



T.C  
EGE ÜNİVERSİTESİ  
Fen Bilimleri Enstitüsü



# POLYGALA MYRTIFOLIA BİTKİSİNİN FİTOKİMYASAL ANALİZİ

Yüksek Lisans Tezi

İrem ÇEYİZ

Kimya Anabilim Dalı

Organik Kimya Tezli Yüksek Lisans Programı



T.C.  
EGE ÜNİVERSİTESİ  
Fen Bilimleri Enstitüsü

**POLYGALA MYRTIFOLIA  
BİTKİSİNİN FİTOKİMYASAL  
ANALİZİ**

İrem ÇEYİZ

Danışman: Prof. Dr. Yurdanur  
AKGÜL

Kimya Anabilim Dalı

Organik Kimya Tezli Yüksek Lisans Programı

İzmir  
2023



## KABUL ONAY SAYFASI

**İrem ÇEYİZ** tarafından yüksek lisans tezi olarak sunulan “**Polygala myrtifolia** Bitkisinin Fitokimyasal Analizi” başlıklı bu çalışma EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile EÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi'nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 03.07.2023 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

**Jüri Üyeleri**

**İmza**

**Jüri Başkanı :**

**Raportör Üye :**

**Üye :**



## EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ ETİK KURALLARA

### UYGUNLUK BEYANI

EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “**Polygala myrtifolia Bitkisinin Fitokimyasal Analizi**” başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

03 / 07 / 2023

İrem ÇEYİZ



**ÖZET****Polygala Myrtifolia Bitkisinin Fitokimyasal Analizi**

ÇEYİZ, İrem

Kimya Anabilim Dalı, Organik Kimya Tezli Yüksek Lisans Programı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Yurdanur AKGÜL

Temmuz 2023, 43 sayfa

Bu araştırmada kullanılan Polygala myrtifolia yaprakları, 2021 Ağustos ayında Mersin ili Mezitli ilçesinden toplandı. Elde edilen metanol ekstresinin DPPH testi EGEMATAL hizmet alımı ile yapıldı. DPPH testine göre en yüksek aktivitenin (%81.40) 2000µg/mL konsantrasyondaki ekstrakta, en düşük aktivitenin (%9.62) 50µg/mL konsantrasyonda hazırlanan ekstrakta olduğu görülmüştür.

Sıvı sıvı ekstraksiyon çalışmaları ile farklı çözümler kullanılarak metanol ekstresinden heksan, diklorometan ve bütanol ekstraktları elde edildi. Bileşiklerin apolar ve polar ekstraktlardan izolasyonu için kolon kromatografisi, kromatotron, kristalleştirme ve çökeltme yöntemleri kullanıldı. Çalışmalarımız sonucunda 3 bileşik izole edildi. İzole edilen bileşiklerden ikisinin yapısı 1D - 2D NMR ve literatür verileri kullanılarak aydınlatılırken, bir bileşiğin yapısı madde miktarının yeterli olmaması nedeni ile aydınlatılamadı.

Bileşik 1 (1,5-anhidroglusitol) ve Bileşik 2 (Frutinone A) Polygala myrtifolia bitkisinde ilk kez izole edildi.

**Anahtar sözcükler:** Polygala myrtifolia, İkincil metabolitler, antioksidan aktivite



**ABSTRACT****Phytochemical Investigation of Polygala Myrtifolia L.**

ÇEYİZ, İrem

Department of Chemistry, Organic Chemistry Master's Program with Thesis

Supervisor: Prof. Dr. Yurdanur AKGÜL

July, 2023, 43 pages

The leaves of *Polygala myrtifolia* used in this study were collected from Mersin province Mezitli district in August 2021. The DPPH test of the obtained methanol extract was performed with EGEMATAL service purchase. According to the DPPH test, the highest activity (81.40%) was in the extract at 2000 µg/mL concentration, and the lowest activity (9.62%) was in the extract prepared at 50 µg/mL concentration.

Hexane, dichloromethane and butanol extracts were obtained from the methanol extract by using different solvents with liquid liquid extraction studies. Column chromatography, chromatotron, crystallization and precipitation methods were used for the isolation of compounds from apolar and polar extracts. As a result of our studies, 3 compounds were isolated. While the structures of two of the isolated compounds were elucidated using 1D -2D NMR and literature data, the structure of a compound could not be elucidated due to insufficient amount of substance.

Compound 1 ( 1,5-anhydroglucitol ) and Compound 2 (Frutinone A) were isolated for the first time from the plant *Polygala myrtifolia*.

**Keywords:** *Polygala Myrtifolia*, secondary metabolites, antioxidant activity.



## TEŐEKKÜR

Tez alıőmamda bana yn gösteren, samimiyetle destek olan ve emeklerini esirgemeyen đrencisi olmaktan her zaman mutluluk duyacağım tez danıőmanım Prof. Dr. Yurdanur AKGL'e sonsuz teőekkürlerimi sunarım.

Ege Üniversitesi Bilimsel Araőtırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne (FYL-2022-23537) maddi desteđi için teőekkür ederim.

Son olarak tüm hayatım boyunca yanımda olan, aldığım kararları destekleyen, beni cesaretlendiren ve moral veren sevgili annem Betigl ÇEYİZ, kardeőim Gizem ÇEYİZ'e ve ayrıca bu süreçte fiziksel olarak olamasa da her zaman yanımda hissettiğim, başarılı olacağıma inan sevgili babam Ali ÇEYİZ'e sonsuz teőekkür ederim.



**İÇİNDEKİLER**Sayfa

KABUL ONAY SAYFASI.....	v
ÖZET .....	vii
ABSTRACT.....	ix
TEŞEKKÜRLER.....	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xv
TABLolar DİZİNİ .....	xvii
ŞEMALAR DİZİNİ.....	xix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	xxi
1.GİRİŞ.....	1
1.1 Polygala myrtifolia.....	1
1.2 Doğal Bileşikler.....	3
1.3 Bitkilerde Primer Ve Sekonder Metabolizma.....	3
1.4 Bitki Materyalinin Hazırlığı.....	5
1.4.1 Bitkinin Seçilmesi ve Toplanması.....	5
1.4.2 Bitki Materyalinin Doğrulanması.....	6
1.4.3 Kurutma ve Öğütme.....	6
1.5 Ekstraksiyon Yöntemleri.....	7
1.5.1Solvent Seçimi.....	7
1.5.1.1Polar Çözücüler.....	8
1.5.1.2Apolar Çözücüler.....	9
1.5.1.3Yarı Polar Çözücüler.....	9

**İÇİNDEKİLER( DEVAM)**

1.6	Fraksiyonlama, Saflaştırma ve İzolasyon .....	9
1.6.1	Fraksiyonlama.....	9
1.6.2	Saflaştırma ve İzolasyon.....	11
1.7	Spektroskopik Yöntemler.....	12
1.7.1	Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) .....	13
1.7.2	Kütle Spektrometrisi (MS).....	13
1.7.3	Infrared Spektroskopisi (IR).....	14
1.7.4	UV-VİS Spektrometrisi.....	14
2.	Materyal ve Metotlar.....	15
2.1	Bitki Materyali.....	15
2.2	Bitki Ekstrelerinin Hazırlanması.....	15
2.3	İzolasyon ve Saflandırma.....	17
2.3.1	Bileşik 1.....	17
2.3.2	Bileşik 2.....	18
2.3.3	Bileşik 3.....	19
2.4	DPPH Analizi.....	20
3.	Sonuçlar.....	21
3.1	Bileşik 1.....	21
3.2	Bileşik 2.....	31
3.3	Bileşik 3.....	35

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 1. 1 Polygala Myrtifolia Bitkisi.....	1
Şekil 1. 2 Polygala myrtifolia L. Köklerinden İzole Edilen On Yeni Triterpen Glikozit. ....	2
Şekil 1. 3 A. Salisin kimyasal yapısı. B. Morfin kimyasal yapısı. C.Taxol kimyasal yapısı.....	4
Şekil 1. 4 Bitkilerde primer ve sekonder metabolizma arasındaki ilişkiler. ....	5
Şekil 1. 5 Ekstaksiyonda kullanılan bazı çözümler ve özellikleri.....	8
Şekil 1. 6 Elektromanyetik Spectrum.....	13
Şekil 2. 1 İzole edilen bileşiklerin İTK kontrolleri: Bileşik 3 İTK sonucu. Çözgen Sistemi: 80:20:2- CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> -MeOH-H <sub>2</sub> O ; Bileşik 2 İTK Sonucu. Çözgen Sistem: 5:5- Hegzan-Aseton; Bileşik 1 İTK Sonucu. Çözgen Sistemi: 70:30:3- CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> -MeOH-H <sub>2</sub> O	20
Şekil 3. 1 Bileşik 1 (1,5-Anhidroglusitol).	21
Şekil 3. 2 Bileşik 1 <sup>1</sup> H-NMR Spektrumu .....	24
Şekil 3. 3 Bileşik 1 D <sub>2</sub> O Exchange Spektrumu .....	25
Şekil 3. 4 Bileşik 1 <sup>13</sup> C-NMR Spektrumu .....	26
Şekil 3. 5 Bileşik 1 COSY Spektrumu .....	27
Şekil 3. 6 Bileşik 1 HMBC Spektrumu. ....	28
Şekil 3. 7 Bileşik 1 HSQC Spektrumu. ....	29
Şekil 3. 8 Bileşik 2 (Frutinone A) .....	31
Şekil 3. 9 Bileşik 2 <sup>1</sup> H-NMR Spektrumu. ....	33
Şekil 3. 10 Bileşik 2 <sup>13</sup> C-NMR Spektrumu .....	34
Şekil 3. 11 Bileşik 3 <sup>1</sup> H-NMR Spektrumu .....	35
Şekil 3. 12 Bileşik 3 <sup>13</sup> C- NMR spektrumu.....	36



**TABLolar DİZİNİ**

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
Tablo 1 Ekstaksiyon ilk adımında kullanılan bazı yöntemler.....	7
Tablo 2.1 Ana Ekstre DPPH Sonuçları .....	20
Tablo 3. 1 Bileşik 1 <sup>13</sup> C ve <sup>1</sup> H NMR verileri.....	23
Tablo 3. 2 Bileşik 2 <sup>13</sup> C ve <sup>1</sup> H NMR verileri.....	32





**ŞEMALAR DİZİNİ**ŞemaSayfa

Şema 2. 1 Polygala myrtifolia Yapraklarının Ekstrelerinin Hazırlanması. ....	16
Şema 2. 2 Bileşik 1 için İzolasyon ve Saflandırma Çalışmaları.....	17
Şema 2. 3 Bileşik 2 için İzolasyon ve Saflandırma Çalışmaları.....	18
Şema 2. 4 Bileşik 3 için İzolasyon ve Saflandırma Çalışması. ....	19





**SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ**

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
UV	Ultraviyole
VCL	Vakum sıvı kromatografisi
CC	Kolon kromatografisi
SEC	Boyut dışlama kromatografisi
SPE	Katı faz ekstraksiyonu
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
İTK	İnce tabaka kromatografisi
PİTK	Preparatif ince tabaka kromatografisi
CC	Kolon Kromatografisi
FC	Flaş kromatografisi
HPTLC	Yüksek performanslı ince tabaka kromatografisi
DCCC	Damlacık karşı akım kromatografisi
UV-vis	Ultraviyole görünür
IR	Kızılötesi spektroskopisi
MS	Kütle spektrometrisi
NMR	Nükleer manyetik rezonans

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
$^1\text{H-NMR}$	Proton nükleer manyetik rezonans
$^{13}\text{C-NMR}$	Karbon nükleer manyetik rezonans
COSY	$^1\text{H-}^1\text{H}$ Korelasyonlu spektroskopi
HMBC	Heteronükleer çoklu bağ korelasyonu
HMQC	Heteronükleer çoklu kuantum korelasyonu
SFE	Süperkritik Sıvı Ekstraksiyonu
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
ME	Metanol ekstresi
1,5-AG	1,5 Anhidroglusitol

## 1. GİRİŞ

### 1.1 *Polygala myrtifolia*

*Polygala*, Polygalaceae familyasının türlerinin yaklaşık %50'sini oluşturan Polygalaceae familyasının en temsili türlerinden biridir. Yeni Zelanda, Polinezya ve Arktik bölgeleri dışında tüm dünyada yaygın olarak yetişirler. Bazı türler yerel ve geleneksel tıpta balgam söktürücü, iltihap giderici ve aynı zamanda merkezi sinir sistemi (CNS) bozukluklarını tedavi etmek için kullanılır (Lacaille-Dubois at al., 2020).

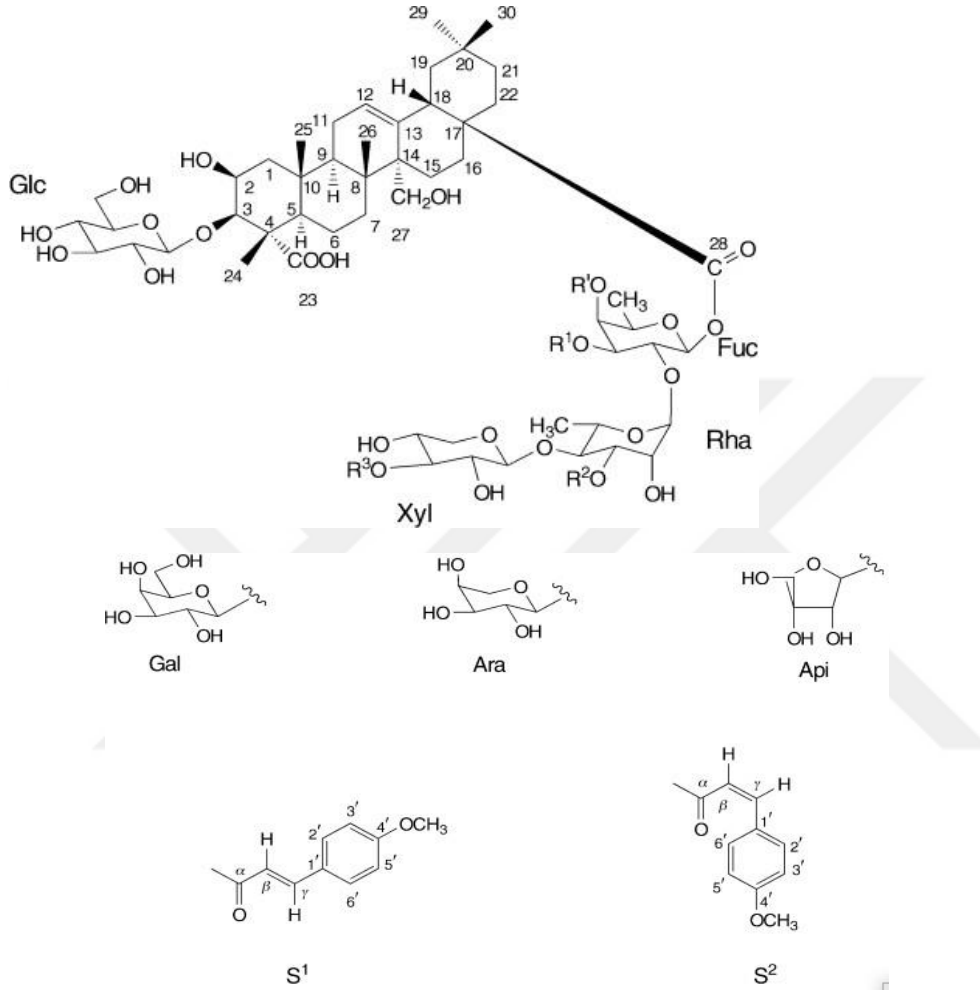
*Polygala myrtifolia*, yaygın olarak Mersin Yapraklı Sütotu, Küçük Kelebek, Eylül Çalısı veya Bodur Tatlı Bezelye Çalısı olarak bilinen bir bitki türüdür. Bitkinin anavatanı Güney Afrika'dır. Bitki morumsu pembe çiçeklere sahip süs bitkisi olarak yetiştirilir ve küçük yuvarlak kapsül şeklinde meyvelere sahiptir. Bu cins tüm dünyada sıcak ve tropik bölgelerde yetiştirilir. *Polygala* ismi süt verimini artırması nedeniyle antik Yunanca bir kelime olarak bu cinse verilmiştir. Ülkemizde Sütotu bitkisi Marmara, Ege ve Akdeniz bölgelerinde peyzaj alanlarında kullanılmaktadır (Koç ve Fidan, 2017).



Şekil 1. 1 *Polygala Myrtifolia* Bitkisi

Güney Afrika şifalı otsu bir bitki olan *Polygala myrtifolia* L., yerli halk tarafından ateş, septumda kan ve öksürük gibi tüberküloz semptomlarını tedavi etmek amacıyla kullanılmaktadır (Haddad at al., 2003).

*P. myrtifolia* köklerinin EtOH ekstraktından myrtifoliosides A<sub>1</sub>/A<sub>2</sub> , B<sub>1</sub>/B<sub>2</sub> , C<sub>1</sub>/C<sub>2</sub> , D<sub>1</sub>/D<sub>2</sub> ve E<sub>1</sub>/E<sub>2</sub> (1 ± 10) adlı yeni triterpen glikozit karışımı izole edilmiştir (Haddad at al., 2003)



	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	R <sup>4</sup>
Myrtifolioside A <sub>1</sub> <b>1</b>	Ara	Api	Gal	S <sup>1</sup>
Myrtifolioside A <sub>2</sub> <b>2</b>	Ara	Api	Gal	S <sup>2</sup>
Myrtifolioside B <sub>1</sub> <b>3</b>	H	Api	Gal	S <sup>1</sup>
Myrtifolioside B <sub>2</sub> <b>4</b>	H	Api	Gal	S <sup>2</sup>
Myrtifolioside C <sub>1</sub> <b>5</b>	H	H	Gal	S <sup>1</sup>
Myrtifolioside C <sub>2</sub> <b>6</b>	H	H	Gal	S <sup>2</sup>
Myrtifolioside D <sub>1</sub> <b>7</b>	H	Api	H	S <sup>1</sup>
Myrtifolioside D <sub>2</sub> <b>8</b>	H	Api	H	S <sup>2</sup>
Myrtifolioside E <sub>1</sub> <b>9</b>	H	Ara	H	S <sup>1</sup>
Myrtifolioside E <sub>2</sub> <b>10</b>	H	Ara	H	S <sup>2</sup>

Şekil 1. 2 Polygala myrtifolia L. Köklerinden İzole Edilen On Yeni Triterpen Glikozit.

## 1.2 Doğal Bileşikler

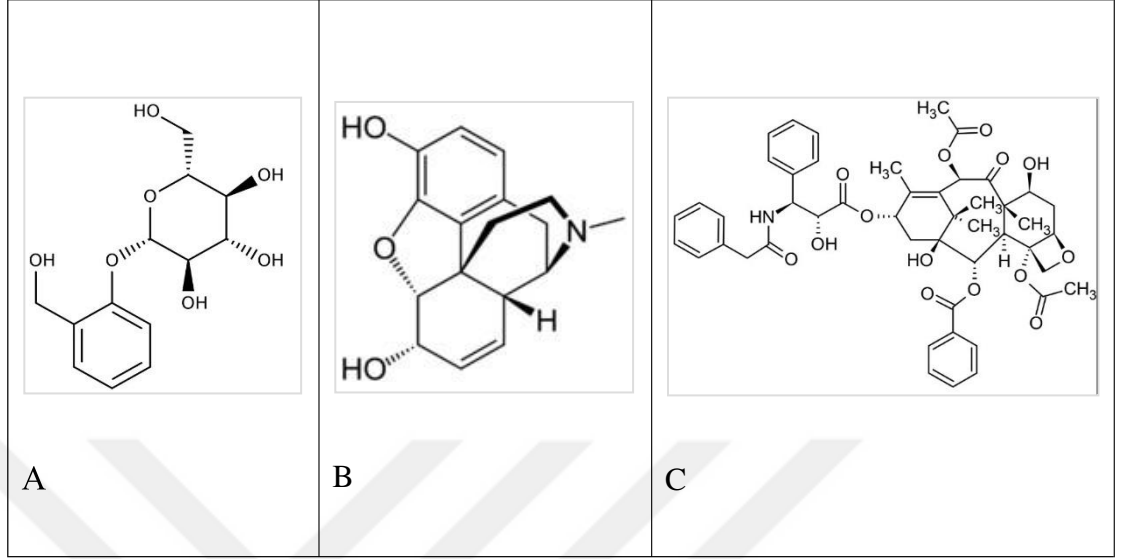
Doğal ürünlerin, özellikle bitkilerin şifa için kullanılması tıbbın kendisi kadar eski ve evrenseldir. Bitkilerin tedavi edici kullanımı Sümer uygarlığına kadar uzanır. Dünya Sağlık Örgütü'ne (WHO) göre, dünya çapında insanların %75'i hala birinci basamak sağlık hizmetleri için bitki bazlı geleneksel ilaçlara güvenmektedir (Sarker at al., 2006).

Doğal ürünlerin, eşsiz yapısal çeşitlilikleri, birçoğunun nispeten küçük boyutları (<2000 Da) ve "ilaç benzeri" özellikleri nedenleri ile genel olarak yeni ilaçların başlıca kaynaklarından biri olarak önemli rol oynamaları beklenmektedir (Sticher, 2008).

## 1.3 Bitkilerde Primer Ve Sekonder Metabolizma

Bitki kimyasalları primer ve sekonder metabolitler olarak iki kategoride incelenir. Karbonhidratlar, yağlar, proteinler vb. primer metabolitler olarak sınıflandırılır doğada oldukça yaygın bulunurlar. Primer metabolitler bitkinin fizyolojik gelişimi için gereklidirler ve bitkilerin tohum ile vejetatif dokularında fazla miktarda bulunurlar. Bitkilerin çoğu alkaloid, terpen, fenolik bileşikler, amino asitler, bitki aminleri ve glikosidler, vb bünyesinde biriktirir. Bu organik bileşikler ekonomik açıdan da önem taşır ve çeşitli bilimsel, ticari, teknolojik uygulamalara ham madde oluştururlar. Doğal bitki ürünlerinde bulunan bu organik bileşikler diğer bir adıyla fitokimyasallar çok sayıda endüstride dolaylı olarak ya da doğrudan

kullanılır. Günümüzde salisin, taxol ve morfin ilaç endüstrisinde kullanılan önemli doğal bitki bileşikleridir (Şekil 1.3).



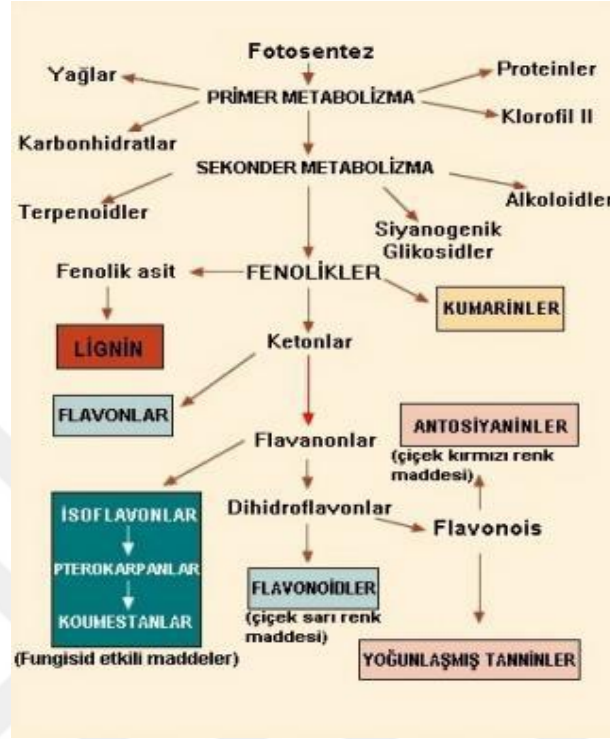
Şekil 1. 3 A. Salisin kimyasal yapısı. B. Morfin kimyasal yapısı. C. Taxol kimyasal yapısı

Sekonder metabolitler, biyosentetik yol ile primer metabolitlerden üretilmiştir (Şekil 1.4). Bitkinin primer metabolizmasında, sekonder metabolitlerin işlevleri tartışmalıdır. Çevresel koşullara uyum, tozlaşma, böcek, mikroorganizma ve avcılara karşı kimyasal savunma, diğer bitkilerle rekabette olma gibi fonksiyonları oldukları düşünülmektedir. Bitki bünyesinde oldukça az miktarlarda bulunurlar. Sekonder metabolitlerin ekstraksiyon ile saflaştırılmaları zordur çünkü bitkinin farklı büyüme evrelerinde ve özelleşmiş hücrelerde sentezlenirler.

Sekonder metabolitlerin bitkideki işlevleri tartışmalıdır. Buna rağmen sekonder metabolitlerin bitkideki fonksiyonlarıyla ilgili bilim adamlarını birleştiren ortak görüşler şöyledir

- Bitkiyi dışarıdan gelebilecek saldırılara (herbivor, bakteriyal ve fungal patojen) karşı korur. Aynı ortamdaki diğer bitkilerle olan rekabet güçlerini artırır,

- Özellikle böcekleri çekerek tozlaşma oluşumunu sağlar,
- Bitkiyi çevresel stres faktörlerine (sıcaklık değişimleri, su, ışık, uv) karşı korur (Oskay D. ve Oskay M, 2009).



Şekil 1. 4 Bitkilerde primer ve sekonder metabolizma arasındaki ilişkiler.

## 1.4 Bitki Materyalinin Hazırlığı

### 1.4.1 Bitkinin Seçilmesi ve Toplanması

Genellikle bitki seçimi, floristik çeşitliliğin derin bir literatür araştırmasını içerir. Bitki materyalinin seçimi farklı yaklaşımlarla gerçekleştirilir.

- Tamamen rastgele seçim.
- Etnofarmakolojik raporlar kullanılarak özel seçim.
- İlgilenilen bitkileri kemotaksonomik, coğrafi veya bileşik yapısal tip tercihlerine göre gruplandırarak sınırlandırarak.
- Literatür Bilgi Seçim Tekniği (L.I.S.T)

Bitkinin toplanması sırasında çalışılacak örneklerin sağlıklı olmasına dikkat edilmelidir. Mikrobiyal büyüme veya diğer mikrobiyal enfeksiyonlar, örneğin

fitoaleksinin oluşumu numune tarafından üretilen metabolitleri değiştirebilir (Visht and Chaturvedi, 2012).

### 1.4.2 Bitki Materyalinin Doğrulanması

Toplandıktan sonra, bitki materyali bir taksonomist tarafından tanımlanmalı veya doğrulanmalıdır. En az üç numune hazırlanmalıdır. Bu örneklerden biri yerel bir ulusal herbaryumda, diğerleri ise uzman bir müzede veya herbaryumda saklanmalı ve gelecekte başvurmak üzere uygun bir korunan yerde saklanmalıdır. Herbaryumda aşağıdaki ayrıntılar belirtilmelidir:

- Yer
- Rakım
- Çevre
- Özellikler
- Kimyasal bileşenler
- Bitkinin alınan kısmı
- Sezon (Visht and Chaturvedi, 2012).

### 1.4.3 Kurutma ve Öğütme

Çoğunlukla bitki materyali gölgede oda sıcaklığında veya 30°C'yi geçmeyecek şekilde sıcak hava fırınında kurutulur. Güneş ışığı, kimyasal bozulmaya/reaksiyonlara neden olabilen ve bileşik artefaktların ortaya çıkmasına neden olabilen ultraviyole radyasyondan oluşur, bu nedenle güneş ışığının doğrudan teması önlenir. Fermantasyon yoluyla yüksek sıcaklıklarda mantar büyümesi ve havalandırma, ikincil metabolitlerin içeriğini ve doğasını değiştirebilir. Bitki toplandıktan sonra veya öğütme sırasında başlayan enzimatik süreçleri veya reaksiyonları önlemek için taze bitki materyali derhal solvent ile ekstrakte edilmelidir.

Yüksek verim elde etmek için öğütme yapılır. Parçacık boyutundaki belirgin farklılıklar ekstraksiyon sürelerini uzatabilir. Küçük parçacık boyutuna sahip malzeme, daha kısa sürede yüksek ekstraksiyon değerleri verecektir (Visht and Chaturvedi, 2012).

## 1.5 Ekstraksiyon Yöntemleri

Ekstraksiyonun ilk adımı, solventin bitki hücrelerine/dokularına nüfuz etmesini ve sekonder metabolitlerin çözünmesini son olarak da çözünmüş sekonder metabolitlerin ekstraksiyon solventinde salınmasını içerir. İstenemeyen bileşenin büyük kısmının uzaklaştırılması için bileşene bağlı olarak değişen polariteye sahip çözücüler tek başına veya kombinasyonlar halinde kullanılır (Visht and Chaturvedi, 2012).

Maserasyon (Sıcak yağ ile ekstraksiyon)
Soxhlet ekstraksiyonu (sürekli ekstraksiyon)
Süperkritik Sıvı Ekstraksiyonu (SFE)
Buhar Damıtma
Süblimasyon
Katı-Sıvı Ekstraksiyon

Tablo 1 Ekstaksiyon ilk adımında kullanılan bazı yöntemler.

### 1.5.1 Solvent Seçimi

Genellikle ikincil metabolitler farklı derecelerde polariteye sahiptir. Bu sebeple ekstraksiyon için çözücü(ler) seçilirken, incelenen ikincil metabolitlerin çözünmesini sağlamak önemlidir. Solventlerin ayırması kolay, inert, zehirsiz, kolay tutuşmaz, etkileşime girmeyen gibi özelliklere sahip olması gerekir.

Çözücü	Polarite	Kaynama Noktası (°C)	Viskozite (cPoise)	Sudaki Çözünürlüğü
n-Hekzan	0,0	69	0,33	0,001
Diklorometan	3,1	41	0,44	1,6
n-Butanol	3,9	118	2,98	7,81
iso-Propanol	3,9	82	2,3	100
n-Propanol	4	92	2,27	100
Kloroform	4,1	61	0,57	0,815
Etil Asetat	4,4	77	0,45	8,7
Aseton	5,1	56	0,32	100
Metanol	5,1	65	0,6	100
Etanol	5,2	78	1,2	100

Şekil 1. 5 Ekstaksiyonda kullanılan bazı çözümler ve özellikleri.

### 1.5.1.1 Polar Çözümler

Polisakkaritler, fenoller, aldehytlar, ketonlar, aminler ve diğler oksijen içeren bileşikler gibi polar bileşenler, hidrojen bağı oluşumu nedeniyle suda çözülür. Molekülde propilen glikol, gliserin ve tartarik asitte olduğu gibi ek polar gruplar bulunur, polar grupların eklenmesi ile suda çözünürlük büyük ölçüde artar. Karbon zincirinin dallanması apolar etkiyi azaltır, suda çözünürlüğün artmasına neden olur (üçüncül bütil alkol suyla tüm oranlarda karışabilirken, n-bütil alkol 20°C'de yaklaşık 8 g/100 ml suda çözünür). Su gibi polar çözümler, aşağıdaki mekanizmalara göre çözümlü görevi görür:

- Normalde polar çözümler, sodyum klorür gibi kristallerdeki zıt yüklü iyonlar arasındaki çekim kuvvetini azaltan yüksek dielektrik sabitine sahiptir. Polar çözümlü benzeri su, 80'lik bir dielektrik sabitine sahipken, 5'lik bir dielektrik sabitine sahip olan apolar çözümlü kloroformdan daha hızlı çözer. Düşük dielektrik sabiti nedeniyle iyonik bileşikler, apolar organik çözümlerde pratik olarak çözünmez.
- Polar çözümler, potansiyel olarak güçlü elektrolitlerin kovalent bağlarını asit-baz reaksiyonlarıyla kırarlar, çünkü bu çözümler amfiprotiktir.
- Polar çözümler, dipol etkileşim kuvvetlerine sahiptir. Özellikle çözümlü moleküllerin ve iyonların çözünür hale geldiği ve bileşiğin çözünürlüğüne yol açan hidrojen bağı oluşumu özelliğini gösterirler.

### 1.5.1.2 Apolar Çözücüler

Polar olmayan solventler, düşük dielektrik sabitlerine sahiptir ve indüklenmiş dipol etkileşimleri yoluyla polar olmayan çözünenleri çözer. İyonik ve polar çözünenler, polar olmayan çözücülerde çözünmez veya az çözünür. Moleküllerin çözünürlüğünden zayıf Van-Der-Waals ve London tipi kuvvetler sorumludur.

### 1.5.1.3 Yarı Polar Çözücüler

Yarı polar çözücüler (Ketonlar,alkoller vb.) apolar çözücüde belirli bir derecede polariteye neden olabilir, örneğin benzen kolayca polarize olabilir, alkolde çözünür hale gelir. Yarı polar bileşikler, polar ve apolar sıvıların karışabilirliğini sağlayan ara çözücüler olarak işlev görür (Visht and Chaturvedi, 2012).

## **1.6 Fraksiyonlama, Saflaştırma ve İzolasyon**

### **1.6.1 Fraksiyonlama**

İkinci aşama fraksiyonlamadır. Ham ekstrakt benzer polaritelere veya moleküler boyutlara sahip bileşikleri içeren çeşitli ayrı fraksiyonlara ayrılır. Fraksiyonasyon tipi, örneğe ve ayırmanın amacına bağlıdır. Elüatı çok sayıda çok küçük fraksiyonlar olarak toplamak, her fraksiyonun saf bir bileşik içerme olasılığının daha yüksek olduğu anlamına gelir, ancak her fraksiyonu analiz etmek için daha fazla çalışma gerektirir. Bu aynı zamanda, hedef bileşiğin o kadar çok fraksiyona yayılma riskini de taşır ki, eğer orijinal olarak sadece düşük konsantrasyonlarda mevcutsa, fraksiyonların herhangi birinde tespit edilmekten kaçınabilir.

#### **1.6.1.1 Katı Faz Ekstraksiyonu (SPE)**

Katı faz ekstraksiyonu (SPE) numunedeki analit(ler)in miktarını ölçmek için kromatografik veya başka bir analitik yöntem kullanılmadan önce bir numuneyi temizlemek için kullanılır. Prosedür, SPE fazına bir çözelti yüklemek, istenmeyen bileşenleri yıkamak ve ardından istenen analitleri başka bir çözücü ile bir toplama tüpüne yıkamaktır. Katı faz ekstraksiyon prosedürleri, yalnızca çevresel numunelerden eser miktarda organik bileşik çıkarmak için değildir , aynı zamanda

ilgilenilen analitleri içeren daha temiz bir ekstrakt elde etmek için karmaşık matrislerin karışan bileşenlerini uzaklaştırmak için de kullanılır. (Żwir-Ferenc and Biziuk 2006).

### **1.6.1.2 Kolon Kromatografisi (CC)**

Kolon kromatografisi bir karışımdan bileşiklerin saflaştırılması için kullanılır Sabit faz (silis jel) içeren silindir şeklindeki bir cam kolon, uygulanan yerçekimi veya dış basınç yardımıyla kolondan aşağı akan sıvı bir çözücü (mobil faz) ile üstten yavaşça karşılaşılır. Numune kolonun üst kısmına yüklenir. Daha sonra çözücünün kolon boyunca aşağı akmasına izin verilir. Karışımdaki bileşikler, durağan faz (silika jel) ve hareketli faz ile farklı etkileşim kabiliyetine sahiptir, dolayısıyla hareketli faz boyunca farklı zaman aralıklarında veya derecelerde akacaktır. Bu şekilde bileşiklerin karışımdan ayrılması sağlanır. Ayrı ayrı bileşikler, fraksiyonlar halinde toplanır ve yapının aydınlatılması için ayrıca analiz edilir (Bajpai et al.,2016).

### **1.6.1.3 Boyut Dışlama Kromatografisi (SEC)**

Boyut dışlama kromatografisinde, durağan faz, moleküler boyutlarda çok sayıda gözenek içeren polimerik bir maddedir. Moleküler boyutu yeterince küçük olan çözünenler, gözeneklere difüze olmak için mobil fazı terk edecektir. Gözeneklere sığmayacak büyük moleküller mobil fazda kalır ve tutulmaz. Bu yöntem çoğunlukla, çözünenlerin moleküler boyut olarak önemli ölçüde değiştiği karışımların ayrılması için uygundur. Bu tipteki mobil faz, sıvı veya gaz olabilir (Kondeti at al., 2014).

### **1.6.1.4 Vakum Sıvı Kromatografisi (VLC)**

VLC, elüent akış oranlarını hızlandırmak için uygulanan bir vakum ile kolon olarak çalıştırılan hazırlayıcı bir İTK olarak düşünülebilir. Bu, plakaların bir çalışmadan sonra kurutulabildiği ve daha sonra yeniden elüe edilebildiği hazırlayıcı İTK'ya benzer. Son on yılda VLC, operasyon basitliği nedeniyle doğal ürünler alanında giderek daha fazla kullanılmaktadır. 30 g'a kadar ekstrakt ayrımı mümkündür. VLC' de farklı kromatografik destekler kullanılmıştır: silika jel (hem

normal hem de ters faz), Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, CN, diol ve poliamid. En popüler eluent, artan oranlarda etil asetat içeren heksandır. VLC, esas olarak MPLC, HPLC gibi diğer ayırma adımlarından önce doğal ürünlerin fraksiyonlanması için kullanılır (Sticher, 2008).

## 1.6.2 Saflaştırma ve İzolasyon

Üçüncü son aşama, istenen bileşenin yeterli saflıkta ayrılmasını içeren HPLC veya İTK ile elde edilir.

### 1.6.2.1 İnce Tabaka Kromatografisi (İTK)

İnce tabaka kromatografisi bir reaksiyonun ilerleyişini izlemek, belirli bir maddede bulunan bileşikleri belirlemek, bir maddenin saflığını belirlemek için kullanılır. İnce tabaka kromatografisi, katı faz olarak alüminyum oksit veya silika jel ile kaplanmış ince bir cam veya alüminyum levha kullanır. Hareketli faz, karışımdaki bileşenlerin özelliklerine göre seçilen bir çözücüdür. İTK'nın prensibi, bir bileşiğin bir cam veya plastik plakaya uygulanan katı sabit faz (ince tabaka) ile katı faz üzerinde hareket eden sıvı mobil faz (eluting solvent) arasında dağılımıdır. İTK plakasının tabanının hemen üzerindeki bir başlangıç noktasına az miktarda bir bileşik veya karışım uygulanır

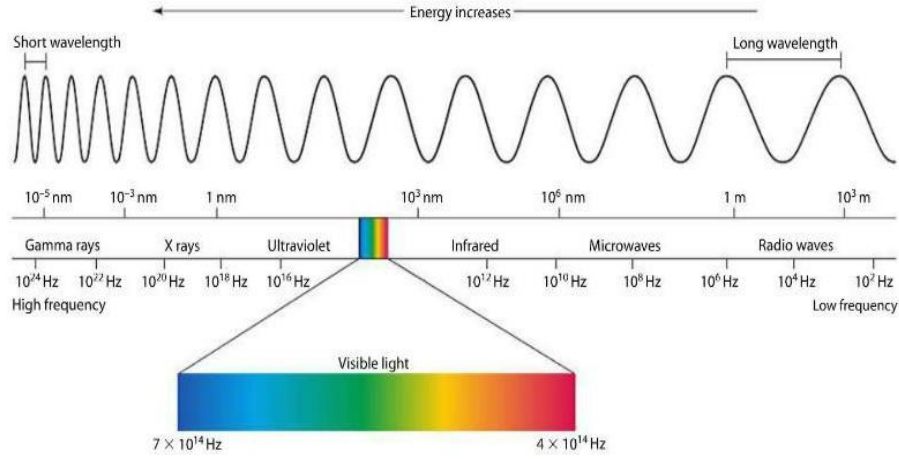
Çözücü, kılcal hareket yoluyla plaka üzerindeki parçacıklardan çekilir ve çözücü karışım üzerinde hareket ettikçe, her bir bileşik ya katı fazda kalır ya da çözücü içinde çözünerek plakayı yukarı hareket ettirir. Bileşiğin üst sıralara çıkıp çıkmadığı, o bileşiğin fiziksel özelliklerine ve dolayısıyla moleküler yapısına, özellikle fonksiyonel gruplarına bağlıdır. “Benzer Benzeri Çözer” çözünürlük kuralına uyulur. Bileşiğin fiziksel özellikleri hareketli faza ne kadar benzerse, hareketli fazda o kadar uzun süre kalacaktır. Hareketli faz, en çok çözünen bileşikler İTK plakasının en yukarisına taşıyacaktır. Hareketli fazda daha az çözünen ve İTK plakasındaki parçacıklara karşı daha yüksek bir afiniteye sahip olan bileşikler geride kalacaktır (Sherma and Fried, 1987).

### **1.6.2.2 Yüksek performan0slı sıvı kromatografisi (HPLC)**

Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemi, kolon kromatografisi prensibine dayalı olarak 1970'lerde geliştirilmiştir. HPLC, karışımda mevcut olan ve numune çözeltilisinde çözünmüş ilgili bileşenleri ayırmak için kullanılan bir sıvı kromatografisi yöntemidir. Hareketli fazın yüksek basınç (yaklaşık 3000 psi) altında dolgulu kolondan pompalanmasına dayanır. “Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi” olarak da adlandırılır. Numune kolona enjekte edildiğinde karışımın bileşenleri ayrılır. Numune karışımının bileşenleri, karışımda ve/veya numune çözeltilisinde bulunan ilgili bileşenin davranışına bağlı olarak kolondan farklı oranlarda geçirilir. HPLC'de temel ilke, hareketli fazın yüksek basınç uygulanarak dolgulu bir kolondan pompalandığı kolon kromatografisidir. Sabit faz kolonun alt ucunda bulunurken, kolonun diğer ucu basınçlı hareketli faz kaynağına bağlıdır (Akash and Rehman, 2020).

### **1.7 Spektroskopik Yöntemler**

Spektroskopi, enerjinin (veya elektromanyetik radyasyonun) madde ile etkileşiminin incelenmesidir. Elektromanyetik radyasyon maddeye uygulandığında emilebilir, yayılabilir ve kimyasal bir değişime neden olabilir veya atomlara veya moleküllere bulaşabilir (Solomons and Fryhle, 2004). Farklı molekül, farklı dalga boylarındaki radyasyonu emer. Emilen radyasyon miktarı, radyasyonun dalga boyuna ve bileşiğin yapısına bağlıdır.



Şekil 1. 6 Elektromanyetik Spektrum.

### 1.7.1 Nükleer Manyetik Rezonans (NMR)

Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) spektroskopisi, bir örneğin safsızlığını kontrol etmek amacı ile kullanılabilir. Birlikte en fazla moleküler yapısını belirlemek için kullanılan yöntemdir.

$^1\text{H}$  NMR ve  $^{13}\text{C}$  NMR spektroskopileri tüm organik bileşiklerin molekülde bulunan protonların ve karbonların (ve nitrojen, florin vb. diğer elementlerin) sayısı ve türleri ile bu atomlar arasındaki ilişkiler hakkında bilgi verir. Tek boyutlu teknikler ( $^1\text{H}$ NMR,  $^{13}\text{C}$ NMR,  $^{13}\text{C}$ -DEPT), İki boyutlu teknikler ( $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY,  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HMBC, HMQC, HSQC) analizlerinde sıklıkla bilinmeyen bileşiklerin yapı tayinlerinde kullanılmaktadır.

### 1.7.2 Kütle Spektrometrisi (MS)

Kütle spektrometrisi, örnekteki bileşiklerin kolaylıkla hareket edebilen iyonlara dönüştürülmesi ve bu iyonların kütle/yük oranına göre sıralanmasıyla elde edilir. Bir kütle spektrometrisi kimyasal yapı hakkında önemli bilgiler verir. Bazı bakımlardan, IR ve NMR spektrometrisine göre kütle spektrometrisi daha kolay tanımlanır. Çünkü bilgiler, bir örneğin, yapısal bileşiminin moleküler kütlesi cinsinden ifade edilir. Ayrıca kompleks karışımların kantitatif analizlerinde de kullanılır.

### 1.7.3 Infrared Spektroskopisi (IR)

IR spektroskopisi kızılötesi spektroskopinin kısaltmasıdır. Elektromanyetik spektrumun görünür ışıktan daha uzun dalga boyuna aynı zamanda daha düşük frekansa sahip ışıkla ilgilidir. Bu yöntemin prensibi kimyasal bağların titreşiminin kızıl ötesi (IR) radyasyonun absorpsiyonu ile ölçülmesidir. Kimyasal bağların bükülme, gerilme, ve bükülme gibi titreşim hareketleri ile kızıl ötesi radyasyonu absorbe edilir ve spektral piklerin oluşmasını sağlayan da kimyasal bağların titreşimindeki değişimdir. Bütün fonksiyonel grup kendine özgü titreşim sıklığına sahiptir yani her spekturum (kızıl ötesi ışık) özgüdür (Kılıç ve Karahan, 2010).

### 1.7.4 UV-VİS Spektrometrisi

UV-VIS spektroskopisi, dalga boyunun bir fonksiyonu olarak UV (10–400 nm) ve VIS (400–800 nm) bölgelerindeki ışık yoğunluğunu ölçmek için kullanılan spektrofotometrik teknik olarak tanımlanan en eski analitik teknik olarak kabul edilir. Analit, belirli dalga boyundaki ışığı emer (yalnızca UV ve VIS) ve analit tarafından emilen radyasyon miktarı ölçülür. UV-VIS spektrumu, absorpsiyon yoğunluğuna karşı dalga boyu veya frekansın bir grafiğidir. Organik, inorganik, biyokimyasal ve farmasötik bileşikler gibi çeşitli maddeleri analiz etmek için temel oluşturur (Akash and Rehman 2020).

## 2. Materyal ve Metotlar

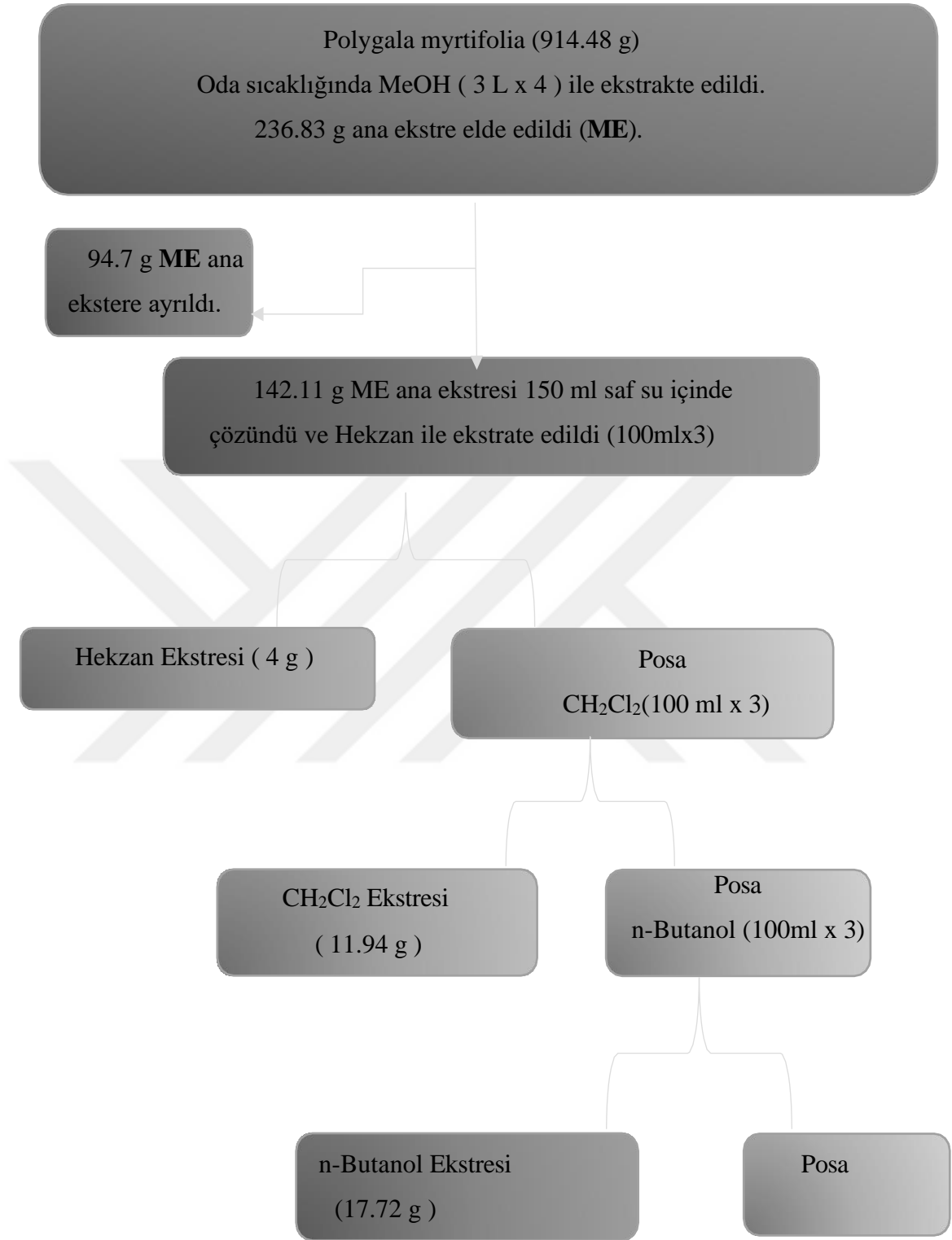
İnce Tabaka Kromatografisi (TLC), Açık Kolon Kromatografisi (CC) ve Preparatif ince tabaka kromatografisi deneysel çalışmalarında sırasıyla SilicaGel 60 F254 (Merck 5554) alüminyum tabakalar; SilicaGel 60 (Merck 7734) ve (PTLC) çalışmalarında SilicaGel 60 F254 (Merck 5744) kimyasalları kullanıldı. Santrifüjel ince tabaka kromatografisi (CPTLC) çalışmaları 4 mm SilicaGel GF (Analtech) plaka kullanılarak gerçekleştirildi. TLC tabakaları üzerindeki UV lekeler Desaga Uvis kullanılarak 254 ve 366 nm UV lambasında tespit edildi. Ardından TLC plakalarına % 20 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/etanol reaktifi püskürtüldü ve plakalar 120°C'ye kadar ısıtılarak görünür lekeler tespit edildi. İzole edilen bileşiklerin erime noktaları Gallenkamp erime noktası cihazı ile tayin edildi. Metanol ana ekstrenin DPPH aktivite çalışması, EGE MATAL da hizmet alımı ile gerçekleştirildi. İzole edilen bileşiklerin yapısal tayini için <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR ve gerekli ise 2D-NMR spektrumları 400 MHz Varian NMR spektrometrede hizmet alımı ile EBİLTEM - NMR laboratuvarında gerçekleştirildi. Literatür verilerine ulaşımında SciFinder veri tabanı kullanıldı.

### 2.1 Bitki Materyali

*Polygala myrtifolia* L. Ağustos 2021'de Mersin ili Mezitli ilçesinden toplandı. Dr. Volkan EROĞLU tarafından tanımlanan bitki materyali örneği Ege Üniversitesi Herbarium Merkezinde (EGE.HERB.43869) saklanmaktadır.

### 2.2 Bitki Ekstrelerinin Hazırlanması

*Polygala myrtifolia* yaprakları oda sıcaklığında gölgede bir ay süreyle kurutuldu. Kurutulan yapraklar laboratuvar blenderi kullanılarak toz haline getirildi. Elde edilen 914.48 g öğütülmüş kuru bitki materyali MeOH ile ekstrakte edildi. Yapılan ekstraksiyon çalışmaları Şema 3.1 de verilmiştir.



Şema 2. 1 Polygala myrtifolia Yapraklarının Ekstrelerinin Hazırlanması.

## 2.3 İzolasyon ve Saflandırma

### 2.3.1 Bileşik 1

Bileşik 1 metanol ana ekstresinden (ME), eter çöktürmesi ile elde edildi.(Şema 3.2)

25.14 g ME ana ekstresi 100 ml metanolde çözüldü. Çözeltiye, 100ml dietil eter yavaş yavaş karıştırılarak eklendi. Çökelek oluşumu gözlemlendi.

Çözgen 1

Çökelek  
( 4.15 g )

Çökelek MeOH de çözüldü ve Et<sub>2</sub>O ile tekrar çöktürme yapıldı.

Çözgen 2

Çökelek

Çözgen 1 ve Çözgen 2 birleştirildi ve tekrar Et<sub>2</sub>O ile çöktürme yapıldı.

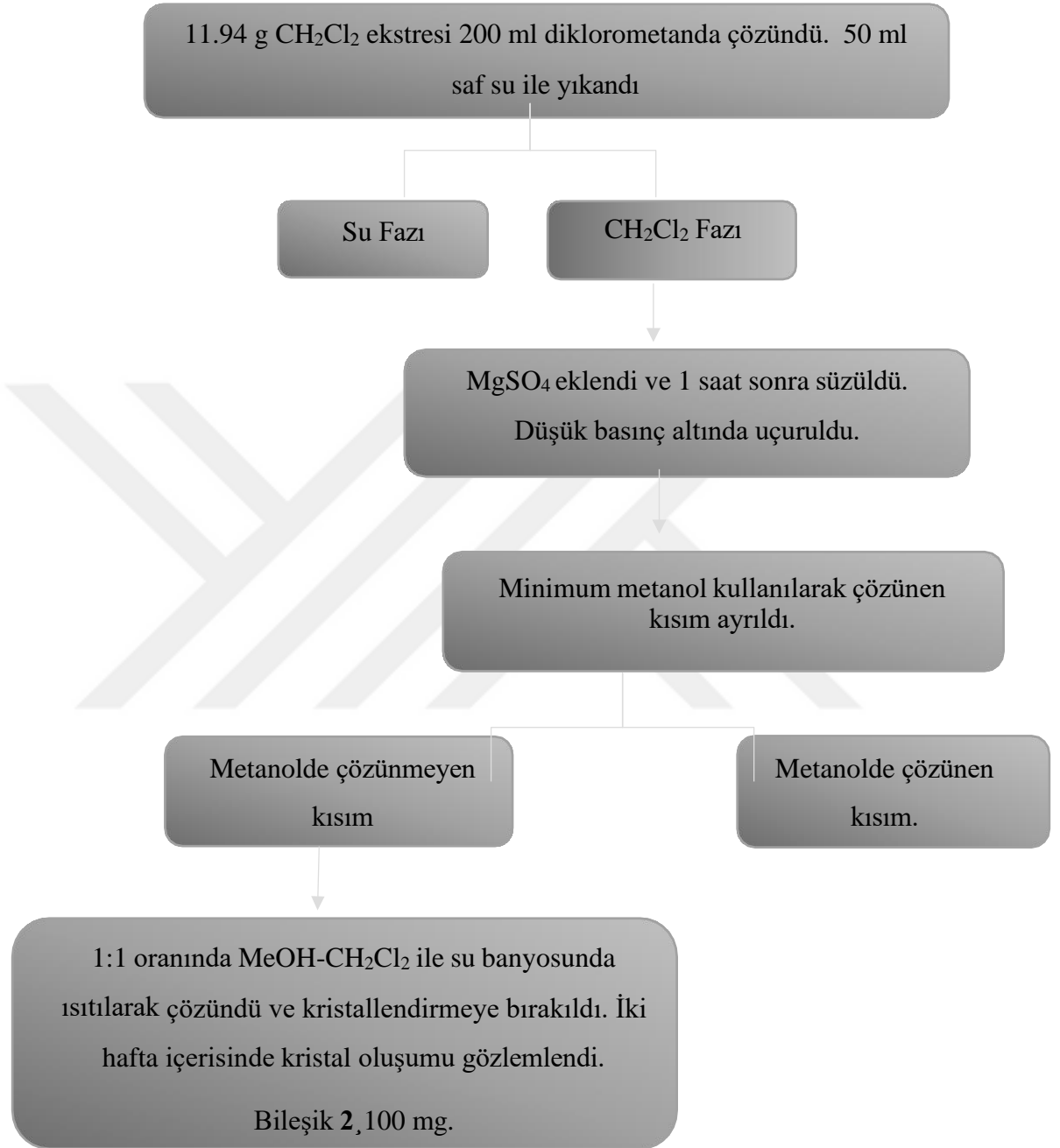
Elde edilen çökelek, süzldü ve sıcak metanolde çözüldürülerek buzdolabına kristallenemeye bırakıldı.

1 hafta sonra oluşan kristaller süzülerek ayrıldı.

**Bileşik 1 ,241 mg**

### 2.3.2 Bileşik 2

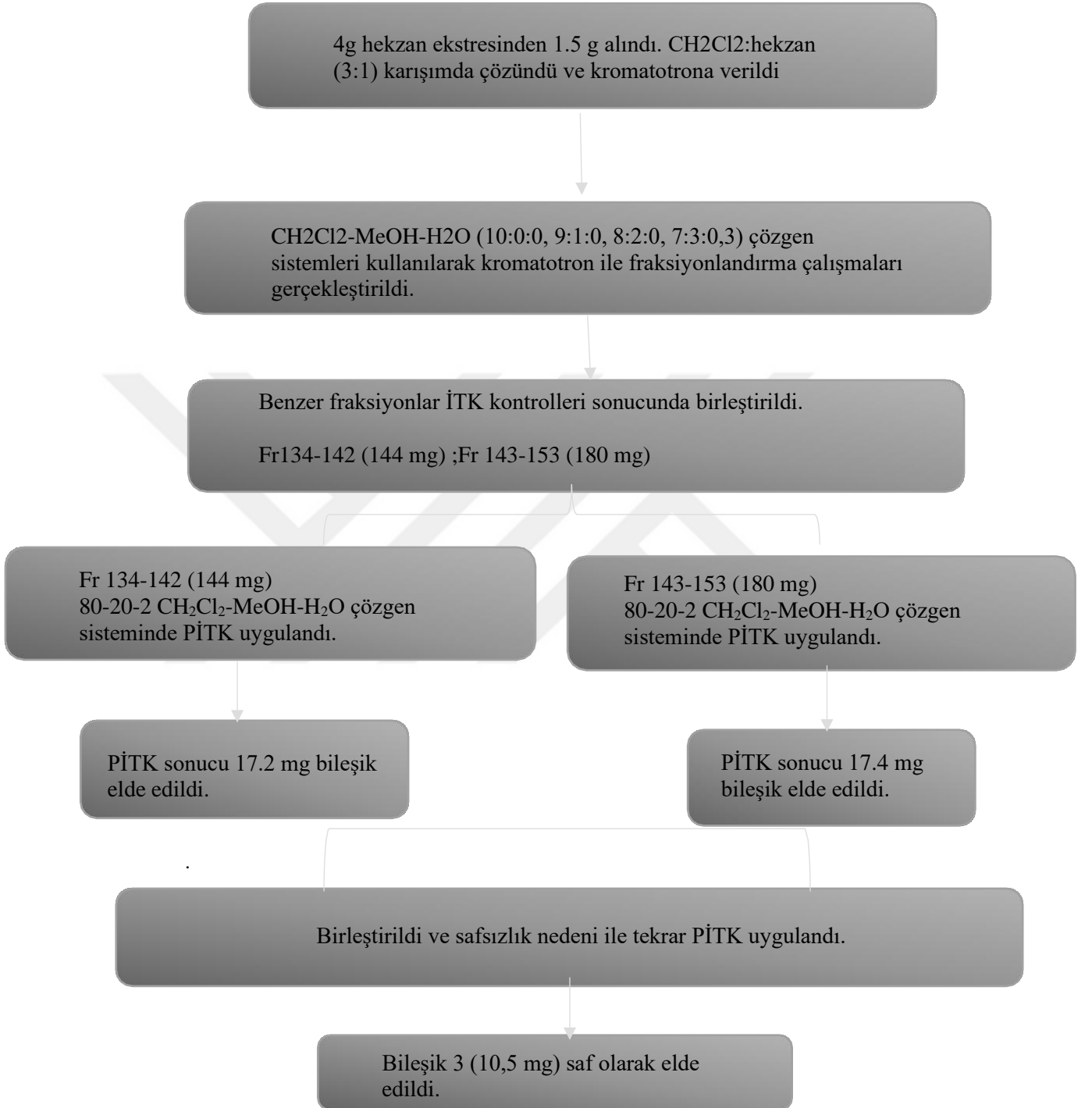
Bileşik 2 DCM ekstresinden elde edildi .(Şema 3.3)








Şema 2. 3 Bileşik 2 için İzolasyon ve Saflandırma Çalışmaları

### 2.3.3 Bileşik 3

Bileşik 3 hekzan ekstresinden elde edildi. ( Şema 3.4)



Şema 2. 4 Bileşik 3 için İzolasyon ve Saflandırma Çalışması.

Bileşik 3		Bileşik 2		Bileşik 1
				
UV	% 20 H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	UV	% 20 H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	% 20 H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>

Şekil 2. 1 İzole edilen bileşiklerin İTK kontrolleri: Bileşik 3 İTK sonucu. Çözgen Sistemi: 80:20:2- CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH-H<sub>2</sub>O ; Bileşik 2 İTK Sonucu. Çözgen Sistem: 5:5- Hegzan-Aseton; Bileşik 1 İTK Sonucu. Çözgen Sistemi: 70:30:3- CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH-H<sub>2</sub>O

## 2.4 DPPH Analizi

Elde edilen ME ana ekstrenin DPPH aktivite çalışması, EGE MATAL da hizmet alımı ile gerçekleştirildi. (Tablo 2.1)

	İ-2000µg/mL	İ-1000 µg/mL	İ-500 µg/mL	İ-250µg/mL	İ-100 µg/mL	İ-50 µg/mL
DPPH (mM AAE/g)	90,8	86,08	66,5	51,9	31,61	12,10
%giderim	81,40	77,07	59,2	45,92	27,40	9,62

Tablo 2. 1 Ana Ekstre DPPH Sonuçları.

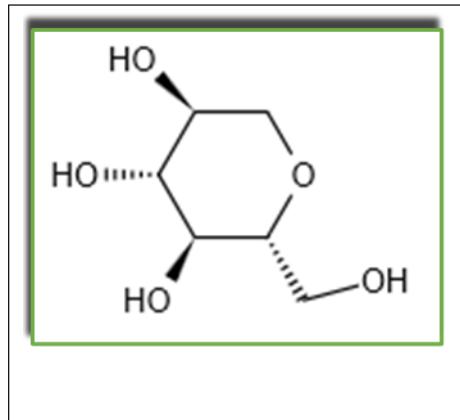
DPPH metodunun temeli DPPH radikali ile etkileşime giren bitki ekstraktındaki antioksidanların yüzdesine dayanmaktadır. Tablo 2.1 de verilen sonuçlara göre altı farklı konsantrasyonlarda (50, 100, 250, 500, 1000 ve 2000

$\mu\text{g/mL}$ ) hazırlanan metanol ekstraktlarında DPPH radikali giderme aktivitesinin konsantrasyona bağı olarak değiştii görölmektedir. Sonuçlar % giderim olarak belirtilmiştir ve doğal antioksidan olan Askorbik asit eştdeğerleri ile karşılaştırmıştır. Bitki ekstresinde konsantrasyon arttıa antioksidan aktivite artmaktadır. En yüksek aktivitenin (%81.40 ) 2000 $\mu\text{g/mL}$  konsantrasyondaki ekstrakta, en dūşük aktivitenin (%9.62) 50 $\mu\text{g/mL}$  konsantrasyonda hazırlanan ekstrakta olduğu görölmüştür.

### 3. Sonuçlar

#### 3.1 Bileşik 1

**Bileşik 1**, beyaz toz halinde elde edildi (241 mg, Erime noktası 142°C-143°C).  $^1\text{H-NMR}$  (Şekil 3.2),  $^{13}\text{C-NMR}$ (Şekil 3.3), Cosy (Şekil 4.5), HMBC (Şekil3.6) ve HSQC (Şekil 3.7) spektrumları incelendiğinde, hidrojen sayısının fazla çıkması nedeni ile  $\text{D}_2\text{O}$  Exchange spektrumu (Şekil 3.2) aldırıldı. Bazı piklerin görünürlüğünü yitirmesi sonucunda, bu piklerin OH Hidrojenleri olduğu tespit edildi.  $^1\text{H-NMR}$  ve  $^{13}\text{C-NMR}$  verilerinin (Tablo 3.1), SCI Finder litteratür verileri ışığı altında değerlendirilmesi sonucunda, bu bileşiğin yapısının 1,5-Anhidroglusitol olduğu tespit edildi. (Yuan and Hollingsworth, 2011;Zhang at al., 2017;Li at al.,2018). **Bileşik 1 bu bitkiden ilk kez izole edildi.**



Şekil 3. 1 Bileşik 1 (1,5-Anhidroglusitol).

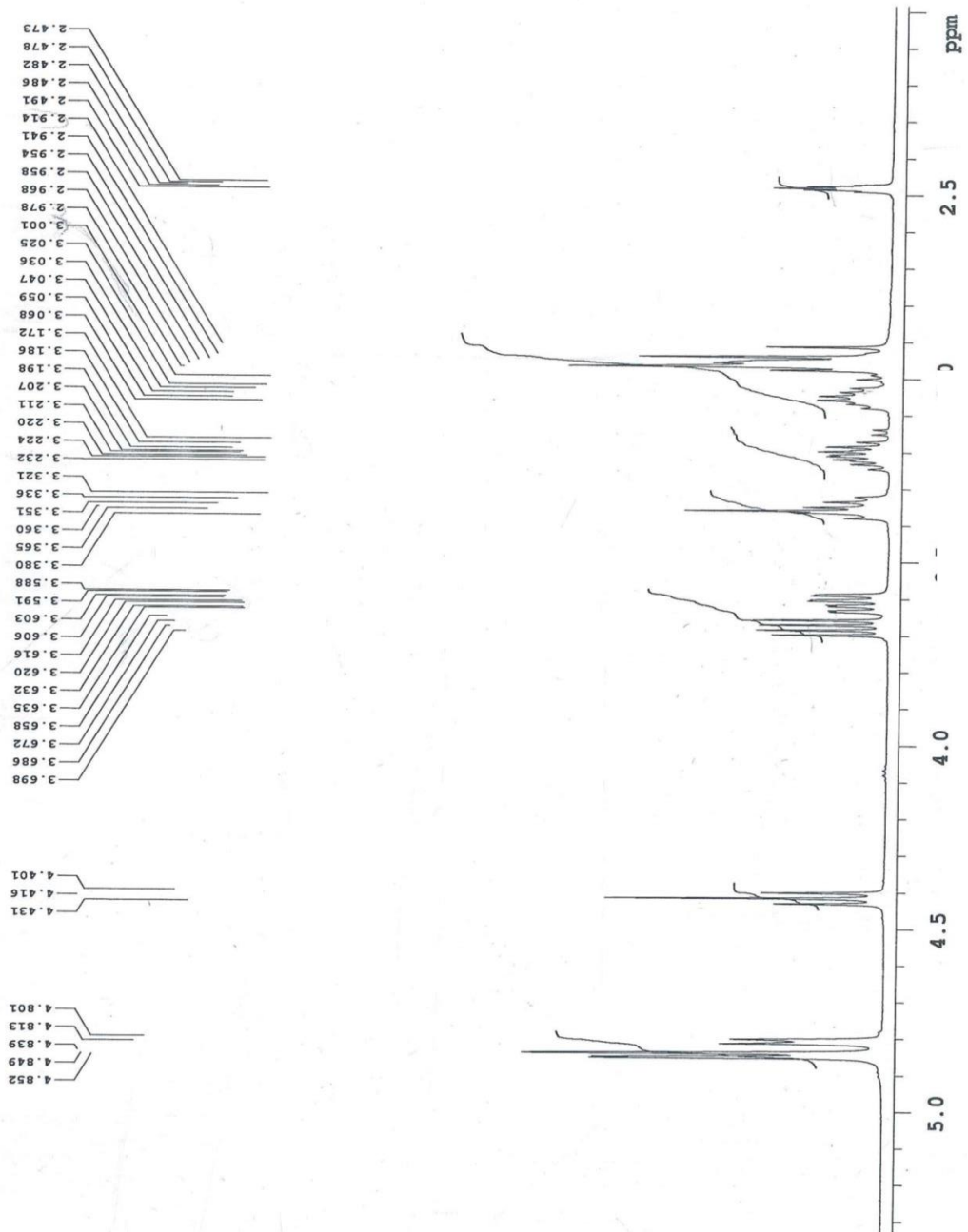
1,5-Anhidroglusitol ilk olarak Chodat tarafından 1888 yılında Polygala amara L. bitkisinden izole edildi ve yapısı 1943 yılında belirlendi (Yamanouchi and Akanuma, 1994). Ilıman ve tropikal bölgelerde yaygın olarak buluna Polygala cinsinin P. vulgaris, L., P. tenuifolia ve P. Senega, türlerinden 1,5-Anhidroglusitol izole edilmiştir (Richtmyer and Hudson, 1943). Ayrıca Polygala tenuifolia bitkisinin kök kısmından 1,5-Anhidroglusitol izole edilmiştir ( Takiura and Honda, 1964). 1,5-Anhidroglusitol Güney Afrika çiçekli bitkilerinden olan Proteaceae familyasına ait Protea compacta, P. cynaroides, P. eximia, P. lepidocarpodendron, P. neriifolia, P. obtustjolia, P. pityphylla, P. Repens( Boeyens at al., 1983) ve Protea susara (Leon at al., 2014) türlerinden de izole edilmiştir.

1,5-Anhidroglusitol (AG), 1-deoksi glukopiranoz yapısında, altı karbon zincirli bir monosakkarittir. İnsan vücudunda en bol bulunan poliollerden biridir. (Yamanouchi at al., 1996). İnsanlarda bu poliölün varlığı insan plazmasında ve beyin omurilik sıvısında gösterilmiştir (Stickle and Türk, 1997). Çok çeşitli gıdalarda bulunur. En çok soyada bulunmaktadır daha sonra pirinçte ve makarnada bulunduğu saptanmıştır. Ayrıca 1,5-AG et, balık, meyve, sebze, çay, süt ve peynirde az miktarlarda bulunabilmektedir (Yamanouchi at al., 1992).

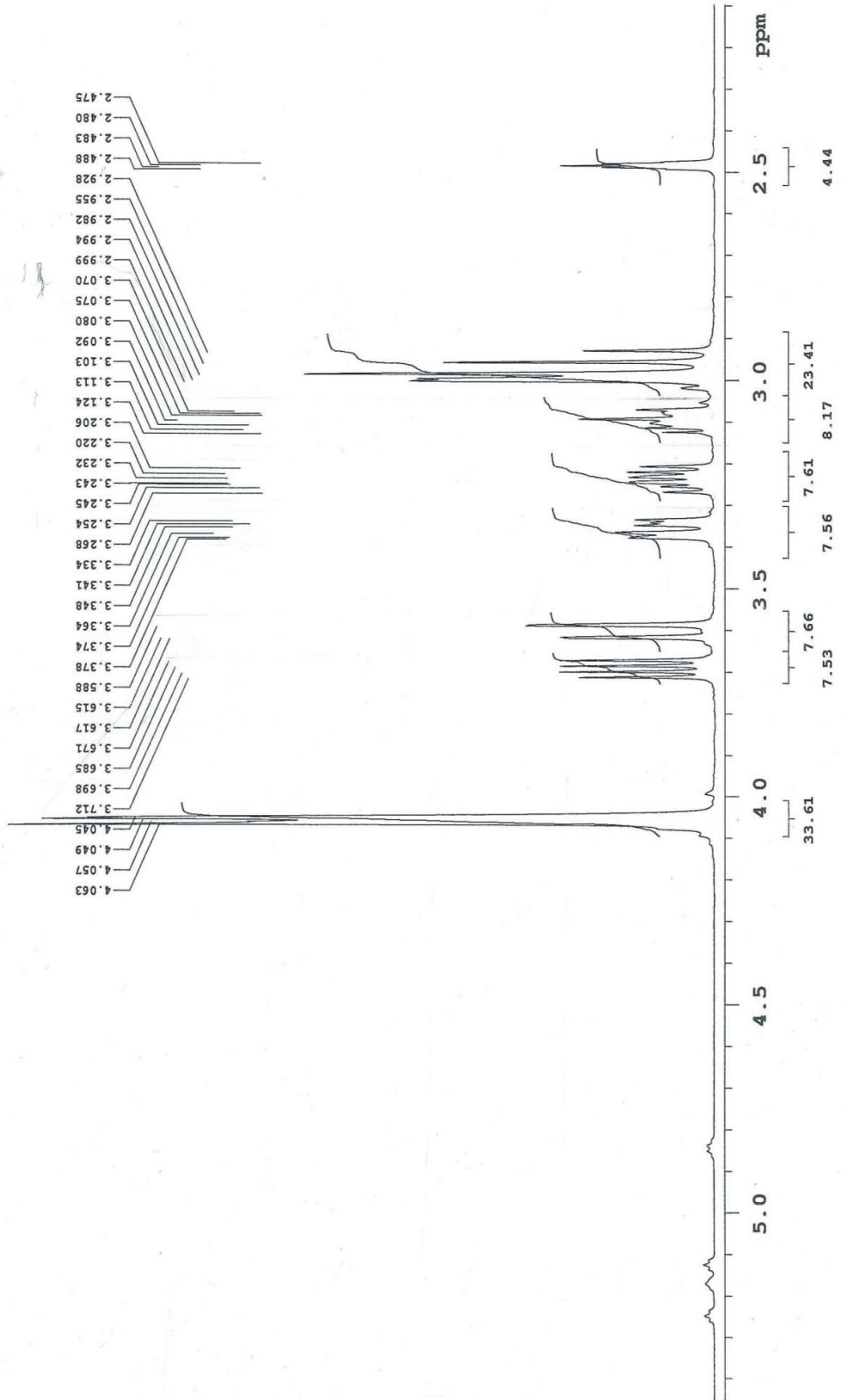
Gıdalarda bulunan 1,5-AG, bağırsaklardan absorbe edildikten sonra vücutta stok oluşturur ve çeşitli organlara yaygın olarak dağılır. Günlük öğünlerden alınan 1,5-AG miktarı vücutta depolanandan daha azdır. Fazla alınır ise idrarla atılır (Koga, 2014). 1,5-AG'ün insülin salgılamaya etkisi olduğu ve insülin salgılanmasının düzenlenmesinde görev alabileceği düşünülmektedir (Yamanouchi at al., 2003).

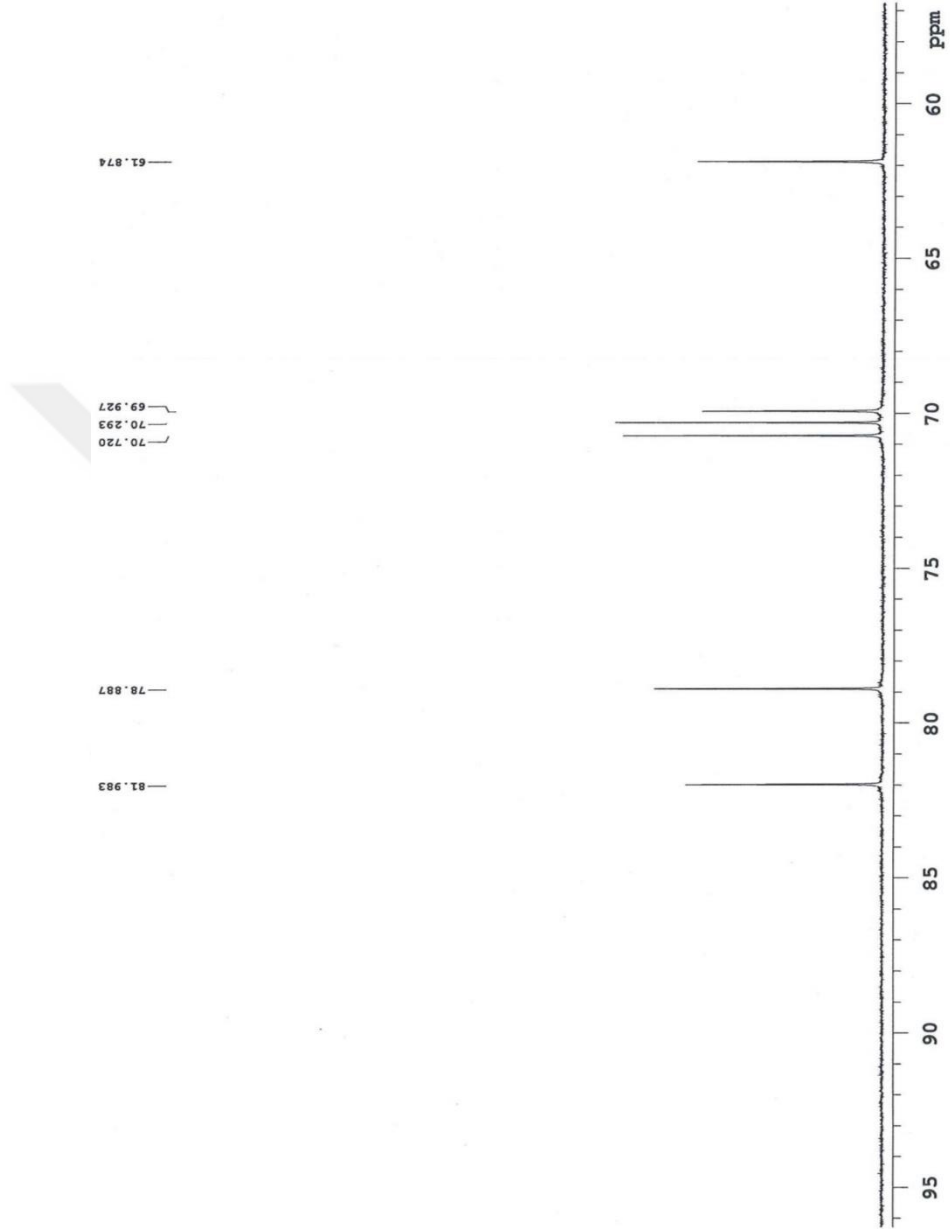
Karbon No	<sup>13</sup> C (ppm)	<sup>1</sup> H (ppm)
1	69.93	2.91-2.98, 1H,m; 3.66-3.70,1H,dd
2	70.29	3.17-3.23, 1H,m
3	78.89	3.00-3.07, 1H,m
4	70.72	2.91-2.98, 1H,m
5	81.98	2.91-2.98, 1H,m
6	61.87	3.32-3.38, 1H,m 3.59-3.64, 1H, dd

Tablo 3. 1 Bileşik 1 <sup>13</sup>C ve <sup>1</sup>H NMR verileri.

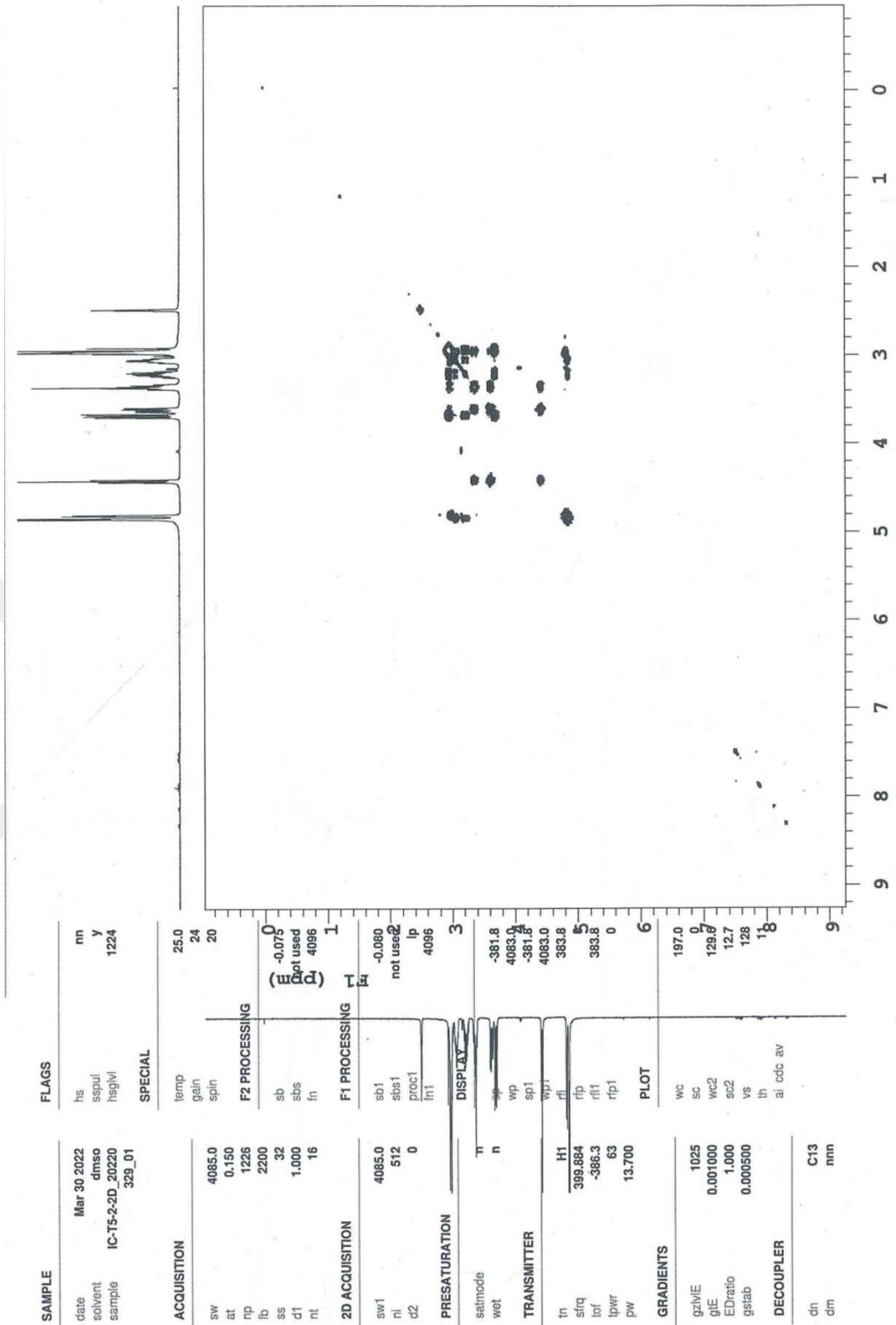


Şekil 3. 2 Bileşik 1  $^1\text{H-NMR}$  Spektrumu

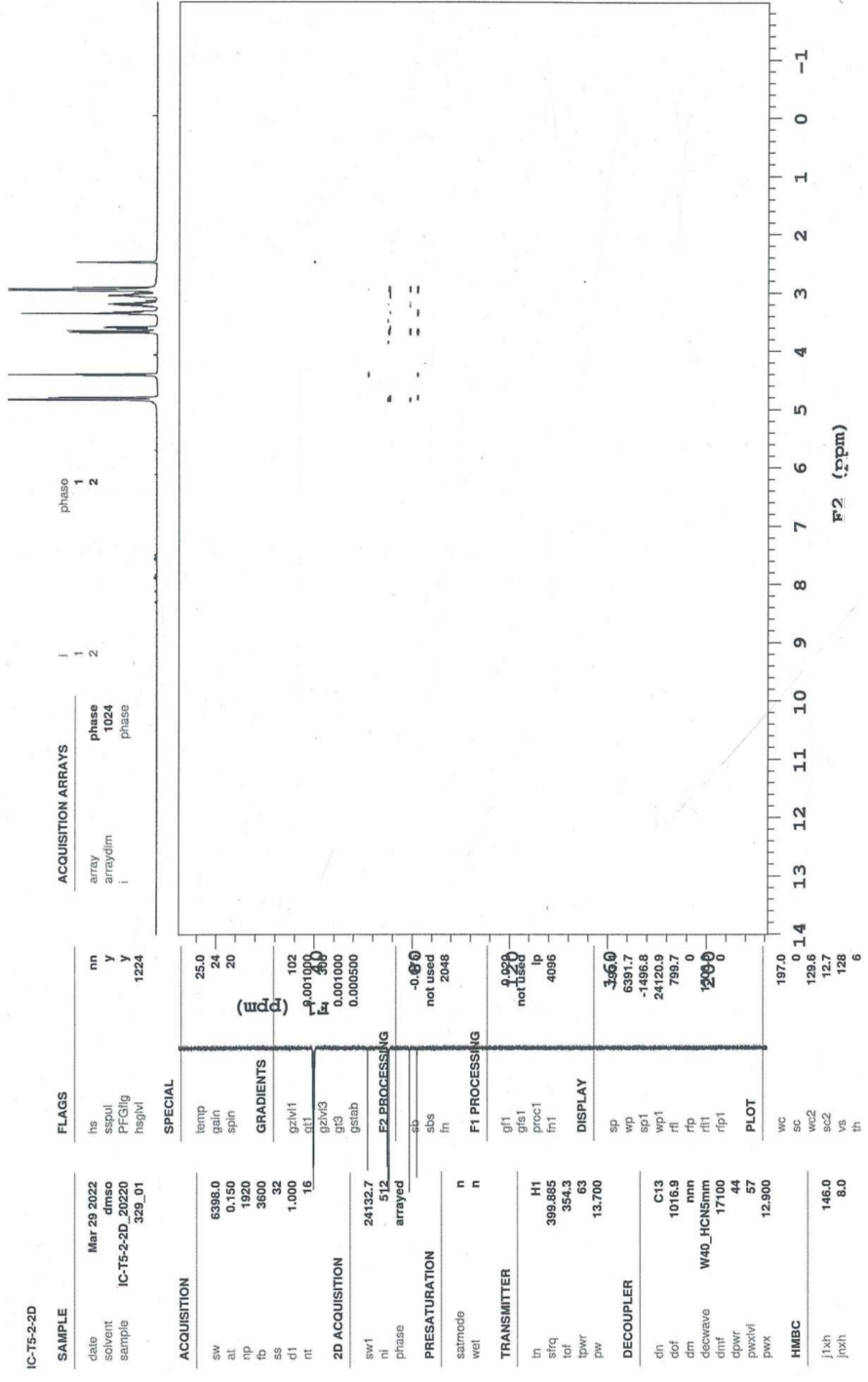
Şekil 3. 3 Bileşik 1 D<sub>2</sub>O Exchange Spektrumu



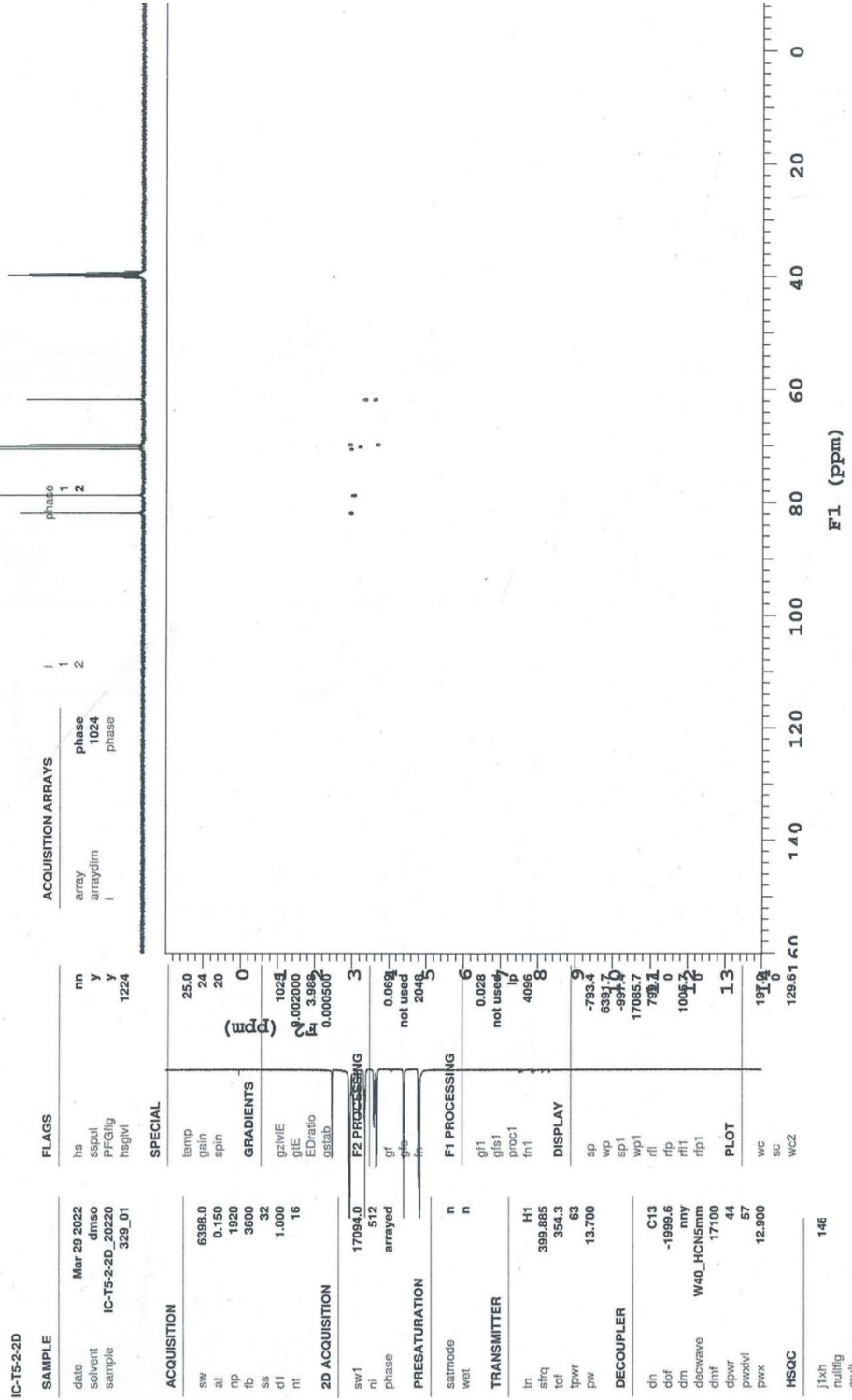
Şekil 3. 4 Bileşik 1  $^{13}\text{C}$ -NMR Spektrumu



Şekil 3. 5 Bileşik 1 COSY Spektrumu



Şekil 3. 6 Bileşik 1 HMBC Spektrumu.



Şekil 3. 7 Bileşik 1 HSQC Spektrumu.

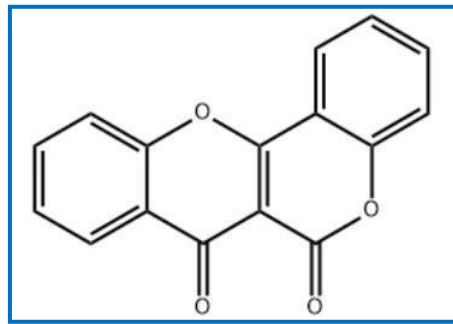


### 3.2 Bileşik 2

**Bileşik 2**, beyaz toz halinde elde edildi (100 mg, en: 234-236 °C). <sup>1</sup>H-NMR (Şekil 3.9) ve <sup>13</sup>C-NMR (Şekil 3.10) spektrumlarının değerlendirilmesi ve literatür verileri eşliğinde yapısı Frutinone A -kromeno[4,3-b] kromen-6,7-dion-olarak tanımlandı. (Di Paolo at al., 1989;Dong at al., 2016;Lei at al., 2015; Tablo 3.2). **Bileşik 2, Frutinone A bu bitkiden ilk kez izole edildi.** (Şekil 4.8)

1989 yılında Güney Afrika'da büyüyen küçük çalılardan olan *Polygala fruticosa* berg yapraklarının diklorometan ekstresinden Frutinone A izole edildiği literatürlerde yer almaktadır. (Di Paolo at al., 1989). Ayrıca *Polygala gazensis* toprak üstü kısımlarının diklorometan ekstresinden Frutinone A izole edilmiştir (Bergeron at al., 1997). 1997 yılından sonra Frutinone izolasyonuna ait literatür verileri saptanmamıştır.

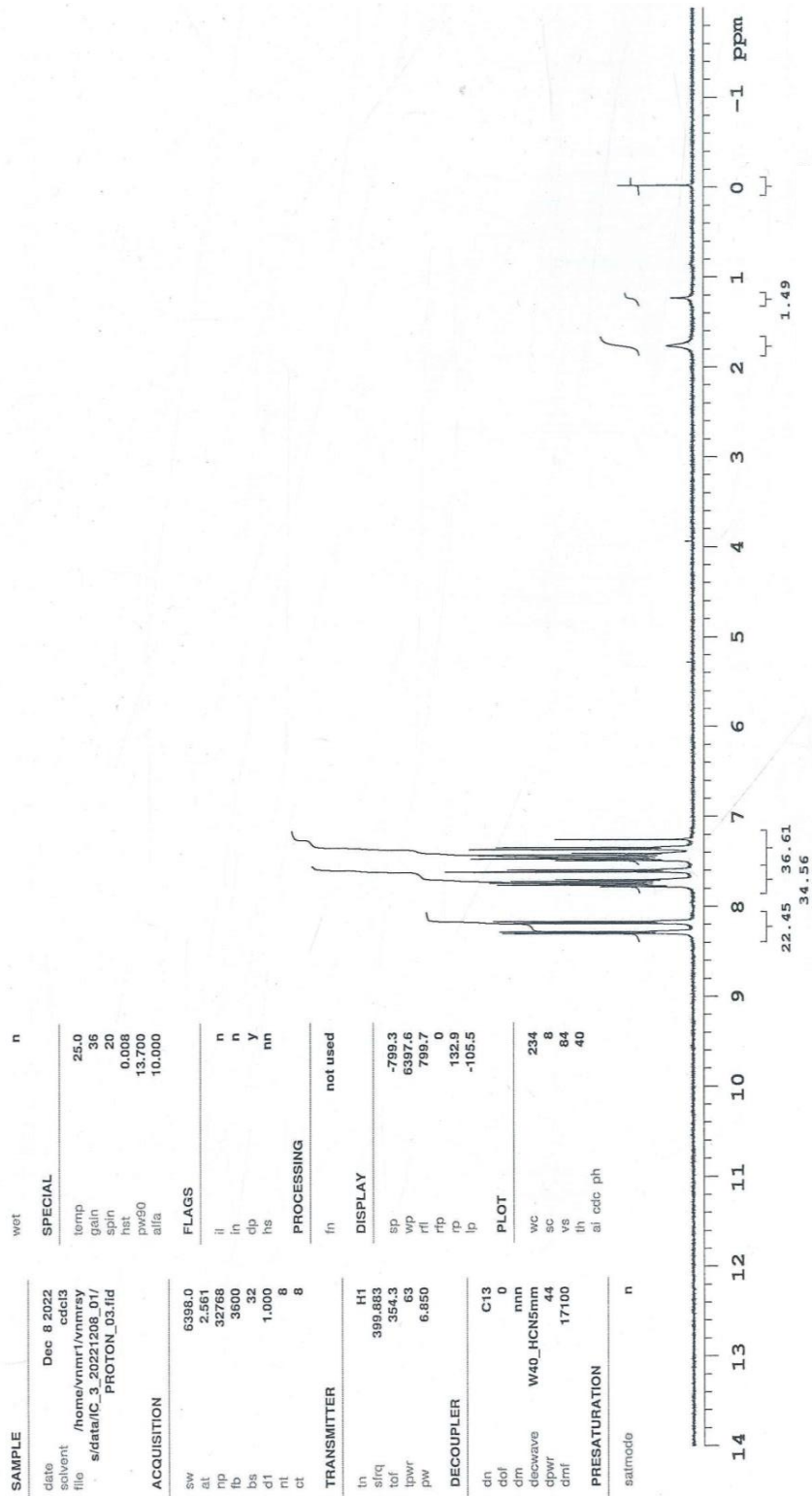
Literatür verilerinde Frutinone A'nın çeşitli biyokimyasal ve fizyolojik etkilere sahip olduğu gösterilmiştir. *In vitro* çalışmalar, anti-enflamatuar, anti-oksidan anti-bakteriyel, anti-fungal ve anti-kanser etkilerinin yanı sıra çeşitli enzimlerin ve reseptörlerin aktivitesini modüle etme kabiliyetine sahip olduğunu göstermiştir (Shin at al., 2014;Calitz at al.,2014). *In vivo* çalışmalar, inflamasyonu azaltabileceğini, oksidatif stresi azaltabileceğini ve insülin duyarlılığını iyileştirdiği gösterilmiştir (Xiao at al., 2023;Amaeze at al., 2021).

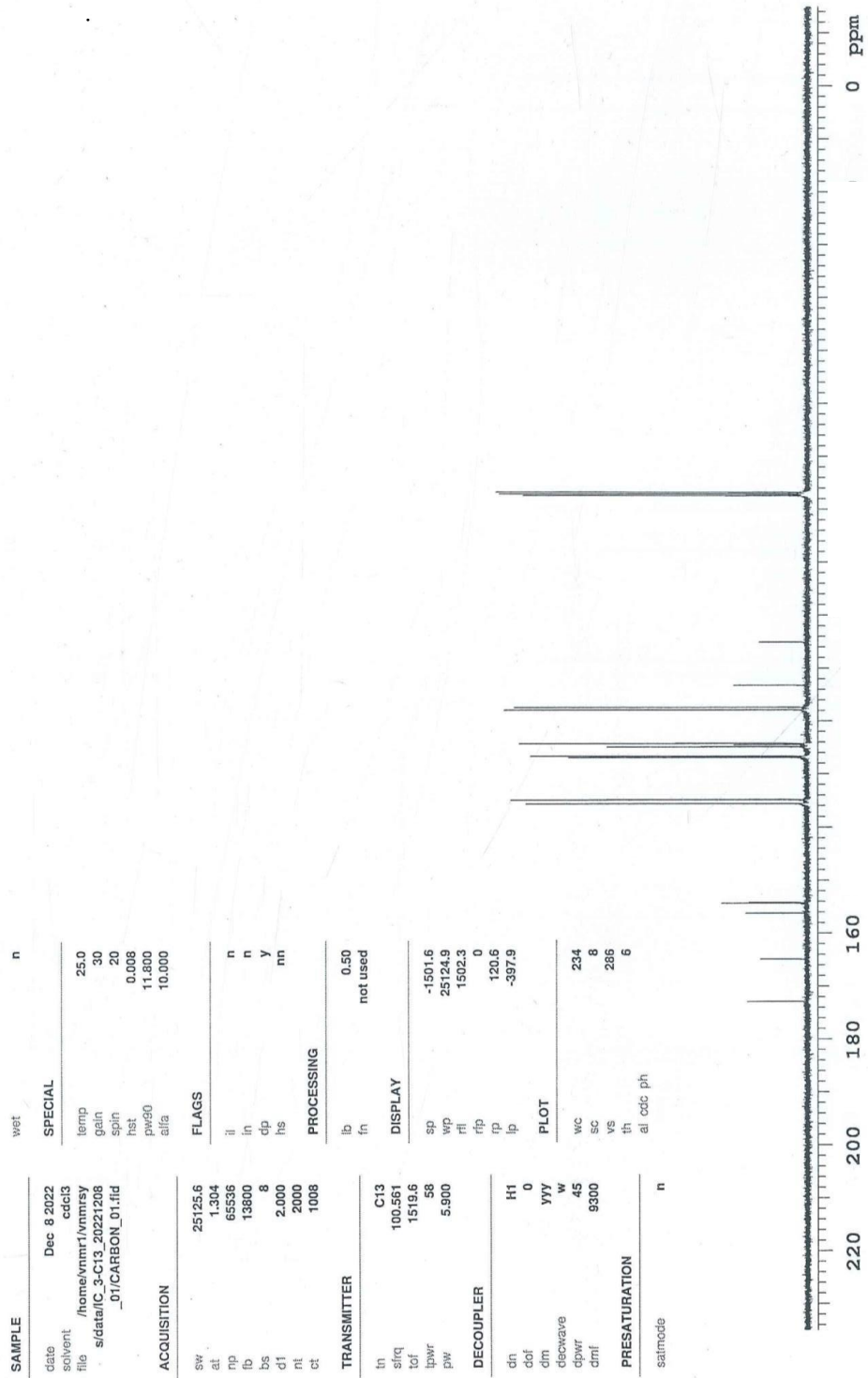


Şekil 3. 8 Bileşik 2 (Frutinone A)

<b>Karbon No</b>	<b><sup>13</sup>C (ppm)</b>	<b><sup>1</sup>H (ppm)</b>
<b>1</b>	124.2	8.16-8.19, 1H, dd; J: 1.2, 7.8, 1.6 Hz
<b>2</b>	124.8	7.40-7.49, 2H, m
<b>3</b>	135.5	7.70-7.78, 2H, m
<b>4</b>	117.3	7.35-7.37, 1H, dd; J: 8
<b>4a</b>	154.2	-
<b>6</b>	156.2	-
<b>6a</b>	105.0	-
<b>7</b>	172.9	-
<b>7a</b>	124.4	-
<b>8</b>	126.8	8.28-8.30, 1H, dd; J: 1.6, 8, 1.6 Hz
<b>9</b>	126.6	7.40-7.49, 2H, m
<b>10</b>	134.8	7.70-7.78, 2H, m
<b>11</b>	117.8	7.60-7.61, 1H, d; J: 7.6 Hz
<b>11a</b>	154.3	-
<b>12</b>	164.9	-
<b>12a</b>	113.1	-

Tablo 3. 2 Bileşik 2 <sup>13</sup>C ve <sup>1</sup>H NMR verileri.

Şekil 3. 9 Bileşik 2 <sup>1</sup>H-NMR Spektrumu.



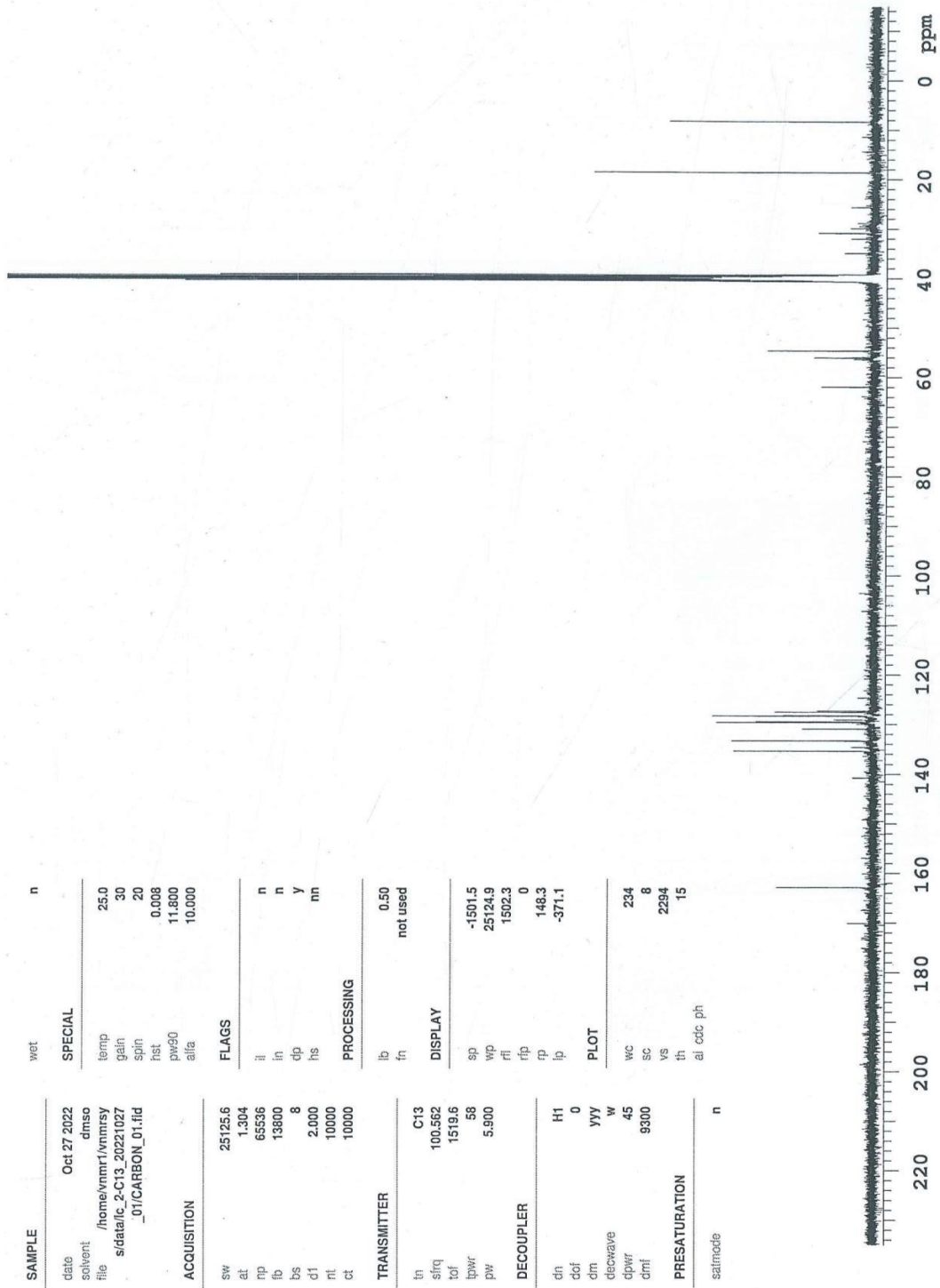
Şekil 3. 10 Bileşik 2 <sup>13</sup>C-NMR Spektrumu

### 3.3 Bileşik 3

**Bileşik 3**, yeşil yağimsı yapıda elde edildi (10 mg). UV aktif olan bileşik 3'ün madde miktarının az olması ve safsızlık içermesi nedeni ile yapı aydınlatma çalışmaları tamamlanamadı.



Şekil 3. 11 Bileşik 3 1H-NMR Spektrumu


 Şekil 3. 12 Bileşik 3 <sup>13</sup>C- NMR spektrumu

## KAYNAKLAR DİZİNİ

**Açık Ders** Ankara, “Kütle(mass) spektrometrisi”, [https://acikders.ankara.edu.tr/pluginfile.php/51394/mod\\_resource/content/0/MASS%20spektroskopisi%20-%20Pratik.pdf](https://acikders.ankara.edu.tr/pluginfile.php/51394/mod_resource/content/0/MASS%20spektroskopisi%20-%20Pratik.pdf) (Erişim tarihi: 11 şubat 2023)

**Akash, M.S.H., Rehman, K.,** 2020, *Essentials of Pharmaceutical Analysis*. Springer, 187-188 p.

**Amaeze, O., Eng, H., Horlbogen, L., Varma, M. V. S., Slitt, A.,** 2021. Cytochrome P450 Enzyme Inhibition and Herb-Drug Interaction Potential of Medicinal Plant Extracts Used for Management of Diabetes in Nigeria. *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, 46(3), 437–450 p.

**Bajpai, V.K., Majumder, R. and Park, J.G,** 2016, Isolation and purification of plant secondary metabolites using column-chromatographic technique. *Bangladesh Journal of Pharmacology*, 11, 844-848 p.

**Bergeron, C., Marston, A., Wolfender, J.-L., Mavi, S., Rogers, C., Hostettmann, K.,** 1997, Isolation of Polyphenols from *Polygala gazensis* and Liquid Chromatography-Mass Spectrometry of Related African *Polygala* Species. *Phytochemical Analysis*, 8(1), 32–36p.

**Boeyens, J., Marais, J., Perold, G.,** 1983, The occurrence, conformation and crystal structure of 1,5-anhydro-d-glucitol in *Protea* spp. *Phytochemistry*, 22(9), 1959–1960 p.

**Calitz, C., Steenekamp, J. H., Steyn, J. D., Gouws, C., Viljoen, J. M., Hamman, J. H.,** 2014. Impact of traditional African medicine on drug metabolism and transport. *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*, 10(7), 991–1003p.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

**Di Paolo, E. R., Hamburger, M. O., Stoeckli-Evans, H., Rogers, C., Hostettmann, K.**, 1989, New chromonocoumarin (=6H, 7H-[1]Benzopyrano[4,3-b][1]benzopyran-6,7-dione) derivatives from *Polygala fruticosa* BERG. *Helvetica Chimica Acta*, 72(7), 1455–1462.

**Dong, Q., Shen, H. C., Jiang, M.**, 2016, Efficient synthesis of functionalized chromones via a two-base mediated formal [3+3] cycloaddition. *Tetrahedron Letters*, 57(19), 2116–2120 p.

**Haddad, M., Miyamoto T., Delaudec, C., Lacaille-Dubois, M.A.**, 2003, New acylated saponins from *polygala myrtifolia*. *Helvetica Chimica Acta*, 86.

**Kawasaki, T., Yamanouchi, T., Kashiwabara, A., Inoue, T., Yoshimura, T., Fujimori, S., Aiso, Y.**, 2000, The influence of traditional Chinese herbal drugs on serum 1,5-anhydroglucitol levels. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 50(2), 97–101p.

**Kılıç, G.B., Karahan A.G.**, 2010, Fourier Dönüşümlü Kızılötesi (FTIR) Spektroskopisi ve Laktik Asit Bakterilerinin Tanısında Kullanılması. *Gıda*, 35(6), 445-452 p.

**Koç, G., Fidan, H.**, 2017, Türkiye’de Cucumber Mosaic Virus (CMV) için herdem yeşil bir konukçu: *Polygala myrtifolia*. *Derim*, 34(1), 29-36 p.

**Koga, M.**, 2014, 1,5-Anhydroglucitol and Glycated Albumin in Glycemia. *Advances in Clinical Chemistry*, 64, 269–301 p.

**Kondeti, R.R., Mulpuri, K.S., Meruga, B.**, 2014, Advancements in column chromatography: A review. *World Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2(9), 1375-1383 p.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

**Lacaille-Dubois M.A., Delaude C., Mitaine-Offer, A.C.**, 2020, A review on the phytopharmacological studies of the genus *Polygala*. *Journal of Ethnopharmacology*, 249.

**Lei, K., Sun, D.-W., Tao, Y.-Y., Xu, X.-H.**, 2015, A New Protocol for Total Synthesis of Natural Product Frutinone A and Its Derivatives. *Australian Journal of Chemistry*.

**León, F., Alfayate, C., Batista, C. V., López, A., Rico, M., Brouard, I.**, 2014, Phenolic compounds, antioxidant activity and ultrastructural study from *Protea* hybrid "Susara.". *Industrial Crops and Products*, 55, 230–237p.

**Li, G., Noguchi, M., Nakamura, K., Hayasaka, R., Tanaka, Y., & Shoda, S.**, 2018, First protection-free protocol for synthesis of 1-deoxy sugars through glycosyl dithiocarbamate intermediates. *Tetrahedron Letters*, 59(37), 3428–3431 p.

**Oskay, D., Oskay, M.**, 2009, Biotechnological importance of plant secondary metabolites. *Ecological Life Science*, 4(2), 31-41 p.

**Parlak, Y., Guzeler, N.**, 2016, Nuclear magnetic resonance spectroscopy applications in foods. *Current Research in Nutrition and Food Science Journal*, 4(2), 161-168 p.

**Richtmyer, N. K., Hudson, C. S.**, 1943, The Ring Structure of Polygalitol. *Journal of the American Chemical Society*, 65(1), 64–67p.

**Seok, H., Huh, J. H., Kim, H. M., Lee, B.-W., Kang, E. S., Lee, H. C., Cha, B. S.**, 2015, 1,5-Anhydroglucitol as a Useful Marker for Assessing Short-Term Glycemic Excursions in Type 1 Diabetes. *Diabetes & Metabolism Journal*, 39(2), 164 p.

**Sarker, S.D., Latif, Z., Gray, A.I.**, 2006, Natural products isolation, Humana Press, Totowa, New Jersey, 4 p.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

**Sarker, S.D., Latif, Z., Gray, A.I.**, 2006, Natural products isolation, Humana Press, Totowa, New Jersey, 18 p.

**Sherma, J., Fried, B.**, 1987, Chapter 2 Preparative Thin Layer Chromatography. *Journal of Chromatography Library*, 38, 105-127 p.

**Shin, Y., Yoo, C., Moon, Y., Lee, Y., Hong, S.**, 2014, Efficient Synthesis of Frutinone A and Its Derivatives through Palladium-Catalyzed C-H Activation/Carbonylation. *Chemistry - An Asian Journal*, 10(4), 878–881p.

**Solomons, T.W.G., Fryhle C.B.**, 2004 Organic chemistry, John Wiley & Sons, New Jersey, 383-446 p.

**Sticher, O.**, 2008, Natural product isolation. *Natural Product Reports*, 25, 517 p.

**Sticher, O.**, 2008, Natural product isolation. *Natural Product Reports*, 25, 524 p.

**Stickle, D., and Turk, J.**, 1997. A kinetic mass balance model for 1,5-anhydroglucitol: applications to monitoring of glycemic control. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 273(4), E821–E830.

**Takiura, K., and Honda, S.**, 1964. Sugar Components of the Root of *Polygala tenuifolia*. *YAKUGAKU ZASSHI*, 84(12), 1223–1224 p.

**Xiao, M., Guo, W., Zhang C., Zhu Y., Li Z., Shao C., Jiang J., Yang Z., Zhang J., Lin L.**, 2023, Jian Pi Sheng Sui Gao (JPSSG) alleviation of skeletal myoblast cell apoptosis, oxidative stress, and mitochondrial dysfunction to improve cancer-related fatigue in an AMPK-SIRT1- and HIF-1-dependent manner. *Annals of Translational Medicine*, 11(3): 156.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

**Visht, S., Chaturvedi, S.,** 2012, Isolation of natural products. *Current Pharma Research*, 2(3), 585-586 p.

**Visht, S., Chaturvedi, S.,** 2012, Isolation of natural products. *Current Pharma Research*, 2(3), 586-587 p.

**Yamanouchi, T., and Akanuma, Y.,** 1994, Serum 1,5-anhydroglucitol (1,5 AG): New clinical marker for glycemic control. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 24, S261–S268.

**Yamanouchi, T., Inoue, T., Ichiyangi, K., Sakai, T., Ogata, N.,** 2003, 1,5-Anhydroglucitol stimulates insulin release in insulinoma cell lines. *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects*, 1623(2-3), 82–87p.

**Yamanouchi, T., Shinohara, T., Ogata, N., Tachibana, Y., Akaoka, I., Miyashita, H.,** 1996, Common reabsorption system of 1,5-anhydro-D-glucitol, fructose, and mannose in rat renal tubule. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1291(1) 89-96 p.

**Yamanouchi, T., Tachibana, Y., Akanuma, H., Minoda, S., Shinohara, T., Moromizato, H., Akaoka, I.,** 1992, Origin and disposal of 1,5-anhydroglucitol, a major polyol in the human body. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 263(2), E268–E273.

**Yuan, C., and Hollingsworth, R. I.,** 2011. A short and efficient synthesis of 1,5-anhydro-d-glucitol 6-phosphate. *Tetrahedron Letters*, 52(42), 5421–5423p

**Zhang, J., Park, S., Chang, S.,** 2017. Selective C–O Bond Cleavage of Sugars with Hydrosilanes Catalyzed by Piers' Borane Generated In Situ. *Angewandte Chemie International Edition*, 56(44), 13757–13761 p.

**Żwir-Ferenc, A., Biziuk M.**, 2006, Solid Phase Extraction Technique – Trends, Opportunities and Applications. *Polish Journal of Environmental Studies*, 15(5), 677-669 p.



## ÖZGEÇMİŞ

İrem ÇEYİZ, ilkokul, lise öğrenimini tamamladıktan sonra T.C Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümünden 2020 yılında kimyager unvanı ile mezun olmuştur. 2020 yılında T.C Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Organik Kimya Anabilim Dalında Prof. Dr. Yurdanur AKGÜL ile lisansüstü eğitime başlamıştır. Lisansüstü eğitimini “Polygala Myrtifolia L. Bitkisinin Fitokimyasal Analizi” konusu ile tamamlamıştır.

