

Rhamnus Petiolaris Boiss, Kabuklarındaki Antrakinon Türevi Maddeler Üzerinde bir İnceleme

The Antraquinone Derivatives in the Bark of *Rhamnus petiolaris* Boiss

Mekin TANKER * ve Mevlüt ERTAN **

Rhamnus petiolaris BOISS. (*Rhamnaceae*) bilhassa Orta Anadolu'da oldukça yaygın bir türdür (1). Bu bitkinin Cehrî adı verilen meyvaları, eskiden boya elde edilisinde çok kullanılmış ve yurt dışına da satılmıştır. Meyvalarını toplamak gayesiyle, Ankara ve Afyonkarahisar civarında kültürü de yapılmış olan bu bitkinin dal kabukları Anadolu'da purgatif ve antiseptik olarak kullanılmaktadır (2). Yapılan ön deneylerde, kabukların purgatif drog olarak kullanılan, *Rhamnaceae* familyasındaki diğer bitkilerin kabukları gibi antrasen türevi maddeler ihtiva ettiği anlaşılmıştır.

Bu görüş ve bilgiden hareketle, Anadolu'da yeterince yaygın olan, halk arasında iyi tanınan, antrasen türevi maddeler ihtiva ettiği için fizyolojik tesiri bulunan ve az dikenli olduğu için de drog elde edilisinde bir güçlük çıkarmıyacağı düşünülen *R. petiolaris* kabuklarının kodekslerde yer alan ve fakat Türkiye'de nispeten seyrek bulunan *R. frangula* kabukları yerine veya bunların yanında kullanılıp kullanılamıyacağını tesbit üzere bu bitki üzerinde çalışmayı uygun bulduk.

MATERYAL VE METOT

Çalışma materyalini teşkil eden dal ve kabuklar, 1968 yılında Temmuz ve Ağustos ayları içerisinde Ankara Hacıkadın deresi ve

Redaksiyona verildiği tarih 12 Nisan 1971

* Farmakognozi Kürsüsü, Eczacılık Fakültesi, Ankara Üniversitesi

** Farmasötik Kimya Kürsüsü, Eczacılık Fakültesi, Ankara Üniversitesi

Afyonkarahisarın güneydoğusundaki tepelerin üst kısımlarında, halen bademlik olan eski bağlardan toplandı. Kurutulup, ışısız bir yerde 1 yıl bekletildi.

0.6 - 1.3 mm kalınlıkta olan kabukların dış yüzü gri renkli, yüzeyi parlak, yer yer enine çatlaklı; iç yüzü turuncu - sarı renkli, çok bol olan liflerden dolayı boyuna, beyazımsı - sarı çizgili; kırılışı lifli; lezzeti yavandır.

Serbest antrasen türevleri ile antrasenozitlerin izolasyonu için kabuklar toz edildikten ve asetonla yıkandıktan sonra % 70 lik metanol ile perkole edilerek tüketildi. Ekstre alçak basınçta distillenerek metanolden kurtarıldıktan sonra kalan sulu kısım benzolle tüketilerek serbest antrasen türevleri alınmış oldu. Benzolle tüketmeden arta kalan sulu kısım hidroliz edildikten sonra tekrar benzolle tüketilerek antrasenozitlere ait aglukonların total ekstresi elde edildi.

Benzollü ekstreler ince tabaka kromatografisinde mukayese edilerek her iki ekstrenin tamamen aynı lekeleri verdiği tesbit edildi. Buna göre bitkinin kabuklarında bulunan serbest antrasen türevleri ile heterozitleri teşkil eden antrasen türevi maddelerin aynı olduğu anlaşıldı.

Bu husus tesbit edilince çalışmaları kolaylaştırmak için benzollü iki ekstre birleştirildi. Böylece bitkide serbest ve heterozit teşkil eden antrasen türevlerinin total ekstresi elde edilmiş oldu.

İnce tabaka kromatografisi ile üç leke veren ve antrakinonlara ait olduğu tesbit edilen bu maddelerin izolasyonunda sütun kromatografisinden istifade edildi.

Üç maddeden ikisi bu usulle kazanılabildiği halde üçüncü maddede ancak yarı saf bir şekilde elde edilebildi. Bu üçüncü maddenin saflaştırılması için preparatif ince tabaka kromatografisinden faydalanıldı.

Saf olarak elde edilen üç maddenin teşhisi için; erime noktası, karışım erime noktası tayin edildikten başka U.V., I.R., N.M.R., Mass. spektrumları alınıp elemanter analizi de yapılarak fenolik hidroksil gruplarının sayısını hesaplamak maksadıyla da maddelerin asetilli türevleri hazırlandı.

Aglukonları yukarıdaki usullerle tesbit edilen antrasenzitlerin izolasyonu preparatif ince tabaka kromatografisi ile yapıldıktan sonra hidroliz edilen heterozitlerin ozları inen sistem kâğıt kromatografisi yardımı ile teşhis edildi. Ozların aglukona bağlanmış sırasını tesbit etmek için heterozitlerin oz zincirleri enzimler yardımı ile kısım kısım hidrolize tabi tutuldu.

Serbest antrasen türevleri ile antrasenzitlerin aglukonlarının miktar tayinleri BORNTRÄGER reaksiyonuna dayanan klorimetrik metotla yapıldı. Heterozit miktarına aglukon miktarından hesapla geçildi.

BULGULAR

Bitkide serbest olarak bulunan ve heterozit teşkil eden antrasen türevlerini ihtiva eden benzollü ekstraların birleştirilmesi ile elde edilen total ekstre, ince tabaka kromatografisinde Bornträger reaktifiyle antrakinsonlara ait olduğu tesbit edilen 3 leke vermektedir. Değişik solvan sistemleri ile yapılan kromatografik analizlerde :

a) Petrol eteri (40-60) : etil asetat : asetik asit (90 : 5 : 5) solvan sistemi ile ve Kieselgel - G adsorbanı üzerinde, üçü vişneçürüğü kırmızı arası, biri mor renkte olmak üzere dört leke elde edilmiştir. Bu lekelerin niteliği, yuvarlağa yakın oluşu ve lekelerin birbirlerinden ayrılmış olarak bulunuşu sebebi ile uygun bir solvan sistemidir. Şahit olarak kullanılan ve *Rhamnus*'larda varlığı tesbit edilmiş bulunan antrakinsonlardan krizofanol, bu sistemde 0.71, fiskiyon 0.61, emodin 0.21 Rf değeri göstermekte ve bu lekeler ekstreden elde edilen 4 lekenin 3 ü ile aynı hizada bulunmaktadır. Kromatogramda Rf değeri 0.32 olan mor renkli lekenin bir antrakinson olmadığı düşünülmektedir (Krom. 1).

b) Benzol : etilasetat (75 : 25) solvan sistemi, rein, aloe emodin, emodin ve fiskiyonu ayırmak için tatbik edilmiştir. Bu sistemde ve aynı adsorban üzerinde fiskiyon ile krizofanol hemen hemen aynı Rf değerini vermektedir. *R. petiolaris* total ekstresi bu solvan sistemi ile iki leke vermektedir. Bu lekelerden fronta yakın olanı, fiskiyon ve krizofanolun verdiği lekelerle karşılaşmakta ve Rf değeri 0.81 olarak tesbit edilmektedir. Rf. değeri 0.57 olan ikinci leke ise emodin'in verdiği lekenin karşısında bulunmaktadır. Bu sistemle ayrılması mümkün diğer antrakinsonlara ait lekeler görülmemiştir (Krom. 2).

c) Daha çok antrasenozitlerin ayırımları için kullanılan etil asetat : metanol : su (100 : 16.5 : 13.5) solvan sistemi ile fronta yakın ve antrakinsonlara ait vişneçürüğü kırmızı arası renkte, tek bir leke elde edilmiştir (Krom. 3).

d) Fallasinal, fallasinol, emodin, parietinik asit, aloe emodin ve emodik asitleri ayırmak için kullanılan benzol : etilasetat : asetik asit (18:1:1) solvan sisteminde Rf i 0.89 olan ve fiskiyon ile krizofanol'a tekabül eden bir leke elde edilmiştir. Rf değeri 0.63 olan mor renkli lekeden başka antrakinson şüphesi uyandıran bir leke görülmemiştir. Bu mor renkli leke ilk solvan sistemi ile elde edilen kromatogramda görülen lekeye tekabül etmektedir (Krom. 4).

e) Poliamid adsorbanına tatbik edilen aseton : asetik asit (9 : 1) solvan sistemi ile yine üç leke elde edilmiştir. Bunlar starttan itibaren sırası ile emodin, fiskiyon, krizofanol'un verdikleri lekelerle karşı karşıya bulunmaktadır (Krom. 5).

f) Yine poliamid ve fakat solvan olarak metanol kullanılmak suretiyle yapılan kromatografide yukarıda bahsedilen üç antrakinsonun aynı sıra ile ve fakat startta daha yakın olmak üzere dizildiği görülmüştür (Krom. 6).

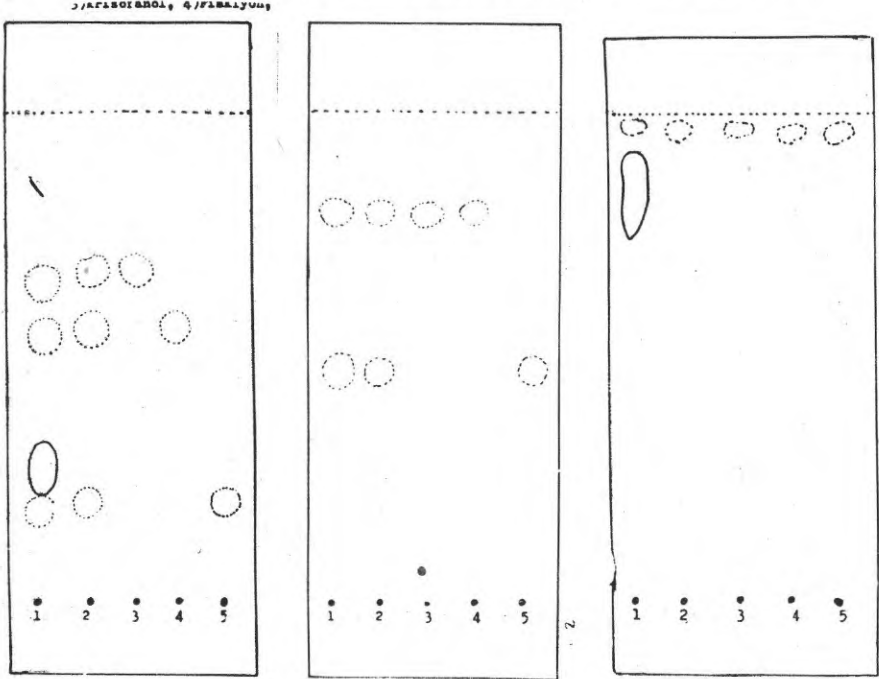
Bu kromatografik analizle varılan sonuca göre, 1 yıl bekletilmiş *R. petiolaris* kabuklarından elde edilen total ekstre, serbest ve aglukon halinde üç antrakinson ihtiva etmektedir. Bu antrakinsonlardan krizofanik asit karşısında leke verene şimdilik A₁, fiskiyon karşısında leke verene A₂ ve emodin karşısında leke verene A₃ denmiştir.

İnce tabaka kromatografisinde tesbit edilen bu antrakinsonların izolasyonu için sütun kromatografisinden faydalanılmıştır. Bu maksatla, partikül büyüklükleri 0.08 mm nin altında olan silikagel ile MgCO₃ in (4:1) oranındaki karışımı üzerine tatbik edilen total ekstre, benzol : etil asetat : metanol (85:14:1) solvan sistemiyle elüe edildi. Bu elüsyon kromatografisinde antrakinson reaksiyonu veren ilk fraksiyonlarda A₁ maddesi hemen tamamen saf olarak bulunmakta, bundan sonra gelen bir kaç fraksiyonda A₁ ve A₂ maddelerine karışım halinde rastlanmaktadır. Fakat kısa süreli bir elüsyondan sonra A₂ maddesi de hemen tamamen saf olarak elde edilebilmektedir. A₃ maddesi A₁ ve A₂ nin elüsyonundan çok sonra,

fakat bir miktar yan madde ile karışık olarak elde edilebilmektedir.

A₁ ve A₂ maddelerini saf olarak ihtiva eden fraksiyonlar 45°C 1 geçmiyen ısıda kuruluğa kadar uçurulup bakiye metanolde eritilerek kristallenmeye bırakıldı. Böylece kromatografik olarak saf A₁ ve A₂ kirstalleri elde edildi.

Sütundan yarı saf olarak elde edilen A₃ maddesinin miktarı oldukça azdır. Aynı usul tatbik edildiğinde metanolden kristallen-



Krom. 1

Krom. 2

Krom. 3

Solv. Petr. et. : Etilasetat : asetik asit
(90 : 5 : 5)

Developman : 50 dakika

Oda sıcaklığı : 25°C

Adsorban : Kieselgel - G

Solv. Benzol : etilasetat
(75 : 25)

Developman : 50 dakika

Oda sıcaklığı : 25°C

Adsorban : Kieselgel - G

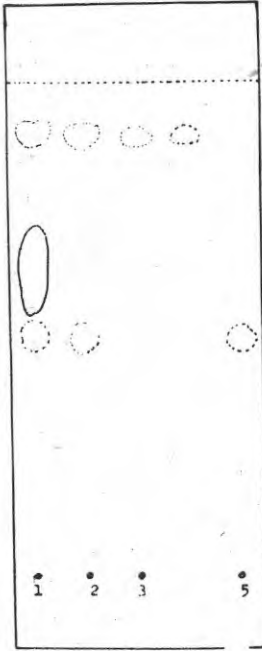
Solv. etilasetat : Metanol
Su (100 : 16.5 : 13.5)

Developman : 65 dakika

Oda sıcaklığı : 25°C

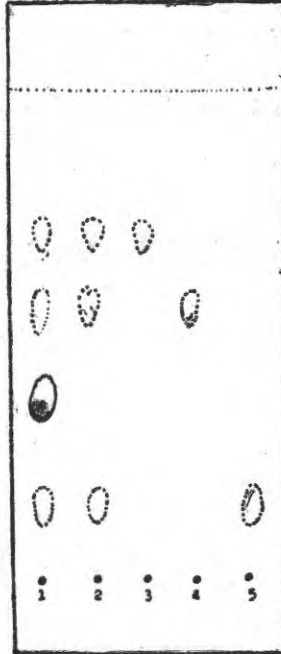
Adsorban : Kieselgel - G

- 1) Total benzollü ekstre
- 2) Emodin + fiskiyon + krizofanol
- 3) Krizofanol
- 4) Fiskiyon
- 5) Emodin



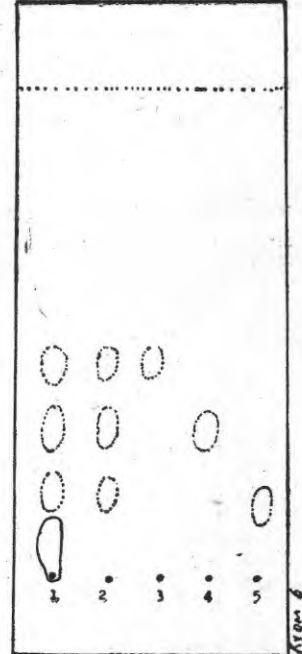
Krom. 4

Solv. benzol : etilasetat :
asetik asit (18 : 1 : 1)
Developman : 50 dakika
Oda sıcaklığı : 25°C
Adsorban : Kieselgel - G



Krom. 5

Solv. aseton : asetik asit
(9 : 1)
Developman : 65 dakika
Oda sıcaklığı : 25°C
Adsorban : Poliamid



Krom. 6

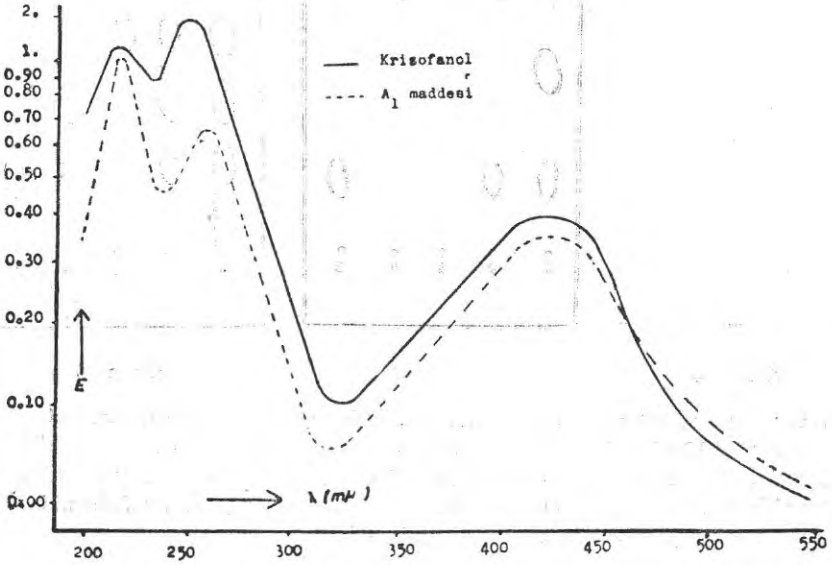
Solv. Metanol
Developman : 80 dakika
Oda sıcaklığı : 28,5°C
Adsorban : Poliamid

memektedir. A_3 maddesini temizlemek için preparatif ince tabaka kromatografisinden faydalanıldı. Kieselgel-G adsorbanı ve benzol : etil asetat (75:25) solvan sistemi ile bant halinde ayrılan A_3 plaklardan kazınıp elüe edildikten sonra metanolden kristallendirildi. Böylece kromatografik olarak saf A_3 maddesi elde edildi.

A_1 kristalleri, portakal sarısı renkte ve levhalar halindedir. 190°C de eriyen bu kristaller kalevilerle antrakinonlara has vişne çürüğü kırmızı arası bir renk vermektedir. Bu özellikler ve kromatografik analizlerde şahitlerle yapılan mukayese bu maddenin krizofanol olması ihtimalini düşündürmektedir. Nitekim yapılan elementer analizde C: % 70.70, H: % 4.11, O: % 25.19 olarak bu-

lunmuştur. Krizofanol'ün $C_{15}H_{10}O_4$ formülü için hesaplanan C: % 70.87, H: % 3.94, O: % 25.19 dur. İki maddenin karışım erime noktası da $190^{\circ}C$ olarak ölçülmüştür. Bu iki asetilli türevinin tetkiki de bu maddenin krizofanol olduğunu doğrulamaktadır.

U.V. spektrumunda 223 m μ , 261 m μ , 427 m μ dalga boyunda maksimum absorpsiyon, 240 m μ ve 319 m μ dalga boylarında da minimum absorpsiyon tesbit edilmiştir (Spektr. 1).

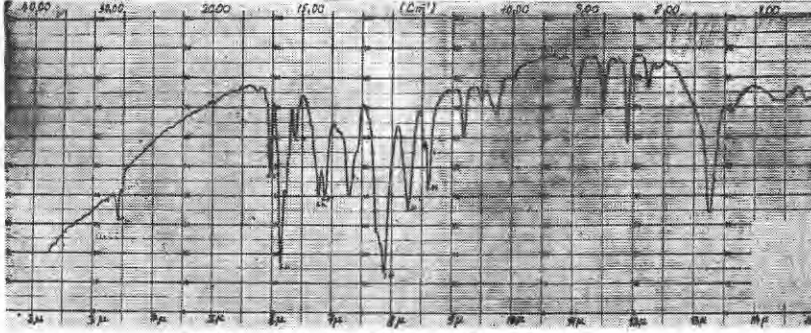


Spektr. 1. Krifozanol ve A₁ maddesinin UV. spektrumu

Maddenin asetilasyonundan sonra yapılan sabunlaşma sayısı tayininden —OH gruplarının iki tane olduğu tesbit edilmiştir.

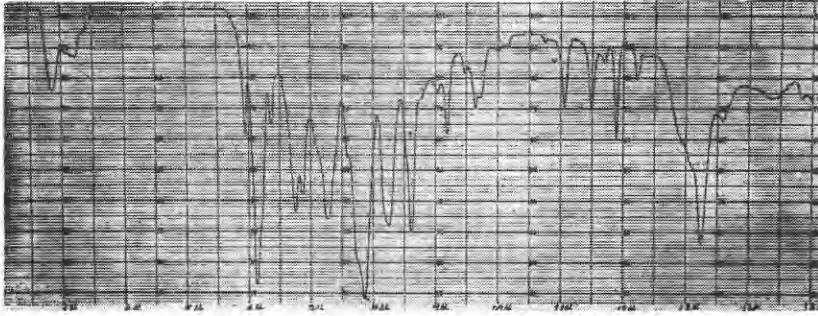
β - pozisyonundaki —OH gruplarının IR spektrumunda $3600 - 3150 \text{ cm}^{-1}$ de α -pozisyonundaki —OH gruplarının $1678 - 1653 \text{ cm}^{-1}$ de oldukça kuvvetli ve $1637 - 1627 \text{ cm}^{-1}$ de daha kuvvetli karakteristik karbonil bantları verdiği bilinmektedir (3). A₁ in spektrumunda (Spektr. 2) 1680 cm^{-1} de kuvvetlice ve 1625 cm^{-1} de daha kuvvetli

bir bant mevcuttur. Bu durum iki —OH grubunun 1 ve 8 inci karbonlara bağlı olduğunu göstermektedir.



Spektr. 2. A₁ maddesinin IR spektrumu

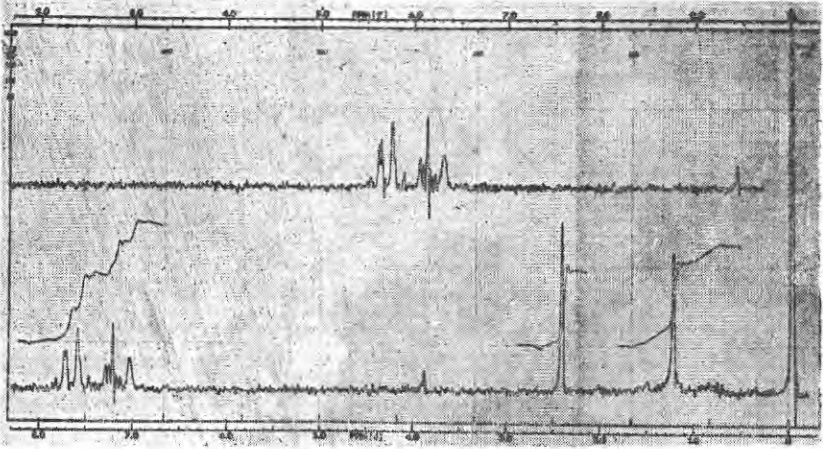
A₁ maddesinin I.R. spektrumu krizofanol'un I.R. spektrumu (Spektr. 3) ile büyük bir benzerlik göstermektedir.



Spektr. 3. Krizofanol'ün IR spektrumu

N.M.R. Spektrumunda (Spektr. 4) 2.45 ppm (δ) deki sinyal üç hidrojene tekabül etmektedir. Bu bize 3. karbona bağlı metil grubunu göstermektedir. 6.95 - 8.0 ppm (δ) arasında görülen ve aromatik karakterde beş hidrojene tekabül eden sinyallerden 6.95 pmm (δ) deki 7. karbona bağlı, 7.15 pmm (δ) deki 6. karbona bağlı ve 7.30 ppm (δ) deki de 2. karbona bağlı aromatik hidrojenleri ifade etmektedir (4,5). 5. karbona bağlı hidrojenin varlığı 7.60 pmm (δ) deki sinyalle, 4. karbona bağlı hidrojenin varlığı ise 7.80 pmm (δ) deki sinyalle anlaşılmaktadır (4,5,6). 1.25 pmm (δ) de-

ki sinyalin iki hidrojene tekabül ettiği hesapla kesin olarak bulunmuştur. Böylece sinyalin, halka sistemindeki 1. ve 8. karbon atomlarına bağlı olan —OH ları gösterdiği ve bu —OH ların aynı karakterde olduğu anlaşılmaktadır (5,7).

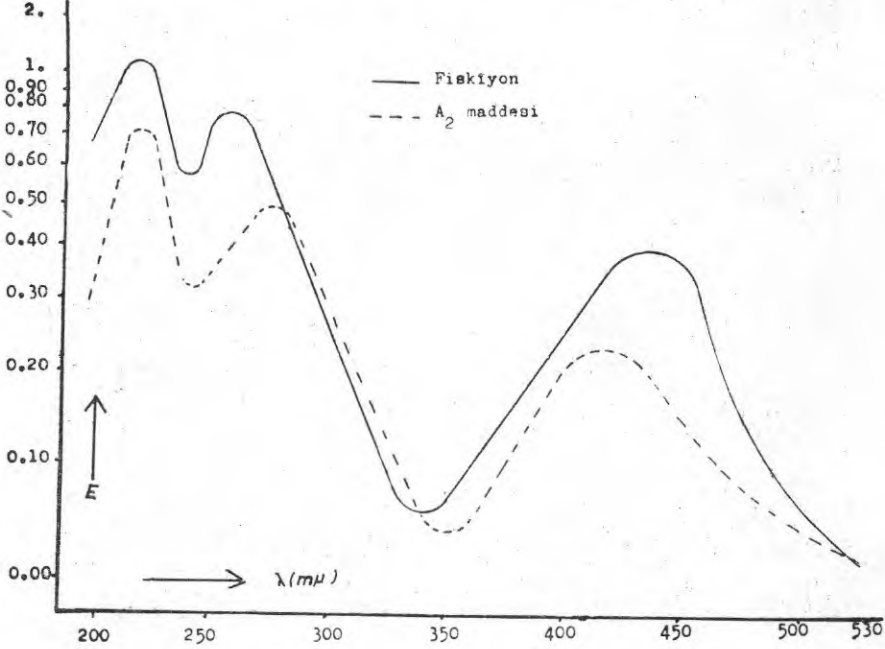


Spektr. 4. A₁ maddesinin NMR spektrumu

A₂ kristalleri, kiremit kırmızısı renkte ve iğnecikler şeklindedir. Bu kristaller 202°C de erir. Kalevilerle A₁ maddesinininkine benzer, fakat biraz daha kırmızıya kaçan tonda bir renk veren bu maddenin erime noktasının fiskiyonunki gibi oluşu ve kromatografik çalışmalarda daima aynı R_f değerine sahip olması fiskiyona identik olduğunu düşündürmüştür. Yapılan elementer analizde C: %67.49, H: % 4.35, O: % 28.16 olarak bulunmuştur. Fiskiyon için hesaplanan C: % 67.67, H: % 4.22, O: % 28.11 dir. Maddelerin karışım erime noktası bir düşme göstermediği gibi U.V., I.R., NMR spektrumları da büyük bir benzerlik göstermektedir. A₂ nin asetilli türevinin tetkiki de bu maddenin fiskiyon ile identik olduğunu doğrulamaktadır.

A₂ nin susuz metanollü çözeltisi UV spektrumunda 224 mμ, 280 mμ ve 422 mμ dalga boylarında maksimum, 244 mμ ile 353 mμ

dalga boylarında minimum absorpsiyon gösterir. Bu spektrum fiskiyonun U.V. spektrumu ile aynıdır (Spektr. 5).

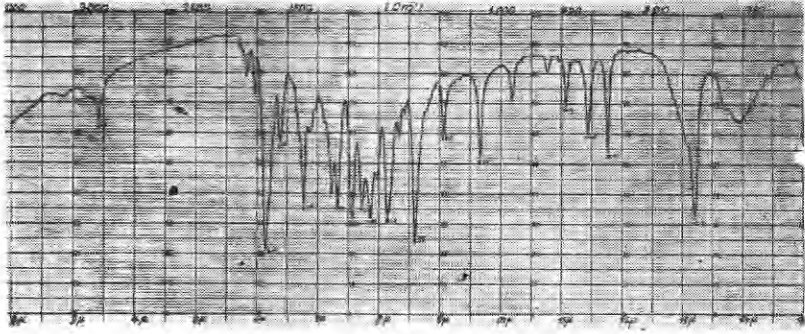
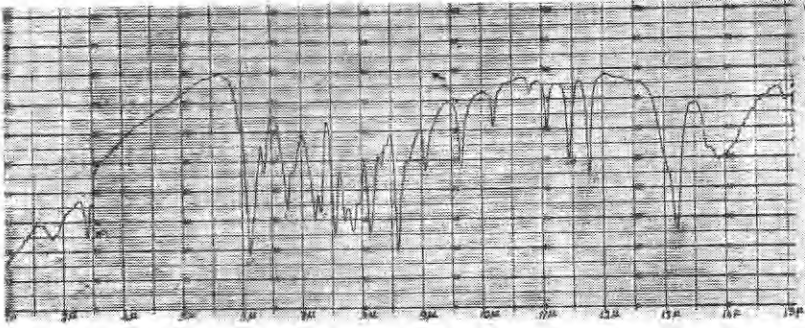


Spektr. 5. Fiskiyon ve A₂ maddesinin UV spektrumu

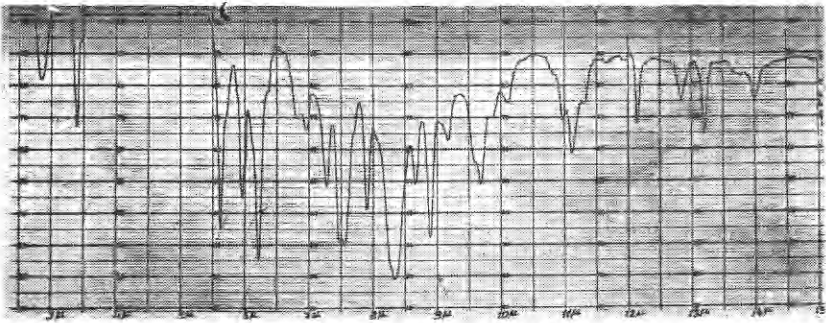
Maddenin asetillenmesinden sonra sabunlaşma indisi tayini suretiyle molekülde iki —OH grubunun bulunduğu tesbit edilmiştir. IR spektrumunda 1678 cm^{-1} deki absorpsiyon maksimumları —OH grupların halka sistemine α -pozisyonunda bağlandığını göstermekte ve bu iki hidroksilin 1 inci ve 8 inci karbon atomlarına bağlandığını ortaya çıkarmaktadır. 2959 cm^{-1} deki maksimum absorpsiyon, moleküldeki bir metil grubunu göstermektedir (7,8). 3570 cm^{-1} de geniş ve zayıf absorpsiyon gösteren karbonil bandın β -pozisyonundaki bir hidroksile ait olduğu söylenemez, ancak hidroksil grubunun metil eteri olabileceği düşünülmektedir.

A₂ maddesinin spektrumu fiskiyonun I.R. spektrumundan farklıdır (Spektr. 6 ve 7).

A₂ nin asetilli türevinin I.R. spektrumundaki (Spektr. 8) 1686 cm^{-1} de kuvvetli, 1680 cm^{-1} de daha zayıf karbonil bantları ile 1200 cm^{-1} deki kuvvetli bant karakteristiktir.

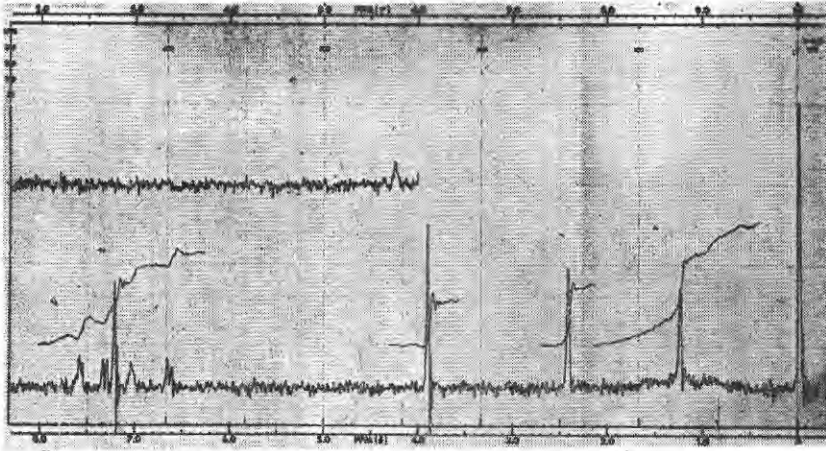
Spektr. 6. A₂ maddesinin IR spektrumu

Spektr. 7. Fiskiyonun IR spektrumu

Spektr. 8. A₂ maddesinin asetilli türevinin IR spektrumu

Maddenin N.M.R. spektrumunda (Spektr. 9) 2,45 ppm (δ) deki sinyal üçüncü karbon atomuna bağlı metil protonlarını göstermektedir. 3,82 (δ) de elde edilen sinyal ise üç hidrojene teka-bül etmekte ve bunun 6. karbon atomuna bağlı metoksil hidrojen-

leri olduğu anlaşılmaktadır (5). 7.19 ppm (δ) deki sinyal ikinci karbon atomuna bağlı aromatik hidrojeni, 6.75 ppm (δ) deki sinyal ise 7. karbon atomuna bağlı aromatik protonu belirtmektedir. 7.48 ppm (δ) deki sinyal 5. ve 7.80 ppm (δ) deki sinyal de 4. karbon atomlarına bağlı hidrojenleri belirtmektedir (4,5). 1.25 ppm (δ) de elde edilen sinyalin iki hidrojene tekabül ettiği ve bunların —OH hidrojenlerine ait olduğu anlaşılmaktadır (4,5,9).



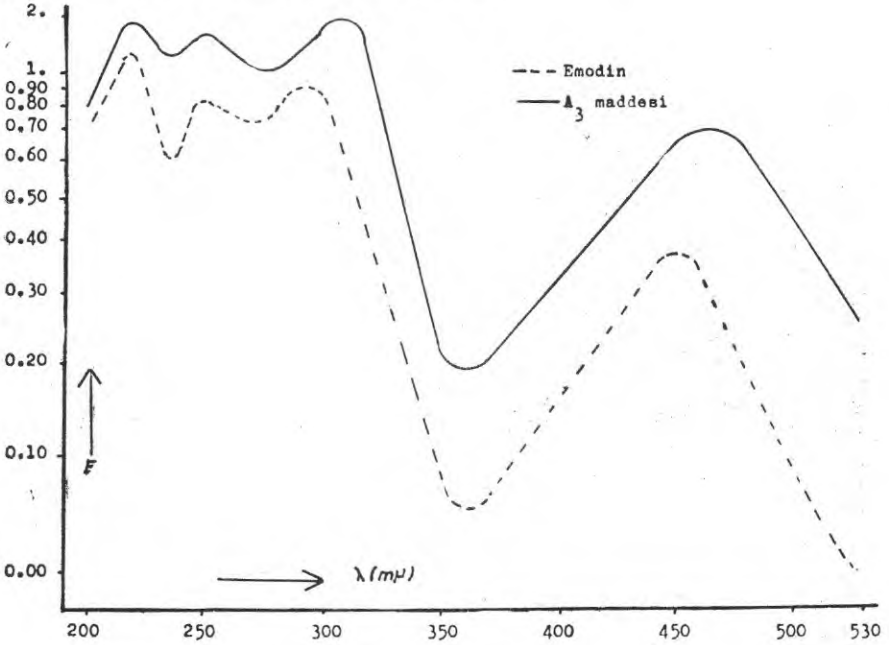
Spektr. 9. A₂ maddesinin NMR spektrumu

A₃ kristalleri kahverengi ile kırmızı arası bir renktedir. Kalevillerle vişneçürüğü kırmızı arası antrakinon türevlerine has bir renk vermektedir. Maddenin erime noktası olarak sabit bir rakkam bulunamamıştır. Metanolden elde edilen kristallerin erime noktası 212°C olarak tesbit edildiği halde bu kristaller vakum da kurutulduktan sonra 248°C de başlayıp 255°C de erimiş, bir kısmı süblimleşmiş ve bir kısmı ise dekompoze olmuştur.

A₃ maddesinin erime noktası itibariyle emodin veya emodin'in bir izomeri olan izoemodin olabileceği düşünülmüş ve maddenin değişik solvan sistemleri ile yapılan ince tabaka kromatografisinde emodinle aynı R_f değerlerini verdiği görülmüştür. Elementer analizde bulunan C: % 66.41, H: % 6.7, O: % 26.59; emodin ve izoemodin için hesaplanan C: % 66.67, H: % 3.73, O: % 29.60 tır.

Maddenin azlığı nedeniyle —OH gruplarının adedini, asetilli türevlerinden hareketle bulmak mümkün olmamış, bununla beraber

maddenin emodin olup olmadığının tesbiti için U.V., I.R. spektrumlarından istifade edilmiştir. A_3 ün U.V. spektrumu 218 $m\mu$, 251 $m\mu$, 306 $m\mu$ ve 465 $m\mu$ dalga boylarında maksimum absorpsiyon 234 $m\mu$, 275 $m\mu$ ve 365 $m\mu$ dalga boylarında minimum absorpsiyon göstermektedir. Bu spektrum emodinün U.V. spektrumuna büyük yakınlık göstermektedir (Spektr. 10).

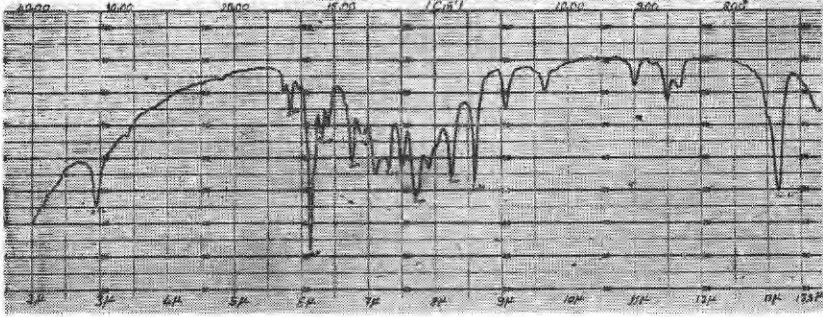


Spektr. 10. Emodin ve A_3 maddesinin U.V. spektrumu

A_3 maddesinin IR spektrumunda 3425 cm^{-1} deki kuvvetli karbonil bant molekülde β -pozisyonunda bağlı bir hidroksilin; 1603 cm^{-1} de kuvvetli ve 1600 cm^{-1} de zayıf olmak üzere görülen iki karbonil bant da α -pozisyonundaki hidroksil gruplarının varlığını göstermektedir. $1500 - 1435\text{ cm}^{-1}$ deki bant ise molekülde serbest bir metil grubunun varlığına işarettir. Ancak 2940 cm^{-1} de elde edilmesi gereken ve serbest metil grubunu işaret eden bant sadece zayıf olarak görülmektedir (Spektr. 11).

Bu spektrum, *Cortex Rhamni Frangulae*'den elde ettiğimiz ve $254^\circ - 256^\circ\text{C}$ de eriyen emodin'in I.R. spektrumu ile karşılaştırıldığı zaman bütün absorpsiyon piklerinin çakıştığı fakat 2940 cm^{-1} de

elde edilen serbest metil grubuna ait bandın uvmadığı görülmüştür.



Spektr. 11. A₃ maddesinin IR spektrumu

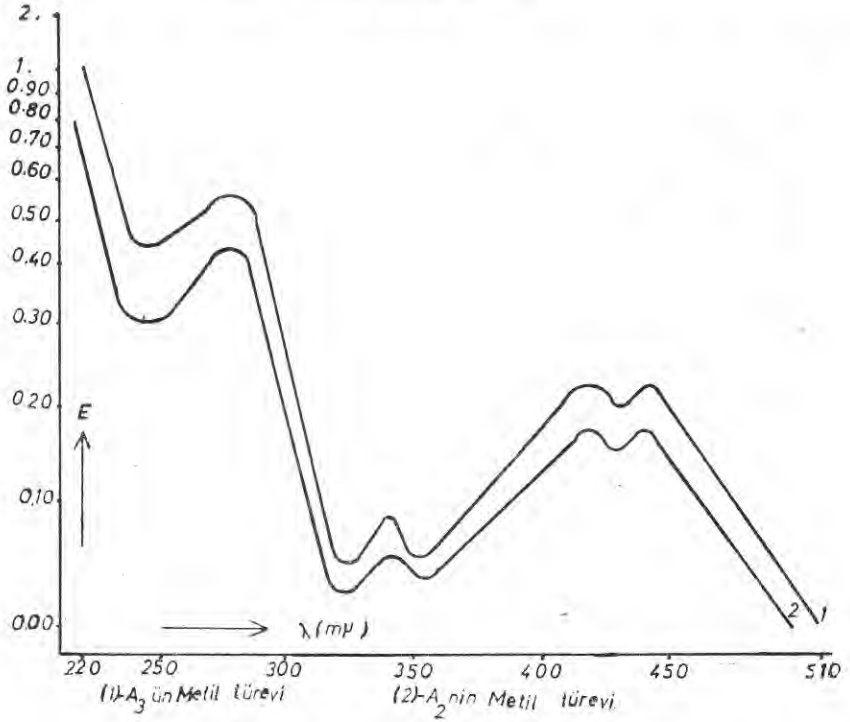
A₃ ün yapı tayini için, bir an, bu maddenin emodin olduğu kabul edilmiş ve dimetil türevi hazırlanmıştır. Eğer düşüncemiz doğruysa A₃ ün dimetil türevinin mono metil emodin olduğu bilinen A₂ maddesinin de metillenmesiyle meydana gelecek yeni türev ile aynı olması gerekecektir.

A₂ ve A₃ ün dimetil sülfat ile metillenmesinden sonra benzol : etil asetat (75 : 25) solvan sistemi ile ve Kieselgel - G adsorbantı kullanılarak yapılan ince tabaka kromatografik analizde, metilli her iki türevin ikişer leke verdiği ve bu lekelerin aynı R_f leri taşıdığı (0.69 ve 0.19) tesbit edildi.

R_f değeri 0.69 olan ve karışımda çok fazla miktarda bulunan türevin erime noktası preparatif ince tabaka kromatografisi ile saflaştırıldıktan sonra 194° - 196°C olarak bulunmuştur ki bu, maddenin emodin dimetil eter olduğunu gösterir.

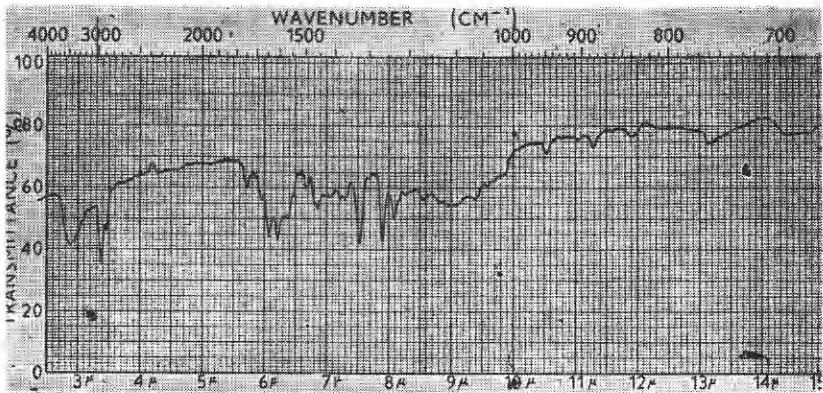
A₂ ve A₃ ün dimetilli türevlerinin ultraviyole ve görünür sahadaki absorpsiyonları da birbirinin aynıdır. Spektrumda 278 mμ, 340 mμ, 417 mμ ve 442 mμ dalga boylarında maksimum absorpsiyon; 264 mμ, 322 mμ, 356 mμ ve 428 mμ dalga boylarında ise minimum absorpsiyon tesbit edilmiştir (Spektr. 12).

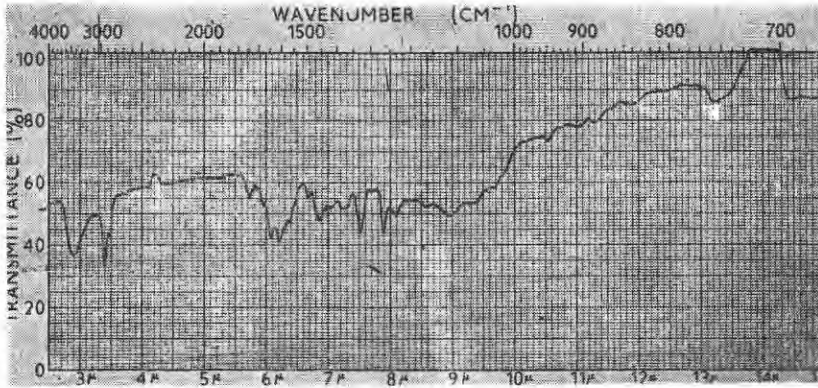
A₂ ve A₃ ün dimetilli türevlerinin I.R. spektrumlarında da bütün piklerin çakıştığı görülmektedir. Ayrıca A₃ maddesinin I.R. spektrumunda görülen ve β-pozisyonundaki hidroksil grubunu işaret eden 3425 cm⁻¹ deki kuvvetli bant kaybolarak, yerine A₂ nin



I.R. spektrumunda görülen 3570 cm^{-1} deki zayıf bant meydana gelmektedir (Spektr. 13 ve 14).

Böylece A_3 maddesinin emodin olduğu hemen hemen doğrulanmış olmaktadır.



Spektr. 14. A₃ ün dimetilli türevinin IR spektrumu

Antrasenozitlerin teşhisi için kurutulmuş dal ve gövde kabukları % 70 metanol ile tüketildikten sonra vakumda distile edildi. Serbest antrasen türevleri benzole alındıktan sonra geriye kalan sulu kısımda çalışıldı.

İnce tabaka kromatografisinde antrakinonlar için denediğimiz solvan sistemleri ve adsorbanlardan faydalanıldı. Bunlardan en uygunu etil asetat : metanol : su (100 : 16.5 : 13.5) dur. Bu solvan sistemi ve adsorban olarak Kieselgel - G kullanıldığında R_f değerleri 0.60 olan H₁, 0.53 olan H₂ ve 0.47 olan H₃ lekeleri elde edildi. Bu lekeler revelatör olarak % 5 lik metanollü KOH kullanıldığında menekşe kırmızısı renk vermektedir.

Bu üç heterozit silikagel ve MgCO₃ (80-20) karışımı ile hazırlanan bir sütundan % 70 lik etanol ile elüe edilerek bazı yabancı maddeden temizlendi ve üç heterozit ihtiva eden bir elüat elde edildi.

Bu temizlenmiş eluattan preparatif kalın tabaka kromatografisiyle H₁, H₂ ve H₃ heterozitleri elde edildi. Bu maddeler plaklardan kazınarak alınan adsorbandan % 70 lik metanol ile elüe edildi. Elüat vakumda kuruluğa kadar teksif edildi.

Elde edilen bu üç heterozit üzerinde kromatografik olarak şu çalışmalar yapıldı :

Önce kuvvetli asitle hidroliz edildi ve açığa çıkan aglukonların A₁, A₂, A₃ ile karşılaştırılmaları yapıldı. Görüldü ki H₁ in aglukonu A₃, H₂ ninki A₂ ve H₃ ünkü de A₁ den ibarettir.

Aynı hidroliz mahsulleri Na_2CO_3 ile nötrleştirildikten sonra, piridin : etil asetat : su (2 : 7 : 1) solvan sistemi ile Schleicher-Schüll 2043a kâğıdı ile inen sistem kâğıt kromatografisine uygulandı. Ayrılan ozlar, naftilamin reaktifi ile ve şahitler kullanmak suretiyle, H_1 için glikoz, H_2 ve H_3 için ise ramnoz ve glikoz olarak teşhis edildi.

Aglukona ozlardan hangisinin önce bağlandığını anlamak için envertaz fermenti ile hidroliz yapıldı. Ayrılan ozların her üç heterozitte de aynı ve glikoz olduğu tesbit edildi.

Bütün bu tetkiklere göre H_1 in bir mono heterozit olduğu ve glikoz taşıdığı H_2 ve H_3 te ise aglukona önce ramnoz'un bağlandığı ve bu ramnoza da bir glikoz eklendiği anlaşılmaktadır.

R. petiolaris kabuklarında bulunan antrakininonların ve heterozitlerin miktarı Borträger reaksiyonuyla renklendirmek ve % 1 lik istizin çözeltisinin verdiği renkle mukayese etmek suretiyle spektrofotometrik olarak yapıldı. Böylece kabuklarda % 0.12 serbest antrakininon, % 0.896 total heterozit bulunduğu hesaplandı. Preparatif kalın tabaka kromatografisi ile ayrılıp sonra buradan izole edilen maddelerin kolorimetrik tayini ile total antrakininon un % 48.4 ünü A_1 (krizofanol), % 44.7 sini de A_2 nin (fiskiyan) teşkil ettiği hesaplandı. Geriye kalan % 6.9 u da A_3 ten (emodin) ibarettir.

SONUÇ VE TARTIŞMA

Rhamnus petiolaris kabuklarında serbest antrasen türevi üç madde tesbit edilmiş; bu maddelerin krizofanol, fiskiyan ve emodin olduğu anlaşılmıştır. Üçü de birer antrakininon olan bu maddelere, bu gün drog olarak kullanılan *Cortex Rhamni Frangulae* ve *Cortex Rhamni Purshianae*'de de rastlanmaktadır.

Rhamnus petiolaris kabukları bu antrakininonların heterozitlerini de ihtiva eder. Bu heterozitlerin oz kısmı bir veya iki molekülden ibaret kısa bir zincirdir. Krizofanol ile fiskiyan bir ramnoz ve bir glikoz ile, emodin ise bir glikoz ile birleşerek heterozit teşkil etmişlerdir. Bu gün drog olarak kullanılan kabuklardaki heterozitler de ya glikoz veya bir ramnoz ve bir glikoz ihtiva ederler.

Buna göre *R. petiolaris* kabukları drog olarak kullanılan kabuklarda bulunan antrakininonlar ile bunların benzer heterozitleri-

ni ihtiva etmektedir. Son zamanlarda *Cortex Rhamni Frangulae*'den diantronlardan bir madde ve *Cortex Rhamni Purshianae*'den bir C-heterozidi elde edilmiştir. *Rhamnus petiolaris* kabuklarından bu tip bir madde izole edilmiş değildir.

Rhamnus petiolaris te serbest antrakinonların total miktarı % 12 ve heterozitlerin total miktarı % 0.896 olarak hesaplanmıştır. Drog olarak kullanılan kabuklardaki serbest antrakinonların total miktarı *Cortex Rhamni Frangulae* de % 0.05 -0.1 ve *Cortex Rhamni Purshianae*'de % 0.2 -0.8 dir. Buna göre *R. petiolaris* kabuklarındaki serbest antrakinon miktarı, bu maddelerin drog olarak kullanılan kabuklardaki miktarlardan pek farklı değildir ve limit değerler arasında bulunmaktadır.

R. petiolaris kabukları, aynı antrakinonları ve benzer heterozitleri taşımasına ve serbest antrakinonların total miktarları, drog olarak kullanılan kabuklardaki miktara yakın olmasına rağmen, *Cortex Rhamni Frangulae* ile *Cortex Rhamni Purshianae*'den iki noktada fark göstermektedir.

1. *R. petiolaris* kabuklarının ihtiva ettiği heterozitlerin total miktarı % 0.9 civarındadır. Halbuki drog olarak kullanılan kabuklar % 2-4 arasında heterozit taşır.

2. Drog olarak kullanılan kabuklarda serbest ve kombine emodin total miktarı diğer antrakinonlardan daha fazladır. Halbuki *R. petiolaris* kabuklarında emodin serbest ve kombine antrakinonların total miktarının ancak % 6.9 unu teşkil etmektedir. Total antrakinon miktarının % 48.4 ü krizofanol ve % 44.7 si fiski-yondur.

Emodin biri β -pozisyonunda üç fenol grubu ihtiva ettiğinden diğer iki antrakinondan daha aktiftir. Her ne kadar fiski-yon da β -pozisyonunda bir üçüncü fenol grubu ihtiva ediyorsa da bu fenolik —OH bir metil grubu ile kapatılmış bulunmaktadır.

Bu iki önemli farktan dolayı *R. petiolaris* kabukları drog olarak kullanılan *Cortex Rhamni Frangulae* ile *Cortex Rhamni Purshianae*'den daha az aktiftir ve bu drogların farmakopelerdeki yerini alamaz.

Bununla beraber, *R. petiolaris* kabukları % 1 kadar aktif heterozit ihtiva ettiği, bitki Türkiye'de çok yaygın olduğu ve kabuk-

lar kolayca soyulabildiği için gerekli farmakolojik ve toksikolojik araştırmalardan sonra bir Türk Farmakopesinde *Cortex Rhamni Frangulae* yanında yer alabilir.

ÖZET

Bu çalışmada *Rhamnus petiolaris* Boiss. bitkisinin Ankara ve Afyonkarahisar civarında toplanan numuneleri üzerinde çalışılmıştır.

Bitkiden soyulup kurutulduktan sonra benzer drogları elde etme şartlarına uygun olarak bir yıl bekletilen kabuklar bu müddet sonucunda % 70 lik metanolle perkole etmek suretiyle tüketilmiş ve elde edilen ekstreden serbest ve heterozit halinde olmak üzere üç antrakinon elde edilmiştir: Krizofanol, Fiskiyon ve Emodin. Bu antrakinonlardan ilk ikisi ramnoz ve glikoz, üçüncüsü yalnız glikoz ile birleşerek heterozit teşkil etmektedir.

Bu maddeleri izole etmek için sütun, ince tabaka ve preparatif ince tabaka kromatografisinden faydalanılmış ve maddeler erime noktası, elemanter analiz, Mass., U.V., I.R., N.M.R. spektrumları yardımı ile ve asetilli türevlerinin hazırlanması suretiyle teşhis ve tayin edilmişlerdir.

BORNTRÄGER reaksiyonuna dayanan klorimetrik bir usulle yapılan miktar tayininde kabukların antrasen türevlerini serbest olarak % 0.12 ve heterozit halinde % 0.896 kadar ihtiva ettiği hesaplanmıştır.

Kromatografik ayırmadan sonra yapılan kolorimetrik tayinle kabuklarda bulunan serbest ve kombine heterozitlerin total miktarının % 48.4 ünü krizofanol'un, % 44.7 sini fiskiyon'un ve % 6.9 unu emodin'in teşkil ettiği bulunmuştur.

SUMMARY

In this research, a study has been made on the *Rhamnus petiolaris* Boiss. barks, which had been growing near Afyonkarahisar and Ankara.

Dried barks, after being kept one year under special conditions, are percolated with 70 % methanol, from the extract, three basic anthraquinones, free and combine as heterosides were isola-

ted (Chrysophanol, Physcion, Emodine). The first two contain rhamnose and glucose attached to the aglucon to form heterosides, but emodin heteroside has only glucose in the molecule.

These anthraquinones are isolated by using the column chromatography, the T.L.C. and preparative T.L.C. and are identified and determined by means of melting points, elementary analysis, UV., IR. NMR. values and also prepared acetylated derivatives.

For the dosage of anthraquinones, a colorimetric method based on the BORNTRÄGER reaction is used, and calculated that the barks contain anthraquinones 0.12 % as free, and 0.896 % as heterosides.

In the colorimetric determination applied after the chromatographic separation, the total amounts of free and combined heterosides are found as chrysophanol 48.4 %, Physcion 44.7 % and emodine 6.9 %.

LİTERATÜR

- 1 — Davis, P.H. : Flora of Turkey, University press, Edinburg (1963)
- 2 — Baytop, T. : Türkiyenin Tıbbi ve Zehirli bitkileri, İsmail Akgün Matbaası, İstanbul (1963)
- 3 — Bloom, H., Briggs, L.H., Cleverley, B. : J. Chem. Soc. 178 (1959)
- 4 — Diatteli, M., Nicola, M. : Phytochemistry, **7**, 1183 (1968)
- 5 — Steglich, W. Lösel, W. : Tetrahedron, **23**, 4391 (1969)
- 6 — İmre, S. : Beiträge zur chemie der inhaltstoffe von Cortex Frangulae und Rhizoma Rhei. Doktora tezi (1962)
- 7 — Vogel, A.I. : Elementary Practical Chemistry Longsman Gren und Co. Ltd. **2** (1966)
- 8 — Ewing, G.W. : Instrumental Methods of Chemical Analysis, Mc. Graw - Hill Book Company Inc., New York **78**, (1960)
- 9 — İmre, S. : Digitalis viridiflora L. yapraklarının flavon ve antrakinonlar bakımından tetkiki, Doçentlik tezi (1967)