

Adonis annua L. Bitkisinden Müessir Maddelerin İzolasyonu ve Bu Maddeler Yönünden Kimyasal Araştırmalar

Isolation of Active Ingredients from Adonis annua L. and
Chemical Research Thereon

Mekin TANKER**

Tuncel ÖZDEN***

GİRİŞ

Kardiyoaktif heterozitler bütün tıpta kullanılan önemli bir sınıf ilacı oluştururlar. Bu sınıf ilaçların eldesi için henüz tek kaynak olarak doğadan yararlanılmaktadır. Birçoğunun sentezi yapılmışsa da ticari amaçla kullanılmayacak kadar karışık ve masraflıdır.

Kardiyoaktif heterozitlerin bulunduğu bitkilerin sayısı pek fazla değildir. Ülkemizde ise, bu bileşiklerin elde edilebileceği birkaç tür bitki yetişmektedir. Bu çalışmada, bu bitkilerden üzerinde hiç araştırma yapılmamış olan *Adonis annua* L. bitkisi ele alınmış ve kardiyoaktif heterozitler bakımından değerlendirme olanakları ve yanı sıra bitkinin bünyesinde bulunan diğer bileşiklerin izolasyonu ve yapılarının tayini amaçlanmıştır.

Kardiyoaktif heterozitler, konjestif kalp rahatsızlıklarında etkili olan bileşiklerdir. Bu bileşikler, kalbin daha kuvvetli kasılmasını sağlamakta, bu kasılma ise daha fazla oksijen kullanılmadan yapılmaktadır. Ayrıca, periferik ödemler ve taşikardiye de muhtemelen di-

Redaksiyona verildiği tarih: 21 Mayıs 1980

*Ecz. Tuncel ÖZDEN tarafından Farmasötik Kimya Kürsüsünde (Kürsü Başkanı Prof.Dr. Ningur NOYANALPAN) hazırlanmış olan aynı isimli doktora tezinden özetlenmiştir. Sınav tarihi: Haziran 1974.

**Farmakognozi ve Farmasötik Botanik Kürsüsü, Eczacılık Fakültesi, Ankara Üniversitesi.

***Farmasötik Kimya Kürsüsü, Eczacılık Fakültesi, Ankara Üniversitesi.

ürez oluşturarak önlemektedir. Bu arada kalp hacminde da bir azalma olmaktadır. Sayılan tüm etkiler kalb randımanının artmasıyla birlikte yürüyen etkilerdir.

Adonis bitkisinin çeşitli türlerinden izole edilen kardiyoaktif heterozitler ve aglikonlarının başlıcaları şunlardır:

Simarin (1-6): Strofantidin (4, 5, 7, 8) + Simaroz

Adonitoksin (4-11): Adonitoksigenin + Ramnoz

Asetiladonitoksin (4, 5, 7)

Adonitoksol (11): Adonitoksologenin + Ramnoz

Vernadigin (12): Strofadogenin + Diginoz

Asetilvernadigin (12): Asetilstrofadogenin + Diginoz

MATERYEL ve YÖNTEM

Ranunculaceae familyasından *Adonis anma* L., 10-30 cm boyunda, dallanmış, tüysüz bir bitkidir. Yapraklar dar, uzun parçalı, çiçekleri 15-22 mm enindedir. Sepalleri mor renkli, tüysüz ve hafifgeriye kıvrıktır. Petaller dar, obovat biçimli, siyah kaideli ve kırmızı renklidir, Akenler sık, 3-3.5 mm boyunda, sırtı çıkıntısız, üstü hafif buruşuk, enine taç belirsiz, gaga kısa, aken eksenine paralel ve yeşil renklidir.

Adonis anma L., 1972 yılının mayıs ayında Maraş-Pazarcık-Narlı yolu üzerinde, 500 m yükseklikte toplanmıştır. Toplanan bitkiler serin ve gölgelik bir yerde kurutulmuş ve toprak üstü kısımları köklerinden ayrılıp öğütülerek ince toz edilmiştir.

Çalışmalar, bu şekilde elde edilen toprak üstü kısımlarında yapılmış ve 1.5 kg kurutulmuş bitki materyeli kardiyoaktif heterozit ve diğer bileşiklerin izolasyonu için sırasıyla řu çözücülerle ekstre edilmiştir (13):

Petrol eteri

Dietileter

% 80 Metanol

Yapılan çalışmalarla, petrol eteri ekstresinden 3 (T_1 , T_2 ve T_3), dietileter ekstresinden 2 (T_4 ve T_5) ve % 80 metanol ekstresinden 3 (T_6 , T_7 ve T_8) arı bileşik elde edilmiştir.

Petrol eteri ve dietileter ekstreleri üzerinde yapılan ince tabaka kromatografisi çalışmalarında, bu ekstrelerde kardiyooaktif heterozitlerin varlığı görölmemiş, buna karşılık, % 80 metanol ekstresinde ise varlıkları ortaya konulmuştur.

Petrol Eteri Ekstresinin İncelenmesi

1.5 kg ince toz edilmiş bitkinin petrol eteri ekstresi kuru halde yeşil-sarı renklidir (3.7 g). Kloroform ve kloroform.-metanol (100:1 ve 100:3) solvan sistemleri kullanılarak yapılan kromatografik çalışmalarda ekstre içinde bol miktarda bileşikler bulunduğu göröldü.

Ekstrede bulunan bileşiklerin izolasyonu için kolon kromatografisi uygulandı. Bu işlem için 4 cm çapında kolon ve 250 g kiesjelgel (0.05-0.2 mm) (Merck) kullanıldı. Petrol eteri ekstresi kolona tatbik edilip 100 ml lik fraksiyonlar toplanarak kolon aşğıdaki çözücü sistemleri ile yıkandı:

Cözücü	Fraksiyon No.
Benzen	1-91
Benzen:Kloroform (9:1)	92-169
Kloroform	170-179
Kloroform:Metanol (99:1)	180-184
Kloroform:Metanol (98:2)	185-189
Kloroform :Metanol (97:3)	190-194
Kloroform:Metanol (96:4)	195-199
Kloroform :Metanol (60:40)	200-201

Yukarıda verilen fraksiyonlardan 52-210 no. lular çok düşük konsantrasyonda ve çok sayıda bileşik taşımaktadır. Bu sebeple bu fraksiyonlardaki bileşiklerin arı halde izolasyonları mümkün olmamıştır.

1-8 fraksiyonlarına ikinci bir kolon kromatografisi uygulanmış ve kolon benzen ile yıkanarak 20 ml lik fraksiyonlar toplanmıştır. Bu fraksiyonların bazılarında tek bir bileşğin diğerlerinden ayrı geldiğı görölmüş ve bu fraksiyonlar birleştirilip yoğunlaştırılmış ve çöken bileşik süzölüp, kurutulmuş ve metanol-kloroform karışımından tekrar kristallandırılıp T_1 olarak isimlendirilmiştir.

9-32 fraksiyonlarında yapılan ince tabaka kromatografisi çalışmalarında bu fraksiyonlarda da birçok bileşğin bulunduğu görölmüştür. Kloroform:benzen (20:80) solvan sisteminde R_f değeri 0.74 olan

bileşiğe ait leke diğerlerine nazaran çok kuvvetli olduğundan sadece bu bileşik preparatif ince tabaka kromatografisi yöntemi ile izole edilebilmiş ve T₂ olarak isimlendirilmiştir.

33-51 fraksiyonlarının kromatografik analizinde ise, kloroform-metanol (100:1) solvan sistemi kullanıldığında Rf değeri 0.60 olan leke diğerlerinden ayrılmış ve daha kuvvetli grlmş, bu lekeyi veren bileşik preparatif ince tabaka kromatografisi ile izole edilip önce metanol, daha sonra metanol-kloroform karışımından kristallendirilip T₃ olarak isimlendirilmiştir.

Açıklandığı gibi petrol eteri ekstresinde bulunan diğer bileşikler çok düşük miktarlarda bulunduğundan arı şekilde izole edilememişlerdir.

Dietileter Ekstresinin incelenmesi

Bitkinin dietileter ekstresi koyu yeşil-siyah renklidir ve bol miktarda klorofil taşımaktadır (15.800 g).

Yapılan kromatografik çalışmalarda, bu ekstrede, kardiyoaktif heterozitlere rastlanmamıştır.

Kuru ekstre % 10 luk metanolde zlp bir ayırma hunisi aracılığı ile sırasıyla petrol eteri ve karbon tetraklorür ile çalkalanmıştır.

Yapılan alışmalar sonucu petrol eteri tabakasından önce kolon ve sonra preparatif ince tabaka kromatografisi uygulanarak kloroform: metanol (100:1) solvan sisteminde Rf değeri 0.17 olan bileşik arı şekilde izole edilip, sırasıyla metanol-kloroform ve metanol-aseton karışımlarından kristallendirilip T₄ olarak isimlendirilmiştir.

Karbon tetraklorür tabakası üzerinde yapılan kolon kromatografisi çalışmalarında bir bileşiğin bazı fraksiyonlarda tek olarak bulunduğu grlmş bu fraksiyonlar birleştirilip yoğunlaştırılmış ve çöken bileşik kloroform-metanol karışımından kristallendirilip T₅ olarak isimlendirilmiştir.

% 80 Metanol Ekstresinin incelenmesi

Koyu yeşil-siyah renkli bu ekstre bol miktarda klorofil taşımaktadır (17.300 g). Kuru ekstre, kardiyoaktif heterozitlerin izolasyonu

için, sulu çözelti şekline getirilip sırasıyla dietileter, kloroform ve kloroform:etanol (3:1) ile ayırma hunisi aracılığı ile çalkalanmıştır.

Değişik solvan sistemleri kullanılarak her üç tabaka üzerinde yapılan kromatografik çalışmalarda simarin ve bu bileşiğin aglikonu olan strofantidin çok zayıf olarak tesbit edilmiş, adonitoksin ise görülmemiştir. Yapılan kromatografik çalışmalarda lekelerin belirlenmesi için antimon triklorür çözeltisi ve kardiyooktif heterozitlerin renk reaktifleri kullanılmıştır (2, 14-18). Simarin ve strofantidinin izolasyonu için yapılan çalışmalar sonuç vermemiş ve bu bileşiklerin miktarları çok az olduğundan arı halde elde edilememişlerdir.

Yukarıda yapılan işlemlerden kalan % 80 metanol ekstresi üzerinde yapılan kromatografik çalışmalarda klorofil miktarının çok fazla olması sebebiyle iyi bir ayırım elde edilememiş ancak bu ekstrede flavon tipi bileşiklerin varlığı görülmüştür.

Flavon tipi bileşiklerin izolasyonu için, ekstre benzen aracılığı ile 5 cm çapında bir cam kolona doldurulmuş 500 g kiesegel (0.05-0.2 mm) (Merck) üzerine taibik edilmiş ve yıkama solvanı olarak etil esetat: metanol:su (100:20:10) kullanılarak 20 şer ml lik fraksiyonlar toplanmıştır. Toplanan fraksiyonlar ayrı ayrı kuruluğa kadar uçurulmuş, metanolde çözülmüş ve bekleme sonucu tüm fraksiyonlarda kristallerin oluştuğu görülmüştür. Kristaller süzülerek alınmış, kromatografik analiz sonucu her birinin aynı bileşik olduğu tesbit edildikten sonra birleştirilmiş, dietileter ile yıkanmış ve metanolden tekrar kristallendirilip T₆ olarak isimlendirilmiştir.

Kalan çözeltiler üzerinde yapılan kromatografik çalışmalarda iki adet flavon tipi bileşiğin bulunduğu görülmüş ve bu iki bileşiğin izolasyonu için fraksiyonlar birleştirilmiş ve 150 g selüloz (Avicel) adsorbanı üzerinden kolon kromatografisi uygulanmış, kolon n-butanol:aseton:kloroform (50:25:25) ile yıkanmış ve 15 ml lik fraksiyonlar toplanmıştır. Elde edilen fraksiyonlardan bazılarında her iki bileşiğin ayrı ayrı arı şekilde bulunduğu görülmüş, karışım halinde bulunan fraksiyonlar ise birleştirilip yoğunlaştırılmış, 100 g poliamid kolonundan geçirilerek bileşiklerin birbirinden ayrılmaları sağlanmıştır.

Arı halde bileşikleri taşıyan fraksiyonlar birleştirilip yoğunlaştırılmış, aseton-petrol eteri karışımından kristallendirilip süzülmüş

ve petrol eteri ile iyice yıkanıp kurutulmuştur. Byolece elde edilen iki bileşik T_7 ve T_8 olarak isimlendirilmiştir.

***Adonis annua* L. Bitkisinin Toprak st Kısımlarında Kardiyoaaktif.**

Heterozitlerin Miktar Tayini

Bitkide bulunan kardiyoaaktif heterozitlerin miktarlarının saptanmasında optik çevirme derecelerinin tayinine dayanan BOURQU-ELOT yöntemi kullanılmıştır (19).

Ekstraksiyon: 2 lt lik şilfli bir balon içine 500 g % 80 lik etanol konulup bir balon ısıtıcısı üzerinde ısıtıldı. İlk kaynama ile birlikte 100 g çok ince toz edilmiş bitki kısımlar halinde ilave edildi. Bitkinin tamamının ilavesinden sonra karışım 40 dakika geri eviren soğutucu altında kaynatıldı. Bu süre sonunda zlti szlerek alındı ve kalıntı bitki 1 kez 400, 1 kez de 300 g % 80 lik etanol ile yıkanı, szld ve süzüntüler birleştirilip vakumda yoğunlaştırıldı.

Deneyin yapılışı: Yoğunlaştırılmış ekstre üzerine 25 ml kurşun subasetat (3 k kurşun asetat, 1k kurşun oksit ve 10 k distile su) konuldu ve szld. Szntde bulunan kurşun iyonlarının fazlası hidrojen sülfür gazı geçirilerek ktrld. Çöken kurşun sülfür szlerek ortamdandan uzaklaştırıldı ve çökelek oluşmayana kadar işleme devam edildi.

Sznt vakum altında ve 50 C de 20 ml ye kadar yoğunlaştırıldı. Ortamdandan bulunabileceği düşünülen flavon heterozitlerini uzaklaştırmak üzere sırasıyla dieteter, kloroform ve kloroform: etanol (3:1) ile ayırma hunisinde çalkalandı. Organik fazlar birleştirilip rotovaporda kuruluğa kadar uçuruldu ve 75 ml suda ısıtılarak üzüldü.

zltiye 150 ml lik bir balonjoje içinde 50 ml pH 4.6 olan asetik asit-asetat tampon zltisi ve 10 damla toluen konulup 150 ml ye tamamlandı. zltinin 20 ml si alındı ve polarimetrede optik çevirme derecesi bulundu (α_p).

zlti cam kapaklı bir erlenmayer içinde 300 mg invertin (invertaz) ile muamele edildi ve 30 C lik etüvde-bekletildi. Her 24 saatte bir 20 ml çekilerek optik çevirme derecesi lld. 48 saat sonunda değişmiyen bir çevirme grld (α_1).

Erlenmayer geri eviren soğutucu altında ve kaynar su banyosu üzerinde 5 dakika ısıtılarak invertin inaktive edildi. zltiye taze

hazırlanmış 300 mg emülsin kondu ve 30° lik su banyosu üzerinde bekletildi. Yine her 24 saatte bir 20 ml alınarak optik çevirme derecesi ölçüldü, 72 saat sonunda değişmeyen bir çevirme görüldü (α_e).

Yapılan Hesaplar: Bitkideki kardiyoaktif heterozitlerin miktarlarının bulunması için gerekli tüm hesaplar glukoz üzerinden yapıldı.

$$\alpha_o = 0.35 \quad \alpha_i = 0.70 \quad \alpha_e = 0.80$$

$$\alpha_D = \frac{100 \cdot \alpha}{l \cdot c}$$

$$l=2 \quad \text{ve} \quad \alpha_D = 52.7$$

Bulunan değerler formül üzerinde yerlerine konulduğunda,

$$c = 0.332 \text{ (100 g bitkide, 150 ml çözeltide)}$$

$$c = 0.332 \cdot \frac{150}{100} = 0.49 \text{ g (redüktör } O^z \text{ miktarı)}$$

$$\alpha_i = 0.70 \text{ olduğuna göre bitkideki sakkaroz miktarı} = 0.47 \text{ g}$$

$$\alpha_e = 0.80$$

$$\alpha_e - \alpha_i = 0.10$$

Bitkide bulunan ve daha önce diğer türlerden izole edilen kardiyoaktif heterozitlerin aglikonlarının ortalama molekül ağırlığı 387 (samarin) dir.

$$52.7 = \frac{100 \times 0.10}{2 \cdot c}$$

Buradan, $c = 0.094$ bulunur

100 g bitkide (150 ml çözeltide) ise:

$$c = 0.094 \cdot \frac{150}{100} = 0.14 \text{ g}$$

Bitkide bulunan heterozit aglikonu miktarı % 0.14 tür.

Buradan,

387 g aglikon

549 g heterozitte varsa

0.14 g aglikon

X g heterozitte bulunur.

$$X = \frac{0.14 \cdot 549}{387} = 0.2 \text{ g}$$

Bitkide bulunan kardiyoaaktif heterozit miktarı % 0.2 dir.

BOURQUELOT yönteminde glukoz üzerinden yapılan hesapta bu miktar % 0.30 dan düşük bulunduğunda kardiyoaaktif heterozitlerin izolasyonu için çalışmak öğütlenmemektedir.

BULGULAR

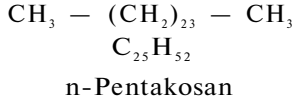
1) **T₁ Bileşğinin incelenmesi:** Beyaz amorfparçacıklar halindedir. UV de absorpsiyon vermemekte ve fonksiyonel grup taşımamaktadır. E.N.: 53 °C

IR Spektrumu: 9 maks. 2940-2860 (-C-H gerilimi), 1460 (C-H deformasyon bantı), 1380 (metil C-H deformasyon bantı), 720 (C-H roking bantı, CH₂ >4)

NMR Spektrumu: 8 ppm 0.75-0.85 (metil protonları, 6 H,t), 1.20 (metilen protonları, 46 H,s)

Kütle Spektrumu: Moleküler iyon m/e 352 de görölmektedir. Daha sonraki bölünmeler ise sırasıyla 15 ünitelik bir metil grubu ve 14 ünitelik metilen gruplarının kopuşu ile olmaktadır.

Bu sonuçlara göre T₁ bileşğii doymuş bir hidrokarbon olan n-pentakosan-'dır.



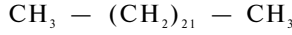
2) **T₂ Bileşğinin incelenmesi:** Bu bileşğinin tüm fiziksel ve kimyasal özellikleri T₁ bileşğinin aynıdır. E.N. :47°C

IR Spektrumu: 9 maks. 2860-2840 (-C-H gerilimi), 1460 (C-H deformasyon bantı), 1380 (metil C-H deformasyon bantı), 720 (C-H roking bantı, CH₂> 4)

NMR Spektrumu: 8 ppm. 0.75-0.85 (Metil protonları, 6 H,t), 1.20 (metilen protonları, 42 H,s)

Kütle Spektrumu: Moleküler iyon m/ e 324 de görölmektedir. Bunu takip eden bölünmeler ise sırasıyla 15 ünitelik bir metil grubu ve 14 ünitelik metilen gruplarının kopuşu ile olmaktadır.

Elde edilen sonuçlara göre T₂ bileşğii doymuş bir hidrokarbon olan n-trikosan'dır.



n-Trikosan

3) T₃ Bileşiğinin İncelenmesi: Beyaz parlak pulcuklar halindedir. E.N.: 137°C Steroid reaksiyonlarını vermektedir.

IR Spektrumu: ν maks. 3584-3450 (O-H gerilimi), 3010 (=C-H gerilimi), 2962-2872 (-C-H gerilimi), 1610 (C=C gerilimi), 1460 (C-H deformasyon bantı), 1375 (metil C-H deformasyon bantı), 1050 (O-H deformasyon bantı)

NMR Spektrumu: δ ppm. 0.80-2.20 (Metil, metilen ve metin protonları, 49 H,m), 2.90 (OH protonu, 1 H,s), 4.90 (çifte bağlı karbon atomu üzerindeki proton, 1 H, d)

Kütle Spektrumu: Moleküler iyon m/e 414 de görülmekte daha sonra steroidal bir hidrokarbonun bölünmesine uygun bir parçalanma olmaktadır.

Elde edilen sonuçlara göre T₃ bileşiğinin β-sitosterol olduğu düşünülmüş ve standart bileşik ile yapılan kromatografik çalışmalarda aynı Rf değerleri bulunmuştur. İki bileşiğin IR spektrumları da birbiriyle tamamen çakışmaktadır.

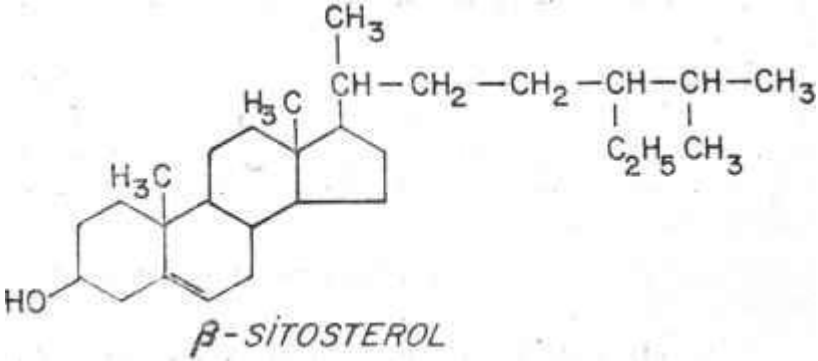
Ayrıca, T₃ ve standart β-sitosterol bileşiklerinin asetat ve benzoat türevleri hazırlanmış ve her iki bileşikten hareketle hazırlanan türevlerin aynı Rf değerlerini, ergime noktalarını ve IR spektrumlarını verdiği görülmüştür.

T₃ Bileşiğinin asetilli türevinin hazırlanışı: 25 mg bileşik 50 ml lik şilifli bir balonda 1 ml asetik anhidriti ve 2.5 ml piridinde çözüldü. Geri çeviren soğutucu altında 35-40 °lik su banyosu üzerinde ısıtıldı. Her 30 dakikada bir numune alınarak kromatografik analizi yapıldı. Üç saat sonunda T₃ bileşiğine uyan lekenin kromatogramda bulunmadığı, bunun yerine başka bir leke oluştuğu görüldü. Böylece bileşiğin t a m a m ının asetillendiği anlaşıldı. Çözelti soğutuldu, 10 ml buzlu su ilavesiyle buz dolabında bekletildi. Bir gün sonra teşekkül eden kristaller süzülerek alındı ve asit reaksiyon vermiyene kadar soğuk su ile yıkanıp metanol-kloroformdan tekrar kristallendirildi.

T₃ bileşiğinin benzoat türevinin hazırlanışı: 25 mg bileşik 50 ml lik şilifli bir balon içinde 0.5 g benzoil klorür ve 2 ml piridin içinde

çözöldü. Geri çeviren soğutucu altında ve kaynar su banyosu üzerinde ısıtılmaya başlandı, 10 dakika sonra yapılan kromatografik analizinde T_3 bileşğinin verdiği lekenin kaybolduğu ve yerine değışik Rf değıerinde bir lekenin oluştuğu göröldü. Çözelti alındı, 10 ml buzlu su ilave edildi ve buz dolabında bekletildi. Teşekköl eden kristaller süzölerek alındı, sırasıyla % 5 hidroklorik asit, % 5 sodyum karbonat ve buzlu su ile yıkanıp metanolden tekrar kristallendirildi.

Elde edilen bulgulara göre T_3 bileşği sterol yapısında bir bileşik olan β -sitosterol'dur.



4) T_4 Bileşğinin İnce len me si: Beyaz amorf parçacıklar halinde-dir. E.N.: 173°C

Elde edilen arı bileşik miktarı çok az olduğundan (19 mg) üzerinde kimyasal analizler yapılamamış, bileşğın yapısı ancak spektral analiz yöntemleriyle ortaya konmaya çalışılmıştır.

IR Spektrumu: ν maks. 3440 (O-H gerilimi), 3080-3030 (=C-H gerilimi), 2960-2860 (-C-H gerilimi), 1600, 1580 (C=C gerilimi), 1470 (C-H deformasyon bantı), 1370 metil C-H deformasyon bantı), 1050 (O-H deformasyon batı), 750, 700 (C-H plan dışı de-masyon bantı, sübstitue benzen halkası)

NMR Spektrumu: δ ppm. 0.50-2.50 (metil ve metilen protonları, m), 260-400 (metilen ve metin protonları, m), 6.50 (OH protonu, 1 H,s), 7.10-7.40 (fenil protonları, 2 H, 2 s)

Kütle Spektrumu: Moleküler iyon m/e 414 de görülmektedir. Ana pik ise bir su kaybı ile oluşan m/e 396 pikidir. Daha sonra oluşan iyonlar sırasıyla bir metil grubu, metilen grupları ve benzen halkasının parçalanma iyonlarıdır.

Yukarıda sayılan spektral analiz sonuçlarına göre bileşiğin tam yapısının açıklanması mümkün olmamıştır. Belirtildiği gibi elde edilen arı bileşik miktarı ancak 19 mg olmuştur. Bileşiğin tam yapısının açıklanması daha fazla bitki ekstresinden hareketle yapılacak çalışmalar sonucu mümkün olabilecektir.

5) T₅ Bileşiğinin incelenmesi: Parlak pulcuklar şeklindedir. E.N: 137°C

Yapılan kimyasal analizinde sterol reaksiyonlarını vermiştir. Kromatografik ve spektral çalışmalar ise bu bileşiğin T₃ bileşiği ile idantik olduğunu göstermiştir. Bileşiğin asetilli türevi de T₃ bileşiğinin asetilli türevi ile aynı Rf değerini, ergime noktasını ve IR spektrumunu vermiştir.

Bulgulardan anlaşılacağı gibi T₅ bileşiği de T₃ bileşiği gibi p-si-tosteroldür.

6) T₆ Bileşiğinin İncelenmesi: Renksiz prizmatik kristallerdir. E.N.:10₂.6°C

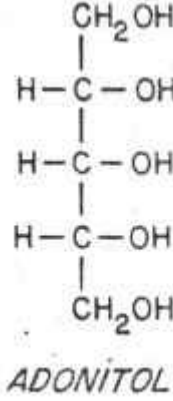
IR Spektrumu: δ maks. 3300 (OH gerilimi), 2940, 2900 (-C-H gerilimi), 1460 (C-H deformasyon bantı), 1030 (O-H deformasyon bantı)

NMR Spektrumu: δ ppm. 2.80 (metilen protonları, 4 H, d), 3.00 (OH protonları, 5 H, s), 3.50-3.90 (metin protonları, 3 H, m)

Kütle Spektrumu: Polihidroksil türevi olan bileşiğin kütle spektrumunda moleküler iyon tesbit edilememiştir.

Elde edilen bulgulardan bu bileşiğin daha önce *Adonis amurensis* bitkisinden izole edilen adonitol (ribitol) olduğunu düşündürmüştür (3) ve standart adonitol ile yapılan kromatografik analizlerde aynı Rf değerleri elde edilmiştir. Ayrıca, standart adonitol ile T₆ bileşiği aynı IR ve NMR spektrumlarını vermektedir. T₆ ve standart adonitol üzerinden hazırlanan benzoat türevleri de aynı kromatografik bulguları ve ergime noktalarını (99-101 °C) vermektedir.

Böylece yapılan analizler sonucu T_6 bileşiğinin adonitol (ribitol) olduğu ortaya konulmuştur.



T_6 Bileşiğinin Benzoat Türevinin Hazırlanışı: 30 mg bileşik 0.6 g benzoil klorür ve 1 ml piridin ile karıştırıldı. Karışım üzerine kal-kalsiyum klorür borusu takıldı ve 1 saat oda ısısında bekletildi. 0.5 ml metanol ilavesiyle 2 saat daha bekletildi. Bu süre sonunda oluşan kristaller süzülerek alındı ve kurutulup kloroformdan tekrar kristal-lendirildi.

7) **T_7 Bileşiğinin İncelenmesi:** Sarı, ince kristalin toz halin-dedir. Eter ve kloroformda çözünmemektedir. E.N. :203-205°C

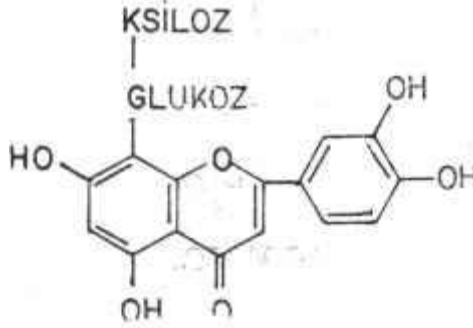
IR Spektrumu: $\bar{\nu}$ maks. 3500 (O-H gerilimi), 3050 (=C-H geri-limi), 2990 (-C-H gerilimi), 1680 (C=O gerilimi), 1600, 1580, 1510 (G=G gerilimleri), 1450 (C-H deformasyon bantı), 1260-1070 (C—O gerilimleri), 1050 (O-H deformasyon bantı), 850, 800 (C-H plan dışı deformasyon bantları, substitue benzen halkası)

UV Spektrumu: λ maks. 258, 270 ve 350 nm

T_7 bileşiğinin ergime noktası daha önce *Adonis vernalis* bitkisinden izole edilen adonivernit'e uymaktadır (20). Standart adonivernit ile yapılan karışılaştırmada, karışım ince tabaka kromatografisi, karışım ergime noktası ve spektral analizler (IR ve UV) iki bileşiğın idan-

tik olduğunu göstermektedir. Ayrıca, T₇ bileşiğinin asit hidrolizi sonucu ince tabaka kromatografisinde ksilozun teşhisi yapılmıştır.

Yukarıda verilen bulgulardan anlaşılacağı üzere T₇ bileşiği bir flavon heteroziti olan adonivernit (orientin-6"-0-ksilopiranozit) [3', 4', 5, 7-tetrohidroksiflavon -8-C(0-β-glukopiranozit-6"-β-D-ksilopiranozit)] dir.



T₇ Bileşiğinin Hidrolizi: 25 mg bileşik % 10 luk hidroklorik asit çözeltisi ile geri çeviren soğutucu altında ve su banyosu üzerinde ısıtıldı. İki saat sonunda karışım soğutuldu, sodyum bikarbonat ile nötralize edildi ve kloroform ile çalkalanarak aqlikonu ayrıldı. Sulu tabakada şekerlerin teşhisi yapıldı.

8) T₈ Bileşiğinin İncelenmesi: Sarı ince kristalin tozudur. Eter ve kloroformda çözünmemektedir. E.N.: 264-266°C

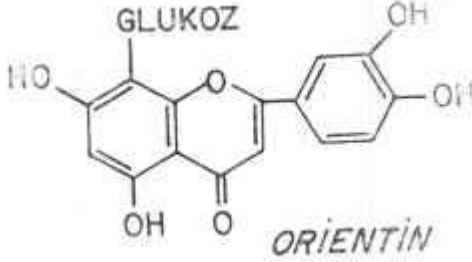
Bileşiğin ergime noktası daha önce *Adonis vernalis* bitkisinden izole edilen orientin ile uyuşmaktadır (20). Yapılan karşılaştırmalı ince tabaka kromatografisi, karışım ergime noktası ve spektral analizler (IR ve UV) iki bileşiğin idantik olduğunu göstermektedir.

IR Spektrumu: ν maks. 3500-3000 (O-H gerilimi), 3060 (=C-H gerilimi), 2900 -C-H gerilimi), 1660 (C=O gerilimi), 1605, 1580, 153° (C=C gerilimleri), 1440 (C-H deformasyon bantı), 1270-1100 (C-O gerilimleri), 1070 (O-H deformasyon bantı), 850, 800 (C-H plan dışı deformasyon, bantı, sübstitue benzen halkası)

UV Spektrumu: ν maks, 255, 267 ve 346 nm

Ayrıca T₈ bileşiğinin hidrolizi sonucu ince tabaka kromatografisinde glukozun teşhisi yapılmıştır.

Verilen tüm bulgulardan anlaşılacağı üzere T₂ bileşığı bir flavon heteroziti olan orientin [3', 4', 5, 7-tetrahidroksiflavon-8-C-(0-p-D-glukopiranozit)] dir.



T₈ Bileşığınin Hidrolizi: 25 mg bileşik, 0.2 g demir-3 klorür ve 1 ml su ile geri çeviren soğutucu altında ve su banyosu üzerinde ısıtıldı. Karışım soğutuldu ve sodyum karbonat çözeltisi ile pH=8'e ayarlandı. Santrifüj edilerek oluşan çökelek ayrıldı. Çözeltinin pH sı dilüe hidroklorik asit çözeltisi ile 7 ye getirildi ve vakum altında 0.5 ml kalana kadar yoğunlaştırıldı. Bu çözeltiden hareketle ince tabaka kromatografisinde glukozun teşhisi yapıldı.

SONUÇ ve TARTIŞMA

Kardiyoaktif heterozitlerin ticari oranda elde edilebilme olanaklarını araştırmak üzere yapılan bu çalışmada daha önce çalışılmamış olması nedeniyle *Adonis annua* L. bitkisi incelenmiştir.

Yapılan çalışmalar sonucu bitkinin çeşitli tüketim fraksiyonlarından değişik yapı ve kimyasal özelliklere sahip birçok bileşik izole edilmiş ve yapıları açıklanmıştır. Bu bileşiklerin başlıcaları flavon heteroziti yapısına sahip adonivernit ve orientili, şeker yapısına sahip adonitol (ribitol), sterol yapısına sahip β -sitosterol ve hidrokarbon olan n-trikosan ile n-pentakosandır.

Kardiyoaktif heterozitlerin izolasyonu için yapılan çalışmalar ise bu bileşiklerin miktarlarının çok az olması sebebiyle başarılı olmamış, yalnızca bitkideki varlıkları kromatografik çalışmalarla ortaya konmuştur.

Glukoz üzerinden polarimetrik yöntemle yapılan kardiyooktif heterozit miktar tayininde de bulunan sonuçlar bu bitki üzerinde kardiyooktif heterozitler yönünden çalışmanın ekonomik olmayacağını vurgulamıştır.

ÖZET

Bu çalışmada *Adonis annua* L. bitkisinin taşıdığı kimyasal bileşikler izole edilmiş ve yapıları aydınlatılmıştır.

Yapılan çalışmalar sonucu bitkinin petrol eteri ekstresinden 3 (n-trikosan, n-pentakosan ve β -sitosterol), dietileter ekstresinden 2 (β -sitosterol ve yapısı açıklanamayan bir bileşik) ve %80 metanol ekstresinden 3 (adonitol, adonivernit ve orientin) bileşik izole edilmiştir. Bu bileşiklerin tanımlanmaları için kimyasal yöntemlerin yanısıra spektral yöntemler de kullanılmıştır.

Tüm bileşikler ince tabaka kromatografisinde verdikleri Rf değerleri ile tanımlandıktan sonra standart bileşikler ile karışım kromatografisi, karışım ergime noktası tayin edilerek ve IR, UV, NMR ve Kütle spektrumlarının yardımıyla teşhis edilmiştir.

Kardiyooktif heterozitlerin varlığı ise ancak kromatografik yöntemler ile görülmüş, bu bileşiklerin arı halde eldeleri için yapılan çalışmalar ise başarılı olmamıştır.

Bitkinin taşıdığı kardiyooktif heterozitlerin miktarlarının saptanması glukoz üzerinden polarimetrik yöntemle yapıldı. Bu miktar tayini sonunda kardiyooktif heterozit muhtevası % 0.2 bulundu.

SUMMARY

In this research, the active ingredients of *Adonis annua* L. have been isolated and determined.

From the petroleum ether extract of the plant 3 (n-tricosan, n-pentacosan and β -sitosterol), diethylether extract 2 (β -sitosterol and an unknown one), and 80 % methyl alcohol extract 3 (adonitol, adonivernith and orientin) compounds are isolated. For the identification of these compounds chemical, chromatographic and spectral analysis are employed.

After the identification on thin layer chromatography plates with the Rf values, all the compounds have been determined with their mix-chromatography, mix-melting points and IR, NMR, UV and Mass spectra.

The cardioactive heterosides have been only determined with the aid of thin layer chromatography. The studies to isolate these compounds are not succeeded.

The quantitative determination of cardioactive heterosides has been made with a polarimetric method. From this determination the cardioactive heteroside content of the plant has been found to be 0.2 % .

ACKNOWLEDGEMENT

The authors are gratefull to Prof. Dr. T. REICHSTEIN and Dr. N. F. KOMISSARENKO for their kind grant of standard compounds used in this research.

LITERATUR

1. Reichstein, T., Rosenmund, H., *Pharm. Acta Helv.*, 15, 150 (1950)
2. Reichstein, T., Rosenmund, H., *Pharm. Acta Helv.*, 17, 176 (1942)
3. Santavy, F., Reichstein, T., *Pharm. Acta Helv.*, 23, 153 (1958)
4. Pitra, J., Cekan, Z., *Coll. Czech. Chem. Commu.* 26, 1551 (1961)
5. El Keiy, M.A., Sayed, M.D., Hashem, F.M., Soliman, F.M. Mohammed, M.A., *J. Pharm. Sci. U.A.R.*, 6, 273 (1965)
6. Satoï Y.J Hiranoi M.i Nittoi I.i Azumai J.i Hayashii K.i Mitsuhashii H.i *Chem. Pharm. Bull.*, 19, 202 (1971)
7. Cekan, Z., Pitra, J., *Chem. Ind.*, 30, 497 (1960)
8. Kolesnikov, D.G., Bugrin, N.A., *Med. Prom. SSSR*, 2, 19 (1960)
9. Katz, A., Reichstein, T., *Pharm. Asia Helv.*, 22, 437 (1947)
10. Tseche, R., Petersen, R., *Chem. Ber.*, 86, 574 (1953)
11. Cserep, A., Masler, L., Sikl, D., Bauer, S., *Khem. Zvesti* 18, 273 (1964)
12. Polakova, A., Cekan, Z., *Chem. Ind.*, 2, 1766 (1963)
13. Stoll, A., Jucker, E., **Modern Methoden der Pflanzen Analyse**, III, 206 (1955)
14. Mamose, T., Matsukuma, T., Ohkira, Y., *J.Pharm. Soc. Japan.*, 84, 783 (1934)
15. Jensen, K.B., *Acta Pharmacol. et Toxicol.*, 9, 99 (1953)
16. Reichert, J., Pitra, J., *Coll. Czech. Commu.*, 27, 1709 (1962)
17. Frerejacque, M., Greve, P., *Anna, Pharm. Franc.*, 21, 509 (1963)
18. Stahl, E., **Thin Layer Chromatography, Academic Press, New-York** (1965)
19. Brumel, A., *Traite Pratique de Chimie Vegetale, George Frere Tourcoing (Nord), New-York* (1949)
20. Cheronoba, V.I., Komissarenko, N.F., Litvanenko, V.I., *Khim. Prir. Soedn.*, 4, (0), 51 (1968)