

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**Lagotis stolonifera (C. Koch) Maxim.
ÜZERİNDE FİTOKİMYASAL ARAŞTIRMALAR**

BİLİM UZMANLIĞI TEZİ
FARMAKOĞNOZİ PROGRAMI

Eczacı
Deniz TAŞDEMİR

ANKARA – 1992

23555

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

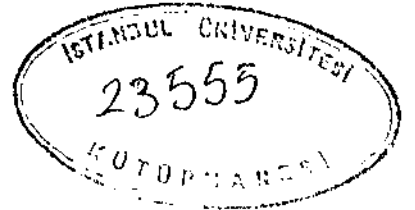
Lagotis stolonifera (C.Koch) Maxim.
ÜZERİNDE FİTOKİMYASAL ARAŞTIRMALAR

BİLİM UZMANLIĞI TEZİ
FARMAKOGNOZİ PROGRAMI

Eczacı
Deniz TAŞDEMİR

Rehber Öğretim Üyesi
Prof. Dr. İhsan ÇALIŞ

ANKARA-1992



5800-32

YÜKSEK LİSANS TEZ SAVUNMA JÜRİSİ

PROF. DR. MEKİN TANKER
BAŞKAN

PROF. DR. İHSAN ÇALIŞ
DANIŞMAN ÜYE

PROF. DR. BİLGE ŞENER
ÜYE

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
GİRİŞ ve AMAÇ	1
TEORİK BİLGİLER	
FENİLPROPANOİT HETEROZİTLERİ	
Genel	2
Temel Yapı ve Yapıda Değişiklikler	4
Açıl Kısmı	4
Ağırın Kısmı	4
Özler	5
a)- Monoözidlik Fenilpropanoit Heterozitleri	6
b)- Biazetik Fenilpropanoit Heterozitleri	6
c)- Triözidlik Fenilpropanoit Heterozitleri	6
Dezaminat Fenilpropanoit Heterozitleri	7
Değişik Tip Fenilpropanoit Heterozitleri	12



Lagotis stolonifera (C. Koch) Maxim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
TEORİK BİLGİLER	
FENİLPROPANOİT HETEROZİTLERİ	
Genel.....	2
Temel Yapı ve Yapıda Değişiklikler.....	4
Açıl Kısmı.....	4
Aglikon Kısmı.....	4
Ozlar.....	5
a)- Monoozidik Fenilpropanoit Heterozitleri.....	5
b)- Biozidik Fenilpropanoit Heterozitleri.....	5
c)- Triozidik Fenilpropanoit Heterozitleri.....	6
Desinnamoil Fenilpropanoit Heterozitleri.....	7
Değişik Tip Fenilpropanoit Heterozitleri.....	12
Fizikokimyasal Özellikleri.....	15
Yayıllışları.....	15
Biyosentezleri	18
Ekstraksiyon ve İzolasyon Yöntemleri.....	19
Tanıma Reaksiyonları.....	21
İnce Tabaka Kromatografisi.....	21
Yapı Tayinleri.....	22
Spektroskopik Yöntemler.....	22
Ultraviyole Spektroskopisi.....	22
İnfrared Spektroskopisi.....	22
Nükleer Magnetik Rezonans Spektroskopisi.....	23
¹ H-NMR.....	23
¹³ C-NMR	27
Kütle Spektrometrisi.....	31
Kimyasal Yöntemler.....	34
Farmakolojik Aktiviteleri.....	35
SCROPHULARIACEAE FAMILİYASI.....	38
<i>Lagotis</i> Cinsi.....	39
<i>Lagotis stolonifera</i> (C.Koch) Maxim.....	39
Yayıllış.....	40
Sistematik.....	40
LAGOTIS TÜRLERİ ÜZERİNDE YAPILAN KİMYASAL ARAŞTIRMALAR.....	42
DENEYSEL KISIM	
MATERYAL.....	43
YÖNTEM.....	44

Tüketme ve Yoğunlaştırma.....	44
İnce Tabaka Kromatografisi	44
İzolasyon Yöntemleri.....	44
Normal Faz Kolon Kromatografisi.....	44
Karşıt Faz-Kolon Kromatografisi.....	45
KİMYASAL YÖNTEMLER	
Ester İridoitlerin Alkali Hidrolizi.....	46
Fenilpropanoit Heterozitlerinin Asetilasyonu.....	46
Diazometan ile Kısmi Metilasyon.....	46
Diazometan Hazırlanması.....	46
Diazometan ile Fenilpropanoit Heterozitlerinin Metillenmesi.....	47
Diazolanmış Fenilpropanoit Heterozitlerinin Alkali Hidrolizleri	48
Deağil Fenilpropanoit Türevlerinin Saflaştırılması.....	48
TÜKETME	49
İZOLASYON	49
Fenolik Olmayan Bileşiklerin İzolasyonu.....	50
Kukurbitasin Heterozitinin İzolasyonu.....	50
İridoit Heterozitlerinin İzolasyonu.....	50
Fenilpropanoit Heterozitlerinin İzolasyonu.....	52
BULGULAR	
İnce Tabaka Kromatografisi.....	55
Diazometan ile LS-F1 ve LS-F2 Bileşiklerinin Kısmi Metilasyonu.....	56
Kısmi Metillenmiş Fenilpropanoit Heterozitlerinin Alkali Hidrolizi.....	56
Spektroskopik Bulgular	58
A-İRİDOİT HETEROZİTLERİ	59
A1- Basit İridoit Heterozitleri.....	61
Katalpol (LS-İ3) ve Okubin (LS-İ4)	63
A2- Ester İridoitler	66
Globularin (LS-İ1) ve Litantosalin (LS-İ2).....	67
B- FENİLPROPANOİT HETEROZİTLERİ	72
B1- Triozidik Fenilpropanoit Heterozitleri.....	73
Ehrenozit (LS-F1) ve Lagotozit (LS-F2)	77
B2- Biozidik Fenilpropanoit Heterozitleri.....	93
Plantamajozit (LS-F3) ve Verbaskozit (LS-F4)	96
C- KUKURBİTASİN HETEROZİTİ	104
Arvenin I (LS-K1).....	105
SONUÇ ve TARTIŞMA	110
ÖZET	116
SUMMARY	117
LİTERATÜR	118
EKLER	133

GİRİŞ ve AMAÇ

Yaklaşık 200 cins ve 3000 kadar tür ile Tubiflorae takımının olduğu kadar bitkiler aleminin de en geniş familyalarından biri olan Scrophulariaceae familyası, iridoit, flavonoit, saponozit, kardiyooaktif heterozit, antrakinin ve fenilpropanoit heterozitlerince zengindir. Bu familya bitkilerinden alkaloit, tanen ve kukurbitasin bileşikleri de elde edilmiştir. İridoit ve fenilpropanoit heterozitlerinin kemotaksonomik önemlerinin artmasıyla bu familya üzerindeki çalışmalar hızlanmıştır.

Lagotis cinsi esasen Selaginaceae familyasında yer alır ancak Scrophulariaceae'de daha doğal bir pozisyonadadır (59). Pek çok sistematikçi, küçük bir familya olan Selaginaceae'yi çok benzediği Scrophulariaceae familyasına dahil etmiş (71, 195), *Lagotis* cinsini de bu familya içinde incelemişlerdir (41, 71).

Dünyada 20 türü bulunan *Lagotis* cinsi(196), Türkiye bitki örtüsünde tek türle temsil edilmektedir. *Lagotis stolonifera*, yurdumuzda Doğu, Kuzeydoğu ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinde yetişmektedir.

Lagotis türleri üzerinde bugüne dek yapılmış iki fitokimyasal çalışma bulunmaktadır. *Lagotis integrifolia*(193)ve *L. brachystachya*(38) bitkileri, özellikle flavonoitleri yönünden incelenmiş fakat diğer heterozitleri araştırılmamıştır. Gerçi kemotaksonomik çalışmalar sırasında *Lagotis* cinsinin okubin ve katalpoi tipi iridoit heterozitleri taşıdığı bildirilmiştir(17,86,126) ancak bunların izolasyon ve yapı tayinleri yapılmamıştır. *Lagotis stolonifera* üzerinde ise şimdiye dek yapılmış herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Lagotis stolonifera bitkisinin toprak üstü kısımlarında yaptığımız ön çalışmalar sırasında bitkinin iridoit, fenilpropanoit ve kukurbitasin heterozitleri bakımından zengin olduğu görülmüştür. Scrophulariaceae heterozitleri üzerinde Anabilim Dalımızda yapılan araştırmaların bir devamı olarak, cinsinin yurdumuzda yetişen tek türü olan *Lagotis stolonifera* bitkisinin taşıdığı iridoit, fenilpropanoit ve kukurbitasin heterozitlerinin elde edilerek yapılarının tayin edilmesi, araştırmamızın amacını teşkil etmektedir.

TEORİK BİLGİLER

FENİLPROPANOİT HETEROZİTLERİ

Genel:

Fenilpropanoit heterozitleri, sinnamik asit türevlerinin (p-kumarik, kafeik, ferulik asit gibi) ozlarla yapmış oldukları ester heterozitleridir. Yeni bileşikler olarak kabul edilmelerine rağmen, aslında uzun yıllar öncesinden beri bilinmekte ve genel olarak orobanşin adı ile anılmaktaydılar. İlk kez *Orobancha minor* bitkisinden izole edilen orobanşin, Orobanchaceae familyası için karakteristik bileşik olarak kabul edilmiş ancak Buddlejaceae (*Buddleja variabilis*), Oleaceae (*Syringa vulgaris*), Bignoniaceae (*Catalpa bignonioides*) ve Scrophulariaceae (*Verbascum sinuatum*) bitkilerinde de orobanşin ile aynı veya çok benzer yapıda bileşiklere rastlanmıştır. Bu nedenle, kafeik asit (veya türevi), 3,4-dihidroksifeniletanol ve ozlardan (glukoz ve ramnoz) oluştuğu bilinen bu sinnamoil esterleri için genel terim olarak "orobanşin" kullanılmıştır (80, 81).

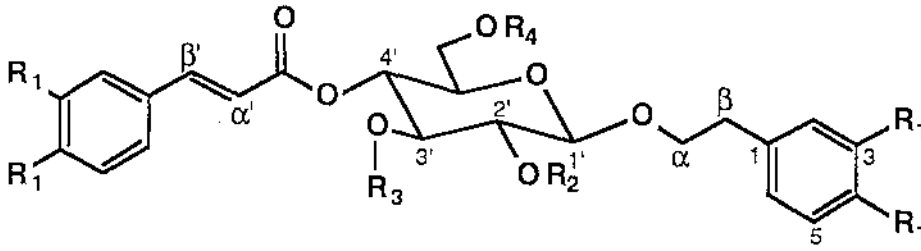
1966 yılında *Syringa vulgaris*'den izole edilerek kimyasal yapısı tayin edilen akteozit'in (27), bir kaç yıl önce *Verbascum sinuatum* (Scrophulariaceae) bitkisinden izole edilen ancak kimyasal yapısı tamamen aydınlatılamayan verbaskozit (169) ve *Clerodendron trichotomum*'dan elde edilen kusaginin (165) bileşikleri ile aynı madde olduğunun gösterilmesinden sonra (161)-özellikle de 1980'li yıllardan itibaren- bu grup bileşikler üzerinde yapılan çalışmalar hızla artmıştır. Bugün sayıları 100 civarına ulaşan bu bileşikler, ortak özelliklerinin bir sinnamik asit türevinin ester heteroziti olmaları nedeniyle literatürlerde fenilpropanoit heterozitleri olarak geçmektedirler.

Sinamik asit türevleri, yüksek bitkilerde ester veya heterozit şeklinde yaygın olarak bulunurlar(129). Bunlardan depsidler, kafeik asitin dihidroksifenillaktik asit ile meydana getirdikleri esterlerdir. Klorojenik asit türevleri de depsid yapısındadırlar, ancak fenilpropionik asitlerin (sinamik asit türevleri) kinik asit esterleri olmaları nedeniyle genellikle ayrı bir grup olarak incelenirler. Sinamik asitlerin aminoasit, amin ve diğer azotlu bileşiklerle veya bazı organik asitlerle (tartarik,glukarik asit, vb.) meydana getirdiği esterler yanında ozlarla oluşturdukları ester ve heterozitlere de sıklıkla rastlanmaktadır (81,141). Bu türevlerin en önemli ve büyük grubunu fenilpropanoit heterozitleri teşkil etmektedir (141).

Fenilpropanoit heterozitlerinin diğer oz esterlerinden en büyük farkı, yapılarında bir

feniletal alkol türevi taşıyıcılarıdır ki bu da genellikle 3,4-dihidroksifeniletanol'dur. Fenilpropionik asit türevleri doğada genellikle ester şeklinde bulunduğu için, aglikon olarak bu alkol kısmı kabul edilmektedir. Bu yüzden, son yıllarda yapılan bazı çalışmalarda feniletanol glikozitler veya hidroksifeniletanol glikozitleri şeklinde de isimlendirildikleri görülmektedir.

Bir fenilpropanoit heteroziti, merkezi konumda bir uzun -ki bu birkaç istisna dışında her zaman D-glukozdur- daima 1 numaralı pozisyonundan β -ozidik bağ ile bağlanmış bir sübtitüe feniletanol aglikonu ile, uzun diğer serbest hidroksil gruplarından biriyle (genelde C-4 (OH)) ester teşkil etmiş bir sinamik asit türevinden ibarettir ve bileşik bu haliyle monoozidik yapıdadır. Bugün bilinen fenilpropanoitlerin çok büyük bir kısmı, merkezi konumda yer alan oz üzerinde ikinci veya üçüncü bir oz ünitesi daha taşımaktadır.



R_1 : H, OH veya OCH_3

R_2 : Arabinoz, ramnoz

R_3, R_4 : Ramnoz, apioz, ksiloz, arabinoz, glukoz, galaktoz.

Şekil-1. Fenilpropanoit Heterozitlerinin Genel Yapısı.

Fenilpropanoit heterozitlerinin çeşitliliği, bu ozların sayısı, cinsi ve konumları yanında, aglikonun tipi ile sinamik asitin sübtitüsyon derecesi ve merkezi oza bağlanmış konumlarındaki değişikliklerden kaynaklanır. Çok küçük sübtitüsyonlar ve değişik kombinasyonlar nedeniyle çok sayıda fenilpropanoit heteroziti izole edilmiştir. Bugün bilinen tüm fenilpropanoitler Tablo- 1a, 1b, 1c , 1d ve Tablo-2 'de verilmiştir. Son yıllarda, yapılarında feniletanol grubu veya sinamik asit kısmı taşımayan pek çok bileşiğin fenilpropanoit heteroziti adı altında yayınlandığı görülmektedir. Ancak feniletal alkol kısmı aglikon olarak kabul edildiğinden, burada sadece desinnamoil türevlerinden bahsedilecektir (Tablo-1d).

Temel Yapı ve Yapıda Değişiklikler

Açıl Kısmı: Fenilpropanoitlerin açıl kısmını meydana getiren asit genellikle kafeik, kimi zaman da ferulik asittir. Yapısında izoferulik asit içeren tek bileşik bilinmektedir: fteriospermozit (188). Tubulozit E (123), jionozit E (166) ve osmantuzit B₆ (135) gibi bileşikler ise p-kumarik asit taşımaktadırlar .

Yapılarında ikinci veya daha fazla sayıda asit fonksiyonu bulunduran fenilpropanoit heterozitleri de vardır. Bu asit, 2'-O-asetil akteozit, (121) tubulozit A,B,E (123, 199) veya felipozit'te olduğu gibi (8) merkezi oz üzerinden (glukoz C-2 (OH)) bağlanmış bir asetik asit yada 6-O-kafeoil ekinakozit'te olduğu gibi (37) ikinci glukoz ünitesi üzerinden bağlanmış ikinci bir kafeik asit olabilir. Tubulozit C ve D ise biri merkezi oz diğer üçü de ikinci oz molekülü üzerinde olmak üzere (2,3,4-tri-O-asetil- α - ramnoz) toplam 4 asetil fonksiyonu içerirler(123).

Asidin yapısındaki (yan zincirde) çifte bağ nedeniyle cis-trans izomerisi söz konusudur ve asit çoğunlukla trans-pozisyonudur. Az sayıda olan cis-türevlerin genellikle izolasyon ve ekstraksiyon işlemleri sırasında trans-türevlerden oluştuğu belirtilmektedir (110, 166). Jionozit A₂, B₂ (166) osmantuzit C, D(110), cis-akteozit(106), cis-sistanozit D (92) gibi bileşiklerde cis-izomerizasyona rastlanmıştır.

Agliona bağlı oz molekülü (glukoz) üzerinde açılasyonun gerçekleştiği konum değişebilmektedir. Fenilpropanoit heterozitlerinin büyük çoğunluğu fenilpropionik asidi glukozun 4 numaralı konumu üzerinden taşır. Ancak izo-türevlerde (izomartinozit(50), izoverbaskozit (170)), bazı monoozidik fenilpropanoitlerde ve plantainozit C,D,E (138) veya tubulozit B (123) gibi biozidik fenilpropanoitlerde olduğu gibi asit glukozun primer alkol grubundan (C-6 (OH)) yada neoakteozit (27) ve plantainozit B (138) bileşiklerindeki gibi, glukozun C-2 (OH) grubundan da bağlanabilir. Bilinen fenilpropanoit heterozitlerinden sadece plantainozit A'da, açılasyon glukozun 3 numaralı hidroksil grubu üzerinden gerçekleşmiştir(138). *Magnolia* türlerinden izole edilen magnolidin'de ise asidin konumu belirlenememiştir(159, 160).

Değişik bir oz zincirine sahip olan mussatiozitler'de (Tablo-2a) açıl kısmı çeşitlilik gösterir. Aglikona bağlı glukozun 6 numaralı pozisyonundan bağlı bir ramnoz ünitesinin C-4 (OH) grubu üzerinden ester bağı teşkil eden asit, mussatiozit I (97) ve 4-sinamoil deksiloil mussatiozit'te sinnamik asit iken, 4-vanilloil mussatiozit'te vanilik asittir(98). Mussatiozit II, 3, 4-dimetil kafeik asit, mussatiozit III ise, p-metil-kumarik asit taşıyan nadir örneklerdir(97).

Aglikon kısmı: Daha önce de belirtildiği gibi, fenilpropanoit heterozitlerinde aglikon bir feniletanol türevidir ve genellikle de 3, 4- dihidroksifeniletal alkoldür. Bu hidroksil gruplarından birinin metoksil grupları ile yer değiştirdiği örneklere de sık rastlanır ve meti-

lasyon, sistanozitler dışındaki bileşiklerde C-4 (OH) grubu üzerinden gerçekleşmiştir. Osmantuzitler(110, 135), mussatiozitler (97, 98, 99) ve en basit fenilpropanoitlerden salidrozit'te (190) aglikon p-hidroksifeniletıl alkoldür.

Jionoziıt C (166) ve *Rehmannia glutinosa* var. *purpurea*'den izole edilen iki desinnamoil türevi bileşik (153) ise, feniletanol kısmında hidroksil substitüsyonu taşımaz, yani aglikon feniletıl alkoldür.

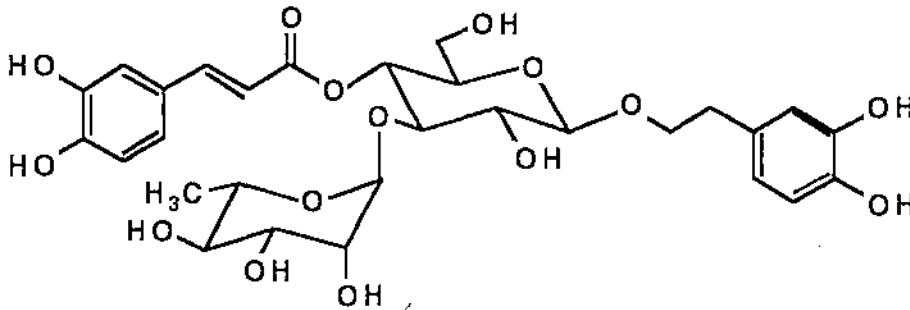
Aglikonun yan zincirindeki metilenik protonlardan β -C atomu üzerinde nadiren bir hidroksil veya metoksil sübsitüenti bulunabilir. α -C atomu üzerinde sübsitüsyon taşıyan bir fenilpropanoit heterozitine henüz rastlanmamıştır.

Ozlar: Birkaç istisna dışındaki tüm fenilpropanoit heterozitlerinde merkezi oz olarak β -D-glukopiranoz yer alır. Magnolozitlerde (82, 83) glukoz yerini β -D- allopiranoza bırakmıştır. En çok rastlanan diğer ozlar pentoz olarak α -L-arabinoz, α -L-liksoz, β -D-ksiloz ve β -D-apioz, metil pentoz olarak α -L-ramnoz ve heksoz olarak da β -D-galaktoz, nadiren de β -D-allozdur.

Fenilpropanoit heterozitleri merkezi oz üzerinden bağlanan oz ünitesi sayısına göre monoozidik, biozidik veya triozidik fenilpropanoit heterozitleri şeklinde sınıflandırılabilirler (Tablo- 1a, 1b, 1c). Desinnamoil (Tablo-1d) ve değişik tip fenilpropanoit heterozitleri de (Tablo-2) ayrı birer sınıf olarak bunlara ilave edilmişlerdir.

a)- Monoozidik fenilpropanoit heterozitleri: İkinci oz ünitesi taşımazlar. Az sayıda olan bileşiklerin farklılığı, daha çok asidin cinsi ve konumundan kaynaklanır. Bileşiklerin büyük bir kısmı, (osmantuzit A; C (110), E(135), grayanoziıt A(177)) aglikon olarak p-hidroksifeniletanol grubu taşımaktadır (Tablo-1a).

b)- Biozidik fenilpropanoit heterozitleri: Bu gruptan verbaskozit (akteozit) aynı zamanda en yaygın fenilpropanoit heterozitidir (Tablo-1b).



Şekil-2 . Verbaskozit(akteozit)

Fenilpropanoitlerin pek çoğunun temel yapısı verbaskozit'e benzer. Örneğin; löko-septozit A'nın verbaskozit'ten tek farkı (139), kafeik asit yerine ferulik asit içermesidir.

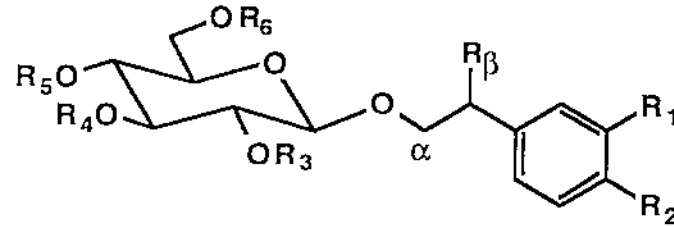
Martinozit, hem ferulik asit, hem de aglikon olarak 3-hidroksi-4-metoksifeniletal alkol taşımaktadır(168). Osmantuzit B ve D (110) ise, asit kısmında sırasıyla trans- ve cis-p-kumarik asit, aglikon kısmında ise p-hidroksifeniletanol taşımalarıyla verbaskozit'ten farklıdır.

Bazı bileşiklerde ikinci oz yine bir ramnoz molekülüdür ancak ramnozun merkezi oza (glukoz) bağlandığı konum değişiktir. Örneğin; forsitiazit (149)(=forsitozit A) (69) ile bunun β -hidroksi analogu olan ve forsitozit C olarak da adlandırılan (66) suspensazit'te(150), ramnoz ünitesi glukozun primer alkol grubu üzerinden ozidik bağ teşkil etmiştir. Yine bir β -hidroksi türev olan orobanşozit'te ramnoz, glukozun 2 numaralı pozisyonundan bağlanmıştır (13).

Bunların dışında kalan biozidik fenilpropanoitlerde ise, ikinci oz molekülü ramnozdan farklıdır. *Plantago* türlerinden elde edilen plantamajozit (161) plantainozit D, E, (138) lugrandozit (20) ve hellikozit (162) gibi bileşiklerde ikinci oz bir glukoz, konandrozit (155) ve kalkeolariozit C'de (145) ksiloz, kalkeolariozit E (146) ve nuomiozit A'da(102) ise apiozdur. İkinci oz ünitesi olarak alloz taşıyan tek fenilpropanoit heteroziti plantainozit F'dir(138) (Tablo-1b).

c)- Triozidik fenilpropanoit heterozitleri: Bunlar çoğunlukla verbaskozit'e, bazen de diğer benzeri bileşiklere üçüncü bir oz molekülünün eklenmesiyle türemişlerdir. Bu türevlerde, oz sayısı yanında oz çeşitliği de artmıştır. Triozitlerde, biozit fenilpropanoitlerin yapısına giren ramnoz,glukoz, apioz ve ksiloz'a ek olarak, arabinoz, liksoz ve galaktoz gibi yeni ozlar, değişik kombinasyonlarda yer alırlar (Tablo-1c).

Triozidik fenilpropanoit heterozitlerini iki grupta incelemek gerekir. İlk grupta yer alanlar, üçüncü oz ünitesini merkezi oz üzerinde taşırlar. Bu grup bileşiklerin büyük bölümünde verbaskozit oz zinciri sabittir (yani glukoz C-3-(OH) üzerinden bir ramnoz molekülü bağlıdır) ve diğer oz molekülü glukozun 2 veya 6 numaralı pozisyonlarının birinden bağlanmıştır. Bunlardan poliumozit (12), brandiozit (=2'-O-asetil-poliumozit) (132, 85) ve krassifoliozit (11)bilinen diramnozil türevleridir. Purpureazit C ve jionozitlerde (166, 167) üçüncü oz, glukozun primer alkol grubu üzerinden β -ozidik bağ teşkil etmiş bir galaktoz molekülüdür. Angorozitler (47, 48) ve ehrenozit'te (129) ise temel verbaskozit iskeletine ilave bir arabinoz ünitesi vardır. İlk kez Asteraceae familyasından izole edilen ekinakozit ve 6'-O-kafeoil- ekinakozit (37) bir glukoz, lökoseptozit B (139) ve forsitozit B (70) ise bir apioz molekülünün, glukoz C-6(OH)'dan glikozidasyonu ile meydana gelmişlerdir. Ksiloz taşıyan triozidik fenilpropanoitlere ise arenariozit (8) (=forsitozit F) (68) ve bunun 2'-O- asetil türevi olan felipozit (8) örnek gösterilebilir.

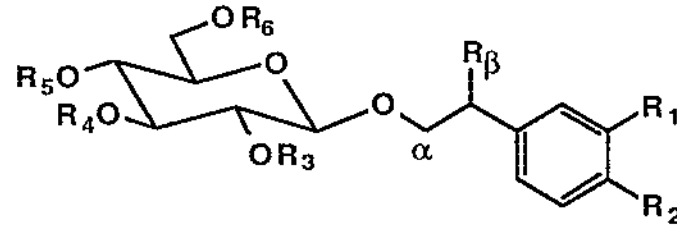


Tablo- 1 a. Monoozidik Fenilpropanoit Heterozitleri

Heterozitin adı	R ₁	R ₂	R _β	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	Lit.
Deramnozil akteozit	OH	OH	H	H	H	t-kafeik	H	(37, 136, 138, 176)
<i>E. tigang</i> bil. 1	H	OH	H	H	H	H	p-kumarik	(103)
Grayanozit A	H	OH	H	H	H	H	t-ferulik	(177)
Grayanozit B	OH	OH	H	H	H	H	t-ferulik	(177)
Kalkeolariozit A (Deramnozil akteozit)	OH	OH	H	H	H	t-kafeik	H	(144)
Kalkeolariozit B	OH	OH	H	H	H	H	t-kafeik	(136, 138, 144, 162)
Osmantuzit A	H	OH	H	H	H	t-p-kumarik	H	(110)
Osmantuzit C	H	OH	H	H	H	cis-p-kumarik	H	(110)
Osmantuzit E	H	OH	H	H	H	H	t-ferulik	(135)
Plantainozit A	OH	OH	H	H	t-kafeik	H	H	(138)
Plantainozit B	OH	OH	H	t-kafeik	H	H	H	(138)
<i>P. grayana</i> bil. 1	H	OH	H	H	H	H	t-kafeik	(175)
<i>P. grayana</i> bil. 2 (Kalkeolariozit B)	OH	OH	H	H	H	H	t-kafeik	(175)
Siringalit C	OH	OH	H	H	H	t-ferulik	H	(112)

Tablo- 1 b. Biozidik Fenilpropanoit Heterozitleri

Heterozitin adı	R ₁	R ₂	R _β	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	Lit.
2'-O-Asetilakteozit	OH	OH	H	Asetil	α-ramnoz	t-kafeik	H	(84,121,123,132,154,166)
Cis-akteozit	OH	OH	H	H	α-ramnoz	cis-kafeik	H	(106,152)
Forsitoz A (Forsitiazit)	OH	OH	H	H	H	t-kafeik	α-ramnoz	(69,119,136,146,149,151,179)
Forsitoz C	OH	OH	OH	H	H	t-kafeik	α-ramnoz	(66)
Fteriospermozit	OH	OH	H	H	α-ramnoz	t-izoferulik	H	(188)
Hellikoizit	OH	OH	OH	H	β-glukoz	t-kafeik	H	(162)
β-Hidroksiakteozit (Kampneozit II)	OH	OH	OH	H	α-ramnoz	t-kafeik	H	(118,119)
Izoakteozit (izoverbaskozit)	OH	OH	H	H	α-ramnoz	H	t-kafeik	(30,39,123,138,139,152,157,166,167,169,170,200)
Izomartinoz	OH	OCH ₃	H	H	α-ramnoz	H	t-ferulik	(50,138)
Izonuomioz A	OH	OH	H	H	β-apioz	H	t-kafeik	(102)
Jionozit C	H	H	H	H	α-ramnoz	t-kafeik	H	(154,166)
Jionozit D	OH	OCH ₃	H	H	α-ramnoz	t-kafeik	H	(154,166)
Kalkeolarioz C	OH	OH	H	H	H	t-kafeik	β-ksiloz	(145)
Kalkeolarioz E	OH	OH	H	H	β-apioz	t-kafeik	H	(61,146)
Kampneozit I	OH	OH	OCH ₃	H	α-ramnoz	t-kafeik	H	(58,95)
Kampneozit II	OH	OH	OH	H	α-ramnoz	t-kafeik	H	(95)
Konandrozit	OH	OH	H	H	β-ksiloz	t-kafeik	H	(155)
Lökoseptozit A (Okovozit)	OH	OH	H	H	α-ramnoz	t-ferulik	H	(4,19,43,49,51,105,109,138,139,152,188)
Lugrandozit	OH	OH	H	H	H	t-kafeik	β-glukoz	(20)
Martinoz	OH	OCH ₃	H	H	α-ramnoz	t-ferulik	H	(1,4,15,19,43,49,50,105,137,138,139,152,166,168,188,189)
Nuomioz A	OH	OH	H	H	β-apioz	t-kafeik	H	(102)
Orobansozit	OH	OH	OH	α-ramnoz	H	t-kafeik	H	(13,77)
Osmantuzit B	H	OH	H	H	α-ramnoz	t-p-kumarik	H	(110,121)
Osmantuzit D	H	OH	H	H	α-ramnoz	cis-p-kumarik	H	(110,135)
Osmantuzit B ₆	H	OH	H	H	α-ramnoz	H	t-p-kumarik	(135)
Okovozit	OH	OH	H	H	α-ramnoz	t-ferulik	H	(184)
Plantamajozit (Purpureazit A)	OH	OH	H	H	β-glukoz	t-kafeik	H	(7,54,55,136,138,161,162,179)
Plantainozit C	OH	OH	H	H	α-ramnoz	H	t-ferulik	(138)
Plantainozit D	OH	OH	H	H	β-glukoz	H	t-kafeik	(138)
Plantainozit E	OH	OCH ₃	H	H	β-glukoz	H	t-ferulik	(138)
Plantainozit F	OH	OCH ₃	H	H	β-alloz	H	t-ferulik	(138)
Sistanoz C	OCH ₃	OH	H	H	α-ramnoz	t-kafeik	H	(121)
Sistanoz D(trans)	OCH ₃	OH	H	H	α-ramnoz	t-ferulik	H	(92,121)
Cis-sistanoz D	OCH ₃	OH	H	H	α-ramnoz	cis-ferulik	H	(92)
Suspensazit (Forsitoz C)	OH	OH	OH	H	H	t-kafeik	α-ramnoz	(119,150)
Tubuloz B	OH	OH	H	Asetil	α-ramnoz	H	t-kafeik	(123)
Tubuloz E	OH	OH	H	Asetil	α-ramnoz	t-p-kumarik	H	(199)
Verbaskozit (Akteozit)	OH	OH	H	H	α-ramnoz	t-kafeik	H	(1,2,3,4,5,6,7,13,15,18,19,25,26,27,28,30,37,39,43,46,47,49,51,55,58,60,61,64,70,72,75,77,79,84,87,93,95,96,104,105,106,107,108,109,112,116,118,119,120,123,131,132,134,137,138,139,145,146,151,152,153,154,158,165,166,167,168,169,170,176,179,180,181,182,188,200)



Tablo- 1 c. Triozidik Fenilpropanoit Heterozitleri

Heterozitin adı	R ₁	R ₂	R _β	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	Lit.
2'-O- Asetil rossikazit A	OH	OH	H	Asetil	4- β-glukozil- α-ramnoz	t-kafeik	H	(28)
Alissonozit	OH	OH	H	H	α-ramnoz	t-ferulik	β-apioz	(49)
Angorozit A	OH	OH	H	H	α-ramnoz	t-kafeik	α- arabinoz	(47)
Angorozit B	OH	OCH ₃	H	H	α-ramnoz	t-kafeik	α- arabinoz	(48)
Angorozit C	OH	OCH ₃	H	H	α-ramnoz	t-ferulik	α- arabinoz	(48, 56, 101)
Arenariozit (Forsitozit F)	OH	OH	H	H	α-ramnoz	t-kafeik	β- ksiloz	(8)
2'-Asetilpollumozit (Brandiozit)	OH	OH	H	Asetil	α-ramnoz	t-kafeik	α-ramnoz	(132, 85)
Ehrenozit	OH	OH	H	α-arabinoz	α-ramnoz	t-kafeik	H	(54, 55, 129)
Ekinakozit	OH	OH	H	H	α-ramnoz	t-kafeik	β-glukoz	(1,2,3,21,23, 28,37,93,111, 112,120,123,145,167,200)
Felipozit	OH	OH	H	Asetil	α-ramnoz	t-kafeik	β-ksiloz	(8)
Filinozit A	OH	OH	H	H	2-β-glukozil -α-ramnoz	t-kafeik	H	(44)
Filinozit B	OH	OH	H	H	2-β-ksiloil -α-ramnoz	t-kafeik	H	(44)
Filinozit C	OH	OH	H	H	2- α-ramnozil -α-ramnoz	t-kafeik	H	(44)
Filinozit D	OH	OH	H	H	2- β-ksiloil -α-ramnoz	t-ferulik	H	(45)
Filinozit E	OH	OH	H	H	2- α-ramnozil -α-ramnoz	t-ferulik	H	(45)
Forsitozit B	OH	OH	H	H	α-ramnoz	t-kafeik	β-apioz	(4, 49, 70, 188)
Forsitozit F	OH	OH	H	H	α-ramnoz	t-kafeik	β-ksiloz	(68)
Forsitozit G	OH	OH	H	H	α-ramnoz	t-kafeik	β-(2-O-metil) apioz	(68)
Jionozit A ₁	OH	OH	H	H	α-ramnoz	t-ferulik	β-galaktoz	(166, 167)
Jionozit A ₂	OH	OH	H	H	α-ramnoz	cis-ferulik	β-galaktoz	(166)
Jionozit B ₁	OH	OCH ₃	H	H	α-ramnoz	t-ferulik	β-galaktoz	(166, 167)
Jionozit B ₂	OH	OCH ₃	H	H	α-ramnoz	cis-ferulik	β-galaktoz	(166)
Jionozit E	OH	OH	H	H	α-ramnoz	t-p-kumarik	β-galaktoz	(166)

Tablo-1c'nin devamı

6-O-Kafeoil ekinakozit	OH	OH	H	H	α -ramnoz	t-kafeik	6-O-kafeoil - β -glukoz	(37)
Krassifolozit	OH	OH	H	α -ramnoz	α -ramnoz	t-kafeik	H	(11)
Lagotozit	OH	OCH ₃	H	α -arabinoz	α -ramnoz	t-ferulik	H	(54, 55)
Lavandulifolozit (Stakiozıt B)	OH	OH	H	H	2- α -arabinozil- α -ramnoz	t-kafeik	H	(18, 43, 46, 140, 152)
Leozıt A (Stakiozıt C)	OH	OH	H	H	2- α -arabinozil- α -ramnoz	t-ferulik	H	(46, 140, 152)
Leozıt B (Stakiozıt D)	OH	OCH ₃	H	H	2- α -arabinozil- α -ramnoz	t-ferulik	H	(46, 140)
Lökoseptozıt B	OH	OCH ₃	H	H	α -ramnoz	t-ferulik	β -apioz	(49, 139)
Magnolidin	OH	OH	H	H (kafeik)	α -ramnoz	H (kafeik)	α -ramnoz	(159, 160)
Mirikozyd	OH	OH	H	H	3- β -apiozil- α -ramnoz	t-kafeik	H	(39)
Neoakteozıt (Neoverbaskozıt)	OH	OH	H	kafeik	ramnoz	H	glukoz	(27)
Pedikulariozıt A	OH	OH	H	H	β -apioz	t-kafeik	α -ramnoz	(200)
Poliumozıt	OH	OH	H	H	α -ramnoz	t-kafeik	α -ramnoz	(10, 12, 84)
Purpureazıt B	OH	OH	H	H	β -glukoz	t-kafeik	α -ramnoz	(136, 179)
Purpureazıt C	OH	OH	H	H	α -ramnoz	t-kafeik	β -galaktoz	(136, 166, 167, 178)
Rosıkazıt A	OH	OH	H	H	4-glukozıl- α -ramnoz	t-kafeik	H	(125)
Sıstanozıt A	OCH ₃	OH	H	H	α -ramnoz	t-kafeik	β -glukoz	(120, 167)
Sıstanozıt B	OCH ₃	OH	H	H	α -ramnoz	t-ferulik	β -glukoz	(120)
Stakiozıt a)**	OH	OH	H	H	glukozıl- α -ramnoz	t-kafeik	H	(6)
b)	OH	OH	H	H	arabinozil- α -ramnoz	t-kafeik	H	(10)
Teukrıozıt	OH	OH	H	H	2- α -lıksozil- α -ramnoz	t-kafeik	H	(78)
Tubulozıt A	OH	OH	H	Asetıl	α -ramnoz	t-kafeik	β -glukoz	(123)
Tubulozıt C	OH	OH	H	Asetıl	2,3,4-triasetil α -ramnoz	t-kafeik	β -glukoz	(123)
Tubulozıt D	OH	OH	H	Asetıl	2,3,4-triasetil α -ramnoz	t-p-kumarık	β -glukoz	(123)

** Oz zincirleri hakkında farklı yayınlar vardır.

Tablo -1 d.Desinnamoil Fenilpropanoıt Heterozıtleri

Heterozıtın adı	R ₁	R ₂	R _{β}	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	Lit.
Dekafeoil akteozıt	OH	OH	H	H	α -ramnoz	H	H	(1, 104, 109, 152, 153, 200)
Forsitozıt D	OH	OH	OH	H	H	H	α -ramnoz	(66)
Forsitozıt E	OH	OH	H	H	H	H	α -ramnoz	(67)
<i>R. glutinosa</i> bil.3	H	H	H	H	H	H	β -ksiloz	(153)
<i>R. glutinosa</i> bil.4	H	H	H	β -ksiloz	H	H	H	(153)
Salidrozıt	H	OH	H	H	H	H	H	(28, 64, 104, 106, 109, 153, 174, 190)
Sıstanozıt E	OCH ₃	OH	H	H	α -ramnoz	H	H	(122)

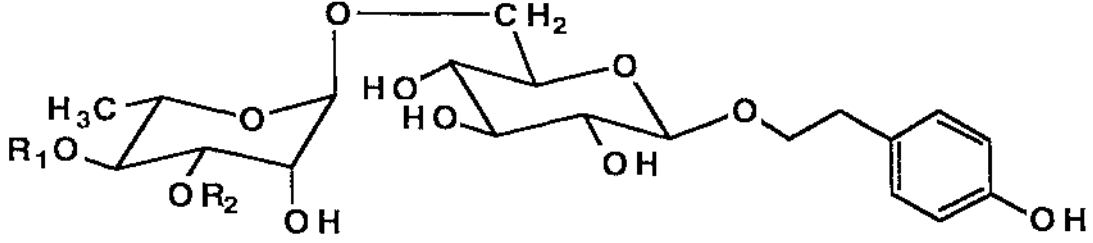
Değişik tip fenilpropanoit heterozitleri: Bu grup altında incelenen mussatiozitler ve magnolozitlerden daha önce bahsedildiği için (Tablo-2a, b), sadece kretanozit ve yapısında sekoiridoit fonksiyonu taşıyan süstitüe fenilpropanoitlere değinilecektir.

Kretanozit'te (131) glukoz molekülü ile aglikonun yan zinciri arasındaki eterik köprü, muhtemelen aglikonun β -konumunda taşıdığı bir hidroksil grubu ile glukoz molekülünün C-2 (OH) grubu arasında bir molekül H_2O çıkışıyla meydana gelmiştir (Tablo-2c).

Syringa reticulata'dan izole edilen oleoakteozit ve oleoekinakozit, merkezi glukoz ünitelerinin 2 numaralı pozisyonunda bir sekoiridoit fonksiyonu (=oleozit 11-metil ester) taşımaktadırlar (113). Diğer pek çok Oleaceae bitkisi gibi *Syringa* türleri de sekoiridoitler açısından zengindir. Bu yüzden, yapısında bu fonksiyonu taşıyan fenilpropanoit heterozitlerinin, izolasyon ve ekstraksiyon kademelerinde oluşmuş yan ürünler olabileceği akla gelmektedir (Tablo-2d).

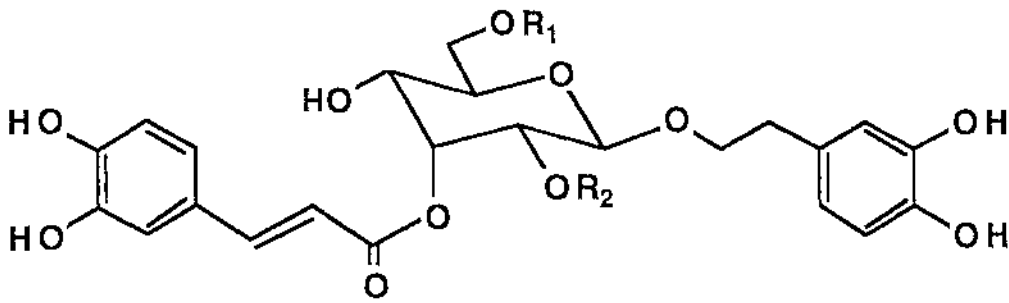
Tablo-2.Değişik Tip Fenilpropanoit Heterozitleri

a-Mussatiozitler



Bileşğin adı	R ₁	R ₂	Lit.
Mussatiozit I	t-sinamik a.	β-D-ksiloz	(97)
Mussatiozit II	3,4-dimetilkafeik a.	β-D-ksiloz	(97)
Mussatiozit III	p-metil-kumarik a.	β-D-ksiloz	(97)
Mussatiozit (desinamoiil)	H	β-D-ksiloz	(98)
4- vaniloil Mussatiozit	vanilik a.	β-D-ksiloz	(98)
4-p-kumaroil Mussatiozit	p-kumarik a.	β-D-ksiloz	(98)
4-feruloil Mussatiozit	t-ferulik a.	β-D-ksiloz	(98)
4-sinamoiil deksiloiil Mussatiozit	t-sinamik a.	H	(98)
4-cis-p-kumaroil Mussatiozit	cis-p-kumarik a.	β-D-ksiloz	(99)

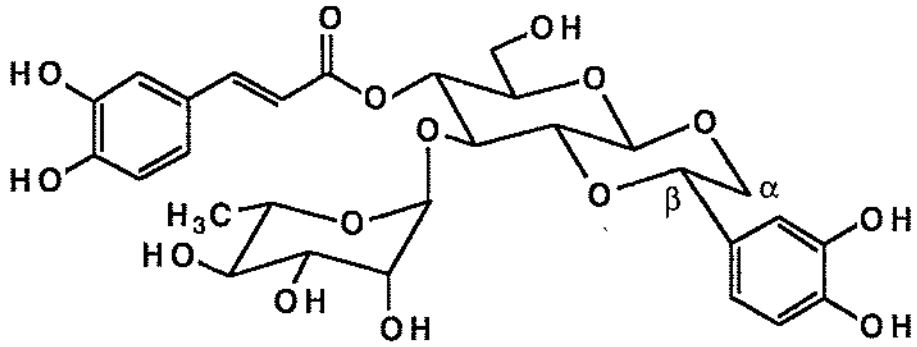
b- Magnolozitler



Bileşğin adı	R ₁	R ₂	Lit.
Magnolozit A	H	α-ramnoz	(82)
Magnolozit B	β-D-glukoz	α-ramnoz	(83)
Magnolozit C	4- β-glukozil β-D-glukoz	α-ramnoz	(83)

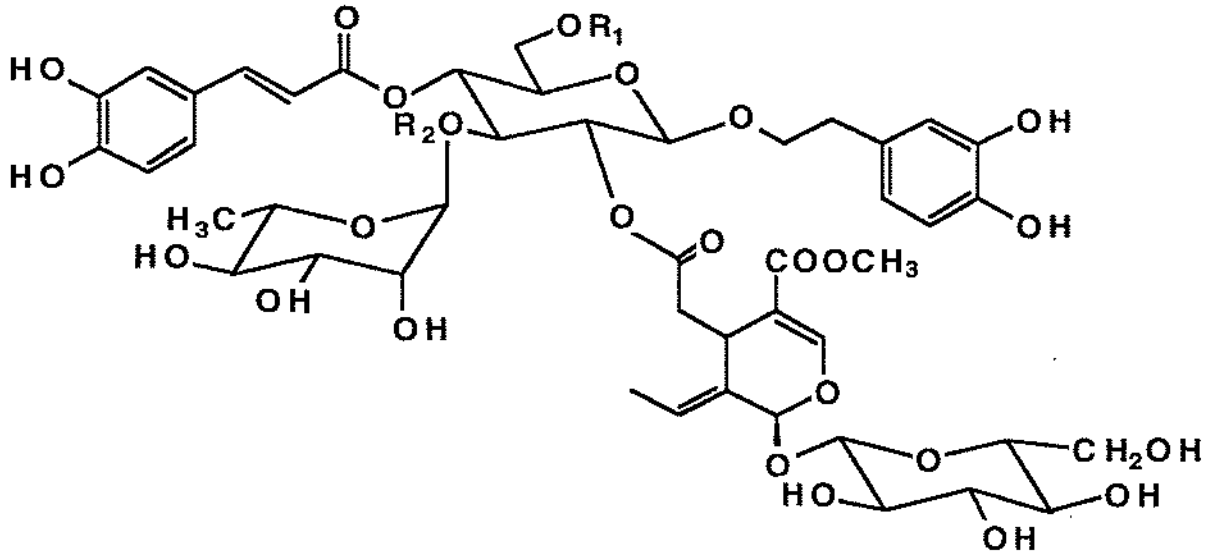
Tablo-2'nin devamı

c- Aglikon kısmında eter köprüsü taşıyanlar



Kretanozid

d-Substitüe Fenilpropanoit Heterozitleri



Heterozitin adı	R 1	Lit.
Oleoakteozit Oleoekinakozit	H β -D-glukoz	113

Fizikokimyasal Özellikleri

Fenilpropanoit heterozitleri, amorf, beyazdan açık kahverengiye değişen renklerde, katı ve genellikle higroskopik maddelerdir. Çoğu acı lezzetlidir, bu muhtemelen içerdikleri oz ünitelerinin sayısı, tipi ve konumuna bağlıdır (62). Su, metanol, etanol, n-butanol ve asetonda çözünürler, benzen, eter ve petrol eterinde çözünmezler. Optikçe aktif ve levojjirdirler (tek dextrojir bileşik plantainozit A'dır). Asit, alkali ve enzimlere karşı hassastırlar ve bunlarla hidroliz olurlar. Sulu çözeltilerde izomerizasyona uğrarlar ve özellikle UV ışığı etkisiyle, trans-türevler daha az stabil olan cis-türevlere dönüşür (62).

Yayılıları

Fenilpropanoit heterozitleri, bitkilerin hemen her organında bulunurlar. Bu nedenle araştırmalarda kök (*Scrophularia scopolii*, *Rehmannia glutinosa*), herba (*Plantago asiatica*, *Teucrium belion*), yaprak (*Forsythia suspensa*, *Campsis chinensis*), çiçek (*Clerodendron infortunatum*) meyva (*Forsythia suspensa*) veya kabuk (*Prunus grayana*, *Paulownia tomentosa*) gibi kısımlar kullanılmıştır. Ancak bu bileşiklerin bitkiler aleminde yayılıları sınırlıdır (Tablo-3). Özellikle Dicotyledonae'nın Sympetalae alt sınıfındaki Tubiflorae ordosunda bulunan familyalarda yaygın olarak bulunurlar. Bu sınıftan Plantaginaceae, Oleaceae, Cucurbitaceae ve Asteraceae familyalarındaki bitkilerden de izole edildikleri görülmektedir.

Apetalae'den sadece Salicaceae'de, en basit fenilpropanoit heterozitlerinden salidrozit'e(190) rastlanmıştır. Dialypetalae alt sınıfındaki Rosaceae, Theaceae ve Magnoliaceae familyalarında değişik yapılarda fenilpropanoitlere rastlanması, bu bileşiklerin bitkiler aleminde düşünüldüğünden daha yaygın olduklarına işaretir (62).

Son yıllarda sinnamik asit türevlerinin -özellikle kafeik asidin-dikotil bitkilerde taksonomik anahtar olarak kullanılmaya başlanması fenilpropanoitlerin kemotaksonomideki önemini artırmış ve Tubiflorae'de yeni bir sınıflamaya olanak sağlamıştır (141, 80). Familyalardan öte, değişik cinsler hatta seksiyolar üzerinde yapılan kemotaksonomi çalışmalarında bazı fenilpropanoitler anahtar sekonder metabolit olarak kabul edilmişlerdir: *Digitalis* ve *Syringa* türleri için verbaskozit, *Plantago* türleri için plantamajozit (62), *Teucrium* cinsinin *polium* seksiyosu için poliumozit (10, 62) gibi.

Tablo-3. Fenilpropanoit Heterozitlerinin Yayılışı

ANGIOSPERMAE	
<u>-DICOTYLEDONAE SINIFI</u>	
	-APETALAE-
<u>Salicales</u>	
Salicaceae	<i>Salix triandra</i> (190)
	-DIALYPETALAE-
<u>Ranales</u>	
Magnoliaceae	<i>Magnolia grandiflora</i> (159, 160) <i>Magnolia obovata</i> (82, 83)
<u>Rosales</u>	
Rosaceae	<i>Prunus grayana</i> (175, 177)
<u>Parietales</u>	
Theaceae	<i>Eurya tigan</i> (103)
	-SYMPETALAE-
<u>Contortae</u>	
Oleaceae	<i>Forsythia intermedia</i> (151) <i>Forsythia koreana</i> (70, 119) <i>Forsythia suspensa</i> (66, 69, 149, 150) <i>Forsythia viridissima</i> (68, 118) <i>Ligustrum japonicum</i> (107) <i>Ligustrum lucidum</i> (107) <i>Ligustrum obtusifolium</i> (108) <i>Olea europea</i> (5) <i>Osmanthus fortunei</i> (109, 111) <i>Osmanthus fragrans</i> (96) <i>Osmanthus fragrans var. auranticus</i> (104, 110) <i>Osmanthus ilicifolius</i> (106) <i>Syringa reticulata</i> (113) <i>Syringa vulgaris</i> (1, 27, 64, 112)
Buddlejaceae	<i>Buddleja davidii</i> (1, 92) <i>Buddleja globosa</i> (93)
<u>Tubiflorae</u>	
Verbenaceae	<i>Clerodendron infortunatum</i> (180) <i>Clerodendron trichotomum</i> (165) <i>Clerodendrum inerme</i> (75) <i>Clerodendrum myricoides</i> (39) <i>Oxera morieri</i> (26) <i>Verbena officinalis</i> (79)
Lamiaceae	<i>Ajuga incisa</i> (176) <i>Ajuga japonica</i> (176) <i>Ajuga nipponensis</i> (176) <i>Galeopsis pubescens</i> (50) <i>Leucoseprum japonicum</i> (139) <i>Leonurus glaucescens</i> (46) <i>Marrubium alysson</i> (49) <i>Phlomis linearis</i> (19, 44, 45) <i>Scutellaria prostrata</i> (105) <i>Sideritis perfoliata</i> (72) <i>Stachys albens</i> (6) <i>Stachys lanata</i> (6) <i>Stachys lavandulifolia</i> (18) <i>Stachys macrantha</i> (43) <i>Stachys rigida</i> (6) <i>Stachys sieboldii</i> (140, 152) <i>Teucrium belion</i> (12)

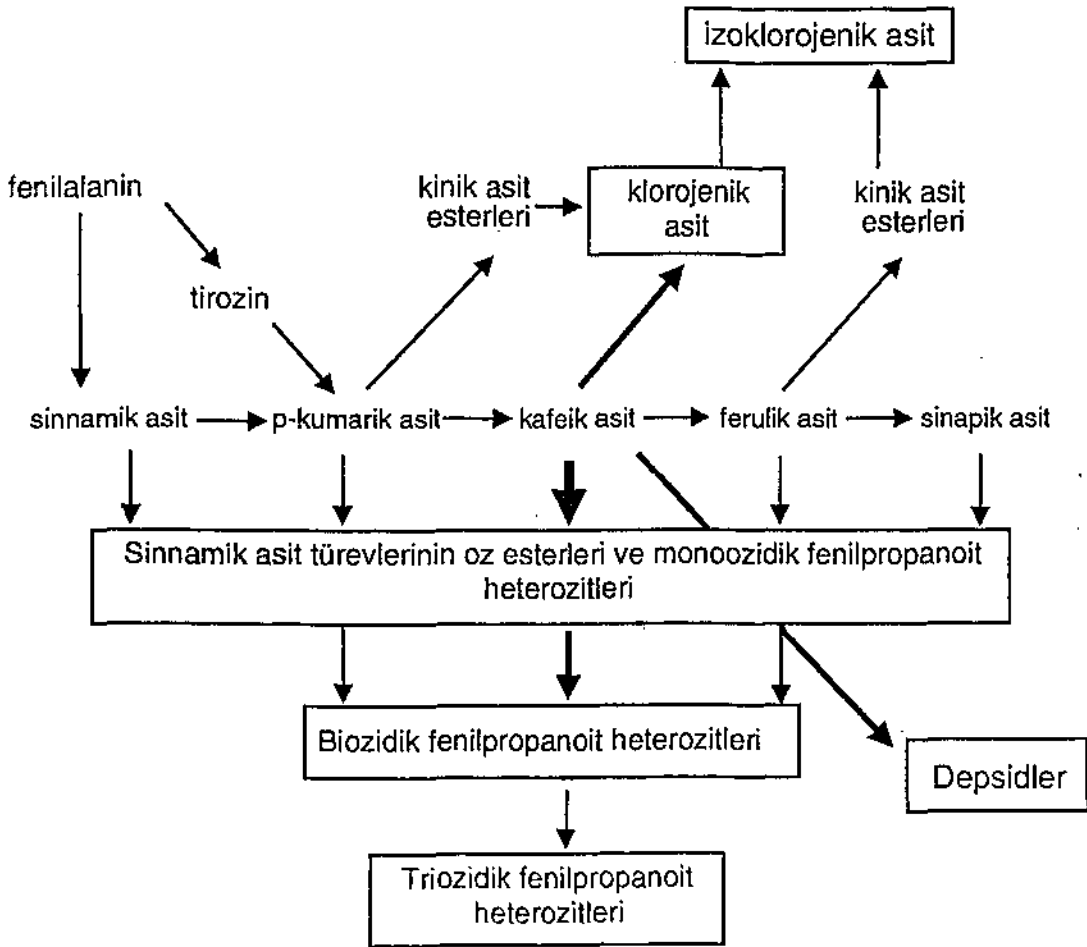
Lamiaceae(devamı)	<i>Teucrium chamaedrys</i> (78) <i>Teucrium spec</i> (10)
Scrophulariaceae	<i>Brandisia hancei</i> (84, 85) <i>Calceolaria ascendens</i> (146) <i>Calceolaria hypericina</i> (144, 145) <i>Castilleja linariaefolia</i> (157) <i>Castilleja spec.</i> (181) <i>Castilleja wightii</i> (25) <i>Digitalis grandiflora</i> (20) <i>Digitalis lutea</i> (20) <i>Digitalis purpurea</i> (136) <i>Euphrasia rostkoviana</i> (184) <i>Lagotis stolonifera</i> (54, 55) <i>Orthocarpus spec.</i> (28) <i>Paulownia tomentosa</i> (170, 182) <i>Pedicularis condensata</i> (3) <i>Pedicularis nordmaniana</i> (4) <i>Pedicularis pontica</i> (2) <i>Pedicularis striata</i> (200) <i>Penstemon ambiguus</i> (15) <i>Penstemon digitalis</i> (77) <i>Penstemon roseus</i> (134) <i>Ptheiospermum japonicum</i> (188) <i>Rehmannia glutinosa</i> (116, 179) <i>Rehmannia glutinosa var. hueichingensis</i> (167) <i>Rehmannia glutinosa var. purpurea</i> (153,154,166,178) <i>Rhinocorys stricta</i> (51) <i>Scrophularia ilwensis</i> (56) <i>Scrophularia ningpoensis</i> (101) <i>Scrophularia scopolii</i> (47) <i>Verbascum sinuatum</i> (169) <i>Veronica bellidioides</i> (129)
Bignoniaceae	<i>Campsis chinensis</i> (95) <i>Deplanchea speciosa</i> (58) <i>Mussatia spec.</i> (97, 98, 99)
Pedaliaceae	<i>Harpagophytum procumbens</i> (30) <i>Sesamum angolense</i> (158)
Martyniaceae	<i>Martynia louisiana</i> (168)
Orobanchaceae	<i>Boschniakia rossica</i> (125) <i>Cistanche salsa</i> (120, 121, 122) <i>Cistanche tubulosa</i> (123,199) <i>Orobanche arenaria</i> (8) <i>Orobanche crenata</i> (131) <i>Orobanche ramosa</i> (132) <i>Orobanche rapum-genistae</i> (13)
Gesneriaceae	<i>Conandron ramoidioides</i> (155)
Acanthaceae	<i>Hygrophila erecta</i> (87) <i>Strobilanthus spec.</i> (102) (Nuo-mi-Xang-Cao)
<u>Plantaginales</u>	
Plantaginaceae	<i>Plantago asiatica</i> (138, 162) <i>Plantago crassifolia</i> (11) <i>Plantago cynops</i> (60) <i>Plantago major subsp. major</i> (161)
<u>Cucurbitales</u>	
Cucurbitaceae	<i>Momordica balsamina</i> (61)
<u>Campanulatae</u>	
Compositae	<i>Echinacea angustifolia</i> (23) <i>Echinacea pallida</i> (37) <i>Echinacea paradoxa</i> (21) <i>Echinacea simulata</i> (21)

Tablo-3'ün devamı

Biyosentezleri

Bitki dokularında yüksek konsantrasyonlarda bulunmalarına rağmen, fenilpropanoitlerin biyosentezleri, bitkideki mobilizasyonları veya depolanmaları hakkında pek fazla bilgi yoktur. Son yıllarda yapılan in vitro ve in vivo çalışmalarda, bu bileşiklerin fenilpropanoit kısmının (açıl kısmı) fenil alanin veya sinamik asitten, aglikon kısmının ise tirozin aminoasidinden hatta daha etkin olarak tiraminden meydana geldiği gösterilmiştir (6, 64).

Aslında, şikimik asit yolağında fenilalanininden sinamik asit meydana geldiği ve artan hidroksilasyon ve metilasyon reaksiyonları ile p-kumarik → kafeik → ferulik → sinapik asit olduğu bilinmektedir. Genel olarak tüm sinamik asit türevlerinin dikotillerde biyosentez açısından rol oynadıkları bilinmekte, kafeik asitin de fenilpropanoit heterozitleri için ara ürün olabileceği bildirilmektedir(141) (Şema-1). Yine de böyle kompleks bileşiklerin biyosentez basamaklarının ayrıntılı olarak aydınlatılmasına ihtiyaç vardır (62).



Şema-1. Hidroksisinnamoil esterlerinin biyosentez basamakları

Kafeik asit türevlerinin ot yiyici ve patojen ataklarına karşı bitkinin kimyasal savunma mekanizmasında rol oynadıkları bilinmektedir. Fenilpropanoit heterozitlerinin de stres bileşikleri olarak bakteri, fungus ve virüs enfeksiyonlarında koruyucu ve rezistans sağlayıcı ajanlar olarak davrandıkları ve bu nedenle fitoaleksin olarak kabul edilebilecekleri belirtilmektedir (141, 179).

Ekstraksiyon ve İzolasyon Yöntemleri

Yapısal özellikleri nedeniyle asit, alkali veya enzimlere karşı dayanıksız olmaları yanında, kolayca oksidasyon veya izomerizasyona maruz kalmaları da fenilpropanoit heterozitlerinin ekstraksiyon ve izolasyonlarını zorlaştırır. Bu yüzden, bu işlemler sırasında uzun süreli ve yüksek ısı (50°C'nin üzeri) ile aşırı ışıktan kaçınılmalı, fenilpropanoitler uzun süre sulu çözelti halinde bırakılmamalıdır.

Polar bileşikler olduklarından metanol, etanol veya bunların sulu karışımlarıyla ekstre edilirler. Alkolik ekstrenin uçurulmasından sonra, suda çözünen kısım artan polaritede solvanlarla partisionlanır. Bu amaçla, sulu ekstre önce petrol eteri veya n-hekzan ile çalkalanarak klorofil, lipidler, mumsu maddelerden vb. kurtarılır, daha sonra sırasıyla eter (veya kloroform), etil asetat ve n-butanol ile tüketilir (sıvı-sıvı ekstraksiyonu). Fenilpropanoit heterozitleri genelde n-butanol ekstresinden izole edilmişlerdir. Etil asetat ekstrelerinden ise daha çok metoksilli türevler elde edilmiştir.

Diğer bir yöntem, metanollü ekstrenin suda çözünen kısmının doğrudan poliamit ile hazırlanmış bir kolona uygulanmasıdır. Su elüsyonu ile ozlar ve iridoitler gibi fenolik olmayan bileşikler alındıktan sonra, artan oranlarda metanol: su veya etanol: su karışımları ile elüsyona devam edilir. Fenilpropanoit heterozitleri %25-75 metanol (etanol) taşıyan sulu karışımlarla, kimyasal yapılarına (polaritelerine) bağlı olarak ham karışımlar halinde elde edilirler.

Fenilpropanoit heterozitlerinin izomer karışımlar olmaları veya farklılıklarının genelde minör bir substitüsyondan kaynaklanması, izolasyon ve saflaştırılmalarında yöntem seçiminde çok dikkatli olunmasını gerektirir. Fenolik asit içermeleri nedeniyle alümina (Al_2O_3) ve aktif kömür ile çalışmaktan kaçınılmalıdır.

İzolasyonlarında stasyonere faz olarak silika jel (176, 200) yanında karşıt faz -silika jel (RP-18 veya RP-8) de sıklıkla kullanılmıştır (46, 48, 102). Bu dolgu materyalinin pahalı olmasına karşın, kullanılan solvan sistemi (su: metanol) karışımları oldukça ekonomiktir.

Preparatif amaçlı poliamit kolon kullanımı da fenilpropanoitlerde etkili ve yüksek kapasiteli bir ayırım sunar. Bu yöntemin izomer karışımların ayırımında (kademeli alkol elüsyonu uygulaması ile) karşıt faz-yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (KF-YBSK=RP-HPLC) kadar iyi sonuç verdiği belirtilmektedir (32).

Fenilpropanoit heterozitlerinin ayırım ve saflaştırılmalarında en çok kullanılan yöntemler: klasik kolon kromatografileri (poliamit, silika jel, selüloz), basınçlı sıvı kromatografisi teknikleri (Düşük Basınçlı Sıvı Kromatografisi (DBSK=LPLC), Orta Basınçlı Sıvı Kromatografisi (OBSK=MPLC), Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (YBSK=HPLC), Vakum-Sıvı Kromatografisi (VSK=VLC)), jel filtrasyon yöntemleri (Sephadex LH-20) veya karşı akımlı dağılıma kromatografisi teknikleri (Droplet Counter-Current Chromatography (DCCC), Rotation Locular Counter-Current Chromatography (RLCC) ve Counter-Current Distribution (CCD)) gibi yöntemlerdir.

Yöntem	Adsorban	Solvan Sistemi	Madde	Lit.
Kolon Kromatografisi	Silika jel	CHCl ₃ : MeOH (4:1) CHCl ₃ : MeOH:H ₂ O (14: 6: 1) EtOAc: MeOH: H ₂ O (70: 28: 2) EtOAc: MeOH: H ₂ O (100: 16,5: 13,5)	Pedikulariozıt A Brandiozıt Lugrandozıt Akteozıt	(200) (85) (20) (47)
	Poliarnıt-6	H ₂ O H ₂ O: MeOH (13:7) %0-50 EtOH	Verbaskozıt Polıumozıt İsoverbaskozıt	(75) (12) (32)
	Selüloz	CHCl ₃ : MeOH: H ₂ O (70:18: 10) EtOAc: MeOH: H ₂ O (100: 16,5: 13,5)	Rossıkazıt A Teukrıozıt Ehrenozıt Akteozıt	(125) (78) (129) (178)
Jel Filtrasyon	Sephadex LH-20	H ₂ O: (CH ₃) ₂ CO H ₂ O: MeOH (1:1) EtOH H ₂ O	Sıstanozıt B Jıonozıt E Martınozıt, Lökoseptoızıt A	(120) (166) (51)
Basınçlı Sıvı Kromatografisi Teknikleri	Sepralyte C-18	H ₂ O: İzo-Pr OH (%5→ 25) H ₂ O: MeOH(%10→ 40 MeOH) MeOH: H ₂ O: n-Pr OH (20: 80: 5)	Angoroızıt C Angoroızıt B İzomartınoızıt	(48) (48) (50)
			Mıkrıkıstal selüloz	Et OAc: MeOH:C ₆ H ₆ : H ₂ O (90: 15: 5: 11) MeOH :H ₂ O (25: 75)
-DBSK				
-OBK				
-YBSK	Lıchroprep RP-8 RP C-18	MeOH: H ₂ O (1:2) MeOH: H ₂ O (4:6) CH ₃ CN: 9,3 mM NaH ₂ PO ₄ tamponu	Nuomuozıt A Fterıospermozıt Ekınakozıt	(102) (188) (32)
	μ-Bondapak C ₁₈ Lıchrospher RP-18	MeOH: H ₂ O (29:21) H ₂ O: MeOH: AcOH	Mussalıozıtler Ekınakozıt	(98) (37)
-VSK	PAK (500/C-18) C-18 Sı Gel	H ₂ O: MeOH (8: 2→ 65: 35) MeOH: H ₂ O (%50 →60)	Lavandulıfolıozıt 2-O-Aselıl rossıkazıt A	(18) (28)
Karşı Akımlı Dağılıma Kromatografiler.				
-DCCC		CHCl ₃ : MeOH: H ₂ O(7: 13: 8) BuOH: (CH ₃) ₂ CO: H ₂ O (4: 1: 5)	Mırıkozıt Arenarıozıt	(39) (8)
-RLCC		CHCl ₃ : MeOH: H ₂ O (7: 13: 8)	Mussalıozıt I, II, III	(97)
-CCD		H ₂ O: EtOAc: n- BuOH (100: 93: 7) H ₂ O: EtOAc: n- BuOH (100: 8, 5: 1,5)	Kalkeolarıozıt E Kalkeolarıozıt D	(146) (145)

Tablo-4.Fenilpropanoıt heterozıtlerının izolasyon ve saflaştırılmasında kullanılan yöntemler.

Tanıma Reaksiyonları

Fenilpropanoit heterozitleri için spesifik bir teşhis reaksiyonu yoktur, ancak ince tabaka kromatografisindeki davranışları ile kolaylıkla tanınırlar. Fenolik bileşikler olmaları nedeniyle genel davranışları flavonoitlere benzer.

İnce Tabaka Kromatografisi (İTK)

Bu bileşiklerin ince tabaka kromatografisinde en çok kullanılan adsorban silika jel F₂₅₄ tür. Ayrıca RP-18 F₂₅₄ ve selüloz plaklar da kullanılmıştır (59, 97, 153). Developmandan sonra, fenilpropanoitlere ait lekeler bir UV lambası yardımıyla 254 ve 366 nm'de incelenir. 254nm'de floresansı engelleyen zonlar halinde gözlenirlerse de, önemli olan 366 nm'deki davranışlarıdır. Fenilpropanoit heterozitleri, 366 nm'de sarı-mavi floresans verirler ve plağa revelatör püskürtülüp ısıtıldıktan sonra da (yine aynı dalga boyunda) turuncu floresans vermeleri ile karakterizedirler.

İTK teşhislerinde kullanılan spesifik bir belirteç yoktur, fakat en çok kullanılanlar şunlardır:

a)- Vanilin / H₂ SO₄ reaktifi

Vanilin'in konsantre sülfürik asitteki %1'lik çözeltisidir. Reaktifin kromatogram üzerine püskürtülmesini takiben 110 °C'de 5 dakika ısıtma ile fenilpropanoit heterozitleri önce pembe-kırmızı, daha sonra açık kahverengiye dönen renk verirler(burada muhtemelen, aglikonlara bağlı olarak öncelikle oluşan pembe-kırmızı renk, hidrolize müteakip oluşan ozların da reaksiyona girmesiyle (kuvvetli aside bağlı olarak karamelizasyon) sarı-kahverengiye dönüşmektedir). Bu işlemden sonra plak tekrar 366 nm'de incelenirse, fenilpropanoitlerin turuncu floresans verdikleri görülür.

b)- Sülfürik asit (H₂ SO₄)

Bu amaçla %10'luk H₂ SO₄ kullanılır ve püskürtmenin ardından 100 °C'de 5 dakika ısıtılır. Vanilin / H₂ SO₄ reaktifi gibi sonuç verir.

c)- Ferri klorür reaktifi (Fe Cl₃)

Fenollerin klasik teşhis reaksiyonudur. Reaksiyonun esası, fenolik hidroksil gruplarının Fe⁺³ iyonları ile şelat oluşturarak renkli bileşikler vermesine dayanır. Revelasyon için ferriklorürün metanol veya etanoldeki dilüe çözeltileri (%1) kullanılır. Püskürtme sonucu görülen mavi-yeşil renk fenolik hidroksil gruplarının varlığını gösterir(95, 118, 120).

d)- NEU reaktifi

2- aminoetil difenilborinat'ın metanoldeki %1'lik çözeltisidir. Reaktif püskürtüldükten sonra da UV₃₆₆ nm'de sarı floresans verirler(6, 162).

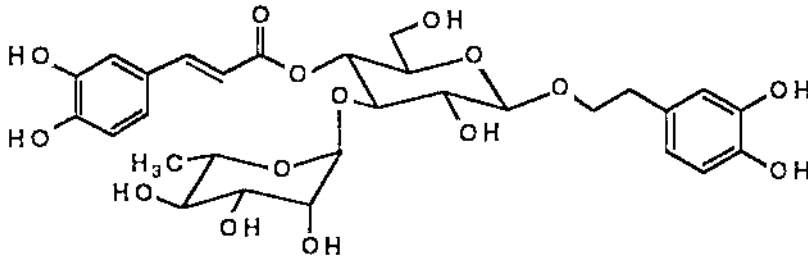
Bunlardan başka, Gibbs (168) belirteci de fenilpropanoitlerin teşhisinde nadiren kullanılmıştır.

Yapı Tayinleri:

Fenilpropanoit heterozitlerinin yapı tayinleri esas olarak spektral yöntemlere dayanır ancak, yapının kesin olarak açıklanabilmesi için çeşitli kimyasal yöntemlerden de faydalanılmaktadır. Spektroskopik yöntemlerden sonra bu konuya da kısaca değinilecektir.

Spektroskopik Yöntemler:

Ultraviyole Spektroskopisi (UV)



Fenilpropanoit heterozitlerinin UV spektroskopisindeki davranışları flavonoitlere benzer ve daha çok sinnamik asit grubuna bağlı olarak (204, 218 (omuz), 230, 250 (omuz); 290 ve 330 nm civarlarında) süstitüe-fenil ve α , β -doymamış ester kromoforları görülür. ($\log \epsilon = 3.5-4.5$).

290 ve 330 nm civarındaki absorpsiyon bantlarının alkali (Na OH, EtONa, NaOMe) ilavesiyle batokromik kayma göstermesi, serbest visinal fenolik hidroksil gruplarının varlığını gösterir (20, 129, 144).

İnfrared Spektroskopisi (IR)

UV spektroskopisi gibi IR de, fenilpropanoit heterozitlerinin polifenolik karakterini açıklamaktadır. Tanımlanmaları açısından önemli absorpsiyon bantları şunlardır:

-1600-1585 ve 1500- 1400 cm^{-1} arasında açıl ve aglikona ait aromatik C=C gerilim bantları gözlenir.

-Fenilpropionik asidin α , β -doymamış ester grubuna ait absorpsiyon bantları, 1630- 1620 cm^{-1} (konjuge C=C) ve 1710- 1680 cm^{-1} (C=O, konjuge keton) civarın -

dadır. Yapısında doğal olarak bir asetil fonksiyonu taşıyan bileşiklerde, ikinci ester bandı $1750-1730\text{ cm}^{-1}$ de gözlenir(123, 132).

-Polihidroksi yapıya bağlı olarak da, $3500-3350\text{ cm}^{-1}$ de yayvan (geniş) bir bant şeklinde OH gerilim bantları yer alır.

Nükleer Magnetik Rezonans Spektroskopisi (NMR)

^1H - NMR

Fenilpropanoit heterozitlerinin ^1H - NMR spektrumlarını iki kısımda incelemek gerekir: a)-Oz sinyalleri

b)- Aglikon (feniletli alkol) ve sinnamik asit (türevi) kısımlarına ait sinyaller.

a)- Oz sinyalleri: Her ne kadar yüksek hassasiyetli ^1H -NMR spektrumlarından ozlara ait tüm sinyaller ve dolayısıyla ozların cinsi ve sayısını tesbit etmek mümkünse de, ilk bakışta anomerik protonlar değerlendirilir. Anomerik protonların kimyasal kayma değerleri ozların cinsini, kenetlenme sabiti değerleri ($J_{1'2}$) ise konfigürasyonlarını açıklar.

^1H -NMR spektrumundan ilk beklenen, merkezi konumdaki ozun tayinidir. Merkezi oz hemen her zaman D- glukozdur ve anomerik protonunun yüksek kimyasal kayma (4,3- 4,5 ppm) ve kenetlenme sabiti değerinden ($J= 7-8\text{ Hz}$), β - formunda olduğu kolayca anlaşılır. Bu protonun kimyasal kayma değeri aynı zamanda, -daima glukozun 1 numaralı konumundan bağlanmış olan- aglikonun yerini de açıklamaktadır.

Spektrumdaki anomerik protonların kimyasal kayma değerleri, ozlar üzerindeki diğer sübstütüentlerin -ki bu, fenilpropanoit heterozitlerinde genellikle ikinci veya üçüncü bir ozdur- bağlanma yerleri hakkında bir ön fikir verir. Temel yapı olarak verbaskozit (akteozit) alınarak, bazı fenilpropanoit heterozitlerinin yapılarındaki ozların anomerik protonlarına ait kimyasal kayma değerleri aşağıda karşılaştırılmıştır:

Bileşik Adı	Yapısı*	Glu. H-1 δ (ppm)	Ra. H-1 δ (ppm)	Ara. H-1 δ (ppm)	Api. H-1 δ (ppm)	Lit.
Verbaskozit	Ra(1→3) Glu	4.37	5.19			(51)
Orobañozit	Ra(1→2) Glu	4.55	5.00			(13)
Forsitiazit	Ra(1→6) Glu	4.35	4.63			(149)
Krassifolozit	Ra'(1→2) Ra''(1→3)]Glu	4.50	Ra'→4.78 Ra''→4.80			(11)
Poliümozit	Ra'(1→3) Ra''(1→6)]Glu	4.41	Ra'→5.10 Ra''→4.55			(12)
Ehrenozit	Ara(1→2) Ra(1→3)]Glu	4.54	5.17	4.52		(129)
Angorozit B	Ra(1→3) Ara(1→6)]Glu	4.38	5.19	4.24		(48)
Kalkeolariozit E	Api(1→3) Glu	4.39			5.35	(146)
Pedikulariozit A	Api(1→3) Ra(1→6)]Glu	4.37	5.02		5.59	(200)
Forsitozit B	Ra(1→3) Api(1→6)]Glu	4.40	5.20		4.92	(70)

Tablo-5. Bazı fenilpropanoit heterozitlerinin yapılarındaki ozların anomerik protonlarına ait kimyasal kayma değerlerinin karşılaştırılması

*(Ra = Ramnoz, Glu = Glukoz, Ara = Arabinoz, Api = Apioz)

Görüldüğü gibi, merkezi ozun (glukoz) anomerik protonu, glukozun 3 veya 6 numaralı konumlarında ozidik bağ içeren fenilpropanoitlerde ~ 4.3 ppm civarında rezonansa gelirken, 2 numaralı konumda oz taşıyanlarda biraz daha düşük alana (+0.2 ppm) kaymıştır (~ 4.5 ppm).

Tablodan görülebilecek diğer husus, aynı oz moleküllerinin anomerik protonlarının, glukozun farklı pozisyonlarından bağlanmaları ile çok farklı kimyasal kaymalar göstermeleridir. Glukoz 2-(OH) veya 3-(OH) üzerinden bağlanan ozların

anomerik protonları, glukoz 6-(OH) türevlerine göre daha düşük alanda gözlenirler. Özellikle ramnoz izomerlerinde bu durum belirgindir (verbaskozit'te ramnoz H-1, δ 5.19'da, forsitiazit'te ise δ 4.63'de gözlenmiştir). Diramnozil türevlerden poliumozit'te (3,6-diramnozil) aynı durum sözkonusu iken, 2,3-diramnozil türevi olan krassifolozit'te sterik etki nedeniyle ramnoz anomerik protonları sırasıyla, -0.23 ve -0.25 ppm yüksek olan kayması göstermektedirler (11).

Triozidik yapıdaki fenilpropanoitlerin birçoğu, verbaskozit molekülündeki ramnoz ünitesinin çeşitli konumlarından üçüncü bir oz molekülünün girmesiyle meydana gelmiştir. Aşağıda bunlardan bazılarının anomerik ramnoz protonlarına ait kimyasal kayma değerleri verbaskozit ile karşılaştırılmıştır:

Bileşik Adı	Yapı*	Ramnoz H-1 δ (ppm)	Lit.
Verbaskozit	Ra (1→3) Glu	5.19	(51)
Filinozit A	Glu (1→2) Ra	5.57	(44)
Filinozit B	Ksi (1→2) Ra	5.44	(44)
Teukriozit	Lik (1→2) Ra	5.39	(78)
Rosikazit A	Glu (1→4) Ra	5.25	(125)

Tablo-6. Bazı fenilpropanoit heterozitlerinin anomerik ramnoz protonlarına ait kimyasal kayma değerleri.

* (Ra= Ramnoz, Glu= Glukoz, Ksi= Ksiloz, Lik= Liksoz)

Tablodan görüldüğü gibi 2 numaralı konumundan bir oz sübsitüsyonu, ramnozun anomerik protonunda $\sim +0.2$ ppm civarında bir düşük alan kaymasına sebep olmaktadır. Ancak diğer konumlar için ozidik bağın etkisi pek fazla değildir.

Ozidik bağlanmanın α -etkisi $\sim +0.5$ ppm kadardır. Ancak, oz sinyalleri bölgesinde sinyallerin ayrımı genellikle zor olduğundan, bu konuda anomerik protonların kimyasal kaymasından fikir edinilmektedir. Ozların konumlarının belirlenmesinde, asetillenmiş türevlerin $^1\text{H-NMR}$ spektrumlarından da sıklıkla faydalanılmaktadır, çünkü serbest hidroksil gruplarının asetilasyonu ile ilgili proton $+0.7-2$ ppm düşük alana kayarken, bağlı olanların kimyasal kayma değerleri pek değişmemektedir.

Düşük alana kaymış oz sinyalleri, açılasyonun konumunun saptanmasında da yardımcı olur. Açılasyon teşkil eden ozun ilgili protonunda, $\sim +1-1.5$ ppm düşük alana kayma gözlenir.

b_1)- Aglikona ait sinyaller: Bunlar, spektrumun iki bölgesinde gözlenir: Yüksek

alanda (δ 2.7 -4.1) gözlenen sinyaller aglikonun yan zincirindeki metilenik protonlardan (α ve β) ileri gelir. Bunlardan daha yüksek alanda gözlenen β , 2.7 - 2.9 ppm'de verdiği triplet şeklindeki sinyalden kolayca tanınır. Ekvolan olmayan α protonları ise glukozun C-1 şiral merkezine olan yakınlıkları nedeniyle daha düşük alanda (3.6- 3.8 ve 4-4.1 ppm civarında) kompleks multiplerler olarak gözlenirler ve bazen oz sinyalleri ile (ozidik bağ teşkil etmiş) karıştırılabilirler. Selektif dekapling tekniği ile hem bu problem ortadan kalkar, hem de β 'da bir süstitüsyon durumunda yararlı bilgiler elde edilir.

Düşük alanda (aromatik saha) gözlenen sinyaller ise, aglikondaki süstitüsyon hakkında fikir verir.

Aglıkon tipi	δ H-2	δ H-3	δ H-5	δ H-6	Lit.
4- hidroksifenilettil (AB sis.)	7.07 d	6.70 d	6.70 d	7.07 d	(121)
3,4- dihidroksifenilettil (ABX sis.)	6.70 d	-	6.68 d	6.56 dd	(18)
3-hidroksi, 4-metoksifenilettil (ABX sis.)	6.73 d	-	6.81 d	6,68 dd	(46)

Tablo-7. Değişik süstitüsyonlar taşıyan aglikon protonlarına ait kimyasal kayma değerleri

Aglıkonun p-hidroksifenilettil olması durumunda -AB sistemi şeklindeki sinyallerden- tayini kolaydır. Tipik ABX sistemi olarak gözlenen 3,4-disüstitüe türevlerde, 5 numaralı aglikon protonun +0.15, 6-H sinyalinin ise \sim +0.1 ppm kadar düşük alana kayması, C-4'de bir metoksil grubunu göstermektedir. Bu bulgu 3,8 ppm civarındaki metil singleti (OCH_3) ile doğrulanmalıdır.

b₂)- Aromatik sahada aglikona oranla nisbeten daha düşük alanda gözlenen sinyaller açil kısmına aittir. Aromatik protonların sayısı ve kimyasal kayma değerleri, aglikonda olduğu gibi aromatik asit üzerindeki süstitüsyon derecesini gösterir.

Fenilpropiyonik asidin cinsi	δ H-2	δ H-3	δ H-5	δ H-6	Lit.
p-kumarik asit (AB sistem)	7.47 d	6.81 d	6.81 d	7.47 d	(166)
kafeik asit (ABX sistem)	7.06 d	-	6.78 d	7.00 dd	(47)
ferulik asit (ABX sistem)	7.20 d	-	6.81 d	7.08 dd	(48)
izoferulik asit (ABX sistem)	7.08 d	-	6.93 d	7.07 dd	(188)

Tablo-8. Değişik açil grupları taşıyan bazı fenilpropanoit heterozitlerinin hidroksi-sinamik asit kısımlarına ait kimyasal kayma değerleri.

Diğer önemli sinyal grubu açıl kısmından ileri gelen olefinik protonlara aittir. Trans olefinik protonlar δ 6.2 - 6.3 (α') ve δ 7.5 (β') civarında bir AB sistemi olarak gözlenirler ($J_{AB} = 15-16$ Hz). Cis-izomerlerde bu sinyaller daha yüksek alandadır ($\alpha' \rightarrow 5.8$, $\beta' \rightarrow 6.9$ ppm) ve kenetlenme sabiti (J) değeri daha küçüktür ($J_{AB} = 12-13$ Hz) (92, 166).

Fenilpropanoit heterozitlerinin $^1\text{H-NMR}$ spektrumlarında en önemli sorun, birbirine çok yakın kimyasal kayma değerlerine sahip oz sinyallerinin birbirinin üzerini örtmesidir. Bu nedenle analizlerde yüksek rezolüsyon kapasiteli (300-500 MHz) NMR cihazları ve çift dimensiyonlu-homonükleer veya-heteronükleer NMR veya NOESY gibi ileri tekniklerin kullanılması, çözölemeyen problemin ortadan kaldırılması açısından neredeyse vazgeçilmez olmaktadır.

$^{13}\text{C-NMR}$

Fenilpropanoit heterozitlerinin $^{13}\text{C-NMR}$ analizlerinde şu yöntemlerden faydalanılabilmektedir:

-Proton noise decoupling (PND) ile moleküldeki tüm protonlar ışınlanır. Böylece her ^{13}C çekirdeği tek bir pik şeklinde elde edilir.

-Off-rezonans decoupling yöntemleri yardımıyla (SFORD veya DEPT) sinyallerin multiplisitesi (s,d,t,q) bulunur.

-Proton coupled tekniği nadiren kullanılır. Ancak bunun üzerinde selective decoupling yapılması ile yapı hakkında- özellikle ozidik bağlanma konumları hakkında-bilgi edinilir.

-Önce fonksiyonel grupların kimyasal kayma değerleri, sonra da molekülün tamamı literatür bulguları ile karşılaştırılır.

Fenilpropanoitlerin $^{13}\text{C-NMR}$ spektrumları da $^1\text{H-NMR}$ spektrumları gibi iki kısımda incelenebilir:

a)-Oz sinyalleri: $^{13}\text{C-NMR}$ spektrumlarının en önemli avantajı $^1\text{H-NMR}$ 'daki gibi sinyallerin üstüste gelme problemi olmadığından -oz sinyallerin tek, tek gözlenebilmesi ve böylece ozların cinsi yanında ozidik ve açilozidik bağlanma noktalarının da kolaylıkla tesbit edilebilmesidir.

$^{13}\text{C-NMR}$ spektrumlarında da önce anomerik C sinyalleri aranır. ~ 100-112 ppm civarında gözlenen bu sinyaller, fenilpropanoitin yapısındaki oz sayısı ve oz tipi hakkında fikir verir. Spektrumdaki diğer oz sinyallerinin de bu durumu doğrulaması gerekmektedir. Ayrıca $^{13}\text{C}-^1\text{H}$ kenetlenme sabiti ($J_{\text{C-H}}$) değerinden ozun konfigürasyonu tayin edilebilir.

Merkezi oz üzerinde açilasyonun konumunun tesbiti kolaydır (açilasyonun α ve β -

etkisi nedeniyle). Değişik konumlarda oz ve açıl sübstitüenti taşıyan bazı fenilpropanoit heterozitlerinin merkezi oz (glukoz) kısmına ait karbon sinyalleri aşağıda görülmektedir:

Bileşik Adı	Yapı	δ Glukoz (ppm)						Lit.
		δ C-1	δ C-2	δ C-3	δ C-4	δ C-5	δ C-6	
Kalkeolariozit A	C ₄ →Açıl	104.1	75.1	75.8	72.3	75.8	62.2	(144)
Akteozit	C ₃ →Ra	104.2	76.2	81.6	70.4	76.0	62.3	(51)
Martinozit	C ₄ →Açıl	104.24	76.24	81.68	70.74	76.04	62.49	(50)
	C ₃ →Ra							
Deaçilmartinozit	C ₄ →Açıl	104.08	75.49	84.38	70.09	77.7	62.58	(50)
Plantainozit B	C ₃ →Ra	102.4	76.3	75.3	71.9	78.1	62.7	(138)
Plantainozit A	C ₂ →Açıl	104.3	73.6	79.0	69.9	77.8	62.4	(138)
Kalkeolariozit B	C ₃ →Açıl	103.5	74.2	77.0	70.9	74.5	64.1	(144)
Izomartinozit	C ₆ →Açıl	104.41	75.72	84.14	70.60	75.42	64.78	(50)
	C ₃ →Ra							

Tablo-9. Değişik konumlarda oz ve açıl grubu taşıyan bazı fenilpropanoit heterozitlerinin merkezi oz C sinyalleri

Glukozun 4 numaralı konumunda hidroksil veya açıl grubunun bulunması bu karbon atomunun kimyasal kayma değerinde pek fazla bir değişikliğe yol açmaz ancak, açılasyonun β -etkisi nedeniyle glukozun C-3 ve C-5 atomları $-1-2$ ppm yüksek alana kaydıklarından, açılasyonun konumu (C-4 (OH) üzerinden) kolayca anlaşılabilir. Nitekim, deaçil türevlerde bu C atomlarının düşük alana kaydıkları hemen görülmektedir.

Açılasyon, glukoz molekülünün 2,3 veya 6 numaralı karbon atomları üzerinden gerçekleşmişse açılasyonun α -C atomuna etkisi $+1.5-3$ ppm kadardır. Yine β -C atomlarında da, buna yaklaşık bir yüksek alan kayması göze çarpar.

Ozidik bağlar, ^{13}C -NMR spektrumlarında önemli kimyasal kaymalar şeklinde ortaya çıkar ve böylece oz sübstitüsyonlarının konumu tayin edilir. Merkezi ozun serbest hidroksil grupları üzerinden meydana gelen ozidik bağlanma, ilgili karbon atomunda $+4-10$ ppm kadar düşük alana doğru kaymaya sebep olur. Bağlanma glukozun 6 numaralı pozisyonundan gerçekleşmişse bu kayma, glukozun C-5 atomunda $-1.5-2.7$ ppm'lik bir gölgelenme (yüksek alana kayma) ile beraber ortaya çıkar. Diğer konumlardan oz sübstitüsyonlarında bu β -etki çok daha düşüktür ($-0.5-0.8$ ppm). Aşağıda değişik konumlarda ozidik bağ taşıyan fenilpropanoitlerin merkezi oz (glukoz) karbon atomlarının kimyasal

kayma değerleri karşılaştırılmıştır.

Bileşik Adı	Yapı	δ Glukoz (ppm)						Lit.
		δ C-1	δ C-2	δ C-3	δ C-4	δ C-5	δ C-6	
Deramnozil Akteozit		104.1	74.9	75.5	72.3	75.9	62	(178)
Akteozit	Ra (1→3) Glu	104.2	76.2	81.6	70.4	76.0	62.3	(51)
Orobaşozit	Ra (1→2) Glu	97.10	80.59	74.45	68.89	76.27	60.74	(13)
Forsitiazit	Ra (1→6) Glu	104.4	75.1	75.8	75.1	74.7	67.6	(149)
Ehrenozit	Ara (1→2)]Glu	104.06	82.63	81.41	70.58	75.72	62.39	(129)
AngorozitA	Ra (1→3)]Glu	105.07	72.2	81.72	70.52	75.0	69.07	(47)
	Ara (1→6)							
Poliumozit	3,6-diramnoz	102.37	74.36	78.88	68.99	72.91	65.94	(112)
Jionozit A ₄	Ra (1→3)]Glu	104.1	76.2	81.6	70.5	75	69.2	(166)
	Gal (1→6)							
Plantainozit F	Alloz (1→3)	104.1	74.4	88.2	70.6	75.1	64.7	(138)

Tablo-10. Değişik konumlarda oz substüsyonu taşıyan bazı fenilpropanoit heterozitlerinin merkezi oz C sinyalleri
*(Gal = Galaktoz)

Burada dikkat edilmesi gereken en önemli nokta, açillenme ve ozidik bağlanmaların α -ve β - etkilerine bağlı kaymaların beraber değerlendirilmesidir.

Üçüncü oz ünitesini ramnoz molekülü üzerinden taşıyan triozidik fenilpropanoitlerde ozidik bağlanmanın ramnoz C atomlarına α -etkisi +10-13 ppm civarındadır.

Glikozidasyonun konumunun belirlenmesinde perasetillenmiş türevlerin ^{13}C -NMR spektrumları da yararlı bilgiler verir. Özellikle asetilasyonun β -etkisi belirgindir. Bu nedenle, asetillenmiş mussatiazitlerde ksiloz ve ramnoz gruplarının anomerik karbon sinyalleri, -C-2 (OH) gruplarının asetilasyonuna bağlı olarak- daha yüksek alanda gözlenirler (62).

b₁) Aglikona ait sinyaller: Bunlardan yüksek alandakiler yine aglikonun yan zincirindeki alifatik karbon atomlarından (α ve β) kaynaklanır. α -C atomu ~72-73 ppm, β -C

atomu ise ~36-37 ppm civarında (DEPT spektrumlarında her ikisi de karakteristik triplet) gözlenir. β -karbon atomunda bir hidroksil yada metoksil sübstitüsyonu varsa, β -C sinyali +40-50 ppm düşük alan kaymasına uğrar (sırasıyla 73, 5 ve 83,5 ppm).

Aglikonun sübstitüe aromatik kısmına ait sinyaller ise düşük alanda gözlenir ve kimyasal kayma değerleri aglikon tipi hakkında fikir verir. Aşağıda değişik sübstitüsyonlar taşıyan aglikon tiplerinin aromatik karbon sinyalleri verilmiştir:

Aglikonun cinsi	Aglikon C sinyalleri						
	δ C-1	δ C-2	δ C-3	δ C-4	δ C-5	δ C-6	Lit.
Feniletıl	139.9	130	129.3	127.2	129.3	130	(166)
4-hidroksifeniletıl	130.7	130.9	116.2	156.8	116.2	130.9	(177)
3,4-dihidroksifeniletıl	131.4	117.1	146.1	144.6	116.5	121.2	(51)
3-hidroksi, 4-metoksifeniletıl	132.9	117.1	147.2	147.4	113	121.2	(139)
3-metoksi, 4-hidroksifeniletıl	131.6	113.9	148.7	145.9	116.2	122.4	(120)

Tablo-11. Bazı aglikon tiplerinin aromatik C sinyalleri

Tablodan da görüldüğü gibi feniletıl veya 4-hidroksifeniletıl aglikonları kolayca tayin edilebilir. Aglikondaki diğer sübstitüsyonlara bağlı olarak, karakteristik kaymalar gözlenmektedir. Aglikon tipinin tayininde spektral bulguların literatür verileri ile karşılaştırılması yanında kimyasal yöntemlerden faydalanılması da (örneğin; asit hidroliz ile aglikonun kromatografik teşhisi) yararlı olmaktadır.

b₂) Açıl sinyalleri: ¹³C-NMR spektroskopisi, açıl grubunu meydana getiren asidin cinsinin tayini açısından değerli ipuçları verir. Asitin yan zincirindeki karbonil ve β '-C atomları spektrumda oldukça düşük alanda gözlenirler (δ 168 ve δ 148 civarında).

Fenilpropiyonik asidin aromatik kısmına ait karbon atomlarının kimyasal kayma değerleri asidin cinsinin belirlenmesine yardımcı olur. Aşağıda (Tablo-12), verbaskozit (kafeik asit taşıyor) ile çok değişik asit grupları taşıyan mussatiozidler açıl kısımlarının aromatik karbon sinyalleri karşılaştırılmıştır:

Bileşğin Adı	Aromatik C sinyalleri δ (ppm)						Lit.
	$\delta C-1$	$\delta C-2$	$\delta C-3$	$\delta C-4$	$\delta C-5$	$\delta C-6$	
mussatiozit I (sinnamik a.)	135.77	130.96	129.39	130.02	130.79	130.96	(97)
4-p-kumaroil mussatiozit	127.33	116.89	131.0	161.38	131.0	116.89	(98)
-mussatiozit III (p-metil kumarik a.)	128.39	116.12	130.97	163.25	130.97	116.12	(97)
-verbaskozit (kafeik a.)	127.6	114.7	146.8	149.8	116.3	123.2	(51)
-mussatiozit II (dimetilkafeik a.)	128.92	111.81	150.85	150.1	112.8	124.22	(97)
4- feruloil mussatiozit	127.61	111.94	150.93	149.43	116.60	124.35	(98)

Tablo-12

Yapısında metoksil grubu taşıyan fenilpropiyonik asitler hidroksil taşıyan asitlerle karşılaştırılırsa metil sübstütüsyonunun α -karbon atomunda sebep verdiği düşük alan kaymaları göze çarpar. Ancak bu bulgular $\sim 56,5$ ppm'de gözlenen OCH_3 sinyalleri ile de doğrulanmalıdır.

^{13}C -NMR spektrumlarının açıklanmasında en çok kullanılan yollardan biri de analogi (benzetme) dir. Bileşğin taşıdığı oz zinciri, açıl ve aglikona ait bulgular, orjinal bileşiklerle (oz zincirinin rutinoz, laminaribioz, açıl grubunun kafeik, ferulik asit ve aglikonun 3,4-dihidroksifeniletanol bileşiklerine ait bulgularla karşılaştırılması gibi) veya daha önceden izole edilmiş fenilpropanoit heterozitlerine ait literatür verileri ile karşılaştırılmasıyla yapı tayini oldukça kolaylaşmaktadır.

Kütle Spektrometrisi

Fenilpropanoit heterozitlerinin yapı tayinlerinde kütle spektrometrisinin özel bir önemi vardır. Bileşğin molekül ağırlığının belirlenmesi yanında, konstitüsyonu hakkında NMR spektrumlarını tamamlayıcı ve doğrulayıcı bilgiler verir.

Genel olarak EI-MS (Electron Impact -Mass Spectrometry) uçucu, polaritesi ve molekül ağırlığı düşük ve termal dayanıklılığı fazla olan maddeler için uygun olduğun-

dan(89), fenilpropanoitlerin analizinde daha çok "soft" teknikler olarak bilinen FD-MS (Field Desorption - Mass Spectroscopy), FAB-MS (Fast Atomic Bombardment- Mass Spectrometry) FI-MS (Field Ionization- Mass Spectrometry) ve nadiren de D/CI-MS (Desorption/Chemical Ionization-Mass Spectrometry) yöntemleri kullanılmıştır. Ancak bazı monoozidik yapıdaki fenilpropanoitler (175,177) ile yapısında metoksil sübstitüsyonu taşıyan ve bu nedenle daha apolar ve stabil olan bazı biozidik fenilpropanoit heterozitlerinin analizinde (50,188) EI-MS tekniğinin kullanılabilirdiği görülmüştür.

FD-MS (Field Desorption-Mass Spectrometry): Heterozitler, ozlar, glukuronidler ve diğer oz türevleri, aminoasitler, peptitler, nükleozitler gibi pek çok tip maddeye uygulanmıştır (24, 172). Fenilpropanoit heterozitlerinin yapı tayininde de en sık kullanılan tekniktir. İyon oluşumunda en önemli unsur katyonizasyon olduğundan spektrumlar -katyonize iyon oluşumunu sağlamak amacıyla- bir alkali tuz eklendikten sonra kaydedilir. Genellikle $[M]^+$ pikine rastlanmaz ancak çoğunlukla $[M+Na]^+$ piki temel piktir.

Fenilpropanoit heterozitlerinin FD-kütle spektrumlarında glikozidik veya ester oksijeni üzerindeki parçalanmaya bağlı olarak açığa çıkan protunun atağı ile meydana gelen alt ünitelerin veya katyonizasyonla oluşan moleküler piklerin dışında pek fazla sinyal gözlenmez (171). Bu nedenle spektrum sadedir ve çok şiddetli $[M+Na]^+$ piki (temel pik) yanında çok daha zayıf $[M+H]^+$ ve $[M+K]^+$ piklerinin varlığı ile karakterizedir. Buradan bileşiğin molekül ağırlığı kolayca tayin edilir. Buna ilave olarak sinnamoil grubu ve terminal oz yada ozların ayrılması ile meydana gelen diğer iyonlar da spektrumda yer alır. Özellikle oz zincirinin tayininde FD-MS'nin FAB-MS tekniğine göre daha üstün olduğu belirtilmektedir (171). Fenilpropanoitlerin FD- kütle spektrumlarında gözlenebilecek diğer sinyaller, $[(M+Na)\text{-terminal oz}]^+$ (terminal oz; ramnoz (146), heksoz (162), pentoz (132)), $[(M+Na)\text{-kafeoil (162)}]^+$, $[(M+Na)\text{-feruloil (176)}]^+$, $[(M+Na)\text{-132-146}]^+$, $[(M+Na)\text{-162-146}]^+$, $[(M+Na)\text{-2x162}]^+$ ve $[M+2Na]^{++}$, $[(M+2Na)\text{-162}]^{++}$ vs. olabilir.

Asetillenmiş fenilpropanoit heterozitlerinin FD-kütle spektrumları da benzer bir görünüm sunar ancak tek fark, asetil gruplarının yarılmasına bağlı kademeli keten eliminasyonu (42 mass ünitesi) ile oluşan bir seri pikin varlığıdır. $[M+Na]^+$ yine majör piktir, ayrıca $[M+H]^+$ ve $[M+K]^+$ sinyalleri görülebilir. Asetil türevlerinin FD-kütle spektrumları özellikle açıl grubu hakkında faydalı bilgiler verir fakat tek dezavantajı, perasetil bileşiğinin uçuculuğunun fazla olması nedeniyle asetillenmiş oz gruplarının parçalanmasını sağlayamamasıdır (171).

FAB-MS (Fast Atomic Bombardment-Mass Spectroscopy): Diğer bir soft iyonizasyon tekniği olan FAB-kütle spektroskopisi, deneysel kolaylık ve uzun ömürlü (kararlı) iyonlar vermesi açısından avantajlıdır(171). Genellikle zayıf bir fragmentasyon göster-

mesine karşın heterozitler, antibiyotikler, alkaloidler yanında, sinnamoil iridoit glukozitleri, sinnamik asit glikozitleri ve kumarin glikozitlerinde başarıyla kullanılmıştır (62). Fenilpropanoit heterozitlerinin yapılarının aydınlatılmasında da hem pozitif iyon (44, 47, 48), hem de negatif iyon FAB- kütle spektroskopisi (18, 136) yöntemlerinden yararlanılmıştır.

Fenilpropanoit heterozitlerinin FAB-kütle spektrumlarında bir majör $[M+Na]^+$ piki ve bunun yanında $[M+H]^+$, $[M+K]^+$, $[M+(matris)_n +H, Na, K]^+$ gibi sinyaller gözlenebilir (matris olarak gliserol, tiyogliserol veya NOBA (= metanitro benzil alkol) kullanılabilir). Bileşiğin yapısı hakkında bilgi verebilecek pikler $[(M+Na)-terminal\ oz]^+$, $[(M+Na)-açıl]^+$, veya $[(M+H)-terminal\ oz]^+$, $[M-terminal\ oz]^+$, $[M-açıl]^+$, $[M-aglikon]^+$, $[M-aglikon-terminal\ oz\ (lar)]^+$ ve $[açıl]^+$ iyonlarından kaynaklanmaktadır.

Asetilli türevlerin FAB-kütle spektrumları da yapı tayini açısından oldukça önemli bilgiler sunar. Bunların spektrumlarında $[M+Na]^+$, $[M+H]^+$, $[M-(asetil)_n]^+$, $[M-asetilaglikon]^+$, $[M-asetilaçıl]^+$ ve asetillenmiş terminal ozlara ait parçalanma iyonları gözlenir. Özellikle $m/z\ 331$ [tetra-O-asetil-glukozoksonyum] $^+$, $m/z\ 273$ [tri-O-asetil-ramnozoksonyum] $^+$ ve $m/z\ 259$ [tri-O-asetil-arabinozoksonyum] $^+$ iyonları karakteristiktir.

FI-MS (Field Ionization-Mass Spectroscopy): EI-Kütle spektrometrisi yönteminin dezavantajları bu yöntem için de geçerlidir. Bu nedenle fenilpropanoitlere pek fazla uygulanmamıştır. FI-MS tekniğinde incelenen maddenin iyonizasyon için buharlaştırılması gerekliliğinden, çok sayıda termal dekompozisyon meydana gelir. FI-MS uygulanan fenilpropanoitlerin spektrumlarında düşük şiddetli $[M]^+$ ve $[M+H]^+$ iyonlarına ilaveten, $[M-terminal\ oz]^+$, $[M-aglikon]^+$, $[M-terminal\ oz-aglikon]^+$ gibi parçalanma iyonları gözlenmiştir.

Asetilli türevlerde ise $[M+H]^+$ iyonu majör piki verir. Ayrıca glikozidik bağların parçalanmasına bağlı olarak $[M-triasetil\ terminal\ oz]^+$, $[M-asetilaçıl]^+$ ve $[M-asetil\ terminal\ oz - asetilaçıl]^+$ iyonları gözlenir(171).

FD ve FAB-kütle spektrometrisinin aksine terminal oz ve aglikon eliminasyonuna bağlı olarak oluşan sinyallerin, FI-kütle spektrumlarında oldukça şiddetli olduğu belirtilmiştir (124).

D/CI-MS (Desorption/Chemical Ionization-Mass Spectrometry). Fenilpropanoit heterozitlerine nadiren uygulanmıştır. Reaktant gaz olarak amonyak kullanılmış ve buna bağlı olarak da $[M+NH_4]^+$, $[M+H]^+$, $[(M+NH_4)-146]^+$, $[(M+NH_4)-162]^+$, $[(M+H)-162]^+$ gibi pikler elde edilmiştir (20,158).

Sonuç olarak, olanakların elverdiği ölçüde, bu yöntemlerin bir kaçının birarada kullanılması yapı tayinleri açısından oldukça faydalı olacaktır.

Kimyasal Yöntemler

Çok ileri spektroskopik teknikler geliştirildiği halde, bunlar uygulanmadan önce bir ön fikir sahibi olmak veya daha çok da spektral bulguları kesinleştirmek amacıyla değişik kimyasal yöntemlerden yararlanılmaktadır. Asit hidroliz bunların içinde en sık uygulanan yöntemdir. Seyreltik asitler kullanılarak yapılan kısmi asit hidroliz ile terminal oz veya ozlar tayin edilirken, total asit hidrolizle yapıdaki tüm ozların cinsi-hatta gelişmiş kromatografik yöntemler kullanılarak sayıları (oranları)-yanında aglikon ve açil grupları da belirlenebilir. Alkali hidroliz veya alkali metanoliz (120, 166, 177) yöntemleri ise açil grubunu meydana getiren asidin cinsinin tayinine olanak sağlar. Enzimatik hidrolize nadiren başvurulmuştur(66, 161, 180). Tüm bu yöntemlerde, hidroliz ürünlerinin tayini kromatografik teknikler (ince tabaka veya kağıt kromatografisi, gaz kromatografisi veya kütle spektrometresi ile kombine gaz kromatografisi (GC-MS) yada yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (YBSK))ile gerçekleştirilmiştir.

Türevlendirme de fenilpropanoit heterozitlerinin yapılarının açıklanmasında önemli yararlar sağlar. Fenilpropanoitlerin permetilasyonunda genellikle Hakomori yöntemi kullanılmıştır (18, 44, 47). Bu ürünün asit hidrolizi ile elde edilen metillenmiş terminal ozlar oz zincirinin tayinine olanak sağlar. Kısmi metilasyon amacıyla daha çok diazometan tercih edilmektedir(18, 118, 150). Diazolamayı takiben yapılan alkali hidroliz ile meydana gelen deaçil türevlerinin spektral analizleri, açil grubunun konumu hakkında en doğru bilgileri verir.

Asetillenmiş türevlerin spektral önemlerinden daha önce bahsedildiği için burada tekrarlanmayacaktır.

Farmakolojik Aktiviteleri:

Fenilpropanoit heteroziti taşıyan pek çok drog, özellikle Doğu tıbbında değişik amaçlarla; diüretik, antiastmatik (162), antiallerjik ve antienflamatuvar (114), analjezik olarak (91) kullanılmaktadır. Bitki bileşenleri ile farmakolojik aktiviteleri arasındaki ilişkiler konusunda yapılan çalışmalar doğrultusunda, bu bileşikler taşıyan bitki ekstraktlarının, ham fenilpropanoit fraksiyonlarının veya bunlardan izole edilen saf fenilpropanoit heterozitlerinin biyolojik aktiviteleri araştırılmış ve bu bileşiklerin aşağıda görüldüğü gibi pek çok aktiviteden sorumlu oldukları gözlenmiştir:

Antimikrobiyal etki: Kafeik asit (veya türevlerinin) antiviral (127) antifungal ve antibakteriyal etkilerinin (128) olduğu bilinmektedir. Fenilpropanoit heterozitlerinin de bitki ve insan patojenlerinin üremesini inhibe ettikleri tesbit edilmiştir (142).

Antimikrobik etkisi bilinen *Forsythia* türlerinin yaprak ve meyvaları üzerinde yapılan çalışmalar sonunda, forsitozit A (69) C,D (66,150) ile akteozit (verbaskozit) ve β -hidroksiakteozit bileşiklerinin (147) *Staphylococcus aureus*'a karşı antibakteriyal aktiviteye sahip oldukları gözlenmiş ve *Forsythia* meyvelerinin antibakteriyal etkisinin, bu fenilpropanoit heterozitlerinden ileri geldiği belirtilmiştir (147). Yine verbaskozit'in bir anaerobik bakteri olan *Clostridium sporogenes*'e karşı bakteriyostatik etkisi vardır (60).

Rehmannia türlerinden elde edilen bileşik 3 (plantamajozit), forsitiazit (179), akteozit ve purpureazit C (178), *Pseudomonas cepacia* ve *P. maltophilia* 'ya karşı belirgin antibiyotik aktivite göstermişlerdir. Son iki bileşik, *E. coli* ve *S. cerevisiae*'ye karşı da aktif bulunmuştur ancak bu aktivite daha düşüktür(178).

Plantamajozit'in, 7 bitki bakterisi yanında *E.coli* ve *Staphylococcus aureus*'a karşı antibakteriyel etkisini araştıran Ravn ve ark., forsitiazit ve klorojenik asite oranla en yüksek inhibisyonu plantamajozit'in gösterdiğini bulmuşlardır (161).

Scrophularia scopolii fenilpropanoitleri üzerinde yapılan invitro antimikrobiyal aktivite çalışmasında, hidroksisinnamik asit olarak kafeik asit taşıyan angorozit A, B ve akteozit'in sadece gram (+) bakterilere (*S. aureus*, *Streptococcus faecalis*) etki gösterdikleri anlaşılmıştır. Açıl kısmında ferulik asit taşıyan angorozit C'de hiç bir aktivite gözlenmezken, angorozit A'dan sadece aglikon kısmında (C-4) hidroksil yerine metoksil grubu taşımasıyla ayrılan angorozit B'nin antimikrobik aktivitesinin bu bileşiğe oranla çok daha düşük olduğu görülmüştür. Bu sonuçlar, antimikrobiyal aktiviteden fenolik grupların sorumlu olduğunu göstermiştir (52). Yine *Mussatia* türlerinden izole edilen 4-sinnamoil mussatiozit, 4-dimetoksikafeoil mussatiozit ve 4-p-metoksisinnamoil mussatiozit bileşiklerinin değişik bakteri ve mantarlara karşı antimikrobiyal etkisi araştırılmış ancak çalışılan dozda (0.05-5 mg/şerit aralığında) aktivite gözlenememiştir. Bunun nedeninin, antimikrobiyal aktivite için esansiyel olan orto-dihidroksifenol kısmının bu bileşiklerde bulunmayışı ile yakından ilgili olduğu bildirilmiştir (31).

İmmunsupresif etki: *Rehmannia glutinosa* var. *hueichingensis*'den elde edilen akteozit, izoakteozit, purpureazit C, jionozit A₁,B₁,ekinakozit, sistanozit A ve F'nin farelerde immunsupresif etki gösterdikleri saptanmıştır. Yapısında feniletanol grubu taşımayan sistanozit F'in etkisinin düşük olması nedeniyle, bu etkiden fenilpropanoit heterozitlerinin yapısındaki aglikon kısmının sorumlu olabileceği belirtilmektedir (167).

Antihepatotoksik aktivite: Geleneksel tıpta karaciğer hastalıklarına karşı kullanılan *Buddleja* türlerinden izole edilen akteozit ve ekinakozit'in karaciğer koruyucu etkilerinin olduğu belirlenmiştir(93). Kafeik asitin antihepatotoksik etkisi bilinmektedir (115). Bu moleküllerin ikisinde de kafeoil grubunun bulunması aktivite açısından önemli olabilir ki bu kafeik asit, muhtemelen bileşiklerin hücre içinde hidrolizi ile meydana gelmektedir (93).

Antineoplastik aktivite: *Castilleja linariaefolia* üzerinde yapılan invivo aktivite çalışmaları sırasında, bitkinin taşıdığı akteozit ve izoakteozit'in, lenfositik lösemide ortadan zayıfa değişen sitostatik aktivite gösterdikleri saptanmıştır (157).

Antioksidan aktivite: *Plantago asiatica*'dan elde edilen fenilpropanoit heterozitlerinden orto-difenol kısmı içerenlerin (kalkeolariozit B, akteozit, plantamajozit, plantainozit A,B,D) yüksek antioksidan aktiviteye sahip oldukları gösterilmiştir (138).

L-DOPA'nın antitremor aktivitesinin potansiyalizasyonu: Andary ve ark., *Orobanch rapum-genistae* bitkisinin taşıdığı verbaskozit ve orobanşozit'in, fındık farelerinde L-DOPA'nın antitremor aktivitesine agonist etki gösterdiklerini ve ön çalışmalardan sonra, bu bileşiklerin parkinson tedavisinde kullanılabileceklerini bildirmişlerdir. Bu potansiyalizasyon için kafeik asit grubu gereklidir, çünkü orobanşozitin dekafeoil türevi olan orobanozit'te aynı etki gözlenememiştir (9).

Analjezik etki: Yine *O. rapum-genistae* bitkisinden elde edilen ve % 60 verbaskozit,%30 orobanşozit ve % 10 oranında da bu bileşiklerin izomerlerini taşıyan ham fenilpropanoit ekstresinin (HFE), kuvvetli analjezik etkisi yanında, hafif antienflamatuar etkisinin de olduğu saptanmıştır (9).

Enzim inhibitör etkileri:

-sAMP-fosfodiesteraz ve 5-lipoksigenaz enzimlerinin inhibisyonu: Forsitiazit (149), suspensazit (150), siklik adenzin monofosfat (sAMP)-fosfodiesteraz enzimini inhibe ederler ($İK_{50}$ 11×10^{-5} mol/l ve $18,3 \times 10^{-5}$ mol /l, sırasıyla). Bunların aksine akteozit ve β -hidroksiakteozit için böyle bir aktivite söz konusu değildir($İK_{50}$ $>50 \times 10^{-5}$ mol/l, her ikisi için de) (118).

Plantamajozit ve onun β -hidroksilli analogu olan hellikozit'in sAMP-fosfodiesteraz yanında, 5-lipoksigenaz enzimi üzerinde de yüksek inhibisyon yeteneğine sahip olduğu belirlenmiş, *Plantago* herbalarının antienflamatuar ve antiastmatik etkisinin

sözü geçen enzimlerin başta plantamajozit olmak üzere, bitkinin taşıdığı fenilpropanoit heterozitlerince inhibisyonundan ileri geldiği ifade edilmiştir (162). 2'-O-asetilakteozit, jionozit C ve izoakteozit'in de 5-lipoksigenaz inhibitör etkileri vardır. Bu bileşiklerin iyi bir 5-lipoksigenaz inhibitorü olan kafeik asit taşımaya dikkat çekilmektedir (154).

-Aldoz redüktaz enziminin inhibisyonu: *Plantago asiatica*'nın taşıdığı plantamajozit, hellikozit ve akteozit'in siğir lens aldoz redüktaz enzimine etkileri araştırılmış ve sadece akteozit'te bu etki saptanmıştır (162). Nishimura ve ark., Doğu tıbbında diabete bağlı kronik hastalıklarda kullanılan *Rehmannia glutinosa* var. *purpurea* köklerinden izole ettikleri 18 fenilpropanoit heterozitinden üçünün; 2'-O-asetilakteozit, jionozit C ve D'nin, siçan lensinde aldoz redüktaz inhibisyonuna neden olduğunu bulmuşlardır (154).

Genel olarak, aldoz redüktaz enzim inhibitörlerinin diabetik komplikasyonlarda yararlı olduğu söylenir (154). Gerçekten de bazı fenilpropanoit heterozitlerinin (orobanşozit), diabette gözlenen sekonder nöropati ve kataraktı azaltıcı rollerinin olduğu tesbit edilmiştir (62).

Araşidonat metabolizması üzerine etkileri: Forsitiazit, suspensazit, akteozit ve β -hidroksiakteozit'in insan periferal polimorfonükleer lökositlerinde 5-lipoksigenaz ürünlerinin (5-HETE ve LTB₄), siçan peritoneal hücrelerinde de araşidonik asitten 5-HETE'nin (5-hidroksi-6,8,11,14-eikosatetraenoik asit) oluşumunu inhibe ettikleri gösterilmiştir. Deney sonuçları, bu fenilpropanoit heterozitlerinin astım ve allerjik hastalıklarda kullanılabileceğini ortaya koymuştur. Ancak bu inhibisyon için kafeoil grubunda olduğu gibi iki komşu fenolik hidroksil grubuna ihtiyaç vardır(114).

Anti-platelet aktivite: Değişik tip fenilpropanoitlerden 4-sinnamoil mussatiozit, 4-dimetilkafeoil mussatiozit ve 4-p-metoksisinnamoil mussatiozit'in siçanlarda platelet agregasyonunu önledikleri anlaşılmıştır. Antiplatelet aktivitenin muhtemelen sAMP-fosfodiesteraz inhibisyonuna bağlı olduğu düşünülmektedir (31).

Antihipertansif etki: *Orobancha rapum-genistae*'den elde edilen ve içeriği daha önce verilmiş olan ham fenilpropanoit ekstresi (HFE), siçanlarda antihipertansif etki göstermiş, normal tansiyonlu hayvanlarda ise arteriyel basıncı değiştirmemiştir (9). Aynı etki suspensazit'te de görülmüştür (147, 148).

Bu aktivite de sAMP-fosfodiesteraz enziminin inhibisyonu ile ilgili olabilir, çünkü *Forsythia suspensa* fenilpropanoitlerinden en yüksek antihipertansif aktiviteye sahip olan suspensazit, aynı zamanda kuvvetli bir sAMP-fosfodiesteraz inhibitörüdür (147).

Tüm bu örnekler, yapı-aktivite ilişkilerinin sinnamoil ve feniletanol gruplarının substitüsyonu, açılasyonun glukoz molekülünün C-4 veya C-6 konumlarından gerçekleşmiş olması yanında ,yapıda yer alan ozların cinsi ve pozisyonlarına da bağlı olabileceğine dikkat çekmektedir. Gün geçtikçe sayılarının artması, fenilpropanoit heterozitleri gibi önemli bir metabolit grubunun yapı-aktivite ilişkileri üzerinde daha fazla durulmasını gerektirmektedir (62).

SCROPHULARIACEAE FAMILİYASI

Ototrofik, kısmen veya nadiren tamamen parazitik, iç floem taşımayan, otsu veya yarı çalimsı bitkiler, nadiren küçük ağaçlar (*Paulownia*).

Yapraklar basit, stipulasız, tam veya pennat loblu, alternan, karşılıklı veya vertisilat dizilişte, bazen gövde etrafında kıvrılmış. Çiçekler hermafrodit, yaprak koltuklarında tek veya rasemus veya spika yada panikula şeklinde, nadiren umbellat, bazen simoz çiçek durumunda. Brakte ve brakteoller genellikle mevcut ve bazen renkli (*Castilleja*). Kaliks 4-5 parçalıdan bilabiat veya bilobluya kadar değişen şekillerde, kalıcı, imbrikat veya valvat. Korolla gamopetal, 4-5 loblu (nadiren 6-8), çoğunlukla bilabiat, bazen personat, mahmuzlu veya tabanda kese şeklinde, genellikle zigomorf, bazen aktinomorfa yakın, tomurcuklarda korolla lobları imbrikat(59, 94, 133).

Stamenler adnat, korolla tübüne bağlı (epipetal), loplara ile alternat. Stamen sayısı nadiren 5 ve tümü fertil (*Verbascum*), çoğunlukla 4 ve didinam, bazen 2. Staminot var (1-3) veya yok. Anterler 2 gözlü, filamentler serbest. Anterlerin açılması, uzunlamasına yarıyla veya nadiren delikle ve intrors.

Pistil 1, ovaryum üst durumlu, sessil, 2 karpelli ve 2 gözlü, ovüller çok sayıda veya nadiren birkaç tane, şişkin eksensel plasenta üzerinde. Stilus tek ve terminal, stigma biloblu veya 2.

Meyva çoğunlukla septisit, bazen lokulisit veya porisit kapsula, nadiren etli (*Leucocarpus*, *Halleria*). Tohumlar çok sayıda ve küçük, bazen az ve daha büyük, çoğunlukla süslü(59, 133).

***Lagotis* Cinsi**

(sinonim: *Gymnandra*, *Gerberia*)

Çok yıllık, tüysüz bitkiler. Yapraklar basit, tam, çoğunlukla tabanda. Çiçekler tepede, spikamsı, brakteli rasem şeklinde. Kaliks zarımsı, ön yüzde tabana yarık, 2 loblu. Korolla bilabiat, morumsu renkte. Üst dudak tam veya ikiye yarılmış, alt dudak 2 veya 3 loblu.

Stamen sayısı 2, yarısı çiçek dışına fırlamış, anterler tek gözlü, tüylü. Ovaryum 2 ovüllü. Meyva, sert, açılmayan bir kapsula, tohum sayısı 1-2.

Genellikle Kuzey ve Doğu Asya, Kafkasya, Himalayalar ve Batı Çin'de yetişirler. Dünyada 20 türü bulunan *Lagotis* cinsi (196), ülkemizde tek tür ile temsil edilmektedir. (59)

***Lagotis stolonifera* (C. Koch) Maxim.**

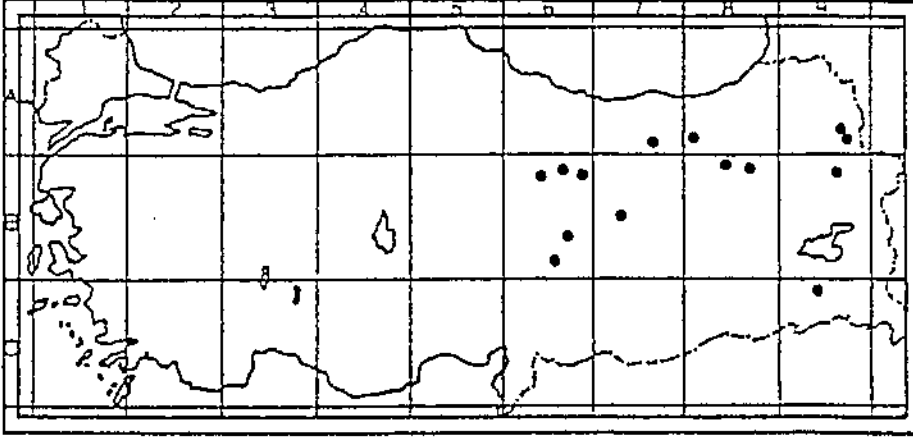
(sinonim: *Gymnandra stolonifera* C. Koch., *G. armena* Boiss.)

Stolonlu gövde, 2-14 cm boyunda. Kalın bir rizom taşır, kökler lifli ve kök ile gövdenin birleştiği kısımda, yaprak sapına ait lifli kısım kalıcı. Yapraklar rozet şeklinde, dar oblong-eliptik, 1.5-13 x 0,5-1,3 cm ebatlarında, tüysüz, sapsız veya çok kısa yaprak sapı taşır. Yaprak kenarları tam veya subkrenat, stolonlardaki yapraklar küçük, alternan.

Çiçek durumu ovat-oblong, çok çiçekli spika, meyvada uzamış. Brakteler 10-14 mm, kaliksi sarmış. Pediseller 1-1.5 mm. Kaliks 3-4 mm, loplar 2 mm boyunda. Korolla mavimsi-mor veya pembemsi-mor, 8-12 mm. Korolla tüpü 5-7 mm, üst dudak tam veya emarginat. Alt dudak 2 obtus oblong loblu, 2.5-4 mm, üst dudak ile eşit.

Meyva odunlaşmış eksokarpli, 7.5-6 mm, ovat-oblong, obtus.

Bitki, stolonlu olması, zarımsı kaliksi, 2 stamenli çiçekleri ve meyvanın çok sert eksokarpi sayesinde kolayca tanınır(59).



Harita-1. *Lagotis stolonifera*-Yayılış

Yayılış

Doğu Anadolu. A7: Gümüşhane: Kelkit, 1600 m, A7/8: Gümüşhane: Bayburt-Gümüşhane arası, 2000 m, A9: Kars, Kars'ın güneydoğusu, A9: Kars: Selim, Karahamza Köyü, D. Taşdemir (HÜEF-89-004), B6: Sivas: Zara-İmranlı arası, 1500 m. B7: Erzincan: Eğin (Kemaliye), B8: Erzurum: Erzurum civarı (Tip: *Gymnandra armena* Boiss.), B9: Ağrı: Ağrı'nın 3 km doğusu, 1700 m, B10: Ağrı: Ağrı Dağı, 1775 m, C9: Siirt: Herakol Dağı, Pervari, 1700 m (59).

Habitat

Lagotis stolonifera bitkisi, bodur otsu alanlarda, kil oranı yüksek topraklarda, dağ eteklerindeki yaylalarda ve tarla kenarlarında, 1300-2300 m. arasında yetişir (59).

Bu çalışmada kullanılan *L. stolonifera*, 1800 m yükseklikteki düz ovoidan, dere kenarındaki otlak civarından toplanmıştır.

Sistematik

Yaklaşık 220 cins ve 3000 kadar türe sahip olan Scrophulariaceae familyası, değişik sistematikçiler tarafından değişik şekillerde sınıflandırılmıştır. Wettstein, bu familyayı 3 alt familya ve 12 tribüs altında incelemiştir:

- 1- Pseudosolanoideae (Verbascoideae) (2 Tribüs): *Verbascum*, *Celsia* türleri.
- 2- Antirrhinoideae (Scrophularioideae) (7 Tribüs): *Calceolaria*, *Linaria*, *Scrophu-*

laria, Manulea, Veronica, Digitalis, Gratiola, Paulownia, Rehmannia türleri..

3- Rhinanthoideae (3 Tribüs): *Castilleja, Melampyrum, Euphrasia, Pedicularis* türleri(195).

Engler'in sınıflaması ise şöyledir:

1)-Scrophularioideae (= Antirrhinoideae ve Pseudosolanoideae) (10 Tribüs)

2)- Rhinanthoideae (5 Tribüs)

3)- Selaginoideae (Selaginaceae) (1 Tribüs)(71).

P.H. Davis, *Lagotis* cinsinin önceden Selaginaceae familyası içinde yer aldığını ancak Scrophulariaceae içinde incelenmesinin daha doğal olduğunu belirtmektedir (59).

Sistematikçi Wettstein, küçük bir familya olan Selaginaceae'yi, çok benzediği Scrophulariaceae familyasına dahil etmiş ve Antirrhinoideae alt familyasına alt bir tribüs olarak (Selagineae) kabul etmiştir (164, 195, 196). Rendle ve Hutchinson ise ~10 cins ve 120 türe sahip olan bu tribüsü(*Hebenstretia* ve *Selago* cinsleri dahil olmak üzere) bir familya statüsüne almışlardır (94, 133, 164).

Öte yandan Bentham, Hooker ve Cronquist gibi sistematikçiler ise Selaginaceae'yi Globulariaceae familyası ile birleştirmişlerdir(40, 41, 57, 133, 164). Cronquist, Selaginaceae'nin Scrophulariaceae familyasındaki Manuleae tribüsüne çok benzer özellikler taşıdığını ve genellikle bu familya içerisinde incelendiğini belirtmiş, Selaginaceae, Globulariaceae ve Manuleae'nin ortak özellik olarak-çoğu Scrophulariaceae bitkisinin tersine- olgunlukta monotekal anter taşımalarını göstermiştir (40).

Selaginaceae familyası bitkileri esasen Güney Afrika'da yetişen ancak Madagaskar ve Tropik Afrika dağlarında da rastlanan, otsu veya çalimsı bitkilerdir. Yapraklar alternan veya subopozit, basit, stipulasız. Çiçekler küçük, hermafrodit, zigomorf, çoğunlukla spika durumunda. Kaliks kalıcı, 3-5 dişli veya loblu, nadiren 2 sepalli. Korolla simpetal, tüp bazen yarılmış, loplara alternat, 2,4 veya 5 adet .

Verimli stamen sayısı 4 veya 2, anterler 1 gözlü, uzunlamasına açılır. Ovaryum üst durumlu, 2 gözlü, ovaryumun her bölmesinin tepesinde sarkık bir ovül var. Meyva olgunlukta eşit olmayan 2 karpel ayrılır. Tohumlar etli, endospermanın ortasında büyük embriyolu. En önemli türleri: *Hebenstretia, Selago, Microdon, Cromidon, Gosela, Agathelpis, Walafrida, Dischisma, Globulariopsis* (94, 164).

Lagotis cinsinin sistematigi hakkında özel bir bilgi yoktur. Bununla beraber, Cronquist'ın bu cinsi Scrophulariaceae familyası içinde incelediğini görmekteyiz(41). Engler ise Selaginaceae'yi Scrophulariaceae'nin bir alt familyası olarak kabul ettiği halde, *Lagotis* cinsini Rhinanthoideae alt familyasında Veroniceae tribüsüne dahil etmiştir (71). İridoitlerle ilgili bazı kemotaksonomik çalışmalarda da *Lagotis* cinsinin aynı tribüseye dahil edildiği görülmektedir(86,126).

LAGOTIS TÜRLERİ ÜZERİNDE YAPILAN KİMYASAL ARAŞTIRMALAR

Literatür taramaları sonucunda *Lagotis* türleri üzerinde yapılmış pek fazla kimyasal çalışma bulunmadığı görülmüştür. Son yirmi yıl içerisinde dikotiller (17) ve Tubiflorae ordosu bitkileri iridoitleri üzerinde yapılan kemotaksonomik araştırmalarda, *Lagotis* cinsinin okubin ve katalpol tipi iridoitler taşıdığı belirtilmişse de bunların izolasyon veya yapı tayinleri yapılmamıştır (86, 126).

VOLKSHONSKAYA ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada Sovyetler Birliği'nde yetişen 109 bitkinin flavonoit içeriği araştırılmış ve *Lagotis integrifolia*'nın 8.92 mg/g total flavonoit (glukozit şeklinde) taşıdığı belirlenmiştir (193).

Lagotis brachystachya üzerinde CHEN ve arkadaşlarının yaptıkları araştırmada ise, bitkiden lagotizit isimli yeni bir flavonoit izole edilmiş ve bu bileşiğin yapısı 3, 5 -dihidroksi- 3', 5' -dimetoksiflavon -7-O- glukozit olarak aydınlatılmıştır. Bunlara ilave olarak, 3, 5, 7 -trihidroksi- 3', 5' -dimetoksiflavon, krizoeriol , 3-fenil-2 propenoik asit , β - sitosterol ve D-galaktoz da elde edilmiştir(38).

Lagotis stolonifera üzerinde yaptığımız çalışmada, dört iridoit heteroziti; okubin, katalpol ve bunların 10-O-*trans*-sinnamoil esterleri olan (sırasıyla) litantosalin (=izoskrofulariozit) ve globularin (=skutellariozit-I) ve dört fenilpropanoit heteroziti, verbaskozit (=akteozit), plantamajozit(= purpureazit A), ehrenozit ve tarafımızdan lagotozit olarak isimlendirilen yeni bir fenilpropanoit heteroziti (54, 55) ile bir kukurbitasin heteroziti olan arvenin I (2-O- β -D- glukopiranozil kukurbitasin B) izole edilmiştir (53).

DENEYSEL KISIM

MATERYAL

Lagotis stolonifera (C. Koch.) Maxim. bitkisi 15 Mayıs 1989 tarihinde Kars ili, Selim ilçesi, Karahamza köyünden toplanmıştır.

Çalışmada bitkinin açık havada ve gölgede kurutulmuş toprak üstü kısımları kullanılmıştır.

Fizik Alet

UV Spekt.	: Shimadzu UV-160A
IR Spekt.	: Perkin-Elmer 457 (% 1 KBr) Perkin-Elmer 435 (% 0.5 KBr)
¹ H-NMR Spekt.	: Bruker WM 300 (300 MHz)
¹³ C-NMR Spekt.	: Bruker WM 300 (75 MHz)
FAB Kütle Spekt.	: Kratos AEI-MS 50 Kütle Spektrometrisi (Matris: NOBA)
Optik Çevirme	: Perkin-Elmer 141
OBSK	: Bkz. Sayfa 45
Liyofilizatör	: Virtis , Freezemobile 6

Spektroskopik analizlerin yapılmasında yardımcı olan Prof. Dr. Otto Sticher ve A. D. Wright 'a (ETH-Zürich) teşekkür ederiz.

YÖNTEM

Tüketme ve Yoğunlaştırma

Çalışmamızda, tüketme ve kolon fraksiyon solvan sistemlerinin yoğunlaştırma ve uçurulması amacıyla rotavapor (Heidolph) kullanılmıştır.

İnce Tabaka Kromatografisi (İTK)

Çalışmada tüm kontrollerde normal faz ince tabaka kromatografisi kullanılmıştır.

Adsorban: Silika jel (İTK-Alüminyum folyo, hazır plak, Kieselgel 60F₂₅₄, 0.2mm, Merck 5554)

Mobil Faz: Kloroform : Metanol: Su (80: 20: 2) (Sistem-A)
Kloroform : Metanol: Su (61: 32: 7) (Sistem- B)
Benzen : Aseton (4: 1) (Sistem- C)

Sürüklenme Mesafesi : 8-10 cm

Lekelerin Belirlenmesi : UV₂₅₄ / UV₃₆₆ nm

% 1 Vanilin/H₂SO₄

İzolasyon Yöntemleri (Preparatif Ayırım)

Normal Faz Kolon Kromatografisi (=KK)

Tüm ön temizleme ve ön fraksiyonlama ile bazı preparatif ayırım aşamalarında (de-açil ve asetil türevlerinin izolasyonu), normal faz klasik açık kolon kromatografisinden yararlanılmıştır. Fraksiyonlar ön temizleme işlemlerinde 20-50 ml, izolasyon aşamalarında ise 5-10 ml arasında toplanmış ve ince tabaka kromatografisi yardımıyla kontrol edilmişlerdir.

Adsorban : Poliamit (Woelm)

Silika jel (Kieselgel 60, 0.063-0.2 mm, Merck 7734)

Mobil Faz: Poliamit kolon için: Su

Su: Metanol (75: 25, 50: 50, 25: 75)

Metanol

Silika jel kolon için: Kloroform: Metanol: Su (80: 20: 2, 70: 30: 3, 65: 35: 5, 61: 32: 7, 61: 32: 5, 60: 40: 5, 55: 45: 5)

Benzen : Aseton (4: 1)

Karşıt Faz Kolon Kromatografisi

Karşıt Faz-Orta Basıncılı Sıvı Kromatografisi (= KF-OBSK)

(=Reserved Phase-Medium Pressure Liquid Chromatography= RP-MPLC)

Normal faz klasik açık kolon kromatografisi ile ön temizleme işlemi gerçekleştirilen fraksiyonlardan bileşiklerin tümü, karşıt faz (= reversed phase) materyali kullanılarak orta basınçlı sıvı kromatografisi tekniği ile izole edilmişlerdir. Orta basınçlı sıvı kromatografisi tekniği, yüksek ayırım kapasitesi ve hızı yanında, kullanılan solvan sisteminin ekonomikliği (su ve metanol) açısından da oldukça avantajlıdır(90).Bu çalışmada da kademeli elüsyon yardımı ile kimyasal yapı benzerliği olan bileşiklerin ayırımında başarıyla kullanılmıştır.

Bu amaçla Sepralyte 40 m μ (C-18) karşıt faz materyali ile doldurulmuş 2 değişik boyutlu kolon kullanılmıştır. Solvan sistemi, basınç sağlayan bir pompa yardımıyla kolona gönderilmiş, kolon şartlandırıldıktan sonra, aynı solvan sistemi ile çözülmüş numune çözeltisi lup vasıtasıyla kolona enjekte edilmiştir. Bir fraksiyon toplayıcı yardımıyla toplanan fraksiyonlar (4 ml/dk akış hızı ile), ince tabaka kromatografisi ile kontrol edilmiştir.

Adsorban	:	Sepralyte 40 m μ (C-18)
Kolon Boyutları	:	Labomatic, FA 1/8 kolon, 13 mm x 380 (Kolon-I) FA 1/4 kolon, 18.5 mm x 352 (Kolon-II)
Solvan Sistemi	:	Su, Su: Metanol, Metanol
Pompa(Pistonlu)	:	LEWA M5
Basınç (Bar)	:	10-15
Enjektör	:	Rheodyne (Loop 1 x 0.5 ml, 1 x 5 ml)
Fraksiyon Toplayıcısı:		LKB-Biocal, 1700 Minirac Fraction Collector
Akış Hızı	:	4 ml/ dk
Toplanan Fraks. Mik.:		10-15 ml

KİMYASAL YÖNTEMLER

Ester İridoitlerinin Alkali Hidrolizi

LS-İ1(globularin) ve LS-İ2 (litantosalin) iridoitlerine uygulanmıştır.

5 mg madde, 5 ml % 5'lik potasyum hidroksit (metanolde hazırlanmış) içinde 1/2 saat süreyle 80° C'lik rotavaporda ısıtılır. Soğuduktan sonra % 5'lik metanolik hidroklorik asit ile nötralleştirilir, kuruluğa kadar uçurulur. Artık, soğuk metanolde çözülür, süzülerek oluşan tuzlardan (KCl) kurtarılır. Süzüntü yoğunlaştırılarak, kromatografik analiz (İTK) yapılır.

Fenilpropanoit Heterozitlerinin Asetilasyonu

LS-F2 (lagotozit) ve LS-F3 (plantamajozit) heterozitleri için uygulanmıştır.

10 mg madde, 0.5 ml piridinde çözülür, 0.5 ml asetik anhidrit ilave edilir. Oda ısısında ve karanlıkta 24 saat bekletilir. Asetillenen fenilpropanoit heteroziti buzlu suda çöktürülür, kloroform ile yıkanarak alınır. Alçak basınçta, kuruluğa kadar uçurulur. Asetillenmiş ürün, silika jel kolon kromatografisi yardımıyla, Benzen: Aseton (4:1) solvan sistemi (sistem-C) kullanılarak saflaştırılır.

Diazometan ile Kısmi Metilasyon

Fenilpropanoit heterozitlerinin yapısındaki aromatik hidroksil gruplarının sayısını tespit etmek ve alkali hidroliz sonucu oluşan deaçil kısmının taşıdığı ortohidroksi grupları sebebiyle oksidasyona uğramasını önlemek amacıyla diazometan ile kısmi metilasyon yöntemine başvurulmuştur.

Diazometan Hazırlanması: Çalışmamızda diazometan, nitrozometilüre'den hareketle hazırlanmıştır. (192).

Nitrozometilüre Hazırlanması: 2 litrelik çift boyunlu balonda, 59 g asetamidin, 28 ml (88 g) bromdaki çözeltilisine, 40 g sodyum hidroksitin 160 ml sudaki çözeltilisi damla damla eklenir. Bu arada reaksiyon kabı, bir magnetik karıştırıcı vasıtasıyla devamlı çalkalanır. Sarı renkli reaksiyon karışımı su banyosunda, soğutucu altında, gaz çıkışı görülene kadar ısıtılır, ısıtmaya 2-3 dakika daha devam edilir. Su banyosundan indirilen reaksiyon kabında kristalizasyon meydana gelmeye başlar, 1-2 saat buzdolabında bekletilir. Buchner hunisinden

süzülerek ayrılan kristaller, az miktarda buzlu su ile yıkanıp desikatörde kurutulur. Ürün, renksiz asetilmetilüre'dir.

Elde edilen asetilmetilüre'nin tamamı, 50 ml derişik hidroklorik asit ile karıştırılır ve su banyosunda ısıtılarak çözülür. Çözünme tamamlandıktan sonra, gaz çıkışı tamamlanıncaya kadar ısıtmaya devam edilir (3-5dk). Çözelti 50 ml su ile seyreltilir ve su banyosunda +10°C'nin altına soğutulur. 38 g sodyum nitrit'in 55 ml sudaki çözeltisi yavaş yavaş ve bir magnet yardımı ile devamlı karıştırarak çözeltiliye ilave edilir. Son ilaveden sonra karışım 5-10 dk. daha karıştırılır. Oluşan kristaller Buchner hunisinden süzülerek ayrılır, buzlu su ile yıkanır. Açık sarı renkli kristaller vakum desikatörde kurutulur.

Diazometan Hazırlanması: 35 ml potasyum hidroksitin sudaki % 40'lık çözeltisi ve 100 ml susuz eter, 500 ml'lik bir erlende, tuz-buz banyosunda 0° -(-5) °C'ye soğutulur. Bir magnet yardımıyla devamlı karıştırılarak, 0.1 mol (= 10.3 g) nitrozometilüre küçük porsiyonlar halinde eklenir. Bu karışım , buzlukta 30 dk. bekletilir. Üstteki eter fazı aktarılarak ayrılır ve suyun uzaklaştırılması için, potasyum hidroksit pastilleri ilave edilerek buzlukta bekletilir. Eterli faz, diazometanı çözünmüş olarak taşır. Sulu fazda da az miktarda diazometan kalır, bu yüzden sarı renk kayboluncaya kadar damla damla glasiyal asetik asit ilave edilerek diazometan fazlası parçalanır.

Diazometan ile Fenilpropanoit Heterozitlerinin Metillenmesi

Bu yöntem LS-F1 (=ehrenozit) ve LS-F2 (=lagotozit) fenilpropanoit heterozitlerinin kısmi metilasyonunda kullanılmıştır.

5 mg LS-F1 ve 5 mg LS-F2 tartılır, ayrı ayrı cam kaplara konularak, yeterli miktarda susuz metanolde çözülürler. Tuz-buz banyosunda 0°C'ye soğutulurlar ve üzerlerine diazometanın eterdeki çözeltisi azar, azar eklenir. Fenilpropanoit heterozitlerini taşıyan çözeltilere diazometan ilavesi ile meydana gelen sarı renk kaybolmayıncaya ve gaz çıkışı görülmeyinceye kadar diazometan ilavesine devam edilir. Oda ısısında 1/2 saat bekletilir. Metilasyonun tamamlanıp tamamlanmadığı, ara, ara alınan numunelerin ince tabaka kromatografisinde, Kloroform: Metanol: Su (61: 32: 7) (sistem B) solvan sistemi ile kontrol edilmesiyle anlaşılır. Gerekliyorsa metilasyon tekrarlanır. Çözeltiler, birer balona alınarak, alçak basınçta, kuruluğa kadar uçurulurlar. Böylece, M-LS-F1 (Metillenmiş-LS-F1=LS-F1 tetrametil eter) ve M-LS-F2 (Metillenmiş-LS-F2=LS-F2 dimetil eter) elde edilir. Bu ürünler İTK'da aynı solvan sistemi ile (sistem-B) karşılaştırılırlar.

Diazolanmış Fenilpropanoit Heterozitlerinin Alkali Hidrolizleri:

Bu amaçla, 5 mg LS-F1 ve 5 mg LS-F2'nin diazolanması ile meydana gelen ürünler, (M-LS-F1ve M-LS-F2) ayrı, ayrı balonlara konurlar. 3-5 ml % 5'lik metanollü potasyum hidroksit çözeltisi ile 1/2 saat 80° de, rotavaporda döndürülerek ısıtılırlar. Daha sonra % 5'lik metanollü hidroklorik asit ile nötrleştirilirler, kuruluğa kadar uçurulurlar. Her bir artık soğuk metanolde çözülür, süzülerek KCl'den kurtarılır. Süzüntüler yoğunlaştırılır. Bu şekilde, diazolanmış fenilpropanoit heterozitlerinin ester bağı açılır ve oluşan deaçil türevleri (DED=Deaçil LS-F1 dimetil eter veDLM= Deaçil-LS-F2 monometil eter), ince tabaka kromatografisinde sistem-A (Kloroform: Metanol: Su)(80: 20: 2) ve sistem-B (Kloroform: Metanol: Su) (61: 32: 7) kullanılarak karşılaştırmalı olarak kontrol edilir.

Deaçil Fenilpropanoit Türevlerinin Saflaştırılması:

Diazolanmış fenilpropanoit heterozitlerinin alkali hidrolizleri ile elde edilen deaçil fenilpropanoit türevlerinin (DED ve DLM) yan ürünlerinden temizlenmesi için kolon kromatografisinden yararlanılmıştır. Bu amaçla her bir hidrolizat, 30 g silika jel ile hazırlanmış birer kolona uygulanmış ve Kloroform: Metanol: Su (80: 20: 2 →70: 30: 3) solvan sistemleri ile elüe edilmişlerdir. Fraksiyonlar, İTK'da Kloroform: Metanol: Su (80:20: 2) (sistem-A) ve (61: 32: 7)(sistem-B) solvan sistemleri ile kontrol edilmiştir. Saf deaçil türevlerini taşıyan fraksiyonlar birleştirilmiş, rotavaporda alçak basınç altında, kuruluğa kadar uçurulduktan sonra, liyofilize edilmişlerdir.

TÜKETME

Toz edilmiş bitki materyali (480g) metanol ile iki kez (2 x 2.5 litre) 40-50 °C'lik rotavaporda, çevrilerek tüketilmiştir. Metanollü extre önce tülbentten sonra da süzgeç kağıdından süzölmüş, süzöntöler birleştirilerek, 40 ° C'de, alçak basınçta kuruluğa kadar uçurulmuştur.

İZOLASYON

Lagotis stolonifera'dan elde edilen metanollü ekstrenin tamamı, yeterli miktarda suda çözülmüştür. Bir ayırma hunisine alınan sulu kısım, petrol eteri ile 5 kez çalkalanarak ön temizleme gerçekleştirilmiştir. Petrol eterli ve sulu fazlar ayrılmış, her iki faz da, 40°C' de vakum altında kuruluğa kadar uçurulmuşlardır. (Sulu extre: 66 g, Verim: %13)

Sulu ekstrede bulunan fenolik ve fenolik olmayan bileşiklerin birbirinden ayrılması amacıyla poliamit ile hazırlanmış kolon kromatografisinden yararlanılmıştır. Kuruluğa kadar uçurulmuş sulu ekstre yeterli miktar su ilavesiyle çözülmüş ve su ile hazırlanmış poliamit kolona (110 gram) (4x40cm) tatbik edilmiştir. Elüsyona su ile başlanmış ve kromatografik kontrollerde (İTK) pratik olarak herhangi bir bileşik gelmeyinceye kadar su ile devam edilmiştir. Daha sonra kademeli olarak metanol eklenerek, su: metanol karışımlarıyla (75: 25, 50: 50 ve 25: 75) ve en son olarak da metanol ile elüsyon sağlanmışdır. İnce tabaka kromatografisi ile yapılan kontroller sonucu fraksiyonlar 5 ana grupta toplanmıştır (Fraksiyon A-E).

Fraksiyon A	(Su)	: 43.9 gram
Fraksiyon B	(%25 Metanol)	: 1.92 gram
Fraksiyon C	(% 50 Metanol)	: 0.99 gram
Fraksiyon D	(% 75 Metanol)	: 0.25 gram
Fraksiyon E	(Metanol)	: 0.63 gram

Fraksiyon A'nın fenolik olmayan bileşikler (iridoitler ve kukurbitasin heterozitleri), fraksiyon B, C ve D'nin ise fenilpropanoit heterozitlerince zengin olduğu anlaşılmıştır.

FENOLİK OLMAYAN BİLEŞİKLERİN (= İRİDOİTLER ve KUKURBİTASİN HETEROZİTİ) İZOLASYONU

Poliamid kolondan su elüsyonu ile elde edilen fraksiyon A'nın İTK kontrolünde (sistem-A ve- B) iridoitler ve kukurbitasin heteroziti taşıdığı görülmüştür. İridoit heterozitleri LS-İ1, LS-İ2, LS-İ3 ve LS-İ4, kukurbitasin heteroziti ise LS-K1 şeklinde kodlanmıştır.

Bu bileşiklerin izolasyonu için, önce bir ön ayırım yapılması gerekmiştir. Bu amaçla fraksiyon A'nın 25 gramı, yeterli miktarda metanolde çözülmüş ve 25 g silika jel ile karıştırılarak rotavaporda, alçak basınç altında kuruluğa kadar uçurulmuştur. Kurutulmuş fraksiyon, 250 gram silika jel ile hazırlanmış kolona Kloroform: Metanol: Su (80: 20: 2→65: 35:5→60:40: 5 →55: 45: 5) solvan sistemleri ile fraksiyonlanmıştır. Toplanan fraksiyonlar İTK ile sistem- A ve sistem- B kullanılarak kontrol edilmiş, aynı bileşikleri taşıyan fraksiyonlar birleştirilmiştir. Böylece ön ayırım işlemi sonunda 5 ana fraksiyon (fraksiyon A₁-A₅) elde edilmiştir.

Bu fraksiyonlardan A₁'in LS-K1, fraksiyon A₂'nin LS-İ1 ve LS-İ2, fraksiyon A₄'ün ise LS-İ3 ve LS-İ4 açısından zengin oldukları görülmüştür.

KUKURBİTASİN HETEROZİTİNİN (LS-K1) İZOLASYONU

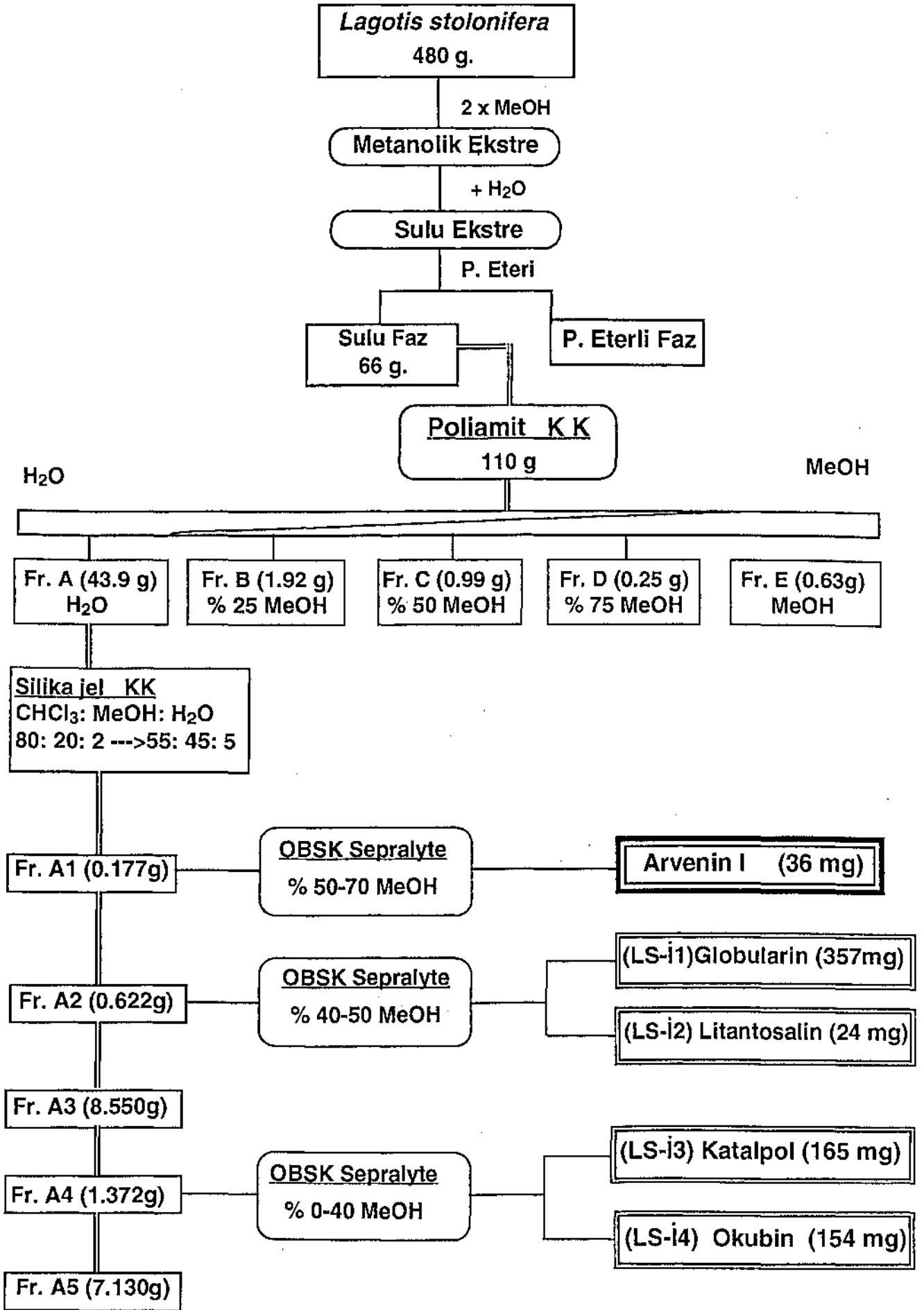
Silika jel kolondan alınan ve LS-K1 kodlu bileşiği taşıyan fraksiyon A₁'den bu bileşiğin ayrılması için orta basınçlı sıvı kromatografisi'nden (OBSK) yararlanılmıştır. Bu amaçla fraksiyon A₁'in tamamı(177mg), daha önce açıklanan sistem kullanılarak, Sepralyte 40µ (C-18) materyal ile doldurulmuş 1 numaralı kolona uygulanmıştır. %50-70 metanol: su solvan sistemi ile, LS-K1 maddesi saf olarak elde edilmiştir (36 mg) (Şema- 2).

İRİDOİT HETEROZİTLERİNİN (LS-İ1, LS-İ2, LS-İ3, LS-İ4) İZOLASYONU

İridoit bileşiklerinin izolasyonu yine karışık faz-orta basınçlı sıvı kromatografisi kullanılarak başarılmıştır (Şema-2).

LS-İ1 ve LS-İ2 bileşiklerini taşıyan Fraksiyon A₂'nin tamamı (622mg), % 40 metanol: su karışımı kullanılarak II numaralı kolona tatbik edilmiş, % 40-50 metanol: su sistemi ile her iki bileşik de saf olarak kazanılmıştır (LS-İ1: 357 mg, LS-İ2: 24 mg).

LS-İ3 ve LS-İ4 bileşiklerinin izolasyonu için ise, fraksiyon A₄ (1.372g), yine aynı kolona uygulanmıştır. LS-İ3 ve LS-İ4 polar yapıda bileşikler olduklarından, elüsyona su ile başlanmış, daha sonra metanol oranı kademeli olarak artırılarak (% 0-40 metanol: su) bileşikler saf olarak izole edilmişlerdir (LS-İ3: 165 mg, LS-İ4: 154 mg).



Şema-2. İridoit ve Kukurbitasin Heterozitlerinin İzolasyonu

FENİLPROPANOİT HETEROZİTLERİNİN İZOLASYONU

Poliamit kolondan % 25, % 50 ve % 75 metanol: su karışımı ile alınan fraksiyon B, C, D'nin İTK analizlerinde ($UV_{254/366}$ ve Vanilin/ H_2SO_4) fenilpropanoit heterozitleri taşıdıkları anlaşılmış ve bu bileşikler LS-F1, 2, 3, 4 şeklinde kodlanmıştır.

Fraksiyon B (1.92 g) LS-F1, fraksiyon C (0.99 g) LS-F1 ve LS-F2, fraksiyon D ise LS-F3 ve LS-F4 bileşikleri açısından zengindir.

LS-F1 ve LS-F2 Bileşiklerinin izolasyonu

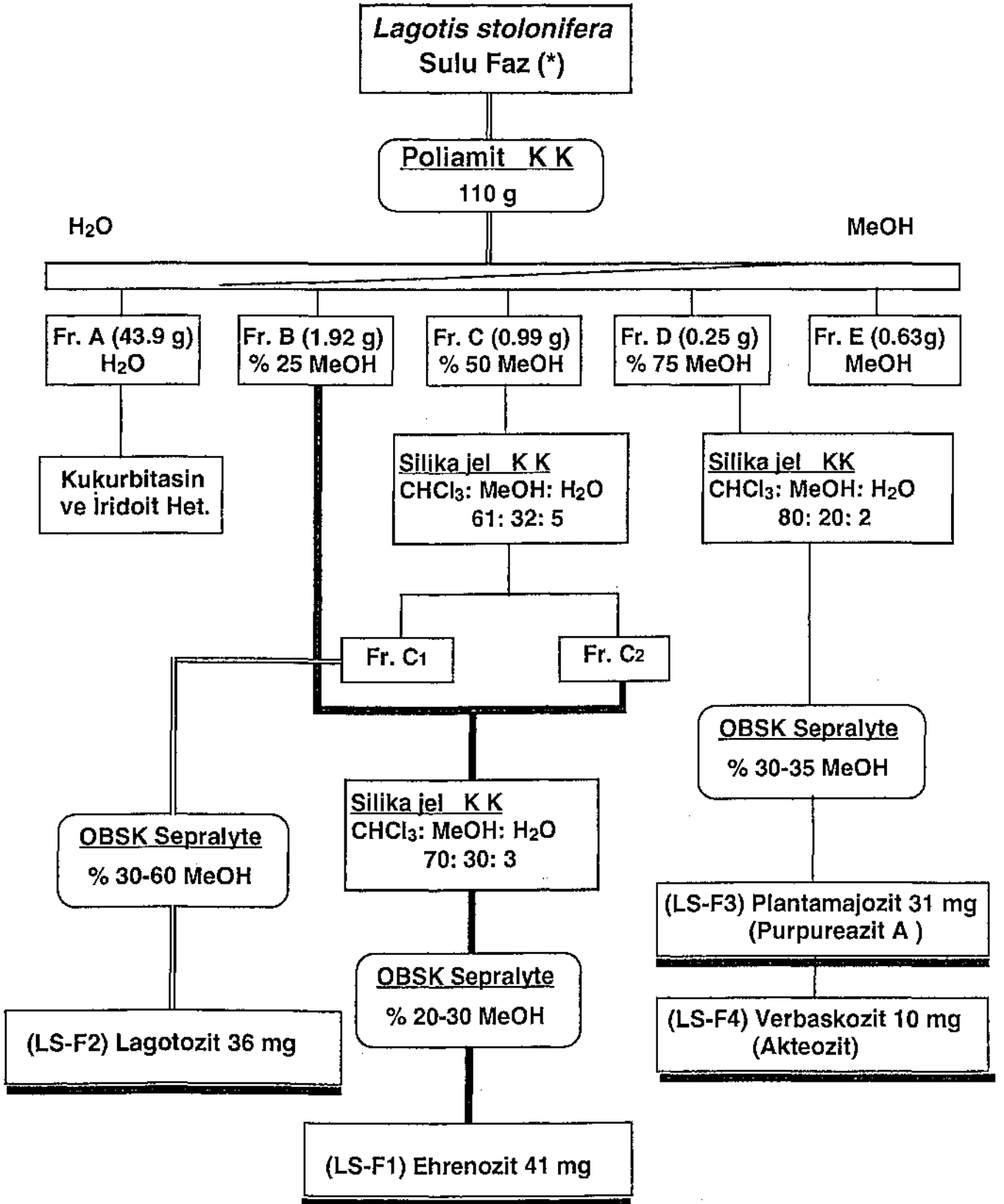
LS-F1 bileşiğinin izolasyonu için önce fraksiyon C ile çalışılmış ve bu fraksiyon silika jel kolona tatbik edilerek, Kloroform: Metanol: Su (61: 32: 5) solvan sistemi yardımıyla fraksiyonlanmıştır. Böylece 2 ana fraksiyon (C_1 ve C_2) elde edilmiştir. İnce tabaka kromatografisi ile yapılan kontrollerde, fraksiyon C_1 ' in (274 mg) LS-F2, fraksiyon C_2 'nin (320mg) ise LS-F1 bakımından zengin olduğu anlaşılmıştır. Bu nedenle fraksiyon C_2 , LS-F1'i, majör fenilpropanoit heteroziti olarak taşıyan fraksiyon B ile birleştirilmiştir.

Fraksiyon B+ C_2 'den oluşan bu karışımdan LS-F1 bileşiğinin ayrımı için önce bir ön temizleme işlemi yapılması gerekmiştir. Bu amaçla karışım, 50 gram silika jel ile hazırlanmış bir kolona uygulanmış ve Kloroform: Metanol: Su (70: 30: 3) sistemi ile elüe edilmiştir. LS-F1 taşıyan fraksiyonlar birleştirilmiş, uçurulmuş ve böylece bu bileşiği yüksek bir oranda taşıyan fraksiyon elde edilmiştir. Karşıt faz- orta basınçlı sıvı kromatografisine (I numaralı kolona) tatbik edilen bu fraksiyondan, % 20-30 metanol: su karışımları kullanılarak, LS-F1 saf halde elde edilmiştir (41 mg).

Fraksiyon C_1 'den LS-F2 bileşiğinin izolasyonu ise yine aynı sistemde, %30-60 metanol: su solvan sistemi kullanılarak başarılmıştır (36 mg).

LS-F3 ve LS-F4 Bileşiklerinin izolasyonu

Bu bileşiklerin elde edilebilmesi için fraksiyon D'nin üzerinde bir ön ayırım çalışması yapılması gerekmiştir. Bu amaçla fraksiyon D'nin tamamı (250 mg), önce 60 gram silika jel ile hazırlanmış bir kolonda, Kloroform: Metanol: Su (80: 20: 2) solvan sistemi ile fraksiyonlanmıştır. Bu çalışma ile birbirlerinden ayrılmayan LS-F3 ve LS-F4 bileşiklerini beraber taşıyan fraksiyonlar birleştirilmiş, uçurulmuş ve basınçlı sıvı kromatografisine (OBSK) uygulanmıştır. Yine Sepralyte 40 m μ (C-18) materyal dolgulu I numaralı kolondan % 30-35 metanol içeren sulu karışım ile her iki bileşik de saf olarak izole edilmişlerdir (LS-F3: 31 mg, LS-F4: 10 mg) (Şema-3).



Şema-3. Fenilpropanoit Heterozitlerinin İzolasyonu

(*) Bkz. Şema-2

Kullanılan Kısaltmalar

AcOH	:	Asetik asit
Ac ₂ O	:	Asetik anhidrit
n-BuOH	:	n-Butanol
CDCl ₃	:	Dötero kloroform
CD ₃ OD	:	Dötero metanol
CCD	:	Counter-Current Distribution
CHCl ₃	:	Kloroform
CH ₃ CN	:	Asetonitril
(CH ₃) ₂ CO	:	Aseton
CH ₃ OH	:	Metanol
C ₆ H ₁₄	:	Heksan
¹³ C-NMR	:	¹³ C-Nükleer Magnetik Rezonans
d	:	Dublet
dd	:	Dublet dublet
DBSK	:	Düşük Basıncılı Sıvı Kromatografisi
DCCC	:	Droplet Counter-Current Chromatography
DLM	:	Deaçil Lagotozit -3-O-Metil eter
EtOAc	:	Etil asetat
EtOH	:	Etanol
FAB-KS	:	Fast Atomic Bombardment-Kütle Spekt.
g. s	:	Geniş singlet
¹ H-NMR	:	¹ H-Nükleer Magnetik Rezonans
H ₂ O	:	Su
H ₂ SO ₄	:	Sülfürik asit
IR Spekt.	:	Infrared Spektroskopisi
İzo-PrOH	:	İzo-propanol
İ.T.K	:	İnce Tabaka Kromatografisi
J	:	Kenetlenme Sabiti
KBr	:	Potasyum bromür
KF-OBSK	:	Karşıt Faz-Orta Basıncılı Sıvı Kromatografisi
KK	:	Kolon Kromatografisi
Lit.	:	Literatür
LS-F1→LS-F4	:	<i>Lagotis stolonifera</i> fenilpropanoit heterozitleri
LS-I1→LS-I4	:	<i>Lagotis stolonifera</i> Iridoid heterozitleri
LS-K1	:	<i>Lagotis stolonifera</i> kukurbitasin heteroziti
m	:	Multiplet
OBSK	:	Orta Basıncılı Sıvı Kromatografisi
n-PrOH	:	n-Propanol
q	:	Kuartet
RP	:	Reversed Phase
RLCC	:	Rotation Locular Counter-Current Chromatography
s	:	Singlet
t	:	Triplet
VSK	:	Vakum Sıvı Kromatografisi
y	:	Yayvan
YBSK	:	Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi

BULGULAR

BULGULAR

İnce Tabaka Kromatografisi (İ.T.K.)

Çalışmamızın sonucunda *Lagotis stolonifera* bitkisinin toprak üstü kısımlarından izole edilen kukurbitasin, iridoit ve fenilpropanoit heterozitlerinin İTK analizlerinde belirlenen R_f değerleri Tablo-13'de gösterilmiştir.

Madde		Solvan Sistemleri	
		A	B
Arvenin I	(LS-K1)	0.55	0.73
Globularin	(LS-l1)	0.44	0.66
Litantosalin	(LS-l2)	0.44	0.67
Katalpol	(LS-l3)	0.08	0.32
Okubin	(LS-l4)	0.11	0.34
Ehrenozit	(LS-F1)	-	0.25
Lagotozit	(LS-F2)	0.11	0.44
Plantamajozit (=Purpureazit A)	(LS-F3)	-	0.32
Verbaskozit (= Akteozit)	(LS-F4)	0.07	0.39

Tablo-13. *Lagotis stolonifera*'dan elde edilen bileşiklerin R_f değerleri

Adsorban: Silika jel F₂₅₄ (0.25 mm, Merck)

Solvan Sistemi: A: Kloroform: Metanol: Su (80: 20: 2)

B: Kloroform: Metanol: Su (61: 32: 7)

Diazometan ile LS-F1 ve LS-F2 Bileşiklerinin Kısmi Metilasyonu

Spektral bulgular açısından LS-F1'e çok benzeyen ancak ondan çok farklı R_f değerine sahip olan LS-F2'nin (Bkz. Tablo-13) bu bileşikten yapısındaki aromatik hidroksil grupları üzerinde metil substitüsyonu taşıması nedeniyle farklı olduğu düşünülmüş ve bu nedenle her iki bileşik de ayrı, ayrı diazometan ile muamele edilmiştir. Böylece, her iki fenilpropanoit heterozitinin yapısındaki fenolik hidroksil grupları metoksil grubuna dönüştürülmüş ve kısmi metillenmiş ürünler yani, M-LS-F1 (Metillenmiş-LS-F1 =LS-F1 tetrametil eter) ve M-LS-F2 (Metillenmiş-LS-F2=LS-F2 di-metil eter) elde edilmiştir. Sistem-B (Kloroform: Metanol: Su) (61: 32: 7) ile yapılan İTK kontrollerinde bu iki bileşiğin de aynı R_f değerine (0.72) sahip oldukları görülmüştür.

Kısmi Metillenmiş Fenilpropanoit Heterozitlerinin Alkali Hidrolizi

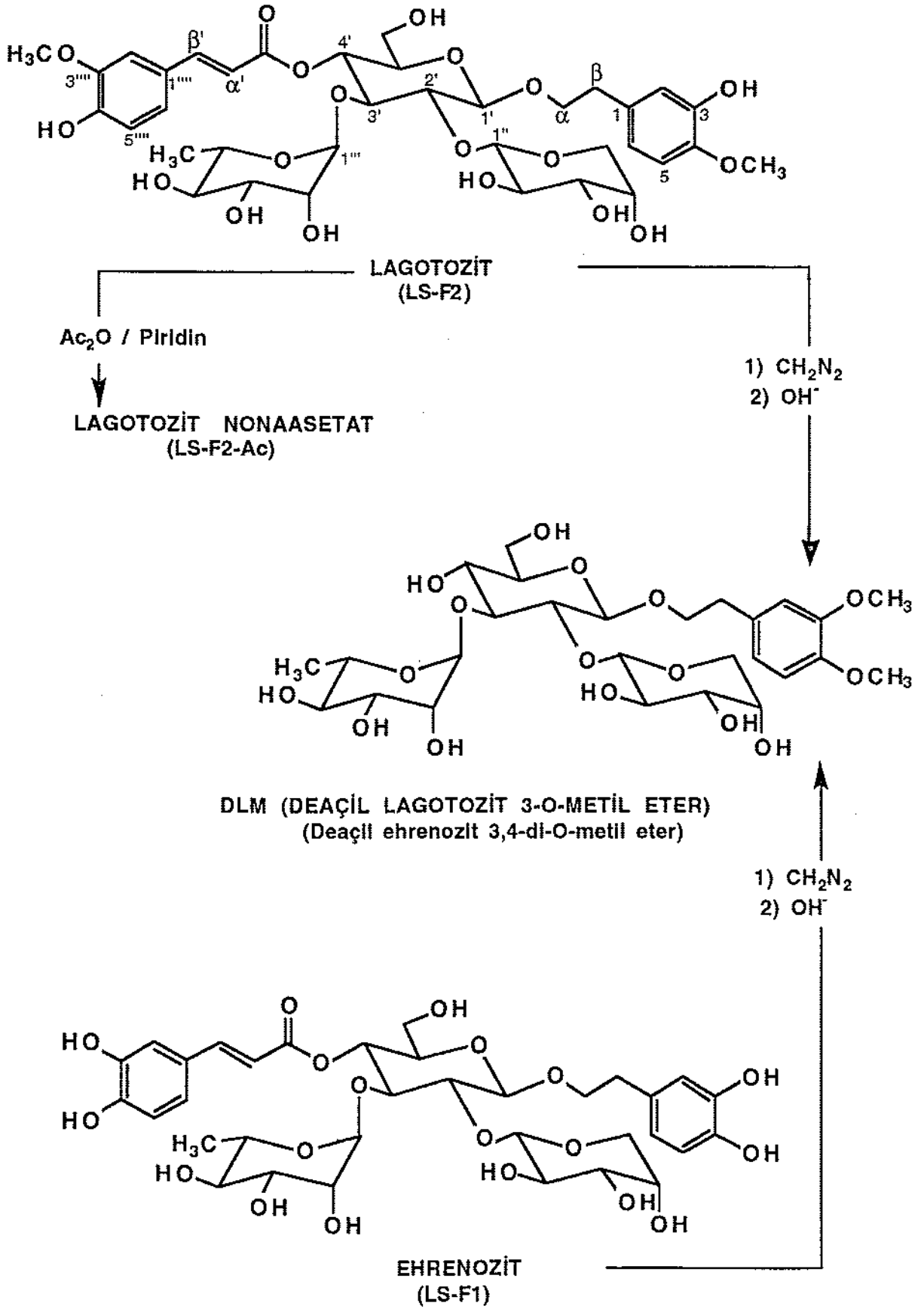
LS-F1 ve LS-F2, diazometan ile aynı ürünleri vermelerine rağmen, yapı hakkında daha ayrıntılı bilgi edinebilmek amacıyla bu bileşiklerin diazolama ürünleri (M-LS-F1 ve M-LS-F2) ayrı, ayrı alkali hidrolize tabi tutulmuşlardır. Alkali hidrolizle elde edilen deaçil türevlerin (DED= Deaçil LS-F1 dimetil eter ve DLM= Deaçil LS-F2 monometil eter) diğer hidroliz ürünlerinden temizlenmesi amacıyla silika jel kolon kromatografisinden yararlanılmıştır. Hidrolizatlar, ayrı, ayrı silika jel kolonlara tatbik edilmiş ve Kloroform: Metanol: Su (80: 20: 2→ 70: 30: 3) sistemi ile elüe edilerek deaçil türevler (DED ve DLM) saf olarak kazanılmıştır. Silika jel kaplı plaklarda yapılan İTK kontrollerinde (sistem-A ve sistem-B kullanılarak) aynı kromatografik özelliklere sahip oldukları gözlenen bu bileşiklerin R_f değerleri aşağıdadır:

Bileşik	Sistem -A	Sistem -B
DED	0.25	0.42
DLM	0.25	0.42

R_f değerleri aynı olan deaçil türevlerin kimyasal yapıları spektral yöntemlerle aydınlatılmış ve her iki bileşiğin de aynı yapıda (DLM= Deaçil ehrenozit 3,4-di-O-metil eter= Deaçil lagotozit 3-O-metil eter) oldukları belirlenmiştir (Şema-4).

LS-F1 ve LS-F2 bileşiklerinin diazolama ve diazolamayı takiben alkali hidroliz ile aynı ürünleri vermeleri, açılasyonun konumu ve oz zincirinin her iki bileşikte de aynı olduğuna ancak aromatik hidroksil gruplarının sayısının farklı olduğuna işaret eder.

LS-F2 ve LS-F3 bileşiklerinin asetilasyonu ve iridoit bileşiklerinin (LS-11 ve LS-12) alkali hidrolizine ait bulgulardan spektral bulgular kısmında bahsedileceği için burada üzerinde durulmayacaktır.



Şema-4. Ehrenozit (LS-F1) ve Lagotozit (LS-F2)'in kısmi metilleme ve alkali hidrolizi.

Spektroskopik Bulgular

İzole edilen dokuz bileşiğin yapı analizleri, daha çok spektroskopik (UV,IR, ^1H -NMR, ^{13}C -NMR, FAB-Kütle Spektroskopisi) bulgulara dayanarak yapılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre bu bileşiklerin üç farklı kimyasal gruba ait olduğu saptanmıştır:

- A- LS-İ1 → LS-İ4 : İridoit heterozitleri
- B- LS-F1 → LS-F4 : Fenilpropanoit heterozitleri
- C- LS-K1 : Kukurbitasin heteroziti

A- Bu grupta elde edilen bileşiklerin ilk ikisi (LS-İ3 ve LS-İ4) glukoz monoheteroziti, diğer ikisi ise (LS-İ1 ve LS-İ2), bu heterozitlerin ester türevleridir.

B- Bu gruptaki bileşiklerin kromatografik ve UV,IR spektral özellikleri fenilpropanoit heterozitleri için karakteristiktir. Kromatografik davranışları yanında, NMR bulguları da bu bileşiklerden ikisinin (LS-F1 ve LS-F2) triozidik, diğer ikisinin ise (LS-F3 ve LS-F4) biozidik yapıda olduğunu kanıtlamıştır.

C- Spektroskopik bulgulara göre polifonksiyonel bir bileşik olarak elde edilen LS-K1, tetrasiklik triterpen bileşikler grubundan bir kukurbitasin monoheterozitidir.

A ve B grubunda yer alan iridoit ve fenilpropanoit heterozitlerinin ortak özelliklere sahip olmaları nedeniyle, yapı analizleri önce genel olarak tartışılmış, daha sonra her bileşiğin karakteristik özellikleri ayrı, ayrı verilmiştir.

A- İRİDOİT HETEROZİTLERİ (LS-İ1→LS-İ4)

UV ve IR absorpsiyon bantları dikkate alındığında, LS-İ3 ve LS-İ4'ün konjüge olmayan enol-eter fonksiyonu taşıyan iridoitler için karakteristik özelliklere sahip olduğu anlaşılmaktadır. LS-İ1 ve LS-İ2'ye ait UV ve IR bulgularından, bu bileşiklerin konjüge olmayan enol-eter grubu taşıyan ester yapısında iridoitler oldukları görülmektedir. IR spektrumlarında ester bantlarına ilave olarak gözlenen aromatik halka absorpsiyon bantları, bu bileşiklerin ester gruplarının aromatik yapıda bir asitten ileri geldiğini göstermektedir. UV absorpsiyonları (sırasıyla 278 ve 277 nm) bu görüşü doğrulamakta, İTK analizlerinde elde edilen R_f değerleri de bu bileşiklerin esterleşmeye bağlı olarak daha apolar yapıda olduklarını kanıtlamaktadır.

Yapı tayinlerinin yorumlarında tekrarlardan kaçınmak için, önce basit iridoit heterozitleri (LS-İ3 ve LS-İ4) ele alınmış, daha sonra bunların türevleri olmaları sebebiyle ester iridoitler (LS-İ1 ve LS-İ2) incelenmiştir. Ancak karşılaştırmada kolaylık sağlamak amacıyla okubin-litantosalin ve katalpol - globularin çiftlerinin $^1\text{H-NMR}$ değerleri ve spektrumları (Tablo-14, 15, Spektrum- 1A, B ve Spektrum- 2A, B) ile globularin ve litantosalin'e ait $^{13}\text{C-NMR}$ değerleri (Tablo-17) bir arada verilmiştir:

A1-BASİT İRİDOİT HETEROZİTLERİ (LS-İ3 VE LS-İ4)**Katalpol (LS-İ3) (C₁₅ H₂₂ O₁₀, M.A. 362, 341)**UV λ^{MeOH} (nm) : 210.5
maks.IR (%1 KBr) (cm⁻¹) : 3400 (OH), 1645 (C=C)¹H-NMR (CD₃ OD, 300 MHz) : Tablo-15, Spektrum-1A**Okubin (LS-İ4) (C₁₅ H₂₂ O₉, M.A. 346, 341)**UV λ^{MeOH} (nm) : 207.5
maks.IR (%1 KBr) (cm⁻¹) : 3370 (OH), 1645 (C=C)¹H-NMR (CD₃ OD, 300 MHz): Tablo-14, Spektrum-1B

Okubin (LS-İ4) ve Katalpol (LS-İ3)

UV ve IR spektral bulgularına ilave olarak, $^1\text{H-NMR}$ bulguları incelendiğinde (Tablo-14,15, Spektrum-1A, 2A), bu bileşiklerin C-4' de bir substitüsyon taşımadıkları görülmektedir. Bu durum, $^1\text{H-NMR}$ spektrumlarında C-3(H) ve C-4(H) protonlarına ait sinyallerin dd şeklinde gözlenmesi ile doğrulanmaktadır. Bu protonlara ait iki dublet çifti aynı zamanda, her iki bileşiğin de C-5'de sübstitüe olmadıklarına işaret etmektedir. Bu iki bileşiğin birer glukoz monoheteroziti oldukları, $^1\text{H-NMR}$ spektrumlarındaki anomerik protonlara ait sinyallerden (LS-İ4, δ 4.66 ppm ve LS-İ3, 4.77 ppm) anlaşılmaktadır. Kenetlenme sabiti değeri ($J=7.8\text{Hz}$, her ikisi için) bağ konfigürasyonlarının β -şeklinde olduğunu göstermektedir.

$^1\text{H-NMR}$ bulguları karşılaştırıldığında (Tablo-14, 15 ve Spektrum-1A, 2A) her iki iridoit bileşiğinin siklopentan-piran sisteminden oluşan aglikonlarının piran kısmına ait sinyallerinin benzer olduğu, yapısal farklılığın siklopentan sinyallerinden ileri geldiği görülmektedir. LS-İ4'ün $^1\text{H-NMR}$ spektrumunda (Spektrum-1A) düşük alanda gözlenen C-3 (H) sinyaline ek olarak 5.76 ppm'de gözlenen dd (t) şeklindeki sinyal ($J=1.5\text{ Hz}$) siklopentan halkasında ikinci bir çifte bağ olduğunu göstermektedir. 4,43 ppm'de multipler şeklinde gözlenen 1 proton şiddetindeki sinyal, siklopentan halkasında oksijenli bir fonksiyonun varlığına işaret eder. Ayrıca, bir AB sistemi şeklinde gözlenen sinyallerin (δ 4.16 ve δ 4.34, $J_{AB} = 16\text{ Hz}$) kimyasal kayma değerleri göz önüne alındığında bir primer alkol grubunun mevcudiyeti anlaşılmaktadır. C-9 (H) sinyalinin (δ 2.89) bir dd (t) şeklinde gözlenmesi C-8'in proton taşımadığını, dolayısıyla çifte bağın C-7 ile C-8 arasında bulunduğunu ve primer alkol grubunun C-8'e bağlı olduğunu kanıtlamaktadır. Bu durumda C-6'da bir hidroksil grubu olmalıdır.

$^1\text{H-NMR}$ bulguları literatürde kayıtlı değerlerle karşılaştırıldığında (3, 65) LS-İ4'ün okubin yapısında olduğu anlaşılmıştır.

LS-İ3'ün $^1\text{H-NMR}$ spektrumunda (Tablo-15 , Spektrum-2A) siklopentan kısmına ait iki sinyalin kimyasal kayma değerleri (δ 3.89 ve δ 3.45), C-6 ve C-7'nin oksijenli bir fonksiyon taşıdığını göstermektedir. Bu kısma ait diğer sinyaller, bir AB sistemi şeklinde olup (δ 4.14 ve δ 3.79, her biri d, $J_{AB}= 13.1\text{ Hz}$), C-8'e bağlı bir primer alkol grubunun varlığını göstermektedir. Siklopentan halkasına ait ilave bir sinyal gözlenmemiş olması (özellikle C-8'e ait bir protonun olmaması), C-7 ve C-8 arasında bir epoksit grubuna işaret etmektedir.

Elde edilen bulgular, literatürde (2, 65) katalpol için verilen değerlerle uyum göstermektedir. Dolayısıyla LS-İ3'ün katalpol olduğu anlaşılmıştır.

H-Atom	Okubin (LS-İ4)		Litantosalin (LS-İ2)	
	δ (ppm)	J(Hz)	δ (ppm)	J(Hz)
Aglikon				
1	4.95 d	(7.1)	4.97 d	(7.5)
3	6.30 dd	(6.1/2)	6.34 dd	(6.1/1.8)
4	5.09 dd	(6.1/3.9)	5.12 dd	(6.1/3.9)
5	2.65 m		2.70 m	
6	4.43 m		4.46 m	
7	5.76 dd(t)	(1.5)	5.83 s (g)	
9	2.89 dd(t)	(7.4)	2.97 dd (t)	(7.5)
10	4.16 d			
	4.34 d (AB sis.)	(16)	4.96(AB sis.)	(16)
Glukoz				
1'	4.66 d	(7.8)	4.70 d	(7.8)
2'	3.21dd	(7.8/9)	3.24 dd	(7.8/9)
3'	3.38 t	(9)	3.38-3.3 ^C	
4'	3.30 t	(9)	3.38-3.3	
5'	3.41-3.26 ^C		3.38-3.3	
6'a	3.64 dd	(12/5.4)	3.66 d (g)	(12/5.1)
6'b	3.85 dd	(12/1.8)	3.87 dd	(12)
Sinamik Asit				
2" - 5"	-		7.63-7.4 (5H)	
α	-		6.59 d	(16)
β	-		7.74 d	(16)

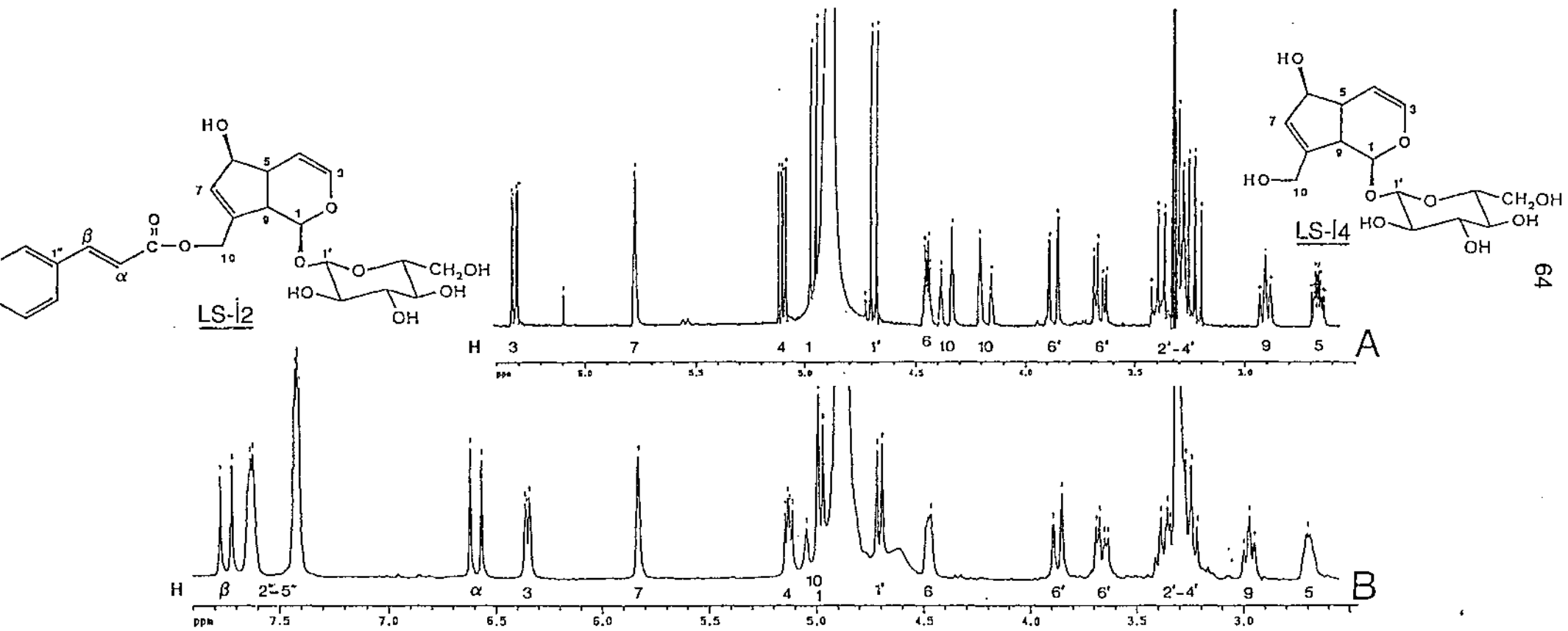
c) Sinyaller üst üste gelmiştir.

Tablo- 14. Okubin (LS-İ4) ve Litantosalin (LS-İ2)'in ¹H-NMR (CD₃OD, 300 MHz) Spektral Değerleri

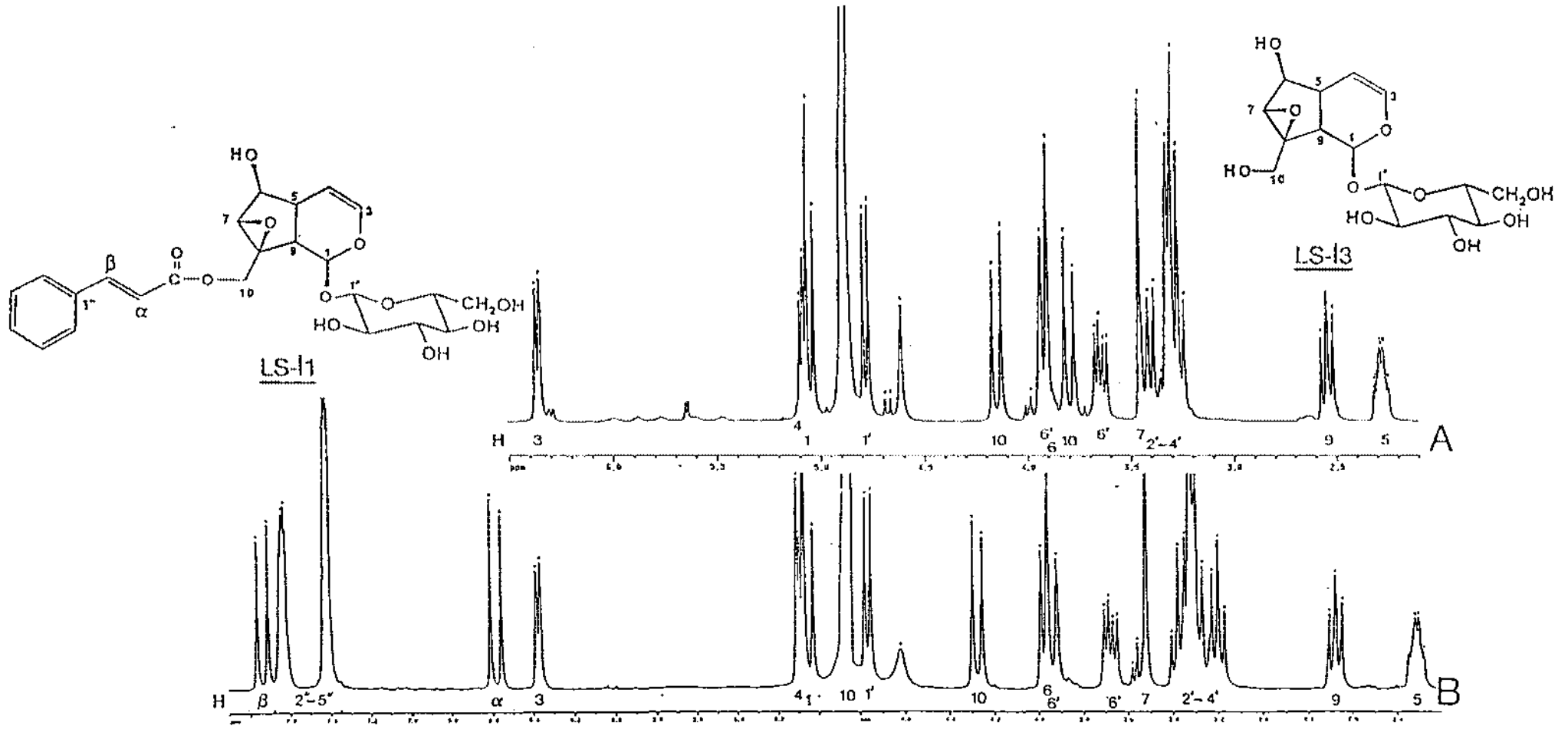
H-Atom	Katalpol(LS-İ3)		Globularin(LS-İ1)	
	δ (ppm)	J(Hz)	δ (ppm)	J(Hz)
Aglikon				
1	5.04 d	(9.5)	5.06 d	(9.5)
3	6.35 dd	(6.1/6)	6.37 dd	(6 /1.8)
4	5.06 dd	(6/4.8)	5.06 dd	(6/4.8)
5	2.28 m		2.31 m	
6	3.89 g.s		3.99 g.s.	
7	3.45 g.s		3.52 g.s.	
9	2.54 dd	(9.5/7.9)	2.68 dd	(9.5/7.9)
10	4.14 d 3.79 d (AB sis.)	(13.1)	5.09 d 4.27 d (AB sis.)	(12.7)
Glukoz				
1'	4.77 d	(7.8)	4.76 d	(7.8)
2'	3.41-3.23 ^C		3.20 dd	(7.8/9)
3'	3.41-3.23 ^C		3.38 t	(8.8)
4'	3.41-3.23 ^C		3.30 t	(8.5)
5'	3.41-3.23 ^C		3.33-3.30 ^C	
6'a	3.63 dd	(11.9/6)	3.67 dd	(11.8/6)
6'b	3.91 g.d	(11.9)	3.94 g.d.	(11.8)
Sinamik Asit				
2'' - 5''	-		7.64-7.41 (5H)	
α	-		6.58 d	(16)
β	-		7.73 d	(16)

c) Sinyaller üst üste gelmiştir.

Tablo-15. Katalpol (LS-İ3) ve Globularin (LS-İ1)'in ¹H-NMR (CD₃OD, 300 MHz) Spektral Değerleri



Spektrum-1. Okubin (LS-I4) (A) ve Litantosalin (LS-I2) 'in (B) ¹H-NMR (CD₃OD, 300 MHz) Spektrumu



Spektrum-2. Katalpol (LS-13) (A) ve Globularin (LS-11)'in (B) ¹H-NMR (CD₃OD, 300 MHz) Spektrumu.

A2-ESTER İRIDOİTLER (LS-İ1 ve LS-İ2)

Globularin(LS-İ1) (C₂₄ H₁₈ O₁₁, M.A. 482,408)

UV λ^{MeOH} (nm) : 205, 213, 217, 223, 278
maks.

IR (%1 KBr) (cm⁻¹) : 3380 (OH), 1685 (konj. C=O), 1630 (konj. C=C)
1570, 1485, 1440 (Arom. halka)

¹H-NMR (CD₃ OD, 300 MHz): Tablo-15, Spektrum-2A

¹³C-NMR (CD₃ OD, 75 MHz) : Tablo-17, Spektrum-3

Litantosalin (LS-İ2) (C₂₄ H₁₈ O₁₀, M.A. 466,408)

UV λ^{MeOH} (nm) : 205, 213.5, 216.5, 233, 277.5
maks.

IR (% 1KBr) (cm⁻¹) : 3370 (OH), 1690 (konj. C=O), 1645 (C=C, iridoit),
1630 (C=C, sinnedik a.), 1445 (Arom. halka)

¹H-NMR (CD₃ OD, 300 MHz) : Tablo-14, Spektrum-2B

¹³C-NMR (CD₃ OD, 75 MHz) : Tablo-17, Spektrum-4

Globularin (LS-İ1) ve Litantosalin (LS-İ2)

UV ve IR spektral değerleri bu iki bileşiğin ester yapısında iridoitler olduğunu göstermektedir. Bu durum, bileşiklerin $^1\text{H-NMR}$ (Spektrum- 2A,2B) ve $^{13}\text{C-NMR}$ spektrumları (Spektrum-3 ve Spektrum-4) ile doğrulanmaktadır. $^1\text{H-NMR}$ ve $^{13}\text{C-NMR}$ bulguları (Tablo- 14,15,17) sırasıyla katalpol ve okubin'e ait değerlerle karşılaştırıldığında, glukoz ve aglikonlara ait sinyallerde oldukça büyük benzerlikler görülmektedir. Her iki bileşiğin NMR spektrumları da, ester yapan aside ait sinyaller açısından birbirinin aynıdır. Bu durum, her iki bileşiğin de aynı asidin esterleri olduğunu belirtmektedir. Gerçekten de LS-İ1 ve LS-İ2'nin alkali hidrolizlerinde sırasıyla katalpol ve okubin yanında, sinamik asit elde edilmiştir. $^1\text{H-NMR}$ spektrumlarında aromatik bir halkaya ait toplam 5 proton değerindeki sinyallere ilave olarak, birer AB sistemi şeklinde gözlenen olefinik protonların kenetlenme sabitleri ve kimyasal kayma değerleri (LS-İ2 için $\delta 6.59$ ve $\delta 7.74$, LS-İ1 için $\delta 6.58$ ve $\delta 7.73$, $J=16$ Hz, her ikisi için) bu aromatik asidin *trans*-sinamik asit olduğunu belirtmektedir. Glukoza ait sinyallerin kimyasal kayma değerleri, okubin(LS-İ4) ve katalpol(LS-İ3) ile benzerdir (Tablo-14,15). Bu, esterleşmenin glukoz molekülleri üzerinden değil, aglikonlar üzerindeki bir hidroksil grubu üzerinden olduğuna işaret etmektedir. Esterleşmeye bağlı olarak en önemli farklılık, birer AB sistemi şeklinde gözlenen metilen sinyallerinde görülmektedir. Bu fark, iki bileşik için de, okubin ve katalpol'e göre yaklaşık + 0.8 ppm'dir. Bu düşük alana kayma, her iki bileşikte de *trans*-sinamik asitlerin C-8'deki primer alkol grupları ile esterleştiğini açıklamaktadır. Esterleşmenin olabileceği diğer olasılık (her iki bileşik için de C-6 (OH)), C-6 (H) sinyallerinin kimyasal kayma değerlerinde bir farklılık gözlenmemesi nedeniyle söz konusu değildir.

$^{13}\text{C-NMR}$ spektrumları (Spektrum-3 ve Spektrum- 4) ve bunlara ait değerlendirmeler (Tablo-17) incelendiğinde, 9 karbon atomlu bir iridoit iskeleti ve serbest glukoz sinyallerine ek olarak, *trans*-sinamik aside ait karbon sinyalleri de gözlenmiştir (29). Aglikonlara ait sinyaller, C-10 sinyalleri dışında, okubin (3) ve katalpol'e (2) ait literatür bulguları ile benzerlik göstermektedir (Tablo-16).

$\delta(\text{ppm})$ C-Atom*	Okubin(3)	LS-İ2	Katalpol(2)	LS-İ1
C-7	131.16	132.8	60.04	62.8
C-8	149.48	142.6	66.08	63.6
C-9	48.97	48.5	41.98	43.6
C-10	62.11	63.7	60.94	64.6

Tablo-16. LS-İ2 ve LS-İ1'in $^{13}\text{C-NMR}$ değerlerinin okubin ve katalpol ile karşılaştırılması.

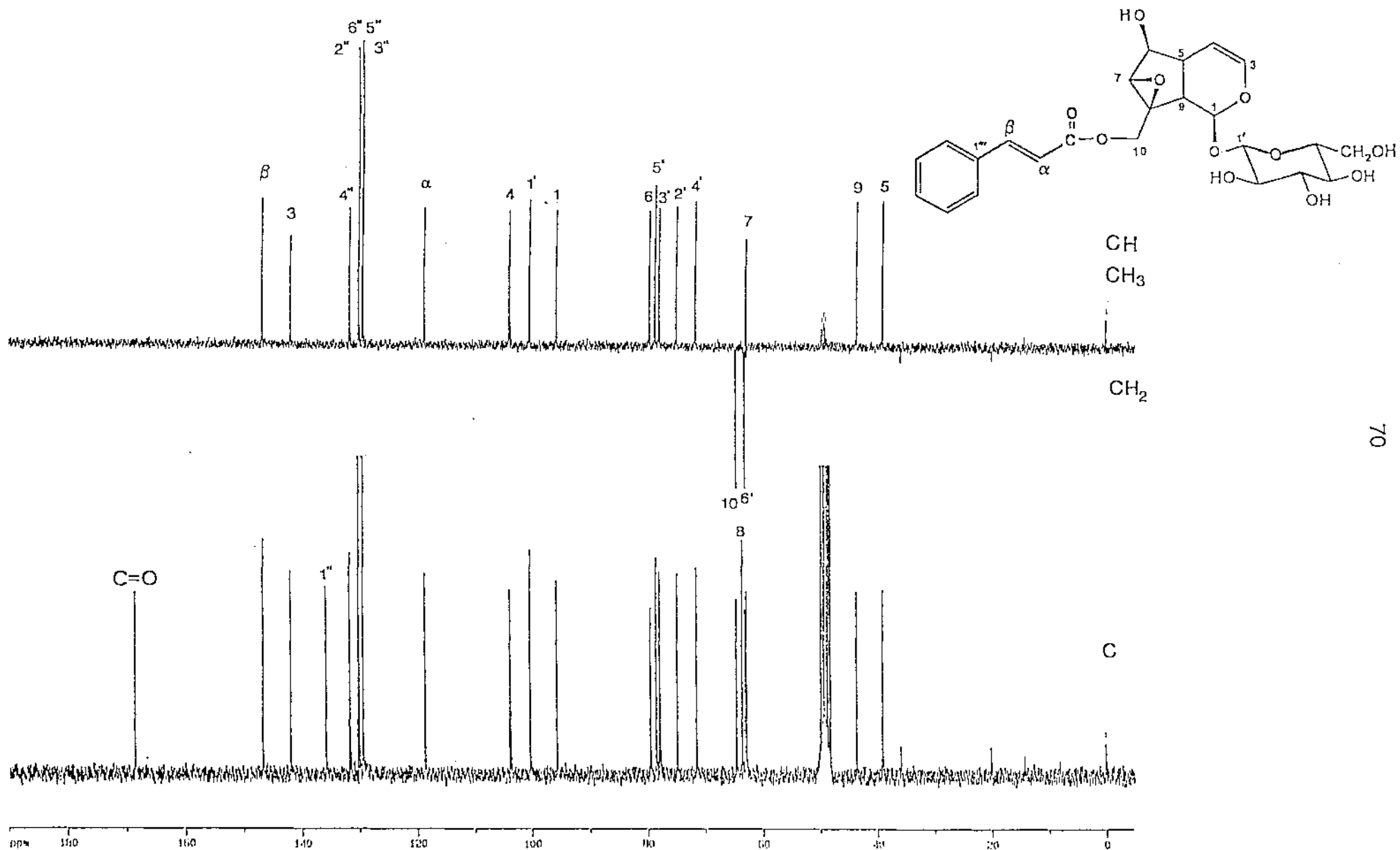
*Tüm spektrumlar CD_3OD 'da alınmıştır.

Tablo-17'de verilen değerler incelendiğinde, C-10 sinyallerinde LS-İ2 için okubine göre +1.6 ppm, LS-İ1 için katalpol'e göre +3.5 ppm olarak gözlenen düşük alana kayma, esterleşmenin C-10 üzerinden olduğunu doğrulamaktadır (esterleşmenin α -C atomu üzerindeki etkisi) (156). Ayrıca C-8 sinyallerinde görülen yüksek alana doğru kaymalar (β -etki), bu görüşü doğrulamaktadır.

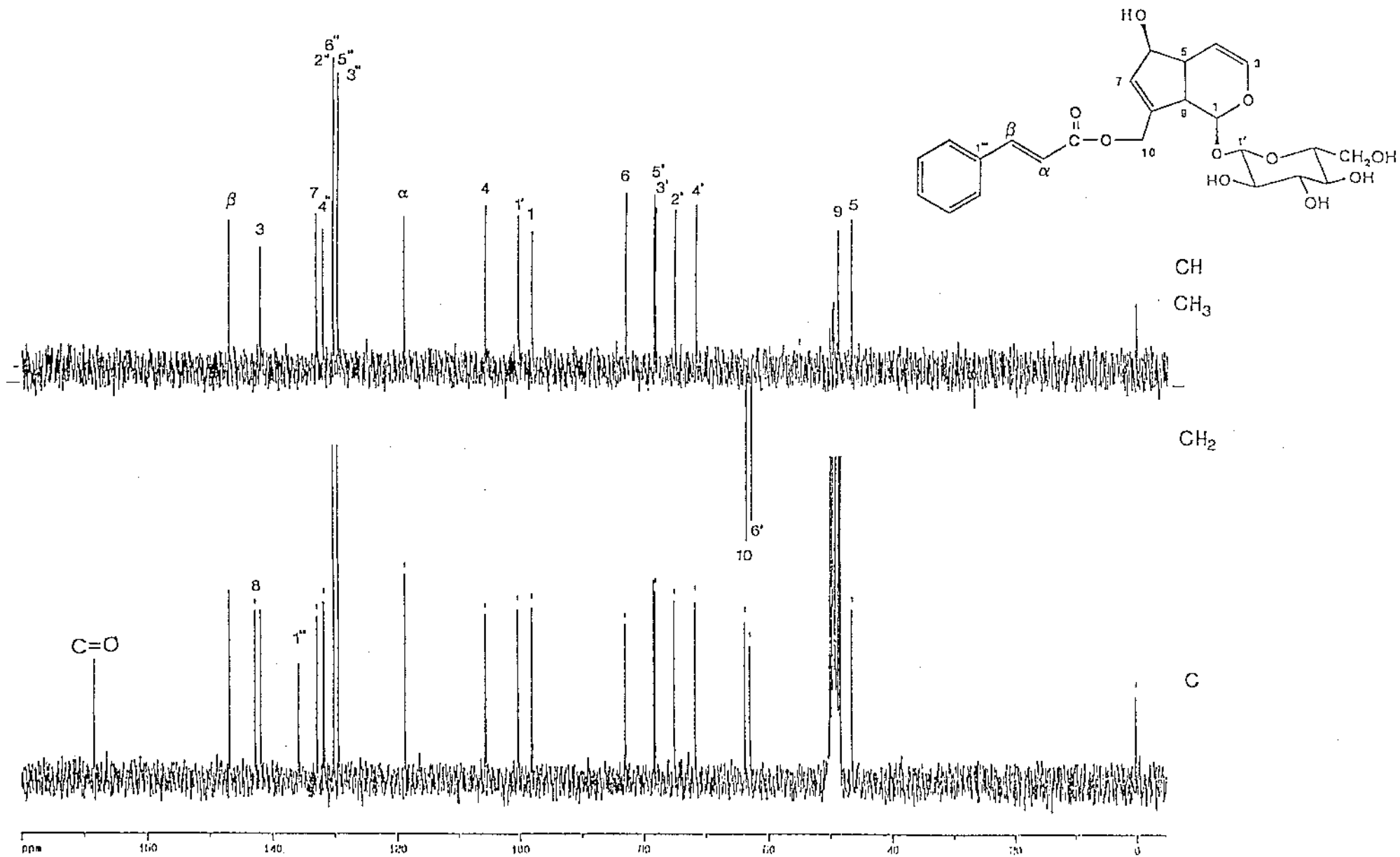
Bu bulgulara göre, LS-İ2 ve LS-İ1 sırasıyla okubin (LS-İ4) ve katalpol (LS-İ3)'ün 10 - O-*trans*-sinnamoil esterleridir. Bu bileşikler literatürde sırasıyla litantosalin (=izo-skrofulariozit) (33, 100) ve globularin (=skutellariozit-I) (34, 74, 194) olarak kayıtlıdır. Bu bileşiklere ait literatürde verilen değerler, bizim bulgularımız ile uyum göstermektedir.

C-Atom	Globularin (LS-1) δ (ppm)	Litantosalin (LS-2) δ (ppm)
Aglikon		
1	95.6 d	98.0 d
3	141.9 d	141.8 d
4	103.7 d	105.6 d
5	39.0 d	46.4 d
6	79.5 d	82.9 d
7	62.8 d	132.8 d
8	63.6 s	142.6 s
9	43.6 d	48.5 d
10	64.6 t	63.7 t
Glukoz		
1'	100.3 d	100.2 d
2'	74.8 d	75.0 d
3'	77.9 d	78.0 d
4'	71.5 d	71.6 d
5'	78.5 d	78.3 d
6'	63.1 t	62.8 t
Sinnamik Asit		
1"	135.8 s	135.7 s
2"	130.0 d	130.1 d
3"	129.4 d	129.4 d
4"	131.6 d	131.7 d
5"	129.4 d	129.4 d
6"	130.4 d	130.1 d
α	118.0 d	118.7 d
β	146.7 d	146.8 d
C=O	168.4 s	168.3 s

Tablo- 17. Globularin (LS-1) ve Litantosalin (LS-2)'nin ^{13}C -NMR (CD_3OD , 75 MHz) Spektral Değerleri



Spektrum-3. Globularin (LS-11) in ^{13}C -NMR (CD_3OD , 75 MHz) Spektrumu



Spektrum-4. Litantosalin (LS-12) in ¹³C-NMR (CD₃OD, 75 HMz) Spektrumu

B-FENİLPROPANOİT HETEROZİTLERİ (LS-F1 → LS-F4)

Kromatografik analizler (İTK), bu bileşiklerin fenilpropanoit heterozitleri olduğuna işaret etmiştir. UV absorpsiyonları polifenolik karakterlerini göstermiş, IR spektral analizlerinde ise yayvan hidroksil ($3350-3400\text{ cm}^{-1}$), α , β -doymamış ester ($1680-1700\text{ cm}^{-1}$ konjuge ester, $1620-1630\text{ cm}^{-1}$, konjuge C=C) ve aromatik halkaya ait ($1600-1400\text{ cm}^{-1}$) karakteristik absorpsiyon bantları görülmüştür. Yapı aydınlatmalarında ^1H ve ^{13}C -NMR spektrumları temel alınmış, gerektiğinde bulgular FAB-kütle spektrumları ile doğrulanmıştır.

Yapı tayinlerinin yorumlarında tekrarlardan kaçınmak için önce yapılarında üç oz ünitesi taşıyan LS-F1 ve LS-F2 (deaçil ve asetat türevleri ile beraber), daha sonra ise biozidik yapıda olan LS-F3 ve LS-F4 çifti beraber ele alınmışlar, benzerlik ve farklılıklarının daha iyi görülmesi için her iki grubun ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektral bulguları bir arada verilmiştir.

B1- TRİOZİDİK FENİLPROPANOİT HETEROZİTLERİ (LS-F1 ve LS-F2)

Ehrenozit (LS-F1) ($C_{34} H_{44} O_{19}$, M. A. 756, 726)

UV λ^{MeOH} (nm) : 205, 213.5, 218.5, 265.5, 291, 296, 333
maks

IR (% 1 KBr) (cm^{-1}) : 3380 (OH), 1690 (konj. C=O) 1620 (konj. C=C),
1595, 1515, 1505 (Arom. halka)

1H -NMR ($CD_3 OD$, 300 MHz) : Tablo-18, Spektrum-5

^{13}C -NMR ($CD_3 OD$, 75 MHz) : Tablo-19, Spektrum-6

FAB- Kütle Sp. (NOBA) m/z : Spektrum-7

794.9 $[M+K]^+$, 778.9 $[M+Na]^+$, 755.9 $[M]^+$

602.9 $[M-Aglikon]^+$, 477.9 $[M-Arabinoz-Ramnoz]^+$

456.9 $[M-Aglikon-Ramnoz]^+$

163 $[Kafeoil]^+$

Lagotozit (LS-F2) ($C_{36} H_{48} O_{19}$, M.A. 784, 78)

20

$[\alpha]_D^{20}$: - 33.8 (C= 0.334, H_2O)

UV λ^{MeOH} (nm) : 219 (omuz), 232, 262, 291.2 (omuz), 326
maks.

IR (%1KBr) (cm^{-1}) : 3400 (OH), 1700 (konj.C=O),
1630 (konj. C=C), 1595, 1510 (Arom.halka)

1H -NMR ($CD_3 OD$, 300 MHz): Tablo-18, Spektrum-8

^{13}C -NMR ($CD_3 OD$, 75 MHz): Tablo-19, Spektrum-9

FAB-Kütle Sp.(NOBA) m/z : Spektrum-10

807.2 $[M+Na]^+$, 784.2 $[M]^+$, 638.1 $[M-Ramnoz+H]^+$

506.1 $[M-Arabinoz-Ramnoz]^+$

460 $[M-Ramnoz-Feruloil+H]^+$

177 $[Feruloil]^+$

Lagotozit nonaasetat (LS-F2-Ac) (C₅₄ H₆₆ O₂₈, M.A. 1163,122)

¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz) : Tablo-18, Spektrum-11

FAB-Kütle Sp. (NOBA) m/z : Spektrum-12

1185 [M+Na]⁺, 1163.1 [M+H]⁺

273 [2,3,4-tri-O-Asetil-Ramnoz oksonyum]⁺

259 [2,3,4-tri-OAsetil-Arabinoz oksonyum]⁺

219 [Asetil Feruloil]

177 [Feruloil]

Deaçil Lagotozit 3-O- Metil eter (DLM) (C₂₇ H₄₂ O₁₆, M.A.622,623)

¹H-NMR (CD₃OD, 300 MHz) : Tablo-18, Spektrum-13

2D- ¹H, ¹H- Homonükleer COSY Sp. : Spektrum-15

2D-¹³C, ¹H-Heteronükleer COSY Sp. : Spektrum-16

2D-NOESY Spektrumu : Spektrum-17

Ehrenozit (LS-F1) ve Lagotozit (LS-F2)

Her iki bileşiğin de UV ve IR spektral değerleri, fenilpropanoit heterozitleri için karakteristiktir.

^1H - ve ^{13}C -NMR spektrum ve değerlendirmeleri (Spektrum-5, 8 ve Spektrum-6, 9, Tablo-18,19) incelendiğinde, her iki bileşiğin oz zincirlerinin aynı olduğu, farklılığın hidroksisinnamik asit ve aglikon kısmından ileri geldiği görülmektedir. LS-F1'e ait bulgular literatürde ehrenozit için verilen değerlerle uyum göstermektedir (129). Ehrenozit, 3, 4-dihidroksi- β -feniletoksi-O-[α -L-arabinopiranozil-(1 \rightarrow 2)]-O-[α -L-ramnopiranozil-(1 \rightarrow 3)]-4-O-kafeoil- β -D-glukopiranozit yapısında triozidik bir fenilpropanoit heteroziti olup, ilk kez bir Scrophulariaceae bitkisi olan *Veronica bellidoides*'ten elde edilmiştir (129).

^1H -NMR spektrumlarında LS-F1 için δ 4.54, δ 4.52 ve δ 5.17 ve LS-F2 için δ 4.55, δ 4.52 ve δ 5.18 de görülen dubletler, sırasıyla glukoz, arabinoz ve ramnozun anomerik protonlarına aittir. ^{13}C -NMR spektrumlarındaki anomerik karbonlara ait sinyaller (LS-F1 için δ 104.18, δ 103.1 ve δ 103.27, LS-F2 için ise δ 104.2, δ 103.1 ve δ 103.2, sırasıyla) bunu doğrulamaktadır. Yine ^1H - ve ^{13}C -NMR spektrumlarına bakılınca, her iki bileşiğin de merkezi konumlarındaki uzun glukoz olduğu ve β -pozisyonunda bulunduğu görülmektedir ($J=7.8$ Hz).

Bileşiklerin ^1H -NMR spektrumlarında sırasıyla 5.17 ve 5.18 ppm'de gözlenen anomerik proton sinyallerine ek olarak, δ 1.10 da gözlenen dublet şeklindeki sinyaller, ikinci uzun ramnoz olduğunu göstermektedir. Nitekim ^{13}C -NMR spektrumlarında sırasıyla δ 18.51 ve δ 18.50'de görülen kuartet (q) şeklindeki sinyaller, ramnozun sekonder CH_3 grubuna aittir. Anomerik protonlarının yarılama sabitlerinden ($J=1.5$ Hz, her ikisi için), ramnozun her iki bileşikte de α -konfigürasyonda olduğu anlaşılmaktadır.

Her iki bileşik için üçüncü oza ait ^1H - ve ^{13}C -NMR bulguları da benzerdir. Dolayısıyla, LS-F2'de de üçüncü ozun α -L-arabinoz olduğu anlaşılmaktadır (her ikisi için δ 4.52, $J=6.7$ Hz, arabinozun anomerik protonu).

LS-F1 ve LS-F2'nin ^1H - ve ^{13}C -NMR spektrumlarından, açıl ve aglikon kısımlarına ait sinyallerin de uyum içinde oldukları görülebilir. En önemli farklılık, LS-F2 spektrumlarındaki iki aromatik metoksil grubuna ait sinyallerin varlığıdır (δ 3.89 s/ 56.5 q ve 3.82 s/56.6 q). Buna bağlı olarak, LS-F1'in ^1H -NMR spektrumunda açıl ve aglikon

kısımlarına ait 2x AB sistemi olarak gözlenen aromatik sinyaller, verbaskozit (akteozit) (51) ve angorozit A (47) gibi kafeik asit ve 3,4-dihidroksi-feniletanol, LS-F2 için ise, angorozit C (48) gibi ferulik asit ve 3 -hidroksi, 4-metoksi-feniletanol grubu taşıyan bileşiklere ait sinyallerle uyum göstermektedir. Ayrıca, açıl kısmına ait *trans*-olefinik proton sinyalleri yanında, aglikonun taşıdığı iki metilen grubuna (α,β) ait sinyaller gözlenmiştir. Bu sonuçlar, LS-F2'deki aromatik metoksil gruplarından birinin açıl, diğerinin ise aglikon kısmında yer aldığını göstermektedir. Ayrıca ^{13}C -NMR sinyalleri de, sırasıyla verbaskozit / angorozit A ve angorozit C'ye ait değerlerle benzerdir. Her iki bileşiğin ^1H -NMR spektrumunda yaklaşık 1 ppm düşük alanda gözlenen sinyaller sırasıyla (δ 4.94, t ve 4.98, t, glukozun H-4' protonu), açıl kısmının bağlandığı konumun aynı olduğunu göstermektedir.

LS-F2'deki metil sübstitüsyonu, LS-F1 ve LS-F2 'nin FAB-kütle spektrumlarından da görülmektedir; sırasıyla 755,9 $[\text{M}]^+$ (Spektrum-7), 784,2 $[\text{M}]^+$ (Spektrum-10). Nitekim, m/z 163 ve 177 de gözlenen parçalanma iyonları sırasıyla LS-F1 ve LS-F2'deki kafeik asit ve ferulik asit gruplarına aittir. Bu durumda LS-F2, ehrenozit'in dimetil eter türevidir ve yeni bir bileşiktir. Bitki ismine ithafen, tarafımızdan lagotozit olarak isimlendirilmiştir.

Kesin yapıyı aydınlatmak için lagotozit önce asetillenmiştir. Asetil türevinin (LS-F2-Ac) ^1H -NMR spektrumunda 2 aromatik ve 7 alifatik asetil grubu sinyalleri gözlenmiştir (Spektrum-11, Tablo-18). Asetillenmeye rağmen yüksek alanda gözlenen glukozun H-2' ve H-3' sinyalleri (sırasıyla δ 3.86 ve δ 3.97) glikozidasyonun, ehrenozit'te olduğu gibi glukoz molekülünün C-2' ve C3' konumlarından gerçekleştiğini göstermektedir. Oz kısmına ait diğer tüm değerler de ehrenozit undekaasetat için verilen değerlerle uyum göstermektedir (129). Lagotozit nonaasetat bileşiğinin (LS-F2-Ac) FAB-kütle spektrumu, yapı ile ilgili görüşleri kuvvetlendirmiştir (Spektrum-12). Bu bileşiğe ait moleküler iyon piki $[\text{M}+\text{H}]^+/\text{m/z}$ 1163'de gözlenmiştir. m/z 259 ve 273'de gözlenen parçalanma iyonları ise, arabinoz ve ramnoz terminal olduklarını göstermektedir (sırasıyla tri-O-asetilarabinoz oksonyum iyonu ve tri- O- asetilramnoz oksonyum iyonu).

Bu bulgulara rağmen, arabinoz ve ramnoz moleküllerinin glukoz üzerinde hangi konumdan bağlandığı kesin olarak açıklanamamıştır. Bu nedenle, ehrenozit ve lagotozit ayrı, ayrı kısmi metilasyona tabi tutulmuşlardır. Diazometanla aromatik hidroksil grupları metillenmiş, daha sonra *trans-cis* dönüşümüne bağlı izomer sinyallerinden kaçınmak için, alkali hidrolizle bileşiklerin yapısındaki açıl kısımları uzaklaştırılmıştır. Bu işlem sonunda her iki bileşiğin de aynı ürünü (DLM= Deaçil Lagotozit Monometil eter= Deaçil ehrenozit dimetil eter) verdikleri gözlenmiştir. Bu bulgu, lagotozitin oz zincirindeki bağlanma noktalarının, ehrenozit ile aynı olduğunu göstermektedir. Ancak

ehrenozit'te bağlanma noktaları sadece bir spektroskopik analiz yönetimine dayanılarak aydınlatılmıştır (Selektive Low Power Decoupling) (129). Bulgumuzu kesinleştirmek amacıyla DLM bileşiğinin 2D-NOESY spektrumu alınmıştır (Spektrum-17). Bu spektrumda görüldüğü gibi, ramnozun anomerik protonu (δ 5.07) ile glukozun H-3' protonu (δ 3.65), arabinozun anomerik protonu ile (δ 4.52)de, glukozun H-2' protonu (δ 3.54) arasında NOE (Nuclear Overhauser Effect) gözlenmiştir. Bu sonuçlar, lagotozit ve ehrenozit'in oz zincirlerinin aynı olduğunu doğrulamıştır.

Sonuç olarak lagotozit'in yapısı 3-hidroksi,4- metoksi- β - feniletoksi- O-[α -L-arabinopiranozil-(1 \rightarrow 2)] -O- [α -L-ramnopiranozil- (1 \rightarrow 3)]- 4-O-feruloil- β -D- glukopiranozit olarak aydınlatılmıştır.

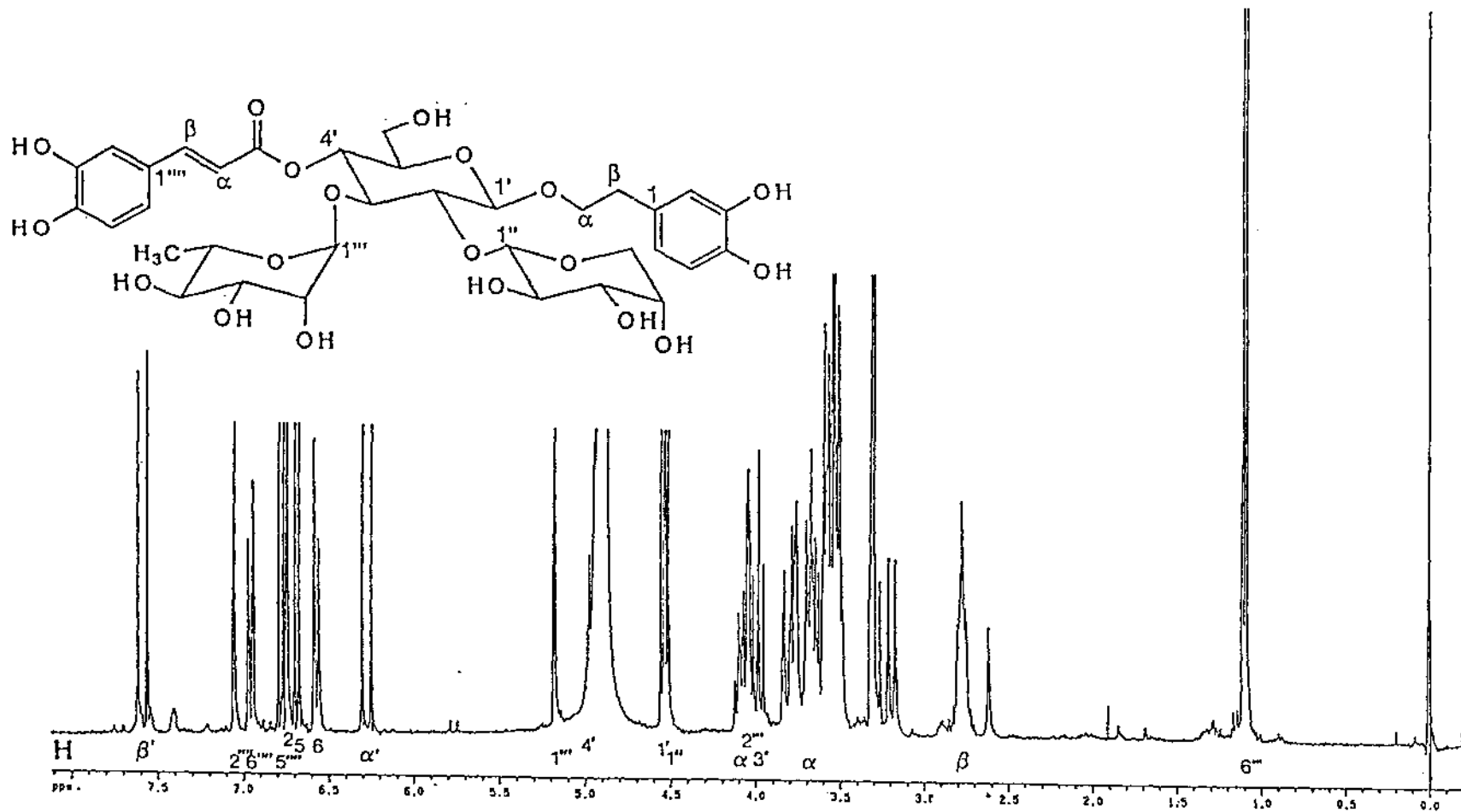
H-Atom	LS-F1 δ (ppm)	LS-F2 δ (ppm)	J (Hz)	LS-F2-Ac ^a δ (ppm)	DLM δ (ppm)
Aglikon					
2	6.74 d	6.76 d	(2)	6.88 d	
5	6.68 d	6.84 d	(8)	6.87 d	7.16-6.92 ^b
6	6.57 d	6.70 dd	(8 / 2)	6.82 dd	
α	4.08 m	4.05 m		4.09 m	3.9 - 4.16 ^b
	3.68 m	3.51 - 3.75m		3.72 m	3.9 - 4.16 ^b
β	2.78 m	2.81 m		2.87 t	2.89 m
OCH ₃	-	3.89 s		3.82 s	3.86 s
OCH ₃	-	-		-	3.79 s
Gluköz					
1'	4.54 d	4.55 d	(7.8)	4.46 d	4.46 d
2'	3.67 dd	3.68 dd	(7.8 / 8.3)	3.54 dd	3.86 ^b
3'	3.98 t	3.99 t	(9.0)	3.65 t	3.97 t
4'	4.94 t	4.98 t		3.78 ^b	5.11 - 5.17 ^b
5'	3.48 - 3.72 ^b	3.51 - 3.75 ^b		3.28 ^b	3.64 m
6'	3.48 - 3.72 ^b	3.51 - 3.75 ^b		3.67 / 3.87 ^b	4.12 m
Arabinoz					
1''	4.52 d	4.52 d	(6.7)	4.52 d	4.87 d
2''	3.48 - 3.72 ^b	3.51 - 3.75 ^b		3.62 ^b	5.11 - 5.17 ^b
3''	3.48 - 3.72 ^b	3.51 - 3.75 ^b		3.55 ^b	5.11 - 5.17 ^b
4''	3.76 m, y	3.75 m, y		3.78 ^b	5.22 ^b
5''	3.81 dd	3.82 ^b		3.87 dd	3.51 dd
	3.19 dd	3.21 dd	(12.3 / 1)	3.29 dd	3.94 ^b
Ramnoz					
1'''	5.17 d	5.18 d	(1.5)	5.07 d	5.11 d
2'''	4.04 dd	4.03 dd	(1.5 / 3.3)	4.03 dd	5.22 dd
3'''	3.48 - 3.72 ^b	3.51 - 3.75 ^b	(3.3 / 9.5)	3.66 dd	5.11 - 5.17 ^b
4'''	3.30 t	3.29 t	(10.5)	3.42 t	4.99 t
5'''	3.48 - 3.72 ^b	3.51 - 3.75 ^b		3.95 m	3.86 ^b
6'''	1.10 d	1.10 d	(6.2)	1.25 d	1.10 d
Açıl kısmı					
2''''	7.05 d	7.19 d	(2)		
5''''	6.77 d	6.81 d	(8.2)	7.16 - 6.92	
6''''	6.95 dd	7.08 dd	(8.2 / 2)		
α'	6.27 d	6.37 d	(15.9)	6.34 d	
β'	7.58 d	7.66 d	(15.9)	7.66 d	
OCH ₃	-	3.82 s		3.83 s	

Tablo-18. Ehrenozit (LS-F1), Lagotozit (LS-F2), Deaçil-lagotozit 3-O-metil eter (DLM) (CD₃OD, 300 MHz) ve Lagotozit nonaasetat (LS-F2-Ac)'in (CDCl₃, 300 MHz) ¹H-NMR Spektral Değerleri.

- a) İlave sinyaller : 2.32, 2.31 (2 x CH₃COO, arom.),
1.74, 1.98, 1.99, 2.03, 2.06, 2.08, 2.13 (7 x CH₃COO, alif.)
b) Sinyal diğer rezonanslarla örtülmüştür.

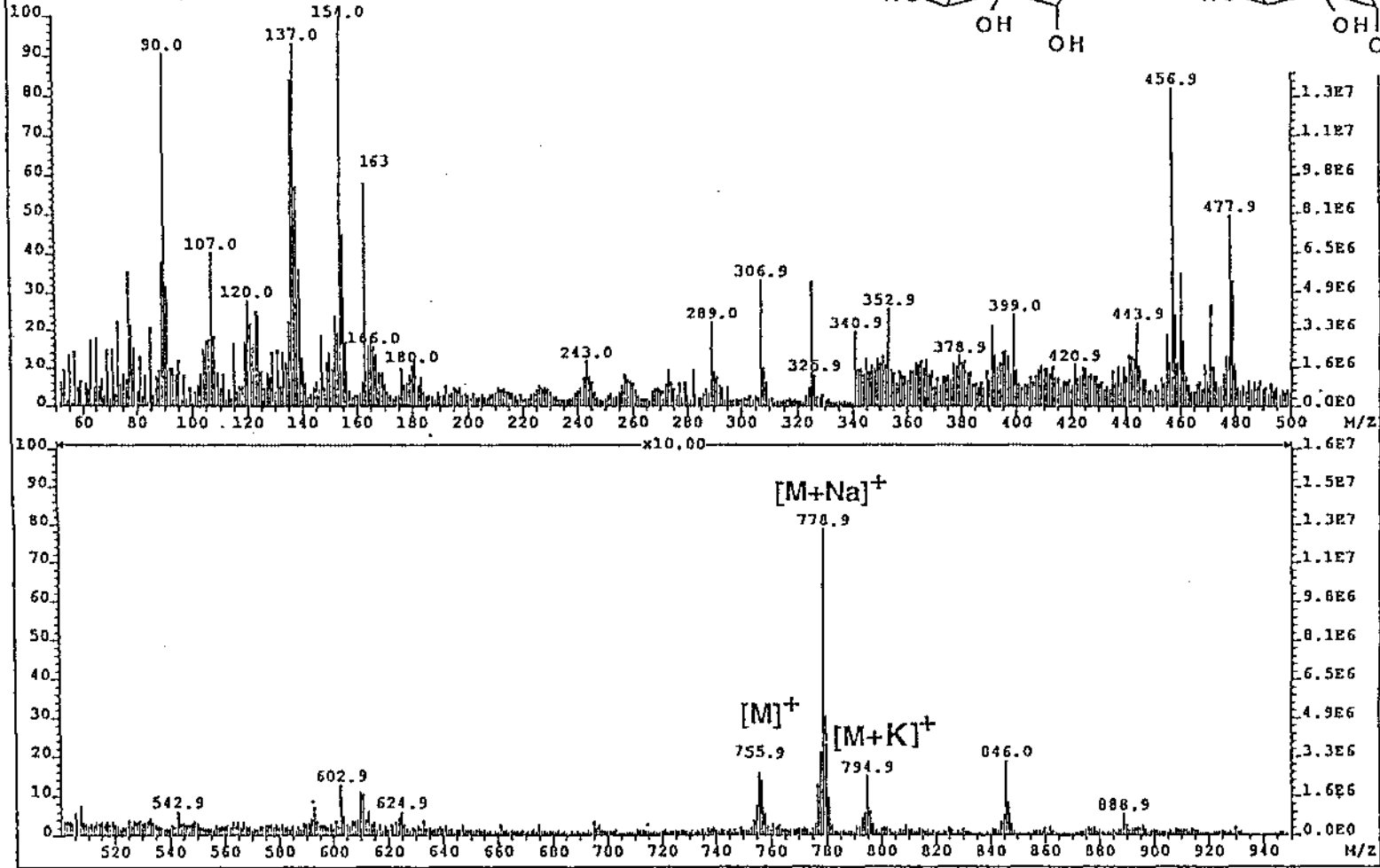
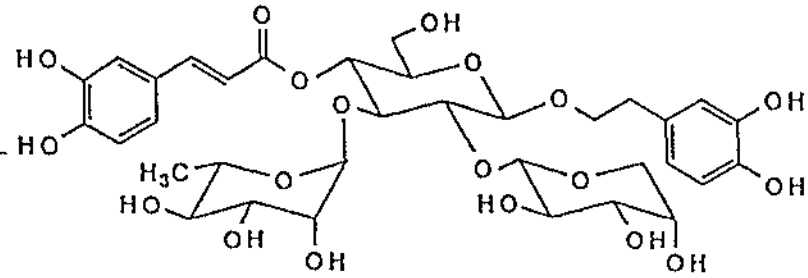
C-Atom	LS-F1 δ (ppm)	LS-F2 δ (ppm)	DLM δ (ppm)
Aglikon			
1	131.95 s	133.3 s	133.3 s
2	116.57 d	113.0 d	114.4 d
3	146.13 s	147.7 s	150.4 s
4	144.80 s	147.4 s	149.1 s
5	117.54 d	117.4 d	113.3 d
6	121.54 d	121.5 d	122.6 d
α	72.05 t	71.9 t	71.7 t
β	36.75 t	36.7 t	36.8 t
OCH ₃	-	56.5 q	56.6 q
OCH ₃	-	-	56.6 q
Glukoz			
1'	104.18 d	104.2 d	103.0 d
2'	81.45 d	81.3 d	81.4 d
3'	82.73 d	82.7 d	86.3 d
4'	70.68 d	70.7 d	70.6 d
5'	75.92 d	75.9 d	77.6 d
6'	62.49 t	62.5 t	62.7 t
Arabinoz			
1''	103.10 d	103.1 d	104.4 d
2''	73.06 d	73.09 d	72.8 d
3''	74.56 d	74.6 d	74.3 d
4''	69.57 d	69.5 d	69.1 d
5''	66.88 t	66.8 t	66.8 t
Ramnoz			
1'''	103.27 d	103.2 d	103.4 d
2'''	72.17 d	72.2 d	72.3 d
3'''	72.13 d	72.1 d	72.2 d
4'''	73.88 d	73.0 d	73.9 d
5'''	70.95 d	71.0 d	70.5 d
6'''	18.51 q	18.5 q	17.9 q
Açıl kısmı			
1''''	127.70 s	127.7 s	
2''''	114.86 d	111.9 d	
3''''	146.89 s	149.4 s	
4''''	149.87 s	150.9 s	
5''''	116.37 d	116.6 d	
6''''	123.27 d	124.4 d	
α'	115.29 d	115.3 d	
β'	148.02 d	147.9 d	
C=O	168.39 s	168.3 s	
OCH ₃	-	56.6 q	

Tablo-19. Ehrenozit (LS-F1), Lagotozit (LS-F2) ve Deaçil-lagotozit 3-O-metil eter (DLM)'in ¹³C-NMR (CD₃OD, 75 MHz) Spektral Değerleri

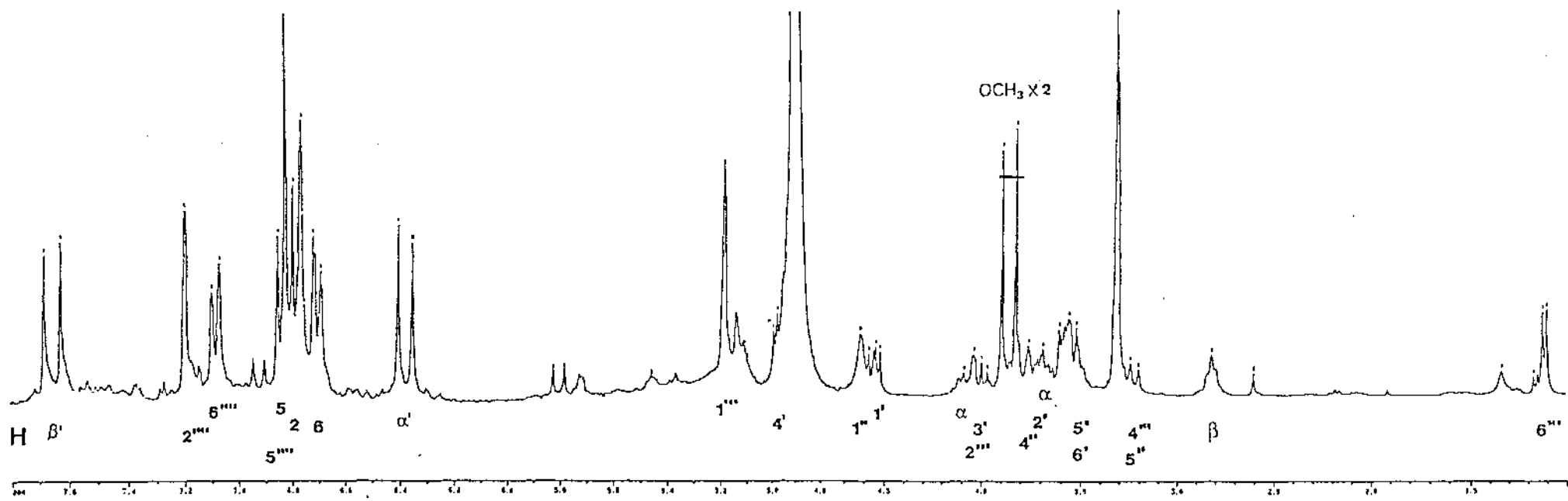
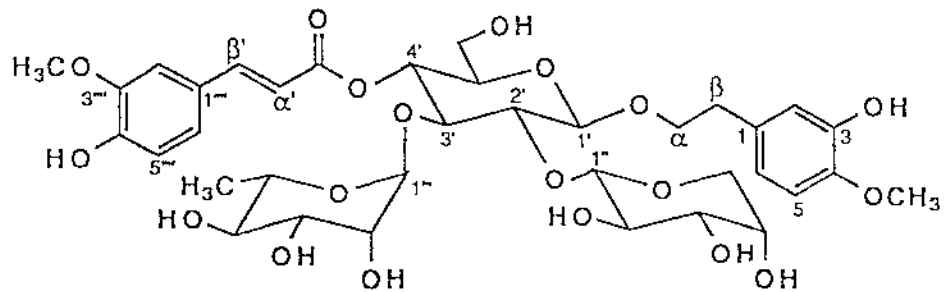


Spektrum-5. Ehrenzit (LS-F1) in $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 300 MHz) Spektrum

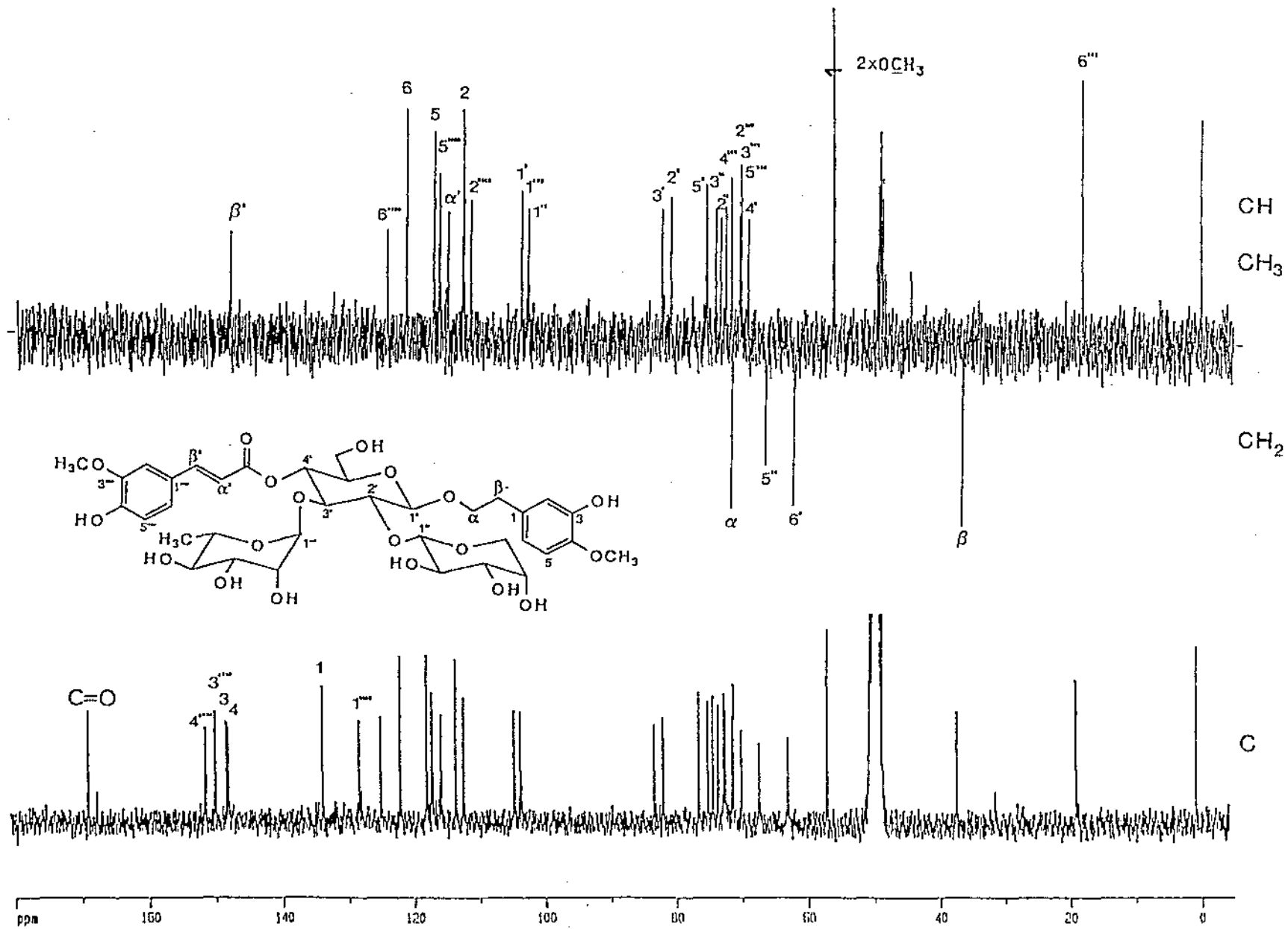
File: FAB3445 Ident: 2.5 Mer Def 0.25 Acquired: 11-JAN-90 12:32:51
 ZAB-SEQ Ionization: FAB+ Function: Magnet
 File Text: Jeker/Landolt - J-NOBA



Spektrum-7. Ehrenzit (LS-F1)'in Pozitif Iyon FAB-Küttele Spektrumu

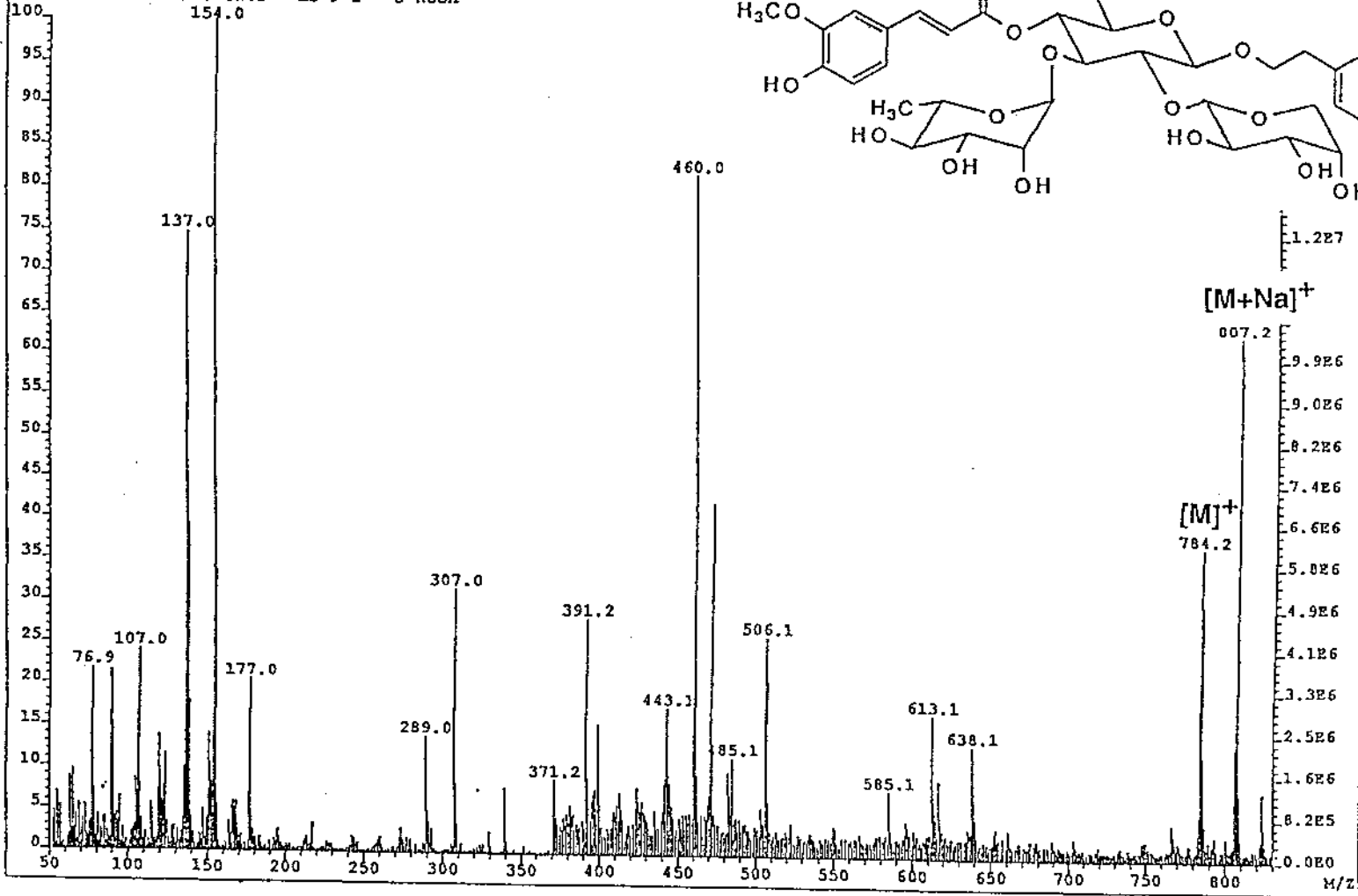


Spektrum-8. Lagotozite (LS-F2) in $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 300 MHz) Spektrum

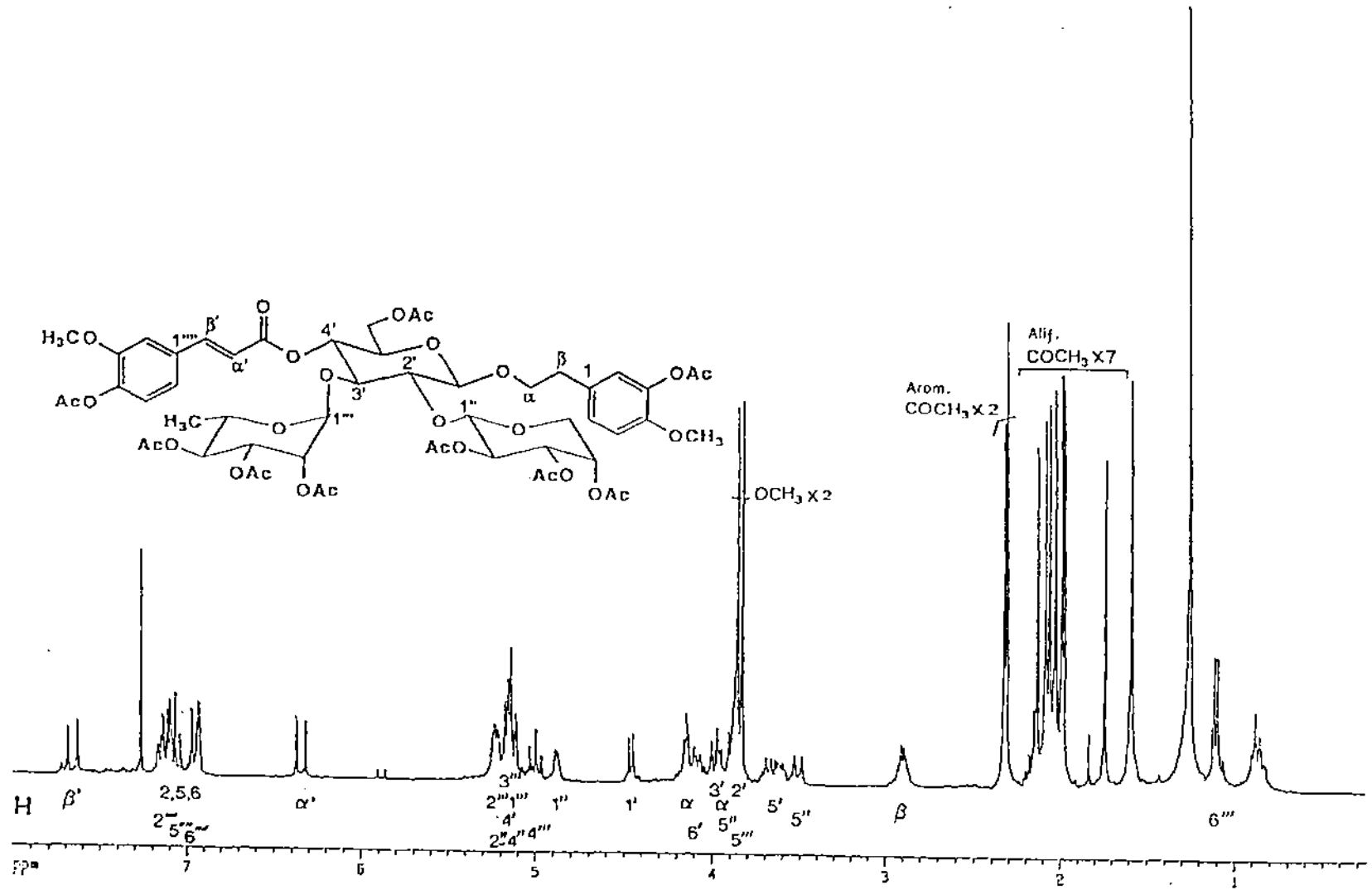


Spektrum-9. Lagotozite (LS-F2) in ^{13}C -NMR (CD_3OD , 75 MHz) Spektrumu

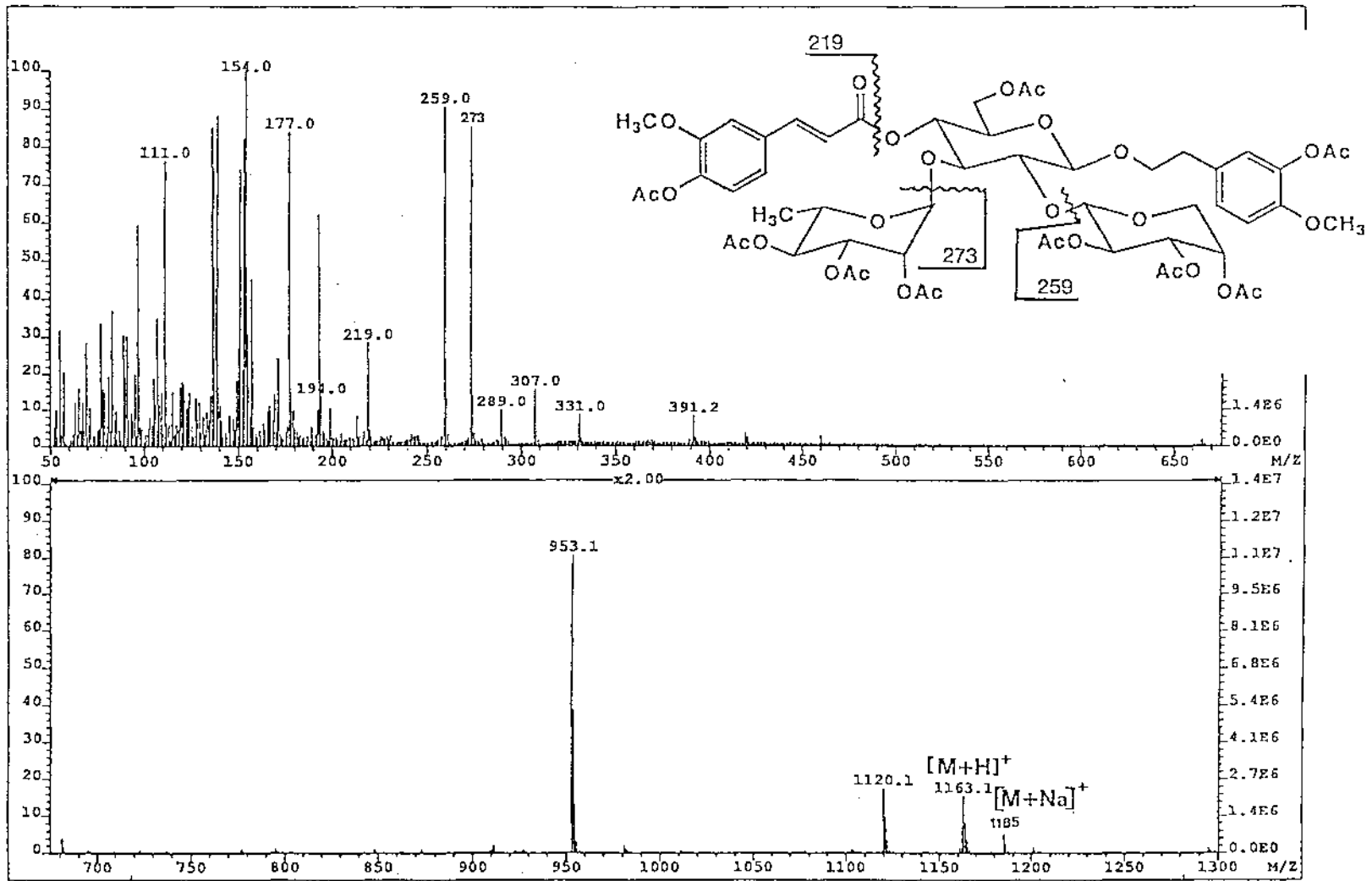
File: FAB3824B Ident: 4 7 Mer Def 0.25 Acquired: 26-MAR-90
 ZAB-SEQ Ionization: FAB+ Function: Magnet
 File Text: Calis/Sticher - LS-P-2 - 3-NOBA



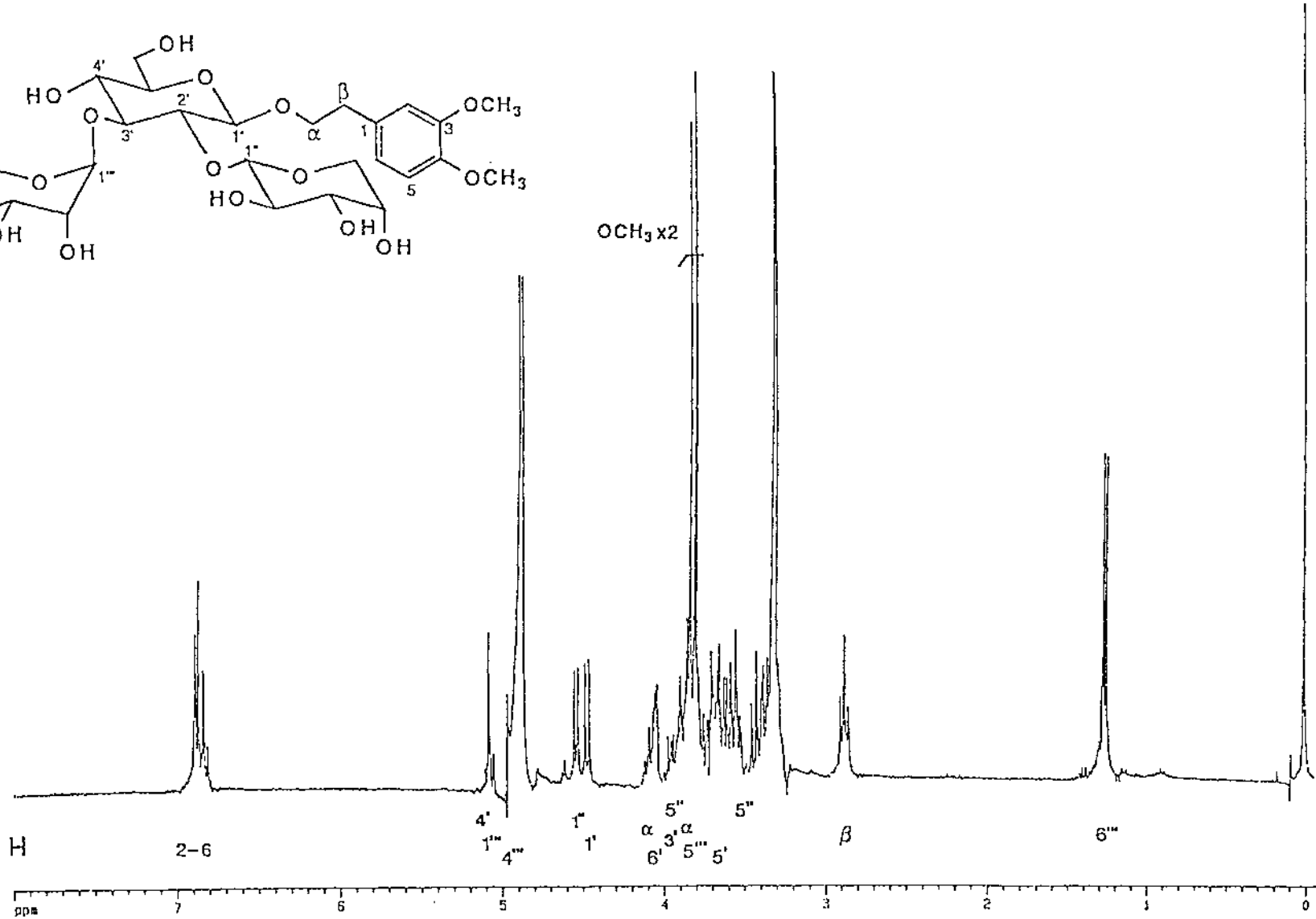
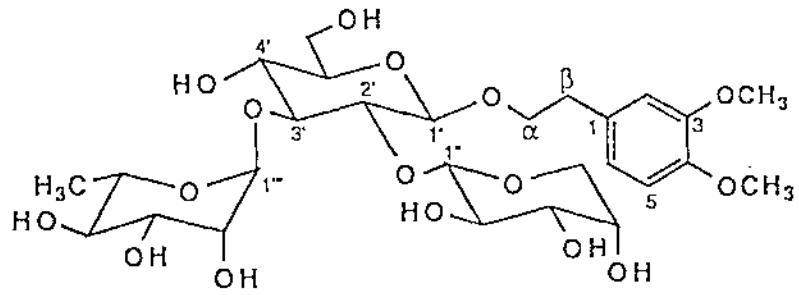
Spektrum-10. Lagotozite (LS-F2)'in Pozitif İyon FAB-Kütüphane Spektrumu



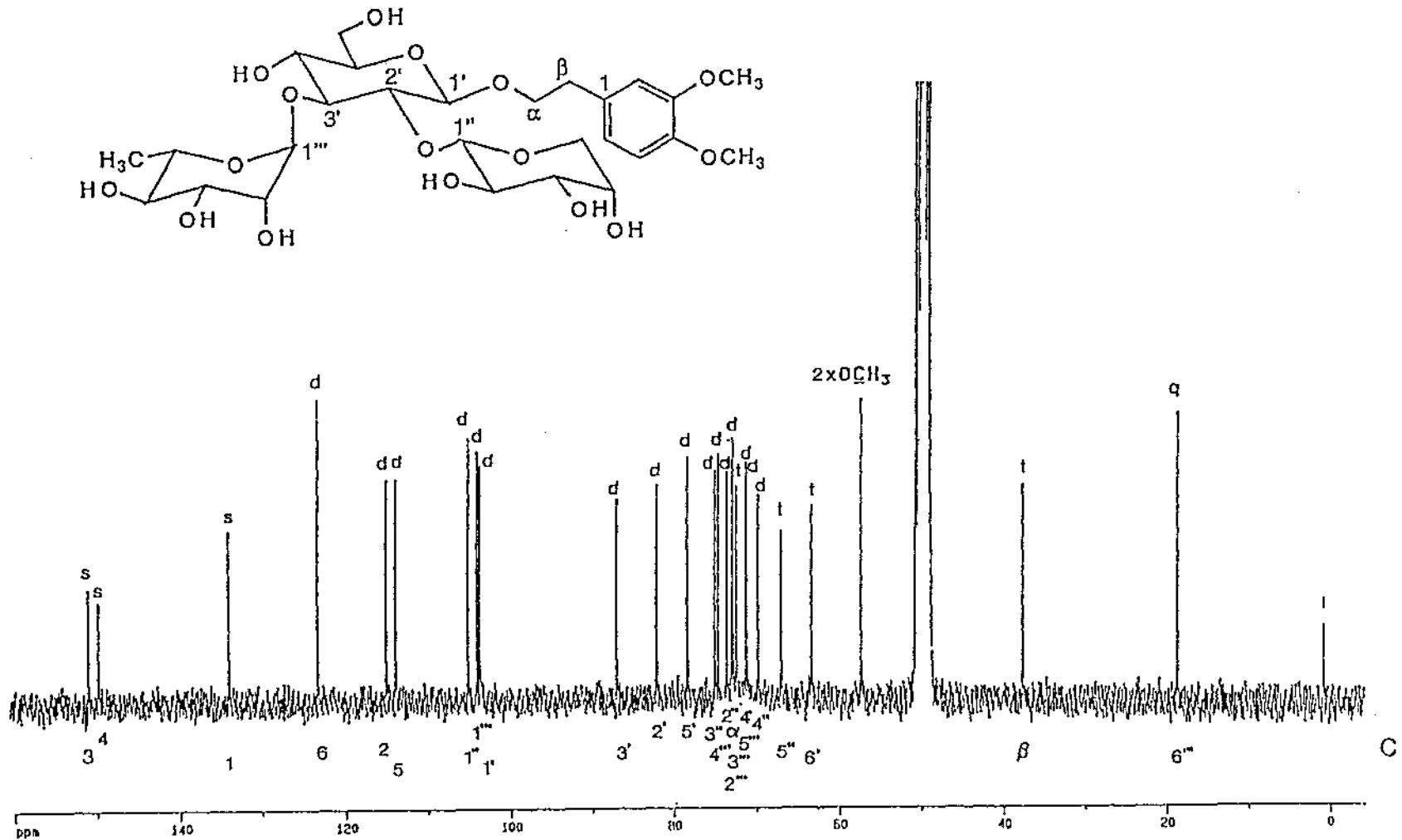
Spektrum-11. Lagotozitol nonaasetat (LS-F2-Ac)'in ¹H-NMR (CD Cl₃, 300 MHz) Spektrumu



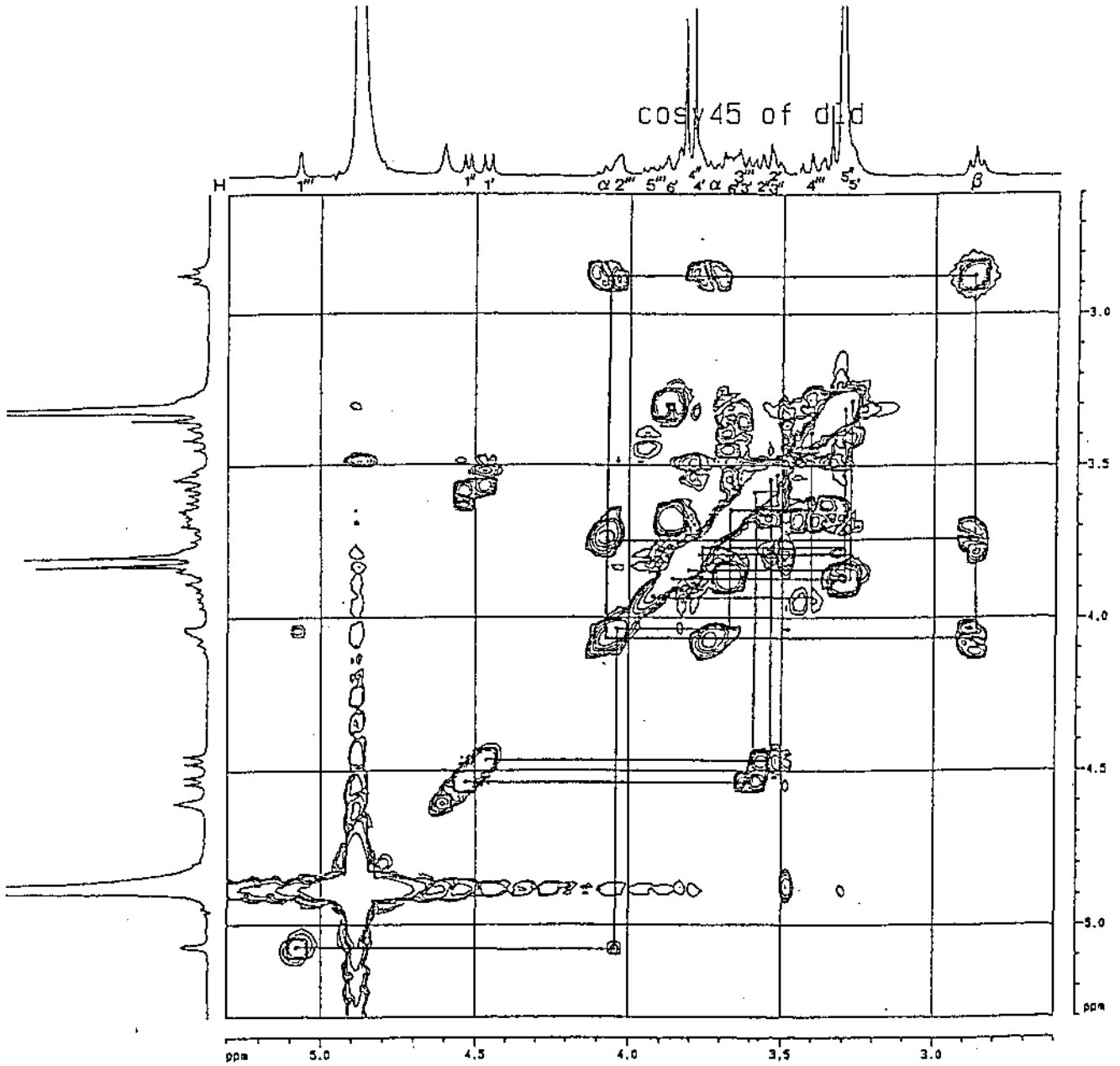
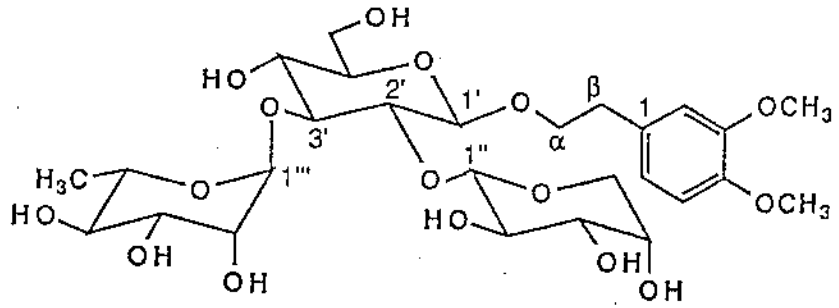
Spektrum-12. Lagotizit nonaasetat (LS-F2-Ac)'in Pozitif Lyon FAB-Kütle Spektrumu



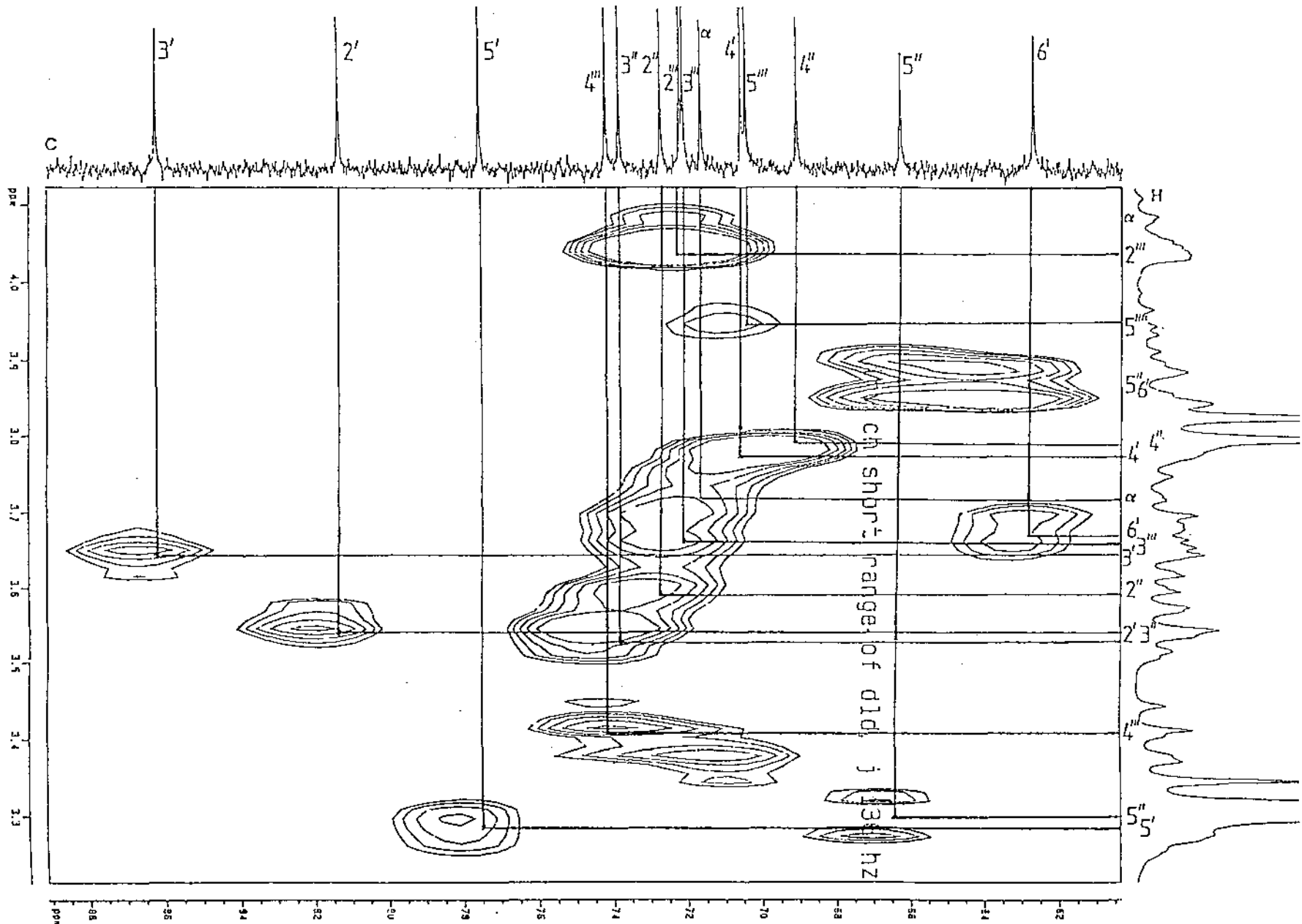
Spektrum-13. Deačil Lagotozit 3-O-Metil eter (DLM) in $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 300 MHz) Spektrumu



Spektrum-14. Deaçil Lagotozit 3-O-Metil eter (DLM)'in ^{13}C -NMR (CD_3OD , 75 MHz) Spektrumu

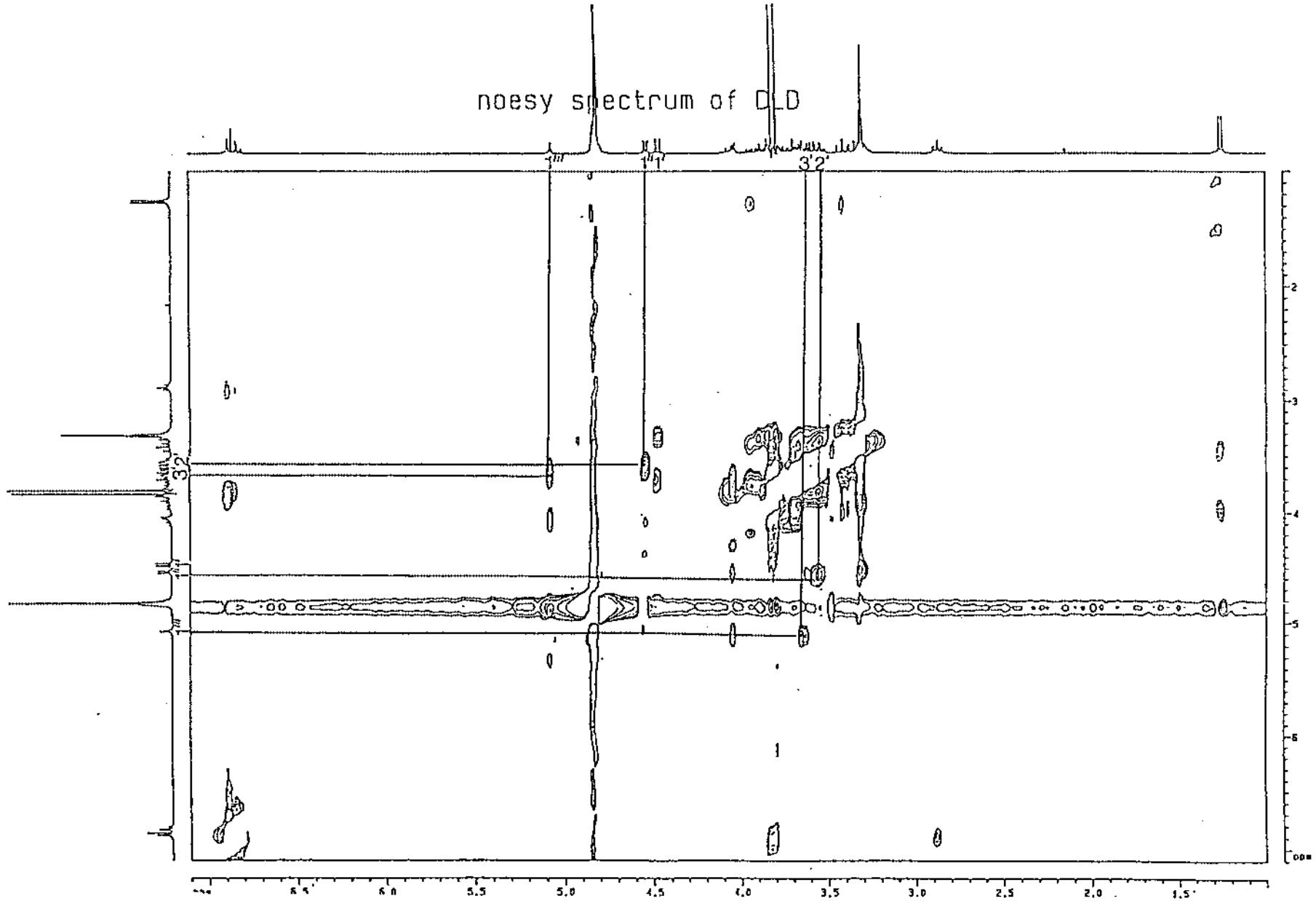


Spektrum-15. Deačil Lagotozıt 3-O-Metil eter (DLM)'in 2D- ^1H , ^1H -Homonükleer COSY Spektrumu



Spektrum-16. Deaçil Lagotozit 3-O-Metil eter (DLM)'in 2D-¹³C, ¹H-Heteronükleer COSY Spektrumu

noesy spectrum of DLD



Spektrum-17. Deağı Lagotozit 3-O-Metil eter (DLM)'in 2D-NOESY Spektrumu

B2- BİOZİDİK FENİLPROPANOİT HETEROZİTLERİ (LS-F3 ve LS-F4)

Plantamajozit (LS-F3) (C₂₉ H₃₆ O₁₆, M.A. 640,607)

UV λ MeOH (nm) : 232, 265.5, 330
maks.

IR (% 1 KBr) (cm⁻¹) : 3350 (OH), 1685 (konj. C=O), 1625 (konj. C=C),
1600, 1515 (Arom. halka)

¹H-NMR (CD₃ OD, 300 MHz) : Tablo-20, Spektrum-18

¹³C-NMR (CD₃ OD, 75 MHz): Tablo-21, Spektrum-19

FAB-Kütle Sp. (NOBA) m/z : Spektrum-20

663.3 [M+Na]⁺

Plantamajozit dekaasetat (LS-F3-Ac) (C₄₉ H₅₆ O₂₆, M.A. 1060, 987)

FAB-Kütle Sp. (NOBA) m/z : Spektrum-21

1083,1 [M+Na]⁺, 1061 [M+H]⁺

823 [M-3,4-di-O-Asetil Aglikon]⁺

331 [2,3,4,6-tetra-O-Asetil Glukoz oksonyum]⁺

205 [mono-O-Asetil Glukoz oksonyum]⁺

Verbaskozit (LS-F4) (C₂₉ H₃₆ O₁₅, M.A. 624,607)

UV λ MeOH (nm) : 205, 213, 219.5, 266, 332.5
maks.

IR (% 1KBr) (cm⁻¹) : 3350 (OH), 1680 (konj. C=O),
1620 (konj. C=C) 1590, 1510 (Arom. halka)

¹H-NMR (CD₃ OD, 300 MHz): Tablo-20, Spektrum-22

¹³C-NMR (CD₃ OD, 75 MHz): Tablo-21, Spektrum-23

Plantamajozit (LS-F3) ve Verbaskozit (LS-F4)

Her iki bileşik de fenilpropanoit heterozitleri için karakteristik UV ve IR spektral değerlerine sahiptir.

^1H ve ^{13}C -NMR spektrumlarında (Spektrum-18 , 22 ve Spektrum-19, 23) gözlenen anomerik proton ve anomerik karbon sinyallerinden (LS-F3 için δ 4.42 ve δ 4.54; δ 104 ve δ 105.7, LS-F4 için δ 4.37 ve δ 5.18 ve δ 104.3 ve δ 103.1) bu bileşiklerin biozidik yapıda oldukları anlaşılmakta ve R_f değerleri de bunu desteklemektedir (Bkz. Tablo-13) ^1H -NMR spektrumlarından, her iki bileşiğin de merkezi oz olarak β -D- glukoz taşıdığı kolayca görülmektedir (sırasıyla δ 4.42 ve δ 4.37, $J = 7.9$ Hz, her ikisi için).

^1H - ve ^{13}C -NMR spektrum ve değerlendirmelerinden (Tablo-20, 21) , LS-F3 ve LS-F4 bileşiklerinin aynı açıl ve aglikon kısımlarına sahip oldukları anlaşılmaktadır. ^1H -NMR spektrumlarında 2x ABX sistemi şeklinde altışar aromatik proton sinyali göze çarpmaktadır. Bunlardan düşük alanda bulunanlar (LS-F3 için 7.06-6.78 ppm, LS-F4 için 7.05-6.77 ppm) açıl grubunun aromatik kısmından ileri gelir. Yine düşük alanda AB sistemi şeklinde gözlenen olefinik sinyallerin (α' ve β' sırasıyla, LS-F3 için δ 6.32 ve δ 7.58, LS-F4 için δ 6.27 ve δ 7.59) kenetlenme sabiti değerlerinden ($J_{AB} = 16$ Hz), asidin *trans* pozisyonunda olduğu anlaşılmaktadır. Bulgular literatürde (13, 47, 51) kayıtlı diğer fenilpropanoit heterozitleri ile karşılaştırılınca, her iki bileşiğin de *trans*-kafeik asit taşıdığı görülmüştür. ^1H -NMR spektrumlarında glukoz H-4' sinyalleri solvan pikinin altında kaldıkları halde, ^{13}C -NMRspektrumlarında glukoz C-5' sinyalinde meydana gelen ~ -2 ppmlik gölgelenme, açılasyonun glukozun C-4' pozisyonu üzerinden gerçekleştiğini ispatlamaktadır.

LS-F3 ve LS-F4'ün ^1H -NMR spektrumlarında kafeik asit sinyallerine oranla biraz daha yüksek alanda gözlenen ikinci ABX sistem sinyalleri ise aglikona aittir (LS-F3 için 6.7-6.57 ppm, LS-F4 için 6.69-6.57 ppm arasında). ^1H ve ^{13}C -NMR spektrumlarından aglikonun yan zincirindeki α ve β karbon atomları üzerinde bir sübstitüsyon bulunmadığı görülmektedir. Tüm bulgular literatürde aglikon olarak 3, 4-dihidroksifeniletanol taşıyan fenilpropanoit heterozitleri (18, 51, 129) ile uygunluk göstermektedir. 3, 4-dihidroksifenil etanol ile karşılaştırıldığında (66, 149) α -C karbon atomlarında gözlenen $\sim +6$ ppm düşük alana kayma (δ 72.2 ve δ 72.3 sırasıyla), aglikonun glukozla bağlantı konumunu da açıklamaktadır.

LS-F3' ün ^1H -NMR spektrumunda (Spektrum-18), merkezi oz olan glukozun ano-

merik proton sinyalinin hemen yanında (δ 4. 54) görülen dublet, ikinci ozun anomerik protonuna aittir. Bu protonun kimyasal kayma ve yarıma sabiti değerinden ($J=7.8$ Hz) bu oz ünitesinin de β -D- glukoz olduğu görülmüş, ^{13}C -NMR spektrumu da (δ 10 5.7, d) bunu doğrulamıştır. Son olarak bileşiğin asetat türevinin (LS-F3-Ac) FAB-kütle spektrumu alınmıştır (Spektrum-21). Spektrumda m/z 331 de gözlenen ve 2,3,4,6, - tetra- O-asetil-glukoz oksonyum iyonuna ait olan sinyal, ikinci ozun glukoz olduğunu kanıtlamıştır. LS-F3'ün ^{13}C -NMR spektrumunda glukoz C-3' sinyalinin + 6 ppm düşük alanda gözlenmesi de, ozidik bağlanmanın bu konumdan gerçekleştiğini ifade etmektedir.

Tüm bu bulgular değerlendirildiğinde LS-F3'ün, 3,4-dihidroksi- β -feniletoksi O- β -D-glukopiranozil (1 \rightarrow 3)-4-O-kafeoil- β -D-glukopiranozit yapısındaki plantamajozit (=purpureazit A) olduğu görülmüştür (161, 136).

^1H -NMR spektrumundan, LS-F4'ün ikinci oz ünitesinin α -L-ramnoz olduğu kolayca anlaşılmaktadır (δ 5.18, d, H-1" ($J=1.66$ Hz) ve δ 1.09, d (C-6' CH_3) sinyalleri). Bileşiğin ^{13}C -NMR spektrumunda (Spektrum-23) sırasıyla δ 103.1 (d) ve δ 18.5 (q) civarında gözlenen sinyaller bunu kesinleştirmektedir. Aynı spektrumda glukozun C-3' sinyalinin \sim +3 ppm düşük alana kaydığı görülmektedir ki bu da, ramnoz ünitesinin glukoz bu pozisyondan bağlandığının kanıtıdır.

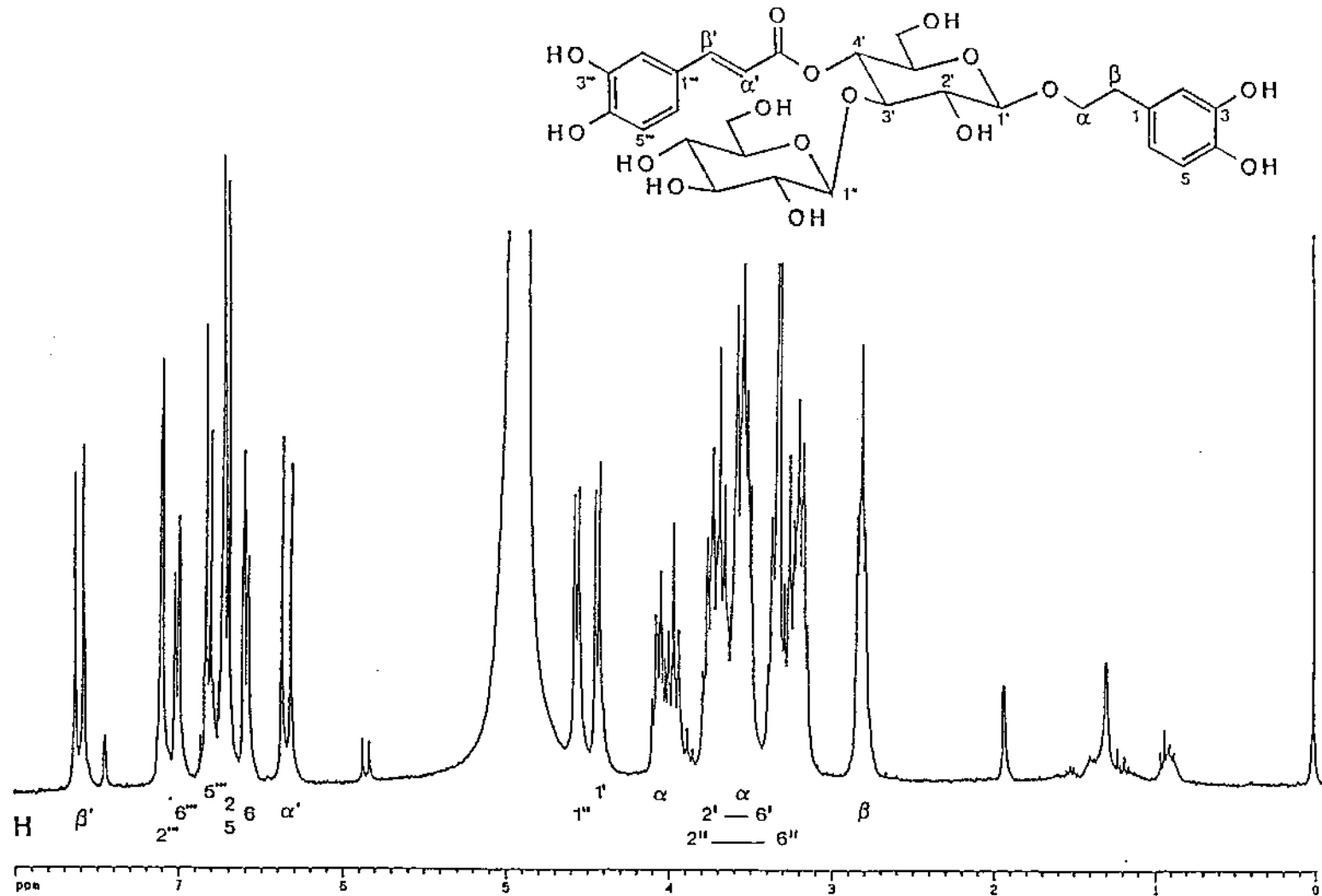
Bulgular, literatürde (13, 51) kayıtlı değerler ile karşılaştırıldığında LS-F4'ün, Scrophulariaceae familyasında çok yaygın olarak bulunan ve 3,4-dihidroksi- β -feniletoksi-O- α -L-ramnopiranozil- (1 \rightarrow 3) -4-O-kafeoil- β -D- glukopiranozit yapısına sahip verbaskozit (akteozit) olduğu anlaşılmıştır.

H-Atom		LS-F3		LS-F4	
		δ (ppm)	J (Hz)	δ (ppm)	J (Hz)
Aglikon	2	6.70 d	(2)	6.69 d	(2)
	5	6.67 d	(8)	6.67 d	(8)
	6	6.57 dd	(8/2)	6.57 dd	(8/2)
	α	4.06 m		4.06 m	
		3.7-3.4m		3.7 m	
Glukoz	β	2.8 m		2.8 m	
	1'	4.42 d	(7.9)	4.37 d	(7.9)
	2'-5'	} 3.98-3.12		} 3.83-3.37	
	6'a				
	6'b				
Glukoz(terminal)					
1"	4.54 d	(7.8)			
2"-5"	} 3.98-3.12				
6"a					
6"b					
Ramnoz	1"			5.18 d	(1.66)
	2"			3.92 m	(1.66/3.3)
	3"			3.48-3.64	
	4"			3.27 m	(9.52)
	5"			3.48-3.64	
	6"			1.09 d	(6,2)
Kafeoil	2'''	7.06 d	(1.7)	7.05 d	(2)
	5'''	6.78 d	(8.2)	6.77 d	(8.2)
	6'''	6.98 dd	(8.2/1.7)	6.96 dd	(8.2/2)
	α'	6.32 d	(15.9)	6.27 d	(15.9)
	β'	7.58 d	(15.9)	7.59 d	(15.9)

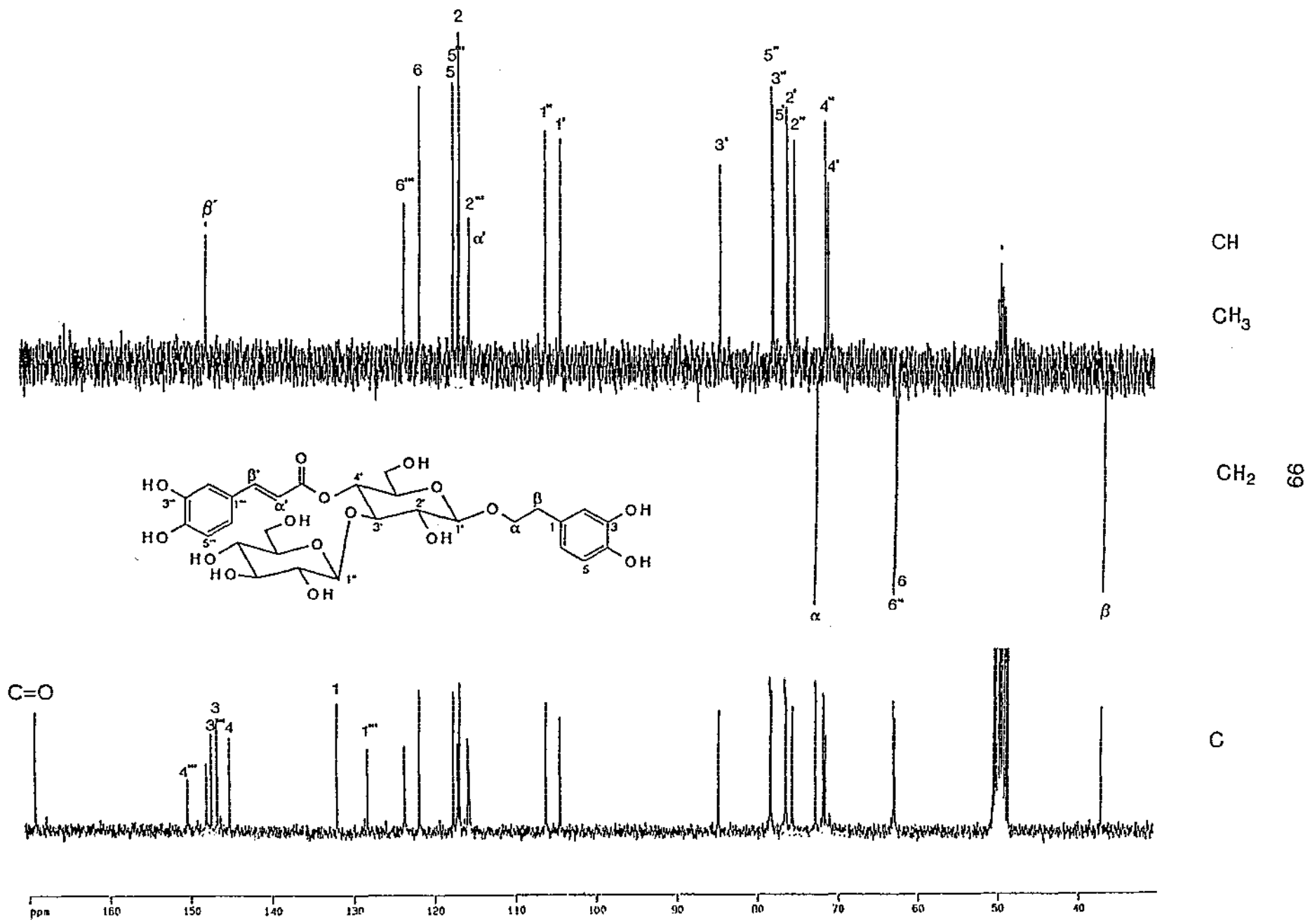
Tablo- 20. Plantamajozit (LS-F3) ve Verbaskozit (LS-F4) Bileşiklerinin $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 300 MHz) Spektral Değerleri

C-Atom	LS-F3 δ (ppm)	LS-F4 δ (ppm)	
Aglikon	1	131.4 s	131.5 s
	2	116.3 d	117.2 d
	3	146.1 s	146.1 s
	4	144.6 s	144.6 s
	5	117.1 d	116.6 d
	6	121.3 d	121.3 d
	α	72.2 t	72.3d
	β	36.5t	36.6 t
Glukoz	1'	104.0 d	104.3 d
	2'	75.8 d	76.3 d
	3'	84.0 d	81.7 d
	4'	70.8 d	70.5 d
	5'	76.0 d	76.1 d
	6'	62.3 t	62.4 t
Glukoz (terminal)	1"	105.7 d	
	2"	75.0 d	
	3"	77.6 d	
	4"	71.2 d	
	5"	77.8 d	
	6"	62.4 t	
Ramnoz	1"		103.1 d
	2"		72.1 d
	3"		72.3 d
	4"		73.9 d
	5"		70.7 d
	6"		18.5 q
Kafeoil	1 ^{'''}	127.7 s	127.6 s
	2 ^{'''}	115.3 d	114.7 d
	3 ^{'''}	146.8 s	146.9 s
	4 ^{'''}	149.8 s	149.9 s
	5 ^{'''}	116.8 d	116.4 d
	6 ^{'''}	123.1 d	123.3 d
	α'	115.0 d	115.2 d
	β'	147.2 d	148.0 d
	C=O	168.5 s	168.3 s

Tablo- 21. Plantamajozit (LS-F3) ve Verbaskozit (LS-F4) Bileşiklerinin $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 75 MHz) Spektral Değerleri

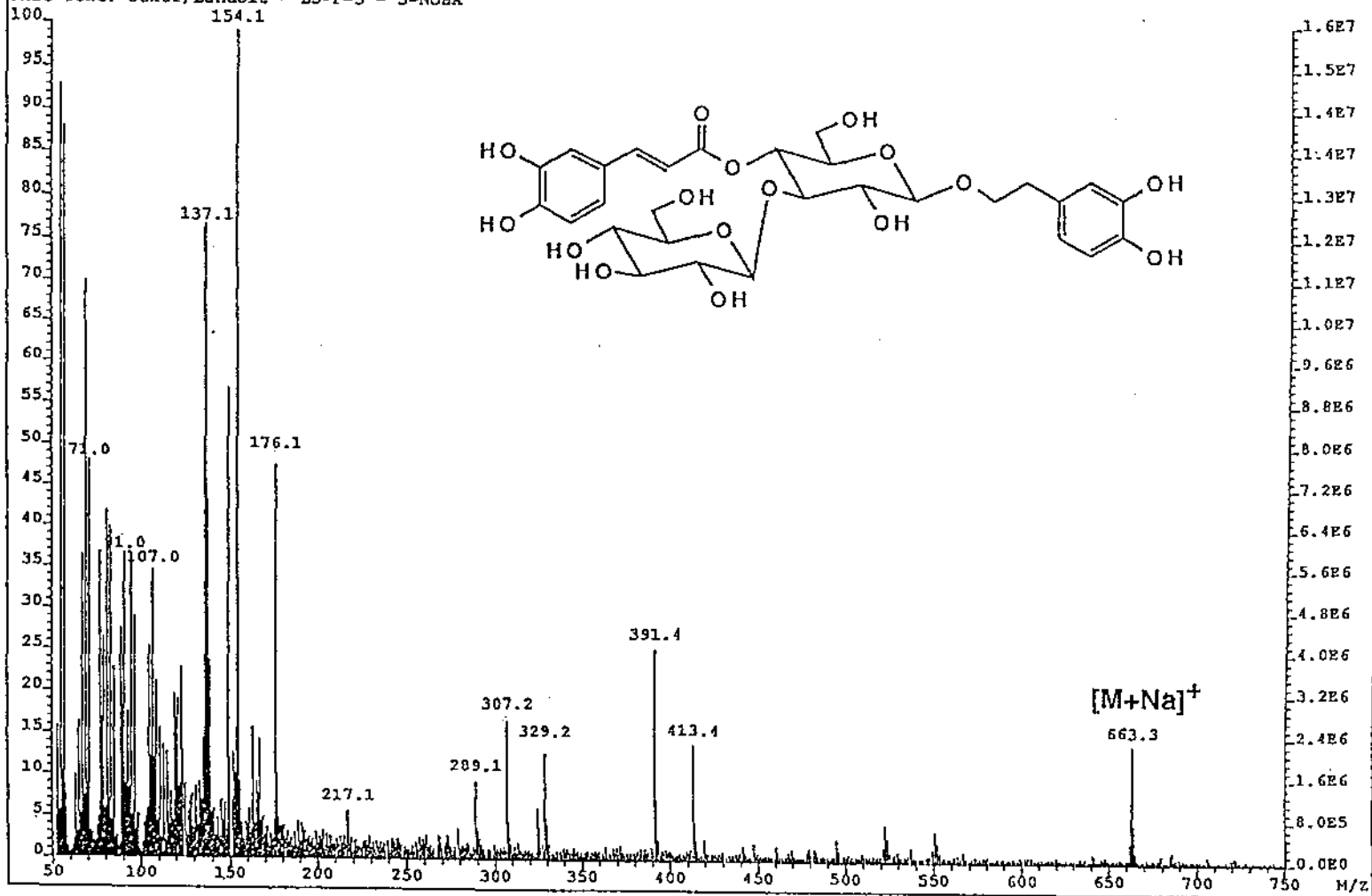


Spektrum-18. Plantamajozit (LS-F3) in $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 300 MHz) Spektrumu



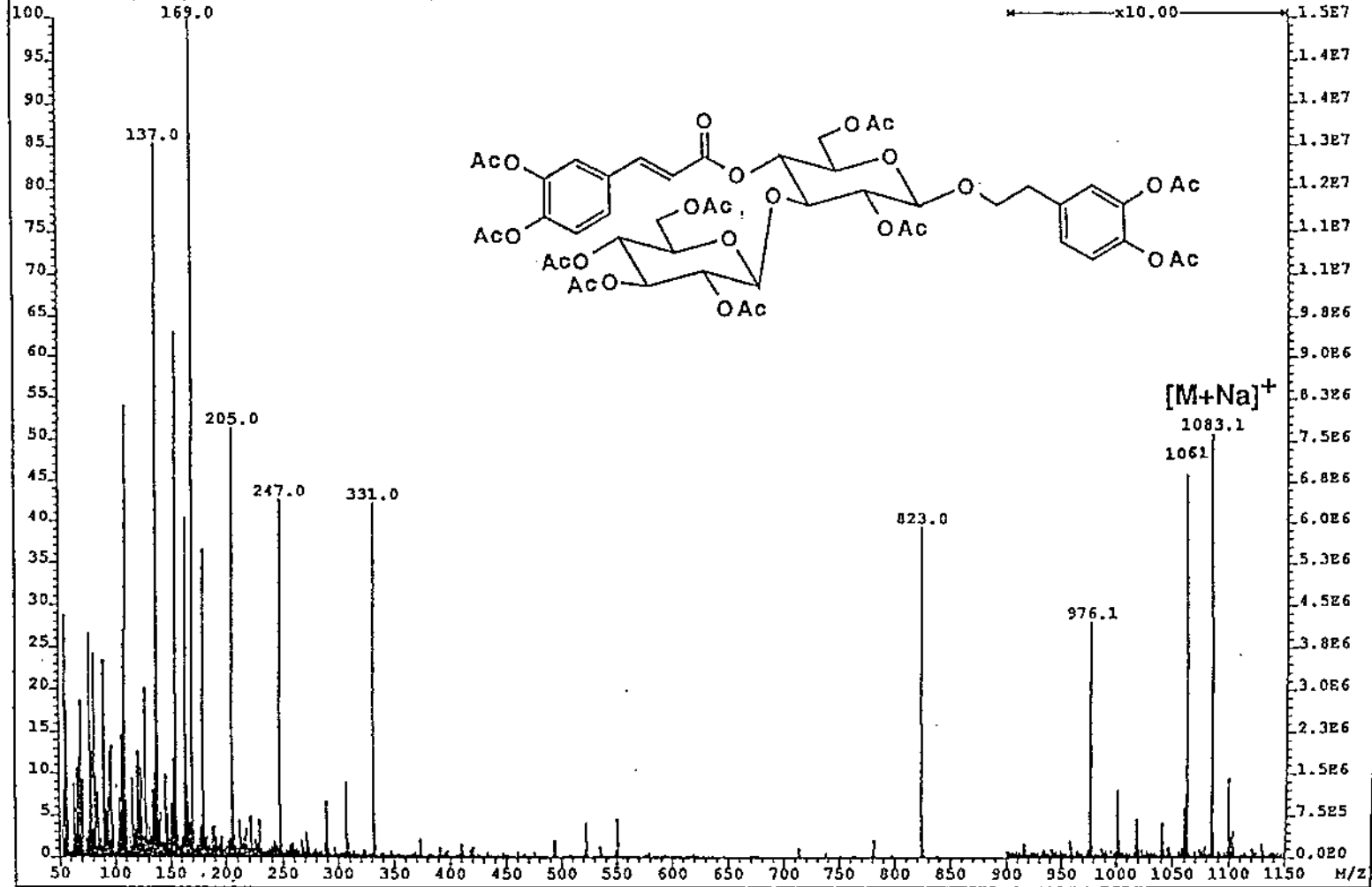
Spektrum-19. Plantamajozit (LS-F3) in ^{13}C -NMR (CD_3OD , 75 MHz) Spektrumu

File: FAB3876 Ident: 7 11 Mer Def 0.25 Acquired: 13-MAR-90 15:46:18
ZAB-SEQ Ionization: FAB+ Function: Magnet
File Text: Jeker/Landolt - LS-P-3 - 3-NOBA

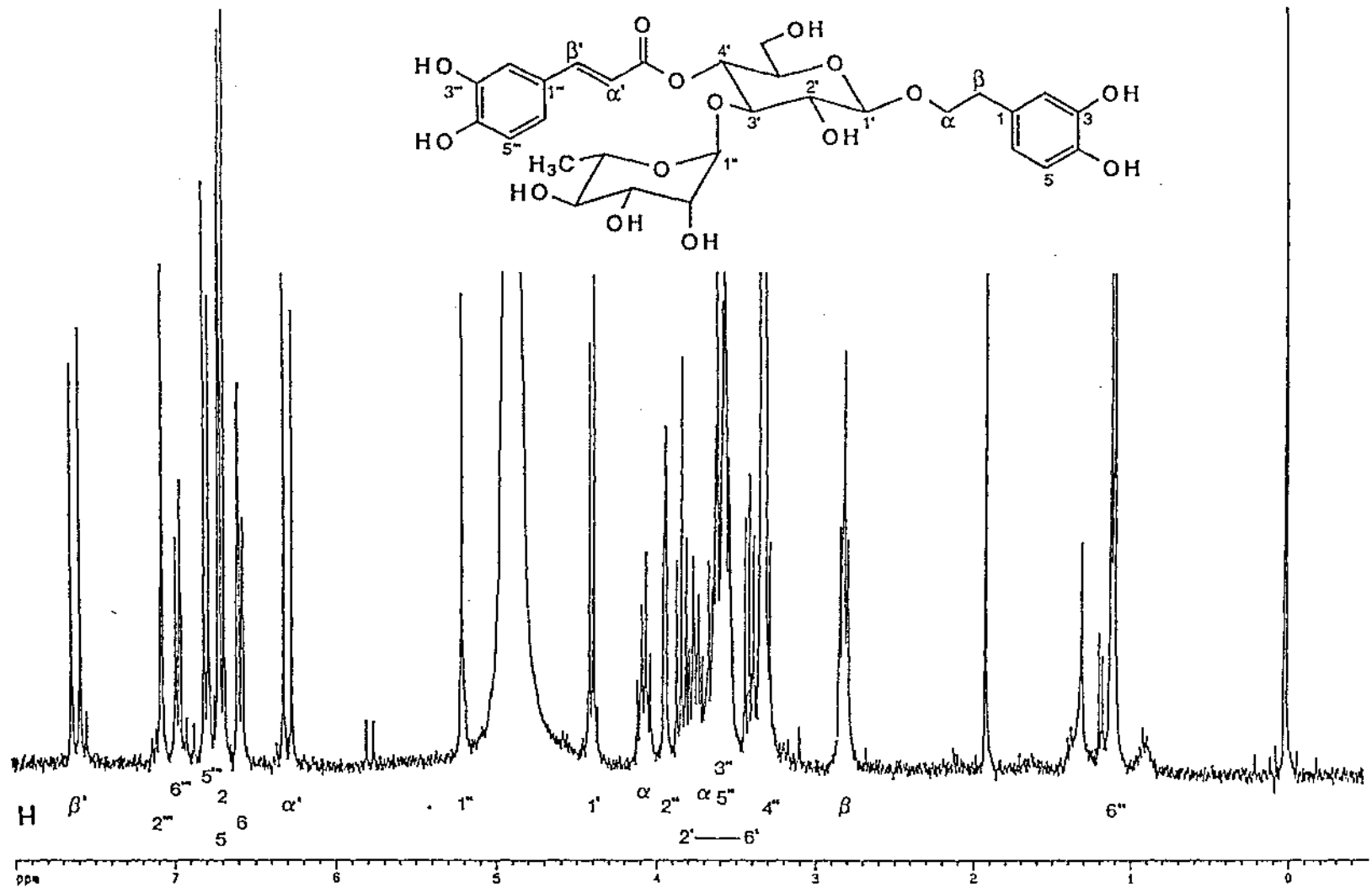


Spektrum-20. Plantamajozit (LS-F3)'in Pozitif İyon FAB-Kütle Spektrumu

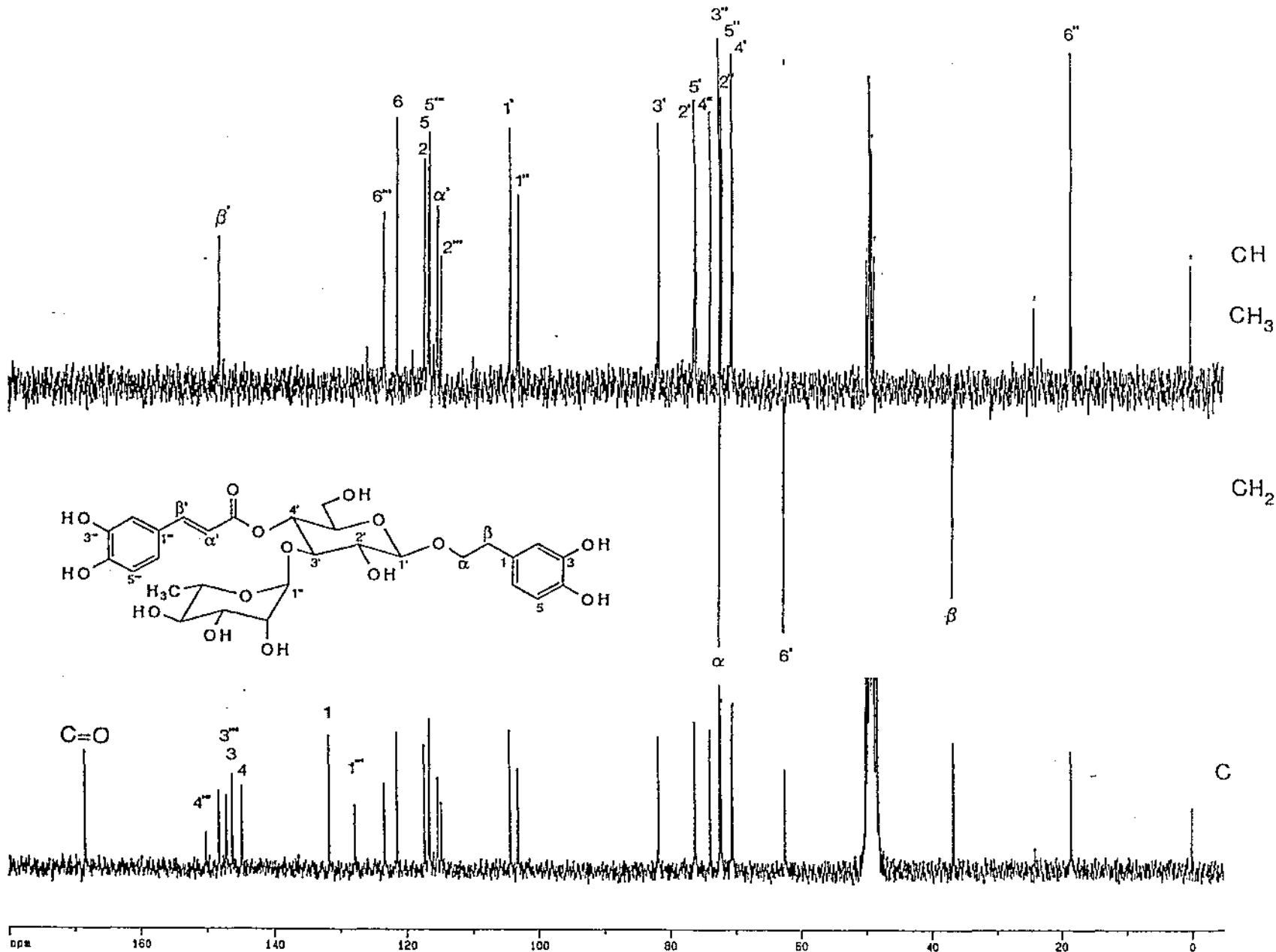
File: FAB3922 Ident: 3 6 Max Def 0.25 Acquired: 23-MAR-90 11:39:32
 ZAB-SEQ Ionization: FAB+ Function: Magnet
 File Text: Callis/Sticher - LS-P-3-Ac - 3-NOBA



Spektrum-21. Plantamajozit dekaasetat (LS-F3-Ac)'in Pozitif İyon FAB-Küttele Spektrumu



Spektrum-22. Verbaskozit (LS-F4) in ¹H-NMR (CD₃OD, 300 MHz) Spektrumu



Spektrum-23. Verbaskozit (LS-F4) in ^{13}C -NMR (CD_3OD , 75 MHz) Spektrumu

C- KUKURBITASIN HETEROZİTİ (LS-K1)

Arvenin I (LS-K1) (C₃₈ H₅₆ O₁₃, M.A. 720, 86)

UV λ^{MeOH} (nm) : 229.6
maks.

IR (%0,5 KBr) (cm⁻¹) : 3350 (OH), 1720 (C=O, Asetil)
1690 (C=O, keton), 1630 (C=C)

¹H-NMR (CD₃ OD, 300 MHz) : Tablo-22, Spektrum-24

¹³C-NMR (CD₃ OD, 75 MHz) : Tablo-23, Spektrum-25

FAB-Kütle Sp. (NOBA) m/z : Spektrum-26

743.5 [M + Na]⁺

683.4 [(M+Na)-CH₃ COOH]⁺

Arvenin I (LS-K1)

IR spektrumunda görülen hidroksil, asetil karbonili, keton ve çifte bağa ait absorpsiyon bantlarından, LS-K1'in polifonksiyonel bir yapıya sahip olduğu anlaşılmaktadır. ^{13}C -NMR spektrumu ise (Spektrum-25), bileşiğin 30 karbon atomlu triterpenik bir aglikon ile bir heksoz taşıdığını göstermektedir. ^1H -NMR spektrumunda (Spektrum-24) 0.88-1.57 ppm arasında görülen sekiz tersiyer metil ve 5, 81 ppm de bir allilik protona ait sinyaller ile 4.55 ppm de gözlenen tipik triplet (t), aglikonun temel kukurbitasin iskeletine sahip olduğunu belirtmektedir. Ayrıca 6.82 ve 7.0 ppm de AB sistemi (J_{AB} : 15.7 Hz) şeklinde gözlenen sinyaller, yan zincirde trans pozisyonda α,β -doymamış bir çifte bağ varlığını göstermektedir. Bu bulgu, LS-K1'in UV spektrumu ile de doğrulanmaktadır ($\lambda_{\text{maks.}}$ 229.6 nm). Düşük alanda gözlenen sinyal ise, halka içi bir çifte bağa ait olmalıdır (δ 5.81, H-6). δ 4.55'de gözlenen sinyal de, LS-K1'in C-16'da bir hidroksil grubu taşıdığını ifade etmektedir.

^{13}C -NMR spektrumunda 200 ppm'in üzerinde gözlenen üç sinyal (hepsi "s", δ 205.4, 213.8 ve 215.8), yapıda üç keton fonksiyonunun varlığına işaretler. Kukurbitasin yapısındaki aglikona ait sinyaller elimine edildiğinde geriye kalan sinyallerden, yapıda bir molekül glukoz bulunduğu anlaşılmaktadır. ^1H -NMR spektrumunda, uzun anomerik protonuna ait sinyalin kimyasal kayma ve kenetlenme sabiti değeri, (d,δ 4.33 $J=7.6$ Hz), glukozun β -konfigürasyonunda bulunduğunu belirtmektedir. Glukozun, aglikona C-2 pozisyonundaki hidroksil grubu üzerinden bağlandığı, C-2 sinyalinde gözlenen +6-+8 ppm'lik kayma (glikozidasyon etkisi) ile anlaşılmaktadır. Diğer taraftan, H-2 sinyalinin düşük alana kayması (δ 4.92), hem ozidik bağın konumunu kesinleştirmekte, hem de C-3'te bir karbonil grubunun varlığını göstermektedir. Bu durumda, kalan iki karbonil grubu da C-11 ve C-22'de olmalıdır. Bu bulgular, literatürde kayıtlı değerler ile karşılaştırıldığında (36, 185, 187), LS-K1'in A halkasında diosfenol grubu taşımayan bir kukurbitasin heteroziti olduğu anlaşılmaktadır.

^1H -NMR spektrumunda, 2.01 ppm de görülen sinyal, bir asetil grubunun varlığına işaretler. Asetil grubunun konumu, ^{13}C -NMR spektrumunda C-24, 25, 26 ve 27 sinyallerinin kimyasal kayma değerlerinden bulunmuştur. C-25 (OH) grubu serbest olan bileşiklere ait değerlerle karşılaştırıldığında (187, 191), C-26 ve 27 metil sinyallerinde yaklaşık -2 ve -3 ppm, C-24 sinyalinde ise yaklaşık -3 ppm yüksek alana doğru bir kayma gözlenmiştir (asetillenmeye bağlı β -etki). C-25 sinyalinde gözlenen +9 ppm değerinde bir kayma ise, asetil grubunun C-25 (OH) üzerinden olduğunu doğrulamaktadır (asetillenmeye bağlı α -etki). FAB-kütle spektrumunda (Spektrum-26) gözlenen m/z 683.4 $[\text{M}+\text{Na}-60]^+$ iyonu, molekülden, bir mol. asetik asit grubunun kaybını göstermektedir ki bu, yan zincirde (C-25) asetil grubu taşıyan kukurbitasinler için karakteristiktir (16).

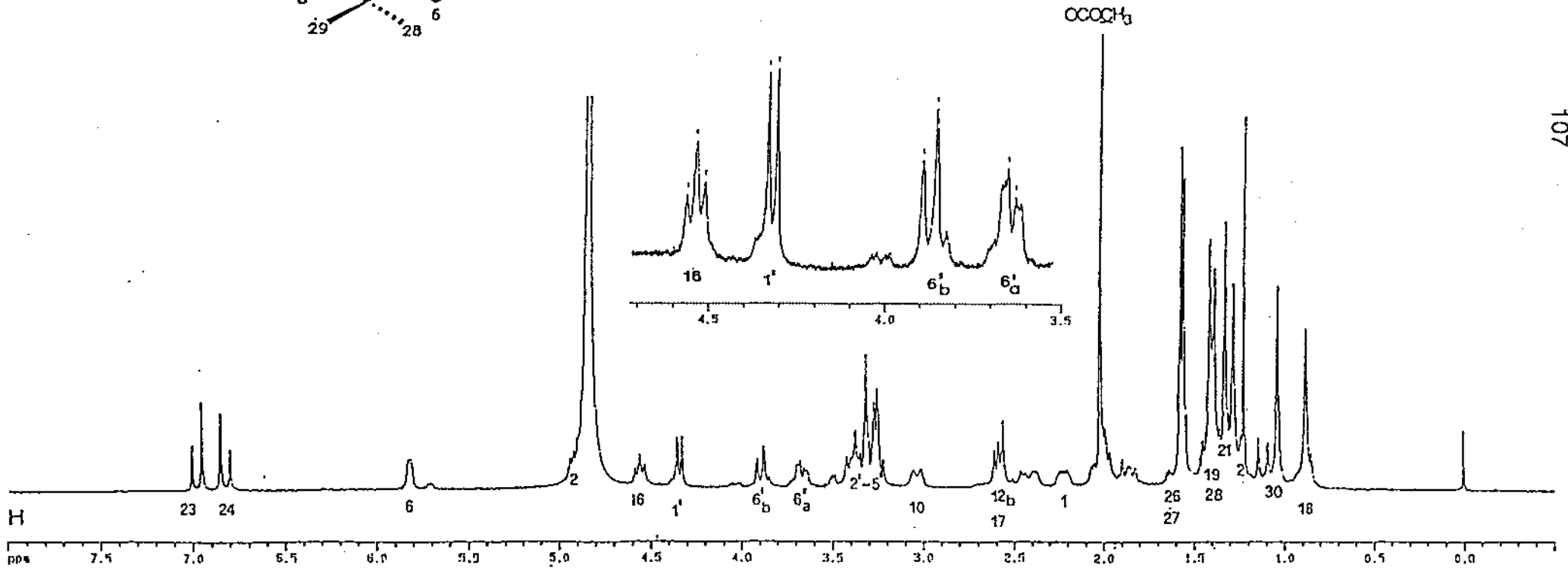
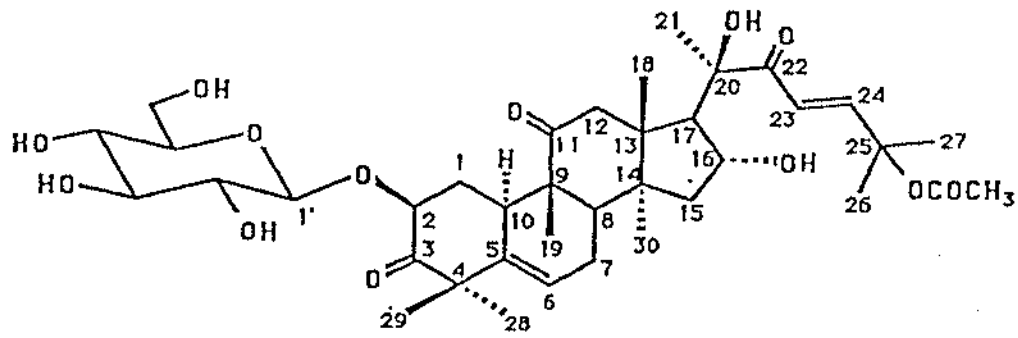
Bu bulgulara dayanarak, LS-K1 bileşiğinin arvenin I (=2-O- β -D-glukopiranozil kukurbitasin B) olduğu anlaşılmıştır (187, 198, 199).

H-Atom		δ (ppm)	J(Hz)
Aglikon -	2	4.92 dd	(5.7/13)
	6	5.81 g.d	(5)
	10	3.03 g.d	(12.8)
	16	4.55 t	(7.5)
	18-CH ₃	0.85 t	
	19-CH ₃	1.40 s	
	21-CH ₃	1.32 s	
	23	7.00 d	AB (15.7)
	24	6.82 d	
	26-CH ₃	1.57 s	
	27-CH ₃	1.55 s	
	28-CH ₃	1.38 s	
	29-CH ₃	1.27 s	
	30-CH ₃	1.03 s	
	OCOCH ₃	2.01 s	
Glukoz -	1'	4.33 d	(7.6)
	2'-5'	3.42-3.31	
	6'a	3.66 dd	(12/5)
	6'b	3.89 dd	(12/2)

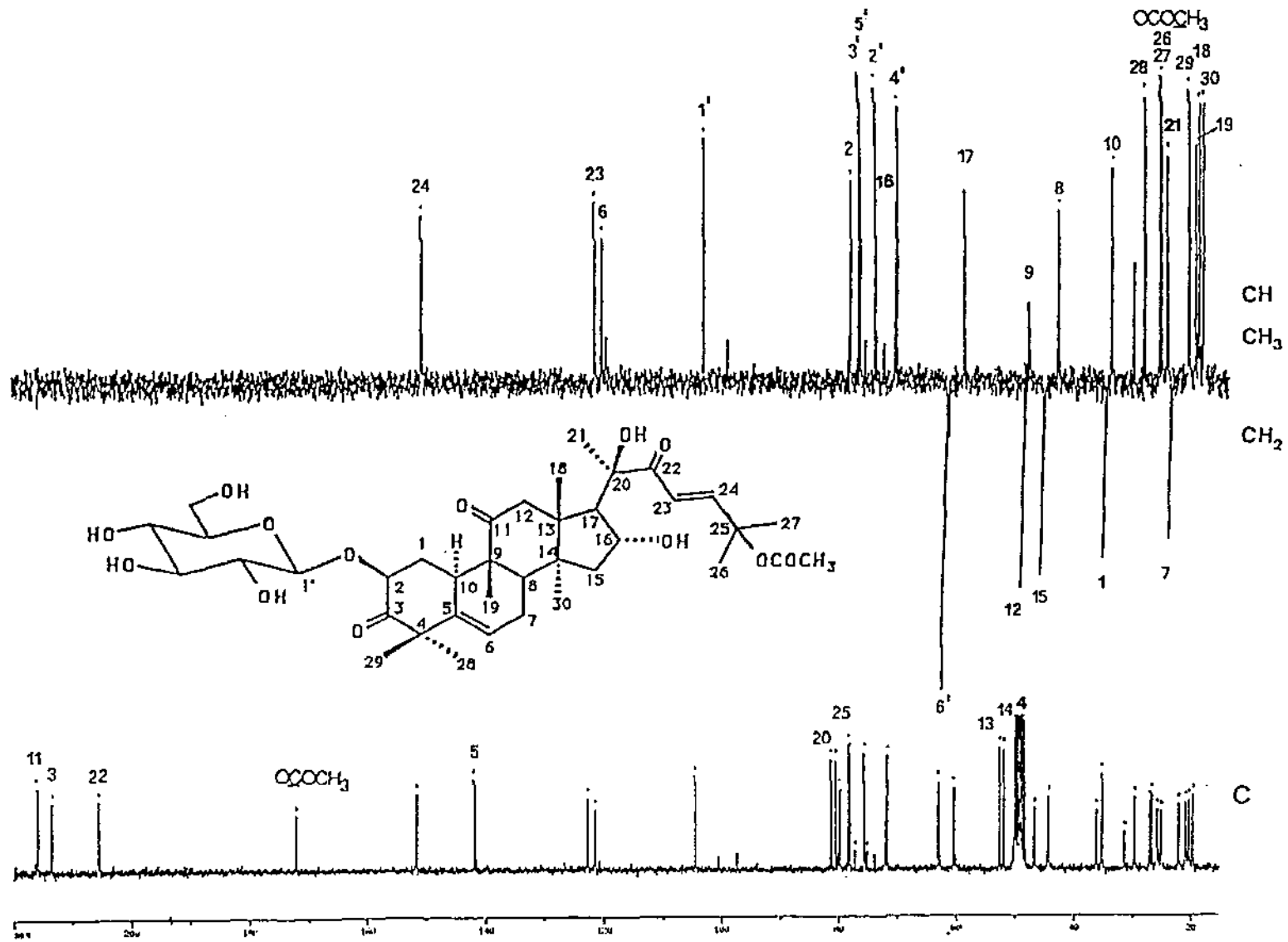
Tablo- 22. Arvenin I (LS-K1)'in ¹H-NMR (CD₃OD,300 MHz) Spektral Değerleri

C Atom	δ (ppm)	C Atom	δ (ppm)
Aglikon			
1	35.9 t	20	81.1 s
2	79.6 d	21 - CH ₃	25.5 q
3	213.8 s	22	205.4 s
4	49.01s	23	122.6 d
5	141.6 s	24	151.5 d
6	121.4 d	25	80.3 s
7	24.8 t	26 - CH ₃	26.5 q
8	44.1 d	27 - CH ₃	26.8 q
9	49.6 d	28 - CH ₃	29.4 q
10	35.0 d	29 - CH ₃	21.8 q
11	215.8 s	30 - CH ₃	19.4 q
12	49.7 t	OCOCH ₃	171.3 s
13	52.4 s	OCOCH ₃	21.9 q
14	51.7 s		
15	46.5 t	Glukoz	
16	71.8 d	1'	104.3 d
17	60.2 d	2'	75.4 d
18 - CH ₃	20.1 q	3'	78.2 d
19 - CH ₃	20.7 q	4'	71.5 d
		5'	77.9 d
		6'	62.9 t

Tablo-23. Arvenin I (LS-K1)'in ¹³C NMR (CD₃OD, 75 MHz) Spektral Değerleri

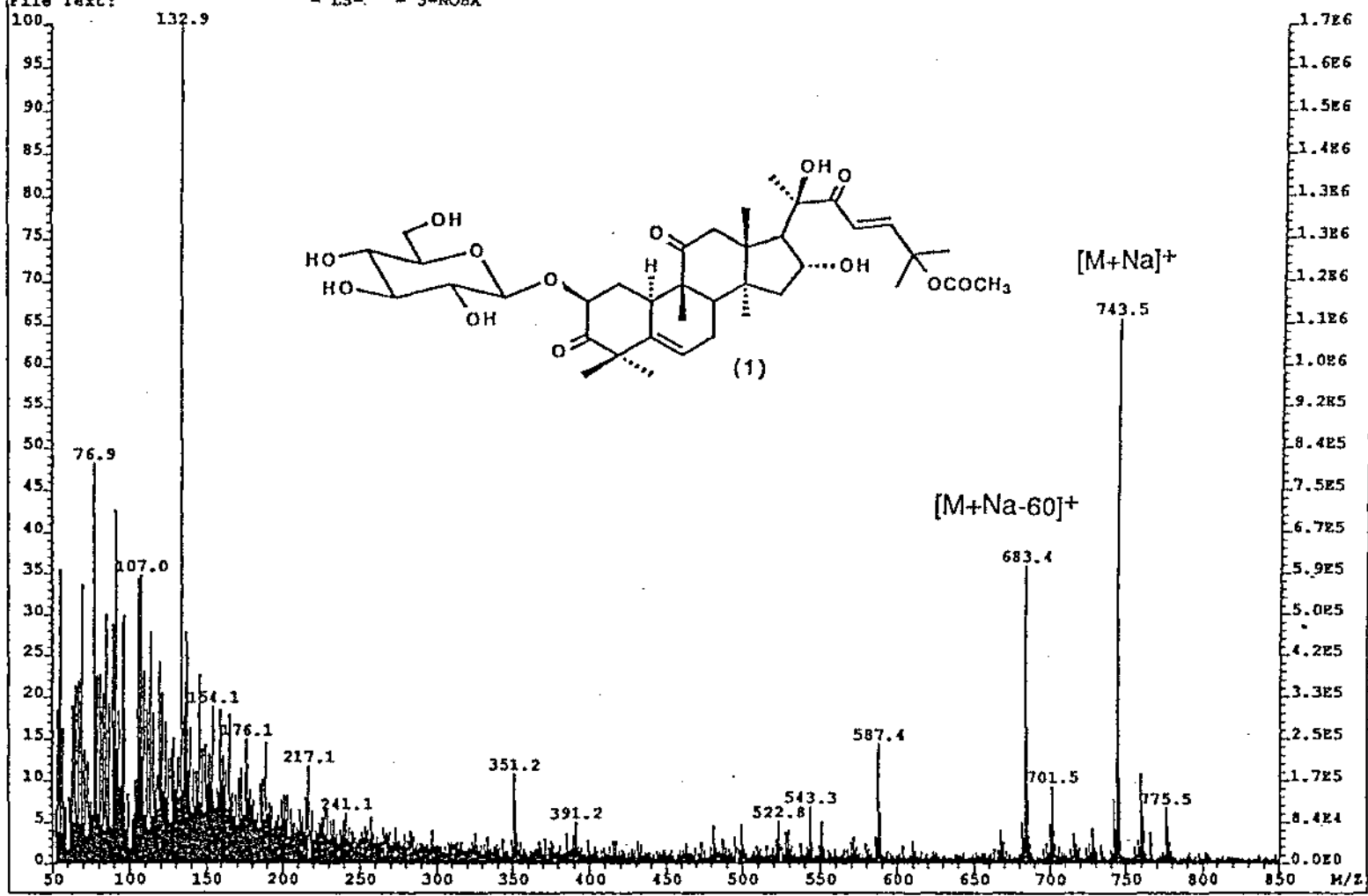


Spektrum-24. Arvenin I (LS-K1) in ¹H-NMR (CD₃OD, 300 MHz) Spektrumu



Spektrum-25. Arvenin I (LS-K1) in ¹³C-NMR (CD₃OD, 75 MHz) Spektrumu

File: FAB4995 Ident: 2_3 Mar Def 0.25 Acquired: 2-APR-91 12:55:53 +0:28
 ZAB-SEQ FAB+ Function: Magnet BpM:133 BpI:1671446 TIC:60542676
 File Text: - LS- - 3-NOBA



Spektrum-26. Arvenin I (LS-K1)'in Pozitif İyon FAB-Kütle Spektrumu

SONUÇ VE TARTIŞMA

Bu çalışmada, *Lagotis* cinsinin Türkiye'de tek türü olarak temsil edilen *Lagotis stolonifera* (C.KOCH) MAXİM. bitkisinin çiçekli toprak üstü kısımları, taşıdığı iridoit, fenilpropanoit ve kukurbitasin heterozitleri yönünden araştırılmıştır.

Lagotis cinsinin önceleri Selaginaceae familyasında yer aldığı ancak Scrophulariaceae'de incelenmesinin daha doğal olduğu belirtildiğinden (59), kısaca bitki sistematığıne de değinilmiş ve değişik sınıflamalar tartışılmıştır.

Lagotis stolonifera bitkisinin gölgede kurutulmuş herbası toz edildikten sonra, 40°C'de 2 kez metanol ile ekstre edilmiştir. Metanollü ekstrenin suda çözünen kısmı, lipoid bileşiklerinden kurtarıldıktan sonra, fenolik ve fenolik olmayan bileşikleri ayırmak amacıyla poliamit kolona uygulanmıştır. Araştırmamızda, poliamit kolondan su ve % 25- 75 MeOH: su karışımları ile elüe edilen fraksiyonlar çalışılmıştır. Su elüsyonu ile elde edilen fraksiyonlardan (Fr. A) dört iridoit heteroziti (LS-İ1→ LS-İ4) ile bir kukurbitasin heteroziti (LS-K1), metanollü fraksiyonlardan (Fr. B,C ve D) ise dört fenilpropanoit heteroziti izole edilmiştir (Şema-5). Bu bileşiklerin ön temizleme ve ayırımlarında klasik açık kolon kromatografisi yöntemleri (silika jel, poliamit) kullanılmış, ancak tümünün izolasyonu KF- OBSK (karşıt faz-orta basınçlı sıvı kromatografisi) ile, artan oranlarda metanol içeren sulu karışımlar kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu yöntemde kullanılan dolgu materyali Sepralyte C-18 dir.

Elde edilen bileşiklerin yapı tayinlerinde, spektroskopik yöntemler (UV, IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, FAB-kütle spekt.) yanında, kimyasal yöntemlerden de yararlanılmıştır.

İzole edilen iridoitlerin UV ve IR spektral değerlerinden, LS-İ1 ve LS-İ2'nin yapılarında aromatik asit taşıyan ester iridoitler olduğu, ancak LS-İ3 ve LS-İ4 için böyle bir sübstitüsyonun söz konusu olmadığı anlaşılmaktadır. ¹H-NMR spektrumlarından bileşiklerin dördünün de oz olarak D-glukoz taşıdığı ve anomerik protonun kimyasal kayma ve kenetlenme sabiti değerinden, glukozun β-formunda olduğu görülmektedir. Kromatografik kontroller ve ¹H-NMR spektrumlarının yorumlanması sonucu, LS-İ3'ün katalpol (2), LS-İ4'ün ise okubin (3) yapısında olduğu anlaşılmıştır.

LS-İ1 ve LS-İ2 bileşiklerinin ¹H-NMR spektrumları incelendiğinde, açıl sübstitüsyonu dışında, sırasıyla LS-İ3 (katalpol) ve LS-İ4'e (okubin) çok benzedikleri görülür. Nitekim bu maddeler, alkali hidroliz sonucu sinamik asit yanında sırasıyla katalpol ve okubin vermişlerdir. ¹H ve ¹³C-NMR spektral bulguları literatürde kayıtlı değerler ile karşılaştırıldığında, LS-İ1'in katalpol'un, LS-İ2'nin ise okubin'in 10- O-trans-sinamoil türevleri olan, sırasıyla globularin (=skutellariozit-I) (34, 74, 194) ve litantosalin (=izoskrofulariozit) (33, 100) oldukları görülmüştür.

Bu çalışmada izole edilen iridoitlerden okubin ve katalpol, Scrophulariaceae familyasındaki pek çok türden elde edilmiş yaygın bileşiklerdir (65, 130,156). Diğer iki ester iridoit yani litantosalin ve globularin'e ise *Globularia* türlerinde (Globulariaceae) sıkça rastlanmaktadır. Ancak başka familya bitkilerinden de bu bileşikler izole edilmişlerdir.

Litantosalin ilk kez *Lythanthus salicinus* (= *Globularia salicina*) bitkisinden izole edilmiştir (76). Litantosalin'in sinnamoilokubin yapısında olduğu bilindiği halde yapısı ancak 1980'li yıllarda, *Globularia nana*'dan elde edilmesiyle tamamen aydınlatılmıştır(33). Aynı zamanlarda yapılan bir başka çalışmada, bir Scrophulariaceae bitkisi olan *Penstemon eriantherus*'dan izole edilerek tanımlanan izo-skrofulariozid (100), litantosalin ile aynı maddedir.

Litantosalin'den daha önce bilinmekte olan globularin ise *Globularia salicina* (76), *G. nana* (33) ve *G. alypum* (34) yanında, Labiatae familyasındaki bir bitkiden, *Scutellaria altissima*'dan da elde edilmiş ve skutellariozid- I olarak adlandırılmıştır (194).

Poliamit kolondan su elüsyonu ile kazanılan fraksiyonlardan elüe edilen diğer bir bileşik de LS-K1'dir. IR spektral değerleri bileşiğin polifonksiyonel yapısına işaret etmiş, ¹H- ve ¹³C-NMR bulguları da LS-K1'in bir kukurbitasin monoheteroziti olduğunu göstermiştir. Anomerik protonunun kimyasal kayma (δ 4.33, d) ve kenetlenme sabiti değerleri ($J= 7,6$ Hz), bu uzun β -D-glukoz olduğunu ispatlamaktadır. LS-K1 bileşiğinin FAB-kütle spektrumunda gözlenen $[M-60]^+$ iyonu, molekülün yan zincirinde bir asetil fonksiyonu taşıdığı belirtmiş, ¹³C-NMR spektral değerleri de asetilasyonun C-25 (OH) üzerinden olduğunu göstermiştir. Bu bulgulara dayanarak, LS-K1 bileşiğinin arvenin I (=2-O- β -D- glukopiranozil kukurbitasin B) olduğu anlaşılmıştır (187, 198, 199).

Kukurbitasinler genel olarak Cucurbitaceae familyası bitkilerinde rastlanan tetrasiklik triterpen yapısında bileşiklerdir. Ayrıca Cruciferae (42) Primulaceae (198), Elaeocarpaceae (73), Sterculiaceae (22), Polemoniaceae (14), Begoniaceae (63), Rubiaceae familyalarında da (163), bulunmuşlardır. Scrophulariaceae familyasındaki bitkilerden, *Gratiola* (143) ve *Picrorhiza* (185) türlerinde de bu bileşiklere rastlanmıştır. İlk kez *Ecballium elatterium* (Cucurbitaceae) (173) bitkisinden elde edilen 2-O- β -D-glukopiranozil kukurbitasin B, daha sonra *Anagallis arvensis* (Primulaceae) (198, 199) bitkisinden izole edilmiş ve arvenin I olarak isimlendirilmiştir. Bu bileşiğe Scrophulariaceae familyasından *Picrorhiza kurrooa* bitkisinde de rastlanmıştır (187). *Lagotis* türlerinde varlığı ilk kez rapor edilmektedir.

Poliamit kolondan metanol: su karışımları ile elüe edilen fraksiyonların (Fr.B,C ve

D) ise fenilpropanoit heterozitlerince zengin olduğu görülmüş ve bu fraksiyonlardan, ikisi triozidik (LS-F1 ve LS-F2), ikisi biozidik (LS-F3 ve LS-F4) olmak üzere dört fenilpropanoit heteroziti izole edilmiştir.

LS-F3 ve LS-F4 bileşiklerinin ^1H - ve ^{13}C -NMR spektrumları karşılaştırıldığında, her iki bileşiğin de açıl kısmında kafeik asit, aglikon kısmında ise 3, 4- dihidroksifeniletanol grubu taşıdıkları, bileşiklerin arasındaki farkın oz kısmından ileri geldiği anlaşılmıştır. Her iki bileşik de biozidik yapıdadır. Bu sonuca bileşiklerin ^1H -NMR spektrumlarında görülen ikişer anomerik proton (LS-F3 için δ 4.42, d, (J=7.9Hz) ve δ 4.54, d, (J= 7.8Hz) LS-F4 için δ 4.37, d (J=7.9Hz) ve δ 5.18, d, (J= 1.66)) sinyallerinden varılmış, ^{13}C -NMR bulguları da bunu desteklemiştir. Bu sonuçlar, ikinci ozun LS-F3'de β -D-glukoz, LS-F4'de ise α -L-ramnoz olduğunu göstermiştir. Bu bulgulara göre LS-F3'ün plantamajozit (=purpureazit A) (161, 136), LS-F4'ün ise verbaskozit (=akteozit) (13, 47, 51) olduğu saptanmıştır.

Triozidik fenilpropanoit heterozitlerinden LS-F1'in ^1H - ve ^{13}C -NMR spektral değerleri, bileşiğin LS-F3 ve LS-F4 ile aynı aglikon ve açıl kısmına sahip olduğunu, oz kısmında ise verbaskozit gibi bir glukoz (merkezi oz olarak) ve ramnoz molekülü yanında bir de pentoz taşıdığını göstermiştir. Bu bulgular, literatürde üçüncü oz olarak arabinoz taşıyan ehrenozit (129) ile uyum göstermektedir.

LS-F2 bileşiğinin ^1H - ve ^{13}C -NMR spektrumları incelendiğinde, ilave iki aromatik metoksil sinyali dışında (δ (H) 3.89 ve 3.82, δ (C) 56.5 ve 56.6) tamamen LS-F1'e (ehrenozit) benzediği görülmüştür. Açıl ve aglikon gruplarına ait sinyallerin kimyasal kayma değerleri, literatürde açıl kısmında ferulik asit, aglikon kısmında ise 3-hidroksi, 4-metoksifenil etanol taşıyan bileşiklerle uyum içindedir ki bu, LS-F2'nin metoksil gruplarından birini açıl, diğerini de aglikon üzerinde taşıdığı anlamına gelmektedir. Bu yüzden bileşiğin, ehrenozitin dimetil türevi olabileceği düşünülmüştür. Nitekim bileşik asetillendiğinde, -ehrenozit undekaasetatın (129) aksine- 2'si aromatik, 7' si alifatik olmak üzere toplam 9 asetil sinyali gözlenmiştir. LS-F2'nin oz sinyalleri de ehrenozit'e çok benzemektedir. ^1H -NMR spektrumunda gözlenen 3 anomerik proton sinyali (δ 4.55, J=7.8 Hz, β -D glukoz H-1, δ 4.52, J= 6.7 Hz, α -L arabinoz H-1, δ 5.18, J= 1.5 Hz, α -L-ramnoz H-1) yanında bileşiğin nonaasetat türevinin FAB-kütle spektrumunda gözlenen m/z 273 (2,3,4- tri -O-asetil ramnoz oksonyum iyonu) ve m/z 259 (2,3,4-tri- O-asetil arabinoz oksonyum iyonu) sinyalleri ramnoz ve arabinozun -ehrenozit'te olduğu gibi- terminal olduklarını göstermiştir. Merkezi oz olan glukozun 2 ve 3 numaralı proton sinyallerinde asetilasyon ile belirgin bir düşük alana kayma gözlenemediğinden oz substitüsyonlarının bu pozisyonlardan olduğu anlaşılmıştır.

Terminal ozların glukozu bu konumların hangisinden bağlandığının belirlenmesi

için hem LS-F1 (ehrenozit), hem de LS-F2 önce diazometan ile kısmen metillenmiştir. Bunu takiben yapılan alkali hidroliz ile her iki bileşik de aynı ürünü (DLM) vermişlerdir. Bu da her iki bileşiğin oz zincirlerinin aynı olduğu düşüncesini desteklemiştir.

Bu bulgumuzu kesinleştirmek için DLM bileşiğinin 2D-NOESY spektrumu alınmıştır. Ramnozun anomeric protonunun glukoz C-3'(H) ile, arabinozun anomeric protonunun ise glukoz C-2' (H) ile NOE (Nuclear Overhauser Effect) gösterdiği anlaşılmıştır.

Bu bulgular ışığında LS-F2'nin 2-(3-hidroksi-4-metoksifenil) etil-O-[α -L- arabino-piranozil-(1 \rightarrow 2)]-O-[α -L-ramnopiranozil- (1 \rightarrow 3)]- 4-O-feruloil- β -D-glukopiranozil yapısında olduğu saptanmıştır. İlk kez elde edilen bu bileşik, ehrenozitin dimetil türevidir ve bitkinin cins ismi göz önüne alınarak, lagotozit olarak isimlendirilmiştir.

Fenilpropanoit heterozitlerinden verbaskozit (=akteozit) Scrophulariaceae familyasında çok yaygındır. Plantamajozit ise değişik adlar altında Plantaginaceae ve Scrophulariaceae bitkilerinden rapor edilmiştir. İlk kez *Rehmannia glutinosa* (Scrophulariaceae) kallus kültüründen izole edilen ancak isimlendirilmeyen bu bileşik (179) daha sonra *Digitalis purpurea* bitkisinden izole edilmiş ve purpureazit A olarak adlandırılmıştır (16). Yine *Plantago* türleri üzerinde yapılan bir kemotaksonomik çalışmada elde edilen plantamozit (7) ile *P. major subsp. major*'dan elde edilen plantamajozit (158), aynı bileşiklerdir.

Ehrenozit ise bugüne dek sadece *Veronica bellidoides* (Scrophulariaceae) bitkisinden izole edilmiştir. *Lagotis stolonifera*'dan izolasyonu ile ikinci kez rapor edilmiştir. Ehrenozit'in dimetil türevi olan lagotozit'in de aynı familyada bulunan *Lagotis stolonifera* bitkisinden izole edilmesi kemotaksonomik açıdan önemlidir.

Litantosalin ve globularin genel olarak Globulariaceae iridoitleri olarak düşünülebilir çünkü Globulariaceae familyasında bulunan ester iridoitlerin çoğu açıl grubunu C-10 (OH) üzerinden taşımaktadırlar (33). Buna rağmen başka familyalarda da (Scrophulariaceae, Labiatae) bu bileşiklere rastlanması, sadece Globulariaceae'ye özgü bileşikler olmadıklarını göstermektedir.

Okubin ve katalpol'un sinamik asit türevleri açısından Scrophulariaceae familyası da zengindir. Okubin esterlerinde açılasyon genelde glukoz molekülünün C-6' (OH) grubu üzerinden teşkil etmiştir. Örneğin; *Scrophularia laterifolia*'dan izole edilen skrofulariozit'in (183) litantosalin'den tek farkı budur. Katalpol'un sinamoil (türevi) esterlerinde ise açılasyon ya yine yukarıdaki pozisyondadır (örneğin; pikrozit-I (117)) yada aglikonun C-6 (OH) grubu üzerinden meydana gelmiştir (*Picrorhiza kurroa* ve *Veronica* türlerinden elde edilen 6-O-trans-feruloil katalpol (186, 29) veya yine *Veronica*

türlerinden elde edilen verminozit (130) gibi).

Taşıdığı iridoitler nedeniyle kemotaksonomik açıdan *Globularia* türleri (Globulariaceae) yanında *Scrophularia* ve *Picrorhiza* türlerine (Scrophulariaceae) de benzeyen *Lagotis stolonifera* bitkisi, ester iridoitleri açısından *Veronica* türleri ile farklılık gösterir (çünkü *Veronica* türleri genelde ester grubunu aglikonun 6 numaralı pozisyonunda taşır), ancak basit iridoit heterozitleri (okubin, katalpol) ve fenilpropanoit heterozitleri yönünden bu türle de benzerlik göstermektedir. Kukurbitasin içermesi açısından ise *Lagotis* cinsi *Picrorhiza* cinsi ile yakındır. Araştırmamız sırasında izole edilen tüm fenilpropanoit heterozitleri de Scrophulariaceae bileşikleri olarak kabul edilebilir.

Bu nedenlerle *Lagotis stolonifera* üzerinde yaptığımız bu çalışmaya dayanarak *Lagotis* cinsinin Scrophulariaceae familyasına hatta kimi iridoit kemotaksonomi çalışmalarında olduğu gibi *Picrorhiza* ve *Veronica* cinsleri ile beraber Veroniceae tribüsüne dahil edilmesi kemotaksonomik açıdan yanlış olmayacaktır.

ÖZET

Lagotis cinsi Türkiye bitki örtüsünde tek tür ile temsil edilmektedir. Bu cins esasen Selaginaceae familyasında yer alır ancak Scrophulariaceae'de daha doğal bir pozisyonadadır. *Lagotis stolonifera* üzerinde yapılmış herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu çalışmada, *Lagotis stolonifera* bitkisinin taşıdığı iridoit, fenilpropanoit ve kukurbitasin heterozitlerinin izolasyon ve yapı tayinleri araştırılmıştır.

Bitkinin açık havada kurutulmuş toprak üstü kısımları metanolle ekstre edilmiş, metanolü ekstrenin suda çözünen kısmı poliamit kolona uygulanmıştır. Fraksiyonlar kolon kromatografisi veya karşıt faz-orta basınçlı sıvı kromatografisi (KF-OBSK) yöntemi ile (artan oranlarda metanol: su karışımlarıyla) saflaştırılmıştır. İzole edilen bileşiklerin yapısı UV, IR, ^1H - ve ^{13}C -NMR ve FAB-kütle spektrometrisi gibi spektral yöntemlerle aydınlatılmıştır.

Poliamid kolondan su ile elüe edilen fraksiyonlardan dört iridoit heteroziti; katalpol (LS-I3), okubin (LS-I4) ve bunların 10-O-*trans*-sinnamoil türevleri olan sırasıyla globularin (=skutellariozit-I) (LS-I1) ve litantosalin (=izo-skrofulariozit) (LS-I2) ile bir kukurbitasin heteroziti, arvenin I elde edilmiştir.

%25, %50 ve %75 MeOH ile elüe edilen fraksiyonlardan ise ehrenozit (LS-F1), plantamajozit (=purpureazit A) (LS-F3), verbaskozit (=akteozit) (LS-F4) ve yeni bir fenilpropanoit heteroziti olan lagotozit (LS-F2) izole edilmiştir.

LS-F2 bileşiğinin ^1H - ve ^{13}C -NMR spektral bulguları tamamen ehrenozite benzer, ancak en büyük farklılık LS-F2 bileşiğinde iki aromatik MeO sinyalinin bulunmasıdır. Bileşiğin nonaasetat türevinin FAB-kütle spektrumunda gözlenen m/z 273 (2,3,4-tri-O-asetilramnoz oksonyum) ve m/z 259 (2,3,4-tri-O-asetil arabinoz oksonyum iyonu) parçalanma iyonları, ramnoz ve arabinozun terminal ozlar olduğunu göstermiştir. Bu bileşiklerin merkezi oz üzerindeki konumlarının belirlenmesi için LS-F1 (ehrenozit) ve LS-F2 diazometan ile kısmen metillenmiş, daha sonra alkali hidrolize tabi tutulmuşlardır. Bu işlem sonunda her iki bileşik de aynı ürünü (DLM =deaçil ehrenozit dimeetil eter =deaçil lagotozit metil eter) vermiştir. Oz zincirinin kesin tayini, bu bileşik üzerinde yapılan 2D-NOESY analizleri ile mümkün olmuştur.

Buna göre LS-F2 bileşiğinin yapısı 2- (3-hidroksi-4-metoksifenil) etil-O-[α -L-arabinopiranozil -(1 \rightarrow 2)] -O-[α -L-ramnopiranozil- (1 \rightarrow 3)]- 4-O-feruloil- β -D-glukopiranozit olarak aydınlatılmış ve bileşik lagotozit olarak isimlendirilmiştir.

SUMMARY

The genus *Lagotis* is represented with only one species in the flora of Turkey. It was originally placed in the Selaginaceae but has a more natural position in the Scrophulariaceae. No report could be found on *Lagotis stolonifera*.

In this study, the isolation and structure elucidations of the iridoid, phenylpropanoid and cucurbitacin glycosides obtained from *Lagotis stolonifera* are investigated.

The water soluble part of the MeOH extract of the air-dried aerial parts of the plant was fractionated using polyamide column from which the fractions were purified by column chromatography and Reversed Phase-Medium Pressure Liquid Chromatography (RP-MPLC) using a gradient of methanol in water. The structures of the isolated compounds were established by spectral methods (UV, IR, ^1H - and ^{13}C -NMR and FAB-MS).

The fractions eluted with water from polyamide column, yielded catalpol (LS-I3), aucubin (LS-I4) and their 10-O-*trans*-sinnamoil derivatives; globularin (=scutellarioside-I) (LS-I1) and lythanthosalin (=iso-scrophularioside) (LS-I2) respectively and a cucurbitacin glycoside, arvenin I.

From the fractions eluted with 25, 50, 75 % MeOH, ehrenoside (LS-F1), plantamajoside (=purpureaside A) (LS-F3), verbascoside (=acteoside) (LS-F4) and a new phenylpropanoid glycoside; lagotoside (LS-F2) were isolated.

The ^1H -NMR and ^{13}C -NMR data for LS-F2 were extremely similar to that of ehrenoside, the major differences being the presence of resonances for two aromatic MeO groups in LS-F2.

The FAB-MS of the nonaacetate derivative of LS-F2 exhibited fragment ions at m/z 273 (2,3,4- tri-O-acetylramnose oxonium ion) and m/z 259 (2,3,4- tri-O-acetyl-arabinose oxonium ion) indicated rhamnose and arabinose to be the terminal sugars. In order to confirm the location of this sugars, LS-F1 (ehrenoside) and LS-F2 were methylated with diazomethane followed by alkaline hydrolysis yielded the same product (DLM= deacyl ehrenoside bis (methyl ether)= deacyl lagotoside methyl ether). Confirmation of the sugar sequence within DLM was possible from the results of 2D-NOESY measurements.

The structure of LS-F2 has thus been established as 2-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl) ethyl -O- [α -L-arabinopyranosyl- (1 \rightarrow 2)] -O-[α -L-rhamnopyranosyl- (1 \rightarrow 3)]-4-O-feruloyl- β -D-glucopyranoside and named as lagotoside.

LİTERATÜR

- 1- Ahmad, M., The Chemical Constituent of *Buddleja davidii* and *Syringa vulgaris*, Doktora Tezi, ETH No. 7903, Zürich (1985).
- 2- Akdemir, Z., Çalış, İ., Iridoid and Phenylpropanoid Glycosides from *Pedicularis pontica* Boiss., Doğa, T.J. of Pharmacy, **1**, 67 (1991).
- 3- Akdemir, Z., Çalış, İ., Junior, P., Iridoid and Phenylpropanoid Glycosides from *Pedicularis condensata*, Phytochemistry, **30**, 2401 (1991).
- 4- Akdemir, Z., Çalış, İ., Junior, P., Iridoid and Phenylpropanoid Glycosides from *Pedicularis nordmanniana*, Planta Med., 1991(Baskıda).
- 5- Amiot, M.-J., Fleuriet, A., Macheix, J.-J., Importance and Evolution of Phenolic Compounds in Olive during Growth and Maturation, J. Agric. Food Chem., **34**, 823 (1986).
- 6- Andary, C., Biosynthetic Capacity of *Stachys* Seedling for Verbascoside and Related Caffeoyl Derivatives, Z. Naturforsch., **41c**, 18 (1986).
- 7- Andary, C., Motte-Florac, M. E., Gargadennec, A., Wylde, R., Heitz, A., Les Esters Caféiques du Genre *Plantago*. Identification et Valeur Chimiotaxinomique, Plantes Médecin. Phytother., **XXII**, 17 (1988).
- 8- Andary, C., Privat, G., Pheliposide et Arenarioside, Deux Nouveaux Esters Heterosidiques de L'acide Caféique Isoles de *Orobanche arenaria*, J. Nat. Prod., **48**, 778 (1985).
- 9- Andary, C., Privat, G., Chevallet, P., Orzalesi, H., Serrano, J.J., Boucard, M., Etude Chimique et Pharmacodynamique D'esters Heterosidiques de L'acide Caféique, Isoles D'*Orobanche rapum-genistae*, Il Farmaco, **35**, 3 (1980).
- 10- Andary, C., Rascol, J. P., Puech, S., Roussel, J.L., Privat, G., Les Esters de L'acide Caféique dans la Chimiotaxinomie des *Teucrium* de la section *polium* (Lamiaceae), Canad. J. Bot., **66**, 1007 (1988).
- 11- Andary, C., Ravn, H., Wylde, R., Heitz, A., Motte-Florac, E., Crassifolioside, A Caffeic Acid Glycoside Ester from *Plantago crassifolia*, Phytochemistry, **28**, 288 (1988).
- 12- Andary, C., Wylde, R., Heitz, A., Rascol, J. P., Roussel, J.L., Laffite, C., Poliumoside, A Caffeic Glycoside Ester from *Teucrium belion*, Phytochemistry, **24**, 362 (1985).
- 13- Andary, C., Wylde, R., Laffite, C., Privat, G., Winternitz, F., Structures of Verbascoside and Orobanchoside. Caffeic Acid Sugar Esters from *Orobanche rapum-genistae*, Phytochemistry, **21**, 1123 (1982).

- 14- Arisawa, M., Pezzuto, J.M., Kinghorn, A.D., Cordell, G.A., Farnsworth, N.R., Plant Anticancer Agents XXX: Cucurbitacins from *Ipomopsis aggregata* (Polemoniaceae), *J. Pharm. Sci.*, 73, 411 (1984).
- 15- Arslanian, R.L., Anderson, T., Stermitz, F. R., Iridoid Glucosides of *Penstemon ambiguus*, *J. Nat. Prod.*, 53, 1485(1990) .
- 16- Audier, H.E., Das, B.C., Mass Spectrometry of Tetracyclic Triterpenes, Part I- The Cucurbitacin Group, *Tetrahedron Lett.*, 20, 2205 (1966).
- 17- Auxiliadora, M., Kaplan, C., Gottlieb, O.R., Iridoids as Systematic Markers in Dicotyledons, *Biochem. Syst. and Ecol.*, 10, 329 (1982).
- 18- Başaran, A. A., Çalış, İ., Anklin, C., Nishibe, S., Sticher, O., Lavandulifolioside: A New Phenylpropanoid Glycoside from *Stachys lavandulifolia*, *Helv. Chim. Acta*, 71, 1483 (1988).
- 19- Başaran, A. A., Saraçoğlu, İ., Ruedi, P., Sticher, O., Çalış, İ., *Phlomis linearis* Boiss. et Bal. (Lamiaceae) Üzerinde Fitokimyasal Araştırmalar, 8. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Silivri, 19-21 Mayıs 1989.
- 20- Baudouin, G., Skaltsovnis, A.-L., Tillequin, F., Koch, M., Lugrandoside: A New Phenylpropanoid Glycoside from Various *Digitalis* Species, *Planta Med.*, 54, 321 (1988).
- 21- Bauer, B., Foster, S. Analysis of Alkamides and Caffeic Acid Derivatives from *Echinacea simulata* and *E. paradoxa* Roots, *Planta Med.*, 57, 447 (1991).
- 22- Bean, M.F., Antoun, M., Abramson, D., Chang, C.- J., Mclaughlin, J.L., Cassady, J.M., Cucurbitacin B and Isocucurbitacin B. Cytotoxic Components of *Helicteres isora*, *J. Nat. Prod.*, 48, 500 (1985).
- 23- Becker, H., Hsieh, W.C., Wylde, R., Laffite, C., Andary, C., Struktur von Echinacosid, *Z. Naturforsch.*, 37c, 351 (1982).
- 24- Beckey, H.D., Schulten, H.-R., Field Desorption Mass Spectrometry, *Angew. Chem.*, 14, 403 (1975)
- 25- Belofsky, G.N., Stermitz, F.R., 10-trans-cinnamoylmelittoside and other Iridoids from *Castilleja wightii*, *J. Nat. Prod.*, 50, 331(1987).
- 26- Benkrief, R., Skaltsounis, A.-L., Tillequin, F., Koch, M., Pusset, J., Iridoids and an Alkaloid from *Oxera morieri*, *Planta Med.*, 57, 79 (1991).
- 27- Birkofer, L., Kaiser, C., Thomas, U., Acteosid und Neoacteosid; Zuckerester aus *Syringa vulgaris* (L.), *Z. Naturforsch.*, 23b, 1051(1968).
- 28- Boros, C. A., Marshall, D.R., Caterino, C. R., Stermitz, F.R., Iridoid and Phenylpropanoid Glycosides from *Orthocarpus* spec. Alkaoid Content as a Consequence of Parasitism on *Lupinus*, *J. Nat. Prod.*, 54, 506(1991).
- 29- Boros, C.A., Stermitz, F.R., Iridoids an Updated Review. Part I, *J. Nat. Prod.*, 53, 1055 (1990).

- 30- Burger, J.F., Brandt, E.V., Ferreira, D., Iridoid and Phenolic Glycosides from *Harpagophytum procumbens*, *Phytochemistry*, 26, 1453 (1987).
- 31- Cano, E., Veiga, M., Jiménez, C., Riguera, R., Pharmacological Effects of Three Phenylpropanoid Glycosides from *Mussatia*, *Planta Med.*, 56, 24 (1990).
- 32- Chapple, C.C.S., Ellis, B.E., Preparative and Analytical Liquid Chromatography of Complex Caffeoyl Esters, *J. Chrom.*, 285, 171 (1983)
- 33- Chaudhuri, R.K., Salama, O., Sticher, O., Iridoid and Aryl Glucosides from *Globularia nudicaulis* and *Globularia nana*, *Helv. Chim. Acta*, 64, 2401(1981).
- 34- Chaudhuri, R.K., Sticher, O., New Iridoid Glucosides and a Lignan Diglucoside from *Globularia alypum* L., *Helv. Chim. Acta*, 64, 3 (1981).
- 35- Chaudhuri, R.K., Sticher, O., Structure of Globularidin: An Unusual Iridoid Glucoside from *Globularia alypum* L., *Helv. Chim. Acta*, 62, 644 (1979).
- 36- Che, C.-T., Fang, X., Phoebe, C.H., Kinghorn, Jr. A.D., Farnsworth, N.R., High Field ¹H-NMR Spectral Analysis of Some Cucurbitacins, *J. Nat. Prod.*, 48, 429 (1985).
- 37- Cheminat, A., Zawatzky, R., Becker, H., Broyillard, R., Caffeoyl Conjugates from *Echinacea* species: Structures and Biological Activity, *Phytochemistry*, 27, 2787 (1988).
- 38- Chen, Y., Zhang, H., Zhang, S., Yang, Q., Chemical Constituents of *Lagotis brachystachya* Maxim., *Gaodeng Xuexiao Huaxue Xuebao*, 10, 260 (1989). Ref: CA 111, 228960j (1989).
- 39- Cooper, R., Solomon, P.H., Kubo, I., Nakanishi, K., Myricoside, an African Armyworm Antifeedant: Separation by Droplet Counter-Current Chromatography, *J. Am. Chem. Soc.*, 102, 7953 (1980).
- 40- Cronquist, A., *The Evolution and Classification of Flowering Plants*, Houghton Mifflin Comp., Boston (1968).
- 41- Cronquist, A., *An Integrated System of Classification of Flowering Plants*, Columbia University Press, Newyork (1981).
- 42 -Curtis, P.J., Meade, P.M., Cucurbitacins from the Cruciferae, *Phytochemistry*, 10, 3081 (1971).
- 43- Çaliş, İ., Başaran, A.A., Saraçoğlu, İ., Iridoid and Phenylpropanoid Glycosides, from *Stachys macrantha*, *Phytochemistry* (1991) (Baskıda).
- 44- Çaliş, İ., Başaran, A.A., Saracoğlu, İ., Sticher, O., Rüedi, P., Phlinsosides A, B and C, Three Phenylpropanoid Glycosides from *Phlomis linearis*, *Phytochemistry*, 29, 1253 (1990).

- 45- Çalış, İ., Başaran, A.A., Saracoğlu, İ., Sticher, O., Rüedi, P., Phlinosides D and E, Phenylpropanoid Glycosides and Iridoids from *Phlomis linearis*, *Phytochemistry*, 30, 3073 (1991).
- 46- Çalış, İ., Ersöz, T., Taşdemir, D., Two New Phenylpropanoid Glycosides from *Leonurus glaucescens*, *Phytochemistry* (Baskıda).
- 47- Çalış, İ., Gross, G.-A., Sticher, O., Phenylpropanoid Glycosides Isolated from *Scrophularia scopolii*, *Phytochemistry*, 26, 2057 (1987).
- 48- Çalış, İ., Gross, G.-A., Sticher, O., Two Phenylpropanoid Glycosides from *Scrophularia scopolii*, *Phytochemistry*, 27, 1465 (1988).
- 49- Çalış, İ., Hosny, M., Khalifa, T., Rüedi, P., Phenylpropanoid Glycosides from *Marrubium alysson*, *Phytochemistry*, (Yayına hazırlanıyor).
- 50- Çalış, İ., Lahloub, M.F., Rogenmoser, E., Sticher, O., Isomartynoside, A Phenylpropanoid Glycoside from *Galeopsis pubescens*, *Phytochemistry*, 23, 2313 (1984).
- 51- Çalış, İ., Saraçoğlu, İ., Kitagawa, S., Nishibe, S., Phenylpropanoid Glycosides Isolated from *Rhynchosorys stricta* (Scrophulariaceae), *Doğa TU J. Med. and Pharm.*, 12, 234 (1988).
- 52- Çalış, İ., Saracoğlu, İ., Zor, M., Alaçam, R., Antimicrobial Activities of Some Phenylpropanoid Glycosides from *Scrophularia scopolii*, *TU J. Med. and Pharm.*, 12, 230 (1988).
- 53- Çalış, İ., Taşdemir, D., Arvenin I, *Lagotis stolonifera*'den Elde Edilen Bir Kukurbitasin Heteroziti, IX. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Eskişehir, 16-19 Mayıs 1991.
- 54- Çalış, İ., Taşdemir, D., Sticher, O., Lagotoside, A New Phenylpropanoid Glycoside from *Lagotis stolonifera*, *Bacans, Biology and Chemistry of Active Natural Substances, Bonn, 17-22 Temmuz 1990, Planta Med., Short Reports of Lectures and Poster Presentations*, 56, 574 (1990).
- 55- Çalış, İ., Taşdemir, D., Sticher, O., Wright, A.D., Lagotoside, A New Phenylpropanoid Glycoside from *Lagotis stolonifera*, *Helv. Chim. Acta*, 74, 1273 (1991).
- 56- Çalış, İ., Zor, M., Wright, A.D., Sticher, O., Triterpene Saponins from *Scrophularia ilwensis*, 39 th Annual Congress on Medicinal Plant Research, Saarbrücken, 3-7 Eylül 1991, *Planta Med., Abstracts of Short Lectures and Poster Presentations*, 68 (1991).
- 57- Datta, S.C., *A Handbook of Systematic Botany*, Asia Publishing House, Bombay (1970).
- 58- Davioud, E., Bailleul, F., Delaveau, P., Debray, M.M., Iridoid Glucosides and Phenylpropanoid Glycosides from *Deplanchea specioza*, *Planta Med.*, 55, 87 (1989).

- 59- Davis, P.H., Flora of Turkey and East Aegean Islands, cilt 6, University Press, Edinburg (1978).
- 60- Debrauwer, L., Maillard, C., Babadjamian, A., Vidal-Ollivier, E., Lager, M., Salmana, G., Afzal-Raffi, Z., Study in the Chemical Constituents of *Plantago cynops* L. and Antibacterial Evaluation of Verbascoside, Pharm. Acta Helv., 64, 183 (1989).
- 61- De Tommasi, N., De Simone, F., De Feo, V., Pizza, C., Phenylpropanoid Glycosides and Rosmarinic Acid from *Momordica balsamina*, Planta Med., 57, 201 (1991).
- 62- Dey, P.M., Harborne, J.B., Methods in Plant Biochemistry, Cilt 1, Plant Phenolics, Academic Press, Boston-London (1988).
- 63- Doskotch, R. W., Malik, M. Y., Beal, J.L., Cucurbitacin B, the Cytotoxic Principle of *Begonia tuberhybrida* var. *alba*, Lloydia, 32, 115 (1969).
- 64- Ellis, B.E., Production of Hydroxyphenylethanol Glycosides in Suspension Cultures of *Syringa vulgaris*, Phytochemistry, 22, 1941 (1983).
- 65- El-Naggar, L.J., Beal, J.L., Iridoids, A Review., J. Nat. Prod., 43, 649 (1980).
- 66- Endo, K., Hikino, H., Structures of Forsythoside C and D, Antibacterial Principles of *Forsythia suspensa* Fruits, Heterocycles, 19, 2033 (1982).
- 67- Endo, K., Hikino, H., Structures of Rengyol, Rengyoxide, and Rengyolone, New Cyclohexylethane Derivatives from *Forsythia suspensa* Fruits, Can. J. Chem., 62, 2011 (1984).
- 68- Endo, K., Takahashi, K., Constitutions of Forsythosides F and G, New Phenol Glycosides of *Forsythia viridissima* Stems, Heterocycles, 30, 291 (1991).
- 69- Endo, K., Takahashi, K., Abe, T., Hikono, H., Structure of Forsythoside A, An Antibacterial Principle of *Forsythia suspensa* leaves, Heterocycles, 16, 1311 (1981).
- 70- Endo, K., Takahashi, K., Abe, T., Hikino, H., Structure of Forsythoside B, An Antibacterial Principle of *Forsythia koreana* Stems, Heterocycles, 19, 261 (1982).
- 71- Engler, A., Syllabus der Pflanzenfamilien, Gebrüder Bornträger, Berlin (1964).
- 72- Ezer, N., Sakar, M.K., Rodriguez, B., De la Torre, M.C., Flavonoid Glycosides and a Phenylpropanoid Glycoside from *Sideritis perfoliata*, Int. J. Pharmacognosy (Baskıda).
- 73- Fang, X., Phoebe, C.H., Pezzuto, J.M., Fong, H.H.S., Farnsworth, N.R., Plant Anticancer Agents, XXXIV. Cucurbitacins from *Elaeocarpus dolichostylus*, J. Nat. Prod., 47, 988 (1984).

- 74- Faure, R., Babadjamian, A., Balansard, G., Elias, R., Maillard, C., Concerted Use of Two-Dimensional NMR Spectroscopy in the Complete Assignment of the ^{13}C and ^1H -NMR Spectra of Globularin, *Magn. Reson. Chem.*, 25, 327 (1987).
- 75- Fauvel, M.T., Gleye, J., Andary, C., Verbascoside, A Constituent of *Clerodendrum inerme*, *Planta Med.*, 55, 577 (1989).
- 76- Fikenscher, L.H., Hegnauer, R., Ruijgrok, H.W.L., Iridoide Pflanzenstoffe (Pseudoindikane) Als Systematische Merkmale, *Pharm. Weekblad.*, 104, 561 (1969).
- 77- Gering-Ward, B., Junior, P., Neue Inhaltstoffe aus *Penstemon digitalis*, *Planta Med.*, 55, 75 (1989).
- 78- Gross, G.-A., Lahloub, M.F., Anklin, C., Schulten., H.-R., Sticher, O., Teucroside, A Phenylpropanoid Glycoside from *Teucrium chamaedrys*, *Phytochemistry*, 27, 1459 (1988).
- 79- Hansel, R., Kallmann, S., Identitätsprüfung von Verbenae Herba: Verbascosid als Leitstoff, *Arch. Pharm. (Weinheim)*, 319, 227 (1986).
- 80- Harborne, J.B., Caffeic Acid Ester Distribution in Higher Plants, *Z. Naturforsch.*, 21b, 604 (1966).
- 81- Harborne, J.B., Corner, J.J., Hydroxycinnamic Acid-Sugar Derivatives, *Biochem. J.*, 81, 242 (1961).
- 82- Hasegawa, T., Fukuyama, Y., Yamada, T., Nakagawa, K., Isolation and Structure of Magnoloside A, a New Phenylpropanoid Glycoside from *Magnolia obovata* Thunb., *Chem. Lett.*, 163 (1988).
- 83- Hasegawa, T., Fukuyama, Y., Yamada, T., Nakagawa, K., Structures of Magnolosides B and C. Novel Phenylpropanoid Glycosides with Allopyranose as Core the Sugar Unit, *Chem. Pharm. Bull.*, 36, 1245 (1988).
- 84- He, Z.-D., Dezhu, W., Chongren, Y., Phenylpropanoid Glycosides from *Brandisia hancei*, *Acta Botanica Yunnanica*, 12, 139, (1990).
- 85- He, Z.-D., Yang, C.-R., Brandioside, A Phenylpropanoid Glycoside from *Brandisia hancei*, *Phytochemistry*, 30, 701 (1991).
- 86- Hegnauer, R., Kooiman P., Die Systematische Bedeutung von Iridoiden Inhaltsstoffen im Rahmen von Wettstein's Tubiflorae, *Planta Med.*, 33, 1(1978).
- 87- Henry, M., Roussel, J.-L., Andary, C., Verbascoside Production in Callus and Suspension Cultures of *Hygrophila erecta*, *Phytochemistry*, 26, 1961 (1987).
- 88- Heywood, V.H., Flowering Plants of The World, Oxford Universty Press, Oxford (1978).

- 89- Hostettmann, K., Dumas, J., Hardy, M., Desorption/Chemical Ionization Mass Spectrometry of Naturally Occuring Glycosides, *Helv. Chim. Acta*, 64, 297 (1981).
- 90- Hostettmann, K., Hostettmann, M., Marstan, A., Preparative Chromatography Techniques (Application in Natural Product Isolation), Springer-Verlag, Berlin Heidelberg (1986).
- 91- Houghton, P.J., Biologically Active Compounds from *Buddleja*, *Dev. Drugs Mod. Med.*, 95 (1986). (154)
- 92- Houghton, P.J., Phenylpropanoid Glycosides in *Buddleja davidii*, *J. Nat. Prod.*, 48, 1005 (1985).
- 93- Houghton, P.J., Hikino, H., Anti-Hepatotoxic Activity of Extracts and Constituents of *Buddleja* Species, *Planta Med.*, 55, 123 (1989).
- 94- Hutchinson, J., The Families of Flowering Plants, cilt 1, Oxford (1959).
- 95- Imakura, y., Kobayashi, S., Mima, A., Bitter Phenylpropanoid Glycosides from *Campsis chinensis*, *Phytochemistry*, 24, 139 (1985)
- 96- Inouye, H., Inoue, K., Nishioka, T., Kaniwa, M., Two New Iridoid Glucosides from *Osmanthus fragrans*, *Phytochemistry*, 14, 2099 (1975).
- 97- Jimenez, C., Villaverde, N.C., Riguera, R., Castedo, L., Stermitz, F.R., Three Phenylpropanoid Glycosides from *Mussatia*, *Phytochemistry*, 26, 1805 (1987).
- 98- Jimenez, C., Villaverde, M.C., Riguera, R., Castedo, L., Stermitz, F.R., Five Phenylpropanoid Glycosides from *Mussatia*, *Phytochemistry*, 27, 2947 (1988).
- 99- Jimenez, C., Villaverde, M.C., Riguera, R., Castedo, L., Phenylpropanoid Glycosides from *Mussatia hyacinthina*, *J. Nat. Prod.*, 52, 408 (1989).
- 100- Junior, P., Iso-Scrophulariosid, ein Neues Iridoidglucosid aus *Penstemon eriantherus*, *Planta Med.*, 43, 34 (1981).
- 101- Kajimoto, T., M. Shoyama, K., Nohara, T., Iridoids from *Scrophularia ningpoensis*, *Phytochemistry*, 28, 2701(1989)
- 102- Kasai, R., Ogawa, K., Ohtani, K., Ding, J.-K., Chen, P.-Q., Fei, C.-J., Tanaka, O., Phenolic Glycosides from Nuo-Mi-Xang-Cao, a Chinese Acanthaceous Herb, *Chem. Pharm. Bull.*, 39, 927 (1991).
- 103- Khan, I.A., Erdelmeier, C.A.J., Sticher, O., A New Phenylpropanoid Glycoside from *Eurya tigang*, *Bacans ,Biology and Chemistry of Active Natural Substances, Bonn, 17-22 Temmuz 1990, Planta Med.*, Short Reports of Lectures and Poster Presentations, 56, 85 (1990).
- 104- Kikuchi, M., Studies on the Constituents of Osmanthus Species. I. On the Components of the Leaves of *Osmanthus fragrans* Lour. var. *aurantiacus* Makino, *Yakugaku Zasshi*, 104, 535 (1984).

- 105- Kikuchi, Y., Miyaichi, Y., Yamaguchi, Y., Kizu, H., Tomimori, T., Studies on the Nepalese Crude Drugs. XII. On the Phenolic Compounds from the Root of *Scutellaria prostrata* Jacq. ex Benth., Chem. Pharm. Bull., 39, 1047 (1991).
- 106- Kikuchi, M., Yamauchi, Y., Studies on the Constituents of *Osmanthus* Species. III. On the Components of the Leaves of *Osmanthus ilicifolius* (Kossh.) Mouillefert, Yakugaku Zasshi, 105, 442 (1985).
- 107- Kikuchi, M., Yamauchi, Y., Structural Analysis on the Constituents of *Ligustrum* species. X. Components of the Fruits of *Ligustrum japonicum* Thunb. and *L. lucidum* Ait. I., Annu. Rep. Tohoku Coll. Pharm., 30, 33 (1983). Ref: CA 101, 18824 s (1984).
- 108- Kikuchi, M., Yamauchi, Y., Studies on the Constituents of *Ligustrum* Species. IX. On the Components of the Fruits of *Ligustrum obtusifolium* Sieb. et Zucc., Yakugaku Zasshi, 104, 390 (1984).
- 109- Kikuchi, M., Yamauchi, Y., Studies on the Constituents of *Osmanthus* Species. IV. On the Components of the Leaves of *Osmanthus fortunei* Carr., Yakugaku Zasshi, 105, 542 (1985).
- 110- Kikuchi, M., Yamauchi, Y., Isolation and Structures of New p- Coumaryl Glycosides, Osmanthuside A, B and C from the Leaves of *Osmanthus fragrans* Lour. var. *aurantiacus* Makino, Yakugaku Zasshi, 105, 411 (1985).
- 111- Kikuchi, M., Yamauchi, Y., Anzai, K., Structural Analysis on the Constituents of *Osmanthus* Species. V. Structures of Glycosides from the Leaves of *Osmanthus fortunei* Carr., Tohoku Yakko Daigaku Kenkyu Nempo, 32, 59 (1985).
- 112- Kikuchi, M., Yamauchi, Y., Sugiyama, M., Structural Analysis on the Constituents of *Syringa* Species. VII. Structures of Phenylethanoid Glycosides from the Leaves of *Syringa vulgaris* Linn., Tohoku Yakka Daigaku Kenkyu Nempo, 35, 113 (1988).
- 113- Kikuchi, M., Yamauchi, Y., Takahashi, Y., Sugiyama, M., Studies on the Constituents of *Syringa* Species. VIII. Isolation and Structure of Phenylpropanoid Glycosides from the Leaves of *Syringa reticulata* (Blume) Hara, Yakugaku Zasshi, 109, 366 (1989).
- 114- Kimura, Y., Okuda, H., Nishibe, S., Arichi, S., Effect of Caffeoyl Glycosides on Arachidonate Metabolism in Leucocytes, Planta Med., 53, 148 (1987).
- 115- Kiso, Y., Suzuki, Y., Watanabe, N., Oshima, Y., Hikino, H., Antihepatotoxic Principles of *Curcuma longa* Rhizomes, Planta Med., 49, 185 (1983).

- 116- Kitagawa, I., Fukuda, Y., Taniyama, T., Yoshikawa, M., Chemical Studies on Crude Drug Processing. VII. On the Constituents of *Rehmanniae Radix*. (1): Absolute Stereostructures of Rehmaglutins A, B, and D Isolated from Chinese *Rehmanniae Radix*, the Dried Root of *Rehmannia glutinosa* Libosch., Chem. Pharm. Bull., 39, 1171 (1991).
- 117- Kitagawa, I., Hino, K., Nishimura, T., Mukai, E., Yosioka, I., Picroside I: A Bitter Principle of *Picrorhiza kurroa*, Tetrahedron Lett., 4, 3837 (1969).
- 118- Kitagawa, S., Tsukamoto, H., Hisada, S., Nishibe, S., Studies on the Chinese Crude Drug "Forsythiae Fructus" VII. A New Caffeoyl Glycoside from *Forsythia viridissima*, Chem. Pharm. Bull., 32, 1209 (1984).
- 119- Kitagawa, S., Nishibe, S., Baba, H., Studies on the Chinese Crude Drug "Forsythiae Fructus". VIII. On Isolation of Phenylpropanoid Glycosides from Fruits of *Forsythia koreana* and Their Antibacterial Activity, Yakugaku Zasshi, 107, 274 (1987).
- 120- Kobayashi, H., Karasawa, H., Miyase, T., Fukushima, S., Studies on the Constituents of *Cistanchis* Herba. III. Isolation and Structures of New Phenylpropanoid Glycosides, Cistanosides A and B, Chem. Pharm. Bull., 32, 3009 (1984).
- 121- Kobayashi, H., Karasawa, H., Miyase, T., Fukushima S., Studies on the Constituents of *Cistanchis* Herba. IV. Isolation and Structures of Two New Phenylpropanoid Glycosides, Cistanosides C and D, Chem. Pharm. Bull., 32, 3880 (1984).
- 122- Kobayashi, H., Karasawa, H., Miyase, T., Fukushima, S., Studies on the Constituents of *Cistanchis* Herba. V. Isolation and Structures of Two New Phenylpropanoid Glycosides, Cistanosides E and F, Chem. Pharm. Bull., 33, 1452 (1985).
- 123- Kobayashi, H., Oguchi, H., Takizawa, N., Miyase, T., Ueno, A., Usmanhani, K., Ahmad, M., New Phenylethanoid Glycosides from *Cistanche tubulosa* (Scrcenk) Hook. f. I., Chem. Pharm. Bull., 35, 3309 (1987).
- 124- Komori, T., Kawasaki, T., Schulten, H.-R., Field Desorption and Fast Atom Bombardment Mass Spectrometry of Biologically Active Natural Oligoglycosides, Mass Spectrom. Rev., 4, 255 (1985).
- 125- Konishi, T., Narumi, Y., Watanabe, K., Kiyosowa, S., Shoji, J., Comparative Studies on the Constituents of a Parasitic Plant and Its Host. III. On the Constituents of *Boschniakia rossica* Fedtsch. et Flerov., Chem. Pharm. Bull., 35, 4155 (1987).

- 126- Kooiman, P., The Occurrence of Iridoid Glycosides in the Scrophulariaceae, *Acta Bot. Neerl.*, 19, 329 (1970).
- 127- König, B., Dustmann, J.H., The Caffeylics as a New Family of Natural Antiviral Compounds, *Naturwiss.*, 72, 659 (1985).
- 128- Kuc', J., Henze, R.E., Ullstrup, A.J., Quackenbush, F.W., Chlorogenic and Caffeic Acids as Fungistatic Agents Produced by Potatoes in Response to Inoculation with *Helminthosporium carbonium*, *Science*, 123, 3123 (1956).
- 129- Lahloub, M.F., Gross, G.-A., Sticher, O., Winkler, T., Schulten, H.-R., Ehrenoside, A New Phenylpropanoid Glycoside from *Veronica bellidioides*, *Planta Med.*, 52, 352 (1986).
- 130- Lahloub, M.F., Isolierung, Charakterisierung und Struktur aufklärung von Glykosiden einiger *Veronica*-Arten (Scrophulariaceae), *Doktora Tezi*, ETH No. 7340, Zürich (1983).
- 131- Lahloub, M.F., Rügger, H., El-Khayaat, S.A., Affifi, M.S., Sticher, O., Cretanoside, a Novel Phenylpropanoid Glycoside from *Orobanche crenata*. 37 th Annual Congress on Medicinal Plant Research, Braunschweig, 5-9 Eylül 1989 , *Planta Med.*, Abstracts of Short Lectures and Poster Presentations, 33 (1989) .
- 132- Lahloub, M.F, Zaghoul, A., El-Khayaat, S.A., Affifi, M.S., Sticher, O., 2'-O-Acetylpoliumoside, A New Phenylpropanoid Glycoside from *Orobanche ramosa*, *Planta Med.*, 57, 481(1991).
- 133- Lawrence, G.H.M., *Taxonomy of Vascular Plants*, The Macmillan Comp., Newyork (1966).
- 134- Lira-Roch, A., Diaz, R., Jimenez, M., Iridoids and a Phenylpropanoid Glycoside from *Penstemon roseus*, *J. Nat. Prod.*, 50, 331(1987).
- 135- Masataka, S., Kikuchi, M., Studies on the Constituents of *Osmanthus speices* VI. Structures of Phenylpropanoid Glycosides from the Leaves of *Osmanthus asiaticus* Nakai., *Chem. Pharm. Bull.*, 38, 2953(1990)
- 136- Matsumoto, M., Koga, S., Shoyama, Y., Nishioka, I., Phenolic Glycoside Composition of Leaves and Callus Cultures of *Digitalis purpurea*, *Phytochemistry*, 26, 3225 (1987).
- 137- Miyagoshi, M. Takeda, T., Namamura, T., Ogihara, Y., Studies on the Glycosides from *Buddleja americana* L., *Shoyakugaku Zasshi*, 44, 167(1990). Ref:CA 114, 171105 q(1991)
- 138- Miyase, T., Ishino, M., Akahori, C., Ueno, A., Ohkawa, Y., Tanizawa, H., Phenylethanoid Glycosides from *Plantago asiatica*, *Phytochemistry*, 30, 2015 (1991).

- 139- Miyase, T., Koizumi, A., Ueno, A., Noro, T., Kuroyanagi, M., Fukushima, S., Akiyama, Y., Takemoto, T., Studies on the Acyl Glycosides from *Leucoseptrum japonicum* (Miq.) Kitomura et Murata, Chem. Pharm. Bull., 30, 2732 (1982).
- 140- Miyase, T., Ueno, A., Kitani, T., Koboyashi, H., Kawahara, Y., Yamahara, J., Studies on *Stachys sieboldii* Miq. I. Isolation and Structure of New Glycosides., Yakugaku Zasshi, 110, 652 (1990).
- 141- Mølgaard, P., Ravn, H., Evolutionary Aspects of Caffeoyl Ester Distribution in Dicotyledons, Phytochemistry, 27, 2411 (1988).
- 142- Molnar, J., Gunics, G., Musci, I., Koltai, M., Petri, I., Shoyama, Y., Matsumoto, M., Nishioka, I., Antimicrobial and Immunomodulating Effects of Some Phenolic Glycosides, Acta Microbiol. Hung., 36, 425 (1989).
- 143- Müller, A., Wichtl, M., Zur Frage der Herzwirksamkeit des Gnadenkrautes (*Gratiola officinalis* L.), Pharm. Zeitung, 124, 1761 (1969)
- 144- Nicoletti, M., Galeffi, C., Messana, I., Garbarino J.A., Gambaro, V., Nyandat, E., Marini-Bettolo, G.B., New Phenylpropanoid Glucosides from *Calceolaria hypericina*, Gazz. Chim. Ital., 116, 431 (1986).
- 145- Nicoletti, M., Galeffi, C., Messana, I., Marini-Bettolo, G.B., Garbarino, J.A., Gambaro, V., Phenylpropanoid Glycosides from *Calceolaria hypericina*, Phytochemistry, 27, 639 (1988).
- 146- Nicoletti, M., Galeffi, C., Multari, G., Garbarino, J.A., Gambaro, V., Polar Constituent of *Calceolaria ascendens*, Planta Med., 54, 347 (1988).
- 147- Nishibe, S., Studies in Natural Products Chemistry, Clit 5, (1990).
- 148- Nishibe, S., Kitagawa, S., Hisada, S., Baba, H., Yasu, S., Narita, T., Yoshioka, K., Phenolic Compounds from Forsythiae Fructus and Their Biological Activities, J. Pharmacobio-Dyn., 10, 48 (1987).
- 149- Nishibe, S., Okabe, K., Tsukamoto, H., Sakushima, A., Hisada, S., The Structure of Forsythiaside Isolated from *Forsythia suspensa*, Chem. Pharm. Bull., 30, 1048 (1982).
- 150- Nishibe, S., Okabe, K., Tsukamoto, H., Sakushima, A., Hisada, S., Baba, H., Akisada, T., Studies on the Chinese Crude Drug "Forsythiae Fructus" VI. The Structure and Antibacterial Activity of Suspensaside Isolated from *Forsythia suspensa*, Chem. Pharm. Bull., 30, 4548 (1982).
- 151- Nishibe, S., Sakushima, A., Kitagawa, S., Klimek, B., Benecke, R., Thieme, H., Phenolic compounds from Forsythia leaves(III) Comparison of Constituents Between Hybrid and Parents, Shoyakugaku Zasshi, 42, 324 (1988) Ref: CA 111, 36661r (1989).
- 152- Nishimura, H., Sasaki, H., Inagaki, N., Chin, M., Mitsuhashi, H., Nine Phenethyl Alcohol Glycosides from *Stachys sieboldii*, Phytochemistry, 30, 965 (1991).

- 153- Nishimura, H., Sasaki, H., Morota, T., Chin, M., Mitsuhashi, H., Six Glycosides from *Rehmannia glutinosa* var. *purpurea*, *Phytochemistry*, 29, 3303 (1990).
- 154- Nishimura, H., Yamaguchi, T., Sasaki, H., Morota, T., Yanagisawa, T., Sato, T., Chin, M., Mitsuhashi, H., Enzyme Inhibitory Activities of Phenethyl Alcohol Glycosides from *Rehmannia glutinosa*, *Planta Med.*, 56, 684 (1990).
- 155- Nonaka, G., Nishioka, I., Bitter Phenylpropanoid Glycosides from *Conandron ramoldioides*, *Phytochemistry*, 16, 1265 (1977).
- 156- Özipek, E.M., *Scrophularia scopolii* [Hoppe ex] Pers. var. *scopolii* Üzerinde Fitokimyasal Araştırmalar, H.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Bilim Uzmanlığı Tezi (1987).
- 157- Pettit, G.R., Numata, A., Takemura, T., Ode, R.H., Narula, A.S., Schmidt, J.M., Craqq, G.M., Pase, C.P., Antineoplastic Agents, 107. Isolation of Acteoside and Isoacteoside from *Castilleja linariaefolia*, *J. Nat. Prod.*, 53, 456 (1990).
- 158- Potterat, O., Msonthi, J.D., Hostettmann, K., Four Iridoid Glucosides and A Phenylpropanoid Glycoside from *Sesamum angolense*, *Phytochemistry*, 27, 2677 (1988).
- 159- Rao, K.V., Glycosides of *Magnolia grandiflora*, *Planta Med.*, 27, 31 (1975).
- 160- Rao, K.V., Juneau, R.J., Glycosides of *Magnolia*. II. Structural Elucidation of Magnolidin, *Lloydia*, 38, 339 (1975).
- 161- Ravn, H., Brimer, L., Structure and Antibacterial Activity of Plantamajoside, A Caffeic Acid Sugar Ester from *Plantago major* subsp. *major*, *Phytochemistry*, 27, 3433 (1988).
- 162- Ravn, H., Nishibe, S., Sasahara, M., Xuebo, L., Phenolic Compounds from *Plantago asiatica*, *Phytochemistry*, 29, 3627 (1990).
- 163- Reguero, M. T., Mato, R., Bye, R., Linares, E., Delgado, G., Chemical Studies on Mexican Plants Used in Traditional Medicine, II: Cucurbitacins from *Hintonia latiflora*, *J. Nat. Prod.*, 50, 315 (1987).
- 164- Rendle, A.B., *The Classification of Flowering Plants*, cilt 2, Vikas Publishing House Pvt Ltd., Yeni Delhi (1979).
- 165- Sakurai, A., Kato, T., A New Glycoside, Kusagin, Isolated from *Clerodendron trichotomum*, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 56, 1573, Ref: CA 99, 50266 f (1983).
- 166- Sasaki, H., Nishimura, N., Chin, M., (Zhengxiong, C.), Mitsuhashi, H., Hydroxycinnamic Acid Esters of Phenethylalcohol Glycosides from *Rehmannia glutinosa* var. *purpurea*, *Phytochemistry*, 28, 875 (1989)

- 167- Sasaki, H., Nishimura, H., Morota, T., Chin, M., Mitsuhashi, H., Komatsu, Y., Maruyama, H., Tu, G., He, W., Xiong, Y., Chemical and Biological Studies on *Rehmannia Radix*, Part. I. Immunosuppressive Principles of *Rehmannia glutinosa* var. *huechingensis*, *Planta Med.*, 55, 458 (1989).
- 168- Sasaki, H., Taguchi, H., Endo, T., Yosioka, I., Higashiyama, K., Otomasu, H., The Glycosides of *Martynia louisiana* Mill. A New Phenylpropanoid Glycoside, Martynoside, *Chem. Pharm. Bull.*, 26, 2111 (1978).
- 169- Scarpati, M.L., Delle Monache, F., Isolation from *Verbascum sinatum* of Two New Glucosides, Verbascoside and Isoverbascoside, *Ann. Chim. (Rome)*, 53, 356 (1963). Ref: CA 59, 5406d (1963).
- 170- Schilling, G., Hügel, M., Mayer, W., Verbascosid und Isoverbascosid aus *Paulownia tomentosa* Steud., *Z. Naturforsch.*, 37b, 1633(1982).
- 171- Schulten, H.-R., Recent Advances in Soft Ionization Mass Spectrometry and Its Applications to Plant Phenolics, Annual Proceedings of the Phytochemical Society of Europe, The Biochemistry of Plant Phenolics, cilt 25, Oxford University Press, (1985).
- 172- Schulten, H.-R., Games, D.E., High Resolution Field Desorption Mass Spectrometry, II-Glycosides, *Biomed. Mass Spectrom.*, 1, 120 (1974).
- 173- Seifert, K., Elgamal, M.H.A., New Cucurbitacin Glucosides from *Ecballium elaterium* L., *Pharmazie*, 32, 605 (1977).
- 174- Seya, K., Endo, K., Hikino, H., Structures of Rengyosides A, B and C, Three Glucosides of *Forsythia suspensa* Fruits, *Phytochemistry*, 28, 1495 (1989).
- 175- Shimomura, H., Sashida, Y., Adachi, T., Phenolic Glucosides from *Prunus grayana*, *Phytochemistry*, 26, 249 (1987)
- 176- Shimomura, H., Sashida, Y., Ogawa, K., Iridoid Glucosides and Phenylpropanoid Glycosides in *Ajuga* Species in Japan, *Phytochemistry*, 26, 1981 (1987).
- 177- Shimomura, H., Sashida, Y., Adachi, T., Cyanogenic and Phenylpropanoid Glucosides from *Prunus grayana*, *Phytochemistry*, 26, 2363 (1987).
- 178- Shoyama, Y., Matsumoto, M., Nishioka, I., Phenolic Glycosides from Diseased Roots of *Rehmannia glutinosa* var. *purpurea*, *Phytochemistry*, 26, 983 (1987).
- 179- Shoyama, Y., Matsumoto, M., Nishioka, I., Four Caffeoyl Glycosides from Callus Tissue of *Rehmannia glutinosa**, *Phytochemistry*, 25, 1633 (1986).
- 180- Sinha, N.K., Pandey, V.B., Dasgupta, B., Acteoside from the Flowers of *Clerodendrum infortunatum*, *Indian J. Chem., Sect. B*, 22B, 97 (1983).

- 181- Stermitz, F.R., Ianiro, T.T., Robinson, R.D., Gardner, D.R., Chemistry of the Scrophulariaceae. Part 19. 6-O-Acetylmellittoside and Other Iridoids from *Castilleja* species, J. Nat. Prod., 54, 628(1991).
- 182- Sticher, O., Lahloub, M.F., Phenolic Glycosides of *Paulownia tomentosa* Bark, Planta Med., 46, 145 (1982).
- 183- Sticher, O., Meier, B., Lehmann, D., Swiatek, L., Scrophulariosid, Ein Neues Iridoidglucosid aus *Scrophularia lateriflora*, Planta Med., 38, 246 (1980).
- 184- Sticher, O., Salama, O., Chaudhuri, R.K., Winkler, T., Structural Analysis of Eukovoside, A New Phenylpropanoid Glycoside from *Euphrasia rostkoviana* Hayne, Helv. Chim. Acta, 65, 1538 (1982).
- 185- Stuppner, H., Köhlig, H., Seligmann, O., Wagner, H., Minor Cucurbitacin Glycosides from *Picrorhiza kurrooa*, Phytochemistry, 29, 1633(1990).
- 186- Stuppner, H., Wagner, H., Minor Iridoid and Phenol Glycosides of *Picrorhiza kurrooa*, Planta Med., 55, 467 (1989).
- 187- Stuppner, H., Wagner, H., New Cucurbitacin Glycosides from *Picrorhiza kurrooa*, Planta Med., 55, 559 (1989).
- 188- Takeda, Y., A New Phenolic Glycoside from *Phytheirospermum japonicum*, J. Nat. Prod., 51, 180 (1988).
- 189- Teborg, D., Junior, P., Martynoside and the Novel Dimeric Open-Chain Monoterpene Glucoside Digipenstroside from *Penstemon digitalis*, Planta Med., 55, 474 (1989).
- 190- Thieme, H., Zur Konstitution des Salidroside, eines Phenolglykosids aus *Salix triandra* L., Naturwiss., 51, 360 (1964).
- 191- Velde, V.V., Lavie, D., ¹³C-NMR Spectroscopy of Cucurbitacins, Tetrahedron, 39, 317 (1983).
- 192- Vogel, I. A., A Textbook of Practical Organic Chemistry, Longman Group Ltd., Londra (1970).
- 193- Volkhonskaya, T.A., Khanminchun, V.M., Frolova, O.U., Study of the Flavonoid Content of Plants of the Mongun Taiga Mountain Massif and the Sangilen Highlands of Southern Tuva (USSR), Rastit. Resur., 19, 455 (1983).
- 194- Weinges, K., Künstler, K., Schilling, G., Jaggy, H., Scutellariosid-I und -II, ein 10-Cinnamoyl - und 10 - (4 - Hydroxy-Cinnamoyl) Catalpol aus *Scutellaria altissima* L., Liebigs Ann. Chem., 2190 (1975).
- 195- Wetstein, R., Handbuch der Systematischen Botanik, Asher and Co. Amsterdam(1962).
- 196- Willis, J.C., A Dictionary of the Flowering Plants and Ferns, Cambridge Univ. Press, Cambridge (1973).

- 197- Yamada, Y., Hagiwara, K., Iguchi, K., Structures of Arvenins I and II, Bitter Principles from *Anagallis arvensis* L. (Primulaceae). New Cucurbitacin Glucosides, *Tetrahedron Lett.*, 24, 2099 (1977).
- 198- Yamada, Y., Hagiwara, K., Iguchi, K., Suzuki, S., Hsu, H.-Y., Isolation and Structures of Arvenins from *Anagallis arvensis* L. (Primulaceae). New Cucurbitacin Glucosides, *Chem. Pharm. Bull.*, 26, 3107 (1988).
- 199- Yoshizawa, F., Deyama, T., Takizawa, N., Usmanghani, K., Ahmad, M., The Constituents of *Cistanche tubulosa*(Schrenk) Hook.f. II. Isolation and Structures of a New Phenylethanoid Glycoside and a New Neolignan Glycoside, *Chem. Pharm. Bull.*, 38, 1927 (1990).
- 200- Zimin,L., Zhongjian, J., Phenylpropanoid and Iridoid Glycosides from *Pedicularis striata*, *Phytochemistry*, 30, 1341 (1991).

EKLER

SPEKTRUMLAR

Spektrum

Sayfa

1A	Okubin (LS-İ4)'in $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 300 MHz) Spektrumu.....	64
1B	Litantosalin (LS-İ2)'in $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 300 MHz) Spektrumu.....	64
2A	Katalpol (LS-İ3)'un $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 300 MHz) Spektrumu	65
2B	Globularin (LS-İ1)'in $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 300 MHz) Spektrumu.....	65
3	Globularin (LS-İ1)'in $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 75 MHz) Spektrumu.....	70
4	Litantosalin (LS-İ2)'in $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 75 MHz) Spektrumu.....	71
5	Ehrenozit (LS-F1)'in $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 300 MHz) Spektrumu.....	80
6	Ehrenozit (LS-F1)'in $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 75 MHz) Spektrumu.....	81
7	Ehrenozit (LS-F1)'in Pozitif İyon FAB-Kütle Spektrumu.....	82
8	Lagotozit (LS-F2)'in $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 300 MHz) Spektrumu.....	83
9	Lagotozit (LS-F2)'in $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 75 MHz) Spektrumu.....	84
10	Lagotozit (LS-F2)'in Pozitif İyon FAB-Kütle Spektrumu.....	85
11	Lagotozit nonaasetat (LS-F2-Ac)'in $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) Spektrumu.....	86
12	Lagotozit nonaasetat (LS-F2-Ac)'in Pozitif İyon FAB-Kütle Spektrumu.....	87
13	Deaçil Lagotozit 3-O-Metil eter (DLM)'in $^1\text{H-NMR}$ CD_3OD , 300 MHz) Spektrumu.....	88
14	Deaçil Lagotozit 3-O-Metil eter (DLM)'in $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 300 MHz)Spektrumu.....	89
15	Deaçil Lagotozit 3-O-Metil eter (DLM)'in 2D- ^1H , ^1H - Homonükleer COSY Spektrumu.....	90
16	Deaçil Lagotozit 3-O-Metil eter (DLM)'in 2D- ^{13}C , ^1H - Heteronükleer COSY Spektrumu	91
17	Deaçil Lagotozit 3-O-Metil eter (DLM)'in 2D-NOESY Spektrumu.....	92
18	Plantamajozit (LS-F3)'in $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 300 MHz) Spektrumu.....	98
19	Plantamajozit (LS-F3)'in $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 75 MHz) Spektrumu.....	99
20	Plantamajozit (LS-F3)'in Pozitif İyon FAB-Kütle Spektrumu.....	100
21	Plantamajozit dekaasetat (LS-F3-Ac)'in Pozitif İyon FAB-Kütle Spektrumu.....	101
22	Verbaskozit (LS-F4)'in $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 300 MHz) Spektrumu.....	102
23	Verbaskozit (LS-F4)'in $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 75 Hz) Spektrumu.....	103
24	Arvenin I (LS-K1)'in $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 300 MHz) Spektrumu.....	107
25	Arvenin I (LS-K1)'in $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 75 MHz) Spektrumu.....	108
26	Arvenin I (LS-K1)'in Pozitif İyon FAB-Kütle Spektrumu.....	109

TABLULAR

Tablo		Sayfa
1a-	Monoozidik Fenilpropanoit Heterozitleri	8
1b-	Biozidik Fenilpropanoit Heterozitleri.....	9
1c-	Triozidik Fenilpropanoit Heterozitleri.....	10
1d-	Desinnamoil Fenilpropanoit Heterozitleri.....	11
2	Değişik Tip Fenilpropanoit Heterozitleri.....	13
3	Fenilpropanoit Heterozitlerinin Bitkiler Aleminde Yayılışı.....	16
4	Fenilpropanoit Heterozitlerinin İzolasyon ve Saflaştırılmasında Kullanılan Yöntemler.....	20
5	Bazı Fenilpropanoit Heterozitlerinin Anomerik Protonlarına Ait Kimyasal Kayma Değerlerinin Karşılaştırılması.....	24
6	Bazı Fenilpropanoit Heterozitlerinin Anomerik Ramnoz Protonlarına Ait Kimya Kayma Değerleri	25
7	Değişik Substitusyonlar Taşıyan Aglikon Protonlarına Ait Kimyasal Kayma Değerleri	26
8	Değişik Açıl Grupları Taşıyan Bazı Fenilpropanoit Heterozitlerinin Hidroksisinnamik Asit Kısımlarına Ait Kimyasal Kayma Değerleri	26
9	Değişik konumlarda Oz ve Açıl Grubu Taşıyan Bazı Fenilpropanoit Heterozitlerinin Merkezi Oz C Sinyalleri.....	28
10	Değişik Konumlarda Oz Substitüsüyonu Taşıyan Bazı Fenilpropanoit Heterozitlerinin Merkezi Oz C Sinyalleri	29
11	Bazı Aglikon Tiplerinin Aromatik C Sinyalleri.....	30
12	Değişik Açıl Gruplarının Aromatik C Sinyalleri.....	31
13	<i>Lagotis stolonifera</i> 'dan Elde Edilen Bileşiklerin R_f Değerleri.....	55
14	Okubin (LS-İ4) ve Litantosalin (LS-İ2) Bileşiklerinin $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 300 MHz) Spektral Değerleri.....	62
15	Katalpol (LS-İ3) ve Globularin (LS-İ1)'in $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 300 MHz) Spektral Değerleri.....	63
16	LS-İ2 ve LS-İ1'in $^{13}\text{C-NMR}$ Değerlerinin Okubin ve Katalpol ile Karşılaştırılması.....	67

17	Globularin (LS-1) ve Litantosalin (LS-2)'nin ^{13}C -NMR (CD_3OD , 75 MHz) Spektral Değerleri.....	69
18	Ehrenozit (LS-F1), Lagotozit (LS-F2), Deaçil-Lagotozit 3-O-metil eter (DLM) (CD_3OD , 300 MHz) ve Lagotozit nonaasetat (LS-F2-Ac)'in (CDCl_3 , 300 MHz) ^1H -NMR Spektral Değerleri	78
19	Ehrenozit (LS-F1), Lagotozit (LS-F2) ve Deaçil-Lagotozit 3-O-Metil eter (DLM)'nin ^{13}C -NMR (CD_3OD , 75 MHz)Spektral Değerleri	79
20	Plantamajozit (LS-F3) ve Verbaskozit (LS-F4) Bileşiklerinin ^1H -NMR (CD_3OD , 300 MHz) Spektral Değerleri.....	96
21	Plantamajozit (LS-F3) ve Verbaskozit (LS-F4) Bileşiklerinin ^{13}C -NMR (CD_3OD , 75 MHz) Spektral Değerleri.....	97
22	Arvenin I (LS-K1)'in ^1H -NMR (CD_3OD , 300 MHz) Spektral Değerleri.....	106
23	Arvenin I (LS-K1)'in ^{13}C -NMR (CD_3OD , 75 MHz) Spektral Değerleri.....	106

ŞEMALAR

	Sayfa
Şema-1 Hidroksisinnamoil Esterlerinin Biyosentez Basamakları.....	18
Şema-2 İridoit ve Kukurbitasin Heterozitlerinin İzolasyonu.....	51
Şema-3 Fenilpropanoit Heterozitlerinin İzolasyonu.....	53
Şema-4 Ehrenozit (LS-F1) ve Lagotozit (LS-F2)'in Kısmi Metilleme ve Alkali Hidrolizi.....	57
Şema-5 İridoit, Kukurbitasin ve Fenilpropanoit Heterozitlerinin İzolasyonu.....	111

ŞEKİLLER

	Sayfa
Şekil-1. Fenilpropanoit Heterozitlerin Genel Yapısı.....	3
Şekil-2. Verbaskozit (=Akteozit).....	4
Şekil-3. Lavandulifolozit	7