

**YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SMİLAX EXCELSA BİTKİSİNİN İÇERDİĞİ
STEROİDAL BİLEŞİKLER**

34661

Kimyager Ayşegül PEKSEL

**F.B.E. Kimya Anabilim Dalı Organik Kimya Programında
hazırlanan**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Tez Danışmanı: Prof.Dr.Süheyla UZMAN

**T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**

İSTANBUL, 1994

	<u>Sayfa</u> <u>No</u>
İÇİNDEKİLER	I
ŞEKİL LİSTESİ	III
TABLO LİSTESİ	IV
TEŞEKKÜR	V
ÖZET	VII
ABSTRACT	IX
1. GİRİŞ	1
1.1. ÇALIŞMANIN AMACI	1
2. TEORİK BÖLÜM	3
2.1. BİTKİNİN TANIMI	3
2.1.1. Liliaceae Familyası	3
2.1.2. Smilax Cinsi	4
2.1.3. Smilax excelsa L.	4
2.2. BİTKİNİN FARMAKOLOJİK ÖNEMİ VE YAPILAN ÇALIŞMALAR	6
2.2.1. Liliaceae Familyasının Farmakolojik Önemi	6
2.2.2. Smilax Türlerinin Farmakolojik Önemi	7
2.2.3. Smilax Türleri İle Yapılan Çalışmalar	8
2.3. GENEL BİLGİLER	13
2.3.1. Steroidler	13
2.3.1.1. Tanım	13
2.3.1.2. Steroidlerin Stereokimyası	15
2.3.1.3. Kimyasal Reaksiyonları	18
2.3.1.4. Bitkiden Elde Edilmeleri, Ayrılmaları ve Saflaştırılmaları	18
2.3.1.5. Tanınmaları	19
2.3.1.6. Spektral Yöntemler	19
2.3.1.7. Steroller	21
2.3.1.8. Steroidal Saponinler	24
2.3.1.8.1. Saponin Tanımı	24
2.3.1.8.2. Steroidal Saponinler	27
2.3.1.8.3. Steroidlerin Biyosentezi	29
2.3.1.8.4. Bitkiden Elde Edilmeleri, Ayrılmaları ve Saflaştırılmaları	33

2.3.1.8.5.	Kromatografik Yöntemler	34
2.3.1.8.6.	Tanınmaları	37
3.	DENEYSEL BÖLÜM	39
3.1.	KULLANILAN YÖNTEMLER	39
3.1.1.	Kromatografik Yöntemler	39
3.1.1.1.	Kolon Kromatografisi	39
3.1.1.2.	İnce Tabaka Kromatografisi	40
3.1.2.	Kimyasal Yöntemler	41
3.1.2.1.	Steroidale Bileşiklerin Tanınması İçin Kullanılan Kimyasal Yöntemler	41
3.1.2.2.	Steroidale Glikozidlerin Şeker Kısımlarının Tanınması İçin Kullanılan Kimyasal Yöntemler	41
3.1.2.3.	İnce Tabaka Kromatografisinde Kullanılan Belirteçler	42
3.1.2.4.	Uygulanan Kimyasal Reaksiyon	43
3.1.3.	Spektrofotometrik Yöntemler	43
3.2.	YAPILAN İŞLEMLER	44
3.2.1.	Bitkinin Tüketilmesi ve Ekstrelerin Elde Edilmesi	44
3.2.2.	Ekstrelerin Fraksiyonlandırılması ve Bileşiklerin Ayrılması	47
3.2.2.1.	Bitkinin Meyvaları ile Yapılan Çalışmalar	47
3.2.2.2.	Bitkinin Yaprak+Dal Kısımları ile Yapılan Çalışmalar	48
3.3.	BU ÇALIŞMADA ELDE EDİLEN BİLEŞİKLER	
3.3.1.	S ₁ Bileşiğı	50
3.3.2.	S ₂ Bileşiğı	54
3.3.3.	S ₃ Bileşiğı	66
3.4.	ELDE EDİLEN BİLEŞİKLERİN FİZİKSEL VE SPEKTRAL ÖZELLİKLERİ	69
	TARTIŞMA VE SONUÇLAR	72
	KAYNAKLAR	74
	ÖZGEÇMİŞ	

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1.	Siklopentanoperhidrofenantren	14
Şekil 2.2.	Steroidlerin Halka Sistemi ve Karbon Atomlarının Numaralandırılması	14
Şekil 2.3.	Steroidlerin Konformasyonu	17
Şekil 2.4.	Sitosterol'ün Yapısı	22
Şekil 2.5.	Saponinlerin Aglikon Yapıları	26
Şekil 2.6.	Spirostan Halkası	27
Şekil 2.7.	Furostan Halkası	27
Şekil 2.8.	C ₂₂ -izomerleri	28
Şekil 2.9.	Terpen Biyosentezi	30
Şekil 2.10.	Skualenin Siklizasyonu ve Kolesterol Oluşumu	31
Şekil 2.11.	Kolesterolün Bitki Metabolitleri	32
Şekil 3.1.	Sitosteril 3β-glikozid	50
Şekil 3.2.	S ₁ IR Spektrumu	52
Şekil 3.3.	S ₁ Bileşiği Asetil Türevi IR Spektrumu	53
Şekil 3.4.	S ₂ Bileşiği IR Spektrumu	57
Şekil 3.5.	S ₂ Bileşiği Hidroliz Sonrası IR Spektrumu	58
Şekil 3.6.	S ₂ Bileşiği Asetil Türevi IR Spektrumu	59
Şekil 3.7.	S ₂ Bileşiği Asetil Türevi ¹ H NMR Spektrumu	60
Şekil 3.8.	S ₂ Bileşiği Asetil Türevi Kütle Spektrumu	62
Şekil 3.9.	Asetillenmiş Bir Glukoz Molekülünün Parçalanma Ürünleri ve m/e Değerleri	63
Şekil 3.10.	S ₂ Bileşiğinin Şeker Gruplarının Kütle Spektrumu	65
Şekil 3.11.	S ₃ Bileşiği Asetil Türevi IR Spektrumu	67
Şekil 3.12.	S ₃ Bileşiği Asetil Türevi ¹ H NMR Spektrumu	68

	Sayfa
	<u>No</u>
TABLO LİSTESİ	
Tablo 2.1. Steroidlerin Hidrokarbon Halkaları	16
Tablo 2.2. Bazı Steroidal Saponinler ve Şeker Kısımları	36
Tablo 3.1. Bitkinin Meyvalarının Çeşitli Çözücülerdeki Ekstrelerinin Genel Görünüşleri	45
Tablo 3.2. Köpürme Testi Sonuçları	46

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın hazırlanmasına olanak sağlayan, her zaman bilgi ve fikirleriyle yol gösteren, her konuda destek olan değerli hocam Sayın Prof.Dr.Süheyla UZMAN başta olmak üzere, spektrumların alınmasında ve yorumlanmasında çok büyük yardımları bulunan ve her zaman bilgilerinden yararlandığım İ.Ü. Eczacılık Fakóltesi'nin değerli ğretim üyeleri Sayın Prof.Dr.Ayhan ULUBELEN ve Sayın Prof.Dr.Sevil ÖKSÜZ'e, bitkinin tanınmasında ve toplanmasında yardımlarını esirgemeyen, herbaryumlarını kullanma olanasını sağlayan İ.Ü. Orman Fakóltesi ğretim Üyesi Sayın Doç. Dr.Asuman EFE'ye sonsuz teőekkürlerimi sunarım.



Bu çalışma Yıldız Teknik Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir. 92-A-01-02-02 proje numarası ile kayıtlıdır.

ÖZET

Smilax excelsa (Liliaceae) bitkisinin toprak üstü kısımları (meyva, yaprak, dal) steroidal bileşikler yönünden incelenmiştir.

Bitkinin meyvaları ve yaprak ile dalları farklı zamanlarda toplandı. İlk olarak meyvalar, Kasım 1992 tarihinde İstanbul Üniversitesi Orman Fakültesi Arboretumundan (Bahçeköy), yaprak ve dallar ise Mayıs 1993 tarihinde yine aynı Fakültenin uygulama ormanından toplandı. İstanbul Üniversitesi Orman Fakültesi Botanik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Asuman Efe tarafından teşhis edilen bitki I.Ü. Orman Fakültesi Herbaryumu'nda İSTO-3926 numarası ile kayıtlıdır.

Çalışmalar ilk önce meyvalar üzerinde yapıldı. Kurutulduktan sonra öğütülen meyvalar Sokslet cihazında artan polaritedeki çözücülerle, n-hekzan, kloroform, n-butanol, etanol ve su ile ekstre edildi. Ekstreler düşük basınçta yoğunlaştırıldı. Hekzan ve kloroform ekstralarının ince tabaka kromatografileri sonucunda sterole benzer bileşikler içerdikleri görüldüğünden bu ekstralar kolon kromatografisi ile silikajel adsorban üzerinden fraksiyonlandırıldı. Fraksiyonlar ince tabaka kromatografisinde incelenerek benzer olanlar birleştirildi. Önemli görülenler silikajel plaklar kullanılarak preparatif ince tabaka kromatografisi ile saflaştırıldı. Kloroform ekstresinden S₁ (Sitosteril 3 β -glikozid) bileşiği elde edildi.

Elde edilen steroid bileşiğinin yapısı, spektral yöntemler, standart örneklerle ince tabaka kromatografisi ve erime noktası karşılaştırılarak saptandı.

Meyvalardan elde edilen n-butanol ve etanol ekstralarının steroidal saponinlere ait ön denemeleri vermesi sonucunda bu ekstralar, steroidal saponin yönünden incelendi. Yapılan ince tabaka kromatografilerinde benzer bileşikler içerdikleri saptandı ve bu ekstralar birleştirildi. Kolon kromatografisi ile silikajel adsorban üzerinden fraksiyonlandırıldı. Fraksiyonlar ince tabaka kromatografisinde incelenerek benzer olanlar birleştirildi. Fraksiyonlarda çöken, köpürme testi ile renk reaksiyonlarını veren maddelerin preparatif ince tabaka kromatografisinde saflaştırılmaları sonucunda S₂ ve S₃ bileşikleri elde edildi.

S₂ bileşiği steroidal saponinlere özgü reaksiyonları vermekte ancak erime noktası ve spektral sonuçlarda farklılıklar göstermektedir. Bileşiğin spektral bulgularından, iki glukoz molekülüne sahip ve aglikon kısmında 5'li lakton halkası taşıyan ve Liliaceae familyasının bazı türlerinde yaygın olarak bulunan yüksek moleküllü bir steroidal glikozid olduğu düşünülmektedir.

S₃ bileşiminin ise bir mono-şeker olduğu spektral verilerle saptandı. Onemsiz görülen bu bileşimin üzerinde durulmadı.

Bitkinin yaprak ve dallarına da aynı işlemler uygulandı. Kurutulup öğütülen yaprak ve dallar, Sokslet cihazında n-hekzan, kloroform, etanol ve su ile ekstre edildi. Yoğunlaştırılan ekstrelerden sadece su ekstresi köpürme testini verdi. Bu ekstreye eter ile çöktürme yöntemi uygulandı. Elde edilen bileşimin S₃ bileşimi ile aynı yapıda olduğu yine spektral verilerle görüldü.

Sonuç olarak Smilax excelsa (L.) bitkisinin toprak üstü kısımlarından yapısı kesin olarak saptanan bir steroid bileşimi ile yapısı tam olarak saptanamayan bir diğer steroid bileşimi izole edilmiştir. Bitkinin köklerinde bulunan steroidal saponinlere ise toprak üstü kısımlarda rastlanmamıştır.



ABSTRACT

The above ground parts (fruits, leaves, stems) of *Smilax excelsa* were examined for steroids.

The fruits, leaves and stems were collected at different dates. The fruits were collected in November 1992 from Istanbul Üniversitesi Orman Fakültesi Arboretumu (Bahçeköy), leaves and stems were collected in May 1993. The plant was identified by Assoc. Prof. Dr. Asuman Efe (I.U.) and is registered in I.U. Orman Fakültesi Herbariyumu with the number İSTO-3926.

The fruits were examined first. They were air dried, then ground and extracted with n-hexane, chloroform, n-butanol, ethanol and water using the Soxhlet apparatus. The extracts were concentrated under vacuum. The thin layer chromatograms of the hexane and chloroform extracts showed the presence of compounds which could be sterols, hence, the extracts were fractionated by column chromatography using silicagel as adsorbent. The fractions were examined by TLC and similar fractions were combined.

The chloroform extract yielded compound S_1 , which proved to be Sitosteril-3 β -glycoside. The structure of the steroidal compound was elucidated by spectral methods, and by comparing with the standart in TLC.

The n-butanol and ethanol extracts of the fruits showed the presence of saponins in the classification tests. Their thin-layer chromatograms showed similar compounds so they were combined, and fractionated by column chromatography using silicagel as adsorbent. Similar fractions were combined.

Two compounds, S_2 and S_3 which precipitated, and gave positive results in the foaming test and in color reactions particular to saponins were purified and obtained in good yield.

S_2 made the reactions particular to saponins but its melting point showed a deviation from the melting point of saponins and its spectral data differed from that of saponins. Its spectral data showed the presence of a high-molecular-weight compound containing 2 glucose molecules, and a 5 C lactone in the aglycon. It is found to be similar to a steroidal glycoside present in some sub-groups of the Liliaceae family.

Compound S_3 was identified by spectral methods to be a mono saccharide.

The leaves and stems of the plant were treated likewise. The air-dried and ground material were extracted in the Soxhlet

apparatus using n-hexane, chloroform, ethanol and water. The extracts were concentrated under vacuum. Only the water extract gave positive result in the foaming test so it was precipitated using ether. The obtained compound proved to be the same with compound S₃.

The above-ground parts of *Smilax excelsa* (L.) plant contains 2 steroidal compounds. The structure of one of them was elucidated but the structure of the other could be only partly elucidated. The steroidal saponins which are reported to be present in the roots are absent in the above-ground parts.



1. GİRİŞ

1.1. ÇALIŞMANIN AMACI

Smilax türlerinin kökleri, içerdikleri steroidal bileşikler nedeniyle uzun yıllar tıbbi amaçlarla kullanılmıştır. Bu bileşiklerden sitosteroller, antihiperkolesterolemik ajandır ve kan damarlarının iç çeperlerinde kolesterolün depolanmasını önlerler ve damar tıkanıklığı tedavisinde etkilidirler(Billups, 1977). Steroidal saponinler ise fizyolojik etkilerinden dolayı frengi, romatizma, ekzama ve sedef hastalığı ile böbrek hastalıklarında kullanılmıştır(Rittmann et al., 1930; Leclerc, 1938; Buchi et al, 1943). Steroidal saponinlerin kuvvet verici, terletici ve idrar arttırıcı özelliklerine son zamanlarda, başta ilkel mantarlar olmak üzere patojenik bakteri ve virüslere karşı gösterdikleri antibiyotik özellikleri de eklenebilir(Jaretzky, 1951; Macek, 1972; Jakubke,1983). Tat ve koku verici madde olarak bazı bitkisel ilaçların bileşimine de giren bu saponinler, köpük oluşturma yeteneklerinden dolayı gıda sanayiinde bira ve gazoz tipi içeceklerin hazırlanmasında da kullanılmaktadır(Tanker, 1973; Reynolds et al., 1982).

Ancak günümüzde steroidal saponinler, fizyolojik olmaktan çok farmakolojik öneme sahiptirler ve sentetik ilaç sanayii için büyük önem taşımaktadırlar. Bu önemin nedeni, steroidal saponinlerden yarı sentez yoluyla kortizon gibi bazı hormonların ve oral kontraseptiflerin hazırlanmakta olmasıdır.

Bu tür maddelerin hazırlanması için gerekli başlangıç maddelerinin ihtiyacı da büyük ölçüde artmıştır. Bazı ülkelerde steroidal saponin taşıyan bitkilerin yetiştirilmesine büyük önem verilmektedir(Baytop, 1974; Karlson, 1988).

Ülkemizde Smilax cinslerinin iki türü yetişmektedir. Smilax aspera ve Smilax excelsa. İstanbul ve çevresinde bulunan tür S.excelsa'dır(Davis, 1984). Bu türün günümüze kadar, Azerbaycan Tıp Enstitüsü'nde sadece toprak altı kısımları içerdiği steroidal saponinler yönünden incelenmiştir. Bu çalışmada diosgenin, tigogenin ve bir steroidal glikozid olan diosgenin-3-O- α -L-ramnopiranosid izole edilmiştir(İskenderov, 1970; İskenderov, et al., 1975). Yapılan literatür araştırmalarında toprak üstü kısımlarında kimyasal olarak herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle Smilax excelsa bitkisinin toprak üstü kısımlarının steroidal bileşikler yönünden araştırılması amaçlanmış ve çalışma bu yönde yapılmıştır.

2. TEORİK BÖLÜM

2.1. BITKİNİN TANIMI

2.1.1. Liliaceae Familyası (Zambakgiller)

Liliales takımından yaklaşık 240 cins ve 4000 kadar otsu ve çalimsı bitki türünü içeren familyadır(Trease, et al., 1972).

Dünyanın hemen her yerine dağılmış olan bu familyanın üyeleri, başlıca ılıman ve astropik bölgelerde yaygındır. Tür sayısının en çok olduğu bölgeler Güney Afrika, Kuzey Amerika, Batı Asya ve Avustralya'dır. Familya üyeleri genellikle altı parçalı çiçekleri ve üç gözlü kapsül tipi meyvalarıyla (ender olarak etli meyvalara rastlanır.) ayırt edilir. Çoğunlukla bitkinin tabanında kümeler oluşturan, kimi türlerde ise gövde boyunca almaşık ya da çevrel olarak dizilen paralel damarlı yaprakları ve köksap, soğan, kormus ya da yumru gibi besin depolayan toprak altı organları ve gösterişli erdişi(dişi organ ve erkek organların her ikisini de içeren) çiçekleri vardır. Ülkemizde 32 cins ve 200'e yakın türü bulunmaktadır(Trease, et al., 1972; Baytop, 1983).

2.1.2. Smilax Cinsi

Dioik, çok yıllık, ince uzun dallara sahip tırmanıcı sarmaşık görünümünde olan Smilax cinslerinde dallar genellikle odunsu ve alt kısımları dikenli, yapraklar oval, kalp ya da ok ve mızrak başı şeklinde, üç köşeli olup birbiri ardına sıralanır. Çapraz damarların ağ şebekesi yaparak bağlandığı birbirine paralel 5-7 damara sahiptir. Petioller, bir çift karşılıklı tendril oluşturur. Çiçekler küçük olup tek bir umbelde taşınarak çiçek sapı üzerinde yerleşirler. Çiçek sapı da yaprak ile dal arasına ya doğrudan yapışık olarak ya da kıvrımlı bir sap ile bağlıdır. Meyva, zarlı, kabuksuz tane şeklinde olup üç tohum içerir. Smilax türleri yeni bir familya olan Smilacaceae familyası içine de yerleştirilebilir (Davis, 1984).

Türkiye'de Smilax aspera ve Smilax excelsa adı altında iki tür yetişir. Smilax aspera Batı ve Güney Anadolu'da, Smilax excelsa ise Kuzey Anadolu boyunca yaygındır. Özdikenî olarak bilinen Smilax aspera'nın körpe sürgünleri Batı ve Güney Anadolu'da sebze olarak kullanılır. Genç sürgünler ilkbaharda toplanır ve demetler halinde pazarlarda satılır. Haşlandıktan sonra yumurta ile pişirilerek yenir. Bu sebzeye Batı Anadolu'da Silcan veya Sircan ismi verilmektedir (Baytop, 1974; Baytop, 1983; Baytop, 1984).

2.1.3. Smilax excelsa L.

20 m kadar bir boya ulaşabilen, tırmanıcı uzun bitki. Gövde ve dalların alt kısımları dikenli. Yapraklar geniş yüzeyli olup yuvarlak, oval ve kısmen kalp biçiminde. 4-11 x 3-10 cm. genellikle Smilax aspera'dakinden daha ince ve kenarları pürüzsüz. 2-14 sayıda çiçek tek bir umbelde taşınarak dal ile petioller arasına 5-15 mm ya da daha uzun bir sap ile bağlıdır. Erkek organ soluk, açık kahverengi 5.5-7 mm. dir. Meyvalar taneli olup kırmızı renklidir, uç tohum bulundurur (Davis, 1984; Baytop, 1984).

Tohumların üzerinde bulunan zar(arillus) "Gıcır" adıyla bilinir ve elastikiyet vermek için sakız ile birlikte çiğnenir. Bu bitkinin kırmızı renkli olan bakkaları *Ruscus aculeatus* dallarına takılarak "kokina" adıyla yılbaşı susu olarak satılmaktadır. Bitkinin Anadolu saparnası olarak bilinen ve saponin ihtiva eden kokleri diüretik ve sudorifik etkilerinden dolayı halk arasında kullanılmaktadır(Tanker, ve diğerleri, 1973; Baytop, 1984).

Bitki, Doğu'da Suriye'den yayılmıştır. Güney ve güney-batı Anadolu ile Türkiye'nin kuzeyinde bulunur. Bulunduğu yerler; Tekirdağ, İstanbul(Belgrad ormanları, Rumeli kavağı, Sarıyer, Alemdağ, Beykoz, Polonezköy, Anadolu Kavağı), Bursa, Hendek, Bolu(Akçakoca), Zonguldak, Sinop, Samsun, Trabzon, Çoruh, Rize, Aydın, Muğla, Marmaris, Antalya, Hatay'dır.

Türkiye çevresinde ise Bulgaristan, Yunanistan, Suriye(Lazkiye), Transkafkasya (Azerbaycan, Gürcistan, Ermenistan), Kuzey İran, Karadeniz kıyılarında bulunur (Baytop, 1963; Davis, 1984).

2.2. BITKİNİN FARMAKOLOJİK ÖNEMİ VE YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.2.1. Liliaceae Familyasının Farmakolojik Önemi

Liliaceae, süs bitkisi olarak yetiştirilen Hyacinthus, Lilium, Convallaria, Galanthus, Tulipa ve sebze olarak kullanılan Allium, Asparagus gibi türlere sahip önemli bir familyadır(Trease, et al., 1972).

Ülkemizde 32 cinsi ve 200 kadar türü bulunan familyanın(Trease, et al., 1972; Baytop, 1983) asıl önemi, farmakolojik etki gösteren türlere de sahip olmasıdır. Farmakolojik etki, değişik türlerde bulunan kardiyak glikozidler, steroidler, triterpenik ve steroidal saponinler, alkaloidler, siyanogenetik glikozidler, antrasenozidler gibi bir çok önemli maddeden kaynaklanmaktadır. Bu nedenle, önemli drogları içeren bu türler yıllardan beri, kalp yetmezliği, arteriyel hipertansiyon, romatizma, artrit ve gut hastalıkları ile öksürükte, diüretik, laksatif, ağrı kesici, ekspektoran özelliklerinden dolayı kullanılmaktadır(Tanker, ve diğerleri, 1973).

2.2.2. Smilax Türlerinin Farmakolojik Önemi

Smilax türlerinin farmakolojik açıdan önemli olmasının sebebi köklerinde içerdikleri steroidal bileşiklerdir. Ticari olarak kullanılan türler arasında Smilax aristolochiaefolia, Smilax regelii, Smilax febrifuga, Smilax china sayılabilir. Bu türlerin saparna(sarsaparilla) adı verilen kökleri sırasıyla Meksika saparnası, Honduras saparnası, Ekvator saparnası ve Çin saparnası olarak bilinir(Claus, et al., 1965).

Smilax aspera (Portekiz saparnası), Smilax prolifera (İtalya saparnası), Smilax excelsa (Suriye ya da Anadolu saparnası), Smilax rotundifolia (İspanya saparnası) ve Smilax glauca (Makedonya saparnası)'nın kökleri ise yalancı saparna olarak tanımlanmaktadır(Denolin, 1934).

Kökler genellikle kalem kalınlığında, uzeri boyuna buruşuklu, grimsi esmer veya sarımtırak kırmızı renkli çubuklar ya da parçalar halindedir (Baytop, 1984). Kökler bazı türlerde rizomludur. Rizomlar kalın, kısa, sert ve budaklıdır(Claus, et al., 1965).

Kökler toplandıktan sonra güneşte ya da hafif ateş üzerinde kurutulur. Kokusuz, hafif acı lezzetli ve biraz tatlımsıdır (Tanker, ve diğerleri., 1973; Reynold, et al., 1982).

Eskiden frengi, romatizma ve cilt hastalıklarında, özellikle ekzema ve sedef hastalığında, dekoksion ya da infüzyon şeklinde kullanılmıştır(Leclerc, 1938; Buchi, et al., 1943). Kuvvet verici, terletici ve ürik asit ile klorür atılımını arttırdığından dolayı idrar arttırıcı özelliği de vardır(Jaretzky, 1951; Baytop, 1984). Böbrek hastalıklarında da kullanılmıştır (Rittman, et al., 1930).

Türk Kodeksine de Radix Sarsaparilla olarak kayıtlı olan saparna kökü, bazı gazoz tipi içeceklere ve biralara

katılmaktadır(Tanker, ve diğeri, 1973). Ayrıca, çeşitli ilaçlar için tat verici madde olarak da kullanılmakta ve bazı bitkisel preparatların bileşimine girmektedir(Reynolds, et al., 1982).

Smilax ornata ve Smilax japicanga'nın cüzzam tedavisinde kullanıldığı da bilinmektedir(Rollier, et al., 1952; Paris, et al., 1952).

Son yıllarda ise Smilax aristolochiaefolia, Smilax aspera, Smilax china, Smilax cordifolia, Smilax lanceaefolia, Smilax medica, Smilax mexicana, Smilax officinalis, Smilax regelii, Smilax siphilitica ve daha birçok Smilax türü dekoksion, toz, macun veya lapa şeklinde hazırlanan preparatlarla göğüs kanseri, rahim kanseri, kan kanseri başta olmak üzere çeşitli ur şeklindeki sert kitlesel oluşumların, habis tümörlerin ve kansere dönüşmüş olan ülserlerin tedavisinde kullanılmaktadır (Hartwell, 1982).

2.2.3. Smilax Türleri ile Yapılan Çalışmalar

16.yüzyıldan beri bilinen Smilax türleri(Çelebioğlu, 1949) ile yapılan çalışmalar daha çok bitkinin toprak altı kısımlarının içerdiği steroidal bileşikler yönünde olmuştur. Son yetmiş yıldır bitkinin değişik türleri üzerinde yapılan çalışmalar şu şekilde sıralanabilir:

Smilax regelii: sitosterol, parillin, sarsasaponin, 1 mol ramnoz, 2 mol glukoz ve bir seskiterpen elde edilmiştir. Parillin'in hidrolizi bir sapogenin olan parigenin verir (Van Der Haar, 1929). Honduras saparnası olarak bilinen Smilax regelii'nin köklerinden de stigmasterol ve β -sitosterol izole edilmiştir (James, et al., 1937).

Smilax aspera: kök ve dallarından parillin (Balansard, et al., 1938), sarsasapogenin, tigogenin (Laorga, et al., 1960), yapraklarından bisdesmosin 22-hidroksifurostanol saponin olan Asperosid ve spirostanol glikozid olan Asperin (Petricic, et al.,

1969; Tschesche, et al., 1974) ile diosgenin, hekogenin ve smilagenin gibi steroidal sapogeninler izole edilmiştir (Bruno, et al., 1985).

Smilax sieboldi: tigogenin, neotigogenin ve laksogenin izole edilmiştir. Laksogenin'in 3β -hidroksi-25D, 5α -spirostan-6-on yapısında olduğu gösterilmiştir (Akahori, et al., 1963). Bitkinin dallarında da yine aynı sapogeninlerin laksogenin, tigogenin (25D, 5α -spirostan- 3β -ol), neotigogenin (25L, 5α -spirostan- 3β -ol) ve β -klorogenin (25D, 5α -spirostan- 3β - 6β -diol)'in bulunduğu gösterilmiştir (Okanishi, et al., 1965). Bitkinin rizomlarında ise altı yeni steroidal saponin bulunmuştur. Bunlar:

3β - hidroksi - (25R) - 5α - spirostan - 6 - on (laksogenin) 3-O- β -D glukopiranosil-(1 \rightarrow 4)-O- [α -L-arabinopiranosil-(1 \rightarrow 6)]- β - D-glukopiranosid,

Laksogenin 3 - O - α - L - arabinopiranosil - (1 \rightarrow 6) - β - D - glukopiranosid,

3β , 27 - dihidroksi - (25S) - 5α -spirostan - 6-on 3 - O - β - D- glukopiranosil-(1 \rightarrow 4)-O- [α -L-arabinopiranosil-(1 \rightarrow 6)]- β - D- glukopiranosid,

26-0- β -D - glukopiranosil- 3β , 22 ζ , 26-trihidroksi-(25R)- 5α - furostan - 6 - on 3- O - α - L- arabinopiranosil- (1 \rightarrow 6) - β - D- glukopiranosid,

26-0- β -D - glukopiranosil- 3β , 22 ζ , 26-trihidroksi-(25R)- 5α - furostan - 6 - on 3- O - β - D- glukopiranosil- (1 \rightarrow 4) - O - [α - L-arabinopiranosil - (1 \rightarrow 6)] - β -D-glukopiranosid,

(25R)- 5α -spirostan- 3β -ol(tigogenin) 3-O- β -D-glukopiranosil - (1 \rightarrow 4) -O- [α -L-arabinopiranosil - (1 \rightarrow 6)] β -D-glukopiranosid' dir. (Kubo, et al., 1991).

Smilax sieboldii'nin toprak altı kısımlarından da;

Laksogenin 3 - O - α - L - arabinopiranosil - (1 \rightarrow 6) - β - D - glukopiranosid,

Tigogenin 3 - O - β - D - glukopiranosil - (1 \rightarrow 4) - [α - L - arabinopiranosil - (1 \rightarrow 6)] - β - D - glukopiranosid,

Sieboldogenin 3- O - β - D - glukopiranosil (1 \rightarrow 4) - [α - L - arabinopiranosil - (1 \rightarrow 6)] - β - D - glukopiranosid,

Sieboldogenin 3- O - [α - L - arabinopiranosil - (1 \rightarrow 6)] - β - D - glukopiranosid izole edilmiştir(Mi Hee, et al., 1992).

Smilax glabra: rizomlarından β -sitosterol, stigmasterol ve kampesterol izole edilmiştir(Tsukamoto, et al., 1963).

Smilax aristolochiaefolia: köklerinden (25S)-5 β -furostan-3 β , 22 α , 26-triol'un bir bis(desmosidik) glikozidi olan sarsaparillosid izole edilmiştir. 3-OH'da eterik şeker zinciri içerir. D-glukoz, 26-OH'a bağlıdır ve β -D-glukozidaz ile bölünebilir(Tschesche, et al., 1969).

Smilax medica: rizom ve yapraklarından bir sterol olan pollinastanol izole edilmiştir(Devys, et al., 1969).

Smilax excelsa: toprak altı kısımlarından diosgenin, tigogenin(İskenderov, 1970) ve bir steroidal glikozid olan diosgenin 3-O- α -L- ramnopiranosid izole edilmiştir(İskenderov, et al., 1975).

Smilax parvifolia: köklerinden diosgenin ve diosgenin 3-O- β -D-glukopiranosid saflaştırılmıştır. Ayrıca asit hidrolizi ile diosgenin veren fakat tanımlanamayan iki furostanol saponin de izole edilmiştir(Sharma, et al., 1980).

Smilax zeylanica: kök ve yapraklarından diosgenin elde edilmiştir(Kar, et al., 1984).

Smilax china: rizomlarından diosgenin(Kawasaki, et al., 1966) ve bilinen diosgenin glikozidleri olan prosapogenin A, dioscin, gracillin, Me-protogracillin, Me-protodioscin ile bir furostanol glikozid karışımı ve β -sitosterol glikozid izole edilmiştir(Kim, et al., 1989). Bitkinin köklerinde ise şu üç steroidal saponin bulunmuştur(Sashida, et al., 1991).

26-O- β -D-glukopiranosil-(25R)-furosa-5,20-dien-3 β ,26-diol 3-O- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 2)-O-[α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 4)]- β -D-glukopiranosid(pseudoprotodioscin),

26-O- β -D-glukopiranosil-22-O-metil-(25R)-furosa-5-en-3 β ,22,26-triol 3-O- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 2)-O-[α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 4)]- β -D-glukopiranosid(metilprotodioscin),

(25R)-spirost-5-en-3 β -ol 3-O- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 2)-O-[α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 4)]- β -D-glukopiranosid(dioscin).

Smilax riparia: kök ve rizomlarından, neotigogenin 3-O- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 6)- β -D-glukopiranosid,

neotigogenin 3 - O - β - D - glukopranosil - (1 \rightarrow 4) - O - [α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 6)]- β -D-glukopiranosid izole edilmiştir (Sashida, et al., 1991).

Smilax menispermoides: rizomlarından dört steroidal sapogenin izole edilmiştir. Bunlar dioscin, Me-protodioscin, pseudoprotodioscin ve (25S)-spirost-5-en-3 β ,17 α -27-triol-3-O-[α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 2)]-[α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 4)]- β -glukopiranosid'dir(Yang, et al., 1992).

Smilax lebrunii: rizomlarından yeni bir steroidal saponin (25S)-spirost-5-en-3 β -17 α ,27-triol-3-O-[R[β -D-Glu-(1 \rightarrow 3)] [α -L-Ara(1 \rightarrow 6)]- β -D-Glu] elde edilmiştir (Yang, et al., 1991). Köklerinden ise;

(25R)-spirostan-3 β -ol-6-on-3-O-[α -L-arabinopiranosil-(1 \rightarrow 4)]- β -D-glukopiranosid,

(25S)-spirost-5-en-3 β -17 α , 27-triol-3-O-[α -L-arabinopiranosil-(1 \rightarrow 6)]- β -D-glukopiranosid izole edilmiştir(Zhongjian, et al., 1992).



2.3. GENEL BİLGİLER

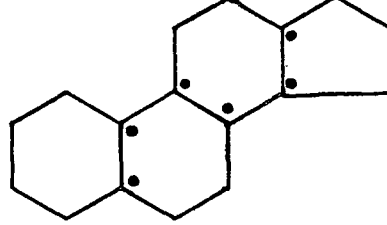
2.3.1. Steroidler

2.3.1.1. Tanım

Steroidler, bitki ve hayvanlarda yaygın olarak bulunan önemli bir doğal madde grubudur. Bir çok biyolojik etkiye sahip olan bu bileşikler, biyolojik düzenleyici olarak organizma yaşamını idare eden önemli fizyolojik etkiler gösterirler. Steroidlerin kapsamında bulunan; steroller, steroidal glikozidler, steroid alkaloidler, cinsiyet hormonları, adrenal korteks hormonları, safra asitleri, D vitamini en önemli biyolojik bileşiklerdir(Jenkins, et al., 1950; Finar, 1975; Jakubke, 1983).

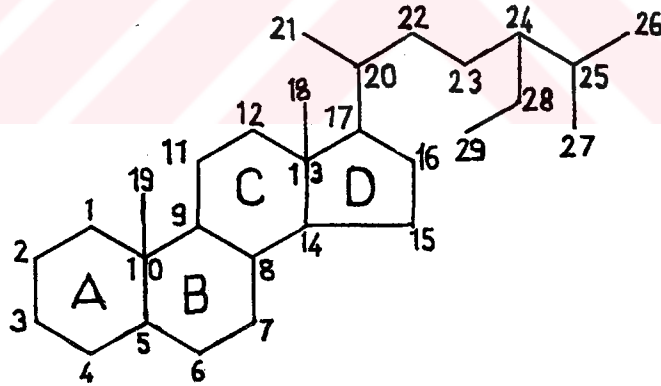
Sentetik olarak üretilebilen steroidlerden oral kontraseptifler, anabolik steroidler ve steroid hormonlar farmakolojik olarak önemlidir; Steroidler, siklopentanoperhidrofenantren halka sistemini içerirler ve bütün steroidler bu alisiklik hidrokarbonun türevleridir. 6 asimetric merkez içeren bu tetrasiklik halka sisteminin teorik olarak $2^6=64$ tane

stereoizomere sahip olması gerekir. Ama bunların sadece bir kaçı steroidler arasında bilinmektedir(Jakubke, 1983).



Şekil 2.1 Siklopentanoperhidrofenantren

Siklopentanoperhidrofenantren 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(Beyer, 1963; Solomons, 1988).



Şekil 2.2 Steroidlerin halka sistemi ve karbon atomlarının numaralandırılması

Tüm steroidler 360°C 'de selenyum ile özel bir reaksiyon verir. Steroidlerin tanıma reaksiyonu olarak tanımlayabileceğimiz bu dehidrojenasyon reaksiyonu sonucunda Diels' hidrokarbon oluşur(metilsiklopentenofenantren). Steroidler 420°C 'nin üzerinde selenyum ile distillendiği zaman büyük miktarda krisen

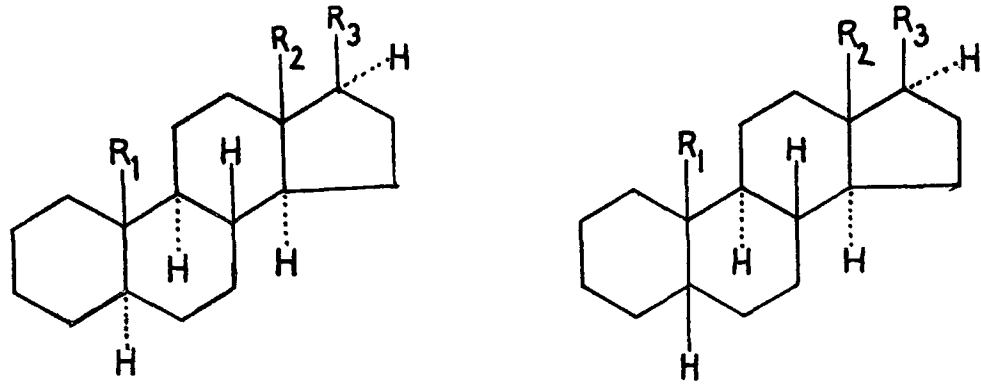
ve az miktarda piken verir. Selenyum ile distillendiği zaman Diels'hidrokarbon veren her bileşik steroid olarak tanımlanabilir(Finar, 1975).

2.3.1.2. Steroidlerin Stereokimyası

Doğal olarak bulunan steroidlerin çoğunda B,C ve C,D halkalarının birleşme şekli transdır. (Sadece bufadienolid ve kardenolidlerde cis konumundadır). A ve B halkaları cis ve trans pozisyonlarında birleşebilirler(Stahl, 1969).

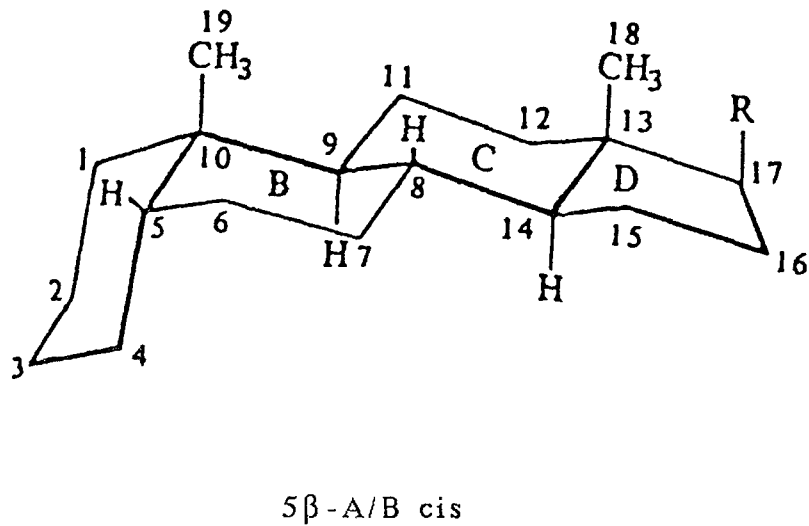
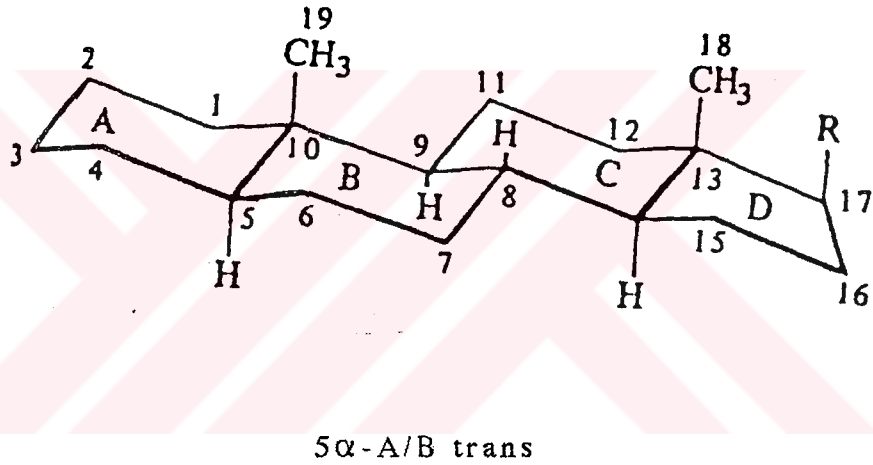
Siklopentanoperhidrofenantren halka sisteminde 10, 13 ve 17 numaralı karbon atomlarına bağlı substituentler bir çok halka sistemi ve izomer olanağı ortaya çıkarır. Gonan (steran) halka sistemi bunun en basit örneğidir(Jakubke, 1983). Tablo 2.1. steroidlerin halka sistemleri ile izomerlerini göstermektedir.

Tablo 2.1. Steroidlerin Hidrokarbon Halkaları

5 α -serisi5 β -serisi

HALKA ADI	R ₁	R ₂	R ₃
5 α -Gonan(Steran)	H	H	H
5 β -Gonan			
5 α -Estran	H	CH ₃	H
5 β -Estran			
5 α -Androstan(Testan)	CH ₃	CH ₃	H
5 β -Androstan(Etiyokolan)			
5 α -Pregnan(Allopregnan)	CH ₃	CH ₃	C ₂ H ₅
5 β -Pregnan			
5 α -Kolan(Allokolan)	CH ₃	CH ₃	CH(CH ₃)CH ₂
5 β -Kolan			CH ₂ CH ₃
5 α -Kolestan	CH ₃	CH ₃	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₂
5 β -Kolestan(Koprostan)			CH ₂ CH(CH ₃) ₂
5 α -Ergostan	CH ₃	CH ₃	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₂
5 β -Ergostan			CH(CH ₃)CH (CH ₃) ₂
5 α -Stigmastan	CH ₃	CH ₃	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₂
5 β -Stigmastan			CH(C ₂ H ₅)CH (CH ₃) ₂

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



Şekil 2.3. Steroidlerin Konformasyonu

Doğada bulunan sterollerde ise C-10 ve C-13'deki metil grupları C-8 hidrojen atomu ve C-17'ye bağlı R yan zinciri cis konumunda yer alır. Genellikle bütün bu gruplar β -konfigürasyonundadır(Beyer, 1963; Solomons, 1988).

2.3.1.3. 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. C-17'ye bağlı yan zincirde çifte bağ olması halinde bu gibi yapılar üzerine ozonlama yapılır ve meydana gelen uçucu aldehidlerin incelenmesi ile yan zincirin yapısı tanınabilir. Türev hazırlama, çeşitli yükseltgemeler, indirgeme ve halka parçalanması gibi reaksiyonlarla yapının kesin tayini mümkündür. 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).

2.3.1.4. Bitkiden Elde Edilmeleri, Ayrılmaları ve Saflaştırılmaları

Steroidler, kurutulduktan sonra öğütülen bitkinin değişik polaritedeki çözücülerle ekstraksiyonu ile elde edilirler. 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, silikajel, alümina, magnezyum silikat, magnezyum trisilikat,

kiselgur, seluloz ya da poliamid kullanılır. Çözücü ise molekülün yapısına bağlı olarak seçilir. Ayrıca ayırma ve saflaştırma işlemleri için gaz kromatografisi, gaz-likid kromatografisi veya HPLC'de kullanılmaktadır(Stahl, 1969; Hupe, 1980).

2.3.1.5. Tanınmaları

Tanınma reaktiflerinin çoğu genel olarak tüm steroid türlerine uygulanabilir. Bu reaktiflerle, tanıma ve kantitatif analiz için faydalı olan bir çok renk reaksiyonu meydana gelir. Bu reaksiyonlarda başta H_2SO_4 olmak üzere güçlü asitler kullanılır ve renklenmiş maddeler muhtemelen halokromik tuzlardır. Genellikle uygulanan renk reaksiyonları arasında Salkowski reaksiyonu, Liebermann-Burchard reaksiyonu ve Rosenheim reaksiyonu sayılabilir(Neher, 1964; Stahl, 1969).

2.3.1.6. Spektral Yöntemler

Steroidlerin yapılarının saptanmasında spektroskopik yöntemlerden yararlanır.

UV Spektrumu

Steroidlerin tanınmasında UV spektrumları fazla bilgi vermez. 3-OH'dan dolayı 200 nm'nin altında bir maksimum görülür. Çifte bağlar genellikle izole durumda olduğundan 200-210 nm civarında kuvvetli bir absorpsiyon piki verirler.

IR Spektrumu

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

¹H NMR Spektrumu

NMR spektrumu steroidlerin yapı tayininde çok önemlidir. NMR spektrumunda metil bantları 0.5-1.5 ppm arasında çıkar. Steroidlerde metilen pikleri çok karmaşık ve yaygındır. Bu nedenle metilen bantı yerine metilen zarfı ile ayırtedilirler. Hidroksil ve ester gruplarına komşu protonları 3.5-4.5 ppm'de, vinilik protonları 5.0-6.0 ppm arasında gözlenir.



2.3.1.7. Steroller

Steroller, doğal olarak bulunan steroidlerin önemli bir grubunu oluştururlar. Yapılarında, C-3'de bir hidroksil grubu ve C-5'de bir çifte bağ vardır. C-17'den alifatik bir yan zincir bağlıdır ve bu yan zincir genellikle izooktil ya da substitüe izooktildir. Bazı sterollerde yan zincirdeki C-22'de veya C-24'de doymamışlık bulunur. Bunların bir kısmında ise C-24'e metil ya da etil grupları substitüedir(Gilman, 1943; Cram, et al., 1959).

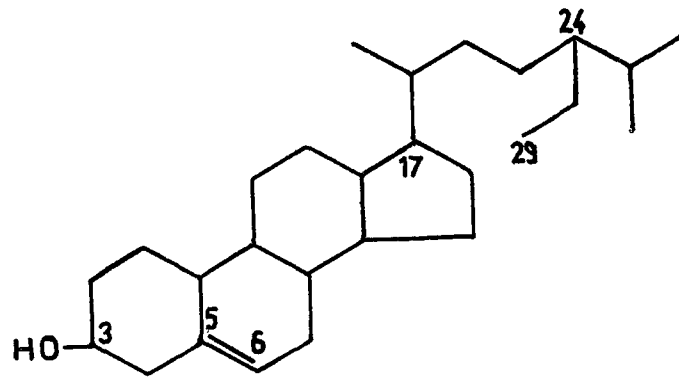
Steroller, bitki ve hayvan hücrelerinde serbest, esterleri halinde ya da glikozidleri olarak bulunurlar. Son zamanlarda bakterilerde de buldukları saptanmıştır. Nötral doymuş ve doymamış hayvansal ve bitkisel yağların sabunlaşmayan kısımlarından izole edilirler. Steroller, buldukları kaynaklara göre şu şekilde sınıflandırılırlar:

- 1- Zoo-steroller (Hayvansal steroller)
- 2- Fito-steroller (Bitkisel steroller)
- 3- Miko-steroller (Maya ve mantarlarda bulunan steroller)
- 4- Marin-steroller (Deniz bitkileri ve hayvanlarında bulunan steroller) (Finar, 1975; Jakubke, 1983).

Ancak bu sınıflandırma kesin değildir. Bir grupta çok fazla miktarda bulunan bazı steroller, diğer bir grupta çok daha az miktarlarda bulunabilir.

Hayvansal kaynaklı sterollerin en önemlisi kolesteroldür. Tüm hücrelerde yaygın olmakla birlikte en çok beyin ve omurilikte bulunur. Kolesterol, fosfolipidlerle birlikte membranların oluşturulmasına katılır. Sinir dokusunda ise miyelin kılıfı oluşturmaktadır. Bunların yanı sıra organizmada diğer steroidlerin çıkış maddesidir (Safra asitleri, hormonlar, vitamin D, v.s.). Kan plazmasında da lipoproteinlerin yapısal bir parçası olarak bulunur. Kolesterol miktarının yükselmesi artan bir arterioskleroz ve enfarktüs tehlikesine işaret eder. Kolesterol nadiren yüksek bitkilerde ve fitosterollerin yapısında bulunmaktadır(Karlson, 1988; Gözübüyük, 1989).

Bitki sterollerinin yüksek bitkilerin hemen hemen her yerinde bulunan bileşikleri; sitosterol, stigmasterol ve kampesterol'dür. Bu yaygın steroller, basit glikozidleri halinde veya serbest olarak bulunurlar. Daha az yaygın bitki sterolu, stigmasterolün izomeri olan α -spinasterol'dür. Bitki sterollerinin bir kısmı kolesterole çok benzer(Cram, et al., 1959).



Şekil 2.4. Sitosterol'ün yapısı

Bitkilerden izole edilen en önemli sterol fraksiyonu sitosterol'dür. Sitosteroller, bitkilerde çok geniş bir alana

dağılmışlardır ve en çok buğday, çavdar, mısır, pamuk ve diğer tohum yağlarında bulunurlar. Sitosteroller, belirli doymuş steroller ile başlıca β -sitosterol karışımıdır. β -sitosterol genel steroid yapısında olup 17 pozisyonundaki yan zinciri ile 29 karbon atomuna, A halkasında C-3'de hidroksil grubu ve 5 ile 6 pozisyonlarında bir çifte bağa sahiptir. Suda az çözünen beyaz renkli, tatsız, kokusuz bir tozdur. Özellikle kırmızı ve yeşil yosunlar başta olmak üzere deniz organizmalarında da yaygın olarak bulunur(Gilman, 1943; Claus, et. al., 1965; Scheuer, 1973).



2.3.1.8. Steroidal Saponinler

2.3.1.8.1. Saponin Tanımı

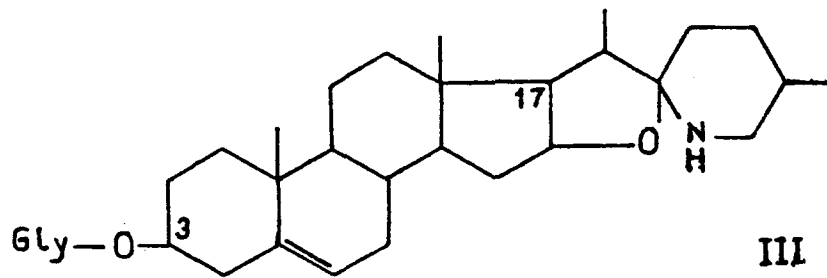
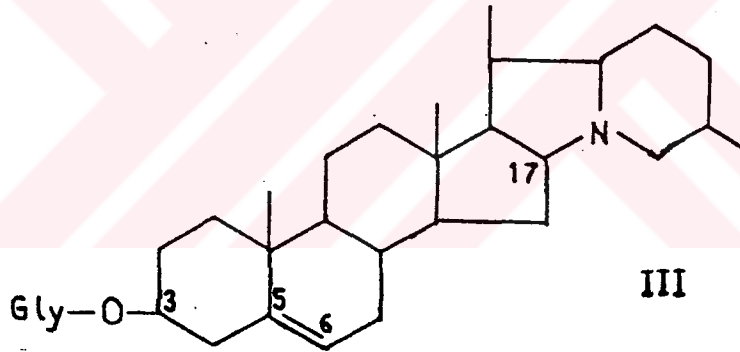
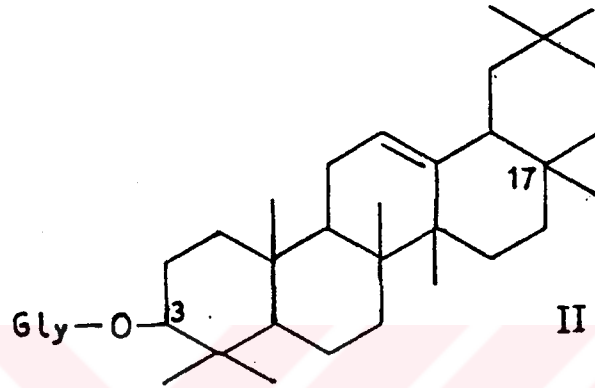
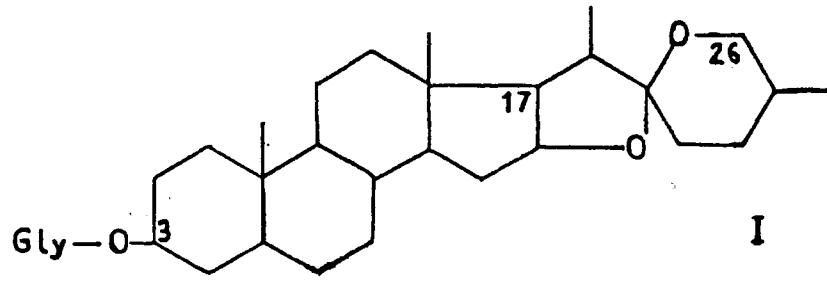
Saponinler, bitkiler aleminde yaygın olarak bulunan glikozidik bileşiklerdir. Sudaki çözeltileri, çalkalandığı zaman kalıcı bir köpük meydana getirir. Saponin adı, su ile sabun gibi köpük oluşturabilme yeteneklerinden dolayı, Latince sabun anlamına gelen "sapo" kelimesinden türemiştir(Macek, 1972).

Saponinler, acı keskin bir tada sahip, amorf, özellikle su, metanol ve etanolde çözünen, oksijensiz çözücülerde çözünmeyen, nötral veya hafif asit karakterli maddelerdir(Claus, et al., 1965; Baytop, 1986). Güçlü yüzey aktif özelliğe sahip olan saponinler, aynı zamanda plazma toksinidir ve hemolitik etkileri vardır. Kolesterol veya lesitin ile birleşerek eritrositlerin çeperini hemoglobine geçirgen hale getirirler ve böylece kanı hemoliz ederler. Ancak bu etki ağızdan alındığında görülmez. Çünkü saponinler bağırsakta geri emilime uğramazlar. Ancak kan akışı içine enjekte edildiklerinde, çok seyreltik çözeltilerinde bile güçlü hemolitik etkilerini gösterirler(Tanker ve diğerleri, 1973; Jakubke, 1983;

Budavari, 1989). Çok zehirli saponinler "sapotoksinler" olarak bilinirler. Özellikle soğuk kanlı hayvanlar için zehirlidirler. Bu yüzden Güney Amerika yerlileri tarafından balık zehiri olarak kullanılmışlardır(Claus et al., 1965; Budavari, 1989). Bir çok saponin, başta ilkel mantarlar olmak üzere patojenik bakteri ve virüslere karşı antibiyotik etkiye sahiptir. Bu özellikleri geniş ölçüde araştırılmaktadır(Macek, 1972; Jakubke, 1983).

Bazı saponinler, sterollerle özellikle kolesterol ile çok az çözünen veya hiç çözünmeyen kompleksler oluşturur. Bu özellikleri saponinlerin diğer steroidlerden ayrılması için kullanılır(Jakubke, 1983). Saponinler, yüksek molekül ağırlıklı maddelerdir ve saf olarak elde edilmeleri zordur. Yapıları, diğer glikozidler gibi büyük bir aglikon molekülü ile bir veya birden fazla şeker molekülünden oluşur(British Herbal Pharmacopeia, 1983). Şeker olarak genellikle glukoz, galaktoz, arabinoz, ksiloz, ramnoz ve bazen de bir uronik asit taşırlar. Saponinlerin aglikonuna "sapogenin" denir ve sapogeninin yapısına bağlı olarak saponinler üç grupta sınıflandırılmıştır:

- I) Steroidal saponinler
- II) Triterpenik saponinler
- III) Steroidal-alkaloid saponinler

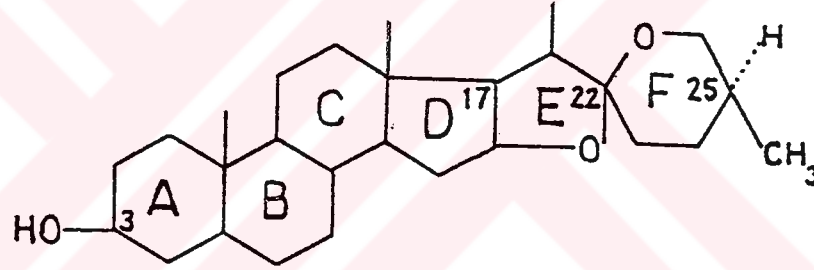


Şekil 2.5. Saponinlerin Aglikon Yapıları

2.3.1.8.2. Steroidal Saponinler

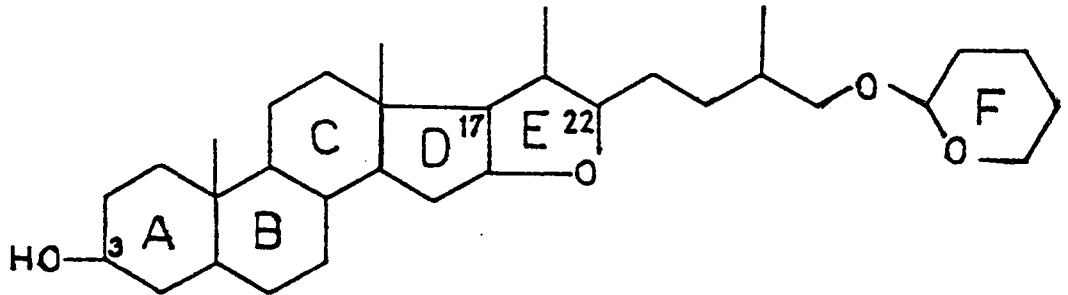
Steroid al saponinler, doğada triterpen yapısındakilere oranla daha az bulunurlar(Trease, et al., 1972) ve monokotiledonlarda (tekçenekliler) özellikle Smilax ve Yucca(Liliaceae familyası), Dioscorea(Dioscoreaceae familyası) ile Agave(Amarryllidaceae familyası) cinslerinde yaygındırlar. Triterpen saponinler ise başlıca dikotiledonlarda(ikiçenekliler), alkaloid tip saponinlerde Solanum cinslerinde(Solanaceae familyası) bulunurlar(Macek, 1972).

Steroid al saponinler, selenyum karışısında ve 360°C' de hidrojenlenirse metilsiklopentanofenantren halkası verirler. Spirostan halkasına sahip C₂₇-steroidlerdir(Tanker ve diğerleri, 1973).



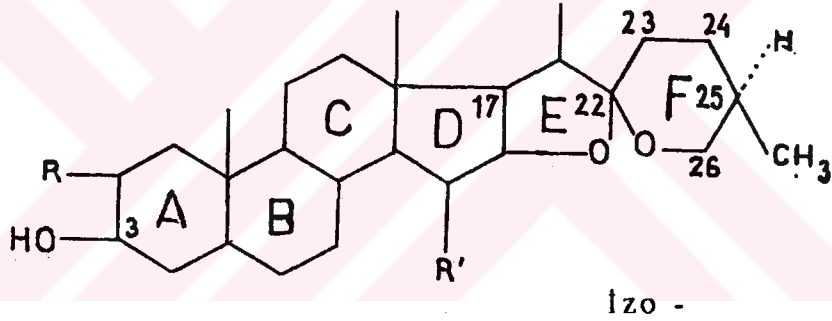
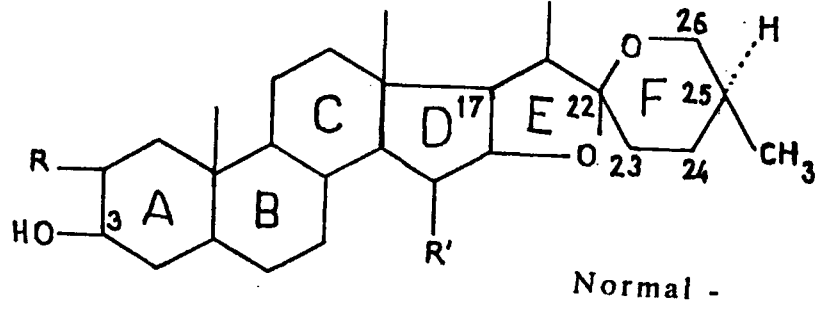
Şekil 2.6. Spirostan Halkası

Bazı saponinler ise spirostan halkasından farklı bir halka sistemine sahiptirler. Bu halka sistemine "furostan halkası" denir. Spirostan halkasının bir türevi olan furostan halkasına sahip bileşikler furostanol glikozidler olarak bilinirler.



Şekil 2.7. Furostan Halkası

Spirostan halkasının iki yerinde izomerler meydana gelir. A ve B halkalarına göre cis ve trans-izomerleri ile C₂₂'deki normal ve izo izomerleri.



Şekil 2.8. C₂₂-izomerleri

İzomerlerin ve diosgenin (Δ^5 , 25 α -spirosten-3 β -ol) ile yamogenin (Δ^5 , 25 β -spirosten-3 β -ol) gibi C₂₅ epimer karışımlarının bitkide normal bulunma oranları, bitkinin gelişme devresi ve morfolojik kısımları gibi faktörlere bağlıdır (Trease, et al., 1972; Jakubke, 1983). Bitkilerde en çok bulunan steroidal sapogeninlere örnek olarak Digitogenin, sarsapogenin, smilagenin, gitogenin, diosgenin, tigogenin, yukagenin, botogenin, hekogenin verilebilir (Rangaswami, et al., 1972).

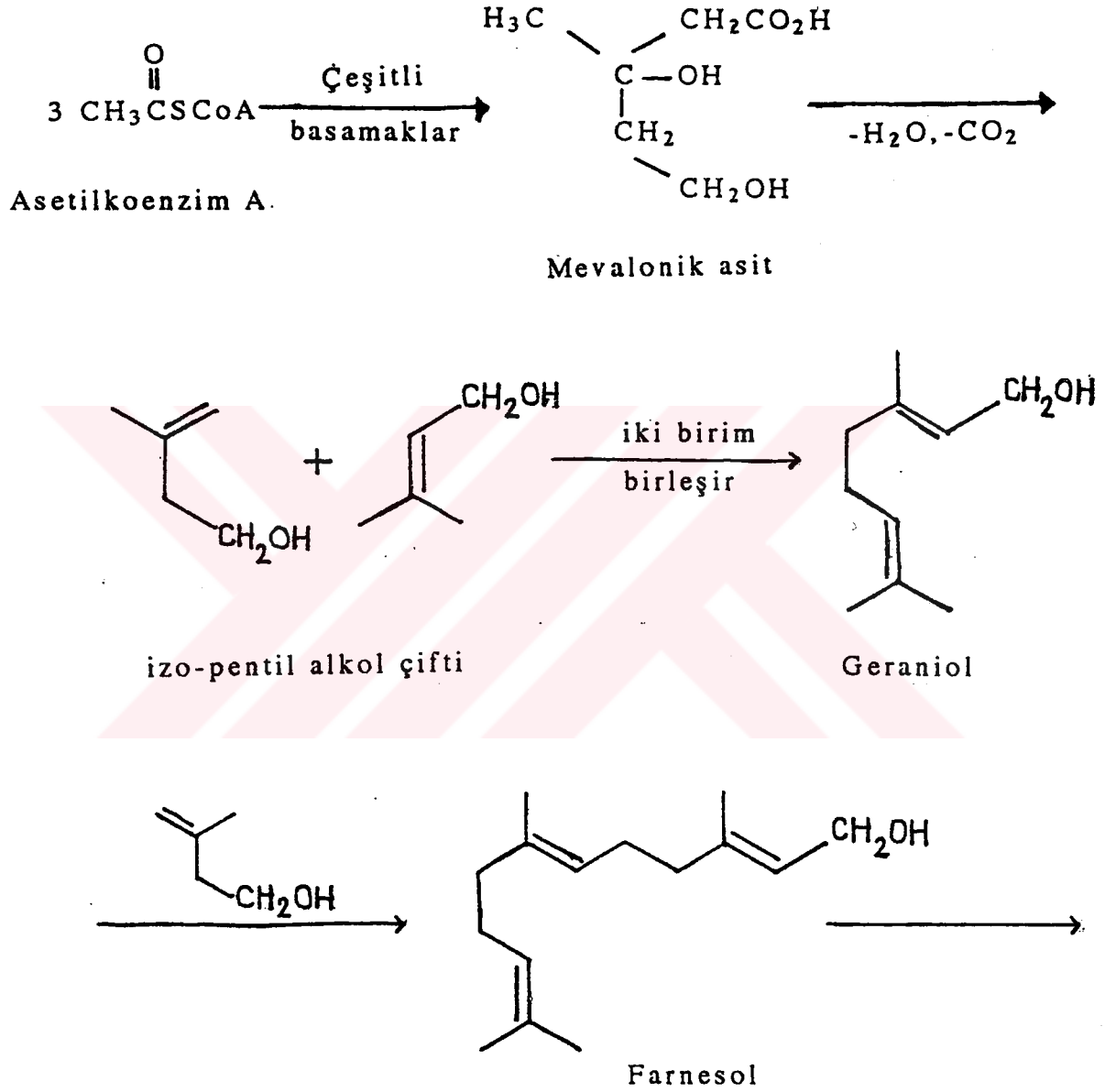
Steroid al Saponinlerin Farmakolojik Önemi

Steroid al saponinler, fizyolojik olmaktan çok farmakolojik öneme sahiptirler(Karlson, 1988) ve son senelerde büyük bir önem kazanmışlardır. Bu önemin başlıca sebebi bu tip maddelerden, yarı sentez yoluyla, bazı hormonların (hidrokortizon gibi) ve özellikle progesteron sınıfı, ağız yoluyla kullanılabilen, gebeliği önleyici(kontraseptif) bileşiklerin hazırlanmakta olmasıdır. Ağız yoluyla alınabilen gebeliği önleyici bileşiklerin kullanımının büyük ölçüde artması bu tip maddeleri hazırlamak için gerekli başlangıç maddelerinin ihtiyacını da büyük ölçüde arttırmış ve bazı ülkelerde steroid saponin taşıyan bitkilerin yetiştirilmesi büyük bir önem kazanmıştır. Kortikosteroidler ve bazı hormonların(progesteron, pregnolon vs.) sentezinde başlangıç maddesi olarak kullanılan en önemli steroid al saponinin diosgenin'dir(Baytop, 1974). Steroid hormonların endüstriyel sentezleri için değerli başlangıç maddeleri olarak kullanılan steroid al saponinler, teknikte de temizleyici ve emülsiyon yapıcı olarak kullanılmaktadır(Budavari, 1989).

2.3.1.8.3. Steroidlerin Biyosentezi

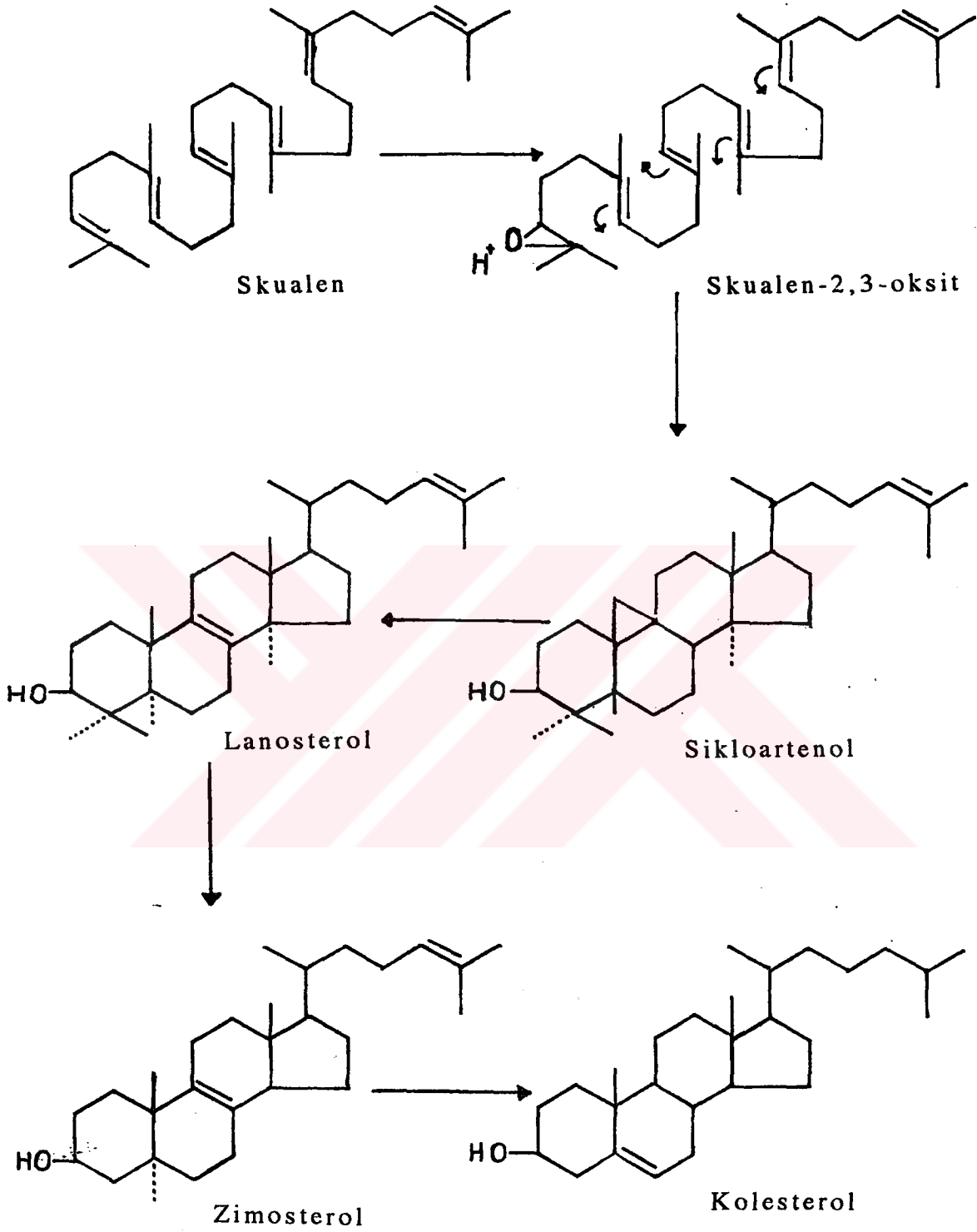
Steroidlerin biyosentezi terpenler üzerinden yürür(Claus et al., 1965). Terpen biyosentezinin ilk basamağı, asetilkoenzim A'daki asetil kısmının enzimatik ester kondenzasyonudur. Ara ürünler, mevalonik asit ve izopentil alkol çiftidir. İzopentil alkoller birleşerek geraniol, farnesol gibi küçük moleküllü terpenleri oluştururlar. İki farnesol molekülünün kondenzasyonundan oluşan ve bir triterpen olan skualen steroidlerin çıkış maddesidir. Bir ara ürün niteliğinde olan, kolesterol ve diğer steroidlere dönüştürülebilen lanosterolün skualenden çıkılarak sentezinde, ilk basamak enzimatik epoksit oluşumudur. İkinci basamakta epoksit protonlanır ve dört halkanın kapanmasını sağlayan bir dizi elektron kaymaları sonucunda steroid halka sistemi meydana gelir. Şekil 2.9, 2.10 ve 2.11'de verilen bütün bu tepkime dizisini skualen

oksidosiklaz denen tek bir enzim katalizlemektedir(Fessenden, et al., 1990).

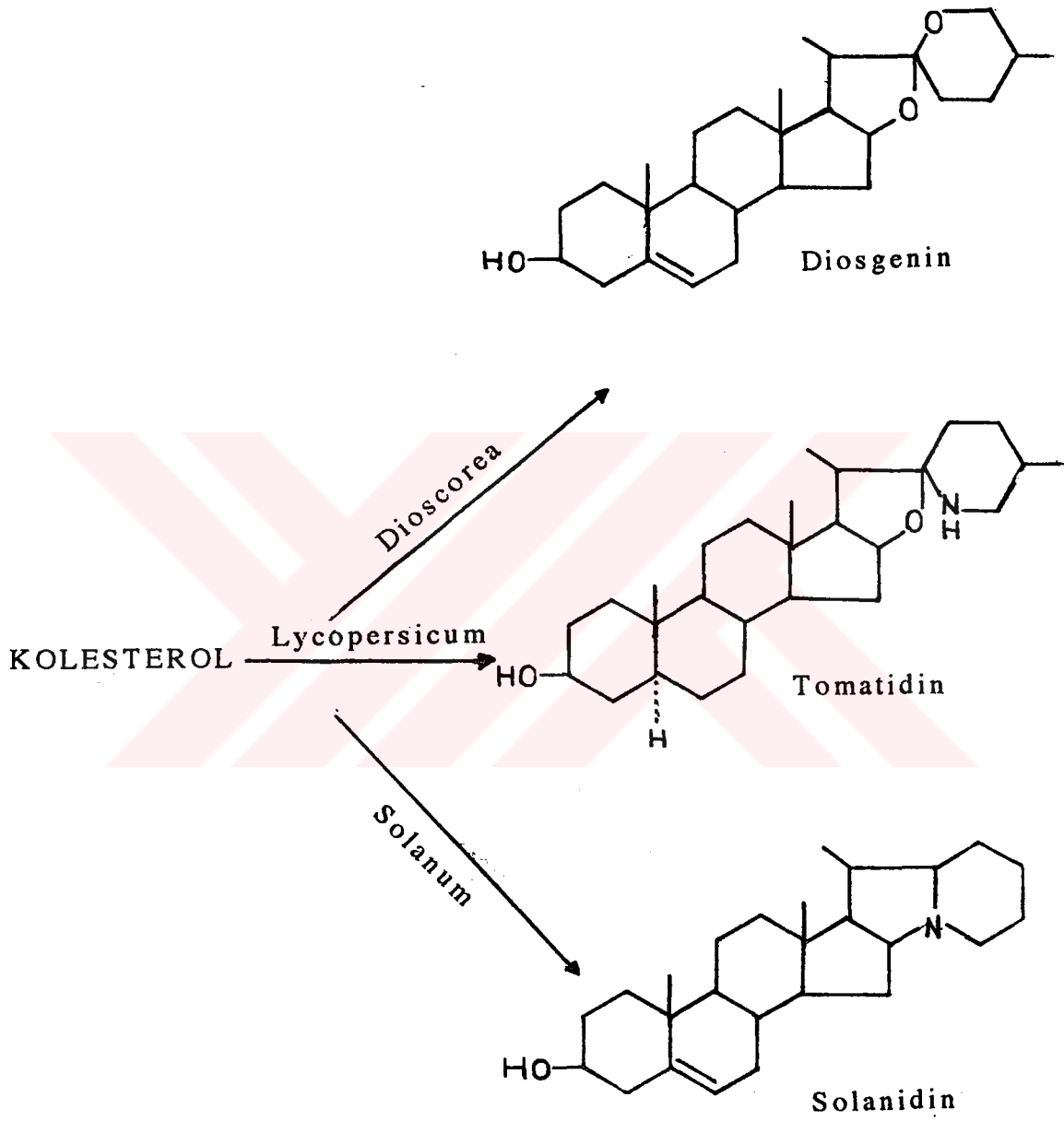


Daha büyük terpenler(Skualen) ve steroidler

Şekil 2.9. Terpen Biyosentezi



Şekil 2.10. Skualenin siklizasyonu ve kolesterol oluşumu



Şekil 2.11. Kolesterolün bitki metabolitleri

Buradan, kolesterolün bitkilerde de bulunduğu anlaşılmaktadır. Skualenin siklizasyonu ve yan zincir bölünmesi olmaksızın kolesterolün formasyonu ile steroidal saponinler meydana gelir(British Herbal Pharmacopeia, 1983).

2.3.1.8.4. Bitkiden Elde Edilmeleri, Ayrılmaları ve Saflaştırılmaları

Saponinler, bitkilerde çok kompleks karışımlar halinde bulunurlar. Bu nedenle onları saflaştırmak ve yapılarını aydınlatmak son derece zordur. Kurutulduktan sonra öğütülen bitkiden ekstraksiyon ile ve uygun bir çözücü kullanılarak ayrılırlar. Çözücü olarak genellikle polar çözücüler özellikle de etanol, butanol, metanol-su karışımları kullanılmaktadır. Bazı durumlarda çok az miktarda piridin katılması ile de iyi bir ayırma sağlanabilir. Steroidal-alkaloid saponinler zayıf asidik çözücülerle kolayca ekstre edilir(Kirchner, 1967; Macek, 1972).

Bitkiden steroidal saponinlerin ayrılması: Steroidal saponinleri bitkiden ayırmak için en çok kullanılan yöntemlerden biri; ekstraksiyon, metanolde çözme ve eter ile çöktürme işlemlerini içine alan yöntemdir.

Steroidal Saponinlerin Ön Saflaştırılması: Uygun farklı yöntemler kullanılarak saflaştırma yapılır. En çok kullanılan yöntemler:

a) Bitkiden elde edilen alkol ekstreleri %10'luk bir çözelti oluşturacak şekilde suda çözülür. Bu çözelti iki kere aynı hacimdeki n-butanol ile tüketilir. Yoğunlaştırılan n-butanol fazı bir miktar metanol içine alınır. Metanollü çözeltiye 10-15 ml eter bir karıştırıcı yardımıyla ilave edilir. Çöken saponinler vakumda süzülür, eter ile yıkanır ve kurutulur. Saponinlerde bulunan safsızlıklara göre eterde çöktürme bir kaç kere tekrarlanabilir.

b) Bitkiden ayrılan saponin karışımını taninlerden ayırmak için ise şu yöntem uygulanır: Bitkiden elde edilen ve kuruluğa kadar buharlaştırılan ekstre 10 ml su içine alınarak 4 g poliamid ya da magnezyum oksid ile karıştırılır. Bir su banyosu üzerinde suyu uçurulduktan sonra arta kalan kalıntı %80 sıcak etanol ile ekstrakte edilir ve süzülür. Süzüntü buharlaştırılır.

Taninleri çöktürmek için uygulanan bir diğer yöntemde de, ekstreye %15'lik kurşun-asetat çözeltisi katılarak taninler, tanin-kurşun kompleksi oluşturarak çöktürülür. Süspansiyon halindeki partiküller santrifüjlenerek uzaklaştırılır. Süzüntüye %10 sodyum fosfat çözeltisi katılarak kurşun iyonları, kurşun fosfat şeklinde çöktürülür. Elde edilen beyaz çökelti de santrifüjlenerek uzaklaştırılır. Böylece taninler ve bazı safsızlıkların bir kısmı, saponin karışımından ayrılmış olur(Macek, 1972).

2.3.1.8.5. Kromatografik Yöntemler

Saponinlerin kromatografik ayrılmaları karmaşık yapılarından dolayı çok zordur. Bu nedenle farklı bir çok kromatografik yöntem birarada kullanılır. Bitkiden elde edilen ekstrelerin ayrılma ve saflaştırma işlemleri kolon kromatografisi, ince tabaka kromatografisi ve preparatif ince tabaka kromatografileri ile yapılır. Adsorban olarak başlıca silikajel, alüminyum oksid, magnezyum oksid, kiselgur ya da selüloz kullanılır.

Son zamanlarda, özellikle oligosidler için iyi bir ayırma sağladığından dolayı değişik sefadeks tipleri de kullanılmaktadır.

Saponinlerin Şeker Kısımları

Saponinlerde bulunan şekerler ve uronik asitler; D-glukoz, D-galaktoz, D-fruktoz, D-ksiloz, L-arabinoz, L-ramnoz, D-glukuronik asit ve D-galakturonik asittir. Bir deoksi şeker olan

6-deoksi-D-glukoz (D-kinovoz) da tanımlanmıştır(Macek, 1972).

Piranoz ya da furanoz şeklinde saponinlerde bulunan şekerlerin sayısı ve tipi çeşitlidir. Şekerler ya temel yapıda birbirine bağlanmış ya da yan zincirde olabilir. Uç monosakkarit genellikle bir pentozdur. Saponinler bulunan şeker sayısına göre mono-, di-, tri- ve tetraosidler olarak adlandırılır. En az dört ya da beş şeker içeren osidler oligosidler olarak tanımlanır. Şeker genellikle glikozidik ya da O-açıl glikozidik bağ ile aglikona bağlıdır. Bir tek şeker içeren saponinler monodesmosidler, iki şeker içeren saponinler de bisdesmosidler olarak bilinir(Stahl, 1969; Macek, 1972).

Saponinler, şekerlerin tanınması için hidroliz yolu ile parçalanır. Saponinlerin hidrolizi için değişik konsantrasyonlardaki asitler veya enzimler kullanılır. En çok kullanılan yöntem:

Wulff-Tschesche Asit Hidroliz Yöntemi'dir. Bu yöntemde 50 mg saponin 2 ml dioksan'da çözülür. Bu çözeltiye 6 ml 3 N HCl ilave edilir ve karışım 6 ml benzen ile tabakalandırılır. 95°C'de 4 saat bekletilir. Bu sürenin sonunda benzen tabakası uzaklaştırılır ve kalan kısım kloroform-metanol(4:1) karışımı ile üç kez ekstrakte edilir. Sulu faz şeker içerir.

Daha sonra sodyum karbonat kullanılarak nötralizasyon işlemi uygulanır. Önce nötralizasyon noktasına ulaşılan kadar kısımlar halinde sodyum karbonat katılır ve karışım vakumda kuruluğa kadar buharlaştırılır ve kalıntı 24 saat fosfor penta oksit üzerinde kurutulur ve şeker 1 ml susuz piridinde çözülür(Macek, 1972).

Tablo 2.2. Bazı Steroidal Saponinler ve Şeker Kısımları

Saponin	Sapogenin	Şeker
Digitonin	Digitogenin	2 Glikoz, 2 Galaktoz, 1 Ksiloz
Dioscin	Diosgenin	1 Glikoz, 2 Ramnoz
Gitonin	Gitogenin	1 Glikoz, 2 Galaktoz, 1 Ksiloz
Sarsaponin	Sarsapogenin	2 Glikoz, 1 Ramnoz
Yukonin	Yukogenin	3 Galaktoz, 1 Pentoz

Çözücü Sistemleri

Saponinlerin kromatografik davranışı, aglikon kısmına, moleküldeki şeker sayısına ve şeker zincirinde bulunan polar grupların (-OH, -COOH, =O, -CH₂-, -O-, =NH) sayısına bağlıdır. Saponinlerin ince tabaka kromatografilerinde butanol ya da kloroform-metanol-su(65:35:10) gibi polar sistemler kullanılır. Asetillenmiş ya da metillenmiş türevleri daha az polar oldukları için kloroform-etanol(100:2) ya da benzen-aseton(80:20) karışımları kullanılabilir.

Saponinlerden daha az polar olan sapogeninler özellikle de mono-hidroksi sapogeninler, adsorpsiyon ya da partiyon işlemleri ile çok daha iyi bir ayrılma sağlarlar. Sapogenin ve asetatlarının da silikajel ya da alümina üzerindeki ince tabaka kromatografileri için bir kaç çözücü sistemi birleştirilerek kullanılır. Ayrılması zor önemli sapogenin çiftleri ve C₂₅ izomerleri, kloroform-metanol(94:6), sikloheksan-etilasetat(50:50) ya da metilen diklorür-metanol-formamid(93:6:1) gibi nispeten polar çözücüler kullanılarak ayrılırlar. Hatta kloroform-toluen(90:10) gibi polaritesi az bir çözücü sistemi ile silikajel-kieselgur(1:1) üzerinde de bu izomer karışımlarını ayırmak mümkündür(Stahl, 1969; Macek, 1972, Harborne, 1984).

2.3.1.8.6. Tanınmaları

Ön Denemeler, Renk Reaksiyonları ve Miktar Tayinleri

Bitkide bulunan saponinler hakkında bir bilgi edinebilmek için önce çeşitli ön denemelerin yapılmasında fayda vardır. Ön denemeler, laboratuvar ısısında kurutulduktan sonra, kaba toz haline getirilmiş bitki örneğinden hazırlanan %1 veya %5 infüzyon ya da etanollü ekstre ile yapılır. Ön denemeler üç aşamada gerçekleştirilir.

I. İnfüzyon ya da ekstrelerin hazırlanması:

a) %5 infüzyon hazırlanması

5 g toz haline getirilmiş bitki örneği üzerine 100 ml sıcak su konulur, karışım 30 dakika kaynar su banyosunda tutulur ve sıcak iken pamuktan süzülür. İnfüzyonda antrasen glikozidleri, flavon glikozidleri, saponinler ve taninler aranır.

b) Etanollü ekstrenin hazırlanması

3 g toz haline getirilmiş bitki örneği 30 ml etanol ile geri soğutucu altında, su banyosunda 30 dakika kaynatılır. Sıcak iken süzgeç kağıdından süzülür ve su banyosu üzerinde 3 ml kalıncaya kadar yoğunlaştırılır. Bu ekstrede özellikle alkaloidler aranır.

II. Saponin aranması: Üç şekilde yapılabilir.

Yöntem A: 10 ml infüzyon bir deney tüpüne konulur ve tüp baş parmak ile sıkıca kapatıldıktan sonra yatay olarak 30 saniye kuvvetle çalkalanır. Dinlenmeye bırakılır. 15 dakika sonra tüpte en az 1 cm yükseklikte bir köpük kaldığı takdirde örnekte saponin vardır (Baytop ve diğerleri, 1989).

Yöntem B: Hemolitik saponinleri tanımak için uygulanan bu yöntemde bitki, su, metanol veya etanol ile ekstre edilir. Bu ekstreye batırılan bir süzgeç kağıdı kurutulduktan sonra kan içeren jelatin peltesi ile temas ettirilir. Süzgeç kağıdının etrafında şeffaf bir kuşak meydana gelirse hemoliz yapan saponin vardır(Tanker ve diğerleri, 1985).

Yöntem C: Bu yöntem tüm steroidal bileşiklere uygulanır ve steroidlerin güçlü asitlerle verdiği renk reaksiyonlarından yararlanır. Oluşan değişik renkler halokromlar adını alır. Bunlar steroidal bileşiklerin polimerleşerek yüksek molekül ağırlıklı doymamış hidrokarbonlar oluşturmaları esasına dayanır. En çok kullanılan reaksiyonlar;

1) SALKOWSKI reaksiyonu: Steroidal bileşiklerin kloroformlu çözeltisi sülfürik asit ile sarı bir renk oluşturur.

2) LIEBERMANN-BURCHARD reaksiyonu: Asetik asit anhidridinde çözülmüş steroidal bileşikler derişik sülfürik asitle tabakalandırılır. İki tabaka arasında yeşilden mavi-mor'a değişen bir renk meydana gelir(Tanker ve diğerleri, 1985).

3. DENEYSEL BÖLÜM

3.1. KULLANILAN YÖNTEMLER

3.1.1. Kromatografik Yöntemler

Smilax excelsa bitkisinin içerdigi steroidal bileşiklerin ayrılması için genel olarak adsorbsiyon tekniğine dayanan kolon kromatografisi ve ince tabaka kromatografisinden yararlanıldı.

3.1.1.1. Kolon Kromatografisi

Kurutulmuş bitkiden tüketilerek elde edilen ve yoğunlaştırılarak koyu şurup kıvamına getirilen kloroform ve etanol ekstratlarının içerdigi madde karışımlarının kaba fraksiyonlandırılması için sıvı-katı(adsorbsiyon) kolon kromatografisi uygulandı. Adsorban olarak;

Silikajel 60, parçacık büyüklüğü 0.063-0.200 mm (70-230 mesh ASTM) (Merck 7160) kullanıldı.

Fraksiyonların saflaştırılması için uygulanan preparatif kolon kromatografisinde de yine aynı adsorban kullanıldı.

Kolonların Hazırlanması: Ekstre miktarına uygun çap ve uzunlukta cam kolonlar kullanıldı. Kolonlar yaş yöntem kullanılarak hazırlandı. Yaş yöntemde adsorban hareketli faz ile karıştırıldı ve kolona yavaşça döküldü.

Silikajel kolon

Yoğunlaştırılarak koyu şurup kıvamına getirilen ekstre, çok az miktarda silikajel ile, homojen bir karışım elde edilene kadar karıştırıldı. Karışımın çözücüsü uçurularak tamamen kurutuldu. Ekstre miktarının yaklaşık altmış katı kadar alınan silikajel adsorban uygun çözücü ile karıştırıldı ve kolona döküldü. Bu şekilde kolonun 2/3'sini dolduracak şekilde yerleştirildi. Kolon polaritesi artan değişik çözücülerle yıkandı.

3.1.1.2. İnce Tabaka Kromatografisi

Tanıma amacıyla uygulanan ince tabaka kromatografisinde hazır plaklar,

TLC aluminium sheets silica gel 60 F₂₅₄(5554, Merck)

TLC aluminium sheets cellulose F(5574, Merck) kullanıldı.

Preparatif ince tabaka kromatografisi için;

Silikajel 60 HF₂₅₄ (7739 , Merck)

Silikajel 60 H (7736, Merck)

kullanılarak hazırlanan cam plaklar kullanıldı.

Plakların hazırlanması

60 g silikajel (20x20 cm boyutlarındaki 5 plak için) 120 ml distile su ile çalkalanarak homojen bir süspansiyon hazırlandı. Bu süspansiyon ile, önceden temizlenmiş cam plaklar, Camag plak kaplama aleti ile kaplandı. 24 saat oda ısısında kurutulup 105-110°C deki bir etüvde 1-2 saat tutularak aktive edildi.

Çözücüler

Hekzan ve kloroform ekstralarının ince tabaka kromatografileri için petrol eteri, hekzan, benzen, kloroform, etil asetat, aseton, etanol ya da değişik oranlardaki karışımları kullanıldı.

Alkol ekstraları için de; n-butanol, etanol, metanol, su kullanıldı.

3.1.2. Kimyasal Yöntemler

3.1.2.1. Steroidal Bileşiklerin Tanınması İçin Kullanılan Kimyasal Yöntemler

Liebermann-Burchard Reaksiyonu

Steroidin kloroformdaki çözeltisine birkaç damla asetik asit anhidridi ilave edilir. Daha sonra derişik sülfürik asit ile faz oluşturulur. İki faz arasında yeşil, mavi, mor renk oluşumu steroid bulunduğunu gösterir.

Salkowski Reaksiyonu

Steroidin kloroformdaki çözeltisi derişik sülfürik asit ile tabakalandırılır. Steroid varlığında sarı renk oluşur.

3.1.2.2. Glikozidlerin Şeker Kısımlarının Tanınması İçin Kullanılan Kimyasal Yöntemler

Molish Reaksiyonu

Bütün şekerlere uygulanan bu yöntemde şeker çözeltisine α -naftol'un %95'lik etanoldeki %10'luk çözeltisi ilave edilir. Çalkalanır ve derişik sülfürik asit ile tabakalandırılır. Şeker varlığında mor renk oluşur.

Seliwanoff Reaksiyonu

Şeker çözeltisine derişik hidroklorik asit ilave edilir. Kaynar su banyosunda tutulur. Daha sonra bir miktar rezorsin katılarak tekrar kaynar su banyosunda tutulur. Kırmızı renk oluşumu fruktoz bulunduğunu gösterir.

3.1.2.3. İnce Tabaka Kromatografisinde Kullanılan Belirteçler

Serik Sülfat Belirteci

2 g Seryum (IV) sülfatın %10'luk 100 ml sülfürik asit içinde çözülmesi ile hazırlanan belirteç, plağa püskürtüldükten sonra plak 100°C deki etüvde 5-10 dakika lekeler belirinceye kadar bekletilir. Bu belirteç steroid bileşiklerinin tanınmasında kullanılır.

Carr-Price Belirteci

25 g Antimon (III) klorür 75 g kloroformda çözülür. Belirteç plağa püskürtüldükten sonra 105°C'de 10 dakika tutulur. Bu belirteç Δ^5 -doymamış β -hidroksi ve 5 α -doymuş β -hidroksi spirostanolleri ayırmak için kullanılır.

Anilin-Ftalat Belirteci

1.66 gram ftalanhidrit ve 0.93 gram taze distillenmiş anilin suyla doyurulmuş butanol ile 100 ml'ye tamamlanarak hazırlanır. Kromatografi plaklarına anilin-ftalat belirteci püskürtüldükten sonra 100°C'de 10-15 dakika bekletilerek oluşan lekeler saptanır. Bu belirteç şekerlerin tanınması için kullanılır.

3.1.2.4. Uygulanan Kimyasal Reaksiyon

Asetilleme

Asetilleme reaksiyonu, bileşiklerin spektral analizlerinden elde edilen bilgilerin doğrulanması amacıyla yapılır.

5-10 mg bileşik, kuru bir erlen içine konularak 1 ml susuz piridinde çözülür. Üzerine 1 ml asetanhidrit ilave edilir ve ağzı kapalı olarak 24 saat oda ısısında bekletilir. Bu sürenin sonunda 15-20 ml distile suya dökülerek kloroform ile ekstre edilir. Piridinden kurtarmak için bir kaç kez su ile yıkanır ve kloroform vakumda uçurulur.

3.1.3. Spektrofotometrik Yöntemler

Bileşiklerin IR spektrumları NaCl kristalleri arasında veya KBr tabletleri halinde Philips PU 9714 Infrared Spektrofotometresi'nde ölçüldü.

NMR ve kütle spektrumları ise TÜBİTAK Marmara Araştırma Merkezi Bitki Kimyası Bölümü'nde alındı.

3.2. YAPILAN İŞLEMLER

3.2.1. Bitkinin Tüketilmesi ve Ekstrelerin Elde Edilmesi

Smilax excelsa(Liliaceae) bitkisinin meyva, yaprak ve dal gibi toprak üstü kısımları farklı zamanlarda toplandı. İlk olarak Kasım 1992'de meyvalar, Mayıs 1993'de ise yaprak ve dallar I.Ü. Orman Fakültesi Arboretumu ve uygulama ormanından (Bahçeköy) toplanarak Orman Fakültesi Botanik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç.Dr.Asuman Efe tarafından teşhis edildi. Bitki aynı üniversitenin herbaryumunda ISTO-3926 numarası ile kayıtlıdır.

Açık havada, gölgede kurutulan bitki tartıldığında kuru ağırlığının, yaş ağırlığın hemen hemen yarısı kadar olduğu ve kuruma ile ağırlık kaybının meyvalarda %40, yaprak ve dallarda ise %58 olduğu hesaplandı.

Kurutulmuş bitkinin meyva, yaprak ve dal kısımları ayrı ayrı öğütülerek önce meyvalar, daha sonra birleştirilen yaprak ve dallar incelendi.

233 g meyva Sokslet cihazında sırasıyla n-hekzan, kloroform, n-butanol, etanol ve su ile ekstre edildi. Ekstreler düşük basınçta koyu şurup kıvamına kadar yoğunlaştırıldı. Çözücüleri tamamen uçuruldu.

Tablo 3.1. Bitkinin meyvalarının çeşitli çözücülerdeki ekstrelerinin genel görünüşleri

Çözücü	Görünüş
Hekzan Kloroform	Sarı-yeşil renkli, hafif tortulu Sarı-kahverengi, hafif kırmızıya bakan renkte, son derece yoğun, jel kıvamında, yapışkan.
n-Butanol	Koyu kırmızı-kahverengi renkte, yoğunlaştırıldıktan sonra açık kahverengi çökelti veren.
Etanol	Koyu-kırmızı renkte, karakteristik kokuya sahip, yoğunlaştırıldıktan sonra beyaz çökelti veren.
Su	Koyu kahverengi renkli, yoğun, karakteristik kokulu.

Bitkinin 547 g ağırlığındaki dal ve yaprakları da Sokslet cihazında sırasıyla n-hekzan, kloroform, etanol ve su ile ekstre edildi.

Önce bitkinin %1'lik infüzyonuna daha sonra meyva ve dal+yapraklardan elde edilen ekstrelerin tümüne köpürme testi uygulandı.

Tablo 3.2. Köpürme Testi Sonuçları

		Köpürme Testi
%1 infüzyon		+
Hekzan ekstresi	Meyvalar	-
Kloroform ekstresi		-
n-Butanol ekstresi		+
Etanol ekstresi		+
Su ekstresi		-
Hekzan ekstresi		Yaprak+Dallar
Kloroform ekstresi	-	
Etanol ekstresi	-	
Su ekstresi	+	

Smilax excelsa bitkisinin meyvalarından elde edilen ekstrelerin herbirinin taşıdığı bileşikler hakkında ön fikir edinmek amacıyla silikajel plaklarda ince tabaka kromatografileri yapıldı. Buna göre n-hekzan ve kloroform ekstreleri steroller yönünden incelendi. n-butanol ve etanol ekstrelerinin benzer bileşikler içerdikleri görüldü. Bu ekstreler birleştirildi ve köpürme testi sonuçları gözönüne alınarak steroidal saponin yönünden incelendi. Su ekstresi ile yapılan ince tabaka kromatografisinde ise fazla madde görülemediğinden bu kısım ile çalışılmadı.

Yaprak+dallardan elde edilen ekstrelerden sadece su ekstresi steroidal saponinler yönünden incelendi.

3.2.2. Ekstrelerin Fraksiyonlandırılması ve Bileşiklerin Ayrılması

3.2.2.1. Bitkinin Meyvaları ile Yapılan Çalışmalar

Hekzan ekstresi

Meyvalardan elde edilen 10 g hekzan ekstresi çok az miktar hekzanda çözülerek aynı miktar silikajel ile karıştırıldı. Çözücü tamamen uçuruldu.

4.5x60 cm boyutlarındaki cam kolona yaş yöntem ile silikajel dolduruldu. Yaş yöntemde hekzan ile karıştırılan silikajel kısımlar halinde kolona yerleştirildi. Silikajelin iyice yerleşmesi için kolon çözücü ile yıkandı ve hazırlanan hekzan ekstresi kolona yerleştirildi. Elüsyona hekzan ile başlandı ve %10 artan oranlarda kloroforma geçilerek 150 ml'lik kısımlar halinde 43 fraksiyon alındı. Fraksiyonlar ince tabaka kromatografisinde hem UV ışık altında hem de serik sülfat belirteci ile doğrudan incelenerek benzer olanlar birleştirildi. Bu fraksiyonlardaki bileşiklerin uzun zincirli alifatik hidrokarbon türevi yağlı maddeler olduğu saptandı. Sterol yapısındaki maddelere rastlanmadı.

Kloroform ekstresi

17 g ekstre çok az miktarda kloroformda çözülerek aynı miktar silikajel ile karıştırıldı. Çözücü tamamen uçuruldu. Yaş yöntem ile hazırlanan silikajel kolona yerleştirildikten sonra elüsyona kloroform ile başlandı ve %10 artan oranlarda etanole geçildi. 150 ml'lik kısımlar halinde 41 fraksiyon alındı. Fraksiyonlar ince tabaka kromatografisinde hem UV ışık hem de serik sülfat belirteci ile kontrol edilerek benzer olanlar birleştirildi. Bu bileşiklerden önemli görülenler silikajel plaklar kullanılarak preparatif ince tabaka kromatografisi ile saflaştırıldı. Bu ekstrenin (14.-15.) fraksiyonlarından S₁ steroid bileşiği elde edildi.

Alkol ekstreleri

İnce tabaka kromatografileri yapılarak benzer bileşikler içerdikleri saptanan n-butanol ve etanol ekstreleri birleştirildi.

34 g etanol ekstresi + 15 g butanol ekstresi = 49 g ekstre

Yaş yöntemle hazırlanan silikajel kolona ekstreler yerleştirildi. Elüsyona önce butanol ile başlandı ve %10 artan oranlarda etanole geçildi. 150 ml'lik kısımlar halinde 53 fraksiyon alındı. Yoğunlaştırılan fraksiyonların ince tabaka kromatografileri yapılarak benzer olanlar birleştirildi. Renk reaksiyonları ve köpürme testi ile (32-39.) fraksiyonlarda çöken maddelerin steroidal saponin olabileceği düşünüldü. Silikajel plaklar kullanılarak preparatif ince tabaka kromatografisi ile saflaştırılan bu fraksiyonlardan S₂ ve S₃ bileşikleri elde edildi.

3.2.2.2. Bitkinin Yaprak+Dal Kısmı ile Yapılan Çalışmalar

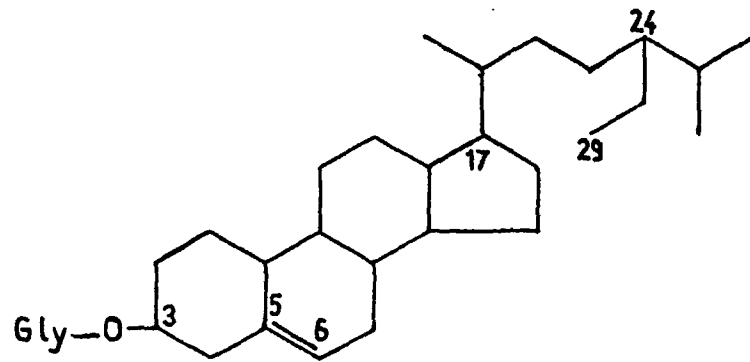
Smilax excelsa bitkisinin yaprak+dallarından elde edilen ekstrelerden sadece su ekstresinin köpürme testini pozitif vermesi, steroidal saponinlerin bu ekstrede bulunduğunu düşündürdü. Yaprak+dallardan elde edilen su ekstresi iki kere aynı hacimdeki n-butanol ile tüketildi. Yoğunlaştırılan n-butanol fazı bir miktar metanolde çözüldü. Metanollü çözeltiye 10-15 ml eter bir karıştırıcı yardımıyla ilave edildi. Çöken bileşikler vakumda süzülde, eter ile yıkandı ve kurutuldu. Burada elde edilen bileşiğin, bitkinin meyvalarınının alkol ekstrelerinden elde edilen S₃ ile aynı olduğu spektral yöntemlerle anlaşıldı.

Bu Çalışmada Kullanılan Kimyasal 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)
Etil asetat (Ethyl-acetate extra pure, Merck 864)
Sülfürik asit (Sulfuric acid extra pure, Merck 713)
Hidroklorik asit (Hydrochlorid acid fuming extra pure, Merck 314)
n-Butanol (Destillenerek kullanıldı)
Aseton (Acetone extra pure, Merck 13)
Seryum (IV) sülfat (extra pure, Merck 2274)
Asetik asit anhidridi (Acetic anhydride for synthesis, Merck 8919224)
Kalsiyum oksid (Merck, 2112)
Pridin (Merck, 946)
Dioksan (1,4 Dioxane extra pure, Merck 3115).

3.3. BU ÇALIŞMADA ELDE EDİLEN BİLEŞİKLER

- 3.3.1. S₁ Bileşiği = β -sitosterolin
Sitosteril 3 β -glikozid
 Δ^5 -Stigmasten-3 β -glikozid
24-Etil- Δ^5 -kolesten-3 β -glikozid



Şekil 3.1. Sitosteril 3 β -Glikozid

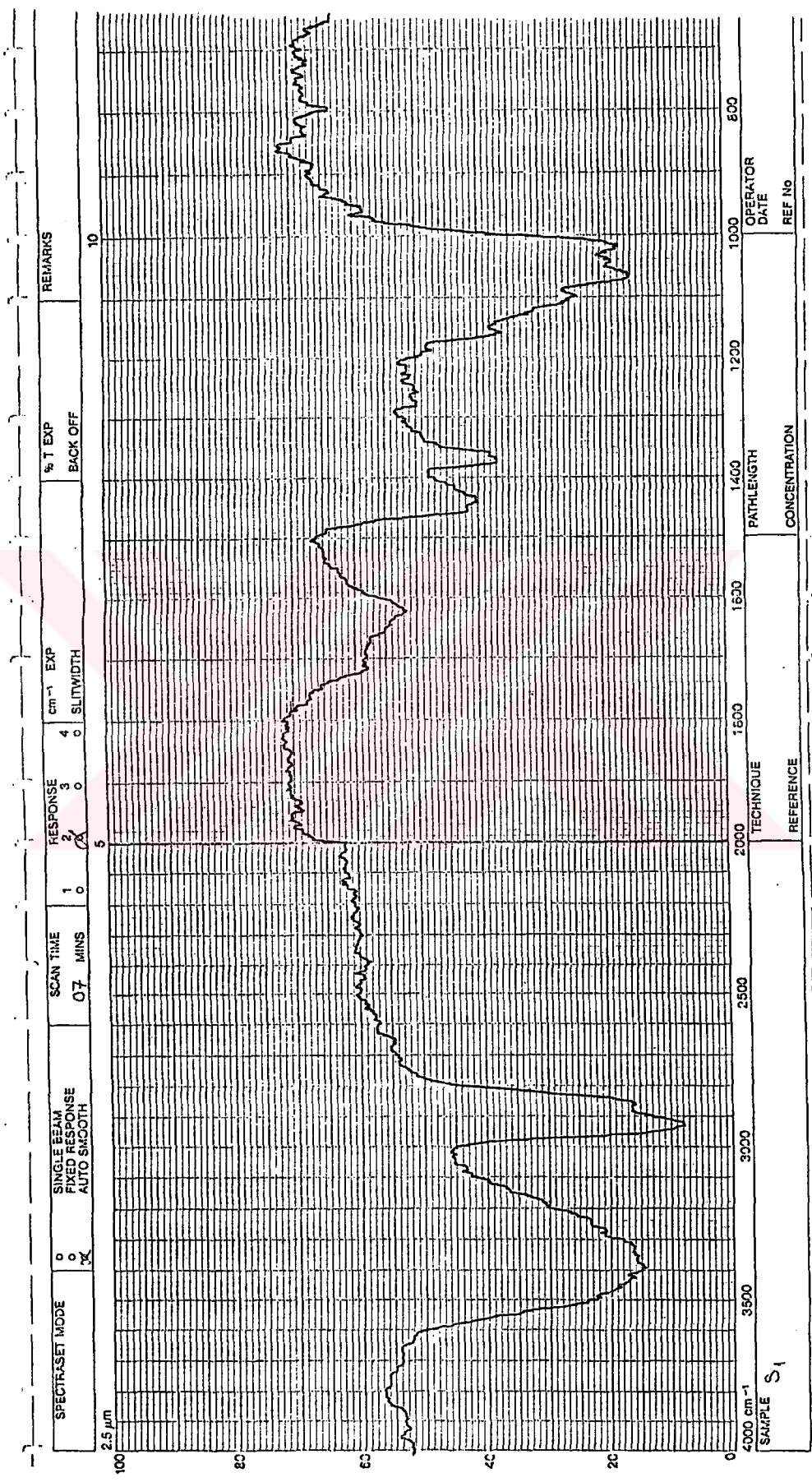
Kloroform ekstresinden saflaştırılan gri-beyaz toz halindeki S₁ bileşiğinin ince tabaka kromatografisinde β-sitosterol'den daha polar davranması ve serik sülfat belirteci ile kahverengi-mor renk vermesi glikozidik sterol yapısında olabileceğini göstermiştir. Bileşiğin Liebermann-Burchard ve Molish reaksiyonlarını pozitif vermesi de bunu doğrulamıştır. Bileşiğin erime noktası 288-290°C bulunmuştur. Rodd's Chemistry of Carbon Compound'da bileşiğin e.n'sı ≈293°C'dir.

Bileşiğin Spektral Özellikleri

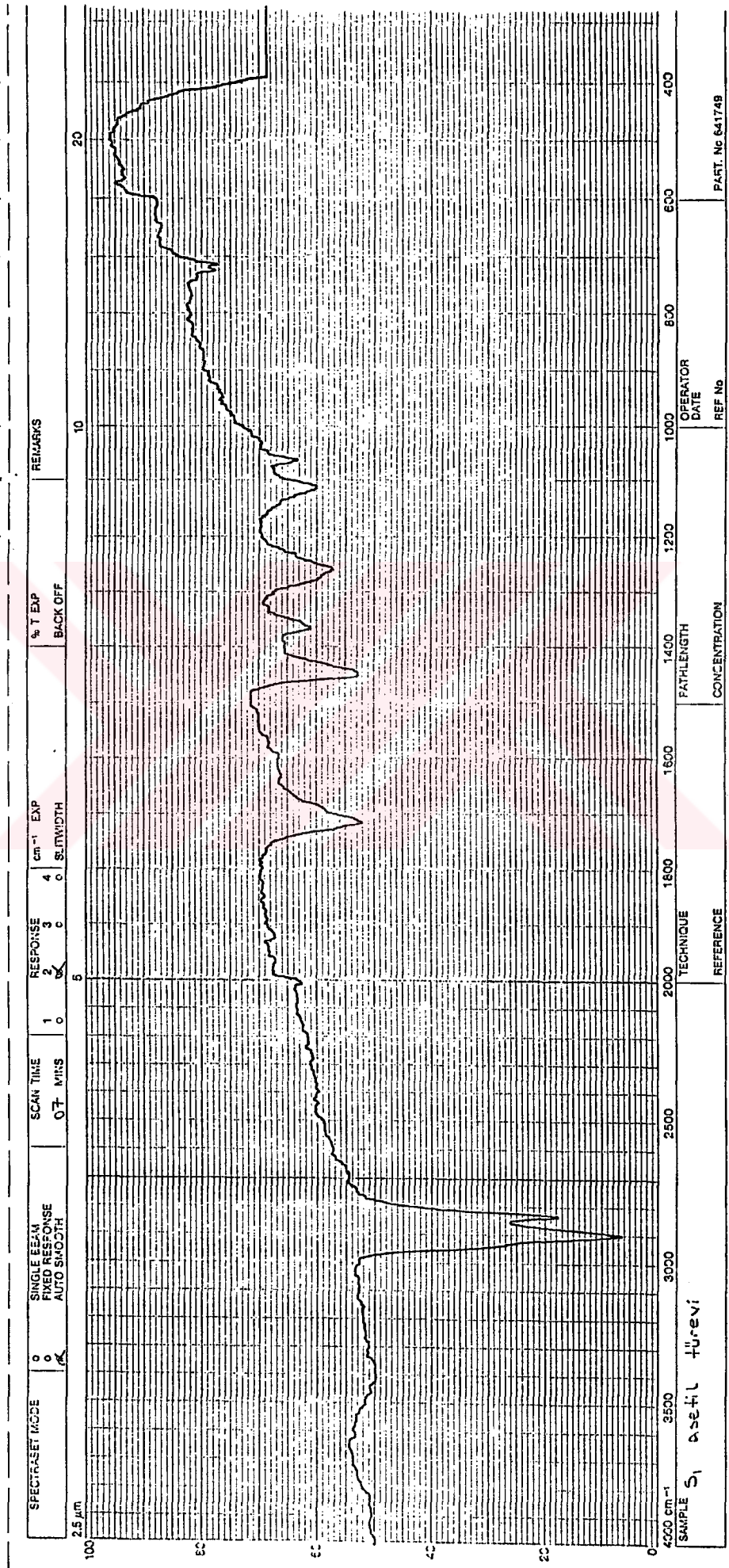
IR spektrumunda (Şekil 3.2.) 3400 cm⁻¹'de (OH), 2920 cm⁻¹'de (C-H gerilme), 1630 cm⁻¹'de (doymamışlık), 1450 cm⁻¹'de (C-H eğilme), 1375 cm⁻¹'de (gem dimetil), 1065 ve 1020 cm⁻¹'de (C-O) bantları bulunmaktadır.

S₁ bileşiği asetil türevinin IR spektrumunda (Şekil 3.3.) hidroksil pikinin kaybolması ve 1720 cm⁻¹'de asetil bandının gözlenmesi, bileşikte asetillenebilen hidroksil gruplarının bulunduğunu göstermektedir.

S₁ bileşiği ile sitosteril 3β-glikozid standardının ince tabaka kromatografisinde karşılaştırılması sonucu, aynı R_f değerlerini ve aynı rengi verdiği görülmüştür. Ayrıca spektral bulgular ve bileşiğin diğer özelliklerinin standart örneklerle aynı olması, bileşiğin sitosteril 3β-glikozid olduğunu kanıtlamıştır. Bu madde yaklaşık 12 mg olarak izole edilmiştir.



Şekil 3.2. S₁ Bileşiği IR Spektrumu



Şekil 3.3. S₁ Bileşiği Asetil Türevi IR Spektrumu

3.3.2. S₂ Bileşigi

Alkol ekstrelerinden elde edilen S₂ bileşiginin köpürme testini, Liebermann-Burchard ve Molish reaksiyonunu pozitif vermesi, ayrıca çözünürlüğünün metanolde az, suda çok fazla olması, kloroformda çözünmemesi steroidal saponin yapısında olabileceğini düşündürdü. Asit hidrolizi ile aglikon kısmı ayrılan bileşigin ince tabaka kromatografisinde hesaplanan R_f değeri ve IR spektrumunda 1695 cm⁻¹'deki karbonil piki keton grubu taşıyan bir sapogenin olabileceğini düşündürdü. Ancak bileşigin erime noktası (192°C) keton grubu taşıyan saponinlerin erime noktaları (225° ve 241°C) ile karşılaştırıldığında farklı bulundu.

Bileşigin Spektral Özellikleri

Bileşigin IR spektrumunda (Şekil 3.4.) 3400-3200 cm⁻¹'de (OH), 2910 cm⁻¹'de (C-H gerilme), 1615 cm⁻¹'de (doymamışlık), 1050 cm⁻¹'de (C-O gerilme), 910, 860, 810, 770 cm⁻¹'de ise spirostanol glikozidlere ait karakteristik bantlar görülmektedir.

Bileşik hidrolizlendikten sonra alınan IR spektrumunda (Şekil 3.5.) 3400-3200 cm^{-1} 'de (OH), 2900-2840 cm^{-1} 'de (C-H gerilme), 1695 cm^{-1} 'de (C=O), 1390, 1360 cm^{-1} 'de (C-H eğilme), 1200, 1155, 1065, 1020 cm^{-1} 'de (C-O gerilme) bantları bulunmaktadır. Parmak izi bölgesinde sapogeninlere ait karakteristik absorpsiyon bantları görülmektedir.

Bileşiğin asetil türevinin IR spektrumunda ise (Şekil 3.6.) 3400-3200 cm^{-1} 'de gözlenen hidroksil pikleri kaybolmuş, 1730 cm^{-1} 'de asetil piki gözlenmiştir.

Bileşiğin asetil türevinin ^1H NMR spektrumu (Şekil 3.7.) incelendiğinde 1.98-2.20 ppm arasında asetil gruplarına ait pikler görülmektedir. 1.98-2.05 ppm arasındaki pikler 3 asetil grubuna, 2.06-2.20 ppm arasındaki pikler ise 4 asetil grubuna aittir. Bu, bileşikte asetillenebilen 7 OH grubu bulunduğunu gösterir. Bu OH grupları muhtemelen birbirlerine glikozidik bağ ile bağlanan iki şeker molekülüne aittir. Bileşiğin hidrolizlenmesi sonucu elde edilen sulu kısmın ince tabaka kromatografisinde şeker standartları ile karşılaştırılması sonucunda bu şekerlerin glukoz olduğu saptanmıştır.

Aglıkona bağlı ilk şeker molekülünde; 543 ppm'de H-1' (j=6-7 Hz) piki bir doublet olarak görülür. 4.05-4.20 ppm arasında H-2', H-3' ve H-4' multiplet olarak, H-6' ise 4.11 ve 4.28 ppm'de double doublet olarak çıkar.

Uç şeker molekülünde ise; 5.72 ppm'de H-1" (j=8 Hz) doublet olarak, 5.05-5.30 ppm arasında H-2", H-3" ve H-4" multiplet olarak görülür. Bu alanda 5.05 ve 5.15 ppm arasında bulunan double doublet H-6"" ne aittir.

3.8-3.9 ppm arasında ise şekerlerin H-5' ve H-5" pikleri multiplet olarak görülür.

6.35 ppm'de (j=4 Hz) görülen doublet muhtemelen bir 5'li lakton halkasına aittir. IR spektrumunda (Şekil 3.5.)

1695 cm^{-1} 'deki şiddetli pikin de bu lakton halkasına ait olduğu düşünülmektedir.

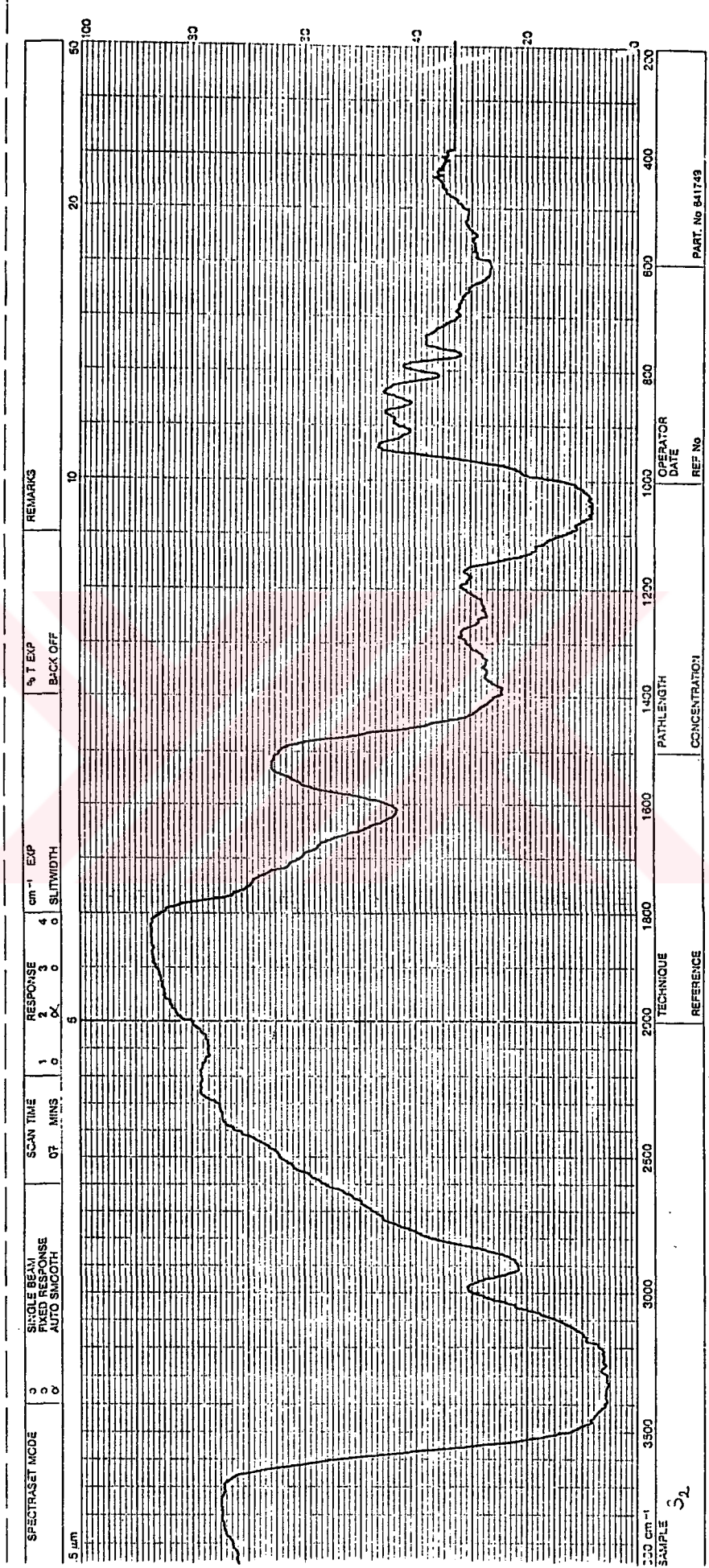
Bileşiğin kütle spektrumunda (Şekil 3.8.) 1086 moleküler pik olarak alınmaktadır. Temel pik ise 1056 (M-30)⁺'dir. ¹H NMR spektrumu ve kütle spektrumundan bileşiğin iki şeker grubu taşıyan büyük bir molekül olduğu anlaşılmaktadır.

Şekil 3.9.'da asetillenmiş bir monoşekerin parçalanma ürünleri ve m/e değerleri görülmektedir. Şekil 3.10 ise S₂ bileşiğinin şeker gruplarının kütle spektrumunu gösterir.

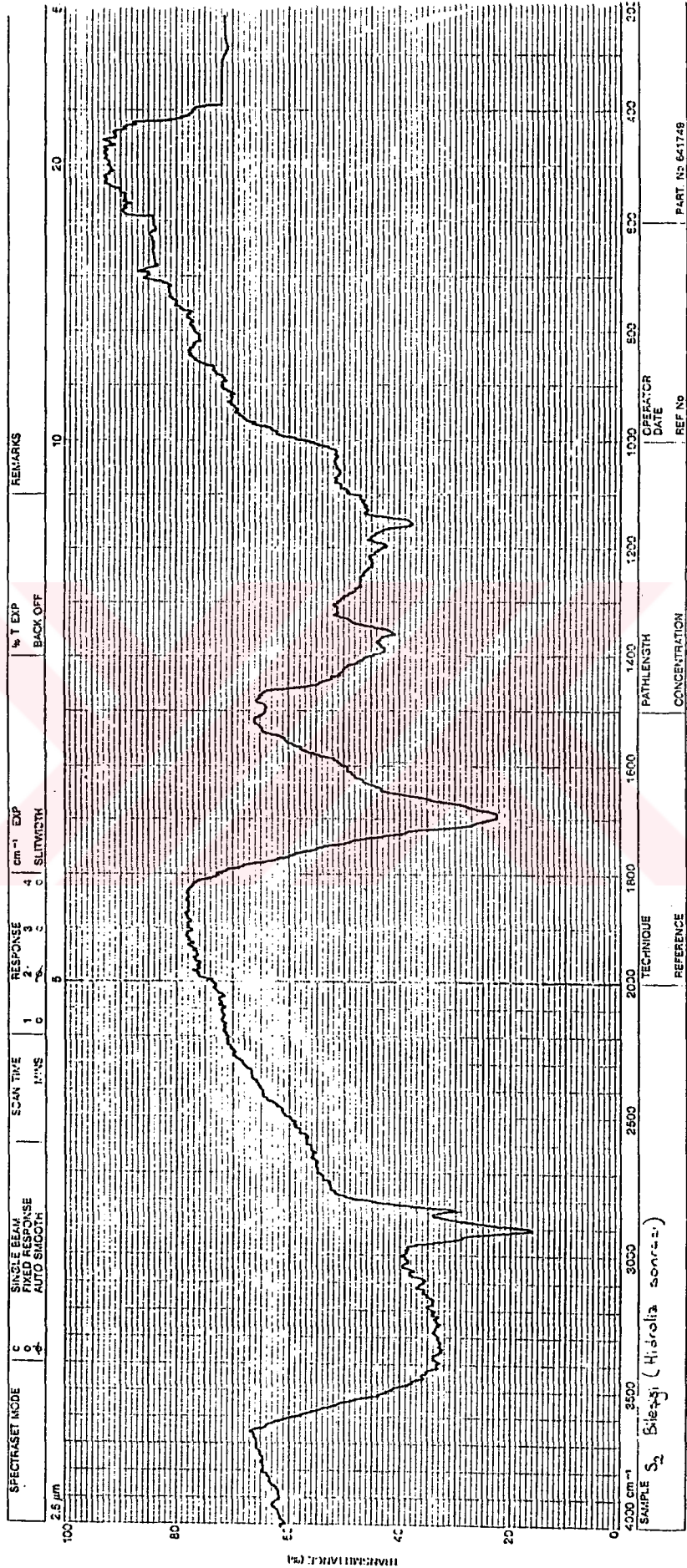
Bütün bu bilgiler sonucunda S₂ bileşiğinin yüksek molekül ağırlıklı bir glikozid olduğu ve birbirine bağlı iki glukoz molekülü ile aglikon kısmında 5'li bir lakton halkası taşıdığı bulunmuştur.

Bileşiğin aglikon kısmının molekül ağırlığı $\approx 460-470$ arasındadır. En az 20 karbon atomuna sahip olduğu düşünülen aglikon kısmı, steroid iskeletine son derece benzerlik göstermektedir.

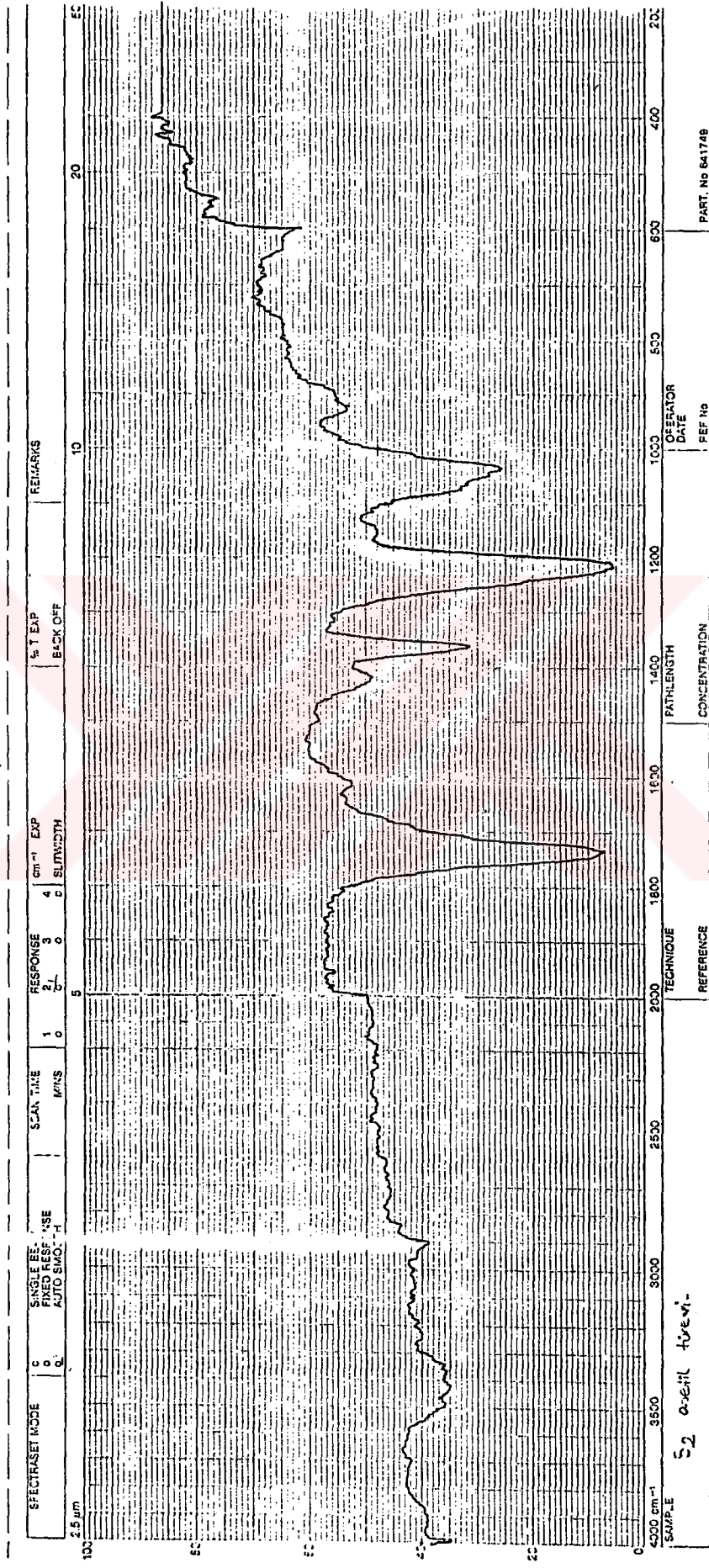
Bu nedenle S₂ bileşiğinin steroidal saponin yapısında olmadığı, ancak Liliaceae familyasının bazı türlerinde yaygın olarak bulunan diğer steroidal glikozidlere benzediği düşünülmektedir. Ancak ¹H NMR spektrumunda molekülün iskeletindeki metil ve metilen gruplarının görülmemesi yapıyı tam olarak aydınlatamamıştır. Bu nedenle yapı tayininde ¹H NMR spektrumu yeterli olmamıştır. Daha ileri NMR tekniklerine ihtiyaç duyulmaktadır.



Şekil 3.4. S₂ Bileşiği IR Spektrumu



Şekil 3.5. S₂ Bileşiği Hidroliiz Sonrası IR Spektrumu



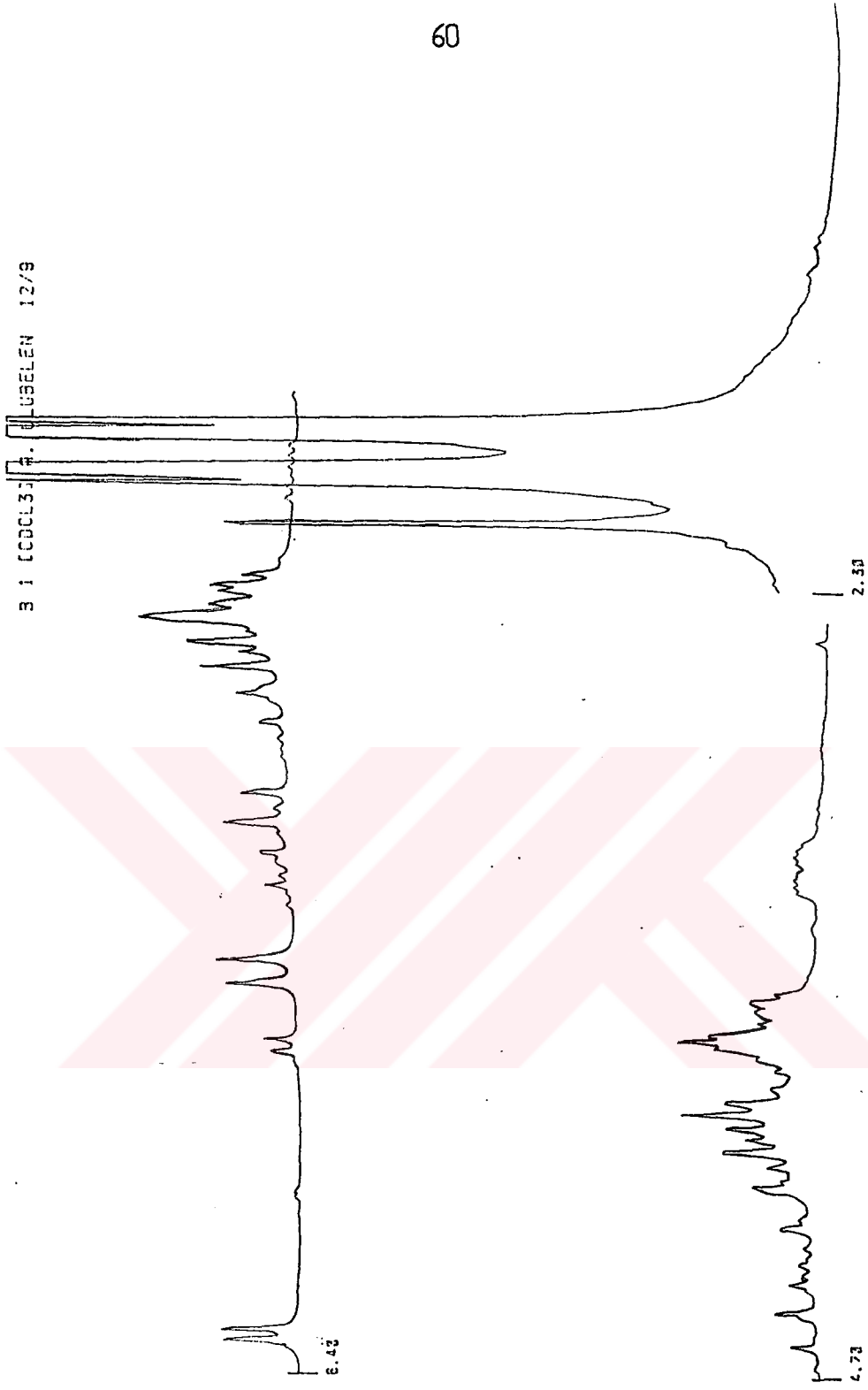
Şekil 3.6. S₂ Bileşiği Asetil Türevi IR Spektrumu

PART. NO 641749

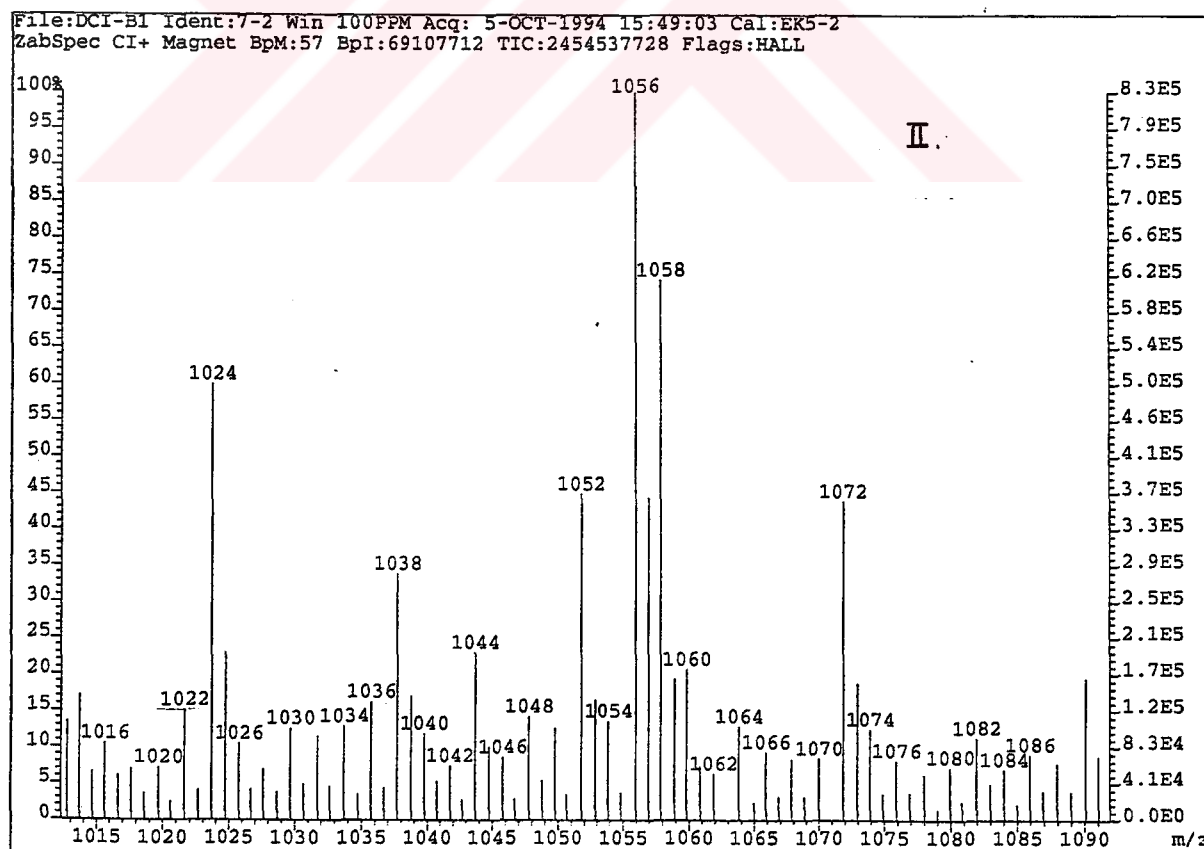
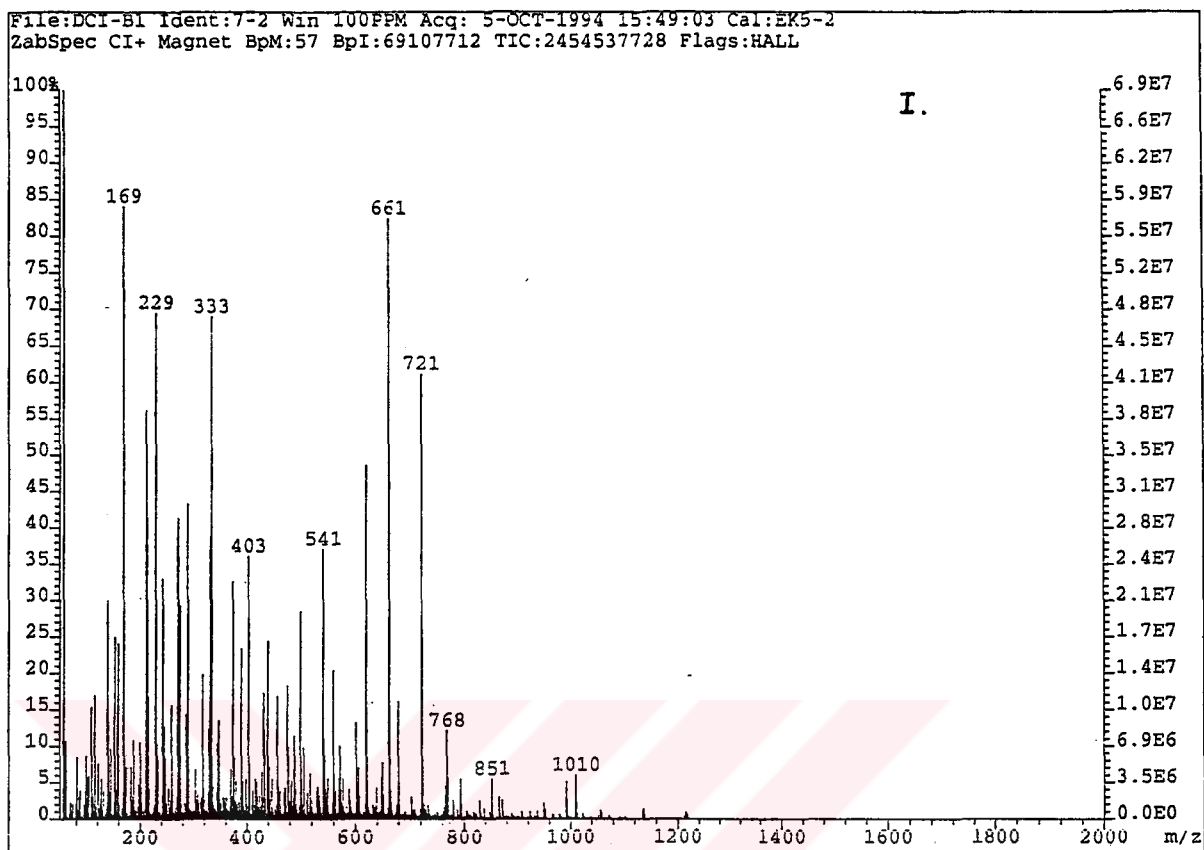
OPERATOR
DATE

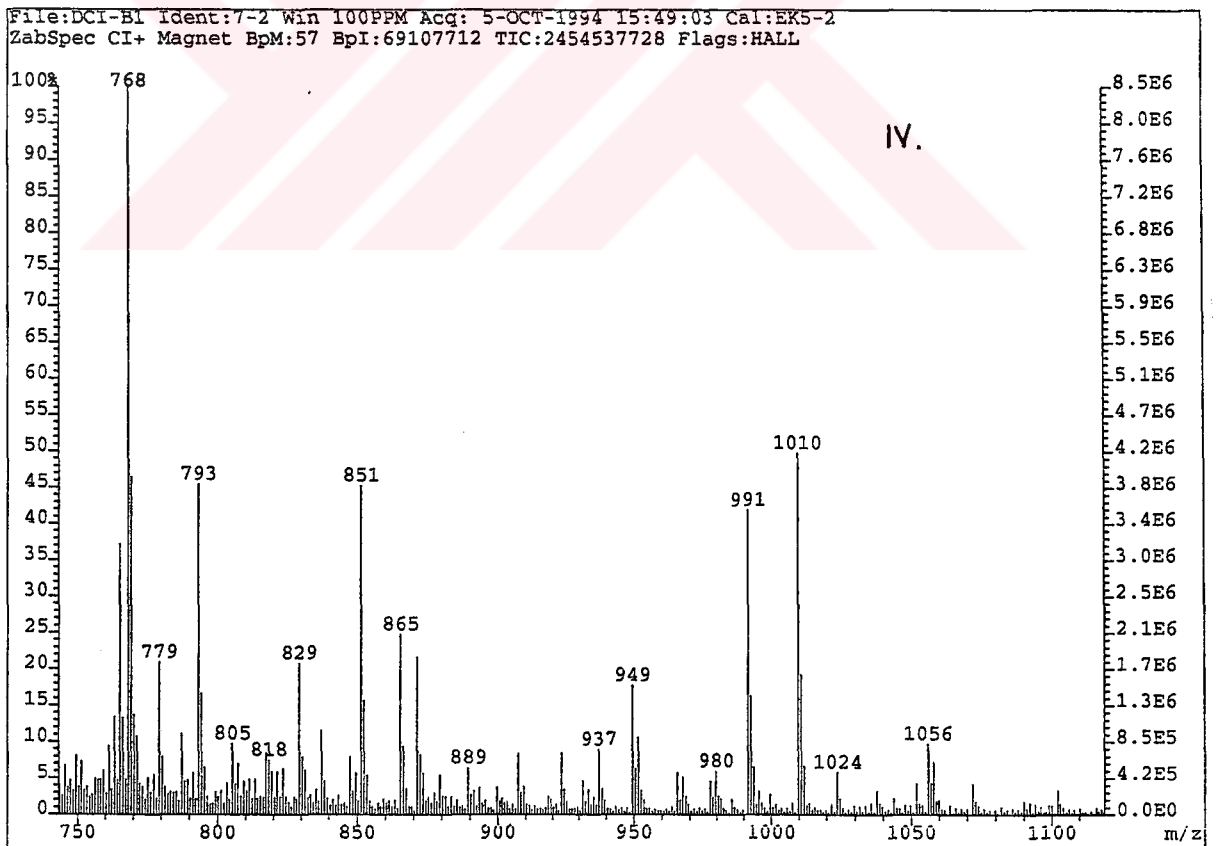
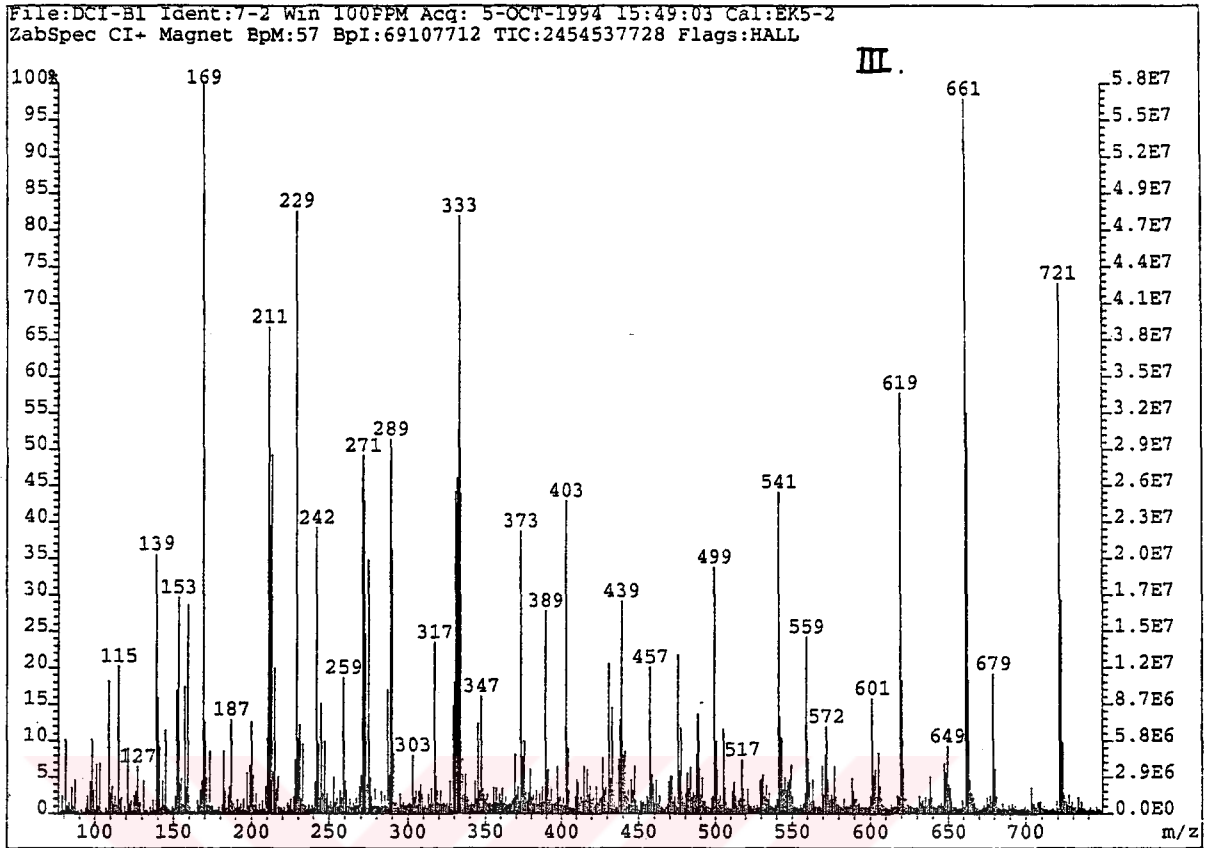
PATHLENGTH
CONCENTRATION

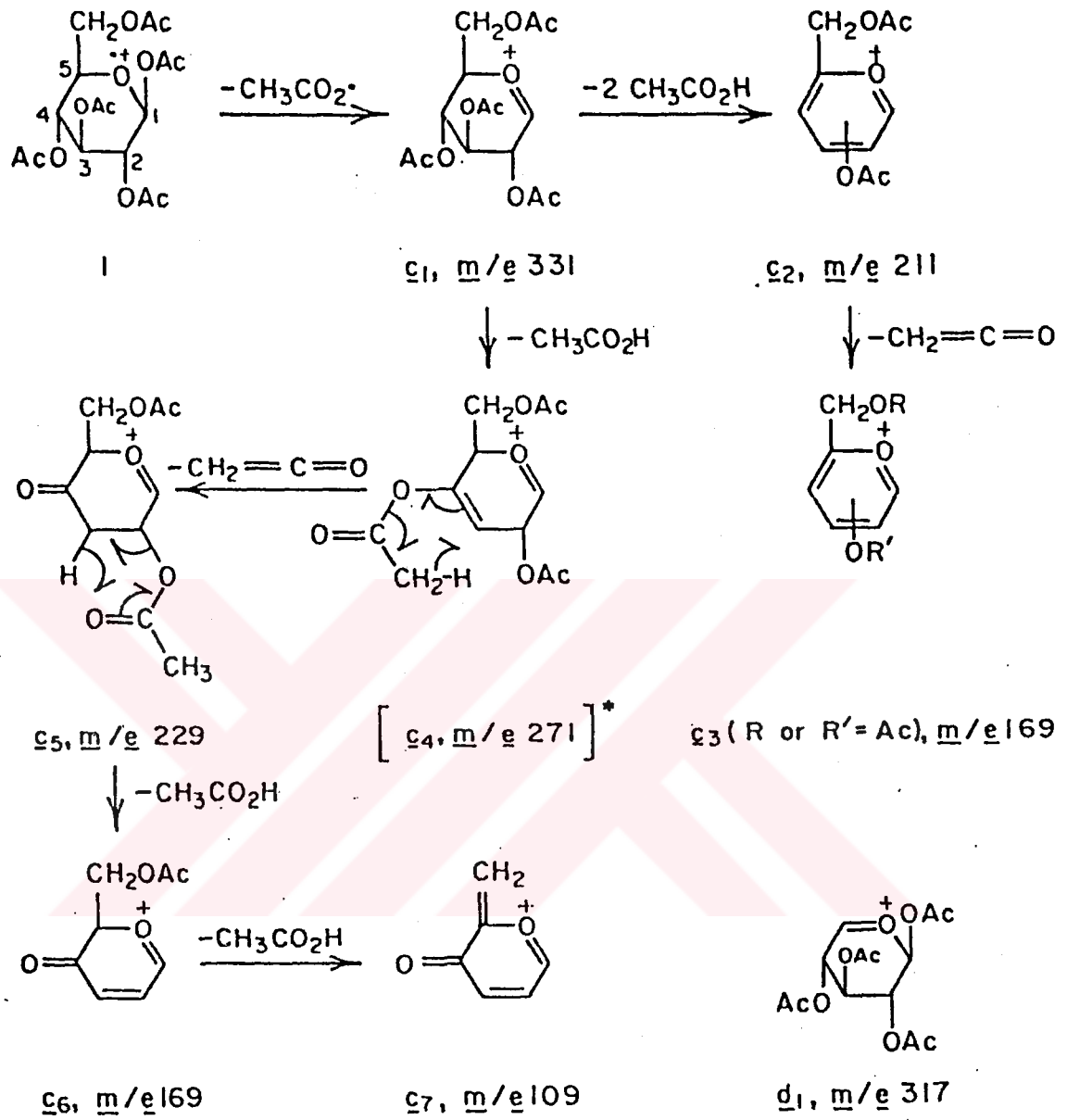
TECHNIQUE
REFERENCE



Şekil 3.7. S₂ Bileşiği Asetil Türevi ¹H NMR Spektrumu

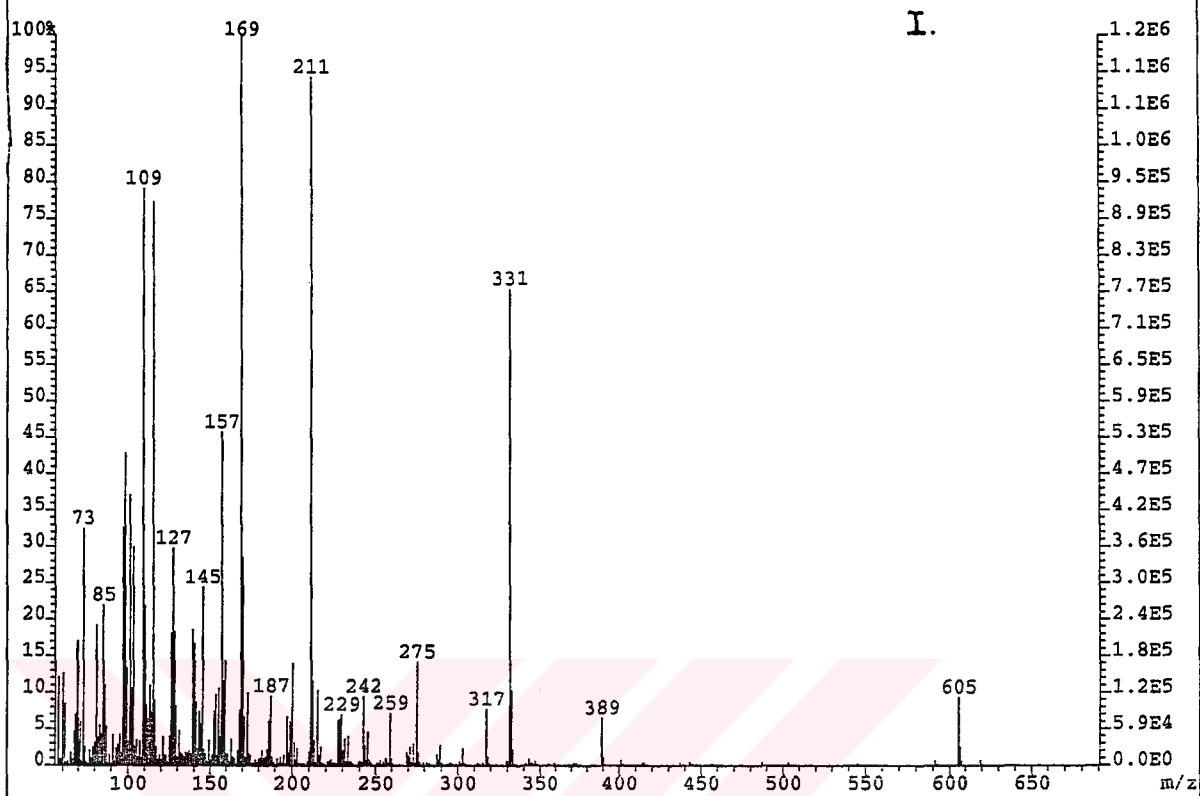


Şekil 3.8. S₂ Bileşiği Kütle Spektrumu

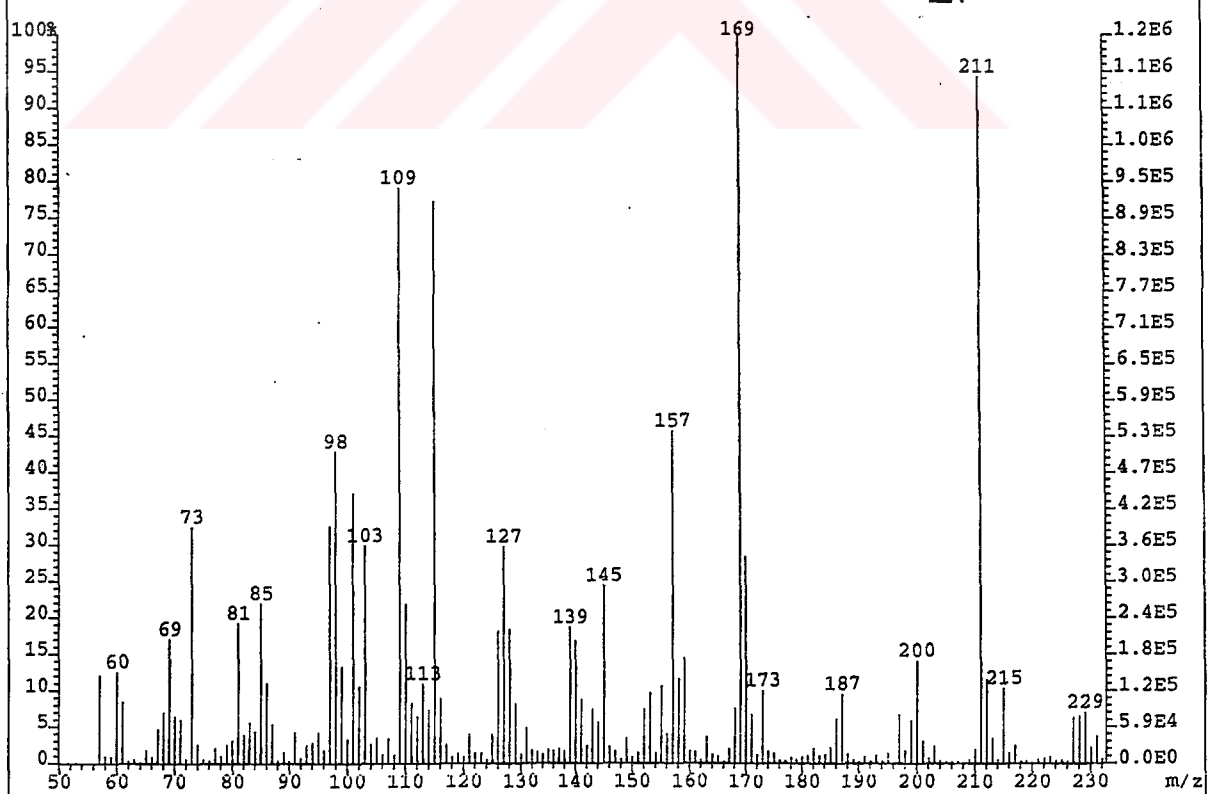


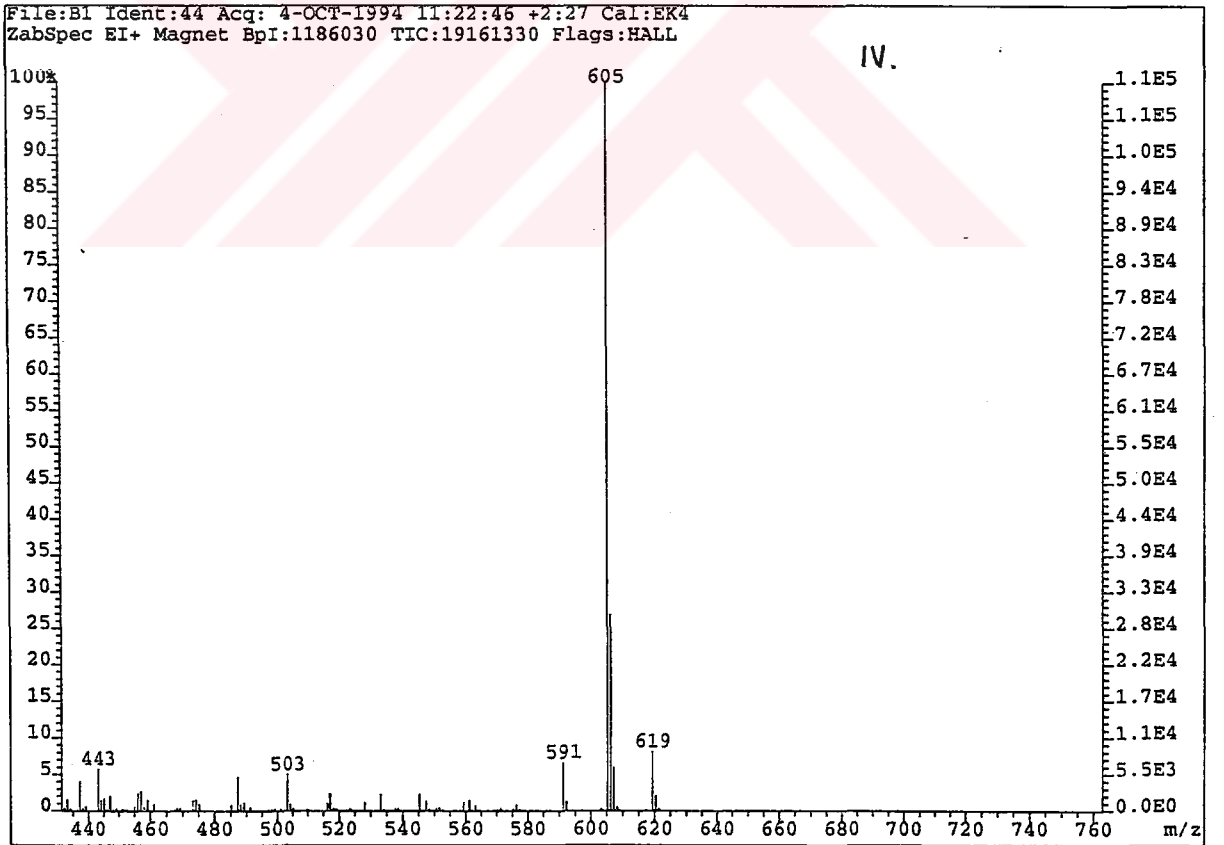
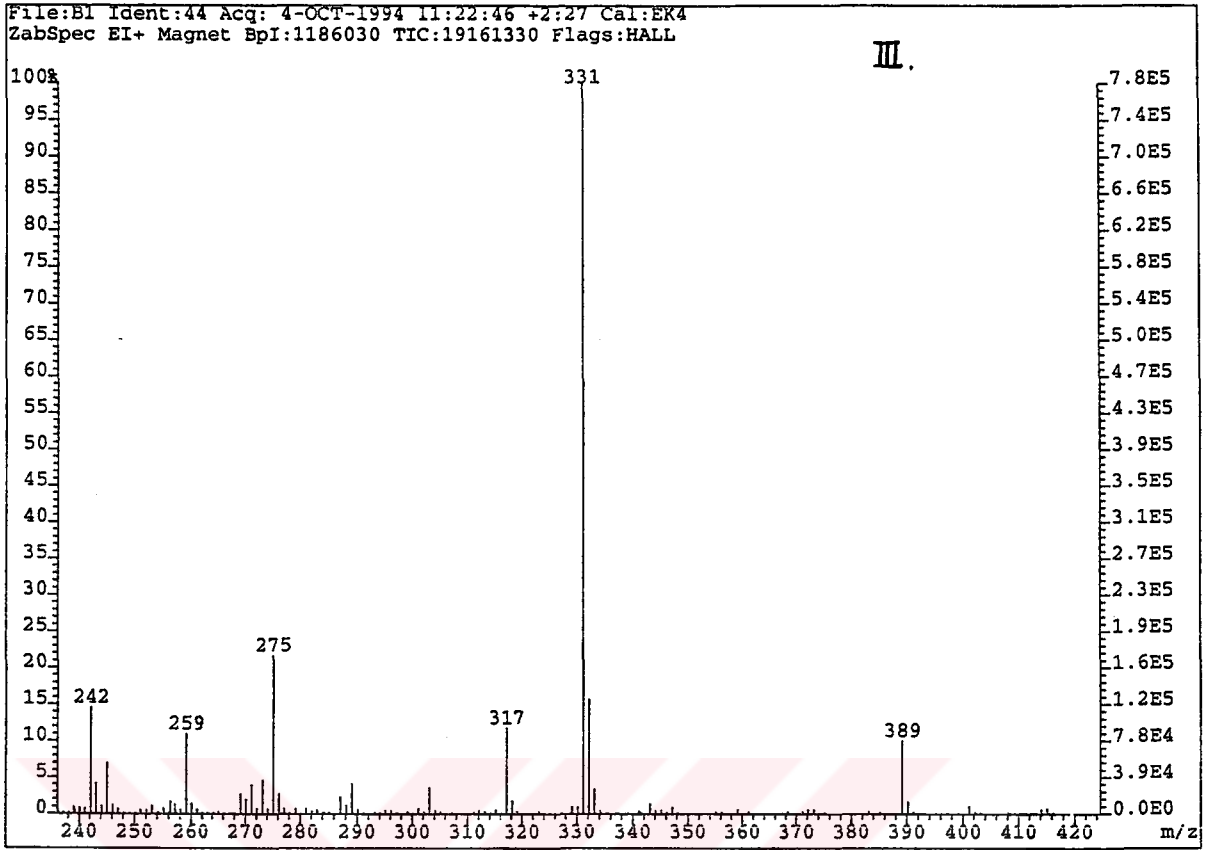
Şekil 3.9. Asetillenmiş Bir Glukoz Molekülünün Parçalanma Ürünleri ve m/e Değerleri

File: B1 Ident: 44 Acq: 4-OCT-1994 11:22:46 +2:27 Cal: EK4
ZabSpec EI+ Magnet BpI: 1186030 TIC: 19161330 Flags: HALL



File: B1 Ident: 44 Acq: 4-OCT-1994 11:22:46 +2:27 Cal: EK4
ZabSpec EI+ Magnet BpI: 1186030 TIC: 19161330 Flags: HALL



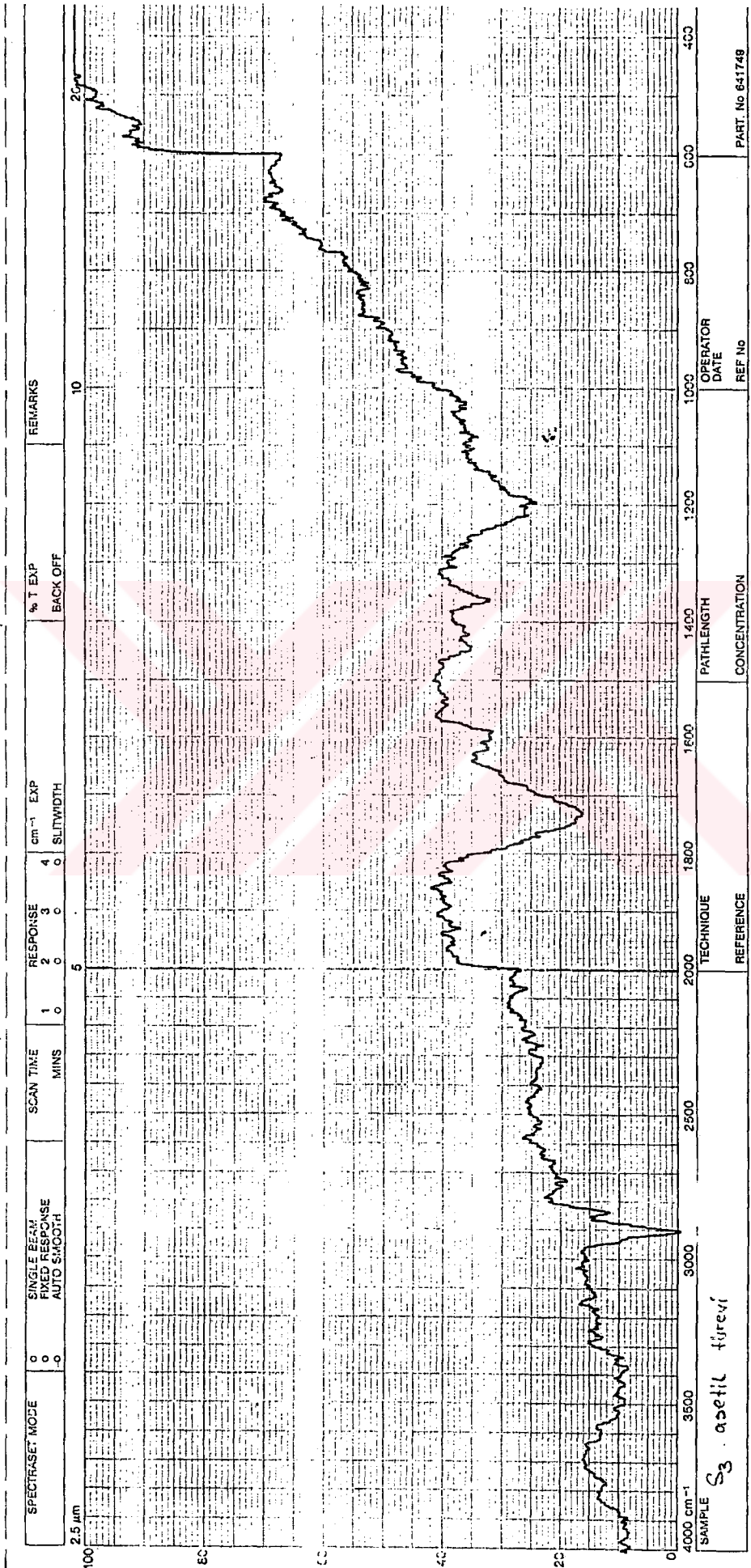


Şekil 3.10. S₂ Bileşiminin Şeker Gruplarının Kütle Spektrumu

3.3.3. S₃ Bileşigi

Bitkinin meyvalarının alkol ekstrelerinden elde edilen S₃ bileşiginin, yaprak+dal kısımlarının su ekstresinden eter ile çöktürülerek ayrılan bileşik ile aynı yapıda olduğu ince tabaka kromatografileri ve spektral yöntemlerle anlaşıldı.

Bileşigin asetil türevinin ¹H NMR spektrumunda (Şekil 3.12.) 1.98-2.15 ppm arasında asetil grupları, 5.50-5.45 ppm arasında H-1, 5.40-4.80 ppm arasında H-2, H-3, H-4 ve H-6, 4.30-4.10 ppm'de ise H-5 pikleri bulunmaktadır. Buradan bileşigin bir mono şeker, muhtemelen bir heksoz yapısında olduğu görülmektedir. Bu bileşigin yapısı üzerinde pek fazla durulmamıştır.



Şekil 3.11. S₃ Bileşiği Asetil Türevi IR Spektrumu



Şekil 3.12. S₃ Bileşiği Asetil Türevi ¹H NMR Spektrumu

3.4. ELDE EDİLEN BİLEŞİKLERİN FİZİKSEL VE SPEKTRAL ÖZELLİKLERİ

S₁ Bileşiği = Sitosteril 3 β -glikozid

Renk : Gri-beyaz

Miktar : 12 mg

Rf değeri : 288-290°C

Serik sülfat belirteci : Kahverengi-mor

IR spektrumu : KBr 3400, 2920, 1630, 1450,
 $\nu_{\max}(\text{cm}^{-1})$
1375, 1065, 1020

Asetil türevi IR spektrumu: KBr 2900, 2840, 1720, 1450,
 $\nu_{\max}(\text{cm}^{-1})$
1370, 1260, 1060

S₂ Bileşigi

Renk	: Kahverengi-sarı
Miktar	: 76 mg
Rf değeri	: 0.53 (30:1 metanol-su)
e.n	: 192°C
Serik sülfat belirteci	: Yeşil-kahverengi
IR spektrumu	: NaCl 3400, 3200, 2910, 1615, v _{max} (cm ⁻¹) 1050, 910, 860, 810, 770

Hidroliz Sonrası

Renk	: Kahverengi-sarı
Rf değeri	: 0.29 (4:1 kloroform-aseton)
Serik sülfat belirteci	: Açık kahverengi
IR spektrumu	: NaCl 3400, 3200, 2900, 2840, v _{max} (cm ⁻¹) 1695, 1390, 1360, 1200, 1155 1065, 1020

Asetil Türevi

Renk	: Açık sarı
Rf değeri	: 0.76 (2:1 etil asetat-benzen)
Serik sülfat belirteci	: Kahverengi
IR spektrumu	: NaCl 2900, 1730, 1420, 1360, v _{max} (cm ⁻¹) 1210, 1035, 930

¹H NMR spektrumu : (CDCl₃) ppm 1.98-2.20(asetil),
3.8-3.9(m, H-5', H-5"), 4.05-4.20
(m, H-2', 3', 4'), 4.11, 4.28(dd, H-6'),
5.05-5.30(m, H-2", 3", 4"), 5.05-5.15
(dd, H-6"), 5.43(d, J=6-7 Hz, H-1'),
5.72(d, J=8 Hz, H-1"), 6.35(d, J=4
Hz, Lakton)

Kütle spektrumu : 1086(M)⁺, 1056(M-30)⁺, (temel pik)

Glukoz

Rf değeri : 0.42 (4:5:1 n-butanol-aseton-su)
Serik sülfat belirteci : Siyah
Anilin-ftalat belirteci : Sarı-turuncu

S₃ Bileşigi

Renk : Koyu sarı
Miktar : 14 mg

Asetil türevi

Rf değeri : 0.62 (2:1 etil asetat-benzen)
IR spektrumu : NaCl 2900, 2840, 1730, 1450, 1370
 $\nu_{\max}(\text{cm}^{-1})$
1200

¹H NMR spektrumu : (CDCl₃) ppm 1.98-2.15(asetil),
4.30-4.10 (m, H-5), 4.80-5.40
(m, H-2, 3, 4, 6)

TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Smilax excelsa (Liliaceae) bitkisinin toprak üstü kısımlarının steroidal bileşikler yönünden incelenmesi amacıyla yapılan bu çalışmada üç bileşik elde edilmiştir.

Bitkinin kloroform ekstresinden elde edilen S_1 bileşiğinin yapısı spektral bulgulara dayanılarak ve erime noktası ile R_f değeri standart örneklerle karşılaştırılarak Sitosteril-3 β -glikozid olarak bulunmuştur.

Sitosteril-3 β -glikozid bileşiğine *Smilax china*'nın rizomlarında rastlanır. Ancak *Smilax excelsa*'da bulunduğu dair literatürde herhangi bir bilgiye rastlanmamıştır.

Bitkinin alkol ekstrelerinden elde edilen S_2 bileşiğinin steroidal saponinlere özgü reaksiyonları pozitif vermesi bileşiğin bu yapıda olabileceğini düşündürmüştü, ancak spektral bulgulardan steroidal saponin yapısında olmadığı anlaşılmıştır. Molekül ağırlığı çok yüksek olan S_2 bileşiğinin yapısında birbirine glikozidik bağ ile bağlı iki glukoz molekülü ve aglikon kısmında da 5'li bir lakton halkası vardır. Yapının, *Smilax*

türlerinde bulunmayan ancak Liliaceae familyasının bazı türlerinde yaygın olarak bulunan ve bir lakton halkası içeren steroidal glikozidlere benzediği düşünülmektedir. Ancak molekülün aglikon kısmının iskelet yapısını aydınlatmada ^1H NMR spektrumu yeterli olmamıştır. Daha ileri NMR tekniklerine ihtiyaç vardır.

Alkol ekstraherinden elde edilen ve yaprak+dal kısmından eter ile çöktürülen bileşiklerin, ince tabaka kromatografileri ve spektral verileri aynı olduklarını göstermiştir. ^1H NMR spektrumundan S_3 bileşiğinin mono-şeker olduğu saptanmıştır.

Sonuç olarak, İstanbul ve çevresinde bulunan tür olan ve şimdiye kadar toprak üstü kısımları steroidal bileşikler yönünden incelenmeyen *Smilax excelsa* bitkisinin toprak üstü kısımlarından yapısı tam olarak aydınlatılan bir steroid bileşiği ile yapısı kesin olarak aydınlatılamayan ikinci bir steroid bileşiği izole edilmiştir. Bitkinin köklerinde bulunan steroidal saponinlere ise toprak üstü kısımlarında rastlanmamıştır.

KAYNAKLAR

Akahori, A., and Yasuda, F., 1963. "Laxogenin, a new steroidal sapogenin isolated from *Smilax sieboldi*.", *Yakugaku Zasshi* 83, 557-8.

Akahori, A., and Yasuda, I., 1966. "Steroid sapogenins from *Smilax sieboldi*.", *Shionogi and Co., Ltd. Japan*. 24.626('65).

Balansard, J., and Raybaud, M., 1938. "Sarsaparilla from Provence, France (*Smilax aspera*).", *Compt.rend.soc.biol.* 129, 305-8.

Baytop, T., 1963. *Türkiye'nin Zehirli ve Tıbbi Bitkileri*, İst.Üniv. Yayınları, İstanbul: 439.

Baytop, T., 1974. *Farmakognozi*, İst.Üniv. Yayınları, İstanbul, 2: 50-51.

Baytop, A., 1983. *Farmasotik Botanik*, İst.Üniv. Yayınları, İstanbul.

- Baytop, T., 1984. Türkiye'de Bitkiler İle Tedavi, İst.Üniv.Yayınları, İstanbul: 367-68.
- Baytop, T., 1986. Farmakognozi, İst.Üniv.Yayınları, İstanbul: 89-94.
- Baytop, T., Baytop, A., Mat, A., ve Sun, S., 1989. Türkiye'de Zehirli Bitkiler, Bitki Zehirlenmeleri ve Tedavi Yöntemleri, İst.Üniv. Yayınları, İstanbul: 213-23.
- Beyer, H., 1963. Organic Chemistry, Verlag Harri Deutsch, Frankfurt: 555-57.
- Billups, N.F., 1977. American Drug Index, T.B. Lippincott.Comp., Philadelphia-Toronto.
- British Herbal Pharmacopeia, 1983. Printed by The British Herbal Medicine Association and The Association's Scientific Committee, London: 480-82.
- Bruno, S., Laurentis, N., Amico, A., and Stefanizzi, L., 1985. "Fluorescence spectra of some steroidal sapogenin fluorophors.", *Fitoterapia* 56(1), 39-41 (1985).Ref.C.A. 103, 137969 n.
- Budavari, S.Ed., 1989. The Merck Index, 11 th. Edition, Merck and Co.Inc., New Jersey.
- Buchi,J., and Gantner, P., 1943. "The preparation of some dry extracts, fluidextracts, decoctions and infusions. Sarsaparilla preparations.", *Pharm. Acta Helv.*18, 156-70.
- Claus, P.E., and Tyler, E.V., 1965. Pharmacognosy, Lea and Febiger, Philadelphia: 129-32.
- Cram, J.D., and Hammond, S.G., 1959. Organic Chemistry Mc Graw. Hill Book Company, New York.

Çelebioğlu, S., 1949. Farmakognozi, İst.Univ. Yayınları, İstanbul: 29-31, 86-92.

Davis, P.H., 1984. Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Edinburg at the University Press, 8, Edinburg: 67-72.

Denolin, J., 1934. "Some commercial sorts of Smilax.", J.Pharm.Belg. 16, 559-9.

Devys, M., Akaide, A., Pinte, F., and Barbier, M., 1970. "Pollinastanol, in the fern, Polypodium vulgare, and sarsaparilla, Smilax medica.", C.R.Acad.Sci., D 269(20), 2033-5(1969) Ref.C.A., 73, 75627 e

Fantus, B., and Dyniewicz, A.H., 1940. "Assay of sarsaparilla preparations.", J.Am.Pharm.Assoc. 29, 26-8.

Fessenden, J.R., and Fessenden, S.J., Çev.Uyar, T., 1992. Organik Kimya, Güneş Kitap Evi Ltd.Şti., Ankara: 1049-55.

Finar, I.L., 1975. Organic Chemistry, William Clowes and Sons Limited, London: 517-602.

Fried, B., and Sherma, J., 1986. Thin-Layer Chromatog., Marcel Dekker Inc., New York and Basel.

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

Gözükara E.M., 1989, Biyokimya, Repromat Ltd.Şti., Ankara: 271-72.

Harborne, J.B., 1984. Phytochemical Methods, Chapman and Hall, London: 120-27.

Hartwell, L.J., 1982. *Plants Used Against Cancer*, Quaterman Publications, Inc., Massachusetts: 144-45.

Hupe, K.P., Lauer, H.H., and Zeah, K., 1980. "Isolation of compounds from complex sample mixtures for identification purposes-the semi-preparative separation of natural products.", *Chromatographia* 13(7), 413-20(1980). Ref.C.A., 93 106504 c.

Iskenderov, B.G., 1971. "Steroid sapogenins of *Smilax excelsa*.", *Khim.Prir.Soedin.* 6(5), 633-4(1970). Ref. C.A., 74, 72792 k.

Iskenderov, B.G., Mamedova, M.N., and Musaev, N.I., 1976. "Steroidal glycoside of *Smilax excelsa*.", *Khim. Prir. Soedin.* 11(6), 805-6(1975). Ref. C.A., 84 132606w.

Jakubke, H.D., Edit.Brewer, M., Scott, T., 1983. *Concise Encyclopedia of Biochemistry*, Walter de Gruyter, New York.

James, C.I., Simpson, E., and Williams, E.N., 1937. "Ether-soluble constituents of sarsaparilla root.", *J.Chem. Soc.*, 733-8.

Jaretsky, R., 1951. "Action of radix sarsaparillae, lignum guaiaci, and Esberisan on diuresis and elimination of substances in the urine.", *Pharmazie* 6, 115-17.

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

Jermstad, A., and Waaler, T., 1953. "The quantitative determination of saponins by inhibition of foaming capacity according to Wasicky.", *Pharm.Acta.Helv.* 28, 225-36.

Kar, D.K., and Sen, S., 1984. "Smilax zeylanica Linn.-a new source of diosgenin.", *Curr.Sci.*53(12), 661(1984). Ref.C.A.101 167125 k.

Karlson, P., Çev.Telefoncu, A., 1988. *Biyokimya*, Sermet Matbaası, Kırklareli: 250: 53.

Kawasaki, T., Nishioka, I., Tsukamoto, T., and Mihashi, K., 1966. "Saponins from Smilax china rhizome.", *Yakugaku Zasshi* 86(8), 673-7.

Kim, S.W., Chung, K.C., Son, K.H., and Kang, S.S., 1989. "Steroidal saponins from the rhizomes of Smilax china.", *Saengyak Hakhoechi* 20(2), 76-82(1989). Ref. C.A.111 208611 t.

Kim, S.W., Chung, K.C., Son, K.H., and Kang, S.S., 1990. "A further furostanol glycoside from Smilax china.", *Saengyak Hakhoechi* 20(3), 145-6(1989). Ref.C.A.112 155262 s.

Kirchner, J.G., 1967. *Thin-Layer Chromatography*, Interscience Publishers, New York: 611-15.

Kubo, S., Mimaki, Y., Sashida, Y., Nikaido, T., and Ohmoto, T., 1991. "Steroidal saponins from the rhizomes of Smilax sieboldi.", *Phytochemistry* 31 2445-50.

Laorga, R., and Pinar, M., 1960. "National sources of steroids.", *Anales real soc. espan.fis.y guim.*56B, 797-802.

Leclerc, H., 1938. "Sarsaparilla in dermatoses.", *Presce Me'd.*, 46, 284.

Macek, K., 1972. *Pharmaceutical applications of thin-layer and paper chromatography*, Elsevier Publishing Company, Amsterdam: 393-406.

Mi Hee, W., Chul, J.D., and Kun Ho, S., 1993. "Five new spirostanol glycosides from the subterranean parts of *Smilax sieboldi*.", *J.Nat.Prod.*, 55(8) 1129-35(1992). Ref.C.A. 118 56109 q.

Neher, R., 1964. *Steroid Chromatography*, Elsevier Publishing Company, Amsterdam-London-New York: 133-35, 213-14.

Okanishi, T., Akahori, A., Yasuda, F., 1965. "Steroidal components of domestic plants. XLVII. Constituents of the stem of *Smilax sieboldi*. 1.structure of Laxogenin.", *Chem.Pharm.Bull.* 13(5), 545-50.

Paris, R., Vaillant, M., and Benard, M. 1952. "Saponosides of the sarsaparillas *Smilax ornata* and *Smilax japicanga*, used as antileprosy remedies.", *Ann.Pharm. Franç.* 10, 328-35.

Petricic, J., Ana, R., 1969. "Asperosid, a new bisdesmosine 22-hydroxyfurostanol saponin from *Smilax aspera*.", *Farm. Glas.* 25(3), 91-5.

Rangaswami, S., and Rao Subba, N.V., 1972 "Some recent development in the chemistry of Natural Products, Prentice-Hall of India Private Limited, India: 25-27.

Reynolds, E.F.J., and Prasad, B.A., 1982. *Martindale The Extra Pharmacopoeia*, The Pharmaceutical Press, London.

Rittman, R., and Schneider, F., 1930. "A new agent in kidney therapy.", *Klin. Wochschr.* 9, 401-8.

Rollier, R., 951. "Treatment of leprosy by a *Smilax* species.", *Maroc Med.* 30, 776-80.

Ruysen, R., Croes, R., and Ommeslagh, D., 1947. "Determination of saponins by the hemolytic index.", *J.Pharm.Belg.* 2, 262-83.

Sashida, Y., Kubo, S., Mimaki, Y., Nikaido, T., and Ohmoto, T., 1992. "Steroidal saponins from *Smilax riparia* and *Smilax china*.", *Phytochemistry* 31(4), 2439-43.

Scheuer, P.J., 1973. "Chemistry of Marine, Natural Products, Academic Press, New York-London: 72-73.

Sharma, S.C., Sati, O.P., and Chand, R., 1981. "Saponins from *Smilax parvifolia*.", *Pharmazie* 35(10), 646(1980). *Ref.C.A.* 94 61742 f.

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

Stahl, E., 1969. *Thin-Layer Chromatography, A Laboratory Hand Book*, New York: 346-47.

Stahl, E., 1973. "Thin-layer chromatography for identification of pharmacopeia drugs. 6. Thin-layer chromatography of saponin drugs.", *Arch. Pharm.* 306(9), 693-6(1973). *Ref.C.A.* 80 19616 d.

Tanker, M. ve Tanker, N., 1973. *Farmakognozi, Özişik Matbaası, İstanbul 1.*

Tanker, M. ve Tanker, N., 1985. *Farmakognozi, Ankara Üniv. Yayınları, Ankara: 230-35.*

Trease, G.E., and Evans, C.W., 1972. *Pharmacognosy, Printed in Great Britain, Baillie're Tindall-London: 118-19, 609-10.*

Tschesche, R., Luedke, G., and Wulff, G., 1969. "Steroid saponins with more than one sugar chain. II. Sarsaparilloside, a bisdesmosidic 22-hydroxyfurostanol saponin.", Chem.Ber. 102(4), 1253-69(1969). Ref.C.A. 71 3619 k.

Tschesche, R., Harz, A., and Petrick, J., 1974. "Steroid saponins with more than one sugar chain. Asperosid bisdesmosidic 22-hydroxyfurostanol glycoside of Smilax aspera.", Chem. Ber. 107(1), 53-61(1974). Ref.C.A. 80 108812 g.

Tsukamoto, T., Yagi, A., and Mihashi, K., 1963. "Plant sterols. I. Gas chromatographic and Infrared spectral studies on plant sterols.", Syoyakugaku Zasshi 17(1-2), 11-13.

Van Der Haar, W.A., 1929. "Saponins and allied compounds. The sarsaparilla saponins and their hydrolysis products. The synthesis of a saponin from parigenin and d-glucose.", Rec.trau.chim. 48, 726-42.

Yamaguchi, K., 1970. Spectral Data of Natural Products, Elsevier Publishing Company, Amsterdam-London-New York: 212-16.

Yang, J., Zhangjian, J., and Yinan, W., 1992. "A new steroidal saponin from Smilax lebrunii.", Chin.Chem.Lett. 2(11), 853-4 (1991). Ref.C.A.116 174564 r.

Yang, J., and Zhangjian, J., 1992. "Steroidal saponins from the rhizomes of Smilax menispermoidea.", Phytochemistry 31(4), 1349-51 (1992). Ref.C.A. 117 86719 k.

Zhangjian, J., Yang, J. and Mei, D., 1992. "New minor steroidal saponins from Smilax lebrunii.", Chin.Chem. Lett. 3(6), 431-2 (1992). Ref. C.A. 117 188241 r.

Zweig, G. and Sherma, J., 1972. CRC Handbook of Chromatography, CRC Press, Cleveland-Ohio, 2: 89-101.

ÖZ GEÇMİŞ

Doğum Tarihi : 21 Ağustos 1969
Doğum Yeri : İstanbul
İlkokul : 1975-1980, Yeşilyuva İlkokulu
Ortaokul : 1980-1983, Küçükçekmece Lisesi
Lise : 1983-1987, İ.U. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi
Sağlık Lisesi Laboratuvar Bölümü
Üniversite : 1987-1991, Yıldız Teknik Üniversitesi
Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü
Yüksek Lisans : 1991-, Yıldız Teknik Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı
Organik Kimya Programı

1992 yılında Yıldız Teknik Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Biokimya Anabilim Dalı'nda Araştırma Görevlisi olarak göreve başladım. Halen bu görevime devam etmekteyim.