

TEZİMDEN KAYNAK GÖSTERİLMEK
ŞARTIYLA FOTOKOPİ ÇEKİLMESİNE
İZİN VERİYORUM.

ADI, SOYADI : CİNAN KALBONA

TARİH : 17 - 06 - 2004

İMZA : Cınan K.

Marmara Üniversitesi Kütüphane ve
Dokümantasyon Daire Başkanlığı



T10714



T0050417

615.321

K14

2004

T.C.

MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GALİUM RIVALE (S.M) GRISEB.
BİTKİSİ ÜZERİNDE FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR

Ecz. CİNAN KALBONA
YÜKSEK LİSANS TEZİ

FARMAKOGNOZİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof. Dr. ELÇİN GÜRKAN

İSTANBUL 2004

TEŞEKKÜR

Bu çalışmayı bana yapma olanağı sağladığı ve yürütülmesinde desteğini esirgemediği için Hocam Sayın Prof.Dr. Elçin Gürkan'a sonsuz teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Bitkimin teşhisini yapan ve Botanik kısımlarının yazılmasında yardımlarını esirgemeyen Hocam Sayın Prof.Dr. Ertan Tuzlaci'ya ve özellikle çalışmalarında, laboratuvarında bana yardımlarından ve yakın ilgilerinden dolayı Bölüm arkadaşlarıma sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

Teşekkür.....	I
İçindekiler	II
1. ÖZET.....	1
2. SUMMARY.....	2
3. GİRİŞ VE AMAÇ.....	3
4. GENEL BİLGİLER.....	4
4.1. Rubiaceae familyası	4
4.2. <i>Galium</i> cinsi.....	5
4.3. <i>Galium rivale</i> (Sm.) Griseb.....	6
4.4. <i>Galium</i> türlerinin farmakolojik etkileri ve halk arasındaki kullanımı....	7
4.5. <i>Galium</i> türlerinden elde edilen bileşikler.....	9
4.6. Flavonoidal bileşikler.....	15
4.6.1. Flavonoidal bileşiklerin elde edilmeleri, saflaştırma yöntemleri ve renk reaksiyonları.....	17
4.6.2. Flavonoidal bileşiklerin iskelet yapıları.....	18
4.6.3. Flavonoidal bileşiklerin yapı tayininde kullanılan spektral yöntemler.....	19
4.7. Antrasen türevi bileşikler.....	20
4.7.1. Antrasen türevi bileşiklerin elde edilmeleri, saflaştırma yöntemleri ve reaksiyonları.....	21
4.7.2. Antrasen türevi bileşiklerin yapıları.....	22
4.8. Kumarin tipi bileşikler.....	23
4.8.1. Kumarin tipi bileşiklerin elde edilmeleri, saflaştırma yöntemleri ve reaksiyonları	24
4.8.2. Kumarin tipi bileşiklerin yapıları.....	25
5. GEREÇ VE YÖNTEM.....	26
5.1. Materyal.....	26
5.2. Fitokimyasal ön denemeler.....	26
5.3. Miktar tayini yöntemleri.....	28
5.4. Biyolojik Aktivite Tayini (Brine shrimp (<i>Artemia salina</i>) metodu).....	29
5.5. Etken Maddeleri İçeren Ekstrenin Elde Edilmesi	30
5.6. Kromatografik yöntemler.....	31

5.7. Belirteçler	32
5.8. Spektroskopik yöntemler.....	33
6. BULGULAR.....	34
6.1. Fitokimyasal ön deneme sonuçları.....	34
6.2. Miktar tayini sonuçları.....	35
6.3. Biyolojik Aktivite Tayini Sonuçları.....	35
6.4. Etkin Bileşiklerin Elde Edilmesi ve Değerlendirilmesi.....	36
6.5. Elde edilen bileşikler.....	40
Gr1 bileşiği: Skopoletin	40
Gr2 bileşiği: Apigenin.....	43
Gr3 bileşiği: Kersetin.....	46
Gr4 bileşiği: Aloe-emodin.....	49
7. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	52
8. KAYNAKLAR.....	54
9. ÖZGEÇMİŞ.....	57

1. ÖZET

Bu çalışmada dünya üzerinde 606 cins, ülkemizde ise 10 cins ve yaklaşık 100 tür ile temsil edilen Rubiaceae familyasından *Galium rivale* (Sm.) Griseb. (12) bitkisinin flavonoidal bileşiklerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

G.rivale bitkisi Eylül 2002 yılında Sapanca gölü çevresi, Kurtköy civarından toplandı. Bitkinin kurutulup çok küçük parçalara ayrılmış toprak üstü kısımları metanol ile perkole edildi. Yoğunlaştırılan ekstreler ince tabaka kromatografisiyle kontrol edildi.

Ekstre silikajel ile hazırlanmış sütuna yerleştirildikten sonra elüsyona petrol eteri ile başlandı. Gittikçe artan oranlarda kloroform ve son olarak da metanole geçildi.

Yoğunlaştırılan fraksiyonlar ince tabaka kromatografisi ile kontrol edildikten sonra benzer olanlar birleştirildi. Uygun madde taşıdığı düşünülen fraksiyonları kirlilikten arındırmak ve saflaştırmak amacıyla preparatif ince tabaka kromatografisi kullanıldı.

Elde edilen bileşiklerin yapısı ultraviyole (UV), infrared (IR) spektrumları ve şahit maddelerle yapılan kromatografik karşılaştırmalar ile saptandı. Flavonoidal bileşiklerin yapısını aydınlatmak için ise metanol va kayma belirteçleriyle alınan ultraviyole spektrumları ile ince tabaka kromatografisinde şahit maddelerle yapılan karşılaştırmalardan yararlandı.

Bitkiden elde edilen metanol ekstresine Brine Shrimp (*Artemia salina*) metodu uygulandı. Bu uygulama sonucunda standart umbelliferona karşı ekstrenin aktif olduğu görüldü. Bitkiden kumarin yapısında skopoletin (Gr1), Flavonoit yapıda apigenin (Gr2) ve kersetin (Gr3), antrasen yapısında aloe-emodin (Gr4) olmak üzere toplam 4 bileşik izole edilmiştir.

2. SUMMARY

PHARMACOGNOSIC RESEARCHES ON GALIUM RIVALE (SM.) GRISEB.

In this study, the flavonoidal compounds of *Galium rivale* (Sm.) Griseb. fam: Rubiaceae have been investigated. This family has 606 genera in the world and is represented with 10 genera and more than 100 species in our country.

The plant has been collected from Kurtköy, near Sapanca lake, in September 2002.

The air-dried aerial parts of the plant have been cut into small pieces and have been percolated with methanol. The concentrated extracts have been examined with thin layer chromatography. The extract has been applied to the column, prepared with silica gel and the column was first eluted with petroleum ether. The elution was continued with chloroform and methanol in increasing amounts.

The concentrated fractions were controlled with thin layer chromatography and similar ones were combined.

Preparative thin layer chromatography was used for the purification of the fractions.

The structures of the compounds were identified by ultraviolet and infrared spectra and authentic samples. The identification of the flavonoidal structures were done with the UV spectrums taken with methanol and the shift reagents and comparisons with authentic samples.

The Brine Shrimp (*Artemia salina*) method was applied to the main extract and flavonoidal compounds were found active against umbelliferone. Scopoletin (Gr1), apigenin (Gr2), quercetin (Gr3), aloe-emodin (Gr4) have been isolated from the plant.

3. GİRİŞ VE AMAÇ

Akdeniz iklimine sahip bölgelerde *Galium* türlerine sıklıkla rastlanmaktadır. Ülkemizde yetişen birçok türü "Yoğurtotu", "Çobansüzeği", "Sünnetliceotu", "Haçotu", "Sarı yoğurtotu", gibi isimlerle tanınmakta ve halk arasında iştah açıcı, idrar ve safra arttırıcı, kabız, yatıştırıcı amaçlarla kullanılmaktadır (2).

Türler Avrupa'da astrenjan, diyaforetik, yara iyi edici olarak kullanılır (32). Çin'de ise tonik etkisi nedeniyle karaciğer tümörlerinde ve lösemide kullanılmaktadır. Ayrıca deri ve meme kanserlerinde, ödemde, epilepside, ganglionik tümörlerde, böbrek taşlarında, hipertansiyonda ve histeride kullanımı da görülmektedir (14).

Galium türleri üzerinde günümüze kadar gerçekleştirilmiş fitokimyasal araştırmalar bitkinin genellikle topraküstü kısımlarını kapsamaktadır (2). Cinsten elde edilen bileşikler çoğunlukla iridoit, flavonoit ve saponozit yapısındadır. Daha az olarak da antrakinin, kumarin, pigmentler ve asitlere rastlanmaktadır.

Bu çalışmada Ülkemizin Batı ve Orta kesimlerinde sıklıkla yetişen ve üzerlerinde çalışma metodumuz doğrultusunda herhangi bir fitokimyasal araştırmaya rastlamadığımız *G.rivale* bitkisinin başlıca flavonoidal bileşiklerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Bitkiye ait ekstrenin elde edilmesi, Brine Shrimp (*Artemia salina*) metoduyla sahip olabileceği potansiyel sitotoksik aktivitesinin kontrol edilmesi, ekstreten saf bileşiklerin izolasyonu amacımız kapsamındadır.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Rubiaceae Familyası

Odunsu veya otsu, çok yıllık veya tek yıllık bitkiler. Yapraklar karşılıklı, tam, stipulalı; stipulalar saplar arasında ve az çok birleşmiş veya çoğunlukla yapraksı ve 4'den 10'a kadar (veya daha fazla) sayıda 'yaprak' tan oluşan halkalar şeklinde. İnfloresans çoğunlukla tirsoid, brakteli veya braktesiz, gevşek veya sıklaşmış, az çok spika veya az çok baş şeklinde. Çiçekler çoğunlukla erdişi, nadiren tek eşeyli ve monoik veya dioik, aktinomorf, çoğunlukla 4-5 parçalı. Sepaller çoğunlukla serbest, bazen indirgenmiş. Korolla gamopetal, huni veya çan şeklinde, hipokrateriform veya rotat, tüp kıtsadan çok uzuna kadar değişen boylarda, loblar kontort, imbrikat veya valvat. Stamenler epipetal, korolla loblarıyla alternan. Ovaryum alt durumlu, çoğunlukla sadece 2 gözlü, her gözde 1 veya daha çok sayıda ovüllü. Meyva kapsula, bakka veya drupa veya 2 merikarpa ayrılan meyve halinde (12).

4.2 *Galium* Cinsi

Alçak yarıçalılar çok yıllık veya tek yıllık otlar. Yapraklar çoğunlukla 4-14 yapraktan oluşan halkalar halinde. Çiçek durumu tirsoid, genişçe panikulat veya indirgenmiş. Çiçekler çoğunlukla ovaryumdan daha uzun saplı, brakteolsüz, erdişi, nadiren poligam veya dioik. Kaliks çoğunlukla belirsiz, nadiren kalıcı ve meyvede büyümüş. Korolla (3-) 4-parçalı, rotat, krateriform veya huni şeklinde, tüpten daha uzun loblu, beyaz, beyazımsı, soluk veya parlak sarı, sarımsı-yeşil, pembe veya koyu kırmızımsı- kahverengi. Stilus bifid veya bipartit küremsi stigmali. Meyva 2 kuru merikarpli, merikarplar az çok yanküresel, ovoid veya silindirik, düz sigilli veya kırışık, çıplak veya tüylü (bazen çengelli tüylü) nadiren az çok etli.

Galium cinsi'nin Flora of Turkey'de kayıtlı olan Türkiye'de ki tür sayısı 99 dur (12).

4.3. *Galium rivale* (Sm.) Griseb.

Tırmanıcı çok yıllık bitkiler. Gövdeler 60-120(-200) cm, dört köşeli, köşelerde geriye kıvrık dikencikli, dallanmış. Yapraklar halka halinde her halka 6-8 yapraklı, (20-) 30-40(-45)×4-10 mm, oblong-eliptikten genişçe eliptiğe kadar veya oblanseolattan linear-lanseolata kadar değişen şekillerde, tepede kuspitat veya mukronat, tabanda daralmış, kenarlarda geriye kıvrık dikencikli.

İnfloresens gevşek, kısmi infloresensler uzun saplı korimbus şeklinde. Pediseller 0,5-3 mm, yayık, çıplak, nadiren pubesent. Korolla beyaz, huni şeklinde, 1,2-1,5(-25) mm, genişçe ovat loblu, tüpe eşit veya hafifçe tüpten daha kısa. Anterler eliptikten oblonga kadar değişen şekillerde, 0,2-0,4 mm. Merikarplar 1,5-1,7 mm çıplak (Fl.ofTur.7:782).

G. rivale'nin Türkiyedeki yayılışı:

Amasya, Ankara, Antalya, Aydın, Bilecik, Denizli, Eskişehir, İstanbul, İzmir, Kahramanmaraş, Muş, Tokat il sınırlarındadır (12).

4.4. *Galium* Türlerinin Farmakolojik Etkileri ve Halk Arasındaki Kullanımı

Galium türleri Avrupa ve Anadolu'da oldukça yaygın olan bitkilerdir. Bitkiye Türkçe'de "Yoğurt otu" adı verilmesinin nedeni, bu bitkinin yoğurdun mayalanmasında yararlanılabilen bir enzim taşımasıdır. Avrupa ülkelerinde de buna benzer isimler kullanılmaktadır.

Galium türleri spazm çözücü, idrar söktürücü olarak ve romatizma tedavisinde kullanılan bitkilerdir. Avrupa'da daha çok *G. aparine* L., *G. cruciata* (L.) Scop., *G. mollugo* L., *G. verum* L. türleri bilinmektedir (32). *Galium* türleri ayrıca astrenjan, terletici, yara iyi edici olarak kullanılmaktadır.

Türkiye'de yetişmekte olan türlerden *G. aparine* bitkisi Yurdumuzda iştah açıcı, idrar söktürücü olarak kullanılmakta (2), aynı bitki Çin'de ise tonik ve temizleyici olarak ayrıca karaciğer tümörlerinde ve lösemide kullanılmaktadır (14). Bitkinin ekstresi safra artırıcı olarak ve bazı mide hastalıklarında da kullanılır (22).

G. bungei Steud. bitkisinin bütünü Çin'de kaynatılarak çibanlarda, kötü huylu tümörlerde, dizanteride, bel soğukluğunda ayrıca yatıştırıcı, toksik etkileri giderici, ateş düşürücü olarak ve şişliklerin azaltılmasında kullanılmaktadır (14).

G. cruciata idrar söktürücü ve safra artırıcı olarak (2), epilepside ve mide hastalıklarında tedavi amacıyla kullanılmaktadır (22).

G. mollugo'nun çiçekli dal uçları gut hastalığında kullanılmaktadır (22).

G. odoratum (L.) Scop. bitkisinin bütünü yatıştırıcı olarak, bitkinin ezilmiş yaprakları kesik ve yaraların tedavisinde, bitkinin çayı ise mesane taşları, karaciğer iltihabı, uykusuzluk, migren, nevroz, mide ağrısı gibi rahatsızlıklarda kullanılmaktadır (15).

G. verum'un toprak üstü kısımları çiçek açma mevsiminde toplanıp gölgede kurutulur. Bitki mum, uçucu yağ, organik asitler ve glikozitler taşır. En çok %2'lik infüzyonu halinde safra artırıcı, idrar söktürücü, hafif kabız ve yatıştırıcı olarak kullanılmaktadır. Bitki Çin'de deri ve meme kanserlerinde, ödemde, epilepside, ganglionik tümörlerde, böbrek taşlarında, yüksek tansiyonda, histeride, çeşitli yaralarda, idrar yolları iltihabında, ürogenital hastalıklarda, ülserde ayrıca, spazm çözücü olarak ve mesane taşlarının düşürülmesinde kullanılır (2,14,15,32).

4.5. *Galium* Türlerinden Elde Edilen Bileşikler

4.5.1. *Galium* Türlerinden Elde Edilen İridoidal Bileşikler

G. aparine : Asperulozit , genipin, genipozidik asid, genipozit, paederozidik asit, monotropein, okubin , asperulozidik asit, deasetil asperulozidik asit .

G. glaucum L. : Monotropein.

G. humifusum Bieb. : Monotropein, okubin, asperulozit.

G. incanum Sm. : Monotropein, okubin, asperulozit.

G. mollugo: Asperulozit , monotropein , galiozit , asperulozidik asit mollugozit, mollugozit metil esteri , 10-hidroksiloganin, 10-hidroksimorrnozit, skandozit, skandozit metil esteri, dafillozit, sekogaliozit, gardenozidik asit.

G. palustre L. : Asperulozit.

G. paschale Forsskal.: Asperulozit, okubin, monotropein (35).

G. rotundifolium L. : Monotropein, okubin, asperulozit.

G. ruthenicum Willd. : Asperulozit.

G. rivale (Sm.) Griseb.: Genipozidik asid, asperulozidik asit, monotropein.

G. salicifolium Klokov. : Asperulozit.

G. spurium L. : Monotropein, okubin, asperulozit.

G. tauricum Roem.et Schult. : Asperulozit.

G. triflorum Michx. : Asperulozit.

G. verum : Asperulozit , okubin, monotropein. V₁ iridoit, V₃ iridoit, dafillozit (35).

4.5.2. *Galium* Türlerinden Elde Edilen Flavonoidal Bileşikler

G. aparine : Rutin (35).

G. aristatum L.: Hesperidin (35).

G. boreale L.: Kersetinalaktozit (23).

G. broteroanum Boss.et Reult.: Rutin, kersetin, izokersetin (35).

G. cinereum All.: Hesperidin , diosmin (35).

G. cruciata : Rutin, hiperin, krusiatin (35).

G. crucitaum : Kersetin 7-glikozit, kersetin 3-ramnozit (35).

G. fagetorum Klovov.: Diosmetin 7-0- β -D-glikopiranozit , apigenin 7-0- β -D-glikopiranozit , palustrozit , izorutin, sinarozit , luteolin 7-0- β -D-glikopiranozit (3,4).

G. heldreichii : Luteolin, luteolin 7-0- β -glikozit, kersetin, kemferol, apigenin, diosmetin , diosmetin 7-0- β -glikozit, kersetin 3-0- β -galaktozit, rutin, kersetin 3-0- β -glikozit (35).

G. lucidum All. : Hesperidin (35).

G. melanantherum Boiss. : Apigenin, kemferol, kersetin, luteolin, viteksin, luteolin 7-0- β -gentiobiozit, luteolin 7-0- β -glikozit, orientin, kersetin 3-0- β -glikozit, kemferol 3-0- β -rutinozit, visenin-2, rutin (35).

G. meliodorum G. Beck. : Hesperidin (35).

G. mollugo : Hesperidin, diosmetin triozit (8), 5,7,3'-trihidroksi-4'-metoksiflavanon (35), kosmosiin, izorhoifolin, sinarozit, diosmetin 7-0- β -D-glikopiranozit, palustrozit, hiperozit, izorutin, apigenin 4'-0- β -D-glikofuranozit (7).

G. palustre : Palustrozit , izorutin, sinarozit (5).

G. paschale Forsskal.: Luteolin, apigenin (35).

G. rubrum L. : Hesperidin (35).

G. ruthenicum : Rutin, hiperin ,izorutin, palustrozit, sinarozit , apigenin 7-0- β -D-glikopiranozit, luteolin 7-0- β -D-glikopiranozit, kemferol 3-0- β -rutinozit (6,9).

G. salicifolium : Rutin, hiperozit (8).

G. tauricum : Krusiatin, rutin, hiperozitt, kersetin (10).

G. uliginosum L. : İzorutin, palustrozit, sinarozit , kersetin, kemferol , rutin, kemferol 3-0- β -rutinozit (35).

G. verum : Kersetin 3-glikozit, kersetin 7-glikozit, kersetin 3-rutinozit, kersetin 3,7-diglikozit, luteolin 7-glikozit (35).

4.5.3. *Galium* Türlerinden Elde Edilen Diğer Bileşikler

G. aparine: Protopin, harmin, vazikinon, 1-hidroksideoksipeganin, 8-hidroksi-2,3-dehidrodeoksipeganin , sikroltanol, skopoletin, kamfesterol, stigmasterol, lanosterol, β -amirin (35).

G. articulatum Lam.: Ruberitrik asit, alizarin, purpurin, rubiadin, psödopurpurin (35).

G. broteroanum : Klorojenik asit, skopoletin (35).

G. cruciata : Umbelliferon, skopoletin (35).

G. dasypodum Klokov.: Liberisin, rubiadin, rubiadin 1-metil eteri, lusidin, alizarin (38).

G. fagetorum: 1-metil-2-hidroksiantrakinon, rubiadin, alizarin (39).

G. heldreichii: kafeik asit, skopoletin, eskuletin, klorojenik asit (35).

G. melanantherum: kafeik asit, skopoletin, eskuletin, klorojenik asit (35).

G. mollugo: Vitamin C, β -karoten, klorofil a ve b, kateşinler, lökoantosiyeninler, klorojenik asit (35).

G. ruthenicum: Lusidin 3-0- β -primverozit, alizarin 2-0- β -pimverozit, rubiadin 3-0- β -primverozit, lusidin 3-0- β -glikopiranozit, rubiadin 3-0- β -D-glikopiranozit (35).

G. rivale (Sm.) Griseb.: 2 α -asetoksi-3 α ,19 α -dihidroksi-olean-12-en-28-oik asit 28-O- β -D-glukopiranozil (rivalozit C), 2 α ,3 α ,19 α -trihidroksi-olean-12-en-28 oik asit 28-O- β -glikopiranozil (rivalozitD), 3-O- β -D-glukuronopiranozil-24-hidroksi-olean-12-en-28- oik asit 28-O- β -D-glikopiranozit (rivalozit E).

G. sinaicum Boiss.: 6-hidroksiantragallo-1,3-dimetil eteri, 6-hidroksimetilantragallo-1,3-dimetil eteri, alizarin 1-metil eteri, antragallo-1,3- dimetil eteri (19), 7-metilantragallo-1,3-dimetil eteri, 7-metilantragallo-2-metil eteri, 8-hidroksiantragallo-2,3-dimetil eteri (16).

G. spurium L. var. *echinospermon* Hayek.: 8-hidroksi-3-metoksi-7-metil-1,2-metilendioksi-9,10-antrakinon, 2,8 -dihidroksi- 1,3-dimetoksi-7 -metil-9,10 antrakinon, 1-hidroksi-2- metilantrakinon, 2-metoksi-6-metil-1,3,5-trihidroksi-antrakinon, rubiadin, purpurin 1-metil eteri, alizarin-1-metil eteri, 6-metilalizarin, ksantopurpurin (24).

G. semiamictum Klovov. : Rubiadin lusidin (37).

G. tauricum: Umbelliferon, skopoletin (35).

G. verum: 1,3-dihidroksi-2-metoksimetilantrakinon, 1,3-dimetoksi-2-hidroksiantrakinon, 1,3-dihidroksi-2-asetoksiantrakinon, 1-hidroksi-2-hidroksimetilantrakinon, 1,3-2-hidroksiantrakinon, 1,3-dihidroksi-2-hidroksimetil-6-metoksiantrakinon, 1,6-dihidroksi-2-metilantrakinon (1).

4.6. Flavonoidal Bileşikler

Flavonoitler, yosunların büyük bir kısmı ve bakteriler hariç hemen her bitki türünde yaygın olarak bulunmaktadır. Sarı renkli olduklarından Latince'de sarı anlamına gelen "flavus" sözcüğünden türetilerek flavonoit adını almışlardır. Bunlar 15 karbon atomundan oluşan 2-fenil benzo - γ -piron (fenil kromon) iskeleti taşıyan doğal kaynaklı fenolik bileşiklerdir.

Flavonoidal bileşikler doğada aglikonları veya glikozitleri halinde, bitkilerin kök, sap, çiçek, meyva ve tohum gibi her bölümünde bulunmaktadır (17). Bitkiler aleminde; Rutaceae, Leguminosae, Labiatae, Asteraceae gibi familyalarda flavonoitler yaygındır.

Flavonoitler ikincil metabolitlerdir. Bitkilerde fotosentezle oluşan karbonhidratlar, aminoasitler, v.b. gibi birincil metabolitlerden türetilirler (20).

Flavonoitlerin karbon iskeleti sırasıyla A, C ve B halkalarını oluşturan 3 asetat ve 1 fenil propan ünitesinden meydana gelmektedir. Radyoaktif olarak işaretlenmiş bileşiklerle yapılan deneyler sonucu flavonoitlerin A halkasının asetil koenzim A'dan, B ve C halkalarının ise şikimik asit üzerinden oluşan sinamik asit gibi fenil propanoit tipi bileşiklerden oluştuğu saptanmıştır (20).

Flavonoidal bileşikler taşıyan birçok drog (Flos Chamomillae, Flos Sambuci, Flos Tiliae, Herba Equiseti) idrar söktürücü ve terletici etkidedir.

İzoflavon türevleri, halkanın açılmasıyla meydana gelen yapı ile açıklanan östrojenik bir etki göstermektedir. Batı Avustralya'da *Trifolium subterraneum* bitkisi bu özelliği nedeniyle hayvan yetiştirmekte kullanılmaya başlanmıştır. Yapılan araştırmalarda, birçok flavonoidal bileşikte az çok östrojenik etki bulunduğu, hatta kersetin ve kemferolün zayıf da olsa östrojenik etki gösterdiği saptanmıştır. Bazı araştırmalara göre ise flavonoidal

bileşikler doğrudan östrojenik bir etki göstermemekte, sadece progesteronu bloke etmektedir.

1936' da limondan elde edilen bir flavonoit karışımının (apigenin + rutin + hesperidin + eriyodiktin) kapiller geçirgenliği azaltıcı etkisi bulunmuştur. Bu karışıma P vitamini, sitrin veya biyoflavonoit adı verilmiştir. Diğer flavonoitlerin de benzer etkileri vardır. Flavonoitler adrenalinin organizmada otooksidasyon ile parçalanmasını kuvvetle inhibe ederek adrenalinin damarlar üzerindeki etkisini uzatır. Son yıllarda yapılan birçok araştırma flavonoitlerin damar hassasiyetini ortadan kaldıracı etkisini doğrulamakta ve flavanon, flavonol, izoflavon, kateşol ve kalkonların kapiller rezistansı artırıcı etkisi deneylerle ispatlanmaktadır.

Birçok flavonoidal bileşiğin bazı mikroorganizmalara karşı antibiyotik etkisi deneylerle gösterilmiştir. Kersetinin *Herpesvirus hominis*'e karşı antiviral etkisi bulunmuştur. Flavonon ve dihidro flavononlar fungustatik ve fungusit özellik göstermektedirler. Özellikle *Citrus* flavonoitlerinin fungustatik özelliği vardır.

Yapısında bol miktarda metoksi grubu taşıyan bazı flavonoitlerin kanserli hücreler üzerinde bazı etkileri olduğu saptanmıştır (32).

Flavonların bazı yarı sentetik türevleri de tedavi alanına girmeye başlamıştır. 7-hidroksoflavon ve etilbromoasetatin kondansasyon ürünleri İtalya'da kliniklerde koroner vazodilatatör olarak kullanılmaktadır, yapılan çalışmalarda bunların nitrogliserin ve kellinden daha aktif ve nontoksik oldukları bulunmuştur, 7-β dimetilaminoetoksiflavon antifilojistik, safra artırıcı, spazım çözücü ve antihistaminik etkisinden dolayı müstahzarlarda yer almıştır. 7-hidroksi, 8- dialkilaminometilflavon kalp stimulanı olarak, 3-dimetilaminometilflavon antikonvulsan, ağrı kesici ve bronkodilatatör olarak kullanılmaktadır. Birçok flavonoidin terapötik etkileri üzerinde araştırmalar devam etmektedir (20).

4.6.1 Flavonoidal Bileşiklerin Elde Edilmeleri, Saflaştırma Yöntemleri ve Renk Reaksiyonları

Flavonoidal bileşiklerin elde edilmesinde kurutulup kaba toz haline getirilen materyalin tüketilmesinde mevcut flavonoitlerin polaritelerine uygun çözücüler kullanılır. Tüketme işlemi maserasyon, perkolasyon ya da Soxhlet aletinde devamlı ekstraksiyon şeklinde yapılmaktadır. Flavonoidal bileşiklerin ayrılmasında ve saflaştırılmasında kromatografik yöntemlerden yararlanır. Bu amaçla sütun, ince tabaka, kağıt kromatografileri kullanılmaktadır. Bunun yanında uçucu türevleri haline getirilebilen flavonoitlerin gaz-sıvı kromatografisi ya da yüksek basınçlı sıvı kromatografisiyle ayrılmaları da mümkün olmaktadır (21).

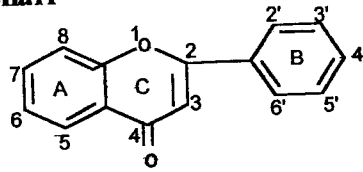
Elde edilen flavonoitlerin tanınmasında, ince tabaka ve kağıt kromatogramlarındaki lekeleri ultraviyole ışığı altında incelendikten sonra önce amonyak buharı (26), sonra NA belirteci (Naturstoff reagens A : difenil borik asit β -amino etil esteri) ile verdikleri renkler yine ultraviyole ışık altında incelenir. Her üç durumda da flavonoidal bileşikler yapılarına göre değişik floresans verirler, böylece ışığın tipi ve süstitüsüyonları hakkında ön bilgi bile edinilebilir.

Ayrıca flavonoitlerin sulu NaOH, derişik H_2SO_4 , Mg - HCl, Na-Hg belirteçleri ile verdikleri renk reaksiyonlarından da bileşiğin tipi hakkında bilgi edinilebilmektedir.

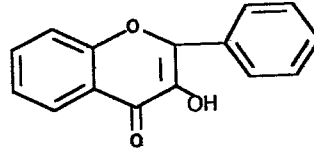
Aynı zamanda flavon türevlerinin tanınmasında Shibata (Cyanidin) reaksiyonu kullanılır. Shibata belirteci: Etanol-der.HCl-Su (1:1:1) v/v olarak hazırlanmıştır. 5 ml infüzyon üzerine 5 ml bu karışımından ve az miktarda Mg talaşı ilave edilir. Pembe, turuncu veya mor bir rengin varlığı kontrol edilir.

4.6.2. Flavonoidal Bileşiklerin İskelet Yapıları

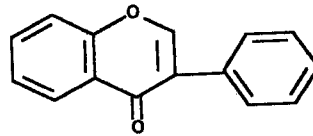
Flavon



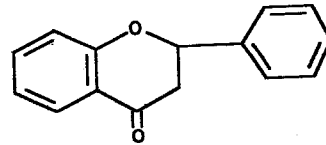
Flavonol



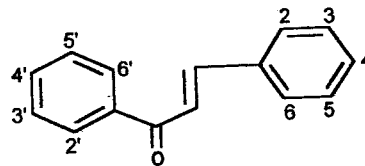
İzoflavon



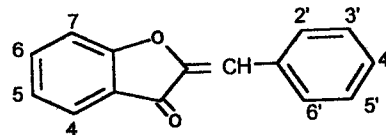
Flavonon



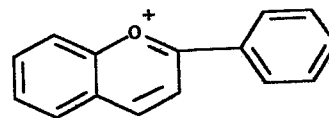
Kalkon



Auron



Antosiyanidin



4.6.3. Flavonoidal Bileşiklerin Yapı Tayininde Kullanılan Spektral Yöntemler

Saf halde elde edilen flavonoidlerin yapısı ultraviyole, nükleer manyetik rezonans ve kütle spektroskopileri ile yapılan analizlerle aydınlatılır. Ancak bilinen bir yapı ise ultraviyole spektrumları ve kromatogramlardaki Rf değerlerinin şahit maddelerle karşılaştırılması yeterli olabilir.

Ultraviyole spektroskopisi ile çok az miktarda madde kullanılarak flavonoid bileşiğin yapısı hakkında bilgi edinilebilir. Bu amaçla bileşiğin önce metanoldeki çözeltisinin spektrumu alınır. Sonra bu çözeltiliye sırayla sodyum metoksit, alüminyum klorür, alüminyum klorür /hidroklorik asit, sodyum asetat, sodyum asetat /borik asit gibi kayma belirteçleri ayrı ayrı eklenerek alınan spektrumlarda gözlenen kaymalar, bileşiğin yapısı ve süstitüentleri hakkında bilgi verir.

TABLO 1. Flavonoidal bileşiklerin bazı tiplerinin UV spektrumu değerleri

Halka Yapısı	Bant I	Bant II
Flavon	304-350 nm	250-270 nm
Flavonol	352-385 nm	250-270 nm
Flavanon	310-330 nm	275-290 nm
Kalkon	360-390 nm	240-260 nm
Auron	390-430 nm	240-260 nm

4.7 Antrasen Türevi Bileşikler

Çeşitli familyalarda antrasen türevi bileşiklere sıklıkla rastlanır. Çoğu pürгатif etkili olan bu droglar yanında antrasen türevi olup boyama amaçlı kullanılan droglar da bilinmektedir. Bitkilerde oksantron, antron ve antrakinin adı altında üç ayrı tipte bulunan bileşiklerin en stabil olanı antrakininlerdir.

Antrasen türevlerinden 1,8- dihidroksiantrakinin yapısında olanlar purgatif etkilerinden dolayı eczacılık açısından önemlidir. Antrakinin türevleri kimyasal yapılarına göre farklı farmakolojik etkiler gösterirler. 1,8-dihidroantrakinin türevi olan emodin, aloe-emodin ve krizofanol farklı etkiler göstermektedirler.

Emodin antiseptik, antitümoral, pestisit, spazmolitik; aloemodin spazmojen, antilösemik, antitüberkülan iken ; krizofanol hemostatik, pestisit, antibakteriyal ve spazmojen etkiler göstermektedir. 1,8-dihidroksiantrakinin türevlerinin purgatif etkisi, kalın bağırsak çeperindeki peristaltik hareketleri artırarak oluşmaktadır.

Antrasen türevlerinde fenolik gurupların sayısı arttıkça aktiviteleri de artar. Fenolik guruplar α konumunda olursa purgatif etkileri de artar. Antranol yapısındaki bileşikler antrakininlerden daha kuvvetli purgatifirler. Ancak bağırsakta iritasyon meydana getirirler.

Antranoller kuvvetli redüktör maddelerdir. Bu özellikleri nedeniyle bunlar deri hastalıklarında antiseptik olarak kullanılırlar.

Antrasen türevi bileşikler doğada aglikon ve glikozit halinde en çok Liliaceae, Leguminosae, Poligonaceae ve Rhamnaceae familyalarında bulunur (32).

4.7.1. Antrasen Tipi Bileşiklerin Elde Edilmeleri, Saflaştırma Yöntemleri ve Tanınma Reaksiyonları

Kurutulup kaba toz haline getirilen materyal pH 3'de sulu çözücülerle ekstre edilir. Sulu ekstre eterle çalkalanır, ayrılan eterli ve sulu faz ayrı ayrı işlemlerden geçirilir. Eterli fazdan serbest antrakinonlar; sulu fazdan glikozit halindeki bileşikler elde edilir. Ayırma ve saflaştırmalarında kromatografik yöntemlerden yararlanır, bu amaçla sütun ve ince tabaka kromatografileri kullanılır (32).

Antrakinon türevlerinin tanınmasında Bornträger, antron ve antranollerin tanınmasında Schönteten reaksiyonu kullanılır.

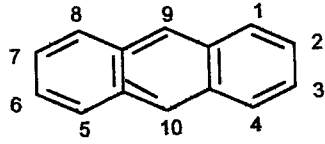
Bornträger reaksiyonu:

Serbest antrasenlerin kalevilerle (KOH/NH₃) pembe- kırmızı renk vermesi esasına dayanır. Drog doğrudan bir organik çözücüyle çalkalanır ve serbest antrasenler çözücüye geçer. Elde edilen çözeltiye KOH/NH₃ ilave edilir ve pembe kırmızı renk vermesi beklenir (32).

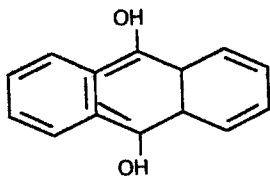
Schönteten reaksiyonu:

Bitkiden hazırlanan sulu ekstre sodyum borat ilavesiyle yeşil floresans gösterirse antron ve antranollerin varlığı anlaşılır (32).

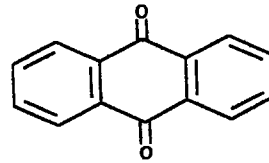
4.7.2. Antrasen Türevi Bileşiklerin Yapıları



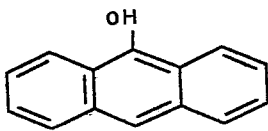
Antrasen



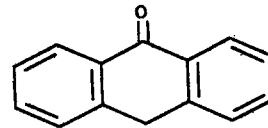
Antrahidrokinon



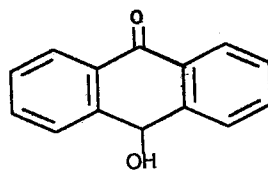
Antrakinon



Antranol



Antron



Oksantron

4.8. Kumarin Tipi Bileşikler

Kumarinler kokulu bileşiklerdir. Birçok bitkide serbest veya glikozitleri halinde bulunurlar. Bu maddeler en çok Apiaceae, Solanaceae, Rutaceae familyalarında bulunmuştur. Bunlar eski zamanlarda koku verici olarak eczacılıkta ve parfümeride kullanılmıştır. Biskumarinlerden dikumarol antikoagülan etki gösterir. Eskuletol'un P vitamini aktivitesi tespit edilmiştir. Bazı kumarinlerin antispazmotik özellikleri de vardır.

Biskumarinlerden dikumarol karaciğerde protrombin oluşumunu azaltır ya da onu tamamen ortadan kaldırır. Böylece bu madde kanın pıhtılaşmasını engeller. Bu özellikten yararlanılarak bu madde, tromboza karşı koruyucu veya tedavi edici olarak kullanılır. Dikumarol yapısındaki bazı bileşiklerin de fare zehiri olarak kullanıldığı bilinmektedir.

Kumarin drogları önceleri koku ve tat düzeltici olarak kullanılmıştır. Sonradan bunların zararsız maddeler olmadıkları anlaşılmış, bazı hayvan deneyleriyle bunların ağır karaciğer bozukluklarına neden olduğu saptanmış ve koku verici olarak kullanımları azalmıştır.

Kumarinler arasında, solunum analeptiği, damar genişletici veya antispazmotik olarak etki gösterenler vardır. Skopoletol ve umbelliferon'un safra ifrazını arttırıcı etkisi olduğu da saptanmıştır.

Furanokumarinler derinin ışığa karşı olan hassasiyetini arttırır. Bu etkiden yararlanılarak Vitiligo tedavisinde bazı furanokumarin ve furanokinolein taşıyan droglar kullanılmaktadır. Bu droglar *Ficus*, *Ruta*, *Heracleum*, *Achillea*, *Sinapis*, *Ammi* türlerinden elde edilmektedir.

Toksik etkisi olan bazı kumarinler de bulunmaktadır. *Aspergillus flavus*'un oluşturduğu ve bir çok besin zehirlenmelerinin nedeni olan aflatoksin, kumarin türevi bir bileşiktir. *Streptomyces* türlerinden elde edilen bir antibiyotik olan novobiosin de kumarin türevi bir maddedir (27,32).

4.8.1.Kumarin Tipi Bileşiklerin Elde Edilmeleri, Saflaştırma Yöntemleri

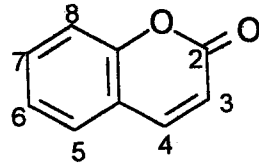
Kurutulup kaba toz haline getirilen materyal Soxhlet aletinde sırasıyla petrol eteri, dietil eter, kloroform, etil asetat, etanol ile tüketilir. Herbir kısım yoğunlaştırılır. Kromatografik yöntemlerle yapılan kontroller sonucu kumarin tipi bileşiklerin çoğunlukla etilasetat ekstresine geçtiği görülmektedir.

Ayırma ve saflaştırmalarda kromatografik yöntemlerden yararlanır, bu amaçla sütun, ince tabaka kromatografileri kullanılır.

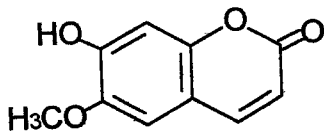
Hidroksilli kumarinler UV ışık altında mavi veya mavi-yeşil floresans gösterirler. Bu özellikten yararlanarak kumarinleri kromatografiyle de teşhis etmek mümkün olduğu gibi buna dayalı olarak miktar tayini de yapılabilir (27,28,32).

(Bak s.39)

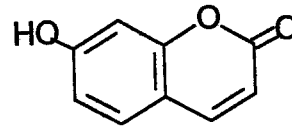
4.8.2. Kumarin Tipi Bileşiklerin Yapıları



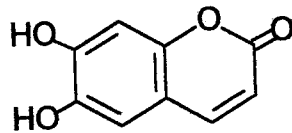
Kumarin



Skopoletin



Umbelliferon



Eskuletin

5. GEREÇ VE YÖNTEMLER

5.1. Materyal

Bu çalışmada Eylül 2002 tarihinde Sapanca gölü Kurtköy çevresinden toplanan ve Prof. Dr. Ertan Tuzlacı tarafından teşhis edilen *Galium rivale* (Sm.) Griseb. (MARE 8597) bitkisi kullanıldı.

5.2. Fitokimyasal Ön Denemeler

Kaba toz edilmiş 5 g örnek üzerine 100 ml kaynar su konuldu, bu karışım 5 dakika sıcak su banyosunda tutuldu ve sıcak iken pamuktan süzüldü. İnfüzyonda antrasen, flavon, saponin ve tanen türevleri arandı. Alkaloid türevleri ise tüketme yöntemi kullanılarak arandı.

5.2.1. Antrasen Türevlerinin Aranması

10 ml infüzyon üzerine 5 damla derişik sülfirik asit konuldu ve karışım 15 dakika sıcak su banyosunda tutularak bağı antrasenler hidroliz edildi. Karışım soğuduktan sonra 5 ml toluen ile çalkalandı. Toluenli kısım bir pipet yardımıyla başka bir tüpe aktarıldı ve üzerine 3 ml %10'luk amonyak çözeltisi ilave edilerek kırmızı rengin varlığı kontrol edildi.

5.2.2. Flavon Türevlerinin Aranması

5 ml infüzyon üzerine 5 ml etanollü klorhidrik asit (Shibata belirteci; etanol-der.HCL-su (1:1:1) v/v) karışımından ve az miktar Mg talaşı ilave edildi. Pembe, turuncu veya mor bir rengin varlığı kontrol edildi.

5.2.3. Saponin Aranması

10 ml infüzyon bir deney tüpüne alındı ve tüp baş parmak ile sıkıca kapatılarak yatay durumda 30 saniye kuvvetle çalkalandı ve dinlenmeye bırakıldı. 15 dakika sonra tüpte en az 1 cm yükseklikte kalıcı bir köpüğün varlığı kontrol edildi.

5.2.4. Tanen Aranması

10 ml infüzyon üzerine 2 ml tuzlu jelatin (sodyum klorür ile doyurulmuş %1'lik jelatin çözeltisi) ilave edildi. Krem renkli bir çökeleğin varlığı kontrol edildi.

5.2.5. Gallik ve Kateşik Tanenin Ayrılması

5 ml infüzyon üzerine 3 damla %5'lik $FeCl_3$ çözeltisi ilave edildi. Mavi siyah (gallik tanen) yada esmer zeytin yeşili (kateşik tanen) rengin varlığı kontrol edildi.

5.2.6. Alkaloit Aranması

1g toz edilmiş örnek, 1 ml %3'lük H_2SO_4 çözeltisiyle kaynatılarak tüketildi. Soğuduktan sonra süzüldü. Süzüntü 5 ml %10'luk NH_3 çözeltisiyle kalevilendirildi ve ayırma hunisinde 10 ml eterle tüketildi. Eterli çözelti uçuruldu. Bakiye 10 ml %3'lük H_2SO_4 ile alındı. Bu asitli çözeltiye alkaloit reaktifleri uygulanarak alkaloit teşhisi yapıldı.

Kullanılan reaktifler:

1. Bouchardat Belirteci: Esmer kırmızı renkte çökelti (I+KI+su).
2. Dragendorff Belirteci: Turuncu kırmızı renkte çökelti (BiCO_3 +KI+su).
3. Mayer Belirteci: Süt rengi çökelti (HgCl_2 + KI+su).

(Fitokimyasal ön deneme sonuçları Bulgular kısmında verilmektedir).

5.3. Miktar Tayini Yöntemleri

5.3.1. Kül Miktar Tayini :

Sabit ağırlığa getirilmiş bir porselen krözede 1g materyal tam olarak tartıldı. Önce alçak derecede, sonra 500 °C 'de yakıldı. Zor yanan kömür oluşturmaması için 500 °C'de külleştirmeye ara verildi. Kröze soğuduktan sonra içindeki kül bir-iki damla su ile nemlendirildi. Daha sonra külleştirmeye alçak ısıdan başlanarak tekrarlandı. Kömürleşmiş kısım tamamen kaybolduktan sonra kröze bir desikatöre alınarak soğutuldu ve tartıldı.

5.3.2. Su Miktar Tayini :

Etüvde ısıtılarak sabit vevne getirilmiş cam bir tartı kabı içine kaba toz halinde bir gram materyal konuldu ve tam olarak tartıldı. Cam kap 2 saat 100 °C – 105 °C'lik etüvde tutuldu ve bir desikatörde soğutulduktan sonra tartıldı. Bu işlem drog sabit vevne gelinceye kadar tekrarlandı.

(Miktar tayini sonuçları Bulgular kısmında verilmektedir).

5.4. Biyolojik Aktivite Tayini (Brine shrimp (*Artemia salina*) metodu)

Bitkiden elde edilmiş etanol ekstresine Brine shrimp (*Artemia salina*) metodu uygulanarak sitotoksik aktivite tayini yapıldı. Standart olarak umbelliferon kullanıldı.

Brine shrimp (*Artemia salina*) metodu:

1. 3,8 g deniz tuzu 10 ml distile suda çözündürülür.
2. Tuzlu su bir tanka konulur ve karides yumurtaları da bu tanka eklenir.
3. Karidesler iki gün sonra tank içinde doğmuş ve olgunlaşmış olurlar.
4. Maddeler 1000,100,10 ppm olmak üzere 3 ayrı konsantrasyonda hazırlanır. 1000ppm olarak hazırlamak için 20 mg madde 2 ml kloroformda çözündürülür. 3 ayrı şişeye buradan 0.5 ml konulur. 100 ppm konsantrasyonu sağlayabilmek için geriye kalan 0.5 ml'den alınan 0.2 ml'ye 1.8 ml çözücü eklenerek seyreltilir. Yine 0.5'er ml 3 ayrı şişeye konulur. Çözücüler uçurulur.
5. Olgunlaşmış karides larvalarından her şişeye 10'ar tane eklenip deniz suyu ile şişeler 5 ml'ye tamamlanır.
6. 24 saat sonra yaşayan larvalar sayılır ve kaydedilir.
7. Sonuçlar bilgisayarda EC₅₀ değeri olarak %95 güvenilirlikle hesaplanır (13,18,31).

İşlem: Brine shrimp (*Artemia salina*) metodunu uygulamak için bitkinin etanol ekstresinden 20 mg, bitkiden elde edilen saf maddelerden 2'şer mg ve standart madde olarak umbelliferondan da 20 mg ayrı ayrı tartıldı. Her biri 2ml kloroformda çözüldü., umbelliferon ekstresinden, maddeler ve etanol ekstresinden 1000:100:10 ppm'lik konsantrasyonlarda olacak şekilde çözeltiler hazırlandı. Her konsantrasyon için 3 şişeye 0.5 ml konuldu. Çözücüleri uçuruldu. Karides larvaları hazır olunca, maddeler için 0.5 ml ve ekstre için 5 ml tuzlu su çözeltisi eklenen her bir şişeye 10 karides larvası sayılarak konuldu. 24 saat sonra yaşayan karidesler sayıldı ve kaydedildi. Alınan veriler bilgisayarda değerlendirildi. Sonuçlar ED₅₀ olarak saptandı. Standart madde olarak kullanılan umbelliferon bulunan şişelere de 5 ml tuzlu su çözeltisi eklendi ve aynı şartlar altında aynı sürede çalışıldı.

(Brine shrimp (*Artemia salina*) metodu sonuçları Bulgular kısmında verilmektedir).

5.5. Etken Maddeleri İçeren Ekstrenin Elde Edilmesi

Saf bileşiklerin elde edilmesinde kullanılan ekstre, bitkinin toprak üstü kısımlarından (gövde, çiçekler, yapraklar) elde edildi.

Oda ısısında kurutulup çok küçük parçalara ayrılan bitkinin toprak üstü kısımları metanol ile perkole edildi. Daha sonra süzülerek alınan kısım rotavaporda yoğunlaştırıldı. Yoğunlaştırılmış ekstre ince tabaka kromatografisiyle kontrol edildi. Elde edilen bu ekstrenin, Shibata belirteci (s.24) kullanılarak, kromatografik yöntemlerle ve flavonoit belirteçleriyle (s.31) yapılan kontrolleri sonucu, flavonoidal bileşikler taşıdığına karar verildi.

5.6. Kromatografik Yöntemler

5.6.1. Sütun Kromatografisi

Materyaldeki bileşiklerin izolasyonu için adsorban olarak partikül büyüklüğü 0.063-0.200 mm (70-230 mesh) olan silikajel 60 (Merck Art. 7734) kullanıldı. Sütuna yerleştirilecek ekstre bir miktar silikajel ile karıştırıldı ve kurutuldu. Yaklaşık 60 katı kadar silikajel tartılıp 3× 60 cm boyutlarındaki cam sütuna yerleştirildi.

Sütünden elde edilen fraksiyonlar ince tabaka kromatografisi ile incelendi. Benzer fraksiyonlar birleştirildi ve preparatif ince tabaka kromatografisi uygulanarak maddeler saflaştırıldı.

5.6.2. İnce Tabaka Kromatografisi (İTK)

Preparatif plakların hazırlanması:

40 g silikajel 60 HF₂₅₄ (Merck, Art. 5554), 80 ml distile su ile homojen bir karışım meydana gelinceye kadar çalkalandı. Camag plak kaplama aletiyle 20×20 cm boyutlarındaki cam plakların üzeri 0.5 mm kalınlıkta kaplandı. Hazırlanan plaklar oda ısısında kurutulup 105° C'lik etüvde 1 saat tutularak aktive edildi.

İTK incelemelerinde, alüminyum tabaka üzerine özel olarak kaplanmış silikajel (DC Alufolien Kieselgel 60 HF₂₅₄) plaklar hassas teşhis ve ayırmalar için kullanıldı.

İTK'da silikajel plaklar için kullanılan çözücü sistemleri:

1. Toluen : Diklorometan (1:20)
2. Toluen : Diklorometan (1:4)
3. Etilasetat : Diklorometan : Toluen (1:1:2)
4. Diklorometan : Petrol eteri (3:8)
5. Etilasetat : Toluen (2:1)
6. Etilasetat : Petrol eteri (3:1.5)
7. Toluen : Etilasetat (1:3)
8. Diklorometan : eter (2:3)
9. Petrol eteri : eter (1:3)
10. Etilasetat : Toluen (9:1)
11. Petrol eteri : Diklorometan (1:7)
12. Etilasetat: Diklorometan (1:3)
13. Toluen : Diklorometan (1:2)
14. Etilasetat : Toluen (1:1)

Kromatogramlar önce UV lamba (Camag delux UV-Lampe) altında incelendi ve ayrıca flavonoidal bileşiklerin teşhisi için NH₃ buharı, NA belirteci, KOH ve FeCl₃ çözeltisi kullanıldı.

5.7. Belirteçler

5.7.1. Flavonoit Belirteçleri

1. NH₃ buharı
2. NA belirteci : 1 mg NA (Naturstoff Reagenz A, difenil borik asit β-amino etilester) 100 ml metanolde çözülerek hazırlandı.
3. FeCl₃ çözeltisi : 1g FeCl₃ 100 ml etanolde çözülerek hazırlandı.
4. KOH çözeltisi : 1g KOH 100 ml metanolde çözülerek hazırlandı.

5.7.2. Diğer Bileşikler İçin Kullanılan Belirteçler:

Serik sülfat (Ce IV sülfat):

Seryum IV sülfat 10 g, derişik sülfirik asit 50 ml, distile su 500 ml.

5.7.3. Antrasen Türevlerinin Belirteçleri:

KOH çözeltisi : Potasyum hidroksitin metanoldeki %5'lik çözeltisi hazırlanarak plaklara püskürtüldü.

(Belirteçlere ait sonuçlar Bulgular bölümünde verilmektedir.)

5.8. Spektroskopik Yöntemler

5.8.1. Ultraviyole Spektroskopisi

Spektrumlar Shimadzu UV-2100 spektrofotometer aletinde alındı. Ölçmeler bileşiklerin metanoldeki çözeltileri ile, 1cm'lik kuvarz küvetler kullanılarak yapıldı. Ayrıca flavonoidal bileşiklerin kayma spektrumlarının alınabilmesi için bileşiğin metanoldeki çözeltilisine sırayla sodyum metoksit, alüminyum klorür, alüminyum klorür/hidroklorik asit, sodyum asetat, sodyum asetat/borik asit kayma belirteçleri eklendi. Belirteçler şu şekilde hazırlandı (26,36):

Sodyum metoksit:

2.5 g metalik sodyum küçük parçacıklar halinde 100 ml spektroskopik metanolde çözündürüldü.

Alüminyum klorür:

5 g susuz alüminyum (III) klorür 100 ml spektroskopik metanolde çözündürüldü.

Hidroklorik asit çözeltisi:

50 ml derişik hidroklorik asit 100 ml distile su ile karıştırıldı.

Sodyum asetat:

Toz halinde susuz saf sodyum asetat kullanıldı.

Borik asit:

Toz halde susuz borik asit kullanıldı.

(Kayma belirteçleriyle ilgili sonuçlar Bulgular bölümünde verilmektedir).

5.8.2. Infrared Spektrofotometresi:

Bileşiklerin IR spektrumları Perkin Elmer 1600 series FTIR aletinde KBr veya kloroform yardımıyla alındı (36).

(Spektral sonuçlar Bulgular bölümünde verilmektedir.)

6. BULGULAR

6.1. Fitokimyasal Ön Deneme Sonuçları

Eylül 2002'de Sapanca gölü yakınındaki Kurtköy çevresinden toplanan *Galium rivale* üzerinde fitokimyasal ön denemeler yapılmıştır. Fitokimyasal deneme sonuçları Tablo 2'de verilmiştir.

TABLO 2. *G. rivale* bitkisinin toprak üstü kısımları üzerinde yapılan fitokimyasal ön deneme sonuçları

Madde Tipleri	Fitokimyasal ön denemeler
Antrasen türevleri	+
Flavon türevleri	+
Saponin	-
Tanen → Gallik tanen	-
Tanen → Kateşik tanen	-
Alkaloit → Dragendorff	-
Alkaloit → Bouchardat	-
Alkaloit → Mayer	-

6.2. Miktar Tayini Sonuçları

Kül ve su miktar tayinleri yöntemler bölümünde bahsedildiği gibi yapılmış olup, sonuçları Tablo 3'te verilmiştir.

TABLO 3. *G. rivale* bitkisinin toprak üstü kısımları üzerinde yapılan miktar tayini sonuçları:

Tayin türü	Sonuç
Kül miktar tayini	%5.62
Su miktar tayini	%7.23

6.3. Biyolojik Aktivite Tayini Sonuçları

Biyolojik aktivite tayini sonuçları Tablo 4'te verilmiştir.

Tablo 4. *G. rivale* bitkisinin toprak üstü kısımları ve bu bitkiden elde edilen ekstre üzerinde yapılan biyolojik aktivite tayini sonuçları:

Madde	ppm	ED ₅₀
EtOH ekstresi	1000:100:10	149.2916
Umbelliferon	1000:100:10	573.0165

6.4. Etkin Bileşiklerin Elde Edilmesi ve Değerlendirilmesi

Kurutulup küçük parçalara ayrılan *G.rivale* bitkisinin toprak üstü kısımlarından 500 g tartılarak "Gereç ve Yöntem" bölümünde belirtildiği gibi metanol ekstresi elde edildi. Elde edilen ekstre kurutuldu ve 12 g kuru ekstre elde edildi.

12 g kuru ekstre bir miktar silikajel 60 (0.063-0.200mm) ile karıştırılıp kurutuldu. Kurutulan karışım, daha önceden silikajel ile doldurulmuş 3 x 60 cm boyutundaki cam sütuna yerleştirildi. Sütunun yıkanmasına petrol eteri ile başlandı, daha sonra artan oranlarda diklorometan, etil asetat ve metanole geçildi, sütun son olarak saf metanole yıkandı. 300 ml olarak toplanan fraksiyonlar rotavaporda yoğunlaştırıldı. Yoğunlaştırılmış fraksiyonlar ince tabaka kromatografisiyle kontrol edildikten sonra benzer olanlar birleştirildi.

Silikajel sütundan toplam 36 fraksiyon alındı ve çalışmalar bu fraksiyonlar üzerinde yürütüldü.

Alınan fraksiyonlar ve kullanılan çözücü sistemleri Tablo 5' de gösterilmektedir.

TABLO 5. Sütun kromatografisinden alınan fraksiyonlar ve kullanılan çözücü sistemleri:

Çözücü sistemleri	Alınan fraksiyonlar
Petrol eteri 100	1
Petrol eteri 95 : Diklorometan 5	2
Petrol eteri 85 : Diklorometan 15	3 - 4
Petrol eteri 80 : Diklorometan 20	5
Petrol eteri 75 : Diklorometan 25	6
Petrol eteri 70 : Diklorometan 30	7 - 11
Petrol eteri 65 : Diklorometan 35	12
Petrol eteri 60 : Diklorometan 40	13 - 15
Petrol eteri 55 : Diklorometan 45	16 - 17
Petrol eteri 50 : Diklorometan 50	18
Petrol eteri 30 : Diklorometan 70	19-20
Diklorometan 100	21
Diklorometan 80 : Etil asetat 20	22-23
Diklorometan 60 : Etil asetat 40	24-26
Diklorometan 40 : Etil asetat 60	27-29
Diklorometan 20 : Etil asetat 80	30-31
Etil asetat 100	32
Etil asetat 90 : Metanol 10	33
Etil asetat 70 : Metanol 30	34
Etil asetat 50 : Metanol 50	35
Metanol 100	36

Sütundan alınan 12-13, 19-20 ve 22, 23, 24, 25, 26, 27 numaralı fraksiyonların benzer olduğu görüldü. Bunlar birleştirildi.

Sütundan alınan 16. fraksiyonun kromatografik kontrolü sonucu, kumarin tipi maddeler taşıdığı tespit edildi ve silikajel plaklarla yapılan preparatif ayırma (toluen : etilasetat (1:3)) ile Gr1 maddesi yani bu tip bir madde olan *Skopoletin* elde edildi.

TABLO 6. *G.rivale*'den elde edilen kumarin tipi maddenin (*Skopoletin*) tanınmasında kullanılan çözücü sistemleri ve maddenin Rf değerleri

	Skopoletin		
Çözücü sistemleri	3	6	11
Rf	0.68	0.66	0.87

12 ve 13-15 no'lu fraksiyonlar tekrar yapılan İTK kontrolleri sonucunda benzer oldukları düşünülerek birleştirildi ve bunların flavonoidal bileşikler taşıyabileceklerine karar verildi.

Bu fraksiyonlardan silikajel plaklarla yapılan preparatif ayırmada (diklorometan: toluen (20:1)) Gr2 maddesi *Apigenin* elde edildi.

21. fraksiyon ile silikajel plaklarla yapılan preparatif ayırma (diklorometan : eter (2:3)) sonucu Gr3 maddesi *Kersetin* elde edildi.

TABLO 7. *G.rivale*'den elde edilen flavonoidal maddelerin tanınmasında kullanılan çözücü sistemleri ve maddelerin Rf değerleri.

	Apigenin			
Çözücü sistemleri	1	2	10	12
Rf	0.58	0.47	0.27	0.37

	Kersetin				
Çözücü sistemleri	3	8	5	14	13
Rf	0.35	0.58	0.35	0.56	0.62

20. fraksiyon ile silikajel plaklar ve etilasetat : diklorometan (1:3) kullanılarak yapılan preparatif ayırma sonucunda Gr4 maddesi *Aloe-emodin* elde edildi.

TABLO 8. *G.rivale*'den elde edilen antrasen türevi maddelerin tanınmasında kullanılan çözücü sistemleri ve maddelerin Rf değerleri

Çözücü sistemleri	Aloe-emodin						
	3	6	7	12	13	14	5
Rf	0.58	0.46	0.31	0.70	0.41	0.5	0.41

Birleştirilen 7-11. fraksiyonların, şahit maddeler ile yapılan kromatografik kontrollerinde 'ursolik asit ve oleanolik asit' karışımı taşıyabileceğine karar verildi.

Sütundan alınan 3-4. fraksiyonlarda şahit maddeler ile yapılan kromatografik kontroller sonucunda bunların β -sitosterol taşıyabileceği görülmüştür.

Elde edilen bu bileşiklerin tanınmasında kullanılan çözücü sistemleri ve Rf değerleri Tablo 9'da verilmiştir.

TABLO 9. *G.rivale*'den elde edilen diğer maddelerin tanınmasında kullanılan çözücü sistemleri ve maddelerin Rf değerleri (-: maddeyle ilgili sistemde İTK kontrolü yapılmamıştır).

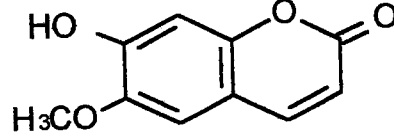
Çözücü sistemleri	2	3	4	5	7	12	Rf
Ursolik asit,	-	0.56	-	0.55	0.76	0.82	
oleanolik asit							
β -sitosterol	0.41	-	0.37	-	-	-	

(Tablolarda numaraları verilen çözücü sistemleri s.29'da gösterilmiştir).

6.5. Elde Edilen Bileşikler

6.5.1. Elde Edilen Kumarin Tipi Bileşikler

6.5.1.1. Gr1 Bileşiği: Skopoletin



Skopoletin

Şekil 1: Skopoletin bileşiğinin yapısı

Gr1 bileşiği hafif sarı renkli, amorf bir maddedir.

UV ışık altında mavi floresans göstermektedir.

Gr1 bileşiğinin farklı çözeltilerdeki Rf değerleri Tablo 6'da verilmiştir.

UV spektrumu:

λ_{\max} (MeOH): 262, 343nm

λ_{\max} (MeOH+NaOH): 260, 390nm

IR spektrumu: CHCl₃ (v max cm⁻¹)

3806 (OH)

2925,2850 (CH)

1712 (C=O)

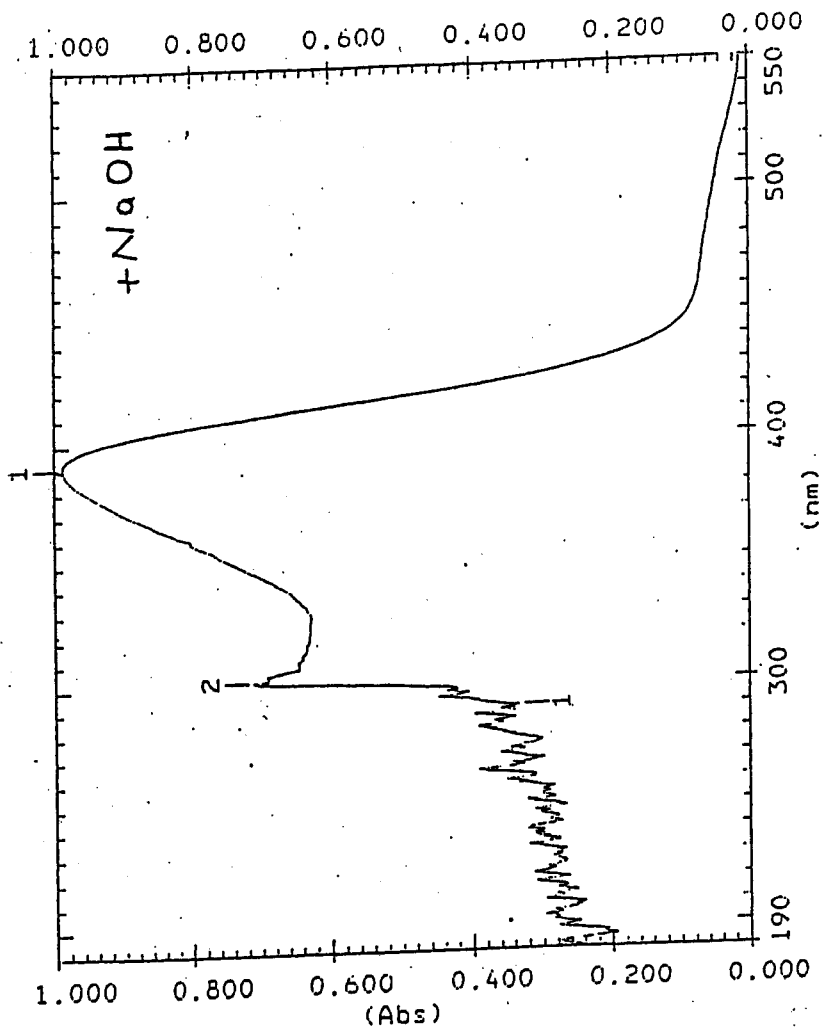
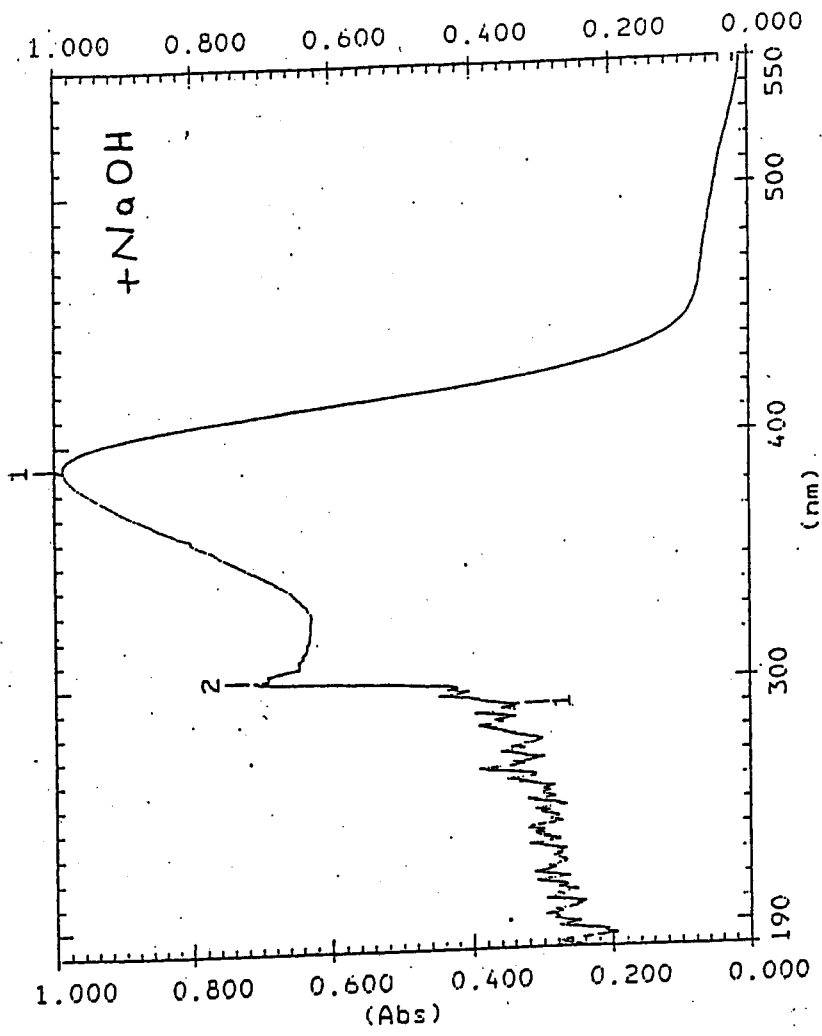
1628, 1612, 1569, 1516 (C=C)

1262 (C-O-C)

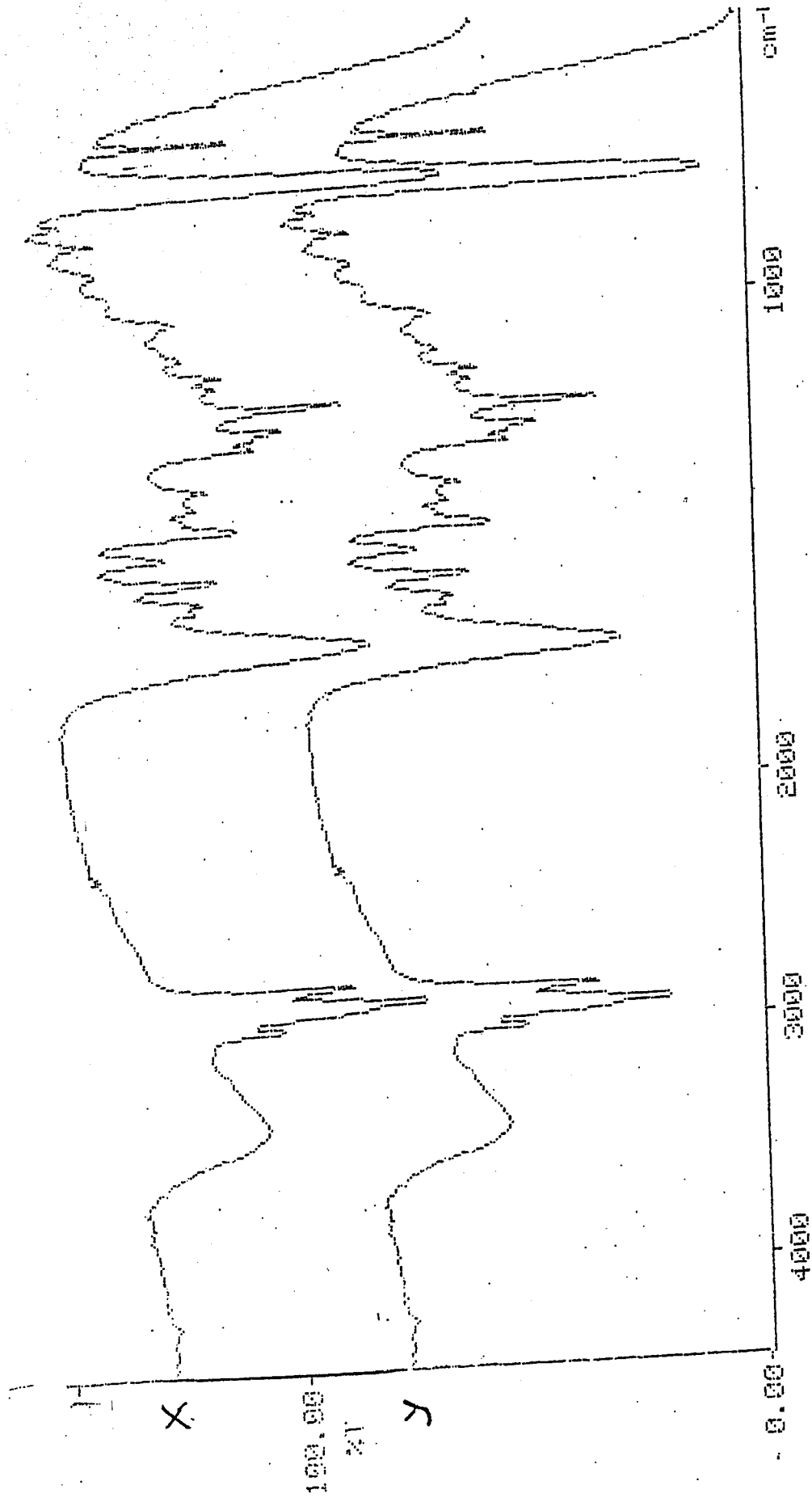
925,861,820,757,667 (Skopoletin parmak izi bantları)

Gr1 bileşiğinin UV spektrumunda verdiği absorpsiyon değerleri, literatürde skopoletin için verilen değerlerle uyumaktadır (27). Gr1 UV spektrumu Şekil 5'te gösterilmektedir.

Bileşiğin IR spektrumunda verdiği değerler, şahit skopoletin değerleriyle uyumaktadır. Bileşiğin IR spektrumu Şekil 6'da gösterilmektedir.



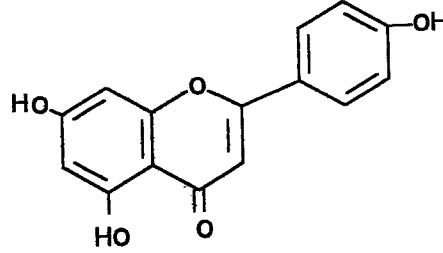
Şekil 5. Gr1 bileşiğinin (Skopoletin) UV spektumları



Şekil 6. Gr1 bileşiminin (Skopoletin) IR spektumu (Y)
Şahit Skopoletin'in IR spektumu (X)

6.5.2. Elde Edilen Flavonoidal Bileşikler

6.5.2.1. Gr2 Bileşiği: Apigenin



Şekil 2 : Apigenin bileşiğinin yapısı

Gr2 bileşiği Apigenin sarı renkli amorf bir maddedir.

UV ışık altında koyu mor, NH₃ buharı ve NA belirteçleri ile sarı renk, FeCl₃ ile yeşil, KOH ile sarı renk vermektedir .

Gr2 bileşiğin farklı çözeltilerdeki Rf değerleri Tablo 7'da verilmiştir.

Gr2 bileşiğinin UV spektrumunda metanol ve kayma belirteçleriyle verdiği değerler Tablo 10'da gösterilmektedir.

TABLO 10. Gr2 bileşiğinin UV spektrumunda verdiği değerler

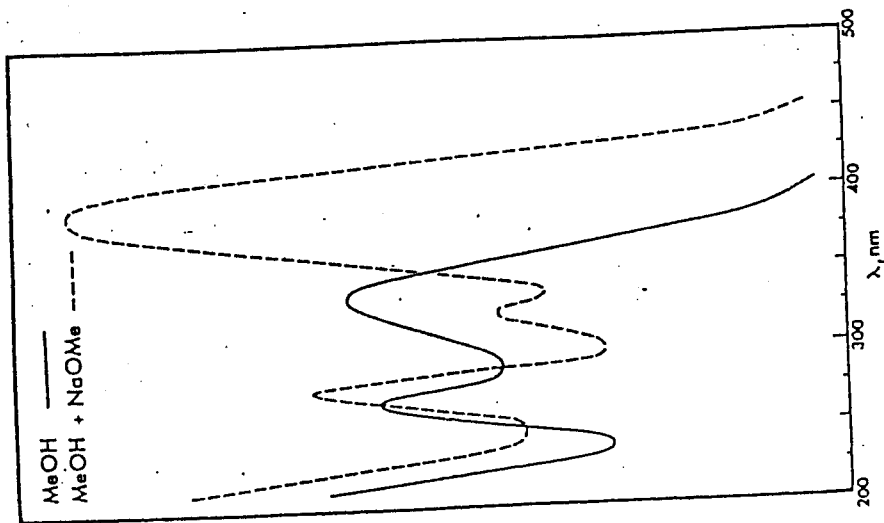
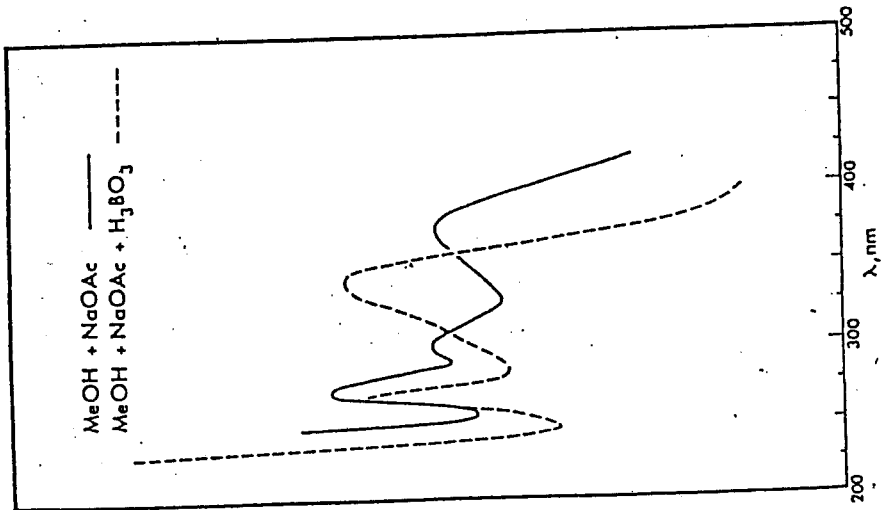
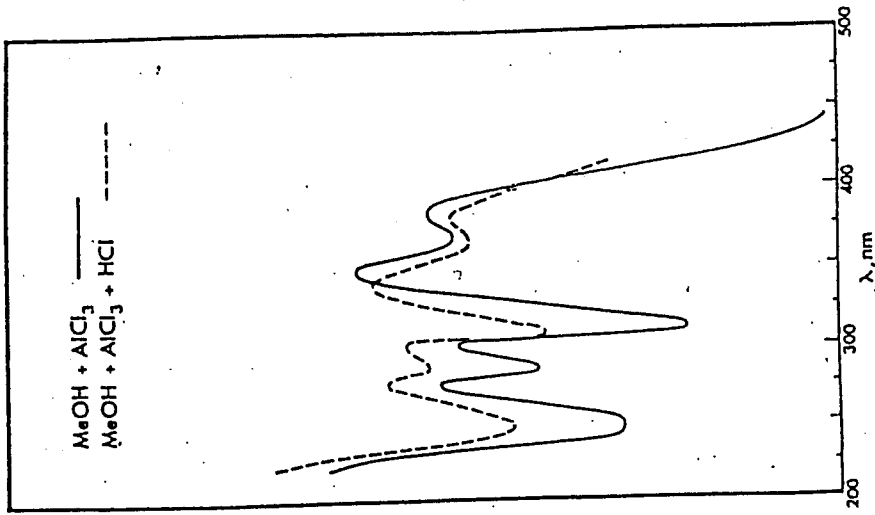
Belirteçler	BantI	BantII	Yorum
MeOH	336	270	Flavon
MeOH+NaOMe	393,310 (om.)	272	4 ^l -OH, açık
MeOH+AlCl ₃	380,345	275	5-OH
MeOH+AlCl ₃ +HCl	378,342	275	Orto dihidroksi yok
MeOH+NaOAc	375,300	270	7-OH
MeOH+NaOAc+H ₃ BO ₃	337	270	3 ^l -H, Orto dihidroksi yok

Gr2 bileşiğinin UV spektrumundaki absorpsiyon değerleri, literatürde apigenin için verilen değerlerle uyumaktadır (20,26).

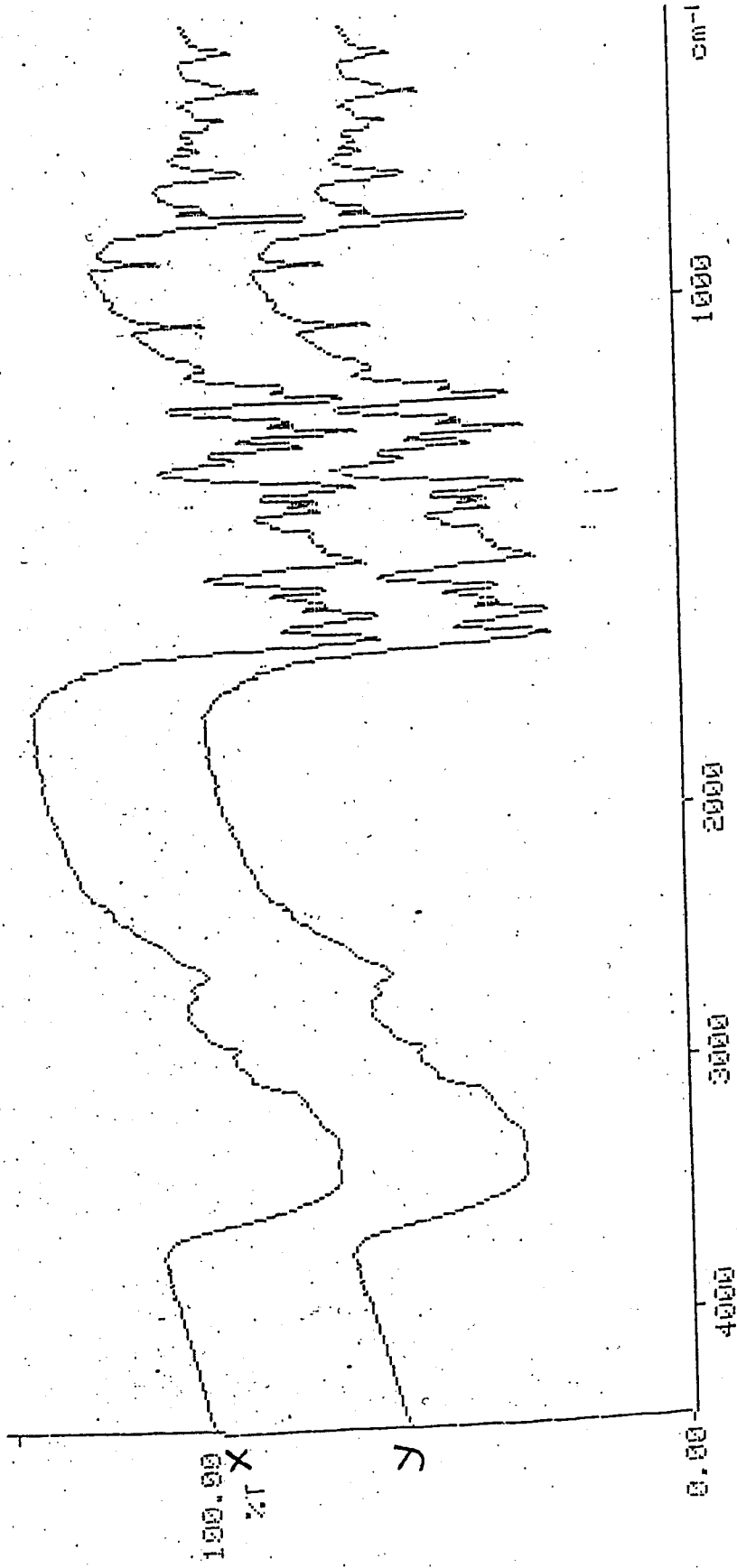
Gr2 nin UV spektrumları Şekil 7' de gösterilmektedir

Bileşiğin IR spektrumunda verdiği değerler, şahit apigenin değerleriyle uyumaktadır.

Bileşiğin IR spektrumu Şekil 8' de gösterilmektedir.

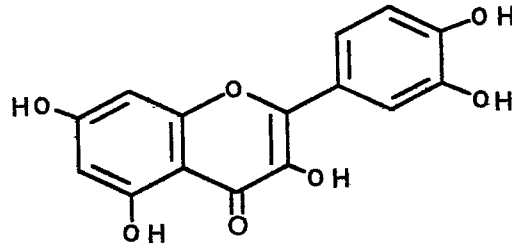


Şekil 7-Gr2 bileşiminin (Apigenin) UV spektumları



Şekil 8. Gr2 bileşiğinin (Apigenin) IR spektrumu (y)
Şahit Apigenin'in IR spektrumu (x)

6.5.2.2. Gr3 bileşiği: Kersetin



Şekil 3.: Kersetin bileşiğinin yapısı

Gr3 bileşiği sarı renklidir ve amorf bir maddedir.

UV ışık altında sarı görünmektedir. Bu madde NH_3 buharı ile sarı, NA belirteci ile turuncu, FeCl_3 ile yeşil, KOH ile sarı renk vermektedir.

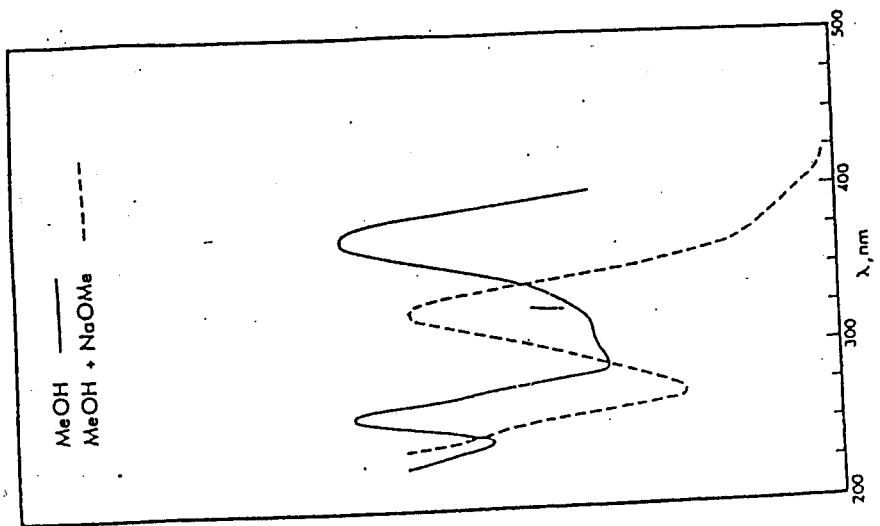
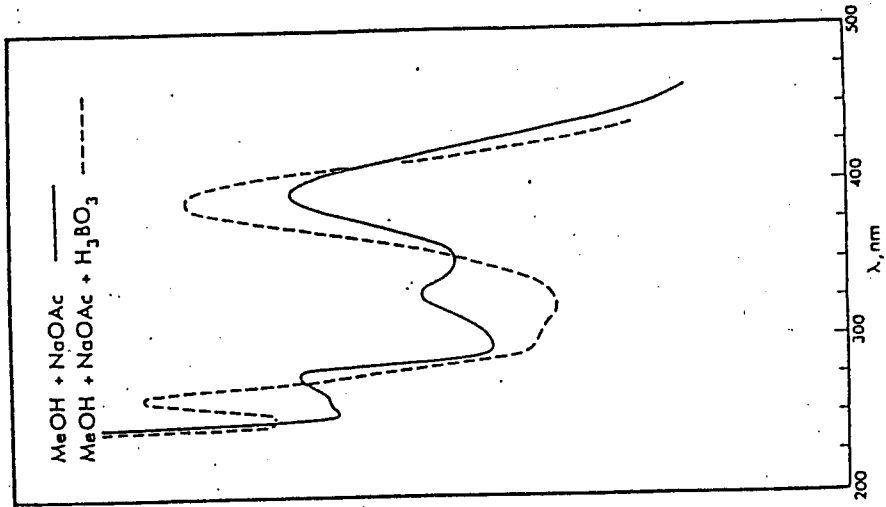
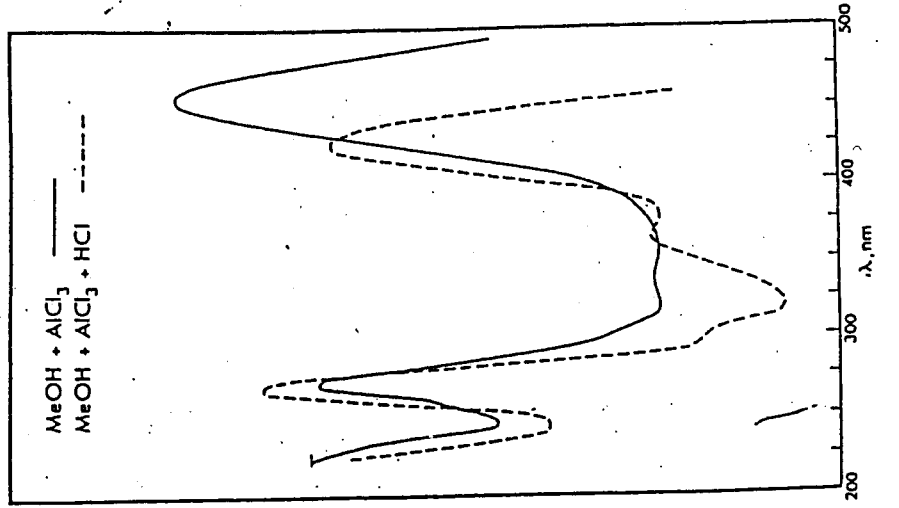
Gr3 bileşiğin farklı çözeltilerdeki Rf değerleri Tablo 7'da verilmiştir.

Gr3 bileşiğinin UV spektrumunda metanol ve kayma belirteçleriyle verdiği değerler Tablo 11'da gösterilmektedir.

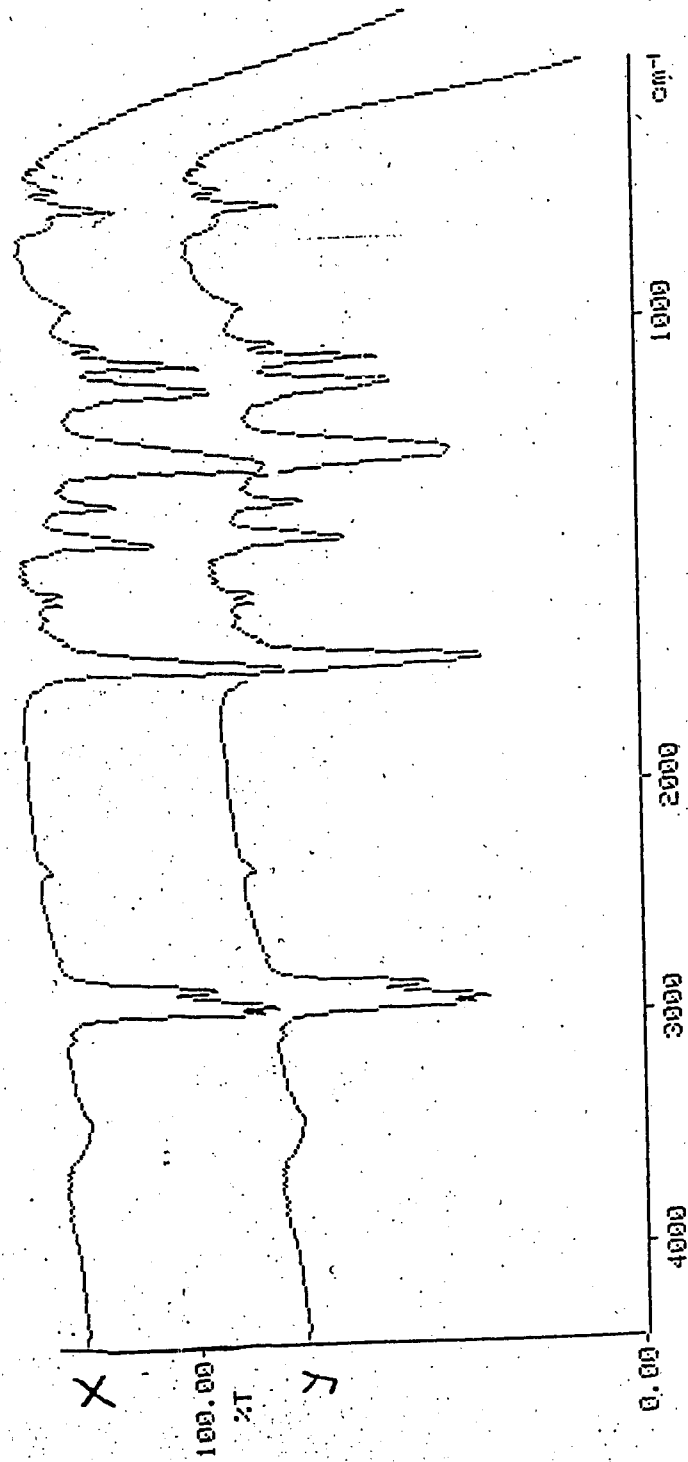
TABLO 11. Gr3 bileşiğinin UV spektrumunda verdiği değerler

Belirteçler	BantI	BantII	Yorum
MeOH	368,301 (om.)	257	Flavonol,3-OH
MeOH+NaOMe	322	248 (dekompozisyon)	3,3',4'-trihidroksi
MeOH+AlCl ₃	452,334,305 (om.)	273	5-OH
MeOH+AlCl ₃ +HCl	422,353,300 (om.)	264,232 (om.)	Orto dihidroksi
MeOH+NaOAc	392,330	275,256 (om.)	7-OH
MeOH+NaOAc+H ₃ BO ₃	386,303 (om.)	263	3'-OH orto dihidroksi

Gr3 bileşiğinin UV spektrumundaki absorpsiyon değerleri, literatürde kersetin için verilen değerlerle uyumaktadır (20,26). Gr3'ün UV spektrumları Şekil 9'da gösterilmektedir. Bileşiğin IR spektrumunda verdiği değerler, şahit kersetin değerleriyle uyumaktadır. Bileşiğin IR spektrumu Şekil 10'da gösterilmektedir.



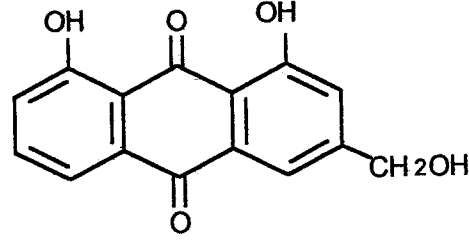
Şekil 9. Gr3 bileşiminin (Kersetin) UV spektumları



Şekil 10. Gr3 bileşiminin (Kersetin) IR spektrumu (y)
Şahit Kersetin'in IR spektrumu (x)

6.5.3. Elde Edilen Antrakinon Türevi Bileşikler

6.5.3.1. Gr4 Bileşiği: Aloe-emodin



ŞEKİL 4. : Aloe-emodin bileşiğinin yapısı

Gr4 bileşiğinin farklı çözücü sistemlerindeki Rf değerleri Tablo 8'de verilmiştir.

UV spektrumu:

λ_{\max} (MeOH): 228,295,425nm

λ_{\max} (MeOH+NaOH): 280,310,495nm

IR spektrumu: CHCl₃ (v max cm⁻¹)

3416 (OH)

3117,2923,2849 (CH)

1715 (C=O)

1629, 1598, 1462 (C=C)

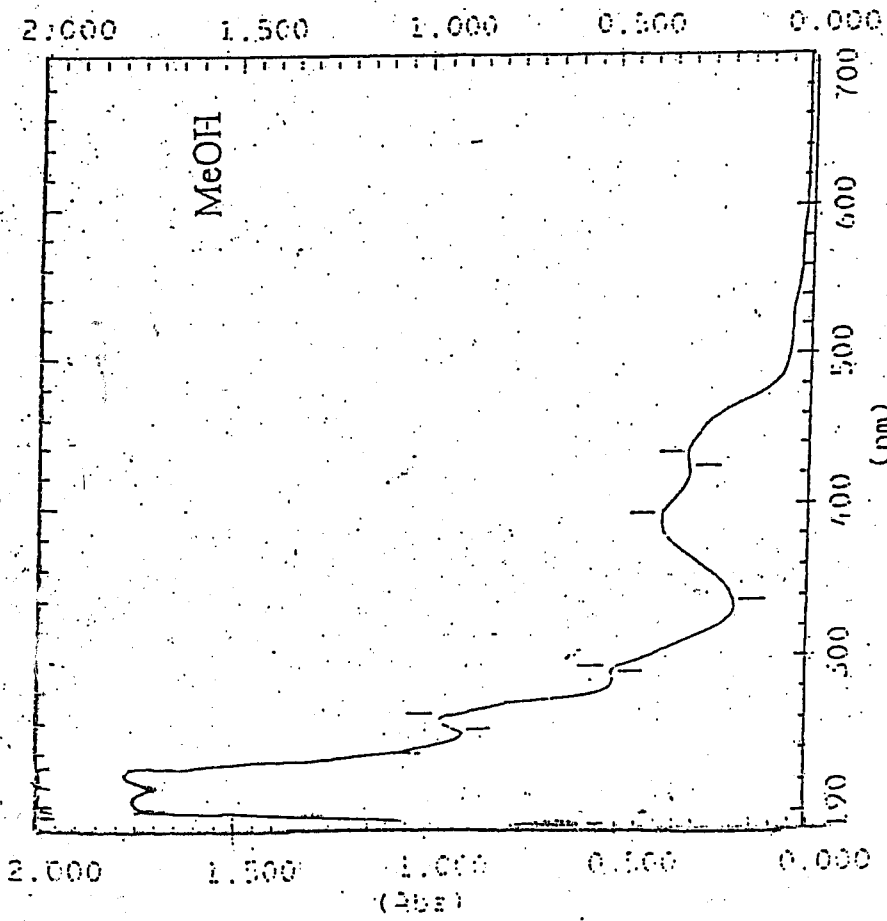
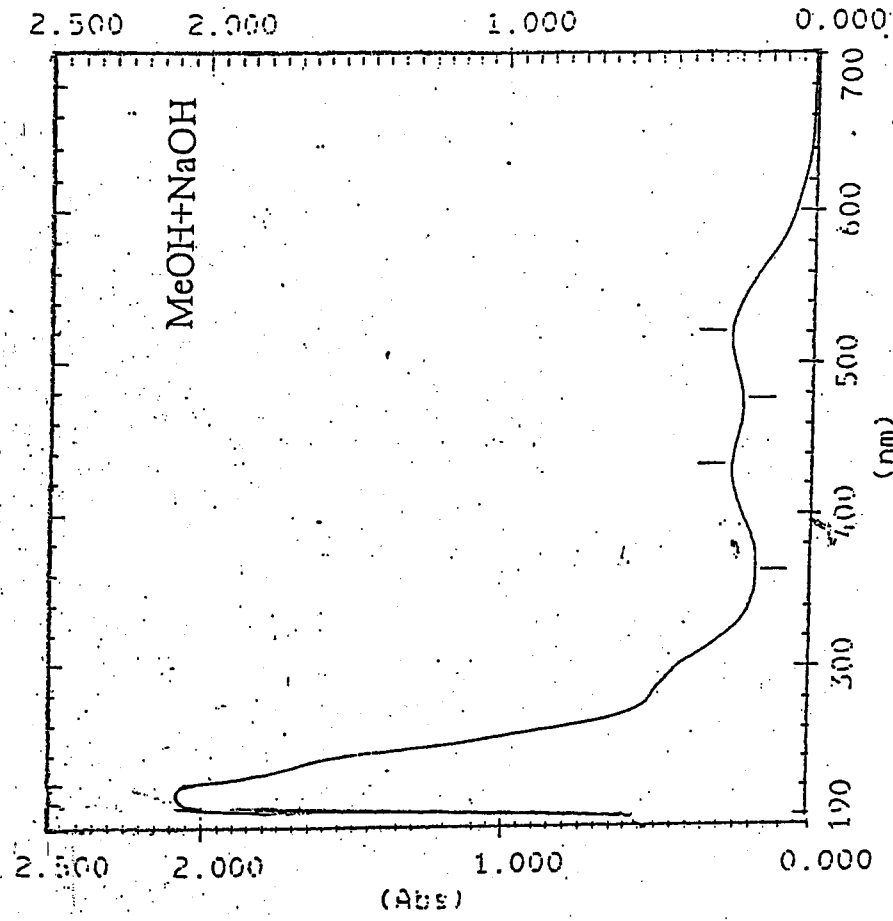
1040,759,668 (Aloe-emodin'nin parmak izi bantları)

Gr4 bileşiğinin UV spektrumundaki absorpsiyon değerleri, literatürde aloe-emodin için verilen değerlerle uyumaktadır.

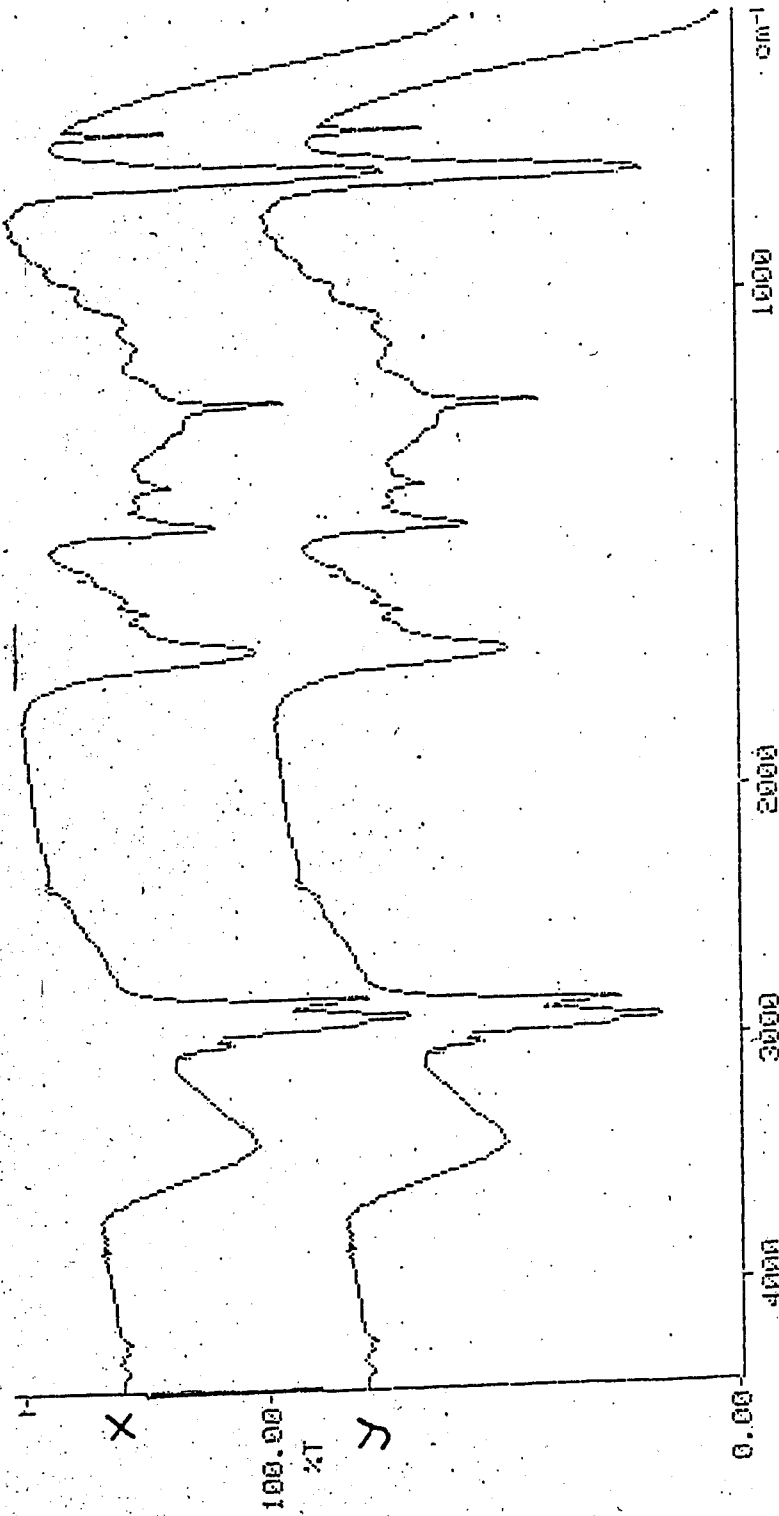
Gr4 'ün Uv spektrumları Şekil 11'de gösterilmektedir

Bileşiğin IR spektrumunda verdiği değerler şahit aloe-emodin değerleriyle uyumaktadır.

Bileşiğin IR spektrumu Şekil 12'de gösterilmektedir.



Şekil 11. Gr4 bileşininin (Albe-emodin) UV spektumları



Şekil 12. Gr4 bileşiminin (Aloe-emodin) IR spektrumu (Y)
Şahit Aloe-emodin'in IR spektrumu (X)

7. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada Rubiaceae familyasında yer alan, ülkemizde yetişen ve flavonoidal bileşikleri açısından herhangi bir araştırmaya rastlamadığımız *G. rivale* bitkisinin fitokimyasal araştırması sonucunda, bitkiden 2 flavonoidal, 1 antrasen türevi ve 1 kumarin tipi olmak üzere toplam 4 bileşik izole edilmiştir.

Sapanca gölü çevresindeki Kurtköy civarından toplanan *G.rivale*'nin toprak üstü kısımları üzerinde yapılan fitokimyasal ön denemeler sonucunda flavonoit, antrasen türevi bileşikler ve kumarin tipi bileşiklerin varlığı saptanmıştır. Miktar tayini deneyleri sonucunda ise %5,62 kül, %7,23 su bulunmuştur.

Bitkiden elde edilen bileşiklerin yapısı şahit maddelerle yapılan kromatografik karşılaştırmalardaki Rf değerlerinin kıyaslanması ve spektral yöntemler (UV,IR) yardımıyla aydınlatılmıştır.

Bu çalışmalar sonucunda :

Gr1'in-Skopoletin, Gr2'nin- Apigenin, Gr3'ün- Kersetin ve Gr4'ün- Aloe-emodin olduğu saptanmıştır.

Elde edilen diğer bileşikler ise UV ışık altında görülmemelerine rağmen serik sülfat belirteci ile 100⁰C'de etüvde yakıldıklarında biri pembe diğeri de mavi-mor renk veren 2 madde izole edilmiştir.

Bunlar şahit maddelerle karşılaştırıldığında pembe renk vererek yanan maddenin Ursolik asit+Oleonolik asit karışımı olduğu , mavi-mor renk veren maddenin de β-sitosterol olduğuna karar verilmiştir.

Elde edilen Gr1-(skopoletin) kumarin tipi bileşiği, ultraviyole ışıpta mavi floresans göstermiş ve serik sülfatla yakılınca sarı renk vermiştir.

Maddenin metanolde ve metanol + sodyum hidroksit çözeltisiyle alınan UV spektrumlarında verdiği bantlar, bu maddenin kumarin yapısında bir madde olan skopoletin olduğunu kanıtlamıştır. Standart skopoletin ile yapılan kromatografik karşılaştırmalar ve IR spektrumları da Gr1-bileşiğinin skopoletin olduğunu göstermiştir.

Gr2 ve Gr3 bileşiklerinin metanol ve kayma belirteçleriyle çekilen UV spektrumlarında izlenen bantlar, bileşiklerin flavonoidal yapılarını açıklamıştır. UV spektrumundan alınan kayma değerleri, IR spektrumunda gözlenen bantlar, şahit maddelerle yapılan İTK karşılaştırmaları ve bunlara ait literatür değerleri sonucunda Gr2'nin apigenin, Gr3'ün kersetin olduğu kanıtlanmıştır.

Gr4- bileşiğinin çeşitli çözücü sistemlerindeki Rf değerleri, UV ve IR spektrumunda verdiği bantlar, şahitlerle yapılan kromatografik karşılaştırmalar, bileşiğin bir antrakinon türevi olan aloe-emodin olduğunu açıklamıştır.

Bitkiden elde edilen ekstrenin potansiyel sitotoksik aktivitesinin araştırılması amacıyla Brine Shrimp (*Artemia salina*) metodu uygulanmıştır. Standart olarak kullanılan umbelliferon'a karşı ekstre aktif bulunmuştur. Bu aktivitenin araştırılması daha sonraki bir çalışmanın içeriğini oluşturacaktır.

Sonuç olarak, *Galium rivale* bitkisinin Zalvatore *et. al.* tarafından iridoidal ve triterpen saponin tipi bileşikleri üzerinde gerçekleştirilen çalışmanın yanında ülkemizde yetişen *G. rivale* bitkisinin tarafımızdan çalışılan toprak üstü kısımlarının fitokimyasal araştırmasında 1 kumarin tipi (skopoletin), 2 flavonoidal (apigenin ,kersetin) ve 1 antrazen türevi (aloe-emodin) toplam 4 bileşik izole edilip yapıları aydınlatılmıştır ve ekstre Brine Shrimp (*Artemia salina*) yöntemiyle aktif bulunmuştur.

8. KAYNAKLAR

1. Banthorpe, D.V., White, J.J.: Novel Anthraquinones from Undifferentiated Cell Cultures of *Galium verum*. *Phytochemistry*, 38 (1) : 107-111, 1995.
2. Baytop, T.: Türkiye'de Bitkilerle Tedavi. s. 373,419, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 1999.
3. Bogoevskii, A.K., Borisov M.I.: Flavonoids of *Galium fagetorum* II, (Chem. Abst. 74 : 50527 a, 1971).
4. Bogoevskii, A.K., Borisov M.I.: Flavonoids of *Galium fagetorum* I, (Chem. Abst. 74 : 28826 a, 1971).
5. Borisov, M.I., Komissarenko, N.F.: Flavonoids of *Galium palustre*, (Chem. Abst. 72:75651 h, 1970).
6. Borisov M.I.: Flavonoids of *Galium ruthenicum*, (Chem. Abst. 82 : 83012 x, 1975).
7. Borisov M.I.: Flavonoids of *Galium mollugo* Rast. Resur., (Chem. Abst. 81 : 35550d, 1974).
8. Borisov, M.I., Borisyuk, Yu.G.: Phytochemical Study of *Galium salicifolium*, (Chem. Abst. 61 : 8624 g, 1964).
9. Borisov, M.I., Borisyuk, Yu.G., Phytochemical Investigation of *Galium ruthenicum*, *Farmatsevt. Zh.*, 18(3): 43-47, 1963. *Chemical Abstracts* 60 : 5889 h, 1964
10. Borisov, M.I.: *Galium tauricum*, (Chem. Abst. 67 : 108525 x, 1967).
11. Büyüktimkin, N.: *Digitalis orientalis* Bitkisinin Antrakinon ve Flavonlar Bakımından İncelenmesi, İ.Ü.Eczacılık Fakültesi Doktora Tezi, 1974.
12. Davis, P.H.: *Flora of Turkey and The East Aegean Islands*. Vol.7, Edinburgh University Press, New York, 1991.
13. Dey, P.M. and Harborne J.B.: *Methods in Plant Chemistry*. Vol.6, Academic Press, New York, 1991.
14. Duke, J.A., Ayensu, E.S.: *Medicinal Plants of China*, Vol.2, Reference Publications, Inc., Michigan s.561-562, 1985.

15. Duke, J.A.: CRC Handbook of Medicinal Herbs, D.C.,CRC Press, Inc.,Florida, s.201, 1985.
16. El-Gamal, A.A Koichi T., Hideji.,Ahmed, F.H., Mohamed M.A.,Hasan-Elrady A.S., Sabri A.A., Anthraquinones from *Galium sinaicum*. Phytochemistry, 40(1): 245-251, 1995.
17. Geissman, T. A.: The Chemistry of Flavonoid Compounds, the Macmillan Company, Pergamon Press, Inc., New York, 1962.
18. Gürkan E., Hırlak F., Tüzün O.T.: Journal of Faculty of Pharmacy of Istanbul University, 35:31,1994.
19. Halim A.F., Abd El-Fattah, H., El-Gamal, A.A., Thomson, R.H., Anthraquinones from *Galium sinaicum*. Phytochemistry, 31 (1) : 355-356, 1992.
20. Harborne, J.B., Mabry, T.J. and Mabry, H.: The Flavonoids, Part I, Chapman and Hall Ltd., London, 1975.
21. Harborne, J.B., Mabry, T.J. and Mabry, H.: The Flavonoids Advances in Research, Chapman and Hall Ltd., London, 1982.
22. Hoppe, H.A.: Drogenkunde, 1.8. Auf Walter de Gruyter, Berlin, 519-521,1975.
23. Kharitonova, N.P.: Flavonoid Composition of *Galium boreale*, (Chem. Abst. 75 : 59853 g, 1971).
24. Koyama, J., Ogura T., Tagahara, K.: Anthraquinones of *Galium spurium*. Phytochemistry, 33 (6) : 1540-1542, 1993.
25. Knott, R.P., McCutcheon, R.S.: Phytochemical Investigation of a Rubiaceae, *Galium triflorum*, J. Pharm. Sci., 50: 963-965, 1961.
26. Mabry, T.J, Markham, K.R., Thomas, M.B.: The Systematic Identifications of Flavonoids, Springer-Verlag, Berlin,1970.
27. Murray R.D.H., Mendez J.,Brown S.A.: The Natural Coumarins Occurence, Chemistry and Biochemistry, John Wiley and Sons Ltd., New York,1982.
28. Ongyanov, I., Boheva, D.: Coumarins in *Ferulago meoides* (L.) Boiss., Planta Medica 17,65,1969.
29. Sakar, M.K., Tanker, M.: Fitokimyasal Analizler. s.202-213, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, Ankara, 1991.

30. Serkerov, S.K., Kagramanow, A.A., Abbasov, R.M.: Coumarins of *Ferulago turcomanica*, (Chem..Abst. 85: 59559x,1976).
31. Solis P.N., Wright C.W., Anderson M.M.,Gupto M.P., Philipson J.B.: A Microwell Cytotoxicity Assay Using *Artemia salina* (Bine Shrimp). *Planta Med.*, 59:250-255, 1993.
32. Tanker, M., Tanker, N.: *Farmakognozi Cilt 1*, Ankara Üniversitesi Eczacılık Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara 1988.
33. Tanker, M., Tanker, N.: *Farmakognozi Cilt 2*, s.336 Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları , Ankara , 1990.
34. Thomson, R.H. Anthraquinones : In *Naturally Occuring Quinones*, 2nd ed., Academic Press, London, 1971.
35. Tüzün, O.T., Gürkan, E.: *Galium paschale* Bitkisi Üzerinde Farmakognozic Araştırmalar, Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Doktora Tezi, İstanbul 1997.
36. Yamaguchi, K.: *Spectral Data of Natural Products*, Torii & Co., Ltd., Nihonbashi, Tokyo, Japan, s.63-75, 1970.
37. Zhuravlev, N.S.: Anthraquinones of *Galium semiamictum*, (Chem. Abst. 82 : 83008 a, 1975).
38. Zhuravlev, N.S., Borisov M.I.: Anthraquinones of *Galium dasypodum*, (Chem. Abst. 71 : 88421 n, , 1969).
39. Zhuravlev, N.S., Shtefan,: Anthraquinones from *Galium fagetorum* (Chem. Abst. 102 : 59260 n, 1985).
40. Zalvatore R., Carmine I., Maya M., Nedjalka H., Simeon P., Mincho A.: Triterpene Saponins and Iridoid Glucosides from *Galium rivale*, *Phytochemistry*, 54(8),751-756, 2000.

9. ÖZGEÇMİŞ

6 kasım 1975'te Makedonya'nın başkenti Üsküp'te doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Üsküp'te tamamladım.

1998-1999 öğretim döneminde Üsküp "Kiril ve Metodiy" Üniversitesi Eczacılık Fakültesine girdim ve 2000 yılında mezun oldum.

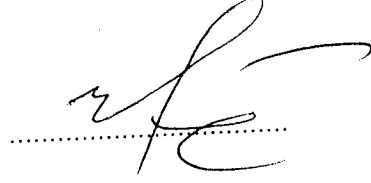
Kasım 2001'de Marmara Ünivesitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı'nda yüksek lisans programına başladım.

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

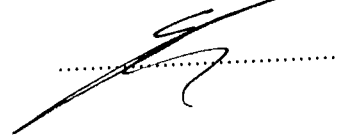
Yüksek Lisans öğrencisi Cinan KALBONA'nın, çalışması jürimiz tarafından Farmakognozi Anabilim Dalı Yüksek Lisans tezi olarak uygun görülmüştür.

İMZA

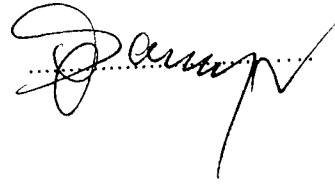
Tez Danışmanı : Prof.Dr.Elçin GÜRKAN
Üniversitesi : Marmara



Üye : Prof.Dr.Ertan TUZLACI
Üniversitesi : Marmara




Üye : Prof.Dr.Günay SARIYAR
Üniversitesi : İstanbul



ONAY

Yukarıdaki jüri kararı Enstitü Yönetim Kurulu'nun .15. / ..6... / 2004 tarih ve 02. sayılı kararıyla onaylanmıştır.


Prof.Dr.Sevim ROLLAS
Müdür