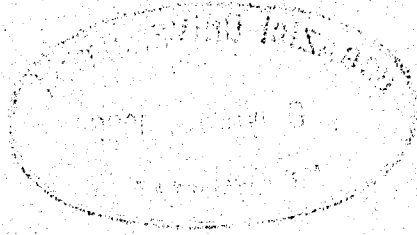


Boğaziçi Üniversitesi
Temel Bilimler Fakültesi
Kimya Bölümü

FOR REFERENCE

NOT TO BE TAKEN FROM THIS ROOM



EUPHORBIA LARICA, EUPHORBIA VIRGATA
EUPHORBIA CHAMAESYCE VE EUPHORBIA MAGALANTHA
BİTKİLERİNİN FLAVONOİDLERİ

(Doçentlik Tezi)

Dr. Belkıs Halfon

Bogazici University Library



39001100374761

14

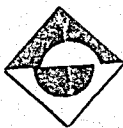
İstanbul - 1982

İ Ç İ N D E K İ L E R

ŞEKİLLERİN LİSTESİ CETVELLERİN LİSTESİ

Sayfa

I. ÖN BİLGİLER	1
1.1. ÇALIŞMANIN AMACI	1
1.2. FLAVONOİD BİLEŞİKLER HAKKINDA GENEL BİLGİLER	2
1.3. FLAVONOİDLERİN ELDE EDİLMELERİ	10
1.4. FLAVONOİDLERİN TANINMALARI	10
II. ELDE EDİLEN SONUÇLAR	19
2.1. KAMFEROL 3-O-β-D-GLUKOZİD	19
2.2. KAMFEROL 3-O-RUTİNOZİD	25
2.3. KAMFEROL 3-O-DİGLUKOZİD	29
2.4. KAMFEROL	30
2.5. KERSETİN 3-O-DİGLUKOZİD	33
2.6. KERSETİN 3-O-β-D-GLUKOZİD	38
2.7. 6-METOKSİAPIĞENİN	41
2.8. SONUC	48
III. DENEYSEL BÖLÜM	49
3.1. GENEL TEKNİKLER	49
3.2. YAPILAN İŞLEMLER	52
3.3. ELDE EDİLEN BİLEŞİKLERİN FİZİKSEL ve SPEKTRAL ÖZELLİKLERİ	55
ÖZET	60
SUMMARY	62
KAYNAKLAR	64



SEKİLLERİN LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
1. Flavonoidlerin sınıflandırılması	2
2. Flavonoidlerin biosentetik oluşumu	6
3. Flavonoidlerin alüminyum klorür ile oluşturdukları kompleksler	15
4. Flavonoidlerin kütle spektrumunda bölünme yolları	17
5. Flavonoidlerin yapılarına göre kütle spektrumunda parçalanma düzenleri	18
6. Kamferol 3-0- β -D-glukozid bileşiğinin UV spektrumu	21
7. Kamferol 3-0- β -D-glukozid bileşiğinin NMR spektrumu	23
8. Kamferol 3-0- β -D-glukozid bileşiğinin Kütle spektrumu	24
9. Kamferol 3-0-rutinosid bileşiğinin UV spektrumu	26
10. Kamferol 3-0-rutinosid bileşiğinin NMR spektrumu	28
11. Kamferol Bileşiğinin UV spektrumu	32
12. Kersetin 3-0-diglukozid bileşiğinin UV spektrumu	34
13. Kersetin 3-0-diglukozid bileşiğinin NMR spektrumu	36
14. Kersetin 3-0-diglukozid bileşiğinin Kütle spektrumu	37
15. Kersetin 3-0- β -D-glukozid bileşiğinin UV spektrumu	40
16. 6-Metoksiapigenin bileşiğinin UV spektrumu	42
17. 6-Metoksiapigenin bileşiğinin NMR spektrumu	44
18. 6-Metoksiapigenin bileşiğinin Kütle spektrumu	45
19. 6-Metoksiapigenin bileşiğinin Kütle spektrumunda parçalanma yolu ve parçalanma ürünleri	46

CETVELLERİN LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
1. Euphorbia türlerinde bulunan flavonoidler	4
2. Flavonoid bileşiklerin renk reaksiyonları	11
3. Flavonoidlerin metanol çözeltisinde UV absorpsiyonları	13
4. Flavonoidlerin selüloz ince tabaka plakta, değişik çözücü sistemlerinde R_f değerleri	59
5. Şekerlerin kağıt kromatografisinde R_f değerleri	59

I. ON BİLGİLER

1.1. ÇALIŞMANIN AMACI

Flavonoidler doğal ürünlerin en yaygınlarından dır. Özellikle farmakolojik etkilerinden dolayı son yıllarda geniş çapta kimyasal araştırmalara konu olmaktadırlar.

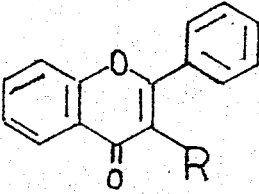
Halk arasında sütligen otu olarak tanınan Euphorbia bitki türleri flavonoidler bakımından çok zengindir. Ayrıca bu türlerden bazılarının antimikrobik, antimalaryal, antitümör ve karsinojen etkileri bilinmektedir. Buna rağmen bu türleri kapsıyan kimyasal araştırmalar yetersizdir. Yeryüzünde 7300, memleketimizde 70 kadar türü bulunan(1) bu bitkilerin yaygınlığına rağmen sadece otuzdört türün flavonoidleri çalışılmıştır. Bu araştırmaların bir kısmı ise sadece kromatografik karşılaştırma yöntemine dayanmaktadır.

Bu nedenle şimdiye kadar kimyasal bakımdan incelenmemiş dört Euphorbia türü, E. larica, E. virgata, E. chamaesyce ve E. magalantha bitkilerinin flavonoid bileşiklerinin elde edilmesi, yapılarının kimyasal ve spektral yöntemlerle aydınlatılması amaçlandı.

1.2. FLAVONOİD BİLEŞİKLER HAKKINDA GENEL BİLGİLER

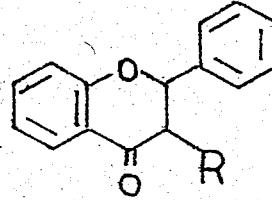
1.2.1. Flavonoidlerin Tanımı

Flavonoid teriminin kökeni "sarı" anlamına gelen Latince "flavus" kelimesidir. Çoğunluğu sarı renkli bazı bitkisel maddelere bu ad verilmiştir. Bu maddeler genellikle 2-fenilbenzopiran yapısındadırlar. Bu nedenle sonradan, renkleri ne olursa olsun, benzer yapıdaki tüm maddelere flavonoid adı verilmiştir. Yapıları aydınlatılan flavonoidlerin sayısı arttıkça, iskelet yapılarına veya sübstitüe gruplarına göre bir sınıflandırma gerekli olmuştur. Bu yapıların en yaygın olanları Şekil 1'de gösterilmiştir.



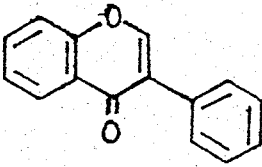
R=H FLAVON

R=OH FLAVONOL

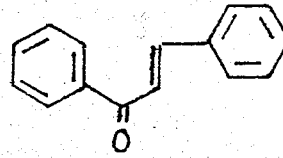


R=H FLAVANON

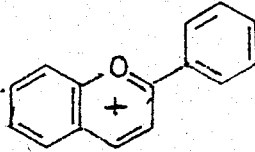
R=OH DİHİDROFLAVONOL



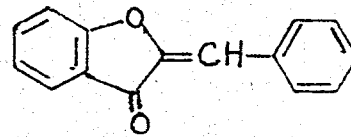
İZOFLAVON



KALKON



ANTOSİYANİDİN



ORON

Flavonoidler genellikle bitkide glikozid halinde bulunurlar. Yani hidroksil gruplarından biri veya daha fazlası bir şekere bağlıdır. Bileşiğin şekerden ayrılan kısmına aglikon denir. Flavonoid glikozidlerde basit heksoz, pentoz ve disakkaridler bulunur. D-glukoz en çok rastlanan şekerdir. D-galaktoz ve L-ramnoz daha az, L-arabinoz D-glukuronik asid ve D-ksiloz ender rastlanan şekerlerdir.

1.2.2. Flavonoidlerin Dağılımı

Flavonoidler, yosunların büyük bir kısmı hariç bütün bitki türlerinde bulunurlar. Bitkinin her bölümünde bu bileşiklere rastlanır, özellikle çiçek ve yapraklarda yoğunlaşırlar. 2000 civarında flavonoid madde bilinmektedir. Euphorbia türlerinde bulunan flavonoid maddeler Cetvel 1'de gösterilmiştir.

1.2.3. Flavonoidlerin Oluşumu

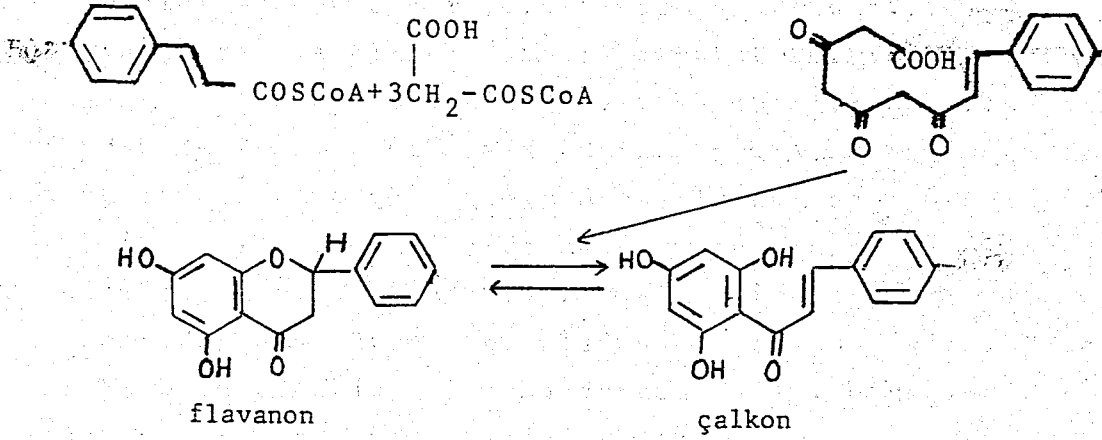
Flavonoidler bitkilerin ikincil metabolitlerindendir. Bitkilerin hayatsal gereksinimleri için oluşturdukları birincil metabolitlerden olan karbohidratlar ve amino asitlerden türerler.

Biosentez araştırmalarından elde edilen sonuçlara göre fenilalaninin enzimatik deaminasyonundan oluşan fenilpropenoid, asetil koenzim A ile birleşir. Bu molekülün üç malonil koenzim A molekülüyle kondansasyonu sonucu çalkonlar oluşur. Çalkon-flavanon izomer çifti, oksidasyon, çevrilme, alkilasyon, glikozilasyon gibi kimyasal değişimler sonucu değişik flavon yapılarını meydana getirir(40) (Şekil 2).

Euphorbia Türlerinde Bulunan Flavonoidler

Bitki	Flavonoid	Kaynak
E.amygdaloides	Kersetin 3-β-diarabinozid, kersetin 3-α-diarabinozid, kersetin 3-β-di-ramnozid, kersetin 3-α-L-arabinofuranozid, kersetin 3-α-L-arabinofuranozid.	2
E.acanthothamos	Kamferol, kersetin, mirisetin, kersetin 3-β-gluko- zid	3
E.condylocarpa	Naringenin 7-O-β-D-glukofuranosid	4
E.cyparissias	Kersetin 3-glukuronid, kamferol 3-β-glukuronid	5
E.discolor	Kersetin galaktozid	6
E.dracunculoides	Kamferol	7
E.dulcis	Kersetin 3-β-gluko- zid, kersetin 3-β-galaktozid, kersetin 3-β-galaktozid-6"-gallat	8,9
E.exigua	Kamferol 3-β-gluko- zid, kersetin 3-β-gluko- zid, kamferol 3-β-glukuronid, kersetin 3-glukuronid	10
E.geniculata	Kamferol, kersetin, kersetin 3-ramno- zid, kamferol 3-rutino- zid	11
E.helioscopia	Kersetin 5,3-di-D-galaktozid, kersetin 3-digalaktozid, kersetin, hiperin, hiperosid, kamferol 3-β-gluko- zid, kersetin 3-β-galaktozid, kersetin 3-β-galaktozid-2"-gallat	8,9,12,13,14
E.hirta	Bkz. E.pilulifera	-
E.hypericifolia	Kersetin 3-ramno- zid, kersetin, ramnetin 3-galaktozid, ramnetin 3-ramno- zid, kamferol	15
E.indica	Bkz. E.hypericifolia	-
E.kaleniczenkii	Kersetin, mirisetin, hiperosid, mirsiti- n, 3-β-D-glukopirano- zid, 5,7,2',4'-tetrahidroksiflavanon 7-β-O-glukopirano- zid (stepposid)	16
E.lanata	Kamferol 7-D-ramno- zid, kamferol 3-D-galakto- zid, kersetin 7-O-digalakto- zid	17
E.lathyrus	Kamferol 3-β-D-glukuronid, kersetin 3-β-D-glukuronid	18
E.lucida	izokersitrin, avikularosid, hiperosid, rutosid	19
E.lunulata	Kamferol, kersetin, kamferol 3-L-ramno- zid, kersetin 3-L-ramno- zid	20
E.macroceras	Hiperosid	21
E.myrsinitis	Kersetin	22
E.oblingifolia	Hiperosid, rutin	21,23

<u>Bitki</u>	<u>Flavonoid</u>	<u>Kaynak</u>
<i>E. palustris</i>	Rhobidanol, rhobidanol 3-gallat, kersetin, mirisetin, kamferol, hiperosid, kamferol 3-ramnoglukozid, kersetin 3-ramnoglukozid	24, 25
<i>E. paralias</i>	Hiperosid, kamferol 3-β-glukozid, kersetin, kersetin 3'-ksilozid, kamferol, ramnetin, kersetin 3-galaktozid, kersetin 3-arabinozid	14, 26, 27
<i>E. peplus</i>	Kamferol 3-glukozid, Kersetin 3-glukozid, kersetin 3-galaktozid, kamferol 3-0-glukozid, ramnetin 3-0-galaktozid, ramnetin ramosid, hiperosid, kamferol 3-glukozid	10, 14, 28
<i>E. pilulifera</i>	Kersitrin, lökosiyanidol, kersitrol, kamfol, kersitrin	29, 30
<i>E. platiphyllus</i>	Kersetin 3-β-D-galaktopiranosid gallat	31
<i>E. prostrata</i>	Kamferol, kersetin, kersetin 3-rammozid, apigenin 7-glukozid, ramnetin 3-galaktozid	11
<i>E. salicifolia</i>	Kersetol, rutosid	32
<i>E. scripta</i>	Kersetin 3-0-β-galaktopiranozid, kersetin 3-0-β-D-rutinozid	33
<i>E. seguieriana</i>	Izokersitrin, rutin, kersetin 3-β-glukozid, kersetin 3- galaktozid, kersetin 3-β-galaktozid-2"-gallat	34, 35
<i>E. stepposa</i>	Kersetin 3-β-D-galaktopiranozid, steppogenin, 5,7,2',4'-tetrahidroksi-flavanon 7-β-D-glukopiranozid, mirisetin 3-β-D-glukopiranozid (izomirisetin)	36, 37, 38
<i>E. stricta</i>	Kersetin 3-β-galaktozid, kersetin 3-β-arabinozid	8
<i>E. tinctoria</i>	Rutin, kersetin, kersetin 7-glukozid, kamferol rammozid	39
<i>E. verrucosa</i>	Kersetin, 3-β-galaktozid-2"-gallat, kersetin 3-β-galaktozid	8, 31
<i>E. virgultosa</i>	Rutin	35



ŞEKİL 2

1.2.4. Flavonoidlerin Bitkide Görevi

Antioksidan Etki

Flavonoidler yükseltgenme reaksiyonlarını katalize eden metaller ile kelat meydana getirerek bitkideki lipidlerin ve poliasetlenik maddelerin yükseltgenmesine mani olurlar. Meselâ, ay çiçeği yağı ve keten yağı yağ asitleri metil esterleri üzerinde kersetin (3,5,7,3',4'-pentahidroksiflavon) in antioksidan etkisi bulunmuştur. 3'-veya 4'-hidroksil gruplarının metillenmesi bu etkiyi çok azaltmıştır. Yine flavonoidlerin bitkide askorbik asidin yükseltgenmesine mani oldukları bilinmektedir(41,s.1012).

UV Işığın Absorplanması

Bütün flavonoidler 200-380 nm bölgesinde ışık absorplarlar. Bu dalga boylarında tatbik edilen ışık miktarı arttıkça bitkilerde flavonoid madde miktarı artar. Flavonoidlerin bitkiyi UV ışıktan koruyucu bir görevi vardır(41,s.1040).

Polen Taşıyıcılar Üzerinde Etki

Değişik böcekler, kuşlar ve memeli hayvanlara değişik bitkilerin çekici veya itici gelmesi ile bu bitkilerdeki flavonoidler arasında bir ilişki kurmak mümkündür. Kuşlar, antosiyaninlerin renklendirdikleri turuncu-kırmızı çiçekleri seçer. Bu çiçekleri böcekler (bazı kelebekler dışında) yeşil fondan seçemez. Böceklerin büyük bir kısmının 350 nm dalga boyu civarında ışığı absorplayan flavon ve flavonol glikozidler ile çalkon, oron, 3-deoksiantosiyaninler gibi sarı flavonoidlere hassas oldukları bilinmektedir(41, s.1016). Çiçekteki flavonoid dağılım düzeni tozакlamadan sonra değişir ve çiçek bir başka böceğe çekici olmayan duruma gelir. Böceklerin tozакlanmamış bir çiçek seçmesini sağlar.

Bakteri ve Mantarlara Karşı Etki

Bitkilerdeki fenolik maddeler ile, virütik, bakteriyel veya mantar hastalıklarına karşı dirençleri arasında bir ilişki vardır(42,43). Bakteri veya mantar tarafından zarar verilmiş hücreler çevresinde flavonoid yoğunluğu artar. Mantar β -glükozidaz meydana getirerek flavonoid glükozidlerini parçalar. Ortaya çıkan aglikon ise mantarın yayılmasını önler(44).

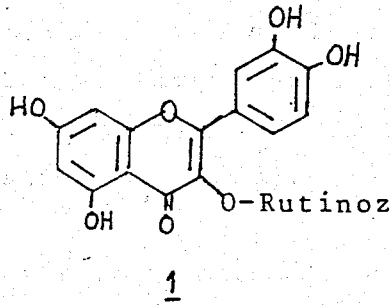
Flavonoidlerin mantarı önleyici özellikleri odunun dayanıklılığına katkıda bulunur. Bir çam türünde (Douglas fir) bulunan dihidrokersetin, bir akasya türünde (Robinia pseudo-acacia) bulunan dihidrorobinetin (3,7,3',4',5'-pentahidroksidihidroflavon) ve keyakinin (3,4'-dihidroksi-6-(1",2",3",4"-tetrahidroksibutil) flavon) mantar önleyici flavonlardır(45). Naringenin (5,7,4'-trihidroksiflavanon) ve 5,4'-dihidroksi-6,7,8,3'-tetrametoksiflavanon bazı turuncgilleri "kuru hastalık" denilen Deuterophoma tracheiphila mantarından korurlar(46,47).

1.2.5. Flavonoidlerin Farmakolojik Uygulamaları

İltihaba Karşı Etki

Vücutta iltihap sonucu kapiler duvarların geçirgenliği artar ve kolay kırılırlar. 1936 yılında Szent-Gyorgy limon ekstrelerinin kılcal direnci arttırdığını tesbit etti. Etken faktöre vitamin P adı verildi. Sonraları bu maddelerin vitamin olup olmadıkları tartışıldı ve vitamin yerine bioflavonoid olarak adlandırıldılar. Turunçgillerin suda çözünen flavonoidleri iltihaba karşı kortisondan daha etkilidir(48).

Flavonoidlerin kan dolaşımında etkisi kanıtlandıktan(49) sonra ilaçlarda kullanılmaya başladılar. Mesela bir flavonoid olan rutin (1) türevleri hemoroid, katarakt, varis ve diğer kılcal damar tedavilerinde kullanılır. Hindistan'da yetişen *Sophora japonica* L. (% 13-30 rutin) bitkisinden elde edilen rutin, İsviçre'de her yıl tonlarca türev haline getirilmektedir.

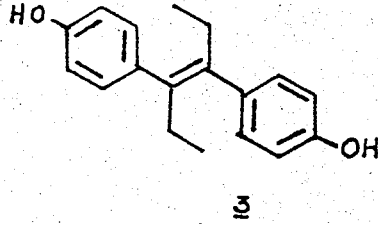
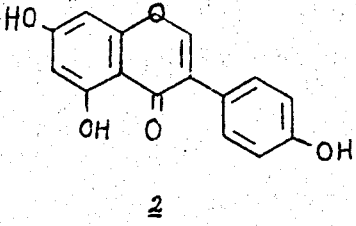


Rutinoz: glukoz 6→1-α-ramnoz

Estrojenik Etki

Avustralya'da 1940 sonrası yıllarda koyunların üremelerinde görülen azalmaya, *Trifolium subterraneum* bitkisinde bulunan isoflavon genisteinin (2) sebep olduğu anlaşılmıştır (yonca hastalığı)(50). Isoflavonların stilboestrollere yapısal benzerliği (mesela, dietilstilboestrol (3)), bu estroje-

nik aktiviteyi açıklayabilir.



İshale Karşı Etki

Comptonia pelegrina bitkisinin meyvelerinde galangin (3,5,7-trihidroksiflavon), mirisetin (3,5,7,3',4',5'-heksahidroksiflavon), kamferol (3,5,7,4'-tetrahidroksiflavon), kersetin ve gallik asid bulunması bu meyvelerin Orta Avrupa'da 19.yüzyıldan beri ishale karşı kullanılmalarına sebep olarak gösterilmiştir(51).

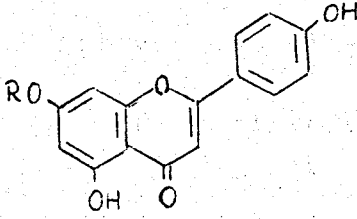
Antitümör Aktivite

Eupatorium semiserratum bitkisinden elde edilen metoksiflavonoidlerin nasofarinks karsinomaya karşı, *Baccharis sarothroides* bitkisinden elde edilen metoksiflavonoidlerin karsinoma 9KB sistemine karşı, patuletrin (3,5,7,3',4'-pentahidroksi-6-metoksiflavon) in Lewis akciğer karsinomasına karşı etkisi saptanmıştır(52,53).

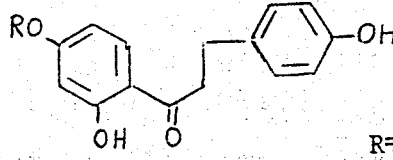
Flavonoidlerin ayrıca antibiyotik etkileri, antivirütik etkileri, lüteolin (5,7,3',4'-tetrahidroksiflavon) ve türevlerinin spazmolitik etkileri, bir flavonolignan karışımı olan silimarinin siroz tedavisinde etkisi(50) bilinmektedir.

Farmakolojik kullanımlarının dışında bazı flavonoidler tat verici olarak kullanılırlar(54). Acı flavanon glikozidler halka açılması ve katalitik hidrojenlenme sonucu tatlı dihid-

roçalkonlara dönüşürler. Örneğin turunçgillerden büyük miktarlarda elde edilen ve bu meyvelere acı bir tat veren naringin(4), naringenin dihidroçalkon neohesperidosid(5) e % 80 miktarda dönüştürülür. Bu madde süktrozdan 1000-2000 kere daha tatlıdır.



4



5

R= neohesperidosil
(glukoz- 2→1-α-ramnoz)

1.3. FLAVONOİDLERİN ELDE EDİLMELERİ

Flavonoid bileşikler bitkiden kromatografik yöntemlerle ayrılır ve temizlenir. Kurutulup toz haline getirilen bitki polar olmayan çözücünden polar olan çözücüye doğru tüketilir. Elde edilen ekstreler sütun, preparatif kalın tabaka ve/veya kağıt kromatografisi yöntemleriyle temizlenir. Sütun kromatografisinde en çok kullanılan adsorban poliamiddir. Poliamid zincirindeki karbonil ve amin grupları ile flavonoidlerin fenolik hidroksil grupları arasında meydana gelen hidrojen bağları kromatografik ayırımı sağlar. Ayrıca mikrokristal selüloz, silikajel, Sefadeks LH-20 de kullanılan adsorbanlardır.

1.4. FLAVONOİDLERİN TANINMALARI

1.4.1. Renk Reaksiyonları

Flavonoidler UV ışıktaki belirgindirler. UV ışıktaki renkleri ve bu renklerin amonyak buharı ve NA Belirteci (Na-

turstoffreagenz A, difenilborik asit β -aminoetil esteri) ile değişimleri bileşiklerin tipi ve süstitüsyonları hakkında kabaca ön bilgiler sağlar (Cetvel 2)(55).

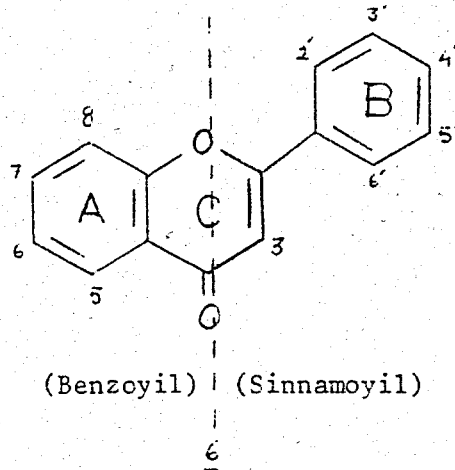
1.4.2. Spektral Yöntemler

1.4.2.2. Flavonoid Bileşiklerin UV Spektrumu

Bu yöntem flavonoid yapı tayininde ilk ve en çok kullanılan yöntemdir. Çok az madde gerektirir ve yapı hakkında önemli bilgiler sağlar. Ayrıca, flavonoid çekirdeğine bağlı fonksiyonel gruplarla reaksiyona giren özel belirteçler (sodyum metoksid, sodyum asetat, alüminyum klorür ve alüminyum klorür/hidroklorik asit) UV spektrumunda kaymalara neden olurlar. Böylelikle fonksiyonel gruplar ve çekirdeğe bağlılıkları konumlar belirlenir(41, s.46).

Metanoldaki Spektrum

Flavonoid bileşiklerin UV spektrumunda başlıca iki absorpsiyon bantı vardır. Bant I 350-400 nm bölgesindedir ve flavonoid B halkasının (6) sinnamoyil sistemi ile ilişkilidir. Bant II 240-285 nm bölgesindedir ve A halkasının benzoyil sistemi ile ilişkilidir.



Flavonoid Bileşiklerin Renk Reaksiyonları

- 12 -

UV	UV/NH ₃	UV/NA	Flavonoid Bileşik
Koyu mor	Koyu mor	Koyu mor.	5-OH açık, 3-OH yok ya da kapalı 3'-4' OH yok veya kapalı
Koyu mor	Koyu mor	Sarı	5-OH açık, 3-OH yok ya da kapalı, 4'-OH kapalı, 3'-OH açık
Koyu omr	Sarı	Sarı	5-OH açık, 3-OH yok ya da kapalı, 4'-OH Serbest, 3'-OH yok ya da kapalı
Koyu mor	Sarı	Turuncu	5-OH açık, 3-OH yok ya da kapalı, 3'-4' OH açık
Koyu mor	Koyu kahverengi	Kahverengi	5-6 OH var, 3-OH yok ya da kapalı, 3' ya da 4' -OH açık
Koyu mor	Koyu kahverengi	Turuncu	5-6 OH var, 3-OH yok ya da kapalı, 3'-4' OH var
Sarı	Sarı	Sarı	Serbest 3 ve 5-OH var
Sarı	Sarı	Kırmızı-turuncu	3 ve 5-OH açık, 3'-4' OH var
Parlak floresant mavi	Parlak floresan mavi-yeşil	Mavi	5-OH yok ya da kapalı, 3-OH yok ya da kapalı
Parlak floresant mavi	Parlak floresan mavi-yeşil	Mavi-yeşil	5-OH yok ya da kapalı, 3-OH yok ya da kapalı, 3'-4' OH var
Parlak floresant sarı	Daha parlak floresan sarı	Mavi	5-OH yok ya da kapalı, 3'-4' oh yok
Parlak floresant sarı	Daha parlak floresan sarı	Mavi-yeşil	5-OH yok ya da kapalı, 3'-4' OH var

Değişik iskeletlere sahip flavonoid bileşiklerin metanol çözeltilerinin UV absorpsiyonları da farklıdır (Cetvel 3).

Cetvel 3

<u>Flavonoid</u>	<u>MeOH (λ_{max}, nm), Bant I.</u>
Flavon	304-350
Flavonol	352-385
Isoflavon	300-340 (düşük şiddetli omuz)
Flavanon	300-340 (düşük şiddetli omuz)
Kalkon	340-390
Oron	370-430
Antosiyanidin	465-550

A veya B halkasındaki hidroksil gruplarının sayısı arttıkça ilgili bantlar daha uzun dalga boyuna kayarlar. Örneğin, flavon λ_{max} (MeOH) 250, 294, 307 (omuz) nm; 3',4'-dihidroksiflavon λ_{max} (MeOH) 242, 308 (omuz) 340 nm; 5,7,8-trihidroksiflavon λ_{max} (MeOH) 281, 364 (omuz) nm.

A veya B halkalarındaki hidroksil gruplarının metillenmesi veya glikozidlenmeleri halinde bantlar, hidroksil grupları serbest olan bileşiğe nazaran daha kısa dalga boyuna kayarlar ve şiddetleri azalır.

Sodyum Metoksid ile Yapılan UV Kaymaları

Kuvvetli bir baz olan sodyum metoksid flavonoid çekirdeğine bağlı bütün fenolik protonları iyonize eder. Serbest hidroksil taşıyan flavonoidlerde metanol çözeltisine sodyum metoksid ilavesi ile iki bant da daha uzun dalga boyuna kayarlar.

Serbest 4'-hidroksil taşıyan moleküllerde bant I 40-65 nm kadar uzun dalga boyuna kayar ve şiddeti artar. 3-hidroksil taşıyan ve 4'da hidroksil grubu olmayan moleküllerde bant I 50-60 nm kayar, fakat şiddeti azalır. Serbest 7-hidroksil taşıyan flavon veya flavonollerde 320-330 nm arasında bazen bir omuz bazen de düşük şiddetli bir pik halinde bant III görülür.

3,4'-veya 3,3',4-hidroksil grubu taşıyan flavoneller sodyum metoksidde zamanla bozunur ve bantların şiddeti zamanla azalır.

Sodyum Asetat ile Yapılan UV Kaymaları

Sodyum asetat sodyum metoksiden daha zayıf bir bazdır ve sadece daha asid karakterdeki fenolik protonları iyonize eder. Özellikle 4' ve 7 konumlarındaki hidroksil grupları hakkında bilgi verir.

7- hidroksil grubu taşıyan flavon ve flavonollerde metanol çözeltisine sodyum asetat ilavesi ile bant II 5-20 nm lik bir batokromik kayma gösterir. 6 veya 8 konumunda oksijenasyon görülen flavonlarda bu kayma azalır. 4'-hidroksiflavon ve flavonollerde 7-hidroksil grubu kapalı ise (metoksi veya glikozid türevi) bant I'in sodyum asetat ile kayması sodyum metoksid kayması ile aynı miktarda veya daha fazladır. 7-hidroksil grubu açık ise sodyum asetat ile kayma daha azdır. 5,6,7 veya 3,3',4-trihidroksil grubu taşıyan flavonoidlerde, spektrum zamanla bozunur.

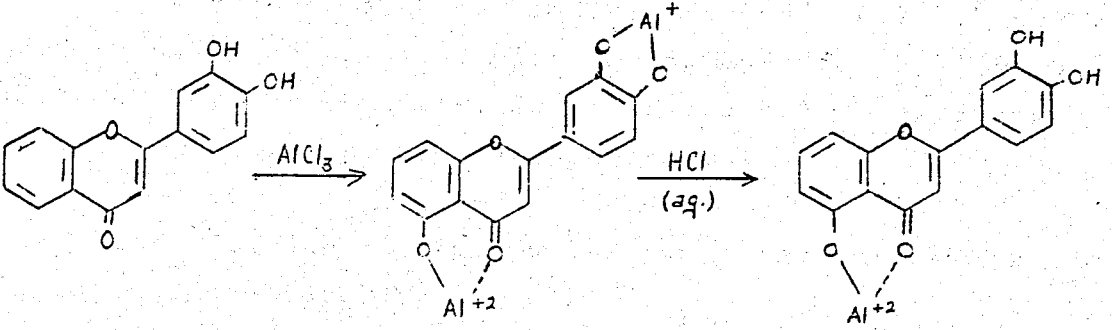
Sodyum Asetat/Borik Asit ile UV Kaymaları

Sodyum asetat ve borik asit karışımı, antosiyanidinler dışındaki bütün flavonoidlerde orto dihidroksi gruplarını tayinde kullanılır. Flavon ve flavonollerde B halkasındaki

o-dihidroksi grupları bant I in 12-30 nm kaymasına, A halkasındaki ise yine bant I in daha az kaymasına neden olurlar.

Aluminyum Klorür ile UV Kaymaları

Aluminyum klorür, 5-hidroksi-4-keto, 3-hidroksi-4-keto ve o-dihidroksil grupları ile kompleks oluşturur ve bantlar daha yüksek dalga boyuna kayar. o-Dihidroksil grupları ile oluşan kompleks seyreltik asid ilavesi ile bozunur, diğerleri bozunmaz (Şekil 3).



ŞEKİL 3

B halkasında o-dihidroksil grupları AlCl₃ spektrumunda AlCl₃/HCl spektrumundan 30-40 nm daha fazla kaymaya neden olurlar.

1.4.2.3. Flavonoidal Bileşiklerin NMR Spektrumları

A Halkası Protonları

5,7-Dihidroksiflavonoidlerde C-6 ve C-8 protonları, 5.7-6.9 ppm bölgesinde J değerleri 2.5 Hz olan iki dublet verirler. H-6 dubleti H-8 dubletinden daha yukarı sahada çıkar. 7-Hidroksiflavonoidlerde C-5 protonu 4-keto grubunun etkisiyle aşağı sahaya kayar ve 8 ppm civarında görülür. H-6 protonu ile etkileşim sonucu J değeri 9 Hz olan bir dublet halinde

çıkar.

B Halkası Protonları

4'-sübstütüe flavonoidlerde C-2',3',5',6' protonları, A halkası protonlarından daha aşağı bölgede, 6.5-7.9 ppm bölgesinde J değerleri 8.5 Hz olan iki dublet halinde görülürler. H-3'(5') dubleti H-2' (6') dubletinden daha yukarı sahadadır. C halkasının oksidasyon derecesi H-2' (6') dubletinin yerini etkiler.

3',4'-disübstütüe flavonoidlerde H-5', 6.7-7.1 ppm de J değeri 8.5 Hz olan bir dublet görünümündedir. H-2' (dublet, J=2.5 Hz) ve H-6' (kuartet, J=2.5 ve 8.5 Hz) 7.2-7.9 ppm bölgesinde ve genellikle üst üste çıkarlar.

Flavonlarda C-3 protonu 6.3 ppm civarında keskin bir singlet halinde görülür.

Metoksi Protonları

Metoksi protonları sinyali CCl₄, CDCl₃, DMSO-d₆ gibi çözücülerde 3.5-4.1 ppm bölgesinde görülür. Metoksi gruplarının konumunu belirlemek için NMR spektrumu ayrıca benzen-d₆ da alınır. Benzenin etkisiyle metoksi proton sinyalleri konumlarına göre kayma gösterirler.

Şeker Protonları

O-glikozilflavonoidlerde, şeker C-1 protonu (H-1'') dışındaki bütün şeker protonları 3-4 ppm arasında multipler olarak görülürler.

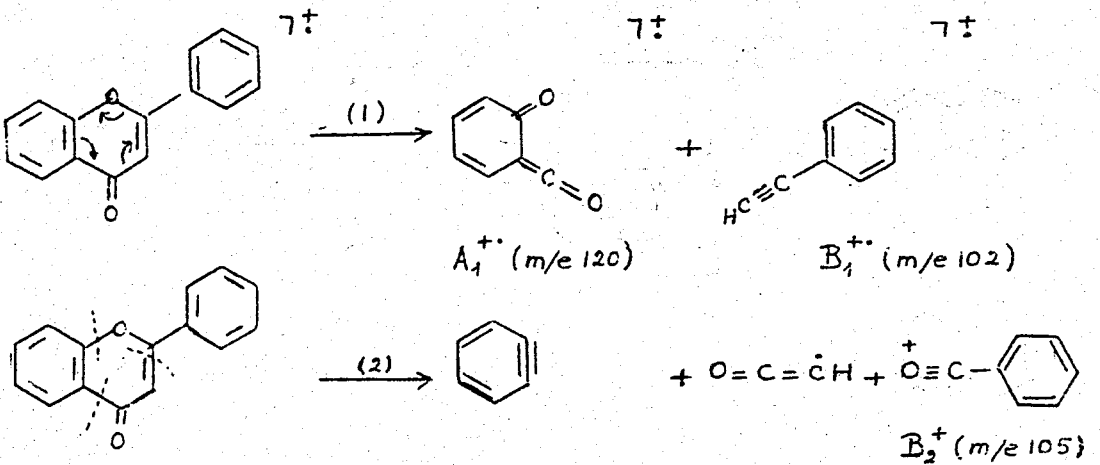
H-1'' protonu şekerin bağlı olduğu konuma göre değişik yerlerde çıkar. 3-O-glukozitlerde H-1'' protonu 5.7-6.0 ppm ara-

sında, 7-,5- ve 4'-0-glükozitlerde 4.8-5.2 ppm arasında, 3-0-ramnosidlerde 5.0-5.1 ppm arasında görülür. β -bağlı glükozitlerde, H-1" ve H-2"nin diaksiyal etkileşmesi sonucu, H-1" sinyali J değeri 7 Hz olan bir dublet olarak görülür. α -bağlı ramnosidlerde ise diekvatoryel etkileşim sonucu J değeri 2 Hz olan bir dublet meydana gelir.

1.4.2.4. Flavonoidal Bileşiklerin Kütle Spektrumları

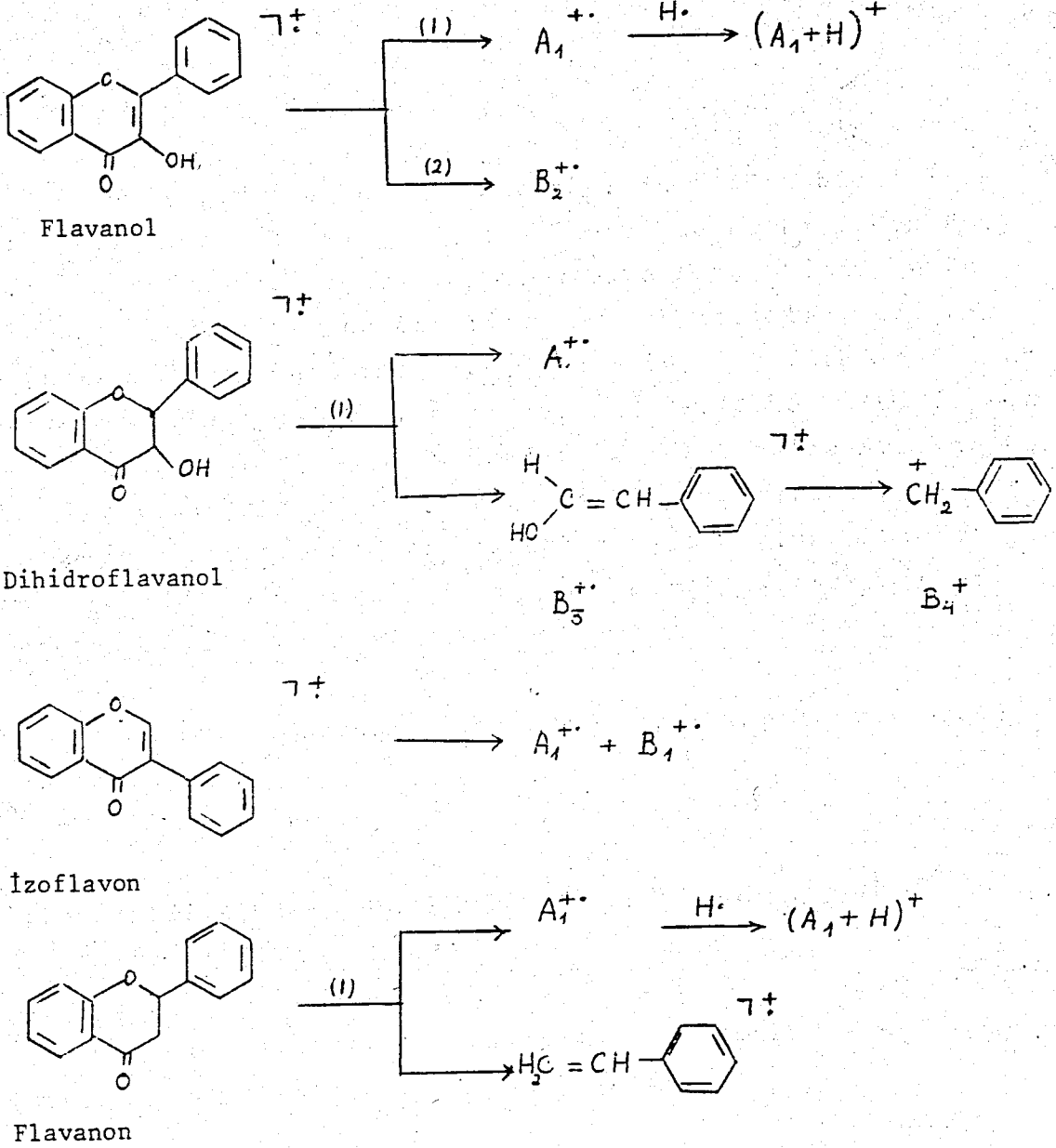
Kütle spektrumu özellikle çok az madde ile çalışma imkânı sağladığı için flavonoid yapı tayininde önemli bir yardımcıdır.

Flavonoid aglikonlarda moleküler iyon (M^+) piki çok şiddetlidir ve genellikle spektrumdaki ana piktir. Flavonoid glikozitler de uçucu özelliklerinin az olması nedeniyle moleküler iyon piki görülmez. Aglikonun diğer önemli pikleri ($M-H$)⁺ ve metoksi flavonlarda ($M-CH_3$)⁺ ve ($M-CO-CH_3$)⁺ dır. Bu iyonların dışında A ve B halkaları koparak bir seri iyon oluşur. Bu iyonlar A ve B halkalarının sübstitüsyon durumunu belirlerler. A ve B halkalarının parçalanmaları iki yoldan olabilir (Şekil 4). Birinci yol bir retro-Diels-Alder bölünmesidir(41).



Sekil 4

Değişik yapılardaki flavonoidlerin parçalanma düzenle-
ri değişiktir (Şekil 5).



Şekil 5

2. ELDE EDİLEN SONUÇLAR

Çalışmamızda Euphorbia türlerinden dört bitki incelenmiş, E.larica bitkisinden dört, E.virgata bitkisinden üç, E.chamaesyce bitkisinden üç, E.magalantha bitkisinden üç flavonoid bileşik elde edilmiştir. Bu bileşikler, her bir bitkide bulunan kamferol 3-0- β -glukozid, E.larica ve C.chamaesyce bitkilerinde bulunan kamferol 3-0-rutinosid E.virgata ve E.magalantha'da bulunan kamferol, E.larica'da bulunan kamferol 3-0-diglukozid, E.virgata'da bulunan kersetin 3-0-diglukozid, E.chamaesyce ve E.magalantha'da bulunan kersetin 3-0-glukozid ve E.larica'da bulunan 6-metoksiapigenin bileşiklerdir.

Bu bileşiklerin yapılarının nasıl saptandığı aşağıda açıklanmıştır.

2.1. KAMFEROL 3-0- β -D-GLUKOZİD BİLEŞİĞİNİN YAPISININ SAPTANMASI

Bileşik E.larica, E.virgata, E.chamaesyce ve E.magalantha bitkilerinin herbirinde bulundu.

2.1.1. Renk Reaksiyonları

Selüloz ince tabaka plakta, UV ışık altında, mor renkte görülen bileşik amonyak buharı ve NA belirteci ile sarı

renge dönüşmektedir (Cetvel 2).

2.1.2. UV Spektrumu

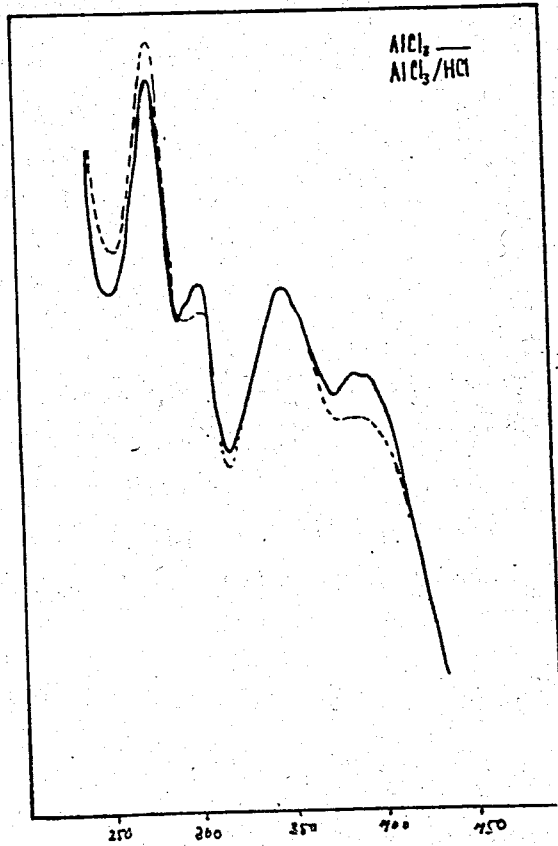
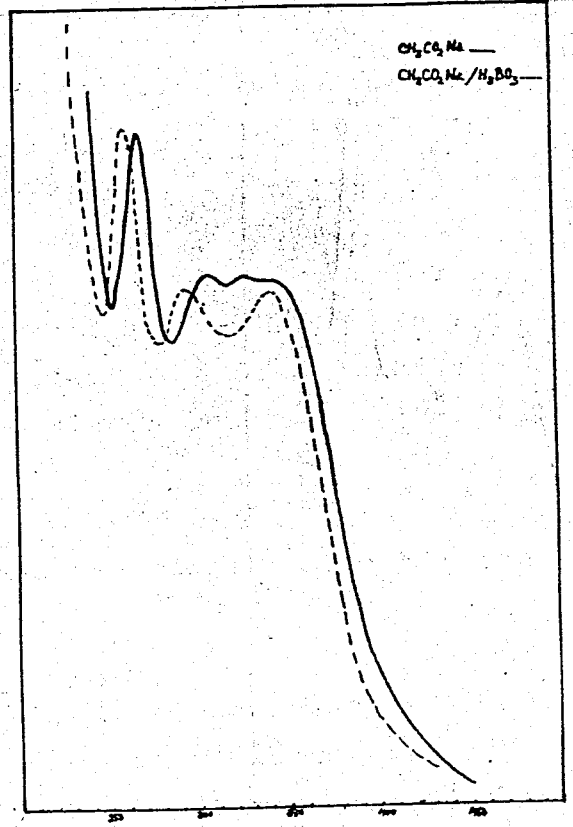
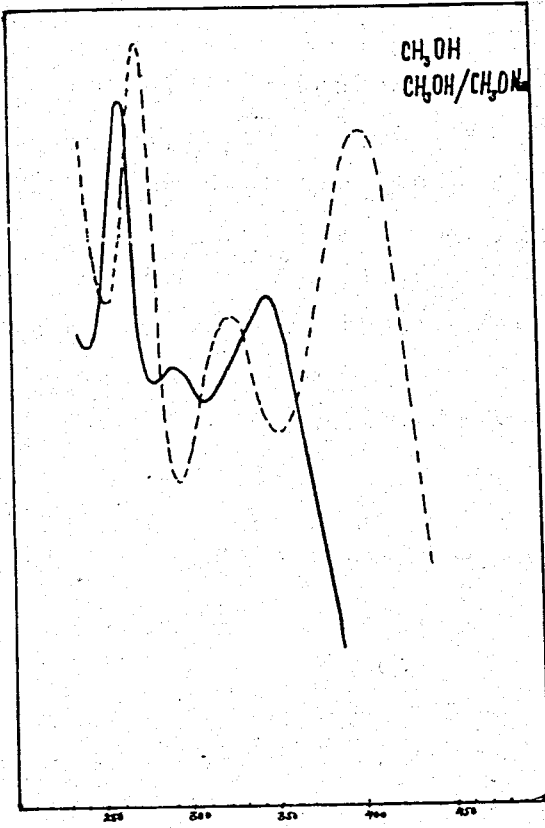
Bileşiğin metanol çözeltisinin UV spektrumunda bant I 350 nm'dedir (Şekil 6). Sodyum metoksit ilavesiyle bu bantın 48 nm kayması (398 nm) ve şiddetinin artması serbest 4'-hidroksil grubunun varlığını belirler. Bant II'nin 8 nm kayması (266 nm-274 nm) ve ortaya çıkan bant III (324 nm) ise serbest 7-hidroksili gösterir. Ayrıca metanoldeki çözeltiye sodyum asetat ilavesi ile alınan spektrumda bant I, sodyum metoksit spektrumuna kıyasla daha düşük dalga boyundadır (350 nm). Bu da 7-hidroksilin serbest olduğunu kanıtlar.

o-Dihidroksil gruplarının varlığını belirleyen sodyum asetat/borik asit spektrumunda bant I kayma göstermemiştir (350 nm). Metanol çözeltisine alüminyum klorür ilavesi ile alınan spektrumda 40 nm uzun dalga boyuna kayan bant I (390 nm) seyreltik asit ilavesiyle yerini değiştirmemiştir (390 nm). o-Dihidroksil gruplarının olmadığı kanıtlanmıştır. Alüminyum klorür spektrumundaki 40 nm kayma 3 veya 5 konumlarında serbest hidroksilin varlığını belirler. Bileşiğin renk reaksiyonları (Cetvel 2) 3 konumunda serbest hidroksil bulunmasının imkansız olduğunu göstermektedir. 3 konumunda serbest hidroksil B halkası sinnamoyil sisteminin uzun dalga boyuna kaymasına ve bileşiğin UV ışıktaki mor değil sarı renkte olmasına neden olur.

Bu bulgular sonucu 4,5,7 konumlarında serbest hidroksil olduğu anlaşılmıştır.

2.1.3. NMR Spektrumu

Bileşiğin tetrametilsilil eteri halinde karbon tetraklorürde alınan NMR spektrumunda (Şekil 7) 3.0-3.6 ppm ara-



ŞEKİL 6

sında altı protonluk bir şeker multipleri görülmektedir. Şeker C-1 protonu (H-1") sinyali 5.5 ppm'de J değeri 6.0 Hz olan bir dublet halinde görülmektedir.

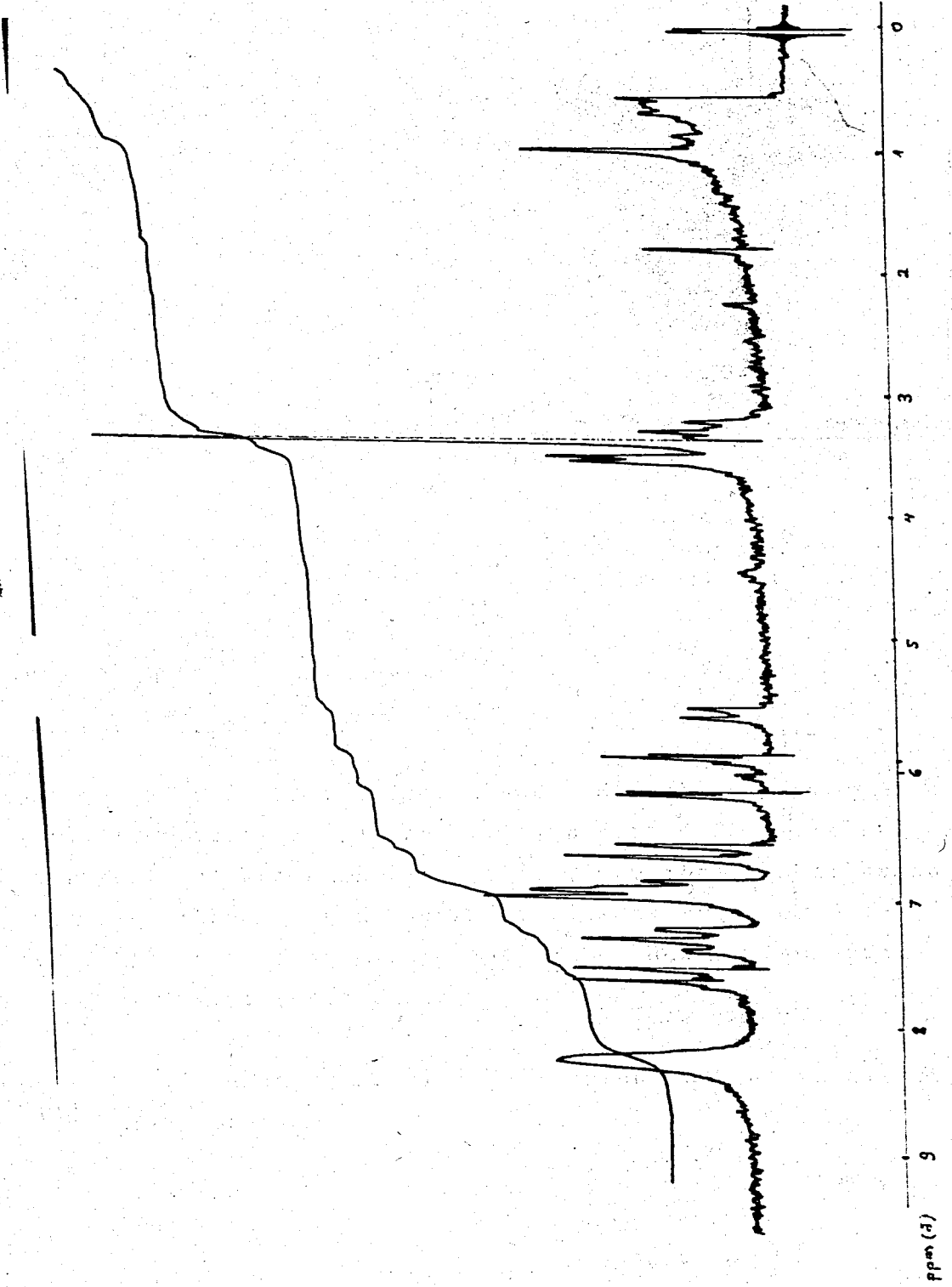
5.85 ve 6.15 ppm de J değerleri 2.5 Hz olan birer protonluk iki dublet sırasıyla A halkası H-6 ve H-8 protonları sinyali. 6.6 ve 7.6 ppm de J değerleri 8.5 Hz olan ikişer protonluk iki dublet sırasıyla B halkası 4-3'(5') ve H-2'(6') protonları sinyali.

6.3 ppm de flavon C halkası H-3 sinyali olan bir singlet yoktur.

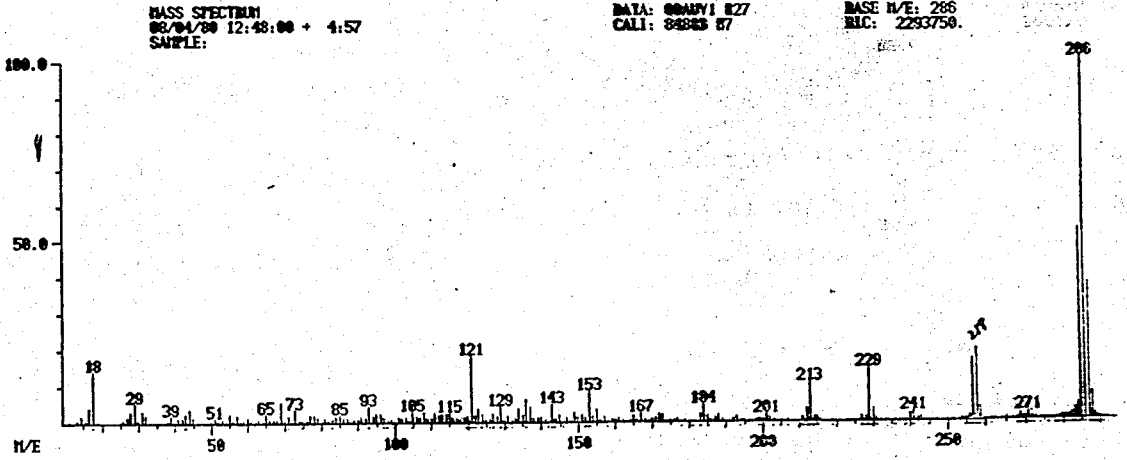
Bu bulgular sonucu 6,8,2',3',5',6' konumlarının süstitüe olmadıkları anlaşılmıştır. 5,7 ve 4' konumlarında hidroksil grupları vardır. Şekerlerin bağlı olabileceği tek konum 3 konumudur. Şeker H-1" sinyalinin 5.5 ppm'de çıkması da bu yorumu doğrulamaktadır (5- veya 7-0-glukoz H-1" sinyali 4.8-5.2 ppm'dedir). J değerinin 6.0 Hz olması β -bağlı şeker grubunu göstermektedir (H-1" ve H-2" şeker protonlarının diaksial etkileşmesi).

2.1.4. Kütle Spektrumu

Bu yöntem ile elde edilen bilgiler yukarıdakileri kanıtlamaktadır. m/e 286 da aglikon⁺ (M-şeker)⁺ piki spektrumun ana pikidir (Şekil 8). m/e 258 de (M-şeker-CO) piki vardır. (A+1)⁺ piki m/e 153 dedir ve A halkasının iki hidroksil grubu taşıdığını göstermektedir (105+16), (Şekil 8).



ŞEKİL 7

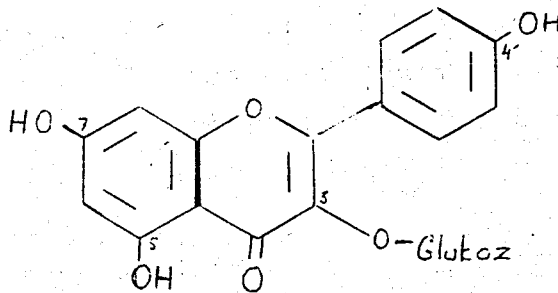


ŞEKİL 8

2.1.5. Hidroliz Sonucu

Bileşik asit hidrolizlendi. Hidroliz ürünleri ince tabaka kromatografisi yöntemiyle standart örneklerle karşılaştırıldı. Aglikonun kamferol (4',5,7-tetrahidroksiflavonol), şekerin glükoz olduğu saptandı. Bileşik kamferol 3-O-β-D-glukozid ile karşılaştırıldı. Değişik çözücü sistemlerinde aynı R_f değerlerini gösterdiler.

Bileşiğin kamferol 3-O-β-D-glukozid (astragalin)(7) olduğu kanıtlandı.



2.2. KAMFEROL 3-O-RUTİNOSİD BİLEŞİĞİNİN YAPISININ SAPTANMASI

Bileşik E.larica ve E.chamaesyce bitkilerinde bulundu.

2.2.1. Renk Reaksiyonları

Bileşik selüloz ince tabaka plakta ve UV ışık altında mor renktedir. Amonyak buharı veya NA belirteci ile sarı renge dönüşmektedir (Cetvel 2).

2.2.2. UV Spektrumu

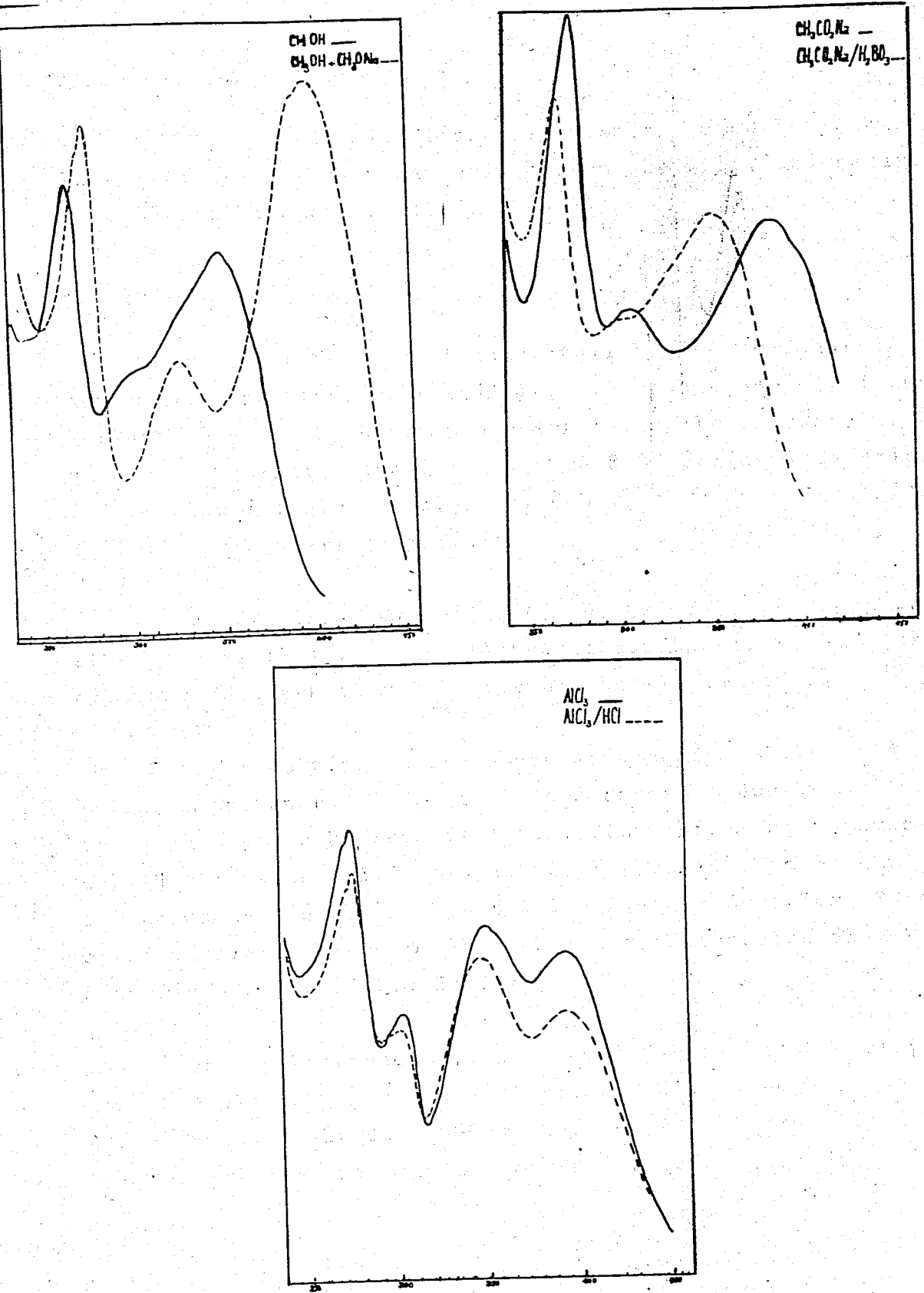
Bileşiğin UV spektrumu kamferol 3-O- β -D-glukozid ile hemen hemen aynıdır (Şekil 9).

Bileşiğin metanol çözeltisinin UV spektrumunda 350 nm de olan bant I in sodyum metoksid ilavesi ile 400 nm.e kayması ve şiddetinin artması serbest 4'-hidroksil grubunun varlığını belirler. 324 nm de ortaya çıkan bant III ve bileşiğin sodyum asetatlı çözeltisinin spektrumunda bant I'in sodyum metoksidli çözeltiye oranla daha düşük dalga boyunda olması (386 nm) serbest 7-hidroksilin varlığını gösterir.

Metanol çözeltisine sodyum asetat/borik asit ilavesi ile bant I de kayma olmamıştır. Metanol çözeltisine alüminyum klorür ilavesi ile bant I 390 nm e kaymıştır. Bu bant seyreltik asit ilavesi ile yer değiştirmemiştir. Bu bilgilere göre bileşikte o-dihidroksil grupları yoktur.

Alüminyum klorür ile alınan spektrumda bant I in 40 nm kaymış olması, bileşikte serbest 3 veya 5 hidroksil grubu olduğunu göstermektedir. Bileşiğin UV ışıktaki mor renkte olması 3-hidroksilin bulunmadığını gösterir (Cetvel 2).

UV spektrumu bileşiğin 4',5,7 konumlarında serbest hidroksil taşıdığını belirlemektedir.



ŞEKİL 9

2.2.3. Hidroliz Sonucu

Bileşik asit hidrolizlendi. Standart örneklerle karşılaştırılarak aglikonun kamferol olduğu saptandı. İki şeker, ramnoz ve glükoz elde edildi.

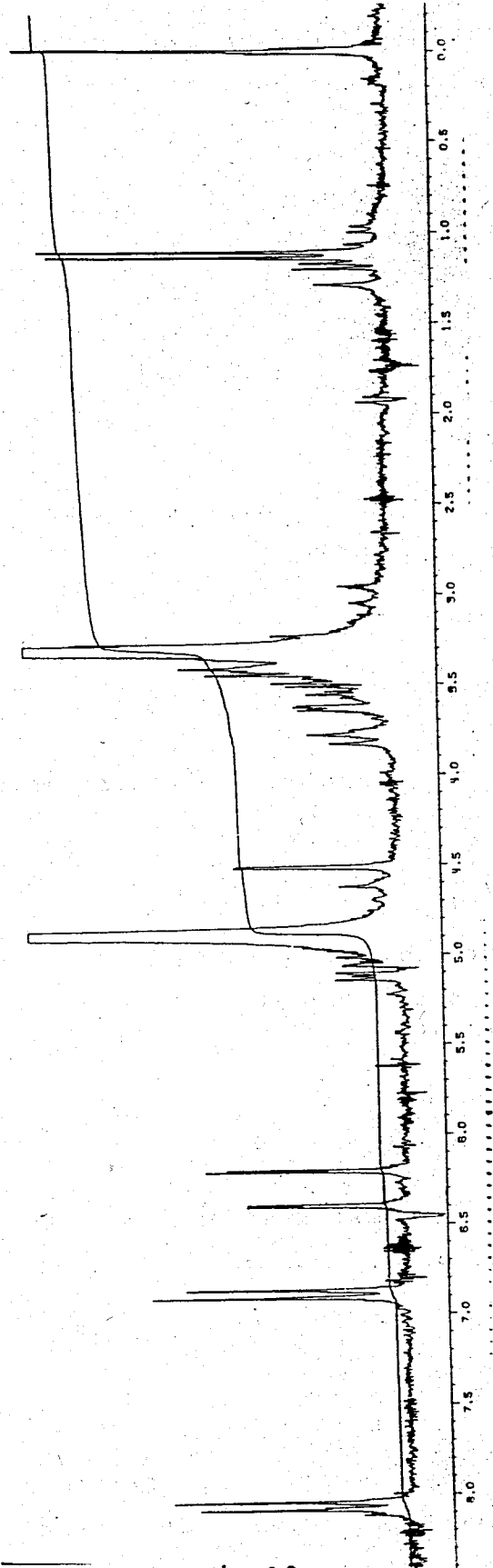
2.2.4. NMR Spektrumu

Bileşiğin tetrametilsilil eteri halinde metanol- d_4 de alınan NMR spektrumunda (Şekil 10) 6.2 ve 6.4 ppm de, J değerleri 2.5 Hz olan, birer protonluk iki dublet sırasıyla, H-6 ve H-8 protonları sinyalıdır. 6.9 ve 8.05 ppm de J değerleri 8.5 Hz olan ikişer protonluk iki dublet sırasıyla H-3'(5') ve H-2'(6') protonları sinyalıdır.

Bu bulgulara göre bileşiğin 6,8,2',3',5',6' konumları sübstitüe değildir. 4',5 ve 7 konumlarında serbest hidroksil olduğuna göre şekerler 3 konumundan bağlı olmalıdır.

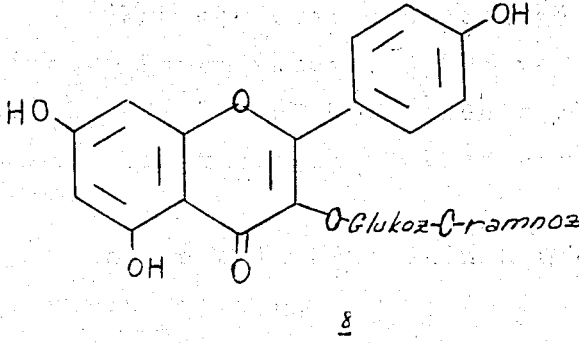
Şeker multiplleti 3-3.9 ppm arasındadır. 1.1 ppm de görülen, 3 protonluk, J değeri 5 Hz olan metil dubleti ramnoz metil grubu için karakteristiktir. Flavonoide bağlı ramnoz C-1 (H-1'') protonu 5.0-5.1 ppm de, glukoza 6'' konumundan bağlı ramnoz C-1 (H-1''') protonu 4.2 - 4.4 ppm de çıkar. Ramnoz, doğal ürünlerde α -bağlı olarak bulunur. Bir dublet olan H-1''' sinyalinin J değeri 2,5 Hz dir.

NMR spektrumunda 4.5 ppm de, J değeri düşük, tek protonluk dublet H-1'' sinyali olmalıdır. Glukoza bağlı ramnoz grubunu göstermektedir. 3-O-glukoz C-1 (H-1'') sinyali, iyice belirgin olmamasına rağmen 5.65 ppm de görülmektedir.



ŞEKİL 10

Yukarıdaki bulgulara dayanarak bileşiğin kamferol 3-O-rutinosid (kamferol 3- β -O-glukoz- α -O-ramnoz)(8) olduğu belirlendi.



2.3. KAMFEROL 3-O-DİGLUKOZİD BİLEŞİĞİNİN YAPISININ SAPTANMASI

Bileşik E.1arica bitkisinde bulundu.

2.3.1. Renk Reaksiyonları

Selüloz ince tabaka plakta, UV ışıkla mor renkli olan bileşik amonyak buharı veya NA belirteci ile sarı renge dönüşmektedir.

2.3.2. UV Spektrumu

UV spektrumu yukarıda incelenen kamferol 3-O- β -D-glukozid spektrumu ile aynıdır. Bu bakımdan burada tekrar incelenmemiştir.

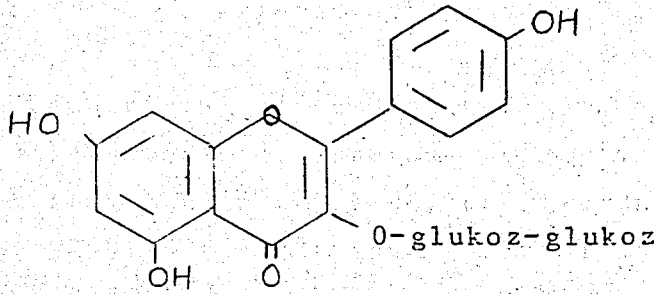
2.3.3. Hidroliz Sonucu

Bileşik asit hidrolizlendi. İnce tabaka kromatografisi yöntemiyle standart örneklerle karşılaştırılarak aglikonun

kamferol, şekerin glükoz olduğu saptandı. Bunun üzerine bileşik ince tabaka plakta kamferol 3-0- β -D-glukozid ile karşılaştırıldı. R_f değerleri aynı çıkmadı. % 15 asetik asid sisteminde bilinmeyen bileşiğin R_f değeri daha yüksektir (Cetvel 4). Bu nedenle bileşiğin bir diglukoz olduğu düşünüldü.

Aglikon kamferol olduğuna göre şekerin bağlı olabileceği dört konum vardır. 3,5,7 ve 4'. Bileşiğin UV spektrumu, 2.1.2 ve 2.2.2 bölümlerinde açıklandığı gibi 5,7 ve 4'-hidroksillerin varlığını açıkça belli etmektedir.

Bu nedenlerle bileşiğin kamferol 3-0-diglukozid(9) olduğu kanısına varıldı.



9

2.4. KAMFEROL BİLEŞİĞİNİN YAPISININ SAPTANMASI

Bileşik *E.virgata* ve *E.magalantha* bitkilerinde bulundu.

2.4.1. Renk Reaksiyonları

Selüloz ince tabaka plakta, UV ışıktaki, sarı renkli olan bileşik, amonyak buharı veya NA belirteci ile renk değiştirmemektedir. Bileşikte serbest 3 ve 5-hidroksil grupları

olduğu anlaşılmaktadır.

2.4.2. UV Spektrumu

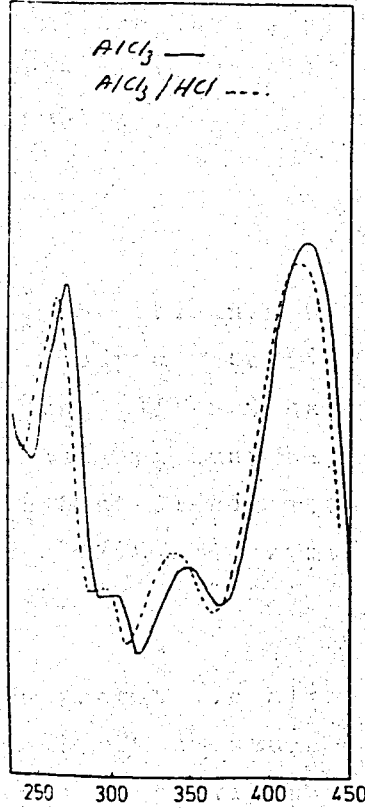
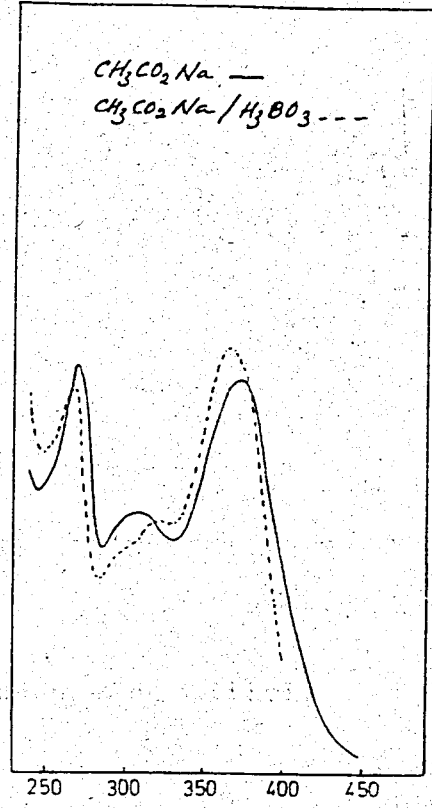
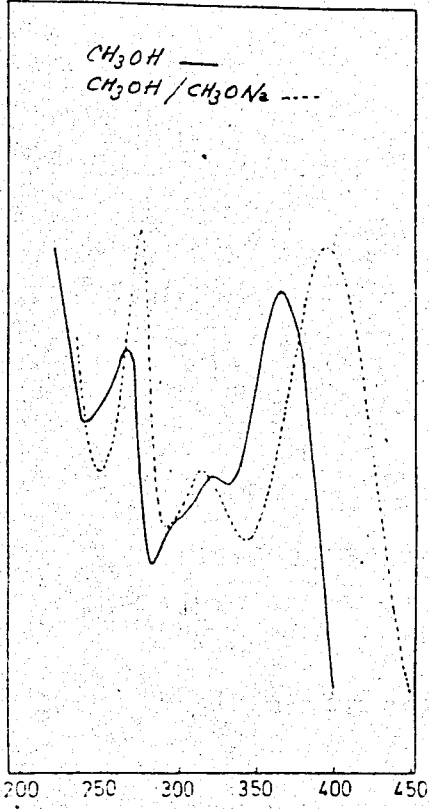
Bileşiğin metanolde çözeltisinin UV spektrumunda bant I 365 nm dedir (Şekil 11). Bileşiğin bir flavonol (serbest 3-hidroksil) olduğunu belirlemektedir. Sodyum metoksid ilavesiyle bu bantın 31 nm uzun dalga boyuna kayması (396 nm) ve şiddetinin artması serbest 4'-hidroksili belirler. Ayrıca, 312 nm'de ortaya çıkan bant III serbest 7-hidroksilin varlığını gösterir. Sodyum asetat spektrumunda bant I'in (373 nm), sodyum metoksid spektrumuna oranla daha düşük dalga boyunda olması da serbest 7-hidroksilin varlığını kanıtlar.

Metanol çözeltisine sodyum asetat/borik asit ilavesiyle bant I yer değiştirmemiştir (366 nm). Bileşikte o-dihidroksil grupları yoktur. Aluminyum klorür spektrumunda ve aluminyum klorür/seyreltik asit spektrumunda bant I in aynı dalga boyunda olması (398 nm) da bu bulguyu kanıtlar.

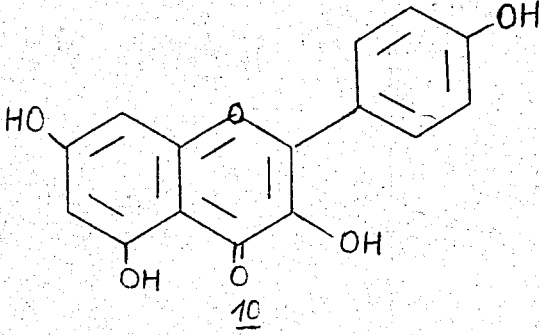
Aluminyum klorür/seyreltik asit spektrumunda bant I in metanol çözeltisi spektrumuna oranla 33 nm daha uzun dalga boyunda olması serbest 3 veya 5-hidroksil grubunun varlığını kanıtlar.

Bu bulgulara göre bileşik 4',3,5,7 konumlarında serbest hidroksil grubu taşımaktadır.

Bileşiğin bulunduğu her iki bitkide de kamferol 3-O-glukozid bulunduğu ve UV spektrumu kamferol spektrumuna benzediği için bileşiğin kamferol olabileceği düşünüldü. Bileşik selüloz ince tabaka plakta, değişik çözücü sistemlerinde standart kamferol ile karşılaştırıldı ve aynı madde oldukları kanıtlandı(10).



ŞEKİL 11



2.5. KERSETİN 3-O-DİGLUKOZİD BİLEŞİĞİNİN YAPISININ SAPTANMASI

Bileşik E.virgata bitkisinden elde edildi.

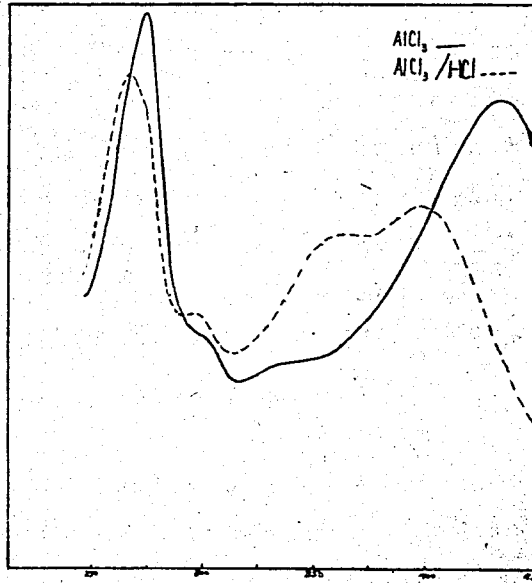
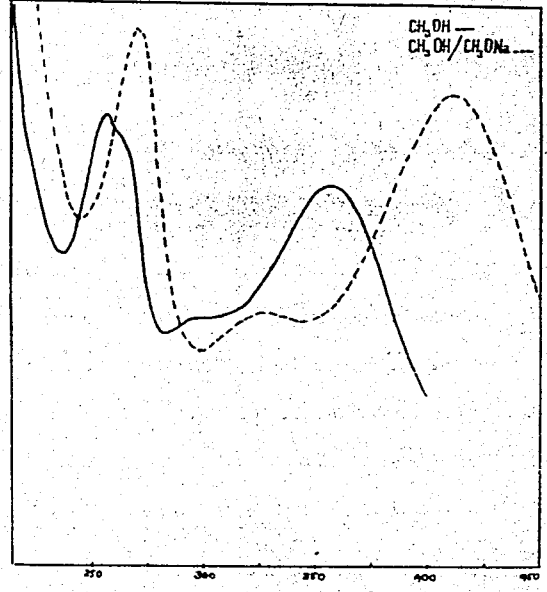
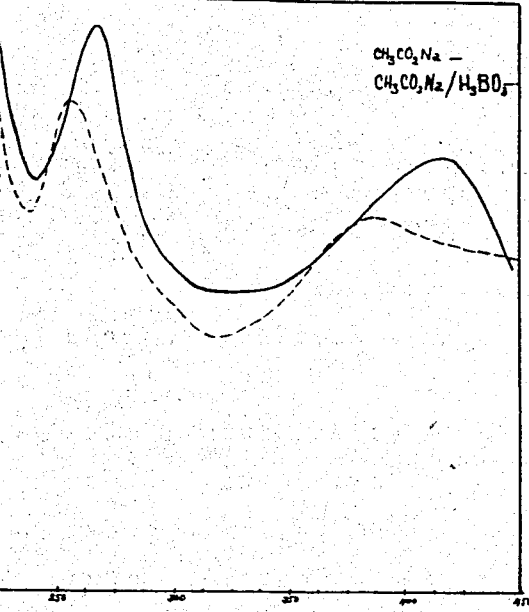
2.5.1. Renk Reaksiyonları

UV ışıktta, selüloz ince tabaka plakta mor renkli olan bileşik amonyak buharı ile sarı, NA belirteci ile turuncu renge dönüşmektedir (Cetvel 2).

2.5.2. UV Spektrumu

Bileşiğin metanol çözeltisinin UV spektrumunda bant I 355 nm dedir (Şekil 12). Sodyum metoksid ilavesi ile bu bantın 56 nm uzun dalga boyuna (411 nm) kayması ve şiddetinin artması serbest 4'-hidroksil grubunu belirler. Yine bu çözeltide 327 nm deki omuz ve bant II nin metanol çözeltisine kıyasla daha uzun dalga boyuna (270 nm) kaymış olması 7-hidroksilin serbest olduğunu gösterir.

Borik asit/sodyum asetat ile alınan spektrumda bant I in metanol spektrumuna kıyasla 30 nm uzundalga boyuna kaymış olması (385 nm) o-dihidroksi gruplarının varlığını gösterir.



ŞEKİL 12

Aluminyum klorür ile alınan spektrumda 432 nm'de çıkan bant I, seyreltik asit ilavesi ile 400 nm'e düşmüştür. Bozulan bir aluminyum ve o-dihidroksil kompleksi bellidir ve o-dihidroksi gruplarının varlığı kanıtlanmıştır.

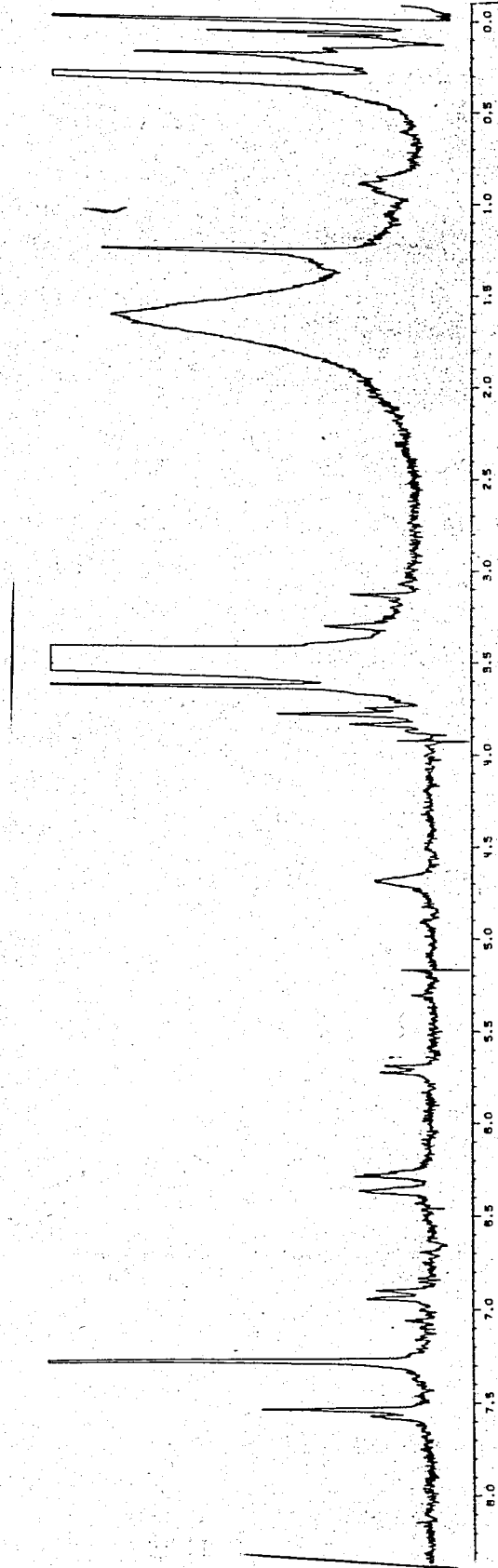
Aluminyum klorür/seyreltik asit spektrumunda bant I'in metanol çözeltisi spektrumuna kıyasla 45 nm daha uzun dalga boyunda olması 5-hidroksilin serbest olduğunu gösterir.

Bu bulgular sonucu maddenin 4',5,7 hidroksil grupları taşıdığı anlaşılmıştır. Ayrıca, o-dihidroksil olabilmesi için ya 3',4'-dihidroksil veya 5,6,7-trihidroksil veya 7,8-dihidroksil grupları taşınması gerekir. 5,6,7-trihidroksil grupları, sodyum asetat ile alınan spektrumun zamanla bozunmasına sebep olur. Bu gözlenmemiştir. Bileşiğin NA belirteci ile tuncu renge dönüşmesi 3',4'-dihidroksil gruplarını belirler (Cetvel 2).

2.5.3. NMR Spektrumu

Bileşiğin tetrametilsilil eteri halinde kloroform-d₁ de alınan NMR spektrumunda (Şekil 13) 3.1-3.9 ppm de şeker protonları sinyali görülmektedir. Proton sayısı spektrumdan anlaşılamamıştır. 4.7 ppm de, bir protonluk, bir dublet veya multipler, 5.72 ppm de J değeri 6 Hz olan bir protonluk bir dublet görülmektedir. 5.72 ppm'deki sinyal, 3-O-β-glükoz C-1 (H-1'') sinyali. 4.7 ppm'deki sinyal glükosa bağlı bir ikincil şeker grubunun varlığını göstermektedir. Flavonoid halkasının konjüge sistemine bağlı olmadığı için H-1''' protonu sinyali daha yukarı sahada çıkmıştır.

6.27 ve 6.35 ppm'de J değerleri 2.5 Hz civarında olan birer protonluk iki dublet A halkası H-6 ve H-8 protonları sinyali. 6.9 ppm'deki J değeri 8.40 Hz olan tek protonluk dublet B halkası H-5' protonu sinyali ve 7.55 ppm deki J de-

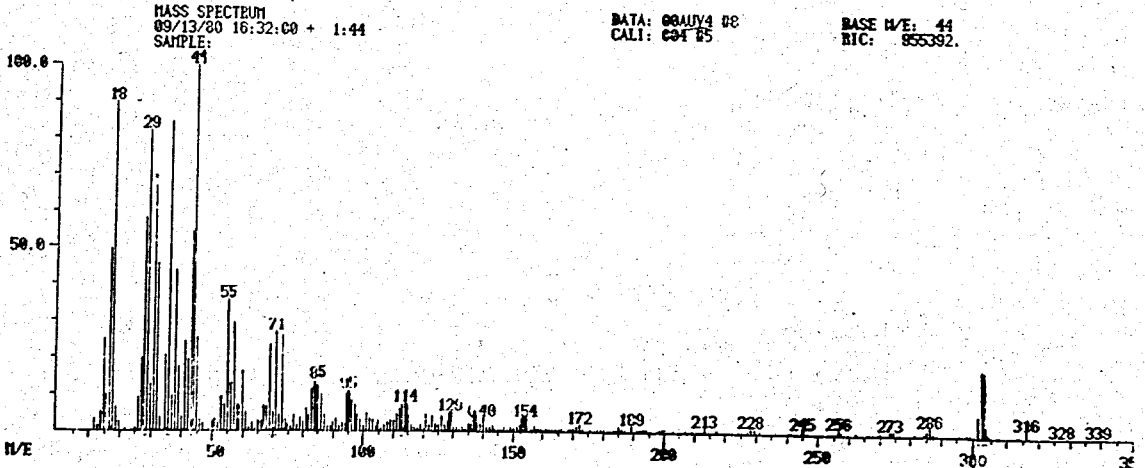


geri 8.40 Hz olan dublet B halkası H-6' protonu sinyalidir. 7.55 ppm'deki sinyal iki protona tekabül etmektedir ve H-2' sinyalinin H-6' sinyalinin altında kaldığını gösterir.

Bu bulgular sonucu bileşiğin 6,8,2',5',6' konumlarının sübstitüe olmadığı, 3 konumunda iki şeker bağlı olduğu anlaşılmıştır. o-Dihidroksil gruplarının 3',4' konumlarından bağlı oldukları belli olmuştur.

2.5.4. Kütle Spektromu

Kütle spektromu yukarıdaki bulguları kanıtlamaktadır. m/e 302'de görülen ana pik (M-şeker)⁺ pikidir. m/e 153'de (A₁+1)⁺ piki A halkasında iki hidroksil grubu olduğunu gösterir: (120+16+16+1). m/e 137'deki B₂⁺ piki B halkasında iki hidroksil grubu olduğunu belirler: (105+16+16)(Şekil 14).

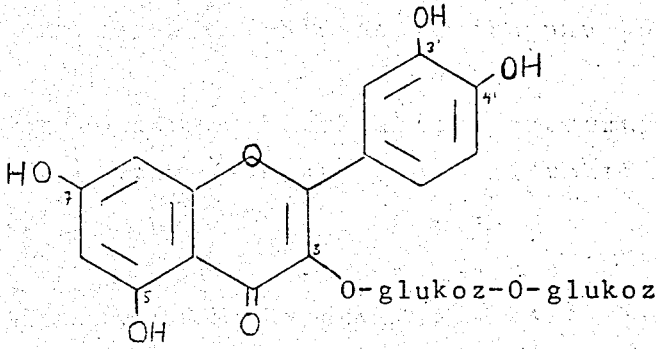


ŞEKİL 14

2.5.5. Hidroliz Sonucu

Bileşik asit hidrolizlendi. Elde edilen aglikon ve şeker standart örnekler ile karşılaştırıldı. Aglikonun kersetin (3',4',5,7-tetra hidroksiflavonol), şekerin glükoz olduğu anlaşıldı.

Bu bilgiler sonucu bileşiğin kersetin 3-O-β-diğlükozid (11) olduğu kanıtlandı.



11

2.6. KERSETİN 3-O-β-D-GLUKOZİD BİLEŞİCİNİN YAPISININ SAPTANMASI

Bileşik *E.chamaesyce* ve *E.magantha* bitkilerinde bulundu.

2.6.1. Renk Reaksiyonları

Selüloz ince tabaka plakta, UV ışıkta mor renkte olan

bileşik, amonyak buharı ile sarı, NA belirteci ile turuncu renge dönüşmektedir.

2.6.2. UV Spektrumu

Bileşiğin metanolde çözeltisinin UV spektrumunda bant I 357 nm dedir (Şekil 15). Bu bantın sodyum metoksid ilavesiyle 49 nm uzun dalga boyuna kayması (406 nm) ve şiddetinin artması serbest 4'-hidroksili belirler. 325 nm de ortaya çıkan bant III ve sodyum metoksid spektrumuna oranla sodyum asetat spektrumunda bant I in daha düşük dalga boyunda olması (375 nm) serbest 7-hidroksil grubunu gösterir.

Sodyum asetat/borik asit spektrumunda bant I 18 nm uzun dalga boyuna kaymıştır. o-Dihidroksil grupları bulunduğu bellidir.

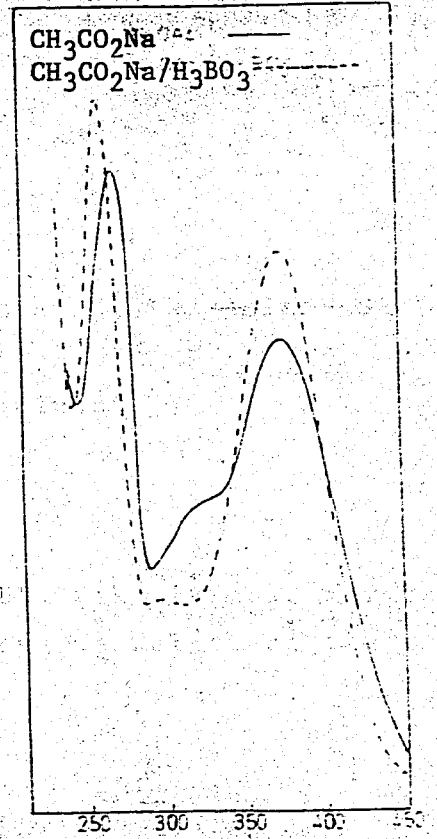
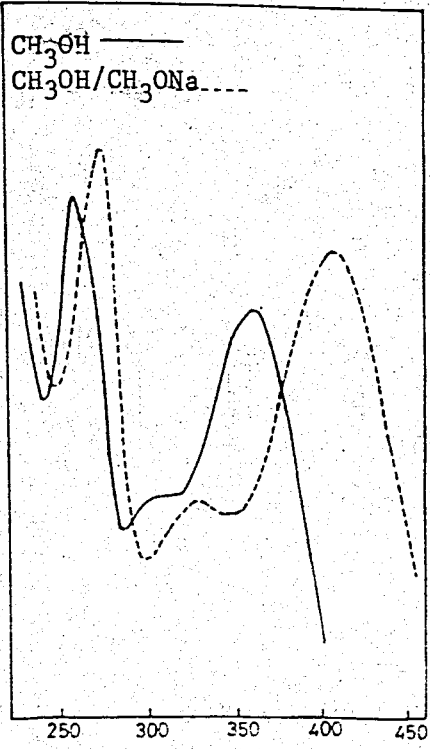
Aluminyum klorür/seyreltik asit spektrumunda bant I in metanol spektrumuna oranla 45 nm kaymış olması serbest 5-hidroksilin varlığını belirlemektedir.

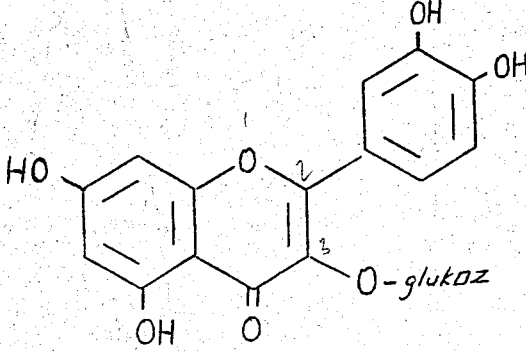
Yukarıdaki bulgular bileşikte 4',5 ve 7-hidroksil gruplarının varlığını ve o-dihidroksil grupları bulunduğunu göstermiştir.

2.6.3. Hidroliz Sonucu

Bileşik asit hidrolizlendi. Aglikonun kersetin, şekerin glukoz olduğu saptandı. Kersetin 3-0- β -glukozid en yaygın kersetin glikozidi olduğu için, bileşik değişik çözücü sistemlerinde ince tabaka kromatografisi yöntemiyle, standart örneklerle karşılaştırıldı.

Bileşiğin kersetin 3-0- β -glukozid (3',4',5,7-tetrahidroksiflavonol 3-0- β -glukozid)(12) olduğu saptandı.





(12)

2.7. 6- METOKSİAPIĞENİN BİLEŞİĞİNİN YAPISININ SAPTANMASI

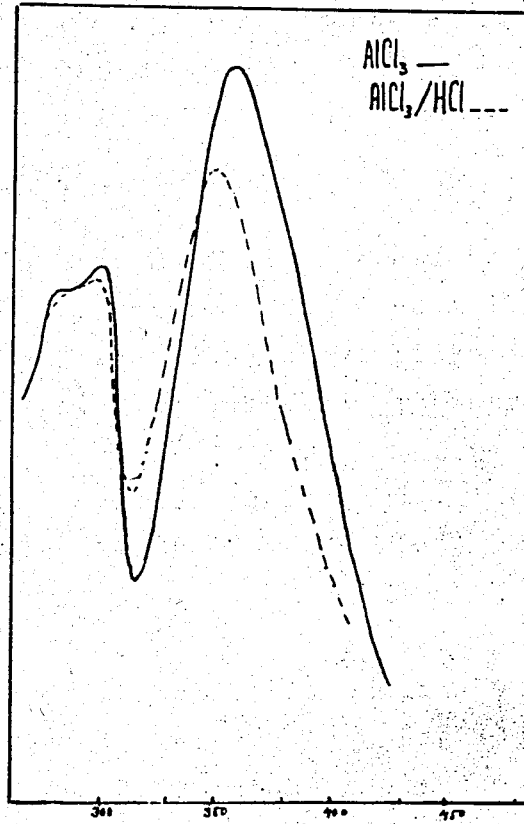
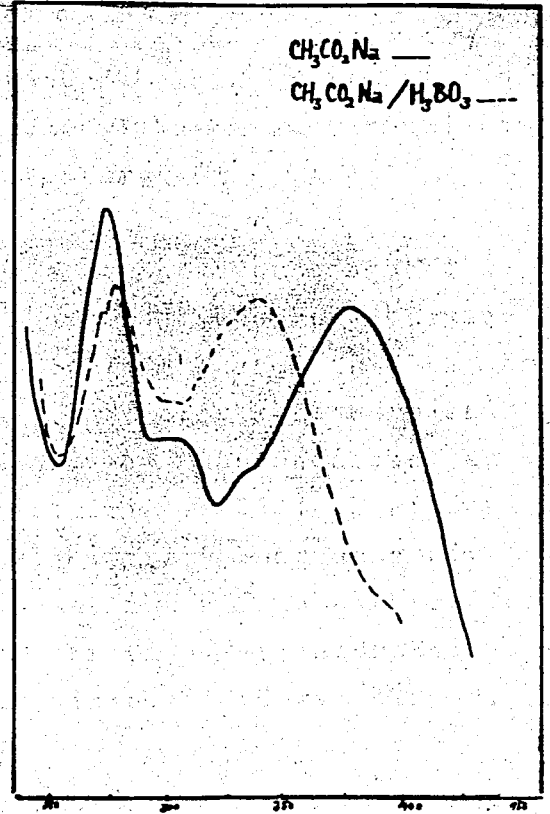
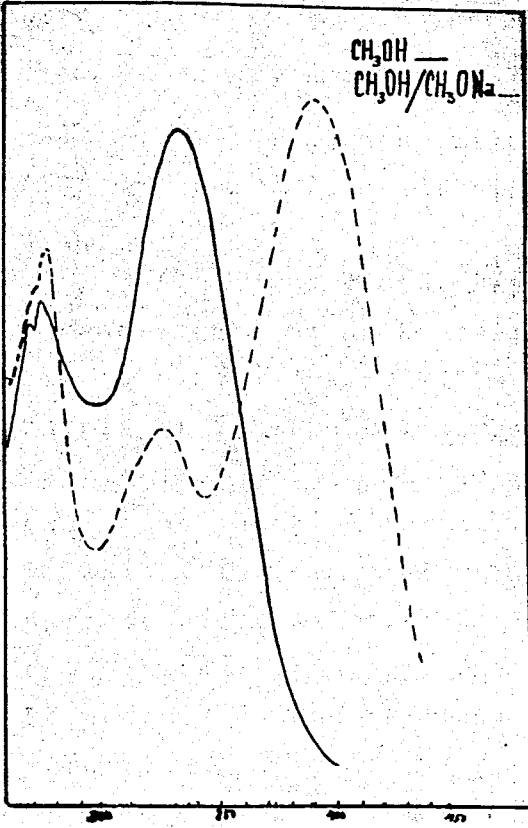
Bileşik E. larica bitkisinde bulundu.

2.7.1. Renk Reaksiyonları

Selüloz ince tabaka plakta, UV ışık altında, mor renkte görülen bileşik amonyak buharı veya NA Belirteci ile renk değiştirmemektedir.

2.7.2. UV Spektrumu

Bileşiğin metanolde çözeltisinin UV spektrumunda 335 nm de görülen bant I, çözeltiye sodyum metoksit ilavesi ile 383 nm e kaymıştır ve şiddeti artmıştır (serbest 4'-hidroksil) (Şekil 16). Ayrıca, 325 nm de bant III ortaya çıkmıştır (Serbest 7-hidroksil). Metanol çözeltisine sodyum asetat ilavesiyle elde edilen spektrumda ise bant I 378 nm'dedir ve sodyum metoksit spektrumuna kıyasla daha düşük dalga boyundadır (Serbest 7 hidroksil):



ŞEKİL 16

o-Dihidroksil gruplarını saptamak için borik asit/sodyum asetat ile alınan spektrumda bant I kayma göstermemiştir (335 nm). o-Dihidroksil grupları yoktur.

Aluminyum klorür/seyreltik asit spektrumunda bant I metanol spektrumuna kıyasla 15 nm uzun dalga boyuna kaymıştır (350 nm). Yukardaki yapı tayinlerinde bant I in 35-55 nm kaymasını 5-hidroksilin varlığına kanıt olarak göstermiştik. Bant I in 17-20 nm kaydığı durumlarda 6- konumunda oksijen bağı olabileceği literatürde belirtilmiştir(56). Elimizdeki bileşik için de aynı durum düşünülebilir. 6 konumunda bir serbest hidroksil olsaydı, borik asit ile alınan spektrumda o-dihidroksil grupları belli olacaktı (5,6,7-trihidroksil). Bu nedenle 6 konumundan bağı bir hidroksil türevi olanağı vardır.

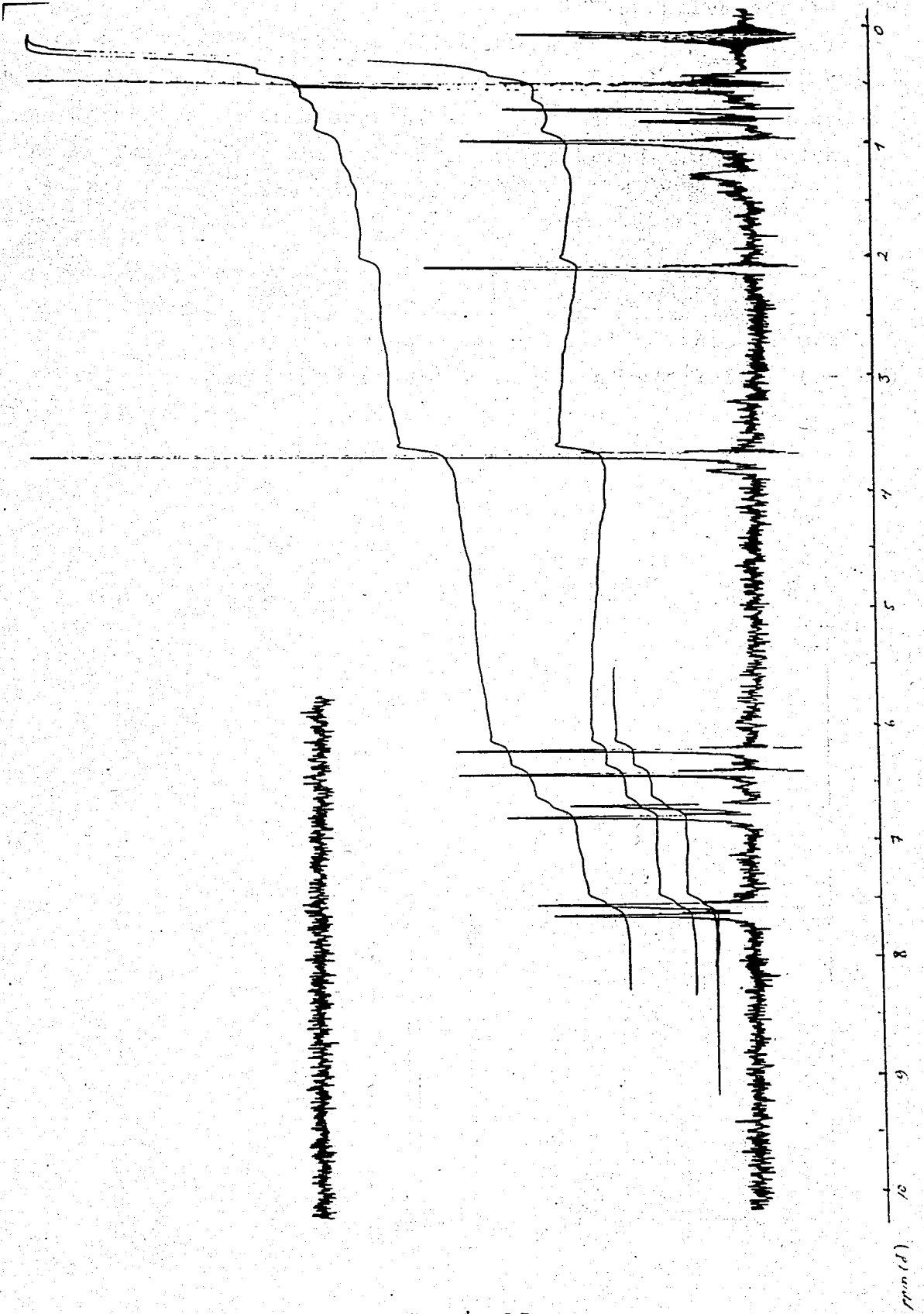
Bu bulgular sonucu bileşikte 4',5,7 konumlarında serbest hidroksil grupları, 6 konumunda bir hidroksil türevi olduğu düşünülmektedir.

2.7.3. NMR Spektrumu

Bileşiğin tetrametilsilil eteri halinde karbon tetraklorürde alınan NMR spektrumunda (Şekil 17) 3-4 ppm arası şeker protonları yoktur. Bileşik bir glikozid değildir. 3.7 ppm de görülen metil singleti metoksi grubunun varlığını belirler.

6.9 ve 7.7 ppm de J değerleri 7.5 Hz olan ikiyeşer protonluk, iki dublet H-3'(5') ve H-2'(6') protonları sinyaliştir.

2',3',5',6' süstitüe olmadığına ve 4',5,7 de hidroksil olduğuna göre metoksi grubunun bağı olabileceği üç konum kalmaktadır: 3,6 ve 8. 3-metoksil olsa, 6 ve 8 protonları 5.7-6.9 ppm bölgesinde J değerleri 2.5 Hz olan çok belirgin iki

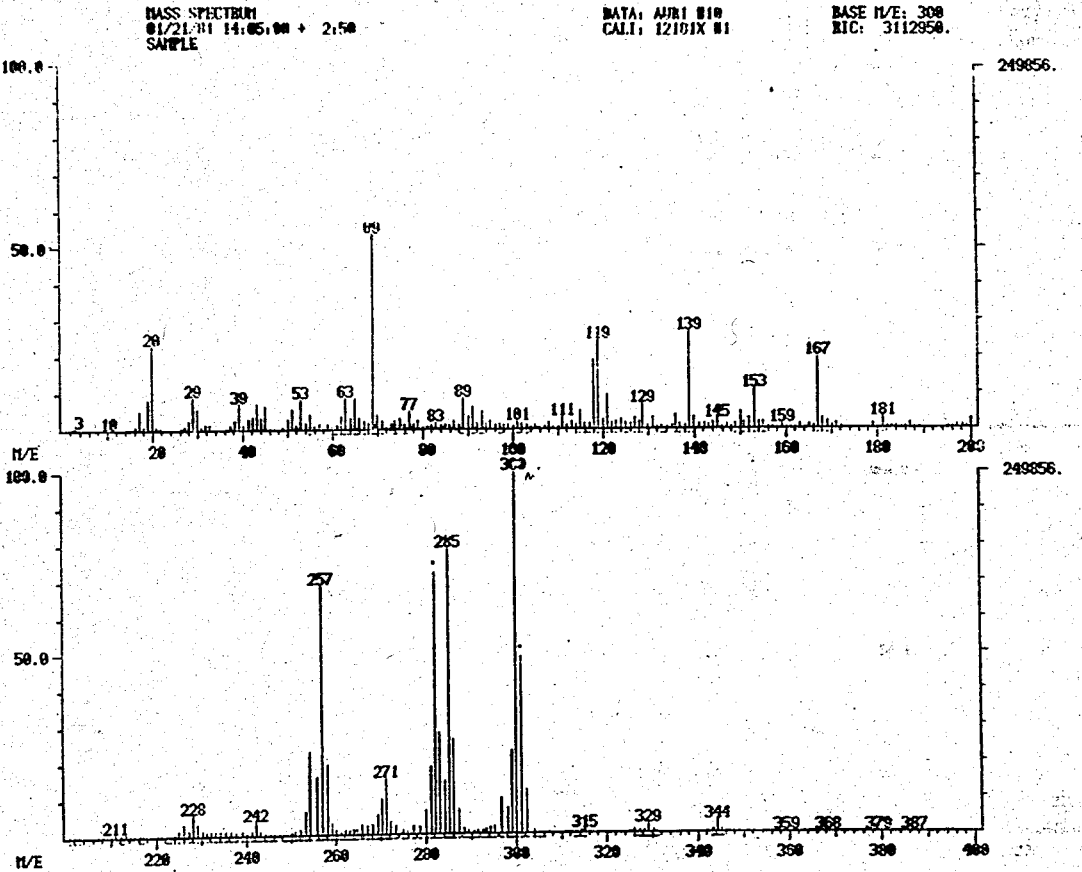


ŞEKİL 17

dublet halinde görülürler. Bileşiğin NMR spektrumunda bu sahada iki singlet görülmektedir: 3 konumu sübstitüe değildir. H-3 sinyali 6.35 ppm'dedir. Yukarıda belirtildiği gibi UV spektrumundan 6 konumunda bir oksijen bağı olması gerektiği anlaşılmıştı. NMR spektrumunda geriye kalan 6.55 ppm deki singlet H-8 protonu sinylidir.

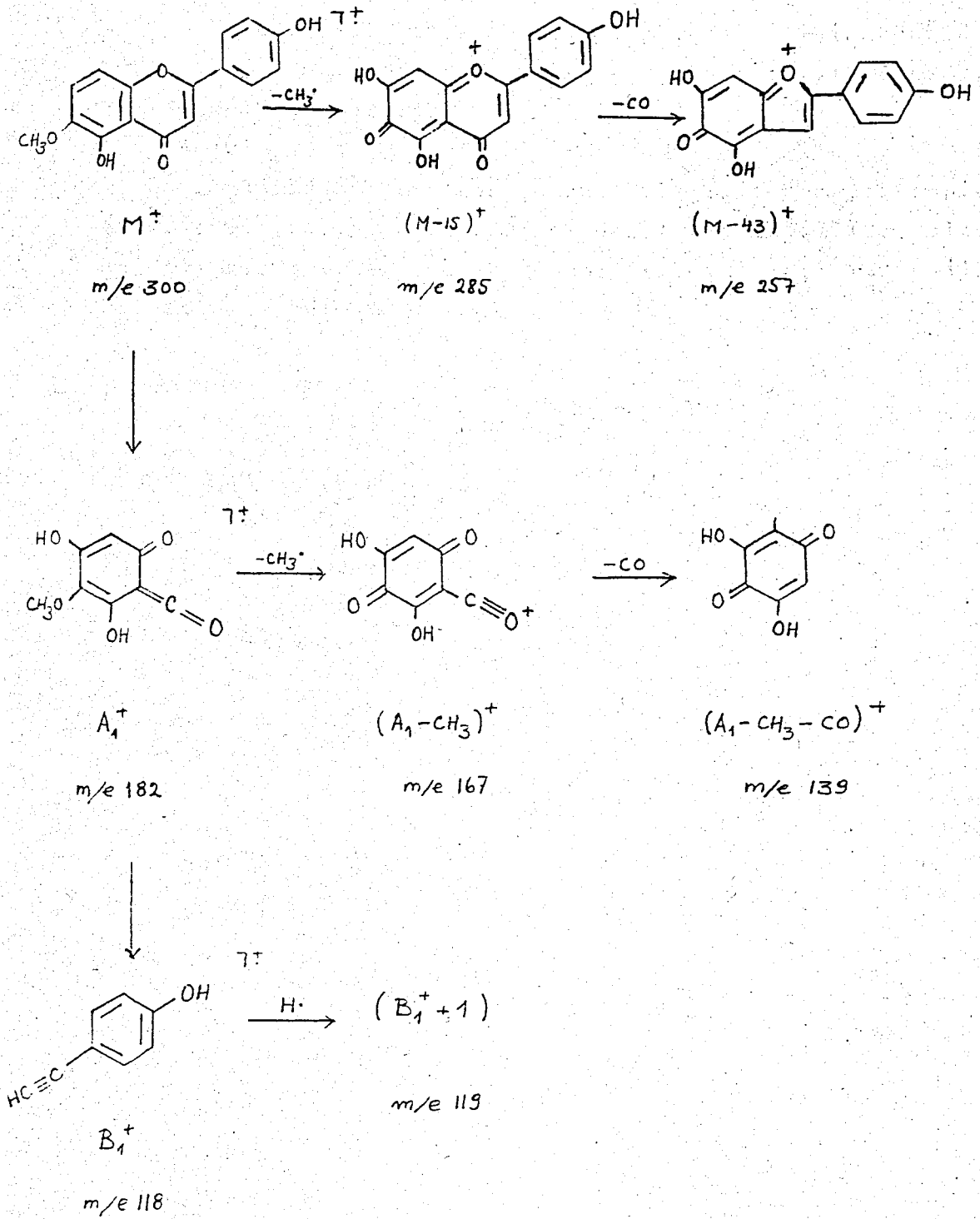
2.7.4. Kütle Spektrumu

Ana pik aynı zamanda moleküler iyon pikidir ve m/e 300 dedir. Spektrumdaki diğer belirgin pikler m/e 285 de $(M-CH_3)^+$ m/e 271 de $(M-CO)^+$, m/e 257 de $(M-CH_3-CO)^+$, m/e 167 de $(A_1^+ - CH_3)$, m/e 139 da $(A_1^+ - CH_3 - CO)$, m/e 119 da $(B_1^+ + 1)$ pikleridir (Şekil 18).



Şekil 18

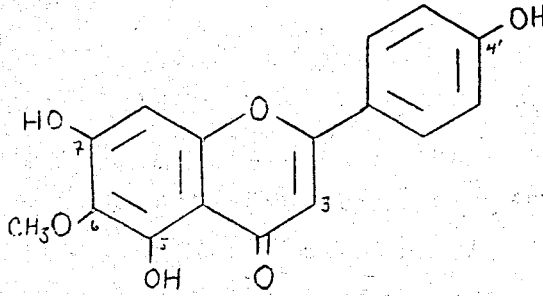
Bileşğin parçalanma yolu ve ürünleri Şekil 19'da gösterilmiştir.



ŞEKİL 19

Bileşik selüloz ince tabaka plakta değişik çözücü sistemlerinde 6-metoksiapigenin ile karşılaştırıldı. Aynı R_f değerleri olduğu görüldü.

Yukarıdaki bilgiler sonucu bileşiğin 6-metoksiapigenin (hispidulin; 4',5,7-trihidroksi-6-metoksiflavon)(13) olduğu kanıtlanmıştır. Bu bileşik Euphorbia bitki türlerinde ilk defa E.larica'da bulunmuştur.



13

SONUC

Bu çalışmada incelenen dört bitki türünden yedi değişik flavonoid bileşik elde edilmiştir. Bazı bileşiklerin birkaç bitkiden elde edilmiş olması ve bileşikler arasındaki benzerlikler, incelenen bitkiler arasındaki yakın akrabalığı yansıtmaktadır. Cetvel 1'de görüldüğü gibi Euphorbia bitki türlerinde birer flavonol olan kamferol ve kersetin türevleri hakimdir.

Flavonol türevleri dışında bir de flavon türevi, 6-metoksiapigenin elde edilmiştir. Bu bileşik Euphorbia bitki türlerinde ilk defa E.larica bitkisinde bulunmuştur. Metoksi flavonların bilinen antitümör etkileri(52,53) nedeniyle, bu çalışmanın kapsamı dışında kalmakla beraber, ileride bu bileşiğin ve E.larica bitki ekstresinin farmakolojik etkinliği saptanmalıdır.

3. DENEYSEL BÖLÜM

3.1. GENEL TEKNİKLER

3.1.1. Kromatografi

3.1.1.1. Sütun Kromatografisi

Adsorban olarak poliklar (Polyclar, polivinil pirolidin, General Aniline and Film Corp.) ve Sephadex LH-20 (Parçacık büyüklüğü 25-100 μ , Pharmacia Fine Chemicals Co.) kullanıldı.

Poliklar tozu Egger çözücü sisteminde (kloroform/etanol/aseton, 4:2:0.5(57)) 16 saat bekletildi. Şişmesi sağlandı. Sonra bu süspansiyon iyice çalkalanarak ucu musluklu bir cam sütuna aktarıldı. Devamlı çözücü eklenerek 16 saat akıtıldı. Adsorban yerleşti. Bitki ekstraları çözülüp ağırlıkları kadar poliklar tozu ile karıştırılarak tekrar kurutuldular. Toz haline getirilerek bu süspansiyonun üzerine yerleştirildiler.

Sütunlar önce Egger çözücü sistemi ile elüe edildiler. Gittikçe alkol miktarı arttırıldı. Sonra alkol, sulu alkol ve su sistemlerine geçildi.

Poliklar sütunlardan elde edilen fraksiyonlar Sephadex

LH-20 ile hazırlanan sütunlarda temizlendi. Toz Sephadex 16 saat metanolde bekletilerek şişmesi sağlandı. Çalkalanarak süspansiyon halinde 2 cm x 20 cm boyutlarında musluklu cam sütuna aktarıldı. Metanol ile 8 saat yıkanarak Sephadex yerleştirildi. Az miktarda metanolde çözölen fraksiyon bir pipet ile süspansiyonun üzerine tatbik edildi. Sütun metanol ile elüe edildi.

3.1.1.2. İnce Tabaka Kromatografisi

Flavonoidleri tanımlama amacıyla, selüloz ince tabaka plaklar (0.1 mm, Merck) ve cetvel 4.de belirtilen çözöcö sistemleri kullanıldı.

3.1.1.3. Kağıt Kromatografisi

Flavonoid glikozidlerin hidrolizinden sonra elde edilen şekerlerin tanınması amacıyla bu yöntem uygulandı. 30 cm x 50 cm boyutlarında kağıtlar (Schleicher und Schüll GMBH, 2043a) kullanıldı. İnen usulde çalışıldı. Standart şekerler ve çözöcö sistemleri cetvel 5 de gösterilmiştir.

3.1.2. UV Spektrumları*

UV spektrumları Varian Techtron 635 aygıtında alındılar. Bileşiklerin metanol çözeltileri ve aşağıda (3.1.5.) hazırlanışları anlatılan kayma belirteçleri kullanıldı.

3.1.3. NMR Spektrumları**

Kamferol 3-0-β-D-glukozid ve 6-metoksiapigenin spekt-

*UV spektrumları İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Faköltesi Genel Kimya Kürsü'sünde Prof.Dr.A .Ulubelen'in izni ile alınmıştır.

**NMR ve kütle spektrumları University of Texas at Austin, Department of Botany Laboratuvarlarında Prof.Dr.T.J.Mabry'nin izni ile alınmıştır.

rumları Varian 90 MHz aygıtında, Kamferol 3-0-rutinosid ve kersetin 3-D-diglukozid spektrumları Varian 200 MHz aygıtında alındı.

Bileşikler trimetilsilil eter türevleri halinde incelendiler. Bu türevlerin hazırlanış yöntemi aşağıda (3.2.3.1) anlatılmıştır. Her bir bileşik için kullanılan çözücü Bölüm 2 de belirtilmiştir. İç standart olarak tetrametilsilan kullanılmıştır.

3.1.4. Kütle Spektrumları

Bileşikler Du Pont 21-491 aygıtında incelendiler.

3.1.5. Belirteçler

3.1.5.1. NA Belirteci

(Naturstoffreagenz A, difenilborik asit β -aminoetil esteri)-2 mg belirteç 100 ml metanolde çözüldü.

3.1.5.2. Şeker Belirteci

(Anilin ftalat)-1.66 g ftalanhidrit ve 0.93 g taze distillenmiş anilin, butanol (su ile doyurulmuş) ile 100 ml ye tamamlandı.

3.1.5.3. UV Spektrumu Kayma Belirteçleri

Sodyum metoksid belirteci - 2,5 g metalik sodyum temizlendi. Küçük parçacıklar halinde 100 ml saf metanole ilave edildi.

Alüminyum klorür belirteci - 5 g susuz alüminyum (III) klorür 100 ml saf metanolde çözülerek hazırlandı.

Hidroklorik asit çözeltisi - 50 ml saf derişik HCl, 100 ml distile su ile karıştırıldı.

Sodyum asetat belirteci - Birkaç miligram toz halinde susuz, saf sodyum asetat flavonoidin metanol çözeltisine ilave edildi.

Borik asit belirteci - Birkaç miligram susuz, saf borik asit sodyum asetatlı çözeltiye eklendi.

3.2. YAPILAN İŞLEMLER

3.2.1. Bitki Ekstrelerinin Hazırlanması

Bitkiler İran'da toplandılar. E.larica Boiss, Tahran'ın 1500 km güneyinde Bandar Abbas mevkiinden, 1976 yılı Mart ayında; E.Virgata W.K., Tahran'ın 40 km doğusunda Abalı mevkiinden, 1977 yılı Temmuz ayında; E.chamaesyce L., Tahran'ın 70 km doğusunda Garmsar mevkiinden, 1977 yılı haziran ayında; E.magalantha Amol mevkiinden, 1977 yılı Mayıs ayında toplandılar. Tahran Üniversitesi Eczacılık Fakültesinde Prof.Dr. Yagoup Aynehchi tarafından teşhis edildiler.

Oda ısısında kurutulan bitkiler kaba toz haline getirildi. E.larica (1.2 kg toz), E.virgata (0.8 kg toz), E.chamaesyce (1.9 kg toz) ve E.magalantha (1.8 kg toz) ayrı ayrı, Soxhlet cihazında petrol eteri (30-60°C) ile 72 şer saat tüketildiler. Petrol etere geçen klorofil ve yağlı bileşikler ayrıldıktan sonra, geriye kalan kısımlar 72 şer saat etanol ile tüketildiler. Etanol ekstreleri düşük basınçta yoğunlaştırıldılar. E.larica'dan 98 g, E.virgata'dan 57 g, E.Chamaesyce'den 51 g., E.magalantha'dan 102 g. alkol ekstresi elde edildi. Bu ekstreler ayırma hunisinde, kloroform/su (1:1) sisteminde çalkalandılar. Sulu kısımlar ayrıldı ve bu sefer etil asetat ile çalkalandılar. Etil asetat ekstreleri düşük basınç-

ta uęuruldu. 7 g E.larica, 5 g E.virga a, 3.1 g. E.chamaesyce, 10 g. E.magalantha ekstresi elde edildi.

3.2.2. Ekstrelerin Kromatografik Analizleri

3.2.2.1. E.larica Ekstresi

7 g ekstre az miktarda etanolde ęözöldü. 7 g poliklar tozu ile karıştırıldı, kurutuldu, toz haline getirildi. 3 cm x 50 cm boyutlarında, musluklu bir cam sütunda Polyclar/Egger ęözeltisi süspansiyonunun üzerine dikkatle yerleştirildi.

3.2.2.2. E.virgata Ekstresi

5 g ekstre az miktarda etanolde ęözöldü. 5 g poliklar tozu ile karıştırıldı, kurutuldu, toz haline getirildi. 3 cm x 50 cm boyutlarında, musluklu bir cam sütunda poliklar/Egger ęözeltisi süspansiyonunun üzerine dikkatle yerleştirildi.

3.2.2.3. E.chamaesyce Ekstresi

3 g ekstre az etanolde ęözöldü. Aynı miktarda poliklar tozu ile karıştırıldı, kurutuldu, toz haline getirildi. Yine 3 cm x 50 cm boyutlarında musluklu bir cam sütuna, poliklar/Egger ęözeltisi süspansiyonunun üzerine dikkatle yerleştirildi.

3.2.2.4. E.magalantha Ekstresi

10 g ekstre az etanolde ęözöldü. Aynı miktarda poliklar tozu ile karıştırılarak kurutuldu, toz haline getirildi. 3 cm x 50 cm boyutlarında musluklu bir cam sütuna, poliklar/Egger ęözeltisi süspansiyonunun üzerine dikkatle yerleştirildi.

Yukarda hazırlanma yöntemleri anlatılan dört sütun, 50 şer ml lik fraksiyonlar toplanarak elüe edildi. Her fraksiyonunun çözücüsü uçuruldu. İnce tabaka plakta fraksiyonlar karşılaştırılarak benzer bileşikler içerenler birleştirildiler. Bileşiklerden hiçbirisi poliklar sütundan saf halde elde edilmedi. Bu nedenle bileşik içeren her fraksiyon, tekrar tekrar 2 cm x 25 cm boyutlarında Sefadex LH-20 sütuna tatbik edildi. Bileşikler bu yöntemle saf halde elde edildiler.

3.2.3. Uygulanan Kimyasal Reaksiyonlar

3.2.3.1. Trimetilsilil Eterlerinin Hazırlanması

Flavonoid bileşiklerin NMR spektrumlarını alabilmek için NMR da kullanılan çözücülerde çözünür olmaları gerekir. Bu nedenle trimetilsilil eterleri hazırlandı.

20 mg bileşik 1 ml susuz piridinde çözülerek, üzerine 0,5 ml trimetilklorasilan ile 0.5 ml heksametildisilazan ilave edildi. Oda ısısında yarım saat bekletildi. Çözücü ve reaktiflerin fazlası düşük basınçta, oda ısısında kuruluğa kadar uçuruldu. Kalan kısım karbon tetraklorürde çözüldü. Küçük bir selit sütundan geçirilerek temizlendi.

3.2.3.2. Asit Hidroliz

NMR spektrumları veya renk reaksiyonlarından glikozid oldukları düşünülen bileşikler hidrolizlendi.

Hidrolizleme reaksiyonu için en az 2 mg bileşik 5 ml etanolde çözüldü. 10 ml 0.1 N trifloroasetik asit ile karıştırıldı. Geri çeviren soğutucu altında üç saat ısıtıldı. Düşük basınçta etanol uçuruldu. Geriye kalan sulu asitli kısım etilasetat ile ekstre edilerek aglikon ayrıldı. İnce tabaka kromatografisi yöntemi ile standart örneklerle karşılaştırıldı.

Sulu kısım kaynatılarak asitten kurtarıldı. Şekeri kağıt kromatografisi yöntemi ile standart örneklerle karşılaştırılarak saptandı (Cetvel 5).

3.3. ELDE EDİLEN BİLEŞİKLERİN FİZİKSEL VE SPEKTRAL ÖZELLİKLERİ

KAMFEROL 3-0-β-D-GLUKOZİD

R_f Cetvel 4

UV Spektrumu (Şekil 6), λ, nm: CH₃OH, 350, 292, 266;

CH₃ONa, 398, 324, 274; CH₃CO₂Na, 350, 320, 303, 267; CH₃CO₂Na/H₃BO₃, 350, 300, 270; AlCl₃, 390, 351, 303, 274; AlCl₃/HCl, 390, 348, 301, 274.

NMR Spektrumu (Şekil 7), (CCl₄, TMS, ppm): 3.00-3.60 (6H, m, şeker); 5.50 (1H, d, J = 6.0 Hz, şeker (H-1'')); 5.85 (1H, d, J = 2,5 Hz, H-6); 6.15 (1 H, d, J = 2.5 Hz, H-8); 6.6 (2H, d, J = 8.5 Hz, H-3', 5'); 7.6 (2 H, d, J=8.5 Hz, H-2', 6') çözücünden ileri gelen kirlilikler, 6.8(t), 7.3(t), 8.3(m).

Kütle Spektrumu (Şekil 8): m/e 286(100), 258(20), 153 (18), 121(19).

Hidroliz Sonucu: Asit hidroliz sonucu kamferol ve glukoz elde edildi. Aglikonun R_f değerleri Cetvel 4 ve Şekerin R_f değerleri Cetvel 5 de gösterilmiştir.

KAMFEROL 3-0-RUTİNOSİD

R_f Cetvel 4

UV Spektrumu (Şekil 9), λ, nm: CH₃OH, 350, 300 (omuz), 266; CH₃ONa, 400, 324, 275; CH₃CO₂Na, 386, 310, 275; CH₃CO₂Na/H₃BO₃, 350, 300 (omuz), 267; AlCl₃, 390, 350, 303, 275; AlCl₃/HCl, 392, 346, 300, 274.

NMR Spektrumu (Şekil 10); (CD_3OD , TMS, ppm): 1.10 (3H, d, $J=5\text{Hz}$, OCH_3) 3.00-3.90 (m, şeker protonları), 4.50 (1H, d, $J=\sim 2\text{Hz}$, Şeker H-1'''), 5.65 (Şeker H-1''), 6.20 (1H, d, $J=2.5\text{Hz}$, H-6), 6.40 (1H, d, $J=2.5\text{Hz}$, H-8), 6.90 (2H, d, $J=8.5\text{Hz}$, H-3', 5'), 8.05 (2H, d, $J=8.5\text{Hz}$, H-2', 6'). Çözücü pikleri, 3.30 (CH_3OH); 4.90 (CH_3OH).

Hidroliz sonucu- Asit hidroliz sonucu kamferol, glukoz ve ramnoz elde edildi. Aglikonun R_f değerleri cetvel 4 ve şekerlerin R_f değerleri cetvel 5 de gösterilmiştir.

KAMFEROL 3-O-DİGLUKOZİD

R_f : Cetvel 4

UV Spektrumu (Şekil 6)- Kamferol 3-O- β -D-glukozid spektrumu ile aynı.

Hidroliz Sonucu- Asit hidroliz sonucu kamferol ve glukoz elde edildi. Aglikonun R_f değerleri cetvel 4, şekerin R_f değerleri Cetvel 5 de gösterilmiştir.

KAMFEROL

R_f : Cetvel 4

UV Spektrumu (Şekil 11) λ_{nm} : CH_3OH , 365, 322, 295 (omuz), 266; CH_3ONa , 396, 312, 276; $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{Na}$, 373, 310, 270; $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{Na}/\text{H}_3\text{BO}_3$, 366, 322, 298 (omuz), 267; AlCl_3 , 398, 351, 304, 274; AlCl_3/HCl , 398, 350, 303, 274.

KERSETİN 3-0-DİGLUKOZİD

R_f : Cetvel 4

UV spektrumu (Şekil 12); λ ,nm: CH_3OH , 355, 295, 262 (omuz), 255; CH_3ONa , 411, 327, 270; $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{Na}$, 411, 267; $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{Na}/\text{H}_3\text{BO}_3$, 385, 300, 257; AlCl_3 , 432, 347, 300, 275; AlCl_3/HCl , 400, 362, 296, 273 (omuz), 267.

NMR Spektrumu (Şekil 13); (CDCl_3 , TMS, ppm): 3.10-3.90 (m, şeker); 4.70 (1H, şeker H-1''); 5.72 (1H, d, $J=6$ Hz, şeker H-1''); 6.27 (1H, d, $J=2.5$ Hz, H-6); 6.35 (1H, d, $J=2.5$ Hz, H-8); 6.90 (1H, d, $J=8.4$, H-5'), 7.55 (2H, d, $J=8.4$ Hz, H-6'2'). Çözücü piki 7.40 (s).

Kütle spektrumu (Şekil 14); m/e 302 (20), 153 (5), 137 (5), 44 (100), 18 (90).

Hidroliz Sonucu- Asit hidroliz sonucu kersetin ve glüköz elde edildi. AGlikonun R_f değerleri cetvel 4 ve şekerin R_f değerleri cetvel 5'de gösterilmiştir.

KERSETİN 3- β -0-GLUKOZİD

R_f : Cetvel 4

UV spektrumu (Şekil 15) λ ,nm: CH_3OH , 357, 298 (omuz), 262 (omuz) 256; CH_3ONa , 406, 325, 273; $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{Na}$, 375, 324 (omuz), 303 (omuz), 269; $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{Na}/\text{H}_3\text{BO}_3$, 375, 298, 262; AlCl_3 , 430, 340 (omuz), 303 (omuz), 275; AlCl_3/HCl , 402, 365, 300, 270.

6-METOKSİAPIĞENİN

R_f : Cetvel 4

UV spektrumu (Şekil 16) λ , nm: CH_3OH , 335, 274; CH_3ONa , 383, 325, 274; $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{Na}$, 378, 310 (omuz), 274; $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{Na}/\text{H}_3\text{BO}_3$, 335, 274; AlCl_3 , 360, 305, 282; AlCl_3/HCl , 350, 305, 283 (omuz).

NMR Spektrumu (Şekil 17); (CCl_4 , TMS, ppm): 3.70 (3H, s, OCH_3), 6.30 (1H, s, H-3), 6.55 (1H, s, H-8), 6.90 (2H, d, $J=7.5$ Hz, H-3', 5') 7.71 (2H, d, $J=7.5$ Hz, H-2', 6').

Kütle Spektrumu (Şekil 18): m/e 300 (M^+) (100), 285 (80), 271 (18), 257 (70), 167 (20), 139 (28), 119 (26).

CETVEL 4- Flavonoid Bileşiklerin Selüloz İnce Tabaka Plakta, Değişik Çözücü Sistemlerinde R_f Değerleri

Bileşik	ÇÖZÜCÜ SİSTEMİ		
	% 15 CH_3COOH R_f	% 40 CH_3COOH R_f	% 60 CH_3COOH R_f
Kamferol 3-diglukozid	0.60	0.90	-
Kamferol 3-glukozid	0.32	0.57	0.74
Kamferol 3-rutinosid	-	0.72	-
Kamferol	-	0.25	0.74
Kersetin 3-diglukozid	0.52	-	-
Kersetin 3-glukozid	0.34	0.61	-
Kersetin	-	0.21	0.34
6-Metoksiapigenin	0.10	0.52	0.89

CETVEL 5- Şekerlerin Kağıt Kromatografisindeki R_f Değerleri

Şeker	Glukoz	Mannoz	Fruktoz	Galaktoz	Ksiloz	Ramnoz
n-Butanol/Asetik Asid/Su 4 : 1 : 5 Üst faz	0.19	0.25	0.27	0.17	0.31	0.48
n-Butanol/Piridin/Su 4 : 6 : 3	0.21	0.24	0.27	0.17	0.34	0.49

Ö Z E T

Dünya üzerinde çok yaygın olan *Euphorbia* bitki türleri aynı zamanda zengin birer flavonoid kaynağıdır. Bu türleri kapsayan kimyasal araştırmaların yetersizliği gözönüne alınarak, bu çalışmada, şimdiye kadar kimyasal bakımdan incelenmemiş olan dört *Euphorbia* türünün flavonoidleri incelendi.

Kuru toz halindeki her bir bitkinin yoğunlaştırılmış organik ekstresi sütun kromatografisi yöntemi ile önce kabaca fraksiyonlandırıldı. Her bir fraksiyon, flavonoidleri tek tek elde edilinceye kadar, daha ufak sütunlara defalarca tatbik edildi. *E.larica* bitkisinden dört, *E.virgata* bitkisinden üç, *E.chamaesyce* bitkisinden üç ve *E.magalantha* bitkisinden üç flavonoid elde edildi. Elde edilen bileşiklerin yapıları spektrel yöntemler ile aydınlatıldı ve standart örnekler ile karşılaştırılarak kanıtlandı.

Elde edilen bileşikler, her bir bitkide bulunan kamferol 3-O- β -D-glukozid (7), *E.larica* ve *E.chamaesyce*'de bulunan kamferol 3-O-rutinosid (8), *E.larica*'da bulunan kamferol 3-O- β -diglukozid (9), *E.virgata* ve *E.magalantha*'da bulunan kamferol (10), *E.virgata*'da bulunan kersetin 3-O-diglukozid (11), *E.chamaesyce* ve *E.magalantha*'da bulunan kersetin 3-O- β -D-glukozid (12) ve *E.larica*'da bulunan 6-metoksiapigenin (13) dir.

6-Metoksiapigenin *Euphorbia* türlerinde ilk defa bulunmuştur. Bu bitkilerin farmakolojik özellikleri çalışmanın kapsamı içinde olmamakla beraber, metoksiflavonların bilinen antitümör etkileri nedeniyle ilerde *E.larica* bitkisinin farmakolojik etkinliği sınanmalıdır.

S U M M A R Y

Euphorbia is a widespread plant species rich in flavonoids. Considering the insufficient chemical research covering these plants, the flavonoids of four Euphorbia species which have not been analyzed before, were analyzed in this work.

The concentrated organic extract of each dried and powdered plant was fractionated by column chromatography. The fractions were rechromatographed over and over again until each flavonoid was isolated in pure form. *E.larica* yielded four, *E.virgata* three, *E.chamaesyce* three and *E.magalantha* four flavonoids. The structures of the isolated compounds were determined by spectroscopic methods and by comparison with standart samples.

Kaempferol 3-O- β -D-glucoside (7) was isolated from each one of the plants. *E.larica* and *E.chamaesyce* yielded kaempferol 3-O-rutinoside (8), *E.larica* yielded kaempferol 3-O-diglucoside (9), *E.virgata* and *E.magalantha* yielded kaempferol (10), *E.virgata* yielded quercetin 3-O-diglucoside (11), *E.chamaesyce* and *E.magalantha* yielded quercetin 3-O- β -D-glucoside and *E.larica* yielded 6-methoxyapigenin.

6-Methoxyapigenin was found for the first time in *Euphorbia* species. Even though the pharmacological properties of these plants are outside the scope of this work, because of the known antitumor activities of methoxyflavones, the pharmacological activity of *E. larica* should be determined in the future.

KAYNAKLAR

- 1- Baytop, A., "Farmasötik Botanik", s.175, İstanbul Üniversitesi Yayınları (1967).
- 2- Janistyn, B., Nahrstedt, A. ve Pohl, R., *Planta Med.*, 25, 98 (1974).
- 3- Kallimanis, G. ve Philianos, S., *Plant. Med. Phytother.*, 14, 233 (1980). Ref.-C.A., 95, 21289c (1981).
- 4- Roshchin, Yu. V., Shinkarenko, A. L. ve Oganessian, E. T., *Khim. Prir. Soedin.*, 6, 472 (1970). Ref.-C.A., 74, 1047k (1971).
- 5- Stadtmann, H. ve Pohl, R., *Naturwissenschaften*, 53, 362 (1966). Ref.-C.A., 65, 12560d (1966).
- 6- Roshchin, Yu. V., *Vopr. Farm. Dal'nem Vostoke*, 1, 132 (1973). Ref.-C.A., 83, 40157b (1975).
- 7- Pal, S. K. ve Dutta, S. P., *J. Indian Chem Soc.*, 46, 1066 (1969). Ref.-C.A., 72, 55824p (1970).
- 8- Pohl, R., Janistyn, B. ve Nahrstedt, A., *Planta Med.*, 27, 301 (1975).

- 9- He, Xian-Guo, Jiang, Fu-Xiang, Zhou, Qian-Ru, Chih Wu Hsueh Pao, 20, 76(1978). C.A., 89, 135727a (1978).
- 10- Dumkow, K. ve Pohl, R., Planta Med., 24, 145(1973).
- 11- İsmail, S.I., El-Missiry, M.M., Hammouda, F.M. ve Rizk, A.M., Pharmazie, 32, 538(1977). Ref.-C.A., 87, 197350 q, 1977.
- 12- Kawase, A. ve Kutani, N., Agr.Biol.Chem. (Tokyo), 32, 121(1968). Ref.-C.A., 69, 10677g (1968).
- 13- Chen, Yan, Tang, Zong-Jian, Jiang, Fu-Xiang, Zhang, Xian-Xing ve Lao, Ai-Na, Yao Hshueh Hsueh Pao, 14, 91(1979), Ref.-C.A., 92, 72680u(1980).
- 14- Abdel-Salam, N.A., El-Sayed, M.A. ve Khafagy, S.M., Pharmazie, 30, 402 (1975). Ref.-C.A., 83, 128717v(1975).
- 15- Rizk, A.M., Rimpler, H. ve İsmail, S.Z., Fitoterapia, 48, 99 (1977). Ref.-C.A., 88, 19018a(1978).
- 16- Soboleva, V.A. ve Chagovets, R.K., Khim.Prir.Soedin., 7, 528 (1971). Ref.-C.A., 75, 148502j(1971).
- 17- Aynehchi, Y., Mirgoli, J., Negad, F.S. ve Ulubelen, A., Q.J. Crude Drug Res., 16, 163(1978). Ref.-C.A., 90, 118082q (1978).
- 18- Dumkow, K., Z.Naturforsch.B., 24, 358 (1969). Ref.-C.A., 70, 112423s(1969).
- 19- Burzanska, Z., Acta Pol.Pharm., 32, 703(1975). Ref.-C.A., 85, 189224v(1976).

- 20- Shang, Tian-Min, Wang, Lin, Liang, Hsiao-Tien, Lin, Xiu-Ying, Xiao, Jin-Ming ve Niu, Shou-Lian, Hua Hsueh Hsueh Pao, 37, 119 (1979). Ref.-C.A., 92, 3184y(1980).
- 21- Roschin, Yu.V., Khim.Prir.Soedin., 6, 280 (1970). Ref.-C.A., 73, 73831p(1970).
- 22- Janistyn, B., Nahrstedt, A. ve Pohl, R., Planta Med., 25 98(1974). Ref.-C.A., 81, 35530x(1974).
- 23- Roshchin, Yu.V., Usp.Izuch.Lek.Rast.Sib., Mater.Mezhvuz. Nauch.Konf. 41(1973). Ref.-C.A., 81, 166332g(1974).
- 24- Sotnikova, O.M., Chagovets, R.K. ve Litvinenko, V.I., Farm. Zh.(Kiev), 22, 86(1967). Ref.-C.A., 68, 59546q(1968).
- 25- Bandarenko, O.M., Chagovets, R.K., Litvinenko, V.I., Obol-entseva, G.V., Sila, V.I. ve Kigel, T.B., Farm.Zh.(Kiev), 26, 46(1971). Ref.-C.A., 76, 121697k(1972).
- 26- Rizk, A.M., Youssef, A.M., Diab, M.A. ve Salem, H.M., Pharmazie, 31, 405(1976). Ref.-C.A., 85, 119579r(1976).
- 27- Rizk, A.M., Ahmed, S.S. ve Diab, M.A., Planta Med., 36, 189 (1979).
- 28- Rizk, A.M., Hammouda, F.M., El-Nasr, M.M.Seif ve Abou-Youssef, A.A., Fitoterapia, 51, 223(1980). Ref.-C.A., 95, 76860n (1981).
- 29- Hallett, F.P. ve Parks, L.M., J.Am.Pharm.Assoc., 40, 56(1951). Ref.-C.A., 45, 3562g(1951).
- 30- Blanc, P., De Sagui-Sannes, G., Plant.Med.Phytother., 6, 106(1972). Ref.-C.A., 77, 98756p(1972).

- 31- Nahrstedt, A., Dumkow, K., Janistyn, B. ve Pohl, R., Tetra-
hedin Lett., 7, 559(1974).
- 32- Constantinescu, E. ve Samborschi, E., Riv. Ital, Essenze,
Profumi, Piante Off., Aromi, Saponi, Cosmet., Aerosol 57,
613(1975). Ref.-C.A., 84, 102366a (1976).
- 33- Roshchin, Yu. V. ve Kutenkikh, I. G., Khim. Prir. Soedin., 4,
521 (1974). Ref.-C.A., 82, 28592m (1975).
- 34- Pohl, R., Janistyn, B., Planta Med, 26, 190(1974).
- 35- Soboleva, V. A., Khim. Prir. Soedin, 6, 855 (1979). Ref.-
C.A., 93, 3899f(1980).
- 36- Sotnikova, O. M. ve Chagovets, R. K., Farm. Zh. (Kiev), 23, 60
(1968). Ref.-C.A., 68, 93487f(1968).
- 37- Sotnikova, O. M., Chagovets, R. K. ve Litvinenko, V. I., Khim.
Prir. Soedin., 4, 82(1968). Ref.-C.A., 69, 41743n(1968).
- 38- Sotnikova, O. M. ve Litvinenko, V. I. Khim. Prir. Soedin., 4,
50(1968). Ref.-C.A., 69, 8877m(1968).
- 39- Aynehchi, Y. ve Ulubelen, A., İstanbul Üniv. Eczacılık Fak.
Mecm., 10, 17(1974).
- 40- Geissman, T. A. ve Crout, D. H. G., "Organic Chemistry of
Secondary Plant Metabolism", s. 16., Freeman, Cooper and
Co., California (1969).
- 41- Harborne, J. B., Mabry, T. J. ve Mabry, H., "The Flavonoids",
Academic Press, New York, San Francisco (1975).

- 42- Deverall, B.J., Proc. R. Soc. London B. 181, 233(1972). Ref.-C.A., 77, 31665q(1972).
- 43- Challice, J.S. ve Westwood, M.N., Phytochemistry, 11, 37 (1972).
- 44- Barnes, E.H. ve Williams, E.B., Can. J. Microbiol. 7, 525 (1961). Ref.-C.A., 56, 6462h(1962).
- 45- Hergert, H.L., "The Chemistry of Flavonoid Compounds", Geissman, T.A., ed., s.553, Mac Millan Co., N.Y.(1962).
- 46- Ben Aziz, R., Chorin, M., Monselise, S.P., Reichert, I., Science, 135, 1066 (1962).
- 47- Ben Aziz, A., Science, 155, 1026(1967).
- 48- Freedman, L., Merritt, A.J., Science, 139, 344(1963).
- 49- Benko, S., Gabor, M., Varkonyi, T., Antal, A. ve Foldi, M., Physiol. Chem. Phys. 2, 110(1970). Ref.-C.A., 73, 63787g(1970).
- 50- Mabry, T.J., Ulubelen, A., J. Agric. Food Chem. 28(2), 188 (1980).
- 51- Lau-Cam, C.A., Chan, H.H., Phytochemistry, 12, 1829 (1973).
- 52- Kupchan, S.M., Sigel, C.W., Knox, J.P. ve Udayamurthy, M.S., J. Org. Chem. 34, 1460(1969).
- 53- Kupchan, S.M., Bauerschmidt, E., Phytochemistry 10, 664 (1971).

- 54- Horowitz, R.M., Gentili, B., J. Agric. Food. Chem., 17, 696 (1969) Ref.-C.A., 70, 87315y(1969).
- 55- Mabry, T.J., Markham, K.R. ve Thomas, M.B., "The Systematic Identification of Flavonoids", s.13, Springer-Verlag, Berlin(1970).
- 56- Mears, J.A. ve Mabry, T.J., Phytochemistry, 11, 411 (1972).
- 57- Valesi, A.G., Rodriguez, E., Vander Velde, G. ve Mabry, T.J., Phytochemistry, 11, 2821 (1972).