

T.C.
İstanbul Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Temel Eczacılık Bilimleri Bölümü
Eczacılık Temel Bilimleri Anabilim Dalı
Genel Kimya Bilim Dalı
Danışman : Prof.Dr.Sevil ÖKSÜZ

CENTAUREA AMANICOLA Hub-Mor.
BİTKİSİNİN FİTOKİMYASAL İNCELENMESİ

48829

Kim. F. Emel ERDEM

YÜKSEK LİSANS TEZİ

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM ENSTİTÜSÜ
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

İSTANBUL - 1996

TEŞEKKÜR

Çalışmamı titizlikle yönlendiren, bilgi ve düşünceleriyle daima yardımcı olan hocam Sayın Prof. Dr. Sevil ÖKSÜZ'e teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca bilgi ve deneyimleriyle her zaman destek olan hocam Sayın Prof. Dr. Ayhan ULUBELEN'e, çalışmalarına yardımcı olan ve desteklerini esirgemeyen çalışma arkadaşlarıma, bitkimin botanik kısmının yazılmasında yardımlarını gördüğüm Farmasötik Botanik Bölümüne teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
GİRİŞ VE ÇALIŞMANIN AMACI	1
1. TEORİK BÖLÜM	2
1.1. BİTKİNİN TANIMI VE YAYILIŞI	2
1.1.1. COMPOSITAE FAMILİYASI	2
1.1.2. CENTAUREA CİNSİ	2
1.1.3. TÜRKİYE FLORASINDA CENTAUREA CİNSİNDEKİ SEKSİYONLAR VE TÜRLER	3
1.1.4. CENTAUREA AMANİCOLA	5
1.2. CENTAUREA TÜRLERİNİN HALK ARASINDA KULLANILIŞI	6
1.3. GENEL BİLGİLER	7
1.3.1. TERPENOİT BİLEŞİKLER	7
1.3.1.1. FLAVONOİT BİLEŞİKLER	10
1.3.1.2. TRİTERPENLER	16
1.3.2. AROMATİK BİLEŞİKLER	18
1.3.3. KUMARİNLER	22
1.3.4. STEROİTLER	24
1.3.5. KARBONHİDRATLAR	26
1.3.5.1. GLİKOZİTLER	26
2. BULGULAR	33
2.1. TERPENOİT BİLEŞİKLER	33
2.1.1. FLAVONOİT BİLEŞİKLER	33
2.1.1.1. CA ₁ BİLEŞİĞİ : Apigenin	33
2.1.2. TRİTERPENLER	37
2.1.2.1. CA ₂ BİLEŞİĞİ : α -Amyrin	37

2.2. AROMATİK BİLEŞİKLER	41
2.2.1. CA ₃ BİLEŞİĞİ : <i>p</i> -hidroksibenzoik asit	41
2.2.2. CA ₄ BİLEŞİĞİ : Vanilik asit	45
2.2.3. CA ₅ BİLEŞİĞİ : 4'-Formil- <i>n</i> -heptanofenon	50
2.2.4. CA ₆ BİLEŞİĞİ : 4'-Formil-2',6'-dimetoksi- <i>n</i> -heptanofenon	57
2.3. KUMARİNLER	66
2.3.1. CA ₇ BİLEŞİĞİ : Scopoletin	66
2.4. STEROİTLER	70
2.4.1. CA ₈ BİLEŞİĞİ : β -sitosterol	70
2.5. GLİKOZİTLER	74
2.5.1. CA ₉ BİLEŞİĞİ : Benzil β -D-glukozit, + 2-Feniletil β -D-glukozit	74
3. SONUÇ VE TARTIŞMA	80
4. DENEYSEL BÖLÜM	81
4.1. GENEL TEKNİKLER	81
4.1.1. KROMATOĞRAFİ	81
4.1.1.1. SÜTUN KROMATOĞRAFİSİ	81
4.1.1.2. İNCE TABAKA KROMATOĞRAFİSİ	81
4.1.2. SPEKTROFOTOMETRELER	81
4.1.2.1. ULTRAVİYOLE SPEKTROFOTOMETRESİ	81
4.1.2.2. INFRARED SPEKTROFOTOMETRESİ	82
4.1.2.3. ¹ H NMR VE ¹³ C NMR SPEKTROFOTOMETRESİ	82
4.1.2.4. KÜTLE SPEKTROSKOPİSİ	82
4.1.3. BELİRTEÇLER	82
4.1.3.1. TERPENOİT BELİRTECİ	82
4.1.3.2. FLAVONOİT BELİRTEÇLERİ	83
4.1.3.3. UV SPEKTRUMU KAYMA BELİRTEÇLERİ	83
4.1.4. ÇÖZÜCÜLER	83

4.2. YAPILAN İŞLEMLER	84
4.2.1. BİTKİNİN TÜKETİLMESİ	84
4.2.2. KROMATOĞRAFİK YÖNTEMLER	84
4.2.3. KİMYASAL REAKSİYONLAR	85
4.2.3.1. ASETİLLEME REAKSİYONU	85
4.2.3.2. LİEBERMAN-BURCHARD REAKSİYONU	85
4.3. ELDE EDİLEN BİLEŞİKLERİN SPEKTRAL ÖZELLİKLERİ	86
4.3.1. TERPENOİT BİLEŞİKLER	86
4.3.1.1. FLAVONOİT BİLEŞİKLER	86
4.3.1.2. TRİTERPENLER	86
4.3.2. AROMATİK BİLEŞİKLER	87
4.3.3. KUMARİNLER	89
4.3.4. STEROİTLER	89
4.3.5. GLİKOZİTLER	90
5. ÖZET	91
6. SUMMARY	92
7. LİTERATÜR	93

GİRİŞ VE ÇALIŞMANIN AMACI

Compositae familyası ülkemizde ve dünyada en yaygın bulunan familyalardan biridir. Özellikle terpenoit, flavonoit ve poliasetlenik organik bileşikler bakımından zengin bir kaynaktır.

Centaurea L. cinsinin ülkemizde 178 türü bulunmaktadır. Bunlardan 109'u endemiktir(1). Bu cinsin bir çok türünün eski zamanlardan beri halk arasında tedavi amacı ile kullanıldığı bilinmektedir(s.354, 2). Bazı türlerin antitümör, sitotoksik, fitotoksik, antineoplastik, sitositatik, allergenik aktivite gösterdiği literatürlerde kayıtlıdır(3-4). Şimdiye kadar incelenmiş olan *Centaurea* türlerinden terpenoit, flavonoit, poliasetlenik glikozitik ve aromatik bileşikler elde edilmiş(5-7).

Centaurea amanicola Hub-Mor. türü şimdiye kadar incelenmemiş bir türdür. Bu çalışmada bitkinin kimyasal bakımdan değerlendirilmesi, terpenoit, flavonoit, aromatik ve glikozitik bileşiklerinin incelenmesi, elde edilen bileşiklerin saflaştırılması ve yapılarının açıklanması amaçlanmıştır.

1. TEORİK BÖLÜM

1.1. BİTKİNİN TANIMI VE YAYILIŞI

1.1.1. COMPOSITAE FAMILİYASI

Bir yıllık, iki yıllık veya çok yıllık otsu veya çalı şeklinde bitkilerdir. Bazılarında süt taşıyan borular bulunabilir. Yapraklar alternan veya karşılıklı dizilmiş, stipulasız (bazen stipulaya benzer yapılar bulunabilir), tam, dişli, loplu ya da çeşitli şekillerde parçalı olabilir.

Çiçekler genellikle çok sayıda (nadiren 1) sapsız ve kapitulum halinde, 1 veya çok sıralı braktelerden meydana gelen koruyucu involukrum ile çevrilmiştir. Kapitularlar bazen baş şeklinde ikinci bir kapitulum oluştururlar. Reseptakulum çıplak veya pullar, uzun tüyler veya sert kıllar taşıyabilir. Çiçeklerin ya hepsi erdişi ya da dişi, erkek veya sterilidir.

Kaliks ovaryumun üzerinde papusa indirgenmiştir. Papus tüy, kıl veya pul şeklinde, bazen de bulunmaz. Korolla birleşik petalli, tüp, iplik veya dil şeklinde, bazen bulunmayabilir. Stamenler 4 (5) tane epipetal, filamentler genelde serbest, anterler situlusun etrafında silindir şeklinde birleşik bazılarında serbesttir. Ovaryum alt durumlu, 1 karpelli, situlus tepede ikiye dallanmıştır, disk şeklindeki çiçeklerde stilus çok defa fırça şeklindedir. Meyva aken, genellikle kalıcı ya da düşücü bir papus taşır, papus sapsız ya da gaga şeklindeki bir uzantı üzerinde bulunur.

Compositae familyası Türkiye'de 126'sı doğal 133 cins 1132'si doğal 1156 tür ile temsil edilir. Bu türlerin 430'u endemiktir(s.497, 1).

1.1.2. CENTAUREA L. CİNSİ

Bir , iki veya çok yıllık otsu, nadiren küçük dikenli çalı ya da daha büyük her zaman yeşil yapraklı yarıçalımsı bitkilerdir. Yapraklar alternan, bazen hepsi tabanda veya farklı dizilişindedir. Kapitulum heterogam, disk şeklinde, radianttır. İnvolutrum yumurtamsı, hemen hemen küresel, silindirik veya iğ şeklinde. İnvolutrum şeklindeki brakteler çok sıralı, kiremit şeklinde dizilmiş, dik ve batıcı, zarımsı samanımsı veya derimsi yapıda, çok farklı şekillerde ekler bulunur. Reseptakulum kalın sert ve düz batıcı tüylüdür. Çiçekler pembe, erguvani (siyahımsı-mor), sarı ya da

beyazımsıdır. Çevredekiler steril, huni şeklinde 5-8 ya da daha çok parçalı veya ipliksi ve belirgin olmayan 4-5 parçalı, merkezdekiler hermafrodittir. Akenler genellikle olgunlukta tüysüzdür. Papus kalıcı veya nadiren erken düşücüdür. Papus eşit olmayan, çok sıralı, merkeze doğru olanlar daha uzun tüy şeklinde, en içtekiler ise çoğunlukla kısa ve daha çok pula benzer, bazen papus eksiktir.

Centaurea, cinsinin Türkiye florasında kayıtlı 178 türü vardır. Bu türlerin bir tanesi (*C.pullata*) yabancı kaynaklı, ancak Türkiye'de doğallaşmış,geriye kalan 177 tür ise doğal olarak yetişir. Türkiye florasındaki 177 türün 109'u Türkiye için endemiktir. (s.513,1).

1.1.3. TÜRKİYE FLORASINDA CENTAUREA CİNSİNDEKİ SEKSİYONLAR VE TÜRLER

Sect. <i>Centaurea</i>	20. <i>virgata</i>	38. <i>jacea</i>
* 1. <i>amasiensis</i>	* 21. <i>sivasica</i>	39. <i>cassia</i>
Sect. <i>Stizolophus</i>	* 22. <i>calolepis</i>	* 40. <i>inexpectata</i>
2. <i>balsamita</i>	23. <i>diffusa</i>	41. <i>salicifolia</i>
3. <i>coronopifolia</i>	24. <i>spinosa</i>	42. <i>nigrescens</i>
Sect. <i>Acrolophus</i>	Sect. <i>ammocyanus</i>	43. <i>stenolepis</i>
4. <i>arenari</i>	25. <i>patula</i>	Sect. <i>Melanoloma</i>
5. <i>inermis</i>	26. <i>laxa</i>	• 44. <i>pullata</i>
?* 6. <i>kilaea</i>	* 27. <i>halophila</i>	Sect. <i>Pseudoseridia</i>
7. <i>cuneifolia</i>	Sect. <i>Phalolepis</i>	45. <i>stevanii</i>
* 8. <i>zeybekii</i>	* 28. <i>cadmea</i>	* 46. <i>lycopifolia</i>
* 9. <i>olympica</i>	* 29. <i>aphrodisea</i>	47. <i>cheirolopha</i>
* 10. <i>polyclada</i>	* 30. <i>amaena</i>	* 48. <i>hermannii</i>
* 11. <i>sipylea</i>	* 31. <i>lycia</i>	* 49. <i>drabifolioides</i>
* 12. <i>wiedemanniana</i>	* 32. <i>luschaniana</i>	* 50. <i>pseudokotschyi</i>
* 13. <i>cariensis</i>	* 33. <i>lycaonica</i>	* 51. <i>cheirolepidoide</i>
* 14. <i>austro-anatolica</i>	* 34. <i>wagenitzii</i>	Sect. <i>Pteracantha</i>
* 15. <i>dichroa</i>	* 35. <i>tossiense</i>	* 52. <i>odyssei</i>
* 16. <i>consanguinea</i>	* 36. <i>hierapolitana</i>	* 53. <i>xylobasis</i>
17. <i>aggregata</i>	Sect. <i>Hyalaea</i>	Sect. <i>Cheirolepis</i>
* 18. <i>anthemifolia</i>	37. <i>pulchella</i>	* 54. <i>drabifolia</i>
* 19. <i>pinetrorum</i>	Sect. <i>Jacea</i>	* 55. <i>kotschyi</i>

- * 56. *derderiifolia*
- * 57. *deflexa*
- * 58. *nivea*
- * 59. *sericea*
- * 60. *saligna*
- Sect. *Rhizocalathium*
- * 61. *sessilis*
- 62. *rhizantha*
- * 63. *armena*
- * 64. *rhizocalathium*
- 65. *vanensis*
- Sect. *Grossheimia*
- * 66. *helenioides*
- 67. *macrocephala*
- * 68. *longifimbriata*
- Sect. *Chartolepis*
- 69. *glastifolia*
- 70. *pteroaula*
- * 71. *demirizii*
- Sect. *Plumosipappus*
- * 72. *paphlagonica*
- Sect. *Phaeopappus*
- 73. *spectabilis*
- 74. *aucheri*
- 75. *handelii*
- * 76. *abtusifolia*
- 77. *albonitens*
- * 78. *stapfiana*
- Sect. *Pseudophaeopappus*
- * 79. *antitauri*
- Sect. *Cynaroides*
- 80. *cynarocephala*
- * 81. *sclerolepis*
- * 82. *kurdica*
- * 83. *fenzlii*
- * 84. *haradjianii*
- * 85. *doddsii*
- * 86. *aladaghensis*
- 87. *gigantea*
- ?* 88. *chaldaeorum*
- 89. *spicata*
- * 90. *arifolia*
- * 91. *foliosa*
- * 92. *tomentella*
- * 93. *cataonica*
- * 94. *hausknechtii*
- * 95. *amanicola*
- Sect. *Paraphysis*
- 96. *nemecii*
- Sect. *Microlophus*
- 97. *babylonica*
- 98. *thracica*
- 99. *behen*
- 100. *polypod*
- * 101. *hakarien*
- 102. *rigida*
- Sect. *Tosimopappus*
- * 103. *ptosimopappa*
- * 104. *ptosimopappoide*
- Sect. *Mesocentron*
- 105. *solstitialis*
- Sect. *Calcitrapa*
- 106. *iberica*
- 107. *calcitrapa*
- * 108. *pamphylica*
- 109. *hyalolepis*
- Sect. *Tetramorphaea*
- 110. *bruguierana*
- Sect. *acrocentron*
- 111. *salonitana*
- 112. *athoa*
- * 113. *pestalozzae*
- * 114. *acicularis*
- * 115. *chrsantha*
- * 116. *lactucifolia*
- 117. *raphanina*
- 118. *urvillei*
- * 119. *lydia*
- * 120. *pseudoreflexa*
- * 121. *scopulorum*
- * 122. *antiochia*
- * 123. *davisii*
- 124. *carduiformis*
- 125. *persica*
- * 126. *vermiculigera*
- 127. *pseudoscabiosa*
- Sect. *Aegialophila*
- 128. *aegialophila*
- Sect. *Psephelloideae*
- * 129. *mucronifera*
- * 130. *psephelloides*
- * 131. *pyrrhoblephara*
- * 132. *gracillima*
- * 133. *taochia*
- * 134. *holtziis*
- * 135. *bornmuelleri*
- * 136. *bervifimbriata*
- * 137. *huber-borathii*
- * 138. *schischkinii*
- * 139. *pergamacea*
- Sect. *Hyalinella*
- 140. *simplicicaulis*
- * 141. *pecho*
- Sect. *Psephellus*
- 142. *hypoleuca*
- * 143. *hedgei*
- 144. *dealbata*
- Sect. *Aetheopappus*

145.pulcherrima	154. cheiranthifolia	167.cyanus
* 146.appendicigera	* 155.bourgaei	* 168.tchihatcheffii
Sect. Ambiyopogon	* 156.reuterana	* 169.ensiformis
* 147.karduchorum	157.pichleri	* 170.sieheana
* 148.poluninii	* 158.lanigera	* 171.tardiflora
Sect. Odonotolophoidea	159.nigriimbriae	* 172.leptophylla
* 149.aucherana	160.triufettii	173.1a- mykaled
* 150.eugenii	* 161.mathiolifolia	174.1b amplifolia
Sect. Xanthopsis	* 162.germanicopolitana	* 175.1c- iconiensis
151.erivanensis	* 163.woronowii	* 176.13a cariensiformis
152.xanthocephala	164.thirkei	* 177.15a-nydeggeri
* 153.straminicepha	165.depressa	178. 127a- rechingeri
Sect. Cyanus	166.pinadii	

* : Türkiye için endemik türler

?* : Türkiye için endemikliği kesinleşmemiş türler

● : Yabancı kaynaklı tür.

1.1.1.4. *Centaurea amanicola* Hub-Mor.

İki ya da çok yıllık, 65-80 cm yükseklikte dik ve 2-8 kapitulum taşıyan rasemler şeklinde sadece üst kısımlarda dallanmıştır. Yapraklar kuruduğu zaman kağıtsı, altlarda seyrek ve sert tüylü, üstlerde ince yünümsü tüylü, tam veya dişli, taban yaprakları oblong-kordat saplı, alttaki ve ortadaki yapraklar oblong veya geniş, lanseolat tabana doğru daralmış ve sapsız, orta ve üsttekler dekuranttir. İnvolutrum 27-35 x 25-30 mm, ovoid veya hemen hemen küresidir. Braktelerin uzantıları büyük, taban kısımlarını tamamen gizler, kahverengi (dıştakiler beyazımsı), geniş üçgen şeklienden küreye kadar değişen şekillerde dairemsi, 6-8 (9) mm genişliğinde, silya taşımaz. Silyalar her iki kenarda yaklaşık 12-16 (20) adet ve 3-6mm uzunlukta tepedeki dikensi çıkıntı 5-8 mm, aken 6 mm, papus 8-9 mm, çiçekler erguvani, çiçeklenme zamanı 6-7. aylar. Çam ormanlarında 900-1300 m yüksekliklerde bulunur. Doğu Akdeniz'e has endemik bir türdür(s.536, 8).

1.2. CENTAUREA TÜRLERİNİN HALK ARASINDA KULLANIŞI

Centaurea türlerinden bir kısmı ülkemizde halk arasında tedavi amacıyla kullanılmaktadır(s.354, 2).

Centaurea cyanus: İshal kesici, kuvvet verici, iştah açıcı ve göğüs yumuşatıcı etkileri nedeniyle, infüzyon halinde dahilen kullanılır. Haricen saç kepeklenmesine ve göz hastalıklarına karşı kullanılmaktadır. İnfüzyon ile, baş yıkanır ve gözler banyo yapılır.

Centaurea behen: Çiçekleri midevi ve adet getirici olarak kullanır.

Centaurea calcitrapa: İnfüzyon halinde (%2-6) dahilen ateş düşürücü olarak kullanılır.

Centaurea jacea: Bitki ateş düşürücü, adet getirici, kabız ve iştah açıcı olarak kullanılmaktadır.

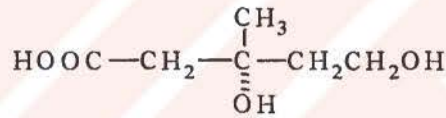
1.3. GENEL BİLGİLER

1.3.1. TERPENOİT BİLEŞİKLER

Tüm canlı organizmalarda bulunan terpenoit bileşikler çeşitli yapılarıyla doğal bileşiklerin en yaygın bulunan ve biyolojik önemi olan sınıflarından birini oluştururlar.

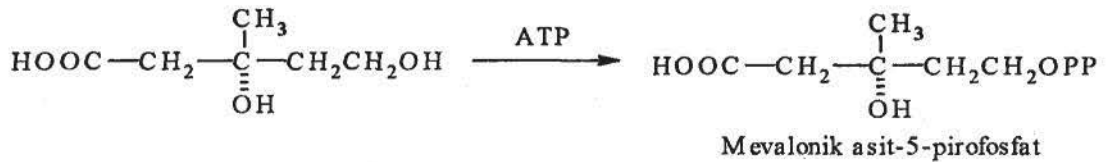
Terpenler bitki dokularında genellikle serbest olarak bulunurlar. Bazıları glikozitleri veya organik asit esterleri halinde, bazen de proteinlerle birleşmiş olarak bulunurlar. Terpenoit bileşikler izopren birimlerinden $[\text{CH}_2 = \text{C}(\text{CH}_3) \text{CH} = \text{CH}_2]$ oluşurlar.

3 mol CH_3COOH 'ın kondensasyonu ile oluşan ve altı karbonlu bir bileşik olan mevalonik asit (Şekil 1) H_2O ve CO_2 kaybı ile izopren birimlerini oluştururlar.



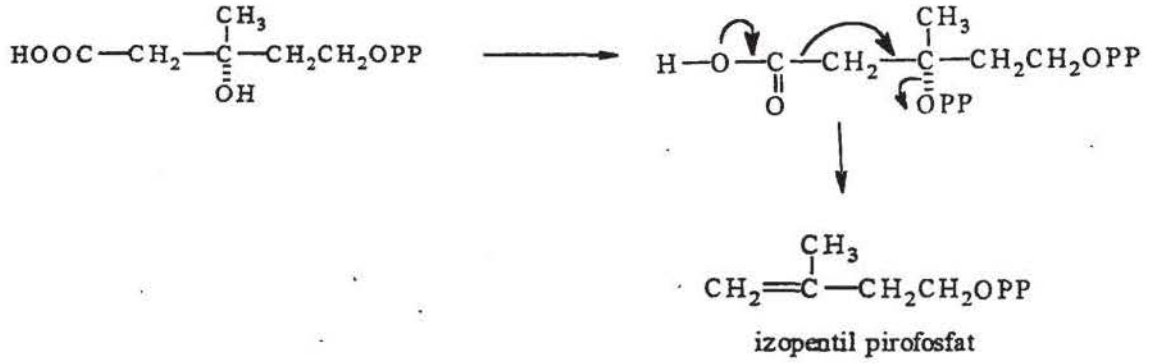
Şekil 1. Mevalonik asit

Mevalonik asit yalnızca terpenlerin sentezini sağlar. ATP (Adenosintrifosfat) ile mevalonik asit-5-pirofosfat'ı verir(Şekil 2).



Şekil 2. Mevalonik asit-5-pirofosfat'ın oluşumu

Mevalonik asit-5-pirofosfat tersiyer OH grubunun fosforlanmasından sonra dekarboksilasyon ve dehidrasyon ile izopentil pirofosfat oluşur(Şekil 3).



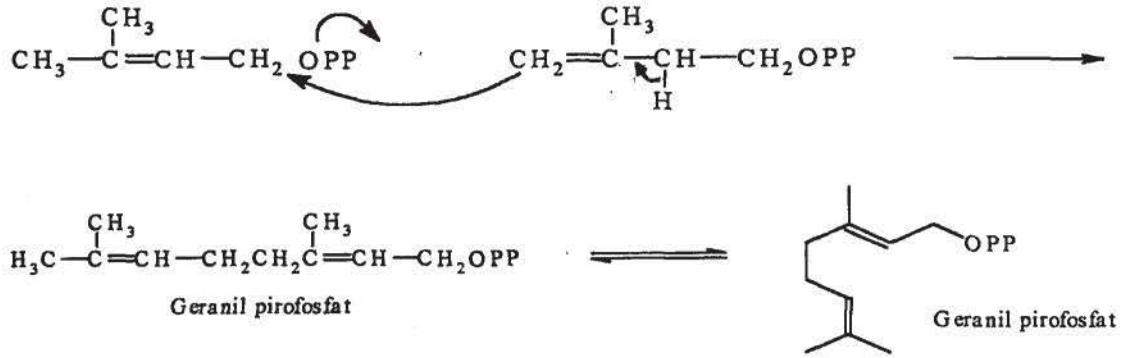
Şekil 3. İzopentil pirofosfat oluşumu

İzopentil pirofosfat, biyogenetik izopren birimidir. İzoprenoit biyosentezine katılımı ancak bir enzim vasıtasıyla olur ve izomerizasyonu (prototropi) sonucu dimetil allil ester oluşur(Şekil 4) (s.241, 9).



Şekil 4. İzopentil pirofosfatın izomerizasyonu

Bu iki izomerin kondensasyonu geranil pirofosfatı oluşturur(Şekil 5). Bu madde monotерpenleri verir.



Şekil 5. Geranyl pirofosfat oluşumu

Geranyl pirofosfatın izopentil pirofosfat ile kondensasyonundan farnesil pirofosfat oluşur. Bu madde seskiterpenlerin geçiş bileşiğidir.

Bu maddenin tekrar izopentil pirofosfat ile kondensasyonu geranyl-geranyl pirofosfatı verir. Geranyl-geranyl pirofosfatda diterpenleri oluşturur.

İzopentil, geranyl ve farnesil pirofosfat moleküllerinin birbirleriyle değişik kondensasyonları sonucu daha yüksek yapıli terpenoitler oluşur. Örneğin triterpenler iki farnesil pirofosfatın, karotenoitler ise iki geranyl-geranyl pirofosfatın kondensasyonu ile oluşmaktadır. İzopentil pirofosfat moleküllerinden iki, üç, dört, altı ve sekizi birleşerek açık zincirli ya da halkalı terpenoit bileşikleri oluştururlar. Terpenoitlerin ana iskeletleri 5 karbonlu izopren (2 metil-1,3 butadien) moleküllerinden oluştuğundan sınıflandırılmaları izopren birimlerinin sayısına göre yapılır.

Ruzicka tarafından ortaya atılmış olan "İzopren Kuralı"na göre bütün terpenik bileşiklerin karbon iskeletleri izopren birimlerinin iki ya da daha fazlasının birleşmesiyle oluşmuştur(s.3, 10).

Terpenler fiziksel özelliklerine göre iki gruba ayrılabilirler.

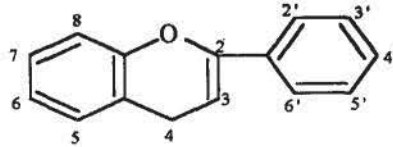
1. Uçucu terpenler: Subuharı ile sürüklenebilen küçük molekülüli monoterpenler ve seskiterpenler
2. Uçucu olmayan terpenler: Büyük molekülüli seskiterpenler, triterpenler ve politerpenler.

<u>İzopren Sayısı</u>	<u>Sınıfı</u>	<u>Karbon Sayısı</u>
1	Hemiterpenler	5C
2	Monoterpenler	10C
3	Seskiterpenler	15C
4	Diterpenler	20C
5	Sesterpenler	25C
6	Triterpenler	30C
8	Tetraterpenler (Karetenoitler)	40C
n	Politerpenler	(5C)n

1.3.1.1. FLAVONOİT BİLEŞİKLER

Flavonoitler hemen her bitki türünde yaygın bulunan doğal fenolik bileşiklerin en geniş sınıflarından biridir, yayılışları en yüksek yapılı bitkilerden basit yapılı mantarlara kadar olmaktadır. (Yosunların büyük bir kısmı ve bakteriler hariç) Flavonoitler sarı renkli bitki pigmentidir. Birçok doğal bitkisel boyaının ana maddesidir.

Flavonoitler kimyasal bakımdan 2-fenil benzopiran yapısı gösterirler (Şekil 6).



Şekil 6. 2-fenil benzopiran

Flavonoitler glikozit şeklinde de bulunurlar. Glikozitleşme eter bağı ile (O-glikozitler) ya da karbon bağları arasında (C-glikozitler) olur. Glikozitler suda kolay çözünürler. Aglikonlar hidroksil gruplarının sayısına göre sulu alkol ve kloroform da çözünürler. O-glikozitlerinin yapısının aydınlatılmasında kimyasal veya enzimatik hidrolizden yararlanılır. Şeker grubunun aglikondan ayrılması hem aglikon, hem de şeker grubunun yapısının belirlenmesini sağlar. Şekerin bağı olduğu yeri saptamak için önce glikoziti metillemek, asetillemek veya trimetilsilileter türevlerini hazırlamak ve ardından hidrolizlemek gerekir. Serbest kalan hidroksil grubu şekerin bağı olduğu yeri belirleyecektir. C- glikozitleri enzim ya da asit ile hidrolizlenmez, şekerin yeri UV kaymaları ile saptanır(s.258,11). Flavonoitlerin farklı iskelet yapıları (Şekil 7) gösterilmiştir.

Flavonoitlerin ekstreden ayrılması ve saflaştırılması için kromatografik yöntemler uygulanır. Poliamid, sefadex LH-20, silikajel, selüloz, en çok kullanılan adsorbanlardır.

Flavonoitler UV ışıkta flouresans gösterirler. Ayrıca fenolik yapıları nedeniyle de NH_3 ve diğer bazlarla renk değiştirirler. Bu özelliklerinden yararlanarak ince tabaka ve kağıt kromatografisinde UV ışık (254 ve 366nm) ile incelenir. Hidroksil gruplarının bağı oldukları yerlere göre UV ışıkta, NH_3 buharında ve NA (Naturstoffreagenz A= difenil borikasit β -aminoetilester) belirteciyle verdikleri renkler değişir(Tablo 1).

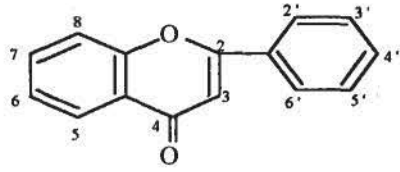
UV spektroskopisi, flavonoit bileşiklerin yapısı hakkında önemli bilgiler veren bir yöntemdir(Tablo 2). Bileşiğin metanoldeki çözeltilisine ayrı ayrı NaOMe, susuz AlCl_3 , AlCl_3/HCl , susuz NaOAc ve NaOAc/ H_3BO_3 in metanoldeki çözeltilerinden az miktarda ilave edilerek alınan spektrumlarda gözlenen kaymalar, piklerin şiddeti ve şekilleri arasındaki farklar flavonoit bileşiğin ana iskeleti ve moleküldeki hidroksil grupları hakkında fikir verir(s.258, 11).

Tablo 1. Flavonoit yapısı ve renk reaksiyonları

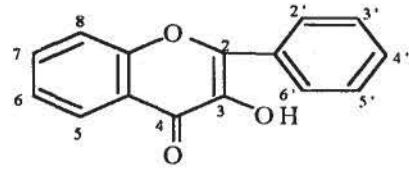
Süstitüent	UV	UV/NH ₃	UV/NA
a)Flavon, 5-OH ve 4'-OH	Koyu Mor	Sarı	Sarı
b)Flavonol, 5-OH ve 4'-OH, 3-OR	"	Sarı-yeşil	Sarı
c)Flavon, 5-OH, 3', 4'-OH	"	"	Oranj
d)Flavonol, 5-OH, 3', 4'-OH, 3-OR	"	"	Oranj
e)Flavon, 5-OH, 4'-OR	"	Renk değişmez	Kahve-mor
f)Flavonol, 5-OH, 4'-OR ve 3-OR	"	Kahve-mor	Kahve-mor
g)Flavonol, 5-OH, 4'-OH, ve 6-OH	"	"	Mor
a)Flavonol, 3-OH, 5-OH yada 5-OR	Soluk Sarı	Renk değişmez	Sarı
b)Flavonol, 3-OH, 3', 4'-OH			Oranj
a)Flavon, 5-OR	Açık Mavi	Sarı-yeşil	Sarı-yeşil
b)Flavonol, 5-OR, 3-OR	"	Mavi-yeşil -	Sarı
c)Flavonol, 5-OR, 3', 4'-OH	"	Fluoresans	Oranj

Tablo 2. Flavonoitlerin UV spektroskopisindeki absorpsiyon bandları.

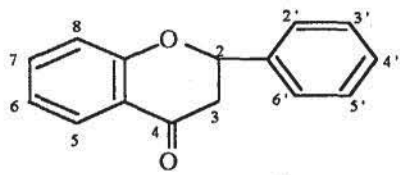
	Bant I	Bant II
Flavon	304 - 350 nm	250 - 270 nm
Flavonol	352 - 385 nm	250 - 270 nm
Flavonon	310 - 330 nm	275 - 290 nm
Kalkon	360 - 390 nm	240 - 260 nm
Auron	390 - 430 nm	240 - 260 nm
Antosiyanidin	475 - 560 nm	275 - 280 nm
İzoflavon	300 - 340 nm	245 - 270 nm



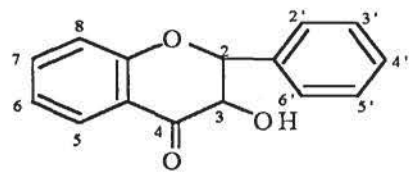
Flavon



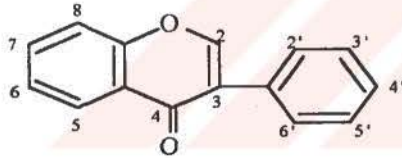
Flavonol



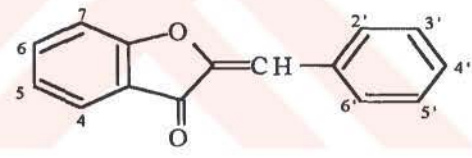
Flavanon



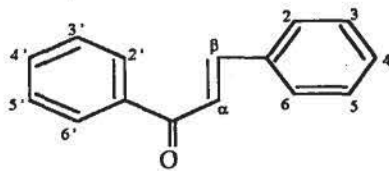
Dihidroflavonol



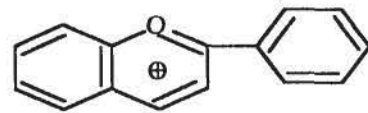
İzoflavon



Auron



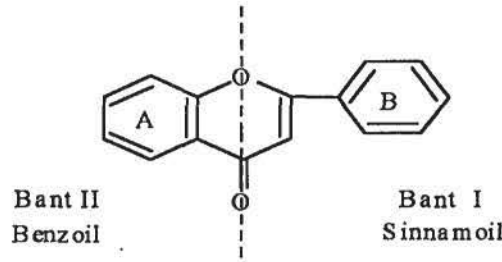
Kalkon



Antosiyanidin

Şekil 7. Flavonoitlerin farklı iskelet yapıları

Flavonoit bileşiklerin UV spektrumunda biri uzun diğeri kısa dalga boyunda olmak üzere iki absorpsiyon bandı gözlenir. Uzun dalga boyunda olan, flavonoit yapının B halkasının (Sinnamoil) absorpsiyonuyla ilişkilidir ve Bant I adını alır. Kısa dalga boyunda olan A halkasıyla (Benzoil grubu) ilişkilidir ve Bant II adını alır (Şekil 8) (s.46, 11).



Şekil 8. Bant I ve Bant II 'yi gösteren gruplar

Bant I ve Bant II 'nin yeri flavonoit bileşikleri birbirinden farklıdır.

B halkasında oksijen fonksiyonunun artması Bant I in, A halkasında 6 ve 8 konumunda oksijen fonksiyonu bulunması Bant II nin uzun dalga boyuna kaymasına neden olur. Halkaların her ikisinde de hidroksil grubunun olmaması bantların şiddetinin zayıf olmasıyla belli olur. İzoflavonlarda, Bant II 245-270 nm ve Bant I 300-340 nm'de omuz şeklinde izlenir. C-6 - C-7 dioksijene izoflavonlar oldukça şiddetli Bant II absorpsiyonu gösterirler.

NaOMe kuvvetli baz olduğundan, flavon çekirdeğindeki tüm OH gruplarını iyonlaştırır. Özellikle 4' ve 7-OH gruplarının saptanmasında bilgi verir.

4'-OH taşıyan flavonoitler Bant I de 45-60 nm lik batokromik kayma yapar ve bantın şiddeti artar. 7-OH flavon ve flavonollerde 305-345nm arasında düşük şiddette bir bant gözlenir. Bant III olarak tanımlanır.

$AlCl_3$ A halkasında C-3 ve C-5 konumunda serbest hidroksil grupları ve B halkasındaki *orto*-dihidroksi grupları ile ayrı ayrı kelat oluştururlar.

Seyreltik HCl ilavesiyle B halkasındaki *orto*-dihidroksi grupları ile oluşan kelat bozunur. Ayrıca $AlCl_3/HCl$ spektrumu Bant I de oluşan batokromik kayma metanol ile alınan spektrumdaki Bant I e nisbeten 35 -

50 nm uzun dalgaboyuna kayarsa 5-OH, 6-H gruplarının; 25-30 nm uzun dalgaboyuna kayarsa 5-OH, 6-OH gruplarının; 16-22 nm kayarsa 5-OH, 6-OMe gruplarının varlığını gösterir.

Sodyumasetat, sodyum metoksitten daha zayıf bir baz olduğundan, asit karakterdeki fenolik hidroksilleri iyonize eder C-7 de serbest OH grubu varsa Bant II de 5-20 nm uzun dalga boyuna kayma yapar. Eger C-6 veya C-8 de oksijen fonksiyonu varsa flavonlarda 4 - 8 nm bir kayma gözlenir veya hiç gözlenmeyebilir(s.48, 11). 4'-OH, 7-OR ise Bant I, NaOMe Bant I i ile aynı dalga boyunda çıkar.

NaOAc / H₃BO₃ spektrumu flavon ve flavonollerde B halkasında *orto*-dihidroksi grupları varsa bunlar borikasit ile kelat oluştururlar Bant I 12-30 nm uzun dalga boyuna kayar. 3'-4' serbest hidroksil yoksa spektrum MeOH spektrumu ile aynıdır(s.51, 11).

¹H NMR spektrumu, flavonoit bileşiklerin aromatik halka protonlarını ve sübstitüentlerin durumunu gösterir. Sübstitüentlerin aromatik halka protonları 5.00 - 8.00 ppm arasında izlenirler. *Orto* etkileşimlerde J = 8 - 9 Hz, *meta* etkileşimlerde J = 2 - 3 Hz arasındadır. Metoksi grupları 3.8 - 3.9 ppm civarında singlet olarak görülür, eğer bir şeker grubu bağlı ise monoglikozitlerde şeker protonları 3.0 - 4.0 ppm arasında gözlenirken, şekerin H-1' protonu daha aşağı alanda 4,8 - 6.0 ppm duplet olarak görülür. Birbirine bağlı iki şeker varsa, halkaya bağlı şekerin H-1' protonu, aromatikliğin etkisiyle aşağı alana kayar (5.1 - 5.9 ppm) ikinci şekerin H-1" protonu daha alifatik karakter gösterdiğinden 4.5 - 5.0 ppm civarında multiplere benzer pik verir.

Kütle spektrumunda, flavonoit aglikon ve glikozitlerin yapı analizleri hakkında önemli bilgiler sağlanır. Flavonoit aglikonlarının çoğu şiddetli moleküler iyon piki [M]⁺ verirler. Bu ana pike ek olarak, flavon aglikonları [M-H]⁺ ve [M-CO]⁺ piklerini verirler. Metoksi flavon olması halinde [M-CH₃]⁺ ve [M-CO-CH₃]⁺ pikleri gözlenir(s.82, 12).

Flavonların antifungal, antioksidant, antimikrobiyal, antibakterial sitotoksik aktivite gösteren tipleri vardır(13 - 17).

1.3.1.2. TRİTERPENLER

Triterpenler altı izopren biriminden oluşmuş 30 karbonlu halkalı yapılardır. Bitkilerde hem serbest hem de triterpenik saponinler olarak bilinen glikozitler halinde bulunurlar. Serbest triterpenler -OH, -COOH, -CH₂OH, -CHO, C=O, epoksi ve lakton gruplarından bir ya da birkaçını bir arada taşıyabilirler(s.32, 10). Doğal triterpenik bileşiklerin iskelet yapıları Şekil 9 da gösterilmektedir. Triterpenler taşıdıkları halka sayısına göre trisiklik, tetrasiklik ve pentasiklik olmak üzere üç grupta toplanırlar. Bu yapılar (Şekil 9) gösterilmiştir. Hiç süstitüent taşımazlarsa triterpenik hidrokarbonlar olarak isimlendirilirler

Triterpenlerin tanınmalarında renk reaksiyonları önemlidir. Liebermann-Burchard en çok kullanılan renk reaksiyonudur. H₂SO₄ ile oluşan mavi-yeşil renk triterpenlerin varlığını gösterir(s.469, 10). Bu reaksiyonu steroidlerde verir fakat bu reaksiyonun steroidlerde çok yavaş yürümesi ve kıvılcak-kahverengi bir renk vermesiyle steroid ve triterpeni kolayca ayırt edebiliriz.

Triterpenlerin büyük çoğunluğu konjuge çifte bağa ve oksokrom gruplarına sahip olmadıklarından UV alanda absorpsiyon göstermezler.

IR spektrumu yapıdaki fonksiyonel gruplar hakkında bilgi verir.

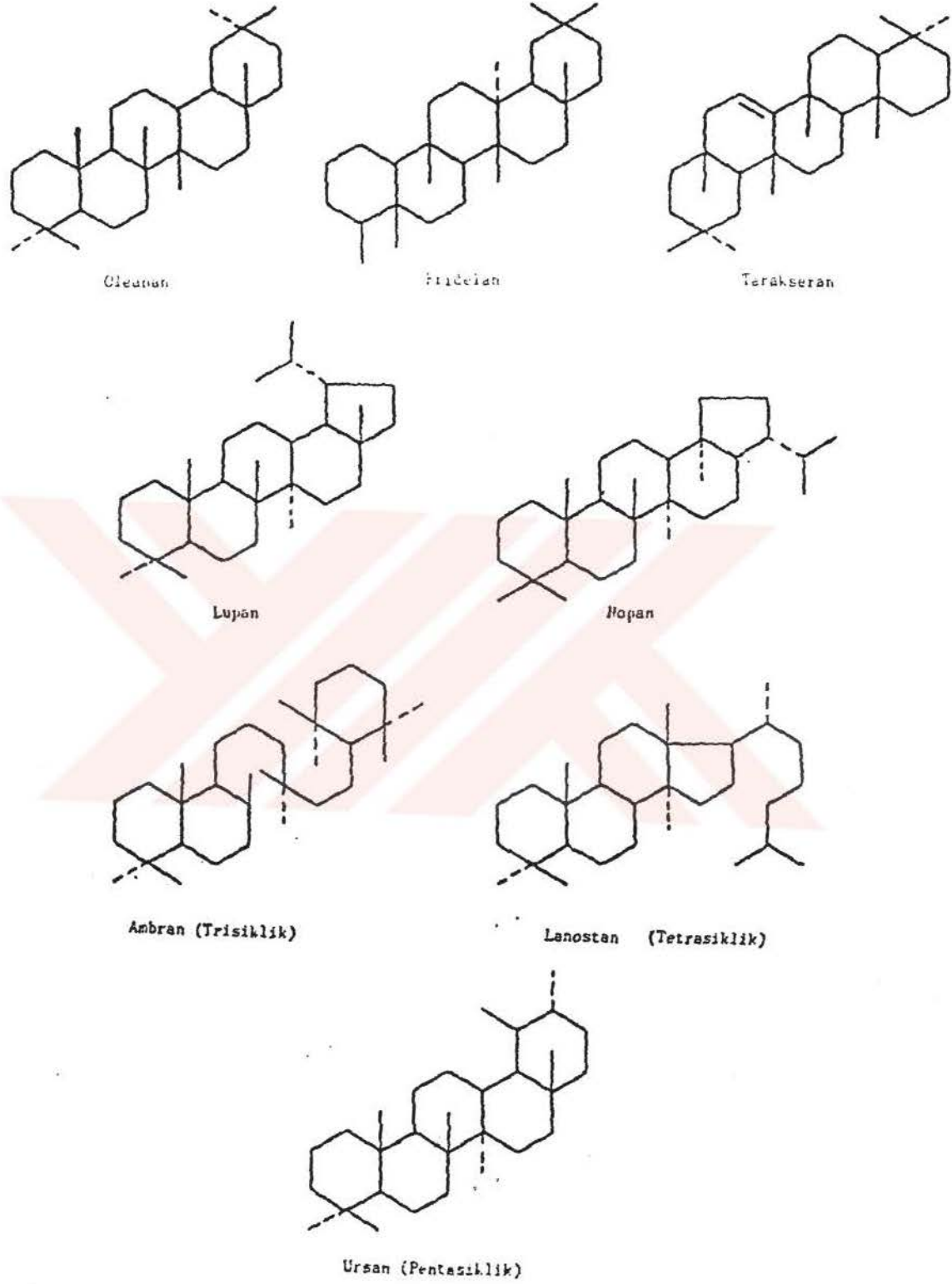
¹H NMR spektrumu, triterpenler için oldukça önemlidir. Karakteristik metilen zarfları 30 karbonlu bileşiğin steroid veya triterpen olduğu hakkında bilgi verir. Metilen zarfı geniş steroid, daha sivri ise pentasiklik triterpen olduğu anlaşılır. Ayrıca metil gruplarının kimyasal kayma değerleri ve bölünme durumları iskelet hakkında bilgi verir(18).

¹³C NMR spektrumu, yapının karbon iskeleti, hidroksil, karbonil ve doymamışlık grupları hakkında bilgi verir. Karbonlara bağlı hidrojen sayısı APT spektrumuyla anlaşılır.

Spin-decoupling deneyleri ile protonların birbirleri ile etkileşimleri anlaşılır.

Kütle spektrumu bileşiğin kapalı moleküler formülünü gösterir ve değişik parçalanma ürünleri ile iskelettteki fonksiyonel grupların yerlerinin saptanmasını sağlar(19).

Triterpenlerin, sitotoksik, sitostatik, antifungal, antibakteriyel, antiviral, diüretik, antitümör aktivite gösteren tipleri vardır(20-24).



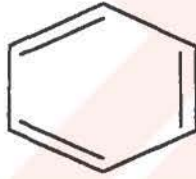
Şekil 9. Doğal triterpenik bileşiklerin iskelet yapıları

Ayrıca hemen hemen her bitkide bulunan α -amyirin ve β -amyirinin antiartritlik ve antilipoksigenas etkileri vardır(25-27).

1.3.2. AROMATİK BİLEŞİKLER

Aromatik bileşikler özellikle doğal kaynaklardan kazanılan ve karakteristik kokuya sahip bulunan bileşikler sınıfıdır. Aromatik sınıfın ilk üyesi benzendir. Benzen, süstitüe benzen ve diğer aromatik bileşiklerin kaynağı petrol ve doğal kaynaklardır.

Aromatik bileşikler halkalı ve düzlemsel bileşiklerdir. Halka ya da halkalardaki her bir C atomunun halka düzlemine dik p orbitali bulunur. Altılı halka içinde alternatif dizilmiş üç çift bağ taşırlar. Ancak, birbirini izleyen tek ve çift bağı, aromatik olmayan halkalı organik bileşiklerde vardır. Siklooktatetraen gibi (Şekil 10).



Benzen



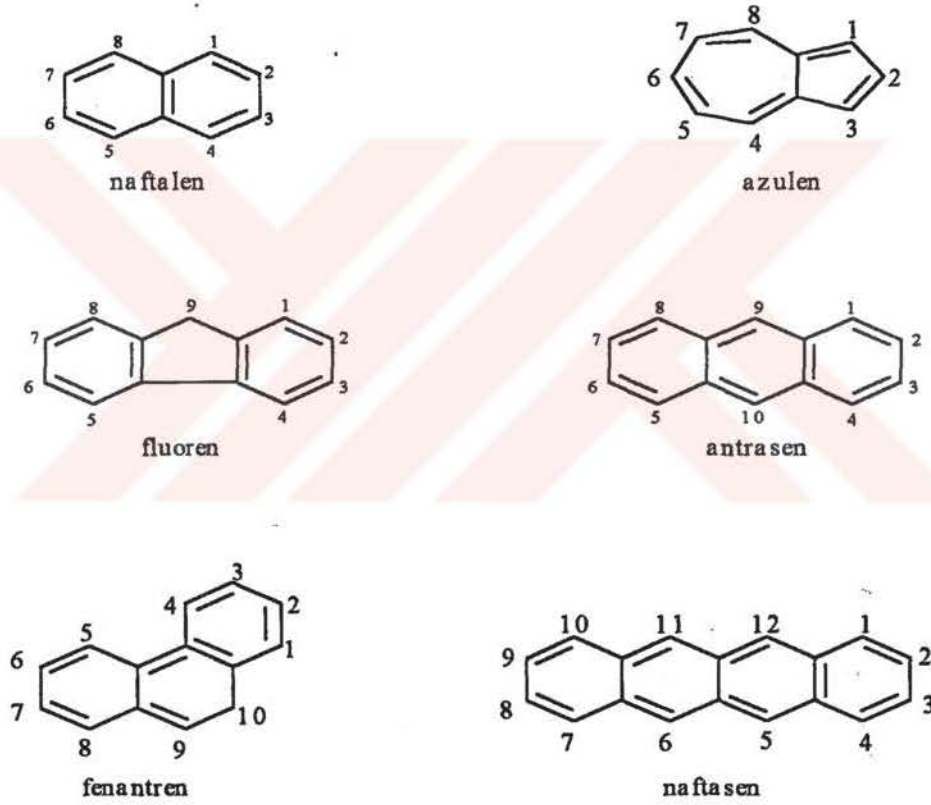
Siklookta tetra en

Şekil 10

Alman kimyacı Erich Hückel, tek halkalı düzlemsel bir bileşiğin aromatik olabilmesi için $(4n+2)\pi$ elektronuna sahip olması gerektiğini öne sürmüştür. Burada n pozitif bir tamsayıdır. Hückel kuralına göre 2,6,10 ve 14π elektronu taşıyan halkalar aromatik olabilir. 8 ve 12π elektronu taşıyan halkalar aromatik olamaz. Molekülün aromatik olabilmesi için bütün π elektronları ortaklaşa kullanılmalıdır ve bütün bağlayıcı orbitaller dolu olmalıdır. Böyle bir sistem aromatik kararlılık için gerekli maksimum örtüşmeyi sağlar(s.509, 28).

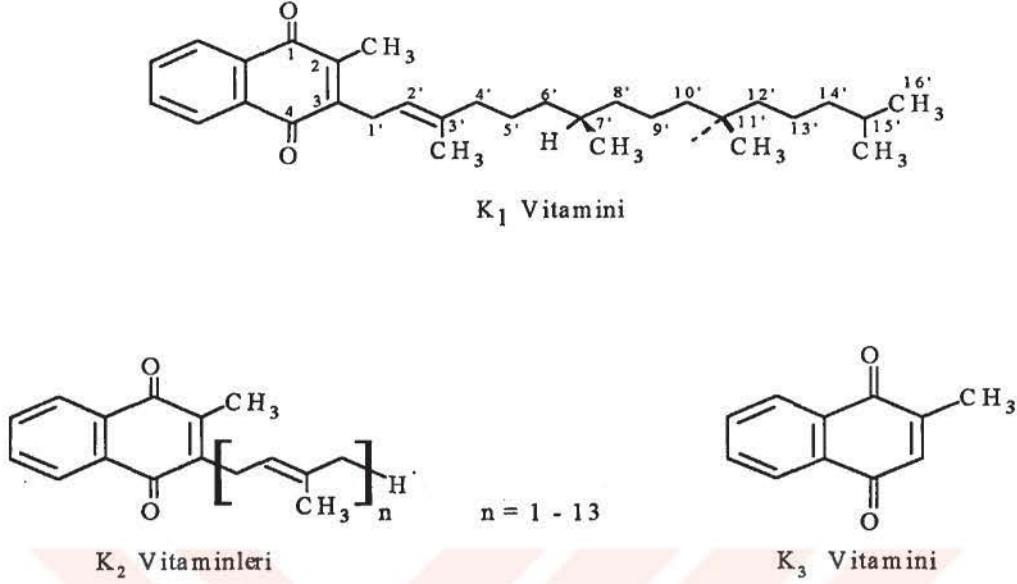
Hückel kuralına uyan yapılar arasına benzen ve türevlerinden başka polisiklik aromatik hidrokarbonlar (kondanse aromatik hidrokarbonlar, kondanse benzenoid hidrokarbonlar) ile halka içinde heteroatom taşıyan heteroaromatik bileşiklerde girer(s.572, 29).

İki ya da daha fazla halkanın *orto* konumlarındaki iki karbon atomunun ortak kullanmak suretiyle bağlanmalarından oluşmuş aromatik sistemlere "polisiklik aromatik hidrokarbonlar" denir. Aromatik karakter gösteren bu halka sistemlerinin en yaygın olanları, naftalen, azulen, fluoren antrasen, fenantren, naftasen dir(Şekil 11).



Şekil 11. Eczacılık bakımından önemli kondanse halkalar

Bu kondanse halka sistemleri eczacılık bakımından özellikle önem taşırlar. Naftalen halka sistemi taşıyan ilaçlar arasında koagülan özellikte olan K vitaminleri örnek verilebilir(Şekil 12) (s.575, 29).



Şekil 12. Koagulan özellikteki K vitaminleri

Antrasen halka sistemi katartik etkide doğal maddeler olan emodin, krizofanik asid gibi yapıların ana çekirdeğini oluşturur. Kondanse durumdaki halkalardan, doğal kaynaklı ilaç maddeleri veren bir diğeri fenantrendir. Ülkemizin önemli tarım ürünlerinden olan haşhaş bitkisinden elde edilen afyon alkaloidleri fenantren halkaları taşımaktadırlar.

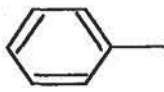
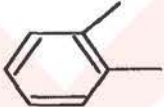
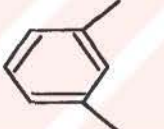

Heteroaromatik yapılar 5, 6, 7 vb. karbonlu halkalar olup halka içindeki heteroatom (O, N, S) sayısı bir ya da birden çok olabildiği gibi bu atomlar aynı ya da farklı cinsten olabilir, ayrıca heteroaromatik yapılar tek halkalı ya da kondanse durumda bulunabilir.

Benzen ve diğer aromatik hidrokarbonlar polar değildir. Suda çözünmezler, ancak dietil eter, karbontetraklorür ya da hekzan gibi organik çözücülerde çözünürler. Benzen çok kullanılan bir çözücüdür. Aromatik hidrokarbonların kaynama noktaları oldukça yüksektir.

Aromatik yapı IR spektrumunda iki bölgenin incelenmesiyle belirlenir. Genelde zayıf olan aril CH gerilmelerinin absorpsiyonu 3030cm^{-1} dolayında alifatik CH absorpsiyonunun hemen solunda ortaya çıkar. Aril

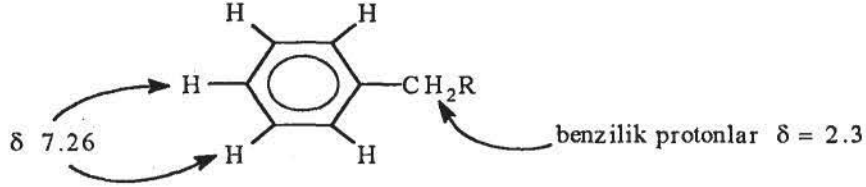
C-C titreşimlerinin absorpsiyonu $1450-1600\text{ cm}^{-1}$ de dört pik halinde izlenir. Ancak dört pikin hepsi her zaman gözlenemeyebilir. IR spektrumunda benzendeki sübstitüsyonun konumu belirlenebilir. Farklı sübstitüe benzen halkaları yaklaşık $680-900\text{ cm}^{-1}$ de karakteristik absorpsiyon yaparlar(Şekil 13).

Şekil 13. Sübstitüe benzenlerin C - H eğilim absorpsiyonları

monosübstitüe		iki pik	$730 - 770\text{ cm}^{-1}$ $690 - 710\text{ cm}^{-1}$	$12.9 - 13.7\ \mu\text{m}$ $14.0 - 14.5\ \mu\text{m}$
o - disübstitüe		bir pik	$735 - 770\text{ cm}^{-1}$	$12.9 - 13.6\ \mu\text{m}$
m - disübstitüe		üç pik	$860 - 900\text{ cm}^{-1}$ $750 - 810\text{ cm}^{-1}$ $680 - 725\text{ cm}^{-1}$	$11.1 - 11.6\ \mu\text{m}$ $12.3 - 13.3\ \mu\text{m}$ $13.7 - 14.7\ \mu\text{m}$
p - disübstitüe		bir pik	$800 - 860\text{ cm}^{-1}$	$11.6 - 12.5\ \mu\text{m}$

Aromatik bileşiklerin proton NMR spektrumları karakteristiktir. Aromatik halkadaki protonlar düşük alanda absorpsiyon yaparlar. δ değerleri $6.5 - 8.00\text{ ppm}$ arasındadır. Aşağı alanda absorpsiyonun nedeni halkadaki protonları daha az perdeleyecek şekilde moleküler magnetik alan oluşturan halka akımıdır. Benzenin kendi protonlarının kimyasal kayması $\delta\ 7.26$ dir(Şekil 14). Halkadaki elektronegatif sübstitüentler komşu protonların absorpsiyonunu daha aşağı alana, elektron verici gruplar daha yukarı alana kaydırırlar. Bazen aril protonlarının basit yarılma verdiği gözlenirse de çoğu kez yarılma çok karışıktır. Benzilik

protonlar aromatik halka akımından halka protonları kadar etkilenmezler. Absorbsiyonlar oldukça yukarı alanda δ 2.00 ppm civarındadır.



Şekil 14. Benzen ve benzylik protonların kimyasal kayması

Benzen ve diğer aromatik bileşiklerin UV spektrumları basit $\pi \rightarrow \pi^*$ geçişleri ile kolaylıkla açıklanamaz. Bu karmaşıklık enerji düzeyi düşük bir çok uyarılmış halin olmasından kaynaklanmaktadır. Benzen 184 ve 202 nm lerde kuvvetli absorpsiyon ve 230-270 nm arasında bir seri absorpsiyon bantları verir. Benzen için λ_{max} değeri olarak en kuvvetli absorpsiyon olan 260 nm alınmaktadır. Benzen bileşiklerinin UV spektrumları, kullanılan çözücülere ve halkadaki süstitüentlere göre değişmektedir.

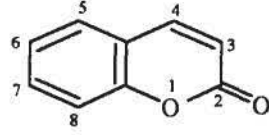
Kaynaşmış benzen halkalarından oluşan aromatik bileşiklerde halka artışı, konjugasyonda ve uyarılmış halin rezonans kararlılığında artışa yol açtığından bu bileşiklerin UV absorpsiyonları uzun dalga boylarına kayar.

1.3.3. KUMARİNLER

Kumarinler bitkilerde serbest veya glikozitleri halinde bulunurlar. Serbest kumarinler bitkiden petrol eteri, benzen kloroform veya eter ile tüketilir. Glikozitleri ise, metanol etanol veya etanol-su karışımı ile ekstre edilir.

Kumarinler, kolon kromatografisi ile uygun adsorban kullanılarak izole edilirler. Safılaştırmak için preparatif ince tabaka kromatografisi, sütun kromatografisi, sefadex LH-20 kullanılabilir(s.24, 30).

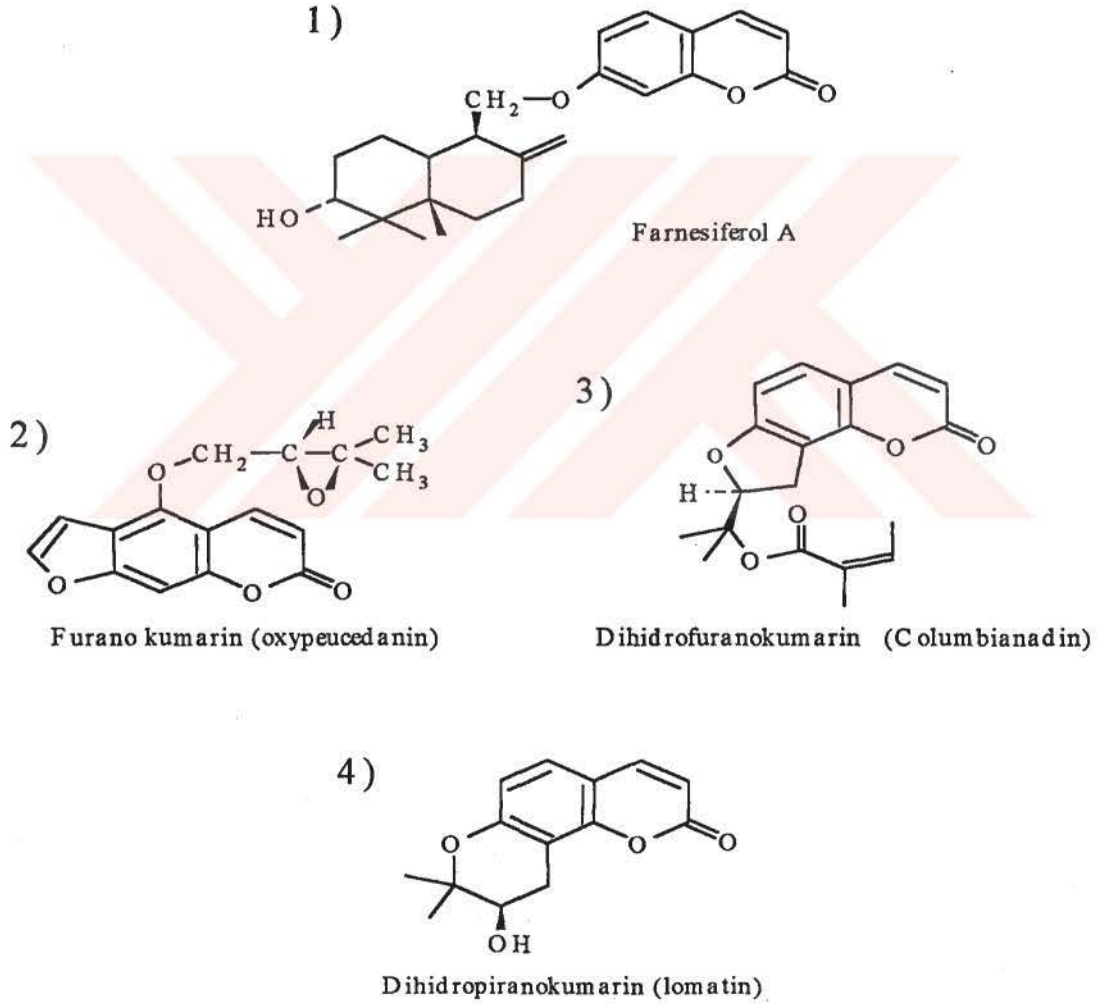
Kumarinler benzo α -piron halkası taşıyan bileşiklerdir(Şekil 15).



Şekil 15. Benzo α -piron halkası

Yapısal özelliklerine göre kumarinler dört gruba ayrılırlar(Şekil 16).

- 1) Benzen halkasında süstitüent taşıyan kumarinler
- 2) Furano kumarinler
- 3) Dihidrofurano kumarinler
- 4) Dihidropirano kumarinler



Şekil 16. Yapısal özelliklerine göre kumarin halkaları

Kumarinlerin bazılarının antikoagulan, diüretik, antibakteriyal hepatotoksik, sitotoksik etki gösterdikleri literatürlerde kayıtlıdır (s.21,31).

Kumarinler UV ışıktta (366 nm) floresans gösteren maddelerdir.

IR spektrumu lakton grubunun varlığını göstermesi bakımından önemlidir. Karbonil bantları $1700-1750\text{ cm}^{-1}$ arasında çıkar. C-O gerilimi $1300-1100\text{ cm}^{-1}$ de izlenmektedir (s.51, 31).

Kumarinler, UV spektrumları tanınmalarında önemli rol oynar. Genellikle kumarinler 220 ve 320 nm civarında iki kuvvetli, 250-260 arasında bir veya iki daha zayıf absorpsiyon verirler(s.42, 31).

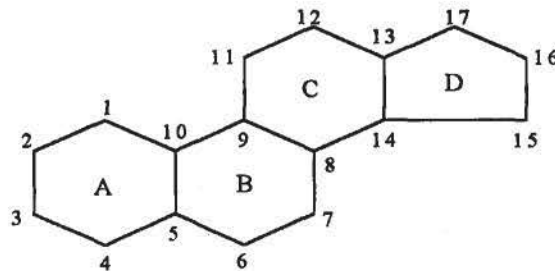
^1H NMR spektrumunda kumarinlerin C-3 ve C-4 protonları 6.04-6.40 ppm ve 7.49 - 8.20 ppm arasında etkileşim değeri $J= 9 - 10\text{ Hz}$ olan iki duplet verirler. Diğer aromatik protonlar, halkadaki süstitüsyona bağlı olarak (hidroksil, metoksi, metilen vb.) gözlenirler.

El-kütle spektrumunda, genellikle moleküler iyon pikinden sonra izlenen en belirgin pik lakton karboniline ait $[\text{M}-28]^+$ kopuşudur. Böylece bileşik benzofuran tipine dönüşür.

^{13}C NMR spektrumunda; C-2, 160 ppm civarında; C-3 115 ppm; C-4, 140 ppm; ; C-5, 128 ppm; C-6, 125 ppm C-7, 131 ppm, C-8, 116 ppm civarında çıkmaktadır(s.44, 30). Bu değerler süstitüsyonların cinsine ve konumuna bağlı olarak değişiklikler gösterirler.

1.3.4. STEROİTLER

Steroidler siklopentanperhidrofenantren halka sistemi içerirler. Halkalar A, B, C, D, harfleriyle belirtilirler ve iskelet aşağıdaki gibi numaralandırılır(Şekil 17).



Şekil 17 Siklopentanperhidrofenantren

Steroidler bitki ve hayvanlarda yaygın bulunan bileşiklerdir. Steroitler mide ve safra asitleri, cinsiyet, adrenal korteks hormonları, kalp glikozitleri, D vitamini gibi hayati fonksiyonlar üzerinde etkili olan maddelerdir(s.517, 32).

Bitkiden değişik polaritede çözücülerle ekstre edilirler. Genellikle polar olmayan çözücüler kullanılır. Ancak steroid molekülünün hidroksil karboksil gibi gruplar içermesi veya glikozit yapıda olması durumunda alkol etilasetat gibi daha polar çözücüler kullanılır.

Steroid ekstrelerinin ayrılma ve saflaştırma işlemleri kolon ve preparatif ince tabaka kromatografisi ile yapılır(s.316, 33).

Bitkisel sterollerin yapısında biyogenetik olarak C-3 de bir hidroksil grubu C-5 de bir çifte bağ vardır ve C-17 den de bir yan zincir bağlanmıştır C-3 de ki hidroksil grubu halkadaki metil grupları ile dik açı yaparsa *cis* yapıdadır. Bu konuma β şekli denir. Paralel olursa *trans* yapı ya da α şekli denir. Doğal steroidler de A ve B halkaları *cis*- veya *trans*, B ve C halkaları daima *trans*-, C ve D halkaları da genellikle *trans*-durumundadır(s.671, 32).

Doğada steroller, serbest, ester veya glikozitleri halinde bulunurlar.

Sterollerin tanınmasında bir çok renk reaksiyonundan yararlanılır. En çok uygulanan renk reaksiyonu Liebermann-Burchard Reaksiyonu-
dur(s.1601, 34).

Steroidlerin yapılarının saptanmasında spektroskopik yöntemler önemlidir.

Steroidlerin tanınmasında UV spektrumu fazla bilgi vermez. Genellikle çifte bağlar izole durumda olduğundan 200 - 210 nm arasında bir uç absorpsiyon verirler(35).

IR spektrumu, bileşiğin fonksiyonel gruplarının saptanması açısından önemlidir. Parmak izi bölgesi steroidler için karakteristik ve oldukça karışıktır. 3350-3550 cm^{-1} arasında serbest veya hidrojen bağı yapan hidroksil grupları, 2850-2900 cm^{-1} alifatik C-H bağları, 1640-1650 cm^{-1} de çifte bağlar izlenebilir.

^1H NMR spektrumunda metil bantları 0.5 - 1.5 ppm arasında görülür, metilen bantları 1.5-2.5 ppm arasında çıkar. Steroitlerde metilen pikleri çok karmaşık ve yaygındır; bu nedenle metilen bantları yerine metilen zarfı denir. Hidroksile komşu hidrojenler 3.5 - 4.5 ppm de doymamışlık bantları 5 - 6 ppm arasında görülür.

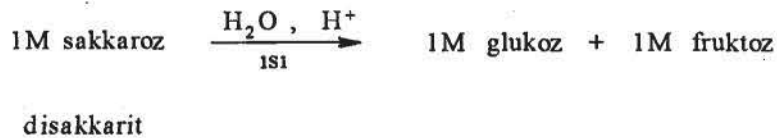
Kütle spektroskopisi, steroidlerin yapı tayininde önemli rol oynar. Spektrumlarda molekül ağırlığını ve molekül formülünü tayin etmeye yarayan moleküler iyon piki görülür. En önemli pikler, M^+ , $[M-CH_3]^+$, hidroksil grubu varsa $[M-H_2O]^+$ bantı ve $[M-D \text{ halkası} + \text{yan zincir}]$, $[M-D \text{ halkası} + H]$, $[M-D \text{ halkası} + M-H_2O]$ bantlarıdır(s.32, 10).

1.3.5. KARBONHİDRATLAR

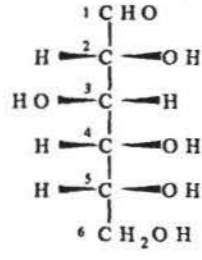
1.3.5.1. GLİKOZİTLER

Glikozitler karbonhidrat sınıfındandır. Karbonhidratlar özellikleri bakımından çok farklılık gösterirler. Çeşitli tiplerdeki karbonhidratlar arasındaki en belirgin farklılık moleküllerin büyüklüklerinden kaynaklanır. Genellikle basit şekerler olarak adlandırılan monosakkaritler en basit karbonhidrat birimleridir ve daha küçük karbonhidrat birimlerine hidrolizlenemezler. En önemli beş monosakkaritin yapısal formülü ve Fischer izdüşümleri aşağıda gösterilmiştir(Şekil 19).

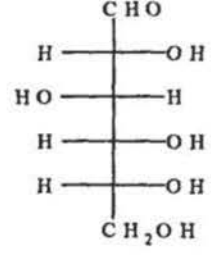
Monosakkaritler dimer, trimer, ve polimer vermek üzere birbirlerine bağlanabilirler. Dimerlere disakkaritler denir. Sakkaroz bir disakkarittir ve bir birim glukoz ile bir birim fruktoz vermek üzere hidrolizlenebilir(Şekil 18). Mono ve disakkaritler suda çözünürler ve genellikle tatlıdırlar(s.991, 36).



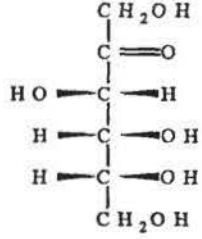
Şekil 18. Sakkarozun hidrolizi



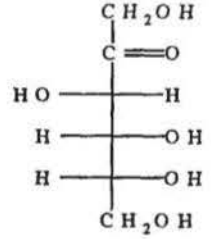
ya da



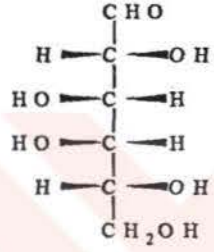
D - glukoz



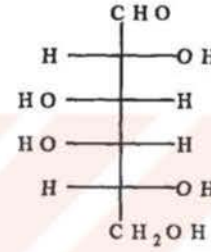
ya da



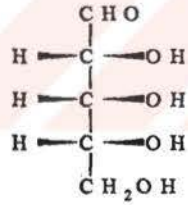
D - fruktoz



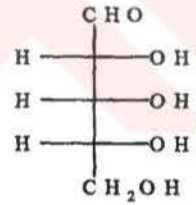
ya da



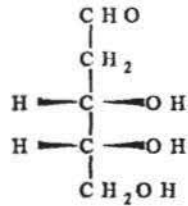
D - galaktoz



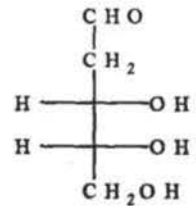
ya da



D - riboz



ya da



2 - deoksi - D - riboz

Yapısal Formülü

Fischer İzdüşümü

Şekil 19. En önemli monosakkaritler

İkiden sekize kadar monosakkarit birimi içeren karbonhidratlar oligosakkaritler olarak tanımlanır. Bir karbonhidratın hidrolizinden sekiz birimden fazla monosakkarit oluşuyorsa bu karbonhidrat bir polisakkarittir.

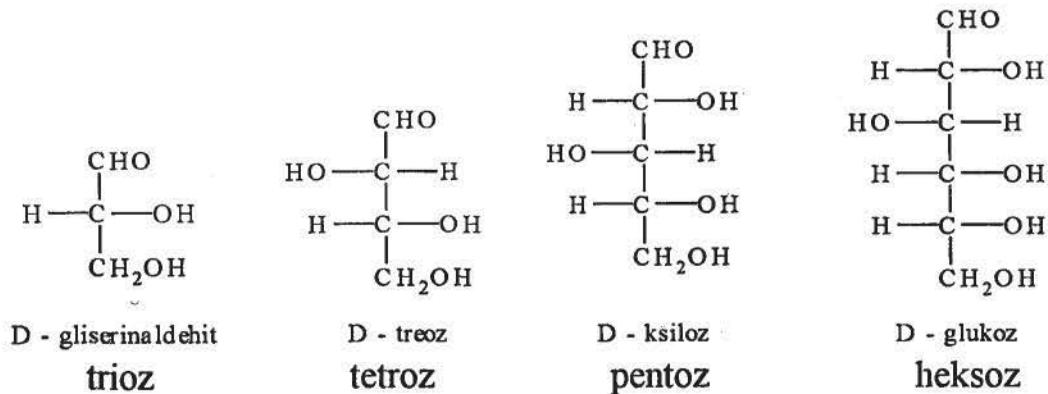
Glukoz en önemli monosakkarittir, kan şekeri, üzüm şekeri ve dekstran olarak adlandırılır, polarize ışığı sağa çevirir. Memeliler sakkaroz, laktoz maltoz ve nişastayı glukozla dönüştürebilirler ya da glikojen olarak depolanır. Organizmanın enerjiye ihtiyacı olduğu zaman glikojen yeniden glukozla çevrilir.

Fruktoz polarize ışığı sola çeviren bir şeker olduğu için levüloz olarak adlandırılır. En tatlı doğal şekerdir, meyvelerde ve balda bulunur. Glukozla birleşmiş olarak sakkarozda da bulunur.

Galaktoz, bir disakkarit olan laktozda, glukozla bağlı olarak bulunur. Riboz nükleik asitlerin polimerik yapılarının bir kısmını oluştururlar.

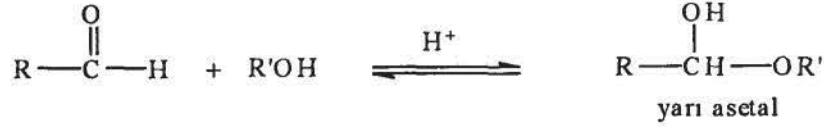
Karbonhidratlar "-oz" eki ile ifade edilirler. Aldehit grubu içeren monosakkaritler aldozlar (aldehit+oz) olarak ifade edilirler. Glukoz, galaktoz, riboz ve deoksiriboz gibi.

Fruktoz gibi keton grubu içeren monosakkaritlere ise ketozlar (keton+oz) denir. Bir monosakkarit karbon sayısına bağlı olarak (üçten yediye kadar) tri, tetra, penta vb. gibi belirtilir (Şekil 20). Örneğin trioza üç karbon içeren bir monosakkarit, heksoza ise altı karbon içeren bir monosakkariti belirtir. Glukoz heksoza bir örnektir (s.349, 37).



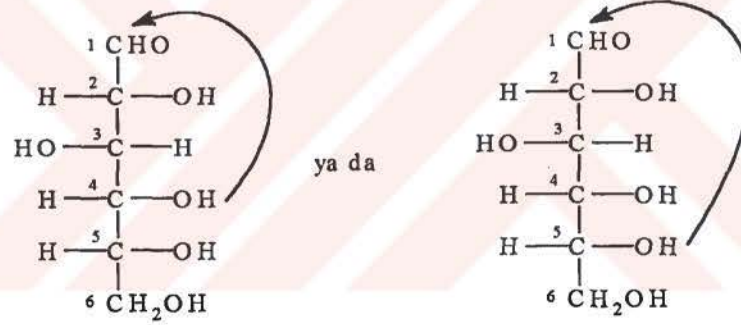
Şekil 20

Glukozun altı karbon atomu vardır. 1 nolu karbonunda aldehit grubu bulunur. Alkollerle aldehitler arasında "yarı asetal" oluşur (Şekil 21).

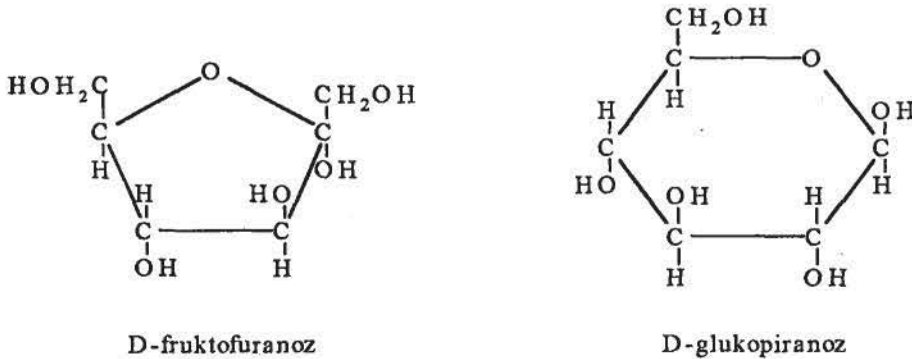


Şekil 21. Yarı asetal oluşumu

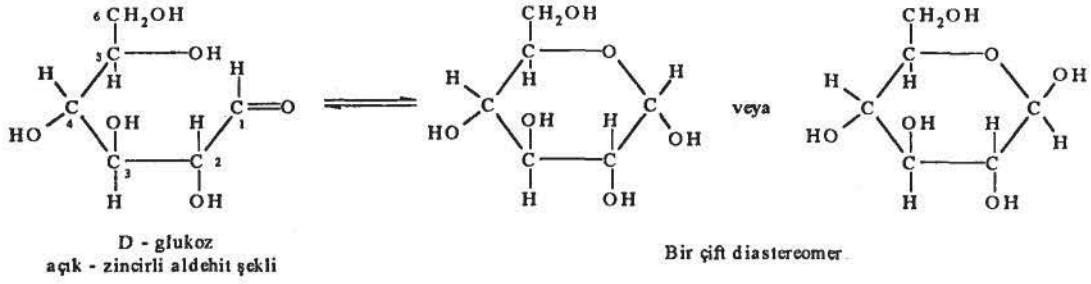
Sulu çözeltide glukoz, halkalı yarıasetal vermek üzere molekül içi tepkimeye girer. Beş üyeli halkalı yarıasetal (4 nolu karbondaki hidroksil grubu ile) ya da altı-üyeli halkalı yarıasetaller (5 nolu karbondaki hidroksil grubu ile) oluşur (Şekil 22).



Şekil 22. Glukozda halkalı yarı asetal oluşumu



Şekil 23. D-Fruktofuranoz ve D-Glukopiranoz halkaları



Şekil 24

Açık - zincirli yapıda kiral (dört farklı grup bağlı olan karbon atomu) olmayan 1 nolu karbon (aldehit karbonu) halkalaşma ile kiral hale gelir. Bu nedenle, halkalaşma ile bir çift diastereomer oluşur. Sulu çözeltide bütün yarıasetal yapılar aldehit yapısıyla dengede bulunurlar (Şekil 24).

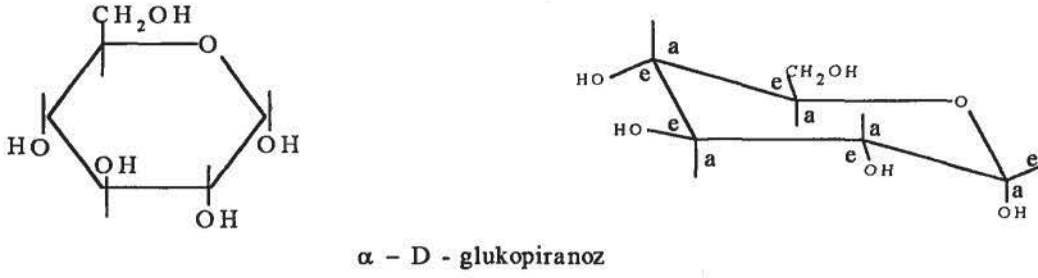
Altı karbonlu halkalı yarı asetal şeklindeki monosakkarite piranoz adı verilir. Aynı şekilde beş karbonlu halkalı yarıasetal şekline furanoz denir. Furanoz ve piranoz terimleri genellikle monosakkaritin adı ile birleştirilir. Örneğin D-glukozun halkalı yapısı için D-glukopiranoz, D-fruktozun halkalı yapısı için D-fruktofuranoz terimleri kullanılır (Şekil 23).

Şekerlerin halkalı yapılarını göstermek üzere, Haworth izdüşüm formülleri geliştirilmiştir. Haworth formülünde 1 nolu karbon sağda gösterilerek çizilir. $-CH_2OH$ grubu, D-serisinde halka düzleminin üstünde, L-serisinde halka düzleminin altında yer alır (Şekil 25).



Şekil 25. Şekerin Haworth izdüşüm formülünde D ve L serileri

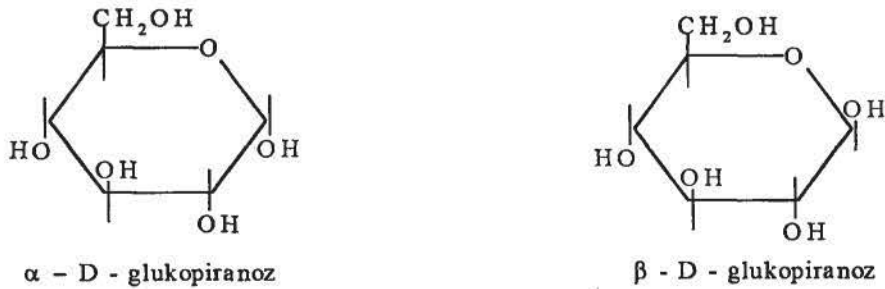
Konformasyon formülünde piranoz halkası sandalye şeklinde gösterilir (Şekil 26).



Şekil 26. α -D-glukopiranozun Haworth formülü ve sandalye şekli

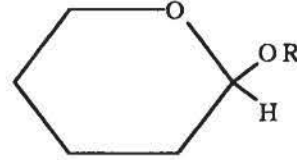
Eğer CH_2OH grubu, Haworth formülünde halka düzleminin altında gösterilmişse, konformasyon formülünde de altta gösterilir. Herhangi bir altı üyeli halkada olduğu gibi burada da substitüentlerin ekvatoryal konumu yeğlediği kabul edilir.

Diastreomerlere, yani sadece 1 nolu karbondaki konfigürasyon farklılığı bulunan monosakkaritlere birbirinin anomer'i denir. Monosakkaritteki karbonil karbonu (C-1) anomerik karbondur (Şekil 27).



Şekil 27. Birbirinin anomeri D-glukopiranozlar

Glikozit karbonunu (aldozdaki 1 nolu karbon) tanımak kolaydır. Çünkü bu karbona iki tane oksijen fonksiyonu bağlanmıştır(Şekil 28).



glikozit

Şekil 28

Bir monosakkaritin yarı asetali, sulu çözeltilerinde açık-zincir şekli ve anomeri ile dengede olduğu halde bir asetal nötral ve bazik çözeltilerde kararlıdır. Bu nedenle, bir glikozit sudaki çözeltisinde aldehit ve anomeri ile dengede bulunmaz.

Glikozitler genel olarak katı, kristalize, renksiz ve acı lezzetli bileşiklerdir. Çok farklı yapıya sahip olduklarından stabiliteleri çözünürlükleri ve polarize ışığa karşı olan etkileri değişiktir. Sudaki çözünürlük dereceleri değişik olmakla birlikte genellikle etanolde çözünürler. Oksijensiz organik çözücülerdeki çözünürlükleri çok azdır.

Enzim veya seyreltik asit etkisiyle yapılan hidroliz sonunda glikozitler şeker ve şeker olmayan kısımlara (aglikon) ayrılırlar.

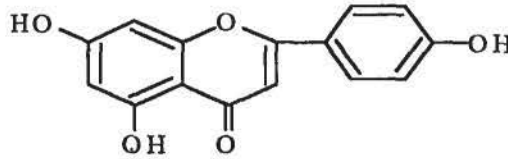
Aglikon aromatik veya alifatik yapıda olabilir. Enzimlerin etkileri spesifik olduğu için her bir enzim ancak bir tip glikoziti hidroliz edebilir örneğin β -glikoz ile oluşmuş bir glikozit ancak β glikozidaz emülsin ile parçalanabilir, α -glikozidas (maltaz) bu glikozite tesir etmez.

2. BULGULAR

2.1. TERPENOİT BİLEŞİKLER

2.1.1. FLAVONOİT BİLEŞİKLER

2.1.1.1. CA₁ BİLEŞİĞİ : Apigenin



Şekil 29

CA₁ bileşiği açık sarı renkli, amorf, silikajel plakta UV lamba altında incelendiğinde kıvı-kahverengi serik sülfat belirteci püskürtüldüğünde, 110°C bekletildiğinde sarı renk vermektedir.

%30 luk CH₃COOH çözeltisinde selüloz plakta yürütülüp, UV lamba (366 nm) altında incelendiğinde kıvı-kahve, NH₃ buharına tutulduğunda sarı, NA belirteci püskürtüldüğünde sarı-yeşil renk vermesi bileşiğin 4'-OH, 5-OH yapısında bir flavon olduğunu düşündürmüştür.

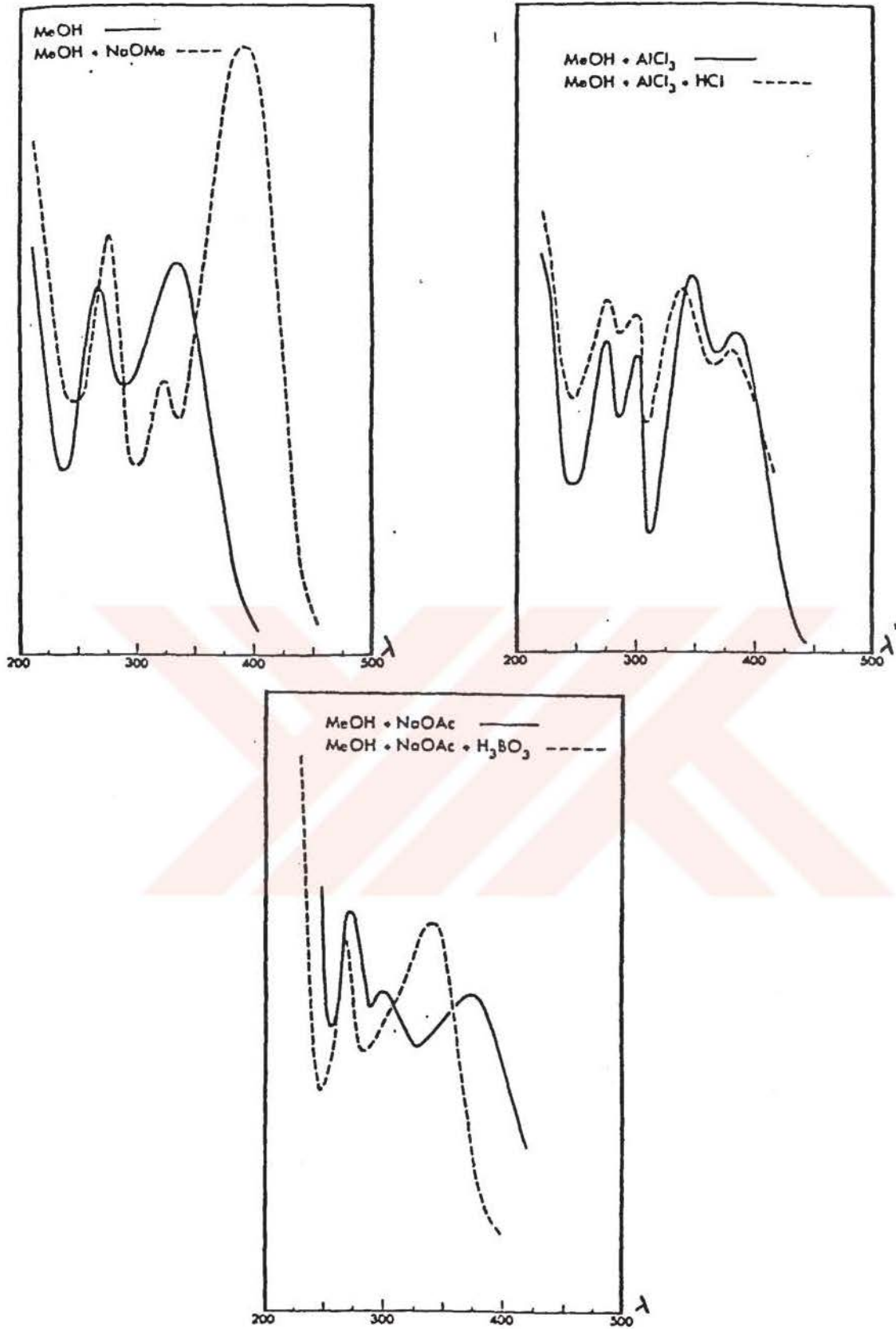
CA₁ bileşiğinin metanol'de UV spektrumu alındığında(Şekil 30) Bant I 336 nm de, Bant II 266 nm de izlendi. NaOMe ilavesi ile Bant I de görülen 56 nm lik batokromik kayma 392 nm ve bant şiddetindeki artma 4'-OH grubu olduğunu göstermektedir. AlCl₃ ilavesiyle alınan spektrumda Bant I in 384 nm ye, AlCl₃ / HCl ile alınan spektrumda Bant I 381 nm kaydığı gözlenmiştir. HCl ilavesiyle elde edilen spektrumdaki Bant I in orjinal spektrumdaki MeOH Bant I ile arasında 45 nm lik bir kayma olduğu görülmektedir. Bu durum C-6 da hidrojen bulunduğunu belirtmektedir. NaOAc ile alınan spektrumdaki Bant I in NaOMe ile alınan spektrumdaki Bant I'den daha kısa dalga boyuna 376 nm kayması ve ayrıca NaOMe spektrumda Bant III ün 324 nm görülmesi C-7 de OH grubu bulunduğunu göstermektedir. NaOAc/H₃BO₃ spektrumunda, Bant I

ın orjinal Bant I ile aynı dalga boyunda (336 nm) çıkması C-3' de hidrojen bulunduğunu göstermektedir.

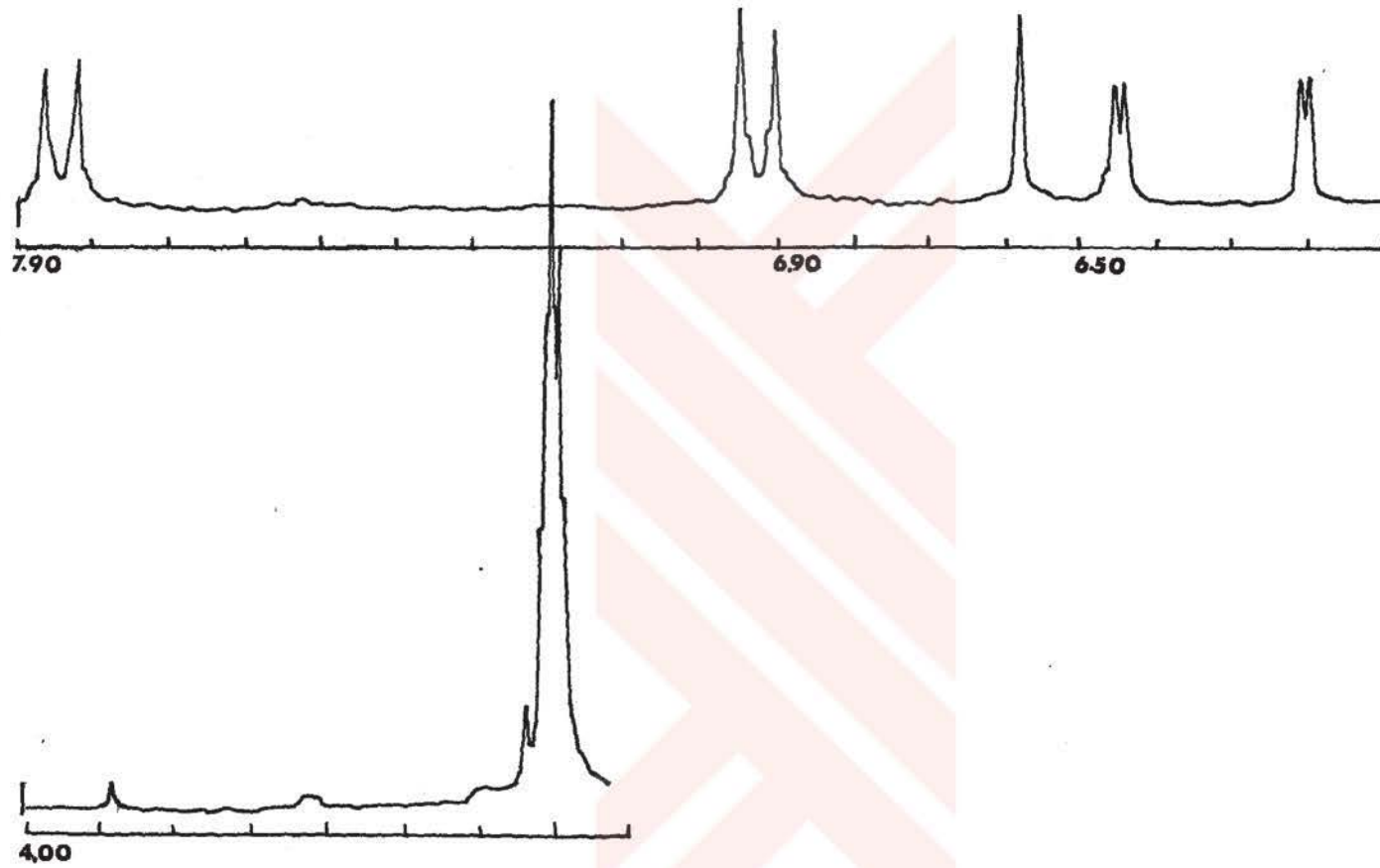
$^1\text{H-NMR}$ spektrumunda (CD_3OD , δ) (Şekil 31); 7.85 ppm (2H, d, $J=8.5$ Hz, H-2' ve H-6'), 6.95 ppm (2H, d, $J=8.5$ Hz, H-3' ve H-5') protonları izlenmektedir. 6.46 ppm de (1H, d, $J=2.5$ Hz, H-6), 6.22 ppm de (1H, d, $J=2.5$ Hz, H-8) ve 6.58 ppm de (1H, s, H-3) protonları görülmektedir.

CA_1 bileşiğinin spektroskopik özellikleri ve ince tabaka kromatografisinde (İTK) standart madde ile karşılaştırılması sonucu apigenin olduğu anlaşılmıştır.





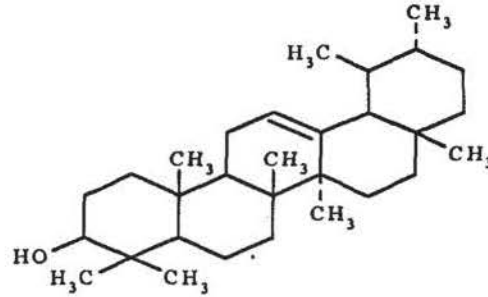
Şekil 30 Apigenin in UV spektrumu, nm, (MeOH)



Şekil 31. Apigenin in ^1H NMR spektrumu, δ , (CD_3OD)

2.1.2. TRİTERPENLER

2.1.2.1. CA₂ BİLEŞİĞİ : α -Amyrin



Şekil.32

CA₂ bileşiği renksiz kristal halinde, silikajel plakta UV ışık altında görünmeyen, serik sülfat belirteci püskürtülüp 110°C de bekletildiğinde kahve-mor arası renk alan bir bileşiktir.

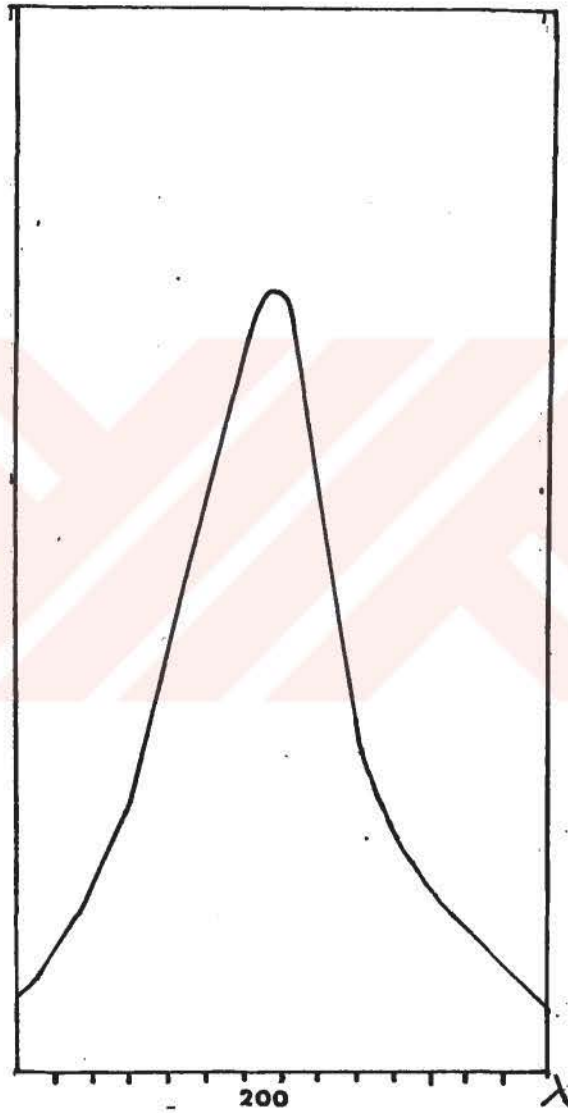
UV spektrumunda (MeOH) (Şekil 33); 210 nm de bir uç absorbands göstermektedir.

IR spektrumunda (CHCl₃) (Şekil 34); 3400 cm⁻¹ de hidroksil grubunu ve 1650 cm⁻¹ de doymamışlık pikini göstermektedir. 2950 cm⁻¹ de alifatiklik, 1450 cm⁻¹ 'de CH₃ gerilim pikleri, 1380 ve 1360 cm⁻¹ de gem-dimetil grubunun varlığını ortaya koymuştur.

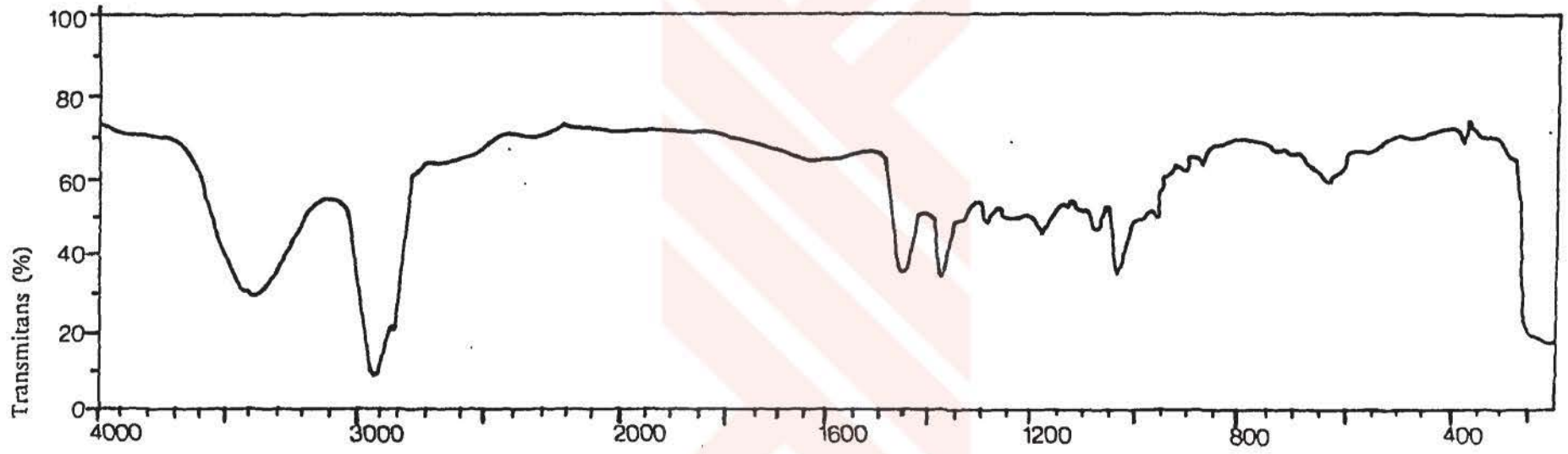
¹H NMR spektrumunda (CDCl₃, δ) (Şekil 35); üst alanda izlenen metil pikleri bileşiğin triterpen yapısında olduğunu belirtmiştir. 0.85, 0.96, 1.04, 0.87, 0.79, 1.06 ppm lerdeki singletler ile metil grupları gözlenmiştir. 1.00 ppm de (J= 6.5 Hz) ve 1.02 ppm de (J=6.5 Hz) deki metil dupletleri ile bileşiğin triterpen olduğu kesinlik kazanmıştır. 3.24 ppm deki double duplet (J = 5 ve 10 Hz) hidroksil grubuna komşu bir protonu (H-3), 5.18 ppm deki triplet (J= 2.5 Hz.) vinilik protonu (H-12) göstermektedir.

Ursan tipi triterpenlerde genellikle hidroksil grubu C-3'de β - pozisyonunda, çifte bağ ise C-12 ve C-13 arasında yer almaktadır.

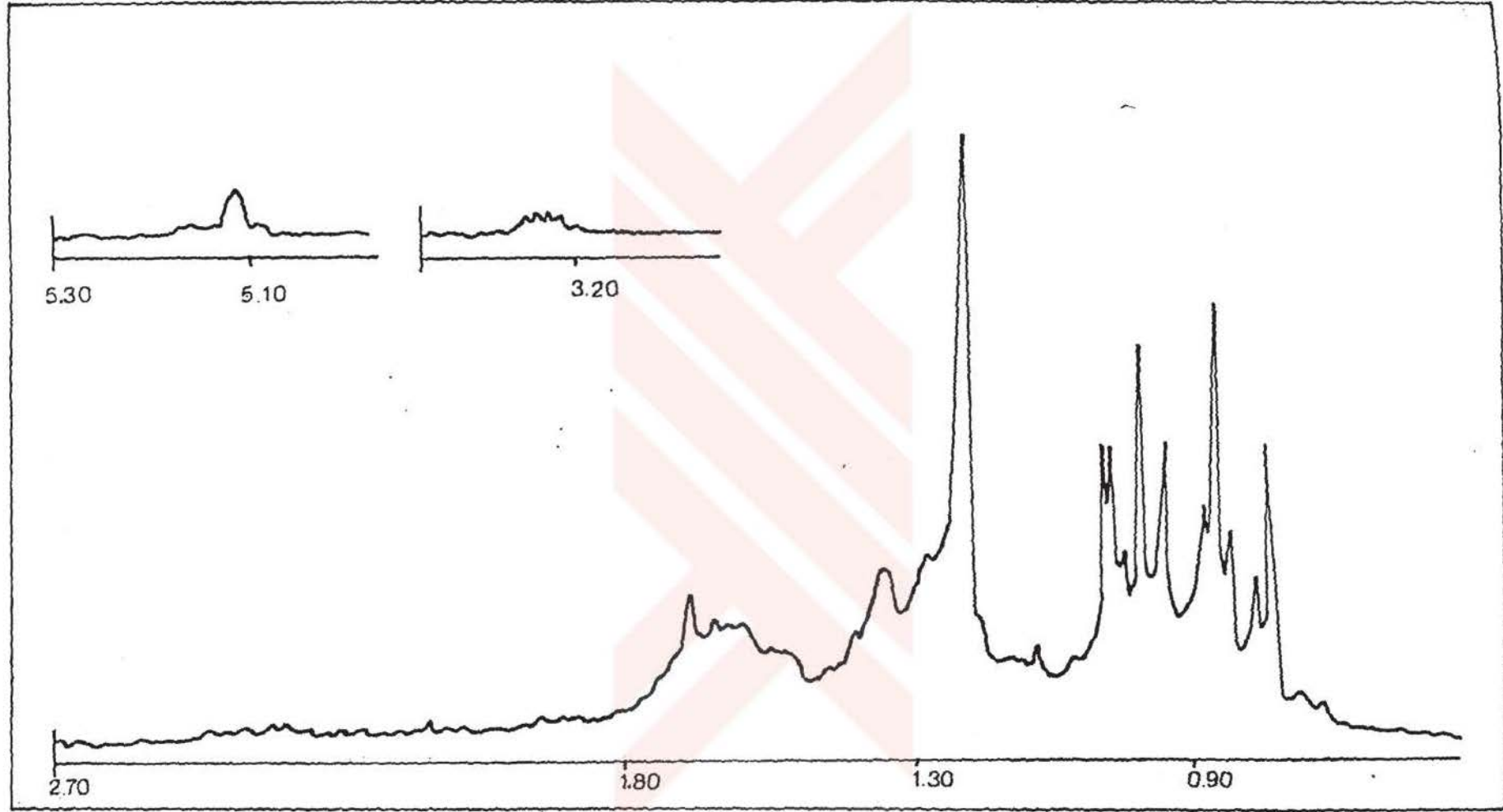
Standart madde ile karşılaştırılan CA₂ bileşiğinin yapısı α -amyrin olarak açıklanmıştır.



Şekil 33 α -Myrin in UV spekturumu, nm, (MeOH)



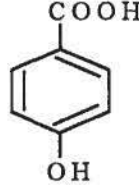
Şekil 34. α -Amyrin in IR spektrumu, cm^{-1} , (CHCl_3)



Şekil 35. α -Amyrin in ^1H NMR spektrumu, δ , (CDCl_3)

2.2. AROMATİK BİLEŞİKLER

2.2.1. CA₃ BİLEŞİĞİ : *p*-Hidroksibenzoik Asit



Şekil 36

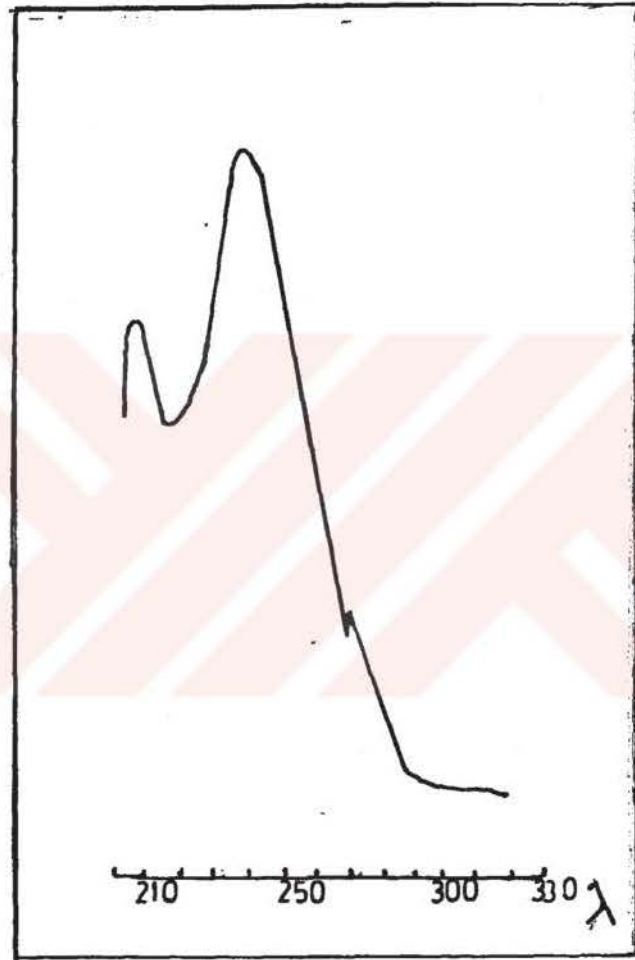
CA₃ bileşiği sarı renkli amorf haldedir. Silikajel plakta UV ışık altında (254 nm) incelendiğinde mor görünen ve serik sülfat belirteci püskürtülüp 110°C bekletildiğinde açık grimsi bir renk alması bu maddenin asit yapısında olabileceğini düşündürmüştür.

UV spektrumunda (MeOH)(Şekil 37) 225, 250, 280 nm lerdeki maksimum absorbanlar aromatik bir yapıya sahip olduğunu göstermektedir.

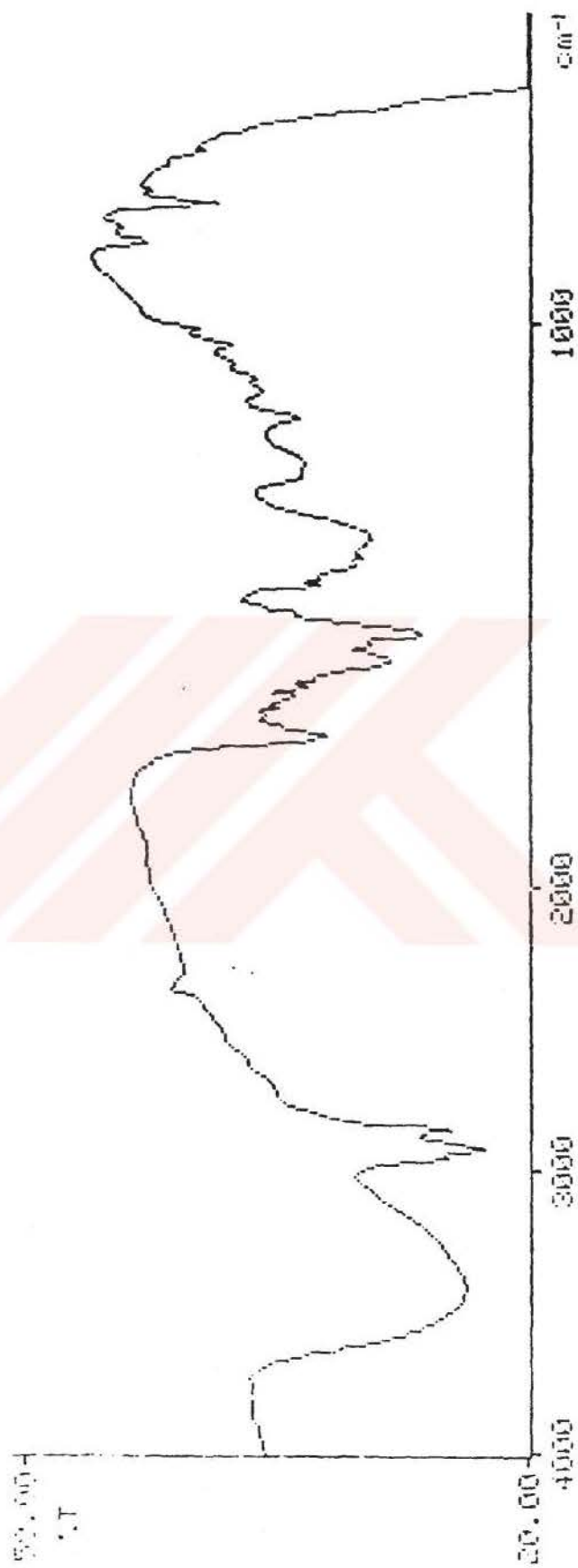
IR spektrumunda (KBr)(Şekil 38); 3417 cm⁻¹ de bir hidroksil grubu 1693 cm⁻¹ de asit karbonili, 2921-2852 cm⁻¹ de bir omuz ve 1651, 1597, 1548, 1461 cm⁻¹ deki pikler yapının aromatik olduğunu doğrulamış ve 1250 cm⁻¹ de C-O gerilim piki izlenmiştir.

¹H NMR spektrumunda (CD₃OD, δ)(Şekil 39), 7.82 ppm'de (2 H, d, J= 9 Hz, H-2 ve H-6) ve 6.72 ppm de (2H, d, J= 9 Hz, H-3 ve H-5) pikleri 1,4-disüstitüe aromatik halka protonlarını, 3,65 ppm de (geniş singlet, OH) ise hidroksil grubunu göstermektedir.

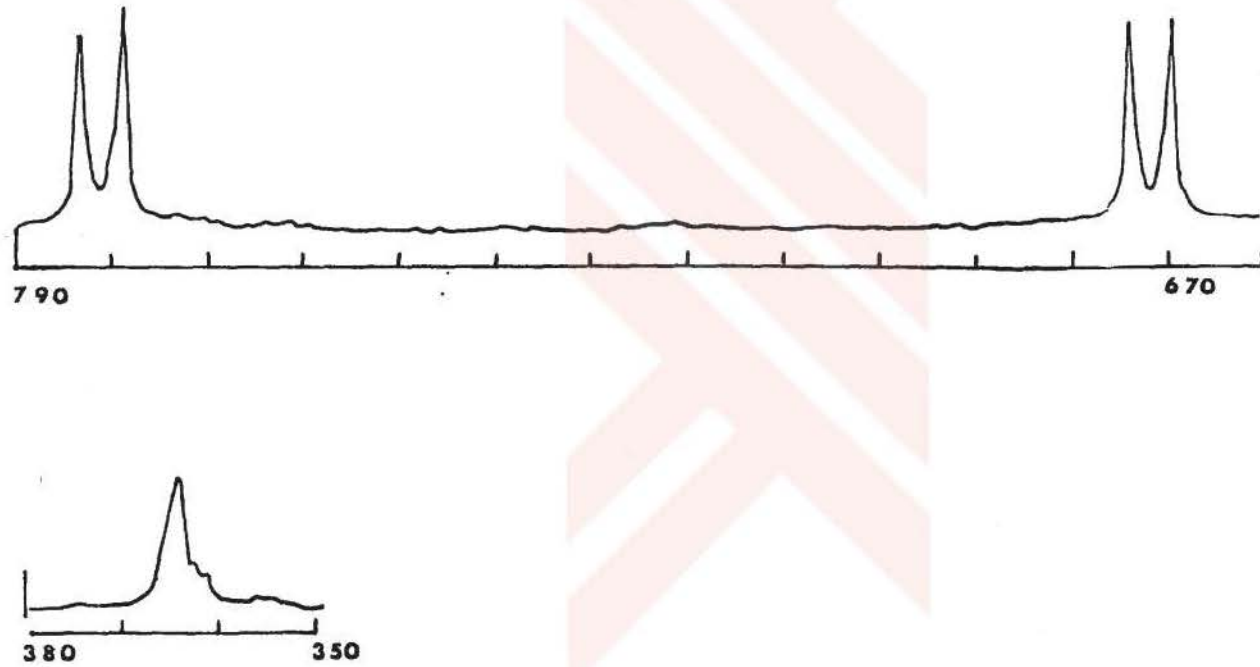
Ayrıca CA₃ maddesinin standart madde ile yapılan karşılaştırma sonucunda *p*-hidroksibenzoik asit olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 37 *p*-Hidroksibenzoik asit in UV spektrumu, nm, (MeOH)

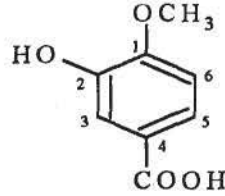


Şekil 38. *p*-Hidroksibenzoik asit in IR spektrumu, cm⁻¹, (KBr)



Şekil 39. *p*-Hidroksibenzoik asit in ^1H NMR spektrumu, δ , (CD_3OD)

2.2.2. CA₄ BİLEŞİĞİ : Vanilik Asit



Şekil 40

CA₄ bileşiği sarı renkli amorf haldedir. Silikajel plakta UV ışık altında (254 nm) incelendiğinde mor ve serik sülfat belirteci püskürtülüp 110°C bekletildiğinde grimsi bir renk almaktadır.

UV spektrumunda (MeOH)(Şekil 41) 290, 250, 220 nm lerdeki absorpsanlar aromatik bir yapıya sahip olduğunu göstermektedir.

IR spektrumunda (KBr)(Şekil 42); 3450 cm⁻¹ de OH- grubu, 2920 2840 cm⁻¹ de C-H gerilim piki, 1690 cm⁻¹ de asit karbonili, 1600, 1520 cm⁻¹ lerde aromatiklik, 1220 cm⁻¹ de C-O gerilim pikleri izlenmektedir.

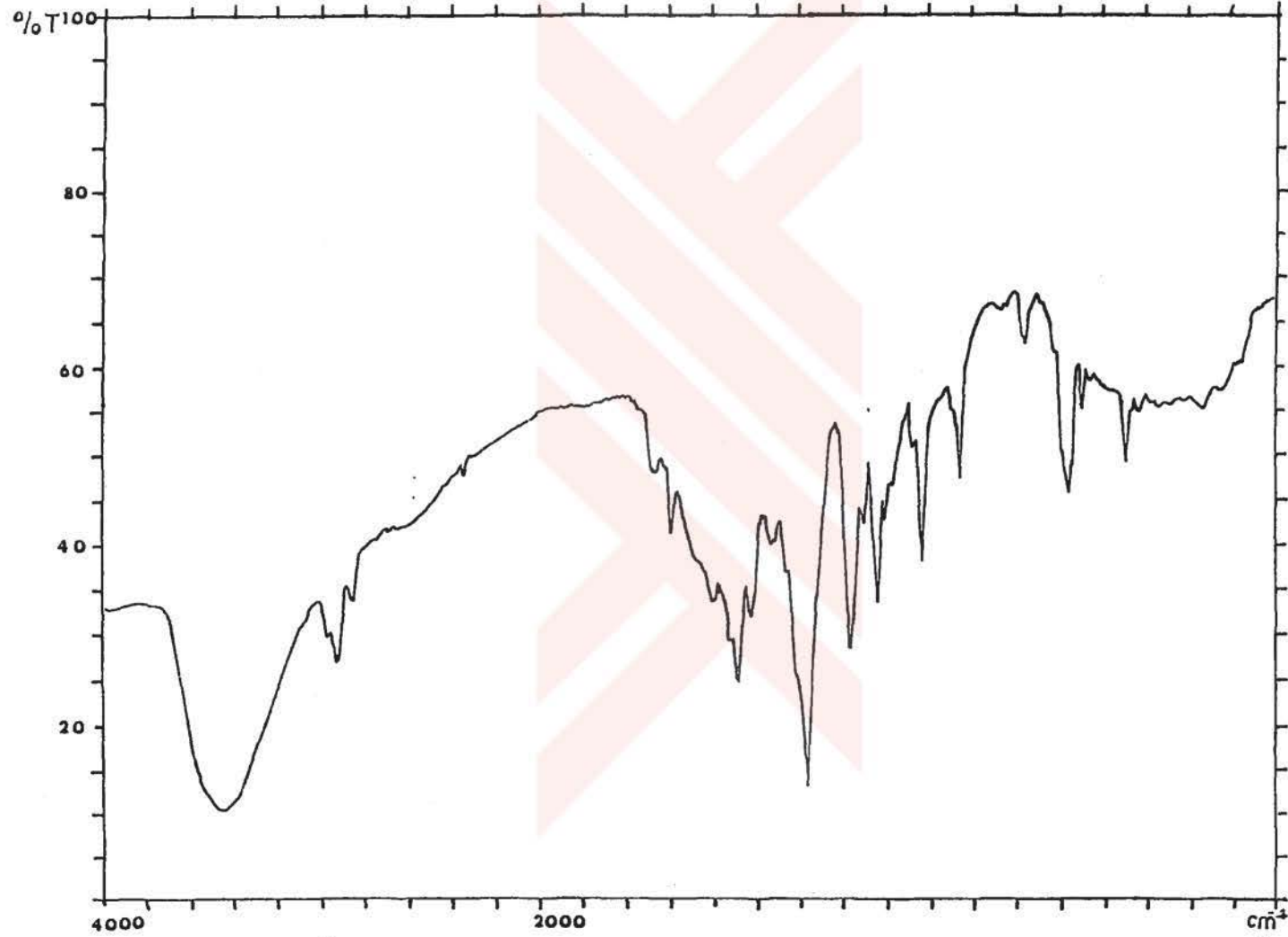
¹H NMR spektrumunda (CD₃OD, δ)(Şekil 43) 3.90 (3H, s) OCH₃, 6.80 (1H, d, J= 8 Hz, H-6), 7.50 (1H, dd, J= 8 Hz, 2 Hz, H-5), 7.55 (1H, d, J=2 Hz, H-3) pikleri izlenmiştir.

El-Kütle spektrumunda (Şekil 44) moleküler pik *m/z* 168 C₈H₈O₄ kapalı formülünü vermekte, *m/z* 123 piki [M-45]⁺ asit grubunun (COOH) kopuşunu göstermektedir.

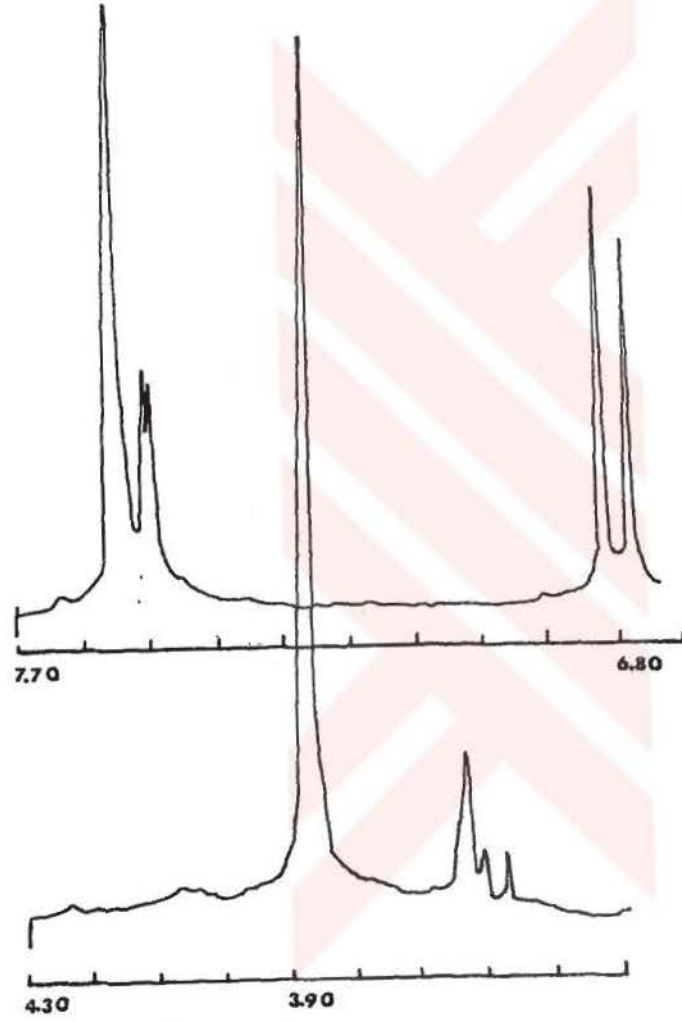
Standart madde ile İTK da yapılan karşılaştırma sonucu bu bileşiğin vanilik asit olduğu tespit edilmiştir.



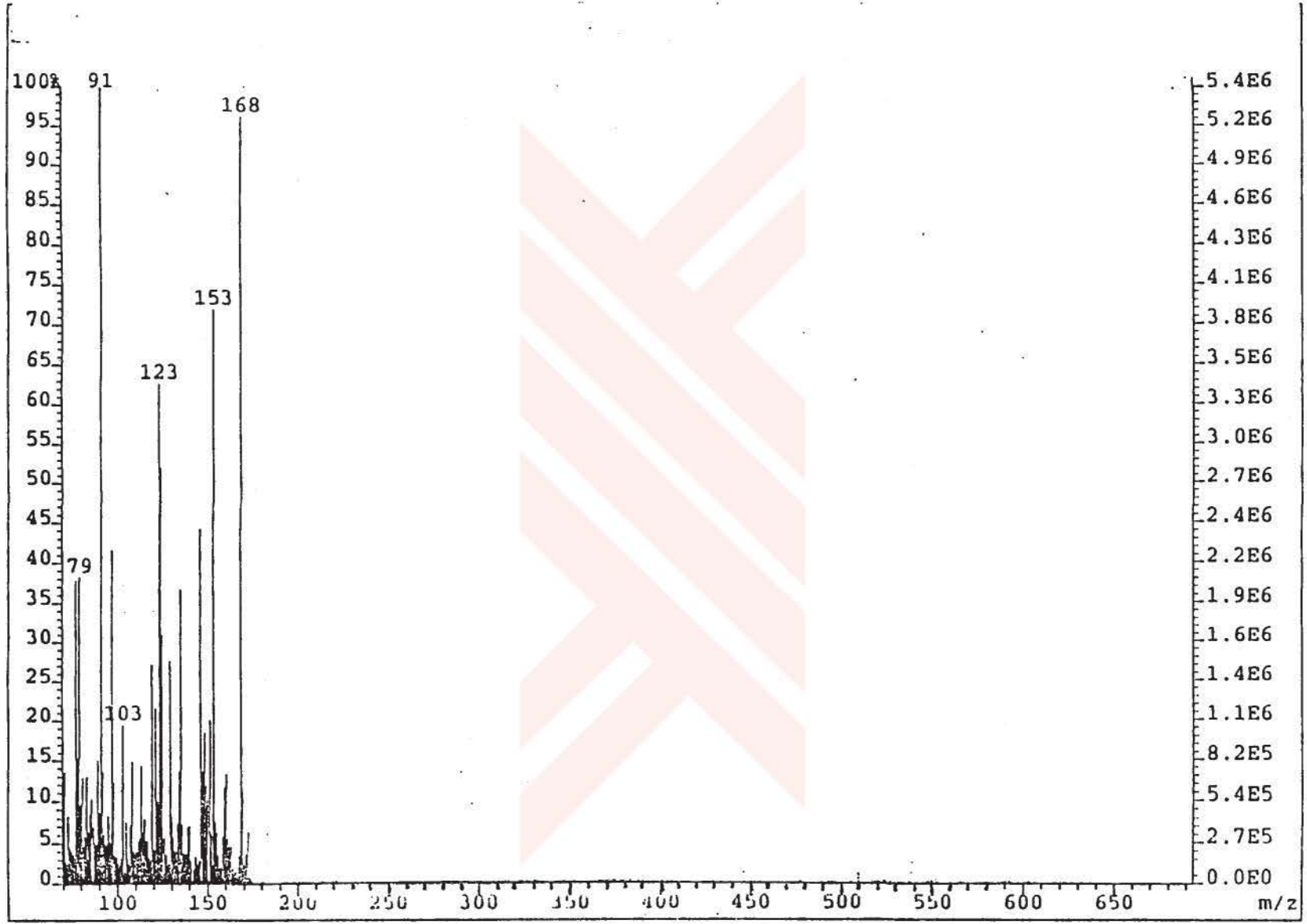
Şekil 41 Vanilik asit in UV spektrumu, nm, (MeOH)



Şekil 42. Vanilik asit in IR spektrumu, cm^{-1} , (KBr)

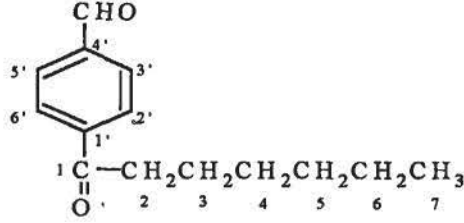


Şekil 43. Vanilik asit in ^1H NMR spektrumu, δ , (CD_3OD)



Şekil 44. Vanilik asit in EL-Kütle spektrumu, δ

2.2.3. CA₅ BİLEŞİĞİ : 4'-Formil-n-heptanofenon



Şekil 45

CA₅ bileşiği UV ışık altında (254 nm) mor görünmekte serik sülfat belirteci püskürtülüp 110°C de bekletildiğinde kahverengi bir renk almaktadır.

UV spektrumunun (MeOH)(Şekil 46); 220 ve 285 nm lerde iki absorpsiyon göstermesi, aromatik bir yapıya sahip olduğunu düşündürmektedir.

IR spektrumunda (CHCl₃)(Şekil 47); 3200 cm⁻¹ de küçük bir omuz ile aromatik C-H gerilimi, 1710 cm⁻¹ de aromatik halkaya bağlı aldehit karbonili ve 1690 cm⁻¹ de keton karbonili, 1620-1480 cm⁻¹ arasındaki dört pik ile aromatik halkanın karakteristik pikleri, 1185 cm⁻¹ de C-O gerilim pikleri izlenmektedir.

¹H NMR spektrumunda (CDCl₃, δ) (Şekil 48); 9.87 ppm de bir singlet ile aldehit protonu, 7.81 ppm de (2H, d, J= 8,5 Hz, H-5', H-3'), 6.95 ppm de (2H, d, J= 8.5 Hz, H-2', H-6') bir çift duplet ile 1,4 disüstitüe aromatik halka protonlarını 2.36 ppm de (3H, t, J= 7Hz, H-2) ve 1.62 ppm (2H, t, J= 7 Hz, H-3) lerde genişlemiş tripletler halinde -CH₂- (metilen) grubu protonları izlenmektedir. ayrıca 1.20-1.30 ppm ler arasında silikajel pikinin altında -CH₂- grupları bulunduğu spin-decoupling deneyleri ile anlaşılmıştır (Preparatif ince tabaka kromatografisi ile yapılan temizlemelerde silikajelden ileri gelen pik 1.20 - 1.25 ppm ler arasında izlenmektedir.) 0.90 ppm deki (3H, t, J= 7Hz, H-7) triplet molekülde bir terminal metil grubu -CH₂-CH₃ göstermektedir.

Spin-decoupling deneyleri ile hem aromatik protonlar, hem de yan zincirdeki grupların birbirlerine göre konumları kolayca izlenmiştir.

6.95 ppm deki duplet ($J= 8.5$ Hz) ışınladığında 7.81 ppm deki duplet bir singlete dönüşmüştür. 1.30 ppm de multiplet ışınladığında iki sinyalde önemli değişiklik izlenmiştir. 0.90 ppm de triplet singlete, 1.62 ppm deki geniş triplet ise sadeleşmiştir. Bu durum $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ grubunun varlığını göstermektedir.

Ayrıca 1.62 ppm deki sinyalin ışınlanması 2.36 ppm deki tripleti singlete dönüştürerek birbirlerine komşu olduğunu ve 2.36 ppm deki CH_2 grubunun bir taraftan bir CH_2 grubuna (1.62 ppm) diğer taraftan bir kuarterner karbona komşu olduğunu açıkça belirtmektedir.

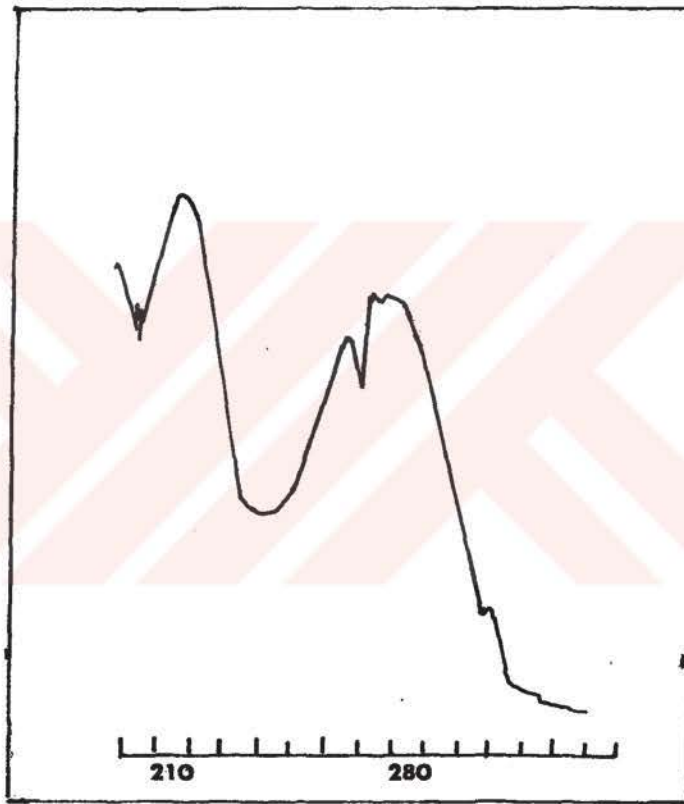
^{13}C NMR (APT) spektrumu (Şekil 49) ; 201.0 ppm de bir keton, 190.7 ppm de aldehit karbonu, 132.3 ve 115.9 ppm lerde aromatik CH karbonlarını göstermektedir. Üst alanda 33.4, 31.9, 24.7 22.4 ppm lerde metilen karbonları, 14.1 ppm de bir CH_3 karbonu izlenmektedir. Madde miktarı az olduğundan bütün kuarterner karbonlar spektrumda gözlenememiştir.

Bileşiğin El-kütle spektrumu (Şekil 50) moleküler iyon pikini m/z 219 $[\text{M}+1]^+$ vererek $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{O}_2$ kapalı formülüne uygunluk göstermiştir. m/z 113 $[\text{M}-\text{C}_7\text{H}_5\text{O}]^+$ aromatik halkanın, bağlı zincirden kopuşunu göstermektedir.

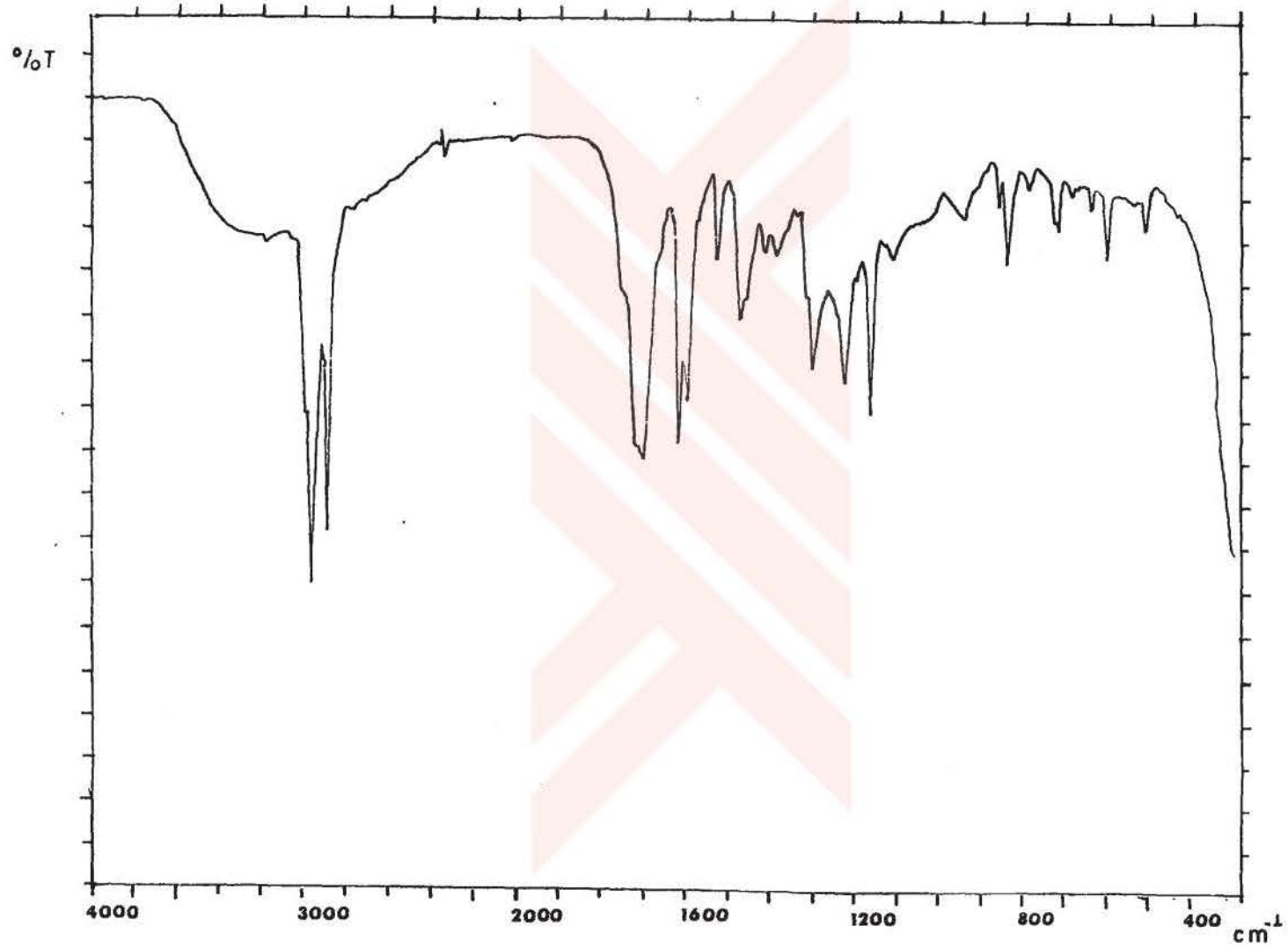
Tüm spektroskopik bulgular ile bileşiğin yapısının 4'-formil-n-heptanofenon yapısında olduğu anlaşılmıştır. Literatür çalışmaları (s.435, 43; 39) bu maddenin doğal olarak ilk kez elde edildiğini göstermiştir.

Tablo 3.

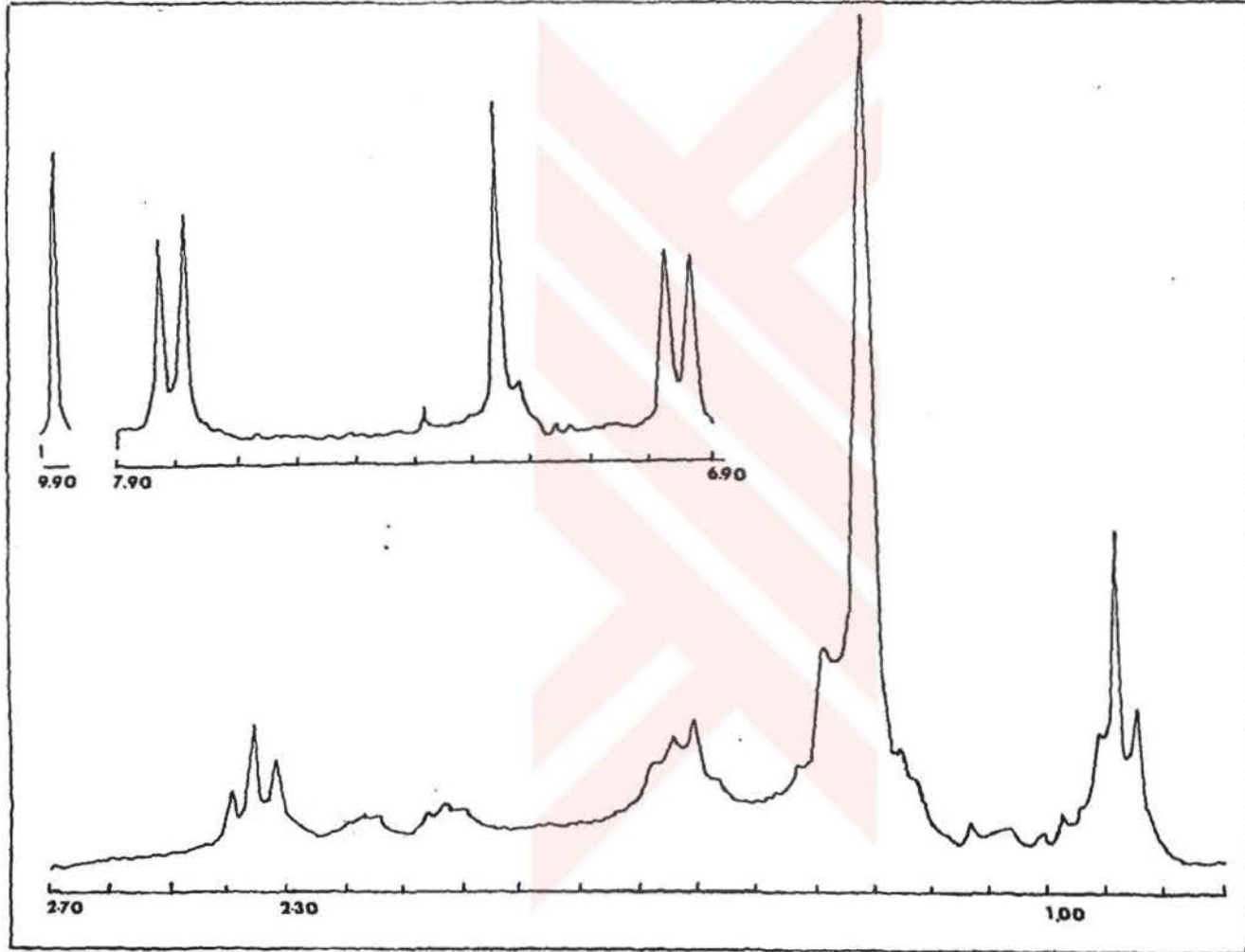
İşinlanan Proton ppm (δ)	Değişen Proton ppm (δ)	Sinyalde İzlenen Değişiklik
6.95 (H-2', H-6')	7.81 (H-5', H-3')	duplet \rightarrow singlet
1.62 (H-3)	2.36 (H-2) 1.30 (H-6)	triplet \rightarrow singlet multiplet \rightarrow sadeleşti
1.30 (H-6)	0.90 (H-7) 1.62 (H-3)	triplet \rightarrow singlet triplet \rightarrow sadeleşti
0.90 (H-7)	1.30 (H-6)	multiplet \rightarrow geniş triplet



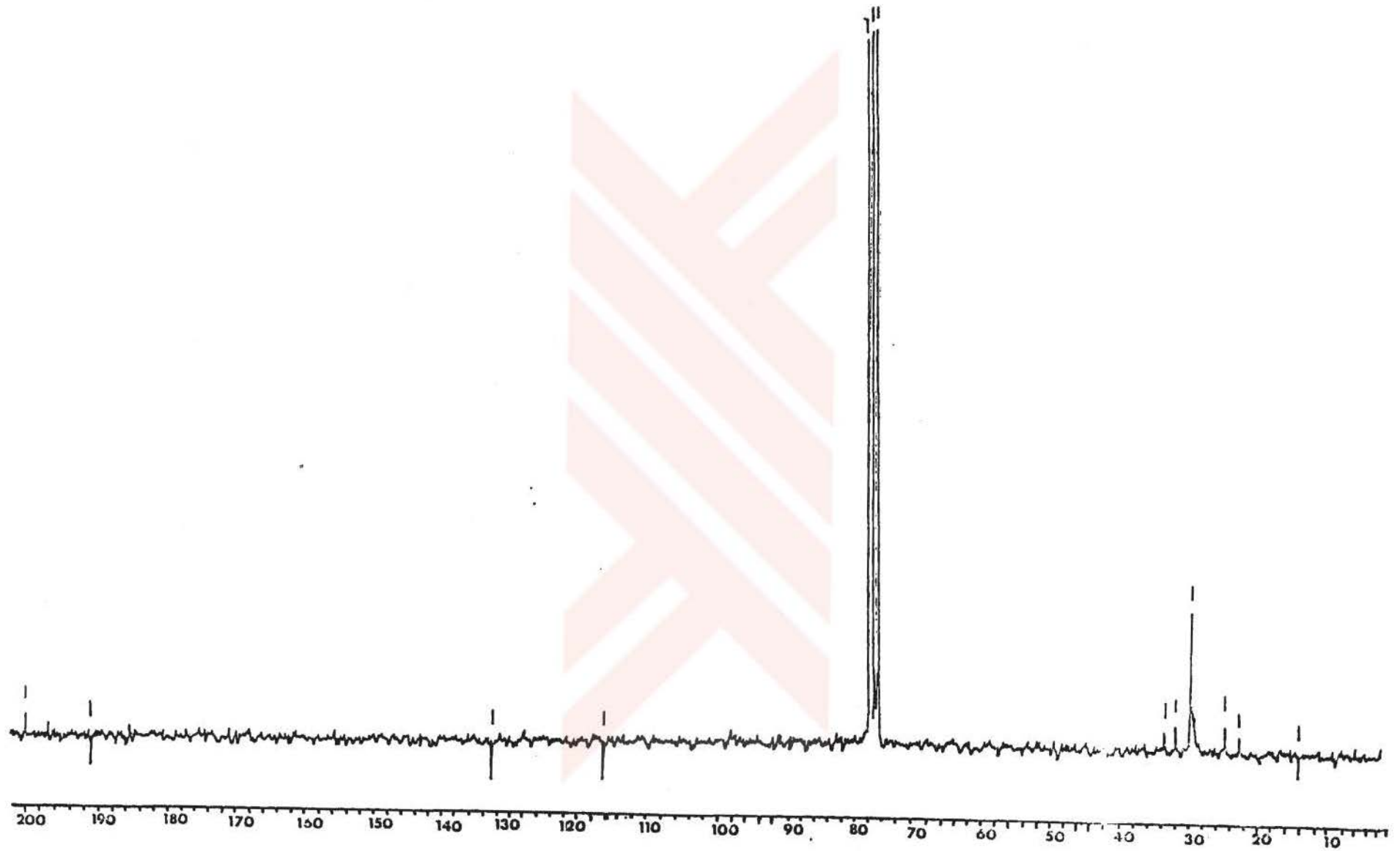
Şekil 46 4'-formil-n-heptanofenon un UV spektrumu, nm, (MeOH)



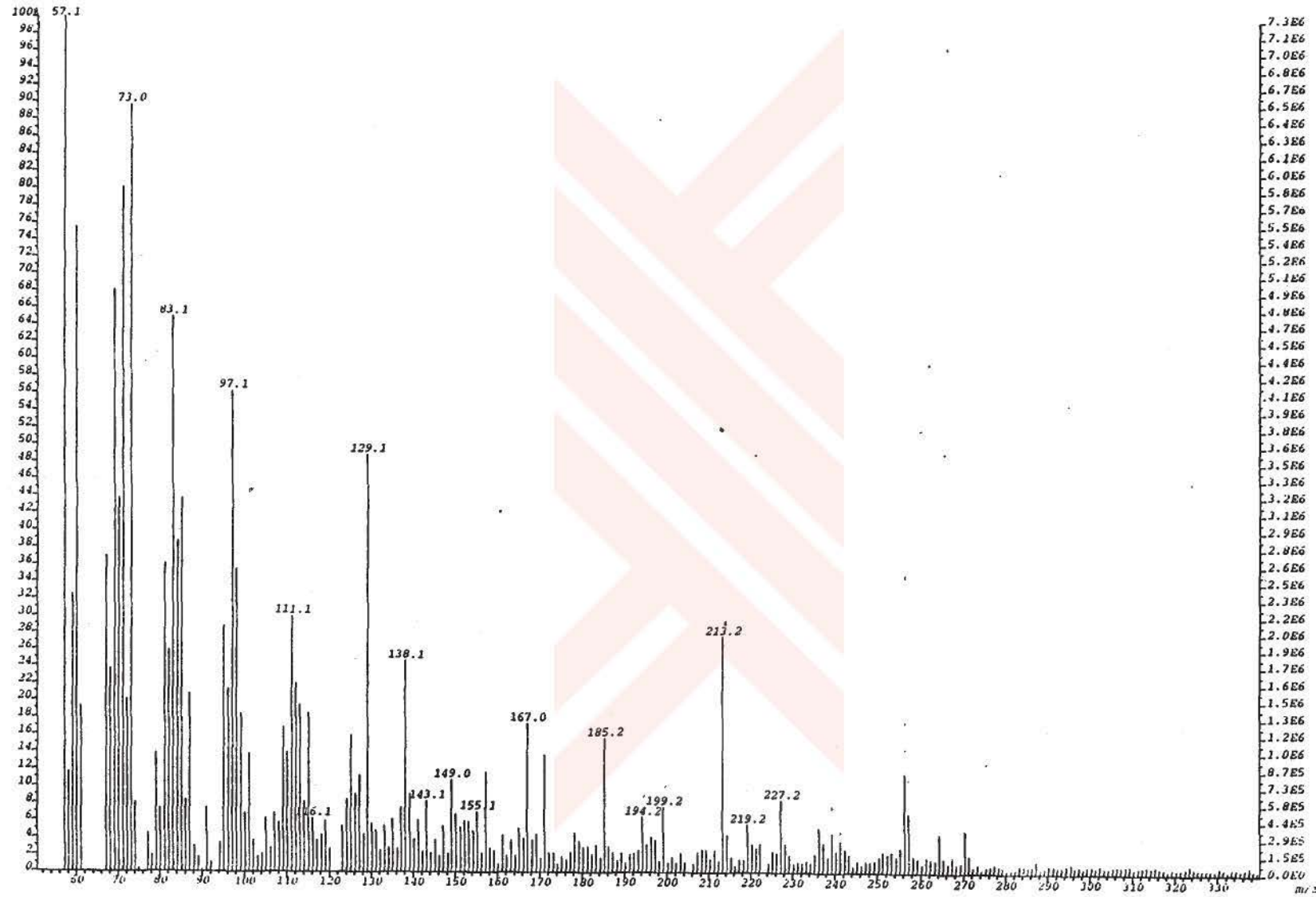
Şekil 47. 4'-Formil-n-heptanofenon un IR spektrumu, cm^{-1} , (CHCl_3)



Şekil 48. 4'-Formil-n-heptanofenon un ^1H NMR spektrumu, δ , (CDCl_3)

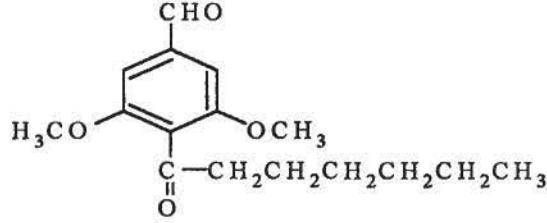


Şekil 49. 4'-Formil-n-heptanofenon un ^{13}C NMR (APT) spektrumu, δ , (CDCl_3)



Şekil 50. 4'-Formil-n-heptanofenon un EL-Kütle spektrumu, δ

2.2.4. CA₆ BİLEŞİĞİ : 4'-Formil-2',6'-Dimetoksi n-Heptanofenon



Şekil 51

CA₆ bileşiği UV ışık altında (254 nm) kıvı-kahve renkli, serik sülfat belirteci ile 110 °C de bekletildiğinde kahverengi bir renk almaktadır.

UV spektrumu (MeOH) (Şekil 52); 305 ve 220 nm lerde iki maksimum absorpsiyon göstermiştir.

IR spektrumunda (CHCl₃) (Şekil 53); 3040 cm⁻¹ küçük omuz ile aromatik C-H gerilimi, 2920 - 2940 cm⁻¹ de alifatiklik, 1670 cm⁻¹ de aromatik halkaya bağı karbonil, 1700 cm⁻¹ de bir aldehit karbonili, 1600-1510 cm⁻¹ lerde aromatik halkanın karakteristik pikleri izlenmiştir.

¹H NMR spektrumunda (CDCl₃, δ) (Şekil 54); 0,90 ppm deki (3H, t, J= 7 Hz, H-7) triplet ile bir terminal metil grubu 1.10-1.30 ppm ler arasında silikajel pikinin altında -CH₂- gruplarının bulunduğu spin-decoupling deneyleri ile anlaşılmıştır (H-4, H-5, H-6). 1.62 ppm de ve 2.32 ppm lerdeki (J= 7Hz, H-3, H-2) geniş tripletler ile metilen grubu protonları görülmüştür. Ayrıca 3.93 ppm deki (6H, s, OCH₃) singlet metoksi grubunu ve 7.16 ppm deki (2H, s, H-3', H-5') iki protonluk bir singlet aromatik protonları 9.83 ppm deki (1H, s, CHO) singlet ile aldehit grubu protonu izlenmiştir.

Spin-decoupling deneyi (Şekil 55) (Tablo 4) protonların, özellikle metil ve metilen gruplarının birbirleri ile etkileşimlerini açıkça göstermiştir. 1.62 ppm deki geniş triplet ışımlandığında 2.32 ppm deki geniş triplet, bir geniş singlete dönüşerek, bu iki grubun birbirine komşu olduğunu, 1.10 - 1.30 ppm deki silikajel pikinin altındaki protonlarda sadeleşme görülmüştür, ayrıca 2.32 ppm deki grubun diğere taraftan bir tersiyer karbona komşu olduğunu göstermiştir.

Tablo 4. CA₆ bileşiğinin ¹H NMR Spin-decoupling deneyleri

Işınlanan proton ppm (δ)	Değişen proton ppm (δ)	Sinyalde izlenen değişiklik
2.32 (H-2)	1.62 (H-3)	geniş triplet → keskin triplet
1.62 (H-3)	1.30 (H-6) 2.32 (H-2)	multiplet → sadeleşti geniş triplet → singlet
1.30 (H-6)	0.90 (H-7)	triplet → singlet
0.90 (H-7)	1.30 (H-6)	multiplet → geniş triplet

Bu işlemin tersi yapıldığında yani 2.32 ppm'deki sinyal ışınlandığında 1.62 ppm deki geniş triplet sadeleşmiş fakat 0.90 ppm deki metil sinyali etkilenmemiştir. Bu durum 1.62 ppm deki CH₂ grubunun, CH₃ grubuna komşu olamayacağını, ancak başka bir CH₂ grubuna komşu olduğunu açıkça belirtir. Diğer taraftan 0.90 ppm'deki metil sinyali ışınlandığında 1.30 ppm deki sinyal sadeleşmiş, bunun tersi yapıldığında 0.90 ppm deki triplet singlete dönüşmüştür. Bu deneyler molekülde

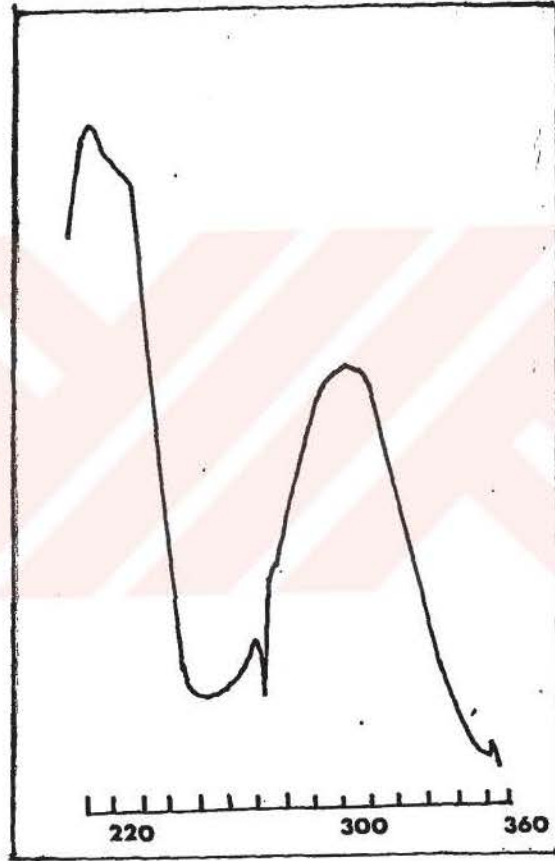
$-\overset{\text{I}}{\underset{\text{I}}{\text{C}}}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_n-\text{CH}_3$ grubu bulunabileceğini göstermiştir.

¹³C NMR (APT) spektrumu (CDCl₃-MeOH) (Şekil 56) bu bileşiğin simetrik bir bileşik olduğunu düşündürmüştür. 202.2 ppm de bir keton karbonili, 190.8 ppm de bir aldehit karbonu görülmüştür. 151.2 ppm de oksijene komşu aromatik karbon (C-2', C-6') 106.7 ppm de aromatik halka karbonları (C-3', C-5'), 66.5 ppm de metoksi karbonu izlenmektedir. Spektrumun alt alanında 14.1 ppm de bir metil sinyali (C-7), 24.6, 29.6, 34.9 ppm lerde CH₂ gruplarının karbonları (C-2, C-3, C-4, C-5, C-6) izlenmektedir.

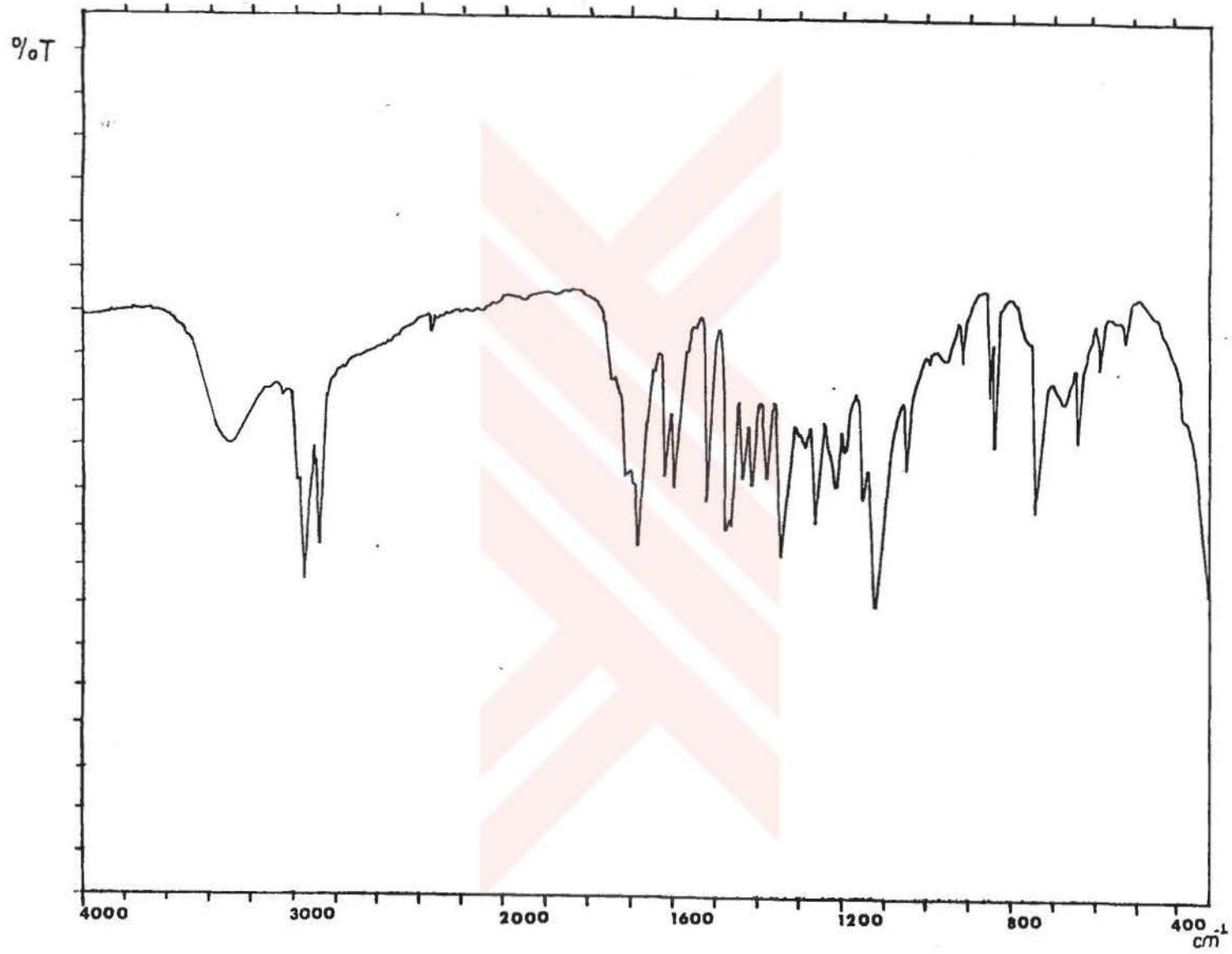
Bileşiğin El-Kütle spekturumu (Şekil 57) moleküler iyon pikini *m/z* 279 da [M+1]⁺ vererek C₁₆H₂₂O₄ kapalı formülünü göstermiştir. *m/z* 165 [M-C₇H₁₃O]⁺ aromatik halkaya bağlı zincirin kopuşunu göstererek molekülde 5 adet CH₂ grubu bulunması gerektiğini dolayısıyla zincirin -CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-CH₃ şeklinde olduğunu gösterir *m/z* 113 [M-C₉H₉O₃]⁺ ve *m/z* 141 [M-C₈H₉O₂]⁺ kopuşları spektrumda izlenmektedir. Spektroskopik bulgular değerlendirilerek CA₆ bileşiğinin aromatik keton yapısında olduğu anlaşılmıştır.

Tüm spektroskopik bulgular ve literatür çalışmaları yardımı ile bileşğin yapısı 4'-formil-2',6'-dimetoksi-n-heptanofenon olarak açıklanmıştır. Bu bileşik doğadan ilk kez tarafımızdan elde edilmiştir.

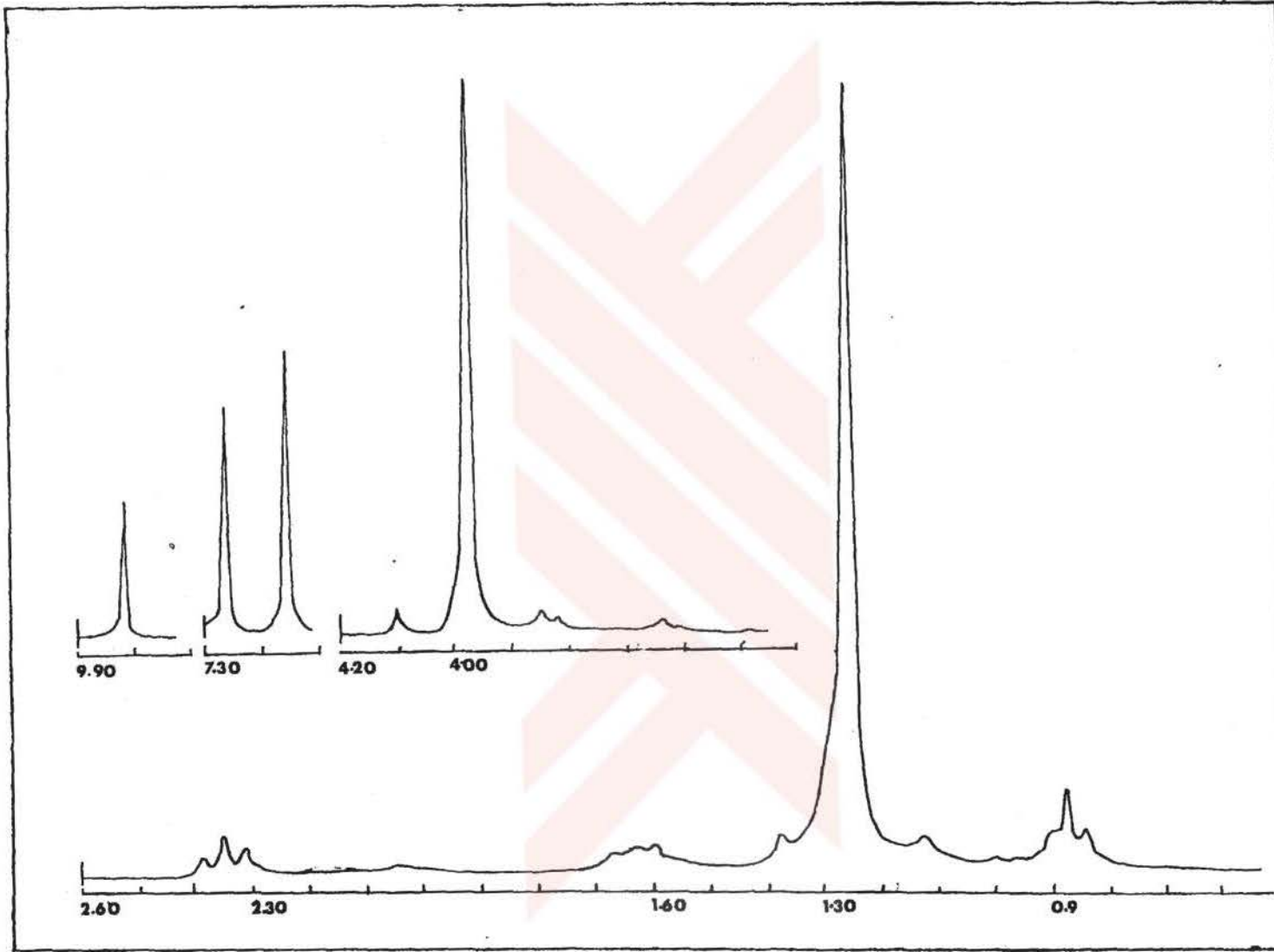




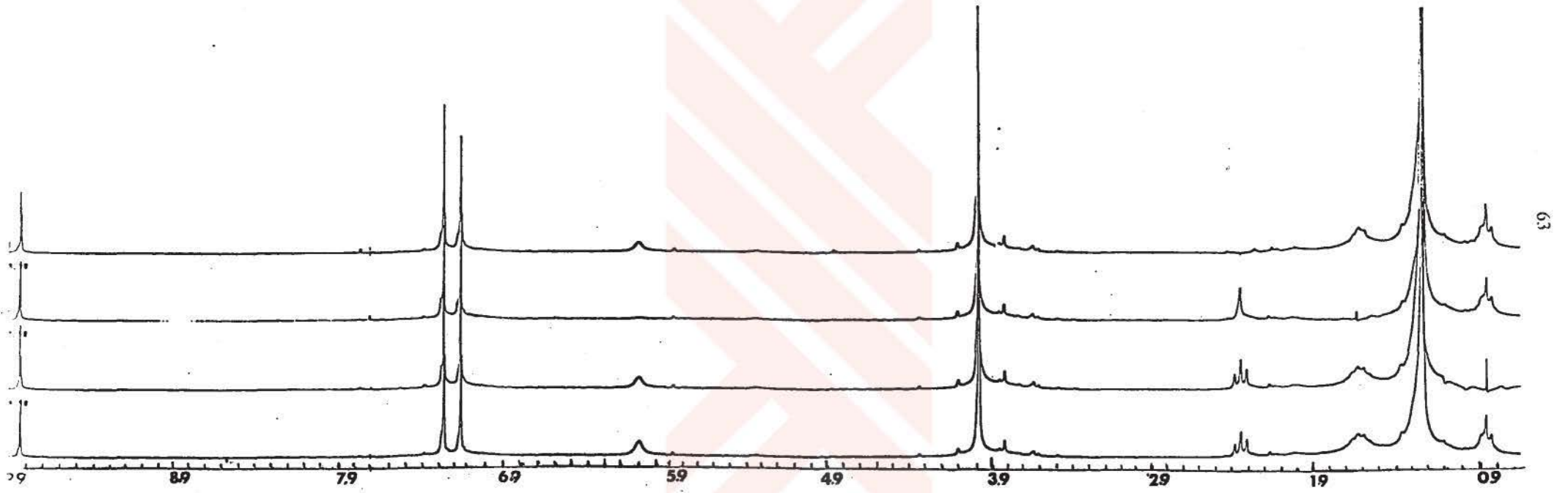
Şekil 52 4'-formil-2',6'-dimetoksi-n-heptanofenon un UV spektrumu, nm,
(MeOH)



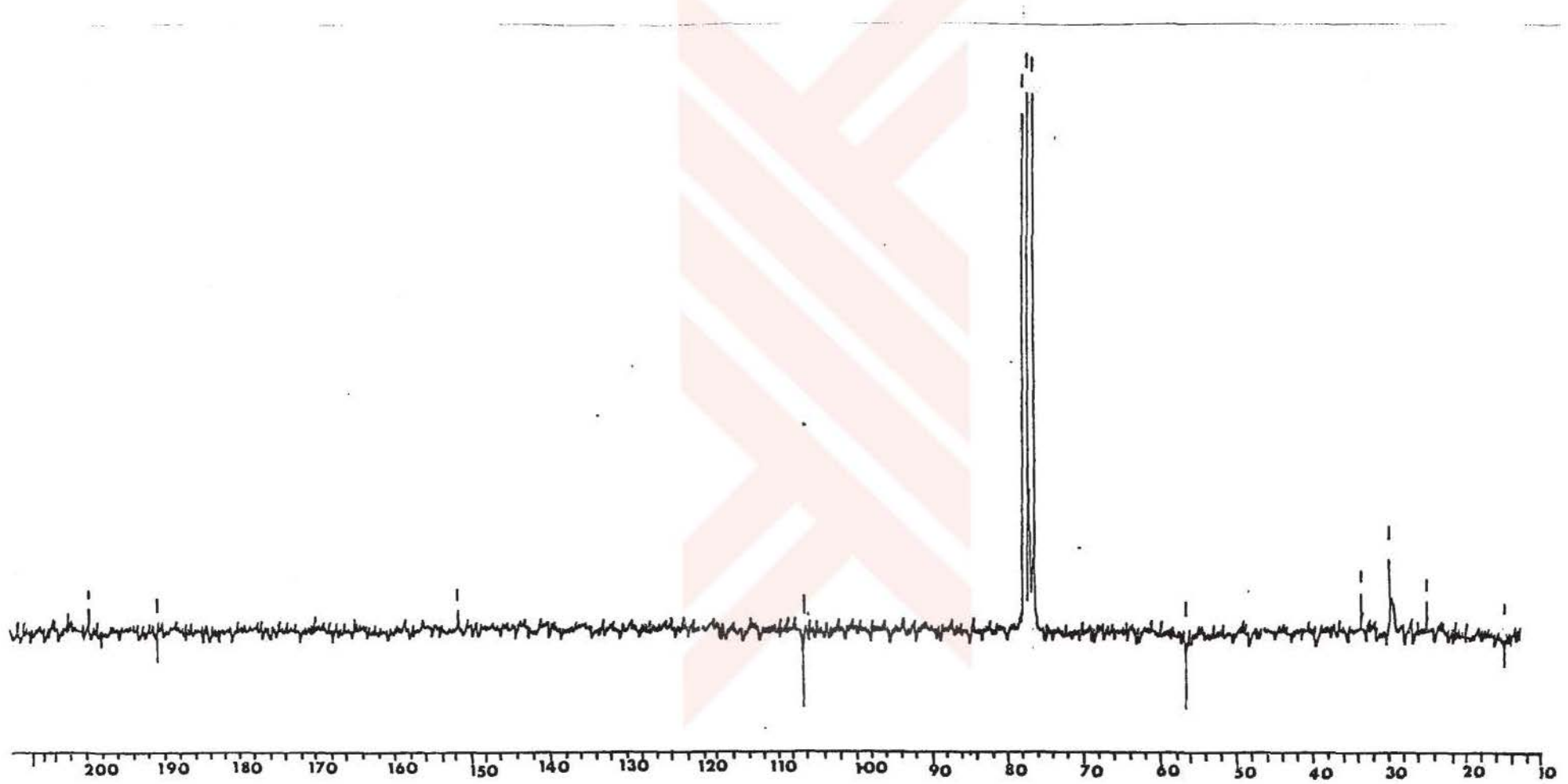
Şekil 53. 4'-Formil-2',6'-dimetoksi-n-heptanofenon un IR spektrumu, cm^{-1} , (CHCl_3)



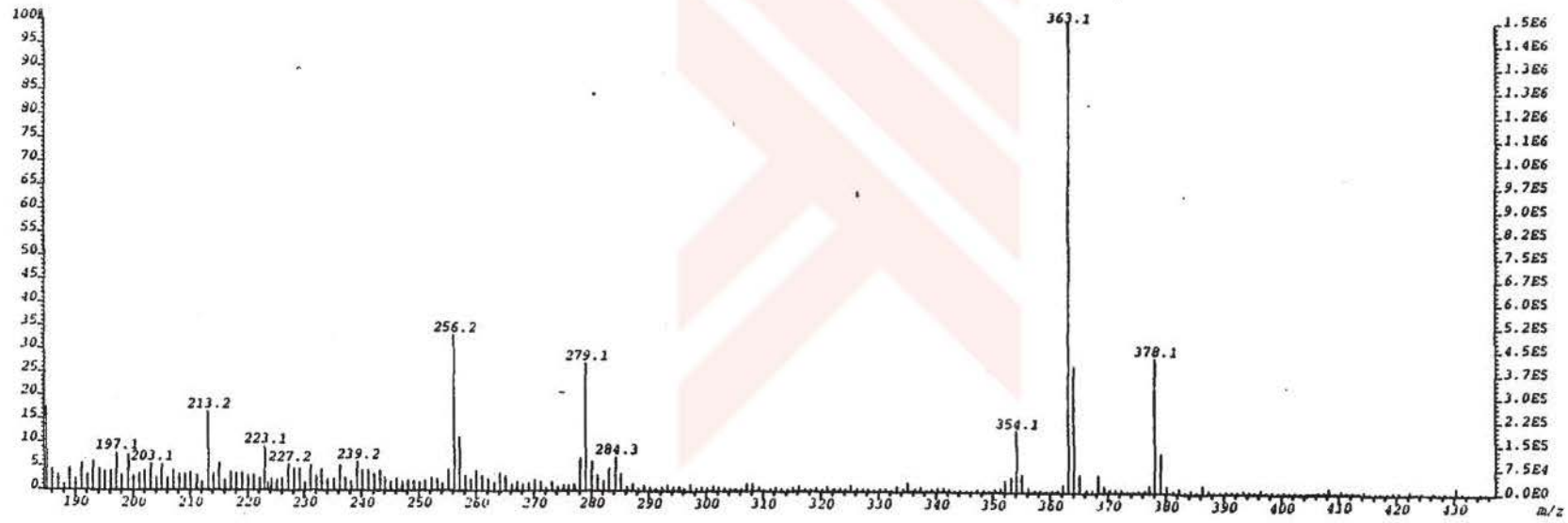
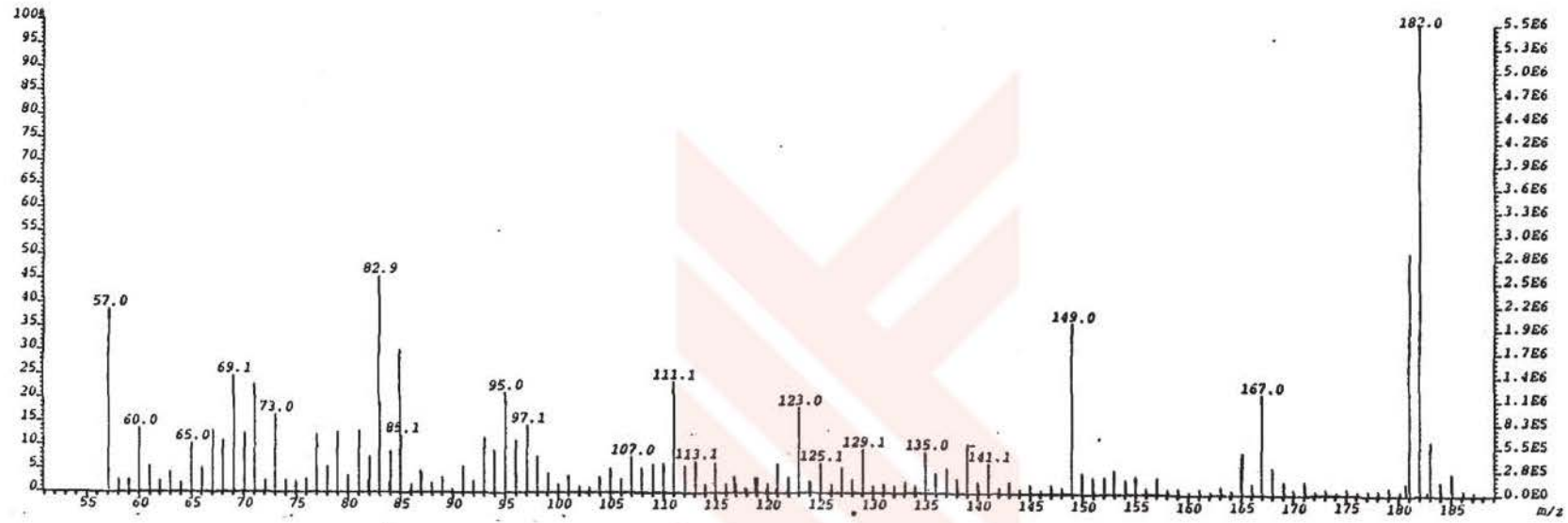
Şekil 54. 4'-Formil-2',6'-dimetoksi-n-heptanofenon un ¹H NMR spektrumu, δ, (CDCl₃)



Şekil 55. 4'-Formil-2',6'-dimetoksi-n-heptanofenon un spin-decoupling spektrumu, δ , (CDCl₃)



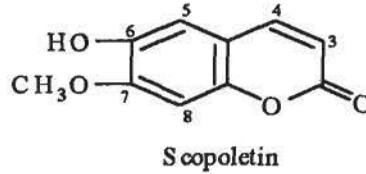
Şekil 56. 4'-Formil-2',6'-dimetoksi-n-heptanofenon un ^{13}C NMR (APT) spektrumu, δ , (CDCl₃)



Şekil 57. 4'-Formil-2',6'-dimetoksi-n-heptanofenon un El-Kütle spektrumu, δ

2.3. KUMARİNLER

2.3.1. CA₇ BİLEŞİĞİ : Scopoletin



Şekil 58

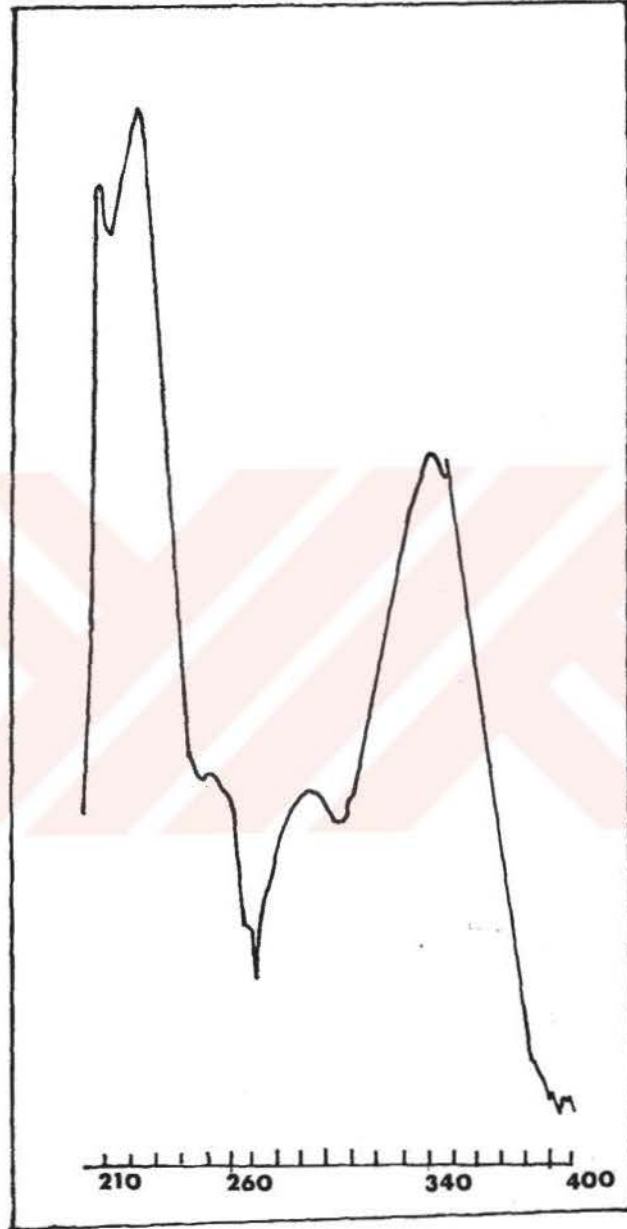
CA₇ bileşiği sarı renkli, amorf haldedir. Silikajel plakta UV ışık altında (254 nm) incelendiğinde parlak mavi, serik sülfat belirteci püskürtülüp 110°C bekletildiğinde sarı renk almaktadır.

UV spektrumunda (MeOH) (Şekil 59), 343 ve 227 nm lerde iki absorpsiyon ile 287 nm de küçük bir omuz bulunması hem aromatik yapıya sahip olduğunu hem de bir kumarin olabileceğini düşündürmüştür.

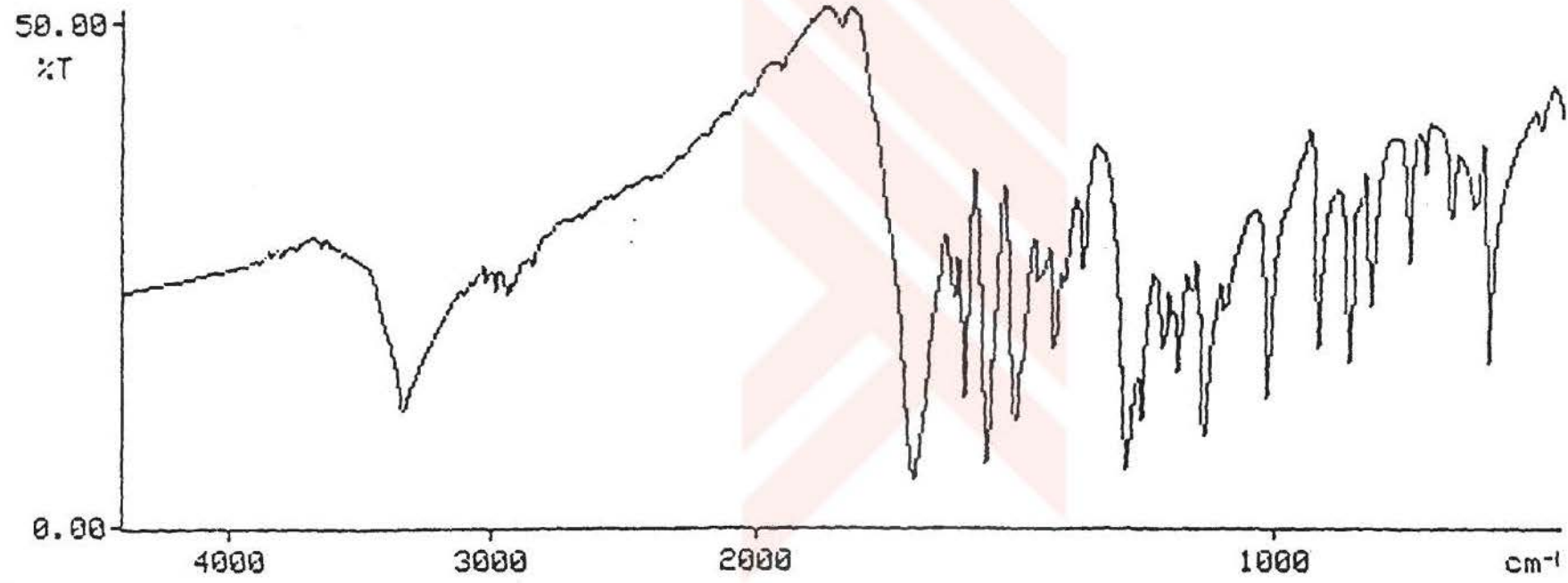
IR spekturumunda (CHCl₃) (Şekil 60); 3788, 3404 cm⁻¹ bantları ile hidroksil gruplarını, 1722 cm⁻¹ de bir karbonil grubunu 1611 cm⁻¹ de doymamışlık bantlarını göstermektedir.

¹H NMR spektrumu (CDCl₃,δ) (Şekil 61); 7.60 ppm de (H-3) ve 6.27(H-4) ppm de birer duplet (J=10 Hz). 6.92 ve 6.85 ppm lerde gözlenen piklerin singlet olması C-6 ve C-7 de fonksiyonel grupların bulunduğunu ve bu singletlerin H-5 ve H-8'e ait olduklarını göstermektedir. 3.96 ppm deki singlet molekülde bir metoksi grubu bulunduğunu göstererek, C-6 veya C-7 nin metoksi süstitüe olabileceğini düşündürmüştür.

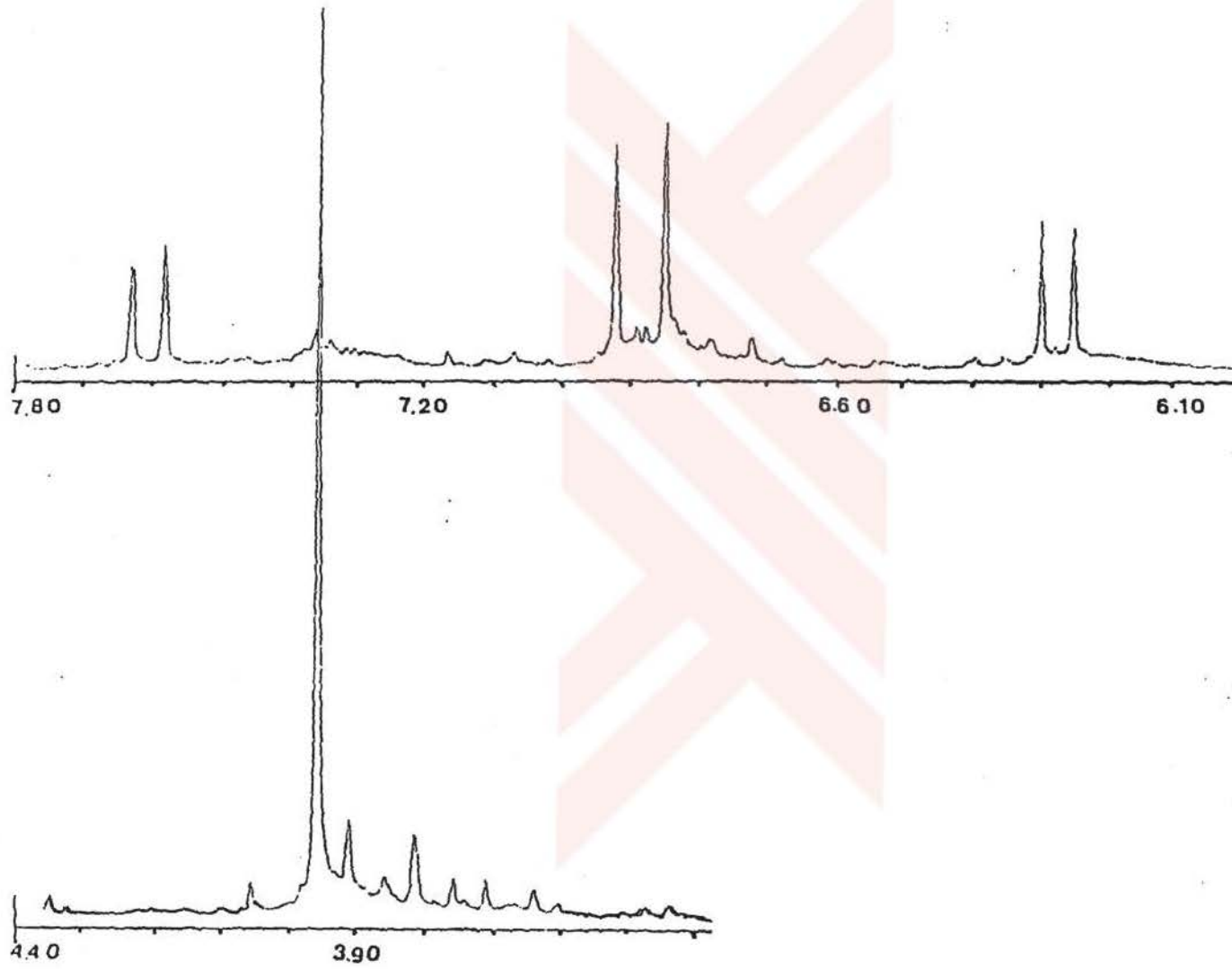
CA₇ bileşiğinin spektroskopik özellikleri scopoletin bileşiğinin spektroskopik özelliklerine tam olarak uymaktadır. Standart madde ile ince tabaka kromatografisinde yapılan karşılaştırma ve literatür çalışmaları maddenin scopoletin olduğu kesinlik kazanmıştır.



Şekil 59 Scopoletin in UV spekturumu, nm, (MeOH)



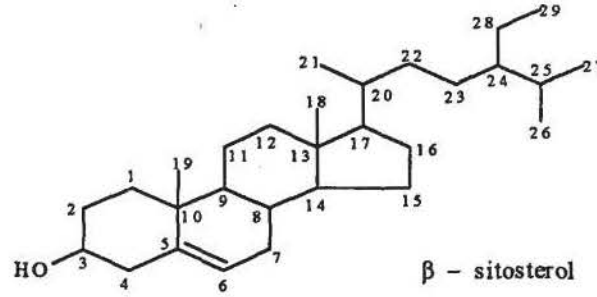
Şekil 60. Scopoletin in IR spektrumu, cm^{-1} , (CHCl_3)



Şekil 61. Scopoletin in ¹H NMR spektrumu, δ, (CDCl₃)

2.4. STEROİTLER

2.4.1. CA₈ BİLEŞİĞİ : β -Sitosterol



Şekil 62

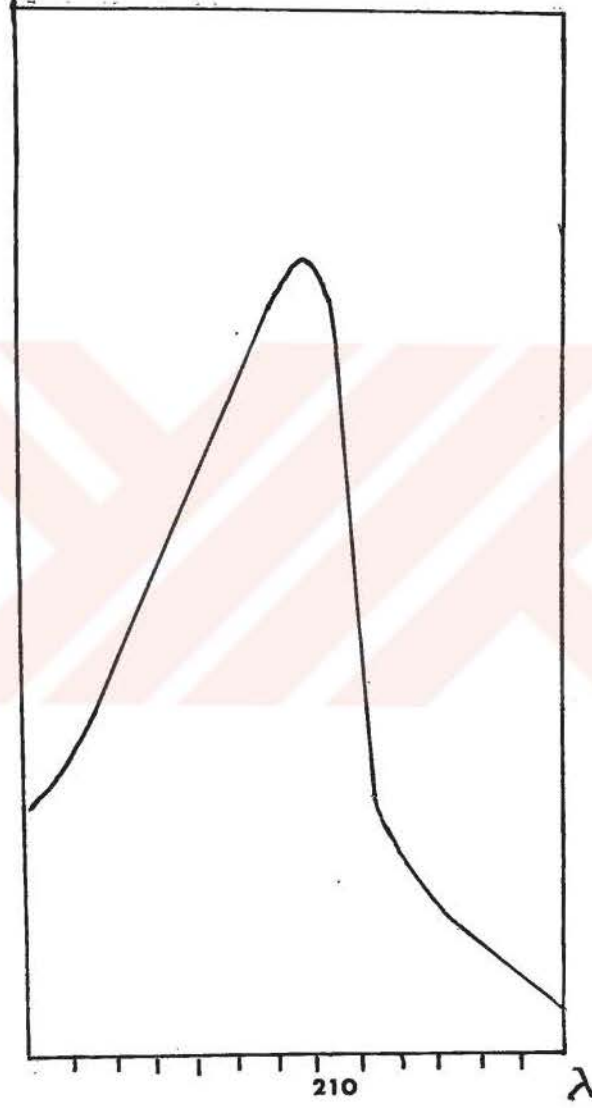
CA₈ bileşiği renksiz, amorf haldedir. İnce tabaka kromatografisinde, silikajel plakta serik sülfat belirteci ile kırmızı-turuncu renk vermesi, bileşiğin sterol yapısında olabileceğini göstermiştir. UV ışık altında absorbanı yoktur.

Bileşiğin UV spektrumunda (MeOH) (Şekil 63); 205 nm de uç absorbanı vermesi molekülde bir konjugasyon olmadığını belirtmiştir.

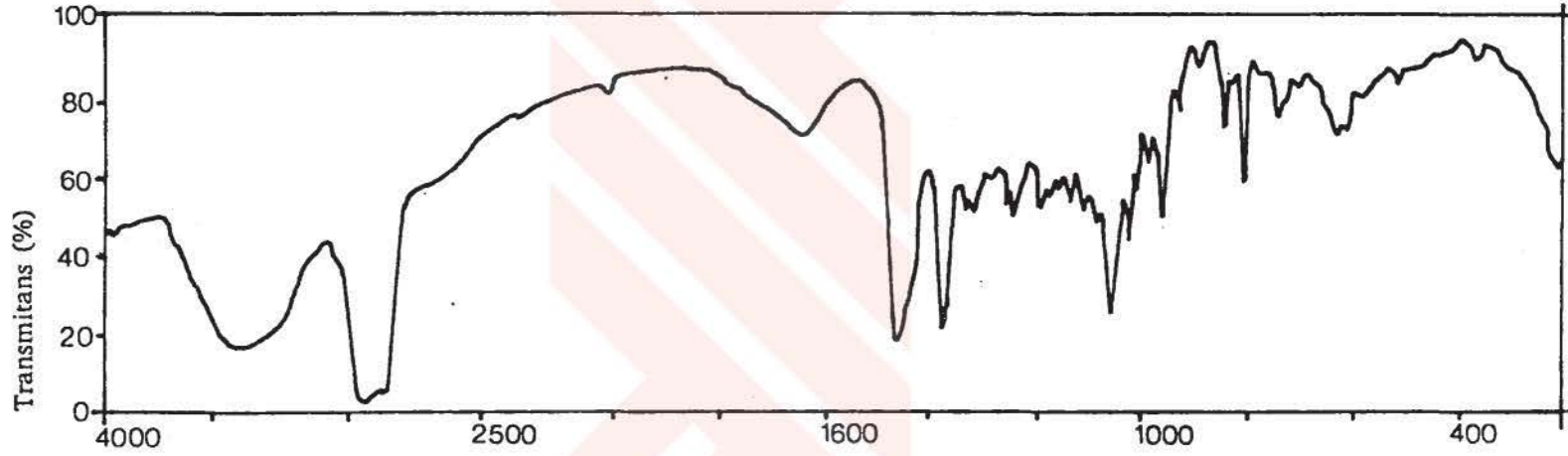
IR spektrumu (CHCl₃) (Şekil 64); 3400 cm⁻¹ de hidroksil grubu, 1650 cm⁻¹ de doymamışlık, 1375 cm⁻¹ de gem-dimetil ve 1060-1070 cm⁻¹ de (C-O) bantlarını göstermektedir.

¹H NMR spektrumunda (CDCl₃, δ) (Şekil 65); 0.70 ppm de (3H, s, H-18), 0.80 ppm (3H, d, J= 7 Hz, H-21) 0,85 ppm (3H, dd, J= 2.5 - 5 Hz, H-29), 0,92 ppm de (6H, d, J= 6.5 Hz, H-26 ve H-27) ve 1.0 ppm de (3H, s, H-19) de 6 metil piki izlenmektedir. 3.52 ppm de (1 H, m) hidroksile komşu proton (H-3), 5.37 ppm de (1H, d, J=5 Hz) vinilik proton (H-6) pikleri görülmektedir.

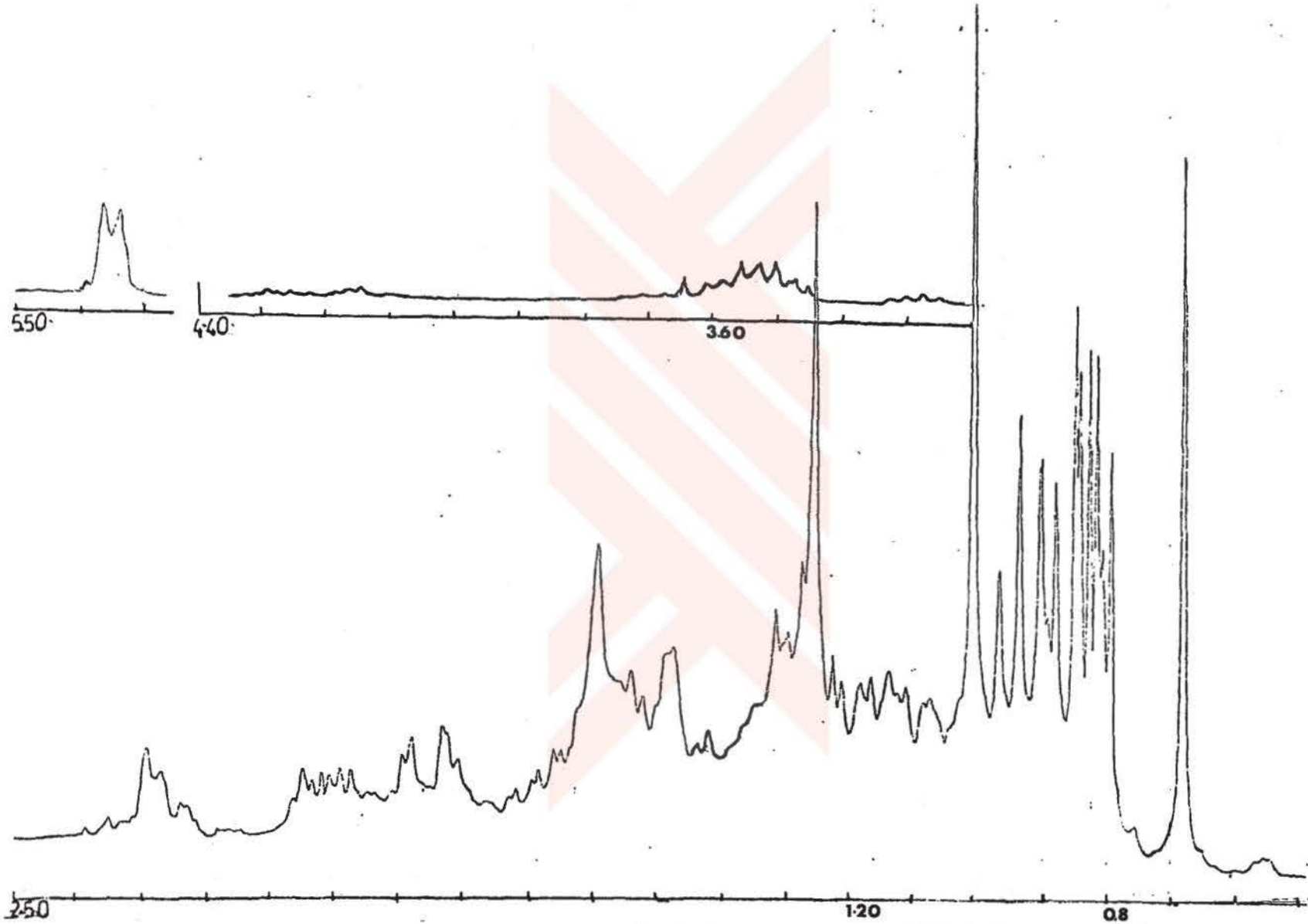
CA₈ bileşiğinin standart madde ile çeşitli çözücü sistemlerinde yapılan ince tabaka kromatogramlarından β - sitosterol olduğu anlaşılmıştır.



Şekil 63 β -Sitosterol ün UV spektrumu, nm, (MeOH)



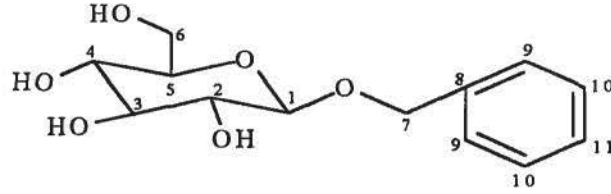
Şekil 64. β -Sitosterol ün IR spektrumu, cm^{-1} , (CHCl_3)



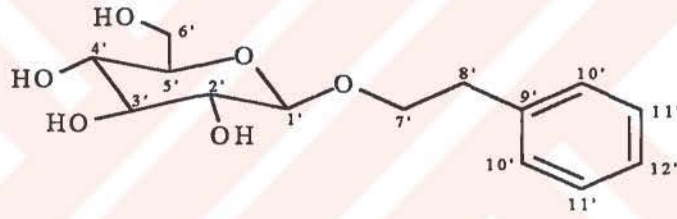
Şekil 65. β -Sitosterol un ^1H NMR spektrumu, δ , (CDCl_3)

2.5. GLİKOZİTLER

2.5.1. CA₉ BİLEŞİKLERİ : Benzil β -D-glukozit 2-feniletıl β -D-glukozit



Şekil 66. Benzil β -D-glukozit



Şekil 67. 2-feniletıl β -D-glukozit

CA₉ bileşiği silikajel plağa tatbik edilip UV lamba (254 ve 366 nm) altında incelendiğinde kahve-mor gözüküp serik sülfat belirteci püskürtölüp 110°C de bekletildiğinde koyu gri leke halinde görölmektedir.

Bileşiğin ¹H NMR spektrumu (CDCl₃ - CD₃OD, δ)(Şekil 68), 2.95 ppm de (2H, t, J=7 Hz, H-8') geniş bir triplet, 3.20 - 3.50 ppm, 3.75 - 3.85 ppm aralarında multipletler, 4.10 ppm geniş bir multiplet (H-7'), 4.31 ppm (1H, d, J=8 Hz, H-1') ve 4.41 ppm (1H, d, J=8 Hz, H-1) lerde iki duplet, 4.66 ppm (1H, d, J=12 Hz, H-7a) ve 4.91 ppm (1H, d, J=12 Hz, H-7b) lerde iki duplet ve 7.20-7.40 ppm ler arasında aromatik protonları göstermiştir.

Bileşğin birkaç sistemde yapılan ince tabaka kromatografisinde tek leke halinde gözlenmesine rağmen ^1H NMR spektrumunda fazla sayıda proton izlenmesi bir karışım olabileceği izlenimini vermiştir.

^{13}C NMR (APT) spektrumunda (Şekil 70) aromatik protonlara ilaveten şeker grubunun karakteristik karbon rezonansları ve CH_2 karbonları izlenmiştir. Bu spektrum da CA_9 bileşğinin karışım olabileceğini göstermiştir. Özellikle aromatik karbon sinyallerinin şiddetinin fazla olması ve iki adet anomerik karbon (C-1) ve (C-1') sinyalinin izlenmesi bu düşünceyi desteklemiştir. Hem bu durumu kontrol etmek, çözünürlüğü arttırmak ve bileşikteki hidroksil gruplarının sayısını anlayabilmek amacıyla CA_9 bileşğinin asetil türevi hazırlanmıştır. Ancak asetil türevinin ince tabaka kromatografisinde de bileşğinin tek leke olduğu gözlenmiştir.

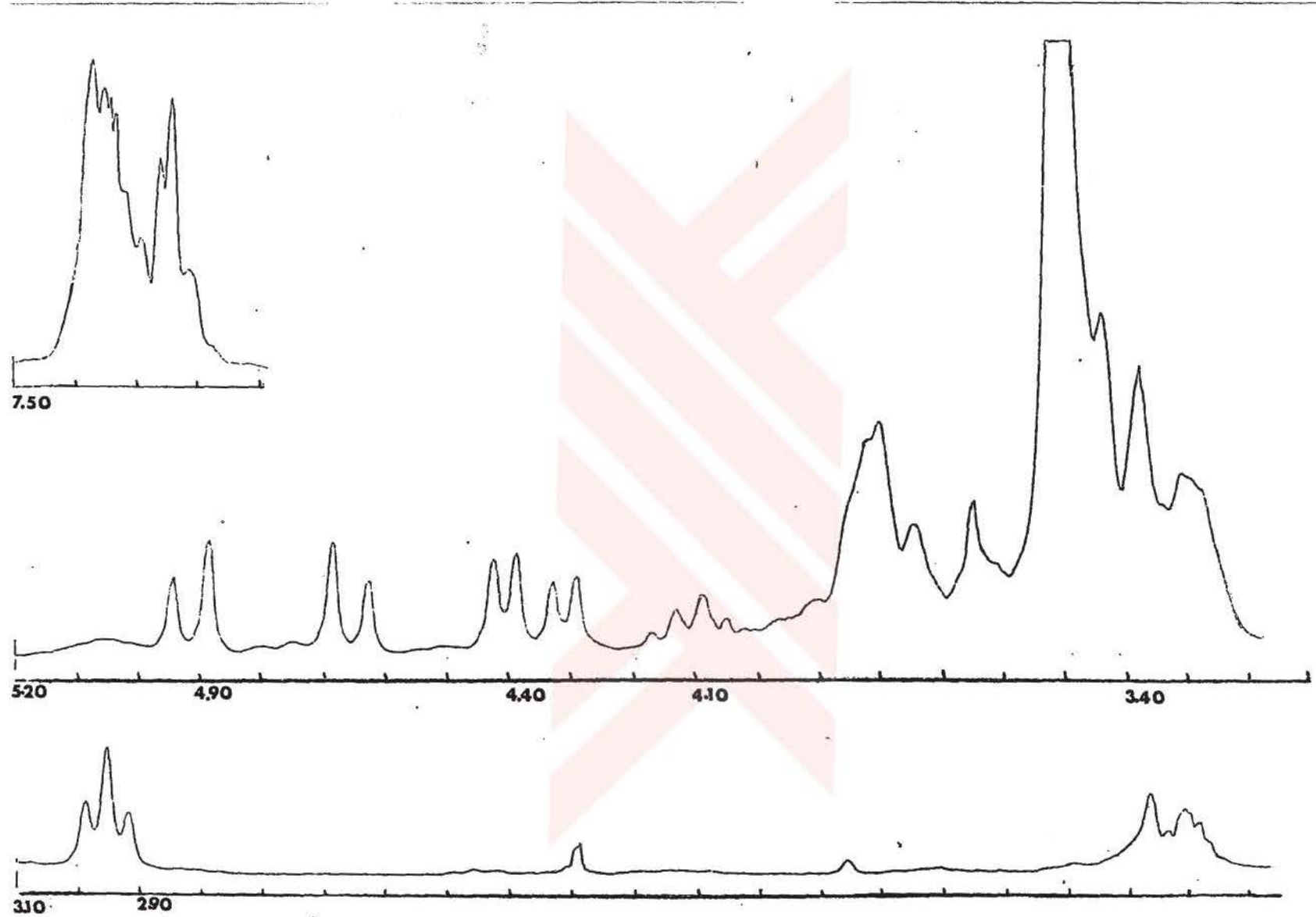
Asetil türevinin CDCl_3 de alınan ^1H NMR spektrumunda (Şekil 69) bazı protonların kimyasal kaymalar değişmezken, şeker molekülüne ait olan protonlar paramagnetik kayma göstermişlerdir. Bu spektrumda protonları daha iyi izleyebilmek mümkün olmuştur. 3.60-3.70 ppm deki multipler her iki bileşğinin şeker molekülünün H-5 protonlarına aittir. Bu protonun ışınlanması ile 4.28 ppm deki (dd, $J=5, 12$ Hz, H-6a) ve 4.16 ppm deki (dd, $J=2.5, 12$ Hz, H-6b) birer singlete dönüşmüş ve 5.03 ppm deki sinyal sadeleşerek H-4' protonunu göstermiştir. 1.99 (x1), 2.00 (x2), 2.01 (x2), 2.09 (x1), 2.10 (x1) de toplam 8 tane asetil piki gözükmektedir. 2.89 ppm de triplet ($J=7$ Hz, H-8'), 4.10 ppm deki multipler H-7', 4.48 ppm de (d, $J=7.8$ Hz, H-1'), 4.54 ppm de (d, $J=7.8$ Hz, H-1), 4.63 ppm de (d, $J=12$ Hz, H-7a), 4.91 ppm de (d, $J=12.5$ Hz, H-7b), 4.98 ppm (dd, $J=9, 7.8$ Hz, H-2'), 5.10 ppm de (dd, $J=9, 8$ Hz, H-2), 5.18 ppm de (t, $J=9$ Hz, H-3'), 5.11 ppm (t, $J=9$ Hz, H-3) protonları izlenmektedir. Bu bulgular bileşğinin aromatik glikozit yapısında olabileceğini düşündürmüştür. Ayrıntılı literatür çalışmaları aromatik glikozit bileşiklerinin çeşitli kaynaklardan doğal olarak elde edildiğini göstermiştir(40-42). Bu literatürler dikkatlice incelendiğinde CA_9 bileşğinin de aril glikozit yapısında olduğu anlaşılmıştır.

Ancak hem ^1H NMR hem de ^{13}C NMR spektrumunda izlenen pikler CA_9 bileşğinin iki madde karışımı olduğunu ve birbirlerinden ayrılmalarının normal şartlarda gerçekleşmemesi molekül ağırlıklarının çok yakın olduğunu belirtmiştir.

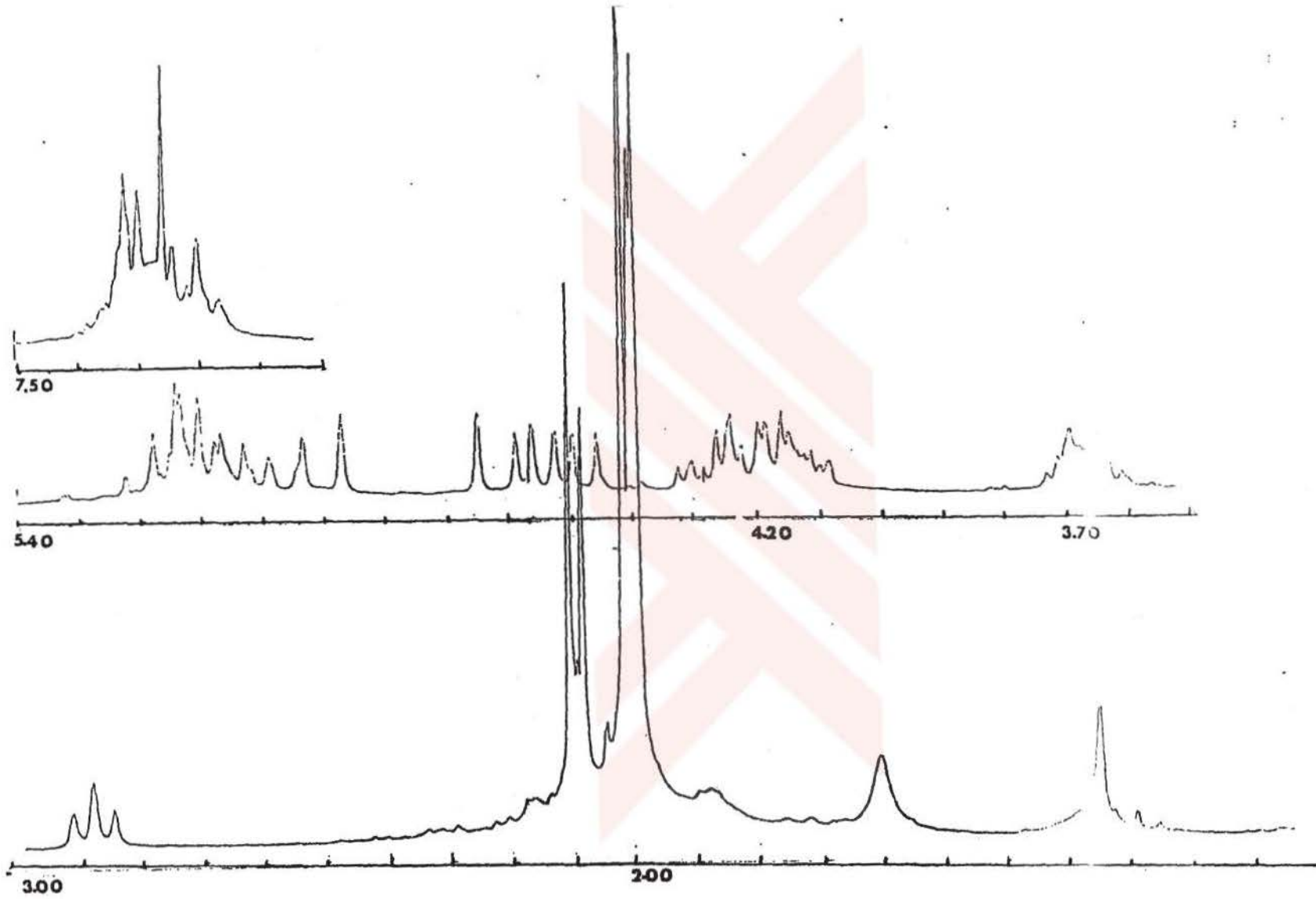
Bileşğin asetil türevinin ^1H NMR spektrumu dikkatlice incelendiğinde maddelerden birinde O-CH_2 -, Aril grubu (4.63, d ve 4.91 d) diğerinde ise $\text{O-CH}_2\text{-CH}_2$ -Aril grubu (2.89 t ve 4.10 d t) olduğu anlaşılmıştır.

Bu durum ^{13}C NMR (APT) spektrumunda da izlenmektedir(Şekil 70). Şeker molekülünün nonanomerik karbonları üstüste çıkarken; 69.9 (C-4, C-4'), 71.4 (C-7), 73.5 (C-2, C-2'), 75.8 (C-5, C-5'), 76.3 (C-3, C-3'), 63.5 (C-6, C-6'), anomerik karbon sinyalleri 102.0 (C-1) ve 102.3 (C-1') ppm lerde gözlenmiş aromatik CH karbonları bir arada rezonans yaparken aromatik kuarternler karbonlar 137.1 (C-8) ve 138.3 (C-9') ppm lerde, aromatik karbonlar; 128 (C-11), 128.2 (C-11'), 126.4 (C-12), 128.5 (C-9), 128.9 (C-10') ppm lerde ve metilen karbonları da 36.1 (C-8'), 70.8 (C-7'), 71.4 (C-7) ppm lerde izlenmiştir.

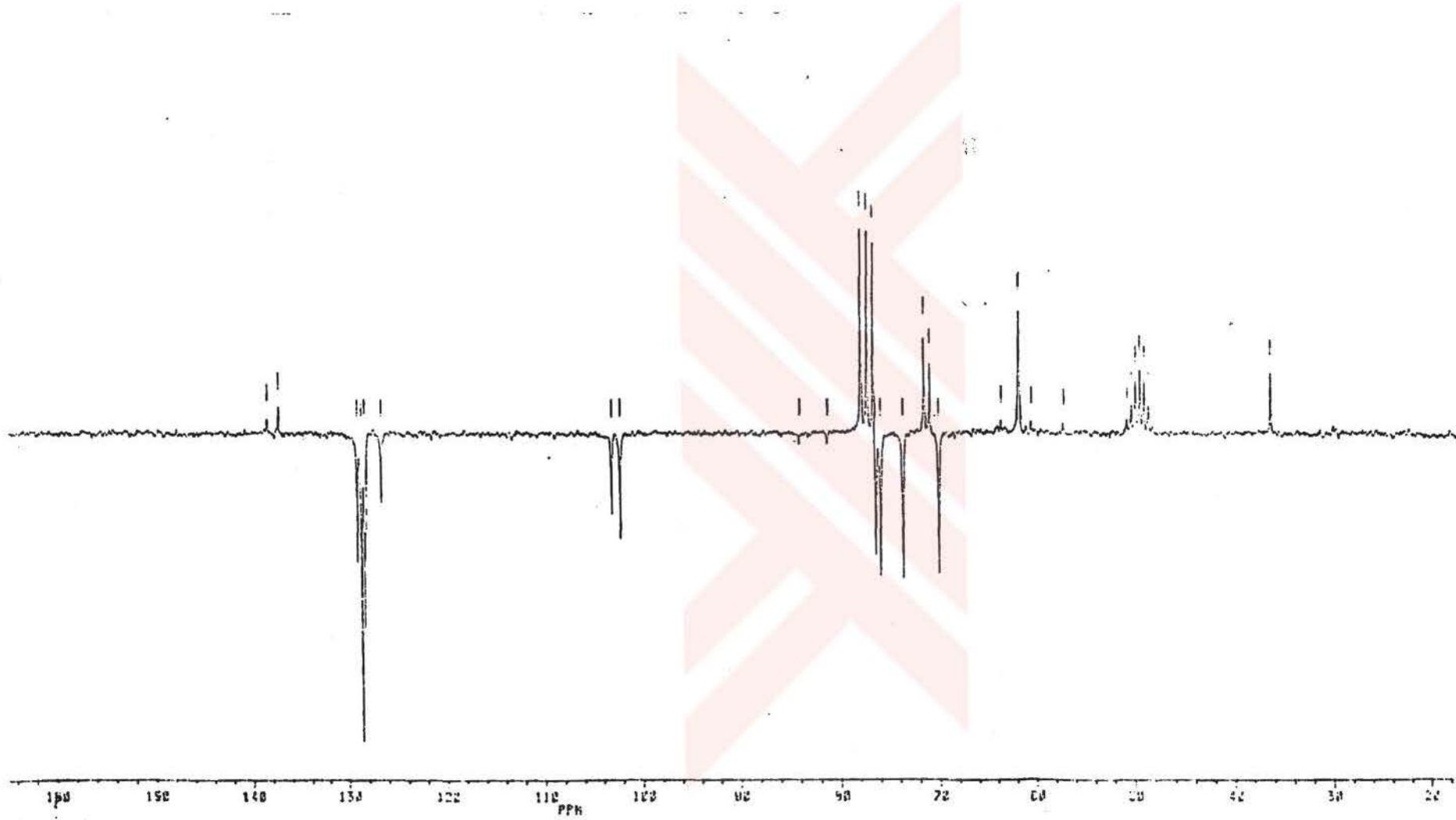
Literatür çalışmalarında CA_9 bileşğini oluşturan maddelerin daha önce *Carica papaya* bitkisinin meyvelerinden elde edildiği anlaşılmıştır(39). Bileşiklerin yapıları Benzil β -D-glukozit ve 2-feniletıl β -D-glukozit olarak açıklanmıştır. Bileşiklerin bütün spektral özellikleri literatürlerde verilen değerlere tam olarak uymaktadır.



Şekil 68. Benzil β-D-glukozit + 2-Feniletıl β-D-glukozit in ¹H NMR spektrumu, δ, (CDCl₃ + CD₃OD)



Şekil 69. Benzil β-D-glukozit + 2-Feniletel β-D-glukozit in asetil türevinin ¹H NMR spektrumu, δ, (CDCl₃)



Şekil 70. Benzil β -D-glukozit + 2-Feniletıl β -D-glukozit in ¹³C NMR (APT) spektrumu, δ , (CDCl₃)

3. SONUÇ ve TARTIŞMA

Centaurea amanicola Hub-Mor. bitkisinin içerdiği bileşiklerin yapısını aydınlatmak amacı ile yapılan bu çalışmada iki yeni olmak üzere dört aromatik bileşik, bir flavon, bir kumarin, bir triterpen, bir steroid ve iki glikozit olmak üzere toplam on bileşik izole edilmiştir.

Bu bileşiklerden ikisi bitkilerde çok yaygın bulunan α -amyrin ve β -sitosterol dür. Yapıları standart bileşiklerle kromatografik ve spektroskopik özelliklerin kıyaslanması yoluyla açıklanmıştır.

Flavonoit bileşiğin yapı tayininde özellikle UV ve ^1H NMR spektroskopisinden yararlanılmıştır. UV de kayma belirteçleri ile alınan spektrumların incelenmesi ve ^1H NMR da aromatik proton sinyalleri ve diğer pikler flavonoit bileşiğin yapısı hakkında fikir vermiştir. Yapı standart madde spektrumuyla ve ince tabaka kromatografisinde kıyaslamayla doğrulanmıştır. Bileşiğin yapısı apigenin olarak açıklanmıştır.

Scopoletin yaygın bir kumarin tipidir. Özellikle UV spektroskopisinde görülen absorpsanları karakteristiktir. IR ve ^1H NMR spektrumundaki bilgilerden de yararlanarak ve standart madde ile yapılan karşılaştırma sonucu yapısı scopoletin olarak açıklanmıştır.

p-hidroksibenzoik asit ve vanilik asit aromatik yapıda olup, UV, IR ve ^1H NMR spektrofotometreleri ile alınan spektrumların yorumlanması ve standart madde ile yapılan karşılaştırma sonucu yapıları açıklanmıştır.

4'-formil-n-heptanofenon ve 4'-formil-2',6'-dimetoksi-n-heptanofenon bileşikleri aromatik yapıda olup, UV, IR, ^1H NMR, spin-decoupling, APT, kütle spektrumu ile yapıları aydınlatılmıştır. Bileşikler doğada ilk kez *Centaurea amanicola* türünden elde edilmiş yeni bileşiklerdir.

Benzil β -D-glukozit ve 2-feniletıl β -D-glukozit ise ^1H NMR, APT ve asetıl türevinin ^1H NMR spektrumuyla ve yapılan literatür çalışmaları sonucu yardımıyla yapıları açıklanmıştır.

Sonuç olarak *Centaurea amanicola* türünden toplam 10 bileşik izole edilmiş ve yapıları aydınlatılmıştır. İki yeni olan bu bileşiklerden 8 tanesi daha önce başka bitki türlerinden de elde edilmiştir.

4. DENEYSEL BÖLÜM

4.1. GENEL TEKNİKLERİ

4.1.1. KROMATOGRAFI

4.1.1.1. SÜTUN KROMATOGRAFİSİ

Ekstrelerin fraksiyonlandırılarak ayrılması amacı ile kullanıldı. Adsorban olarak Merck firmasının, kieselgel 100 (0.0063- 0,200m, 70-230 mesh ASTM) kullanıldı. Adsorban dibine az miktarda pamuk yerleştirilmiş cam sütunlara homojen bir şekilde ve kuru olarak yerleştirildi. Ekstre miktarına uygun (az miktarda) adsorbanla karıştırıldı ve çözücüsü tamamen uçurulduktan sonra sütunun üst kısmına yerleştirildi. Ekstrenin miktarına bağlı olarak farklı ebatlarda sütunlar kullanılmıştır.

4.1.1.2. İNCE TABAKA KROMATOGRAFİSİ

35 g silikajel G (Kiesel G, E. Merck. Typ 60) adsorbanın 70 ml distile su ile çalkalanıp CAMAG plak kaplama aletiyle 20x20 cm boyutlarındaki cam plakların 0.5 mm kalınlıkta kaplanması ve oda ısısında kurutulup 105 °C de 1 saat aktive edilmesiyle hazırlanan plaklar preparatif amaçla kullanıldı.

Ayrıca ince tabaka için (G. Merck) hazır plaklardan yararlanıldı.

4.1.2. SPEKTROFOTOMETRELER

4.1.2.1. ULTRAVİYOLE SPEKTROFOTOMETRESİ

Spektrumlar Varian Techtron 635 cihazında 1 cm lik kuvars küvetlerde alındı. Ölçümler, bileşiklerin metanoldeki çözeltilerinde yapıldı. Flavonoit bileşiklerin kayma spektrumlarının alınabilmesi için bileşiğin metanoldeki

çözeltisene sırasıyla NaOMe, susuz AlCl₃, AlCl₃/ HCl susuz NaOAc ve NaOAc/ H₃BO₃ çözeltileri ilave edildi.

4.1.2.2. İNFRARED SPEKTROFOTOMETRESİ

IR spektrumları CHCl₃ çözeltisinde veya KBr tabletleri halinde Perkin Elmer FTR 1200 Spectrophotometre cihazında alındı.

4.1.2.3. ¹H NMR VE ¹³C NMR SPEKTROFOTOMETRESİ

¹H NMR spektrumları Bruker AC 200 MHz, ¹³C NMR spektrumları Bruker AC 50.32 MHz aletlerinde alınmıştır. Referans olarak tetrametilsilan, çözücü olarak CDCl₃, CD₃OD, MeOH ve karışımları kullanılmıştır.

4.1.2.4. KÜTLE SPEKTROSKOPİSİ

Kütle spektrumları VG Zapspec aletiyle alınmıştır.

4.1.3. BELİRTEÇLER

4.1.3.1. TERPENÖİT BELİRTECİ

Serik Sülfat Belirteci: 2 g Seryum IV sülfatın Ce(SO₄)₂ 100 ml %10'luk süfirik asit çözeltisinde çözülmesi ile hazırlandı. Belirteç püskürtüldükten sonra kromatografi plağı 100°C'de 5-10 dakika lekeler oluşuncaya kadar bekletildi.

4.1.3.2. FLAVONOİT BELİRTEÇLERİ

a) Amonyak (NH_3) buharları

b) NA Belirteci (Naturstoffreagenz A: Difenil borik asit- β -aminoetilester) 100 mg toz NA bileşiği 100ml metanolde çözülerek hazırlandı.

4.1.3.3. UV SPEKTRUMU KAYMA BELİRTEÇLERİ

a) Sodyum Metoksit (NaOMe) Belirteci: 2.5 g temizlenmiş metalik sodyum küçük parçacıklar halinde 100 ml saf metanole dikkatlice ilave edilerek hazırlandı.

b) Aluminyum Klorür (AlCl_3) Belirteci: 5 gr susuz aluminyum (III) klorür 100 ml saf metanol de çözülerek hazırlandı.

c) Hidroklorik asit (HCl) Çözeltisi: 50 ml saf derişik HCl in 100 ml distile su ile karıştırılmasıyla hazırlandı.

d) Sodyum Asetat (NaOAc) Belirteci: Toz halinde susuz saf sodyum asetat kullanıldı.

e) Borik Asit (H_3BO_3): Toz halinde susuz saf borik asit kullanıldı.

4.1.4. ÇÖZÜCÜLER

Ekstraksiyon işlemlerinde ve sütunda ön ayırma işlemlerinde teknik çözücüler distillenerek kullanılmış, maddelerin saflaştırılmasında Merck çözücüler, spektral analizler için spektroskopik çözücüler kullanılmıştır.

4.2. YAPILAN İŞLEMLER

4.2.1. BİTKİNİN TÜKETİLMESİ

Centaurea amaniicola Hub-Mor. 1. Temmuz. 1982 tarihinde Osmaniye Yarpuz arasında Amonos dağlarından toplandı. (İSTE: 49944)

Bitkinin Toprak üstü kısmı (994 gr) gölgede açık-havada kurutulup toz haline getirilerek PE: eter: EtOH (1;1;1) karışımı ile 24 saat maserasyonda bırakıldı. Bu işlem 4 kez tekrarlandı. elde edilen ekstre 40-50°C de kuruluğa kadar distilendi. Az alkol ilavesi ile 40-50°C'de su banyosunda ısıtılarak çözüldü ve 1 saat buzlukta bekletildi. uzun zincirli doymamış bileşikler çöktü ve süzülerek ayrıldı. Çökelti bir kaç kez az miktarda soğuk alkolle yıkandı. Alkollü kısımlar birleştirildi ve vakumda kuruluğa kadar uçuruldu. Alkolü tamamen uzaklaştırmak için biraz benzen ilave edildi, tekrar uçuruldu ve bu işlem bir kaç kez tekrarlandı. Çalışma başlayıncaya kadar ekstre buzdolabında 4°C de muhafaza edilmiştir.

4.2.2. KROMATOĞRAFİK YÖNTEMLER

Elde edilen (48 gr) toprak üstü ekstresi az miktarda petrol eter-eter karışımında çözüldü, az miktarda silikajel ilave edildi, çözücüsü uçuruldu ve ekstre adsorbanı yerleştirilmiş sütunun üst kısmına konup ayırma tabi tutuldu.

Elüsyona petrol eteri ile başlandı, giderek artan oranda eter ve sonunda alkol ilave edilerek yıkamaya devam edildi.

% 100 Petrol eteri %5 Eter %10 Eter %25 Eter %50 Eter %100 Eter %5 EtOH %25 EtOH %50 EtOH %100 EtOH

Fraksiyonlar UV lamba altında ve ince tabaka kromatografisinde incelendi ve benzer olanlar birleştirildi. Birleştirilen fraksiyonlardan tek maddeler elde etmek için gerektiğinde daha küçük boyutlarda silikajel sütunlar kullanılmıştır. Elde edilen tek maddelerin saflaştırılması işlemlerinde preparatif ince tabaka kromatografisinden (Merck) yararlanılmıştır. Saf madde elde edilene kadar bazen bu işlem birkaç kez

tekrarlanmıştır. Ayrıca tek maddeler elde etmek için gerekli olduğunda Sephadex LH-20 ile hazırlanan sütunlar kullanıldı.

4.2.3. KİMYASAL REAKSİYONLAR

4.2.3.1. ASETİLLEME REAKSİYONU

Bileşiğe 1 ml asetanhidrit 1 ml piridin ilave edilir ve 3 saat geri çeviren soğutucuda ısıtılır. Sonra ince tabaka kromatografisi yöntemi ile standart madde ile kıyaslanarak kontrol edilir.

4.2.3.2. LİEBERMANN-BURCHARD REAKSİYONU

Bileşiğin kloroformdaki çözeltisine bir kaç damla asetanhidrit ilave edilir, sonra der. H_2SO_4 ile iki tabaka oluşturulur. Triterpenlerde mavi-yeşil, kırmızı renkler, steroidlerde ise reaksiyon olmaz, kahve renkleri oluşur.

4.3. ELDE EDİLEN BİLEŞİKLERİN SPEKTRAL ÖZELLİKLERİ

4.3.1. TERPENOİT BİLEŞİKLER

4.3.1.1. FLAVONOİT BİLEŞİKLER

4.3.1.1.1. CA₁ BİLEŞİĞİ : Apigenin

UV spektrumu $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ nm, (Şekil 30) : 336, 266

NaOMe	: 392, 324, 274
AlCl ₃	: 384, 348, 301, 276
AlCl ₃ /HCl	: 381, 340, 299, 276
NaOAc	: 376, 301, 274
NaOAc / H ₃ BO ₃	: 336, 302, (omuz), 268

¹H NMR spektrumu (Şekil 31) (CD₃OD, δ , 200 MHz, ppm); 7.85 (2H, d, J= 8,5 Hz, H-6', H-2'), 6.95 (2H, d, J= 8,5 Hz, H-3', H-5'), 6.46 (1H, d, J= 2,5 Hz, H-6), 6.22 (1H, d, J= 2.5Hz, H-8), 6.58 (1H, s, H-3)

4.3.1.2. TRİTERPENLER

4.3.1.2.1. CA₂ BİLEŞİĞİ : α - Amyrin

UV spektrumu $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ nm (Şekil 33) :210

IR spektrumu $\nu_{\max}^{\text{CHCl}_3}$ cm⁻¹, (Şekil 34) : 3400, 1650., 2950, 1450, 1380, 1360,

¹H NMR spektrumu (Şekil 35) (CDCl₃, δ , 200 MHz, ppm) 0.79 (s, H-24), 0.87 (s, H-23), 0.85 (s, H-25) 0.96 (s, H-28), 1.00 (d, J= 6,5 Hz, H-29), 1.02 (d, J= 6.5Hz, H-30), 1.04 (s, H-26), 1.06 (s, H-27), 3.24 (dd, J= 5, 10 Hz, H-3), 5.18 (t, J= 2.5 Hz, H-12)

4.3.2. AROMATİK BİLEŞİKLER

4.3.2.1. CA₃ BİLEŞİĞİ: *p*-Hidroksibenzoik asit

UV spektrumu $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ nm, (Şekil 37) : 225, 250, 280

IR spektrumu ν_{\max}^{KBr} cm⁻¹, (Şekil 38) : 3417, 2921, 2852, 1693, 1651, 1597, 1548, 1461, 1250

¹H NMR spektrumu (Şekil 39) (CD₃OD, δ , 200 MHz, ppm); 7.82 (2H, d, J= 9 Hz, H-2, H-6), 6.72 (2H, d, J= 9Hz, H-3, H-5), 3.65 (bs, OH)

4.3.2.2. CA₄ BİLEŞİĞİ: *Vanilik Asit*

UV spektrumu $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ nm (Şekil 41) :220, 250, 290,

IR spektrumu ν_{\max}^{KBr} cm⁻¹, (Şekil 42) : 3450, 2920, 2840, 1600, 1520, 1220

¹H NMR spektrumu (Şekil 43) (CD₃OD, δ 200 MHz, ppm): 7.55 (1H,d,J=2Hz, H-3), 7.50 (1H, dd, J= 8Hz, 2Hz, H-5), 6.80 (1H,d, J= 8Hz, H-6) 3.90 (3H,s, OMe)

El- Kütle spektrumu (Şekil 44) : *m/z* 168 [M]⁺, *m/z* 123 [M-COOH]⁺

4.3.2.3. CA₅ BİLEŞİĞİ: 4'-formil-*n*-heptanofenon

UV spektrumu $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ nm (Şekil 46) :220, 285 nm

IR spektrumu ν_{\max}^{KBr} cm⁻¹, (Şekil 47) : 3200, 1710, 1690, 1620, 1480, 1185

¹H NMR Spektrumu (Şekil 48) (CDCl₃, δ ,200 MHz, ppm) 9.87 (1H, s, CHO), 7.81 (2H, d, J= 8,5 Hz, H-3', H-5') 6.95 (2H, d, J= 8.5 Hz, H-2', H-6'), 2.36 (3H, t, J= 7 Hz, H-2) 1.62 (2H, t, J= 7Hz, H-3), 1.30 (2H, m, H-6), 0.90 (3H, t, J= 7Hz, H-7)

Spin-Decoupling Spektrumu (CDCl₃, δ)

Işınlanan Proton	Değişen Proton
6.95 (d, J= 8.5 Hz, H-2', H-6')	7.81 (d, J= 8.5 Hz, H-5', H-3') s
1.30 (m, H-6,)	0,90 (t, J= 7 Hz, H-7) s
	1.62 (t, J= 7 Hz, H-3) Sadeleşti
1.62 (t, J= 7Hz, H-3)	2.36 (t, J= 7 Hz, H-2) s

¹³C NMR spektrumu (Şekil 49) (CDCl₃, δ, 50. 32 MHz) : 201.0 (C-1), 190.7 (CHO), 132.3. ve (C-3', C-5'), 115.9 (C-2', C-6'), 33.4 (C-2), 31.9 (C-3), 29.6 (C-4), 24.7 (C-5), 22.4 (C-6), 14.1 (C-7)

El-Kütle spektrumu (Şekil 50) : *m/z* 219 [M+1]⁺ , *m/z* 113 [M-C₇H₅O]⁺

4.3.2.4. CA₆ BİLEŞİĞİ : 4'-formil-2',6'-dimetoksi-n-heptanofenon

UV spektrumu $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ nm (Şekil 52) :305, 220 nm

IR spektrumu $\nu_{\max}^{\text{CHCl}_3}$ cm⁻¹, (Şekil 53) : 3040, 2920, 2940, 1670, 1700, 1600, 1510

¹H NMR spektrumu (Şekil 54) (CDCl₃, δ, 200 MHz): 0.90 (3H,t, J= 7Hz, H-7), 1.62 (2H, t, J= 7Hz, H-3), 2.32 (2H, t, J= 7Hz, H-2), 1.10-1.30 (4H, m, H-4, H-5, H-6) 3.93 (6H, s, OMe), 7.16 (2H, s, H-3', H-5'), 9.83 (1H, s, CHO)

Spin-Decoupling Spektrumu (CDCl₃) (Şekil 55):

Işınlanan Proton	Değişen Proton
2.32 (t, J = 7 Hz, H-2)	1.62 (t, J= 7Hz, H-3) Keskin Triplet
1.62 (t, J= 7 Hz, H-3)	1.10-1.30 (m, H-4,H-5, H-6) Sadeleşti
	2.32 (t, J= 7Hz, H-2) Sadeleşti
1.30 (m, H-6)	0.90 (t, J= 7Hz, H-7) Sadeleşti
0.90 (t, J= 7 Hz, H-7)	1.30 (m, H-6) Geniş Triplet

^{13}C NMR spektrumunda (Şekil 56) (CDCl_3 , δ , 50.32 MHz): 202.2 (C-1), 190.8 (CHO), 151.2 (C-2', C-6'), 106.7 (C-3', C-5'), 66.5 (OMe x 2), 24.6 (C-6), 29.6 (C-5, C-4, C-3), 34.9 (C-2), 14.1 (C-7).

El-Kütle Spektrumu (Şekil 57) : m/z 279 $[\text{M}+1]^+$, m/z 165 $[\text{M}-\text{C}_7\text{H}_{13}\text{O}]^+$, m/z 113 $[\text{M}-\text{C}_9\text{H}_9\text{O}_3]^+$

4.3.3. KUMARİNLER

4.3.3.1. CA_7 BİLEŞİĞİ : Scopoletin

UV spektrumu $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm (Şekil 59) : 343, 309, 287, 270, 227

IR spektrumu $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ cm^{-1} (Şekil 60) : 3788, 3404, 1722, 1611

^1H NMR Spektrumu (Şekil 61) : (CDCl_3 , δ , 200 MHz): 7.60, (d, $J=10$ Hz, H-3), 6.27 (d, $J=10$ Hz, H-4), 6.85 (s, H-5), 6.92 (s, H-8), 3.96 (s, OMe)

4.3.4. STEROİTLER

4.3.4.1. CA_8 BİLEŞİĞİ : β -Sitosterol

UV spektrumu $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm (Şekil 63) :205

IR spektrumu $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ cm^{-1} , (Şekil 64) : 3400, 2925, 2850, 1650, 1375, 1060, 1070

^1H NMR spektrumu (Şekil 65) (CDCl_3 , δ , 200 MHz) = 0.85 (3H, dd, $J=2.5-5\text{Hz}$, H-29), 0.92 (6H, d, $J=6.5$ Hz, H-26, H-27), 0.80 (3H, d, 7 Hz, H-21), 1.00 (3H, s, H-19), 0.70 (3H, s, H-18), 5.37 (1H, d, $J=5\text{Hz}$, H-6), 3.52 (1H, m, H-3)

4.3.5. GLİKOZİTLER

4.3.5.1. CA₉ BİLEŞİĞİ : *Benzil β-D-glukozit* *2-feniletıl β-D-glukozit*

¹H NMR Spektrumu (CDCl₃-CD₃OD, δ, 200 MHz)(Şekil 68) 2.95 (2H, t, J= 7 Hz, H-8'), 4.10 (m, J=7 Hz, H-7'), 4.31 (1H, d, J=8 Hz, H-1'), 4.41 (1H, d, J=8 Hz, H-1) 4.66 (1H, d, J=12 Hz, H-7a), 4.91 (1H, d, J=12 Hz, H-7b), 7.20-7.40 (arom., H), 3.20-3.50, 3.75-3.85 (m, şekerin nonanomerik protonları).

Asetil türevin ¹H NMR spektrumu (CDCl₃, δ, 200 MHz)(Şekil 69) 1.99 (x2), 2.00 (x2), 2.01(x2), 2.09(x1), 2.10(x1) (OCOCH₃), 2.89 (2H, t, J=7Hz, H-8'), 3.60-3.70(m, H-5, H-5'), 4.28 (dd, J=5, 12 Hz, H-6a), 4.16 (dd, J=2.5, 12 Hz, H-6b) 4.10 (m, H-7'), 4.48 (1H, d, J=7.8 Hz, H-1'), 4.54 (1H, d, J=7.8 Hz, H-1), 4.63 (1H, d, J=12 Hz, H-7a), 4.91 (1H, d, J=12.5 Hz, H-7b), 4.98 (1H, dd, J=9, 7.8 Hz, H-2'), 5.10 (1H, dd, J=9, 8 Hz, H-2), 5.18 (1H, t, J=9 Hz, H-3'), 5.11 (1H, t, J=9 Hz, H-3), 5.03 (1H, t, J=9 Hz, H-4')

¹³C NMR (APT) spektrumunda (Şekil 70) (CDCl₃, δ, 50.32 MHz) 102.0 (C-1), 102.3 (C-1'), 73.5 (C-2, C-2'), 76.3 (C-3, C-3'), 69.9 (C-4, C-4'), 75.8 (C-5, C-5'), 63.5 (C-6, C-6'), 71.4 (C-7), 70.8 (C-7'), 137.1 (C-8), 36.1 (C-8'), 128.5 (C-9), 138.3 (C-9'), 128.2 (C-10 ve C-11'), 128.9 (C-10'), 128 (C-11), 126.4 (C-12)

5. ÖZET

Bu çalışmada *Centaurea amanicola* bitkisi kimyasal bakımdan incelenmiştir. Bitkinin petrol eteri : eter : etanol (1:1:1) karışımı ile hazırlanan ekstresi sütun kromatografisinde fraksiyonlandırılmış ve ince tabaka kromatografisinde fraksiyonların içerdiği maddeler kontrol edilmiştir. Elde edilen maddelerin saflaştırılmasında da kromatografik yöntemlerden yararlanılmıştır.

Toplam 10 bileşik elde edilmiştir. Bileşiklerden biri flavon, biri triterpen, dördü aromatik bileşik, biri kumarin, biri steroid, ikisi glikozit olup yapıları açıklanmıştır. 4'-formil-n-heptanofenon ve 4'-formil-2',6'-dimetoksi-n-heptanofenon bileşik ilk kez *Centaurea amanicola* 'dan elde edilmiştir. Diğer 8 bileşik apigenin, α -amyrin, vanilik asit, *p*-hidroksibenzoik asit, scopoletin, β -sitosterol, benzil β -D-glukozit, 2-feniletil β -D-glukozit diğer bitki türlerinde de bulunmaktadır. Yeni ve bilinen bileşiklerin yapı tayinleri IR, UV, ^1H NMR, APT, spin-decoupling, kütle spektroskopisi deneylerinden yararlanılarak yapılmıştır. Bir bileşik için kimyasal reaksiyondan yararlanılmıştır.

Bulgular ayrıntılı olarak açıklanmıştır.

6. SUMMARY

In this study, *Centaure amanicola* Hub-Mor. was chemically investigated. The petrol ether:ether:ethanol (1:1:1) extract of the plant was fractionated by column chromatography. The contents of the fractions were checked by thin layer chromatography under UV lights with/without spraying reagents. The single compounds were cleaned on preparative thin layer chromatography and column chromatography when necessary.

Totally 10 compounds were obtained. One of them was flavon, one of them was triterpen, four of them were aromatics, one of them was coumarin, one of them was steroid, two of them were glucosides. 4'-formil-n-heptanofenon, 4'-formil-2',6'-dimetoksi -n-heptanofenon were obtained for the first time from *Centaure amanicola*. The other 8 compounds are common in plant species. They were identified as apigenin, α -amyrin, vanilic acid, *p*-hydroxybenzoic acid, scopoletin, β -sitosterol, benzyl β -D-glucoside, 2-phenylethyl β -D-glucoside. Structure determination of the new and known compounds was achieved by spectral methods such as IR, UV, ^1H NMR, ^{13}C NMR, Mass spectroscopy and spin-decoupling experiments. Chemical reaction was also carried out for one compound. The results were discussed.

LİTERATÜR

1. Davis, P.H., Flora of Turkey and The East Aegean, Island, University Press, Edinburg, vol.10 (1988).
2. Baytop, T., Türkiye'de Bitkilerle Tedavi, İstanbul Üniversitesi Yayınları, İstanbul, (1984)
3. Gonzales, A.G., Darias, V., Alanso, G., Estevez, E., Planta Medica, 179, 40, (1980)
4. Stevens, K.L., Phytochemistry, 1093, 21 (1982)
5. Heywood, H.V., Harbone, J.B., The Biology and Chemistry of the Compositae, 411, Academic Press Inc., New York, (1977)
6. Jonathan, L., Hartwell, Plants Used Against Cancer, p(122)
7. Stevens, K.L., Phytochemistry, 21, 1093, (1982)
8. Davis, P.H., Flora of Turkey and The East Aegean, Island, University Press, Edinburg, 536, 5 (1988)
9. Geissman, T.A., Crout, D.H.G., Organic Chemistry of Secondary Plant Metabolism, Freeman, Cooper and Company, California, (1969)
10. Boiteau, P., Pasich, B., Ratsimamanga, A.R., Les Triterpenoides, Gauthier Villans, Paris, (1969)
11. Mabry, T.J., Markham, K.R., and Thomas, M.B., The Systematic Identification of Flavonoids, Springer-Verlag, New York, (1970)
12. Harbone, J.B., Mabry, T.J., Mabry, H., The Flavonoids, Chapman and Hall, London, (1975)
13. Kupchan, S.M., Knox, J.R., Udayamurthy, M.S., Journal of Pharm. Sci., 929, 54, (1965)
14. Wang, Y., Hamburger, M., Gueho, J., Hostettmann, K., Phytochemistry, 2323, 28, (1989)
15. Francisco, T.L., Esther, I.S., Francisco, A., Wolfram, T.K., Wray, V., Phytochemistry, 1613, 28, (1989)
16. Rids, J.I., Manez, S., Miguel, P., Alcaraz, M.J., Phytochemistry, 1947, 31, (1992)
17. Kramer, R.P., Hindorf, H., Jha, H.C., Kallage, J., Zilliken, F., Phytochemistry, 2203, 10, (1984)
18. Yamaguchi, K., Spectral Data of Natural Products, Elsevier Publishing Com., Amsterdam, 1, 144, (1970)

19. Budzikiewicz, H., Wilson, J.M. and Djerassi, C.J., *Amer. Chem. Soc.*, 85, 3688 (1963)
20. Hamburger, M., Dudar, G., Nair, A.G.R., Jayaprakasam, R., Hostettmann, K., *Phytochemistry*, 28, 1767, (1989)
21. Nick, A., Wright, A.D., Strcher, O., *J.Nat.Prod.*, 57, 1245 (1994)
22. Rızvı, S.H., Shoeb, A., Kapıl, R.S., Poplı, S.P., *Phytochemistry*, 19, 2409 (1980)
23. Ryu, S.Y., Lee, C.K., Lee, C.O., Kim, H.S., Zee, O.P., *Arch. Pharmacal -Res-15*, 242 (1992); *Chem.Abs.* 118, 230194a, (1993)
24. Yamaguchi, H., Sugimoto, M., Asano, K., Murakami, T., Tanaka, N., *Jpn. Kokai Tokyo Koho JP 63*, 150, 225; *Chem-Abs.*, 110, 128645w, (1989)
25. Kweifio-Okai, G., Carrol, A.C., *Recent Adv.Toxinol. res.*, 3, 19, (1992); *Chem Abs.*, 118, 247, 151g (1993)
26. Kweifio-Okai, G., *PCT Int. Appl. WO 93 09*, 129 ; *Chem.-Abs.* 119, 174193f (1993)
27. Kweifio-Okai, G., Macrides, T.A., *Res.Comm. Chem. Pathol., Pharmacol.* 78, 367 (1992); *Chem.-Abs.* 118, 73335 c (1993)
28. Fessenden, R.J., Fessenden, J.S., *Organic Chemistry*, Cole Publishing Company Pacific Grove, California (1990)
29. Ergenç, N., Ateş, Ö., Gürsoy, A., *Eczacılar İçin Organik Kimya*, İstanbul Üniversitesi Yayınları (1985)
30. Murray, R.D., H.Mendez, J., Brown, S.A., *The Natural Coumarins*, John Willey & Sons Ltd.
31. Nielsen, B.E., *Coumarins of Umbelliferous Plats*, (1970)
32. Finar, I.L., *Organic Chemistry*, Vol.2, V.Edition Longman -London (1975)
33. Stah, E., *TLC., A Laboratory Handbook* Springer Verlag, Berlin-Heilderg, New York, (1969)
34. Fieser, M., und L., *Organische Chemic*, Verlag Chemic (1968)
35. Ulubelen, A., Öksüz, S., Samek, Z., and Holub, M., *Tetrahedron Letters*, 4455, 46, (1971)
36. Fesseden, R.J., Fessenden, J.S., *Organic Chemstry*, Cole Publishing Company Pacific Grove, California, (1990)
37. Sezen, Ü., *Organik Kimya* , İstanbul, (1980)
38. Bohlmann, F., Abraham, W.R., *Phytochemistry*, 469, 19, (1980)

39. Schwab, W., Schreier, P., *Phytochemistry*, 1813, 27 (1988)
40. Kudo, K., Nohara, T., Komori, T., Kawasaki, T., and Schulten, H.R., *Planta Med.*, 40, 250, (1980).
41. Julkunen-Tiitto, R., *Phytochemistry*, 25, 663, (1986)
42. Hartmann-Schreier, J. and Schreier, P., *Phytochemistry*, 25, 2271, (1986).
43. *Dictionary of Organic Compounds, Tenth and Cumulative Supplement*, Eyre and Spottiswoode E. & F.N. Spon



T.C. YÜKSEKÖRETİM KURULU
TEZİ

T.C. YÜKSEKÖRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ