

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ECZACILIK FAKÜLTESİ
FARMAKOĞNOZİ ANABİLİM DALI

141991

**GALİUM TORTUMENSE EHREND. & SCHONB.-TEM.
(RUBIACEAE) ÜZERİNDE
FARMAKOĞNOZİK ARAŞTIRMALAR**

Ecz. Nurcan KILIÇ

**Tez Yöneticisi
Yrd. Doç. Dr. Zühâl GÜVENALP**

**Yüksek Lisans Tezi
ERZURUM 2005**

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FARMAKOGNOZİ ANABİLİM DALI YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

GALIUM TORTUMENSE EHREND. & SCHONB. – TEM. (RUBIACEAE)
ÜZERİNDE FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR

Ecz. Nurcan KILIÇ

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 06 / 04 / 2005
Tezin Sözlü Savunma Tarihi : 29 / 04 / 2005
Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. Zühâl GÜVENALP
Jüri Üyesi : Prof. Dr. Hasan SEÇEN
Jüri Üyesi : Prof. Dr. Yücel KADIOĞLU
Jüri Üyesi : Doç. Dr. H. İnci GÜL
Jüri Üyesi : Yrd. Doç. Dr. Ufuk ÖZGEN

Enstitü Müdürü : Doç. Dr. Adnan TEZEL

Tez Yöneticisi
Yrd. Doç. Dr. Zühâl GÜVENALP

Yüksek Lisans Tezi
Nisan 2005
ERZURUM

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
İçindekiler	I
Teşekkür	III
Özet	IV
Summary	V
Kısaltmalar ve Simgeler	VI
Tablolar Dizini	VIII
Şekiller Dizini	VIII
Spektrumlar Dizini	IX
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Botanik Bilgiler	2
2.1.1. Rubiaceae Familyası	2
2.1.2. <i>Galium</i> L. Cinsi	2
2.1.3. Türkiye Florasında Bulunan <i>Galium</i> L. Cinsine Ait Türler	3
2.1.4. <i>Galium tortumense</i> Ehrend. Schnönb.-Tem.	4
2.1.4.1. <i>Galium tortumense</i> Bitkisinin Türkiye'deki Yayılışı	5
2.2. Fitokimyasal Bilgiler	6
2.2.1. İridoitler	6
2.2.2. Flavonoidler	15
2.2.3. Antrakinonlar	19
2.2.4. Terpenik Bileşikler	29
2.2.5. Lignan-Bis Glikozitleri	31
2.2.6. Naftalen Türevi Bileşikler	32
2.2.7. Fenolik Bileşikler	34
2.2.8. Kumarinler	36
2.2.9. Alkaloidler	37
2.2.10. Diğer Bileşikler	38
2.2.11. <i>Galium</i> Türlerinin Kullanılışı ve Biyolojik Aktiviteleri	39
3. MATERYAL VE YÖNTEM	40
3.1. Bitki Materyali	40
3.2. Kimyasal Maddeler ve Aletler	40
3.2.1. Kimyasal Katı Maddeler	40
3.2.2. Solvanlar	40
3.2.3. Alet ve Cihazlar	40
3.3. Kromatografik Yöntemler	41
3.3.1. İnce Tabaka Kromatografisi (İTK)	41
3.3.2. Açık Kolon Kromatografisi	41

3.3.3. Vakum Sıvı Kromatografisi (VSK)	42
3.3.4. Kromatografik Çalışmalarda Kullanılan Adsorbanlar	42
3.3.5. Kullanılan Revelatörler	43
3.3.6. Solvan Sistemleri	43
3.4. Ekstraksiyon ve İzolasyon	44
3.4.1. Ekstraksiyon	44
3.4.2. Kloroform Ekstresi Üzerinde Yapılan İzolasyon Çalışmaları	44
3.4.2.1. GTS'nin Ayırımı ve Saflaştırılması	45
3.4.2.2. GTT-1 ve GTT-2'nin Ayırımı ve Saflaştırılması	45
3.4.3. Su Ekstresi Üzerinde Yapılan İzolasyon Çalışmaları	47
3.4.3.1. GTI-1 ve GTI-2'nin Ayırımı ve Saflaştırılması	47
3.4.3.2. GTF'nin Ayırımı ve Saflaştırılması	47
4. BULGULAR	49
β-sitosterol	49
Ursolik asit	58
Oleanolik asit	62
Skandozit metil ester	68
Dafillozit	78
Rutin	87
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	97
6. KAYNAKLAR	103

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, her konuda yakın ilgi ve desteğini gördüğüm, tezimi hazırlamamda büyük emeği ve fedakârlığı bulunan değerli hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Zühâl GÜVENALP'e;

Lisans ve yüksek lisans eğitimimde önemli katkıları bulunan Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Sayın Prof. Dr. L. Ömür DEMİREZER'e;

Anabilim Dalımız öğretim üyesi Sayın Yrd. Doç. Dr. Ufuk ÖZGEN'e;

İzole edilen bileşiklerin ¹H-NMR, ¹³C-NMR spektrumlarının alınmasını sağlayan Atatürk Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölüm Başkanı Sayın Prof. Dr. Hasan SEÇEN'e ve spektrumları alan Sayın Yrd. Doç. Dr. Cavit KAZAZ'a, Hans Knöll Enstitüsü'nden Sayın Dr. I. Sattler'e;

Çalıştığım bitkinin teşhisini yapan Atatürk Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi Sayın Yrd. Doç. Dr. Yusuf KAYA'ya;

Ecz. Zeynep TERZİ başta olmak üzere Eczacılık Fakültesi'ndeki tüm araştırma görevlisi arkadaşlarıma;

Ecz. Güliz ALP ve Araştırma Hastanesi Eczaanesi'ndeki tüm çalışma arkadaşlarıma;

Destekleri ve sonsuz sevgileri ile her zaman yanımda olan sevgili anneme ve babama;

Ablam, Hacettepe Üniversitesi İktisadi ve İdari Bilimler Fakültesi İşletme Bölümü Arş.

Gör. Sevcan KILIÇ AKINCI ve eşi İstatistik Bölümü Arş. Gör. M. Mutlu AKINCI'ya;

Sevgili kardeşim Stj. Dr. Furkan KILIÇ'a;

en içten teşekkürlerimi sunarım.

Nurcan KILIÇ

Nisan 2005

ÖZET

**GALIUM TORTUMENSE EHREND. & SCHONB. –TEM. (RUBIACEAE)
ÜZERİNDE FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR**

Rubiaceae familyası bitkilerinden olan *Galium* cinsi Türkiye bitki örtüsünde 101 tür ile temsil edilmektedir. *Galium* türleri halk arasında antiromatizmal, antispazmodik, iştah açıcı, idrar söktürücü, safra artırıcı, kabız, yatıştırıcı ve astrenjan olarak kullanılmaktadır. *Galium tortumense*, endemik *Galium* türlerinden biridir.

Bu çalışmada *Galium tortumense*, sekonder metabolitlerinin izolasyonları ve yapı tayinleri yönünden incelenmiştir. Bitki materyali Erzurum, Tortum Gölü yakınlarından toplanmıştır.

Bitkinin gölgede kurutulmuş toprak üstü kısımları metanol ile ekstre edilmiştir. Ekstre suda çözülmüş ve kloroform ile tüketilmiştir. Sulu ekstre liyofilize edilmiştir. Yapılan kromatografik çalışmalar [açık kolon kromatografisi (silika jel, sefadeks) ve vakum sıvı kromatografisi] sonucunda β -sitosterol (GTS), ursolik asit (GTT-1), oleanolik asit (GTT-2), skandozit metil ester (GTI-1), dafillozit (GTI-2) ve rutin (GTF) bileşikleri izole edilmiştir. Elde edilen bileşiklerin yapıları spektral metodlarla (UV, 1D-, 2D- NMR, ESI kütle spektroskopisi) aydınlatılmıştır.

Anahtar kelimeler: *Galium tortumense*, Rubiaceae, sterol, triterpen, iridoit glikoziti, flavonol heteroziti

SUMMARY**PHARMACOGNOSICAL STUDIES ON *GALIUM TORTUMENSE*
EHREND. & SCHONB. –TEM. (RUBIACEAE)**

The genus *Galium* (Rubiaceae) is represented by 101 species in Turkish flora. *Galium* species are used as antirheumatological, antispasmodic, tonic, diuretic, cholagogue, constipate, sedative and astringent in folk medicine. *Galium tortumense* is one of the endemic *Galium* species.

In this study, *Galium tortumense* was investigated from the point of view of the isolation of its secondary metabolites and structure elucidation. The plant material was collected from Erzurum, the near of Tortum Lake.

The air dried aerial parts of the title plant was extracted with methanol. The extract was dissolved in water and partitioned in chloroform. Water extract was lyophilized. As a result of the chromatographical studies [open column chromatography (silica gel, sephadex) and vacuum liquid chromatography] β -sitosterol (GTS), ursolic acid (GTT-1), oleanolic acid (GTT-2), scandoside methyl ester (GTI-1), daphylloside (GTI-2) and rutin (GTF) were isolated. Structure elucidation of the isolated compounds were performed by spectral methods (UV, 1D-, 2D- NMR, ESI mass spectroscopy).

Key words: *Galium tortumense*, Rubiaceae, sterol, triterpen, iridoid glycoside, flavonol heteroside

KISALTMALAR VE SİMGELER

Ara	: Arabinoz
Ac	: Asetil grubu (COCH ₃)
CDCl₃	: Dötero kloroform
CD₃OD	: Dötero metanol
CHCl₃	: Klorofom
CH₃OH	: Metanol
CH₃COOH	: Asetik asit
¹³C-NMR	: ¹³ C-Nükleer Manyetik Rezonans
COSY	: İki dimensiyonlu ¹ H korelasyon spektroskopisi
d	: Dublet
dd	: Dublet dublet
EtOAc	: Etil asetat
Fr.	: Fraksiyon
gd	: Geniş dublet
gr	: Gram
gs	: Geniş singlet
Gal	: Galaktoz
Gen	: Gentiobioz
Glc	: Glikoz
GlcUA	: Glukuronik asit
¹H NMR	: ¹ H-Nükleer Manyetik Rezonans
HCOOH	: Formik asit
H₂O	: Su
H₂SO₄	: Sülfürik asit
HMBC	: ¹ H- Detected Heteronuclear Multiple-Bond Spectroscopy
HMQC	: ¹ H- Detected Heteronuclear One-Bond Spectroscopy
İTK	: İnce Tabaka Kromatografisi
J	: Kenetlenme sabiti
KK	: Kolon Kromatografisi
m	: Multiplet
M.A.	: Molekül ağırlığı
Me	: Metil
MeOH	: Metanol

mg	: Miligram
m/z	: Kütle/Yük
ppm	: Milyonda bir kısım (NMR ölçü birimi)
Rhm	: Ramnoz
RP	: Reversed Phase
Rut	: Rutinoz
s	: Singlet
SFK	: Sefadeks Kolon Kromatografisi
Sh	: Omuz
SK	: Silikajel Kolon Kromatografisi
SS	: Solvan Sistemi
t	: Triplet
td	: Tripletin dubleti
UV	: Ultraviyole
VS	: Vanilin-Sülfürik asit reaktifi
VSK	: Vakum Sıvı Kromatografisi
xyl	: Ksiloz

TABLOLAR DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 1. Türkiye florasında bulunan <i>Galium L.</i> cinsine ait türler	3
Tablo 2. <i>Galium</i> türlerinden izole edilen iridoit glikozitleri	6
Tablo 3. <i>Galium</i> türlerinden izole edilen sekoiridoit glikozitleri	14
Tablo 4. <i>Galium</i> türlerinden izole edilen flavonol bileşikleri	15
Tablo 5. <i>Galium</i> türlerinden izole edilen flavanon bileşikleri	16
Tablo 6. <i>Galium</i> türlerinden izole edilen flavon bileşikleri	17
Tablo 7. <i>Galium</i> türlerinden izole edilen antrakinonlar	19
Tablo 8. <i>Galium</i> türlerinden izole edilen triterpen saponinler	29
Tablo 9. <i>Galium</i> türlerinden izole edilen triterpenler	30
Tablo 10. <i>Galium</i> türlerinden izole edilen lignan-bis glikozitleri	31
Tablo 11. <i>Galium</i> türlerinden izole edilen naftalen türevi bileşikler	32
Tablo 12. <i>Galium</i> türlerinden izole edilen fenolik bileşikler	34
Tablo 13. <i>Galium</i> türlerinden izole edilen kumarinler	36
Tablo 14. <i>Galium</i> türlerinden izole edilen alkaloidler	37
Tablo 15. <i>Galium</i> türlerinde bulunan diğer bileşikler	38
Tablo 16. Kromatografik çalışmalarda kullanılan adsorbanlar	43
Tablo 17. Yapılan kolon kromatografilerinde kullanılan solvan sistemleri	43
Tablo 18. Kromatografik çalışmalarda İTK'da kullanılan solvan sistemleri	44
Tablo 19. β -Sitosterol'ün [GTS] ^1H - ve ^{13}C -NMR spektral değerleri	51
Tablo 20. Ursolik asit'in [GTT-1] ^1H - ve ^{13}C -NMR spektral değerleri	61
Tablo 21. Oleanolik asit'in [GTT-2] ^1H - ve ^{13}C -NMR spektral değerleri	63
Tablo 22. Skandozit metil ester'in [GTI-1] ^1H - ve ^{13}C -NMR spektral değerleri	71
Tablo 23. Dafillozit'in [GTI-2] ^1H - ve ^{13}C -NMR spektral değerleri	81
Tablo 24. Rutin'in [GTF] ^1H - ve ^{13}C -NMR spektral değerleri	90

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. <i>Galium tortumense</i> bitkisinin Türkiye florasındaki yayılış haritası	5
Şekil 2. <i>Galium tortumense</i> bitkisinin toprak üstü kısımlarına uygulanan ekstraksiyon şeması	46
Şekil 3. Kloroform ekstraktından elde edilen maddelerin izolasyonu	46

Şekil 4.	Su ekstraktından elde edilen maddelerin izolasyonu	48
Şekil 5.	β -Sitosterol'ün molekül yapısı	49
Şekil 6.	Ursolik asit'in molekül yapısı	58
Şekil 7.	Oleanolik asit'in molekül yapısı	62
Şekil 8.	Skandozit metil ester'in molekül yapısı	68
Şekil 9.	Skandozit metil ester'in HMBC korelasyonu	70
Şekil 10.	Dafillozit'in molekül yapısı	78
Şekil 11.	Dafillozit'in HMBC korelasyonu	80
Şekil 12.	Rutin'in molekül yapısı	87
Şekil 13.	Rutin'in HMBC korelasyonu	89

SPEKTRUMLAR DİZİNİ

Spektrum 1.	β -Sitosterol'ün [GTS] $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) Spektrumu	52
Spektrum 2.	β -Sitosterol'ün [GTS] $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 75.5 MHz) Spektrumu	53
Spektrum 3.	β -Sitosterol'ün [GTS] DEPT (CDCl_3 , 75.5 MHz) Spektrumu	54
Spektrum 4.	β -Sitosterol'ün [GTS] 2D- $^1\text{H-}^1\text{H}$ -Homonükleer COSY Spektrumu	55
Spektrum 5.	β -Sitosterol'ün [GTS] 2D- $^1\text{H-}^{13}\text{C}$ -Heteronükleer (short range) COSY (HMQC) Spektrumu	56
Spektrum 6.	β -Sitosterol'ün [GTS] 2D- $^1\text{H-}^{13}\text{C}$ -Heteronükleer (long range) COSY (HMBC) Spektrumu	57
Spektrum 7.	Ursolik asit [GTT-1] ve Oleanolik asit'in [GTT-2] $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz) Spektrumu	64
Spektrum 8.	Ursolik asit [GTT-1] ve Oleanolik asit'in [GTT-2] $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 100 MHz) Spektrumu	65
Spektrum 9.	Ursolik asit [GTT-1] ve Oleanolik asit'in [GTT-2] $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 100 MHz) Spektrumu	66
Spektrum 10.	Ursolik asit [GTT-1] ve Oleanolik asit'in [GTT-2] $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz) Spektrumu	67
Spektrum 11.	Skandozit metil ester'in [GTI-1] $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 300 MHz) Spektrumu	72

Spektrum 12. Skandozit metil ester'in [GTI-1] ^{13}C -NMR (CD_3OD , 75.5 MHz) Spektrumu	73
Spektrum 13. Skandozit metil ester'in [GTI-1] DEPT (CD_3OD , 75.5 MHz) Spektrumu	74
Spektrum 14. Skandozit metil ester'in [GTI-1] $2\text{D-}^1\text{H-}^1\text{H}$ -Homonükleer COSY Spektrumu	75
Spektrum 15. Skandozit metil ester'in [GTI-1] $2\text{D-}^1\text{H-}^{13}\text{C}$ -Heteronükleer (short range) COSY (HMQC) Spektrumu	76
Spektrum 16. Skandozit metil ester'in [GTI-1] $2\text{D-}^1\text{H-}^{13}\text{C}$ -Heteronükleer (long range) COSY (HMBC) Spektrumu	77
Spektrum 17. Dafillozit'in [GTI-2] ^1H -NMR (CD_3OD , 400 MHz) Spektrumu	82
Spektrum 18. Dafillozit'in [GTI-2] ^{13}C -NMR (CD_3OD , 100 MHz) Spektrumu	83
Spektrum 19. Dafillozit'in [GTI-2] DEPT (CD_3OD , 100 MHz) Spektrumu	84
Spektrum 20. Dafillozit'in [GTI-2] $2\text{D-}^1\text{H-}^{13}\text{C}$ -Heteronükleer (short range) COSY (HMQC) Spektrumu	85
Spektrum 21. Dafillozit'in [GTI-2] $2\text{D-}^1\text{H-}^{13}\text{C}$ -Heteronükleer (long range) COSY (HMBC) Spektrumu	86
Spektrum 22. Rutin'in [GTF] ^1H -NMR (CD_3OD , 300 MHz) Spektrumu	91
Spektrum 23. Rutin'in [GTF] ^{13}C -NMR (CD_3OD , 75.5 MHz) Spektrumu	92
Spektrum 24. Rutin'in [GTF] DEPT (CD_3OD , 75.5 MHz) Spektrumu	93
Spektrum 25. Rutin'in [GTF] $2\text{D-}^1\text{H-}^1\text{H}$ -Homonükleer COSY Spektrumu	94
Spektrum 26. Rutin'in [GTF] $2\text{D-}^1\text{H-}^{13}\text{C}$ -Heteronükleer (short range) COSY (HMQC) Spektrumu	95
Spektrum 27. Rutin'in [GTF] $2\text{D-}^1\text{H-}^{13}\text{C}$ -Heteronükleer (long range) COSY (HMBC) Spektrumu	96

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Bitkiler, insanlığın varoluşundan beri tedavi amacıyla kullanılmaktadır. Halk hekimliğinde kullanılan bitkiler arasında *Galium* cinsi de bulunmaktadır. Rubiaceae familyası bitkilerinden olan *Galium* cinsi Türkiye florasında 101 türle temsil edilmektedir¹. *Galium tortumense*, endemik *Galium* türlerinden biridir. *Galium* türlerine, yoğurdun mayalanmasında yararlanılabilen bir enzim taşıması nedeniyle, Türkçe "Yoğurt Otu" adı verilmekte ve Avrupa ülkelerinde de buna benzer isimlerle anılmaktadır². Bitkinin özsuyu süte karıştırılarak yeşilimsi yoğurt yapılmaktadır³.

Galium türleri Avrupa'da ve Anadolu'da oldukça yaygın bitkilerdir. Halk arasında iştah açıcı, idrar artırıcı, spazmolitik, safra artırıcı, kabız, yatıştırıcı olarak kullanılmaktadır⁴. *Galium odoratum* İngiltere'de sedatif, antispazmodik ve diüretik olarak kullanılmaktadır. Ayrıca yapraklar üzerinde yapılan çalışmalarda bitkinin antioksidan etkisi gözlenmiştir⁵. *Galium broteroanum*'un toprak üstü kısımları, Fransa ve Portekiz'de halk arasında diüretik, spazmolitik olarak ve taze usaresi böbrek toplar damarlarının ve lenfatik damarların enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılmaktadır⁶.

Daha önce yapılan çalışmalarda *Galium* türlerinin özellikle iridoit glikozitleri ve antrakınonlarca zengin olduğu ayrıca flavonoit heterozitleri, naftalen bileşikleri, lignanlar, saponin bileşikleri, kumarinler, fenolik asitler, alkaloidler taşıdığı kayıtlıdır (Kaynaklar için bkz. Bölüm 2.2).

Endemik bir tür olan *Galium tortumense* bitkisi üzerinde bugüne kadar yapılmış herhangi bir fitokimyasal ve biyolojik aktivite çalışmasına rastlanmamıştır.

Galium türlerinin halk hekimliğinde kullanılması ve *Galium tortumense* türü üzerinde çalışma yapılmamış olması bizi bu araştırmaya sevk etmiştir. *Galium tortumense*'nin sekonder metabolitlerinin izolasyonu ve yapılarının spektrofotometrik yöntemlerle aydınlatılması çalışmamızın amacını oluşturmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Botanik Bilgiler

2.1.1. Rubiaceae Familyası

Odunsu veya otsu çok yıllık ya da tek yıllık bitkilerdir. Yapraklar karşılıklı, basit, stipulalıdır, stipulalar petioller arasında, az çok birleşik ya da daha sık olarak yaprak görünümünde, 4-10 adet ya da daha fazla sayıda ve halka şeklinde dizilmiştir. Çiçek durumu genellikle tirsoit, brakteli ya da braktesiz, gevşek ya da sık, subspika veya subkapitulum şeklindedir. Çiçekler çoğunlukla hermafrodit, nadiren tek eşeyli ve monoik veya dioik, aktinomorf, genellikle 4-5 üyelidir. Sepaller çoğunlukla serbest, bazen indirgenmiştir. Korolla gamopetal, hipokrateriform, infundibular, kompanulat veya rotattır. Tüpler kısıdan çok uzuna kadar değişen boylarda, loblar kontort, imbrikat veya valvattır. Stamenler epipetal, korolla loblarıyla alternandır. Ovaryum alt durumlu, çoğunlukla 2 gözlü, her göz bir ya da daha çok ovüllüdür. Meyva kapsül, bakka, drupa ya da iki merikarpa ayrılmıştır¹. Familya yaklaşık 500 cins ve 6500 tür ile bitkiler dünyasında temsil edilmektedir⁷. Türkiye florasında 10 cins ve 167 türle temsil edilmektedir¹.

2.1.2. *Galium* L. Cinsi

Galium L. cinsinin ismi, cinsin bazı türleri sütün mayalanmasını sağladıkları için yunanca 'gala' ve 'milk' kelimelerinden gelmektedir⁸. Alçak yarıçalılar, çok yıllık ya da tek yıllık otlardır. Yapraklar genellikle 4-14 yapraktan oluşan halkalar şeklinde görünür. Çiçek durumu tirsoit, genişçe panikulat veya indirgenmiştir. Çiçekler genellikle ovaryumdan daha uzun pediselli, brakteolsüz; hermafrodit, nadir olarak poligam veya dioiktir. Kaliks genellikle belirsiz, nadiren kalıcı ve meyvada büyümüştür. Korolla (3-)-4 parçalı, rotat, kratiformdan infundibulara kadar değişen şekilde, loblar tüpten daha uzun, beyaz, beyazımsı, soluk sarıdan parlak sarıya kadar değişen renklerde, sarımsı-yeşil, pembe veya koyu kırmızımsı-kahverengidir. Stilus bifid veya bipartit küremsi stigmalıdır. Meyva iki kuru merikarplı, merikarplar yarı küresel, ovoid veya silindirik, düz yüzeyli veya kırışık, çıplak veya tüylü (bazen çengel tüylü) nadiren az çok etlidir¹.

2.1.3. Türkiye Florasında Bulunan *Galium* L. Cinsine Ait Türler

Galium L. cinsi Türkiye florasında 101 türle temsil edilmektedir. Türkiye florasında bulunan *Galium* L. cinsine ait türler, aşağıda sunulmuştur¹.

Tablo 1: Türkiye florasında bulunan *Galium* L. cinsine ait türler

Sect. Orientalium			
<i>tubiflorum</i>	<i>setuliferum</i>	<i>nabelekii</i>	<i>ceratocarpon</i>
<i>kurdicum</i>	<i>tolosianum</i>	<i>zabense</i>	<i>lasiocarpum</i>
<i>scopulorum</i>	<i>shepardii</i>	<i>subvelutinum</i>	<i>cornigerum</i>
<i>papilliferum</i>	<i>membranaceum</i>	<i>basalticum</i>	<i>antitauricum</i>
<i>sieheanum</i>	<i>mite</i>	<i>czerepanovii</i>	<i>cilicicum</i>
<i>tmoleum</i>	<i>angustissimum</i>	<i>xylorrhizum</i>	<i>olympicum</i>
<i>huber-morathii</i>	<i>galiopsis</i>	<i>incanum</i>	<i>aretioides</i>
<i>dieckii</i>	<i>hypoxylon</i>	<i>sorgerae</i>	
<i>baytopianum</i>	<i>psilophyllum</i>	<i>cerato-amanianum</i>	
Sect. Kolgyda			
<i>spurium</i>	<i>bracteatum</i>	<i>lsauriucm</i>	<i>penicillatum</i>
<i>aparine</i>	<i>parisiense</i>	<i>brevifolium</i>	<i>nigricans</i>
<i>tricornutum</i>	<i>ghilanicum</i>	<i>stepparum</i>	<i>runcinatum</i>
<i>verrucosum</i>	<i>tortumense</i>	<i>floribundum</i>	<i>recurvum</i>
<i>adhaerens</i>	<i>divaricatum</i>	<i>globuliferum</i>	<i>verticillatum</i>
<i>samuelssonii</i>	<i>tenuissimum</i>	<i>pseudocapitatum</i>	<i>murale</i>
<i>hausknechtii</i>	<i>peplidifolium</i>	<i>exurgens</i>	
<i>pterocarpum</i>	<i>penduliflorum</i>	<i>hierosolymitanum</i>	
Sect. Leogalium			
<i>album</i>	<i>fissurense</i>	<i>asparagifolium</i>	<i>subuliferum</i>
<i>lovcense</i>	<i>scabrifolium</i>	<i>bornmuelleri</i>	<i>radulifolium</i>
<i>heldreichii</i>	<i>campanelliferum</i>	<i>octonarum</i>	<i>paschale</i>

Sect. Jubogalium			
<i>cappadocicum</i>	<i>graecum</i>	<i>canum</i>	<i>cassium</i>
<i>parvulum</i>	<i>dumosum</i>	<i>pamphylicum</i>	<i>setaceum</i>

Sect. Galium			
<i>humifusum</i>	<i>margaceum</i>	<i>davisii</i>	<i>trojanum</i>
<i>verum</i>	<i>consanguineum</i>		

Sect. Aparanoides			
<i>debile</i>	<i>palustre</i>	<i>Elongatum</i>	<i>trifidum</i>

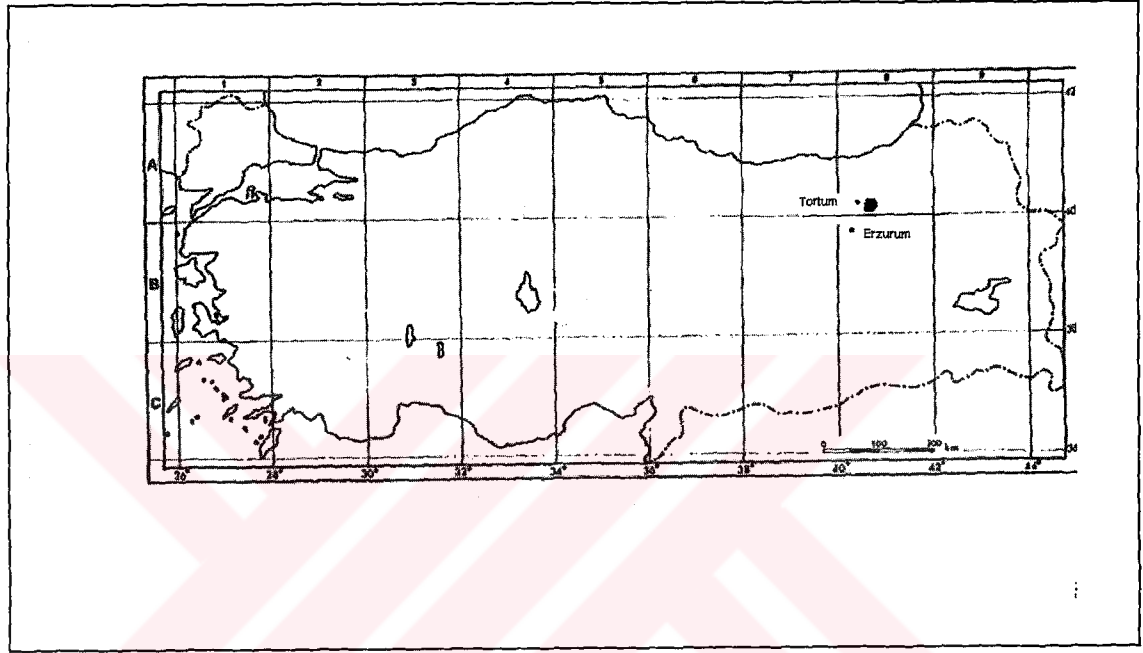
Sect. Platygaliium	Sect. Trachygalium	Sect. Hylaea	Sect. Leptogaliium
<i>rotundifolium</i>	<i>rivale</i>	<i>odoratum</i>	<i>demissum</i>
<i>boreale</i>	<i>uliginosum</i>	<i>articulatum</i>	

2.1.4. *Galium tortumense* Ehrend. & Schönb.-Tem.

İnce tek yıllık (8-) 15-20 cm boyunda otlardır. Gövde tabanda dallanmış ya da tabanda toprak üzerinde yatık, dallar dikten yükseliciye kadar değişen şekillerde, dört köşeli, tüsüzdür. Yapraklar 4-6, (5-)10-15 x 1-2 mm halkalar şeklinde, oblanseolat - spatül şeklindedir. Aşağıdaki yapraklar az çok şeffaf ve sivri uçludur. Yaprak kenarları içe doğru kıvrıktır ve nadiren kıvrılmış kenarlar boyunca yukarı doğru yönelmiş kısa sert tüyler vardır. Yaprığın alt yönünde aşağıya yönelik kısa tüyler bulunmaktadır ve yaprak saplıdır. Yukarıdaki yapraklar bazen yoktur, hemen hemen sapsızdır, akuttan kuspidata kadar değişir, ucu şeffaftır. Tirsus uzamış- piramitsi, tüsüz, alçak dallar az çok uzamış, koltuk simi (1-)5-9- çiçeklidir. Çiçek durumu sapı az çok brakteden kısa veya iki katı uzunlukta, yayıktır. Pediseller yaklaşık 1-2 mm, yayık, meyvada biraz geri kıvrıktır. Korolla kuruduğu zaman beyazımsı, yaklaşık 1.3 - 1.5 mm çapında, az çok çanak şeklinde, loplara ovat - dikdörtgensi, kılçıklı, kılçıklar loplara eşit böler şeklindedir. Merikarp yaklaşık 1.3 - 2.3 mm, genişçe böbrek şeklinde, hemen hemen papillalı, tüsüzdür. Bitki, haziran ve temmuz aylarında çiçeklidir. Kayalıklarda ve yamaç eteklerinde biriken taş toprak yığınlarında, 1150-1200 m. yükseklikte yetişir¹.

2.1.4.1. *Galium tortumense* Bitkisinin Türkiye'deki Yayılışı

A8 Erzurum: Tortum'un 39 km kuzeyi, Artvin'e doğru, Tortum Gölü'nün 6 km güneybatısı, yolun batısındaki dar boğaz, 1150-1200 m, Ehrendorfer ve arkadaşları. 787-122-2.



● : *Galium tortumense*

Şekil 1 : *Galium tortumense* bitkisinin Türkiye florasındaki yayılış haritası

2.2. Fitokimyasal Bilgiler

Galium türleri üzerinde bugüne kadar yapılan fitokimyasal çalışmalar sonucunda izolasyonu yapılan maddeler; iridoitler, flavonoidler, antrakinonlar, terpenik bileşikler, lignan-bis glikozitleri, naftalen türevi bileşikler, fenolik bileşikler, kumarinler, alkaloidler ve diğerleri başlıkları altında toplanarak sunulmuştur.

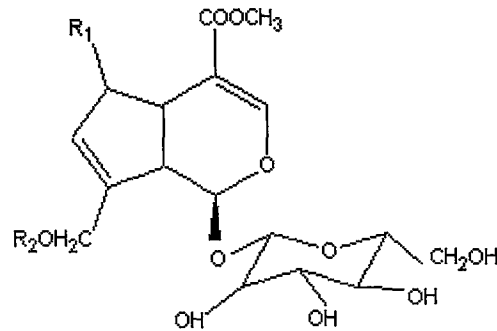
2.2.1. İridoitler

Tablo 2. *Galium* türlerinden izole edilen iridoit glikozitleri

Bileşik	R ₁	R ₂	Bitki	Kaynak
Deasetilasperulozidik asit	H	α -OH	<i>G. rivale</i>	8,9
			<i>G. aparine</i>	9-11
			<i>G. album</i>	9,12
			<i>G. lovcense</i>	9,12
			<i>G. verum</i>	9
			<i>G. humifusum</i>	9,13
			<i>G. palustre</i>	9
			<i>G. odoratum</i>	9
			<i>G. schultesii</i>	9
			<i>G. pseudoaristatum</i>	9
			<i>G. octonarium</i>	9
			<i>G. macedonicum</i>	9
			<i>G. mirum</i>	9
			<i>G. rigidifolium</i>	9
			<i>G. rhodopeum</i>	9
			<i>G. aegeum</i>	9
			<i>G. asparagifolium</i>	9
			<i>G. tricornutum</i>	9
			6-O-asetilskandozit	H
<i>G. macedonicum</i>	9			
<i>G. mirum</i>	9			
<i>G. rigidifolium</i>	9			
<i>G. aegeum</i>	9			
<i>G. asparagifolium</i>	9			

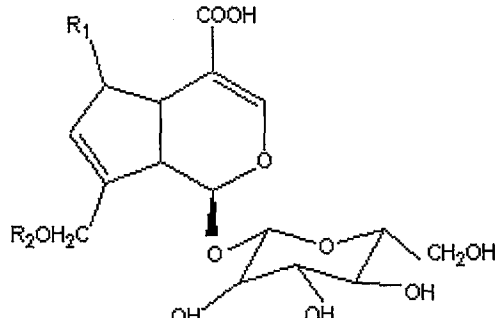
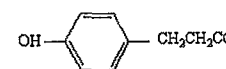
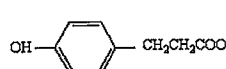
Tablo 2'nin devamı

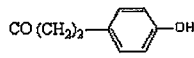
Skandozit	H	β -OH	<i>G. rivale</i>	8,9
			<i>G. album</i>	9,12
			<i>G. lovcense</i>	9,12
			<i>G. mollugo</i>	14,15
			<i>G. humifusum</i>	9,13
			<i>G. octonarium</i>	9
			<i>G. macedonicum</i>	9
			<i>G. mirum</i>	9
			<i>G. rigidifolium</i>	9
			<i>G. rhodopeum</i>	9
			<i>G. aegeum</i>	9
			<i>G. asparagifolium</i>	9
			<i>G. aparine</i>	9
			<i>G. tricornutum</i>	9
			<i>G. verum</i>	9
			<i>G. palustre</i>	9
<i>G. odoratum</i>	9			
<i>G. schultesii</i>	9			
<i>G. pseudoaristatum</i>	9			
Skandozit metil ester	CH ₃	β -OH	<i>G. mollugo</i>	14
Genipozidik asit	H	H	<i>G. rivale</i>	8,9
			<i>G. album</i>	9,12
			<i>G. lovcense</i>	9,12
			<i>G. humifusum</i>	9,13
			<i>G. palustre</i>	9
			<i>G. odoratum</i>	9
			<i>G. mollugo</i>	15
			<i>G. schultesii</i>	9
			<i>G. pseudoaristatum</i>	9
			<i>G. octonarium</i>	9
			<i>G. rhodopeum</i>	9
			<i>G. aegeum</i>	9
<i>G. aparine</i>	9			
<i>G. tricornutum</i>	9			
10- deasetil dafillozit	CH ₃	α -OH	<i>G. verum</i>	16

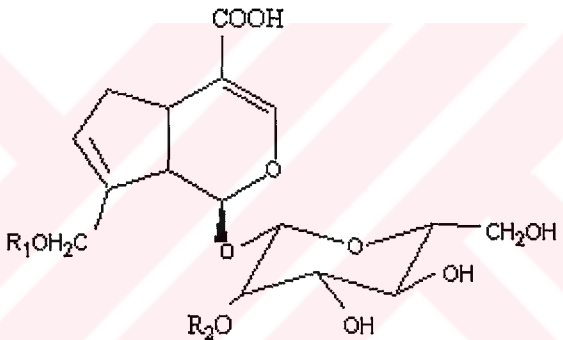


Bileşik	R ₁	R ₂	Bitki	Kaynak
Dafillozit	α -OH	Ac	<i>G. album</i>	12
			<i>G. lovcense</i>	12
			<i>G. mollugo</i>	14
			<i>G. verum</i>	16
			<i>G. humifusum</i>	13

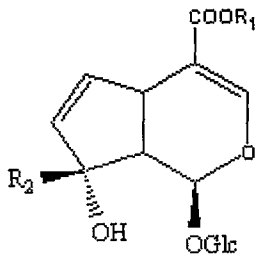
Tablo 2'nin devamı

Bileşik	R ₁	R ₂	Bitki	Kaynak
				
Asperulozidik asit	α -OH	Ac	<i>G. rivale</i> <i>G. album</i> <i>G. lovcense</i> <i>G. aparine</i> <i>G. mollugo</i> <i>G. verum</i> <i>G. humifusum</i> <i>G. palustre</i> <i>G. odoratum</i> <i>G. schultesii</i> <i>G. pseudoaristatum</i> <i>G. octonarium</i> <i>G. macedonicum</i> <i>G. mirum</i> <i>G. rigidifolium</i> <i>G. rhodopeum</i> <i>G. aegeum</i> <i>G. asparagifolium</i> <i>G. tricornutum</i>	8,9 9,12 9,12 9,10 14,17,18 9 9,13 9 9 9 9 9 9 9 9 9 9
Humifusin A	β -OH		<i>G. humifusum</i>	9,13
Humifusin B		Ac	<i>G. humifusum</i>	9,13
Asperulozit	H	Ac	<i>G. lovcense</i> <i>G. album</i> <i>G. aparine</i> <i>G. verum</i> <i>G. spurium</i> <i>G. rotundifolium</i> <i>G. incanum</i> <i>G. palustre</i> <i>G. boreale</i> <i>G. odoratum</i> <i>G. schultesii</i> <i>G. octonarium</i> <i>G. macedonicum</i> <i>G. mirum</i> <i>G. rigidifolium</i> <i>G. rhodopeum</i>	12 9,12,19 9,20-23 9,16,20,22,24 15,20,25 20 20 9,26 27 9 9,28 9 9 9 9

			<i>G. aegeum</i>	9
			<i>G. lovcense</i>	9
			<i>G. tricornutum</i>	9
			<i>G. turkestanicum</i>	29
			<i>G. humifusum</i>	9,13,20,
			<i>G. triflorum</i>	30
			<i>G. ruthenicum</i>	31
			<i>G. salicifolium</i>	32
			<i>G. tauricum</i>	33
			<i>G. pseudoaristatum</i>	9
			<i>G. paschale</i>	34
			<i>G. mollugo</i>	14,15,17,18,35
V1 iridoit	H		<i>G. verum</i>	9,16,36
			<i>G. humifusum</i>	9,13
			<i>G. schultheisii</i>	28

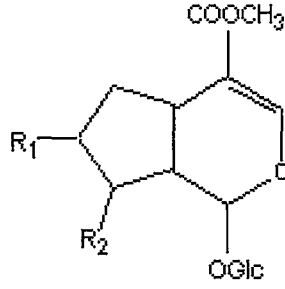
				
Bileşik	R₁	R₂	Bitki	Kaynak
V2 iridoit	Ac	OHC ₆ H ₄ (CH ₂) ₂ CO	<i>G. humifusum</i>	9,13
			<i>G. verum</i>	9,36

Tablo 2'nin devamı

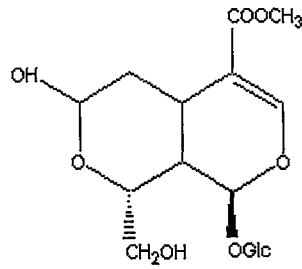
				
Bileşik	R ₁	R ₂	Bitki	Kaynak
Monotropein	H	CH ₂ OH	<i>G. rivale</i>	8,9
			<i>G. album</i>	9,12
			<i>G. lovcense</i>	9,12
			<i>G. aparine</i>	9,20
			<i>G. verum</i>	9,20
			<i>G. humifusum</i>	9,13,20
			<i>G. spurium</i>	20
			<i>G. rotundifolium</i>	20
			<i>G. incanum</i>	20
			<i>G. mollugo</i>	14,17,18
			<i>G. odoratum</i>	9
			<i>G. palustre</i>	9
			<i>G. glaucum</i>	37
			<i>G. schultesii</i>	9
			<i>G. octonarium</i>	9
			<i>G. macedonicum</i>	9
			<i>G. mirum</i>	9
			<i>G. rigidifolium</i>	9
			<i>G. rhodopeum</i>	9
			<i>G. aegeum</i>	9
<i>G. tricornutum</i>	9			
<i>G. asparagifolium</i>	9			

Tablo 2'nin devamı

Bileşik	R ₁	R ₂	Bitki	Kaynak
Monotropein	H	CH ₂ OH	<i>G. pseudoaristatum</i>	9
			<i>G. paschale</i>	34
Galiozit	CH ₃	CH ₂ OH	<i>G. mollugo</i>	17,18
Mollugozit	CH ₃	COOH	<i>G. mollugo</i>	18,38,39
Penta-O-asetilgaliozit	CH ₃	CH ₂ OH	<i>G. mollugo</i>	17



Bileşik	R ₁	R ₂	Bitki	Kaynak
Loganin	OH	CH ₃	<i>G. verum</i>	9
10-hidroksiloganin	OH	CH ₂ OH	<i>G. album</i>	9,12
			<i>G. lovcense</i>	9,12
			<i>G. mollugo</i>	14
7-O-asetil-10-asetoksiloganin	OAc	CH ₂ OAc	<i>G. album</i>	12
			<i>G. lovcense</i>	9,12
7-β-hidroksi-11-metilforstit	OH	COOH	<i>G. album</i>	9
			<i>G. lovcense</i>	9,12



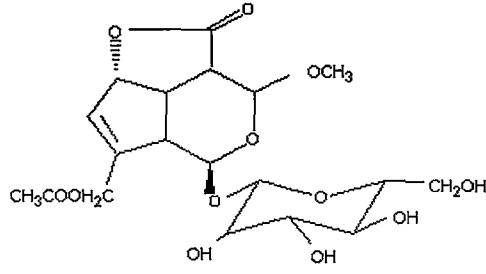
Bileşik	Bitki	Kaynak
10-hidroksimorroneizit (7α-7β)	<i>G. album</i>	9,12
	<i>G. lovcense</i>	9,12
	<i>G. mollugo</i>	14

Tablo 2'nin devamı

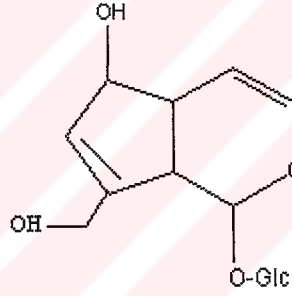
Bileşik	Bitki	Kaynak
Deasetilasperulozit	<i>G. humifusum</i>	9,13
	<i>G. palustre</i>	9
	<i>G. odoratum</i>	9
	<i>G. verum</i>	9
	<i>G. macedonicum</i>	9
	<i>G. mirum</i>	9
	<i>G. rigidifolium</i>	9
	<i>G. aegeum</i>	9
	<i>G. tricornutum</i>	9
	<i>G. asparagifolium</i>	9

Bileşik	Bitki	Kaynak
Sekogaliozit	<i>G. album</i>	9,12,19
	<i>G. lovcense</i>	9,12
	<i>G. mollugo</i>	14,15

Tablo 2'nin devamı



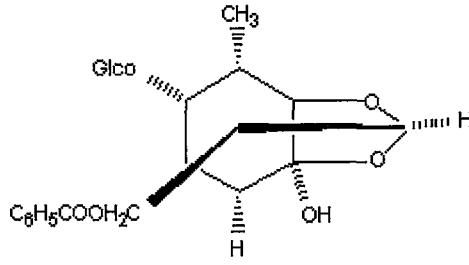
Bileşik	Bitki	Kaynak
V3 Iridoit	<i>G. album</i>	12
(3,4 dihidro-3-metoksiasperulozit)	<i>G. lovcense</i>	12
	<i>G. verum</i>	16
	<i>G. humifusum</i>	13



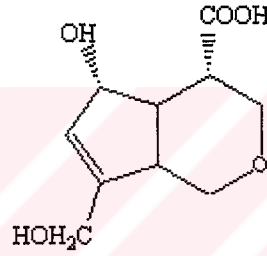
Bileşik	Bitki	Kaynak
Okubin	<i>G. aparine</i>	20
	<i>G. verum</i>	20
	<i>G. spurium</i>	20
	<i>G. rotundifolium</i>	20
	<i>G. incanum</i>	20
	<i>G. humifusum</i>	20
	<i>G. paschale</i>	34

Tablo 2'nin devamı

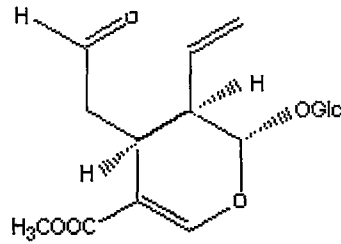
Bileşik	Bitki	Kaynak
Peniflorin	<i>G. aegeum</i>	40



Bileşik	Bitki	Kaynak
Makedonin	<i>G. macedonicum</i>	41

Tablo 3. *Galium* türlerinden izole edilen sekoiridoit glikozitleri

Bileşik	Bitki	Kaynak
Sekologanin	<i>G. schultheisii</i>	28



2.2.2. Flavonoitler

Tablo 4. *Galium* türlerinden izole edilen flavanol bileşikleri

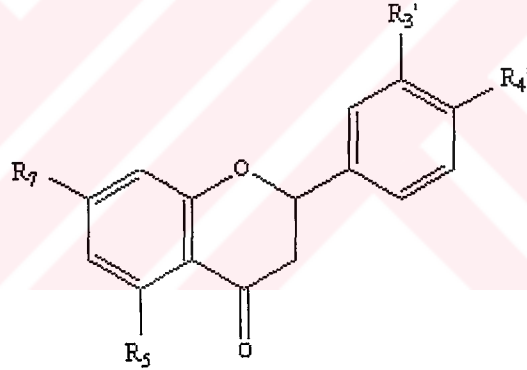
Bileşik	R ₃	R ₅	R ₇	R _{3'}	R _{4'}	Bitki	Kaynak
Kersetin	OH	OH	OH	OH	OH	<i>G. broteroanum</i>	6
						<i>G. melanatherum</i>	42
						<i>G. tauricum</i>	43
						<i>G. uliginosum</i>	44
Kersetin-3-O- β-glikozit (izokersitrin)	O-Glc	OH	OH	OH	OH	<i>G. broteroanum</i>	6
						<i>G. melanatherum</i>	42
						<i>G. verum</i>	45
						<i>G. heldreichii hal</i>	46
Kersetin-7-O- β-glikozit	OH	OH	O-Glc	OH	OH	<i>G. verum</i>	45
						<i>G. cruciatum</i>	47
Kersetin-3-O- ramnozit	O-Rhm	OH	OH	OH	OH	<i>G. cruciatum</i>	47
Kersetin-3-O-β -galaktozit	O-Gal	OH	OH	OH	OH	<i>G. heldreichii</i>	46
						<i>G. boreale</i>	48
						<i>G. ruthenicum</i>	49
						<i>G. cruciatum</i>	50
						<i>G. tauricum</i>	43
						<i>G. salicifolium</i>	32
<i>G. palustre</i>	51						
<i>G. mollugo</i>	52						

Tablo 4'ün devamı

Rutin	O-Rut	OH	OH	OH	OH	<i>G. aparine</i>	6
						<i>G. melanantherum</i>	42
						<i>G. heldreichii</i>	46
						<i>G. broteroanum</i>	6
						<i>G. ruthenicum</i>	49
						<i>G. cruciatum</i>	50,53
						<i>G. verum</i>	24,45,54
						<i>G. palustre</i>	26
						<i>G. salicifolium</i>	32
Kemferol	OH	OH	OH	H	OH	<i>G. uliginosum</i>	44
						<i>G. melanantherum</i>	42
Kemferol-3-O-beta rutinozid	O-Rut	OH	OH	H	OH	<i>G. melanantherum</i>	42
						<i>G. ruthenicum</i>	55
Sinarozit	H	OH	O-Glc	OH	OH	<i>G. mollugo</i>	52

Tablo 5. *Galium* türlerinden izole edilen flavanon bileşikleri

Bileşik	R ₅	R ₇	R ₃ '	R ₄ '	Bitki	Kaynak
5,7,3-trihidroksiflavanon-4'-O-β-D-glikopiranozid	OH	OH	OH	O-Glc	<i>G. fissurense</i>	56
Hesperidin	OH	O-Rhm-Glc	OH	OCH ₃	<i>G. mollugo</i>	57
					<i>G. aparine</i>	54
					<i>G. humifusum</i>	54
Naringenin-7-O-β-D-glikopiranozid	OH	O-Glc	H	OH	<i>G. fissurense</i>	56



Tablo 6. *Galium* türlerinden izole edilen flavon bileşikleri

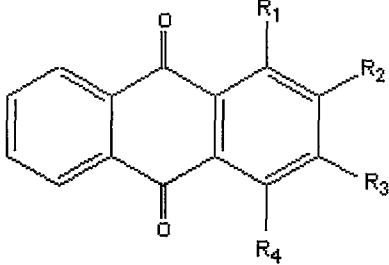
Bileşik	R ₅	R ₇	R ₈	R _{3'}	R _{4'}	Bitki	Kaynak
Viteksin	OH	OH	O-Glc	H	OH	<i>G. melanantherum</i>	42
Apigenin	OH	OH	H	H	OH	<i>G. melanantherum</i>	42
Apigenin-7-O-β-D-glikopiranozit	OH	O-Glc	H	H	OH	<i>G. fissurense</i> <i>G. fagetorum</i> <i>G. ruthenicum</i>	87 58 55
Apigenin-7-O-β-D-glikopiranozil (6-1)ramnopiranozit	OH	O-Glc-Rhm	H	H	OH	<i>G. ruthenicum</i>	55
Apigenin-4'-O-β-D-glukofuranozit-7-O-β-D-glukopiranozil (6-1)ramnopiranozit	OH	O-Glc-Rhm	H	H	O-Glc	<i>G. mollugo</i>	52
Luteolin	OH	OH	H	OH	OH	<i>G. aparine</i> <i>G. fissurense</i> <i>G. melanantherum</i>	59 56 42
Luteolin-7-O-glikozit	OH	O-Glc	H	OH	OH	<i>G. verum</i> <i>G. melanantherum</i>	45 42
Luteolin-7-O-β-gentiobiozit	OH	O-Gen	H	OH	OH	<i>G. melanantherum</i>	42
Luteolin-4'-O-β-D-glukofuranozit-7-O-β-D-glukopiranozil (6-1)arabinopiranozit	OH	O-Glc-Ara	H	OH	O-Glc	<i>G. mollugo</i>	52
Luteolin-7-O-β-D-glikopiranozil(6-1)arabinopiranozit	OH	O-Glc-Ara	H	OH	OH	<i>G. mollugo</i>	52
Luteolin-7-O-β-D-glikopiranozit	OH	O-Glc	H	OH	OH	<i>G. fagetorum</i> <i>G. ruthenicum</i>	60 55

Tablo 6'nın devamı

Diosmetin-7-O-β-D-glikopiranozit	OH	O-Glc	H	OH	OCH ₃	<i>G. fagetorum</i> <i>G. mollugo</i>	58 52
Diosmetin-7-ksilozil (1-6)glikozit	OH	O-Xyl-Glc	H	OH	OCH ₃	<i>G. palustre</i>	51
Diosmetin-7-O-β-D-glikopiranozil(2-1)-β-D-ksilopiranozit	OH	O-Glc-Xyl	H	OH	OCH ₃	<i>G. mollugo</i>	52
Orientin	OH	OH	C-Glc	OH	OH	<i>G. melanantherum</i>	42
Visenin-2	OH	OH	H	H	OH	<i>G. melanantherum</i>	42
Kosmosin	OH	O-Glc	H	H	OH	<i>G. mollugo</i>	52
İzoroifolin	OH	O-Rhm-Glc	H	H	OH	<i>G. mollugo</i>	52
7-O-ramnoglikozil 5,7,3'-trihidroksi 4-metoksiflavyon	OH	O-Rhm-Glc	H	OH	OMe	<i>G. mollugo</i>	61

2.2.3. Antrakinonlar

Tablo 7. *Galium* türlerinden izole edilen antrakinonlar

Bileşik	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	Bitki	Kaynak
						
Alizarin 1-metileter	OCH ₃	O-primveroz	H	H	<i>G. sinaicum</i>	62
2-O-β-primverozit					<i>G. aparine</i>	63
					<i>G. saxatile</i>	63
					<i>G. verum</i>	63
					<i>G. mollugo</i>	63
					<i>G. sterni</i>	63
					<i>G. pumilum</i>	63
Alizarin 1-metileter	OCH ₃	OH	H	H	<i>G. sinaicum</i>	64
					<i>G. spurium</i>	65
					<i>G. verum</i>	66
Alizarin 2-O-β-primverozit	OH	O-primveroz	H	H	<i>G. ruthenicum</i>	67
Lusidin	OH	CH ₂ OH	OH	H	<i>G. fageturnum</i>	68
					<i>G. dasypodum</i>	69,70
					<i>G. aparine</i>	63
					<i>G. saxatile</i>	63
					<i>G. verum</i>	63
					<i>G. mollugo</i>	63,71,72
					<i>G. sterni</i>	63
					<i>G. pumilum</i>	63
Lusidin 3-O-β-primverozit	OH	CH ₂ OH	O-primveroz	H	<i>G. dasypodum</i>	69,70
					<i>G. ruthenicum</i>	67
					<i>G. mollugo</i>	71,72

Tablo 7'nin devamı

Lusidin ω-etileter	OH	CH ₂ OC ₂ H ₅	OH	H	<i>G. sinaicum</i>	73
Lusidin ω-metileter	OH	CH ₂ OCH ₃	OH	H	<i>G. spurium</i>	65
					<i>G. verum</i>	66
Lusidin 3-O-β-D-glikopiranozit	OH	CH ₂ OH	O-Glc	H	<i>G. ruthenicum</i>	67
Antragallol 1-metileter 3-O-β-D-glikopiranozit	OCH ₃	OH	O-Glc	H	<i>G. sinaicum</i>	62
Antragallol 1-metileter 3-O-rutinozit	OCH ₃	OH	O-Rut	H	<i>G. sinaicum</i>	62
Antragallol 3-O-rutinozit	OH	OH	O-Rut	H	<i>G. sinaicum</i>	62
Rubiadin	OH	CH ₃	OH	H	<i>G. spurium</i>	65
					<i>G. fagetorum</i>	74,75
					<i>G. articulatum</i>	76
					<i>G. dasypodum</i>	69,70
					<i>G. aparine</i>	63
					<i>G. saxatile</i>	63
					<i>G. spurium</i>	65
					<i>G. fagetorum</i>	74,75
					<i>G. articulatum</i>	76
					<i>G. dasypodum</i>	69,70
					<i>G. aparine</i>	63
					<i>G. saxatile</i>	63
					<i>G. verum</i>	63
					<i>G. sterni</i>	63
					<i>G. pumilum</i>	63
					<i>G. normani</i>	63
Rubiadin 1-metileter	OCH ₃	CH ₃	OH	H	<i>G. dasypodum</i>	69,70
Rubiadin primverozit	OH	CH ₃	O-primveroz	H	<i>G. dasypodum</i>	69
					<i>G. ruthenicum</i>	67
					<i>G. verum</i>	77
					<i>G. mollugo</i>	77

Tablo 7'nin devamı

Rubiadin 3-O-β-glikopiranozit	OH	CH ₃	O-Glc	H	<i>G. ruthenicum</i>	67
Rubiadin 1-metilester 3-O-β-primverozit	OCOCH ₃	CH ₃	O-Primveroz	H	<i>G. ruthenicum</i>	67
Purpurin	OH	OH	H	OH	<i>G. fagetorum</i>	68
					<i>G. articulatum</i>	76
					<i>G. aparine</i>	63
					<i>G. saxatile</i>	63
					<i>G. verum</i>	63
					<i>G. mollugo</i>	63
					<i>G. sternerii</i>	63
					<i>G. pumilum</i>	63
					<i>G. normani</i>	63
					<i>G. fleuroti</i>	63
Purpurin 1-metileter	OCH ₃	OH	H	OH	<i>G. spurium</i>	65
Purpurin karboksilik asit	OH	OH	COOH	OH	<i>G. mollugo</i>	71
Purpurin karboksilik asit glikozit	O-Glc	OH	COOH	OH	<i>G. mollugo</i>	71
Galiozin	O-Glc-Xyl	OH	COOH	OH	<i>G. mollugo</i>	71,77
					<i>G. verum</i>	77
Ruberitik asit	OH	O-Primveroz	H	H	<i>G. articulatum</i>	76
Psödopurpurin	OH	COOH	OH	OH	<i>G. articulatum</i>	76
					<i>G. aparine</i>	63
					<i>G. saxatile</i>	63
					<i>G. verum</i>	63
					<i>G. mollugo</i>	63
					<i>G. sternerii</i>	63
					<i>G. pumilum</i>	63
					<i>G. normani</i>	63
					<i>G. fleuroti</i>	63

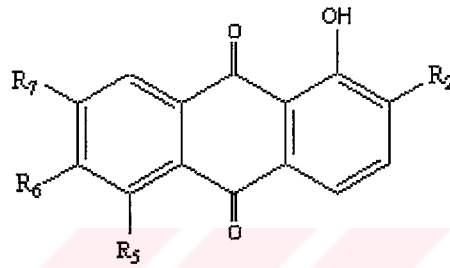
Tablo 7'nin devamı

Ksantopurpurin	OH	H	OH	H	<i>G. spurium</i>	65
					<i>G. aparine</i>	63
					<i>G. saxatile</i>	63
					<i>G. verum</i>	63
					<i>G. mollugo</i>	63
					<i>G. sterni</i>	63
					<i>G. pumilum</i>	63
					<i>G. fleuroti</i>	63
Ksantopurpurin dimetileter	OCH ₃	H	OCH ₃	H	<i>G. aparine</i>	63
					<i>G. saxatile</i>	63
					<i>G. verum</i>	63
					<i>G. mollugo</i>	63
2-hidroksi antrakinon	H	OH	H	H	<i>G. saxatile</i>	63
					<i>G. pumilum</i>	63
					<i>G. verum</i>	63
					<i>G. mollugo</i>	63
1-hidroksi-2-metil antrakinon	OH	CH ₃	H	H	<i>G. spurium</i>	65
					<i>G. pumilum</i>	63
					<i>G. aparine</i>	63
					<i>G. saxatile</i>	63
					<i>G. verum</i>	63
					<i>G. mollugo</i>	63,78
1-hidroksi-2-hidroksimetil antrakinon	OH	CH ₂ OH	H	H	<i>G. verum</i>	66
1-metoksi-2-hidroksi antrakinon	OCH ₃	OH	H	H	<i>G. fagetorum</i>	74,75
					<i>G. verum</i>	66
1-metoksi-2-metil antrakinon	OCH ₃	CH ₃	H	H	<i>G. aparine</i>	63
					<i>G. verum</i>	63
					<i>G. saxatile</i>	63
1,3-dimetoksi-2-hidroksi antrakinon	OCH ₃	OH	OCH ₃	H	<i>G. verum</i>	66

Tablo 7'nin devamı

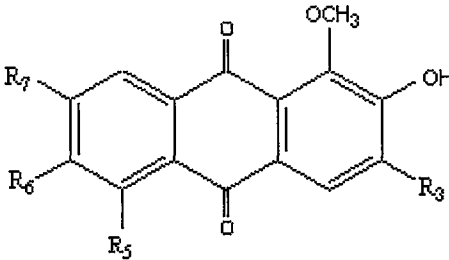
2-metoksi antrakinon	H	OCH ₃	H	H	<i>G. saxatile</i>	63
					<i>G. aparine</i>	63
					<i>G. verum</i>	63
					<i>G. mollugo</i>	63
1,3-dihidroksi-2-etoksimetil antrakinon	OH	CH ₂ OC ₂ H ₅	OH	H	<i>G. dasypodum</i>	69
1,3-dihidroksi-2-metil antrakinon	OH	CH ₃	OH	H	<i>G. verum</i>	66
1,3-dihidroksi-2-asetoksi antrakinon	OH	OCOCH ₃	OH	H	<i>G. verum</i>	66
1,3-dihidroksi-2-metoksi metil antrakinon	OH	CH ₂ OCH ₃	OH	H	<i>G. verum</i>	66
1,3-dimetoksi-2-hidroksi antrakinon	OCH ₃	OH	OCH ₃	H	<i>G. verum</i>	66
Nordamnakantal (1,3- dihidroksi antrakinon 2-al)	OH	CHO	OH	H	<i>G. aparine</i>	79
Kuinizarin	OH	H	H	OH	<i>G. sinaicum</i>	73
2-metilkuinizarin	OH	CH ₃	H	OH	<i>G. sinaicum</i>	73
Alizarin	OH	OH	H	H	<i>G. fagetorum</i>	74,75
					<i>G. articulatum</i>	76
					<i>G. dasypodum</i>	69,70
					<i>G. aparine</i>	63
					<i>G. saxatile</i>	63
					<i>G. verum</i>	63,77
					<i>G. mollugo</i>	63,71,77
					<i>G. sterni</i>	63
					<i>G. sylvaticum</i>	77
					<i>G. rubioides</i>	77
					<i>G. erectum</i>	77
					<i>G. pumilum</i>	63

					<i>G. normani</i>	63
					<i>G. fleuroti</i>	63
Alizarin 2-metileter	OH	OCH ₃	H	H	<i>G. sinaicum</i>	73
					<i>G. aparine</i>	63
					<i>G. pumilum</i>	63
					<i>G. saxatile</i>	63
					<i>G. verum</i>	63
					<i>G. mollugo</i>	63
					<i>G. sterni</i>	63

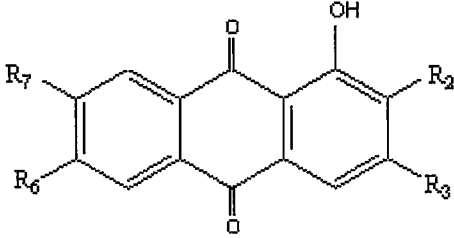


BİLEŞİK	R ₂	R ₅	R ₆	R ₇	Bitki	Kaynak
Kopareolatin 6-metil eter	CH ₃	OH	OCH ₃	OH	<i>G. sinaicum</i>	73
Kopareolatin 5,7-dimetil eter	CH ₃	OCH ₃	OH	OCH ₃	<i>G. sinaicum</i>	73
Kopareolatin 6,7- dimetil eter	CH ₃	OH	OCH ₃	OCH ₃	<i>G. sinaicum</i>	73

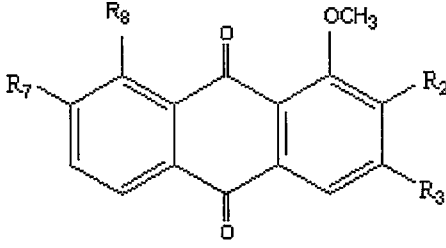
Tablo 7'nin devamı

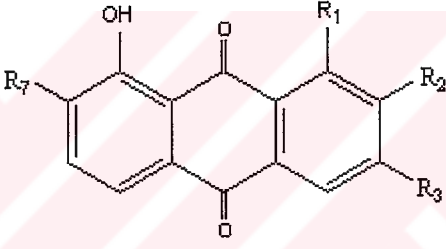
						
BİLEŞİK	R ₃	R ₅	R ₆	R ₇	Bitki	Kaynak
7-metil antragallool 1,3-dimetileter	OCH ₃	H	H	CH ₃	<i>G. sinaicum</i>	73
7-hidroksimetil antragallool 1,3dimetileter	OCH ₃	H	H	CH ₂ OH	<i>G. sinaicum</i>	62,73
6-hidroksiantragallool 1,3-dimetil eter	OCH ₃	H	OH	H	<i>G. sinaicum</i>	62,64
Antragallool 1,3-dimetil eter	OCH ₃	H	H	H	<i>G. sinaicum</i>	64
7-karboksi antragallool 1,3-dimetileter	OCH ₃	H	H	COOH	<i>G. sinaicum</i>	62
5-hidroksi,6-hidroksimetil antragallool 1,3-dimetileter	OCH ₃	OH	CH ₂ OH	H	<i>G. sinaicum</i>	62
7-formil antragallool 1,3-dimetil eter	OCH ₃	H	H	CHO	<i>G. sinaicum</i>	73

Tablo 7'nin devamı

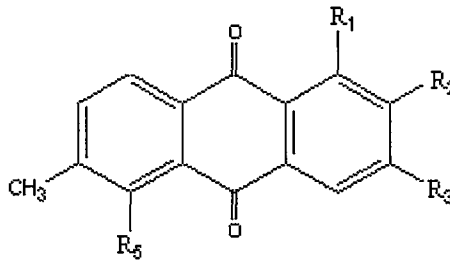
						
BİLEŞİK	R ₂	R ₃	R ₆	R ₇	Bitki	Kaynak
7-metil antragallol 2-metil eter	OCH ₃	OH	H	CH ₃	<i>G. sinaicum</i>	73
6-metilantragallol 3-metil eter	OH	OCH ₃	CH ₃	H	<i>G. sinaicum</i>	73
6-hidroksi-7-metoksi rubiadin	CH ₃	OH	OH	OCH ₃	<i>G. sinaicum</i>	62
6-hidroksi ksantopurpurin	H	OH	OH	H	<i>G. sinaicum</i>	72
6,7- dimetoksi ksantopurpurin	H	OH	OCH ₃	OCH ₃	<i>G. sinaicum</i>	62
6-metil alizarin	OH	H	CH ₃	H	<i>G. spurium</i>	64
6-metoksi lusidin ω-etil eter	CH ₂ OC ₂ H ₅	OH	OCH ₃	H	<i>G. sinaicum</i>	73
Soranidiol	CH ₃	H	OH	H	<i>G. sinaicum</i>	73
Antragallol 2-metil eter	OCH ₃	OH	H	H	<i>G. sinaicum</i>	73
1,3-dihidroksi-2- hidroksimetil 6-metoksi antrakinon	CH ₂ OH	OH	OCH ₃	H	<i>G. verum</i>	66
1,6-dihidroksi-2-metil antrakinon	CH ₃	H	OH	H	<i>G. verum</i>	66

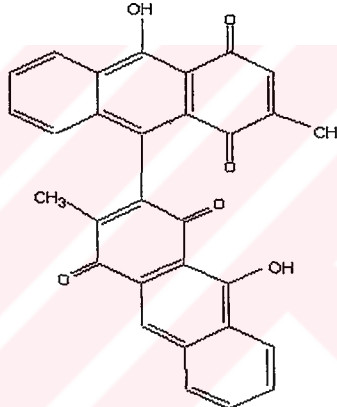
Tablo 7'nin devamı

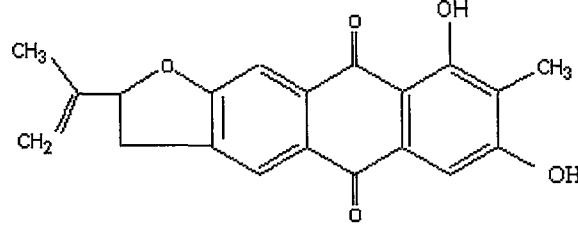
						
BİLEŞİK	R ₂	R ₃	R ₇	R ₈	Bitki	Kaynak
7-metil-1,2,3,8-tetrametoksi antrakinon	OCH ₃	OCH ₃	CH ₃	OCH ₃	<i>G. spurium</i>	65

						
BİLEŞİK	R ₁	R ₂	R ₃	R ₇	Bitki	Kaynak
7-metil-8-hidroksi antragallol 1,3-dimetil eter	OCH ₃	OH	OCH ₃	CH ₃	<i>G. sinaicum</i>	73
8-hidroksi antragallol 2,3-dimetil eter	OH	OCH ₃	OCH ₃	H	<i>G. sinaicum</i>	73
8-hidroksi-3-metoksi 7-metil 1,2-metilendioksi antrakinon	OCH ₂ O	OCH ₂ O	OCH ₃	CH ₃	<i>G. spurium</i>	65
2,8-dihidroksi-1,3-dimetoksi 7-metil antrakinon	OCH ₃	OH	OCH ₃	CH ₃	<i>G. spurium</i>	65

Tablo 7'nin devamı

						
BİLEŞİK	R ₁	R ₂	R ₃	R ₅	Bitki	Kaynak
2-metoksi,6-metil, 1,3,5-trihidroksi antrakinon	OH	OCH ₃	OH	OH	<i>G. spurium</i>	65
6-metil,1,2,3,5-tetrametoksi antrakinon	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	<i>G. spurium</i>	65

		
Bileşik	Bitki	Kaynak
Bisinaikinin	<i>G. sinaicum</i>	73

		
Bileşik	Bitki	Kaynak
Galiprenilin	<i>G. album</i>	80

2.2.4. Terpenik Bileşikler

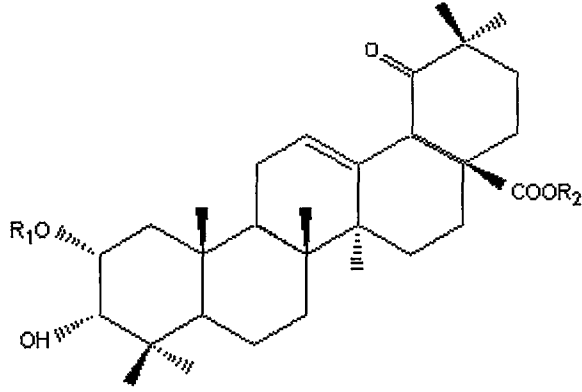
Tablo 8. *Galium* türlerinden izole edilen triterpen saponinler

Bileşik	R ₁	R ₂	Bitki	Kaynak
Rivalozit C	Ac	Glc (1→6) Glc	<i>G. rivale</i>	8,9
Rivalozit D	H	Glc (1→6) Glc	<i>G. rivale</i>	8,9

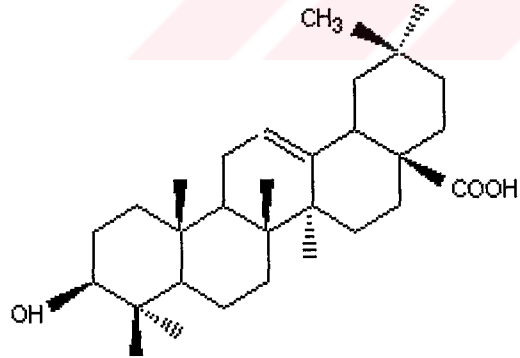
Bileşik	R ₁	R ₂	Bitki	Kaynak
Rivalozit E	GlcUA	CH ₂ OH	<i>G. rivale</i>	8,9
Momordin IIb	GlcUA	CH ₃	<i>G. rivale</i>	8,9

Tablo 8' in devamı

Bileşik	R ₁	R ₂	Bitki	Kaynak
Rivalozit A	Ac	Glc (1→6) Glc	<i>G. rivale</i>	8,9,81
Rivalozit B	H	Glc (1→6) Glc	<i>G. rivale</i>	8,9,81

Tablo 9. *Galium* türlerinden izole edilen triterpenler

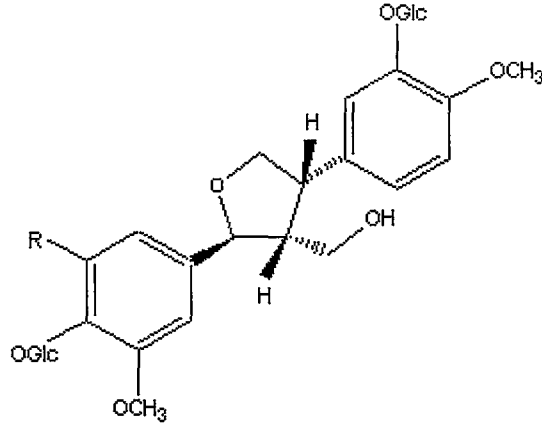
Bileşik	Bitki	Kaynak
<p>Oleanolik asit</p>	<i>G. boreale</i>	27



2.2.5. Lignan-Bis Glikozitleri

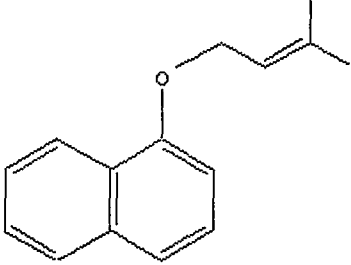
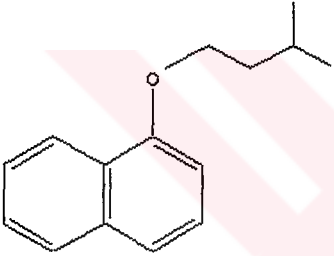
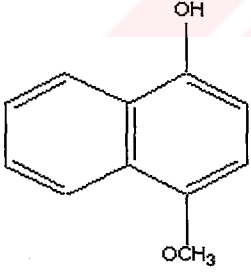
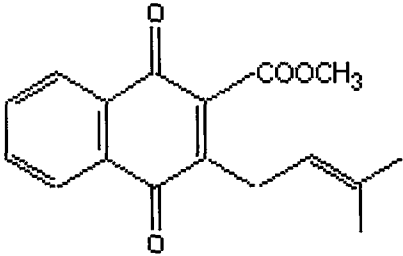
Tablo 10. *Galium* türlerinden izole edilen lignan-bis glikozitleri

Bileşik	R	Bitki	Kaynak
7S,8R,8'R(-)-larisiresinol-4,4'-bis-O-β-D-glikopiranozit	H	<i>G. sinaicum</i>	82
7S,8R,8'R(-)-5-metoksilarisiresinol-4,4'-bis-O-β-D-glikopiranozit	OCH ₃	<i>G. sinaicum</i>	82
Bileşik			
(-)-siringaresinol-4,4'-bis-O-β-d-glikopiranozit		<i>G. sinaicum</i>	82

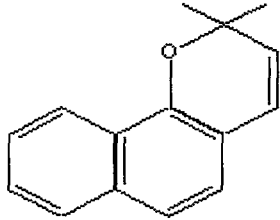
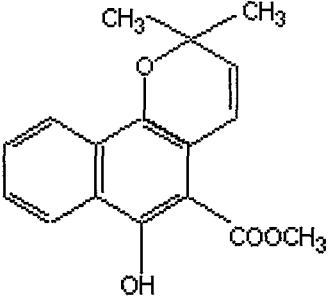
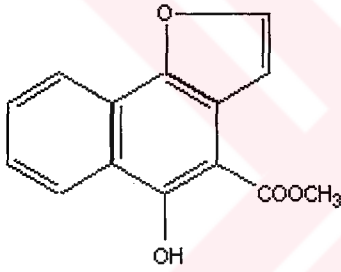


2.2.6. Naftalen türevi bileşikler

Tablo 11. *Galium* türlerinden izole edilen naftalen türevi bileşikler

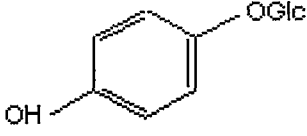
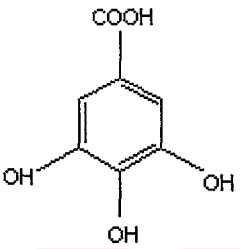
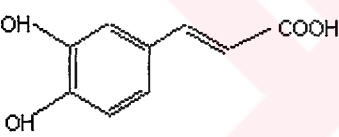
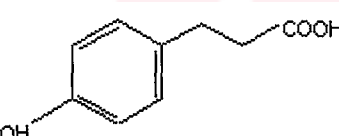
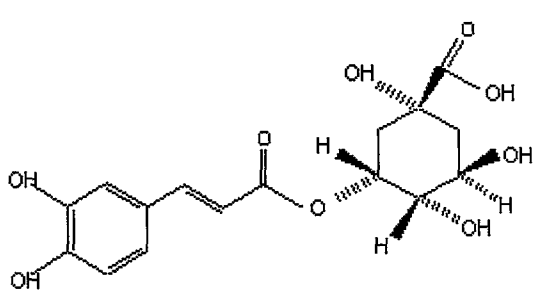
Bileşik	Bitki	Kaynak
 <p>1-naftil izopentenil eter</p>	<i>G. mollugo</i>	63
 <p>1-naftil izopentil eter</p>	<i>G. verum</i>	63
	<i>G. pumilum</i>	63
 <p>4-metoksi-1-naftol</p>	<i>G. mollugo</i>	63
 <p>Naftokinon I</p>	<i>G. mollugo</i>	83

Tablo 11'in devamı

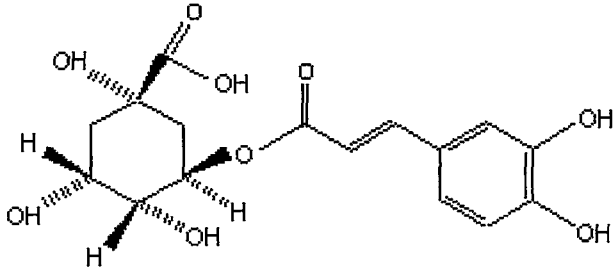
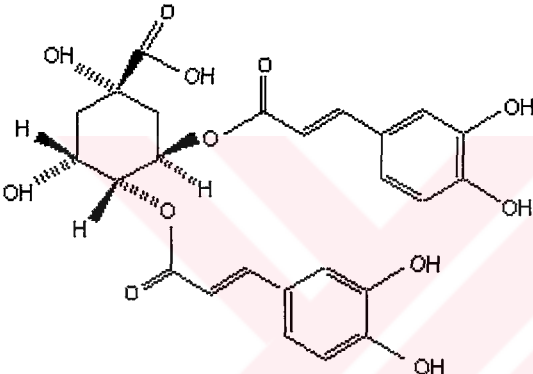
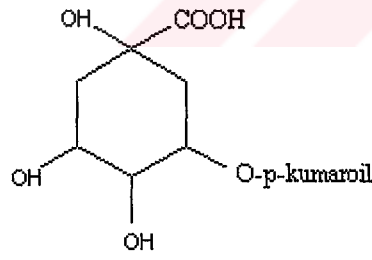
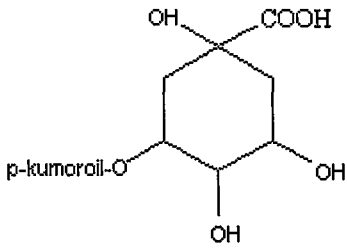
	<i>G. aparine</i>	63
	<i>G. verum</i>	63
	<i>G. pumilum</i>	63
2,2-dimetilnafto [1,2-b] piran		
	<i>G. mollugo</i>	78,84,85
Mollugin		
	<i>G. mollugo</i>	86
Furomollugin		

2.2.7. Fenolik Bileşikler

Tablo 12. *Galium* türlerinden izole edilen fenolik bileşikler

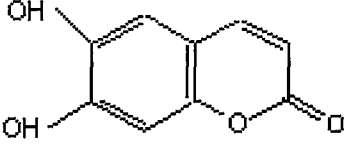
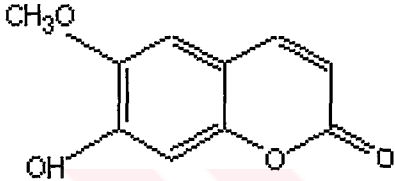
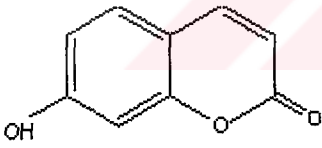
Bileşik	Bitki	Kaynak
 <p>Arbutin</p>	<i>G. album</i>	19
 <p>Gallik asit</p>	<i>G. palustre</i>	51
 <p>Kafeik asit</p>	<i>G. palustre</i> <i>G. melanantherum</i>	51 42
 <p>Floretik asit</p>	<i>G. verum</i>	87
 <p>Neoklorojenik asit</p>	<i>G. fageorum</i> <i>G. pseudomollugo</i>	88 88

Tablo 12'nin devamı

Bileşik	Bitki	Kaynak
	<i>G. mollugo</i> <i>G. aparine</i> <i>G. verum</i> <i>G. fagetorum</i> <i>G. pseudomollugo</i> <i>G. melanantherum</i> <i>G. heldreichii</i> <i>G. broteroanum</i>	35,57 6,10 24 88 88 42 46 6
Klorojenik asit		
	<i>G. fagetorum</i> <i>G. pseudomollugo</i>	88 88
İzoklorojenik asit		
	<i>G. fagetorum</i>	88
5-p-kumaroilkinik asit		
	<i>G. fagetorum</i>	88
3-p-kumaroilkinik asit		

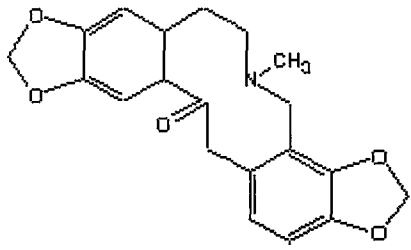
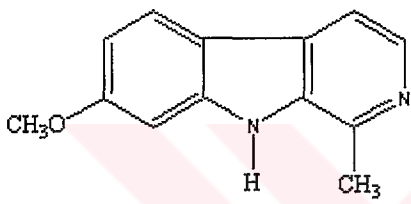
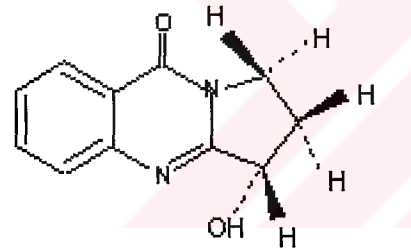
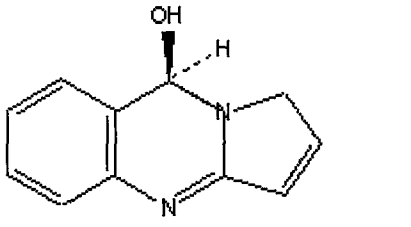
2.2.8. Kumarinler

Tablo 13. *Galium* türlerinden izole edilen kumarinler

Bileşik	Bitki	Kaynak
	<i>G. heldreichii</i>	46
	<i>G. melanantherum</i>	42
Eskuletin		
	<i>G. mollugo</i>	35,57
	<i>G. aparine</i>	6
	<i>G. cruciata</i>	89
	<i>G. tauricum</i>	89
	<i>G. broteroanum</i>	6
Skopoletin		
	<i>G. melanantherum</i>	42
	<i>G. cruciata</i>	89
	<i>G. tauricum</i>	89
Umbelliferon		

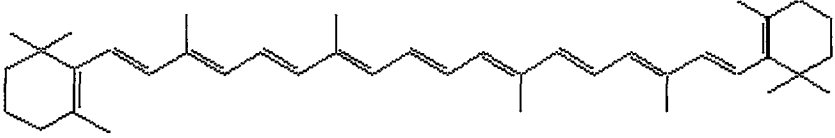
2.2.9. Alkaloitler

Tablo 14. *Galium* türlerinden izole edilen alkaloitler

Bileşik	Bitki	Kaynak
 <p>Protopin</p>	<i>G. aparine</i>	90
 <p>Harmin</p>	<i>G. aparine</i>	90
 <p>+Vasisinon</p>	<i>G. aparine</i>	90
 <p>(-)-1-hidroksideoksi peganin</p>	<i>G. aparine</i>	90
<p>(-)-8-hidroksi-2,3-dehidrodeoksipeganin</p>		

2.2.10. Diğer Bileşikler

Tablo 15. *Galium* türlerinde bulunan diğer bileşikler

Bileşik	Bitki	Kaynak
 β-karoten	<i>G. palustre</i>	91
Krusiatin	<i>G. cruciata</i>	50
	<i>G. tauricum</i>	43
Süksinik asit	<i>G. aparine</i>	92
Sodyum laktat	<i>G. aparine</i>	92
Alkanlar	<i>Galium</i> türleri	27

2.2.11. *Galium* Türlerinin Kullanılışı ve Biyolojik Aktiviteleri

Galium türleri yoğurdun mayalanmasında yararlanılan bir enzim taşıması nedeniyle, Türkçe "Yoğurt Otu" adı ile bilinmekte ve Avrupa ülkelerinde de buna benzer isimlerle anılmaktadır.

Halk arasında antiromatizmal, antispazmodik, iştah açıcı, idrar arttırıcı, safra arttırıcı, kabız, yatıştırıcı ve astrenjan olarak kullanılmaktadır^{2,4,93}. İngiltere'de halk arasında *G. odoratum*'un yaprakları sedatif, antispazmodik ve diüretik olarak kullanılmaktadır ve yapraklar üzerinde yapılan çalışmalarda bitkinin antioksidan etkisi gözlenmiştir⁵.

Galium broteroanum'un toprak üstü kısımları, Fransa ve Portekiz'de halk arasında diüretik, antispazmodik olarak ve taze usaresi böbrek toplar damarlarının ve lenfatik damarların enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılmaktadır⁶.

Galium aparine geleneksel Arap halk tıbbında sedef hastalığının tedavisinde, Doğu Afrika tıbbında kansere karşı ve boğaz kanserinin tedavisinde kullanılmaktadır^{94,95}. Lipid peroksidasyonu inhibisyonunun test edilerek antioksidan aktivitenin araştırıldığı bir çalışmada, *Galium aparine*'nin yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir⁹⁶.

Galium odoratum ve *Galium verum*'un antioksidan aktiviteye sahip oldukları saptanmıştır^{5,97}.

Galium sylvaticum'un ratlarda elektrikle oluşturulmuş konvülsiyonlara karşı antikonvülzan aktivitesi tespit edilmiştir⁹⁸.

Galium sinaicum'dan elde edilen antrakınonlar P388 lösemi hücrelerinde sitotoksik etki göstermiştir⁷³.

Galium aparine bitkisinden izole edilen antrakınon bileşiklerinin insektisit etkileri gözlenmiştir⁷⁹.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Bitki Materyali

Galium tortumense bitkisi Temmuz 2002'de Erzurum, Tortum Gölü yakınlarından (1100 m) toplanmıştır. Toprak üstü kısımlar ayrıldıktan sonra, gölgede kurutulmuş ve toz edilmiştir. Bitki örneği Atatürk Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Herbaryumu'nda saklanmaktadır (ATA 9765).

3.2. Kimyasal Maddeler ve Aletler

3.2.1. Kimyasal Katı Maddeler

Vanilin (Merck)

3.2.2. Solvanlar

Aseton, metanol, n-hekzan, etanol, klorofom, sülfürik asit, etil asetat, asetik asit. Merck kalitesinde solvanlar kullanılmıştır.

3.2.3. Alet ve Cihazlar

Rotavapor: Heidolph 4000

UV lambası: Mineralight UVGL-58

Etüv: Memmert Typ. UM 500

Liyofilizatör: Snijders 2040

Ultrasonik banyo: Bandelin Sonorex RK 255 H

Mantolu ısıtıcı: Barnstead Electrothermal EM5000/C

Vakum pompası: Büchi Vac V-500

Hassas terazi: Scaltec SBA 31

Vortex: IsoLab VM-20

UV Spektrofotometresi (UV): Thermospectronic HeλIOS β

Nükleer Manyetik Rezonans Spektrometresi (NMR): Varian Mercury plus
[400 MHz (¹H-NMR), 100 MHz (¹³C-NMR)]

Bruker AMX 300 [300 MHz (¹H-NMR), 75.5 MHz (¹³C-NMR)]

Kütle Spektrometresi: Agilent 5973, Finnigan MAT 95

3.3. Kromatografik Yöntemler

3.3.1. İnce Tabaka Kromatografisi (İTK)

Kolon kromatografisi çalışmalarında toplanan fraksiyonların izlenmesinde ve bileşiklerin şahit maddeler ile karşılaştırılmasında, normal faz ve karşıt faz silika jel kaplı hazır alüminyum plaklar kullanılmıştır.

Numune Tatbiki: Numuneler pastör pipeti yardımıyla, plağın alt ucunun 1 cm yukarisından ve 0,6 cm aralıklarla tatbik edilmiştir. İTK'da kullanılan solvan sistemleri Tablo 18'de verilmiştir. Kromatografi tankına konulan plaklar oda sıcaklığında 7-10 cm mesafe boyunca sürüklenmiştir.

3.3.2. Açık Kolon Kromatografisi

Çalışmalarımızda adsorban olarak ön fraksiyonlama için silika jel, sefadeks; saflaştırma için silika jel, karşıt faz silika jel ve sefadeksin kullanıldığı açık kolon kromatografisi yönteminden yararlanılmıştır. Fraksiyonlar ön fraksiyonlamada 100'er ml saflaştırma aşamalarında ise 5-10 ml toplanmıştır ve kontrolleri İTK ile yapılmıştır. Aynı Rf değerine sahip fraksiyonlar bir araya toplanmıştır.

Kolonun Hazırlanması

Normal Faz Silika Jel Kolon Kromatografisi (SK)

İstenilen miktarda tartılan silika jel, yeterli miktarda solvan sistemi ile süspansiyon haline getirilmiş ve bu karışım, alt ucuna pamuk yerleştirilmiş olan cam kolona aktarılmıştır. Kolondan yeterli miktarda solvan sistemi (Tablo 17) geçirilerek adsorbanın yerleşmesi sağlanmıştır. Adsorban üzerinde 2-3 mm solvan kalana kadar beklenmiş ve solvan sisteminde çözülmüş olan numune kolona tatbik edilmiştir.

Sefadeks Kolon Kromatografisi (SFK)

10-50 g sefadeks, yeterli miktarda metanol ile karıştırılmıştır. Karışım, alt ucuna pamuk yerleştirilmiş olan cam kolona doldurulmuş ve adsorban tamamen yerleşinceye kadar kolondan metanol geçirilmiştir. Adsorbanın üzerinde 1-2 mm solvan kaldığında metanolde çözülen numune kolona tatbik edilmiştir.

Kolon Kromatografisi İçin Numune Tatbiki

A. Çözücü Yardımı İle Tatbik: Numune yeterli miktarda solvan ya da solvan sistemi içinde ve gerekiyorsa ultrasonik banyoda çözülmüştür. Tamamen çözülmüş numune bir pastör pipeti yardımıyla kolona tatbik edilmiştir. Kolon musluğu açılarak numune adsorbana emdirilmiştir. Kolonun üzerine, adsorban yüzeyinin bozulmasını engellemek için pamuk yerleştirilmiş ve kolona yeterli miktarda solvan sistemi eklenerek elüsyona başlanmıştır.

B. Kuru Tatbik: Silika jel kolona numune tatbiki için bu yöntemden faydalanılmıştır. Numune en iyi çözüldüğü solvanda çözülmüş ve kolon hazırlamada kullanılan adsorban ve numune miktarı da göz önünde tutularak yeterli miktarda adsorban ile karıştırılmıştır. Adsorbanın çözeltiyi iyice adsorbe etmesi ve tam kuruması sağlanmıştır. Karışım kuru tatbik için hazırlanmış kolona aktarılmıştır. Kolonun üzerine, adsorban yüzeyinin bozulmasını önlemek için pamuk yerleştirilmiş ve kolona yeterli miktarda solvan sistemi eklenerek elüsyona başlanmıştır.

3.3.3. Vakum Sıvı Kromatografisi (VSK)

VSK, alt ucu filtrelili bir cam kolon, bir nuçe erleni ve vakum pompasından ibaret olan ucuz ve basit bir sistemdir. Bu yöntemin avantajı, kullanılan solvan miktarının düşük olması nedeniyle maliyetin düşmesi ve hızlı ayırım imkanı sunmasıdır. VSK ile gerçekleştirdiğimiz çalışmalarımızda adsorban olarak karşıt faz silika jel (Lichrorep RP-18) materyali kullanılmıştır. Bu yöntemde elüsyona su ile başlanmış metanolün artan oranlarında su-metanol sistemleriyle devam edilmiştir.

Kolonun Hazırlanması

Adsorban metanol ile süspansiyon edilerek kolona doldurulmuş ve yeterli miktarda metanol kolondan geçirilerek hazırlanmıştır. Elüsyona su ile başlanacağı için kolon su ile şartlandırılmıştır.

Numune Tatbiki

Numune, yeterli miktarda su içinde ultrasonik banyoda çözülerek bir pipet yardımıyla kolona tatbik edilmiştir. Kolonun üzerine yüzeyin bozulmasını önlemek için pamuk yerleştirilmiştir. Fraksiyonlar 15'er ml alınmıştır. İşlem bittiğinde metanol geçirilerek sistem temizlenmiştir.

3.3.4. Kromatografik Çalışmalarda Kullanılan Adsorbanlar

Tablo 16'da verilmiştir.

Tablo 16. Kromatografik Çalışmalarda Kullanılan Adsorbanlar

Yöntem	Adsorban
İnce Tabaka Kromatografisi	Silika jel (Hazır plak, Silica gel 60 F ₂₅₄ , 0.2 mm, Merck 5554) (Hazır plak, RP-18 F _{254s} , 0.2 mm Merck 5559)
Preperatif İnce Tabaka Kromatografisi	Silika jel (Hazır plak, Kieselgel 60 F ₂₅₄ , 0.2 mm, Merck 5554)
Kolon Kromatografisi	Silika jel (Kieselgel 60, 0.063-0.2 mm, Merck 7734) Sefadeks (Sephadex LH-20, Fluka)
Vakum Sıvı Kromatografisi	Karşıt faz Silika jel (Lichroprep RP-18, 25-40 μ m, Merck)

3.3.5. Kullanılan Revelatörler

Vanilin/Sülfürik asit: Vanilin'in derişik sülfürik asitteki %1'lik çözeltisidir. Püskürtmeden sonra 110 °C'de birkaç dakika ısıtılır.

Amonyak buharı.

3.3.6. Solvan Sistemleri

Kromatografik çalışmalarda kullanılan solvan sistemleri Tablo 17'de verilmiştir.

Tablo 17. Yapılan kolon kromatografilerinde kullanılan solvan sistemleri

Solvan sistemi		Yöntem
CHCl ₃ : MeOH	100:0→0:100	SK
CHCl ₃ : MeOH : H ₂ O	61:32:7	SK
CHCl ₃ : MeOH : H ₂ O	80:20:2	SK
CHCl ₃ : MeOH : H ₂ O	80:20:1	SK
CHCl ₃ : MeOH : H ₂ O	70:30:3	SK
CHCl ₃ : MeOH : H ₂ O	50:50:5	SK
H ₂ O : MeOH	100:0 →0:100	VSK
MeOH		SFK

SK: Silika Jel Kolon Kromatografisi, **VSK:** Vakum Sıvı Kromatografisi, **SFK:** Sefadeks Kolon Kromatografisi

İTK'da kullanılan solvan sistemleri Tablo 18'de verilmiştir.

Tablo 18. Kromatografik çalışmalarda İTK'da kullanılan solvan sistemleri

Solvan sistemi	
CHCl ₃ : MeOH : H ₂ O	61:32:7
CHCl ₃ : MeOH : H ₂ O	80:20:2
CHCl ₃ : MeOH : H ₂ O	80:20:1
CHCl ₃ : MeOH : H ₂ O	70:30:3
CHCl ₃ : MeOH : H ₂ O	50:50:5
EtOAc : CH ₃ COOH : HCOOH : H ₂ O	100:11:11:27
EtOAc : MeOH : H ₂ O	100:17:13

3.4. Ekstraksiyon ve İzolasyon

3.4.1. Ekstraksiyon

Açık havada ve gölgede kurutulmuş herba (460 gram), sıvı azot yardımıyla toz edildikten sonra, 3 L metanol ile bir gece boyunca maserasyona bırakılmış ve ertesi gün mantolu ısıtıcıda ve geri çeviren soğutucu altında 40 °C'de 4 saat süreyle 3 kez ekstre edilmiştir. Metanolik ekstratlar birleştirilmiş, süzölmüş ve süzöntü rotavaporda 40 °C'de 120 rpm'de kuruluğa kadar yoğunlaştırılmıştır. 91 g metanolik ekstre elde edilmiştir. Metanol ekstresi 100 ml suda çözüldükten sonra, 2 litrelik ayırma hunisine alınarak kloroform ile tüketilmiştir. Kloroform fazı rotavaporda, 40 °C'de ve alçak basınç altında kuruluğa kadar uçurulmuş, su ekstresi liyofilize edilmiştir. 17 gram kloroform ekstresi, 56 gram liyofilize su ekstresi elde edilmiştir (Şekil 2).

3.4.2. Kloroform Ekstresi Üzerinde Yapılan İzolasyon Çalışmaları

17 gram kloroform ekstresi bir miktar kloroformda çözüldükten sonra 18 g silika jele emdirilmiştir. Diğer taraftan 150 g silika jel n-hekzan içinde süspanse edilmiş, 3x67 cm boyutlarındaki kolona doldurulmuştur. Silika jele emdirilen numune, kolona tatbik edilmiştir. Elüsyona n-hekzan ile başlanmış sonra etil asetatın artan oranlarında (98:2, 95:5, 90:10, 85:15, 80:20, 75:25, 70:30, 65:35, 60:40, 55:45, 50:50, 40:60, 30:70, 20:80, 10:90 ve 0:100) elüsyon sürdürülmüştür. Toplanan fraksiyonlar yoğunlaştırılıp

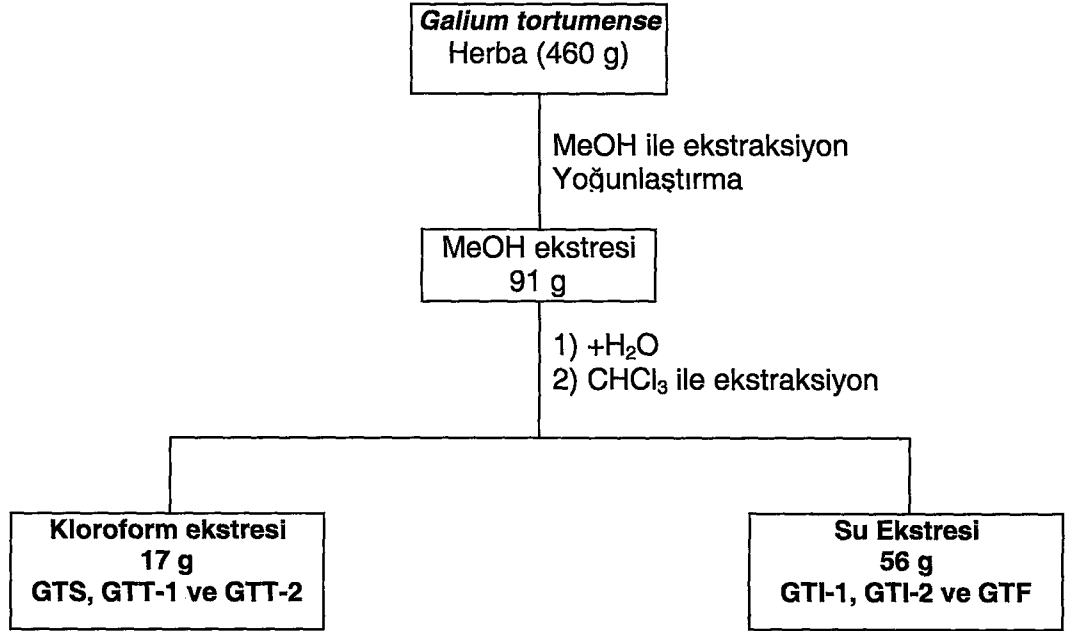
İTK ile incelenmiş ve aynı Rf değerlerine sahip olanlar birleştirilerek numaralandırılmıştır. n-Hekzan:etil asetat (80:20) oranında yürütülürken elde edilen Fr. 20 ile n-Hekzan:etil asetat (70:30) oranında elüsyon devam ederken elde edilen Fr. 25-26'da tekrar kromatografik analizler yapılmasına karar verilmiştir.

3.4.2.1. GTS'nin Ayırımı ve Saflaştırılması

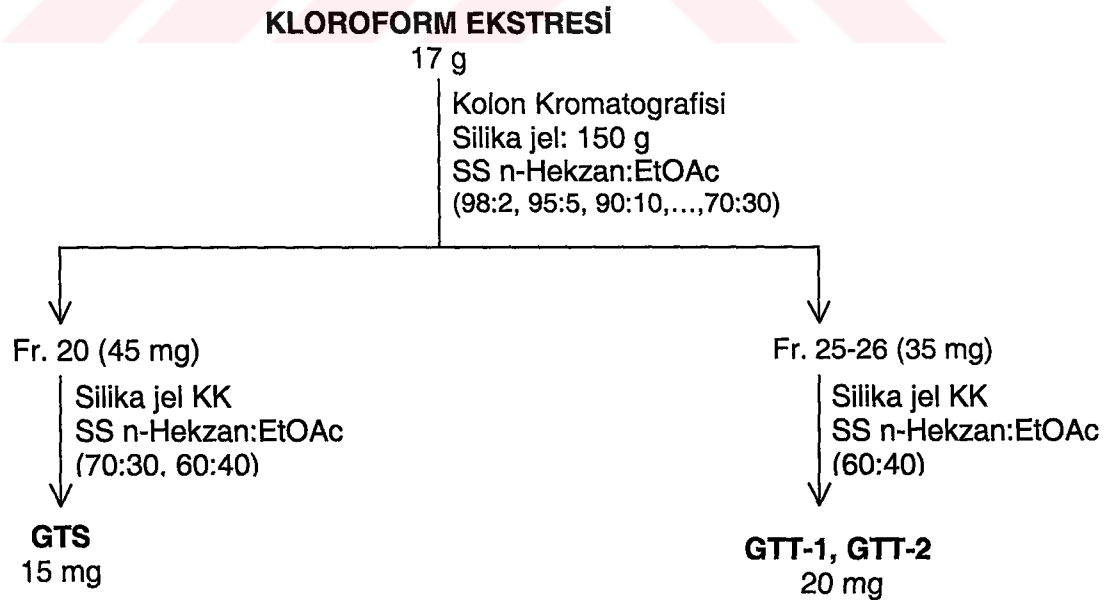
35 g silika jel n-hekzan:etil asetat (70:30) solvan sistemi içinde süspanse edilmiştir. 3x46 cm boyutlarındaki kolona doldurulmuştur. 45 mg Fr. 20'nin tatbikinden sonra n-hekzan:etil asetat (70:30) ile elüsyon başlatılmış ve n-hekzan:etil asetat (60:40) ile sürdürülmüştür. GTS beyaz toz halinde elde edilmiştir (15 mg). Madde İTK'da gün ışığında renksizdir, %1'lik vanilin/sülfürik asit reaktifi ile ısıtılınca pembe-mor renk vermektedir (Şekil 3).

3.4.2.2. GTT-1 ve GTT-2'nin Ayırımı ve Saflaştırılması

35 g silika jel n-hekzan:etil asetat (60:40) solvan sistemi içinde süspanse edilmiştir. 3x46 cm boyutlarındaki kolona doldurulmuştur. 35 mg Fr. 25-26'nın tatbikinden sonra n-hekzan:etil asetat (60:40) ile elüsyon başlatılmıştır ve sürdürülmüştür. GTT-1 ve GTT-2 beyaz toz halinde elde edilmiştir (20 mg). Karışım İTK'da gün ışığında renksizdir, %1'lik vanilin/sülfürik asit reaktifi ile ısıtılınca pembe-mor renk vermektedir (Şekil 3).



Şekil 2. *Galium tortumense* bitkisinin toprak üstü kısımlarına uygulanan ekstraksiyon şeması



Şekil 3. Kloroform ekstresinden elde edilen maddelerin izolasyonu

3.4.3. Su Ekstresi Üzerinde Yapılan İzolasyon Çalışmaları

56 gram su ekstresi, 50 g Sephadex LH-20'nin metanol ile süspansiyonu hazırlanarak 3x44 cm boyutlarındaki kolondan ard arda metanol ile elüe edilmiş ve alınan fraksiyonlar İTK'da $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}$ (61:32:7) solvan sisteminde kontrol edilerek benzer fraksiyonlar birleştirilmiş ve ekstre iki fraksiyona ayrılmıştır (Fr. A ve Fr. B).

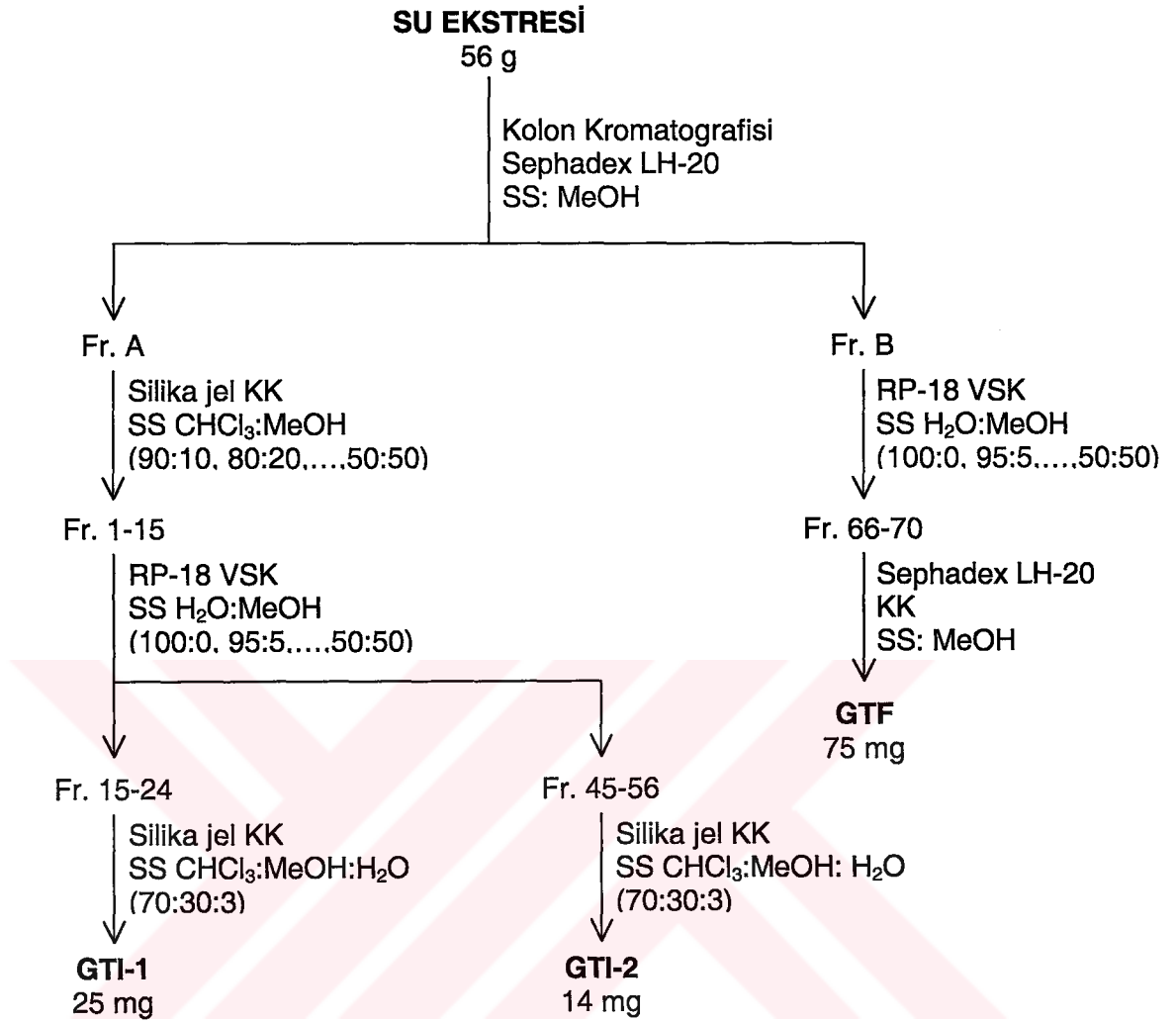
Fr. A, 165 g silika jelin $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}$ (90:10) solvan sistemi içinde süspansiyonu hazırlanarak 2.5x61.5 cm boyutlarındaki kolona kuru tatbik edilmiştir. Elüsyona $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}$ (90:10) ile başlanmış, metanolün artan oranlarında [$\text{CHCl}_3:\text{MeOH}$ (80:20, 70:30, 60:40, 50:50, 40:60, 30:70, 20:80, 10:90 ve 0:100)] devam edilmiştir. Toplanan fraksiyonlar yoğunlaştırılıp İTK ile incelenmiş ve aynı Rf değerlerine sahip olanlar birleştirilerek numaralandırılmıştır.

3.4.3.1. GTI-1 ve GTI-2'nin Ayırımı ve Saflaştırılması

Fr. A'nın tatbik edildiği silika jel kolondan alınan Fr. 1-15, 40 gram karışık faz silika jel (Lichroprep RP-18) ile hazırlanan kolona tatbik edilmiştir. Elüsyona su ile başlanmış, metanolün artan oranlarında [$\text{H}_2\text{O}:\text{MeOH}$ (95:5, 90:10, 85:15, 80:20, 75:25, 70:30, 65:35, 60:40, 55:45, 50:50)] devam edilmiştir. Bu kolondan alınan Fr. 15-24 ve Fr. 45-56 kendi aralarında birleştirilerek yoğunlaştırılmıştır. Daha sonra bu fraksiyonlar 30 g silika jelin $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}$ (70:30:3) solvan sistemi içinde süspansiyonu hazırlanarak 3x44 cm boyutlarındaki iki ayrı kolona ayrı ayrı sıvı tatbik edilmiş ve elüsyonlar $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}$ (70:30:3) solvan sistemi ile başlatılmış ve devam ettirilmiştir. Fr.15-24'in tatbik edildiği kolondan GTI-1 (25 mg) ve Fr. 45-56'nın tatbik edildiği kolondan GTI-2 (14 mg) izole edilmiştir (Şekil 4).

3.4.3.2. GTF'nin Ayırımı ve Saflaştırılması

Silika jel kolondan alınan Fraksiyon B, 40 gram karışık faz silika jel (Lichroprep RP-18) ile hazırlanan kolona tatbik edilmiştir. Elüsyona su ile başlanmış, metanolün artan oranlarında [$\text{H}_2\text{O}:\text{MeOH}$ (95:5, 90:10, 85:15, 80:20, 75:25, 70:30, 65:35, 60:40, 55:45, 50:50)] devam edilmiştir. Buradan alınan Fr. 66-70 birleştirilmiş ve temizleme amacıyla 50 g Sephadex LH-20'nin metanol ile süspansiyonu hazırlanarak 3x44 cm boyutlarındaki kolondan metanol ile elüe edilmiş ve buradan GTF (75 mg) izole edilmiştir (Şekil 4).

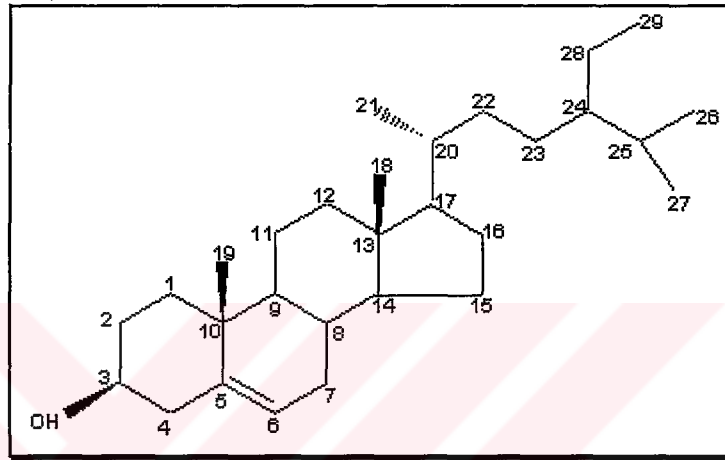


Şekil 4. Su ekstresinden elde edilen maddelerin izolasyonu

4. BULGULAR

Galium tortumense bitkisinin toprak üstü kısımlarının kloroform ve su ekstraktlarından 1 sterol, 2 triterpen, 2 iridoit ve 1 flavonoit yapısında toplam altı bileşik [GTS, GTT-1, GTT-2, GTI-1, GTI-2, GTF] izole edilmiştir.

β-SİTOSTEROL



Şekil 5. β-Sitosterol'ün molekül yapısı

β-SİTOSTEROL (GTS)

$C_{29}H_{50}O$ (M.A. 414)

UV (MeOH) λ_{max} nm: 205

EI- Kütle sp. m/z: 414 [%100, M^+], 399 [%19, $M^+ - CH_3$], 396 [%34, $M^+ - H_2O$], 381 [%17, $M^+ - H_2O - CH_3$], 354 [%7, $(381 - 2 \times CH_3)^+$], 273 [%18, $M^+ - zincir$], 255 [%18, $(273 - H_2O)^+$].

1H -NMR ($CDCl_3$, 300 MHz): Spektrum 1, Tablo 19

^{13}C -NMR ($CDCl_3$, 75.5 MHz): Spektrum 2, Tablo 19

DEPT ($CDCl_3$, 75.5 MHz): Spektrum 3

2D- 1H - 1H -Homonükleer COSY: Spektrum 4

2D- 1H - ^{13}C -Heteronükleer (short range) COSY (HMQC): Spektrum 5

2D- 1H - ^{13}C -Heteronükleer (long range) COSY (HMBC): Spektrum 6

β-SİTOSTEROL

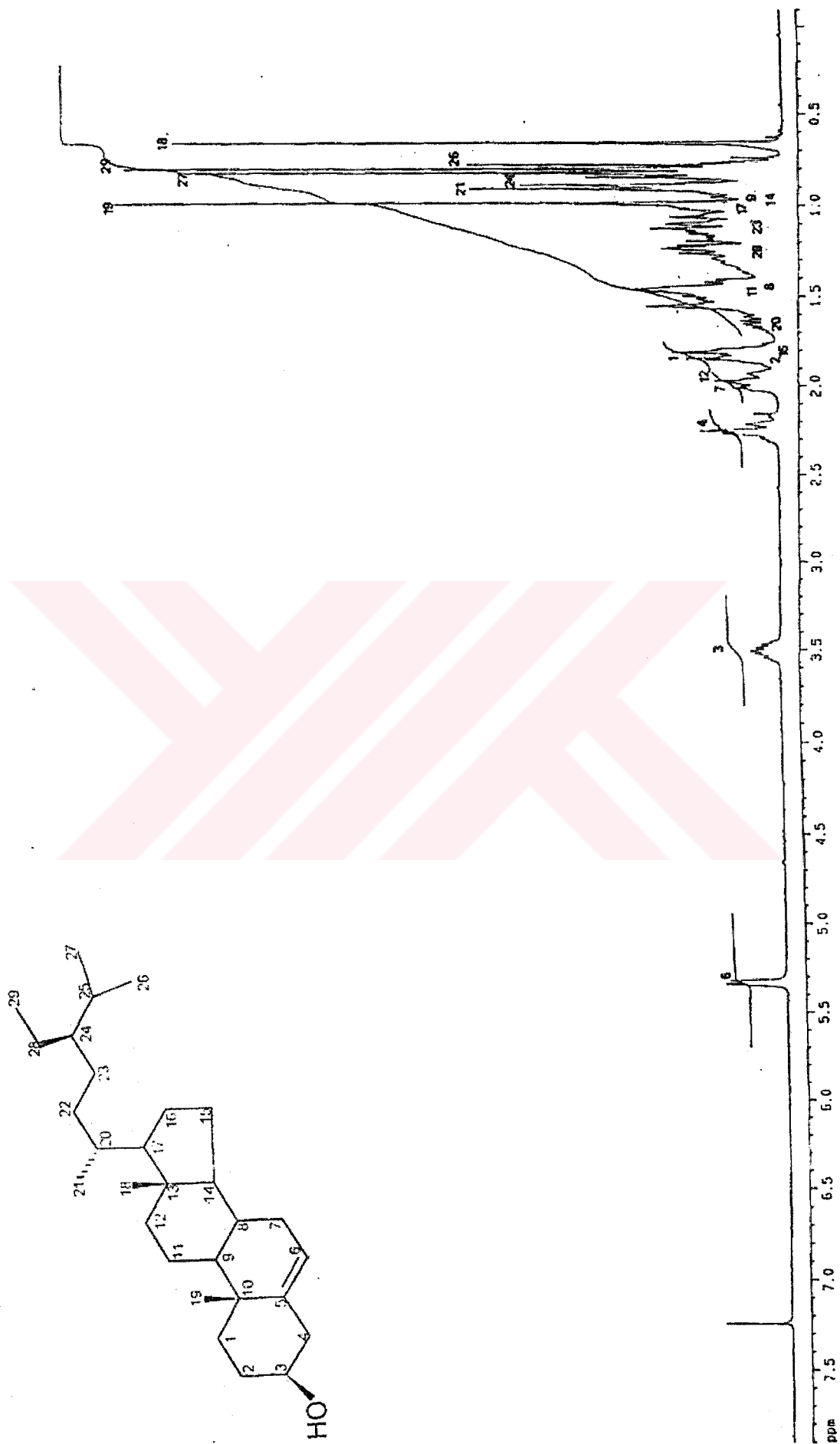
GTS bileşiğinin İTK analizlerinde revelatör püskürtmeden önce gün ışığında ve UV₂₅₄ ve UV₃₆₆ nm'lerde renksiz olması, vanilin/sülfürik asit reaktifi püskürtüldükten sonra 110 °C'de 1-2 dakika ısıtılınca pembe-mor renk vermesi steroidal veya triterpenik bir yapıda olabileceğini göstermiştir.

¹H- ve ¹³C-NMR spektrumlarında özellikle yüksek alanda gözlenen sinyaller steroidal veya triterpenik yapı için karakteristiktir. Bileşiğin ¹H-NMR (Tablo 19, Spektrum 1) spektrumu incelendiğinde $\delta_H = 0.60-2.30$ ppm bölgesinde birbirinden iyi ayrılmamış alifatik proton sinyalleri görülmüştür. $\delta_H = 3.52$ ppm'de oksijen atomuna komşuluğu nedeniyle kaymış bir multipllet ve $\delta_H = 5.35$ ppm'de olefinik karakteri kanıtlayan bir multipllet bulunmaktadır. Bu bulgular doğrultusunda yapının alifatik olduğu, bir çift bağ ve bir hidroksil grubu taşıdığı tespit edilmiştir.

¹³C-NMR spektrumu incelendiğinde (Tablo 19, Spektrum 2) $\delta_C = 71.8$ ppm'de gözlenen sinyal, yapıda bir oksijen atomunun bulunduğu, $\delta_C = 140.7$ ppm ve 121.7 ppm'de gözlenen sinyaller ise yapıda çift bağın varlığına işaret etmektedir. DEPT spektrumunda (Spektrum 3) 6 metil (CH₃), 11 metilen (CH₂), 9 metin (CH) ve 3 kuarterner karbon (C) gözlenmiştir. Dolayısı ile yapının 29 karbon atomu içerdiği bunlardan altısının metil karbonu olduğu ilk bakışta anlaşılmıştır. Bu bulgular bileşiğin steroidal yapıda olduğunu göstermiştir. HMQC spektrumu (Spektrum 5) incelendiğinde $\delta_C = 140.7$, 36.5 ve 42.3 ppm'lerde gelen sinyallerin protonlarının bulunmadığı kanıtlanmıştır. ¹³C-NMR spektrumunda gözlenen metil sinyalleri ¹H-NMR spektrumunda 0.68 ve 0.98 ppm'lerde singlet; 0.91, 0.79 ve 0.89 ppm'lerde dublet ve 0.82 ppm'de triplet pik vermiştir. Bu bulgular ve bunların dışında kalan CH₂ grubuna ait C ve H değerlerinin konumları HMQC (Spektrum 5) ve HMBC (Spektrum 6) yardımı ile saptanmıştır. ¹H-NMR, ¹³C-NMR, DEPT, HMQC ve HMBC spektrumları yardımı ile sinyaller çözümlendiğinde ve literatür bulguları ile karşılaştırıldığında yapının (24R)-24Etilkolest-5-en-3-β-ol (β-sitosterol) olduğu kanıtlanmıştır^{99,100}.

Tablo 19. β -Sitosterol'ün [GTS] ^1H - ve ^{13}C -NMR Spektral Değerleri
 ^1H -NMR (CDCl_3 , 300 MHz), ^{13}C -NMR (CDCl_3 , 75.5 MHz)

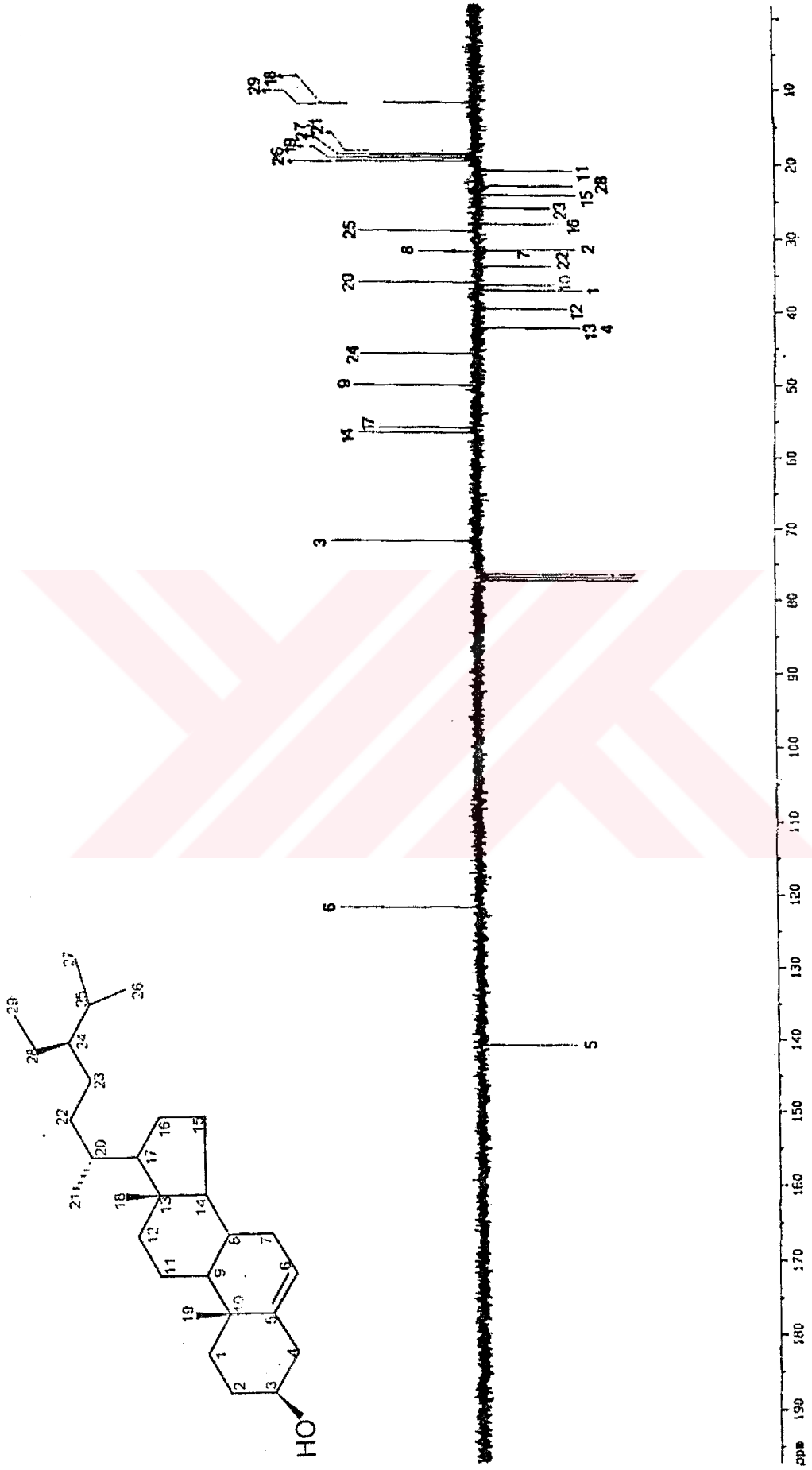
C-H Atom Numarası	C	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm)	Mult. [J(Hz)]	HMBC Protondan karbona
1	CH_2	37.2	1.81 1.05	dd (9.4/4.8) m	
2	CH_2	31.6	1.80 1.42	d (5.0) d (5.0)	C-3
3	CH	71.8	3.52	m	
4	CH_2	42.3	2.25	m	C-3, C-5, C-6, C-7
5	C	140.7	-	-	
6	CH	121.7	5.35	m	C-8, C-10
7	CH_2	31.9	-	-	
8	CH	31.9	-	-	
9	CH	50.1	0.92	m	
10	C	36.5	-	-	
11	CH_2	21.1	1.47	m	
12	CH_2	39.8	1.95 1.10	m m	
13	C	42.3	-	-	
14	CH	56.8	0.98	m	
15	CH_2	24.3	0.99 1.55	m m	
16	CH_2	28.2	1.8	-	
17	CH	56.1	1.04	m	
18	CH_3	11.8	0.68	s	
19	CH_3	19.4	0.98	s	C-5, C-9, C-10
20	CH	36.1	1.32	m	
21	CH_3	18.8	0.91	d (6.0)	
22	CH_2	33.9	1.06 1.30	- -	
23	CH_2	26.1	1.14	m	
24	CH	45.8	0.88	-	
25	CH	29.1	1.62	m	
26	CH_3	19.8	0.79	d (6.8)	
27	CH_3	19.0	0.89	d (6.9)	
28	CH_2	23.0	1.22	m	
29	CH_3	12.0	0.82	t (5.4)	



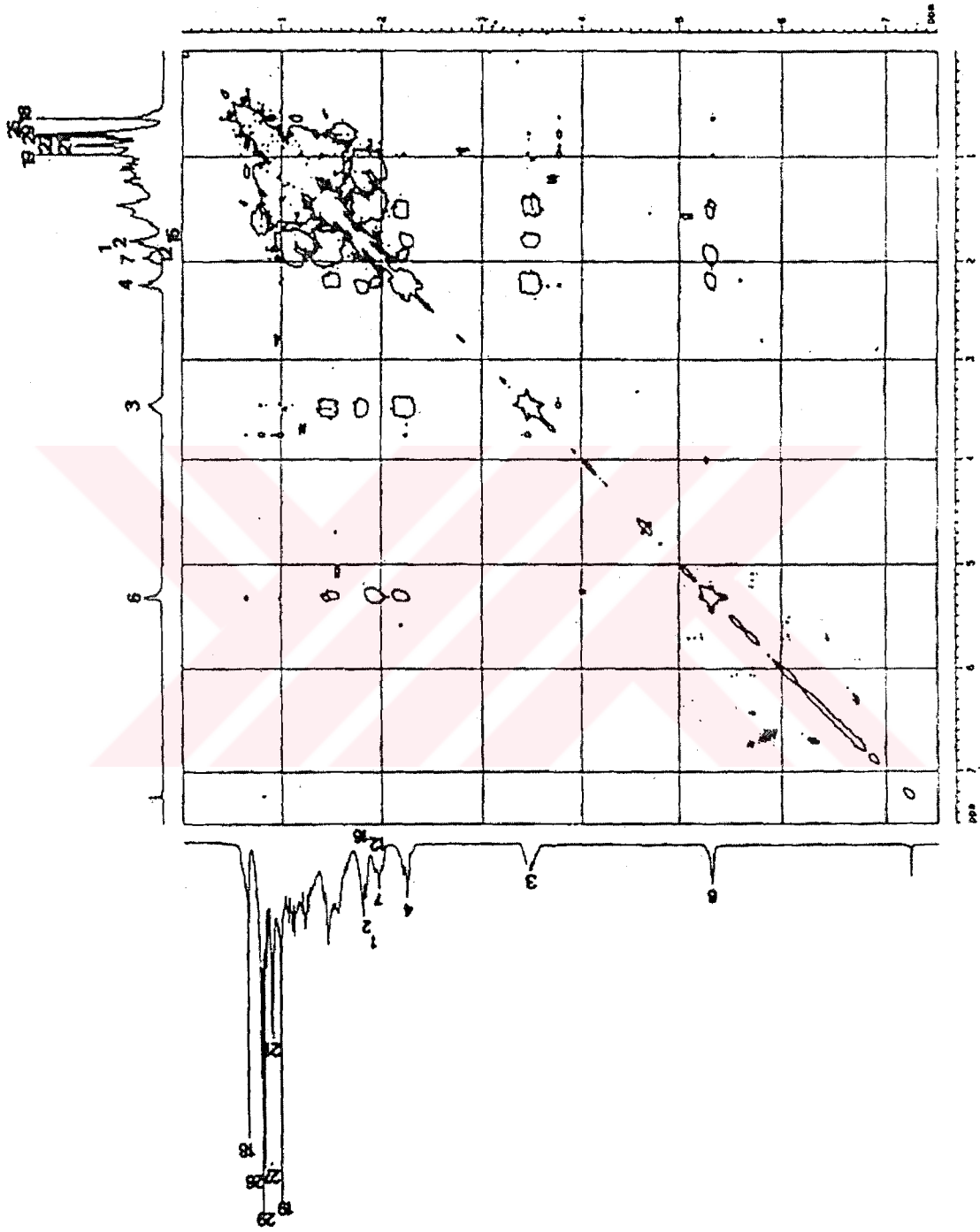
Spektrum 1. β -sitosterol'ün [GTS] $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) spektrumu



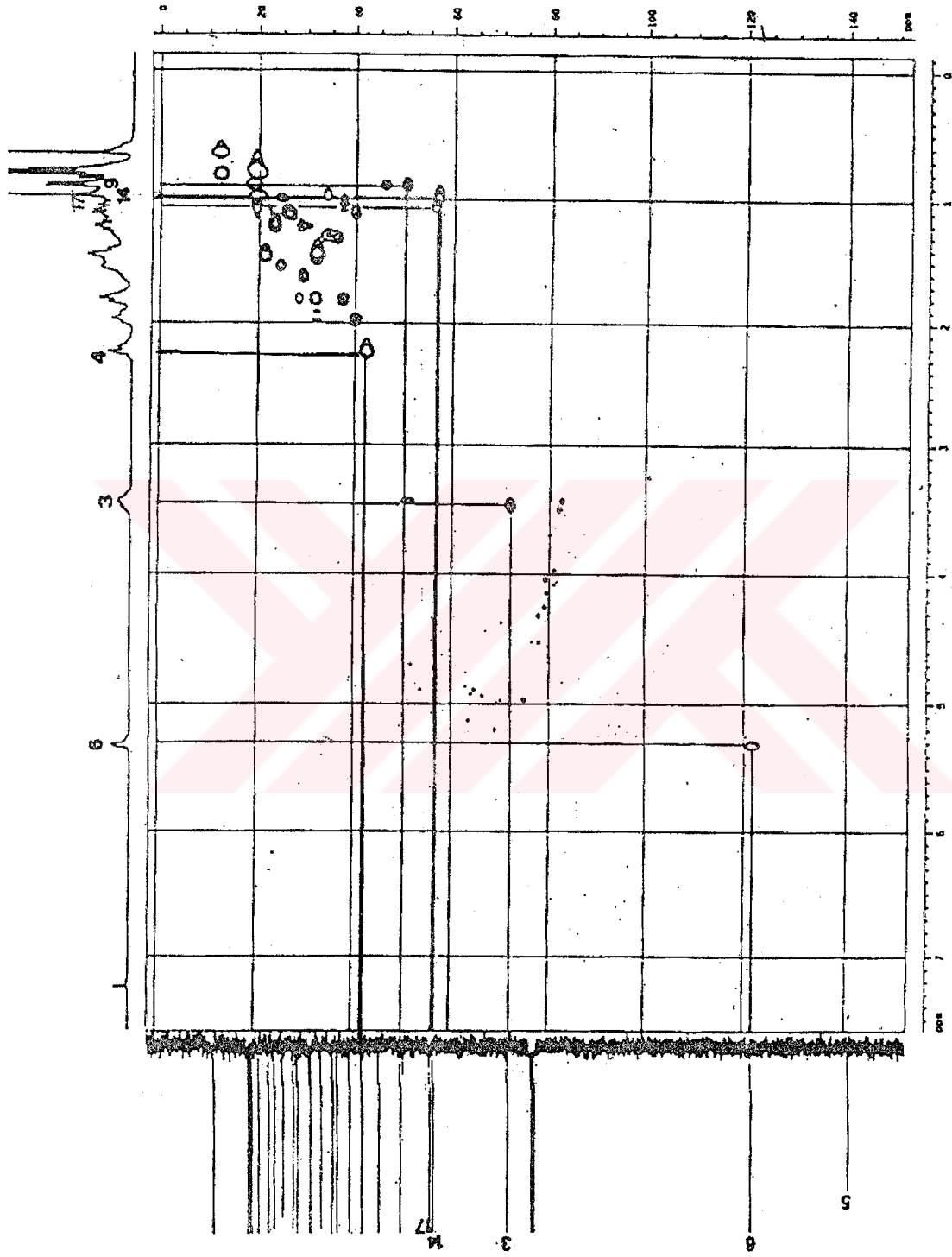
Spektrum 2. β -sitosterol'ün [GTS] $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl₃, 75.5 MHz) spektrumu



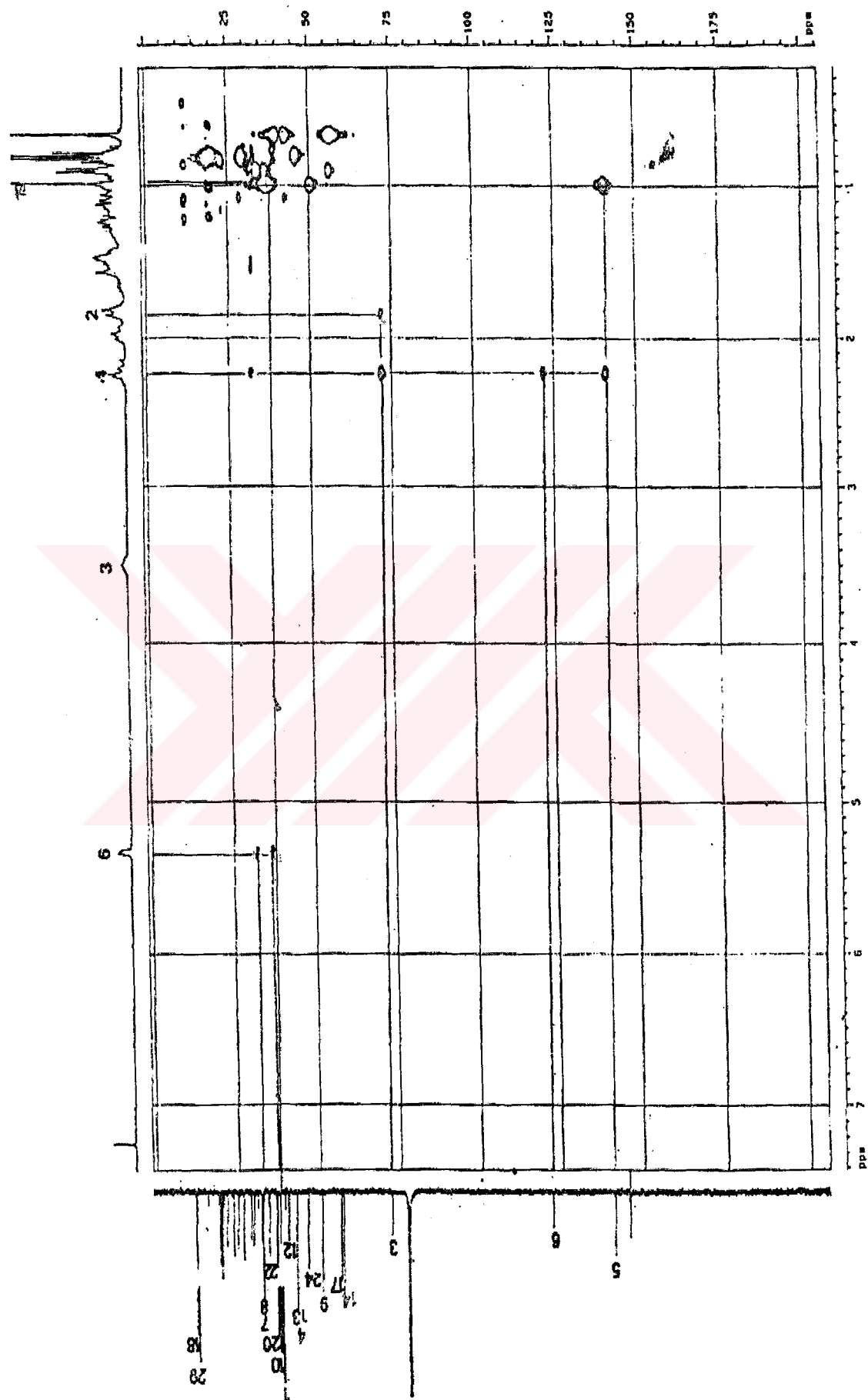
Spektrum 3. β -sitosterol'ün [GTS] DEPT (CDCl_3 , 75.5 MHz) spektrumu



Spektrum 4. β -sitosterol'ün [GTS] 2D- ^1H - ^1H - Homonükleer COSY spektrumu

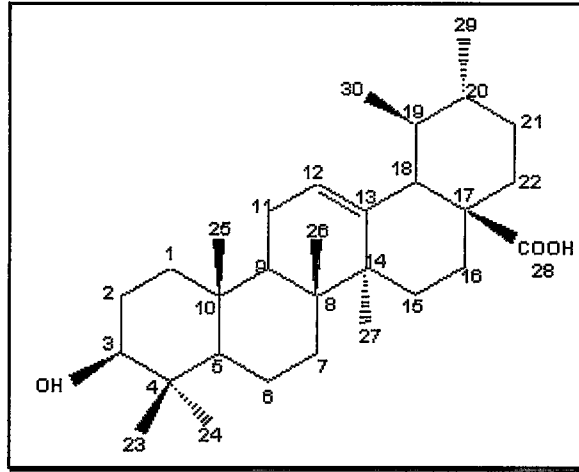


Spektrum 5. β -sitosterol'ün [GTS] 2D- ^1H - ^{13}C - Heteronükleer COSY (HMOC) spektrumu



Spektrum 6. β -sitosterol'ün [GTS] 2D- ^1H - ^{13}C - Heteronükleer COSY (HMBC) spektrumu

URSOLİK ASİT



Şekil 6. Ursolik asit'in molekül yapısı

URSOLİK ASİT

 $C_{30}H_{48}O_3$ (M.A. 456)

UV (MeOH) λ_{max} nm: 215

EI-Kütle Sp. m/z: 456.3 [%7, M^+], 441 [%1, $M^+ - CH_3$], 438 [%2, $M^+ - H_2O$], 423 [%1, $M^+ - H_2O - CH_3$], 248 [%100, $C_{16}H_{24}O_2^+$], 203 [%50, 248-COOH].

1H -NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): Spektrum 7, Tablo 20

^{13}C -NMR (CD_3OD , 100 MHz): Spektrum 8-9, Tablo 20

^{13}C -NMR ($CDCl_3$, 100 MHz): Spektrum 10, Tablo 20

URSOLİK ASİT OLEANOLİK ASİT

GTT-1 ve GTT-2 bileşiklerinin bulunduğu fraksiyon İTK analizlerinde revelatör püskürtmeden önce gün ışığında, UV₂₅₄ ve UV₃₆₆ nm'lerde renksizdir, vanilin/sülfürik asit reaktifi püskürtüldükten sonra 110 °C'de 1-2 dakika ısıtılınca pembe-mor renk vermiştir.

GTT-1 ve GTT-2 bileşiklerinin spektrum sonuçları değerlendirildiğinde bir karışım olduğuna karar verilmiştir. ESI-kütle spektrumuna göre [M⁺] iyonlarına ait pikin *m/z* 456'da gözlenmiş olması her iki bileşiğin de aynı kapalı formüle, C₃₀H₄₈O₃ sahip olduğunu göstermiştir.

GTT-1 ve GTT-2 bileşiklerinin bulunduğu fraksiyonun ¹³C-NMR spektrumuna bakıldığında (Tablo 20-21; Spektrum 8) görülen 51 rezonans ve İTK'daki davranışı triterpen iskeletinde bir karışım olduğunu düşündürmüştür.

¹H-NMR spektrumunda (Tablo 20-21; Spektrum 7), δ_H = 1.25, 0.98, 0.77, 1.08 ve 1.14 ppm'lerde singlet, δ_H = 0.93 ve 0.91 ppm'lerde dublet olarak 3'er proton şiddetinde 6 metil rezonansı (sırasıyla Me-23, Me-24, Me-25, Me-26, Me-27, Me-29 ve Me-30) GTT-1 için, δ_H = 0.96, 0.78, 0.84, 0.76, 1.25, 0.87 ve 0.93 ppm'lerde singlet olarak 3'er proton şiddetinde 6 metil rezonansı (sırasıyla Me-23, Me-24, Me-25, Me-26, Me-27, Me-29 ve Me-30) GTT-2 için gözlenmiştir.

¹³C-NMR spektrumu incelendiğinde, δ_C = 180.4 ppm'de gözlenen sinyal bir karboksil karbonuna aittir. Triterpenik yapıda Δ¹²⁽¹³⁾ fonksiyonunun varlığı δ_C = 125.7 (CH; C-12) ve δ_C = 138.4 (C; C-13) ile δ_C = 122.4 (CH; C-12) ve δ_C = 144.1 (C; C-13) ppm'lerdeki karbon rezonanslarıyla saptanmıştır. Olefinik proton H-12 ise δ_H = 5,28 (1H, t) ve δ_H = 5.24 (1H, t) ppm'lerde gözlenmiştir. Bu özellikler sırasıyla, urs-12-en ve olean-12-en tipi triterpenik iskelet için karakteristiktir^{101,102}. Bu bulgu GTT-1 bileşiğinin 6 metil rezonansından ikisinin ¹H-NMR spektrumunda dublet şeklinde gözlenmesiyle doğrulanmıştır (δ_H = 0.93, d, Me-29; δ_H = 0.91, d, *J* = 5.9 Hz, Me-30). δ_H = 3.21 ppm (dd) ve δ_C = 78.5 ppm'lerde görülen rezonanslar her iki bileşiğin 3 numaralı karbon atomunda bir sekonder hidroksil grubunun varlığına işaret etmiştir¹⁰³. δ_C = 55.5 ppm'de gözlenen sinyal her iki bileşiğin 5 numaralı karbonuna, δ_C = 47.8 ve δ_C = 48.1 ppm'de gözlenen sinyaller, sırasıyla bileşiklerin 9 numaralı karbonlarına aittir. GTT-1 bileşiğinin 18 numaralı karbonu δ_C = 53.1 ppm'de, GTT-2 bileşiğinin 18 numaralı karbonu

$\delta_C = 41.5$ ppm'de rezonans olmuştur. $^1\text{H-NMR}$ spektrumunda $\delta_H = 2.18$ (d) GTT-1 bileşiğinin C (18) protonuna, $\delta_H = 2.82$ (dd) GTT-2 bileşiğinin C (18) protonuna aittir.

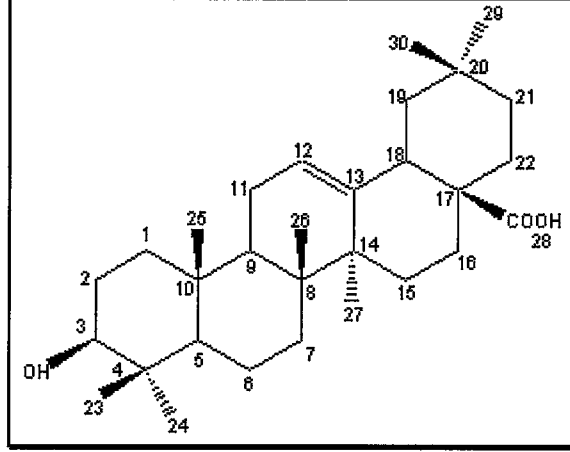
Spektroskopik bulgular ursolik asit ve oleanolik asit ile uygunluk göstermektedir. Bu nedenle GTT-1 ve GTT-2 karışımının ursolik asit (GTT-1) ve oleanolik asit (GTT-2) maddelerinin bir karışımı olduğu sonucuna varılmıştır¹⁰⁴⁻¹⁰⁷.



Tablo 20. Ursolik asit'in ^{13}C - ve ^1H -NMR değerleri ^1H -NMR (CDCl_3 , 400 MHz), ^{13}C -NMR (CD_3OD , 100 MHz)

C-H Atom No	C	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm)	Mult. [J(Hz)]
1	CH ₂	39.2		
2	CH ₂	27.5		
3	CH	78.5	3.21	dd (10.2/4.4)
4	C	38.7		
5	CH	55.5		
6	CH ₂	18.3		
7	CH ₂	33.1		
8	C	39.6		
9	CH	47.8		
10	C	36.9		
11	CH ₂	16.6		
12	CH	125.7	5.28	t (3.6)
13	C	138.4		
14	C	41.7		
15	CH ₂	29.5		
16	CH ₂	24.1		
17	C	47.7		
18	CH	53.1	2.18	d (11.7)
19	CH	39.2		
20	CH	39.2		
21	CH ₂	30.5		
22	CH ₂	36.9	1.19 2.00	m dd (13.0/4.0)
23	CH ₃	28.0	1.25	s
24	CH ₃	15.2	0.98	s
25	CH ₃	14.8	0.77	s
26	CH ₃	16.4	1.08	s
27	CH ₃	23.1	1.14	s
28	C	180.4		
29	CH ₃	22.9	0.93	d
30	CH ₃	22.8	0.91	d (5.9)

OLEANOLİK ASİT



Şekil 7. Oleanolik asit'in molekül yapısı

OLEANOLİK ASİT

 $C_{30}H_{48}O_3$ (M.A. 456)

UV (MeOH) λ_{max} nm: 215

EI-Kütle Sp. m/z: 456.3 [%7, M^+], 441 [%1, $M^+ - CH_3$], 438 [%2, $M^+ - H_2O$], 423 [%1, $M^+ - H_2O - CH_3$], 248 [%100, $C_{16}H_{24}O_2^+$], 203 [%50, 248-COOH].

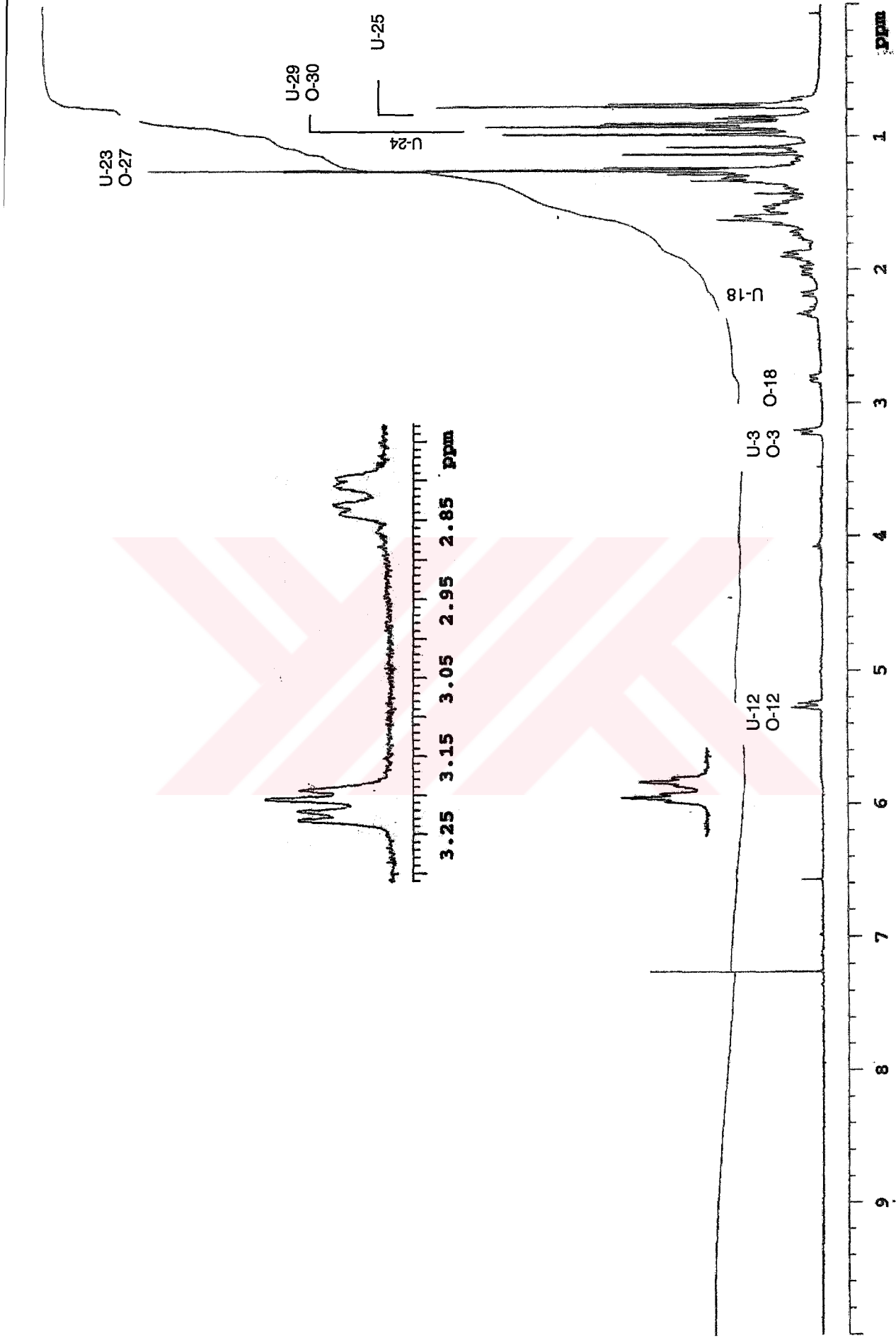
1H -NMR (CD_3OD , 400 MHz): Spektrum 7, Tablo 21

^{13}C -NMR (CD_3OD , 100 MHz): Spektrum 8-9, Tablo 21

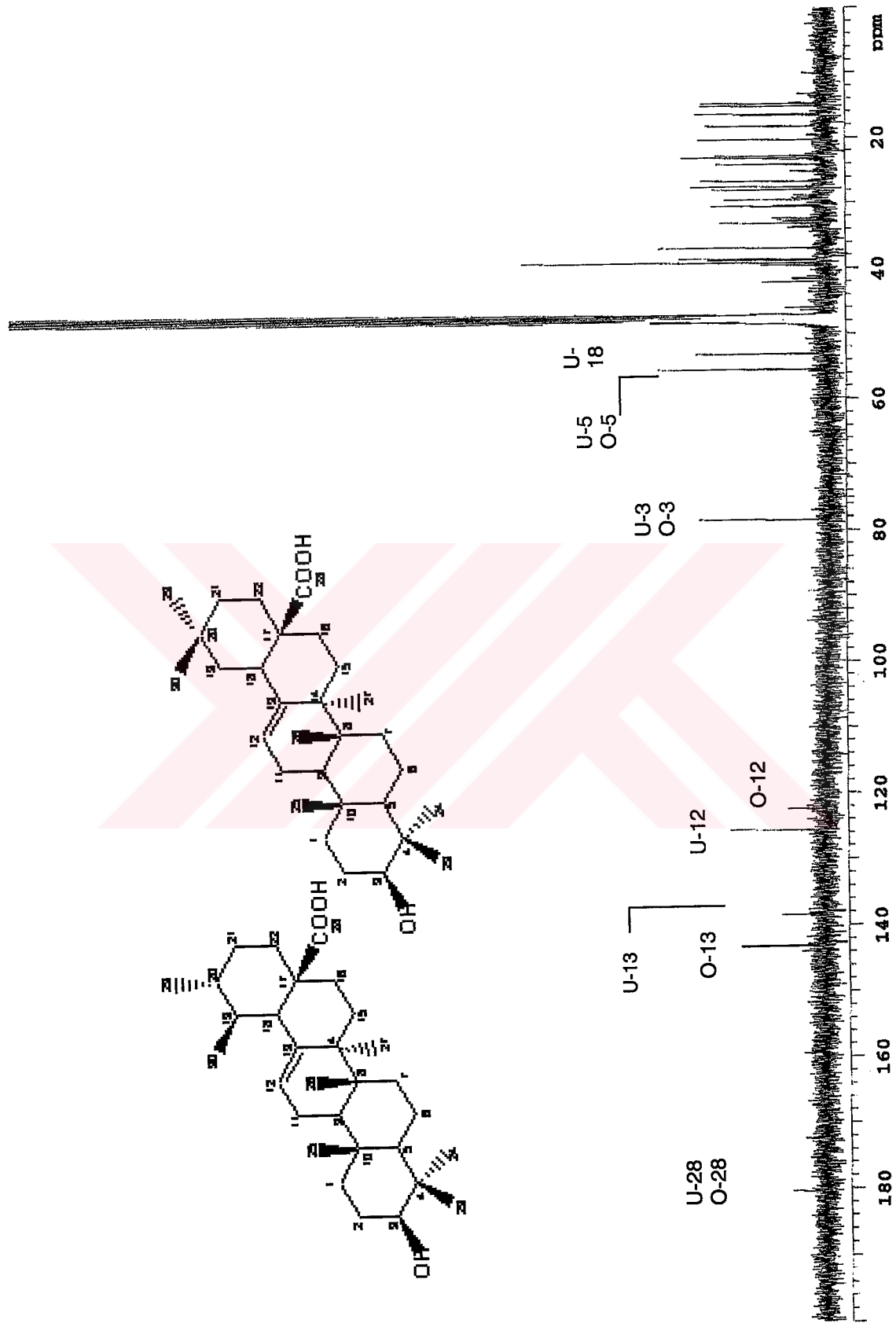
^{13}C -NMR ($CDCl_3$, 100 MHz): Spektrum 10, Tablo 21

Tablo 21. Oleanolik asit'in ^{13}C - ve ^1H -NMR değerleri ^1H -NMR (CDCl_3 , 400 MHz), ^{13}C - NMR (CD_3OD , 100 MHz)

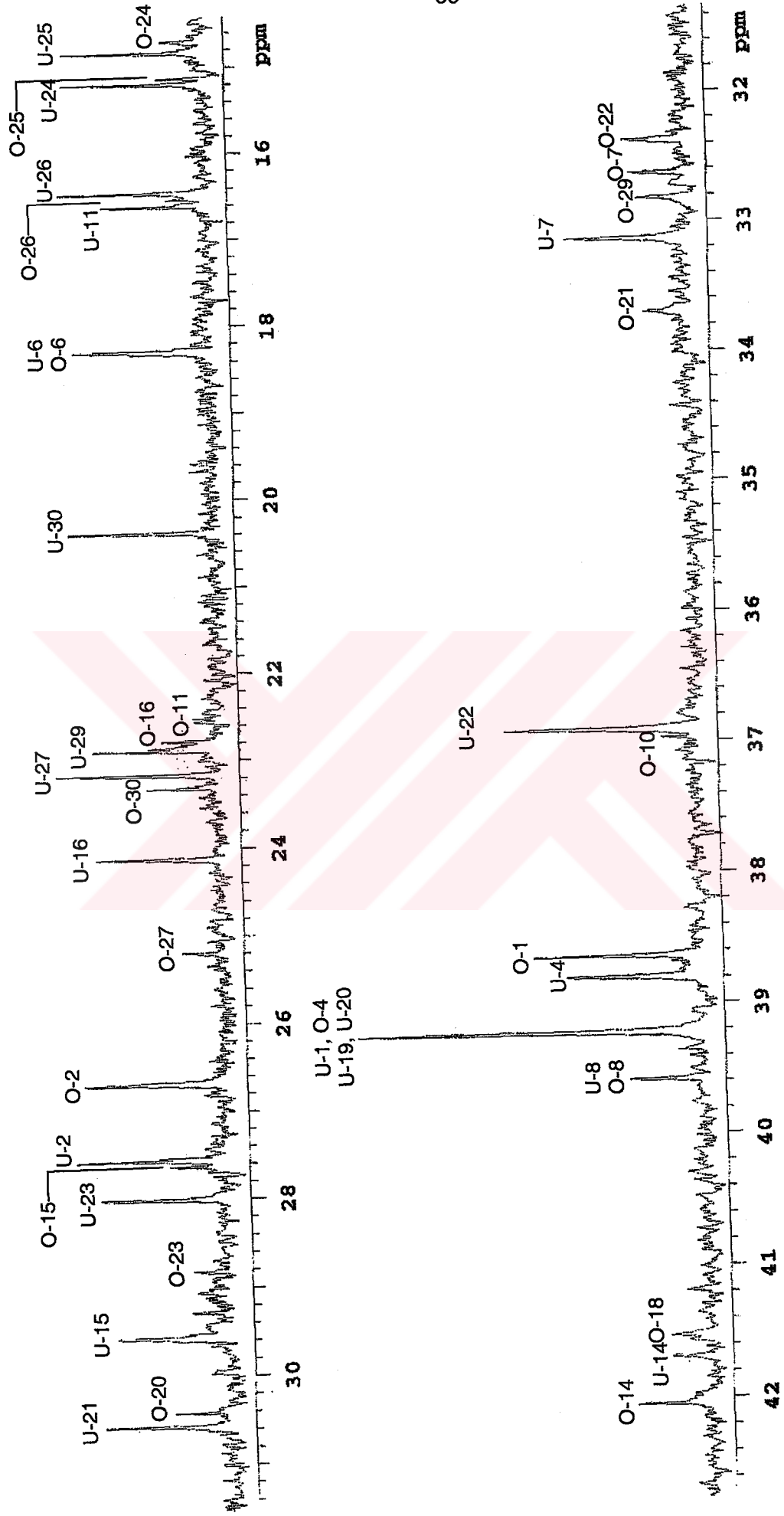
C-H Atom No	C	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm)	Mult. [J(Hz)]
1	CH_2	38.6		
2	CH_2	26.7		
3	CH	78.5	3.21	dd (10.2/4.4)
4	C	39.2		
5	CH	55.5		
6	CH_2	18.3		
7	CH_2	32.6		
8	C	39.6		
9	CH	48.1		
10	C	37.0		
11	CH_2	22.7		
12	CH	122.4	5.24	t (3.6)
13	C	144.1		
14	C	42.0		
15	CH_2	27.7		
16	CH_2	22.8		
17	C	46.7		
18	CH	41.5	2.82	dd (12.7/4.3)
19	CH_2	46.1		
20	C	30.4		
21	CH_2	33.7		
22	CH_2	32.3		
23	CH_3	28.8	0.96	s
24	CH_3	14.7	0.78	s
25	CH_3	15.1	0.84	s
26	CH_3	16.5	0.76	s
27	CH_3	25.2	1.25	s
28	C	180.4		
29	CH_3	32.8	0.87	s
30	CH_3	23.3	0.93	s



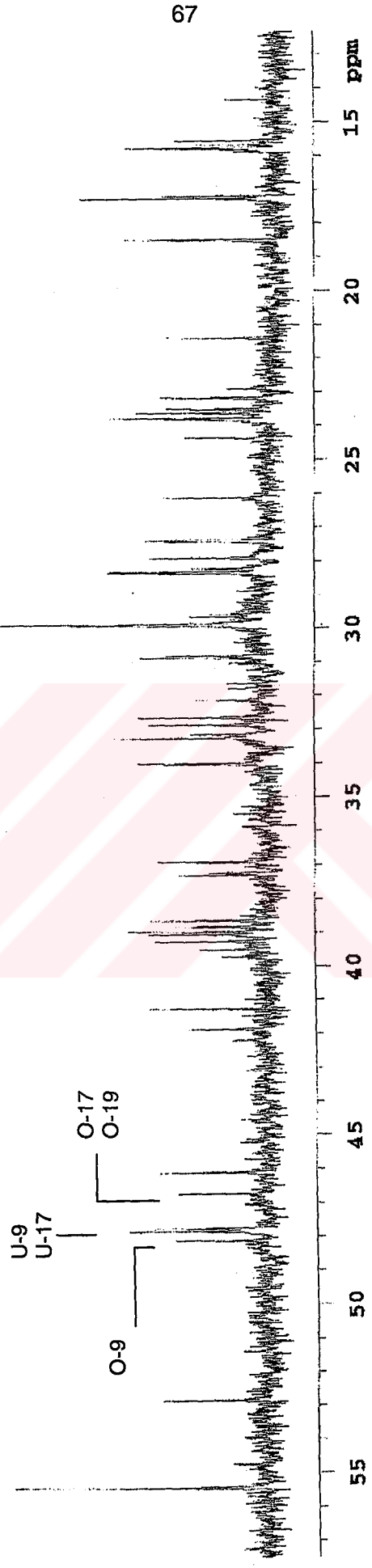
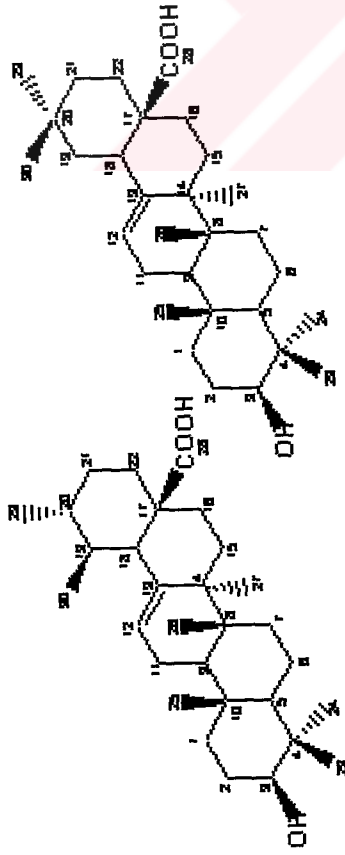
Spektrum 7. Ursolik asit [GTT-1] ve Oleanolik asit'in [GTT-2] $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz) spektrumu



Spektrum 8. Ursolik asit [GTT-1] ve Oleanolik asit'in [GTT-2] ¹³C-NMR (CD₃OD, 100 MHz) spektrumu

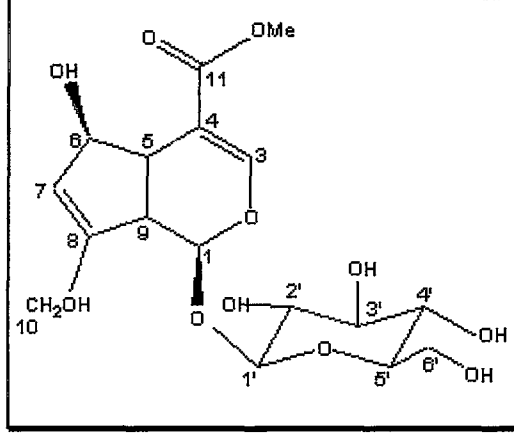


Spektrum 9. Ursolik asit [GTT-1] ve Oleonolik asit'in [GTT-2] ¹³C-NMR (CD₃OD, 100 MHz) spektrumu



Spektrum 10. Ursolik asit [GTT-1] ve Oleanolik asit'in [GTT-2] ^{13}C -NMR (CDCl_3 , 100 MHz) spektrumu

SKANDOZİT METİL ESTER



Şekil 8. Skandozit metil ester'in molekül yapısı

SKANDOZİT METİL ESTER (GTI-1)

$C_{17}H_{24}O_{11}$ (M.A. 404)

UV (MeOH) λ_{max} nm: 238

ESI- Kütle sp. m/z: 427 $[M+Na]^+$, 403 $[M-H]^-$, 387 $[M-CH_3]^-$

1H -NMR (CD_3OD , 300 MHz): Spektrum 11, Tablo 22

^{13}C -NMR (CD_3OD , 75.5 MHz): Spektrum 12, Tablo 22

DEPT (CD_3OD , 75.5 MHz): Spektrum 13

2D- 1H - 1H -Homonükleer COSY: Spektrum 14

2D- 1H - ^{13}C -Heteronükleer (short range) COSY (HMQC): Spektrum 15

2D- 1H - ^{13}C -Heteronükleer (long range) COSY (HMBC): Spektrum 16

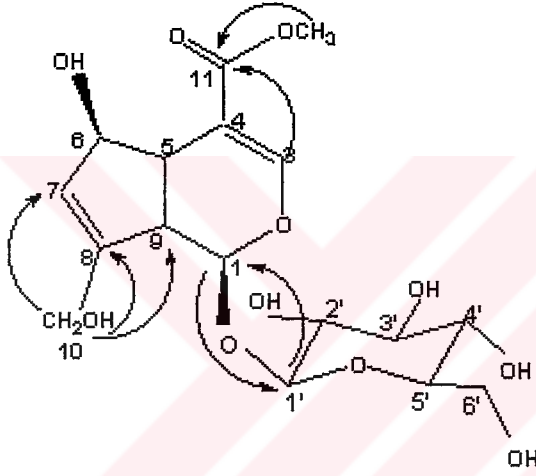
SKANDOZİT METİL ESTER

GTI-1 bileşiğinin İTK'da revelatör püskürtmeden önce, gün ışığında ve UV₂₅₄ ile UV₃₆₆ nm'lerde renksiz olması, %1'lik vanilin/sülfürik asit reaktifi püskürtülüp ısıtılınca önce renksiz, açık mavi, daha sonra koyu maviye dönen renk vermesi bir iridoit heteroziti olabileceğini göstermiştir.

GTI-1 bileşiğinin ESI-kütle spektrumunda m/z 403 [M-H]⁻ gözlenen pik, ¹H ve ¹³C-NMR spektral bulguları ile birlikte değerlendirildiğinde bileşiğin moleküler formülü C₁₇H₂₄O₁₁ olarak bulunmuştur.

¹H-NMR spektrumunda (Tablo 22, Spektrum 11) $\delta_H = 4.67$ ppm'de (d, $J = 7.8$ Hz) gözlenen anomerik proton sinyali yapıda bir β -glukoz, $\delta_H = 3.75$ ppm'deki (s, 3H) sinyal ise karbometoksi grubunun varlığına işaret etmektedir. ¹³C-NMR ve DEPT spektrumlarına (Spektrum 12, 13) bakıldığında $\delta_C = 100.3$ ppm'deki anomerik karbon rezonansı ve 78.4-62.7 ppm arasındaki glukozu ait 5 sinyal ile karbometoksi grubuna ait $\delta_C = 52.1$ ppm'deki metil sinyali haricindeki diğer rezonanslar (3C, 6CH, 1CH₂) aglikonunun 10 karbonlu siklopentan-piran iskeletinden oluştuğunu göstermiştir. ¹H-NMR spektrumunda $\delta_H = 7.50, 5.80, 5.19, 4.54, 3.03, 2.96$ ppm'lerdeki birer proton değerindeki sinyaller siklopentan-piran halkasında 6 metin, AB sistem şeklinde $\delta_H = 4.35$ ve 4.20 ppm'lerdeki sinyaller 1 oksimetilen fonksiyonlarının varlığını göstermiştir. Bileşiğin ¹³C-NMR spektrumunda $\delta_C = 61.1$ ve $\delta_C = 62.7$ deki C-10 ve C-6' sinyallerinin DEPT spektrumunda (Spektrum 13) negatif sinyal olarak izlenmiş olması da C-10 ve C-6' de bulunan fonksiyonların metilen olduğunu doğrulamıştır. $\delta_H = 7.50$ (d, $J = 1.0$ Hz) deki olefinik H-3 sinyalinin kimyasal kayma değerinden C-4 ün sübstitüe olduğu sonucuna varılmıştır. UV spektrumunda gözlenen absorpsiyon maksimumu ($\lambda_{max} = 236$ nm) bunu desteklemiştir. $\delta_C = 170.3$ ppm'deki karbonil sinyali C-4 deki sübstitüentin karboksil grubu olduğunu düşündürmüştür. H-3 sinyalinin dublet olması C-5 konumunda bir proton varlığına işaret etmiştir. Bu durumda $\delta_H = 3.03$ ppm'de görülen metin sinyali H-5 olmalıdır. C-4 teki sübstitüsyonun etkisiyle H-5 sinyalinin $\delta_H = 3.03$ ppm'de düşük alana kaymış olduğu dikkat çekmiştir. $\delta_H = 5.80$ ppm'deki olefinik sinyal siklopentan halkasındaki H-7 için karakteristiktir. Spektrumda düşük alanda gözlenen diğer sinyaller ($\delta_H = 5.19$ ve $\delta_C = 4.54$ ppm) sırasıyla H-1 ve H-6 olarak yorumlanmıştır. H-6 sinyalinin kimyasal kayma değeri C-6 da elektronegatif bir grubun olduğunu göstermiştir. Spektrumun düşük alanındaki bir proton şiddetindeki metin sinyali ($\delta_H = 2.96$ ppm) H-9 a atfedilmiştir.

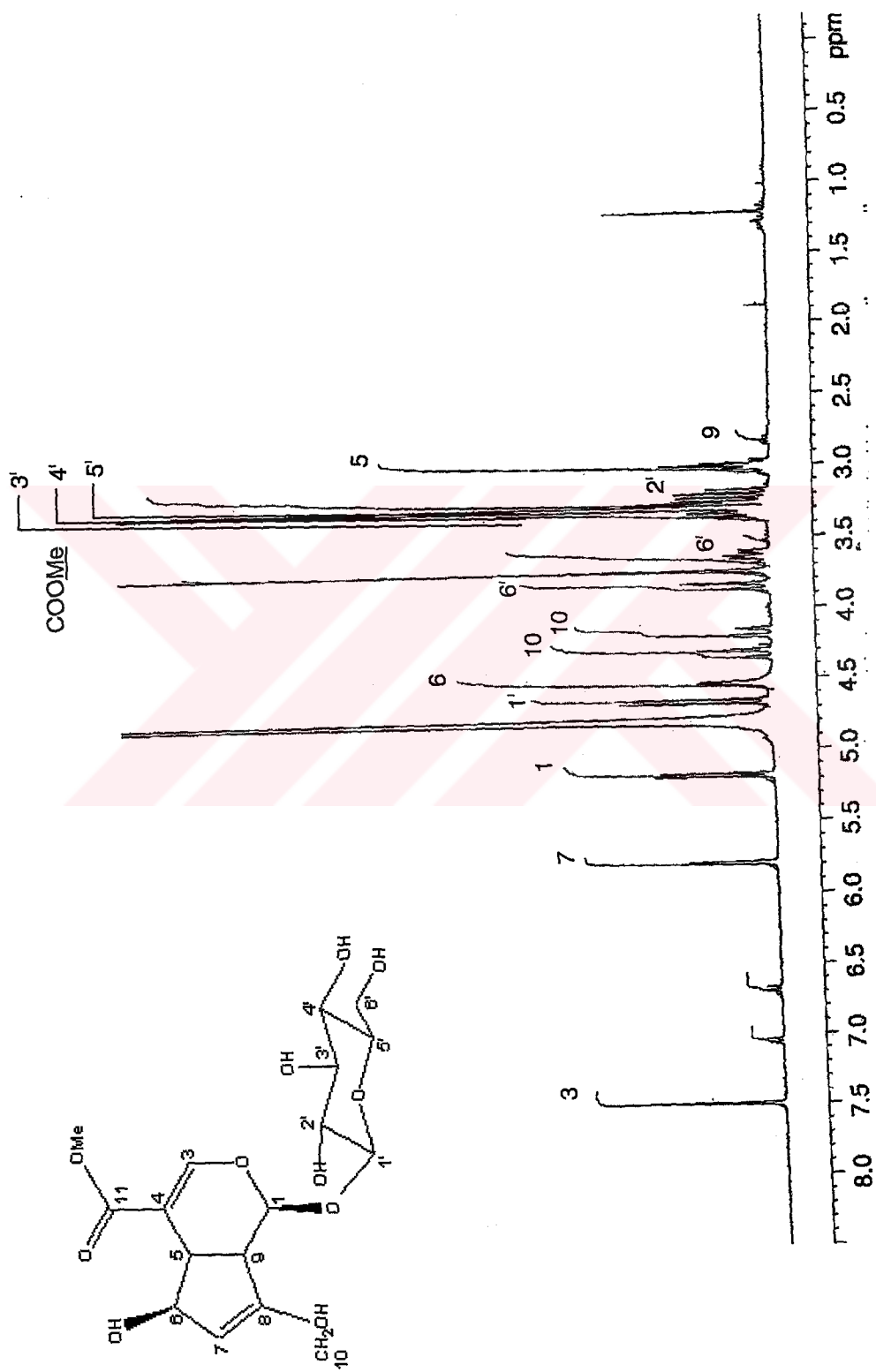
HMQC Spektrumu (Spektrum 15) yardımıyla protonların üzerinde buldukları C rezonansları yorumlanmıştır. HMBC spektrumu (Tablo 22, Spektrum 16) ile fragmentler arasındaki bağlantılar belirlenmiştir. Oksimetilen fonksiyonuna ait protonlar ile (H₂-10) C-7, C-8, C-9 arasında gözlenen etkileşimler oksimetilen grubunun C-8 e bağlı olduğunu, $\delta_H = 4.67$ (H-1') ile C-1, $\delta_H = 5.19$ (H-1) ile C-1' arasında gözlenen etkileşimler glukozun C-1 e bağlı olduğunu göstermiştir. Sonuç olarak, elde edilen bulguların literatürde skandozit metil ester için kayıtlı değerler ile uyum göstermesi nedeniyle GTI-1'in skandozit metil ester olduğuna karar verilmiştir ¹⁰⁸.



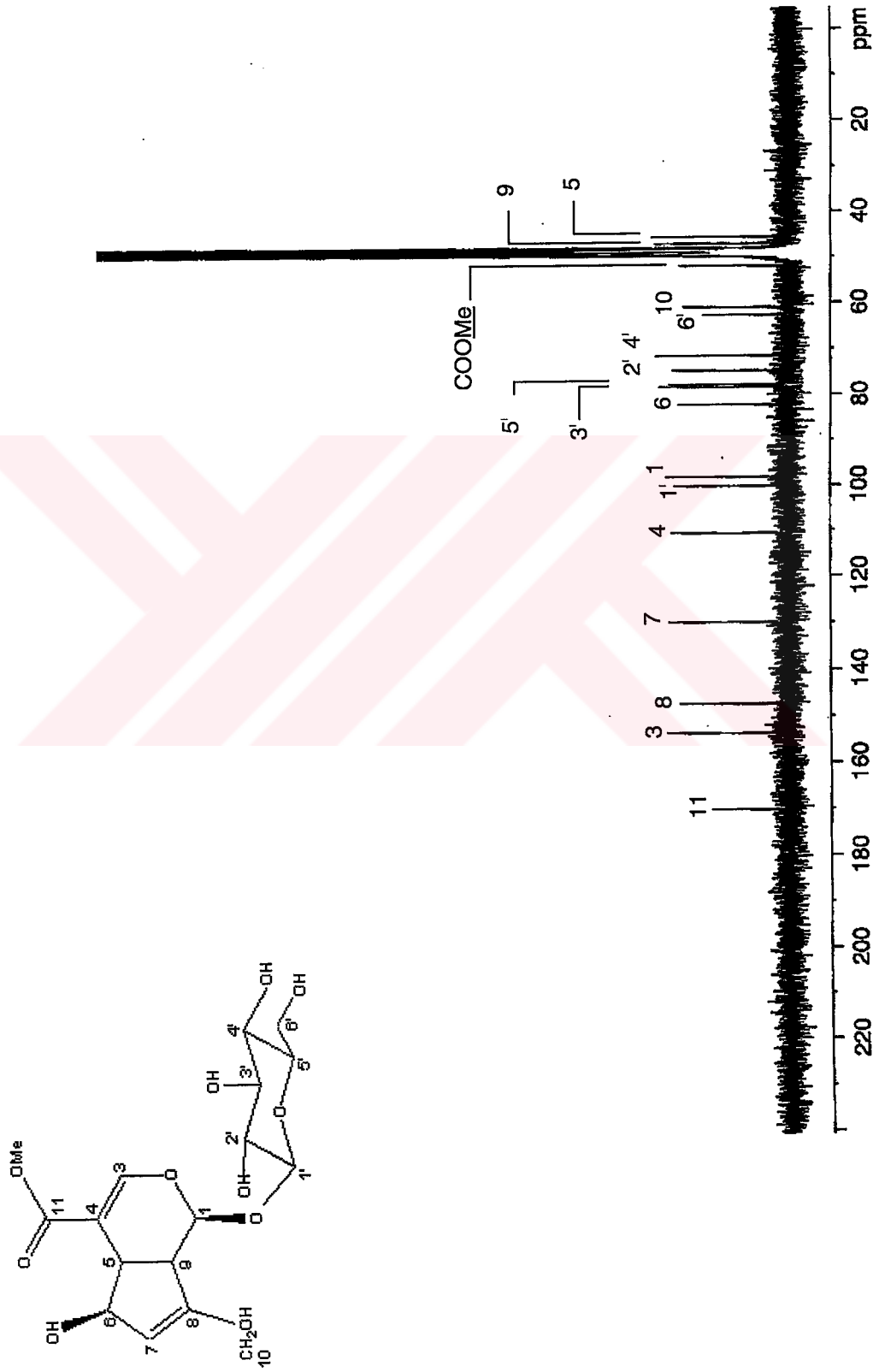
Şekil 9. Skandozit metil ester'in HMBC korelasyonu

Tablo 22. Skandozit metil ester'in [GTI-1] ¹H- ve ¹³C-NMR Spektral Değerleri¹H-NMR (CD₃OD, 300 MHz), ¹³C-NMR (CD₃OD, 75.5 MHz)

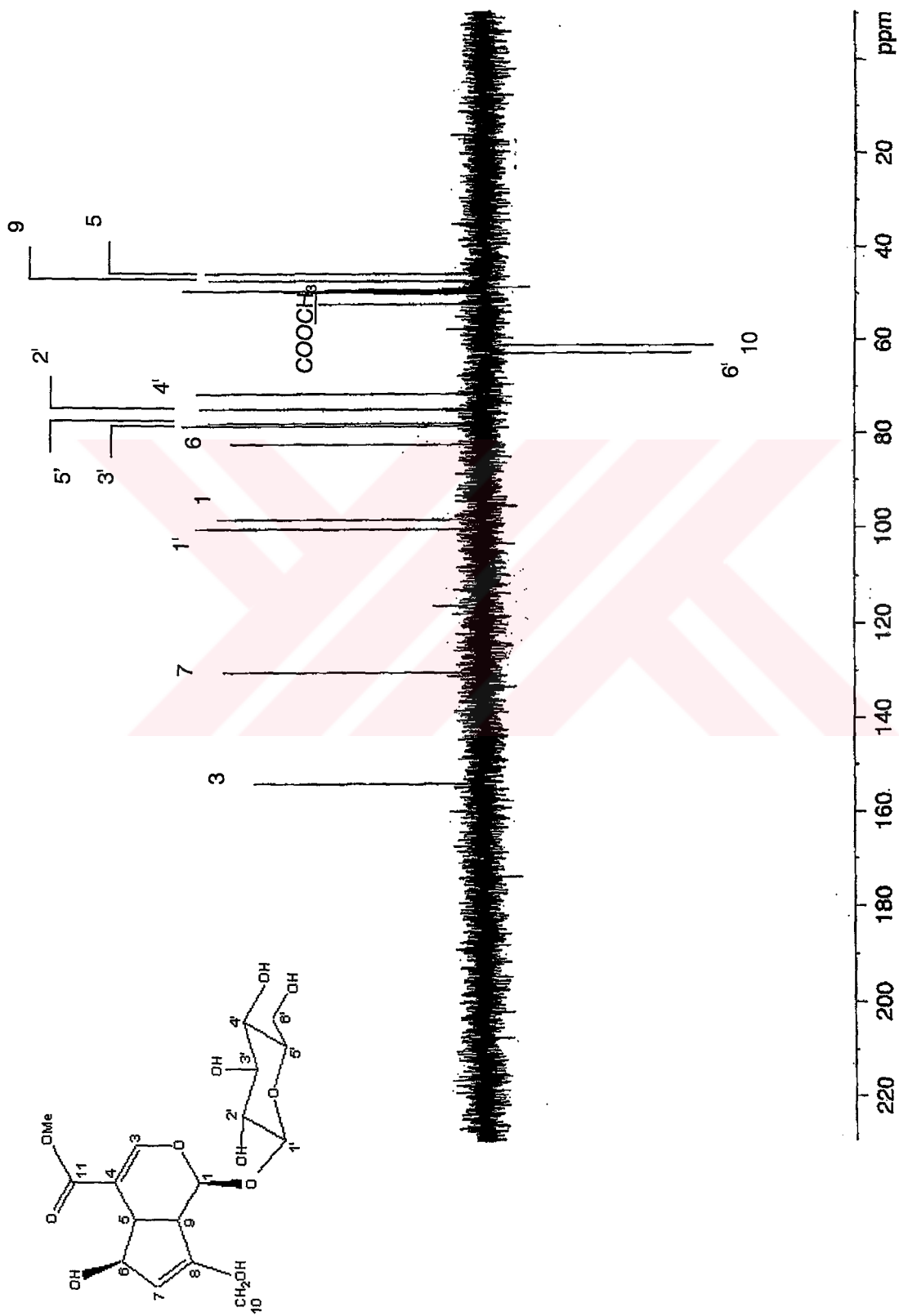
C-H Atom Numarası	C	δ_c (ppm)	δ_H (ppm)	Mult. [J(Hz)]	HMBC Protondan karbona
1	CH	98.3	5.19	d (6.0)	C-1', C-3, C-5, C-8, C-9
3	CH	153.8	7.50	d (1.0)	C-1, C-4, C-5, C-11
4	C	110.8			
5	CH	45.6	3.03	m	C-1, C-9
6	CH	82.2	4.54	dt (1.9/4.7)	
7	CH	130.1	5.80	t (1.6)	C-5, C-6, C-8, C-9, C-10
8	C	147.5			
9	CH	47.1	2.96	m	C-1, C-3, C-4, C-5, C-6, C-7, C-8
10	CH ₂	61.1	4.20 H _a 4.35 H _b	gd (15.6) gd (15.2)	C-7, C-8, C-9
11	C	170.3			
COOMe	CH ₃	52.1	3.75	s	C-11
1'	CH	100.3	4.67	d (7.8)	C-1, C-5'
2'	CH	74.8	3.20-3.40	m	
3'	CH	78.4	3.20-3.40	m	
4'	CH	71.5	3.20-3.40	m	
5'	CH	77.9	3.20-3.40	m	
6'	CH ₂	62.7	3.64 3.83	dd (12.0/5.8) dd (12.0/2.0)	C-5'



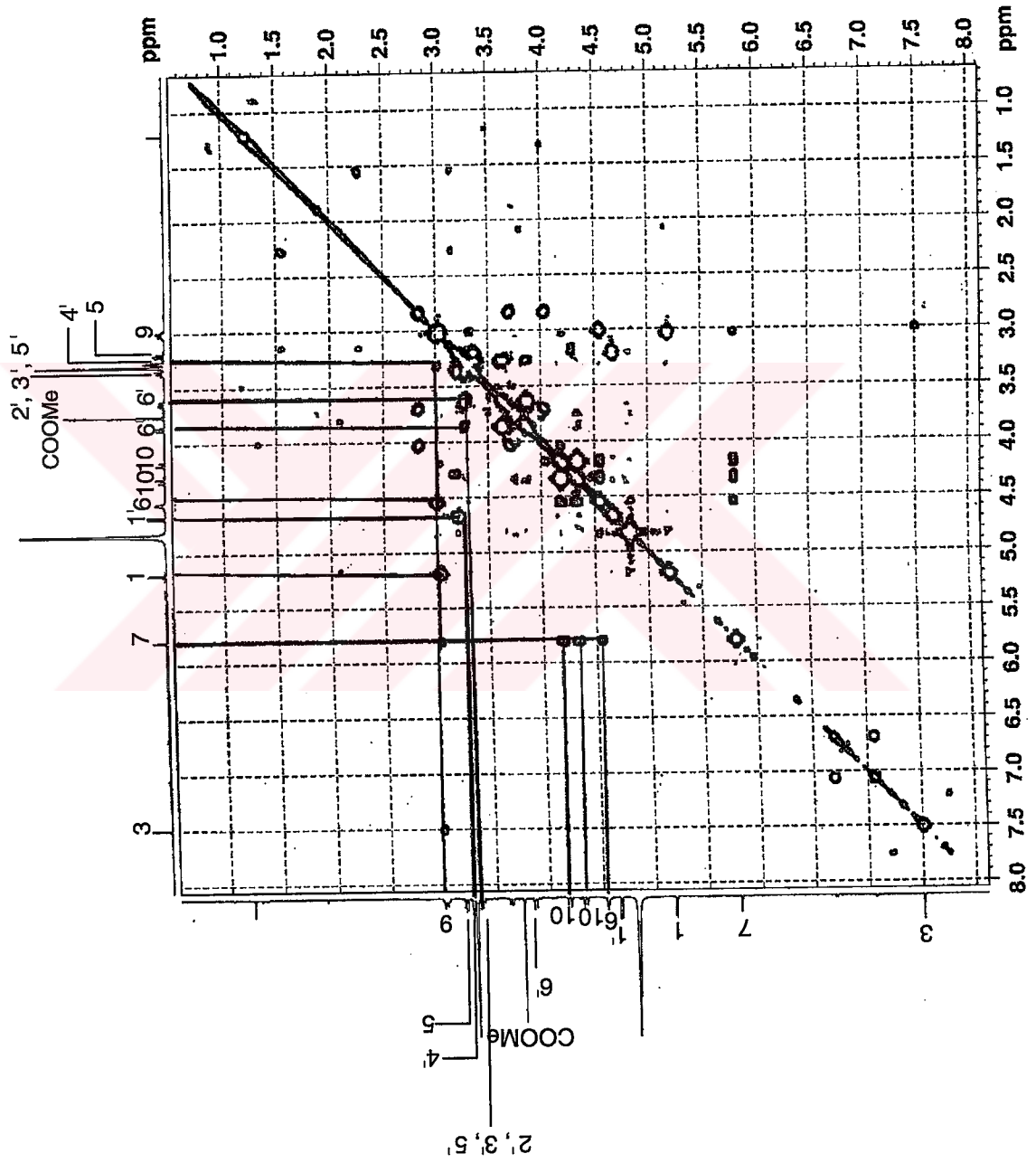
Spektrum 11. Skandozit metil ester'in [GTI-1] ¹H-NMR (CD₃OD, 300 MHz) spektrumu



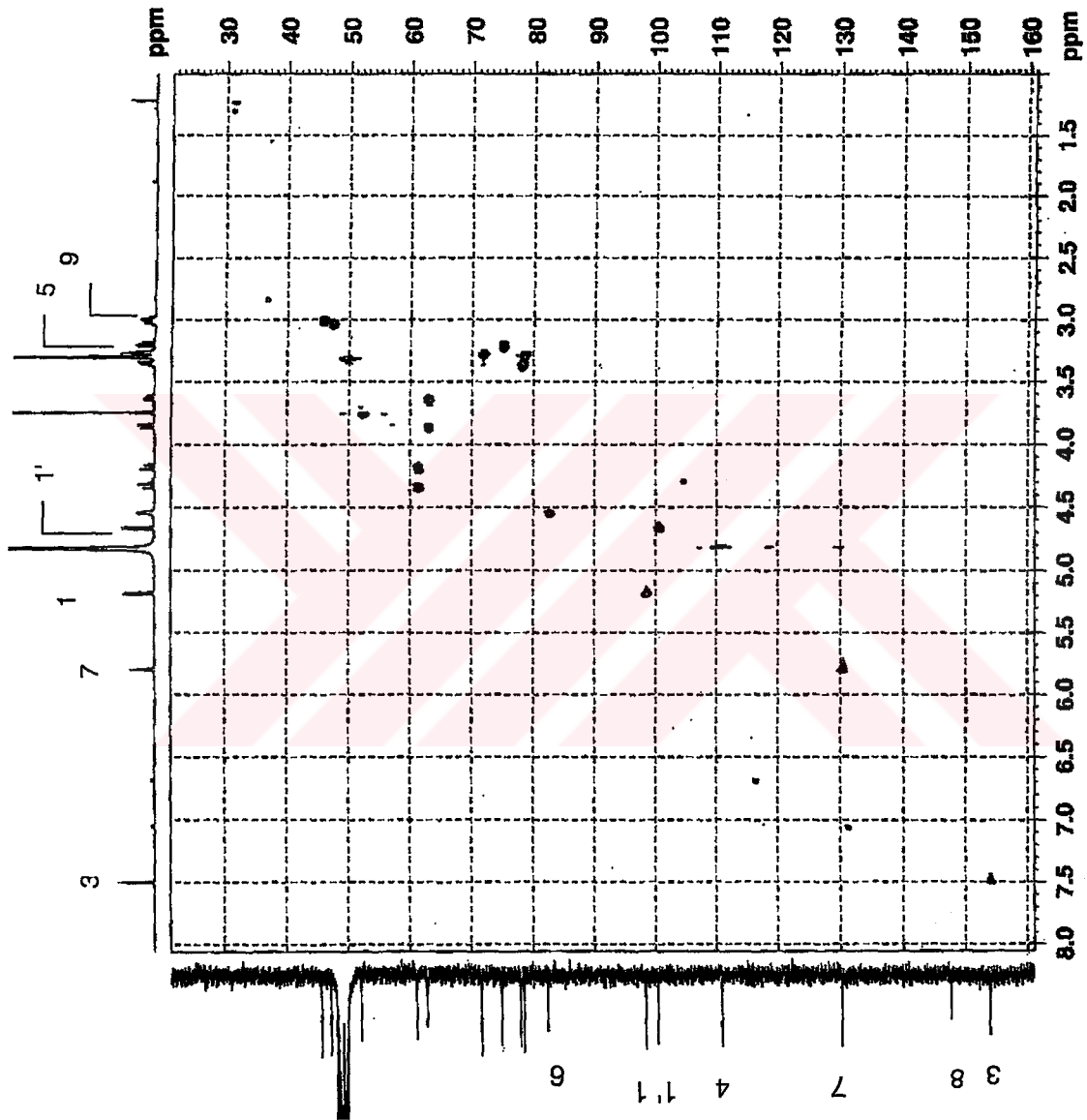
Spektrum 12. Skandozit metil ester'in [GTI-1] $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 75.5 MHz) spektrumu



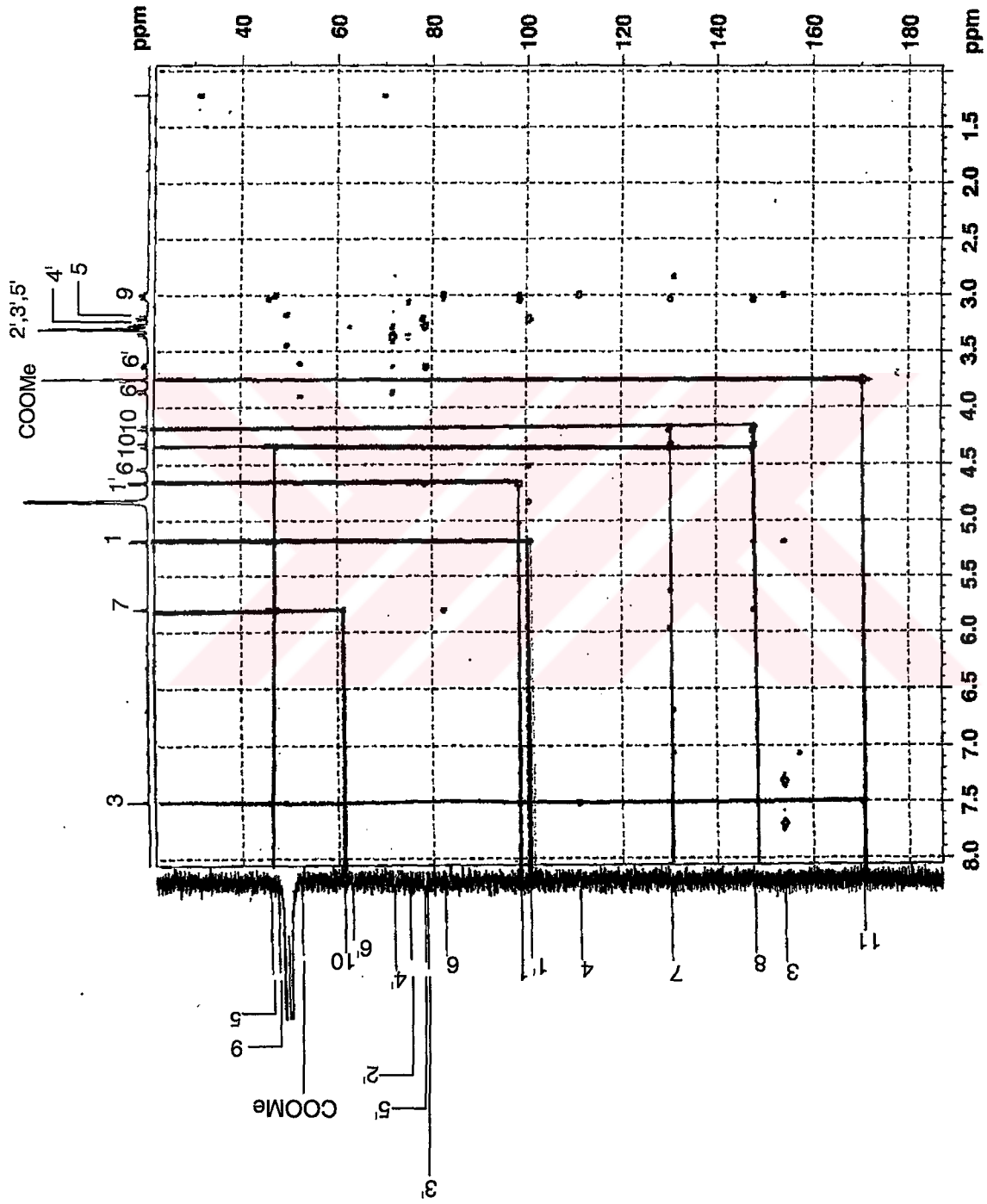
Spektrum 13. Skandozit metil ester'in [GTI-1] ^{13}C -NMR-DEPT (CD_3OD , 75.5 MHz) spektrumu



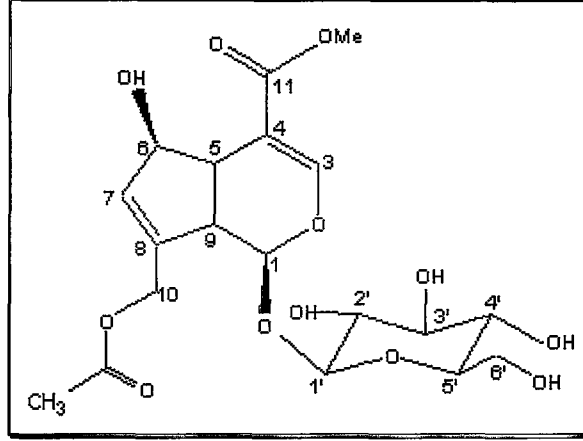
Spektrum 14. Skandozit metil ester'in [GTI-1] 2D-¹H-¹H-Homonukleer COSY spektrumu



Spektrum 15. Skandozit metil ester'in [GTI-1] $2\text{D-}^1\text{H-}^{13}\text{C}$ -Heteronükleer COSY (HMQC) spektrumu



Spektrum 16. Skandozit metil ester'in [GTI-1] 2D-¹H-¹³C-Heteronükleer COSY (HMBC) spektrumu

DAFİLLOZİT

Şekil 10. Dafilozit'in molekül yapısı

DAFİLLOZİT (GTI-2)**C₁₉H₂₆O₁₂ (M.A. 446)**UV (MeOH) λ_{\max} nm: 235.8ESI- Kütle sp. m/z: 445 [M-H]⁻, 469 [M+Na]⁺¹H-NMR (CD₃OD, 400 MHz): Spektrum 17, Tablo 23¹³C-NMR (CD₃OD, 100 MHz): Spektrum 18, Tablo 23DEPT (CD₃OD, 100 MHz): Spektrum 192D-¹H-¹³C-Heteronükleer (short range) COSY (HMQC): Spektrum 202D-¹H-¹³C-Heteronükleer (long range) COSY (HMBC): Spektrum 21

DAFİLLOZİT

GTI-2 bileşiğinin İTK'da revelatör püskürtmeden önce, gün ışığında ve UV₂₅₄ ile UV₃₆₆ nm'lerde renksiz olması, %1'lik vanilin/sülfürik asit reaktifi püskürtülüp ısıtılınca önce renksiz, açık mavi daha sonra koyu maviye dönen renk vermesi bir iridoit heteroziti olabileceğini göstermiştir.

Yine bileşiğin UV spektrumunda iridoit konjuge enol-eter sistemi için karakteristik absorpsiyon bandı (235.8 nm) görülmektedir.

GTI-2 bileşiğinin NMR sonuçları ve pozitif iyon ESI-kütle spektrumunda m/z 445 [M-H]⁺ de gözlenen pik ¹H- ve ¹³C-NMR spektral bulguları ile birlikte değerlendirildiğinde bileşiğin C₁₉H₂₆O₁₂ kapalı formülüne sahip olduğu bulunmuştur.

GTI-2 bileşiğinin ¹H-NMR spektrumunda (Tablo 23, Spektrum 17) δ_H = 4.72 ppm'de (d, J = 7.7 Hz) gözlenen anomerik proton sinyali diğer oz rezonansları ile birlikte değerlendirildiğinde yapıda bir β-glukoz olduğu düşünülmüştür. ¹³C-NMR spektrumunda (Tablo 23, Spektrum 18) δ_C = 100.1 ppm'de gözlenen anomerik karbon rezonansı ve diğer oz rezonansları (61.8-77.4 ppm) bu görüşü doğrulamaktadır. ¹³C-NMR spektrumunda 18 adet karbon rezonansı görülmektedir. Buradan GTI-2'nin 12 karbonlu siklopentan-piran iskeletinden oluşmuş bir iridoit monoglikoziti olduğu düşünülmüştür.

GTI-2 bileşiğinin ¹H-NMR spektrumunda 2.08 ppm'de gözlenen 3 proton değerindeki singlet sinyal asetil grubu varlığına işaret etmektedir. ¹³C-NMR spektrumunda δ_C = 19.5 (CH₃-C=O) ve δ_C = 171.3 (CH₃-C=O) ppm'lerde gözlenen pikler asetil grubu varlığını doğrulamaktadır.

Olefinik H-7 sinyali δ_H = 6.02 siklopentan halkasında C-7 ve C-8 arasında bir çift bağ olduğuna işaret etmektedir. H-6 sinyalinin δ_H = 4.80 değeri C-6 konumunda oksijenli bir fonksiyon olduğunu göstermektedir. δ_H = 3.03 ve δ_H = 2.64 ppm'lerde gözlenen sinyallerin sırasıyla C-5 ve C-9 a ait olduğu düşünülmüştür. H-1 sinyali ise δ_H = 5.06 ppm'de gözlenmektedir.

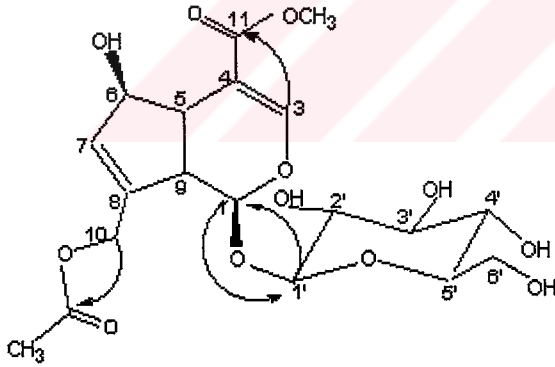
AB sistemi şeklinde δ_H = 4.80 ve 4.93 ppm'lerdeki sinyaller 1 oksimetilen fonksiyonunun varlığını göstermiştir. Bileşiğin ¹³C-NMR spektrumunda δ_C = 62.6 ppm'de gözlenen sinyalin DEPT spektrumunda (Spektrum 19) negatif sinyal olarak izlenmiş olması C-10 daki fonksiyonun metilen olduğunu doğrulamıştır.

¹H-NMR spektrumunda düşük alanda δ_H = 7.65 ppm'de gözlenen H-3 sinyalinin kimyasal kayma değeri olefinik bir proton olduğunu ve C-4 konumunun süstitüe olduğunu işaret etmektedir.

^{13}C -NMR spektrumunda $\delta_{\text{C}} = 168.3$ ppm'de (C-11) gözlenen sinyal ise C-4 deki sübstitüentin karboksilik asit olduğunu göstermektedir. ^1H -NMR spektrumunda $\delta_{\text{H}} = 3.74$ ppm'de gözlenen 3 proton değerindeki singlet sinyal metil grubu varlığına işaret etmektedir. Bu metil sinyalinin düşük alana kayması ve ^{13}C -NMR spektrumunda $\delta_{\text{C}} = 50.6$ ppm ($\text{CH}_3\text{-O-C=O}$) ile $\delta_{\text{C}} = 168.3$ ppm'lerde ($\text{CH}_3\text{-O-C=O}$) gözlenen pikler metil grubunun 4. konumdaki karboksil üzerinden bağlı olduğunu göstermektedir.

HMQC Spektrumu (Spektrum 20) yardımıyla protonların üzerinde buldukları C rezonansları yorumlanmıştır. HMBC spektrumu (Tablo 23, Spektrum 21) ile fragmentler arasındaki bağlantılar belirlenmiştir. Oksimetilen fonksiyonuna ait protonlarla (H₂-10) C-7, C-8, C-9 ve COCH₃ arasında gözlenen etkileşimler oksimetilen grubunun C-8 e bağlı olduğunu ve COCH₃ grubunun da oksimetilene bağlı olduğunu göstermiştir. $\delta_{\text{H}} = 4.72$ (H-1') ile C-1 ($\delta_{\text{C}} = 99.4$) ve $\delta_{\text{H}} = 5.06$ (H-1) ile C-1' ($\delta_{\text{C}} = 100.1$) arasında gözlenen etkileşimler glukozun C-1 e bağlı olduğunu göstermiştir.

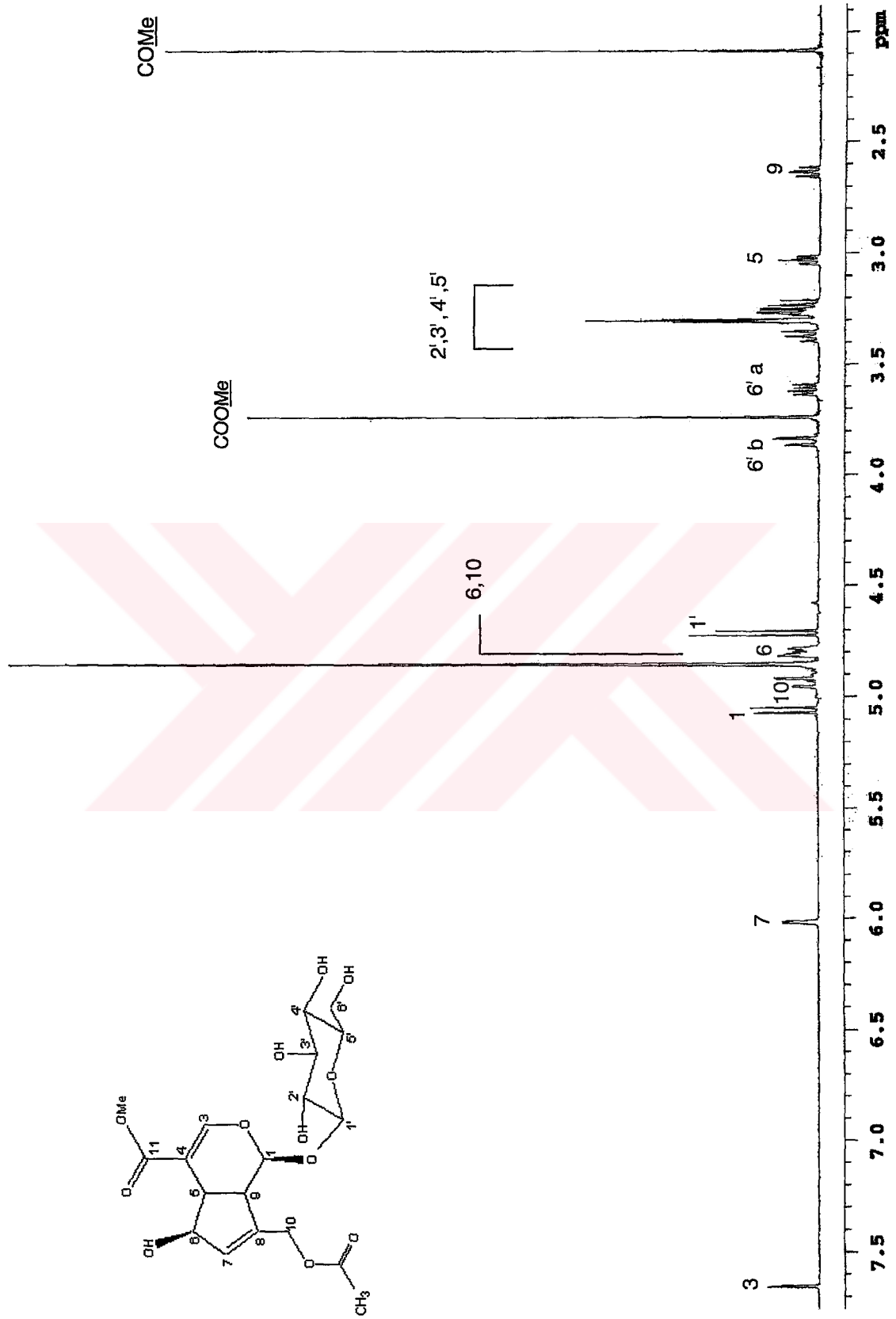
Sonuç olarak elde edilen bulguların literatürde dafillozit için kayıtlı değerler ile uyum göstermesi nedeniyle GTI-2' nin dafillozit olduğuna karar verilmiştir^{109,110}.



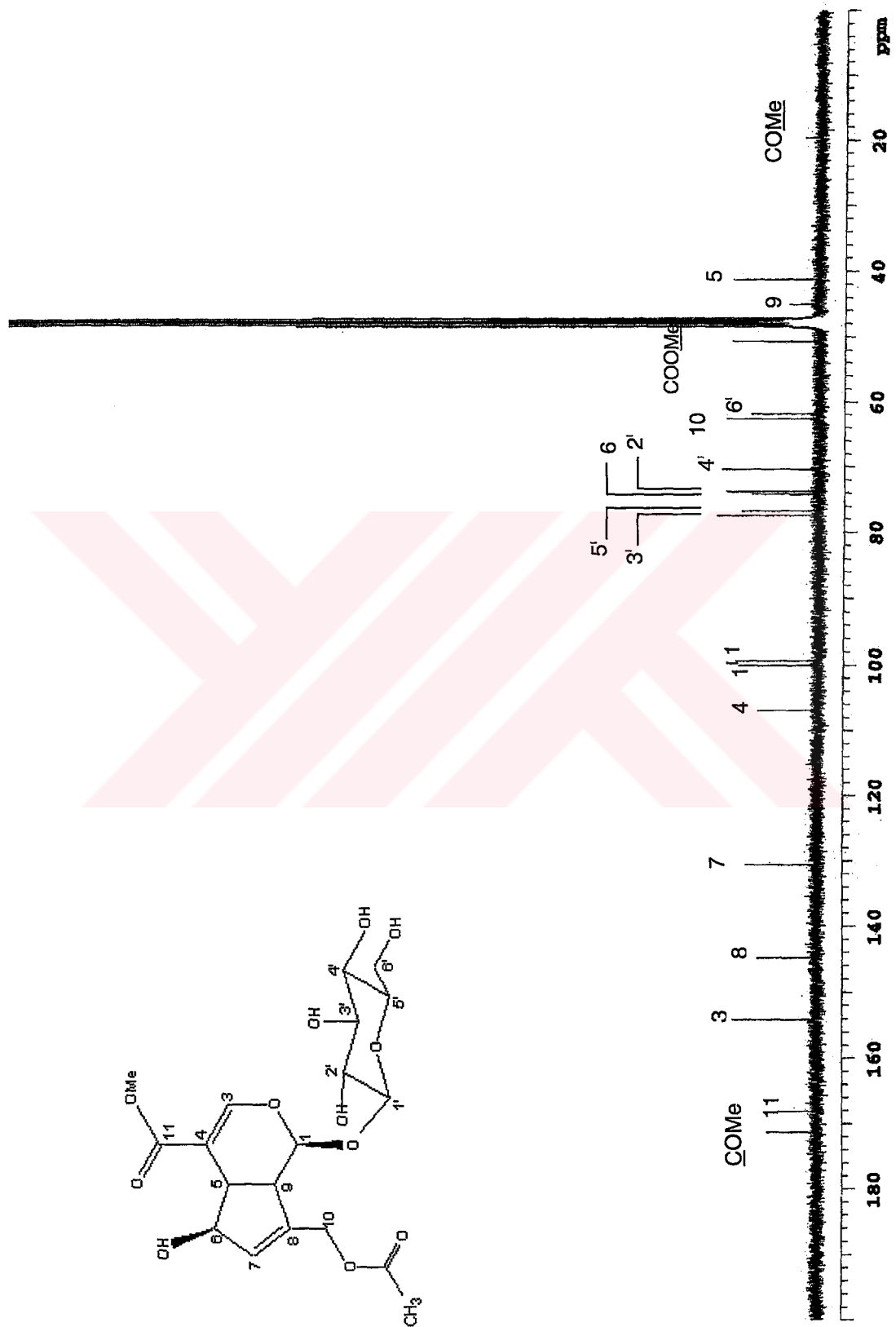
Şekil 11. Dafillozit'in HMBC korelasyonu

Tablo 23. Dafillozit'in [GTI-2] ^1H - ve ^{13}C -NMR Spektral Değerleri
 ^1H -NMR (CD_3OD , 400 MHz), ^{13}C -NMR (CD_3OD , 100 MHz)

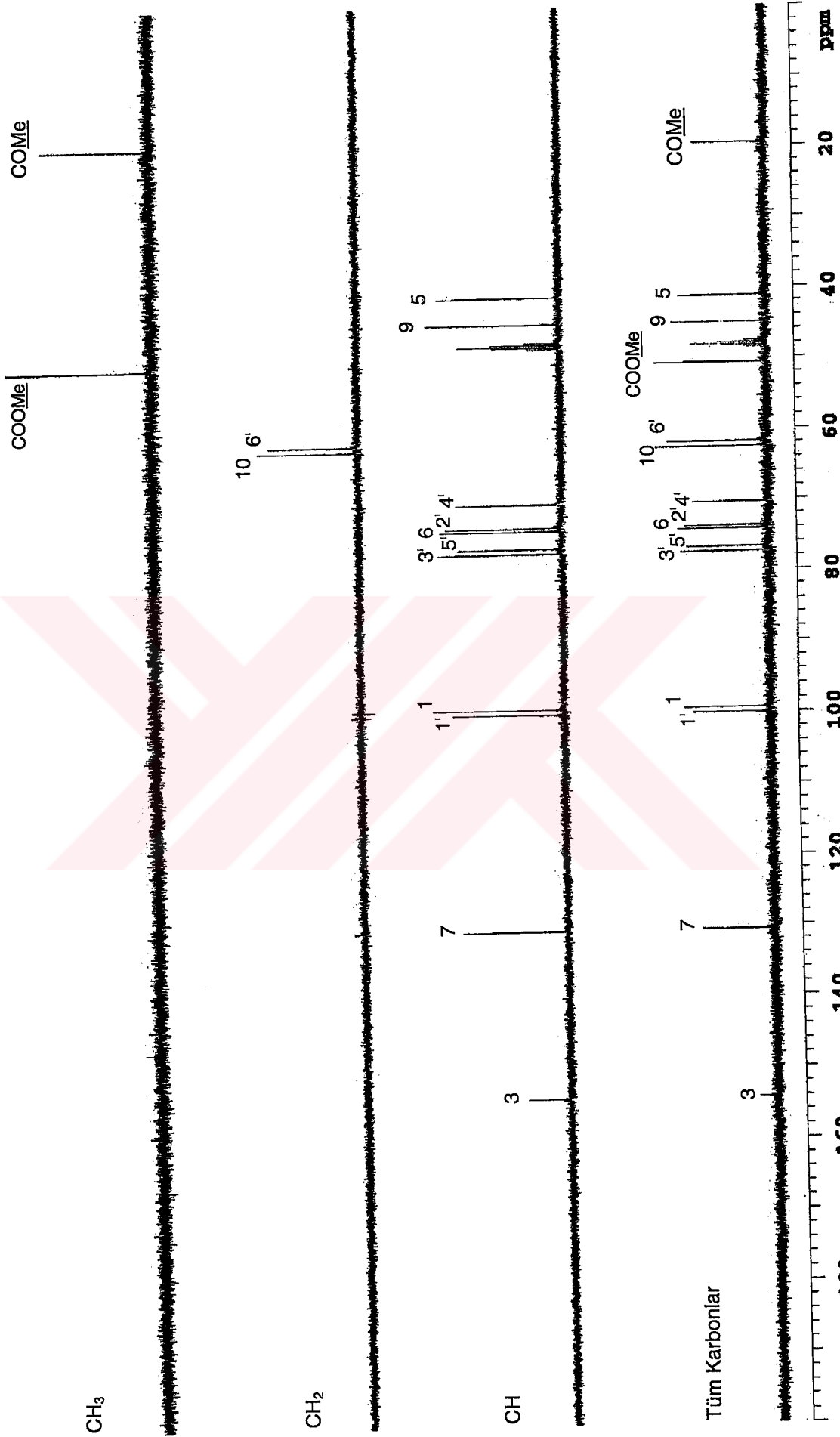
C-H Atom Numarası	C	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm)	Mult. [J(Hz)]	HMBC (Protondan karbona)
1	CH	99.4	5.06	d (9.1)	C-1'
3	CH	154.2	7.65	d (1.8)	C-1, C-4, C-5, C-11
4	C	106.9			
5	CH	41.2	3.03	td (6.6/1.8)	C-1, C-3, C-4, C-6, C-9, <u>COOMe</u>
6	CH	74.2	4.80	m	C-1, C-4, C-8, C-9, C-11
7	CH	130.6	6.02	d (1.8)	C-5, C-6, C-8, C-9
8	C	144.8			C-5, C-6, C-9
9	CH	45.0	2.64	t (8.4)	C-1, C-5, C-6, C-7, C-8
10	CH ₂	62.6	4.80 H _a 4.93 H _b	m d (15.0)	C-7, C-8, C-9, COMe
11	C	168.3			
<u>COOMe</u>	CH ₃	50.6	3.74	s	
<u>COMe</u>	C	171.3			
COMe	CH ₃	19.5	2.08	s	
1'	CH	100.1	4.72	d (7.7)	C-1
2'	CH	73.7	3.21-3.39	m	
3'	CH	77.4	3.21-3.39	m	
4'	CH	70.4	3.21-3.39	m	
5'	CH	76.7	3.21-3.39	m	
6'	CH ₂	61.8	3.61 3.85	dd (12.0/6.2) dd (11.9/1.4)	



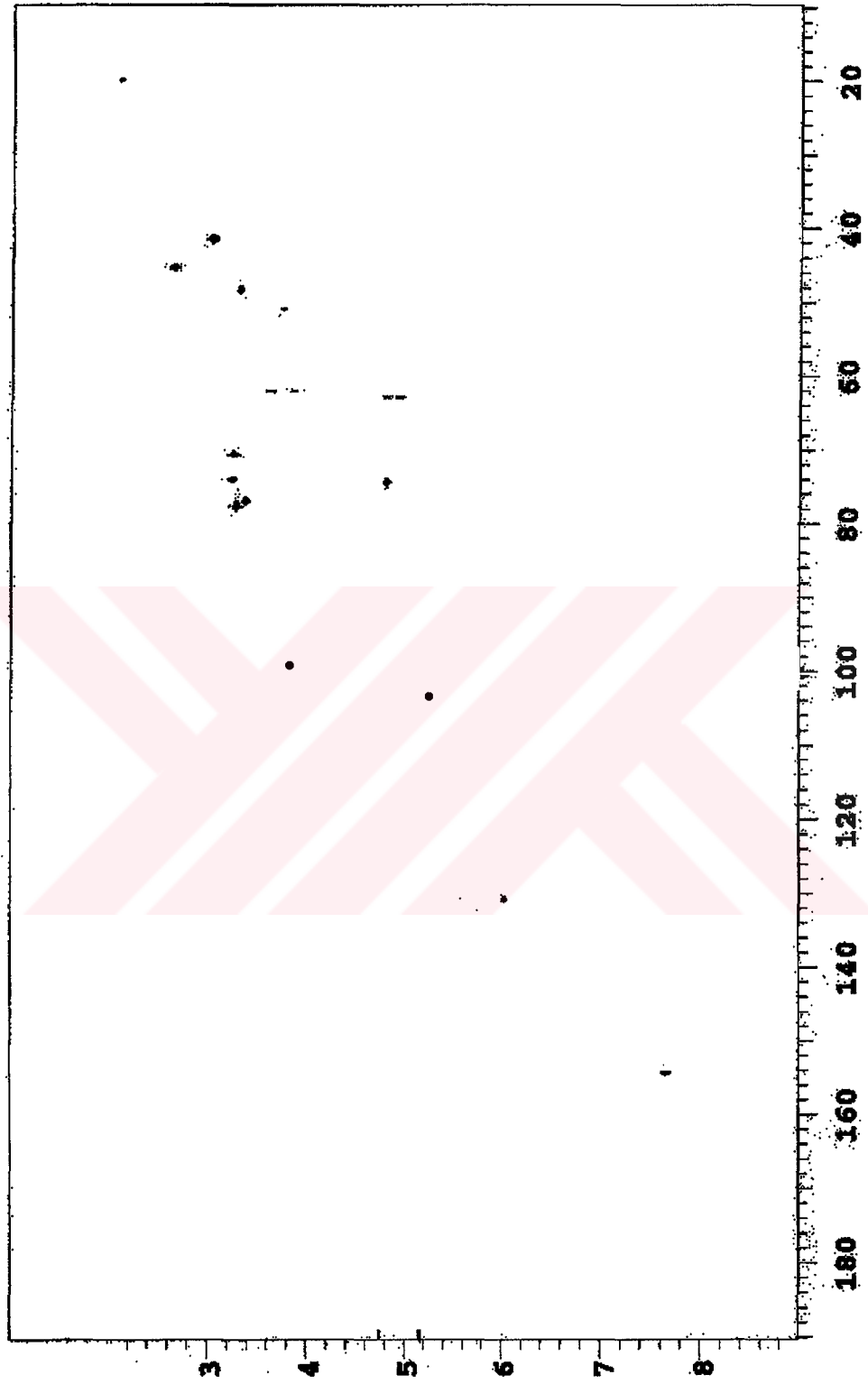
Spektrum 17. Dafilozit'in [GTI-2] $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 400 MHz) spektrum



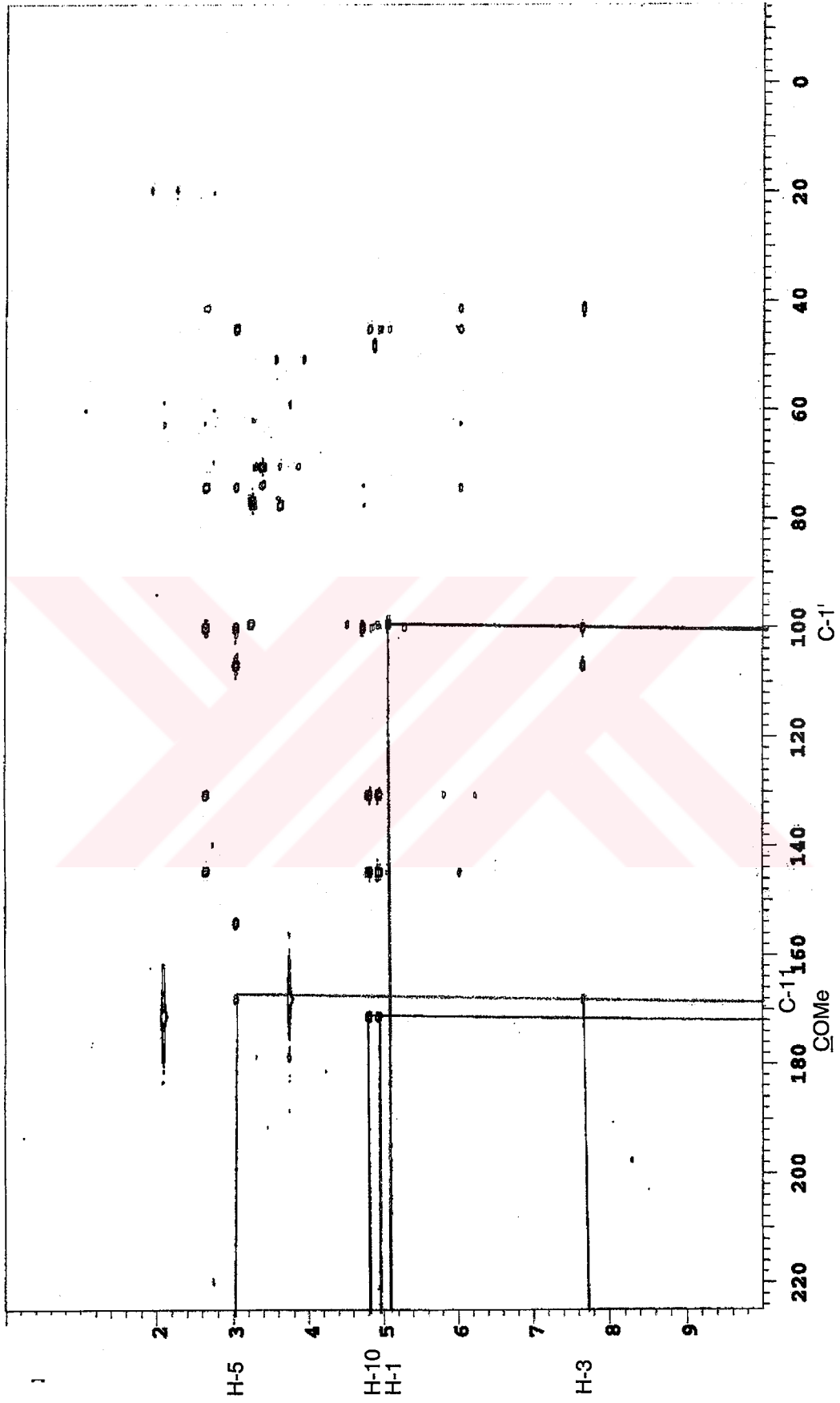
Spektrum 18. Daifillozitin in $[\text{GTI-2}] \text{CD}_3\text{OD}$, 100 MHz) spektrum



Spektrum 19. Daffilozit'in [GTI-2] DEPT (CD₃OD, 100 MHz) Spektrumu

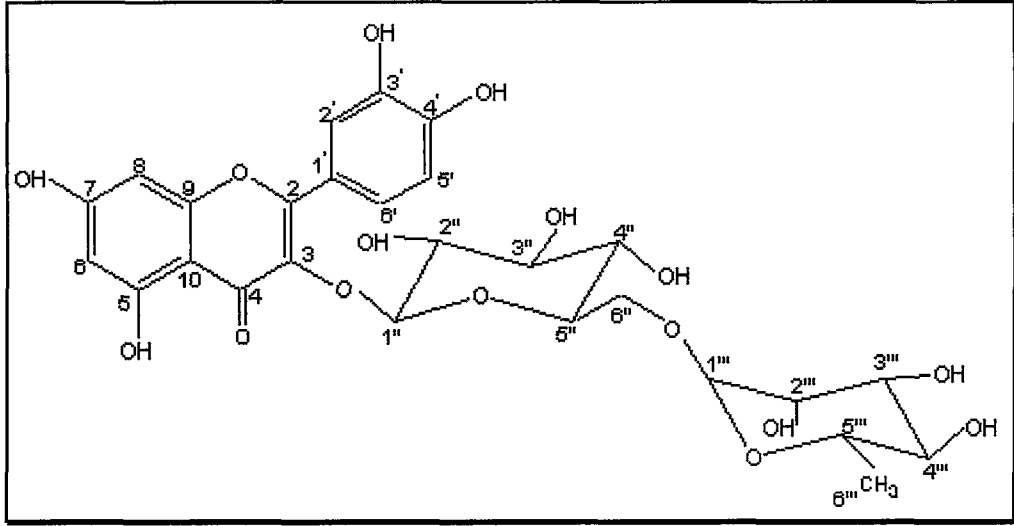


Spektrum 20. Dafillozitiin [GTI-2] 2D-¹H-¹³C-Heteronukleer COSY (HMQC) spektrumu



Spektrum 21. Dafilozit'in [GTI-2] 2D-¹H-¹³C-Heteronükleer COSY (HMBC) spektrumu

RUTİN



Şekil 12. Rutin'in molekül yapısı

RUTİN (GTF)

$$C_{27}H_{30}O_{16} \text{ (M.A. 610)}$$

UV (MeOH) λ_{max} nm: 257, 269sh, 349, 361

ESI- Kütle sp. m/z: 609 [M-H]⁻, 633 [M+Na]⁺, 1243 [2M+Na]⁺

¹H-NMR (CD₃OD, 300 MHz): Spektrum 22, Tablo 24

¹³C-NMR (CD₃OD, 75.5 MHz): Spektrum 23, Tablo 24

DEPT (CD₃OD, 75.5 MHz): Spektrum 24

2D-¹H-¹H-Homonükleer COSY: Spektrum 25

2D-¹H-¹³C-Heteronükleer (short range) COSY (HMQC): Spektrum 26

2D-¹H-¹³C-Heteronükleer (long range) COSY (HMBC): Spektrum 27

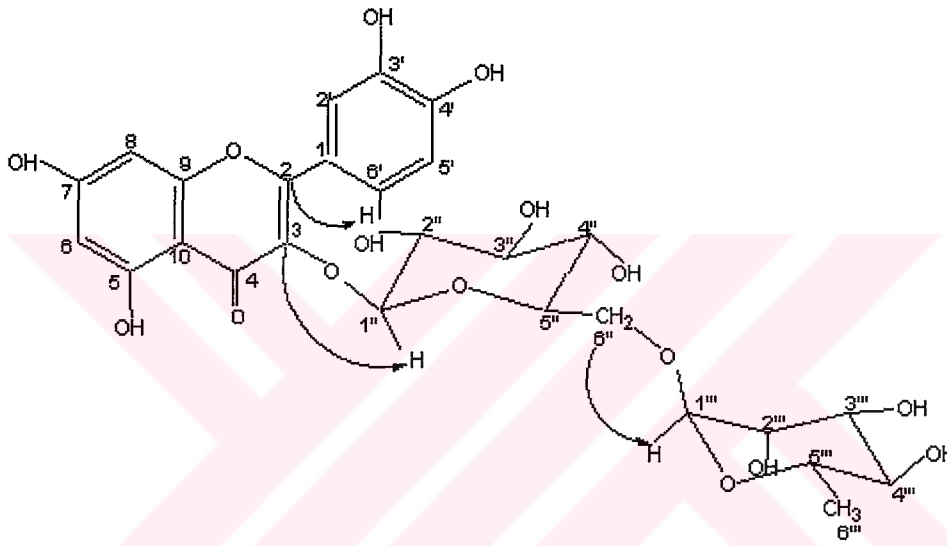
RUTİN

Bileşiğin İTK analizinde gün ışığında sarı, revelatör püskürtmeden önce UV₂₅₄ nm'de açık sarı, UV₃₆₆ nm'de koyu mor, vanilin/sülfürik asit püskürtülüp 110 °C'de 1-2 dakika ısıtılınca önce sarı-turuncu, daha sonra kahverengiye dönen renk vermesi, amonyak buharı ile parlak sarı renk vermesi flavonoid olabileceğini göstermiştir. Bileşiğin metanol içinde alınan UV spektrumunda Bant I'nin 349 nm'de görülmesi, bileşiğin bir flavonoid olduğunu ve 3-OH grubunun hidrojeninin süstitüe halde bulunduğunu gösterir. Ayrıca Bant II'nin 257 nm'de görülmesi ve 269 nm'de omuz vermesi B halkasında 3' ve 4' konumlarında oksijen bağlı olduğuna işaret eder.

Bileşiğin ¹H-NMR spektrumu incelendiğinde (Tablo 24, Spektrum 22) $\delta = 6.2$ d ($J = 1.8$ Hz) ve 6.4 d ($J = 2.2$ Hz) şeklinde görülen sinyaller sırasıyla A halkasının C(6) ve C(8) protonlarına, $\delta = 7.66$ d ($J = 1.8$ Hz), 6.86 d ($J = 8.0$ Hz) ve 7.60 dd ($J = 8.0/1.8$ Hz) ppm'lerde görülen sinyaller de sırasıyla, B halkasının C(2'), C(5') ve C(6') protonlarına aittir. Aglikona ait spektral değerler literatürde kersetol için kayıtlı değerlerle uygunluk göstermektedir ¹¹¹⁻¹¹³. $\delta = 5.10$ d ($J = 7.8$ Hz) ve 4.51 d ($J = 1.8$ Hz) şeklinde gözlenen sinyaller anomerik oz protonlarına aittir ve yapıda iki oz ünitesi bulunduğunu göstermektedir. Anomerik protonların etkileşme sabiti (J) değerlerinden ozların sırasıyla β ve α konfigürasyonda oldukları anlaşılmıştır. Ozlara ait proton sinyalleri ¹H, ¹H-Homonükleer korelasyonlu ve ¹H, ¹³C-Heteronükleer korelasyonlu spektrumlar kullanılarak ayrı ayrı yorumlanmış ve ozlar β -D-glukoz ve α -L-ramnoz olarak tanımlanmıştır (Tablo 24).

¹³C-NMR spektrumunda (Tablo 24, Spektrum 23) C-3 e ait sinyal 135.6 ppm'de C-2 ve C-4 e ait sinyaller sırasıyla 158.5 ve 179.4 ppm'lerde görülmüştür. Bu bulgu C(3)-OH glikolizasyonunu doğrulamaktadır. Çünkü C-2 ve C-4 sinyalleri kersetol aglikonuna göre daha düşük alana kaymışlardır ¹¹⁴. C-6 ve C-8 sinyallerinin ($\delta = 99.9$ ppm ve 94.8 ppm), C-5 ve C-7 sinyallerinden ($\delta = 162.5$ ve 166.0 ppm) farklı olarak daha yüksek alanda çıkması C-5 ve C-7 deki süstitüsyonlardan ileri gelmektedir. C-3' ve C-4' konumunda iki serbest hidroksil grubu bulunması nedeniyle bu karbonlara ait sinyaller ($\delta = 145.8$ ve 149.7 ppm) C-2' ve C-5' sinyallerine göre ($\delta = 117.6$ ve 116.1 ppm) daha düşük alanda görülmektedir. C-1'' ve C-1''' ne ait 104.7 ve 102.4 ppm'lerde görülen sinyaller, $\delta = 68.6$ ppm'de görülen hidroksi metil (CH₂OH) sinyali ve metil grubuna ait 17.9 ppm'de görülen sinyal, ozların β -D-glukoz ile α -L-ramnoz olduğunu doğrulamaktadır. Glukozun C-6'' sinyalinin 68.6 ppm gibi, düşük alana kayması

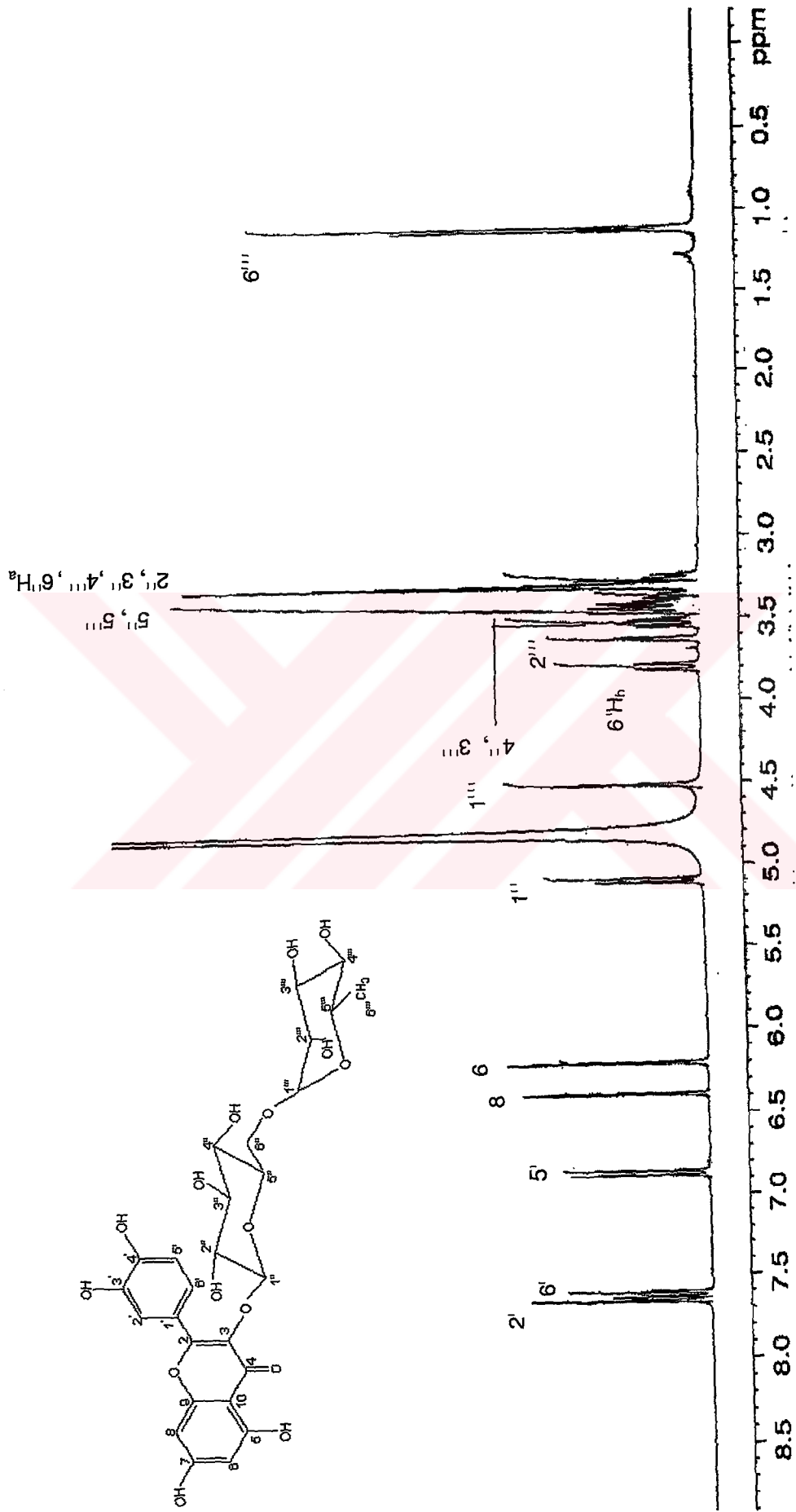
ramnozun ikinci oz olduğunu ve glukozu C-6'' den bağılandığını göstermiştir. Bu bulgu bileşiğin ^1H , ^{13}C -Heteronükleer korelasyonlu uzak etkileşim (long range) spektrumunda (HMBC), ramnozun anomerik protonu ($\delta = 4.51$ d, $J = 1.8$ Hz) ile glukozun C-6'' atomu ($\delta = 68.6$ ppm) arasındaki korelasyon ile de doğrulanmıştır. Glukozun aglikona bağlı ilk oz olduğu HMBC spektrumunda, anomerik proton ($\delta = 5.10$ d, $J = 7.8$ Hz) ile C-3 (135.6 ppm) arasındaki korelasyon ile açıkça görülmektedir. Bileşiğe ait spektral bulgular literatürde kersetol-3-O-rutinozit (Rutin) için kayıtlı değerler ile uygunluk göstermektedir ^{114,115}.



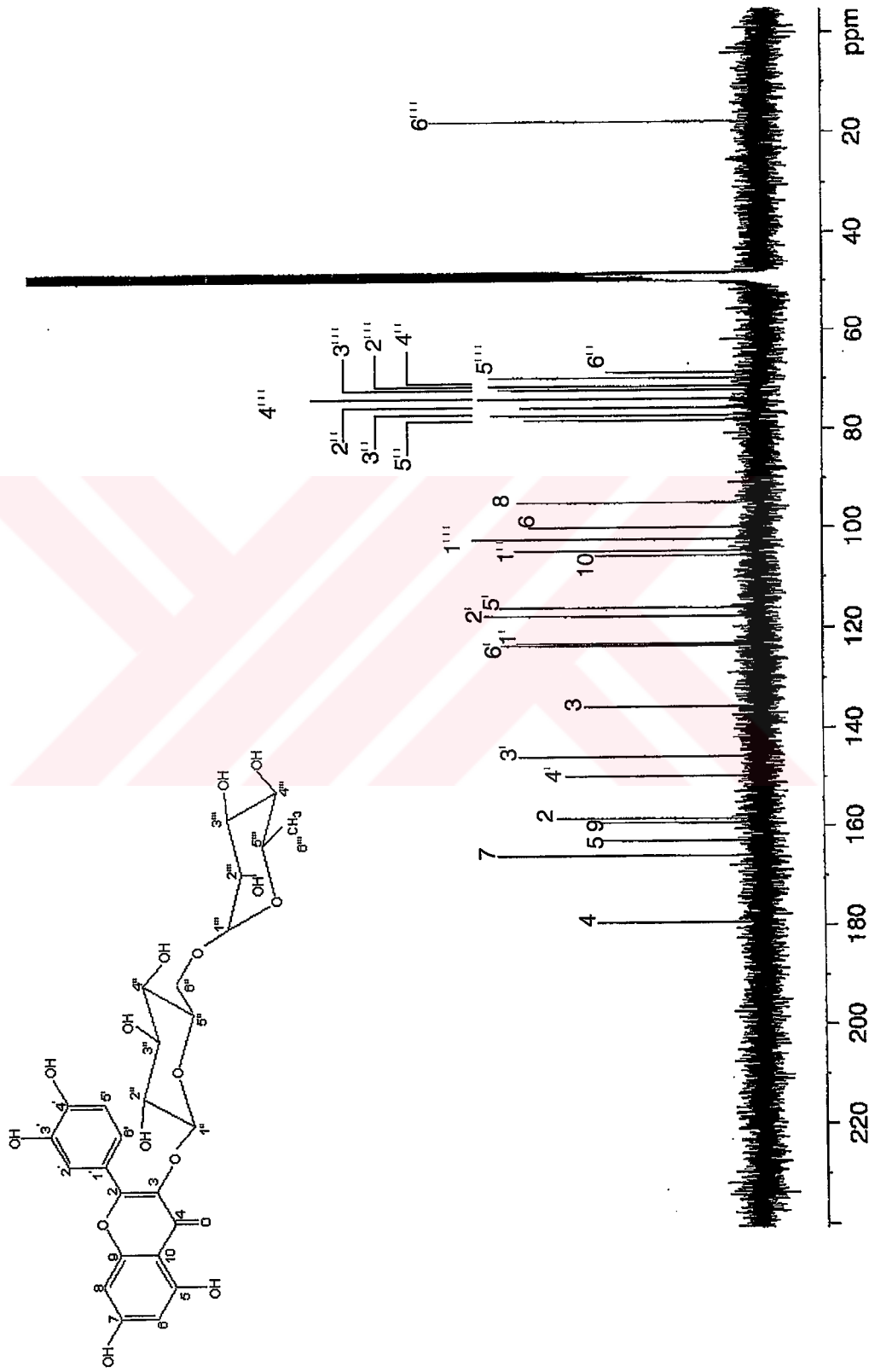
Şekil 4. Rutin'in HMBC korelasyonu

Tablo 24. Rutin'in [GTF] ^1H - ve ^{13}C -NMR Spektral Değerleri
 ^1H -NMR (CD_3OD , 300 MHz), ^{13}C -NMR (CD_3OD , 75.5 MHz)

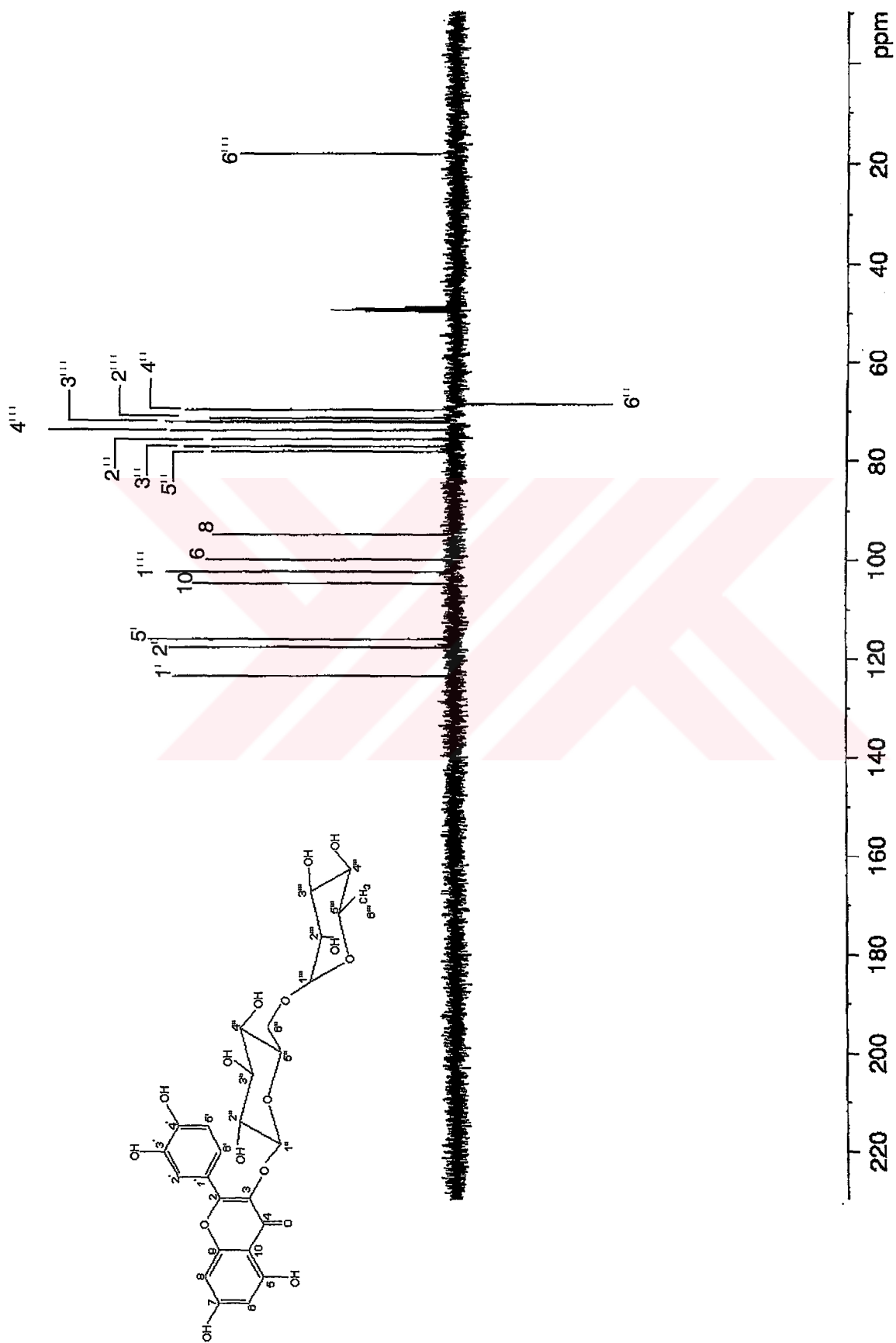
C-H Atom Numarası	C	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm)	Mult. [J(Hz)]	HMBC Protondan karbona
2	C	158.5	-		
3	C	135.6	-		
4	C	179.4	-		
5	C	162.5	-		
6	CH	99.9	6.20	d (1.8)	C-10
7	C	166.0	-		
8	CH	94.8	6.40	d (2.2)	C-6, C-10
9	C	159.3	-		
10	C	105.6	-		
1'	C	123.1	-		
2'	CH	117.6	7.66	d (1.8)	C-2, C-1', C-3', C-4'
3'	C	145.8	-		
4'	C	149.7	-		
5'	CH	116.1	6.86	d (8.0)	C-1', C-3', C-4'
6'	CH	123.5	7.60	dd (8.0/1.8)	C-1', C-2'
1''	CH	104.7	5.10	d (7.8)	C-3
2''	CH	75.7	3.47	m	
3''	CH	77.2	3.32	m	
4''	CH	71.4	3.27	m	
5''	CH	78.1	3.43	m	C-6''
6''	CH ₂	68.6	3.38 H _a 3.80 H _b	m d (10.5)	C-5''
1'''	CH	102.4	4.51	d (1.8)	C-6'', C-4''', C-5'''
2'''	CH	72.0	3.63	dd (3.5/1.5)	
3'''	CH	72.2	3.53	dd (9.5/3.5)	C-2'''
4'''	CH	73.9	3.28	m	C-2''', C-3''', C-5'''
5'''	CH	69.7	3.44	m	C-3'''
6'''	CH ₃	17.9	1.11	d (6.0)	C-3''', C-4'''



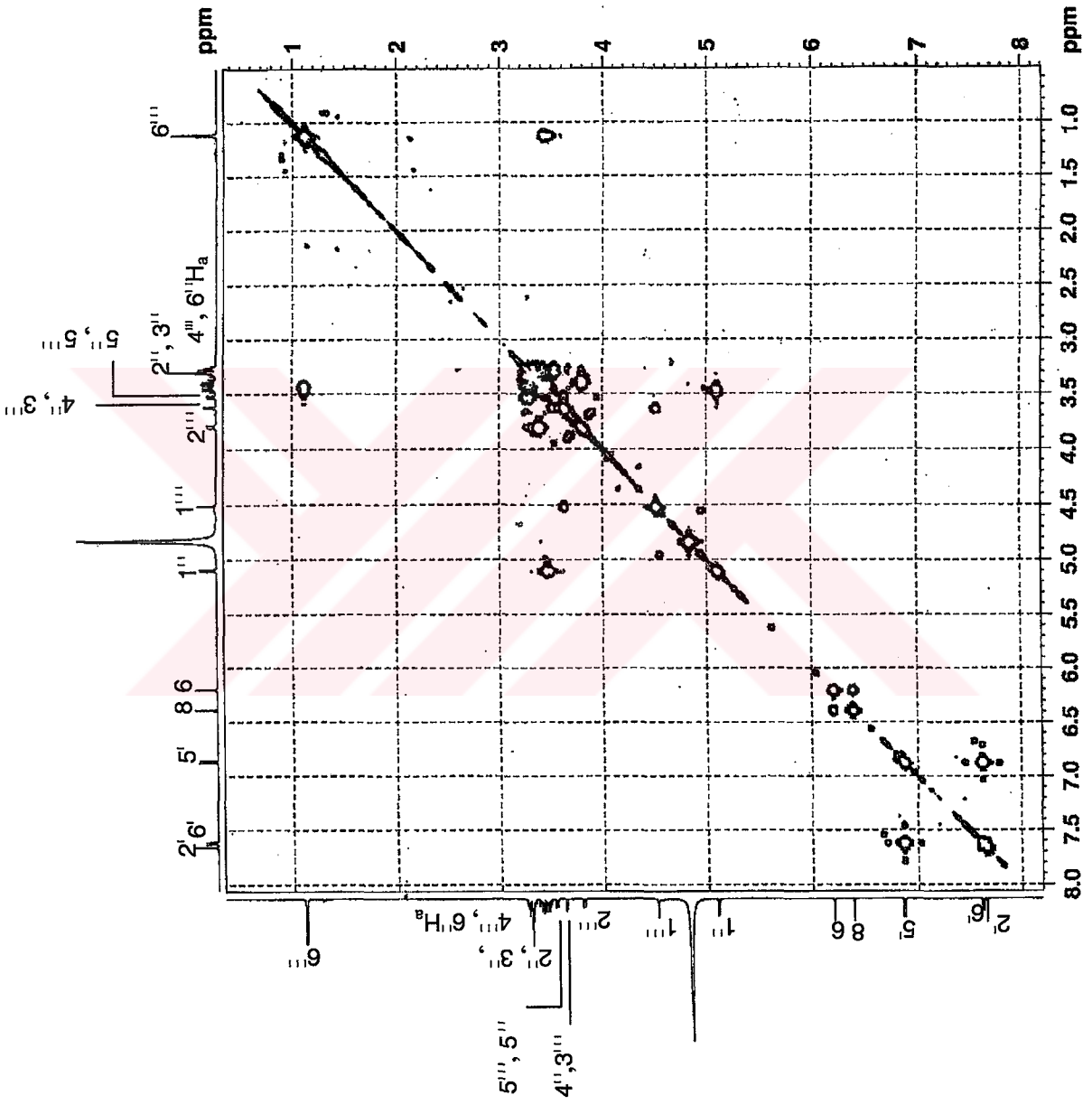
Spektrum 22. Rutin'in [GTF] ¹H-NMR (CD₃OD, 300 MHz) spektrumu



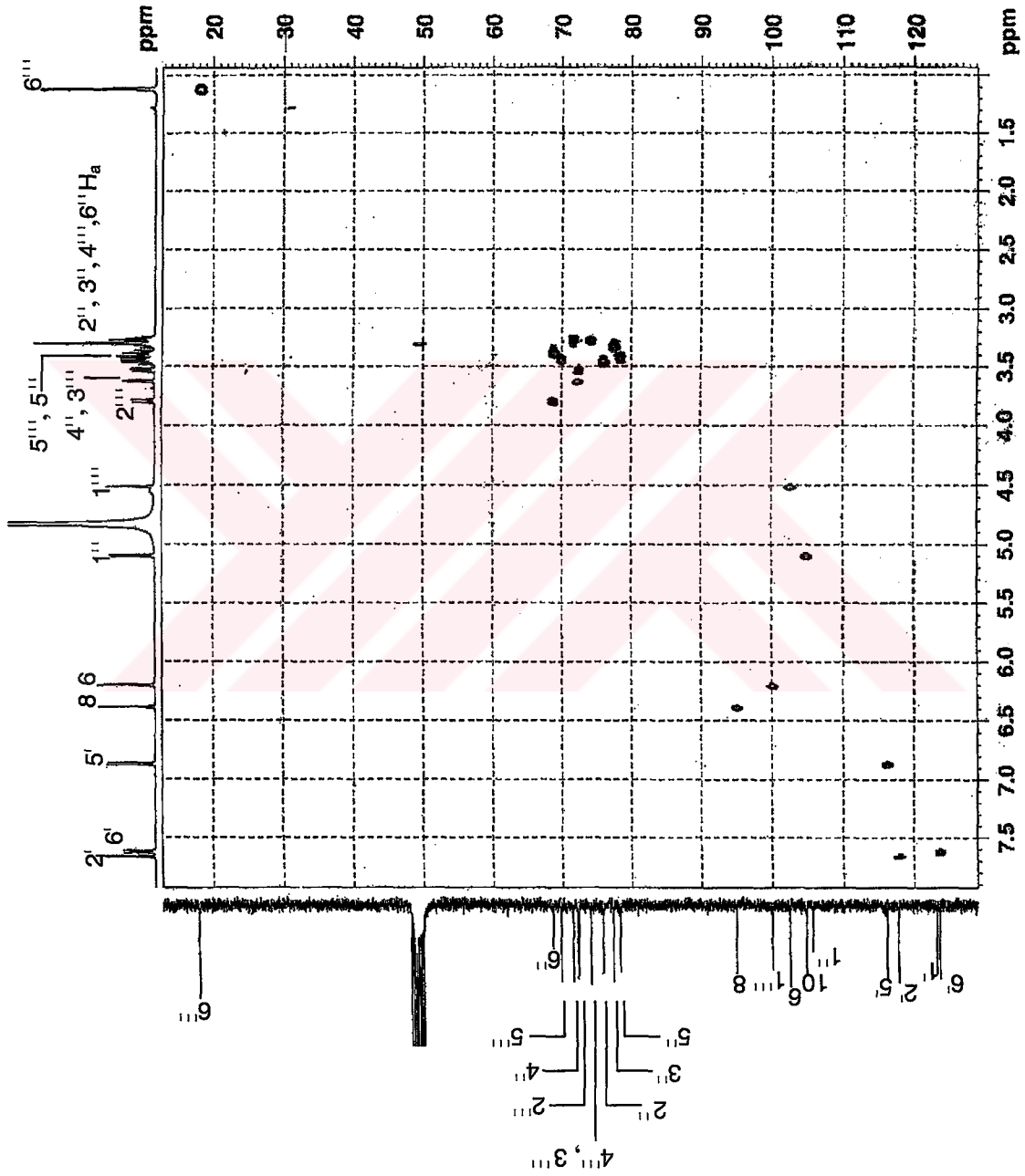
Spektrum 23. Rutin in [GTF] ¹³C-NMR (CD₃OD, 75.5 MHz) spektrum



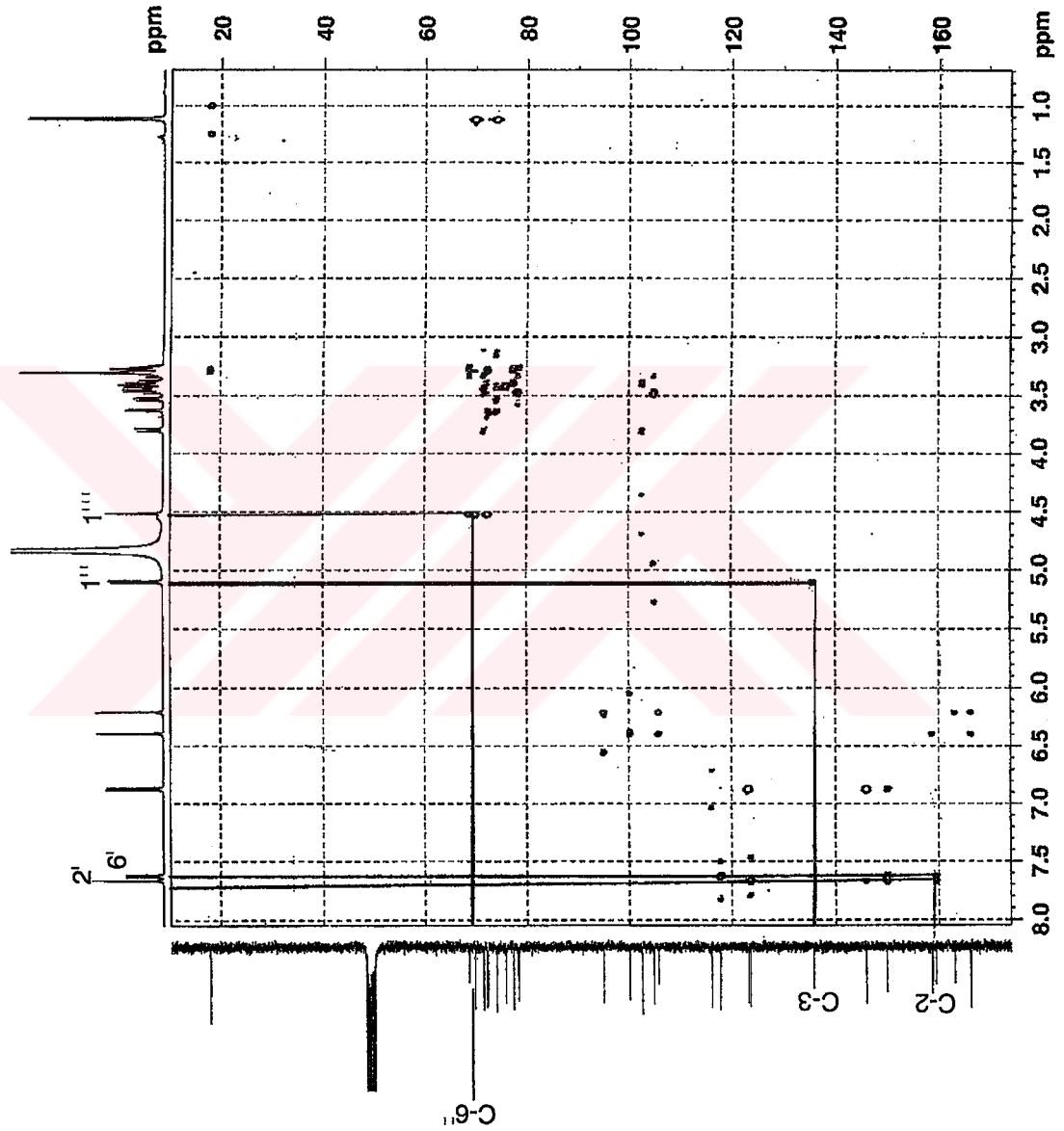
Spektrum 24. Rutin'in [GTF] ^{13}C -NMR-DEPT (CD_3OD , 75.5 MHz) spektrumu



Spektrum 25. Rutin'in [GTF] 2D-¹H-¹H-Homonukleer COSY spektrum



Spektrum 26. Rutin'in [GTF] 2D-¹H-¹³C-Heteronukleer COSY (HMOC) spektrumu



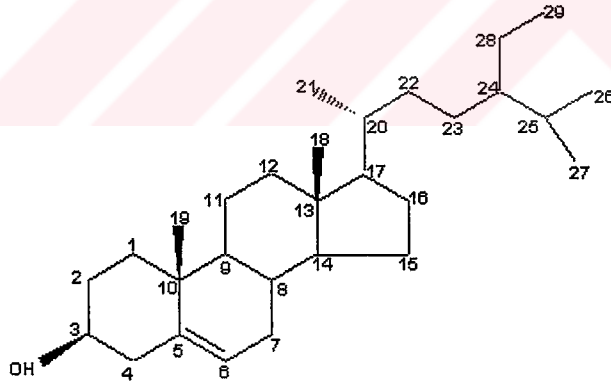
Spektrum 27. Rutin'in [GTF] 2D- ^1H - ^{13}C -Heteronükleer COSY (HMBC) spektrumu

TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu araştırmada Erzurum'da yetişen endemik *Galium tortumense* bitkisinin toprak üstü kısmı taşıdığı sekonder metabolitleri yönünden fitokimyasal olarak araştırılmıştır.

Bitkinin gölgede kurutulmuş toprak üstü kısımları toz edildikten sonra metanol ile (40 °C'de) geri çeviren soğutucu altında ekstre edilmiş ve metanol ekstresi sırasıyla kloroform ve su ile tüketilmiştir. Bu ekstrelerin ön temizleme ve ayırım işlemleri için çeşitli kromatografik yöntemler [açık kolon kromatografisi (silika jel, sefadeks) ve vakum sıvı kromatografisi] kullanılmıştır. Yapılan izolasyon çalışmaları sonucunda bitkiden 1 sterol (GTS), 2 triterpen (GTT-1, GTT-2), 2 iridoit (GTI-1, GTI-2) ve 1 flavonol heteroziti (GTF) olmak üzere toplam 6 bileşik izole edilmiş ve yapıları spektral yöntemler (UV, 1D-, 2D- NMR, ESI kütle spektroskopisi) kullanılarak aydınlatılmıştır.

GTS, GTT-1 ve GTT-2 bileşiklerinin İTK analizlerinde gün ışığında renksiz olmaları, reaktif kullanmadan önce UV₂₅₄ ve UV₃₆₆ nm'lerde floresans vermemeleri, % 1'lik vanilin/sülfürik asit reaktifi püskürtüldükten sonra 110 °C'de 1-2 dakika ısıtılınca pembe-mor renk vermeleri steroidal veya triterpenik bir yapıda olabileceklerini göstermiştir.

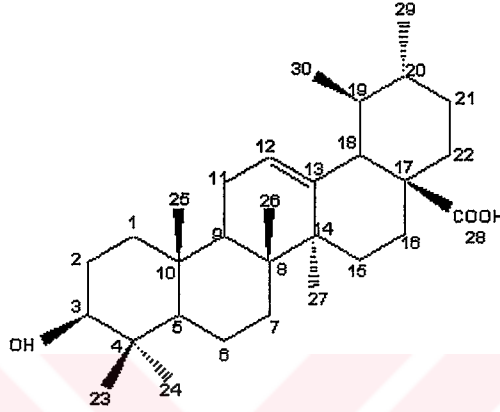


Şekil 5. β -sitosterol'ün molekül yapısı

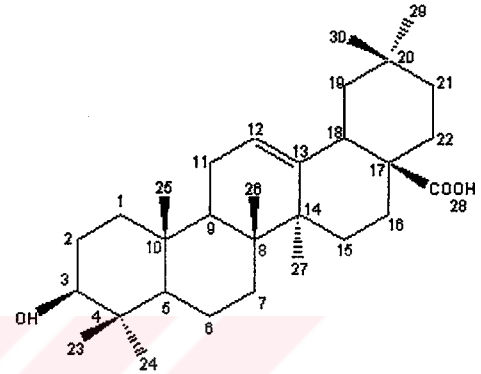
GTS kodlu bileşiğin ¹³C-NMR spektrumu incelendiğinde 29 karbon atomu taşıdığı tespit edilmiştir. $\delta_C = 71.8$ ppm'de gözlenen sinyal yapıda bir oksijen atomunun varlığını göstermekte ve bu karbon atomuna bağlı olan proton ise $\delta_H = 3.52$ ppm'de bir sinyal vermektedir. $\delta_C = 140.7$ ppm ve $\delta_C = 121.7$ ppm'lerde gözlenen sinyaller bir çift bağ bulunduğuna işaret etmektedir. $\delta_C = 121.7$ ppm'de gözlenen sinyale ait karbon atomuna bağlı proton $\delta_H = 5.35$ ppm'de görülmektedir. ¹H ve ¹³C-NMR spektrumlarındaki sinyaller, DEPT, HMQC ve HMBC spektrumları yardımı ile çözümlendiğinde, bu bileşik

için elde edilen yapı bulgularının, β -sitosterol'ün literatür bulguları ile uyum içinde olduğu belirlenmiş ve yapının (24R)-24Etilkolest-5-en-3- β -ol (β -sitosterol) olduğu kanıtlanmıştır^{99,100}.

GTT-1 ve GTT-2 bileşiklerinin ^1H ve ^{13}C -NMR spektrum sonuçları değerlendirildiğinde bir karışım olduğuna karar verilmiştir.



Şekil 6. Ursolik asit'in molekül yapısı



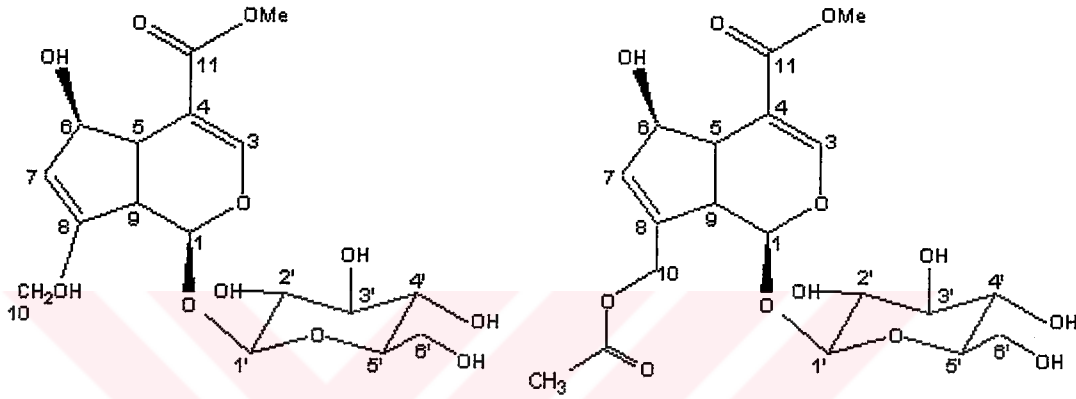
Şekil 7. Oleanolik asit'in molekül yapısı

^1H -NMR spektrumunda, $\delta_{\text{H}} = 1.25, 0.98, 0.77, 1.08$ ve 1.14 ppm'lerde singlet, $\delta_{\text{H}} = 0.93$ ve 0.91 ppm'lerde dublet olarak 3'er proton şiddetinde 6 metil rezonansı (sırasıyla Me-23, Me-24, Me-25, Me-26, Me-27, Me-29 ve Me-30) GTT-1 için, $\delta_{\text{H}} = 0.96, 0.78, 0.84, 0.76, 1.25, 0.87$ ve 0.93 ppm'de singlet olarak 3'er proton şiddetinde 6 metil rezonansı (sırasıyla Me-23, Me-24, Me-25, Me-26, Me-27, Me-29 ve Me-30) GTT-2 için gözlenmiştir.

^{13}C -NMR spektrumu incelendiğinde, $\delta_{\text{C}} = 180.4$ ppm'de gözlenen sinyal bir karboksil karbonuna aittir. Triterpenik yapıda $\Delta^{12(13)}$ fonksiyonunun varlığı $\delta_{\text{C}} = 125.7$ (CH; C-12) ve $\delta_{\text{C}} = 138.4$ (C; C-13) ile $\delta_{\text{C}} = 122.4$ (CH; C-12) ve $\delta_{\text{C}} = 144.1$ (C; C-13) ppm'lerdeki karbon rezonanslarıyla saptanmıştır. Olefinik proton H-12 ise $\delta_{\text{H}} = 5.28$ (1H, t) ve $\delta_{\text{H}} = 5.24$ (1H, t) ppm'lerde gözlenmiştir. Bu özellikler sırasıyla, urs-12-en ve olean-12-en tipi triterpenik iskelet için karakteristiktir¹⁰¹⁻¹⁰². Bu bulgu GTT-1 bileşiğinin 6 metil rezonansından ikisinin ^1H -NMR spektrumunda dublet şeklinde gözlenmesiyle doğrulanmıştır ($\delta_{\text{H}} = 0.93$, d, Me-29; $\delta_{\text{H}} = 0.91$, d, $J = 5.9$ Hz, Me-30). $\delta_{\text{H}} = 3.21$ ppm dd ve $\delta_{\text{C}} = 78.5$ ppm her iki bileşiğin 3 numaralı karbon atomunda bir sekonder hidroksil grubuna işaret etmiştir¹⁰³. $\delta_{\text{C}} = 55.5$ ppm'de gözlenen sinyal her iki bileşiğin 5 numaralı karbonuna, $\delta_{\text{C}} = 47.8$ ve $\delta_{\text{C}} = 48.1$ ppm'de gözlenen sinyaller, sırasıyla bileşiklerin 9 numaralı karbonlarına aittir. GTT-1 bileşiğinin 18 numaralı karbonu

$\delta_C = 53.1$ ppm'de, GTT-2 bileşiğinin 18 numaralı karbonu $\delta_C = 41.5$ ppm'de rezonans olmuştur. $^1\text{H-NMR}$ spektrumunda $\delta_H = 2.18$ d GTT-1 bileşiğinin C (18) protonuna, $\delta_H = 2.82$ dd GTT-2 bileşiğinin C (18) protonuna aittir.

Spektroskopik bulgular ursolik asit ve oleanolik asit ile uygunluk göstermektedir. Bu nedenle GTT-1 ve GTT-2 karışımının ursolik asit (GTT-1) ve oleanolik asit (GTT-2) maddelerinin bir karışımı olduğu sonucuna varılmıştır ¹⁰⁴⁻¹⁰⁷.



Şekil 8. Skandozit metil ester'in molekül yapısı

Şekil 9. Dafilozit'in molekül yapısı

İzole edilen bileşiklerden GTI-1 ve GTI-2 kodlu olanların İTK'da revelatör püskürtmeden önce gün ışığında ve UV_{254} ile UV_{366} nm'lerde renksiz olması %1'lik vanilin/sülfürikasit reaktifi püskürtülüp ısıtılınca önce renksiz, açık mavi, daha sonra koyu maviye dönen renk vermesi, iridoit heteroziti olabileceklerini göstermiştir.

Bu bileşiklerin UV spektrumlarında 231-242 nm arasında gözlenmiş olan absorpsiyon maksimumları C-4 konumlarından sübstitüsyon taşıdıklarını göstermiştir. Bu görüş $^1\text{H-NMR}$ spektrumlarında H-3 sinyalinin yaklaşık $\delta_H = 7.25-7.65$ ppm aralığına kaymış olması ve singlet veya kenetlenme sabiti (J) değeri çok küçük olan dublet olarak gözlenmesi ile doğrulanmıştır.

İridoit bileşiklerinin ^1H ve $^{13}\text{C-NMR}$ spektrumları incelendiğinde bileşiklerin monoglikozidik yapıda oldukları ve oz olarak glukoz taşıdıkları anlaşılmıştır. Anomerik protonun kenetlenme sabiti değerinden ($J = 7.8$ ve $J = 7.7$ Hz) glukozların β formunda oldukları saptanmıştır. Her iki bileşiğin de glikozidasyon noktası C-1 (OH) dir.

GTI-1 ve GTI-2 bileşiklerinin $^{13}\text{C-NMR}$ spektrumlarında $\delta_C = 170.3$ ve $\delta_C = 168.3$ ppm'lerde gözlenen sinyaller bu bileşiklerin karboksil fonksiyonu taşıdığını göstermiştir.

Karboksil gruplarının metil ile esterleşmiş olduğu $^1\text{H-NMR}$ spektrumunda $\delta_{\text{H}} = 3.75$ ve $\delta_{\text{H}} = 3.74$ ppm'de gözlenen 3 proton değerindeki singlet sinyalden anlaşılmaktadır.

GTI-1 bileşiğinin $^{13}\text{C-NMR}$ ve DEPT spektrumlarına bakıldığında $\delta_{\text{C}} = 100.3$ ppm'deki anomerik karbon rezonansı ve $\delta_{\text{C}} = 78.4-62.7$ ppm arasındaki glikoza ait 5 sinyal ile karbometoksi grubuna ait metil sinyali $\delta_{\text{C}} = 52.1$ ppm haricindeki diğer rezonanslar (3C, 6CH, 1CH₂) aglikonunun 10 karbonlu siklopentan-piran iskeletinden oluştuğunu göstermiştir. $^1\text{H-NMR}$ spektrumunda $\delta_{\text{H}} = 7.50, 5.80, 5.19, 4.54, 3.03, 3.01$ ppm'lerdeki birer proton değerindeki sinyaller siklopentan-piran halkasında 6 metin, AB sistem şeklinde $\delta_{\text{H}} = 4.35$ ve 4.20 ppm'lerdeki sinyaller 1 oksimetilen fonksiyonlarının varlığını göstermiştir. $\delta_{\text{H}} = 5.80$ ppm'deki olefinik sinyal siklopentan halkasındaki H-7 için karakteristiktir. Spektrumda düşük alanda gözlenen diğer sinyaller ($\delta_{\text{H}} = 5.19$ ve $\delta_{\text{H}} = 4.54$) sırasıyla H-1 ve H-6 olarak yorumlanmıştır. H-6 sinyalinin kimyasal kayma değeri C-6 da elektronegatif bir grubun olduğunu göstermiştir. HMQC spektrumu yardımıyla protonların üzerinde buldukları C rezonansları yorumlanmıştır. HMBC spektrumu ile fragmentler arasındaki bağlantılar belirlenmiştir.

Sonuç olarak, elde edilen bulguların literatürde skandozit metil ester için kayıtlı değerler ile uyum göstermesi nedeniyle GTI-1'in skandozit metil ester olduğuna karar verilmiştir ¹⁰⁸.

GTI-2 bileşiğinin $^{13}\text{C-NMR}$ ve DEPT spektrumlarına bakıldığında $\delta_{\text{C}} = 100.1$ ppm'deki anomerik karbon rezonansı ve $\delta_{\text{C}} = 77.4-61.8$ ppm arasındaki glikoza ait 5 sinyal ile karbometoksi grubuna ait metil sinyali $\delta_{\text{C}} = 50.6$ ppm haricindeki diğer rezonanslar aglikonunun 12 karbonlu siklopentan-piran iskeletinden oluştuğunu göstermiştir.

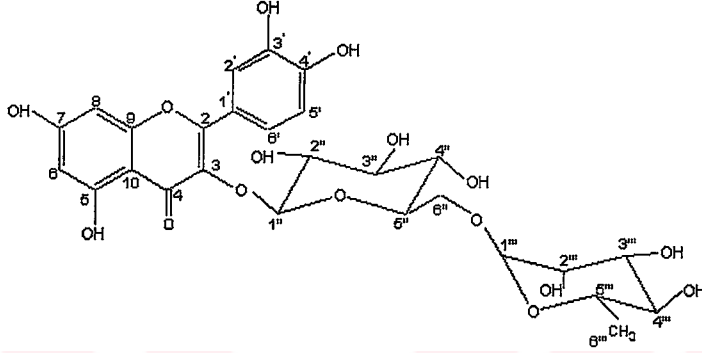
GTI-2 bileşiğinin $^1\text{H-NMR}$ spektrumunda $\delta_{\text{H}} = 2.08$ ppm'de gözlenen 3 proton değerindeki singlet sinyal asetil grubu varlığına işaret etmektedir. $^{13}\text{C-NMR}$ spektrumunda $\delta_{\text{C}} = 19.5$ (C-CH₃-C=O) ve $\delta_{\text{C}} = 171.3$ (CH₃-C=O) ppm'lerde gözlenen pikler asetil grubu varlığını doğrulamaktadır.

Olefinik H-7 sinyali $\delta_{\text{H}} = 6.02$ siklopentan halkasında C-7 ve C-8 arasında bir çift bağ olduğuna işaret etmektedir. H-6 sinyalinin $\delta_{\text{H}} = 4.80$ değeri C-6 konumunda oksijenli bir fonksiyon olduğunu göstermektedir. $\delta_{\text{H}} = 3.03$ ve $\delta_{\text{H}} = 2.64$ ppm'de gözlenen sinyallerin sırasıyla C-5 ve C-9 a ait olduğu düşünülmüştür. H-1 sinyali ise $\delta_{\text{H}} = 5.06$ ppm'de gözlenmektedir.

AB sistemi şeklinde $\delta_{\text{H}} = 4.80$ ve $\delta_{\text{H}} = 4.93$ ppm'lerdeki sinyaller 1 oksimetilen fonksiyonunun varlığını göstermiştir. HMBC spektrumunda oksimetilen fonksiyonuna ait

protonlarla C-7, C-8, C-9 ve COCH₃ arasında gözlenen etkileşimler oksimetilen grubunun C-8 e bağlı olduğunu ve COCH₃ grubunun da oksimetilene bağlı olduğunu göstermiştir.

Sonuç olarak elde edilen bulguların literatürde dafillozit için kayıtlı değerler ile uyum göstermesi nedeniyle GTI-2'nin dafillozit olduğuna karar verilmiştir^{109,110}.



Şekil 12. Rutin'in molekül yapısı

GTF kodlu bileşiğin İTK analizinde gün ışığında sarı, reaktif kullanmadan önce UV₂₅₄ nm'de açık sarı, UV₃₆₆ nm'de koyu mor, vanilin/sülfürik asit püskürtüldükten sonra 110 °C'de 1-2 dakika ısıtılınca önce sarı-turuncu, daha sonra kahverengiye dönen renk vermesi, amonyak buharı ile parlak sarı renk vermesi flavonoid bileşiği olabileceğini göstermiştir. Bu bileşiğin UV spektrumu incelendiğinde, bileşik 3-hidroksil grubu substitüe olan flavonol yapısı için karakteristik iki absorpsiyon piki vererek [Band I (328-357 nm) ve Band II (240-285 nm-bir omuz)] bu düşüncelyi doğrulamıştır.

GTF kodlu bileşiğin ¹³C-NMR spektrumunda 27 karbon atomu taşıdığı tespit edilmiştir. Bileşiğin ¹H-NMR spektrumunda $\delta_H = 5.10$ (d, $J = 7.8$ Hz) ve $\delta_H = 4.51$ (d, $J = 1.8$ Hz) ppm'lerde gözlenen anomerik proton sinyallerinden bileşiğin diglikozidik olduğu anlaşılmaktadır. Kenetlenme sabiti değerlerinden ozların β -glukoz ve α -ramnoz oldukları belirlenmiştir. $\delta_H = 1.11$ ppm'de dublet şeklinde gözlenen sinyal ramnozun sekonder metil grubuna aittir. HMBC korelasyonundan yararlanarak, glukozun aglikona (aromatik yapıya), ramnozun ise glukozu bağlı olduğu tespit edilmiştir.

GTF bileşiğine ait oz ünitelerinin rezonansları, ¹³C-NMR spektrumunda belirlenen total rezonanslardan düşüldüğünde geriye kalan 15 rezonans aglikonun bir flavonol olduğunu desteklemiştir. Aglikonun ¹³C-NMR ve DEPT spektrumlarında on kuarterner karbon (C), beş metin karbonu (CH) taşıdığı saptanmıştır. Nitekim ¹H-NMR spektrumunda aromatik bölgedeki proton sinyalleri bu yargıyı doğrulamıştır. $\delta_H = 6.20$

d ($J=1.8$ Hz) ve $\delta_H = 6.40$ d ($J=2.2$ Hz), her biri 1H, sırasıyla A halkasının H-6 ve H-8 protonlarına; $\delta_H = 7.66$ d ($J = 1.8$ Hz), $\delta_H = 6.86$ d ($J = 8.0$ Hz) ve $\delta_H = 7.60$ dd ($J = 8.0/1.8$ Hz), sırası ile B halkasındaki H-2', H-5' ve H-6' protonlarına aittir. ^1H ve ^{13}C -NMR spektrumları yardımıyla tespit edilen rezonanslar literatür verileriyle karşılaştırılarak GTF bileşiğinin kersetol-3-O-rutinozit (Rutin) olduğu tespit edilmiştir^{114,115}.

Galium türlerinin başlıca iridoitlerce zengin oldukları bir gerçektir. Bu bileşikler bitkiler aleminde dikotiledon sınıfından Tubiflorae takımında yer alan familyalar için kemotaksonomik anahtar olarak kabul edilmektedir. Dolayısı ile gerek *Galium* türlerinin gerek bu cinsin kemotaksonomisinde bu bileşiklerin esas alınması uygun olacaktır. β -sitosterol ve ursolik asit *Galium* türlerinden ilk kez izole edilmiştir. Çalışmalarımızın bundan sonraki bölümünde bileşiklerin biyolojik aktivitesi ile ilgili araştırmalara ağırlık verilerek bütünlük sağlanacaktır. Böylece elde edilecek yeni bulguların bilime katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Davis PH. Flora of Turkey and the East Aegean Islands Volume 7. Edinburgh: Edinburgh University Press, 1982: 722-767.
2. Tanker M, Tanker N. Farmakognozi Cilt 1. Ankara: Ankara Üniversitesi Basımevi, 2003: 264.
3. Ergun F, Sener B. HPLC determination of iridoids found in some *Galium* species. Journal of Faculty of Pharmacy of Gazi University 1999; 16: 7-11.
4. Baytop T. Türkiye'de bitkiler ile tedavi (Geçmişte ve Bugün). İstanbul: İstanbul Üniversitesi Yayınları, 1984: 419.
5. Mantle D, Eddeb F, Pickering AT. Comparison of relative antioxidant activities of British medicinal plant species in vitro. Journal of Ethnopharmacology 2000; 72: 47-51.
6. Seabra RM, Silveira JA, Vasconcelos MH. Composés Phénoliques de *Galium aparine* et *Galium broteroanum*. Plantés médicinales et phytothérapie 1993; 26 (1): 49-51.
7. Evans WC. Trease and Evans' Pharmacognosy. London: The Alden Press Oxford, 1989: 419.
8. De Rosa S, Iodice C, Mitova M, Handjieva N, Popov S, Anchev M. Triterpene saponins and iridoid glucosides from *Galium rivale*. Phytochemistry 2000; 54: 751-756.
9. Mitova M, Anchev M, Handjieva N. Iridoid patterns in *Galium L.* and some phylogenetic considerations. Zeitschrift für Naturforschung 2002; 57c: 226-234.
10. Deliorman D, Calis F, Ergun F. Iridoids from *Galium aparine*. Pharmaceutical Biology 2001; 39 (3): 234-235.
11. Komai K, Iwamura J, Hamada M, Ueki K. Plant growth inhibitors in catweed seeds and their alleopathy. Zasso Kenkyu 1986; 31 (4): 280-286. Chemical abstracts 106: 192933h, 1987.
12. Handjieva N, Mitova M, Anchev M, Popov S. Iridoid glucosides from *Galium album* and *G. lovcense*. Phytochemistry 1996; 43 (3): 625-628.
13. Mitova M, Handjieva N, Anchev M, Popov S. Iridoid glucosides from *Galium humifusum* Bieb. Zeitschrift für Naturforschung 1999; 54c: 488-491.
14. Uesato S, Ueda M, Inouye H, Kuwajima H, Yatsuzuka M, Takaishi K. Iridoids from *Galium mollugo*. Phytochemistry 1984; 23 (11): 2535-2537.

15. Uesato S, Miyauchi M, Itoh H, Inouye H. Biosynthesis of iridoid glucosides in *Galium mollugo*, *G. spurium* var. *echinospermon* and *Deutzia crenata*. Intermediacy of deoxyloganic acid, loganin and iridodial glucoside. *Phytochemistry* 1986; 25 (11): 2515-2521.
16. Bojthe-Horvath K, Hetenyi F, Kocsis A, Szabo L, Varga-Balazs M, Mathe I, Tetenyi P. Iridoid glycosides from *Galium verum*. *Phytochemistry* 1982; 21 (12): 2917-2919.
17. Bianco A, Guiso M, Iavarone C, Passacantilli P, Trogolo C. Iridoids XXV. Iridoid glucosides from Rubiaceae. *Gazzetta Chimica Italiana* 1978; 108: 13-16.
18. Davini E, Esposito P, Lavarone C, Sen A, Trogolo C, Villa S. *Act Nat Prod* 1981; 3 (1): 326-331. *Chemical abstracts* 97: 69277r, 1982.
19. Bock K, Jensen R, Juhl Nielsen B. Secogalioside, an iridoid glucoside from *Galium album* Mill. and ¹³C NMR Spectra of some seco-iridoid glucosides. *Acta Chemica Scandinavica B* 1976; 30: 743-748.
20. Ergun F, Sener B. HPLC determination of iridoids found in some *Galium* species. *Journal of Faculty of Pharmacy of Gazi University* 1986; 3 (1): 59-63.
21. Koichiro K, Junichi I, Kunikazu U. Plant growth inhibitor in the seeds of catchweed. *Zasso Kenkyu* 1983; 28 (3): 205-209. *Chemical abstracts* 101; 20598h, 1984.
22. Swiatek L, Komorowski T. The occurrence of monotropein and of asperuloside in some species of the families: Ericaceae, Empetraceae and Rubiaceae. *Herba Polonia* 1972; 18 (2): 168-173.
23. Komai K, Nakasugi T, Tujii I, Miura M, Hamada M. Plant growth inhibitory activities of iridoid glycosides. *Zasso Kenkyu* 1990; 35 (1): 44-52. *Chemical abstracts* 113: 147193a, 1990.
24. Borisov MI, Kovalev VN, Zaitsev VG. Chemical composition of *Galium verum*. *Khimiya Prirodnikh Soedinenii* 1971; 7 (4): 529-530. *Chemical abstracts* 75; 148542x, 1971.
25. Inouye H, Ueda S, Uesato S. Intermediacy of iridodial in the biosynthesis of some iridoid glucosides. *Phytochemistry* 1977; 16: 1669-1675.
26. Borisov MI, Komissarenko NF. Flavonoids of *Galium palustre*. *Khimiya Prirodnikh Soedinenii* 1969; 5 (5): 371-375. *Chemical abstracts* 72: 75651h, 1970.
27. Corrigan D, Timoney RF, Donnelly DMX. Iridoids and alkanes in twelve species of *Galium* and *Asperula*. *Phytochemistry* 1978; 17: 1131-1133.
28. Dabi Lengyel E, Kocsis A, Tetenyi P et al. Iridoid and secoiridoid glycosides. *Hung Teljes* 1983; 82: 19. *Chemical abstracts* 100: 180105c, 1984.

29. Grinberg LA, Khalmatov K. Chemical study of the *Galium turkestanicum* grown in Uzbekistan. Farmatsiya (Moscow) 1969; 18 (1): 33-35. Chemical abstracts 70: 112348w, 1969.
30. Knott RP, McCutcheon RS. Phytochemical investigation of a Rubiaceae, *Galium trifolium*. J Pharm Sci 1961; 50: 963-965.
31. Borisov MI, Borisyuk YG. Isolation of asperuloside and flavonoid compounds. Farmatsevtichnii Zhurnal (Kiev) 1963; 18 (3): 43-47. Chemical abstracts 61; 1964.
32. Borisov MI, Borisyuk YG. Phytochemical study of *Galium salicifolium*. Farmatsevtichnii Zhurnal (Kiev) 1963; 18 (6): 16-19.
33. Borisov MI. *Galium tauricum*. Farmatsevtichnii Zhurnal (Kiev) 1967; 22 (1): 56-59. Chemical abstracts 67: 108525x, 1967.
34. Gurkan E, Tuzun OT, Tuzlaci E. Iridoids and flavonoids from *Galium paschale* Forsskal. Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi 1997; 12 (2): 81-84.
35. Kohlmuenzer S. Botanical and chemical inquiries into the collective species *Galium mollugo* with special reference for the karyotypes growing in Poland III Chromatographic investigation of biotypes. Dissertationes Pharm 1964; 16 (3): 393-407. Chemical abstracts 62: 1965.
36. Bojthehorvath K, Kocsis A, Parkanyi L, Simon K. A new iridoid glycoside from *Galium verum*-1st X-Ray Analysis of a tricyclic iridoid glycoside. Tetrahedron Letters 1982; 23 (9): 965-966.
37. Rimpler H, Gmelin R. Isolation von monotropein aus *Galium glaucum*. Phytochemistry 1970; 9: 1891-1892.
38. Iavarone C., Sen A., Trogolo C., Villa S. Mollugoside an iridoid glucoside from *Galium mollugo*. Phytochemistry 1983; 22 (1): 175-178.
39. Bianco A, Guiso M, Iavarone C, Pietro P, Corrado T. Iridoids. XXV. New iridoid glucosides from Rubiaceae. Gazzetta Chimica Italiana 1978; 108(1-2): 13-16. Chemical abstracts 89: 160093y, 1978.
40. Mitova M, Passov S, Handjieva N. Paeniflorin from *Galium aegeum*. Fitoterapia 1999; 70: 109-110.
41. Mitova M, Handjieva N, Spassov S, Popov S. Macedonine, a non-glycosidic iridoid from *Galium macedonicum*. Phytochemistry 1996; 42 (4): 1227-1229.
42. Tzakou O, Philianos S, Harvala C. Contribution à l'étude des composés polyphénoliques de *Galium melanantherum* Boiss. Plantés médicinales et phytothérapie 1988; 22 (4): 261-266.

43. Borisov MI. *Galium tauricum*. Farmatsevtichnii Zhurnal (Kiev) 1967; 22 (1): 56-59.
44. Kharitonova NP, Izbanova VA. Phytochemical study of *Galium uliginosum*. Ref Zh Biol Khim 1971; 4: 115-119.
45. Raynaud J, Mnajed H. Flavone glycosides from *Galium verum* (Rubiaceae). CR Acad Sci Ser D 1972; 274 (11): 1746-1748. Chemical abstracts 77: 16594x, 1972.
46. Tzakou O, Vayas C, Philianos S. Sur les constituants polyphénoliques des parties aériennes de *Galium heldreichii* hal.(2^o communication). Plantés médicinales et phytothérapie 1991; 25 (2-3): 123-126.
47. Abdel-Gawad M, Raynaud J. Flavonoid glycosides of *Galium cruciatum*. Bull Trav Soc Pharm Lyon 1974; 18 (3): 100-102. Chemical abstracts 84: 176729t, 1976.
48. Kharitonova NP. Flavonoid composition of *Galium boreale*. Trudy Permskogo Farmatsevticheskogo Instituta 1969; 3: 187-191. Chemical abstracts 75: 59853g, 1971.
49. Borisov MI, Borisyuk YG. Phytochemical investigation of *Galium ruthenicum* II Identification of flavonoid compounds. Farmatsevtichnii Zhurnal (Kiev) 1963; 18 (4): 75-78.
50. Borisov MI, Borisyuk YG. Phytochemical investigation of *Galium cruciata*. Farmatsevtichnii Zhurnal (Kiev) 1965; 20 (1): 63-66.
51. Seabra RM, Alves EAC. Phenolic compounds of *Galium palustre*. Rev Port Farm 1995; 45 (3): 121-123. Chemical abstracts 124 (11): 140975a, 1996.
52. Borisov MI. Flavonoids of *Galium mollugo*. Rastit Resur 1974; 10 (1): 66-71. Chemical abstracts 81: 35550d, 1974.
53. Charaux X. Presence of rutin in certain plants. Preparation and identification of this glucoside and of its decomposition products. Bulletin de la Societe de Chimie Biologique 1924; 6: 641-647.
54. Temizer A, Sayin F, Ergun F, Temizer H, Sener B. Determination of total flavonoid in various *Galium* species by differential pulse polarography. Journal of Faculty of Pharmacy of Gazi University 1996; 13 (1): 97-103. Chemical abstracts 125 (22): 285074m, 1996.
55. Borisov MI. Flavonoids of *Galium ruthenicum*. Khimiya Prirodnykh Soedinenii 1974; 5: 662-663. Chemical abstracts 82: 83012x, 1975.
56. Orhan DD. Novel flavanone glucoside with free radical scavenging properties from *Galium fissurense*. Pharmaceutical Biology 2003; 41 (7): 475-478.

57. Kohlmuenzer S. Botanical and chemical studies of the collective species *Galium mollugo* with reference to karyotypes growing in Poland V Phytochemical studies. Dissertationes Pharm 1965; 17 (3): 357-367. Chemical abstracts 64: 10085, 1966.
58. Bogaevskii AK, Borisov MI. Flavonoids of *Galium fagetorum* II. Khimiya Prirodnykh Soedinenii 1970; 6 (5): 626-627. Chemical abstracts 74: 50527a, 1971.
59. Bhan MK, George V, Kapoor R, Rishi AK. Chemical investigation of local plants Part I. Indian J. Chem Sect B 1976; 14B (6): 475-476. Chemical abstracts 85: 106685x, 1976.
60. Bogaevskii AK, Borisov MI. Flavonoids from *Galium fagetorum*. Khimiya Prirodnykh Soedinenii 1970; 6 (3): 367-368. Chemical abstracts 74: 28826a, 1971.
61. Polonia J, Polonia MA. Structural determination of a heteroside extracted from *Galium mollugo*. An Fac Farm Porto 1967; 27: 141-162. Chemical abstracts 70: 4523r, 1969.
62. El-Gamal AA, Takeya K, Itokawa H, Halim AF, Amer MM, A Saad HE, Awad SA. Anthraquinones from the polar fractions of *Galium sinaicum*. Phytochemistry 1996; 42 (4): 1149-1155.
63. Burnett AR, Thomson RH. Naturally occurring quinones. Part XIII. Anthraquinones and related naphthalenic compounds in *Galium spp.* and in *Asperula odorata*. Journal of Chemical Society C 1968; 7: 854-857.
64. Halim AF, El-Fattah HA, El-Gamal AA, Thomson RH. Anthraquinones from *Galium sinaicum*. Phytochemistry 1992; 31 (1): 355-356.
65. Koyama J, Ogura T, Tagahara K. Anthraquinones of *Galium spurium*. Phytochemistry 1993; 33 (6): 1540-1542.
66. Banthorpe D, White JJ. Novel anthraquinones from undifferentiated cell cultures of *Galium verum*. Phytochemistry 1995; 38 (1): 107-111.
67. Borisov MI. Anthraquinone glycosides of *Asperula besseriana* and *Galium ruthenicum*. Rastit Resur 1975; 11 (3): 362-368. Chemical abstracts 83: 190344z, 1975.
68. Zhuravlev NS, Shtefan LM, Luchkina TV. Anthraquinones of *Galium fagetorum* II. Khimiya Prirodnykh Soedinenii 1987; 6: 908.
69. Zhuravlev NS, Borisov MI. Anthraquinones of *Galium dasypodum*. Farmatsevtichnii Zhurnal (Kiev) 1970; 25 (1): 76-79. Chemical abstracts 73: 73103c, 1970.
70. Zhuravlev NS, Borisov MI. Anthraquinones of *Galium dasypodum*. Khimiya Prirodnykh Soedinenii 1969; 2: 118. Chemical abstracts 71: 88421n, 1969.

71. Wilson G, Marron P. Growth and anthraquinone biosynthesis by *Galium mollugo* L. cells in Batch and chemostat culture. *Journal of Experimental Botany* 1978; 29 (111): 837-851.
72. Inoue K, Shiobara Y, Nayeshiro H, Inouye H, Wilson G, Zenk MH. Site of prenylation in anthraquinone biosynthesis in cell cultures of *Galium mollugo*. *Journal of the Chemical Society (Chemical Communications)* 1979; 21: 957-959.
73. El-Gamal AA, Takeya K, Itokawa H, Halim AF, Amer MM, A.Saad HE, Awad SA. Anthraquinones from *Galium sinaicum*. *Phytochemistry* 1995; 40 (1): 254-251.
74. Zhuravlev NS, Shtefan LM. Anthraquinones from *Galium fagetorum*. *Khimiya Prirodnikh Soedinenii* 1984; 4: 520. *Chemical abstracts* 102: 59260n, 1985.
75. Shapiro DK, Kudinov MA, Biryukova LG, Narizhnaya TI, Anikhimovskaya LV. Evaluation of the chemical composition of some *Galium* species growing in the BSSR as potential [raw material sources]. *Seryya Biyalagichnykh Navuk* 1985; 4: 24-28.
76. Ushakov VB, Kopylova VN, Luk'yanchikov MS, Melik-Guseinov VV. Anthraquinones of *Galium articulatum*. *Khimiya Prirodnikh Soedinenii* 1988; 2: 300.
77. Hill R, Richter D. Anthraquinone pigments in *Galium*. *Proceedings of the Royal Society of London Series B Biological Sciences* 1937; 121 (825): 547-560.
78. Schildknecht H, Straub F, Scheidel V. Mollugin, ein neuer Farbstoff aus Rhizomen des Wiesen- Labkrautes *Galium mollugo* L. *Justus-Liebig's Annalen Der Chemie* 1976; 1295-1306.
79. Morimoto M, Tanimoto K, Sakatani A, Komai K. Antifeedant activity of an anthraquinone aldehyde in *Galium aparine* L. against *Spodoptera litura* F. *Phytochemistry* 2002; 60: 163-166.
80. Kuiper J, Labadie RP. Polyploid complexes within the Genus *Galium*. *Planta Medica* 1983; 48 (1): 24-26.
81. De Rosa S, Mitova M, Handjieva N, Popov S, Anchev M. Rivalosides A and B, Two 19-Oxo Triterpenoid Saponins from *Galium rivale*. *Journal of Natural Products* 2000; 63: 1012-1014.
82. El Gamal AA, Takeya K, Itokawa H, Halim AF, Amer MM, Saad HEA. Lignan Bis-Glucosides from *Galium sinaicum*. *Phytochemistry* 1997; 45 (3): 597-600.
83. Lutz H, Leistner E. 2-methoxycarbonyl-3-prenyl-1,4-naphthoquinone, a metabolite related to the biosynthesis of mollugin and anthraquinones in *Galium mollugo* L. *Journal of the Chemical Society Chemical Communications* 1981; 7: 334-336. *Chemical Abstracts* 95: 76856r, 1981.

- 84.** Schildknecht H, Straub F, Scheidel V. Mollugin a new pigment from rhizomes of *Galium mollugo* L. Justus Liebigs Ann Chem 1976; 7 (8): 1295-1306. Chemical Abstracts 85: 139775e, 1976.
- 85.** Inoue K, Shiobara Y, Nayeshiro H, Inouye H, Wilson G, Zenk MH. Biosynthesis of anthraquinones and related compounds in *Galium mollugo* cell suspension cultures. Phytochemistry 1984; 23 (2): 307-311.
- 86.** Schildknecht H, Straub F. Struktur und synthese des Furomollugins aus den Rhizomen des gemeinen Labkrautes *Galium mollugo* L. (Rubiaceae). Justus-Liebigs Annalen Der Chemie 1976; 10:1772-1776.
- 87.** Pijewska L. Isolation of phloretic acid from plant material. Pol J Pharmacol Pharm 1973; 25 (5): 465-467. Chemical Abstracts 80: 45660h, 1974.
- 88.** Bogaevskii AK, Dranik LI, Borisov MI. Hydroxycinnamic acids from *Galium fagetorum* and *Galium pseudomollugo*. Khimiya Prirodnikh Soedinenii 1970; 6 (6): 755. Chemical Abstracts 74: 108114g, 1971.
- 89.** Borisov MI. Coumarins of the genus *Asperula* and *Galium*. Khimiya Prirodnikh Soedinenii 1974; 10 (1): 82. Chemical Abstracts 81: 60805y, 1974.
- 90.** Sener B, Ergun F. Isolation and structural studies on the alkaloids of *Galium aparine* L. Journal of Faculty of Pharmacy of Gazi University 1988; 5 (1): 33-40.
- 91.** Falkowski M, Kukulka I. Carotene content as a characteristic feature of meadow plants. Rocznik Roln Ser F 1977; 79 (3): 97-104. Chemical Abstracts 89: 56446e, 1978.
- 92.** Komai K, Yanazume C, Hamada M, Iwamura J. Physiological activities of organic acids isolated from catchweed. Kinki Daigaku Nogakubu Kiyu 1986; 19: 29-35. Chemical Abstracts 105: 37420z, 1986.
- 93.** Gürkan E, Öndersev D, Ulusoylu M, Göztaş Z, Dinçşahin N. Bitkisel Tedavi. İstanbul: Marmara Üniversitesi Yayınları, 2003: 139.
- 94.** Qumeish Y. Traditional Arabic medicine in dermatology. Clinics in dermatology 1999; 17:13-20.
- 95.** Graham JG, Quinn ML, Fabricant DS, Farnsworth NR. Plants used against cancer an extension of the work of Jonathan Hartwell (Review). Journal of Ethnopharmacology 2000; 73: 347-377.
- 96.** Lindsey KL, Motsei ML, Jager AK. Screening of South African Food Plants for Antioxidant Activity. Journal of Food Science 2002; 67 (6): 2129-2131.
- 97.** Mavi A, Terzi Z, Ozgen U, Yildirim A, Coskun M. Antioxidant properties of some medicinal plants: *Prangos ferulacea* (Apiaceae), *Sedum sempervivoides*

(Crassulaceae), *Malva neglecta* (Malvaceae), *Cruciata taurica* (Rubiaceae), *Rosa pimpinellifolia* (Rosaceae), *Galium verum subsp verum* (Rubiaceae), *Urtica dioica* (Urticaceae). Biological and Pharmaceutical Bulletin 2004; 27 (5): 702-705.

98. Atanasova-Shopova S, Rusinov K, Markova M. Pharmacological studies of Bulgarian plants with a view of their anticonvulsive effect. Izv Inst Fiziol Bulg Akad Nauk. 1969; 12: 205-216. Chemical Abstracts 72: 98942t, 1970.

99. Rubinstein I, Goad LJ, Clague ADH, Mulheirn LJ. The 220 MHz NMR spectra of phytosterols. Phytochemistry 1976; 15: 195-200.

100. Gupta S, Ali M, Alam MS, Niva M, Sakai T. 24- β -ethylcholest-4-en-3 β -ol from the roots of *Lawsonia inermis*. Phytochemistry 1992; 31 (7): 2558-2560.

101. Baykal T, Panayir T, Taşdemir D, Sticher O, Calis I. Triterpene saponins from *Scabiosa rotata*. Phytochemistry 1998; 48 (5): 867-873.

102. Miyakoshi M, Isoda S, Sato H, Hirai Y, Shoji J, Ida Y. 3 α -hydroxy-oleanene type triterpene glycosyl esters from leaves of *Acanthopanax Spinosus*. Phytochemistry 1997; 46 (7): 1255-1259.

103. Jiang ZH, Zhou RH, Masuda K, Ageta H. A rearranged ursane triterpenoid from *Rhoiptelea chiliantha*. Phytochemistry 1995; 40 (1): 219-224.

104. Lin CN, Chung MI, Gan KH, Chiang JR. Xanthenes from formosan Gentianaceous plants. Phytochemistry 1987; 26 (8): 2381- 2384.

105. Junges MJ, Fernandes JB, Vieira PC, Fernandes MF, Filho ER, Frühauf M, Baranano AG. Triterpenous ursanicos e oleananicos isolados do caule de Eugenia Florida DC. Revista de Pesquisa E Pos-Graduação 2000; 1: 13-20.

106. Tundis R, Deguin B, Menichini F, Tillequin F. Iridoids from *Putoria calabrica*. Biochemical Systematics and Ecology 2002; 30: 689-691.

107. Maillard M, Adewunmi CO, Hostettmann K. A triterpene glycoside from the fruits of *Tetrapleura tetraptera*. Phytochemistry 1992; 31 (4), 1321-1323.

108. Inouye H, Takeda Y, Nishimura H. Two new iridoid glycosides from *Gardenia Jasminoides* fruits. Phytochemistry 1974; 13: 2219-2224.

109. Chaudhuri RK, Afifi-Yazar FU, Sticher O. ¹³C NMR spectroscopy of naturally occurring iridoid glucosides and their acylated derivatives. Tetrahedron 1980; 36 (6): 2317-2326.

110. Otsuka H, Yoshimura K, Yamasaki K, Cantoria MC. Isolation of 10-O-acyl iridoid glucosides from a Philippine medicinal plant, *Oldenlandia corymbosa*. Chem Pharm Bull 1991; 39 (8): 2049-2052.

111. Wenkert E, Gottlieb HE. Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy of flavonoid and isoflavonoid compounds. *Phytochemistry* 1977; 16(11): 1811-1816.
112. Markham KR, Ternai B, Stanley R, Geiger H, Mabry TJ. Carbon-13 NMR studies of flavonoids-III. Naturally occurring flavonoid glycosides and their acylated derivatives. *Tetrahedron* 1978; 34: 1389-1397.
113. Markham KR. *Techniques of flavonoid identification*. London: Academic Press, 1982.
114. Agrawal PK. *Carbon-13 NMR of Flavonoids*. New York: Elsevier Science Publishing Company Inc., 1989: 342-343.
115. Webby RF, Markham KR. Flavonol 3-O-triglycosides from *Actinidia* species. *Phytochemistry* 1990; 29 (1): 289-292.

