

***Astragalus sibthorpianus* Boiss. BİTKİSİNDEKİ  
SAPONİNLERİN İZOLASYONU VE  
KARAKTERİZASYONU**

**Nesrin YUMİTKAN**



T.C.  
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***Astragalus sibthorpianus* Boiss. BİTKİSİNDEKİ SAPONİNLERİN İZOLASYONU  
VE KARAKTERİZASYONU**

**Nesrin YUMİTKAN**

Doç. Dr. Nevin ARIKAN ÖLMEZ

(Danışman)

Doç. Dr. Ömer KOZ

(İkinci Danışman)

(Bursa Teknik Üniversitesi)

YÜKSEK LİSANS TEZİ  
KİMYA ANABİLİM DALI

BURSA-2015

Her Hakkı Saklıdır

## TEZ ONAYI

Nesrin YUMİTKAN tarafından hazırlanan “*Astragalus sibthorpianus* Boiss. Bitkisindeki Saponinlerin İzolasyonu Ve Karakterizasyonu” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

**Danışman :** (Doç. Dr. Nevin ARIKAN ÖLMEZ)

**İkinci Danışman :** (Doç. Dr. Ömer KOZ, Bursa Teknik Üniversitesi)

<b>Başkan :</b>	Doç. Dr. Nevin ARIKAN ÖLMEZ U.Ü. Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Anabilim Dalı	İmza
<b>Üye :</b>	Prof. Dr. Necdet COŞKUN U.Ü. Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Anabilim Dalı	İmza
<b>Üye :</b>	Prof. Dr. Gürcan GÜLERYÜZ U.Ü. Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Anabilim Dalı	İmza

**Yukarıdaki sonucu onaylarım**

**Prof. Dr. Ali Osman DEMİR**

**Enstitü Müdürü**

**.../.../2015**

**U.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;**

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
  - görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
  - başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
  - atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
  - kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
  - ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı
- beyan ederim.**

**01/06/2015**

**İmza**

**Nesrin YUMİTKAN**

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

*Astragalus sibthorpianus* Boiss. BİTKİSİNDEKİ SAPONİNLERİN İZOLASYONU  
VE KARAKTERİZASYONU

**Nesrin YUMİTKAN**

Uludağ Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Kimya Anabilim Dalı

**Danışman:** Doç. Dr. Nevin ARIKAN ÖLMEZ

**İkinci Danışman:** Doç. Dr. Ömer KOZ (Bursa Teknik Üniversitesi)

*Astragalus* bitki türlerinin, saponin içeriklerinden dolayı kolesterol düzenleyici, kanser oluşumunu engelleyici, kanın pıhtılaşmasını önleyici, karaciğeri koruyucu, kan şekerini düzenleyici, bağışıklık sistemini düzenleyici, nöron koruyucu, iltihap giderici ve antioksidan aktivite gösterdikleri bilinmektedir.

Bu tezde, endemik bir tür olan *Astragalus sibthorpianus* Boiss.'in tüm kısımları (kök ve toprak üstü) çalışılmıştır. Bir seri kromatografik yöntem (kolon kromatografisi, ince tabaka kromatografisi, jel geçirgenlik kromatografisi vb.) kullanılarak 2 adet saf saponin izole edilmiştir. Elde edilen saf bileşiklerin yapıları çeşitli spektroskopik yöntemlerle (1D ve 2D-NMR, IR, Kütle vb.) *3-O-[\beta-D-glukopiranozil-(1\rightarrow2)-\beta-D-glukuronopiranozil]-3\beta,22\beta,24-trihidroksiolean-12-en* ve *3-O-\beta-D-glukopiranozil-\beta-sitosterol (Daucosterol)* olarak belirlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** *Astragalus sibthorpianus*, saponinler, *3-O-[\beta-D-glukopiranozil-(1\rightarrow2)-\beta-D-glukuronopiranozil]-3\beta,22\beta,24-trihidroksiolean-12-en*, *daucosterol*, glikozitler, triterpen saponin

2015, viii + 67 sayfa

## ABSTRACT

MSc Thesis

ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF SAPONINS FROM *Astragalus sibthorpianus* Boiss.

**Nesrin YUMİTKAN**

Uludağ University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Chemistry

**Supervisor:** Assoc. Prof. Dr. Nevin ARIKAN ÖLMEZ

**Second Supervisor:** Assoc. Prof. Dr. Ömer KOZ (Bursa Technical University)

*Astragalus* plant species are known to exhibit cholesterol regulatory, anticarcinogenic, anticoagulant, liver protective, hypoglycemic, immunomodulatory, neuroprotective, anti-inflammatory and antioxidant properties due to their saponin contents.

In this thesis, the whole plant (roots and aerial parts) of *Astragalus sibthorpianus* Boiss., which is an endemic species, was studied. 2 pure saponins were isolated using a series of chromatographic methods (column chromatography, thin-layer chromatography, gel permeation chromatography, etc.). The structures of the obtained pure compounds were identified as 3-O-[ $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glucuronopyranosyl]-3 $\beta$ ,22 $\beta$ ,24-trihydroxyolean-12-ene and 3-O- $\beta$ -D-glukopiranozil- $\beta$ -sitosterol (*Daucosterol*) by various spectroscopic methods (1D and 2D-NMR, IR, Mass, etc.)

**Key words:** *Astragalus sibthorpianus*, saponins, 3-O-[ $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glucuronopyranosyl]-3 $\beta$ ,22 $\beta$ ,24-trihydroxyolean-12-ene, *daucosterol*, glycosides, triterpene saponin

2015, viii + 67 pages

## ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Tez danışmanlığımı üstlenen, bilgi ve tecrübeleriyle bana yol gösteren, maddi ve manevi destek sağlayan değerli danışmanlarım Doç. Dr. Nevin ARIKAN ÖLMEZ'e ve Doç. Dr. Ömer KOZ'a sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tür tayinini ve bitki teminini gerçekleştiren Uludağ Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi Prof. Dr. Gürcan GÜLERYÜZ ve ekibine teşekkür ederim.

Bursa Teknik Üniversitesi, Doğa Bilimleri, Mimarlık ve Mühendislik Fakültesi, Kimya Bölümü'nde görevli olan Araş. Gör. Dr. Burçak Kaya'ya yardımlarından dolayı çok teşekkür ederim.

ERASMUS öğrenci değişim programı kapsamında Floransa Üniversitesi, Kimya Bölümü, Organik Kimya Araştırma Laboratuvarı'nda çalışmama imkan sağlayan değerli hocam Prof. Dr. Alberto BRANDI ve ekibine teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimine başlamama vesile olan ve bu süreçte maddi-manevi desteğini hiçbir zaman esirgemeyen arkadaşım Güray DİLER'e, her zaman elimden tutan aileme çok teşekkür ederim.

KUAP(F)-2013-85 No'lu proje kapsamında gerçekleştirdiğim tez çalışmamda maddi destek sağlayan Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne teşekkür ederim.

Nesrin YUMİTKAN

01/06/2015

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR .....	iii
İÇİNDEKİLER .....	iv
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	viii
1. GİRİŞ .....	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI .....	4
2.1. Glikozitler .....	4
2.2. Saponinler .....	5
2.3. Saponinlerin Yapısal Özellikleri .....	6
2.3.1. Saponinlerin aglikon türüne göre sınıflandırılması .....	6
2.3.2. Saponinlerin şeker grubu sayısına göre sınıflandırılması .....	9
2.4. Saponinlerin Biyosentezi .....	10
2.5. Saponinlerin Biyolojik Aktivitesi .....	13
2.6. Saponinlerin Tayini .....	14
2.6.1. Ekstraksiyon .....	14
2.6.2. Ayırma ve izolasyon .....	15
2.6.3. Yapı tayini .....	17
2.7. <i>Astragalus</i> Cinsi .....	18
2.7.1. <i>Astragalus</i> türleri ile yapılan çalışmalar .....	19
2.7.2. <i>Astragalus sibthorpianus</i> Boiss. ....	30
3. MATERYAL VE YÖNTEM .....	32
3.1. Materyal .....	32
3.1.1. Genel bilgiler .....	32
3.1.2. Bitki materyali .....	34
3.2. Yöntem .....	34
3.2.1. LC-MS Profili (BuOH Ekstresi).....	36
3.2.2. İzolasyon ve Saflandırma (BuOH Ekstresi) .....	36
3.2.3. Bileşiklerin TLC hidrolizi.. ..	41
4. BULGULAR.....	42
4.1. Bitki Örneğinin Hazırlanması Ve Saponinlerin İzolasyonu .....	42
4.2. Bileşik 1'in Yapı Analizi .....	42
4.3. Bileşik 2'nin Yapı Analizi .....	45
5. TARTIŞMA VE SONUÇ .....	48
KAYNAKLAR .....	50
EKLER .....	54
ÖZGEÇMİŞ .....	67



## SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

### Simge

### Açıklama

$\delta$  Kimyasal kayma

### Kısaltmalar

### Açıklama

Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	Alüminyum oksit
Ara	Arabinoz
AcOH	Asetik asit
1D NMR	Bir Boyutlu Nükleer Manyetik Rezonans
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	Diklorometan
DMSO	Dimetil sülfoksit
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
EI	Elektron Çarpması
ESI	Elektrosprey İyonizasyon
EtOAc	Etil asetat
J	Eşleşme sabiti
FCB	Fitocoğrafik Bölge
Fr	Fraksiyon
Glc	Glukoz
GlcA	Glukuronik asit
g	Gram
v/v	Hacim/Hacim
Hz	Hertz
HMBC	Heteronükleer Çoklu Bağ Korelasyonu
HSQC	Heteronükleer Tekli Kuantum Uyumu
FAB	Hızlı Atom Bombardımanı
2D NMR	İki Boyutlu Nükleer Manyetik Rezonans
TLC	İnce Tabaka Kromatografisi
<sup>13</sup> C NMR	Karbon-13 Nükleer Manyetik Rezonans
FTIR	Kırmızı Ötesi Spektroskopisi
CI	Kimyasal İyonizasyon
CHCl <sub>3</sub>	Kloroform
CC	Kolon Kromatografisi
COSY	Korelasyon Spektroskopisi
MS	Kütle Spektrometrisi
Xyl	Ksiloz
L	Litre
MHz	Megahertz
MeOH	Metanol
m	Metre
$\mu$ m	Mikrometre
mg	Miligram

mL	Mililitre
mm	Milimetre
ppm	Milyonda bir
UV-Vis.	Mor Ötesi (Ultraviyole)
nm	Nanometre
n-BuOH	n-Butanol
NMR	Nükleer Manyetik Rezonans
DEPT	Polarizasyon Transferi ile Bozulmasız Güçlendirme
<sup>1</sup> H NMR	Proton Nükleer Manyetik Rezonans
Rha	Ramnoz
Ref.	Referans
cm	Santimetre
LC-MS	Sıvı Kromatografisi-Kütle Spektrometrisi
-CN	Siyano Grubu
SiO <sub>2</sub>	Silisyum dioksit
H <sub>2</sub> O	Su
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Sülfürik Asit
RP	Ters Faz
TMS	Tetrametilsilan
UV	Ultraviyole
VLC	Vakum Sıvı Kromatografisi
vb.	Ve Benzeri
HPTLC	Yüksek Performans İnce Tabaka Kromatografisi
HPLC	Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1. D-glikopiranozit diastreoizomerlerinin yapısı .....	4
Şekil 2.2. C- ve O- glikozit .....	5
Şekil 2.3. Steroidal yapı .....	6
Şekil 2.4. Triterpenik yapı.....	7
Şekil 2.5. Yaygın olan 4 triterpenik aglikon iskeleti.....	8
Şekil 2.6. Steroidal alkaloid yapı .....	8
Şekil 2.7. Steroidal alkaloid aglikon yapıları .....	9
Şekil 2.8. Monodesmosidik ve bidesmosidik saponinler .....	10
Şekil 2.9. Oksidoskualen'in çeşitli saponin iskeletlerine dönüşümü .....	11
Şekil 2.10. Skualenden triterpenoidlerin ve steroidlerin biyosentezi.....	12
Şekil 2.11. Vakum sıvı kromatografi (VLC) aparatı .....	15
Şekil 2.12. Kolon kromatografisi (CC) aparatı .....	16
Şekil 2.13. Yüksek performans sıvı kromatografisi (HPLC) sistemi.....	16
Şekil 2.14. <i>Astragalus cruciatus</i> Link. türünden elde edilen saponinler .....	20
Şekil 2.15. <i>Astragalus tauricolus</i> türünden elde edilen saponin.....	20
Şekil 2.16. <i>Astragalus schottianus</i> türünden elde edilen saponinler.....	21
Şekil 2.17. <i>Astragalus hareftae</i> türünden elde edilen saponinler.....	22
Şekil 2.18. <i>Astragalus ernestii</i> türünden elde edilen Daucosterol .....	23
Şekil 2.19. <i>Astragalus icmadophilus</i> türünden elde edilen saponinler .....	24
Şekil 2.20. <i>Astragalus amblolapis</i> türünden elde edilen saponinler .....	25
Şekil 2.21. <i>Astragalus flavescens</i> türünden elde edilen saponinler .....	26
Şekil 2.22. <i>Astragalus membranaceus</i> var. <i>mongholicus</i> türünden elde edilen saponinler .....	27
Şekil 2.23. <i>Astragalus caprinus</i> türünden elde edilen saponin .....	28
Şekil 2.24. <i>Astragalus membranaceus</i> türünden elde edilen saponinler.....	29
Şekil 2.25. <i>Astragalus sibthorpianus</i> Boiss. ....	30
Şekil 2.26. <i>Astragalus sibthorpianus</i> Boiss. türünün bulunduğu yer.....	30
Şekil 3.1. <i>Astragalus sibthorpianus</i> Boiss. için uygulanan ekstraksiyon işlemleri .....	35
Şekil 3.2. n-BuOH ekstresinin LC-MS profili .....	36
Şekil 3.3. n-BuOH ekstresi için yapılan ilk VLC işlemi (VLC-1).....	37
Şekil 3.4. n-BuOH ekstresi için yapılan ikinci VLC işlemi (VLC-2).....	38
Şekil 3.5. VLC-1 ve VLC-2 kolonlarından gelen 9-15 fraksiyon aralığının TLC üzerinde karşılaştırılması .....	38
Şekil 3.6. VLC-1 ve VLC-2 kolonlarından gelen 15-21 fraksiyon aralığının TLC üzerinde karşılaştırılması.....	39
Şekil 3.7. VLC-1 kolondan gelen 22-26 ve VLC-2 kolondan gelen 22-32 fraksiyon aralığının TLC üzerinde karşılaştırılması .....	39
Şekil 3.8. Bileşik 1'in saflandırma işlemi .....	40
Şekil 3.9. Bileşik 1'in TLC üzerinde görünümü .....	40
Şekil 3.10. Bileşik 2'nin saflandırma işlemi .....	41
Şekil 3.11. Bileşik 2'nin TLC üzerinde görünümü.....	41
Şekil 4.1. 3-O-[β-D-glukopiranozil-(1→2)-β-D-glukuronopiranozil]-3β,22β,24 trihidroksiolean-12-en .....	43
Şekil 4.2. 3-O-β-D-glukopiranozil-β-sitosterol (Daucosterol).....	46

## ÇİZELGELER DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
Çizelge 2.1. <i>Astragalus sibthorpianus</i> Boiss. için taksonomik sınıflandırma .....	31
Çizelge 3.1. <i>Astragalus sibthorpianus</i> Boiss. ile yapılan çalışmada TLC, CC ve VLC için kullanılan çözücü sistemleri.....	33
Çizelge 4.1. Bileşik 1'in <sup>13</sup> C, <sup>1</sup> H NMR ve HMBC NMR verileri.....	44
Çizelge 4.2. Bileşik 2'nin <sup>13</sup> C, <sup>1</sup> H NMR ve HMBC NMR verileri.....	47

## 1. GİRİŞ

Doğal bileşikler, çeşitli bitki ve hayvanlardan elde edilen bileşiklerdir. Dünya nüfusunun %80'inin sağlık için geleneksel ilaçlara güvendiği, Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından tahmin edilmektedir. Bu geleneksel ilaçlar, çoğunlukla bitki kaynaklıdır. Şu anda kullanılmakta olan 119 ilacın %74'ünün, geleneksel tıpta kullanılan bitkilerden elde edilen aktif maddeleri içerdiği tahmin edilmektedir. Tüm bu araştırmalar, ilaç keşfinde doğal bileşiklerin ne kadar önemli olduğunu göstermektedir (Berger 2001). Bu nedenle günümüzde birçok bilim adamı, bitkilerin yapısında bulunan kimyasal maddeleri araştırmakta ve bu maddelerin özelliklerini incelemektedir.

Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de bitkiler tedavi amaçlı olarak halk arasında yıllardan beri kullanılmaktadır. Türkiye, sahip olduğu bitki çeşitliliği açısından çevresinde yer alan birçok ülkeden farklı özellikleri ile dikkat çeker. Türkiye'de yayılış gösteren bitki türlerinin sayısı, Avrupa kıtasının tümünde yayılış gösteren bitki türlerinin sayısına yakındır. Son yıllarda yapılan keşiflerin de eklenmesiyle, Türkiye'nin 12 000 civarında bitki taksonuna sahip olduğu ortaya çıkmıştır (Erik ve Tarıkahya 2004). Türkiye, biyolojik çeşitlilik açısından bünyesinde **Avrupa-Sibirya, Akdeniz ve İran-Turan** olmak üzere üç Fitocoğrafik Bölge (FCB) bulundurduğu için küçük bir kıta özelliği göstermektedir. Bu bölgelere ait çok sayıda özel bitki, Türkiye'deki bitki toplulukları içinde yayılış göstermektedir. Bunlardan bazıları endemik, bazıları da yayılış alanı ülke sınırları dışına taşan bitkilerdir. Türkiye'nin endemizm açısından da önemi büyüktür. Türkiye endemiklerinin sayısı, 3000'den fazladır ve endemizm oranı %34,4'dür (Özhatay ve ark. 2005). Sığırkuyruğu (Verbascum), dağçayı (Sideritis), peygamber çiçeği (Centaurea) ve geven (Astragalus), endemizm oranı en fazla olan bitki grupları arasında yer almaktadır (Erik ve Tarıkahya 2004). Türkiye'de endemizm açısından en zengin yerler, Toros Dağları'nın batı ve orta kesimleri, iç Anadolu ile Doğu Anadolu arasındaki geçiş alanlarıdır. Uludağ masifi, Kaz Dağı masifi, Ilgaz masifi gibi masiflerin endemizm açısından özel alanlar olduğu dikkat çekmektedir (Avcı 2005). Uludağ, ülkemizin Marmara Bölgesi'ndeki en önemli endemizm sahalarından biridir ve sadece Uludağ'a özgü olan çok sayıda endemik bitkinin yayılış alanıdır (Güleryüz 2000).

Günümüzde birçok bitki, tedavi amacıyla Anadolu'da yaygın olarak kullanılmaktadır ve bazı bitki türleri, tıbbi bitki olarak ihraç edilmektedir. Ancak, Türkiye'nin doğal bitkilerinin çok önemli bir kısmının kimyasal içeriği, henüz bilinmemektedir ve bu bitki çeşitliliğinden yeterince faydalanılamamaktadır (Kandemir ve Beyazoğlu 2002, Baytop 1999). Birçok bitkinin içerdiği fitokimyasal maddelerin biyokimyasal ve fizyolojik aktiviteler, reaksiyonlar ve çevrimlerde önemli rol oynadığı bilinmektedir. Bu nedenle günümüzde, bitkilerin yapısında bulunan kimyasal maddeler daha spesifik olarak araştırılmakta ve bu maddelerin koruyucu, tedavi edici ve antioksidan özellikleri incelenmektedir.

Saponinler, çeşitli bitkilerde doğal olarak bulunan, steroid veya triterpenoid yapıda lipofilik bir çekirdek ile bir veya daha fazla sayıda karbonhidrat yan zincirine sahip glikozidler olarak son yıllarda insan ve hayvan sağlığı ile ilgili araştırmalarda giderek önem kazanmaktadır. Saponinler, birçok bitki türünün normal gelişme ve büyüme evresinde sentezlenen ikincil metabolitlerin geniş bir ailesidir (Osborn 2003). Genellikle mantar, bakteri ve böcek saldırılarına karşı savunmasız olan dokularda üretilerek bitki savunma sisteminde kimyasal bariyer olarak görev alırlar (Wina ve ark. 2005). Bitkinin yaşına, fizyolojik durumuna ve coğrafi konumuna bağlı olarak bitkide bulunan saponin içeriği farklılık göstermektedir (Hostettmann ve Marston 1995).

Saponinler, doğada yaygın olarak bulunan, uçucu olmayan, yüzey aktif bileşiklerdir (Vincken ve ark. 2007). Özellikle bitkilerde bulunmalarına karşın bazı deniz canlılarında da (Denizyıldızı, sünger gibi) bulunurlar (Oleszek 2002). Saponinler, steroidal ilaçların yarı sentezinde başlangıç noktası olmasından dolayı farmasötik kimyada kullanılmaktadır. Birçoğu, antikanser, sedatif, hipnotik, analjezik, antikonvülsan, antimikrobiyal, insektisidal gibi çok çeşitli biyolojik aktiviteye sahip olmalarından dolayı fitoterapide kullanılmaktadır. Köpürme ve emülsiyeye etme özelliklerinden dolayı da gıda endüstrisinde kullanım alanı bulmuşlardır. Saponinler, yaygın olarak geven, kuşkonmaz, fasulye, bögürtlen, bezelye, patates, şeker pancarı ve çay gibi çeşitli gıdalarda bulunurlar (Sparg ve ark. 2004).

Fabaceae (Leguminosae) ailesine ait olan *Astragalus* (Geven) bitki cinsi, başlıca Avrupa, Asya ve Kuzey Amerika olmak üzere dünyanın ılıman bölgelerinde geniş bir dağılıma sahiptir. *Astragalus* cinsinin yaklaşık olarak 2000 türü bilinmektedir. Türkiye florasında 445 türü bulunmaktadır ve bu türlerin 224'ü endemiktir (Davis 1970). *Astragalus* türlerinin çeşitli farmakolojik aktivitelere sahip olduğu ve bazı ülkelerde tıbbi amaçla kullanıldığı bilinmektedir. Bitkinin bu özelliği, içerdiği saponinler ve polisakkaritler ile ilişkilendirilmiştir. Bağışıklık güçlendirici, antikanser antiinflamatuar, analjezik, diüretik, hipotansif, sedatif ve antiviral özelliklerinin olmasından dolayı, saponinlere olan ilgi artmaktadır (Toshkova ve ark. 2007).

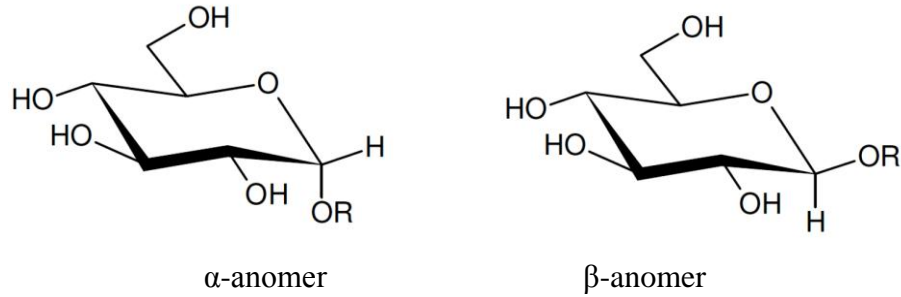
Bu çalışmada, Uludağ'da yetişen ve **endemik** (Güleryüz ve Arslan 1998) bir tür olan *Astragalus sibthorpianus* Boiss.'in tüm kısımları (kök ve toprak üstü) çalışılarak saponinlerin izole edilmesi ve yapılarının spektroskopik yöntemlerle belirlenmesi amaçlanmıştır.

## 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

### 2.1. Glikozitler

Glikozitler, bir şeker grubunun şeker olmayan bir gruba bağlandığı bileşiklerdir. Glikozidin şeker olmayan bileşeni “*aglikon*”, şeker bileşeni ise “*glikon*” olarak adlandırılır (Robbers ve ark. 1996). Aglikon kısmı, terpen, flavonoid, kumarin ya da herhangi bir doğal bileşik olabilir. Doğal glikozitlerde bulunan şekerler arasında en yaygın olanı glukozdur. Nadir olarak L-Ramnoz ve L-Fruktoz da bulunur.

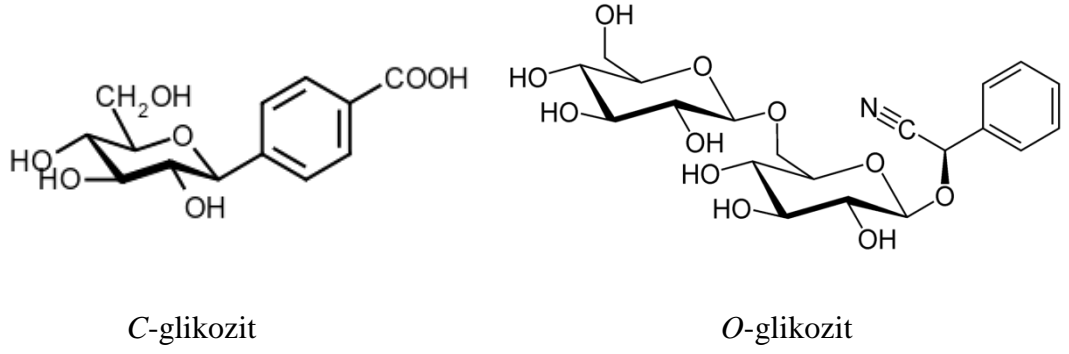
Şekerin halkalı yapısından dolayı, anomerik karbonun konfigürasyonuna bağlı olarak 2 diastereoizomeri mevcuttur. Bu diastereoizomere anomer denir ve  $\alpha$ ,  $\beta$  olarak adlandırılır (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. D-glikopiranozit diastreoizomerlerinin yapısı, R:Aglikon

Glikozidik bağlar, şeker kısmındaki bir yarı-asetal grubu ve aglikondaki bir nükleofilik grup arasından bir su molekülünün ayrılmasıyla oluşur. Nükleofilik atom, genellikle alkol, fenol ya da karboksilde bulunan oksijendir. Böylece bu tür glikozitler, “*O*-glikozitler” olarak adlandırılır. Nükleofilik atom, tiyol gurubundaki gibi kükürt olduğunda “*S*-glikozit”, azot olduğunda “*N*-glikozit”, karbon olduğunda “*C*-glikozit” (Şekil 2.2) elde edilir (Robbers ve ark. 1996).





**Şekil 2.2.** C- ve O- glikozit

Glikozitlerin biyolojik aktiviteleri, aglikon kısımları aynı olsa bile genellikle şeker kısmından kaynaklanmaktadır. Glikozitlerin, aglikona göre sudaki çözünürlüğünün daha iyi olduğu kabul edilir. Moleküle glikozidik grubun bağlanması, molekülün hidrofilik karakterini artırır. Bu durum, ilgili bileşiğin tıbbi özelliğini etkiler (Kren ve Martinkova 2001).

Aglikon kısmına göre sınıflandırma yapılırsa glikozitler, 4 ana gruba ayrılır (Aksu 1972):

- Saponinler
- Fenolik glikozitler
- N-içeren glikozitler
- S-içeren glikozitler

## 2.2. Saponinler

Saponinler, genellikle triterpen ya da steroidal aglikon kısmına şeker zincirlerinin bağlanmasıyla oluşan yüksek molekül ağırlıklı glikozitlerdir. Saponinlerin iskelet yapısını oluşturan, aglikon adı verilen polisiklik halkaya, polar şeker molekülleri bağlanmakta ve oldukça polar bir yapıya sahip olan bu moleküller oluşmaktadır. Saponinler, özellikle bitkilerde bulunmalarına karşın bazı deniz canlılarında da (Denizyıldızı, sünger gibi) bulunurlar (Oleszek 2002). “Saponin” ismi, Latince’de “sabun” anlamına gelen “sapo” kelimesinden türemiştir. Çünkü saponin molekülleri, suyla çalkalandığında sabun gibi köpürür (Vincken ve ark. 2007). Bu nedenle saponin

içeren bitkiler, ev tipi deterjan yapımında kullanılmıştır. Örneğin; çöven bitkisi (*Saponaria officinalis* L.), yüzyıllarca bu amaçla kullanılmıştır (Sparg ve ark. 2004).

Saponinler, genellikle amorf ve renksiz moleküllerdir; fakat kristal yapıda ve beyaz renkte olan türleri de vardır. Su, etil alkol, metil alkol gibi polar çözücülerde çözünürler.

### 2.3. Saponinlerin Yapısal Özellikleri

Saponinler, yapısal olarak aglikon (genin) ve glikon olmak üzere iki kısımdan oluşur.

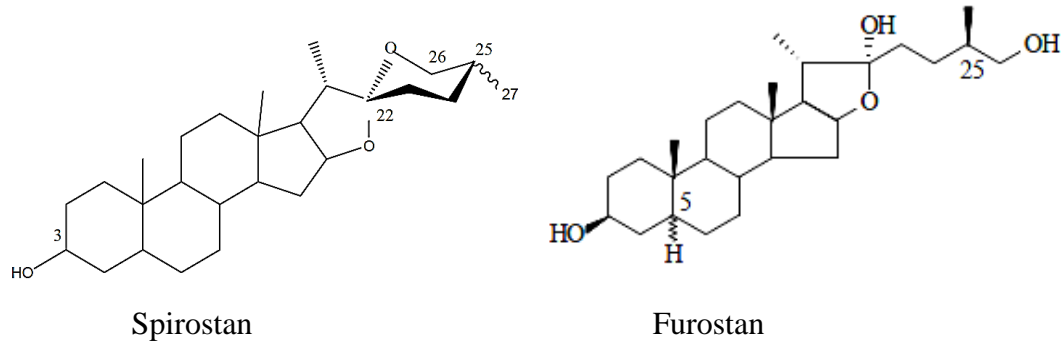
#### 2.3.1. Saponinlerin aglikon türüne göre sınıflandırılması

Yapıda bulunan aglikon türüne göre saponinler, 3 ana gruba ayrılır (Sparg ve ark. 2004):

- Steroidal saponinler
- Triterpenik saponinler
- Steroidal alkaloid saponinler
- **Steroid saponinler:**

Steroid saponinler, 6 halkalı yapı içeren C(27) iskeletinden oluşur. Aglikonun yapısı, steroidaldir. İki ana gruba ayrılırlar (Şekil 2.3) (Sparg ve ark. 2004):

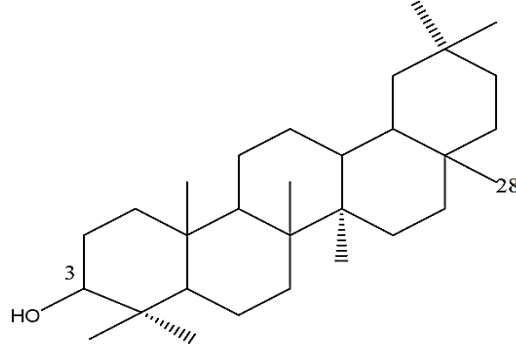
- Spirostanol saponinler
- Furostanol saponinler



Şekil 2.3. Steroidal yapı

Steroidal saponinler, genellikle triterpenik saponinlere benzer fiziksel ve biyolojik özelliğe sahiptirler; ancak triterpenik saponinlere göre doğada daha az bulunurlar. Yulaf, kırmızıbiber, biber, patlıcan, domates tohumu, kuşkonmazda tespit edilmişlerdir (Francis ve ark. 2002).

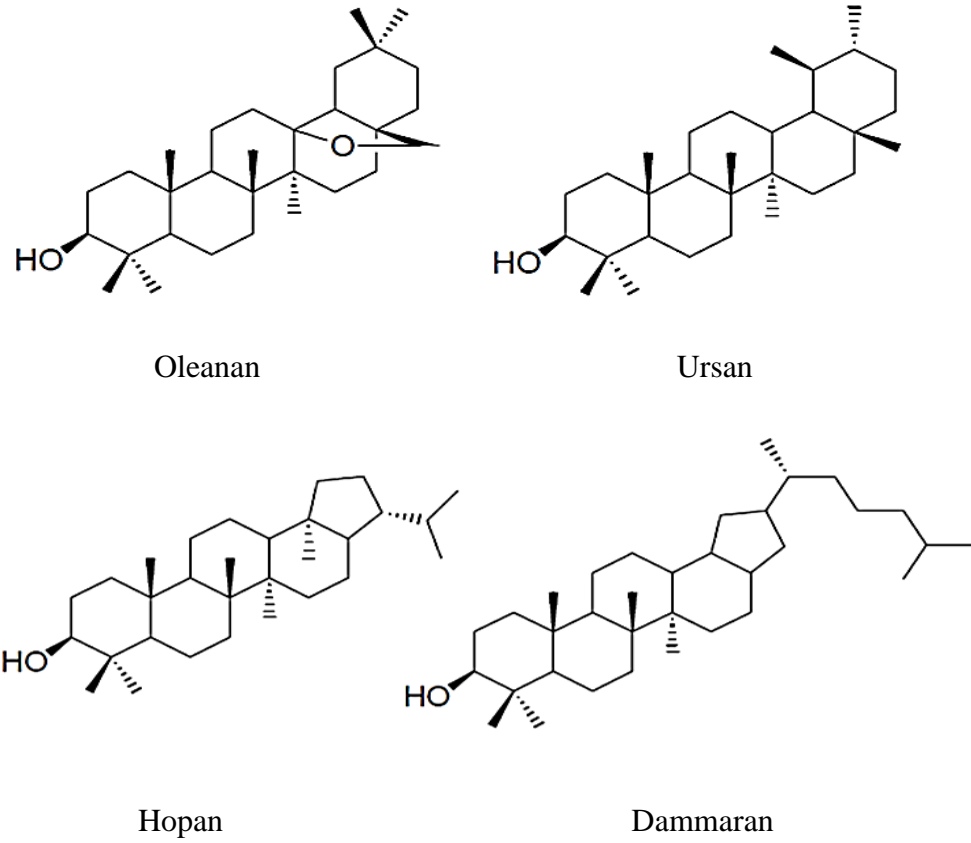
- **Triterpenik saponinler:**



**Şekil 2.4.** Triterpenik yapı

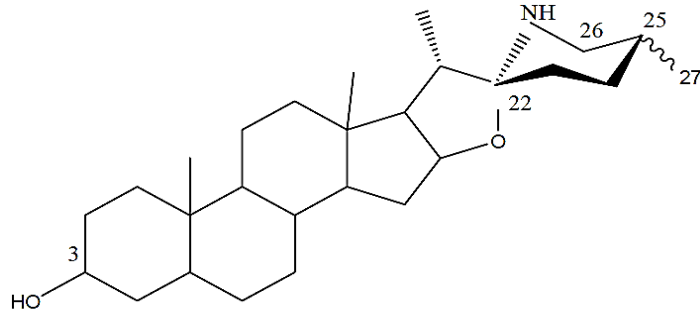
Triterpenik saponinler, beş halkalı yapı içeren C(30) iskeletinden oluşur. Aglikonun yapısı, triterpeniktir (Şekil 2.4) (Sparg ve ark. 2004). Steroidal ve triterpenik saponinler arasındaki fark, steroidal saponinlerin 3 metil grubunun uzaklaştırılmış olmasıdır. Yani steroidal saponinler, 27 karbon içerirken triterpenik saponinler, 30 karbon içerir (Vincken ve ark. 2007).

Doğada daha yaygın olarak bulurlar (Şekil 2.5). Soya fasulyesi, bezelye gibi baklagillerde ve ıspanak, çay, şeker pancarı, meyan kökü, ayçiçeği, atkestanesi gibi gıdalarda tespit edilmişlerdir (Francis ve ark. 2002).



Şekil 2.5. Yaygın olan 4 triterpenik aglikon iskeleti (Berger 2001)

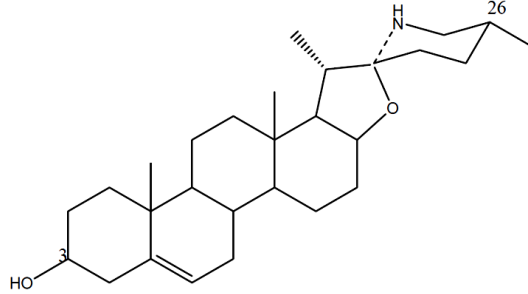
- **Steroidalkaloid saponinler**



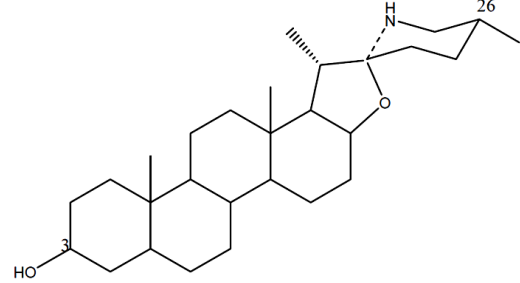
Şekil 2.6. Steroidal alkaloid yapı

Glikoalkaloidler, yüksek metabolik aktivite bölgelerinde bitki organlarında (olgunlaşmamış meyve, genç yaprak ve filizlerde) yüksek konsantrasyonda bulunur. *Solanaceae* ailesi (patates, domates, patlıcan gibi tarımsal ürünleri içeren), steroidal alkaloid glikozitler için önemli bir kaynak teşkil etmektedir. *Solanaceae* ailesinde steroidal alkaloidler (Şekil 2.7), bitkinin bütün organlarından izole edilebilir. Ancak

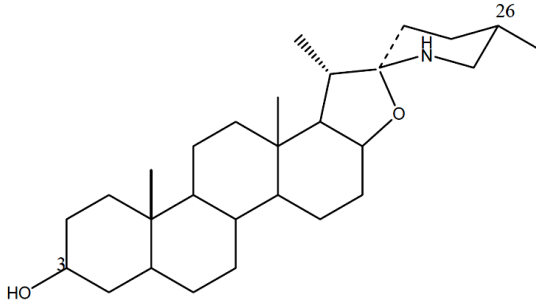
karmaşık glikoalkaloid karışımları, genellikle bitki kökünde fazla miktarda bulunmaktadır (Altungeyik 2010).



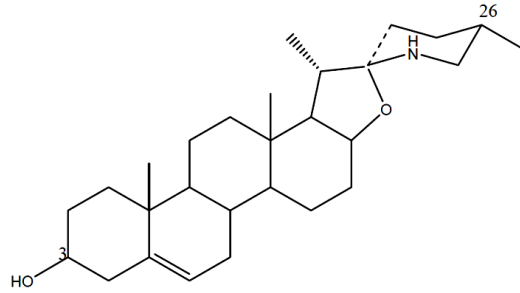
Solasodin



Soladulsidin



Tomatidin



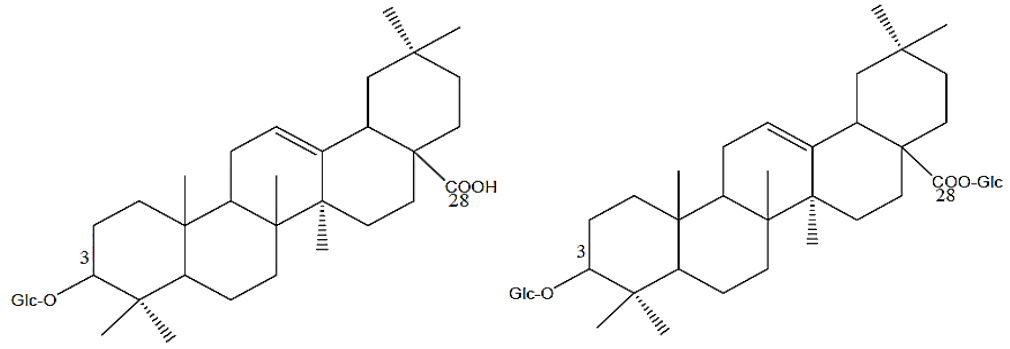
5-Dehidrotomatidin (Tomatidenol)

Şekil 2.7. Steroidal alkaloid aglikon yapıları

### 2.3.2. Saponinlerin şeker grubu sayısına göre sınıflandırılması

Tüm saponinler, genellikle aglikona bağlı bir ya da daha fazla şeker zinciri içerir ve bu saponinler, yapıda buldukları şeker grubu sayısına göre monodesmosidik, bidesmosidik ve tridesmosidik olarak sınıflandırılır (Oleszek 2002).

- **Monodesmosidik saponinler**, normalde C-3 karbonuna bağlı tek bir şeker zinciri içerir (Şekil 2.8).
- **Bidesmosidik saponinler**, genellikle biri C-3 karbonuna eter bağı ile bağlanmış, diğeri ise C-28 karbonuna (Triterpen saponinler) ester bağı ile (Açıl glikozit) ya da C-26 karbonuna eter bağı ile bağlanmış (Furostanol saponinler) iki şeker zinciri içerir (Şekil 2.8).



Monodesmosidik

Bidesmosidik

**Şekil 2.8.** Monodesmosidik ve bidesmosidik saponinler (Hostettmann ve Marston 1995)

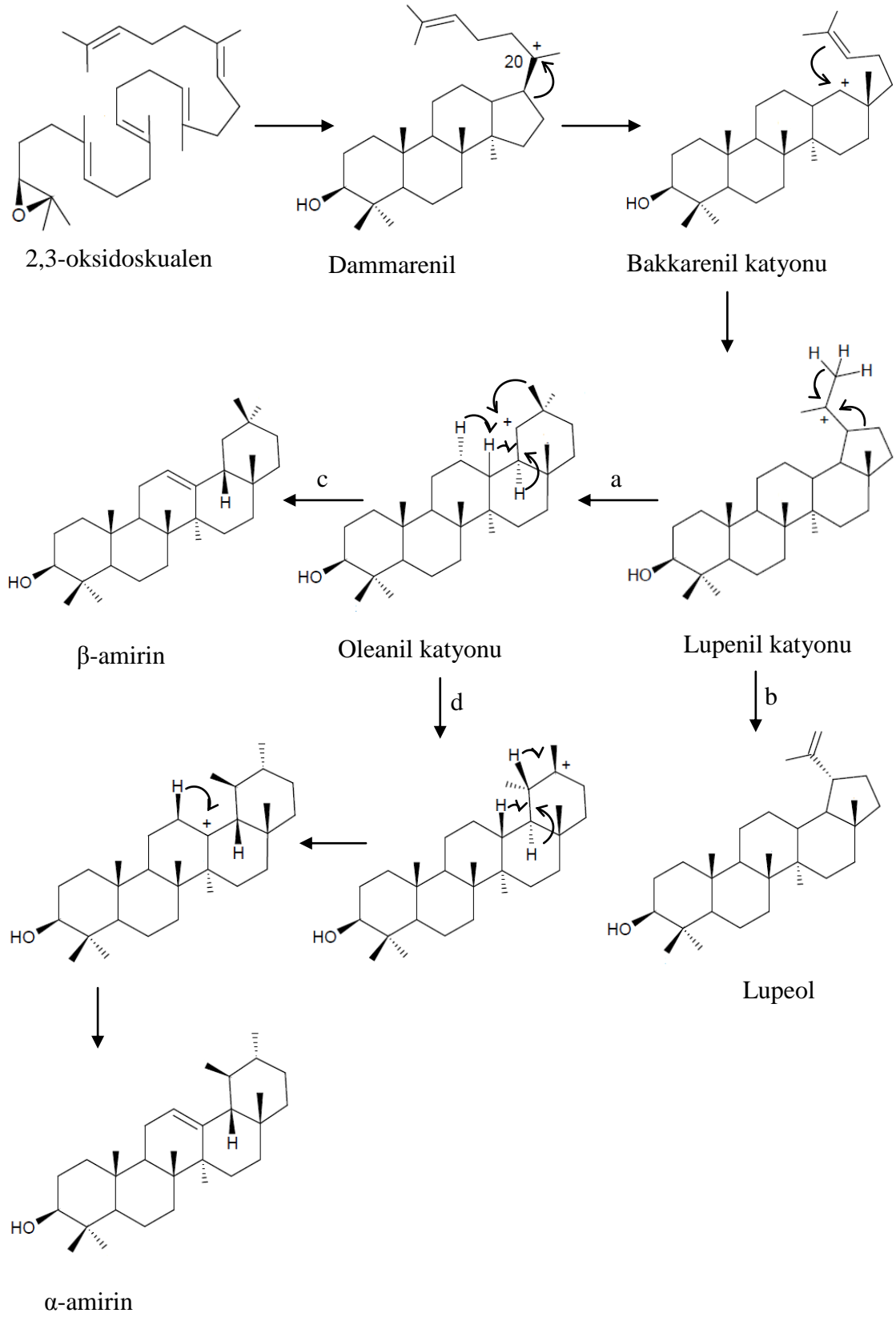
- **Tridesmosidik saponinler**, üç şeker zinciri içerir ve nadir olarak bulunur.

Şeker grupları, düz ya da dallanmış olabilir. Saponinlerin çoğu, nispeten daha kısa (genellikle dallanmamış) şeker zinciri içermeye eğilimlidir. En yaygın monosakkarit grupları, D-glukoz, D-galaktoz, D-glukuronik asit, D-galakturonik asit, L-ramnoz, L-arabinoz, D-ksiloz ve D-fukoz'dur (Vincken ve ark. 2007).

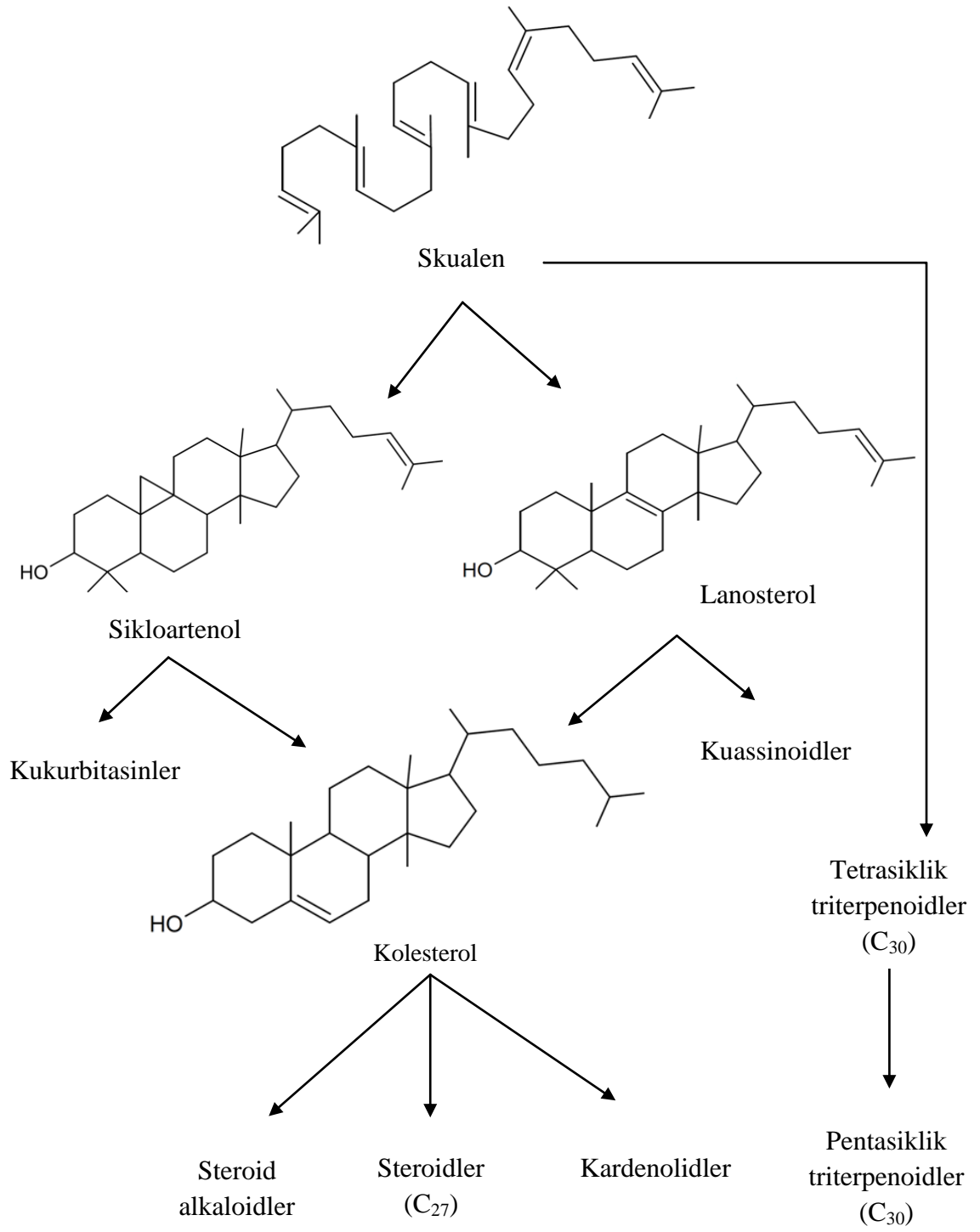
#### 2.4. Saponinlerin Biyosentezi

Saponinler, birçok bitki türünün normal gelişme ve büyüme evresinde sentezlenirler (Osborn 2003). Bitkinin büyümesinde ve üremesinde rol almayan saponinler, sahip oldukları kuvvetli antimikrobiyal aktiviteleri ile bitkiyi, otçul böceklerin ve mikropların toprak altından yaptıkları saldırılardan korumakta ve bitkinin hayatta kalma şansını artırmaktadır (Sparg ve ark. 2004).

Triterpen ve steroidler, 6 izopren (5 karbonlu) biriminden oluşur ve her ikisi de skualenden elde edilirler (Şekil 2.9 ve 2.10). Mekanizma, 2,3-oksidoskualenin halka kapanması üzerinden yürür (Hostettmann ve Marston 1995).



Şekil 2.9. Oksidoskualen'in çeşitli saponin iskeletlerine dönüşümü



**Şekil 2.10.** Squalenden triterpenoidlerin ve steroidlerin biyosentezi



## 2.5. Saponinlerin Biyolojik Aktivitesi

*Paris polyphylla* var. *yunnanensis* bitkisiyle yapılan çalışma sonucu elde edilen steroidal saponinlerin geniz kanseri epitel hücrelerine karşı inhibitör etkisinin olduğu saptanmıştır (Wu ve ark. 2010).

*Astragalus membranaceus* kökü ile yapılan çalışmalar sonucu elde edilen saponinlerin lösemi ve meme kanserine karşı etkili olduğu saptanmıştır (Ionkova ve ark. 2010).

*Mimusops laurifolia*, Hindistan'da bulunan ve eskiden geleneksel tıpta kullanılan bir bitkidir. Son zamanlarda bu bitki, cildi düzenleyici ve nemlendirici etkileri nedeniyle yeniden popüler hale gelmiştir. Kozmetikte ve deterjanlarda kullanılmaktadır. Bitkiyi bu kadar etkili yapan, içerdiği triterpenik saponinlerdir (Eskander ve ark. 2005).

*Bupleurum* cinsi, Asya geleneksel tıbbında farklı rahatsızlıkları tedavi etmek için kullanılmaktadır. *Bupleurum fruticosens* L. (Apiaceae)'in kurutulmuş kökleri, iltihap tedavisinde kullanılmaktadır. Bitkide bulunan ana anti-enflamatuar bileşiklerin saponinler olduğu tespit edilmiştir (Sparg ve ark. 2004).

Liu ve Henkel (2002), saponinlerin geleneksel Çin tıbbında kilit bileşenler olduklarını ve gözlenen birçok biyolojik etkiden sorumlu olduklarını düşünmektedir. Örneğin; Ginseng kökü (*Panax ginseng* C.A. Meyer, Araliaceae), en önemli geleneksel doğu ilaçlarından biridir ve günümüzde dünya çapında kullanılmaktadır. Saponinler, Ginseng'in aktif ana bileşimini oluşturmaktadır.

*Silene cucubalus* Wib. (Caryophyllaceae), Fas'ta dağılım gösteren bir bitkidir. Deterjan olarak ve saç bakımında kullanılmaktadır. Bitkinin kaynatılmasıyla elde edilen saponince zengin su ise, uyuz, kaşıntı, yara ve cilt rahatsızlıklarına karşı kullanılmaktadır (Larhsini ve ark. 2003).

*Schefflera arboricola* bitkisiyle yapılan farmakolojik çalışmalarda, etanolik yaprak ekstresinin sedatif, hipnotik, analjezik, antikonvülsan ve düz kasları gevşetici etkilerinin

olduğu belirlenmiştir. Bitkinin bu özelliği, içerdiği triterpenik saponinlerle ilişkilendirilmiştir (Melek ve ark. 2002).

*Phytolacca icosandra* bitkisiyle yapılan çalışma sonucunda, metanol ve su ekstraktının yumuşakalara karşı aktivite gösterdiği saptanmıştır. Bitkinin bu özelliği, içerdiği monodesmosidik saponin ile ilişkilendirilmiştir (Treyvaud ve ark. 2000).

## **2.6. Saponinlerin Tayini**

Saponinlerin bitki materyalinden izole edilmeleri, bitki dokularında bulunan diğer maddeler nedeniyle zorlaşmaktadır. Günümüzde saponinlerin izolasyonları, yapılarının aydınlatılması ve analizleri için gelişmiş ayırma teknikleri ve spektroskopik teknikler kullanılmaktadır.

Genel olarak; bitkilerden saponinlerin tayini, aşağıdaki aşamalar izlenerek yapılır (Gupta ve ark. 2012):

1. Bitki materyalinin ekstraksiyonu
2. İlgilenilen bileşenlerin ayrılması ve izolasyonu
3. İzole edilen bileşiklerin yapılarının tayin edilmesi

### **2.6.1. Ekstraksiyon**

Ekstraksiyon, bitki örneğinin hazırlanmasında önemli bir adımdır. Uyumlu ekstraksiyon metodunun uygulanmasıyla birlikte uygun çözücünün seçimi, çok önemlidir. Ekstraktın kalitesi; bitkinin kullanılan kısmı, ekstraksiyon için kullanılan çözücü, ekstraksiyon yöntemi, bitki materyali:çözücü oranı gibi çeşitli faktörlerden etkilenir. Ekstraksiyon işlemi, uygun çözücünün kullanımıyla çözünen bitki metabolitlerini ayırmamızı sağlar.

Saponinler için alkol:su karışımları yüksek verimde ekstraksiyon sağlar (Gupta ve ark. 2012). Ancak genel bir kural olarak bitki materyali, metanol ya da etanol ile ekstrakte edilerek örnek hazırlama işlemine başlanır. Çözücü uçurulduktan sonra su ve n-butanol

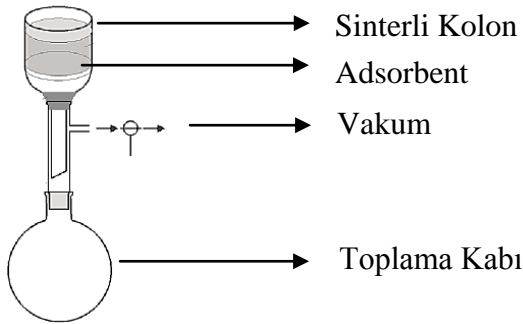
ile ekstraksiyon yapılarak saponinlerin n-butanol fazına alınması sağlanır (Francis 2002).

### 2.6.2. Ayırma ve izolasyon

Ayırma ve izolasyon, çoğunlukla kromatografik yöntemlerle yapılmaktadır.

#### **Vakum Sıvı Kromatografisi (VLC)**

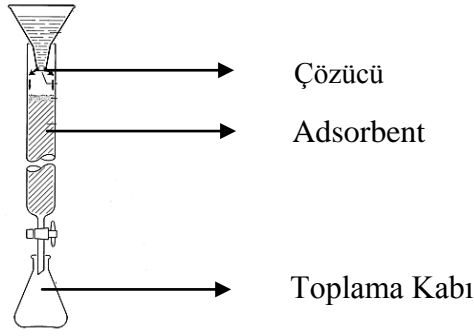
Vakum sıvı kromatografisi, uygulama kolaylığı ve hızlı olması nedeniyle doğal bileşik çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır. VLC ile 30 gram kadar maddenin ayrılması mümkündür. Saponinlerin ayrılması için silikajel (normal faz ve ters faz),  $Al_2O_3$ , -CN, diol ve poliamid gibi farklı dolgu maddeleri kullanılabilir. Heksan:Etilasetat, Metanol:Su çözücü sistemleri, hareketli faz için uygundur. Uygulanan vakumla çözücünün kolonda hızlı bir şekilde ilerlemesi sağlanır. VLC, kolon kromatografisi (CC) ya da HPLC (Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi) gibi kromatografik ayırma yöntemlerinden önce yapılan bir ön ayırma işlemidir (Sticher 2008).



**Şekil 2.11.** Vakum sıvı kromatografisi (VLC) aparatı

#### **Kolon Kromatografisi (CC)**

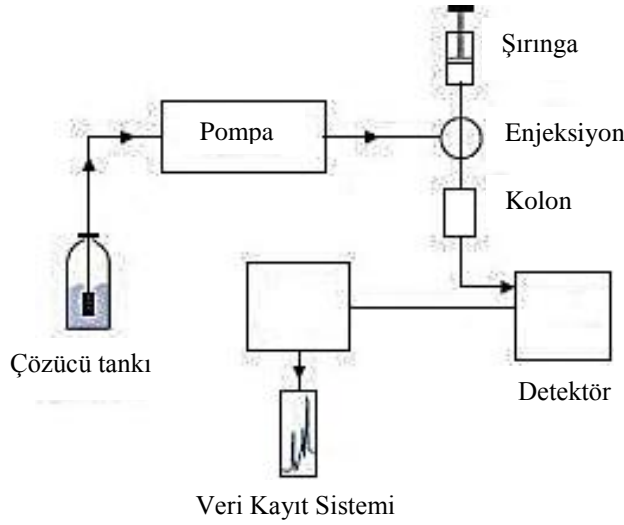
Kolon kromatografisi, en eski kromatografik tekniktir. Sabit faz ve hareketli fazdan oluşur. Saponinlerin ayrılmasında yaygın olarak kullanılan hareketli faz sistemleri,  $CHCl_3$ -MeOH- $H_2O$ ,  $CH_2Cl_2$ -MeOH- $H_2O$ , EtOAc-MeOH- $H_2O$ 'dur.



**Şekil 2.12.** Kolon kromatografisi (CC) aparatı

### **Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi (HPLC)**

HPLC, miligram mertebesindeki saponinlerin ayrılmasına olanak sağlayan etkili bir metottür. Bu nedenle ayırma işlemlerinde son adım olarak kullanılır. Ancak, saponinlerde kromofor grupların olmaması, UV ışınla belirlenmesini engeller ve 200-210 nm’de spesifik olmayan bir tespit yapılmasına izin verir (Oleszek ve Bialy 2006).



**Şekil 2.13.**Yüksek performans sıvı kromatografisi (HPLC) sistemi

### **İnce Tabaka Kromatografisi (TLC)**

İnce tabaka kromatografisi, kolon kromatografisinden gelen ve saponin içeren fraksiyonların belirlenmesinde yardımcı bir tekniktir. Aynı zamanda izole edilen bileşiklerin saflığı ve yapısı hakkında bilgi verir (Oleszek ve Bialy 2006). Sabit faz

olarak silikajel (SiO<sub>2</sub>), alüminyum oksit (Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>), toz selüloz gibi maddeler kullanılır. Saponinlerin TLC üzerinde görünür hale getirilmesi için en çok kullanılan reaktifler, vanilin-sülfürik asit (Godin Reaktifi), antimon (III) klorür (Carr-Price Reaktifi), anisaldehit-sülfürik asit, Liebermann-Burchard reaktifleridir (Oleszek 2002).

### **2.6.3. Yapı tayini**

Mor ötesi (Ultraviyole) spektroskopisi (UV-Vis.), Kırmızı ötesi spektroskopisi (FTIR), Nükleer manyetik rezonans spektroskopisi (NMR) ve Kütle spektrometrisi (MS) gibi spektroskopik yöntemler, maddelerin kalitatif ve kantitatif analizi, yapılarının aydınlatılması, stereokimyasal özelliklerinin bulunması ve saflık kontrolü gibi çok geniş bir alanda uygulanmaktadır (Erdik 2008).

Doğal bileşiklerin yapı tayininde en yaygın kullanılan ve bileşik hakkında önemli bilgiler veren spektroskopik yöntemler, 1D ve 2D NMR teknikleri ve Kütle Spektrometrisi'dir.

### **Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi (NMR)**

NMR spektroskopisi, doğal bileşik yapılarının tayininde önemli rol oynamaktadır. 1D ve 2D NMR teknikleri kullanılmadan karmaşık yapıdaki doğal bileşiklerin yapılarının belirlenmesi oldukça güçtür.

Saponinlerin yapılarının belirlenmesi için <sup>1</sup>H NMR, <sup>13</sup>C NMR, DEPT, COSY (Korelasyon spektroskopisi-<sup>1</sup>H kimyasal kayma ve eşleşme), HSQC (<sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C heteronükleer tekli kuantum uyumu), HMBC (<sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C heteronükleer çoklu bağ korelasyonu) gibi NMR teknikleri en sık kullanılan yöntemlerdir. Spektrum analizi sonucunda (Madland 2013);

- Glikozidik bağların nasıl konumlandığı,
- Monosakkarit birimlerinin sayısı, sırası ve doğası,
- Glikozidik bağların konfigürasyonu,
- Zincirlerde açıl glikozitlerin varlığı,

- Saponinin ne tür bir aglikona sahip olduğu,
- Bağlı olan esterlerin yapıları belirlenir.

### **Kütle Spektrometrisi (MS)**

Kütle spektrumu ile maddenin molekül kütlesi ve molekül formülü elde edilir; içerdiği fonksiyonel gruplar ve sayısı da bulunabilir (Erdik 2008).

Kütle spektrometrisinde iyonizasyon metodu, analizlenecek bileşiğin polarlığına, kararsızlığına ve molekül ağırlığına bağlıdır. Kimyasal iyonizasyon (CI) ve elektron çarpması (EI), yapı analizinde yaygın olarak kullanılan MS teknikleridir.

Hızlı atom bombardımanı (FAB) ve kimyasal iyonizasyon (CI) gibi iyonizasyon teknikleri, glikozitlerin molekül ağırlığı ve şeker sırası gibi önemli yapısal bilgiler elde etmek için uygulanmıştır. Bu teknikler, glikozitin türevlendirilmesine gerek duyulmadan analiz imkanı sağlar (Hostettmann ve Marston 1995). Elektron çarpması (EI) için ise örneklerin uçucu ve termal açıdan stabil olması gerekir. Saponinlerin EI ile analiz edilebilmesi için, permetil ya da perasetil türevlerine dönüştürülmesi gerekir. Üçten fazla şeker grubu bulunduran saponinlere uygulanabilir olmadığından dolayı bu türevlendirmenin de sınırlandırmaları vardır.

Elektrosprey iyonizasyon (ESI), yüksek duyarlılığı, hızlı analiz süresi ve az miktarda örneğe ihtiyaç duyulması nedeniyle saponinlerin molekül ağırlığının belirlenmesinde etkili bir araç olarak bildirilmiştir (Madland 2013).

### **2.7. *Astragalus* Cinsi**

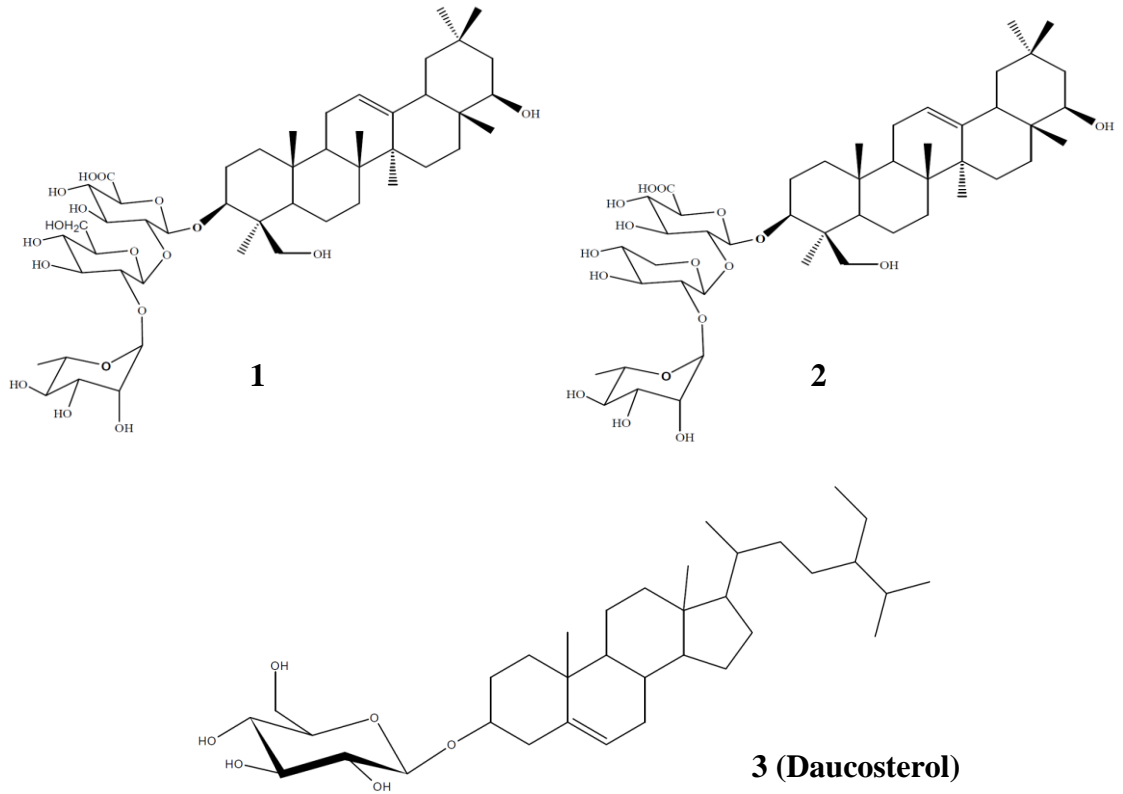
Fabaceae (Leguminosae) ailesine ait olan *Astragalus* cinsi, başlıca Avrupa, Asya ve Kuzey Amerika olmak üzere dünyanın ılıman bölgelerinde geniş bir dağılıma sahiptir. *Astragalus* cinsinin yaklaşık olarak 2000 türü bilinmektedir ve bunların 372'si Kuzey Amerika'da ve 133'ü Avrupa'da bulunmaktadır. Türkiye florasında ise 445 türü

bulunmaktadır ve bu türlerin 224'ü endemiktir (Davis 1970). Ülkemizde özellikle Doğu Anadolu ve İç Anadolu'da bozkırda yayılış göstermektedir.

### **2.7.1. *Astragalus* türleri ile yapılan çalışmalar**

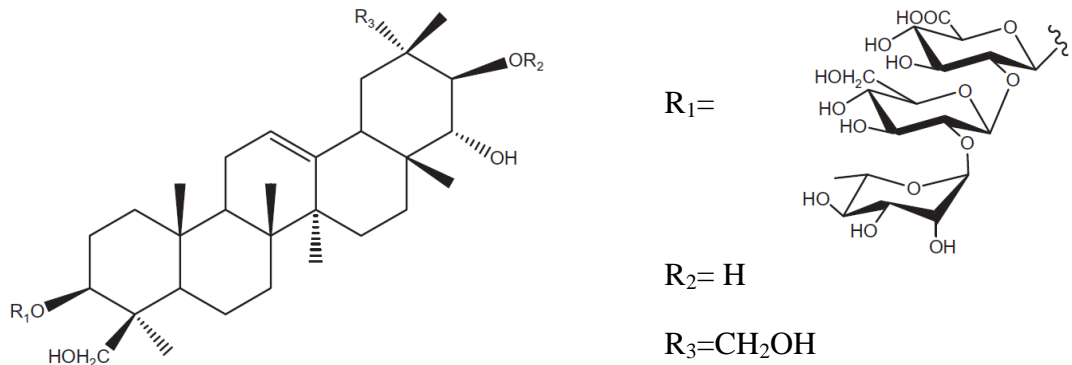
*Astragalus* türlerinin bağışıklık güçlendirici, antikanser, antiviral ve yara iyileştirici özelliklerinin olduğu ve bazı ülkelerde tıbbi amaçla kullanıldığı bilinmektedir. Bitkinin bu özelliği, içerdiği saponinler, polisakkaritler, triterpen glikozitler, flavonoidler ve isoflavonoidler ile ilişkilendirilmiştir (Savran 2010, Toshkova ve ark. 2007). *Astragalus*'un farklı türleriyle yapılan çalışmalarda bitkinin ana aktif bileşenini oluşturan sikloartan ve oleanan tipi triterpenik saponinler izole edilmiştir. Bugüne kadar, 140 çeşitten fazla sikloartan tipi triterpenik saponin tanımlanmıştır. Yapılan çalışmalar sonucunda *Astragalus* cinsinden sikloartan ve oleanan tipi triterpenik saponinlerin yanı sıra steroid aglikona sahip  $\beta$ -sitosterol-3-O- $\beta$ -D-glukopiranozit de elde edilmiştir (Li ve ark. 2014).

*Astragalus cruciatus* Link. türünün kök ve toprak üstü kısımları, sırasıyla eter, etil asetat ve metanol ile ekstrakte edilmiştir. Metanol ekstresinden oleanan tipi triterpenik saponinler ve  $\beta$ -sitosterol glikozit olan Daucosterol elde edilmiştir (Şekil 2.14) (Benchadi ve ark. 2013).



**Şekil 2.14.** *Astragalus cruciatus* Link. türünden elde edilen saponinler

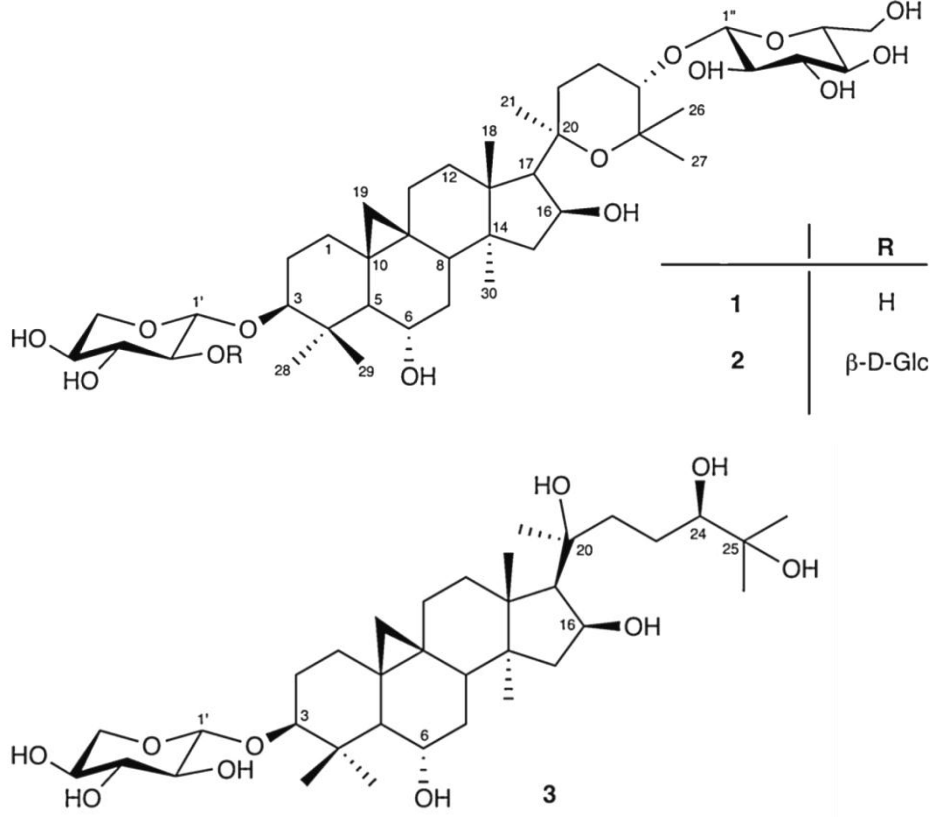
*Astragalus tauricolus* türünün kök ve toprak üstü kısımları, sırasıyla metanol, n-Heksan,  $\text{CHCl}_3$  ve n-Butanol ile ekstrakte edilmiştir. n-Butanol ekstresinden oleanan tipi triterpenik saponinler izole edilmiştir. İzole edilen saponinlerden birinin (Şekil 2.15) insan lösemi hücrelerine karşı inhibisyon etkisinin olduğu tespit edilmiştir (Gülcemal ve ark. 2013).



**Şekil 2.15.** *Astragalus tauricolus* türünden izole edilen saponin

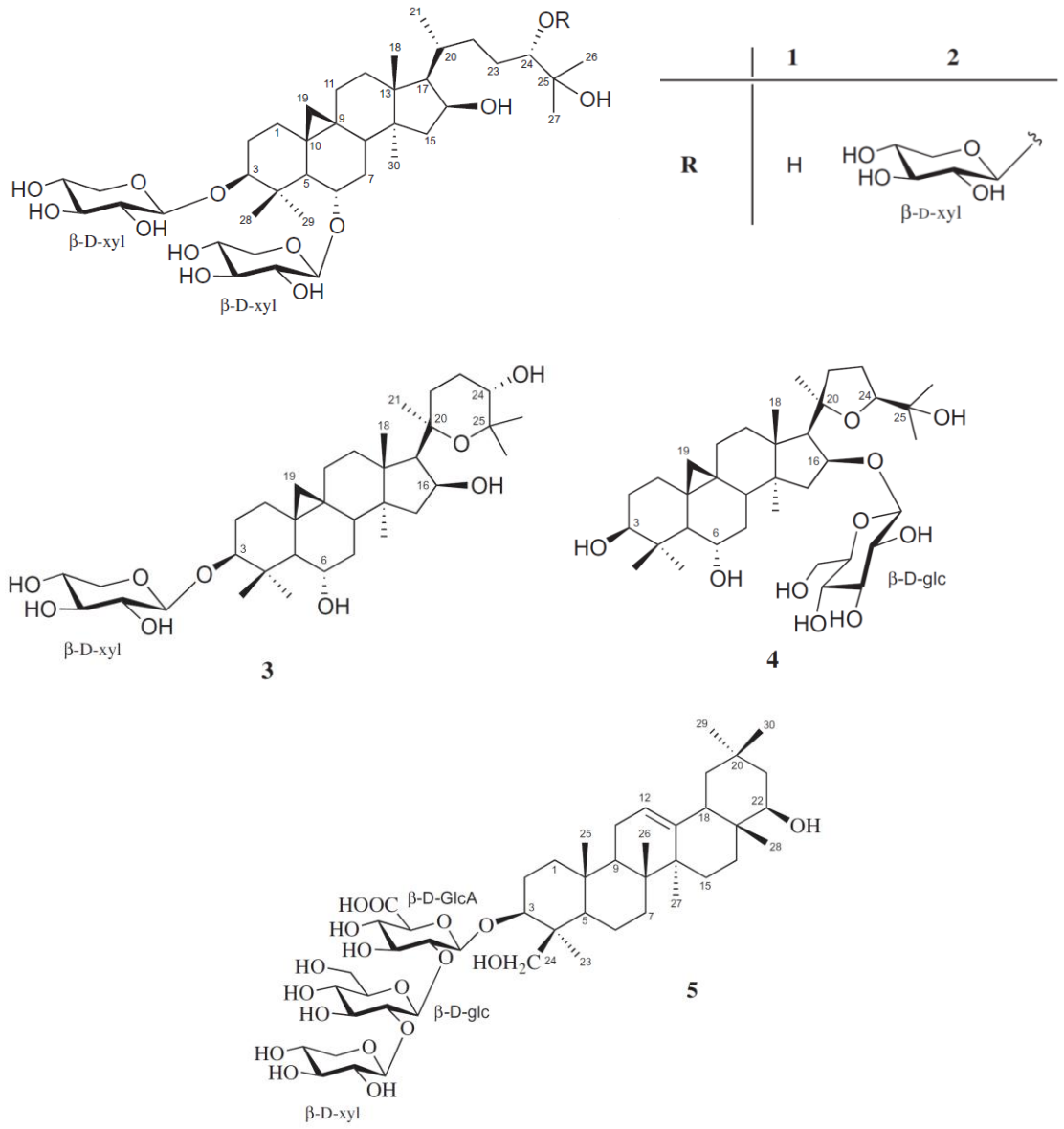


*Astragalus schottianus* türünün kök ve toprak üstü kısımları, 70<sup>0</sup>C’de geri soğutucu altında metanol ile ekstrakte edilmiştir. Metanol ekstresinden 3 yeni sikloartan tipi triterpenik saponin izole edilmiştir (Şekil 2.16) (Karabey ve ark. 2012).



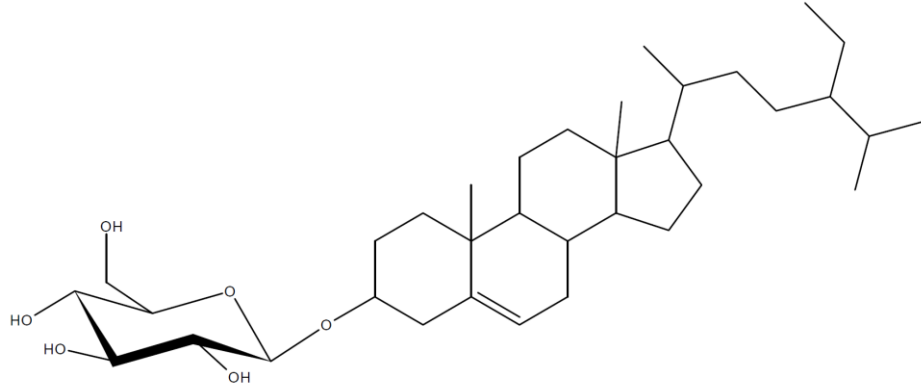
**Şekil 2.16.** *Astragalus schottianus* türünden elde edilen saponinler

*Astragalus hareftae* türünün kök ve toprak üstü kısımları, geri soğutucu altında sırasıyla 68<sup>0</sup>C’de n-hekzan ve 64<sup>0</sup>C’de metanol ile ekstrakte edilmiştir. Metanol ekstresi, sırasıyla CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> ve n-Butanol ile ekstrakte edilmiştir. n-Butanol ekstresinden 4 tane sikloartan ve 1 tane oleanan tipi triterpenik saponin izole edilmiştir (Şekil 2.17) (Horo ve ark. 2012).



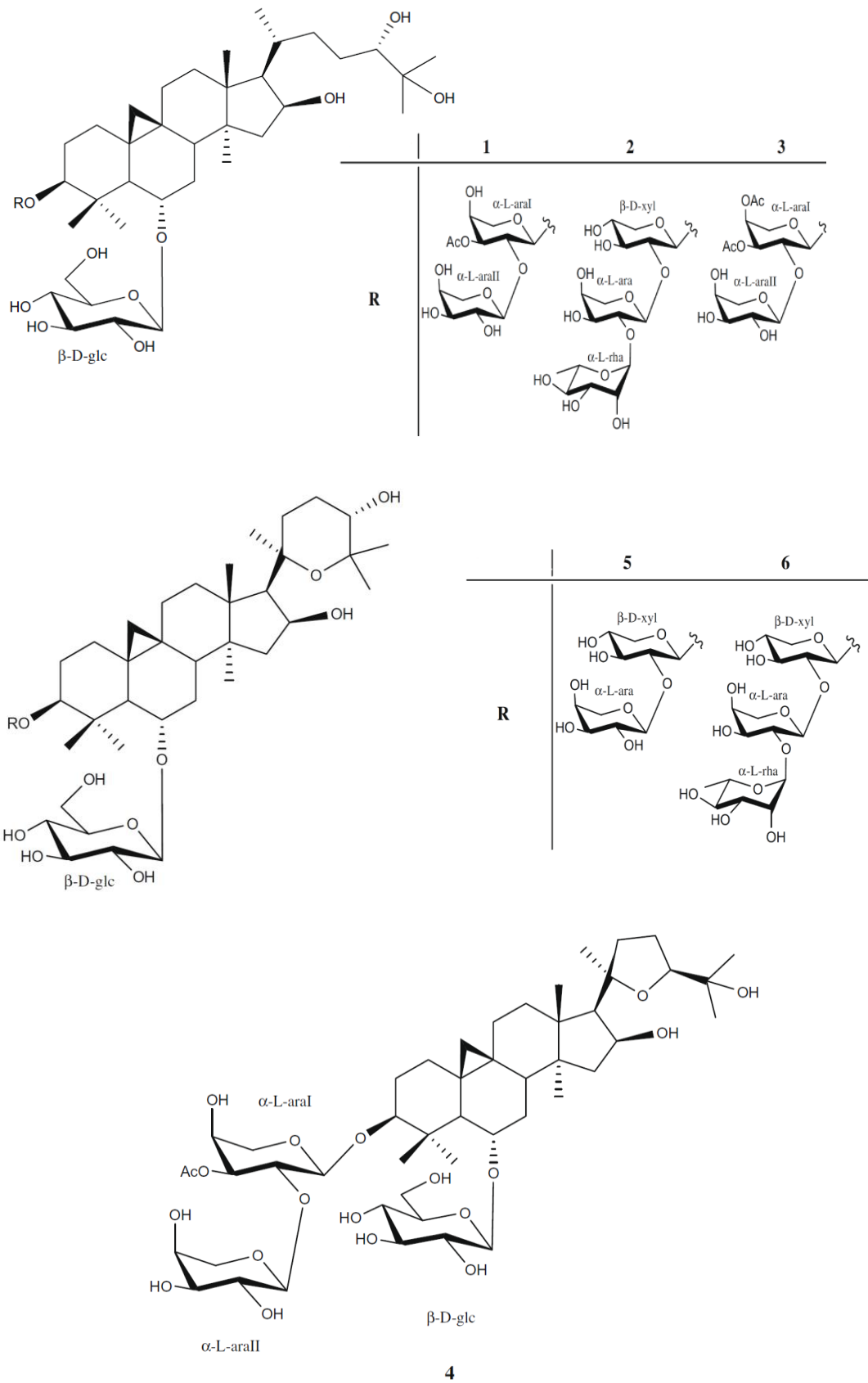
**Şekil 2.17.** *Astragalus hareftae* türünden elde edilen saponinler

*Astragalus ernestii* türünün kökleri, geri soğutucu altında  $75^{\circ}\text{C}$ 'de %95 etanol ile ekstrakte edilmiştir. Etanol ekstresi suda çözünüp sırasıyla etil asetat ve n-Butanol ile ekstrakte edilmiştir. n-Butanol ekstresinden Daucosterol, saf olarak elde edilmiştir (Şekil 2.18) (Sun ve ark. 2011).



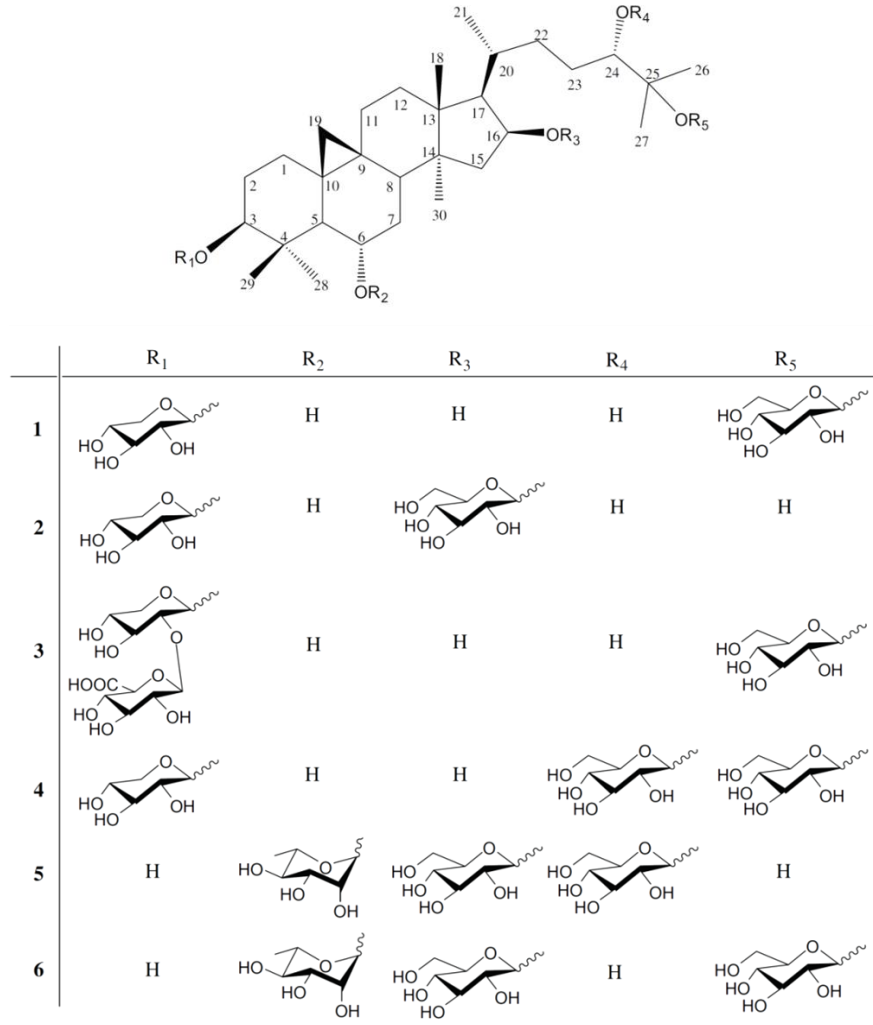
**Şekil 2.18.** *Astragalus ernestii* türünden elde edilen Daucosterol

*Astragalus icmadophilus* türünün kök ve toprak üstü kısımları, metanol ile ekstrakte edilmiştir. Metanol ekstresi, suda çözülüp sırasıyla n-Heksan, Dietil eter,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ve n-Butanol ile ekstrakte edilmiştir. n-Butanol ekstresinden 6 tane yeni sikloartan tipi triterpenik saponin izole edilmiştir (Şekil 2.19) (Horo ve ark. 2010).



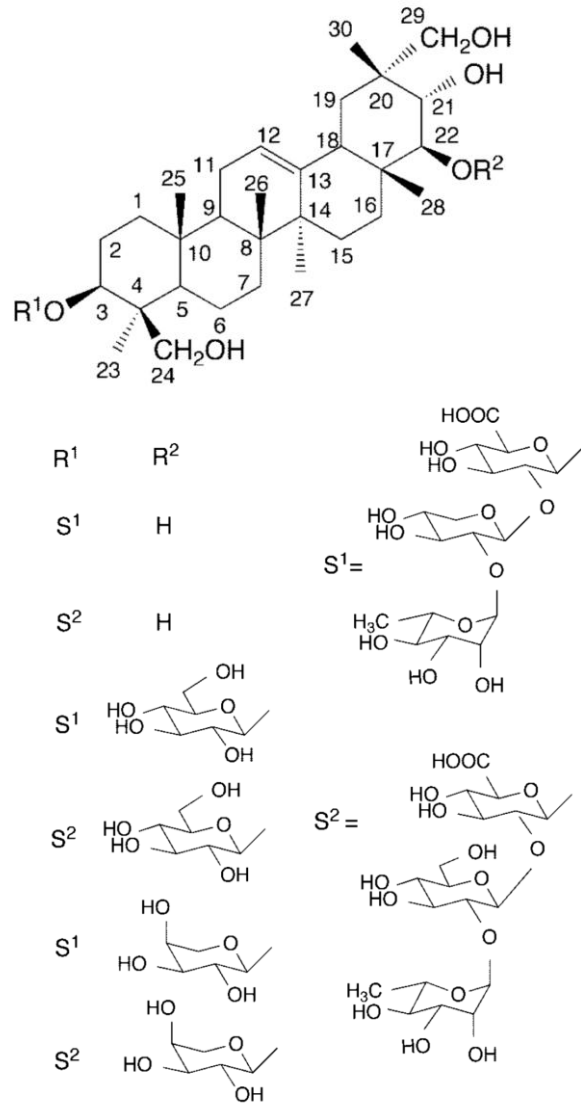
Şekil 2.19. *Astragalus icmadophilus* türünden elde edilen saponinler

*Astragalus amblolepis* türünün kökleri, 60<sup>0</sup>C'de metanol ile ekstrakte edilmiştir. Metanol ekstresi suda çözülüp sırasıyla n-Heksan, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> ve n-Butanol ile ekstrakte edilmiştir. n-Butanol ekstresinden 6 tane sikloartan tipi triterpenik saponin elde edilmiştir (Şekil 2.20) (Polat ve ark. 2009).



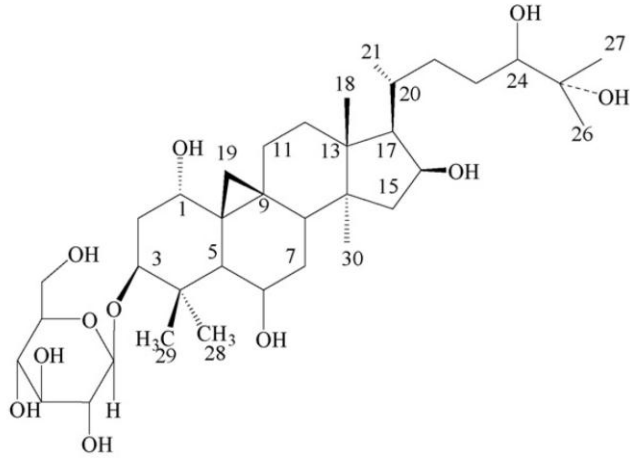
**Şekil 2.20.** *Astragalus amblolepis* türünden elde edilen saponinler

*Astragalus flavescens* türünün kökleri, sırasıyla metanol ve heksan ile ekstrakte edilmiştir. Ekstraksiyon sonrası kalan kısımdan bilinen saponinlerin yanı sıra 6 tane yeni oleanan tipi triterpenik saponin elde edilmiştir (Şekil 2.21) (Avunduk ve ark. 2008).

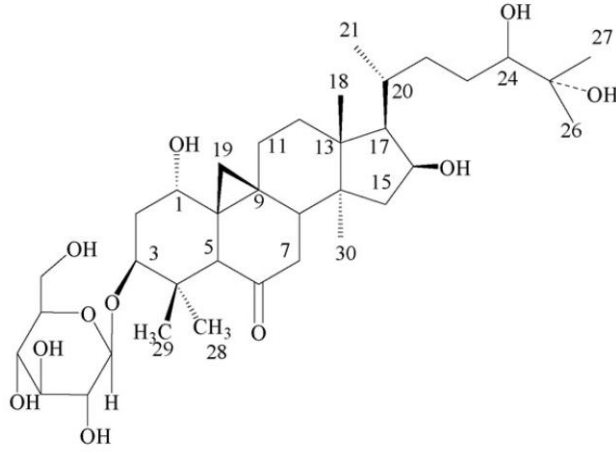


**Şekil 2.21.** *Astragalus flavescens* türünden elde edilen saponinler

*Astragalus membranaceus* var. *mongholicus* türünün toprak üstü kısımları, %90 etanol ile ekstrakte edilmiştir. Etanol ekstresi, suda çözülüp sırasıyla etil asetat ve n-Butanol ile ekstrakte edilmiştir. n-Butanol ekstresinden 2 tane yeni sikloartan tipi triterpenik saponin izole edilmiştir (Şekil 2.22) (Yu ve ark. 2007).



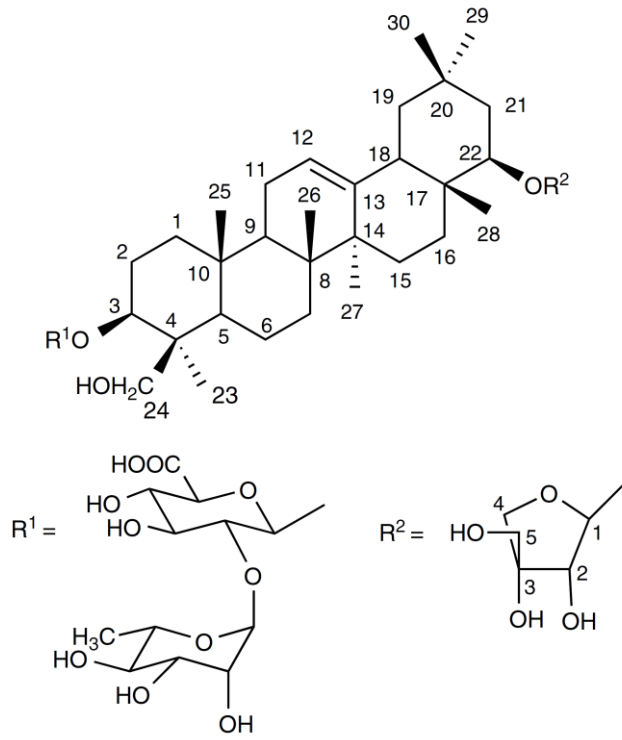
1



2

**Şekil 2.22.** *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus* türünden elde edilen saponinler

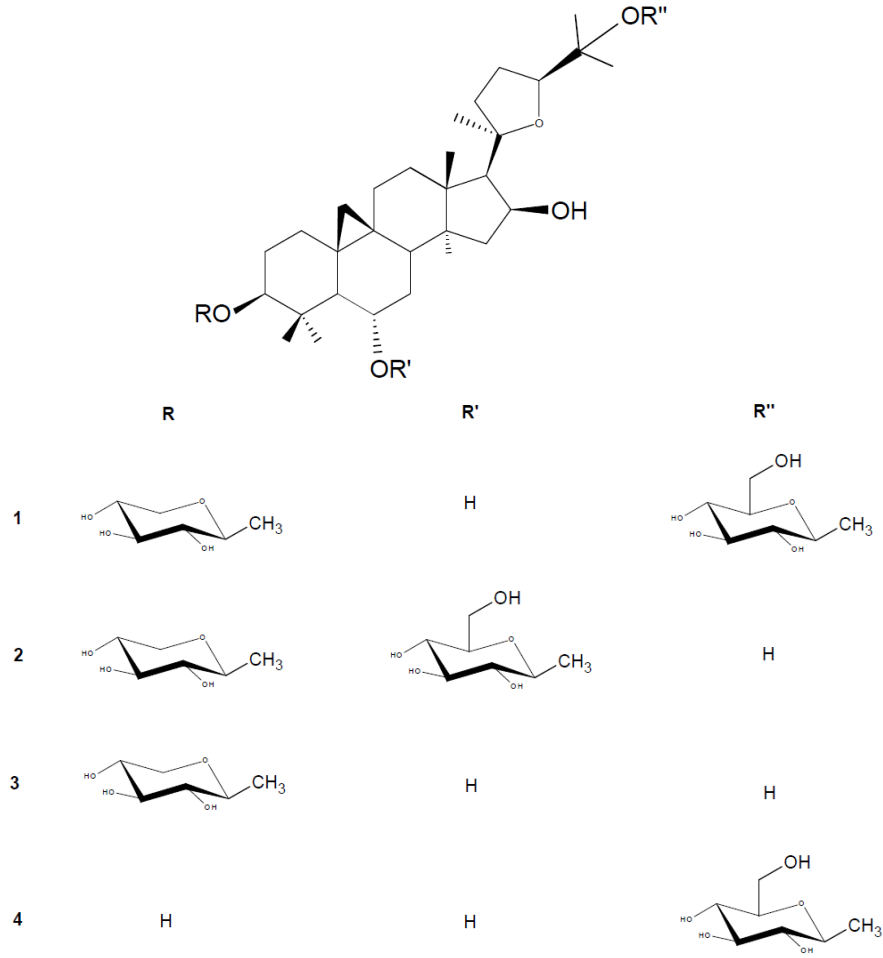
*Astragalus caprinus* türünün kökleri, %70 metanol ile ekstrakte edilmiştir. Evaporatörde düşük basınçta metanol uzaklaştırılmış ve elde edilen sulu ekstre, n-Butanol ile ekstrakte edilmiştir. n-Butanol ekstresinden oleanan tipi triterpenik saponin (Şekil 2.23) izole edilmiştir (Mitaine-Offer ve ark. 2006).



**Şekil 2.23.** *Astragalus caprinus* türünden elde edilen saponin

Çin, Japonya ve Kore’de geleneksel tıpta kullanılan *Astragalus membranaceus* türünden elde edilen ham ekstraktın önemli derecede bağışıklık güçlendirici ve antiviral etki gösterdiği tespit edilmiştir. Bitkinin kökleri, %95 Etanol ile ekstrakte edilmiştir. Etanol ekstresi sırasıyla n-Heksan,  $\text{CHCl}_3$ , EtOAc ve n-BuOH ile ekstrakte edilmiştir. n-BuOH ekstresinden sikloartan tipi triterpenik saponinler (Şekil 2.24) izole edilmiştir (He ve Findjay 1991).





**Şekil 2.24.** *Astragalus membranaceus* türünden elde edilen saponinler

Benchadi ve arkadaşlarının 2013 yılında yapmış olduğu çalışmada, *Astragalus cruciatus* Link. türünün kök ve toprak üstü kısımları, eter ile ekstrakte edilmiştir. Eterde çözünen kısım ayrılmıştır. Kalan kısım sırasıyla etil asetat ve metanol ile ekstrakte edilmiştir. Metanol ekstresinden oleanan tipi triterpenik saponinler ve  $\beta$ -sitosterol glikozit olan Daucosterol (Şekil 2.18) elde edilmiştir.

Sun ve arkadaşlarının 2011 yılında yapmış olduğu çalışmada, *Astragalus ernestii* türünün kökleri, geri soğutucu altında 75<sup>0</sup>C'de %95 etanol ile ekstrakte edilmiştir. Etanol ekstresi suda çözünüp sırasıyla etil asetat ve n-Butanol ile ekstrakte edilmiştir. n-Butanol ekstresinden Daucosterol (Şekil 2.18) saf olarak elde edilmiştir.

### 2.7.2. *Astragalus sibthorpianus* Boiss.

Yerel adı ‘Geven’ olarak bilinen *Astragalus sibthorpianus* Boiss., Fabaceae (Baklagiller) familyasındandır. Bu türe ait örnekler, Boissier tarafından toplanmış olup, 1843 yılında bilim dünyasına tanıtılmıştır (Güleryüz ve Arslan 1998). **Endemik** bir türdür. Uludağ’da 2100 - 2400 metreler arasında taşlık, kayalık yamaçlar üzerinde yetişir. Bodur, yere yatık ve çalimsı yapıdadır. Çok yıllık olup 10 cm kadar boylanabilir. Haziran ayında çiçeklenir. Çiçekleri 1,5-2 cm olup yaklaşık 20 kadar çiçek bulundurulur (Güleryüz 2000).



Şekil 2.25. *Astragalus sibthorpianus* Boiss. (Foto: G.Güleryüz)



Şekil 2.26. *Astragalus sibthorpianus* Boiss. türünün bulunduğu yer (Güleryüz ve Arslan 1998)

Bitkiler, fiziksel özellikleri esas alınarak sınıflandırılabilir. Hiyerarşik olarak, alem, alt alem, şube, sınıf, alt sınıf, takım, aile, cins ve tür olarak ayrılırlar (Vincken ve ark.

2007). *Astragalus sibthorpianus* Boiss. türüne ait taksonomik sınıflandırma, Çizelge 2.1'de gösterilmektedir (Davis 1970).

**Çizelge 2.1.** *Astragalus sibthorpianus* Boiss. için taksonomik sınıflandırma

---

**TAKSONOMİK SINIFLANDIRMA**

---

**ALEM:** Plantae

**ALT ALEM:** Tracheobionta

**ŞUBE:** Magnoliophyta

**SINIF:** Magnoliopsida

**ALT SINIF:** Rosidae

**TAKIM:** Fabales

**AİLE:** Fabaceae

**CİNS:** *Astragalus*

**TÜR:** *Astragalus sibthorpianus* Boiss.

---

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Genel bilgiler

İnce tabaka kromatografisi (TLC) uygulamaları için SilicaGel 60 F<sub>254</sub> (Merck 5554), HPTLC SilicaGel 60 F<sub>254</sub> (Merck 5548) ve Reverse-Phase SilicaGel RP-18 F<sub>254S</sub> (Merck 15685) alüminyum plakalar kullanıldı.

Kolon kromatografisi (CC) uygulamalarında sabit faz olarak SilicaGel 60 (0,063-0,200 mm) (Merck 7734) kullanıldı.

Vakum sıvı kromatografisi (VLC) uygulamasında sabit faz olarak Reverse-Phase SilicaGel LiChroprep RP-18 (25-40 µm) (Merck 9303) kullanıldı. Sabit faz, metanolle ıslatıldıktan sonra kolona dolduruldu.

Ayırma ve saflaştırma işlemleri, TLC ile kontrol edildi. Kromatogramlar, UV (254 ve 366 nm) ışını altında belirlendi. Ayrıca %20 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Sülfürik asit:Etanol) püskürtülen TLC plakalar, 120<sup>0</sup>C'de 5-10 dakika boyunca ısıtılarak spot ve bantlar görünür hale getirildi.

Kromatografik çalışmalarda kullanılan çözücüler teknik saflıkta olup destillenerek kullanıldı. İzolasyon ve saflaştırma süreçlerinde, Tablo 3.1'deki çözücü sistemleri kullanıldı. Tüm ekstraksiyon, izolasyon ve saflaştırma işlemleri, TLC ile takip edildi.

**Çizelge 3.1.** *Astragalus sibthorpianus* Boiss. ile yapılan çalışmada TLC, CC ve VLC için kullanılan çözücü sistemleri

**RP-18 SilikaJel (VLC-1)**

	<b>Çözücü Sistemleri</b>	<b>Çözücü Oranları</b>
<b>A</b>	MeOH:H <sub>2</sub> O	4:6
<b>B</b>	MeOH:H <sub>2</sub> O	5:5
<b>C</b>	MeOH:H <sub>2</sub> O	6:4
<b>D</b>	MeOH:H <sub>2</sub> O	7:3
<b>E</b>	MeOH:H <sub>2</sub> O	8:2
<b>F</b>	MeOH:H <sub>2</sub> O	9:1
<b>G</b>	MeOH	% 100

**RP-18 SilikaJel (VLC-2)**

	<b>Çözücü Sistemleri</b>	<b>Çözücü Oranları</b>
<b>H</b>	H <sub>2</sub> O	% 100
<b>I</b>	MeOH:H <sub>2</sub> O	2:8
<b>J</b>	MeOH:H <sub>2</sub> O	4:6
<b>K</b>	MeOH:H <sub>2</sub> O	6:4
<b>L</b>	MeOH:H <sub>2</sub> O	8:2
<b>M</b>	MeOH	% 100
<b>N</b>	MeOH:Aseton	5:5
<b>O</b>	MeOH	% 100
<b>P</b>	MeOH:Su	5:5

**SilikaJel (CC)**

	<b>Çözücü Sistemleri</b>	<b>Çözücü Oranları</b>
<b>R</b>	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH:Su	61:32:7
<b>S</b>	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH:Su	85:15:1,5

LC-MS analizleri, Agilent 6400 Series Triple Quad LC/MS (Agilent Technologies Inc., USA) sistemi kullanılarak gerçekleştirildi.

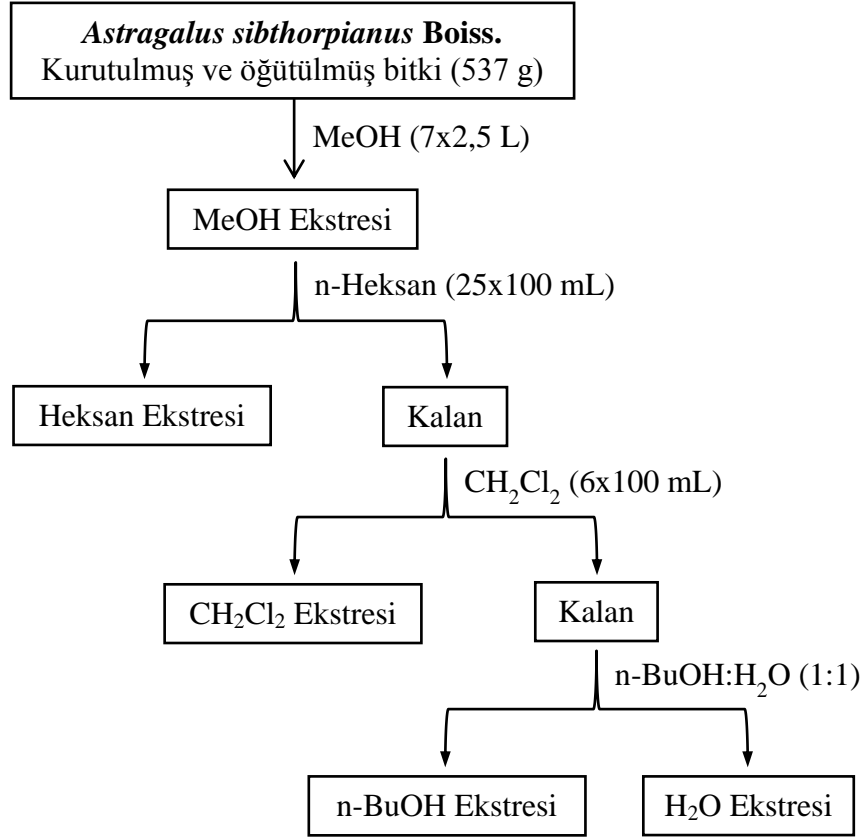
İzole edilen bileşiklerin yapıları, 1D ve 2D NMR teknikleri kullanılarak belirlendi. <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, DEPT ve 2D-NMR (COSY, HSQC, HMBC) analizleri, Agilent 400 MHz NMR Spektrometre (Agilent Technologies Inc., USA) kullanılarak gerçekleştirildi. NMR analizlerinde çözücü olarak dötero dimetil sülfoksit- d<sub>6</sub> (DMSO-d<sub>6</sub>) (%99,5 Sigma Aldrich) ve iç standart olarak tetrametilsilan (TMS) kullanıldı.

### 3.1.2. Bitki materyali

Araştırmada kullanılan *Astragalus sibthorpianus* Boiss. türünün kök ve toprak üstü kısımları, Uludağ Milli Parkı, Kırkpınarlar mevkiinden, 2000-2300 m yükseklikten, 2013 yılı Haziran ayında toplandı. Tür tayini, Prof. Dr. Gürcan Güteryüz tarafından Uludağ Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü'nde yapıldı.

### 3.2. Yöntem

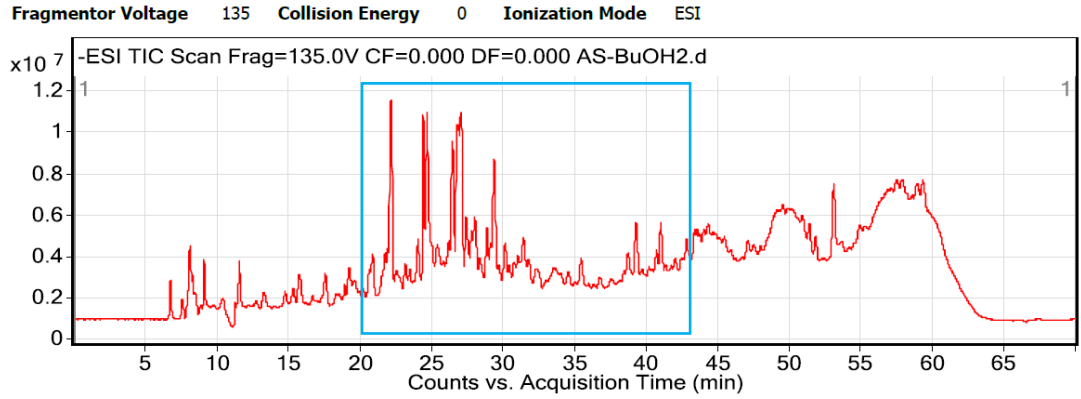
*Astragalus sibthorpianus* Boiss. türünün kök ve toprak üstü kısımları, oda sıcaklığında kurutulup öğütücüden geçirilerek toz haline getirildi. Toz halindeki bitki materyali (537 g), metanol ile (7x2,5 L) ekstrakte edildi. Birleştirilen ekstraktlar, evaporatörde vakum altında ~40°C'de kuruluğa getirildi. Kalan yağimsı MeOH ekstresi (111,414 g), klorofil ve yağimsı maddelerin uzaklaştırılması için n-Heksan (25x100 mL) ile ekstrakte edildi. n-Heksan ekstraksiyonundan sonra kalan kısım, kalan apolar maddelerin uzaklaştırılması için diklorometan (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) (6x100 mL) ile ekstrakte edildi. Son olarak, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> ekstraksiyonundan sonra kalan kısım, şeker gruplarının uzaklaştırılması için n-BuOH:H<sub>2</sub>O (450 mL:450 mL) ile ekstrakte edildi (Şekil 3.1). Saponinler, n-BuOH fazına alındı.



**Şekil 3.1.** *Astragalus sibthorpianus* Boiss. için uygulanan ekstraksiyon işlemleri

### 3.2.1. LC-MS Profili (BuOH Ekstresi)

BuOH ekstresi saponin içeriğinin kabaca belirlenmesi için *A. tauricolus* bitkisi üzerine yapılan çalışmaya göre (Gülcemal ve ark., 2013), LC-MS cihazı kullanılarak analiz edildi. Bu çalışmaya göre 22-42. dakikalar arasının oleanan tipte saponin bölgesi olduğu belirtilmiştir. Bu çalışmanın BuOH fazına uygulanmasıyla çalıştığımız bitkinin oleanan tipte saponince zengin olduğu belirlenmiştir.

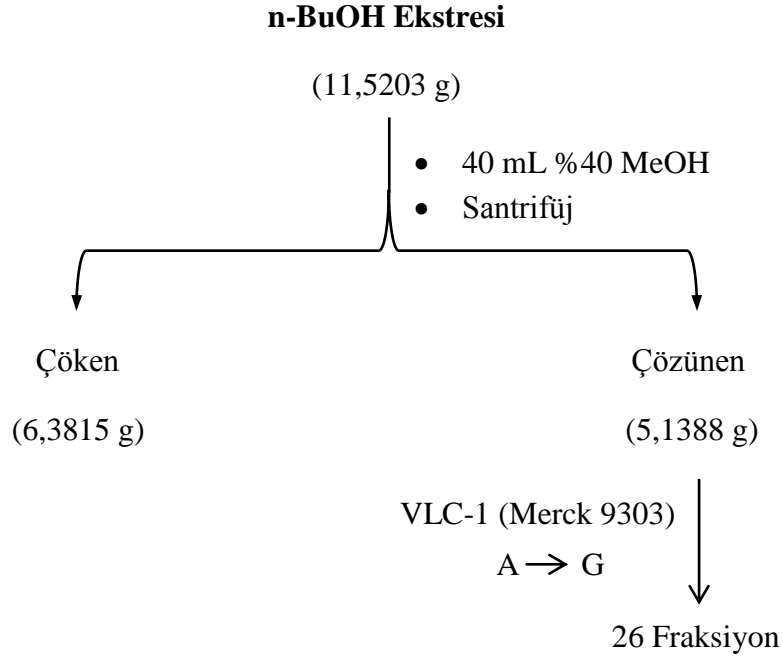


Şekil 3.2. n-BuOH ekstresinin LC-MS profili

### 3.2.2. İzolasyon ve Saflandırma (BuOH Ekstresi)

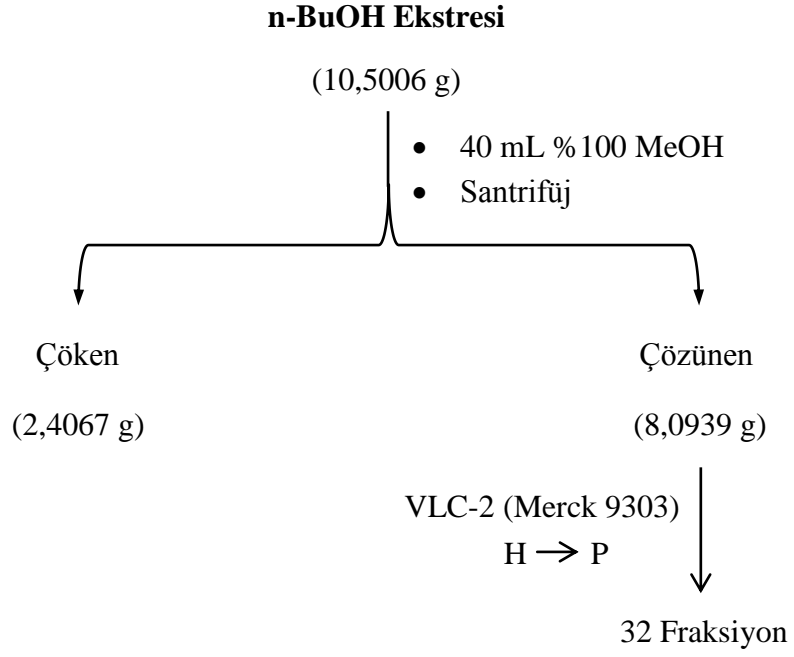
Şekil 3.1’de gösterilen ekstraksiyon işlemleri sonucunda elde edilen n-BuOH ekstresi (22,0209 g), iki kısma ayrıldı. İlk kısım (11,5203 g), 40 mL %40 MeOH içinde çözülerek santrifüjlendi. Santrifüj sonrası çöken kısım ayrıldı. Çözünen kısım, RP-18 silikajel (325 g, Merck 9303) ile doldurulmuş ve %30 MeOH ile şartlanmış sinterli VLC kolona (5x50 cm) yüklendi. Sırasıyla 4:6 MeOH:Su (1000 mL), 5:5 MeOH:Su (500 mL), 6:4 MeOH:Su (500 mL), 7:3 MeOH:Su (1000 mL), 8:2 MeOH:Su (1000 mL), 9:1 MeOH:Su (1000 mL), %100 MeOH (1500 mL) çözücü sistemleri, 250 mL’lik porsiyonlar halinde kolondan geçirildi. Kolon sonucunda 26 fraksiyon elde edildi (Şekil 3.3).





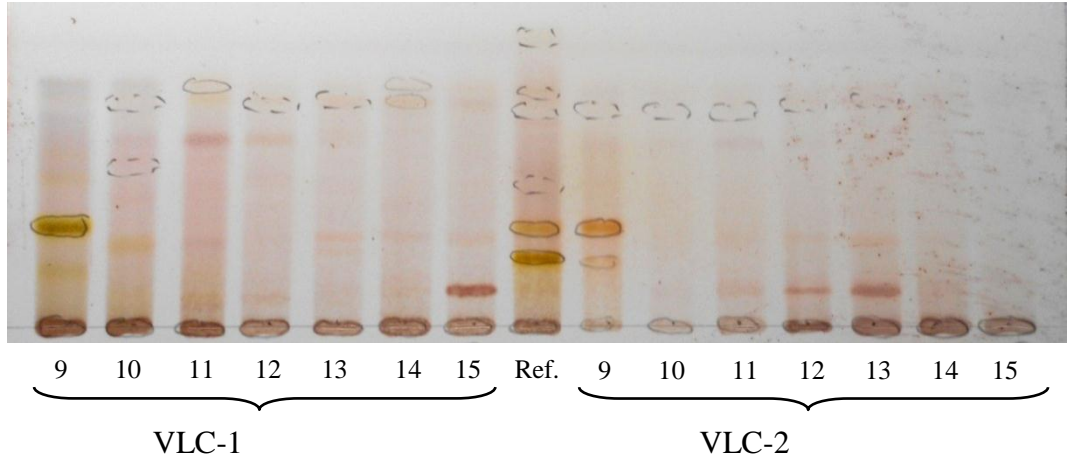
**Şekil 3.3.** n-BuOH ekstresi için yapılan ilk VLC işlemi (VLC-1)

VLC-1 işleminde n-BuOH ekstresinin büyük bir bölümü santrifüj sonrası çöktü. Kolona az miktarda madde verildi. Bu nedenle n-BuOH ekstresinin ikinci kısmı (10,5006 g), 40 mL %100 MeOH içinde çözülerek santrifüjlendi. Santrifüj sonrası çöken kısım ayrıldı. Çözünen kısım, RP-18 silikajel (325 g, Merck 9303) ile doldurulmuş sinterli VLC kolona (5x50 cm) yüklendi. Sırasıyla %100 su (500 mL), 2:8 MeOH (500 mL), 4:6 MeOH:Su (500 mL), 6:4 MeOH:Su (1000 mL), 8:2 MeOH:Su (1000 mL), %100 MeOH (2500 mL), 5:5 MeOH:Aseton (1500 mL), %100 MeOH (250 mL), 5:5 MeOH:Su (250 mL) çözücü sistemleri, 250 mL'lik porsiyonlar halinde kolondan geçirildi. Kolon sonucunda 32 fraksiyon elde edildi (Şekil 3.4).

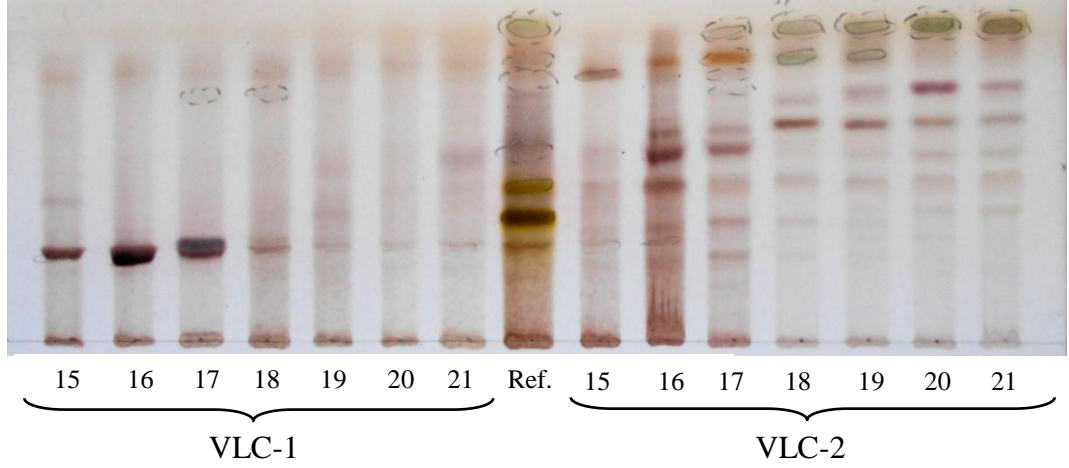


**Şekil 3.4.** n-BuOH ekstresi için yapılan ikinci VLC işlemi (VLC-2)

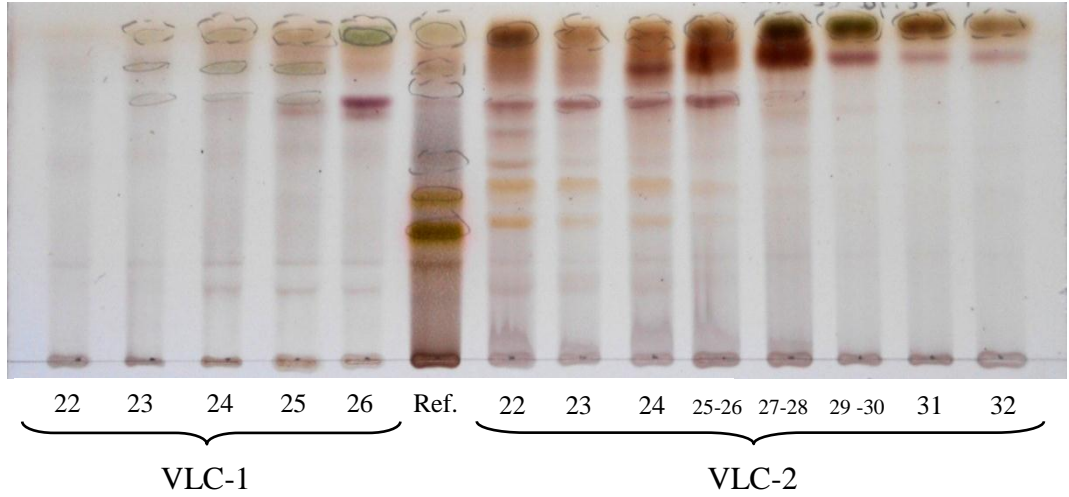
VLC işlemlerinden sonra her iki kolondan gelen fraksiyonlar, TLC üzerinde karşılaştırıldı. %20 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Sülfürik asit:Etanol) püskürtülen TLC plakalar, 120<sup>0</sup>C’de 5-10 dakika boyunca ısıtılarak spot ve bantlar görünür hale getirildi. Saponinler, TLC üzerinde kahverengi-mor renkte belirdi.



**Şekil 3.5.** VLC-1 ve VLC-2 kolonlarından gelen 9-15 fraksiyon aralığının TLC üzerinde karşılaştırılması



**Şekil 3.6.** VLC-1 ve VLC-2 kolonlarından gelen 15-21 fraksiyon aralığının TLC üzerinde karşılaştırılması

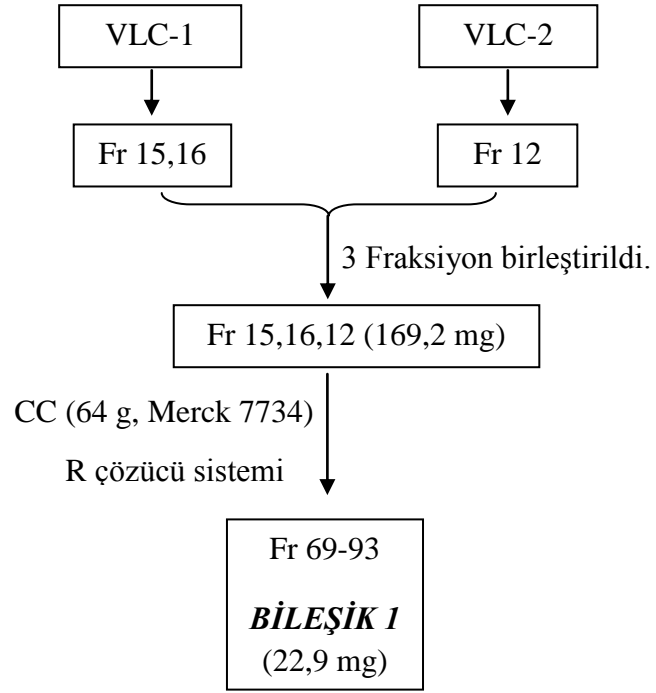


**Şekil 3.7.** VLC-1 kolondan gelen 22-26 ve VLC-2 kolondan gelen 22-32 fraksiyon aralığının TLC üzerinde karşılaştırılması

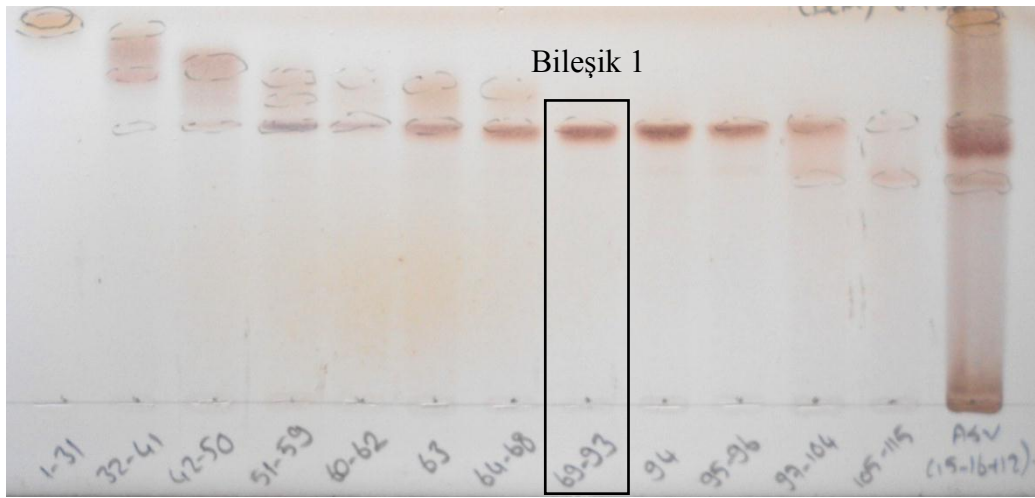
VLC-1 işlemi sonucu elde edilen 15-26 numaralı fraksiyon aralığı ile VLC-2 işlemi sonucu elde edilen 12-32 fraksiyon aralığının saponin açısından zengin olduğu tespit edildi. Saponin içeren ve benzer olan fraksiyonlar birleştirildi. Kolon kromatografisi ile ayırma işlemlerine devam edildi.

VLC-1'den gelen 15. ve 16. fraksiyon ile VLC-2'den 12. fraksiyon, benzer olduğu için birleştirildi ve tek bir kolon üzerinden *Bileşik 1*'in ayrılması sağlandı.

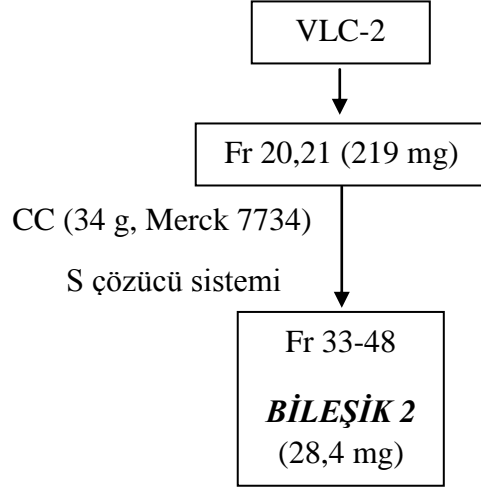
VLC-2'den gelen 20. ve 21. fraksiyon, benzer olduğu için birleştirildi ve tek bir kolon üzerinden *Bileşik 2*'nin ayrılması sağlandı.



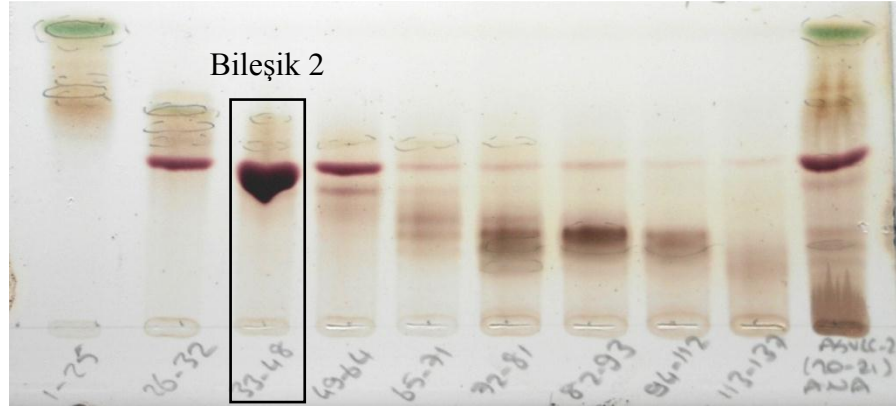
Şekil 3.8. *Bileşik 1*'in saflandırma işlemi



Şekil 3.9. *Bileşik 1*'in TLC üzerinde görünümü



Şekil 3.10. *Bileşik 2*'nin saflandırma işlemi



Şekil 3.11. *Bileşik 2*'nin TLC üzerinde görünümü

### 3.2.3. Bileşiklerin TLC hidrolizi

Glikozitlerin monosakkaritleri, HCl buharı kullanılarak bileşiklerin TLC üzerinde mikro-hidrolizi ile belirlendi. Saf bileşikler, TLC tabakasına uygulandı. TLC plakası, HCl bulunan kapalı bir behere yerleştirildi ve 60<sup>0</sup>C'de 40 dakika boyunca HCl buharına maruz bırakıldı. Hidroliz işleminden sonra referans olarak glukoz, galaktoz, arabinoz, ksiloz örnekleri plakaya uygulandı ve plaka, 16:9:2:2 (CHCl<sub>3</sub>:MeOH:Su:AcOH) çözücü sisteminde yürütüldü (Su ve ark. 2001). Plakayı yakmak için 5:95 (mL) H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>:etanol içinde çözülmüş 0,5 g timol kullanıldı. Referans şeker örnekleri ile kıyaslama yapılarak aglikona bağlı şeker grupları belirlendi.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Bitki Örneğinin Hazırlanması Ve Saponinlerin İzolasyonu

*Astragalus sibthorpianus* Boiss. bitkisi, Uludağ Milli Parkı, Kırkpınarlar mevkiinden, 2000-2300 m'den, 2013 yılı Haziran ayında toplandı. Bitkinin kök ve toprak üstü kısımları, oda sıcaklığında kurutuldu. Öğütülerek toz haline getirildi (537 g). Toz halindeki bitki, oda sıcaklığında metanol ile ekstrakte edildi. Metanol, yaklaşık 45<sup>0</sup>C'de düşük basınçta uzaklaştırıldı. Kalan kısım (111,414 g), sırasıyla n-Heksan ve Diklorometan ile ekstrakte edilerek apolar ve yağimsı kısımların ayrılması sağlandı. Kalan kısım, n-Butanol/Su (1:1 v/v) ekstrakte edildi. Böylece şekerler su fazına alınırken saponinler n-Butanol fazına alındı. Saponinleri içeren n-Butanol fazının çözücüsü, yaklaşık 50<sup>0</sup>C'de düşük basınçta uzaklaştırıldı.

Elde edilen n-Butanol ekstresine RP-silikajel kullanılarak VLC işlemi uygulandı. Çözücü olarak değişen oranlarda Metanol-Su karışımı kullanıldı. VLC işleminden sonra 58 fraksiyon elde edildi. Her bir fraksiyonda bulunan saponinler, TLC ile gözlemlendi. Benzer olan fraksiyonlar birleştirildi. Her bir fraksiyona kolon kromatografisi uygulanarak 2 tane saf bileşik elde edildi. **Bileşik 1**: 22,9 mg; **Bileşik 2**: 28,4 mg.

**Bileşik 1** ve **Bileşik 2**'nin yapısı, <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, DEPT, COSY, HSQC, HMBC spektroskopik yöntemleri kullanılarak belirlendi.

### 4.2. Bileşik 1'in Yapı Analizi

Bileşik 1, beyaz amorf toz olarak elde edilmiş ve moleküler formülü DEPT, HSQC ve HMBC NMR analizine göre C<sub>42</sub>H<sub>68</sub>O<sub>14</sub> olarak belirlenmiştir.

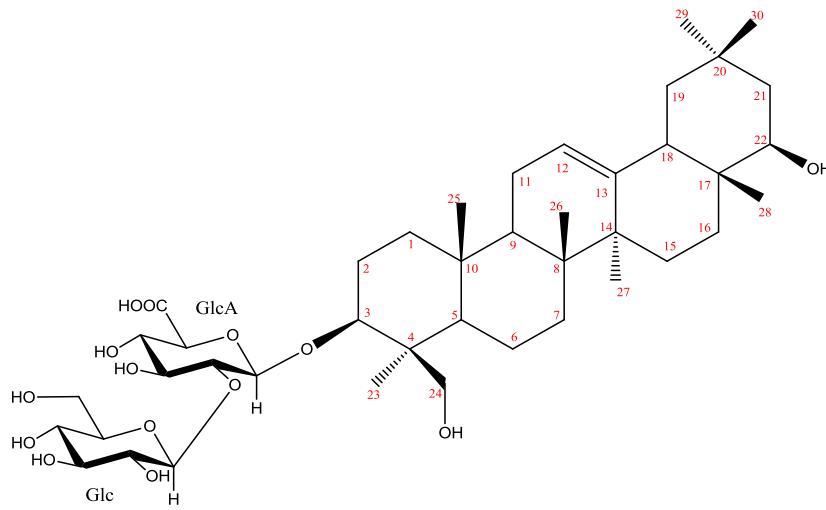
<sup>1</sup>H NMR spektrumunda 0,77; 0,82; 0,85; 0,89; 0,99; 1,07 ve 1,11 ppm'de 7 metil ve 5,18 ppm'de 1 olefinik proton sinyalleri saponin aglikonunun olean yapıda olduğunu göstermektedir.

$^{13}\text{C}$  NMR spektrumu belirsiz olduğu için DEPT spektrumu alınmıştır. Bu spektrumda görülemeyen bazı pikler için HSQC ve HMBC etkileşimleri de incelenerek molekülde 7 metil, 11 metilen, 16 metin ve 7 kuarterner karbonu bulunduğu belirlenmiştir. DEPT spektrumunda 144,31 ppm ve 121,85 ppm'de görülen sinyaller olefinik kuarterner ve metin karbonunun varlığını göstermektedir.

HSQC spektrumunda karbonlara bağlı protonların korelasyonu görülmektedir. Sırasıyla 103,48 ve 103,97 ppm'de görülen metin karbonuna ait sinyaller, 4,28 ve 4,50 ppm'deki düşük alanda bulunan proton sinyalleri ile korelasyona girmekte ve molekülde 2 adet heksoz grubunun varlığını göstermektedir. Ayrıca sırasıyla 4,28 ve 4,50 ppm'deki anomerik protona ait dublet piklerin J eşleşme sabiti 7,33 ve 7,01 Hz olarak belirlenmiş ve bu değere göre moleküldeki şekerlerin  $\beta$ - bağlı olduğu anlaşılmıştır.

HMBC spektrumu incelendiğinde, özellikle metil protonlarının komşu karbonlarla olan anahtar etkileşimler gözlenmiş ve Çizelge 4.1'de verilmiştir.

Bileşiğin COSY spektrumu alınmış, H-H etkileşimlerinin önerilen yapıyla uyumlu olduğu anlaşılmıştır. Tüm bu veriler ışığında Bileşik 1'in yapısı, 3-O-[ $\beta$ -D-glukopiranozil-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glukuronopiranozil]-3 $\beta$ ,22 $\beta$ ,24-trihidroksiolean-12-en olarak belirlenmiştir.



**Şekil 4.1.** 3-O-[ $\beta$ -D-glukopiranozil-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glukuronopiranozil]-3 $\beta$ ,22 $\beta$ ,24-trihidroksiolean-12-en

**Çizelge 4.1.** *Bileşik I*'in  $^{13}\text{C}$ ,  $^1\text{H}$  NMR ve HMBC NMR verileri

Pozisyon	$\delta$ $^{13}\text{C}$ NMR	$\delta$ $^1\text{H}$ NMR	C Türü	HMBC
1	38,00	0,87 / 1,54	CH <sub>2</sub>	
2	25,68	1,62 / 2,08	CH <sub>2</sub>	
3	89,48	3,20	CH	H-23
4	42,92	-	C	
5	55,06	0,86	CH	
6	16,90	1,33 / 1,55	CH <sub>2</sub>	
7	32,97	1,31 / 1,42	CH <sub>2</sub>	
8	39,23	-	C	
9	47,18	1,49	CH	
10	35,97	-	C	
11	23,48	1,80	CH <sub>2</sub>	
12	121,85	5,18	=CH	C-9 / C-11 / C-18
13	144,31	-	=C	H-14 / H-27
14	41,72	-	C	
15	25,90	0,95 / 1,66	CH <sub>2</sub>	
16	28,60	1,24	CH <sub>2</sub>	
17	37,23	-	C	
18	44,82	2,00	CH	
19	46,30	0,90 / 1,68	CH <sub>2</sub>	
20	30,48	-	C	
21	41,46	1,30	CH <sub>2</sub>	
22	74,15	3,24	CH	
23	22,49	1,11	CH <sub>3</sub>	C-3 / C-4 / C-5 / C-24
24	62,44	3,14 / 3,88	CH <sub>2</sub> -O	
25	15,47	0,82	CH <sub>3</sub>	C-1 / C-5 / C-9 / C-10
26	16,86	0,89	CH <sub>3</sub>	C-7 / C-8 / C-9 / C-14
27	25,27	1,07	CH <sub>3</sub>	C-8 / C-13 / C-14 / C-15
28	20,61	0,77	CH <sub>3</sub>	C-16 / C-17 / C-18 / C-22
29	32,75	0,85	CH <sub>3</sub>	C-19 / C-20 / C-21 / C-30
30	28,57	0,99	CH <sub>3</sub>	C-19 / C-20 / C-21 / C-29
1'	103,48	4,28	CH-O	C-3
2'	79,87	3,30	CH-O	
3'	77,02	3,36	CH-O	
4'	70,50	3,50	CH-O	
5'	75,59	3,34	CH-O	
6'	172,18	-	COOH	H-3
1''	103,97	4,5	CH-O	C-2'
2''	73,83	3,24	CH-O	
3''	72,49	3,09	CH-O	
4''	69,38	3,23	CH-O	
5''	72,84	3,17	CH-O	
6''	60,21	3,51 / 3,58	CH <sub>2</sub> -O	



### 4.3. Bileşik 2'nin Yapı Analizi

*Bileşik 2*, beyaz amorf toz olarak elde edilmiş ve moleküler formülü DEPT, HSQC ve HMBC NMR analizine göre  $C_{35}H_{60}O_6$  olarak belirlenmiştir.

Aglıkona bağlı olan şeker grubunun belirlenmesi için mikro-hidroлиз yönteminde faydalanıldı. Bileşik 2'de glukoz varlığı tespit edildi.

$^1H$  NMR spektrumunda gözlenen 6 metil (0,65; 0,79; 0,81; 0,82; 0,90 ve 0,95 ppm) ve 1 olefinik proton (5,33 ppm) sinyalleri  $\beta$ -sitosterol molekülünün varlığını göstermektedir.

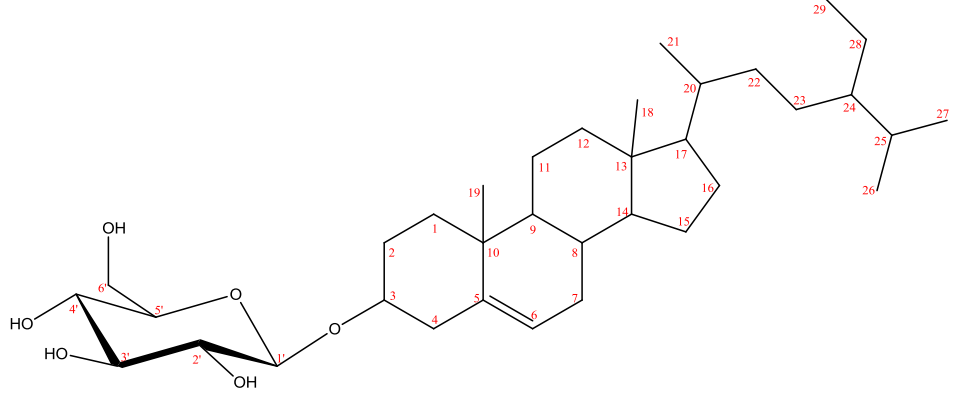
$^{13}C$  NMR spektrumu belirsiz olduğu için alınan DEPT spektrumundan molekülde 3 kuarterner, 6 metil, 12 metilen ve 14 metin karbonu bulunduğu belirlenmiştir. DEPT spektrumunda 140,58 ppm ve 121,38 ppm'de görülen sinyaller olefinik kuarterner ve metin karbonunun varlığını doğrulamaktadır.

HSQC spektrumundan karbonlara direkt bağlı protonların korelasyonu görülmektedir. Ayrıca HSQC spektrumunda 100,93 ppm'de görülen metin karbonuna ait sinyal, düşük alanda bulunan (4,21 ppm) proton ile korelasyona girmekte ve molekülde 1 tane heksoz grubunun varlığını göstermektedir. 4,21 ppm'deki anomerik protona ait dublet pikin eşleşme sabiti  $J=7,79$  Hz olarak belirlenmiş ve bu değere göre aglıkona  $\beta$ -bağlı olduğu anlaşılmıştır.

Sonraki aşamada 2 veya 3 bağ uzaklığına kadar proton-karbon korelasyonunu gösteren HMBC spektrumu incelenmiştir. Özellikle metil protonlarının komşularındaki karbonlarla etkileşimleri gözlenmiş ve Çizelge 4.2'de verilmiştir. Bunlara ilaveten, 140,58 ppm'deki C-5 kuarterner olefinik karbon ile H-19 metil hidrojeni arasındaki ve 4,21 ppm'deki H-1' anomerik protonu ile C-3 metin karbonu arasındaki uzak etkileşim sinyalleri gözlenmiştir.

Bileşiğin COSY spektrumu alınmış, H-H etkileşimlerinin önerilen yapıyla uyumlu olduğu anlaşılmıştır. Tüm bu veriler ışığında *Bileşik 2*'nin yapısı,  $C_{29}$  Steroid

aglikonuna bağlı tek şeker grubu içeren 3-O-β-D-glukopiranozil-β-sitosterol (Daucosterol) olarak belirlenmiştir.



şekil 4.2. 3-O-β-D-glukopiranozil-β-sitosterol (Daucosterol)

**Çizelge 4.2.** *Bileşik 2'nin*  $^{13}\text{C}$ ,  $^1\text{H}$  NMR ve HMBC NMR verileri

Pozisyon	$\delta$ $^{13}\text{C}$ NMR	$\delta$ $^1\text{H}$ NMR	C Türü	HMBC
1	37,18	1,79 / 0,99	$\text{CH}_2$	
2	29,83	1,49 / 1,46	$\text{CH}_2$	
3	77,22	3,46	CH-O	C-2
4	38,60	2,36 / 2,12	$\text{CH}_2$	
5	140,58	---	=C-	
6	121,38	5,33	=CH-	C-4 / C-10 / C-8 / C-7
7	31,84	1,94 / 1,90	$\text{CH}_2$	
8	31,90	1,39	CH	
9	50,00	0,88	CH	
10	36,49	---	C	
11	20,97	1,47 / 1,38	$\text{CH}_2$	
12	39,55	1,95 / 1,15	$\text{CH}_2$	
13	42,03	---	C	
14	56,52	0,98	CH	H-18
15	24,40	1,53 / 1,01	$\text{CH}_2$	
16	29,29	1,80 / 1,23	$\text{CH}_2$	
17	55,85	1,08	CH	H-18 / H-21
18	12,11	0,65 s	$\text{CH}_3$	C-14 / C-17 / C-13 / C-12
19	19,62	0,95 s	$\text{CH}_3$	C-5 / C-9 / C-1 / C-10
20	35,94	1,33	CH	H-21
21	19,05	0,90 d	$\text{CH}_3$	C-17 / C-20 / C-22
22	33,65	1,31 / 0,99	$\text{CH}_2$	H-21
23	25,83	1,23 / 1,14	$\text{CH}_2$	
24	45,48	0,91	CH	
25	29,05	1,63	CH	
26	19,49	0,79 s	$\text{CH}_3$	C-24 / C-25 / C-27
27	19,87	0,81 s	$\text{CH}_3$	C-24 / C-25 / C-26
28	22,98	1,25 / 1,21	$\text{CH}_2$	
29	12,24	0,82 s	$\text{CH}_3$	C-24 / C-28
1'	100,93	4,21, d, J=7,79Hz	CH-O	H-3 / H-4' / H-2'
2'	73,75	2,89	CH-O	
3'	77,04	3,12	CH-O	
4'	70,40	3,02	CH-O	
5'	77,03	3,06	CH-O	
6'	61,41	3,65 / 3,40	$\text{CH}_2$ -O	

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bilindiği gibi biyolojik aktif bileşiklerin pek çoğu suda çözünen bileşiklerdir. Doğaları gereği glikozidik bileşiklerde suda daha fazla çözünebildiği için sadece aglikonlarına göre daha aktif bileşiklerdir. Bu tür glikozidik bileşikler genellikle polar bitki ekstralerinden elde edilebilirler. *Astragalus* türleri, saponinler için önemli bir kaynaktır. Başta biyolojik aktivite gösteren sikloartan saponinler olmak üzere, oleanan tipi triterpenik ve steroidal saponinlerde içermektedirler (Li ve ark. 2014).

Bizim çalışmamızda amacımız, Uludağ'a özgü **endemik** bir tür olan *Astragalus sibthorpianus* Boiss. bitkisinin içerdiği, biyolojik aktivite gösterme potansiyeli olan bu glikozidik bileşiklerin (özellikle saponinlerin) araştırılmasıydı.

Bu amaca yönelik olarak bitkinin kök ve toprak üstü kısımları, Uludağ Milli Parkı, Kırkpınarlar mevkiinden, 2000-2300 m yükseklikten, 2013 yılı Haziran ayında toplandı ve gölgede kurutulularak öğütüldü. Bitki (537 g), oda sıcaklığında metanol ile ekstrakte edildi ve ~45 °C'de düşük basınçta kuruluğa getirildi. Kalan kısım (111,414 g), sırasıyla n-Heksan ve Diklorometan ile ekstrakte edilerek apolar ve yağimsı kısımlar uzaklaştırıldı. Kalan ekstre, n-Butanol/Su (1:1 v/v) ile muamele edilerek iki faza ayrıldı ve saponinler, n-Butanol fazına alındı. Çeşitli kromatografik yöntemler (Vakum Sıvı Kromatografisi, TLC, Preparatif TLC, Kolon Kromatografisi. vb.) kullanılarak, BuOH fazından iki saponin saf olarak izole edildi. İzole edilen saponinlerin yapıları, <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, DEPT, COSY, HSQC, HMBC gibi spektroskopik yöntemlerle aydınlatıldı. Literatür verileri ile karşılaştırılarak *Bileşik 1*, 3-O-[β-D-glukopiranozil-(1→2)-β-D-glukuronopiranozil]-3β,22β,24-trihidroksiolean-12-en ve *Bileşik 2*, β-sitosterol-3-O-β-D-glikopiranozit (Daucosterol) olarak belirlendi.

Daha önce bahsedildiği üzere, literatür çalışmalarında, *Astragalus* türlerinden sikloartan ve oleanan tipi triterpenik saponinlerin ve steroid aglikona sahip moleküllerin izole edildiği gösterilmiştir. Literatür incelendiğinde çalışmamızda elde edilen bileşiklerden *Bileşik 1* (3-O-[β-D-glukopiranozil-(1→2)-β-D-glukuronopiranozil]-3β,22β,24-trihidroksiolean-12-en)'in benzer yapılar bulunmakla birlikte yeni olduğu

düşünülmektedir. Bileşik 2'nin ise bilinen bir bileşik olan Daucosterol'un NMR verileriyle de uyumlu olduğu saptanmıştır (Yoo ve ark. 2006, Lee ve ark. 2007)

## KAYNAKLAR

- Aksu, S. 1972.** Bitkisel Maddeler Kimya ve Teknolojisi. *Tekel Enst. Yayınları*, A-12.
- Avcı, M. 2005.** Çeşitlilik ve endemizm açısından Türkiye'nin bitki örtüsü. İstanbul Üniversitesi, Edebiyat Fakültesi, Coğrafya Bölümü, *Coğrafya Dergisi*, 13:27-55.
- Avunduk, S., Mitaine-Offer, A. C., Alankuş Çalışkan, Ö., Miyamoto, T., Şenol, S. G., Lacaille-Dubois, M. A. 2008.** Triterpene Glycosides from the Roots of *Astragalus flavescens*. *Journal of Natural Products*, 71:141-145.
- Altungeyik, H. 2010.** Isolation And Characterization of Saponins from *Cyclamen hederifolium*. *M.Sc. Thesis*, EU Graduate School Of Natural And Applied Science, Chemistry Department, İzmir.
- Baytop T. 1999.** Türkiye'de bitkiler ile tedavi. *Nobel Tıp yayını*, İstanbul.
- Benchadi, W., Haba, H., Lavaud, C. , Harakat, D., Benkhaled, M. 2013.** Secondary Metabolites of *Astragalus cruciatus* Link. and Their Chemotaxonomic Significance. *Rec. Nat. Prod.*, 7(2):105-113.
- Berger, J. M. 2001.** Isolation, Characterization, and Synthesis of Bioactive Natural Products from Rainforest Flora. *PhD Thessis*, Virginia Polytechnic Institute and State University, Chemistry, USA.
- Davis, P. H. 1970.** Flora of Turkey and The East Aegean Islands. *Edinburgh University Press*. vol. 3, Edinburgh.
- Erdik, E. 2008.** Organik Kimyada Spektroskopik Yöntemler. AÜ Fen Fakültesi, Ankara.
- Erik, S., Tarıkahya, B. 2004.** Türkiye florası üzerine. *Kebikeç*, 17:139-163.
- Eskander, J., Lavaud, C., Pouny, I., Soliman, H. S. M., Abdel-Khalik, S. M., Mahmoud, I. I. 2005.** Saponins from the seeds of *Mimusops laurifolia*. *Phytochemistry*, 67:1793-1799.
- Francis, G., Kerem, Z., Makkar, H.P.S., Becker, K. 2002.** The biological action of saponins in animal systems: a review. *British Journal of Nutrition*, 88:587-605.
- Gupta, A., Naraniwal, M., Kothari, V. 2012.** Modern Extraction Methods for Preparation of Bioactive Plant Extracts. *International Journal of Applied and Natural Sciences (IJANS)*, 1(1):8-26.

- Gülcemal, D., Masullo, M., Napolitano, A., Karayildirim, T., Bedir, E., Alankuş-Çalışkan, O., Piacente, S. 2013.** Oleanane glycosides from *Astragalus tauricolus*: Isolation and structural elucidation based on a preliminary liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry profiling. *Phytochemistry*, 86:184-194.
- Güleryüz, G., Arslan, H. 1998.** *Astragalus sibthorpianus* Boiss. (Geven, Keven, Tavşancıl tırnağı) Fabaceae/Leguminosae (Baklagiller). *The Karaca Arboretum Magazine*, IV(3): 143-144.
- Güleryüz, G. 2000.** Alpine flowers of Turkey. *Dönence*, İstanbul.
- He, Z.-Q., Findlay, J. A. 1991.** Constituents of *Astragalus membranaceus*. *Journal of Natural Products*, 54(3):810-815.
- Horo, İ., Bedir, E., Perrone, A., Özgökçe, F., Piacente, S., Alankuş-Çalışkan, Ö. 2010.** Triterpene glycosides from *Astragalus icmadophilus*. *Phytochemistry*, 71:956-963.
- Horo, İ., Bedir, E., Masullo, M., Piacente, S., Özgökçe, F., Alankuş-Çalışkan, Ö. 2012.** Saponins from *Astragalus hareftae* (NAB.) SIRJ. *Phytochemistry*, 84:147-153.
- Hostettmann, K., Marston, A. 1995.** Saponins: Chemistry and Pharmacology of Natural Products. *Cambridge University Press*, Cambridge, 1-341.
- Ionkova, I., Momekov, G., Proksch, P. 2010.** Effects of cycloartane saponins from hairy roots of *Astragalus membranaceus* Bge., on human tumor cell targets. *Fitoterapia*, 81:447-451.
- Kandemir, A., Beyazoğlu, O. 2002.** Köse dağlarının tıbbi ve ekonomik bitkileri. *Süleyman Demirel üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 6(3):148-157.
- Karabey, F., Khan I. A., Bedir, E. 2012.** Cycloartane-type glycosides from *Astragalus schottianus*. *Phytochemistry Letters*, 5:320-324.
- Kren, V., Martinkova, L. 2001.** Glycosides in Medicine: “The Role of Glycosidic Residue in Biological Activity”. *Current Medicinal Chemistry*, 8:1313-1338.
- Larhsini, M., Marston, A., Hostettmann, K. 2003.** Triterpenoid saponins from the roots of *Silene cucubalus*. *Fitoterapia*, 74:237-241.
- Lee, J. H., Lee, J. Y., Park, J. H., Jung, H. S., Kim, J. S., Kang, S. S., Kim, Y. S., Han, Y. 2007.** Immunoregulatory activity by daucosterol, a  $\beta$ -sitosterol glycoside, induces protective Th1 immune response against disseminated Candidiasis in mice. *Vaccine*, 25:3834-3840.

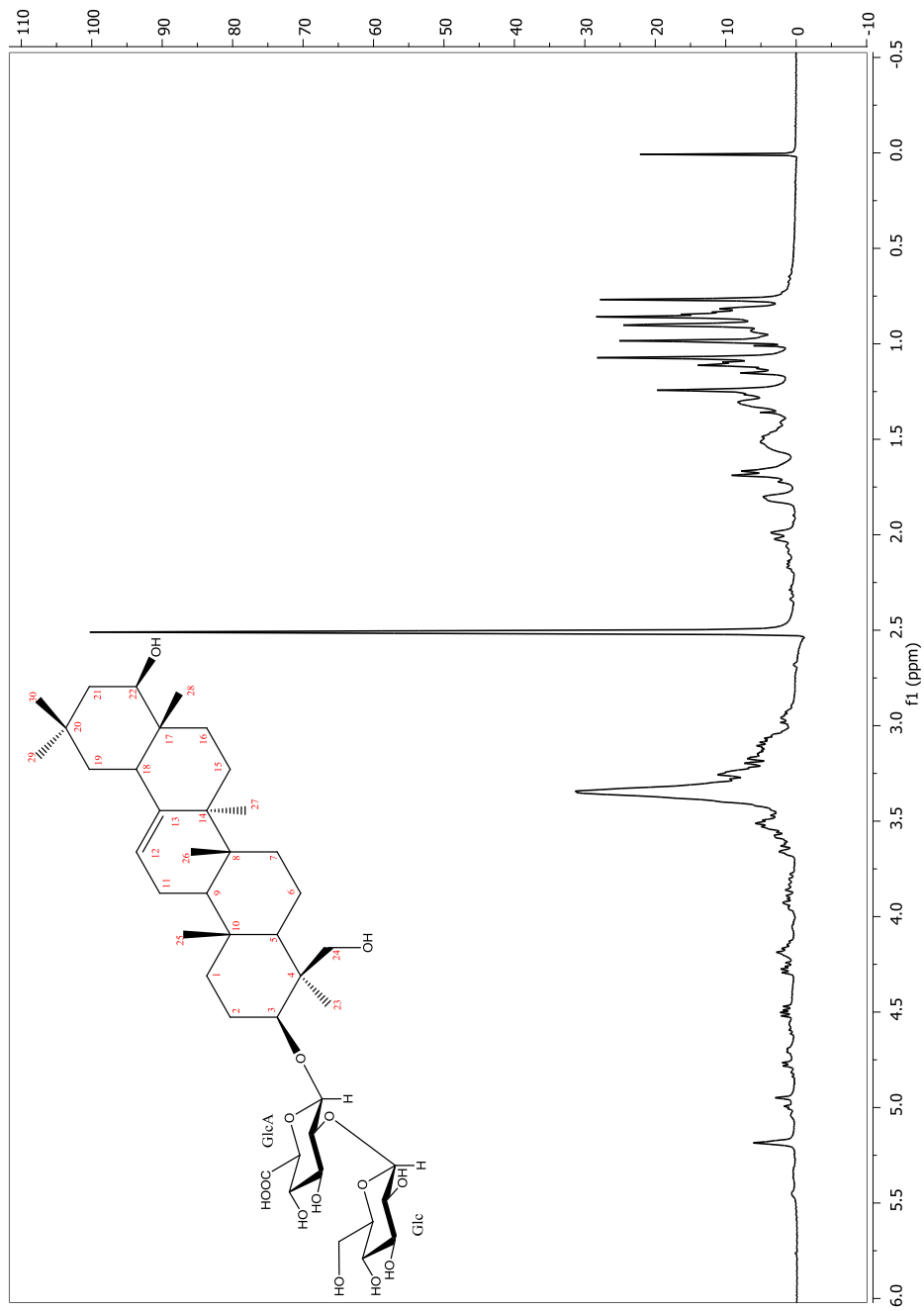
- Li, X., Qu, L., Dong, Y., Han, L., Liu, E., Fang, S., Zhang, Y., Wang, T. 2014.** A Review of Recent Research Progress on the *Astragalus* Genus. *Molecules*, 19:18850-18880.
- Liu, J., Henkel, T. 2002.** Traditional Chinese medicine (TCM): are polyphenols and saponins the key ingredients triggering biological activities?. *Current Medicinal Chemistry*, 9:1483-1485.
- Madland, E. 2013.** Extraction, Isolation and Structure Elucidation of Saponins from *Herniaria incana*. Norwegian University of Science and Technology, Department of Chemistry, Norwegian.
- Melek, F.R., Miyase, T., Abdel Khalik, S.M., El-Gindi, M.R. 2002.** Triterpenoid saponins from *Schefflera arboricola*. *Phytochemistry*, 63:401-407.
- Mitaine-Offer, A.C., Miyamoto, T., Semmar, N., Jay, M., Lacaille-Dubois, M.A. 2006.** A newoleanane glycoside from the roots of *Astragalus caprinus*. *Magn. Reson. Chem*, 44:713-716.
- Oleszek, W. 2002.** Chromatographic determination of plant saponins. *J. Chromatography A*, 967:147-162.
- Oleszek, W., Bialy, Z. 2006.** Chromatographic determination of plant saponins. *J. Chromatography A*, 1112:78-91.
- Osborn, A. E. 2003.** Saponins in cereals. *Phytochemistry*, 62:1-4.
- Özhatay, N., Byfield, A., Atay, S. 2005.** Türkiye'nin 122 Önemli Bitki Alanı. WWF Türkiye (Doğal Hayatı Koruma Vakfı) Yayını, İstanbul.
- Polat, E., Çalışkan-Alankuş, Ö., Perrone, A., Piacente, S., Bedir, E. 2009.** Cycloartane-type glycosides from *Astragalus amblolapis*. *Phytochemistry*, 70:628-634.
- Robbers, J. E., Speedie, M. K., Tyler, V. E. 1996.** *Pharmacognosy and Pharmacobiotechnology*, Williams & Wilkins, Baltimore, 1-144.
- Sparg, S.G., Light, M.E., van Staden, J. 2004.** Biological activities and distribution of plant saponins. *J. Ethnopharmacol*, 94:219-243.
- Sticher, O. 2008.** Natural product isolation. *Natural Product Reports*, 25:517-554.
- Su, Y., Guo, D., Guo, H., Liu, J., Zheng, J., Koike, K., Nikaido, T. 2001.** Four New Triterpenoid Saponins from *Conyza blinii*. *J. Nat. Prod.*, 64:32-36.
- Sun, L. M., Wang, X. L., Deng, W. L., Ding, L. S., Peng, S. L. 2011.** Chemical Constituents from *Astragalus ernestii*. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 9(1): 0038-0041.



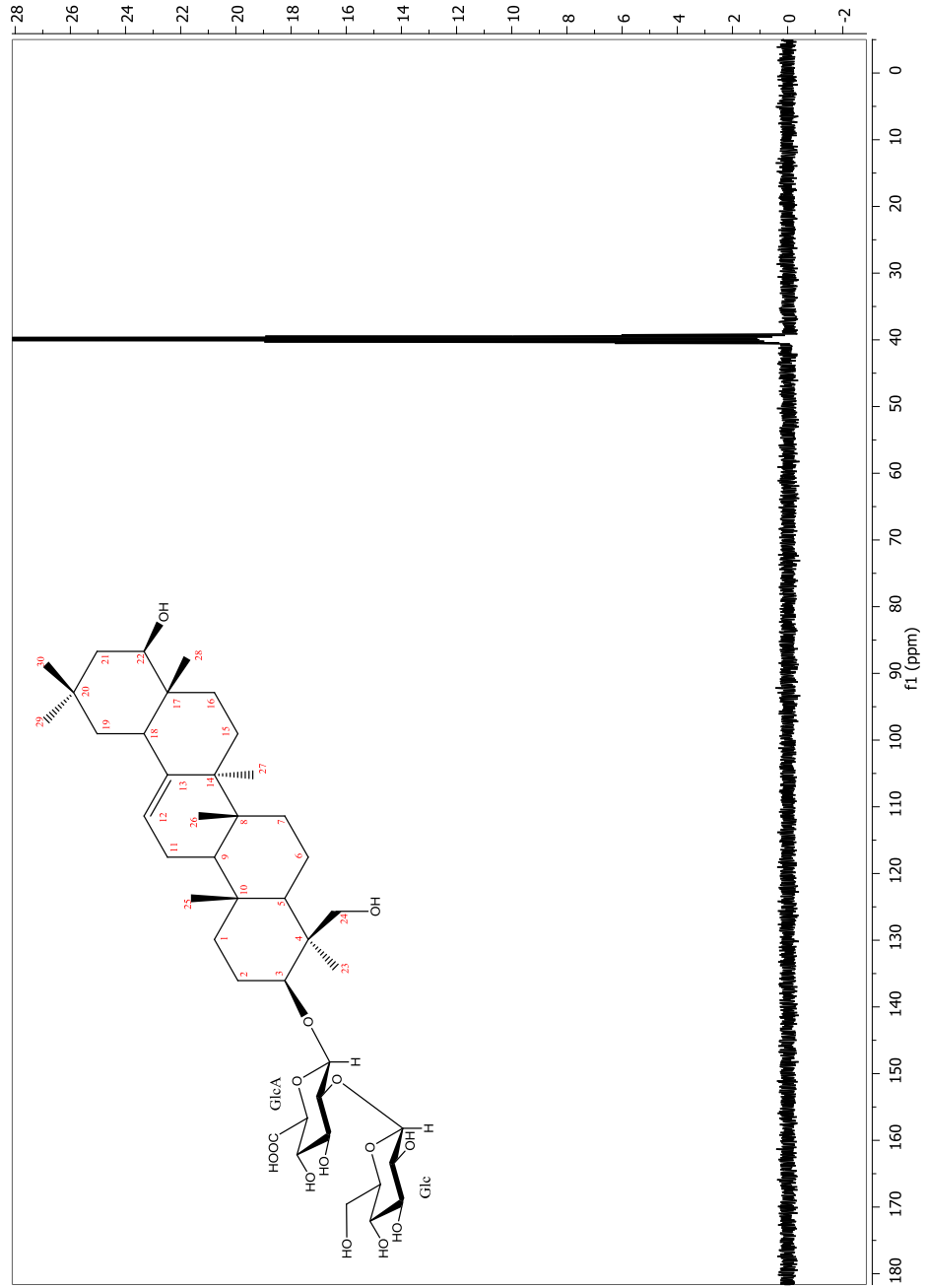
- Toshkova, R. A., Krasteva, I. N., Wesselinova, D. W., Nikolov, S. D. 2007.** Influence of Purified Saponin mixture from *Astragalus corniculatus* Bieb. On Phagocytic Cells In Graffi-tumor Bearing Hamsters. *Journal of Ethnopharmacology*, 109:394-399.
- Treyvaud, V., Marston, A., Dyatmiko, W., Hostettmann, K. 2000.** Molluscicidal saponins from *Phytolacca icosandra*. *Phytochemistry*, 55:603-609.
- Vincken, J. P., Heng, L., de Groot, A., Gruppen, H. 2007.** Saponins, classification and occurrence in the plant kingdom. *Phytochemistry*, 68:275-297.
- Wina, E., Muetzel, S., Becker, K. 2005.** The Impact of Saponins or Saponin-Containing Plant Materials on Ruminant Productions: A Review. *J. Agric. Food Chem.*, 53:8093-8105.
- Wu, X., Wanga, L., Wang, H., Dai, Y., Ye, W.-C., Li, Y.-L. 2010.** Steroidal saponins from *Paris polyphylla* var. *yunnanensis*. *Phytochemistry*, 81:133-143.
- Yoo, J. S., Ahn, E. M., Bang, M. H., Song, M. C., Yang, H. J., Kim, D. H., Lee, D. Y., Chung, H. G., Jeong, T. S., Lee, K. T., Choi, M. S., Baek, N. I. 2006.** Steroids from the Aerial Parts of *Artemisia princeps* Pampanini. *Korean J. Medicinal, Crop. Sci.*, 14(5):273-277.
- Yu, Q. T., Li, P., Bi, Z. M., Luo, J., Gao, X. D. 2007.** Two new saponins from the aerial part of *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus*. *Chinese Chemical Letters*, 18:554-556.

## **EKLER**

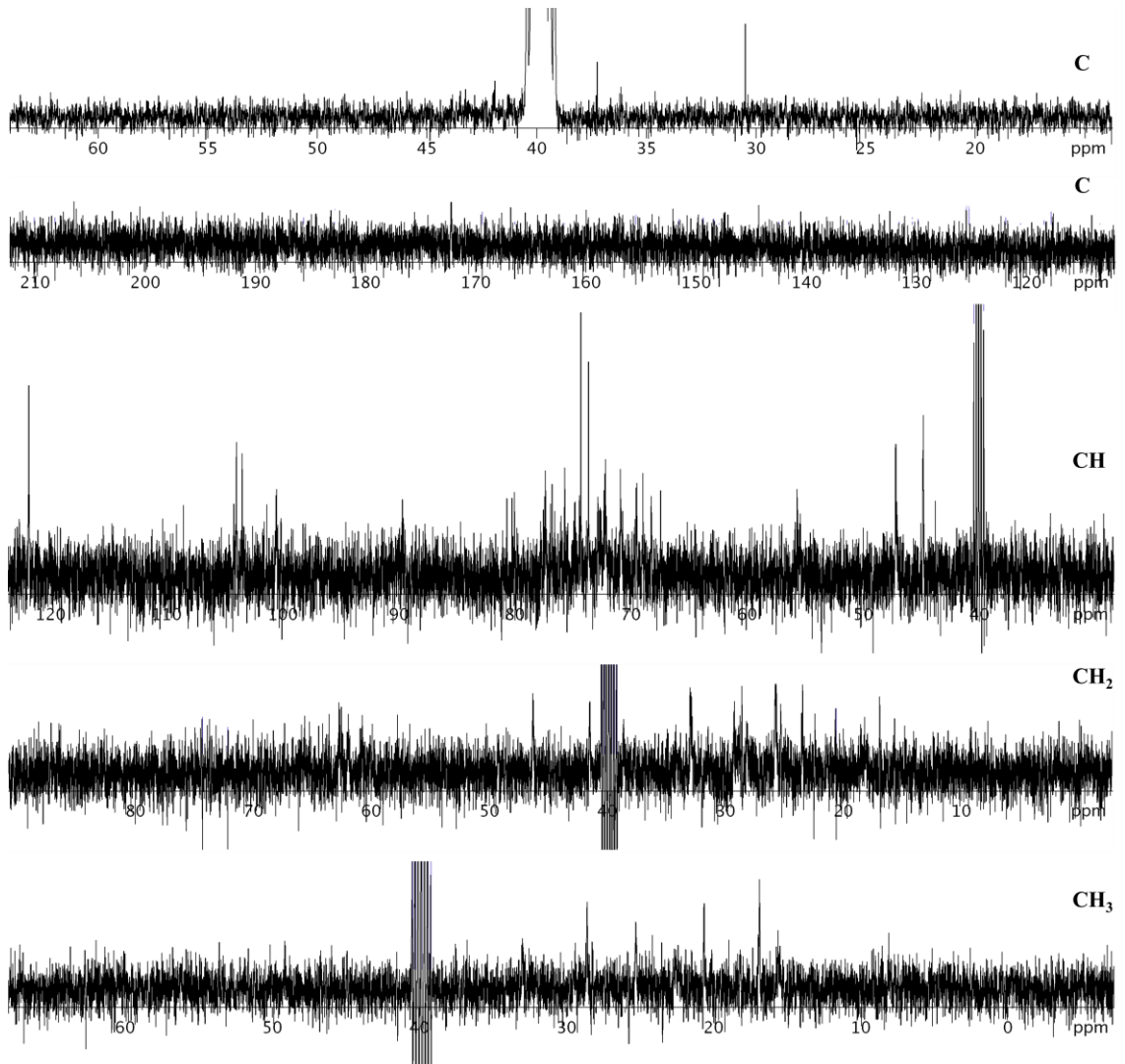
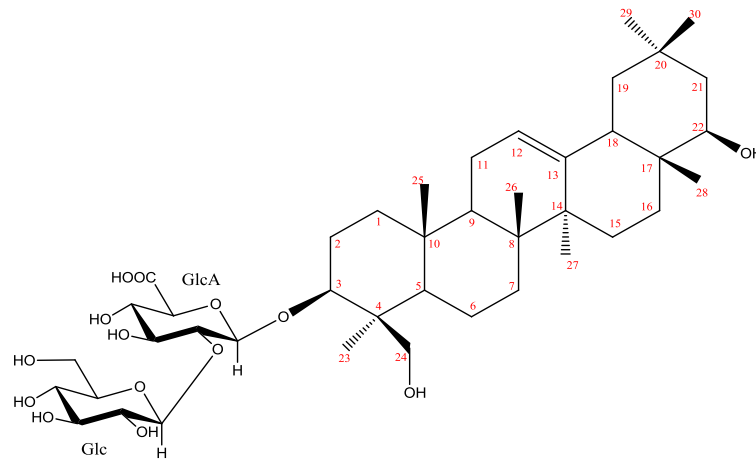
- EK 1.** Bileşik 1'in  $^1\text{H}$  NMR spektrumu
- EK 2.** Bileşik 1'in  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu
- EK 3.** Bileşik 1'in DEPT spektrumu
- EK 4.** Bileşik 1'in HSQC spektrumu
- EK 5.** Bileşik 1'in HMBC spektrumu
- EK 6.** Bileşik 1'in COSY spektrumu
- EK 7.** Bileşik 2'nin  $^1\text{H}$  NMR spektrumu
- EK 8.** Bileşik 2'nin  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu
- EK 9.** Bileşik 2'nin DEPT spektrumu
- EK 10.** Bileşik 2'nin HSQC spektrumu
- EK 11.** Bileşik 2'nin HMBC spektrumu
- EK 12.** Bileşik 2'nin COSY spektrumu



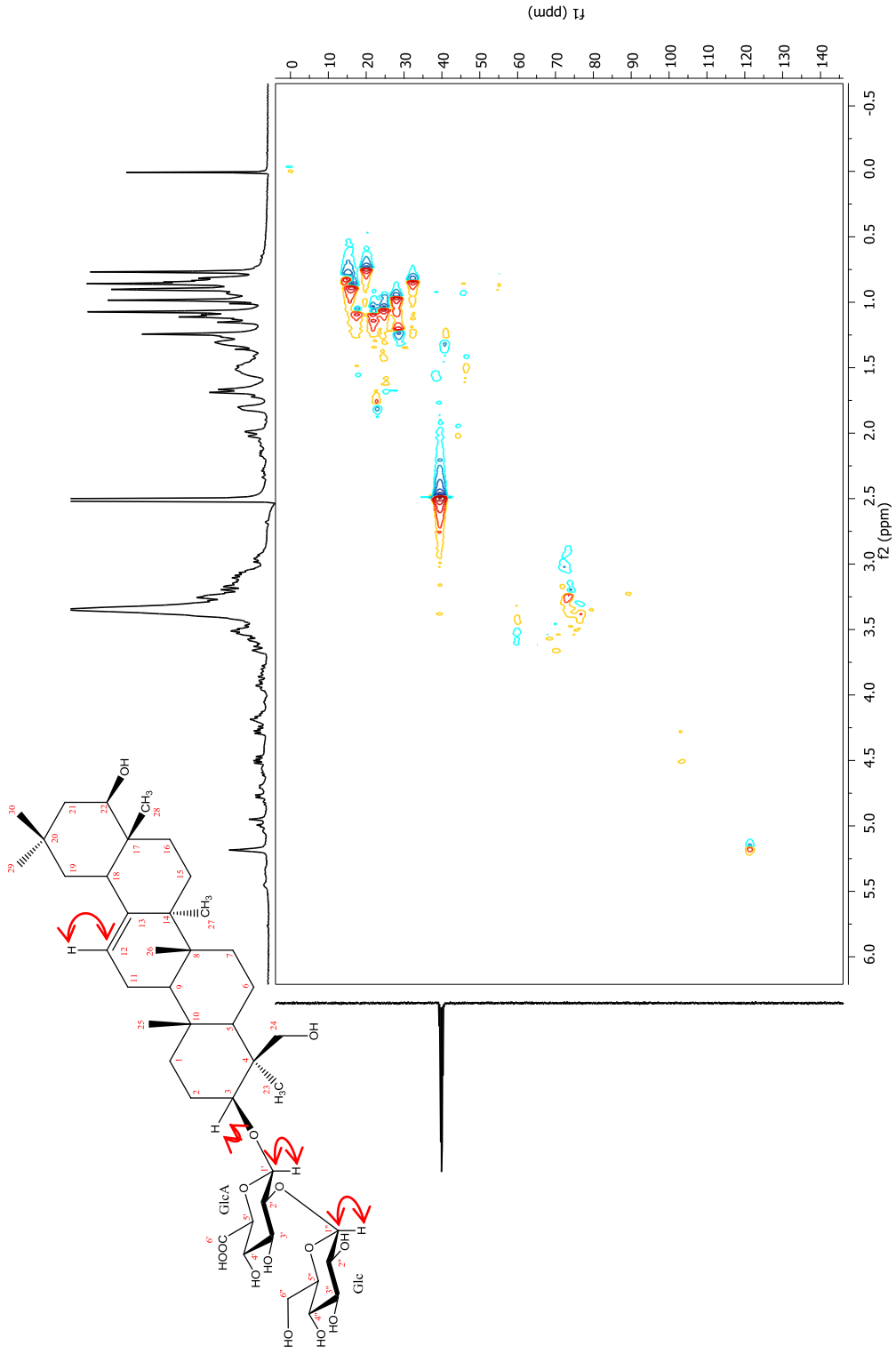
**EK 1.** Bileşik 1'in <sup>1</sup>H NMR spektrumu



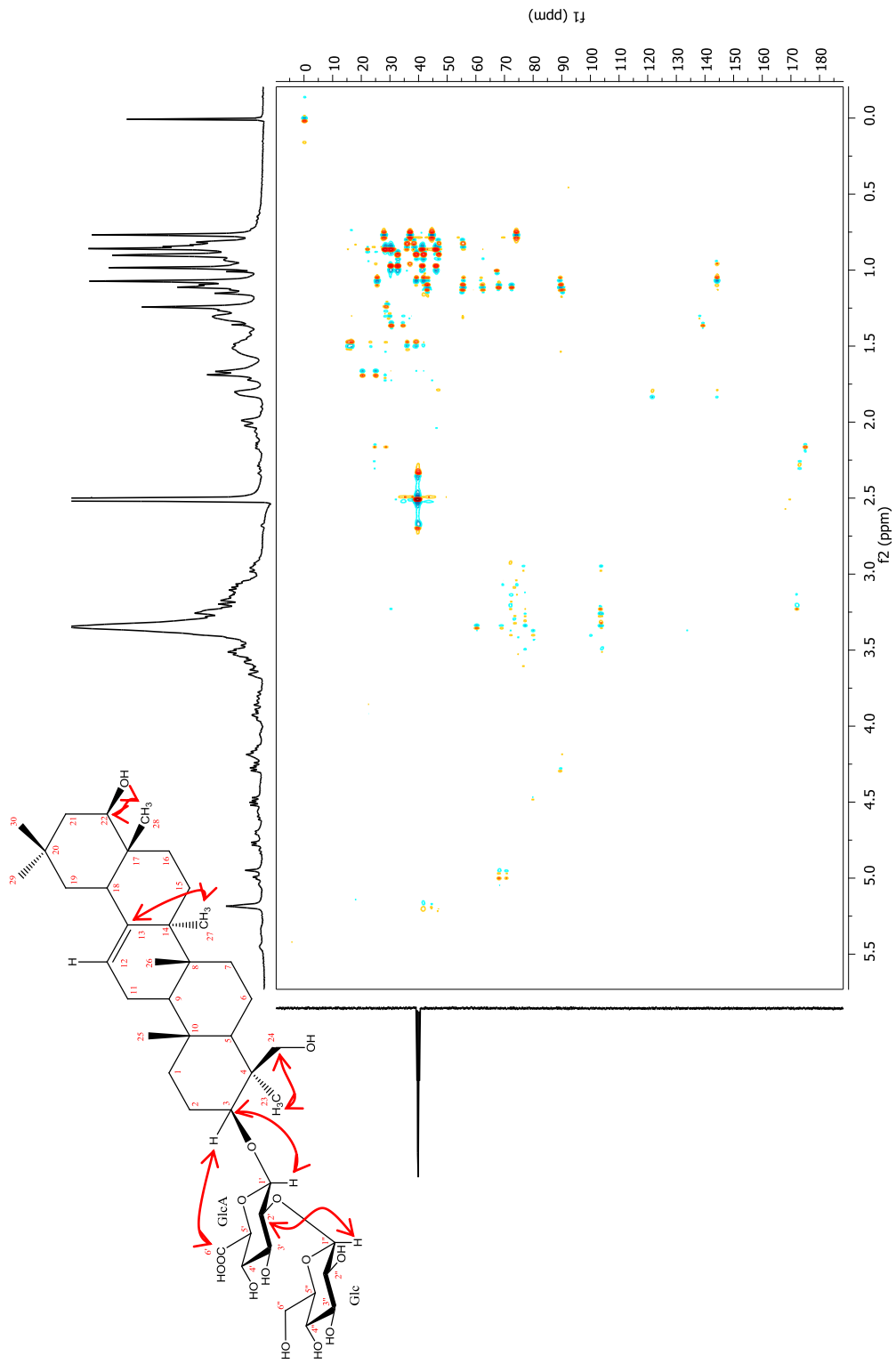
**EK 2.** Bileşik 1'in  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu



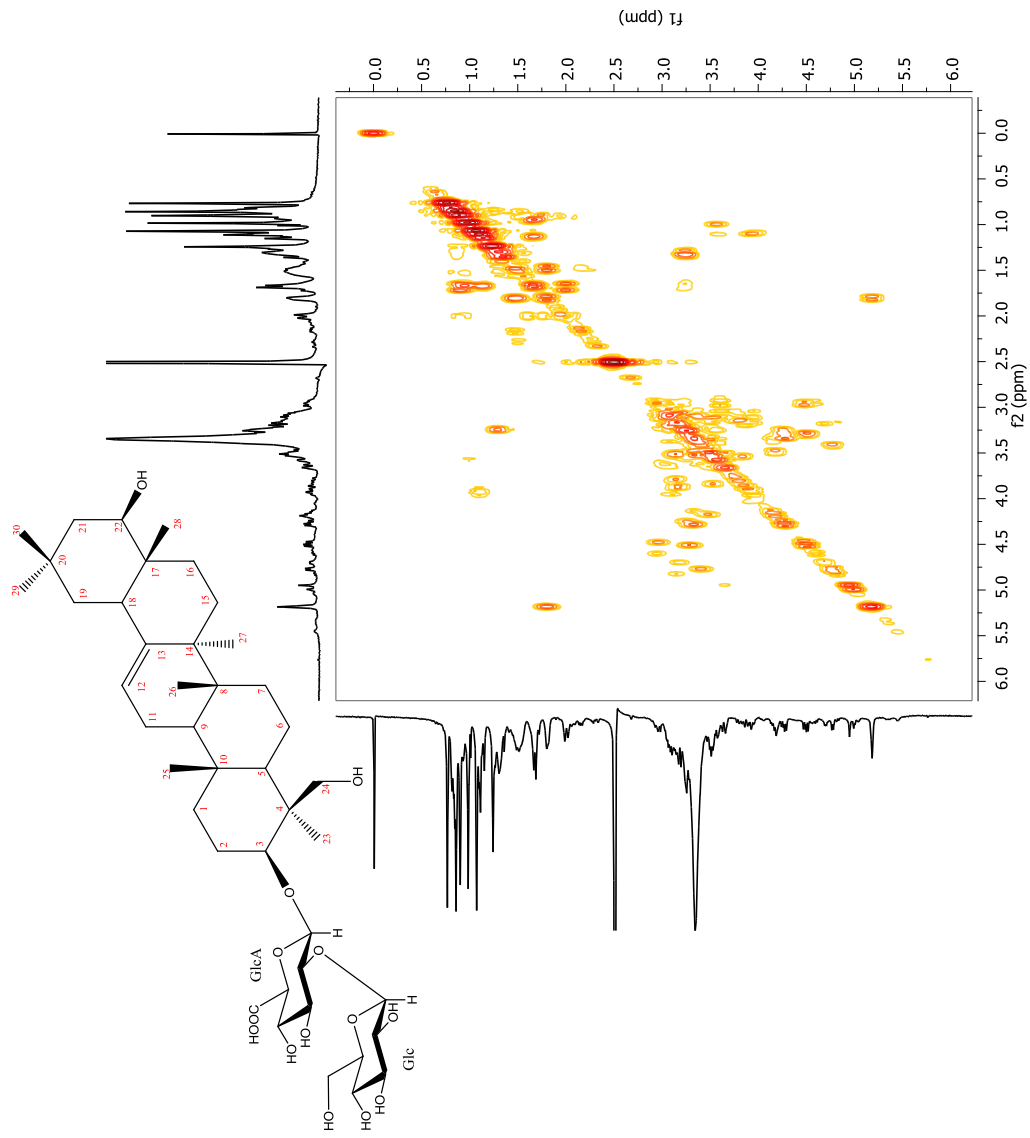
**EK 3.** Bileşik 1'in DEPT spektrumu



**EK 4.** Bileşik 1'in HSQC spektrumu

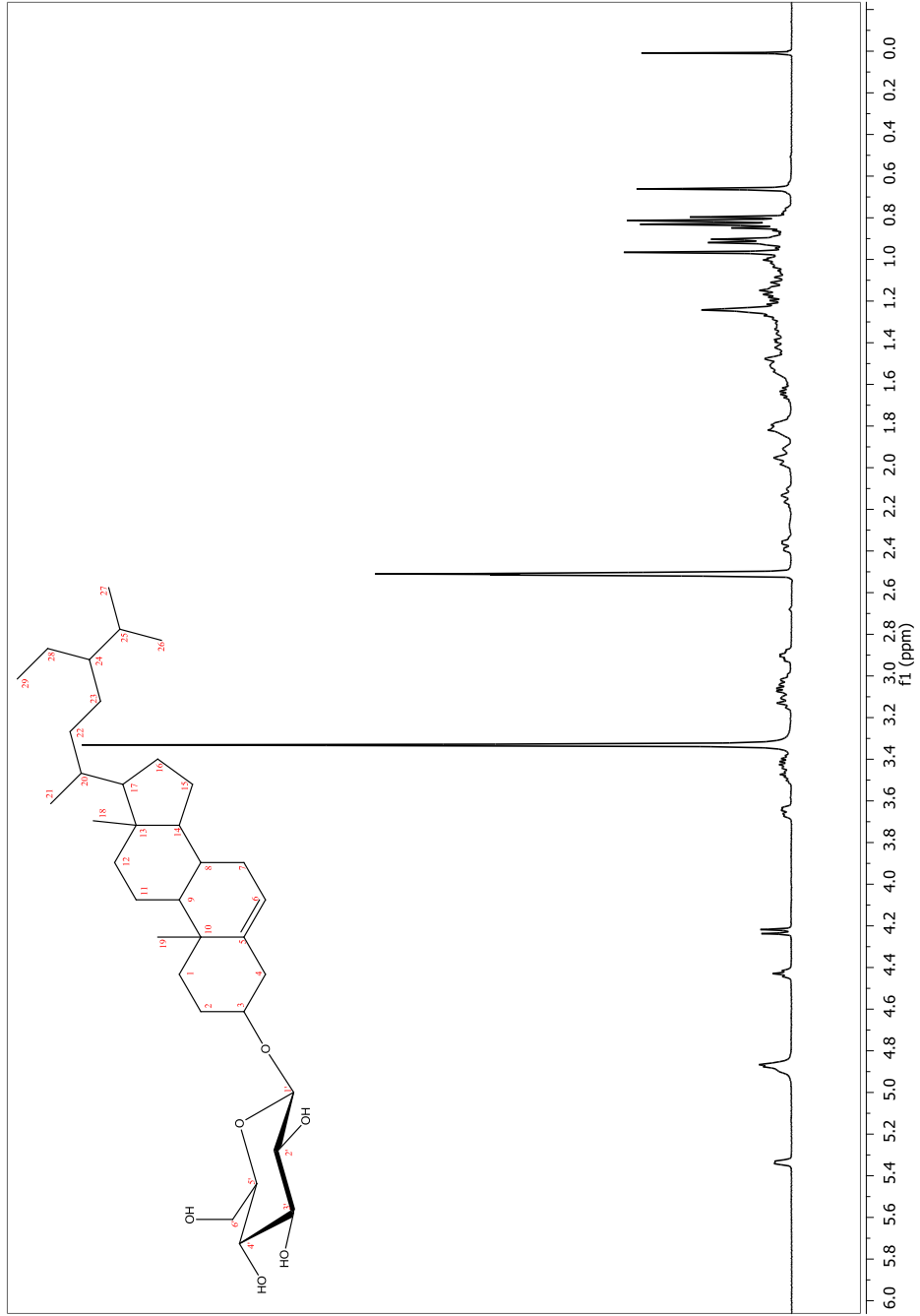


**EK 5.** Bileşik 1'in HMBC spektrumu

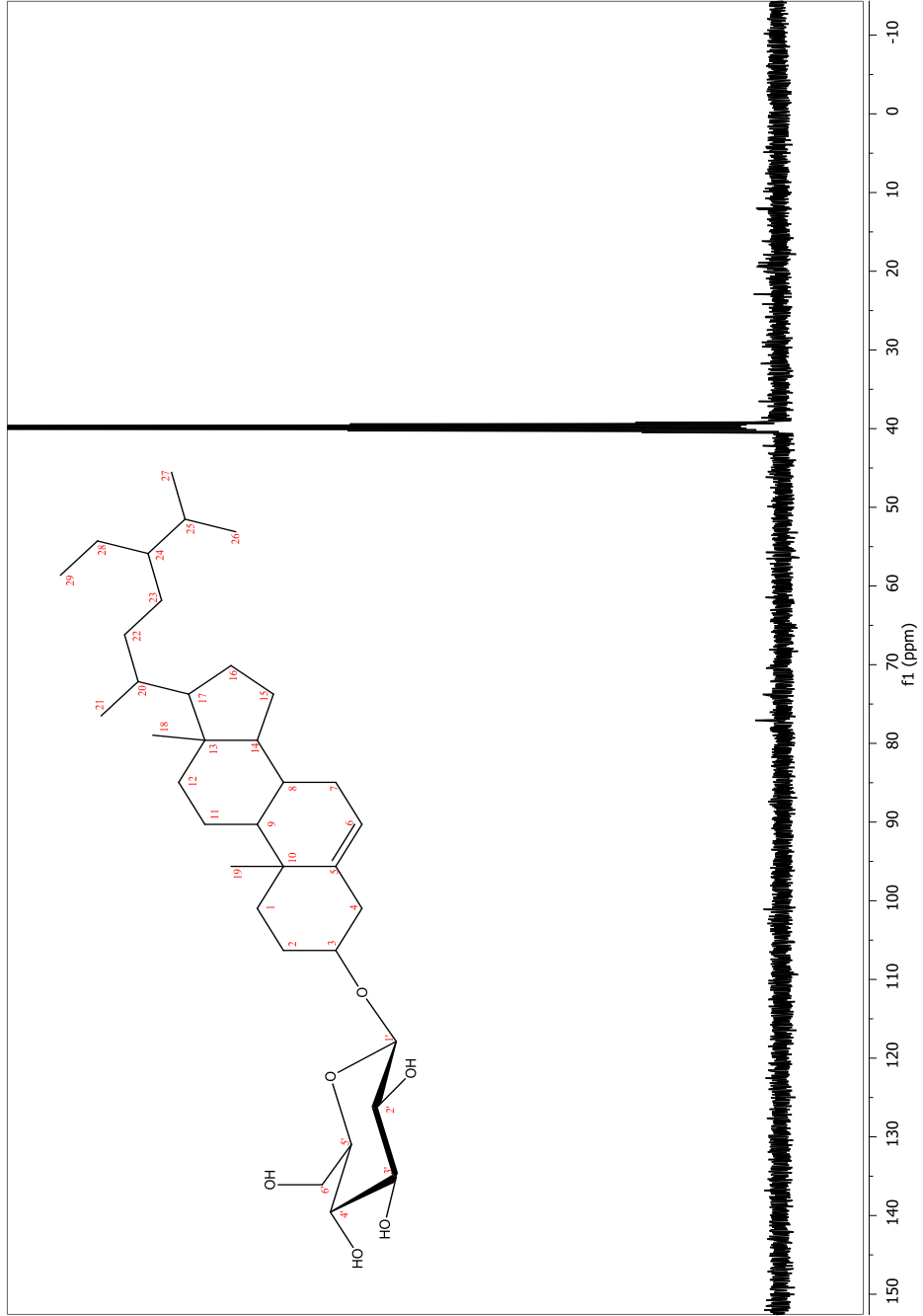


**EK 6.** Bileşik 1'in COSY spektrumu

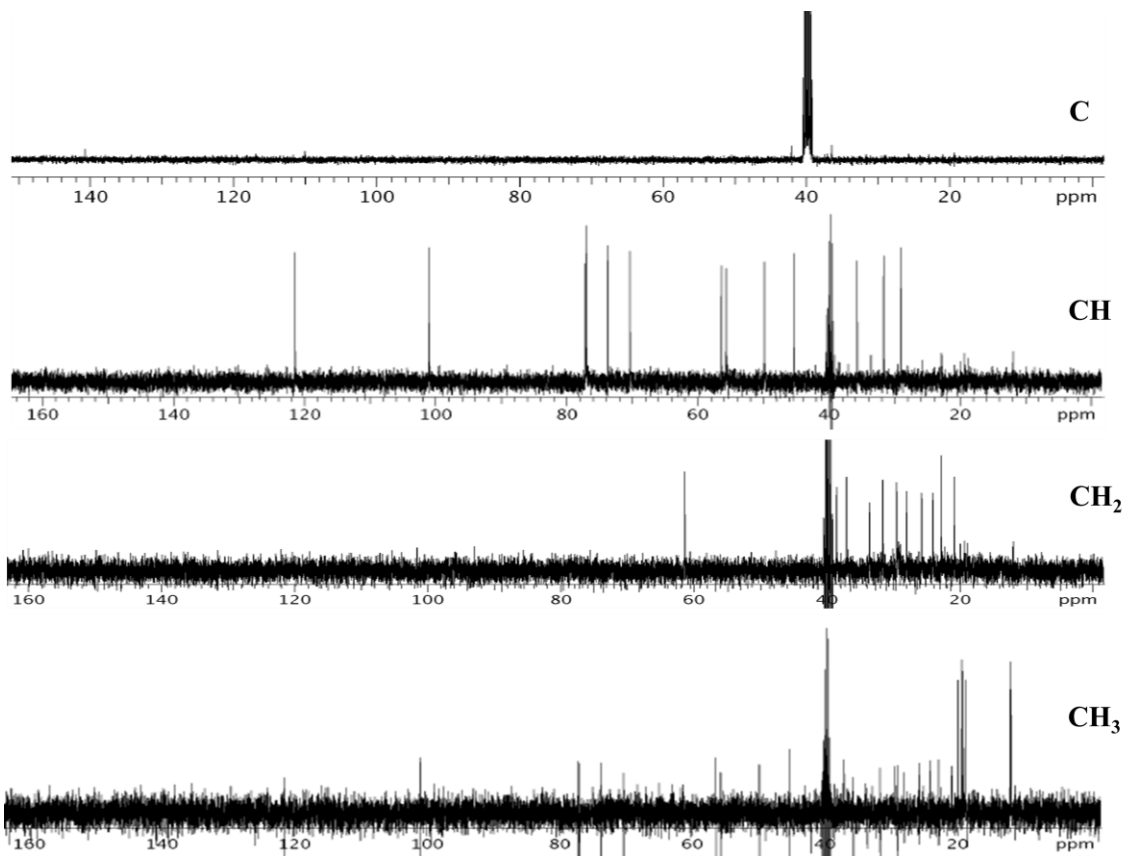
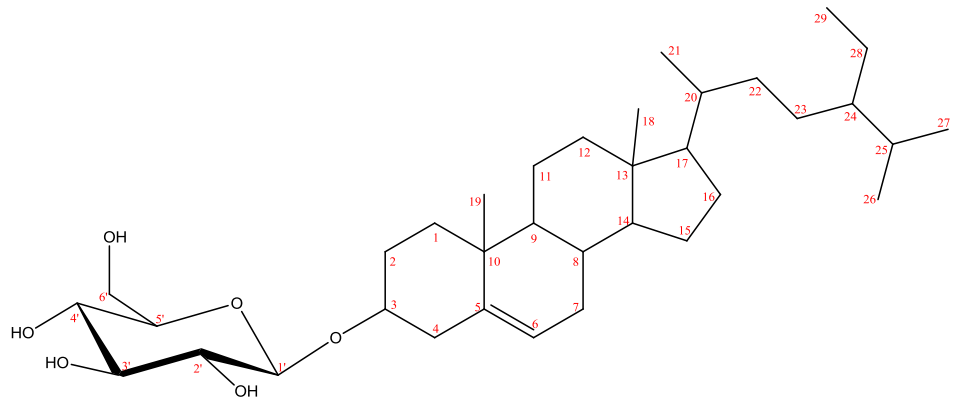




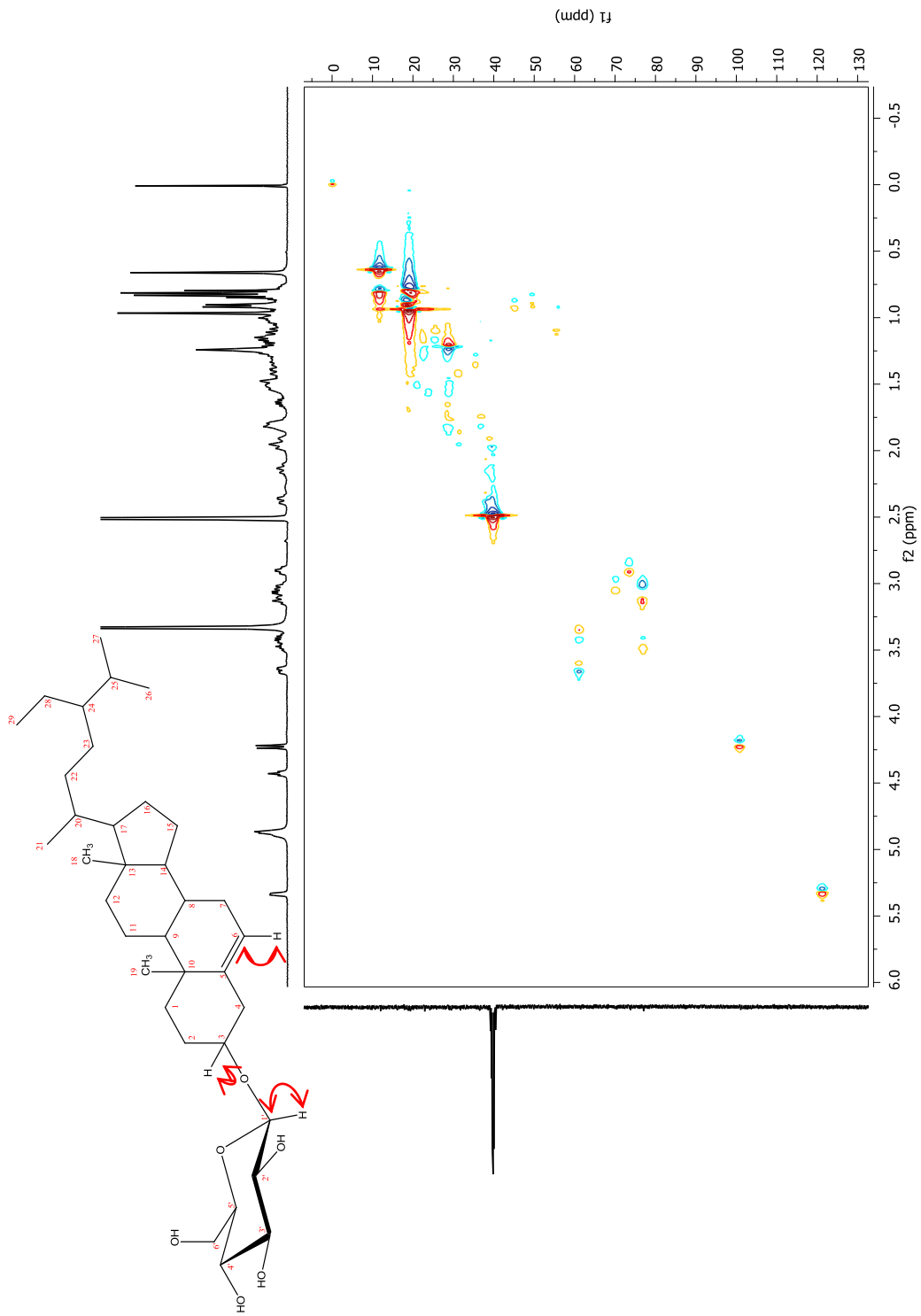
**EK 7.** Bileşik 2'nin <sup>1</sup>H NMR spektrumu



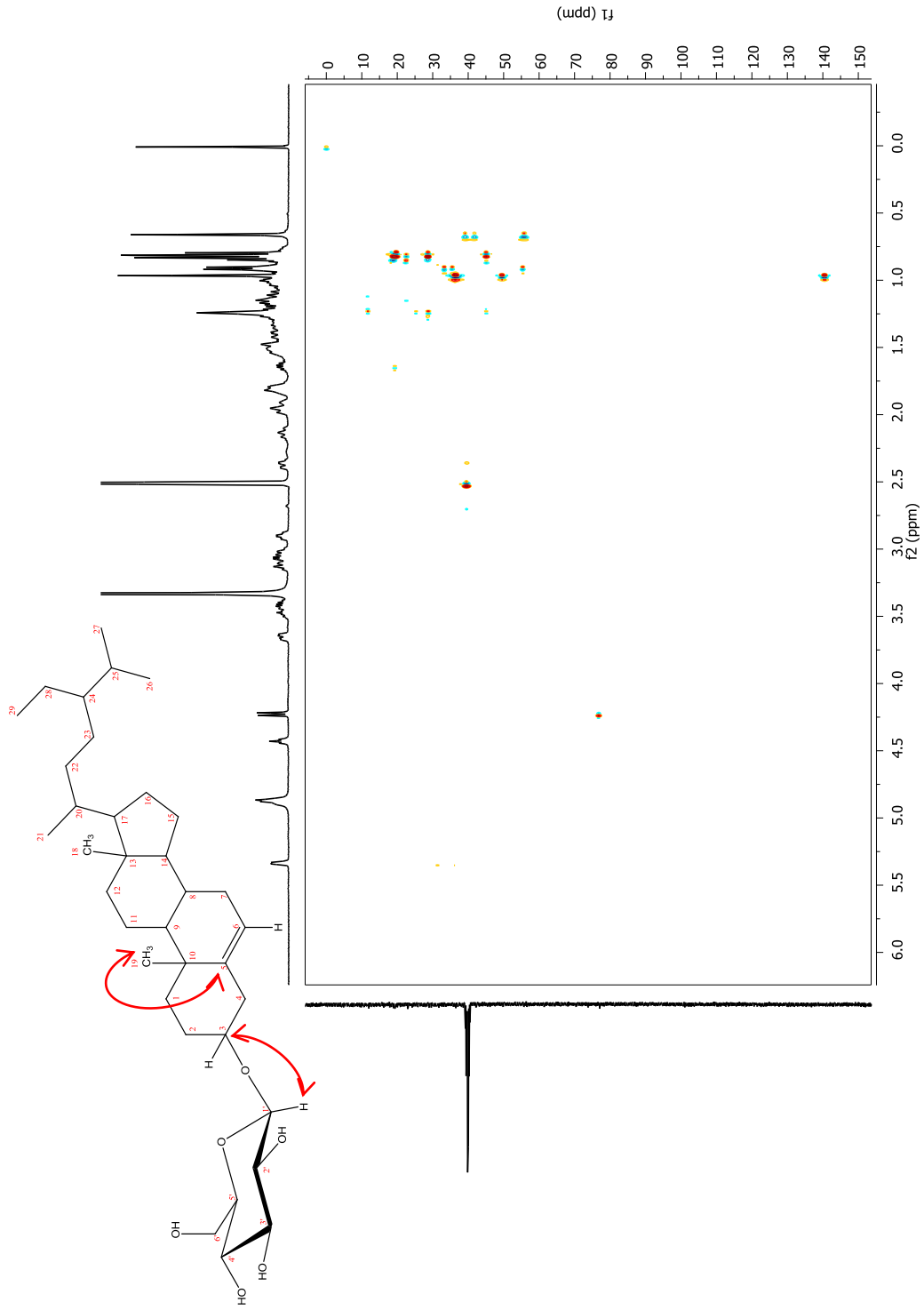
**EK 8.** Bileşik 2'nin  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu



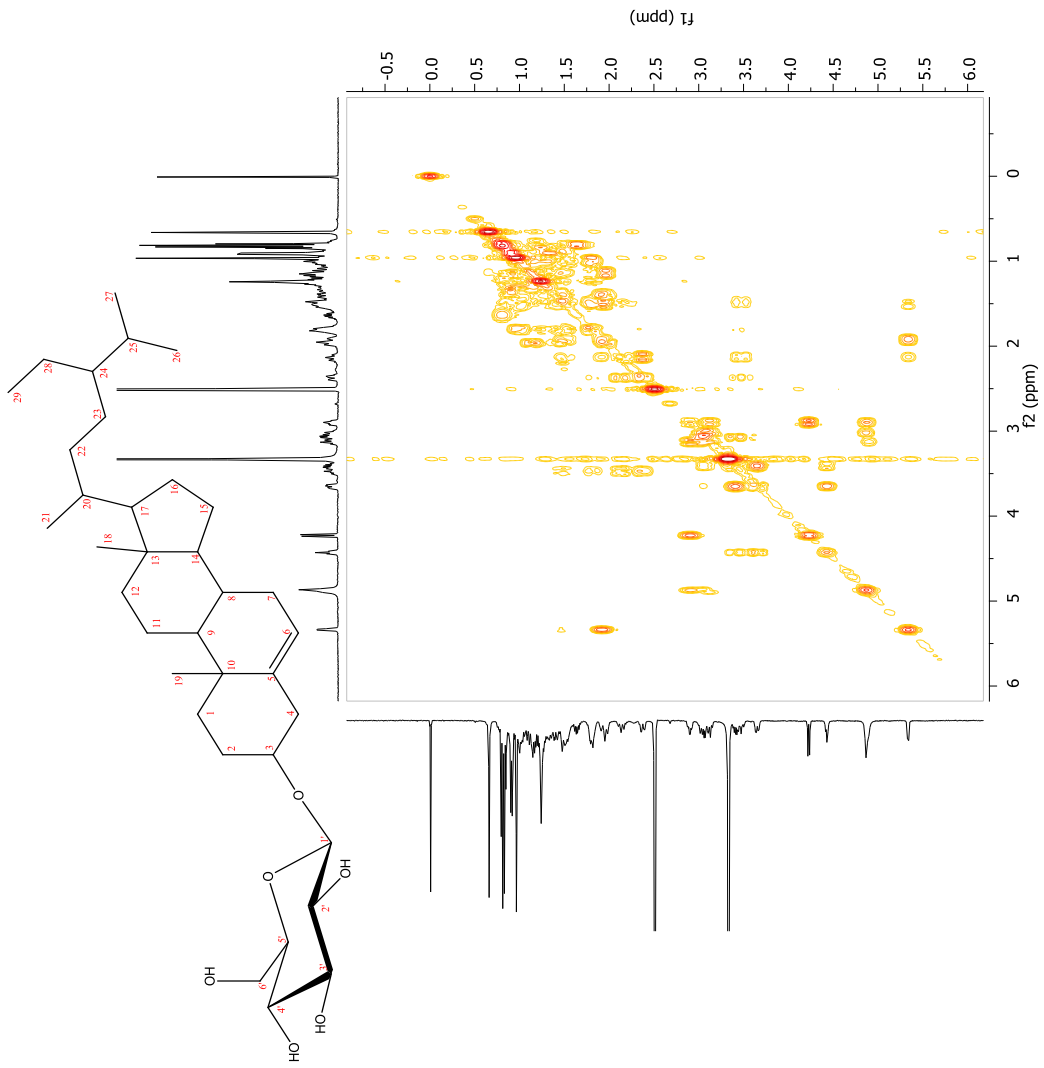
**EK 9.** Bileşik 2'nin DEPT spektrumu



**EK 10.** Bileşik 2'nin HSQC spektrumu



**EK 11.** Bileşik 2'nin HMBC spektrumu



**EK 12.** Bileşik 2'nin COSY spektrumu

## ÖZGEÇMİŞ

**Adı Soyadı** : Nesrin YUMİTKAN

**Doğum Yeri ve Tarihi** : Karacabey, 10.07.1989

**Yabancı Dili** : İngilizce

### **Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)**

**Lise** : Karacabey Lisesi, 2003-2007

**Lisans** : Uludağ Üniversitesi, Kimya, 2007-2011

**Yüksek Lisans** : Uludağ Üniversitesi, Organik Kimya, 2012-2015

**İletişim (e-posta)** : nesrin\_ymtkn@hotmail.com