

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**7-O-(β -D-GALAKTOPYRANOZİL-(1-4)- β -D-
GLİKOPYRANOZİL)-APIGENİN TOTAL SENTEZİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Kimyager Candan CENGİZ

Enstitü Anabilim Dalı : KİMYA

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Mustafa KÜÇÜKİSLAMOĞLU

Mayıs 2009

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

7-O-(β -D-GALAKTOPIRANOZİL-(1-4)- β -D-
GLIKOPIRANOZİL)-APIGENİN TOTAL SENTEZİ

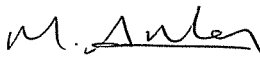
YÜKSEK LİSANS TEZİ

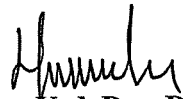
Kimyager Candan CENGİZ

Enstitü Anabilim Dalı : KİMYA

Bu tez 07/05/2009 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Oybirliği ile kabul edilmiştir.


Doç. Dr.
Mustafa KÜÇÜKİSLAMOĞLU
Jüri Başkanı


Doç. Dr.
Mustafa ARSLAN
Üye


Yrd. Doç. Dr.
N. İzzet KURBANOĞLU
Üye

ÖNSÖZ

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

Çalışmalarım süresince beni yönlendiren ve desteğini esirgemeyen değerli tez danışmanım Doç. Dr. Mustafa KÜÇÜKİSLAMOĞLU'na teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım sırasında teşvik ve tavsiyelerde bulunan Sayın Doç. Dr. Mustafa ARSLAN, Yrd. Doç. Dr. Mustafa ZENGİN, Yrd. Doç. Dr. Arif BARAN ve Araş. Gör. Hülya DEMİRHAN'a ve ayrıca laboratuvar denemelerim süresince yüksek tecrübelerinden sürekli istifade ettiğim değerli hocalarım Sayın Yrd. Doç. Dr. Mehmet NEBİOĞLU ve Araş. Gör. Fatih SÖNMEZ'e teşekkürü bir borç bilirim.

Başta bölüm başkanı Sayın Prof. Dr. Ali Osman AYDIN olmak üzere, ilgili olan tüm Kimya Bölümü öğretim üyelerine ve değerli arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Tezim için gerekli her türlü izni bana sağlayan başta Eğitim Fakültesi Dekanı Sayın Prof. Vahdettin SEVİNÇ, İlköğretim Bölüm Başkanı Doç. Dr. Bünyamin KOCAOĞLU, Fen Bilgisi Eğitimi Anabilim Dalı Başkanı Yrd. Doç. Dr. Şenol BEŞOLUK'a, destek olan tüm Eğitim Fakültesi öğretim üyelerine ve çalışma arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Ayrıca ömrüm boyunca büyük bir sabır ve özveriyle gösterdikleri maddi manevi tüm emekleri için canım aileme teşekkürlerimi sunuyorum.

Son olarak, çalışma yoğunluğumuza rağmen her konuda yakın ilgi ve anlayışını hiç eksiltmeyen, bana güç veren kıymetli eşim Uğur CENGİZ'e teşekkür ediyorum.

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	ii
İÇİNDEKİLER	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ	vii
TABLolar LİSTESİ.....	x
ÖZET.....	xi
SUMMARY.....	xii
BÖLÜM 1.	
GİRİŞ	1
BÖLÜM 2.	
GENEL BİLGİ	3
2.1. Flavonoitler	3
2.1.1. Flavonoitlerin yapı özellikleri ve sınıflandırılması	3
2.1.2. Flavonoitlerin biyosentezi	8
2.1.3. Flavonoitlerin biyolojik önemi	10
2.1.4. Flavonoitlerin spektroskopik özellikleri	11
2.1.4.1. ¹ H NMR spektroskopisi	11
2.1.4.2. ¹³ C NMR spektroskopisi	11
2.1.4.3. Kütle spektroskopisi	13
2.2. Karbonhidratlar	14
2.2.1. Monosakkaritler	15
2.2.2. Disakkaritler	17
2.2.2.1. Sakkaroz	19
2.2.2.2. Maltoz	20

2.2.2.3. Sellobiyoz	20
2.2.2.4. Laktoz	20
2.2.3. Oligosakkaritler	21
2.3. Glikozitler ve glikozit bağı oluşumu	21
2.3.1. O-Glikozilleme	22
2.4. Flavonoit Glikozitler	23
2.4.1. Flavonoit O-glikozitler	25
2.4.2. Flavonoit C-glikozitler	31
2.4.3. Flavonoit glikozitlerin spektroskopik özellikleri	32
2.4.3.1. ¹ H NMR spektroskopisi	32
2.4.3.2. ¹³ C NMR spektroskopisi	36
2.4.3.3. Kütle spektroskopisi	37
2.4.4. Flavonoit glikozitlerin sentezi	39
2.4.4.1. Flavonoit türevlerine glikozitlerin bağlanması	39
2.4.4.2. Flavanon türevlerinin yükseltgenmesi	42
2.4.4.3. Koruma gruplarının kaldırılması	44
2.4.4.4. 7-O-(β-D-galaktopiranozil-(1-4)-β-D- glikopiranozil)-Apigenin bileşiğinin total sentezi ...	46

BÖLÜM 3.

MATERYAL VE METOD	48
3.1. Kullanılan Cihazlar ve Kimyasallar	48
3.2. Deneysel Çalışmalar	49
3.2.1. β-D-okta-O-asetillaktoz (2) sentezi	49
3.2.2. 2'',2''',3'',3''',4'',6'',6'''-hepta-O-asetil-β-D-laktozil bromür (3) sentezi	49
3.2.3. 7-O-(2'',2''',3'',3''',4'',6'',6'''-hepta-O-asetil-β-D-laktozil)- naringenin (5) sentezi	50
3.2.4. 7-O-(2'',2''',3'',3''',4'',6'',6'''-hepta-O-asetil-β-D-laktozil)- 6,4'-di-O-asetil-naringenin (6) sentezi	50
3.2.5. 7-O-(2'',2''',3'',3''',4'',6'',6'''-hepta-O-asetil-β-D-laktozil)- 6,4'-di-O-asetil-apigenin (7) sentezi	51
3.2.6. 7-O-(β-D-laktozil)-apigenin (8) sentezi	51

BÖLÜM 4.	
DENEYSEL BULGULAR	53
BÖLÜM 5.	
SONUÇLAR	58
BÖLÜM 6.	
TARTIŞMA VE ÖNERİLER	61
KAYNAKLAR.....	64
EKLER.....	69
ÖZGEÇMİŞ.....	81

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

Ar-	: Aromatik
°C	: Santigrat derece
¹³ C	: Karbon Sayısını Veren Spektrum
CDCl ₃	: Kloroform-d ₁
C ₆ D ₆	: Benzen-d ₆
d	: Dublet
dd	: Dubletin Dubleti
DMSO	: Dimetil Sülfoksit-d ₆
g	: Gram
¹ H	: Proton NMR Spektrumu
Hz	: Hertz
J	: Etkileşme Sabiti
m	: Multiplet (çoklu)
mg	: Miligram
MHz	: Megahertz (Mega Hz)
mL	: Mililitre
mmol	: Milimol
NBS	: N- Brom Suksinimit
NMR	: Nükleer Manyetik Rezonans
ppm	: Milyonda Bir Kısım
s	: Singlet
T	: Triplet
δ	: Kimyasal Kayma

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1.	Flavonoitlerin ana iskeletini oluşturan 1,3-difenilpropan (Kalkan) ve 1,3-diarilprop-2-en-1-on (Kalkon) yapıları	3
Şekil 2.2.	Flavan ve Flavon yapıları	4
Şekil 2.3.	1,2-difenilpropan, 3-fenilkroman (İzoflavan) ve İzoflavon yapıları	5
Şekil 2.4.	1,1-difenilpropan ve Neoflavonoit yapısı	5
Şekil 2.5.	Flavonoit yapılarında substituentlerin en yaygın yerleşme pozisyonları	7
Şekil 2.6.	Flavonoitlerin biyosentezi	9
Şekil 2.7.	Flavonoitlerin kütle fragmentleri	14
Şekil 2.8.	D-aldozların halka yapıları	16
Şekil 2.9.	Monosakkaritlerin sınıflandırılması	16
Şekil 2.10.	Bazı önemli deoksi şekerler	17
Şekil 2.11.	D-aldozların halka yapıları	18
Şekil 2.12.	Bazı doğal karbonhidrat bileşikleri	19
Şekil 2.13.	(+)-Sakkaroz; (α -D-glukopiranozil- β -D-fruktofuranozit)	19
Şekil 2.14.	(+)-Maltozun β -anomer yapısı; 4-O-(α -D-glukopiranozil)- β -D-glulopiranoz	20
Şekil 2.15.	Sellobiyozun β -anomer yapısı; 4-O-(β -D-glukopiranozil)- β -D-glukopiranoz	20
Şekil 2.16.	Laktozun β -anomer yapısı; 4-O-(β -D-galaktopiranozil)- β -D-glukopiranoz	21
Şekil 2.17.	Koenigs-Knorr reaksiyonu	22
Şekil 2.18.	Doğal ürünlerin sentezinde kullanılan glikozilasyon reaksiyonu .	23
Şekil 2.19.	Flavonoit C- ve O-glikozitlerin oluşumu ve yapısı	24
Şekil 2.20.	Flavonoitlerin, tautomer glikozit (furanozit ve piranozit) yapıları	24

Şekil 2.21.	Flavonoitlerin α - ve β -glikozit yapıları	25
Şekil 2.22.	Apigeninin 7- pozisyonuna bağlanabilen bazı şeker birimleri ve yapıları	26
Şekil 2.23.	Flavonoit O-glikoziti	30
Şekil 2.24.	Flavonoit C-glikoziti	32
Şekil 2.25.	Pentozit ve heksozitlerin kütle fragmentleri	38
Şekil 2.26.	Glukuronitlerin kütle fragmentleri	38
Şekil 2.27.	Flavonoit C-glikozitlerin kütle fragmentleri	39
Şekil 2.28.	7-O-(β -D-galaktopiranozil-(1-4)- β -D-glikopiranozil)-apigenin bileşiğinin total sentezi	47
Şekil 5.1.	7-O-(β -D-galaktopiranozil-(1-4)- β -D-glikopiranozil)-apigenin (8) bileşiğinin yapısı	58
Şekil A.1.	β -D-okta-O-asetillaktoz (2) bileşiğinin ^1H NMR spektrumu (300 MHz, CDCl_3)	70
Şekil A.2.	β -D-okta-O-asetillaktoz (2) bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu (75 MHz, CDCl_3)	71
Şekil A.3.	2'',2''',3'',3''',4'',6'',6'''-hepta-O-asetil- β -D-laktozil bromür (3) bileşiğinin ^1H NMR spektrumu (300 MHz, CDCl_3)	72
Şekil A.4.	2'',2''',3'',3''',4'',6'',6'''-hepta-O-asetil- β -D-laktozil bromür (3) bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu (75 MHz, CDCl_3)	73
Şekil A.5.	7-O-(2'',2''',3'',3''',4'',6'',6'''-hepta-O-asetil- β -D-laktozil)-naringenin (5) bileşiğinin ^1H NMR spektrumu (300 MHz, CDCl_3)	74
Şekil A.6.	7-O-(2'',2''',3'',3''',4'',6'',6'''-hepta-O-asetil- β -D-laktozil)-naringenin (5) bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu (75 MHz, CDCl_3)	75
Şekil A.7.	7-O-(2'',2''',3'',3''',4'',6'',6'''-hepta-O-asetil- β -D-laktozil)-6,4'-di-O-asetil-naringenin (6) bileşiğinin ^1H NMR spektrumu (300 MHz, CDCl_3)	76
Şekil A.8.	7-O-(2'',2''',3'',3''',4'',6'',6'''-hepta-O-asetil- β -D-laktozil)-6,4'-di-O-asetil-naringenin (6) bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu (75 MHz, CDCl_3)	77

Şekil A.9.	7- <i>O</i> -(2'',2''',3'',3''',4''',6'',6''')-hepta- <i>O</i> -asetil-β- <i>D</i> -laktozil)-6,4'-di- <i>O</i> -asetil-apigenin (6) bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu (300 MHz, CDCl ₃)	78
Şekil A.10.	7- <i>O</i> -(2'',2''',3'',3''',4''',6'',6''')-hepta- <i>O</i> -asetil-β- <i>D</i> -laktozil)-6,4'-di- <i>O</i> -asetil-apigenin (6) bileşiğinin ¹³ C NMR spektrumu (75 MHz, CDCl ₃).....	79
Şekil A.11.	7- <i>O</i> -(β- <i>D</i> -laktozil)-apigenin (8) bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu (300 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	80

TABLolar LİSTESİ

Tablo 2.1. Flavonoitlerin hetero halkadaki -C ₃ - yapısına göre sınıflandırılması	6
Tablo 2.2. Flavonoitlerde bulunan çeşitli protonların kimyasal kayma değerleri	11
Tablo 2.3. Naringenin ve apigenin karbonlarının DMSO-d ₆ çözücüsündeki kimyasal kayma değerleri	12
Tablo 2.4. Flavon ve Flavonol yapılarında bulunan disakkaritler	28
Tablo 2.5. Bazı flavonoit C- ve O- glikozitlerin şeker karbonlarının ¹³ C NMR rezonansları	37
Tablo 2.6. Flavonoit türevlerine glikozit bağlanma yöntemlerinde önemli uygulamalar	40
Tablo 2.7. Flavonon türevlerinin yükseltgenmesinde bazı yöntemler	42
Tablo 2.8. Koruma gruplarının seçimli veya tamamen kaldırılmasında önemli uygulamalar	45

ÖZET

Anahtar kelimeler: Flavonoit glikozitler, Flavonoitler, Apigenin

Flavonoitler ve diğler polifenol glikozitler, pek çok meyve ve çiçeklerdeki renklerden sorumlu olan doğal bitki pigmentler grubu olup çevresel stres faktörlerine karşı, bitkilerde koruma sağlayan bileşiklerdir. Ayrıca antimikrobiyal, antikanser ve antioksidan özelliklerine sahiptirler. Nitekim yiyeceklerin, meyve sularının, bitkilerin ve arı polenin pek çok tıbbi etkisinin direk olarak flavonoit içeriğinden kaynaklandığı bilinmektedir. Flavonoitler doğada çoğunlukla *O*-glikozitler halinde yaygın olarak bulunurlar. Kimyasal yapı ve şekillerinden kaynaklanan farklılıklar nedeniyle, polifenolik glikozitlerin sentezleri için yapılan çalışmalar önem kazanmaktadır.

Bu çalışmada, endüstriyel ve ekonomik bir bileşik olan naringenin bileşiğinden başlanarak 7-*O*-(β -D-galaktopiranozil-(1-4)- β -D-glikopiranozil)-apigenin bileşiğinin sentezlenmesi amaçlanmıştır. Total sentez; glikozilleme, asetilleme, oksidasyon ve komple deasetilleme basamaklarını içermektedir. Ürünlerin yapıları ^1H NMR ve ^{13}C NMR ile belirlendi.

TOTAL SYNTHESIS OF APIGENIN

7-*O*- β -D-(GALACTOPYRANOSYL-(1-4)-GLUCOPYRANOSIDE)

SUMMARY

Key Words: Flavonoid glucosides, Flavonoids, Apigenin

Flavonoids and other polyphenol glucosides are pigment group of natural plants of being responsible against colours in a lot of fruits and flowers. This compounds supply protection in plants for environmental stress factors. Additionally, they have antimicrobial, anticancer and antioxidant properties. Likewise foods, juices, plants and pollen of bee are directly known to take root countless medical effect from content of flavonoid. Flavonoids are usually prevalent in the form of *O*-glucosides in nature. Researches for synthesis of polyphenolic glucosides come into question, because of taking root from their chemical structures and configurations.

In this study, being synthesized compound of Apigenin 7-*O*-(β -D-galactopyranosyl-(1-4)- β -D-glucopyranoside) has been aimed starting from naringenin, an industrial and economic compound. Total synthesis include such as steps of glucosidation, acetylation, oxidation and deacetylation. ^1H NMR and ^{13}C NMR of all the final products were elucidated.

BÖLÜM 1. GİRİŞ

Günümüzde bitkiler farklı etkilere sahip (kalp-damar, safra kovucu, ülserle karşı vb.) doğal ilaç ham maddelerinin vazgeçilmez kaynaklarıdır. Bugün bitkilerden elde edilen lisanslı ilaçların sayısı ABD ve Avrupa ülkelerinde gittikçe artmaktadır. Bitkilerin ikincil metabolitleri arasında biyolojik etkilerinden dolayı en önemli bileşik sınıflarından birisi flavonoidlerdir [1].

Son yıllarda yapılan araştırmalar; bu bileşiklerin glikozitlerinin de antioksidan [2], hepatoprotektan [3], UV-ışınlardan koruma [4], antibakteriyel ve antikanserojen [5], antialerjik, antihipertanzif, antiviral, hipolipidemik, antiinflamatuvar, antimikrobiyal, antiülserojen ve aynı zamanda enzim inhibitörü gibi çok yönlü biyokimyasal ve farmakolojik aktivitelere sahip olduklarını göstermiştir. Bunlardan başka flavonoidler, bitkilerde enerjinin dönüşümüne, azotun tutulmasını düzenleyen bakteriyel genlerin aktive edilmesine ve büyüme hormonlarına etki ederler. Ayrıca solunumu ve fotosentezi düzenleme ve bulaşıcı hastalıklara karşı savunma fonksiyonlarına sahiptirler [1,6].

Diğer yandan flavonoidlerin, kanın bileşenleri üzerine etkisi araştırılarak, eritropoezi (eritrosit oluşumu) teşvik ettiği ve kanda lökositlerin (akyuvarlar) miktarını arttırdığı açıklanmıştır. Flavonoidlerin aynı zamanda, kolesterolün seviyesini düşürerek, kanın bileşenlerine etkide bulunduğu da gösterilmiştir [1].

Bitkilerden 4000'den fazla flavonoid ve flavonoid glikozit türevlerinin bitkilerden izole edilmiş ve yapıları aydınlatılmış olmasına rağmen [1,2,7,8], flavonoid içeriği bakımından on binlerce bitki türü henüz incelenmemiştir. Türkiye florasının (bitki varlığı) zenginliği ve bu floranın flavonoidler bakımından çok az incelenmiş olması, bizi bu konuda çalışmaya, laboratuvar koşullarında bu bileşiklerin sentezine yöneltmiştir.

Flavonoitler bitki kaynaklı bileşikler olup doğada yaygın olarak bulunurlar. Limon kabuğundan 1936 yılında elde edilen flavon bileşiklerinin, genellikle turuncgillerden olan meyvelerde, turuncu veya sarı renkli pigment taşıyan sebzelerde bulunan P-vitamini adı altında, kılcal damar geçirgenliği ve kırılgenliğini düşürmede kullanılması, flavonoitlere verilen önemi arttırmıştır. Bu nedenle, flavonoitlerle yapılan izole ve sentez çalışmaları 1940'lı yıllardan itibaren hızlanarak 1970'li yıllarda bu çalışmaların boyutu daha da genişlemiştir [1]. Flavon ve flavonol glikozitlerden 1975 yılında sadece 360 tanesinin yapısı bilinirken, sonraki 5 yılda bu sayı 720 yapıyı bulmuştur. 1981–1985 yılları arasında da 90 tane daha yeni flavonoit glikozit bileşiği bulunmuştur [9].

Son yıllarda, flavonoitlerin, hidroksil radikallerini, süperoksit anyonlarını ve lipit peroksi radikallerini yakaladıklarından dolayı sahip oldukları antioksidan özellikleriyle tıp, ziraat ve besin endüstrisinde kullanılmaktadırlar. Ayrıca çeşitli ürün ve malzemeleri boyama yetenekleri ile metal iyonları ile reaksiyon verme yeteneğine sahip olduklarından dolayı analitik amaçla uranyum, zirkonyum, titan gibi diğer metallerin tayini için metalürji endüstrisinde de kullanılmaktadırlar. Tabaklama maddelerinin (tanenlerin) bileşenine katılmalarından dolayı tekstil ve deri endüstrisinde; UV-ışınlarından koruma özelliklerine sahip olmaları sebebiyle özellikle kremlerde önemli katkı maddesi [10] olarak kozmetik endüstrisinde ve flavonoitlerin askorbik asitle birlikte et ve et ürünleri proteolizini hızlandırmalarından dolayı et-konserve endüstrisi gibi benzer çeşitli alanlarda kullanılma olasılıkları artmaktadır [1].

Bu çalışmada, daha önce 'Apigenin 7,4'-di-*O*- β -D-glikopiranozit' bileşiği için yapılan yeni total sentez yöntemiyle [11] bitkilerden henüz izole edilip yapısı aydınlatılmamış ve laboratuvar koşullarında sentezlenmemiş bir bileşik olan 'Apigenin 7-*O*-(β -D-galaktopiranozil-(1-4)- β -D-glikopiranozit)' bileşiğinin sentezlenmesi amaçlanmıştır. İlk olarak, naringenin bileşiğinin 7 pozisyonuna D-laktozil grubunun bağlanması, daha sonra da bu bileşiğin apigenin bileşiğine okside edilmesi planlanmıştır.

BÖLÜM 2. GENEL BİLGİ

2.1. Flavonoitler

Bitkilerden izole edilen, doğada yaygın olarak bulunan flavonoitler, önceleri çiçeklerin sarı, kırmızı, turuncu, lacivert ve benzeri renklerinden sorumlu olan pigmentler olarak biliniyorlardı. Son araştırmalarda, bitkilerin tüm organlarında (yaprak, gövde, kök, kabuk, dal, meyve, vb.) rastlandıkları bilinmektedir [1].

İki fenil ve bir heterohalkadan oluşan flavonoitler, hetero halkanın farklı yükseltgenme derecelerine göre flavonlar, flavonoller, flavanonlar, flavanonoller, kalkonlar, dihidrokalkonlar (kalkanonlar), flavon-3-oller, flavan-3,4-dioller, antosiyanidinler, auronlar gibi çeşitli alt sınıflara ayrılmışlardır [8]. Ayrıca aromatik halkalara bağlı hidroksi, metoksi, metil ve glikozil gibi substituentlerin sayısı ve pozisyon zenginliği flavonoitlerin yapı çeşitliliğine neden olan faktörlerdir [7].

2.1.1. Flavonoitlerin yapı özellikleri ve sınıflandırılması

Flavonoitlerin karbon iskeletini, iki fenil halkasının propan zinciri ile birleşmesinden oluşan ve 15 karbon atomu içeren, difenilpropan ($C_6-C_3-C_6$) yapısıdır (Şekil 2.1).

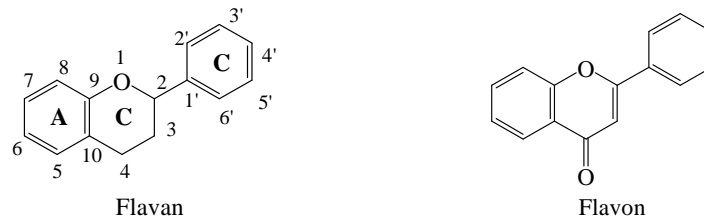


Şekil 2.1. Flavonoitlerin ana iskeletini oluşturan 1,3-difenilpropan (Kalkan) ve 1,3-diarilprop-2-en-1-on (Kalkon) yapıları

Fenil halkalarının propan zincirine farklı bağlanma pozisyonlarına göre flavonoitler, alt sınıflara ayrılırlar. Bu sınıflardan birisi, fenil gruplarının propan zincirine 1,3-pozisyonlarında bağlanmasından oluşan ve 1,3-difenilpropan iskeleti içeren kalkonoitlerdir. Bunların en basit üyesi kalkondur (Şekil 2.1).

1,3-difenil yapısındaki propan zinciri, oksijen atomu üzerinden, fenil halkası (A) ile birleşerek beş veya altı üyeli heterohalka olan üçüncü bir halka oluşturarak üçlü halka sistemi meydana gelir. Beş üyeli hetero halkanın oluşması ile meydana gelen üçlü halka yapıya auron (Tablo 2.1), türevlerine ise auronoitler denir.

Altı üyeli hetero halkanın oluşması ile meydana gelen üçlü halka sistemi ise, hetero halkanın yükseltgenme derecesine bağlı olarak, iki farklı yapıda bulunabilir. Bunlardan birisi, 2-fenilkroman veya fenilbenzopiran iskeletine sahip flavan, diğeri ise 2-fenilbenzo- γ -piron iskeleti içeren flavondur (Şekil 2.2).

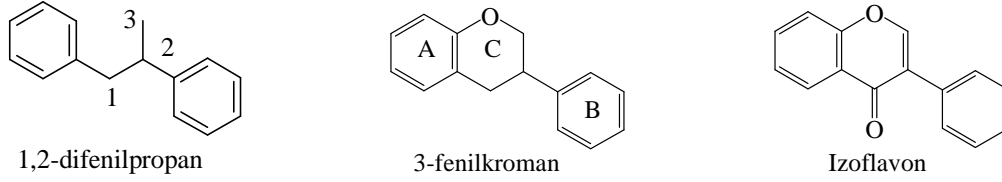


Şekil 2.2. Flavan ve Flavon yapıları

Genellikle flavon türevlerine flavonoitler, flavan türevlerine ise flavanoitler denir. Flavan ve flavon yapılarındaki aromatik halkalar A ve B, hetero halka ise C ile gösterilir. A ve C halkalarındaki (benzopiran çekirdeğinde) karbon atomları oksijen atomundan başlayarak numaralandırılır. B halkasındaki atomlar ise, üssü (') rakamlarla numaralandırılır. Bazıları, flavonoit yapısındaki C-9 ve C-10 atomlarını C-8a ve C-4a olarak da göstermektedir. Sözü edilen kalkon, auron, flavan ve flavon türevleri 1,3-difenilpropan iskeleti içeren bileşiklerdir [1].

Fenil gruplarının propan zincirine 1,2-pozisyonlarında bağlanmasıyla oluşan 1,2-difenilpropan iskeletinde (Şekil 2.3), propan zincirinin ucundaki karbon atomunun (C-3) oksijen atomu üzerinden aromatik halka ile halkalaşması sonucu oluşan hetero

halkalı üçlü halka yapıya izoflavan denir. İzoflavan yapısındaki hetero halkanın modifikasyonuna bağlı olarak izoflavon meydana gelir (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. 1,2-difenilpropan, 3-fenilkroman (İzoflavan) ve İzoflavon yapıları

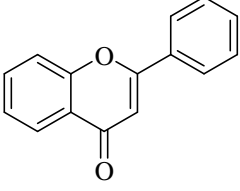
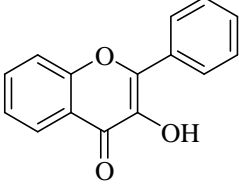
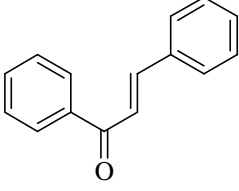
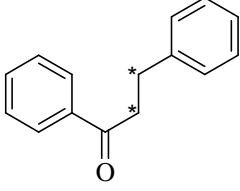
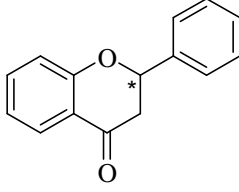
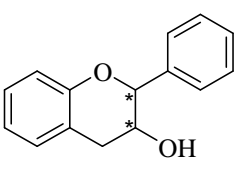
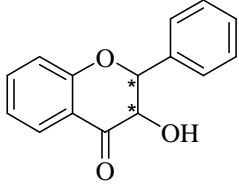
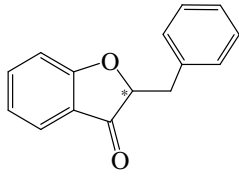
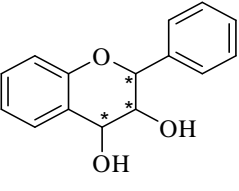
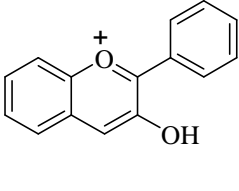
Fenil gruplarının difenilpropan iskeletine 1,1-pozisyonlarında bağlanmasından oluşan ve 1,1-difenilpropan iskeleti içeren bileşikler sınıfına da neoflavonoitler denir (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. 1,1-difenilpropan ve Neoflavonoit yapısı

Difenil propan ($C_6-C_3-C_6$) iskeleti içeren doğal bileşikler, fenil gruplarının propan zincirine bağlanma pozisyonlarına göre flavonoit, izoflavonoit ve neoflavonoitler olmak üzere üç ana grupta toplanırlar. Flavonoit yapılarında C_3 -sisteminin oluşturduğu heterohalkanın değişik yükseltgenme derecelerine bağlı olarak bilinen flavonoit alt sınıflarından bazıları Tablo 2.1’de verilmiştir [1].

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

			
Flavonlar	Flavonoller	Kalkonlar	Dihidrochalkonlar
			
Flavanonlar	Flavon-3-oller	Flavanonoller	
			
Auronlar	Flavon-3,4-dioller	Antosiyanidinler	

(*) Stereo-Kiral merkezleri

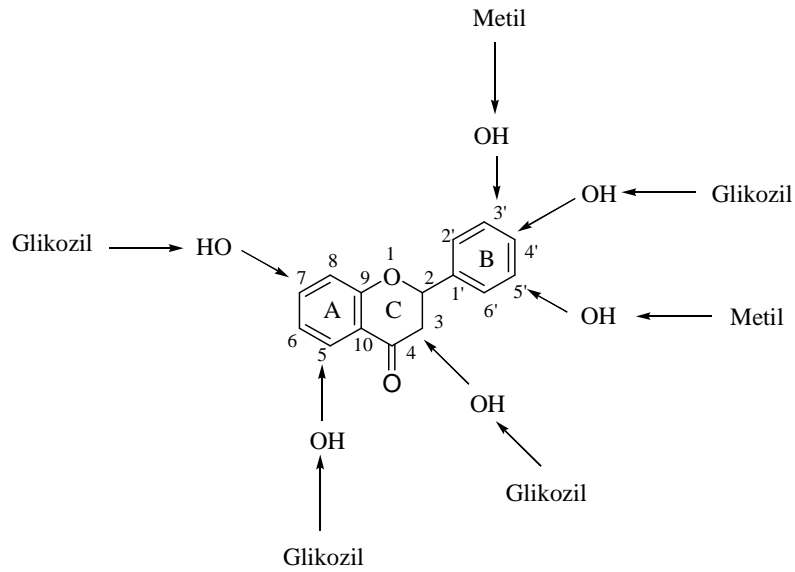
Flavonoit yapısı, ayrıca keto ve hidroksil gruplarıyla ya da doymamışlığın ilavesiyle de değiştirilebilir. Flavonoitleri iskelet yapısında keto grubunun varlığına göre, “onoitler” keto grubu içerenler ve “anoitler” keto grubu içermeyenler olmak üzere iki gruba ayırmak da olasıdır. Flavon, izoflavon, neoflavon, kalkon ve auron türevleri onoit grubuna flavan ve izoflavan türevleri ise anoit grubuna aittir.

Flavonoitlerden flavanonlar (dihidro- γ -piron, dihidroflavonlar) ve flavanonoller, 2-fenilbenzopiran iskeleti içerirler ve flavan türevidirler. Kalkanoit, dihidrochalkonoit ve auronitler ise 2-fenilkroman iskeleti içermedikleri için gerçekte flavonoit

değildirler. Ancak, bu bileşikler kimyasal yapı ve biyosentetik yönden flavonoidlere benzer olduklarından dolayı flavonoidler sınıfına dâhil edilirler.

Aynı zamanda, her sınıf içinde, molekülün aromatik (A ve B) halkalarına bağlanan substituentlerin sayısı, özelliği ve bağlanma pozisyonları flavonoidlerin yapı çeşitliliğine neden olan faktörlerdir. Flavonoid yapılarında yer alan en yaygın substituentler hidroksil gruplarıdır.

Flavonoidlerin yapısındaki hidroksil grupları, reaktif özelliklerinden dolayı kolaylıkla alkilenip glikozillendiklerinden, flavonoidlerin metoksi ve glikozil türevlerine bitkilerde sık rastlanır. Metoksi flavonoidlerin yapılarında birden yediye kadar metoksil grubuna rastlanmaktadır. Ancak, doğada mono-, di- veya trimetoksi flavonoidlere daha sık rastlanır. Flavonoidlerin C-5 ve C-7 pozisyonlarındaki hidroksil grupları nadir hallerde metillenmiş olurlar. Flavonoid yapılarında substituentlerin genel yerleşme pozisyonları Şekil 2.5'te verilmiştir [1].



Şekil 2.5. Flavonoid yapılarında substituentlerin en yaygın yerleşme pozisyonları

Bitkilerde flavonoidlere çoğunlukla mono-*O*-glikozitler halinde rastlanır. Ancak, disakkarit ve trisakkaritlerle glikozillenmiş flavonoidler de doğada yaygın olarak bulunur. Flavonoidlerin, özellikle antosiyanidin ve flavonollerin, 3-*O*-glikozitlerine daha sık rastlanır. Ancak C-7, C-4' ve C-5' pozisyonları glikozillenmiş flavonoidlere

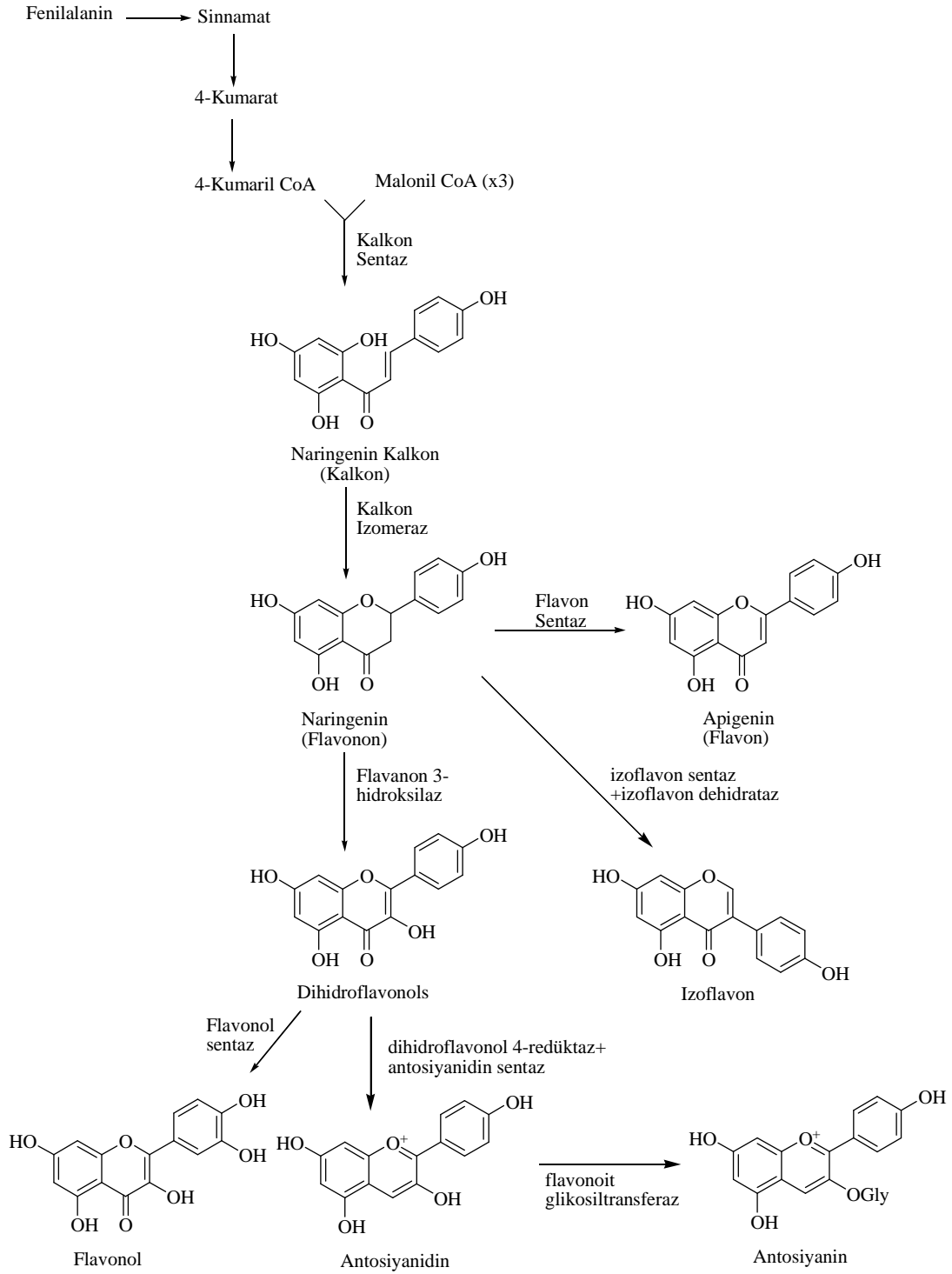
de doğada rastlanmaktadır. Bitkilerde rastlanan flavonoit glikozitlerin diğer bir türü de C-glikozitlerdir.

Aglikonların glikozillenme derecesi, şeker birimlerinin aglikona bağlanma pozisyonları, şekerlerin oksit halkasının yapısı ve glikozit bağlarının konfigürasyonu flavonoitlerin çok çeşitliliğini sağlayan nedenlerdendir [1].

2.1.2. Flavonoitlerin biyosentezi

Flavonoitler bitkilerin ikincil metabolitlerindendir. Bitkilerin fotosentezle oluşturdukları ve hayatsal gereksinimleri için kullandıkları karbonhidratlar, amino asitler gibi birincil metabolitlerden türeler [12].

Biyosentez araştırmalarından elde edilen bilgilere göre, flavonoitlerin A halkasının asetil koenzim-A moleküllerinden veya üç molekül malonil koenzim A'dan, B ve C halkalarının ise fenilalanin (şikimik asit üzerinden oluşan sinamik asit) gibi fenil propanoit bileşiklerinden meydana geldiği saptanmıştır. A halkasını meydana getiren asetat üniteleri ile B ve C halkalarını meydana getiren fenil propanoid bileşiklerinin kondenzasyonu ile kalkanlar oluşur [13]. Yükseltgenme, indirgenme, alkilasyon, açılasyon ve düzenlenme gibi esas iskelet üzerinde değişikliklerle oluşan flavonoitlerin biosentezi Şekil 2.3'de verilmiştir [7,14,15,16,17].



Şekil 2.6. Flavonoitlerin biyosentezi

2.1.3. Flavonoitlerin biyolojik önemi

Flavonoit araştırmalarının en aktif alanını insan sağlığına sağladığı katkılar oluşturmaktadır. Farklı araştırma grupları flavonoitlerin, antiinflamatuvar, antioksidan, antimikrobiyal, antibakteriyal ve antikanserojenik etkiler gösterdiğini tespit etmişlerdir [18,19].

Flavonoitlerin ilk olarak belirlenen biyolojik özelliği kılcal damar duvarlarına olumlu etkileridir. Bu bileşikler kılcal damarlarda kan sızdırmanın önlenmesinde, kırılgnalık ve geçirgenliğin ortadan kalkmasında olumlu etkiler göstermişlerdir. Flavonoitlerin kan damarlarına olumlu etkisinin, spazmolitik özelliklerinden ileri geldiği gösterilmiştir.

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

Flavonoitlerin en önemli özelliklerinden biri de, karaciğer fonksiyonuna olumlu etkileridir. Flavonoitlerin safra salgılanmasını hızlandırdıkları, karaciğerin barbiturat ve arsenik gibi bileşiklere karşı detoksikasyonuna etki ettikleri açıklanmıştır. Flavonoitlerin detoksikasyon etkisinin nedenlerinden birinin, idrar kovucu özellikleri olduğu gösterilmiştir. Bazı flavonoitler bağırsakların kuvvetini yükselterek, hazım prosesine olumlu etki gösterirler.

Son zamanlarda yürütölen araştırmalar, bazı flavonoitlerin super oksit ve hidroksil radikallerini ortadan kaldırdığını; lipid peroksil radikallerini indirgediğini ve karaciğer ile böbreklerde oluşturulan lipid peroksidasyonunu inhibe ettiğini ortaya koymuştur. Bu bileşiklerin antioksidatif etkileri, kansere yol ačan proseslerin ihtiva ettikleri oksijen radikallerini ve lipid peroksidasyonunu önlemek aısından oldukça önemlidir [1].

2.1.4. Flavonoitlerin spektroskopik özellikleri

2.1.4.1. ¹H NMR spektroskopisi

Flavonoitlerin proton sinyalleri genellikle 0-10 ppm aralığında ortaya çıkar. Farklı proton gruplarının kimyasal kayma değerleri Tablo 2.2’de verilmiştir.

Tablo 2.2. Flavonoitlerde 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 multipler)
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 flavonoitler için çözücü olarak polaritesi yüksek olan DMSO-d₆ kullanılmaktadır [1,7,20].

2.1.4.2. ¹³C NMR spektroskopisi

Flavonoitler, değişik alt sınıflarının temel karbon iskeletinde, kimyasal kayma değerleri farklı özelliklerde karbon atomları içerirler. Aromatik halkaların substitue derecesi, temel flavonoit yapısında bulunan kuarterner rezonanslarının ve yapıdaki eşdeğer olmayan karbon atomlarının toplam sayısı ¹³C NMR spektrumundan kolayca belirlenebilir. Flavonoit aglikonundaki karbonil grubu $\delta = 170-210$ ppm civarında gözlenir. Aromatik ve olefinik karbonlardan oksijene komşu olanlar $\delta = 130-165$

ppm arasında gözlenirken, oksijene bağlı olmayanlar daha yukarı alanda $\delta = 95-130$ ppm civarında sinyal verirler. Aromatik $-\text{OCH}_3$ karbonları $\delta = 50-60$ ppm, aromatik $-\text{CH}_3$ ve COCH_3 gruplarının metil karbonları ise $\delta = 15-20$ ppm, oksijene komşu olmayanlar ise $\delta = 40-80$ ppm arasında belirirler. Ayrıca, flavanonların heterohalka C halkasının oksimetin karbonu (C-2) ve alifatik metilen karbonu (C-3) sırasıyla 70-80 ppm ve 40-46 ppm'de rezonans olurlar [1,7,13,20].

Apigenin ve naringenin bileşiklerinin DMSO- d_6 çözücüsündeki ^{13}C NMR spektrogramundaki kimyasal kayma değerleri Tablo 2.3 de verilmiştir [13].

Tablo 2.3. 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 spektrogramun daha kısa sürede alınabilmesi için 10-50 mg kadar numunenin kullanılması önerilmektedir [2,7,20].

2.1.4.3. Kütle spektroskopisi

Kütle spektroskopisi flavonoidlerin yapı özelliklerinin, özellikle molekül ağırlığının belirlenmesinde önemli bir metottür. 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 bombardımanı ile 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 molekül iyonu (M^+), sonra da molekül iyonun parçalanma yolunu belirleyerek, parçalanmadan oluşan düşük molekül ağırlıklı major piklere ait iyonlar tespit edilir. Kütle spektroskopisinde flavonoidler parçalanırken molekülden aşağıdaki kayıplar oluşabilir [7].

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 ; H_2O kaybı, çoğunlukla flavonol, flavan-3,4-dioller ve C-glikozitlerin spektrumlarında gözlenir.

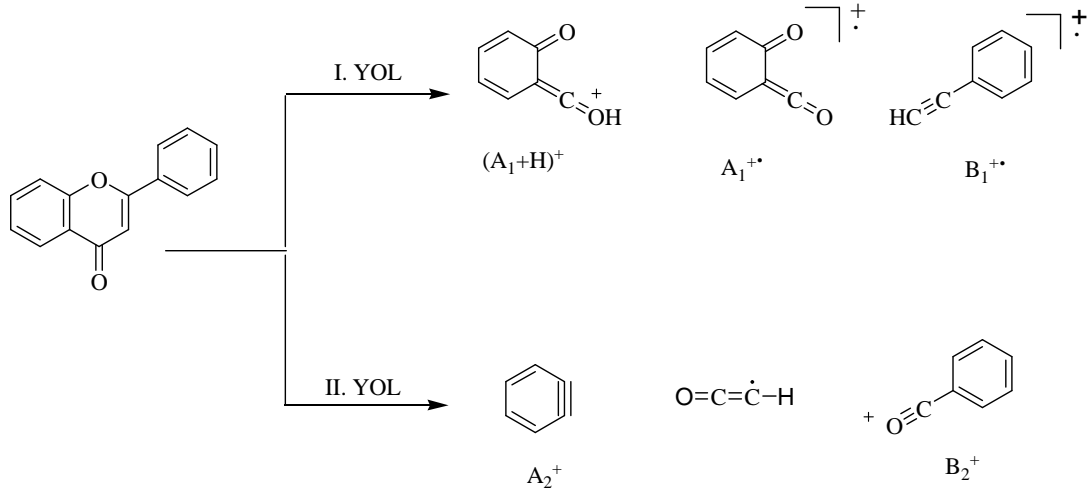
M^+-28 (29); CO (COH) kaybı, heterohalka C halkasından keto grubunun çıkmasıyla oluşur.

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

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

M^+ iyonunun bölünmesi yoluyla oluşan, 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). I. Yol retro Diels-Alder yoludur. Bu iki parçalanma yolundan birinin üstünlük kazanması aglikonun yapı özelliğine bağlıdır. Flavon ve izoflavonlar A_1^+ veya $(A_1+H)^+$ ve B_1^+ fragmentlerini; flavonoller $(A_1+H)^+$ ve B_2^+ fragmentlerini; flavanonlar A_1^+ , $(A_1+H)^+$

ve $(B_1+2H)^+$ fragmentlerini ve dihidroflavonoller ise A_1^+ ve $(B_1+ H_2O)^+$ fragmentlerini oluştururlar [7,13,20].



Şekil 2.7. Flavonoitlerin kütle fragmentleri

2.2. Karbonhidratlar

Karbonhidratlar doğal ürünlerde en çok bulunan birincil metabolit bileşiklerindedir. 19. yüzyılda karbonhidratların genel formülleri $C_n(H_2O)_n$ olarak belirlenmiştir. Bu formüle göre ‘karbonun hidratları’ olduğu düşünüldüğünden dolayı karbonhidratlar adı verilmiştir. Daha sonra bu bileşiklerin hidroksi aldehit ya da keton veya ‘karbonun hidratı’ ampirik formülüne sahip olması gerekmediğini kabul etmişlerdir. Daha doğrusu bileşikler polihidroksi aldehit ya da keton türevleri olabilir ve karbonhidrat özellikleri içerebilirler [21]. Karbonhidratların bugünkü tanımı monosakkarit, oligosakkarit ve polisakkaritleri içine alan daha büyük bir aile olduğudur [22]. Karbonhidratlar genellikle polihidroksi aldehitler ve ketonlar veya hidroliz edildiklerinde polihidroksi aldehitleri veya ketonları veren bileşikler olarak tanımlanırlar [23].

Karbonhidratlar bitkilerin organik içeriklerinde en çok bulunanlardır [23]. Karbonhidratların enerji depolama yöntemleri (fotosentez) ve biyolojik temelin oluşumunda (2-deoksiriboz; DNA ya da N-asetil glikozamin; murein) yapısal anahtar olarak rol oynadığı genel bir bilgidir. Karbonhidratlar ve karbonhidrat içeren yapısal

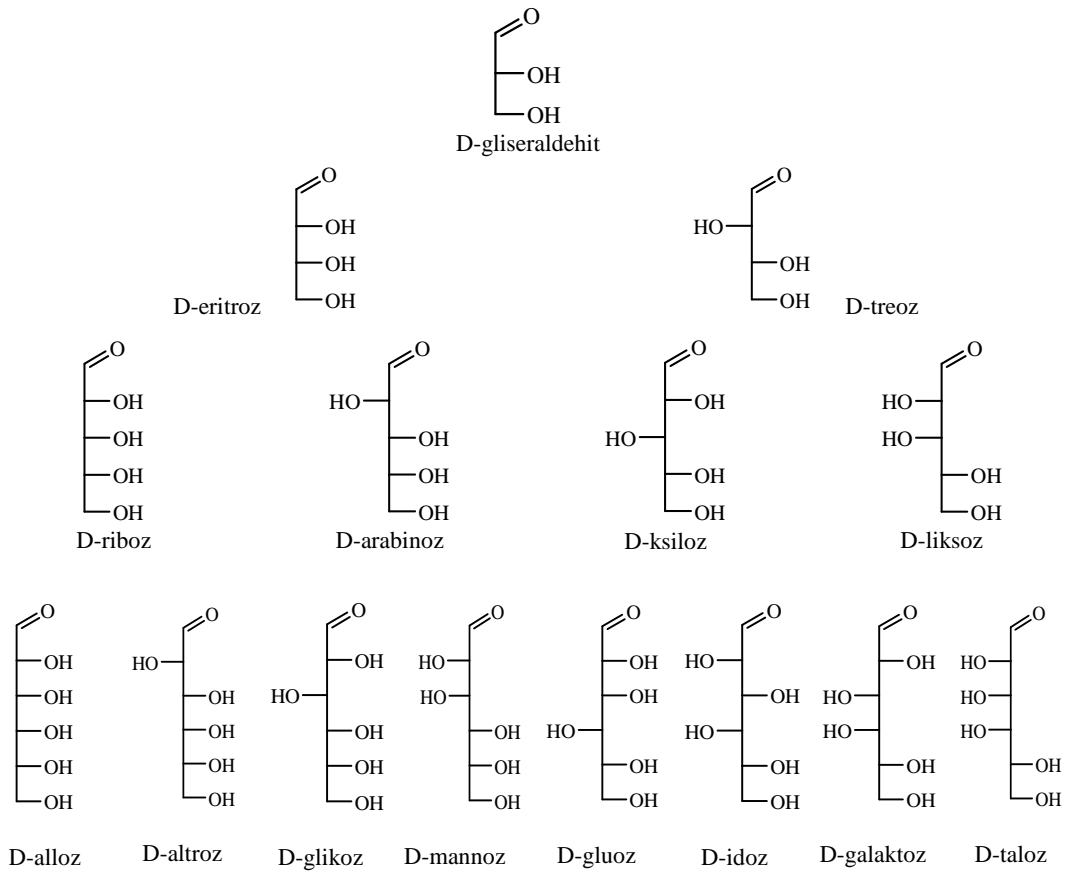
kısımlar aynı zamanda daha aktif biyokimyasal ve biyoorganik yöntemler de gerektirir. Karbonhidratlar monomer, oligomer, polimer ya da biyopolimer bileşenleri ile diğer doğal yoldan meydana gelen maddelerin yapısında bulunurlar. Doğal ürünlerin etki alanı olarak taşıyıcı moleküllerin fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerinde rol oynarlar. Ayrıca, hücre taşıma ve birleşme içeren tüm hücrelerin bazı yapılarında bulunurlar. Peptido- ve proteoglikanlar, glikoproteinler, nükleik asitler, lipopolisakkarit veya glikopeptitler örnek olarak verilebilir. Aynı zamanda hücre-hücre etkileşimlerinde de tanınma ve özgünlük bakımından önemli unsurlardır [24].

Karbonhidratlar bütün hücrelerin temel enerji kaynağıdır. Ayrıca polisakkaritler, örneğin; selüloz, pektin ve ksilen, bitkilerin yapısını belirler. Kitin; yengeç, istakoz ve böceklerde dış kabuk iskeletinin esas bileşenidir. Yapısal kısımları oluşturma ve enerji depolama rollerinden başka, sakkaritler geniş biyolojik yöntemlerde kapsanırlar [22].

Daha basit karbonhidratlara hidroliz edilemeyen en basit karbonhidratlara monosakkaritler; yapısal olarak, hidrolizlendiklerinde yalnızca iki molekül monosakkarit verenlere disakkaritler; 2-10 molekül monosakkarit verenlere oligosakkaritler ve daha fazla sayıda monosakkarit verenlere ise polisakkaritler denir [23].

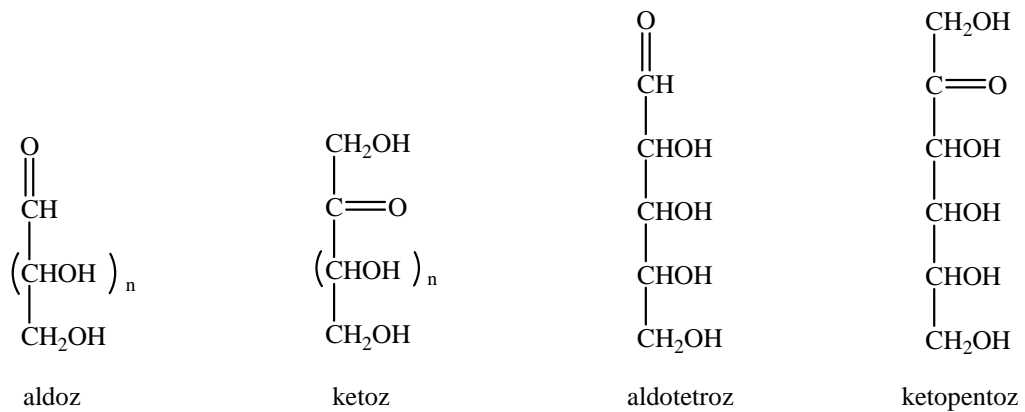
2.2.1. Monosakkaritler

Monosakkaritler bazen halka yarı-asetal yapısında bulunan kiral polihidroksi karbonil bileşikleridir. Monosakkaritler halka yapılarında aldehit ya da keto grubu bulunup bulunmamalarına göre iki ana sınıfa ayrılabilirler. Aldehit grubu içeren monosakkaritlere ‘‘aldoz’’; bir keto grubu içerenlere ise ‘‘keto’’ denir [22]. Bunlar 3-10 karbon atomu içeren monomerik zincirdeki karbon atomlarının sayısına göre, sırasıyla trioz, tetroz, pentoz, heksoz, vs. olarak adlandırılır (Şekil 2.8).



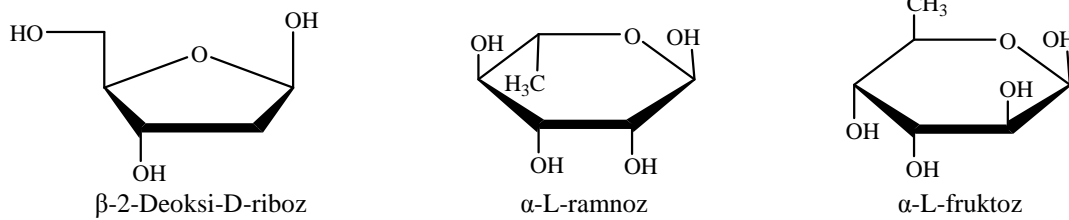
Şekil 2.8. D-aldozların halka yapıları

Bu iki sınıflandırma çoğu zaman Şekil 2.9'da gösterildiği gibi aldotetroz veya ketopentoz olarak birleştirilebilir [23].



Şekil 2.9. Monosakkaritlerin sınıflandırılması

Monosakkaritlerin, –OH grupları –H ile yer değiştirmiş olanlarına deoksi şekerler denir. En önemli deoksi şeker DNA’da bulunan deoksiribozdur. Polisakkaritlerde yaygın olarak bulunan diğer deoksi şekerler; L-ramnoz ve L-fruktozdur [23].



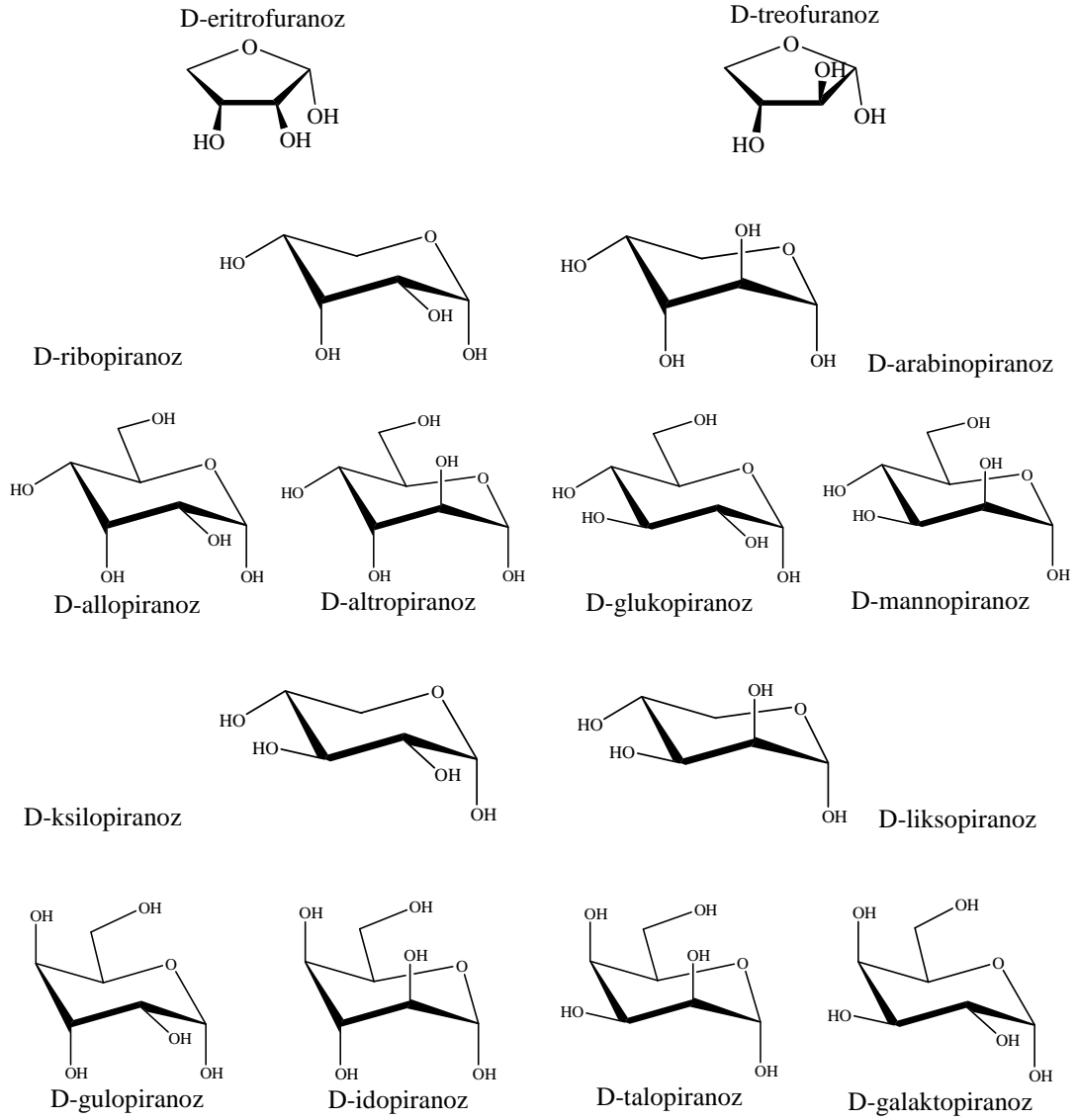
Şekil 2.10. Bazı önemli deoksi şekerler

D-(+)-glikozun halkalı yapıları olan yarı-asetaller, C-5’deki –OH grubunun aldehit grubuyla molekül içi bir tepkime vermesiyle oluşurlar. C-1’deki halkalaşma yeni bir stereomerkez yaratır ve bu stereomerkez iki farklı halkalı yapının nasıl olduğunu açıklar. Bu iki halkalı yapı sadece C-1’in konfigürasyonu farklı olan diastereomerlerdir. Karbonhidrat kimyasında bu tür diastereomerlere anomerler ve yarı-asetal karbonuna anomerik karbon atomu denir. Her bir glikoz anomeri, C-1’deki OH grubunun konumuna göre α -anomer veya β -anomer olarak belirtilir [23].

Karbohidatların hepsi altı üyeli yarı-asetal halkaları ile dengede olmadığından, halka büyüklüğünü de belirlemeye imkan sağlayan bir adlandırma sistemi öne sürülmüştür. Altı üyeli monosakkarit halkası piranoz; beş üyeli monosakkarit halkası ise furanozdur (Şekil 2.11) [23].

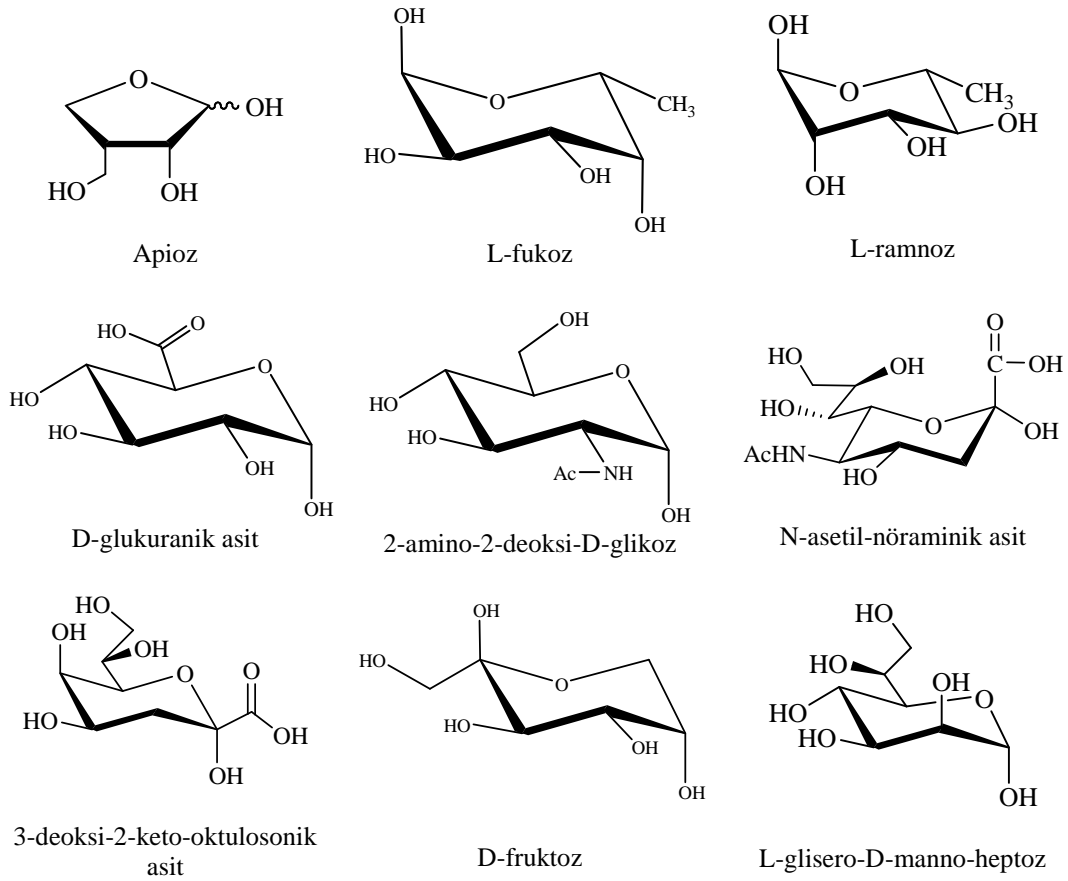
2.2.2. Disakkaritler

Disakkaritler iki monosakkaritin bir araya gelmesiyle oluşan ve karbonhidratların beş kimyasal grubundan biri olan (monosakkaritler, disakkaritler, oligosakkaritler, polisakkaritler, multidisakkaritler) şekerlerdir. Disakkaritler, iki monosakkarit doğrudan anomerik merkezlerinden bağlandığında indirgenmemiş disakkarit; monosakkaritlerden biri anomerik merkezden bağlanırken diğeri herhangi bir hidroksil grubundan bağlandığında ise indirgenmiş disakkaritler olmak üzere iki çeşidi vardır.



Şekil 2.11. D-aldozların halka yapıları

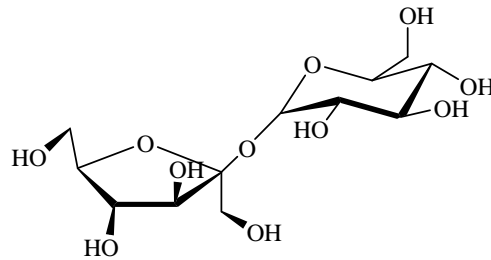
Glikozidik bağ, monosakkarit bileşenlerinin farklı hidroksil grupları arasında düzenlenebilir. Böylece disakkaritler iki şeker bileşeni aynı olsa bile farklı bağ kombinasyonları (regiokimya) ve stereokimyaya (α/β) sahip olurlar. Bunun sonucunda farklı fiziksel ve kimyasal özelliklere sahip olan diostereoizomer disakkaritler oluşur.



Şekil 2.12. Bazı doğal karbonhidrat bileşikleri

2.2.2.1. Sakkaroz

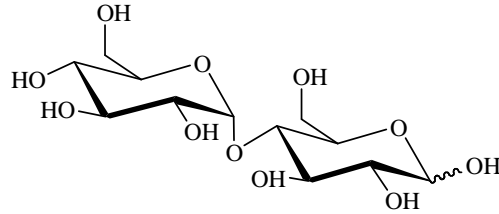
Bildiğimiz çay şekeri sakkaroz, fotosentez yapan tüm bitkilerde bulunan ve ticari olarak şeker kamışı ve pancarından elde edilen en yaygın disakkarittir ve $C_{12}H_{22}O_{11}$ molekül formülüne sahiptir. Bir mol sakkarozun asit katalizli hidrolizi bir mol D-glikoz ve bir mol D-fruktoz verir. İndirgen bir şeker olmayan sakkaroz, glikozit kısmında α konfigürasyon; fruktozit kısmında ise β konfigürasyon içerir [23].



Şekil 2.13. (+)-Sakkaroz; (α -D-glukopiranozil- β -D-fruktofuranozit)

2.2.2.2. Maltoz

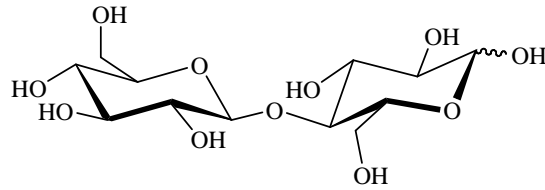
Nişastanın diastaz enzimiyle hidrolizlenmesi sonucu oluşan maltoz disakkaritinin bir molu asit katalizli olarak hidrolizlendiğinde iki mol D-(+)-glikoz verir. Sakkarozun aksine maltoz indirgen bir şekerdir ve α -glikozidik bağ konfigürasyonu içerir [23].



şekil 2.14. (+)-Maltozun β -anomer yapısı; 4-*O*-(α -D-glukopiranozil)- β -D-glulopiranoz

2.2.2.3. Sellobiyoz

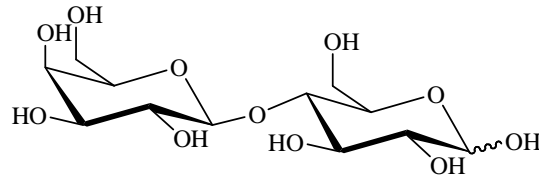
Selülozun kısmi hidrolizi sellobiyoz disakkaritini verir. Yapısal formülü $C_{12}H_{22}O_{11}$ 'dir. Sellobiyoz, glikozit bağının konfigürasyonu dışında her bakımdan maltoza benzer. Maltoz gibi indirgen bir şekerdir ve asit katalizli hidrolizinde iki eşdeğer mol D-glikoz verir ve β -glikozidik bağ içerir [23].



şekil 2.15. Sellobiyozun β -anomer yapısı; 4-*O*-(β -D-glukopiranozil)- β -D-glukopiranoz

2.2.2.4. Laktoz

Laktoz insanların, ineklerin ve bütün memelilerin sütünde bulunan bir disakkarittir. Laktoz, D-glikoz ve D-galaktoza hidrolizlenen indirgen bir şekerdir ve β glikozidik bağ içerir [23].



Şekil 2.16. Laktozun β -anomer yapısı; 4-O-(β -D-galaktopiranozil)- β -D-glukopiranoz

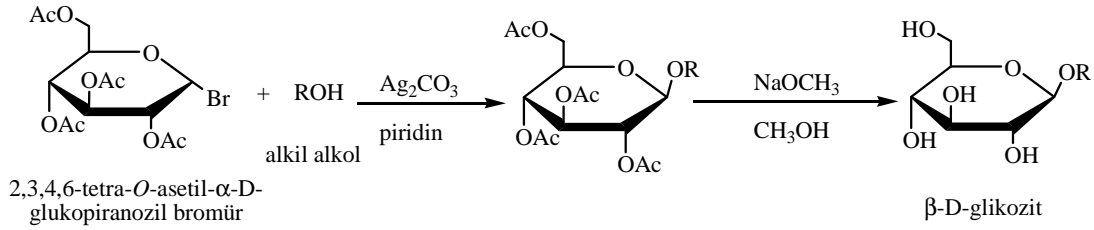
2.2.3. Oligosakkaritler

Oligosakkaritlerin kimyasal sentezi peptitler ve nükleik asitler gibi diğer biyopolimerlerin sentezinden çok daha karmaşıktır. Kompleks oligosakkaritlerin hazırlanmasındaki zorluk oligosakkarit formları ile monomerik birimlerin bağlanmasında daha fazla olasılıkların meydana gelmesidir. Ayrıca glikozidik bağlanma stereoözlük (α/β) ve seçicilik içerir [22].

2.3. Glikozitler ve glikozit bağı oluşumu

Glikozitler asetal olarak indirgenmiş (anomerik) karbona bağlanan, karbonhidrat haricindeki grupları da içeren şekerlerdir. Yarı-asetallerin bir alkol ile reaksiyonu sonucu oluşan ürün asetaldir. Yarı-asetaller karbonhidrat, alkol veya fenolik bileşik ise karbonhidrat olmadığından dolayı oluşan ürüne glikozit denir. Glikozitlerin karbonhidrat içermeyen kısmına ise aglikon denir [21].

Glikozitlerin sentezi için çeşitli metotlar ortaya konulmuştur. Koenigs ve Knorr 2,3,4,6-tetra-*O*-asetil- α -D-glukopiranozil bromür ile alkil alkolün piridin içerisinde, gümüş karbonat katalizörlüğünde reaksiyonu sonucu β -glikozitleri hazırlamışlardır. Bu genel reaksiyon Koenigs-Knorr metodu olarak bilinir. Bu reaksiyon β -anomer yapısı verir, ayrıca alkil ve aril glikozitlerin hazırlanması için kullanılabilir. Bu metot β -glikozit komplekslerinin sentezi için sıklıkla kullanılır. Glikozil bromürler klorürlerden daha hızlı reaksiyon verir. Glikozil iyodürler aşırı reaktif ve kararsızdırlar. Glikozil florürler ise; Koenigs-Knorr reaksiyon şartları altında reaktif değildirler [22].



Şekil 2.17. Koenigs-Knorr reaksiyonu

Monomerik birimler glikozidik bağlarla birbirlerine bağlanırlar. Bu bağlar, monomerlerin C-1 atomuna bağlı hidroksil grubunun bağlanma şekline göre α veya β glikozidik bağlar olabilir. Monomerler α bağlarla doğrudan bağlanabilirler ancak β bağların şekillenmesinde, bir monomerin (-OH) grubu, komşu monomerin (-OH) grubu ile ilişki kurmak için 180° döner.

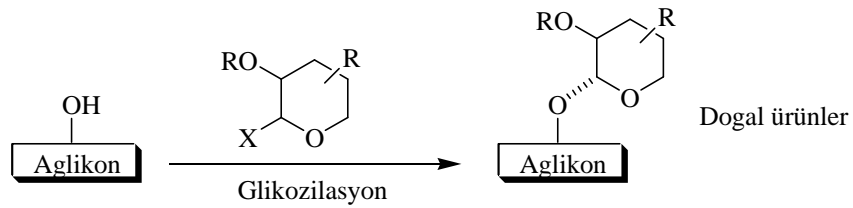
Glikozidik bağlar, farklı görev ve özelliklere sahip birçok daha geniş molekülün oluşmasında iki veya daha fazla alt birimin bağlanmasında görevlidirler. Ayrıca bu bağlar, yapı ve görevleri sırasında kullanılan, bileşikler arasındaki farkın ayırt edilebilmesini sağlarlar. Son olarak, α -glikozidik bağlarla bağlanmış moleküller, metabolizmada kolayca değişirler. β -glikozidik bağlar daha güçlü glikozidik bağları güçlendirirler.

Şeker birimleri arasındaki glikozidik bağ oluşumu, genellikle anomerik merkezinde ayrılma potansiyeli olan bir grup içeren tamamı korunmuş bir glikozil verici ile genelde yalnız bir serbest hidroksil grubu içeren uygun şekilde korunmuş glikozil alıcılarla gerçekleştirilir. En yaygın kullanılan glikozilasyon metotlarında, glikozilleme reaktifi olarak karbonhidratların anomerik halojenür türevleri kullanılır. Ancak bu bileşikler çoğunlukla kararsızdır ve hazırlanmaları zorlayıcı şartlar gerektirir. [22].

2.3.1. *O*-Glikozilleme

Karbonhidratlar aktif hücre zarı taşımacılığı ve enzim inhibisyonu gibi çeşitli işlemlere katkıda bulunarak birçok ilacın çalışma şeklinde aktif rol oynar. Biyolojik olaylardaki öneminden dolayı, farklı şeker kısımlarına ya da diğer moleküllere

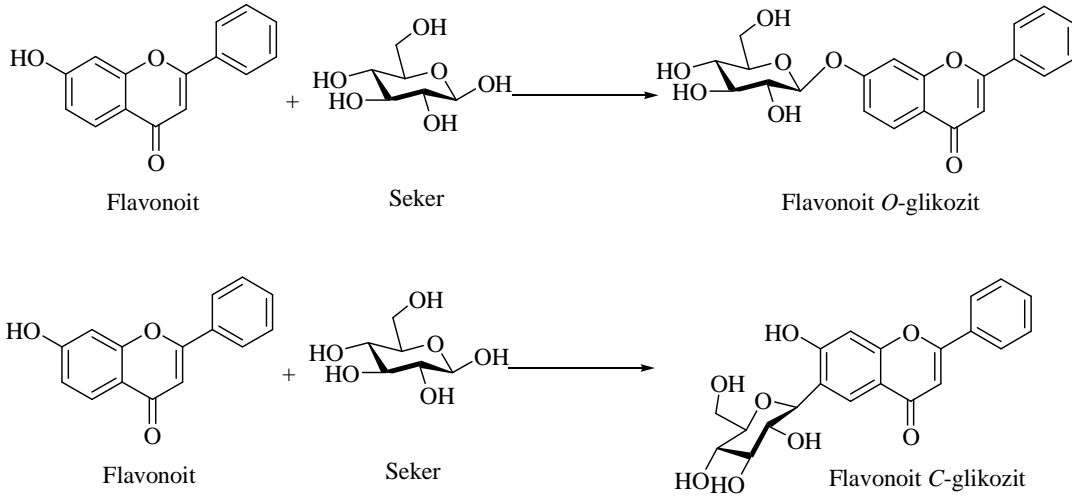
(aglikon) şeker bağlamak için sentetik organik yöntem olan *O*-glikozilasyon oldukça önemlidir. 1901’de ortaya konan Koenigs-Knorr metodunun büyük tarihsel atılımından beri tüm dikkatler *O*-glikozilasyon metodunun etkinliğine yöneltildi. Sentetik açıdan *O*-glikozilasyon reaksiyonu genelde yüksek kimyasal verim, regioseçicilik ve stereoseçicilik içerir. Bunlar arasında, glikozil alıcıları hidroksil gruplarının seçici korunmasında yüksek regioseçicilik kolayca farkedilir. Bu nedenle birçok organik kimyacı, bu reaksiyonun yüksek kimyasal verim ve yüksek regioseçiciliğini geliştirmeye odaklanmıştır [24].



Şekil 2.18. Doğal ürünlerin sentezinde kullanılan glikozilasyon reaksiyonu

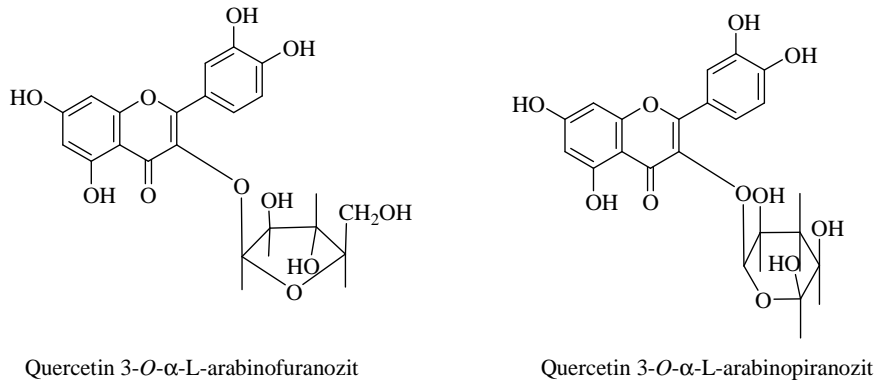
2.4. Flavonoit Glikozitler

Flavonoit glikozitler, aglikon molekülünün farklı pozisyonlarına bir veya birkaç şeker grubunun bağlanmasıyla oluşan bileşiklerdir. Flavonoit glikozitler, şeker molekülünün aglikon molekülüne bağlanma özelliğine göre *O*- ve *C*- glikozitler olarak iki gruba ayrılırlar. Flavonoit *O*-glikozitler şeker veya şekerlerin, aglikonun fenolik veya alkolik hidroksil grubuna, hemiasetal bağ aracılığı ile bağlanmasından oluşan bileşiklerdir. Flavonoit *C*-glikozitler ise şeker biriminin, C-1 atomu üzerinden, karbon-karbon bağı yaparak flavonoit 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 2.19’da gösterilmiştir [1].



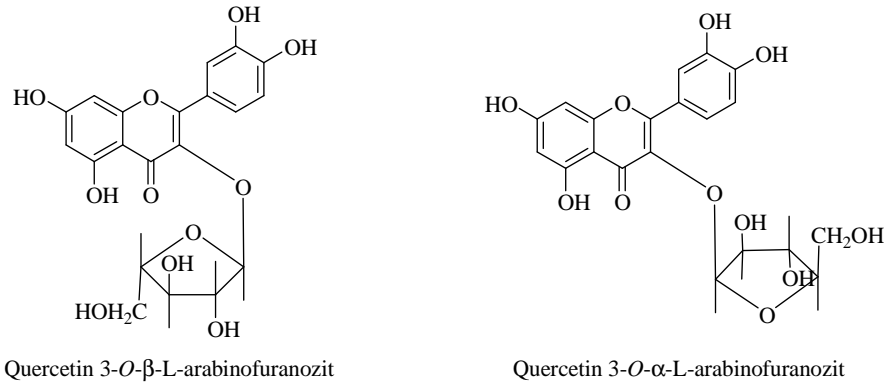
Şekil 2.19. Flavonoit *C*- ve *O*-glikozitlerin oluşumu ve yapısı

Flavonoit glikozitler, yapılarında bulunan şekerlerin türüne, tautomer formuna, hemiasetal hidroksil grubunun konfigürasyonuna göre sınıflandırılırlar. Flavonoit glikozitler, yapılarında yer alan monosakkaritlerin tautomer formuna göre, piranozit veya furanozit olarak tanımlanırlar. Örnek olarak, α -L-arabinozun değişik tautomer formlarında (furanoz veya piranoz) quercetin molekülünün aynı pozisyonuna bağlanmasından iki farklı bileşik: quercetin 3-*O*- α -L-arabinofuranozit (avicularin) ve quercetin 3-*O*- α -L-arabinopiranozit (guajaverin) oluşur (Şekil 2.20). Bu bileşikler birbirinden fizikokimyasal özellikleri ile de farklılık gösterirler. Guajaverinin erime noktası 256-259°C iken avicularinininki ise 222-223°C'dir [1].



Şekil 2.20. Flavonoitlerin, tautomer glikozit (furanozit ve piranozit) yapıları

Flavonoit glikozitler, yapılarında bulunan şekerin yarı asetal hidroksil grubunun konfigürasyonuna bağlı olarak da 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 (polystachiosid) gösterilebilir (Şekil 2.21).



Şekil 2.21. Flavonoitlerin α - ve β -glikozit yapıları

Flavonoit glikozitler, yapılarında bulunan şekerin yapısına göre pentozitler (arabinozitler, ksilozitler vb.) ve heksozitler (glikozitler, galaktozitler, fruktozitler vb.) olarak da gruplandırılabilirler.

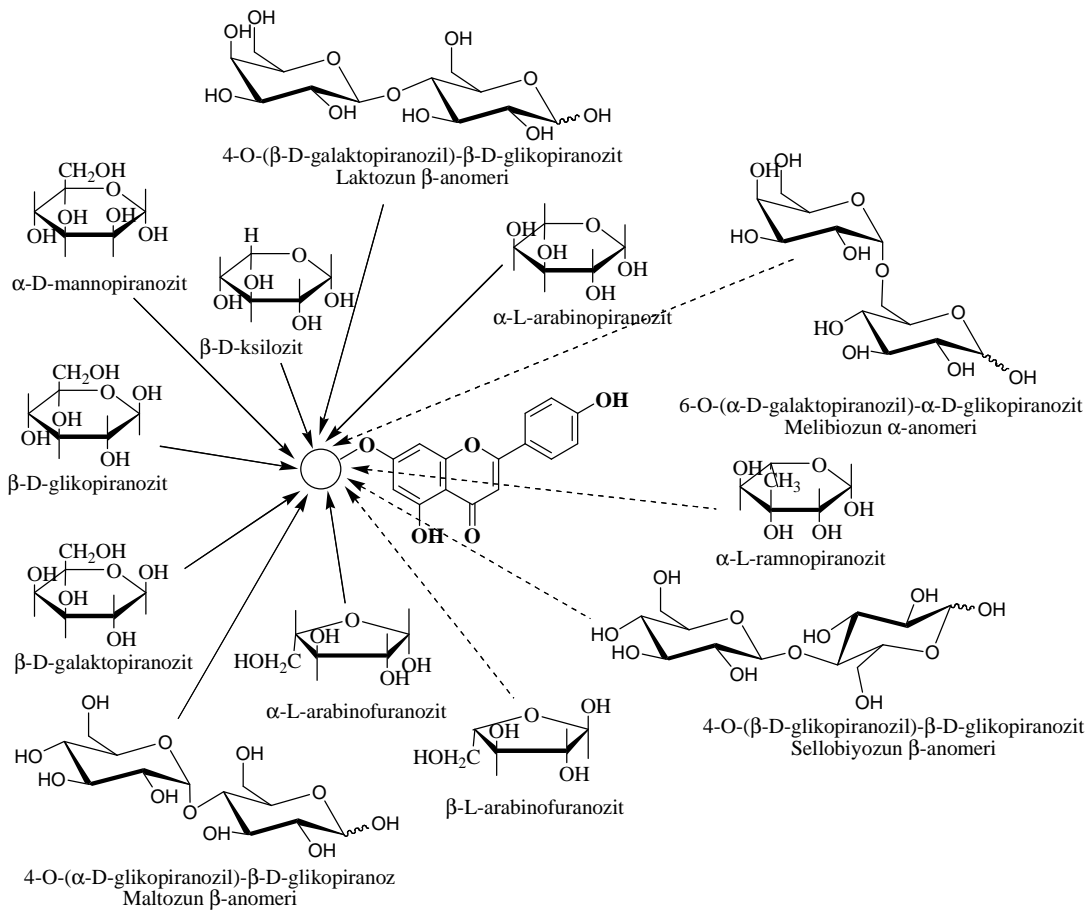
Doğada bulunan flavonoit glikozitlerin çoğu monosakkarit grupları içerirler. Ancak yapılarında oligosakkaritlerin (disakkarit, trisakkarit, vb.) yer aldığı glikozitler de bitki âleminde yaygındır. Molekülünde monosakkarit, disakkarit veya trisakkarit içeren flavonoit glikozitlere, sırayla monoit, bioit ve trioit denir. Aglikon molekülünün iki hidroksil grubunun glikozillenmesinden oluşan glikozitlere ise diglikozit veya bimonozitler denir [1].

2.4.1. Flavonoit O-glikozitler

Flavonoitler doğada çoğunlukla O-glikozitler halinde yaygındırlar. Flavonoit O-glikozitler aglikon molekülünün bir veya daha fazla hidroksil grubuna şekerlerin, asite karşı dayanıksız hemiasetal bağ aracılığıyla bağlanmasından oluşan doğal bileşiklerdir. Flavonoit aglikonların yapısında farklı pozisyonlarda bulunan 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 dihidroflavanollerde C-3 ve C-7; antosiyanidinlerde ise C-3 ve C-5 pozisyonlarındaki hidroksil grupları daha kolay glikozillenirler.

Doğada çok değişik yapılara sahip flavonoit *O*-glikozitler tespit edilmiştir. Flavonoit glikozitlerin yapı çeşitliliğinin, aglikonun aynı veya değişik pozisyonlarına çeşitli şekerlerin farklı tautomer formlarında ve konfigürasyonlarda bağlanmasından kaynaklanır. Apigeninin (5,7,4'-trihydroxyflavon) C-7 pozisyonuna değişik monosakkarit ve disakkarit birimlerinin bağlanmasından oluşan glikozitlerin bazıları Şekil 2.22'de verilmiştir [1].



Şekil 2.22. Apigeninin 7- pozisyonuna bağlanabilen bazı şeker birimleri ve yapıları

Flavonoit glikozitlerin yapılarındaki şekerler mono-, di- ve oligosakkaritler halinde bulunurlar. Ancak monosakkarit birimleri içeren glikozitler doğada daha yaygındır. Glikozit yapılarında monosakkaritlerden D-glikoza daha sık rastlandığı tespit edilmiştir. Bitkilerden izole edilen glikozitlerin yapısında D-glikozdan başka, pentozlardan L-arabinoz, L-ramnoz, D-ksiloz ve D-apioz; heksozlardan ise D-galaktoz, D-mannoz ve D-aloza da rastlanır. Yapılarında D-galakturonik ve D-glukuronik asitleri içeren glikozitler de doğada bulunmuştur. Bu monosakkaritler glikozit yapılarında genellikle piranoz formunda bulunurlar. Ancak, arabinoza glikozit yapılarında hem piranoz, hem de furanoz formunda rastlanır. Örnek olarak, quercetin glikozitleri olan 3-*O*- α -L-arabinofuranozit (avicularin) ve 3-*O*- α -L-arabinopiranoziti (guaijaverin) gösterebiliriz (Bkz. Şekil 2.8). Ayrıca, flavonoit glikozitlerin yapılarında, şekerler aglikona genellikle β -konfigurasyonunda bağlanır. Ancak, α -konfigurasyonlu glikozit bağına sahip *O*-glikozitler: L-ramnozit ve L-arabinozitler de bilinmektedir.

Günümüze kadar flavonoit *O*-glikozitlerin (flavon ve flavonollerin) yapılarında 41 disakkarit tespit edilmiştir. Bu disakkaritler yapılarındaki monosakkaritlerin bağlanma düzenine göre pentoz-pentoz, pentoz-heksoz, heksoz-pentoz, heksoz-heksoz, pentoz-uronik asit ve uronik asit-uronik asit gruplarına ayrılırlar. Flavonoit *O*-glikozitlerin bileşeni olarak belirlenen disakkaritlerin yapıları ve geleneksel isimleri Tablo 2.4'te verilmiştir.

Disakkaritlerin yapısında bulunan monosakkaritler daha çok β -bağı ile bağlanmış haldedir. Ancak, yapılarında monosakkarit birimlerinin α -bağı ile bağlandığı disakkaritler de doğada bilinmektedir. α -bağlı disakkaritlerin çoğu α -L-ramnozun çeşitli monosakkaritlerle oluşturduğu disakkaritlerdir.

Yapılarında monosakkarit birimleri α -bağı üzerinden bağlanmış disakkaritlerden rutinoz, sambubioz ve neohesperidoza flavonoit glikozitlerin yapılarında daha sık rastlanır [1].

Bitkilerde, düz zincirli ve dallanmış trisakkarit içeren flavonoit glikozitler ile dallanmış tetrasakkarit içeren flavonoit glikozitlere daha az rastlanmaktadır [1].

Tablo 2.4. Flavon ve Flavonol yapılarında bulunan disakkaritler

Disakkaritlerin Yapısı	Geleneksel İsimleri
pentoz-pentoz	
<i>O</i> - β-D-apiofuranozil-(1→2)-ksiloz	
<i>O</i> - α-L-ramnozil-(1→2)-arabinoz	
<i>O</i> - α-L-ramnozil-(1→2)-ramnoz	
<i>O</i> - α-L-ramnozil-(1→3)-ramnoz	
<i>O</i> - α-L-ramnozil-(1→4)-ramnoz	
<i>O</i> - α-L-ramnozil-(1→4)-ksiloz	
<i>O</i> - α-L-ramnozil-(1→2)-ramnoz	
<i>O</i> - β-D-ksilozil-(1→2)-ramnoz	
<i>O</i> - β-D-ksilozil-(1→3)-ramnoz	
pentoz-heksoz	
<i>O</i> - α-L-arabinozil-(1→6)-glikoz	Vicianoz
<i>O</i> - α-L-arabinozil-(1→6)-galaktoz	
<i>O</i> - α -D-ksilozil-(1→2)-glikoz	Sambubioz
<i>O</i> - β-D-ksilozil-(1→6)-glikoz	
<i>O</i> - β-D-ksilozil-(1→2)-galaktoz	Lathyroz
<i>O</i> - β-D-apiofuranozil-(1→2)-glikoz	
<i>O</i> - β-D-apiofuranozil-(1→2)-galaktoz	
<i>O</i> - α-L-ramnozil-(1→2)-glikoz	Neohesperidoz
<i>O</i> - α-L-ramnozil-(1→3)-glikoz	Rungioz
<i>O</i> - α-L-ramnozil-(1→6)-glikoz	Rutinoz
<i>O</i> - α-L-ramnozil-(1→2)-galaktoz	
<i>O</i> - α-L-ramnozil-(1→6)-galaktoz	Robinobioz
heksoz-pentoz	
<i>O</i> - β-D-glikozil-(1→2)-ramnoz	
<i>O</i> - β-D-glikozil-(1→3)-ramnoz	
<i>O</i> - β-D-glikozil-(1→4)-ramnoz	
<i>O</i> - β-D-glikozil-(1→2)-ksiloz	
<i>O</i> - β-D-galaktozil-(1→3)-ramnoz	
<i>O</i> - β-D-galaktozil-(1→4)-ramnoz	

Tablo 2.4.(Devam) Flavon ve Flavonol yapılarında bulunan disakkaritler

Disakkaritlerin Yapısı	Geleneksel İsimleri
heksoz-heksoz	
<i>O</i> - β-D-glikozil-(1→2)-glikoz	Sophoroz
<i>O</i> - β-D-glikozil-(1→3)-glikoz	Laminaribioz
<i>O</i> - β-D-glikozil-(1→6)-glikoz	Gentiobioz
<i>O</i> - β-D-glikozil-(1→2)-galaktoz	
<i>O</i> - β-D-glikozil-(1→6)-galaktoz	
<i>O</i> - β-D-galaktozil-(1→4)-glikoz	Laktoz
<i>O</i> - β-D-galaktozil-(1→6)-glikoz	
<i>O</i> - β-D-galaktozil-(1→4)-galaktoz	
<i>O</i> - β-D-galaktozil-(1→6)-galaktoz	
<i>O</i> - β-D-allozil-(1→2)-glikoz	
<i>O</i> - β-D-mannozil-(1→2)-alloz	
pentoz-uronik asit	
<i>O</i> - α-L-ramnozil-(1→2)-galakturonik asit	
uronik asit-uronik asit	
<i>O</i> - β DL-glukuronozil-(1→2)-glukuronik asit	

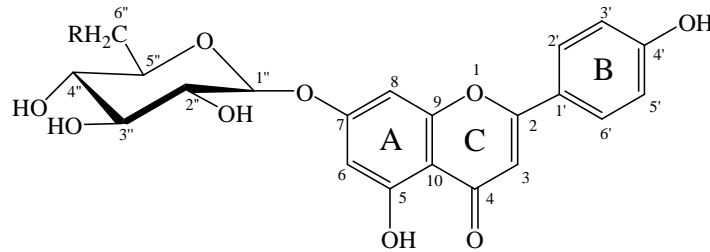
O-glikozitlerin yapısında, farklı pozisyonlarda bağlı bulunan monosakkarit sayısı en fazla altı olabilir. Ancak, şeker birimlerinin aglikona bağlanma pozisyonlarının sayısı genellikle bir veya iki, çok nadiren üç olabilir. Flavonların C-3 pozisyonunda hidroksil grubu bulunmadığından, şeker birimleri 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 gösterirler [1]. Flavonoitlerde glikozit oluşumu flavonoite düşük reaktivite, suda daha çok çözünme ve bu özelliklerden dolayı da hücre içinde depolanma özelliği verir. Flavonoit halkası üzerindeki hidroksil gruplarının herhangi birisi glikozilasyona girebilmesine karşın, bazı hidroksi gruplarının glikozilasyona girebilme ihtimalleri

daha yüksektir. Örneğin; flavonlarda, izoflavonlarda ve dehidroflavonlarda 7-hidroksil grubu, flavonol ve dihidroflavonlarda 3,7-hidroksil grupları, antosiyanidinlerde 3,5-hidroksil grupları gibi. Şeker grubu olarak glikoz çok yaygın olarak, galaktoz, ramnoz, ksiloz ve arabinoz yaygın olarak glikozit oluşturmaktadır. Alloz, mannoz, fruktoz, apioz, gluktronik ve galaktronik asit çok yaygın olarak glikozit oluşturmazlar [7,13].

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

Glikozitler açılasyon gibi değişik modifikasyon gösterirler. Açılınmış glikozitler, bir veya daha fazla şeker hidroksil grubunun asetik asit veya ferulik asit gibi bir asitle türev oluşturmasıyla oluşur. Oluşan bağ ester bağıdır. Şeker asit tarafından esterleştirilmiştir (Şekil 2.23) [13].



R=H, Apigenin 7-*O*-β-D-glikopiranozit

R=OCOCH₃, Apigenin 7-*O*-β-D-(6''-*O*-asetil)-glikopiranozit

Şekil 2.23. Flavonoit *O*-glikoziti

Açılınmış *O*-glikozitler, flavonoit *O*-glikozit yapısındaki şeker birimlerine veya nadir hallerde aglikonun hidroksil grubuna, alifatik veya aromatik asitlerin ester bağı ile bağlanmasından oluşan bileşiklerdir ve doğada yaygındırlar. Açıl glikozitlerin yapısındaki şeker biriminin pozisyonlarını göstermek için, şeker biriminin karbon atomlarının numaralanması gerekir. Aglikon yapısındaki B halkasının karbon

atomları üssü (') rakamlarla numaralandığından, şeker biriminin karbonları iki üssü (") rakamlarla gösterilir (Şekil 2.23) [1].

2.4.2. Flavonoit C-glikozitler

Flavonoit C-glikozitler, şeker birimi veya birimlerinin, aglikonun aromatik halkalarına C-6 ve C-8 pozisyonlarına doğrudan karbon-karbon bağı ile bağlanmasıyla oluşan bileşiklerdir. Flavonoit C-glikozitlerin bazı kimyasal özellikleri, şeker biriminin aglikona bağlanma tipine bağlı olarak, O-glikozitlerden farklıdır. Karbon-karbon bağıyla oluşan C-glikozitlerine nazaran aside dayanıklıdır [7]. Örneğin; C-glikozitler, O-glikozitlerin hidrolizlenme koşullarında hidrolizlenmezler [1]. O-glikozitler, 2N HCl-EtOH (1:1) içinde 4 saat ısıtılarak hidroliz olurken C-glikozit türevleri tamamen etkisizdir [9].

Flavonoit 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.

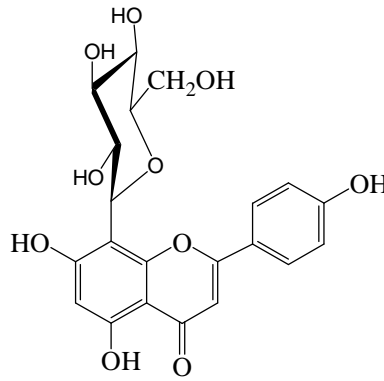
Günümüze kadar flavonoit C-glikozitlerin yapılarında, β -D-glukopiranoz, α -D-glukopiranoz, β -D-galaktopiranoz, β -D-ksilopiranoz, α -L-arabinopiranoz, β -L-arabinopiranoz ve α -L-ramnopiranoz vb. şeker birimleri tespit edilmiştir.

Doğal flavonoit C-glikozitler, yapı özelliklerine bağlı olarak, mono-C-glikozilflavonoitler, di-C-glikozilflavonoitler, O-glikozit-C-glikozilflavonoitler ve O-açıl-C-glikozilflavonoitler olmak üzere dört gruba ayrılırlar.

Flavonoitlerin mono-C-glikozitlerine, diğer C-glikozit gruplarına göre, doğada daha sık rastlanır. Mono-C-glikozilflavonoitlerin yapısında şeker birimi genellikle aglikonun C-6 veya C-8 pozisyonlarına bağlanmıştır. Benzer olarak doğada rastlanan di-C-glikozilflavonoitlerin yapısındaki şekerler de genellikle C-6- ve C-8- pozisyonlarında yer alırlar. Flavonoit sınıfları arasında flavonların C-glikozitlerine doğada daha çok rastlanır. 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].

C-glikozitleri, *O*-glikozitlerine nazaran sayıca daha az bulunur. *O*-glikozitlerinde olduğu gibi *C*-glikozitleri de *O*-glikozilasyon (şekerden veya fenolik hidroksillerden) veya açılasyon (şeker hidroksillerinden) türevleri halinde bulunabilirler (Şekil 2.24) [25].



Apigenin 8-*C*- β-*D*-glikopiranozit (viteksin)

Şekil 2.24. Flavonoit *C*-glikoziti

2.4.3. Flavonoit glikozitlerin spektroskopik özellikleri

2.4.3.1. ¹H NMR spektroskopisi

Son zamanlara kadar, flavonoit glikozitlerin ¹H NMR spektrumlarından, yapıda bulunan şeker birimleri hakkında elde edilen bilgiler çok sınırlıydı. Bunun nedenlerinden biri, kullanılan çözücünün (DMSO-*d*₆, heksadöterodimetilsülfoksit) hidroskopik özelliğinden dolayı zamanla mutlak kuru tutulma zorluğudur. Öyle ki, çözeltide bulunan suyun sinyalleri genellikle, düşük miktardaki 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 CDCl_3 de kolayca çözünür, şeker protonlarının sinyalleri spektrumda geniş bir alanda yer alır ve spektrometrenin aşağı alanında ayırt edilebilirler.

Flavonoitlere bağlı pek çok şeker C-H protonlarının kimyasal kayma değeri 3.5-4 ppm'dir. Aglikon yapılarına bağlı A- ve B- halka protonlarının kimyasal kayma değeri 6.0-8.0 ppm'dir. Asetat ($-\text{OCOCH}_3$) ve aromatik C- CH_3 protonlarının kimyasal kayma değeri ise 2.0 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 -bağlı glukopiranozitler, birbirinden kolayca ayırt edilebilirler. Bazı piranozitlerin H-1/H-2 etkileşme sabiti aşağıda verilmiştir [1].

1. Piranozitler

- 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. Furanozitler

- a. β -D-glikoz, β -D-galaktoz, β -D-ksiloz: 0-2 Hz;
- b. α -D-glikoz, α -D-galaktoz, α -D-ksiloz: 4-4.5 Hz;
- c. β -L-arabinoz: 4 Hz; α -L-arabinoz: 1 Hz.

Flavonoitlerin ^1H NMR spektrumları A Halkası Protonları, B Halkası Protonları, C Halkası Protonları, Şeker Protonları, Metoksil ve Asetoksil Protonları başlıkları altında açıklanabilir (Bkz. Şekil 2.5).

A Halkası Protonları: 5,7-dihidroksil substitusyonuna sahip flavon, flavonol ve izoflavonlarda C-6 ve C-8 proton sinyalleri $\delta = 6.0-6.5$ ppm arasında dublet olarak görülür ($J = 2.5$ Hz). H-6 dubleti H-8 dubletinden daha yukarı alanda görülür. C-7 konumuna şeker bağlandığında H-6 ve H-8 sinyalleri aşağı alana doğru kayarlar.

5,7-dihidroflavonon ve dihidroflavononollerde A halkası protonları flavon ve flavonollere göre daha yüksek alanda görülür. C-6 ve C-8 protonlarının sinyalinin çıktığı $\delta = 6.3$ ppm civarında C-3 proton sinyali singlet olarak görülür. 5,7-dihidroksil grubuna sahip flavonlarda C-6 ve C-8 protonları dublet oluşturdukları için ($J = 2.5$ Hz) kolayca C-3 protonu sinyallerinden ayırt edilebilirler [26].

A halkasında sadece 7 konumunda oksijenasyon varsa C-5 protonu 4-keto grubundan dolayı $\delta = 8.0$ ppm'de pik verir. C-5 protonu, C-6 protonuyla orto etkileşiminden dolayı dublet olarak görülür ($J = 9$ Hz). C-6 ve C-8 protonlarının sinyalleri 5,7-dihidroksi flavonoitlere nazaran daha düşük alanda görülür. 5-deoksiflavonoitlerde C-8 protonu C-6 protonundan daha yüksek alanda görülür [26].

B Halkası Protonları: $\delta = 6.7-7.9$ ppm arasında, A halkası protonlarından daha aşağı alanda ortaya çıkarlar. B halkası protonlarının sinyalleri, halkadaki hidroksil gruplarının konumlarına göre karakteristik olarak gözlenirler.

B halkası C-4' de hidroksil gurubu içeriyorsa iki adet dublet görülür ($J = 8.5$ Hz). C-3' ve C-5' protonlarının dubletleri, C-2' ve C-6' protonlarının dubletlerinde daha yukarı alanda görülür ($\delta = 6.65-7.1$ ppm). C-2' ve C-6' dubletlerinin yerleri C halkasının oksidasyon seviyesine bağlıdır. Genellikle $\delta = 7.1-8.1$ ppm arasında görülür [27].

B halkası C-3' ve C-4' konumlarında hidroksil grubu varsa spektrum 4'-hidroksil spektrumundan daha kompleks olur. 3',4'-dihidroksi flavon ve flavonollerde C-5' proton sinyali dublet olarak $\delta = 6.7-7.1$ ppm ($J = 8.5$ Hz) arasında görülür. C-2' ve C-6' protonlarının sinyallerinin yerlerinden 3'-metoksi-4'-hidroksi ve 4'-metoksi-3'-hidroksi substitusyonları birbirinden ayırt edilir. C-2' protonu sinyali 4'-metoksi grubu

olduğunda C-6' protonu sinyalinde daha yukarı alana kayar. 3'-metoksil olduğunda ise durum tam tersine olur.

3',4',5'-hidroksil gruplarına sahip flavonoidlerde C-2' ve C-6' proton sinyalleri $\delta = 6.5-7.5$ ppm arasında görülür [28].

C Halkası protonları: Flavonlarda C halkası C-3 protonu sinyali $\delta = 6.3$ ppm civarında keskin singlet olarak görülür. Bu bölge A halkası protonları için karakteristiktir. Diğer yandan izoflavonlardaki C-2 protonu sinyali $\delta = 7.6-7.8$ ppm'de görülür. Flavononlarda C-2 protonu quartet (iki dublet $J_{cis} = 5$ Hz, $J_{trans} = 11$ Hz) olarak $\delta = 5.2$ ppm'de görülür. C-3 protonları ise spin-spin etkileşmesinden dolayı $\delta = 2.8$ ppm'de görülür [28,29].

Şeker Protonları: Doğrudan flavonoid hidroksiline bağlanmış şeker grubunun C-1'' protonu kimyasal kayması, flavonoidin tipine, bağlanış pozisyonuna ve stereokimyasına bağlıdır. C-3 hidroksiline bağlı glikoz grubunun C-1'' protonu, C-4', C-5' veya C-7 hidroksil gruplarına bağlı glikoz protonundan kolayca ayırt edilebilir. Bu üç glikozitte C-1'' proton sinyali $\delta = 5.0$ ppm'de görünürken, 3-O-glikozitte C-1'' sinyali 5.8 ppm'de görülür [30].

Flavonoid glikozitlerinde glikoz genellikle β formundadır. B-bağlı şekerin C-1'', C-2'' protonu ile diaksiyel etkileşiminden dolayı dublet olarak görülür ($J = 7$ Hz). 7-O-flavonoid glikozitlerinde glikozil C-1'' protonu keskin dublet olarak görülmez. Fakat kompleks multipler verir. Şeker α -bağlı ile bağlanmış ise diekvatoryal etkileşimden dolayı $J = 2$ Hz bir dublet olarak gözlenir.

Flavonoid ramnozidler doğal olarak α -L-ramnozid şeklinde oluşur. Ramnozid C-1'' protonu C-2'' protonu ile ekvatoryal-ekvatoryal etkileşir ($J = 2$ Hz). 3- ve 7-O-ramnozidlerde C-1'' proton sinyali $\delta = 5.0-5.3$ ppm'de ortaya çıkar. Flavonoid ramnozidlerinin ^1H NMR spektrumlarında ramnoz metil protonları $\delta = 0.8-1.2$ ppm'de görülür. Kersetin 3-O-ramnozitteki ramnoz metil grubu $\delta = 0.85$ ppm'de keskin dublet verir ($J = 6.5$ Hz). Kersetin 3-glikozit-7-ramnozitte ise ramnozid metili $\delta = 1.2$ ppm'de kompleks sinyal verir.

7 ve 3-*O*-rutinozun ramnoz C-1'' protonu $\delta = 4.2-4.4$ ppm ($J = 2$ Hz) civarındaki sinyal ile karakterize edilir. $\delta = 0.7-1.0$ ppm'de ise yayvan metil piki görülür. 3-neohesperidozda ise ramnoz C-1'' protonu $\delta = 4.9-5.0$ ppm'de ($J = 2$ Hz) ve metil grubu $\delta = 1.1-1.3$ ppm'de dublet olarak ortaya çıkar ($J = 6$ Hz) [31].

Metoksil ve Asetoksil Protonları: Flavonoitlerde metoksil proton sinyali $\delta = 3.5-4.1$ ppm civarında görünürken, asetoksil protonları $\delta = 2.25-2.50$ ppm'de görünür.

Metoksil ve asetoksil gruplarının yerlerini tesbit etmek için flavonoit türevinin NMR spektrumu önce $CDCl_3$ 'de sonra C_6D_6 'da alınır. Benzende alınan spektrumda C-3 ve C-6 metoksil ve 5-asetoksil protonlarının sinyalleri $CDCl_3$ spektrumdakilere nazaran $\delta = 0.18$ ppm yukarı alana kayar. Diğer asetoksil ve metoksil pikleri 0.3 ppm yukarı alana kayar [32].

Diğer yandan C-2', C-4', C-5 ve C-7 konumlarında metoksil içeren flavon ve flavonollerde dötero benzende alınan spektrumda orto hidroksil ve metoksil yokluğunda 0.5-0.8 ppm yukarı alana kayar [32].

2.4.3.2. ^{13}C NMR spektroskopisi

^{13}C NMR spektroskopisi hidroksillenmiş ve/veya metoksillenmiş (oksijenlenmiş) flavonoitlerin incelenmesinde başarı ile kullanıldığı gibi, flavonoit molekülünde bulunan şeker birimlerinin belirlenmesi içinde çok yararlı bir metottur.

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

1. Flavonoit hidroksilinin *O*-glikozillenmesi, hidroksilin bağlandığı karbon sinyalini 2 ppm civarında yukarı, orto- ve özellikle para- pozisyonlarında bulunan karbon sinyallerini ise 1-4 ppm aşağı alana kaydırır.

2. C-glikozillenme, aglikonun şeker biriminin bağlandığı karbon atomu sinyalinin 10 ppm aşağı alana kaymasına neden olduğu halde, diğer karbon atomlarının sinyallerini etkilemez.
3. Şeker biriminin glikoz ile glikozillenmesi, karbon sinyalinin 8 ppm aşağı alana kaymasına, komşu karbon atomları sinyallerinin ise 1-3 ppm yukarı alana kaymasına neden olur.
4. Şeker birimlerinin açillenmesi (örneğin; asetat, benzoat, vb.) genellikle açillenen karbon atomu sinyalini yaklaşık 2 ppm yukarı alana, komşu karbon atomlarının sinyallerini ise 1-2 ppm aşağı alana kaydırır.

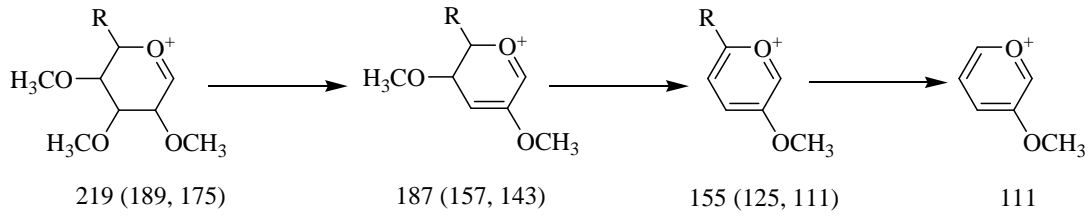
Tablo 2.5. Bazı flavonoit C- ve O- glikozitlerin şeker karbonlarının ¹³C NMR rezonansları

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	

2.4.3.3. Kütle spektroskopisi

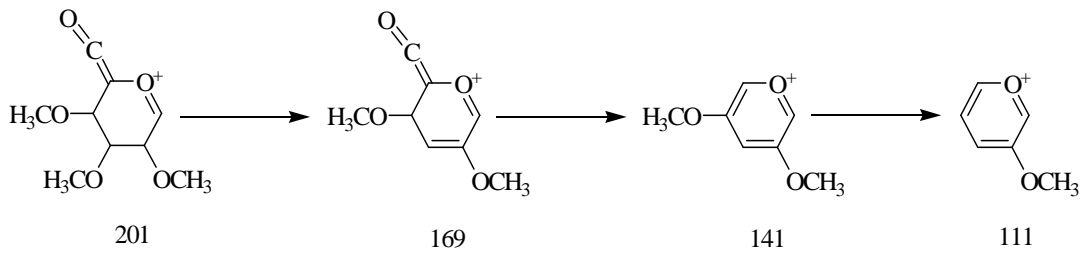
Flavonoitlerin 3-, 5- ve 4'-O-glikozitlerinin permetil (PM) veya perdöterometil (PDM) eterleri şeker birimlerini kolayca kaybederek genelde düşük şiddetli (%0.1-2) moleküler iyonlar verirler. Benzer 7-glikozitleri ise yüksek şiddete sahip (%10-90) normal moleküler iyonlar oluştururlar.

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



Şekil 2.25. Pentozit ve heksozitlerin kütle fragmentleri

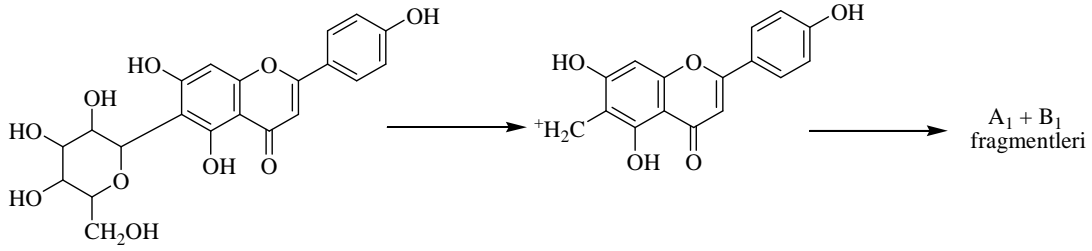
b. Glukuronitler



Şekil 2.26. Glukuronitlerin kütle fragmentleri

Permetillenmiş mono-*O*-glikozitlerden ayrılan şeker parçalarından MeOH birimleri ardı ardına kopar ve bu oluşan parçalar glikozit molekülünde bulunan şeker tipinin belirlenmesine yardım eder. Di- ve tri- glikozitlerde ise ayrı ayrı şekerlerin ardı ardına 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 birimini içeren aglikona uygun temel iyon piki yer alır (Şekil 2.16).



Şekil 2.27. Flavonoit 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].

2.4.4. Flavonoit glikozitlerin sentezi

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

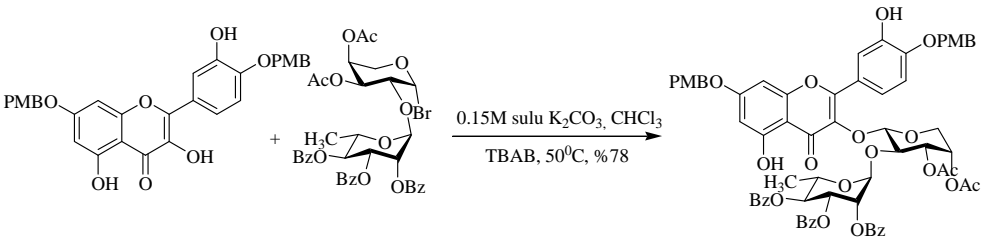
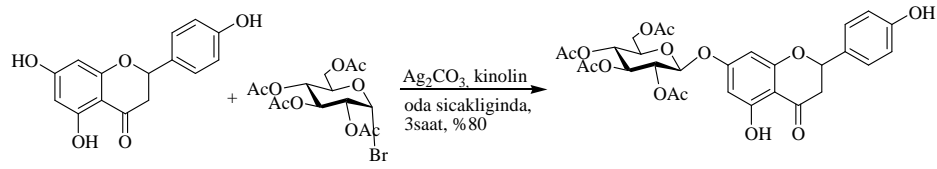
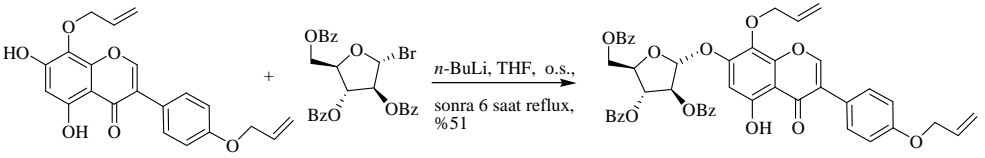
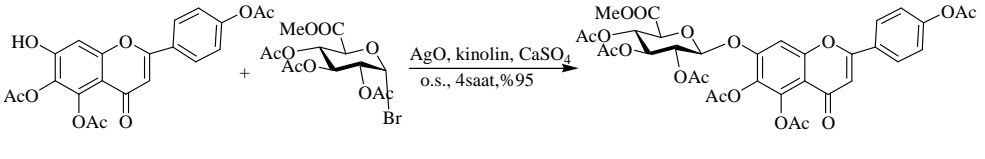
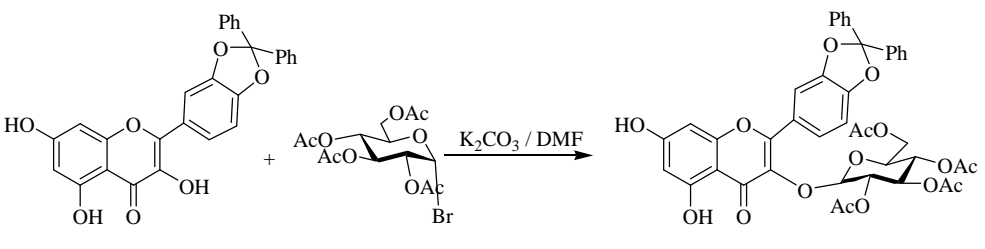
Flavonoit glikozitlerin sentezi, flavonoit sentezi ve şeker birimlerinin takılması şeklinde iki kısma ayrılabilir. Bu bölümde şeker birimlerinin flavonoitlere bağlanma metodları incelenecektir.

2.4.4.1. Flavonoit türevlerine glikozitlerin bağlanması

Flavonoit türevlerine glikozitlerin bağlanmasında çok çeşitli metotlar vardır. Ancak flavonoit 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 (4',5,7-trihydroxyflavanon) senteze başlanması yollarına başvurulabilir.

Flavonit türevlerine glikozitlerin bağlanması hakkında yapılan son yıllardaki çalışmaların en önemlileri Tablo 2.6’da verilmiştir.

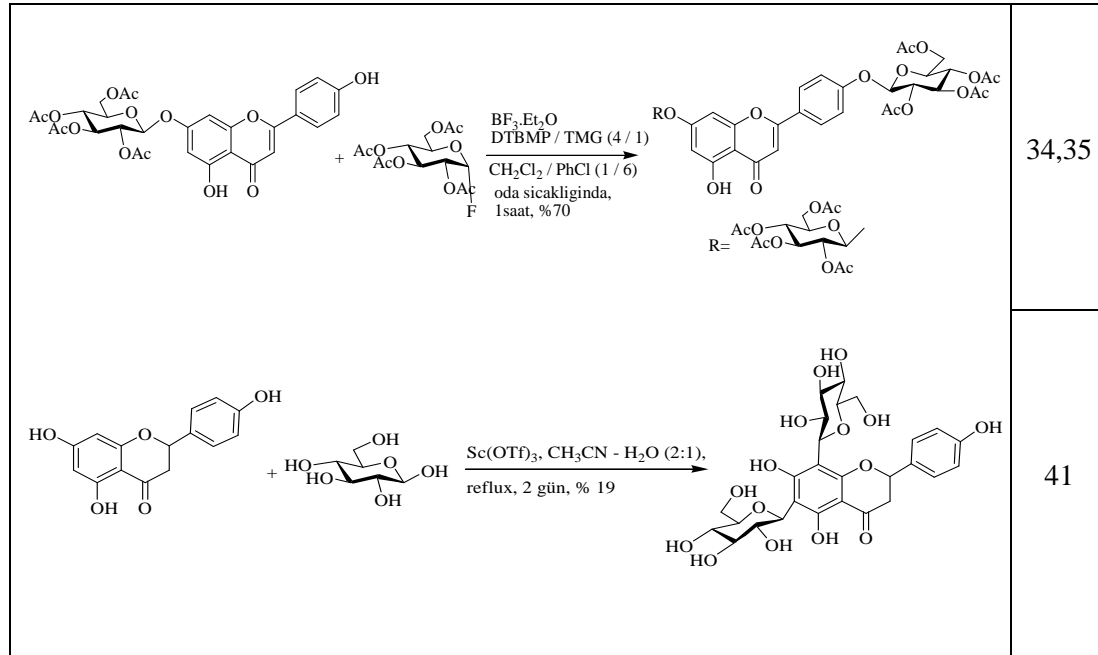
Tablo 2.6. Flavonit türevlerine glikozit bağlama yöntemlerinde önemli uygulamalar

	Kaynak
	33
	34, 35
	36
	37
	38

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

<p>Reaction 39: Glycosylation of a flavone derivative with a brominated sugar. Reagents: K_2CO_3, TBAB, $CHCl_3-H_2O$, $50^\circ C$. Yield: 44%.</p>	39
<p>Reaction 40: Glycosylation of a flavone derivative with an acetylated sugar. Reagents: sulu NaOH, TBAB, CH_2Cl_2. Yield: 84%.</p> <p> $R^1 = R^2 = H$ $R^1 = OH, R^2 = H$ $R^1 = H, R^2 = Me$ $R^1 = OH, R^2 = Me$ </p>	40
<p>Reaction 40: Glycosylation of a flavone derivative with a brominated sugar. Reagents: NaOH, TBAB, $CHCl_3-H_2O$, $50^\circ C$. Yield: 84%.</p>	40
<p>Reaction 33: Glycosylation of a flavone derivative with a brominated sugar. Reagents: a) 0.15M sulu K_2CO_3, $CHCl_3$, TBAB, $50^\circ C$; ya da K_2CO_3, DMF; b) AgOTf, CH_2Cl_2. Yield: 52%.</p>	33

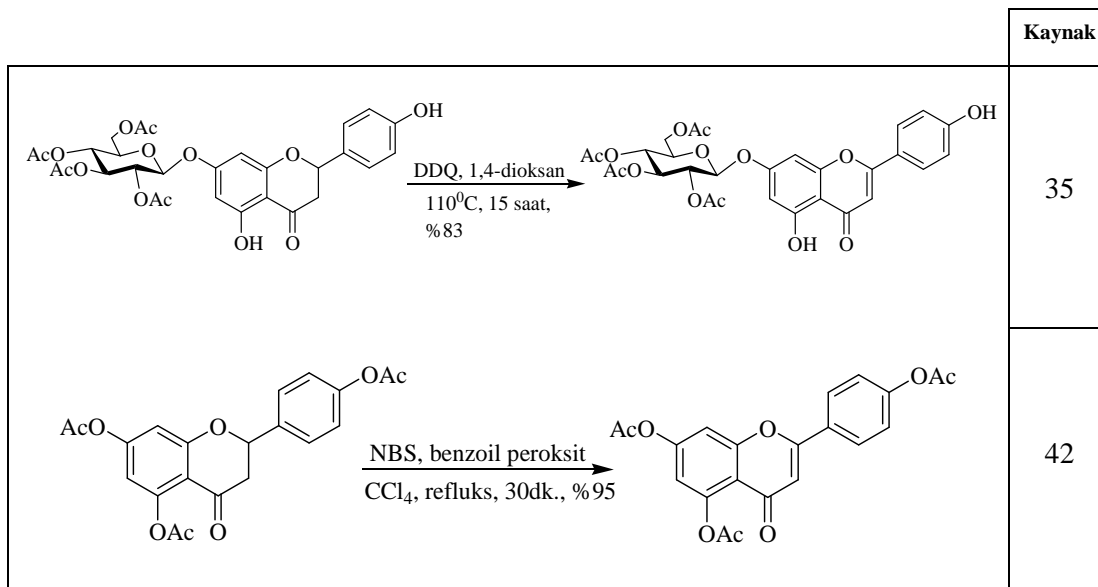
Tablo 2.6. (Devam) Flavonoit türevlerine glikozit bağlanma yöntemlerinde önemli uygulamalar



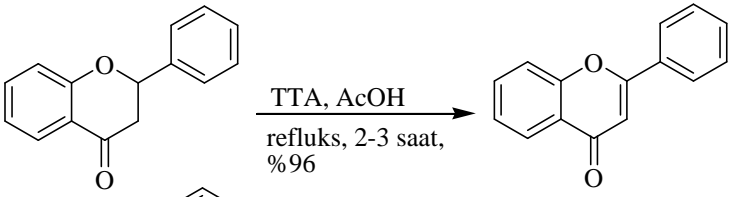
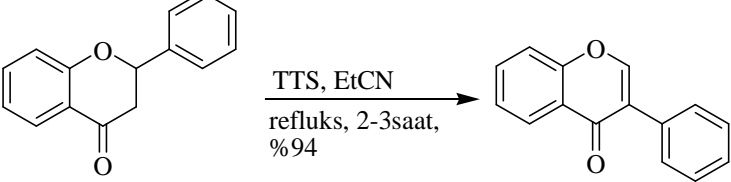
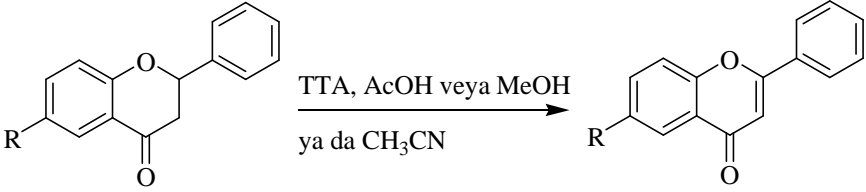
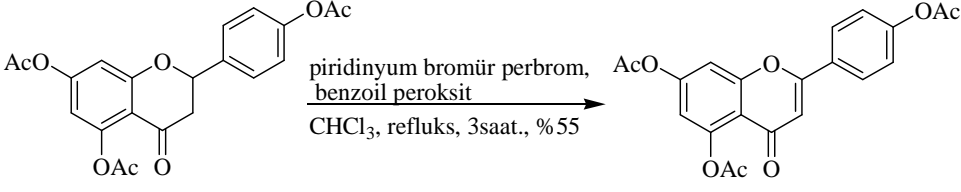
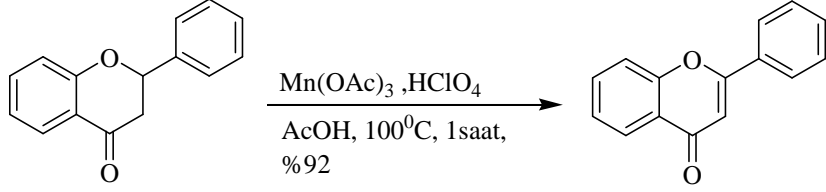
2.4.4.2. Flavanon türevlerinin yükseltgenmesi

Flavonoit glikozitlerin total sentezinde kullanılan önemli bir basamak da; başlangıç maddesi flavanon türevlerinden bir bileşiğin flavonlara yükseltgenmesidir. Bu konu üzerine, son yıllarda yapılan bazı çalışmalar Tablo 2.7’de verilmiştir.

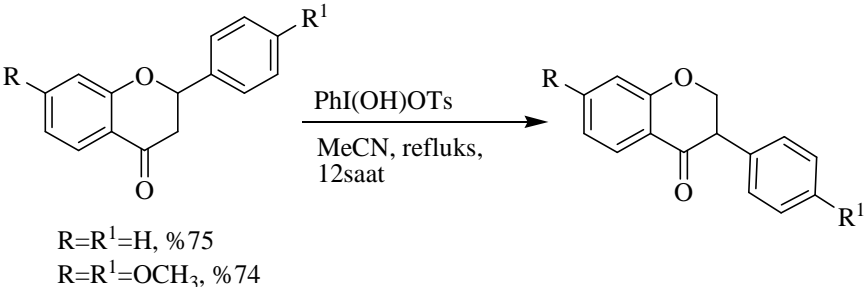
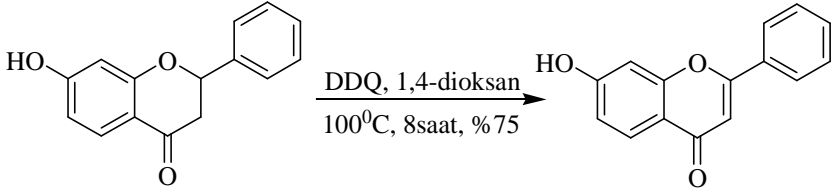
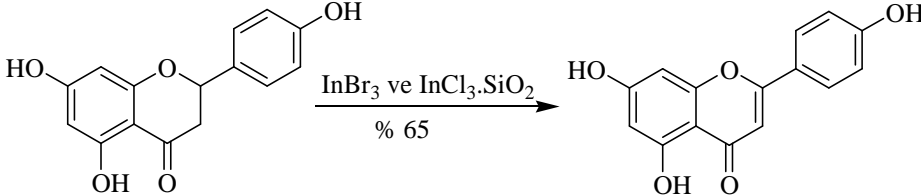
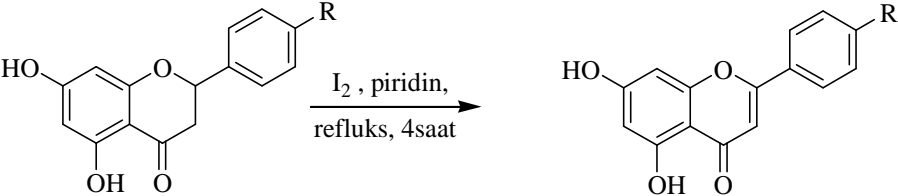
Tablo 2.7. Flavanon türevlerinin yükseltgenmesinde bazı yöntemler



Tablo 2.7. (Devam) Flavonon türevlerinin yükseltgenmesinde bazı yöntemler

 	43
 <p data-bbox="327 1041 1220 1131"> R=H, in AcOH, 3saat, refluks, %96. R=CH₃, in AcOH, 3saat, refluks, %98. R=H, in MeOH, 20saat, refluks, %88 R=CH₃, in MeOH, 20saat, refluks, %88 R=H, in CH₃CN, 24saat, refluks, %84 R=CH₃, in CH₃CN, 24saat, refluks, %84 </p>	44
	45
	46

Tablo 2.7. (Devam) Flavonon türevlerinin yükseltgenmesinde bazı yöntemler

 <p>R=R¹=H, %75 R=R¹=OCH₃, %74</p>	47
 <p>DDQ, 1,4-dioksan 100°C, 8saat, %75</p>	48
 <p>InBr₃ ve InCl₃·SiO₂ % 65</p>	49
 <p>I₂, piridin, reflüks, 4saat</p> <p>R=Br, %47 R=Cl, %44</p>	50

2.4.4.3. Koruma gruplarının kaldırılması

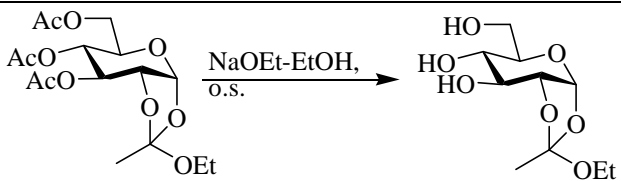
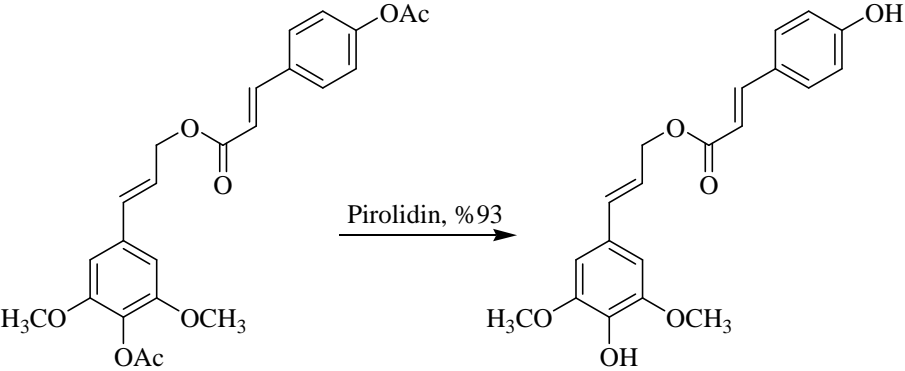
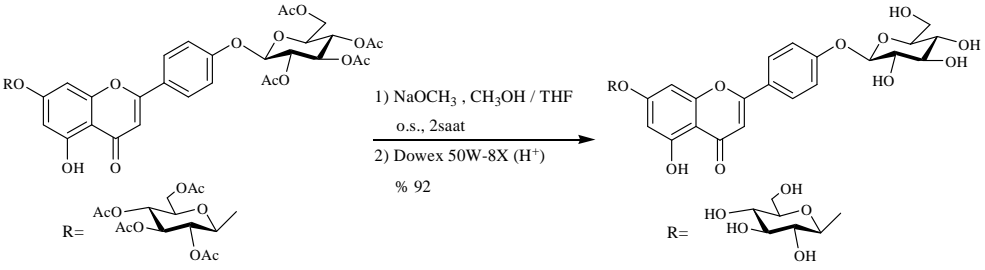
Flavonoit glikozitlerin total sentezinin flavonoit grubuna şeker birimlerinin takılması ve yükseltgenme basamaklarında, açıkta olan hidroksil gruplarının organik solventlerde çözünmeyi zorlaştırması ve ana ürünün saflaştırılması sırasında çeşitli sıkıntılar çıkartmaları istenmeyen durumlardır. Araştırmacılar açıkta olan hidroksil

gruplarını çeşitli yöntemlerle koruyarak (asetilleme, benzilleme, metilleme, benzoilleme vb.) bu sıkıntıları kolaylıkla aşmışlardır.

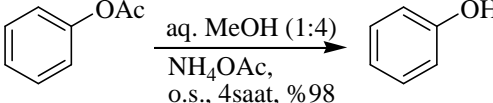
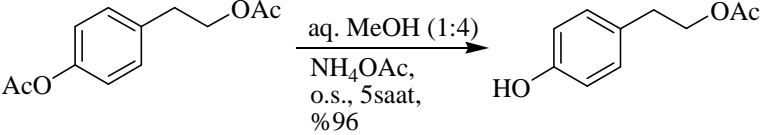
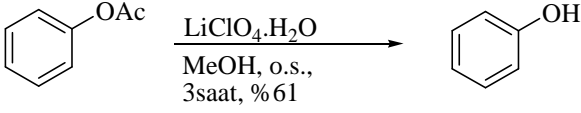
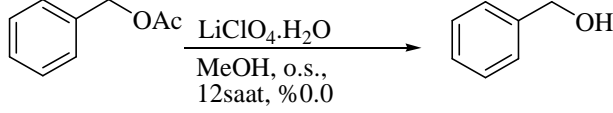
Total sentezde hedefteki ürün flavonoit di-glikozit ise, bu korumanın tamamen kaldırılması, ikinci glikozit grubunun bağlanması esnasında, aynı sıkıntıları ortaya çıkaracaktır. Bu durumda koruma gruplarının seçici olarak kaldırılması, yani şeker biriminin hidroksil grupları korunmaya devam ederken aromatik hidroksil gruplarının korumasının kaldırılması, daha doğru bir yol olacaktır.

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
	39
	51
	35

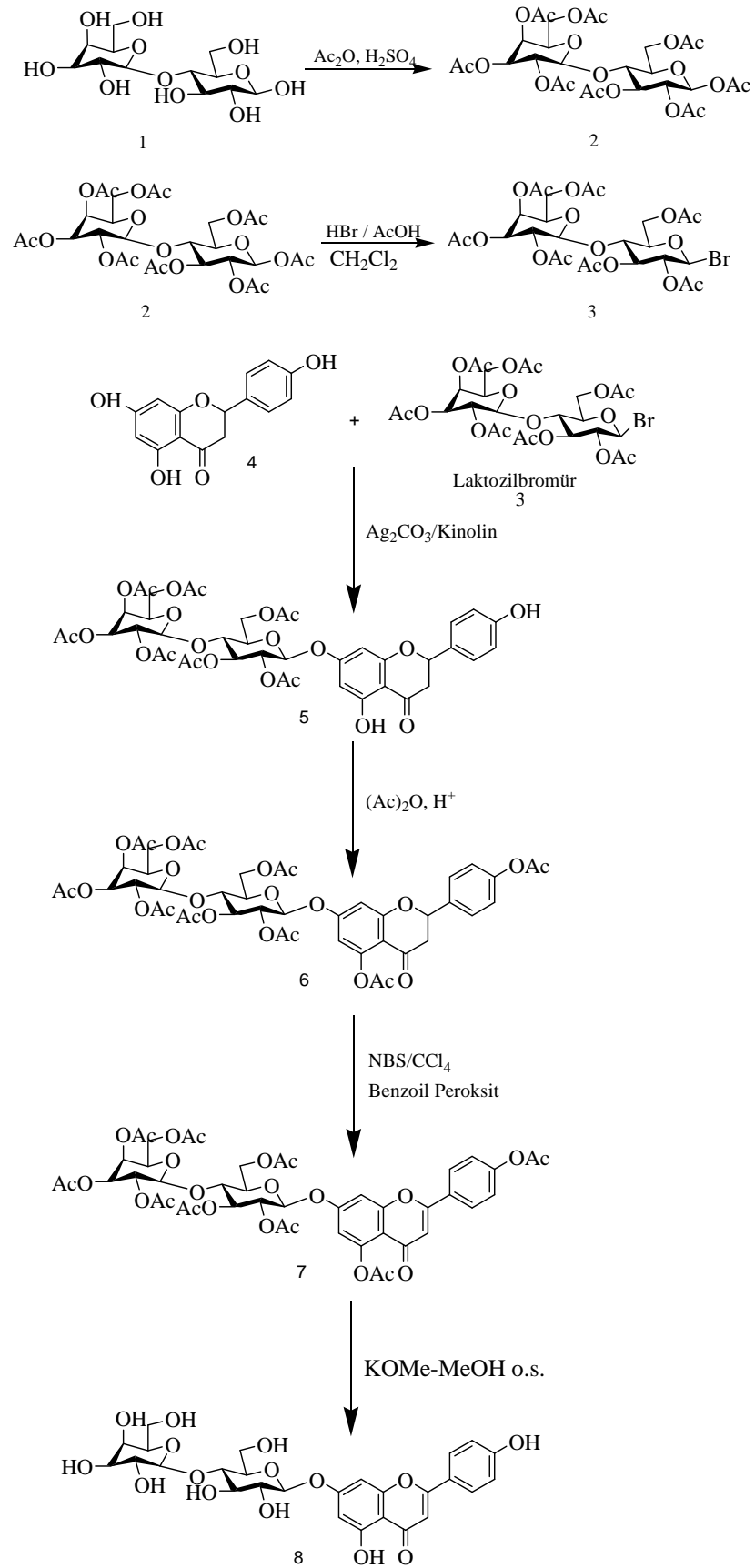
Tablo 2.8.(Devam) Koruma gruplarının seçimli veya tamamen kaldırılmasında önemli uygulamalar

	52
	
	53
	

2.4.4.4. 7-O-(β-D-galaktopiranozil-(1-4)-β-D-glikopiranozil)-Apigenin bileşiğinin total sentezi

7-O-(β-D-galaktopiranozil-(1-4)-β-D-glikopiranozil)-Apigenin bileşiğinin total sentezinde naringenin bileşiğinden yola çıkıldı. Daha sonra sırası ile glikozilasyon, asetilasyon, oksidasyon, komple deasetilasyon basamakları gerçekleştirilerek hedef bileşik sentezlendi. Total sentez sırasında şeker gruplarının ve flavonoit bileşiğindeki reaksiyona girmesi istenmeyen hidroksil grupları asetil grubu ile korundu. Bu sayede herhangi bir istenmeyen durumla karşılaşılmadı.

7-O-(β-D-galaktopiranozil-(1-4)-β-D-glikopiranozil)-Apigenin bileşiğinin total sentezi Şekil 2.28'de verilmiştir.



Şekil 2.28. 7-O-(β-D-galaktopiranozil-(1-4))-β-D-glikopiranozil)-Apigenin bileşiminin total sentezi

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.

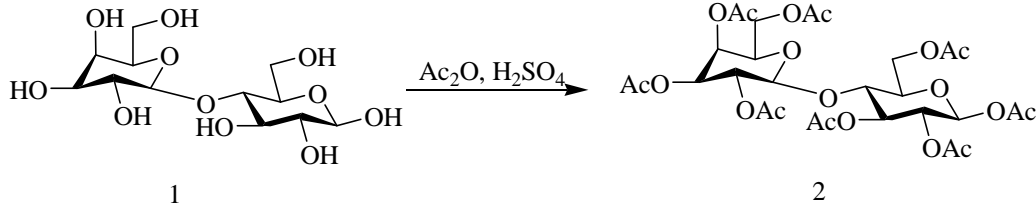
^1H NMR ve ^{13}C NMR spektrumları VARIAN marka Infinity Plus model 300 MHz'lik NMR cihazı ile elde edildi.

Elde edilen ürünlerin ayrılmasında ANALTECH marka CycloGraph model santrüj etkili kolon ve ince tabaka kromatografisi sistem cihazı kullanıldı.

Çalışmada kullanılan çözücü ve kimyasallar Fluka, Merck, Alfa Easer, Riedel ve Sigma Aldrich firmalarından temin edildi. Çözücülerin tamamı reaksiyon öncesinde yüksek düzeyde saflaştırıldı [54, 55].

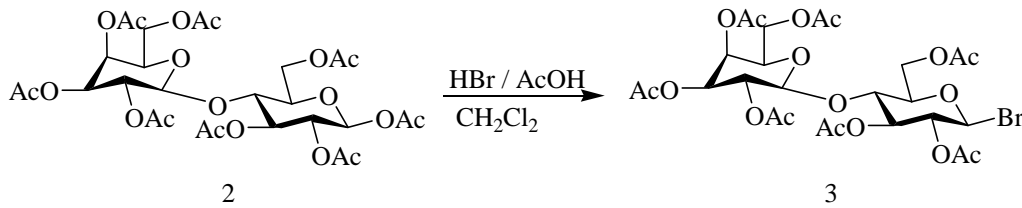
3.2. Deneysel Çalışmalar

3.2.1. β -D-okta-O-asetillaktoz (2) sentezi



0.029 mol 10.0 g D-laktoz monohidrat (1) 100 mL'lik dibi yuvarlak balona alınarak üzerine 0.234 mol 23.84 g, asetikanhidrit ilave edildi. Karışım buz banyosuna alınarak üzerine 3 damla derişik H_2SO_4 eklendi ve 10 dakika manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı. Balonun üzerine geri soğutucu takılarak 2 saat yağ banyosunda $100^\circ C$ '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 $40^\circ C$ 'de 12 saat kurutuldu. [56].

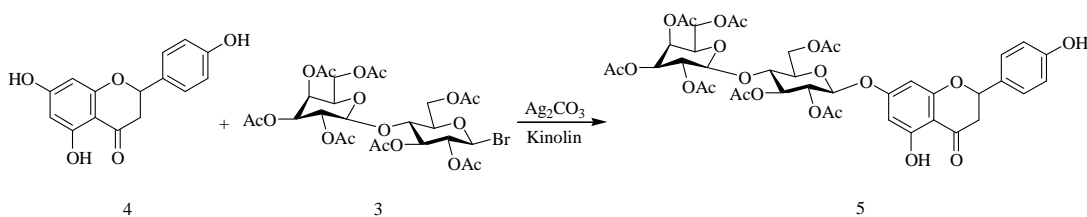
3.2.2. 2'',2''',3'',3''',4''',6'',6'''-hepta-O-asetil- β -D-laktozil bromür (3) sentezi



100 mL'lik dibi yuvarlak bir balon içine konulan 7.371 mmol 5.0 g β -D-okta-O-asetillaktoz (2), $CaCl_2$ ile kurutulmuş 30 mL CH_2Cl_2 ile çözüldü. 50 mL'lik damlatma hunisine 44,32 mmol 2.64 g, asetik asit içerisinde HBr çözeltisi alınarak yarım saat içerisinde damlatıldı. Balondaki çözelti oda sıcaklığında 4 saat manyetik karıştırıcı ile karıştırıldıktan sonra beher içerisindeki 300 mL su-buz karışımı üzerine dökülerek yarım saat daha karıştırılmaya devam edildi. Karışım ayırma hunisine alınarak organik faz ayrıldı ve iki kez 100 mL %7.5'luk $NaHCO_3$ çözeltisi ile bir kez de 100 mL su ile yıkandı. Organik faz $CaCl_2$ ile kurutuldu, huni ile süzgeç

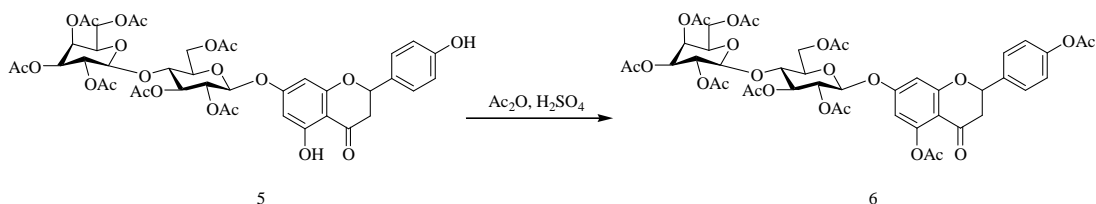
kâğıdından süzüldü, rotary evaporatör ile buharlaştırıldı. Yağımsı ham ürün diizopropil eter ile kristallendirildi. Kristaller cam krozeden süzülerek vakum etüvünde 40°C’de 12 saat kurutuldu [57].

3.2.3. 7-O-(2'',2''',3'',3''',4''',6'',6'''-hepta-O-asetil-β-D-laktozil)-naringenin (5) sentezi



100 mL’lik dibi yuvarlak balona 3.3 mmol 2.29 g 2'',2''',3'',3''',4''',6'',6'''-hepta-O-asetil-β-D-laktozil (3), 3.3 mmol 0.908 g Ag_2CO_3 , 2.2 mmol 0.593 g naringenin (4) konuldu ve üzerine 20 mL kinolin eklenerek 4 saat oda sıcaklığında manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı. Karışım, metanol ile silika jelden süzüldü ve metanol rotary evaporatörde buharlaştırıldı. Ham ürün 100 mL etil asetat ile çözüldü ve çözelti üç kez 100 mL 1 N HCl, üç kez 100 mL doymuş tuz çözeltisi ve iki kez 100 mL su ile yıkandı. Organik faz, MgSO_4 ile kurutuldu, huni ile süzgeç kâğıdından süzüldü ve rotary evaporatörde buharlaştırıldı. Ham ürün kolon kromatografisinde (kromatotronda) silika jelde hegzan: etilasetat (1:1) çözeltisinden geçirilerek ileri derecede saflaştırıldı [35].

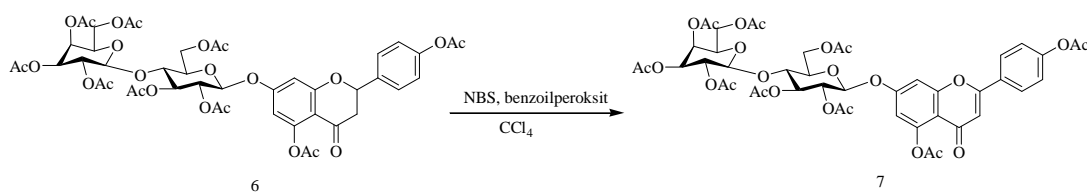
3.2.4. 7-O-(2'',2''',3'',3''',4''',6'',6'''-hepta-O-asetil-β-D-laktozil)-6,4'-di-O-asetil-naringenin (6) sentezi



0.9 mmol 0.758 g 7-O-(2'',2''',3'',3''',4''',6'',6'''-hepta-O-asetil-β-D-laktozil)-naringenin (5) 100 mL’lik dibi yuvarlak balona alınarak üzerine 3.4 mmol 0.347 g,

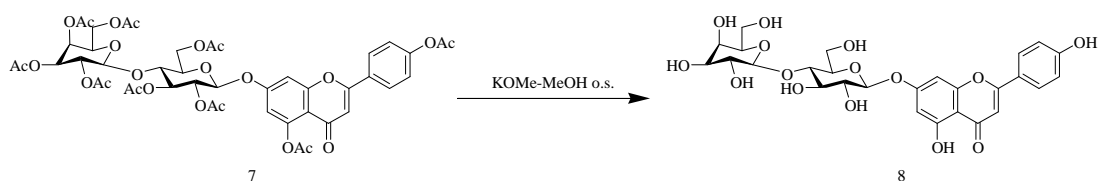
asetikanhidrit ilave edildi. Karışım buz banyosuna alınarak üzerine 3 damla derişik H_2SO_4 eklendi ve 10 dakika buz banyosunda, 3 saat oda sıcaklığında manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı. Çözelti 300 g su-buz karışımı üzerine dökülerek kuvvetlice karıştırıldı. Ham ürün cam krozedden süzülerek 300 mL soğuk su ile yıkandıktan sonra vakum etüvünde $40^\circ C$ 'de 12 saat kurutuldu [56].

3.2.5. 7-O-(2'',2''',3'',3''',4''',6'',6'''-hepta-O-asetil- β -D-laktozil)-6,4'-di-O-asetil-apigenin (7) sentezi



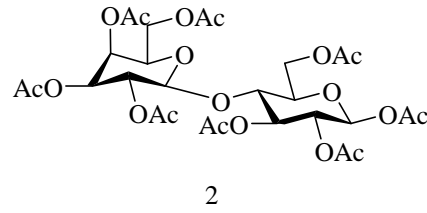
100 mL'lik dibi yuvarlak iki boyunlu bir balona 0.059 mmol 0.572 g 7-O-(2'',2''',3'',3''',4''',6'',6'''-hepta-O-asetil- β -D-laktozil)-6,4'-di-O-asetil-naringenin ile 1.763 mmol 0.312 g NBS, yaklaşık 1.0 mg kadar benzoilperoksit ve 50 mL CCl_4 koyuldu. Balonun boyunlarından birine içinde 50 mL CCl_4 olan damlatma hunisi, diğerine su soğutuculu destilasyon köprüsü konuldu. Balon yağ banyosunda 15 dakika ısıtıldıktan sonra brom gazı çıkışı başladı. Çözücü ile brom gazını destilasyon köprüsü sayesinde ortamdaki uzaklaştırmak için ısı refluks sıcaklığına kadar artırıldı. Balonda çözücü azaldıkça yan boyundan taze çözücü eklendi. Destillenen, CCl_4 'ün rengi berraklaşınca ortama tekrar az bir miktar benzoilperoksit eklendi. Reaksiyon 4 saat bu şekilde sürdürüldü. Balondaki çözücü 20 mL kalana kadar uzaklaştırıldı. Karışım $0^\circ C$ 'ye soğutuldu. Oluşan katı cam krozedden süzüldü ve 100 mL sıcak su ile yıkandı [42].

3.2.6. 7-O-(β -D-laktozil)-apigenin (8) sentezi



100 mL'lik dibi yuvarlak balona 0.26 mmol 0.25 g 7-O-(2'',2''',3'',3''',4''',6'',6'''-hepta-O-asetil- β -D-laktozil)-6,4'-di-O-asetil-naringenin konuldu ve metanol-kloroform karışımında (2:1, 3 mL) çözüldü. Çözelti üzerine 0.44 mmol 0.31 g KOMe ilave edildi ve oda sıcaklığında 2 saat manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı. Reaksiyon sonunda karışım 1 N HCl ile nötralize edildi. Oluşan çökelek cam krozedden süzöldü ve vakum etüvünde 50 °C'de 12 saat kurutuldu [58].

BÖLÜM 4. DENEYSEL BULGULAR

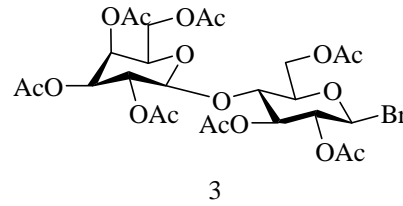


β -D-okta-O-asetillaktoz (2) :

10.0 g (0.029 mol) β -D-laktoz monohidrat kullanılarak % 82 verimle 16.2 g (0.024 mol) 2 nolu bileşik elde edildi. ^1H NMR ve ^{13}C NMR spektrumları sırasıyla Şekil A.1 ve Şekil A.2’de verilmiştir.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 1.98 (3H, s), 2.02 (3H, s), 2.06 (3H, s), 2.07 (3H, s), 2.08 (3H, s), 2.14 (3H, s), 2.17 (3H, s), 2.19 (3H, s), 3.79-3.99 (2H, m), 4.06-4.16 (3H, m), 4.48 (1H, s), 4.50 (1H, d, $j = 3.5$ Hz), 4.94-5.04 (2H, m), 5.12 (2H, m), 5.37 (1H, m), 5.46 (1H, t, $j = 9.6$ Hz), 6.26 (1H, d, $j = 3.5$ Hz).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 20.8, 20.9 (x3), 21.1 (x3), 21.2, 60.9, 61.6, 66.7, 69.2, 69.5, 69.7, 70.8, 71.1, 73.6, 75.9, 89.1, 101.4, 169.2, 169.4, 169.9, 170.2, 170.3, 170.4, 170.6, 170.7.

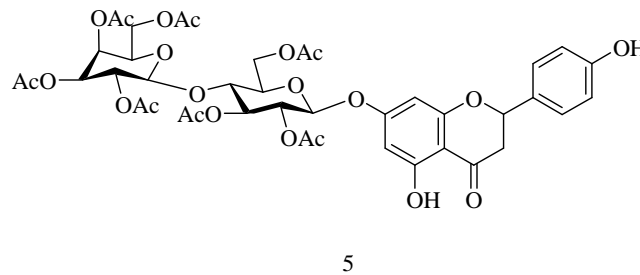


2'',2''',3'',3''',4''',6'',6'''-hepta-O-asetil- β -D-laktozil bromür (3) :

1.2 g (1.77 mmol) β -D-okta-O-asetillaktoz kullanılarak % 61 verimle 0.8 g (1.08 mmol) 3 nolu bileşik elde edildi. ^1H NMR ve ^{13}C NMR spektrumları sırasıyla Şekil A.3 ve Şekil A.4'te verilmiştir.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 1.98 (3H, s), 2.06 (3H,s), 2.07 (3H, s), 2.08 (3H, s), 2.10 (3H, s), 2.14 (3H, s), 2.18 (3H, s), 3.84-3.92 (2H, m), 4.05-4.24 (4H, m), 4.50 (1H, s), 4.52 (1H, s), 4.76 (1H, dd, $j_1 = 3.8$ Hz, $j_2 = 4.1$ Hz), 4.96 (1H, dd, $j_1 = 3.5$ Hz, $j_2 = 3.2$ Hz), 5.14 (1H, dd, $j_1 = 7.6$ Hz, $j_2 = 7.9$ Hz), 5.37 (1H, d, $j = 3.5$ Hz), 5.56 (1H, t, $j = 9.7$ Hz), 6.53 (1H, d, $j = 3.8$ Hz).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 20.9 (x5), 21.1 (x2), 67.9, 69.6, 70.9, 71.8, 72.2, 73.2 (x2), 75.5, 76.8, 77.7, 86.6, 100.8, 169.2, 169.5 (x2), 170.2, 170.4, 170.5, 170.8.



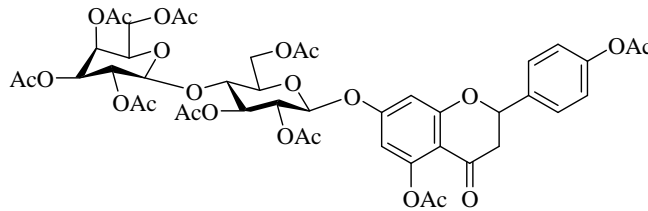
7-O-(2'',2''',3'',3''',4''',6'',6'''-hepta-O-asetil- β -D-laktozil)-naringenin (5) :

0.6 g 3.3 mmol Naringenin (4), 2.3 g (2.2 mmol) 2'',2''',3'',3''',4''',6'',6'''-hepta-O-asetil- β -D-laktozil bromür (3), 0.9 g 3.3 mmol Ag_2CO_3 kullanılarak % 87 verimle 1.7

g (1.91 mmol) 5 nolu bileşik elde edildi. ^1H NMR ve ^{13}C NMR spektrumları sırasıyla Şekil A.5 ve Şekil A.6'da verilmiştir.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 1.95 (3H, s), 1.96 (3H,s), 1.97 (3H, s), 1.98 (3H, s), 2.00 (3H, s), 2.05 (3H, s), 2.06 (3H, s), 2.57-2.69 (2H, m), 3.00 (1H, t, $j = 13.8$ Hz), 3.72-3.89 (3H, m), 3.97-4.19 (3H, m), 4.32-4.47 (2H, m), 4.45 (1H, d, $j = 7.9$ Hz), 4.89-5.28 (3H, m), 5.60 (1H, d, $j = 4.7$ Hz), 5.98 (2H, d, $j = 7.6$ Hz), 6.50 (1H, s), 6.79 (2H, d, $j = 8.2$ Hz), 7.23 (2H, d, $j = 15.2$ Hz), 7.43 (1H, s), 11.83 (1H, s, OH).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 20.7 (x2), 20.8 (x3), 20.9, 21.0, 43.4, 61.1, 62.2 (x2), 66.9, 69.0, 69.3, 70.9, 71.1 (x2), 71.2, 72.9, 73.3, 79.4, 96.3, 97.6, 101.2, 104.5, 115.9 (x2), 128.2 (x2), 139.7, 157.3, 163.1, 164.6, 169.7, 169.9, 170.2, 170.4, 170.5, 170.7, 170.8, 196.9.



6

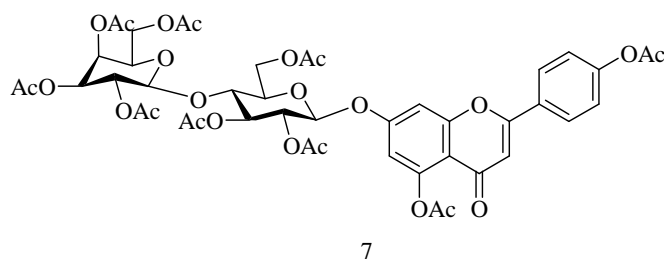
7-O-(2'',2''',3'',3''',4''',6'',6'''-hepta-O-asetil- β -D-laktozil)-6,4'-di-O-asetil-naringenin (6) :

1.0 g (1.15 mmol) 7-O-(2'',2''',3'',3''',4''',6'',6'''-hepta-O-asetil- β -D-laktozil)-naringenin (5) kullanılarak % 75 verimle 0.8 g (0.9 mmol) 6 nolu bileşik elde edildi. ^1H NMR ve ^{13}C NMR spektrumları sırasıyla Şekil A.7 ve Şekil A.8'de verilmiştir.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 2.02 (3H, s), 2.03 (3H,s), 2.04 (3H, s), 2.05 (3H, s), 2.06 (3H, s), 2.07 (3H, s), 2.16 (3H, s), 2.32 (3H, s), 2.39 (3H, s), 2.72 (1H, d, $j = 2.9$ Hz), 2.77 (1H, d, $j = 2.9$ Hz), 2.97-3.07 (2H, m), 3.82-3.91 (2H, m), 4.05-4.15 (2H, m), 4.47-4.52 (1H, m), 4.95 (1H, d, $j = 7.0$ Hz), 5.04 (1H, d, $j = 4.4$ Hz),

5.11-5.27 (3H, m), 5.35 (1H, d, $j = 2.3$ Hz), 5.43-5.47 (1H, m), 6.34 (1H, d, $j = 2.3$ Hz), 6.52 (1H, dd, $j_1 = 2.3$ Hz, $j_2 = 2.3$ Hz), 7.15 (2H, d, $j = 8.5$ Hz), 7.27 (1H, s), 7.45 (2H, d, $j = 8.5$ Hz).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 20.7, 20.8, 20.9 (x3), 21.0 (x2), 21.2, 21.3, 29.9, 32.1, 61.0, 61.1, 66.8, 69.6, 70.9, 71.2, 72.8, 73.3, 76.0, 76.9, 77.4, 77.8, 79.3, 89.1, 97.7, 101.4, 106.5, 109.6, 122.3, 127.7, 135.8, 151.2, 162.2, 164.0, 169.2 (x2), 169.4, 169.7, 169.9, 170.3, 170.4 (x2), 170.6, 188.8.

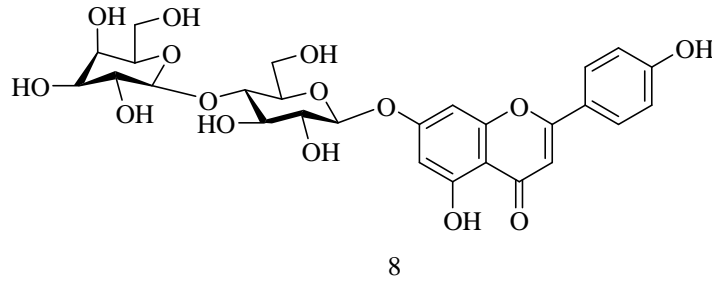


7-O-(2'',2''',3'',3''',4''',6'',6'''-hepta-O-asetil- β -D-laktozil)-6,4'-di-O-asetil-apigenin (7) :

0.6 g (0.6 mmol) 7-O-(2'',2''',3'',3''',4''',6'',6'''-hepta-O-asetil- β -D-laktozil)-6,4'-di-O-asetil-naringenin (6) ve 1.0 g (1.03 mmol) NBS kullanılarak % 66 verimle 0.7 g (0.67 mmol) 7 nolu bileşik elde edildi. ^1H NMR ve ^{13}C NMR spektrumları sırasıyla Şekil A.9 ve Şekil A.10'da verilmiştir.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 1.97 (3H, s), 1.98 (3H, s), 2.07 (3H, s), 2.08 (3H, s), 2.11 (3H, s), 2.13 (3H, s), 2.16 (3H, s), 2.17 (3H, s), 2.36 (3H, s), 2.77 (3H, s), 3.83 (3H, s), 3.90 (2H, m), 4.11 (2H, m), 4.13 (1H, m), 4.15 (1H, m), 4.51 (1H, m), 4.98 (1H, m), 5.30 (1H, m), 6.76 (1H, d, $j = 2,34$), 7.27 (1H, s), 7.33 (2H, m), 7.39 (2H, m), 7.90 (1H, t, $j = 8.79$), 8.02 (2H, d, $j = 8.79$).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 20.7 (x3), 20.8 (x3), 21.4 (x3), 29.8 (x2), 61.1 (x2), 66.8 (x2), 69.2 (x2), 70.9 (x2), 71.1 (x2), 76.8 (x2), 77.2 (x2), 77.4 (x2), 77.7 (x2), 101.3 (x2), 169.7 (x3), 170.4 (x3), 170.7 (x3).



7-*O*-(β-D-laktosil)-apigenin (8) :

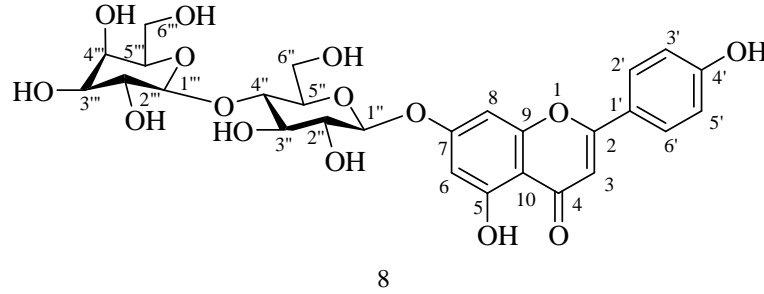
0.25 g (0.26 mmol) 7-*O*-(2'',2''',3'',3''',4''',6'',6'''-hepta-*O*-asetil-β-D-laktosil)-6,4'-di-*O*-asetil-apigenin (7) kullanılarak % 71 verimle 0.3 g (0.49 mmol) 8 nolu bileşik elde edildi. ¹H NMR spektrumu Şekil A.11'de verilmiştir.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 2.48 (2H, s), 2.58 (2H, s), 3.32 (3H, m), 3.51 (5H, m), 3.71 (7H, m, OH), 4.12 (2H, s), 5.35 (1H, s), 6.95 (2H, s), 7.05 (2H, m), 7.96 (1H, s), 8.24 (1H, s), 10.5 (1H, s, OH), 11.39 (1H, s, OH).

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-galaktopiranozil-(1-4)-β-D-glikopiranozil)-apigenin (8) bileşiğinin numaralandırılmış yapısı Şekil 5.1’de verilmiştir. Total sentez sonucu elde ettiğimiz ürünümüzün erime noktası 307-308°C arasındadır.



Şekil 5.1. 7-*O*-(β-D-galaktopiranozil-(1-4)-β-D-glikopiranozil)-apigenin bileşiğinin (8) yapısı

2 nolu bileşiğin ¹H NMR spektrumunda (Şekil A.1) 1.98-2.19 ppm arasında sekiz tane asetil grubu metil protonu pikleri görülmektedir. Ayrıca ¹³C NMR spektrumunda da (Şekil A.2) görüleceği gibi sekizer tane 20.8-21.2 ppm arasında asetil grubu metil karbon pikleri ve 169.2-170.7 ppm arasında asetil grubu karbonil karbonu pikleri bulunmaktadır.

3 nolu bileşiğin ¹H NMR spektrumunda (Şekil A.3) 1.98-2.18 ppm arasında yedi tane asetil grubu metil protonu pikleri, 2 nolu bileşikten bir tane asetil grubunun koptuğunu göstermektedir. 3 nolu bileşiğin ¹³C NMR spektrumunda da (Şekil A.4)

169.2-170.8 ppm arasındaki yedi tane asetil grubu karbonil karbonu pikleri ve 20.9-21.1 ppm arasındaki yedi tane asetil grubu metil karbonu pikleri ^1H NMR spektrumunu desteklemektedir.

5 nolu bileşiğin ^1H NMR spektrumunda (Şekil A.5) naringenin (4) molekülüne ait 2.57-2.69, 3.0, 6.79, 7.23 ve 11.83 ppm'deki proton piklerinin yanı sıra 3.72-6.50 ppm arasındaki laktozil ve 1.95-2.06 ppm arasında yedi tane asetil grubu metil protonu pikleri göz önüne alınarak 4 nolu bileşiğe 3 nolu bileşiğin bağlandığını söyleyebiliriz. 5 nolu bileşiğin ^{13}C NMR spektrumunda da (Şekil A.6) naringenine ait 196.9 ppm'deki karbonil karbonu piki ve 20.7-21.0 ppm arasındaki yedi tane asetil grubu metil karbonu pikleri ile 169.7-170.8 ppm arasındaki yedi tane asetil grubu karbonil karbonu pikleri ^1H NMR spektrumunu desteklemektedir.

5 nolu bileşiğin ^1H NMR spektrumunda (Şekil A.5) 11.83 ppm'de görülen naringenin bileşiğine ait C5-OH proton piki, 6 nolu bileşiğin ^1H NMR spektrumunda (Şekil A.7) görülmemektedir. Diğer yandan 2.32 ppm'de ve 2.39 ppm'de bulunan naringenin bileşiğindeki C5-OAc ve C4'-OAc metil protonu pikleri 6 nolu bileşiğin oluştuğunu göstermektedir. Ayrıca 6 nolu bileşiğin ^{13}C NMR spektrumunda da (Şekil A.8) 169.2-170.6 ppm arasında dokuz adet asetil grubu karbonil karbon piki vardır.

6 nolu bileşiğin ^1H NMR spektrumunda (Şekil A.7) naringeninindeki C2-H protonuna ait 5.43-5.47 ppm'deki ve C3-2xH protonlarına ait 2.72-3.07 ppm'deki pikler 7 nolu bileşiğin ^1H NMR spektrumunda (Şekil A.9) görülmemektedir ve 7 nolu bileşiğin C3-H protonu 7.3 ppm'de singlete rezonans olmuştur. 6 nolu bileşiğin C-2 ve C-3 karbonu sırasıyla 32.1 ve 79.3 ppm'de rezonans olurken (Şekil A.8). 7 nolu bileşiğin C-2 karbonu 169.7-179.7 ppm arasında C-3 karbonu da 101.3 ppm'de rezonans olduğu görülmektedir (Şekil A.10).

7 nolu bileşiğin ^1H NMR spektrumunda (Şekil A.9) 1.97-2.36 ppm arasında görülen asetil metil proton pikleri 8 nolu bileşiğin ^1H NMR spektrumunda (Şekil A.11) görülmemektedir. Öte yandan 8 nolu bileşiğin ^1H NMR spektrumunda DMSO- d_6 pikleri altında 3.51-3.71 ppm arasında glikozil grubu CH-OH proton pikleri görülmektedir. Ayrıca 7 nolu bileşiğin ^{13}C NMR spektrumunda (Şekil A.10) 20.7-

21.4 ppm ve 169.7-179.7 ppm arasında asetil grubu metil ve karbonil karbonu pikleri görülmektedir.

8 nolu bileşiğin ^1H NMR spektrumunda (Şekil A.11) C4'-OH protonuna ait pik 10.5 ppm'de rezonans olduğu ve C5-OH protonuna ait pik 11.39 ppm'de görülmektedir. Ayrıca 7 nolu bileşiğin ^1H NMR spektrumunda (Şekil A.9) 2.36 ppm'de görülen asetil grubu metil protonu pikleri 8 nolu bileşiğin ^1H NMR spektrumunda (Şekil A.11) görülmemektedir. Ayrıca 7 nolu bileşiğin ^{13}C NMR spektrumunda (Şekil A.10) 169.7-170.7 ppm arasında dokuz tane asetil grubu karbonil karbonu piki görülmektedir.

8 nolu bileşiğin ^1H NMR spektrumunda (Şekil A.11) C4'-OH protonu 10.5 ppm'de rezonans olduğu görülmektedir.

8 nolu bileşiğin ^1H NMR spektrumunda (Şekil A.11) bileşiğe ait pikler bulunmasına rağmen beraberinde istenmeyen bazı safsızlıkları da getirmesi ve total sentezin son basamağı olarak elde edilen ürün miktarının ^{13}C NMR spektrumunun alınması için yetersiz kalması sebepleriyle ^{13}C NMR spektrumu pikleri alınamamıştır.

Bu sonuçlardan total sentezini hedeflediğimiz 7-O-(β -D-galaktopiranozil-(1-4)- β -D-glikopiranozil)-apigenin bileşiğinin elde edildiğini söyleyebiliriz.

BÖLÜM 6. TARTIŞMA VE ÖNERİLER

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

Glikozilleme basamağı kaynak [34] ve [35]'ya göre yapılmıştır. Bu kaynaklarda %80 verim elde edilen ürün, total sentezimizde %82 verim ile elde edilmiştir. Bu verimin daha yüksek olmamasının sebebi deneyimizde C-7 karbonuna glikoz gibi monosakkarit şeker biriminin bağlanması yerine laktoz gibi disakkarit şeker biriminin bağlanmış olması neden olabilir.

Bu basamakta flavonon türevleri kullanılmasına dikkat edilmelidir. Naringenin (4) (4', 5, 7-Trihidroksiflavanon) yerine Apigenin (5, 7, 4'-Trihidroksiflavanon) türevleri kullanılırsa istenmeyen yan ürünler oluşabilir. Bu durum verimimizi olumsuz yönde etkileyecektir. Apigenin molekülünün naringenine göre oldukça pahalı bir madde olması da, total sentezimize naringeninden başlamamız için bir neden olmuştur. Naringeninden apigenin elde edilmesi hem ucuz hem de daha kolay bir yöntemdir.

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

Asetilleme basamağında ılıman şartlar, ucuz ve elimizde bulunan kimyasallar kullanıldığı için fazla bir sıkıntıyla karşılaşılması.

Yükseltgeme basamağı bu tip total sentezlerde düşük verim, ürünün başlangıç maddesi ve yan ürünlerden ayrıştırılarak saflaştırılması gibi istenmeyen durumlar ortaya çıkarmaktadır. Bu çalışmada uygulanan yöntemde verim %66 gibi bir sonuç vermiştir. Tek ürünün oluşması ve ürünün sadece süzme, sıcak su ile yıkama gibi

kolay bir şekilde elde edilmesi bakımından oldukça uygun olmasına rağmen beraberinde birçok safsızlık içermektedir. Daha sonraki basamak olan komple deasetilleme basamağında önceki istenmeyen safsızlıkların birçoğunu içermediği görülmüştür. Neticede yükseltgenme basamağında birçok saflandırma yöntemi denenmiş olmasına rağmen çalışılan sürede saflandırma işlemleri yeterli olmamıştır.

Bu basamak ile ilgili yapılan son çalışmalardan, verimin düşük olması ve kolon kromatografisi ile saflaştırma gerektirdiği için kaçınılmıştır. Kaynak [43], [44] ve [46]'da yüksek verimle yapılan yükseltgeme basamağında, başlangıç maddelerinde şeker grubu olmamasına dikkat çekmek gerekir. Bu yöntemlerin 6 nolu bileşiğimize uygulandığı zaman, tek ürün ve yüksek verim bakımından ne şekilde sonuç vereceği incelenebilir.

Yükseltgeme ve komple deasetilleme basamaklarındaki sıkıntıların aşılması durumunda total sentezimiz iyi bir verim, ılıman şartlar, zaman ve çözücü tasarrufu bakımından oldukça başarılı ve tercih edilen bir yöntem olacaktır.

Kullanılan bazı reaktifler çalışma süresi içerisinde zaman zaman elimizde olmadığı ve yasal sebeplerden dolayı temin edilemediği için glikozilleme ve yükseltgeme basamaklarında sıkıntılar yaşanmıştır.

Glikozilleme basamağındaki verimi arttırabilmek için glikozil bromürün mol oranları arttırılarak çalışmada %61 verim elde edilmiştir. Ayrıca glikozilleme basamağının da tek dezavantajı madde saflaştırmak için kolon kromatografisi uygulanmasıdır.

Son basamağımız olan komple deasetilleme basamağı da %51 verimle ve ılıman şartlarda kolaylıkla gerçekleştirilmiştir.

Kaynak [35]'te yapılan total sentezde nihai verim %42'dir. Kaynak [11]'de yapılan çalışmada total sentezin nihai verimi ise %34'tür. Bu çalışmada, önceki çalışmalardaki gibi seçici deasetilleme ve diglikozilleme basamaklarının yapılmadan sadece bir glikozilleme ve komple deasetilleme basamaklarına yer verildiği dikkate alındığında, nihai ürünümüzün % 31 olduğu görülmektedir. Bunun nedeni ise

glikozilleme ve yükseltgeme basamaklarındaki sıkıntılardır. Bu sıkıntılarının aşılması durumunda total sentezimiz iyi bir verim, ılıman şartlar, zaman ve çözücü tasarrufu bakımından oldukça başarılı ve tercih edilen bir yöntem olacaktır.

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

KAYNAKLAR

- [1] BİLALOĞLU, G. V., HARMANDAR, M., “Flavonoidler”, Aktif Yayınevi, İstanbul, 1997.
- [2] HERTOĞ, M. G. L., FESKEN, E. J. M., HOLMAN, P. C. H., KAFAN, M. B., KROMBOUT, D., Lancet, 1993, 342, 1007.
- [3] KREN, U., MINGHETTI, A., SEDMERA, P., HAVLICEK, V., PRIKRILOVA, H., CRESPI-PERELLINO, N., Phytochemistry, 1998, 47, 217.
- [4] MARKHAM, K. R., TANER, G. J., CAOSI-ZIT, M., WHITECROSS, M. I., NAYUDU, M., MITCHRL, K. A., Phytochemistry, 1998, 49, 1913.
- [5] HARBORNE, J. B., BAXTER, H., “The Handbook of Natural Flavonoids”, John Wiley and Sons, Chichester, 1999, Vol. 1.
- [6] ZEBACK, R., DRESSLER, K., HESS, D., “Flavonoid Compounds from Polen and Stigma of *Petunia hybridia*: Inducers of the *vir* region of *Agrobacterium tumefaciens* Ti Plasmid”, Plant Sci., 1989, 62, 83-91.
- [7] MARKHAM, K. R., “Techniques of Flavonoid Identification”, Academic Press, London, 1982.
- [8] HARBORNE, J. B., “The Flavonoids: Advances in Research Since 1980”, Chapman and Hall, London, 1988.
- [9] HARBORNE, J. B., “Comparative Biochemistry of the Flavonoids”, Academic Press, London, 1967.
- [10] SHIRLEY, B. W., “Flavonoid Biosynthesis: ‘New’ functions for an ‘Old’ Payhway”, Trends Plant Sci., 1996, 1, 377-382.
- [11] SÖNMEZ, F., “7,4’-di-*O*- β -D-glikopiranozil-apigenin Total Sentezi”, Yüksek Lisans Tezi, Sakarya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Sakarya, 2007.
- [12] MATHLEY, J., BUSLIG, B., “Flavonoids in the Living System”, Plenum Press, New York, 1998.

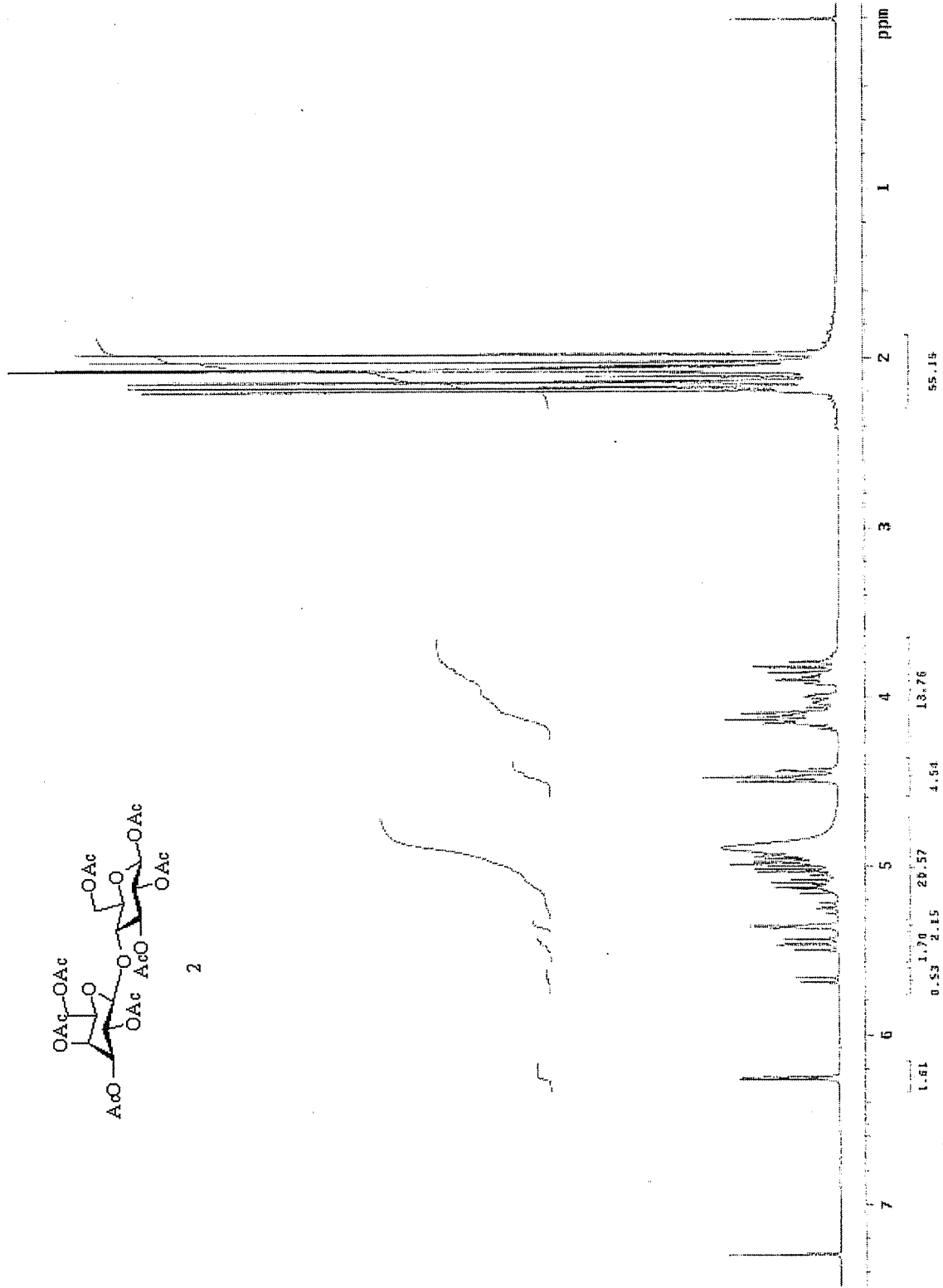
- [13] KÜÇÜKİSLAMOĞLU, M., “Consolida armeniaca (Stapf ex Huth) Schröd. Bitkisi Çiçeklerinin Flavonoidleri Yönünden Analizi”, Doktora Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon, 1996.
- [14] BYRNE, P. F., MCMULLEN, M. E., SNOOK, M. E., MUSKET, T. A., THEURI, J. M., WIDSTROM, 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.
- [15] 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.
- [16] MARTENS, S., MITHOFER, A., “Flavones and Flavone Synthases”, Phytochemistry, 2005, 66, 2399-2407.
- [17] SMITH, K., “Solid Supports and Catalysts in Organic Synthesis”, Ellis Horwood and PTR Prentice Hall, New York, 1992.
- [18] HARBORNE, J. B., WILLIAMS, C. A., “Advances in Flavonoid Research Since 1992 –a Review”, Phytochemistry, 2000, 55, 481-504.
- [19] LE MARCHAND, L., “Cancer Preventive Effects of Flavonoids- A Review”, Biomedicine & Pharmacotherapy, 2002, 56, 296-301.
- [20] NEBİOĞLU M., “Bazı Flavonoit Türevlerinin Sentezi ve Karakterizasyonu”, Doktora Tezi, Sakarya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Sakarya, 2005.
- [21] ROBYT, J. F., ‘ ‘Essentials of Carbohydrate Chemistry’’, Springer, 1998.
- [22] BOONS, G.-J., HALE, K. J., “Organic Synthesis with Carbohydrates”, Sheffield Academic Press, 2000.
- [23] SOLOMONS, T. W. G., FRYHLE, C. B., “Organik Kimya”, Literatür Yayıncılık, 2002.
- [24] PELLISIER, H., “Use of O-Glycosylation in Total Synthesis”, Elsevier.
- [25] IBRAHİM, R. K., KHOURI, H. E., BRISSON, L., VARIN, L., “Flavonoid Constituents of *Ephedra alata*”, Bull. Liaison-Groupe Polyphenols, 1986, 13, 3-14.
- [26] MARBY, T. J., MARKHAM, K. R., THOMAS, M. B., “The Systematic Identification of Flavonoids”, Springer, Heidelberg, 1970.

- [27] KAOUDJI, M., "Acylated and Non-Acylated Kaempferol Monoglycosides From *Planatus acerifolia* Buds", *Phytochemistry*, 1990, 29, 7, 2295-2297.
- [28] MARCO, J. A., BARBERA, O., RODRIQUEZ, S., DOMINGO, C., ADELL, J., "Flavonoids and Other Phenolic From *Artemisa hispanica*", *Phytochemistry*, 1988, 27, 10, 3155-3159.
- [29] GUDEJ, J., "Flavonoids, Phenolic Acids and Coumarins From Roots of *Althea officinalis*", *Planta Med.*, 1991, 57, 284-285.
- [30] SLIMESTAD, R., ANDERSEN, O. M., FRANCIS, G. W., MARSTON, A., HOSTETTMAN, K., "Syringetin 3-*O*-(6''-Acetyl- β -Glucopyranoside and Other Flavonols From Needles of Norway Spruce, *Picea abies*", *Phytochemistry*, 1995, 40, 5, 1537-1542.
- [31] CIMANGA, K., BRUJNE, T. D., LAWSURE, A., LI, Q., PIETER, L., CLEAYS, M., BERGHE, D. V., KAMBU, K., TONA, L., VLIENTICK, A., "Flavonoid *O*-Glycosides From the Leaves of *Morinda morindiodes*", *Phytochemistry*, 1995, 38, 5, 1301-1303.
- [32] RAUTER, H. R., BRANCO, I., TOSTAO, Z., PAIS, M. S., GONZALES, A. G., BERMEJO, J. B., "Flavonoids From *Artemisia campestris* subsp. *Maritima*", 1989, 25, 8, 2173-2175.
- [33] DU, Y., WEI, G., LINHARDT, J. L., "The First Total Synthesis of Calabricoside A", *Tetrahedron Lett.*, 2003, 44, 6887-6890.
- [34] KONDO, T., OYAMA, K. I., YOSHIDA, K., "Chiral Molecular Recognition on Formation of a Metalloanthocyanin: A Supramolecular Metal Complex Pigment from Blue Flowers of *Salvia patens*", *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2001, 40(5), 894-897.
- [35] OYAMA, K. I., KONDO, T., "Total Synthesis of Apigenin 7, 4'-di-*O*- β -*D*-glukopiranozit, a Component of Blue Flower Pigment of *Salvia patens*, and Seven Chiral Analogues", *Tetrahedron*, 2004, 60, 2025-2034.
- [36] SHIOZAKI, M., "Synthesis of 4',8-dihydroxyisoflavon-7-yl- α -*D*-Arabinofuranoside", *Tetrahedron: Asymmetry*, 1999, 10, 1477-1482.
- [37] 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.
- [38] 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.

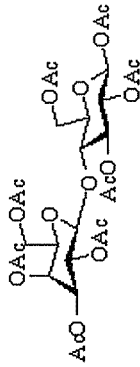
- [39] ZHU, C., PENG, W., LI, Y., HAN, X., YU, B., "Synthesis of 3-O-(β -D-xylopyranosyl-(1-2)- β -D-glucopyranosyl)-3-O-(β -D-glucopyranosyl) Tamarixetin, The Putative Structure of Aescuflavoside A from The Seeds of *Aesculus Chinensis*", *Carbohydrate Research*, 2006, 341, 1047-1051.
- [40] LEWIS, P., KALTIA, S., WAHALA, K., "The Phase Transfer Catalysed Synthesis of Isoflavone-O-Glucosides", *J. Chem. Soc.*, 1998, *Perkin Trans. 1*, 2481-2483.
- [41] SATO, S., AKIYA, T., NISHIZAWA, H., SUZUKI, T., "Total Synthesis of Three Naturally Occurring 6,8-di-C-Glycosylflavonoids: Phloretin, Naringenin, and Apigenin bis-C- β -D-Glucosides", *Carbohydrate Research*, 2006, 341, 964-970.
- [42] LOOKER, J. H., HOLM, M. J., "A New Procedure for the Dehydrogenation of Flavanones with N-Bromosuccinimide", *J. Org. Chem.*, 1959, 56, 567-568.
- [43] 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.
- [44] SINGH, O. V., KAPOOR, R. P., "Dehydrogenation of Flavanones to Flavones Using Thallium (III) Acetate (TTA)", *Tetrahedron Lett.*, 1990, 31, 1459-1462.
- [45] 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.
- [46] SINGH, O. V., RAJ, G., "Manganese (III) Acetate Mediated Oxidation of Flavanones", *Synthetic Communications*, 2005, 35, 2723-2728.
- [47] 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.
- [48] 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.
- [49] 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.

- [50] 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.
- [51] LU, F., RALPH, J., "Facile Synthesis of 4-Hydroxycinnamyl p-Coumarates", *J. Agric. Food Chem.*, 1998, 46, 2911-2913.
- [52] 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.
- [53] 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.
- [54] FURNISS, B. S., "Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry", 5th Edn., Longman, Harlow, England, 1989.
- [55] PERRIN, D. D., ARMAREGO, W. L. F., PERRIN, D. R., "Purification of Laboratory Chemicals", 2nd Edn., Pergamon Pres, Oxford, England, 1982.
- [56] REDEMANN, C. E., NIEMANN, C., "1Acetobromoglucose", *Organic Synthesis*, 1955, Vol. 3, 11-14
- [57] GOGGIN, K. D., HAMMEN, P. D., KNUTSON, K. L., LAMBERT, J. F., WALINSKY, S. W., WATSON, H. A., "Commercial Synthesis of α -D-Cellobiosyl Bromide Heptacetate", *J. Chem. Tech. Biotechnical*, 1994, 60, 253-256.
- [58] 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.

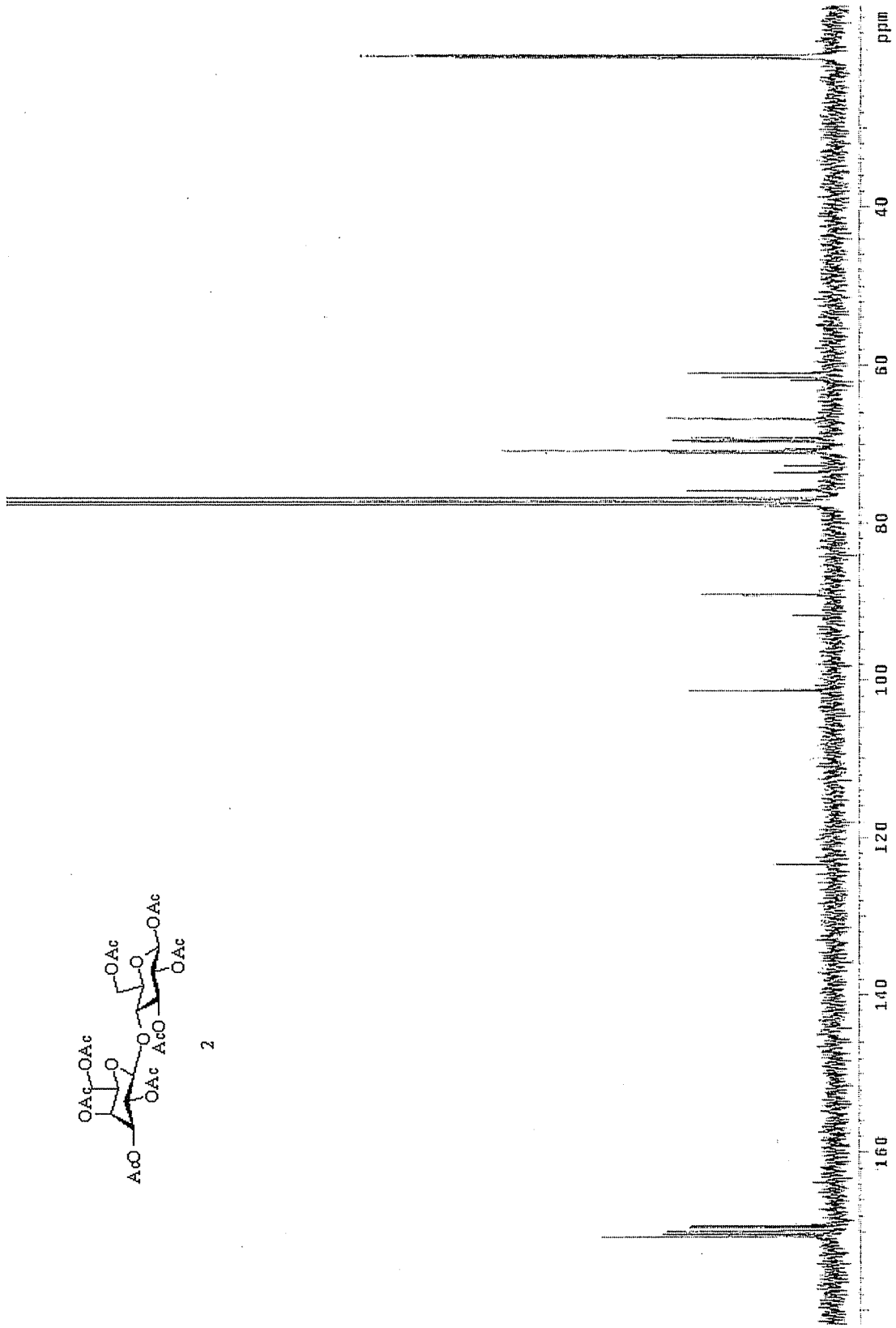
EKLER



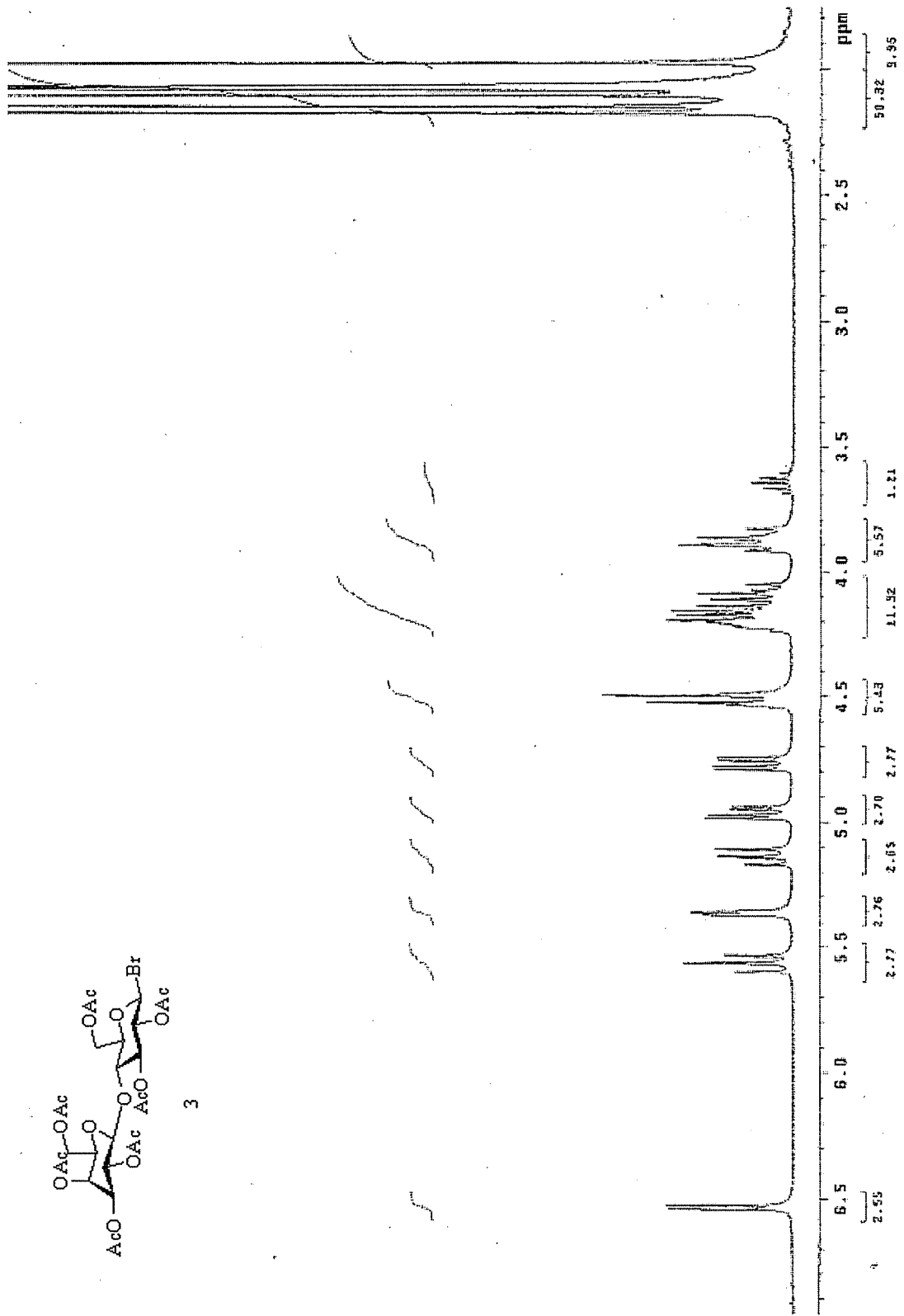
Şekil A.1. β -D-okta-O-asetillaktöz (2) bileşiğinin ^1H NMR spektrumu (300 MHz, CDCl_3)



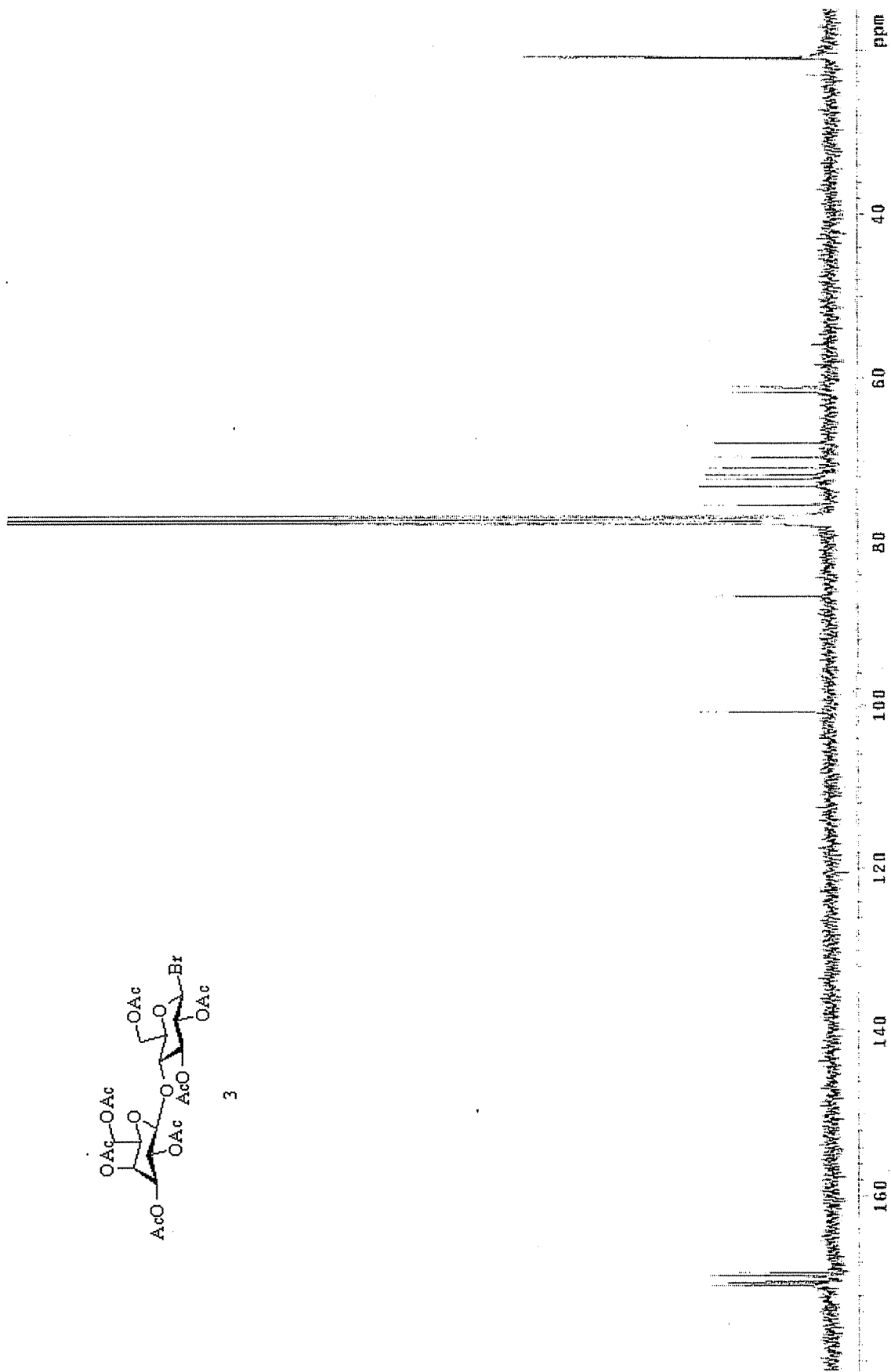
2



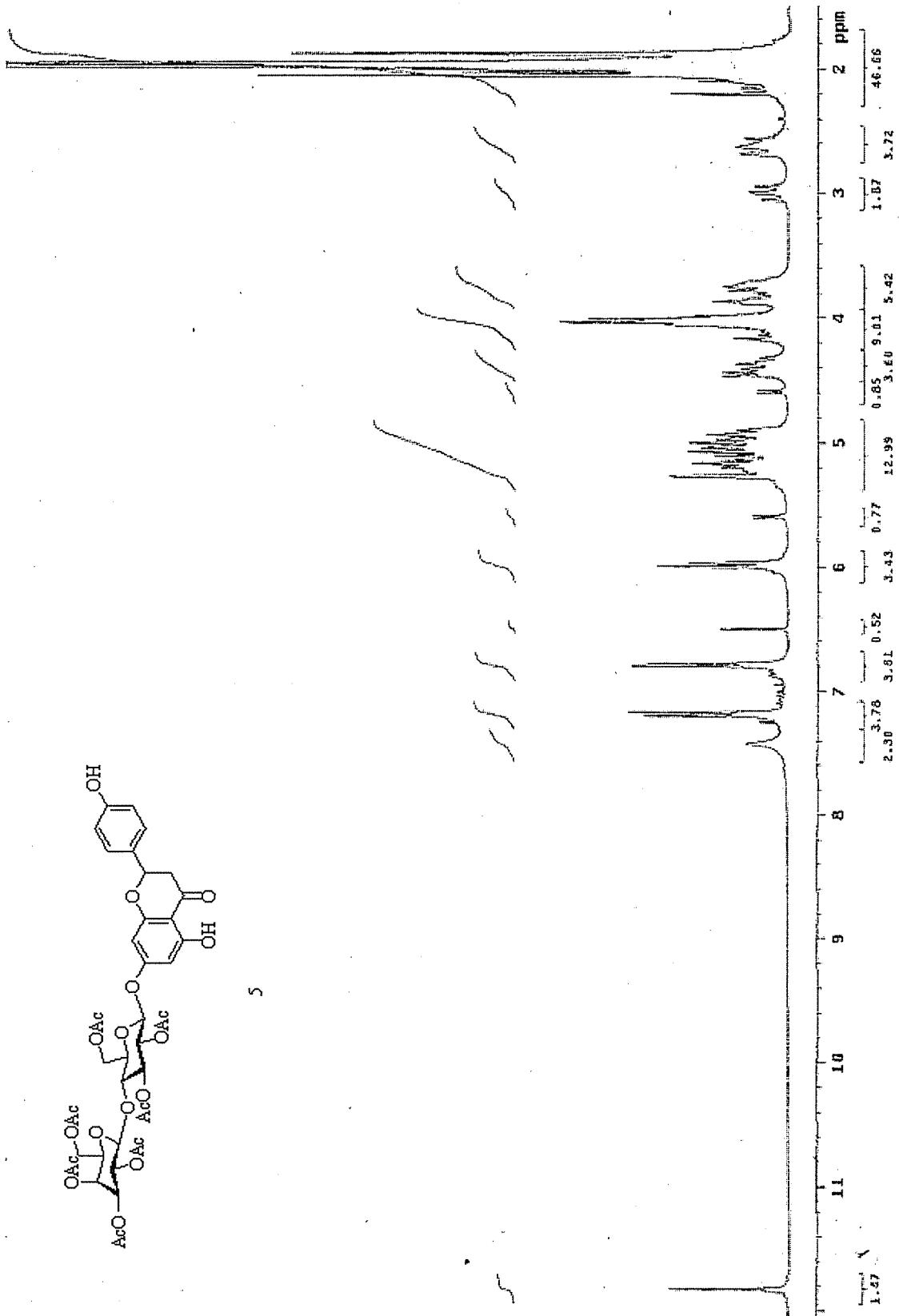
Şekil A.2. β -D-okta-O-asetillaktöz (2) bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu (75 MHz, CDCl_3)



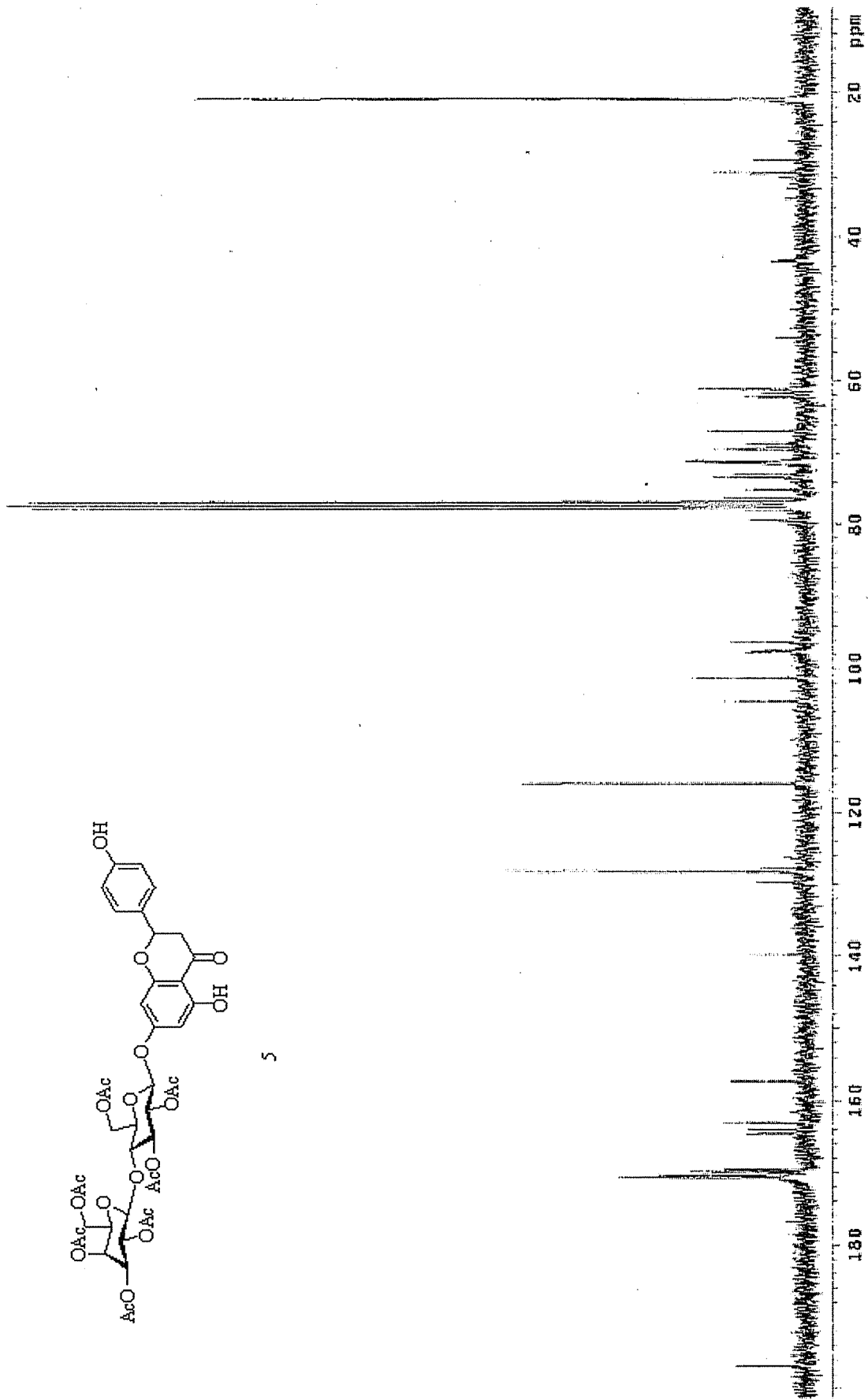
Şekil A.3. 2",2"',3"',3"',4"',6"',6"',-hepta-O-asetil-β-D-laktozil bromür (3) bileşiğinin ¹H NMR spektrumu (300 MHz, CDCl₃)



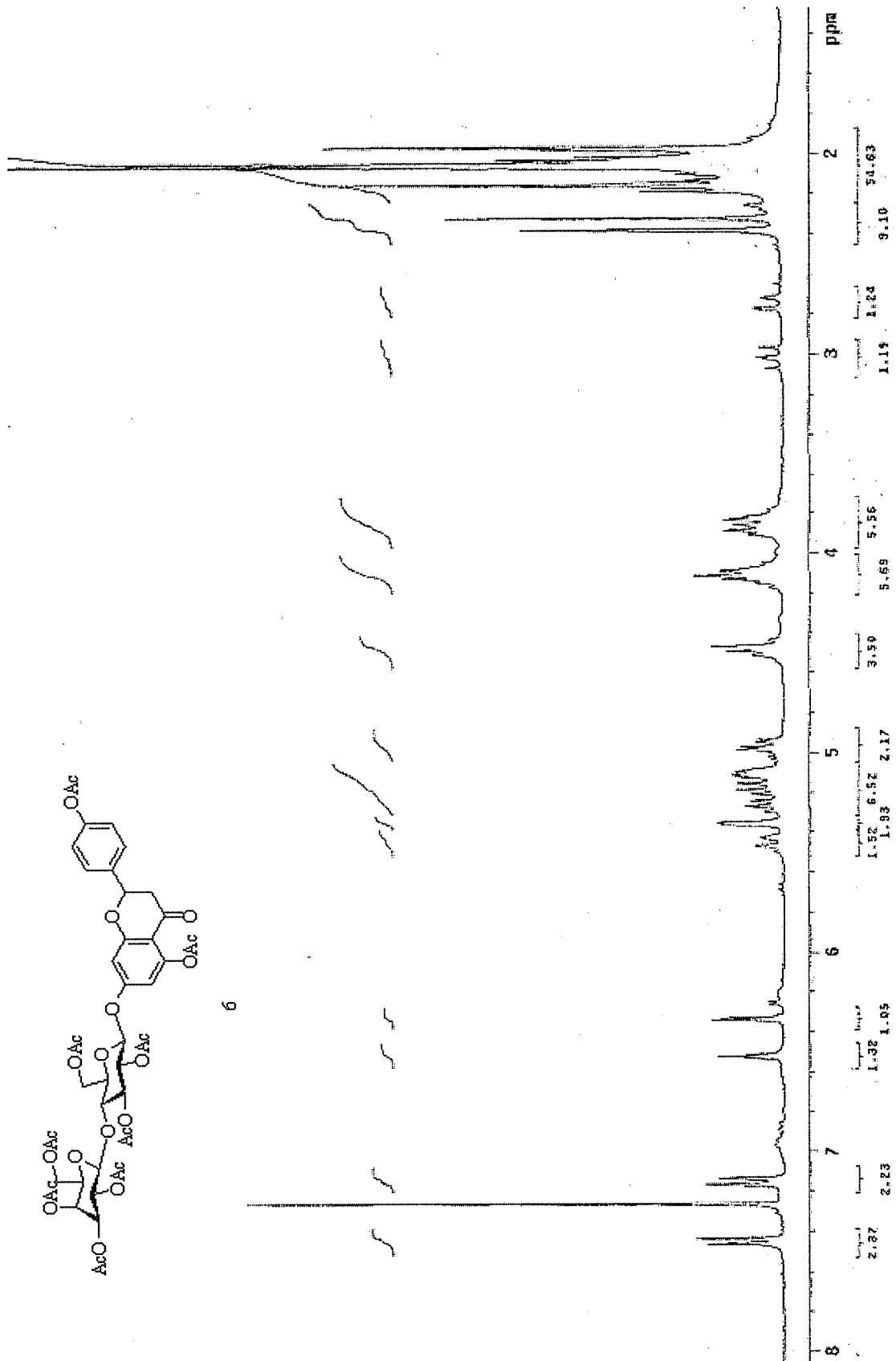
Şekil A.4. 2'' 2''' 3'' 3''' 4'' 4''' 6'' 6'''-hepta-O-asetil-β-D-laktozil bromür (3) bileşiğinin ¹³C NMR spektrumu (75 MHz, CDCl₃)



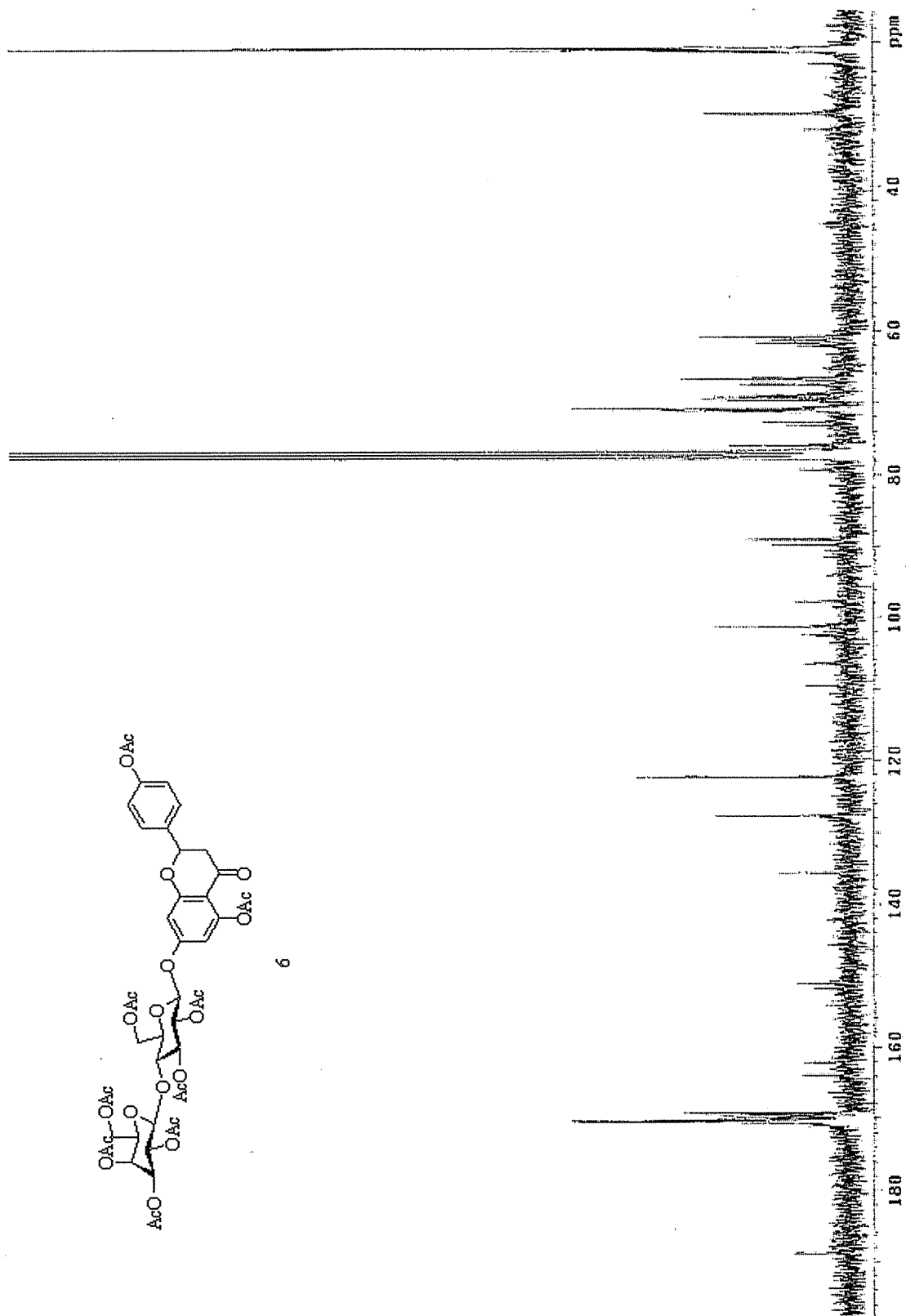
Şekil A.5. 7-O-(2'',2'',3'',3'',4'',6'',6''-hepta-O-asetil- β -D-laktozil)-naringenin (5) bileşiğinin $^1\text{H NMR}$ spektrumu (300 MHz, CDCl_3)



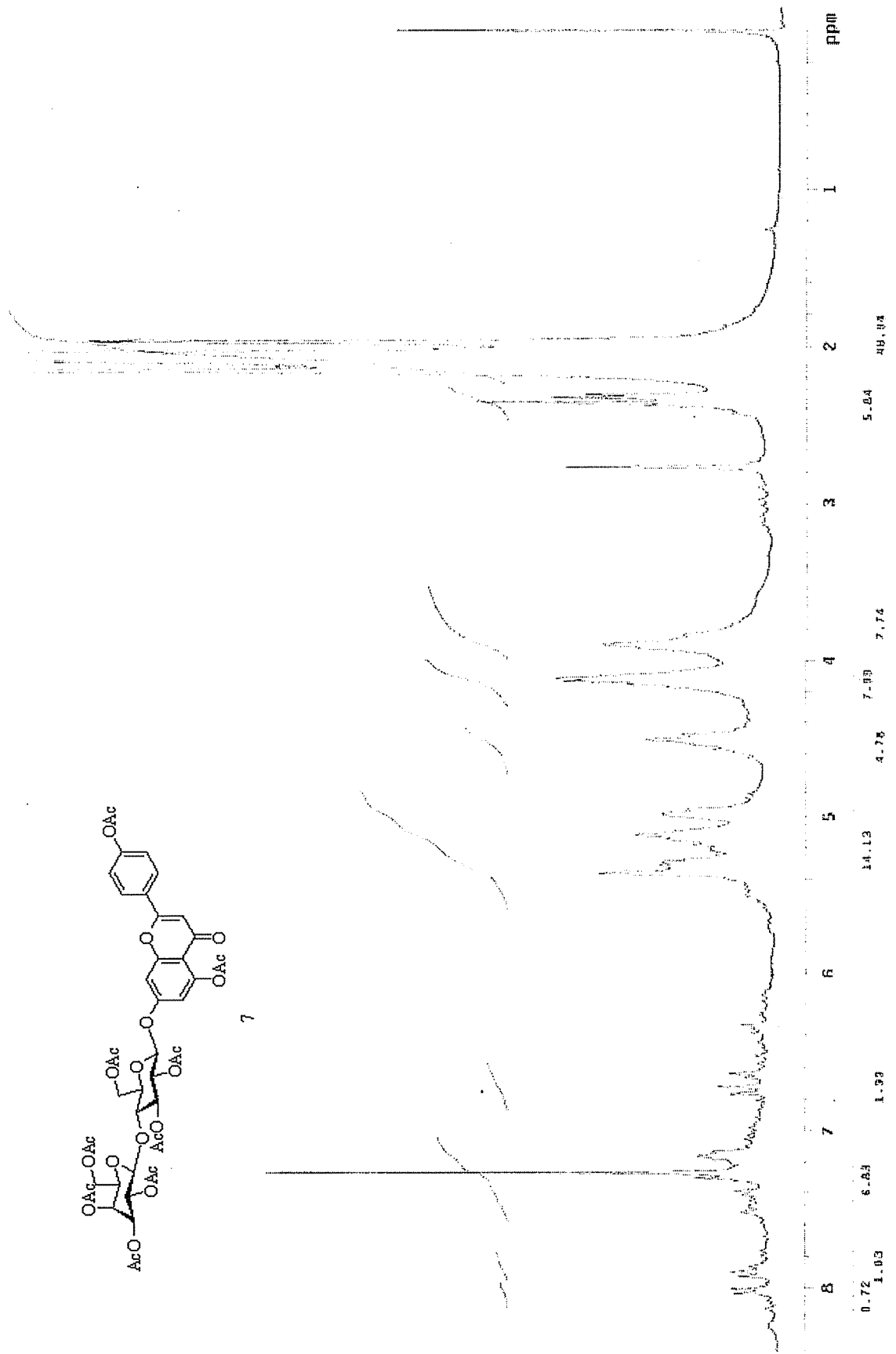
Şekil A.6. 7-O-(2'',2''',3'',3''',4''',4''',6'',6'''-hepta-O-asetil-β-D-laktozi)-naringenin (5) bileşiminin ¹³C NMR spektrumu (75 MHz, CDCl₃)



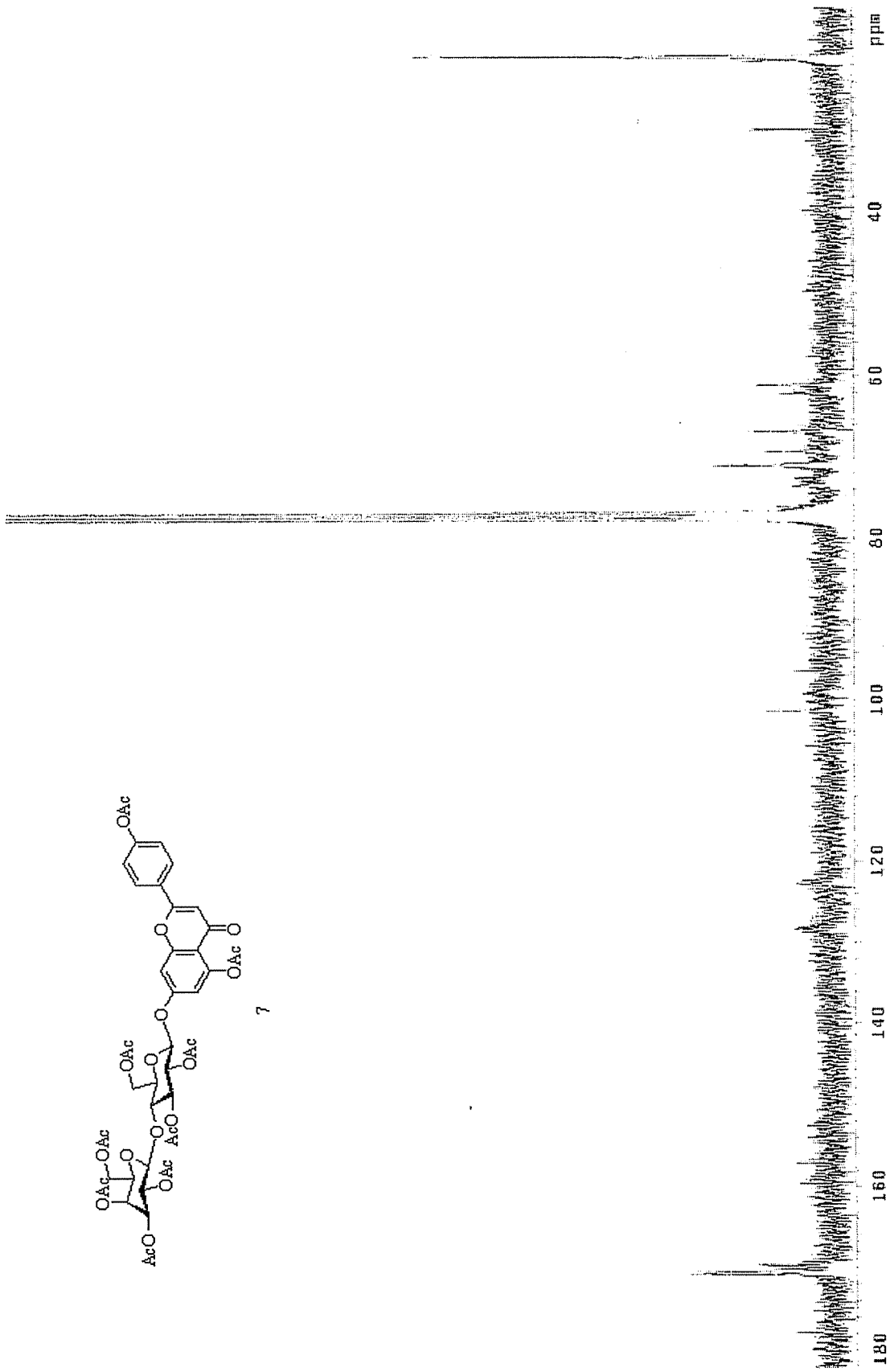
Şekil A.7. 7-O-(2''',2''',3''',3''',4''',4''',6''',6'''-hepta-O-asetil-β-D-laktozil)-6,4'-di-O-asetil-naringenin (6) bileşiminin ¹H NMR spektrumu (300 MHz, CDCl₃)



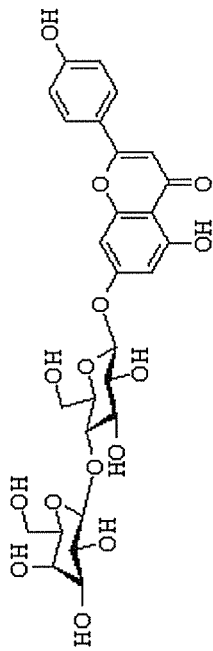
Şekil A.8. 7-O-(2''',2''',3''',3''',4''',6''',6''',hepta-O-asetil-β-D-laktozil)-6,4'-di-O-asetil-naringenin (6) bileşiminin ¹³C NMR spektrumu (75 MHz, CDCl₃)



Şekil A.9. 7-O-(2'',2''',3''',3''',4''',6''',6''')-hepta-O-asetil-β-D-laktozil)-6,4'-di-O-asetil-apigenin (7) bileşiğinin ¹H NMR spektrumu (300 MHz, CDCl₃)



Şekil A.10. 7-O-(2'',2''',3'',3''',4''',6'',6''',6'''-hepta-O-asetil- β -D-laktozil)-6,4'-di-O-asetil-apigenin (7) bileşiminin ^{13}C NMR spektrumu (75 MHz, CDCl_3)



8



Şekil A.11. 7-O-(β-D-laktosil)-apigenin (8) bileşiminin ¹H NMR spektrumu (300 MHz, DMSO-d₆)

ÖZGEÇMİŞ

Candan CENGİZ, 21.01.1982’de İstanbul’un Kadıköy ilçesinde doğdu. İlköğrenimini Kadıköy’de tamamladı. 2000 yılında Beşiktaş Sakıp Sabancı Anadolu Lisesi’nden mezun oldu. 2005 yılında Kocaeli Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü’nü bitirdi. Ekim 2005 yılında Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Mühendisliği Bölümü, Kimyasal Teknolojiler Anabilim Dalı’na girdi ve Temmuz 2006 yılına kadar yüksek lisans öğrenciliğine “Advanced Nanostructured Surfaces for the Control of Biofouling (AMBIO)” projesinde, proje asistanı olarak devam etti. 2005–2006 öğretim yılının yaz döneminde Sakarya Üniversitesi, Orta Öğretim Fen ve Matematik Alanlar Eğitimi Bölümü Kimya Eğitimi Anabilim Dalı’nda tezsiz yüksek lisansını tamamladı. 2006–2007 öğretim yılında Sakarya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı’nda yüksek lisansına yeniden başladı. Temmuz 2006’dan itibaren Sakarya Üniversitesi Eğitim Fakültesi İlköğretim Bölümü Fen Bilgisi Eğitimi Anabilim Dalı’nda Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktadır.