

278904

T.C.

HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
İĞLİK BİLİMLERİ FAKÜLTESİ

**BAZI TRİTERPENİK SAPONOZİTLERİN
KOLON KROMATOĞRAFİSİ İLE AYIRIMI
ÜZERİNDE ARAŞTIRMALAR**

**Y. LİSANS TEZİ
FARMAKOĞNOZİ PROGRAMI**

Eczacı SONGÜL BÜYÜKKARA

ANKARA - 1977

T.C.

ACETTEPE ÜNİVERSİTESİ

SALIK BİLİMLERİ FAKÜLTESİ

BAZI TRİTERPENİK SAPONİZİTLERİN KOLON
KROMATOGRAFİSİ İLE AYIRIMI ÜZERİNDE ARAŞTIRMALAR

Y. LİSANS TEZİ
FARMAKOGNOZİ PROGRAMI

Eczacı SONGÜL BÜYÜKKARA

Rehber Öğretim Üyesi
Doç. Dr. EKREM SEZİK

ANKARA - 1977

Tez konumu seçen, çalışmamı yöneten, maddi ve manevi düşünülebilecek her türlü yardım ve bilgilerinden yararlandığım kıymetli hocam Doç.Dr.Ekrem Sezik'e teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarımı yapabilmem için gerekli izni veren, desteklerini esirgemeyen Prof.Dr. Nevin Tanker ve Prof.Dr. Mekin Tanker'e teşekkürlerimi sunarım.

Araştırmamı yaptığım Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Bölümü tüm akademik personeline, başta Dr. Akın ubuku olmak üzere teşekkür ederim.

İ Ç İ N D E K İ L E R

	Sayfa no
Giriş	1
Teorik Bilgiler	3
Materyel ve Yöntem	25
Materyel	25
Yöntem	26
Bulgular	37
Tartışma ve Sonuç	53
Özet	60
Literatür	62
Tablolar	70
Madde İsimlerinin Kısaltmaları	73

G İ R İ Ş

Türkiye , Caryophyllaceae familyası bitkileri bakımından zengin bir floraya sahiptir. Anadolu ve Trakya'da 35 cins ve 500 e yakın tür yetişmektedir (14). Bu familyaya ait bitkilerin genellikle toprakaltı kısımlarında triterpenik saponozitler bulunur (4,19). Gypsophila , Saponaria , Dianthus , Silene türleri de Türkiye'de çok yaygın bulunan Caryophyllaceae fertleridir. Bu bitkilerin ham saponozitlerinin kolon kromatografisi ile fraksiyonlanması konusunda mukayeseli bir çalışma bulunmamaktadır. Mukayeseli bir çalışma yapabilmek için Gypsophila bicolor (Freyn et Sint.) Grossh. , G. eriyocalyx Boiss. , Saponaria kotschyi Boiss. , Dianthus calocephalus Boiss. , Silene dichotoma Ehrh. subsp. dichotoma Davis bitkilerine ait ham saponozitler elde edildi. Bu ham saponozitler , adsorban olarak silikajel kullanılarak kolon kromatografisine aşağıdaki hususları gerçekleştirmek üzere tatbik edildi.

1 - Saponozit ve oligoholozit fraksiyonlarını birbirinden kısa sürede ayıran sistem bulmak,

2 - Saponozit ve oligoholozitleri ayrı ayrı elde etmeye yarayacak sistemleri tespit etmek,

3 - Ham saponozitler ile esterleştirilmiş ham saponozitler arasındaki kromatografik davranış farklılıklarını incelemek.

Bu gayeyi gerçekleştirmek için 2 ayrı solvan sistemi kullanılarak , 5 türe ait ham saponozitlerin fraksiyonlanması incelenmiş ve sonuçlar mukayeseli olarak değerlendirilmiştir.

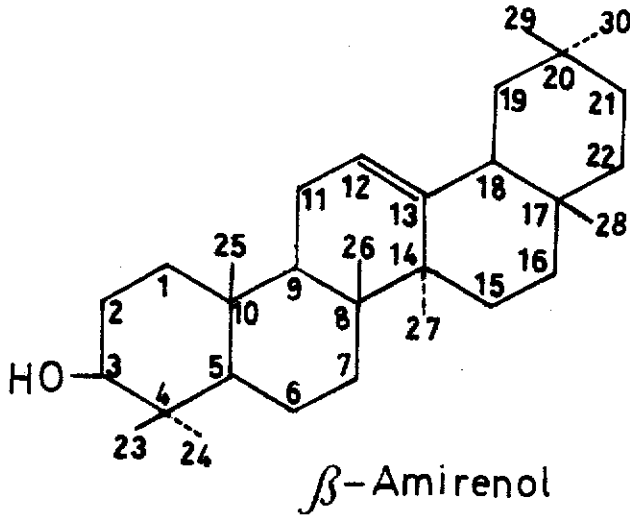
TEORİK BİLGİLER

Saponozitler , sulu çözeltileri çalkalandıkları zaman kalıcı köpük veren , kanı hemoliz eden heterozit yapısında yüzey aktif maddelerdir. Kokusuz , renksiz , buruk yakıcı lezzette ve aksırtıcıdır. Daha çok amorf halde bulunurlar.Genellikle suda , seyreltik etanol ve metanolde çözünürler. Pratik olarak aseton , kloroform , benzen , eter ve petrol eterinde çözünmezler.

Bitkiler Aleminde çok yaygındırlar.Özellikle Caryophyllaceae , Leguminosae , Primulaceae familyalarındaki bitkilerde triterpenik saponozitler çok miktardadır. Bitkilerin daha çok kök , rizom gibi toprakaltı kısımlarında (Gypsophila . Polygala türleri) rastlandığı gibi yaprak (Hedera türleri) , tohum (Aesculus hippocastanum) gövde kabukları (Quillaja saponaria) ve meyvalarda da (Gleditsia caspica) bulunabilirler (3,58).

Triterpenik saponozitlerin aglikonları değişik ya-

pılardaki triterpenlerdir. Triterpenlerde ana yapı , 30 karbon atomu taşıyan , 6 izopren ünitesinden meydana gelmiş pentasiklik bir halkadır. Moleküldeki çift bağların yerinin değişmesi , çeşitli grupların sayı ve yer değişiklikleriyle değişik yapıdaki triterpenler meydana gelir.



Triterpenik saponozitlerde ozlar , aglikona genellikle 3. karbondaki hidroksil veya 17. karbondaki karboksil grubundan bağlanırlar. Buna göre molekülde tek oz zinciri varsa monodezmozidik , iki ayrı oz zinciri varsa bisdezmozidik saponozitler meydana gelir. Ozlar düz veya dallanmış zincirler halinde dizilmişlerdir. Sonucu oz genellikle bir pentozdur (62).

Triterpenik saponozitlerin oz zincirlerinde aşağıdaki oz ve uronik asitlere rastlanır: D-glikoz , D-galaktoz , D-fruktoz , D-ksiloz , L-arabinoz , L-ramnoz , L-fukoza , D-elikuronik asit , D-galakturonik asit. Ozlar , genellikle

piranoz ve nadiren furanoz şekillerindedir. Ozların cins ve sayıları değişik saponozitlere göre farklılıklar gösterir (63).

TSCHESCHE ve ARK. saponozitleri aglikona ozların bağlanışına ve tabiatta bulunduğu canlıya göre sınıflandırmışlardır (58).

A - Monodezmozidik

Oz veya oz zinciri moleküle bir yerden bağlanmıştır. Bağlanma genellikle 3. bazen 17. karbon-dandır.

1 - Nötral Saponozitler

Aglikonda veya oz zincirinde karboksil grubu bulunmaz (siklamin , ginseng prosapogenolu).

2 - Ester Saponozitler

Aglikon organik bir asitle esterleşmiş durumdadır (eskin , senegin II).

3 - Asidik Saponozitler

a - Uronik Asit Taşıyanlar

Oz kısmında uronik asit taşıdığı için asit özellik gösteren saponozitlerdir (primulasaponin , polemoniyozit B).

b - Asit Aglikonlu Saponozitler

Aglikonunda karboksil grubu taşıdığı için asit özellik gösteren saponozitlerdir (gipsogenin glikoziti , diyantus saponin A ve B).

c - Aglikonu Asidik Olan ve Üronik Asit Taşıyan Saponozitler

Aglikonunda karboksil grubu , oz kısmında üronik asit taşıdığı için asit özellik gösterirler (glisirhizin , killayik asit glikuroniti).

4 - Açıl Saponozitler

Oz veya oz zinciri aglikona 17. karbondaki Karboksil grubundan açıl bağı ile bağlanmıştır (herniyarya saponin , asiyatikozeit).

B - Bisdezmozidik

Oz veya oz zinciri iki farklı yerden bağlanmıştır. Bu bağlanma genellikle 3. ve 28. karbondan olur.

1 - Nötral Saponozitler

Aglikon ve oz zincirinde karboksil grubu taşımazlar (heliyantozit B ve C , patrinozit C).

2 - Asidik Saponozitler

Aglikon veya oz zincirinde karboksil grubu taşırlar (diyantozit C , gipsozeit , saponazeit).

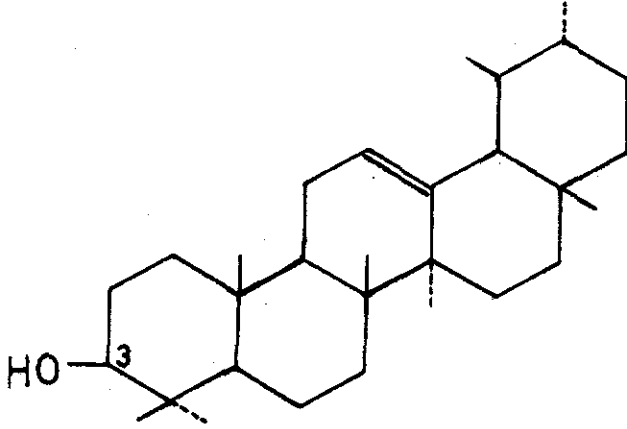
C - Hayvansal Saponozitler

Genellikle lanostan ve holostan tipi aglikon taşırlar (holoturin A). Deniz yıldızı (Asteroi-dea) ve deniz hıyarında (Holothurioida) bulunurlar (58).

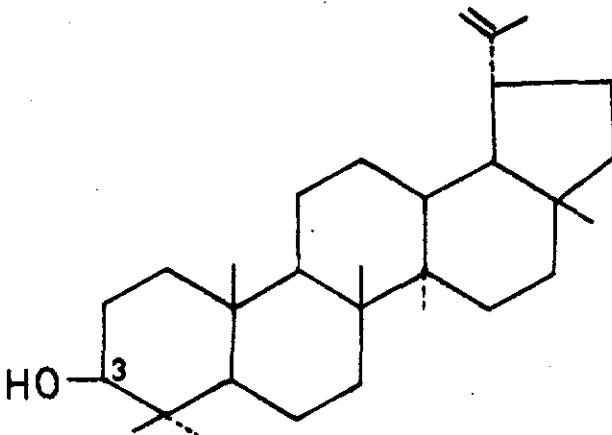
Triterpenik saponozitler sadece aglikonlarının ya-

şarlarına göre de sınıflandırılmışlardır (3).

- 1 - α -Amirenol Tipi (ursan türevi)
- 2 - β -Amirenol Tipi (oleanan türevi)
- 3 - Lupeol Tipi (lupan türevi)

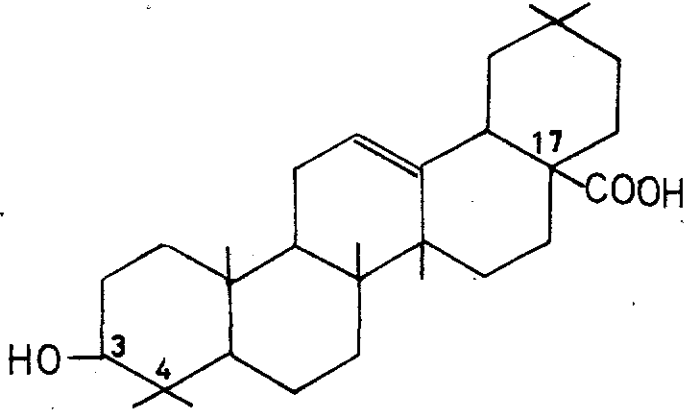


α -Amirenol



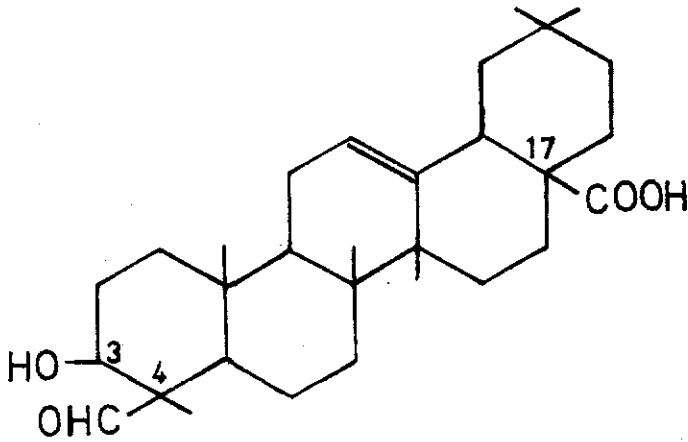
Lupeol

Triterpenik saponozitlerin aglikonları genellikle β -amirenol tipindedir. Bu tip bileşiklerden tabiatta en çok bulunan β -amirenol türevidir olan oleanolik asittir (52).



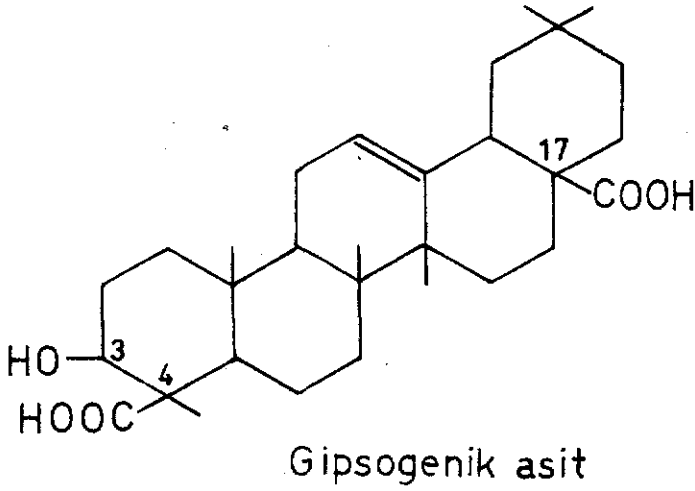
Oleanolik asit

Saponozitleri üzerinde araştırma yapılan beş bitkide literatür bilgilerine göre , genellikle gipsogenol ve bazen



Gipsogenol

gipsogenik asit aslikonuna sahip saponozitler bulunmaktadır. Bu iki madde de oleanolik asit türevidir. Bu bitkilerdeki saponozitlerin yapıları Tablo - 1 ve 2 de gösterilmiştir.



Bitki	Saponozit		Oz bağ. C	Ozlar	Sapogenol	Lit
	adi	tipi				
Gypsophila pacifica	Gipsozit	BAS	3.C 28.C	Ga,Gl,Ar,Glr Ra,Ksi(3),Fu	Gipsogenol	32, 64
G. tricho- toma	Trikozit A	BAS	3.C 28.C	Gl,Glr Ga	Gipsogenol	39
	Trikozit B	BAS	3.C 28.C	Gl,Glr Ga,Gl	Gipsogenol	37
	Trikozit C	BAS	3.C 28.C	Gl,Glr Fu,Ra,Ga	Gipsogenol	38
Saponaria officina- lis	Saponazit A	BAS	3.C 28.C	Glr Gl(3)	Gipsogenol	11
	Saponazit D	BAS	3.C 28.C	Ar,Ga,Ksi,Ra, Glr Fu,Ra,Ksi,Gl, Ga	Gipsogenol	12, 36
	Saponaro- zit	MAAS	3.C	Ksi	Gipsogenik asit	6

Tablo - 1

Araştırma Yapılan Bitkilerdeki Saponozitlerin Yapısı

(MAAS) monodezmozidik asit aslikonlu saponozitler, (BAS) bisdezmozidik asit saponozitler, (Gl) glikoz, (Ga) galaktoz, (Ksi) ksiloz, (Fu) fukoz, (Ra) ramnoz, (Ar) arabinoz, (Glr) glikuronik asit

Bitki	Saponozit		Oz bağ. C	Ozlar	Saporenol	Lit
	adı	tipi				
Silene nutans	Nutanozit	BAS	3.C 28.C	Ar,Ksi,Ga,Glr Ra,Gl(2),Fu,Ga	Gipsogenol	5
Dianthus deltoides	Diyantus saponin A	MAAS	3.C	Gl	Gipsogenik asit	9
	Diyantus saponin B	MAAS	3.C	Gl(2)	Gipsogenik asit	9
	Diyantozit C	BAS	3.C 28.C	Ga,Ksi,Glr Fu,Ksi,Ra(2) Ga,Ar	Gipsogenol	7
D.superbus var. longi- calycinus	Gipsoge- nin gli- koziti	MAAS	3.C	Gl	Gipsogenol	51

Tablo - 2

Araştırma Yapılan Bitkilerdeki Saponozitlerin Yapısı

(MAAS) monodezmozidik asit aglikonlu saponozitler, (BAS) bisdezmozidik asit saponozitler, (Gl) glükoz, (Ga) galaktoz, (Ksi) ksiloz, (Fu) fukoz, (Ra) ramnoz, (Ar) arabinoz, (Glr) glikuronik asit

İzolasyon Yöntemleri

Saponozitler su , butanol , değişik derecelerdeki etanol ve metanolde iyi çözünürler. Bu yüzden ekstraksiyonlarında metanol ve etanol en çok kullanılan solvanlardır. Saponozit taşıyan materyel , önce kloroform , petrol eteri gibi saponozitleri çözmeyen fakat lipoit özellikteki maddeleri ve serbest triterpenleri çözen solvanlarla ekstre edilir. Ön temizleme işleminden sonra , devamlı ekstraksiyon yapan cihazlarda , metanol veya etanol kullanarak ısı tatbikiyle materyel ekstre edilir. Elde edilen saponozit ekstraktı yoğunlaştırılır ve çöktürülür.

Yoğun ekstraktın soğukta bekletilmesi , saponozitin çözünmediği bir solvana ilave edilmesi veya bu solvanın saponozit ekstraktına ilavesi ile saponozitler çöktürülebilir. Bu yollardan en çok kullanılan , yoğun saponozit ekstraktının devamlı karıştırma ile , soğutulmuş, çözünmediği fakat ekstraktın çözücüsünün karılabildiği bir solvana ilavesi şeklinde yapılan çöktürmedir. Bu işlem için en uygun solvan asetondur. Asetondan başka eter , kloroform , petrol eteri gibi solvanlar da saponoziti çöktürmek için kullanılır. Çökelti , saponozit ekstraktını çöktürmede kullanılan solvan ile birkaç defa yıkanarak temizlenir ve kurutulur.

Bu işlem sonunda elde edilen karışıma ham saponozit denir. Ham saponozit oligoholozitleri , anorganik maddeleri ve flavonozitleri de taşır.

Ham saponozitlerin temizlenmesi ve saflaştırılıp sa-

saponozitlerin elde edilmesi süç olan bir işlemdir. Son senelerde saponozitlerin ayırımında kolon kromatografisi kullanılmaya başlanmıştır (63). Fakat saponozit karışımları gene de iyi bir şekilde ayrılammaktadır. Bu maddelerin asetat , benzoat ve metil ester gibi türevleri elde edilerek daha iyi ayırımlar yapılmıştır. Asidik saponozitler Na^+ ve NH_4^+ tuzları haline getirilerek kolon kromatografisi ile ayrılmışlardır (3). TSCHESCH ve WULFF asit saponozitlerin serbest karboksil gruplarını diazometan ile esterleştirmişler , kloroform:metanol:su solvan sistemini kullanarak kolon kromatografisi ile ayırmışlardır (27,53,57).

Kolon kromatografisinde adsorban olarak alüminyum oksit , silikajel , selüloz kullanılmıştır. Bunlardan başka florisit , sefadeks , kapron , poliyamit kolonlar ve iyon değıştirici reçinelerle (Dowex, KI-2 resin, EDE 10 P, amberlit) de ayırımlar yapılmıştır (62).

Saponozitler taşıdıkları çeşitli fonksiyonel gruplara göre (hidroksil, keton, aldehit, karboksil) farklı ayırımlar verirler. Nötral saponozitlerin ayırımlarında apolar solvanlar daha çok kullanılmıştır. Asidik saponozitlerin ayırımında ise değışik solvan sistemleri kullanılmıştır. Tek bir solvan kullanılabildiğı gibi bir süre sonra solvan değıştirilerek ikinci bir solvanla elüsyona devam edilebilir. Bazı durumlarda kolonun elüsyonuna apolar bir solvanla başlanır , daha sonra solvanın polaritesi artırılarak ayırma devam edilir (40,63).

Değişik adsorbanlar kullanılarak yapılan araştırmalar tablolar halinde gösterilmiştir.

solvan sistemi	oran	bitki	familya	kk	iz.ed.	lit
MeOH		Sapindus mukorossi	Sapindaceae	m	mukorozit	45
MeOH		Eryngium octophyllum	Umbelliferae	k	4 fraksiyon ^a	22
MeOH:CHCl ₃ ↓	5:95 90:10	Panax ginseng	Araliaceae	y,ç	panaksozit A,A+B	16
MeOH:CHCl ₃ ↓	30:70 70:30	panaksozit A ^b (Panax ginseng)	Araliaceae	y,ç	panaksozit A	16
MeOH:n-BuOH ^c	1:1	Bupleurum falcatum	Umbelliferae	k	saykozit I _a ,I _b	50

Tablo - 3

Triterpenik Saponozitlerin Kolon Kromatografisinde Ayırılmaları
Metanol Taşıyan Solvan Sistemleri Adsorban:Alüminyum oksit

(a) izole edilen maddelerin yapısı belli olmadığında alınan fraksiyon sayısını gösterir, (b) ham saponozitin saflaştırılması, (c) suyla doymuş, (↓) karışımın oranını ok yönünde değiştirerek elüsyon yapılması, (kk) kullanılan kısım, (iz.ed.) izole edilen madde, (m) meyva, (k) kök, (y) yaprak, (ç) çiçek, (t) tohum, (r) rizom, (h) herba, (ka) kabuk

solvan sistemi	oran	bitki	familya	kk	iz.ed.	lit
EtOH	%25	Lychnis alba	Caryophyllaceae	k	sapozozit fraksiyonu ^b	26
EtOH:n-BuOH ^c	1:1	Patrinia intermedia	Valerianaceae	k	sapozozit fraksiyonu ^b	30
EtOH:n-BuOH ^c	3:10	Aralia schmidtii	Araliaceae	k	sapozozit fraksiyonu ^b	15
EtOH:n-BuOH: %15 NH ₃	2:5:5	Patrinia intermedia	Valerianaceae	k	sapozozit fraksiyonu ^b	41
EtOH:n-BuOH: %25 NH ₃	2:10:5 2:7:5 2:5:5 2:2:5 2:1:5	aralozitler ^b (Aralia eleta)	Araliaceae	k	aralozit A, B,C (NH ₄ ⁺ tuzları)	28

Tablo - 4

Triterpenik Sapozozitlerin Kolon Kromatografisinde Ayırmaları
Etanol Taşıyan Solvan Sistemleri Adsorban:Alüminyum oksit

(a) izole edilen maddelerin yapısı belli olmadığında alınan fraksiyon sayısını gösterir, (b) ham sapozozitin saflaştırılması, (c) suyla doymuş, (↓) karışımın oranını ok yönünde değiştirerek elüsyon yapılması, (kk) kullanılan kısım, (iz.ed.) izole edilen madde, (m) meyva, (k) kök, (y) yaprak, (ç) çiçek, (t) tohum, (r) rizom, (h) herba, (ka) kabuk

solvan sistemi	oran	bitki	familya	kk	iz.ed.	lit
$n\text{-BuOH}^c:\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_3$ ↓	0:100 100:0	Panax ginseng	Araliaceae	k	panaksozit A,B,C,D,E, F	17
$n\text{-BuOH}^c:\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_3$ ↓	1:2 1:1	panaksozit ^b A+B+C	Araliaceae	k	panaksozit C	60
$n\text{-BuOH}^c:\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_3$ ↓	1:2 4:1 2:1 3:1 4:1	panaksozit ^b D+E+F (Panax gin- seng)	Araliaceae	k	panaksozit F	60
C_6H_6		Soja hispida	Leguminosae	t	saponozit fraksiyonu ^b	18
Me_2CO		Clinopodium vulgare	Labiatae	t	1 fraksi- yon ^a	33

Tablo - 5

Triterpenik Saponozitlerin Kolon Kromatografisinde Ayırımıları
Butanol Taşıyan ve Diğer Solvan Sistemleri

Adsorban:Alüminyum oksit

(a) izole edilen maddelerin yapısı belli olmadığında alınan fraksiyon sayısına gösterir, (b) ham saponozitin saflaştırılması, (c) suyla doymuş, (↓) karışımın oranını ok yönünde değiştirerek elüsyon yapılması, (kk) kullanılan kısım, (iz.ed.) izole edilen madde, (m) meyva, (k) kök, (y) yaprak, (ç) çiçek, (t) tohum, (r) rizom, (h) herba, (ka) kabuk

solvan sistemi	oran	bitki	familya	kk	iz.ed.	lit
CHCl ₃		Bupleurum falcatum	Umbelliferae	k	saykozit I _a , I _b ,II	2
CHCl ₃ :MeOH ↓ 9:1 6:1 3:1	15:1 9:1 6:1 3:1	Bupleurum falcatum	Umbelliferae	k	saykozit I _a , I _b ,I _{b2} ,II	2
CHCl ₃ :MeOH	98:2	Polygala senegae	Polygalaceae	k	saponozit fraksiyonu ^b	44
CHCl ₃ :MeOH: H ₂ O	65:35: 10	Cyclamen europaeum	Primulaceae	k	saponin a, d	55
CHCl ₃ :MeOH: H ₂ O	65:35: 10	Hedera helix	Araliaceae	y,ç	saponozit fraksiyonu ^b	59
CHCl ₃ :MeOH: H ₂ O	65:35: 10	Albizzia anthelmin-tica	Leguminosae	ka	musennin, dezgluko-musennin	54

Tablo - 6

Triterpenik Saponozitlerin Kolon Kromatografisinde Ayırımıları

Kloroform,Kloroformun Metanol ve Etanolle Karışımı Olan

Solvan Sistemleri

Adsorban:Silikajel

(a) izole edilen maddelerin yapısı belli olmadığında alınan fraksiyon sayısını gösterir, (b) ham saponozitin saflaştırılması, (c) suyla doymuş, (↓) karışımın oranını ok yönünde değiştirerek elüsyon yapılması, (kk) kullanılan kısım, (iz.ed.) izole edilen madde, (m) meyva, (k) kök, (y) yaprak, (ç) çiçek, (t) tohum, (r) rizom, (h) herba, (ka) kabuk

solvan sistemi	oran	bitki	familya	kk	iz.ed.	lit
n-BuOH:EtOH: H ₂ O	8:1:10	Agrostemma githago	Caryophylla- ceae	t	sapozozit fraksiyonu ^b	56
n-BuOH:EtOH: H ₂ O	1:1:1	Hedera pas- tuchovii	Araliaceae	y	pastuko- zit C	25
n-BuOH:EtOH: %25 NH ₃	10:2:5	leontozit ^b B+C (Leontice eversmanni)	Berberida- ceae	k	leontozit C	43
n-BuOH:EtOH: %25 NH ₃	10:2:5	leontozit ^b D+E (Leontice eversmanni)	Berberida- ceae	k	leontozit E	43
n-BuOH:EtOAc: H ₂ O	1:1:1	Sapindus mukorossi	Sapinda- ceae	m	sapozozit fraksiyonu ^b	1

Tablo - 7

Triterpenik Sapozozitlerin Kolon Kromatografisinde Ayırımıları

Butanol Taşıyan Solvan Sistemleri

Adsorban:Silikajel

(a) izole edilen maddelerin yapısı belli olmadığında alınan fraksiyon sayısını gösterir, (b) ham sapozozitin saflaştırılması, (c) suyla doymuş, (d) karışımın oranını ok yönünde değiştirerek elüsyon yapılması, (kk) kullanılan kısım, (iz.ed.) izole edilen madde, (m) meyva, (k) kök, (y) yaprak, (ç) çiçek, (t) tohum, (r) rizom, (h) herba, (ka) kabuk

solvan sistemi	oran	bitki	familya	kk	iz.ed.	lit
n-BuOH:AcOH: H ₂ O	4:1:5	Helianthus annuus	Compositae	t	heliyanto- zit C	10
sec.BuOH: AcOH:H ₂ O	15:3:7	Glycyrrhiza echinata	Leguminosae	k	saponin A,B	49
n-BuOH: C ₆ H ₅ CH ₃ MeOH	40:60 %50	Gypsophila struthium	Caryophlla- ceae	k	sapozozit fraksiyonu ^o	61
n-BuOH: ^c C ₆ H ₅ CH ₃	1:2 4:1 2:1 3:1 4:1	panaksozit ^b D+E+F (Panax ginseng)	Araliaceae	k	panaksozit F	60
n-BuOH: ^c C ₆ H ₅ CH ₃	1:2 1:1	panaksozit ^b A+B+C (Panax ginseng)	Araliaceae	k	panaksozit C	60

Tablo - 8

Triterpenik Sapozozitlerin Kolon Kromatografisinde Ayırılmaları

Butanol Taşıyan Solvan Sistemleri

Adsorban:Silikajel

(a) izole edilen maddelerin yapısı belli olmadığında alınan fraksiyon sayısını gösterir, (b) ham sapozozitin saflaştırılması, (c) suyla doymuş, (↓) karışımın oranını ok yönünde değiştirerek elüsyon yapılması, (kk) kullanılan kısım, (iz.ed.) izole edilen madde, (m) meyva, (k) kök, (y) yaprak, (ç) çiçek, (t) tohum, (r) rizom, (h) herba, (ka) kabuk

solvan sistemi	oran	bitki	familya	kk	iz.ed.	lit
n-BuOH:EtOH H ₂ O	10:2:5	Clematis manshurica	Ranuncula- ceae	h	klematozit C	29
n-BuOH:EtOH: H ₂ O	4:2:1	Arctium lappa	Compositae	k	1 fraksi- yon ^a	24
n-BuOH:EtOH: H ₂ O	1:1:1	Gypsophila capitata	Caryophylla- ceae	k	gipsozit	23
n-BuOH:C ₆ H ₅ N: H ₂ O+n-BuOH	3:1:3 +%3	Swartzia madagasca- riensis	Leguminosae	m	şvartziya saponin A,B	46, 47
n-BuOH:C ₆ H ₅ N: %3 NH ₃	7:3:10	Anabasis articulata	Chenopodia- ceae	y,ç	4 saponozit ^a	48
sec.BuOH:Bo- rat tamponu (PH:9)	1:1	Anabasis setifera	Chenopodia- ceae	y,ç	5 saponozit ^a	48

Tablo - 9

Triterpenik Saponozitlerin Kolon Kromatografisinde Ayırımları

Butanol Taşıyan Solvan Sistemleri

Adsorban:Selüloz

(a) izole edilen maddelerin yapısı belli olmadığında alınan fraksiyon sayısını gösterir, (b) ham saponozitin saflaştırılması, (c) suyla doymuş, (v) karışımın oranını ok yönünde değiştirerek elüsyon yapılması, (kk) kullanılan kısım, (iz.ed.) izole edilen madde, (m) meyva, (k) kök, (y) yaprak, (ç) çiçek, (t) tohum, (r) rizom, (h) herba, (ka) kabuk

solvan sistemi	oran	bitki	familya	kk	iz.ed.	lit
n-BuOH: gl.AcOH:H ₂ O	4:1:5	Patrinia in- termedia	Valerianaceae	k	2 fraksi- yon ^a	41
n-BuOH: gl.AcOH:H ₂ O	4:1:5	Leontice eversmannii	Berberidaceae	k	leontozit A+B, A+B C, B+C, B+C+D, B+C+D+E, C+D+E, D+E	43
n-BuOH: gl.AcOH:H ₂ O	4:1:5	Saponaria officinalis	Caryophylla- ceae	k	saponazit D	13
n-BuOH: C ₆ H ₅ CH ₃	1:9 9:1	panaksozit ^b ler(Panax ginseng)	Araliaceae	k	panaksozit A, B, A+B, A+C	16
iso-BuOH: %20 sulu Et ₂ NH-EtOH	1:1	Gypsophila pacifica	Caryophylla- ceae	k	gipsozit A+B+C	31

Tablo - 10

Triterpenik Saponozitlerin Kolon Kromatografisinde Ayırımları

Butanol Taşıyan Solvan Sistemleri

Adsorban:Selüloz

(a) izole edilen maddelerin yapısı belli olmadığında alınan fraksiyon sayısını gösterir, (b) ham saponozitin saflaştırılması, (c) suyla doymuş, (d) karışımın oranını ok yönünde değiştirerek elüsyon yapılması, (kk) kullanılan kısım, (iz.ed.) izole edilen madde, (m) meyva, (k) kök, (y) yaprak, (ç) çiçek, (t) tohum, (r) rizom, (h) herba, (ka) kabuk

solvan sistemi	oran	bitki	familya	kk	iz.ed.	lit
MeOH:EtOAc	1:9	Bupleurum falcatum	Umbelliferae	k	3 fraksi- yon ^a	34
(MeOH:CHCl ₃) +C ₆ H ₅ N	(1:9) +%1-2	Bupleurum falcatum	Umbelliferae	k	sapono- zitler ^b	35
MeOH:CHCl ₃ : C ₆ H ₅ N	20:80: 2					
MeOH:EtOAc: C ₆ H ₅ N	20:80: 2					
EtOH	%25	Lychnis alba	Caryophylla- ceae	k	1 sapono- zit ^a	26

Tablo - 11

Triterpenik Saponozitlerin Kolon Kromatografisiyle Ayırılmaları

Değişik Solvan Sistemleri

Adsorban:Florisil

(a) izole edilen maddelerin yapısı belli olmadığında alınan fraksiyon sayısını gösterir, (b) ham saponozitin saflaştırılması, (c) suyla doymuş, (d) karışımın oranını ok yönünde değiştirerek elüsyon yapılması, (kk) kullanılan kısım, (iz.ed.) izole edilen madde, (m) meyva, (k) kök, (y) yaprak, (ç) çiçek, (t) tohum, (r) rizom, (h) herba, (ka) kabuk

tipi	solvan	bitki	familya	kk	iz.ed.	lit
G 25	H ₂ O	Sanicula europae	Umbelliferae	y	saponozit- ler ^b	21
G 25	H ₂ O	Clematis manshu- rica	Ranuncula- ceae	y,ç	saponozit- ler ^b	29
G 25	H ₂ O	Patrinia inter- media	Valeriana- ceae	k	saponozit- ler ^b	30
LH 20	MeOH	Eryngium planum Sanicula europae	Umbelliferae	y	saponozit- ler ^b	20

Tablo - 12

Triterpenik Saponozitlerin Kolon Kromatografisinde Ayırımları

Su ve Metanol Taşıyan Solvanlar

Adsorban:Sefadeks

(a) izole edilen maddelerin yapısı belli olmadığında alınan fraksiyon sayısını gösterir, (b) ham saponozitin saflaştırılması, (c) suyla doymuş, (d) karışımın oranını ok yönünde değiştirerek elüsyon yapılması, (kk) kullanılan kısım, (iz.ed.) izole edilen madde, (m) meyva, (k) kök, (y) yaprak, (ç) çiçek, (t) tohum, (r) rizom, (h) herba, (ka) kabuk

iyon de- ğiřtirici	solvan sistemi	oran	bitki	familya	kk	iz.ed.	lit
Dowex-1X4	AcOH	sulu	Gypsophi- la paci- fica	Caryophyl- laceae	k	gipsozit A+B+C	31
Dowex-1X8	AcOH EtOH	% 10 % 90	Aralia schmidtii	Aralia- ceae	k	aralozit A	15
EDE-10P	MeOH: AcOH	1:1	Saponaria officina- lis	Caryophyl- laceae	k	saponaro- zit	8
EDE-10P	H ₂ O AcOH H ₂ O MeOH	% 10 % 80	Sapindus mukoros- si	Sapinda- ceae	y	sapindo- zit A	65

Tablo - 13

Triterpenik Saponozitlerin Kolon Kromatografisinde Ayırımıları

Değişik Solvan Sistemleri

İyon Değiştirici Reçineler

(a) izole edilen maddelerin yapısı belli olmadığında alınan fraksiyon sayısını gösterir, (b) ham saponozitin saflaştırılması, (c) suyla doymuş, (d) karışımın oranını ok yönünde değiştirerek elüsyon yapılması, (kk) kullanılan kısım, (iz.ed.) izole edilen madde, (m) meyva, (k) kök, (y) yaprak, (ç) çiçek, (t) tohum, (r) rizom, (h) herba, (ka) kabuk

M A T E R Y E L V E Y Ö N T E M

M a t e r y e l

Caryophyllaceae familyasından saponozit taşıyan beş bitki Haziran , Temmuz ve Ağustos aylarında çiçekli iken çeşitli bölgelerden toplandı^(d).

1 - Gypsophila bicolor (Freyn et Sint.) Groosh. : 1971 yılının 6-9 Ağustos tarihleri arasında , Van , Alaköy civarından (HÜEF - 169),

2 - Gypsophila eriocalyx Boiss. : 1969 yılının 29 Haziran tarihinde , Ankara , Keskin civarından (HÜEF - 127-114),

3 - Saponaria kotschyi Boiss. : 1975-1976 yıllarının 20-25 Haziran tarihleri arasında , Isparta - Gölcük krater gölü civarından (HÜEF - 1194),

(d) Gypsophila türleri Doç. Dr. Ekrem Sezik, Saponaria Ecz. İhsan Çalış, Silene Ecz. Gülnur Toker tarafından toplanmıştır.
(HÜEF) Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbariyumu

4 - Silene dichotoma Ehrh. subsp. dichotoma Davis : 1975-1976 yıllarının 15-20 Haziran tarihleri arasında , Ankara , Leytepe yol kenarlarından (HÜEF -978),

5 - Dianthus calocephalus Boiss. : 1975-1976 yıllarının 10-15 Temmuz tarihleri arasında , Ankara , Karagöl , Orman Binası civarından (HÜEF - 972).

Bitkilerin kökleri ayrıldı , temizlendi , açık havada kurutuldu , ince toz edildi. Elde edilen kök tozları araştırma materyeli olarak kullanıldı.

Y ö n t e m

Genel

Değişik türlere ait saponozitler birbirinden az farklılıklar gösteren yöntemlerle elde edildi. Elde edilen ham saponozitler ya doğrudan doğruya veya diazometan yardımı ile esterleştirildikten sonra silikajel doldurulmuş kolonlara tatbik edildi. Kolonların elüsyonu 3 değişik solvan sistemi ile yapıldı.

Ön Çalışmalar

Nötral bir solvan olan kloroform:metanol:su (74:23:3) ile iki kolon hazırlandı. Bu kolonlara Dianthus calocephalus ve Silene dichotoma subsp. dichotoma'dan elde edilen ham saponozitler tatbik edildi , kolonlar aynı solvanla elüe edildi ve fraksiyonlar 25 ml olarak toplandı.

Dianthus calocephalus'un ham saponozitini tatbik et-

tiğimiz kolondan (Tablo -14) maddeler ilk 35. fraksiyondan sonra gelmeye başladı , aynı solvanla elüsyona 350. fraksiyona kadar devam edildi. Tablo -15de görüldüğü gibi Silene dichotoma subsp. dichotoma'nın ham saponozitini tatbik ettiğimiz kolondan maddeler 21. fraksiyondan sonra gelmeye başladı ve 354. fraksiyona kadar devam etti.

Bu iki kolondan toplanan fraksiyonlarda maddelerin yoğunlukları azdır , diğer taraftan ayırım çok uzun sürede olmakta ve çok miktarda solvan harcanmaktadır. Bütün bunlar gözönüne alınarak solvanın polaritesinin artırılması düşünüldü ve kloroform:metanol:su (61:32:7) solvan sistemi hazırlandı. Bu sistem uygulandığında , daha hızlı bir ayırım sağlandığı görüldü ve bütün numuneler bu sisteme uygulandı. Diğer taraftan bütün numuneler n-butanol:gl. asetik asit:su (4:1:5) (10) solvan sistemine de uygulanarak ayırım gözlemlendi. Sonuç olarak araştırmanın devamında bu iki solvan sisteminin kullanılmasına karar verildi.

fr:25 ml	Fraksiyon Sayısı											
	1	41	44	51	80	106	156	192	219	229	331	350
A	40	43	50	79	105	155	191	218	228	330	349	360
●	■	■										
●		■	■	■	■							
○				■	■	■						
○						■	■					
○								■	■			
○									■	■	■	
○											■	■







Tablo - 14

Dianthus calcephalus'un Ham Saponozitinin Ayırımı

Solvan sistemi: CHCl_3 :MeOH:H₂O (74:23:3)

Adsorban:Silikajel

(A) fraksiyonlar n-BuOH:n-PrOH:gl.AcOH:H₂O (4:2:1:3) ile takip edilmiş ve gösterilen ayırım meydana gelmiştir, (fr) alınan fraksiyonların miktarı, tarama yapılmış lekeler saponozit, diğerleri oligoholozit fraksiyonuna aittir.

fr:25 ml	Fraksiyon Sayısı										
A	21	41	143	194	210	227	239	263	267	281	305
	40	142	193	209	226	238	262	266	280	304	354
											
											
											
											
											
											

Tablo - 15

Silene dichotoma subsp. dichotoma'nın Ham Saponozitinin Ayırımı

Solvan Sistemi: CHCl_3 :MeOH:H₂O (74:23:3) Adsorban: Silikajel

(A) fraksiyonlar n-BuOH:n-PrOH:gl.AcOH:H₂O (4:2:1:3) ile takip edilmiş ve pösterilen ayırım meydana gelmiştir, (fr) alınan fraksiyonların miktarı, tarama yapılmış lekeler saponozit, diğerleri oligoholozit fraksiyonuna aittir.

Ham Saponozitlerin Elde Edilmesi

Toz edilmiş materyel kloroform veya petrol eteri ile ekstre edilerek yağimsı ve reçinemsı maddelerden kurtarılır. Solvan uzaklaştırıldıktan sonra etanol veya metanol ile ekstre edilir. Elde edilen ekstrakt düşük ısı ve alçak basınçta yoğunlaştırılır. Yoğun ekstrakt ya n-butanol ile ekstre edilir , saponozit n-butanol'lü faza alınır veya soğuk aseton veya etere damlatılarak ham saponozitler çöktürülür. Çökelti , çöktürme yapılan solvan ile yıkanarak temizlenir.

Dianthus ve Silene^(e):

Toz edilmiş materyel soxhlet cihazında selüloz kartuşlarda kloroformla 16 saat devamlı ekstre edilir, kloroformlu ekstrakt alınır. Kartuş içindeki materyel havalandırılır , kloroform uzaklaştırılır ,soxhlet cihazında metanol ile 16 saat devamlı ekstre edilir. Metanollü ekstrakt düşük ısı ve alçak basınçta yoğunlaştırılır , yoğun ekstrakt soğuk asetona damlatılır , devamlı karıştırarak çökmenin düzgün olması sağlanır. Çöken kısım 3000 devirde 15 dakika santrifüje edilir , çökelti 1 defa asetonla yıkanır , vakumda kurutulur.

Saponaria^(g):

Toz edilmiş materyel soxhlet cihazında kloroformla 8 saat devamlı ekstre edilir , kloroformlu ekstrakt ayrılır , kartuştaki materyel havalandırılır , soxhlet cihazında metanol ile 8 saat devamlı ekstre edilir. Aynı işlem solvan değiştirilerek 8 saat daha tekrarlanır , iki ekstrakt birleştirilir , rotavaporda dü-

(e) Ecz. Gülnur Toker'in "Bazı Triterpenik Saponozitlerin İnce Tabaka Kromatografisi ile Tanımı Üzerindeki Araştırmalar" adlı çalışmasından elde ettiği ham saponozit, (g) Ecz. İhsan Çalış'ın "Saponaria kotschy Üzerinde Farmakognozic Araştırmalar" adlı çalışmasından elde ettiği ham saponozit.

şük ısı ve alçak basınçta kuruluğa kadar uçurulur , az miktarda su ilave edilerek çözülür , sulu çözeltili n-butanol ile sulu fazda saponozitler kalmayınca kadar ekstre edilir. Birleştirilen butanollü ekstraktlar rotavaporunda yoğunlaştırılır , yoğun butanollü ekstrakt soğuk asetona damla damla ilave edilir , devamlı karıştırılarak ham saponozit çöktürülür. Çöken kısım 3000 devirde 15 dakika santrifüje edilir , çökelek asetonla bir defa yıkanır , vakumda kurutulur.

Gypsophila^(h):

Toz edilmiş materyel petrol eteri (40-60°) ile Soxhlet cihazında 8 saat ekstre edilir , petrol eteri ekstraktı ayrılır , açık havada bırakılarak petrol eterinden kurtarılmış materyel 80°lik etanol ile 8 saat ekstre edilir , ekstrakt alınır. Bu işlem saf 80°lik etanol ile iki defa daha tekrarlanır. Etanollü ekstraktlar birleştirilir , alçak basınç ve düşük ısıda yoğunlaştırılır , soğutulmuş asetona devamlı karıştırarak damlatılır. Ham saponozit çöker , 3000 devirde 15 dakika santrifüje edilir , çökelti 2 defa daha soğuk asetonla yıkanır , santrifüje edilir , vakumda kurutulur.

(h) Doç. Dr. Ekrem Sezik'in "Çöven Veren Gypsophila Türleri Üzerinde Araştırmalar"adlı çalışmasından elde edilen ham saponozit.

Ham Saponozitlerin Esterleştirilmesi

Ham saponozitlerin diğ er maddelerden temizlenmesi oldukça güçtür. Saponozit fraksiyonu alındığında , bu fraksiyonlarda bulunan saponozitler yapıları yönünden birbirine çok benzeyebilir. Bu yüzden ayırım daha da güçleşir. Saponozit molekülünde serbest karboksil grupları varsa , seçici olarak bu gruplar esterlerine çevrilir. Böylece , polaritenin değişmesinden yararlanılarak izomer saponozitler birbirinden ayrılabilir.

Esterleştirme genellikle diazometan ile yapılır. Bu esterleştirmede önce çok toksik ve ç abuk bozunan bir madde olan diazometan hazırlanır , bununla ham saponozitler hemen esterleştirilir (27,53).

Diazometan Hazırlanması

Tuz-buz banyosu içine 250 ml lik kuru bir erlen konur, banyo manyetik karıştırıcı üzerine oturtulur. İçine 3 cm boyunda bir magnet konur , kabın içine magnetle temas etmeyecek şekilde 1/10 taksimatlı bir termometre daldırılır , soğutulmuş % 40 lik potasyum hidrok-sit çözeltisinden 35 ml ilave edilir , üzerine 100 ml soğuk eter (potasyum hidrok-sit üzerinde kurutulmuş) konur. Karışımın ısısı -5°C a ininceye kadar beklenir, 0.1 mol(10,3 g) nitrozometilüre kısım kısım ilave edilir , ısının -5°C ın üzerine çıkmamasına dikkat edilir.

Son ilaveden sonra 10 dakika daha karıştırılır , bu süre sonunda karıştırmaya son verilir , 30 dakika kendi haline bırakılır , üstteki eterli diazometan çözeltisi dekante edilerek alınır. Alttaki sulu fazın üzerine sarı renk kayboluncaya kadar gl.asetik asit ilavesi ile diazometan parçalanır ve dökülür.

Esterleştirme

400 mg ham saponozitin metanoldeki % 1 lik çözeltisi tuz-buz banyosunda soğutulur. Eterli diazometan çözeltisi bu çözelti üzerine azar azar ilave edilir , bu sırada çözeltinin sarı rengi kaybolmamalıdır, 30 dakika kendi haline bırakılır. Kromatografik olarak esterleşmemiş saponozit varlığı kontrol edilir. Metilasyon tamamlanmamışsa tekrarlanır , ortamdaki diazometanın fazlası 1-2 damla gl.asetik asit ilavesi ile uzaklaştırılır. Çökelti rotavaporda kuruluğa kadar uçurularak esterleştirilmiş ham saponozit elde edilir. Diazolanma sonucunda saponozitte bulunan serbest karboksil grupları metillenir.

. Kolon Kromatografisi

Ham saponozitten , saponozitlerin ayırımı için kolon kromatografisi kullanıldı. Daha evvelki benzer araştırmalarda genellikle alüminyum oksit ve silikajel kolonlarla çalışılmıştır. Alüminyum oksit kısmen az polar maddeler için , silikajel daha polar maddeler için kullanılır. Çalışmalarımız polar asit saponozit taşıyan materyellerle olduğu için silikajel kolonlar tercih edildi.

Normal ayırımelerde kolona tatbik edilecek madde miktarının , kolona doldurulan adsorbanın miktarına oranı 1/20-1/200 arasındadır. Daha iyi bir ayırım sağlandığı için 1/100 oranı tercih edildi.

Kolonun Doldurulması

2 cm çapında ve 20 cm boyundaki cam kolonların alt kısmına bir miktar cam pamuğu yerleştirilir , 30 g Kieselgel 0.2-0.5 mm (30-70 mesh ASTM) Merck , ayırımında kullanılacak solvan sistemi ile süspansiyon haline getirilir , cam baget yardımı ile kısımlar halinde kolona ilave edilir. Bu sırada kolonun musluğu açık tutulur , solvanın akması ve dolayısıyla homojen bir doldurma sağlanır. Adsorbanın tamamı kolona doldurulduktan sonra , üst kısımda 5-10 cm yükseklikte solvan sistemi bırakılır.

Numunenin Kolona Tatbiki

300 mg ham saponozit , az miktarda sıcak metanolde çözülür , 2 g adsorban ile süspansiyon haline getirilir , alçak basınç ve düşük ısıda kuruluğa kadar uçurulur.

Kolondaki solvan sisteminin yüksekliği 2 cm e indirilir , adsorban ile karıştırılmış numune , dikkatle

üst kısmında düzgün bir tabaka olacak şekilde , kolona ilave edilir. Kolonun kenarlarından hafif hafif vurularak hava kabarcıklarının çıkması sağlanır.

Solvan sistemi pipet yardımı ile kolonun kenarından yavaşça ilave edilir , kolon dakikada 1,5-2 ml elüsyon yapacak şekilde ayarlanır , fraksiyonlar toplanır.

Solvan Sistemleri

2 ayrı solvan sistemi , kolon kromatografisi çalışmalarımızda kullanıldı. Bu 2 sistem ham saponozitler ve bir tanesi de esterleştirilmiş ham saponozit için kullanıldığından sistemler ; S1,S2,S3 olarak isimlendirilmiştir. Sistemlerin yapısı , elüsyon sırasında alınan fraksiyonların miktarı , kullanılan materyel aşağıda gösterilmiştir.

sistem		materyel	fr.mik- tarı
kot	yapısı		
S1	n-BuOH:gl.AcOH:H ₂ O (4:1:5)	ham saponozit	10 ml
S2	CHCl ₃ :MeOH:H ₂ O (61:32:7)	ham saponozit	25 ml
S3	CHCl ₃ :MeOH:H ₂ O (61:32:7)	esterleştiril- miş ham sapo- nozit	10 ml

Kolonlardan alınan ham saponozitlere ait fraksiyonlar, Caryophyllaceae saponozitlerinde iyi bir ayırım sağlayan n-butanol:n-propanol:gl.asetik asit:su (4:2:1:3) (42) solvan sistemiyle takip edilir.

Revelasyon (lekelerin belirlenmesi) için önce fosfotungstik asitin 96° lik etanoldeki % 20 lik çözeltisi kullanılır , saponozit olabilecek lekeler bu revelatör ile belirlenir ve çalışmanın devamında sülfürik asitin sudaki % 20 lik çözeltisi kullanılır.

İnce Tabaka Kromatografisi

Her fraksiyondan 1 ml alınır , 1 damla kalıncaya kadar uçurulur , 20X20 cm ölçülerindeki Kieselgel G (Type 60) Merck , kaplı cam plaklara alttan 2cm mesafede olmak üzere eşit aralıklı 20 nokta işaretlenir , kapiler yardımı ile bu noktalara numunelerin tamamı tatbik edilir.

S1 , S2 , S3 ten alınan fraksiyonların tatbik edildiği plaklar n-butanol:n-propanol:gl.asetik asit:su (4:2:1:3) solvan sistemiyle sürüklenir. Hazırlanan solvanın yeterli miktarı kromatografi tankına konur , tankın kapağı kapatılarak 15 dakika kadar beklenir , plaklar solvana daldırılır ve solvan 15 cm yüksekliğe erişinceye kadar sürüklemeye devam edilir.







Kromatogramların Belirlenmesi

Açık havada kurutulmuş plaklara sülfürik asitin sudaki % 20 lik çözeltisi püskürtülür , 110° lik etüvde 5-10 dakika bekletilir , lekelerin görünür hale gelmesi sağlanır. Üst kısımlardaki saponozit olabilecek lekeler mor veya açık mor , alt kısımlardaki oligoholozitlere ait olabilecek lekeler siyahımsı-gri renktedir.

B U L G U L A R

Beş değişik bitkiye ait ham saponozitler ve esterleştirilmiş ham saponozitlerin kolon kromatografisine tabiki ile elde edilen neticeler tablolar halinde gösterilmiştir.

Tablolarda , saponozitlerin kromatogramı uygulandıkları sistemlerden elüe edilen fraksiyon sayısı ile karşılaştırılarak verilmiştir. Bu yüzden saponozitlerin ayırımını gösteren kromatogramlar ayrıca hazırlanmamıştır.

fr:10 ml	Fraksiyon Sayısı									
	1	21	37	46	66	88	96	114	130	146
A	20	36	45	65	87	95	113	129	145	168
6 	shaded	shaded	shaded							
5 		shaded	shaded							
4 			shaded	shaded	shaded					
3 					shaded	shaded	shaded			
2 							shaded	shaded	shaded	
1 									shaded	shaded







Tablo - 16

Gypsophila bicolor'un Ham Saponozitinin Ayırımı

Solvan sistemi:n-BuOH:gl.AcOH:H₂O (4:1:5)

Adsorban:Silikajel

(A) fraksiyonlar n-BuOH:n-PrOH:gl.AcOH:H₂O (4:2:1:3) ile takip edilmiş ve gösterilen ayırım meydana gelmiştir, (fr) alınan fraksiyonların miktarı, tarama yapılmış lekeler saponozit, diğerleri oligoholozit fraksiyonuna aittir.

fr:25 ml	Fraksiyon Sayısı									
A	4	9	19	23	35	43	59	75	119	129
	8	18	22	34	42	58	74	118	128	140
6 	shaded	shaded	shaded	shaded						
5 		shaded	shaded							
4 			shaded	shaded	shaded					
3 					shaded	shaded	shaded			
2 							shaded	shaded	shaded	
1 									shaded	shaded





























Tablo - 17

Gypsophila bicolor'un Ham Saponozitinin Ayırımı

Solvan sistemi: CHCl_3 :MeOH:H₂O (61:32:7)

Adsorban: Silikajel

(A) fraksiyonlar n-BuOH:n-PrOH:gl.AcOH:H₂O (4:2:1:3) ile takip edilmiş ve gösterilen ayırım meydana gelmiştir, (fr) alınan fraksiyonların miktarı, tarama yapılmış lekeler saponozit, diğerleri oligoholozit fraksiyonuna aittir.

fr:10 ml	Fraksiyon Sayısı												
	3	4	12	14	48	56	67	91	111	207	231	307	353
A		11	13	47	55	66	90	110	206	230	306	352	380
7 													
6 													
5 													
4 													
3 													
2 													
1 													








Tablo - 18

Gypsophila bicolor'un Esterleştirilmiş Ham Saponozitinin Ayırımı

Solvan sistemi: $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}$ (61:32:7)

Adsorban: Silikajel

(A) fraksiyonlar n-BuOH:n-PrOH:gl.AcOH:H₂O (4:2:1:3) ile takip edilmiş ve gösterilen ayırım meydana gelmiştir, (fr) alınan fraksiyonların miktarı, tarama yapılmış lekeler saponozit, diğerleri oligoholozit fraksiyonuna aittir.

fr:10 ml	Fraksiyon Sayısı										
A	5	13	22	35	40	49	79	85	121	127	198
	12	21	34	39	48	78	84	120	126	197	204
7 											
6 											
5 											
4 											
3 											
2 											
1 											

Tablo - 19

Gypsophila eriocalyx'in Ham Saponozitinin Ayırımı

Solvan sistemi:n-BuOH:gl.AcOH:H₂O (4:1:5)

Adsorban:Silikajel

(A) fraksiyonlar n-BuOH:n-PrOH:gl.AcOH:H₂O (4:2:1:3) ile takip edilmiş ve gösterilen ayırım meydana gelmiştir, (fr) alınan fraksiyonların miktarı, tarama yapılmış lekeler saponozit, diğerleri oligoholozit fraksiyonuna aittir.

fr:25 ml	Fraksiyon Sayısı									
A	3	7	23	37	45	50	78	98	142	164
	6	22	36	44	49	77	97	141	163	167
7										
6										
5										
4										
3										
2										
1										










Tablo - 20

Gypsophila ericalyx'in Ham Saponozitinin Ayırımı

Solvan sistemi: CHCl_3 :MeOH:H₂O (61:32:7)

Adsorban: Silikajel

(A) fraksiyonlar n-BuOH:n-PrOH:gl.AcOH:H₂O (4:2:1:3) ile takip edilmiş ve gösterilen ayırım meydana gelmiştir, (fr) alınan fraksiyonların miktarı, tarama yapılmış lekeler saponozit, diğerleri oligoholozit fraksiyonuna aittir.

fr:10 ml	Fraksiyon Sayısı													
A	3	4	6	8	9	19	20	51	55	69	81	139	221	279
		5	7		18		50	54	68	80	138	220	278	340
9 	shaded	shaded												
8 	shaded	shaded	shaded	shaded										
7 		shaded	shaded	shaded	shaded	shaded								
6 				shaded	shaded	shaded	shaded							
5 						shaded	shaded	shaded	shaded					
4 									shaded	shaded				
3 											shaded	shaded		
2 												shaded	shaded	
1 														shaded







Tablo - 21

Gypsophila eriocalyx'in Esterleştirilmiş Ham Saponozitinin Ayırımı

Solvan sistemi: CHCl_3 :MeOH:H₂O (61:32:7)

Adsorban: Silikajel

(A) fraksiyonlar n-BuOH: n-PrOH:gl.AcOH:H₂O (4:2:1:3) ile takip edilmiş ve gösterilen ayırım meydana gelmiştir, (fr) alınan fraksiyonların miktarı, tarama yapılmış lekeler saponozit, diğerleri oligoholozit fraksiyonuna aittir.

fr:10 ml	Fraksiyon Sayısı								
	4	15	34	51	79	125	158	165	213
A	14	33	50	78	124	157	164	212	220
6 	shaded	shaded	shaded						
5 		shaded	shaded						
4 			shaded	shaded					
3 				shaded	shaded	shaded			
2 						shaded	shaded	shaded	
1 								shaded	shaded







Tablo - 22

Silene dichotoma subsp. dichotoma'nın Ham Saponozitinin Ayırımı

Solvan sistemi:n-BuOH:gl.AcOH:H₂O (4:1:5)

Adsorban:Silikajel

(A) fraksiyonlar n-BuOH:n-PrOH:gl.AcOH:H₂O (4:2:1:3) ile takip edilmiş ve gösterilen ayırım meydana gelmiştir, (fr) alınan fraksiyonların miktarı, tarama yapılmış lekeler saponozit, diğerleri oligoholozit fraksiyonuna aittir.

fr:25 ml	Fraksiyon Sayısı									
	8	13	23	41	47	51	79	106	120	158
A	12	22	40	46	50	78	105	119	157	167
6 	shaded	shaded	shaded	shaded	shaded					
5 		shaded								
4 			shaded	shaded						
3 				shaded	shaded	shaded	shaded			
2 							shaded	shaded	shaded	
1 									shaded	shaded









Tablo - 23

Silene dichotoma subsp. dichotoma'nın Ham Saponozitinin Ayırımı

Solvan sistemi: CHCl_3 :MeOH:H₂O (61:32:7)

Adsorban: Silikajel

(A) fraksiyonlar n-BuOH:n-PrOH:gl.AcOH:H₂O (4:2:1:3) ile takip edilmiş ve gösterilen ayırım meydana gelmiştir, (fr) alınan fraksiyonların miktarı, tarama yapılmış lekeler saponozit, diğerleri oligoholozit fraksiyonuna aittir.

fr:10 ml	Fraksiyon Sayısı													
A	6	7	8	12	19	26	37	48	55	91	131	195	233	327
			11	18	25	36	47	54	90	130	194	232	326	364
8 	shaded	shaded	shaded											
7 		shaded	shaded	shaded	shaded									
6 			shaded	shaded	shaded	shaded	shaded							
5 					shaded	shaded	shaded	shaded						
4 							shaded	shaded	shaded					
3 									shaded	shaded	shaded			
2 											shaded	shaded	shaded	
1 													shaded	shaded

Tablo - 24


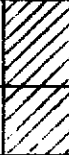




















Silene dichotoma subsp. dichotoma'nın

Esterleştirilmiş Ham Saponozitinin Ayırımı

Solvan sistemi: CHCl_3 :MeOH:H₂O (61:32:7)

Adsorban: Silikajel

(A) fraksiyonlar n-BuOH:n-PrOH:gl.AcOH:H₂O (4:2:1:3) ile takip edilmiş ve gösterilen ayırım meydana gelmiştir, (fr) alınan fraksiyonların miktarı, tarama yapılmış lekeler saponozit, diğerleri oligoholozit fraksiyonuna aittir.

fr:10 ml	Fraksiyon Sayısı								
A	7	29	37	58	70	86	98	126	181
	28	36	57	69	85	97	125	180	210
7 									
6 									
5 									
4 									
3 									
2 									
1 									
























Tablo - 25

Saponaria kotschy'nin Ham Saponozitinin Ayırımı

Solvan sistemi:n-BuOH:gl.AcOH:H₂O (4:1:5)

Adsorban:Silikajel

(A) fraksiyonlar n-BuOH:n-PrOH:gl.AcOH:H₂O (4:2:1:3) ile takip edilmiş ve gösterilen ayırım meydana gelmiştir, (fr) alınan fraksiyonların miktarı, tarama yapılmış lekeler saponozit, diğerleri oligoholozit fraksiyonuna aittir.

fr:25 ml		Fraksiyon Sayısı							
A		5	10	23	30	43	49	71	150
		9	22	29	42	48	70	149	165
7									
6									
5									
4									
3									
2									
1									






























Tablo - 26

Saponaria kotschyi'nin Ham Saponozitinin Ayırımı

Solvan sistemi: CHCl_3 :MeOH:H₂O (61:32:7)

Adsorban:Silikajel

(A) fraksiyonlar n-BuOH:n-PrOH:gl.AcOH:H₂O (4:2:1:3) ile takip edilmiş ve gösterilen ayırım meydana gelmiştir, (fr) alınan fraksiyonların miktarı, tarama yapılmış lekeler saponozit, diğerleri oligoholozit fraksiyonuna aittir.

fr:10 ml	Fraksiyon Sayısı											
A	5 12	13	14 20	21 58	59 64	65 101	102 126	127 215	216 235	236 330	331 381	382 395
7 												
6 												
5 												
4 												
3 												
2 												
1 												

Tablo - 27

Saponaria kotschy'nin Esterleştirilmiş Ham Saponozitinin

Ayırımı

Solvan sistemi: CHCl_3 :MeOH:H₂O (61:32:7)

Adsorban: Silikajel

(A) fraksiyonlar n-BuOH:n-PrOH:gl.AcOH:H₂O (4:2:1:3) ile takip edilmiş ve gösterilen ayırım meydana gelmiştir, (fr) alınan fraksiyonların miktarı, tarama yapılmış lekeler saponozit, diğerleri oligoholozit fraksiyonuna aittir.

fr:10 ml	Fraksiyon Sayısı								
A	7 12	13 24	25 37	38 42	43 54	55 85	86 123	124 180	181 196
7	■								
6	■	■	■						
5		■	■	■					
4			■	■	■	■			
3						■	■		
2							■	■	
1								■	■

Tablo - 28

Dianthus calcephalus'un Ham Saponozitinin Ayırımı

Solvan sistemi:n-BuOH:gl.AcOH:H₂O (4:1:5)

Adsorban:Silikajel

(A) fraksiyonlar n-BuOH:n-PrOH:gl.AcOH:H₂O (4:2:1:3) ile takip edilmiş ve gösterilen ayırım meydana gelmiştir, (fr) alınan fraksiyonların miktarı, tarama yapılmış lekeler saponozit, diğerleri oligoholozit fraksiyonuna aittir.

fr:25 ml	Fraksiyon Sayısı									
A	7 10	11 18	19 21	22 49	50 86	87 112	113 134	135 152	153 171	172 180
7	■									
6	■	■								
5		■	■							
4				■	■	■				
3					■	■	■			
2						■	■	■	■	
1									■	■

Tablo - 29

Dianthus calcephalus'un Ham Saponozitinin Ayırımı

Solvan sistemi: CHCl_3 :MeOH:H₂O (61:32:7)

Adsorban: Silikajel

(A) fraksiyonlar n-BuOH:n-PrOH:gl.AcOH:H₂O (4:2:1:3) ile takip edilmiş ve gösterilen ayırım meydana gelmiştir, (fr) alınan fraksiyonların miktarı, tarama yapılmış lekeler saponozit, diğerleri oligoholozit fraksiyonuna aittir.

fr:10 ml	Fraksiyon Sayısı													
A	3	4	5	8	14	17	67	101	131	189	231	323	351	379
			7	13	16	66	100	130	188	230	322	350	378	403
8	■	■	■											
7		■	■	■										
6			■	■	■	■								
5						■	■	■						
4								■	■	■				
3										■	■			
2												■	■	
1													■	■

Tablo - 30

Dianthus calcephalus'un Esterleştirilmiş Ham Saponozitinin Ayırımı

Solvan sistemi: CHCl_3 :MeOH:H₂O (61:32:7)

Adsorban: Silikajel

(A) fraksiyonlar n-BuOH:n-PrOH:gl.ACOH:H₂O (4:2:1:3) ile takip edilmiş ve gösterilen ayırım meydana gelmiştir, (fr) alınan fraksiyonların miktarı, tarama yapılmış lekeler saponozit, diğerleri oligoholozit fraksiyonuna aittir.

T A R T I Ő M A V E S O N U Ő

Kullanılan sistemlerin birbiriyle karşılaştırılmasında , řu hususlar gözönünde tutuldu:

1 - Sistemin saponozit ve oligoholozit fraksiyonlarını ayırma süresi ve bu ayırım sırasında kullanılan solvan miktarı ,

2 - Sistemin saponozit ve oligoholozitleri birbirinden ayırabilme özelliği ve bu ayırımı yaparken sarfedilen zaman ve solvan miktarı.

Fraksiyonlama yapılırken bütün sistemlerden 1 dakikada 1,5-2 ml elüat alınmasına dikkat edilmişti. Bu yüzden az miktarda solvan kullanılarak meydana gelen bir ayırımın, fazla kullanılabana göre , daha kısa sürede olacağı tabiidir. Dolayısıyla hesaplamalarda daha kesin olan , elüsyon sonucu alınan solvan miktarı gözönünde tutulmuştur.

Sistemlerin karşılaştırılmasını sağlamak için fraksiyonların ve maddelerin ayrılmasını , bunlara sarfedilen

solvan miktarlarını gösteren tablolar hazırlanmıştır (Tablo- 31,32).

Solvan Sistemleri	Gypsophila bicolor						Gypsophila eriocalyx					
	Saponozit fr			Oligohol.fr			Saponozit fr			Oligohol.fr		
	a	b	c ml	a	b	c ml	a	b	c ml	a	b	c ml
n-BuOH:gl.AcOH:H ₂ O (4:1:5)	B6	-	450	B1 B2 B3 B4	B5	1230	E6	E7	340	E1 E2 E3 E5	E4	1700
CHCl ₃ :MeOH:H ₂ O (61:32:7)	B6	-	860	B1 B2 B3	B4 B5	2650	E7	E6	1100	E1 E2 E3	E4 E5	3075
CHCl ₃ :MeOH:H ₂ O (61:32:7)	EB7	EB6	470	EB1 EB2 EB3 EB4 EB5	EB6	3300	-	EE6 EE7	500	EE1 EE2 EE3 EE4 EE5	-	2900

Tablo -31

Sistemlere Göre Ayırımın Karşılaştırılması

(B) G. bicolor ham saponoziti için verilen kot, (EB) esterleştirilmiş G. bicolor ham saponoziti kotu, (E) G. eriocalyx ham saponoziti için verilen kot, (EE) esterleştirilmiş G. eriocalyx ham saponoziti kotu, lekeler n-butanol:n-propanol:gl.asetik asit:su (4:2:1:3) solvan sistemindeki sürüklemeye göre numaralanmıştır, (a) ayrılan, (b) ayrılmayan, (c) sarfedilen solvan, (fr) fraksiyonu.

Gypsophila türlerinin ayırımında n-butanol:gl.asetik asit:su (4:1:5) (S1) solvan sistemi ile toplam elüatın 1/4-1/6 i kadar solvan kullanılarak saponozit fraksiyonu alınmıştır. Fraksiyonlama sırasında saponozitler ayrı ayrı elde edilebilmişlerdir. Saponozitlerin yoğun olarak geldikleri bu fraksiyonlar G. bicolor'da ilk 20 (Tablo-16), G. eriocalyx'te ise 13-21. fraksiyonlardır (Tablo-19). Yani elüyonun

başlanıcında elde edilmektedir. Aynı sistemde oligoholozitlerin büyük kısmı da ayrılmaktadır.

Kloroform:metanol:su (61:32:7) (S2) solvan sistemi, Gypsophila ham saponozitlerindeki saponozit fraksiyonunun, toplam elüatın 1/4 i kadar solvan kullanılarak alınmasını sağlamıştır. Fakat elüsyonda kullanılan toplam solvan miktarı fazladır. Bu yüzden saponozit fraksiyonu n-butanol: gl.asetik asit:su (4:1:5) solvan sisteminden daha uzun sürede alınmıştır. Bu sistemde de saponozitler ayrı ayrı elde edilmişlerdir. Tek buldukları fraksiyon sayısı dördtür (4X25:100 ml). Bu sistemde oligoholozitlerin üçü birbirinden ayrı olarak elde edilebilmiş , ayrılamayan oligoholozit sayısı ikiye yükselmiştir.

Gypsophila türlerinin esterleştirilmiş ham saponozitlerinin kloroform:metanol:su (61:32:7) (S3) solvan sistemi ile ayırımında , saponozit fraksiyonu toplam elüatın 1/7-1/8 i kadar solvan kullanılarak elde edilmiştir. Toplam elüatın miktarı (S1) sisteminde kullanılanlardan fazladır. Bu sistem saponozitlerin ayırımına (S2) sistemine göre fazla bir farklılık getirmemiştir. Aynı sistem oligoholozitlerin fraksiyonlamasında 2 maddenin daha ayrılmasını sağlamıştır.

Yukarda açıklanan ayırımla ilgili bilgilerden sonra Gypsophila türlerinin ham saponozitlerinin , saponozit fraksiyonunun elde edilmesi , saponozit ve oligoholozitlerinin kısa sürede ayrılması için n-butanol:gl.asetik asit:su (4:1:5) (S1) solvan sistemi uygun bir sistem olarak belirlemektedir.

n-Butanol:gl.asetik asit:su (4:1:5) (S1) solvan sistemi ile Silene dichotoma subsp. dichotoma'nın saponozit fraksiyonu , toplam elüatın 1/4 i kadar solvan kullanılarak alınmış ve ham saponozitteki saponozit te 11 fraksiyonda saf olarak elde edilmiştir. Oligoholozit fraksiyonunda da 5 maddeden üçü saf halde fraksiyonlanabilmiştir.

Solvan Sistemleri	Silene dichotoma						Saponaria kotschyi						Dianthus calocephalus					
	Saponozit fr			Oligohol.fr			Saponozit fr			Oligohol.fr			Saponozit fr			Oligohol.fr		
	a	b	c ml	a	b	c ml	a	b	c ml	a	b	c ml	a	b	c ml	a	b	c ml
n-BuOH:gl.AcOH:H ₂ O (4:1:5)	D6	-	500	D1 D2 D3	D4 D5	1700	-	K6 K7	360	K1 K3 K4	K2 K5	1740	-	C6 C7	370	C1 C4 C5	C2 C3	1590
CHCl ₃ :MeOH:H ₂ O (61:32:7)	D6	-	1250	D1 D2 D3	D4 D5	2975	-	K6 K7	1050	K1 K2 K3	K4 K5	3705	-	C6 C7	450	C1 C2 C4 C5	C3	4050
CHCl ₃ :MeOH:H ₂ O (61:32:7)	ED8	ED6 ED7	470	ED1 ED2 ED3	ED4 ED5	3170	EK6 EK7	580	EK1 EK2 EK3 EK4	EK5	3370	EC6 EC7 EC8	660	EC1 EC2 EC3 EC4 EC5	-			3370

Tablo - 32

Sistemlere Göre Ayırımın Karşılaştırılması

(D) S.dichotoma ham saponoziti için verilen kot, (ED) esterleştirilmiş S.dichotoma ham saponoziti kotu, (K) S.kotschyi ham saponoziti için verilen kot, (EK) esterleştirilmiş S.kotschyi ham saponoziti kotu, (C) D.calocephalus ham saponoziti için verilen kot, (EC) esterleştirilmiş D.calocephalus ham saponoziti kotu, lekeler n-butanol:n-propanol:gl.asetik asit:su (4:2:1:3) solvan sistemindeki sürüklemeye göre numaralanmıştır, (a) ayrılan, (b) ayrılmayan, (c) sarfedilen solvan, (fr) fraksiyonu.

Kloroform:metanol:su (61:32:7) (S2) solvan sistemi kullanıldığında saponozit fraksiyonu toplam elüatın 1/3 i kadar solvan kullanılarak alınmıştır. Bu sistemde saf saponozit tek başına 5 fraksiyonda alınmıştır. Oligoholozitlerin ayırımında (S1) e göre herhangi bir değişiklik olmamıştır.

Esterleştirilmiş ham saponozitler kloroform:metanol:su (61:32:7) (S3) solvan sistemine uygulandığında oligoholozitlerin ayırımında büyük bir farklılık görülmemektedir. Saponozitlerin 1 tanesi ayrılmış , diğerleri karışık olarak elde edilebilmiştir. Saponozit fraksiyonu , toplam elüatın 1/8 i civarındadır.

Yukarda belirtilen hususlar Silene dichotoma subsp. dichotoma saponozitlerinin ayırımında n-butanol:gl.asetik asit:su (4:1:5) solvan sisteminin uygun bir ayırım sağlayabileceğini göstermektedir. Kloroform:metanol:su (61:32:7) solvan sistemi kullanılarak , sadece saponozit fraksiyonunun alınması da , bu fraksiyonun kısa sürede elde edilmesi bakımından düşünülmelidir.

Saponaria kotschy ve Dianthus calocephalus türlerinin ham saponozitlerinin , kullandığımız solvan sistemleri karşısındaki kromatografik davranışları arasında , benzerlik bulunmaktadır. Bu yüzden beraberce tartışılacaktır.

n-Butanol:gl.asetik asit:su (4:1:5) solvan sistemi ile saponozit fraksiyonu , toplam elüatın , Saponaria kotschyi'de 1/6 i , Dianthus calocephalus'ta 1/5 i kadar solvan sarfı ile elde edilmiştir. Saponozitler bu fraksiyonlama sırasında beraberce sürüklenmiş , ayrılmamışlardır. Bu sistem kullanıldığında oligoholozit fraksiyonundaki ayırım iyi değildir. Saponaria kotschyi'de 3 , Dianthus calocephalus'ta ancak 2 madde saf olarak ayrılabilmiştir.

Kloroform:metanol:su (61:32:7) solvan sistemi kullanıldığında saponozit fraksiyonu , toplam elüatın , Dianthus calocephalus'ta 1/10 i , Saponaria kotschyi'de 1/4 i kadar solvan kullanılması sonucunda elde edilmiş , saponozitler birbirinden ayrılmamıştır. Oligoholozitlerin ayırımında da büyük farklılıklar bulunmamaktadır. Dianthus calocephalus'ta 1 oligoholozit daha ayrılmıştır.

Esterleştirilmiş ham saponozitlerin ayırımında saponozit fraksiyonu , toplam elüatın 1/6 ve 1/7 i kadar solvan kullanılarak elde edilmiştir. Her iki numune de birer ester saponozit saf olarak alınmıştır. Oligoholozitler ise iyi bir ayırma uğramamıştır. Saponaria kotschyi'de 4 , Dianthus calocephalus'ta 5 oligoholozit saf olarak elde edilebilmiştir.

Yukardaki bilgiler , Saponaria kotschyi ve Dianthus calocephalus ham saponozitlerinin ayırımı için n-butanol:

gl.asetik asit:su (4:1:5) solvan sisteminin , saponozit fraksiyonunu almak için uygun olacağını , oligoholozitlerin ayırımı için bu sistem yanında kloroform:metanol:su (61:32:7) solvan sisteminin de kullanışlı olduğunu ortaya koymuştur.

Tartışmamız sonucu olarak Gypsophila bicolor , G. eriocalyx , Saponaria kotschyi , Silene dichotoma subsp. dichotoma ve Dianthus calocephalus ham saponozitlerinin fraksiyonlanması için n-butanol:gl.asetik asit:su (4:1:5) solvan sistemi uygun bir sistem olarak ortaya çıkmaktadır. Silikajel kolonlarda bu sistem saponozit fraksiyonunun ve bazı saponozitlerin kısa sürede elde edilmesini sağlamaktadır. Kloroform:metanol:su (61:32:7) solvan sistemi ile saponozit fraksiyonu daha uzun sürede ayrılmaktadır. Fakat yaptığı ayırım iyidir. Ham saponozitlerin esterleştirilmesi kloroform:metanol:su (61:32:7) solvan sistemi kullanıldığında, benzer yapıdaki saponozitlerin de birbirinden ayrılmasını sağlamaktadır. Esterleştirme işleminin oligoholozitlerin ayrılmasına herhangi bir etkisi bulunmamaktadır.

Gypsophila bicolor , G. eriocalyx , Silene dichotoma subsp. dichotoma , Saponaria kotschyi ve Dianthus calocephalus türlerine ait ham saponozitlerin , saponozit ve oligoholozit fraksiyonlarının n-butanol:gl.asetik asit:su (4:1:5) solvan sistemi ile ayrılması , daha ileri bir ayırım için ise saponozit fraksiyonunun esterleştirdikten sonra , kloroform:metanol:su (61:32:7) sistemi ile araştırma yapılan bitkilerdeki saponozitlerin ayrılmasının uygun olacağı sonucuna varılmıştır.

Ö Z E T

Gypsophila bicolor (Freyne et Sint) Grossh., G. erio-
calyx Boiss., Saponaria kotschyi Boiss., Silene dichotoma
Ehrh. subsp. dichotoma Davis ve Dianthus calocephalus Boiss.
(Caryophyllaceae) bitkilerinden elde edilen ham saponozitlerin
kolon kromatografisi ile ayırımları araştırıldı. Elde edilen
ham saponozitler , silikajel doldurulmuş kolonlara tatbik e-
dildi. Ayırımlarda n-butanol:gl.asetik asit:su (4:1:5) ve klo-
roform:metanol:su (61:32:7) solvan sistemleri kullanıldı. Di-
ğer taraftan benzer yapıdaki saponozitleri ayırabilmek için,
ham saponozitler esterleştirildi. Serbest karboksil grupları
esterleştirilen ham saponozitlerin kloroform:metanol:su (61:
32:7) solvan sistemi ile olan ayırımları incelendi.

n-Butanol:gl.asetik asit:su (4:1:5) solvan sistemi i-
le saponozit fraksiyonu ve bazı saponozitler kısa sürede ay-
rıldı. Kloroform:metanol:su (61:32:7) solvan sistemi ile da-
ha uzun sürede , iyi bir ayırım vermektedir. Esterleştirilmiş
ham saponozitlerin kloroform:metanol:su (61:32:7) solvan siste-

mi ile yapılan ayırımlarda benzer yapıdaki saponozitler birbirinden ayrıldı , oligoholozitlerin ayrılmasında esterleştirirmenin etkisi olmadı.

Araştırma yapılan bitkilere ait ham saponozitlerin , saponozit ve oligoholozit fraksiyonlarının n-butanol:gl.asetik asit:su (4:1:5) solvan sistemi ile ayrılması ,daha ileri bir ayırım için ise saponozit fraksiyonunun esterleştirildikten sonra , kloroform:metanol:su (61:32:7) sistemi ile araştırma yapılan bitkilerdeki saponozitlerin ayrılmasının uygun olacağı sonucuna varılmıştır.

L I T E R A T U R

1. Agarwal, S.K., Rastogi, R.P., Triterpenoid Saponins and Their Genins, *Phytochemistry*, 13, 2623 (1974).
2. Aimi, N., Fujimoto, H., Shibata, S., Chemical Studies on Oriental Plant Drugs. XVIII. Constituents of Bupleurum spp.
3. Saikogenins E and G, *Chem. pharm. El.*, 16, 641 (1968).
Ref.: CA, 69, 30074u (1969).
3. Basu, N., Rastogi, R.P., Triterpenoid Saponins and Sapogenins, *Phytochemistry*, 6, 1249 (1967).
4. Boiteau, P., Ratsimamanga, A.R., Pasich, M.B., *Les Triterpenoids en Physiologie Vegetale et Animale*, Gauthier-Villars, Paris (1964).
5. Bukharov, V.G., Karneeva, L.N., Structure of Nutanoside, *Khim. Prir. Soedin.*, 7, 412 (1971). Ref.: CA, 75, 152040z (1971).
6. Bukharov, V.G., Shcherbak, S.P., Triterpen Glycosides from Saponaria officinalis, *ibid.*, 5, 389 (1969).
7. *idem.*, Triterpenoid Glycosides from Dianthus deltoides II.

- Structure of Diantoside C, *ibid.*, 7, 420 (1971).
8. *idem.*, Gypsogenic Acid Glycoside from Saponaria officinalis, *Izv. Akad. S.S.S.R. Ser. Khim.*, 1969, 137 (1969).
 9. Bukharov, V.G., Shcherbak, S.P., Beshchekova, A.P., Triterpenoid Glycosides of Dianthus deltoides I., *Khim. Prir. Soedin.*, 7, 33 (1971).
 10. Chirva, V.J., Cheban, P.L., Lazurjevsky, G.V., Sun Flower Saponins, *ibid.*, 4, 140 (1968). Ref.: CA, 69, 41746r (1969).
 11. Chirva, V.J., Kintya, P.K., Structure of Saponaside A, *ibid.*, 5, 188 (1969).
 12. *idem.*, Structure of Saponaside D, *ibid.*, 6, 214 (1970).
 13. Chirva, V.J., Kintya, P.K., Lazurjevski, G.V., Triterpene Glycosides of Saponaria officinalis, *ibid.*, 5, 5960 (1969).
 14. Davis, P.H., *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, cilt 2, Robert Cunningham and Sons Ltd., Edinburg (1975).
 15. Eljakov, G.B., Khorlin, A.J., Strigina, L.I., Kochetkov, N.K., Triterpene Saponins III. Araloside A from Aralia schmidtii, *Izv. Akad. S.S.S.R. Ser. Khim.*, 1962, 1605 (1962). Ref.: CA, 58, 4604e (1963).
 16. *idem.*, Glycosides from Ginseng Roots, *ibid.*, 1962, 2054 (1962). Ref.: CA, 58, 9218f (1963).
 17. Eljakov, G.B., Strigina, L.I., Uvarova, N.I., Vaskovskii, V.E., Dzizenko, A.K., Kochetkov, N.K., Glycosides of Ginseng

- Roots, Tetrahedron Letters, 1964, 3591 (1964).
18. Gestetner, E., Birk, Y., Bondi, A., Tencer, Y., Soybean Saponins VII, Phytochemistry, 5, 803 (1966).
 19. Hefnauer, R., Chemotaxonomie der Pflanzen, cilt 3, Birk Hauser Verlag, Basel und Stuttgart (1964).
 20. Hiller, K., Erica, F., Isolating Antimycotically Active Saponin Mixtures from Umbellifers, Ger. (East), 114, 256 (cl. 07 G 167/40), 20 Jul 1975, Appl. 180, 025, 22 Jul 1974. Ref.: CA, 85, 83220a (1975).
 21. Hiller, K., Linzer, B., Pfeizer, S., Constituents of Several Saniculoideae. Saponins of Sanicula europaea, Pharmazie, 21, 182 (1966).
 22. Ikramov, M., Khazanovich, R.L., Khalmatov, K., Extraction and Study of Saponins from Roots of Eryngium octophyllum, Mater. Yubileinoi Resp. Nauchn. Konf. Farm. Posuyashch. 50-Letiyu Obraz. S.S.S.R., 39 (1972). Ref.: CA, 82, 167492s (1975).
 23. Iskenderov, G.B., Aliev, R.K., Libisov, N.S., Saponins from Gypsophila capitata, Farmaciya, 16, 29 (1967).
 24. Ismailov, A.I., Iskenderov, G.B., Saponin Containing Plants from the Azerbaidzhan Flora, Biol. Nauki, 3, 92 (1968). Ref.: CA, 69, 690z (1969).
 25. Ismailov, A.I., Iskenderov, G.B., Akhmedov, V.K., Triterpene Glycosides in Ivy (Hedera pastuchovii) Leaves, ibid., 11,

- 95 (1969). Ref.: CA, 72, 63584a (1970).
26. Karlis, K., Phytochemical Study of Lychnis alba Saponin, J. pharm. Sci., 51, 352 (1962). Ref.: CA, 57, 954a (1962).
27. Kawasaki, T., Miyahara, K., Structure of Yononin, Chem. pharm. Bl., 11, 1546 (1963).
28. Khorlin, A.J., Bakinovskii, L.V., Vaskovskii, V.E., Aralosides A, B, and C from Aralia elata, Izv. Akad. S.S.S.R. Ser. Khim., 1964, 1338 (1964). Ref.: CA, 61, 16344e (1964).
29. Khorlin, A.J., Chirva, V.M., Kochetkov, N.K., Clematoside C, a Triterpene Oligoside from the Roots of Clematis manshurica, ibid., 1965, 811 (1965).
30. Khorlin, A.J., Ivanova, V.M., Triterpene Saponins of Patrinia intermedia, ibid., 1965, 307 (1965). Ref.: CA, 63, 667f (1965).
31. Khorlin, A.J., Ovodov, J.S., Kochetkov, N.K., Triterpene Saponins II. Saponins of Roots of Gypsophila pacifica, Zh Obshch Khim., 32, 782 (1962).
32. idem., Structure of Gypsoside from Gypsophila pacifica, Izv. Akad. S.S.S.R. ser. Khim., 1964, 1436 (1964).
33. Kostka, B., Phytochemical Analysis of Clinopodium vulgare, Acta Polon. pharm., 26, 387 (1969). Ref.: CA, 72, 87126d (1970).
34. Kubota, T., Extraction of Saponins from Bupleurum falcatum Roots, Japan 70 04, 062. (cl. 1607), 10 Feb 1970, Appl. 24 Aug 1966. Ref.: CA, 72, 117756d (1970).

35. Kubota, T., Hinoh, H., Structure of Saikogenins A, B, C and D, Triterpenoids of Eupleurum falcatum, Tetrahedron, 24, 675 (1968).
36. Lazurevskii, G.V., Kintya, P.K., Chirva, V.J., Structure of Saponaside D, Triterpene Glycoside from Soapwort (Saponaria officinalis) Roots, Doklady Akad. S.S.S.R., 188, 1060 (1969).
37. Luchanskaya, V.N., Kondratenko, E.S., Abubakirov, N.K., Triterpenoid Glycosides from Gypsophila trichotoma III. Structure of Trichoside B, Khim. Prir. Soedin., 7, 434 (1971).
38. idem., Triterpenoid Glycosides of Gypsophila trichotoma IV. Structure of Trichoside C, ibid., 7, 608 (1971).
39. Luchanskaya, V.N., Kondratenko, E.S., Abubakirov, N.K., Gorovits, T.T., Triterpenoid Glycosides from Gypsophila trichotoma II. Structure of Trichoside A, ibid., 7, 151 (1971).
40. Macek, K., Pharmaceutical Applications of Thin-Layer and Paper Chromatography, Elsevier Publishing Company, London-New York (1972).
41. Matveeva, A.V., Abubakirov, N.K., Saponins of Patrinia intermedia, Uzbeksk. Khim. Zh., 8, 43 (1964). Ref.: CA, 62, 8120h (1965).
42. Moes, A., Chemical Composition of Polygala senega and Securidaca longepedunculata var. parvifolia, J. Pharm. Belg., 21, 347 (1966).

43. Mzhelskaya, L.G., Jatsin, N.K., Abubakirov, N.K., Triterpenic Glycosides of Leontice eversmanii, Khim. Prir. Soedin., 2, 421 (1966). Ref.: CA, 68, 13208c (1968).
44. Pelletier, S.N., Nakamura, S., Soman, R., Constituents of Polygala spp., Tetrahedron, 27, 4417 (1971).
45. Ramachandra, L., Ruckimini, C., Chemistry of Saponins. I. Saponin of Sapindus mukorossi, Indian J. Chem., 4, 35 (1966). Ref.: CA, 64, 15948d (1966).
46. Sandberg, F., The Saponin of Swartzia madagascariensis, Pharm. Weekb., 93, 5 (1958). Ref.: CA, 52, 5560f (1958).
47. Sandberg, F., Ahlenius, B., Thorsen, R., The Saponin of Swartzia madagascariensis, Svesk farm. Tidskr., 62, 541 (1958). Ref.: CA, 53, 2538i (1959).
48. Sandberg, F., Shalaby, A.F., Phytochemical Studies on The Flora of Egypt IV. The Saponins of Anabasis articulata and Anabasis setifera, ibid., 64, 677 (1960). Ref.: CA, 55, 2817e (1961).
49. Semenchenko, V.F., Muravev, I.A., The Triterpenic Saponins from Glycyrrhiza echinata Roots, Rast. Resur., 4, 62 (1968). Ref.: CA, 69, 21864z (1969).
50. Shibata, S., Kitagawa, I., Fujimoto, H., Chemical Studies on Oriental Plant Drugs. Constituents of Bupleurum spp., Chem. pharm. Bl., 14, 1023 (1966). Ref.: CA, 66, 2660f (1967).
51. Shimizu, M., Takemoto, T., Constituents of Caryophyllaceous Plants I. Saponin of Dianthus superbus var. longicalyci-

- nus, Yakugaku Zasshi, 87, 250 (1967).
52. Trotin, F., Les Saponoside, Lille Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Doktora Tezi, Lille (1971).
53. Tschesche, R., Chandra, J.H., Wulff, G., Über Triterpene XXIX., zur Struktur des Avenacins, Tetrahedron, 29, 629 (1973).
54. Tschesche, R., Kammerer, F.J., Die Struktur von Musennin and Desglucomusennin. Liebigs Ann. Chem., 724, 183 (1969).
55. Tschesche, R., Mercker, H.J., Wulff, G., Triterpenes. XXIV. Constitution of the Sugar Chain of Cyclamin, ibid., 721, 194 (1969).
56. Tschesche, R., Shulze, H., Über das Hauptsaponin der Kornrade (Agrostemma githago), Chem. Ber., 107, 2710 (1974).
57. Tschesche, R., Tjoa, B.T., Wulff, G., Über die Sapogenin aus den Wurzeln von Primula veris L., Liebigs Ann. Chem., 696, 160 (1966).
58. Tschesche, R., Wulff, G., Chemie und Biologie der Saponine, Zechmeister, L., Herz, W., Griseback, H., Kirby, G.W., Fort-schritte der Chemie Organischer Naturstoffe, cilt 30, Springer-Verlag, New York (1973).
59. idem., Constitution and Properties of Saponins, Planta med., 12, 271 (1964).
60. Uvarova, N.I., Gorschkova, R.P., Strigina, L.I., Ginseng Root Glycosides, Khim. Prir. Soedin., 2, 82 (1965). Ref.: CA,

63, 7249a (1965).

61. Vochten, R.P., Joos, P., Ruyssen, R., Demineralisation and Purification of Sapoalbin, J. Pharm. Belg., 24, 253 (1969).
62. Woltke, H.D., Kayser, J.P., Hiller, K., Fortschritte in der Erforschung der Triterpene Saponine, Pharmazie, 25, 133 (1970).
63. Wulff, G., Neuere Entwocklungen auf dem Saponin Gebiet, Dtsch. Apoth.-Ztg., 108, 797 (1968).
64. Yukhananov, D.K., Sokolskii, I.N., Zinkevich, E.P., Kuvaev, V.B., Plants of the Family Caryophyllaceae. Studied to Determine the Presence of the Triterpenoid Saponin Gypsoside, Rast. Resur., 7, 386 (1971).
65. Zikova, N.J., Phytochemical Investigation of Sapindus mukorossi, Farmatseut. Zh., 21, 51 (1966).

T A B L O L A R

Sayfa no

Tablo - 1	Araştırma Yapılan Bitkilerdeki Saponozitlerin Yapısı	10
" - 2	Araştırma Yapılan Bitkilerdeki Saponozitlerin Yapısı	11
Triterpenik Saponozitlerin Kolon Kromatografisinde Ayırımıları		
Tablo - 3	Metanol Taşıyan Solvan Sistemleri	
	Adsorban:Alüminyum oksit	14
" - 4	Etanol Taşıyan Solvan Sistemleri	
	Adsorban:Alüminyum oksit	15
" - 5	Butanol Taşıyan ve Diğer Solvan Sistemleri Adsorban:Alüminyum oksit	16
" - 6	Kloroform,Kloroformun Metanol ve Etanolla Karışımı Olan Solvan Sistemleri	
	Adsorban:Silikajel	17
" - 7	Butanol Taşıyan Solvan Sistemleri	
	Adsorban:Silikajel	18
" - 8	Butanol Taşıyan Solvan Sistemleri	
	Adsorban:Silikajel	19
" - 9	Butanol Taşıyan Solvan Sistemleri	
	Adsorban:Selüloz	20
" - 10	Butanol Taşıyan Solvan Sistemleri	
	Adsorban:Selüloz	21

	Sayfa no
Tablo - 11 Değişik Solvan Sistemleri	
Adsorban:Florisil	22
" - 12 Su ve Metanol Taşıyan Solvanlar	
Adsorban:Sefadeks	23
" - 13 Değişik Solvan Sistemleri	
İyon Değiştirici Reçineler	24
" - 14 <u>D.calocephalus</u> 'un Ham Saponozitinin	
Ayırımı	28
" - 15 <u>S.dichotoma</u> 'nın Ham Saponozitinin	
Ayırımı	29
" - 16 <u>G.bicolor</u> 'un Ham Saponozitinin Ayırımı.	38
" - 17 <u>G.bicolor</u> 'un Ham Saponozitinin Ayırımı.	39
" - 18 <u>G.bicolor</u> 'un Esterleştirilmiş	
Ham Saponozitinin Ayırımı	40
" - 19 <u>G.eriocalyx</u> 'in Ham	
Saponozitinin Ayırımı	41
" - 20 <u>G.eriocalyx</u> 'in Ham	
Saponozitinin Ayırımı	42
" - 21 <u>G.eriocalyx</u> 'in Esterleştirilmiş	
Ham Saponozitinin Ayırımı	43
" - 22 <u>S.dichotoma</u> 'nın Ham	
Saponozitinin Ayırımı	44
" - 23 <u>S.dichotoma</u> 'nın Ham	
Saponozitinin Ayırımı	45
" - 24 <u>S.dichotoma</u> 'nın Esterleştirilmiş	
Ham Saponozitinin Ayırımı	46

Tablo - 25	<u>S.kotschyi</u> 'nin Ham	
	Saponozitinin Ayırımı	47
" - 26	<u>S.kotschyi</u> 'nin Ham	
	Saponozitinin Ayırımı	48
" - 27	<u>S.kotschyi</u> 'nin Esterleştirilmiş	
	Ham Saponozitinin Ayırımı	49
" - 28	<u>D.calocephalus</u> 'un Ham	
	Saponozitinin Ayırımı	50
" - 29	<u>D.calocephalus</u> 'un Ham	
	Saponozitinin Ayırımı	51
" - 30	<u>D.calocephalus</u> 'un Esterleştirilmiş	
	Ham Saponozitinin Ayırımı	52
" - 31	Sistemlere Göre	
	Ayırımın Karşılaştırılması	54
" - 32	Sistemlere Göre	
	Ayırımın Karşılaştırılması	56

MADDE ISIMLERİNİN KISALTMALARI

MeOH	Metanol
EtOH	Etanol
CHCl ₃	Kloroform
n-BuOH	Normal Butanol
sec. BuOH	Sekonder Butanol
NH ₃	Amonyak
C ₆ H ₅ CH ₃	Toluen
C ₆ H ₆	Benzen
Me ₂ CO	Aseton
H ₂ O	Su
EtOAc	Etil asetat
AcOH	Asetik asit
C ₆ H ₅ N	Piridin
Et ₂ NH-EtOH	Dietil amino etanol

H A Y A T H İ K A Y E S İ

1952 yılında Polatlı'da doğdum. İlk , orta ve lise tahsilimi tamamladıktan sonra 1968 yılında Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesine girdim. 1972 Ekim döneminde mezun oldum. Nisan 1973 te A.İ.T.İ.A Eczacılık Yüksek Okulu Farmakognozi kürsüsüne asistan olarak girdim. Halen aynı görevde çalışmaktayım.