

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ANTOSİYANİN GLİKOZİTLERİNİN SENTEZİ VE
KARAKTERİZASYONU**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Fatma ÇELİK

Enstitü Anabilim Dalı : KİMYA
Enstitü Bilim Dalı : ORGANİK KİMYA
Tez Danışmanı : Prof. Dr. Mustafa ARSLAN

Ağustos 2012

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ANTOSİYANİN GLİKOZİTLERİNİN SENTEZİ VE
KARAKTERİZASYONU


YÜKSEK LİSANS TEZİ


Fatma ÇELİK

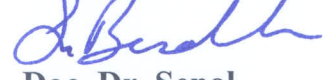
Enstitü Anabilim Dalı : KİMYA

Enstitü Bilim Dalı : ORGANİK KİMYA

Bu tez 03 / 08 /2012 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Oybirliği ile kabul edilmiştir.


Prof. Dr. Mustafa
ARSLAN
Jüri Başkanı


Prof. Dr. Mustafa
KÜÇÜKİSLAMOĞLU
Üye


Doç. Dr. Şenol
BEŞOLUK
Üye

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmanın deneysel kısmı Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir.

Bu çalışmayı büyük bir titizlikle yöneten, çalışma süresince yüksek bilgi ve tecrübelerinden istifade ettiğim kıymetli hocalarım Sayın Prof. Dr. Mustafa KÜÇÜKİSLAMOĞLU ve Sayın Prof. Dr. Mustafa ARSLAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım süresince gerek bilgi ve tecrübesiyle, gerek manevi desteğiyle yanımda olan Öğretim Görevlisi Fatih SÖNMEZ'e teşekkürlerimi borç bilirim. Çalışmalarım sırasında bana sürekli destek olan Sayın Doç.Dr. Mustafa ZENGİN, Öğretim Görevlisi Hülya DUYMUŞ ve Araştırma Görevlisi Hayriye GENÇ'e teşekkür ederim. Çalışmalarım boyunca benden maddi manevi yardımlarını esirgemeyen çok kıymetli aileme ve laboratuarda beraber çalıştığım Belma ZENGİN, Tuna DEMİRCİ ve Hilal KUDAY'ya teşekkürlerimi sunarım. Son olarak, yüksek lisans çalışmalarımın tüm zorlu aşamalarında bana destek olan ve bu aşamaları varlığıyla kolaylaştıran değerli nişanlım Hasan KOSTAK a teşekkür ediyorum.

Bu tez çalışması 110T133 nolu TÜBİTAK projesi tarafından desteklenmiştir. Bu desteklerinden dolayı TÜBİTAK'a teşekkürlerimi borç bilirim. Bu tez çalışmasının az bir kısmı Sakarya Üniversitesi Bilimsel Araştırma projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir. Bu katkılarından dolayı BAPK'a teşekkürlerimi sunarım.

Ağustos 2012

Fatma ÇELİK

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ	x
TABLolar LİSTESİ	xii
ÖZET	xiii
SUMMARY	xiv
BÖLÜM 1.	
GİRİŞ	1
BÖLÜM 2.	
GENEL BİLGİ	4
2.1. Flavonoidler	4
2.1.1. Flavonoidlerin yapı özellikleri ve sınıflandırılması	4
2.1.2. Flavonoidlerin biyosentezi	7
2.1.3. Flavonoidlerin biyolojik önemi	7
2.1.4. Flavonoidlerin spektroskopik özellikleri	9
2.1.4.1. ¹ H NMR spektroskopisi	9
2.1.4.2. ¹³ C NMR spektroskopisi	9
2.1.4.3. Kütle spektroskopisi	11
2.2. Flavonoidlerin Sentezi	12
2.2.1. Flavonoidlerin klasik sentez yöntemleri	13
2.2.1.1. Kostanecki flavon sentezi	13
2.2.1.2. Baker-Venkataraman düzenlenmesi	14
2.2.1.3. Kalkon-flavanon izomerizasyonu	15

2.3. Flavonoid Glikozitler	16
2.3.1. Flavonoid <i>O</i> -glikozitler	17
2.3.2. Flavonoid <i>C</i> -glikozitler	19
2.3.3. Flavonoid glikozitlerin spektroskopik özellikleri	20
2.3.3.1. ¹ H NMR spektroskopisi	20
2.3.3.2. ¹³ C NMR spektroskopisi	21
2.3.3.3. Kütle spektroskopisi	22
2.3.4. Flavonoid glikozitlerin sentezi	24
2.3.4.1. Flavonoid türevlerine glikozitlerin bağlanması ..	24
2.3.4.2. Flavanon türevlerinin yükseltgenmesi	26
2.3.4.3. Koruma gruplarının kaldırılması	28
2.4. Antosiyaninler.....	30
2.4.1. Antosiyaninlerin yapısı	30
2.4.2. Antosiyanidin glikozitler.....	32
2.4.3. Antosiyaninlerin denge halleri.....	34
2.4.4. Antosiyaninlerin antioksidan aktiviteleri.....	35
2.4.5. Antosiyaninlerin biyosentezi.....	36
2.4.6. Antosiyaninlerin sentezi ile ilgili bazı yöntemler.....	38
2.4.7. Antosiyaninlerin spektroskopik özellikleri.....	43

BÖLÜM 3.

MATERYAL VE METOD	45
3.1. Kullanılan Cihazlar ve Kimyasallar	45
3.2. Deneysel Yöntemler	46
3.2.1. Yöntem A: β - <i>d</i> -pentaasetilglukopiranoz (2a) sentezi.....	46
3.2.2. Yöntem B: 2,3,4,6-tetraasetil- β - <i>d</i> -glikopiranozil bromür (3a) sentezi	46
3.2.3. Yöntem C: 7- <i>O</i> -(2,3,4,6-tetraasetil- β - <i>d</i> -glikopiranozil) naringenin (5a) sentezi.....	47
3.2.4. Yöntem D: 7- <i>O</i> -(2,3,4,6-tetraasetil- β - <i>d</i> -glikopiranozil)- apigenin(6a) sentezi	47
3.2.5. Yöntem E: 7- <i>O</i> - β - <i>d</i> -glikopiranozil-apigenin (7a) sentezi....	47

3.2.6. Yöntem F: 7- <i>O</i> -glikozil-apigenidin (8a) sentezi.....	48
3.2.7. Yöntem A: β - <i>d</i> -pentaasetilgalaktopiranoz (2b)sentezi.....	49
3.2.8. Yöntem B: 2,3,4,6-tetraasetil- β - <i>d</i> -galaktopiranozil bromür (3b)sentezi.....	49
3.2.9. Yöntem C: 7- <i>O</i> -(2,3,4,6-tetraasetil- β - <i>d</i> -galaktopiranozil) naringenin (4b) sentezi.....	50
3.2.10. Yöntem D: 7- <i>O</i> -(2,3,4,6-tetraasetil- β - <i>d</i> -glikopiranozil)- apigenin(5b)sentezi.....	50
3.2.11. Yöntem E: 7- <i>O</i> - β - <i>d</i> -galaktopiranozil-apigenin (6b) sentezi.....	51
3.2.12. Yöntem F: 7- <i>O</i> -galaktozil-apigenidin (7b)sentezi.....	52
3.2.13. Yöntem A: Oktaasetil- β - <i>D</i> -sellobiyoz (2c) sentezi.....	52
3.2.14. Yöntem B: Heptaasetil- β - <i>D</i> -sellobiyozil bromür (3c) sentezi.....	52
3.2.15. Yöntem C: 7- <i>O</i> -(heptaasetil- β - <i>D</i> -sellobiyozil)-naringenin (4c) sentezi.....	53
3.2.16. Yöntem D: 7- <i>O</i> -heptaasetilsellebiozil Apigenin (5c) sentezi.....	54
3.2.17. Yöntem E: 7- <i>O</i> -sellebiyozil apigenin (6c) sentezi.....	54
3.2.18. Yöntem F: 7- <i>O</i> -sellebiyozil apigenidin sentezi (7c) sentezi.....	55
3.2.19. Yöntem D: Diosmin (2d) sentezi.....	55
3.2.20. Yöntem F: Diosmidin (3d) sentezi.....	56
3.2.21. Yöntem D: 7- <i>O</i> -rutinozil apigenin (2e) sentezi.....	56
3.2.22. Yöntem F: 7- <i>O</i> -rutinozil apigenidin sentezi (3e) sentezi.....	57
3.2.23. Yöntem F: 3- <i>O</i> -rutinozil Quersetinidin sentezi (2f) sentezi.....	57

BÖLÜM 4.	
DENEYSEL BULGULAR	58
BÖLÜM 5.	
SONUÇLAR	72
BÖLÜM 6.	
TARTIŞMA VE ÖNERİLER	76
KAYNAKLAR	79
EKLER	86
ÖZGEÇMİŞ	132

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

Ar	: Aromatik
°C	: Santigrat derece
d	: Dublet (ikili)
ASTM	: Amerikan standart
DBU	: 1,8-Diazobisiklo[5.4.0]undek-7-en
Dd	: Dubletin dubleti
DDQ	: 2,3-Diklor-5,6-disiyan-1,4-benzokinon
DMF	: Dimetilformamit
DMSO	: Dimetilsulfoksit
DTBMP	: 2,6-di-tert-bütil-4-metilpiridin
G	: Gram
Gly	: Glikozil
Hz	: Hertz
LiHMDS	: Lityum polianyonlar
M	: Multiplet (çoklu)
Mg	: Milligram
MHz	: Megahertz
mL	: Mililitre
Mmol	: Milimol
NBS	: N-Brom Suksinimit
NMR	: Nukleer manyetik rezonans
OMOM	: Metoksimetileter
o.s.	: Oda sıcaklığı
Otr	: Tritel(trifenilmetil)eter
PKC	: Protein Kinaz C-theta
ppm	: Milyonda bir
s	: Singlet (tekli)
TBAB	: Tetrabutilamonyumbromür

TBS	: Tersiyer butilsilil
THF	: Tetrahidrofurana
TMG	: 1,1,3,3-tetrametilguanidin
TTA	: Talyum (III) asetat
TTS	: Talyum (III) toluen-p-sülfonat
UV	: Ultra viole
δ	: Kimyasal kayma

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1.	Antosiyaninlerin ana iskeletini oluşturan flavilyum katyonunun yapısı	2
Şekil 2.1.	Flavonoidlerin ana iskeletini oluşturan 1,3-difenilpropan yapısı.....	4
Şekil 2.2.	Flavonoidlerin iskeletini oluşturan fenil benzopiran yapısı.....	5
Şekil 2.3.	Flavonoid yapılarında substituentlerin en yaygın yerleşme pozisyonları.....	7
Şekil 2.4.	Flavonoidlerin kütle fragmentleri.....	12
Şekil 2.5.	Benzopiranon iskeletinin sentezi için retrosentez yaklaşımlar....	13
Şekil 2.6.	Kostanecki sentezi.....	14
Şekil 2.7.	Baker-Venkataraman düzenlenmesi.....	14
Şekil 2.8.	1,3-diketon eldesi için diğer bazı yöntemler.....	15
Şekil 2.9.	Kalkon eldesi ve flavanon izomerizasyonu.....	15
Şekil 2.10.	Flavonoid C- ve O-glikozitlerin oluşumu ve yapısı.....	16
Şekil 2.11.	Flavonoidlerin α - ve β -glikozit yapıları.....	17
Şekil 2.12.	Apigeninin 7- pozisyonuna bağlanabilen bazı şeker birimleri ve yapıları.....	18
Şekil 2.13.	Pentozit ve heksozitlerin kütle fragmentleri.....	22
Şekil 2.14.	Glukuronidlerin kütle fragmentleri.....	23

Şekil 2.15.	Flavonoid C-glikozitlerin kütle fragmentleri.....	23
Şekil 2.16.	Antosiyaninlerin yapısı ve numaralandırılması.....	31
Şekil 2.17.	Antosiyaninlerin denge hali.....	34
Şekil 2.18.	Antosiyaninlerin radikallerinin rezonans yapıları.....	35
Şekil 2.19.	Antosiyaninlerin biyosentezi.....	37
Şekil 2.20.	Robinson tarafından sentezlenen antosiyanidin glikozitlerinin sentez yöntemi.....	38
Şekil 2.21.	Dangles ve Elhajji tarafından sentezlenen antosiyanidin glikozitlerinin sentez yöntemi.....	39
Şekil 2.22.	Shibata tarafından sentezlenen antosiyanidin glikozitlerinin sentez yöntemi.....	49
Şekil 2.23.	Kondo tarafından sentezlenen antosiyanidin glikozitlerinin sentez yöntemi.....	40
Şekil 2.24.	Andersen tarafından sentezlenen antosiyanidin glikozitlerinin sentez yöntemi.....	40
Şekil 2.25.	Bülow ve Wagner tarafından sentezlenen flavilyum tuzunun sentez yöntemi.....	41
Şekil 2.26.	Sweeny ve Iacobucchi tarafından sentezlenen flavilyum tuzunun sentez yöntemi.....	41
Şekil 2.27.	Kuhnert tarafından sentezlenen flavilyum tuzunun sentez yöntemi.....	42
Şekil 2.28.	Roehr-Stoeckel tarafından sentezlenen flavilyum tuzunun sentez yöntemi.....	42
Şekil 2.29.	Mas tarafından sentezlenen flavilyum tuzunun sentez yöntemi...	43
Şekil 2.30.	Brouillard tarafından sentezlenen flavilyum tuzunun sentez yöntemi	43

TABLolar LİSTESİ

Tablo 2.1.	Flavonoidlerin hetero halkadaki -C ₃ - yapısına göre sınıflandırılması.....	6
Tablo 2.2.	Farklı iskelet yapılarına göre flavonoidler.....	6
Tablo 2.3.	Flavonoidlerde bulunan çeşitli protonların kimyasal kayma değerleri.....	9
Tablo 2.4.	Naringenin ve apigenin karbonlarının DMSO-d ₆ çözücüsündeki kimyasal kayma değerleri.....	10
Tablo 2.5.	Bazı flavonoid C- ve O- glikozitlerin şeker karbonlarının ¹³ C NMR rezonansları.....	22
Tablo 2.6.	(Devam) Flavonoid türevlerine glikozit bağlanma yöntemlerinde önemli uygulamalar.....	24
Tablo 2.7.	(Devam) Flavonon türevlerinin yükseltgenmesinde bazı yöntemler.....	26
Tablo 2.8.	Koruma gruplarının seçimli veya tamamen kaldırılmasında önemli uygulamalar.....	29
Tablo 2.9.	Anyosiyanınların kimyasal yapıları ve renkleri.....	31
Tablo2.10.	Flavonoidlerin UV spektroskopisindeki absorpsiyon bantları.....	44

ÖZET

Anahtar kelimeler: Flavonoidler, Flavonoid glikozitler, Antosiyanin, Antosiyanidin glikozitler

Flavonoidler ve diğler polifenol glikozitler bitkilerde doğal ürün olarak yaygınca bulunmaktadır. Antosiyaninler, antosiyanidinlerin glikozitleridir ve flavonoid grubuna dahildirler. Flavonoidlerin fenil propanoid yapısı üzerinden sentezlenmektedir. Antosiyanidinler glikozitleri kadar doğada yaygın değildir. Bitkilerden farklı yapılar da çok sayıda antosiyanin elde edilmiştir. Antosiyaninlerin çeşitliliği aglikonun türünden, molekülde bulunan substituentlerin tür ve pozisyonundan, şeker grublarının aglikona bağlanma konfigürasyonundan kaynaklanmaktadır.

Bu çalışmada, doğal ürün olan antosiyanidin glikozitlerinin türevleri, ticari olarak kolay elde edilebilir ve ucuz bir bileşik olan naringeninden başlanarak sentezlenmiştir. Total sentez, glikozilasyon, yükseltgenme, deasetilasyon ve indirgeme basamaklarını içeren 5-6 adımda kabul edilebilir bir verimle gerçekleştirilmiştir.

TOTAL SYNTHESIS OF APIGENIDIN GLUCOPYRANOSIDE

SUMMARY

Key words : Flavonoids, glycosides of flavonoids, anthocyanins, glycosides of anthocyanidin

Flavonoids and the other polyphenol glycosides are very common natural products in plants. Anthocyanins are the glycosides of anthocyanins and they are in the group of flavonoid. They are synthesized via the phenylpropanoid structure of flavonoids. Although anthocyanidins are not common in nature as far as the glycosides of anthocyanidins are concerned (anthocyanins) . There are a lot of anthocyanin which is different from the plants in terms of structural. Anthocyanins are various because of the species of aglycone, the species and position of substituents that are in the molecule and the bonding configuration of sugar group(s) to aglycone.

In this study, naringenin which is easy to access and an inexpensive compound was the first step to be synthesized the glycosides of anthocyanidins derivatives being natural products. The total synthesis occur in 5-6 steps that include respectively glycosylation, oxidation, deacetylation and reduction stages with an acceptable yield.

BÖLÜM 1. GİRİŞ

Flavonoidler çoğu bitkinin tohum, yaprak, meyve ve çiçeklerinde yoğun olarak bulunan doğal bileşiklerdir. Flavonoidlerin hidroksil radikallerini, süperoksit anyonlarını ve lipit peroksi radikallerini yakaladığı, bu yüzden de çok iyi bir antioksidant olduğu çeşitli araştırmalar sonunda tespit edilmiştir [1].

İki fenil ve bir heterohalkadan oluşan bu bileşikler, hetero halkanın farklı yükseltgenme derecelerine göre flavonlar, flavonoller, flavanonlar, flavanonoller, kalkonlar, dihidrokalkonlar, antosiyanidinler gibi çeşitli alt sınıflara ayrılmıştır [2].

Flavonoid glikozitleride benzer olarak bitki aleminde yaygın olarak bulunan [2], antioksidant [3], hepatoprotektant [4], UV-ışığa karşı koruyucu [5], antibakteriyel ve antikanserojen [6] gibi çok farklı biyolojik etkiye sahip bileşiklerdir.

Bitkilerde yaygın olarak bulunmakla birlikte, miktarlarının az oluşu ve önemli farmakolojik aktivitelere sahip olmaları, araştırmacıları bu bileşiklerin izolasyonu ve sentezine yöneltmiştir.

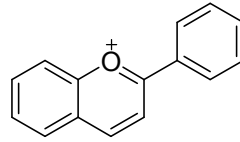
Flavon ve flavonol glikozitlerden 1975 yılında sadece 360 tanesinin yapısı bilinirken, takip eden beş yıl boyunca bu sayı ikiye katlanarak 720 yapıyı bulmuştur. 1981-1985 yılları arasında da 90 tane daha yeni flavon glikozit bileşiği keşfedilmiştir [7]. Günümüze kadar dört binden fazla flavonoid ve flavonoid glikozit türevlerinin bitkilerden izole edildiği bilinmektedir [8].

Antosiyaninler flavonoid grubunun büyük bir kısmını oluşturur ki, bunlar genellikle çiçekler, meyveler ve kapalı tohumluların yapraklarında pembeden kırmızıya vemordan laciverte siyanik renk dizilişinden sorumludur [9].

Çoğu antosiyaninlerin rengi ortamın pH değerine bağlı olarak bir indikatör gibi değişim gösterirler. Düşük pH değerlerinde mor-kırmızı, daha yüksek pH değerlerinde ise yeşil-mavi bir renk alırlar [10, 11].

Antosiyaninler, antosiyanidinlerin glikozitleridir ve flavonoid grubuna dahildirler. Doğada antosiyaninler serbest halde bulunmazlar ve daima bir veya birkaç şeker molekülü ile esterleşmiş halde yani antosiyaninler halinde bulunurlar.

Antosiyaninlerin yapısının temelini flavilyum katyonu (Şekil 2.1) oluşturmaktadır [12, 13, 10, 14].



Şekil 1.1. Antosiyaninlerin ana iskeletini oluşturan flavilyum katyonunun yapısı

Antosiyaninlerin kararlılığını etkileyen etmenler molekül yapısı, sıcaklık, pH, kopigmentler, ışık, metalik iyonlar, oksijen, askorbik asit, şekerler ile bunların bozunma ürünleri, proteinler ve sülfür dioksittir [15].

Antosiyanidinler yapılarındaki elektron eksikliği serbest radikallere karşı çok aktiftir. Antosiyaninlerin antioksidant aktivitesi onların yapısına bağlı olarak değiştiği çeşitli araştırmalar sonunda tespit edilmiştir [12].

Antosiyaninler benzer olarak bitki aleminde yaygın olarak bulunan [12], antioksidant [16], hepatoprotektant [17], UV-ışığa karşı koruyucu [13], antibakteriyel ve antikanserojen [18] gibi çok farklı biyolojik etkiye sahip bileşiklerdir. Bitkilerde yaygın olarak bulunmakla birlikte, miktarlarının az oluşu ve önemli farmakolojik aktivitelere sahip olmaları, araştırmacıları bu bileşiklerin izolasyonu ve sentezine yöneltmiştir. Antosiyanin kelimesi için yapılan araştırmalarda bulunan yayın sayıları 1993'de 257 iken 2003 'de 790'dır [9]. Bugün dünyada 200'ün üzerinde farklı antosiyanin kaynağı bulunmuştur [16].

Bu çalışmada, apigenidin türevlerinin sentezlenmesi amaçlanmıştır. İlk olarak, naringenin bileşiğinin 7 konumundaki OH grubuna D-şeker grubunun bağlanması, daha sonra da, bu bileşiklerin apigenine okside edilmesi ve apigenidine indirgenerek glikozil-apigenidin türevleri elde edildi.

BÖLÜM 2. GENEL BİLGİ

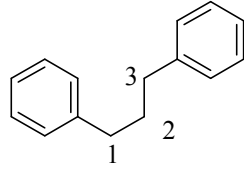
2.1. Flavonoidler

Flavonoidler bitkilerden izole edilen bileşikler olup doğada yaygın olarak bulunurlar. Genellikle meyve, sebze, tohum, çiçek ve yapraklarda rastlanır. Geleneksel tıpta son yirmi yılda flavonoidlere karşı ilgi artmış ve yapılan araştırmalar sonucu, flavonoidlerin çok yönlü biyokimyasal ve farmakolojik aktivitelere sahip oldukları belirlenmiştir.

Son yıllarda flavonoidlerin endüstrinin çeşitli alanlarında kullanılması için yürütülen araştırmaların sayısı artmaktadır. Bu bileşiklerin antioksidant özellikleri, çeşitli ürün ve malzemeleri boyama yetenekleri, metallere bileşik oluşturma ve tabaklama maddelerinin bileşenine katılmalarından dolayı, besin, tekstil, deri, metalurji, tıp, ziraat ve benzer alanlarda kullanılma olasılıkları artmaktadır [1].

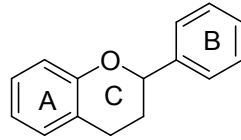
2.1.1. Flavonoidlerin yapı özellikleri ve sınıflandırılması

1980'lere kadar bitkilerden izole edilen 4000'den fazla flavonoid kökenli bileşik bilinmektedir [2]. Flavonoidler çay, elma, soğan, baklagiller, domates ve kırmızı şarapta bol miktarda bulunmaktadır [19]. Sarı renkli olmaları nedeniyle latince "sarı" anlamına gelen "flavus" sözcüğünden türetilerek flavonoid adını almıştır [19]. Flavonoidlerin karbon iskeletini, iki fenil halkasının propan zinciri ile birleşmesinden oluşan ve 15 karbon atomu içeren, difenilpropan (C₆-C₃-C₆) yapısı oluşturur (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Flavonoidlerin ana iskeletini oluşturan 1,3-difenilpropan yapısı

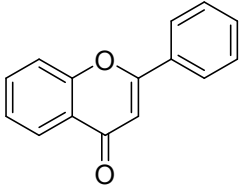
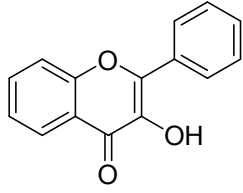
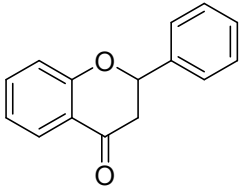
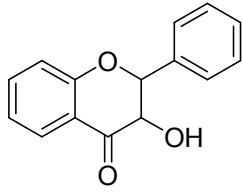
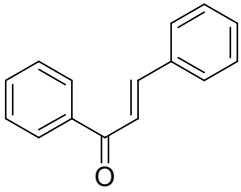
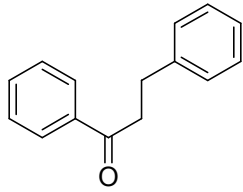
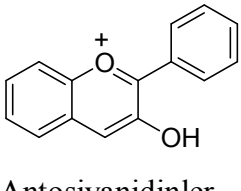
Difenil propan iskeleti içeren doğal bileşikler, fenil gruplarının propan zincirine bağlanma pozisyonlarına göre flavonoid, izoflavonoid ve neoflavonoidler olmak üzere üç ana grupta toplanırlar. Bu grupların her birinde çeşitli alt sınıflara ayrılırlar. Flavonoidler bitkisel gıdalarda bol ve yaygın olarak bulunan bileşiklerdir. Bitkilerin ikincil metabolitleridir. Yaşamsal gereksimleri için kullandıkları karbonhidratlar, aminoasitler gibi birincil metabolitlerden türerler. Fenil benzopiran yapısı A, B, C halkalarından meydana gelmiştir. A halkası glikoz metabolizması sonucu oluşan asetil koenzim A'dan oluşan malonil koenzim A'nın 3 molekülünün kondenzasyonu ile, B ve C halkaları ise yine glukoz metabolizması sonucu oluşan şikimik asit üzerinden sinamik asit gibi fenil propanoid bileşiklerinden oluşmuştur (Şekil2.2).



Şekil 2.2. Flavonoidlerin iskeletini oluşturan Fenil benzopiran yapısı

Flavonoid yapılarında C₃-sisteminin oluşturduğu heterosiklik halka değişik yükseltgenme derecelerinde bulunabilir. Buna bağlı olarak bilinen flavonoid sınıflarından bazıları Tablo 2.1'de verilmiştir [1]. Flavonoid yapılarına bazı örnekler ise Tablo 2.2'de verilmiştir [19].

Tablo 2.1. Flavonoidlerin hetero halkadaki -C₃- yapısına göre sınıflandırılması

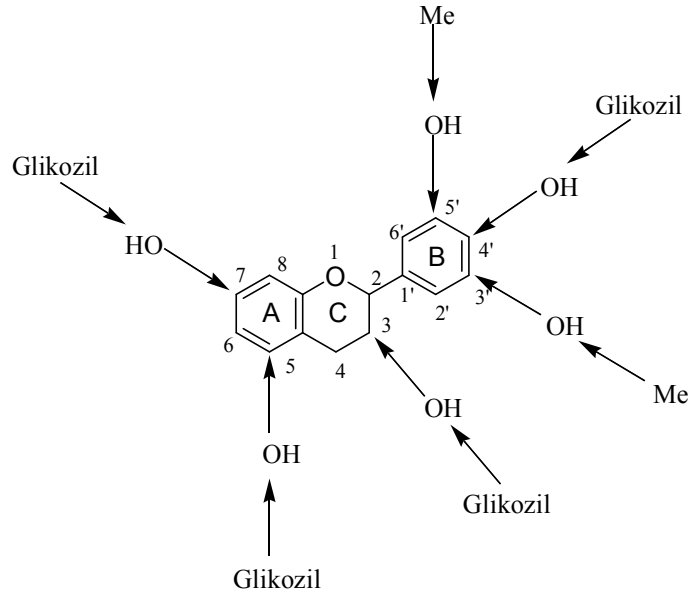
	
Flavonlar	Flavonoller
	
Flavanonlar	Flavanonoller
	
Kalkonlar	Dihidrochalkonlar
	
Antosiyanidinler	

Tablo 2.2. Farklı iskelet yapılarına göre flavonoidler

Flavonlar	Flavonoller	Flavanonlar
Chrysin	Quercetin	Naringenin
Apigenin	Rutin	Naringin
Luteolin	Kaempferol	Hesperidin
	Rhamnetin	Eriodiktol
Flavanoller	Flavanonoller	Antosiyanidinler
Catechin	Taksifolin	Apigenidin
Epicatechin	Slibin	Cyanidin

Flavonoidlerin yapı çeşitliliği, yalnız difenil propan iskeletinin farklı yapılarda düzenlenme özelliği ile sınırlı değildir. Aynı zamanda, her sınıf içinde, aromatik halkalara bağlı sübstituentlerin sayısı, türü ve pozisyonları flavonoidlerin yapı

çeşitliliğine neden olan faktörlerdir. Flavonoid yapılarında substituentlerin genel yerleşme pozisyonları Şekil 2.3’de verilmiştir [1].



Şekil 2.3. Flavonoid yapılarında substituentlerin en yaygın yerleşme pozisyonları

2.1.2. Flavonoidlerin biyosentezi

Biyosentez araştırmalarından elde edilen bilgilere göre flavonoidlerin A halkasının asetil koenzim-A moleküllerinden veya üç molekül malonil koenzim A'dan, B ve C halkalarının ise fenil alanin gibi fenil propanoid bileşiklerinden meydana geldiği saptanmıştır. A halkasını meydana getiren asetat üniteleri ile B ve C halkalarını meydana getiren fenil propanoid bileşiklerinin kondensasyonu ile kalkanlar oluşur [20, 21, 22, 23].

2.1.3. Flavonoidlerin biyolojik önemi

Bazı flavonoidlerin biyolojik aktivite göstermesinden dolayı, flavonoidlere karşı ilgi 1940'lı yıllardan itibaren artmaya başlamıştır. Bu ilginin başlıca nedenlerinden biri, 1936 yılında limon kabuklarından elde edilen flavonoidli bir preparatın P-vitamin aktivitesi göstermesi olmuştur [1].

Flavonoid araştırmalarının en aktif alanını insan sağlığına sağladığı katkılar oluşturmaktadır. Farklı araştırma grupları flavonoidlerin, antiinflamatuvar, antioksidant, antimikrobiyal, antibakteriyal ve antikanserojenik etkiler gösterdiğini tespit etmişlerdir [24,25,26].

Flavonoidlerin ilk olarak belirlenen biyolojik özelliği kılcal damar duvarlarına olumlu etkileridir. Bu bileşikler kılcal damarlarda kan sızdırmanın önlenmesinde, kırılđanlık ve geçirgenliğin ortadan kalkmasında olumlu etkiler göstermişlerdir.

Flavonoidler kan damarlarına etkileri ile birlikte, zayıf kalp kuvvetlendirici maddeler olarakta bilinirler. Başka bir araştırma sonuçlarına göre quercetin, rutin ve bazı flavonoller zayıf kalbi kuvvetlendirme, nabzı normalleştirme özelliğine sahiptirler.

Flavonoidlerin en önemli özelliklerinden biri de, karaciğer fonksiyonuna olumlu etkileridir. Flavonoidlerin safra salgılanmasını hızlandırdıkları, karaciğerin barbiturat ve arsenik gibi bileşiklere karşı detoksikasyonuna etki ettikleri açıklanmıştır [1].

Flavonoidlerin bitkilere renk verme, UV ışınlarından koruma gibi özellikleri olduğu da tespit edilmiştir. Bu nedenle kozmetik ürünlerde özellikle koruyucu kremlerde önemli bir katkı maddesi olarak kullanılmaktadır [27]. Bunlardan başka flavonoidler, bitkilerde enerjinin dönüşümüne ve büyüme hormonlarına etki ederler. Ayrıca solunumu ve fotosentezi düzenleme ve bulaşıcı hastalıklara karşı savunma fonksiyonlarına sahiptirler [28].

2.1.4. Flavonoidlerin spektroskopik özellikleri

2.1.4.1. ¹H NMR spektroskopisi

Flavonoidlerin proton sinyalleri genellikle 0-10 ppm aralığında ortaya çıkar. Farklı proton gruplarının kimyasal kayma değerleri Tablo 2.3'de verilmiştir.

Tablo 2.3. Flavonoidlerde bulunan çeşitli protonların kimyasal kayma değerleri

Kimyasal Kayma (ppm)	Proton Türleri
2.0-3.0	Ar-COCH ₃ ve Ar-CH ₃
2.5-3.5	Flavanonların H-3'ü (iki proton multiplet)
3.5-4.5	Ar-OCH ₃
5.0-5.5	Flavanonların H-2'si (bir proton dd)
6.0-6.5	Flavonların H-3'ü (bir proton singlet)
6.5-8.0	A- ve B- halka protonları
12.0-14.0	Kalkonlarda 2'-OH protonu

¹H NMR spektrumu almak için gereken örnek miktarı eski cihazlarda 5-25 mg iken, çağdaş Fourier Transform NMR cihazlarında bu miktar 0,1-10 mg arasındadır. Bileşiklerin NMR spektrumları çözeltileri halinde alındığından, molekül yapısında proton içermeyen çözücülerin kullanılması gerekir. CDCl₃ düşük polariteli aglikonlar için ideal bir çözücüdür. Ancak, serbest hidroksil grubu veya glikozil grubu içeren flavonoidler için çözücü olarak polaritesi yüksek olan DMSO-d₆ kullanılmaktadır [1,8].

2.1.4.2. ¹³C NMR spektroskopisi

Flavonoidler, değişik alt sınıflarının temel karbon iskeletinde, farklı özelliklerde karbon atomları içerirler. Aromatik halkaların substitue derecesi, temel flavonoid yapısında bulunan kuaterner rezonanslarının ve yapıdaki eşdeğer olmayan karbon atomlarının toplam sayısı ¹³C NMR spektrumundan kolayca belirlenebilir. Flavonoid aglikonundaki karbonil grubu δ 170-210 ppm civarında gözlenir. Aromatik ve

olefinik karbonlardan oksijene komşu olanlar δ 130-165 ppm arasında gözlenirken, oksijene bağlı olmayanlar daha yukarı alanda δ 95-130 ppm civarında sinyal verirler. Aromatik $-\text{OCH}_3$ karbonları δ 50-60 ppm, aromatik $-\text{CH}_3$ ve COCH_3 gruplarının metil karbonları ise δ 15-20 ppm arasında belirirler. Ayrıca, flavanonların heterosiklik C halkasının oksimetin karbonu (C-2) ve alifatik metilen karbonu (C-3) sırasıyla 70-80 ppm ve 40-46 ppm'de rezonans olurlar [18,20].

Apigenin ve naringenin bileşiklerinin DMSO- d_6 çözücüsündeki ^{13}C NMR spektrumundaki kimyasal kayma değerleri Tablo 2.4'de verilmiştir [20].

Tablo 2.4. Naringenin ve apigenin karbonlarının DMSO- d_6 çözücüsündeki kimyasal kayma değerleri

Kimyasal Kayma (ppm)		Atom
Naringenin	Apigenin	
79.2	164.1	C-2
42.7	102.8	C-3
196.4	181.8	C-4
164.5	161.1	C-5
96.2	98.8	C-6
166.5	163.8	C-7
95.2	94.0	C-8
163.6	157.3	C-9
102.4	103.7	C-10
130.0	121.3	C-1'
128.3	128.4	C-2'
115.4	116.0	C-3'
157.8	161.5	C-4'
115.4	116.0	C-5'
128.3	128.4	C-6'

^{13}C NMR analizi için gerekli olan minimum madde miktarı 3-5 mg olsa da, iyi bir spektrumun daha kısa sürede alınabilmesi için 10-50 mg kadar numunenin kullanılması önerilmektedir [8].

2.1.4.3. Kütle spektroskopisi

Kütle spektroskopisi flavonoidlerin yapı özelliklerinin, özellikle molekül ağırlığının belirlenmesinde önemli bir metottur. Bileşiklerin yapı analiziyle ilgili pek çok bilginin günümüzde NMR spektroskopisiyle elde edilmesi mümkün olmasına rağmen, kütle spektroskopisi özellikle miktarı az olan maddelerin (miligram seviyesinin altında) yapı tayini için önemlidir.

Kütle spektrumu molekülün elektron bombardımanıya oluşan fragmentlere karşılık gelen sinyallerden oluşur. Bir molekülün ya da iyonun parçalanma yolu bileşiğin karbon iskeletine ve yapıda bulunan işlevsel gruplara bağlıdır. Flavonoidlerin molekül ağırlığını belirlemek için kütle spektrumunda önce moleküler iyonu (M^+), sonra da moleküler iyonun parçalanma yolunu belirleyerek, parçalanmadan oluşan düşük molekül ağırlıklı major piklere ait iyonlar tespit edilir. Kütle spektroskopisinde flavonoidler parçalanırken molekülden aşağıdaki kayıplar oluşabilir [8].

M^+-1 ; Hidrojen kaybı, çoğu flavonoid türleri için geçerlidir.

M^+-15 ; Metil grubu kaybı, metoksi grubu içeren flavonoidlerde görülür.

Özellikle C-6 ve C-8 pozisyonlarında metoksil grupları varsa, oluşan M^+-15 iyonu M^+ 'ya göre daha şiddetli pik verir.

M^+-18 ; Su kaybı, çoğunlukla flavonol, flavan-3,4-dioller ve C-glikozitlerin spektrumlarında gözlenir.

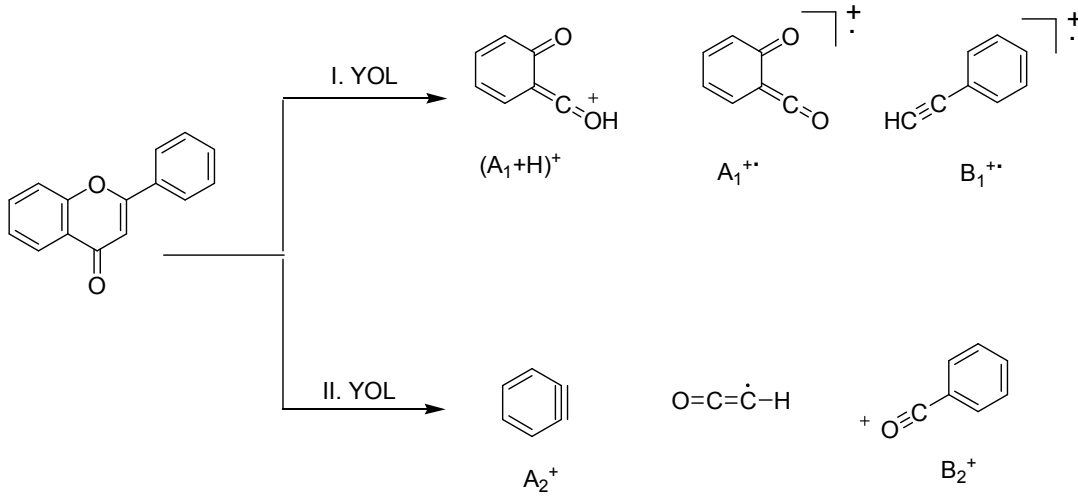
M^+-28 (29); CO (COH) kaybı, heterosiklik C halkasından keto grubunun çıkmasıyla oluşur.

M^+-31 ; OCH_3 kaybı, 2'-metoksil içeren flavonoidlerde görülür.

M^+-43 ; CH_3 ve CO kayıplarının birlikte gerçekleşmesiyle oluşur.

M^+ iyonunun A ve B halka fragmentlerini içeren kısımlara parçalanması yapı analizi bakımından faydalı bilgiler verir. Bu parçalanma genellikle, birbiriyle rekabet eden

iki yoldan biri üzerinden yürür (Şekil 2.4). Bu iki parçalanma yolundan birinin üstünlük kazanması aglikonun yapı özelliğine bağlıdır. Flavon ve izoflavonlar A_1^+ veya $(A_1+H)^+$ ve B_1^+ ; flavonoller $(A_1+H)^+$ ve B_2^+ ; flavanonlar A_1^+ , $(A_1+H)^+$ ve $(B_1+2H)^+$; dihidroflavonoller ise A_1^+ ve $(B_1+H_2O)^+$ parçalarını oluşturmaya yatkındırlar [8,20].



Şekil 2.4. Flavonoidlerin kütle fragmentleri

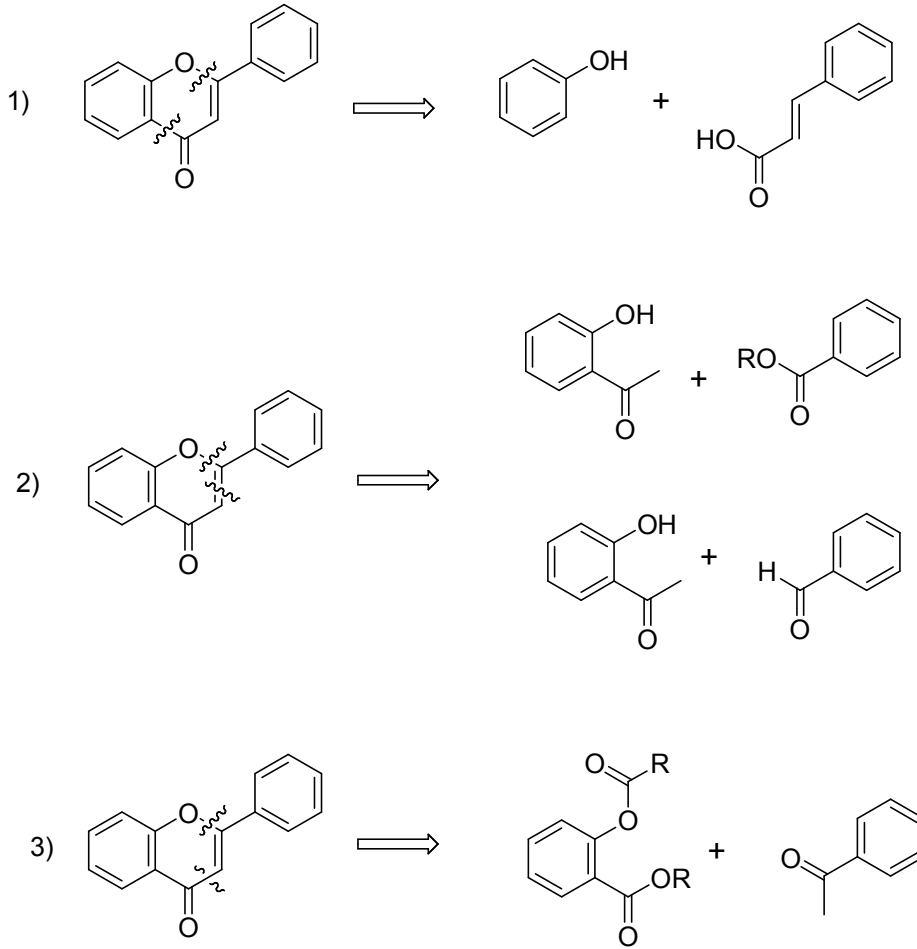
2.2. Flavonoidlerin Sentezi

Flavonoidler bitkilerde yaygın olarak bulunmalarına rağmen, oranlarının az oluşu (0,1-0,9 mg/kg) ve önemli farmakolojik etkilere sahip olmaları, bu bileşiklerin sentezine olan ilgiyi arttırmıştır.

Flavonoid sentezi için kullanılan metodlar genel olarak iki kategoriye ayrılabilir:

- Heterohalka sentez sırasında oluşur
- Heterohalka başlangıç maddesinde vardır, ancak yükseltgenme derecesi farklıdır.

Sentetik yaklaşımların büyük çoğunluğu flavonoidlerin sahip olduğu 4H-1-benzopiranon-4-on halka sisteminin oluşumuna göre şekillenir. Bu benzopiranon halkasının eldesi için üç farklı retrosentez önerilmektedir (Şekil 2.5) [29].

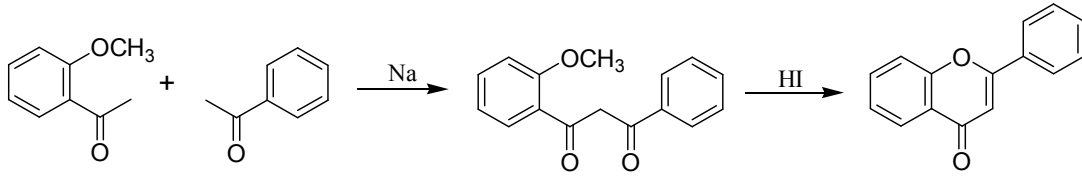


Şekil 2.5. Benzopiranon iskeletinin sentezi için retrosentez yaklaşımlar

2.2.1. Flavonoidlerin bazı klasik sentez yöntemleri

2.2.1.1. Kostanecki flavon sentezi

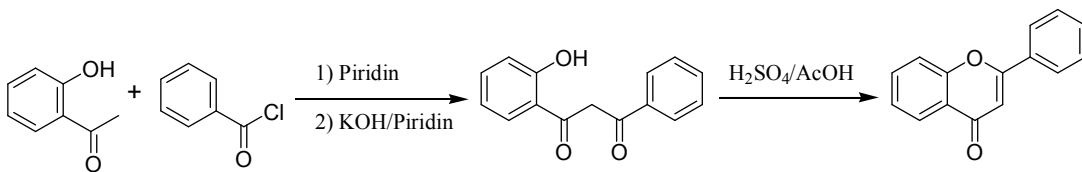
Flavonlar ilk kez von Kostanecki tarafından sentezlenmiştir (Şekil 2.6) [30]. Flavonların genel sentez yöntemlerinden biri olan bu reaksiyonda, öncelikle, o-metoksi asetofenon ile asetofenon metalik sodyum varlığında 1,3-diketona dönüşür. Daha sonra, bu ürünün kuvvetli asit ile muamelesiyle siklodehidrasyon sonucu flavon elde edilir.



Şekil 2.6. Kostanecki sentezi.

2.2.1.2. Baker-Venkataraman düzenlenmesi

1,3-Diketon ara ürününün oluşumu için bir diğer yöntem 2-hidroksi asetofenonun *O*-açillenmesi ile açiloksiaçilbenzen ara ürününün oluşması, daha sonra da Baker-Venkataraman düzenlenmesidir [31,32]. Açiloksiaçilbenzen ara ürününün piridin içinde baz ile reaksiyonu sonucu oksijen atomuna bağlı olan açil grubunun diğer açil grubunun karbon atomuna göçünü içeren bir düzenlenme gerçekleşir. Bu molekül içi düzenlenme Baker-Venkataraman düzenlenmesi olarak bilinir. Bu metodun en önemli avantajı göç eden açil grubunun alifatik veya aromatik uzantıya sahip olabilmesidir. Dolayısıyla, flavon sentezi için uygundur. Düzenlenme potasyum karbonat, potasyum hidroksit, sodyum hidroksit, metalik sodyum ve sodyum hidrür gibi bazik bileşenlerin yardımıyla gerçekleştirilebilir. Son aşamadaki siklizasyon sülfürik asit/ etanol veya sülfürik asit/ asetik asit gibi asidik ortamlarda ısıtılması ile gerçekleştirilebilir (Şekil 2.7).

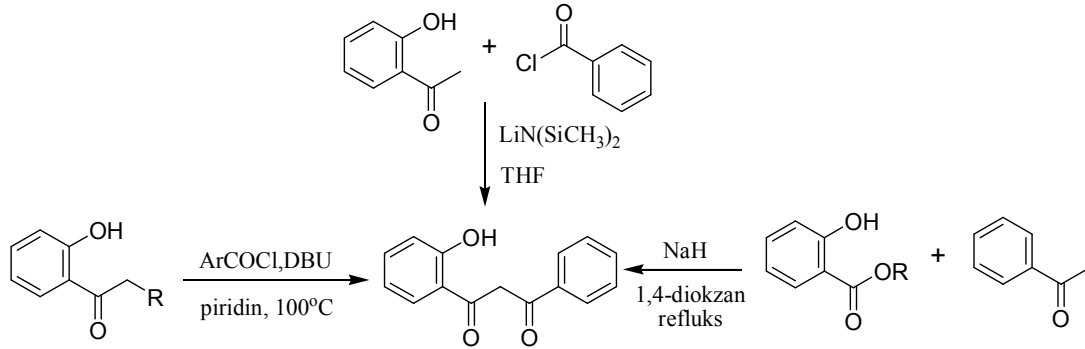


Şekil 2.7. Baker-Venkataraman düzenlenmesi

4*H*-1-benzopiran-4-on iskeletinin oluşturulması ve flavon sentezi için 1,3-diketon yaygın olarak kullanılan bir ara üründür. 1,3-diketon eldesi için kullanılan diğer bazı yöntemler şunlardır:

- hidroksiasetofenondan elde edilen lityum enolatın direk açılması.

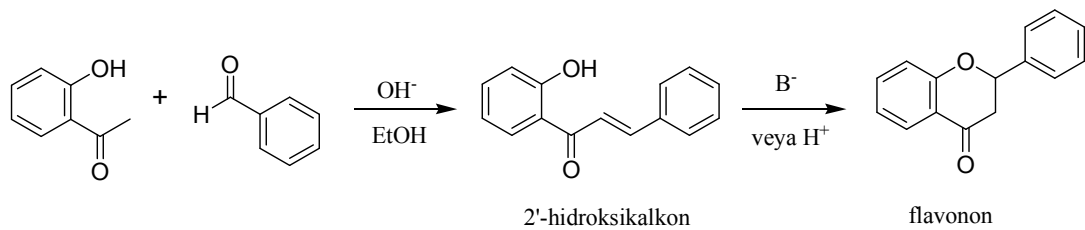
- b) aril veya alkonoil klorürlerin DBU katalizörlüğünde asetofenonlarla reaksiyonu.
- c) salisilik asit esterleri ile asetofenonun sodyum hidrür varlığında 1,4-diokzanda reaksiyonu (Şekil 2.8) [33,34].



Şekil 2.8. 1,3-diketon eldesi için diğer bazı yöntemler

2.2.1.3. Kalkon-flavanon izomerizasyonu

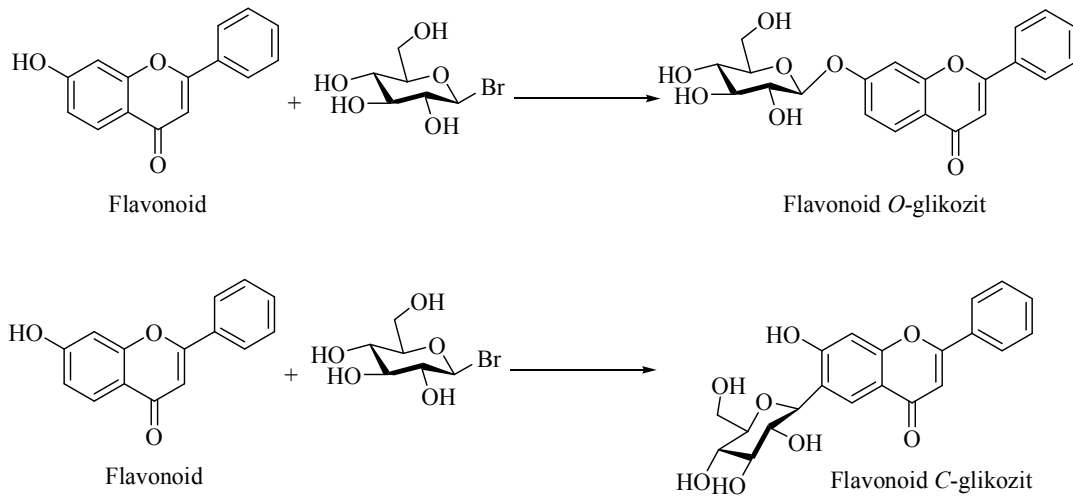
Kalkonların, biyosentez sırasında farklı flavonoid gruplarının önceli olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle, kalkon-flavanon izomerizasyonun flavonoid sentezlerinde önemli bir yeri vardır. Flavanon sentezinde kullanılan en yaygın metod, bazik ortamda 2'-hidroksiasetofenon türevlerinin uygun bir benzaldehit ile alkali ortamda kalkon vermesi, daha sonra da asit yada baz etkisiyle izomeri olan Flavanon eldesidir (Şekil 2.9) [1,2].



Şekil 2.9. Kalkon eldesi ve flavanon izomerizasyonu

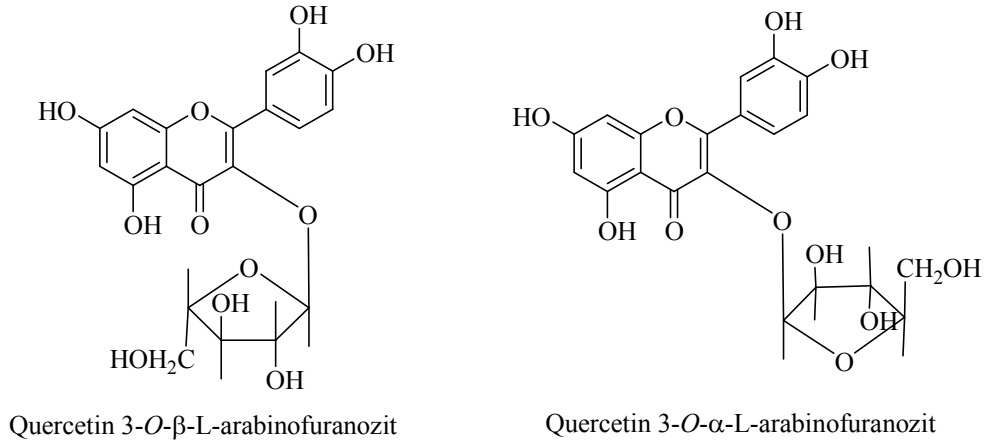
2.3. Flavonoid Glikozitler

Flavonoid glikozitler, aglikon molekülünün farklı pozisyonlarına bir veya birkaç şeker grubunun bağlanmasıyla oluşan bileşiklerdir. Flavonoid glikozitler, şeker molekülünün aglikon molekülüne bağlanma özelliğine göre *O*- ve *C*- glikozitler olarak iki gruba ayrılırlar. Flavonoid *O*-glikozitler şeker veya şekerlerin, aglikonun fenolik veya alkolik hidroksil grubuna, hemiasetal bağ aracılığı ile bağlanmasından oluşan bileşiklerdir. Flavonoid *C*-glikozitler ise şeker biriminin, C-1 atomu üzerinden, karbon-karbon bağı yaparak flavonoid molekülüne doğrudan bağlanmasından oluşurlar. *O*-glikozitler doğada *C*-glikozitlere göre daha yaygındır. Şeker birimlerinin aglikona bağlanma formları, başka bir deyimle *O*- ve *C*-glikozitlerin oluşması, bir örnekle Şekil 2.10'da gösterilmiştir [1].



Şekil 2.10. Flavanoid *C*- ve *O*-glikozitlerin oluşumu ve yapısı

Flavonoid glikozitler, yapılarında bulunan şekerlerin yarı asetal hidroksil grubunun konfigürasyonuna bağlı olarak, α - veya β - glikozitlere ayrılırlar. Örnek olarak quercetin, L-arabinofuranozitin farklı anomerleri ile oluşturduğu glikozitler, quercetin 3-*O*- α -L-arabinofuranozit ve quercetin 3-*O*- β -L-arabinofuranozit gösterilebilir (Şekil 2.11) [1].



Şekil 2.11. Flavonoidlerin α- ve β-glikozit yapıları

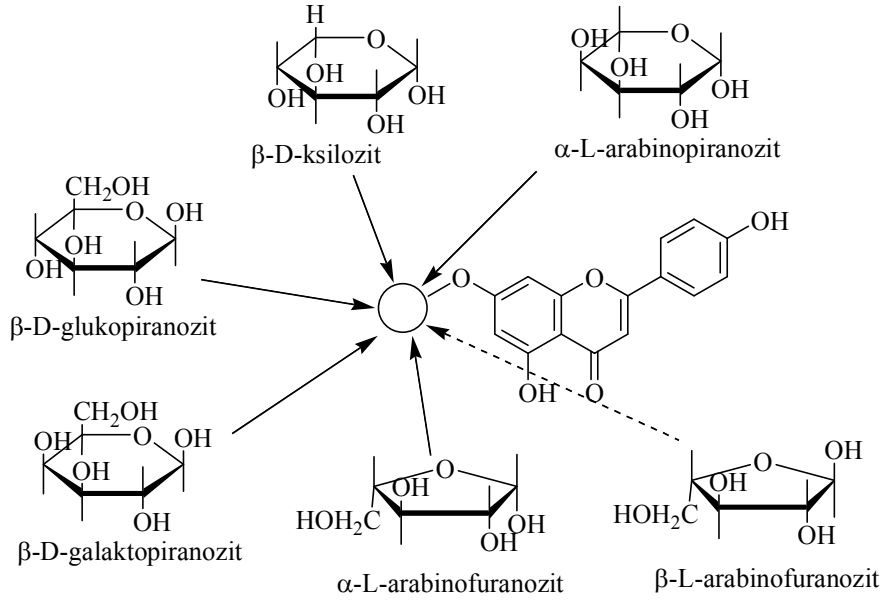
Doğada bulunan flavonoid glikozitlerin çoğu monosakkarit grupları içerir. Ancak yapılarında oligosakkaritlerin (disakkarit, trisakkarit, vb.) yer aldığı glikozitlerde bitki aleminde yaygındır. Molekülünde monosakkarit, disakkarit veya trisakkarit içeren flavonoid glikozitlere, sırayla monozit, biozit ve triozit denir. Aglikon molekülünün iki hidroksil grubunun glikozillenmesinden oluşan glikozitlere ise diglikozit veya bimonozitler denir [1].

2.3.1. Flavonoid *O*-glikozitler

Flavonoidler doğada çoğunlukla *O*-glikozitler halinde yaygındırlar. Flavonoid *O*-glikozitler aglikon molekülünün bir veya daha fazla hidroksil grubuna şekerlerin, asite karşı dayanıksız hemiasetal bağ aracılığıyla, bağlanmasından oluşan doğal bileşiklerdir. Flavonoid aglikonların yapısında bulunan farklı pozisyonlardaki hidroksil gruplarının hepsi glikozillemeye yatkındır. Ancak belirli pozisyonlarda bulunan hidroksil gruplarının glikozillenme olasılığı daha fazladır. Örneğin flavon, flavanon, izoflavon ve dihidroflavonlarda C-7, flavonol ve dihidroflavonlarda C-3 ve C-7, antosiyanidinlerde ise C-3 ve C-5 pozisyonlarındaki hidroksil grupları daha kolay glikozillenir.

Doğada çok değişik yapılara sahip flavonoid *O*-glikozitler tespit edilmiştir. Flavonoid glikozitlerin yapı çeşitliliği, aglikonun aynı veya değişik pozisyonlarına çeşitli şekerlerin farklı tautomer formlarda ve konfigürasyonlarda bağlanmasından

kaynaklanır. Apigeninin C-7 pozisyonuna değişik monosakkarit birimlerinin bağlanmasından oluşan glikozitlerin bazıları Şekil 2.12’de verilmiştir [1].



Şekil 2.12. Apigeninin 7- pozisyonuna bağlanabilen bazı şeker birimleri ve yapıları

Flavonoid glikozitlerin yapılarında şeker kalıntıları mono-, di- ve oligosakkaritler halinde bulunurlar. Ancak monosakkarit birimleri içeren glikozitler doğada daha yaygındır. Glikozit yapılarında monosakkaritlerden D-glikoza daha sık rastlandığı tespit edilmiştir. Bu monosakkaritler glikozit yapılarında genellikle piranoz formunda bulunur ve β - konfigürasyonunda bağlanırlar.

Günümüze kadar flavonoid O- glikozitlerinyapılarında 41 disakkarit tespit edilmiştir. Bu disakkaritler yapılarındaki monosakkaritlerin bağlanma düzenine göre pentoz-pentoz, heksoz-heksoz, pentoz-uronik asit ve uronik asit-uronik asit gruplarına ayrılırlar. Disakkaritlerin yapısında bulunan monosakkaritler daha çok β - bağı ile bağlanmış haldedir.

Şeker birimlerinin aglikona bağlanma pozisyonlarının sayısı genellikle bir veya iki, çok nadiren üç olabilir. Şeker birimleri flavonların C-7 hidroksil grubuna bağlanır. Örneğin apigeninin C-7 pozisyonundaki hidroksil grubu en aktif yerdir. C-7 pozisyonundan sonra diğer hidroksiller şeker grubuna atak yaparlar ve bu durumda

apigenin 7,4'-diglikozitler oluşur. Bu bileşikler porsuk ağacının polenlerinde yoğun bir şekilde bulunurlar.

Flavon glikozitler bitki ekstraktlarında sudaki düşük gezerlikleri yoluyla flavonol glikozitlerden ayrılabilir. 7-pozisyonuna şeker birimi bağlı olan flavon glikozitler asidik hidrolize aşırı dirençli olmaları ile flavonol glikozitlerden farklılık gösterir.

Flavon glikozitler nispeten yüksek erime sıcaklığına sahiptir ve sulu çözeltilerdeki kristelizasyonlarında hidrat formundadırlar. Bu bileşiklerin zorluk çıkartan yanı çözümlüklerinin çok az olmasıdır. Bu bileşikler bitkilerde çözülmüş formda gibi görünmelerine rağmen, izolasyonları sırasında hem suda hemde organik solventlerde çözülmemesi zorluk yaratır [1].

2.3.2. Flavonoid C-glikozitler

Flavonoid C-glikozitler, şeker birimi veya birimlerinin, aglikonun aromatik halkasının 6-, 8- pozisyonlarına doğrudan karbon-karbon bağı ile bağlanmasıyla oluşan bileşiklerdir [1]. C-glikozitlerin bazı kimyasal özellikleri, şeker kalıntısının aglikona bağlanma tipine bağlı olarak, O-glikozitlerden farklıdırlar. Örneğin, C-glikozitler O-glikozitlerin hidrolizlenme koşullarında hidrolizlenmezler. O-glikozitler 2N HCl-EtOH (1:1) içinde 4saat ısıtılarak hidroliz olurken C-glikozit türevleri tamamen etkisizdir [7].

Flavonoid C-glikozitlerin yapısındaki şeker birimi, genellikle aglikonun fenolik hidroksil grubu ile komşu pozisyondaki karbon atomuna bağlanır. Buna bağlı olarak fenolik hidroksil grubunun C-glikozit bağının oluşmasında aktifleştirici rol oynadığı anlaşılmaktadır.

Günümüze kadar flavonoid C-glikozitlerin yapılarında, β -D-glukopiranoz, α -D-glukopiranoz, β -D-galaktopiranoz, β -D-ksilopiranoz, α -L-arabinopiranoz ve β -L-arabinopiranoz vb. şeker birimleri tespit edilmiştir.

Flavonoidlerin mono-*C*-glikozitlerine, diğer *C*-glikozit gruplarına göre, doğada daha sık rastlanır. Mono-*C*-glikozilflavonoidlerin yapısında şeker birimi genellikle aglikonun C-6 veya C-8 pozisyonlarına bağlanmıştır. Benzer olarak doğada rastlanan di-*C*-glikozilflavonoidlerin yapısındaki şekerler genellikle 6,8-pozisyonlarında yer alır. Günümüze kadar bitkilerden izole edilen di-*C*-glikozitlerin çoğunluğunu di-*C*-glikozilflavonlar oluşturur. Flavonlar içinde ise, apigenin ve luteolin 6,8-di-*C*-glikozitleri daha fazla yaygındır [1].

2.3.3. Flavonoid glikozitlerin spektroskopik özellikleri

2.3.3.1. ¹H NMR spektroskopisi

Son zamanlara kadar, flavonoid glikozitlerin ¹H NMR spektrumlarından, yapıda bulunan şeker birimleri hakkında elde edilen bilgiler çok sınırlıydı. Bunun nedenlerinden biri, kullanılan çözücünün (DMSO-d₆) hidroskopik özelliğinden dolayı zamanla mutlak kuru tutulma zorluğudur. Öyle ki, çözeltide bulunan suyun sinyalleri genellikle, düşük miktar örneklerin analizinde 3.3 ppm bölgesinde yoğunlaşarak anomerik proton sinyalleri ile örtüşürler. İkincisi ise alan kuvveti 300 MHz'den az olan spektrometrelerin genellikle şeker komplekslerini analiz etmek için yeterli olmamasıdır. Glikozitlerin ¹H NMR spektrometrik analizinde rastlanan bu yetersizlikler, glikozitlerin perasetil türevlerini kullanarak ortadan kaldırılmıştır. Perasetil türevleri genellikle CDCl₃ de kolayca çözünür, şeker protonlarının sinyalleri spektrumda geniş bir alanda yer alır ve spektrometrenin aşağı alanında ayırt edilebilirler.

Flavonoidlere bağlı pek çok şeker C-H protonlarının kimyasal kayma değeri 3.5-4 ppm'dir. Glikozitlerin ¹H NMR spektrumlarındaki anomerik proton sinyali yapıda bulunan şeker birimi hakkında çok önemli bilgi verebilir. Örneğin, H-1/H-2 etkileşme sabiti poliglikozit yapısındaki hangi şekerin aglikona bağlandığının göstergesidir. Bu etkileşme sabiti aynı zamanda α- veya β-glikozit bağının işaretidir. Örneğin, β-glukopiranozitlerin H-1/H-2 etkileşme sabiti 7-8 Hz, α-glukopiranozitlerinki ise 3-4 Hz olduğundan, etkileşme sabitinin değerinden α- veya

β - bağılı glukopiranozitler birbirinden kolayca ayırt edilebilir. Bazı piranozitlerin H-1/H-2 etkileşme sabiti aşağıda verilmiştir [1].

- a. β -D-glikoz, β -D-galaktoz, β -D-ksiloz: 7-8 Hz;
- b. α -D-glikoz, α -D-galaktoz, α -D-ksiloz: 3-4 Hz;
- c. β -L-ramnoz: 1Hz; α -L-ramnoz: 2Hz;
- d. β -L-arabinoz: 2.5 Hz; α -L-arabinoz: 8 Hz.

2.3.3.2. ^{13}C NMR spektroskopisi

^{13}C NMR spektroskopisi hidroksillenmiş veya metoksillenmiş flavonoidlerin incelenmesinde başarı ile kullanıldığı gibi, flavonoid molekülünde bulunan şeker birimlerinin belirlenmesi içinde çok yararlı bir metottur.

Flavonoid çekirdeğine *O*- veya *C*- bağılı şekerlerin C-13 rezonans sinyalleri farklı alanlarda yer alırlar (Tablo 2.5) [1]. Genellikle, glikozitlerin yapısında şeker kalıntılarının bulunması flavonoidin ^{13}C NMR spektrumunda aşağıdaki değişikliklere neden olur [1].

1. Flavonoid hidroksilinin *O*-glikozillenmesi, hidroksilin bağlandığı karbon sinyalini 2 ppm civarında yukarı, orto- ve özellikle para- pozisyonlarında bulunan sinyallerini ise 1-4 ppm aşağı alana kaydırır.
2. *C*-glikozillenme aglikonun, şeker biriminin bağlandığı karbon atomu sinyalini 10 ppm aşağı alana kaymasına neden olduğu halde, diğer karbon atomlarının sinyallerini etkilemez.
3. Şeker biriminin glikoz ile glikozillenmesi, karbon sinyalini 8 ppm aşağı alana kaymasına, komşu karbon atomları sinyallerinin ise 1-3 ppm yukarı alana kaymasına neden olur.
4. Şeker birimlerinin açillenmesi genellikle açillenen karbon atomu sinyalini yaklaşık 2 ppm yukarı alana, komşu karbon atomlarının sinyallerini ise 1-2 ppm aşağı alana kaydırır.

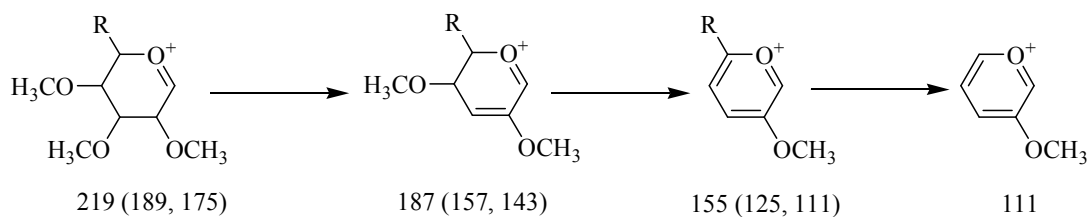
Tablo 2.5. Bazı flavonoid C- ve O- glikozitlerin şeker karbonlarının ^{13}C NMR rezonansları

Glikozit tipi	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6
7-O-glikozit	100.2	73.3	76.6	69.8	77.7	60.9
8-C-glikozit	73.9	71.4	78.8	70.8	81.4	61.5
3-O-galaktozit	102.3	71.3	73.4	68.0	75.8	60.8
8-O-galaktozit	73.9	68.5	75.4	69.1	80.5	61.3
3-O- α -ramnozit	101.9	70.4	70.6	71.5	70.1	1.3
3-C- α -ramnozit	77.3	75.0	75.5	72.2	72.2	18.1
2'-O-ksilozit	102.4	73.7	75.9	69.4	65.5	
6-C-ksilozit	74.6	70.3	78.5	70.0	70.0	
3-O- α -arabinozit	101.8	71.7	70.8	65.9	64.1	
3-O- α -arabinofuranozit	108.1	82.1	77.2	86.2	61.0	
8-C-arabinozit	74.4	68.2	74.5	68.9	71.0	
3-O-glukuronit	101.1	73.7	75.9	71.3	75.9	169.7
3-O-allozit	99.9	71.6	71.6	67.2	75.1	61.3
2''-O-apiozit	109.0	76.5	79.1	74.0	64.4	

2.3.3.3. Kütle spektroskopisi

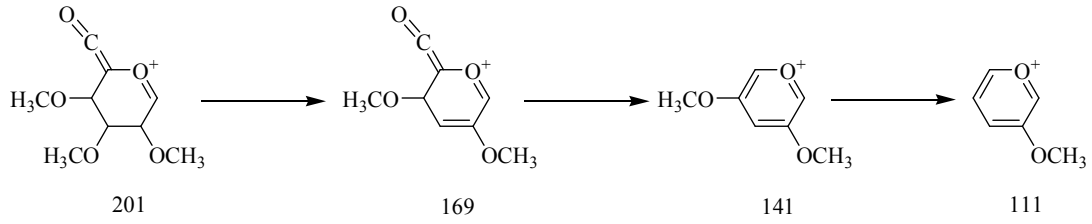
Flavonoidlerin 3-, 5- ve 4'-O-glikozitlerinin permetil veya perdoterometil eterleri şeker kalıntılarını kolayca kaybederek genelde düşük şiddetli (%0.1-2) moleküler iyonlar verirler. Ancak eşdeğer 7-glikozitler ise yüksek şiddete sahip (%10-90) normal moleküler iyonlar oluştururlar.

a. Pentozitler (R=H) ve heksozitler (R=CH₃ veya CH₂OCH₃)



Şekil 2.13. Pentozit ve heksozitlerin kütle fragmentleri

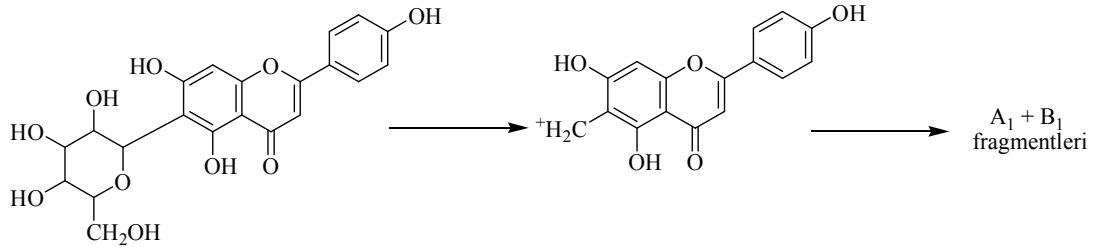
b. Glükuronidler



Şekil 2.14. Glukuronidlerin kütle fragmentleri

Permetillenmiş mono-*O*-glikozitlerden ayrılan şeker parçalarından MeOH birimleri peşpeşe kopar ve bu oluşan parçalar glikozit molekülünde bulunan şeker tipinin belirlenmesine yardım eder. Di- ve tri- glikozitlerde ise ayrı ayrı şekerlerin peş peşe kaybı normaldir [1].

Türevsiz *C*-glikozitlerin kütle spektroskopisi nadir hallerde moleküler iyon verir ve bu yüzden şeker birimi hakkında az bilgi elde edilir. Ancak, bunların spektrumunda *C*- bağlı şekerin CH₂ kalıntısını içeren aglikona uygun temel iyon piki yer alır (Şekil 2.15).

Şekil 2.15. Flavonoid *C*-glikozitlerin kütle fragmentleri

Bu iyonun molekül ağırlığı aglikon tipini belirlemek için faydalıdır. Oluşan bu iyon yukarıda gösterildiği gibi sonradan A- ve B- halka kısımlarına parçalanır [1].

2.3.4. Flavonoid glikozitlerin sentezi

Flavonoid glikozitlerin bitkilerde yaygın olarak bulunmalarına rağmen, önemli farmakolojik etkilere sahip olmaları, bu bileşiklerin sentezine olan ilgiyi arttırmıştır. Günümüzde bazı flavonoid türevlerinin yaygın, kolay temin edilebilir ve ucuz oluşundan dolayı, araştırmacılar flavonoidleri sentezleyerek elde etmekten çok piyasadan temin etmeye yönelmiştir.

Flavonoid glikozitlerin sentezi, flavonoid sentezi ve şeker birimlerinin takılması şeklinde iki kısma ayrılabilir. Flavonoidlerin sentezi Bölüm 2.2.'de incelenmişti. Bu bölümde şeker birimlerinin flavonoidlere bağlanma metodları incelenecektir.

2.3.4.1. Flavonoid türevlerine glikozitlerin bağlanması

Flavonoid türevlerine glikozitlerin bağlanmasında çok çeşitli metotlar vardır. Ancak flavonoid grubunda birden fazla hidroksil grubu olması durumunda, istenmeyen yan ürünlerin oluşması, ana ürünün yan üründen ayrıştırılması ve verim kaybı gibi sıkıntılar çıkarabilir. Bu zorlukları aşabilmek için diğer hidroksil gruplarının korunması veya diğer hidroksil gruplarının reaktivitesinin düşük olduğu bileşiklerden yola çıkılması (örneğin, apigenin yerine naringenin senteze başlanması) yollarına başvurulabilir.

Flavonoid türevlerine glikozitlerin bağlanması hakkında yapılan son yıllardaki çalışmaların en önemlileri Tablo 2.6'de verilmiştir.

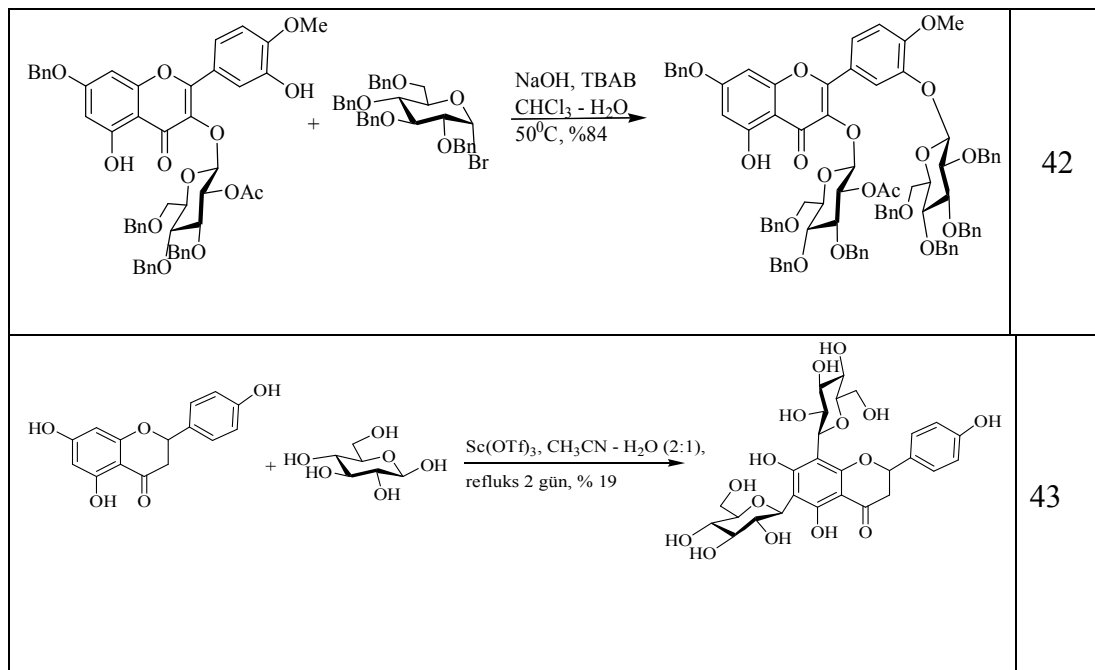
Tablo 2.6. Flavonoid türevlerine glikozit bağlanma yöntemlerinde önemli uygulamalar

	Kaynak
	35

Tablo 2.6. (Devam) Flavonoid türevlerine glikozit bağlanma yöntemlerinde önemli uygulamalar

	36, 37
	38
	39
	40
	41

Tablo 2.6. (Devam) Flavonoid türevlerine glikozit bağlanma yöntemlerinde önemli uygulamalar

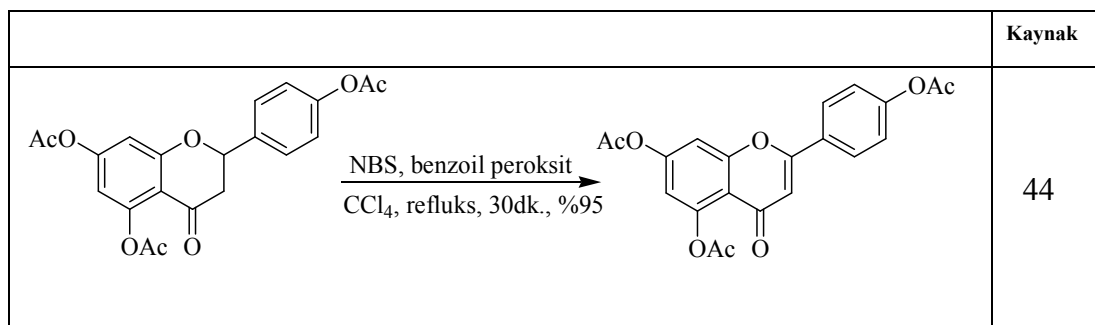


2.3.4.2. Flavanon türevlerinin yükseltgenmesi

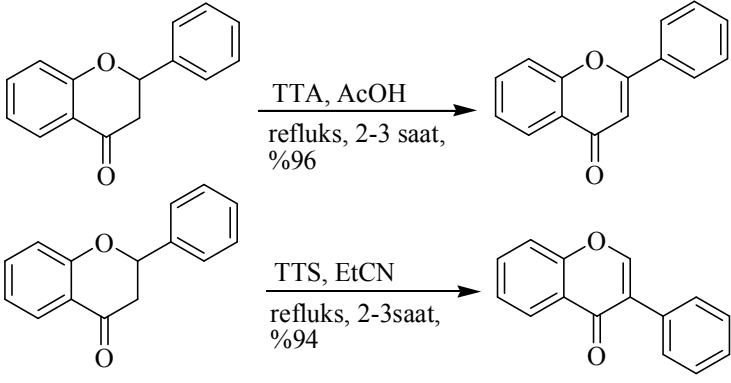
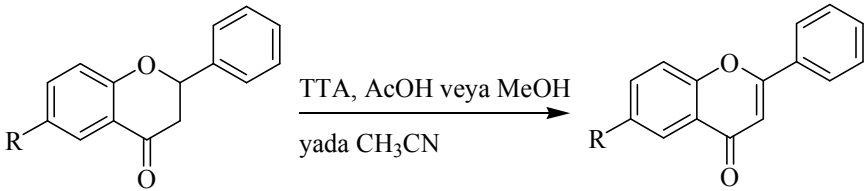
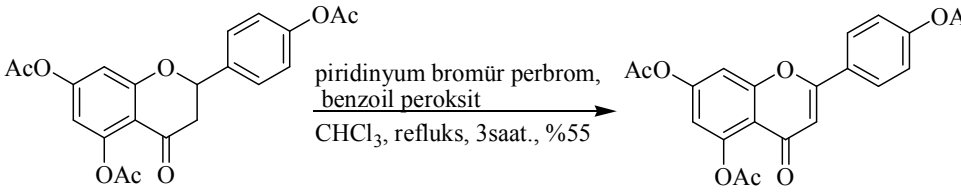
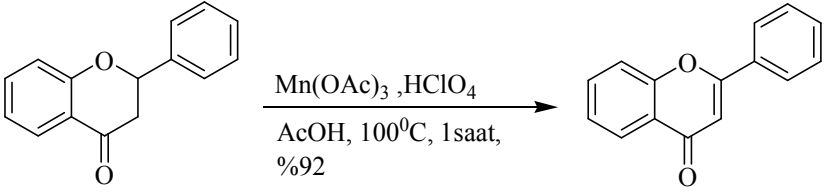
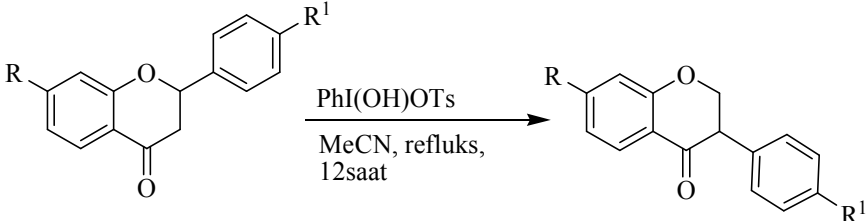
Flavonoid glikozitlerin total sentezinde kullanılan önemli bir basamakta, başlangıç maddesi flavanon türevlerinden biri ise bu bileşiğin flavonlara yükseltgenmesidir.

Bu konu üzerine, son yıllarda yapılan bazı çalışmalar Tablo 2.7'da verilmiştir.

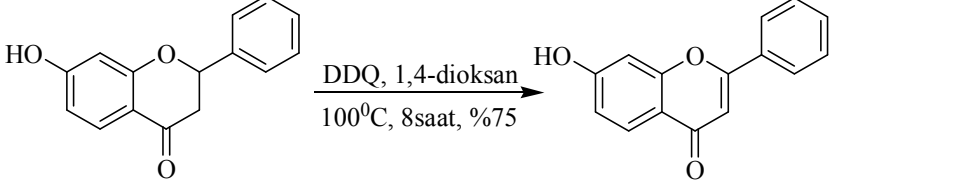
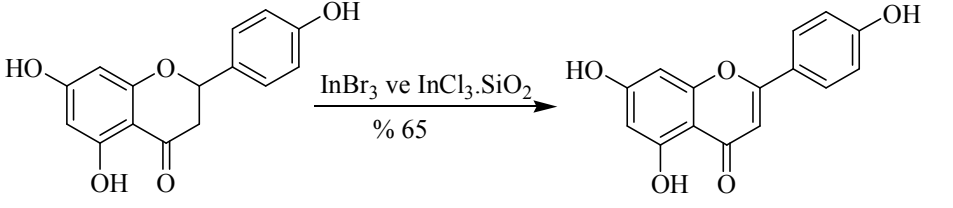
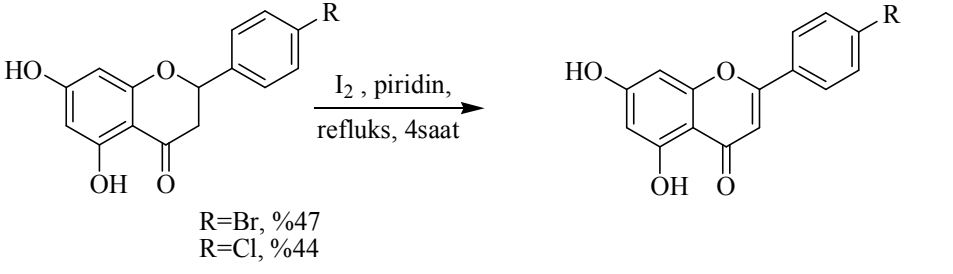
Tablo 2.7. Flavanon türevlerinin yükseltgenmesinde bazı yöntemler



Tablo 2.7.(Devam) Flavonon türevlerinin yükseltgenmesinde bazı yöntemler

 <p>TTA, AcOH reflüks, 2-3 saat, %96</p> <p>TTS, EtCN reflüks, 2-3 saat, %94</p>	45
 <p>TTA, AcOH veya MeOH yada CH₃CN</p> <p>R=H, in AcOH, 3 saat, reflüks, %96. R=CH₃, in AcOH, 3 saat, reflüks, %98. R=H, in MeOH, 20 saat, reflüks, %88 R=CH₃, in MeOH, 20 saat, reflüks, %88 R=H, in CH₃CN, 24 saat, reflüks, %84 R=CH₃, in CH₃CN, 24 saat, reflüks, %84</p>	46
 <p>piridinyum bromür perbrom, benzoil peroksit CHCl₃, reflüks, 3 saat., %55</p>	47
 <p>Mn(OAc)₃, HClO₄ AcOH, 100°C, 1 saat, %92</p>	48
 <p>PhI(OH)OTs MeCN, reflüks, 12 saat</p> <p>R=R¹=H, %75 R=R¹=OCH₃, %74</p>	49

Tablo 2.7.(Devam) Flavonon türevlerinin yükseltgenmesinde bazı yöntemler

 <p>DDQ, 1,4-dioksan 100°C, 8saat, %75</p>	50
 <p>InBr₃ ve InCl₃.SiO₂ % 65</p>	51
 <p>I₂, piridin, refluks, 4saat</p> <p>R=Br, %47 R=Cl, %44</p>	52

2.3.4.3. Koruma gruplarının kaldırılması

Flavonoid glikozitlerin total sentezinin flavonoid grubuna şeker birimlerinin takılması ve yükseltgenme basamaklarında, açıkta olan hidroksil gruplarının organik solventlerde çözünmeyi zorlaştırması ve ana ürünün saflaştırılması sırasında çeşitli sıkıntılar çıkartmaları istenmeyen durumlardır. Araştırmacılar açıkta olan hidroksil gruplarını çeşitli yöntemlerle koruyarak (asetilleme, benzilleme, metilleme, benzoilleme vb.) bu sıkıntıları kolaylıkla aşmışlardır.

Tablo 2.8'de koruma gruplarının seçimli veya tamamen kaldırılması üzerine son yıllarda yapılan bazı çalışmalar verilmiştir.

Tablo 2.8. Koruma gruplarının seçimli veya tamamen kaldırılmasında önemli uygulamalar

	Kaynak
	41
	53
	37
 	54
 	55

2.4. Antosiyaninler

Antosiyanin adı yunanca anthos (çiçek) ve kyanos (mavi) kelimelerinden türeyen mısır çiçeğinin mavi pigmentleri olarak tanımlanır. Antosiyaninler, pembeden kırmızıya ve violeden koyu maviye olan birçok çiçeğin, meyvenin yaprağın ve gövdenin renginden sorumlu fenolik bileşiklerdir. Aynı zamanda bu bileşikler bitki aleminde suda çözünebilen en geniş pigment sınıfını oluştururlar. . Antosiyaninlerin renkleri yapıya ve meyvenin asitliğine de bağlıdır. Çoğu antosiyanin asidik koşulda kırmızı olur ve düşük asitli koşulda maviye döner. Bu özelliklerinden dolayı antosiyaninler, asit baz indikatörü olarak da kullanılmaktadır [56]. Flavilyum katyonu olarak da bilinen antosiyaninler, antioksidan, antikanser, antibakteriyal, antiinflamator ve antianjijenik gibi biyolojik etkilerinin yanında [57], antosiyaninler gıda boyası, saç boyası, son yıllarda güneş pillerinde hassaslaştırıcı olarak kullanılmaktadır [58]. Bu özelliklerinden dolayı günümüzde antosiyaninlere karşı olan ilgi artmıştır. Antosiyaninler, neredeyse tüm bitki familyalarında bulunur. Esas rengi veren başlıca antosiyaninler; Siyanidin, şeftali, kiraz, incir, erik, ahududu, frenküzümü, kırmızı lahanada , Malvidin bazı üzümelerde, Pelargonidin çilek, kırmızı turp, dut, Peonidin bataklık kıızılcığında, Petunidin Amerikan üzümünde bulunur. Antosiyaninlerin ana kaynağı, böğürtlen, üzüm, yabanmersini gibi küçük sulu ve taneli meyveler, avakado, portakal ve patlıcan, zeytinler, kırmızı soğan, tatlı patates, gibi bazı sebzelerdir.

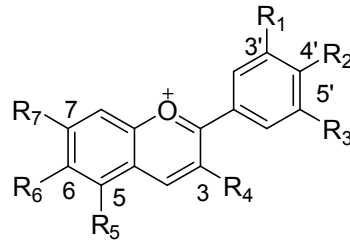
Literatürde özellikle son yıllarda, analitik olarak inceleme, kullanım alanları ve insan sağlığına olan etkileri üzerine antosiyaninlerle ilgili oldukça fazla çalışmaya rastlanmaktadır.

2.4.1. Antosiyaninlerin yapısı

Antosiyaninler, flavilyum katyonuna sahip fenolik bileşikler olup ilk kez Willstatter ve Burdick tarafından izole ve karakterize edilmiştir. Antosiyaninler, aglikon (antosiyanidinler) ve şeker grubundan oluşmuşlardır. Klasik antosiyanin aglikonu C₁₅ iskeletine (C₆-C₃-C₆) sahip, asidik pH larda pozitif yük içeren bileşiklerdir.

Antosiyaninler, elektron konjugasyonundan dolayı görünür ışığı iyi absorbe ederler, antosiyaninlerin bu özelliklerinden dolayı meyve ve sebzeler doğada kırmızıdan mora kadar değişen renklerde bulunurlar.

Kimyasal olarak antosiyaninler, polihidroksil veya polimetoksil glikozitleri, açılıglikozitleri ve glikozit grubu bağlı olmayan antosiyanidinler şeklinde doğada bulunurlar. Doğada en çok bulunan antosiyaninler; pelargonidin, siyanidin, delphinidin, peonidin, petunidin ve malvidindir. Bütün antosiyaninlerin yaklaşık % 90 yaygın olarak altı antosiyanidin üzerine kurulmuştur. Tablo 2. 9' de doğada bulunan başlıca antosiyanidinlerin kimyasal yapıları ve renkleri verilmektedir. Antosiyaninlerin renkleri, halkalar üzerinde bulunan hidroksil gruplarının sayısına ve bu gruplara bağlı şeker gruplarına göre değişmektedir. Antosiyaninler, hücre sitoplazmasında glikozit formda bulunmaktadır. Antosiyaninlerin aglikon kısmını oluşturan fenolik bileşiklerin molekülünde -OH grubu sayısı arttıkça renkte mavilik, -OCH₃ grubu sayısı arttıkça kırmızılık artmaktadır.



Şekil 2.16. Antosiyaninlerin yapısı ve numaralandırılması

Tablo 2.9. Anyosiyaninlerin kimyasal yapıları ve renkleri

Antosiyanidin	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	Ana renk
Apigeninidin	-H	-OH	-H	-H	-OH	-H	-OH	Turuncu
Aurantininidin	-H	-OH	-H	-OH	-OH	-OH	-OH	Turuncu
Capensinidin	-OCH ₃	-OH	-OCH ₃	-OH	-OCH ₃	-H	-OH	Mavimsi kırmızı
Cyanidin	-OH	-OH	-H	-OH	-OH	-H	-OH	Morumsukırmızı
Delphinidin	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH	-H	-OH	Pembe, mavi

Tablo 2.9.(Devam) Anyosiyaninlerin kimyasal yapıları ve renkleri

Europinidin	-OCH ₃	-OH	-OH	-OH	-OCH ₃	-H	-OH	Mavimsi-kırmızı
Hirsutidin	-OCH ₃	-OH	-OCH ₃	-OH	-OH	-H	-OCH ₃	Mavimsi-kırmızı
Luteolinidin	-OH	-OH	-H	-H	-OH	-H	-OH	Turuncu
Pelargonidin	-H	-OH	-H	-OH	-OH	-H	-OH	Turuncu somon
Malvidin	-OCH ₃	-OH	-OCH ₃	-OH	-OH	-H	-OH	Pembe
Peonidin	-OCH ₃	-OH	-H	-OH	-OH	-H	-OH	Morumsukırmızı
Petunidin	-OH	-OH	-OCH ₃	-OH	-OH	-H	-OH	Pembe
Pulchellidin	-OH	-OH	-OH	-OH	-OCH ₃	-H	-OH	Mavimsi-kırmızı
Rosinidin	-OCH ₃	-OH	-H	-OH	-OH	-H	-OCH ₃	Kırmızı
Triacetidin	-OH	-OH	-OH	-H	-OH	-H	-OH	Kırmızı

Antosiyaninlerin, numaralandırma sistemi şekil 2.16' da verilmiştir. Antosiyaninler 3- konumunda hidroksil grubu olmaması yani apigenidin tipi deoksiantosiyanidinlerin asidik çözeltilerde siyanidinlere göre daha kararlı olduğu ortaya konulmuştur [59].

2.4.2. Antosiyanidin glikozitler

Antosiyanidinler doğada yaygın değildir. Buna rağmen, antosiyanidinlerin glikozitleri (antosiyaninler) bitki aleminde çok yaygındır. Bitkilerden farklı yapılarda çok sayıda antosiyanin elde edilmiştir. Antosiyaninlerin çeşitliliği aglikonun türünden, molekülde bulunan substituentlerin tür ve pozisyonundan, şeker kalıntılarının aglikona bağlanma konfigürasyonundan kaynaklanır. Cyanidin, delphinidin ve pelargonidin glikozitleri bitki aleminde daha yaygındır.

Yapılarında çeşitli pentoz ve heksozlar, di-, tri- ve oligosakkaritler içeren antosiyaninler doğada yaygındır. Antosiyaninlerin yapısında, şeker kalıntısı aglikona genellikle şekerin C-1 pozisyonundaki β -hidroksil grubu üzerinden bağlanır. Antosiyanidinlerin C-3, 3-deoksiantosiyanidinlerin ise C-5 pozisyonundaki hidroksil grubu glikozillenmeye daha yatkındır. Ancak antosiyanidinlerin C-3 pozisyonundaki hidroksil grubu glikozillenmediği halde, C-7 hidroksil grubunun glikozillendiği

birkaç antosiyanin de bilinmektedir. Bunlara örnek olarak, delphinidin 7-galaktozit, cyanidin 7-arabinozit ve delphinidin 7-glukozit verilebilir.

Antosiyaninlerin yapısında monosakkaritlerden glukoz, monosakkarit veya di- ve trisakkaritlerin bileşeni olarak daha sık rastlanır. Antosiyaninlerin yapısında D-galaktoz ve L-ramnoza nadiren, L-arabinoz ve ksiloza bazı örneklerde rastlanır. Glikozitlerin yapısında C-7 pozisyonunda daima, C-5 pozisyonunda ise çoğunlukla glukoz kalıntısına rastlanır. Ancak C-7 pozisyonunda galaktoz, ramnoz ve ksiloz kalıntılarının bulunduğu glikozitler de bitkilerden izole edilmiştir.

Mentha piperita ve *Salix purpurea* yapraklarından elde edilen antosiyaninlerin fruktoz kalıntısı içerdiği belirlenmiştir.

Antosiyaninlere doğada çoğunlukla 3-monozitler, 3-biozitler ve 3-triozitler, aynı zamanda 3,5-diglikozitler ve nadir hallerde de 3,7-diglikozitler halinde rastlanır. Bu tür glikozit yapılarında şeker kalıntısı olarak glukoz, galaktoz, ramnoz, arabinoz ve ksiloz gibi monosakkaritler yer alırlar. Söz edilen monosakkaritlerden son ikisi glikozitlerde fazla yaygın değildir.

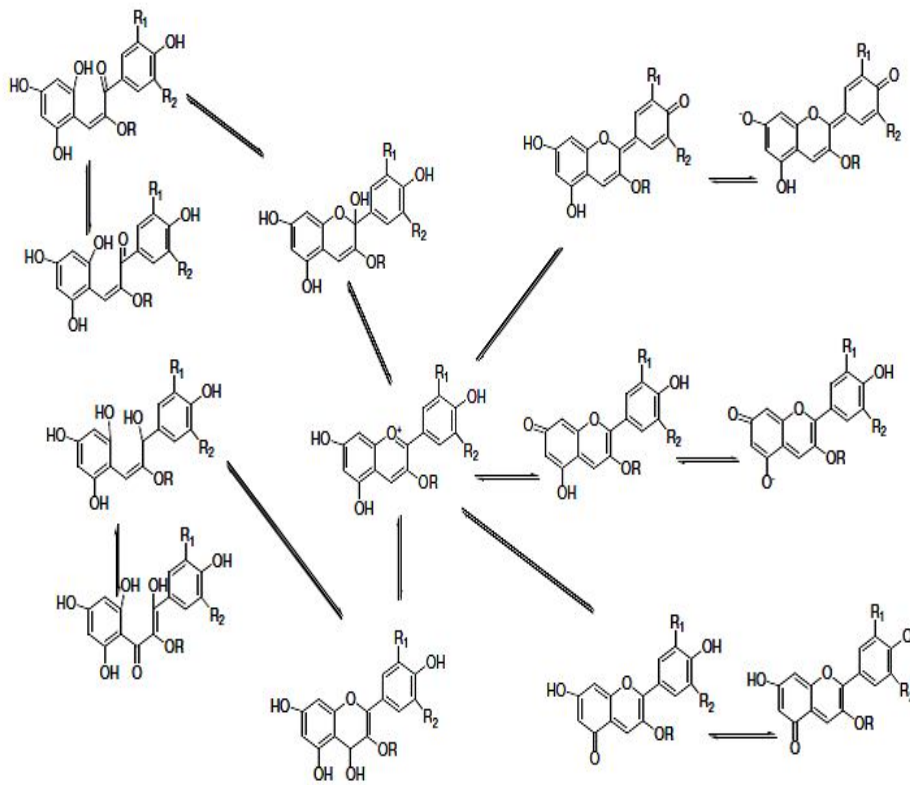
Aronia melanocarpa (Rosaceae) bitkisinin meyvelerinden, ana bileşenler olarak elde edilen, cyanidin 3-galaktozit ve cyanidin 3-arabinozitle birlikte, yeni bir monoglikozit cyanidin 3-ksilozit bulunmuştur. Cyanidin 3-ksilozit ayrıca, son zamanlarda elmadan da izole edilmiştir.

Antosiyaninlerin yapılarında rastlanan ramnoglukozitler, genellikle rutinozit [*O*- α -L-ramnozil-(1 \rightarrow 6)-glukoz] yapısındadır. Ancak, Podocarpaceae familyası türlerinden, yapısında neohesperidoz [*O*- α -L-ramnozil-(1 \rightarrow 2)-glukozit] içeren antosiyaninler de izole edilmiştir.

Doğada nadiren bulunan cyanidin 3-malonilglukuronozilglukozit (glukuronosil türevi) *Bellis prennis* bitkisinden izole edilmiştir. Bu bileşik, nötral sulu çözeltilerde cyanidin 3-glukozite göre daha dayanıklı, cyanidin-3-glukuronilglukozite göre ise daha dayanıksızdır [1].

2.4.3. Antosiyaninlerin Denge Halleri

Antosiyaninler değişik denge hallerinde bulunurlar. Termodinamik ve kinetik çalışmalar, farklı pH larda antosiyaninlerin flavilyum katyonunda proton transferi, izomerizasyon ve tautomerizasyon gibi değişik dönüşümlerin olduğunu ortaya koymuştur. Kuvvetli asidik şartlarda (pH 2 nin altında) flavilyum katyonunun baskın olduğu, bununda kırmızı renge sebep olduğu ortaya konulmuştur. Zayıfça asidik veya nötral sulu ortamlarda antosiyaninlerin nötral veya iyonize quinonoidal baz haline dönüşür. Zayıf asidik çözeltilerinde su katılmasıyla flavilyum katyonu oldukça kararlı renksiz hemiketal ve şalkon formuna dönüşür. Flavilyum katyonuna su katılması, 2-pozisyonundan olduğunda hemiketal 2-katılma verir, ancak 4-pozisyonundan da katılma mümkündür.

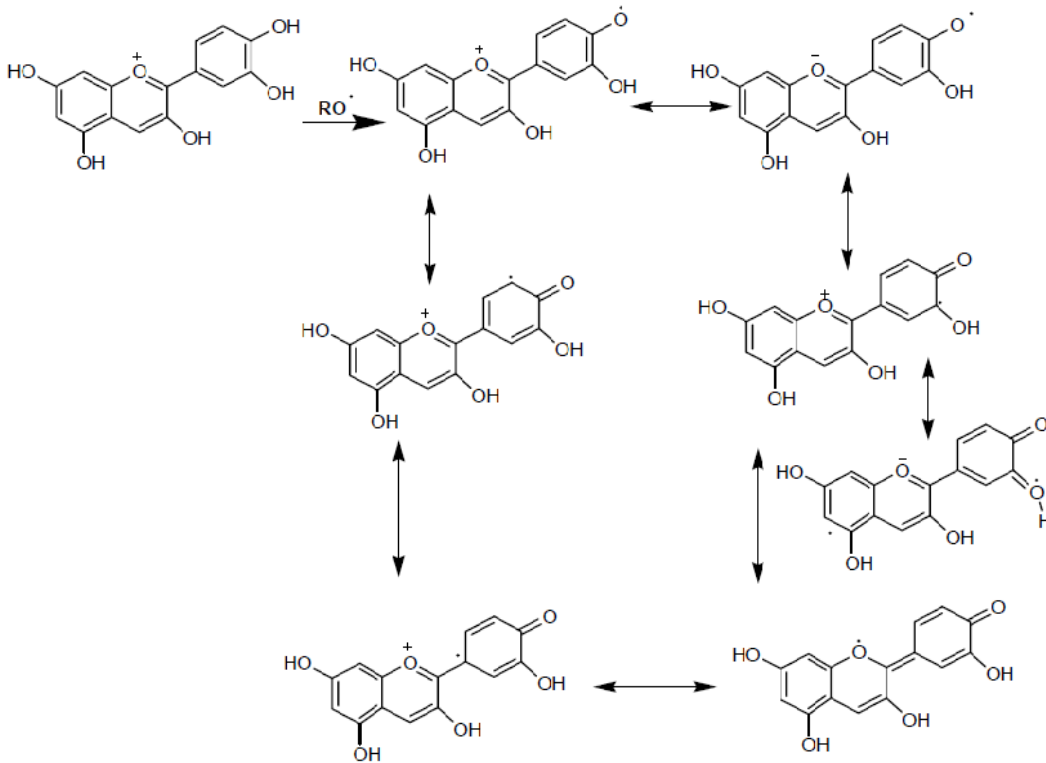


Şekil 2.17. Antosiyaninlerin denge hali

2.4.4. Antosiyaninlerin antioksidan aktiviteleri

Antosiyaninler doğada meyve ve sebzelere çekici rengi kazandırmanın yanında antioksidan özellikleriyle de dikkat çekmektedirler [10, 60]. Antosiyaninlerin antioksidan aktivitesi, metal iyonlarıyla şelat oluşturma ve protein bağlama özelliklerine dayanmaktadır [61]. Antosiyaninlerin antioksidan aktiviteleri yapılarıyla yakından ilişkilidir. Yapıdaki -OH sayısının artışı, B halkasındaki ohidroksi yapı, 3' ve 4' karbona -OH 'lerin bağlanması antioksidan aktiviteyi arttırmaktadır [62]. Yapıya katılan şeker sayısı değiştikçe antioksidan aktivite de değişir, 3 ve daha fazla şeker ilavesi antioksidan aktiviteyi azaltır [63, 64]. In vitro

koşullarda, düşük yoğunluklu lipoproteinlerin (LDL) oksidasyonunu önleme açısından antosiyaninler, büyükten küçüğe doğru delfinidin > siyanidin > malvidin > pelargonidin olarak sıralanmaktadır [61].



Şekil 2.18. Antosiyaninlerin radikallerinin rezonans yapıları

Meyvelerdeki antioksidanlar özellikle büyük ölçüde antosiyaninlerden kaynaklanmaktadır. Siyah, koyu kırmızı ve mavi renkler içeren meyvelerin antioksidan değerleri çok daha yüksektir [65]. Antioksidanların yaşlanmanın önüne

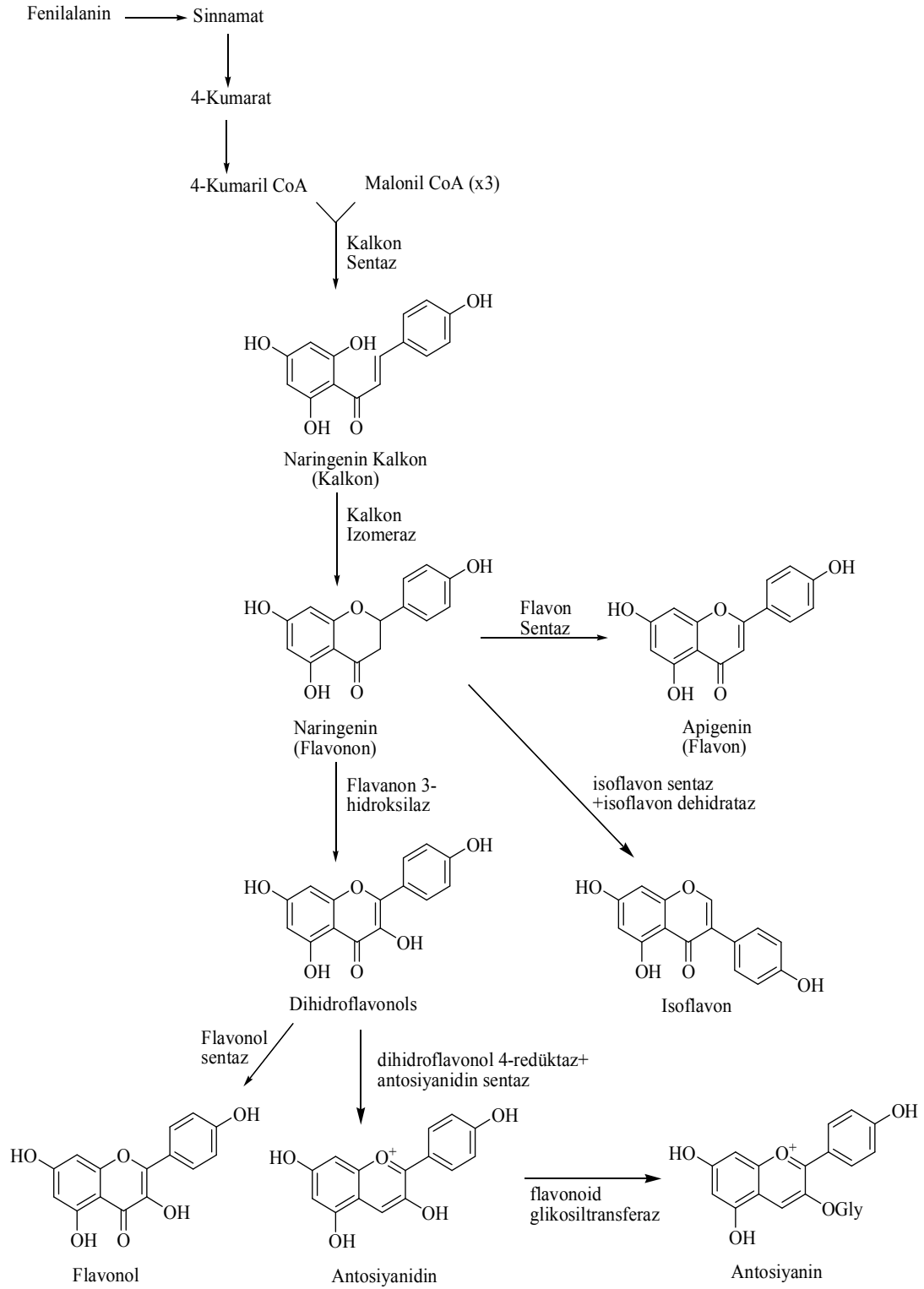
geçtiği gerçeği, bu maddelerin en önemli aktivitesidir. DNA moleküllerine zarar veren ve kansere yol açan serbest oksijen radikallerini nötralize etmektedirler [66].

Ayrıca bunlar çevresel kanserojenleri etkisiz hale getirirken, kardiovasküler rahatsızlıklara karşı koruyucu etki sağlamakta, güneş zararına karşı savaşmakta, Alzheimer ve diğer yaşlılıktan kaynaklanan hastalıkları engellemektedirler [67].

Yukarıda açıklanan insan sağlığı için faydalı olan bitkisel kimyasalların bazı meyvelere oranla bileşikler bakımından daha yüksek düzeyde oldukları görülmektedir.

2.4.5. Antosiyaninlerin biyosentezi

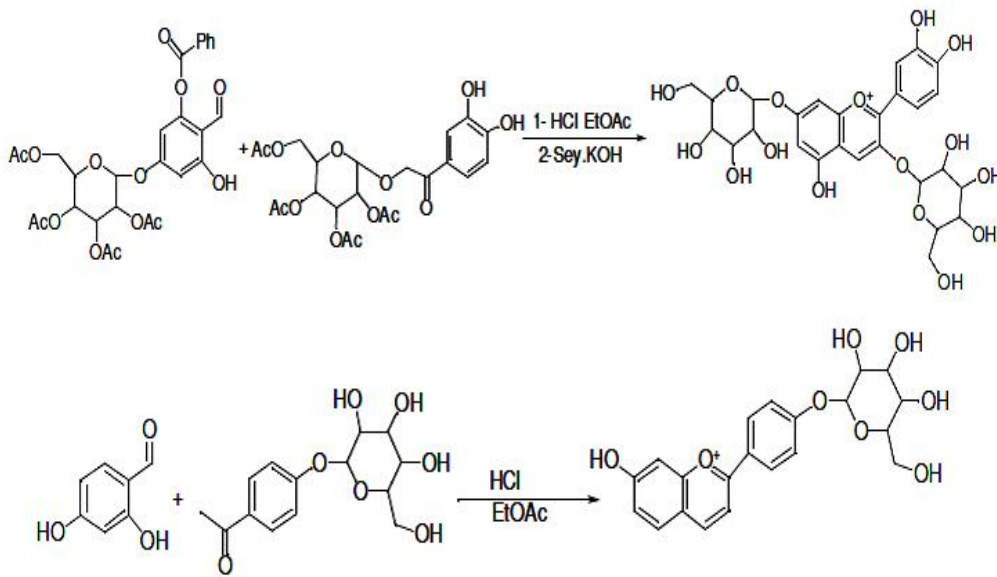
Antosiyaninler bitkilerin ikincil metabolitlerindedir. Bitkilerin fotosentezle oluşturdukları ve hayatsal gereksinimleri için kullandıkları karbonhidratlar, amino asitler, v.b. gibi birincil metabolitlerden türerler [11]. Yükseltgenme, indirgenme, alkilasyon, açılasyon ve düzenlenme gibi esas iskelet üzerinde değişikliklerle oluşan antosiyaninlerin diğer sınıfları Şekil 2.19'de verilmiştir [15,59].



Şekil.2.19. Antosiyaninlerin biyosentezi

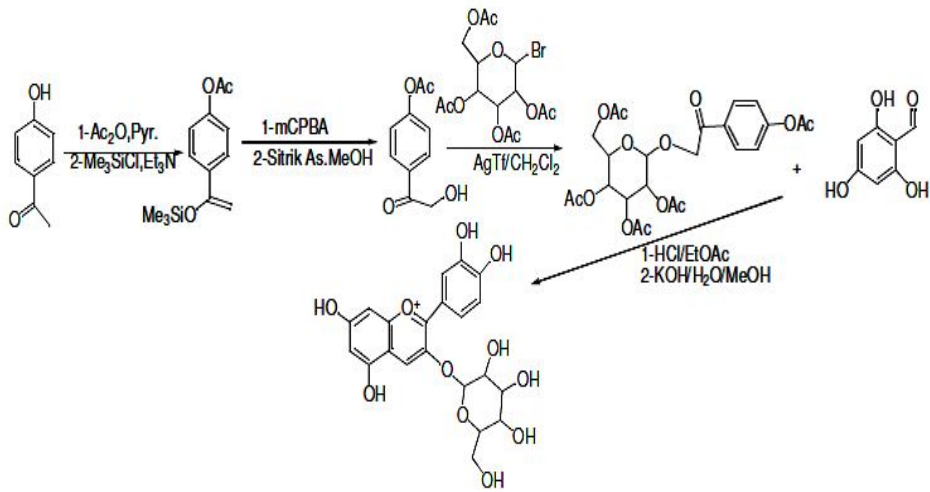
2.4.6. Antosiyaninlerin sentezi ile ilgili bazı yöntemler

Antosiyanidin glikozitleri ilk defa Robinson tarafından 2-hidroksibenzaldehit ve asetofenon aldol kondenzasyonu ile birçok antosiyanidin mono ve diglikoziti sentezlemiştir (Şekil 2.20) [68,69]. Günümüze kadar önemini koruyan bu sentez yöntemi en geçerli antosiyanidin sentez yöntemidir. Robinson antosiyanidinlerin glikozitleri üzerine sentez çalışmaları otuzlu yılların sonuna kadar devam etmiştir [70,71]. Bu yöntemin dezavantajı verimin düşük olmasıdır.



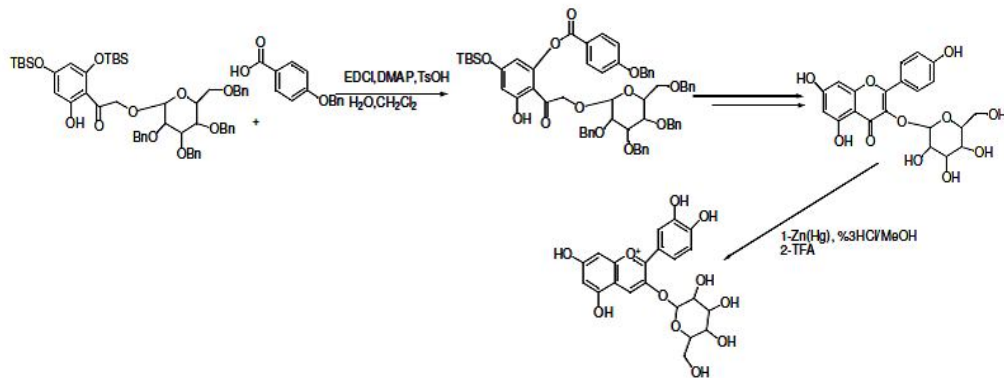
Şekil 2.20. Robinson tarafından sentezlenen antosiyanidin glikozitlerinin sentez yöntemi

Robinson'un aldol kondenzasyonu ile gerçekleştirdiği antosiyanin-O-glikozit sentezi doksanlı yıllara kadar fazla gelişme göstermedi. 1994 yılın da Dangles ve Elhajji 3-O-glukopranozil flavilyum iyonu bileşiklerini Robinson'un aldol kondenzasyonuna benzer yöntem ile sentezledi(Şekil 2.21) [72].



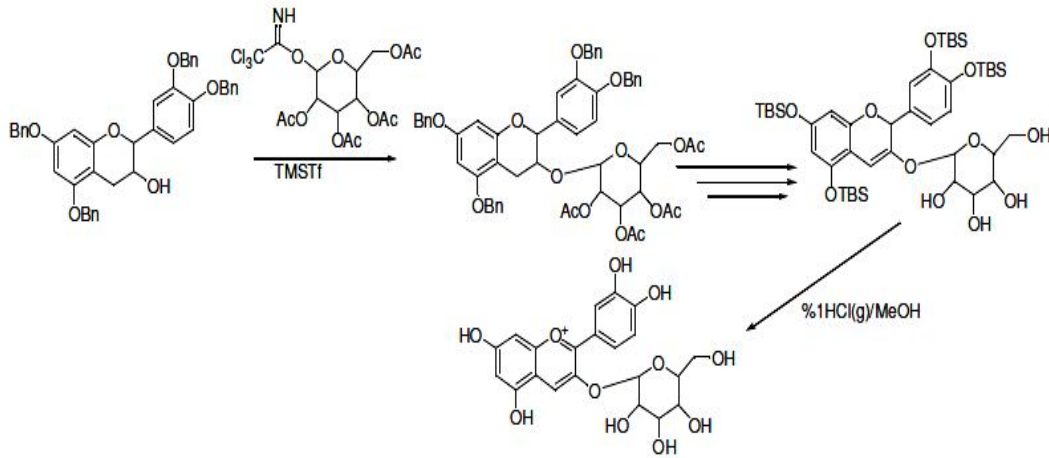
Şekil 2.21. Dangles ve Elhajji tarafından sentezlenen antosiyanidin glikozitlerinin sentez yöntemi

Antosiyanin glikozitlerinin sentezinde son yıllarda kullanılan ve ilk defa Shibata [73] tarafından bulunan diğer bir yöntem ise, önce flavon glikozitlerinin sentezlenmesi daha sonrada bu bileşiklerin Zn(Hg) amalgamı ile antosiyanine yükseltgenmesinden ibarettir (Şekil 2.22) [74].



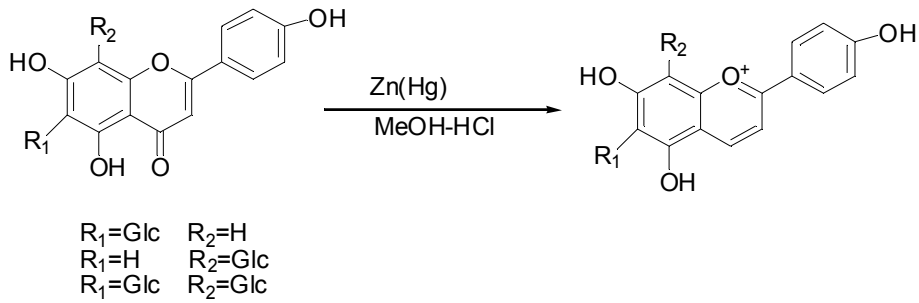
Şekil 2.22. Shibata tarafından sentezlenen antosiyanidin glikozitlerinin sentez yöntemi

Kondo ve arkadaşları tarafından kateşinden çıkararak siyanidin-3-O-β-D-glokozidin total sentezini gerçekleştirmiştir (Şekil 2.23) [75].



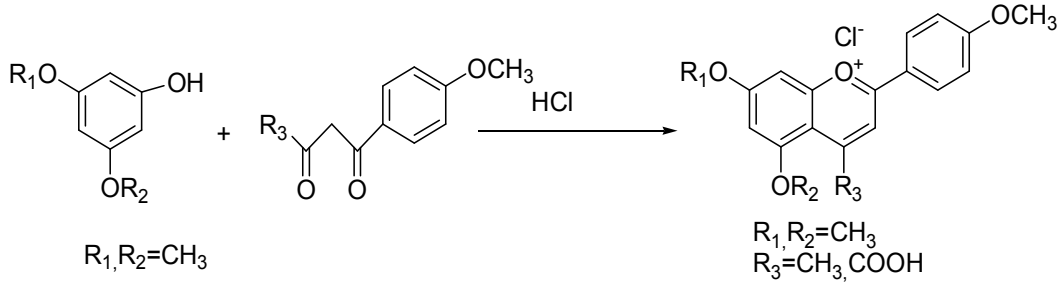
Şekil 2.23. Kondo tarafından sentezlenen antosiyanidin glikozitlerinin sentez yöntemi

Doğada nadir olarak bulunan C-glokozilantosiyanidinler ilk kez Andersen ve arkadaşları tarafından flavon-C-glukozitlerinden Clemensen indirgenmesiyle sentezlenmiştir. (Şekil 2.24) [76].



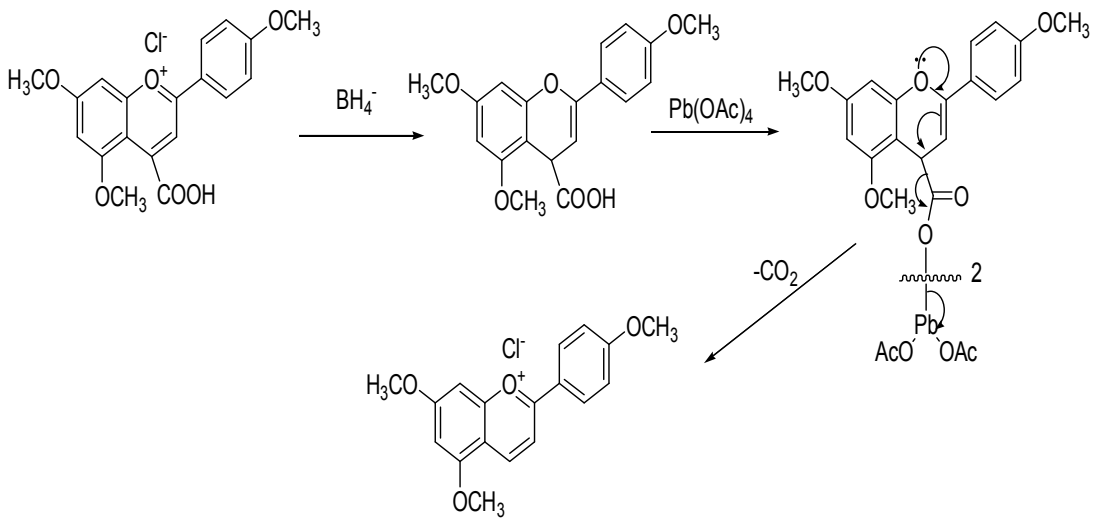
Şekil 2.24. Andersen tarafından sentezlenen antosiyanidin glikozitlerinin sentez yöntemi

Bülöw ve Wagner, benziol aseton ve benzoil pruvik asidin asit katalizli kondenzasyonundan 4-Me ve 4-COOH grubu içeren flavilyum tuzlarını elde etmişlerdir (Şekil 2.25) [77,78].



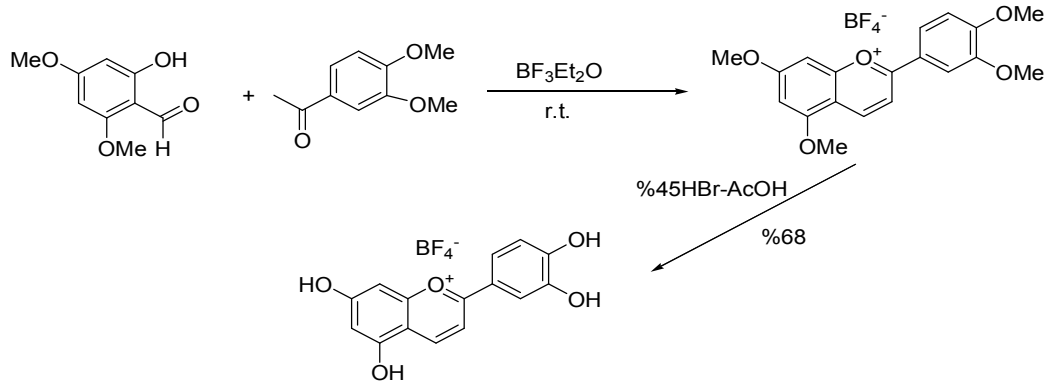
Şekil 2.25. Bülow ve Wagner tarafından sentezlenen flavilyum tuzunun sentez yöntemi

Yakın zaman da Sweeny ve Iacobucchi Bülow tarafından sentezlenen bu bileşiklerden elde edilen 4-karboksi-2-flavenden oksidatif de karboksilasyon ile apigenidin ve türevlerini yüksek verimle hazırlamışlardır (Şekil 2.26) [79].



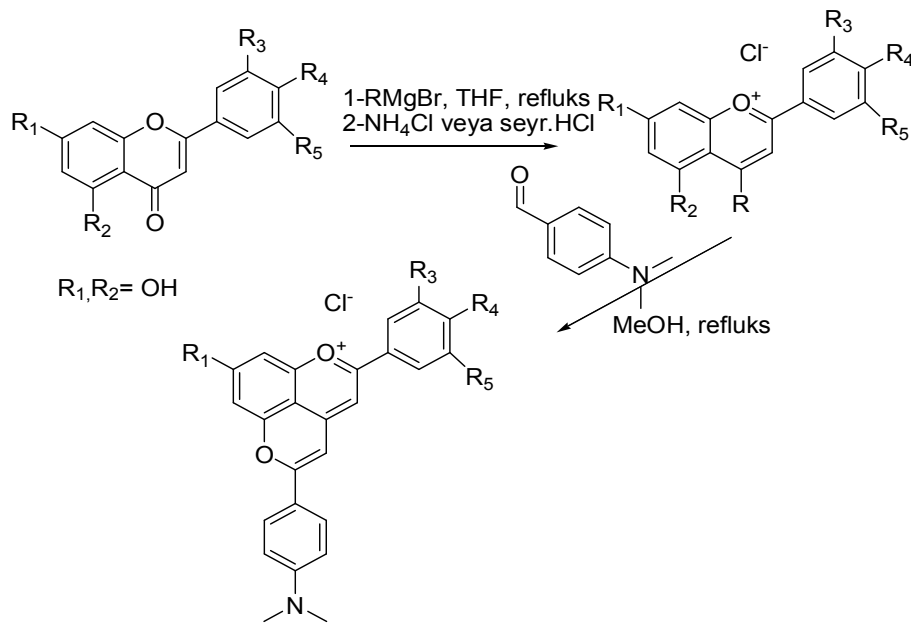
Şekil 2.26. Sweeny ve Iacobucchi tarafından sentezlenen flavilyum tuzunun sentez yöntemi

Kuhnert ve arkadaşları asit katalizörlü aldol kondenzasyonuna alternatif olarak Lewis asidi kullanarak yine aldol kondenzasyonuyla antosiyanidin sentezi gerçekleştirmişlerdir (Şekil 2.27) [80].



Şekil 2.27. Kuhnert tarafından sentezlenen flavilyum tuzunun sentez yöntemi

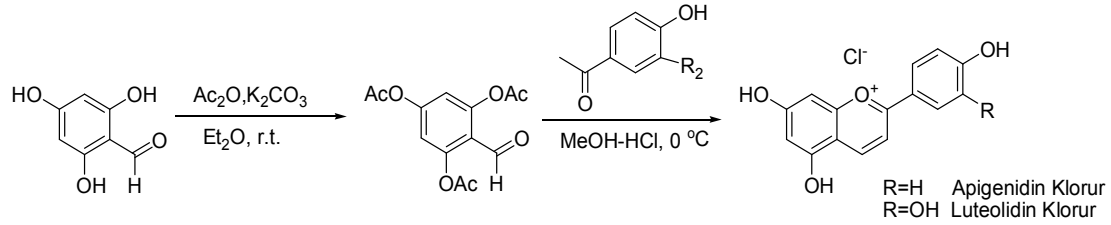
Roehr-Stoeckel ve arkadaşları flavon'dan çıkarak Grignard reaktiflerinden antosiyanidin sentezi gerçekleştirmişlerdir. Sentezlenen 4-metil flavilyum bileşiklerinden benzaldehit ile doğal antosiyanidinlerde nadir görülen mavi-viole ve yeşil renkli vitisin ailesi yeni antosiyanidinler sentezlemişlerdir (Şekil 2.28) [81].



Şekil 2.28. Roehr-Stoeckel tarafından sentezlenen flavilyum tuzunun sentez yöntemi

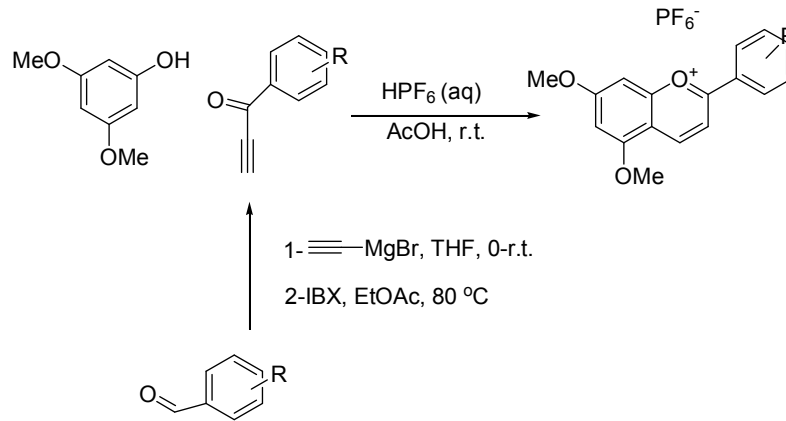
Mas'in 2003 yılında yaptığı çalışmada 2,4,6-hidroksibenzaldehit benzer çalışmalardan farklı olarak, öncelikle asetik anhidrit ve potasyum karbonat eşliğinde asetillenip, 4-hidroksi veya 3,4-dihidroksiasetofenon ile metanol-HCl de

kondenzasyon gerçekleştirerek apigenidin ve luteolinidin bileşiklerini yüksek verimle sentezlemiştir (Şekil 2.29) [82].



Şekil 2.29. Mas tarafından sentezlenen flavilyum tuzunun sentez yöntemi

Brouillard ve arkadaşları antosyanidinleri, floroglusinol ve ariletinilketondan HPF_6 asit katalizörlüğü eşliğinde farklı bir yöntem ile yüksek verimle sentezlemiştir (Şekil 2.30) [83].



Şekil 2.30. Brouillard tarafından sentezlenen flavilyum tuzunun sentez yöntemi

2.4.7. Antosiyeninler spektroskopik özellikleri

Antosiyeninler UV ışıktaki floresans özellik göstermektedirler. Ayrıca fenolik yapıları nedeniyle de NH_3 ile renk değiştirirler. Bu özelliklerinden dolayı, ince tabaka ve kağıt kromatografisinde UV ışık (254 ve 366) ile incelenmektedirler. Hidroksil gruplarının bağlı oldukları yerlere göre UV ışıktaki, NH_3 buharında ve NA belirteciyle verdikleri renkler değişmektedir. UV spektroskopisi, antosiyenin bileşiklerinin yapısı hakkında önemli bilgiler veren bir yöntemdir (Tablo 2.6.) Bileşiğin metanoldeki çözeltisine ayrı ayrı NaOMe, susuz AlCl_3 , AlCl_3/HCl , susuz

NaOAc ve NaOAc/H₃BO₃ in metanoldeki çözeltilerinden az miktarda ilave edilerek alınan spektrumlarda gözlenen kaymalar, piklerin şiddeti ve şekilleri arasındaki farklar flavonoid bileşiğinin ana iskeleti ve moleküldeki hidroksil gruplarının yerleri hakkında fikir vermektedir [84]. UV spektrumunda flavonoid bileşikleri biri uzun diğeri kısa dalga boyunda olmak üzere iki absorpsiyon bantı vermektedir. Uzun dalga boyunda olan, flavonoidin B halkasının (Sinnamoil) absorpsiyonu ile ilgilidir ve Bant I adını almaktadır. Kısa dalga boyunda olan ise A halkasının (Benzoil grubu) absorpsiyonu ile ilişkilidir ve Bant II adını almaktadır (Tablo 2.10) [84].

Tablo 2.10. Flavonoidlerin UV spektroskopisindeki absorpsiyon bantları

	Bant I (nm)	Bant II (nm)
Flavon	304-350	250-270
Flavonol	352-385	250-270
Flavonon	310-330	275-290
Kalkon	360-390	240-260
Auron	390-430	240-260
Antosiyanidin	475-560	275-280
İzoflavon	300-340	245-270

BÖLÜM 3. MATERYAL VE METOD

3.1. Kullanılan Cihazlar ve Kimyasallar

Deneysel çalışmalarda ısı kaynağı olarak IKA Labortechnik marka ısıtıcılı karıştırıcılar kullanıldı. Çözücü uzaklaştırma işlemlerinde BUCHI Rotavapor R-114 ve HEIDOLPH Labaroto 4000 marka döner buharlaştırıcı cihazları kullanıldı. Tartımlar OHAUS Analytical marka hassas terazide yapıldı. Kurutma işlemleri VACUCELL marka vakum etüvünde yapıldı.

Elde edilen bileşiklerin erime noktaları ELEKTROTHERMAL 2000 marka erime noktası tayin cihazı kullanılarak tespit edildi.

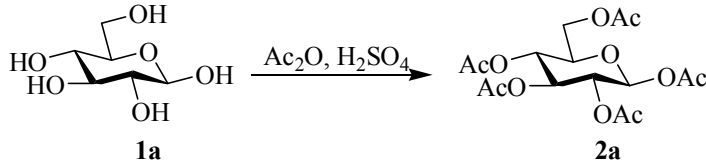
^1H NMR ve ^{13}C NMR spektrumları VARIAN marka Infinity Plus model 300 MHz'lik NMR cihazı ile elde edildi.

Kütle spektrumları Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü'nde ESI-MS (Bruker Micro TOF-ESI/MS) ms1.JPEG cihazında alındı.

Çalışmada kullanılan çözücü ve kimyasallar Fluka, Merck, Alfa Easer ve Sigma firmalarından temin edildi. Çözücülerin tamamı reaksiyon öncesinde yüksek düzeyde saflaştırıldı [45,46].

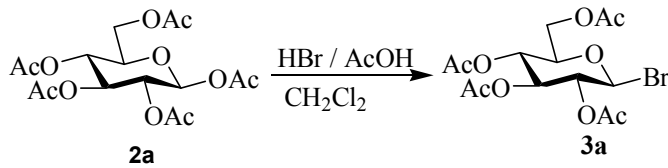
3.2. Deneysel Çalışmalar

3.2.1. Yöntem A: β -*d*-pentaasetilglukopiranoz (2a) sentezi



0.33 mol 59.4 g *d*-glukozmonohidrat 100 mL'lik dibi yuvarlak balona alınarak üzerine 2.81 mol 286.7 g asetikanhidrit ilave edildi. Karışım buz banyosuna alınarak üzerine 3 damla sülfirik asit eklendi ve 10 dakika manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı. Balonun üzerine geri soğutucu takılarak 2 saat yağ banyosunda 100 °C'de karıştırılmaya devam edildi. Oda sıcaklığına kadar soğutulan çözelti 150 g su-buz karışımı üzerine dökülerek kuvvetlice karıştırıldı. Ham ürün cam krozeden süzülerek 300 mL soğuk su ile yıkandıktan sonra vakum etüvünde 50 °C'de 12 saat kurutuldu. 30 mL etanolde tekrar kristallendirildi (2a) [47].

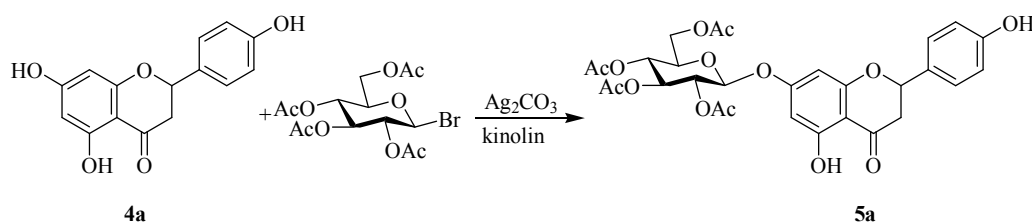
3.2.2. Yöntem B: 2,3,4,6-Tetraasetil- β -*d*-glukopiranozil bromür (3a) sentezi



100 mL'lik dibi yuvarlak bir balon içine konulan 0.074 mol 28.9 g β -*d*-pentaasetilglukoz, kalsiyumklorür ile kurutulmuş 400 mL metilen klorür ile çözüldü. 50 mL'lik damlatma hunisine 0.44 mol 26.4 g asetikasit içerisinde hidrojenbromür çözeltisi alınarak yarım saat içerisinde damlatıldı. Balondaki çözelti oda sıcaklığında 2 saat manyetik karıştırıcı ile karıştırıldıktan sonra beher içerisindeki 500 mL su-buz karışımı üzerine dökülerek yarım saat daha karıştırılmaya devam edildi. Karışım ayırma hunisine alınarak organik faz ayrıldı ve 3 kez 170 mL %7.5'lik sodyumbikarbonat çözeltisi ile 1 kezde 200 mL su ile yıkandı. Organik faz

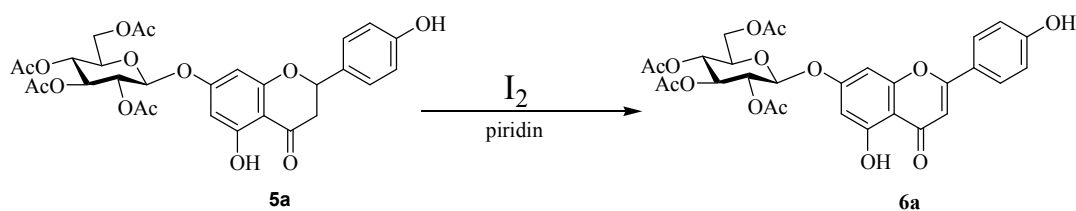
kalsiyumklorür ile kurutuldu, huni ile süzgeç kağıdından süzüldü, rotary evaporatör ile buharlaştırıldı. Yağimsı ham ürün izopropil eter ile kristallendirildi. Kristaller cam krozeden süzülerek vakum etüvünde 50 °C’de 12 saat kurutuldu(3a) [48].

3.2.3. Yöntem C: 7-O-(2,3,4,6-Tetraasetil-β-d-glikopiranozil)-naringenin (5a) sentezi



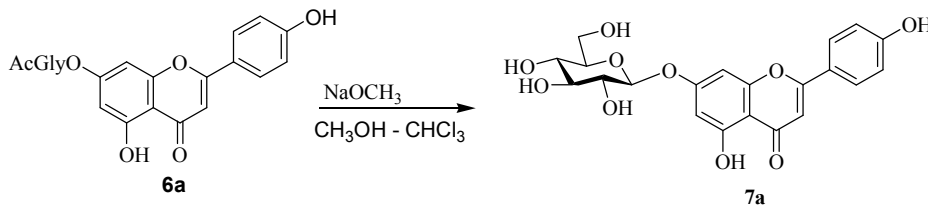
100 mL’lik dibi yuvarlak balona 1.25 mmol 0.51 g 2,3,4,6-Tetraasetil-β-d-glukopiranosil bromür, 1.25 mmol 0.34 g gümüş karbonat, 1.00 mmol 0.27 g naringenin (4a) konuldu ve üzerine 7 mL kinolin eklenerek 3 saat oda sıcaklığında manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı. Karışım metanol ile silikajelden süzüldü ve metanol rotary evaporatörde buharlaştırıldı. Ham ürün 100 mL etilasetat ile çözüldü ve çözelti 3 kez 100 mL 1 N hidroklorik asit, 2 kez 100 mL doymuş tuz çözeltisi ve 2 kez 100 mL su ile yıkandı. Organik faz magnezyumsülfat ile kurutuldu, huni ile süzgeç kağıdından süzüldü ve rotary evaporatörde buharlaştırıldı. Ham ürün kolon kromatografisinde silika jelde hegzan:etilasetat (1:1) çözeltisinden geçirilerek ileri derecede saflaştırıldı (5a) [26].

3.2.4. Yöntem D: 7-O-(2,3,4,6-Tetraasetil-β-d-glikopiranozil)-apigenin(6a) sentezi



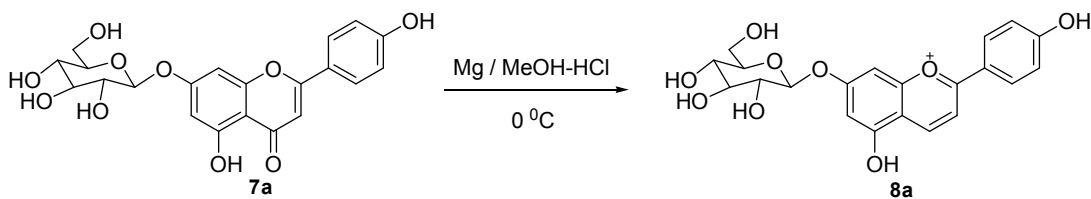
1 mmol 7-*O*-(2,3,4,6-Tetraasetil- β -*D*-glikopiranozil)-Naringenin (5a) 3 ml piridin ile çözüldü. Çözeltinin sıcaklığı 90 °C ye gelince 2 ml piridin ile çözülmüş 1 mmol iyot damla damla eklendi. Reaksiyon 90 °C de 4 saat manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı ve sonra beher içerisindeki 50 gr buz su karışımına döküldü. Cam krozeden süzöldü. Ürün etilasetat ile çözüldü ve çözelti 2 kez 100 ml doymuş sodyumtiyosülfat çözeltisi ile bir kez 100 ml su ile yıkandı. Organik faz magnezyum sülfat ile kurutuldu, süzöldü ve evaporatörde buharlaştırıldı. Ham ürün kolon kromatografisi ile silika jelde tetrahidrofuran:hegzan (2:5) çözeltisinden geçirilerek saflaştırıldı (6a) [33].

3.2.5. Yöntem E: 7-*O*- β -*D*-glikopiranozil-apigenin (7a) sentezi



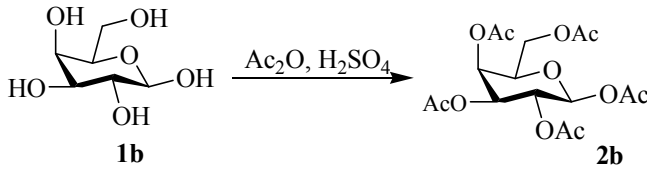
100 mL' lik dibi yuvarlak bir balona 0.97 mmol 7-*O*-glikopiranozil apigenin (4a) 20 mL metanol ve 10 mL kloroform içinde çözüldü. Çözelti içerisinde 3.8 mmol sodyum metoksit eklendi. Karışım oda sıcaklığında 2 saat manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı. 1 N HCl çözeltisi ile asitlendirildi ve oluşan katılar cam kroze ile süzöldü. Süzöntü evaporatör ile buharlaştırıldı. Ham ürün 100 mL etilasetat ile çözüldü ve 3 kez 100 mL su ile yıkandı. Organik faz magnezyum sülfat ile kurutuldu, süzöldü ve evaporatörde buharlaştırıldı. Ham ürün metanol ile kristallendirildi (5a). [30].

3.2.6. Yöntem F: 7-*O*-glikozil-apigenidin (8a) sentezi



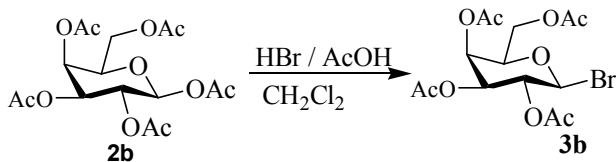
25 mL' lik dibi yuvarlak bir balona 0,5 mmol 7-*O*-glikopiranozil-apigenin (**7a**) 1mL kuru metanol ile çözüldü. . Karışım üzerine 20 dakika ara ile 5 kez 1' er mL kuru metanol içerisinde HCl gazı geçirilerek hazırlanan çözeltilerden eklendi. Çözeltiye 0,5 gr magnezyum eklendi. Karışım buz banyosunda 1 saat karıştırıldı ve 20x5 cm amberlite 'den geçirildi. MeOH evapore edilerek ürün dietileter ile kristallendirildi (8a)

3.2.7. Yöntem A: β -*D*-pentaasetilgalaktopiranoz (**2b**) sentezi



0.33 mol galaktoz 500 mL' lik dibi yuvarlak balona alınarak üzerine 2.81 mol asetikanhidrit ilave edildi. Karışım buz banyosuna alınarak üzerine 3 damla sülfirik asit eklendi ve 10 dakika manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı. Karışım oda sıcaklığında bir gün boyunca karıştırılmaya devam edildi. Çözelti 150 g su-buz karışımı üzerine dökülerek kuvvetlice karıştırıldı. Ham ürün cam krozeden süzülerek 300 mL soğuk su ile yıkandıktan sonra vakum etüvünde 50 °C' de 12 saat kurutuldu. 30 mL etanolde tekrar kristallendirildi.(1b)

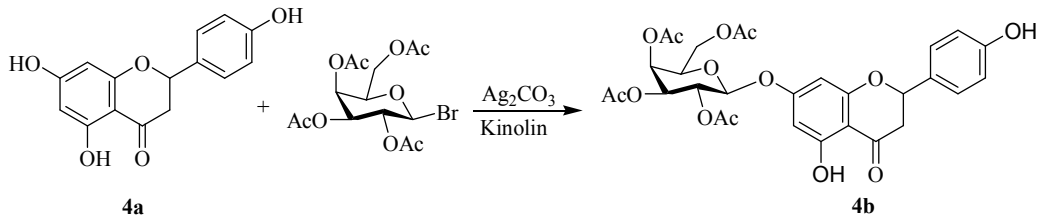
3.2.8. Yöntem B: 2,3,4,6-Tetraasetil- β -*D*-galaktopiranozil bromür (**3b**) sentezi



100 mL' lik dibi yuvarlak bir balon içine konulan 0.074 mol pentaasetilgalaktoz (**2b**) 400 mL metilen klorürde çözüldü. 50 mL' lik damlatma hunisine 0,44 mol asetik asit içerisinde hidrojen bromür çözeltisi alınarak yarım saat içerisinde damlatıldı. Balondaki çözelti oda sıcaklığında 2 saat manyetik karıştırıcı ile karıştırıldıktan sonra beher içerisindeki 500 mL su-buz karışımı üzerine dökülerek yarım saat daha

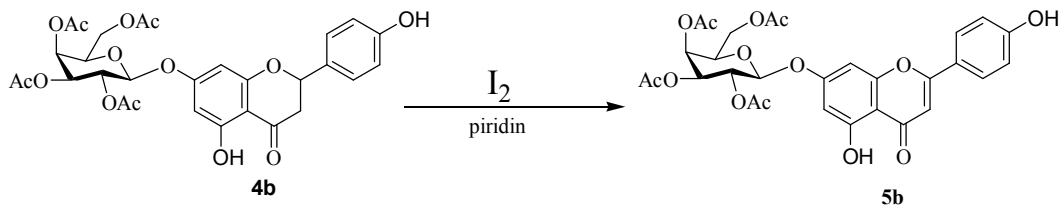
karıştırılmaya devam edildi. Karışım ayırma hunisine alınarak organik faz ayrıldı ve 3 kez 170 mL % 7,5'luk sodyum bikarbonat çözeltisi ile 1 kez de 200 mL su ile yıkandı. Organik faz kalsiyum klorür ile kurutuldu, huni ile süzgeç kağıdından süzüldü, evaporatör ile buharlaştırıldı. Yağimsı ham ürün izopropil eter ile kristallendirildi. Kristaller cam krozeden süzülerek vakum etüvünde kurutuldu. (3b)

3.2.9. Yöntem C: 7-O-(2,3,4,6-Tetraasetil-β-d-galaktopiranozil)-naringenin (4b) sentezi



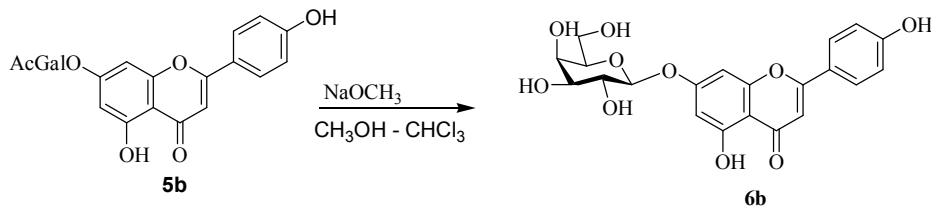
100 mL' lik dibi yuvarlak balona 1.50 mmol tetraasetilgalaktozil bromür (3b), 1.50 mmol gümüş karbonat, 1.00 mmol naringenin (4a) konuldu ve üzerine 7 mL kinolin eklenerek bir gün oda sıcaklığında manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı. Karışım metanol ile selitden süzüldü ve metanol evaporatörde buharlaştırıldı. Ham ürün 100 mL etilasetat ile çözüldü ve çözelti 3 kez 100 mL 1 N hidroklorik asit, 2 kez 100 mL doymuş tuz çözeltisi ve 2 kez 100 mL su ile yıkandı. Organik faz magnezyum sülfat ile kurutuldu, süzüldü ve evaporatörde buharlaştırıldı. Ham ürün kolon kromatografisi ile silika jelde hegzan:etilasetat (1:1) çözeltisinden geçirilerek saflaştırıldı. (4b)

3.2.10. Yöntem D: 7-O-(2,3,4,6-Tetraasetil-β-d-glikopiranozil)-apigenin(5b) sentezi



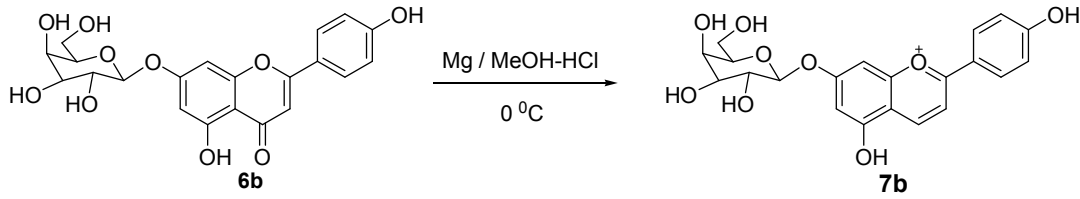
1 mmol 7-*O*-(2,3,4,6-Tetraasetil- β -*D*-galaktopiranozil) (4b) 3 ml piridin ile çözüldü. Çözeltinin sıcaklığı 90 °C ye gelince 2 ml piridin ile çözülmüş 1mmol iyot damla damla eklendi. Reaksiyon 90 °C de 4 saat manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı ve sonra beher içerisindeki 50 gr buz su karışımına döküldü. Cam krozeden süzöldü. Ürün etilasetat ile çözüldü ve çözelti 2 kez 100 ml doymuş sodyumtiyosülfat çözeltisi ile bir kez 100 ml su ile yıkandı. Organik faz magnezyum sülfat ile kurutuldu, süzöldü ve evaporatörde buharlaştırıldı. Ham ürün kolon kromatografisi ile silika jelde tetrahidrofuran:hegzan (2:5) çözeltisinden geçirilerek saflaştırıldı.(5b)

3.2.11. Yöntem E: 7-*O*- β -*D*-galaktopiranozil-apigenin (6b) sentezi



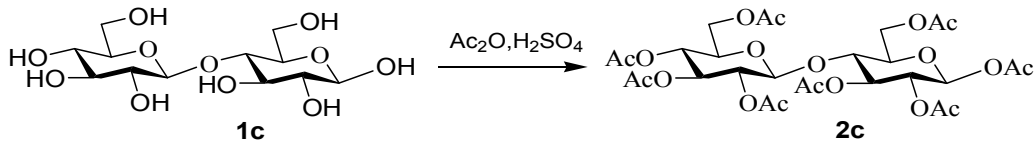
100 mL' lik dibi yuvarlak bir balona 0.97 mmol 7-*O*-tetraasetilgalaktopiranozil apigenin (5b) 20 mL metanol içinde çözüldü. Çözelti içerisinde 3.8 mmol sodyum metoksit eklendi. Karışım oda sıcaklığında 2 saat manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı. 1 N HCl çözeltisi ile asitlendirildi ve oluşan katılar cam kroze ile süzöldü. Süzöntü evaporatör ile buharlaştırıldı. Ham ürün 100 mL etilasetat ile çözüldü ve 3 kez 100 mL su ile yıkandı. Organik faz magnezyum sülfat ile kurutuldu, süzöldü ve evaporatörde buharlaştırıldı. Ham ürün metanol ile kristallendirildi. (6b)

3.2.12. Yöntem F: 7-*O*-galaktozil-apigenidin (7b) sentezi



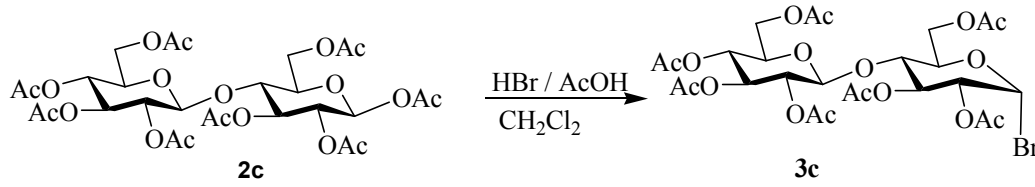
25 mL' lik dibi yuvarlak bir balona 0,5 mmol 7-*O*-galaktopiranozil-apigenin (6b) 1mL kuru metanol ile çözüldü. . Karışım üzerine 20 dakika ara ile 5 kez 1' er mL kuru metanol içerisinde HCl gazı geçirilerek hazırlanan çözeltilerden eklendi. Çözeltiye 0,5 gr magnezyum eklendi. Karışım buz banyosunda 1 saat karıştırıldı ve 20x5 cm amberlite 'den geçirildi. MeOH evapore edilerek ürün dietileter ile kristallendirildi.(7b)

3.2.13. Yöntem A: Oktaasetil-β-*D*-sellobiyoz (2c) sentezi



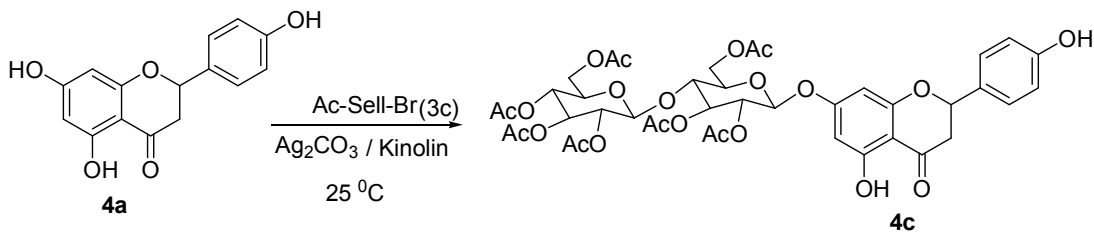
0.33 mol sellobiyoz 500 mL' lik dibi yuvarlak balona alınarak üzerine 5.62 mol asetikanhidrit ilave edildi. Karışım buz banyosuna alınarak üzerine 3 damla sülfirik asit eklendi ve 30 dakika manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı. Balonun üzerine geri soğutucu takılarak 30 dakika yağ banyosunda 100 °C' de karıştırılmaya devam edildi. Oda sıcaklığına kadar soğutulan çözelti 150 g su-buz karışımı üzerine dökülerek kuvvetlice karıştırıldı. Ham ürün cam krozeden süzülerek 300 mL soğuk su ile yıkandıktan sonra vakum etüvünde 50 °C' de 12 saat kurutuldu. 30 mL etanolde tekrar kristallendirildi. (2c)

3.2.14. Yöntem B: Heptaasetil- β -D-sellobiyozil bromür (3c) sentezi



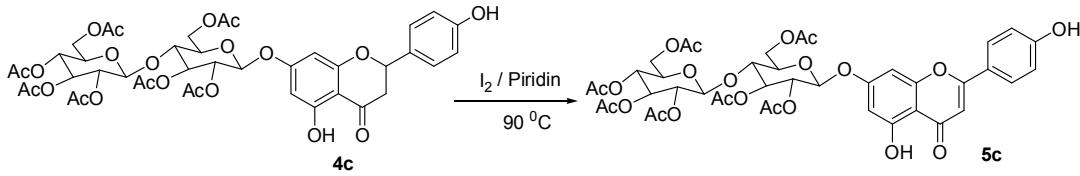
100 mL' lik dibi yuvarlak bir balon içine konulan 0.074 mol oktaasetilsellebiyoz (2c) 400 mL metilen klorürde çözüldü. 50 mL' lik damlatma hunisine 0,44 mol asetik asit içerisinde hidrojen bromür çözeltisi alınarak yarım saat içerisinde damlatıldı. Balondaki çözelti oda sıcaklığında 2 saat manyetik karıştırıcı ile karıştırıldıktan sonra beher içerisindeki 500 mL su-buz karışımı üzerine dökülerek yarım saat daha karıştırılmaya devam edildi. Karışım ayırma hunisine alınarak organik faz ayrıldı ve 3 kez 170 mL % 7,5'luk sodyum bikarbonat çözeltisi ile 1 kez de 200 mL su ile yıkandı. Organik faz kalsiyum klorür ile kurutuldu, huni ile süzgeç kağıdından süzüldü, evaporatör ile buharlaştırıldı. Yağimsı ham ürün izopropil eter ile kristallendirildi. Kristaller cam krozeden süzülerek vakum etüvünde kurutuldu. (3c)

3.2.15. Yöntem C: 7-O-(Heptaasetil- β -D-sellobiyozil)-naringenin (4c) sentezi



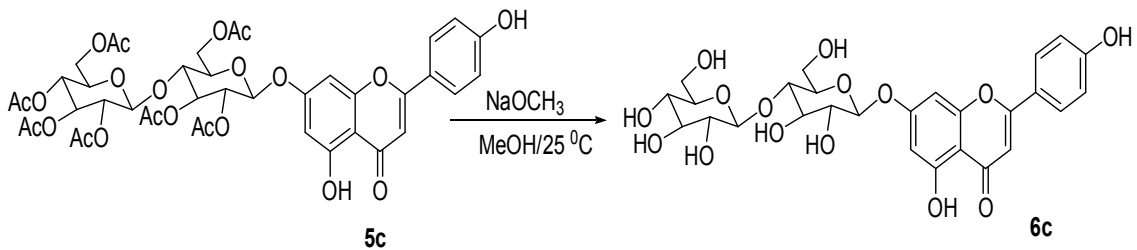
100 mL' lik dibi yuvarlak balona 1.50 mmol heptaasetilsellebiyoz bromür (3c), 1.50 mmol gümüş karbonat, 1.00 mmol naringenin (3) konuldu ve üzerine 7 mL kinolin eklenerek 4 saat oda sıcaklığında manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı. Karışım metanol ile selitden süzüldü ve metanol evaporatörde buharlaştırıldı. Ham ürün 100 mL etilasetat ile çözüldü ve çözelti 3 kez 100 mL 1 N hidroklorik asit, 2 kez 100 mL doymuş tuz çözeltisi ve 2 kez 100 mL su ile yıkandı. Organik faz magnezyum sülfat ile kurutuldu, süzüldü ve evaporatörde buharlaştırıldı. Ham ürün kolon kromatografisi ile silika jelde hegzan:etilasetat (1:1) çözeltisinden geçirilerek saflaştırıldı.(4c)

3.2.16. Yöntem D: 7-*O*-heptaasetilsellebiozil Apigenin (5c) sentezi



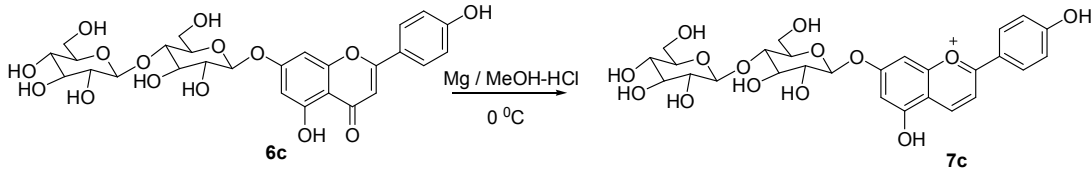
1 mmol 7-*O*-heptaasetilsellebiozil Naringenin (4c) 3 ml piridin ile çözüldü. Çözeltinin sıcaklığı 90 °C ye gelince 2 ml piridin ile çözülmüş 1 mmol iyot damla damla eklendi. Reaksiyon 90 °C de 4 saat manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı ve sonra beher içerisindeki 50 gr buz su karışımına döküldü. Cam krozeden süzüldü. Ürün etilasetat ile çözüldü ve çözelti 2 kez 100 ml doymuş sodyumtiyosülfat çözeltisi ile bir kez 100 ml su ile yıkandı. Organik faz magnezyum sülfat ile kurutuldu, süzüldü ve evaporatörde buharlaştırıldı. Ham ürün kolon kromatografisi ile silika jelde tetrahidrofuran:hegzan (2:5) çözeltisinden geçirilerek saflaştırıldı.(5c)

3.2.17. Yöntem E: 7-*O*-sellebiyozil apigenin (6c) sentezi



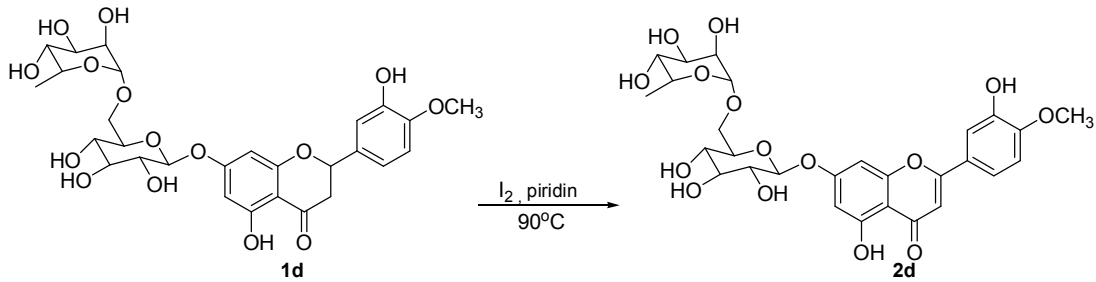
100 mL' lik dibi yuvarlak bir balona 0.97 mmol 7-*O*-sellebiyozil apigenin (5c) 20 mL metanol içinde çözüldü. Çözelti içerisine 26 mg sodyum metoksit eklendi. Karışım oda sıcaklığında 2 saat manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı. Karışım doweks ile nötralleştirildi, oluşan katılar cam kroze ile süzüldü. Süzüntü evaporatör ile buharlaştırıldı. Ham ürün 100 mL etilasetat ile çözüldü ve 3 kez 100 mL su ile yıkandı. Organik faz magnezyum sülfat ile kurutuldu, süzüldü ve evaporatörde buharlaştırıldı. Ham ürün metanol ile kristallendirildi. (6c)

3.2.18. Yöntem F: 7-O-sellebiyozil apigenidin sentezi (7c) sentezi



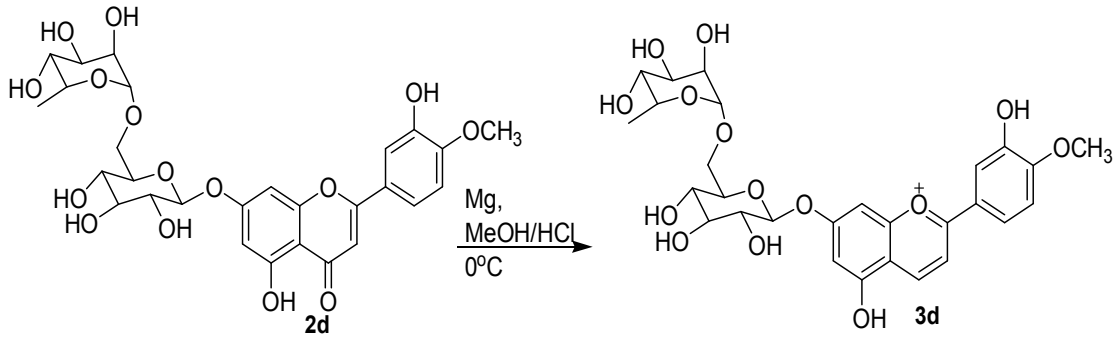
25 mL' lik dibi yuvarlak bir balona 0,5 mmol 7-O-sellebiyozil-apigenin (**5c**) 1mL kuru metanol ile çözüldü. . Karışım üzerine 20 dakika ara ile 5 kez 1' er mL kuru metanol içerisinde HCl gazı geçirilerek hazırlanan çözeltiden eklendi. Çözeltiye 0,5 gr magnezyum eklendi. Karışım buz banyosunda 1 saat karıştırıldı ve 20x5 cm amberlite 'den geçirildi. MeOH evapore edilerek ürün dietileter ile kristallendirildi. (7c)

3.2.19. Yöntem D: Diosmin (2d) sentezi



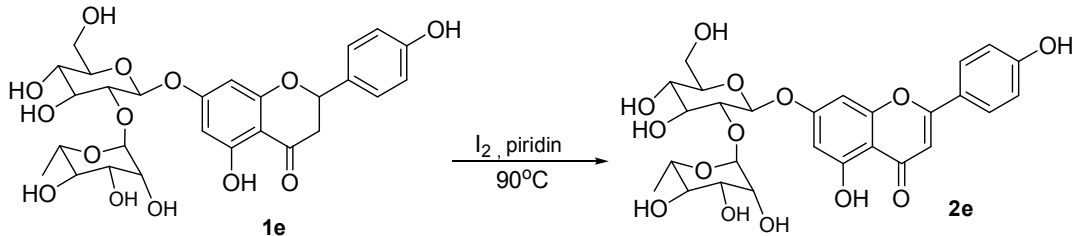
1 mmol hesperidin (1d) 3 ml piridin ile çözüldü. Çözeltinin sıcaklığı 90 °C ye gelince 2 ml piridin ile çözülmüş 1 mmol iyot damla damla eklendi. Reaksiyon 90 °C de 4 saat manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı ve sonra beher içerisindeki 50 gr buz su karışımına döküldü. Cam krozeden süzüldü. Ürün etilasetat ile çözüldü ve çözelti 2 kez 100 ml doymuş sodyumtiyosülfat çözeltisi ile bir kez 100 ml su ile yıkandı. Organik faz magnezyum sülfat ile kurutuldu, süzüldü ve evaporatörde buharlaştırıldı. Ham ürün kolon kromatografisi ile silika jelde tetrahidrofuran:hegzan (2:5) çözeltisinden geçirilerek saflaştırıldı.(2d)

3.2.20. Yöntem F: Diosmidin (3d) sentezi



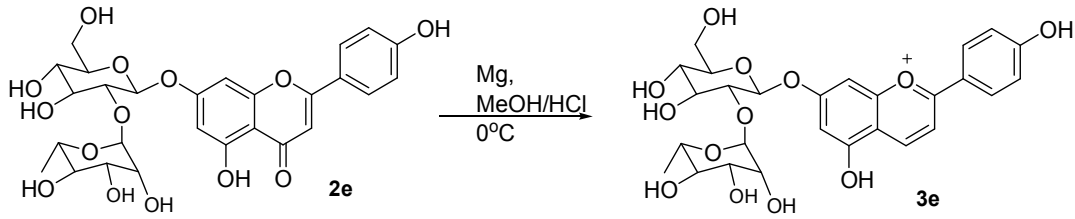
25 mL' lik dibi yuvarlak bir balona 0,5 mmol diosmin(2d) 1mL kuru metanol ile çözüldü. . Karışım üzerine 20 dakika ara ile 5 kez 1' er mL kuru metanol içerisinde HCl gazı geçirilerek hazırlanan çözeltilerden eklendi. Çözeltiye 0,5 gr magnezyum eklendi. Karışım buz banyosunda 1 saat karıştırıldı ve 20x5 cm amberlite 'den geçirildi. MeOH evapore edilerek ürün dietileter ile kristallendirildi. (3d)

3.2.21. Yöntem D: 7-O-rutinozil apigenin (2e) sentezi



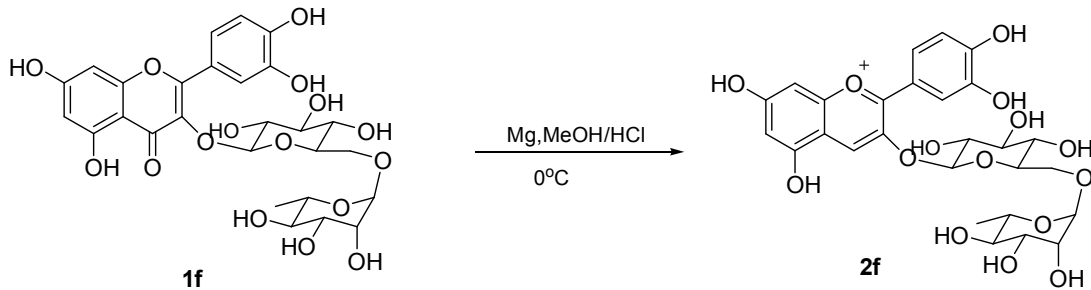
1 mmol 7-O-rutinozil naringenin (1e) 3 ml piridin ile çözüldü. Çözeltinin sıcaklığı 90 °C ye gelince 2 ml piridin ile çözülmüş 1mmol iyot damla damla eklendi. Reaksiyon 90 °C de 4 saat manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı ve sonra beher içerisindeki 50 gr buz su karışımına döküldü. Cam krozeden süzüldü. Ürün etilasetat ile çözüldü ve çözelti 2 kez 100 ml doymuş sodyumtiyosülfat çözeltisi ile bir kez 100 ml su ile yıkandı. Organik faz magnezyum sülfat ile kurutuldu, süzüldü ve evaporatörde buharlaştırıldı. Ham ürün kolon kromatografisi ile silika jelde tetrahidrofuran:hegzan (2:5) çözeltisinden geçirilerek saflaştırıldı.(2e)

3.2.22. Yöntem F: 7-O-rutinozil apigenidin sentezi (3e) sentezi



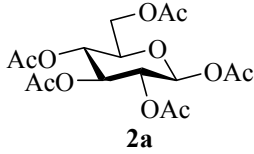
25 mL' lik dibi yuvarlak bir balona 0,5 mmol 7-O-rutinozil apigenin (2e) 1mL kuru metanol ile çözüldü. . Karışım üzerine 20 dakika ara ile 5 kez 1' er mL kuru metanol içerisinde HCl gazı geçirilerek hazırlanan çözeltilerden eklendi. Çözeltiye 0,5 gr magnezyum eklendi. Karışım buz banyosunda 1 saat karıştırıldı ve 20x5 cm amberlite 'den geçirildi. MeOH evapore edilerek ürün dietileter ile kristallendirildi.(3e)

3.2.23. Yöntem F: 3-O-rutinozil Quersetinidin sentezi (2f) sentezi



25 mL' lik dibi yuvarlak bir balona 0,5 mmol rutin (1f) 1mL kuru metanol ile çözüldü. . Karışım üzerine 20 dakika ara ile 5 kez 1' er mL kuru metanol içerisinde HCl gazı geçirilerek hazırlanan çözeltilerden eklendi. Çözeltiye 0,5 gr magnezyum eklendi. Karışım buz banyosunda 1 saat karıştırıldı ve 20x5 cm amberlite 'den geçirildi. MeOH evapore edilerek ürün dietileter ve aseto nitril ile kristallendirildi. (2f)

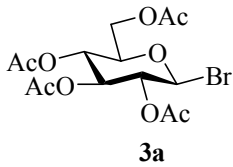
BÖLÜM 4. DENEYSEL BULGULAR



β -*D*-pentaasetilglukopiranoz: 6.6 g (36.6 mmol) *D*-glukozmonohidrat kullanılarak yöntem A' ye göre % 94 verimle 13.4 g (34.4 mmol) 2 nolu bileşik elde edildi.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ = 2.03 (3H, s), 2.04 (3H, s), 2.05 (3H, s), 2.10 (3H, s), 2.19 (3H, s), 4.08-4.12 (2H, m), 4.24 (1H, dd, j = 4.1, 3.6 Hz), 5.08-5.15 (2H, m), 5.48 (1H, t, j = 10.0 Hz), 6.33 (1H, d, j = 3.5 Hz).

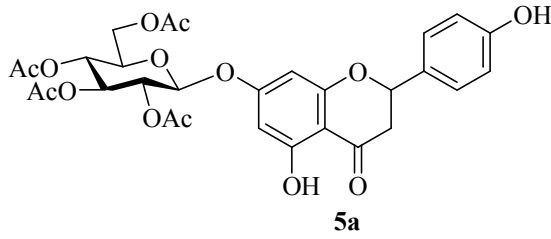
^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ = 20.7, 20.8, 20.9, 20.9, 21.1, 61.6, 68.0, 69.3, 70.0 (x2), 89.2, 169.0, 169.6, 169.9, 170.5, 170.9.



2,3,4,6-Tetraasetil- β -*D*-glukopiranozil bromür: 4.0 g (10.2 mmol) β -*D*-pentaasetilglukoz kullanılarak yöntem B' ye göre % 89 verimle 3.7 g (9.0 mmol) 3 nolu bileşik elde edildi.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ = 2.04 (3H, s), 2.06 (3H, s), 2.10 (3H, s), 2.11 (3H, s), 4.13 (1H, d, j = 10.9 Hz), 4.29-4.36 (2H, m), 4.85 (1H, dd, j = 4.1, 3.8 Hz), 5.17 (1H, t, j = 9.6 Hz), 5.56 (1H, t, j = 9.4 Hz), 6.62 (1H, d, j = 4.1 Hz).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ = 20.7, 20.8, 20.9 (x2), 61.1, 67.3, 70.3, 70.8, 72.3, 86.8, 169.7, 170.0, 170.1, 170.8.

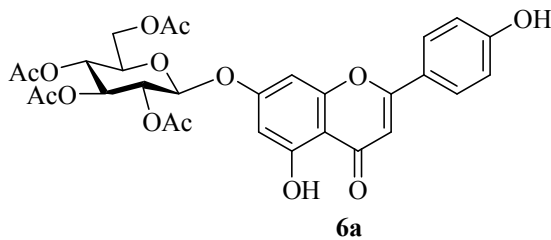


7-*O*-(2,3,4,6-Tetraasetil- β -*D*-glikopiranozil)-naringenin(5a) : 2.0 g (7.2 mmol) naringenin (4a), 3.7 g (9.0 mmol) 2,3,4,6-Tetraasetil- β -*D*-glukopiranosil bromür (3), 2.5 g (9.0 mmol) gümüş karbonat kullanılarak yöntem C' ye göre % 71 verimle 3.3 g (5.5 mmol) 5a nolu bileşik elde edildi. ^1H NMR ve ^{13}C NMR spektrumları sırasıyla Şekil A.5 ve Şekil A.6'de verilmiştir.

E.N.: 188,2 °C, IR: 3429 (O-H), 1747 (C=O), 1635 (Ar), 1367 (OC-O), 1209 (Ar-O), 1172 (C-O-C), 1033 (Ar-H) cm^{-1} , MS: $\text{C}_{29}\text{H}_{30}\text{O}_{14}$: hesaplanan :602,16, : $[\text{M}^+]$:603,88, $[\text{M}^+ + \text{Na}]$:625,057

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ = 2.04 (3H, s), 2.05 (3H, s), 2.06 (3H, s), 2.19 (3H, s), 2.80 (1H, d, $J = 17.0$ Hz), 3.11 (1H, t, $J = 13.2$ Hz), 3.82-3.89 (1H, m), 4.12-4.26 (2H, m), 5.13 (2H, dd, $J = 4.4, 10.8$ Hz), 5.23-5.35 (3H, m), 6.12 (2H, d, $J = 10.2$ Hz), 6.49 (1H, s), 6.89 (2H, d, $J = 8.5$ Hz), 7.30 (2H, d, $J = 8.5$ Hz), 9.6 (1H, s, OH), 12.04 (1H, s, OH).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ = 20.8 (x2), 20.9 (x2), 42.7, 62.1, 68.3, 71.0, 72.3, 72.8, 79.5, 96.4, 97.8, 104.5, 115.9, 128.2, 129.6, 146.7, 157.3, 163.1, 164.0, 164.5, 169.8, 169.9, 170.6, 171.3, 197.0.



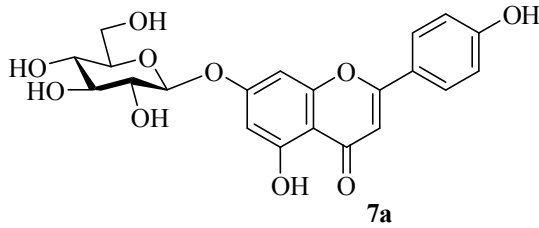
7-*O*-(2,3,4,6-Tetraasetil- β -*D*-glikopiranozil)-apigenin(6a) : 0,6 g (1 mmol) 7-*O*-(2,3,4,6-Tetraasetil- β -*D*-glukopiranosil)-naringenin (5a) ve 0,23 g (1mmol) iyot

kullanılarak yöntem D' ye göre % 90 verimle 0,54 g (1 mmol) 6a nolu bileşik elde edildi. ^1H NMR ve ^{13}C NMR spektrumları sırasıyla Şekil A.11 ve Şekil A.12'de verilmiştir.

E.N.: 193,7 °C , IR: 3273 (O-H), 1743 (C=O), 1587 (Ar), 1365 (OC-O), 1222 (Ar-O), 1178 (C-O-C), 1035 (Ar-H) cm^{-1} , MS: $\text{C}_{29}\text{H}_{28}\text{O}_{14}$: hesaplanan :600,15, : $[\text{M}^+]$:601,492, $[\text{M}^+ + \text{Na}]$:624,514

^1H NMR (300 MHz, DMSO): δ = 1.95 (3H, s), 1.96 (3H, s), 2.00 (3H, s), 2.01 (3H, s), 4.08-4.17 (2H, m), 4.30-4.35 (1H, m), 5.00 (1H, t, $J = 9.7$ Hz), 5.08 (1H, t, $J = 8.2$ Hz), 5.38 (1H, t, $J = 9.3$ Hz), 5.73 (1H, d, $J = 7.9$ Hz), 6.43 (1H, s), 6.77 (1H, s), 6.88 (1H, s), 6.91 (2H, d, $J = 8.8$ Hz), 7.94 (2H, d, $J = 8.8$ Hz), 10.40 (1H, s), 13.02 (1H, s).

^{13}C NMR (75 MHz, DMSO): δ = 20.9, 21.0 (x2), 21.1, 62.3, 68.6, 71.1, 71.8, 72.5, 95.8, 97.1, 99.9, 103.9, 106.6, 116.7, 121.6, 129.3, 157.5, 162.0, 162.1, 162.2, 165.1, 169.8, 170.0, 170.3, 170.7, 182.7.



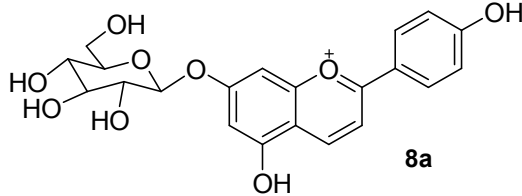
7-O- β -*d*-glükopiranozil-apigenin (7a): 0.16 g (0.17 mmol) 7 -O-(2,3,4,6-Tetraasetil- β -*d*-glükopiranozil)-apigenin (6a) kullanılarak yöntem H' ye göre % 93 verimle 0.10 g (0.17 mmol) 7a nolu bileşik elde edildi. ^1H NMR ve ^{13}C NMR spektrumları sırasıyla Şekil A.15 ve Şekil A.16'de verilmiştir.

E.N.: 181,5 °C, IR: 3267 (O-H), 1647 (C=O), 1589 (Ar), 1238 (Ar-O), 1176 (C-O-C), 1039 (Ar-H) cm^{-1} ; MS: $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{10}$: hesaplanan :432,11, : $[\text{M}^+]$:433,26

^1H NMR (300 MHz, DMSO): δ = 3.20-3.28 (1H, m), 3.39-3.53 (3H, m), 3.66-3.75 (2H, m), 4.02-4.80 (4H, br, OH), 5.08 (2H, d, $j=7,2$ Hz), 6.45 (1H, d, $j = 1.4$ Hz),

6.84 (1H, d, $j = 1.4$ Hz), 6.88 (1H, s), 6.95 (2H, d, $j = 8.5$ Hz), 7.97 (2H, d, $j = 8.5$ Hz).

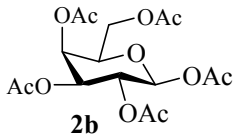
^{13}C NMR (75 MHz, DMSO): $\delta = 61.2, 65.6, 70.2, 73.7, 77.4, 77.8, 95.5, 100.5, 103.7, 106.0, 116.6, 121.6, 129.2, 157.6, 161.7, 162.0, 163.6, 164.9, 182.6$.



7-*O*-glikozil-apigenidin (8a): 0,5 mmol 7-*O*-glikopiranozil-apigenin (7a) kullanılarak yöntem F'ye göre % 40 verimle 8a nolu bileşik elde edildi

MS: $\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{O}_9^+$: hesaplanan : 417,12 , $[\text{M}^+]$:417,540

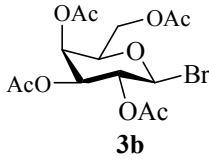
UV : $\lambda_{\text{maks}} = 479,50$ nm



β -*D*-pentaasetilgalaktopiranoz: 6.6 g (36.6 mmol) *D*-galaktozmonohidrat kullanılarak yöntem A' ya göre % 94 verimle 13.4 g (34.4 mmol) 2 nolu bileşik elde edildi.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 2.04$ (3H, s), 2.06 (3H, s), 2.10 (3H, s), 2.12 (3H, s), 2.19 (3H, s), 4.0-4.15 (2H, m), 4.26 (1H, dd, $j = 4.1, 3.6$ Hz), 5.02-5.18 (2H, m), 5.48 (1H, t, $j = 10.0$ Hz), 6.30 (1H, d, $j = 3.5$ Hz).

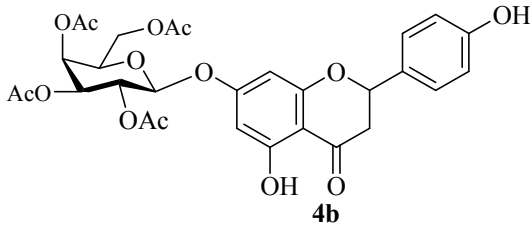
^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): $\delta = 20.6, 20.8, 20.9, 20.9, 21.2, 61.8, 68.2, 69.8, 70.4$ (x2), 89.5, 169.5, 169.8, 169.9, 170.6, 170.9.



2,3,4,6-Tetraasetil- β -*d*-galaktopiranozil bromür: 4.0 g (10.2 mmol) β -*d*-pentaasetilgalaktoz kullanılarak yöntem B' ye göre % 89 verimle 3.7 g (9.0 mmol) 3b nolu bileşik elde edildi.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ = 2.03 (3H, s), 2.08 (3H, s), 2.13 (3H, s), 2.18 (3H, s), 4.16 (1H, d, j = 10.8 Hz), 4.42-4.61 (2H, m), 5.05 (1H, dd, j = 4.2, 3.8 Hz), 5.37 (1H, t, j = 9.6 Hz), 5.58 (1H, t, j = 9.4 Hz), 6.65(1H, d, j = 4.1 Hz).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ = 20.6, 20.7, 20.9 (x2), 61.3, 67.6, 70.5, 70.8, 72.7, 85.9, 169.9, 170.1, 170.2, 170.9.

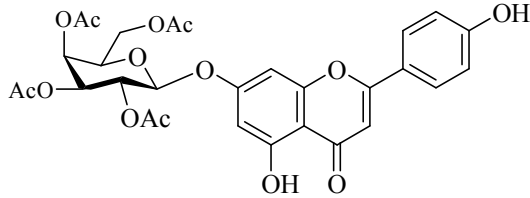


7-*O*-(2,3,4,6-Tetraasetil- β -*d*-galaktopiranozil)-naringenin(4b) : 2.0 g (7.2 mmol) naringenin (4a), 3.7 g (9.0 mmol) 2,3,4,6-Tetraasetil- β -*d*-galaktopiranosil bromür (3b), 2.5 g (9.0 mmol) gümüş karbonat kullanılarak yöntem C' ye göre % 71 verimle 3.3 g (5.5 mmol) 4b nolu bileşik elde edildi. ^1H NMR ve ^{13}C NMR spektrumları sırasıyla Şekil A.5 ve Şekil A.6'de verilmiştir.

E.N.: 102,9 °C, IR: 3385 (O-H), 1745 (C=O), 1635 (Ar), 1369 (OC-O), 1222 (Ar-O), 1176 (C-O-C), 1033 (Ar-H) cm^{-1} , MS: $\text{C}_{29}\text{H}_{30}\text{O}_{14}$: hesaplanan;602,16, [M^+]:602,247,[M^+ + Na]:625,419)

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ = 2.05 (3H, s), 2.06 (3H, s), 2.08 (3H, s), 2.19 (3H, s), 2.81 (1H, d, J = 14.3 Hz), 3.12 (1H, t, J = 13.2 Hz), 4.04-4.21 (1H, m), 5.10 (2H, dd, J = 4.4, 10.8 Hz), 5.31-5.37 (2H, m), 5.45-5.51 (2H, m), 6.12 (1H, d, J = 9.9 Hz), 6.89 (2H, d, J = 8.5 Hz), 7.21 (1H, s) 7.30 (2H, d, J = 8.5 Hz), 11.94 (1H, s).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ = 20.8, 20.9 (x2), 21.3, 43.4, 62.6, 68.4, 70.9, 71.6, 72.8, 79.3, 96.4, 97.5, 104.5, 115.9, 128.2, 129.9, 156.9, 163.1, 164.0, 164.1, 164.6, 169.7, 170.6, 170.9, 171.8, 196.9.



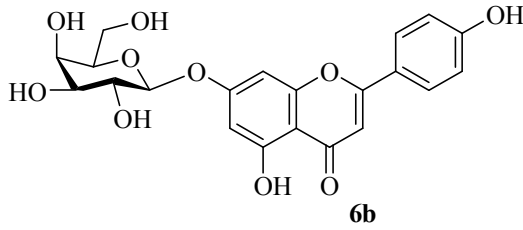
5b

7-*O*-(2,3,4,6-Tetraasetil- β -*D*-galaktopiranozil)-apigenin(5b) : 0,6 g (1 mmol) 7-*O*-(2,3,4,6-Tetraasetil- β -*D*-galaktopiranosil)-naringenin (4b) ve 0,23 g (1mmol) iyot kullanılarak yöntem D' ye göre % 90 verimle 0,54 g (1 mmol) 5b nolu bileşik elde edildi. ^1H NMR ve ^{13}C NMR spektrumları sırasıyla Şekil A.11 ve Şekil A.12'de verilmiştir.

E.N.: 204,7 °C, IR: 3275 (O-H), 1745 (C=O), 1602 (Ar), 1367 (OC-O), 1222 (Ar-O), 1174 (C-O-C), 1043 (Ar-H) cm^{-1} , MS: $\text{C}_{29}\text{H}_{28}\text{O}_{14}$: hesaplanan;600,15, [M^+]:601,492,[M^+ + Na]:624,152)

^1H NMR (300 MHz, DMSO): δ = 1.94 (3H, s), 2.01 (3H, s), 2.04 (3H, s), 2.14 (3H, s), 4.08-4.18 (2H, m), 4.40-4.52 (1H, m), 5.00 (1H, t, $J = 9.7$ Hz), 5.18-5.30 (2H, m), 5.37 (1H, t, $J=9.3$ Hz), 5.65 (1H, d, $J = 7.9$ Hz), 6.41 (1H, s), 6.76 (1H, s), 6.89 (1H, s), 6.95 (2H, d, $J = 8.8$ Hz), 8.01 (2H, d, $J = 8.8$ Hz), 10.45 (1H, s, OH), 13.01 (1H, s, OH).

^{13}C NMR (75 MHz, DMSO): δ = 21.4 (x2), 21.1(x2), 62.1, 67.8, 68.6, 70.0, 71.4, 95.7, 97.6, 99.8, 103.8, 106.5, 116.6, 121.5, 129.2, 157.5, 162.0, 162.1, 162.2, 165.0, 169.9, 170.2, 170.5, 170.7, 182.7.

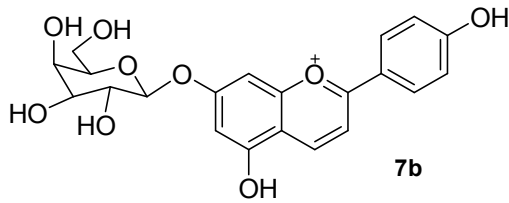


7-*O*- β -*D*-galaktopiranozil-apigenin(6b): 0.16 g (0.17 mmol) 7-*O*-(2,3,4,6-Tetraasetil- β -*D*-glikopiranozil)-apigenin (5b) kullanılarak yöntem H' ye göre % 93 verimle 0.10 g (0.17 mmol) 6b nolu bileşik elde edildi. ^1H NMR ve ^{13}C NMR spektrumları sırasıyla Şekil A.15 ve Şekil A.16'de verilmiştir.

E.N.: 172,4 °C, IR: 3271 (O-H), 1651 (C=O), 1598 (Ar), 1240 (Ar-O), 1174 (C-O-C), 1039 (Ar-H) cm^{-1} ; MS: $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{10}$: hesaplanan;432,11, [M^+]:433,313)

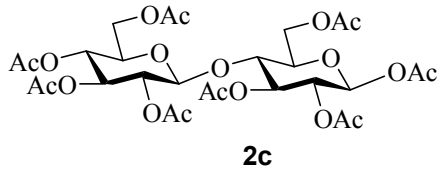
^1H NMR (300 MHz, DMSO): δ = 3.31-3.38 (1H, m), 3.41-3.58 (3H, m), 3.61-3.69 (2H, m), 3.81-4.20 (4H, br, OH), 5.01 (2H, d, $j=7,6$ Hz), 6.42 (1H, d, $j = 1.7$ Hz), 6.76 (1H, d, $j = 1.7$ Hz), 6.88 (1H, s), 6.95 (2H, d, $j = 8.5$ Hz), 7.94 (2H, d, $j = 8.5$ Hz).

^{13}C NMR (75 MHz, DMSO): δ = 60.9, 65.6, 68.7, 70.7, 73.8, 76.3, 95.4, 100.1, 103.7, 105.9, 116.6, 121.6, 129.2, 157.6, 161.7, 162.0, 163.7, 164.8, 182.6.



7-*O*-galaktozil-apigenidin (7b): 0,5 mmol 7-*O*-glikopiranozil-apigenin (6b) kullanılarak yöntem F'ye göre % 40 verimle 7b nolu bileşik elde edildi

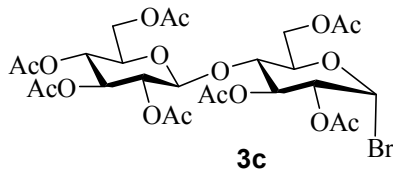
MS: $\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{O}_9^+$: hesaplanan : 417,12 ,[M^+]:417,466, UV : λ_{maks} = 470 nm



Oktaasetil- β -*D*-sellobiyoz (2c): 6.84 g (20.0 mmol) *D*-sellobiyoz kullanılarak yöntem A' ya göre % 92 verimle 12.47 g (54.5 mmol) β -*D*-oktaasetilsellobiyoz (2c) elde edildi.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ = 1.99 (3H, s), 2.01 (3H, s), 2.01 (3H, s), 2.03 (3H, s), 2.05 (3H, s), 2.10 (3H, s), 2.13 (3H, s), 2.19 (3H, s), 3.64-3.72 (1H, m), 3.80 (1H, t, J = 9.5 Hz), 3.98-4.14 (3H, m), 4.38-4.53 (3H, m), 4.93-5.16 (4H, m), 5.45 (1H, t, J = 9.6 Hz), 6.25 (1H, d, J = 3.5 Hz).

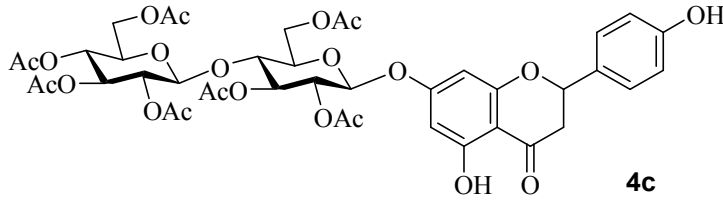
^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ = 20.7, 20.7 (x2), 20.8 (x2), 20.9, 21.0, 21.1, 61.5, 61.7, 67.8, 69.4 (x2), 70.9, 71.8, 72.1, 73.1, 76.3, 89.1, 101.1, 169.2, 169.3, 169.5, 169.9, 170.1, 170.4 (x2), 170.7.



Heptaasetil- β -*D*-sellobiyozil bromür (3c): 10.0 g (14.7 mmol) oktaasetil- β -*D*-sellobiyoz kullanılarak yöntem B' ye göre % 94 verimle 9.7 g (13.9 mmol) 3c elde edildi.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ = 1.99 (3H, s), 2.02 (3H, s), 2.05 (2x3H, s), 2.10 (2x3H, s), 2.15 (1x3H, s), 3.67-3.70 (1H, m), 3.84 (1H, t, J = 9.7 Hz), 4.05 (1H, dd, J_1 = 1.3 Hz, J_2 = 1.5 Hz), 4.15-4.23 (2H, m), 4.38 (1H, dd, J_1 = 4.1 Hz, J_2 = 4.1 Hz), 4.52-4.56 (2H, m), 4.77 (1H, dd, J_1 = 4.1 Hz, J_2 = 4.1 Hz), 4.95 (1H, t, J = 8.2 Hz), 5.05-5.19 (2H, m), 5.54 (1H, t, J = 9.6 Hz), 6.53 (1H, d, J = 4.1 Hz).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ = 20.7 (x2), 20.8 (x2), 20.9 (x2), 21.1, 61.1, 61.7, 67.9, 69.6 (x2), 70.9, 71.7, 72.2, 73.1, 73.2, 75.4, 86.6, 100.8, 169.2, 169.5, 169.6, 170.2, 170.3, 170.5, 170.7.

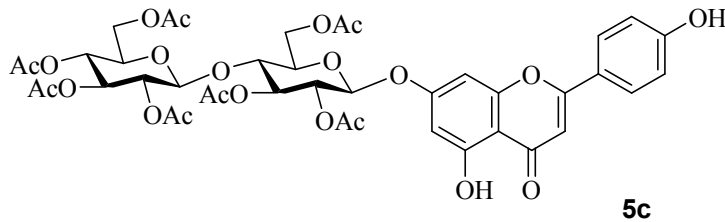


7-*O*-(Heptaasetil- β -*D*-sellobiyozil)-naringenin (4c): 2.0 g (7.3 mmol) naringenin kullanılarak yöntem C' ye göre % 86 verimle 5.6 g (6.3 mmol) 4c elde edildi. ^1H NMR, ^{13}C NMR ve IR spektrumları sırasıyla Şekil A.28, Şekil A.29 ve Şekil A.30'da verilmiştir.

E.N.: 192,5 °C, IR: 3444 (O-H), 1741 (C=O), 1645 (Ar), 1367 (OC-O), 1213 (Ar-O), 1168 (C-O-C), 1035 (Ar-H) cm^{-1} , MS: $\text{C}_{41}\text{H}_{46}\text{O}_{22}$: hesaplanan : 890,25, [M^+]:890,038,[$\text{M}^+ + \text{Na}$]:913,802)

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ = 1.99 (3H, s), 2.01 (3H, s), 2.02 (3H, s), 2.05 (3H, s), 2.06 (3H, s), 2.07 (3H, s), 2.10 (3H, s), 2.77 (1H, d, J = 17.3 Hz), 3.09 (1H, t, J =17.2 Hz), 3.67-3.85 (3H, m), 4.03-4.14 (2H, m), 4.39 (1H, dd, J_1 = 4.4 Hz, J_2 = 4.1 Hz), 4.51 (2H, d, J = 8.5 Hz), 4.92-5.35 (7H, m), 6.08 (2H, dd, J_1 = 3.2 Hz, J_2 = 1.2 Hz), 6.59 (1H,s), 6.89 (2H, d, J = 8.5 Hz), 7.29 (2H, d, J = 8.5 Hz), 11.92 (1H, s).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ = 20.8 (x3), 20.9 (x2), 21.1 (x2), 43.4, 61.7, 62.0, 67.9, 70.2, 71.0, 71.7, 72.1, 72.6, 73.0, 73.3, 79.5, 96.3, 97.7, 101.0, 104.4, 115.9, 128.2, 129.6, 139.6, 157.3, 163.1, 163.9, 164.5, 169.6, 169.7, 169.8, 170.2, 170.5, 170.8, 170.9, 197.0.



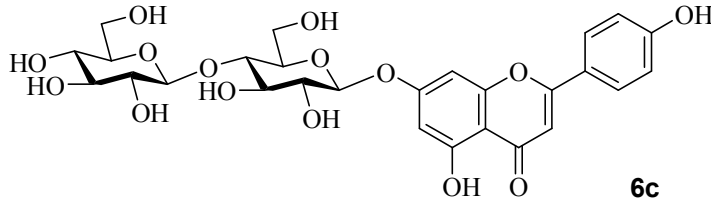
7-*O*-(Heptaasetil- β -*D*-sellobiyozil)-apigenin (5c): 0,8 g (1 mmol) 7-*O*-(Heptaasetil- β -*D*-sellobiyozil)-naringenin (4c) ve 0,23 g (1mmol) iyot kullanılarak yöntem D' ye

göre % 90 verimle 0,72 g (1 mmol) 5c nolu bileşik elde edildi. ^1H NMR ve ^{13}C NMR spektrumları sırasıyla Şekil A.11 ve Şekil A.12’de verilmiştir.

E.N.: 223,7 °C, IR: 3433 (O-H), 1741 (C=O), 1604 (Ar), 1367 (OC-O), 1222 (Ar-O), 1172 (C-O-C), 1035 (Ar-H) cm^{-1} ; MS: $\text{C}_{41}\text{H}_{44}\text{O}_{22}$: hesaplanan: 888,23, : $[\text{M}^+]$:889,769, $[\text{M}^+ + \text{Na}]$:912,051)

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6): δ = 1.91 (3H, s), 1.95 (3H, s), 1.96 (3H, s), 1.97 (3H, s), 2.00 (3H, s), 2.01 (3H, s), 2.06 (3H, s), 3.84-4.27 (6H, m), 4.39 (1H, d, J = 11.1 Hz), 4.65 (1H, t, J = 9.4 Hz), 4.84-4.91 (2H, m), 4.99 (1H, t, J = 8.2 Hz) 5.26 (1H, dd, J_1 = 12.9 Hz J_2 = 9.4 Hz), 5.27 (1H, dd, J_1 = 6.2 Hz J_2 = 9.4 Hz), 5.65 (1H, d, J = 7.9 Hz), 6.40 (1H, d, J = 1.7 Hz), 6.75 (1H, d, J = 1.6 Hz), 6.88 (1H, s), 6.91 (2H, d, J = 8.5 Hz), 7.93 (2H, d, J = 8.6 Hz), 10.41 (1H, s), 13.00 (1H, s).

^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6): δ = 20.9 (x2), 21.0 (x2), 21.1 (x2), 21.2, 62.1, 62.6, 68.3, 71.1, 71.3, 71.8, 72.6, 72.8 (x2), 76.9, 95.7, 96.9, 99.9, 100.2, 103.8, 106.5, 116.6, 121.5, 129.3, 157.5, 162.0, 162.1, 165.1, 169.7, 169.9, 170.1 (x2), 170.3, 170.7, 170.8, 182.7.



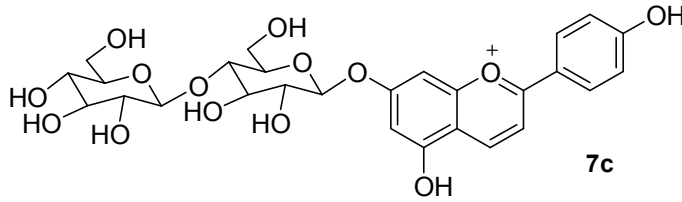
7-O- β -D-sellobiyozil-apigenin (6c): 1.20 g (1.0 mmol) 7-O-(heptaasetil- β -D-sellobiyozil)- apigenin (5c) kullanılarak yöntem H’ ye göre % 94 verimle 0.70 g (0.9 mmol) 6c elde edildi. ^1H NMR, ^{13}C NMR, IR ve Kütle spektrumları sırasıyla Şekil A.51, Şekil A.52, Şekil A.53 ve Şekil A.54’de verilmiştir.

E.N.: 192,5 °C, IR: 3332 (O-H), 1653 (C=O), 1593 (Ar), 1244 (Ar-O), 1176 (C-O-C), 1070 (C-OH), 1029 (Ar-H) cm^{-1} ; MS: $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{15}$: hesaplanan :594,16, $[\text{M}^+]$:595,694, $[\text{M}^+ + \text{Na}]$:617,886

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6): δ = 3.07-3.34 (5H, m), 3.61-3.77 (4H, m), 4.33 (1H, d, J = 7.3 Hz), 4.72-4.77 (2H, m), 4.92 (1H, s), 5.08-5.17 (3H, m), 5.33 (1H, d, J = 4.4

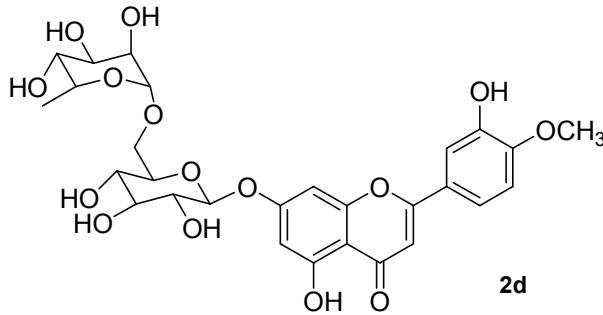
Hz), 5.60 (1H, d, $J = 5.0$ Hz), 6.46 (1H, s), 6.82 (1H, s), 6.84 (1H, s), 6.95 (2H, d, $J = 8.2$ Hz), 7.94 (2H, d, $J = 8.4$ Hz), 10.48 (1H, s), 12.97 (1H, s).

^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 60.6, 61.7, 70.7, 73.5, 73.9, 75.4, 75.7, 77.1, 77.5, 80.3, 95.5, 99.9, 100.1, 103.8$ (x2), 106.0, 116.7, 121.7, 129.3, 157.6, 161.8, 162.0, 163.5, 164.9, 182.7.



7-*O*-sellebiyozil-apigenidin (7c): 0,5 mmol 7-*O*-glikopiranozil-apigenin (6c) kullanılarak yöntem F'ye göre % 40 verimle 7c nolu bileşik elde edildi.

MS: $\text{C}_{27}\text{H}_{31}\text{O}_{14}^+$: hesaplanan :579,17, [$\text{M}^+ + \text{H}_2\text{O}$]:597,971 UV : $\lambda_{\text{maks}} = 478$ nm



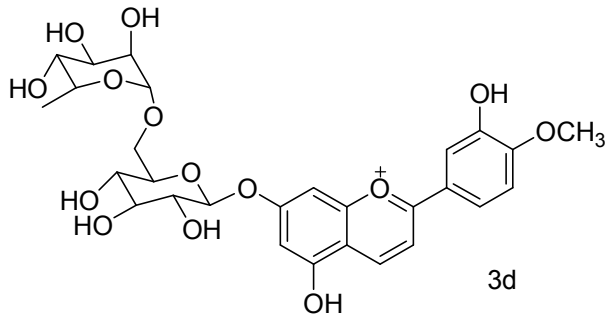
Diosmin(2d): 0,6 g (1 mmol) Hesperidin (1d) ve 0,23 g (1mmol) iyot kullanılarak yöntem D' ye göre % 90 verimle 0,54 g (1 mmol) 2d nolu bileşik elde edildi. ^1H NMR ve ^{13}C NMR spektrumları sırasıyla Şekil A.11 ve Şekil A.12'de verilmiştir.

E.N.: 214,2 °C, IR: 3392 (O-H), 1658 (C=O), 1608 (Ar), 1259 (Ar-O), 1182 (C-O-C), 1095 (C-OH), 1037 (Ar-H) cm^{-1} , MS: $\text{C}_{28}\text{H}_{32}\text{O}_{15}$: hesaplanan : 608,17 [M^+]:609,728,[$\text{M}^+ + \text{Na}$]:631,678,

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 1.06$ (3H, s), 3.13-3.24 (2H, m), 3.26-3.38 (2H,m), 3.45-3.63 (2H, m), 3.81 (3H, s, OCH_3), 4.48 (1H,s), 4.64 (2H, br, OH), 5.05

(2H, d, $J= 7.3$ Hz), 5,25 (2H, br, OH), 5.47 (2H, br, OH), 6.44 (1H, d, $J= 2,1$ Hz), 6.75 (1H, d, $J= 2,1$ Hz), 6.81 (1H, s), 7.10 (2H, d, $J= 8.8$ Hz), 7.42 (1H, s), 7.55 (2H, d, $J= 8.8$ Hz), 12.91 (1H, s, OH).

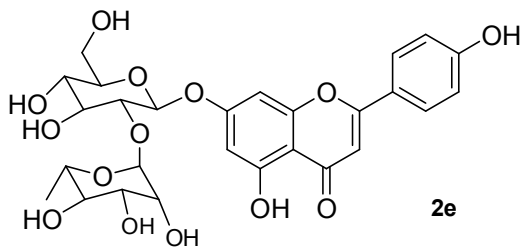
^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6): $\delta= 18.5, 56.4, 66.7, 69.0, 70.1, 70.9, 71.3, 72.6, 73.7, 76.2, 76.8, 95.4, 100.2, 100.5, 101.2, 104.4, 106.1, 112.8, 113.7, 119.6, 123.5, 147.4, 151.9, 157.6, 161.8, 163.6, 164.8, 182.6$



Diosmidin (3d): 0,5 mmol diosmin (2d) kullanılarak yöntem F'ye göre % 40 verimle 3d nolu bileşik elde edildi.

MS: $\text{C}_{28}\text{H}_{33}\text{O}_{14}^+$: hesaplanan : 593,19, [$\text{M}^+ + \text{H}_2\text{O}$]:610,667

UV : $\lambda_{\text{maks}}= 483,50$ nm

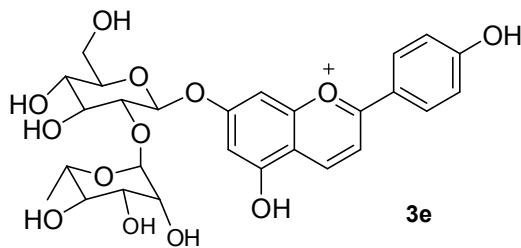


7-O-rutinozil apigenin (2e): 0,57 g (1 mmol) 7-O-rutinozil naringenin ve 0,23 g (1mmol) iyot kullanılarak yöntem D' ye göre % 90 verimle 0,51 g (1 mmol) 2e nolu bileşik elde edildi. ^1H NMR ve ^{13}C NMR spektrumları sırasıyla Şekil A.11 ve Şekil A.12'de verilmiştir.

E.N.: 227,01 °C, IR: 3307 (O-H), 1653 (C=O), 1602 (Ar), 1244 (Ar-O), 1176 (C-O-C), 1058 (C-OH), 1029 (Ar-H) cm^{-1} , MS: $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{14}$: hesaplanan=578,16, $[\text{M}^+]$:579,732, $[\text{M}^+ + \text{Na}]$:601,803

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6): δ = 1.14 (3H, s), 3.16-3.22 (3H, m), 3.31-3.48 (4H,m), 3.61-3.76 (3H, m), 4.69 (4H, br, OH), 5.11 (1H,s),5.22 (1H, d, J = 7.1 Hz), 5,27 (2H, br, OH), 6.35 (1H, d, J = 1,7 Hz), 6.77 (1H, d, J = 1,7 Hz), 6.85 (1H, s), 6.92 (2H, d, J = 8.8 Hz), 7.92 (2H, d, J = 8.8 Hz), 12.95 (1H, s, OH).

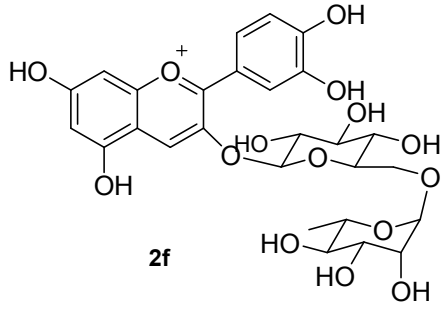
^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6): δ = 18.7, 61.1, 69.0, 70.2, 71.1, 72.5, 76.9, 77.6, 77.8, 95.1, 98.4, 99.9, 101.1, 103.8, 106.0, 116.7, 121.5, 129.2, 157.6, 161.7, 162.1, 163.1, 164.9, 182.6



7-O-rutinosil apigenidin (3e): 0,5 mmol 7-O-rutinosil apigenin (2e)kullanılarak yöntem F'ye göre % 40 verimle 3e nolu bileşik elde edildi.

MS: $\text{C}_{27}\text{H}_{31}\text{O}_{13}^+$: hesaplanan :563,18, $[\text{M}^+ + \text{Na} + \text{K} + \text{Mg}]$:649,625

UV : λ_{maks} = 472 nm



3-O-rutinosil Quersetinidin (2f): 0,5 mmol rutin (1e) kullanılarak yöntem F'ye göre % 40 verimle 2f nolu bileşik elde edildi.

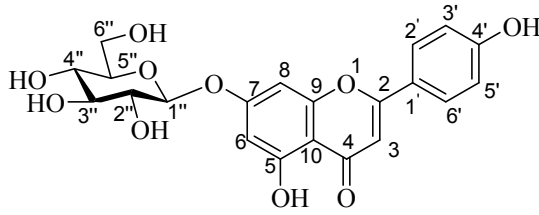
MS: $C_{28}H_{33}O_{13}^+$: hesaplanan 595,17, $[M^+]$: 595,57, $[M^+ + H_2O + Mg + Na]$: 661,45

UV : λ_{maks} = 518 nm

BÖLÜM 5. SONUÇLAR

Total sentez basamaklarında kullanılan tüm çözücüler saflaştırılarak kullanılmıştır. NMR spektrumları için kullanılan DMSO-d₆ çözücüsünün pikleri ¹H NMR spektrumunda 3.2-3.6 ppm arasında ¹³C NMR spektrumunda da 39.2-40.9 ppm arasında görülmektedir. Aynı zamanda DMSO-d₆ çözücüsünün içerdiği su pikleri de 2.49 ppm civarında görülür.

7- *O*-β-*D*-glikopiranozil-apigenin molekülünün numaralandırılmış yapısı Şekil 5.1'de verilmektedir.



Şekil 5.1. 7-*O*-β-*D*-glikopiranozil-apigenin molekülünün numaralandırılmış yapısı

2a ve **2b** nolu bileşiklerinin ¹H NMR spektrumunda (Şekil A.1) 2.02-2.19 ppm arasında beş tane asetil grubu metil proton pikleri görülmektedir. Ayrıca ¹³C NMR spektrumunda görüleceği gibi beşer tane 20.7-21.1 ppm arasında asetil grubu metil karbon pikleri ve 169.0-170.9 ppm arasında asetil grubu karbonil karbonu pikleri bulunmaktadır.

3a ve **3b** nolu bileşiğin ¹H NMR spektrumunda (Şekil A.3) 2.04-2.11 ppm arasında dört tane asetil grubu metil pikleri, 2 nolu bileşikten bir tane asetil grubu koptuğunu göstermektedir. **3a** ve **3b** nolu bileşiğin ¹³C NMR spektrumunda da 169.8-170.8 ppm arasındaki dört tane asetil grubu karbonil karbonu pikleri ve 20.8-20.9 ppm arasındaki dört tane asetil grubu metil karbonu pikleri ¹H NMR spektrumunu desteklemektedir.

5a ve **4b** nolu moleküllerinin ^1H NMR spektrumunda 6-8 ppm arasında naringenin molekülünün aromatik piklerini , 2,7 ppm ve 3,1 ppm de de naringenin C halkasındaki protonlar, 9,6 ve 12 ppm dede naringenin 2 adet Ar-OH pikleri görülmektedir. Aynı spektrumda 2ppm civarında 4 tane asetil piki ve 4 ppm ve 6 ppm arasında glikozil ve galaktozil protonları mevcuttur. Bu moleküllerin alınan kütle spektrumlarında görülen moleküler iyon pikleri (5a= hesaplanan :602,16, : $[\text{M}^+]$: 603,88, $[\text{M}^++\text{Na}]$: 625,057, 4b hesaplanan=602,16, $[\text{M}^+]$: 602,247, $[\text{M}^++\text{Na}]$: 625,419) yapımızı doğrulamaktadır.

6a ve **5b** moleküllerinin ^1H NMR spektrumunda 2,7 ppm ve 3,1 ppm deki naringenin C halkasındaki protonlar görülmemektedir bunun yerine apigenin molekülünün C halkasındaki protonu 6,8 ppm de mevcuttur. Aynı zamanda **4a** ve **4b** moleküllerindeki apigeninin aromatik halka pikleri 6,4-8ppm arasında, Ar-OH pikleri 10,4 ve 13 ppm de ve glikozil ve galaktozil pikleri 4-6ppm arasında , 2ppm civarındada 4 adet asetil piki mevcuttur. Alınan kütle spektrumunda da moleküler iyon pikleri (6a= hesaplanan :600,15, $[\text{M}^+]$: 601,492, $[\text{M}^++\text{Na}]$: 624,514, 5b hesaplanan=600,15, $[\text{M}^+]$: 601,492, $[\text{M}^++\text{Na}]$: 624,152) yapımızı doğrulamaktadır.

7a ve **6b** moleküllerinin ^1H NMR spektrumunda 2 ppmdeki asetil piklerinin görülmemesi ve 3,3 ve 3,8 ppm civarında görülen glikozil ve galaktozil-OH pikleri deasetillemenin olduğunu göstermektedir. Alınan kütle spektrumunda da moleküler iyon pikleri (7a= hesaplanan :432,11, $[\text{M}^+]$: 433,26,6b hesaplanan=432,11, $[\text{M}^+]$: 433,313) yapımızı doğrulamaktadır.

4c nolu molekülünün ^1H NMR spektrumunda 6-8 ppm arasında naringenin molekülünün aromatik piklerini , 2,7 ppm ve 3,1 ppm de de naringenin C halkasındaki protonlar, 9,6 ve 12 ppm dede naringenin 2 adet Ar-OH pikleri görülmektedir. Aynı spektrumda 2ppm civarında 7 tane asetil piki ve 4 ppm ve 6 ppm arasında sellebiozil protonları mevcuttur. Bu molekülünün alınan kütle spektrumunda görülen moleküler iyon piki (4c= hesaplanan : 890,25, $[\text{M}^+]$: 890,038, $[\text{M}^++\text{Na}]$: 913,802) yapımızı doğrulamaktadır.

5c molekülünün ^1H NMR spektrumunda 2,7 ppm ve 3,1 ppm deki naringenin C halkasındaki protonlar görülmemektedir bunun yerine apigenin molekülünün C halkasındaki protonu 6,8 ppm de mevcuttur. Aynı zamanda **4a** ve **4b** moleküllerindeki apigeninin aromatik halka pikleri 6,4-8ppm arasında, Ar-OH pikleri 10,4 ve 13 ppm de ve sellebiozil pikleri 4-6ppm arasında , 2ppm civarında 7 adet asetil piki mevcuttur. Alınan kütle spektrumunda da moleküler iyon pikleri ($5c=$ hesaplanan: 888,23, $[\text{M}^+]$: 889,769, $[\text{M}^++\text{Na}]$: 912,051) yapımızı doğrulamaktadır.

6c molekülünün ^1H NMR spektrumunda 2 ppmdeki asetil piklerinin görülmemesi ve 3,5 ppm civarında görülen sellebiozil-OH pikleri deasetillemenin olduğunu göstermektedir. Alınan kütle spektrumunda da moleküler iyon piki ($6c=$ hesaplanan : 594,16, $[\text{M}^+]$: 595,694, $[\text{M}^++\text{Na}]$: 617,886) yapımızı doğrulamaktadır.

2d ve **2e** nolu moleküllerinin ^1H NMR spektrumunda 6,8 ppm deki singlet proton piki C halkasının okside olduğunu göstermektedir. Aynı zamanda 6,4-7,6 ppm arasındaki aromatik halka pikleri 3ppm ve 5,4 ppm arasındaki şeker pikleri yapımızla uyum sağlamaktadır. Alınan kütle spektrumunda da moleküler iyon pikleri ($2d=$ hesaplanan : 608,17 $[\text{M}^+]$: 609,728, $[\text{M}^++\text{Na}]$: 631,678, $2e$ hesaplanan=578,16, $[\text{M}^+]$: 579,732, $[\text{M}^++\text{Na}]$: 601,803) yapımızı doğrulamaktadır.

Sentezlenen antosiyanin türevleri (**8a**, **7b**, **7c**, **3d**, **3e**, **2f**) NMR solventlerinde (CDCl_3 , DMSO-d_6 , CD_3OD ve CF_3COOD) yeterli miktarda çözünmediklerinden dolayı proton ve ^{13}C NMR' ları alınamadı. Ancak bu moleküllerinin alınan UV ve kütle spektrumları yapılarımız ile uyum sağlamaktadır.

$8a=$ hesaplanan : 417,12 , $[\text{M}^+]$: 417,540, UV : $\lambda_{\text{maks}}= 479,50$ nm

$7b=$ hesaplanan : 417,12 , $[\text{M}^+]$: 417,466, UV : $\lambda_{\text{maks}}= 470$ nm

$7c=$ hesaplanan : 579,17, $[\text{M}^++\text{H}_2\text{O}]$: 597,971, UV : $\lambda_{\text{maks}}= 478$ nm

$3d=$ hesaplanan : 593,19, $[\text{M}^++\text{H}_2\text{O}]$: 610,667, UV : $\lambda_{\text{maks}}= 483,50$ nm

$3e=$ hesaplanan : 563,18, $[\text{M}^++\text{Na}+\text{K}+\text{Mg}]$: 649,625, UV : $\lambda_{\text{maks}}= 472$ nm

$2f=$ hesaplanan : 595,17, $[\text{M}^+]$: 595,57, $[\text{M}^++\text{H}_2\text{O}+\text{Mg}+\text{Na}]$: 661,45,

UV : $\lambda_{\text{maks}}= 518$ nm

Bu sonuçlardan total sentezini hedeflediğimiz apigenidin türevlerine ulaştığımızı söyleyebiliriz.

BÖLÜM 6. TARTIŞMA VE ÖNERİLER

Bu çalışmada yapılan total sentez sırasıyla glikozilleme, asetilleme, yükseltgeme, deasetilleme ve indirgeme basamaklarını içermektedir.

Glikozilleme basamağı Oyama ve arkadaşlarının [36] ve [37] deki sentezine göre sentezlenmiştir. Bu kaynaklarda %80 verim ile elde edilen ürün, total sentezimizde de başarıyla glikozilleme yapılmıştır. Bu yöntem galaktozilleme ve sellobiyozilleme basamaklarında da uygulanmış ve başarılı olunmuştur. Yalnız galaktozilleme bir gün süre ile yapıldığında daha yüksek verim ile elde edilmiştir.

7-*O*-Glikozilleme basamağında başlangıç maddesi olarak naringenin kullanılmıştır. Naringenin yerine apigenin kullanıldığında 7-*O* ve 4'-*O* pozisyonlarının reaktiviteleri birbirine yaklaşacağı için seçicilik azalmakta ve ürün karışımı elde edilmektedir. Bu yüzden sentezlenen bileşiğin saflaştırması zorlaşmaktadır. Ayrıca, apigenin molekülünün naringenine göre oldukça pahalı bir madde olması da, total sentezimize naringeninden başlamamız için diğer bir neden olmuştur. Sonraki basamaklarda yükseltgenme ile naringeninden apigenin elde edilmesi hem daha az masraflı hem de daha az çaba gerektiren bir yöntemdir.

Glikozilleme basamağındaki bir diğer hususta, kaynakların çoğunda görüldüğü gibi, genelde flavon türevleri glikozillenmiştir. Bu yöntemlerin flavonon türevlerinde ne şekilde sonuçlar vereceği incelenmelidir.

Glikozitlerin ¹H NMR spektrumlarındaki anomerik proton piklerine ait etkileşme sabiti (*J* değerleri) yapıda bulunan α - veya β -glikozit bağının şekli hakkında bilgi vermektedir. Bu değer; β -D-glikozitlerde 7-8 Hz iken, α -D-glikozitlerde 3-4 Hz olduğu bilinmektedir (BİLALOĞLU, 1997). Elde ettiğimiz bütün bileşiklerde

anomerik CH protonuna ait *J* değerlerinin 7.0-7.9 Hz civarında olduğu görülmüştür. Bu yüzden varolan glikozit bağlarının β - şeklinde olduğu anlaşılmaktadır.

Asetilleme basamağında ılıman şartlar, ucuz ve elimizde bulunan kimyasallar kullanıldığı için bir sıkıntıyla karşılaşılmaı. Glikoz ve sellebiyoz için aynı şartlar kullanılırken galaktozun asetillenmesinde ortam daha ılımanlaştırılmış ve oda sıcaklığında yapılmıştır.

Yükseltgeme basamağı bu tip total sentezlerde düşük verim, ürünün başlangıç maddesi ve yan ürünlerden ayrıştırılarak saflaştırılması gibi istenmeyen durumlar ortaya çıkartmaktadır. Bu çalışmada uygulanan yöntem Mavel ve grubunun [52]'deki sentezine göre piridin ve iyot kullanılarak yüksek verim ile yapılmıştır. Reaksiyon şartları ucuz ve ılımandır. Ayrıca 2d ve 2e bileşiklerini elde edilmesinde asetillemeye gerek kalmadan yüksek verim ile başarıyla yükseltgeme basamağı gerçekleştirilmiştir.

Bu basamak ile ilgili yapılan son çalışmalardan, verimin düşük olması ve kolon kromatografisi ile saflaştırma gerektirdiği için kaçınılmıştır. Khanna ve grubunun [45] de TTA ve AcOH kullanılarak, Singh ve grubunun [46] da TTA, AcOH veya MeOH yada CH₃CN kullanılarak, Singh ve grubunun [48]'de ise Mn(OAc)₃,HClO₄, AcOH kullanılarak yüksek verimle yapılan yükseltgenme basamağında, başlangıç maddelerinde glikozil grubu yoktur ve verim daha düşüktür. Looker ve grubunun [44] deki sentezi ise ürün yüksek verim ile olmasına rağmen çözücüsü CCl₄ pahalı bir çözücü olup kolay bulunamamaktadır. Ayrıca bu kaynağa göre deney aşaması daha zahmetlidir. Ek olarak yapılan yöntemle tek basamakta elde edilen ürün, bu kaynağa göre seçici asetilleme ve seçici deastilleme basamaklarıyla beraber üç basamakta elde edilmektedir.

Deasetilleme basamağı %93 gibi yüksek bir verimle ve ılıman şartlarda kolaylıkla gerçekleştirilmiştir.

İndirgeme basamağımızda magnezyum kullanılan indirgeme yöntemi ile apigenidin türevleri elde edilmiştir. Andersen ve arkadaşları tarafından [76]'de sentezlenen antosiyanidin glikozitlerinin sentez yöntemi olan Zn/Amalgam ve MeOH-HCl ile

%10 verim ile yapılan bu aşama magnezyum kullanılarak % 40 verim ile elde edilmiştir. Çift şekerli apigenin türevleri tek şeker gruplu apigenin türevlerine göre daha zor apigenidin türevlerine indirgendiği gözlenmiştir.

Bu çalışma, total sentez yöntemlerine farklı bir bakış açısı getirerek temel bilimlere çeşitli katkılar sağlamıştır.

Bu tez çalışması daha farklı şeker grupları ile türevlendirilebilir. Ek olarak ise elde edilen ürünlerin biyolojik aktiviteleri, antibakteriyel özellikleri ve antimikrobiyal özellikleri incelenebilir.

KAYNAKLAR

- [1] BİLALOĞLU, G. V., HARMANDAR, M., “Flavonoidler”, Aktif Yayınevi, İstanbul, 1997.
- [2] HARBORNE, J. B., “The Flavonoids: Advances in Research Since 1980”, Chapman and Hall, London, 1988.
- [3] HERTOĞ, M. G. L., FESKEN, E. J. M., HOLMAN, P. C. H., KAFAN, M. B., KROMBOUT, D., Lancet, 1993, 342, 1007.
- [4] KREN U., MINGHETTI, A., SEDMERA, P., HAVLICEK, V., PRIKRILOVA, H., CRESPI-PERELLINO, N., Phytochemistry, 1998, 47, 217.
- [5] MARKHAM, K. R., TANER, G. J., CAOSI-ZIT, M., WHITECROSS, M. I., NAYUDU, M., MITCHELL, K. A., Phytochemistry, 1998, 49, 1913.
- [6] HARBORNE, J. B., BAXTER, H., “The Handbook of Natural Flavonoids”, John Wiley and Sons, Chichester, 1999, Vol 1.
- [7] HARBORNE, J. B., “Comparative Biochemistry of the Flavonoids”, Academic Press, London, 1967.
- [8] MARKHAM, K. R., “Techniques of Flavonoid Identification”, Academic Press, London, 1982.
- [9] KEVIN GOULD, KEVIN DAVIES, Chris Winefield Editors “Anthocyanins Biosynthesis, Functions, and Applications”.
- [10] MURKOVIC M. MÜLLEDER U. ADAM U, Ptanahouser W,2001 Detection of from elderberry juice in human urine. Jsci Food Agric, 8:934-937.
- [11] MATHLEY, J., BUSLIG, B., “Flavonoids in the Living System”, Plenum Press, New York, 1998.
- [12] HARBORNE, J. B., “The Flavonoids: Advances in Research Since 1980”, Chapman and Hall, London, 1988.

- [13] MARKHAM, K. R., TANER, G. J., CAOSI-ZIT, M., WHITECROSS, M. I., NAYUDU, M., MITCHELL, K. A., *Phytochemistry*, 1998, 49, 1913.
- [14] MAZZA G.KAY CD, Cottrell T, Holub BJ.2002 Absorption of anthocyanins from blueberries and Serum antioxidant status in human Subjects *J Agric.*
- [15] MARKHAM, K. R., "Techniques of Flavonoid Identification", Academic Press, London, 1982.
- [16] HERTOĞ, M. G. L., FESKEN, E. J. M., HOLMAN, P. C. H., KAFAN, M. B., KROMBOUT, D., *Lancet*, 1993, 342, 1007.
- [17] KREN U., MINGHETTI, A., SEDMERA, P., HAVLICEK, V., PRIKRILOVA, H., CRESPI-PERELLINO, N., *Phytochemistry*, 1998, 47, 217.
- [18] HARBORNE, J. B., BAXTER, H., "The Handbook of Natural Flavonoids", John Wiley and Sons, Chichester, 1999, Vol 1.
- [19] KAHRAMAN , A., SERTESER, M., KOKEN, T., *The Medical Journal of Kocatepe* (2002), 3, 01-08.
- [20] KÜÇÜKİSLAMOĞLU, M., "Consolida armeniaca (Stapf ex Huth) Schröd. Bitkisi Çiçeklerinin Flavonoidleri Yönünden Analizi", Doktora Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon, 1996.
- [21] BYRNE, P. F., MCMULLEN, M. E., SNOOK, M. E., MUSKET, T. A., THEURI, J. M., WIDSTROM, N. W., WISEMAN, B. R., COE, E. H., "Quantitative Trait Loci and Metabolic Pathways: Genetic Control of The Concentration of Maysin, A Corn Earworm Resistance Factor, in Maize Silks", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1996, 93, 8820-8825.
- [22] LI, F. X., JIN, Z. P., ZHAO, D. X., CHENG, L. Q., FU, C. X., MA, F., "Overexpression of The Saussurea Medusa Chalcone Isomerase Gene in *S. Involucrata* Hairy Root Cultures Enhances Their Biosynthesis of apigenin", *Phytochemistry*, 2006, 67, 553-560.
- [23] MARTENS, S., MITHÖFER, A., "Flavones and Flavone Synthases", *Phytochemistry*, 2005, 66, 2399-2407.
- [24] HARBORNE, J. B., WILLIAMS, C. A., "Advances in Flavonoid Research Since 1992 –a Review", *Phytochemistry*, 2000, 55, 481-504.
- [25] HSIEH, H. K., LEE, T. H., WANG. J. P., WANG J. J., LIN, C. N., "Synthesis and Antiinflammatory Effect of Chalcones and Related Compounds", *Pharmaceutical Research*, 1998, 15, 39-46.

- [26] LE MARCHAND, L., "Cancer Preventive Effects of Flavonoids- A Review", *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2002, 56, 296-301.
- [27] SHIRLEY, B. W., "Flavonoid Biosynthesis: 'New' functions for an 'Old' Payhway", *Trends Plant Sci.*, 1996, 1, 377-382.
- [28] ZEBACK, R., DRESSLER, K., HESS, D., "Flavonoid Compounds from Polen and Stigma of *Petunia hybridia*: Inducers of the vir region of *Agrobacterium tumafacions* Ti Plasmid", *Plant Sci.*, 1989, 62, 83-91.
- [29] GEISSMAN, T. A., "The Chemistry of Flavonoid Compounds", The Maximillan Company, New York, 1962.
- [30] FINAR, I. L., "Organic Chemistry", Longman Scientific and Technical Publishing, 1991, v.2, p.782.
- [31] BAKER, W., "Molecular Rearrangement of Some o-Acyloxyacetophenones and the Mechanism of the Production of 3-Acylchromones", *J. Chem. Soc.*, 1933, 1381.
- [32] MAHAL, H. S., VENKATARAMAN, K., "Synthetical Experiments in the Chromone Group. Part XIV. The Action of Sodamide on 1-Acyloxy-2-acetonaphtones", *J. Chem. Soc.*, 1934, 1767.
- [33] HARIKRISHNAN, L. S., SHOWALTER, H. D. H., "A Novel synthesis of 2,3-disubstituted benzopyran-4-ones and application to the solid phase", *Tetrahedron*, 2000, 56, 515-519.
- [34] ARES, J. J., OUTT, P. E., KAKODKAR, S.V., BUSS, R. C., GEIGER, J. C., "A Convenient Large Scale Synthesis of 5-Methoxyflavone and Its Application to Anolog Preparation", *J. Org. Chem.* 1993, 58, 7903-7905.
- [35] DU, Y., WEI, G., LINHARDT, J. L., "The First Total Synthesis of Calabricoside A", *Tetrahedron Lett.*, 2003, 44, 6887-6890.
- [36] KONDO, T., OYAMA, K. I., YOSHIDA, K., "Chiral Molecular Recognition on Formation of a Metalloanthocyanin: A Supramolecular Metal Complex Pigmenr from Blue Flowers of *Salvia patens*", *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2001, 40(5), 894-897.
- [37] OYAMA, K. I., KONDO, T., "Total Synthesis of Apigenin 7,4'-di-O- β -d-glukopiranozit, a Component of Blue Flower Pigment of *Salvia patents*, and Seven Chiral Analogues", *Tetrahedron*, 2004, 60, 2025-2034.
- [38] SHIOZAKI, M., "Synthesis of 4',8-dihydroxyisoflavon-7-yl- α -D-Arabinofuranoside", *Tetrahedron: Asymmetry*, 1999, 10, 1477-1482.

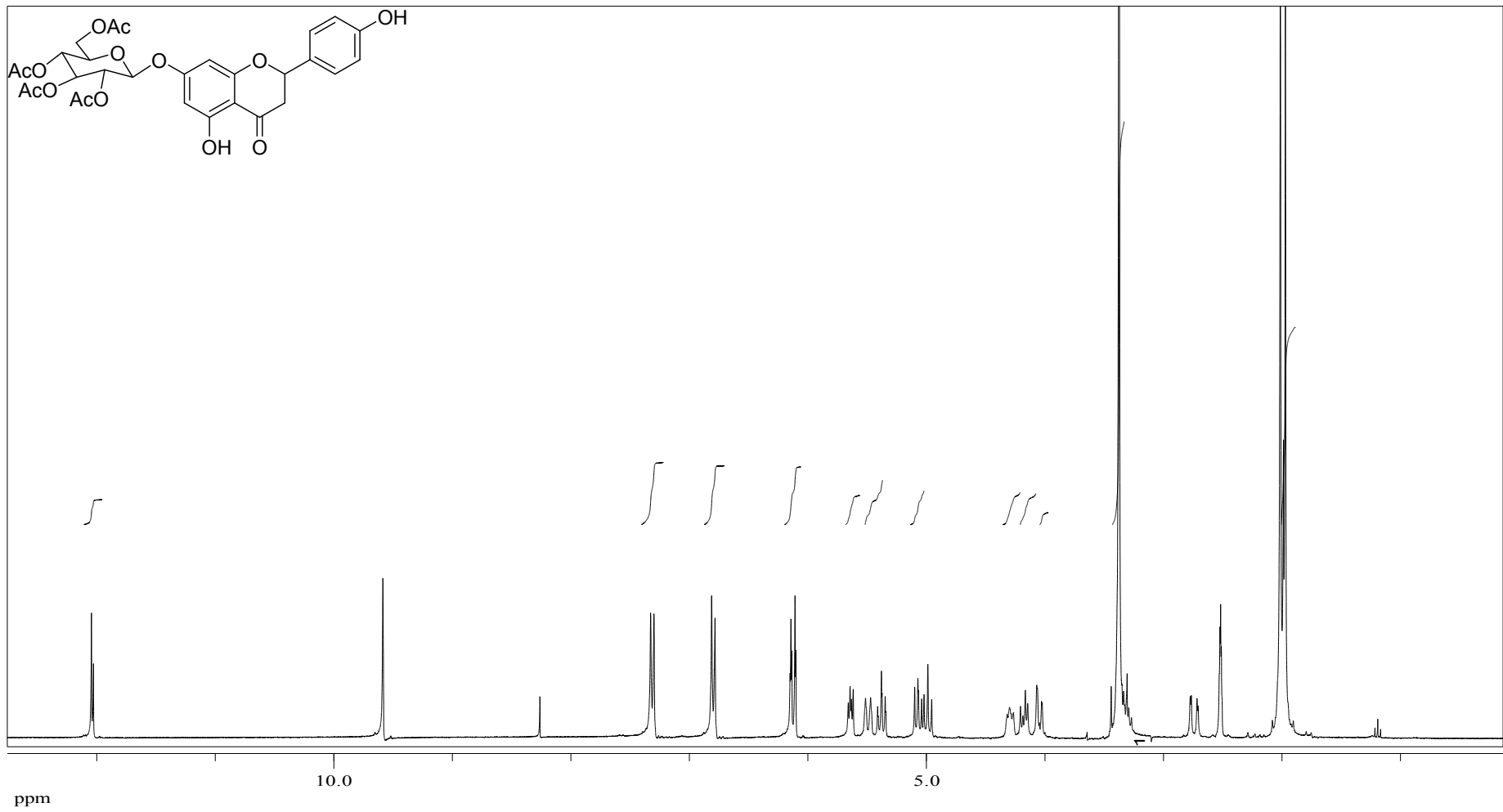
- [39] CUI, J. M., FANG, G., DUAN, Y. B., LIU, Q., WU, L. P., ZHANG, G. H., WU, S., "Total Synthesis of Scutellarin-7-Glucuronide", *Jour. As. Natl. Prod. Res.*, 2005, 7(4), 655-660.
- [40] CHEN, Z., HU, Y., WU, H., JIANG, H., "Synthesis and Biological Evaluation of Flavonoids as Vasorelaxant Agents", *Bioorganic & Medicinal Chem. Letters*, 2004, 14, 3949-3952.
- [41] ZHU, C., PENG, W., LI, Y., HAN, X., YU, B., "Synthesis of 3-O-(β -D-xylopyranosyl-(1-2)- β -D-glucopyranosyl)-3-O-(β -D-glucopyranosyl) Tamarixetin, The Putative Structure of Aescuflavoside A from The Seeds of *Aesculus Chinensis*", *Carbohydrate Research*, 2006, 341, 1047-1051.
- [42] LEWIS, P., KALTIA, S., WAHALA, K., "The Phase Transfer Catalysed Synthesis of Isoflavone-o-Glucosides", *J. Chem. Soc.*, 1998, *Perkin Trans. 1*, 2481-2483.
- [43] SATO, S., AKIYA, T., NISHIZAWA, H., SUZUKI, T., "Total Synthesis of Three Naturally Occuring 6,8-di-C-Glycosylflavonoids: Phloretin, Naringenin, and Apigenin bis-C- β -D-Glucosides", *Carbohydrate Research*, 2006, 341, 964-970.
- [44] LOOKER, J. H., HOLM, M. J., "A New Procedure for the Dehydrogenation of Flavanones with N-Bromosuccinimide", *J. Org. Chem.*, 1959, 56, 567-568.
- [45] KHANNA, M. S., SINGH, O. V., GARG, C. P., KAPOOR, R. P., "Oxidation of Flavanones Using Thallium (III) Salts: A New Route for the Synthesis of Flavones and Isoflavones", *J. Chem. Soc.*, 1992, *Perkin Trans. 1*, 2565-2568.
- [46] SINGH, O. V., KAPOOR, R. P., "Dehydrogenation of Flavanones to Flavones Using Thallium (III) Acetate (TTA)", *Tetrahedron Lett.*, 1990, 31, 1459-1462.
- [47] LORETTE, N. B., GAGE, T. B., WENDER, S. H., "The Use of N-Bromosuccinimide and Pyridinium Bromide Perbromide in the Conversion of Flavanones into Flavones", *Cont. Dep. Chem. Uni. Okl.*, 1951, 2, 930-933.
- [48] SINGH, O. V., RAJ, G., "Manganese (III) Acetate Mediated Oxidation of Flavanones", *Synthetic Communications*, 2005, 35, 2723-2728.
- [49] PRAKASH, O., PAHUJA, S., GOYAL, S., SAWHNEY, S. N., MORIARTY, R. M., "1,2-Aryl Shift in the Hypervalent Iodine Oxidation of Flavanones: A New Useful Synthesis of Isoflavones", *Synlett Lett.*, 1990, 337-338.

- [50] SHANKER, G. C., MALLAIAH, B. V., SRIMANNARAYANA, G., "Dehydrogenation of Chromanones and Flavanones by 2,3-Dichloro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinone (DDQ): A Facile Method for the Synthesis of Chromones and Flavones", *Synthesis*, 1982, 310-311.
- [51] AHMED, N., ALI, H., Van LIER, J. E., "Silica Gel Supported InBr_3 and InCl_3 : New Catalysts for the Facile and Rapid Oxidation of 2'-Hydroxychalcones and Flavanones to Their Corresponding Flavones under Solvent Free Conditions", *Tetrahedron Lett.*, 2005, 46, 253-256.
- [52] MAVEL, S., DIKIC, B., PALAKAS, S. EMOND, P., et.al., "Synthesis and Biological Evaluation of a Series of Flavone Derivatives as Potential Radioligands for Imaging the Multidrug Resistance-Associated Protein 1 (ABCC1/MRP1)", *Bioorganic & Medicinal Chem.*, 2006, 14, 1599-1607.
- [53] LU, F., RALPH, J., "Facile Synthesis of 4-Hydroxycinnamyl p-Coumarates", *J. Agric. Food Chem.*, 1998, 46, 2911-2913.
- [54] RAMESH, G., MAHENDER, G., RAVINDRANATH, N., DAS, B., "A Mild, Highly Selective and Remarkably Easy Using Ammonium Acetate as a Neutral Catalyst in Aqueous Medium", *Tetrahedron*, 2003, 59, 1049-1054.
- [55] RAJABI, F., SAIDI, M. R., "A Cheap, Simple, and Versatile Method for Acetylation of Alcohols and Phenols and Selective Deprotection of Aromatic Acetates Under Solvent-Free Condition", *Synthetic Communications*, 2005, 35, 483-491.
- [56] OVANDO A.C., HERNAZED L.P., HERMANZED E.P., REDRUGEZ J.A., VIDAL C.A.G., *Chemical Studies of Anthocyanins: a review Food Chemistry*, 2009.113.859-871.
- [57] KOWALCZYK, E., KRZESIŃSKI, P., KURA, M., SZMIGEL, B., BLASCZYK, J., *Anthocyanins in Medicine, Polish Journal of Pharmacology* 2003, 55, 699,702.
- [58] FERMANDO, J.M.R.C. SENADEERA, B.K.R. Natural anthocyanin as photosensitizer of dye-sensitized Solar devices *Current Science* 2008.95 (5) 663-666.
- [59] SMITH, K., "Solid Supports and Catalysts in Organic Synthesis", Ellis Horwood and PTR Prentice Hall, New York, 1992.
- [60] MAZZA G., KAY C.D., COTTRELL, T., HOLUB, B.J. 2002 Absorption of anthocyanins from blueberries and Serum antioxidant status in human Subjects *J Agric Food Chem.* 50: 7731-7737.

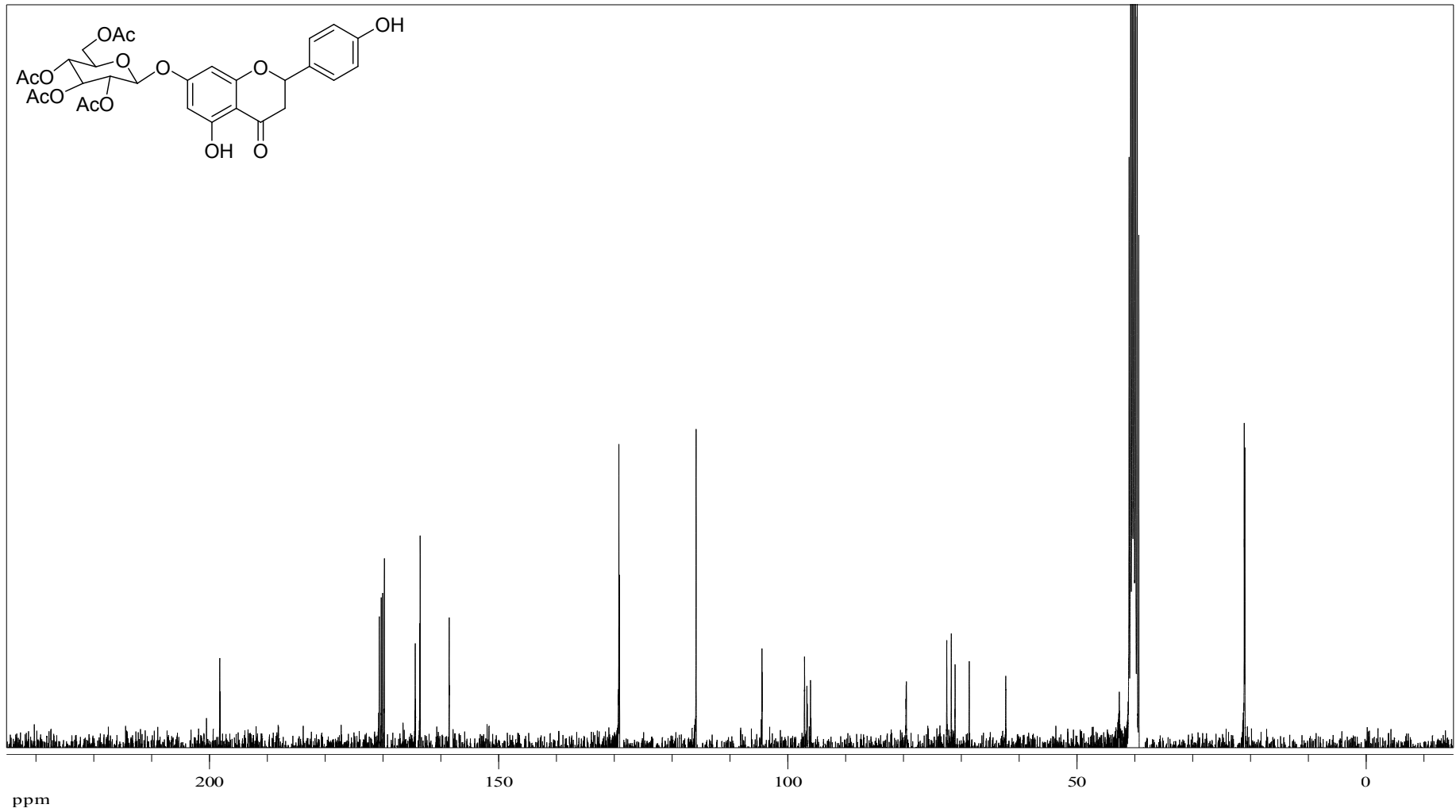
- [61] SATUE-GARCÍA, M.T., HEINONEN, M., FRANKEL, E.N., 1997, Anthocyanins as antioxidants on human low-density lipoprotein and lecithin liposome system, *J Agric Food Chem.* 45:3362-3367.
- [62] ZHENG, W., WONG, S.Y., 2003, Oxygen radical absorbing capacity of phenolics in blueberries cranberries, chokeberries and lingonberries, *J Agric Food Chem.* 51:502-509.
- [63] BİLALOĞLU, G. V., HARMANDAR, M., “Flavonoidler”, Aktif Yayınevi, İstanbul, 1997.
- [64] MARKHAM, K. R., “Techniques of Flavonoid Identification”, Academic Press, London, 1982.
- [65] MARJA, P. K., HOPIA, A. I., VUORELA, H.J., RAUHA, J.P., PIHLAJA, K., KAJULA, T.S. and HEINONEN, M., 1999. Antioksidant Activity of Plant Extracts Containing Phenolic Compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (47): 3954-3962.
- [66] RAUHA, J. P., 2001. The Search for Biological Activity in Finnish Plant Extracts Containing Phenolic Compounds. Department of Pharmacy University of Helsinki Academic Dissertation. 71 p.
- [67] MARIANNE, L., and ENGELHART, M.D., 2002. High Intakes of Antioxidant Vitamins C and E May Lower the Risk of Alzheimer's Disease. *Journal of the American Medical Association* 287 (24): 3223.
- [68] ROBERTSON, A., ROBINSON, R., Experiments on the synthesis of anthocyanins. Part I., *J. Chem. Soc.*, 1713 – 1720 (1926).
- [69] ROBERTSON, A., ROBINSON, R., Experiments on the synthesis of anthocyanins. Part III, *J. Chem. Soc.*, 1710 – 1717 (1927).
- [70] LÉON, A., ROBERTSON, A., ROBINSON, R., SESHADRI, T.R., Experiments on the synthesis of anthocyanins. Part VII. The four isomeric β -glucosides of pelargonidin chloride, *J. Chem. Soc.*, 2672 – 2701, (1931).
- [71] MACDOWELL, R. H., ROBINSON, R., TODD, A. R., Experiments on the synthesis of anthocyanins. Part XVIII. Cyanidin 3-xyloside and 3 : 7- and 5 : 7-diglucosides, *J. Chem. Soc.*, 806-809, (1934).
- [72] DANGLES, O., ELHAJJÍ, H., Synthesis of 3-methoxy and 3-(β -D-glucopyranosyloxy)flavylium ions. Influence of the flavylium substitution pattern on the reactivity of anthocyanins in aqueous Solution, *Helvetica Chimica Acta*, 1994, 77, 1595-1610.
- [73] SHIBATA, K., SHIBATA, Y., KASIWAGI, I., Studies on anthocyanins: color variation in anthocyanins, *J. Am. Chem. Soc.*, 41, 208-220 (1919).

- [74] OYAMA, K., KAWAGUCHI, S., YOSHIDA, K., KONDO, K., Synthesis of pelargonidin 3-O-6''-O-acetyl- β -D-glucopyranoside, an acylated anthocyanin, via the corresponding kaempferol glucoside, *Tetrahedron Letters*, , 48, 6005-6009 (2007).
- [75] KONDO, T., OYAMA, K., NAKAMURA, S., DAISUKE, Y., TUKUNO, K., YOSHIDA, K., Novel and efficient synthesis of cyanidin-3-O- β -D-glucoside from (+)-catechin via a flav-3-en-3-ol as a key intermediate, *Organic Letters*, 8(16), 3609-3612 (2006).
- [76] BJOROY, FOSSEN, S.R., KALBERG, K., ANDERSEN, O.M., C-glucosylanthocyanidins synthesized from C-glycosylflavones, *Phytochemistry*, , 70, 278-287 (2009).
- [77] BÜLOW, C., WAGNER, H., *Ber.Dtsch.Chem.Ges.*, , 34, 1782-1784, 1901.
- [78] BÜLOW, C., WAGNER, H., *Ber.Dtsch.Chem.Ges.*, , 36, 1941-1944, 1903.
- [79] SWEENEY, J.G., IACOBUCCI, G.A., Synthesis of Anthocyanidins-III, Total synthesis of apigenidin and luteolinidin chlorides, *Tetrahedron*, , 37, 1481-1483 (1981).
- [80] KUNERT, N., CLIFFORD, M.N., RADENAC, A.G., Boron trifluoride-etherate mediated synthesis of 3-deoxyanthocyanidins including a total synthesis of tricetanidin from black tea, *Tetrahedron Letters*, , 42, 9261-9263 (2001).
- [81] ROEHR-STOECKEL, C., GONZALES, E., FOUGEROUSSE, A., BROUILLARD, R., Synthetic Dyes: Simple and original ways to 4-substituted flavilium salts and their corresponding vitisin derivatives, *Canadian Journal of Chemistry*, , 79, 1173-1179 (2001).
- [82] BJOROY, FOSSEN, S.R., KALBERG, K., ANDERSEN, O.M., C-glucosylanthocyanidins synthesized from C-glycosylflavones, *Phytochemistry*, , 70, 278-287 (2009).
- [83] STOTZ, K.M., ISOREZ, G., CHASSAING, S., BROUILLARD, R., Straightforward synthesis of highly hydroxylated phloroglucinol-type 3-deoxyanthocyanidins, *Synlett*, , 1223-1226 (2007).
- [84] MARBRY T.J., MARKHAM K.R AND THOMAS M.B., 1970, *The Systematic Identification of Flavonoids*, Springer-Verlag, New York, s. 46, 48, 51, 258.

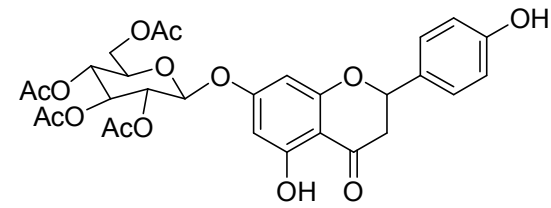
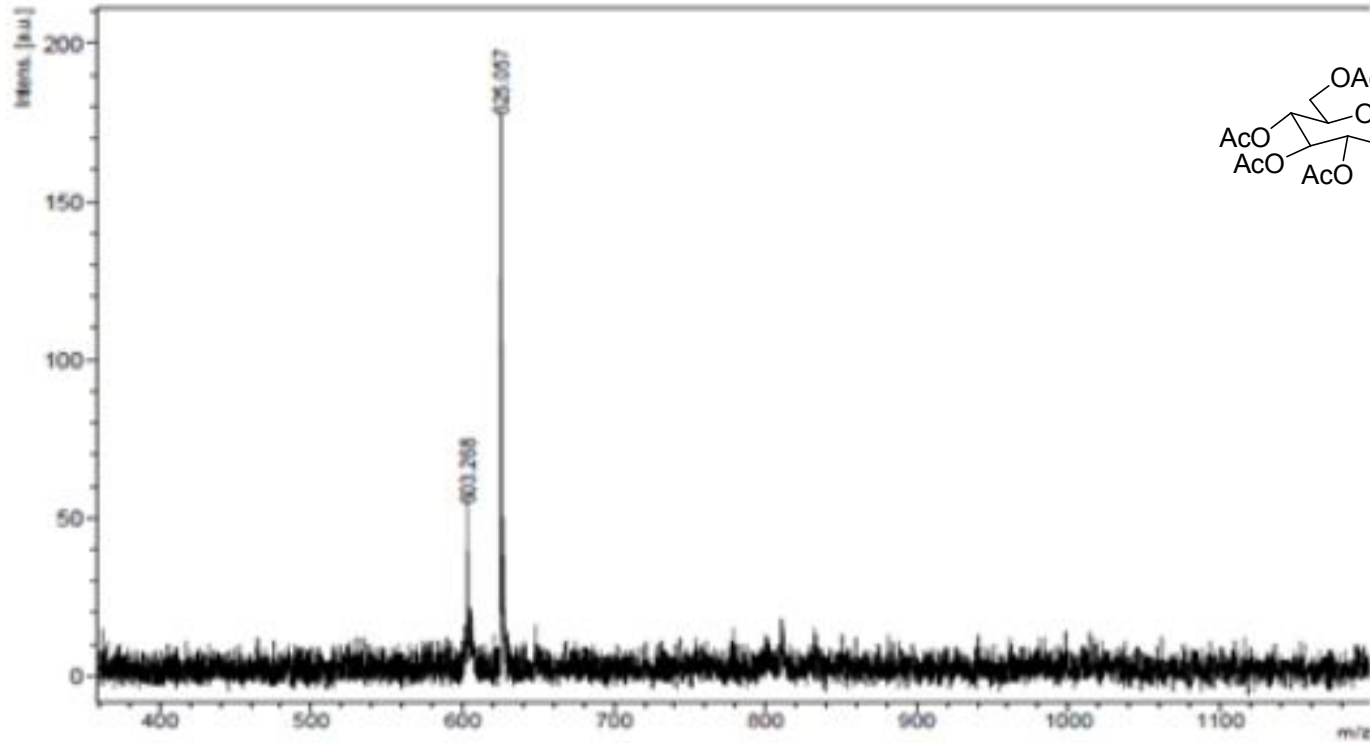
EKLER



Şekil A.1 7-O-tetraasetilglükopiranozil Naringenin (5a) ¹H NMR spektrum



Şekil A.2 7-O-tetraasetilglukopiranozil Naringenin (5a) ¹³C NMR spektrumu



Date of Acquisition 2012-04-09T09:39:43.000

File Name D:\Data\boosut\PF6_DHB\Q_H7\1

Performed by

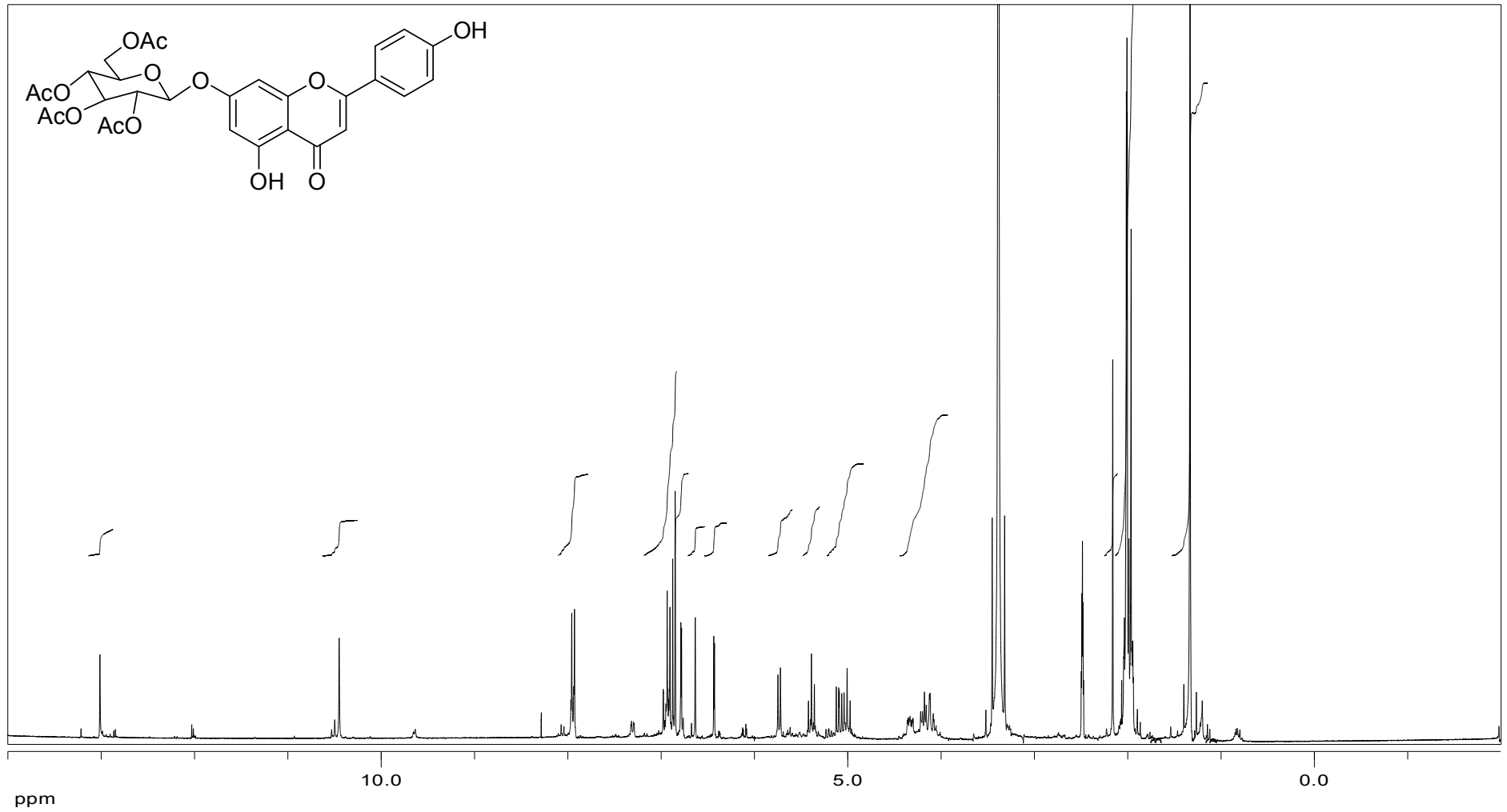
Date / Sign

Viewed by

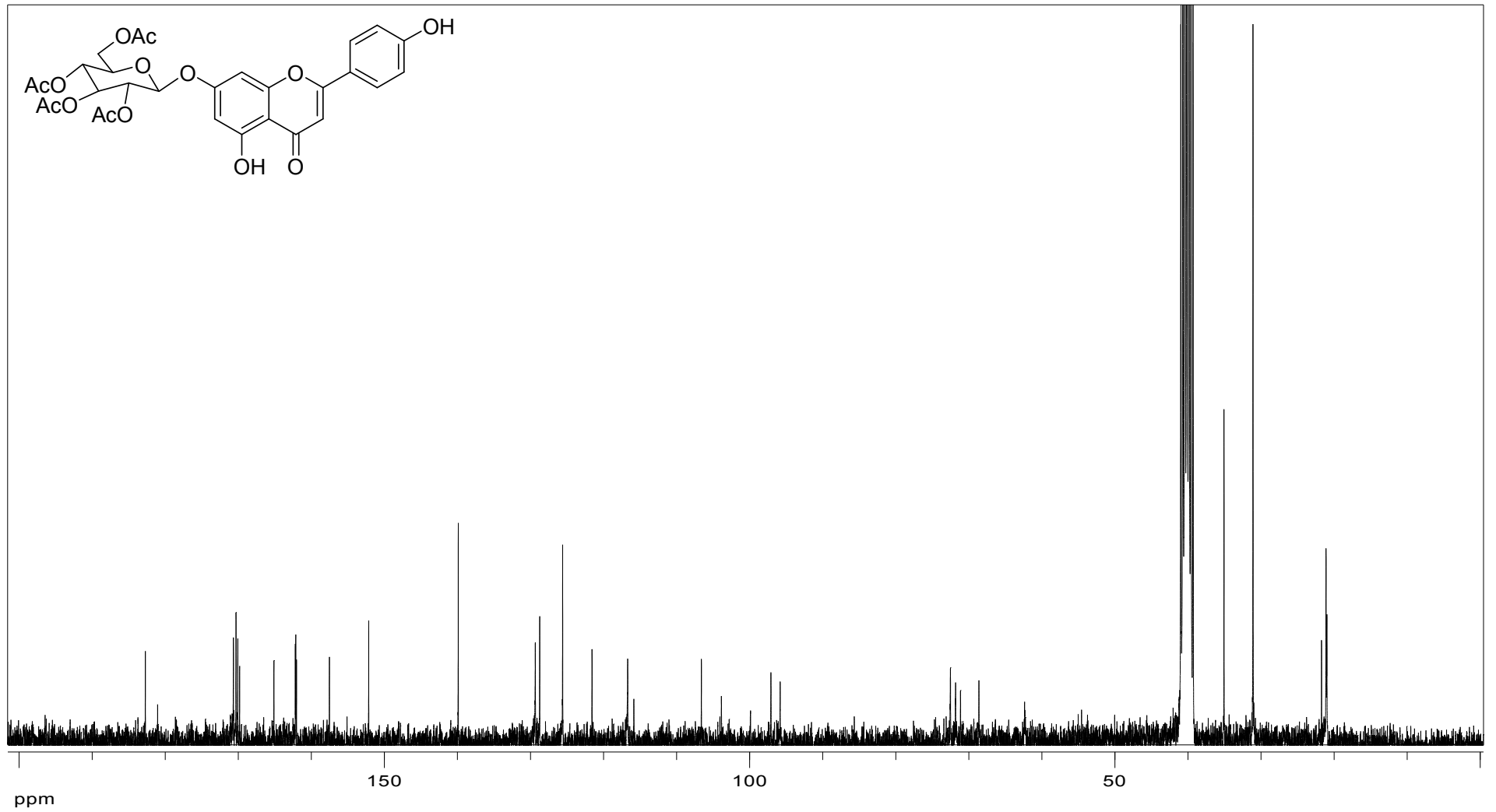
Date / Sign

BRUKER
DALTONICS
printed: 4/9/2012 9:40:11 AM

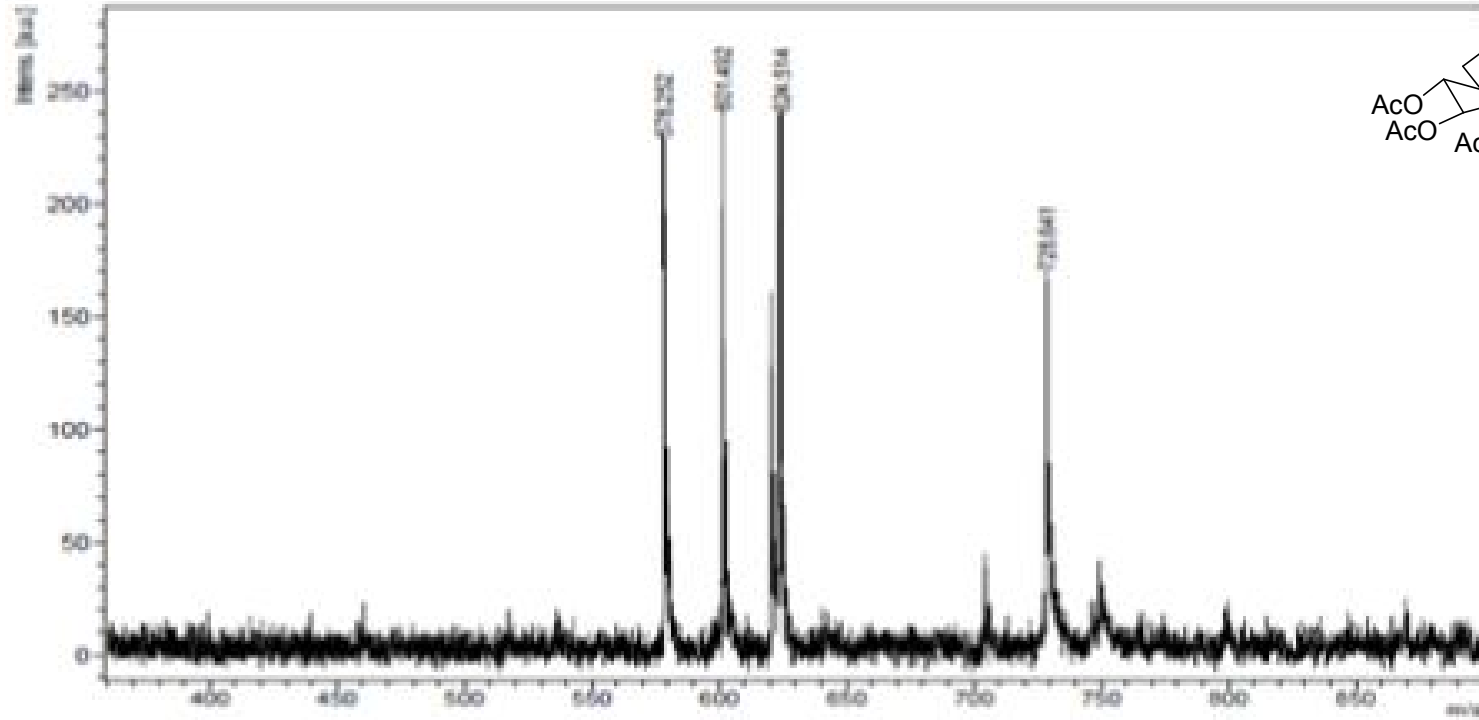
Şekil A.3 7-O-tetraasetilglukopiranozil Naringenin (5a) kütle spektrumu



Şekil A.4 7-O-tetraasetilglukopiranozil apigenin (6a) ¹H NMR spektrumu



Şekil A.5 7-O-tetraasetilglukopiranozil apigenin (6a) ^{13}C NMR spektrumu



Date of Acquisition: 2012-04-09T09:43:25-000

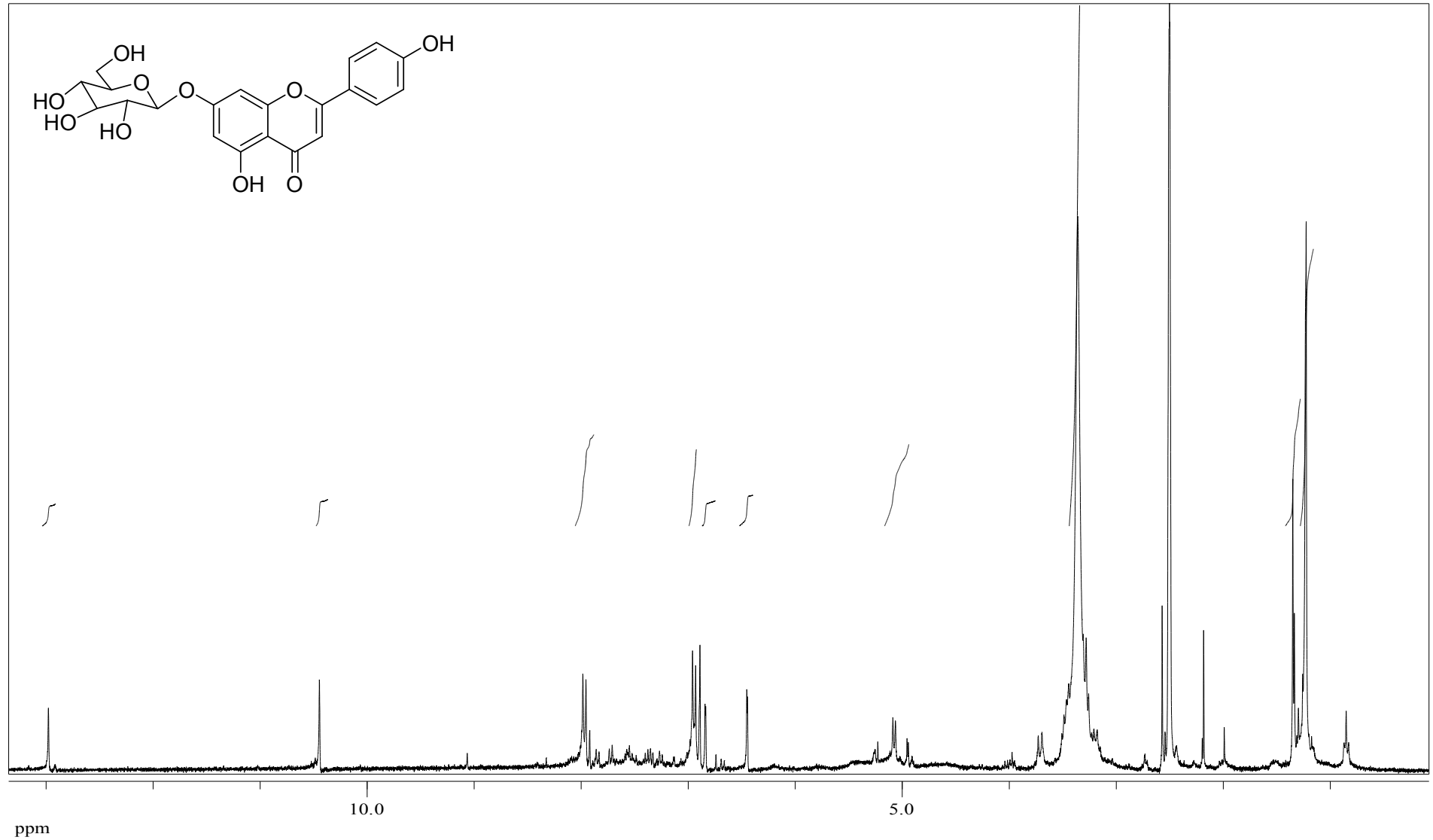
File Name: D:\Data\000001PFS_Dr\012_04\3

Performed by
Date / Sign

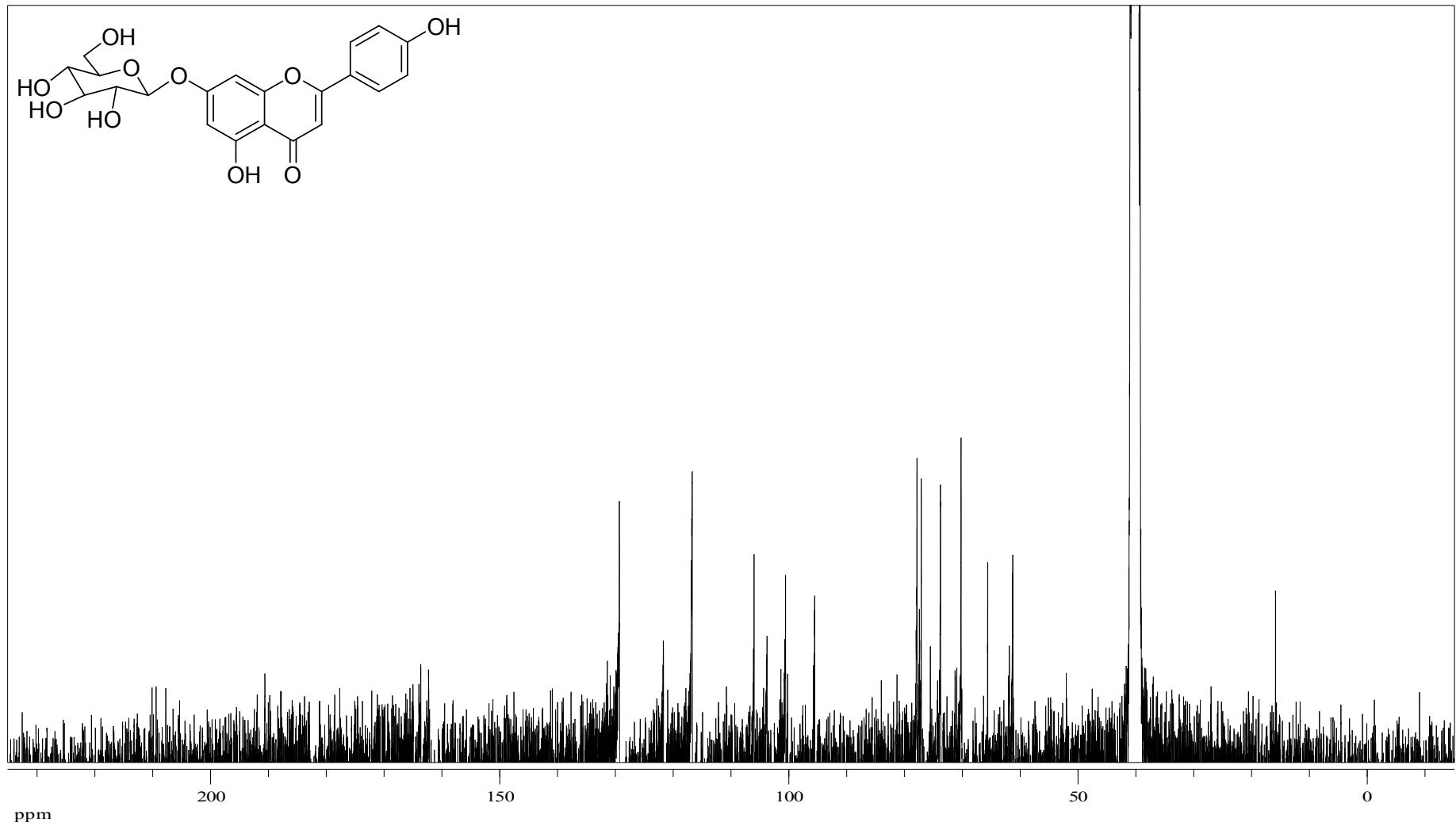
Viewed by
Date / Sign

BRUKER DALTONICS
printed on 2012 04 09 09:43 AM

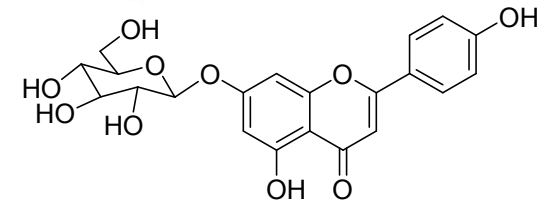
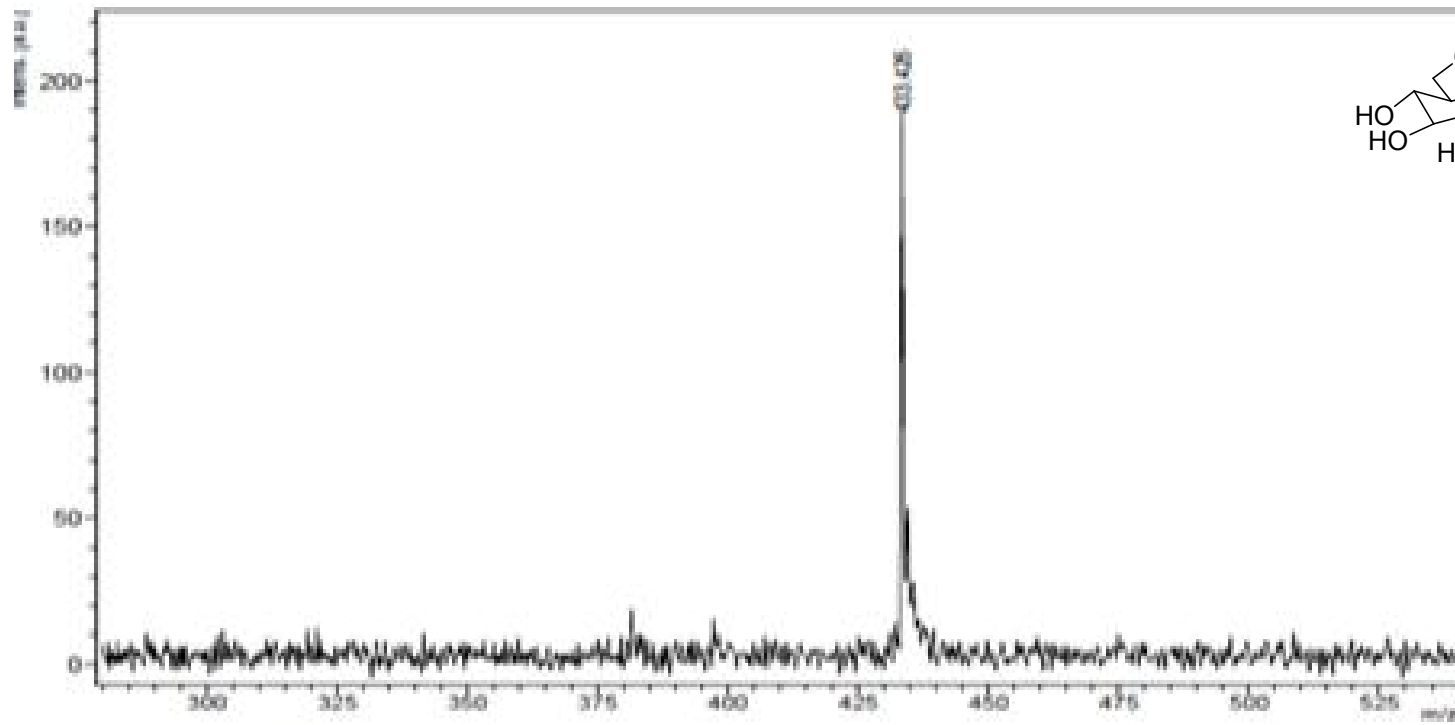
Şekil A.6 7-O-tetraasetilglukopiranozil apigenin (6a) kütle spektrumu



Şekil A.7 7-O-glikopiranozil apigenin (7a) ¹H NMR spektrumu



Şekil A.8 7-O-glikopiranozil apigenin (7a) ¹³C NMR spektrumu



Date of Acquisition: 2013-04-05T12:31:17.000

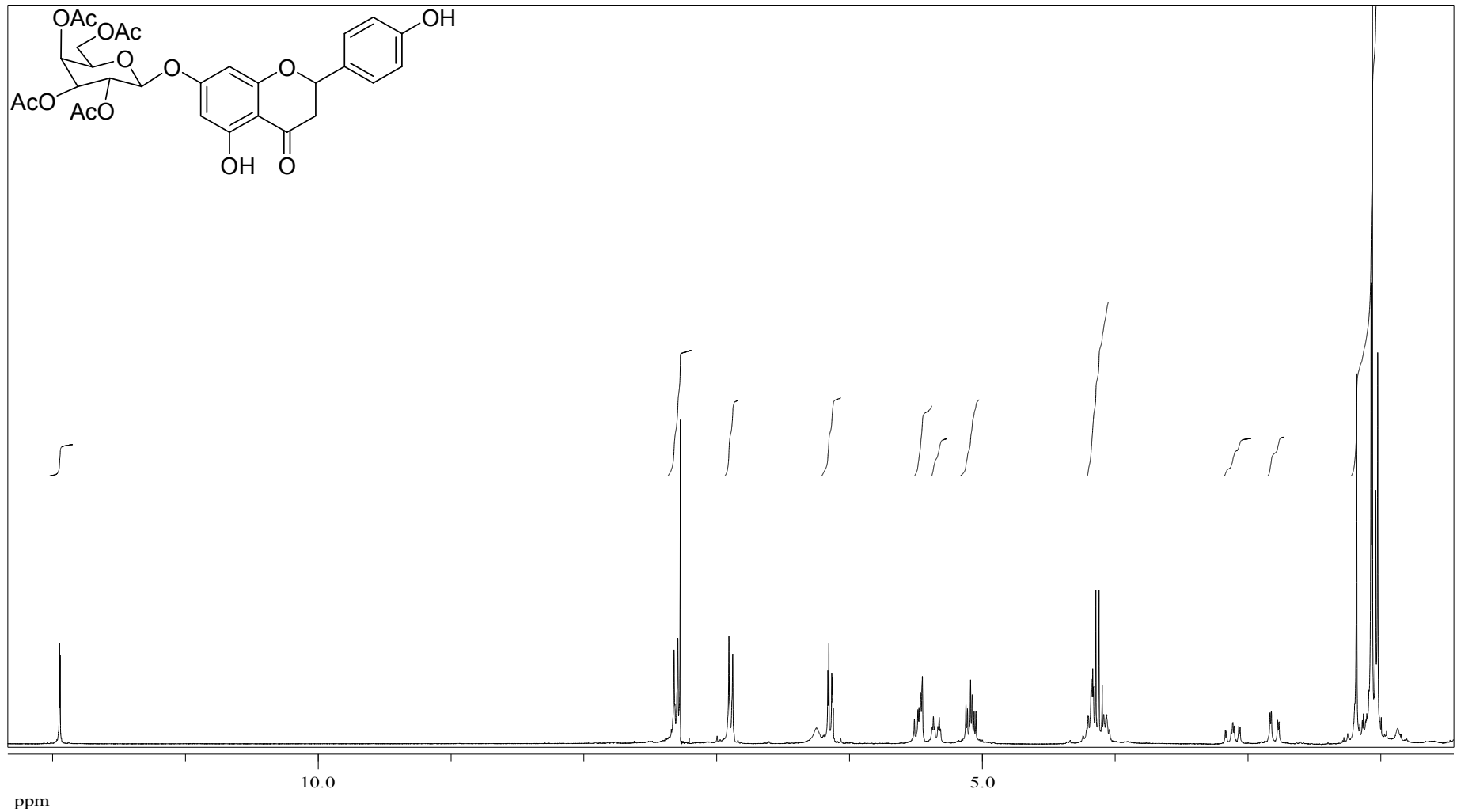
File Name: D:\Data\Biosci\PP2_DHBG_C01

Performed by
Date / Sign

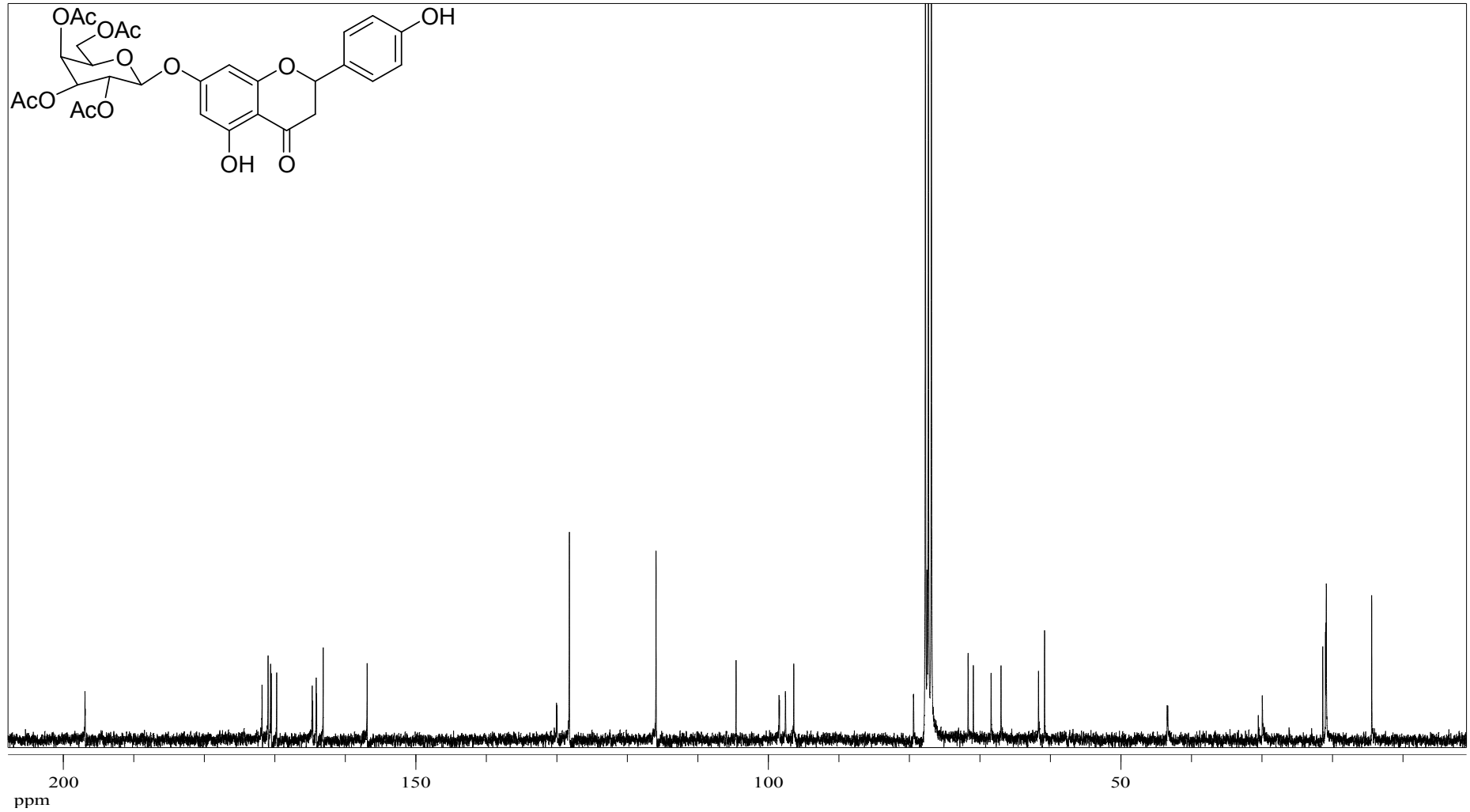
Viewed by
Date / Sign

BRUKER DALTONICS
printed 4/5/2013 12:31:39 PM

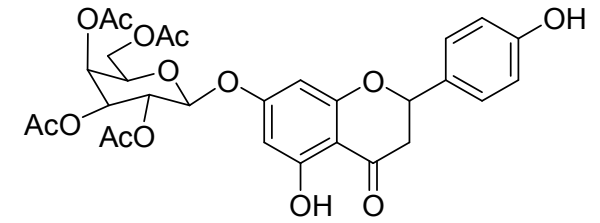
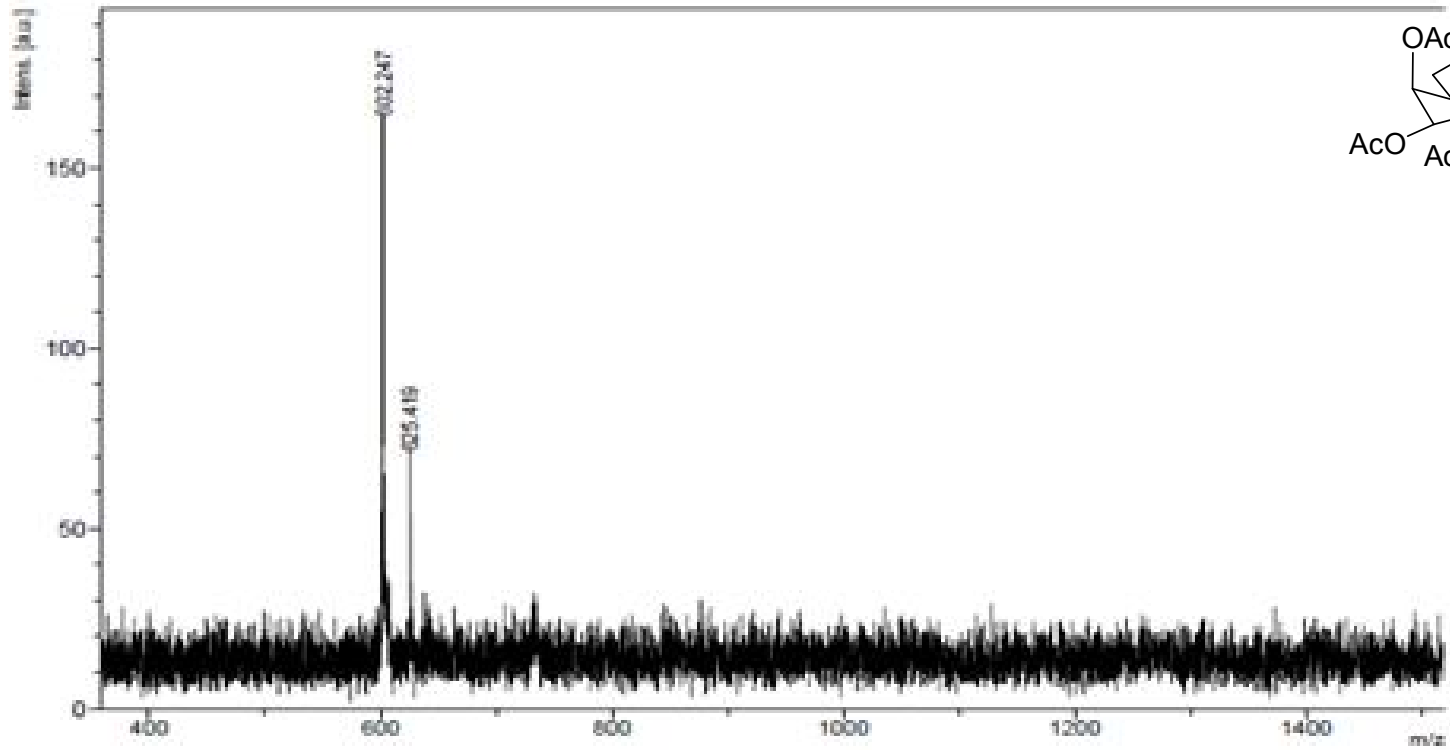
Şekil A.9 7-O-glikopiranozil apigenin (7a) kütle spektrumu



Şekil A.10 7-O-tetraasetilgalaktopiranozil Naringenin (4b) ¹H NMR spektrumu



Şekil A.11 7-O-tetraasetilgalaktopiranozil Naringenin (4b) ¹³C NMR spektrumu



Date of Acquisition 2012-04-09T09:37:46.000

File Name D:\Data\bosun\PF8_DHB10_H811

Performed by

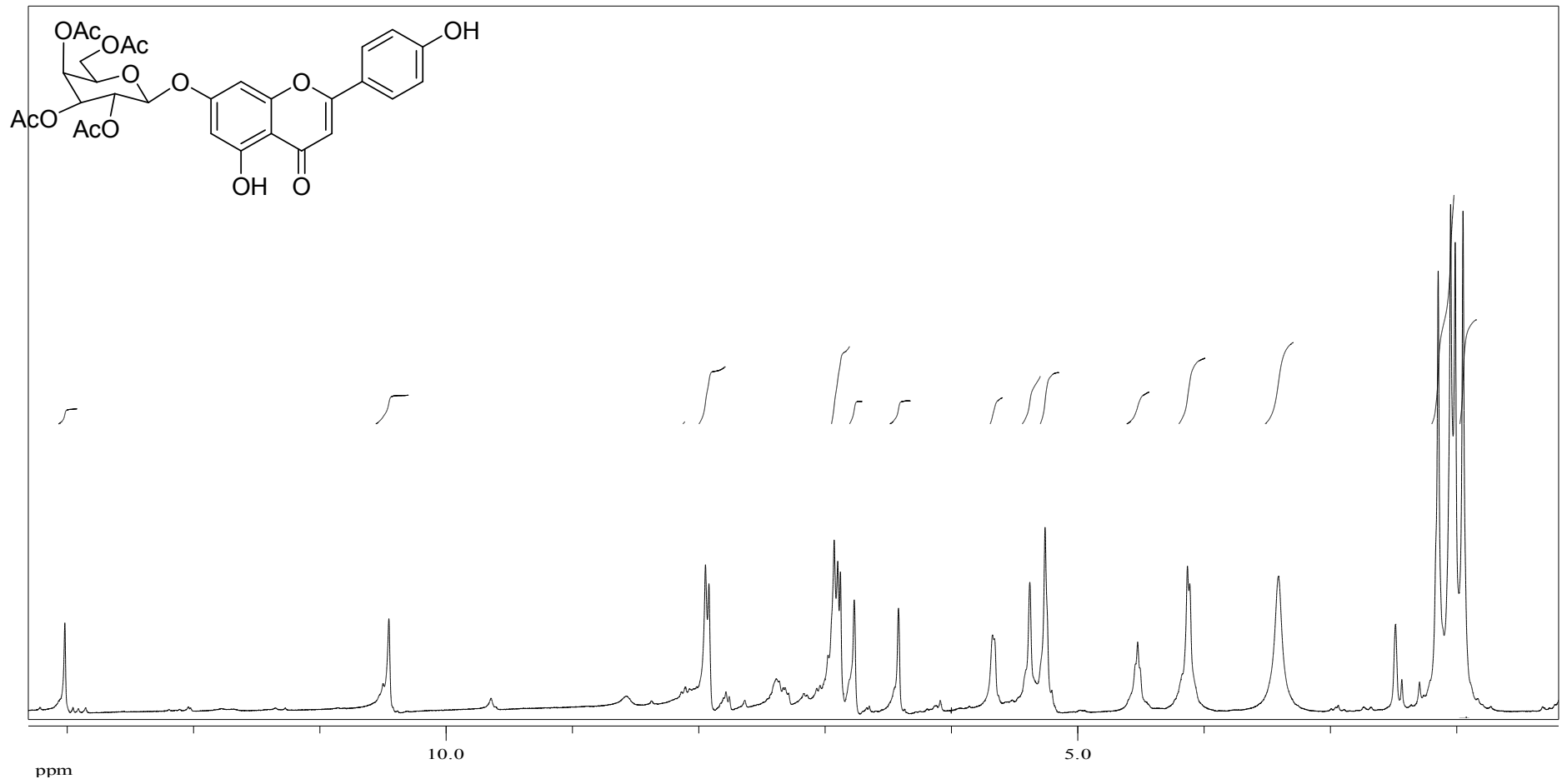
Date / Sign

Viewed by

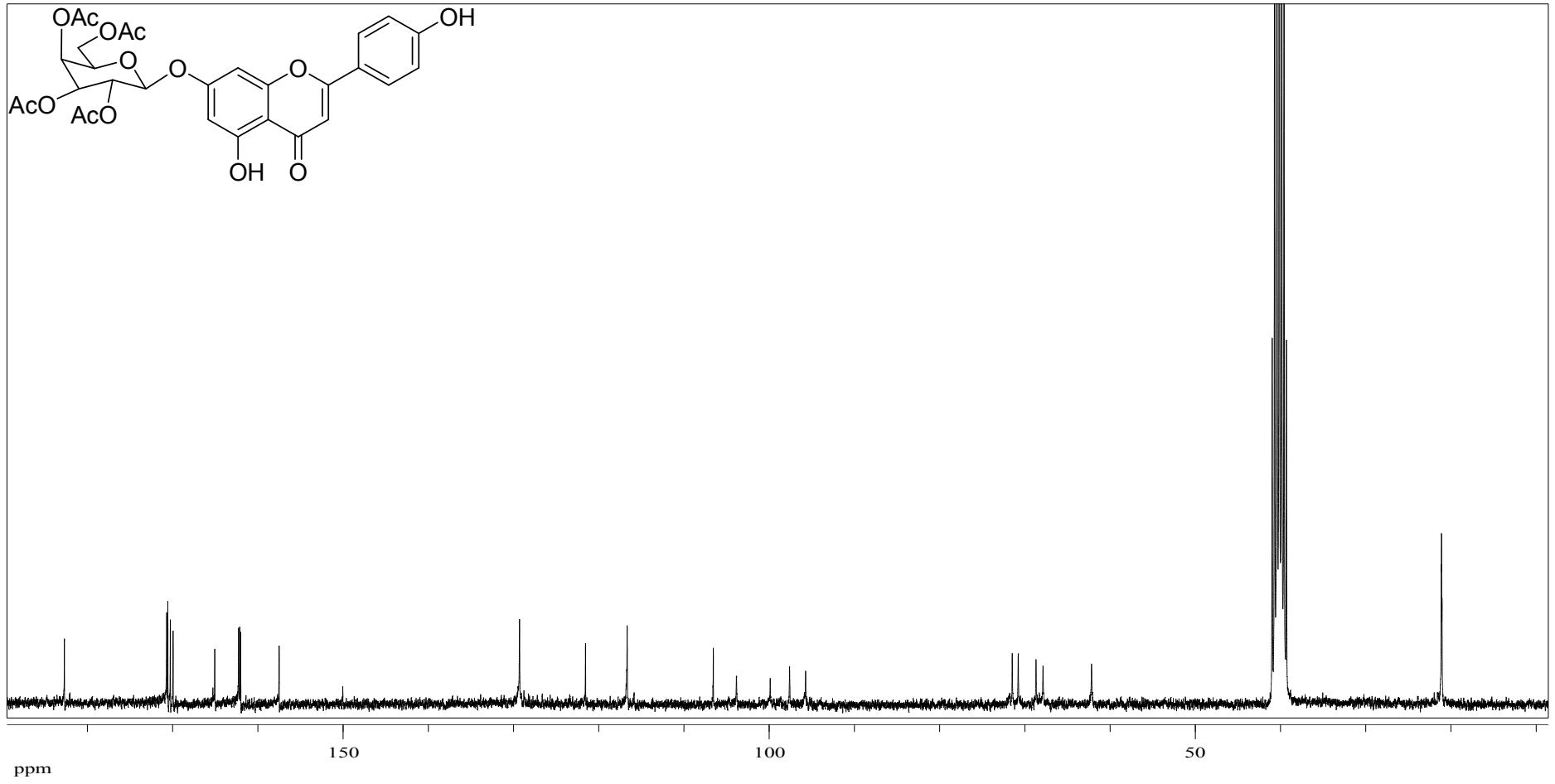
Date / Sign

BRUKER DALTONICS
printed 4/9/2012 9:38:50 AM

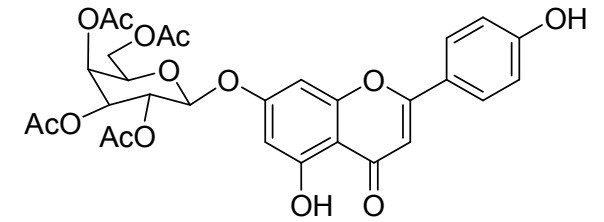
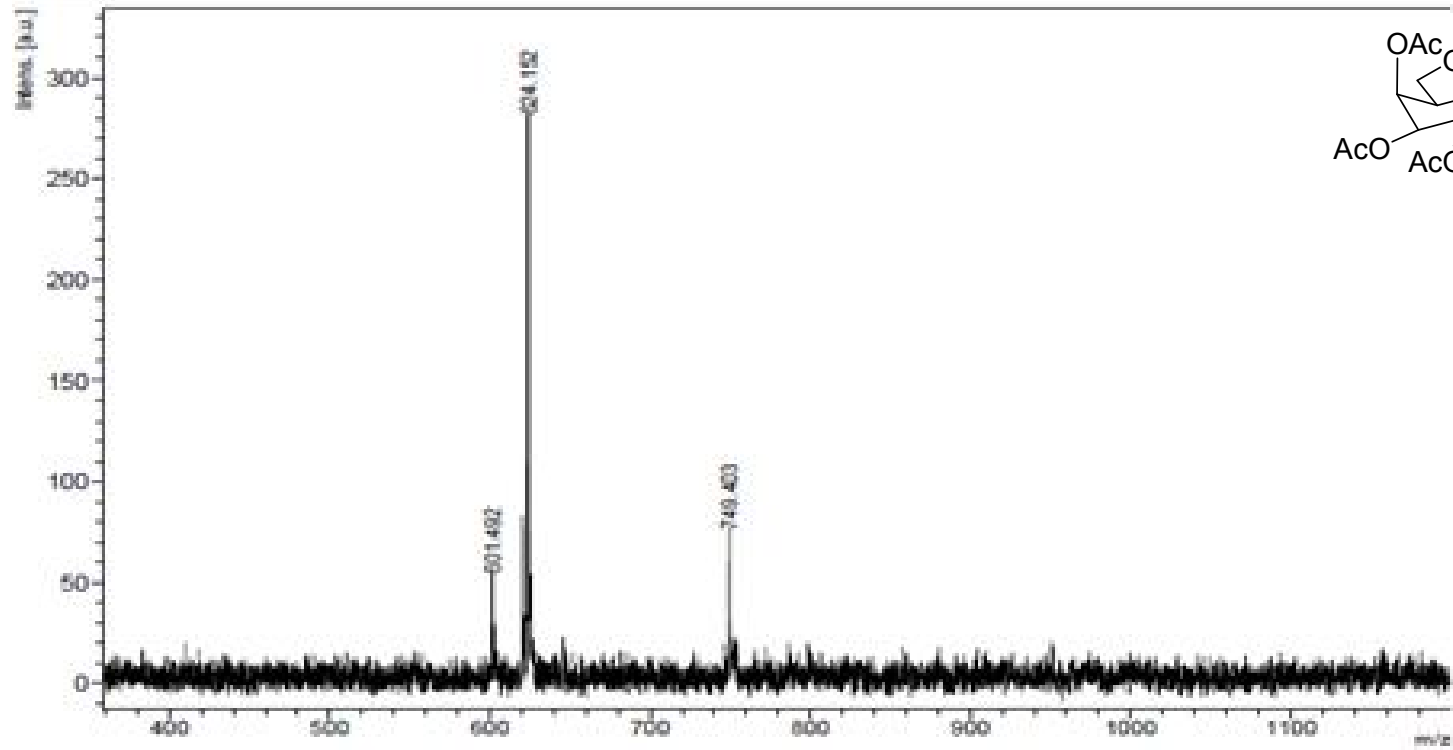
Şekil A.12 7-O-tetraasetilgalaktopiranozil Naringenin (4b) kütle spektrum



Şekil A.13 7-*O*-tetraasetilgalaktopiranozil apigenin (5b) ¹H NMR spektrumu



Şekil A.14 7-O-tetraasetilgalaktopiranozil apigenin (5b) ¹³C NMR spektrumu



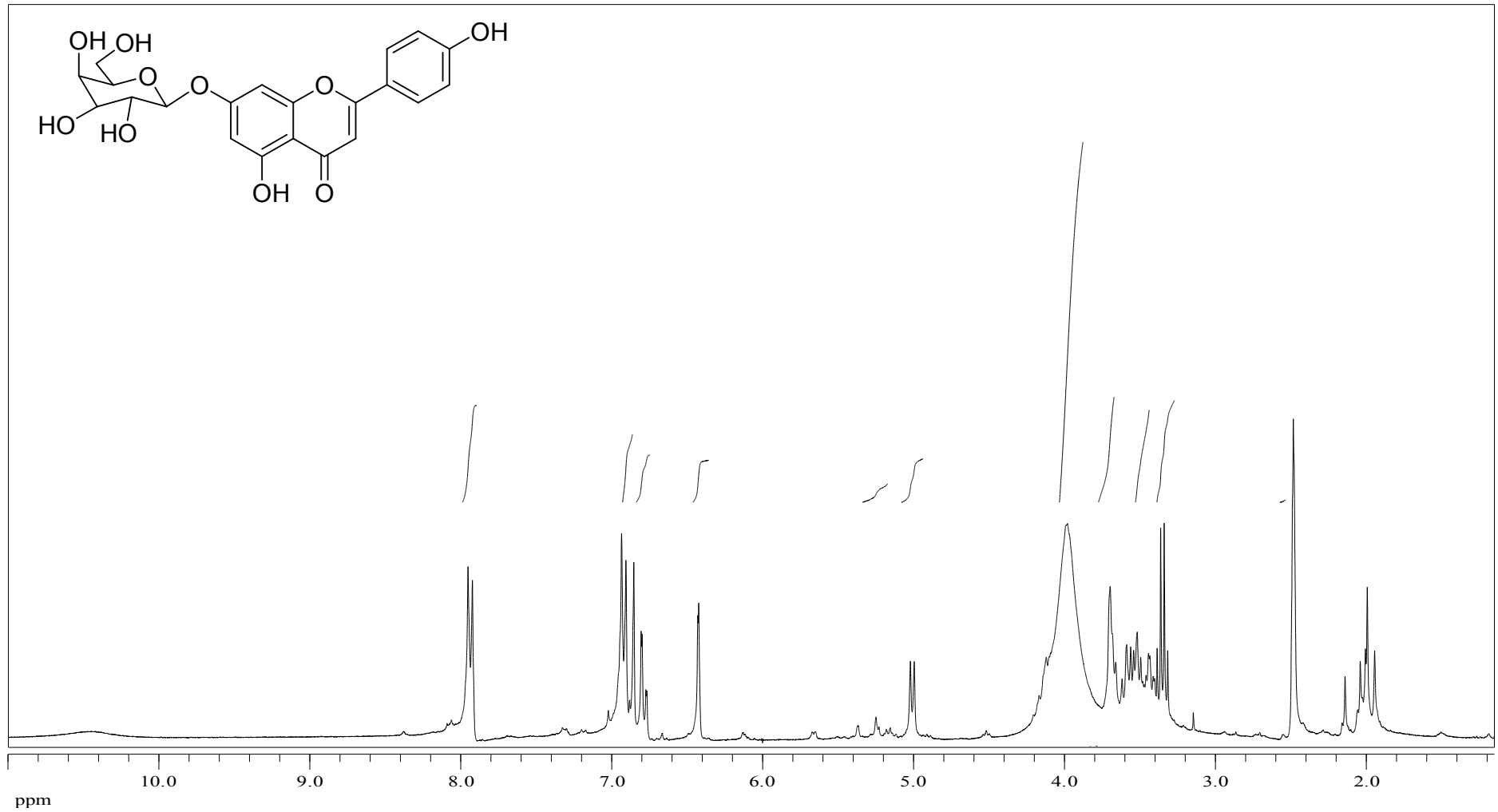
Date of Acquisition: 2012-04-09T09:41:35.000

File Name: D:\Data\bosun\PF7_DHB6_H612

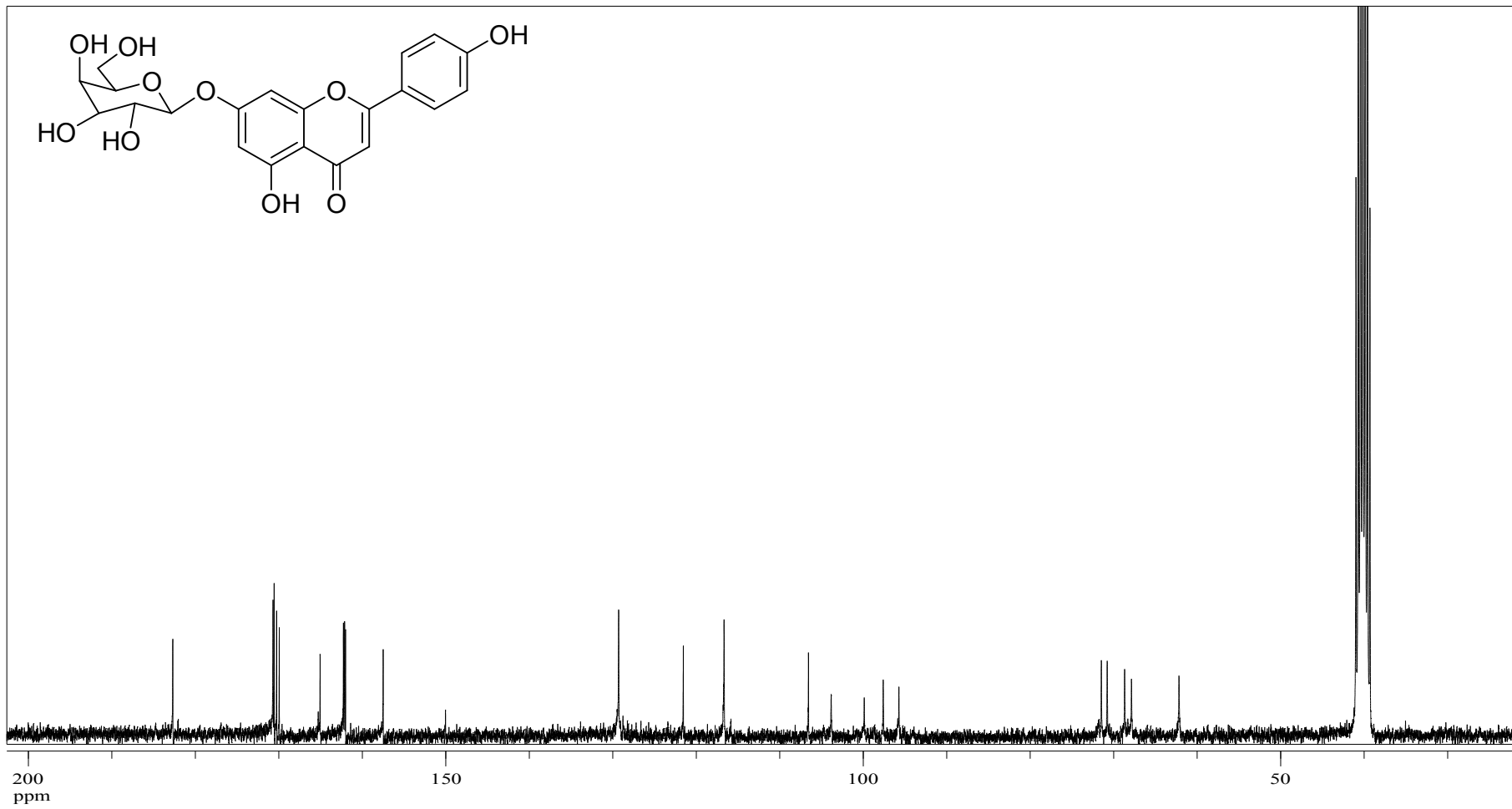
Performed by	Viewed by	
Date / Sign	Date / Sign	

printed: 4/9/2012 9:42:03 AM

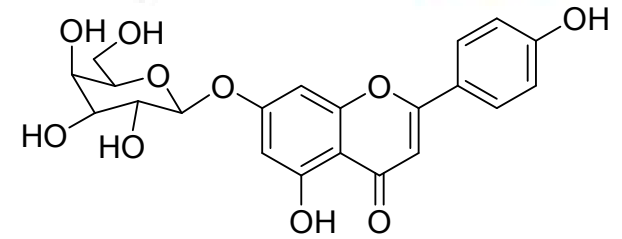
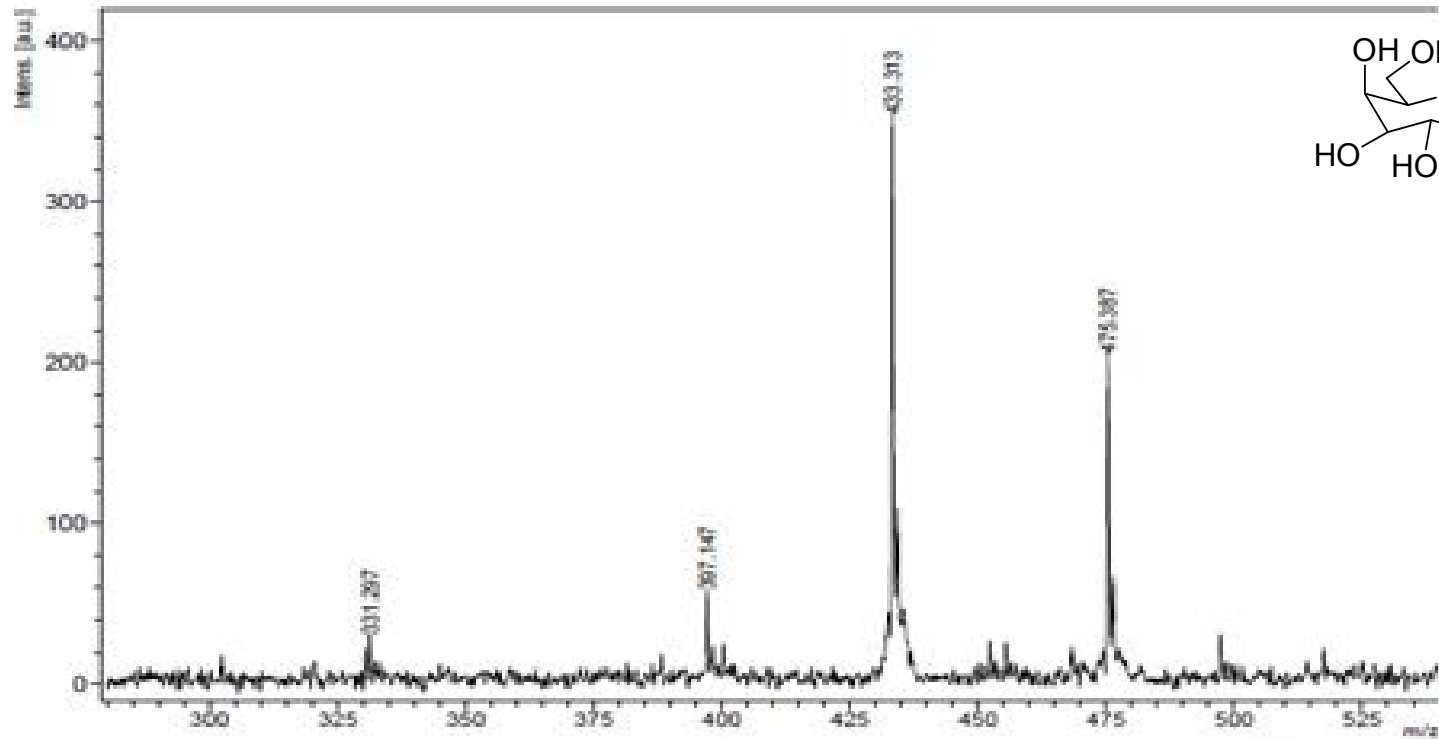
Şekil A.15 7-O-tetraasetilgalaktopiranozil apigenin (5b) kütle spektrumu



Şekil A.16 7-*O*-galaktopiranozil apigenin (6b) ¹H NMR spektrumu



Şekil A.17 7-*O*-galaktopiranozil apigenin (6b) ¹³C NMR spektrumu



Date of Acquisition 2012-04-05T14:12:11.000

File Name D:\Data\boosus\PF4_DHB\0_C12\1

Performed by

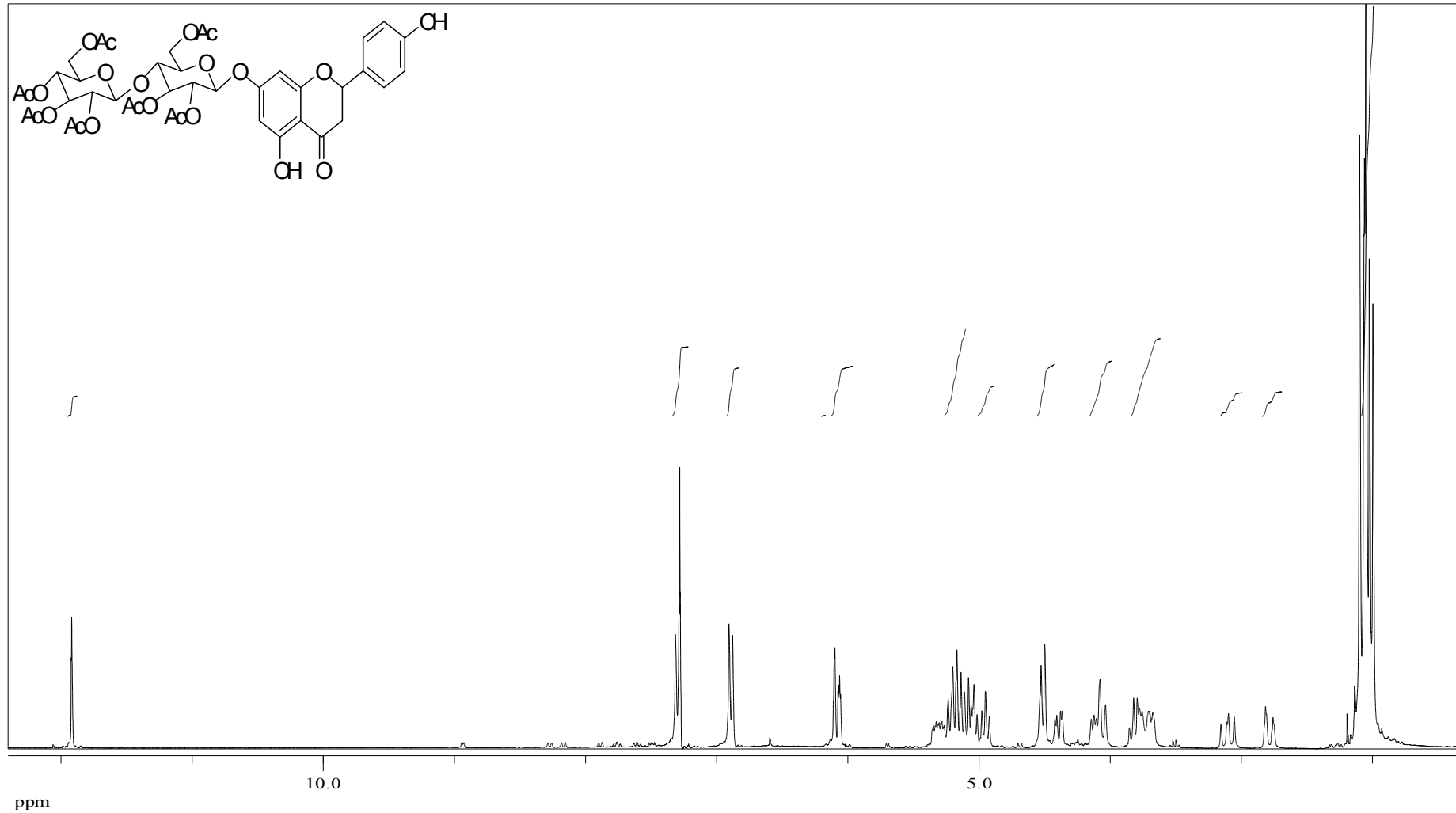
Date / Sign

Viewed by

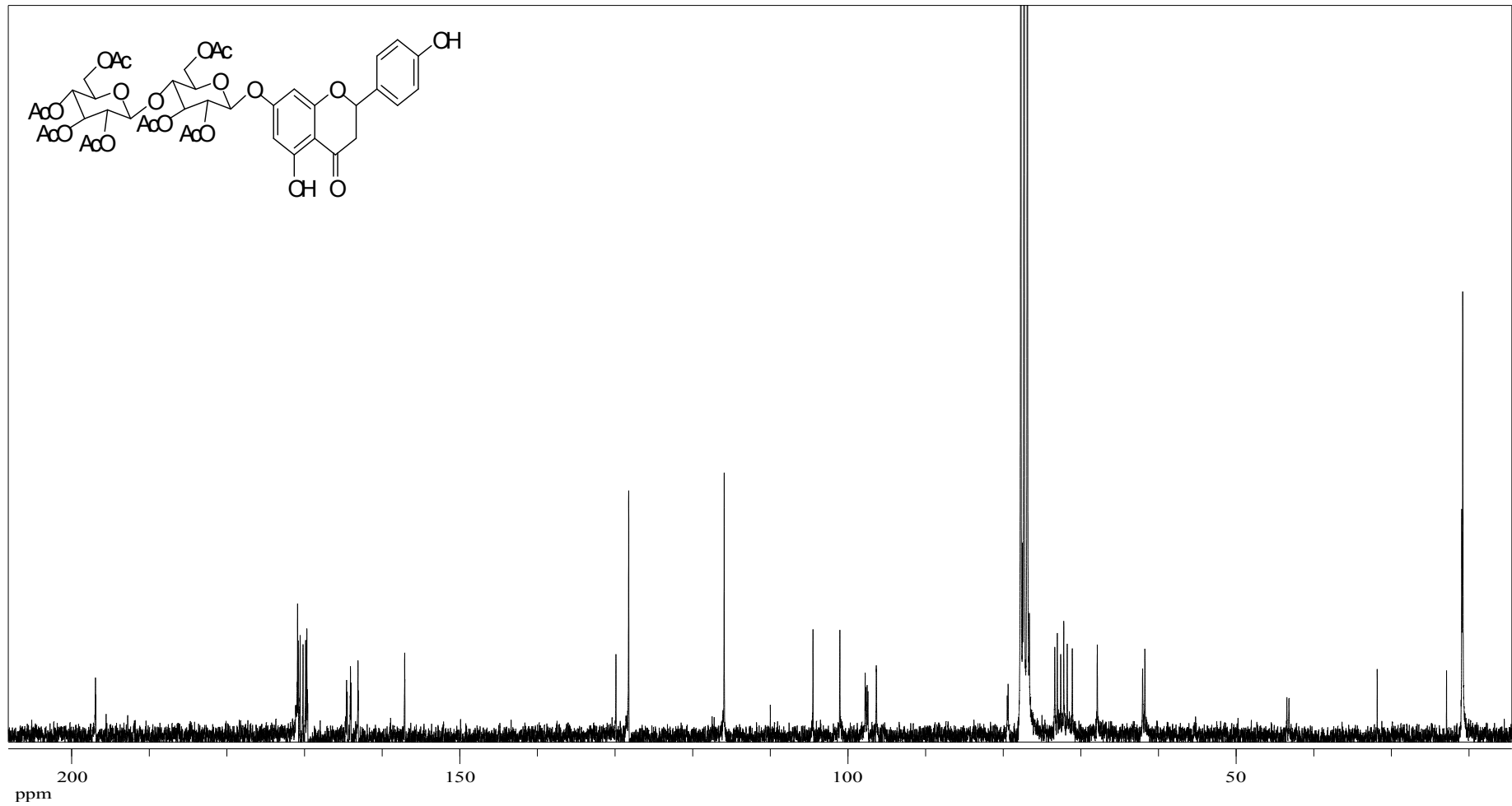
Date / Sign

BRUKER
DALTONICS
printed 4/5/2012 2:14:17 PM

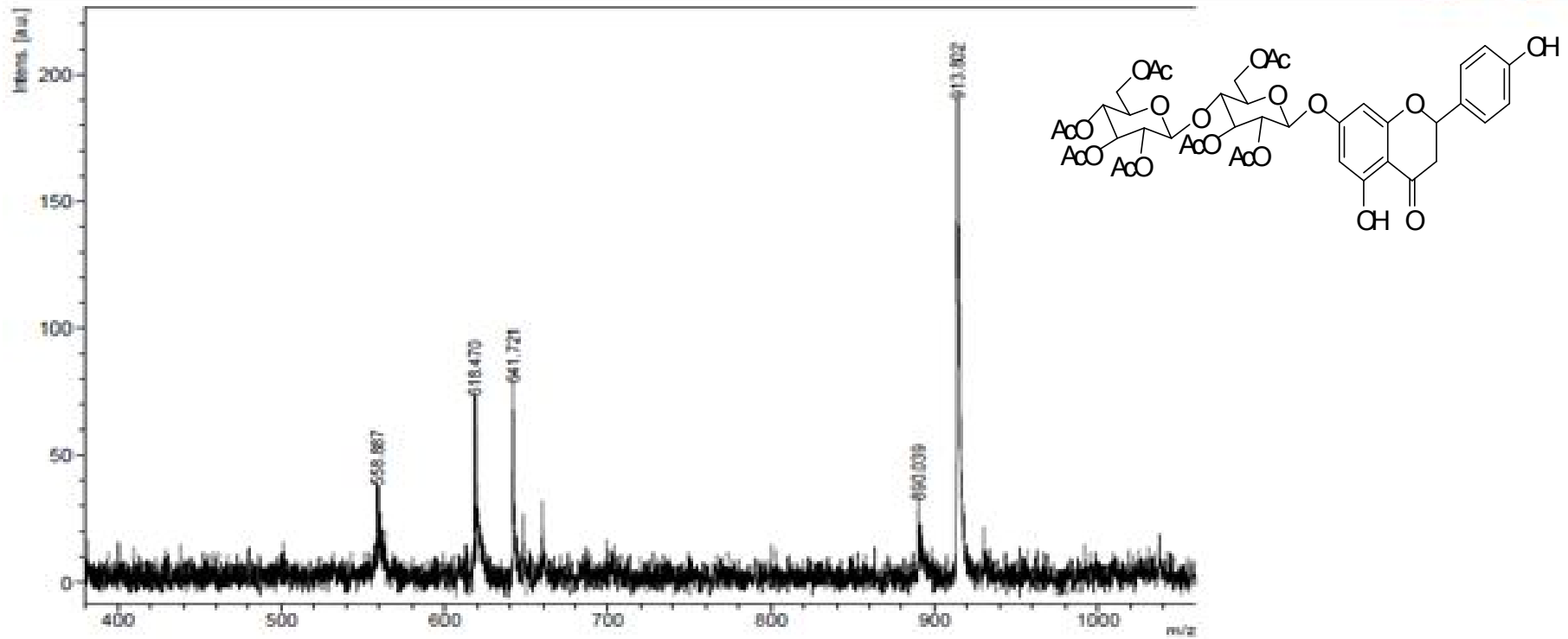
Şekil A.18 7-O-galaktopiranozil apigenin (6b) kütle spektrumu



Şekil A.19 7-O-heptaasetilsellebiozil Naringenin (4c) ¹H NMR spektrumu



Şekil A.20 7-O-heptaasetilsellebiozil Naringenin (4c) ^{13}C NMR spektrumu



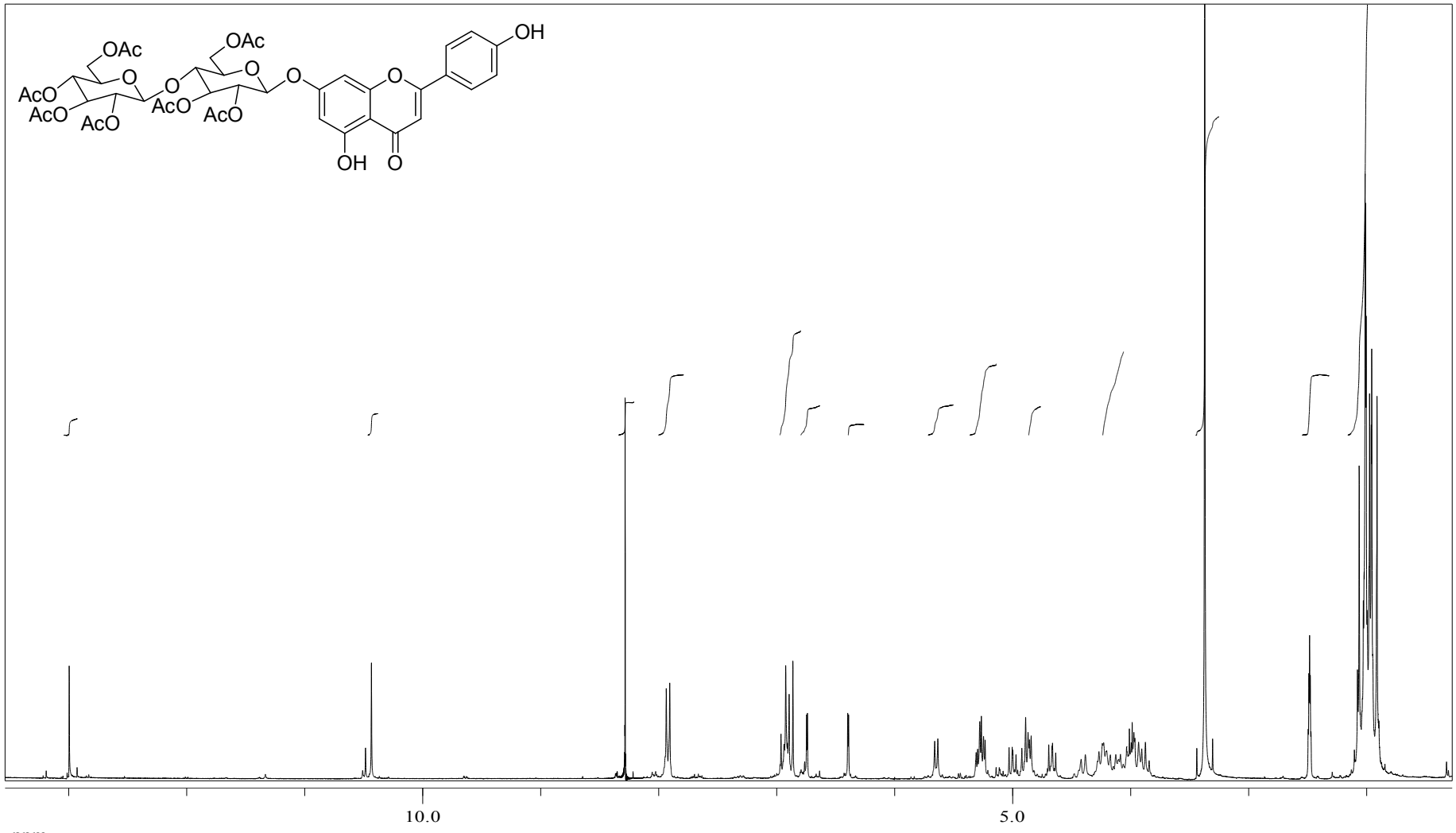
Date of Acquisition 2012-04-12T14:24:29.000

File Name D:\Data\boosut\PF15_DHBQ_HB1

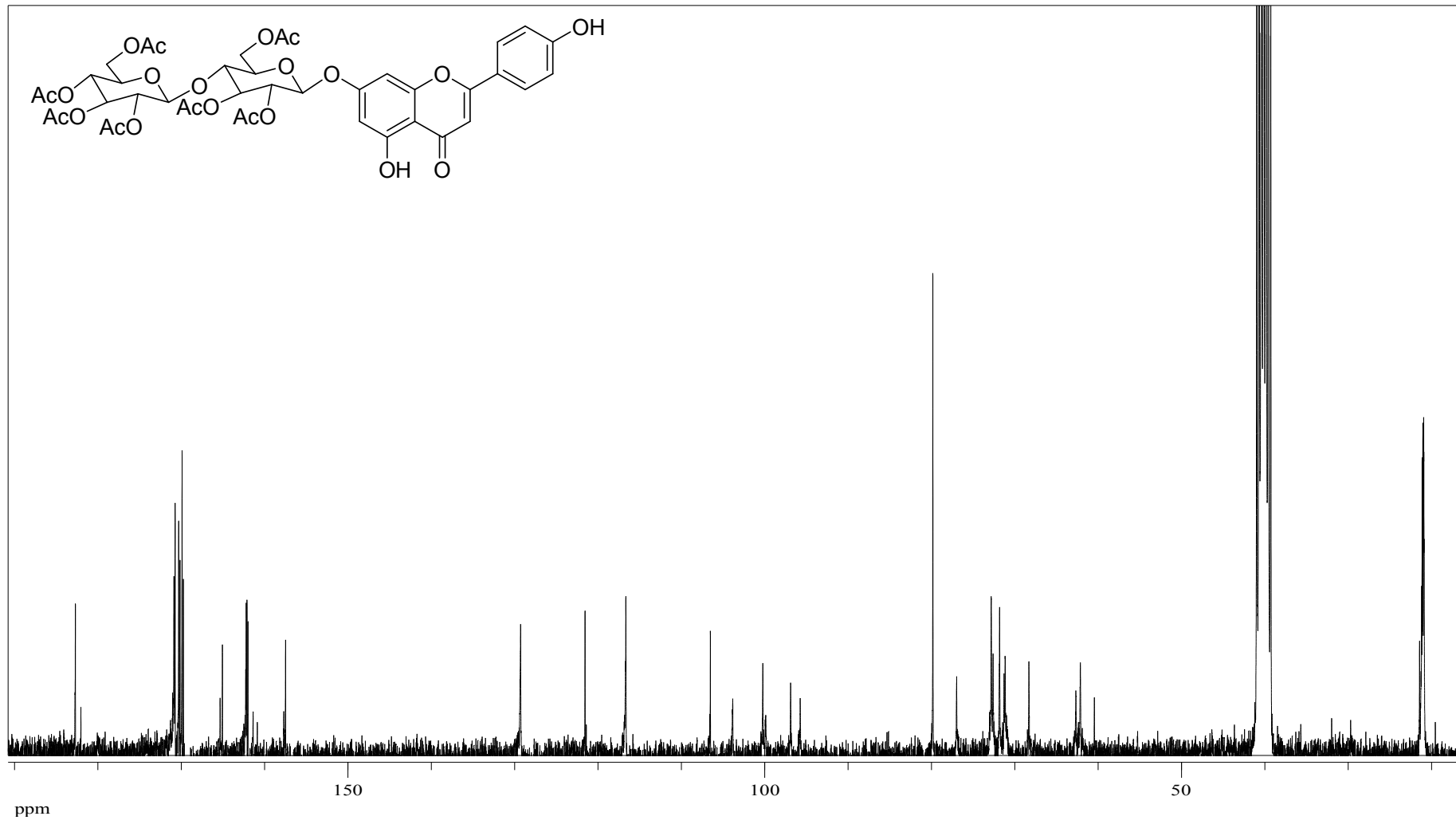
Performed by	Viewed by
Date / Sign	Date / Sign

BRUKER
DALTONICS
printed: 4/12/2012 2:35:07 PM

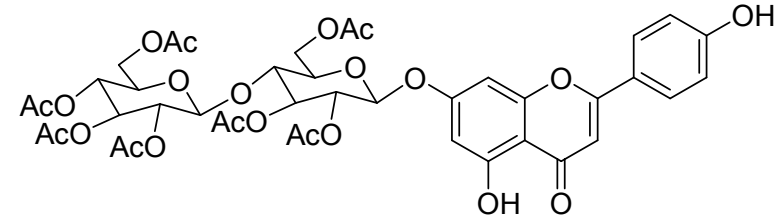
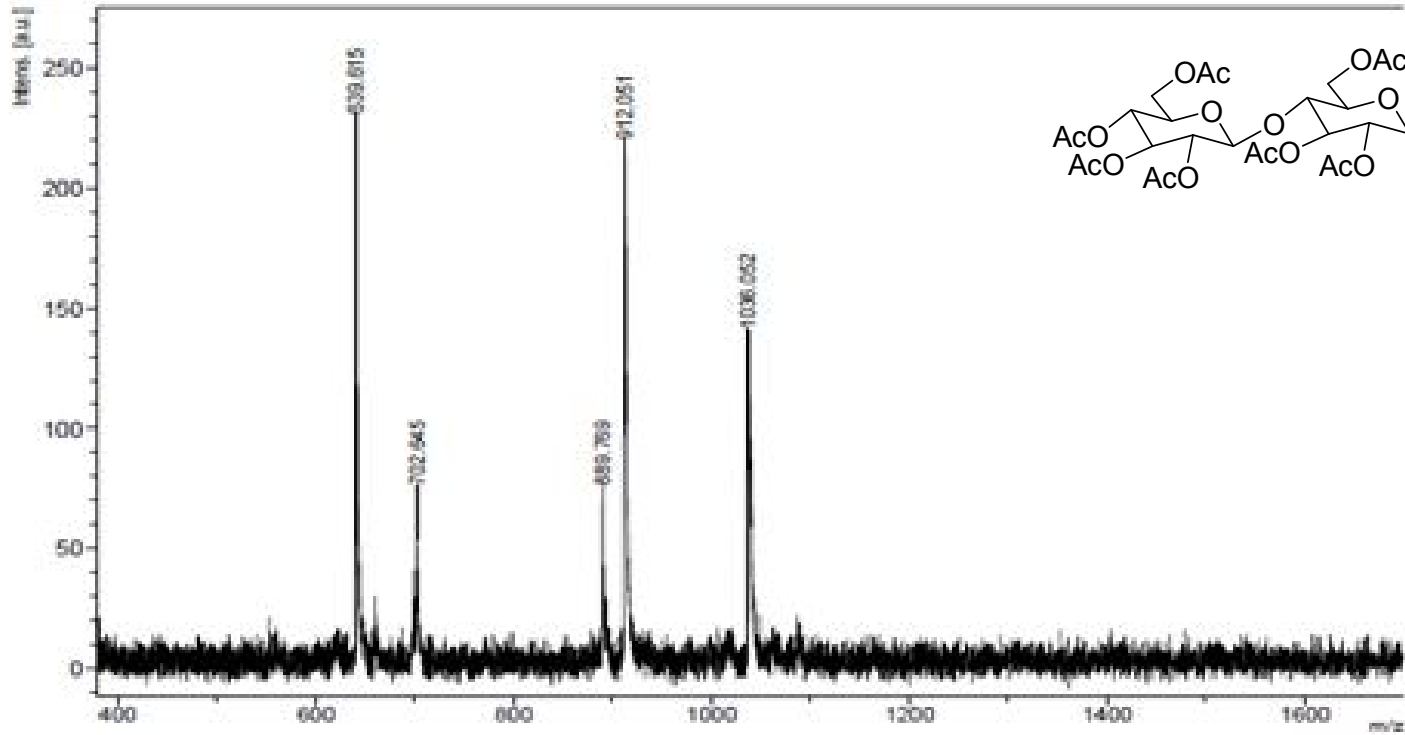
Şekil A.21 7-O-heptaasetilsellebiozil Naringenin (4c) kütle spektrumu



ppm
 Şekil A.22 7-O-heptaasetilsellebiozil Apigenin (5c) ¹H NMR spektrumu



Şekil A.23 7-O-heptaasetilsellebiozil Apigenin (6c) ^{13}C NMR spektrumu

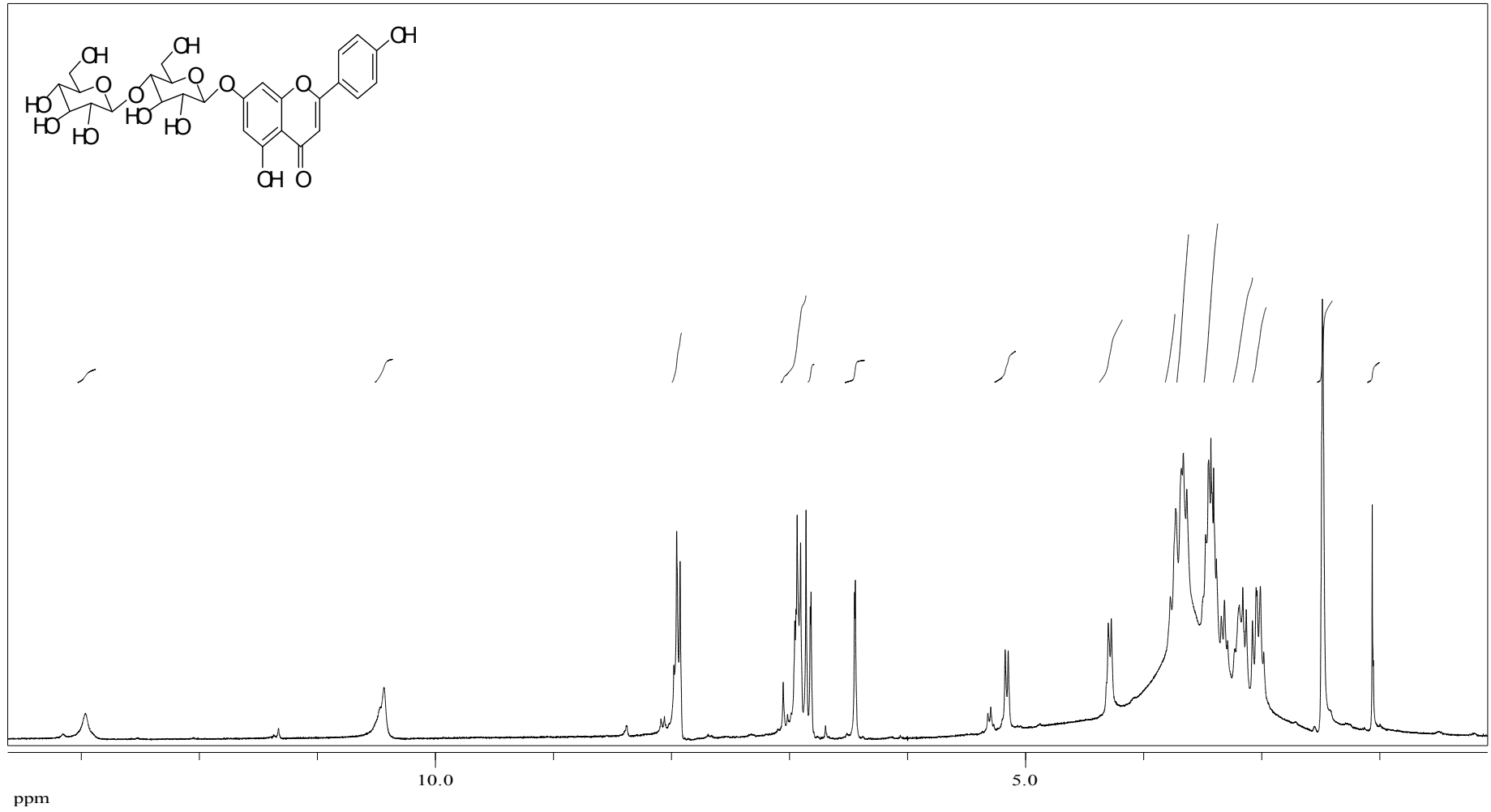


Date of Acquisition: 2012-04-12T14:25:55.000
 File Name: D:\Data\cosy\PP16_DHB10_03.t

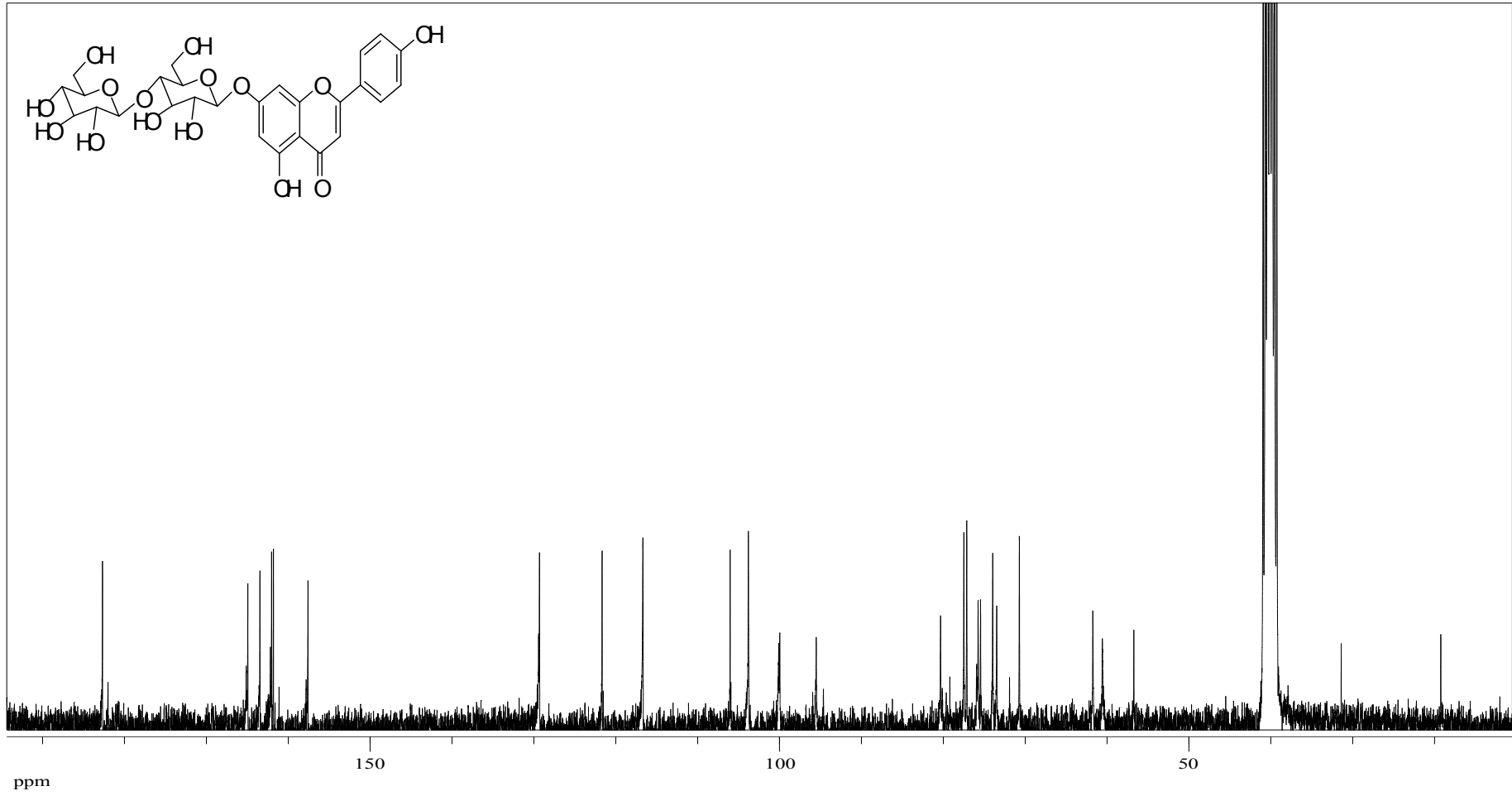
Performed by	Viewed by
_____	_____
Date / Sign	Date / Sign

BRUKER DALTONICS
 printed: 4/12/2012 2:25:35 PM

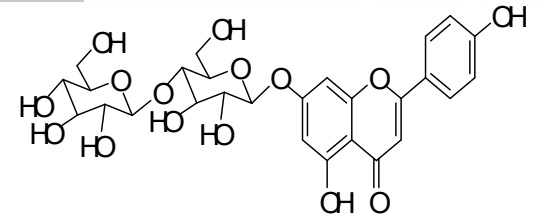
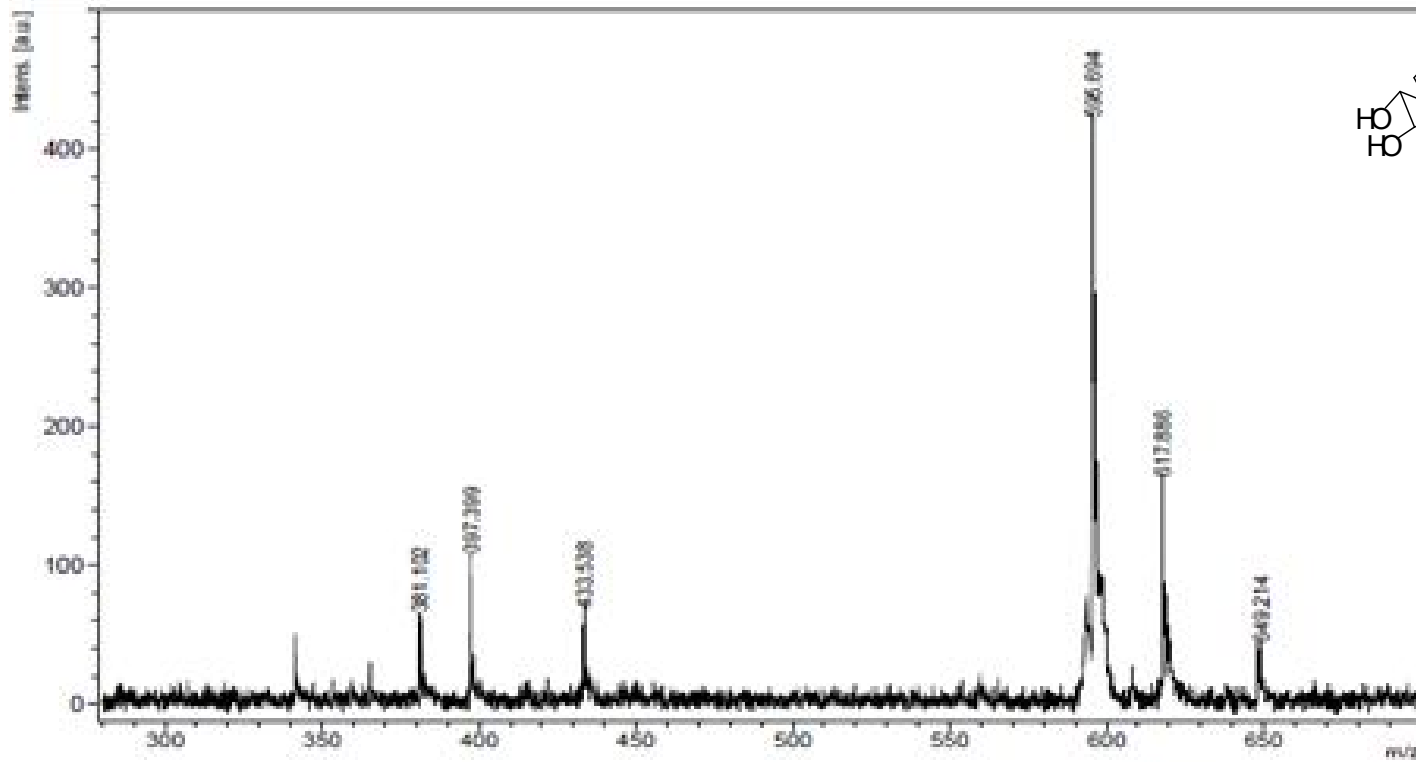
Şekil A.24 7-O-heptaasetilsellebiozil Apigenin (6c) kütle spektrumu



Şekil A.25 7-O-sellebiyozil apigenin (7c) ¹H NMR spektrumu



Şekil A.25 7-*O*-sellebiyozil apigenin (7c) ¹³C NMR spektrumu



Date of Acquisition: 2012-04-12T14:28:23.000

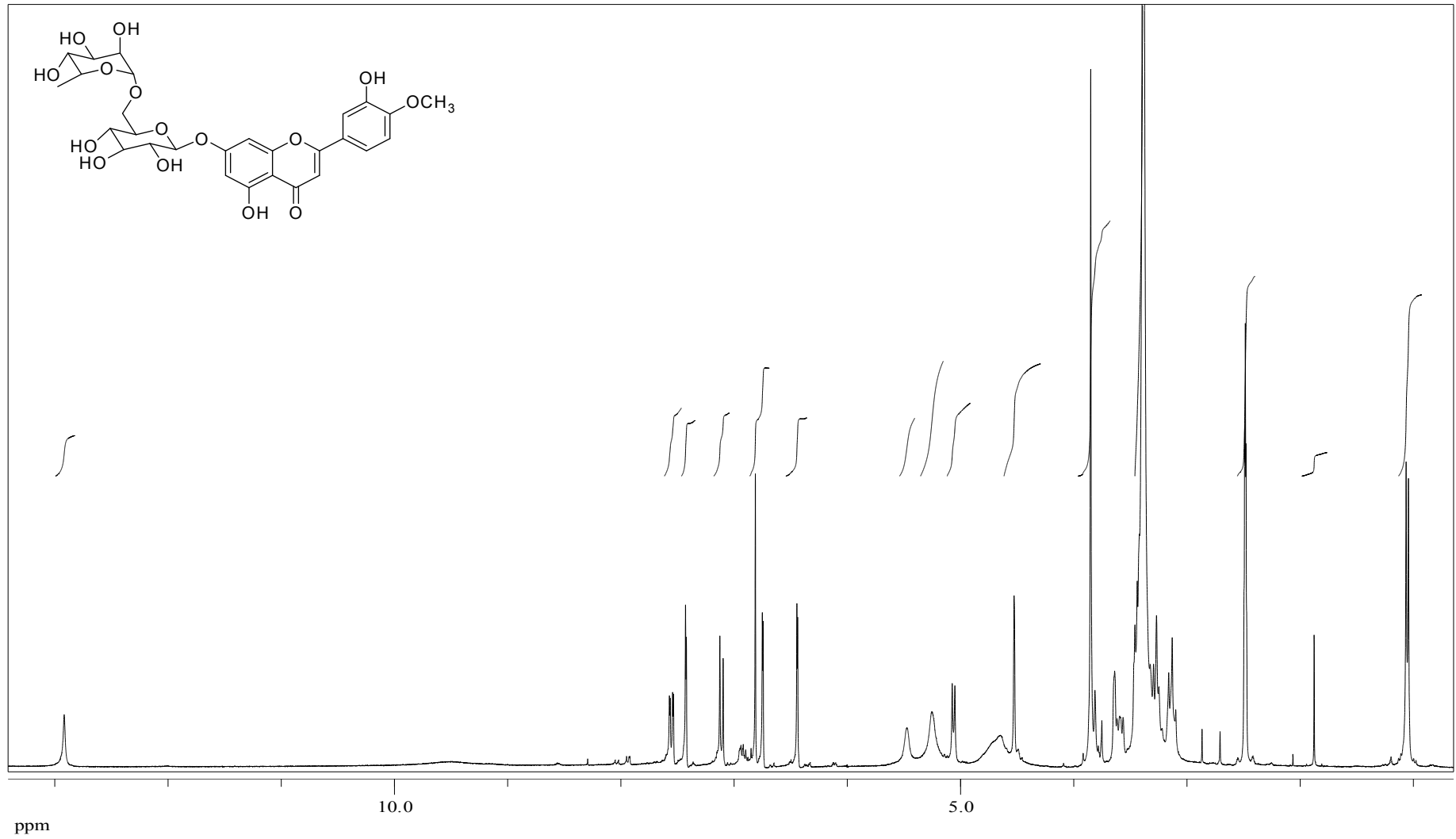
File Name: D:\Data\bosun\PF14_DHB\B_11011

Performed by
Date / Sign

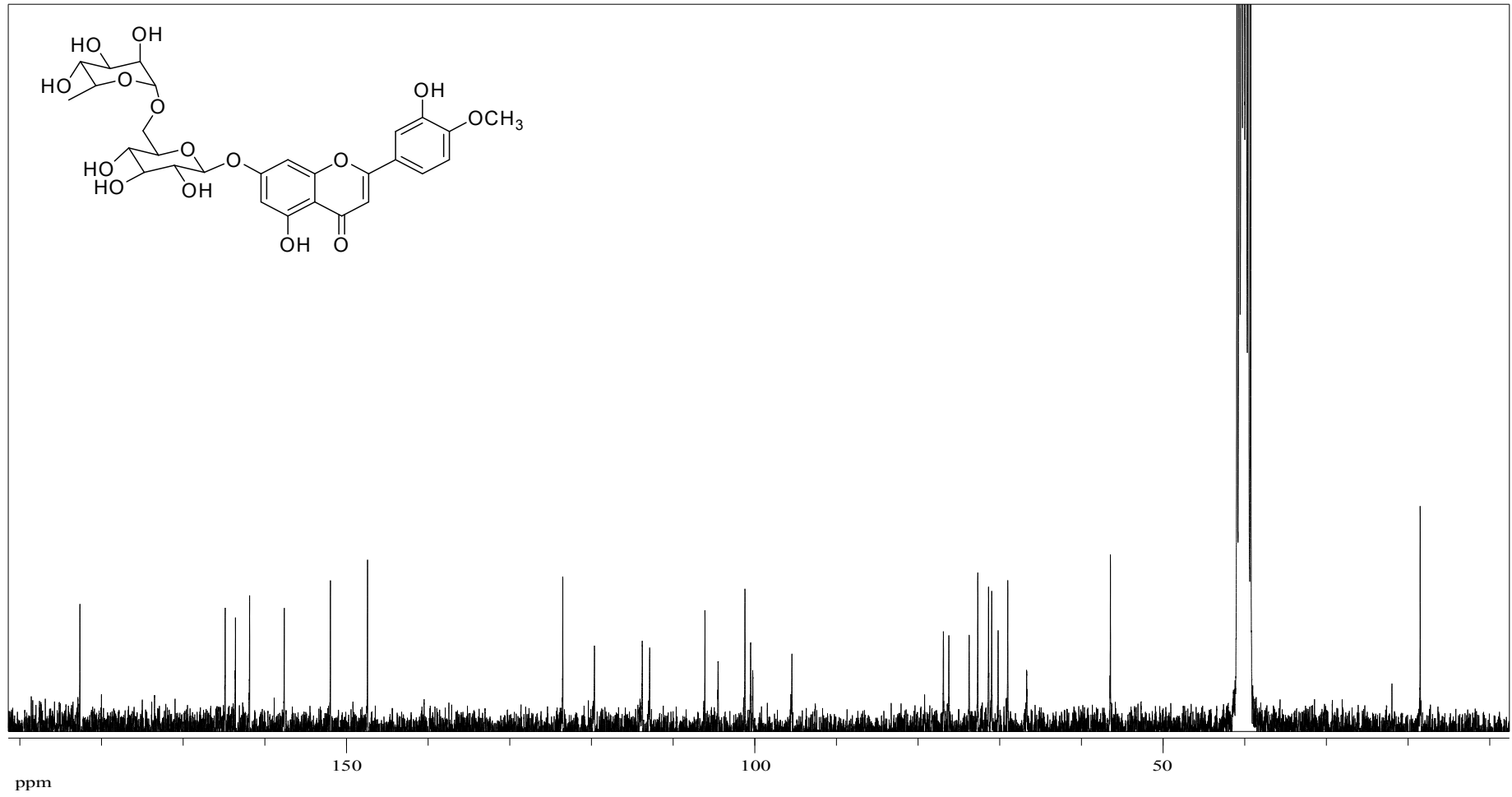
Viewed by
Date / Sign

BRUKER DALTONICS
printed: 4/12/2012 2:28:55 PM

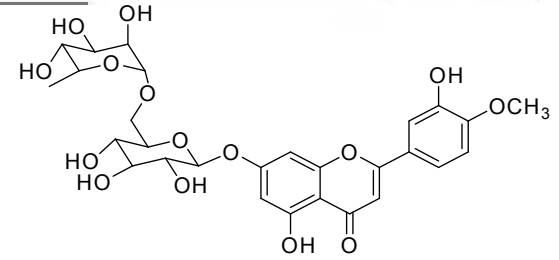
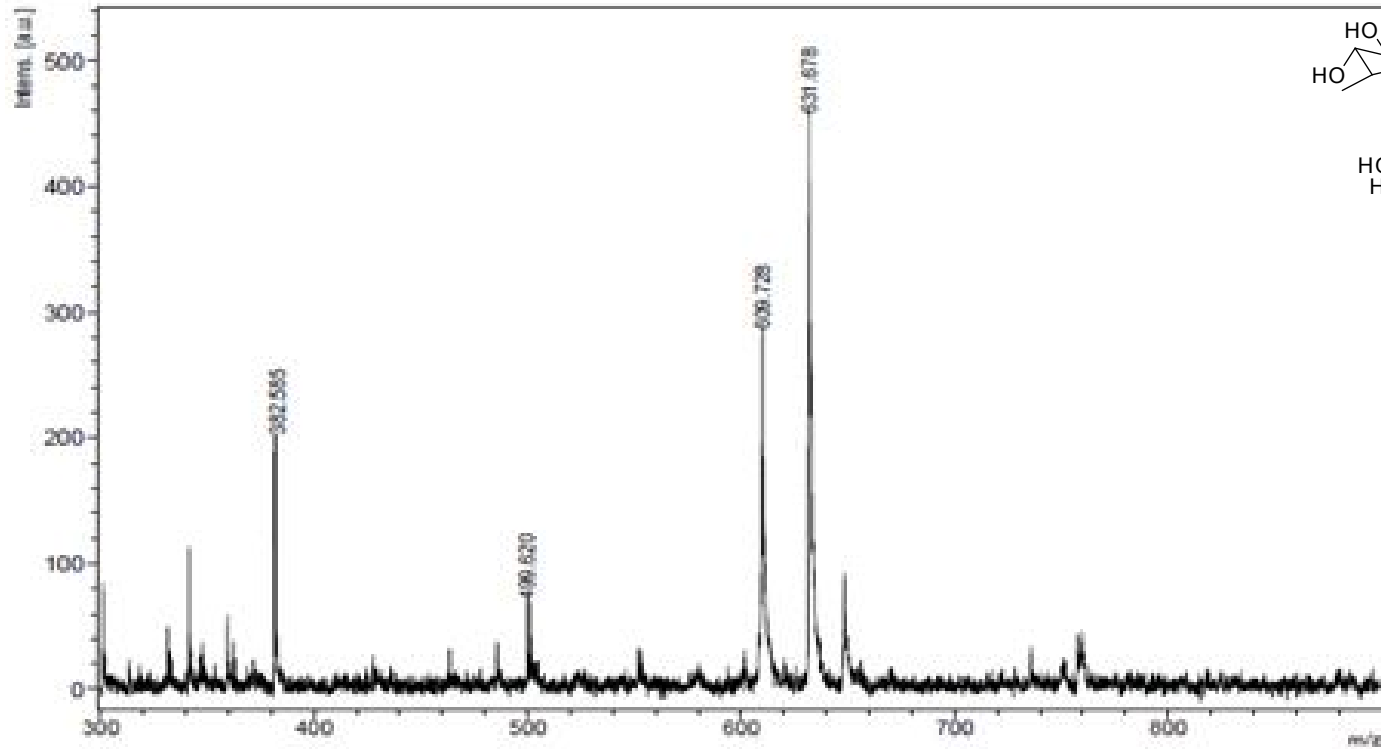
Şekil A.26 7-O-sellebiyozil apigenin (7c) kütle spektrumu



Şekil A.27 Diosmin (2d) ¹H NMR spektrumu



Şekil A.28 Diosmin (2d) ¹³C NMR spektrumu



Date of Acquisition 2012-04-12T14:33:15.000

File Name D:\Data\boson\FF12_DHB10_D10\1

Performed by

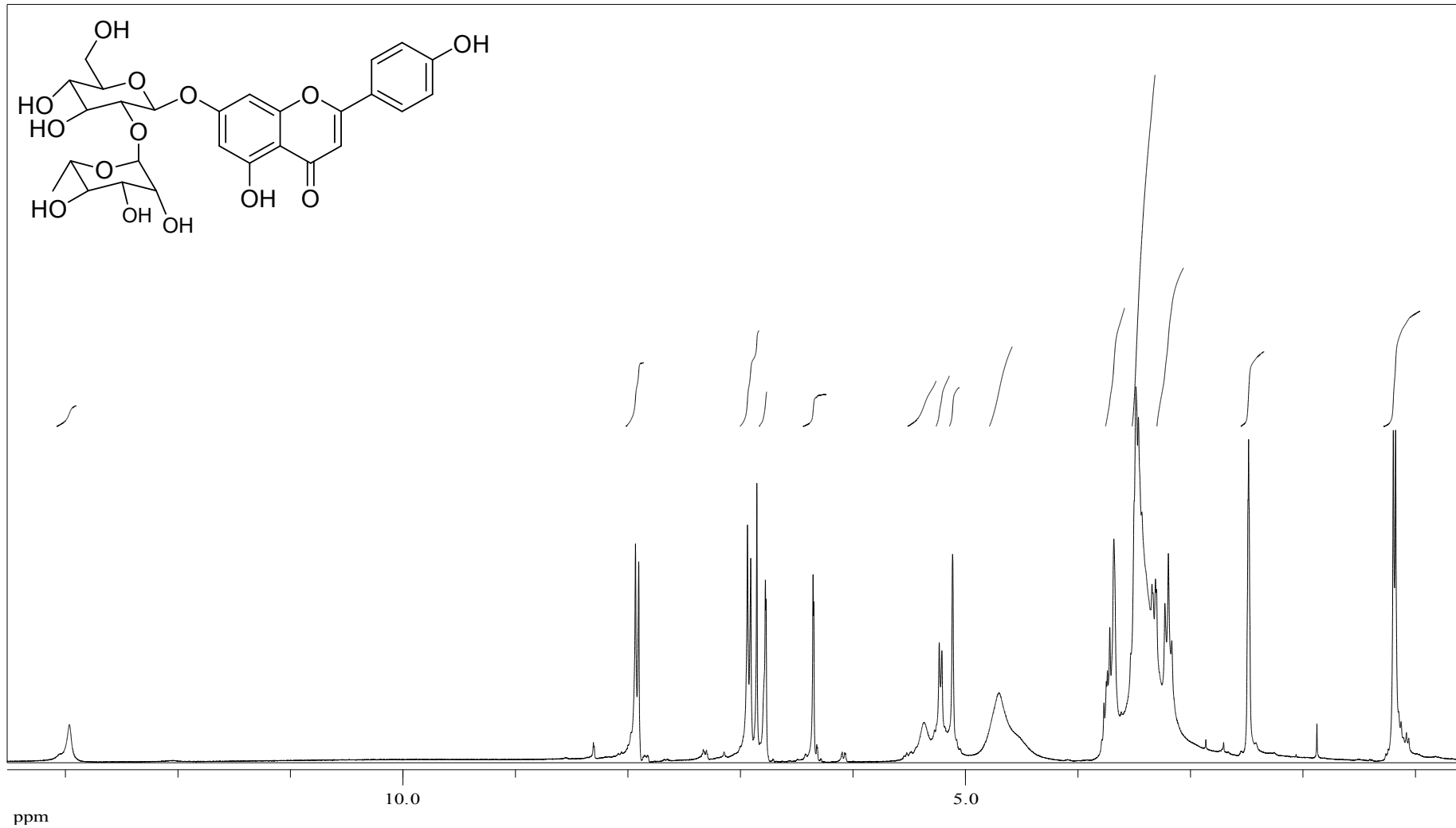
Date / Sign

Viewed by

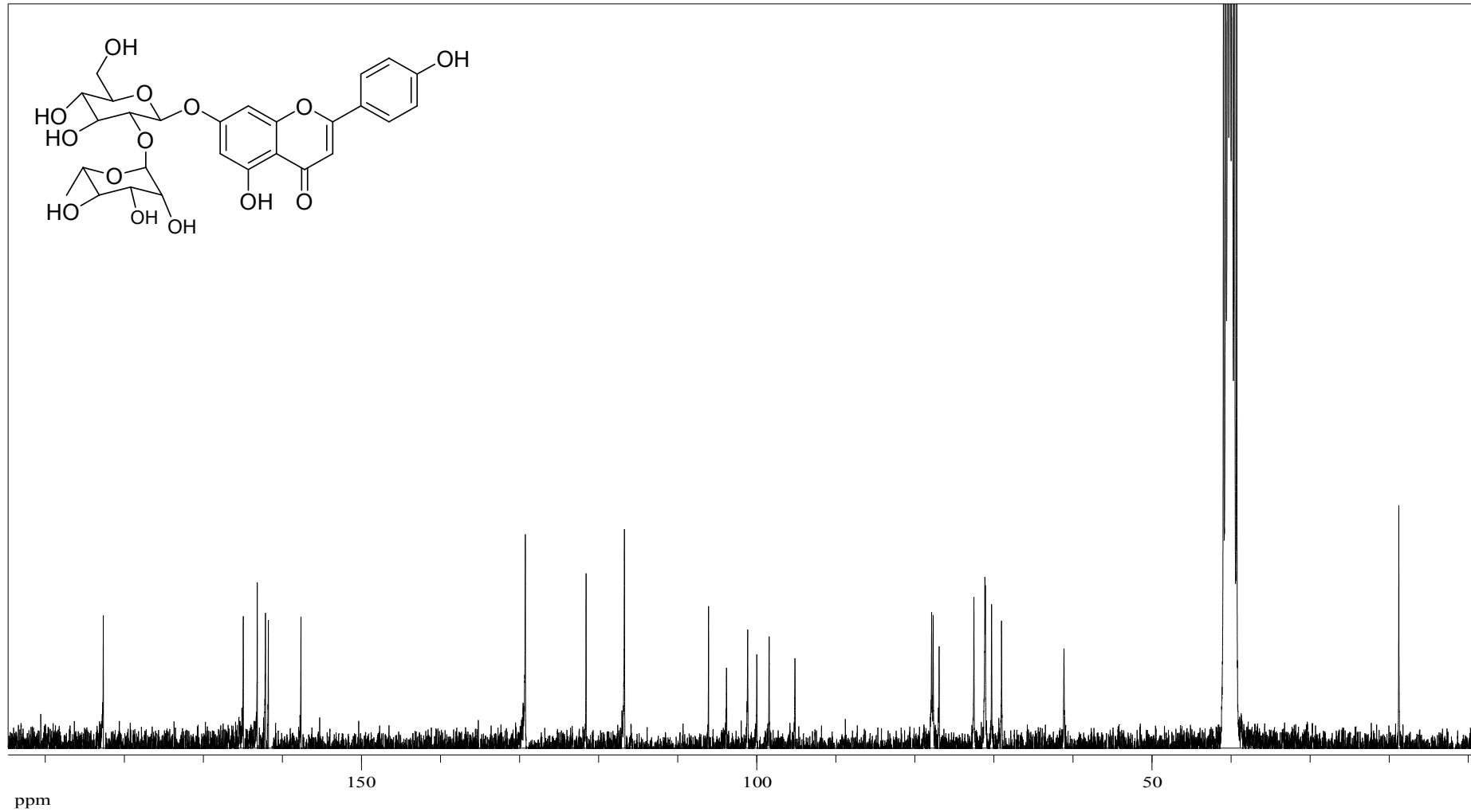
Date / Sign

BRUKER
DALTONICS
printed 4/12/2012 2:33:39 PM

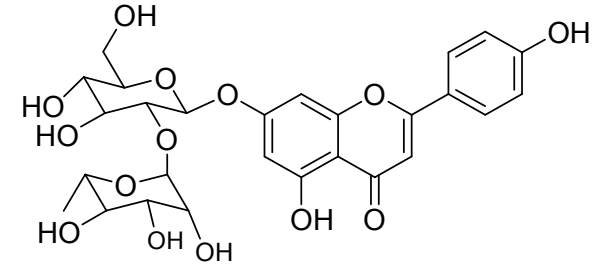
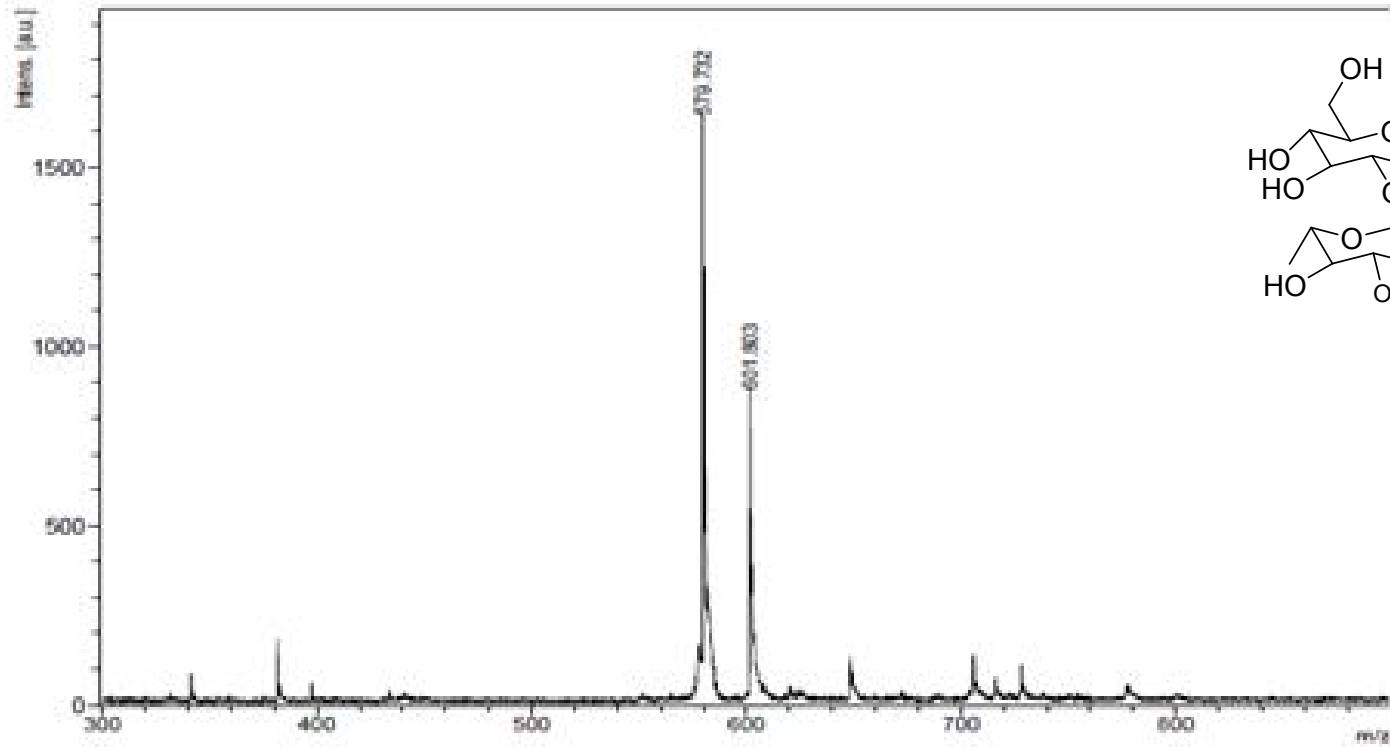
Şekil A.29 Diosmin (2d) kütle spektrumu



Şekil A.29 7-O-rutinozil apigenin (2e) ¹H NMR spektrumu



Şekil A.30 7-O-rutinozil apigenin (2e) ¹³C NMR spektrumu



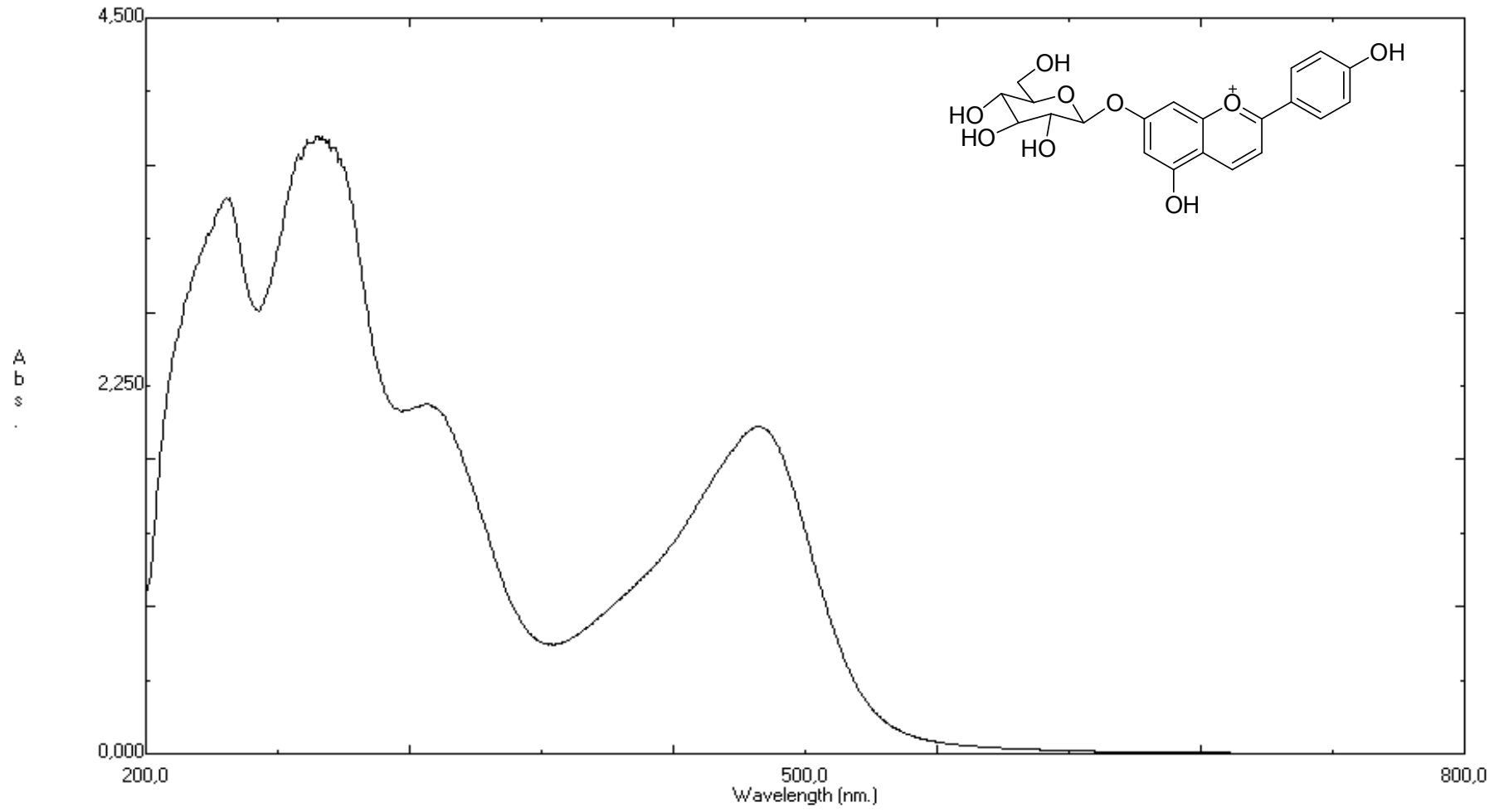
Date of Acquisition 2012-04-12T14:31:03.000

File Name D:\Data\besus\PF10_DHB\0_D\1

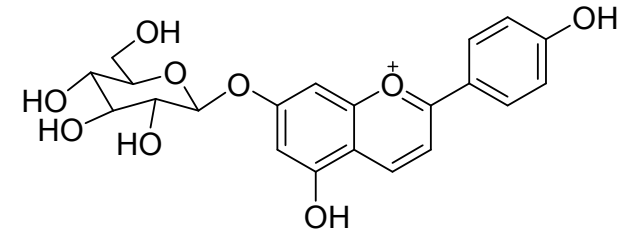
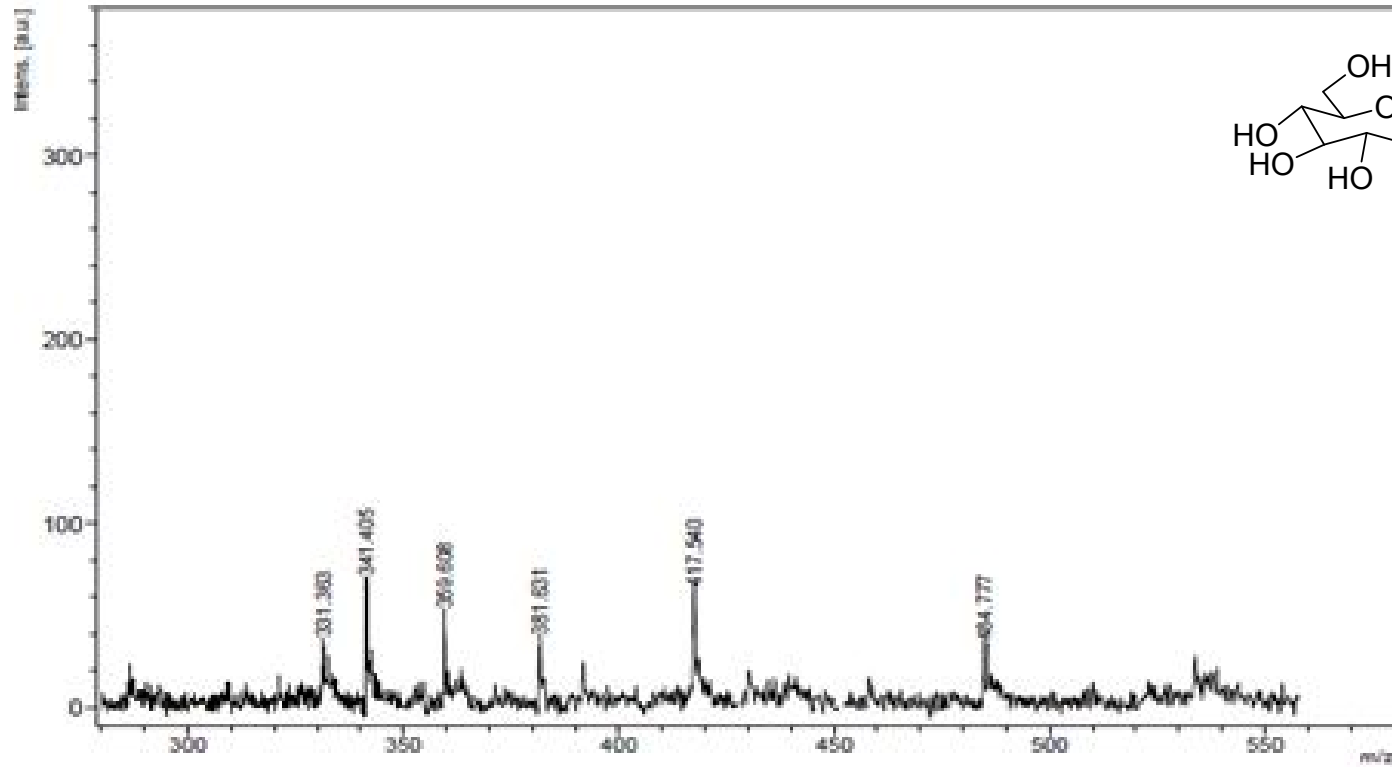
Performed by	Viewed by
Date / Sign	Date / Sign

BRUKER
DALTONICS
print: 4/12/2012 2:31:33 PM

Şekil A.31 7-O-rutinozil apigenin (2e) kütle spektrumu



Şekil A.32 7-O-glikozil-apigenidin (8a) UV spektrumu



Date of Acquisition 2012-04-05T12:19:22.000

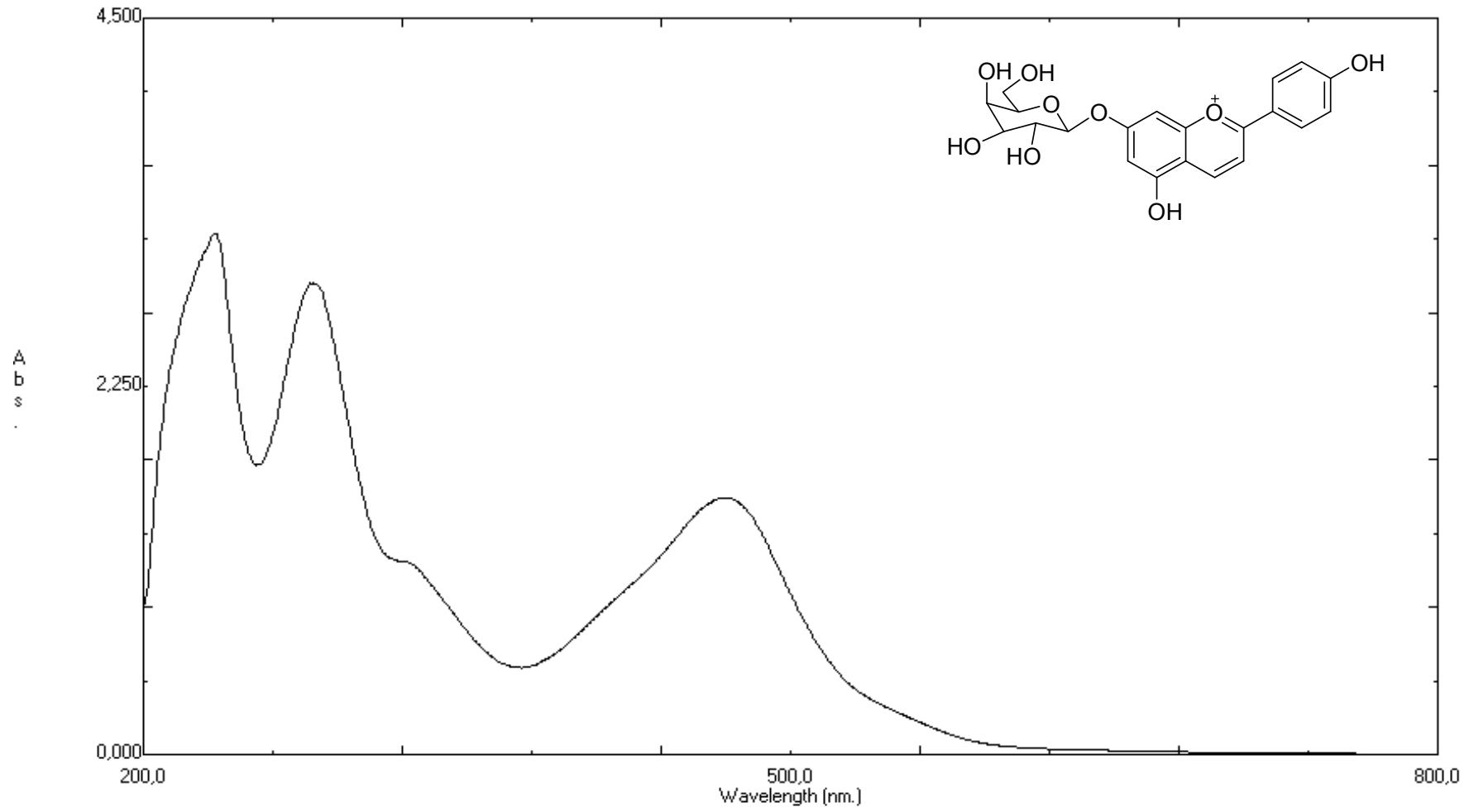
File Name D:\Data\boosudPF1_DHB\0_C411

Performed by
Date / Sign

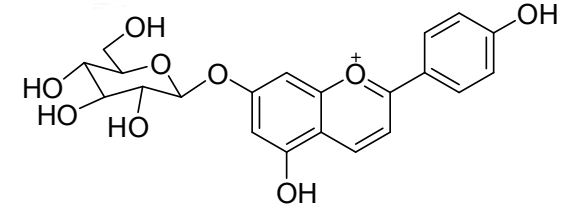
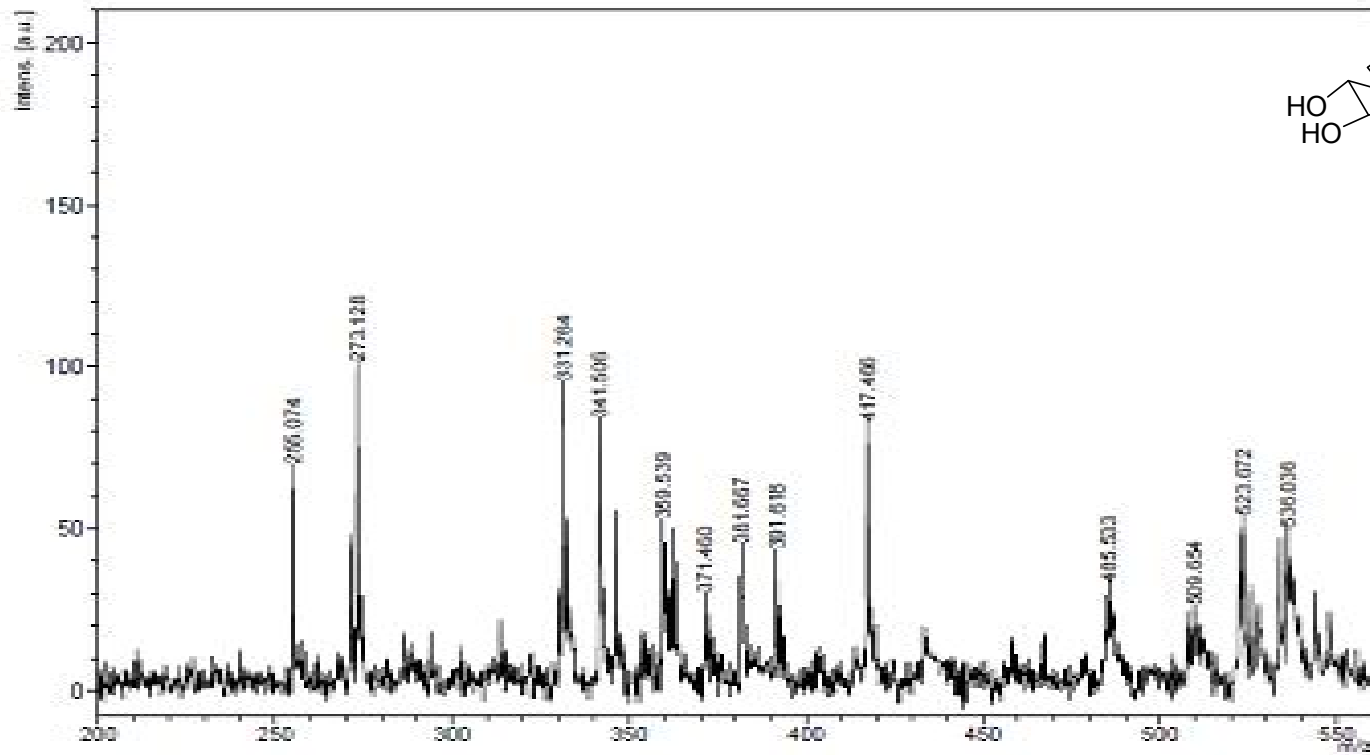
Viewed by
Date / Sign

BRUKER
DALTONICS™
printed: 4/5/2012 12:20:00 PM

Şekil A.33 7-O-glikozil-apigenidin (8a) kütle spektrumu



Şekil A.34 7-O-galaktozil-apigenidin (7b) UV spektrumu



Date of Acquisition 2012-04-05T10:10:19.000

File Name D:\Data\boosun\PF3_DHE\ID_D4\1

Performed by

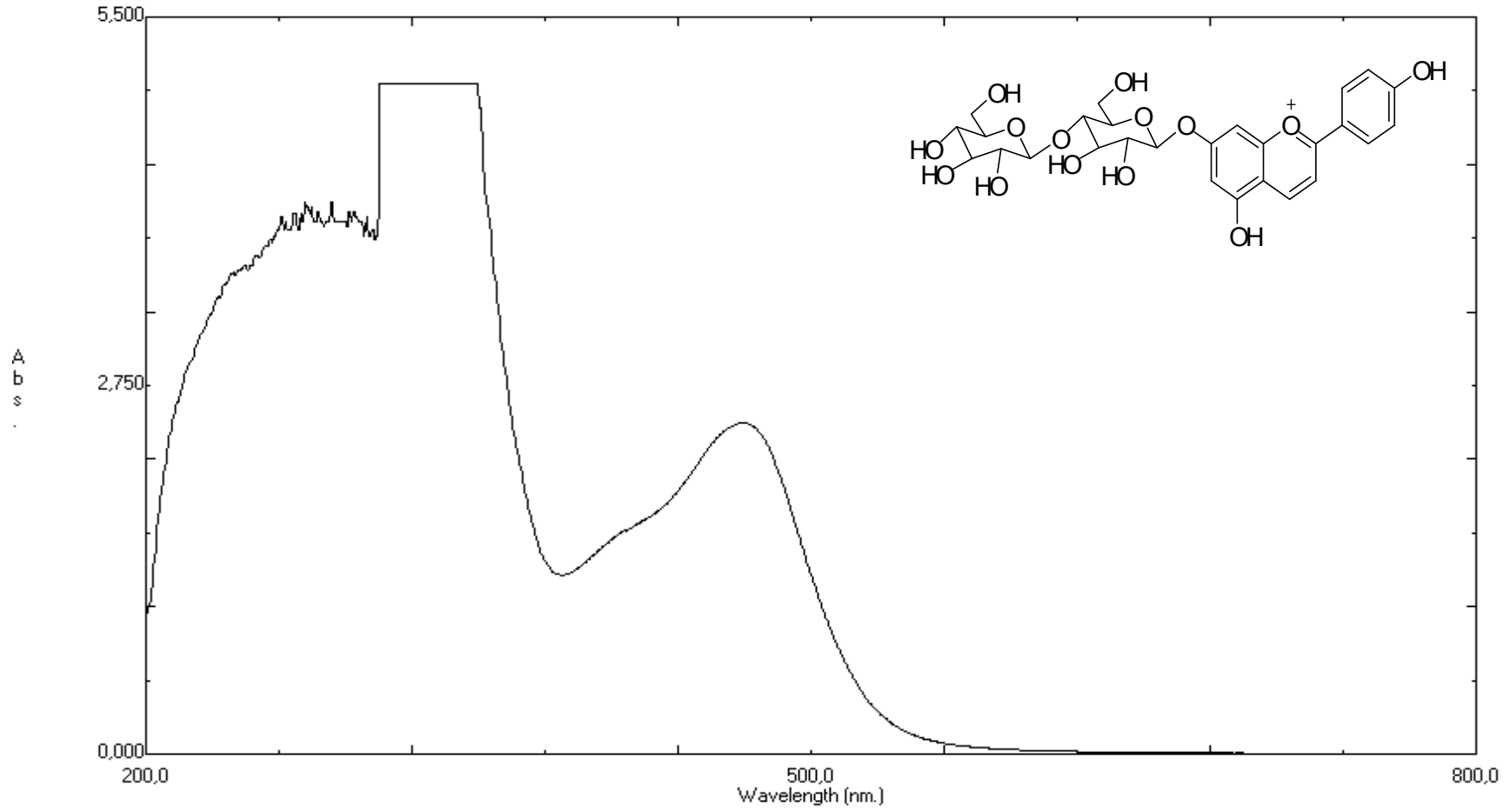
Viewed by

Date / Sign

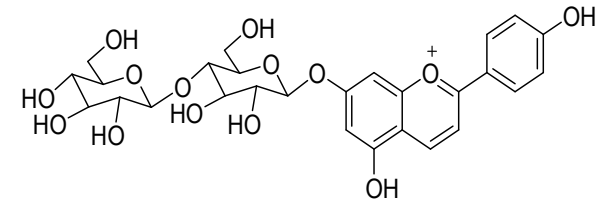
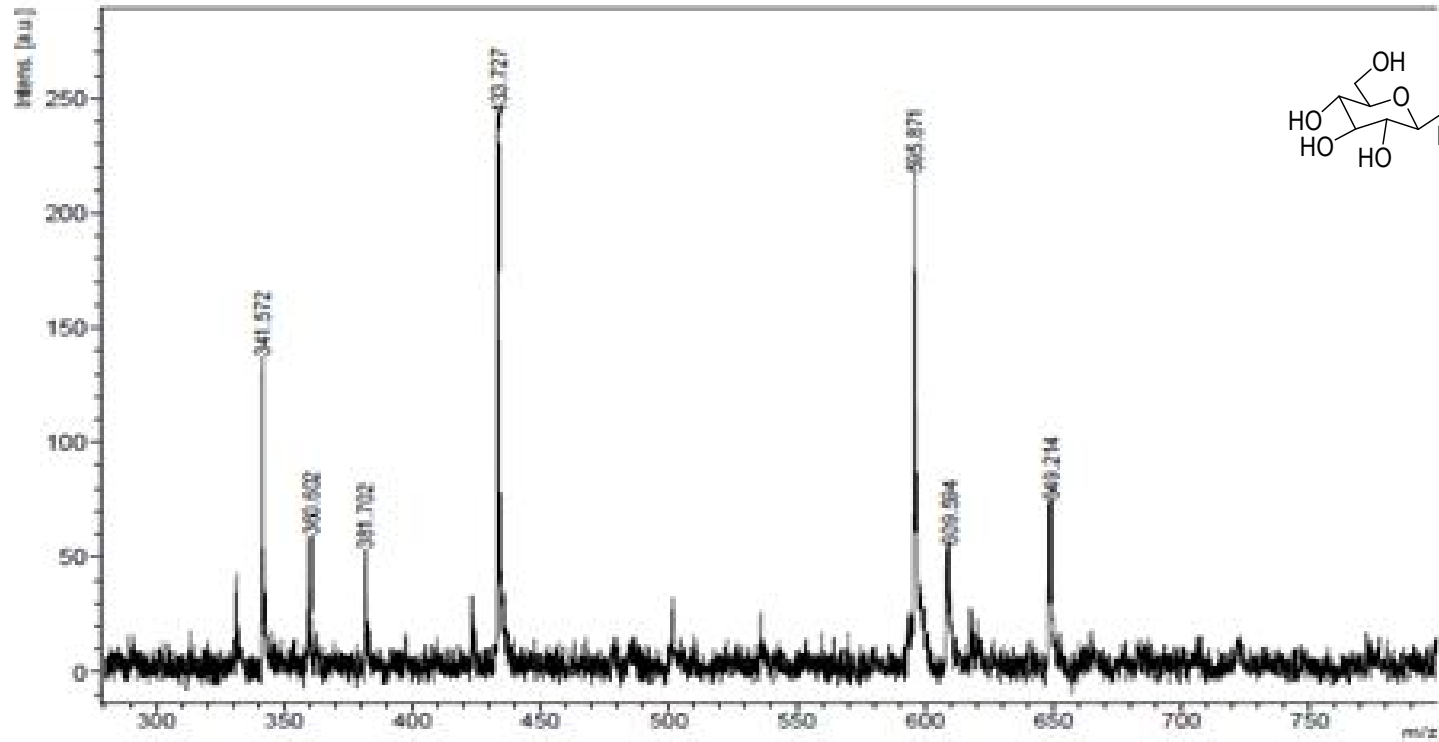
Date / Sign

BRUKER
DALTONICS™
printed 4/5/2012 4:17:40 PM

Şekil A.35 7-O-galaktozil-apigenidin (7b) kütle spektrumu



Şekil A.36 7-O-sellebiyozil apigenidin (7c) UV spektrumu



Date of Acquisition 2012-04-12T14:27:10.000

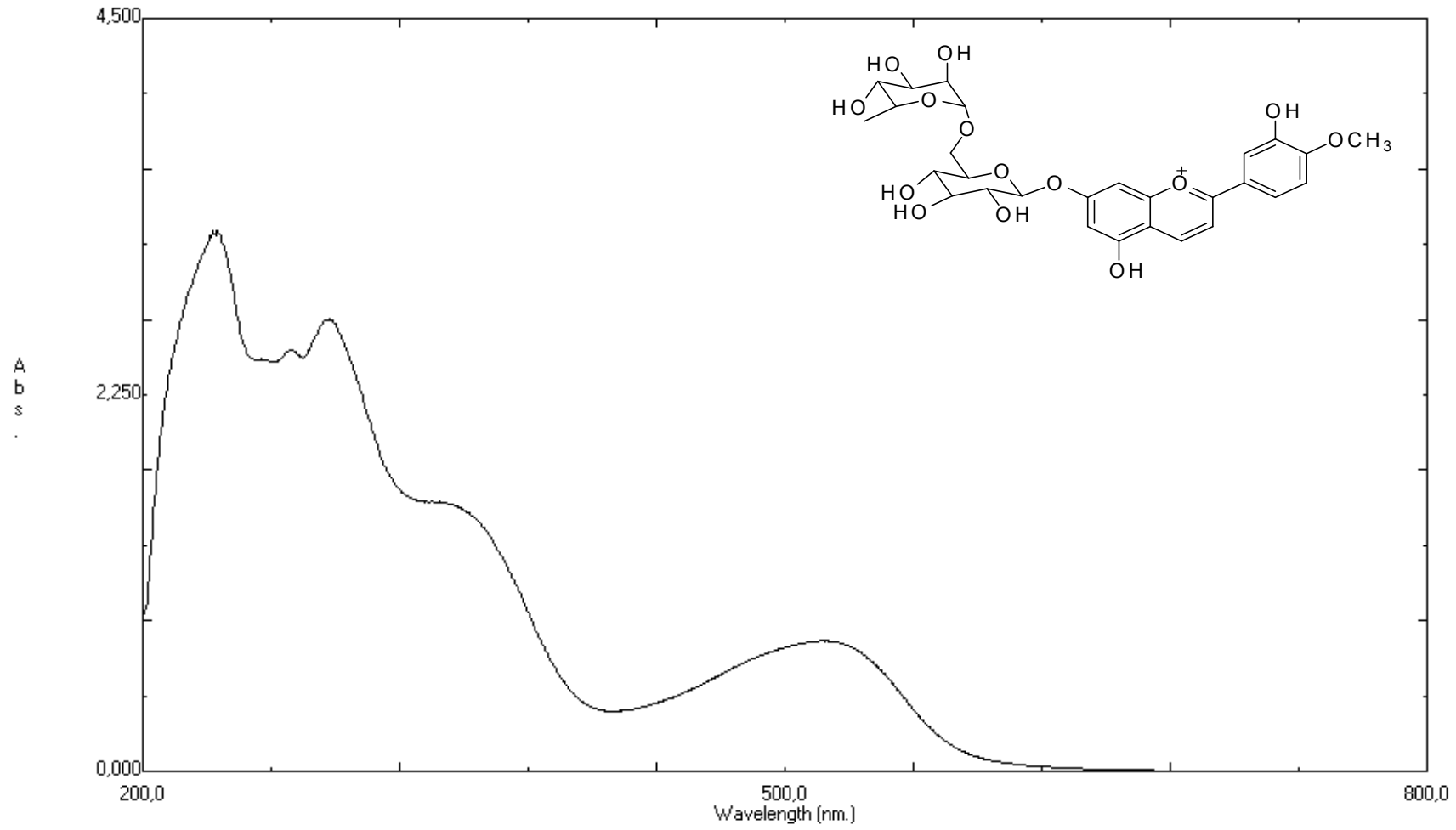
File Name D:\Data\bosun\PF13_DHB\0_D711

Performed by
Date / Sign

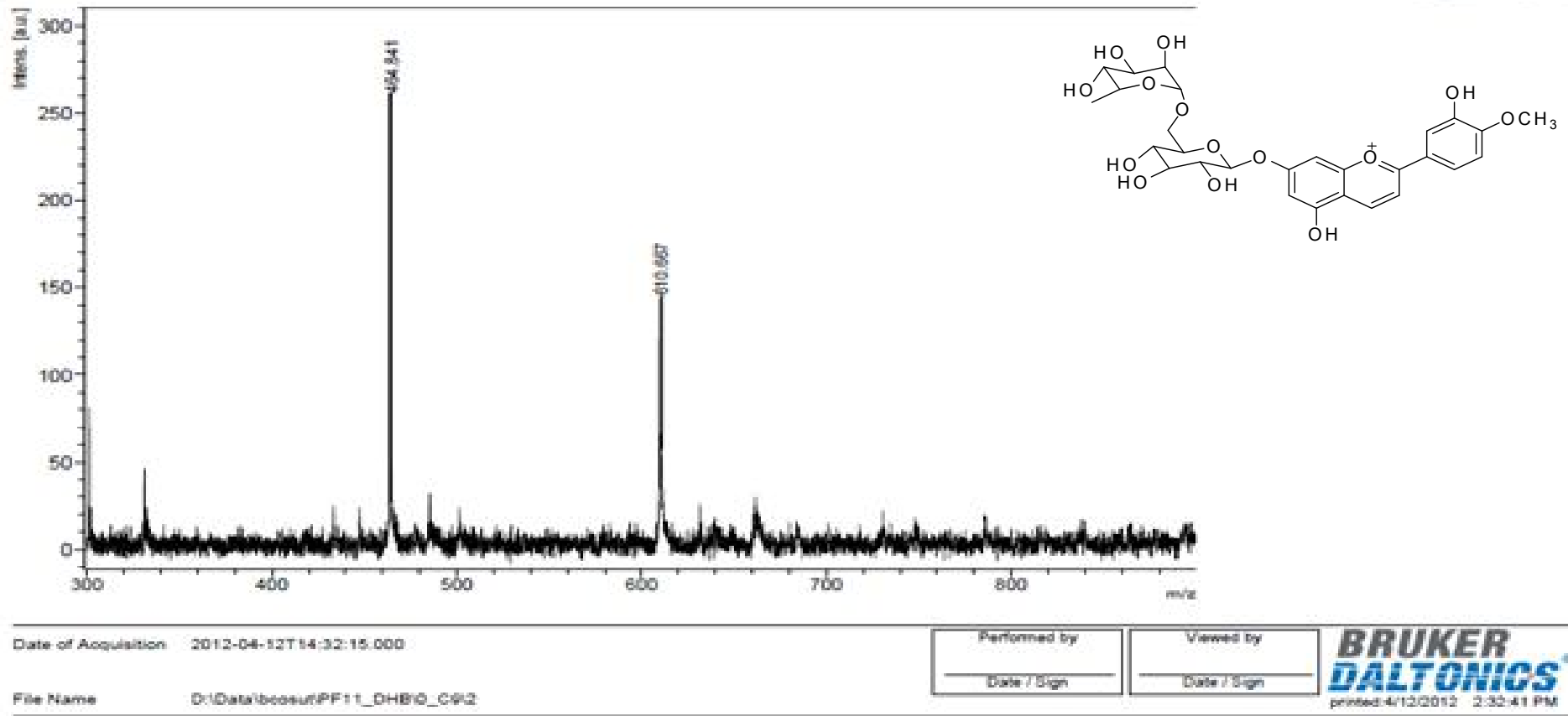
Viewed by
Date / Sign

BRUKER DALTONICS
printed: 4/12/2012 2:27:53 PM

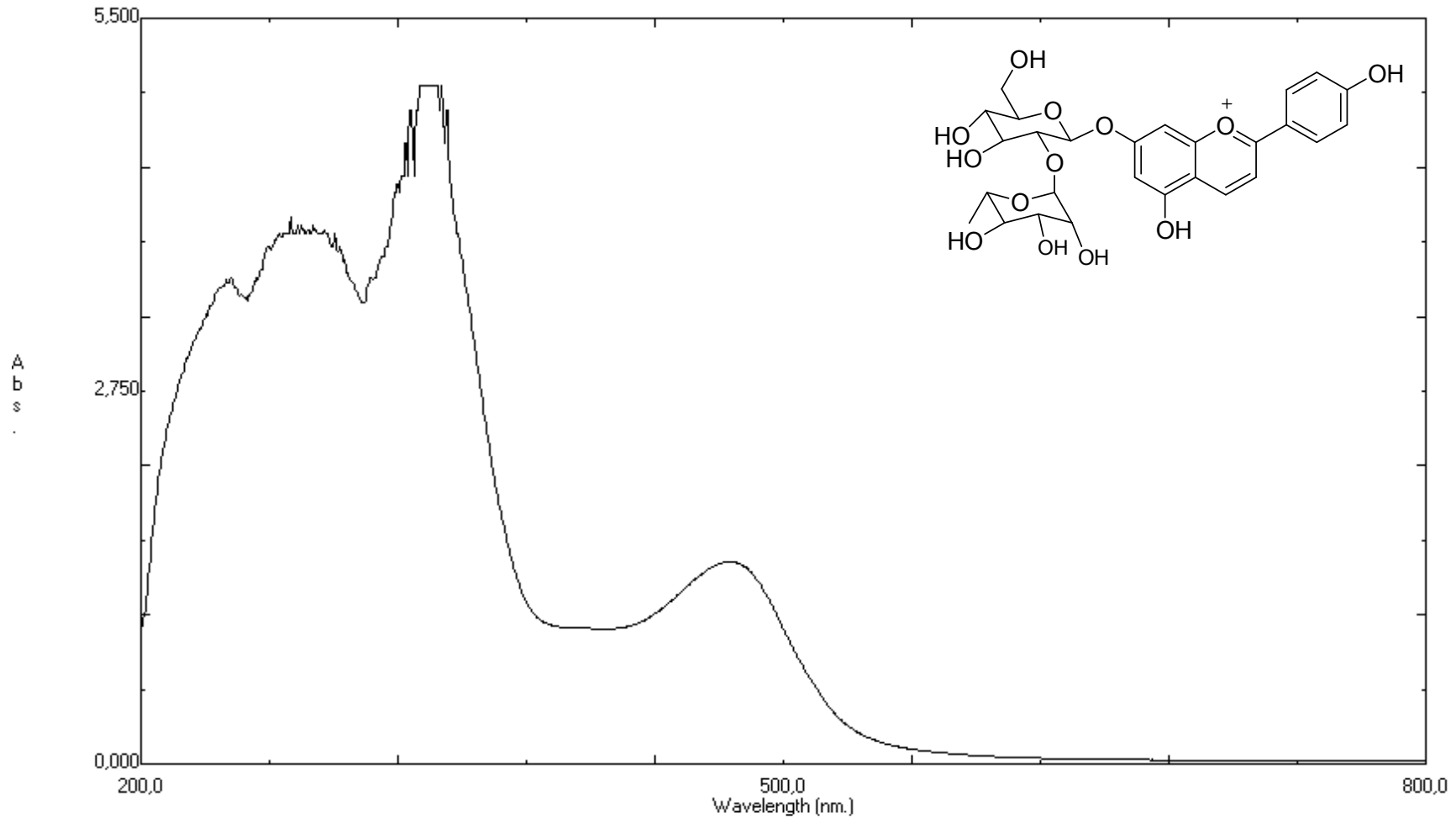
Şekil A.37 7-O-sellebiyozil apigenin (7c) kütle spektrumu



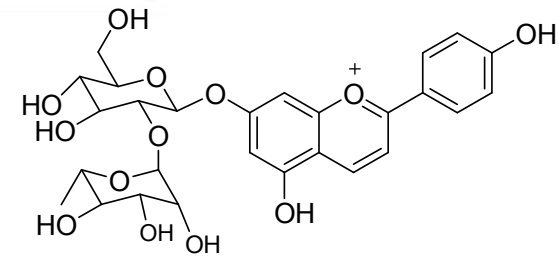
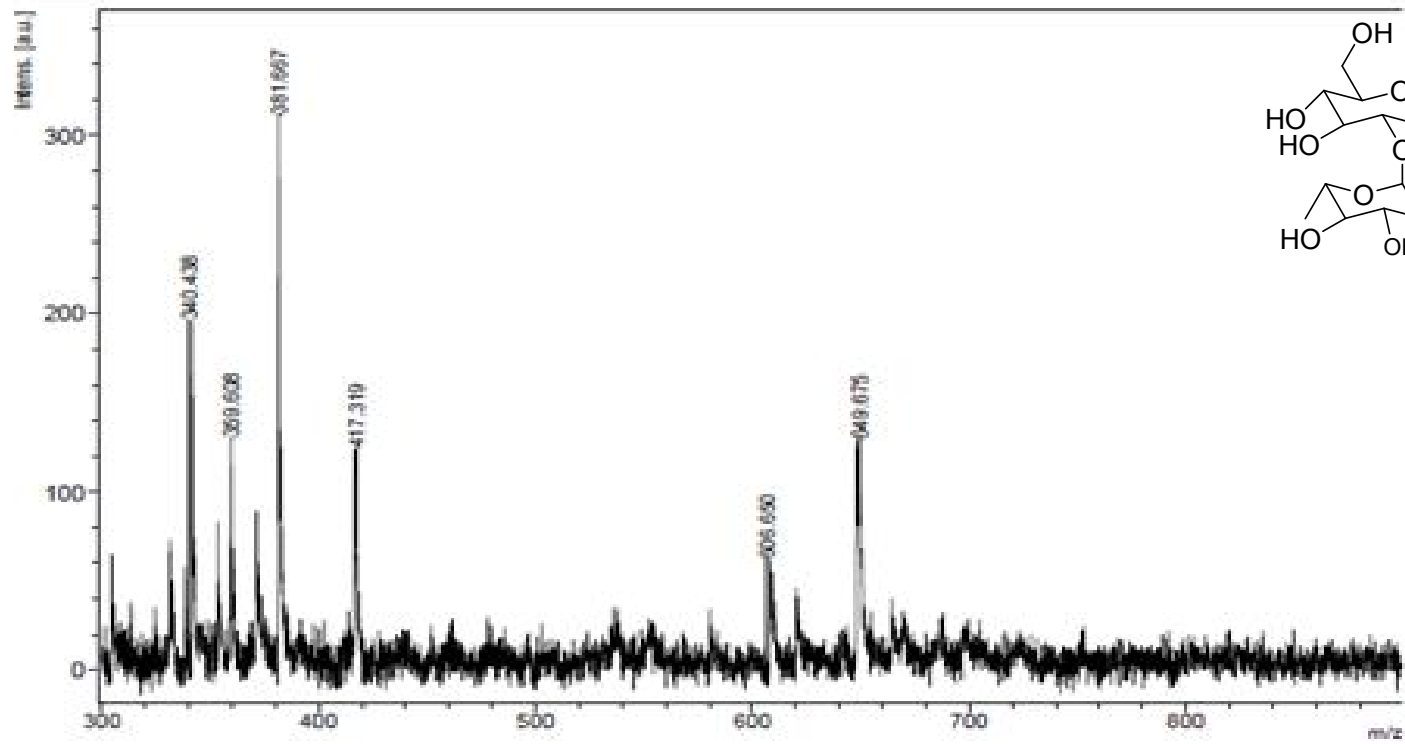
Şekil A.38 Diosmidin (3d) UV spektrumu



Şekil A.39 Diosmidin (3d) kütle spektrumu



Şekil A.40 7-O-rutinozil apigenidin (3e) UV spektrumu



Date of Acquisition: 2013-04-12T14:29:54.000

File Name: D:\Data\boosut\PF9_DHE\0_B5\1

Performed by

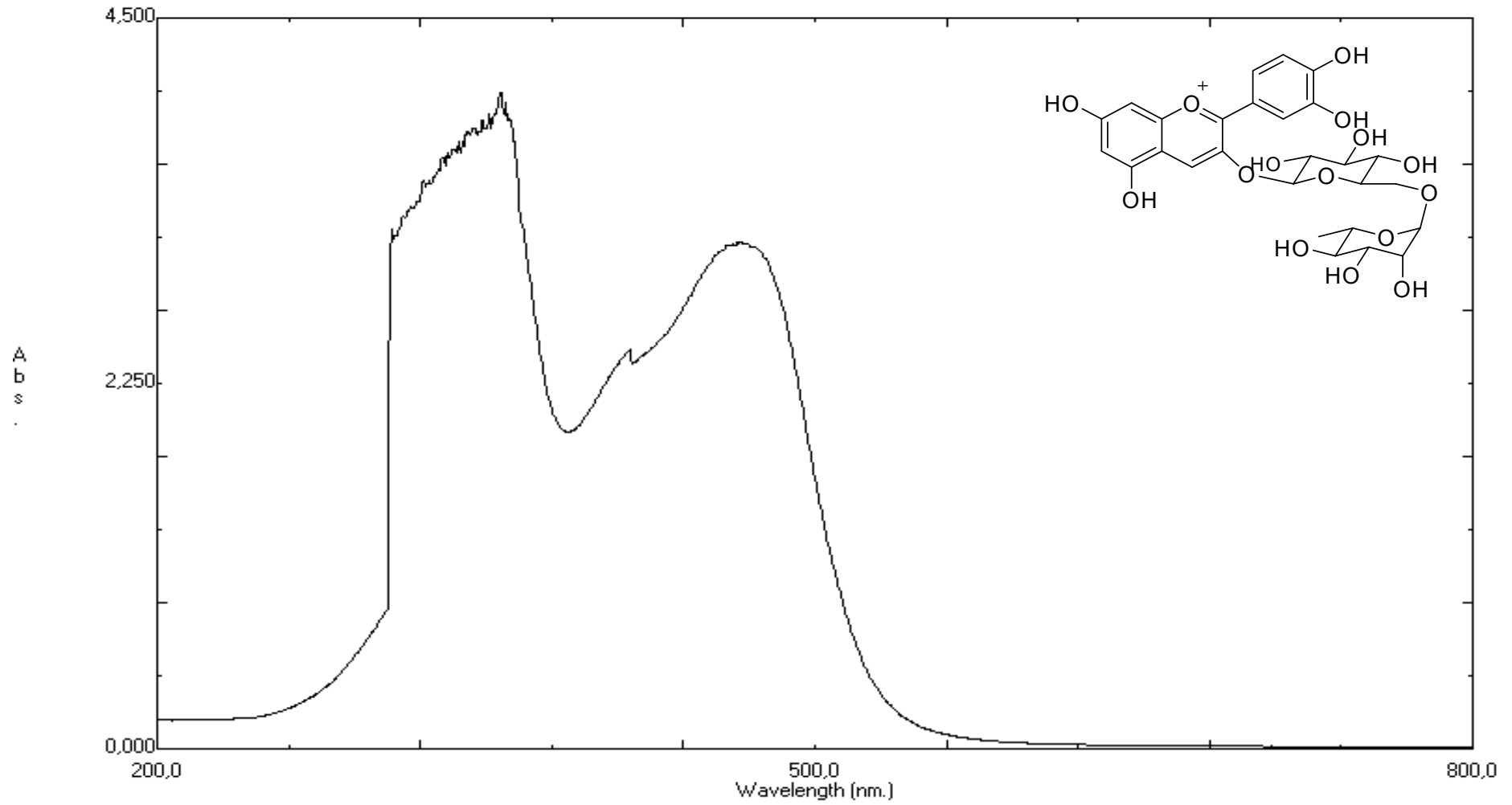
Date / Sign

Viewed by

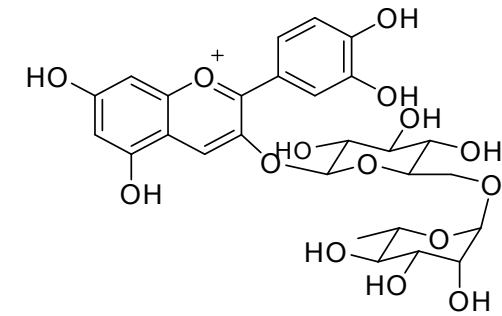
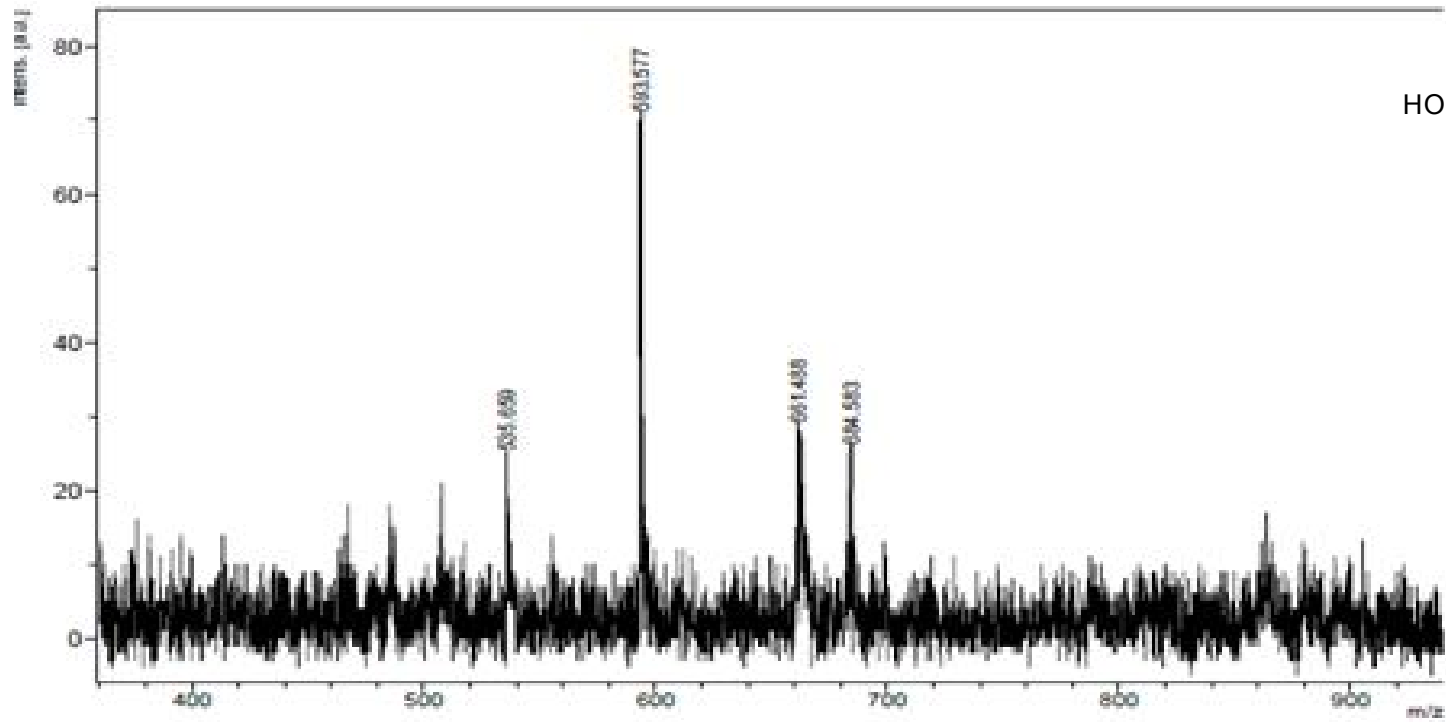
Date / Sign

BRUKER
DALTONICS
printed: 4/12/2013 2:30:27 PM

Şekil A.41 7-O-rutinozil apigenidin (3e) kütle spektrumu



Şekil A.44 3-O-rutinozil Quersetinidin (2f) UV spektrumu



Date of Acquisition 2012-04-13T15:33:45.000

File Name D:\Data\ibcosut\PF17_DHEB0_C12\3

Performed by
Date / Sign

Viewed by
Date / Sign

BRUKER DALTONICS
printed: 4/13/2012 3:34:14 PM

Şekil A.45 3-O-rutinozil Quersetinidin (2f) kütle spektrumu

ÖZGEÇMİŞ

Fatma ÇELİK, 1987 yılında Bursa'nın Yenişehir ilçesinde doğdu, ilk öğrenimini Yenişehir'de tamamladı. 2009 yılında Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü'nden mezun oldu. 2009 yılında Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya bölümü Organik Kimya Anabilim Dalı'nda yüksek lisansa başladı.