

**Cruciata taurica (Pallas ex Willd.) Ehrend. s.l. Üzerinde
Farmakognozik Araştırmalar.II.***

Recherches Pharmacognosiques sur Cruciata taurica (Palles ex
Willd.) Ehrend.s.l.II.

Mekin TANKER**

Fatma ERGUN***

GİRİŞ

Üzerinde araştırma yaptığımız bitki, *Galium coronatum* Sibth. and Sm. olarak bilinmekle beraber son yıllarda morfolojik özelliklerine dayanarak *Cruciata* genusuna dahil edilmiş ve *Cruciata taurica* (Pallas ex Willd.) s.l. olarak isimlendirilmiştir.(1).

Galium ve *Cruciata* türleri, yurdumuzun hemen her yerinde yetiştiği halde aralarında araştırma yapılmış türe rastlanmamıştır.

Cruciata taurica bitkisinin morfolojik ve anatomik özellikleri ile bu bitkinin halk arasında kullanıldığı yerler daha önceki çalışmamızda belirtilmiştir (2).

Çeşitli ülkelerde yetişen *Galium'lar* üzerinde, iridoid heterozitle-riyle ilgili (örn.asperulozit ve monotropein) araştırmalara rastlanmıştır.

Iridoidler, genellikle siklopentanpiran halka sistemi içerirler (3, 4, 5, 6, 7). Bunlardan bir kısmı heterozit yapısındadır.

Redaksiyona verildiği tarih: 8 Mart 1983

* Ecz.Fatma Ergun'un aynı isimli Doktora tezinin Kimyasal Bölümünün özeti-
dir. Sınav tarihi: 21.6.1982.

** Farmakognozi Anabilim Dalı, Eczacılık Fakültesi, Ankara Üniversitesi.

*** Farmakognozi Anabilim Dalı, Eczacılık Fakültesi, Gazi Üniversitesi.

İridoid heteroziti olarak bilinen asperulozit, Rubiaceae familyasının çeşitli türlerinden, *Asperula odorata*, *Asperula tinctoria*; *Crucianella maritima*, *Crucianella stylosa*; *Galium aparine*, *Galium verum*; *Putoria calabarica*; *Rubia tinctorum*; *Sherardia arvensis*'den elde edilmiştir (8).

Asperulozit ilk defa *Coprosma solandri* Kirk (Rubiaceae) bitkisinde bulunmuştur. Ergime noktasının 127°C olduğu ve maddenin asit veya emulsinle hidrolizi neticesinde bir molekül glikoz verdiği gösterilmiş fakat formül düşünülmemiştir (8). Sonradan *Galium verum*, *Galium aparine*, *Galium ruthenicum* ve 14 *Galium* türünün topraküstü kısımlarında da asperulozit'in bulunduğu saptanmıştır (9).

Asperulozit izolasyonunda, Euphorbiaceae ve Rubiaceae familyasının çeşitli bitkilerinin genç sürgünleri kullanılmış ve bitkisel kömür ile adsorbsiyon tekniğinden yararlanılmıştır. 0.33 N HCl ile hazırlanan ekstre, bitkisel kömür ve kieselgurdan geçirildikten sonra % 50 lik etanolla alınmıştır (10, 11, 12, 13, 14).

Monotropein ise, değişik familyalardaki bitkilerden; *Vaccinium myrtillus* (Ericaceae), *Globularia elongata*, *Globularia alypum*, *Globularia nudicaulis* (Globulariaceae), *Liquidambar styraciflua* (Hamamelidaceae), *Galium verum*, *Galium glaucum* (Rubiaceae)'dan elde edilmiştir (15).

Monotropein elde etmek için önce metanollü (*Galium glaucum*) veya etanollü (*Cornus rainca*-Cornaceae) ekstre hazırlanmıştır. Temizleme işlemlerinden sonra, *Galium glaucum*'da anyon değiştirici reçineden (Amberlit IRA 400-OH- tipi) geçirilip asetik asitle elüe edilmiş; *Cornus suecica*'da ise silikajel kolondan ve butanol:metanol:su (7:1:3) ile etilasetat:propanol:su(5:3:2) solvan sistemlerinden yararlanılmıştır (15, 16).

Monotropein de asit veya emulsinle hidroliz neticesinde bir molekül glikoz vermektedir.

Rubiaceae familyasında, *Galium* cinsinin bazı türleri, flavonozitleri açısından incelenmiş, 7 türde (*G.rubrum*, *G.mollugo*, *G.aristatum*, *G.schultesii*, *G.lucidum*, *G.meliodorum*, *G.cinereum*) hesperidin'in (17); 16 türde isorutin, palustrosid ve sinarozit'in (18); 2 türde (*G.cruciata* ve *G.uliginosum*) rutozit'in; *G.uliginosum*'da rutozit yanında kemferol-3-0-βrutinoz ve *G.mollugo*'da. 5, 7, 3'-trihidroksi-4'-metoksiflavon-7--Oramnosil glukozit (19,20)'in varlığı saptanmıştır.

Kağıt kromatografisi yöntemiyle, BuOH:AcOH:H₂O(4:1 :5), EtOAc:AcOH:H₂O (50:2:50) ve CHCl₃:AcOH:H₂O (13:6:1), selvan sistemleri kullanılarak flavonozit varlığı, *Galium numijusum*'ün etanolü ekstresinde yapılan bir çalışma ile ortaya konmuştur(21).

MATERYAL ve YÖNTEM

İnceleme ve araştırmalarımızı yürüttüğümüz materyal Ankara-Konya yolu 15 km'de Kepekli boğazı ve Ahlatlıbel yol kenarlarından toplanmıştır.

Çalışmamızda, materyal adı ile *Cruciata taurica*'nın gölgede kurutulmuş topraküstü kısımları (herba) ve kökleri ifade edilmektedir.

Rutubet miktarı, gölgede kurutulmuş materyal ile gravimetrik (105°C lik etüvde) ve volumetrik (ksilol kullanarak) yöntemle yapıldı.

Kül ve asitte erimeyen kül miktarı, 800°C de külleştirme fırını kullanılarak saptandı.

Redüktör oz miktarı, herba ve kökte BOURQUELOT yönteminin gerektirdiği işlemler yapıldıktan sonra sulu çözeltinin belli miktarında BERTRAND yöntemiyle hesaplandı.

Tanen miktar tayini, TANKER ve DEMİR tarafından geliştirilmiş kromlu deri tozu yöntemiyle yapıldı (22).

Cruciata taurica'nın herba ve köklerinden hazırlanan %5 lik enfüzyondan faydalanılarak SHIBATA reaksiyonu ile flavonozitler; tuzlu jelatin solüsyonu, STIASNY reaktifleriyle tanen; asitle kaynatmadan önce ve sonra, BORNTRÂGER reaksiyonuyla antrasen türevleri arandı.

Ayrıca, hazırlanan % 1 HCl'li maseratda Reaktif A (= TRIM HILL Reaktifi:%0.2 CuSO₄.5H₂O + HCl+CH₃COOH) ile iridoid heterozitlerinin varlığı arandı(23).

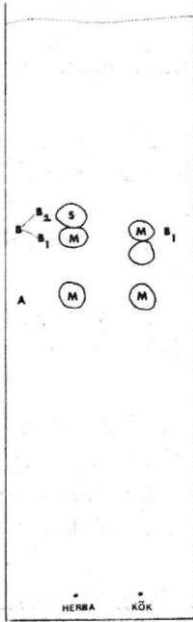
İridoid heterozitlerinin ve flavonozitin İTK'da tanınması sırasında, "Kieselgel G Type 60 Merck 7731" ile Kieselgel HF_{2.5.4} Merck 7739" ve preparatif İTK yöntemiyle izolasyonlarında ise "Kieselgel PF_{2.5.4} gipshalting Merck 7749" adsorbanlarıyla kaplı plaklardan yararlandı.

İridoid heterozitlerini izole etmek amacıyla, *Cruciata taurica* herbasının 150 g'ı önce 500 ml petroleteri ile sonra 500 ml metanolle 12 saat tüketildi. Metanolü ekstre 100 ml ye yoğunlaştırıldı. Yoğun-

laşan bu ekstreya 100 ml distile su ilave edildi ve 10 g Kieselgur içeren Buchner hunisinden süzöldü. Süzöntüya %20 lik kurşun asetat ilave edildi. Meydana gelen çökelek santriföj edilerek ayrıldı. Berrak olan üst kısma doyurulmuş NaH_2PO_4 çözeltilisi ilave edildi ve çöken kısımlar süzölerek kurşunun fazlasından kurtarıldı. Süzöntü tekrar 10 g kieselgurly Buchner hunisinden geçirildi (15). Elde edilen berrak süzöntü vakumda ve 70°C yi geçmeyen bir ısıda hemen tamamen yoğunlaştırıldı. Preparatif olarak İTK'ne uygulandı. Solvan sistemi olarak etilasetat:su:asetik asit:butanol (5:3:2:4) karışımı, revelatör olarak metanolde hazırlanmış 1 N H_2SO_4 kullanıldı (24). Bantların kazanıp alınması sırasında irodoid heterozitlerinden asperulozit ve monotropein'in, UV ışığında (254 nm de) viole-mor görünmesinden faydalanıldı (25).

Yoğunlaştırılan ekstrenin İTK'ne uygulanması neticesinde başlangıçta karışım halinde olan maddeler etilasetat:su:asetik asit:butanol (5:3:2:4) solvan sistemiyle 2 maddeye (A ve B) ayrıldı (Krom.1).

Krom. 1. Metanollü ekstrenin İTK incelenmesi.



M:Mavi

S: sarı

Adsorban:Kieselgel G

Solvan sistemi :Etilasetat:

su:asetik asit:su(5:3:2:4)

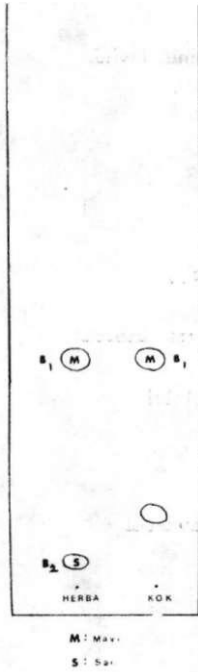
Yürütme süresi: 2³⁰ h

Revelatör:1N H_2SO_4 /metanol

Lab.sıcaklığı:15°C

Kromatogram 1'de de görüldüğü gibi A maddesi tek (Rf: 0,50), B maddesi karışım halindeydi. Bu solvan sistemiyle A ve B bantları ayrı ayrı kazındı ve metanolde çözüldü. B maddesini ayırabilmek amacıyla B bantının metanoldeki çözeltisi bu kez kloroform:benzen:metanol (3:1:1) solvan sistemiyle yürütüldü (24). Kromatogramda görüldüğü gibi B madde karışımı, B₁ (Rf:0.39) ve B₂(Rf:0.046) bantları halinde ayrıldı (Krom.2).

Krom. 2. B lekesinin İTK'da ayrımı.



Adsorban :Kieselgel G

Solvan sistemi :Kloroform:benzen:

metanol (3:1:1)

Yürütme süresi: 1₁₀

Revelatör:1N H₂SO₄/metanol

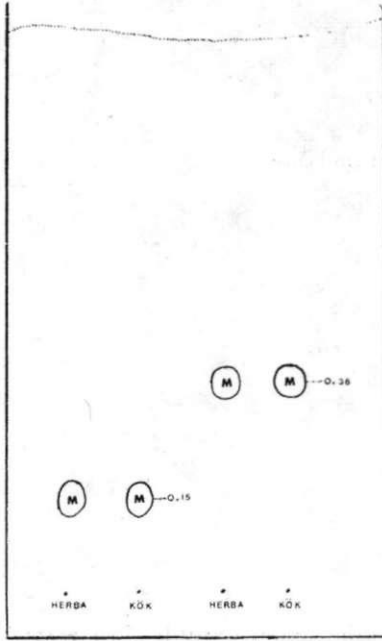
Lab.sıcaklığı:15°C

Tüketme işlemleri bitkinin kökünde de aynen yapıldı. Etilasetat: su:asetik asit: butanol (5:3:2:4) solvan sistemiyle A maddesi tek, B maddesi karışım halinde idi (Krom.1). B karışımını ayırabilmek amacıyla uygulanan sistem (3:1:1) ile, 2 madde ayrıldı. Bunlardan biri B₁ ile aynı Rf'de idi. İkinci leke ise hem B₂ gibi sarı renkli değildi hem de Rf değeri B₁ den de küçüktü (Rf: 0.12). Her iki kromatografi sonucu ayrılan A, B₁ ve B₂ bantları kazınarak plaktan ayrıldı ve metanolde çözülerek süzüldü.

Revelatörle A ve B₁ maddelerinin mavi, B₂ lekesinin sarı oluştundan, B₂ lekesinin bir flavonozit, A ve B₁ lekelerinin ise asperulozit ve monotropein olacağı düşünüldü.

Bu amaçla, A ve B₁ maddelerinin metanoldeki çözeltileri silika-jel kaplı plaklara tatbik edildi. İTK'da bu kez başka bir solvan sistemi, kloroform:benzen:metanol:asetik asit (3:1:1:1) solvan sistemi kullanıldı. Revelatör püskürtüldükten sonra Rf değerleri ölçüldü. Rf:0.36 olan leke literatüre göre asperulozit, Rf:0.15 olan leke ise (Krom.3) monotropein'e ait lekelerdi(24).

Krom. 3. Elde edilen iridoid heterozitlerinin Rf değerlerinin tayini.



Adsorban: Kieselgel HF₂₅₄

Solvan sistemi: Kloroform: benzen:

metanol: asetik asit (3:1:1:1)

Yürütme süresi: 2³⁰ h

Revelatör: 1N H₂SO₄/metanol

Lab.sıcaklığı:20°C

M: Mavi

Rf 0.15 - Monotropein

Rf 0.36 - Asperulozit

Herba ve kök ekstralarında birbirinden ayrılan asperulozit ve monotropein'ler bir araya getirilip soğukta, metanolden kristallendirildi. Asperulozit (B₁ maddesi) beyaz iğne şeklinde, monotropein (A maddesi) ise küçük beyaz küpler biçiminde kristallendi.

Bu maddeler, ayrı ayrı, hem İTK'da standartlarla kontrol edildi, hem de ergime dereceleri saptandı. Ayrıca susuz potasyum bromürle disk haline getirilen bu maddelerin, standartlardaki IR spektrumları aynı bantları verdi.

İridoid heterozitlerinin İTK'da ayırımı sırasında ayrılan B₂ bandı metanolde çözülüp n-butanol:%27 asetik asit (1:1 v/v) solvan sistemiyle İTK'ne uygulandı. Gün ışığında sarı, UV de (254 nm de) viole ve alüminyum klorürün etanoldeki %1 lik çözeltisi püskürtüldükten sonra UV(254 nm) de parlak sarı renk verdi.

Metanollü çözelti bu kez, etilasetat:metiletil keton:formik asit:su(50:30:10:10) solvan sistemiyle yürütüldü. Rf değeri 0.30 olarak ayrılan ve SHIBATA reaksiyonuna göre bir flavonol olduğu anlaşılan bu maddenin, literatür verilerine göre(26), rutozit olabileceği düşünüldü.

Preparatif İTK ile ayrılan bu madde metanolden kristallendirildi.

Standart rutozit ile, İTK'da Rf değerleri, ergime dereceleri ve IR spektrumları karşılaştırıldı. Ayrıca elde edilen rutozit ile standart rutozit'in metanoldeki ve %1 lik AlCl₃ deki 10⁻⁴ konsantrasyondaki çözeltilerinin UV spektrumları alındı.

İzole edilen iridoid heterozitleri ile flavonozitin tayininde "UNICAM SP 1025" infrared spektrofotometresi ve "PYE UNICAM SP 1700" UV spektrofotometresi kullanıldı.

Ergime dereceleri "Electrothermal melting point apparatus"ta tayin edildi.

BULGULAR

Cruciata taurica Ehrend.s.l. bitkisinin gölgede kurutulmuş herba ve köklerinde kül, asitte erimeyen kül ve rutubet miktarları tayin edilmiştir. Alınan neticeler Tablo I'de görülmektedir.

Herba ve kökte BOURQUELOT metodunun gerektirdiği işlemler yapıldıktan sonra sulu çözeltinin belirli bir miktarında redüktör oz miktarı hesaplandı. Sonra invertaz ve asitle hidroliz yapıldı. Bulunan miktarlar Tablo II'de görülmektedir.

Tablo I. Herba ve kökteki kül ve rutubet miktarları.

		HERBA'da %	KÖK'te %
Kül		13.29	9.07
Asitte erimeyen kül		5.21	4.49
Rutubet	Gravimetrik Yöntem	7.39	6.33
	Volumetrik Yöntem	7.50	6.50

Tablo II. 100 g herba ve kökte bulunan redüktör oz miktarları.

		HERBA	KÖK
Hidrolizden önce (a)		1.201	0.337
Hidrolizden sonra	İnvertaz ile (b)	1.631	1.216
	Asit ile (c)	5.390	3.306

Hidrolizden önce herbada ve kökte bulunan redüktör oz miktarının, invertaz ve asitle hidroliz sonucu artması, bitkimizin heterozitler içerdiğini göstermiştir.

Herba ve kökten hazırlanan %5 lik enfüzyonlar üzerinde kateşik tanenlerin varlığı, tuzlu jelatin çözeltisi, %5 lik demir-3-klorür ve STIASNY reaktifiyle saptanmıştır.

Deri tozu yöntemiyle yapılan tayinde, herbada % 1.42, kökte % 1-14 tanen bulunduğu hesaplanmıştır.

İridoid heterozitlerinden asperulozit ve monotropein, metanollü ekstreden hareket ederek ve değişik solvan sistemleri kullanılarak preparatif ince tabaka kromatografisi yöntemiyle elde edilmiştir. Bu maddelerin İTK'da standartlarla aynı Rf'de leke verdiği görülmüş ve literatürde verilen sıcaklıklarda (monotropein 150 °C; asperulozit için 131 °C) ergidikleri saptanmıştır.

Elde edilen bu maddelerin IR spektrumları alındığında, standart monotropein ve asperulozit ile aynı bantları verdikleride görülmüştür.

Monotropein IR spektrumunda; 3500-2500 cm^{-1} de —C—H ve O—H gerilim bantları, 1705 cm^{-1} de C=O gerilim bantı, 1650

ve 1620 cm^{-1} de $\text{C}=\text{C}$ gerilim bantları, 1490 ve 1370 cm^{-1} de $\text{C}-\text{H}$ deformasyon bantları, $1300-1000\text{ cm}^{-1}$ de $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ ve $\text{C}-\text{O}-\text{H}$ deformasyon bantları görülmektedir.

Asperulozit IR spektrumunda; $3500-3200\text{ cm}^{-1}$ de $\text{O}-\text{H}$ gerilim bantları, 3030 cm^{-1} de $=\text{C}-\text{H}$ ve 2990 cm^{-1} de $-\text{C}-\text{H}$ gerilim bantları, 1760 cm^{-1} de lakton ve ester bantı, $1670.\text{ cm}^{-1}$ de $\text{C}=\text{O}$ gerilim bantı, 1630 cm^{-1} de $\text{C}=\text{C}$ gerilim bantı, 1270 cm^{-1} de $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ bantı, $1200-1000\text{ cm}^{-1}$ de $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ ve $\text{O}-\text{H}$ deformasyon bantları görülmektedir.

Ön denemede kökün flavonoid içermediği saptandığından, herbadan %5 lik enfüzyon hazırlanmış ve üzerine SHIBATA reaktifi ilave edilmiştir. Oluşan kiraz kırmızısı renk herbadanın flavonol türevi bir madde içerdiğini göstermiştir. Sonradan bu maddenin rutozit olduğu saptanmıştır.

Rutozit, iridoid heterozitlerinin, preparatif İTK yöntemiyle izolasyonu sırasında elde edilmiştir. Standart rutozit ile İTK'da aynı Rf'i verdiği görülmüştür.

Literatürde rutozit için verilen 189°C de ergidiği ve IR spektrumu alındığında standartla aynı bantları verdiği görülmüştür. Ayrıca, elde ettiğimiz ve standart rutozit'in metanoldeki ve AlCl_3 deki çözeltilerinin UV spektrumlarında benzemektedir.

Rutozit IR spektrumunda; $3500-3300\text{ cm}^{-1}$ de $-\text{OH}$ bantları, $3100-2500\text{ cm}^{-1}$ de $=\text{C}-\text{H}$ ve $-\text{C}-\text{H}$ gerilim bantları, 1665 cm^{-1} de $\text{C}=\text{O}$ gerilim bantı, 1610 ve 1510 cm^{-1} de $\text{C}=\text{C}$ gerilim bantları, 1475 ve 1390 cm^{-1} de $\text{C}-\text{H}$ deformasyon bantları, $850-700\text{ cm}^{-1}$ de $\text{C}-\text{H}$ plan dışı deformasyon bantları (sübs.benzen halkası) görülmektedir.

Rutozit UV spektrumunda; literatürde Bant I'in $300-380\text{ nm}$ arasında (numunemizde 359 nm), Bant II'in $240-280\text{ nm}$ arasında (numunemizde 258 nm) olması flavonol yapısını, kersetolde 370 nm de olan Bant I'in, numunemizde 359 nm ye bipsokromik kayma göstermesi 3. mevkide glikozit'in bağlı bulunduğunu, metanollü çözeltiliye AlCl_3 ilavesiyle Bant I'deki 70 nm lik kayma, O-hidroksil gruplarının varlığını göstermektedir (27).

TARTIŞMA ve SONUÇ

Botanik yönden tanınmış olmasına karşın, Türkiye'de yetişen *Galium* ya da *Cruciata* türlerinde, içerdikleri maddeler yönünden yapılmış bir araştırmaya rastlanmamıştır.

Nicel analizler sırasında dikkati çeken yüksek orandaki "asitte erimeyen kül" miktarı, *Cruciata taurica'nın* da *Galium* türleri gibi anorganik bileşikler yönünden zengin olduğunu göstermiştir.

Galium'ların topraküstü kısımlarında saptanan 2 iridoid heteroziti, monotropein ve asperulozit, bu çalışmada hem herba hem de kökte saptanmış ve izole edilmiştir.

Cruciata taurica'nın topraküstü kısımlarından ayrıca bir de flavonol heteroziti olan rutozit izole edilmiştir. Aslında *Galium* türleri, flavonoitleri açısından incelenmiş bitkilerdir ve bunlarda değişik flavon türevleri saptanmıştır. Bu türlerden, rutozit bulunduğu ilişkin literatürde sadece 2 bitkiden bahsedilmektedir (*Galium cruciata* ve *Galium uliginosum*).

İzole edilen bu maddelerin (monotropein, asperulozit ve rutozit) doğruluğu ve saflığı, e.n., ince tabaka kromatografisi, IR ve UV spektroskopisinde standartla kontrol edilerek kanıtlanmıştır.

Rubiaceae familyasındaki bitkilerin çoğunun köklerinde, antrakinon bulunduğu bilinmektedir. *Cruciata taurica* köklerinde de antrakinon saptanmıştır. Ancak bu konudaki araştırmalar devam etmektedir.

ÖZET

Cruciata taurica (Pallas ex Willd.) Ehrend.s.1 (Rubiaceae) bitkisi kimyasal içerikleri bakımından incelenmiştir.

Cruciata taurica'nın hem topraküstü hem de toprakaltı kısımlarında çalışılmıştır. Metanollü ekstraktlardan hareketle, siklopentanpiran halkası taşıyan bileşikler olarak tanımlanan, iridoid heterozitlerinden, asperulozit (e.d. 130-131 °C) ile monotropein (e.d. 150-151 °C) izole edilmiştir.

Bitkinin topraküstü kısımlarının metanollü ekstresinden, e.d. 186-189 °C olan bir flavonol heteroziti (rutozit) izole edilmiştir.

Ayrıca kökler antrakinon yapısında bileşikler de içermektedir.

RESUME

On a travaillé sur *Cruciata taurica* (Pallas ex Willd.) Ehrend, s. 1. au point de vue ses contenues chimiques.

On a fait les expériences avec des parties souterraines ainsi que celles des aériennes de *Cruciata taurica*. En partant des extrait méthanoliques de la plante entière, on a isolé l'asperuloside (p.f. 130-131 °C) et la monotropéine (p.f. 150-151 °C) qui sont des hétérosides iridoïdaux c'est à dire les composés ayant des produits cyclopentanopyraniques. On a isolé également rutoside, une des hétérosides flavonoliques (p.f. 186-189 °C) de l'extrait méthanolique des parties aériennes de la plante.

D'autre part, les racines comportent aussi les composés de anthraquinoniques.

LİTERATÜR

- 1 Tutin, T.G., Heywood, T.G., Burges, N.A., Moore, D.M., Valentine, D.H., Walters, S.M., Webb, D.A., *Flora Europaea*, London, Cambridge University Press, 4(1), 36-7, 1976.
- 2- Tanker, N., Ergun, F., *Ankara Ecz.Fak.Mec.*, 13(1-2), 38, 1983.
- 3- Briggs, L.H., Cain, B.F., Le Quesne, P.W., *J.Chem.Soc.*, 2595-601, 1965.
- 4- Junod-Busch, U., "Isolierung, Charakterisierung und Strukturaufklärung der Iridoidglucoside von *Galeopsis segetum* Necker un *Galeopsis bifida* Bönninghausen", (Doktora tezi), Zürich, 1976.
- 5- Sticher, O.V., Junod-Busch, U., *Pharm.Acta Helv.*, 50, 127-44, 1975.
- 6- Sticher, O.V., "Plant mono-di and Sesquiterpenoids with Pharmacological or Therapeutical Activity", Wagner, H., Wolff, P., (ed), *New Products and Plant Drugs with Pharmacological, Biological or Therapeutical Activity*, Berlin, Springer-Verlag, 145-55, 1977.
- 7- Weisflog, A., "Isolierung, Charakterisierung und Strukturaufklärung der Iridoidglucoside von *Galeopsis tetrahit* L.", (Doktora tezi), Zürich, 1975.
- 8- Briggs, L.H., Nicholls, G.A., *J.Chem.Soc.*, 3940-3, 1954.
- 9- Nomura, S., *CA*, 70, 103721k, 1969.
- 10- Knott, R.P., *Dissertation Abstr.*, 21, 2906, 1961.
- 11- Paech, K., Tracey, M.V., *Modern Methods of Plant Analysis, II*, Berlin, Springer-Verlag, 310-2, 1955.
- 12- Trim, A.R., *Nature*, 24, 485, 1951.
- 13- Trim, A.R., *Biochem. J.*, 50, 319-25, 1952.

- 14- Trim, A.R., Hill, R., *Biochem.J.*, 50, 310-8, 1952.
- 15- Rimpler, H., Gmelin, R., *Photochemistry*, 9, 1891-2, 1970.
- 16- Jensen, S.R., Kjaer, A., Nielsen, B.J., *Phytochemistry*, 12, 2065-6, 1973.
- 17- Klein, G., *C.A.* 18, 1005^s, 1921.
- 18- Borisov, M.I., Belikov, V.V., Isakova, T.E, *C.A.*83, 190343y, 1975.
- 19- Borisov, M.I., Boguslavskaya, L.I., Batyuk, V.S., *CA.* 73, 63198y, 1970.
- 20- Polonia, J., Polonia, M.A., *C.A.* 70, 4523r, 1969.
- 21- Bandyukova, V.A., Shinkarenko, A.L., *C.A.* 64, 16277, 1966.
- 22- Tanker, N., Demir, E., *Ankara Ecz.Fak.Mec.* 2, 89, 1972.
- 23- Wieffering, J.H., *Phytochemistry*, 5, 1053-64, 1966.
- 24- Swiatek, L., Komorowski, T., *Herba Pol.*, 18(2), 168-73, 1972.
- 25- Bate-Smith, E.C., *Phytochemistry*, 3, 623-5, 1964.
- 26- Stahl, E., *Dünnlicht Chromatographie*, 2. Auf., Berlin, Springer-Verlag, 658, 1967.
- 27- Mabry, T.J., Markham, K.R., Thomas, M.B., *The Systematic Identification of Flavonoids*, Berlin, Springer-Verlag, 41-61, 1970.