karoten-5,6-epoksid, α -karoten, β -karoten (Gavril, et al., 1967).

FLAVONOİDLER

R. acer, *R. aconitifolius*, *R. stevenii* Andrz., *R. bulbosus*: ranunkuletin, flavesketin, quersetin, kamferol (Egger, 1959).

R. auricomus: ranunkuletin, flavesketin, quersetin (Egger, 1959).

R. repens: ranunkuletin, flavesketin, kamferol (Egger, 1959).

R. arvensis, *R. gramineus*: ranunkuletin, quersetin (Egger, 1959).

R. lingua: orientin, homoorientin, 5,7,3',4'-tetrahidroksiflavon-8-C-(β -D-glikopiranosil-6-O- β -D-ksilozid) (Drozd, et al., 1969).

R. repens: viteksin, saponaretin (Drozd, et al., 1969), isoviteksin (Drozd, et al., 1969).

R. polyanthemos: saponaretin, viteksin (Drozd, et al., 1969).

R. baudotii: quersetin-7-glikozid, rutin (Janauer, 1977).

Çeşitli *Ranunculus* çiçeklerinden gossipitrin (3,5,8,3',4'-pentahidroksiflavon-7-monoglikozid), ranupin (3,5,3',4'-tetrahidroksi-8-metoksiflavon-7-mono- β -D-galaktozid) bulunmuş-

tur (Urschler, 1968). Ayrıca *Ranunculus* türlerinde flavonol-glikozidlerinin 3,7-diglikozid şeklinde olduğu saptanmıştır (Egger, et al., 1965).

TRİTERPENOID VE STEREOİDLER

Ranunculaceae familyasında başlıca hederagenin ve oleanolik asid olmak üzere birçok triterpensaponin izole edilmiştir (Hiller, et al., 1966).

R. quelpaertensis: sitigmasterol, β -sitosterol (Shibata, et al., 1972).

R. ficaria: Hederagenin, oleanolik asid (Pourrat, et al., 1969), Hederagenin-28-D-glukozid (Fardella, 1972), Hederagenin ve oleanolik asid glikozidleri (Fiquirkin, et al., 1976), Hederagenin glikozidi (Texier, 1984).

LAKTONLAR

Ranunculus türlerinin başlıca maddesi protoanemonindir. İrritan özellikte olan protoanemonin kolaylıkla dimerize olur ve anemonin'e dönüşür. Protoanemonin'in glikozidi ranunkulin'dir. Bu bileşikler ile ilgili çeşitli çalışmaların yapıldığı *Ranunculus* türleri aşağıdadır:

Protoanemonin ve anemonin:

- R. hirsutus* (Kipping, 1935).
- R. bulbosus* (Kipping, 1935), (Mares, 1987), (Bergmann 1946) (Bonora, et al., 1987).
- R. thora* (Goris, 1937).
- R. steveni*, *R. breyninus* (Bergmann, 1946).
- R. repens* (Bergmann, 1946), (Bonora, et al., 1987).
- R. acer* (Boas, 1934), (Zechner, et al., 1954) (Fabrik 1955).
- R. septentrionalis* (Bernard, et al., 1960).
- R. sceleratus* (Bukowiecki, et al., 1966) (Saber,

et al., 1968) (I- Mahran, et al., 1968), (II- Mahran, et al. 1968), (Misra, et al., 1980). *R. lanuginosus*, *R. lingua*, *R. flammula* (Bukowiecki, et al., 1966).

R. oxispermus (Tocan, 1969), (I- Tocan, et al., 1970) (II- Tocan, et al., 1970).

R. glaber (Suga, et al., 1973), (Suga, et al., 1977).
R. aconitifolius, *R. acris* L. subsp. *acris* (Bonora, et al., 1987).

R. arvensis (Bergmann, 1946), (Bonora, et al., 1987).
R. illyricus, *R. nemorosus* DC., *R. serbicus* Urs., *R. velutinus* Ten. (Bonora, et al., 1987).

R. ficaria (Musgrave, et al., 1973).
Ranunkulin:

R. sceleratus (Saber, et al., 1968), (I- Mahran, et al., 1968).

R. repens (Tschesche, et al., 1972).

İsoranunkulin, Ranunkosid ve Ranunkulosid

R. repens (Tschesche, et al., 1972).

Anemonik Asid

Ranunculus türlerinin birkaçında bulunmuştur (Bergmann, 1944).

DİĞER BİLEŞİKLER

Ranunculaceae'nin çalışılan yedi bitki türünde;

5-trans-9,12-cis-oktadekatrienoik asid ve

5-trans-9-cis-oktadekandioik asid

teşhis edilmiştir (Dabi-Lengyel, et al., 1982). Ayrıca *R.*

R. sceleratus'un petallerinde, yağ asitleri, sterol, glikolipid ve fosfolipidin kantitatif tayini yapılabilmektedir (Musgrave, et al., 1976).

R. quelpaertensis: fumarik asid, palmitik asid, stearik asid (Shibata, et al., 1972).

R. propinquus: aspartik asid, glutamik asid, alanin, triptofan (Kudryashova, et al., 1953).

R. bulbosus: sistin, lisin, aspartik asid, glutamik asid, aspargin, alanin, triptofan, valin (Kudryashova, et al., 1953).

Ranunculaceae familyasında *Aconitum*, *Aquilegia*, *Coptis*, *Isopyrum* ve özellikle *Thalictrum* türlerinde pek çok alkaloid bileşikleri bulunmasına (Guinaudeau, et al., 1975) rağmen *Ranunculus* türlerinde rastlanmamıştır. Familyada izole edilen fenolik bileşiklerden;

3-(3',4'-dihidroksifenil)-(2R)-laktik asid,

3-(3',4'-dihidroksifenil)-(2R)-laktik asid-4'-O-β-D-glukopiranosid,

gentisik asid 5-O-β-D-glukopiranosid (Yahara, et al., 1984). Ayrıca vitamin C (Bogojevski, et al., 1962), skopoletin (6-metoksi-7-hidroksi kumarin) ve umbelliferon (7-oksi-kumarin) (Drozd, et al., 1970) izole edilmiş ve tanınmıştır. Elde edilen bileşiklerin, bitkiden ekstraksiyonları sırasında kullanılan çözücülere göre dağılımları Tablo 1'de sunulmuştur.

Tablo 1- Ekstraksiyon Sırasında Kullanılan Çözücülerle Alınan Bileşikler

Petrol Eteri	Dietileter	Etanol	Diklorometan	Kloroform	Metanol	Su	Aseton- Petrol Eteri- Metanol
Ksantofil	Protoanemonin	Protoanemonin	Alkaloidler	Anemonin	Karotenoidler	Antibiyotikler	Karotenoidler
Anemonin		Stimulin		Protoanemonin	Flavonlar	Proteinler	
Protoanemonin		Saponinler			Triterpen- saponinler	Şekerler	
Anemonal		Flavonoidler			Glikoflavonoller.		
		Kumarinler			Şekerler		
		Laktonların glikozidleri ve aglikon ları			Kozmetik drogları		

2.3. GENEL BİLGİLER

2.3.1. Hidrokarbonlar

Hidrokarbonlar alifatik, siklik ve aromatik olmak üzere üç sınıfa ayrılırlar. Alifatik doymuş hidrokarbonlar bitkilerde yaygındırlar. Bitkilerde karbon sayısı tek olan alkanlar, çift karbon sayılı alkanlardan en az on misli daha fazladır. Başlıca rastlanan alkanlar, karbon sayısı 27, 29, 31 ve 33 olanlardır. Karbon sayısı 25'den az veya 35'den fazla olan alkanlar bitkilerde ender olarak bulunurlar (Eglington, et al., 1963).

Bitkilerden elde edilen hidrokarbon esaslı bileşikler, ayrıca çifte bağlar, üçlü bağlar, hidroksil, karbonil, karboksil ve epoksid gibi fonksiyonel gruplar da içerirler. Primer alkoller genellikle çift karbon sayılı, sekonder alkoller tek karbon sayılı olurlar. Asitler ise, genellikle çift karbon sayılıdırlar. Bu tür bileşikler arasında doymamış hidrokarbonlardan asetilenik bileşiklerin kemotaksonomik önemleri vardır (Sorenson, 1963; Hegnauer, 1964).

Hidrokarbonlar, öğütülüp toz haline getirilmiş bitkilerden, petrol eteri gibi polaritesi çok düşük çözücülerle ekstre edilerek alınırlar. Kromatografik yöntemlerle ayrılır ve saflaştırılırlar. Seçilen adsorbanlar çoğu kez silikajel ve-

ya alüminyum oksid olup hekzan, karbontetraklorür gibi çözücüler kullanılır. Genellikle hidrokarbon bileşiklerinin Rf değerleri çok yüksektir (Kirchner, 1967).

Bitkilerde bulunan alifatik hidrokarbonların erime noktaları genellikle düşüktür. Doymamışlık derecelerine göre UV spektroskopisinde bant verebilirler. IR spektrumlarında; $\{CH_2\}_n$ ($n \geq 4$) grubu 720 cm^{-1} civarında karakteristik bir veya iki pik verir. Çifte bağ gerilim absorpsiyonu $1680-1620\text{ cm}^{-1}$ ve üçlü bağ gerilim absorpsiyonu $2300-2000\text{ cm}^{-1}$ 'de görülür. NMR spektroskopisi fonksiyonel grup sayısını ve cinsini ayrıca bu gruplara komşu proton sayısı ve cinsini saptamak bakımından önemlidir.

Aynı molekülde bulunan, karboksilik asit fonksiyonu ve hidroksil grubunun birbirleri ile yaptıkları molekül içi reaksiyon sonucu oluşan halkalı esterler, lakton olarak tanımlanır. Beş üyeli halka içeren laktonlar γ -lakton olarak adlandırılır. Çünkü bu bileşiklerde reaksiyona girer hidroksil grubu γ -C üzerindedir. Altı üyeli halkaya sahip laktonlar ise δ -lakton olarak bilinirler.

Beş veya altı karbondan daha fazla sayıda karbon içeren laktonların sentezini yapmak oldukça güçtür. Buysa doğada daha fazla üyeli laktonlar bulunmaktadır ve büyük moleküllü bu laktonların bazıları peptid sentezinde için çok önemlidir. Ayrıca makrolidler olarak adlandırılan ve doğal kaynaklardan izole edilen, büyük halkalı laktonların antibiyotik ve anti-tümör etkilerinin olduğu görülmüştür.

Laktonlar da diğer esterler gibi kolaylıkla hidrolize olabilirler ve basım durumunda halka açılması ile alkol ve asit grupları meydana gelir (Ege, 1984). Ayrıca alkolik ortamda potasyum hidroksid ile sabunlaşma reaksiyonu da verirler. Laktonların indirgenme reaksiyonu ise LH_2 ile yapılabilmektedir. Bu reaksiyonlarda başka, laktonlar karbonil grubundan dolayı hidroksil grubu ile reaksiyona girerler (Stahl, 1968).

Bitkilerden elde edilen lakton ekstraktları, kromatografik yöntemler kullanılarak ayrılırlar. Bu yöntemlerde, silikajel ya da kieselgur gibi adsorbentler; diizopropil eter-etil asetat, diizopropil eter-izooktan'ın değişik oranlardaki karışımları, diizopropil eter veya petrol eteri gibi çözücüler kullanılır (Kirchner, 1967; Stahl, 1969).

Laktonlar, ince tabaka kromatogramlarında hidroksil zain ve ZOH'lı ortamda, % 3'lük FeCl₃ çözeltisi ile renk reaksiyonları yaparak tanımlanırlar. Bileşiklerin spottarı kırmızı renkli olarak görülür (Stahl, 1969).

2.3.2. Laktonlar

Laktonların IR spektrumları yapı analizi için pek önemli. Aynı molekülde bulunan, karboksilik asid fonksiyonu ve hidroksil grubunun birbirleri ile yaptıkları molekül içi reaksiyon sonucu oluşan halkalı esterler, lakton olarak tanımlanırlar. Beş üyeli halka içeren laktonlar γ -lakton olarak adlandırılır. Çünkü bu bileşiklerde reaksiyona giren hidroksil grubu γ -C üzerindedir. Altı üyeli halkaya sahip laktonlar ise δ -lakton olarak bilinirler.

Laktonların Türlerinin Başlıca Maddesi Olan γ -Lakton: Prote- Beş veya altı karbondan daha fazla sayıda karbon içeren laktonların sentezini yapmak oldukça güçtür. Oysa doğada daha fazla üyeli laktonlar bulunmaktadır ve büyük molekülü bu laktonların bazıları parfüm endüstrisi için çok önemlidir. Ayrıca makrolidler olarak adlandırılan ve doğal kaynaklardan izole edilen, büyük halkalı laktonların antibiyotik ve anti-tümör etkilerinin olduğu görülmüştür.

Laktonlar da diğer esterler gibi kolaylıkla hidrolize olabirirler ve bunun sonucunda halka açılması ile alkol ve asid grupları meydana gelir (Ege, 1984). Ayrıca alkollü ortamda potasyum hidroksid ile sabunlaşma reaksiyonu da verirler. Laktonların indirgenme reaksiyonu ise LiAlH₄ ile yapılabilir. Bu reaksiyonlardan başka, laktonlar karbonil grubundan dolayı hidroksil aminle de reaksiyona girebilirler (Stahl, 1969).

Bitkilerden elde edilen lakton ekstreleri, kromatografik yöntemler kullanılarak ayrılırlar. Bu yöntemlerde, silikajel ya da kiselgur gibi adsorbanlar; diizopropil eter-etil asetat, diisopropil eter-izooktan'ın değişik oranlardaki karışımları, diisopropil eter veya petrol eteri gibi çözücüler kullanılır (Kirchner, 1967; Stahl, 1969).

Laktonlar, ince tabaka kromatogramlarında hidroksil amin ve KOH'li ortamda, % 5'lik $FeCl_3$ çözeltisi ile renk reaksiyonları vererek tanınabilirler. Bileşiklerin spotları kırmızı renkli olarak görülür (Stahl, 1969).

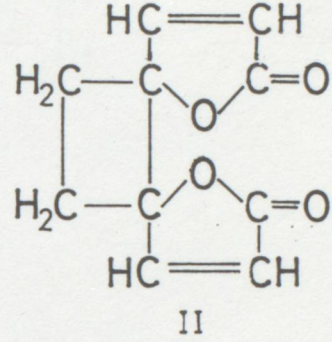
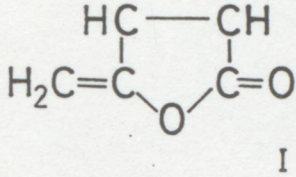
Laktonların UV spektrumları yapı analizi için pek önemli bilgiler vermese de, genellikle α,β -doymamış laktonlar için 210-220 nm arasındaki absorpsiyon bantları karakteristiktir (Shaw, 1946; Ulubelen, et al., 1971). IR spektrumlarında, karbonil bantları genellikle $1780-1735\text{ cm}^{-1}$ de görülür. Karbonil pikinin yeri lakton halkalarının büyüklüğüne ve yapısına göre değişir (Finar, 1973).

Ranunculus Türlerinin Başlıca Maddesi Olan γ -Lakton: Protoanemonin

5-okso-2-metilen-2,5-dihidro-furan
 γ -oksi-vinilakrilik asid laktonu
 γ -Metilen- $\Delta^{\alpha,\beta}$ - krotonlakton (Richter, 1952).

İncelenen Ranunculus türlerinin hemen hemen hepsinde bulunan protoanemonin, bitkilerden su buharı destilasyonu ile elde edilir. Özellikle göz ve cilt için iritatan bir madde olan protoanemonin'in antibiyotik etkisi de vardır (Shaw, 1946; Tschesche, et al., 1972).

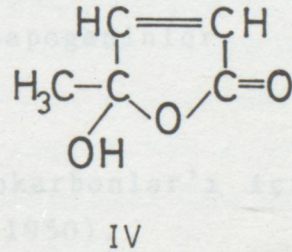
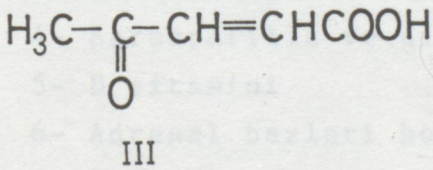
Yağımsı bir madde olan protoanemonin (I), kolaylıkla dimerize olarak anemonin (II)'e dönüşür. Protoanemonin eğer sıvı olarak izole edilmişse çok daha çabuk polimerleşir.



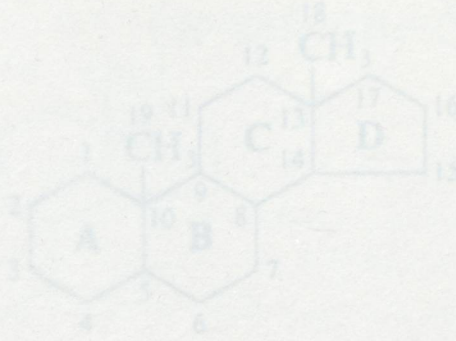
2.3.3. Steroidler

2.3.3.1. Yapıları ve Dağılımları

Steroidler, hayvanlarda ve bitkilerde yaygın olarak bulunan Protoanemonin hidrolizlendiği zaman asetil akrilik asid (III) oluşur. Asetil akrilik asid tautomeri ile (III) ve (IV) yapılarında bulunur.



Protoanemonin ve asetil akrilik asid'in her ikisinde spektrumun UV bölgesinde absorpsiyon piki verirler. Doğal yollarla elde edilen bir protoanemonin örneğinin sulu çözeltisi UV spektrumunda 260 nm'de maksimum absorpsiyon yapar (Shaw, 1946).



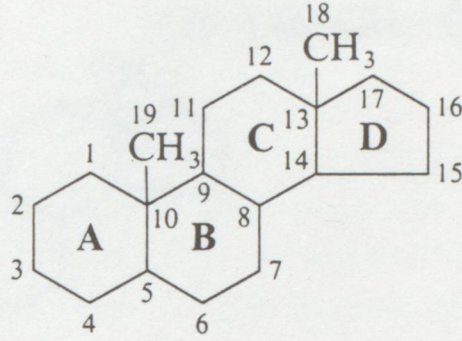
2.3.3. Steroidler

2.3.3.1. Yapıları ve Dağılımları

Steroidler, hayvanlarda ve bitkilerde yaygın olarak bulunan ve önemli biyolojik etkileri olan bileşiklerdir. Bu tür bileşikler "biyolojik düzenleyici" dirler ve hemen hemen her zaman organizma yaşamını idare ederek önemli fizyolojik etkiler gösterirler (Solomons, 1988). Steroidler;

- 1- Steroller
- 2- Safra asitleri
- 3- Kardiyak aglikonlar
- 4- Sarsaparilla ve digitalis sapogeninler
- 5- D vitamini
- 6- Adrenal bezleri hormonları
- 7- Pekçok kanser yapıcı hidrokarbonlar'ı içine alan büyük bir sınıftır (Jenkins, et al., 1950).

Bütün steroidler, siklopentanoperhidrofenantren halka sistemi içerirler. Bu halka sistemi üçü altı karbonlu, biri beş karbonlu dört halkanın kondenzasyonundan meydana gelmiş olup gonan veya steran diye adlandırılır. Halkalar A,B,C,D harfleri ile belirtilmiştir ve karbon atomlarının numaralandırılması aşağıdaki gibidir. Steroidlerin tümü bu alisiklik hidrokarbondan türetilmiştir (Beyer, 1963; Solomons, 1988).

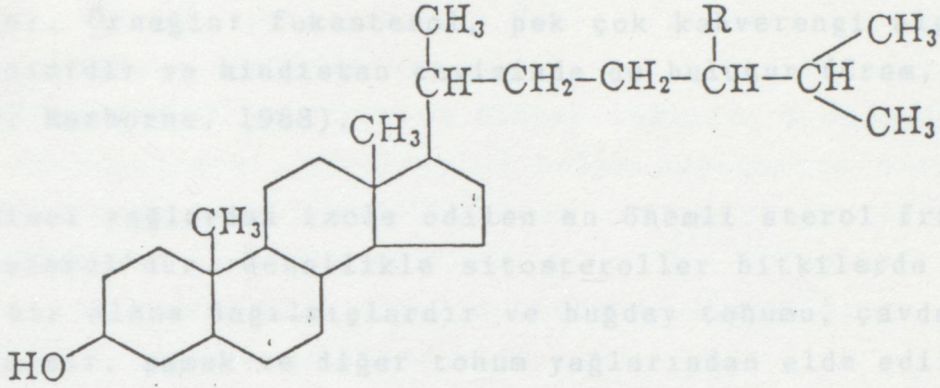


STEROLLER

Steroller, siklopentanoperhidrofenantren'den türevlendirilmiş doymuş ya da doymamış alkoller olarak tanımlanırlar. Bu tanım, cinsiyet hormonlarının bazılarında ve adrenal maddelere uymasına rağmen bunlar ayrı bir sınıfa alınmışlardır.

Sterollerin yapısında, C-3'de bir hidroksil grubu ve doğal sterollerin çoğunda C-5'de bir çifte bağ vardır. Siklopentanoperhidrofenantren çekirdeğine C-17'den bir yan zincir bağlıdır ve bu yan zincir genellikle izooktil ya da süstitüe izooktildir. Sterollerin birkaçında yan zincirdeki C-22'de veya C-24'de doymamışlık bulunur. Bunların bir kısmında ise C-24'e metil ya da etil grupları süstitüedir (Gilman, 1943; Cram, et al., 1959).

Steroller, doğada serbest, ester ya da glikozitleri halinde bulunurlar. Yağ asitlerinin sterol esterleri, hayvan ve bitkilerin her ikisinde de çok yaygındır, fakat sterolin olarak adlandırılan glikozitleri sadece bitkilerde görülür.



Şekil 1. Steroidlerin halka sistemi

Steroller buldukları kaynaklara göre sınıflara ayrılmışlardır.

Zoo-steroller (hayvansal kaynaklı steroller)

Fito-steroller (bitki sterolleri)

Miko-steroller (maya ve mantarlara ait steroller)

(Gilman, 1943; Beyer, 1963).

Hayvansal kaynaklı sterollerin başlıca bileşeni kolesterol'dür. Kolesterol steroidlerin en önemli bileşiklerinden biridir.

Bitki sterollerinin, yüksek bitkilerin hemen hemen her yerinde bulunan bileşikleri; sitosterol (genellikle β -sitosterol), stigmasterol ve kampesterol'dür. Bu yaygın steroller, basit glikozitleri halinde veya serbest olarak bulunurlar. Daha az yaygın bitki sterolü stigmasterolün izomeri olan α -spinasterol'dür, ıspanak ve senega köklerinde oluşur. Her ne kadar kolesterol bitkilerde bulunmuyorsa da, bitki sterollerinin bir kısmı kolesterole çok benzer. Bunların en önemlisi ergosterol'dür. Ergosterol düzensizdir, ultraviyole ışık ile kalsiferol ya da vitamin D₂'ye dönüşür, ayrıca maya

ve mantarlarda da bulunur. Diğer sterollere genellikle düşük bitkilerde rastlanıyorsa da bazen yüksek bitkilerde de görülürler. Örneğin: fukasterol, pek çok kahverengi algın esas steroididir ve hindistan cevizinde de bulunur (Cram, et al., 1959; Harborne, 1988).

Bitkisel yağlardan izole edilen en önemli sterol fraksiyonu sitosterol'dür. Genellikle sitosteroller bitkilerde çok geniş bir alana dağılmışlardır ve buğday tohumu, çavdar tohumu, mısır, pamuk ve diğer tohum yağlarından elde edilebilirler. Sitosteroller; belirli doymuş steroller ve β -sitosterol karışımıdır.

Kına kına ağacı kabuklarından ve soya fasulyesi yağından izole edilen β -sitosterol genel steroid yapısındadır, 17 pozisyonundaki yan zinciri ile 29 karbon atomuna, A halkasında C-3 de hidroksil grubu ve 5 ile 6 pozisyonlarında bir çiftte bağa sahiptir. Suda pek çözünmeyen, beyaz renkli, tatsız, kokusuz bir tozdur. β -sitosterol, deniz organizmalarında da oldukça yaygın olarak bulunur, özellikle kırmızı ve yeşil yosunlarda görülmüştür (Gilman, 1943; Claus, et al., 1965; Scheuer, 1973).

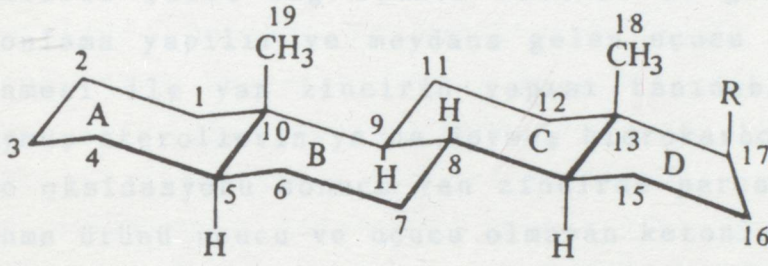
Sitosteroller antihiperkolesterolemik ajandır ve kan damarlarının iç çeperlerinde kolesterolün depolanmasını önlerler. Bunlar damar tıkanıklığını tedavi edebilecek değerdedir. β -sitosterol, ilaç sanayiinde cytellin adı altında kullanılır. Bu β -sitosterol ve dihidro- β -sitosterol karışımınının 3 Gm/15 ml % 20'lik süspansiyonudur (Claus, 1965; Modell, 1976; Billups, 1977).

2.3.3.2. Stereokimyası

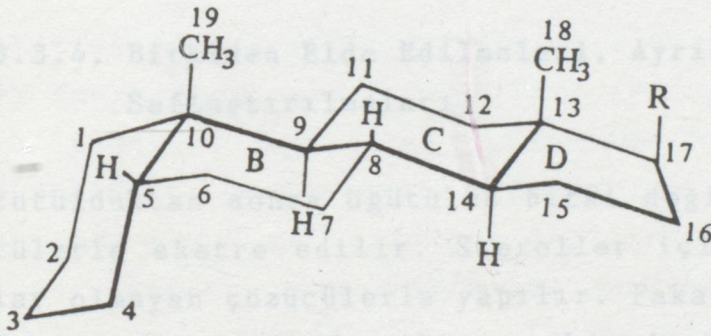
Steroidlerin çoğunda, B,C ve C,D halkalarının birleşme şekli transdır. Fakat A ve B halkaları cis veya trans pozisyonlarında bileşebilirler.

Halkaların birleşme noktalarına bağlı metil grupları açısız

(angular) metil grupları olarak adlandırılır ve stereokimyasal tanım için önemli referans noktaları olarak kabul edilirler. Açısal metil grupları Şekil 2'de görüldüğü gibi halka düzleminin üzerinde yer aldığı zaman (halkanın yan tarafındaki gruplar da yukarıda olacak şekilde) β -süstitüentler olarak tanımlanır, bu gruplar halka düzleminin altında bulunduğu zaman ise α -süstitüentler olarak belirtilir. 5 pozisyonundaki hidrojen atomunun α - ve β - durumları; 5 α - molekülünde A ve B halkalarının birleşme düzeni trans, 5 β - molekülünde ise cis şeklinde olur.



Steroidlerin
5 α serileri



Steroidlerin
5 β serileri

Şekil 2

Sterollerde C-3 pozisyonunda hidroksil grubunun varlığı yeni bir asimetric merkeze sebep olduğundan dört stereoizomer yazılabilir.

Doğada bulunan sterollerde, C-10 ve C-13 metil grupları, C-8 hidrojen atomu ve 17 nolu karbon atomuna bağlı R yan

zinciri cis konumunda yer alır ve genellikle bütün bu gruplar β - konfigürasyonundadır (Beyer, 1963; Solomons, 1988).

2.3.3.3. Kimyasal Reaksiyonları

Steroidler, çifte bağlar, hidroksil, keto ve bunun gibi grupları içeren moleküllerden beklenen reaksiyonların tümünü verirler.

C-3'deki hidroksil grubu kullanılan reaktiflere göre pek çok reaksiyona girebilir. 17 numaralı karbon atomuna bağlı yan zincirde çifte bağ olması halinde bu gibi yapılar üzerine ozonlama yapılır ve meydana gelen uçucu aldehidlerin incelenmesi ile yan zincirin yapısı tanınabilir. Asetillenmiş doymuş sterollerin ya da doymuş hidrokarbonların kromik asid ile oksidasyonu sonucu yan zincirde parçalanma olur. Parçalanma ürünü uçucu ve uçucu olmayan ketonlar ile asidik bileşiklerden oluşan bir karışımdır. Uçucu ketonlar yan zincirin yapısının saptanmasına yardımcı olur (Gilman, 1943).

2.3.3.4. Bitkiden Elde Edilmeleri, Ayrılmaları ve Saflaştırılmaları

Kurutulduktan sonra öğütülen bitki değişik polaritedeki çözücülerle ekstre edilir. Steroller için tüketme genellikle polar olmayan çözücülerle yapılır. Fakat steroid molekülünün hidroksil, karboksil gibi gruplar içermesi ya da glikozid yapısında bulunması halinde etil asetat, alkol gibi daha polar çözücüler kullanılır.

Steroidlerin hepsi, benzer yöntemlerle ayrılabilir. Elde edilen ekstrelerin ayrılma ve saflaştırma işlemleri, kolon ve preparatif ince tabaka kromatografileri ile yapılır. Adsorban olarak başlıca silikajel, daha az olmak üzere alüminyum oksid, magnezyum silikat, magnezyum trisilikat, kieselgur ya da selüloz kullanılır. Bu adsorbanlarla kullanılacak çözücüler: petrol eteri, sikloheksan, karbontetraklo-

rür, benzen, kloroform, dietileter, diizopropil eter, etilasetat, aseton, etanol ve metanol şeklinde sıralanır. Steroid molekülünün yapısına bağlı olarak bu çözücülerden biri veya değişik oranlardaki karışımları kullanılır. Son yıllarda ayrılma ve saflaştırma işlemleri için gaz kromatografisi, gaz-likid kromatografisi ya da HPLC kullanılmaktadır (Kirchner, 1967; Stahl, 1969).

2.3.3.5. Tanınmaları

2.3.3.5.1. Renk Reaksiyonları

Steroller, tanınma ve kantitatif analiz için faydalı olan birçok renk reaksiyonlarını verirler. Ancak bu reaksiyonlar steroller için teşhis değerinde değildir. Çünkü testlerde H_2SO_4 ve diğer güçlü asidler kullanılır ve renklenmiş maddeler muhtemelen halokromik tuzlardır. Genellikle uygulanan renk reaksiyonları arasında Salkowski Reaksiyonu, Liebermann-Burchard Reaksiyonu ve Rosenheim testini sayabiliriz.

Salkowski reaksiyonunda sterol'ün kloroform'daki çözeltilisine aynı hacimde derişik H_2SO_4 ilave edilir. Lieberman-Burchard Reaksiyonu'nun farkı ise yukarıdaki karışıma birkaç damla asetanhidrid eklenmesidir. Reaksiyon oldukça yavaştır ve renk mavi-yeşil-mor şeklinde değişir. Rosenheim denemesinde serbest sterol veya sterol'ün kloroform'daki çözeltilisi, % 90'lık trikloroasetikasid ile muamele edilir. Reaksiyonun oluşması, bir konjuge karbon atomu sisteminin varlığını gösterir (Gilman, 1943; Harborne, 1988).

2.3.3.5.2. Spektroskopik Yöntemler

Steroidlerin yapılarınının saptanmasında spektroskopik yöntemler çok önemlidir. Steroidlerin tanınmasında, UV spektrumlarından fazla bilgi edinilemez. Sterollerde 3-OH'dan dolayı 200 nm'nin altında bir maksimum görülür. Genellikle çifte bağlar izole durumda bulunduğu için, steroller 200-210 nm

arasında bir absorpsiyon piki verirler.

IR spektrumu bileşiğin fonksiyonel gruplarının saptanması açısından önemlidir. Parmak izi bölgesi steroidler için karakteristik olup, oldukça da karışıktır. Sterollerin IR spektrumlarında, $3550-3350 \text{ cm}^{-1}$ arasında serbest ya da hidrojen bağı yapan hidroksil grupları, $1650-1640 \text{ cm}^{-1}$ 'de çifte bağlar izlenebilir.



2.3.4. Flavonoidal Bileşikler

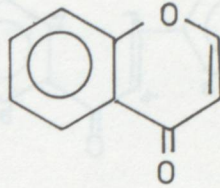
2.3.4.1. Yapıları ve Dağılımları

Flavonoidal bileşikler, bitkilerin yapısında yaygın olarak bulunurlar. Flavon adı; sarı anlamına gelen latince kökenli bir kelimedenden gelmektedir. Flavonoidler, yapıları ve birtakım özellikleri açısından çeşitli gruplara ayrılırlar.

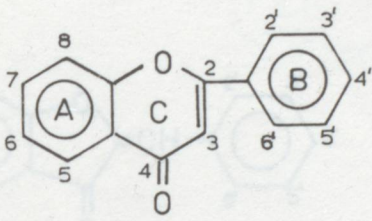
Flavonoidler, yapısal olarak ana madde olan flavondan türemiştir. Flavonoidal bileşiklerin esas ünitesi γ -piron (I)'dur ve bu bileşik doymamış 1,5-dihidroksi-3-keton'un anhidrididir. Renksiz, katı bir madde olan γ -piron'un en basit aromatik türevidir, genellikle kromon adı verilen benzopiron (II)'dur. Benzopiron'da γ -piron çekirdeğinin 2 nolu pozisyonuna bir fenil grubunun süstitüe olması ile flavon (2-fenilbenzopiron) (III) oluşur. Flavonun γ -piron halkasının 3 nolu karbon atomu üzerindeki hidrojen bir hidroksil grubu ile süstitüe olduğu zaman ise flavonol (3-hidroksiflavon) (IV) meydana gelir. Bu şekilde küçük yapısal farklılıkları olan flavonoidlerin en yaygın olanları: İsoflavon (V), flavonon (VI), dihidroflavonol (VII), kalkon (VIII), auron (IX), antosiyanidin (X) ve antosiyanin (XI)'lerdir (Şekil 3). Bitkilerde bu gruplardan en çok flavon ve flavonollere rastlanır.



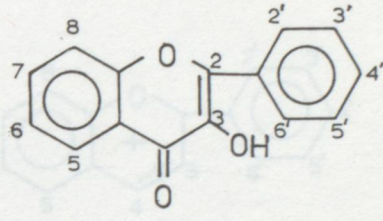
I



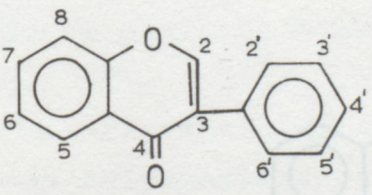
II



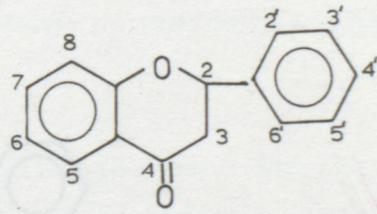
III



IV



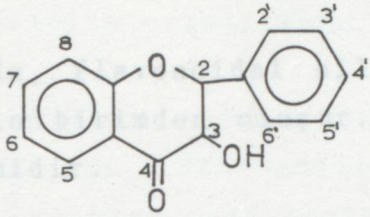
V



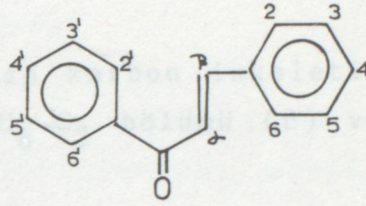
VI

Şekil 3

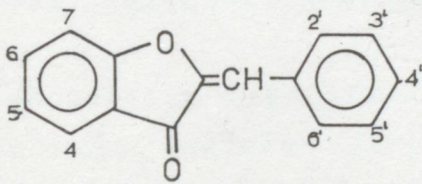
Flavonoidlerin yapılarında izil ve keso radikallerde hidrojen atomlarının yerine hidroksil gruplarının geçmesi ile değişik flavonoid bileşikleri oluşur. Örneğin: apigenin (5,7,4'-trihidroksiflavon), kaempferol (5,7,3',4'-tetra hidroksil flavon) (Gilman, 1943).



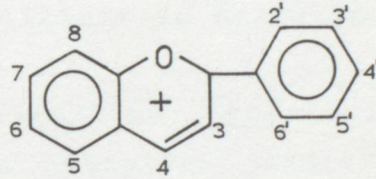
VII



VIII

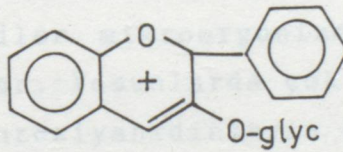


IX



X

Bu yapısal birimler değişik kaynaklara sahiptir. Her biri, doğada bakterilerden yüksek bitkilere kadar birçok organizmada bulunur. Fakat bu birimlerin, flavonoid bileşiklerinin 15 karbon atomlu iskeletini oluşturmaları, sadece çiçek ve diğer bitkilerde ve hayvanlarda mümkündür.



XI

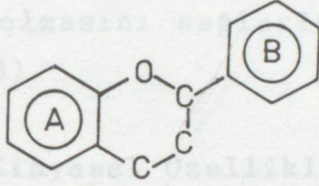
Şekil 3
(devamı)

Flavonoid bileşiklerinin, hayvanlarda ve diğer organizmalarda bulunmaları (Gilman, 1943).

Flavonoid bileşiklerinin, hayvanlarda ve diğer organizmalarda bulunmaları (Gilman, 1943).

Flavonoidlerin yapılarındaki fenil ve benzo radikallerinde hidrojen atomlarının yerine hidroksil gruplarının geçmesi ile değişik flavonoid bileşikleri oluşur. Örneğin: apigenin (5,7,4'-trihidroksiflavon), luteolin (5,7,3',4'-tetra hidroksi flavon) (Gilman, 1943).

Doğada, flavonoidal bileşiklerinin karbon iskeleti iki belirgin birimden oluşur. Bunlar C_6-C_3 bölümü (B) ve C_6 (A) birimidir.



Bu yapısal birimler değişik kaynaklara sahiptir. Her biri, doğada bakterilerden yüksek bitkilere kadar birçok organizmada bulunur. Fakat bu birimlerin, flavonoid bileşiklerinin 15 karbon atomlu iskeletini oluşturması, sadece çiçek açan bitkilerde ve çamlarda mümkündür.

Bu nedenle, flavonoidler mikroorganizmalarda, bakterilerde ve alglarda bulunmazlar. Yosunlarda çok ayrıntılı olarak yapılan çalışmalarda, antosiyanidinlerin bulunduğu bildirilmiş fakat diğer flavonoidlerden hiç biri izole edilememiştir. Mantarlarda da flavonoidal bileşiklere rastlanmamıştır. Çamlar, çiçek açan bitkilerde bulunan flavonoid bileşiklerinin çoğunu içerirler. Çamlarda antosiyaninler, flavonlar ve diğer birçok flavonoidal bileşikler bulunmuştur (Geissman, 1962).

Flavonoid bileşikleri, beyaz, sarı ya da krem rengi çiçekle-

ri olan yüksek bitkilerin bütün bölümlerinde (kök, sap, yaprak, çiçek, polen, meyva, tohum, odunsu kısım ve kabuk) glikozitler halinde, genellikle glukoz ve ramnoz ile birlikte veya ayrı olarak, çoğunlukla da tanninlerle beraber bulunurlar. Fakat bazı bileşikler, bitkinin belirli bölgelerinde diğerlerine oranla daha yoğunlardır.

Flavonoidler, birçok bitkinin sarı renginden sorumludur. Bunun sebebi, flavonoidlerin hidroksilasyon, metilasyon ve glikolizasyon gibi basit modifikasyonlar sonucunda rengi belirgin bir sarı olan maddeler oluşturmalarıdır. Ayrıca bu tür bileşikler, petallerde de glikozid formunda bulunurlar ve bunların renkli olmasını sağlarlar (Gilman,H.; Harborne, 1967; Harborne, 1988).

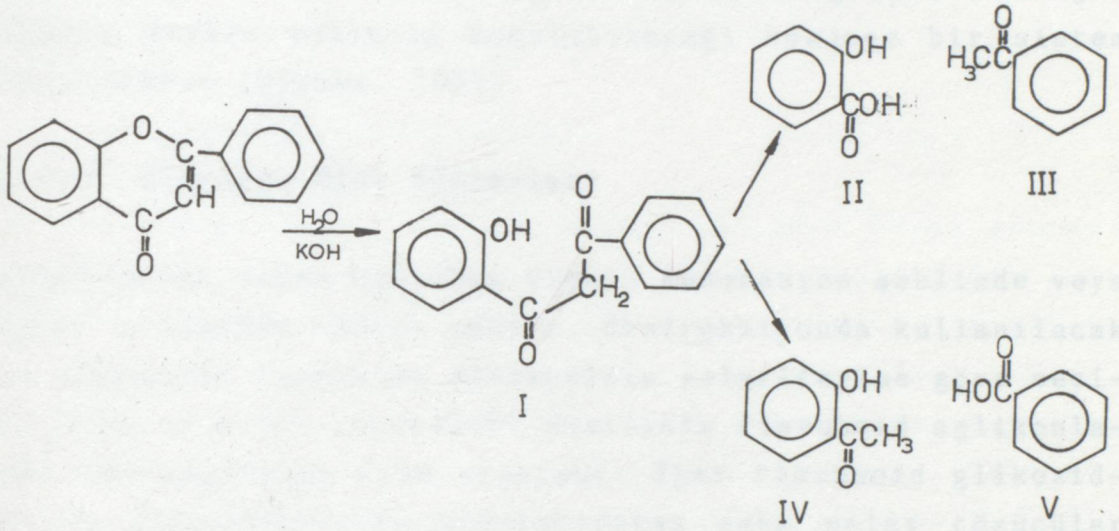
2.3.4.2. Fiziksel, Kimyasal Özellikleri ve Reaksiyonları

Flavonoidlerin çoğu (özellikle flavonlar), sarı kristal halinde katı maddeler olup, erime noktaları yüksektir (e.n. $>200^{\circ}\text{C}$). Suda, alkolde, seyreltik mineral asidlerde ve alkalide çözünürler. Çözeltilerinden kurşun asetat ile çöktürülebilirler. Çökelti sarı, turuncu veya kırmızı renklidir. Demir-3-klorür ile ise soluk yeşil veya bazen kırmızı-kahverengi renkler oluştururlar.

Flavonların asidlerdeki çözünürlüğü γ -piron çekirdeğindeki oksijen atomunun bazik özelliği dolayısıylaadır. Oksijen atomu tetravalent hale gelirken, asidlerle katılma ürünleri yaparak oksonyum tuzlarını meydana getirir. Bu tuzlar, genellikle türetildikleri bazlara göre daha renklidirler. Flavonların oksonyum tuzları çoğunlukla suda çok kararsızdırlar ve bu özellikleri ile de antosiyanidinlerden farklıdırlar. Çünkü antosiyanidinler, kararlı oksonyum tuzları oluştururlar ve genellikle bitkide bu şekilde bulunurlar (Gilman, 1943).

Flavonlar, alkali ile kaynatıldıkları zaman heterohalka sis-

temi açılarak, çoğunlukla bir fenol ve aside bozunurlar. Örneğin flavon bozunduğu zaman, önce o-hidroksidibenzoilmetan (I) daha sonra kısmen salisilik asid (II) ile asetofenon (III) ve kısmen de o-hidroksiasetofenon (IV) ile benzoik asid (V) meydana gelir.



Şekil 4. Flavonun bozunma ürünleri

Flavon molekülünde A ve B halkaları, genellikle aromatik halkalar gibi reaksiyona girerler. Özellikle, hidroksiflavonlar ve bunların eterleri, süstitüsyon reaksiyonlarında fenoller ya da eterleri gibi davranırlar. Bu tür bileşiklerden bir çoğunun nitrolama, sülfolama ve bromlandırma reaksiyonları yapılabilmıştır. Ayrıca, hidroksiflavonların diazonyum tuzları ile kenetlenme reaksiyonları başarı ile denenmiştir. Gerçi bu türevlerin tümünün yapıları saptanabilmiş değildir. Fakat kesinlikle söylenebilir ki A-halkası hidroksil gruplarına sahipse, bu halka hücum için tercih edilir. 5- ya da 7- hidroksil grubu, 8- pozisyonuna süstitüentleri yöneltir ve ikinci bir süstitüsyon 6,8-disüstitüe türevini verir.

Piron halkası bir karbonil grubuna sahip olmasına rağmen flavonlar, hidroksilamin, semikarbazid ve fenilhidrazin gibi karbonil reaktifleri ile reaksiyon vermezler. Diğer taraftan, Grignard reaktifleri karbonil grubu ile beklenildiği gibi reaksiyon verir fakat reaksiyon ürünleri olarak sadece susuz pirilyum tuzları izole edilmiştir.

Flavonlarda bulunan çifte bağ ve karbonil grubu, hidrojen atomunun farklı yollarla katılabileceği konjuge bir sistem oluşturmuştur (Gilman, 1943).

2.3.4.3. Bitkiden Elde Edilmeleri

Kurutulduktan sonra öğütülen bitki, maserasyon şeklinde veya sokslet cihazında ekstre edilir. Ekstraksiyonda kullanılacak olan çözücüler istenilen flavonoidin polaritesine göre seçilir. Daha az polar çözücüler, özellikle flavonoid aglikonlarının ekstraksiyonu için uygundur. Eğer flavonoid glikozidleri ve antosiyaninler amaçlanıyorsa daha polar çözücüler kullanılır. Polaritesi düşük olan aglikonlar, örneğin; isoflavonlar, dihidroflavonoller veya yüksek derecede metillenmiş flavonlar ve flavononlar genellikle benzen, kloroform, dietil eter veya etilasetat gibi çözücülerle ekstre edilir. Flavonoid glikozidler veya hidroksillenmiş flavonlar, flavonoller, auronlar ve kalkonlar gibi daha polar aglikonlar ise, bitki maddesinden genellikle aseton, etanol su veya bunların değişik oranlardaki karışımları ile ekstre edilir. Esasen bu bileşik grupları için en uygun olanı su ve metanol'ün (1:1) karışımlarıdır.

Petrol eteri veya hekzan ile yapılan ön ekstraksiyonların amacı ise bitkiden sterol, karotenoid ve klorofil gibi bileşikleri temizlemektir.

Bazen flavonoid glikozidlerinin ekstraksiyonunda çözücü içine asit ilave edilebilir. Bu işlem genellikle antosiyaninler için kullanışlıdır. Fakat bu arada glikozidler de hidrolize olabilir (Harborne, et al., 1975).

2.3.4.4. Ayrılmaları ve Saflaştırılmaları

Kromatografik Yöntemler

Hazırlanan ekstreden, flavonoidal bileşiklerin ayrılması ve saflaştırılması için kromatografik yöntemler kullanılır. Büyük miktarlardaki flavon eldesi için kolon kromatografisi, küçük miktarlar için preparatif ince tabaka ya da kağıt kromatografisinden yararlanılır.

2.3.4.4.1. Kolon Kromatografisi

Kolon kromatografisi, ham bitki ekstraktından büyük miktarlardaki flavonoidlerin izolasyonu için çok faydalı bir tekniktir. Bu bileşiklerin ayrılması için kullanılan adsorbantlar: silikajel, kiselgur, magnezyum silikat, selüloz, alüminyum oksid, poliamid, sefadeks ve iyon değiştirme reçinele-ridir. Bunlar arasında en çok tercih edileni genellikle silikajel, poliamid, selüloz ve sefadekstir (Harborne, et al., 1975).

Silikajel

Silikajel genellikle isoflavon, flavonon, dihidroflavonol ve yüksek derecede metillenmiş (asetillenmiş) flavon ve flavonoller gibi nispeten apolar flavonoid aglikonlarının ayrılmasında kullanılır.

Silikajel kolonlarda kullanılan çözücü sistemi sırası genellikle; petrol eteri, karbontetraklorür, benzen, klóroform, dietileter, etilasetat, piridin, aseton, n-propanol, etanol, metanol, su şeklindedir.

Silikajel kolon kromatografisi polihidroksiflavonoller veya glikozidler gibi polar flavonoidlerin ayrılması için uygun değildir. Fakat glikozidlerin hidrolizinden elde edilen birçok flavonoid aglikonlarının saflaştırılması için faydalı

bir yöntemdir. Yıkama çözücüsünde metanol oranının artışı ile birçok flavonoid aglikonu silikajelden uzaklaşır (Mabry, et al., 1970; Harborne, et al., 1975).

Poliamid

Poliamid kolonlarda kullanılan çözücü sistemleri genellikle: su, metanol, aseton, sulu sodyum hidroksid, formamid, dime-tilformamid, sulu üre şeklindedir.

Kromatografide kullanılan poliamidler yapıları açısından üç kısma ayrılır. Bunlar;

Perlön tipi (polikaprolaktam)

Naylon tipi (polihekzametilendiamin)

Poliklar tipi (polivinilpirolidon, PVP)'dir.

Tümü fenolik bileşikler için yüksek kapasitelidir ve bunların amid karbonil fonksiyonları, fenolik hidroksil grupları ile güçlü hidrojen bağları oluştururlar. Poliamid tüm flavonoid türlerinde kromatografik ayrılma için en iyi adsorbanlardan biridir. Poliamid tipi adsorbanlarda yıkama çözücüsü olarak çeşitli oranlarda metanol-su karışımı kullanılarak, isoflavon, flavon, flavonol, dihidroflavonol ve flavononların aglikon ve glikozidlerinin kompleks karışımları başarıyla ayrılabilir (Mabry, et al., 1970; Harborne, et al., 1975).

Selüloz

Selüloz kolon kromatografisi, bütün flavonoid ve glikozidlerinin ayrılması için uygundur. Hem adsorpsiyon ve hem de partisyon prensiplerine göre yapılan ayırmalarda kullanılabilir. Prensip olarak kağıt kromatografisinde kullanılmak üzere geliştirilen çözücülerin hepsi, kolon kromatografisi için de uygundur. Selüloz kolon için en yaygın çözücüler genellikle sulu alkol ve asid karışımlarıdır.

Sefadeks Tanımları

Sefadeks, yüksek sayıda çapraz bağları olan bir dekstran maddedir. Sefadeks kolonda ayrılmalar, önce büyük moleküller daha sonra küçük moleküller olmak üzere molekül boyutlarına göre olur.

Sefadeks, hem analitik ve hem de preparatif flavonoid çalışmalarında yüksek kapasiteli etkin bir adsorbandır. Bu kolonda, flavonoidlerin aglikon ve glikozidleri, genellikle metanol ile ayrılır. Flavonoidlerin adsorpsiyonu serbest fenolik hidroksil grupları ile ilgilidir.

2.3.4.4.2. İnce Tabaka Kromatografisi

Flavonoidal bileşiklerin ince tabaka kromatografisi ile preparatif olarak ayırımlarında en çok kullanılan adsorbanlar silikajel, poliamid ve selülozdur.

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

Bu yöntemlerden başka kağıt kromatografisi, uçucu türevleri haline getirilmiş flavonoidler için gaz-likid kromatografisi ya da yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) kullanılmaktadır (Mabry, et al., 1970; Harborne, et al., 1975).

2.3.4.5. Tanınmaları

2.3.4.5.1. Renk Reaksiyonları

Flavonoidler yapılarına bağlı olarak çeşitli renk reaksiyonlarını verirler. Görsel olarak renkli olan bu tür maddeler, UV ışıkta flouresans verme özelliğine sahiptirler (Harborne, et al., 1975). Flavonoid bileşikleri fenolikdir, bu yüzden NH_3 veya diğer bazlarla renk değiştirirler. Bu özellikleri ile de kromatogramlarından ya da çözeltilerinden kolaylıkla tanınabilirler (Harborne, 1988). İnce tabaka kromatografileri veya kağıt kromatografileri yapıldıktan sonra kromatogramdaki lekeler önce UV (366 nm) ışık altında incelenir. Daha sonra sırası ile NH_3 buharlarına tutularak ve NA belirteci püskürtülerek oluşan renk değişimleri yine UV ışık altında gözlenir (Tablo 2) (Mabry, et al., 1970).

Sarı renkli flavonoidler arasında kalkonlar ve auronlar kolay bir şekilde tanınabilirler. Çünkü bunlar NH_3 'lı ortamda kırmızı ve turuncuya dönen bir renk değişimi yaparlar.

6- ya da 8- pozisyonlarında hidroksil süstitüentleri içeren flavon ve flavonoller ise sarı renkli olmaları ve UV ışıkta kromatogramları üzerinde koyu renkli absorpsiyon spotları vermeleri ile tanınırlar. Bu spotlar NH_3 'dan etkilenmez. Fakat 6- ya da 8- hidroksi grubuna sahip flavonoller genellikle buldukları bitki grupları bakımından farklılık gösterirler (Harborne, et al., 1975).

5 numaralı karbondaki hidroksil grubuna sahip flavonlar, UV ışıkta mor renk verirler. 5-, 4'-dihidroksil durumunda NH_3 buharları ve NA belirteci ile sarı, 5, 4', 3'-trihidroksi durumunda NH_3 buharları ile sarı, NA belirteci ile turuncu renk verirler.

5-deoksi, 5-O-glikozid ya da 5-OCH₃ olduğunda ise UV ışık altında parlak mavi, parlak yeşil renkte görünürler.

Tablo 2. Flavonoid Yapısı ve Spot Rengi Arasındaki İlişkiler

<u>Flavonoid Spot Rengi</u>		<u>Flavonoid Tipi</u>
UV	UV/NH ₃	
Koyu mor	Sarı-sarı yeşil ya da kahverengi	(a) Genellikle 5-OH ve 4'-OH içeren flavon- lar ya da 3-OH'ı süstitüe olmuş, 5-OH ve 4'-OH içeren flavonoller. (b) 5-OH içeren flavononların bazıları ve B-halkasında hidroksil grupları içermeyen 4'-OH'a sahip kalkonlar.
	Renk çok az değişir ya da hiç değişmez	(a) 4'-OH'ı olmayan veya süstitüe olan, 5-OH'a sahip flavon ya da flavonoller. (b) İsoflavonlar, dihidroflavonoller ve ba- zı 5-OH içeren flavononlar. (c) Serbest 2- ya da 4-OH içermeyen 2'- ya da 6'-OH'a sahip kalkonlar.
	Hafif mavi Kırmızı ya da turuncu	5-OH'a sahip flavonların bazıları. Serbest 2- ve/veya 4-OH içeren kalkonlar
Flouresans hafif mavi	Flouresans sarı-yeşil ya da flouresans mavi-yeşil	(a) Serbest 5-OH içermeyen flavonlar ve fla- vononlar (b) 3-OH'ı süstitüe olmuş, serbest 5-OH içermeyen flavonoller
	Renk çok az değişir ya da değişmez	Serbest 5-OH içermeyen isoflavonlar
	Parlak floure- sans, hafif mavi	Serbest 5-OH içermeyen isoflavonlar.
	Görünmez	Flouresans hafif mavi

Tablo 2. devamı

<u>Flavonoid Spot Renği</u>		<u>Flavonoid Tipi</u>
UV	UV/NH ₃	
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 içeren auronlar ve bazı 2- ya da 4-OH'a sahip kalkanlar
	Renk az değişir ya da değişmez.	(a) Serbest 4'-OH içermeyen auronlar ve ser- best 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 dihidroflavonol- ler

UV Spektroskopisi

Flavonoidler, konjuge aromatik sistemler içerirler, bu yüzden spektrumun görünür ve UV bölgelerinde güçlü absorpsiyon bantları gösterirler (Serpone, 1983). Flavonoid bileşiklerin yapı tayini için UV spektroskopisi çok önemlidir. Bu yöntemle çok az miktar maddeler kullanılarak bileşimin yapı hakkında önemli bilgiler edinilebilir. Bileşimin uygun bir çözeltide (genellikle metanol)-gözetilmesinin spektrumu ve bu şekilde özel belirteçler ile alınan belirli spektral egirilerde gözlenen kaymalar, piklerin yeri ve şekilleri arasındaki farklar; flavonoidal bileşimin ana iskeleti ve substituentleri hakkında geniş bilgiler verir.

Flavonoller, UV ışık altında sarı renk vererek flavonlardan ayrılabilirler. 5- hidroksil içeren flavonoller, NH_3 buharları ve NA belirteci ile sarı, 5- ve 3',4'-trihidroksil içeren flavonoller ise NH_3 buharları ile sarı, NA belirteci ile turuncu renk verirler (Mabry, 1970).

Birçok flavonoid AlCl_3 ile kelat oluşturabilir. Bu nedenle, kromatogramlar alkollü AlCl_3 ile muamele edildiği zaman flavonoidler yoğun sarı-yeşil flouresans gösterirler. Fakat bu işlem, bu tür bileşiklerin tek tek tanınmasında faydalı değildir, çünkü hepsi aynı reaksiyonu verir (Harborne, et al., 1975).

Flavonoidlerin bazı renk reaksiyonları ise, etanoldeki çözeltilerine sulu NaOH , derişik H_2SO_4 , Mg/HCl ve Na-Hg (sonra asid) belirteçlerinin ilave edilmesi ile gerçekleşir (Tablo 3). Bütün bu reaksiyonlar bileşiğin türü ve süstitüsyonları hakkında ön bilgi vermeleri bakımından önemlidir (Geissman, 1962).

2.3.4.5.2. Spektral Yöntemler

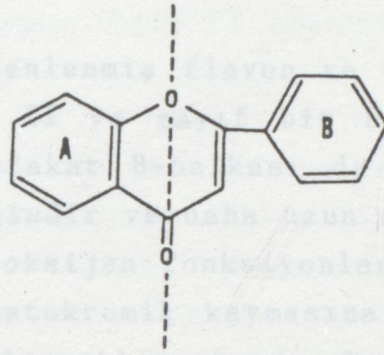
UV Spektroskopisi

Flavonoidler, konjuge aromatik sistemler içerirler, bu yüzden spektrumun görülen ve UV bölgelerinde şiddetli absorpsiyon bantları gösterirler (Harborne, 1988). Flavonoidal bileşiklerin yapı tayininde UV spektroskopisi çok önemlidir. Bu yöntemle çok az miktar madde kullanılarak bileşiğin yapısı hakkında önemli bilgiler edinilebilir. Bileşiğin uygun bir çözücüdeki (özellikle metanol) çözeltisinin spektrumu ve bu çözeltiye özel belirteçler ilavesi ile alınan çeşitli spektral eğrilerde gözlenen kaymalar, piklerin şiddeti ve şekilleri arasındaki farklar; flavonoidal bileşiğin ana iskeleti ve süstitüentleri hakkında geniş bilgiler verir.

Tablo 3. Flavonoidal Bileşiklerin Renk Reaksiyonları

Flavonoid Türü	Renk Reaksiyonları			
	Sulu Sodyum Hidroksit	Değişik Sülfürik Asid	Magnezyum-Hidroklorik Asid	Sodyum Amalgam; Sonra Asid
Kalkonlar	Turuncu-kırmızı	Turuncu-kırmızı ya da magenta	-	Çok açık sarı
Dihidroalkonlar	Renksiz-açık sarı	Renksiz-açık sarı	-	-
Auronlar	Kırmızı-mor	Kırmızı-magenta	-	Çok açık sarı
Flavanonlar	Soğukda: Sarı-turuncu Sıcakda: koyu kırmızı ve- ya mor	Turuncu-koyu kırmızı	Kırmızı, magenta menekşe, mavi	Kırmızı
Flavonlar	Sarı	Şiddetli sarı-turuncu, çözelti sık sık karakteristik flouresans	Sarı-kırmızı	Kırmızı
Flavonoller	Sarı-turuncu (hava oksidasyonu ile kahverengi)	Şiddetli sarı-turuncu, çözelti, sık sık karakteristik flouresans	Kırmızı-magenta	Sarı-soluk kırmızı
Flavonooidler	Çok açık sarı, kahverengiye çok çabuk değişme	Kırmızımsı-sarı	Kırmızı-magenta	Kahverengimsi-sarı
Antosiyanidinler ve antosiyaninler	Mavi-menekşe	Sarımsı-turuncu	Açık kırmızı-soluk pembe	Sarımsı-turuncu
İsoflavonlar	Sarı	Sarı	Sarı	Soluk kırmızı ya da pembe
İsoflavononlar	Sarı	Sarı	-	Kırmızı

Flavonoidler, UV spektrumlarında iki büyük absorpsiyon piki göstermektedirler. Bunlardan uzun dalga boyunda olan pik, flavonoidin B-halkası (sinnamoil sistemi) absorpsiyonları ile ilgili olup Bant I adını alır. Daha kısa dalga boyunda olanı ise A halkası (benzoil sistemi) absorpsiyonları ile ilgilidir ve Bant II olarak adlandırılır (Harborne, 1967; Mabry, et al., 1970).



benzoil

sinnamoil

Metanol Spektrumu

Flavon ve flavonoller metanol spektrumlarında 200-400 nm arasında iki büyük pik verirler. Flavonların Bant I'i 304-305 nm arasındaki bölgede meydana gelirken, flavonollerde Bant I 352-385 nm arasında ortaya çıkar. Dolayısıyla Bant I absorpsiyonu incelenen flavonoid türü için iyi bir yol göstericidir. Bununla beraber, 3-hidroksil grubu süstitüe flavonollerde (metilasyon ya da glikolizasyon gibi) Bant I (328-357 nm) flavonların Bant I'i ile üst üste gelir ve spektral eğrinin genel şekli flavonlarınkine yaklaşır.

Yüksek derecede oksijenlenmiş flavon ve flavonoller daha az oksijenli süstitüenti olanlara oranla daha uzun dalga boyunda absorpsiyon yapma eğilimindedirler. Flavonoidal bile-

şiklerde uzun dalga boyuna kayma A ve B halkalarında hidrok- sil sayısı ile doğru orantılıdır. Örneğin:

3,5,7-tri-OH içeren galangin'de Bant I 359 nm'de,
3,5,7,4'-tetra-OH içeren kamferol'de Bant I 367 nm'de
3,5,7,3',4'-penta-OH içeren quersetin'de Bant I 370
nm'de,
3,5,7,3',4',5'-hekza-OH'a sahip mirisetin'de Bant I
374 nm'de görülür.

A-halkasında oksijenlenmiş flavon ve flavonoller, metanolde belirgin bir Bant II ve zayıf bir Bant I spektrasi verme eğilimindedirler, fakat B-halkası da oksijenasyona sahipse Bant I daha belirgindir ve daha uzun dalga boyuna kayar. B-halkasına eklenen oksijen fonksiyonları flavon ve flavonol- llerde Bant I'in batokromik kaymasına sebep olur. Halkanın her ikisinde de hidrok sil grubunun olmaması, genellikle ilgi- li bantların şiddetlerinin zayıf olması ile belli olur.

3',4'-dihidroksillenmiş (3',4',5'-durumunda daha az) flavon ve flavonoller 250-275 nm arasında, iki absorpsiyon piki (veya bir pik bir omuz) gösterirler. 4'-hidroksillenmiş fla- vonlar ise sadece bir pik verirler. 5-hidroksil grubunun varlığı ya da yokluğu ise Bant I ve Bant II'nin her ikisi üzerinde belirgin bir etkiye sahiptir. Bu grubu içermeyen- ler, 5-hidroksil grubuna sahip olanlara oranla daha kısa dalga boyunda (Bant I'de 3-10 nm ve Bant II de 6-17 nm) or- taya çıkarlar.

Flavonoid çekirdeği üzerinde 3-, 5- ve 4'- hidroksil grup- larının metillenmesi veya glikozillenmesi, özellikle Bant I'de hipsokromik kaymaya sebep olur. 3- hidroksil grubunun süstitüsüyonu ile ilgili kayma genellikle 12-17 nm kadardır. 4'- hidroksil grubunun metilasyonu ya da glikolizasyonu Bant I de 3-10 nm'lik, 5-hidroksil grubunun süstitüsüyonu ise Bant I ve Bant II'nin her ikisinde de 5-15 nm'lik hipsokromik kayma ile sonuçlanır. 3,5 ve 4' dışında diğer pozisyonlarda-

ki hidroksil gruplarının süstitüsyonunun UV spektrumu üzerine etkisi azdır ya da yoktur. Bant I'in daha uzun dalga boyuna kaymasına neden olur. Ayrıca Bant I'in pozisyonu, A- ve B- halkaları arasında konjügasyondan yoksun olan isoflavonlar, flavononlar ve dihidroflavonollerin UV spektrumları, flavonlarınkinden kolaylıkla ayrılır. Bant I absorpsiyonu, Bant II pikinde düşük şiddette bir omuz şeklinde görülür. Bu bileşiklerin spektrası, B-halkasındaki oksijenasyon ve süstitüsyondan genellikle etkilenmez. Ancak, A-halkasındaki oksijenlenme Bant II absorpsiyonunda bir batokromik kaymaya neden olur.

İsoflavonlarda, Bant II 245-270 nm ve Bant I omuzu 300-340 nm bölgesinde ortaya çıkar. 6,7-dioksijenlenmiş isoflavonlar ise, oldukça şiddetli Bant I absorpsiyonu göstermeleri bakımından farklıdır. Flavononlar ve dihidroflavonoller, absorpsiyon maksimumlarını (Bant II) 270-295 nm bölgesinde gösterirler ve isoflavonlarda olduğu gibi bir serbest 5-hidroksil grubu olmaması, bu maksimumun daha kısa dalga boylarına 10-15 nm kaymasına neden olur.

Kalkonlar ve auronların UV spektrasının belirgin karakteristik özelliği, etkin bir Bant I absorpsiyonu ve daha küçük bir Bant II absorpsiyonudur. Kalkonlarda Bant II 220-270 nm bölgesinde, Bant I ise 340-390 nm'dedir, ancak 300-320 nm arasında genellikle küçük bir pik görülür. Diğer flavonoidlerde olduğu gibi artan oksijenasyon özellikle Bant I'de batokromik kaymalara neden olur.

Auronlarda Bant I genellikle 370-430 nm bölgesindedir. Eğer bu bileşikler doğal olarak bulunuyor ise, Bant I 388 nm'den 413 nm'ye kadar değişebilir.

Antosiyanidinler ve bunların glikozidleri olan antosiyaninlerin spektrası, genellikle % 0,01 derişik HCl içeren metanolde ölçülür. Bu bileşikler Bant I absorpsiyon maksimumlarını, 465-550 nm'de verirler, Bant II ise 270-280 nm'de daha

az şiddetli bir pik şeklinde görülür. Bu tür maddelerde de B- halkasında artan oksijenlenme Bant I'in daha uzun dalga boyuna kaymasına neden olur. Ayrıca Bant I'in pozisyonu, A- halkası sübstitüsyonlarının tanınması için de faydalı olur. Antosiyanidinlerin A- ve B- halkası hidroksil gruplarının metillenmesi veya glikolizlenmesi genellikle küçük hipsokromik kaymalara neden olur (Mabry, et al., 1970; Harborne, et al., 1975).

Sodyum Metoksid Spektrumu

Sodyum metoksid güçlü bir bazdır ve flavonoid çekirdeği üzerindeki bütün hidroksil gruplarını kısmen iyonize eder. Sodyum metoksid spektrumu genellikle flavon ve flavonollerde 3- ve 4'- hidroksil gruplarının saptanması amacıyla kullanılır. Bileşiğin metanoldeki çözeltisine NaOMe ilavesi ile bütün absorpsiyon bantlarında batokromik kayma meydana gelir.

Flavon ve flavonollerde, serbest 4'-hidroksil grubu varlığında, pik şiddetinde azalma olmaksızın Bant I'de 40-60 nm'lik bir batokromik kayma görülür. Serbest 4'- hidroksil grubu içermeyen flavonollerdeki, 3-OH grubunun da Bant I de 50-60 nm'lik batokromik kayma meydana getirmesine rağmen, pik şiddetinde azalma vardır.

7-Hidroksil grubunun varlığında, 320-330 nm'de görülen absorpsiyon piki, 7-hidroksil grubunun glikozillenmesi halinde bulunmaz.

3,4'-dihidroksi sistemine sahip flavonoller, NaOMe'de kararsızdırlar ve NaOMe'deki absorpsiyon pikleri birkaç dakika sonra bozunur. 3,3',4'-trihidroksil gruplarını içeren flavonoller'de NaOMe'de oksitlenirler ve şiddeti zamanla azalan bantlar verirler.

İsoflavon, flavonon ve dihidroflavonollerde esas bantda kayma olmaması, A- halkasında hidroksillenme olmadığını gösterir.

rir. Bu tür bileşiklerde, 5,6,7- ve 5,7,8- trihidroksil sistemlerinin bulunduğu NaOMe spektrumunun zamanla bozunması ile anlaşılır. Bu bozunma, isoflavon ve flavononlarda 3',4'-dihidroksil sisteminin olduğunu da gösterebilir. 5,7-dihidroksil sistemine sahip flavononlar ve dihidroflavonoller NaOMe ilavesi ile Bant II'de artan pik şiddeti ile birlikte 35-40 nm'lik batokromik kaymaya neden olurlar. 5-hidroksil grubu olmadığı zaman kayma yaklaşık 60 nm kadardır.

Auronların 4'-hidroksil grubu ve kalkonların 4-hidroksil grubu Bant I'de sırası ile 80-95 nm ve 60-100 nm'lik şiddeti artan batokromik kaymalarla anlaşılır. 6-hidroksiauronlar, 4'-hidroksiauronlara göre daha küçük bir kayma (yaklaşık 60-70 nm) yaparlar ve eğer molekülde 6,4'-dihidroksil ya da 6-hidroksil, 4'-alkoksil sistemi varsa kayma daha da azdır.

2- ya da 4'-hidroksil grubuna sahip fakat 4-hidroksil grubu içermeyen kalkonlar, şiddetinde azalma olmaksızın Bant I'de 60-100 nm kadar batokromik kayma verirler. Kalkonlarda 4'-hidroksil ile ilgili kayma, 2'-hidroksil ya da 4-alkoksil grubu bulunduğu zaman 40-50 nm olur.

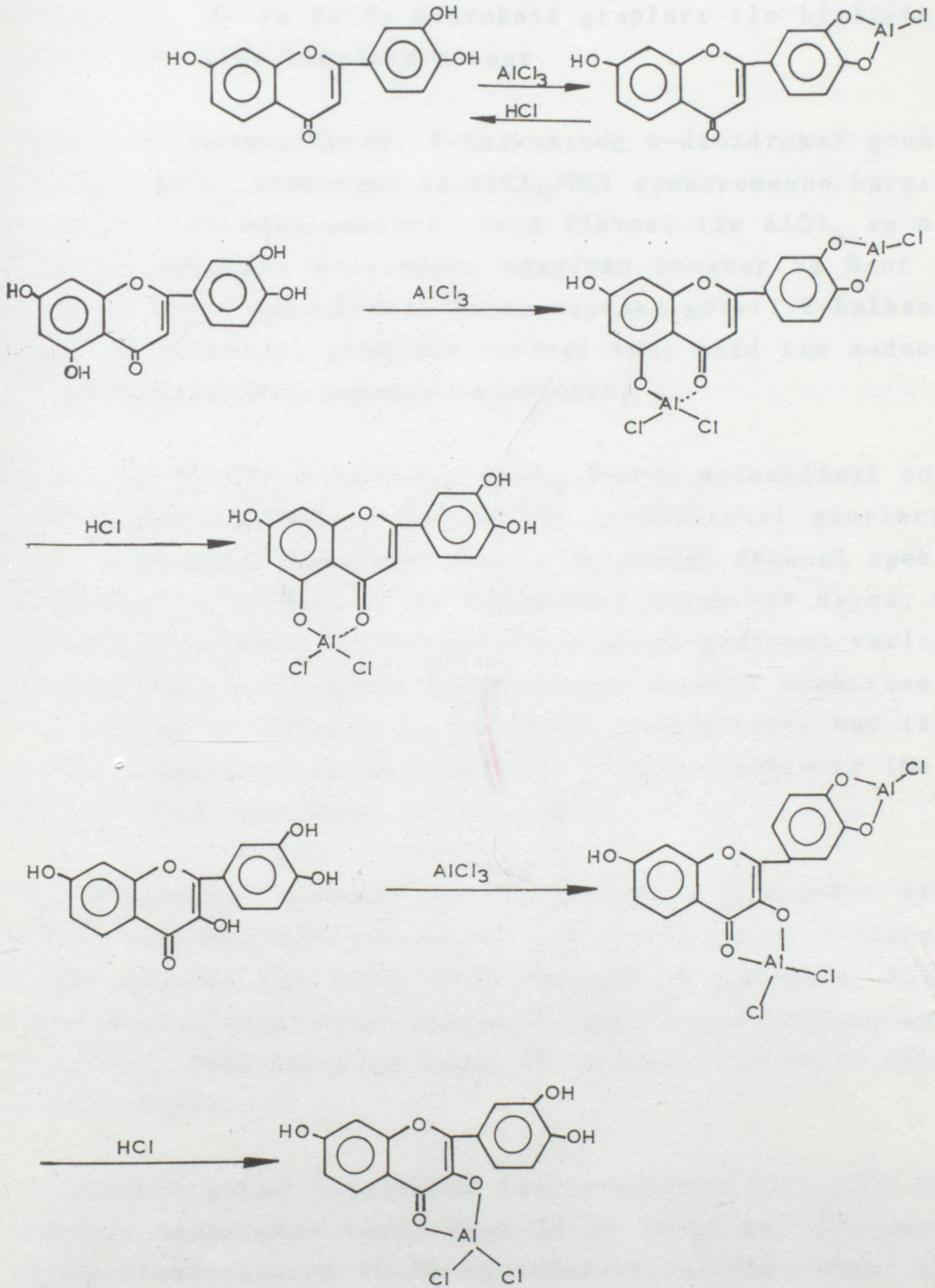
Antosiyanidinlerden sadece 3-deoksiantosiyandinler NaOMe'de kararlı spektra verirler. Bu bileşikler, Bant I'de 50-60 nm kadar batokromik kayma gösterirler.

Aluminyum Klorür ve Aluminyum Klorür/Hidroklorik Asid Spektrumu

C-3 ve C-5'de hidroksil grupları içeren flavon ve flavonoller $AlCl_3$ ile asid varlığında kararlı kompleksler oluşturur. Ayrıca $AlCl_3$, o-dihidroksi sistemleri içeren flavonoidlerle de asidde kararsız kompleksler meydana getirir.

$AlCl_3$ ile A- ve B- halkalarının o-dihidroksi grupları arasındaki kompleksler, birkaç istisna hariç HCl ilavesi ile bozunur. Bunun aksine, C-4 keto fonksiyonu ve 3- ya da 5-

hidroksil gruplarından biri arasında olan AlCl_3 kompleksi asid varlığında da karardır.



Şekil 5. Belirli flavonoidlerin asid varlığında ya da yokluğunda AlCl_3 kompleksleri.

Flavonoid bileşiklerinde bu komplekslerin kararlılığı: 3-hidroksil (flavonol) > 5-hidroksil (flavon) > 5-hidroksil (flavonon) > o-dihidroksil grupları > 3-hidroksil (dihidroflavonol) şeklindedir. Eğer o-dihidroksil grubu flavonoid bileşiğinde 3- ya da 5- hidroksil grupları ile birlikte bulunuyor ise çift kompleks oluşur.

Flavon ve flavonollerde, B-halkasında o-dihidroksi grubunun varlığı, $AlCl_3$ spektrumu ve $AlCl_3/HCl$ spektrumunun karşılaştırılması ile saptanabilir. Asid ilavesi ile $AlCl_3$ ve o-dihidroksi grupları arasındaki kompleks bozunur ve Bant I'de 30-40 nm kadar hipsokromik kayma meydana gelir. B-halkasında komşu üç hidroksil grubunun varlığı ise, asid ile sadece 20 nm'lik hipsokromik kaymaya sebep olur.

Flavon ya da flavonollerin, $AlCl_3$ içeren metanoldeki çözeltisine asid ilavesi, A-halkasında o-dihidroksi grupları ve $AlCl_3$ arasındaki kompleksi bozar, bu yüzden metanol spektrumunda Bant I ve Bant II'de değişmeden kalan bir kayma, flavonoiddeki serbest 3- ve/veya 5-hidroksil grubunun varlığından dolayıdır. $AlCl_3/HCl$ spektrumunun metanol spektrumu ile aynı olması 3- ve/veya 5- hidroksil gruplarından her ikisinin de olmadığını ya da süstitüe olduğunu gösterir (Mabry, et al., 1970; Harborne, et al., 1975).

6-pozisyonunda metoksi ya da hidroksil grubundan birini içeren 3-süstitüe flavonoller ile flavonlar'da 5-hidroksi, 4-keto sistemi ile $AlCl_3$ (HCl varlığında) kompleksi dolayısıyla Bant I'deki kayma (metanol spektrumuna oranla) sadece 20 nm'dir, aksi taktirde kayma 45 nm kadar olacaktır (Mears, et al., 1972).

5-hidroksil grubu bulduran isoflavonların $AlCl_3/HCl$ spektrusunda batokromik kayma Bant II'de 10-14 nm, flavonon ve dihidroflavonollerde 20-26 nm kadardır. o-Dihidroksil grupları sadece A-halkasında (6,7- ya da 7,8- pozisyonlarında) bulunduğu zaman saptanabilir. Bunların spektrumlarında $AlCl_3$

çözeltisinde Bant II'de görülen kaymalar, $AlCl_3/HCl$ çözeltisinde görülen kaymadan 11-30 nm kadar daha fazladır.

2'-Hidroksil grubuna sahip kalkonlar ve 4-hidroksil grubu içeren auronlar, Bant I'deki ($AlCl_3/HCl$ 'de) batokromik kaymaları sırası ile 48-64 nm ve 66-70 nm kadardır. Kalkonlardaki kayma 3'-pozisyonunun oksijenlenmesi ile 40 nm kadar olur. Bu bileşiklerin B-halkası o-dihidroksil grupları $AlCl_3$ çözeltisinde, $AlCl_3/HCl$ çözeltisine oranla Bant I'de 40-70 nm kadar daha fazla kayma gösterirler. A-halkası o-dihidroksi grupları ise çok küçük bir kayma verir.

o-Dihidroksi grupları içeren antosiyanidinler ve antosiyaninlerin Bant I'i $AlCl_3$ ile pH 2-4 de 25-35 nm'lik batokromik kaymaya neden olur.

Sodyum Asetat Spektrumu

Sodyum asetat, $NaOMe$ 'den daha zayıf bir bazdır, bu nedenle sadece asidik hidroksil (fenolik) gruplarını iyonize eder. Örneğin: 3-, 7- ve 4'-hidroksil grupları. 7-hidroksil grubunun iyonizasyonu genellikle Bant II'yi etkilediği için (oysa 3- ve/veya 4'-hidroksil gruplarının iyonizasyonu Bant I'i etkiler), sodyum asetat özellikle 7-hidroksil grubunun tanınması için faydalı bir belirteçdir, 7-hidroksil grubuna sahip flavon ve flavonollerde, Bant II'de 5-20 nm arasında batokromik kayma görülür. Flavonlarda (flavonollerde olmaz) 6- ve 8- oksijenlenmiş sübstitüentlerin bulunması, $NaOAc$ ilavesi ile oluşan batokromik kaymanın çok küçük olmasına neden olur. Bunun sebebi, 7-hidroksil grubunun asidliğinin indirgenmesi olabilir.

3- ya da 7-Hidroksil grupları serbest olmayan ve 4'-hidroksil grubuna sahip flavon veya flavonoller, genellikle $NaOAc$ varlığında Bant I'in uzun dalga boyu tarafında belirgin bir omuz gösterirler. 4'-hidroksil grubunun serbest olup olmamasından bağımsız olarak, 7-hidroksil grubu serbest ise Bant I'de de kayma gözlenir.

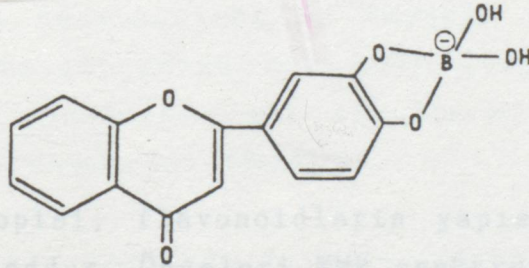
5,6,7-, 5,7,8- ve 3,3',4'-Trihidroksil sistemleri gibi alka-
liye duyarlı gruplar bulunduğu zaman NaOAc spektrumu kısa
bir zaman sonra bozunur.

7-Hidroksil grubu bulunan isoflavonlar Bant II'de 6-20 nm'-
lik bir batokromik kayma; 5,7-dihidroksiflavononlar ve di-
hidroflavonollerde 35 nm; 5-deoksi-flavononlar ve dihidro-
flavonollerde 60 nm'lik kayma meydana gelir.

Kalkonlarda 4'- ve/veya 4-pozisyonlarında, auronlarda 4'-
ve/veya 6- pozisyonlarındaki hidroksil grupları Bant I'de
batokromik kayma meydana getirirler veya uzun dalga boyunda
bir omuz görülür.

Sodyum Asetat/Borik Asid Spektrumu

Sodyum asetat varlığında borik asid, flavonoid çekirdeği
üzerinde C-5,6 dışındaki tüm pozisyonlarda o-dihidroksi
grupları ile kelat oluşturur.



B-halkasında o-dihidroksi grubu içeren flavon ve flavonol-
lerde Bant I 12-30 nm kadar uzun dalga boyuna kayar. A-hal-
kasında o-dihidroksi grupları (6,7 ve 7,8-pozisyonlarında)
bulunduğu zaman ise Bant I'deki batokromik kayma 5-10 nm ka-
dardır.

İsoflavon, flavonon ve dihidroflavonoller (sadece A-halkasında) Bant II'de 10-15 nm kadar kayma meydana getirirler. Bu kayma 5,6-dihidroksil gruplarında gözlenmez. (Tablo 4) (Mabry, et al., 1970; Harborne, et al., 1975).

Auron ve kalkonlar (B-halkasında) Bant I'de 28-36 nm'lik kayma gösterirler. A- halkası o-dihidroksil grupları ise daha küçük bir kayma oluşturur (Mabry, et al., 1970; Harborne, et al., 1975).

Kütüphane spektroskopisi, hem flavonoid aglikonlarının ve hem de glikozidlerinin yapılarının saptanması ayrıca 1 mg'dan fazla miktardaki bileşiklerin kullanılabilmesi açısından çok faydalı bir yöntemdir. Bu yöntem, bütün flavonoid

IR Spektrumu

Flavonoidlerde, IR spektrumu yapısal belirlemeler için pek kullanılmaz. Çünkü yorum genellikle güçtür ve kaymalar tahmin edilemez. Buna rağmen, C-5 hidroksil grubu içermeyen flavonlar, C-5 hidroksil grubuna sahip olanlardan IR spektrumlarında kolaylıkla ayrılabilirler. Çünkü karbonil bandı absorpsiyon frekansı 1653 cm^{-1} ya da daha yukarı olması gerekirken, $1620-1639 \text{ cm}^{-1}$ de bulunur. Ayrıca B-halkasında sübstitüe olmamış flavonlar, 4'-sübstitüe flavonlardan $680-870 \text{ cm}^{-1}$ bölgesinde (CH deformasyon titreşimleri) oldukça farklıdırlar (Harborne, 1967).

Flavonoidlerin tanınmasında çok faydalı gereklensiz, A ve B halkalarının parçalanarak bir seri irren yapılarıdır. genellikle iki şekilde olur. 1. yel; retro-Diels-Alder bölünmesi (Sakl 9).

NMR Spektrumu

NMR spektroskopisi, flavonoidlerin yapısal analizleri için önemli bir metoddur. Önceleri NMR spektroskopisi çalışmaları sadece isoflavonlar ve yüksek derecede asetillenmiş ya da metillenmiş flavonlar gibi oldukça apolar flavonoidlere uygulandı. Çünkü bu tür bileşikler, CDCl_3 ve CCl_4 de çözünüyor-du. Daha sonraları flavonoidler için heksadöteriodimetilsülfoksit (DMSO-d_6) çözücü olarak kullanılmıştır. Bugün uygulanan yöntemde flavonoid bileşiklerinin NMR spektrumları trimetilsilil eter türevleri (TMSİ) halinde, CCl_4 , CDCl_3 , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ C_6D_6 veya bunların karışımı gibi polar olmayan çözücülerle alınmaktadır (Rodriquez, et al., 1972; Harborne, et al., 1975).

Trimetilsilil türevi haline getirilmiş flavonoidlerin NMR spektrumu 0-9 ppm arasında oluşur ve bu sınır içerisindeki pikler bileşiğin yapısal özellikleri ile ilgilidir (Tablo 4) (Mabry, et al., 1970; Harborne, et al., 1975).

Kütle Spektrumu

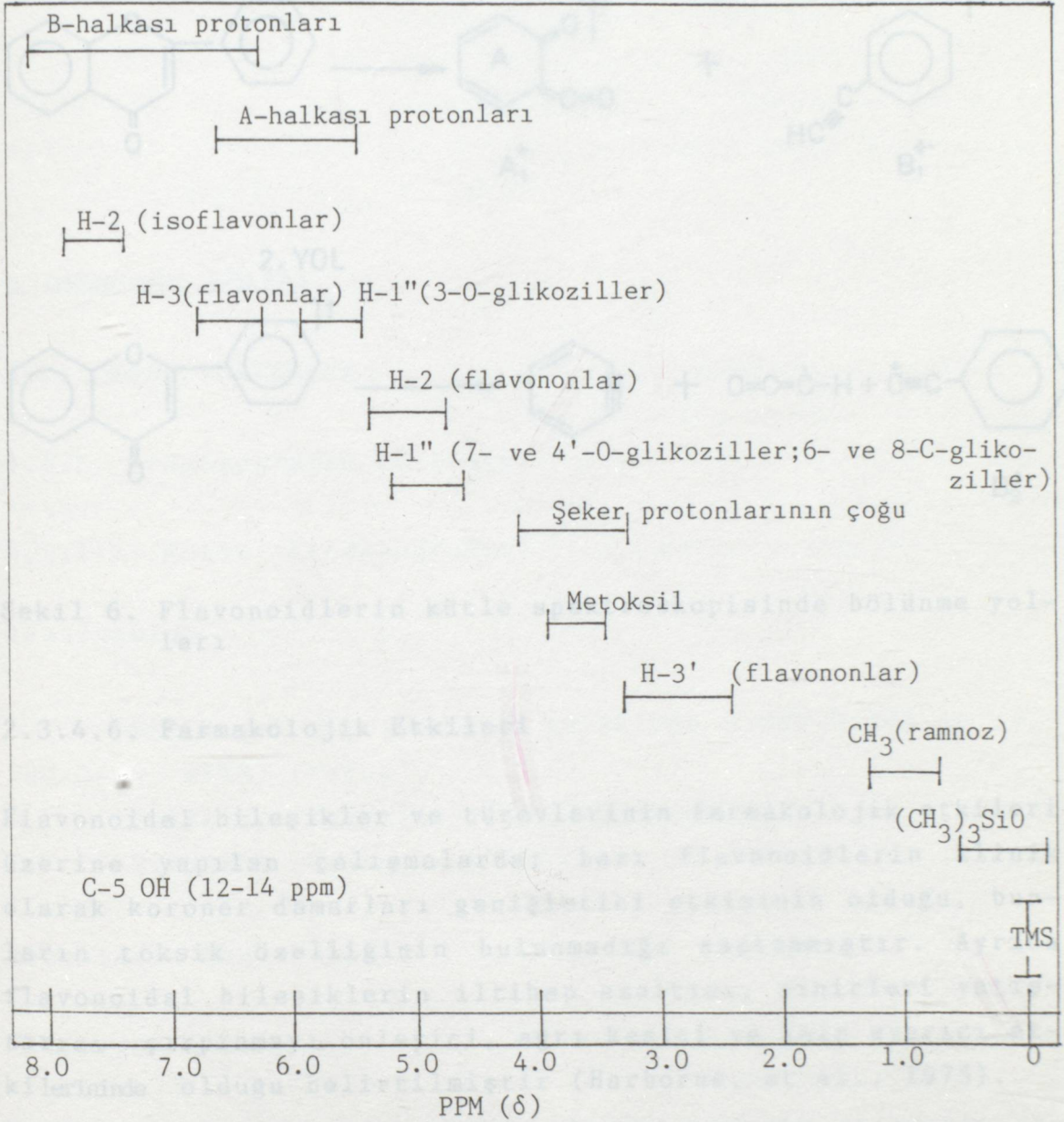
Kütle spektroskopisi, hem flavonoid aglikonlarının ve hem de glikozidlerinin yapılarının saptanması ayrıca 1 mg'dan daha küçük miktarlardaki bileşiklerin kullanılabilmesi açısından çok faydalı bir yöntemdir. Bu yöntem, bütün flavonoid aglikon sınıflarına başarı ile uygulanmıştır. Son zamanlarda değişik glikozid türlerinin de kütle spektrumu alınabilmektedir.

Birçok flavonoid aglikonu moleküler iyon $(M)^+$ için, şiddetli bir pik verirler ve bu genellikle temel pikdir. Moleküler iyon ek olarak, flavonoid aglikonları çoğunlukla $(M-H)^+$ için ve metoksi türevleri bulunduğu zaman $(M-CH_3)^+$ için önemli pikler verirler.

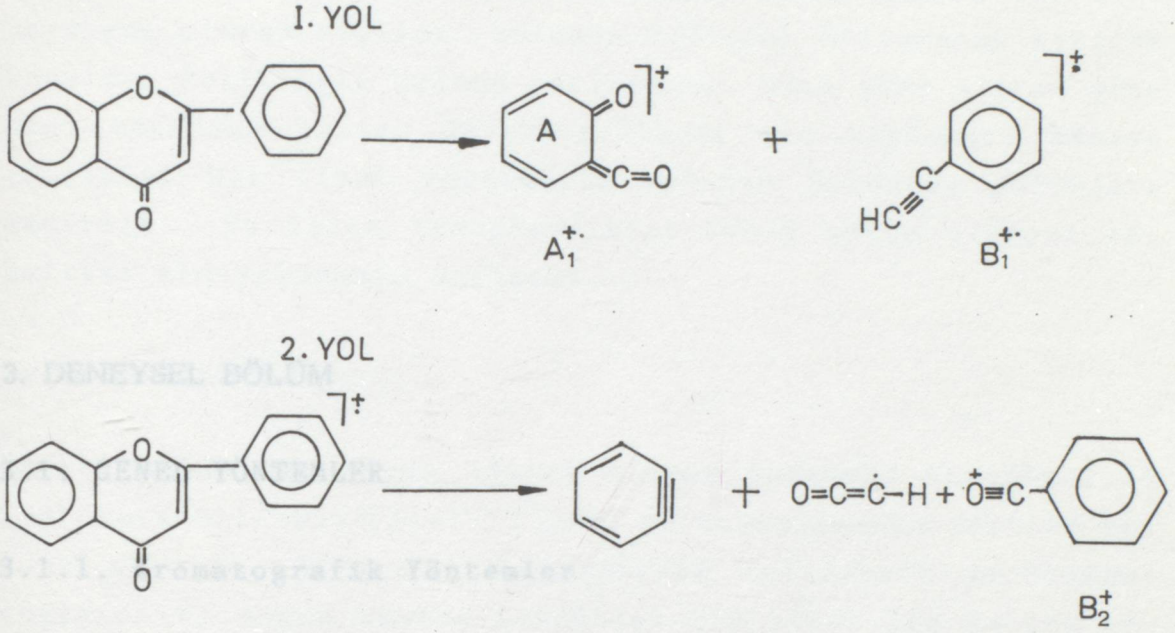
Flavonoidlerin tanınmasında en faydalı parçalanma, A ve B halkalarının parçalanarak bir seri iyon oluşturmalarıdır. Bu parçalanma genellikle iki şekilde olur. I. yol; retro-Diels-Alder bölünmesidir (Şekil 6).

Metoksi türevleri şeklinde bulunan flavonlarda, metoksi grubu 6-pozisyonunda bulunduğu zaman moleküler pik $(M)^+$ % 100 şiddetinde olurken, 8-pozisyonunda metoksi grubu taşıyanlarda ise $(M-CH_3)^+$ piki % 100 şiddetinde olmaktadır.

Kütle spektrumlarındaki moleküler iyon piki, A ve B halkası iyonlarının piklerine karşılık gelen kütle birimleri ve bu piklerin şiddetleri flavonoid bileşiğinin yapısı hakkında bilgi verir (Harborne, et al., 1975; Goudard, et al., 1978).



Tablo 4. Trimetilsilillenmiş flavonoid protonlarının kayma değerleri



Şekil 6. Flavonoidlerin kütle spektroskopisinde bölünme yolları

2.3.4.6. Farmakolojik Etkileri

Flavonoidal bileşikler ve türevlerinin farmakolojik etkileri üzerine yapılan çalışmalarda; bazı flavonoidlerin klinik olarak koroner damarları genişletici etkisinin olduğu, bunların toksik özelliğinin bulunmadığı saptanmıştır. Ayrıca flavonoidal bileşiklerin iltihap azaltıcı, sinirleri yatıştırıcı, çarpınmayı önleyici, ağrı kesici ve kalp uyarıcı etkilerinde olduğu belirtilmiştir (Harborne, et al., 1975).

Poliklar Kolon

Poliklar adsorban, 48 saat (en az 24 saat) kloroform-etanol (2:1) çözücü sisteminde şişirildikten sonra ekstre miktarına uygun olarak seçilen kolonun 2/3'ünü dolduracak şekilde konuldu. Polikların kolona yerleşmesi, yoğun süre alttan alınan çözücünün üstten devrattırılması ile sağlandı. Ekstre çözeltisi bir pipet yardımıyla kolonun üstünden poliklara indirildi. Bu işlem tamamlandıktan sonra kolon süzyon çözeltisi ile yıkamaya başlandı.

3. DENEYSEL BÖLÜM

3.1. GENEL YÖNTEMLER

3.1.1. Kromatografik Yöntemler

3.1.1.1. Kolon Kromatografisi

Adsorbanlar

Adsorb Silikajel 60, parçacık büyüklüğü 0.063-0.200 mm (70-230 mesh ASTM) (Merck).

Poliklar (Polyclar) (Gaf Corporation)

Sefadeks (Sephadex LH-20)

Kolonların Hazırlanması

Silikajel Kolon

Koyu şurup kıvamındaki ekstre çözeltisine çok az miktar silikajel ilave edilerek homojen bir karışım elde edilene kadar karıştırıldı. Karışımın çözücüsü uçurularak tamamen kurutuldu. Ekstre miktarının yaklaşık altmış katı kadar alınan silikajel adsorban kolonun 2/3'sini dolduracak şekilde yerleştirildi.

Kolon, polaritesi gittikçe artan, değişik çözücülerle yıkandı.

Poliklar Kolon

Poliklar adsorban, 48 saat (en az 24 saat) kloroform-etanol (2:1) çözücü sisteminde şişirildikten sonra ekstre miktarına uygun olarak seçilen kolonun 2/3'sini dolduracak şekilde konuldu. Polikların kolona yerleşmesi, uzun süre alttan alınan çözücünün üstten devrettirilmesi ile sağlandı. Ekstre çözeltisi bir pipet yardımıyla kolonun üstünden poliklara emdirildi. Bu işlem tamamlandıktan sonra kolon elüsyon çözeltisi ile yıkanmaya başlandı.

Sefadeks Kolon

Ekstre miktarına uygun olarak alınan sefadeks adsorban, 48 saat metanolle şişirildi. 2,5x20 cm boyutlarında seçilen kolona konuldu. Çözücü devrettirilerek sefadeksin yerleşmesi sağlandı ve yoğun ekstre çözeltisi bir pipet ile üstten kolona ilave edildi. Yıkama işlemi metanol ile yapıldı.

3.1.1.2. İnce Tabaka Kromatografisi

Adsorbanlar

Silikajel 60 H (Art. 7736, Merck).

Plakların Hazırlanması

30 g. silikajel (20x20 cm boyutlarındaki 5 plak için) 65-70 ml destile su ile 5-10 dakika sürekli çalkalandı. Camag plak kaplama aygıtıyla cam plaklar 0,2 mm kalınlığında bu süspansiyon ile kaplandı. Oda ısısında kurutulup, 105-110°C'deki bir etüvde 2 saat tutularak aktifleştirildi.

Hazırlanan cam plaklar sadece preparatif ince tabaka kromatografisinde kullanıldı. Diğer amaçlarla yapılan ince tabaka kromatografisinde hazır plaklar (TLC aluminium sheets Silica gel 60 F₂₅₄ (5554, Merck), TLC aluminium sheets Cellulose F (5574, Merck)) kullanıldı.

Çözücüler

Petrol eteri ve kloroform ekstreleri için; petrol eteri, di-
etileter, benzen, kloroform, etil asetat ve alkol ya da çe-
şitli oranlardaki karışımları kullanıldı.

Alkol ekstreleri için; % 15, % 30, % 45 ve % 60'luk asetik
asid çözeltileri kullanıldı.

3.1.2. Spektrofotometrik Yöntemler

UV Spektrofotometresi

Metanolde çözülerek hazırlanan bileşiklerden bazılarının UV
spektrumları, PHILIPS, PU 8740 UV/VIS Spektrofotometresi'n-
de, bir kısmının ise Varian Techtron 635 aletinde ölçüldü.
Ayrıca flavonoid bileşiklerinin kayma spektrumlarının alın-
bilmesi için bileşiklerin metanoldeki çözeltilerine sırasıy-
la NaOMe, $AlCl_3$, $AlCl_3/HCl$, NaOAc ve NaOAc/ H_3BO_3 ilave edil-
di.

IR Spektrofotometresi

Bileşiklerin spektrumları PHILIPS, PU 9714 Infrared Spektro-
fotometresi'nde KBr tabletleri halinde veya NaCl kristalleri
arasında ölçüldü.

3.1.3. Belirteçler

3.1.3.1. Steroid Belirteçleri

Liebermann-Burchard Belirteci

Bileşiğin kloroformdaki çözeltilisine birkaç damla asetanhid-
rid ilave edildikten sonra derişik sülfirik asid ile faz
oluşturulur.

Seriksülfat Belirteci

2 g seryum (IV) sülfatın, % 10'luk 100 ml. H_2SO_4 'de çözülmesi ile hazırlanan belirteç, kromatografi plağına püskürtüldükten sonra plak $100^{\circ}C$ 'deki etüvde 5-10 dakika lekeler belirinceye kadar bekletilir.

3.1.3.2. Protoanemonin Belirteci

2,6-Diklorofenol İndofenol

Belirteç 10 mg 2,6-diklorofenol indofenol sodyum'un 100 ml kaynatılmış ve soğutulmuş distile suda çözülmesiyle hazırlanır. Çözelti mavi renklidir.

Kapalı bir tüpte bulunan bileşiğin, 10 ml benzen'deki çözeltisi üzerine 1 ml 2,6-diklorofenol indofenol çözeltisi ve 5 ml kaynatılmış, soğutulmuş distile su ilave edilir. Tüp çalkalanır ve fazlar ayrılır. Benzen fazı kırmızı, sulu faz ise mavi renklidir. Benzen fazı protoanemonin varlığında UV spektrumunda 490 nm'de bir maksimum verir. Anemonin bu reaksiyonu vermez.

3.1.3.3. Flavonoid Belirteçleri

a) NH_3 buharı

b) NA belirteci (Naturstoffreagenz A, difenil borik asid β -aminoetilester)

100 mg NA belirteci 100 ml metanol veya etanol'de çözülerek hazırlanır. Kromatografi plağı önce NH_3 buharına tutulur, UV (366 nm) ışıkta incelendikten sonra NA belirteci püskürtülür.

3.1.3.4. UV Spektrumu Kayma Belirteçleri

Sadece flavonoid bileşikleri için kullanıldı.

Sodyum Metoksid Belirteci

Yeni kesilen metalik sodyum (2,5 g), küçük parçacıklar halinde 100 ml saf metanol'de çözülerek hazırlanır.

Aluminyum Klorür Belirteci

5 g susuz aluminyum klorür (III)'ün, 100 ml saf metanol'de çözülmesi ile hazırlanır.

Hidroklorik Asid Çözeltisi

50 ml derişik HCl, 100 ml distile suda çözülerek hazırlanır.

Sodyum Asetat Belirteci

Susuz, toz halinde saf sodyum asetat, kullanılmadan önce porselen bir krozede eritilerek asetik asid'den kurtarılır.

Borik Asid Belirteci

Borik asid susuz, toz halinde veya 100 ml saf metanol'de doymuş çözeltisi hazırlanarak kullanılabilir.

3.1.4. Uygulanan Kimyasal Reaksiyon

Asetilleme

5-10 mg bileşik, kuru bir erlen içerisinde konularak 1 ml susuz piridin'de çözülür. Üzerine 1 ml asetanhidrid ilave edilir ve ağzı kapalı olarak 24 saat oda ısısında bekletilir. Bu sürenin sonunda 15-20 ml distile suya dökülerek kloroform ile ekstre edilir. Piridin'den kurtarmak için birkaç kez su ile yıkanır ve kloroform vakumda uçurulur (Okuda, et al., 1975).

Petrol eteri ekstresi = 1,73 g
Kloroform, ekstresi = 1,89 g
Alkol ekstresi = 13,96 g
Su ekstresi = 0,31 g

bulundu.

Ayrıca bitkinin kök kısmından 10 g alındı ve sokslet cihazında aynı çözücülerle ekstre edilerek düşük basınçta yoğunlaştırıldı. Kurutulmuş ekstratler tartıldığında;

3.2. YAPILAN İŞLEMLER

3.2.1. Bitkinin Tüketilmesi ve Ekstrelerin Elde Edilmesi

Ranunculus constantinopolitanus (DC.) d'Urv., Nisan 1988'de İstanbul Fethi Paşa Korusu'ndan toplandı. Marmara Üniversitesi Öğretim Üyesi Prof.Dr.Ertan Tuzlacı tarafından teşhis edilen bitki, Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu'nda MARE-1418 numarası ile kayıtlıdır.

Açık havada kurutulmuş bitkiden, rastgele örnek alınarak tartıldığında kuruma ile ağırlık kaybının yaklaşık olarak % 84-86 arasında olduğu saptandı. Ayrıca bir R. constantinopolitanus bitkisinde ortalama olarak ağırlıkça % 5 çiçek, % 44 gövde, % 29 yaprak ve % 22 oranında köklerin bulunduğu tespit edilmiştir.

Bitkinin çiçek, yaprak, gövde ve kökleri ayrı ayrı öğütüldü. Bu çalışmada yukarıdaki oranlarda birleştirilen toprak üstü kısım ile kökler ayrı ayrı incelendi.

100 g. toprak üstü kısım (çiçek + yaprak + gövde) sokslet cihazında sırasıyla petrol eteri, kloroform, etanol ve su ile ekstre edildi. Ekstreler düşük basınçta koyu şurup kıvamına kadar yoğunlaştırıldı. Çözücülerini tamamen uçurulan ekstratler tartıldığında;

Petrol eteri ekstresi	=	1,22 g
Kloroform ekstresi	=	1,89 g
Alkol ekstresi	=	13,94 g
Su ekstresi	=	0,51 g

bulundu.

Ayrıca bitkinin kök kısmından 10 g alındı ve sokslet cihazında aynı çözücülerle ekstre edilerek düşük basınçta yoğunlaştırıldı. Kurutulan ekstreler tartıldığında;

Petrol eteri ekstresi	=	0,27 g
Kloroform ekstresi	=	0,15 g
Alkol ekstresi	=	1,37 g
Su ekstresi	=	0,11 g

bulundu.

R. constantinopolitanus bitkisinin toprak üstü ve köklerinden elde edilen ekstrelerde, bulunabilecek bileşikler hakkında ön fikir edinebilmek için silikajel ve selüloz plaklarda değişik çözücülerle ince tabaka kromatografileri yapıldı. Kloroform ve petrol eteri ekstrelerinde steroidal bileşiklerin, toprak üstü kısmın alkol ekstresinde ise flavonoidal bileşiklerin incelenmesi uygun görüldü. Su ekstrelerinde ve kökün alkol ekstresinde pek fazla birşey görülemediği ve çok az miktarda madde taşıdığı için bunlar incelenmemiştir.

3.2.2. Ekstrelerin Fraksiyonlandırılması ve Bileşiklerin İzole Edilmesi

3.2.2.1. Bitkinin Toprak Üstü Kısımları

Petrol Eteri ve Kloroform Ekstreleri

Bitkinin toprak üstü kısmının petrol eteri ve kloroform ekstrelerinin ince tabaka kromatografileri incelendiğinde ben-

zer bileşikler görüldüğü için ekstreler birleştirildi.

1,22 g petrol eteri ekstresi + 1,89 g kloroform ekstresi = 3,11 g ekstre çok az miktar kloroform da çözülerek aynı miktar silikajel ile karıştırıldı ve çözücü tamamen uçuruldu. Bu karışım 4,5x60 cm boyutlarındaki silikajel kolona yerleştirilerek elüsyona petrol eteri ile başlandı, artan oranlarda sırası ile benzen, kloroform ve alkole geçildi. 150 ml'lik kısımlar halinde 126 fraksiyon toplandı (Tablo 5). Fraksiyonlar, ince tabaka kromatografisinde UV ve serik sülfat belirteci ile kontrol edilerek benzer olanlar birleştirildi. Bu bileşiklerden önemli görülenler, silikajel plaklar kullanılarak preparatif ince tabaka kromatografisi ile saflaştırıldı. Ekstrelerden GH_1 , GL_1 , GH_2 ve GS_1 bileşikleri izole edildi.

Etanol Ekstresi

Bitkinin toprak üstü kısmından elde edilen 13,94 g alkol ekstresi çok az miktarda kloroform'da çözüldü. Çözünmüş kısım bir pipet yardımıyla, Egger çözeltisi (kloroform-etanol (2:1)) ile şişirilmiş 4,5x50 cm boyutlarındaki poliklar sütuna emdirildi. Elüsyona Egger çözeltisi ile başlanarak etanol oranı sürekli arttırıldı ve sonunda sadece etanol'e geçildi. Bu çalışmada 75 fraksiyon toplandı (Tablo 6).

Toplanan fraksiyonlar selüloz plaklarda, UV (366 nm) ışıkta, NH_3 ve NA belirteçleri kullanılarak ince tabaka kromatografisinde incelendi. Benzer olanlar birleştirildi ve önemli görülenler 2,5x20 cm boyutlarındaki sefadeks kolonlarda temizlendi. Bu ekstreden GF_1 , GF_2 ve GF_3 bileşikleri elde edildi.

3.2.2.2. Bitkinin Kök Kısmı

Petrol Eteri ve Kloroform Ekstreleri

İnce tabaka kromatogramlarında benzer oldukları görülen ekstreler birleştirilerek incelendi.

Tablo 5. Bitkinin Toprak Üstü Kısmı Petrol Eteri-Kloroform Ekstrelerinin Silikajel Kolonda Fraksiyonlandırılması

Çözücü Sistemi	Fraksiyon	Elde Edilen Bileşik
Petrol Eteri	1-7	GH ₁
Petrol Eteri-Benzen (9:1)	8-11	
Petrol Eteri-Benzen (8:2)	12-17	
Petrol Eteri-Benzen (7:3)	18-23	GL ₁
Petrol Eteri-Benzen (6:4)	24-26	GL ₁
Petrol Eteri-Benzen (5:5)	27-39	GL ₁ , GH ₂
Petrol eteri-Benzen (4:6)	40-43	GH ₂
Petrol Eteri-Benzen (2:8)	44-46	
Benzen	47-51	
Benzen-Kloroform (9:1)	52-54	
Benzen-Kloroform (7:3)	55-57	
Benzen-Kloroform (5:5)	58-62	GS ₁
Benzen-Kloroform (3:7)	63-66	GS ₁
Kloroform	67-77	GS ₁
Kloroform-Etanol (9:1)	78-90	GS ₁
Kloroform-Etanol (8:2)	91-102	
Kloroform-Etanol (7:3)	103-106	
Kloroform-Etanol (6:4)	107-110	
Kloroform-Etanol (5:5)	111-114	
Kloroform-Etanol (3:7)	115-118	
Kloroform-Etanol (1:9)	119-123	
Etanol	124-126	

Tablo 6. Bitkinin Toprak Üstü Kısmı Alkol Ekstresinin Poli-
klar Kolonda Fraksiyonlandırılması

Çözücü Sistemi	Fraksiyon	Elde Edilen Bileşik
Kloroform-Etanol (2:1)	1-11	
Kloroform-Etanol (3:2)	12-20	
Kloroform-Etanol (1:1)	21-33	GF ₁ , GF ₂
Kloroform-Etanol (2:3)	34-41	GF ₂
Kloroform-Etanol (1:2)	42-54	GF ₂
Kloroform-Etanol (1:3)	55-57	
Kloroform-Etanol (1:4)	58-62	GF ₃
Etanol	63-75	GF ₃

Bitkinin toprak üstü kısmına ait petrol eteri ve kloroform ekstralarında anlatılan işlemler tekrar edilerek,

0,27 g petrol eteri ekstresi+0,15 g kloroform ekstresi = 0,42 g

ekstre 3,5x50 cm boyutlarındaki silikajel kolona yerleştirildi. Elüsyona hekzan ile başlanıp giderek artan oranlarda benzen, kloroform ve etanol'e geçildi. 150 ml'lik kısımlar halinde 77 fraksiyon toplandı (Tablo 7). Yine diğer petrol eteri ve kloroform ekstralarında belirtildiği şekilde kontrolleri ve saflaştırılmaları yapıldı. Bu ekstralardan KH₁, KH₂ ve KH₃ bileşikleri elde edildi.

Tablo 7. Bitkinin Kök Kısmı Petrol Eteri-Kloroform Ekstrelerinin Silikajel Kolonda Fraksiyonlandırılması

Çözücü Sistemi	Fraksiyon	Elde Edilen Bileşik
Hekzan	1-8	KH ₁ , KH ₂
Hekzan-Benzen (8:2)	9-14	KH ₂
Hekzan-Benzen (6:4)	15-20	
Hekzan-Benzen (4:6)	21-23	
Hekzan-Benzen (2:8)	24-25	
Benzen	26-32	
Benzen-Kloroform (9:1)	33-35	KH ₃
Benzen-Kloroform (8:2)	36-39	KH ₃
Benzen-Kloroform (6:4)	40-43	KH ₃
Benzen-Kloroform (5:5)	44-49	KH ₃
Benzen-Kloroform (3:7)	50-52	
Benzen-Kloroform (1:9)	53-55	
Kloroform	56-58	
Kloroform-Etanol (8:2)	59-61	
Kloroform-Etanol (6:4)	62-64	
Kloroform-Etanol (5:5)	65-66	
Kloroform-Etanol (4:6)	67-69	
Kloroform-Etanol (2:8)	70-74	
Etanol	75-77	

BU ÇALIŞMADA KULLANILAN KİMYASAL MADDELER

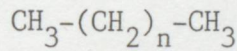
- Petrol Eteri (Petroleum benzine extra pure, 40-60°C, Merck, 909)
- Hekzan (n-Hexane extra pure, Merck, 4368)
- Kloroform (Chloroform extra pure, Merck, 2431)
- Etanol (CaO üzerinden destillenerek saflaştırıldı)
- Metanol (Methanol extra pure, Merck, 6008)
- Benzen (Benzene extra pure, Merck, 1782)
- Dietileter (Diethylether extra pure, Merck, 926)
- Etilasetat (extra pure, Merck, 864)
- Asetik asid (Acetic acid % 90 extra pure, Merck, 58)
- Sülfürik asid (Sulfuric acid extra pure, Merck, 713)
- Klorik asid (Hydrochlorid acid fuming extra pure, Merck, 314)
- Amonyak (Ammonia sol extra pure, Merck, 5422)
-
- Borik asid (Boric acid cryst. extra pure, Merck, 160)
- Sodyum asetat (Sodium acetate anhydrous, Merck, 6268)
- Sodyum (Sodium rod diameter 2,5 cm, Merck, 6260)
- 2,6-Diklorfenolindofenol sodyum tuzu (Merck, 3028)
- Aluminyum Klorür (Pure cryst., Riedel, 11016)
- Seryum (IV) Sülfat (extra pure, Merck, 2267)
- NA (2-Aminoethyl diphenylborinate, Merck, 42810)
- Asetanhidrid (Acetic anhydride for synthesis, Merck, 822278)
- Piridin (extra pure, Merck, 7462)
- Kalsiyum oksid (Merck, 2112)

Elde edilen bulgular, GH_1 bileşiğinin özelliklerinin, bitkilerde bulunan hidrokarbonlara benzediğini göstermektedir. Ayrıca alınan spektrumlar GH_1 bileşiğinin yukarıda verilen formülle uygun olabileceğini doğrulamaktadır.

3.3. BU ÇALIŞMADA ELDE EDİLEN BİLEŞİKLER

HİDROKARBONLAR

3.3.1. $GH_1(KH_1)$ Bileşiği = Uzun Zincirli Alifatik Hidrokarbon



$$n \geq 4$$

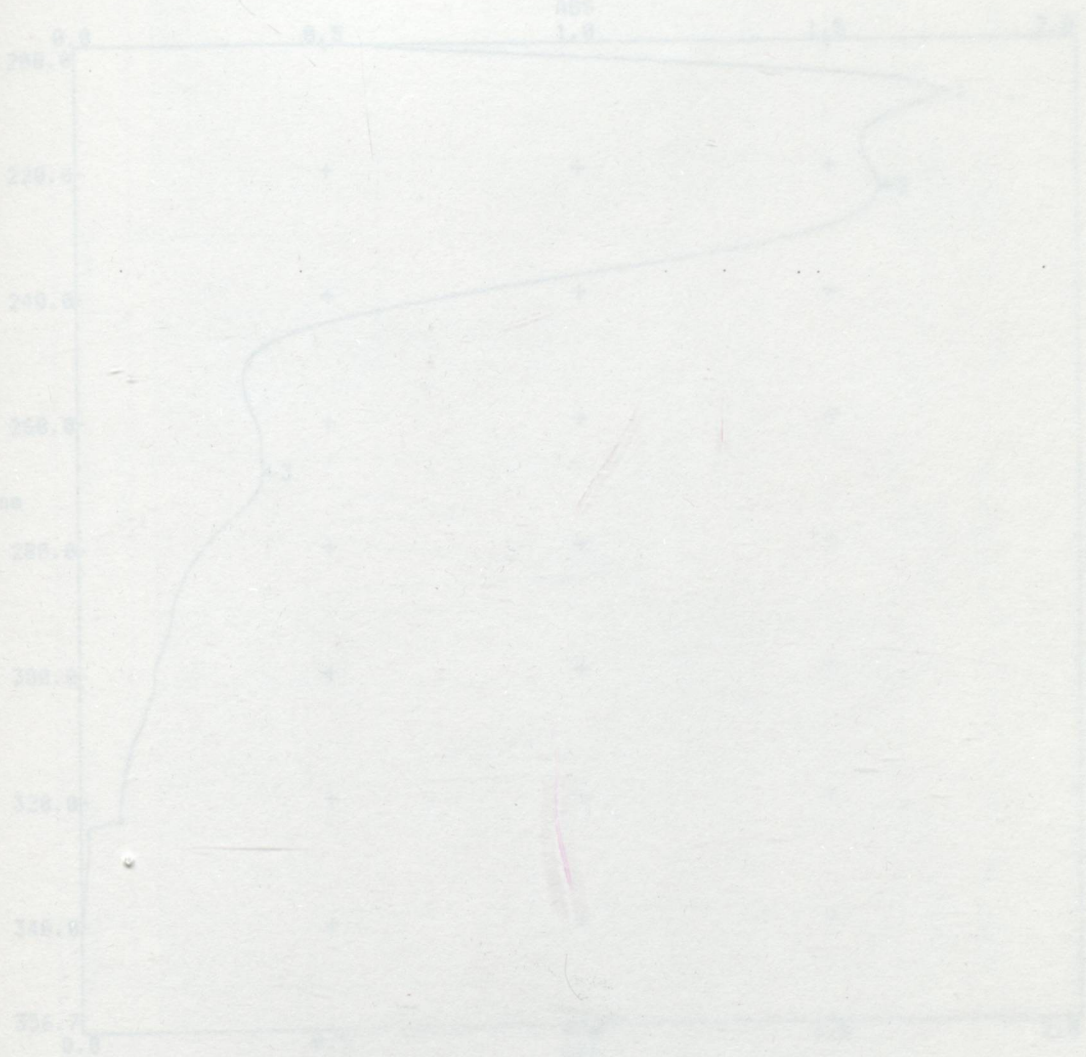
Bileşiğin petrol eteri fraksiyonlarından alınması ve ince tabaka kromatografisinde petrol eteri veya hekzan gibi apolar çözücülerle dahi plağın üst taraflarına kadar yürümesinden GH_1 'in hidrokarbon türü bir bileşik olabileceği düşünüldü.

Bileşik bitkinin hem toprak üstü (GH_1) ve hem de kök (KH_1) kısımlarında bulundu. Beyaz donuk yağ görünümünde olan bileşik serik sülfat belirteci ile kahverengi spot vermektedir.

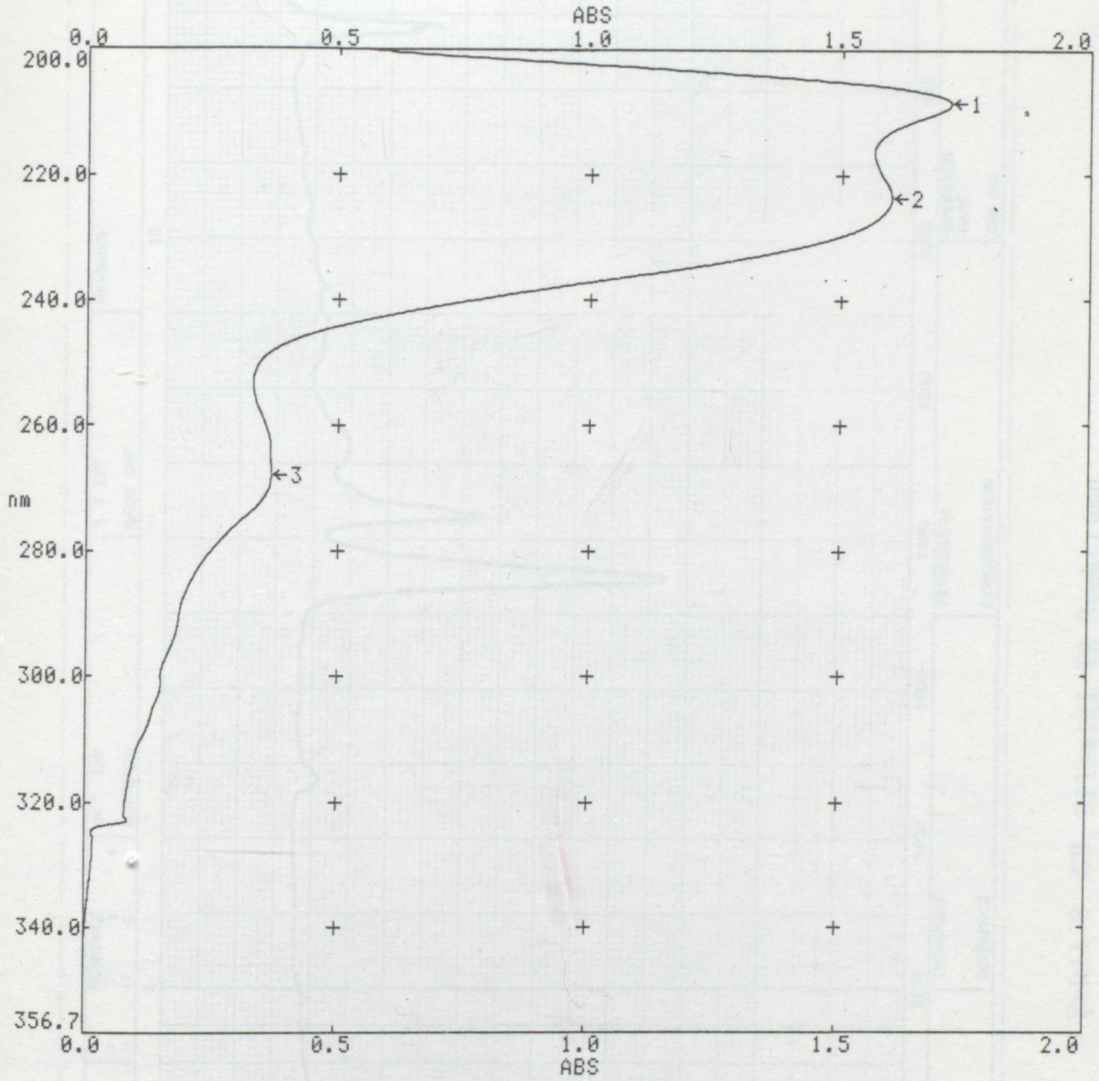
Bileşiğin Spektral Özellikleri

Bileşiğin UV spektrumunda (Şekil 7), 208 nm'de maksimum görülür. IR spektrumunda (Şekil 8) 2920-2860 cm^{-1} de (C-H) gerilim titreşimleri, 720 cm^{-1} de ise karakteristik yağ piki bulunur.

Elde edilen bulgular, GH_1 bileşiminin özelliklerinin, bitkilerde bulunan hidrokarbonlara benzediğini göstermektedir. Ayrıca alınan spektrumlar GH_1 bileşiminin yukarıda verilen formüle uygun olabileceğini doğrulamaktadır.

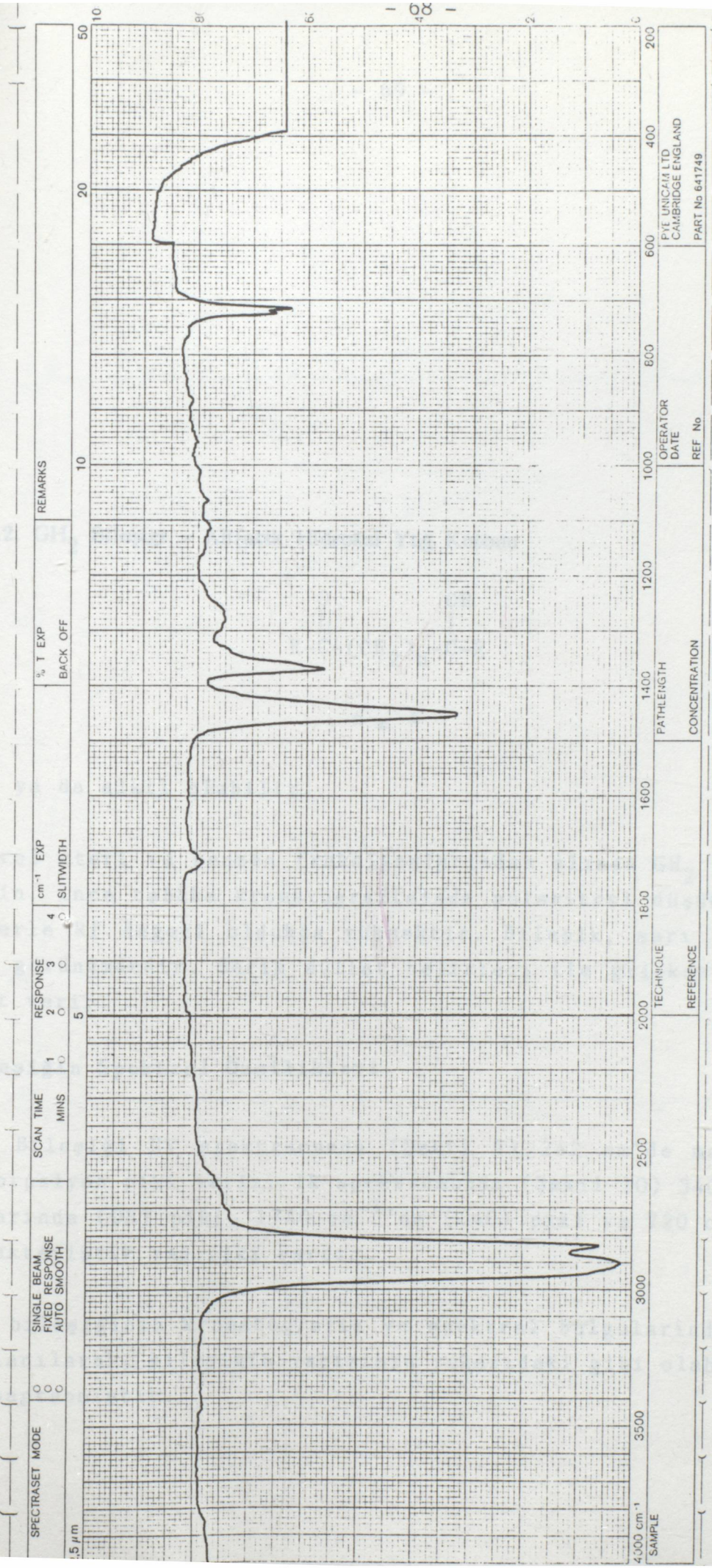


SAMPLE _____
CELL PATH _____
IN 1 1-1-3
485 170 200 220



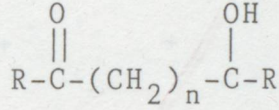
SAMPLE	-----	REFERENCE	-----					
CELL PATH	-----	OPERATOR	-----					
15 1 K-1-3								
λ	1	2	3	4	5	6	7	8
ABS	208.5	223.5	268.0					
	1.719	1.600	0.367					

Şekil 7. GH₁ Bileşiği UV Spektrumu



Şekil 8. GH₁ Bileşigi IR Spektrumu

3.3.2. GH₂ Bileşiği = Alifatik Hidroksi Yağ Ketonu



$$n \geq 4$$

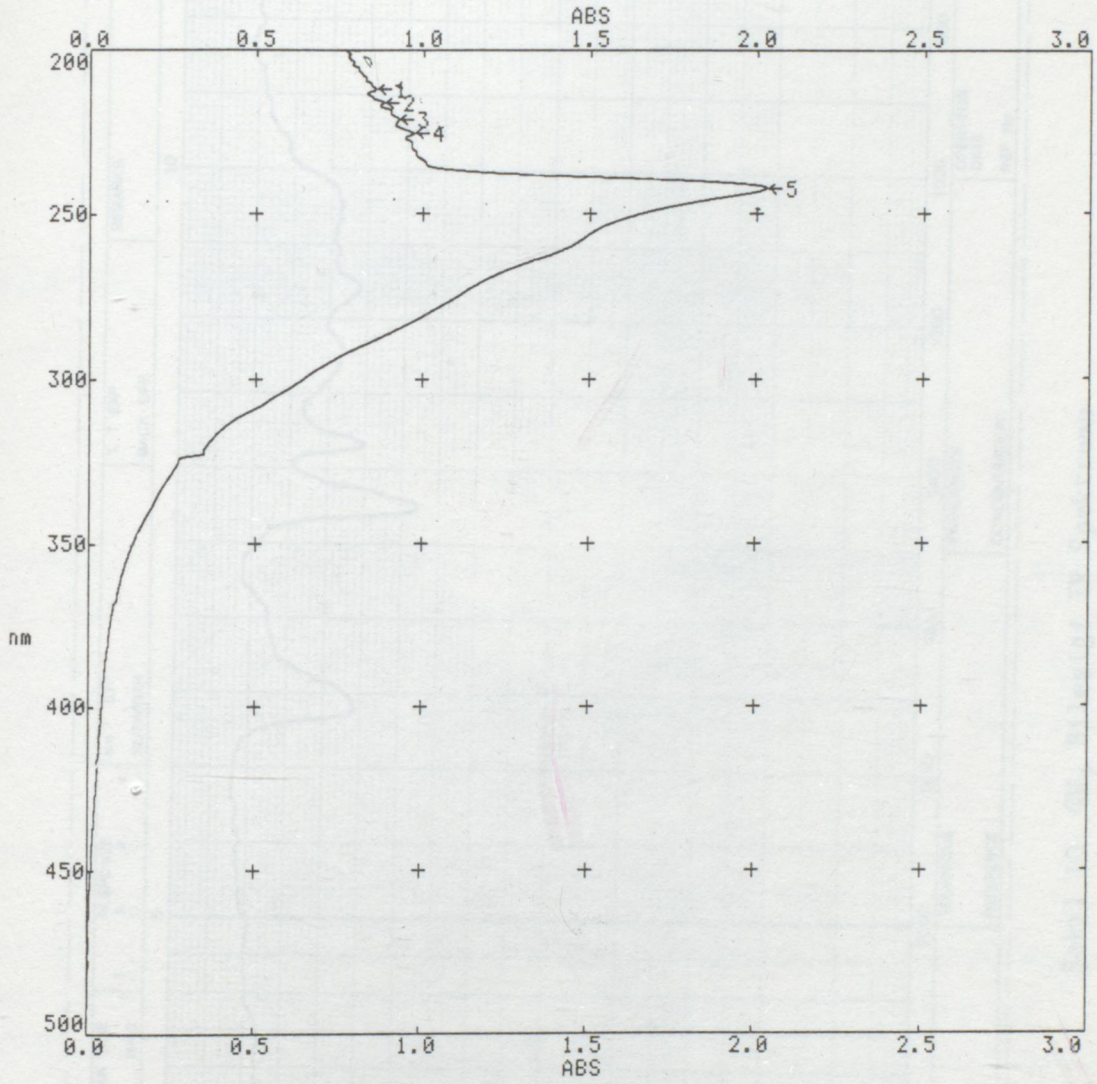
R=H ya da alkil olabilir.

Petrol eteri ve benzen fraksiyonlarından alınan GH₂ bileşiğinin, ince tabaka kromatografisinde polaritesi düşük çözücülerle R_f değeri oldukça yüksektir. Bileşik, sarı yağımsı bir görünümde-dir. Serik sülfat belirteci ile gri-kahverengi spot verir.

Bileşiğin Spektral Özellikleri

GH₂ Bileşiği UV spektrumunda (Şekil 9) 242 nm'de maksimum absorpsiyon piki verir. IR spektrumunda (Şekil 10) 3400 cm⁻¹ civarında (OH) piki, 1740 cm⁻¹'de (C=O) piki ve 720 cm⁻¹ de karakteristik yağ piki vardır.

GH₂ bileşiğinin kromatografik ve spektral bulgularından yararlanılarak, bileşiğin yapısının yukarıdaki gibi olabileceği saptanmıştır.

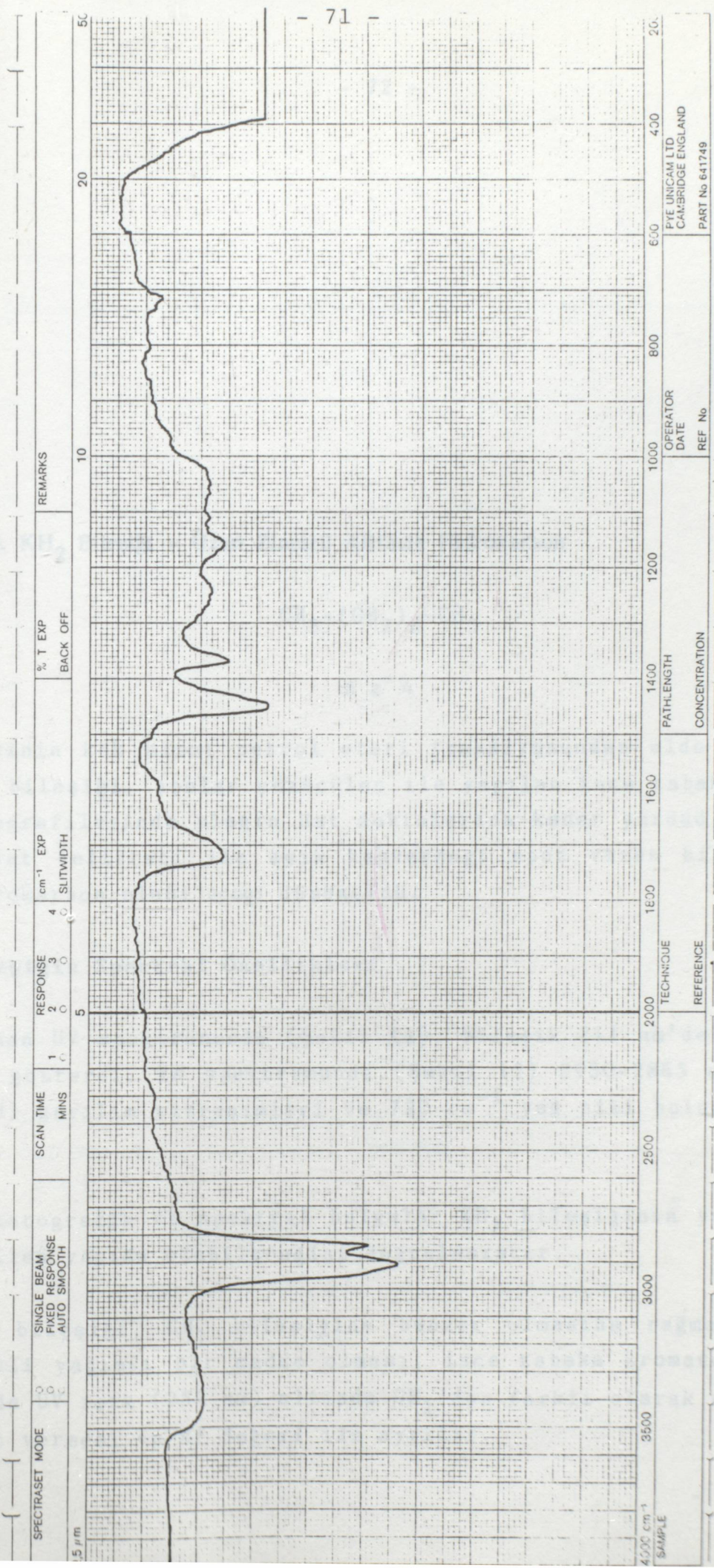


SAMPLE ----- REFERENCE -----
CELL PATH ----- OPERATOR -----

30 1 TU34+35B

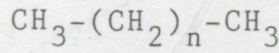
	1	2	3	4	5	6	7	8
λ	212.1	216.1	221.3	225.6	242.1			
ABS	0.858	0.882	0.926	0.971	2.028			

Şekil 9. GH_2 Bileşiği UV Spektrumu



Şekil 10. CH₂ Bileşiği IR Spektrumu

3.3.3. KH₂ Bileşiği = Uzun Zincirli Alifatik Hidrokarbon



$$n \geq 4$$

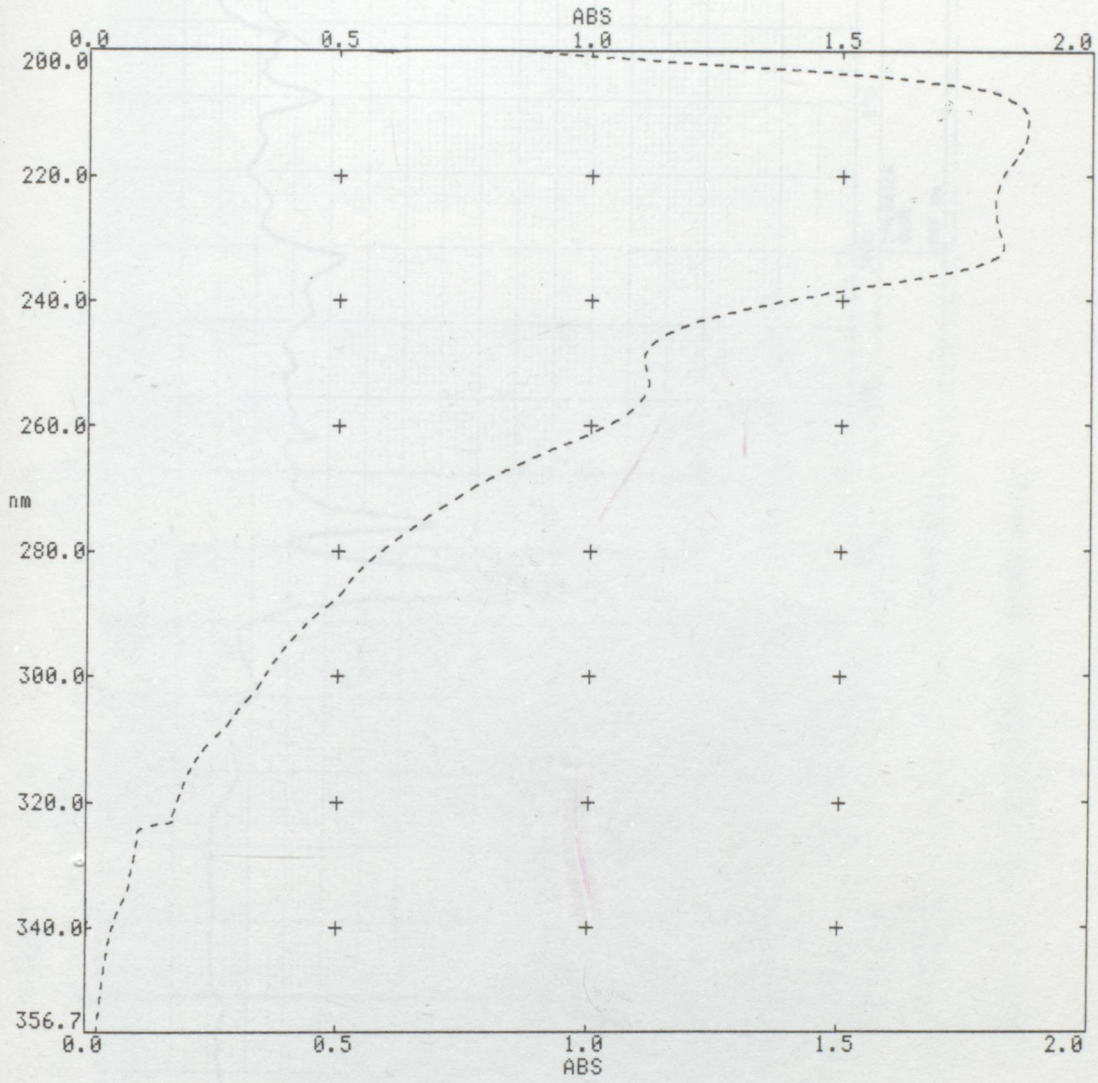
Bitkinin kök kısmı petrol eteri fraksiyonundan elde edilen KH₂ bileşiği, apolar çözücüler ile yapılan ince tabaka kromatografilerinde plağın üst noktalarına kadar yürüdü. Serik sülfat belirteci ile açık kahverengi spot veren bileşiğin hidrokarbon olabileceği düşünöldü.

Bileşiğin Spektral Özellikleri

Alınan UV spektrumunda (Şekil 11), bileşik 211 nm'de maksimum gösterdi. IR spektrumunda (Şekil 12) 2930-2865 cm⁻¹ de (C-H) gerilim titreşimleri ve 720 cm⁻¹ yağ piki bulunmaktadır.

Kromatografik ve spektral bulgular KH₂ bileşiğinin yukarıda verilen yapıda olabileceğini doğrulamıştır.

KH₂ bileşiği, GH₁ bileşiğine benzer olmasına rağmen sarı renkli yağmsı bir madde olması, ince tabaka kromatografisinde UV ışık (254 nm) altında GH₁'den farklı olarak eflatun spot vermesi ve R_f değeri ile ayrılır.

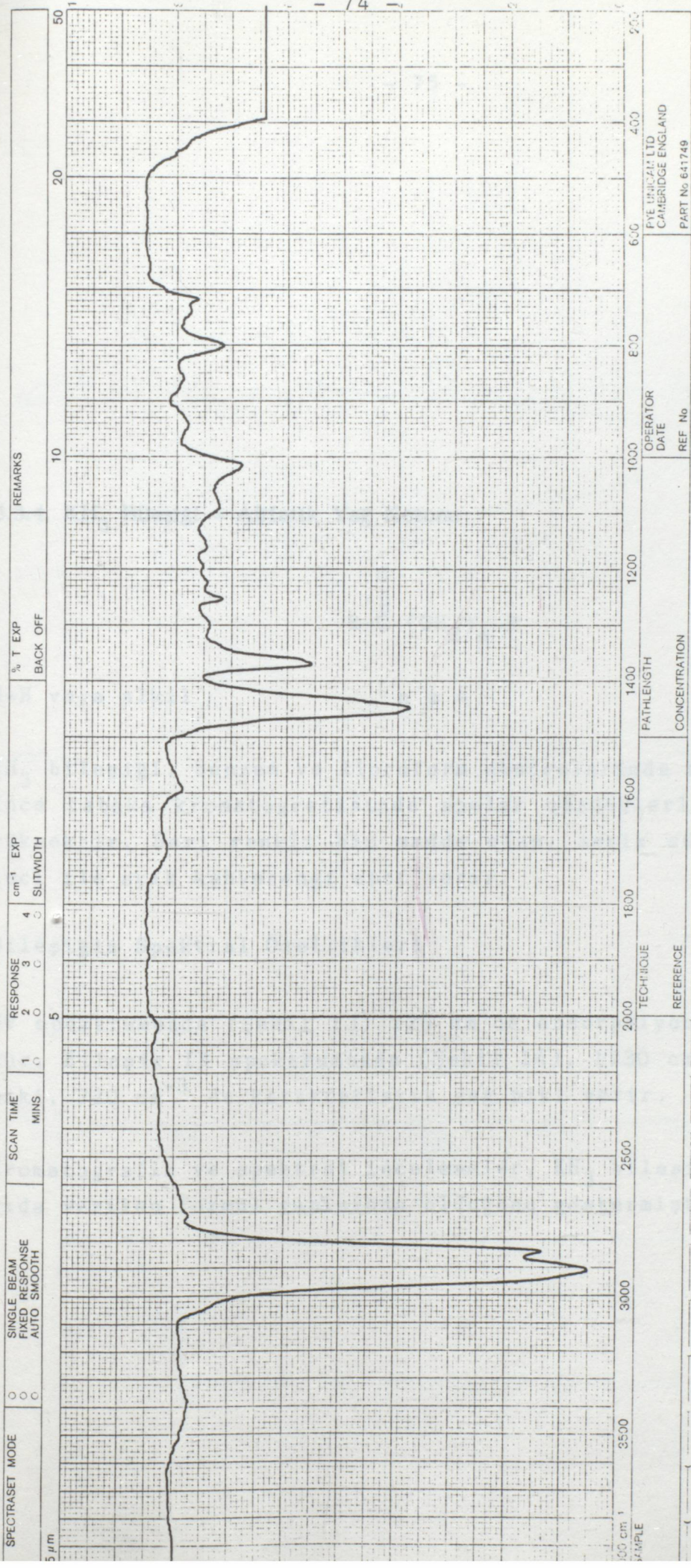


SAMPLE ----- REFERENCE -----
CELL PATH ----- OPERATOR -----

15 1 K-1-3

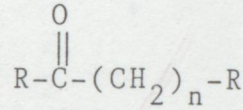
	1	2	3	4	5	6	7	8
λ	208.5	223.5	268.0					
ABS	1.719	1.600	0.367					

Şekil 11. KH_2 Bileşiği UV Spektrumu



Şekil 12. KH₂ Bileşiği IR Spektrumu

3.3.4. KH_3 Bileşiği = Alifatik Yağ Ketonu



R=H veya alkil

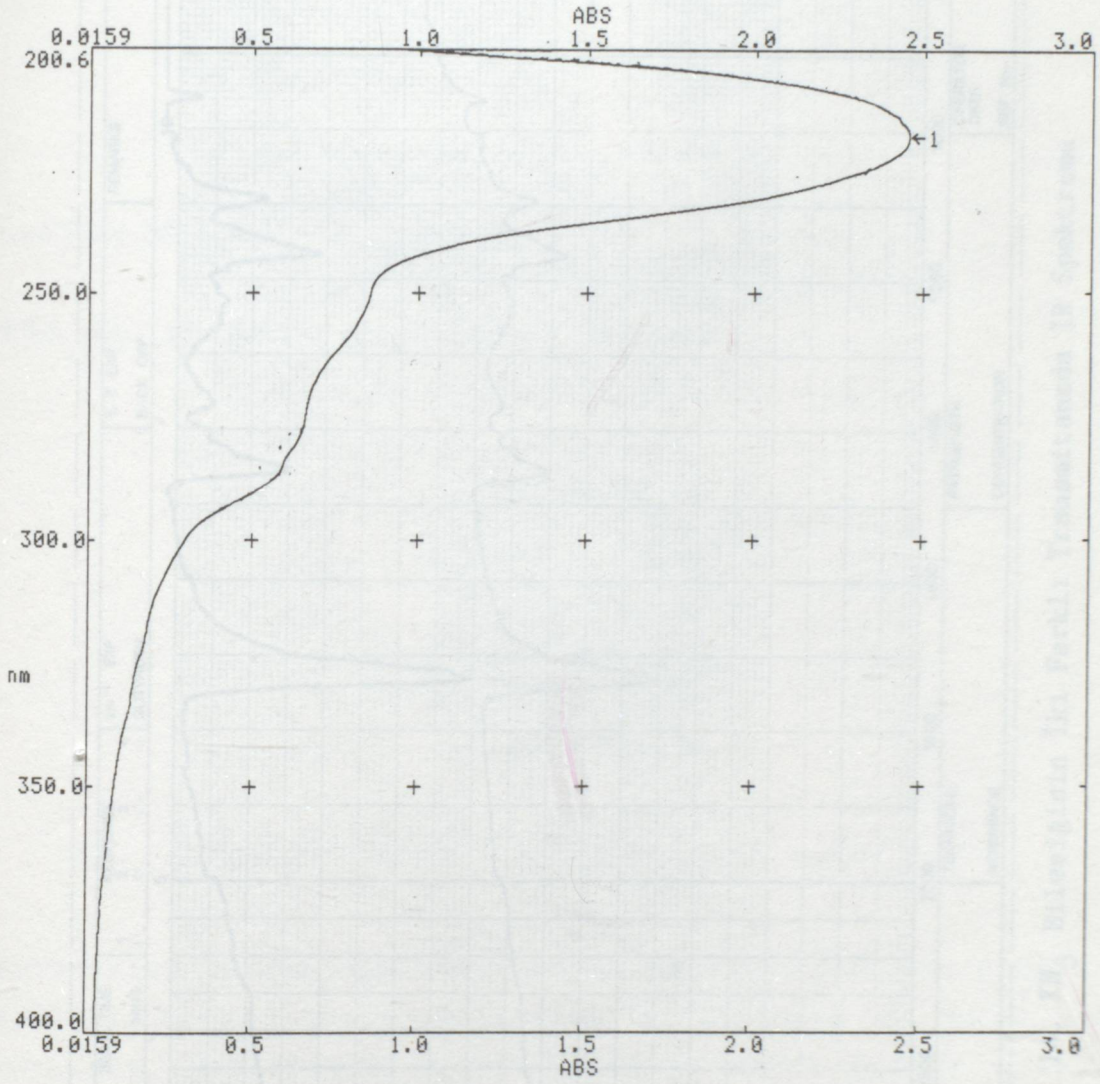
$n \geq 4$

KH_3 bileşiği, benzen ve kloroform ekstrelerinde bulunmuştur. İnce tabaka kromatografisinde apolar çözücülerle R_f değeri yüksektir. Sarı renkli bir madde olup, serik sülfat belirteci ile açık kahverengi spot verir.

Bileşiğin Spektral Özellikleri

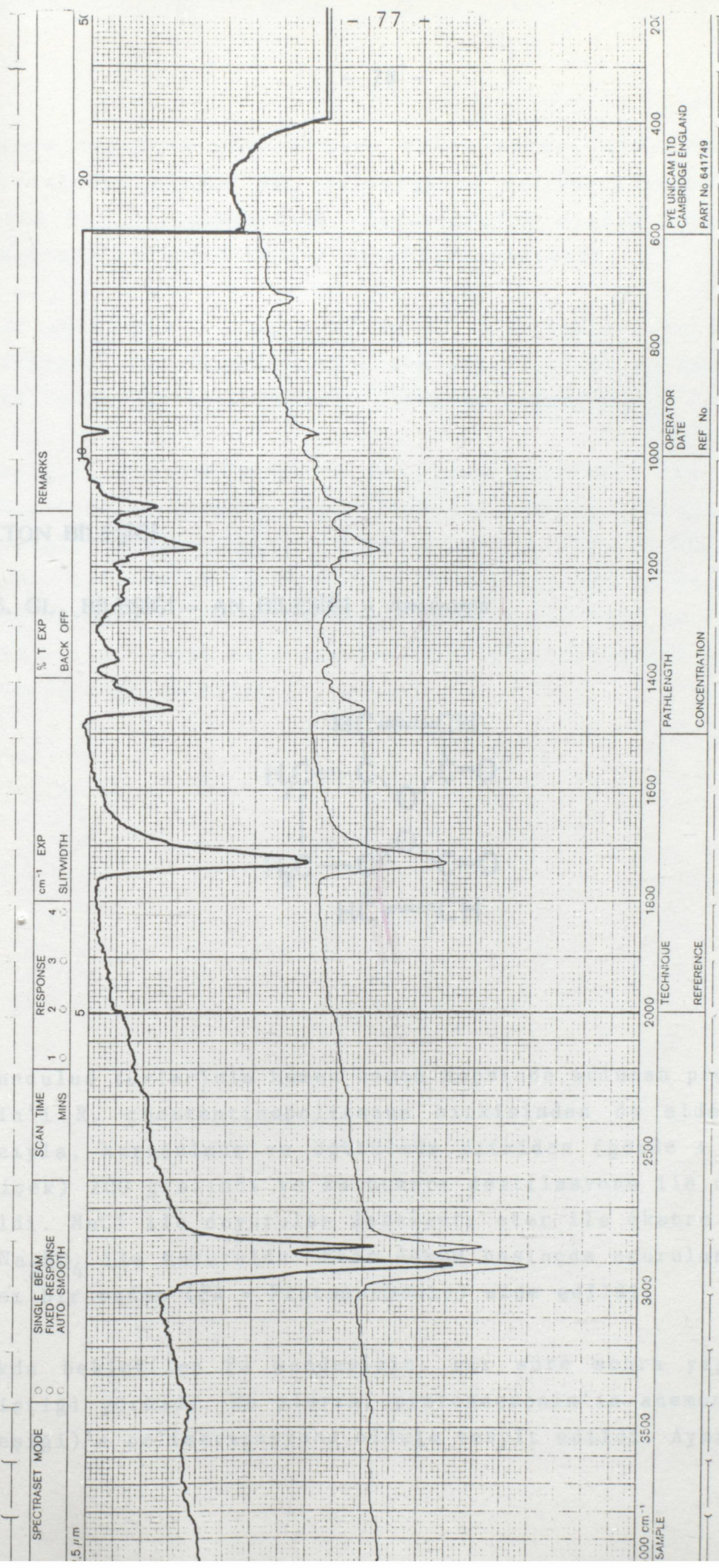
UV spektrumunda (Şekil 13) 226 nm'de absorpsiyon piki görülmür. Bileşik IR spektrumunda (Şekil 14), 1730 cm^{-1} de keton piki, 720 cm^{-1} de karakteristik yağ piki verir.

Kromatografik ve spektral incelemeler, KH_3 bileşiğinin yukarıda verilen formül yapısında olduğunu göstermiştir.



SAMPLE	-----	REFERENCE	-----					
CELL PATH	-----	OPERATOR	-----					
4 1 K33-45:1								
	1	2	3	4	5	6	7	8
λ	218.3							
ABS	2.455							

Şekil 13. KH_3 Bileşiği UV Spektrumu



SPECTRASET MODE	<input type="radio"/> SINGLE BEAM <input type="radio"/> FIXED RESPONSE <input type="radio"/> AUTO SMOOTH	SCAN TIME MINS	1	RESPONSE	2	3	4	cm ⁻¹ EXP SLITWIDTH	4	% T EXP BACK OFF	REMARKS
-----------------	--	-------------------	---	----------	---	---	---	-----------------------------------	---	---------------------	---------

OPERATOR
 DATE
 REF No
 PYE UNICAM LTD
 CAMBRIDGE ENGLAND
 PART No 641749

Şekil 14. NH₃ Bileşiğinin İki Farklı Transmittansda IR Spektrumu

siyelere bitkinin toprak üstü kısmı petrol eteri-kloroform ekstraktından alınan GL₁ bileşiğinde de rastlanmayı sonucu AN ile GL₁ bileşiklerinin kromatografik olarak karşılaştırılmasında bunların bizzat oldukları saptandı.

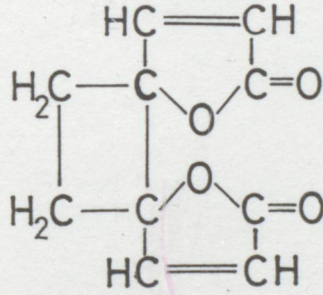
Bu bileşiklerin alınan UV ve IR spektrumları karşılaştırıldığında, her ikisinin spektrum değerlerinin de aynı olması AN ve GL₁'in aynı bileşik olduğuna doğruladı.

Bileşiğin 2,6-diklorofenol indolil belirteci ile yapılan deneylerinden olumsuz sonuç alınması (Mahran, et al., 1968)

LAKTON BİLEŞİĞİ

3.3.5. GL₁ BİLEŞİĞİ = AN BİLEŞİĞİ = Anemonin

Bu bileşiğin UV spektrumunda (Şekil 15) 226 cm⁻¹'de görülen p,q-doygunluk laktonun karbonil piki bileşiğin anemonin olduğunu doğrulamıştır.



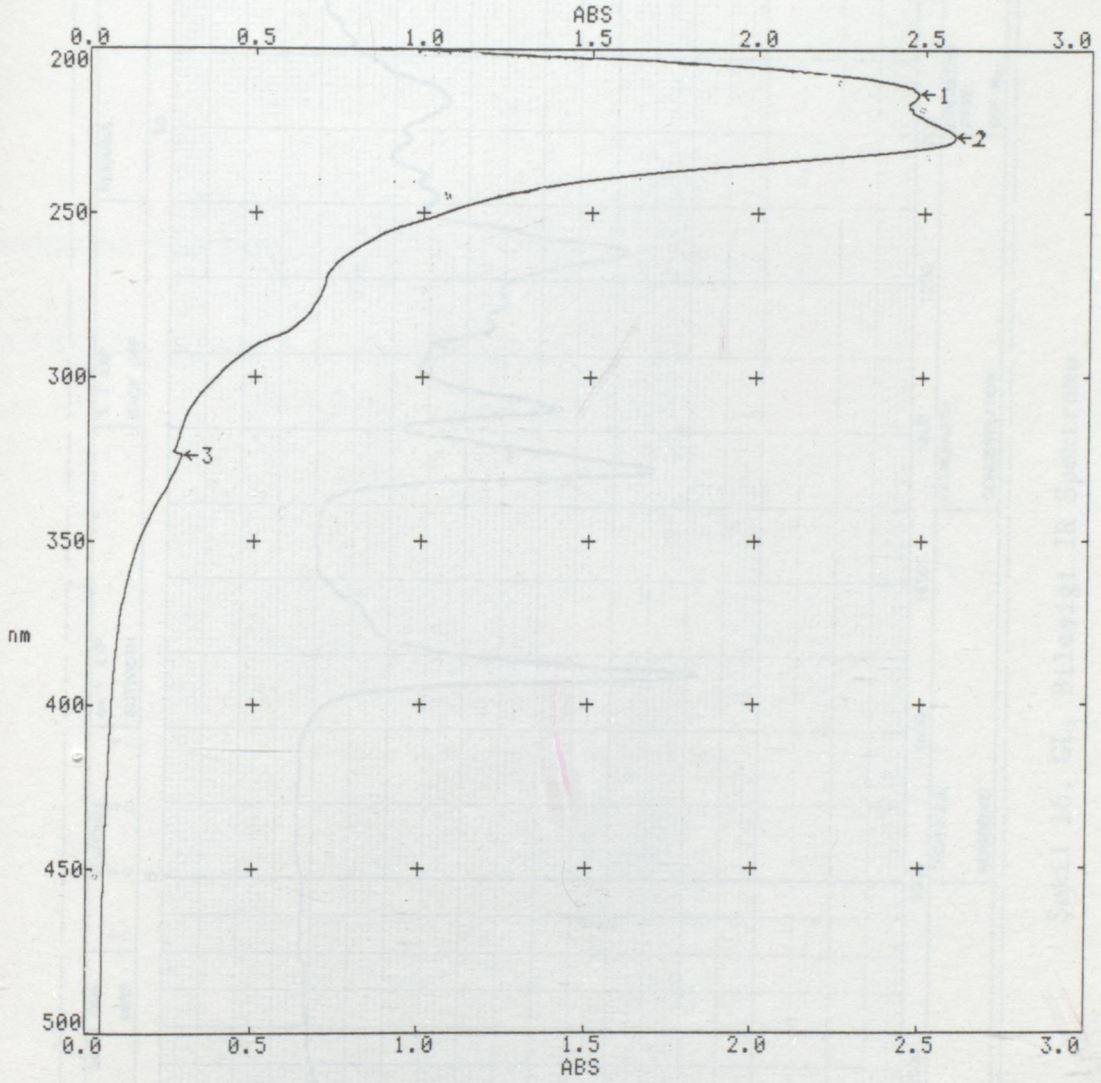
Ranunculus türlerinin hemen hemen hepsinde bulunan protoanemonin'i R. constantinopolitanus bitkisinden de elde etmek amacıyla, kurutulmuş ve öğütülmüş bitkiden (gövde + yaprak + çiçek) 200 g alındı ve su buharı destilasyonu ile destile edildi. NaCl ile doyurulan destilat, eter ile ekstre edildi ve Na₂SO₄ ile kurutuldu. Eter düşük basınçta uçurularak yağimsı bir madde (PA = Protoanemonin) elde edildi.

Açıkta bekletilen PA maddesinin, bir süre sonra yapısının değiştiği görüldü. Bu olayın; protoanemonin'in anemonin (AN bileşiği)'e polimerizasyonu olduğu tespit edildi. Aynı deği-

şimlere bitkinin toprak üstü kısmı petrol eteri-kloroform ekstresinden alınan GL_1 bileşiğinde de rastlanması sonucu AN ile GL_1 bileşiklerinin kromatografik olarak karşılaştırılmasında bunların benzer oldukları saptandı.

Bu bileşiklerin alınan UV ve IR spektrumları karşılaştırıldığında, her ikisinin spektrum değerlerinin de aynı olması AN ve GL_1 'in aynı bileşik olduğunu doğruladı.

Bileşiğin, 2,6-diklorofenol indofenol belirteci ile yapılan denemelerinden olumsuz sonuç alınması (Mahran, et al., 1968) bileşiğin anemonin olduğunu göstermiştir. Ayrıca GL_1 'in metanolde çekilen UV spektrumunda (Şekil 15) 226 nm'de de maksimum vermesi ve IR spektrumunda (Şekil 16) 1735 cm^{-1} de görülen α,β -doymamış laktonun karbonil piki bileşiğin anemonin olduğunu doğrulamıştır.



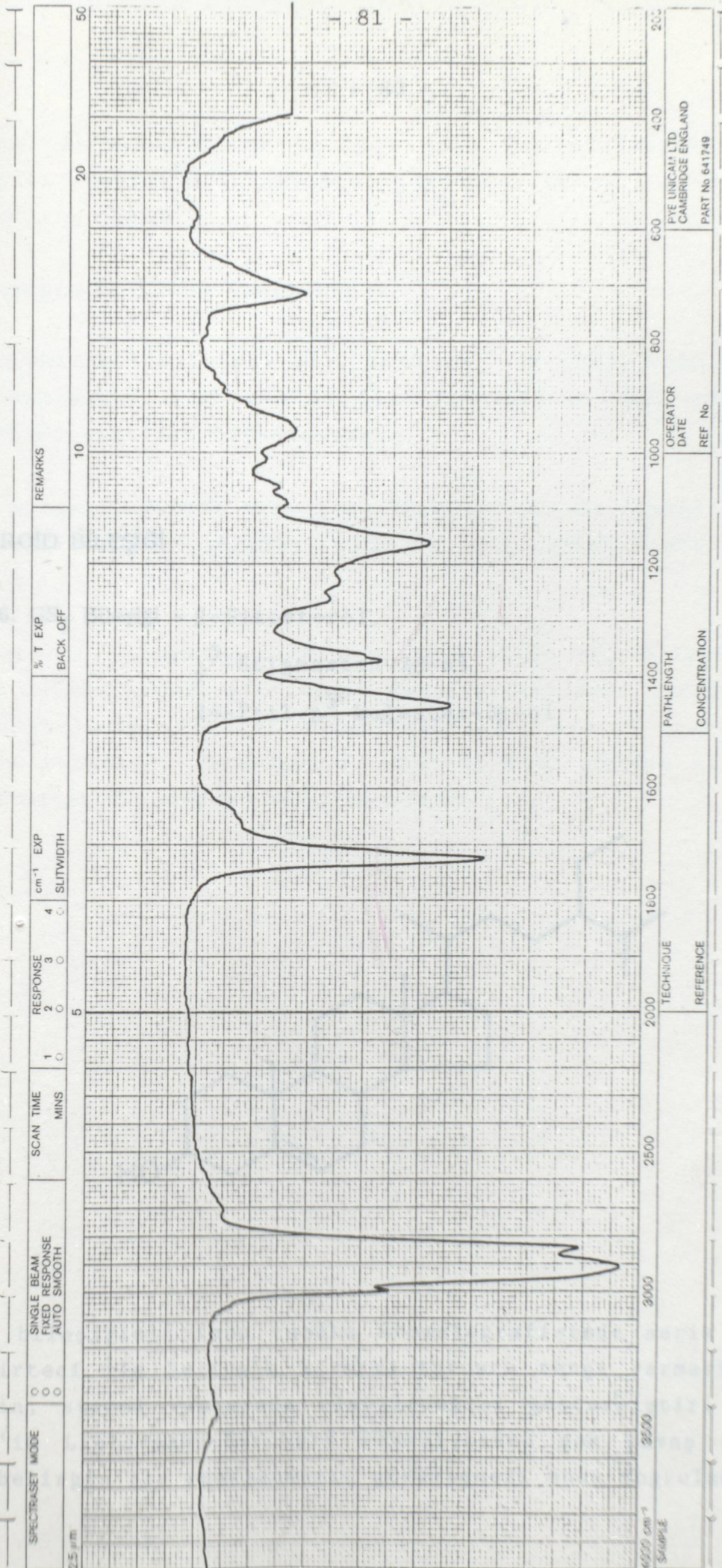
SAMPLE ----- REFERENCE -----

CELL PATH ----- OPERATOR -----

9 1 TU27-30:1

	1	2	3	4	5	6	7	8
λ	213.7	226.8	324.2					
ABS	2.482	2.591	0.285					

Şekil 15. GL₁ Bileşiği UV Spektrumu



Şekil 16. GL₁ Bileşiği IR Spektrumu

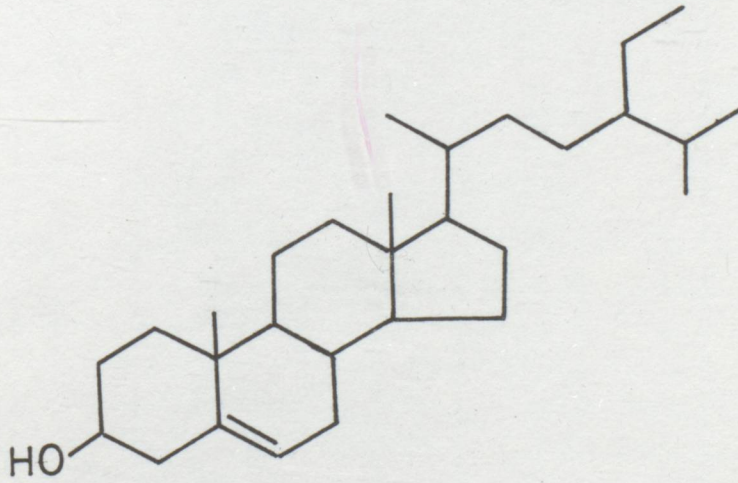
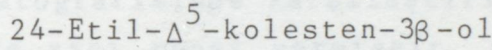
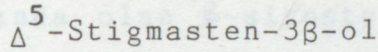
Ayrıca, kristalize toz halinde olan GS₁ bileşiğinin erime noktası 136-137°C bulunmuştur (Naudert, et al., 1965'de verildiği gibi aynı).

Bileşiğin Spektrel Özellikleri

IR spektrumunda (Şekil 17), 3400 cm⁻¹ de (OH), 1650 cm⁻¹ de (doymamışlık), 1375 cm⁻¹ de (genel etil) ve 1060, 1010 cm⁻¹ de (C-O) bantları bulunmaktadır.

GS₁ bileşiği asetik türevinin IR spektrumunda (Şekil 18) ise STERÖİD BİLEŞİĞİ kaybolmuş; 1730 cm⁻¹ de asetik bantı gözlenmektedir.

3.3.6. GS₁ Bileşiği = β-Sitosterol



GS₁ bileşiğinin ince tabaka kromatografisinde serik sülfat belirteci ile belirgin kırmızı-turuncu rengi vermesi bileşiğin, sterol yapısında olabileceğini göstermiştir. Ayrıca GS₁'in Liebermann-Burchard reaksiyonunu çok yavaş vermesi ve belirgin bir renklenmenin görülmemesi bunu doğrulamıştır.

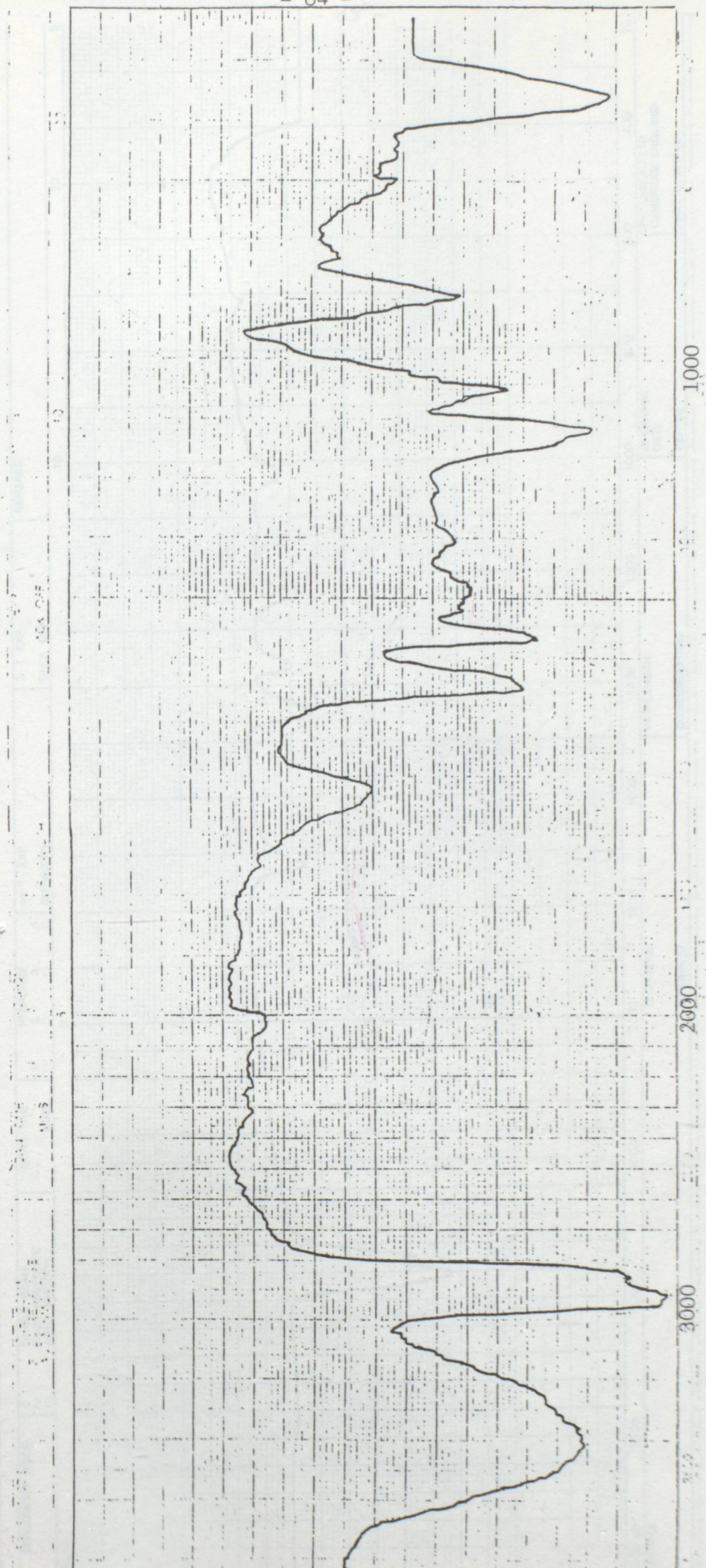
Beyaz, kristalize toz halinde olan GS_1 bileşiğinin erime noktası $136-137^{\circ}C$ bulunmuştur (Neudert, et al., 1965'de verilen ile aynı).

Bileşiğin Spektral Özellikleri

IR spektrumunda (Şekil 17), 3400 cm^{-1} de (OH), 1650 cm^{-1} de (doymamışlık), 1375 cm^{-1} de (gem dimetil) ve $1060, 1050\text{ cm}^{-1}$ de (C-O) bantları bulunmaktadır.

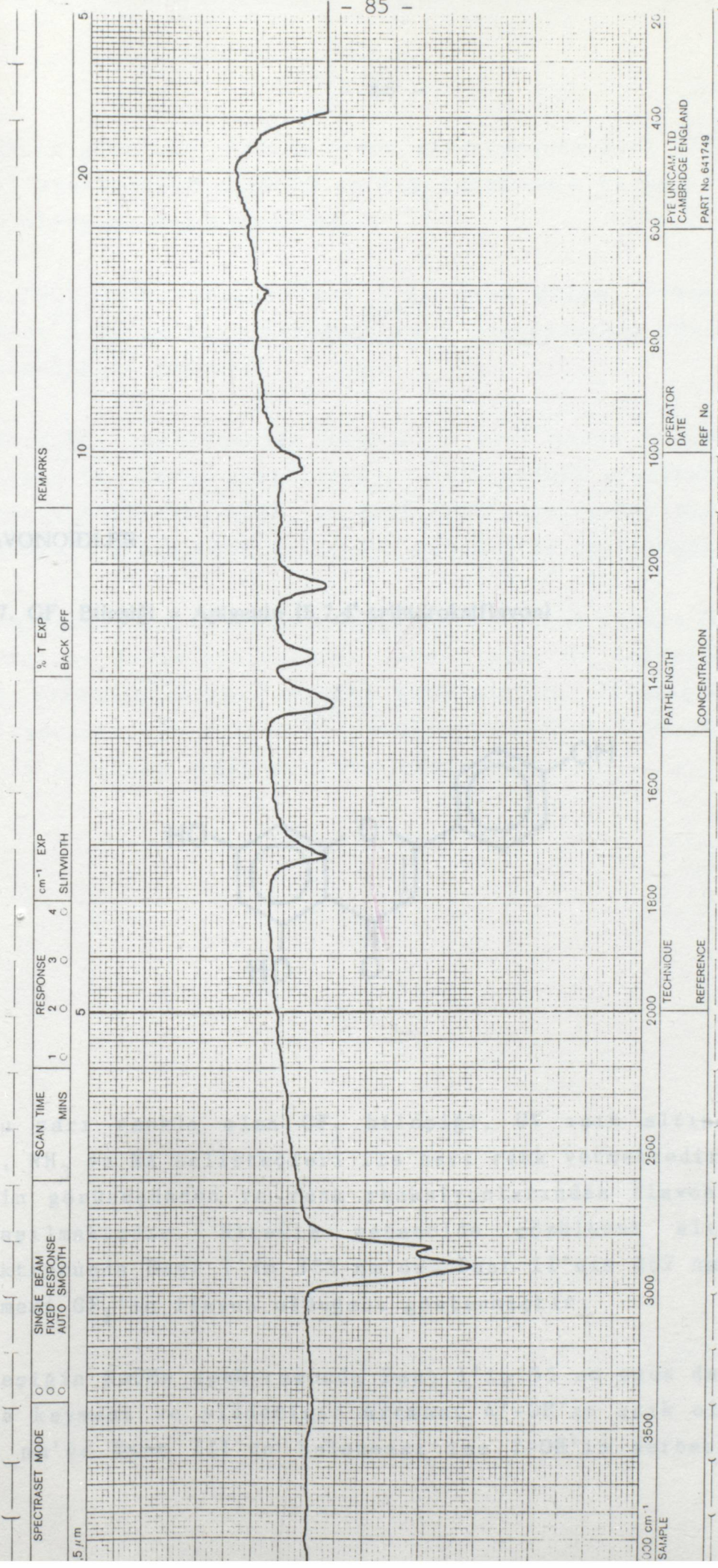
GS_1 bileşiği asetil türevinin IR spektrumunda (Şekil 18) ise hidroksil piki kaybolmuş, 1730 cm^{-1} de asetil bandı gözlenmiştir.

Δ^5 sterol yapısında olan β -sitosterol'ün GS_1 bileşiği ile ince tabaka kromatografisinde karşılaştırılması sonucu, aynı Rf değerlerini ve aynı rengi vermiştir. Ayrıca spektral ve diğer bulguların standart örneklerle aynı olması bileşiğin β -sitosterol olduğunu kanıtlamıştır.



Şekil 17. GS₁ Bileşiği Acetil Turşu'nun IR Spektrumu

Şekil 17. GS₁ Bileşiği IR Spektrumu



SPECTRASET MODE SINGLE BEAM RESPONSE 1 SCAN TIME 1 MINS 1 SLITWIDTH 4 EXP 3 BACK OFF 0
 FIXED RESPONSE 2 SLITWIDTH 4 EXP 3 BACK OFF 0
 AUTO SMOOTH 0 SLITWIDTH 4 EXP 3 BACK OFF 0

REMARKS

OPERATOR _____ DATE _____ REF No _____
 FVE UNICAM LTD CAMBRIDGE ENGLAND PART No 641749
 TECHNIQUE _____ REFERENCE _____
 PATHLENGTH _____ CONCENTRATION _____

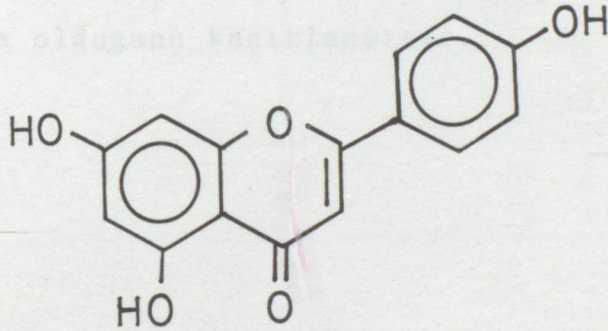
Şekil 18. GS₁ Bileşiği Asetil Türevi IR Spektrumu

olduğunu gösterir. Ayrıca NaOAc spektrumunda Bant II'nin metanol spektrumunda göre 10 nm'lik batokromik kayması 7-OH'in açık olduğunu doğrulamaktadır.

AlCl₃/HCl spektrumunda Bant I'in uzun dalga boyuna 30 nm kayması 5-OH'in açık olduğunu ve 5 pozisyonunda silyonlaşma bulunmadığını gösterir.

NaOAc/H₂SO₄ spektrumunda Bant I'in uzun dalga boyuna doğru belirgin bir kayma göstermediği p-dihidroksil gruplarının olmadığı belirtilir. AlCl₃ ve AlCl₃/HCl spektrumlarında da ay-
FLAVONOİDLER hidroksi grupların bulunduğu doğrulanmaktadır.

3.3.7. GF₁ Bileşiği = Apigenin (5,7,4'-trihidroksiflavon)



Koyu sarı renkli olan GF₁ bileşiği, UV ışık altında koyu mor, NH₃ ve NA belirteçleri ile sarı renk vermektedir. Bileşiğin görünüşünden ve renk reaksiyonlarından flavon olduğu anlaşılmaktadır. Nitekim metanolde çözülerek alınan UV spektrumunda Bant I'in 333 nm'de, Bant II'nin 267 nm'de görülmesi GF₁'in flavon olduğunu göstermiştir.

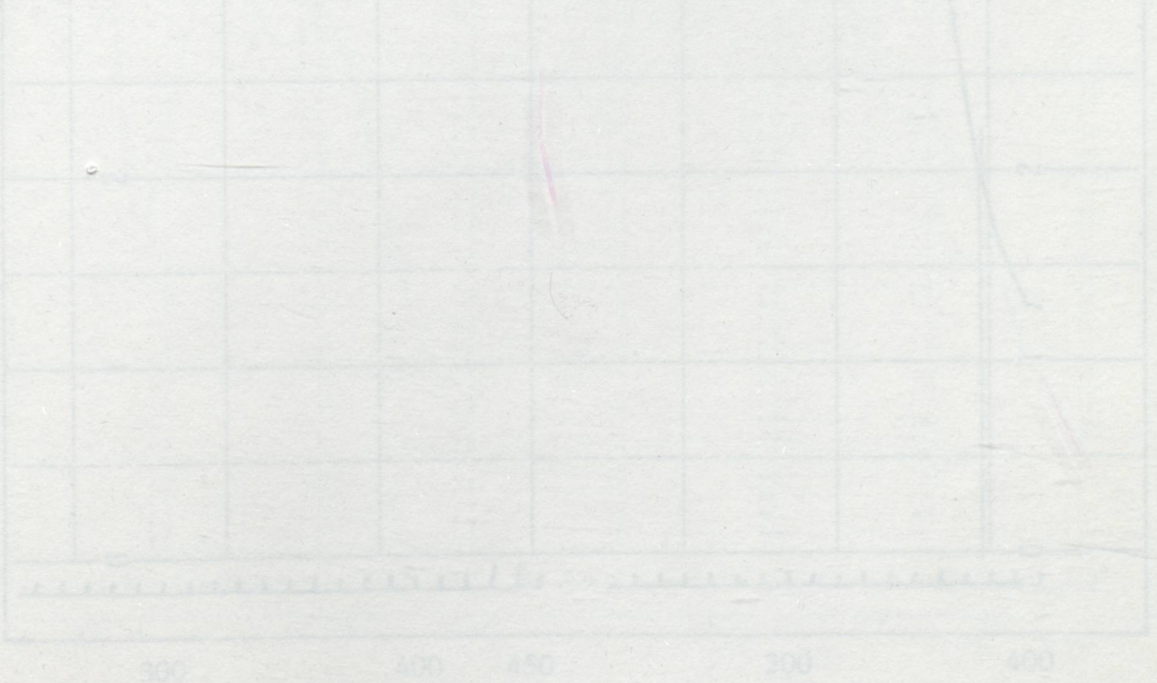
Bileşiğin NaOMe spektrumunda Bant I'in 55 nm uzun dalga boyuna kayması ve şiddetinin artması 4'-OH'in açık olduğunu, 320 nm'de Bant III'ün bulunması ise 7-OH'in serbest halde

olduğunu gösterir. Ayrıca NaOAc spektrumunda Bant II'nin metanol spektrumuna göre 10 nm'lik batokromik kayması 7-OH'in açık olduğunu doğrulamaktadır.

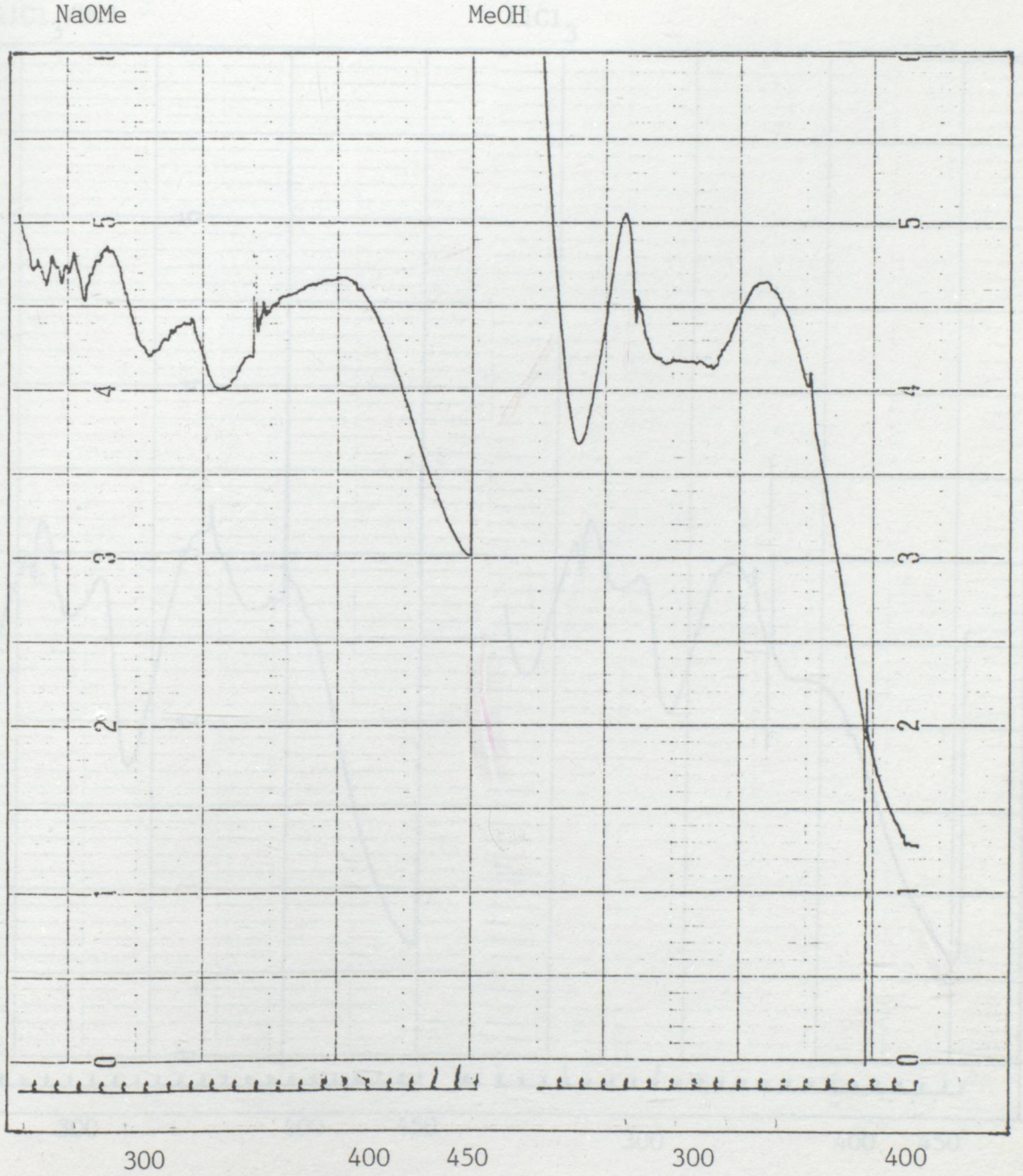
AlCl_3/HCl spektrumunda Bant I'in uzun dalga boyuna 50 nm kayması 5-OH'in açık olduğunu ve 6 pozisyonunda süstitüent bulunmadığını gösterir.

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

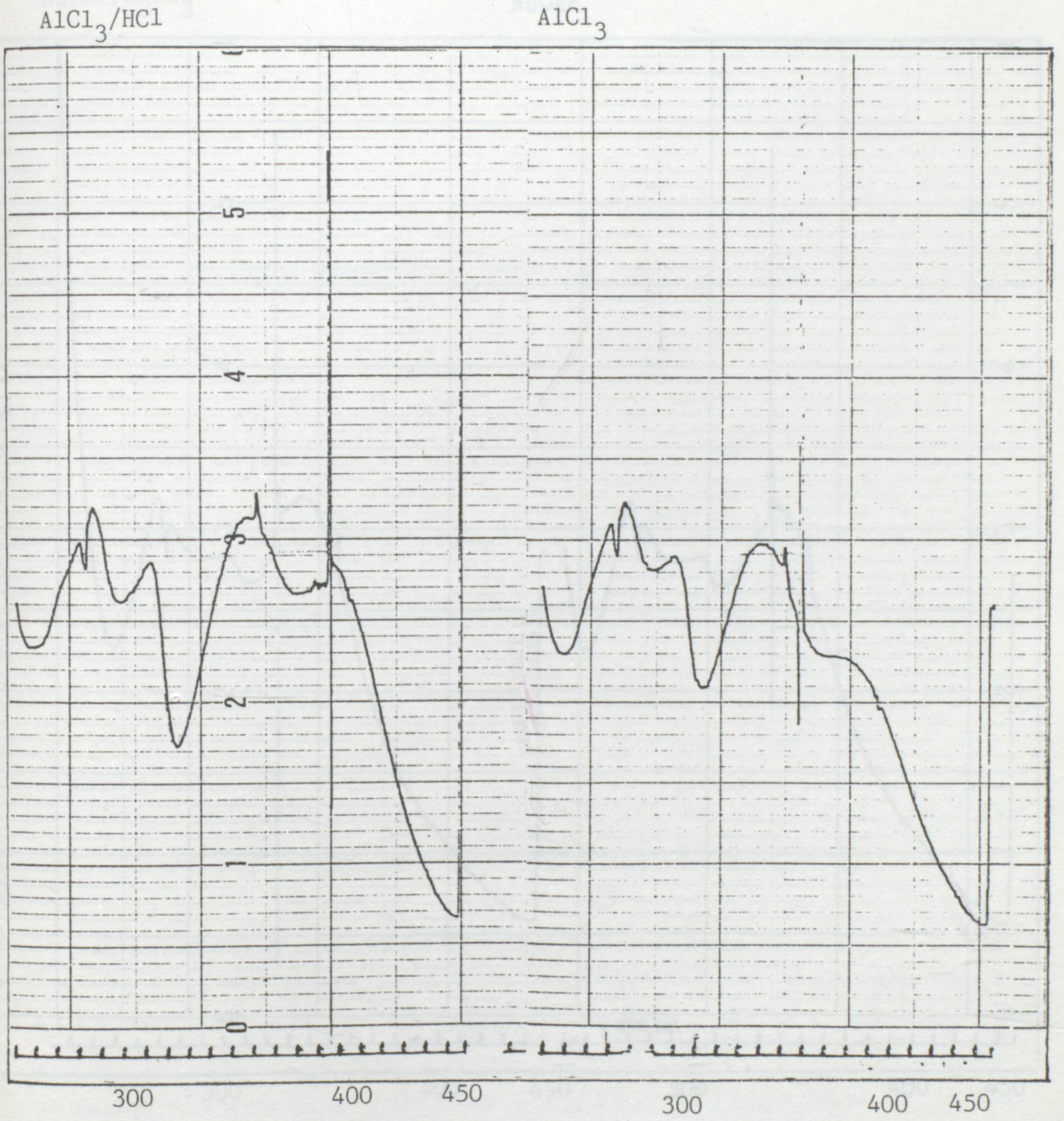
GF_1 bileşiğinin, standart apigenin ile ince tabaka kromatografisinde karşılaştırılması sonucu aynı Rf değerlerini ve renk reaksiyonlarını verdiği görülmüştür. Bileşiğin kayma belirteçleri ile alınan UV spektrumları (Şekil 19,20,21) da GF_1 'in apigenin olduğunu kanıtlamıştır.



Şekil 19. GF_1 bileşiğinin metanol ve NaOAc UV spektrumu



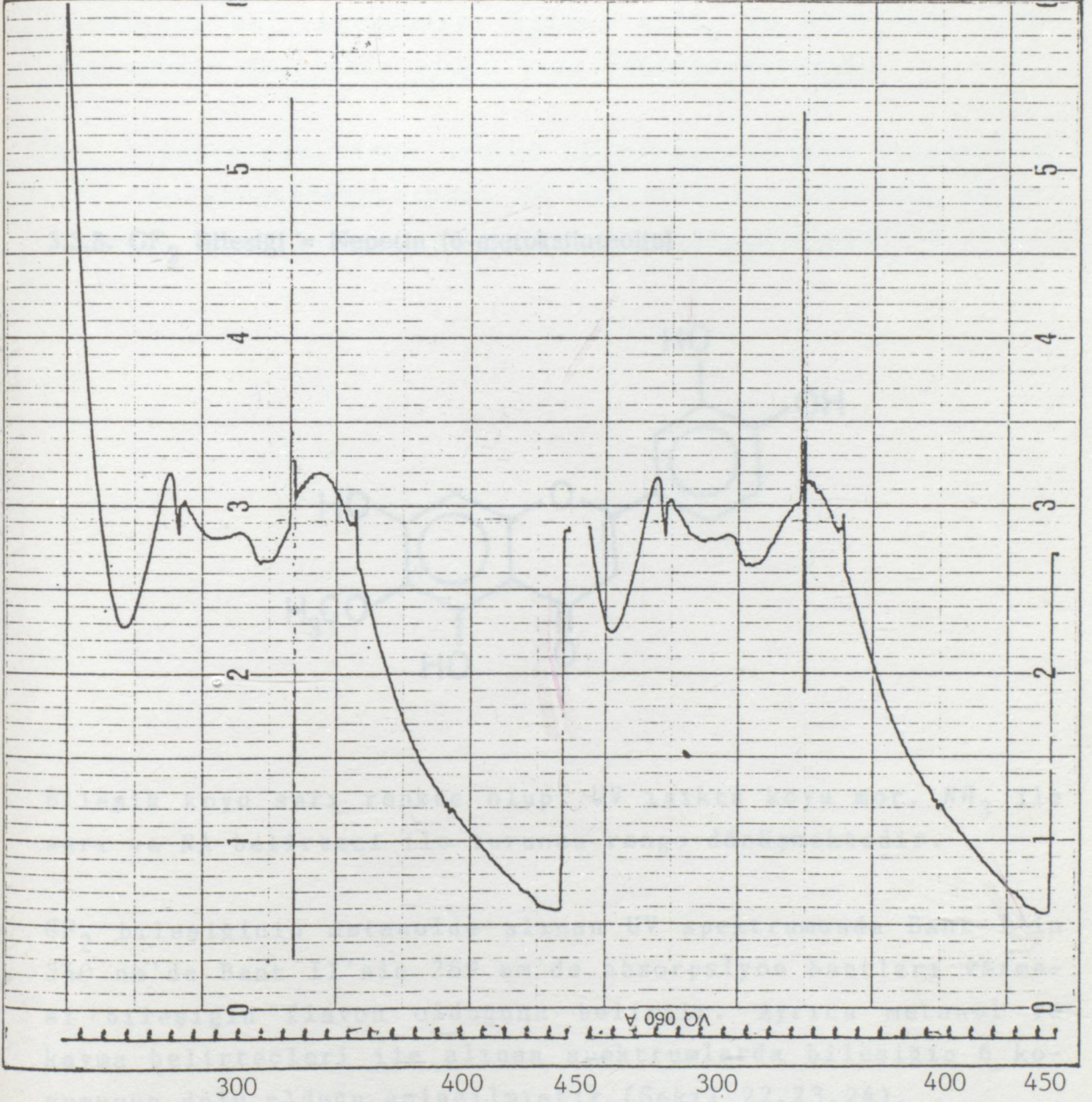
Şekil 19. GF₁ Bileşiği MeOH ve NaOMe UV Spektrumu



Şekil 20. GF_1 Bileşiği $AlCl_3$ ve $AlCl_3/HCl$ UV Spektrumu

NaOAc/H₃BO₃

NaOAc



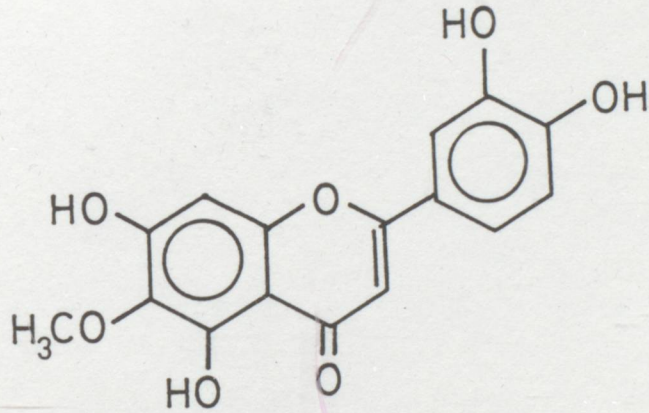
Şekil 21. GF₁ Bileşiği NaOAc ve NaOAc/H₃BO₃ UV Spektrumu

$AlCl_3/HCl$ spektrumunda Bant I'in metanol spektrumuna göre 15 nm'lik hipsekromik kayma göstermesi bileşikte 5-OH, 6-OCH₃ sisteminin varlığını kanıtlanmaktadır.

$NaOAc/H_3BO_3$ spektrumunda Bant I'in metanol spektrumuna göre uzun dalga boyuna 27 nm kadar kayması 6-sihidroksi durumunun varlığını belirtmektedir. Ayrıca $AlCl_3$ ve $AlCl_3/HCl$ spektrumlarının da farklı oluşu bunu doğrulamaktadır.

GF_2 bileşiğinin, ince tabaka kromatografisinde standart örnek ile karşılaştırılması ve spektral bulgularının da aynı

3.3.8. GF_2 Bileşiği = Nepetin (6-metoksiluteolin) olduğunu göstermektedir.



Bileşik koyu sarı renkte olup, UV ışıktta koyu mor, NH_3 ile sarı ve NA belirteci ile turuncu renge dönüşmektedir.

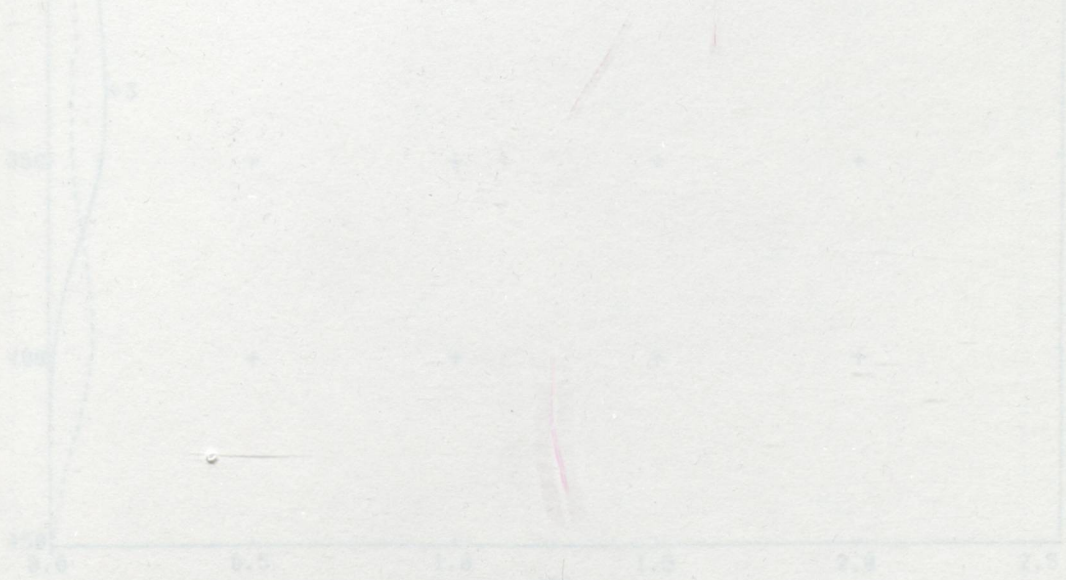
GF_2 bileşiğinin metanolde alınan UV spektrumunda Bant I'in 340 nm'de Bant II'nin 269 nm'de absorpsiyon bantları vermesi bileşiğin flavon olduğunu belirtir. Ayrıca metanol ve kayma belirteçleri ile alınan spektrumlarda bileşiğin 6 konumunun dolu olduğu anlaşılmıştır (Şekil 22,23,24).

$NaOMe$ spektrumunda Bant I'in uzun dalga boyuna 60 nm kayması ve şiddetinin artması 4'-OH'ın açık olduğunu, 348 nm de Bant III'ün bulunması ise 7-OH'ın açık olduğunu göstermektedir.

AlCl_3/HCl spektrumunda Bant I'in metanol spektrumuna göre 16 nm'lik hipsokromik kayma göstermesi bileşikte 5-OH, 6-OCH₃ sisteminin varlığını kanıtlamaktadır.

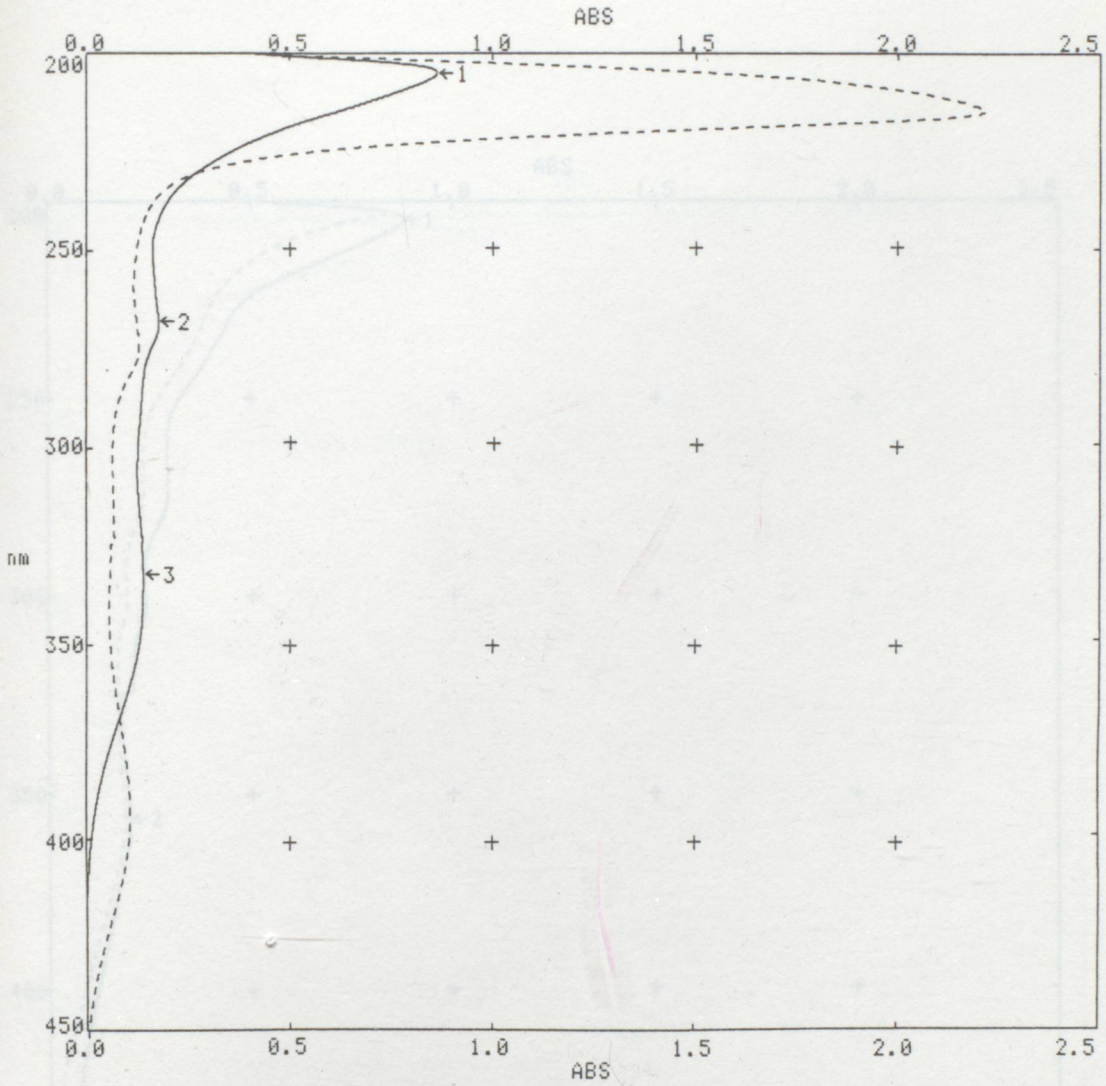
$\text{NaOAc}/\text{H}_3\text{BO}_3$ spektrumunda Bant I'in metanol spektrumuna göre uzun dalga boyuna 27 nm kadar kayması o-dihidroksi durumunun varlığını belirtmektedir. Ayrıca AlCl_3 ve AlCl_3/HCl spektrumlarının da farklı oluşu bunu doğrulamaktadır.

GF_2 bileşiğinin, ince tabaka kromatografisinde standart örnek ile karşılaştırılması ve spektral bulgularının da aynı olması, bileşiğin 6-metoksiluteolin olduğunu göstermektedir.



SAMPLE	REFERENCE
.....
CELL PATH	OPTICITY
.....
.....
.....
.....

Şekil 27. GF_2 Bileşiği NaOH (-) ve NaOAc (---) UV Spektrumu



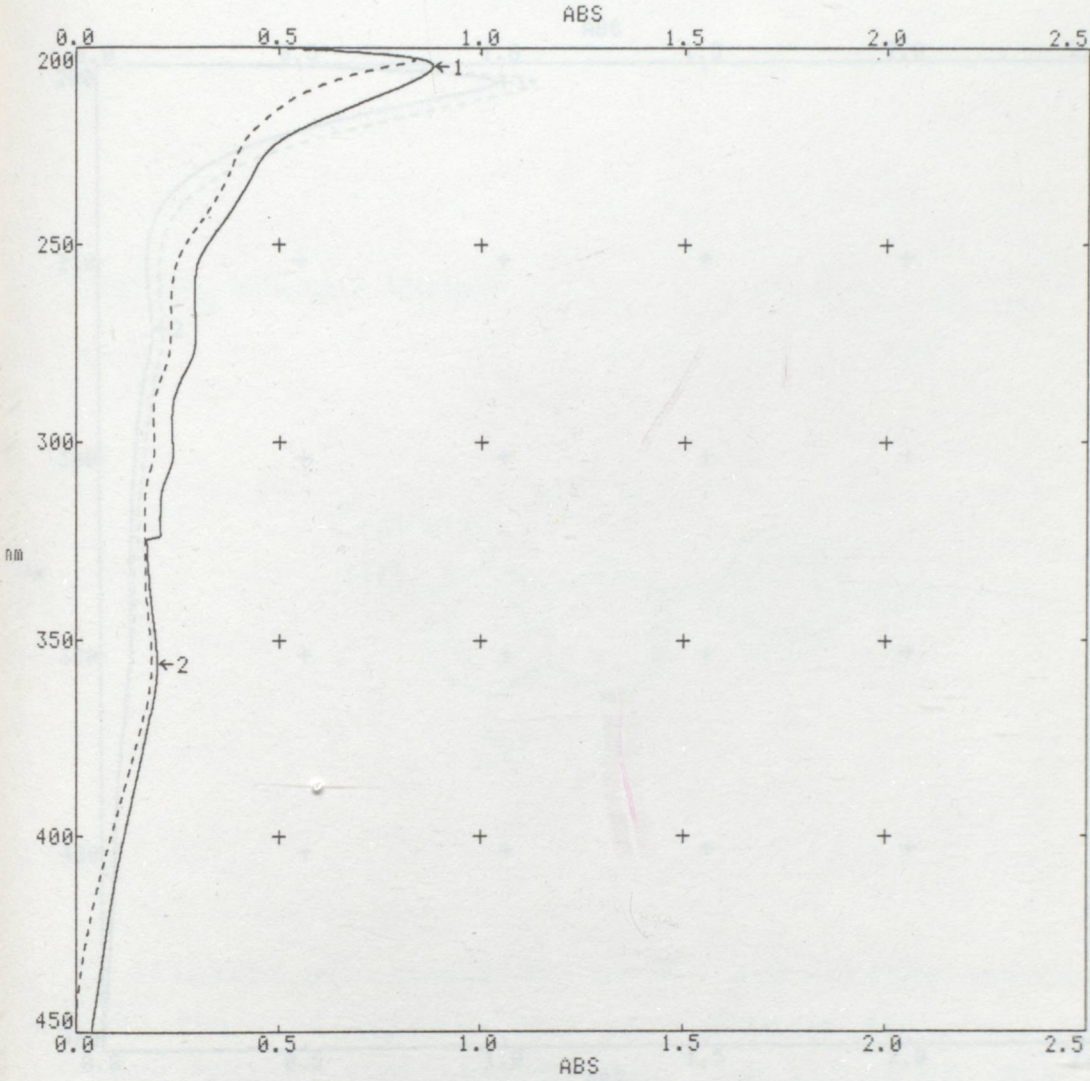
SAMPLE ----- REFERENCE -----
CELL PATH ----- OPERATOR -----

6 1 N 1

	1	2	3	4	5	6	7	8
λ	204.8	268.0	332.0					
ABS	0.866	0.178	0.140					

Şekil 22. GF₂ Bileşiği MeOH (-) ve NaOMe (---) UV Spektrumu

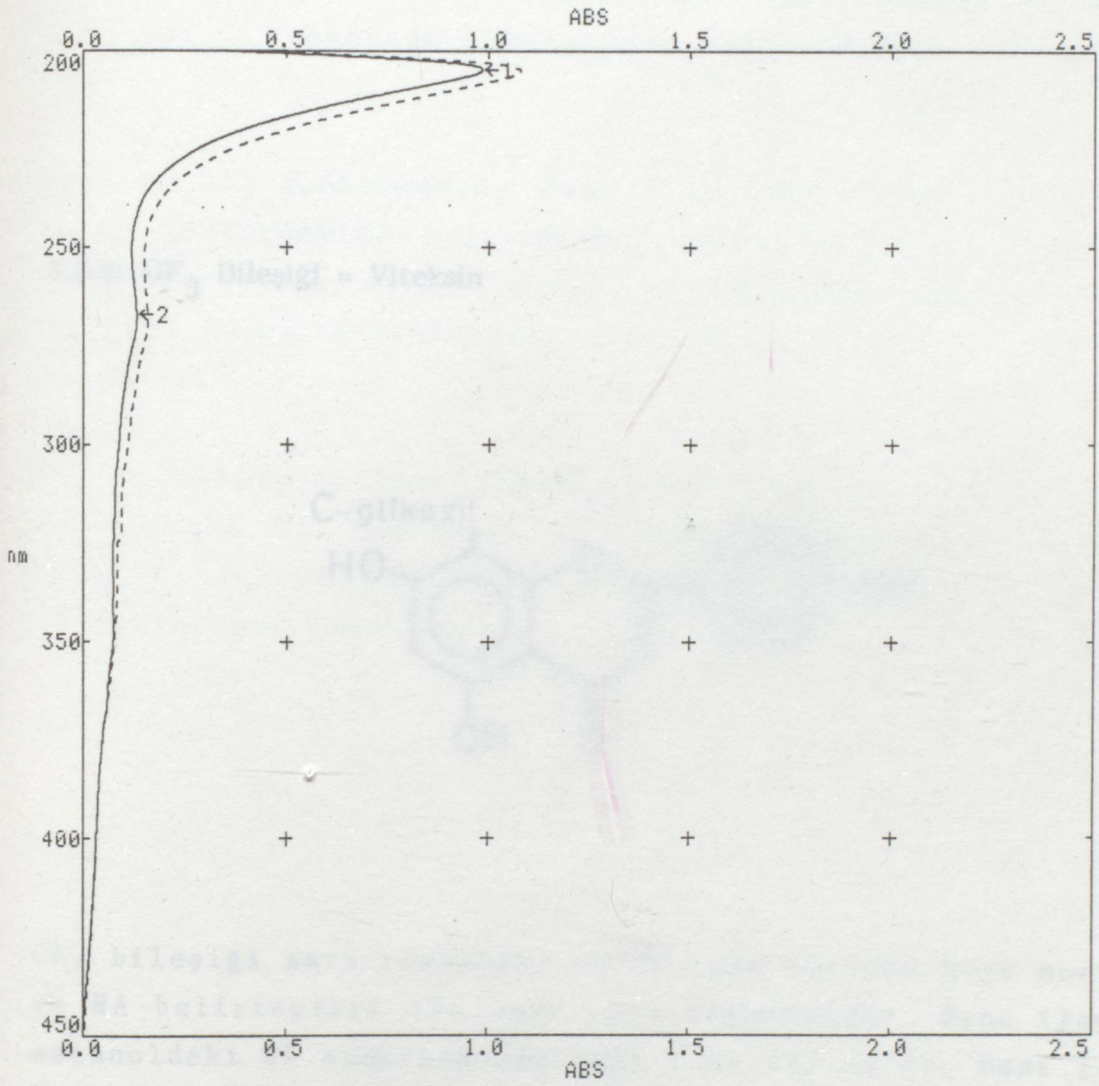
Şekil 23. GF₂ Bileşiği AlCl₃ (-) ve AlCl₃/HCl (---) UV Spektrumu



SAMPLE ----- REFERENCE -----
CELL PATH ----- OPERATOR -----

8	1	1 + AlCl3							
		1	2	3	4	5	6	7	8
		λ	204.7	356.0					
		ABS	0.882	0.202					

Şekil 23. GF_2 Bileşiği AlCl_3 (-) ve AlCl_3/HCl (---) UV Spektrumu



SAMPLE ----- REFERENCE -----
CELL PATH ----- OPERATOR -----

11 1 1 + CH3COONa

	1	2	3	4	5	6	7	8
λ	204.8	267.2						
ABS	0.985	0.133						

Şekil 24. GF₂ Bileşiği NaOAc (-) ve NaOAc/H₃BO₃ (---) UV Spektrumu

bu da Bant III'de bulunması ve ayrıca NaOAc spektrumunda Bant II'nin net bir şekilde görünmesi 7-OH'in serbest olduğunu belirtir.

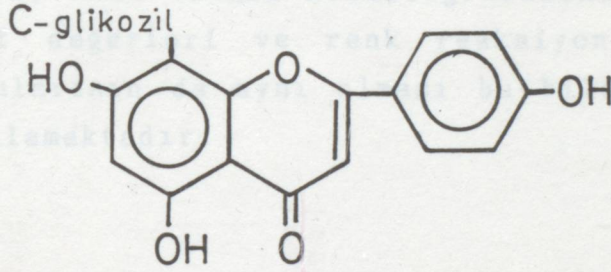
AlCl₃ spektrumunda Bant I'in 41 nm uzun dalga boyuna kayması 5-OH'in açık olduğunu ve AlCl₃/HCl spektrumunda değişiklik olmayışı 6 konumunda sübstitüe olmadığını göstermektedir.

NaOAc/H₂BO₃ spektrumunda Bant I'in uzun dalga boyuna doğru kayması 6 konumunda sübstitüe olmadığını göstermektedir.

3.3.9. GF₃ Bileşiği = Viteksin

AlCl₃ ve AlCl₃/HCl spektrumlarının da aynı ölçüde sübstitüe olmadığını göstermektedir.

GF₃ bileşiğinin yapısal formülü kromatografyalarda standart viteksin ile karşılaştırılarak yapısal olarak aynı olduğunu göstermektedir.



GF₃ bileşiği sarı renklidir ve UV ışık altında koyu mor, NH₃ ve NA belirteçleri ile sarı renk vermektedir. Buna ilaveten metanoldeki UV spektrumunda Bant I'in 323 nm'de, Bant II'nin 271 nm'de bulunması bileşiğin flavon olduğunu göstermektedir.

Metanol ve kayma belirteçleri ile alınan UV spektrumlarında (Şekil 25,26,27) bileşiğin 8-pozisyonunun dolu olduğu anlaşılmıştır.

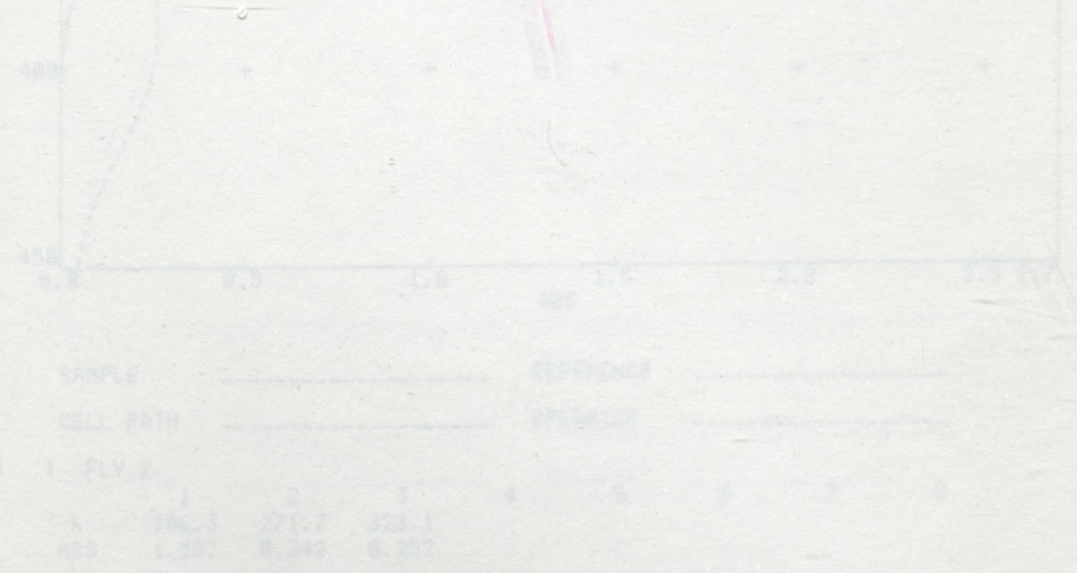
NaOMe spektrumunda Bant I'in 66 nm uzun dalga boyuna kayması ve şiddetinin artması 4'-OH'in açık olduğunu gösterir. 324

nm de Bant III'ün bulunması ve ayrıca NaOAc spektrumunda Bant II'nin metanol spektrumuna göre 8 nm kayması 7-OH'in serbest olduğunu belirtir.

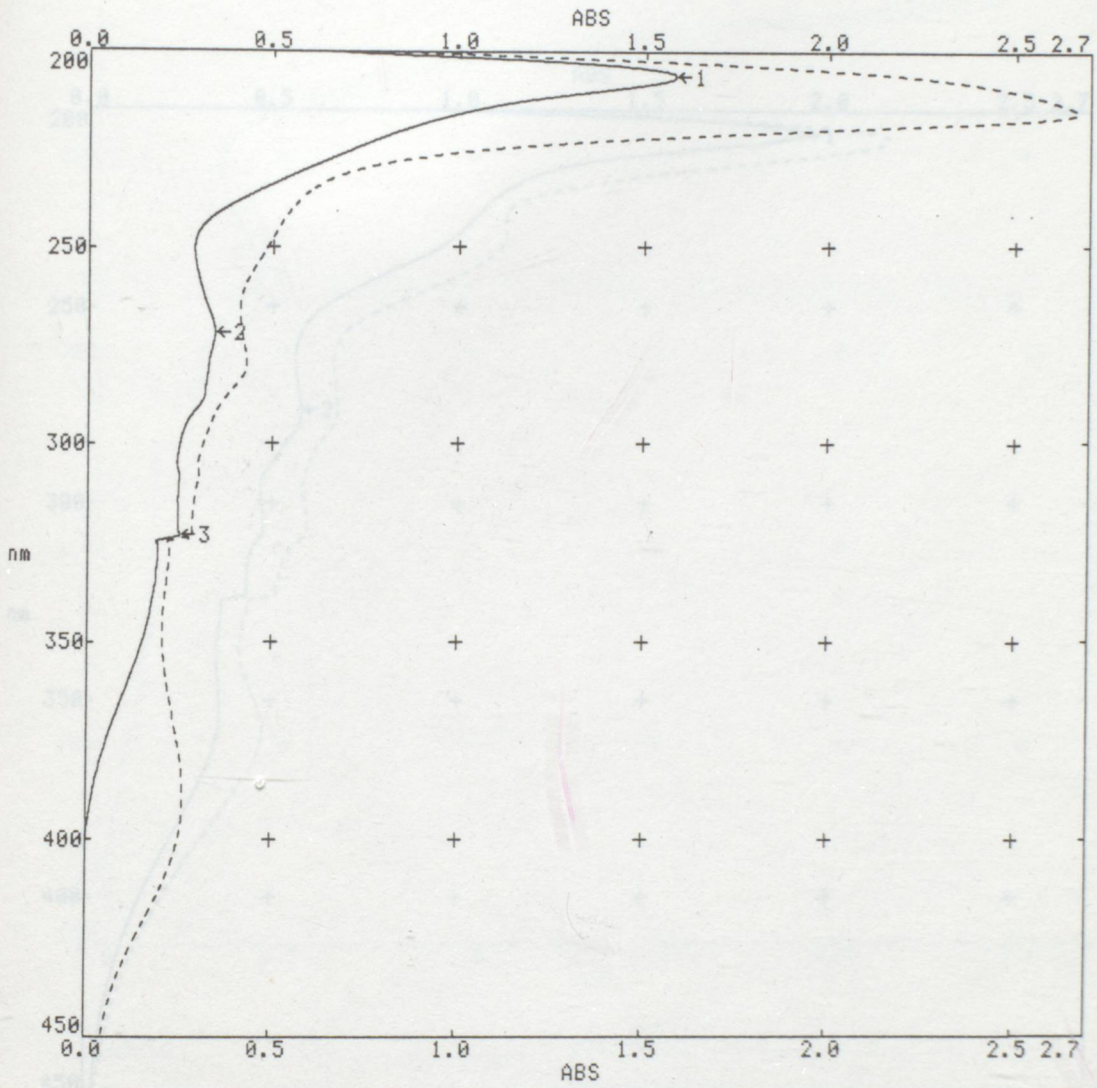
$AlCl_3$ spektrumunda Bant I'in 41 nm uzun dalga boyuna kayması 5-OH'in açık olduğunu ve $AlCl_3/HCl$ spektrumunda değişiklik olmayışı 6 konumunda süstitüent bulunmadığını göstermektedir.

NaOAc/ H_3BO_3 spektrumunda Bant I'in uzun dalga boyuna doğru kayma göstermeyişi o-dihidroksi durumunun mevcut olmadığını belirtmektedir. Ayrıca $AlCl_3$ ve $AlCl_3/HCl$ spektrumlarının da aynı oluşu o-dihidroksi gruplarının olmadığını doğrulamaktadır.

GF_3 bileşiğinin, ince tabaka kromatografisinde standart viteksin ile R_f değerleri ve renk reaksiyonlarının ayrıca spektral bulgularının da aynı olması bu bileşiğin viteksin olduğunu kanıtlamaktadır.



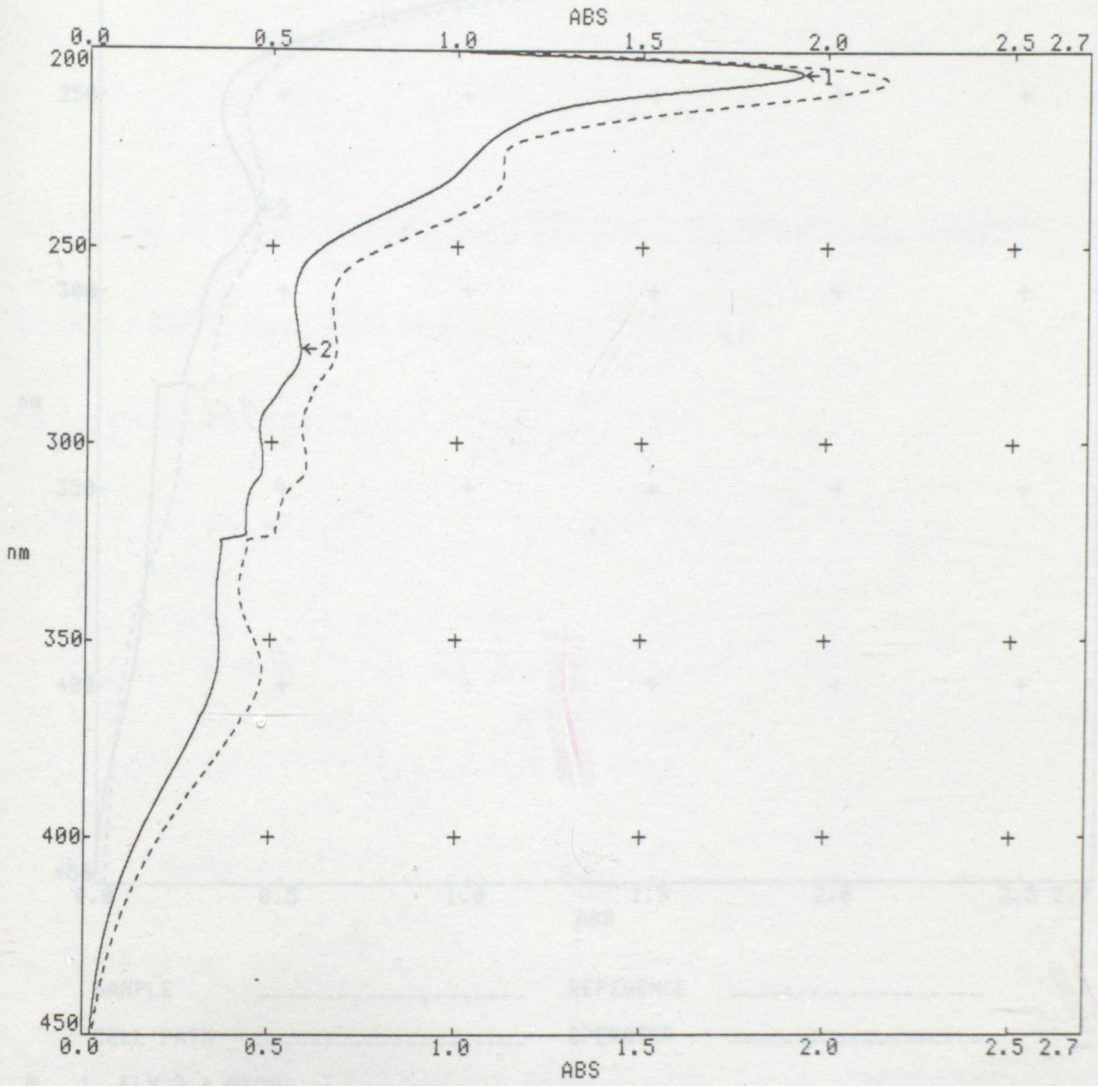
Şekil 25. GF_3 bileşiği NaOH (-) ve NaOAc (- - -) İV Spektrumu



SAMPLE ----- REFERENCE -----
CELL PATH ----- OPERATOR -----

5	1	FLV	2						
	λ	206.3	271.7	323.1					
	ABS	1.582	0.342	0.252					

Şekil 25. GF₃ Bileşiği MeOH (-) ve NaOMe (---) UV Spektrumu

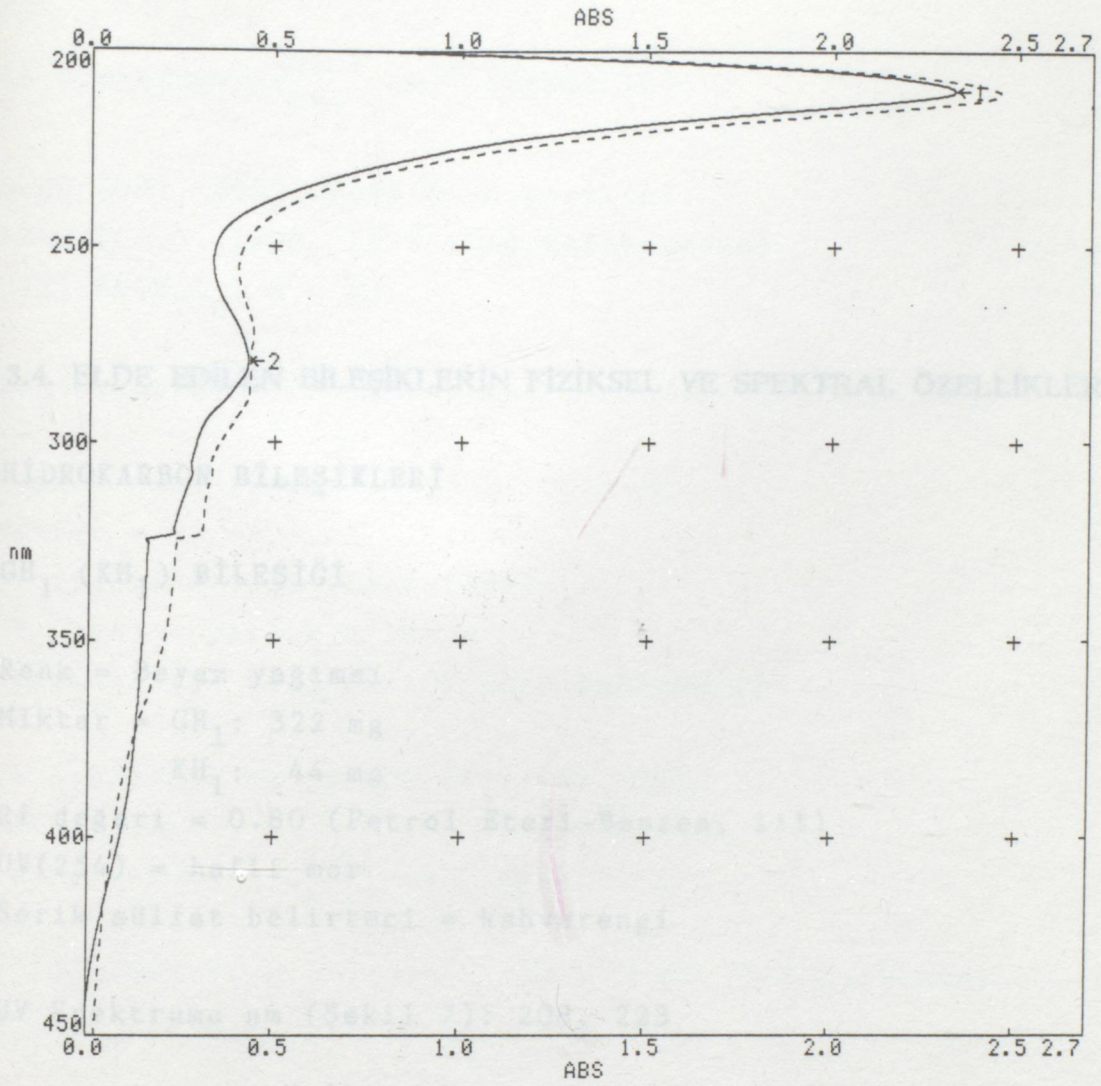


SAMPLE ----- REFERENCE -----
CELL PATH ----- OPERATOR -----

7 1 FLV 2 + HCl

	1	2	3	4	5	6	7	8
λ	205.8	276.0						
ABS	1.932	0.576						

Şekil 26. GF_3 Bileşiği AlCl_3 (---) ve AlCl_3/HCl UV Spektrumu



SAMPLE ----- REFERENCE -----
CELL PATH ----- OPERATOR -----

8 1 FLV 2 + NaOAc

	1	2	3	4	5	6	7	8
λ	210.1	279.2						
ABS	2.325	0.429						

Şekil 27. GF_3 Bileşiği NaOAc (-) ve NaOAc/ H_3BO_3 (---) UV Spektrumu

UV (254) = hafif mor

Serik sülfat belirteci = gri-kahverengi

UV Spektrumu nm (Şekil 9): 242

IR Spektrumu $\nu_{\text{max}}^{\text{NaCl}}$ cm^{-1} (Şekil 10):

3400 (OH), 2930, 2850 (C-H gerilim),

1740 (C=O), 1460, 1375 (C-H deformasyon)

720 (CH_2)_n, n ≥ 4).

3.4. ELDE EDİLEN BİLEŞİKLERİN FİZİKSEL VE SPEKTRAL ÖZELLİKLERİ

HİDROKARBON BİLEŞİKLERİ

Miktar = 22 mg

GH₁ (KH₁) BİLEŞİĞİ

UV (254) = parlak aflatoksin

Renk = Beyaz yağımsı

Miktar = GH₁: 322 mg

KH₁: 44 mg

Rf değeri = 0.80 (Petrol Eteri-Benzen, 1:1)

UV(254) = hafif mor

Serik sülfat belirteci = kahverengi

2930, 2850 (C-H gerilim), 1460, 1350 (C-H deformasyon), 720

UV Spektrumu nm (Şekil 7): 208, 223

IR Spektrumu $\nu_{\text{max}}^{\text{NaCl}}$ cm^{-1} (Şekil 8):

2920, 2860 (C-H gerilim), 1465, 1380 (C-H deformasyon), 720

(CH_2)_n, n ≥ 4).

Rf değeri = 0.75 (Benzen-Kloroform, 1:1)

GH₂ BİLEŞİĞİ

Serik sülfat belirteci = açık kahverengi

Renk = Sarı yağımsı

Miktar = 18 mg

Rf değeri = 0.86 (Petrol Eteri-Benzen, 1:2)

UV (254) = hafif leke

Serik sülfat belirteci = gri-kahverengi

UV Spektrumu nm (Şekil 9): 242

IR Spektrumu $\nu_{\text{max}}^{\text{NaCl}}$ cm^{-1} (Şekil 10):

3400 (OH), 2930, 2850 (C-H gerilim),
1740 (C=O), 1460, 1375 (C-H deformasyon)
720 ($(\text{CH}_2)_n$, $n \geq 4$).

KH₂ BİLEŞİĞİ

Renk = Sarı yağımsı

Miktar = 22 mg

Rf değeri = 0.83 (Kloroform)

UV (254) = parlak eflatun

Serik sülfat belirteci = açık kahverengi

UV Spektrumu nm (Şekil 11): 211, 231

IR Spektrumu $\nu_{\text{max}}^{\text{NaCl}}$ cm^{-1} (Şekil 12):

2930, 2865 (C-H gerilim), 1460, 1380 (C-H deformasyon), 720
($(\text{CH}_2)_n$, $n \geq 4$).

KH₃ BİLEŞİĞİ

Renk = Sarı

Miktar = 4 mg

Rf değeri = 0,75 (Benzen-Kloroform, 1:1)

UV(254) = hafif leke

Serik sülfat belirteci = açık kahverengi

UV Spektrumu nm (Şekil 13): 226

IR Spektrumu $\nu_{\max}^{\text{NaCl}} \text{ cm}^{-1}$ (Şekil 14):

2920, 2850 (CH_2 gerilim), 1730 ($\text{C}=\text{O}$), 1465, 1380 (CH_2 defor-
masyon), 720 ($\left(\text{CH}_2\right)_n$, $n \geq 4$).

LAKTON BİLEŞİĞİ

GL₁ BİLEŞİĞİ = Anemonin

Renk = Krem

Miktar = 27 mg

Rf değeri = 0,75 (Petrol Eteri-Benzen, 1:2)

UV(254) = hafif leke

Serik sülfat belirteci = gri-kahverengi

UV Spektrumu nm (Şekil 15): 213, 226

IR Spektrumu $\nu_{\max}^{\text{NaCl}} \text{ cm}^{-1}$ (Şekil 16)

2925, 2850 (CH_2 gerilim), 1735 ($\text{C}=\text{O}$) 1460, 1380 (CH_2 defor-
masyon), 1170 ($\text{C}-\text{O}$ gerilim).

STEROİD BİLEŞİĞİ

GS₁ BİLEŞİĞİ = β -Sitosterol

Renk = Beyaz kristal

Miktar = 33 mg

e.n. = 136-137°C

Rf değeri = 0,53 (kloroform)

Serik sülfat belirteci = kırmızı-turuncu

IR spektrumu $\nu_{\max}^{\text{KBr}} \text{ cm}^{-1}$ (Şekil 17):

3400 (OH), 1650 (doymamışlık), 1375 (gem dimetil), 1060,
1050 ($\text{C}-\text{O}$).

GS₁ Asetil Türevi

IR Spektrumu ν_{\max}^{NaCl} cm⁻¹ (Şekil 18):

1730 ve 1250 (CH₃-COO), 1460 (CH₂ deformasyon), 1375 (gem dimetil), 1045 (C-O).

FLAVONOID BİLEŞİKLERİ

GF₁ BİLEŞİĞİ = Apigenin

Renk = Koyu sarı

Miktar = 7 mg

Rf değeri = 0.66 (% 60 AcOH)

UV (366) = koyu mor

NH₃/UV = sarı

NA/UV = sarı

UV Spektrasi nm (Şekil 19,20,21):

MeOH: 333, 274 (omuz), 267

NaOMe: 388, 320, 278

AlCl₃: 387, 352, 305, 280, 272

AlCl₃/HCl: 383, 339, 301, 280, 270

NaOAc: 338, 300, 275, 257

NaOAc/H₃BO₃: 334, 300, 278, 268

GF₂ BİLEŞİĞİ = Nepetin

Renk = Koyu sarı

Miktar = 3 mg

Rf değeri = 0.47 (% 60 AcOH)

UV (366) koyu mor

NH₃/UV = parlak sarı

NA/UV = turuncu

UV Spektrasi nm (Şekil 22, 23, 24):

MeOH: 340, 273 (omuz), 269
NaOMe: 400, 348, 280 (omuz), 260
AlCl₃: 418, 348, 276 (omuz), 264
AlCl₃/HCl: 356, 310, 277 (omuz), 250
NaOAc: 398, 350, 280, 270
NaOAc/H₃BO₃: 367, 263

GF₃ BİLEŞİĞİ = Viteksin

Renk = Sarı

Miktar = 4 mg

Rf değeri = 0.68 (% 60 AcOH)

UV (366) = koyu mor

NH₃/UV = sarı

NA/UV = sarı

UV Spektrasi nm (Şekil 25,26,27):

MeOH: 323, 290 (omuz), 271
NaOMe: 389, 324, 280
AlCl₃: 365, 327, 308, 277
AlCl₃/HCl: 364, 306, 276
NaOAc: 378, 322, 308, 279
NaOAc/H₃BO₃: 342, 320, 308, 272

Bitkiden elde edilen flavonoid bileşikleri; apigenin (GH₁ bileşiği), nepetin (GH₂ bileşiği) ve viteksin (GH₃ bileşiği) dir. Bu bileşiklerin yapıları, metanol ya kayma belirteçleri ile alınan spektrumları ayrıca standart örneklerle kromatogramlarına karşılaştırılması sonucu saptanmıştır.

Kimyasal olarak ilk kez incelenen *R. constantinopolitanus* bitkisinden elde edilen bileşikler, diğer *Ranunculus* türlerinden elde edilenler ile benzerdir. Steroid yapısında olan β -sitosterol, daha önce *R. quasipartensis*, flavonoid bileşiklerinden viteksin, *R. repens* ve *R. polyanthus* bitkilerinden elde edilmiştir. Fakat apigenin ve nepetin'ın varlığına *Ranunculus* türlerinde rastlanmamıştır.

SONUÇ VE TARTIŞMA

Ranunculus constantinopolitanus (DC.) d'Urv. bitkisinin kimyasal olarak incelenmesi amacıyla yapılan bu çalışmada, dört hidrokarbon bileşiği, lakton yapısında bir bileşik, bir steroid ve üç flavonoid bileşiği elde edilmiştir.

GH₁, GH₂, KH₂, KH₃ bileşikleri bitkinin toprak üstü ve kök kısımlarından izole edilmiştir. Kromatografik ve spektroskopik yöntemler ile tanınan bu bileşiklerin hidrokarbon yapısında oldukları bulunmuştur.

Ranunculus türlerinde yaygın olarak bulunan anemonin hakkında pek çok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmaların bir kaçından yararlanılarak elde edilen AN bileşiğinin, bitkinin toprak üstü kısmından izole edilen GL₁ bileşiği ile aynı olduğu görülmüş ve her iki bileşiğin de anemonin olduğu kromatografik ve spektroskopik yöntemlerle saptanmıştır.

Bitkinin toprak üstü kısmından elde edilen GS₁ bileşiğinin yapısı; ince tabaka kromatografisi, kendisinin ve asetil türevinin IR spektrumları, erime noktası ve bütün bu bilgilerin standart örnek ile karşılaştırılması sonucu aydınlatılmıştır. GS₁ bileşiğinin β -sitosterol olduğu bulunmuştur.

Bitkiden elde edilen flavonoid bileşikleri, apigenin (GF₁ bileşiği), nepetin (GF₂ bileşiği) ve viteksin (GF₃ bileşiği) dir. Bu bileşiklerin yapıları, metanol ve kayma belirteçleri ile alınan spektrumları ayrıca standart örneklerle kromatogramlarının karşılaştırılması sonucu saptanmıştır.

Kimyasal olarak ilk kez incelenen *R. constantinopolitanus* bitkisinden elde edilen bileşikler, diğer *Ranunculus* türlerinden elde edilenler ile benzerdir. Steroid yapısında olan β -sitosterol, daha önce *R. quelpaertensis*, flavonoid bileşiklerinden viteksin, *R. repens* ve *R. polyanthens* bitkilerinde bulunmuştur. Fakat apigenin ve nepetin'e çalışılan *Ranunculus* türlerinde rastlanmamıştır.

Aynehchi, Y., Salehi Sorashti, M. S., Ghahremani, M., Shabani, A., "Survey of Iranian Plants for Flavonoid Alkaloids, Flavonoids and Tannins" *J. Nat. Prod. Sci.* 23, 33-41 (1985).

Aynehchi, Y., Salehi Sorashti, M. S., Ghahremani, M., Qasbi, M., "Survey of Iranian Plants for Flavonoid Alkaloids, Flavonoids and Tannins" *J. Nat. Prod. Sci.* 23, 61-70 (1985).

Baytop, A., *Farmakolojik Bitkiler*, 1983, İstanbul (1983).

Baytop, T., *Türkçe ve İngilizce Bitkiler*, 1984, İstanbul (1984).

Barandiaran, G., Frenkel, P., Barandiaran, E. J., Frenkel, J., "The Biochemical Study of *Ranunculus* Species", *Phytochemistry* 22, 49-60 (1987).

Bergsdorf, H., "Über die Chemie, Toxikologie und Pharmakologie von Giftreichen Drogen mit besonderer Berücksichtigung der Ranunculaceen", *Schweizerische Anzeiger für Naturwissenschaften* 23, 233-6 (1946).

Bergmann, M., Ber. Schweiz. Bot. Ges., 24, 399-323 (1944).
Ref. C.A., 41, 2469c (1947).

Bernard, M. (alster), Metzger, M.J., Proc. Indiana Acad. Sci.,
70, 83-6 (1960). Ref. C.A., 51, 4149g (1964).

Beyer, H., Organic Chemistry, Verlag Harri Deutsch, Frankfurt,
furt., 553-57 (1963).

Billups, N.F., American Drug Index, F.B. Lloyd Co. Inc.,
Philadelphia-Toronto (1977).

KAYNAKLAR

Boas, F., Ber. Deut. Botan. Ges., 21, 1906 (1908).
Aynehchi, Y., Salehi Sormaghi, M.H., Amin, G.H., Khoshkhow, M.,
Shabani, A., "Survey of Iranian Plants for Saponins, Alkaloids,
Flavonoids and Tannins III", Int. J. Crude Drug Res.,
23, 33-41 (1985).

Aynehchi, Y., Salehi Sormaghi, M.H., Amin, G.H., Soltani, A.,
Qumehr, N., "Survey of Iranian Plants for Saponins, Alkaloids
Flavonoids and Tannins. II", Int. J. Crude Drug Res., 20,
61-70 (1982).

Baytop, A., Farmasötik Botanik, Dilek Matbaası, İstanbul
(1983).

Baytop, T., Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi, İst. Üniv. Yayın-
ları, İstanbul (1984).

Barandiaran, G., Bermejo, P., Carretero, M.E., Pardo, P., "Phy-
tochemical Study of Ranunculus Baudotii", Fitoterapia, 58,
59-60 (1987).

Bergman, M., "Über die Chemie, Toxikologie und Pharmakologie
von Hautreizenden Drogen mit Besonderer Berücksichtigung der
Ranunkulusarten", Schweizerische Apotheker-Zeitung, 84,
233-6 (1946).

Bergmann, M., Ber. Schweiz., Botan. Ges., 54, 399-522 (1944).
Ref. C.A., 41, 2463c (1947).

Bernard, M. (sister), Metzger, M.J., Proc. Indiana Acad. Sci.
70, 83-6 (1960). Ref. C.A., 61, 4149g (1964).

Beyer, H., Organic Chemistry, Verlag Harri Deutsch, Frankfurt,
555-57 (1963).

Billups, N.F., American Drug Index, T.B. Lippincott Company,
Philadelphia-Toronto (1977).

Boas, F., Ber. Deut. Botan. Ges., 52, 126-31 (1934). Ref.
C.A., 28, 3443³ (1934).

Bogojevski, D.; Mickovic, M., Arhiv. Farm., 12(6), 525-8 (1962)
Ref. C.A., 60, 2250d (1964).

Bonora, A., Dall'olio, G., Donini, A., Bruni, A., "An HPLC
Screening of Some Italian Ranunculaceae for the Lactone
Protoanemonin", Phytochemistry, 26, 2277-79 (1987).

Buchecker, R., Liaaen-Jensen, S., "Reinvestigation of Original
Taraxanthin Samples", Helvetica Chimica Acta, 59(4), 1360-4,
(1976).

Bukowiecki, H., Zarebska, I., Acta-Polan. Pharm., 23(2), 163-7
(1966). Ref. C.A., 65, 15820g (1966).

Cameroni, R., Bernabei, M.T., Atti Soc. Nat. e Mat. Modena,
87-88, 125-31 (1957). Ref. C.A., 53, 15215c (1959).

Claus, E.P., Tyler, V.E., Pharmacognosy, Lea-Febiger, Phila-
delphia, 182 (1965).

Cram, J.D., Hammond, S.G., Organic Chemistry, Mc Graw-Hill
Book Company, New York (1959).

Dabi-Lengyel, E., Tetenyi, P., Hethelyi, I., Simonidesz, V., Dobos, J., *Herba Hung.*, 21(2-3), 149-56 (1982). Ref. C.A., 99, 76721a (1983).

Davis, P.H., *Flora of Turkey and the East Aegean Islands* Edinburg at the university Press, 1 (1965); 10 (1988).

Drozd, G.A., Koreschchuk, K.E., Litvinenko, V.I., *Farm. Zh.*, 24(1), 59 (1969). Ref. C.A., 70, 112350r (1969).

Drozd, G.A., Koreshchuk, K.E., Litvinenko, V.I., *Farm. Zh.*, 24(2), 79 (1969). Ref. C.A., 72, 59019c (1970).

Drozd, G.A., Koreshchuk, K.E., Litvinenko, V.I., *Khim. Prir. Soedin.*, 5(3), 180 (1969). Ref. C.A., 71, 98964f (1969).

Drozd, G.A., Litvinenko, V.I., *Farm. Zh.*, 24(5), 77-8 (1969). Ref. C.A., 72, 28390n (1970).

Egger, K., *Planta*, 80(1), 65-76 (1968). Ref. C.A., 68, 10251b (1968).

Egger, K., "Flavonol-Aglycone in Ranunculaceen", *Z. Naturforsch.*, 14B, 401-403 (1959).

Egger, K., Keil, M., "Flavonolglykoside in Ranunculaceen, Verbreitung der Glykosidtypen", *Ber. Deut. Botan. Ges.*, 78(9), 418-22 (1965).

Eglinton, G., Hamilton, R.J., *Chemical Plant Taxonomy*, Acad. Press, London, 191 (1963).

Ege, S.N., *Organic Chemistry*, D.C. Heath and Company, Lexington Massachusetts-Toronto, 480-481 (1984).

Escher, H.H., *Univ. Zürich Helv. Chim. Acta*, 11, 752-4 (1928) Ref. C.A., 22, 4149⁹ (1928).

Fabrik, H., Chem. Abstr., 58, 1645e (1959).

Fardella, G., Chem. Abstr., 81, 136451c (1974).

Fiqurkin, B.A., Fiqurkina, L.N., Rastit Resur., 12(4), 557-9 (1976), Ref. C.A., 86, 27654d (1977).

Finar, Organic Chemistry, Longman Group Limited, (Sixth Edition), London, 1, 469-71 (1973).

Gavril, N., Virgil, T., Cornel, B., Rev. Roum. Biochim., 4(1), 59-65 (1967). Ref. C.A., 67, 41033q (1967).

Geissman, T.A., The Chemistry of Flavonoid Compounds, The Macmillan Company, New York (1962).

Gibbs, R.D., Chemotaxonomy of Flowering Plants, Mc Gill-Quenn's University Press, Montreal-London, II, III (1974).

Gilman, H., Organic Chemistry, John Wiley-Sons, Inc., New York, 2 (1943).

Goris, A., Compt. Rend. 205, 624-6 (1937). Ref. C.A., 32, 1397⁹ (1988).

Guinaudeau, H., Leboeuf, M., Cave, A., "Aporphine Alkaloids", Lloydia, 38(4), 275-338 (1975).

Harborne, J.B., Comparative Biochemistry of the Flavonoids, Academic Press, London-New York (1967).

Harborne, J.B., Phytochemical Methods, A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis, Chapman and Hall, London-New York (1988).

Harborne, J.B., Mabry, T.J., Mabry, H., The Flavonoids, Chapman and Hall, London (1975).

Hegnauer, R., Chemotaxonomie der Pflanzen, Birkhauser Verlag Basel, 3, 490 (1964).

Hiller, K., Keipert, M., Linzer, B., "Triterpensaponine", Die Pharmazie, 12, 713-51 (1966).

Iriki, Y., Furuta, S., Nippon Nogei Kagaku Kaishi, 49(1), 7-10 (1975). Ref. C.A., 84, 27984 (1976).

Janauer, G.A., Z. Pflanzenphysiol., 82(1), 45-50 (1977). Ref. C.A., 86, 86133k (1977).

Jenkins, G., Hartung, W.H., The Chemistry of Organic Medicinal Products, John Wiley-Sons, Inc., New York, 93-94 (1950).

Karrer, P., Jucker, E., Rutschmann, J., Steinlin, K., Helv. Chim. Acta, 28, 1146-56 (1945). Ref. C.A., 40, 1509⁴ (1946).

Kipping, F.B., "The Lactone of γ -Hydroxyvinylacrylic Acid, Protoanemonin", J. Chem. Soc., 1145-7 (1935).

Kirchner, J.G., TLC, Technique of Organic Chemistry, Interscience Publishers a Division of John Wiley-Sons, New York, 12 (1967).

Kolesnik, O.V., Sb. Nauchn. Tr. Dnepropetr. Gos. Med. Inst., 19(2), 191-2 (1961). Ref. C.A., 59, 7856a (1963).

Kudryashova, N.A., Kololokova, E.V., Doklady Acad. Nauk. 91, 1365-8 (1953). Ref. C.A., 48, 233e (1954).

Mabry, T.J., Markham, K.R., Thomas, M.B., The Systematic Identification of Flavonoids, Springer-Verlag, Berlin (1970).

I-Mahran, G.H., Saber, A.H., El'Alfy, T., Planta Med., 16(3), 323-8 (1968). Ref. C.A., 69, 85117r (1968).

- II-Mahran, G.H., El'Alfy, T.S., Saber, A.H., "A New Method for the Determination of Protoanemonin in *Ranunculus Sceleratus* Linne", *Bull. Fac. Farm.*, 7(1), 135-41 (1968).
- Mares, D., *Mycopathologia*, 98(3), 133-40 (1937). Ref. C.A., 107, 74093g (1937).
- Mears, J.A., Mabry, T.J., "A Procedure for the UV Detection of Hydroxyl and Methoxyl Groups at C₆ in Flavones and 3-O-Substituted Flavonols", *Phytochemistry*, 11, 411-12 (1972).
- Misra, S.B., Dixit, S.N., *Econ. Bot.* 34(4), 362-7 (1980). Ref C.A., 94, 127203q (1981).
- Modell, W.M.D., *Drugs of Choice 1976-1977*, The C.V. Mosby Company, Saint Louis (1976).
- Musgrave, A., Walters, J., *New Phytol.*, 72(4), 783-9 (1973). Ref. C.A., 80, 44625p (1974).
- Musgrave, A., Walters, J., Sargent, J.A., Powell, G., *Phytochemistry*, 15(8), 1219-23 (1976). Ref. C.A., 87, 179431n (1977).
- Neudert, W., Ropke, H., Leane, J.B., *Steroid-Spektrenatlas, Atlas of Steroid Spectra*, Springer-Verlag, Berlin (1965).
- Okuda, T. et al., *Phytochemistry*, 14, 1509 (1975).
- Pourrat, A., Pourrat, H., "La Ficaire *Ficaria Ranunculoides*", *Plantes Medicinales et Phytotherapie*, 3(4), 288-95 (1969).
- Remeaud, M.O., *Compt-Rend. Soc. Biol.*, 61, 400-3 (1907). Ref. C.A., 1, 331⁸ (1907).
- Richter, F., *Beilsteins, Zweites Ergänzungswerk*, Springer-Verlag, 17 II, 313 (1952).

Rodriguez, E., Carmen, N.J., Mabry, T.J., "A General NMR Procedure for Locating Methoxyl Groups in all Flavone and Flavonol Aglycones and Some Glycosides Utilizing Trimethylsilyl Ethers and Benzene-Induced Shifts", *Phytochemistry*, 11, 409-10 (1972).

Saber, A.H., Mahran, G.H., El'Alfy, T., *Planta Med.*, 16(2), 231-8 (1968). Ref. C.A., 69, 25084t (1968).

Scheuer, P.J., *Chemistry of Marine, Natural Products*, Academic Press, New York-London, 72-73 (1973).

Seitz, W., "Chemosystematik heute-", *Ber. Deutsch. Bot. Ges. Bd.*, 92, 519-34 (1979).

Shaw, E., "A Synthesis of Protoanemonin. The Tautomerism of Acetylacrylic Acid and of Penicillic Acid", *J. Am. Chem. Soc.*, 68, 2510-13 (1946).

Shibata, T., Shibuya, T., Doi, K., *Bull. Chem. Soc. Jap.*, 45(3) 930-1 (1972). Ref. C.A., 77, 58866t (1972).

Solomons, T.W.G., *Organic Chemistry*, John Wiley-Sons, New York, 1053-55 (1988).

Sorenson, N.A., "The Taxonomic Significance of Acetylenic Compounds", *Chemical Plant Taxonomy*, Acad. Press, London, 219 (1963).

Stahl, E., *TLC, A Laboratory Handbook*, New York (1969).

Suga, T., Hirata, T., *Chem. Lett.*, 7, 637-40 (1973). Ref. C.A. 79, 134393v (1973).

Suga, T., Hirata, T., Okamoto, E., Kataoka, M., *Chem. Lett.*, 6, 709-10 (1977) Ref. C.A., 87, 65386w (1977).

Texier, O., Ahond, A., Regeat, F., Pourrat, H., "A Triterpenoid Saponin from *Ficaria Ranunculoides* Tubers", *Phytochemistry*, 23, 2903-05 (1984).

Tocan, V., *Farmacia* (Bucharest), 17(6), 357-61 (1969). Ref. C.A., 71, 120494b (1969).

Tocan, V., Boran, O., *Dokl. Akad. Nauk SSSR*, 192(4), 917-19 (1970). Ref. C.A., 73, 84762t (1970).

Tocan, V., Boran, O., *Farmacia* (Bucharest), 18(2), 121-5 (1970). Ref. C.A., 73, 42515j (1970).

Toth, G., Szabolos, J., *Acta Chim. (Budapest)*, 64(4), 393-406 (1970). Ref. C.A., 73, 117123r (1970).

Trease, G.E., Evans, W.C., *Pharmacognosy*, Printed in Great Britain, Baillière Tindall-London, 395-97 (1972).

Tschesche, R., Welmar, K., Günter, W., Günther, S., "Über Folgeprodukte Einer Unbekannten Genuinen Vorstufe des Ranunculins in Ranunculaceen", *Chem. Ber.*, 105(1), 290-300 (1972).

Tutin, T.G., Heywood, V.H., Burges, N.A., Valentine, D.H., Walters, S.M., Webb, D.A., *Flora Europaea, Lycopodiaceae to plantanaceae*, Cambridge at the University Press, 1 (1964).

Ulubelen, A., Öksüz, S., Samek, Z., Holub, M., "Sesquiterpenic Laktone from *Smyrniololus atrum* L. Roots", *Tetrahedron Letters*, 46, 4455-4456 (1971).

Urschler, I., *Phyton*, 13(12), 15-43 (1968). Ref. C.A., 70, 112392f (1969).

Yahara, S., Satoshiro, M., Nishioka, I., Nagasawa, T., Oura, H., "Isolation and Characterisation of Phenolic Compounds from *Coptidis Rhizoma*", *Chem. Pharm. Bull.*, 33(2), 527-31 (1985).

Yoshihiko,M.E., Uchiyama,K., Furuta,S., Okuyama,K., Sato,Y.,
Nippon Nogeï Kagaku Kaishi, 46(8), 411-15 (1972). Ref. C.A.,
78, 26471q (1972).

Zechner,L., Wohlmuth,H., Scientia Pharm, 22, 74-89 (1954).
Ref. C.A., 48, 13169b (1954).

ÖZGEÇMİŞ

1966 yılında Adapazarı'nda devlet İktisadi ve orta öğrenimini Adapazarı'nda tamamladım.

1983-1984 öğretim döneminde Y.Ü. Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümüne girdim ve 1987 yılında mezun oldum. 1988 yılında yine aynı bölümde araştırma görevlisi olarak çalışmaya başladım.

Halen Y.Ü. Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Organik Kimya Anabilim Dalında araştırma görevlisi olarak çalışmaya sürdürmekteyim.

1987-1988 öğretim döneminde Y.Ü. Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünde yüksek lisans programına başladım ve 1989 yılı sonunda tezime imza attım.

ÖZGEÇMİŞ

1966 yılında Adapazarı'nda doğum. İlk ve orta öğrenimimi Adapazarı'nda tamamladım.

1983-1984 öğretim döneminde Y.Ü. Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümüne girdim ve 1987 yılında mezun oldum. 1988 yılında yine aynı bölümde araştırma görevlisi olarak çalışmaya başladım.

Halen Y.Ü. Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Organik Kimya Anabilim Dalında araştırma görevlisi olarak görevimi sürdürmekteyim.

1987-1988 öğretim döneminde Y.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Bölümünde yüksek lisans programına başladım ve 1989 yılı sonunda çalışmalarımı tamamladım.

