TÜRKİYE'DEKİ BAZI *POLYGALA* L. (*POLYGALACEAE*) TAKSONLARININ FİTOKİMYASI VE KEMOTAKSONOMİSİ

PHYTOCHEMISTRY AND CHEMOTAXONOMY OF SOME TURKISH *POLYGALA* L. (*POLYGALACEAE*) TAXA

AYŞE ÜNLÜ

PROF. DR. ALİ A. DÖNMEZ

Tez Danışmanı

PROF. DR. İHSAN ÇALIŞ

Eş Danışmanı

Hacettepe Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin

Biyoloji Anabilim Dalı için Öngördüğü

DOKTORA TEZİ olarak hazırlanmıştır.

Ağustos 2022

İthaf Sayfası

Yazarın İstediğine Bağlı olarak

ÖZET

TÜRKİYE'DEKİ BAZI *POLYGALA* L. (*POLYGALACEAE*) TAKSONLARININ FİTOKİMYASI VE KEMOTAKSONOMİSİ

Ayşe ÜNLÜ

Doktora, BİYOLOJİ Bölümü

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Ali A. DÖNMEZ

Eş Danışman: Prof. Dr. İhsan ÇALIŞ

Ağustos 2022, 234 sayfa

Bu tez çalışması ile Türkiye'deki bazı *Polygala* L. (*Polygalaceae*) taksonlarının fitokimyası ve kemotaksonomisinin ortaya konması hedeflenmiştir. *Polygala* türleri Türkiye'de biri kültür, 17'si doğal olmak üzere toplamda 18 tür ile temsil edilmektedir. Bu taksonlardan beş tanesi endemiktir. Bu endemik türlerden *P. inexpectata* ve *P. azizsancarii* taksonlarının fitokimyasal içeriği ayrıntılı olarak çalışılmıştır. Türlerin fitokimyasal analizleri sonucunda izole edilen bileşiklerin yapıları 1D-NMR (^{1}H NMR, ^{13}C NMR, DEPT-135), 2D-NMR (COSY, NOESY, HSQC, HMBC), INADEQUATE, HRMS ve X-ışınları kristalografisi dahil olmak üzere spektroskopik yöntemler kullanılarak aydınlatılmıştır. Toplamda 19 adet bileşik elde edilmiştir. Bu bileşiklerin iki tanesi (3-*O*-*β*-D-glukopiranoziloksi-1,6-dihidroksi-2,5,7-trimetoksiksanton=Sancaroside A ve 3-*O*-*β*-D-glukopiranoziloksi-1,6-dihidroksi-2,7-dimetoksiksanton=Sancaroside B) literatüre yeni kazandırılmıştır. Taksonlar arasındaki kemotaksonomik ilişkiyi ortaya koymak için, dokuz *Poygala* taksonuna ait metanol ekstreleri LC-qTOF-MS cihaz kullanılarak metabolomik analizi yapılmıştır. Taksonlar arası taramalar yapılırken izole edilen bileşikler (1 tanesi flavon glikoziti, 1 tanesi lignan, 9 tanesi ksanton ve 8 tanesi sukroz esteri yapısında olarak), 4 referans madde (hederagenin, poligalaksanton, tenuifolin ve senegenin) ve cihaz kütüphanesinde bulunan tüm bileşikler dahil edilmiştir. Elde edilen sonuçlar çok değişkenli istatistiksel analizlerden PCA

(Principal component analysis) analizi kullanılarak görselleştirilmiştir. PCA analiz sonuçlarına bakıldığında *P. supina ve P. pruinosa*'nın benzer kimyasallara sahip olarak diğer taksonlardan ayrıldığını, *P. venulosa* ve *P. major*'ün benzer kimyasallara sahip olduğu, *P. inexpectata*'nın taksonların tümünden farklı içeriğe sahip olduğunu söyleyebiliriz.

Ayrıca taksonlar arası kemotaksonomik yaklaşım izole edilen bileşikler ve 4 adet referans dahil edilerek K-Ortalamalar kümeleme yöntemine göre de gerçekleştirilmiştir. *Polygala* tasonlarının optimum kümelenmesi, R studio ortamında temel paketlerin kullanımı ile, iki olarak hesaplanmıştır. Gruplar arası geçişi *P. turcica*'nın oluşturduğu bulunmuştur. *P. turcica* ile kimyasal içerikleri bakımından ikiye ayrılan taksonlardan bir grupta; *P.* supina, *P. pruinosa, P. inexpectata*'nın diğer grupta ise *P. papilionacea, P. vulgaris, P. venulosa, P. major, P. monspeliaca*'nın olduğu görülmektedir. Analizlerde belirleyici kimyasallar; 3'-*O*-feruloil-sukroz (sibirikoz A5), 3'-*O*-(sinapoil)-sukroz, 6-*O*-sinapoil,3'-*O*-trimetoksi-sinamoil-sukroz (tenuifolisid C), 3-*O*-β-D-glukopiranoziloksi-1,6-dihidroksi-2,5,7-trimetoksiksanton (Sancarozit A) ve 1,3,6-trihidroksi-2,5,7-trimetoksiksanton olarak bulunmuştur.
Bu analiz sonuçlarına bakıldığında ilk yapılan PCA analiz sonuçları ile K-Ortalamalar kümeleme yöntemi ile bulunan sonuçlar çoğulukla uyum içindedir.

Anahtar Kelimeler: *Polygalaceae*, *Polygala*, Fitokimya, Ksanton, Oligosakkarit, Temel Bileşen Analizi (PCA), Kemotaksonomi.

ABSTRACT

PHYTOCHEMISTRY AND CHEMOTAXONOMY OF SOME TURKISH *POLYGALA* L. (*POLYGALACEAE*) TAXA

AYŞE ÜNLÜ

Doctor of Philosophy, Department of Biology

Supervisor: Prof. Dr. Ali A. DÖNMEZ

Co- Supervisor: Prof. Dr. İhsan ÇALIŞ

August 2022, 234 pages

In this thesis, it is aimed to reveal the phytochemistry and chemotaxonomy of some *Polygala* L. (Polygalaceae) taxa in Turkey. The genus is represented by 17 native and one cultivated species in Turkey. Five of these taxa are endemic. Phytochemical studies have been performed on the roots of *P. azizsancarii* and whole plant of *P. inexpectata*, both of which are narrow endemic species.

Various compounds were isolated from the methanol extracts of the plants by using different chromatographic techniques. The structures of the isolated compounds were then determined by spectroscopic methods, including 1D-NMR (^{1}H NMR, ^{13}C NMR, DEPT-135), 2D-NMR (COSY, NOESY, HSQC, HMBC), INADEQUATE, HRMS and X-ray crystallographic studies. In total, 19 compounds were isolated. Based on the available spectroscopic data, the structures of 19 compounds were established as two previously undescribed xanthones; 3-*O*-*β*-D-glucopyranosyloxy-1,6-dihydroxy-2,5,7-trimethoxyxanthone (or sancaroside A) and 3-*O*-*β*-D-glucopyranosyloxy-1,6-dihydroxy-2,7-dimethoxyxanthone (or sancaroside B); seven previously described xanthones, one lignan, one flavone glycoside, and nine sucrose esters.

Metabolomic profiling of the plants was performed using an LC-qTOF-MS system. Isolated compounds, four reference compounds (namely hederagenin, polygalaksanton III, tenuifolin, and senegenin) and the compounds found in the device library were all included during inter-taxa screening. The metabolomic fingerprints of the plant species belonging to nine different taxa were subsequently classified by multivariate data analysis. The principal component analysis (PCA) yielded both similar and different metabolomic profiles between taxa. Considering the PCA analysis results, *P. supina* and *P. pruinosa* were distinguished from other taxa by having similar chemicals, while *P. venulosa* and *P. major* had similar chemicals. *P. inexpectata*, however, was shown to have a different chemical content from all other taxa.

In addition, an inter-taxa chemotaxonomic approach was implemented according to the K-Means clustering method by including the isolated chemicals and four references. The optimum clustering of *Polygala* taxa was estimated to be two by using the base packages in the R studio environment. It was observed that *P. turcica* represented the transition between the botanical groups. In a group of taxa that were divided into two with *P. turcica* in terms of chemical content, *P. supina*, *P. pruinosa* and *P. inexpectata* constituted one group, while *P. papilionacea*, *P. vulgaris*, *P. venulosa*, *P. major* and *P. monspeliaca* constituted the other group. The determining chemicals in our analyses were identified as 3'-*O*-feruloyl-sucrose (or sibiricose A5), 3'-*O*-(sinapoyl)-sucrose, 6-*O*-sinapoyl, 3'-*O*-trimethoxy-cinnamoyl-sucrose (or tenuifoliside C), 3-*O*-*β*-D-glucopyranosyloxy-1,6-dihydroxy-2,5,7-trimethoxyxantone (or sancaroside A) and 1,3,6-trihydroxy-2,5,7-trimethoxyxantone.

In conclusion, the results of the first PCA analysis and the results obtained by the K-Means clustering method are mostly in agreement.

Keywords: *Polygalaceae*, *Polygala*, Phytochemistry, Oligosaccharide, Xanthone, Principal component analysis (PCA), Chemotaxonomy.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın her aşamasında bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, çalışmalarımı yönlendiren, akademik alanda karşılaştığım her zorlukta bana desteğini veren, tez çalışmasında kullanılan örneklerin temininde ve bu yola başlarken bana güvenen değerli danışman hocam Prof. Dr. Ali A. Dönmez'e;

Akademik yaşantım boyunca gerek laboratuvar gerekse hayat tecrübelerini benimle paylaşan, sonsuz bilgileri ile bilimsel hayatıma ışık tutan, elde edilen maddelerin yapı tayin çalışmalarını yapan, nezaketi titizliği ve özenli çalışmaları ile her zaman örnek alacağım değerli hocam ve ikinci danışmanım Prof. Dr. İhsan Çalış'a;

Bilgi, yardım ve güzel enerjisini benimle sürekli paylaşan değerli hocam Prof. Dr. Funda Nuray Yalçın'a;

Çalışmalarımın her aşamasında bana desteğini her zaman hissettiren, karşılaştığım her sorunumu çözen, değerli hocam Doç. Dr. Zübeyde Uğurlu Aydın'a;

Tez çalışmalarım süresince teknik yardımlarını gördüğüm değerli akademisyen arkadaşlarım; Doç. Dr. Nadire Özenver, Uzm. Bio. Mustafa K. Şenova, Dr. Öğr. Yasin Kaya ve Dr. Azmi Hanoğlu'na;

Analitik çalışmalarının yapımında yardımcı olan ve bilgilerini benimle paylaşan değerli hocalarım Prof. Dr. Emirhan Nemutlu ve Dr. Tuba Reçber'e;

INADEQUATE spektrum ölçümleri için Oliver Zerbe ve Simon Jurt, 1D ve 2D NMR ölçümleri için Anzarul Haque, MASS ölçümleri için Hasan Soliman Yusufoğlu, HRMS ölçümleri için Ayman Salkini, UV ve FITIR ölçümleri için Faisal Mustafa X-RAY analizleri için Antony Linden'e;

Bu tez çalışması TÜBİTAK-KBAG 118 Z 708 numaralı proje kapsamında gerçekleşmiştir. Maddi destek için TÜBİTAK'a;

Beni bugünlere getiren, eğitimin değerini ve önceliğini bana aşılayan babam, annem ve canım babaanneme, almış olduğum bu kararda yanımda olan eşim Alper Ünlü'ye ve verdiğim her emeğin, çektiğim her stresin; kendime ve bilime katkılarını gördükçe onun hayatına da cesaret verip ışık tutmasını istediğim canım oğlum Zirve Ünlü'ye; kalpten teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....i

ABSTRACT.....iiii

TEŞEKKÜR.....v

İÇİNDEKİLER.....vii

ŞEKİLLER DİZİNİ.....viiii

ÇİZELGELER DİZİNİ.....xi

SİMGELER VE KISALTMALAR.....xiii

1. GİRİŞ.....1

2. GENEL BİLGİLER.....3

2.1. Botanik Bilgiler.....3

2.1.1. *Polygalaceae* Familyası.....3

2.1.2. *Polygala*'nın Genel Özellikleri ve Taksonomisi.....4

2.1.3. *Polygala* Türlerinin Etnobotanik Kullanılışı.....6

2.2. Bitki Taksonomisinde Kimyasal Verilerin Önemi.....8

2.2.1. *Polygala* Türleri Üzerinde Uygulanan Bazı Fitokimyasal Araştırmalar.....10

3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR.....23

3.1. Fitokimyasal Çalışmalar.....23

3.1.1. Bitkisel Materyal.....23

3.1.2. Kimyasal Maddeler ve Gereçler.....24

3.1.3. Kromatografik Yöntemler.....26

3.1.4. Bitki Örneklerinin LC-qTOF-MS ile Taranması.....30

3.1.4.1. LC-qTOF-MS Analiz Koşulları.....30

3.1.5. Ekstraksiyon ve İzolasyon Çalışmaları.....31

3.1.5.1. *Polygala inexpectata*'nın Ekstraksiyonu.....31

3.1.5.2. *Polygala azizsancarii*'nin Ekstraksiyonu.....34

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA 37

4.1. Fitokimyasal Çalışmalara Ait Sonuçlar.....37

4.1.1. *P. inexpectata* Taksonundan İzole Edilen Bileşiklerin Yapı Tayinleri.....37

4.1.2. *P. azizsancarii* Taksonundan İzole Edilen Bileşiklerin Yapı Tayinleri.....64

4.1.2.1. Ksantonlar.....64

4.1.2.2. Sukroz (Sakaroz) Esterleri.....88

4.2. LC-qTOF-MS Çalışmasına Ait Sonuçlar.....95

4.2.1. LC-qTOF-MS Cihaz Veri Tabanı ile yapılan Analiz Sonuçları.....95

4.2.2. *Polygala* Taksonlarından İzole Edilen Bileşikler İle Analiz Sonuçları.....98

5. YORUM.....113

6. KAYNAKLAR 115

EKLER..... 129

EK 1 – Spektrumlar..... 129

EK 2- Tezden Türetilmiş Yayınlar..... 202

EK 3 - Tezden Türetilmiş Bildiriler..... 203

EK 4 - Tez Çalışması Orjinallik Raporu 204

ÖZGEÇMİŞ 205

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. *Polygala* cinsinin genel görüntüsü (*P. azizsancarii*) (Fotoğraf: Ali A. Dönmez).....4

Şekil 2.2. *Polygala* çiçek görüntüsü (A) *P. papilionacea* ve (B) *P. venulosa* (Fotoğraf: Ali A. Dönmez).....5

Şekil 3.1. Vakumlu sıvı kromatografisi genel görünümü.....28

Şekil 3.2. *Polygala inexpectata* üzerinde yapılan izolasyon çalışmalar iş akış şeması.....33

Şekil 3.3. *Polygala azizsancarii* üzerinde yapılan izolasyon çalışmaları iş akış şeması.....36

Şekil 4.1. *Polygala inexpectata*'dan elde edilen bileşiklere ait İTK ve kimyasal formülleri.....38

Şekil 4.2. Sukroz (α-D-glukopiranozil-(1→2)-β-D-fruktofuranozit)'in ^{13}C (a) ve ^{1}H-NMR (b) Spektrumları.....39

Şekil 4.3. 6,3'-disinapoil-sukroz (**Pi-2**)'un ^{1}H-NMR spektrumu (500 MHz, CD_3OD).....40

Şekil 4.4. 6,3'-disinapoil-sukroz (**Pi-2**)'un ^{13}C-NMR spektrumu (125 MHz, MeOD).....41

Şekil 4.5. 3'-*O*-trimetoksi-sinnamoil-sukroz (glomeratose A)'un (**Pi-11**) ^{1}H-NMR Spektrumu (500 MHz, CD_3OD).....41

Şekil 4.6. 3'-*O*-trimetoksi-sinnamoil-sukroz (glomeratose A)'un (**Pi-11**) ^{13}C-NMR Spektrumu (125 MHz, CD_3OD).....42

Şekil 4.7. 6,3'-disinapoil-sukroz (**Pi-2**)'nin ^{1}H- ve ^{13}C-NMR spektral değerleri.....42

Şekil 4.8. **Pi-2** için HMBC (^{1}H,^{13}C-heteronükleer uzak-mesafe) korelasyonları (H→C).....45

Şekil 4.9. 6-*O*-sinapoil-3'-*O*-trimetoksi-sinnamoil-sukroz (tenuifoliozit C) **Pi-3= Pi-5**'in ^{1}H- ve ^{13}C-NMR spektral değerleri.....46

Şekil 4.10. **Pi-3**'ün HMBC (^{1}H,^{13}C-heteronükleer uzak-mesafe) korelasyonları (H→C).....48

Şekil 4.11. 3'-*O*-(sinapoil)-sukroz (**Pi-10**)'un ^{1}H-NMR spektrumu (500 MHz; CD_3OD).....49

Şekil 4.12. 3'-*O*-(*O*-methyl-feruloil)-sukroz (**Pi-8**)'un ^{1}H-NMR Spektrumu (500 MHz; CD_3OD)49

Şekil 4.13. 3'-*O*-(feruloil)-sukroz (**Pi-15**)'un ^{1}H-NMR spektrumu (500 MHz; CD_3OD).....50

Şekil 4.14. 3'-*O*-(sinapoil)-sukroz (**Pi-10**) [3'-*O*-(sinapoyl)-sucrose]'un kimyasal yapısı.....50

Şekil 4.15. 3'-*O*-(*O*-methyl-feruloyl)-sucrose; 3'-*O*-(*O*-metil-feruloil)-sukroz (**Pi-8**)'in kimyasal yapısı.....52

Şekil 4.16. **Pi-11**: 3'-*O*-trimetoksi-sinnamoil-sukroz (glomeratoz A)=3'-*O*-trimethoxy-cinnamoyl-sucrose (glomeratose A)'nın kimyasal yapısı.....54

Şekil 4.17. 3'-*O*-trimetoksi-sinnamoil-sukroz **(**glomeratoz**)**'un HMBC spektrumu.....56

Şekil 4.18. **Pi-15**: 3'-*O*-feruloil-sukroz (sibirikoz A5=3'-*O*-feruloyl-sucrose (=sibiricose A5)'nın kimyasal yapısı.....57

Şekil 4.19. Sinapil alkol 4-*O*-glikozit (Syringin)'in COSY spektrumu.....60

Şekil 4.20. Sinapil alkol 4-*O*-glikozit (Syringin)'in HMBC spektrumunda gözlenen

^{1}H,^{13}C-uzak mesafe korelasyonları.....60

Şekil 4.21. **Pi-12**: Liriodendrin'in kimyasal yapısı.....61

Şekil 4.22. **Pi-13:** Ombuozit: Ombuin 3-*O*-rutinozit [7,4-di-*O*-metilkersetin-3-*O*-β-rutinozit]= Ombuin 3-*O*-rutinoside (ombuoside) [=7,4′-di-*O*-methylquercetin-3-*O*-β-rutinoside]'in kimyasal yapısı.....62

Şekil 4.23. *P. azizsancarii* taksonuna ait bileşiklerin kimyasal yapıları.....64

Şekil 4.24. **AZ-1**'in ^{1}H-NMR spektrumu.....66

Şekil 4.25. **AZ-2**'nin ^{1}H-NMR spektrumu.....66

Şekil 4.26. **AZ-2**'nin ^{13}C-NMR Spektrumu.....67

Şekil 4.27. **AZ-7 (**= **AZ-1)**'nin ^{1}H-NMR spektrumu.....67

Şekil 4.28. **AZ-7** için önemli HMBC ve NOESY korelasyonları (→ HMBC; ↔ NOESY).....72

Şekil 4.29. Sancaroside A: 3-0-*β*-D-glukopiranoziloksi-1,6-dihidroksi-2,5,7-trimetoksiksantonun yapısı (**AZ-7**).....73

Şekil 4.30. **AZ-7**'nin INADEQUATE spektrumu (^{13}C-^{13}C-korelasyonu).....74

Şekil 4.31. **AZ-2** için HMBC ve NOESY korelasyonları (→ HMBC; ↔ NOESY).....76

Şekil 4.32. Ana bileşik **AZ-1 (AZ-7)**'nin (A) ve ikincil bileşik **AZ-2**'nin (B) yer değiştirme elipsoid çizimleri.....78

Şekil 4.33. **AZ-1** ve **2**'nin karışık kristalinin moleküler paketlenmesi.....79

Şekil 4.34. Majör bileşik **AZ-3** (A) ve minör bileşik **AZ-11**'in (B) yer değiştirme elipsoid çizimleri……82

Şekil 4.35. **AZ-3** ve **AZ-11**'in karışım kristalinin moleküler paketlenmesi (Molecular packing)..82

Şekil 4.36. **AZ-12** için gözlemlenen HMBC ve NOESY korelasyonları → HMBC; ↔ NOESY)83

Şekil 4.37. **AZ-13-Majör** için gözlemlenen uzun menzilli korelasyonlar (HMBC).....85

Şekil 4.38. **AZ-13-Minör** için gözlemlenen uzun menzilli korelasyonlar (HMBC).....86

Şekil 4.39. 1,7-dihidroksi-3 metoksiksanton (**AZ-14**)'un HSQC spektrumu.....87

Şekil 4.40. 1,7-dihidroksi-2,3-metilendioksi-ksanton (**AZ-15**)'ın COSY spektrumu.....89

Şekil 4.41. 1,7-dihidroksi-2,3-metilendioksi-ksanton (**AZ-15**) için gözlemlenen HMBC korelasyonları.....89

Şekil 4.42. 6,3',4'-tri-*O*-sinapoyil-sukroz'un (**AZ-20**) kimyasal yapısı.....90

Şekil 4.43. 6,3,4-trisinapoyil-sukroz (**AZ-20**)'un ^{1}H-NMR Spektrumu (600 MHz, CD_3OD).....92

Şekil 4.44. 6,3,4-trisinapoyil-sukroz (**AZ-20**)'un ^{13}C-NMR Spektrumu (150 MHz, CD_3OD).....93

Şekil 4.45. 6,3,4-trisinapoyil-sukroz (**AZ-20**)'un HMBC Spektrumu.....94

Şekil 4.46. HMBC (^{1}H,^{13}C-heteronükleer uzak-mesafe) korelasyonları (H→C).....95

Şekil 4.47. *Polygala* taksonlarına ait ekstratların temel bileşen analizi (PCA) skor grafiği.....99

Şekil 4.48. *Polygala* taksonlarına ait ekstratların temel bileşen analizi (PCA) biplot grafiği.....99

Şekil 4.49. *Polygala* taksonlarına ait ekstratların üç boyutlu temel bileşen analizi (3D-PCA) skor grafiği.....100

Şekil 4.50. *Polygala* taksonlarının Silüet indeksi ile kümelendirilmesi.....102

Şekil 4.51. *Polygala* taksonlarının K-Ortamalar kümelemesine göre sınıflandırılması. (Isı haritası Mor renkten sarı renge doğru artış göstermektedir.).....103

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. *Polygala* türlerinden elde edilen ksantonlar.....11

Çizelge 2.2. *Polygala* türlerinden elde edilen saponinler.....14

Çizelge 2.3. *Polygala* türlerinden elde edilen oligosakaridler.....18

Çizelge 2.4. *Polygala* türlerinden elde edilen sakaroz esterleri.....20

Çizelge 2.5. *Polygala* türlerinden elde edilen flavonoitler.....21

Çizelge 3.1. Fitokimya çalışmasında kullanılan *Polygala* taksonlarına ait bilgiler.....23

Çizelge 3.2. Kromatografik çalışmalarda yararlanılan solvan sistemleri.....24

Çizelge 3.3. LC-qTOF-MS yönteminde kullanılan kromatografik koşullar.....30

Çizelge 3.4. LC-qTOF-MS analizinde kullanılan MS şartları.....31

Çizelge 4.1. 6,3'-disinapoil-sukroz (**Pi-2**)'nin ^{1}H- ve ^{13}C-NMR spektral değerleri.....43

Çizelge 4.2. 6-*O*-sinapoil-3'-*O*-trimetoksi-sinnamoil-sukroz (**Pi-3**)'un ^{1}H- ve ^{13}C-NMR spektral değerleri ve HMBC korelasyonları.....46

Çizelge 4.3. 3'-*O*-(sinapoil)-sukroz (**Pi-10**)'un ^{1}H- ve ^{13}C-NMR Spektral Değerleri ve HMBC Korelasyonları.....50

Çizelge 4.4. 3'-*O*-(*O*-metil-feruloil)-sukroz (**Pi-**8)'un ^{1}H- ve ^{13}C-NMR Spektral Değerleri ve HMBC korelasyonları.....52

Çizelge 4.5. 3'-*O*-trimetoksi-sinnamoil-sukroz (**Pi-11**)'un ^{1}H- ve ^{13}C-NMR Spektral Değerleri ve HMBC korelasyonları.....54

Çizelge 4.6. 3'-*O*-feruloil-sukroz (**Pi-15**, sibirikoz)'un ^{1}H- ve ^{13}C-NMR Spektral Değerleri ve HMBC korelasyonları.....57

Çizelge 4.7. Sinapil alkol 4-*O*-glukozit (Syringin)'in ^{1}H- ve ^{13}C-NMR Spektral Değerleri ve HMBC korelasyonları.....59

Çizelge 4.8. Liriodendrin (**Pi-10**)'in ^{1}H- ve ^{13}C-NMR Spektral Değerleri ve HMBC korelasyonları.....61

Çizelge 4.9. Ombuozit (**Pi-13**)'in ^{1}H- ve ^{13}C-NMR Değerleri (DMSO-d_6).....63

Çizelge 4.10. *P. azizsancarii* taksonuna ait bileşiklerin yapıları.....65

Çizelge 4.11. Ksantonların ^{1}H-NMR verileri (δ_H 500 MHz, DMSO-d_6)……67

Çizelge 4.12. Ksantonların ^{13}C-NMR verileri (δ_C 125 MHz, DMSO-d_6)……..……69

Çizelge 4.13. 6,3',4'-trisinapoil-sukroz (**AZ-20**)'un ^{1}H- ve ^{13}C-NMR Spektral Değerleri.....94

Çizelge 4.14. LC-qTOF-MS çalışmasında incelenen taksonların lokalite bilgisi.....96

Çizelge 4.15. İzole edilen bileşikler ve bazı *Polygala* taksonlarındaki durumu.....99

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

Kısaltmalar

^{13}C NMR	^{13}C-Nükleer Manyetik Rezonans
^{1}H NMR	^{1}H Nükleer Manyetik Rezonans
Ac	Asetil
ACN	Asetonitril
Api	Apioz
Ara	Arabinoz
Benz	Benzoll
CH_2Cl_2	Diklorometan
CH3CN	Asetonitril
CH_3OH	Metanol
$CHCl_3$	Kloroform
COSY	Correlation Spectroscopy
dd	Dublet
dDd	Dublet dublet
dDt	Dublet triblet
dH_2O	Distile Su
dk	Dakika
DMSO	Dimetil sülfoksit
DMSO-d_6	Dötero dimetil sülfoksit
E	trans

EDT	Eski Dünya Taksonları
EtOAc	Etil asetat
Fuk	Fukoz
g	Gram
Gal	Galaktoz
gGd	Geniş dublet
Glu	Glukoz
Glur	Glukuronik asit
Glut	Glutaril
gs	Geniş singlet
H_2SO_4	Sülfürik asit
HAC	Asetik asit
HMQC	Heteronuclear Multiple Quantum Coherence
HPLC	Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence
Hz	Hertz
İTK	İnce Tabaka Kromatografisi
KK	Kolon Kromatografisi
KPS	Potasyum persülfat
Ksi	Ksiloz
LC-qTOF-MS	Liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry (Sıvı Kromatografisi-Uçuş Zamanlı Kütle Spektrometresi)
mg	Miligram
MHz	Megahertz
n-BuOH	*n*-Butanol

NMR	Nükleer Manyetik Rezonans
NOESY	Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy
OBSK	Orta Basınçlı Sıvı Kromatografisi
PCA	Principal component analysis (Temel Bileşenler Analizi)
P-İTK	Preparatif İnce Tabaka Kromatografisi
q	Kuartet
Ram	Ramnoz
RP	Reverse Phase (Ters Faz)
s	Singlet
t	Triplet
UV	Ultraviyole
VSK	Vakumlu Sıvı Kromatografisi
YDT	Yeni Dünya Taksonları
Z	cis

1. GİRİŞ

Polygalaceae, 29 cinse ve yaklaşık 1200 türe sahip bir familyadır [1]. Çoğunlukla otsu, çalımsı, ağaç ve sarılıcı formlarda bulunurlar [2, 3]. Türkiye'de doğal olarak yetişen türlerin tamamı otsu biçimli bitkilerdir. *Polygala* L. cinsi 700'den fazla tür ile Yeni Zelanda ve Arktik bölgeleri dışında yeryüzünün hemen her yerinde geniş bir yayılışa sahiptir [4-7].

Türkiye florasında *Polygalaceae* familyası sadece *Polygala* cinsi ile temsil edilmektedir [30, 31]. Tür sayısı bakımından dünya ölçeğine göre az miktarda tür olmasına rağmen endemik, yeni keşfedilmiş ve yayınlanma aşamasında olan türler de dikkate alındığında bu cins için küçük ama önemli bir çeşitlenme merkezi olduğu söylenebilir. Türkiye Florasında 12 tür ile temsil edilen cinsin [8], daha sonra yapılan yeni kayıt ve keşifler ile tür sayısı artmıştır. Flora ek birinci cildinde üç yeni taksonun eklenmesi ile sayı 15'e [2], son yıllarda yapılan araştırmalar sayesinde keşfi yapılan yeni türlerde eklenerek, biri kültür bitkisi, 18'i doğal yetişen olmak üzere takson sayısı 19'a yükselmiştir [32, 33]. Özellikle beş türün endemik olması, endemizm oranını yükseltmekte, dolayısıyla cinsi taksonomik bakımdan daha önemli kılmaktadır.

Polygala türlerinin gösterdikleri çeşitli etkiler sebebi ile uzun yıllardır başta Çin tıbbında olamak üzere dünya genelinde etnobotanik kullanımı çok yaygındır [9-12]. *Polygala* Radix (PR) Çin dilinde "Yuanzhi" olarak yalaşık 2000 yıldan fazladır ilaç olarak kullanılmaktadır. Çin Farmakopesinde 1963 yılında resmi olarak yer almıştır. Halk arasında "Onji" olarak da anılır. PR, Çin tıbbında 870'den fazla reçete içinde yer almaktadır [13].

Özellikle *P. tenuifolia* Willd. *ve P. senega* L. birçok farmakope ve monograflarda yer alan önemli iki türüdür. Türkiye'de bu cinsin fitokimyası bakımından az sayıda çalışma vardır. Etnobotanik özelliği bakımından sınırlı miktarda çalışma vardır [14-16], ancak halk tarafından çok bilinen, tanınan ve kullanılan bir bitki olmadığı, bu tezi de kapsayan revizyon çalışması sırasında tespit edilmiştir.

Etnobotanik alanındaki katkılarının sebebi olan ikincil metabolitler yönünden çok zengin bir içeriğe sahip olan *Polygala* türleri üzerinde özellikle yurt dışında çok sayda fitokimyasal çalışma yapılmıştır. Gelişen teknoloji ile yapılan çalışmalar neticesinde 140'dan fazla bileşik izole edilerek literatüre kazandırılmıştır. Bu fitokimyasal çalışmalar çoğunlukla *Polygala* taksonlarının kökü üzerinde gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmalar ile elde edilen madde grupları başta ksantonlar, saponinler ve oligosakkaritler olmak üzere; flavonoidler, organik asitler, lignanlar, reçineler, polisakkaritler ve diğer bileşikler olarak belirtilebilir [17-23].

Polygala Radix üzerinde yapılan farmakolojik aktivite araştırmalarında başta sinir sistemi, demans ve alzheimer üzerine iyleştirici etkisi olmak üzere, kardiyovasküler sistem, antiviral, antitümör [24], antioksidan [25] ve anti inflamatuar gibi etkilerde göstermektedir [26-31].

Fitokimya, canlılardaki kimyasal (birincil ve ikincil metabolitler) içerikleri inceleyen ve ortaya koyan bir bilim dalıdır. Fitokimyasal çalışmalar neticesinde üzerinde çalışılan bitkilerin kimyasal yapısı daha bilinir hale gelmektedir. Bu çalışmalar ile elde edilen ikincil bileşiklerin çeşitli bitki taksonlarında bulunuşları ve miktarları, aynı zamanda taksonlar arasındaki kimyasal yapı bakımından da farklılaşmaya işaret eder. Analitik yöntemler kullanılarak elde edilen bu kimyasal bileşikler bitki sistematiğinde taksonomik karakter olarak belli bir değere sahiptir. Bu sayede oluşan kemotaksonomi bilimi bitki kimyası ve sistematiğin bir arada çalışması ile ortaya çıkan bir alandır [32-34].

Polygala cinsinin kimyasal yapısının önemine istinaden ve devam etmekte olan proje kapsamında, Türkiye'deki bazı türlerinin de kemotaksonomik açıdan araştırlması amacıyla, aşağıdaki hedefler bu tez çalışması için belirlenmiştir;

1- Türkiye'de doğal olarak yetişen bazı *Polygala* taksonlarına ait örneklerden ekstraksiyon, izolasyon ve saflaştırma çalışmaları ile kimyasal içeriklerini ortaya koymak.
2- Fitokimya çalışması için yeterli miktarda kuru bitki örneği bulunmayan türler için ise ekstreler hazırlanarak LC-qTOF-MS cihazında tarama yöntemi ile kimyasal içeriklerini ortaya koymak,
3- Bu tez kapsamında çalışılan taksonlarda belirlenen kimyasal bileşikler ile diğer taksonlarda tarama ile elde edilen bileşikleri birlikte değerlendirip, cinsin Türkiye taksonlarını kemotaksonomik yaklaşımla araştırmak hedeflenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Botanik Bilgiler

2.1.1. *Polygalaceae* Familyası

Polygalaceae familyası, 29 cins ve 1200 türden oluşmaktadır [1]. Genellikle otsu, çalımsı, ağaç ve sarılıcı formlarda olabilirler [2]. Yeni Zelanda, Arktik zonlar ve Antartika dışında dünyada geniş bir yayılış alanına sahiptir [35]. *Polygalaceae* familyası ilk kez 1089'da Johan Hoffmannsegg ve Johan Link tarafından tanımlanmıştır. Familya üzerinde yapılan çalışmalar ile *Polygaleae, Moutabeae* ve *Xanthophylleae* olmak üzere üç farklı tribusa ayrılmıştır [36]. Eriksen'in yaptığı çalışmalar ile *Carpolobieae* tribusu da eklenerek sayı dörde yükselmiştir [37]. Moleküler destekli çalışmalar yapılmadan önce *Polygalaceae* familyası kelebek şelinde ve zigomorfik çiçekleri sebebiyle *Fabaceae* familyası ile yakınlık içinde idi. Zamanla bu familya *Polygalales* veya *Malpighiales* takımı altında *Krameriaceae, Malpighiacea, Trigoniaceae, Vochysiaceae* ve *Tremandraceae* familyalarınında dahil olduğu şekilde sınıflandırılmıştır [4, 38-40]. Farklı araraştırmacıların plastid DNA ile yaptıkları araştırmalar sonucunda; *Polygalaceae*'nin *Malphigiales* takımına yerleşimi reddedilmiştir [41-45]. Malpighiales takımı yerine *Fabaceae, Surianaceae* ve *Quillajaceae* familyaları ile yakın bir ilişkisi olabileceği önerilmiştir [46-48]. Moleküler çalışmalar neticesinde *Polygalaceae* Angiosperm Phylogeny Group (APG) I sisteminde *Fabales* takımının altına alınmıştır [49]. Moleküler bitki sistematiği alanındaki gelişmeler sayesinde pek çok familyada olduğu gibi *Polygalaceae* içinde taksonomik karmaşıklığı bulunan ve kesin olmayan taksonları moleküler filogenetik analizlere dayalı olarak değişik araştırcılar tarafından çalışılarak daha güvenilir soy ilişkişi kurulmaya çalışılmıştır [49-51]. Bu familya günümüzde APG IV sistemine göre *Fabaceae, Surianaceae* ve *Quillajaceae* ile birlikte *Fabales* takımının altında bulunan, *Fabaceae*'den sonraki ikinci büyük familyadır [52]. *Polygalaceae* familyasının filocoğrafik tarihine baktığımızda, Forest ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada *Polygalaceae* ile kardeş taksonu *Surianaceae* arasında bulunan evrimsel ayrılmanın yaklaşık 66.9 milyon yıl önce Üst Kretase döneminde meydana geldiği öne sürülmüştür [53].

2.1.2. *Polygala*'nın Genel Özellikleri ve Taksonomisi

Polygala L., genellikle tek veya çok yıllık, otlar ve çalılardan oluşur, bir kaç türü ağaç formundadır (Şekil 2.1.). Yapraklar tam veya kenarda çok az parçalı, stipülsüz ve spiral olarak dizilmiştir. Çiçekler, zigomorf, brakteli ve iki brakteol ile; terminal veya aksiller rasemoz durumunda, hipogindir. Kaliks kalıcı, çanak yapraklar 5, serbest (korisepal), "kanat" olarak adlandırılan iç iki sepal büyük ve petaloid ve dış 3 sepal daha küçük ve genellikle yeşildir. Petallerin 3 tanesi, alt kısımda birleşik, korolla tüpü olarak adlandırılır. Üst kısımlar serbesttir ve genellikle "püsküllü tarak" görüntüsünde 2 yaprak birbirine kaynaşmıştır. Erkek organ (androkeum) tabanda staminal tüp oluşturacak şekilde kısmen veya tamamen kaynaşmıştır. Erkek organ 6-8 stamenden oluşur. Stamenlerin biri serbest, diğerleri grup halinde birleşik bulunur. Staminal tüp, filamentlerin birbiriyle tamamen birleşmemesi nedeniyle ön tarafta yarık oluşturur (Şekil 2.2.) [54, 55].

Şekil 2.1. *Polygala* cinsinin genel görüntüsü (*P. azizsancarii*) (Fotoğraf: Ali A. Dönmez).

Şekil 2.2. *Polygala* çiçek görüntüsü A *P. papilionacea* ve B *P. venulosa* (Fotoğraf: Ali A. Dönmez).

Polygala, *Polygalaceae* familyasının en büyük cinsidir. Yaklaşık 750 tür içermekte ve [4, 5, 56] dünya ölçeğinde çeşitliliğinin ana merkezi, Orta ve Güney Amerika ve Güney Afrika olduğu bilinmektedir [4, 56]. *Polygala* ilk olarak Linneaus tarafından 22 tür kabul edilerek yayınlanmıştır [57]. Yapılan morfolojik çalışmaların yanı sıra taksonomik çalışmalar ile cins içinde yeni yaklaşımlar ortaya konmuştur. İlk olarak Candolle 1824'de *Polygala'*yı sekiz ayrı seksiyona ayırmıştır [35]. Sonrasında Robert Chodat 1891 yılında yaptığı kapsamlı taksonomik araştırma sonucunda *Polygala*'yı on iki alt sekiyona ayırmıştır [36].

Filogenetik çalışmalar sonucunda Abbott tarafından *Polygala* iki ayrı soya ayrılmıştır; Yeni Dünya Taksonları ve Eski Dünya Taksonları. YDT Kuzey ve Güney Amerika'da,

EDT ise Afrika Asya Avrupa ve Avusturalya'da dağılımı olan taksonlar olarak bilinir [7]. Flora Orientalis'de *P. alpestris, P. monspeliaca, P. comosa* gibi türlerin ülkemizde yayılış gösterdiği belirtilmiştir [58]. Ayrıca Avrupa Florasında bulunan 33 *Polygala* türünden 7 tanesi Türkiye'de yayılış göstermektedir [59].

Türkiye Florası'nda *Polygalaceae* familyası sadece *Polygala* cinsi ile temsil edilmektedir [60-63]. Cullen yaptığı kapsamlı bir araştırma Türkiye'de *Polygala* cinsinin doğal yayılış gösterdiğini ortaya koymuştur. Ayrıca Cullen, Flora'da 12 taksonun varlığını belirlemiştir. [64]. Türkiye Florası birinci ek cildine 3 yeni takson daha eklenerek bu rakam 15'e [65], yayınlanan yeni kayıtlarla güncel takson sayısı 19'a yükselmiştir [61-63]. *P. myrtifolia* süs bitkisi olarak Akdeniz ve Ege bölgesinde seyrek olarak yetiştirilmektedir.

2.1.3. *Polygala* Türlerinin Etnobotanik Kullanılışı

Polygala dünya ölçeğinde geniş yayılış alanına sahip olması nedeniyle, Türkiye'de ve dünyanın farklı bölgelerinde halk tıbbında kullanılmaktadır. Geleneksel tıbbi bitki olarak *Polygala Radix* (PR), biyolojik ve farmakolojik aktiviteleri nedeniyle Çin'de uzun bir geçmişe sahiptir. Geleneksel Çin tıbbı (Traditional Chinese Medicine; TCM) monografisi olan Materia Medica'nın hafıza üzerindeki iyleştirici etkisi başta olmak üzere bir çok alanda gelişimi teşvik edebilen etkili bir bitkisel ilaç olarak kaydedilmiştir [66].

Polygala türlerinin özellikle kök kısımlarının geleneksel Çin Tıbbında kullanımı çok yaygındır. *P. senega* ve *P. tenuifolia* türleri birçok Farmakope ve monograflarda yer almaktadır. Resmi olarak ilk kez Çin Farmakopesinde (2015) listelenmiştir. Sonrasında, Alman Farmakopesi (DAB), Avrupa Farmakopesi (Ph. Eur.), Avusturya Farmakopesi (ÖAB), Hindistan Ayurvedik Farmakope, İngiliz Bitki Farmakopesi, İsviçre Farmakopesi (Ph. Helv.), Japon Farmakopesi ve ESCOP, Komisyon E ve WHO Monograflarında bulunmaktadır.

Tayland'ta *P. arillata* bitkisinin kök, dal ve dal kabukları suda kaynatılıp içilmek suretiyle ishal tedavisinde [9], Kuzey Amerika'da *Polygala caudata* Rehd. et Wils. kökleri öksürük ve bronşit tedavisinde [18], *P. sibirica* L., tonik, sedative ve balgam sökücü olarak [11], *P. hongkongensis* Hemsl. Çin'in güneyinde kan akışını düzenleyen ve öksürük giderici olarak [10], *P. japonica* halk tıbbında balgam sökücü, antienflamatuar ve antibakteriyel ajan olarak [67], Orta ve Batı Amerika'da *P. rosmarinifolia* Wright & Arn, yılan sokmalarına,

öksürük, bronşit gibi hastalıklarda balgam sökücü olarak [68], *P. sabulosa* A.W. Bennett, bağırsak, böbrek rahatsızlığı ve balgam sökücü olarak [69], ayrıca *P. sabulosa* Brezilya'da topical anastezi için [12], *P. japonica*, Vietnam'da bronşit ve amnezi tedavisinde, anafrodizyak olarak ve böbrek rahatsızlıklarında iyleştirici olarak [70], *P. cyparissias* bağırsak ve böbrek rahatsızlıkları [71], ile anastezik olarak [72], Brezilya'nın Atlantik kıyılarında doğal olarak yetişen *P. cyparissias* St. Hillaire & Moquin yaşlanmaya karşı [73], *P. tenuifolia* balgam sökücü ve tonik olarak [74], *P. glomerata* Lour Çin'de bademcik iltihabında, farenjit, akciğer tüberkülozu ve boğmaca tedavisinde [75], Afrika'da *P. arenaria* Willd. bitkisinin tüm kısımları çiçek hastalığında [76], *Polyga Radix*, geleneksel Çin tıbbında binlerce yıldır balgam söktürücü, tonik, yatıştırıcı olarak ve demansı önlemek için [77, 78], *P. tenuifolia* Çin tıbbında astımı tedavisinde, balgam söktürücü, uyarıcı, kronik bronşit ve boğmacada [79], geleneksel Doğu tıbbında, *P. tenuifolia*'nın kökü (Korece adı: Wonji, Çince'de Yuanzhi ve Japonca'da Onji) Kore'de binlerce yıldır enflamatuar hastalıklarının tedavisinde [80], *P. aureocauda* Dunn., Vietnam geleneksel tıbbında hepatit, nefrit, sonasteni, anemi, sırt ağrısı ve diz yorgunluğunun tedavisinde [81], *P. decumbens*'in kökleri Blennorrheas gibi cinsel yolla bulaşan hastalıkların tedavisinde, idrar sökücü olarak [82] kullanılmaktadır.

Türkiye'de ise Uşak ve etrafında *Polygala* türleri balgam söktürücü, göğüs rahatlatıcı, anne sütü arttırıcı, idrar dökücü ve terletici olarak tüketilmektedir [16]. *P. pruinosa* subsp. *pruinosa* kökleri, Elazığ ve çevresinde balgam söktürücü, göğüs yumuşatıcı, terletici, süt artırıcı ve kuvvet verici olarak kullanılmaktadır [15]. Afyon, Denizli, Muğla Kütahya ve Aydın'da *P. anatolica* Boiss. Et Heldr. bitkisine ait toprak üstü kısımların dekoksiyonu halinde iltihap dindirici olarak kullanıldığı bilinmektedir [14].

Başka bir çalışmada *P. anatolica* bitkisinin toprak üstü ve kök kısımlarından hazırlanan etanollü ekstre ile in vivo modelleme ile bitkinin antienflamatuvar ve analjezik aktivitesi değerlendirilmiş, biyolojik aktiviteyle yönlendirilen fraksiyonlama (BAYF) yöntemleri neticesinde aktif bileşik veya bileşiklerin bulunması hedeflenmiştir. Toprak üstü kısımlardan elde edilen etanollü ekstre ve bu ekstreden elde edilen flavonoit ve saponozit fraksiyonlarının yapılan anti enflamatuvar aktivite deneylerinde etkili olduğu ortaya konmuştur [83].

2.2. Bitki Taksonomisinde Kimyasal Verilerin Önemi

Bitki taksonomisi, insanoğlunun varoluşundan itibaren uygulanmaya başlanan en eski bilim dallarından biri olarak bilinmektedir. Canlılar etrafında bulunan bitkileri benzerlik ve farklılıkları ile sıralamaya, kategorilere ayırmaya, tat, koku ve renk gibi duyulara dayalı ayırımlar yapmaya yüzyıllar öncesinden başlamışlardır [32, 84]. Farklı ülkeler, belirli bir bitkiye farklı dillerde farklı isimler vermektedirler. Bununla birlikte bitkilerde adlandırma ile ilgili oluşan belirsizlik ve yanlışları gidermek için profesyonel botanikçiler (taksonomistler), uluslararası iletişimi doğru ve net kurabilmek için, bitkilerin tanımlanması, sınıflandırılması ve adlandırılması için belirli kural ve ilkelerin izlendiği yasal düzenleme yapılmıştır [32, 85]. Bitki sınıflandırılmasında fitokimyanın kullanımı Dioskorides'in Materia Medica'sına (yaklaşık MÖ 300) kadar uzanır. Abbott (1886) fitokimyanın sistematik alanında kullanımını en ciddi ve en eski yaklaşımı bitkilerde saponinlerin dağılımını inceleyerek kimyasal içerikleri açısından genel fikirler sunarak ortaya koymuştur.

A. P. de Candolle (1816), ilk kez endüstriyel ve tıbbi bitkiler için yapılan çalışmaların insanlar için çok yararlı rehber olacağını ve bitkilerin kimyasal özelliklerinin gelecekte bitki taksonomisi için değerli olacağını belirterek kemotaksonomi terimini kullanmıştır [86].

Zaman içerisinde kimyasal bileşiklerin bitki sistematiğinde kullanımı da gelişip değişerek, Stace (1980), bitki sistematiğini de içine alan yeni bir yaklaşım ortaya koymuştur [87]. Kemotaksonomi; organizmalara ait kimyasal bileşenlerdeki varyasyonların incelenmesi, tanımlanması, sebeplerinin araştırılması ve bu varyasyonların sonuçları ile sınıflandırma yapmak için elde edilen verilerin değerlendirildiği sistem olarak tanımlanır [32, 34]. Fitokimyasal veriler bitki sınıflandırılmasında tüm taksonomik kategorilerde kullanılabilmektedir [88]. McNair'in (1934, 1935 ve 1945) Angiospermlerdeki alkaloit, uçucu yağlar ile sabit yağların dağılımı, taksonomik değeri ve ekolojik rolleri alanında yazdığı makaleler bu alandaki başlangış için önemli çalışmalar olmuştur [89-91].

Kemotaksonominin kurulmasında en önemli teknik gelişme kağıt kromatografisidir. Bu işlem sayesinde çoklu örneklerde spesifik metabolitlerin varlığı ve yokluğu karşılaştırmaya başlanmıştır [92, 93]. Ayrıca kağıt kromatografisinin keşfi ile belli bitki grupları üzerinde çalışmalar yapılarak bazı yaygın fenolik bileşiklerin dağılımı ayrıntılı olarak incelenmiştir [94, 95]. Çalışmaların devamında 1963 yılında "Biochemical Systematics" adlı kitabın

yayınlanması bu alanda önemli bir aşama olmuştur [96]. Daha sonra 1970 ve 1980'lerde geliştirilen kolon kromatografi yöntemi, fitokimya ve kemotaksonominin ilerlemesinde önemli katkı sağlayarak bu alan hızla gelişmeye devam etmiştir. Hegnauer 1962-90 ve 1992-2001 yılları içinde benzer taksonlar için ve bazı taksonlar arasında metabolitlerin oluşumu ve dağılımına ilişkin yaptığı çalışmalarını, "Chemotaxonomie der Pflanzen" adlı seri ile yazmaya başlamıştır [97-99].

Bitki taksonomistleri, çeşitli çalışma alanlarından yararlanarak taksonların sınırlandırılmasını ve ilaç hammaddesi olan bitkilerin doğru tanımlanmasını sağlamak için morfoloji, anatomi, palinoloji, sitoloji, moleküler filogeni ve fitokimya dahil pek çok bilimsel dallarının verilerini kullanmaktadırlar [100, 101]. Son yıllarda yeni kimyasal ajanların biyolojik olarak araştırılması ve ilaç keşfi alanında ortaya çıkan gelişmeler neticesinde kemotaksonomi büyük ölçüde ön plana çıkmıştır [32].

Bitkilerde çok çeşitli kimyasal bileşikler bulunmaktadır ve her birinin sentezlendiği metabolik yollar farklıdır [102, 103]. Taksonomik olarak öneme sahip fitokimyasallar doğrudan görülebilen parçacıklar, mikromoleküller ve makromoleküller olmak üzere üç sınıfa ayrılırmaktadır [32]. Bunlardan en çok kullanılanları mikromoleküllere dahil olan, ikincil metabolitlerdir. İkincil metabolitler her zaman her koşulda bitkide yer almazlar, stres altında veya büyümenin herhangi bir evresinde bitkide üretilirler. Çevresel tehtitlere, yırtıcılara karşı toksik ürün olarak veya diğer türleri çekmek, uyarmak için renkli maddeler olarak üretilebilirler [34, 97, 104-107]. Geçmişte bitki büyümesi ve gelişmesi için gerekli görülmeyen 'atık ürünler' olarak kabul edilirlerdi. Yapılan pek çok çalışmada ortaya konmuştur ki ikincil metaboliterin çoğu, diğer organizmalar üzerinde etkili olan farmakolojik olarak aktif doğal kaynaklardır. İlaç olarak kullanım potansiyeli olan bu biyoaktif moleküller (metabolit) günümüzde ilaçların %40'ından fazlasını oluşturmaktadır [108]. İkincil metabolitler bitkilerde, bitki büyümesinin belli aşamalarında özelleşmiş hücreler tarafından çok az miktarlarda üretilmektedir. Bu sebeple bu metabolitlerin hem ekstraksiyon hem de izolasyon işlemleri zordur [108].

İkincil metabolitler, biyosentez yolaklarına göre sınıflandırılabilir; a) Asetat yolağı (C_2): Yağ asitleri ve poliketitler, b) Şikimat (şikimik asit) yolağı (C_6C_3): Aromatik amino asitler ve fenilpropanoitler, c) Mevalonat ve deoksiselüloz fosfat yolağı (C_5H_8): Terpenoitler ve steroitler (izoprenoitler). Bu üç temel grup dışında, amino asitler de doğal bileşiklerin biyosentezlerine katılırlar. Peptitler, proteinler, alkaloitler ve birçok antibiyotik amino

asitlerden sentezlenir. Doğal bileşikler, bu yapı taşlarının birinden türemiş yapılar olabildiği gibi (terpenler, lignanlar), bunların kombinasyonlarından sentezlenen hibrit yapılar şeklinde de olabilir (flavonoitler). Bu yapılar, üzerlerinde bulunan hidroksil (OH; alkolik veya aromatik), metil (CH), tiyol (SH) veya amino (NH_2) gibi fonksiyonel grupları ile, glukoz, galaktoz, arabinoz, ksiloz, ramnoz, fukoz ve diğer ozlar (basit şeker = monosakkarit)'ın yarı asetal hidroksilleri (anomerik OH) arasında bir molekül su (H_2O) çıkışı ile bağlanarak, glikozit (= heterozit) halinde de bulunabilirler [106, 109]. Günümüzde ilaç ham maddesi olarak yüksek potansiyelli biyoaktif kimyasalların keşfi için doğru doğal kaynak şeçimi ile başlayan süreç izolasyon ve karakterizasyon işlemlerinin seçimi ile devam etmektedir.

Son yıllarda gelişen teknoloji ile molekülleri saptamak ve karakterize etmek kolaylaşmıştır. Kimyalların yapı öncelikli taramaları Gaz Kromatografisi (GC), akış hızının basınçla sağlandığı; düşük (LPLC=DBSK), orta (MPLC=OBSK) veya yüksek (HPLC=YPSK) ve hatta ultra-yüksek basınçlı sıvı kromatografileri (UPLC=UHPLC=UYPSK) ve Sıvı Sıvı Kromtografisi (LC) kullanılmakatadır [110]. Kromatografik yöntemlere ek olara spekroskobik (UV, NMR, MS) yöntemler veya her iki yöntemin birlikte kullanıldığı (LC-NMR, LC-MS) kombine teknikler geliştirilmiştir. Bu yöntemlerin avantajlı tarafları madde kaybının yok denecek kadar az olmasıdır. Tanımlama yöntemlerinde, ön analiz için İnce Tabaka Kromatografisi (İTK) oldukça kullanılmaktadır. Bu yöntemler ile kimyasallar elde edilse de hedef molekülün kimyasal yapısının aydınlatılması gerekmektedir. Yapı tayinlerinde Kimyasal (Asetilleme ve Total metilleme) ve Spektral (UV (Ultraviyole), IR (Kızılötesi=Infrared), NMR (Nükleer Manyetik Rezonans), Kütle Spektrometresi (MS)) yöntemler kullanılmaktadır. Bu spektroskopik yöntemlerin 1D-NMR (^{1}H NMR, ^{13}C NMR, DEPT-135), 2D-NMR (NOESY, HMBC, HSQC, COSY) ve HRMS gelişmesi, fonksiyonel grupların, kimyasal iskeletin, karbon ve hidrojen grupların sayısı gibi moleküllerin steriokimyasal olarak yapısını tanımlamaya yardımcı yöntemlerdir [111].

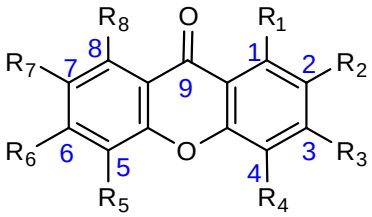
2.2.1. *Polygala* Türleri Üzerine Uygulanan Bazı Fitokimyasal Araştırmalar

Polygala türleri; ksantonlar, saponinler, flavonoitler, sakaroz (= sukroz) esterleri, kumarinler, lignanlar, oligosakkarit esterleri, polisakkaritler, steroitler, alkaloitler, organik asitler, uçucu yağlar, fenilpropanoidler ve diğer bileşikler olarak çok geniş bir kimyasal

çeşitliliğe sahiptir. Bu kısımda, *Polygala* türleri üzerinde yapılan bazı fitokimyasal araştırmalar sonucunda elde edilen; özellikle ksanton, saponin, flavonoit ve sakaroz esterleri gibi cins içerisinde yaygın bulunan kimyasallar; yayınlandıkları kaynaklar eklenerek ana başlıklar altında toplanmış ve kimyasal yapılarına göre düzenlenerek verilmiştir.

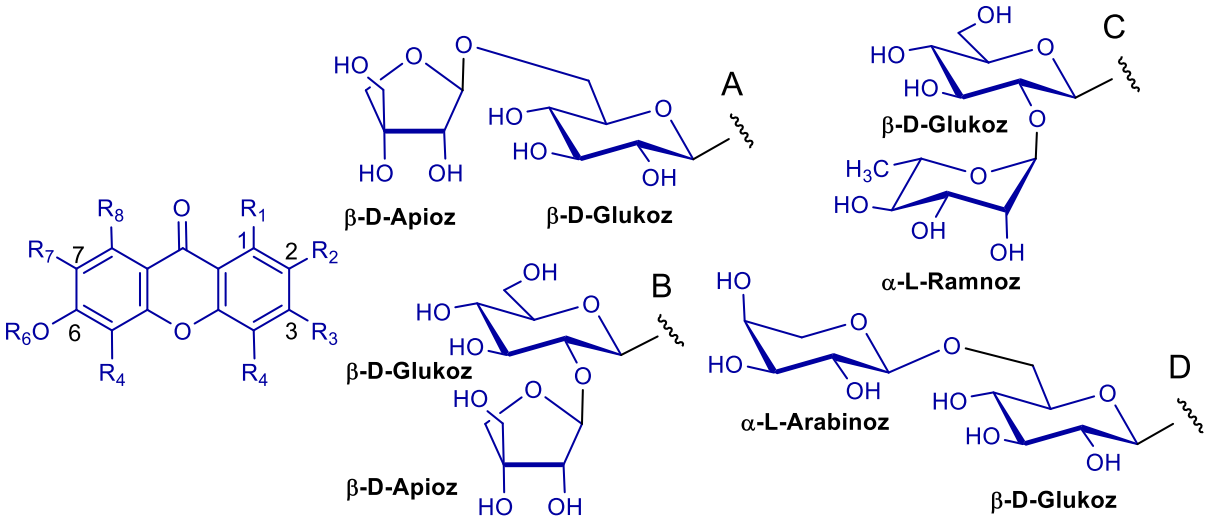
Kimyasallara ait çizelgeler yapılırken aynı iskelet yapısına sahip olan bileşikler için ortak bir iskelet üzerinden, ortak ana iskelete sahip olmayan bileşiklerin yapıları ayrı ayrı verilmiştir. Bileşiklerde bulunan oz grupları; ksi (ksiloz), fuk (fukoz), glu (glukoz), ram (ramnoz), glut (glutaril), prim (primveroz), ara (arabinoz), api (apioz) ve ac (asetil) şeklinde kısaltılarak kullanılmıştır. Farmakognozi alanında sık rastlanılan kumarik asit, benzoik asit, sinapik asit gb. sübstitüentler ve diğer sübstitüentlerde belirtilmiştir.

Çizelge 2.1. *Polygala* türlerinden elde edilen ksantonlar.



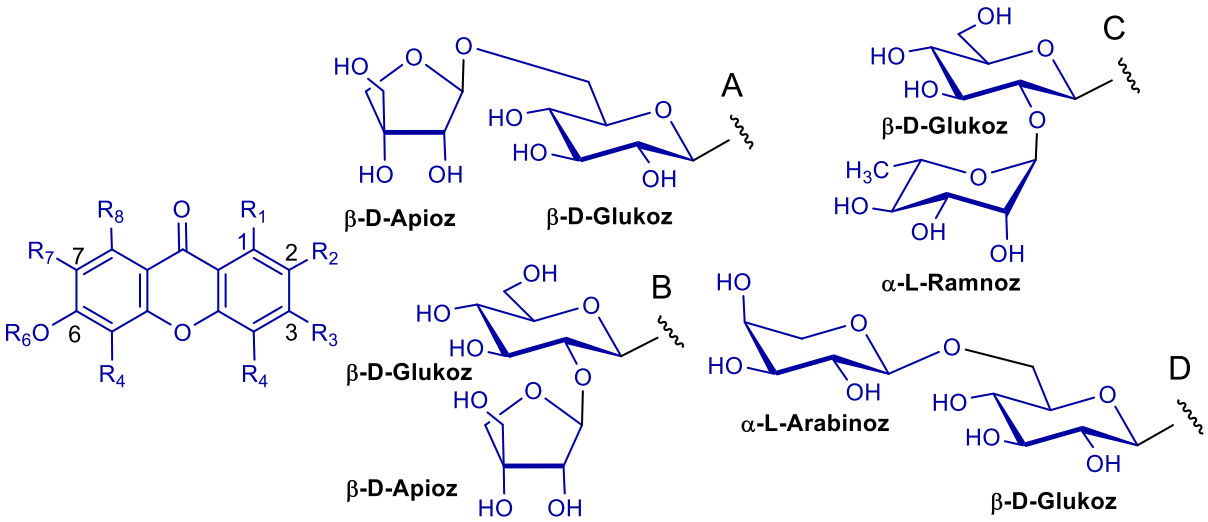
Bileşik Adı	**R_1**	**R_2**	**R_3**	**R_4**	**R_5**	**R_6**	**R_7**	**R_8**	Kaynak
7-hidroksi-1,2,3-trimetoksiksanton (Onjiksanton I)	OMe	OMe	OMe	H	H	H	OH	H	[112]
1,3,5-trihidroksi-2,7-dimetoksiksanton (Onjiksanton II)	OH	OMe	OH	H	H	OH	OMe	H	[112]
1,6-dihidroksi-3,7-dimetoksiksanton	OH	H	OMe	H	H	OH	OMe	H	[112]
1,6-dihidroksi-3,5,7-trimetoksiksanton	OH	H	OMe	H	H	H	OH	H	[112]
1,5-dihidroksi-3,5,6-trimetoksiksanton	OH	H	OMe	H	OMe	OH	OMe	H	[112]
1-hidroksi-3,6,7-trimetoksiksanton	OH	H	OMe	H	H	OMe	OMe	H	[112]
1,2,3,7-tetrametoksiksanton	OMe	OMe	OMe	H	H	H	OMe	H	[112]
1,2,3,6,7-pentametoksiksanton	OMe	OMe	OMe	H	H	OMe	OMe	H	[112]
5-hidroksi-1,2,3,6-tetrametoksiksanton	OMe	OMe	OMe	H	H	OH	OMe	H	[112]
1,7-dihidroksiksanton	OH	H	H	H	H	H	OH	H	[112]
1,7-dimetoksiksanton	OMe	H	H	H	H	H	OMe	H	[112]
1,7-dihidroksi-2,3-	OH	OMe	OMe	H	H	H	OH	H	[112]

dimetoksiksanton									
3-hidroksi-2,8-dimetoksiksanton	H	OMe	OH	H	H	H	H	OMe	[113]
7- hidroksi-1,2,3-trimetoksiksantone	OMe	OMe	OMe	H	H	H	OH	H	[113]
3- hidroksi-1,2,7-trimetoksiksanton	OMe	OMe	OH	H	H	H	OMe	H	[113]
1,7-dimethoxy-2,3-metilenedioksiksanton	OMe	-O-CH_2-O-		H	H	H	OMe	H	[113]
6,8- hidroksi-1,2,4_trimetoksiksanton	OMe	OMe	H	H	OMe	OH	H	OH	[113]
6,8- hidroksi-1,2,3-trimetoksiksanton	OMe	OMe	OMe	H	H	OH	H	OH	[113]
1-hidroksi-3,7-dimetoksiksanton	OH	H	OMe	H	H	H	OMe	H	[113]
2,3,8-trimetoksiksanton	H	OMe	OMe	H	H	H	H	OMe	[113]
1,7-dihidroksi-2,3-dimetoksiksanton	OH	OMe	OMe	H	H	H	OH	H	[113]
1,2,6,7-tetrametoksiksanton	OMe	OMe	H	H	H	OMe	OMe	H	[113]

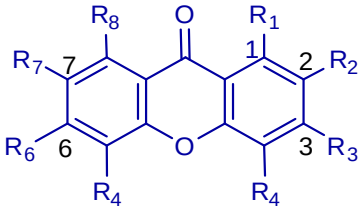


Bileşik Adı	R_2	R_4	R_6	R_7	Kaynak
Sibirikaksanton A (Sibiricaxanthone A)	A	H	H	OH	[20]
Sibirikaksanton B (Sibiricaxanthone B)	B	H	H	OH	[20]
Lanserin (Lancerin)	H	Glu	H	OH	[20]

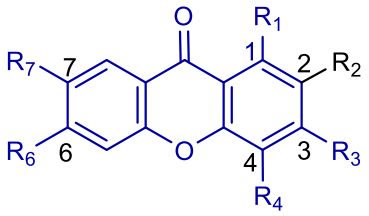
Polygala O-ksantonlar

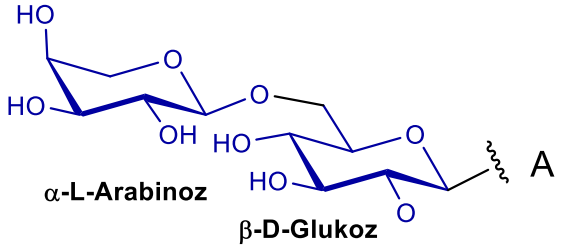


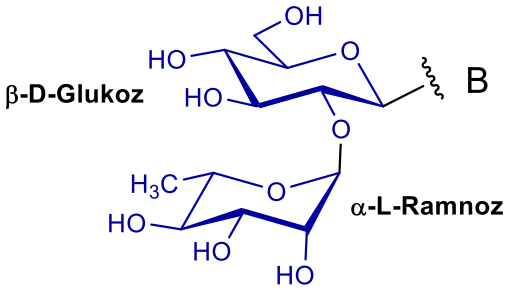
Polygala tenuifolia	R_1	R_2	R_3	R_4	R_5	R_6	R_7	R_8	Kaynak
Poligalaksanton III	OH	**A**	OH	H	H	OH	OMe	H	[114]
Poligalaksanton IV	OH	H	OMe	H	H	*O*-**B**	OMe	H	[114]
Poligalaksanton V	OH	H	OH	H	H	*O*-**B**	OMe	H	[114]
Poligalaksanton VI	OMe	OMe	OMe	H	H	*O*-**Glu**	OMe	H	[114]
Poligalaksanton VII	OH	OMe	*O*-**C**	H	H	OH	OMe	H	[114]
Poligalaksanton VIII	OH	**D**	OH	H	H	OH	OMe	H	[114]
Poligalaksanton IX	OH	H	**C**	H	H	H	OH	H	[114]
Poligalaksanton X	OMe	OMe	OMe	H	H	**C**	OMe	H	[114]
Poligalaksanton XI	OH	**B**	OH	H	H	OH	OMe	H	[114]
Lanserin	OMe	OMe	OMe	**Glu**	H	OH	OMe	H	[114]

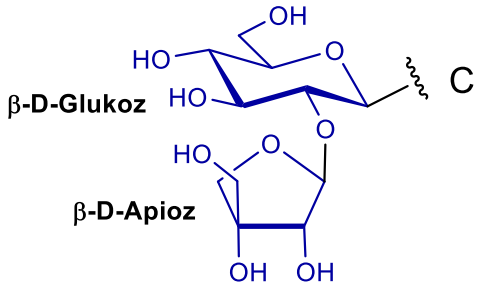


Bileşik Adı	R_1	R_2	R_3	R_4	R_5	R_6	R_7	R_8	Kaynak
3-*O*-[α-L-ram-(1→2)-*β*-D-glu]-1,6-dihidroksi-2,7-dimetoksiksanton	OH	OMe	O-**C**	H	H	OH	OMe	H	[114]

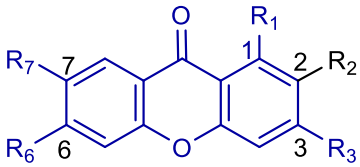








Ksanton C-Glikozitleri	**R_1**	**R_2**	**R_3**	**R_4**	**R_6**	**R_7**	**Kaynak**
Poligalaksanton VIII	OH	A	OH	H	OH	OMe	[115]
Poligalaksanton IX	OH	H	B	H	H	OH	[115]
Poligalaksanton X	OMe	OMe	OMe	H	**B**	OMe	[115]
Poligalaksanton XI	OH	**C**	OH	H	OH	OMe	[115]
Sibirikoksantone B	OH	**C**	OH	H	H	OH	[115]
7-*O*-metilmangiferin	OH	**Glu**	OH	H	OH	OMe	[115]

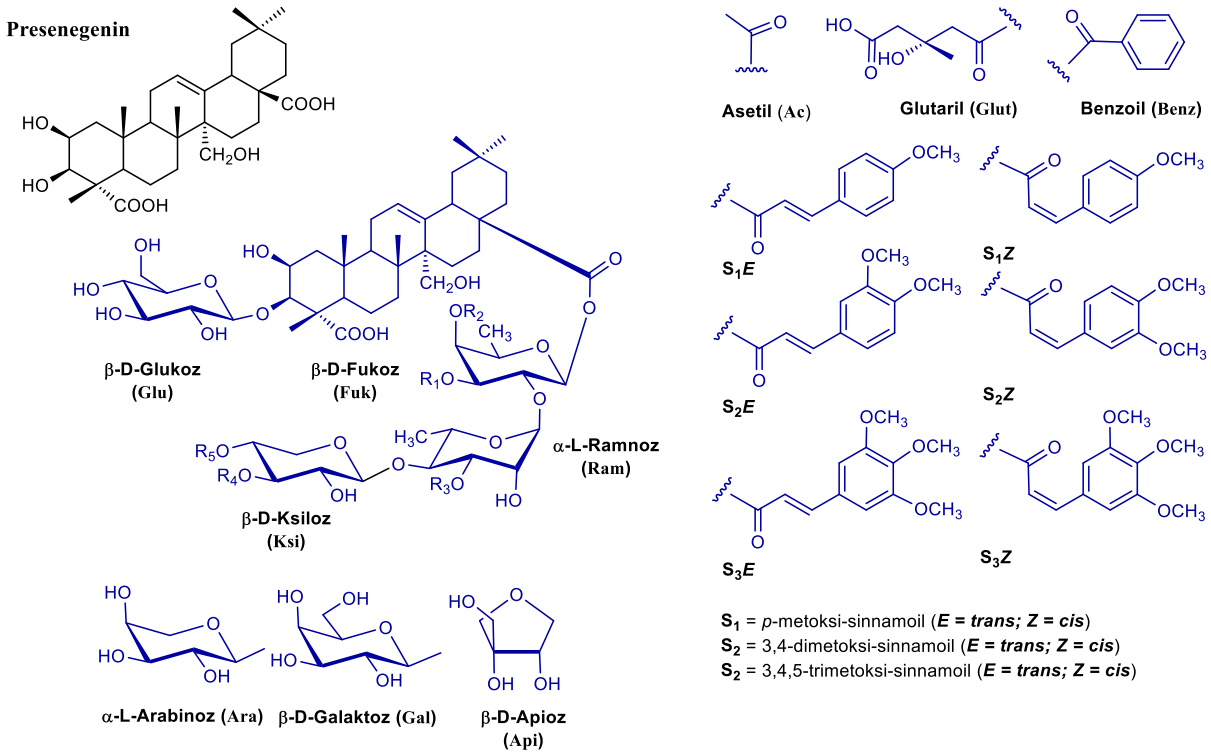


Ksanton C-Glikozitleri	**R_1**	**R_2**	**R_3**	**R_6**	**R_7**	**Kaynak**
7-hidroksi-1-metoksi-2,3-metilendioksi-ksanton	OMe	-O-CH_2-O-		H	OH	[116]
3, 6-dihidroksi-1, 2, 7-trimetoksiksanton	OMe	OMe	OH	OH	OMe	[116]
7-hidroksi-1, 3-dimetoksiksanton	OMe	H	OMe	H	OH	[116]
3, 7-dihidroksi-1, 2-dimetoksiksanton	OMe	OMe	OH	H	OH	[116]
1, 2, 7-trihydroxy-3-metoksiksanton	OH	OH	OMe	H	OH	[116]
1, 3, 7-Trihidroksiksanton	OH	H	OH	H	OH	[116]

Çizelge 2.2. *Polygala* türlerinden elde edilen saponinler.

2*β*,3*β*,27-trihidroksi-olean-12-23,28-dioik asit (Presenegenin) türevi saponinler

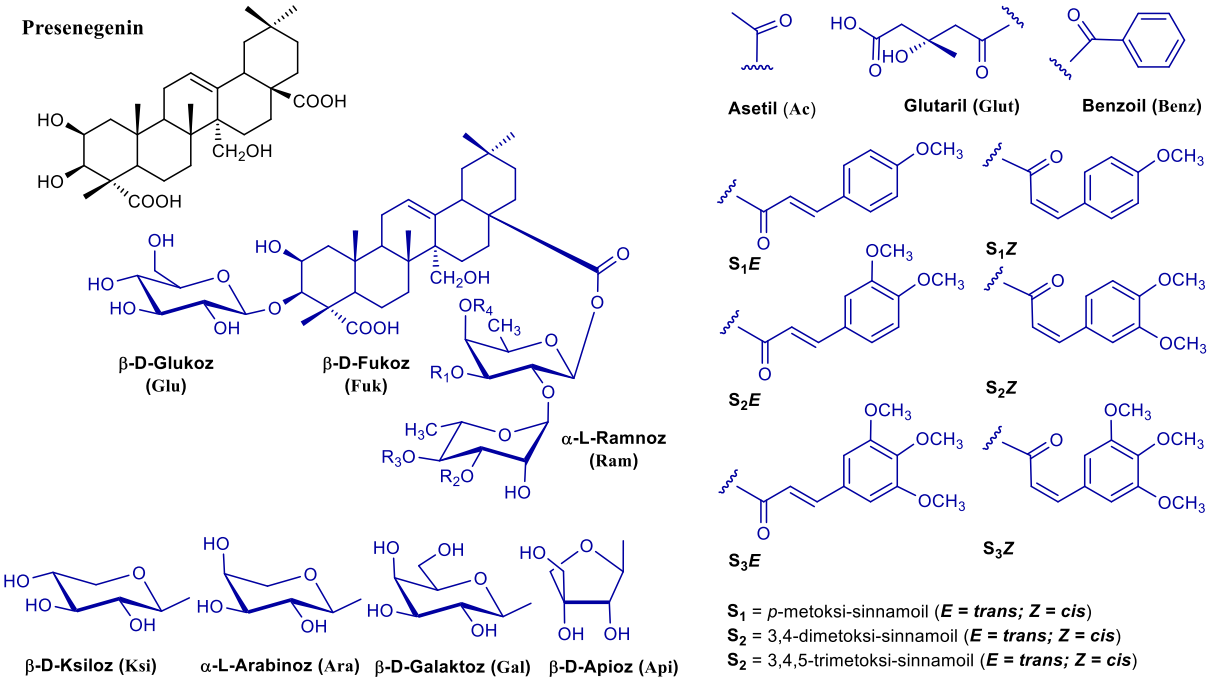
Onjisaponinler



Bileşik Adı	**R_1**	**R_2**	**R_3**	**R_4**	**R_5**	***Polygala* sp**	**Kaynak**
Onjisaponin A	Ram	S_1E	Api	H	Gal	*P. tenuifolia*	[117]
Onjisaponin B (Senegin III)	Ram	S_1E	H	H	Gal	*P. tenuifolia*	[117]
Onjisaponin C	-	-	-	-	-	*P. tenuifolia*	[117]
Onjisaponin D	-	-	-	-	-	*P. tenuifolia*	[117]
Onjisaponin E	H	S_3E	H	-	Gal	*P. tenuifolia*	[117]
Onjisaponin F	H	S_3E	Ara	-	-	*P. tenuifolia*	[118]
Onjisaponin G	H	S_3E	H	-	-	*P. tenuifolia*	[118]
Onjisaponin V	S_3E	H	Glut-^{5}Api	H	Gal	*P. tenuifolia*	[74]
Onjisaponin W	S_3E	H	Glut-^{5}Api	Ara	Gal	*P. tenuifolia*	[74]
Onjisaponin Wg	S_3E	H	Api	Ara	H	*P. tenuifolia*	[119]

Onjisaponin X	Gal	S_3E	Glut-^{5}Api	Ara	H	*P. tenuifolia*	[74, 120]
Onjisaponin Vg	H	S_3E	Glut-^{5}Api	H	Gal	*P. tenuifolia*	[74, 120]
Onjisaponin Y	Ram	S_1E	H	H	H	*P. tenuifolia*	[74]
Onjisaponin Z	Ram	S_3E	H	H	H	*P. tenuifolia*	[74]
Onjisaponin	H	S_3E	Glut-^{5}Api	Ara	H	*P. tenuifolia*	[74]
Onjisaponin Ng	Ram	S_1E	Glut-^{5}Api	H	H	*P. tenuifolia*	[74]
Onjisaponin J	Ram	S_3E	Glut-^{5}Api	Ara	H	*P. tenuifolia*	[74]
Onjisaponin L	Ram	S_3E	Glut-^{5}Api	H	Gal	*P. tenuifolia*	[74]
Onjisaponin R	H	S_3E	Api	H	Gal	*P. tenuifolia*	[74]
Onjisaponin O	Ram	S_3E	H	H	Gal	*P. tenuifolia*	[74]
Polygalasaponin XXXII	H	S_3E	Api	Ara	H	*P. tenuifolia*	[74]
Onjisaponin B	Ram	S_1E	H	H	Gal	*P. tenuifolia*	[74]
Polygalasaponin XXXII	Ram	S_1E	Api	Ara	H	*P. tenuifolia*	[74]
E-senegasaponin a	H	S_1E	Api	H	Gal	*P. tenuifolia*	[74]

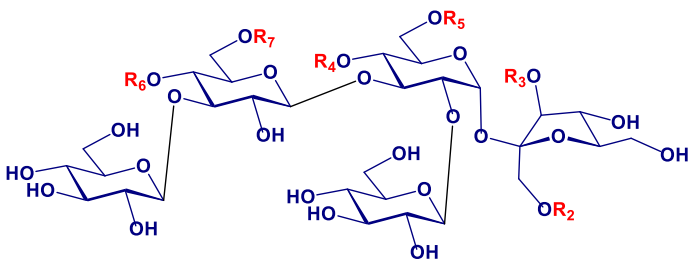
2*β*, 3*β*, 27-trihidroksi-olean-12-en-23,28-dioik asit (Presenegenin) türevi saponinler.

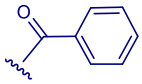
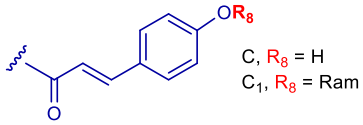


Bileşik	R_1	R_2	R_3	R_4	*Polygala* sp.	Kaynak
1	H	H	Ara-(1→4)-Ksi	S_1E	*P. ruwenzoriensis*	[121]
2	H	H	Ara-(1→4)-Ksi	S_1Z	*P. ruwenzoriensis*	[121]
3	H	H	Ara-(1→4)-Ksi	S_2E	*P. ruwenzoriensis*	[121]
4	H	H	Ara-(1→4)-Ksi	S_2Z	*P. ruwenzoriensis*	[121]
5	H	H	Gal-(1→4)-Ksi	H	*P. ruwenzoriensis*	[121]
6	H	H	[Gal-(1→3)]-Gal-(1→4)-Ksi	H	*P. arenaria*	[121]
7	Ram	Api	Ksi	S_1E	*P. tenuifolia*	[122]
8	Ram	Api	Ksi	S_2E	*P. tenuifolia*	[122]
9	S_3E	Glut-(1→3)-Api	Gal-(1→4)-Ksi	H	*P. tenuifolia*	[74]
10	S_3E	Glut-(1→3)-Api	Ara-(1→3)-Ksi	H	*P. tenuifolia*	[74]
11	Gal	Glut-	Ara-(1→3)-Ksi	S_3E	*P. tenuifolia*	[74]

		(1→3)-Api				
12	H	Glut-(1→3)-Api	Gal-(1→4)-Ksi	S_3E	*P. tenuifolia*	[74]
13	Ram	H	Ksi	S_1E	*P. tenuifolia*	[74]
14	Ram	H	Ksi	S_3E	*P. tenuifolia*	[74]
15	Ram	Api	Ara-(1→3)-Ksi	H	*P. tenuifolia*	[123]
16	Ram	Api	Ksi-(1→3)-Ksi	S_1E	*P. tenuifolia*	[123]
17	S_3E	Api	Ara-(1→3)-Ksi	H	*P. tenuifolia*	[124]
18	H	H	H	H	*P. japonica*	[125]
19	Benz-^{4}Ram	Api	Ara-(1→3)-Ksi	S_1E	*P. japonica*	[126]
20	Benz-^{4}Ram	Api	Gal-(1→4)-Ksi	S_1E	*P. japonica*	[126]
21	Ac-^{4}Ram	Api	Ara-(1→3)-Ksi	S_1E	*P. japonica*	[126]

Çizelge 2.3. *Polygala* türlerinden elde edilen oligosakaritler.



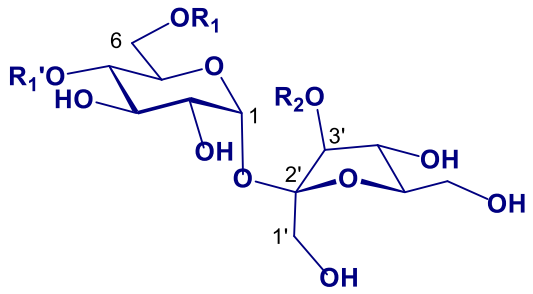
A	$CO-CH_3$ (Asetil)
B	
C C_1	
D D_1	

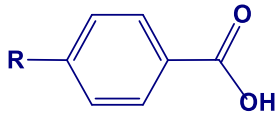
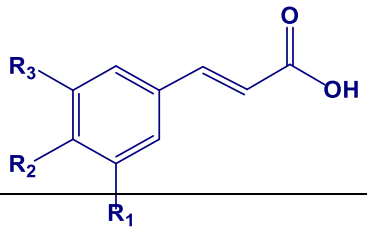
Bileşik Adı	**R_2**	**R_3**	**R_4**	**R_5**	**R_6**	**R_7**	**R_8**	**R_9**	**Kaynak**
Tenuifolioz A (= Tenuifoliose A)	C	B	D	A	A	A	H	H	[127]
Tenuifolioz B (= Tenuifoliose	C	B	D	H	A	A	H	H	[127]

B)									
Tenuifolioz C (= Tenuifoliose C)	C	B	D	H	H	A	H	H	[127]
Tenuifolioz D (= Tenuifoliose D)	C	B	D	A	H	A	H	H	[127]
Tenuifolioz E (= Tenuifoliose E)	C	B	D	A	H	H	H	H	[127]
Tenuifolioz F (= Tenuifoliose F)	C	B	D_1	A	A	A	H	Ram	[127]
Tenuifolioz G (= Tenuifoliose G)	C	B	D_1	A	H	A	H	Ram	[128, 129]
Tenuifolioz H (= Tenuifoliose H)	C	B	C	A	A	A	H	H	[128]
Tenuifolioz I (= Tenuifoliose I)	C	B	C	A	H	A	H	H	[128]
Tenuifolioz J (= Tenuifoliose J)	C	B	C	H	A	A	H	H	[128]
Tenuifolioz K (= Tenuifoliose K)	C	B	C	H	H	A	H	H	[128]
Tenuifolioz L (= Tenuifoliose L)	C	B	C_1	A	A	A	H	H	[128]
Tenuifolioz M (= TenuifolioseM)	C	B	C_1	A	H	A	H	H	[128]
Tenuifolioz N (= Tenuifoliose N)	D	B	D	A	A	A	H	H	[128]
Tenuifolioz O (= Tenuifoliose O)	D	B	D	H	A	A	H	H	[128]
Tenuifolioz P (= Tenuifoliose P)	D	B	D	H	H	A	H	H	[128]
Tenuifolioz Q (= Tenuifoliose Q)	C	B	C_1	H	A	A	H	Ram	[130]

Bileşik Adı	**R_1**	**R_2**	**R_3**	**Kaynak**
Sibiricose A1 (= Sibirikoz A1)	H	C	H	[20]
Sibiricose A2 (= Sibirikoz A2)	H	B	H	[20]
Sibiricose A3 (= Sibirikoz A3)	H	A	H	[20]
Sibiricose A4 (= Sibirikoz A4)	C	H	C	[20]
Sibiricose A5 (= Sibirikoz A5)	H	H	D	[20]
Sibiricose A6 (= Sibirikoz A6)	H	H	C	[20]

Çizelge 2.4. *Polygala* türlerinden elde edilen sakaroz esterleri.

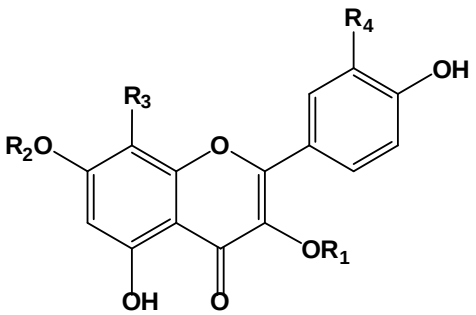
	**Sakaroz** (α-D-glukopiranozil-(1→2)-β-D-fruktofuranoz)

Benzoik asit türevleri	**R**			
Benzoik asit	H			
p-Hidroksibenzoik asit	OH			
Sinnamik asit türevleri	**R_1**	**R_2**	**R_3**	
Sinnamik asit	H	H	H	
p-Kumarik asit	H	OH	H	
Kafeik asit	OH	OH	H	

Ferulik asit	OMe	OH	H	
3,4-Dimetoksisinnamik asit	OMe	OMe	H	
Sinapik asit	OMe	OH	OMe	
Trimetoksisinnamik asit	OMe	OMe	OMe	

Sakaroz esterleri	**R_1 / $R_{1'}$***	**R_2**	**Kaynak**
Glomeratoz A (Glomeratose A) [3'-*O*-(*O*-metil-feruloil)-sakaroz]	H	3,4-Dimetoksisinnamik asit	[131]
Glomeratoz B (Glomeratose B)	*p*-Kumarik asit	Trimetoksisinnamik asit	[131]
Glomeratoz C (Glomeratose C)	*p*-Kumarik asit	Sinapik asit	[131]
Glomeratoz D (Glomeratose D)	Sinapik Asit	Sinapik asit	[131]
Tenuifoliozit A (Tenuifolioside A)	*p*-Hidroksibenzoik asit	Trimetoksisinnamik asit	[131]
Tenuifoliozit B	*p*-Hidroksibenzoik asit	Sinapik asit	[131]
Tenuifoliozit C	Sinapik asit	Trimetoksisinnamik asit	[131]
Tenuifoliozit E	-	-	[131]
Arillanin A	Sinapik asit	Ferulik asit	[132]

Çizelge 2.5. *Polygala* türlerinden elde edilen flavonoitler.



Flavonoller / Flavonol glikozitleri	**R_1**	**R_2**	**R_3**	**R_4**	**Kaynak**
İzoramnetin-3-*O*-β-D-glukopiranozit	Glu	H	H	OMe	[22]
İzoramnetin-3-*O*-β-D-galaktopiranozit	Gal	H	H	OMe	[22]
İzoramnetin	H	H	H	OMe	[22]
Kersetin-3-*O*-β-D-glukopiranozil (1→ 2)-β-D-galaktopiranozit	Glu-(1→2)-Gal	-	H	OH	[22]
Linarin	H	Ksi-(1→2)-Ram	H	OH	[22]
Kersetin-3-*O*-β-D-glukopiranozil (1→ 2)-β-D- glukopiranozit	Gal-(1→2)-Gal	H	H	OH	[22]
5,7-Dihidroksi-8-metoksiflavon-7-*O*-β-D-glukuronozit	H	GlurA	OMe	OH	[22]
Kemferol	H	H	H	H	[22]
Kersetin	H	H	H	OH	[22]
Kersetin-3-*O*-β-D- glukopiranozit	Glu	H	H	OH	[22]

Yukarıda verilen çizelgeler ve şekiller *Polygala* taksonlarından en sık elde edilen kimyasallardan bazılarıdır. *Polygala* taksonlarının ana farmakolojik bileşikleri saponinlerdir, bu zamana kadar 50'den fazla saponin izole edilmiştir. *Polygala* taksonlarında sıklıkla rastlanan diğer bir bileşik grubu ksantonlardır. 30'dan fazla ksanton literatüre kazanılmıştır. Oligosakarit esterlerleri bu cins içinde yaygın bulunan şimdiye kadar 40'ın üzerinde bilim dünyasına kazandırılan bileşiklerdendir [133, 134]

3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

3.1. Fitokimyasal Çalışmalar

3.1.1. Bitkisel Materyal

Bu çalışmada kullanılan taksonlara ait örnekler tez danışmanı ve arkadaşları tarafından toplamış, teşhis edilmiş ve tarafımıza teslim edilmiştir. Bu bitkilerin ilgili kısımları gölgede, açık havada ve serin yerde usulüne uygun olarak kurutulmuş ve fitokimyasal araştırmalarda kullanılmıştır. Bitkilerin temsilci herbaryum örnekleri, Hacettepe Üniversitesi Biyoloji Bölümü Herbaryumunda (HUB) saklanmaktadır. Bu örneklere ait lokalite bilgileri Çizelge 3.1.'de tablo halinde sunulmuştur.

Çizelge 3.1. Fitokimya çalışmasında kullanılan *Polygala* taksonlarına ait bilgiler.

Takson Adı	Toplandığı Lokalite	Kullanıldığı Kısmı	Örnek Numarası
Polygala inexpectata Peşmen & Erik	C4 Karaman: Ayrancı Barajı yanı, Harmanyolu mevkii, 37 20'12" K, 33 44' 04.5" D, 1205 m, bozkır, marnlı yamaçlar, 17.05.2019.	Tüm Bitki	AAD 20373
Polygala azizsancarii Dönmez	C8 Mardin: Mazı Dağı yolu, Akresta Geçidi çevresi, 37° 23' 14" K 040° 39' 14" D, 1075 m, 10.07. 2018- Z.Uğurlu Aydın	Kök	AAD 20155

3.1.2. Kimyasal Madde ve Gereçler

Kimyasal Maddeler:

Solvanlar: Aseton, metanol, diklorometan, kloroform, toluen, etilmetilketon, asetik asit, etanol, etil asetat, *n*-butanol, *ter*-butanol.

Kolon Dolgu Maddeleri: Silica gel 60 (0.063-0.200 mm; Merc, Darmstadt), LiChroprep® RP-18 (25-40 µm; Merck, Darmstadt), Sephadex (Lipophilic Sephadex LH-20, Sigma, 25-100 µ) ve poliamit (Polyamide SC6; Fluka, 50-160 µm) dolgu materyalleri; İnce tabaka kromatografisi (İTK) araştırmalarında ise ticari olarak satılan alüminyum plaklar (Kieselgel 60 F254, RP-18 F254, Merck-5559, Merck-5554). Tüm kromatografik araştırmalar Bölüm 3.1.3.'de anlatılmıştır.

Relevatör: %1 Vanillin (Metanol içinde) ve %10 H_2SO_4 (Etanol içinde)

Solvan Sistemleri: Çalışmalarda yararlandığımız solvan sistemleri Çizelge 3.2.'de yazılmıştır.

Çizelge 3.2. Kromatografik çalışmalarda yararlanılan solvan sistemleri.

Kromatografik sistemi	Solvan sistemi
İTK	$CHCl_3$-MeOH-H_2O (80:20:2, 70:30:3, 90:10:1, 61:32:7;70:30:3 +1 ml Asetik Asit) DCM-MeOH (95:5;90:10;85:15) EtOAc-MeOH-H_2O (100:10:5; 100:16,5:13,5) DCM-Aseton (4:1) Toluen-Aseton (4:1; 2:1) Toluen-EtilMetilKeton (2:1) Toluen-Aseton-DCM (75:15:15) Toluen-Aseton-DCM-MeOH (70:10:10:10) Benzen-Aseton (4:1)
KK (Silika jel)	DCM-MeOH-H_2O (90:10:1→80:20:1→80:20:2) DCM-MeOH (95:5→ 0:100) DCM-MeOH-H_2O (80:20:1) EtOAc-MeOH-H_2O (100:10:5)

	Toluen-MeOH (90:10) Toluen-Aseton (90:10)
KK (VSK)	MeOH-H_2O (40:60→50:50→60:40→70:30→80:20→90:10→100:0)
KK (Poliamit)	H_2O-MeOH / H_2O (%5,10,20,30....100)
KK (Sephadex-LH 20)	MeOH-H_2O (50:50) MeOH-H_2O (1:2→50:50→75:25→100:0) MeOH-H_2O (50:50→75:25→100:0→ MeOH:Aseton 3:1) Cyclohexane-MeOH-H_2O (2:1:1)
Orta Basınçlı Sıvı Kromatografisi (OBSK)	H_2O-i-PrOH (0→30% i-PrOH)

Gereçler:

Kütle Spektrometresi: Negatif ve pozitif modlu HRMS; Finnigan TSQ 7000 ve HR-Kütle Spektrometresi - UPLC-Quadrupole Orbitrap.

NMR Spektrometresi: DMSO-d6 için XWIN NMR; (^{1}H ; 500 MHz ve ^{13}C için 125 MHz) Bruker DRX 500 spektrometresi.

Accurate Mass Q-TOF LC/MS (Sıvı Kromatografisi-Uçuş Zamanlı Kütle Spektrometresi): Agilent Technologies 6530.

Liyofilizatör: Christ® Alpha 1-4 LD Plus.

Rotavapor: Buchi® marka (Model: R-210 / Su banyosu B-491 model).

Su soğutucusu: Thermo EZ Cool 80.

Elektrikli blender: Retsch SK 100 marka.

UV Lambası: Camag marka.

Isıtıcı: Camag marka (Model: TLC plate Heater III).

Kromatografi Tankı: Camag marke (cam küvet, 22 x 23 x 8 cm).

Vakum pompası: V-700 model -Rockk marka.

Vakum pompası kontrol paneli: V-850 model.

Etüv: GFL model.

Erime nokta tayini: Mettler Toledo FP90 Merkezi İşlemci.

Optik rotasyonlar: Schmidt+Haensch Polartronic MHZ-8 polarimetre.

UV Spektrumları: PG UV-VIS Spektrometresi (Model T80+PG Instruments Ltd., UK).

X-ışını kırınım ölçümleri: Rigaku Oxford Diffraction SuperNova dual-source area detector diffractometer.

Orta Basınçlı Sıvı Kromatografisi için (OBSK): Buchi® marka kromatografi sistemi (Enjeksiyon unitesi: Sepacore; Pompa 39 kontrol modülü: Buchi C-615; Peristaltik pompa: Buchi C-605; fraksiyon toplayıcı: Buchi C-660) Buchi Borosilikat 3.3 (Plastik+cam; 19674) kolon (36 mm x 230 mm) Buchi Borosilikat 3.3 (17988) ön kolon.

3.1.3. Kromatografik Yöntemler

Elde edilen ekstreler, ilk fraksiyonlanması ve sonrasında bu fraksiyonlardaki maddelerin ayrımı, izolasyon ve saflaştırma aşamaları için ters faz silika jel, sephadex ve normal faz silika jel gibi farklı dolgu materyallerinin yararlanıldığı kolon kromatografisi yöntemlerinden faydalanılmıştır. İlk fraksiyonlama işlemlerinde toplanan 50-100 ml'lik fraksiyonlar, saflaştırma aşamasında 5 ile 20 ml'ye kadar düşürülür. Fraksiyonların izlenmesi için çeşitli solvan sistemlerinde ince tabaka kromatografisinden (İTK) yararlanılmıştır.

İnce Tabaka Kromatografisi (İTK)

Adsorban olarak Silika jel 60 F254 kaplanmış alüminyum hazır plaklar, istenilen boyutlarda (10 cm x 10 cm / 10 cm x 5 cm / 10 cm x 20 cm) maket bıçağı ile kesilir ve sonrasında numuneler cam pastör pipeti aracılığı ile plağın tabanından yaklaşık 1 cm yukarısında, 0.6 cm'lik aralıklarla tatbik edilir. Ardından uygun solvan sistemi ile doyurulmuş kromatografi tankında plaklar 7-8 cm sürüklenmesi beklenir. Sonrasında tank içerisinden çıkarılan plak kurutulur ve UV_{254} / UV_{366} altında kontrol edilir. Moleküller plak üzerinde işaretlenir. Sonrasında plağa gerekli görülen relevatör veya relevatörler (%1 Vanilin ve %10 H_2SO_4) çeker ocak içerisinde püskürtülür. Plak ısıtıcının üzerine alınarak 105-115 ^{o}C'de yakşalık 1-2 dk veya 5-10 dk ısıtılarak renk değişiklikleri gözlemlenir.

Slika Jel Kolon Kromatografisi

Slika jel kromatografisi yönteminde Kieselgel 60 (0.063-0.2 mm) adsorban olarak kullanılmaktadır. Uygulanacak maddenin miktarına bağlı olarak farklı çap ve uzunluklara sahip alt ucuna pamuk yerleştirlen veya filtreli cam kolonların içerisine yeterli ölçüde tartılan silika jel, uygun miktarda hazırlanan solvan sistemiaracılığıyla süspansiyon haline getirilerek kolona dökülür. Kolondan uygun miktarda solvan sistemi geçirilip adsorbanın tam olarak yerleşmesisağlanır. Adsorbanın üst kısmında 2-3 mm solvan kaldığı zaman kuru veya solvan sisteminde homojen edilip çözülen numune tatbik edilir. Bu kolon sistemleri tek kullanımlıktır.

Jel (Sephadex LH-20) Kromatografisi

Dolgu maddesi olarak Sephadex LH-20 kullanılmaktadır. Kolon hazırlanırken uygun miktardaki dolgu maddesi (Sephadex LH-20), yeterli miktarda metanol ile süspanse edilir. Çözücüyle karışan adsorban taban kısmına pamuk yerleştirilmiş olan veya cam filtreli kolona uygulanır. Uygun miktarda solvan kullanılarak yıkanan kolonda, şişen jelin homojen bir şekilde iyice yerleşmesi beklenir. Hazırlanan kolona, numune yeterli miktarda mobil faz içinde çözülmüş olarak, bir pipet yardımıyla tatbik edilir.

Vakumlu Sıvı Kromatografisi (RP-VSK)

Yeterli miktarda dolgu maddesi (LiChroprep RP-C18 veya Silika jel 60 F254) tartılarak, G4 filtresi bulunan cam kolona kuru bir şekilde doldurulur ve vakum yardımı ile sıkışması sağlanır. Kolondan öncelikle yeterli miktarda distile su ve ardından elüsyon için başlanacak solvan sistemi geçirilerek kolon şartlandırılır. Daha sonra, numune uygun miktarda çözücü ile çözülerek bir pastör pipet yardımı ile kolona uygulanır. Vakum, sert lastikten yapılmış özel bir vakum halkası ile sağlanır. Vakum açılır, numunenin adsorbana emilimi sağlanır (Şekil 3.1.). Numunenin uygulanmasından sonra, kolonun üst kısmına pamuk konarak sistem paketlenir. Su ile başlanan elüsyona, artan oranlarda MeOH katılarak kademeli elüsyon ile fraksiyonlar (50-100 mL) toplanır. Fraksiyon değiştirilirken, vakum uygulması sonlandırılır. Solvan sistemleri, çalışmaya başlamadan önce Karşıt Faz İTK (KF-İTK) ile geliştirilmiştir.

Şekil 3.1. Vakumlu sıvı kromatografisi genel görünümü.

Poliamit Kolon Kromatografisi

Polyamide 6 (Fluka, 50-160 μm) dolgu maddesi (stasyoner faz) olarak kullanılmıştır. Kolon hazırlanırken 50 ile 100 g poliamit tartılarak uygun miktarda dH_2O ile süspande hale getirilir. Yaklaşık 10-15 saat manyetik karıştırıcı yardımı ile karıştırılarak şişmesi sağlanır. Karışım süspanse hale geldikten sonra, alt kısmına pamuk yerleştirilen cam kolona bu karışım aktarılır. Adsorbanın iyice yerleşmesini sağlamak için kolon yeterli miktarda su ile yıkanır ve sonrasında numune tatbik edilir.

Orta Basınçlı Sıvı Kromatografisi (OBSK)

Karşıt faz (LiChroprep RP-C18) stasyoner faz ile önceden doldurulan ön ve ana kolon, ilk olarak su, sonrasında elüsyonun yapılacağı solvan sistemi ile kolon şartlandırma işlemi tamamlanır. Fraksiyon hacmi (5 ya da 10 mL), akış hızı (5mL/dk), basınç (10-15 bar) ve elüsyon gidişi cihaza kaydedilir. Numune 1-5 mL solvan sisteminde çözülerek, kolona enjekte edilir. Kullanılan solvan sistemleri Çizelge 3.2.'de verilmiştir.

Kolon Kromatografisi Numune Tatbiki;

A. **Kuru tatbik**: Kolona uygulanacak numune, çok iyi çözündüğünü bildiğimiz 1-2 ml'lik bir solvan sisteminde çözünmesi sağlanır. Oluşan çözelti kolon adsorban miktarı ile tatbiki yapılacak numune miktarına bağlı olarak yeterli miktarda adsorban ile karışımı sağlanır. Adsorban ilave edilen çözeltiyi yeterince adsorbe ettikten sonra tamamen kuruması gerekmektedir. Kuru olarak elde edilen karışım önceden hazırlanmış kolon dolgu materyalinin üstüne aktarılır. Kolon üstüne adsorban yüzeyinin bozulmaması için uygun parçada pamuk yerleştirilir. Kolona eklelen gerekli miktardaki solvan sistemi ile elüsyon işlemi gerçekleştirilir.

B. **Çözücü aracılığıyla tatbik**: Kolona uygulanacak numune yeterli ölçüde çözücü ile çözülüp homojen hale gelince pastör pipet kullanılarak kolona yavaşça tatbiki sağlanır. Kolon alt ucundaki parçası açılarak numunenin adsorbana emilimi sağlanır. Kolon üstündeki adsorban yüzeyinin bazulmasını önlemek adına uygun miktarda pamuk koyulur. Sonrasında kolona yeterli miktarda solvan sistemi konularak elüsyon işlemi başlar.

Kolon Takibi

Kolon takibi aşamasında ön fraksiyonlama işleminde fraksiyonlar 100'er ml, ileriki saflaştırma aşamalarında ise 5 ile 10 ml olarak alınır. Fraksiyonlara ait kontroller İnce Tabaka Kromatografisi kullanılarak yapılır. Rf değerleri aynı bulunan ve revevatör uygulamasından sonra benzer renk veren fraksiyonlar bir araya getirilir.

3.1.4. Bitki Örneklerinin LC-qTOF-MS ile Taranması

3.1.4.1. LC-qTOF-MS analiz koşulları

Metabolitlere ait analizler C18 kolon ve hareketli faz olarak % 0.1 formik asit içeren su (Hareketli faz A) ve % 0.1 formik asit içeren asetonitril (Hareketli faz B) kullanılarak gradient elüsyon işlemi ile yapılmıştır (Çizelge 3.3.). Analizler pozitif ve negatif iyonizasyon modunda LC-qTOF-MS sistemi kullanılarak yapılmıştır (Çizelge 3.4.). Tüm analizler gradient elüsyon kullanılarak 15 dakikada yapılmıştır. Metabolitlerin otomatik MS-MS verileri, 200 eşik değerinde 100 ile 1700 m/z aralığında 20 eV çarpışma enerjisi uygulanarak kaydedilmiştir. Analiz sonucunda oluşan karmaşık kromatogramlar MS-DIAL yazılımı kullanarak pikler birbiri ile ayrıştırılıp ve bu piklere ait alıkonma zamanları incelenerek veri matrisleri elde edilmiştir.

Çizelge 3.3. LC-qTOF-MS yönteminde kullanılan kromatografik koşullar.

Kolon	Poroshell HPH-C18 (100 × 2.1 mm, 2.7 µm)
Enjeksiyon hacmi	10 µL
Kolon sıcaklığı	35°C
Akış hızı	0.3 mL/dk
Analiz işlem süreci	15 dk
Hareketli faz	HF A: % 0.1 formik asit içeren su HF B: % 0.1 formik asit içeren asetonitril
Gradient elüsyon koşulları	Zaman (dk) → %HF B 1 → 90 7 → 10 10 → 10

	11→ 90

Çizelge 3.4. LC-qTOF-MS analizinde kullanılan MS şartları.

	Pozitif iyonizasyon	Negatif iyonizasyon
Skimmer voltajı (V)	65	65
Kütle aralığı	50-1200 amu	50-1200 amu
Nebulizer (psig)	45	45
Tarama hızı (spektrum/sn)	2	2
Spray voltajı(kV)	3500	3500
Gaz sıcaklığı (^{o}C)	325	325
Gaz akışı (L/dk)	10	10

3.1.5. Ekstraksiyon ve İzolasyon Çalışmaları

3.1.5.1. *Polygala inexpectata*'nın Ekstraksiyonu

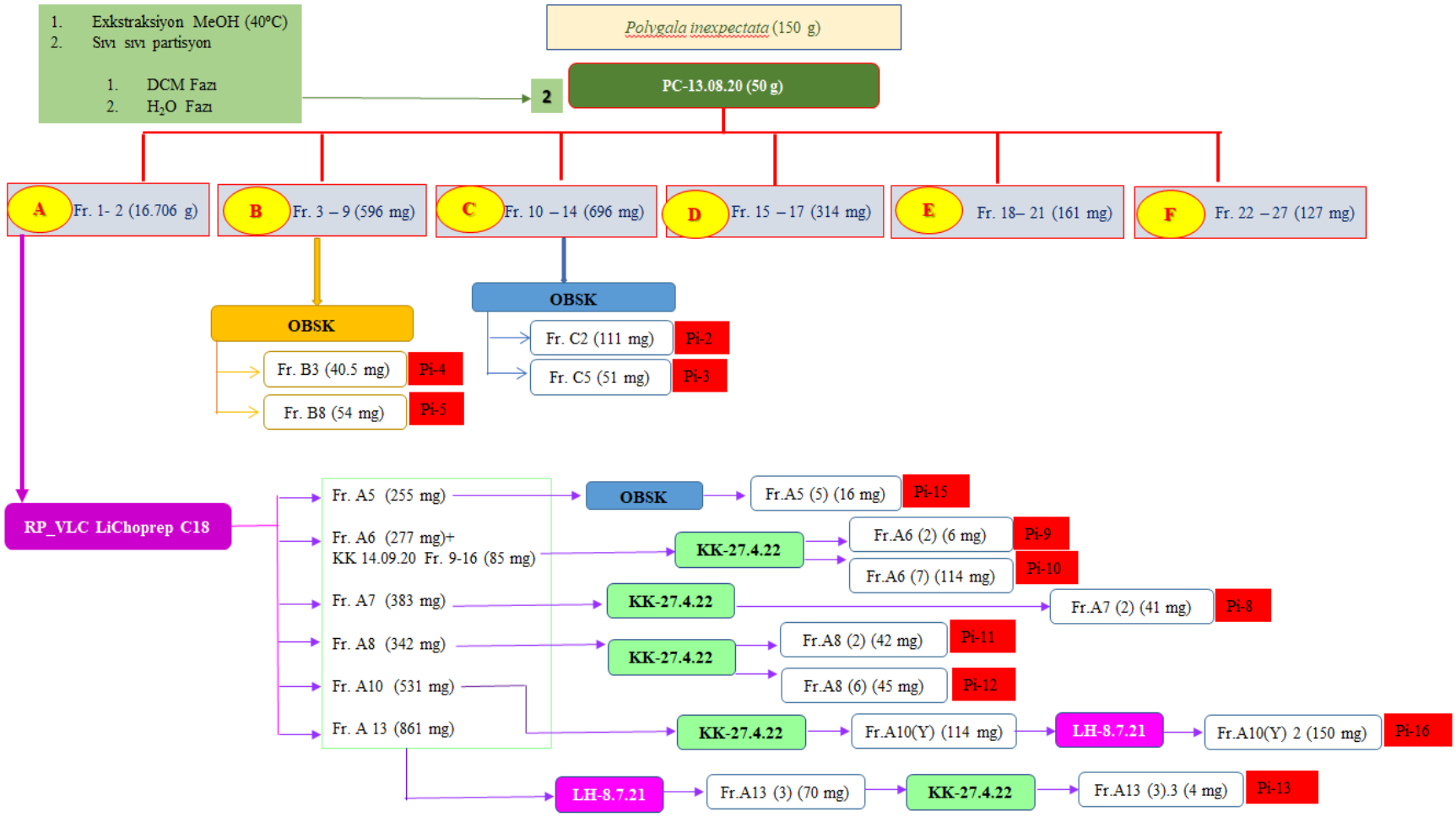
P. inexpectata'ya ait bitki (tüm kısımları) kurutulup öğütücüde toz haline getirildikten sonra tartımı yapılarak analize hazır hale getirldi. Kuru bitki ağırlığı, 150 g olarak kaydedildi. Analizlere başlamadan önce 5 g ayrıldı ve 145 g ile ekstraksiyon işlemi başlatıldı. Toz haline getirilen kuru bitki, iki kez MeOH ile 45 ^{0}C'de ve basınçsız ortamda ekstre edildi. Birinci ekstre 750 mL MeOH (3 saat), ikinci ekstre ise 500 mL MeOH (3 saat) ile yapıldı. Vakumda süzülen ekstreler birleştirildi ve 50 mL kalana kadar yoğunlaştırlıdı. MeOH tamamen uzaklaştırıldıktan sonra su ile seyreltilip (120 mL), 200 mL Diclorometan (DCM) ile sıvı-sıvı ekstraksiyon işlemi yapılmıştır. Sulu ekstre ayrıldıktan sonra uçurularak kromatografik çalışmalara uygun hale getirilmiştir.

Ön Fraksiyonlama

10 g *P. inexpectata*, H_2O ekstresi poliamit kolona uygulanarak, elüsyona MeOH-H_2O (0:100→100:0) solvan sistemi kullanılarak fraksiyonlanmıştır. MeOH ekstresinden toplamda 6 ana fraksiyon (Fr. A-F) toplanmıştır. Bu aşamada MeOH ekstresine ait tüm maddeler Fr. A'da (16.70 g) ayrılmadan geldiği için, ikinci kez ön farksiyonlama işlemi uygulanmıştır. Kurulan ikinci kolonun RP-VLC (LiChroprep C-18) (100 g), elüsyonuna

MeOH-H_2O (0:100→100:0) solvan sistemi ile devam edilerek 17 temel fraksiyon (Fr. A1-A17) elde edilmiştir. Sonrasında devam eden kromatografik analizler aşağıda ve Şekil 3.2'de özet halinde verilmiştir. NMR numunelerine **Pi** kodu verilmiştir.

- Fraksiyon A10 (531 mg): Fraksiyon A10 silika jel kolon (55 g) kromatografisinde DCM-MeOH-H_2O (80:20:1→80:20:2) sistemi ile elüsyonuna tabi tutulmuştur. Fr. Yıkama (Y) asetillenerek Sephadex LH-20 kolonda MeOH-Ethylmethylketon-H_2O (1:1:1) sistemi ile fraksiyonlandı **Pi-16** (150 mg) kodlu bileşik elde edilmiştir.
- Fraksiyon C (690 mg): Fraksiyon C3 OBSK sistemine uygulanmış, H_2O-i-PrOH (0% → 30% i-PrOH) solvan sistemi kullanılmış ve Fr. $C3_2$'nin saf halde **Pi-2** (111 mg) bileşiğini taşıdığı görülmüştür. $C3_5$'in ise **Pi-3** (51 mg) kodlu bileşik saf halde elde edilmiştir.
- Fraksiyon B (956 mg): Fraksiyon B OBSK (LiChroprep C_{18}) sistemine uygulanmış, H_2O-i-PrOH (0 → 30% i-PrOH) solvan sistemi kullanılmış ve Fr. B_3'ün saf halde **Pi-4** (40 mg) kodlu bileşiğini taşıdğı görülmüştür. B_8'in ise **Pi-5** **(**54 mg) kodlu bileşiğini saf halde taşıdığı görülmüştür.
- Fraksiyon A7 (360 mg): Fraksiyon A7 silika jel (25 g) kolon kromatografi kullanılarak, Fr.$A7_2$'nin saf halde **Pi-8** **(**41 mg) kodlu bileşiği taşıdığı görülmüştür.
- Fraksiyon A6 (277 mg) ile Fraksiyon $A7_4$ (85 mg) (277 mg +85 mg=362 mg) silika jel (23 g) kolon kromatografisine uygulanmış ve saf halde **Pi-9** **(**6 mg) ve **Pi-10** (114 mg) kodlu bileşikler elde edilmiştir.
- Fraksiyon A8 (342 mg): Fraksiyon silika jel kolon (23 g) kromatografisine uygulanmış ve DCM-MeOH-H_2O (80:20:1 → 80:20:2) solvan sistemi ile fraksiyonlanmıştır. Buradan Fr. $A8_2$; **Pi-11** **(**42 mg) ve Fr. $A8_6$; **Pi-12** **(**45 mg**)** kodlu bileşikler saf olarak elde edilmiştir.
- Fraksiyon A13 (862 mg): Fraksiyon Sephadex LH-20 kolona MeOH-H_2O (4:1) solvan sistemi ile fraksiyonlanmış; sonrasında kolondan toplanan Fr. $A13_3$ (70 mg) silika jel (10 g) kolon kromatografisine uygulanmış ve Fr. $A13_3$'n **Pi-13** (4 mg) kodlu bileşik saf olarak elde edilmiştir.
- Fraksiyon A5 (255 mg): Fraksiyon silika jel kolon (23 g) kromatografisinde DCM-MeOH-H_2O (80:20:1) sistemi ile fraksiyonlandığında Fr. $A5_5$'in saf olarak **Pi-15** (16 mg) kodlu bileşik elde edilmiştir.



Şekil 3.2. *Polygala inexpectata* üzerinde yapılan izolasyon çalışmalar iş akış şeması.

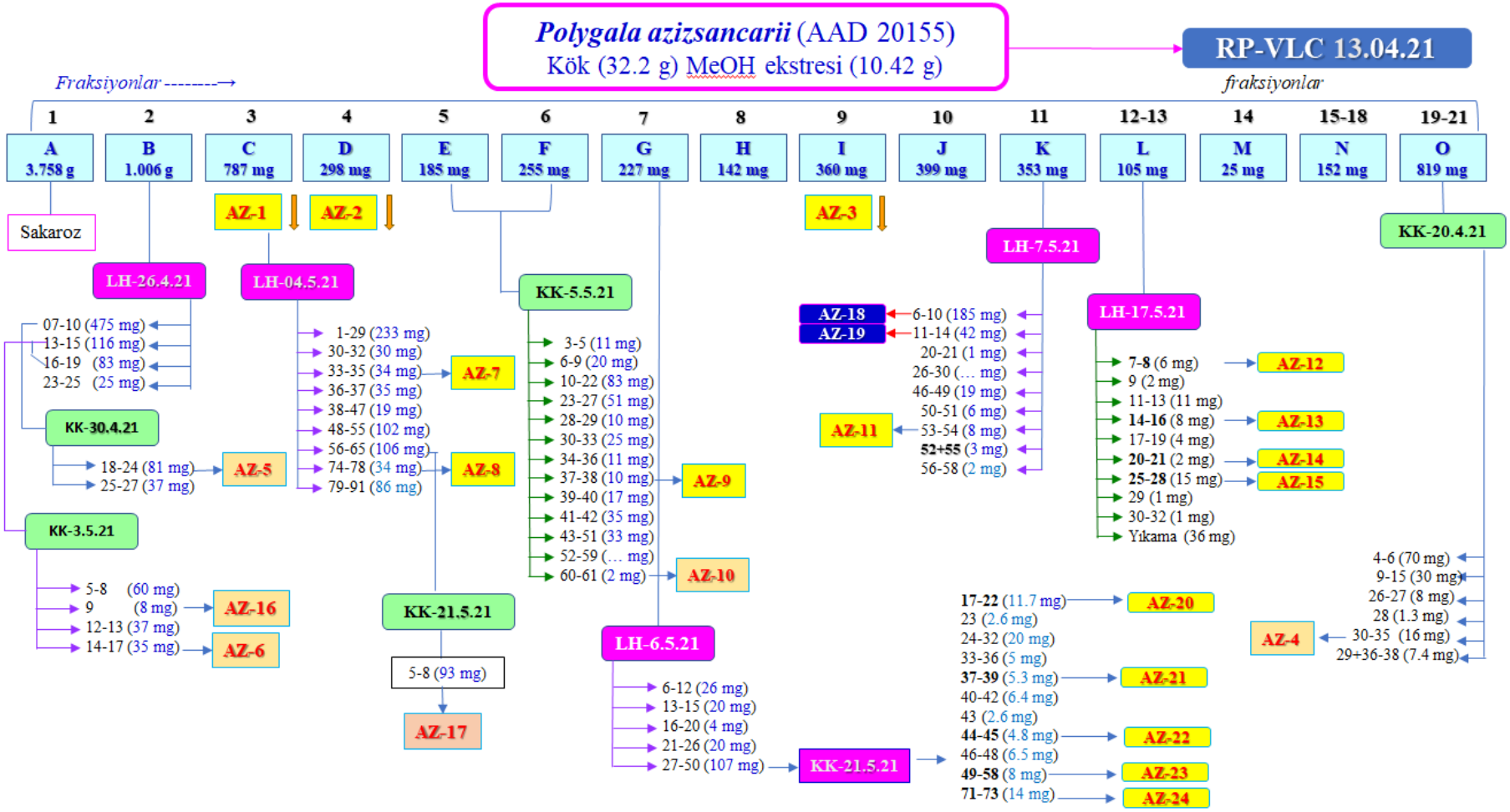
3.1.5.2. *Polygala azizsancarii*'nin Ekstraksiyonu

P. azizsancarii bitkisine ait kök kısımları açık havada kurutulup, öğütücüde parçalandıktan sonra tartılarak, 32 g olarak kaydedildi. Kök kısımları MeOH (2 x 300 mL) ile, 40 ^{o}C'de ekstre edilmiş, işlem 2 kez tekrarlanmıştır. Ekstreler birleştirilerek rotavapora takılarak alçak basınçta yoğunlaştırılarak 10.42 g ham ekstre elde edilmiştir (Verim: 32.4 %). Elde edilen yoğun ekstre H_2O (yeterli miktarda 20 mL) ile çözülüp RP-VLC kolona uygulanmıştır.

Ön Fraksiyonlama

- *P. azizsancarii* (10.4 g), MeOH ekstresi RP-VLC kolona (100 g) uygulanarak, elüsyona artan miktarda MeOH (% 40-100 MeOH / H_2O) solvan sistemi ile fraksiyonlanmış ve MeOH ekstresinden fraksiyon hacmi 50 mL olan toplam 22 fraksiyon toplanmıştır. İTK profillerine göre bu fraksiyonlar 15 ana fraksiyonda (Fr.A-O) toplanmıştır. Toplanan fraksiyonlar ile devam edilen izolasyon çalışmaları sonucunda NMR numunelerine **AZ** kodu verilmiştir. Fraksiyon A, neredeyse saf sakarozdu. Bu fraksiyonlardan C, D, I ve J'de sarı renkli kristallenmeler olduğu gözlemlenmiştir. Sonraki aşamalarda devam eden kromatografik çalışmalar sırasıyla aşağıda ve Şekil 3.3'de özet halinde verilmiştir.
- Fraksiyon B (1007 mg): Sephadex LH-20 kolonda MeOH-H_2O [1:1 (350 mL)] solvan sistemi ile fraksiyonlanmış;
    - ❖ Fr. B_2 (116 mg) ve Fr. B_3 (83 mg) birleştirilerek Sephadex LH-20 kolonda DCM-MeOH-H_2O [80:20:2 (300 mL)] solvan sistemi ile fraksiyonlanmış **AZ-16** ve **AZ-6** kodlu bileşikler elde edilmiştir.
- Fraksiyon C (725 mg): Sarı renkli kristal **AZ-1** kodu (217 mg) ile elde edilmiştir. Sephadex LH-20 kolonda MeOH-H_2O solvan sistemi ile sırasıyla 600 ml 1:2, 200 ml 1:1, 100 ml 3:1, ve 150 ml 1:0 oranlarında fraksiyonlanmış ve; Fr. C_5 (34 mg) **AZ-7** kodlu bileşik elde edilmiştir.
    - ❖ Fr. C_9 (106 mg) için silika jel kolon (12 g) kromatografisi Ethylacetat-MeOH-H_2O (100:10:5) solvan sistemi ile kurulmuş Fr. $C_{9.1}$ (93 mg) **AZ-17** (6,3'-disinapoyl-sucrose) kodlu bileşik elde edilmiştir.

- Fraksiyon D (298 mg): Kristal kısmı ayrılarak **AZ-2** (34 mg) kodu ile bileşik elde edilmiştir.
- Fraksiyon I (360 mg): Kristallenen kısım ayrılarak **AZ-3** kodlu (157 mg) bileşik saf olarak elde edilmiştir.
- Fraksiyon K (353 mg): Sephadex LH-20 kolonda MeOH-H_2O solvan sistemi ile sırasıyla 600 ml 1:2, 100 ml 1:1, 200 ml 3:1, ve 150 ml 1:0 oranlarında fraksiyonlanmış; Fr. K_1 (185 mg) **AZ-18** kodu, Fr. K_2 (42 mg) **AZ-19** kodu ve Fr. K_7 (11 mg) **AZ-11** kodu ile bu bileşikler elde edilmiştir.
- Fraksiyon L (105 mg): Sephadex LH-20 kolonda Cyclohexan-Aseton-MeOH, 400 ml 7:3:1 oranında ve 100 ml MeOH solvan sistemi ile fraksiyonlanmış ve Fr. L_1 (8 mg) **AZ-12** kodu; Fr. L_3 (12 mg) **AZ-13** kodu ile major ve minor olarak 2 bileşik**;** Fr. L_4 (2 mg) **AZ-14** kodu ve Fr. L_5 (3 mg) **AZ-15** kodu ile bileşikler saf halde elde edilmiştir.
- Fraksiyon G (227 mg): Sephadex LH-20 kolonda MeOH-H_2O (1:1; 600 mL) solvan sistemi ile fraksiyonlanmış ve Fr. G_5 (107 mg)'deki maddeleri ayırmak amacı ile silika jel kolon (20 g) kromatografisi DCM-MeOH-H_2O (90:10:1) ile kurulmuş Fr. $G_{5.1}$ (11.7 mg) **AZ-20** kodlu, Fr. $G_{5.5}$ (5.3 mg) **AZ-21** kodlu, Fr. $G_{5.8}$ (4.8 mg) **AZ-22** kodlu, Fr. $G_{5.10}$ (8 mg) **AZ-23** kodlu ve Fr. $G_{5.11}$ (14 mg) **AZ-24** kodlu bileşikler elde edilmiştir.



Şekil 3.3. *Polygala azizsancarii* üzerinde yapılan izolasyon çalışmaları iş akış şeması.

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Yapılan tez çalışmaları üç ana başlık halinde verilmiştir. Bu başlıklar sırasıyla; i) fitokimyasal çalışmlara ait sonuçlar; ii) LC-qTOF-MS cihazı analiz sonuçları ve incelenmesi; iii) kemotaksonomik çalışmalarına ait sonuçlar, olarak devam etmiştir.

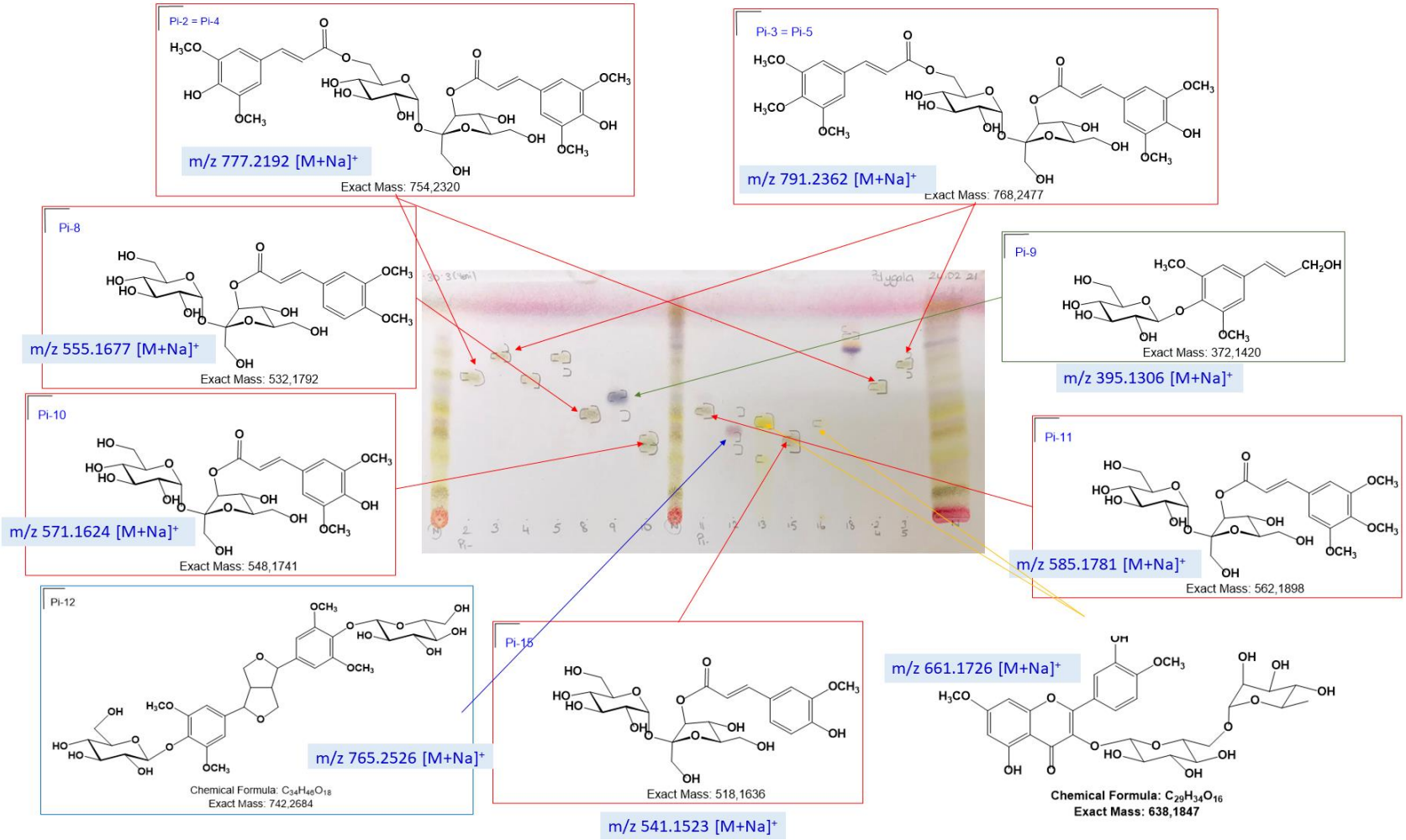
4.1. Fitokimyasal Çalışmalara Ait Sonuçlar

Fitokimyasal analizler için seçilen türlerden *P. inexpectata* (herba-tüm bitki) ve *P. azizsancarii* (kök) kısımlarının metanol ekstreleri üzerinden devam eden kromatografik çalışmalar neticesinde izole edilen bileşiklerin yapıları 1D-NMR (^{1}H NMR, ^{13}C NMR, DEPT-135), 2D-NMR (HMBC, COSY, HSQC, NOESY) ve HRMS dahil olmak üzere spektroskopik yöntemler kullanılarak tayin edilmiştir. Elde edilen moleküllerin isimlendirmesinde Türkçe okunuşları da verilmiştir.

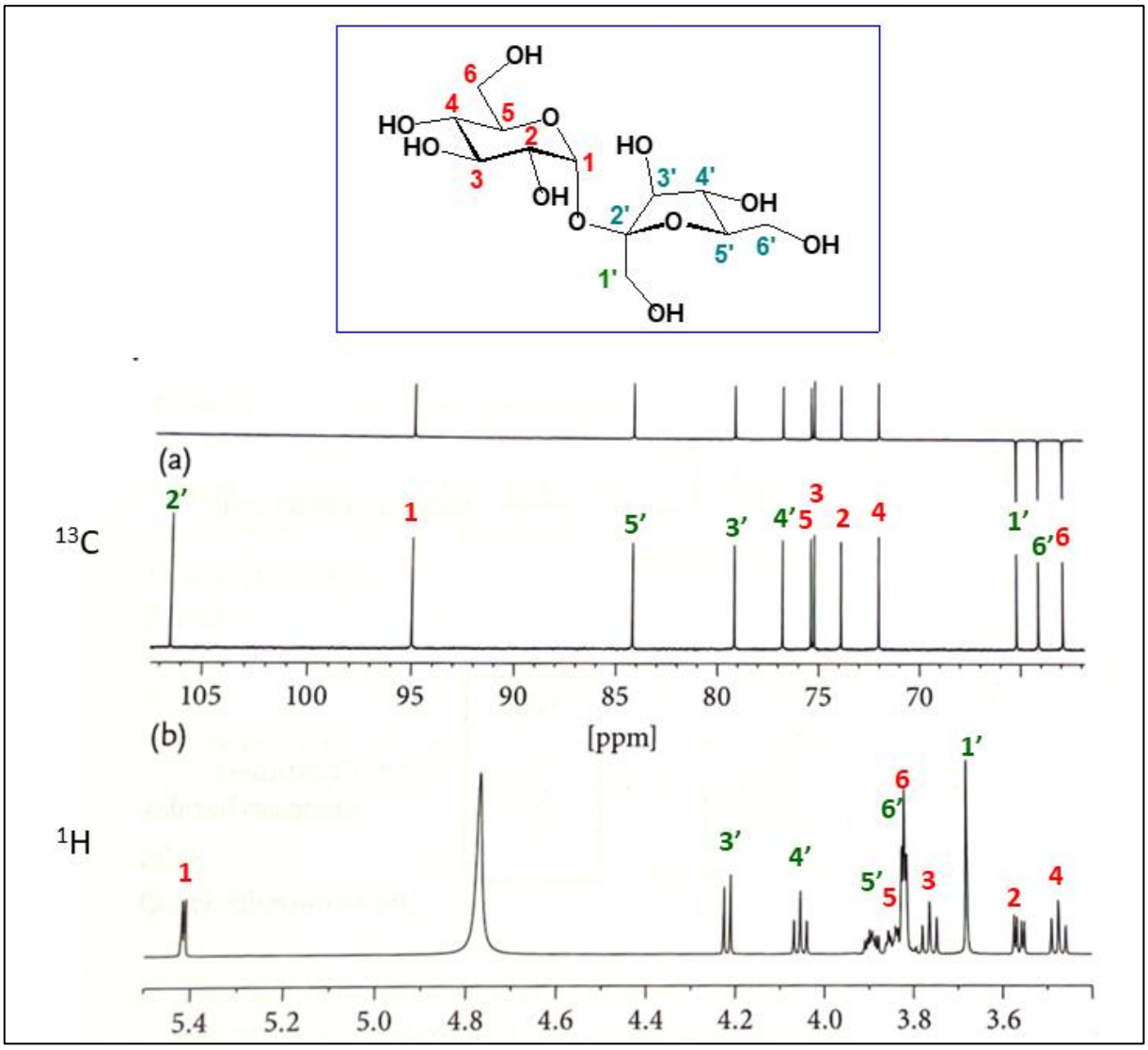
4.1.1. *P. inexpectata* Taksonundan İzole Edilen Bileşiklerin Yapı Tayinleri

Polygala inexpectata'dan elde edilen bileşiklerin ^{1}H ve ^{13}C-NMR spektrumları incelendiğinde (Çizelge 4.1. ve 4.2.), iki bileşik, **Pi-2** (= **Pi-4**) ve **Pi-3** (= **Pi-5**)'in sukroz (sakaroz)'un diesterleri, dört bileşik, **Pi-8**, **Pi-9**, **Pi-10** ve **Pi-11**'in ise sukroz (sakaroz)'un monoesterleri olduğu anlaşılmıştır. Bu bileşikler, *Polygala* türleri için bilinen ve her *Polygala* türünde çok sık rastlanılan bileşikleridir [13, 20, 112, 131, 135].

P. inexpectata taksonundan izole edilen bileşiklere ait spekrumlar **Ek-1**'de verilmiştir.



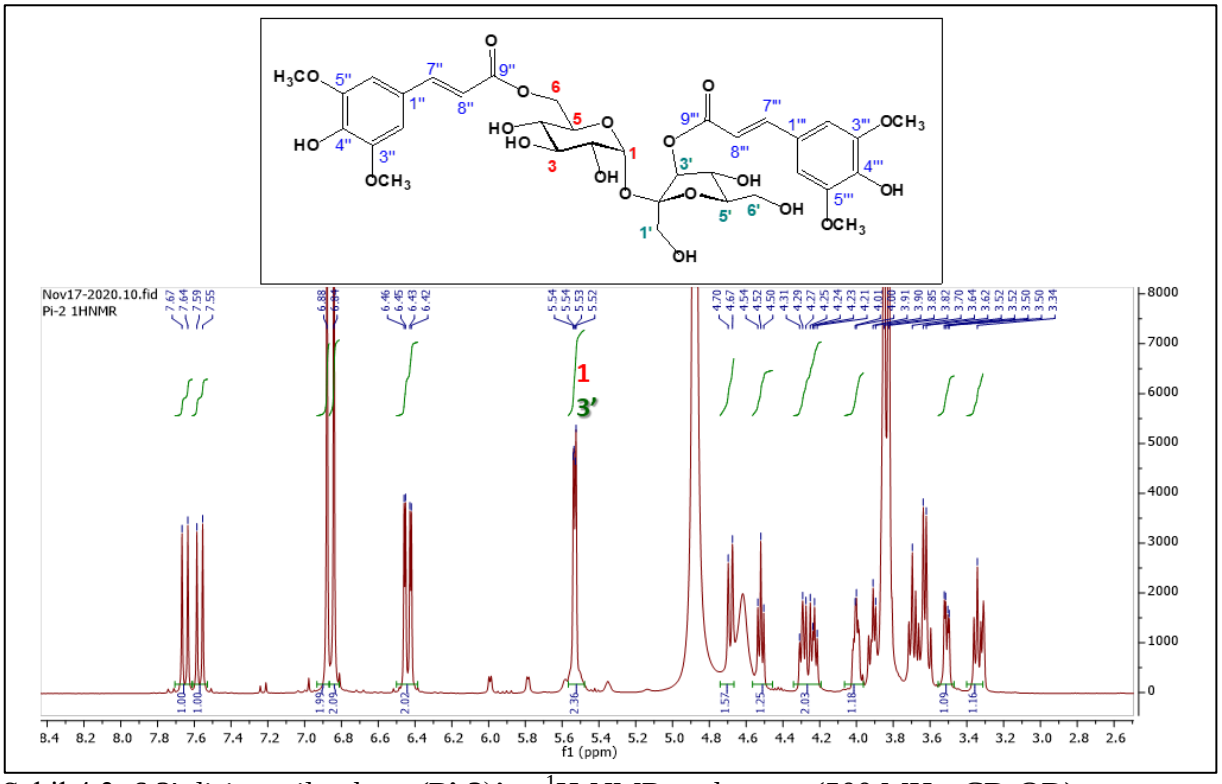
Şekil 4.1. *Polygala inexpectata*'dan elde edilen bileşiklere ait İTK ve kimyasal formülleri.



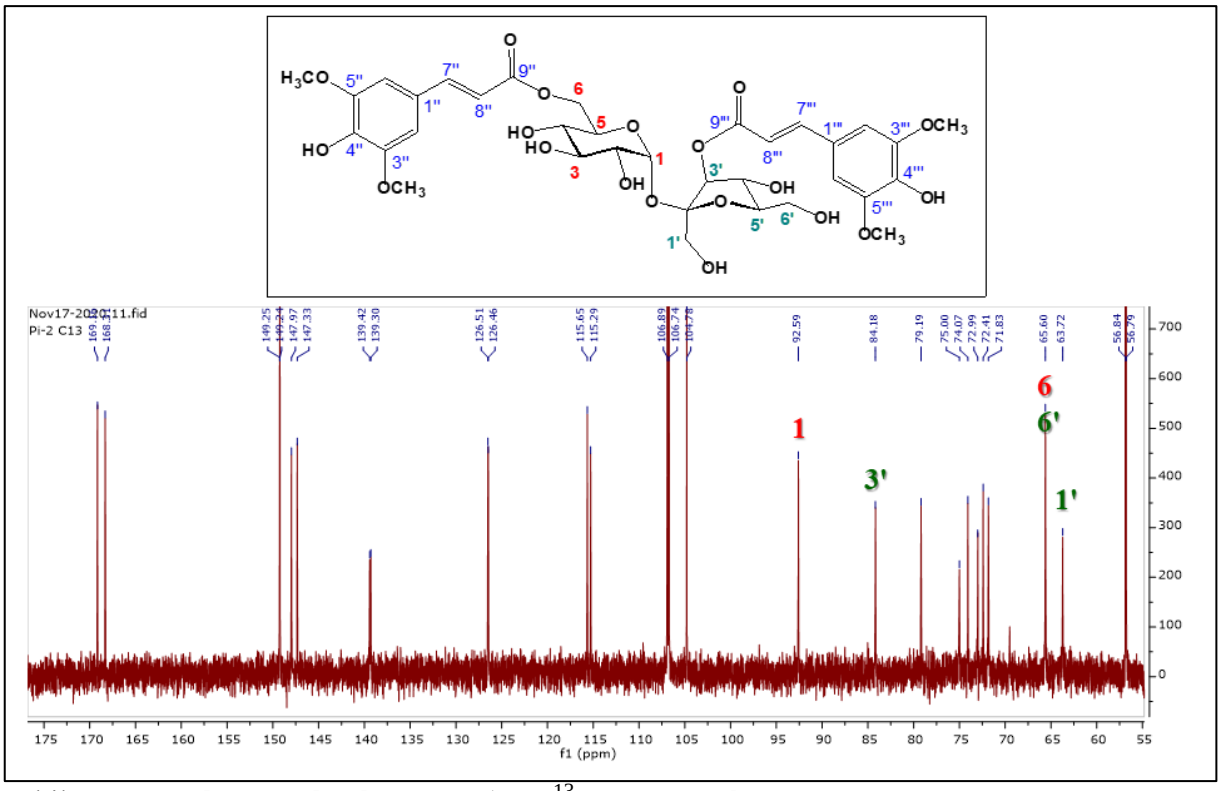
Şekil 4.2. Sakaroz (α-D-glukopiranozil-(1→2)-β-D-fruktofuranozit)'in ^{13}C (a) ve ^{1}H-NMR (b) spektrumları [136].

P. inexpectata'dan elde edilen ve sukroz türevi olan bileşiklerin ^{1}H- ve ^{13}C-NMR spektrumları, sukroz (α-D-glukopiranozil-(1→2)-β-D-fruktofuranozit)'un ^{1}H- ve ^{13}C-NMR spektrumları (Şekil 4.2.) ile karşılaştırıldığında, en önemli farklılıkların esterleşmenin olduğu OH gruplarının, diesterlerde (**Pi-2** ve **Pi-4**) glukoz için C-6(OH) ve fruktoz için C-3'(OH) gruplarının geminal protonlarında (**Pi-2**: δ 4.69 ve 4.23 ve H_2-6 ve δ 5.53, H-3') (Şekil 4.3 ve 4.4), monoesterler için sadece fruktoz için C-3'(OH)

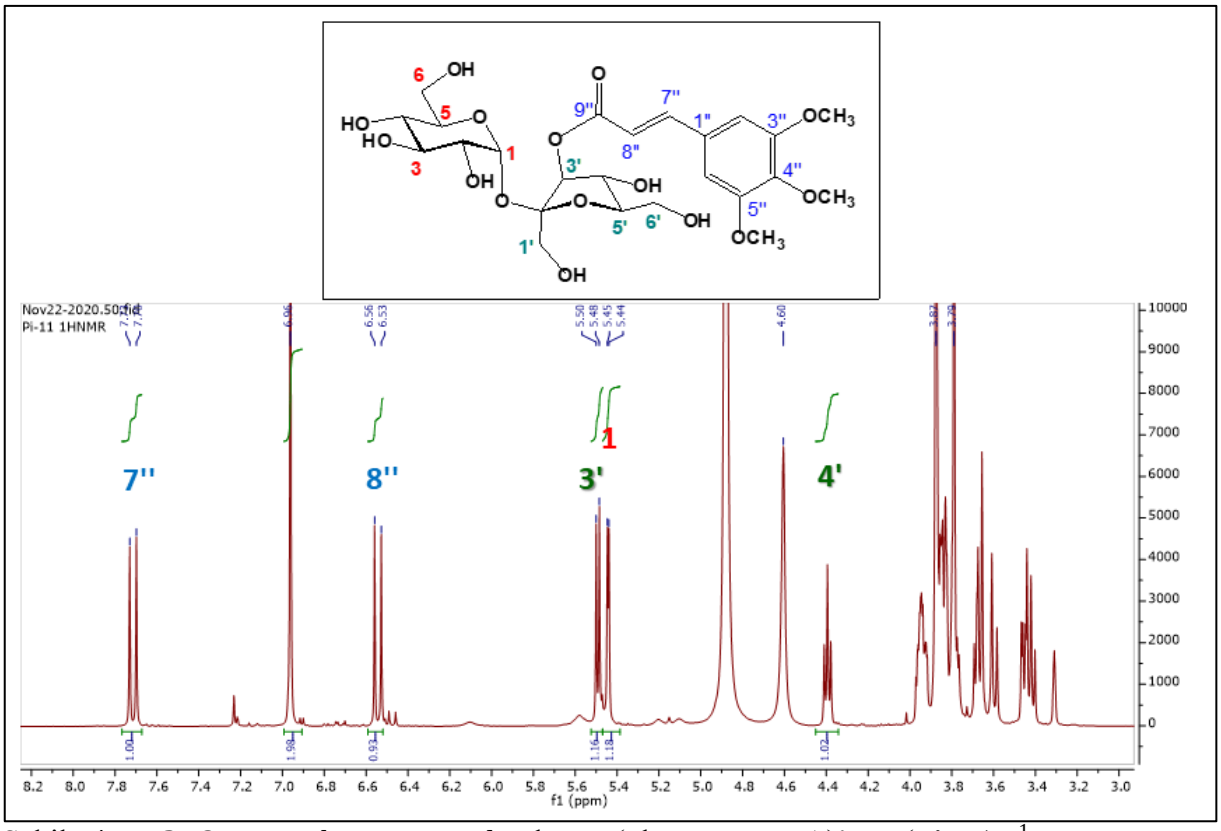
grubunun geminal protonunda (Örn., **Pi-11**: δ 5.49, H-3'), esterleşmeye bağlı olarak (ester etkisi) düşük alana doğru yaklaşık 1.0 - 1.4 ppm değerinde bir kimyasal kaymanın gözlenmesidir (Şekil 4.5. ve 4.6.). Ester etkisi, aynı zamanda, ^{1}H-NMR spektrumunda olduğu kadar belirgin olmasa da ^{13}C-NMR spektrumunda da C-6 (65.60 ppm) ve C-3' (79.51 ppm) karbon atomlarının kimyasal kaymalarında düşük alana doğru birkaç ppm kaymalarla farklılık gözlenmiştir. Bu gözlemler, 2D-NMR (COSY, HSQC ve HMBC) ölçümleriyle doğrulanmıştır.



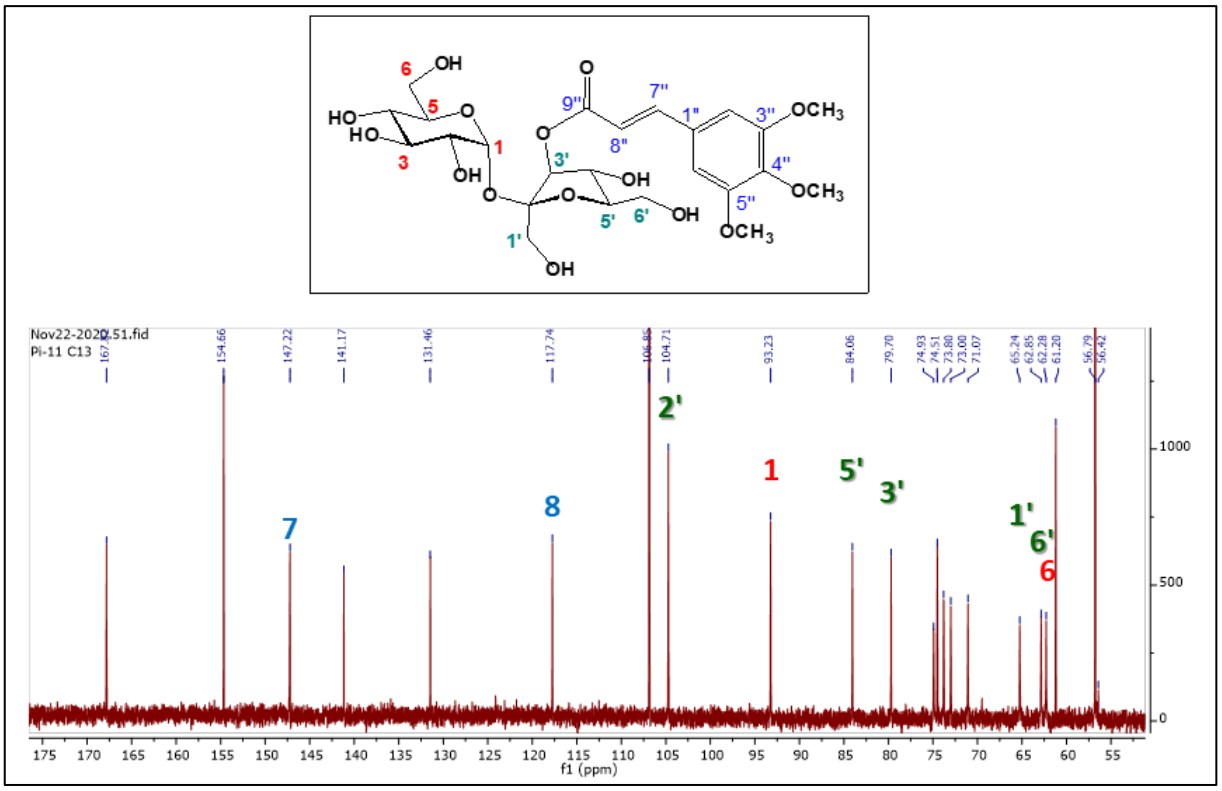
Şekil 4.3. 6,3'-disinapoil-sukroz (**Pi-2**)'un ^{1}H-NMR spektrumu (500 MHz, CD_3OD).



Şekil 4.4. 6,3'-disinapoil-sukroz (**Pi-2**)'un ^{13}C-NMR spektrumu (125 MHz, MeOD).

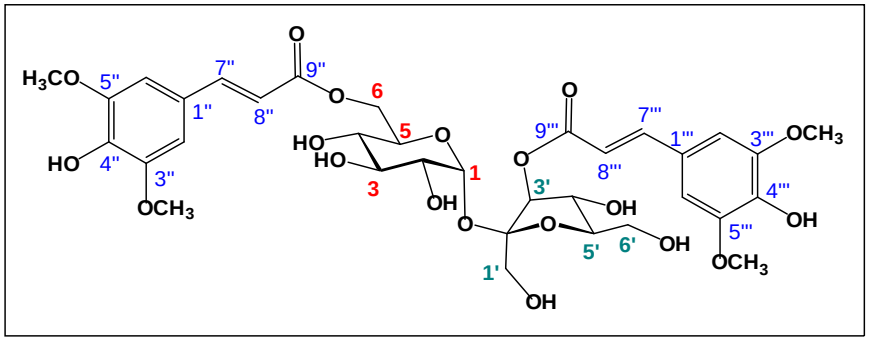


Şekil 4.5. 3'-*O*-trimetoksi-sinnamoil-sukroz (glomeratose A)'un (**Pi-11**) ^{1}H-NMR spektrumu (500 MHz, CD_3OD)



Şekil 4.6. 3'-*O*-trimetoksi-sinnamoil-sukroz (glomeratose A)'un (**Pi-11**) ^{13}C-NMR spektrumu (125 MHz, CD_3OD)

6,3'-di-*O*-sinapoil-sukroz (**Pi-2**)



Şekil 4.7. 6,3'-disinapoil-sukroz (**Pi-2**)'nin ^{1}H- ve ^{13}C-NMR spektral değerleri.

Çizelge 4.1. 6,3'-disinapoil-sukroz (**Pi-2**)'nin ^{1}H- ve ^{13}C-NMR spektral değerleri.

C/H	DEPT	δ_C, ppm	δ_H, ppm, *J* (Hz)	HMBC (C'dan →H'a)
Glu 1	CH	92.59	5.53 d (3.8)	-
2	CH	72.99	3.51 dd (3.8/9.7)	-
3	CH	75.00	3.70 t (9.2)	-
4	CH	71.83	3.34 t (9.3)	-
5	CH	72.41	4.29 gdd (9.3/7.3)	-
6	CH_2	65.60	4.23 dd (11.7/7.3) 4.69 gd (11.7)	-
Fru 1'	CH_2	63.72	3.65 d (12.2) 3.61 d (12.2)	-
2'	C	104.78	-	-
3'	CH	79.19	5.53 d (8.1)	-
4'	CH	74.07	4.52 t (8.1)	-
5'	CH	84.18	4.00 ddd (3.1/8.1/10.0)	-
6'	CH_2	65.60	3.91 dd (12.1/6.9) 3.84†	-
Sin1→6Glu		-	-	
1"	C	126.46	-	-
2"/6"	CH	106.89	6.88 s	-
3"/5"	C	149.25	-	-
4"	C	139.42	-	-
7"	CH	147.33	7.57 d (15.7)	-
8"	CH	115.65	6.44 d (15.7)	-
9"	C	169.16	-	H-6a ve H-6b, H-7", H-8"
3"&5"-OMe	CH_3	56.79	3.85 s	-
Sin1→3'Fru		-	-	-
1'''	C	126.51	-	H-3', H-7''', H-8'''
2'''/6'''	CH	106.74	6.84 s	-
3'''/5'''	C	149.24	-	-
4'''	C	139.30	-	-
7'''	CH	147.97	7.65 d (15.7)	-
8'''	CH	115.29	6.42 d (15.7)	-
9'''	C	168.31	-	-

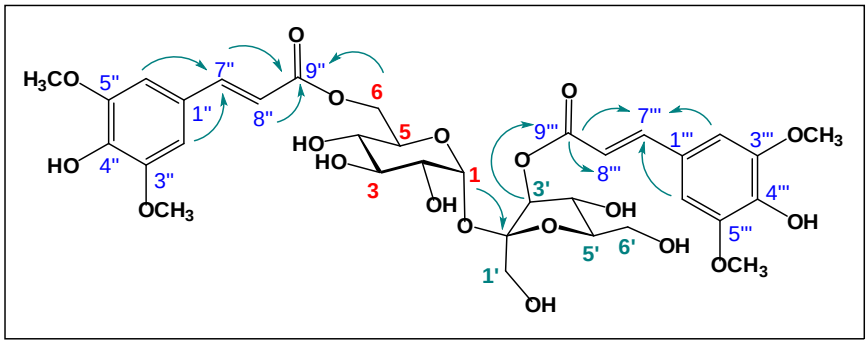
3'''&5'''-OMe	CH_3	56.84	3.82 s	-

†) Sinyal örtüşmesi sebebiyle *J* değerleri ölçülemedi.

NMR spektrumlarının incelenmesinden sonra, **Pi-2** ve **Pi-4** kodlarıyla elde edilen bileşiklerin aynı olduğu, sukroz'un diesterleri olduğu (6,3'-disinapoil-sukroz) anlaşılmıştır.

Bileşik **Pi-2**'nin pozitif ve negatif iyon kütle spektrumlarında, *m/z* 777.2192 [M + Na]+, ve *m/z* 753.2246 $[M-H]^-$'de gözlenen moleküler iyon pikleri, kimyasal formülünün $C_{34}H_{42}O_{19}$, molekül ağırlığının 754.6910 ve tam kütlesinin 754.2320 olduğunu göstermektedir.

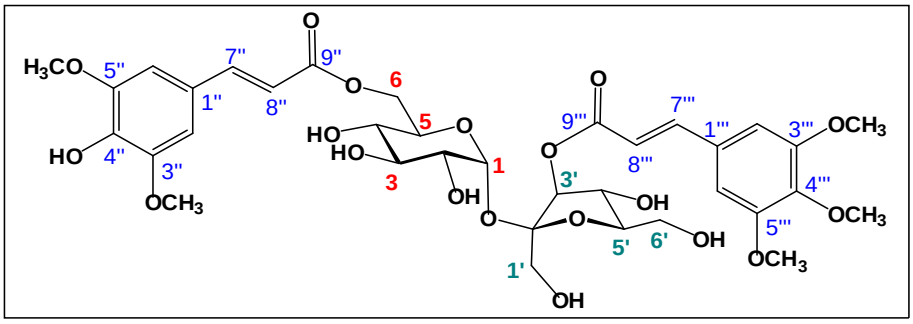
Bileşiğin ^{1}H- ve ^{13}C-NMR spektrumları incelendiğinde (Çizelge 4.1.), **Pi-2**'nin sukrozun diesteri olduğunu göstermektedir. Çizelge 4.1.'de, tüm proton ve karbon sinyalleri, COSY (^{1}H,^{1}H-homonükleer korelasyonlu spektrum) HSQC (^{1}H,^{13}C-heteronükleer kısa-mesafe korelasyonlu spektrum) yardımıyla yorumlanmıştır. Aromatik sahada gözlenen sinyaller, sukroz üzerindeki iki asitin de 1,3,4,5-tetrasübstitüe sinnamik asit türevi, bir diğer deyişle iki sinapik asit olduğunu işaret etmektedir. Açil (ester bağıyla bağlanan asit) ünitelerinin sakaroz üzerinde bağlandığı bölgeler, HMBC (^{1}H,^{13}C-heteronükleer uzak-mesafe korelasyonlu spektrum) yardımıyla aydınlatılmıştır (Şekil 4.7.). HMBC spektrumunda, sinapik asitlerin karbonil karbonlarına (C-9''/C-9''') uzak mesafe korelasyon gösteren protonların, sinapik asitin olefinik protonları (H-7''/H-7''' ve H-8''/ H-8''') ile glukozun hidroksimetilen protonları (H-6'a ve H-6'b) ile sakarozun H-3' protonunun olması, esterleşmelerin C-6(OH) ve C-3'(OH) grupları üzerinden olduğunu göstermiştir (Şekil 4.8.).



Şekil 4.8. **Pi-2** için HMBC (^{1}H,^{13}C-heteronükleer uzak-mesafe) korelasyonları (H→C).

6,3'-disinapoil-sukroz (**Pi-2**) ilk olarak *Securidaca longipedunculata* Fresen (*Polygalaceae*) kabuklarından izole edilmiştir [137], ayrıca Çizelge 4.1.'de **Pi-2** için belirlenen değerler, literatürde 6,3'-di-*O*-sinapoil-sukroz için verilen değerlerle de uyum içindedir [21].

Pi-3= Pi-5: 6-*O*-sinapoil-3'-*O*-trimetoksi-sinnamoil-sukroz (tenuifoliozit C)



Şekil 4.9. 6-*O*-sinapoil-3'-*O*-trimetoksi-sinnamoil-sukroz (tenuifoliozit C) **Pi-3= Pi-5**'in ^{1}H- ve ^{13}C-NMR spektral değerleri.

Çizelge 4.2. 6-*O*-sinapoil-3'-*O*-trimetoksi-sinnamoil-sukroz (**Pi-3**)'un ^{1}H- ve ^{13}C-NMR Spektral Değerleri ve HMBC korelasyonları.

C/H	DEPT	δ_C, ppm	δ_H, ppm, *J* (Hz)	HMBC (C'dan →H'a)
Glu 1	CH	92.61	5.52 d (3.8)	-
2	CH	72.97	3.51 dd (3.8/9.7)	H-1
3	CH	75.01	3.69 t (9.2)	-
4	CH	71.81	3.34 t (9.3)	-
5	CH	72.42	4.28 gdd (9.3/7.3)	H-1/H-4
6	CH_2	65.58	4.23 dd (11.7/7.3) 4.69 gd (11.7)	H-4
Fru 1'	CH_2	63.72	3.65 d (12.2) 3.60 d (12.2)	-
2'	C	104.76	-	H-3'/H_2-1'
3'	CH	79.32	5.54 d (8.1)	-
4'	CH	74.09	4.52 t (8.1)	-
5'	CH	84.21	4.00 ddd (3.1/8.1/10.0)	H-3'H-4'
6'	CH_2	65.58	3.90 dd (12.1/6.9)/3.84†	-
Sinapoyl→6Glu		-	-	-
1"	C	126.48	-	H-2"/H-6"/H-7"/H-8"
2"/6"	CH	106.75	6.84 s	H-6"/H-2"
3"/5"	C	149.24	-	3"&5"-OMe/H-2"/H-6"
4"	C	139.33	-	H-2"/H-6"
7"	CH	147.23	7.56 d (15.9)	H-8"

8"	CH	115.66	6.44 d (15.9)	H-7"
9"	C	169.10	-	H-7"/H-8"/H-6a&H-6b
3"&5"-OMe	CH_3	56.73	3.82 s	-
TMCinnamoyl→3'Fru		-	-	-
1'''	C	131.34	-	H-2'''&H-6'''/H-7'''/H-8'''
2'''/6'''	CH	106.78	6.90 s	H-6'''/H-2'''
3'''/5'''	C	154.59	-	3'''&5'''-OMe/H-2'''&H-6'''
4'''	C	141.10	-	H-2'''&H-6''', 4'''-OMe
7'''	CH	147.29	7.67 d (15.9)	H-8'''
8'''	CH	117.63	6.53 d (15.9)	H-7'''
9'''	C	167.85	-	H-7'''/H-8'''/H-6a&H-6b
3'''&5'''-OMe	CH_3	56.79	3.84 s	-
4'''-OMe	CH_3	61.18	3.77 s	-

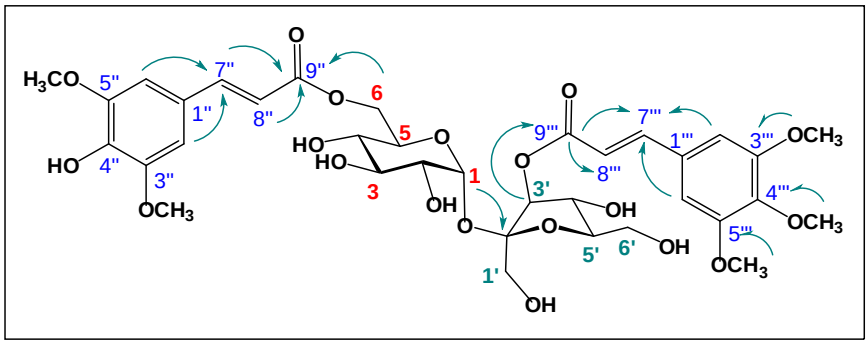
†) Sinyal örtüşmesi sebebiyle *J* değerleri ölçülemedi.

6-*O*-sinapoil-3'-*O*-trimetoksi-sinnamoil-sukroz (tenuifoliozit C) (**Pi-3 = Pi-5**).

NMR spektrumlarının incelenmesinden sonra, **Pi-3** ve **Pi-5** kodlarıyla elde edilen bileşiklerin aynı olduğu, sukroz'un diesterleri olduğu (tenuifoliozit C) anlaşılmıştır.

Bileşik **Pi-3**'ün pozitif ve negatif iyon kütle spektrumlarında, *m/z* 791.2362 [M + Na]+, ve *m/z* 767.2393 $[M-H]^-$'de gözlenen moleküler iyon pikleri, kimyasal formülünün $C_{35}H_{44}O_{19}$, molekül ağırlığının 768.2477 ve tam kütlesi 768.7180 olduğunu göstermektedir.

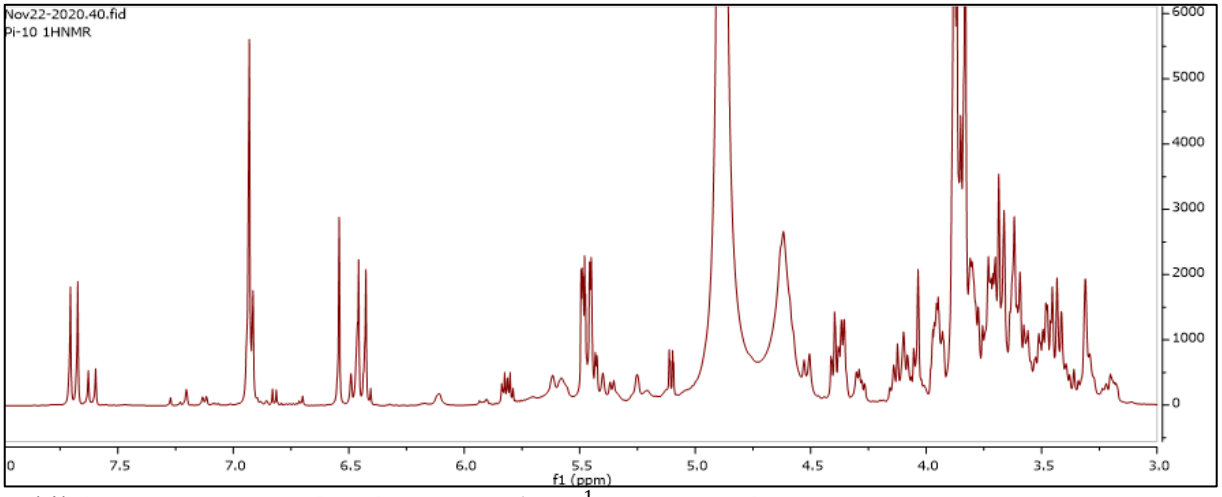
Bileşiğin ^{1}H- ve ^{13}C-NMR spektrumları incelendiğinde (Çizelge 4.2.), **Pi-3**'ün **Pi-2** gibi sukrozun diesteri olduğunu göstermektedir. Çizelgede, tüm proton ve karbon sinyalleri, COSY (^{1}H,^{1}H-homonükleer korelasyonlu spektrum) HSQC (^{1}H,^{13}C-heteronükleer kısa-mesafe korelasyonlu spektrum) yardımıyla yorumlanmıştır. Aromatik sahada gözlenen sinyaller, sukroz üzerindeki iki asitin de 1,3,4,5-tetrasübstitüe sinnamik asit türevi olduğunu işaret etmektedir. Ancak, fazladan bir metoksil sinyali ve **Pi-2**'ye göre molekül ağırlığının 14 dalton daha farklı olması, açil (ester bağıyla bağlanan asit) ünitelerinin birinin 3,4,5-trimetoksi-sinnamik asit, diğerinin ise sinapik asit olduğuna işaret etmektedir. Bu birimlerin sakaroz üzerinde bağlandığı bölgeler, HMBC yardımıyla aydınlatılmıştır. HMBC spektrumunda, sinapik asitin karbonil karbonu (C-9") ile uzak mesafe korelasyon gösteren protonların, sinapik asitin olefinik protonları (H-7"/H-8") ile glukozun hidroksimetilen protonları (H-6'a ve H-6'b) olduğu, buna karşılık, 3,4,5-trimetoksi-sinnamik asitin karbonil karbonu ile sakarozun H-3' protonunun olması, esterleşmelerin **Pi-2**'de olduğu gibi, sırasıyla C-6(OH) ve C-3'(OH) grupları üzerinden olduğunu göstermiştir. Diğer HMBC korelasyonları Çizelge 4.2. ve Şekil 4.10.'de gösterilmiştir.



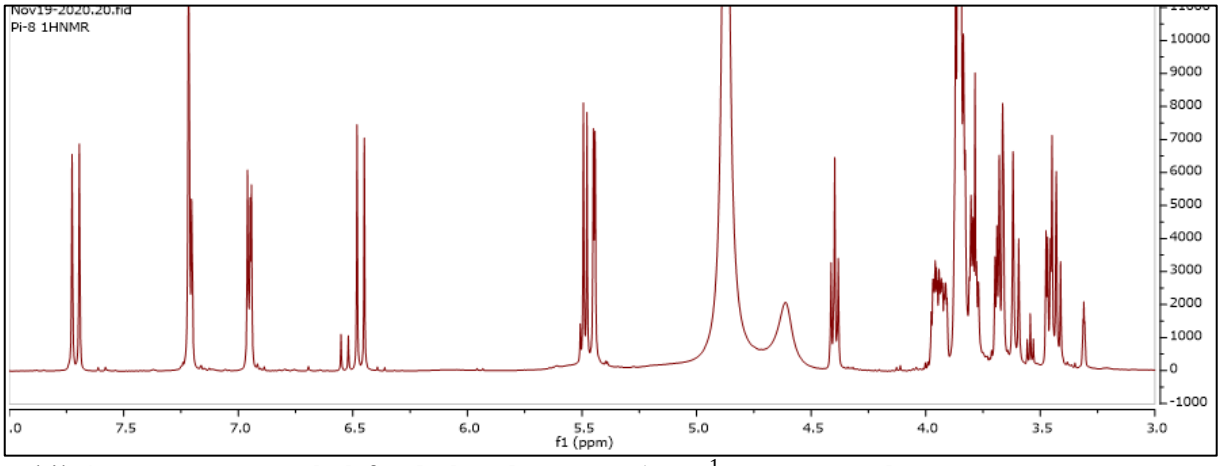
Şekil 4.10. **Pi-2**'ün HMBC (^{1}H,^{13}C-heteronükleer uzak-mesafe) korelasyonları (H→C).

Bu bulgular, literatürde tenuifoliozit C için verilen değerlerle uyum göstermektedir [81, 131, 138].

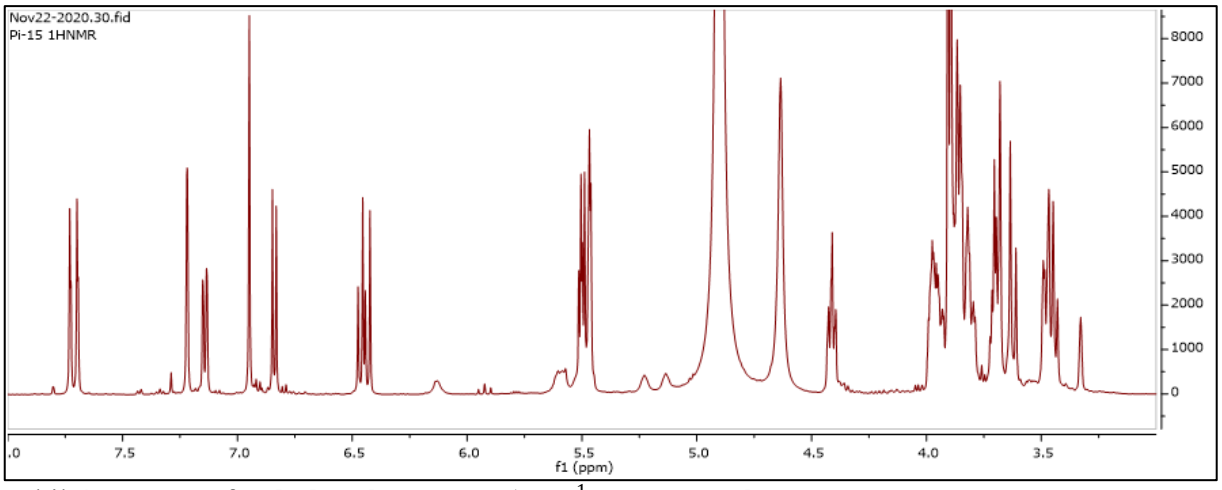
P. inexpectata'dan elde edilen diğer sukroz esterleri, Şekil 4.5. ve 4.6.'de örnek olarak gösterilen 3'-*O*-trimetoksi-sinnamoil-sukroz (glomeratose A) (**Pi-11**) gibi monoesterlerdir. Bu bileşikler, **Pi-11**'e ek olarak, 3'-*O*-(sinapoil)-sukroz (**Pi-10**), 3'-*O*-(feruloil)-sukroz (**Pi-15**), ve 3'-*O*-(*O*-methyl-feruloil)-sukroz (**Pi-8**)'dur (Şekil 4.5., 4.11., 4.12. ve 4.13.).



Şekil 4.11. 3'-*O*-(sinapoil)-sukroz (**Pi-10**)'un ^{1}H-NMR spektrumu (500 MHz; CD_3OD).



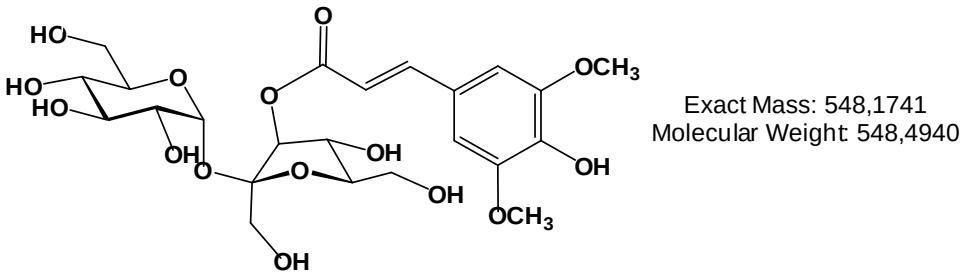
Şekil 4.12. 3'-*O*-(*O*-methyl-feruloil)-sukroz (**Pi-8**)'un ^{1}H-NMR Spektrumu (500 MHz; CD_3OD).



Şekil 4.13. 3'-*O*-(feruloil)-sukroz (**Pi-15**)'un ^{1}H-NMR spektrumu (500 MHz; CD_3OD).

Pi-10: 3'-*O*-(sinapoil)-sukroz (Pi-10) [3'-*O*-(sinapoyl)-sucrose]

Bileşik **Pi-10**'un pozitif ve negatif iyon kütle spektrumlarında, *m/z* 571.1624 $[M+Na]^+$, ve *m/z* 547.1727 $[M-H]^-$'de gözlenen moleküler iyon pikleri, kimyasal formülünün $C_{23}H_{32}O_{15}$, molekül ağırlığının 548.4940 olduğunu göstermektedir (Şekil 4.14.).



Şekil 4.14. 3'-*O*-(sinapoil)-sukroz (**Pi-10**) [3'-*O*-(sinapoyl)-sucrose]'un kimyasal yapısı.

Çizelge 4.3. 3'-*O*-(sinapoil)-sukroz (**Pi-10**)'un ^{1}H- ve ^{13}C-NMR spektral değerleri ve HMBC korelasyonları

C/H	DEPT	δ_C, ppm	δ_H, ppm, *J* (Hz)	HMBC (C'dan →H'a)
Glu 1	CH	93.18	5.45 d (3.5)	-
2	CH	72.79	3.48 dd (3.5/9.5)	-
3	CH	74.87	3.68 t	-
4	CH	70.99	3.43 t (9.5)	-

5	CH	74.42	3.92 m	-
6	CH_2	62.20	3.85/3.79	-
Fru 1'	CH_2	65.20	3.64 d (12.1) / 3.60 d (12.1)	H-3'
2'	C	104.70	-	H-1
3'	CH	79.52	5.49 d (7.8)	-
4'	CH	73.76	4.40 t	-
5'	CH	83.94	3.97 m	-
6'	CH_2	62.82	3.85†	-
1"	C	126.49	-	H-2"&H-6"/H-7"/H-8"
Sinapoil 2"/6"	CH	106.95	6.93 s	H-6"/H-2"
3"/5"	C	149.27	-	3"&5"-OMe/H-2"&H-6"
4"	C	139.43	-	H-2"&H-6"
7"	CH	147.95	7.69 d (15.9)	H-7"/H-8"/H-6a&H-6b
8"	CH	115.32	6.44 d (15.9)	H-7"
9"	C	168.26	-	H-7"/H-8"/H-3'
3"&5"-OMe	CH_3	56.90	3.87 s	-

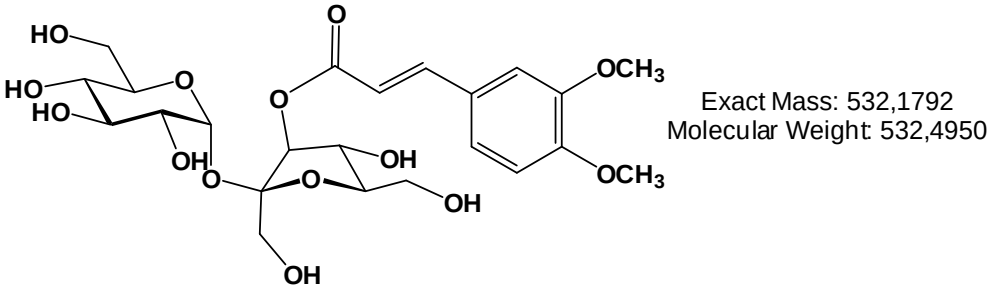
†) Sinyal örtüşmesi nedeniyle *J* değer ölçümleri gerçekleştirilemedi.

^{1}H (Şekil 4.11.) ve ^{13}C-NMR değerleri (Çizelge 4.3.), 2D-NMR (COSY, HSQC ve HMBC) ölçümleri ile yorumlanmıştır. Sukroz protonlarına ek olarak, üzerindeki ester bağı ile bağlanmış açil ünitesinin, aromatik sahada gözlenen AX sistem şeklindeki *trans*-olefinik proton sinyalleri (her biri 1H ve d, J_{AX}= 15,9 Hz, H-7" ve H-8") ve iki proton şiddetinde aromatik proton sinyali (2H, s, H-2"/6") ve altı proton şiddetinde metoksil (6H, s, 3"&5"-OMe) sinapik asit olduğunu göstermektedir. HMBC spektrumunda, fruktozun H-3' ve sinapik asitin olefinik protonları (H-7" ve H-8")'ından sinapik asitin karbonil karbonuna (C-9") uzak mesafe korelasyon göstermesi, esterleşmenin fruktoz ünitesinin C-3'(OH) grubu üzerinden olduğunu göstermektedir.

Bu bulgulara dayanarak **Pi-10**, 3'-*O*-(sinapoil)-sukroz olarak yorumlanmıştır. Bu bulgular literatürde verilen değerlerle uyum göstermektedir [139].

Pi-8: 3'-*O*-(*O*-metil-feruloil)-sukroz

Bileşik **Pi-8**'in pozitif ve negatif iyon kütle spektrumlarında, *m/z* 555.1677 $[M+Na]^+$, ve *m/z* 531.1709 $[M-H]^-$'de gözlenen moleküler iyon pikleri, kimyasal formülünün $C_{23}H_{32}O_{14}$, molekül ağırlığı 532.4950 olduğunu göstermektedir (Şekil 4.15.).



Şekil 4.15. 3'-*O*-(*O*-metil-feruloil)-sukroz (**Pi-8**)'in kimyasal yapısı.

^{1}H (Şekil 4.12.) ve ^{13}C-NMR değerleri (Çizelge 4.4.), 2D-NMR (COSY, HSQC ve HMBC) ölçümleri ile yorumlanmıştır. Sukroz protonlarına ek olarak, üzerindeki ester bağı ile bağlanmış açil ünitesinin, aromatik sahada gözlenen AX sistem şeklindeki *trans*-olefinik proton sinyalleri (her biri 1H ve d, J_{AX}= 15,9 Hz, H-7" ve H-8") ve ABX sistem şeklinde üç aromatik proton (herbiri 1H, H-2", d, *J* = 2.0 Hz; H-6", dd, *J* = 8.0 ve 2.0 Hz: H-5", d, *J* = 8.0 Hz) ve her biri 3 proton şiddetinde iki metoksil (3"-OMe &4"-OMe) sinyalleri ile 4-*O*-metil-ferulik asit (3,4-dimetoksisinnamik asit) olduğunu göstermektedir. HMBC spektrumunda, fruktozun H-3' ve 4-*O*-metil-ferulik asitin olefinik protonları (H-7" ve H-8")'ından karbonil karbonuna (C-9") uzak mesafe korelasyon göstermesi, esterleşmenin, Pi-10'da olduğu gibi, sakarozun fruktoz ünitesine C-3'(OH) grubu üzerinden olduğunu doğrulamaktadır.

Çizelge 4.4. 3'-*O*-(*O*-metil-feruloil)-sukroz (**Pi-8**)'un ^{1}H- ve ^{13}C-NMR spektral değerleri ve HMBC korelasyonları.

C/H	DEPT	δ_C, ppm	δ_H, ppm, *J* (Hz)	HMBC (C'dan →H'a)
Glu 1	CH	93.19	5.45 d (3.4)	-
2	CH	72.94	3.46 (3.4/9.8)	-
3	CH	74.86	3.68 t (9.3)	-
4	CH	71.02	3.43 t (9.3)	-
5	CH	74.42	3.92 m	-
6	CH_2	62.20	3.84† / 3.78 dd (12.2/4.4)	-
Fru 1'	CH_2	65.19	3.68 d (12.3) / 3.61 d (12.3)	

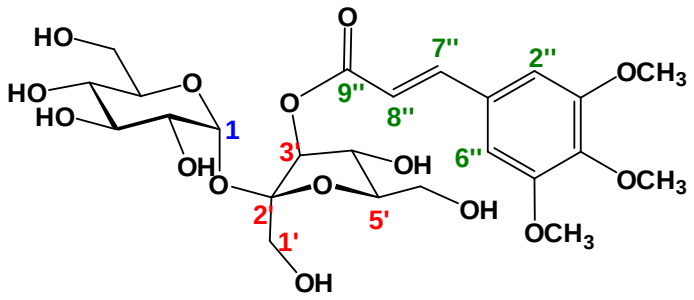
2'	C	104.69	-	H-1, H_2-1'
3'	CH	79.59	5.49 d (7.8)	-
4'	CH	73.74	4.40 t (7.8)	-
5'	CH	83.96	3.97 m	-
6'	CH_2	62.84	3.85†	-
Dimethoxy-Cinnamoyl→3'-*O*-Fru		-	-	
1"	C	128.56	-	H-2', H-6', H-7", H-8"
2"	CH	111.63	7.22 d (2.0)	OMe (δ 3.85), H-7", H-6'
3"	C	150.47	-	OMe (δ 3.86)
4"	C	152.68	-	OMe (δ 3.85), H-2", H-5", H-6"
5"	CH	112.45	6.95 d (8.0)	OMe (δ 3.86)
6"	CH	124.10	7.21 dd (8.0/2.0)	-
7"	CH	147.30	7.71 d (15.9)	H-8"
8"	CH	115.83	6.47 d (15.9)	H-7"
9"	C	168.17	-	H–3' (δ 5.50), H-7", H-8"
3'-OMe	CH_3	56.51∗	3.85 s	-
4'-OMe	CH_3	61.39∗	3.86 s	-

*) Birbiri içinde değişebilir. †) Sinyal örtüşmesi sebebiyle *J* değerleri ölçülemedi.

Bu bulgulara dayanarak **Pi-8**'in yapısı 3'-*O*-(*O*-metil-feruloil)-sukroz olarak aydınlatılmıştır. Bu bulgular literatürde verilen değerlerle uyum göstermektedir [140].

Pi-11: 3'-*O*-trimetoksi-sinnamoil-sukroz (glomeratoz A) = 3'-*O*-trimethoxy-cinnamoyl-sucrose (glomeratose A).

Pi-11'in kütle spektrumunda (pozitif iyon) (HR-MS), *m/z* 585.1781 $[M+Na]^+$'de gözlenen moleküler iyon piki, kimyasal formülünün $C_{23}H_{35}O_{15}$, molekül ağırlığı 562.5210 olduğunu göstermiştir (Şekil 4.16.).



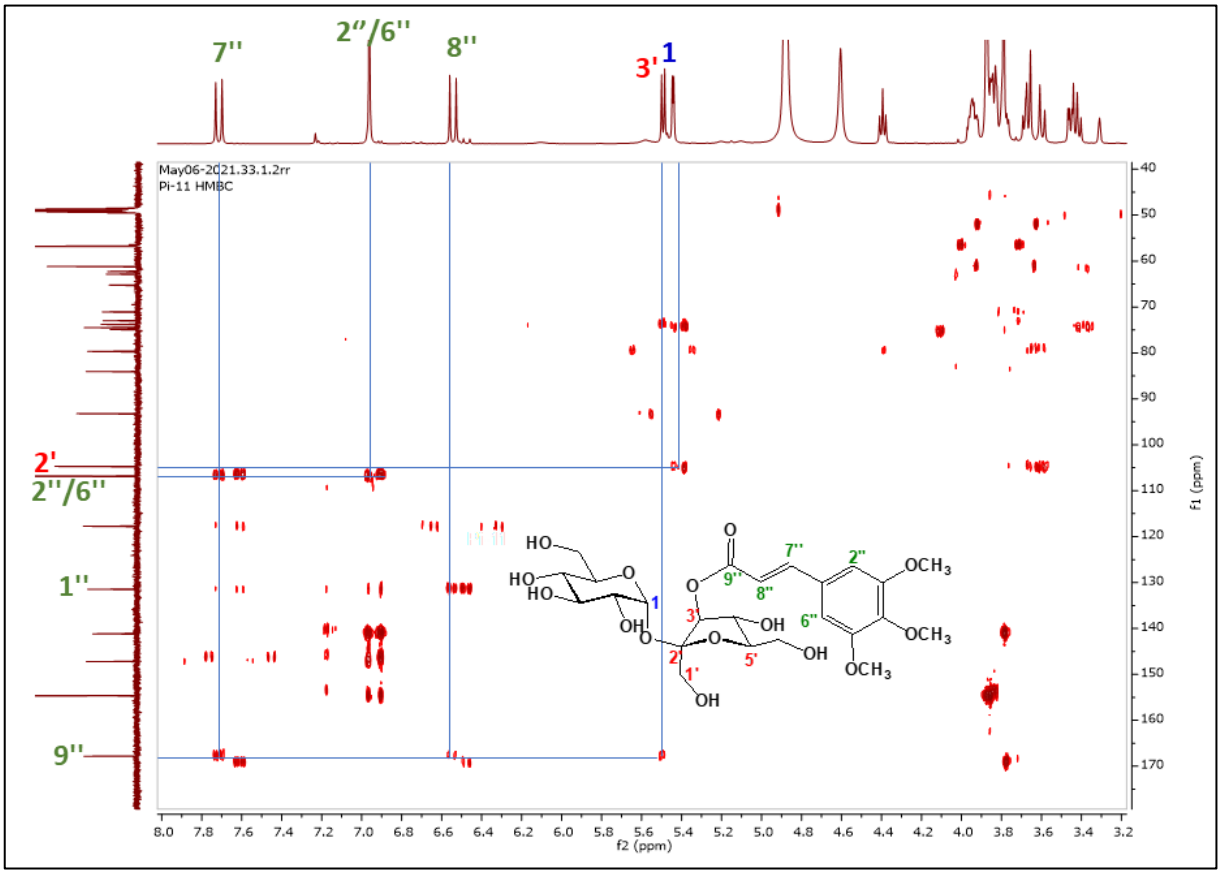
Şekil 4.16. **Pi-11**, 3'-*O*-trimetoksi-sinnamoil-sukroz (glomeratoz A) = 3'-*O*-trimethoxy-cinnamoyl-sucrose (glomeratose A)'nın kimyasal yapısı.

Çizelge 4.5. 3'-*O*-trimetoksi-sinnamoil-sukroz (**Pi-11**)'un ^{1}H- ve ^{13}C-NMR spektral değerleri ve HMBC korelasyonları.

C/H	DEPT	δ_C, ppm	δ_H, ppm, *J* (Hz)	HMBC (C'dan →H'a)
Glu 1	CH	93.23	5.44 d (3.6)	-
2	CH	73.00	3.45 dd (3.6/9.5)	-
3	CH	74.93	3.67 t (9.5)	-
4	CH	71.07	3.42 t (9.5)	-
5	CH	74.51	3.92m	-
6	CH_2	62.28	3.84 dd (12.0/2.1) 3.78 dd (12.0/4.6)	-
Fru 1'	CH_2	65.24	3.66 d (12.2) 3.60 d (12.2)	-
2'	C	104.71	-	-
3'	CH	79.70	5.49 d (7.8)	-
4'	CH	73.80	4.39 t (7.8)	-
5'	CH	84.06	3.95 m	-
6'	CH_2	62.85	4.60 gs	-
TMS	-	-	-	-
1"	C	131.46	-	-
2"/6"	CH	106.85	6.96 s	-
3"/5"	C	154.66	-	-
4"	C	141.17	-	-
7"	CH	147.22	7.72 d (16.0)	-
8"	CH	117.74	6.54 d (16.0)	-
9"	C	167.82	-	-

3"/5"-OMe	CH_3	56.79	3.88 s	-
4"-OMe	CH_3	61.20	3.80 s	-

^{1}H (Şekil 4.5.) ve ^{13}C-NMR (Şekil 4.6.) değerleri (Çizelge 4.5.), 2D-NMR (COSY, HSQC ve HMBC) ölçümleri ile yorumlanmıştır. Sukroz protonlarına ek olarak, üzerindeki ester bağı ile bağlanmış açil ünitesinin, aromatik sahada gözlenen AX sistem şeklindeki *trans*-olefinik proton sinyalleri (her biri 1H ve d, J_{AX}= 16,0 Hz, H-7" ve H-8") ve iki proton şiddetinde aromatik proton sinyali (2H, s, H-2"/6") ve toplam dokuz proton şiddetinde üç metoksil (6H, s, 3"&5"-OMe; 3H, s, 4"-OMe) sinapik asit olduğunu göstermektedir. HMBC spektrumunda (Şekil 4.17.), fruktozun H-3' ve sinapik asitin olefinik protonları (H-7" ve H-8")'ından sinapik asitin karbonil karbonuna (C-9") uzak mesafe korelasyon göstermesi, esterleşmenin fruktoz ünitesinin C-3'(OH) grubu üzerinden olduğunu göstermektedir.

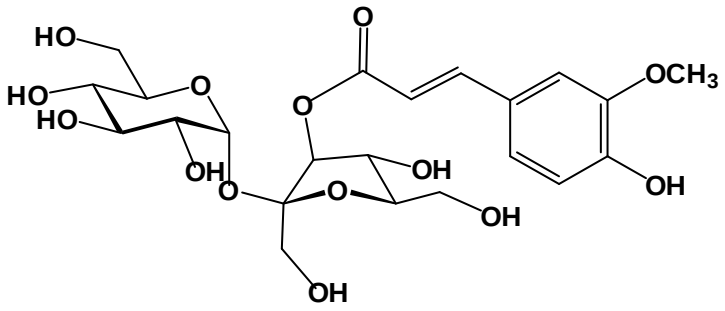


Şekil 4.17. 3'-*O*-trimetoksi-sinnamoil-sukroz **(**glomeratoz A**)**'un HMBC spektrumu.

Bu bulgulara dayanarak **Pi-11**'in yapısı 3'-*O*-trimetoksi-sinnamoil-sukroz (glomeratoz A) olarak aydınlatılmıştır. Bu bulgular, literatürde verilen değerlerle uyum göstermektedir [131].

Pi-15: 3'-*O*-feruloil-sukroz (sibirikoz A5) = 3'-*O*-feruloyl-sucrose (= sibiricose A5).

Pi-15'in pozitif ve negatif iyon kütle spektrumlarında (HR-MS), *m/z* 541.1523 $[M+Na]^+$ ve *m/z* 517.1561 $[M-H]^-$'de gözlenen moleküler iyon pikleri (Çizelge 4.6), kimyasal formülünün $C_{22}H_{30}O_{14}$, molekül ağırlığının 518.4680 olduğunu göstermiştir (Şekil 4.18.) [20].



Şekil 4.18. **Pi-15**, 3'-*O*-feruloil-sukroz (sibirikoz A5) = 3'-*O*-feruloyl-sucrose (= sibiricose A5)'un kimyasal yapısı.

Çizelge 4.6. 3'-*O*-feruloil-sukroz (**Pi-15**, sibirikoz)'un ^{1}H- ve ^{13}C-NMR spektral değerleri ve HMBC korelasyonları.

C/H	DEPT	δ_C, ppm	δ_H, ppm, *J* (Hz)	HMBC (C'dan →H'a)
Glu 1	CH	93.20	5.46 d (3.6)	-
2	CH	72.94	3.49 dd /3.6/9.5)	-
3	CH	74.42	3.70 t (9.5)	-
4	CH	71.01	3.45 t (9.5)	-
5	CH	74.87	3.94 m	-
6	CH_2	62.18	3.86† / 3.81†	-
Fru 1'	CH_2	65.19	3.69 d (12.2) / 3.62 d (12.2)	-
2'	C	104.71	-	-
3'	CH	79.54	5.50 d (7.8)	-
4'	CH	73.75	4.41 t (7.8)	-
5'	CH	83.96	3.97 m	-
6'	CH_2	62.84	3.86†	-

Ferulik asit	-	-	-	-
1"	C	127.60	-	-
2"	CH	112.00	7. 22 d (2.0)	-
3"	C	150.49	-	-
4"	C	149.21	-	-
5"	CH	116.43	6.80 d (8.2)	-
6"	CH	124.15	7.14 dd (20 / 8.2)	-
7"	CH	147.73	7.71 d (15.9)	-
8"	CH	114.89	6.44 d (15.9)	-
(C=O) 9"	C	168.39	-	-
OMe	CH_3	56.88	3.89 s	-

†) Sinyal örtüşmesi sebebiyle *J* değerleri ölçülemedi.

Pi-9: Sinapyl alcohol 4-O-glucoside (Eleutheroside B = Syringin) = Sinapil alkol 4-O-glukozit (Eleutheroside B veya Syringin)

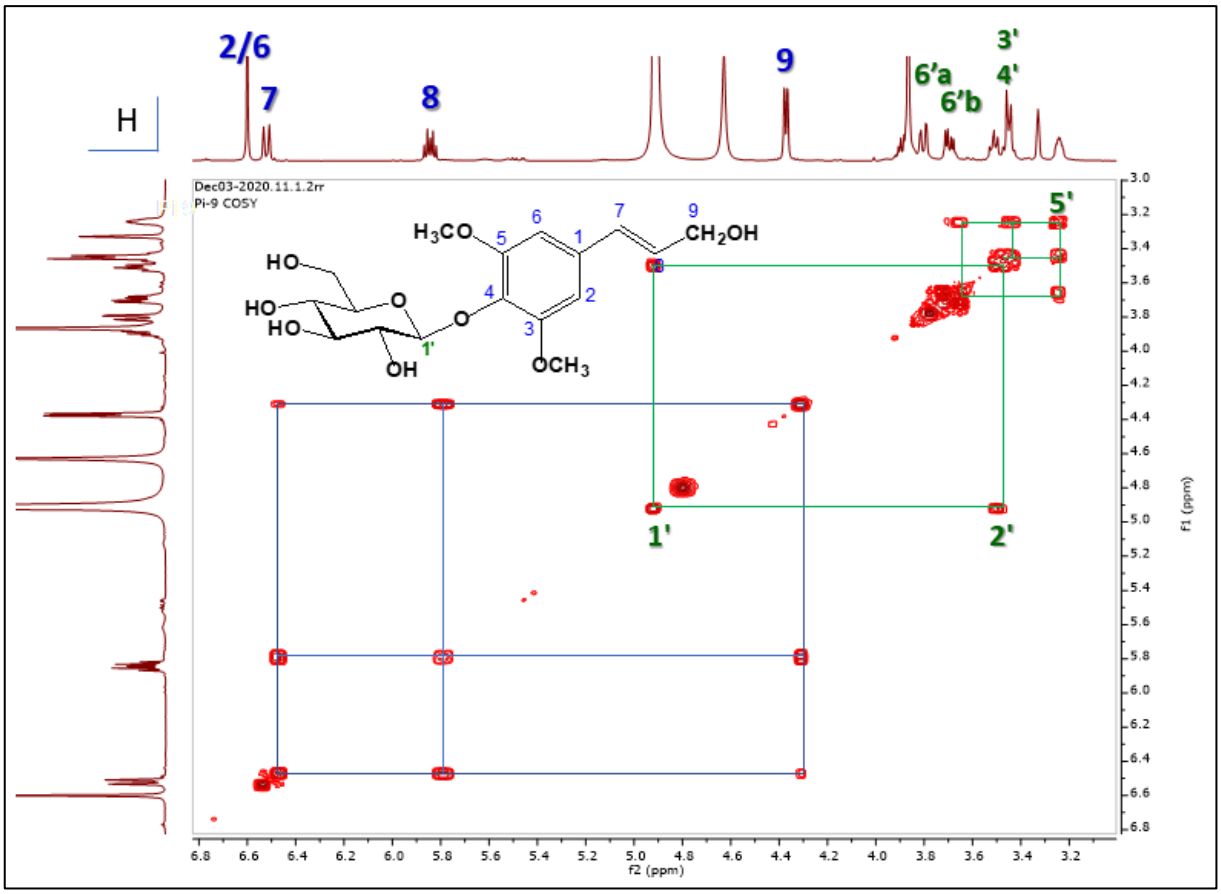
Pi-9'un pozitif iyon kütle spektrumunda (HR-MS), *m/z* 395.1306 $[M+Na]^+$'da gözlenen iyon piki, kimyasal formülünün $C_{17}H_{24}O_9$, molekül ağırlığının 372.1420 olduğunu göstermiştir.

^{1}H ve ^{13}C-NMR spektrumları, **Pi-9**'un monoglikozidik bir yapıya sahip olduğunu göstermiştir (Çizelge 4.7.). Oz ünitesine ait sinyallerin kimyasal kaymaları ve etkileşme sabiti (J) değerleri glukoz için karakteristik olup, aglikon kısmının monomerik bir fenilpropan türevi olduğu anlaşılmaktadır. ^{13}C-NMR spektrumunda gözlenen 17 karbondan, glukoza ait olan altı karbon çıkarılınca, kalan 11 karbon bir fenilpropan (C_6C_3) ile iki metoksil sinyalinden kaynaklanmaktadır. COSY yardımıyla, glukoz ve fenilpropan ünitesinin yan zincirine ait iki spin sistemi ve 2 proton şiddetinde aromatik sahada bir singlet, fenilpropan ünitesinin 1,3,4,5-tetrasübstitüe fenil halkasına ait simetrik iki aromatik proton (2H, s, H-2'/H-6') olarak gözlenmiştir (Şekil 4.19.). Yan zincirine ait aynı spin sistemi içinde ikisi *trans*-konumunda iki olefinik proton ve bir hidroksimetilen fonksiyonundan ileri gelen ve bir ABX sistemi şeklinde gözlenen sinyaller propan yan zincirine atfedilmiştir. Bu bulgular, aglikonun sinapil alkol olduğuna işaret etmektedir.

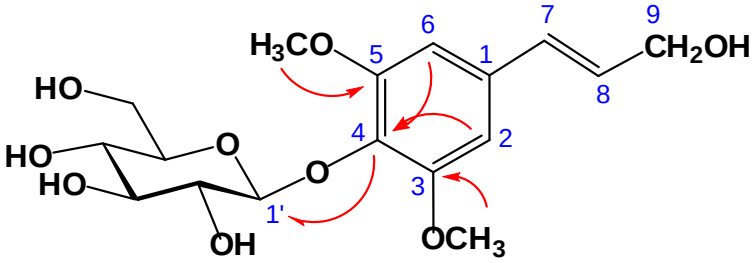
Çizelge 4.7. Sinapil alkol 4-*O*-glukozit (Syringin)'in ^{1}H- ve ^{13}C-NMR spektral değerleri ve HMBC korelasyonları.

C/H	DEPT	δ_C, ppm	δ_H, ppm, *J* (Hz)	HMBC (C'dan →H'a)
Sinapil alkol			-	-
1	C	134.73	-	H-2/6, H-8
2/6	CH	107.96	6.58 s	H-7
3/5	C	153.97	-	H-2/6, C-3/5-OMe
4	C	134.44	-	H-2/6, H-1'
7	CH	132.50	6.50 d (11.9)	H-2/6, H_2-9
8	CH	131.46	5.82 dt (11.9/6.5)	-
9	CH_2	59.78	4.35 dd (6.5/1.1)	-
3/5-OMe	CH_3	57.06	3.85 s	-
Glu	-	-	-	-
1'	CH	105.22	4.81†	H-2'
2'	CH	75.66	3.38 dd (7.8/9.0)	-
3'	CH	77.56	3.37 t (9.0)	-
4'	CH	71.24	71.24 t (9.0)	-
5'	CH	78.29	3.22 m	-
6'	CH_2	62.47	3.78 dd (12.0/2.0) 3.68 dd (12.0/5.0)	-

†) Sinyal örtüşmesi nedeni ile *J* değerleri ölçülemedi.



Şekil 4.19. Sinapil alkol 4-*O*-glukozit (Syringin)'in COSY spektrumu.



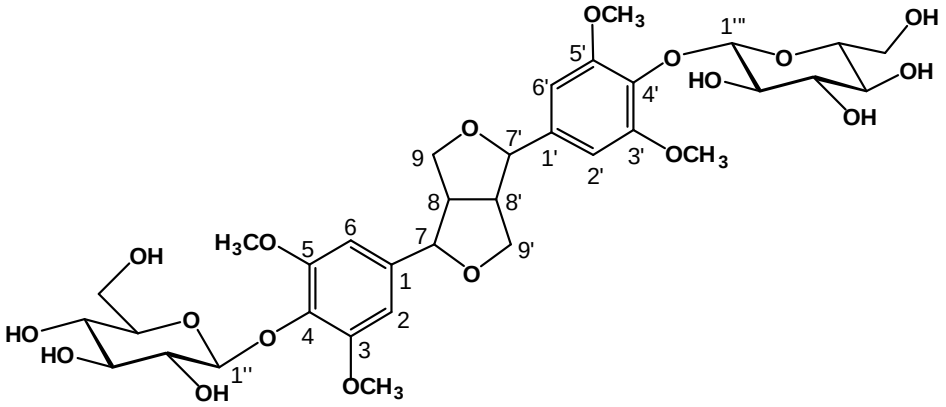
Şekil 4.20. Sinapil alkol 4-*O*-glukozit (Syringin)'in HMBC spektrumunda gözlenen $^{1}H,^{13}C$-uzak mesafe korelasyonları.

HMBC spektrumunda, glukozun anomerik protonu (H-1') bir taraftan sinapil alkolün C-4 sinyali ile diğer taraftan H-2 ve H-6 sinyalleri ile $^{1}H,^{13}C$-uzak mesafe (HMBC) korelasyonları göstermesi, glkikozidasyonun C-4(OH) grubu üzerinden olduğunu göstermiştir (Şekil 4.20.).

Bu bulgular, literatürde siringin için verilen değerlerle uyum içindedir [141].

Pi-12: Liriodendrin.

Pi-12'nin pozitif iyon kütle spektrumunda, *m/z* 765.2576 $[M+Na]^+$'da belirlenen psödomoleküler iyon piki, $C_{34}H_{46}O_{18}$ kimyasal formülünde, molekül ağırlığının 742.7240 olduğunu göstermiştir (Şekil 4.21.).



Şekil 4.21. **Pi-12**: Liriodendrin'in kimyasal yapısı.

Çizelge 4.8. Liriodendrin (**Pi-12**)'in ^{1}H- ve ^{13}C-NMR spektral değerleri ve HMBC korelasyonları.

C/H	DEPT	δ_C, ppm	δ_H, ppm, *J* (Hz)	HMBC (C'dan →H'a)
Lignan	-	-	-	-
1/1'	C	137.60	-	H-2/2', H-6/6'
2/2' ve 6/6'	CH	104.61	6.67 s	H-7/H-7', 3/3'-OMe, 5/5'-OMe
3/3' ve 5/5'	C	153.08	-	3/3'-OMe, 5/5'-OMe, H-2/2', H-6/6'
4/4'	C	134.09	-	H-1''/H-1''', H-2/2', H-6/6'
7/7'	CH	85.53	4.66 gs	H-2/2', H-6/6', H_2-9/9'
8/8'	CH	54.07	3.09 gs	H-7/7', H_2-9/9'
9/9'	CH_2	71.83	4.21 dd 3.84 dd	H-7/7'
OMe × 4	CH_3	56.88	12H, 3.77 s	-
Glukoz	-	-	-	-
1''/1'''	CH	103.11	4.88 d (7.8)	H-3''/3''' ve H-5''/5'''
2''/2'''	CH	74.61	3.21†	-
3''/3'''	CH	76.94	3.21†	-
4''/4'''	CH	70.34	3.15†	-

5"/5'''	CH	77.63	3.05†	-
6"/6'''	CH_2	61.33	4.21 dd (11.4/1.8) 3.42 dd (11.4/6.0)	-

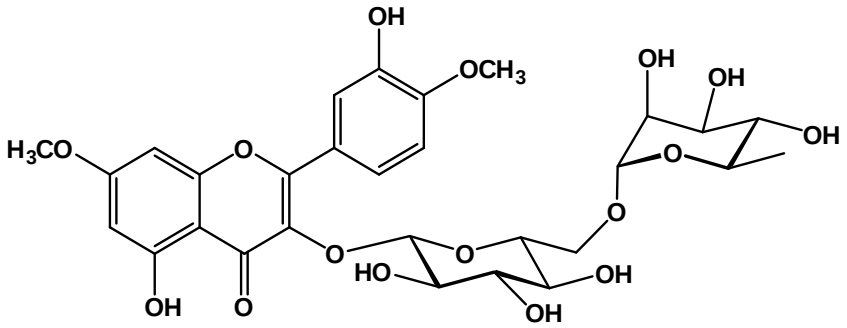
†) Sinyal örtüşmesi sebebiyle *J* değerleri ölçülememiştir.

^{13}C-NMR spektrumunda 14 karbon rezonansı gözlendi. Ancak, moleküler formülü, ^{1}H ve ^{13}C-NMR spektrumları, simetrik ve diglikozidik bir diaril-bisiklooktan yapısında lignan için karakteristiktir (Çizelge 4.8.). 1,3,4,5-tetrasübstitüe benzen halkasına ait 4 proton şiddetinde bir singlet (δ 6.67, s, H-2/6 ve H-2'/6') ve 12 proton şiddetinde dört metoksi varlığından ileri gelen bir singlet (δ 3.77, s) ve iki heksoza ait proton ve karbon sinyalleri, glukoz varlığını göstermekteydi. Ayrıca, iki oksimetilen (-CH_2O-), iki oksimetin (-CHO-) ve iki metin (CH) varlığı bis-tetrahidrofuran halkasının varlığını göstermekteydi. HMBC korelasyonlarına dayanarak, **Pi-12**'nin 2,6-diaril-3,7-dioksabisiklo-oktan yapısında bir lignan yapısında olduğu anlaşıldı.

Bulgular, siringarezinol-4',4''-*O*-di-β-D-glukopiranozit (liriodendrin) için literatürde verilen değerlerle uyum içinde bulunmuştur [142-144].

Pi-13: Ombuozit: Ombuin 3-*O*-rutinozit [7,4-di-*O*-metilkersetin-3-*O*-β-rutinozit]= Ombuin 3-*O*-rutinoside (ombuoside) [= 7,4′-di-*O*-methylquercetin-3-*O*-β-rutinoside].

Pozitif ve negatif iyon kütle spektrumlarında, *m/z* 639.1909 $[M+H]^+$, *m/z* 661.1726 $[M+Na]^+$ ve *m/z* 637.1761 $[M-H]^-$'de gözlenen psödomoleküler iyon pikleri, Pi-13'in kimyasal formülünün $C_{29}H_{34}O_{16}$, molekül ağırlığının 638.5750 olduğunu göstermiştir (Şekil 4.22.).



Şekil 4.22. **Pi-13,** Ombuozit: Ombuin 3-*O*-rutinozit [7,4-di-*O*-metilkersetin-3-*O*-β-rutinozit]'in kimyasal yapısı.

^{1}H- ve ^{13}C-NMR spektrumları (Çizelge 4.9.), **Pi-13**'ün di-glikozidik yapıya sahip, iki metoksil grubu içeren bir flavonol türevi olduğunu göstermektedir. ^{1}H-NMR spektrumda gözlenen proton sinyallerinden hareketle, COSY yardımıyla diglikozidik oligoholozit yapısının oz ünitelerine ait spin sistemlerinin tanımlanması, HSQC yardımıyla bunlara karşılık gelen karbon rezonanslarının belirlenmesi, interglikozidik bağın [ramnoz-(1→6)-glukoz] ve oz zincirinin flavonol iskeletine bağlanma konumu [C-3(OH)] HMBC yardımıyla tanımlanmıştır. Aynı şekilde, iki metoksil grubunun C-7 ve C-4' konumlarında olduğu da HMBC korelasyonları yardımıyla aydınlatılmıştır.

Çizelge 4.9. Ombuozit (**Pi-13**)'in ^{1}H- ve ^{13}C-NMR değerleri (DMSO-d_6).

C/H	DEPT	Jiang	*Chaves*	*Polygala inexpectata* **Pi-13**				
Flavonol		δ_C ppm	δ_H ppm	δ_C ppm	δ_H ppm	δ_C ppm	δ_H ppm	HMBC
2	C	156.8	-	157.1	-	156.86	-	H-2', H-6'
3	C	133.9	-	134.1	-	133.91	-	H-2', H-5'
4	C	177.6	-	177.8	-	177.64	-	-
5	C	161.5	-	161.2	-	160.96	-	H-6
6	CH	98.1	6.36 d	98.3	6.35 s	-	6.36 gs	H-8
7	C	165.3	-	165.5	-	165.26	-	H-6, H-8, 7-OMe
8	CH	92.4	6.68 d	92.6	6.67 s	-	6.67 gs	H-6
9	C	156.5	-	156.7	-	156.53	-	H-8
10	C	105.1	-	105.3	-		-	H-6, H-8
1'	C	121.6	-	121.9	-	121.64	-	H-2'
2'	CH	115.9	7.52	116.1	7.52 d	115.89	7.55 gs	-
3'	C	145.9	-	146.1	-	145.98	-	-
4'	C	149.6	-	150.5	-	150.27	-	H-2', H-5', 4'-OMe
5'	CH	111.4	7.04	111.6	7.02 d	111.43	7.04 d (8.7)	-
6'	CH	122.5	7.72 d	122.7	7.70 d	122.51	7.73 gd (8.7)	H-5'
7-OMe	CH_3	56.2	3.85	56.4	3.85	56.18	3.85 s	-
4'-OMe	CH_3	55.7	3.85	55.9	3.85	55.73	3.86 s	-
5-OH	-	-	12.52 s	-	12.52 s	-	12.56 gs	-
Glukoz	-	-	-	-	-	-	-	-
1"	CH	101.3	5.321	101.5	5.30 d	101.28	5.39 d (7.0)	-
2"	CH	74.3	-	74.3	-	74.15	3.26†	-
3"	CH	76.5	-	76.7	-	76.48	3.27†	-
4"	CH	70.3	-	70.2	-	70.68	3.51†	H-6"
5"	CH	75.9	-	76.1	-	75.92	3.30†	-

6''	CH_2	67.0	-	67.2	-	67.00	3.72 gd (11.0) 3.35†	H-1'''
Ramnoz	-	-	-	-	-	-	-	-
1'''	CH	101.3	4.422	101.1	4.40	100.89	4.40 gs	-
2'''	CH	70.6	-	70.7	-	70.46	3.41 gd (3.2)	-
3'''	CH	70.4	-	70.9	-	69.94	3.10 t (9.2)	-
4'''	CH	71.9	-	72.1	-	71.90	3.08 t (9.2)	Me-6'''
5'''	CH	68.3	-	68.6	-	68.36	3.29†	Me-6'''
6'''	CH_3	17.8	0.95 d	18.0	0.95 d	17.83	0.97 d (5.8)	-

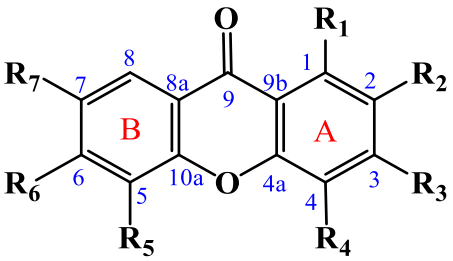
†) Sinyal örtüşmesi sebebiyle *J* değerleri ölçülememiştir.

Bu gözlemlere dayanarak, **Pi-13**'ün kimyasal yapısı, 7,4-di-*O*-metilkersetin-3-*O*-(α-L-ramnopiranozil-(1→6)-β-D-glukopiranozit] (=7,4-di-*O*-metilkersetin-3-*O*-β-rutinozit) olarak aydınlatılmıştır. Bulgular, ombuozit (= ombuin 3-*O*-rutinozit) için literatürde verilen değerlerle uyum içindedir [145, 146].

4.1.2. *P. azizsancarii* Taksonundan İzole Edilen Bileşiklerin Yapı Tayinleri

4.1.2.1. Ksantonlar

^{1}H ve ^{13}C-NMR verilerine dayanarak (Çizelge 4.10. ve 4.11.), **AZ-1, AZ-2, AZ-3, AZ-7, AZ-11, AZ-12, AZ-13**, **AZ-14** ve **AZ-15** bileşiklerinin ana yapılarının, **1** ve **2** için bir heksoz ünitesine ek olarak, 13 karbon atomundan oluşan bir ksanton yapısında olduğu sonucuna varılmıştır. **AZ-15** için bir dioksimetilen fonksiyonu dışında, diğer ksantonlarda değişen sayıda hidroksi ve/veya metoksi grubu ve olduğu saptanmıştır (Şekil 4.23.).



Şekil 4.23. *P. azizsancarii* taksonuna ait bileşiklerin kimyasal yapıları.

Bileşikler	R_1	R_2	R_3	R_4	R_5	R_6	R_7

AZ-7 (AZ-1)	OH	OCH_3	O-Glc	H	OCH_3	OH	OCH_3
AZ-2	OH	OCH_3	O-Glc	H	H	OH	OCH_3
AZ-3	OH	OCH_3	OH	H	OCH_3	OH	OCH_3
AZ-11	OH	OCH_3	OH	H	H	OH	OCH_3
AZ-12	OCH_3	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H	OCH_3
AZ-13 Majör	OH	OCH_3	OH	H	OCH_3	OCH_3	OCH_3
AZ-13 minör	OH	H	OH	OCH_3	H	H	OCH_3
AZ-14	OH	H	OCH_3	H	H	H	OH
AZ-15	OH	-O-CH_2-O-		H	H	H	OH

Çizelge 4.10. *P. azizsancarii* taksonuna ait bileşiklerin yapıları.

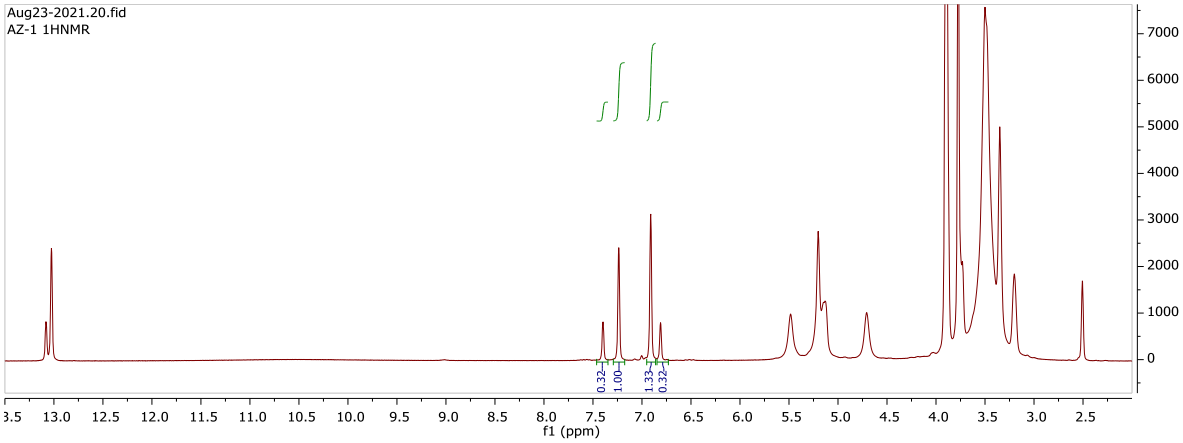
P. azizsancarii taksonundan izole edilen bileşiklere ait spekrumlar **Ek-1**'de verilmiştir.

AZ-1 ve **AZ-2** kristalize olarak elde edildiler. Ancak, NMR spektrumları incelendiğinde, her ikisinin de karışım olduğu anlaşılmıştır. **AZ-1** karışımında, majör/minör oranı, integrasyona dayanarak, 1.00/0.32 iken, **AZ-2** kodlu karışımda bu oran 1.00/0.23 olarak saptanmıştır (Şekil 4.24 ve 4.25.). Ayrıca, aromatik sahada, karışımdaki majör bileşiğe ait sadece iki proton sinyali (singlet) gözlenirken, minör bileşiğe ait üç proton sinyali (singlet, biri majör bileşiğin 6.90 ppm'deki sinyali ile çakışmış olarak) taşıdığı saptanmıştır. Diğer taraftan, **AZ-1** ve **AZ-2**'nin ^{13}C-NMR spektrumlarında, iki bileşiğinde monoglikozidik olduğu, heksoz ünitesinin *O*-glikozidik bağ ile bağlandığı, anomerik karbonun kimyasal kayması (δ 100.4 M ve 100.5 m, C-1' M/m)'ndan hareketle tespit edilmiştir (Şekil 4.26.).

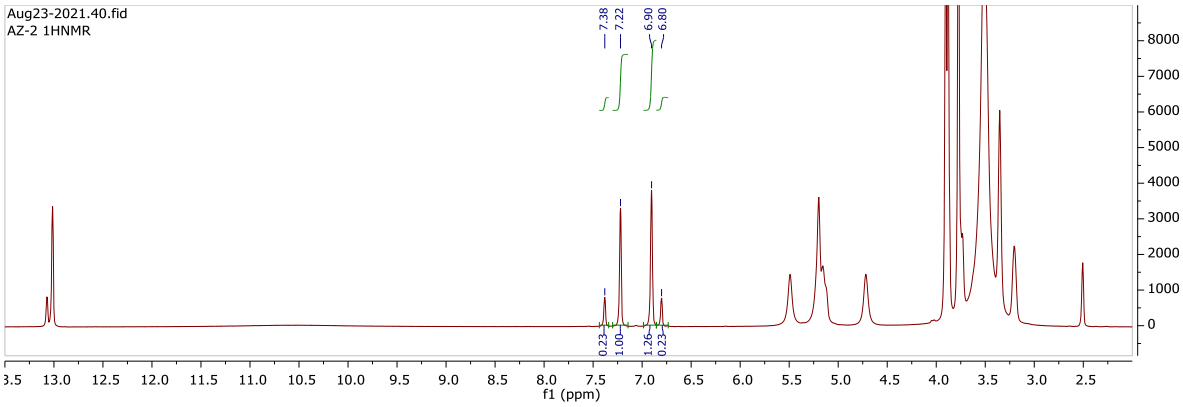
AZ-7: 3-*O*-*β*-D-glukopiranoziloksi-1,6-dihidroksi-2,5,7-trimetoksiksanton **(Sancarozit A)**.

AZ-7, **AZ-1** ve **AZ-2** yönünden zengin olan fraksiyonlardan jel (Sephadex LH-20) kromatografisi ile saflaştırıldı. ^{1}H ve ^{13}C-NMR spektrumları **AZ-1** (Şekil 4.24.) ve **AZ-2**'nin (Şekil 4.25.) spektrumları ile karşılaştırıldığında, **AZ-7** karışımdaki majör bileşik ile aynı olan ve 152.9 °C'lik bir erime noktasına sahip sarı kristaller halinde elde edildi. **AZ-7**'nin negatif ve pozitif iyon yüksek çözünürlüklü kütle spektrumlarında (HR-MS), moleküler iyon pikleri, sırasıyla, *m/z* 495.1138'de $[M-H]^-$ ve m/z'de 497.1284 $[M+H]^+$ olarak gözlendi. Bu sonuçlar ve NMR verileri (Çizelge 4.11. ve 4.12.) ile birlikte değerlendirildiğinde, **AZ-7**'nin molekül ağırlığının 496.12 ve 11 doymamışlık

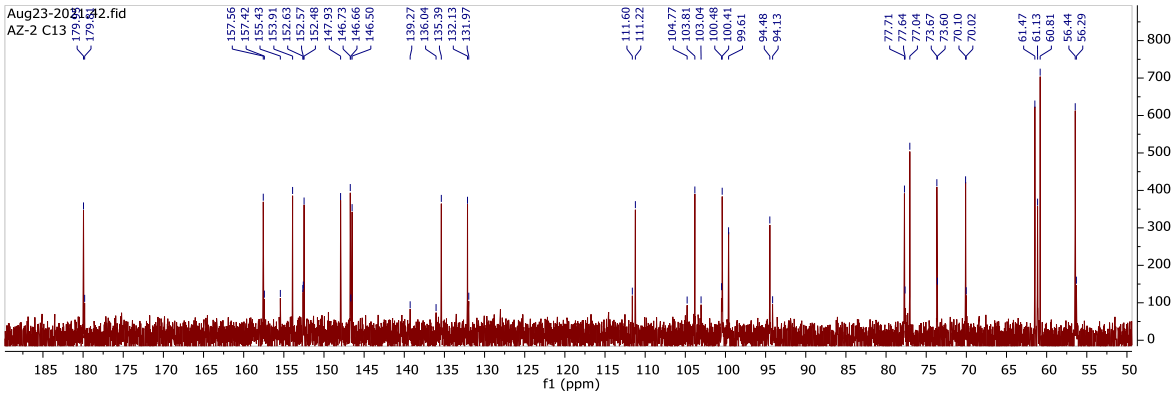
derecesine sahip $C_{22}H_{24}O_{13}$ moleküler formülüne sahip olduğunu gösterdi. ^{1}H-NMR spektrumunda, ksanton iskeletine ait δ_H 6.89 ve 7.22'de gözlenen iki proton sinyali (her biri 1H, her ikisi de s), bir heksoza ait anomerik proton (δ_H 5.20 br s, H-1′, anomerik proton) ve δ_H 3.77, 3.87 ve 3.89'da üç metoksil sinyalinin (her biri 3H, tümü s) varlığı gözlendi (Şekil 4.27.).



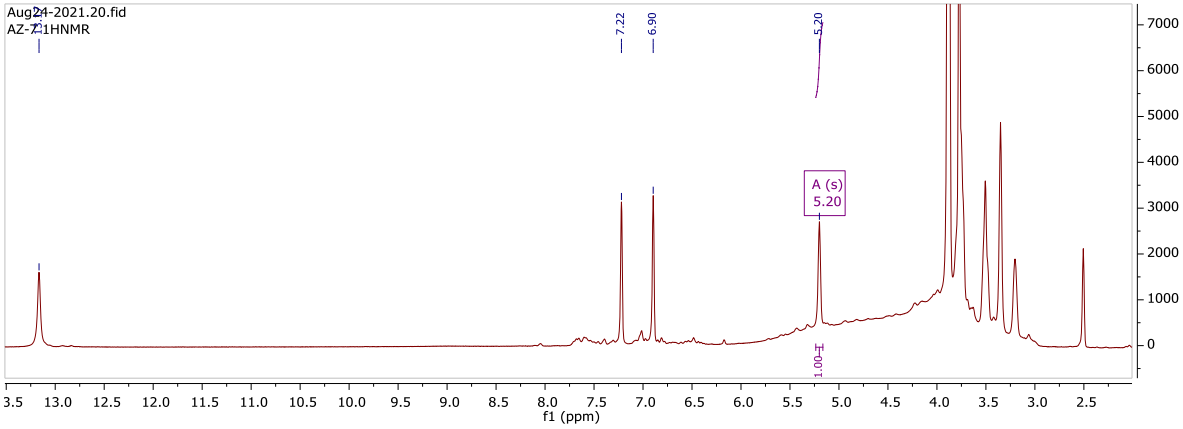
Şekil 4.24. **AZ-1**'in ^{1}H-NMR spektrumu.



Şekil 4.25. **AZ-2**'nin ^{1}H-NMR spektrumu.



Şekil 4.26. **AZ-2**'nin ^{13}C-NMR spektrumu.



Şekil 4.27. **AZ-7 (= AZ-1)**'nin ^{1}H-NMR spektrumu.

COSY ve HSQC ölçümlerinin (sırasıyla Çizelge 4.11. ve 4.12.) yardımıyla, aynı spin sisteminde gözlemlenen proton sinyalleri ve bunlara karşılık gelen karbon rezonansları, bir glikoz (glukoz) ünitesinin varlığını kuvvetle göstermiştir. δ_H 13.01'deki singlet, C-1'de, C-9 karbonil fonksiyonu ile şelat (chelat) oluşturan hidroksi grubunun (C1-OH) göstergesiydi [147].

Çizelge 4.11. Ksantonların ^{1}H-NMR verileri (δ_H 500 MHz, DMSO-d_6).

	AZ-7 **AZ-1**	**AZ-2**	**AZ-3**	**AZ-11**	**AZ-12**	**AZ-13 M**	**AZ-13 m**	**AZ-14**	**AZ-15**
H	δ_H, ppm, *J* Hz	δ_H, ppm, *J* Hz	δ_H, ppm, *J* Hz	δ_H, ppm, *J* Hz	δ_H, ppm, *J* Hz	δ_H, ppm, *J* Hz	δ_H, ppm, *J* Hz	δ_H, ppm, *J* Hz	δ_H, ppm, *J* Hz

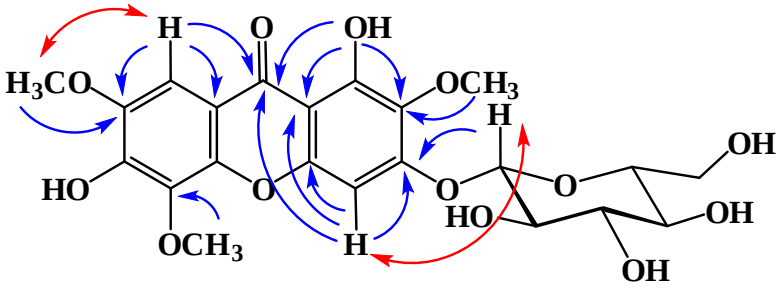
2	-	-	-	-	-	-	6.25 s	6.33 d (2)	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	6.89 s	6.81 s	6.45 s	6.40 s	-	6.47 s	-	6.56 d (2)	6.74 s
5	-	6.90 s	-	6.84 s	7.60 d (8)	-	7.57 d (8)	7.45 d (8)	7.46 d (8)
6	-	-	-	-	7.41 dd (8/2)	-	7.39 dd (8/2)	7.28 dd (8/2)	7.28 dd (8/2)
7	-	-	-	-		-	-	-	-
8	7.22 s	7.39 s	7.17 s	7.37 s	7.50 d (2)	7.21 s	7.41 d (2)	7.40 d (2)	7.36 d (2)
9	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1-OH	13.01 s	13.07 s	13.01 s	13.22 s	-	12.90 s	12.55 s	12.85 s	12.73 s
β-D-Glc*	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1′	5.20 brs	5.15 brs	-	-	-	-	-	-	-
-O-CH_2-O-	-	-	-	-	-	-	-	-	6.16 br s
1-OMe	-	-	-	-	3.84 s	-	-	-	-
2-OMe	3.77 s	3.77 s	3.75 s	3.75 s	3.94 s	3.76 s	-	-	-
3-OMe	-	-	-	-	4.04 s	-	3.81 s	3.86 s	
4-OMe	-	-	-	-	3.82 s	-	-	-	-
5-OMe	3.89 s	-	3.88 s	-	-	3.95 s	-	-	-
6-OMe	-	-	-	-	-	3.93 s	-	-	-
7-OMe	3.87 s	3.88 s	3.87 s	3.86	3.86 s	3.86 s	3.86 s	-	-

*: Bileşik **AZ-1** ve **AZ-2**'nin glikoz kısmının geri kalan sinyalleri, anomerik protonları dışında, aynı kimyasal kaymalara sahip olarak gözlenmiştir.: δ_H H 3.35 m (H-2'), 3.51 m (H-3'), 3.21 m (H -4'), 3.35 m (H-5'), 3.74 m ve 3.48 m (H-6'a,b); 5,49 br s (2'-OH), 3,89 br s (3'-OH), 5,15 br s (4'-OH), 4,71 br s (6'-OH).

Çizelge 4.12. Ksantonların ^{13}C-NMR verileri (δ_C 125 MHz, DMSO-d_6).

	AZ-7 AZ-1	**AZ-2**	**AZ-3**	**AZ-11**	**AZ-12**	**AZ-13 M**	**AZ-13 m**	**AZ-14**	**AZ-15**
C	δ_C, ppm	δ_C, ppm	δ_C, ppm	δ_C, ppm	δ_C, ppm	δ_C, ppm	δ_C, ppm	δ_C, ppm	δ_C, ppm
1	153.9	153.9	154.3	155.5	143.0	153.9	157.6	162.9	142.2
2	132.1	132.0	131.0	130.9	137.6	130.7	98.0	97.3	129.1
3	157.6	157.4	152.7	152.8	152.4	158.7	127.4	166.8	155.5
4	94.4	94.1	94.4	94.3	148.9	94.2	158.6	92.9	89.8
4a	152.5	152.6	158.5	158.5	147.7	152.4	153.9	157.8	153.5
5	135.4	103.0	135.3	103.0	119.8	141.0	119.4	119.5	119.9
6	147.9	152.6	146.2	152.5	124.3	148.0	124.5	125.2	125.1
7	146.8	146.7	146.4	154.3	156.2	149.8	155.7	154.5	154.6
8	99.5	104.8	99.6	104.8	106.3	99.6	105.2	108.4	107.9
8a	111.2	111.6	111.1	111.3	122.3	114.8	120.0	120.8	120.3
9	179.7	179.8	179.6	179.5	174.5	179.6	179.6	180.5	181.0
9a	103.8	103.8	102.2	102.2	112.1	102.0	101.8	103.2	104.7
10a	146.5	155.4	147.5	146.6	149.6	145.0	150.0	149.5	149.6
β-D-Glc	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1′	100.4	100.5	-	-	-	-	-	-	-
2′	73.7	71.6	-	-	-	-	-	-	-
3′	77.7	77.6	-	-	-	-	-	-	-
4′	70.1	70.1	-	-	-	-	-	-	-
5′	77.1	77.0	-	-	-	-	-	-	-
6′	61.1	61.1	-	-	-	-	-	-	-
-O-CH_2-O-	-	-	-	-	-	-	-	-	103.3
1-OMe	-	-	-	-	62.0	-	-	-	-
2-OMe	60.8	60.8	60.4	60.4	62.1	60.4	-	-	-
3-OMe	-	-	-	-	61.9	-	61.1	56.5	
4-OMe	-	-	-	-	62.2	-	-	-	-
5-OMe	61.3	-	61.4	-	-	62.1	-	-	-
6-OMe	-	-	-	-	-	61.5	-	-	-
7-OMe	56.4	56.3	56.3	56.2	56.1	56.4	56.4	-	-

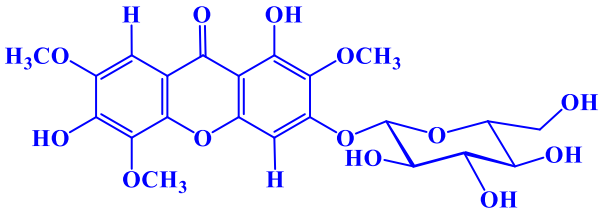
AZ-7'nin ^{13}C NMR spektrumunda, 22 karbon rezonansı gözlemlendi, bunların 13'ü ksanton yapısına, 6'sı bir glukoz ünitesine ve 3'ü metoksi gruplarına atfedildi. 13 karbon rezonansı, iki benzen halkası ve bir karbonil karbonu içeren dibenzo-γ-piron, diğer bir deyişle ksanton varlığını desteklemektedir. Diğer sinyaller, bir OH grubu üzerinden glikozidasyona uğramış (O-glikozit) trihidroksi-trimetoksi-ksanton yapısına işaret etmektedir. Glikozidasyonun, hidroksi ve metoksi gruplarının yerleri, HMBC ve NOESY deneylerine dayanarak aydınlatıldı. C-1'de bulunan OH sinyali (δ 13.01) ile δ_H 6.89 (H-4) ve 7.22 (H-8)'de iki aromatik protondan δ_C 179.7'de gözlemlenen karbonil karbon rezonansına uzak mesafe korelasyonlar (HMBC) ile, 1-OH sinyalinden 103.8, 153.9 ve 132.1 ppm'lerde gözlenen karbon rezonansları arasındaki HMBC korelasyonları incelendiğinde, bu karbon rezonanslarının sırasıyla C-9a, C-1 ve C-3 konumlarına ait olduğunu göstermiştir. C-3 ve C-9a olarak tanımlanan karbon rezonanslarına δ_H 6.89'daki protondan hareketle gözlenen HMBC korelasyonları, iki aromatik protondan birinin yerinin C-4'te olduğunu gösterdi. Ayrıca, kimyasal kayma değeri 6.89 ppm olarak tanımlanan H-4 protonundan δ_C 152.5 ve 157.6'daki karbon rezonanslarına HMBC korelasyonları, sırasıyla, bu karbonların C-4a ve C-3'e ait olduğunu gösterdi. Sonuncusu, glikoz ünitesinin anomerik protonu ile bir HMBC korelasyonu gösterdi, bu da glikozidasyonun C-3(OH) üzerinden olduğunu gösterir. Bu gözlemlere ek olarak, H-4 ve H-1' (glukozun anomerik protonu) arasında gözlemlenen bir NOESY korelasyonu, glikozidasyonun bu konumda olduğunu doğrulamıştır (Şekil 6). δ_H 3.77'deki metoksi gruplarından birinden C-2'ye HMBC korelasyonu incelendiğinde, üç metoksi grubundan birinin (δ_C 60.8, 2-OMe) yerini gösterdi. Bu sonuçlar, dibenzo-γ-piron karbon iskeletinin iki benzen halkasından biri (A) üzerindeki sübstitüsyenlerin konumunu açık bir şekilde göstermektedir (Şekil 4.28.).



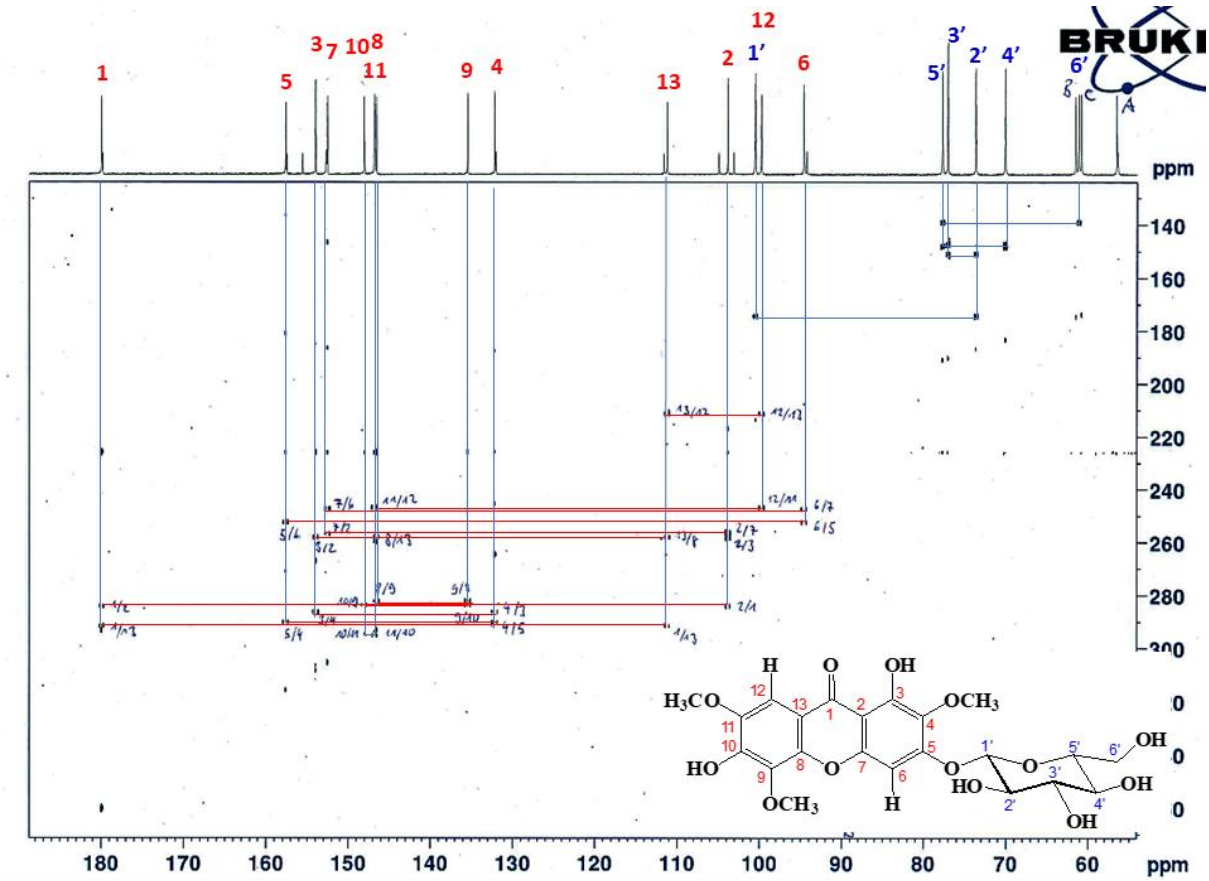
Şekil 4.28. **AZ-7** için önemli HMBC ve NOESY korelasyonları (→ HMBC; ↔ NOESY).

Kalan sinyaller, ikinci benzen halkasında (B) bir olefinik proton artı bir hidroksi ve iki metoksi işlevselliğinin varlığı ile tutarlıydı. δ_H 7.22'deki proton (H-8)'dan C-9'a (karbonil) güçlü bir ^1H-^{13}C uzak mesafe korelasyon (HMBC), ikinci olefinik protonun yerinin C-8'de olduğunu gösterdi. Bu nedenle, C-5, C-6 ve C-8 konumlarının oksijenli fonksiyonlar olduğu ve bunlardan ikisinin, kalan iki metoksi grubuna ait olduğunu işaret etmektedir. H-8 ile δ_H 3.87'deki (3H, s; 56.4, 7-OMe) metoksi sinyali arasındaki NOESY korelasyonu incelendiğinde, ikinci metoksi grubunun C-7'deki (δ_C 146.8) (Şekil 2) olduğunu açıkça gösterir. H-8'den C-7 ve C-6'ya (δ_C 147.9) HMBC korelasyonları incelendiğinde, hidroksil grubunun yerinin C-6'da olmasını destekledi. δ_H 3,89'da (5-OMe) üçüncü metoksi sinyalinden δ_C 135.4'te gözlenen karbon rezonansa HMBC korelasyonu, üçüncü metoksil fonksiyonunun konumunun açık bir şekilde C-5 olduğunu göstermiştir.

Bu sonuçlara dayanarak, **AZ-7**'nin yapısının 3-*O*-*β*-D-glukopiranoziloksi-1,6-dihidroksi-2,5,7-trimetoksiksanton olduğu belirlenmiş ve daha sonra kristal yapı analizi ile doğrulanmıştır (Şekil 4.29.). 1,3,6-trihidroksi-2,5,7-trimetoksiksantonun aglikonu ise bilinen bir yapıdır ve *Eriocaulon buergerianum* Körnicke'den izole edilmiştir [148]. ^1H ve ^{13}C NMR verileri incelendiğinde, ksanton iskeleti için uyumludur. C-3(OH)'deki glikozidasyon nedeniyle, C-3'ün (yüksek alana kayması), C-2 ve C-4'ün (aşağı alana kayması), ksanton iskeletinin karbon rezonanslarında kimyasal kaymaları için en önemli farklılıklar olarak gözlendi. **AZ-7**'nin ^1H NMR spektrumunda, H-4 sinyali (**δ** 6.89), yaklaşık olarak aşağı alana kaymış olarak gözlendi (H-4 için rapor edilenle karşılaştırıldığında 0.40 ppm, **δ** 6.49) [148]. Bu durum, aynı zamanda C-3(OH)'deki glikozidasyon ile de açıklanabilir.



Şekil 4.29. Sancaroside A: 3-0-*β*-D-glukopiranoziloksi-1,6-dihidroksi-2,5,7-trimetoksiksantonun yapısı (**AZ-7**).



Şekil 4.30. **AZ-7**'nin INADEQUATE spektrumu (^{13}C-^{13}C-korelasyonu).

Bu yorumlar, **AZ-7**'nin INADEQUATE Spektrumu ile de doğrulandı. Karbonil karbonundan hareketle, hem A (1-2; 2-3; 3-4; 4-5; 5-6; 6-7 ve 7-2) hem de B (1-13; 13-12; 12-11; 11-10; 10-9; 9-8 ve 8-13) halkalarının karbon rezonansları sırayla doğrulandı (Şekil 4.30.).

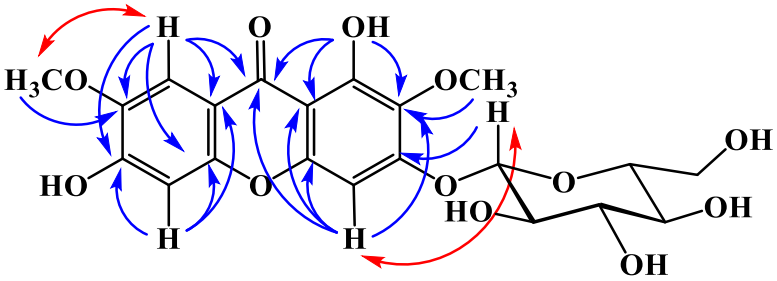
AZ-2: 3-*O*-*β*-D-glukopiranoziloksi-1,6-dihidroksi-2,7-dimetoksiksanton (**Sancarozit B**).

AZ-7 ile **AZ-1** ve **AZ-2** kodlu bileşiklerde, minör bileşik olarak karışım halinde küçük bir bileşen olarak izole edildi ve yorumu **AZ-2** kodu üzerinden yapıldı. ^{1}H NMR spektrumuna göre, bu karışımdaki majör ve minör bileşiklerin stokiyometrik oran 1.0:0.2 olarak belirlenmiştir (Şekil 4.23 ve 4.24). **AZ-2**'nin negatif ve pozitif iyon HR-MS (kütle spektrumlarında), psödomoleküler iyon pikleri m/z 465.1030'da $[M-H]^-$ ve *m/z* 467.1179 $[M+H]^+$ gözlendi. Bu sonuç, minör bileşiğin de benzer şekilde bir glikozit olduğunu göstermektedir. Bu bulgular, M_r 466.11 ve 11 derece doymamışlık ile minör bileşiğin (**AZ-2**) moleküler formülünün $C_{21}H_{22}O_{12}$ olduğunu gösterdi. **AZ-7 ve AZ-2** arasındaki 30 Dalton moleküler ağırlık farkının, **AZ-2**'de bir metoksi fonksiyonunun eksik olması olarak farzedilmiştir. Pozitif iyon HR-MS'de, *m/z* 335.0751 ve 305.0648'deki moleküler fragment iyonları, ksanton iskeletine [M-glu (163)]+ atfedildi. Bu gözlemler, **AZ-2**'nin yapısında bir penta sübstitüe ksanton iskeletinin, trihidroksi-dimetoksiksantonun olduğunu gösterdi.

Ayrıca, majör **(AZ-7)** ve minör **(AZ-2)** karışımının ^{1}H NMR spektrumu incelendiğinde, minör bileşiğin H-4, H-5 ve H-8'ine sırasıyla atanan δ_H 6.81, 6.90 ve 7.39'da (her biri 1H, tümü s) üç singlet gözlendi. Ek sinyaller, δ_H 3.77 ve 3.88'deki (her biri 3H, s, 2-OMe ve 7-OMe) iki metoksi sinyalinden ve glikoz kısmından kaynaklanan sinyallerden kaynaklanmaktadır. Anomerik protonun δ_H 5.15'te (1H, br s, H-1') kimyasal kayması dışında, glikoz ünitesine atanan tüm protonlar, **AZ-7 (**majör**)**'nin sinyalleriyle aynı kimyasal kaymaları gösterdi (Çizelge 4.11.). **AZ-2**'nin ^{13}C NMR spektrumunda, bileşiklerin farklı stokiyometrik oranları nedeniyle, sinyaller **AZ-7**'den kolayca ayrıldı. Majör ve minör bileşiklerin spektrumları arasındaki en önemli farklar, B halkasına ait karbonların kimyasal kaymalarından kaynaklanmaktadır (Çizelge 4.12.). Glikozidasyona uğramış A halkasına ait sinyaller majör bileşikle uyum içinde iken, farkın B halkasında bir metoksi grubunun olmamasından ileri gelmekteydi. En belirgin fark, C-5 sinyali için gözlendi (δ 103.0). Bu değer majör bileşiğin aynı C-5 (δ_C 132.4) sinyaliyle karşılaştırıldığında, yaklaşık -32 ppm yüksek alan kayması, B halkası üzerindeki sübstitüsyonların ^{13}C kimyasal kaymaları üzerindeki etkisi kullanılarak elde edilen hesapla bulunan değerle uyum içinde olduğu gözlenmiştir [149].

HMBC ve NOESY ölçümlerinde, A halkası için benzer HMBC ve NOESY korelasyonlarına ek olarak, B halkasında, H-8'den C-8a (δ_H 111.2), C-7, C-5, C-9 ve C-10a' ve H-5 (δ_H 6.90, s)'den C-7,C-6, C-10a ve C-8a'ya HMBC korelasyonları, metoksi sinyalinden (δ_H 3.88; δ_C 56.3; 7-OCH_3) C-7 (δ_C 146.7) sinyaline HMBC (Şekil 4.31.), ve H-8 (δ_H 7.38, s) ile 7-OCH_3 arasında NOESY korelasyonu, B halkasında metoksi fonksiyonunun konumunu doğrulamıştır. Bu sonuçlara dayanarak, minör bileşiğin yapısının 3-*O*-β-D-glukopiranoziloksi-1,6-dihidroksi-2,7-dimetoksiksanton olduğu belirlendi ve bu sonuç aşağıda sunulan kristal yapı analizlerinden biri ile desteklendi.

Bilim dünyası için daha önce tanımlanmamış olan bu iki yeni bileşik, sırasıyla Sancarozit A ve Sancarozit B olarak isimlendirilmiştir.

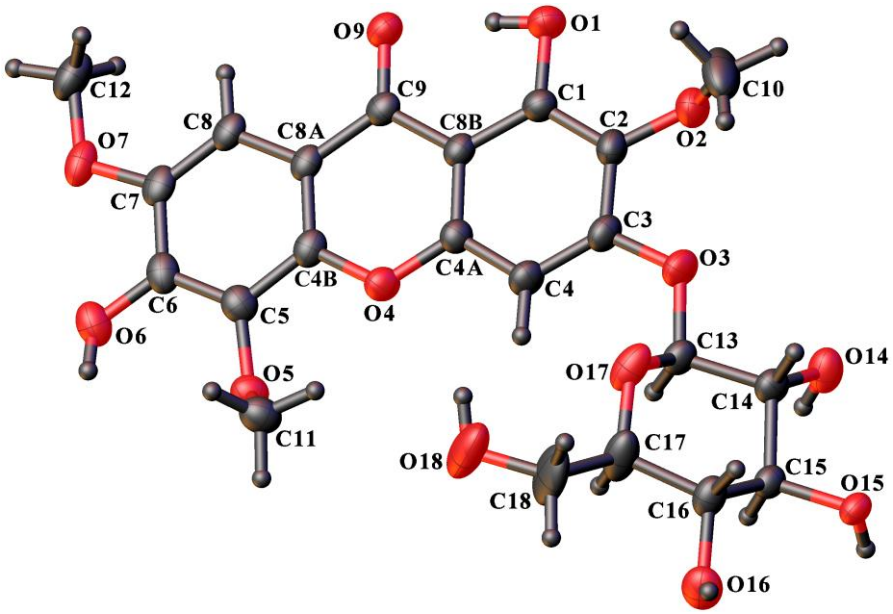


Şekil 4.31. **AZ-2** için HMBC ve NOESY korelasyonları (→ HMBC; ↔ NOESY)

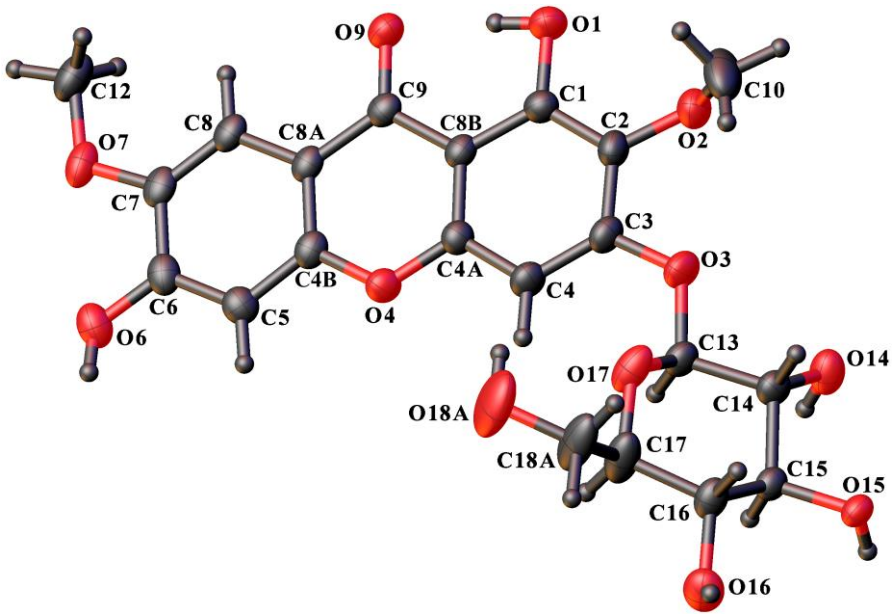
1,3,6-trihidroksi-2,7-dimetoksiksanton (aglikon), *Polygalaceae*'nin bir üyesi olan *Securidia inappendiculata* Hasskn'in köklerinden izole edilmiştir [150]. ^{1}H ve ^{13}C NMR verileri incelendiğinde, ksanton sinyalleri uyum içindedir. C-3(OH)'deki glikozidasyon nedeniyle C-3 (yüksek alana kayması) ve C-2 ve C-4'ün (aşağı alana kayması) kimyasal kaymaları için tek farklar gözlendi. Majör bileşik (**AZ-7**) için gözlemlendiği gibi, minör bileşik **(AZ-2)** için de ^{1}H NMR spektrumundaki H-4 sinyali (δ_H 6.81), ca. C-3(OH)'deki glikozidasyon nedeniyle, H-4 için bildirilenle karşılaştırıldığında 0.36 ppm aşağı alan kayma (δ 6.45, H-4) göstermiştir [150].

AZ-7 (Majör) ve **AZ-2** (Minör) için önerilen yapıları doğrulamak için, bileşik **AZ-7** açısından zengin olan fraksiyon C'den büyütülen bir kristal, X-ışını kristalografisi ile analiz edildi. Kristaldeki bileşikler enantiyomerik olarak saftır ve moleküllerin mutlak konfigürasyonları kırınım deneyi ile bağımsız olarak belirlenmiştir. Ksanton moleküllerinin *β*-D-glukopiranozil fragmanları, beklenen mutlak konfigürasyona sahiptir (Şekil 4.32.). Moleküllerin simetriden bağımsız iki bölgedeki ksanton segmentleri esasen düzlemseldir ve her iki durumda da C-2 ve C-5'teki metoksi metil grupları düzlemin dışındadır. Bazı çözücü moleküller modelden çıkarılmış olsa da, asimetrik birimdeki tüm türleri içeren moleküller arası O–H⋯O hidrojen bağlarının molekülleri üç boyutlu bir supramoleküler çerçeveye bağladığı açıktır (Şekil 4.33.).

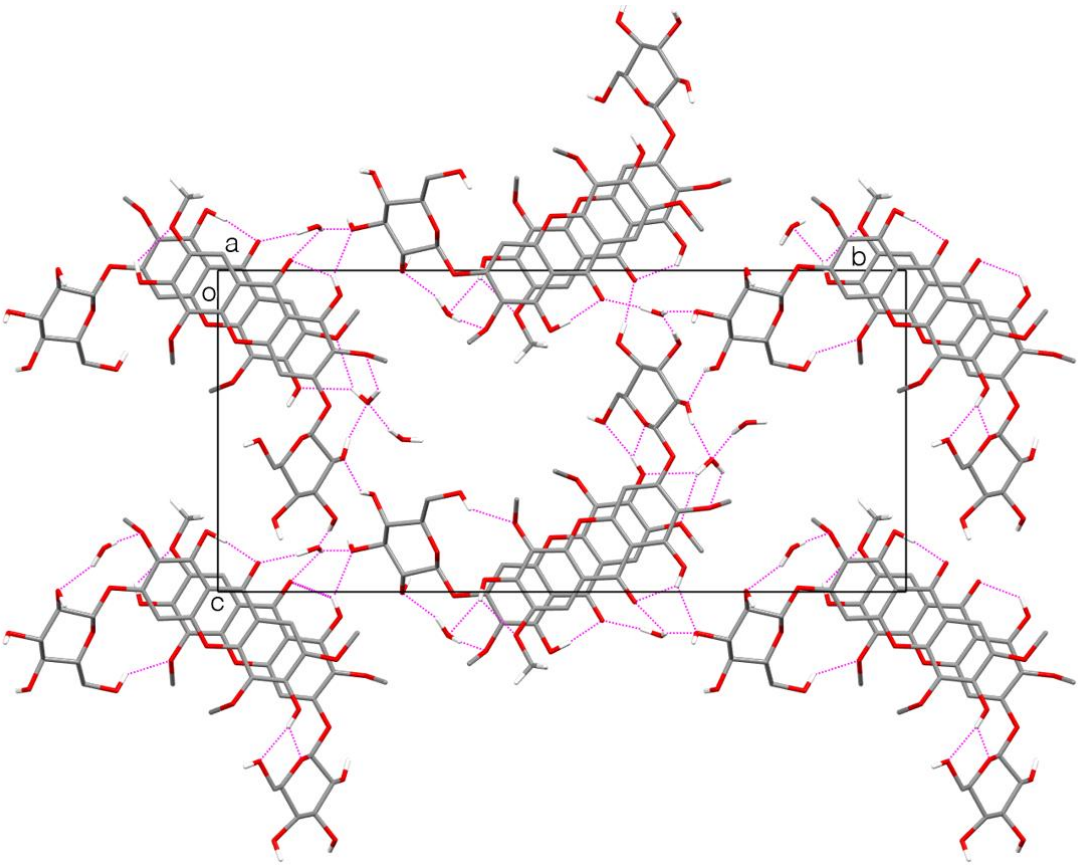
A



B



Şekil 4.32. Ana bileşik **AZ-1 (AZ-7)**'nin (A) ve ikincil bileşik **AZ-2**'nin (B) yer değiştirme elipsoid çizimleri.



Şekil 4.33. **AZ-1** ve **2**'nin karışık kristalinin moleküler paketlenmesi.

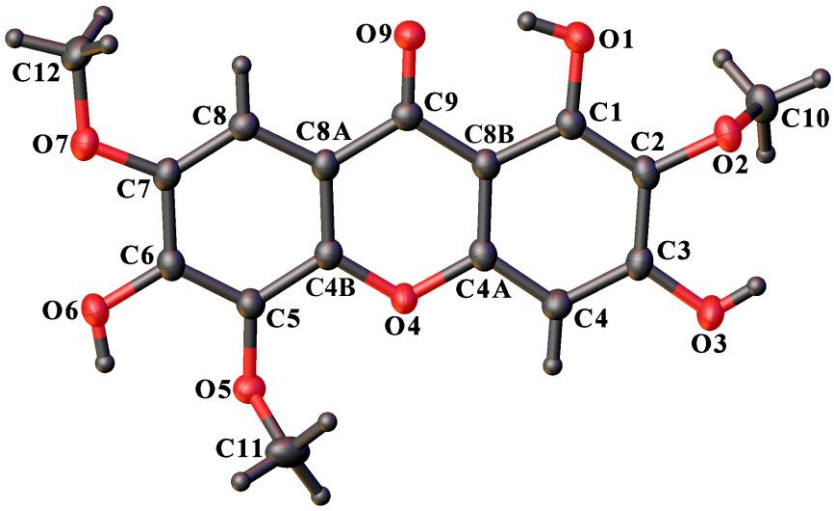
AZ-3, sarı renkli bir madde olarak elde edildi ve izole edilmiş ksantonlar arasında başlıca bileşiklerden biriydi. Fraksiyon I (360 mg) ve J (399 mg), **AZ-3** için en zengin fraksiyonlardı. **AZ-3** doğrudan fraksiyon I'den kristallendirildi ve erime noktası 227.9 °C olarak bulundu. Negatif ve pozitif iyon HR-MS'de *m/z* 333.0613 $[M-H]^-$ ve *m/z* 335.0755 $[M+H]^+$'daki psödomoleküler iyon piklerinden hareketle, moleküler formül $C_{16}H_{14}0_8$'dir (Mol. Ağ. 334.0689) olarak bulunmuştur. ^{1}H NMR spektrumunda, sadece iki aromatik proton ve üç metoksi grubundan kaynaklanan sinyaller, **AZ-3**'ün, üç hidroksi ve üç metoksi grubundan oluşan hekzasübstitüe bir ksanton iskeletine sahip olduğunu göstermiştir (Çizelge 4.11.). ^{13}C NMR ve DEPT-135 spektrumları ile üç metoksi, iki protonlanmış sp^2 karbonu ve 10 protonlanmamış sp^2 karbon atomu ve bir karbonil karbonu olarak sınıflandırılan 16 karbon sinyalinin varlığını ortaya çıkardı (Çizelge 4.12.).

HMBC deneyi, ksanton iskeletinde **AZ-7** için bulunanlara benzer şekilde, uzak mesafe korelasyonlar gözlendi. Ayrıca, ^{1}H ve ^{13}C NMR verileri, 1,3,6-trihidroksi-2,5,7-trimetoksiksantonunkilerle iyi uyum içindeydi [148]. A halkasındaki bazı karbon atomlarının atanması için, özellikle C-1, C-3 (δ_C 152.7) ve C-4a için küçük farklılıklar gözlendi. HMBC deneyinde, C-4a (δ_C 158.5) ve H-4 (δ_C 6.45), C-1 (δ_C 154.3) ve 1-OH (δ_H 13.01), C-2 (δ_C 131.0) ve 1-OH ve H-4 ve 2-OMe (δ_H 3.75) arasındaki HMBC korelasyonları, A halkasının karbon rezonanslarının belirlenmesinde yardımcı oldu. Bu sonuçlara göre, **AZ-3**'ün yapısı sancarozit A (**1**)'nın aglikonu ile aynı yapıya sahip olan 1,3,6-trihidroksi-2,5,7-trimetoksiksanton olarak belirlenmiştir.

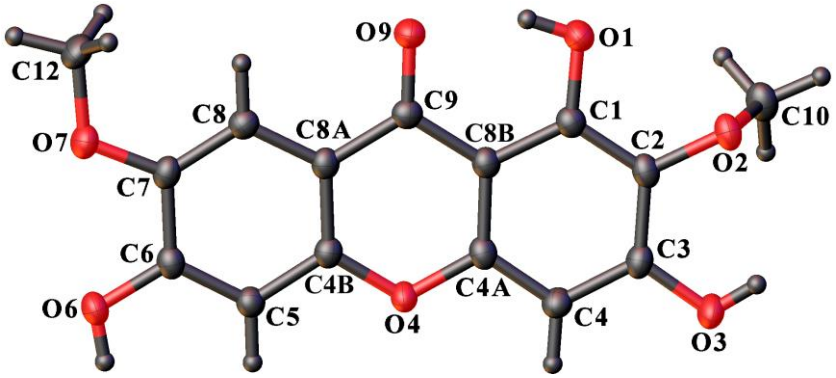
Bileşik **AZ-11**, 210.2 °C'lik bir erime noktasına sahip sarı renkli madde olarak elde edildi. Sırasıyla negatif ve pozitif iyon HR-MS'de *m/z* 303.0506 $[M-H]^-$ ve *m/z* 305.0652 $[M+H]^+$'daki psödomoleküler iyon pikleri, **AZ-11**'in $C_{15}H_{12}O_7$ moleküler formülüne sahip olduğunu gösterir (Mol. Ağ. 304.0583). ^{1}H ve ^{13}C NMR spektrumları incelendiğinde, penta-sübstitüe bir ksanton yapısını gösterdi (Çizelge 4.11. ve 4.12.). δ 13.22'de şelatlı bir OH sinyaline ek olarak, δ_H 6.40, 6.84 ve 7.37'de (her biri 1H, hepsi s) üç aromatik proton ve δ_H 3.75 ve 3.86'da iki metoksi sinyali bir trihidroksi-trimetoksiksanton yapısı için tutarlıydı. ^{13}C NMR spektrumunda, 15 karbon rezonansı gözlendi. Ksanton yapılı bileşiğin proton ve karbon rezonanslarının atamaları, 2D-NMR deneylerine (HSQC, HMBC ve NOESY) dayanarak gerçekleştirildi. Tek NOESY korelasyonu, H-8 (δ_H 7.37) ve 7-OMe (δ_H 3.86) arasında gözlemlendi ve bu, metoksi gruplarından birinin C-7'deki (δ_C 154.3) yerini doğruladı. Proton ve karbon rezonanslarının kimyasal kayma değerleri, **AZ-11**'in ilk olarak *Polygalaceae* familyasının bir üyesi olan *Securidia inappendiculata*'dan bildirilen 1,3,6-trihidroksi-2,7-dimetoksiksanton için verilen değerlerle uyum içinde olduğunu göstermiştir [150]. Dolayısıyla, **AZ-11**'in yapısı, sancarozit B (**AZ-2**)'nin aglikonu ile aynıdır.

AZ-3'ü içeren numunenin ^{1}H NMR spektrumu numunenin saf olduğunu gösterse de, bileşik **AZ-3/AZ-11** moleküler oranının 1.0:0.15 olduğu, eser miktarda da olsa **AZ-11**'in varlığını gösteren sinyaller içeriyordu. **AZ-3**'ün yapısını doğrulamak için, **AZ-3** açısından zengin fraksiyondan elde edilen kristallerin X-ışını kristal yapı analizi yapıldı, ancak yine seçilen kristal 5-metoksi (**AZ-3**) ve 5-hidro (**AZ-11**) 9:1 toplam stokiyometrik oranda ksantonlar karşımı olarak saptandı. Bu karışım, asimetrik ünitede tek bir yer kaplar, öyle ki yapı, iki bileşikte ortak olan atomların konumları özdeş olduğu için düzensiz görünür (Şekil 4.34.). **AZ-1**+**AZ-2** karışımı kristalde olduğu gibi, molekülün ksanton segmenti esasen düzlemseldir ve C-2 ve C-5'teki metoksi metil grupları düzlemin dışındadır. Asimetrik ünitedeki tüm türleri içeren moleküller arası O–H⋯O hidrojen bağları, molekülleri üç boyutlu bir supramoleküler çerçeveye bağlar (Şekil 4.35.).

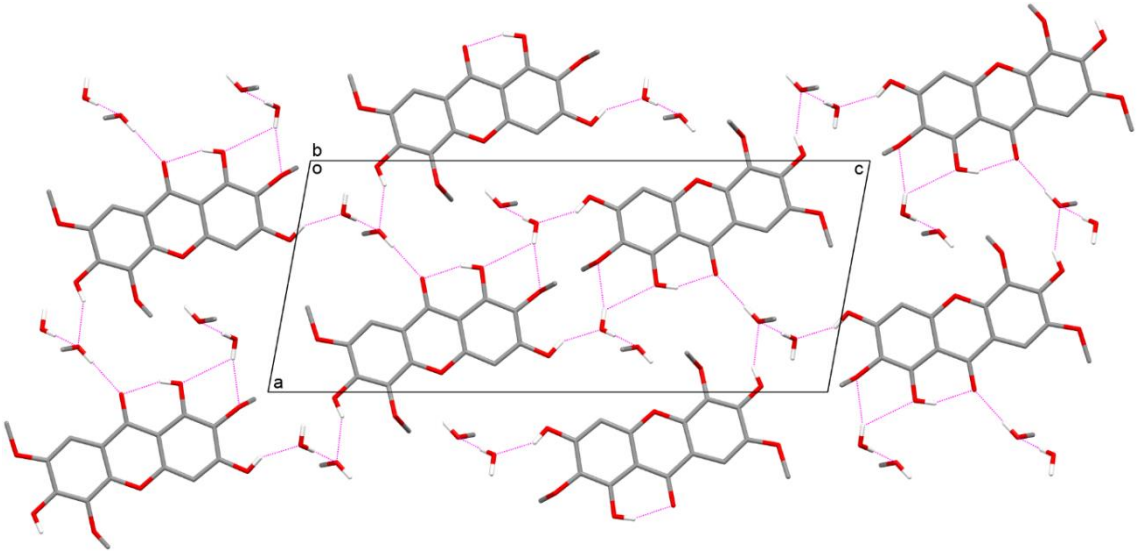
A



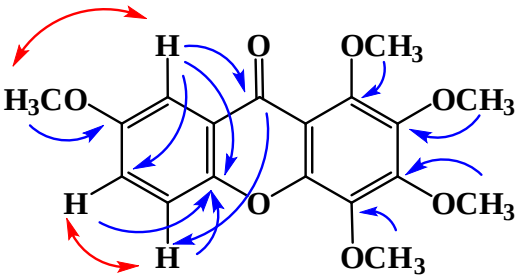
B



Şekil 4.34. Majör bileşik **AZ-3** (A) ve minör bileşik **AZ-11**'in (B) yer değiştirme elipsoid çizimleri.



Şekil 4.35. **AZ-3** ve **AZ-11**'in karışım kristalinin moleküler paketlenmesi.

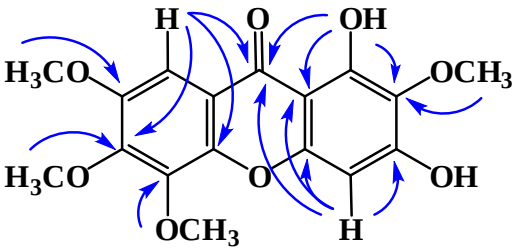


Şekil 4.36. **AZ-12** için gözlemlenen HMBC ve NOESY korelasyonları (→ HMBC; ↔ NOESY).

AZ-12, fraksiyon L'den (105 mg) jel (Sephadex LH-20) kromatografisi ile izole edilen beş ksantondan (**AZ-12, AZ-13-majör, AZ-13-minör, AZ-14** ve **AZ-15**) biri olarak elde edildi. C-1'de şelatlı bir OH grubunun olmaması ve beş metoksi grubu ile penta sübstitüe bir yapının varlığı, diğer izole edilmiş ksantonlardan farklı olan ana özelliklerdi. Moleküler formülü, pozitif iyon HRMS'te m/z 347.1117 $[M+H]^+$, 369.0935 $[M+Na]^+$ ve 715.1985 $[2M+Na]^+$'de psödomoleküler iyon pikleri yardımıyla, doymamışlık derecesi 10 olan $C_{18}H_{18}O_7$ olarak bulundu. (hesapla bulunan Mol. Ağ. 346.1053). ^{1}H NMR spektrumunda, bir ABX sistemi olarak δ 7.60 (1H, d, *J* = 8 Hz, H-5), 7.41 (1H, dd, *J* = 8 ve 2 Hz, H-6) ve 7.50'de (1H, d, *J* = 2 Hz, H-8) üç aromatik proton ve δ 3.82, 3.84, 3.86, 3.94 ve 4.04'te beş metoksi sinyali (her biri 3H, s, 4-OMe, 1-OMe, 7-OMe, 2-OMe ve 3-OMe) gözlendi (Çizelge 4.11.). ^{13}C NMR spektrumunda, beş metoksi, üç protonlanmış sp^2 karbonu (δ 119.8, 124.3 ve 106.4; C-5, C-6 ve C-7, sırasıyla) ve dokuz protonsuz sp^2 karbon atomu ve bir karbonil karbonu olmak üzere 18 karbon sinyali gözlendi (Çizelge 4.12.). δ 156.2'deki karbon sinyaline, beş metoksi sinyalinden biri olan δ 3.76'da gözlenen metoksi (3H, s, 7-OMe) ile ABX sisteminin A kısmı olan H-5 (δ 7.60) sinyalinden ile uzak mesafe (HMBC) korelasyonlar gözlendi. B halkasından kaynaklanan atamaların H-5 ve H-6 arasındaki ve ayrıca H-8 ve 7-OMe arasındaki NOESY korelasyonları bu varsayımı doğruladı (Şekil 4.36.). C-10a (δ 149.6) ile H-5, H-6, H-7 ve C-9 (δ 174.5) ile H-8, C-9 (δ 122.3) ve H-5 arasındaki uzun menzilli korelasyonlar, B halkasında bu yerleşimleri doğrulamıştır. Öte yandan, kalan dört metoksi grubunun C-1, C-2, C-3 ve C-4'te açıkça yer aldığı, bu da tetrametoksilli bir A halkasına işaret ettiği anlaşılmaktadır. A halkasının karbon rezonanslarının, *Swertia chirayita* Roxb. ex Flem. Karst.'tan [151], bildirilen 1-hidroksi-2,3,4,7-tetrametoksiksanton ile karşılaştırılması, A halkasının karbon rezonanslarının atanmasına yardımcı oldu.

Yukarıdaki kanıtlara dayanarak, bileşik **AZ-12**'in yapısı 1,2,3,4,7-pentametoksiksanton olarak tanımlandı. Bu bileşik ilk olarak *Polygala macradenia* Gray'dan izole edilmiştir [152]. Ancak, bu çalışmada ^{13}C-NMR değerleri bulunmamaktadır.

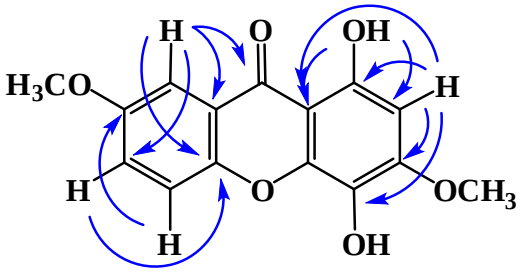
L fraksiyonundan, elde edilen **AZ-13**'ün ^{1}H- ve ^{13}C-NMR spektrumlarından (Çizelge 4.11. ve 4.12.), 1:06:0.15'lik bir stokiyometrik oranda üç bileşiğin mevcudiyetini çıkarmak mümkün olmuştur. Proton sinyallerinin yoğunluklarından (integrasyon) hareketle, bu karışımdaki iki ana bileşik **AZ-13-Majör** ve **AZ-13-Minör** olarak tanımlanmıştır. δ 6.41 ve 7.41'de (her biri 1H ve s, H-4 ve H-8) olefinik protonlar ve δ 3.76 (3-OMe), 3.95 (5-OMe), 3.93 (6-OMe) ve 3.86'da dört metoksi sinyali (7-OMe), bir dihidroksi-tetrametoksiksanton yapısına sahip olan ana ksantona atfedilmiştir (**AZ-13-Majör**). Bu varsayım, negatif iyon HRMS'te, $C_{17}H_{16}O_8$ moleküler formülüne karşılık gelen *m/z* 347.0768 $[M-H]^-$'de psödomoleküler iyon piki ile desteklenmiştir (Mol. Ağ. 348.0845).



Şekil 4.37. **AZ-13-Majör** için gözlemlenen uzun menzilli korelasyonlar (HMBC).

Tüm proton sinyalleri singlet olduğundan, proton ve metoksi sinyallerinin atamaları HSQC ve HMBC spektrumlarına dayandırılmıştır. HMBC deneyi, H-4 (δ_H 6.47 s) ile C-2 (δ C 130.7), C-3 (δ C 158.7), C-4a (δ_C 152.4) ve C-9a (δ_C 102.0) arasında HMBC korelasyonları gösterdi. C-3 ile metoksi sinyallerinden biri (δ_H 3.76, 3H, s, 2-OMe; δ_C 60.4) arasındaki ve 1-OH (δ 12.90) ile C-2, C-9, C-9a arasındaki diğer HMBC korelasyonları önerilen yapıyı desteklemiştir. A ve B halkalarının kombinasyonu, H-4 ve H-8'den (δ_H 7.21 s) C-9'a (δ_C 179.3) ve ayrıca H-8'den C-9, C-10a (δ_C 145.0) ve C-6 (δ_C 148.0)'ya HMBC korelasyonlarının yardımıyla ortaya konmuştur (Şekil 4.37.). Metoksi gruplarının konumları da metoksi sinyallerinden gözlenen HMBC korelasyonları ile belirlenmiştir: δ_H 3.93 (3H, s, 6-OCH_3; δ_C 61.5, 6-OCH_3) ve C-6'daki metoksi sinyallerinden biri arasında gözlemlendi. Böylece, kalan iki metoksillenmiş karbon rezonansı ve iki metoksi sinyali arasındaki HMBC korelasyonları ile tanımlanmıştır: 5-OMe (δ_H 3.95; δ_C 61,5) ve C-5 (δ_C 141.0) ve 7-OMe (δ_H 3.86; δ_C 56.4) C-7 (δ_C 149.8).

Bu bulgulara dayanarak, **AZ-13-Majör** bileşiğinin yapısı, ilk olarak *Polygala japonica* Houtt. köklerinden rapor edilen 1,3-dihidroksi-2,5,6,7-tetrametoksiksanton olarak aydınlatılmıştır [153].



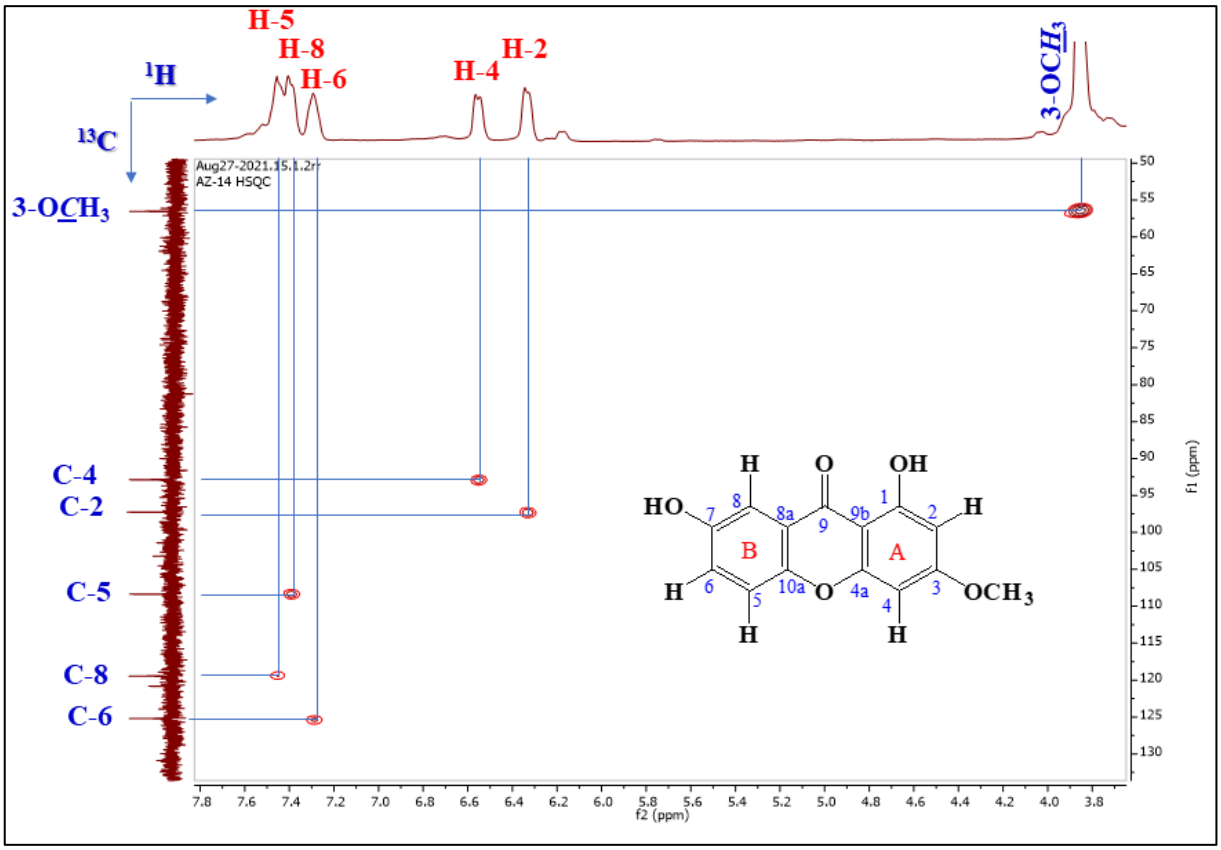
Şekil 4.38. **AZ-13-Minör** için gözlemlenen uzun menzilli korelasyonlar (HMBC).

L fraksiyonundan, elde edilen **AZ-13**'ün minör bileşiği olan **AZ-13-minör**, negatif iyon HRMS'de, *m/z* 287.0558 $[M-H]^-$ 'deki psödomoleküler iyon pikinden elde edilen sonuçlara göre $C_{15}H_{12}O_6$ moleküler formülüne sahiptir (Mol. Ağ. 288.0845). **AZ-13**'ün ^1H NMR spektrumunda, **AZ-13-minör**'e atfedilen sinyaller, bir dihidroksi-dimetoksiksantonun varlığı ile tutarlı olan dört aromatik proton ve iki metoksi sinyali olarak gözlendi. ^{13}C-NMR spektrumu ve DEPT-135 deneyi, bu olası bileşik yapısını destekleyen 15 karbon rezonansı (metoksi gruplarından kaynaklanan iki metil sinyali, dört protonlanmış sp^2 karbon, ve altısı oksijenli dokuz protonlanmamış sp^2 karbon) gözlendi (Çizelge 4.12.).

HMBC deneyinde, δ 6.25'te (s, H-2) gözlenen protondan, C-1 (δ 157.6), C-3 (δ 127.4), C-4 (δ 158.8) ve C-9a (δ 101.8) uzun mesafe HMBC korelasyonlar, A halkasının yapısının atanmasına izin verdi. Ayrıca, 12.55'teki (1-OH) sinyalden C-2 ve C-9a'ya olan HMBC korelasyonları bu değerlendirmeyi güçlü bir şekilde destekledi. Geri kalan proton sinyalleri COSY deneyinde bir ABX sistemi olarak gözlemlendi: δ_H 7.57 (1H, d, J = 8 Hz, H-5), 7.39 (1H, dd, J = 8 ve 2 Hz, H-6) ve 7.41 (1H, d, J = 2 Hz, H-8). Bu protonlarla kısa mesafe korelasyon gösteren karbon rezonansları, HSQC yardımıyla bulunmuştur. Son olarak, δ_H 3.81 (4-OCH_3; δ_C 61.1) ve 3.86 (7-OCH_3; δ_C 56.4)'daki metoksi sinyallerinden hareketle, HMBC yardımıyla, bu iki metoksi grubunun konumları C-4 ve C-7 olarak belirlendi. H-2 ve 4-OMe arasındaki NOESY korelasyonunun olmaması bu çıkarımı destekledi. Bu sonuçlar, bileşik **AZ-13-minör**'ün

1,3-dihidroksi-4,7-dimetoksiksanton olduğunu göstermiştir (Şekil 4.38.). 1,3-dihidroksi-4,7-dimetoksiksanton (**AZ-13-minör**) ilk olarak *Frasera albicaulis* Dougl. ex Griesb. köklerinden izole edilmiştir [154].

AZ-14, moleküler formülü $C_{14}H_{10}O_5$ olan, uçuk sarı renkli bir toz olarak, L fraksiyonunun elde edildi. Negatif ve pozitif iyon HRMS'te, sırasıyla *m/z* 257.0446 $[M-H]^-$ ve 259.0579 $[M+H]^+$'da psödomoleküler iyon pikleri molekül ağırlığının 258.0528 olduğunu göstermiştir. ^{1}H-NMR spektrumunda, bir ABX sisteminin parçaları olarak üç aromatik proton ve ayrıca 3.86 ppm (3-OMe)'de bir metoksi sinyaline ek olarak, orto-konumda iki aromatik proton (δ_H 6.33 ve 656, her biri 1H, J_{AX} = 2 Hz, H-2 ve H-4) sinyali gözlendi: δ_H 7.45 (1H, d , J = 8 Hz, H-5), 7.28 (1H, dd, J = 8 ve 2 Hz, H-6) ve 7.40 (1H, d, J = 2 Hz, H 8) (Çizelge 4.10.).



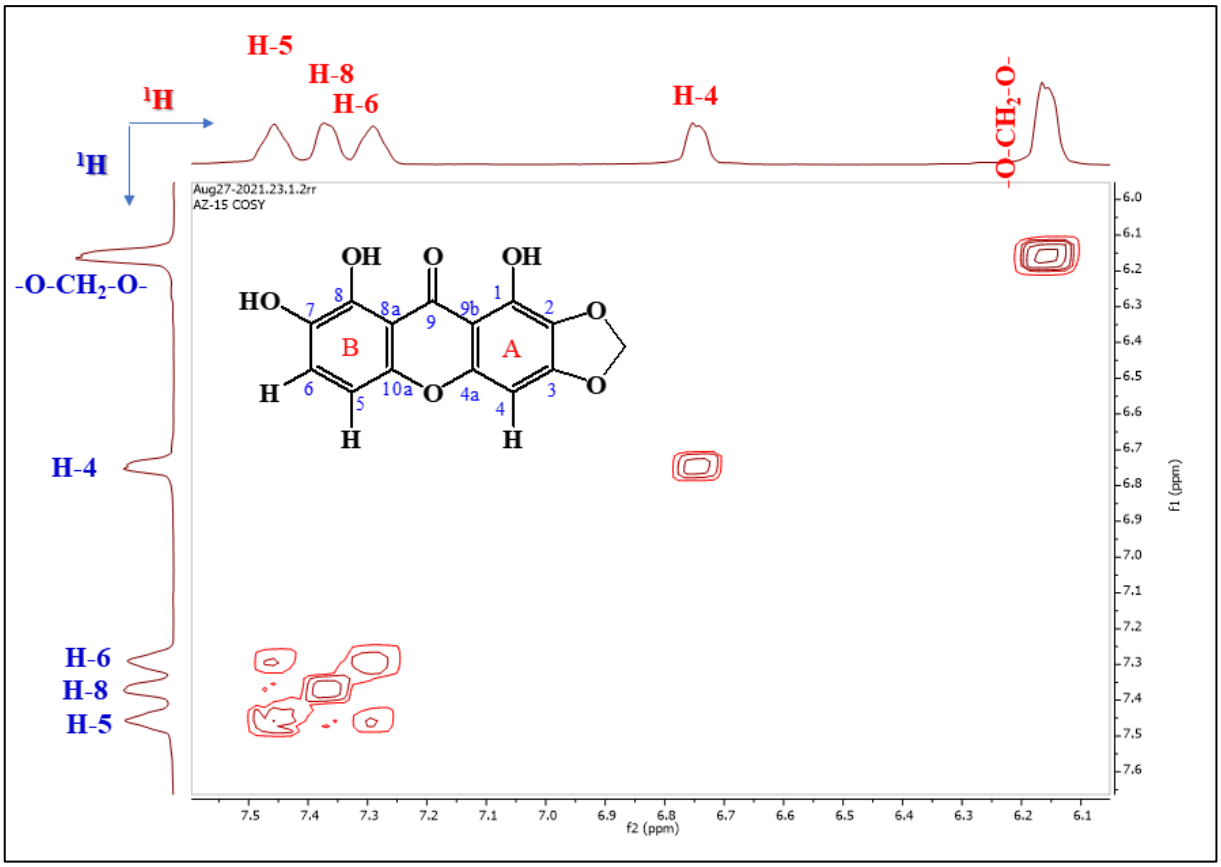
Şekil 4.39. 1,7-dihidroksi-3 metoksiksanton (**AZ-14**)'un HSQC spektrumu.

^{13}C-NMR spektrumu incelendiğinde on dört karbon rezonansı (bir metoksi grubundan kaynaklanan bir metil sinyali, beş protonlanmış ve yedi protonlanmamış sp^2 karbonu ve bir karbonil rezonansı) gözlendi (Çizelge 4.11.). HMBC deneyinde, H-2'den (δ_H 6.33, d,

J = 2 Hz; AX'in A'sı) C-1'e (δ_C 162.9), C-3'e (δ_C 166.8), metoksi sinyalinden (δ 3.86 s) C-3'e ve H-4'ten C-9a'ya (δ_C 103.2) HMBC korelasyonları, A halkasının H ve C atamalarını açıkça göstermiştir. Bir ABX sistemi olarak gözlemlenen sinyaller, böylece B halkasına ait protonlar (H-5, H-6 ve H-8) olarak yorumlanmıştır. HSQC deneyinin yardımıyla (Şekil 4.39.), bu protonlara karşılık gelen karbon rezonansları sırasıyla, δ_C 119.5 (C 5), 125.2 (C-6) ve 108.4 (C-8)'de belirlendi. Önemli HMBC korelasyonları, H-5, H-6 ve H-8'den C-10a (δ_C 149.5)'ya, H-5 ve H-8'den C-6 (δ_C 125.2)'ya, H-5, C-8 ve H-6'dan C-7 (δ_C 154.5)'ye ve arasında ve H-5'den C-8a (δ_C 120.8)'ya gözlendi. Bu gözlemler, B halkasının karbon ve proton rezonanslarının atanmasına izin verdi.

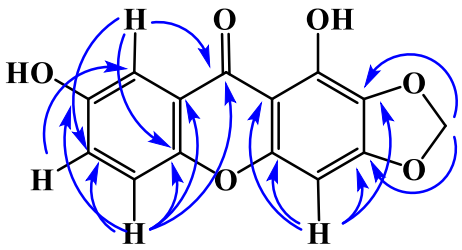
Bu sonuçlara göre, **AZ-14**'ün yapısının 1,7-dihidroksi-3 metoksiksanton olduğu belirlendi. Bu bileşik için bulunan NMR verileri (Çizelge 4.11 ve 4.12.), *P. tenuifolia*'dan izole edilen 1,7-dihidroksi-3 metoksiksanton için verilen değerlerle uyumlu olup, sonuçlar önerilen yapıyı desteklemektedir [112, 139].

AZ-15, aynı şekilde fraksiyon L'den soluk sarı renkli bir toz halinde elde edildi. Moleküler formülü, negatif iyon HRMS (*m/z* 271.0244 $[M-H]^-$) yardımıyla $C_{14}H_8O_6$, olarak tayin edilmiştir. Bu sonuç ve NMR verileri, **AZ-15**'in 272.0321'lik bir molekül ağırlığına sahip, doymamışlık derecesi 11 olan bir bileşik olduğunu göstermiştir. Proton ve karbon rezonanslarının tüm atamaları, 2D-NMR (COSY, HSQC, HMBC ve NOESY) deneylerine dayanmaktadır (Çizelge 4.11 ve 4.12.). ^{1}H-NMR spektrumunda dört aromatik proton gözlendi. Aromatik protonlardan üçü, **AZ-14**'de olduğu gibi, COSY spektrumunda bir ABX sistemi olarak gözlemlendi (δ_H 7.46 d, 8 Hz, H-5; 7.28 dd, 8 ve 2 Hz, H-6; 7.36 d, 2 Hz, H-8) (Şekil 4.40.).



Şekil 4.40. 1,7-dihidroksi-2,3-metilendioksi-ksanton (**AZ-15**)'ın COSY spektrumu.

^{1}H-^{13}C uzak-mesafe (HMBC) korelasyonları, C-8a (δ_C 154.6) ve H-5, C-6 (δ_C 125.1) ve H-5 ve H-8, C-10a (δ_C 149.6) ve H-5, H-6, H-8, C-8 (δ_C 107.9) ve H-6 arasında ve son olarak da C-9 (δ_C 181.0) ile H-5 ve H-7 arasında gözlendi. Bu bulgulara dayanarak, B halkasından kaynaklanan tüm karbon rezonanslarının atamaları açık bir şekilde yapılabildi (Şekil 4.39.).



Şekil 4.41. 1,7-dihidroksi-2,3-metilendioksi-ksanton (**AZ-15**) için gözlemlenen HMBC korelasyonları.

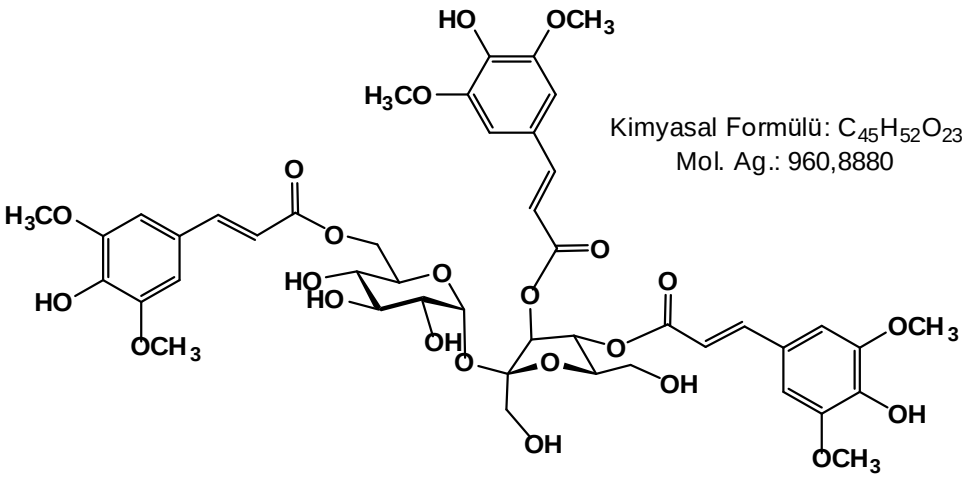
Kalan proton sinyalleri (δ_H 6.74, 1H, s, H-4; 6.16, 2H, br s, -0-CH_2-0; 12.73 s, 1-OH) ve karşılık gelen karbon rezonansları A halkasına atfedildi. H-4'ten C-2, C-3, C-4a ve C-9a'ya ve ayrıca dioksimetilen protonlarından C-2 ve C-3'e gözlenen ^{1}H-^{13}C uzak-mesafe (HMBC) korelasyonlar önerilen yapıyı desteklemiştir (Şekil 4.41.). Sonuç olarak, **AZ-15**'in yapısı, 1,7-dihidroksi-2,3-(metilendioksi)-ksanton olarak tayin edilmiş olup, ilk olarak *Polygala cypasissias*'tan rapor edilen bu bileşik için verilen değerlerle uyum içindedir [72].

4.1.2.2. Sukroz (Sakaroz) Esterleri

İzolasyon çalışmaları sırasında (Şekil 3.3.), *P. azizsancarii* kök ekstresinden **AZ-6**, **AZ-16**, **AZ-17** kodlu bileşikler sakaroz esterleri olarak elde edilmişlerdir. Bu bileşikler *P. inexpectata*'dan da elde edilip tartışıldığı için burada sadece kimyasal isimleri verilmiştir (**AZ-6**: 3'-*O*-sinapoil-sukroz, **AZ-16**: 3'-*O*-trimetoksisinnamoil-sukroz (glomeratoz A), **AZ-17**: 6,3'-disinapoil-sukroz).

AZ-20: 6,3',4'-tri-*O*-sinapoyil-sukroz

^{1}H- ve ^{13}C-NMR spektrumları **AZ-20** koduyla elde edilen bileşiğin sukroz'un triesteri olduğunu (6,3',4'-tri-*O*-sinapoyil-sukroz) anlaşılmıştır.

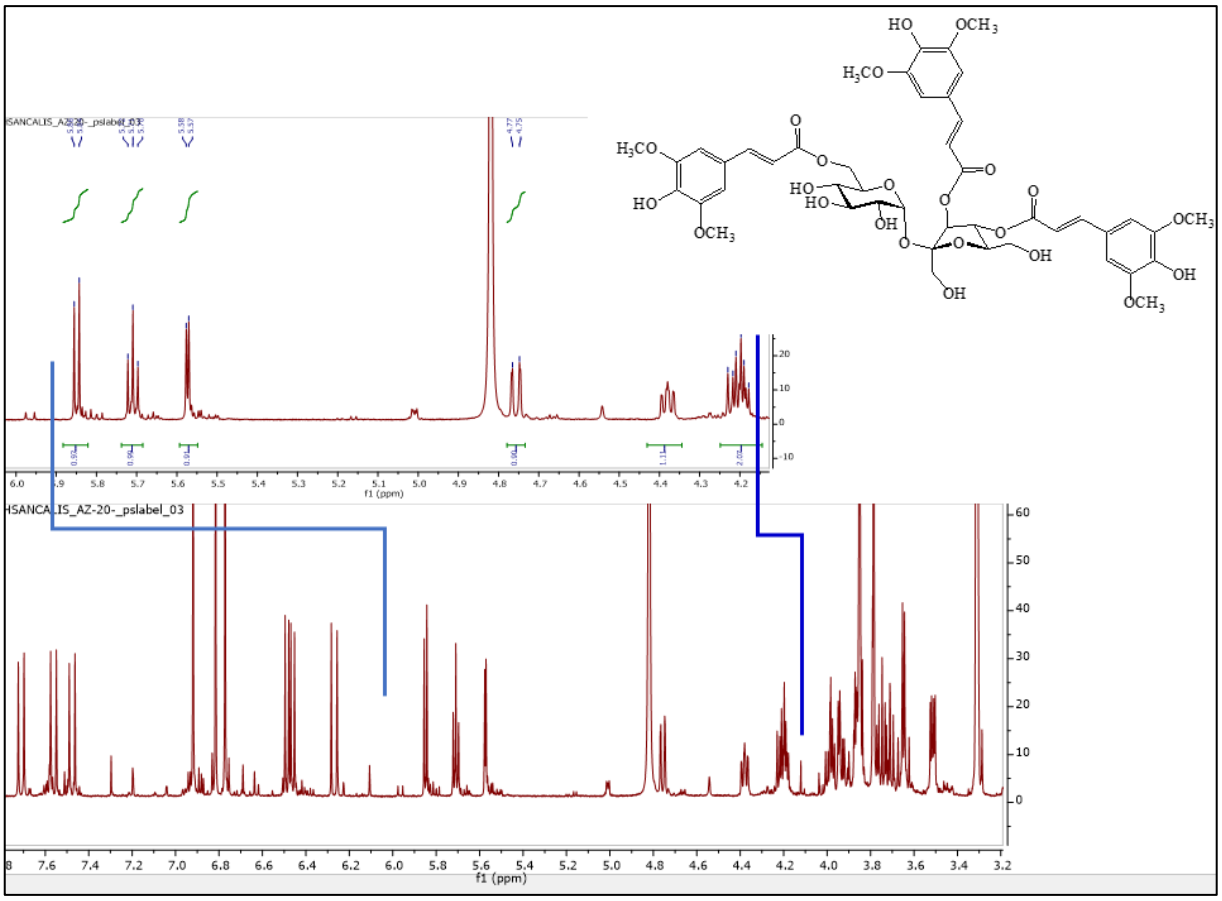


Şekil 4.42. 6,3',4'-tri-*O*-sinapoyil-sukroz'un (**AZ-20**) kimyasal yapısı.

Bileşik **AZ-20'**nin pozitif ve negatif iyon kütle spektrumlarında, *m/z* 983.2797 [M + Na]+, ve *m/z* 959.2821 [M− H]$^-$'de gözlenen moleküler iyon pikleri, kimyasal

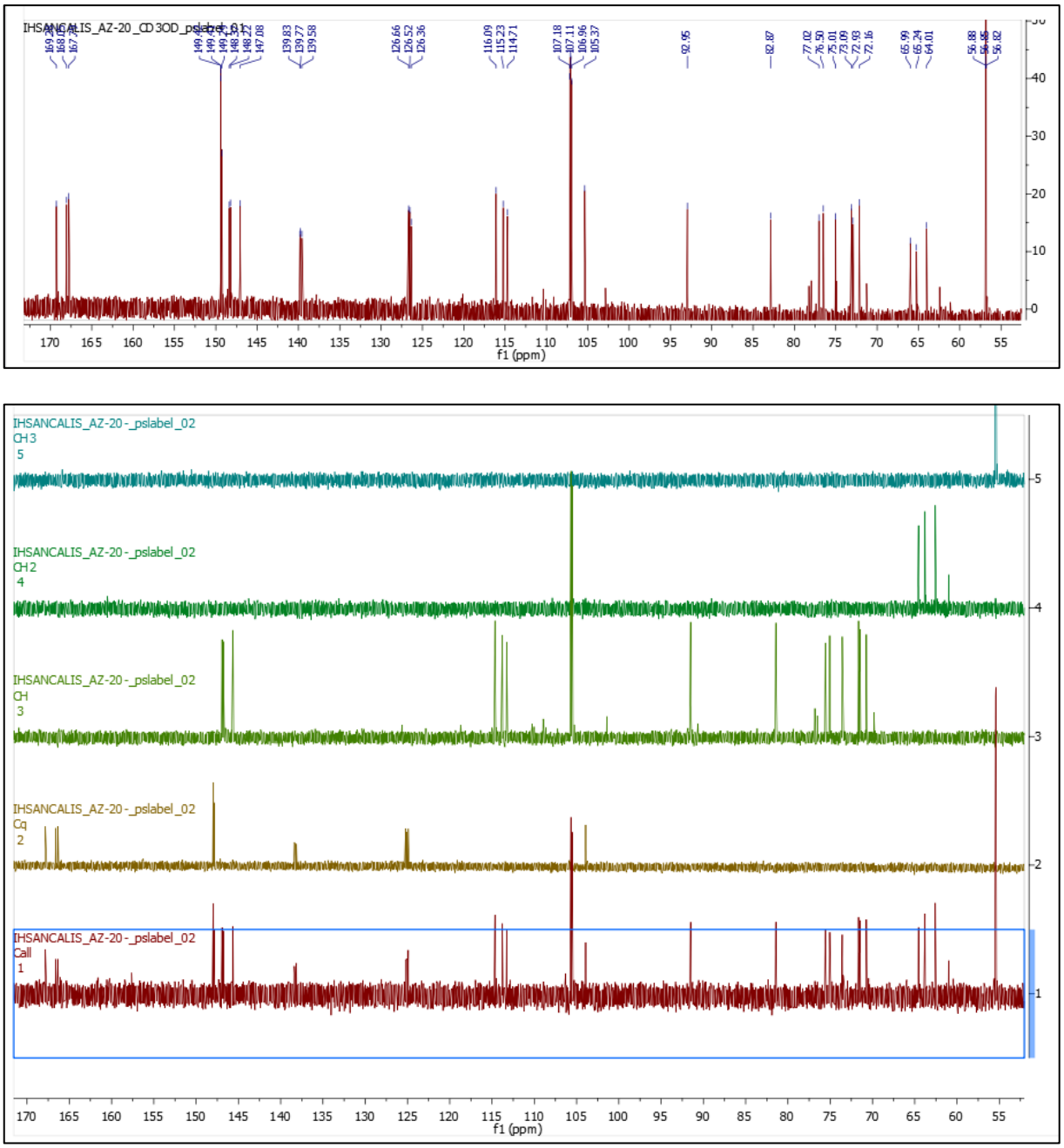
formülünün $C_{45}H_{52}O_{23}$, molekül ağırlığının 960.8880 olduğunu göstermektedir (Şekil 4.42.).

Bileşiğin ^{1}H-NMR Spektrumu incelendiğinde (Şekil 4.43.), **AZ-20**'nin sukrozun, üç adet 1,3,4,5-tetrasübstitüe-sinnamik asit ile esterleştiğini, diğer bir deyişle triester yapısında bir sukroz olduğunu göstermektedir. ^{13}C-NMR spektrumunda ise, sukroza ait 12 karbon rezonansına ek olarak, üç sinapik asitin karbon karbon rezonansları (üçü çift 15 C, üçü çift 12 CH, ve üçü çift 6 CH_3: Toplam 33 C) gözlenmiştir (Şekil 4.44.). Her üç sinapik asitin ayrı ayrı C-2/C-6 ve C-3/C-5 ve C-3(OMe)/C-5(OMe) karbon rezonanslarının simetri nedeniyle tek sinyal olarak gözlenmesine yanında, üçünün de proton ve karbon rezonansları az farkla da olsa tespit edilebilmiştir. Tüm proton ve karbon sinyalleri, COSY (^{1}H,^{1}H-homonükleer korelasyonlu spektrum) HSQC (^{1}H,^{13}C-heteronükleer kısa-mesafe korelasyonlu spektrum) yardımıyla yorumlanmıştır (Çizelge 4.13.). Aromatik sahada gözlenen sinyaller, sukroz üzerindeki üç asitin de 1,3,4,5-tetrasübstitüe sinnamik asit türevi, bir diğer deyişle üç sinapik asit olduğunu işaret etmektedir (Figür 4.43.). Aromatik sahada gözlenen her biri 1 proton şiddetinde AX sistem şeklinde üç çift *trans*-olefinik proton (J_{AX} 0= 15.9 Hz) ve her biri iki proton şiddetinde olan üç aromatik proton (H-2''/H-6'', H-2'''/ H-6''' ve H-2''''/ H-6'''') sinyalleri ve 3.85 ve 3.79 ppm'lerde sırasıyla 12H ve 6H proton şiddetinde iki metoksil sinyali (toplam 6 OMe), aromatik asitlerin aynı ve sinapik asit olduğunu işaret etmektedir. Esterleşmeye bağlı olarak sukrozun glukoz ünitesinin H_2-6 (hidroksimetilen) ve fruktoz ünitesinin H-3' ve H-4' sinyalleri de düşük alana kaymış olarak gözlendiler. Bu gözlemler, üç sinapik asitin glukozun C-6(OH) ile fruktoz ünitesinin C-3'(OH) ve C-4'(OH) grupları üzerinden esterleştiğini göstermiştir.

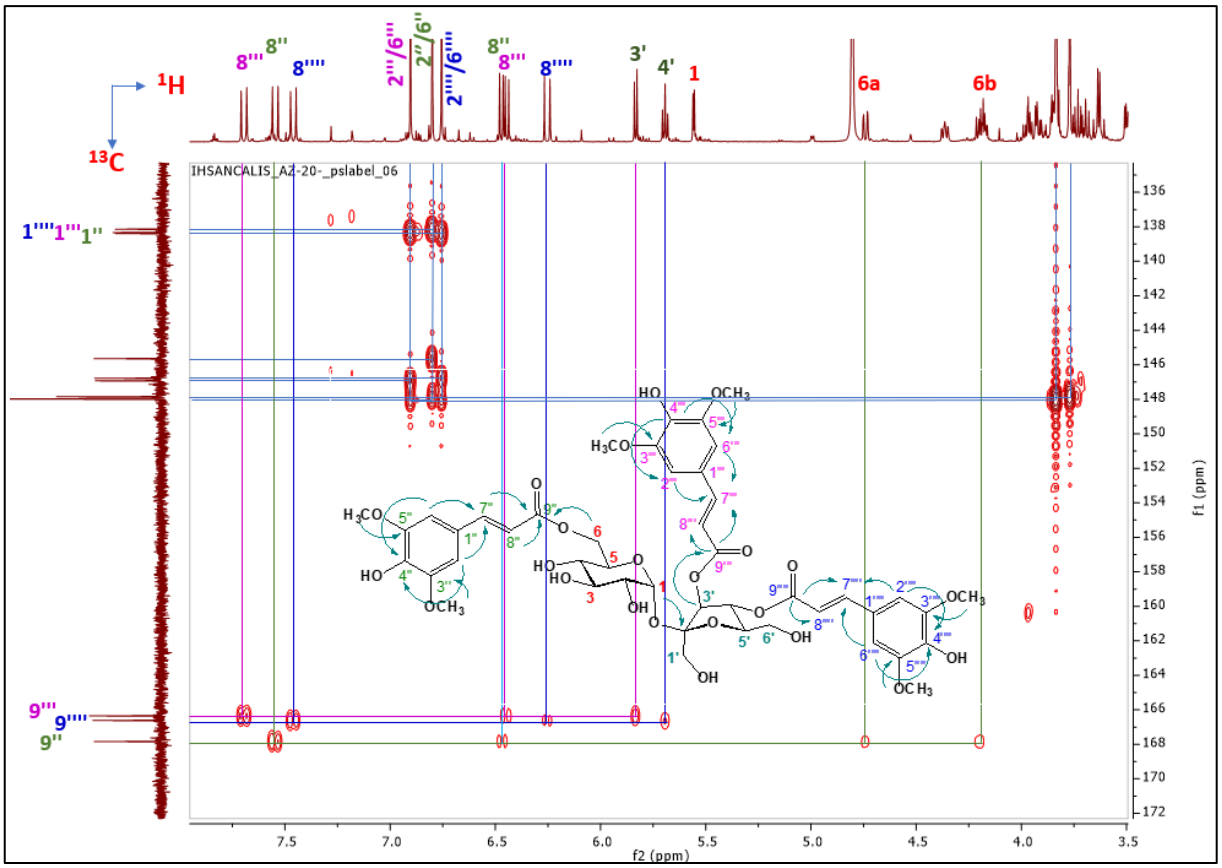


Şekil 4.43. 6,3,4-trisinapoyil-sukroz (**AZ-20**)'un ^{1}H-NMR Spektrumu (600 MHz, CD_3OD).

Ester bağıyla bağlanan asit ünitelerinin sukroz üzerinde bağlandığı bölgeler, her üç sinapik asitin karbon ve protonlarının kimyasal kaymaları HMBC (^{1}H,^{13}C-heteronükleer uzak-mesafe korelasyonlu spektrum) yardımıyla aydınlatılmıştır. HMBC spektrumu, sinapik asitlerin karbonil karbonlarına (C-9''/C-9'''(C-9'''') uzak mesafe korelasyon gösteren protonların, sinapik asitin olefinik protonları (H-7''/H-8'', H-7'''/ H-8''' ve H-7''''/ H-8'''') ile glukoz ünitesinin hidroksimetilen protonları (H-6'a ve H-6'b) ile fruktoz ünitesinin H-3' ve H-4' protonlarının olması, esterleşmelerin, glukozun C-6(OH), fruktozun C-3'(OH) ve C-4'(OH) grupları üzerinden olduğunu doğruladığı gibi, sinapik asitlerin proton ve karbonlarının ayrı ayrı tayin edilmesinde de yardımcı olmuştur (Şekil 4.45.).

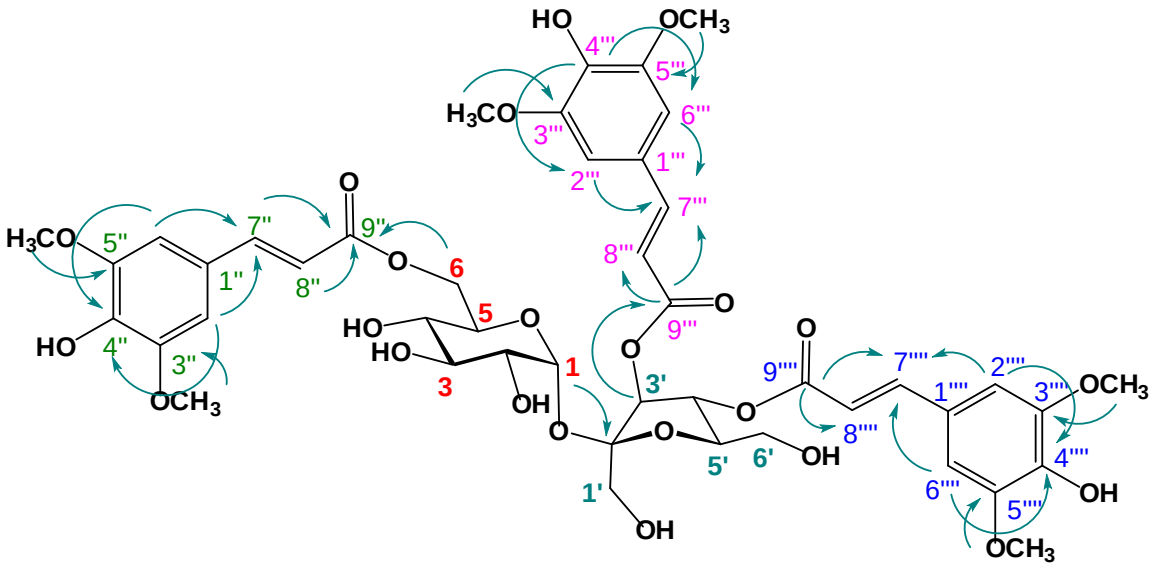


Şekil 4.44. 6,3,4-trisinapoyil-sukroz (**AZ-20**)'un ^{13}C-NMR Spektrumu (150 MHz, CD_3OD).



Şekil 4.45. 6,3,4-trisinapoyil-sukroz (**AZ-20**)'un HMBC Spektrumu.

HMBC yardımıyla, sinapik asitin karbonil karbonlarına $^{1}H,^{13}C$-uzak mesafe etkileşim gösteren protonlar H_2-6 (glukoz) ve H-3've H-4' (fruktoz) protonları dışında, olefinik protonlardan gözlenen etkileşimler, sinapik asitlerin aromatik halkalarına ait karbon ve protonların tayin edilmesini kolaylaştırdı. H-2/H-6 proton çiftlerinden C-4'lere, OMe sinyallerinden C-3/C-5 çiftlerine olan $^{1}H,^{13}C$-uzak mesafe korelasyonlar, üç ayrı sinapik asitin birbirine çok yakın olan karbon sinyallerinin kesin olarak saptanmasını sağladı (Şekil 4.45. ve Şekil 4.46.).



Şekil 4.46. HMBC (^{1}H,^{13}C-heteronükleer uzak-mesafe) korelasyonları (H→C).

COSY, HSQC ve HMBC yardımıyla Çizelge 4.13.'de **AZ-20** için belirlenen değerler, literatürde 6,3',4'-tri-*O*-sinapoil-sukroz için verilen değerlerle uyum içindedir [155-158]. Bu gözlemlere dayanarak **AZ-20**'nin kimyasal yapısı, 6,3',4'-tri-*O*-sinapoyil-sukroz olarak tayin edilmiştir. 6,3',4'-tri-*O*-sinapoyil-sukroz (**AZ-20**) ilk olarak *Securidaca longipedunculata* Fresen (*Polygalaceae*) kabuklarından izole edilmiştir [137].

AZ-20 ile birlikte aynı kolondan elde edilen **AZ-21**, **AZ-22**, **AZ-23** ve **AZ-24** kodlu bileşiklerle yapılan NMR çalışmaları, **AZ-21**'in Sancaroside A (**AZ-7**), **AZ-22** ve **AZ-23**'ün ise farklı oranlarda sancaroside A ve B (**AZ-2**) karışımı olduğu görüldü. **AZ-24**'ün kompleks yapılı bir fenolik glikozit olduğu anlaşıldı. Fraksiyon K (353 mg)'dan elde edilen **AZ-18** ve **AZ-19**'un NMR spektrumları, bu bileşiklerin triterpenik saponin yapısında olduğunu göstermiştir. Çok polar olmalarına bağlı olarak, çözünürlük problemleri sebebiyle ^{1}H ve ^{13}C-NMR spektrumları başarılı olmamıştır.

Çizelge 4.13. 6,3',4'-trisinapoil-sukroz (**AZ-20**)'un ^{1}H- ve ^{13}C-NMR Spektral Değerleri.

C/H	DEPT	δ_C, ppm	δ_H, ppm, *J* (Hz)	HMBC (H'dan →C'a)
Glu 1	CH	92.95	5.58 d (3.7)	H-3, H-5
2	CH	73.09	3.52 dd (3.7/9.6)	-
3	CH	75.01	3.71 t (9.6)	-
4	CH	72.16	3.31 t (9.6)	H-6
5	CH	72.93	4.99 ddd (9,6/7.5/1.3)	H-1
6	CH_2	65.99	4.20 dd (12.2/7.5) 4.75 gd (12.2/1.3)	-
Fru 1'	CH_2	65.24	3.66 d (12.0) 3.64 d (12.0)	-
2'	C	103.93	-	H-1, H-1'a ve H-1'b
3'	CH	77.02	5.85 d (7.6)	H-4'
4'	CH	76.50	4.52 t (7.6)	-
5'	CH	84.87	4.19 ddd (7.6/7.0/4.2)	H-4'
6'	CH_2	64.01	3.94 dd (12.2/4.2) 3.99 dd (12.2/7.0)	H-4'
Sin1→6Glu		-	-	-
1"	C	126.66	-	H-7", H-8"
2"/6"	CH	107.11	6.82 s	H-4", H-7"
3"/5"	C	149.29	-	3"-OMe/5"-OMe
4"	C	139.59	-	H-2", H-6",
7"	CH	147.08	7.56 d (15.9)	-
8"	CH	116.09	6.48 d (15.9)	-
9"	C	169.28	-	H-6a ve H-6b, H-7", H-8"
3"&5"-OMe	CH_3	56.85[a]	3.79 s	-

Sin1→3'Fru		-	-	-
1'''	C	126.52	-	H-7''', H-8'''
2'''/6'''	CH	107.18	6.92 s	H-7'''
3'''/5'''	C	149.42	-	3'''- ve 5'''-OMe
4'''	C	139.77	-	H-2''', H-6'''
7'''	CH	148.37	7.65 d (15.9)	-
8'''	CH	115.23	6.47 d (15.9)	-
9'''	C	167.79	-	H-3', H-7''', H-8'''
3'''&5'''-OMe	CH_3	56.88[a]	-	
Sin1→4'Fru		-	-	-
1''''	C	126.36	-	H-7'''', H-8''''
2''''/6''''	CH	106.96	6.77 s	H-7''''
3''''/5''''	C	149.41	-	3''''- ve 5''''-OMe
4''''	C	139.83	-	H-2'''', H-6''''
7''''	CH	148.22	7.48 d (15.9)	-
8''''	CH	114.71	6.27 d (15.9)	-
9''''	C	168.50	-	H-4', H-7'''', H-8''''
3''''&5''''-OMe	CH_3	56.82[a]	3.85 s	-

†) Sinyal örtüşmesi sebebiyle *J* değerleri ölçülemedi; [a]) Birbirleriyle yer değiştirebilirler;
Kısaltmalar: Glu = Glukoz; Fru = Fruktoz; Sin = Sinapik asit.

4.2. LC-qTOF-MS Çalışmasına Ait Sonuçlar

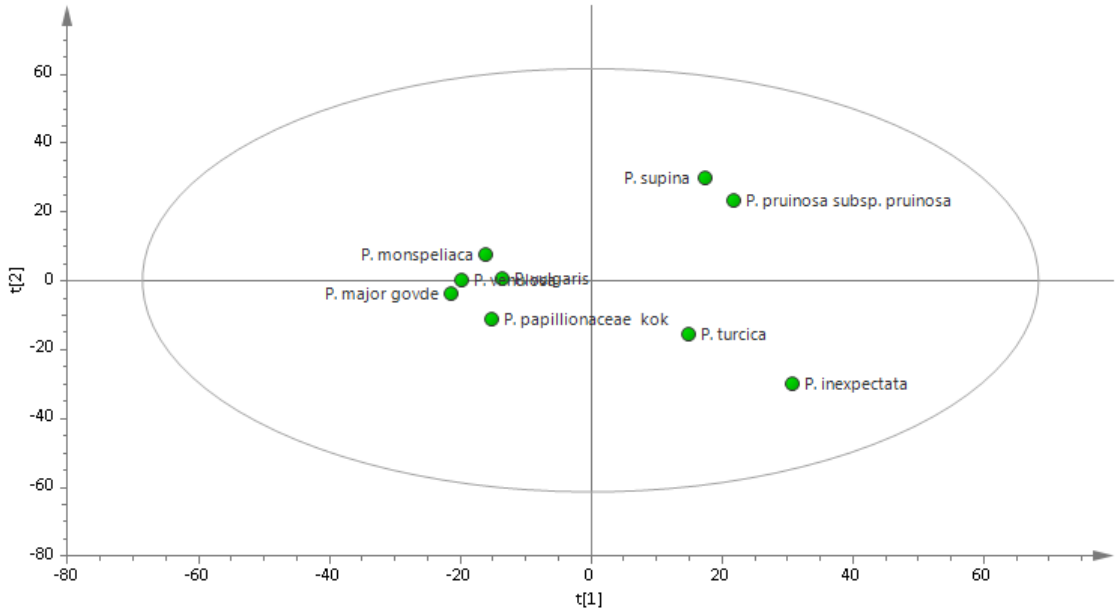
4.2.1. LC-qTOF-MS Cihaz Kütüphanesi (Tüm Kimyasallar) Analiz Sonuçları

Analizler için çizelge 4.14.'de verilen *Polygala* taksonları kullanılmıştır. Takson seçiminde özellikle ayrıntılı fitokimyasal analizler için endemik türler ile çalışılmaya özen gösterilmiştir. Genel kemotaksonomik yaklaşımlarda ise tüm türlerin ekstrelerine ait kromotogram görüntüleri esas alınmıştır. Seçilen taksonlara ait ekstreler ile LC-qTOF-MS cihazı kullanılarak yapılan kimyasal taramalar sonucunda, cihaz kütüphanesinde kayıtlı olarak bulunan bileşikler ile elde edilen karmaşık veriler; temel

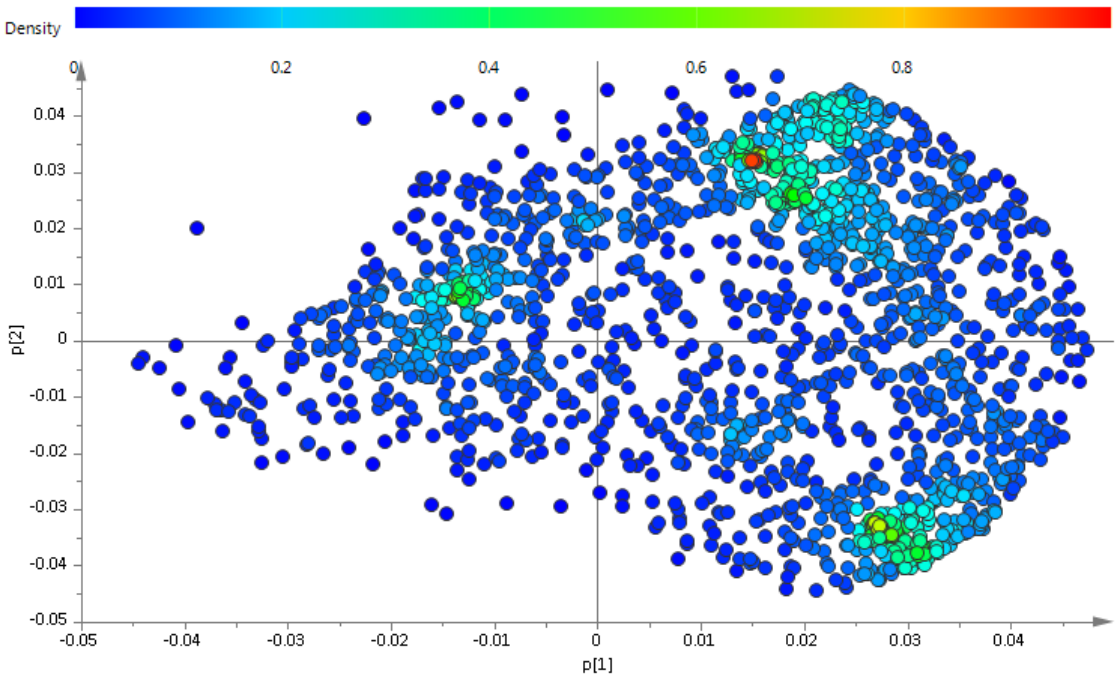
bileşen analizi (PCA) skor grafiği (Şekil 4.47.), temel bileşen analizi (PCA) biplot grafiği (Şekil 4.48.) ve üç boyutlu temel bileşen analizi (3D-PCA) skor grafiği (Şekil 4.49.) olmak üzere üç farklı çok değişkenli analiz istatistiksel yaklaşımları ile taksonların kimyasal içerik yönünden birbiri ile olan ilişkileri görselleştirilmiş ve bunlara bağlı olarak yorumlanmıştır. Taksonlar arası benzerlik ve farklılıkları belirlemek için PCA kullanılmıştır.

Çizelge 4.14. LC-qTOF-MS çalışmasında incelenen taksonların lokalite bilgisi.

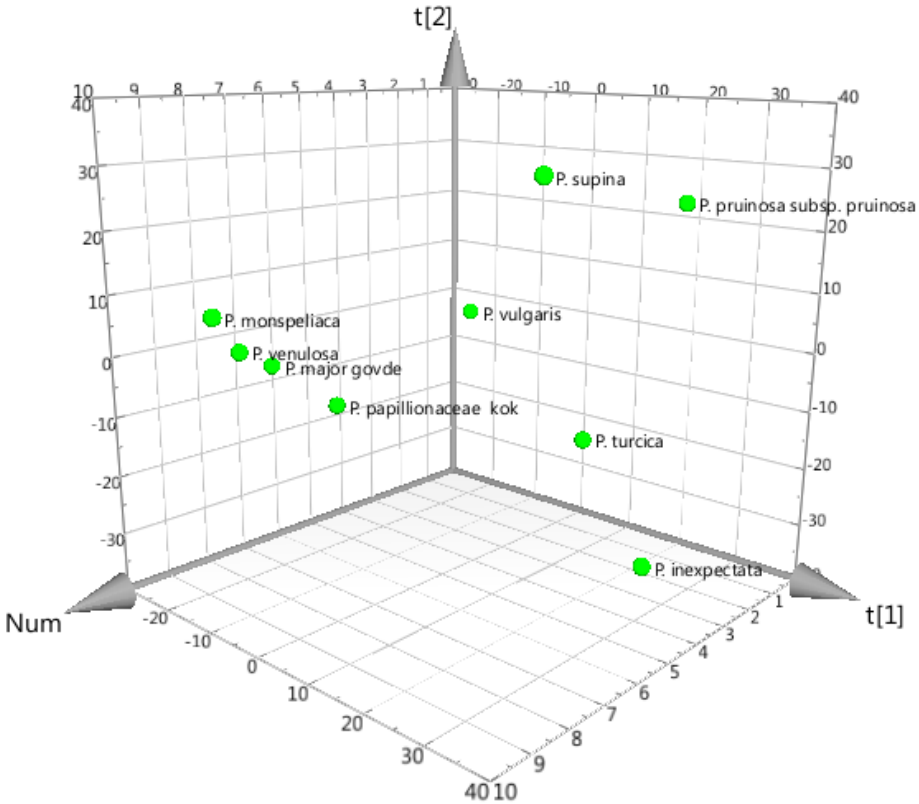
Takson adı ve Toplayıcı Numarası	**Lokalite Bilgisi**
P. inexpectata AAD 20373	C4 Karaman: Ayrancı Barajı yanı, Harmanyolu mevkii, 37 20'12" K, 33 44' 04.5" D, 1205 m, bozkır, marnlı yamaçlar, 17.05.2019, A. A. Dönmez 20373.
P. monspeliaca ACU 003	KKTC: Lefkoşa, Geçitköy, 74 m, A. Cantaş Ünlü 003.
P. venulosa ACU 001	KKTC: Lefkoşa, Geçitköy, 100 m m, bahçe kenarı, 19.05.2020, A. Cantaş Ünlü 001.
P. vulgaris AAD 20628	A8 Erzurum: Oltu, Duralar Köyü yukarısı, 1765 m, 40˚28'24.1"K 40˚54'29.2"D, 6.8.2019, A. A. Dönmez 20628 - K. Şenova.
P. major AAD 20750	A8 Bayburt: Bahtlı Dağı, Kop Geçidi yukarısı, marn, kalker açıklığı, 23.03.2021, A. A. Dönmez 20750.
P. turcica AAD 20390	A9 Kars: Kağızman'dan Karakurt'a, Değirmendere köprüsünden Karakurt'a, 44 37' 138"K, 38 31' 347" D, 1329 m, çakıllı bozkır yamaçları, 23.05.2019, A. A. Dönmez 20390.
P. pruinosa subsp. *pruinosa* AAD 20358	A3 Ankara: Nallıhan-Beypazarı yolu Nallıhan'a 43 km., 44˚ 37' 40''K 36˚ 37' 13.3 D 593 m, kırmızı-beyaz renkli kayalıklar, kalker, 5.5.2019, Ali A. Dönmez 20358.
P. supina AAD 20416	B7 Erzincan: Refahiye, Sakaltutan Geçidi'nden Refahiye'ye 15. km, 44° 15' 68.8" K 37° 49' 88.4" D 1700 m, bozkır, dere kenarı, 25.5.2019, A. A. Dönmez 20416.
P. papilionacea AAD 20746	A8 Bayburt: Bahtlı Dağı, Kop Geçidi yukarısı, marn, kalker açıklığı, 25.07.2020, A. A. Dönmez 20746.



Şekil 4.47. *Polygala* taksonlarına ait ekstratların temel bileşen analizi (PCA) skor grafiği.



Şekil 4.48. *Polygala* taksonlarına ait ekstratların temel bileşen analizi (PCA) biplot grafiği.



Şekil 4.49. *Polygala* taksonlarına ait ekstratların üç boyutlu temel bileşen analizi (3D-PCA) skor grafiği**.**

Dokuz adet taksona ait PCA analiz sonuçları oluşturulurken ekstreler, kütüphanede kayıtlı bulunan 8000'den fazla bileşiğin dahil olduğu geniş bir taramaya tabi tutulmuştur. Analizler neticesinde; *P. supina* ve *P. pruinosa* taksonlarını arasında metabolomik profiller benzerlik göstermektedir. *P. inexpectata*'nın PCA sonuçlarına bakıldığında bu taksonun diğer taksonlara göre farklı kimyasal içeriğe sahip olduğu görülmektedir. *P. monspeliaca*, *P. major*, *P. venulosa* ve *P. vulgaris* taksonları birbirleri ile yakın kimyasal içeriğe sahip olmalarına rağmen özellikle *P. major* ve *P. venulosa*'nın kimyasal benzerlik düzeyi diğerlerinden daha fazla olduğu görülmektedir.

4.2.2. *Polygala* Taksonlarından İzole Edilen Bileşikler İle Analiz Sonuçları

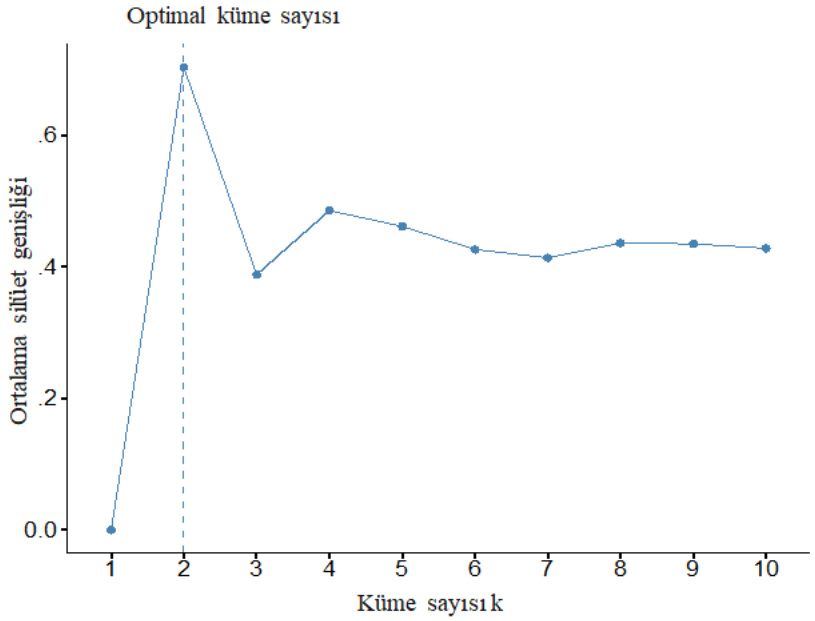
P. inexpecatata ve P. azizsanacarii taksonları üzerindeki ayrıntılı fitokimyasal çalışmalar sonucunda izole edilen bileşikler ve ticari olarak satın alınan dört adet standart bileşiğin (Çizelge 4.15.) tez çalışmasında seçilen bazı *Polygala* türleri (Çizelge 4.14.) ile istatistiler karşılaştırmaları yapılmıştır. *Polygala* taksonlarına ait bileşiklerin

kümeleme analizi K-Ortalamalar kümeleme yöntemine göre gerçekleştirilmiştir. Kümeleme işleminde silüet indeksi kullanılmış ve *Polygala* taksonlarının optimum kümelenmesi iki olarak hesaplanmıştır. Silüet indeks grafiğine bakıldığında soy ağacının ikiye ayrıldığı (dikey) noktalarla gösterilmiş ve desteklenmiştir (Şekil 4.50.). Bu hesaplamalar R studio ortamında temel paketler kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen kümeleme sonucunda bileşiklerin yoğunluğa göre ısı haritasında *Polygala* taksonları Şekil 4.51.'deki gibi sınıflandırılmıştır.

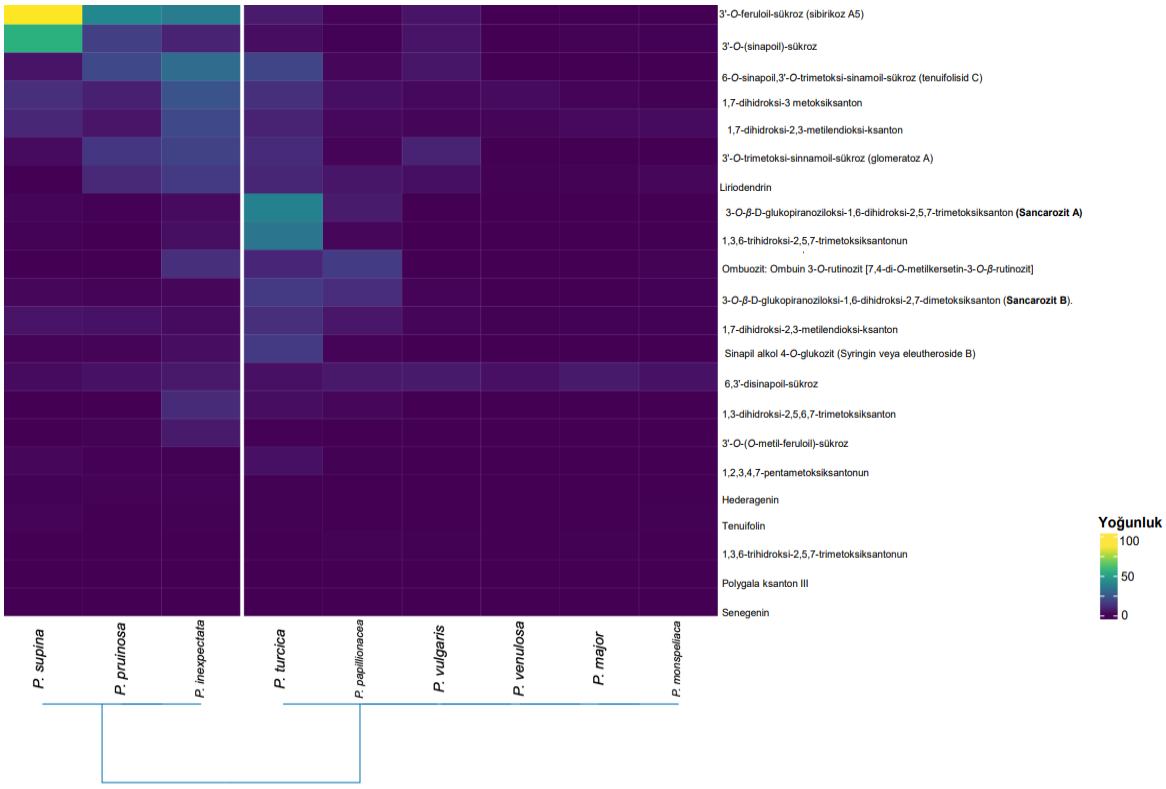
Çizelge 4.15. İzole edilen bileşikler ve bazı *Polygala* taksonlarındaki durumu.

	P. pruinosa	*P. vulgaris*	*P. turcica*	*P. inexpectata*	*P. supina*	*P. papilionacea*	*P. major*	*P. venulosa*	*P. monspeliaca*
6,3'-disinapoil-sukroz	Var	Var	Var	Var	Var	Var	Var	Var	Var
6-*O*-sinapoil,3'-*O*-trimetoksi-sinamoil-sukroz (tenuifolisid C)	Var	Var	Var	Var	Var	Var	Yok	Yok	Yok
3'-*O*-trimetoksi-sinnamoil-sukroz (glomeratoz A)	Var	Var	Var	Var	Var	Var	Yok	Yok	Yok
3'-*O*-feruloil-sukroz (sibirikoz A5)	Var	Var	Var	Var	Var	Var	Yok	Yok	Var
3'-*O*-(sinapoil)-sukroz	Var	Var	Var	Var	Var	Var	Var	Var	Var
Sinapil alkol 4-*O*-glukozit (Syringin veya eleutheroside B	Var	Var	Var	Var	Var	Var	Yok	Yok	Yok
Liriodendrin	Var	Var	Var	Var	Yok	Var	Var	Var	Var
3'-*O*-(*O*-metil-feruloil)-sukroz	Var	Yok	Var	Var	Var	Yok	Yok	Yok	Yok
Ombuozit: Ombuin 3-*O*-rutinozit [7,4-di-*O*-metilkersetin-3-*O*-β-rutinozit]	Var	Yok	Var	Var	Yok	Var	Var	Yok	Var
3-*O*-*β*-D-glukopiranoziloksi-1,6-dihidroksi-2,5,7-trimetoksiksanton (Sancarozit A)	Var	Yok	Var	Var	Var	Var	Yok	Yok	Yok
3-*O*-*β*-D-glukopiranoziloksi-1,6-dihidroksi-2,7-dimetoksiksanton (Sancarozit B)	Var	Var	Var	Var	Var	Var	Var	Var	Var
1,3,6-trihidroksi-2,5,7-trimetoksiksanton	Var	Yok	Var	Var	Var	Var	Yok	Yok	Yok
1,2,3,4,7-pentametoksiksanton	Var	Var	Var	Var	Var	Var	Var	Var	Var
1,3-dihidroksi-2,5,6,7-trimetoksiksanton	Var	Yok	Var	Var	Var	Var	Yok	Yok	Yok
1,3-dihidroksi-4,7-dimetoksiksanton	Var	Var	Var	Var	Var	Var	Yok	Yok	Var

1,7-dihidroksi-3 metoksiksanton	Var	Var	Var	Var	Var	Var	Var	Var	Var
1,7-dihidroksi-2,3-metilendioksi-ksanton	Var	Var	Var	Var	Var	Var	Var	Var	Var
1,3,6-trihidroksi-2,7-dimetoksiksantonun	Var	Var	Var	Var	Var	Var	Var	Var	Var
Hederagenin	Var	Var	Var	Var	Var	Var	Yok	Yok	Yok
Senegenin	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
Polygala ksanton III	Yok	Yok	Yok	Var	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
Tenuifolin	Var	Yok	Var	Var	Var	Yok	Var	Var	Var



Şekil 4.50. *Polygala* taksonlarının Silüet indeksi ile kümelendirilmesi.



Şekil 4.51. *Polygala* taksonlarının K-Ortamalar kümelemesine göre sınıflandırılması. (Isı haritası Mor renkten sarı renge doğru artış göstermektedir.)

Bu sonuçlara göre *P. turcica*'nın oluşan iki soy arasındaki geçiş taksonu olduğu, *P. supina*, *P. pruinosa* ve *P. inexpectata* taksonları kendi içinde bir grup, *P. turcica*, *P. papilionacea*, *P. vulgaris*, *P. venulosa*, *P. major* ve *P. monspeliaca*'nın ayrı gruplandırma gösterdiği bulunmuştur. Bu sonuçların ortaya çıkmasında belirleyici başlıca kimyasallar ise; 3'-*O*-feruloil-sukroz (sibirikoz A5), 3'-*O*-(sinapoil)-sukroz, 6-*O*-sinapoil,3'-*O*-trimetoksi-sinamoil-sukroz (tenuifolisid C), 3-*O*-*β*-D-glukopiranoziloksi-1,6-dihidroksi-2,5,7-trimetoksiksanton (Sancarozit A) ve 1,3,6-trihidroksi-2,5,7-trimetoksiksantonun olarak bulunmuştur.

Yapılan istetistiksel analizler sonucunda *P. monspeliaca*'nı çalışılan diğer taksonlardan en farklı sonuçlar gösterdiği ortaya konmuştur. Bunun sebebi bu türün tüm taksonlar arasında tek yıllık olması [159] en önemli nedendir. Her yıl yaşam döngüsünü yenileyen bir tür olması, küçük köklere sahip olması içerisinde taşıdığı metabolitlerin diğer taksonlardan farklı olmasını sağlayabilir.

P. vulgaris taksonu üzerinde yapılan sitogenetik çalışma sonuçlarına göre poliploid olduğu ortaya konmuştur [160-162]. Bu özelliği fitokimyasal çalışmalar neticesinde

elde edilen kimyasalların varlığı ve yokluğu istatistiksel analizlere konulduğunda soy ağacında taksona belirgin bir fark sağlamamıştır.

K-Ortalamalar kümeleme yöntemine göre yapılan analiz sonuçlarınına göre birbiri ile kimyasal benzerlik olarak en az olan iki tür *P. supina* ve *P. monspeliaca* olarak ortaya çıkmıştır. Bu aşamada tek yıllık tek tür olan *P. monspeliaca*'nın bir uçta olması beklenen bir sonuçtur.

Şekil 4.51.'deki oluşan kümeleme görseline baktığımızda, gerek Türkiye florasında [64] bulunan sistematik anahtara gerek Dönmez ve Uğurlu Aydın'nın *P. azizsanacrii* türünü literarüre ilk kez kazandırırken oluşturdukları anahtarda [63] *P. major* ve *P. monspeliaca* birbirine en uzak taksonlar olarak görülmesine rağmen, kimyasal içerikleri bakımından birbirleri ile yakın oldukları gözemlenmiştir. *P.major* Karadeniz ilkiminin olduğu Bayburt'tan; *P. monspeliaca* ise Akdeniz ikliminin görüldüğü Kuzay Kıbrıs'tan toplanmıştır. *P. monspeliaca* tek yıllık tek tür olması, aralarındaki morfolojik ve çevresel şartları farklı kılsada kimyasal içerikleri ilginç bir biçimde benzer bulunmuştur.

P. supina, P. pruinosa ve *P. inexpectata* taksonları *Polygala* taksonlarından izole edilen sonuçlara göre benzer grupta yer almıştır, fakat tüm kimyasalların tarandığı ve PCA analizi ile ortaya konan sonuçlarada *P. supina* ve *P. pruinosa* birbirine daha yakın iken *P. inexpectata* bu grublardan daha farklı bir kimyasal profil göstermiştir. Bunun nedenleri arasnında LC-qTOF-MS cihaz kütüphanesinde sekonder metabolitlerin yanı sıra primer metabolitler ve izolasyon aşamasında elde etmediğimiz diğer molekül gruplarınından (uçucu yağlar gb.) kaynaklı olabilir.

Karahan'nın çalışmasında *Polygala* taksonlarına ait karakterler üzerinde yaptığı ölçümleri grafikleştirmiştir [163]. Bu çalışmada *P. venulosa* ve *P. vulgaris* birbirine yakın türler olarak bulunmuştur. Bizim çalışmamızda da elde etiğimiz veriler bu sonuç ile uyum içindedir. Karahan'ın çalışmasında *P. major* ve *P. monspeliaca* aralarında farklı taksonların olmasına rağmen yakın yerlerde yer aldığı, bizim çalışmamızda da bu iki taksonun kimyasal içerik bakmından daha yakın ve diğer taksonlardan ayrıldığı görülmektedir.

Bu tez çalışmasında kimyasal içeriklerin ortaya konması aşamasında en yeni teknoloji ile MS/MS ölçüm yapabilen LC-qTOF-MS cihazı kullanılmıştır. Cihazın pozitif $[M+H]^+$ ve negatif $[M-H]^-$ iyon okuma yapması bileşiklere ait elde edilen piklerin doğruluğunu % 100'e taşımakta ve ekstreler içinde varlığını yokluğunu ve miktarsal değerini vermesi, yapılan analizlerin güvenilirliğini artırmaktadır.

Bitkiler, biyotik ve abiyotik streslere karşı kimyasal savunmada önemli rolleri olan, karmaşık kimyasallar ve biyolojik aktivite bakımından farklılık gösteren çeşitli bileşikleri sentezlerler [164, 165].

Metabolomik artık temel bitki biyolojisinde ve uygulamalı biyoteknolojide önemli bir rol oynamaktadır. Bitkiler toplu olarak, diğer organizmaların çoğunun ürettiğinden çok daha fazla sayıda kimyasal üretir; bu nedenle, metabolomik bitki biyolojisinde büyük önem taşımaktadır. Metabolomik analizler taksonların içerdiği kimyasalların, çeşitli aktivite çalışmaları ile önemini, birbirleri ile olan sinerjik ilişkilerini ve aktif bileşenlere daha kolay ulaşmamızı sağlamaktadır [166].

Polygala türleri yapılarında ksanton biriktirmeleri ile karakterize edilirler [72, 113, 167]. Bizim çalışmamızda da özellikle *P. azizsancarii*'den izole edilen bileşiklerin çoğu ksanton yapısında olmakla beraber iki tanesi yeni bileşik olarak literatüre kazandırlımıştır.

Zhang ve ark. yaptığı çalışmada UPLC-qTOF-MS cihaz ile *P. tenuifolia* taksonuna ait kimyasal bileşenleri rapor etmiştir. Çalışmada esas amaç sentezlenen triterpenoid saponinleri esas bileşik olarak kodlanan gen bölgesine gitme olsada; tek tür ile bitkinin kök, gövde, yapraklar ve tohumlar arasındaki triterpenoit saponin yoğunluğundaki fark ve benzerlikde incelemiştir. Analiz sonuçları PCA analizi ile karşılaştırılmış; kök, gövde, yaprak ve tohuma ait 4 farklı kümelenme oluşumu gözlenmiştir [168]. Bizlerde seçtiğimiz taksonlarda *P. inexpectata*'yı tüm bitki, *P. azizsancarii*'yi kök kısmı ile çalıştık. Elde ettiğimizi kimyasallar *P. inexpectata*'da ağırlıklı olarak sakaroz esteri türevli metabolitler, *P. azizsancarii*'de ise ağırlıklı olarak ksanton metabolitleri olmuştur. Bu sonuç çalışılan bitki kısmı ile ilgili olabilir.

Xue ve ark. yaptıkları çalşışmada *P. tenuifolia*'nın bir, iki ve üç yıllık gelişimlerinde toplanan bitkilere ait kimyasallar (sekonder ve primer metabolitler) arasındaki değişim ortaya konmuştur. Amaç büyüyen bitkilerde kimyasal içeriğin nasıl değiştiğini gözlemlemekti. Numuneler qTOF-MS cihazında analizleri yapıldıktan sonra PCA kullanlarak istatistiksel sonuç ortaya konmuştur. Sonuçlar; iki ve üç yıllık bitki kimyasal içerik olarak birbirinden anlamsal farklılık göstermezken, bir yıllık taksonun farklı olmasıydı. Fruktoz, sakaroz gb. birincil metabolitler zaman içinde arttığı; onjisaponin Fg, polygalasaponin XXVIII gb. sekonder metabolitler metabolitlerin içeriklerini yıllar içinde artrdığı, bu sayede bitkinin büyüme yıllarının kimyasal içeriğine etki ettiği kanıtına varılıştır [169]. Bizlerde çalıştığımız taksonların toplanma yıllarında farklılık olması neticesinde elde edilen kimyasal içerik sonuçların farklılık gösterebileceği kanısına varabiliriz.

Başka bir çalışmada *P. tenuifolia*'nın 3 farklı varyatesi ile yapılan ıslah çalşmasıdır. Çalışmada 3 varyatenin ekstresi UPLC-q-TOF-MS cihazı ile analizinden sonra PCA skor grafikleri oluşturulmuştur. Varyateler arasındaki farkı sağlayan kimyasalların sakaroz esterleri (Sibirikoz A5 ve tenuifolizit B (=tenuifoliside B) gb.), oligosakkaritler (Tenuifolioz K gb.) olduğu ve ayrıca 3,6'-disinapoly sakarozunda 3 varyatede farklı olduğu bulunmuştur [170]. Bizim çalışmamızda taksonlar arasındaki farklı oluşturan kimyasallarımızın sakaroz esterlerinden 3'-*O*-feruloil-sukroz (sibirikoz A5), 3'-*O*-(sinapoil)-sukroz, 6-*O*-sinapoil,3'-*O*-trimetoksi-sinamoil-sukroz (tenuifolisid C), 1,7-dihidroksi-3 metoksiksanton ve 3'-*O*-trimetoksi-sinnamoil-sukroz (glomeratose A) olarak bulunmuş benzer kimyasallar bizim içinde belirteç özellik göstermiştir.

Bir başka çalışmada *P. tenuifolia*'nın içerdiği sekonder metabolitlerin habitat ve yıllar içerindeki etkisi araştırılmıştır. Sekonder metabolit kompozisyonu q-TOF-MS cihazı ile analiz edildikten sonra PCA ile kümeleme işlemi yapılmıştır. Sonuçlar özellikle habitatın sekonder metabolitleri daha fazla etkilediğini ortaya koymuştur. Sukroz esterleri ve oligosakkaritlerin (tenuifolisid B, tenuifolisid C ve 3,6'-disinapoil sakaroz gb.) büyük ölçüde habitata bağlı olduğunu, habitat ve büyüme yılının ksantonlar üzerinde belirgin bir farkının olmadığı ve triterpen saponinlerinin büyük ölçüde yıllara bağlı olduğu ve zaman içinde arttığı bulunmuştur [171]. Bizim çalışmamızda izolayonu yapılan iki taksonumuzda (*P. inexpectata* ve *P. azizsancarii*) lokal endemik olduğu için farklı habitatlar üzerinden çalışma yapılması mümkün değildir, Fakat *P. inexpectata*'dan izole ettiğimiz kimyasallar ile çalışmada belirleyici olan moleküller olan sukroz ve oligosakkarit esterleri içerik bakımından benzerlik göstermektedir. *P. azizsancarii*'den izole ettiğimiz maddeler ağırlıklı olarak ksanton yapısında olduğundan, makalede bulunduğu gibi habitat ve yıla bağlı olarak değişip değişmeyeceği araştırılarak ortaya konabilir.

Zhang ve ark. *P. tenuifolia*'ya ait kök ve kök kabuğu arasındaki farklılık gösteren bileşenleri belirlemek için HPLC cihazı ile analiz yapılarak, Poligalaksanton III ve 3,6'-disinapoil sukroz içeriğinin kümeleme analizinde net bir şekilde farklı olduğunu ortaya koymuştur [172]. Bizim çalışmamızda ticari olarak satın aldıığımız Poligalaksanton III hiçbir ekstremizde bulunmamıştır. Bu referans madde araştırılırken *Polygala* taksonlarının kök ve kök kabukları ayrı ayrıı çalışılması gerekebilir. *P. azizsancarii* (kök) ve *P. inexpectata* (tüm bitki) ile yapılan izolasyon çalışmalarında çalışmada 3,6'-disinapoil sukroz her ikisinden de elde edilmiştir. Tüm taksonlardaki varlığına bakıldığında polygalaksanton III'ün aksine tüm taksonlarda varlığı ortaya konmuştur.

Wang ve ark. yaptığı bir çalışmada farklı argonomik özelliklere (bitki boyu, kök çapı, kök uzunluğu, yan kök miktarı, yan kök ağırlığı, kök ağırlığı) sahip 18 *P. tenuifolia* örneğinin kimyasal içerikleri HPLC cihaz taraması ile incelenmiştir. Tarama yapılırken belirleyici moleküller olarak; tenuifolin, 3,6'-disinapoil sukroz ve poligalaksanton III kullanıldı. Kök çapı ile üç kimyasal arasında anlamlı bir farklılık yoktu. Kök uzunluğu, ilk yan kök uzunluğu ve yan kök miktarı yüksekdüzeyde polygalaksanton III içerdiği, daha uzun köke sahip örneklerin yüksek miktarda 3,6'-disinapoil sukroz içerdiği ortaya konmuştur. Çalışma neticesinde *Polygala* Radix olarak bilinen ve sıklıkla farmakopelerde yer alan *P. teniufolia*'nın tüm köklerde hastalık tedavilerinde aynı etkiyi göstermeyeceğini ve farmakopelerin revizyone ihtiyacı olduğuna da vurgu yapılmıştır [173]. Bizlerde çalışılan türlerde benzer kimyasalı (3,6'-disinapoil sukroz) izole ettik ve ticari olarak satın aldık (polygalaksanton III ve tenuifolin) varlık ve yokluklarını farklı düzeylerde ortaya koyduk. İleriki çalışmalarda farklı kök özellikleri üzerinden gidilerek bu alan genişletilebilir.

Xu ve ark. yaptıkları çalışmada *P. tenuifolia* ekstrelerinin kimyasal içeriklerini farklı bir yöntem belirleyerek ortaya koymayı hedeflemiştir; çalışmaya tek bir işaretleyici referans kimyasal (3,6'-disinapoil sukroz) kullanarak çoklu bileşenlerin (Sibirikoz A5 ve A6, glomeratoz A, tenuifolisid A, B ve C, sibirikaksanton B ve poligalaksanton III) kantitatif analizini ortaya koymaya çalışmıştır. Çalışma sonuçları bu yöntemin kimyasal içeriklerin ortaya konmasında uygulanabilir ve umut verici olduğu görülmüştür [174]. Çalışmamızda işaretleyici olarak kullanılan kimyasalı saf olarak izole etmemiz, ileride bu yöntemi kullanabileceğimiz şeklinde yorumlanabilir.

Kemotaksonomiye katkı sağlayan çalışmalar *Polygala* taksonları ile sınırlı değildir. Zhao ve ark. yaptığı bir çalışmada yakın ilişkili dört *Citrus* türüne ait meyvelerinin kemotaksonomik çalışma ile metabolitlerin kapsamlı analizi sonucunda genotip ile fenotip arasında bir ilişki kurmaya yönelikti. Sonuçlara bakıldığında birincil metabolitlerin türler arasında anlamlı bir ayırt ediciliği olduğu fakat ikincil metabolitlerin türe ve olgunlaşma süresine bağlı olduğu, özellikle olgunlaşma süresinde narenciye meyvelerindeki flavon ve flavon glikozitlerinin sentezinin de etkilendiği ortaya konmuştur [175]. *Polygala* taksonlarına ait kapsül ve tohum özelliklerinin birbirinden farklılık gösterdiği yapılan bir çalışma ile ortaya konmuştu [176]. Bu farklılığın kimyasal içerik yönünden incelenmesi ilerisi için düşünülebilir.

Abdelhafez ve ark. yaptığı bir çalışmada üç *Malvaceae* cinsine ait *Hibiscus mutabilis* L., *Hibiscus schizopetalus* Hook. f. ve *Malvaviscus arboreius* Cav.'a ait kimyasal profillerin araştırılması, sonrasında antioksidan ve antienfektif potansiyellerinin değerlendirilmesi üzerine olmuştur. Çoğunluklu fenolik bileşikler izole edilmiştir. Bu sayede aktif olmayan ekstrelerdeki gereksiz izolasyon ve zahmetli kolon kurma aşamalarından kaçınıldı [177]. Günümüzde izolasyon aşamalarının zahmetli, uzun ve çoğu minör maddenin kaybı ile sonuçlandığı bilmektedir. Bizlerde ekstreler üzerinden çeşitli aktivite çalışmaları yapılması hedeflenen *Polygala* türlerin genel kimyasal içeriğini bilindiği için gereksiz izolasyon süreçlerinden araştırmacıları uzaklaştırabilir.

Xie ve ark. Panax cinsine ait morfolojik görünümleri ve bazı bileşenleri benzer olan, *Panax ginseng*, *Panax notoginseng* ve *Panax japonicus*'a ait saponin türleri ve miktarlarında önemli farklılıklar neticesinde farmakolojik aktivitelerinde farklı olduğu görülmüştür. Üç türünde kimyasal içeriği LC-qTOF-MS cihazı ile metabolomik analizi yapılarak PCA ile yorumlandığında üç türünde birbirinden net bir şekilde ayrıldığı ortaya çıkmıştır [178]. Bu çalışma neticesinde birbirine morfolojik olarak çok benzeyen taksonların bile kimyasal içeriğinin farklı olabileceği dolaysı ile taksonların ileriki aşamalarda kullanılacak her türlü aktivite çalışmasında farklılıkların saptanabileceği öngörülmektedir.

Challice 1974'de yaptığı kapsamli bir çalışma ile *Rosaceae* familyasının kemotaksonomisini ve *Pomoideae*'nin kökeni araştırmıştır. Çalışmalar, 74 farklı cinsi temsil eden toplam 197 farklı tür ile gerçekleştirilmiş. Bitkilere ait taze veya kuru yapraklar ekstre edilerek analizleri yapılmıştır. Ekstreler kağıt kromatografisi üstünde karşılaştırılmıştır. Çalışma sonucunda kimyasal olarak oluşturulan var/yok ile oluşturulan tablolar sonucunda ortaya çıkan benzerlik ve farklılıklar tartışılmıştır [179]. Bu çalışma aslında kemotaksonomik araştırmaların sadece türler arasında değil cins hatta familya düzeyinde dahi yapldığını göstermektedir.

Williams yaptığı bir çalışmada *Malus* türlerinin yaprak ve kabuğundaki fenolik bileşikleri incelemiş, bazı bileşilşerin sadece sınrlı sayıda türde bulunduğunu ve bu dağılımın taksonomiye ek bir karakter sağlayacağını ortaya koymuştur. Çalışmada toplanan türler çok geniş coğrafik bölgelerden olması dolaysı ile dünya ölçeğinde (Asya, Kuzey Amerika ve Avrupa) de kimyasal içerikleri tartışıldı [180]. Bizim çalışmamızda analizini yaptığmız taksonlar arasında kıtalar arası bir fark yoktu.

Alberts ve Mayer'in yaptığı çalışma morfolojik olarak birbirine çok benzeyen ve Afriya'ya özgü 5 tür için alternatif bir ayırıcı yönteme ihtiyaç olduğu düşünülerek metabolomik analizleri DNA barkodlama ile karşılaştırılmıştır. Elde edilen sonuçlar bitki tanımlamasında DNA barkodlama ve kemotaksonominin entegre edilmesinin önemi vurgulanmıştır [181]. Bu çalışma ile aslında filogenetik analizlerin önemi vurgulanmıştır. *Polygala* taksonlarına DNA barkodlama analizleride kullanılarak kimyasal içerikleri yönünden karşılaştırılabilir.

Kyong Kim ve ark.'nın yaptıkları bir çalışmada *Ilex* türlerine ait metabolimikler ve NMR temelli sonuçları ile metabolimik sınıflandırma oluşturmaktı. Çalışma 11 tür üzerinde yapıldı, PCA sonuçlarına göre, hiyerarşik kümeleme analizi yapılarak türlerin dört gruba ayrıldığı bulundu. Bu analizlerde gruplar arası kesin bir ayrım yapmak zor olduğundan, hiyerarşik kümeleme analizi de uygulaması kullanılmıştır. Gruplar arası elde edilen metabolomik ayrımı bu türlerin kemotaksonomik sınflandrılmasını mümkün kılmıştır [182]. Bizim çalışmamızda PCA grafiklerinde hayali kümelenme olsada sınırları kesin çizmemiz mümkün değildir.

Georgescu ve ark. üç *Phlomis* türü üzerinde yaptıkları çalışmanın bir aşamasında uçucu yağ kompozisyonlarını PCA ve kümeleme analizi yaparak karşılaştırmışlardır. Analiz sonuçlarına bakıldığında üç hibrit taksondan birinde yüksek kimyasal farklılaşma ortaya çıkmıştır. Bu muhtemelen niş varyasyonu ile ilgilidir [183]. Hibrit türlerin çalışılması diğer türler ile her zaman farklı sonuç vereceği anlamına gelmemektedir. Bizim çalışmamızda *P. vulgaris* poliploidi göstermesine rağmen kimyasal içerik bakımından diğer taksonlar ile belirgin bir farkı bulunmamıştır. Ayrıca Georgescu ve ark.'rı nişin etkili olduğu varsaymışlardır, bu bizim çalışmamız içinde önemli bir etkiye sahiptir. Taksonlar arasında hem endemik türlerin olması veya topanma lokalitelerine bağlı kimyasal içeriklerinin de yüksek oranda değişebileceği düşünülebilir.

Avato ve ark.'ı *Thapsia villosa*'ın farklı lokasyonlarından toplanan tetraploid ve hexaploid örneklerin meyvelerine ait uçucu yağ bileşenleri açısından incelemiştir. Hem tetra hemde hekzaploid numunelerde major bileşik olarak limonen ve metil öjenol bulunmuştur [184]. Bizim çalışmamızda *P. vulgaris*'in poliploidi olduğu bilinmektedir. Bu aşamada bizim kimyasal analizler sonucunda polikloid olan taksonun herhangi bir ayrıcalığın olmadıgı çkarımı yapılabilir.

Banyanac ve ark. *Centaurium* türleri üzerinde yaptıkları çalışmada bu cins içinde türlerin kolayca hibritleşmesinin kimyasal içeriklerine de yansıyıp yansmadğını araştırmayı hedeflemişlerdir. Metanol ekstreleri ile yapılan analizlerde çıkan sonuçlar taksonlar arasında belirleyici kimyasalların niceliksel bileşiminde önemli farklılıklar olduğunu işaret etmiştir. Hatta çalışmada poliploid seviyelerdindeki farkın dahi türler arası ayırt edici olduğu görülmüştür [185]. Bu çalışma ile poliploid bitkilerin hatta poliploid seviyesinin kimyasal içeriğe etki edebileceği ortaya konmuştur. Bizim tek poliploid türümüz olan *P. vulgaris'*e eklenen yeni poliploid türler olması halinde poliploid türlerde ayrıca kendi içinde araştırılabilir.

Hillig ve Mahlberg'in *Cannabis* taksonları içerisinde kendilerine özgü bulunan kannabinoidlerin varlığını ve seviyesini Gaz kromatografisi ile ölçerek verileri değerlendirdiler. Çalışmalar neticesinde iki tür Cannabis olduğu kimyasal yönden de desteklenmiştir [186]. Bu çalşma filogenetik olarak da uyumlu sonuçların olduğunu göstermiştir.

Zewdie ve Bosland'ın *Capsicum* türleri içinde bulunan kapsaisinoidler türlerin tanınmasında yardımcı kimyasallar olarak önerilmiştir. HPLC cihazı ile yapılan taramada seçilen türler arasında capsaisinoid profillerinin tutarlı olmadığı, sonuçların kemotaksonomik anlamda kullanımının çok sınırlı olacağı ortaya konmuştur [187]. Bu çalışma neticesi aslında kemotaksonomik yaklaşımın çoğunlukla beklenen sonuçlarla turtarlı, fenotip genotip gibi parametrelerle uyumlu olmasının yanısıra farklı ve tek başına yetersiz sonuçlar verebileceği de görülmektedir.

Berkow ve ark.'nın yaptıkları çalışmada *Amaryllidaceae* ait alt familyalarda özellikle alkaloidlerinin ayrırt edici ve kemotaksonomik öneme sahip olduğu bilinmektedir. Çalışmada bu zamana kadar familya içerisinde bulunan tüm alkaloidler tek bir çalışma ile ortaya konmuştur [188]. Bizde çalışmamızda Türkiye'de yayılış gösteren bazı taksona ait kimyasal içerikleri ortaya koyduk, ileriki aşamalarda tüm taksonların dahil olduğu geniş çaplı bir kimyasal içerik çalışması yaparak kemotaksonomik yaklaşımı tüm taksonların dahil olduğu şekilde ortaya koyabiliriz.

Rocha ve ark.'nın yaptkları bir çalışmada Ericales'in APG III'e kemotaksonomik yeni düzenlemesinin rapor edildiği, flavonoitlerin (özellikle flavonol) ve triterpenlerin Ericales için ana taksonomik belirleyici oldukları rapor edilmiştir [189]. Bizim çalışmamızda kimyasal belirleyiciler 3'-*O*-feruloil-sukroz (sibirikoz A5), 3'-*O*-(sinapoil)-sukroz, 6-*O*-sinapoil,3'-*O*-trimetoksi-sinamoil-sukroz (tenuifolisid C), 1,7-dihidroksi-3 metoksiksanton ve 3'-*O*-trimetoksi-sinnamoil-sukroz (glomeratose A) olarak bulunmuştur.

Polygala taksonları üzerinde yapılan fitokimyasal çalışma sonuçlarına bakıldığında elde edilen bileşiklerin çoğunlukla saponin [19, 117, 122], ksanton [112, 190, 191] ve oligosakkarit [127, 128] yapısında oldukları bilinmektedir. Bizim fitokimyasal olarak çalışmış olduğumuz iki taksondan izole edilen bileşikler *P. inexpectata*'da ağırlıklı şekilde oligosakarit, *P. azizsancarii*'de ise ağırlıklı olarak ksanton yapısında olmuştur. Çalışma sonuçlarımız *Polygala*'ya ait genel kimyasal profili destekler nitelikte olmuştur. Saponin bileşiklerinin varlığı tespit edilmiş, izolasyonları gerçekleştirilmiş, ancak yapı tayinleri aşağıda açıklanan nedenlerden dolayı tamamlanamamıştır. *P. azizsanacarii*'ye ait NMR'a gönderdiğimiz iki bileşiğin triterpenik saponin yapısında olduğunu fakat çok polar olmaları sebebi ile çözünürlük problemi yaşandığından ^{1}H ve ^{13}C-NMR spektrumları başarılı olmamıştır. İleriki çalışmalarda özellikle saponin izolasyonu ile ilgili kullanılan yöntemler farklı ekstraksiyon ve izolasyon basamakları ile analizler yeniden yapılabilir.

Kemotaksonomik olarak elde ettiğimiz sonuçlar bitkilerin yetiştiği çevresel faktörlere (sıcaklık anomalisi, ilkim değişikliği, susuzluk, besin eksikliği, endüstriyel faliyetler gb.) yakından bağlıdır. Bu koşulların değişmesi ile taksonlara ait kimyasal içerikler de farklılaşacaktır [192]. Bu sebeple yaplacak her analizlerde bitkilerin yıllar içinde toplandığı koşullarda ayrıca gözlemlenmelidir. Ayrca gelişen analitik teknikler doğal ürün kimyasına kolaylıkla ulaşmamızı sağlasada, diğer fenetik karakterlerde olduğu gibi ekolojik stres sebebi ile yüksek bitkiler arasındaki filogenetik ilişkiler kurmak için DNA tabanlı sınıflandırma sistemi ortaya çıkmıştır [193]. Bu alan yeni olmasına rağmen daha güvenilir sonuçlar verdiğine ilanılan kemotaksonomi terimi yerine kemofenetik terimide [194] sıkça kullanılmaya başlanmıştır, yaptığımız analizlere daha fazla takson sayısı ile bu yeni alan içerisinde bakmak çalışmamızı destekleyici nitelikte olacaktır.

Sonuç olarak kemotaksonomi alanı pek çok eleştiriye rağmen, karşılaştırılmalı fitokimya ile zaman içerisinde bitki taksonomisine büyük katkı sağlamış ve sağlamaya da devam edecektir. Filogenetik ilişkilerin daha net bir şekilde anlaşılmasını sağlamak amacı ile oluşturulan kimyasal anahtarlar var olan taksonomik anahtarın yerine geçmemeli tamamlayıcı olmalıdır.

5. YORUM

"Türkiye'deki Bazı *Polygala* L. (*Polygalaceae*) Taksonlarının Fitokimyası ve Kemotaksonomisi" adlı tez çalışması neticesinde aşağıdaki sonuçlar bulunmuştur;

1- Endemik taksonlar olan *P. inexpectata* ve *P. azizsancarii*'nin ayrıntılı fitokimyasal analizleri yapılmıştır. Ekstraksiyon, saflaştırma ve izolasyon aşamaları neticesinde toplam 19 adet bileşik (1 flavon glikoziti, 1 lignan, 9 ksanton ve 8 sukroz esteri yapısında) izole edilmiştir.

2- *P. inexpectata*'dan izole edilen bileşikler *in silico* ortamda çeşitli enzimler üstünde üç boyutlu eşleşme analizleri yapılarak potansiyen anti enflamatuvar etkileri çalışılarak elde edilen sonuçlar yayına dönüştürülmüştür.

3- *P. azizsancarii'*den elde edilen ikisi yeni (3-*O*-*β*-D-glukopiranoziloksi-1,6-dihidroksi-2,5,7-trimetoksiksanton=Sancaroside A ve 3-*O*-*β*-D-glukopiranoziloksi-1,6-dihidroksi-2,7-dimetoksiksanton=Sancaroside B), toplam dokuz ksanton yapısında olan bileşikleri içeren veriler yayına dönüştürülmüştür.

4- *P. pruinosa, P. vulgaris, P. turcica, P. inexpectata, P. supina, P. papilionacea, P. major, P. venulosa ve P. monspeliaca* taksonlarına ait ekstreler LC-qTOF-MS cihazı kullanılarak çok değişkenli istatistiksel analizlerden PCA kullanlarak, taksonların, kimyasal benzerlik ve farklılıklarının karşılaştırıldığı grafikler elde edilmiştir. Grafiksel sonuçlara göre;

   - Taksonlar arasında yüksek kimyasal benzerliğe sahip *P. major* ve *P. venulosa* olarak görüldüğü,
   - *P. inexpectata*'nın diğer taksonlardan nispeten farklı kimyasal içeriğe sahip olduğu,
   - *P. supina* ve *P. pruinosa*'nın kendi içinde benzer kimyasallar içerdiğini ve,
   - *P. papilionacea* ve *P. turcica*'nın kimyasal içeriklerinin taksonlar arasında belirgin fark yaratacak yerde olmadığı bulunmuştur.

5- Saf olarak elde edilen kimyasallar ve referans maddelerin varlığı ve yokluğu neticesinde oluşturulan tablo verileri K-Ortalamalar kümeleme yöntemine göre silüet indeksi kullanılarak taksonlar arası soy ağacı oluşturulmuştur. Elde edilen verilere göre;

   - Taksonlar arası optimum kümeleme iki olarak ve küme oluşumunda belirleyici takson *P. turcica* olarak,

- Taksonların benzerlik ve farklılıklarında belirleyici kimyasallar; 3'-*O*-feruloil-sukroz (sibirikoz A5), 3'-*O*-(sinapoil)-sukroz, 6-*O*-sinapoil,3'-*O*-trimetoksi-sinamoil-sukroz (tenuifolisid C), 3-*O*-β-D-glukopiranoziloksi-1,6-dihidroksi-2,5,7-trimetoksiksanton (Sancarozit A) ve 1,3,6-trihidroksi-2,5,7-trimetoksiksanton olarak,
- *P. turcica* ile kimyasal içerikleri bakımından ikiye ayrılan taksonlardan bir grupta; *P. supina*, *P. pruinosa*, *P. inexpectata*'nın diğer grupta ise *P. papilionacea*, *P. vulgaris*, *P. venulosa*, *P. major*, *P. monspeliaca*'nın olduğu görülmektedir.

6. KAYNAKLAR

1. T. A. P. Group, M. W. Chase, M. J. M. Christenhusz, M. F. Fay, J. W. Byng, W. S. Judd, D. E. Soltis, D. J. Mabberley, A. N. Sennikov, P. S. Soltis ve P. F. Stevens, An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. Botanical Journal of the Linnean Society, c.181, sayı 1, ss. 1–20, **2016**.
2. B. Eriksen ve C. Persson, *Polygalaceae*. In *Flowering Plants· Eudicots* Springer, Berlin, Heidelberg, ss. 345–363, **2007**.
3. C. Persson, *Polygalaceae, the families and genera of vascular plants* ed. I.K.b.K. (ed.). Vol. 9. **2007**, Berlin: Springer.
4. A. Cronquist ve A. L. Takhtadzhá͡an, An integrated system of classification of flowering plants. Columbia university press, **1981**.
5. J. A. R. Paiva, *Polygalarum africanarum* et madagascariensium prodromus atque gerontogaei generis Heterosamara Kuntze, a genere *Polygala* L. segregati et a nobis denuo recepti, synopsis monographica. Cyanus, sayı 1, ss. 346, **1998**.
6. L. F. Bernardi, Consideraciones taxonomicaly fitogeograficas acerca de 101. *Polygalae Americanas.* Cavanillesia Altera, c. 1, **2000**.
7. J. F .B. Pastore, *Polygala veadeiroensis* (*Polygalaceae*), a new species of *Polygala* endemic to Chapada dos Veadeiros, Goiás, Brazil. Kew Bulletin, c.73, ss. 1–6, **2018**.
8 V. P. Davis, *Flora of Turkey and the East Aegean Islands.* Vol. Volume 1. Edinburgh University Press, **1965**.
9. S. P. S. Suksri, C . Thawatphan ve S. Sangthongprow, Ethnobotany in Bung Khong Long non-hunting area, northeast Thailand. Agriculture and Natural Resources, c.39, sayı, 3, ss. 519–533, **2005**.
10. J. F. Wu, S. B. Chen, J. C. Gao, H. L. Song, L. J. Wu, S. I. Chen ve P. Tu, Xanthone glycosides from herbs of *Polygala hongkongensis* Hemsl. and their antioxidant activities. Journal of Asian Natural Products Research, sayı 10, ss. 665 – 670, **2008**.
11. Y. L. Song, K. W. Zeng, T. X. Shi, Y. Jiang ve P. F. Tu, Sibiricasaponins A–E, five new triterpenoid saponins from the aerial parts of *Polygala sibirica* L. Fitoterapia, sayı. 84, ss. 295–301, **2013**.
12. F. S. Duarte, M. Duzzioni, R. L. Prim, A. M. Cardozo, C. R. Dos Santos, M. G. da Silva, M. B. C. Shiozawa, B. G. Mendes, T. Tizziani, I. M. C. Brighente, M. G. Pizzolatti ve T. C. M. de Lima, Psychopharmacological effects and safety of styryl-2-pyrones and dihydrostyryl-2-pyrones-rich fraction from *Polygala sabulosa*: absence of withdrawal syndrome and tolerance to anxiolytic-like and anticonvulsant effects. J Pharm Pharmaco, c. l70, sayı 9, ss. 1272–1286, **2018**.
13. T. Uchikura, H. Sugiwaki, M. Yoshimura, H. Mitsuhanshi, H. Fuchino, N. Kawahara, T. Hakamatsuka ve H. Amakura, Characterization of UV-sensitive marker constituents of *Polygala* root for TLC: Applications in quality control of single crude drug extract preparations, Chem. Pharm. Bull. c. 66, sayı 12, ss. 1174–1180, **2018**. https://dx.doi.org/10.1248/cpb.c18-00616.
14. G. Honda, E. Yeşilada, M. Tabata, E. Sezik, T. Fujita, Y. Takeda, Y. Takaishi ve T. Tanaka, Traditional medicine in Turkey. VI. Folk medicine in west Anatolia:

Afyon, Kütahya, Denizli, Muğla, Aydin provinces. J. Ethnopharmacol, c. 53, sayı 2, ss. 75–87, **1996**.

15. U. Çakılcıoğlu, İ. Türkoğlu ve M. Kargıoğlu, Harput (Elazığ) ve çevresinin etnobotanik özellikleri. Fırat Üniversitesi Doğu Anadolu Bölgesi Araştırmaları Dergisi, c. 5, sayı 2, ss. 22–28, **2007**.
16. L. Deniz, A. Serteser ve M. Kargıoğlu. Uşak Üniversitesi ve yakın çevresindeki bazı bitkilerin mahalli adları ve etnobotanik özellikleri. Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Ve Mühendislik Bilimleri Dergisi, c.10, sayı 1, ss. 57–72, **2010**.
17. H. L. Wang, J. Gao, D. N. Zhu ve B. Y. Yu, Quality evaluation of *Polygala japonica* through simultaneous determination of six bioactive triterpenoid saponins by HPLC-ELSD, J. Pharm. Biomed. Anal. c. 43, sayı 4, ss. 1552–1556, **2007**. https://dx.doi.org/10.1016/j.jpba.2006. 11.012.
18. S. Chen, L. Lin, S. Chen, D. Yang ve J. Yang, Quantitative determination of nine xanthones in *Polygala caudata* and fingerprinting of *Polygala* L. by HPLC, J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol. c. 28, sayı 18, ss. 2953–2963, **2005**. https://dx.doi.org/10.1080/10826070500274588
19. S.W. Pelletier ve S. Nakamura, A prosapogenin from *Polygala senega* and *Polygala tenuifolia*. Tetrahedron Lett., c. 52, ss. 5303–6, **1967**.
20. T. Miyase, H. Noguchi, X. M. Chen, Sucrose esters and xanthone C-glycosides from the roots of *Polygala sibirica*, J. Nat. Prod. c. 62, ss. 993–996, **1999**. https://dx.doi.org/10.1021/np990084t.
21. G. She, Y. Ba, Y. Liu, H. Lv, W. Wang ve R. B. Shi, Absorbable Phenylpropenoyl Sucroses from *Polygala tenuifolia*. Molecules, c.16, ss. 5507–5513, **2011**.
22. T. Shi, Y.G. Li, Y. Jiang, Isolation of flavonoids from the aerial parts of *Polygala tenuifolia* Willd. and their antioxidant activities, Chin. Pham. J. c. 22, ss. 36–39, **2013**. https://dx.doi.org/10.5246/jcps.2013.01.004
23. G. F. Feng, S. Liu, Z. F. Pi, F. R. Song ve Z. Q. Liu, Comprehensive characterization of in vivo metabolic profile of *Polygalae* radix based on ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. J. Pharm. Biomed Anal., c. 165, ss. 173–181, **2019**.
24. H. Yao, P. Cui, D. Xu, Y. D. Liu, Q. H. Tian ve F. B. Zhang, A water-soluble polysaccharide from the roots of *Polygala tenuifolia* suppresses ovarian tumor growth and angiogenesis in vivo, Int. J. Biol. Macromol., sayı 107, ss. 713–718, **2018**. https://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.09.043
25. J. F. Wu, S. B. Chen, J. C. Gao, H. L. Song, L. J. Wu, S. L. Chen ve P. F. Tu, Antioxidants and a new dihydroisocoumarins from *Polygala hongkongensis* Hemsl. Nat. Prod. Res., c. 21, sayı 7, ss. 580–4, **2007**.
26. S. Y. Yoo, T. K. Van Le, J. J. Jeong ve D. H. Kim, Poligapolide, a PI3K/Akt inhibitor in immunodeficiency virus type 1 TAT-transduced CHME5 cells, isolated from the rhizome of *Polygala tenuifolia*. Chemical and Pharmaceutical Bulletin, c. 62, sayı 5, ss. 467–471, **2014**.
27. R. Jesky ve H. Chen, The neuritogenic and neuroprotective potential of senegenin against Aβ-induced neurotoxicity in PC 12 cells. BMC Complementary and Alternative Medicine, c. 16, sayı 1, ss. 1–11, **2015**.
28. W. Xiang, G. D. Zhang, F. Y. Li, T. L. Wang, T. C. Suo, C. H. Wang, C. H. Z. Li ve Y. Zhu, Chemical Constituents from the Roots of *Polygala arillata* and Their Anti-Inflammatory Activities. Journal of Chemistry, **2019**.

29. Y. Bian, H. Zeng, H. Tao, L. Huang, Z. Du, J. Wang ve K. Ding, A pectin-like polysaccharide from *Polygala tenuifolia* inhibits pancreatic cancer cell growth in vitro and in vivo by inducing apoptosis and suppressing autophagy, Int. J. Biol. Macromol., sayı 162, ss. 107–115, **2020**. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.06.054
30. A. Ünlü, K. Teralı, Z. Uğurlu Aydın, A. A. Dönmez, H. S. Yusufoğlu ve İ. Çalış, Isolation, Characterization and In Silico Studies of Secondary Metabolites from the Whole Plant of *Polygala inexpectata* Peşmen & Erik. Molecules, c. 27, sayı 3, ss. 684, **2022**.
31. Y. Zhou, M. Yan, R. Pan, Z. Wang, X. Tao, C. Li, T. Xia, X. Liu ve Q. Chang, Radix *Polygalae* extract exerts antidepressant effects in behavioral despair mice and chronic restraint stress-induced rats probably by Journal Pre-proof Journal Pre-proof promoting autophagy and inhibiting neuroinflammation, J. Ethnopharmacol, 265, ss. 113317, **2020**. https://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2020.113317
32. S. N. Pandey ve S. P. Misra. Taxonomy of Angiosperms; Ane Books Pvt. Ltd.: New Delhi, *Taxonomy of Angiosperms*., New Delhi: Ane Books Pvt. Ltd. **2008**.
33. L. C. Klein-Júnior, S. F. Andrade, V. Cechinel-Filho ve T. M. B. Bresolin, Validation of an HPLC method for the determination of 1,7-dihydroxy-2,3-methylenedioxyxanthone in extracts obtained from *Polygala cyparissias* A. St. Hil. & Moq. (*Polygalaceae*) and evaluation of the influence of its content on the gastroprotective activity. Química Nova, sayı 37, ss. 277–280, **2014.**
34. R.B. Singh, Chemotaxonomy: A Tool for Plant Classification. Journal of Medicinal Plants Studies, sayı 4, ss. 90-93, **2016.**
35. J. F. B. Pastore, J. R. Abbott, K. M. Neubig, C. Van Den Berg, M. C. D. A. Mota, A. Cabral, ve W. M. Whitten, Phylogeny and biogeography of *Polygala* (*Polygalaceae*), Taxon, c. 68, sayı 4, ss. 673–691, **2019**.
36. R. Chodat, Polygalaceae novae vel parum cognitae. éditeur non identifié, **1896.**
37. B. Eriksen, Phylogeny of the *Polygalaceae* and its taxonomic implications, Plant Syst. Evol., c. 186, sayı 1–2, ss. 33–55, **1993**, doi: 10.1007/BF00937712.
38. J. Hutchinson, The genera of flowering plants (Angiospermae). v. 1-2: Dicotyledones, **1967**.
39. A. Goldberg, Classification, evolution, and phylogeny of the families of dicotyledons, Smithson. Contrib. to Bot., **1986**.
40. R. F. Thorne, An updated phylogenetic classification of the flowering plants, Aliso A J. Syst. Evol. Bot., c. 13, sayı 2, ss. 365–389, **1992**.
41. M. W. Chase, D. E. Soltis, R. G. Olmstead, D. Morgan, D. H. Les, B. D. Mishler, M. R. Duvall, R. A. Price, H. G. Hills, ve Y.-L. Qiu, Phylogenetics of seed plants: an analysis of nucleotide sequences from the plastid gene rbcL, Ann. Missouri Bot. Gard., ss. 528–580, **1993**.
42. E. S. Fernando, P. A. Gadek, D. M. Crayn, ve C. J. Quinn, Rosid affinities of Surianaceae: molecular evidence, Mol. Phylogenet. Evol., c. 2, sayı 4, ss. 344–350, **1993**.

43. D. R. Morgan, D. E. Soltis, ve K. R. Robertson, Systematic and evolutionary implications of rbcL sequence variation in Rosaceae, Am. J. Bot., c. 81, sayı 7, ss. 890–903, **1994**.
44. J. J. Doyle, J. L. Doyle, J. A. Ballenger, E. E. Dickson, T. Kajita, ve H. Ohashi, A phylogeny of the chloroplast gene rbcL in the Leguminosae: taxonomic correlations and insights into the evolution of nodulation, Am. J. Bot., c. 84, sayı 4, ss. 541–554, **1997**.
45. D. M. Crayn, E. S. Fernando, P. A. Gadek, ve C. J. Quinn, A reassessment of the familial affinity of the Mexican genus Recchia Mocino & Sessé ex DC, Brittonia, c. 47, sayı 4, ss. 397–402, **1995**.
46. M. Källersjö, J. S. Farris, M. W. Chase, B. Bremer, M. F. Fay, C. J. Humphries, G. Petersen, O. Seberg, ve K. Bremer, Simultaneous parsimony jackknife analysis of 2538 rbcL DNA sequences reveals support for major clades of green plants, land plants, seed plants and flowering plants, Plant Syst. Evol., c. 213, sayı 3–4, ss. 259– 287, **1998**, doi: 10.1007/bf00985205
47. V. Savolainen, M. W. Chase, S. B. Hoot, C. M. Morton, D. E. Soltis, C. Bayer, M. F. Fay, A. Y. De Bruijn, S. Sullivan, ve Y.-L. Qiu, Phylogenetics of flowering plants based on combined analysis of plastid atpB and rbcL gene sequences, Syst. Biol., c. 49, sayı 2, ss. 306–362, **2000**.
48. V. Savolainen, M. F. Fay, D. C. Albach, A. Backlund, M. van der Bank, K. M. Cameron, S. A. Johnson, M. D. Lledó, J.-C. Pintaud, ve M. Powell, Phylogeny of the eudicots: a nearly complete familial analysis based on rbcL gene sequences, Kew Bull., sayı 55, ss. 257–309, **2000**.
49. C. Persson, Phylogenetic relationships in *Polygalaceae* based on plastid DNA sequences from the trnL-F region, **2001**. doi: 10.2307/1223706.
50. D. Lyskov, J. F. B. Pastore, ve T. Samigullin, One for all: molecular study of *Polygala major* complex (*Polygalaceae*) in Southwest Asia, Plant. Syst. Evol., c. 305, sayı 10, ss. 975–984, **2019**, doi: 10.1007/s00606-019-01618- x.
51. F. Forest, M. W. Chase, C. Persson, P. R. Crane ve J. A. Hawkins, The role of biotic and abiotic factors in evolution of ant dispersal in the milkwort family (*Polygalaceae*), Evolution (N. Y.), c. 61, sayı 7, ss. 1675–1694, **2007**, doi: 10.1111/j.1558-5646.2007.00138.x.
52. M. W. Chase, M. J. M. Christenhusz, M. F. Fay, J. W. Byng, W. S. Judd, D. E. Soltis, D. J. Mabberley, A. N. Sennikov, P. S. Soltis ve P. F. Stevens, An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV, Bot. J. Linn. Soc., c. 181, sayı 1, ss. 1–20, **2016**.
53. F. Forest, R. Grenyer, M. Rouget, T. J. Davies, R. M. Cowling, D. P. Faith, A. Balmford, J. C. Manning, Ş. Procheş ve M. van der Bank, Preserving the evolutionary potential of floras in biodiversity hotspots, Nature, c. 445, sayı 7129, ss. 757–760, **2007**.
54. C. Westerkamp ve A. Weber, Secondary and tertiary pollen presentation in *Polygala myrtifolia* and allies (*Polygalaceae*, South Africa), South African J. Bot., c. 63, sayı 5, ss. 254–258, **1997**.

55. C. H. Stirton ve D. J. Du Puy, A new species of *Baphia* (*Leguminosae*: *Papilionoideae*) from Madagascar. Kew bulletin, ss. 289–291, **1992**.
56. L. Bernardi, Consideraciones taxonómicas y fitogeográficas acerca de 101 *Polygalae* Americanas, Real Jardín Botánico, c. 1, **2000**.
57. C. von Linnaeus, Systema naturae, vol. 1, **1758**.
58. E. Boissier ve R. (Robert) Buser, Flora Orientalis : sive, Enumeratio plantarum in Oriente a Graecia et Aegypto ad Indiae fines hucusque observatarum. Basileae: H. Georg, **1867**.
59. T. G. Tutin, V. G. Heywood, N. A. Burges, D. M. Moore, D. A. Valentine, S. M. Walters, ve D. A. Webb, Flora Europaea: Volume 2 Rosaceae to Umbelliferae, c. 2, ss. 231–236, **1968**.
60. H. Peşmen, Six new species from Anatolia [*Polygala, Hypericum, Geranium, Astragalus, Potentilla*], Notes from the Royal Botanic Garden Edinburgh, c. 38, **1980**.
61. Ö. Eren, G. Parolly, T. Raus, ve H. Kürschner, A new species of *Polygala* L. (*Polygalaceae*) from south-west Anatolia, Bot. J. Linn. Soc., c. 158, sayı 1, ss. 82– 86, **2008**, doi: 10.1111/j.1095-8339.2008.00842.x.
62. A. A. Dönmez, Z. Uğurlu Aydın, ve S. Işık, *Polygala turcica* (*Polygalaceae*), a new species from e Turkey, and a new identification key to Turkish *polygala*, Willdenowia, c. 45, sayı 3, ss. 429–434, **2015,** doi: 10.3372/wi.45.45309.
63. A. A. Dönmez ve Z. Uğurlu Aydın, *Polygala azizsancarii* (*Polygalaceae*), a new species from Mardin Province, SE Turkey, Phytotaxa, c. 340, sayı 3, ss. 255–262, **2018**, doi: 10.11646/phytotaxa.340.3.5.
64. J. Cullen, *Polygala* L. - Davis P. H., (ed.), "Flora of Turkey and the east Aegean Islands 1. Edinburgh University Press" Edinburgh, ss. 533–539, **1965**.
65. P. H. Davis, R. R. Mill ve K. Tan, *Polygala* L. "Flora of Turkey and the east Aegean Islands 10. Edinburgh University Press" Edinburgh, ss. 64–65, **1988**.
66. S. Z. Li, Compendium of Materia Medica, People's Medical Publishing House, Beijing, **1982**.
67. T. Z. Li, W. D. Zhang, G.J. Yang, W. Y. Liu, H. S. Chen ve Y.H. Shen, Saponins from *Polygala japonica* and their effects on a forced swimming test in mice. Journal of Natural Products, c. 69 sayı 4, ss. 591–594, **2006**.
68. M. Alagammal, M. Packia Lincy ve V. R. Mohan, Hepatoprotective and Antioxidant effect of *Polygala rosmarinifolia* Wight & Arn against CCl4 induced hepatotoxicity in rats, Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, c. 2, sayı 1, ss. 118–124, **2013**.
69. M. V. Dos Santos Nascimento, F. Arruda-Silva, A. B. Luz, D. Venzke, G. S. Queiroz, B. G. Mendes, E. R. Fernandes-Ribeiro, T. S. Fröde, M. G. Pizzolatti ve E. M. Dalmarco, 7-prenyloxi-6-methoxycoumarin from *Polygala sabulosa* A.W. Bennett Regulates p38 MAPK and NF-kB Pathways Inhibiting the Inflammation Induced by Carrageenan in the Mouse Model of Pleurisy. Inflamm Allergy Drug Targets, c.14, sayı 1, ss. 37–46, **2015**.
70. T. H. Quang, P. T. Công, D. T. H. Yen, N. X. Nhiem, B. H. Tai, P. T. H. Yen, N. T. T. Ngan, D. C. Kim, Y. C. Kim, H. Oh, C.V. Minh ve P. V. Kiem,

Triterpenoid saponins and phenylpropanoid glycosides from the roots of *Polygala japonica* Houtt. with anti-inflammatory activity. Phytochemistry Letters, sayı 24, ss. 60–66, **2018**.

71. R. O. de Campos, A. R. Santos, Z. R. Vaz, T. R. Pinheiro, M. G. Pizzolatti, V. Cechinel Filho ve J. B. Calixto, Antinociceptive properties of the hydroalcoholic extract and preliminary study of a xanthone isolated from *Polygala cyparissias* (*Polygalaceae*). Life Sciences, c. 61, sayı 16, ss. 1619–1630, **1997**.
72. T. R. Pinheiro, V. C. Filho, A. R. S. Santos, J. B. Calixto, F. D. Monache, M. G. Pizzolatti ve R. A. Yunes, Three xanthones from *Polygala cyparissias*. Phytochemistry, sayı 48, ss. 725-728, **1998**.
73. R. A. Halberstein, Medicinal plants: historical and cross-cultural usage patterns. Annals of epidemiology, c. 15, sayı 9, ss. 686–699, **2005**.
74. C. Li, J. Yang, S. Yu, N. Chen, W. Xue, J. Hu ve D. Zhang, Triterpenoid saponins with neuroprotective effects from the roots of *Polygala tenuifolia*. *Planta medica*, c. 74, sayı 02, 133–141, **2008**.
75. C. J. Li, J. Z. Yang, S. Yu, C.Y. Zhao, Y. Peng, X. L. Wang, and D. M. Zhang, Glomexanthones A–C, three xanthonolignoid C-glycosides from *Polygala glomerata* Lour, Fitoterapia, c. 93, ss. 175–181, **2014**.
76. A.C. Mitaine-Offer, T. Miyamoto, V. Laurens, C. Delaude, and M.A. Lacaille-Dubois, New acylated triterpene saponins from Polygala arenaria. Helvetica chimica acta, c. 86, sayı 7, ss. 2404-2413, **2003**.
77. Y. J. Q. Cao, S. Y. Cui, P. F. Tu, Y. M. Chen, X. L. Ma, X. Y. Cui, Y. L. Huang, H. Ding ve J. Z. Song, Tenuifolin, a saponin derived from Radix *Polygala*, exhibits sleep-enhancing effects in mice. Phytomedicine, sayı 23, ss. 1797–1805, **2016**.
78. M. M. Shi, J. Piao, X. I. Xu, L. Zhu, L. Yang, F. Lin, J. Chen ve J. G. Jiang, Chinese medicines with sedative-hypnotic effects and their active components. Sleep medicine reviews, sayı 29, ss. 108–18, **2016**.
79. L. B. Vinh, J. H. Kim, J. S. Lee, N. T. M. Nguyet, S. Y. Yang, J. Y. Ma ve Y. H. Kim, Soluble epoxide hydrolase inhibitory activity of phenolic glycosides from *Polygala tenuifolia* and in silico approach. Medicinal Chemistry Research, c. 27, sayı 3, ss. 726–734, **2017**.
80. M. H. Cheong, S. R. Lee, H. S. Yoo, J. W. Jeong, G. Y. Kim, W. J. Kim, I. C. Jung ve Y.H. Choi, Anti-inflammatory effects of *Polygala tenuifolia* root through inhibition of NF-κB activation in lipopolysaccharide-induced BV2 microglial cells. Journal of ethnopharmacology, c. 137, sayı 3, ss. 1402–8, **2011.**
81. T. H. Quang, D. T. H. Yen, D. T. Dung, D. T. Trang, N. T. T. Ngan, P. Van Kiem ve C. Van Minh, Anti-inflammatory phenylpropanoid glycosides from the roots of *Polygala aureocauda* Dunn. Vietnam J. Chem., c. 57, sayı 5, ss. 525–530, **2019**.
82. A. P. Frasson, O. dos Santos, M. Duarte, D. da Silva Trentin, R. B. Giordani, A. G. da Silva, M. V. da Silva, T. Tasca ve A. J. Macedo, First report of anti-Trichomonas vaginalis activity of the medicinal plant *Polygala decumbens* from the Brazilian semi-arid region, Caatinga. Parasitol Res., c. 110, sayı 6, ss. 2581–7, **2012.**

83. A. İpek, *Polygala anatolica* Boiss. et Heldr. Bitkisinin Fitoterapi Açısından Değerlendirilmesi. Gazi Üniversitesi, Sağlik Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, **2015**.
84. J. B. Harborne, Introduction to Ecological Biochemistry, 4th edn. Academic Press, London. **1993.**
85. F. I. Nwafor ve S. I. Inya-Agha, In Phytoevaluation: Herbarium Techniques and Phytotherapeutics, Eds.; Paschal Communication: Enugu State, **2017**.
86. A. P. de Candolle, Essai sur les propriétés médicales des plantes, Paris, 1804. 1816.
87. C. A. Stace, The significance of the leaf epidermis in the taxonomy of the *Combretaceae*: conclusions. Botanical Journal of the Linnean Society, sayı 81, ss. 327–339, **1980**.
88. T.F. Stuessy, *Plant taxonomy: the systematic evaluation of comparative data*. Columbia University Press, **2009**.
89. J. B. McNair, The evolutionary status of plant families in relation to some chemical properties. Amer. J. Bot. sayı 21, ss. 427–452, **1934.**
90. J. B. McNair, Angiosperm phylogeny on a chemical basis. Bull. Torrey Bot. Club, Sayı 62, ss. 515–532, **1935**.
91. J. B. McNair, Some comparisons of chemical ontogeny with chemical phylogeny in vascular plants. Lloydia, sayı 8, ss. 145–169, **1945.**
92. E. C. Bate-Smith, Paper chromatography of anthocyanins and related substances in petal extracts. Nature,. 161(4100) ss. 835–838, **1948.**
93. R. E. Alston ve B. L. Turner, Applications of paper chromatography to systematics: recombination of parental biochemical components in a Baptisia hybrid population. Nature, c.184, sayı 4682, ss. 285–286, **1959**.
94. E. Bate-Smith, The contribution of phenolic substances to quality in plant products. Qualitas Plantarum et Materiae Vegetabiles, c.3, sayı 1, ss. 440–455, **1958**.
95. E. Bate-Smith, The phenolic constituents of plants and their taxonomic significance. I. Dicotyledons. Botanical Journal of the Linnean Society,. c.58, sayı 371, ss. 95–173, **1962**.
96. J. Bonner, Biochemical Systematics by Ralph E. Alston; BL Turner. Science, c. 141, sayı 3582, ss. 709, **1963**.
97. R. Hegnauer, Phytochemistry and plant taxonomy-An essay on the chemotaxonomy of higher plants. Phytochemistry, c.25, sayı 7, ss. 1519–1535, **1986.**
98. R. Hegnauer ve M. Hegnauer, 2001. Chemotaxonomie der Pflanzen., Vol. 10, 11a ve 11b, **1992**.
99. R. Hegnauer, *Chemotaxonomie der Pflanzen*. Vol. 1–9. 1962–1990, Basle: Birkhauser.
100. I. O. Agbagwa ve B. C. Ndukwu, The value of morpho-anatomical features in the systematics of *Cucurbita* L. (*Cucurbitaceae*) species in Nigeria. African Journal of Biotechnology, sayı 3, ss. 541–546, **2004**.

101. A. A. Abdulrahaman, O. S. Kolawole ve F. A. Oladele, Leaf epidermal features as taxonomic characters in some *Lannea* species (*Anacardiaceae*). Phytologia Balcanica: International Journal of Balkan Flora and Vegetation, sayı 20, ss. 227–231, **2014**.
102. A. Harvey, Strategies for discovering drugs from previously unexplored natural products. Drug discovery today, c. 5, sayı 7, ss. 294–300, **2000**.
103. M. Wink, Introduction: biochemistry, physiology and ecological functions of secondary metabolites. Annual plant reviews, Biochemistry of plant secondary metabolism, sayı 40, ss. 1–19, **2010**.
104. K. Osawa, H. Yasuda, T. Maruyama, H. Morita, K. Takeya ve H. Itokawa, Antibacterial trichorabdal diterpenes from *Rabdosia trichocarpa*. Phytochemistry, c. 36, sayı 5, ss. 1287-91, **1994**.
105. M. Wink, Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective. Phytochemistry, c. 64, sayı 1, ss. 3–19, **2003**.
106. M. Wink, F. Botschen, C. Gosmann, H. J. Schäfer ve P. G. Waterman. Chemotaxonomy Seen from a Phylogenetic Perspective and Evolution of Secondary Metabolism. **2010**.
107. A. Misra ve S. Srivastava, Chemotaxonomy: an approach for conservation and exploration of industrially potential medicinal plants. J. Pharmacogn. Nat. Prod., c. 2, sayı 4, ss. 108, **2016**.
108. K.A. R. Irchhaiya, Y. Anumalik, G. Nitika, K. Swadesh, G. Nikhil, K. Santosh, Y. Vinay, P. Anuj ve G. Himanshu,, Metabolites in Plant and Classification. World J. Pharm. Pharma. Sci., c. 4, sayı 1, ss. 286–305, **2014**.
109. P. M. Dewick, A Biosynthetic Approach. Medicinal Natural Products. West Suxxes, England: John Wiley & Sons, Ltd. **2001**.
110. O. Sticher, Natural product isolation, ed. N. P. Rep. **2008**.
111. İ. Çalış, İlaç adayı molekül araştırmalarında bitki kimyasının önemi: İzolasyon ve yapı tayini çalışmaları. Doğal Kaynaklı İlaçlar. Türkiye Klinikleri, ed. Saraçoğlu İ., Ankara: 1. **2021**.
112. Y. Ikeya, K. Sugama, M. Okada ve H. Mitsuhashi, Two xanthones from *Polygala tenuifolia*. Phytochemistry, sayı 30, ss. 2061–2065, **1991**.
113. D. Y. L. T. Fujita, S. Ueda ve Y. Takeda, Xanthones From *Polygala Tenuifolia*. Phytochemistry, c. 31, sayı 11, ss. 3997–4000, **1992**.
114. Y. Jiang ve P. Tu, Xanthone O-glycosides from *Polygala tenuifolia*. Phytochemistry,. c. 60, sayı 8, ss. 813–6. **2002**
115. Y. Jiang, W. Zhang, P. Tu ve X. Xu, Xanthone Glycosides from *Polygala tenuifolia* and Their Conformational Analyses J. Nat. Prod. c. 68, sayı 6, ss. 875–879, **2005**.
116. J. Fu, D. M. Zhang ve R. Y. Chen, Three new xanthones from the roots of *Polygala japonica* Houtt. Journal of Asian Natural Products Research, c. 88, sayı (1-2), ss. 41–46, **2006.**
117. S. Sakuma, ve J. Shoji, Studies on the constituents of the root of *Polygala tenuifolia* WILDLDENOW. I. Isolation of saponins and the structures of Onjisaponins G and F. *Chem. Pharm. Bull*., c. 29, sayı 9, ss. 2331–2341, **1981.**

118. S. Sakuma ve J. Shoji, Studies on the constituents of the root of *Polygala tenuifolia* WILDLDENOW. II. On the structures of Onjisaponins A, B and E. *Chem. Pharm. Bull.*, c. 30, sayı 3, ss. 810–821, **1981.**
119. L. Chung-Jun, Y. Jinh-Zhi, Y. Shi-Shan, Z. Dong-Ming, X. Wei, Y. Yu-He ve C. Nai-Hong, Triterpenoid saponins and oligosaccharides from the roots of *Polygala tenuifolia* Willd. *Chinese Journal of Natural Medicines*, c. 9, sayı 5, ss. 0321–0328, **2011**.
120. C. Li, J. Ying, S. Yu, N. Chen, W. Xue, J. Hu ve D. Zhang, Triterpenoid saponins with neuroprotective effects from the roots of *Polygala tenuifolia*. *Planta Med*., c. 74, sayı 2, ss. 133–141, **2008**.
121. A. C. Mitaine-Offer, T. Miyamoto, C. Jolly, C. Delaude ve M.A. Lacaille-Dubois, Triterpene saponins from four species of the *Polygalaceae* family. Helvetica chimica acta, c. 88, sayı 11, ss. 2986–2995, **2005**.
122. J. Li, Y. Jiang ve P. F. Tu, New acylated triterpene saponins from *Polygala Tenuifolia* willd. *Journal of Asian natural products research*, c. 8, sayı 6, ss. 499–503, **2006**.
123. T. H. Xu, G. Lv, Y. J. Xu, S. X. Xie, H. F. Zhao, D. Han ve D. M. Xu, A novel triterpenoid saponin from *Polygala tenuifolia* Willd. *Journal of Asian natural products research*, c. 10, sayı 8, ss. 803–806, **2008**.
124. L. I. Chuang-Jun, Y. A. N. G. Jing-Zhi, Y. U. Shi-Shan, D. M. Zhang, X. U. E. Wei, Y. U. A. N. Yu-He ve C. H. E. N. Nai-Hong, Triterpenoid Saponins and Oligosaccharides from the roots of *Polygala tenuifolia* Willd. *Chinese Journal of Natural Medicines*, c. 9, sayı 5, ss. 321–328, **2011**.
125. J. Fu, L. Zuo, J. Yang, R. Chen ve D. Zhang, Oligosaccharide polyester and triterpenoid saponins from the roots of *Polygala japonica*. *Phytochemistry*, c. 69, sayı 7, ss. 1617–1624, **2008**.
126. C. Li, J. Fu, J. Yang, D. Zhang, Y. Yuan ve N. Chen, Three triterpenoid saponins from the roots of *Polygala japonica* Houtt. *Fitoterapia*, c. 83*, sayı* 7, ss. 1184–1190, **2012**.
127. T. Miyase, Y. Iwata ve A. Ueno, Tenuifolioses A-F, Oligosaccharide Multi-esters from the Roots of *Polygala Tenuifolia* WILLD. Chem. Pharm. Bull., c. 39, sayı 11, ss. 3082–3084, **1991**.
128. T. Miyase, Y. Iwata ve A. Ueno, Tenuifolioses G-P, Oligosaccharide Multi-esters from the Roots of *Polygala Tenuifolia* WILLD. Chem. Pharm. Bull. c. 40, sayı, 10, ss. 2741–2742, **1992**.
129. T. Miyase, Y. Iwata, and A. Ueno, Tenuifolioses GP, Oligosaccharide Multi-Esters from the Roots of *Polygala tenuifolia* WILLD. Chemical and pharmaceutical bulletin, c. 40, sayı 10, ss. 2741-2748, **1992**.
130. Y. Jiang ve P. F. Tu, Tenuifoliose Q, A New Oligosaccharide Ester From The Root Of *Polygala Tenuıfolia* Willd. Journal of Asian. Natural Products Research, c. 5, sayı 4, ss. 279–283, **2003**.
131. D. Zhang, T. Miyase, M. Kuroyanagi, K., Umehara, ve H. Noguchi, Oligosaccharide polyesters from roots of *Polygala glomerata*. Phytochemistry, c. 47, sayı 1, ss. 45–52, **1998**.
132. M. Ouyang, C. Yang ve H. Wang, Triterpenoid saponins from yellow flower milkwort root (*Polygala arillata*). Chinese Traditional and Herbal Drugs, ss. 881–887, **1999**.
133. X. Zhao, Y. L. Cui, P. Wu, P. Zhao, Q. Zhou, Z. H. Zhang, Y. Wang ve X. L. Zhang, *Polygalae* Radix: A review of its traditional uses, phytochemistry, pharmacology, toxicology, and pharmacokinetics. Fitoterapia, sayı 147, **2020**.

134. M. A. Lacaille-Dubois, C. Delaude ve A. C. Mitaine-Offer, A review on the phytopharmacological studies of the genus *Polygala*. Journal of ethnopharmacology, sayı 249, ss, 112417, **2020**.
135. T. Miyase ve A. Ueno, Sucrose derivatives from the roots of *Polygala tenuifolia*. 生薬学雑誌., c. 47, sayı 3, ss. 267-278, **1993.**
136. P. G. Gutte, S. Jurt, M. G. Grütter ve O. Zerbe, Unusual structural features revealed by the solution NMR structure of the NLRC5 caspase recruitment domain. Biochemistry, c.53, sayı 19, ss. 3106-3117, **2014**.
137. N. De Tommasi, S. Piacente, F. De Simone, and C. Pizza, New sucrose derivatives from the bark of *Securidaca longipedunculata*. Journal of natural products, c.56, sayı 1, ss. 134-137, **1993.**
138. Y. H. Zhou, S. Y. Zhang, Q. Guo, X. Y. Chai, Y. Jiang ve P. F. Tu, Chemical investigation of the roots of *Polygala sibirica* L. *Chinese Journal of Natural Medicines* c. 12, sayı 3, ss. 0225−0228, **2014**.
139. Y. Ikeya, K. Sugama, M. Okada, ve H. Mitsuhashi, Four new phenolic glycosides from *Polygala tenuifolia*. Chem. Pharm. Bull., c. 39, sayı 10, ss. 2600–2605, **1991**.
140. L. Yu-shan, Separation and identification of new sucrose esters from root of *Polygala tenuifolia* Willd. Journal of Shenyang Pharmaceutical University, **2010**.
141. T. Ersöz, İ. Saraçoğlu, H. Kırmızıbekmez, F. N. Yalçın, Ü. Harput, A. A. Dönmez ve İ. Çalış, Iridoid Phenylethanoid and Phenol Glycosides from *Phlomis chimerae*. Hacet. Univ. J. Fac. Pharm., c. 21, ss. 23–33, **2001**.
142. E. E. Dickey, Liriodendrin, a new lignan diglucoside from the inner bark of yellow poplar (*Liriodendron tulipifera* L.). J. Org. Chem., c. 23, sayı 2, ss. 179–184, **1958**.
143. R. K. Chaudhuri, ve O. Sticher, New Iridoid Glucosides and a Lignan Diglucoside from *Globularia alypum* L. Helv. Chim. Acta., c. 64 sayı 1, ss. 3–15, **1981**.
144. Ü. Ş. Harput, İ. Saracoğlu, İ. Çalış, A. A. Dönmez ve A. Nagatsu, A. Secondary Metabolites from *Phlomis kotschyan.* Turkish Journal of Chemistry c. 28, ss. 767-774, **2004**. http://journals.tubitak.gov.tr/chem/issues/kim-04-28-6/kim-28-6-12-0406-4.pdf
145. M. H. Chaves, N. F. Roque ve C. C. Ayres, Steroids and flavonoids of *Porcelia macrocarpa*. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, c. 15, sayı 4, ss. 608-613, **2004**.
146. W. M. Jiang, H. Shan, J. Y. Song ve H. Lü, Separation and Purification of Ombuoside from *Gynostemma pentaphyllum* by Microwave-Assisted Extraction Coupled with High-Speed Counter-current Chromatography. Journal of chromatographic science, c. 55, sayı 1, ss. 69-74, **2017**.

147. A.M.S.S. E. G. R. Fernandes, J.□A. S. Cavaleiro, F. M. Silva, M. F. M. Borges ve M. M. M. Pinto, ^{1}H and Spectroscopy of Mono-, Di-, Tri- ^{13}C NMR and Tetrasubstituted Xanthones Magnetic Resonance In Chemistry, sayı 36, ss. 305–309, **1998**.
148. J. J. Fang, G. Ye, W. L. Chen ve W. M. Zhao, Antibacterial phenolic components from *Eriocaulon buergerianum*. Phytochemistry, c. 69, sayı 5, ss. 1279–86, **2008**.
149. E. Pretsch, P. Bühlmann ve M. Badertscher, Structure Determination of Organic Compounds: Tables of Spectral Data. Structure Determination of Organic Compounds, **2020**.
150. W. Y. Kang, Z. Q. Ji ve J. M. Wang, A new xanthone from the roots of *Securidaca inappendiculata.* Chemical Papers, c. 63, sayı 1, ss. 102–104, **2009**.
151. G. Shi, R. H. Lu, Y. Yang, C. Li, A. S. Yang ve L. Cai, Isolation and crystal structure of xanthones from *Swertia chirayita*. **2004**.
152. D. L. Dreyer, Extractives of *Polygala macradenia* gray (*Polygalaceae*). Tetrahedron, sayı 25, ss. 4415–4420, **1969**.
153. Q.-C. Xue, C.-j. Li, L. Zuo, J.-z. Yang, and D.m. Zhang, Three new xanthones from the roots of *Polygala japonica* Houtt. Journal of Asian Natural Products Research, **2009**. 11: p. 465–469.
154. G.H. Stout, E.A. Christensen, W.J. Balkenhol, and K.L. Stevens, Xanthones of the *Gentianaceae*—II: Frasera albicaulis Dougl. ex Griesb. Tetrahedron, sayı 25, ss. 1961–1973, **1969**.
155. Y. Takaya, Y. Kondo, T. Furukawa ve M. Niwa, Antioxidant constituents of radish sprout (Kaiware-daikon), *Raphanus sativus* L. Journal of agricultural and food chemistry, c. 51, sayı 27, ss. 8061–8066, **2003**.
156. M. C. Song, F. Nigussie, H. J. Yang, H. H. Kim, J. Y. Kim, D. K. Chung ve N. I. Baek, Phenolic glycosides from *Lindera fruticosa* root and their inhibitory activity on osteoclast differentiation. Chemical and Pharmaceutical Bulletin, c. 56, sayı 5, ss. 707–710, **2008**.
157. K. H. Kim, C. S. Kim, Y. J. Park, E. Moon, S. U. Choi, J. H. Lee, S. Y. Kim ve K. R. Lee, Anti-inflammatory and antitumor phenylpropanoid sucrosides from the seeds of *Raphanus sativus*. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, c.25, sayı 1, ss. 96–99, **2015**.
158. Y. W. Jung, J. S. Lee, B. T. Zhao, J. A. Kim, E. R. Woo, M. H. Woo ve B. S. Min, Quantitative and Pattern Recognition Analyses of Five Marker Compounds in *Raphani* Semen using High-Performance Liquid Chromatography. Bulletin of the Korean Chemical Society, c. 36, sayı 9 ss. 2307–2319, **2015**.
159. E. Sezik ve E. Yeşilada, Radix *Senegae* Yerine Kullanılabilecek Yeni Bir Kaynak: A New Source For Substitution of Radix *Senegae*, c. 13, **1983**.
160. A. J. Lack ve Q. O. Kay, Phosphoglucose isomerase (EC 5.3. 1.9) isozymes in diploid and tetraploid *Polygala* species: evidence for gene duplication and diversification. Heredity, c. 56, sayı 1, ss. 111–118, **1986**.
161. D. Glendinning, Cytology of *Polygala*. Nature, c.188, sayı 4750, ss. 604–605, **1960**.

162. A. Murín ve J. Májovský, Karyological study of the Slovak flora XIX. Acta Facultatis Rerum Naturalium Universitatis Comenianae, Botanica, c. 34, ss. 3–20, **1987**.
163. E. O. KARAHAN, Türkiye Polygala L.(Polygalaceae) Taksonlarinin Numerik Taksonomik Araştirmasi, Hacettepe Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi, **2021**.
164. W. Schwab, Metabolome diversity: too few genes, too many metabolites? Phytochemistry, c. 62, sayı 6, ss. 837–849, **2003**.
165 R. Verpoorte ve J. Memelink, Engineering secondary metabolite production in plants. Current opinion in biotechnology, c. 13, sayı 2, ss. 181–187, **2002**.
166. K. Saito ve F. Matsuda, Metabolomics for functional genomics, systems biology, and biotechnology. Annual review of plant biology, sayı 61, ss. 463–489, **2010**.
167. Y. Hua, C. X. Chen, Y. Q. Liu ve J. Zhou, Two new xanthones from *Polygala crotalarioides*. Journal of Asian natural products research, c.9, sayı 3, ss. 273–275, **2007**.
168. F. Zhang, X. Li, Z. Li, X. Xu, B. Peng, X. Qin ve G. Du, UPLC/Q-TOF MS-based metabolomics and qRT-PCR in enzyme gene screening with key role in triterpenoid saponin biosynthesis of *Polygala tenuifolia*. PLoS One, c.9, sayı 8, ss. 105765, **2014**.
169. Y. Xue, X. W. Li, Z. Y. Li, Z. P. Zeng, F. S. Zhang, A. P. Li, X. M. Qin ve B. Peng, UPLC/Q-TOF MS and NMR plant metabolomics approach in studying the effect of growth year on the quality of *Polygala tenuifolia*. Yao Xue Xue Bao, c.50, sayı 3, ss. 340–7, **2015**.
170. L. Bai, X. S. Xu, F. S. Zhang, B. Peng, Z. P. Zeng, H. L. Tian ve X. M. Qin, UPLC/Q-TOF MS-Based Metabolomics Analysis of Chemical uiterences in Different *Polygala tenuifolia* Varieties. Zhong Yao Cai, c.38, sayı 9, ss. 1819–24, **2015**.
171. Y. J. Pu, D. D. Wang, Y. Yan, H. L. Tian, B. Peng, X. M. Qin, C. G. Ma, C. H. Du, B. X. Hu ve F. S. Zhang, Analysis of influencing factors of secondary metabolites contents in cultivated *Polygala tenuifolia*. Zhongguo Zhong yao za zhi= Zhongguo Zhongyao Zazhi= China Journal of Chinese Materia Medica, c.42, sayı 16, ss. 3167–3177, **2017**.
172. Y. Zhang, L. Bai, Z. Li, F. Zhang ve X. Qin, HPLC fingerprint and active components determination of *Polygala tenuifolia* root bark and root. Zhong yao cai= Zhongyaocai= Journal of Chinese Medicinal Materials, c. 38, sayı 7, ss. 1408–1412, **2015**.
173. D. D. Wang, L. Bai, X. S. Xu, F. S. Zhang, J. Xing, J. P. Jia, H. L. Tian ve X. M. Qin, Rationality of commodity criteria and traditional breeding of *Polygala tenuifolia* based on agronomic traits and determination of chemical components. Zhongguo Zhong yao za zhi= Zhongguo Zhongyao Zazhi= China Journal of Chinese Materia Medica, c.41, sayı 20, ss. 3733–3740, **2016**.
174. R. Xu, F. Mao, Y. Zhao, W. Wang, L. Fan, X. Gao, J. Zhao ve H. Tian, UPLC quantitative analysis of multi-components by single marker and quality

evaluation of *Polygala tenuifolia* Wild. extracts. Molecules, c.22, sayı 12, ss. 2276, **2017**.

175. S. Y. Zhao, Z. L. Liu, Y. S. Shu, M. L. Wang, D. He, Z. Q. Song, H. L. Zeng, Z. C. Ning, C. Lu ve A. P. Lu, Chemotaxonomic classification applied to the identification of two closely-related *Citrus* TCMs using UPLC-Q-TOF-MS-based metabolomics. Molecules, c.22, sayı 10, ss. 1721, **2017**.
176. Z. Uğurlu Aydın, Comparative capsule and seed morphology of *Polygala* L. (*Polygalaceae*) species in Turkey with implications for taxonomy. Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology, c.154, sayı 2, ss. 189–196, **2020**.
177. O. H. Abdelhafez, E. M. Othman, J. R. Fahim, S. Y. Desoukey, S. M. Pimentel-Elardo, J. R. Nodwell, T. Schirmeister, A. Tawfike ve U. R. Abdelmohsen, Metabolomics analysis and biological investigation of three *Malvaceae* plants. Phytochemical analysis, c.31, sayı 2, ss. 204–214, **2020**.
178. G. X. Xie, Y. Ni, M. M. Su, Y. Y. Zhang, A. H. Zhao, X. F. Gao, Z. Liu, P. G. Xiao ve W. Jia, Application of ultra-performance LC-TOF MS metabolite profiling techniques to the analysis of medicinal *Panax* herbs. Metabolomics, c.4, sayı 3, ss. 248–260, **2008**.
179. J. Challice, *Rosaceae* chemotaxonomy and the origins of the *Pomoideae*. Botanical Journal of the Linnean Society, c. 69, sayı 4, ss. 239-259, **1974**.
180. A. H. Williams, Chemical evidence from the flavonoids relevant to the classification of *Malus* species. Botanical Journal of the Linnean Society, c. 84, sayı 1, ss. 31–39, **1982**.
181. P. Alberts ve J. J. M. Meyer, Integrating chemotaxonomic-based metabolomics data with DNA barcoding for plant identification: A case study on south-east African *Erythroxylaceae* species. South African Journal of Botany, sayı 146, ss. 174–186, **2022**.
182. H. K. Kim, S. Khan, E. G. Wilson, S. D. P. Kricun, A. Meissner, S. Goraler, A. M. Deelder, Y. H. Choi ve R. Verpoorte, Metabolic classification of South American Ilex species by NMR-based metabolomics. Phytochemistry,c. 71, sayı 7, ss. 773-784, **2010**.
183. L. Georgescu, M. K. Stefanakis, S. Kokkini, H. E. Katerinopoulos ve S.A. Pirintsos, Chemical and genetic characterization of *Phlomis* species and wild hybrids in Crete. Phytochemistry, sayı 122, ss. 91–102, **2016**.
184. P. Avato, G. Trabace ve U. W. Smitt, Composition of the essential oils of fruits from polyploid types of *Thapsia villosa* L.: chemotaxonomic evaluation. Journal of Essential Oil Research, c. 8, sayı 2, ss. 123–128, **1996**.
185. T. Banjanac, M. Dragićević, B. Šiler, U. Gašić, B. Bohanec, J. N. Živković, S. Trifunović ve D. Mišić, Chemodiversity of two closely related tetraploid *Centaurium* species and their hexaploid hybrid: Metabolomic search for high-resolution taxonomic classifiers. Phytochemistry, sayı 140, ss. 27–44, **2017.**
186. K. W. Hillig ve P. G. Mahlberg, A chemotaxonomic analysis of cannabinoid variation in *Cannabis* (*Cannabaceae*). American journal of botany, c. 91, sayı 6, ss. 966–975, **2004**.

187. Y. Zewdie ve P. W. Bosland, Capsaicinoid profiles are not good chemotaxonomic indicators for *Capsicum* species. Biochemical Systematics and ecology, c.29, sayı 2, ss. 161–169, **2001**.
188. S. Berkov, E. Osorio, F. Viladomat ve J. Bastida, Chemodiversity, chemotaxonomy and chemoecology of *Amaryllidaceae* alkaloids. The alkaloids: chemistry and biology, sayı 83, ss. 113–185, **2020**.
189. M. E. do Nascimento Rocha, M. R. Figueiredo, M. A. C. Kaplan, T. Durst ve J. T. Arnason, Chemotaxonomy of the *Ericales*. Biochemical Systematics and Ecology, sayı 61, ss. 441–449, **2015**.
190. T. Fujita, L. Da-you, S. İ. Ueda ve Y. Takeda, Xanthones from *Polygala tenuifolia*. Phytochemistry, sayı 31, ss. 3997–4000, **1992**.
191. Y. Zhou, S. Zhang, Q. Guo, X. Chai, Y. T. Jiang ve P. Tu, Chemical investigation of the roots of *Polygala sibirica* L. Chinese journal of natural medicines, c. 12, sayı 3, ss. 225–8, **2014**.
192. C. Egbuna, J. C. Ifemeje, S. C. Udedi ve S. Kumar, Phytochemistry: Volume 1: Fundamentals, Modern Techniques, and Applications. CRC Press, **2018**.
193. V. Savolainen and M.W. Chase, A decade of progress in plant molecular phylogenetics. TRENDS in Genetics, **2003**. 19(12): p. 717-724.
194. C. Zidorn, Plant chemophenetics−A new term for plant chemosystematics/plant chemotaxonomy in the macro-molecular era. Phytochemistry, sayı 163, ss. 147-148, **2019**.

EKLER

EK 1 – Spektrumlar

***P. inexpectata* taksonuna ait ek spektrum listesi:**

Şekil Ek 1. 6,3'-disinapoil-sukroz (**Pi-2** / **Pi-4**)

Şekil Ek 2. 6,3'-disinapoil-sukrozun (**Pi-2** / **Pi-4**) (+) HRMS Spektrumu

Şekil Ek 3. 6,3'-disinapoil-sukrozun (**Pi-2** / **Pi-4**) ^{1}H-NMR Spekrumu (500 MHz, CD_3OD)

Şekil Ek 4 & 5. 6,3'-disinapoil-sukrozun (**Pi-2** / **Pi-4**) ^{13}C-NMR Spektrumu (125 MHz, CD_3OD) (A) ve DEP135 Spektrumu (B)

Şekil Ek 6. 6,3'-disinapoil-sukrozun (**Pi-2** / **Pi-4**) COSY Spektrumu

Şekil Ek 7. 6,3'-disinapoil-sukrozun (**Pi-2** / **Pi-4**) HSQC Spektrumu

Şekil Ek 8. 6,3'-disinapoil-sukrozun (**Pi-2** / **Pi-4**) HMBC Spektrumu

Şekil Ek 9. 6-*O*-sinapoil,3'-*O*-trimetoksi-sinamoil-sukroz (tenuifolisid C) (**Pi-3** / **Pi-5**)

Şekil Ek 10. 6-*O*-sinapoil,3'-*O*-trimetoksi-sinamoil-sukroz (tenuifolisid C) (**Pi-3** / **Pi-5**) (+) HRMS Spektrumu

Şekil Ek 11. 6-*O*-sinapoil,3'-*O*-trimetoksi-sinamoil-sukroz (tenuifolisid C) (**Pi-3** / **Pi-5**) ^{1}H-NMR Spektrumu (500 MHz, CD_3OD)

Şekil Ek 12. 6-*O*-sinapoil,3'-*O*-trimetoksi-sinamoil-sukroz (tenuifolisid C) (**Pi-3** / **Pi-5**) ^{13}C-NMR Spektrumu (125 MHz, CD_3OD)

Şekil Ek 13. 6-*O*-sinapoil,3'-*O*-trimetoksi-sinamoil-sukroz (tenuifolisid C) (**Pi-3** / **Pi-5**) DEPT-135 Spektrumu

Şekil Ek 14. 6-*O*-sinapoil,3'-*O*-trimetoksi-sinamoil-sukroz (tenuifolisid C) (**Pi-3** / **Pi-5**) COSY Spektrumu

Şekil Ek 15. 6-*O*-sinapoil,3'-*O*-trimetoksi-sinamoil-sukroz (tenuifolisid C) (**Pi-3** / **Pi-5**) HSQC Spektrumu

Şekil Ek 16. 6-*O*-sinapoil,3'-*O*-trimetoksi-sinamoil-sukroz (tenuifolisid C) (**Pi-3** / **Pi-5**) HMBC Spektrumu

Şekil Ek 17. 3'-*O*-(O-metil-feruloil)-sukroz (**Pi-8**)

Şekil Ek 18. 3'-*O*-(O-metil-feruloil)-sukroz (**Pi-8**) (+) HRMS Spektrumu

Şekil Ek 19. 3'-*O*-(O-metil-feruloil)-sukroz (**Pi-8**) ^{1}H-NMR Spektrumu (500 MHz, CD_3OD)

Şekil Ek 20. 3'-*O*-(O-metil-feruloil)-sukroz (**Pi-8**) ^{13}C-NMR Spektrumu (125 MHz, CD_3OD)

Şekil Ek 21. 3'-*O*-(O-metil-feruloil)-sukroz (**Pi-8**) DEPT-135 Spektrumu

Şekil Ek 22. 3'-*O*-(O-metil-feruloil)-sukroz (**Pi-8**) COSY Spektrumu

Şekil Ek 23. 3'-*O*-(O-metil-feruloil)-sukroz (**Pi-8**) HSQC Spektrumu

Şekil Ek 24. 3'-*O*-(O-metil-feruloil)-sukroz (**Pi-8**) HMBC Spektrumu

Şekil Ek 25. 3'-*O*-(sinapoil)-sukroz (**Pi-10**)

Şekil Ek 26. 3'-*O*-(sinapoil)-sukroz (**Pi-10**) (+) HRMS Spektrumu

Şekil Ek 27. 3'-*O*-(sinapoil)-sukroz (**Pi-10**) ^{1}H-NMR Spektrumu (500 MHz, CD_3OD)

Şekil Ek 28. 3'-*O*-(sinapoil)-sukroz (**Pi-10**) ^{13}C-NMR Spektrumu (125 MHz, CD_3OD)

Şekil Ek 29. 3'-*O*-(sinapoil)-sukroz (**Pi-10**) DEPT-135 Spektrumu

Şekil Ek 30. 3'-*O*-(sinapoil)-sukroz (**Pi-10**) HMBC Spektrumu

Şekil Ek 31. 3'- *O* -trimetoksi-sinamoil-sukroz (glomeratoz) (**Pi-11**)

Şekil Ek 32. 3'-*O* -trimetoksi-sinamoil-sukroz (glomeratoz) (**Pi-11**) (+) HRMS Spektrumu

Şekil Ek 33. 3'-*O* -trimetoksi-sinamoil-sukroz (glomeratoz) (**Pi-11**) ^{1}H-NMR Spektrumu (500 MHz, CD_3OD)

Şekil Ek 34. 3'-*O* -trimetoksi-sinamoil-sukroz (glomeratoz) (**Pi-11**) 13C-NMR Spektrumu (125 MHz, CD_3OD)

Şekil Ek 35. 3'-*O* -trimetoksi-sinamoil-sukroz (glomeratoz) (**Pi-11**) DEPT-135 Spektrumu (5)

Şekil Ek 36. 3'- *O* -trimetoksi-sinamoil-sukroz (glomeratoz) (**Pi-11**) COSY Spektrumu

Şekil Ek 37. 3'- *O* -trimetoksi-sinamoil-sukroz (glomeratoz) (**Pi-11**) HSQC Spektrumu

Şekil Ek 38. 3'- *O* -trimetoksi-sinamoil-sukroz (glomeratoz) (**Pi-11**) HMBC Spektrumu

Şekil Ek 39. 3'- *O* -feruloil-sukroz (sibirikoz A5) (**Pi-15**)

Şekil Ek 40. 3'- *O* -feruloil-sukroz (sibirikoz A5) (**Pi-15**) (+) HRMS Spektrumu

Şekil Ek 41. 3'-*O*-feruloil-sukroz (sibirikoz A5) (**Pi-15**) ^{1}H-NMR Spekrtumu (500 MHz, CD_3OD)

Şekil Ek 42. 3'-*O*-feruloil-sukroz (sibirikoz A5) (**Pi-15**) ^{13}C-NMR Spektrumu (125 MHz, CD3OD)

Şekil Ek 43. 3'-*O*-feruloil-sukroz (sibirikoz A5) (**Pi-15**) DEPT-135 Spektrumu

Şekil Ek 44. 3'-*O*-feruloil-sukroz (sibirikoz A5) (**Pi-15**) COSY Spektrumu

Şekil Ek 45. 3'-*O*-feruloil-sukroz (sibirikoz A5) (**Pi-15**) HSQC Spektrumu Spektrumu

Şekil Ek 46. 3'-*O*-feruloil-sukroz (sibirikoz A5) (**Pi-15**) HMBC Spektrumu Spektrumu

Şekil Ek 47. sinapil alkol 4-*O*-glukozit (syringin veya eleutheroside B) (**Pi-9**)

Şekil Ek 48. sinapil alkol 4-*O*-glukozit (syringin veya eleutheroside B) (**Pi-9**) (+) HRMS Spektrumu

Şekil Ek 49. sinapil alkol 4-*O*-glukozit (syringin veya eleutheroside B) (**Pi-9**) ^{1}H-NMR Spektrumu (500 MHz, CD_3OD)

Şekil Ek 50. sinapil alkol 4-*O*-glukozit (syringin veya eleutheroside B) (**Pi-9**) ^{13}C-NMR Spektrumu (125 MHz, CD_3OD)

Şekil Ek 51. sinapil alkol 4-*O*-glukozit (syringin veya eleutheroside B) (**Pi-9**) DEPT-135 Spektrumu

Şekil Ek 52. Liriodendrin (**Pi-12**)

Şekil Ek 53. Liriodendrin (**Pi-12**) (+) HRMS Spektrumu

Şekil Ek 54. Liriodendrin (**Pi-12**) ^{1}H-NMR Spektrumu (500 MHz, CD3OD)

Şekil Ek 55. Liriodendrin (**Pi-12**) ^{13}C-NMR Spektrumu (125 MHz, CD3OD)

Şekil Ek 56. Liriodendrin (**Pi-12**) DEPT-135 Spektrumu

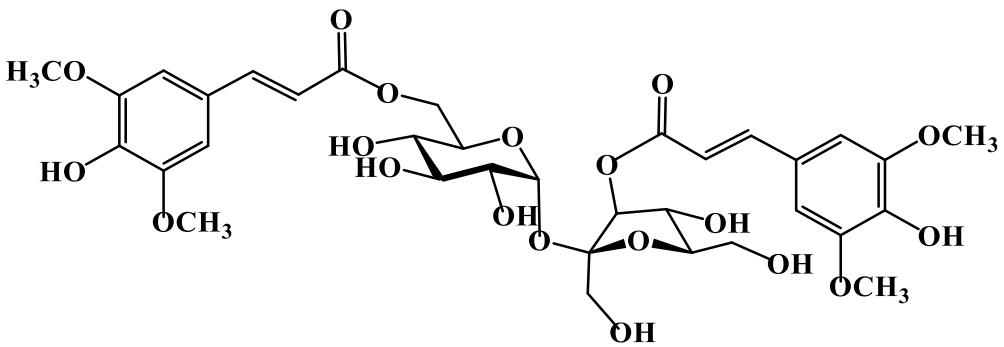
Şekil Ek 57. 7,4'-di-*O*-metilkuersetin-3-*O*-β-rutinosit (ombuin 3-O-rutinosit veya ombuosid) (**Pi-13 - Pi-16)**

Şekil Ek 58. 7,4'-di-*O*-metilkuersetin-3-*O*-β-rutinosit (ombuin 3-O-rutinosit veya ombuosid) (**Pi-13 - Pi-16**) (+) HRMS Spektrumu

Şekil Ek 59. 7,4'-di-*O*-metilkuersetin-3-*O*-β-rutinosit (ombuin 3-O-rutinosit veya ombuosid) (**Pi-13 - Pi-16**) ^{1}H-NMR Spektrumu (500 MHz, CD_3OD)

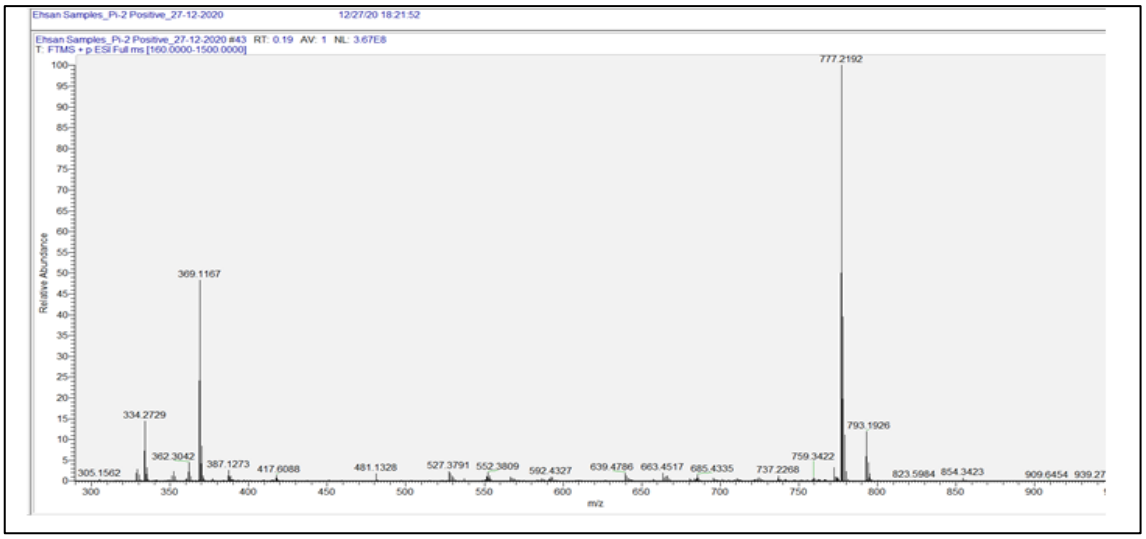
Şekil Ek 60. 7,4'-di-*O*-metilkuersetin-3-*O*-β-rutinosit (ombuin 3-O-rutinosit veya ombuosid) (**Pi-13 - Pi-16**) ^{13}C-NMR Spektrumu

Şekil Ek 61. 7,4'-di-*O*-metilkuersetin-3-*O*-β-rutinosit (ombuin 3-O-rutinosit veya ombuosid) (**Pi-13 - Pi-16**) DEPT-135 Spektrumu

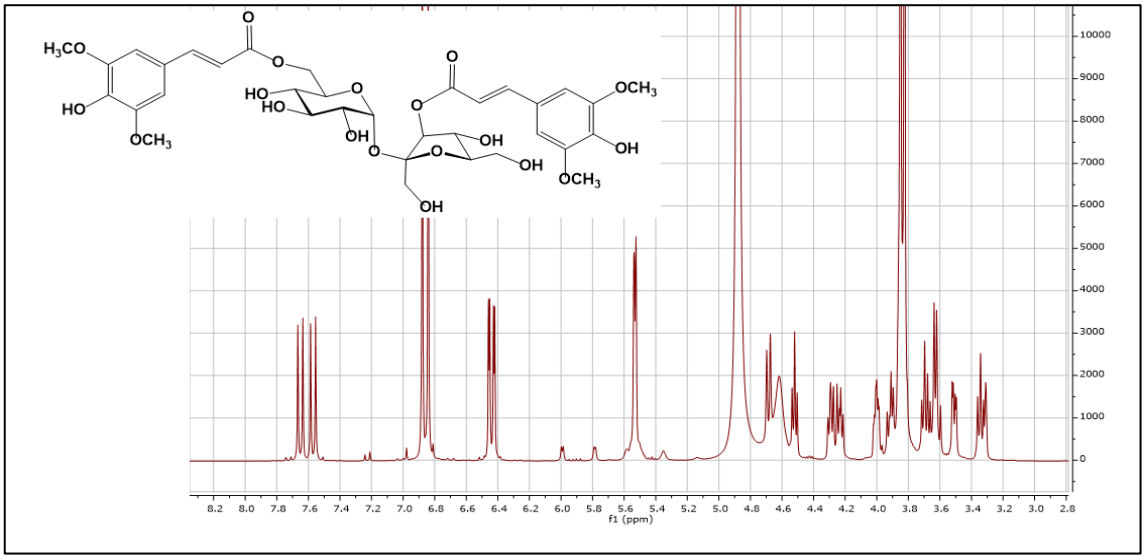


Exact Mass: 754,2320

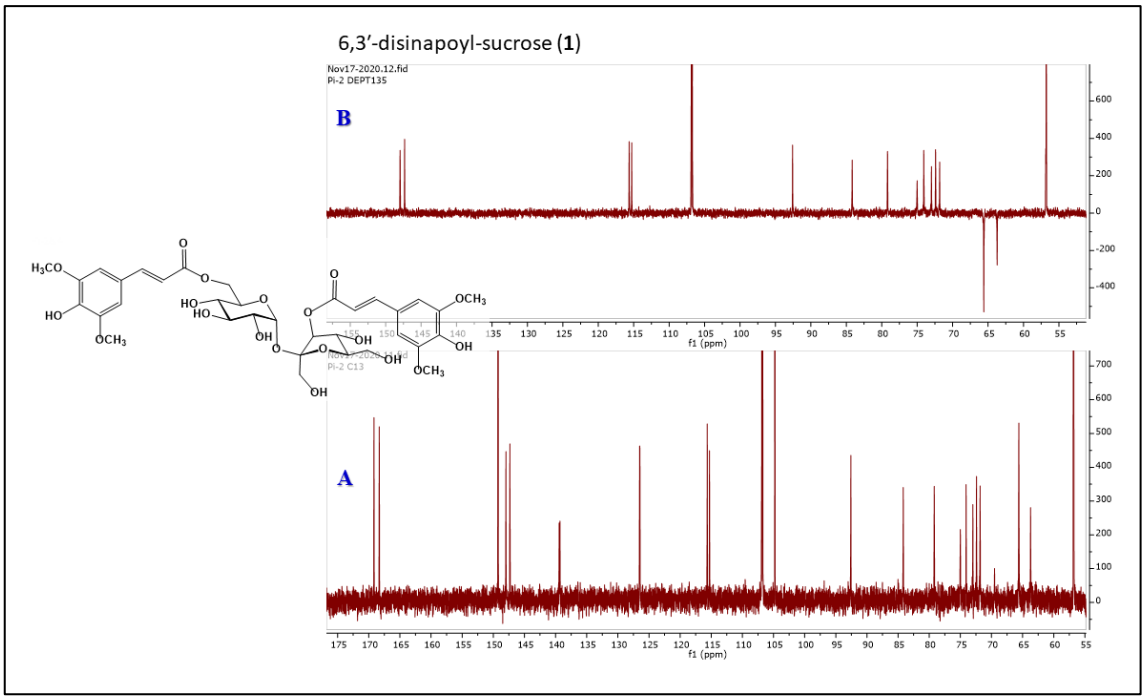
Şekil Ek 1. 6,3'-disinapoil-sukroz (**Pi-2** / **Pi-4**)



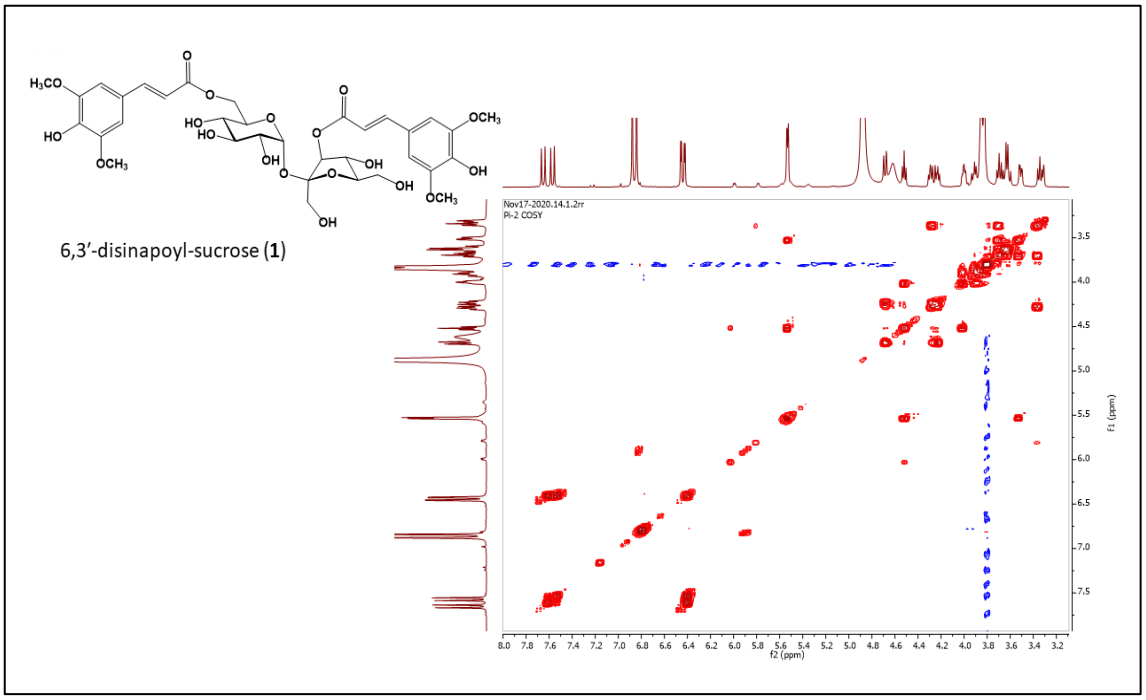
Şekil Ek 2. 6,3'-disinapoil-sukrozun (**Pi-2** / **Pi-4**) (+) HRMS Spektrumu



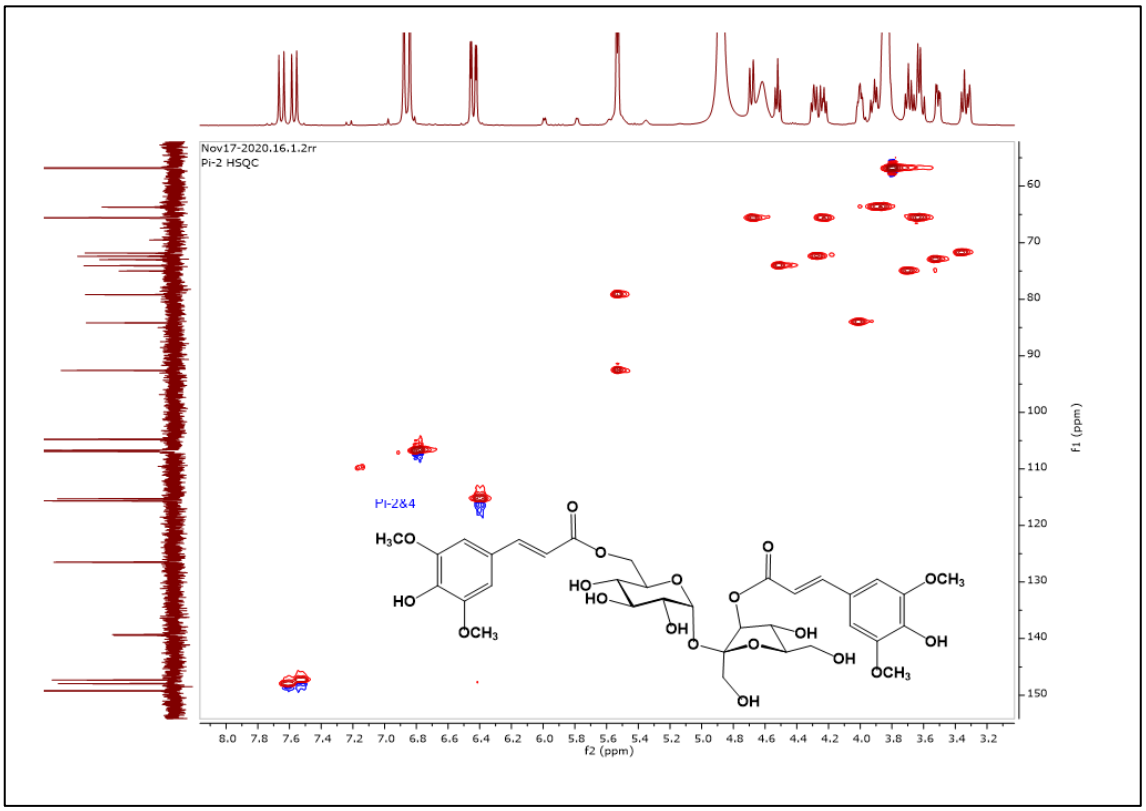
Şekil Ek 3. 6,3'-disinapoil-sukrozun (**Pi-2** / **Pi-4**) ^{1}H-NMR Spekrumu (500 MHz, CD_3OD)



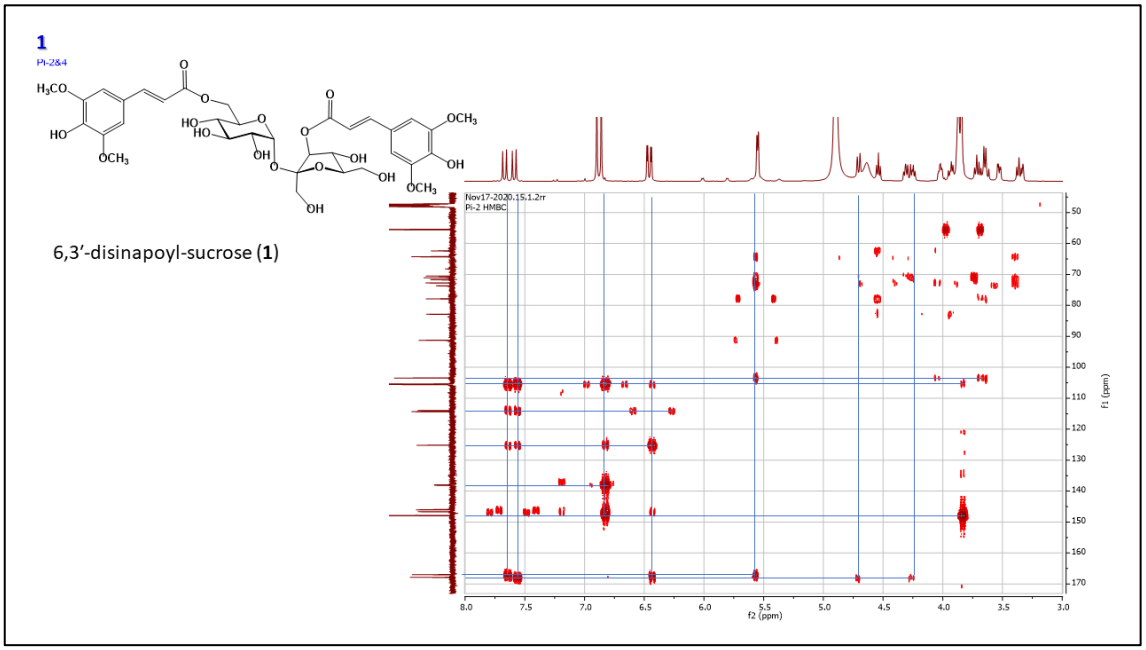
Şekil Ek 4 & 5. 6,3'-disinapoil-sukrozun (**Pi-2** / **Pi-4**) ^{13}C-NMR Spektrumu (125 MHz, CD_3OD) (A) ve DEPT-135 Spektrumu (B)



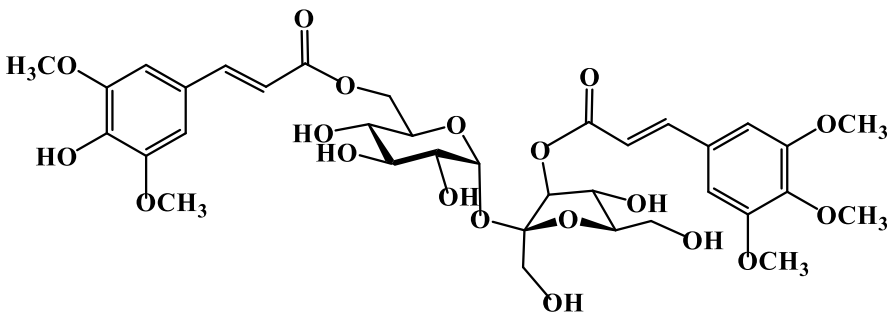
Şekil Ek 6. 6,3'-disinapoil-sukrozun (**Pi-2** / **Pi-4**) COSY Spektrumu



Şekil Ek 7. 6,3'-disinapoil-sukrozun (**Pi-2** / **Pi-4**) HSQC Spektrumu

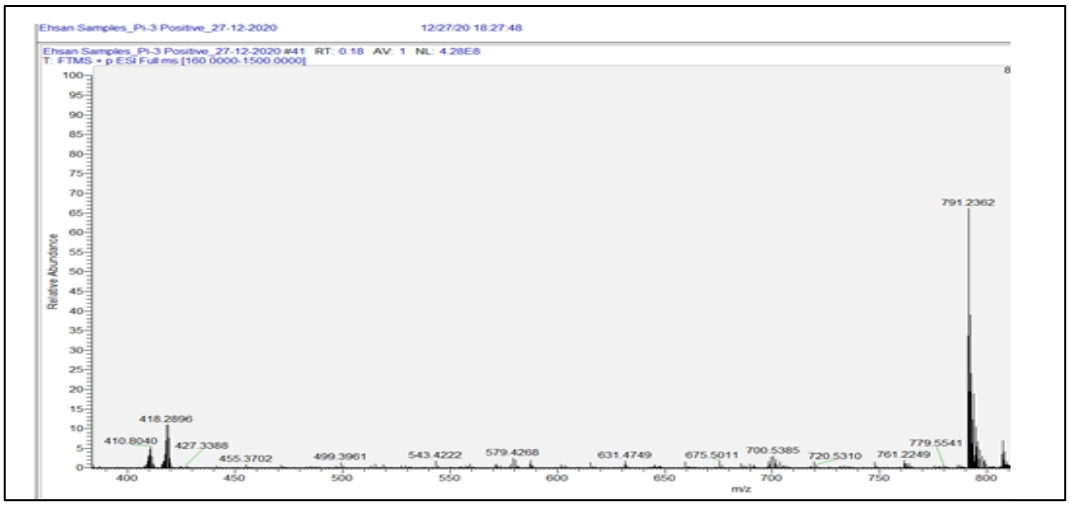


Şekil Ek 8. 6,3'-disinapoil-sukrozun (**Pi-2** / **Pi-4**) HMBC Spektrumu

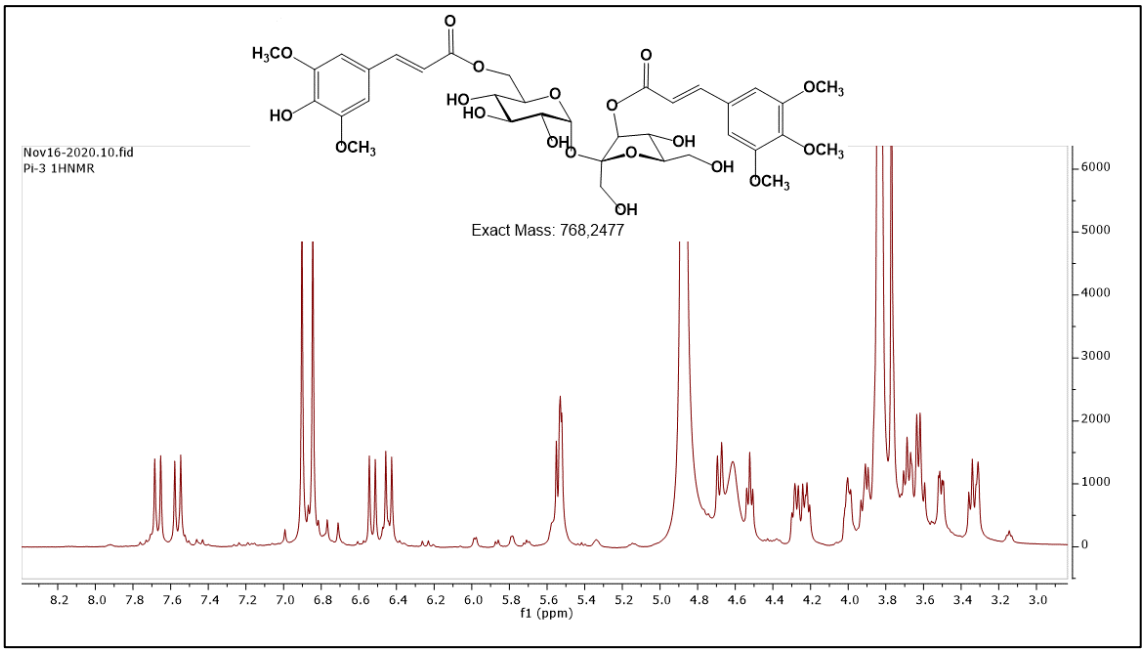


Exact Mass: 768,2477

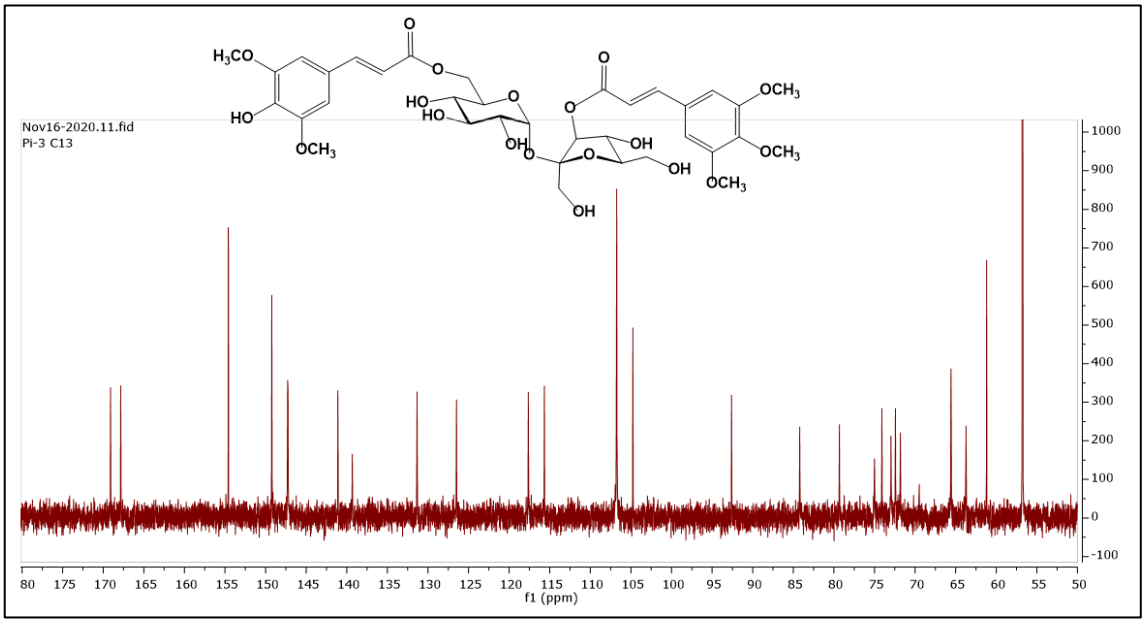
Şekil Ek 9. 6-*O*-sinapoil,3'-*O*-trimetoksi-sinamoil-sukroz (tenuifolisid C) (**Pi-3** / **Pi-5**)



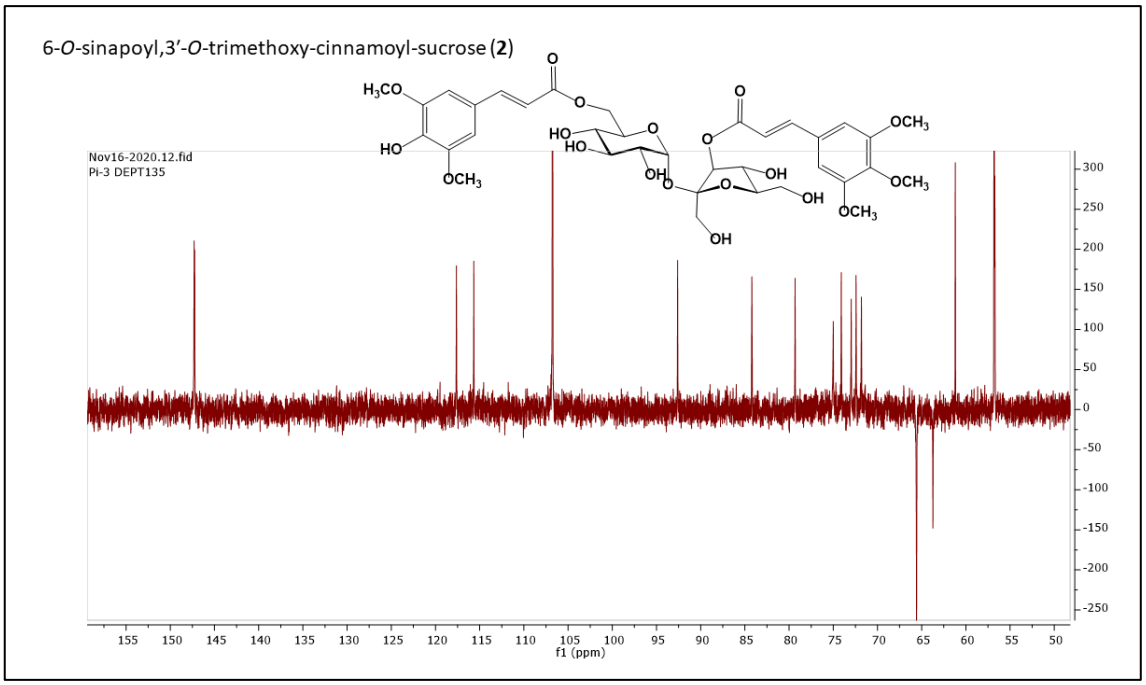
Şekil Ek 10. 6-*O*-sinapoil,3'-*O*-trimetoksi-sinamoil-sukroz (tenuifolisid C) (**Pi-3** / **Pi-5**) (+) HRMS Spektrumu



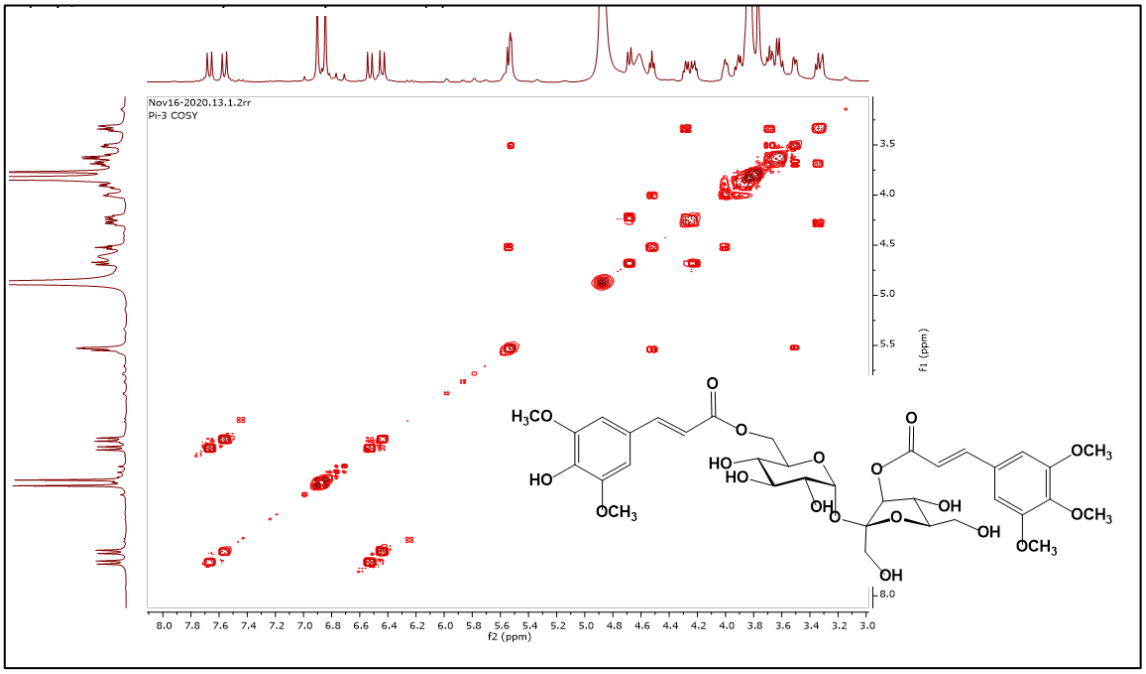
Şekil Ek 11. 6-*O*-sinapoil,3'-*O*-trimetoksi-sinamoil-sukroz (tenuifolisid C) (**Pi-3** / **Pi-5**) ^{1}H-NMR Spektrumu (500 MHz, CD_3OD)



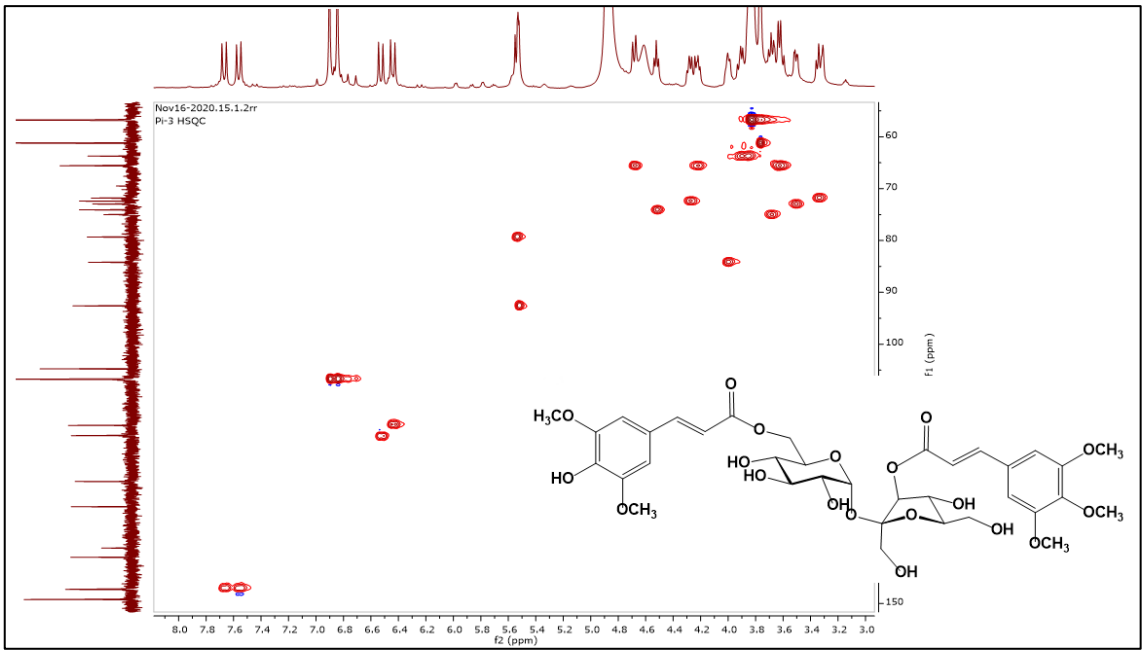
Şekil Ek 12. 6-*O*-sinapoil,3'-*O*-trimetoksi-sinamoil-sukroz (tenuifolisid C) (**Pi-3** / **Pi-5**) ^{13}C-NMR Spektrumu (125 MHz, CD_3OD)



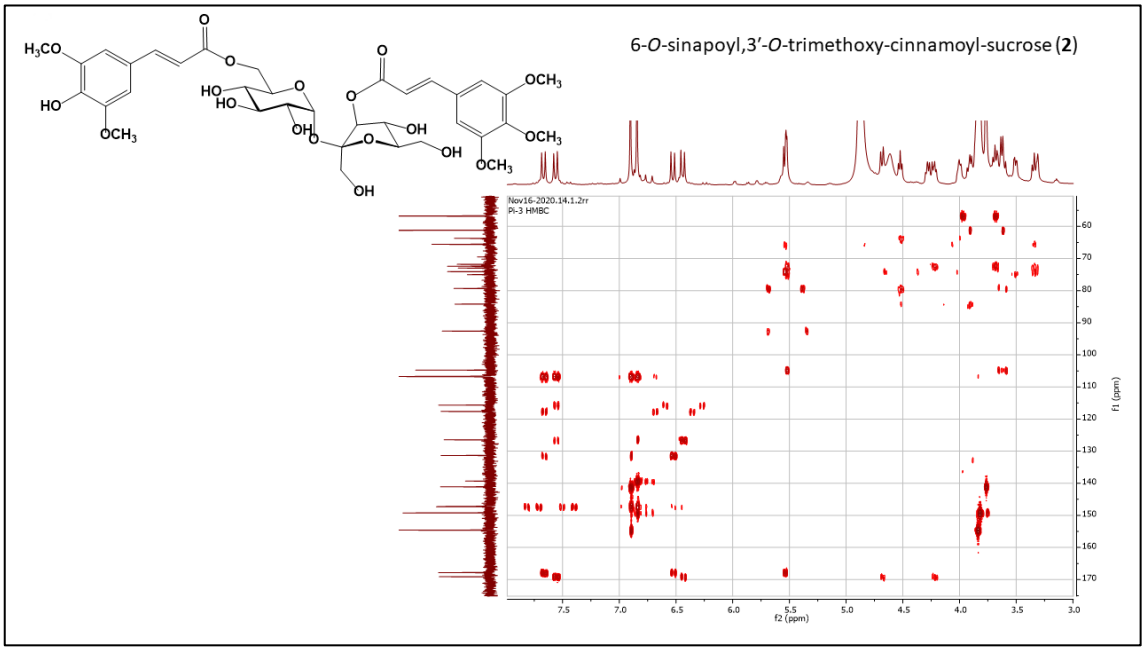
Şekil Ek 13. 6-*O*-sinapoil,3'-*O*-trimetoksi-sinamoil-sukroz (tenuifolisid C) (**Pi-3** / **Pi-5**) DEPT-135 Spektrumu



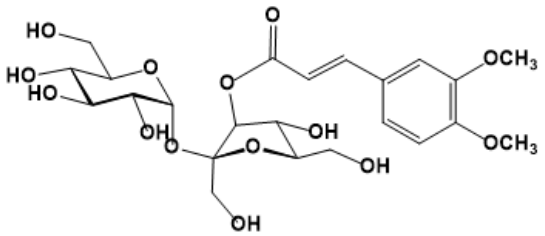
Şekil Ek 14. 6-*O*-sinapoil,3'-*O*-trimetoksi-sinamoil-sukroz (tenuifolisid C) (**Pi-3** / **Pi-5**) COSY Spektrumu



Şekil Ek 15. 6-*O*-sinapoil,3'-*O*-trimetoksi-sinamoil-sukroz (tenuifolisid C) (**Pi-3** / **Pi-5**) HSQC Spektrumu

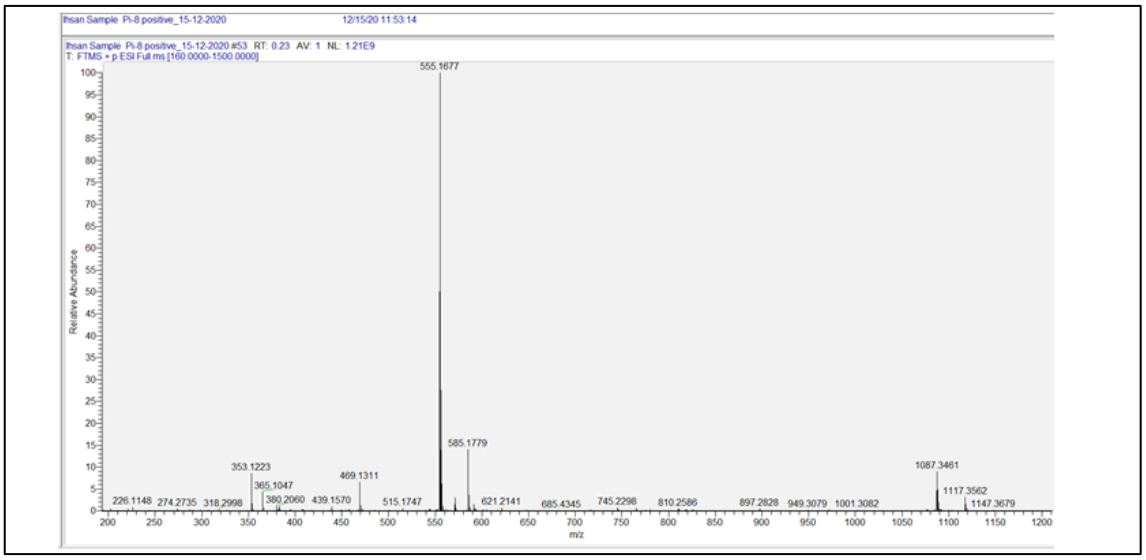


Şekil Ek 16. 6-*O*-sinapoil,3'-*O*-trimetoksi-sinamoil-sukroz (tenuifolisid C) (**Pi-3** / **Pi-5**) HMBC Spektrumu

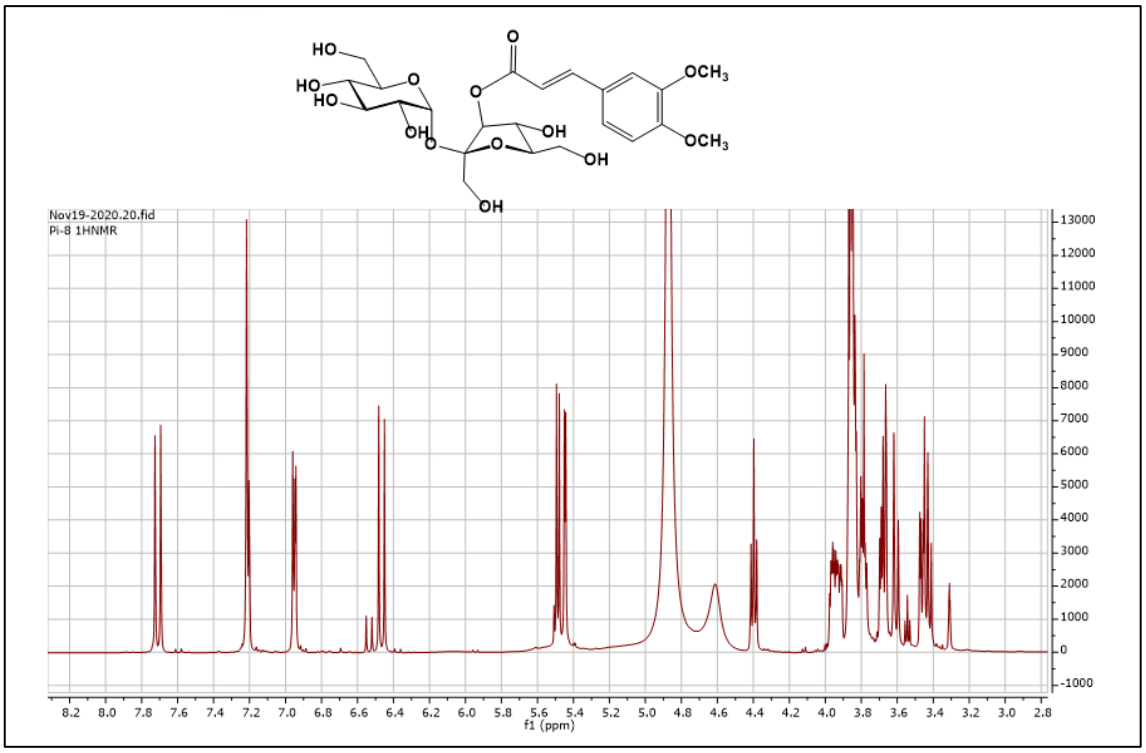


Exact Mass: 532,1792

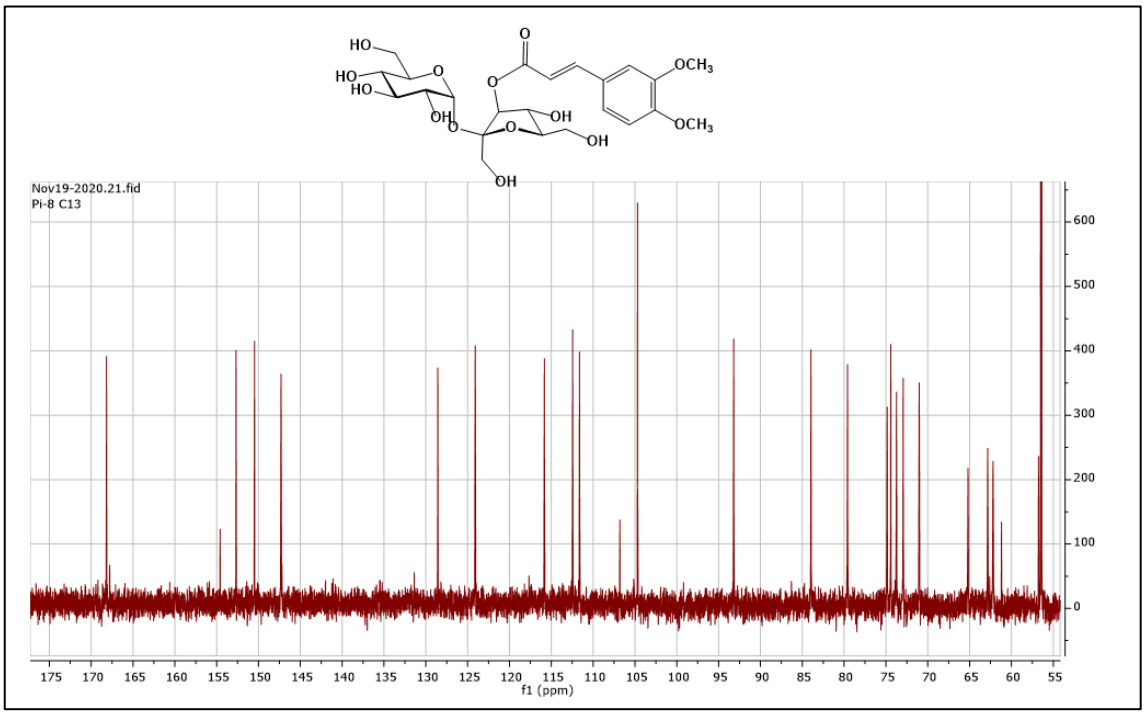
Şekil Ek 17. 3'-*O*-(O-metil-feruloil)-sukroz (**Pi-8**)



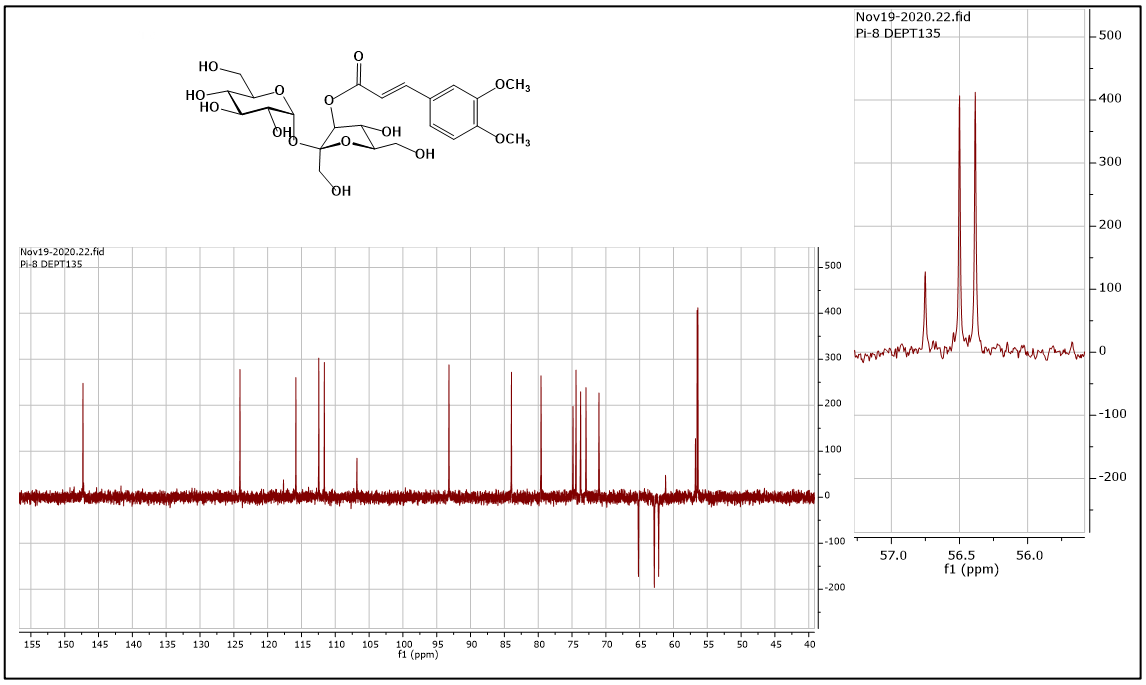
Şekil Ek 18. 3'-*O*-(O-metil-feruloil)-sukroz (**Pi-8**) (+) HRMS Spektrumu



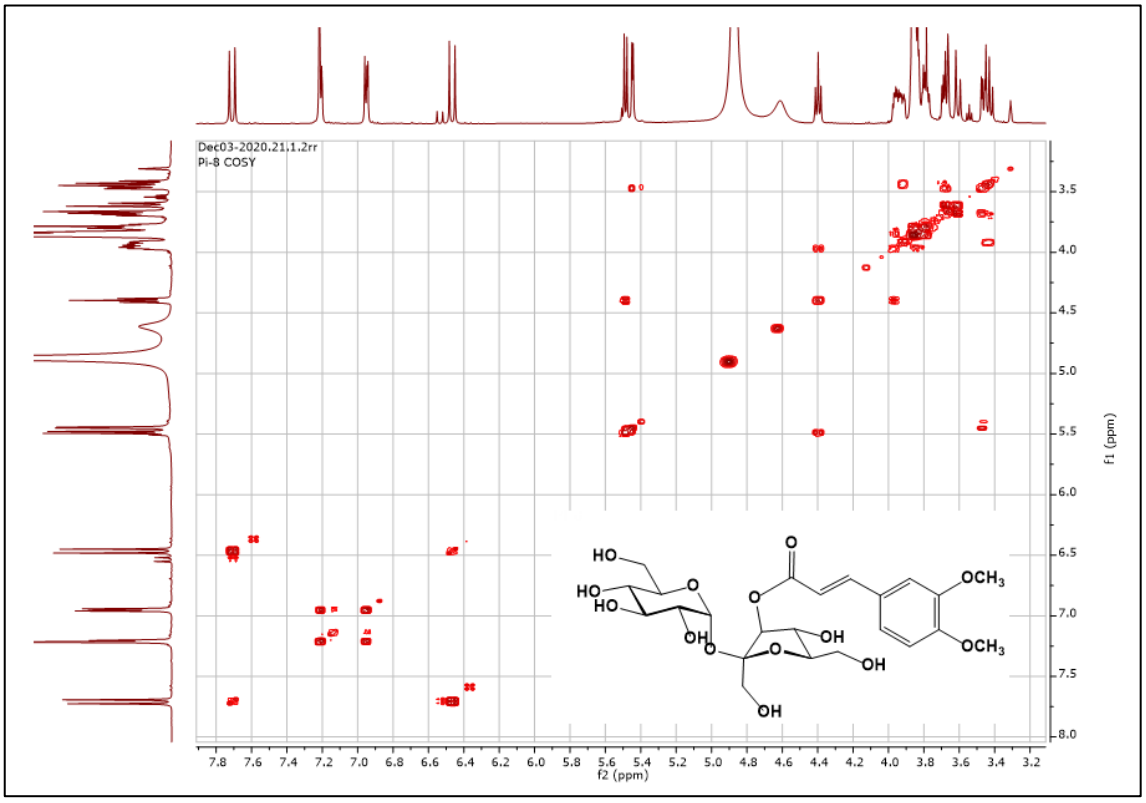
Şekil Ek 19. 3'-*O*-(O-metil-feruloil)-sukroz (**Pi-8**) ^{1}H-NMR Spektrumu (500 MHz, CD_3OD)



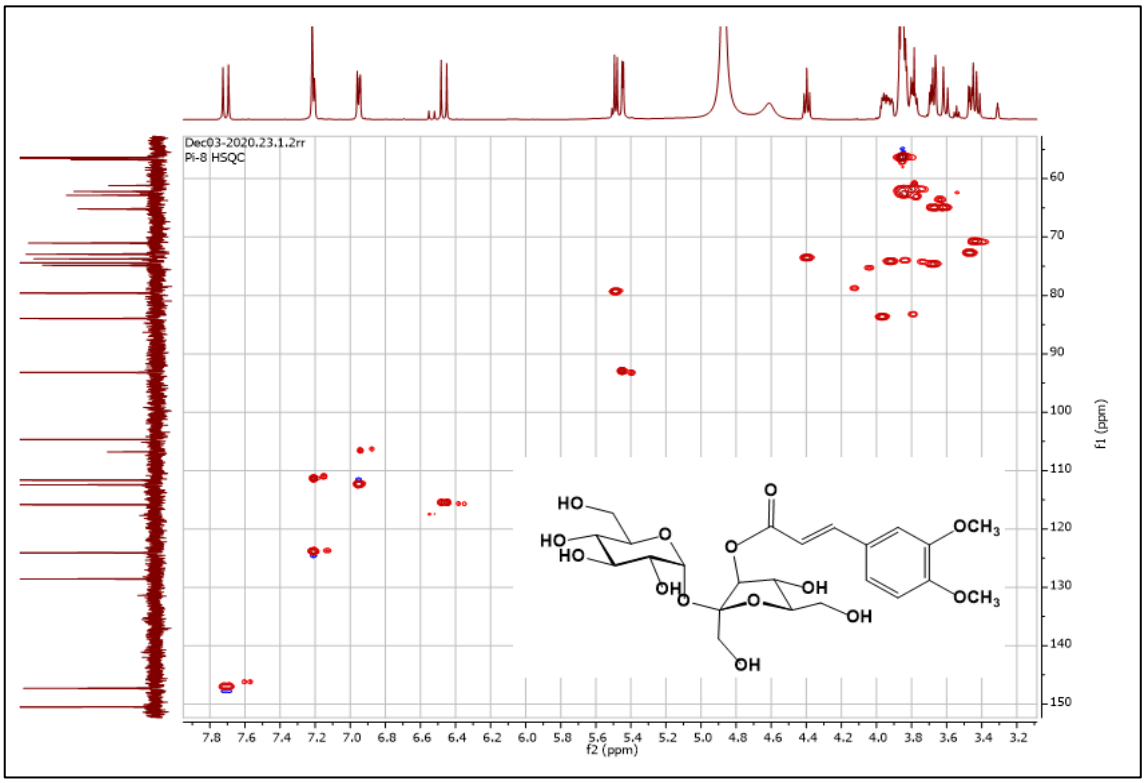
Şekil Ek 20. 3'-*O*-(O-metil-feruloil)-sukroz (**Pi-8**) ^{13}C-NMR Spektrumu (125 MHz, CD_3OD)



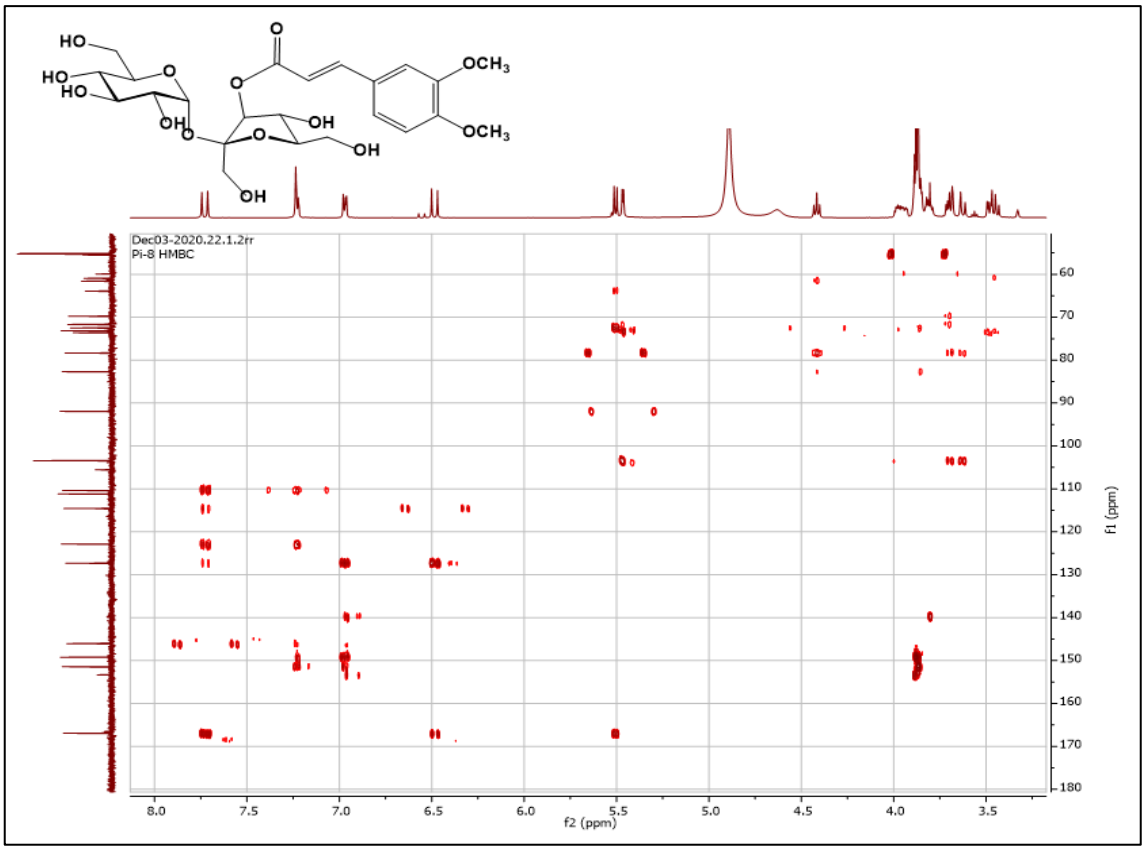
Şekil Ek 21. 3'-*O*-(O-metil-feruloil)-sukroz (**Pi-8**) DEPT-135 Spektrumu



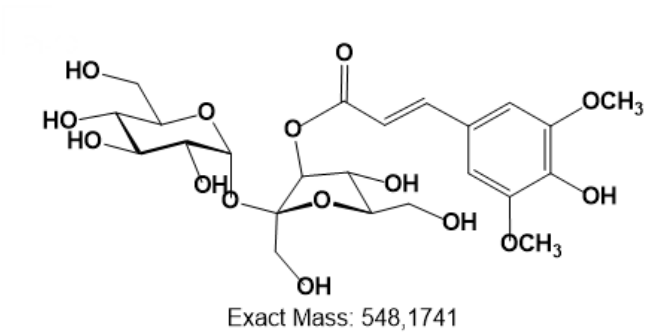
Şekil Ek 22. 3'-*O*-(O-metil-feruloil)-sukroz (**Pi-8**) COSY Spektrumu



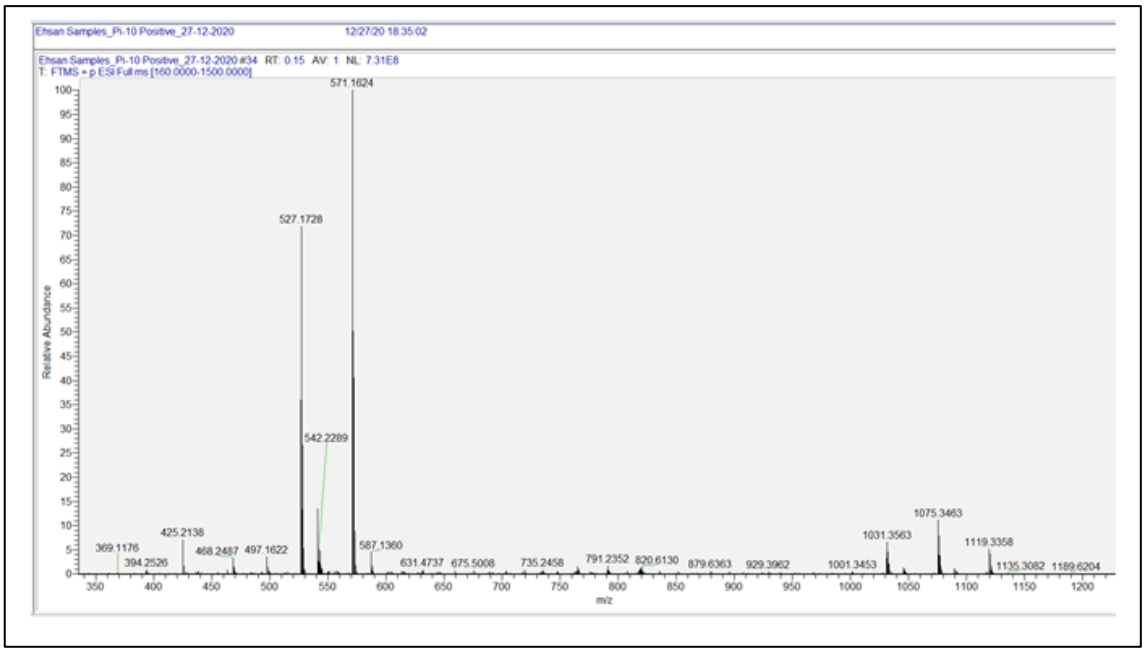
Şekil Ek 23. 3'-*O*-(O-metil-feruloil)-sukroz (**Pi-8**) HSQC Spektrumu



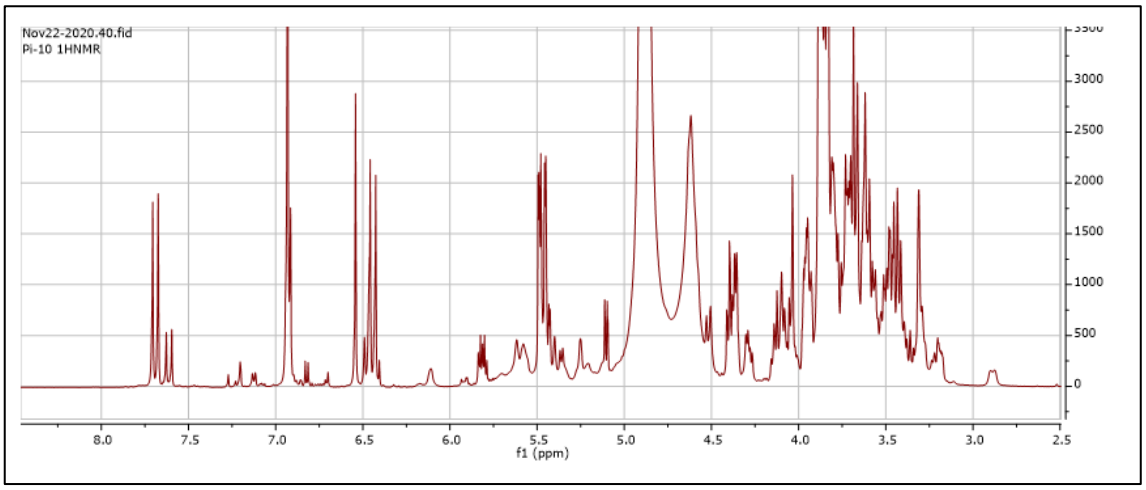
Şekil Ek 24. 3'-*O*-(O-metil-feruloil)-sukroz (**Pi-8**) HMBC Spektrumu



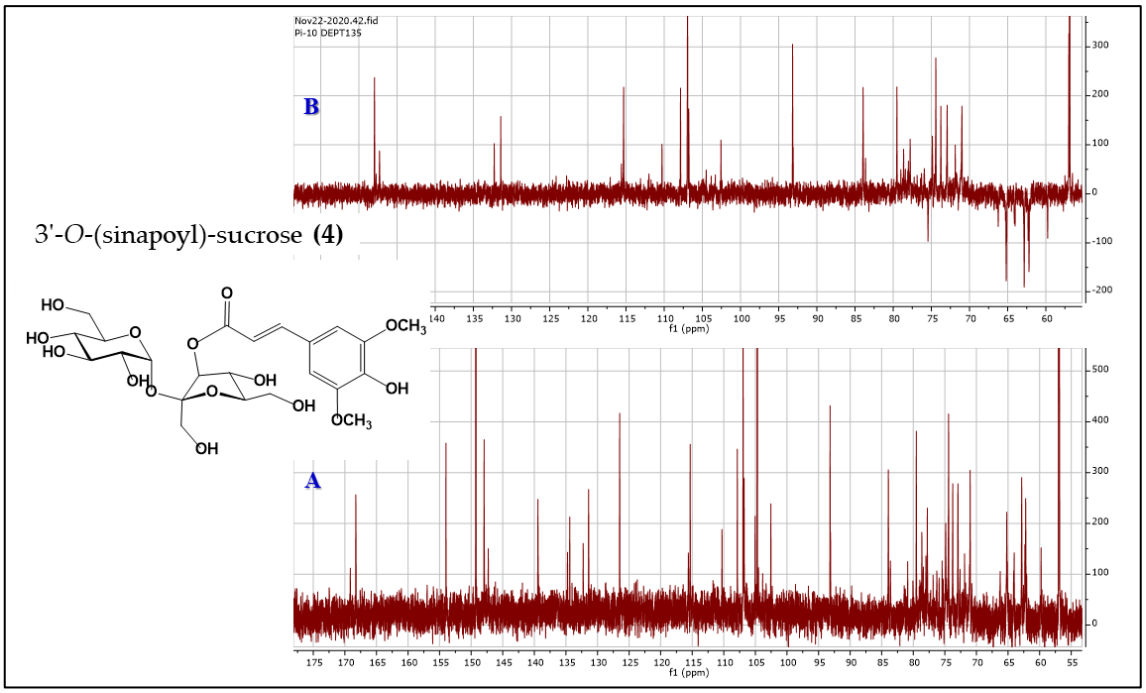
Şekil Ek 25. 3'-*O*-(sinapoil)-sukroz (**Pi-10**)



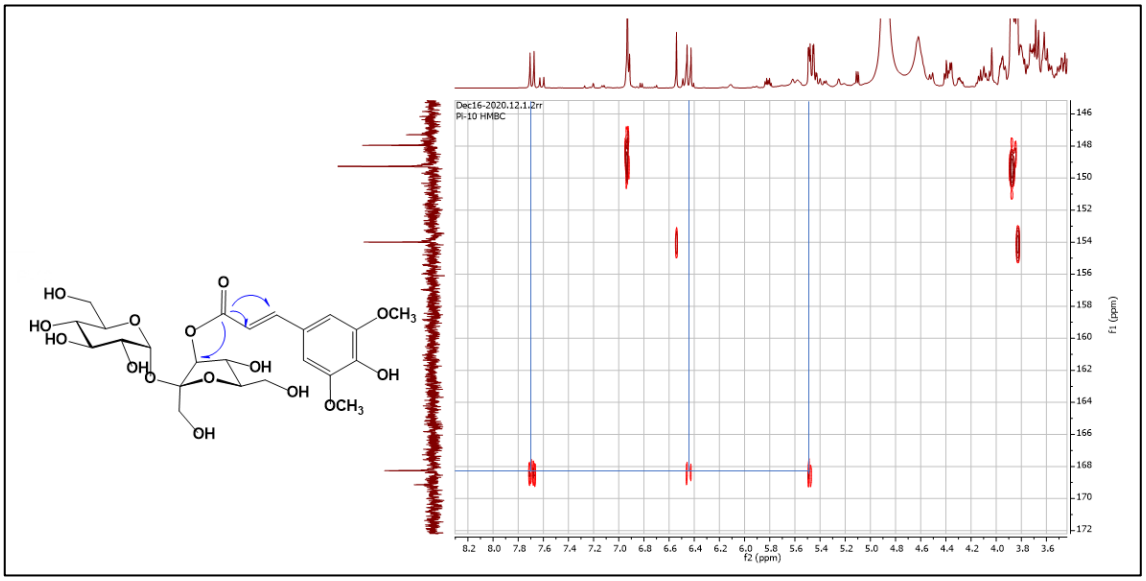
Şekil Ek 26. 3'-*O*-(sinapoil)-sukroz (**Pi-10**) (+) HRMS Spektrumu



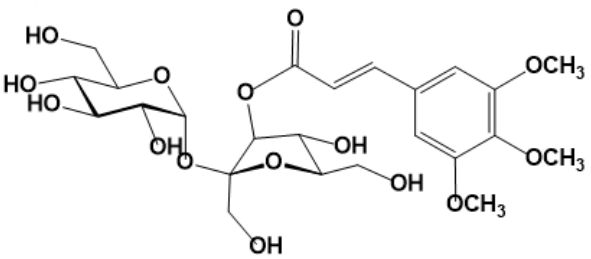
Şekil Ek 27. 3'-*O*-(sinapoil)-sukroz (**Pi-10**) ^{1}H-NMR Spektrumu (500 MHz, CD_3OD)



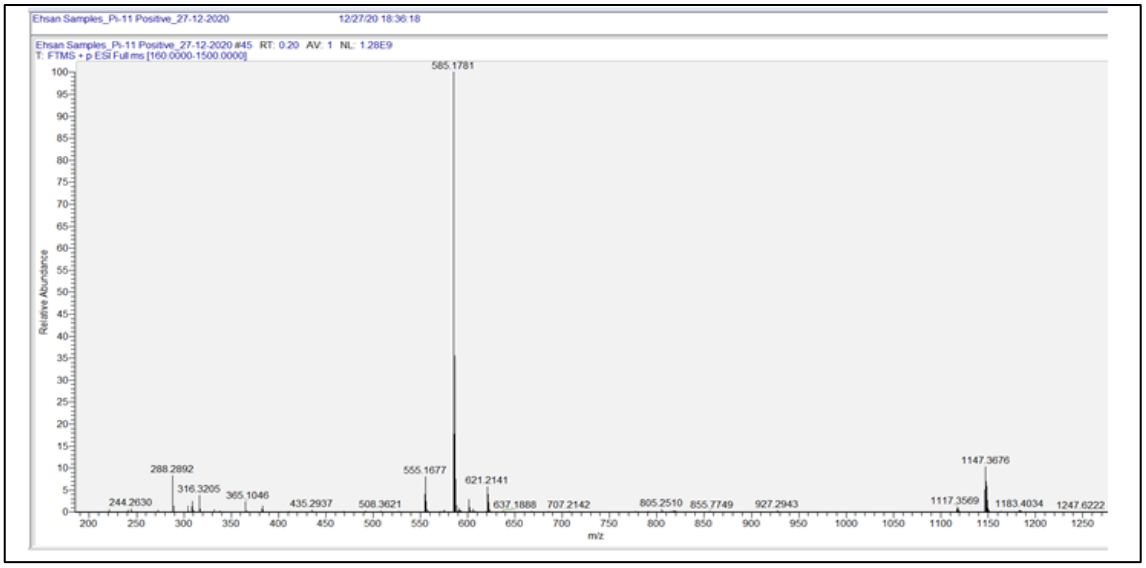
Şekil Ek 28 & 29. 3'-*O*-(sinapoil)-sukroz (**Pi-10**) ^{13}C-NMR Spektrumu (125 MHz, CD_3OD) (A) ve DEPT-135 Spektrumu (B)



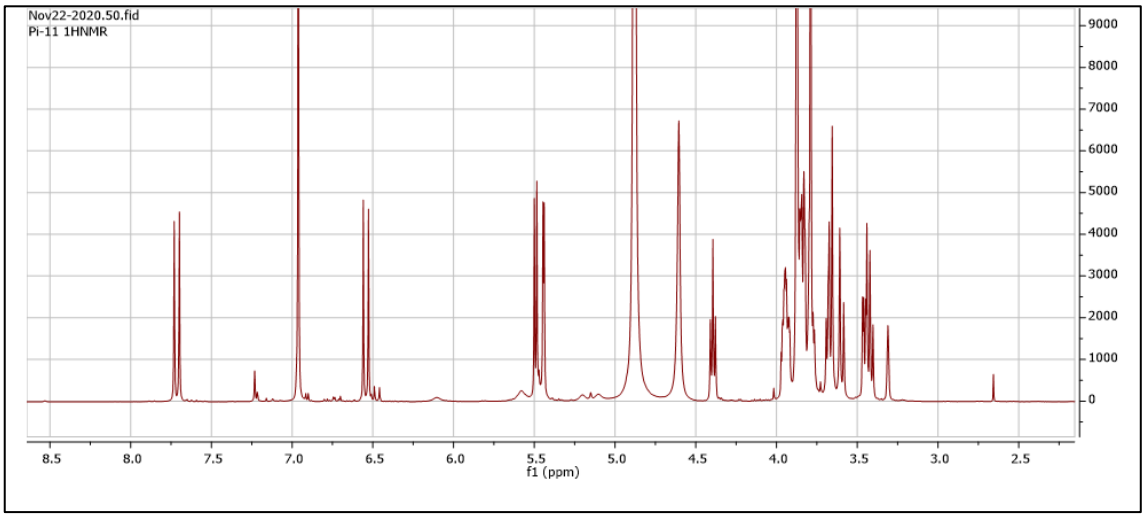
Şekil Ek 30. 3'-*O*-(sinapoil)-sukroz (**Pi-10**) HMBC Spektrumu



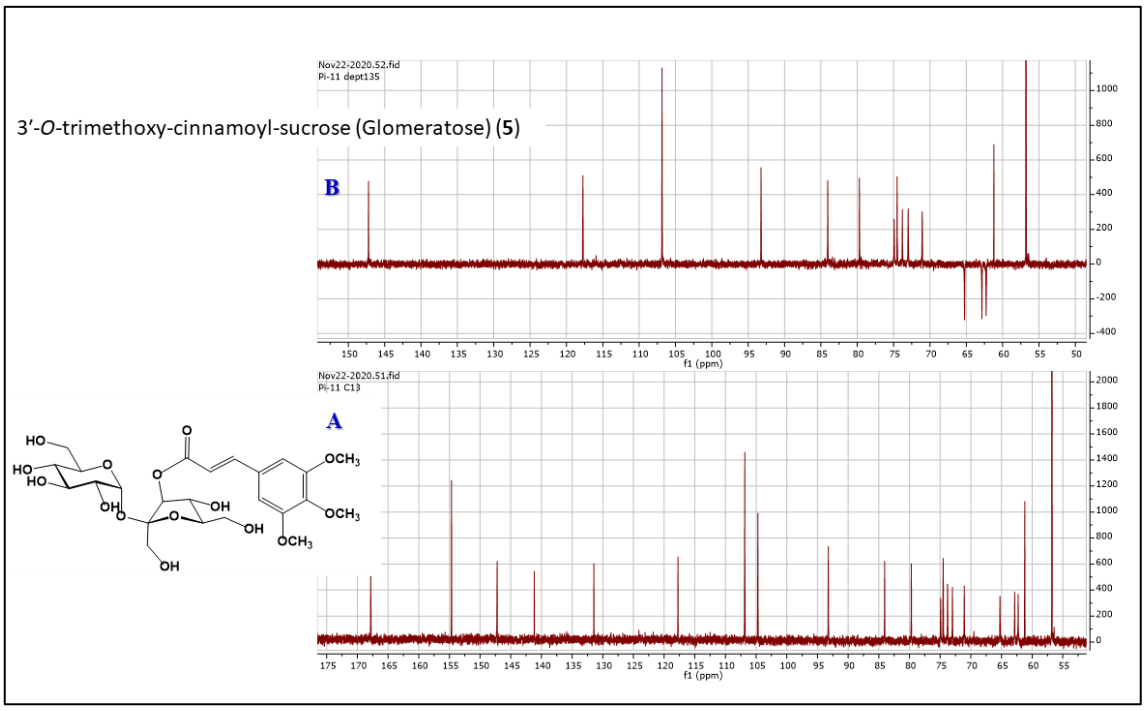
Şekil Ek 31. 3'- *O* -trimetoksi-sinamoil-sukroz (glomeratoz) (**Pi-11**)



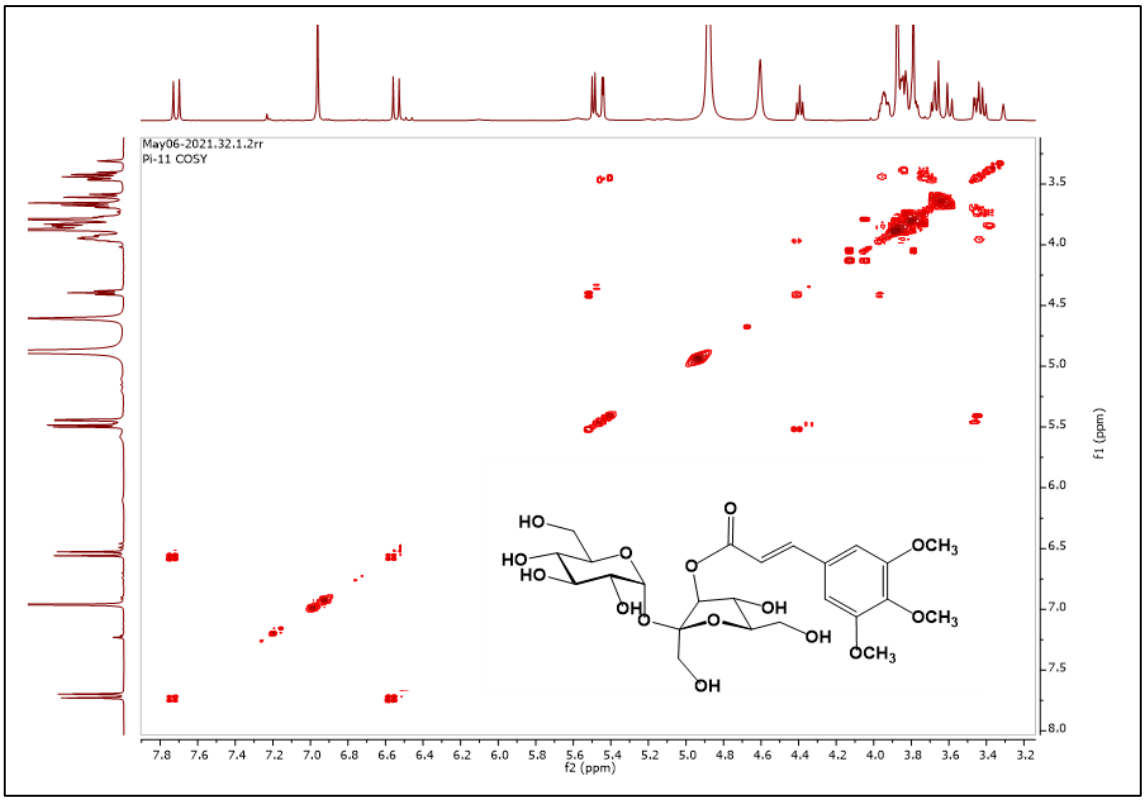
Şekil Ek 32. 3'-*O* -trimetoksi-sinamoil-sukroz (glomeratoz) (**Pi-11**) (+) HRMS Spektrumu



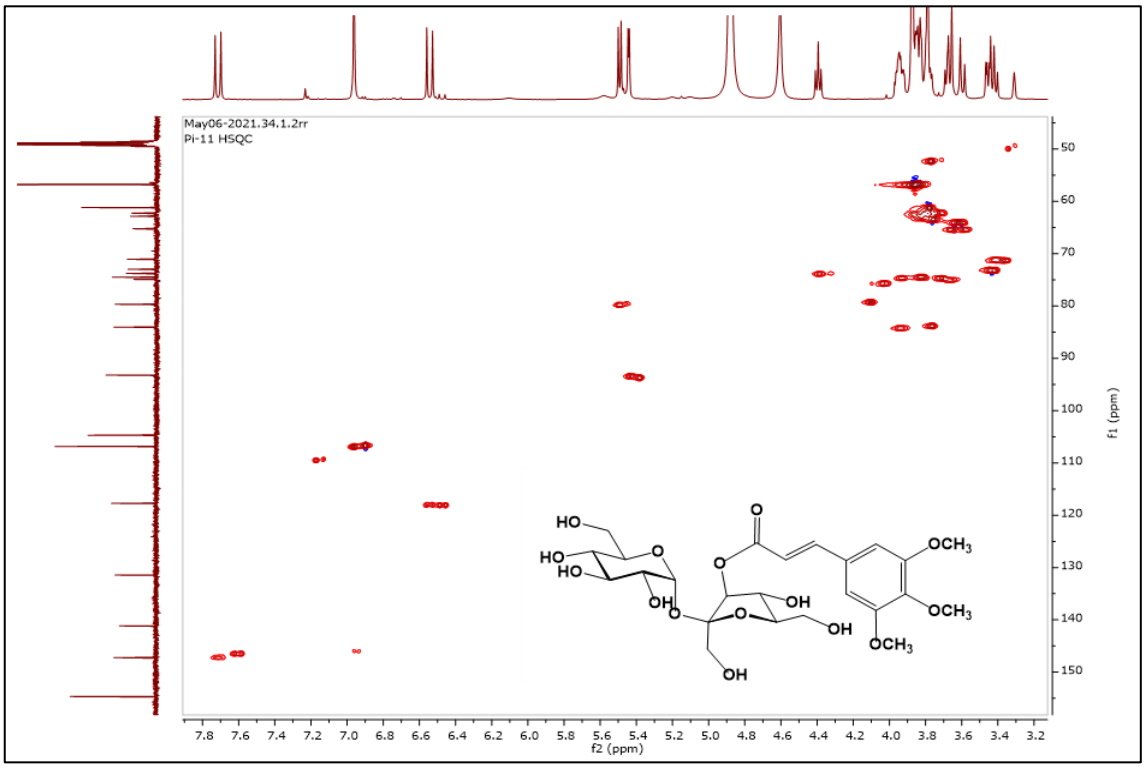
Şekil Ek 33. 3'- *O* -trimetoksi-sinamoil-sukroz (glomeratoz) (**Pi-11**) ^{1}H-NMR Spektrumu (500 MHz, CD_3OD)



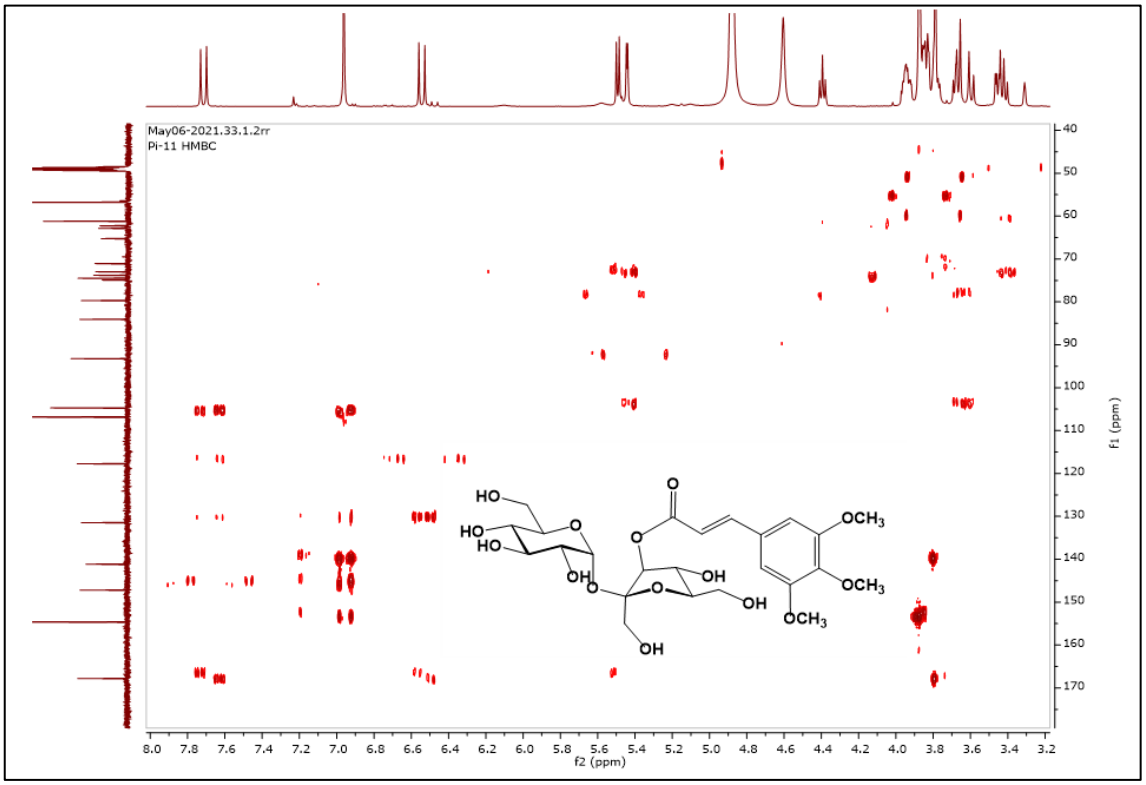
Şekil Ek 34 & 35. 3'- *O* -trimetoksi-sinamoil-sukroz (glomeratoz) (**Pi-11**) 13C-NMR Spektrumu (125 MHz, CD_3OD) (A) ve DEPT-135 Spektrumu (5) (B)



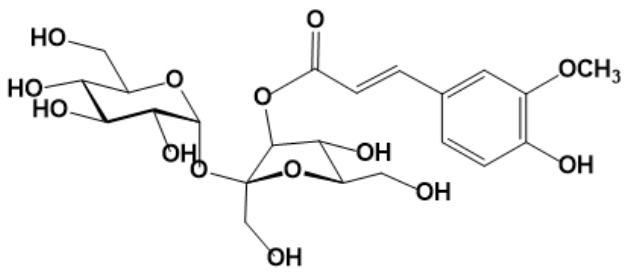
Şekil Ek 36. 3'- *O* -trimetoksi-sinamoil-sukroz (glomeratoz) (**Pi-11**) COSY Spektrumu



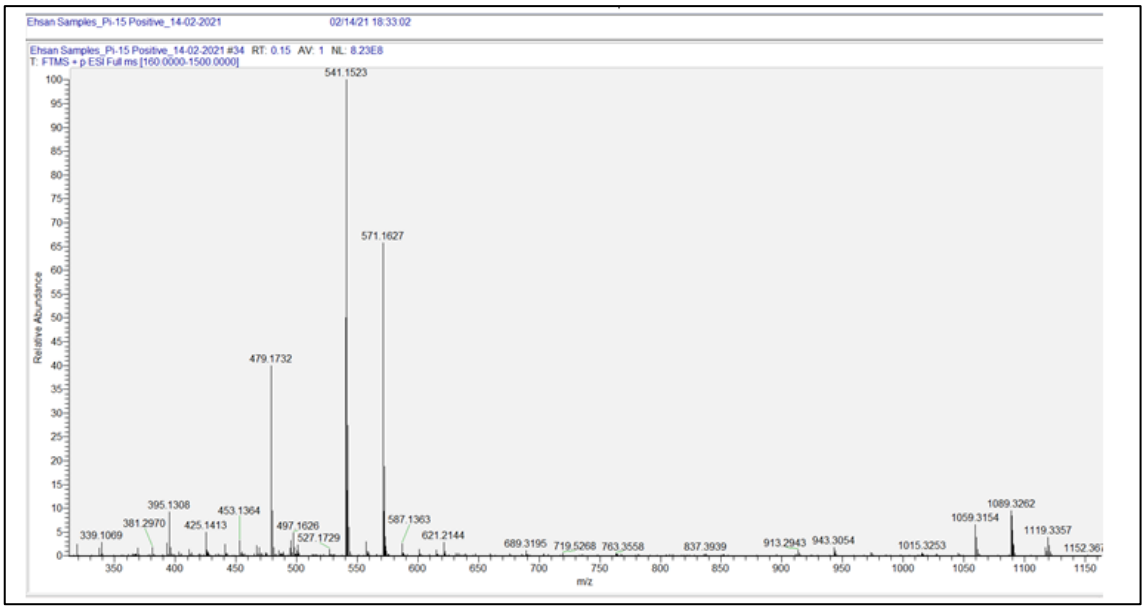
Şekil Ek 37. 3'- *O* -trimetoksi-sinamoil-sukroz (glomeratoz) (**Pi-11**) HSQC Spektrumu



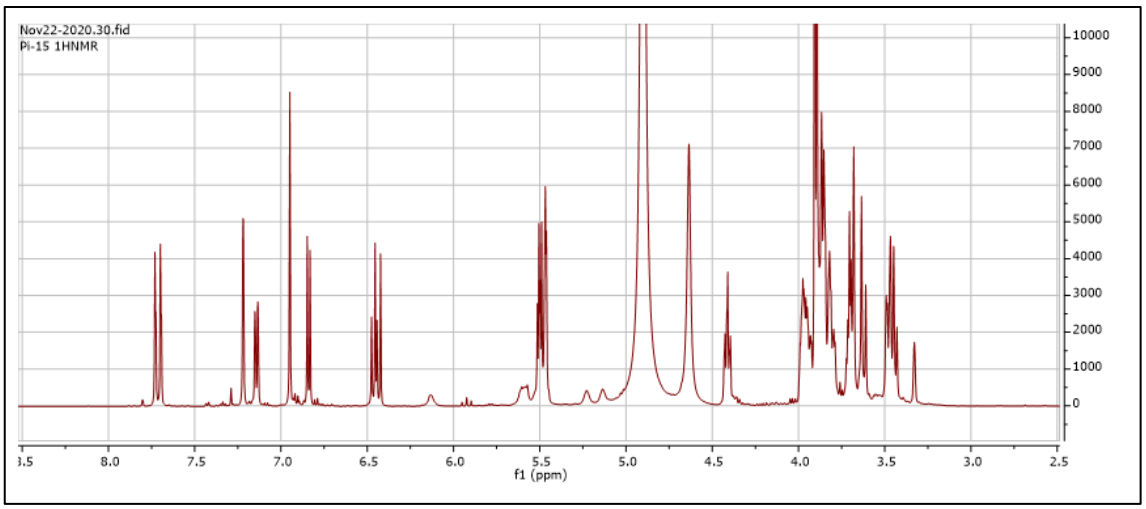
Şekil Ek 38. 3'- *O* -trimetoksi-sinamoil-sukroz (glomeratoz) (**Pi-11**) HMBC Spektrumu



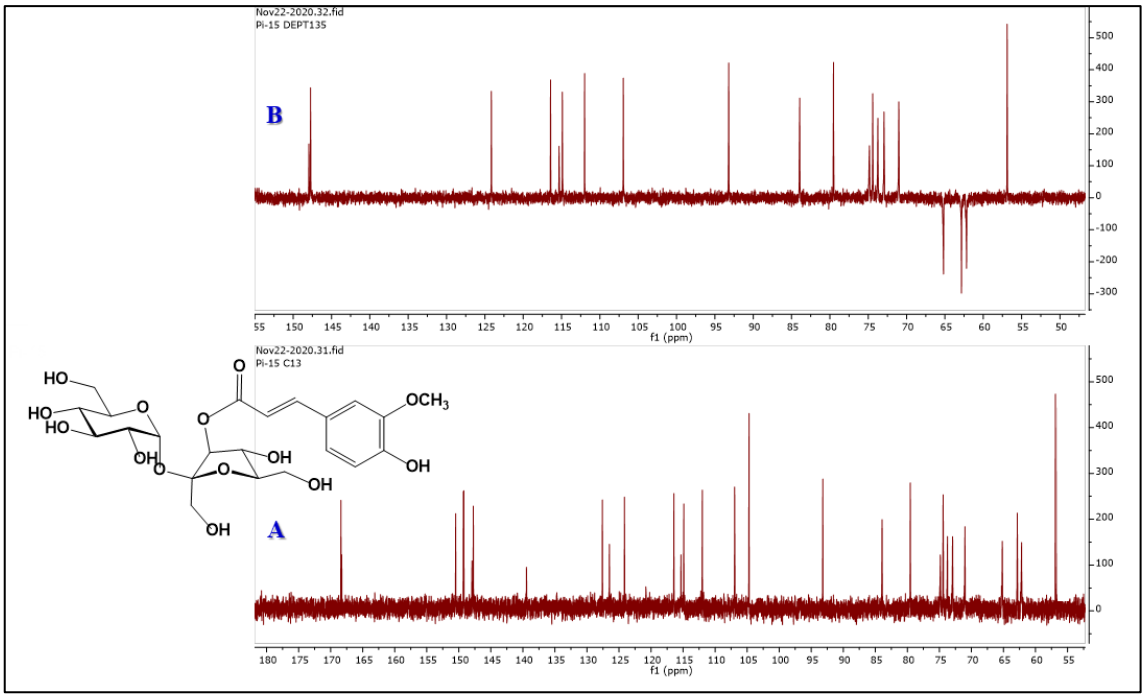
Şekil Ek 39. 3'- *O* -feruloil-sukroz (sibirikoz A5) (**Pi-15**)



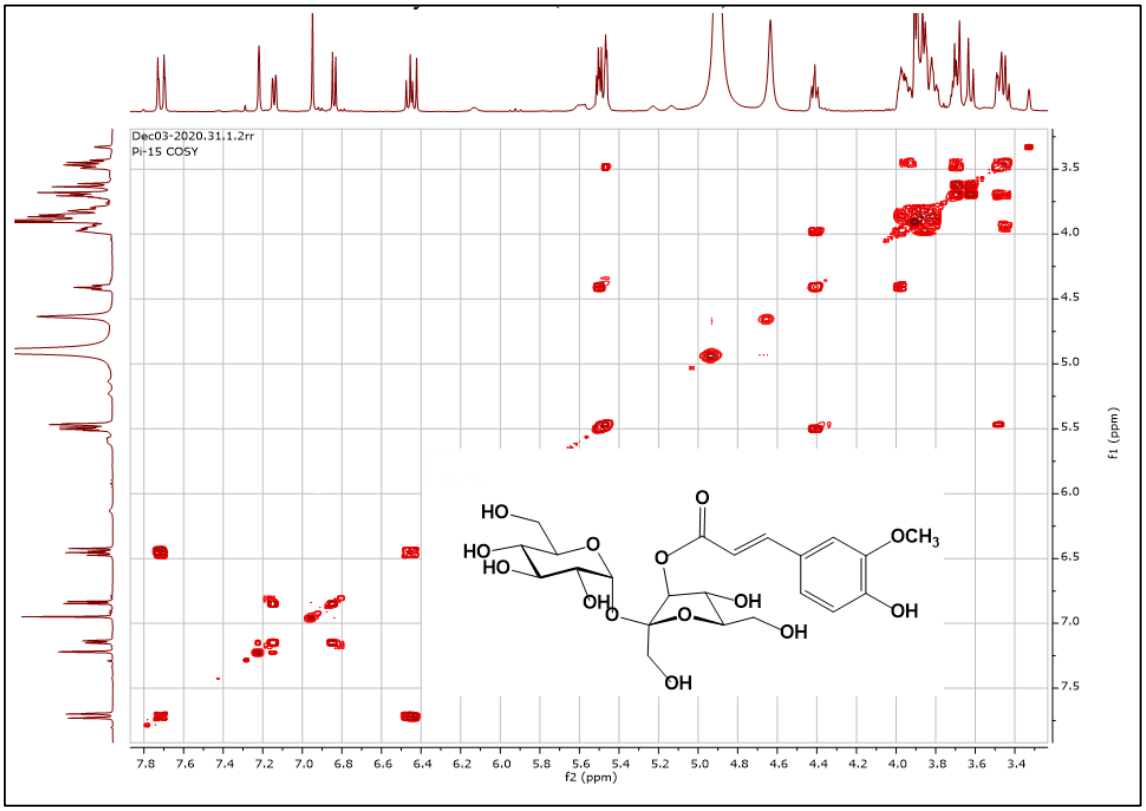
Şekil Ek 40. 3'- *O* -feruloil-sukroz (sibirikoz A5) (**Pi-15**) (+) HRMS Spektrumu



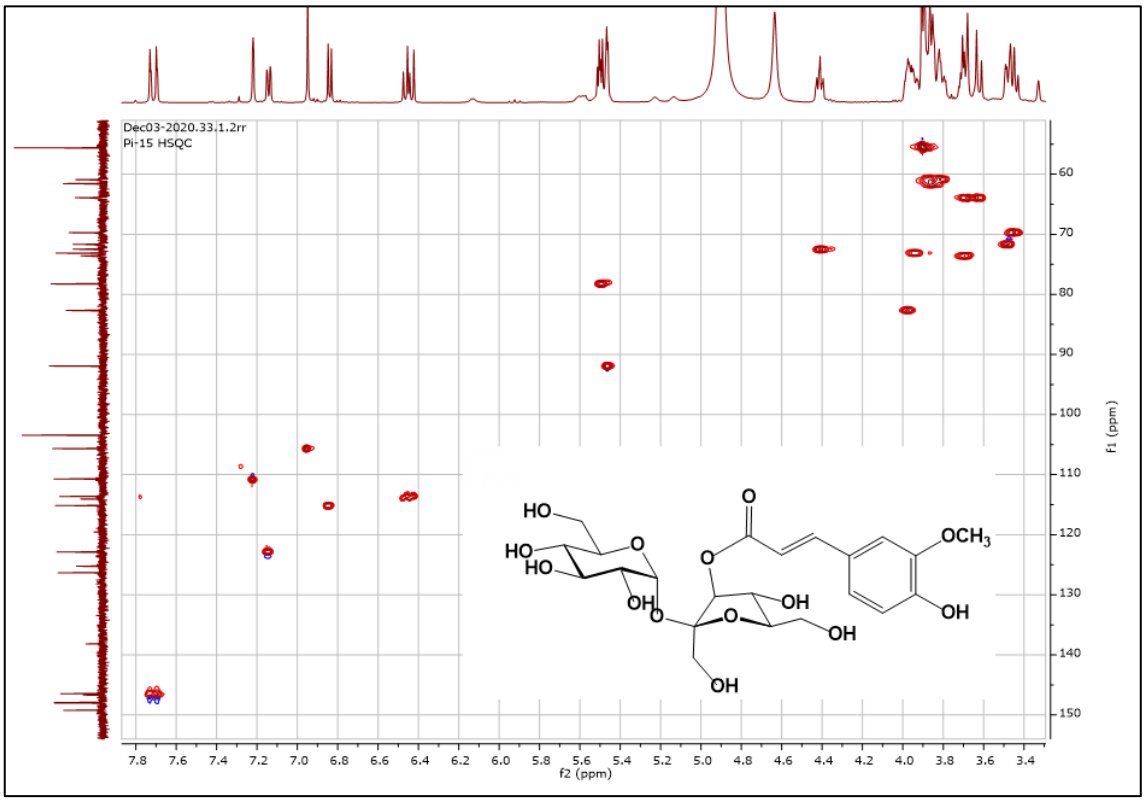
Şekil Ek 41. 3'-*O*-feruloil-sukroz (sibirikoz A5) (**Pi-15**) ^{1}H-NMR Spekrtumu (500 MHz, CD_3OD)



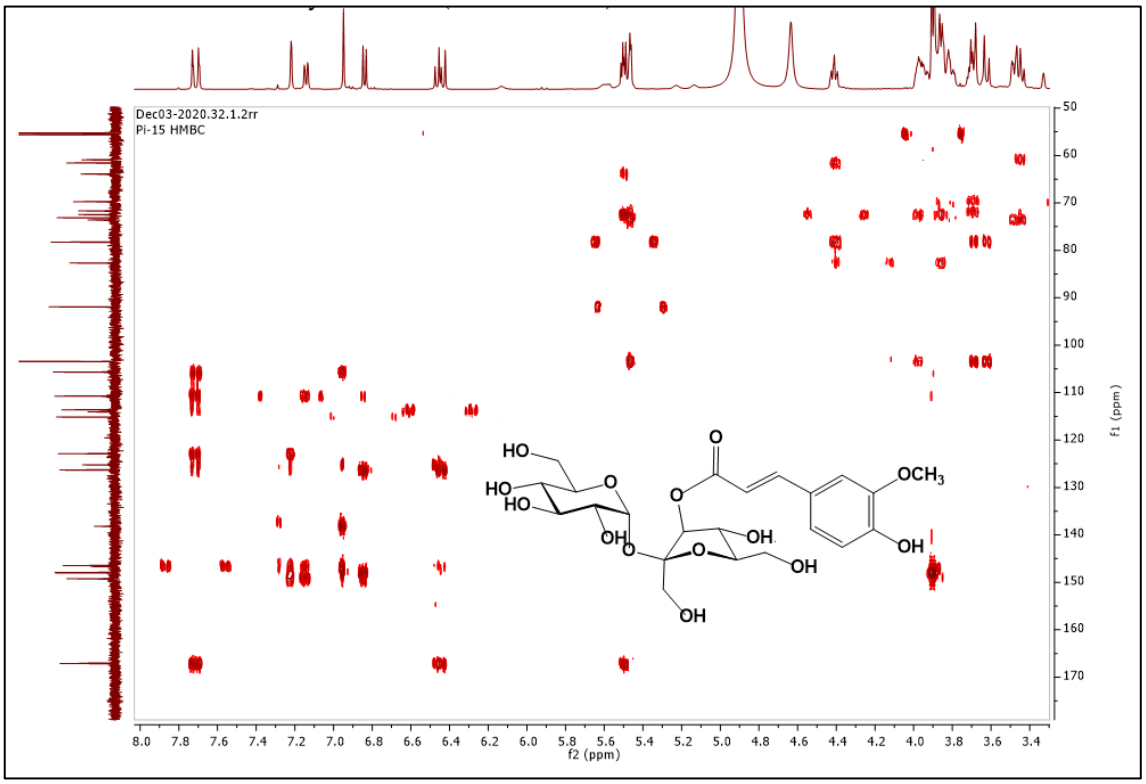
Şekil Ek 42 & 43. 3'-*O*-feruloil-sukroz (sibirikoz A5) (**Pi-15**) ^{13}C-NMR Spektrumu (125 MHz, CD3OD) (A) ve DEPT-135 Spektrumu (B)



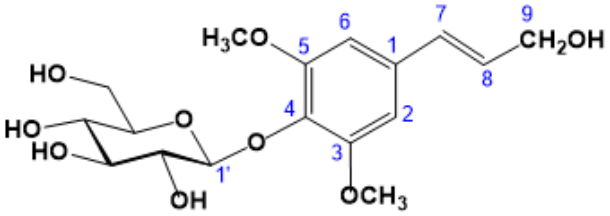
Şekil Ek 44. 3'-*O*-feruloil-sukroz (sibirikoz A5) (**Pi-15**) COSY Spektrumu



Şekil Ek 45. 3'-*O*-feruloil-sukroz (sibirikoz A5) (**Pi-15**) HSQC Spektrumu Spektrumu

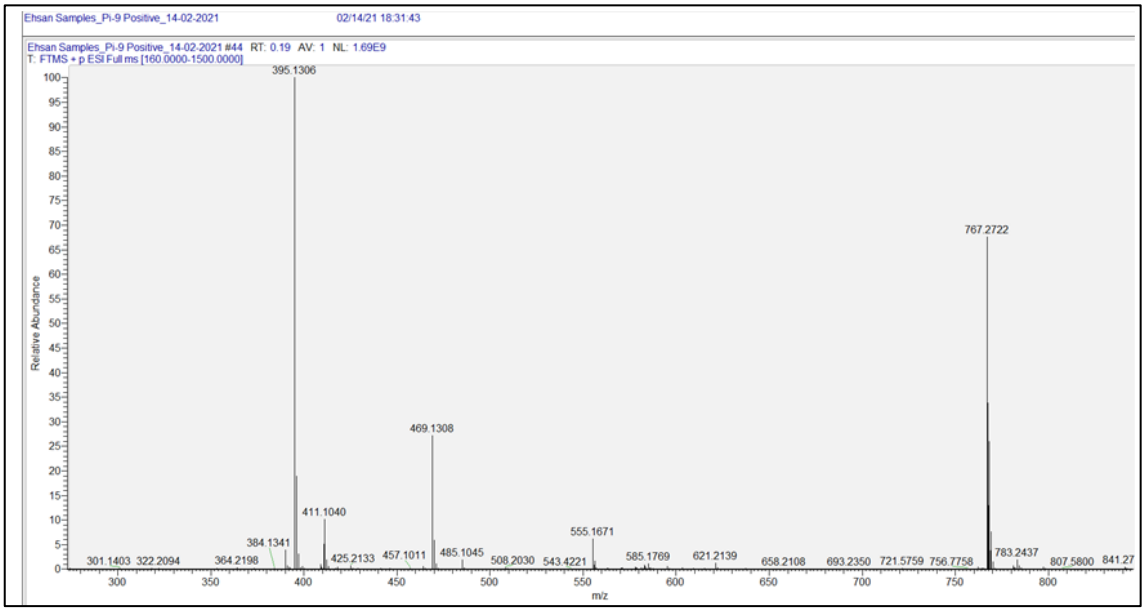


Şekil Ek 46. 3'-*O*-feruloil-sukroz (sibirikoz A5) (**Pi-15**) HMBC Spektrumu Spektrumu

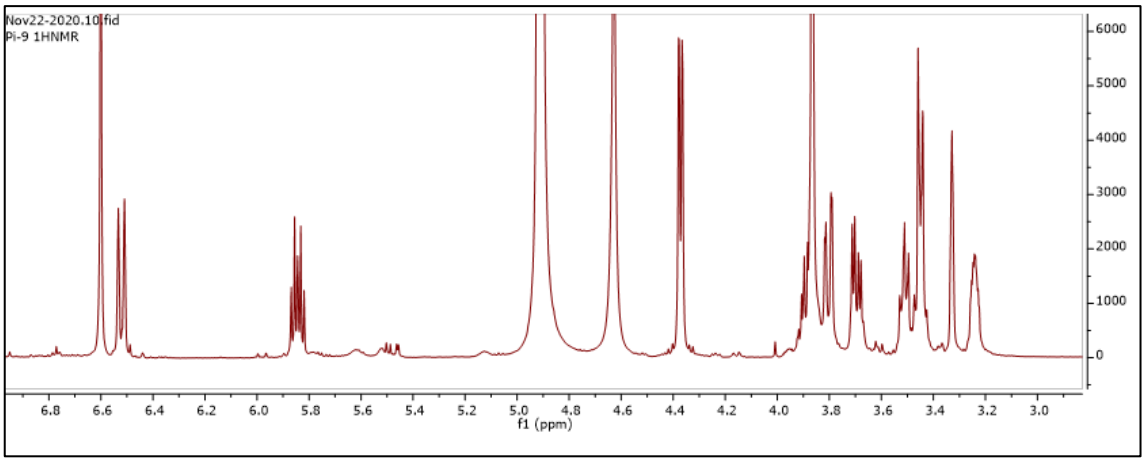


Exact Mass: 372,1420

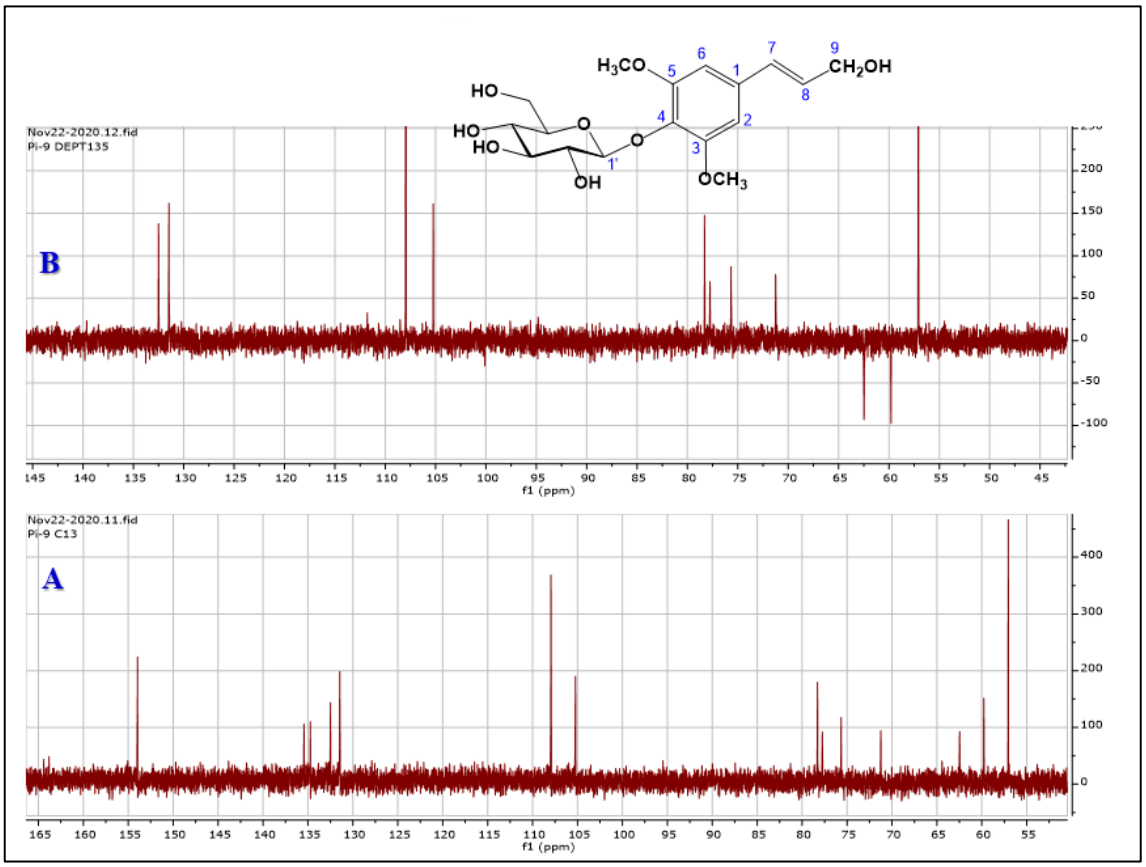
Şekil Ek 47. Sinapil alkol 4-*O*-glukozit (syringin veya eleutheroside B) (**Pi-9**)



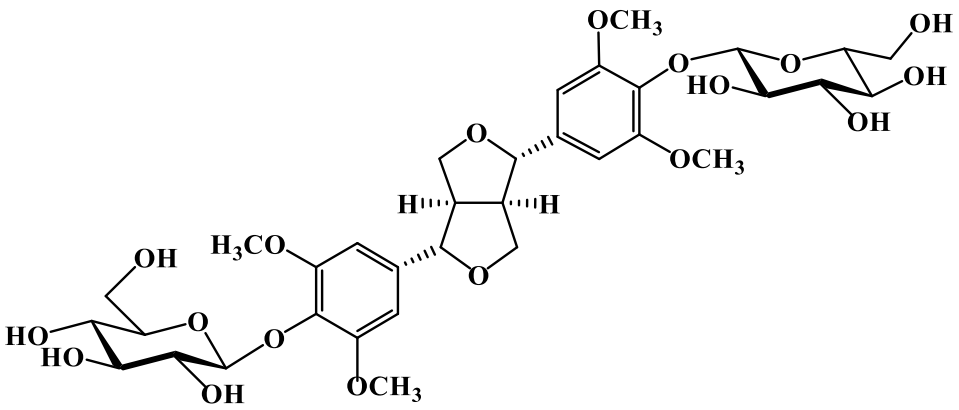
Şekil Ek 48. Sinapil alkol 4-*O*-glukozit (syringin veya eleutheroside B) (**Pi-9**) (+) HRMS Spektrumu



Şekil Ek 49. Sinapil alkol 4-*O*-glukozit (syringin veya eleutheroside B) (**Pi-9**) ^{1}H-NMR Spektrumu (500 MHz, CD_3OD)

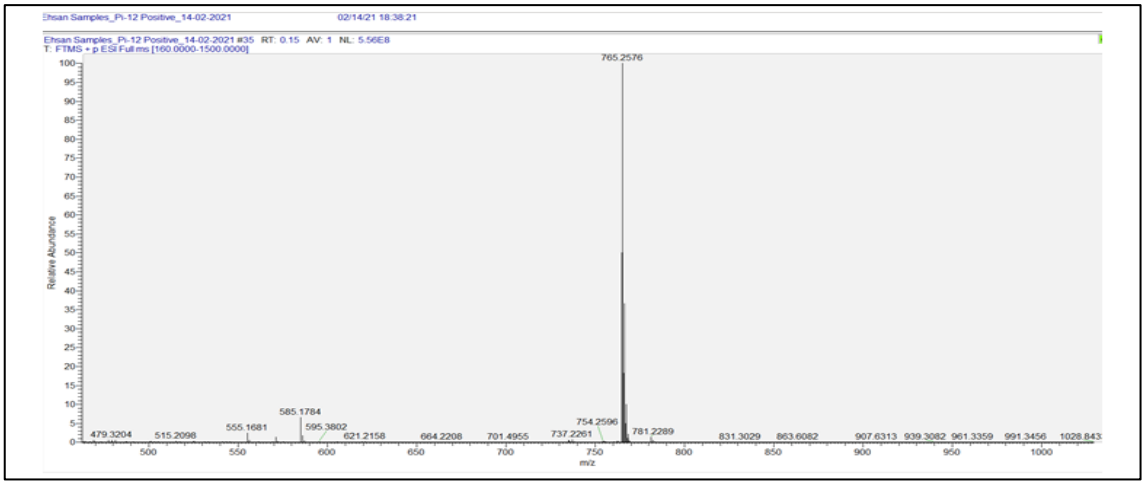


Şekil Ek 50 & 51. Sinapil alkol 4-*O*-glukozit (syringin veya eleutheroside B) (**Pi-9**) ^{13}C-NMR Spektrumu (125 MHz, CD_3OD) (A) ve DEPT-135 Spektrumu (B)

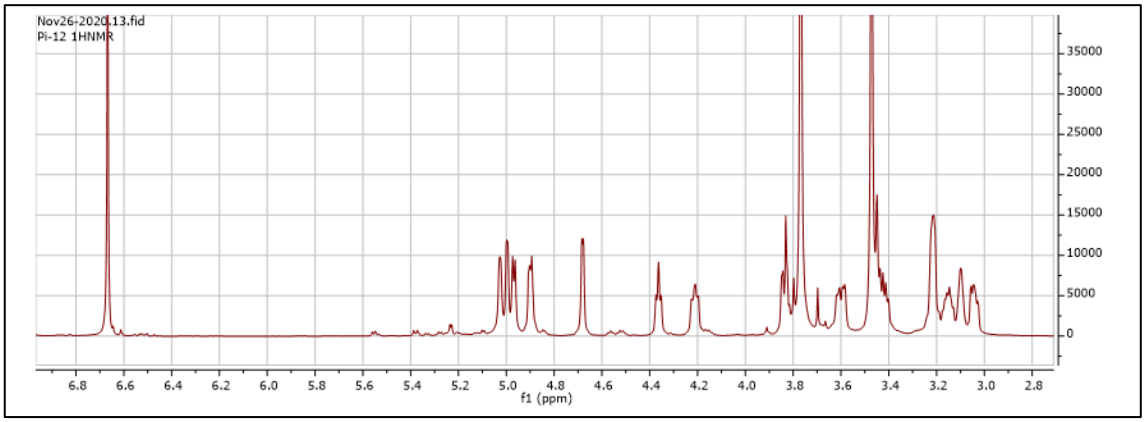


Exact Mass: 742,2684

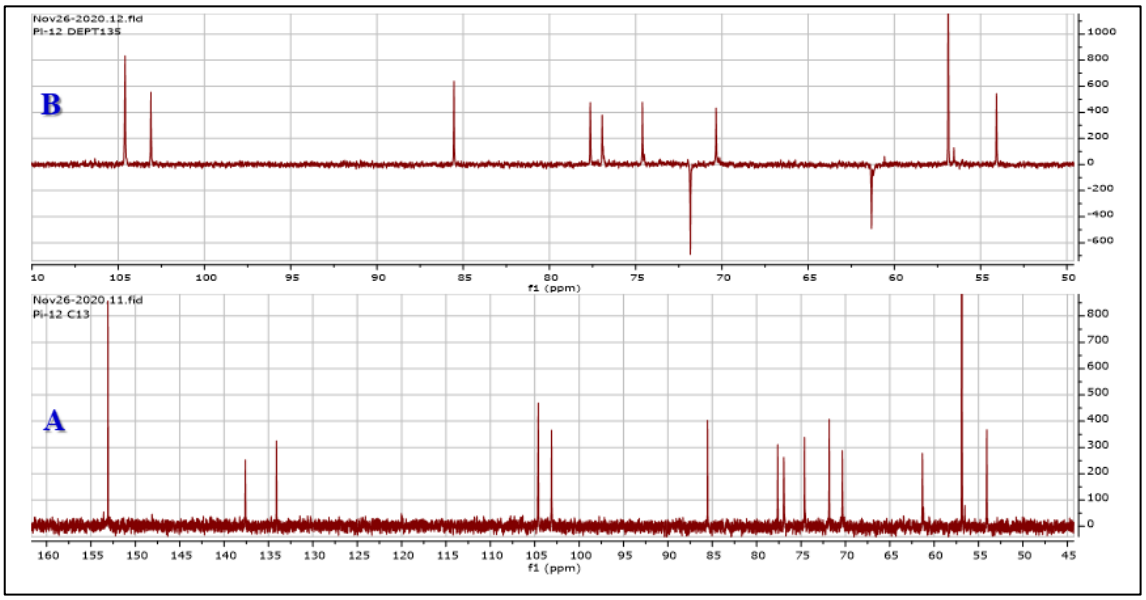
Şekil Ek 52. Liriodendrin (**Pi-12**)



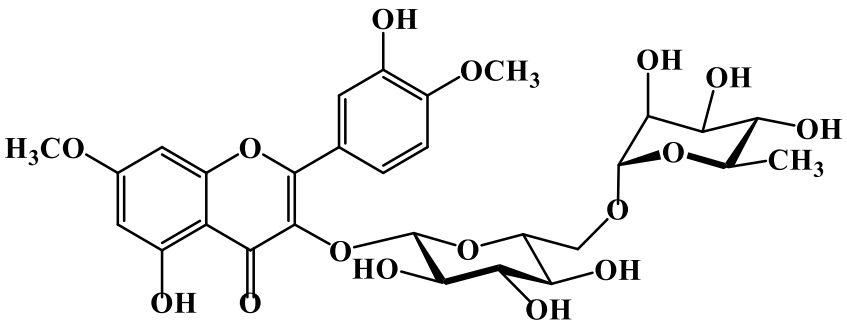
Şekil Ek 53. liriodendrin (**Pi-12**) (+) HRMS Spektrumu



Şekil Ek 54. Liriodendrin (**Pi-12**) ^{1}H-NMR Spektrumu (500 MHz, CD3OD)

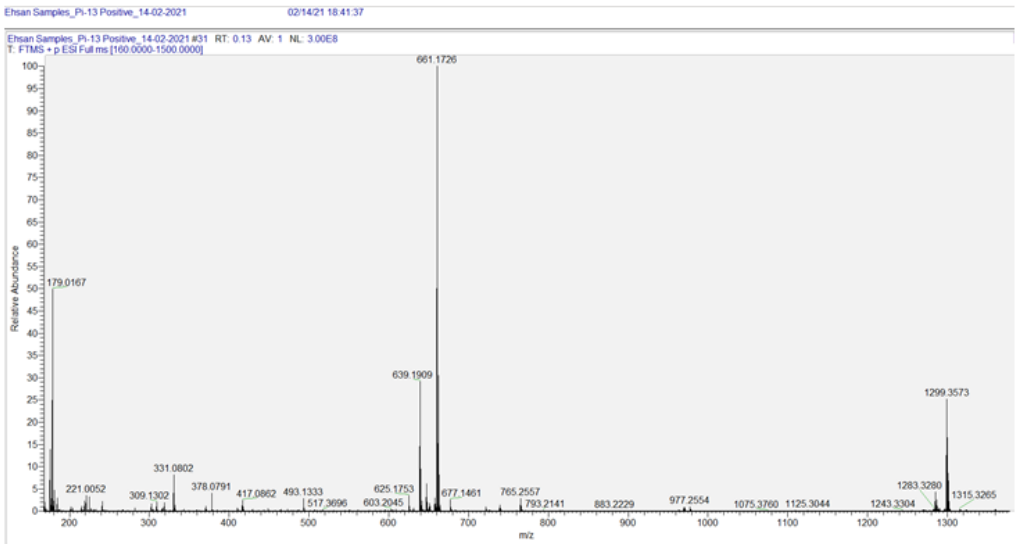


Şekil Ek 55 & 56. Liriodendrin (**Pi-12**) ^{13}C-NMR Spektrumu (125 MHz, CD3OD) (A)ve DEPT-135 Spektrumu (B)

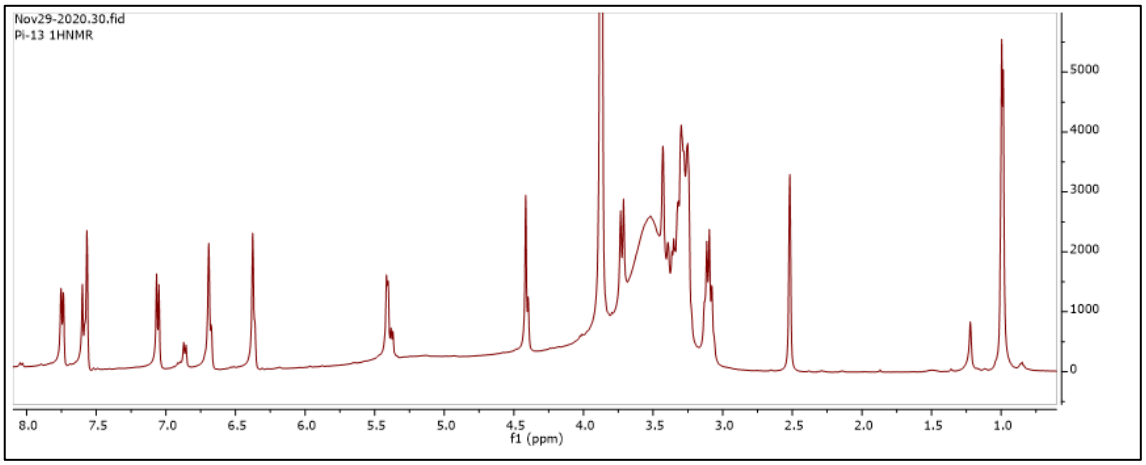


Exact Mass: 638,1847

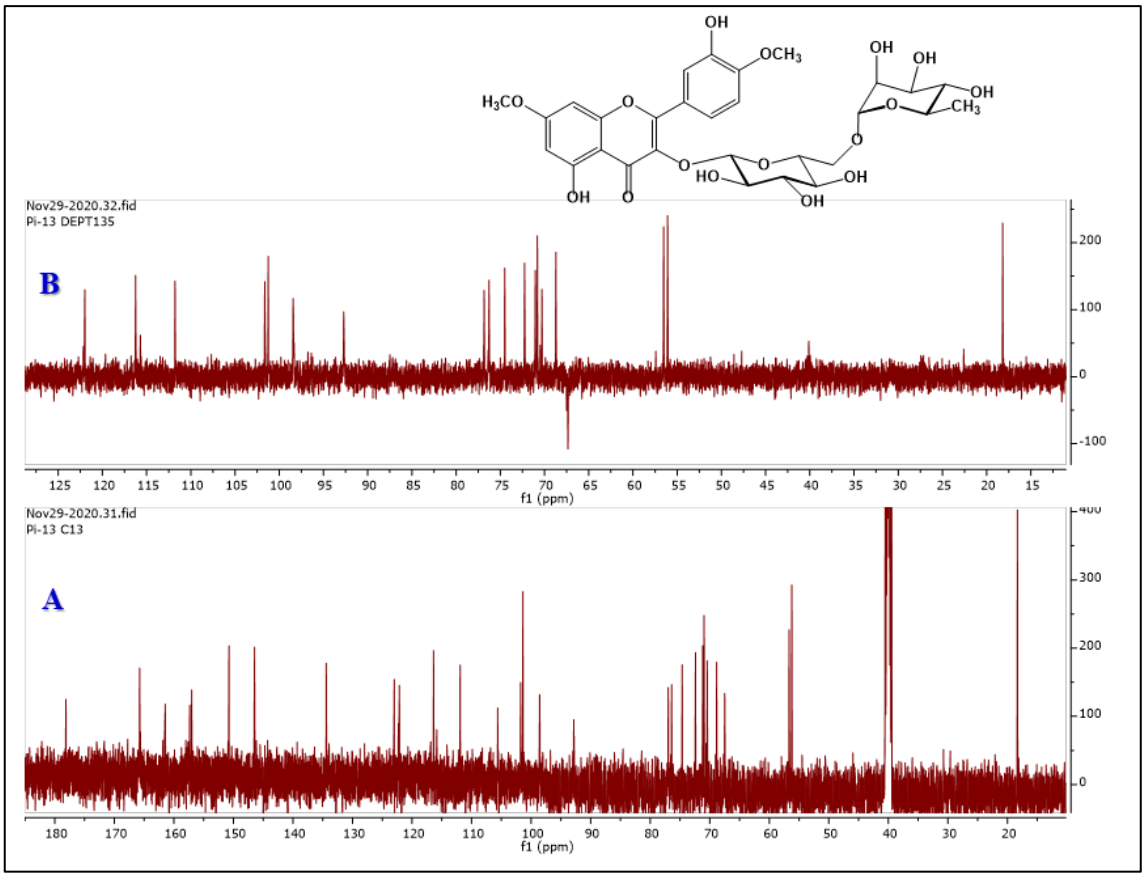
Şekil Ek 57. 7,4'-di-*O*-metilkuersetin-3-*O*-β-rutinosit (ombuin 3-O-rutinosit veya ombuosid) (**Pi-13 - Pi-16)**



Şekil Ek 58. 7,4'-di-*O*-metilkuersetin-3-*O*-β-rutinosit (ombuin 3-O-rutinosit veya ombuosid) (**Pi-13 - Pi-16**) (+) HRMS Spektrumu



Şekil Ek 59. 7,4'-di-*O*-metilkuersetin-3-*O*-β-rutinosit (ombuin 3-O-rutinosit veya ombuosid) (**Pi-13 - Pi-16**) ^{1}H-NMR Spektrumu (500 MHz, CD_3OD)



Şekil Ek 60 & 61. 7,4'-di-*O*-metilkuersetin-3-*O*-β-rutinosit (ombuin 3-O-rutinosit veya ombuosid) (**Pi-13 - Pi-16**) ^{13}C-NMR Spektrumu (A) ve DEPT-135 Spektrumu (B)

***P. azizsancarii* taksonuna ait ek spektrum listesi:**

Şekil Ek 62. Sancaroside A'nın (**AZ-7**) yapısı

Şekil Ek 63. Sancaroside A'nın (**AZ-7**) negatif iyon HRMS Spekrumu

Şekil Ek 64. Sancaroside A'nın (**AZ-7**) pozitif iyon HRMS Spekrumu

Şekil Ek 65. Sancaroside A'nın (**AZ-7**) FT-IR Spekrumu

Şekil Ek 66. Sancaroside A'nın (**AZ-7**) ^{1}H NMR Spektrumu

Şekil Ek 67. Sancaroside A'nın (**AZ-7**) ^{13}C NMR Spekrumu (**A**) ve DEPT-135 Spekrtumu (**B**)

Şekil Ek 68. Sancaroside A'nın (**AZ-7**) COSY Spektrumu

Şekil Ek 69. Sancaroside A'nın (**AZ-7**) HSQC Spektrumu

Şekil Ek 70. Sancaroside A'nın (**AZ-7**) HMBC Spektrumu

Şekil Ek 71. Sancaroside A'nın (**AZ-7**) NOESY Spektrumu

Şekil Ek 72. Sancaroside B'nin (**AZ-2**) yapısı

Şekil Ek 73. Sancaroside B'nin (**AZ-2**) negatif (**A**) ve pozitif iyon (**B**) HRMS Spektrumu

Şekil Ek 74. Sancaroside B'nin (**AZ-2**) ^{1}H NMR Spektrumu

Şekil Ek 75. Sancaroside B'nin (**AZ-2**) ^{13}C NMR Spektrumu (**A**) ve DEPT-135 Spektrumu (**B**)

Şekil Ek 76. Sancaroside B'nin (**AZ-2**) COSY Spektrumu

Şekil Ek 77. Sancaroside B'nin (**AZ-2**) HSQC Spektrumu

Şekil Ek 78. Sancaroside B'nin (**AZ-2**) HMBC Spektrumu

Şekil Ek 79. Sancaroside B'nin (**AZ-2**) NOESY Spektrumu

Şekil Ek 80. 1,3,6-trihidroksi-2,5,7-trimetoksiksantonun yapısı (**AZ-3**)

Şekil Ek 81. 1,3,6-trihidroksi-2,5,7-trimetoksiksantonun (**AZ-3**) negatif ve pozitif iyon HRMS Spektrumu

Şekil Ek 82. 1,3,6-trihidroksi-2,5,7-trimetoksiksantonun (**AZ-3**) FT-IR Spektrumu

Şekil Ek 83. 1,3,6-trihidroksi-2,5,7-trimetoksiksantonun (**AZ-3**) ^{1}H NMR Spektrumu

Şekil Ek 84. 1,3,6-trihidroksi-2,5,7-trimetoksiksantonun (**AZ-3**) ^{13}C NMR Speektrumu (**A**) ve DEPT-135 (**B**) Spektrumu

Şekil Ek 85. 1,3,6-trihidroksi-2,5,7-trimetoksiksantonun (**AZ-3**) COSY Spektrumu

Şekil Ek 86. 1,3,6-trihidroksi-2,5,7-trimetoksiksantonun (**AZ-3**) HSQC Spektrumu

Şekil Ek 87. 1,3,6-trihidroksi-2,5,7-trimetoksiksantonun (**AZ-3**) HMBC Spektrumu

Şekil Ek 88. 1,3,6-trihidroksi-2,5,7-trimetoksiksantonun (**AZ-3**) NOESY Spektrumu

Şekil Ek 89. 1,3,6-trihidroksi-2,7-dimetoksiksantonun yapısı (**AZ-11**)

Şekil Ek 90. 1,3,6-trihidroksi-2,7-dimetoksiksantonun (**AZ-11**) negatif ve pozitif iyon HRMS Spektrumu

Şekil Ek 91. 1,3,6-trihidroksi-2,7-dimetoksiksantonun (**AZ-11**) FT-IR Spektrumu

Şekil Ek 92. 1,3,6-trihidroksi-2,7-dimetoksiksantonun (**AZ-11)** ^{1}H NMR Spektrumu

Şekil Ek 93. 1,3,6-trihidroksi-2,7-dimetoksiksantonun (**AZ-11**) ^{13}C NMR Spektrumu (**A**) ve DEPT 135 Spektrumu (**B**)

Şekil Ek 94. 1,3,6-trihidroksi-2,7-dimetoksiksantonun (**AZ-11**) COSY Spektrumu

Şekil Ek 95. 1,3,6-trihidroksi-2,7-dimetoksiksantonun (**AZ-11**) HSQC Spektrumu

Şekil Ek 96. 1,3,6-trihidroksi-2,7-dimetoksiksantonun (**AZ-11**) HMBC Spektrumu

Şekil Ek 97. 1,3,6-trihidroksi-2,7-dimetoksiksantonun (**Az-11**) HSQC Spektrumu

Şekil Ek 98. 1,2,3,4,7-pentametoksiksantonun yapısı (**AZ-12**)

Şekil Ek 99. 1,2,3,4,7-pentametoksiksantonun (**AZ-12**) pozitif iyon HRMS Spektrumu

Şekil Ek 100. 1,2,3,4,7-pentametoksiksantonun (**AZ-12**) ^{1}H NMR Spektrumu.

Şekil Ek 101 A & B. 1,2,3,4,7-pentametoksiksantonun (**AZ-12**) ^{13}C NMR Spektrumu (**A**) ve DEPT-135 (**B**) Spektrumu

Şekil Ek 102. 1,2,3,4,7-pentametoksiksantonun (**AZ-12**) COSY Spektrumu

Şekil Ek 103. 1,2,3,4,7-pentametoksiksantonun (**AZ-12**) HSQC Spektrumu

Şekil Ek 104. 1,2,3,4,7-pentametoksiksantonun (**AZ-12**) HMBC Spektrumu

Şekil Ek 105. 1,2,3,4,7-pentametoksiksantonun (**AZ-12**) NOESY Spektrumu

Şekil Ek 106. 1,3-dihidroksi-2,5,6,7-trimetoksiksanton (**AZ-13 Majör**) ve 1,3-dihidroksi-4,7-dimetoksiksanton (**AZ-13 minör**) yapıları

Şekil Ek 107. 1,3-dihidroksi-2,5,6,7-trimetoksiksanton (**AZ-13 Majör**) (**A**) ve 1,3-dihidroksi-4,7-dimetoksiksanton (**AZ-13 minör**) (**B**) karışımının negatif iyon HRMS Spektrumu

Şekil Ek 108. 1,3-dihidroksi-2,5,6,7-trimetoksiksanton (**AZ-13 majör**) ve 1,3-dihidroksi-4,7-dimetoksiksanton (**AZ-13 minör**) karışımının ^{1}H NMR Spektrumu

Şekil Ek 109 A & B. 1,3-dihidroksi-2,5,6,7-trimetoksiksanton (**AZ-13 majör**) (**A**) ve 1,3-dihidroksi-4,7-dimetoksiksanton (**AZ-13 minör**) (**B**) karışımının ^{13}C NMR Spektrumu (**A**) ve DEPT-135 (**B**) Spektrumu

Şekil Ek 110. 1,3-dihidroksi-2,5,6,7-trimetoksiksanton (**AZ-13 Majör**) ve 1,3-dihidroksi-4,7-dimetoksiksanton (**AZ-13 minör**) karışımının COSY Spektrumu

Şekil Ek 111. 1,3-dihidroksi-2,5,6,7-trimetoksiksanton (**AZ-13 majör**) ve 1,3-dihidroksi-4,7-dimetoksiksanton (**Az-13 minör**) karışımının HSQC Spektrumu

Şekil Ek 112. 1,3-dihidroksi-2,5,6,7-trimetoksiksanton (**AZ-13 Majör**) ve 1,3-dihidroksi-4,7-dimetoksiksanton (**AZ-13 minör**) karışımının HMBC Spektrumu

Şekil Ek 113. 1,7-dihidroksi-3-metoksiksantonun yapısı (**AZ-14**)

Şekil Ek 114. 1,7-dihidroksi-3-metoksiksantonun (**AZ-14**) negative iyon HRMS Spektrumu

Şekil Ek 115. 1,7-dihidroksi-3-metoksiksantonun (**AZ-14**) ^{1}H NMR Spektrumu

Şekil Ek 116 A & B. 1,7-dihidroksi-3-metoksiksantonun (**AZ-14**) ^{13}C NMR Spektrumu (**A**) ve DEPT-135 Spektrumu (**B**)

Şekil Ek 117. 1,7-dihidroksi-3-metoksiksantonun (**AZ-14**) COSY Spektrumu

Şekil Ek 118. 1,7-dihidroksi-3-metoksiksantonun (**AZ-14**) HSQC Spektrumu

Şekil Ek 119. 1,7-dihidroksi-3-metoksiksantonun (**AZ-14**) HMBC Spektrumu

Şekil Ek 120. 1,7-dihidroksi-3-metoksiksantonun (**AZ-14**) NOESY Spektrumu

Şekil Ek 121. 1,7-dihidroksi-2,3-metilendioksi-ksantonun (**AZ-15**) yapısı

Şekil Ek 122. 1,7-dihidroksi-2,3-metilenoksi-ksantonunun (**AZ-15**) negatif iyon HRMS Spektrumu

Şekil Ek 123. 1,7-dihidroksi-2,3-metilenoksi-ksantonunun (**AZ-15**) ^{1}H NMR Spektrumu

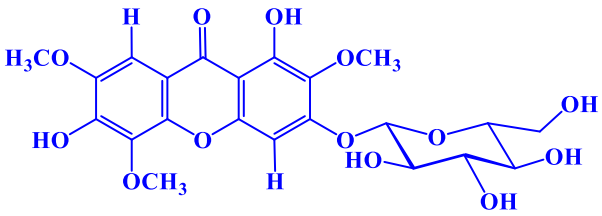
Şekil Ek 124 A & B. 1,7-dihidroksi-2,3-metilenoksi-ksantonunun (**AZ-15**) ^{13}C NMR Spektrumu (**A**) ve DEPT-135 Spektrumu (**B**)

Şekil Ek 125. 1,7-dihidroksi-2,3-metilenoksi-ksantonunun (**AZ-15**) COSY Spektrumu

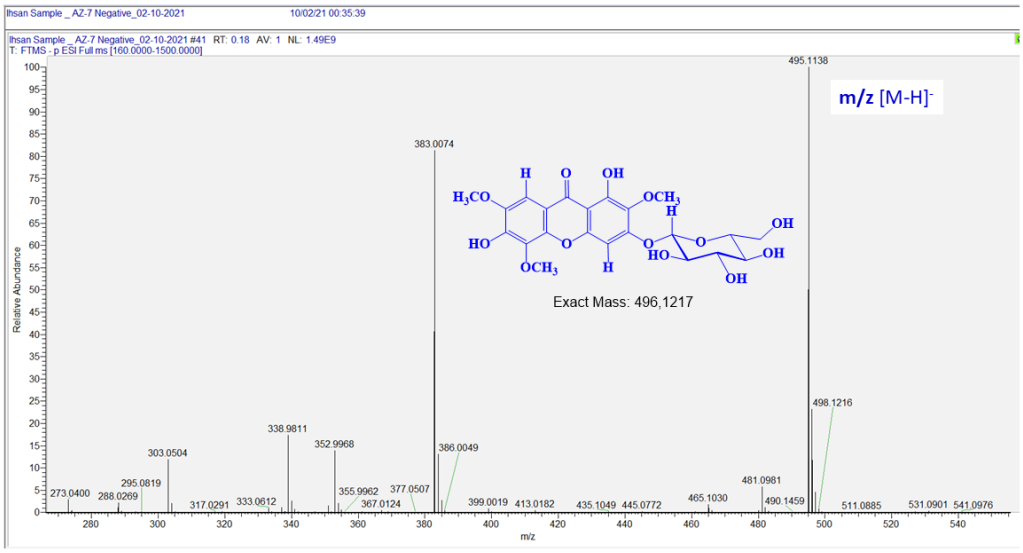
Şekil Ek 126. 1,7-dihidroksi-2,3-metilenoksi-ksantonunun (**AZ-15**) HSQC Spektrumu

Şekil Ek 127. 1,7-dihidroksi-2,3-metilenoksi-ksantonunun (**AZ-15**) HMBC Spektrumu

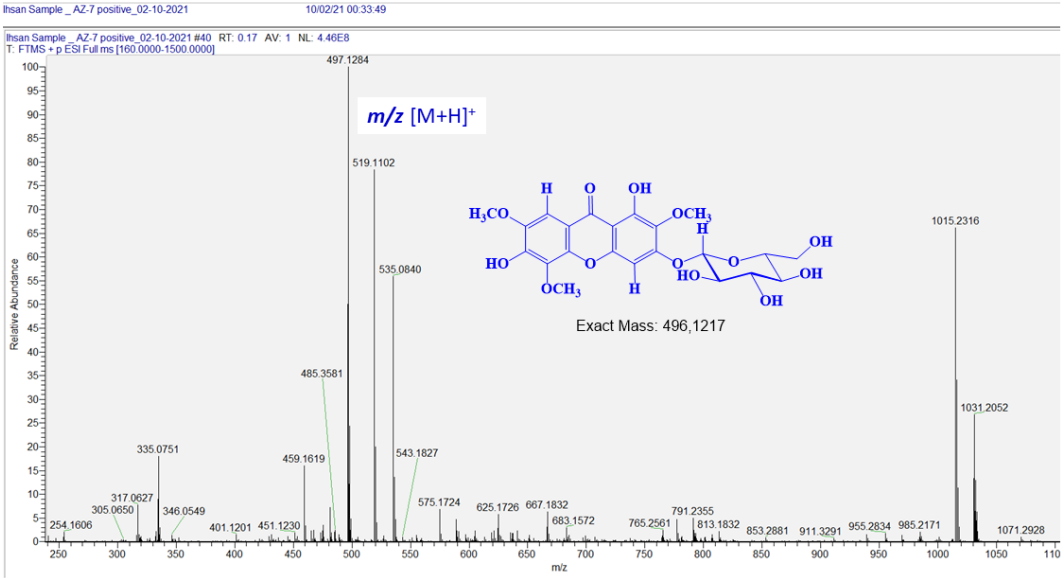
Şekil Ek 128. AZ-1 (A) ve AZ-2'nin (B) yer değiştirme ellipsoid grafiği



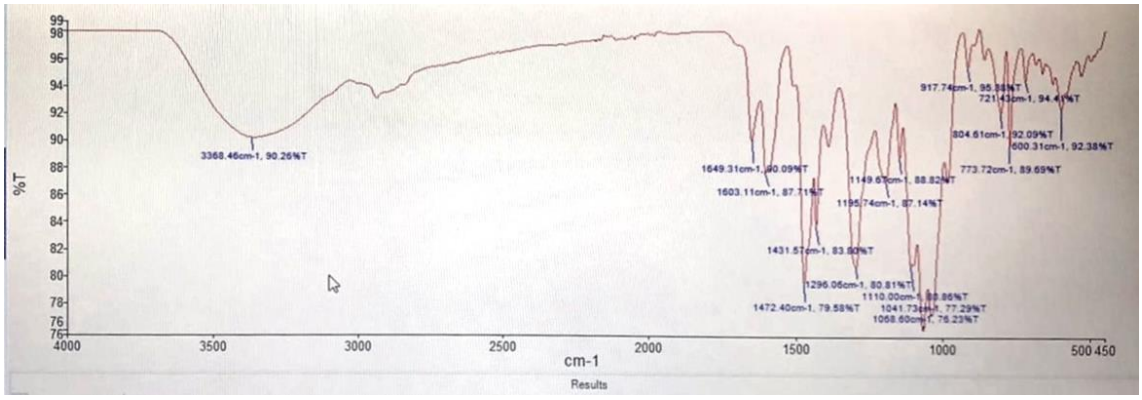
Şekil Ek 62. Sancaroside A'nın (**AZ-7**) yapısı 3-*O*-β-D-glukopiranoziloksi-1,6-dihidroksi-2,5,7-trimetoksiksanton



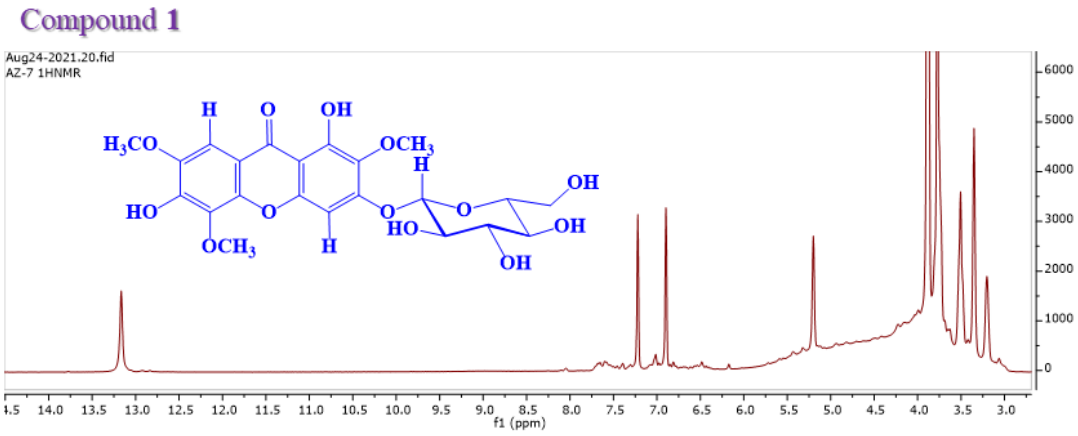
Şekil Ek 63. Sancaroside A'nın (**AZ-7**) negatif iyon HRMS Spekrumu



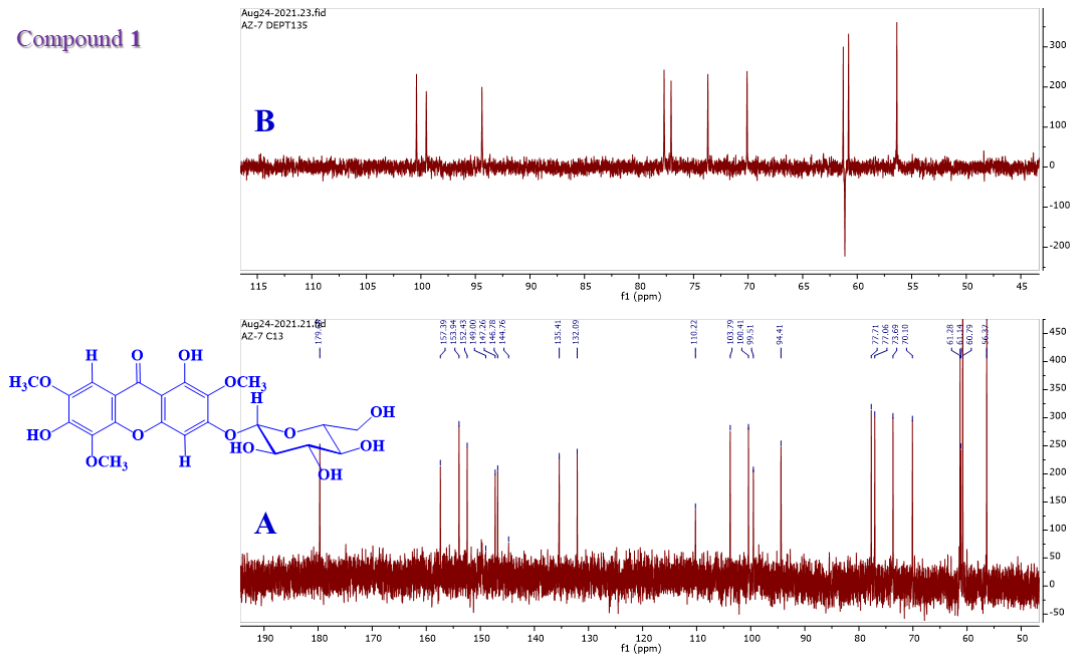
Şekil Ek 64. Sancaroside A'nın (**AZ-7**) pozitif iyon HRMS Spekrumu



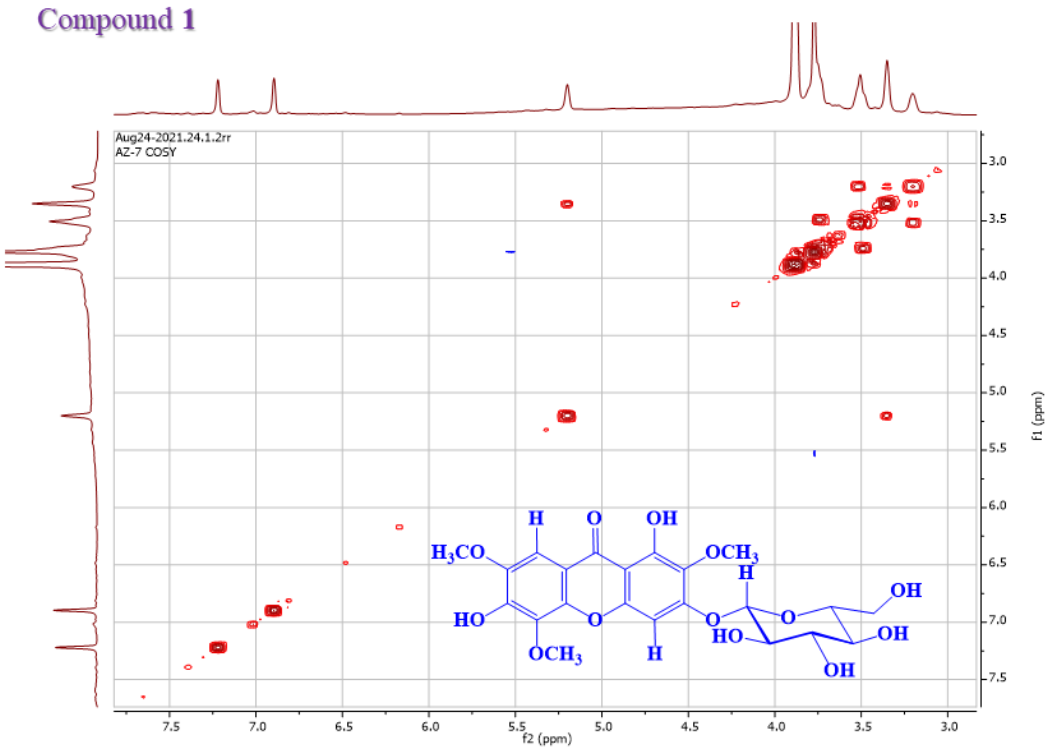
Şekil Ek 65. Sancaroside A'nın (**AZ-7**) FT-IR Spekrumu



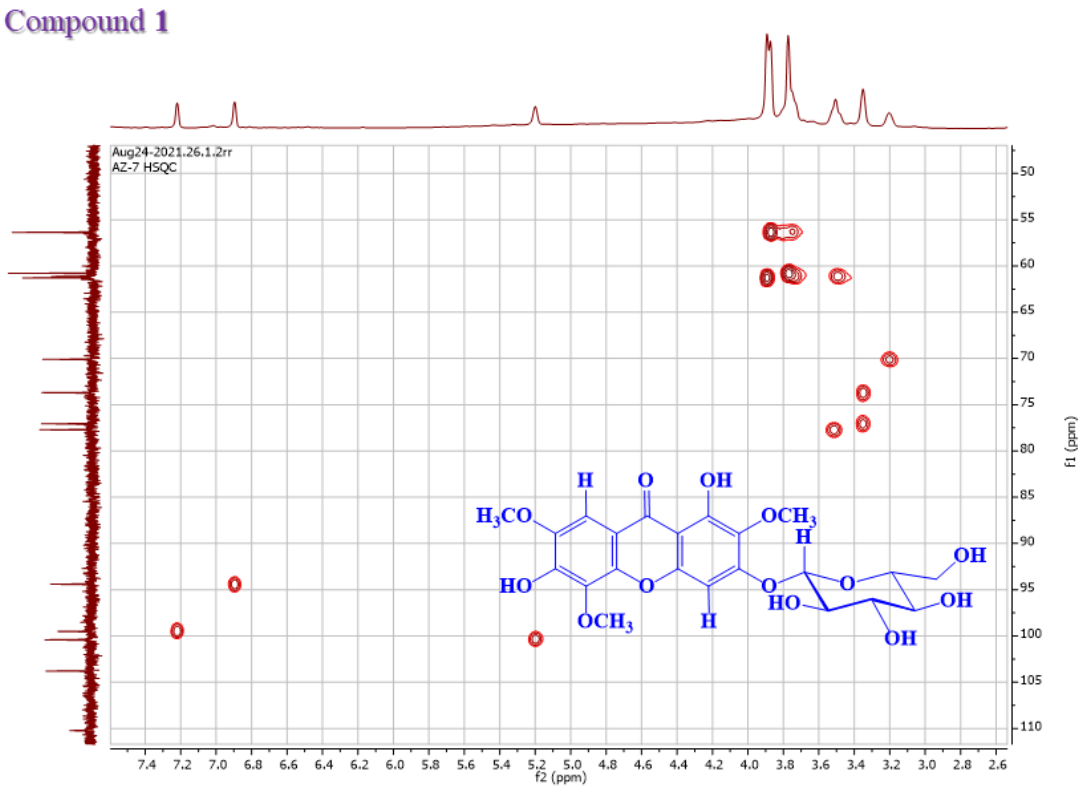
Şekil Ek 66. Sancaroside A'nın (**AZ-7**) ^{1}H NMR Spektrumu



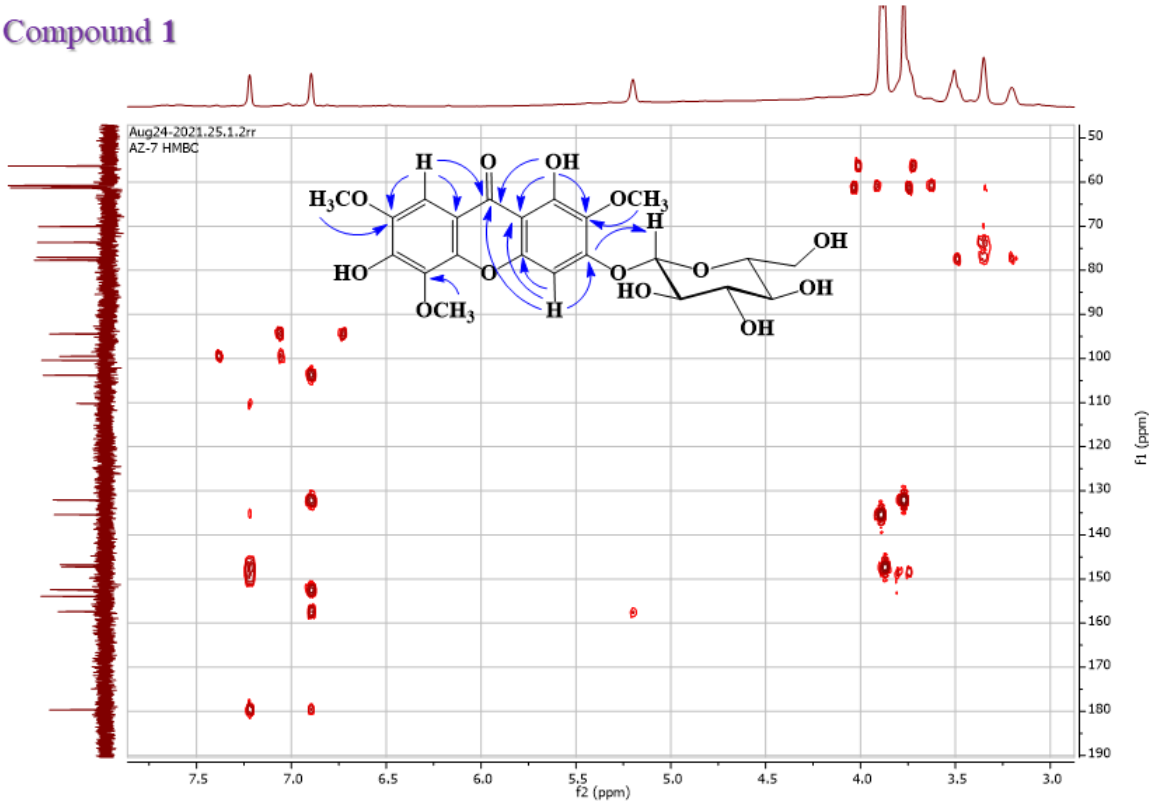
Şekil Ek 67. Sancaroside A'nın (**AZ-7**) ^{13}C NMR Spekrumu (**A**) ve DEPT-135 Spekrtumu (**B**)



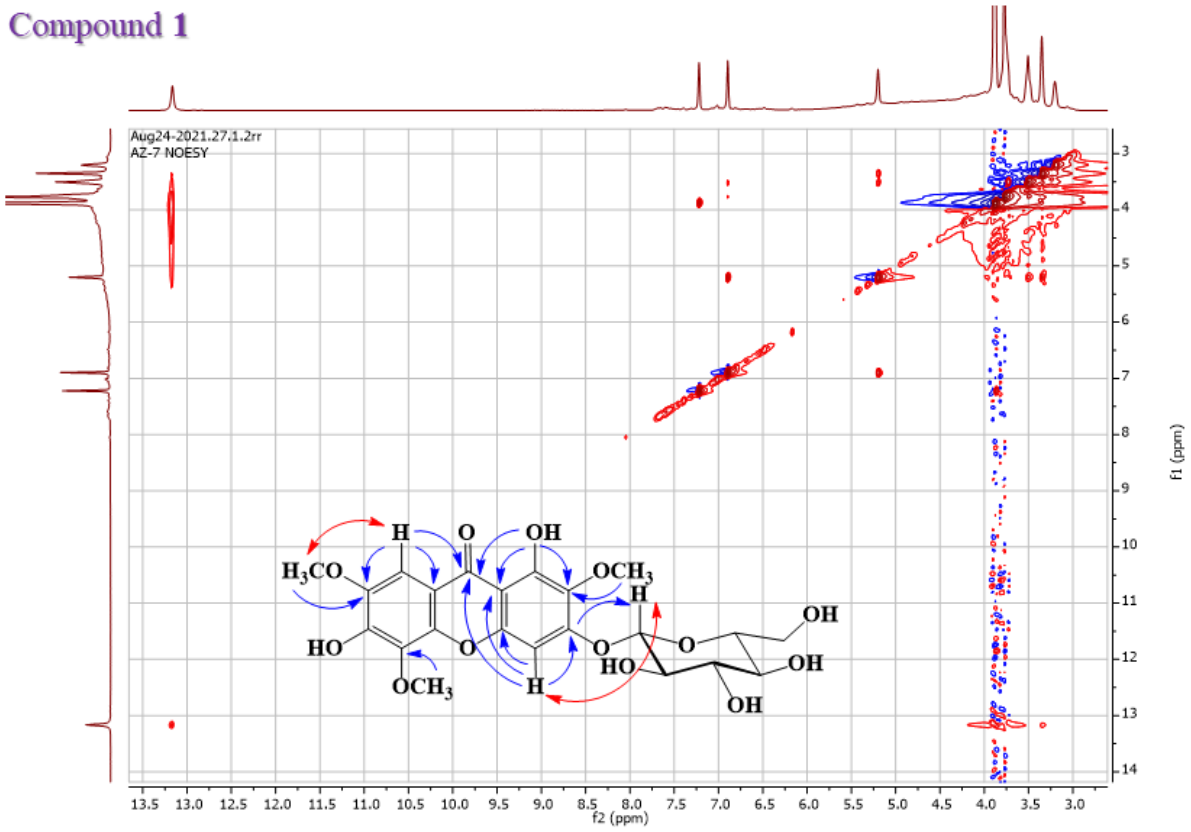
Şekil Ek 68. Sancaroside A'nın (**AZ-7**) COSY Spektrumu



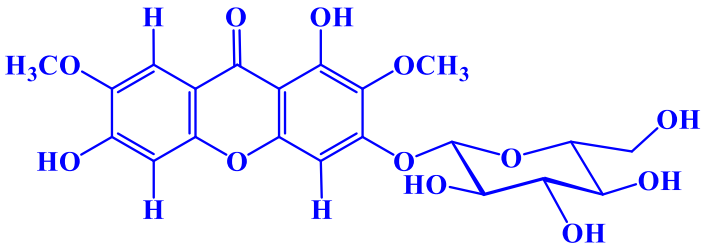
Şekil Ek 69. Sancaroside A'nın (**AZ-7**) HSQC Spektrumu



Şekil Ek 70. Sancaroside A'nın (**AZ-7**) HMBC Spektrumu

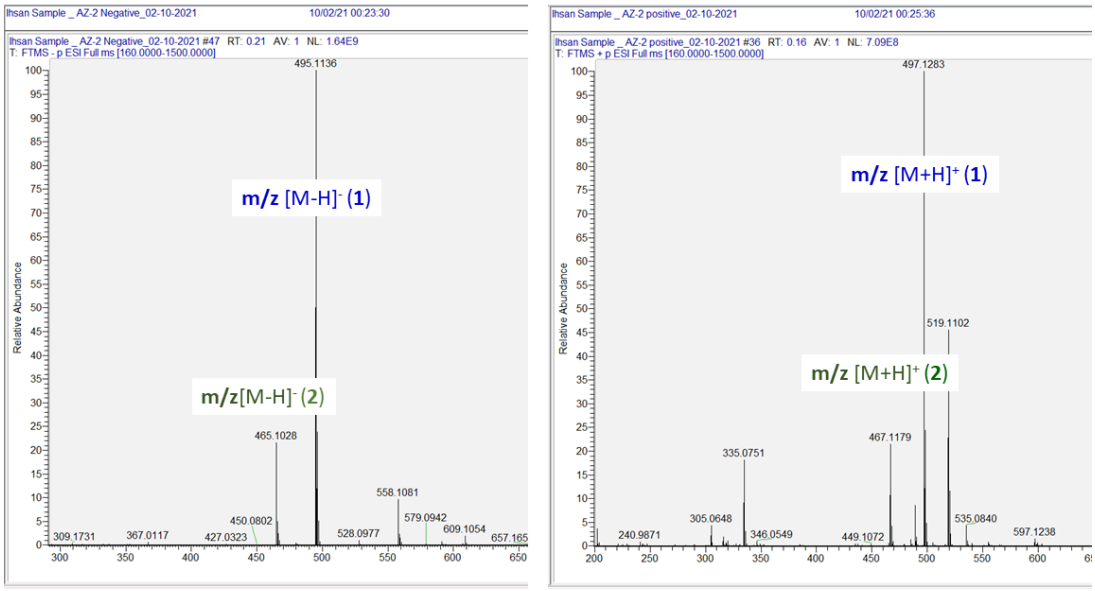


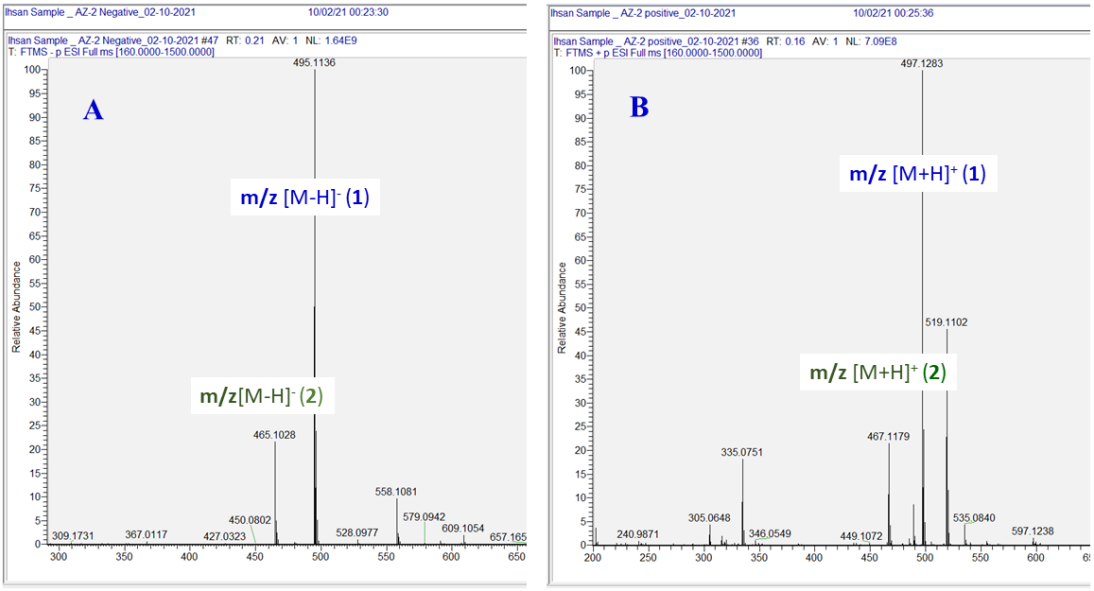
Şekil Ek 71. Sancaroside A'nın (**AZ-7**) NOESY Spektrumu



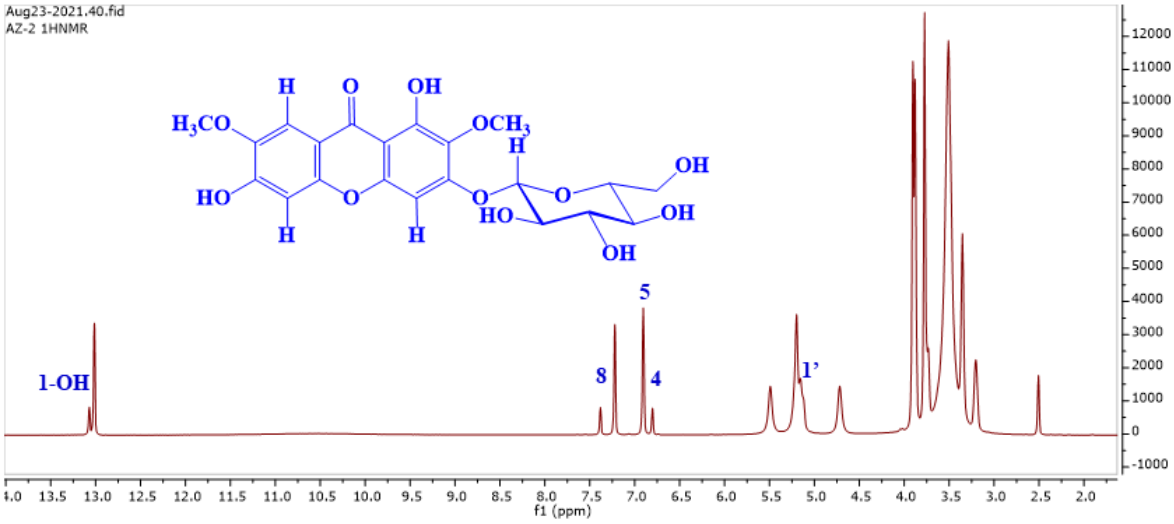
Exact Mass: 466,1111

Şekil Ek 72. Sancaroside B'nin (**AZ-2**) yapısı

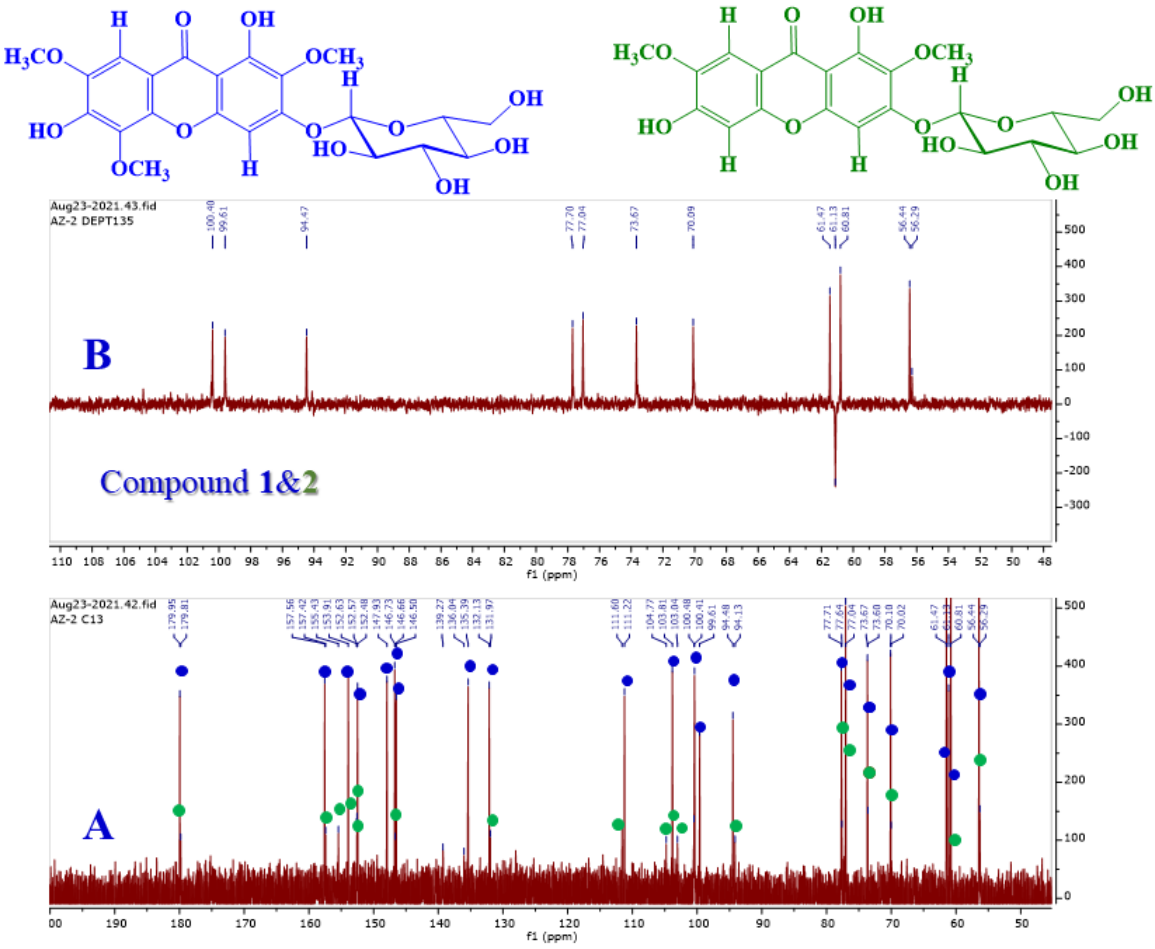




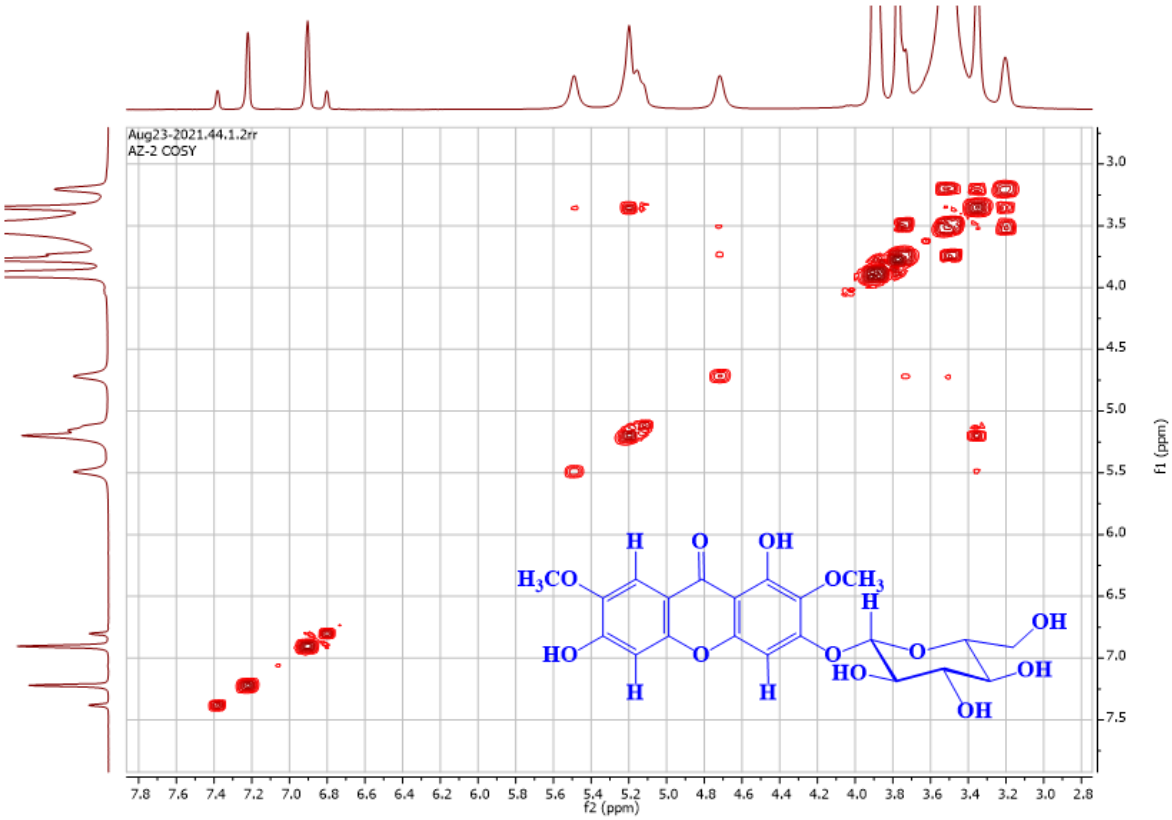
Şekil Ek 73. Sancaroside B'nin (**AZ-2**) negatif (**A**) ve pozitif iyon (**B**) HRMS Spektrumu



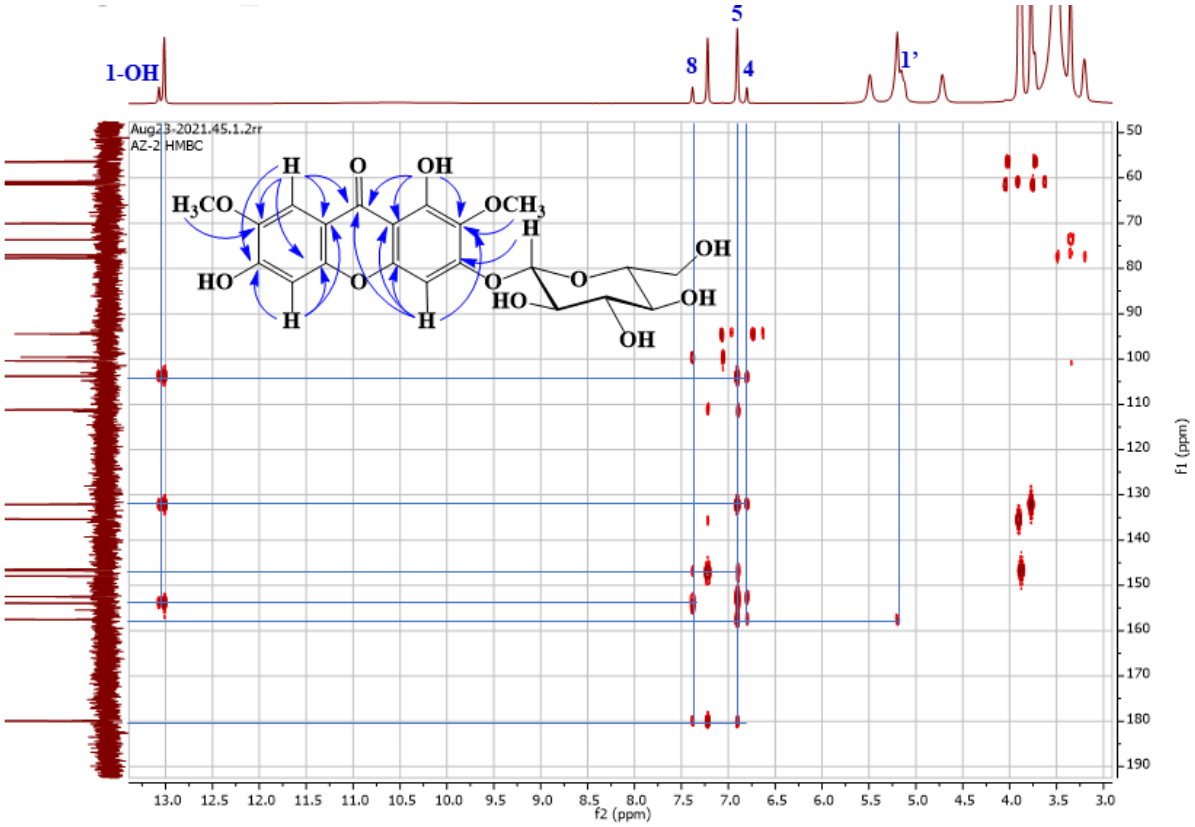
Şekil Ek 74. Sancaroside B'nin (**AZ-2**) ^{1}H NMR Spektrumu



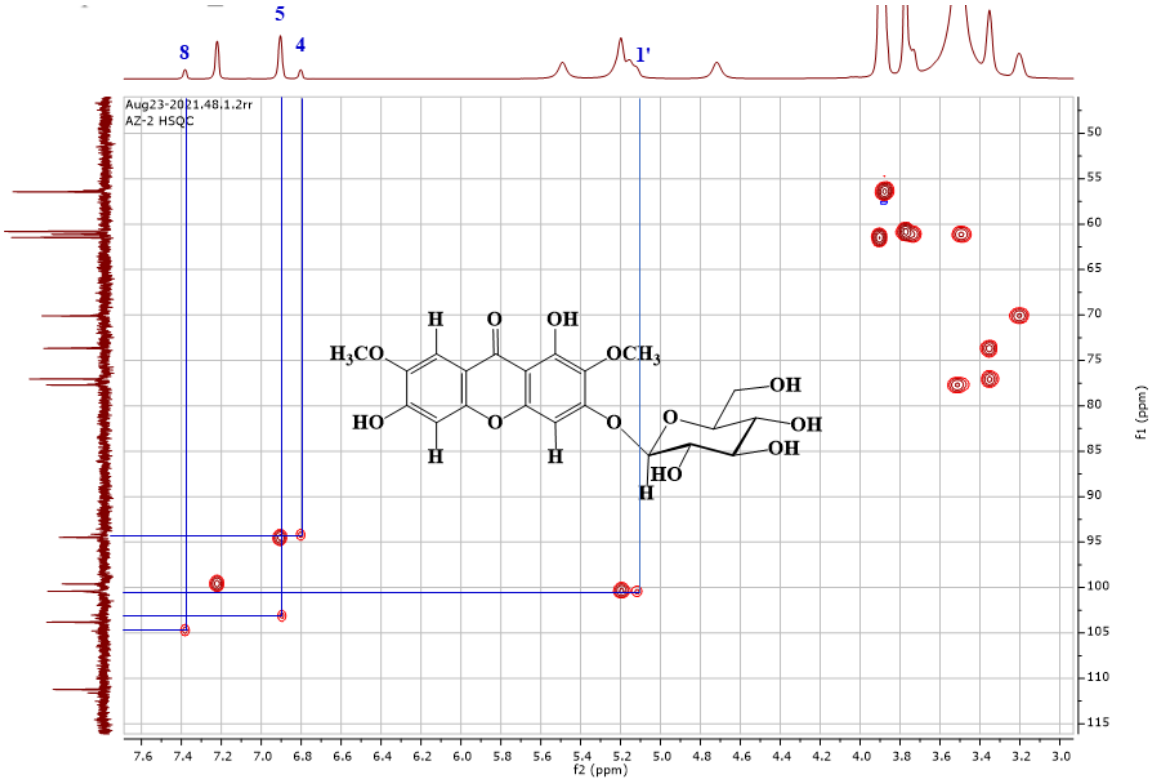
Şekil Ek 75. Sancaroside B'nin (**AZ-2**) ^{13}C NMR Spektrumu (**A**) ve DEPT-135 Spektrumu (**B**)



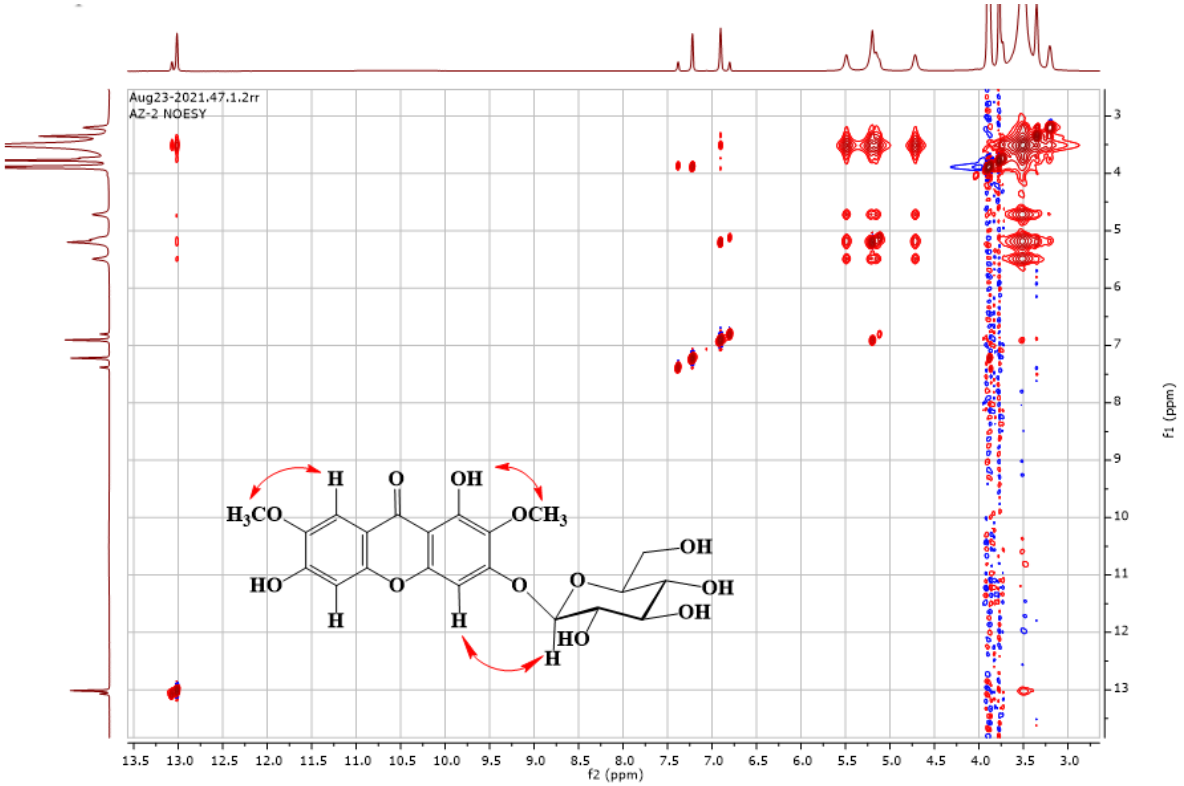
Şekil Ek 76. Sancaroside B'nin (**AZ-2**) COSY Spektrumu .



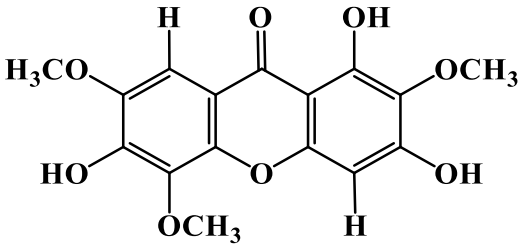
Şekil Ek 77. Sancaroside B'nin (**AZ-2**) HSQC Spektrumu.



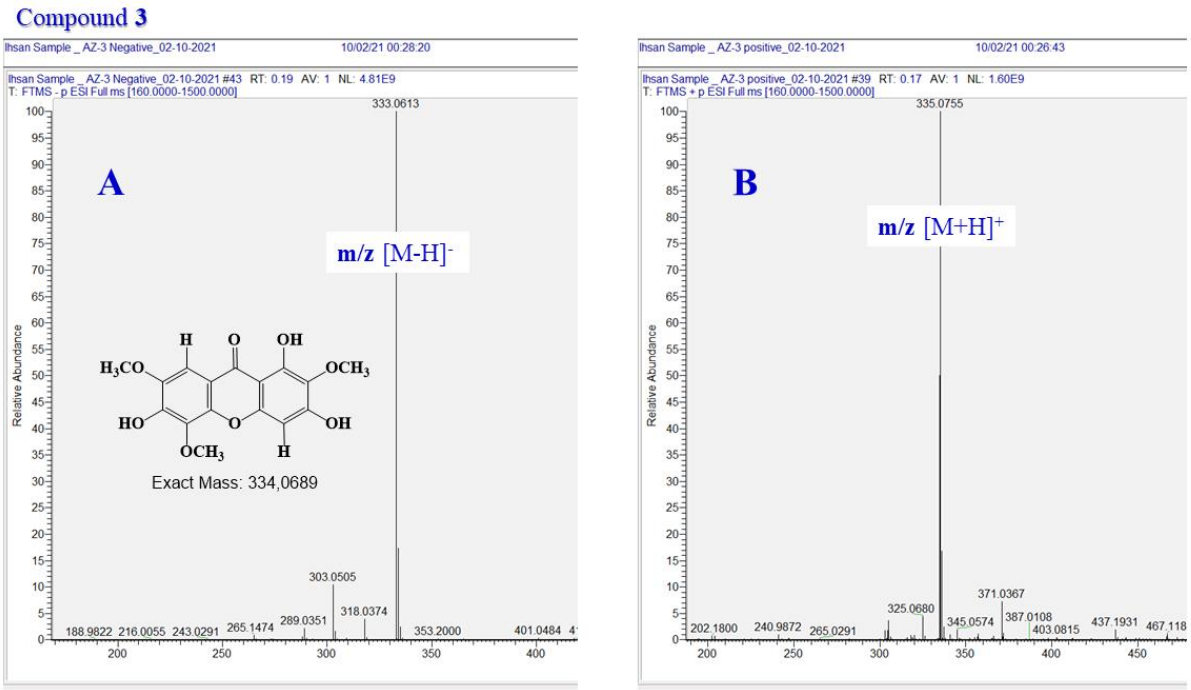
Şekil Ek 78. Sancaroside B'nin (**AZ-2**) HMBC Spektrumu.



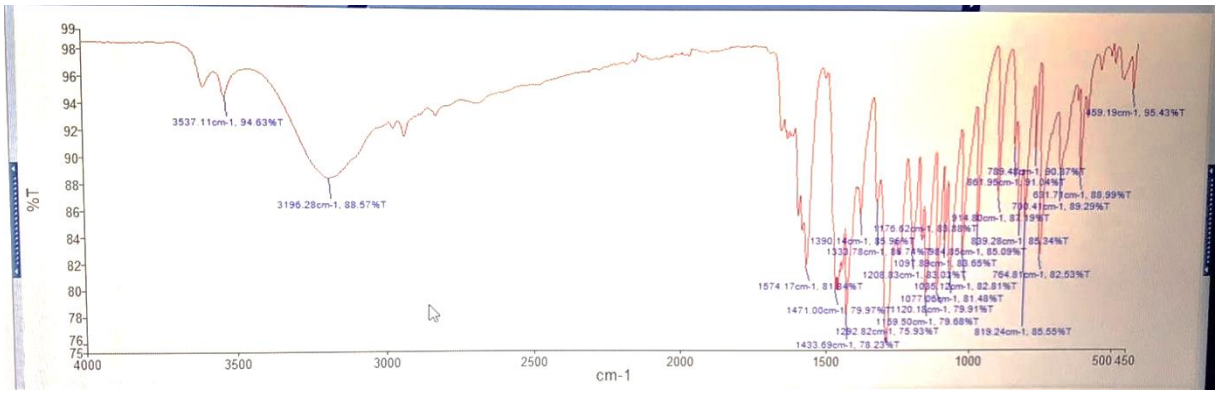
Şekil Ek 79. Sancaroside B'nin (**AZ-2**) NOESY Spektrumu.



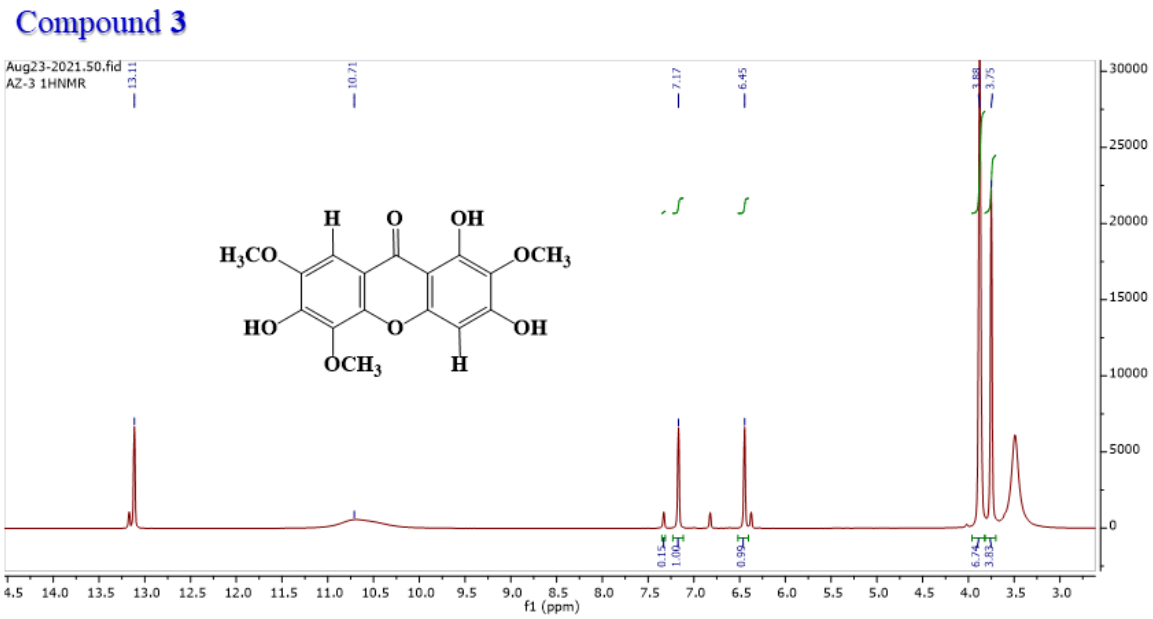
Şekil Ek 80. 1,3,6-trihidroksi-2,5,7-trimetoksiksantonun yapısı (**AZ-3**).



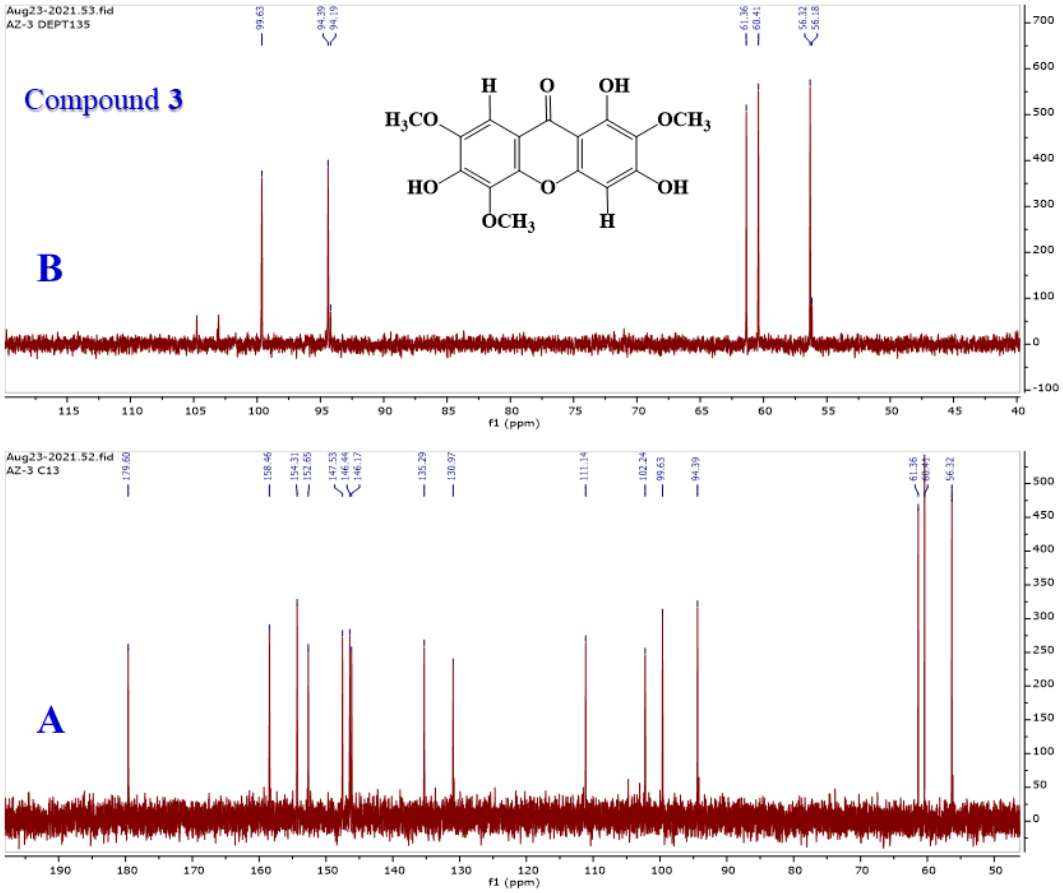
Şekil Ek 81. 1,3,6-trihidroksi-2,5,7-trimetoksiksantonun (**AZ-3**) negatif ve pozitif iyon HRMS Spektrumu.



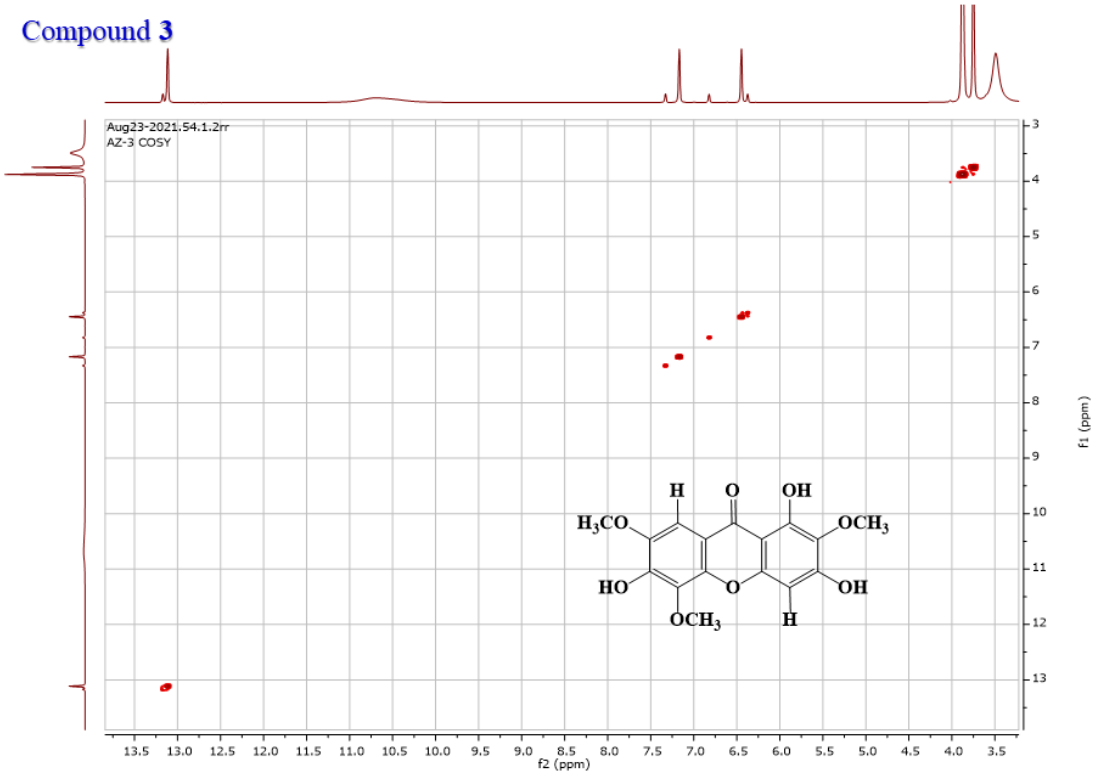
Şekil Ek 82. 1,3,6-trihidroksi-2,5,7-trimetoksiksantonun (**AZ-3**) FT-IR Spektrumu.



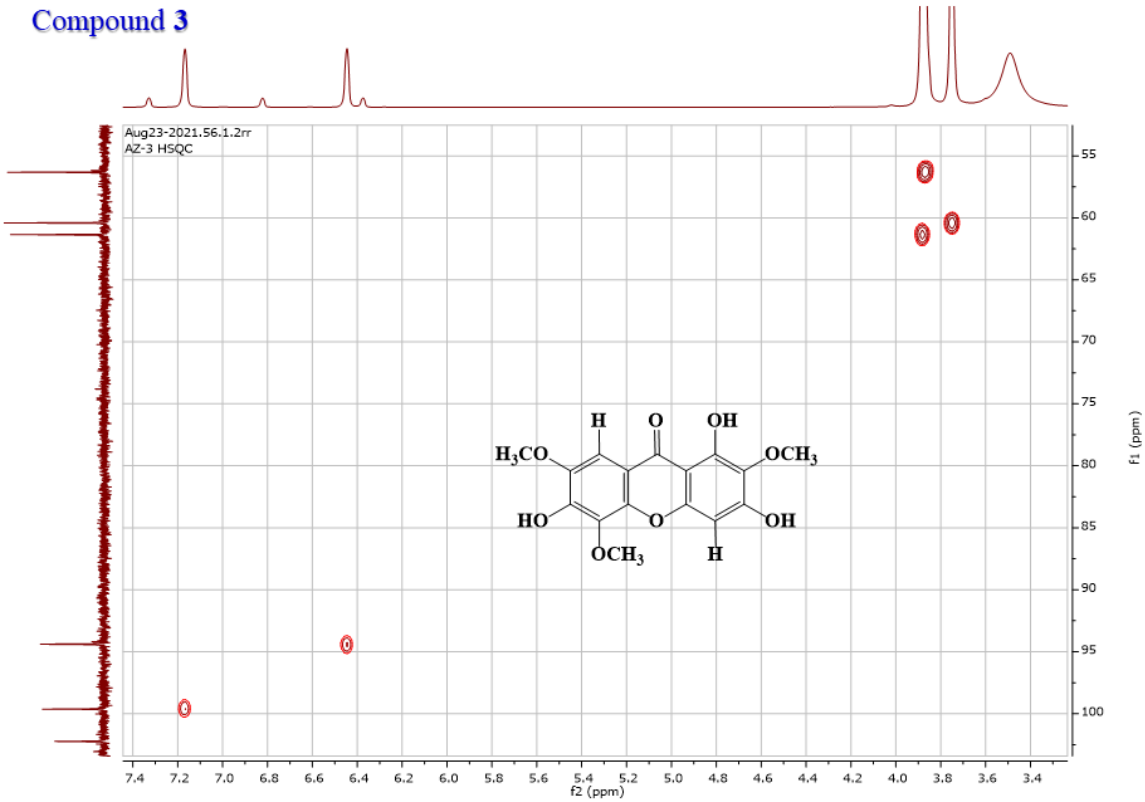
Şekil Ek 83. 1,3,6-trihidroksi-2,5,7-trimetoksiksantonun (**AZ-3**) ^{1}H NMR Spektrumu.



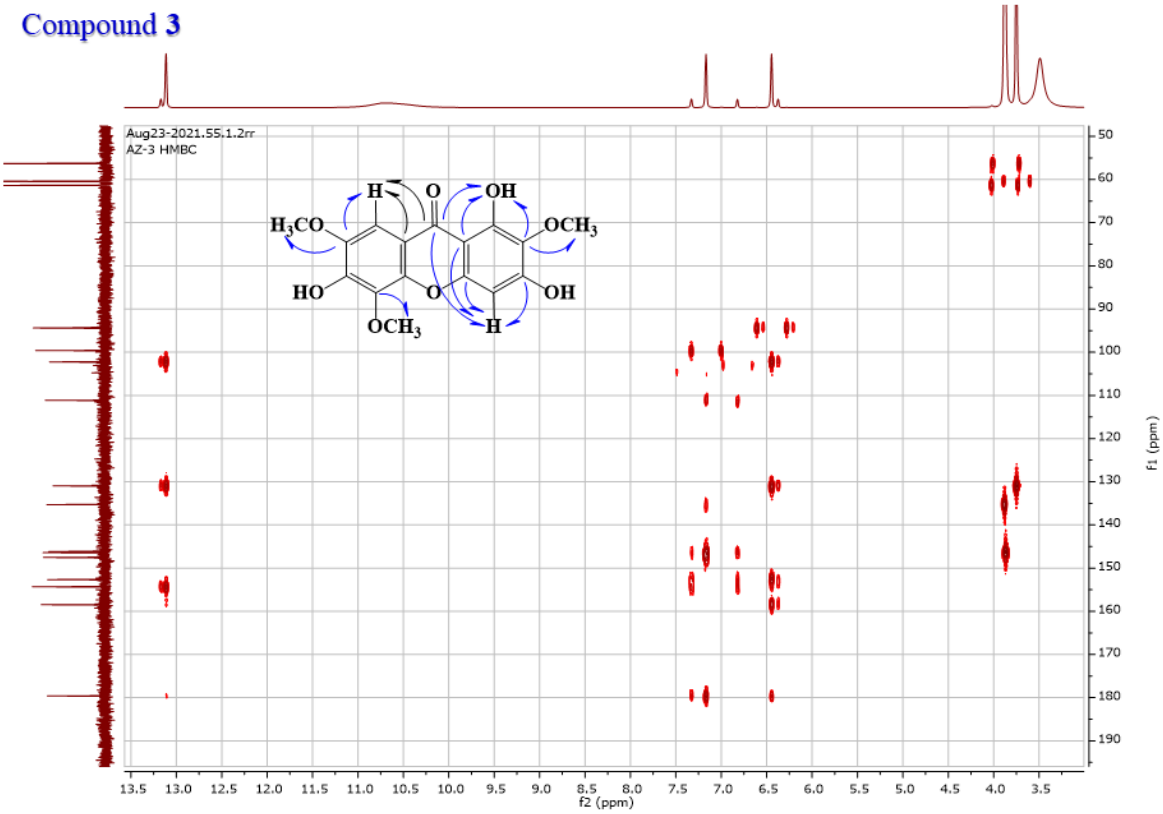
Şekil Ek 84. 1,3,6-trihidroksi-2,5,7-trimetoksiksantonun (**AZ-3**) ^{13}C NMR Speektrumu (**A**) ve DEPT-135 (**B**) Spektrumu.



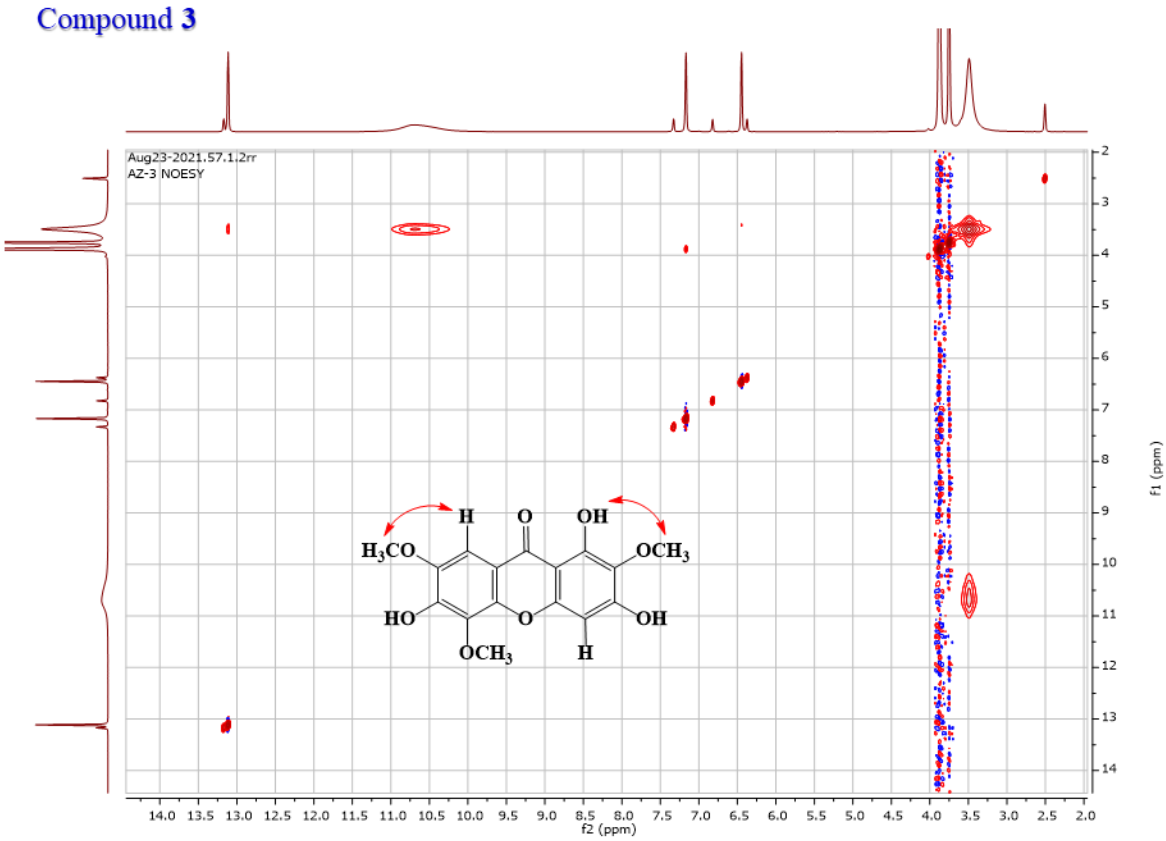
Şekil Ek 85. 1,3,6-trihidroksi-2,5,7-trimetoksiksantonun (**AZ-3**) COSY Spektrumu.



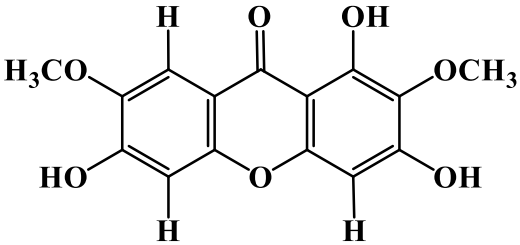
Şekil Ek 86. 1,3,6-trihidroksi-2,5,7-trimetoksiksantonun (**AZ-3**) HSQC Spektrumu.



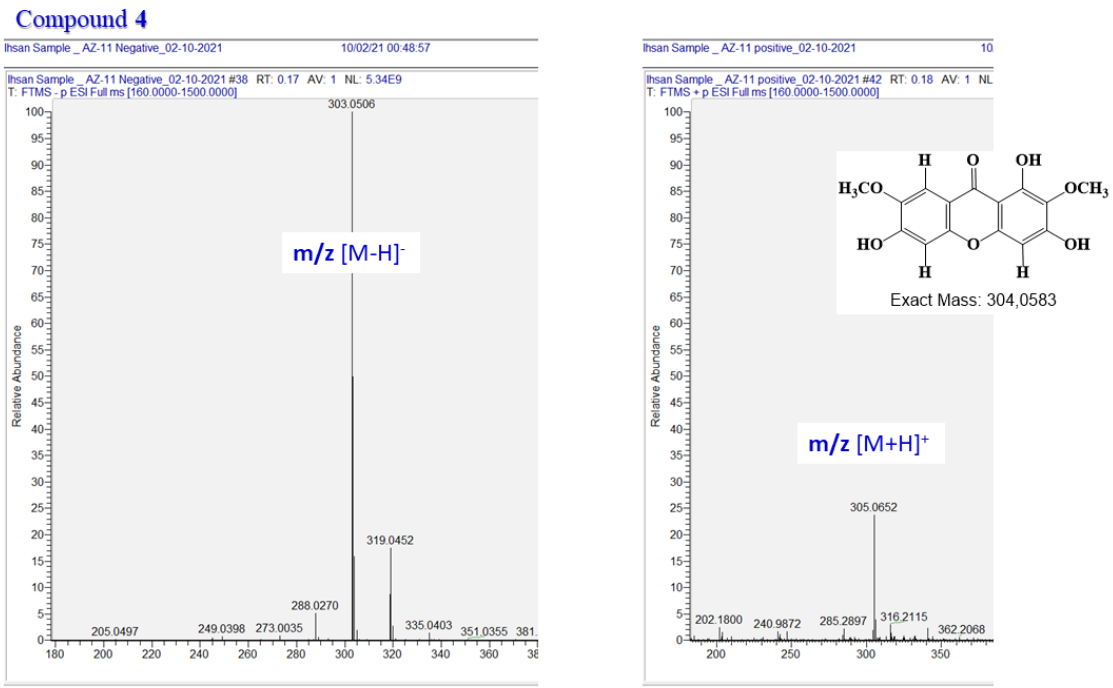
Şekil Ek 87. 1,3,6-trihidroksi-2,5,7-trimetoksiksantonun (**AZ-3**) HMBC Spektrumu.



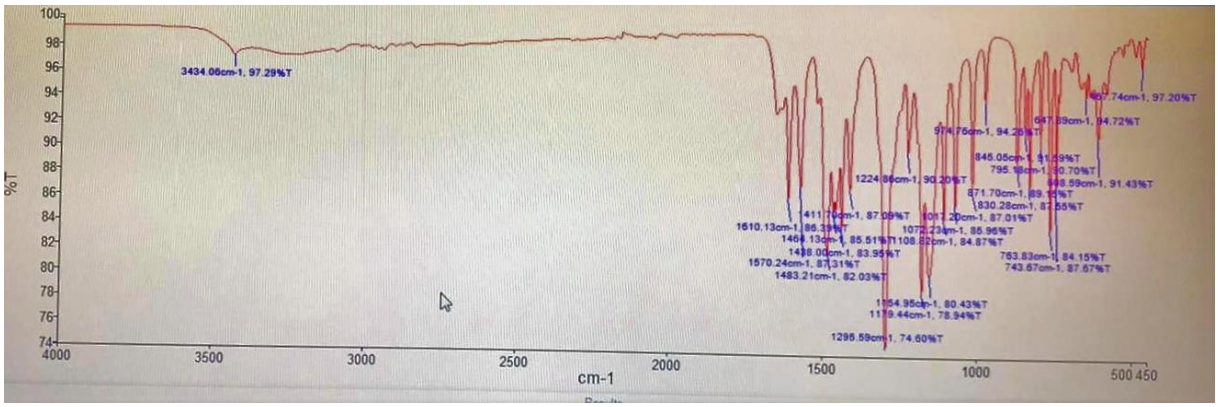
Şekil Ek 88. 1,3,6-trihidroksi-2,5,7-trimetoksiksantonun (**AZ-3**) NOESY Spektrumu.



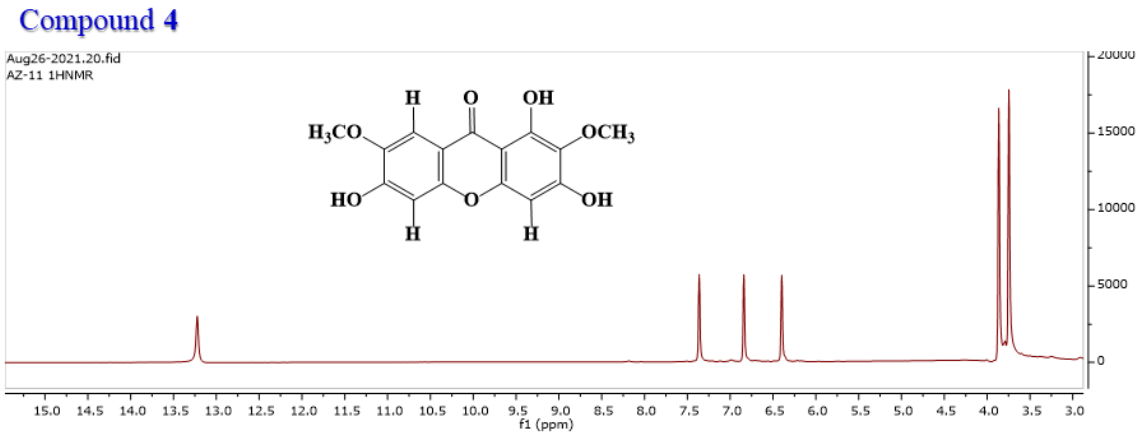
Şekil Ek 89. 1,3,6-trihidroksi-2,7-dimetoksiksantonun (**AZ-11**) yapısı.



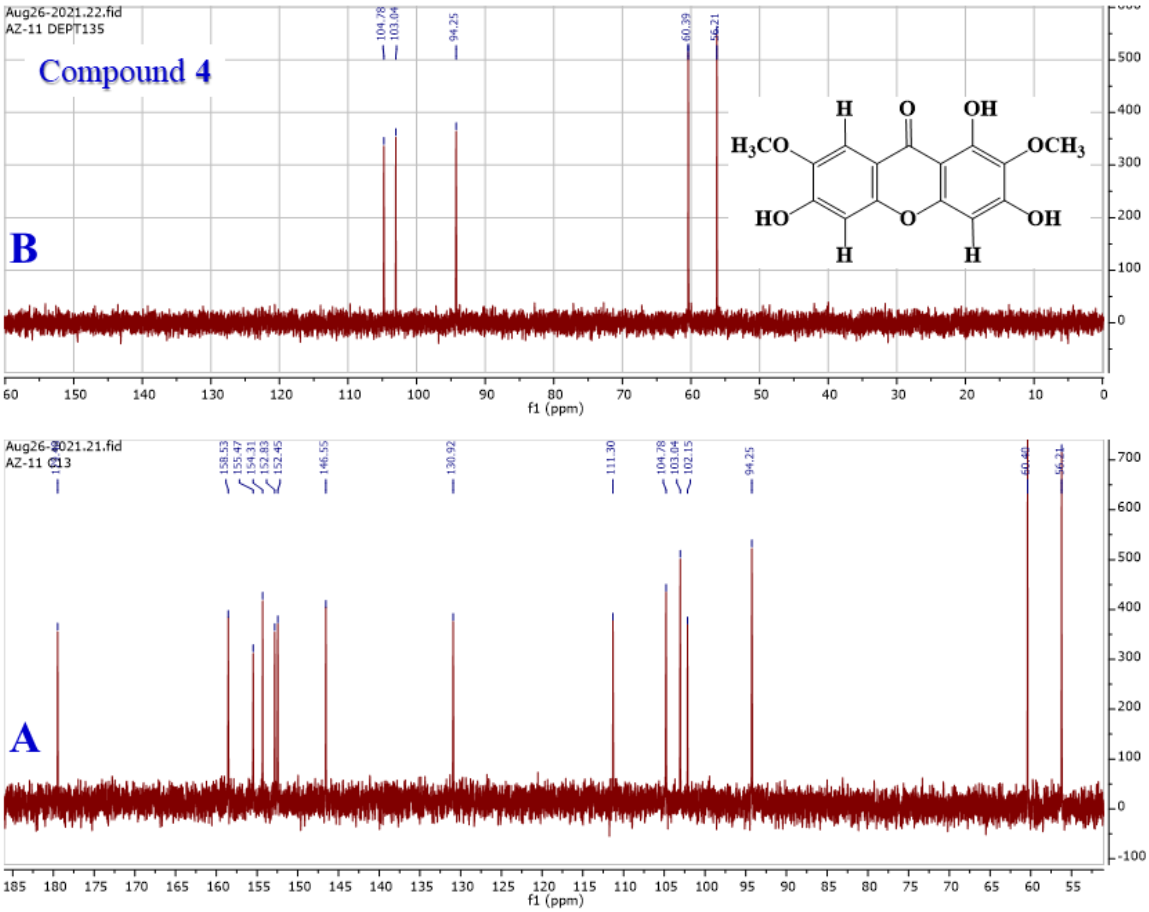
Şekil Ek 90. 1,3,6-trihidroksi-2,7-dimetoksiksantonun (**AZ-11**) negatif ve pozitif iyon HRMS Spektrumu.



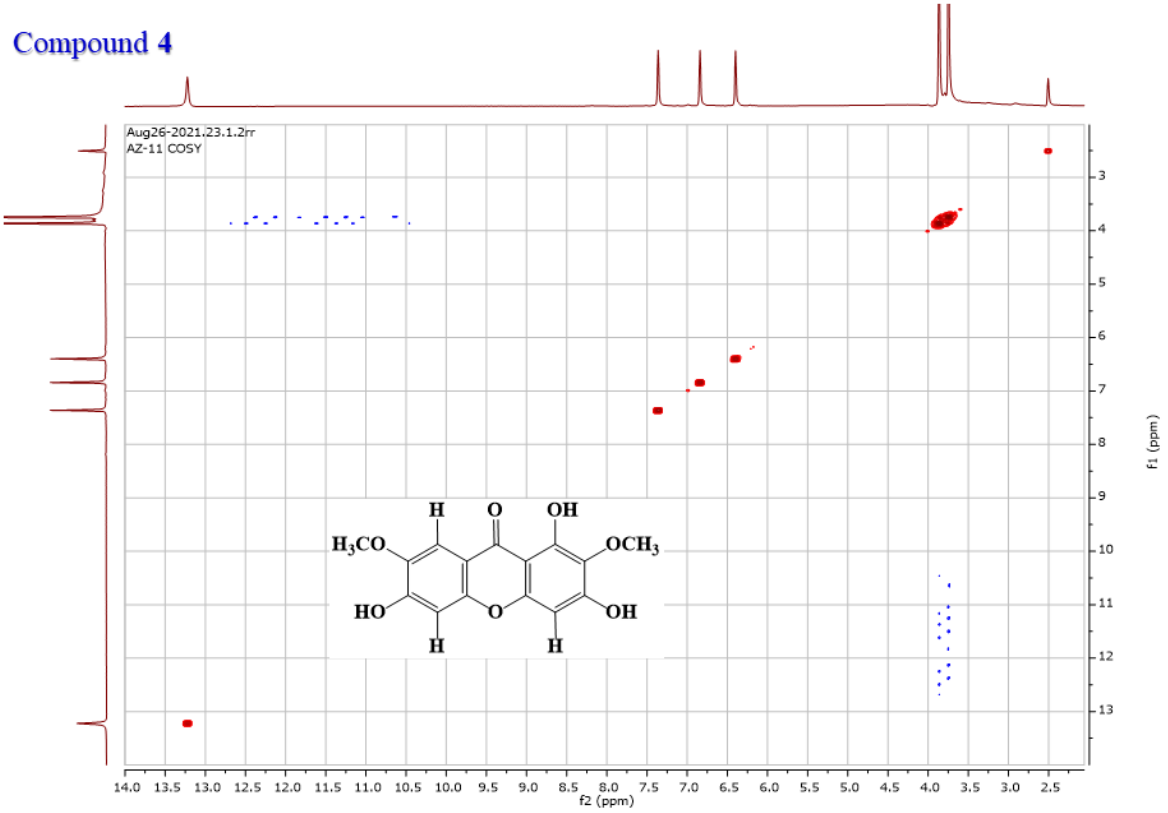
Şekil Ek 91. 1,3,6-trihidroksi-2,7-dimetoksiksantonun (**AZ-11**) FT-IR Spektrumu.



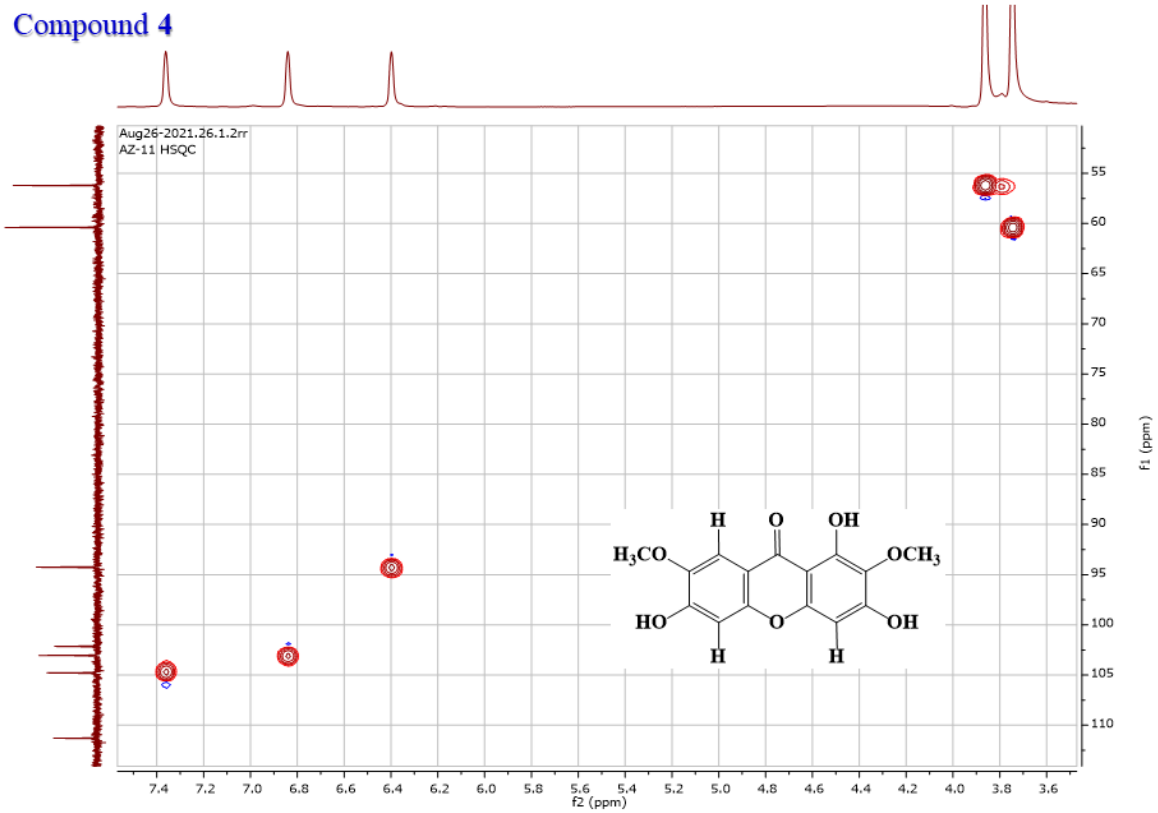
Şekil Ek 92. 1,3,6-trihidroksi-2,7-dimetoksiksantonun (**AZ-11**) ^{1}H NMR Spektrumu.



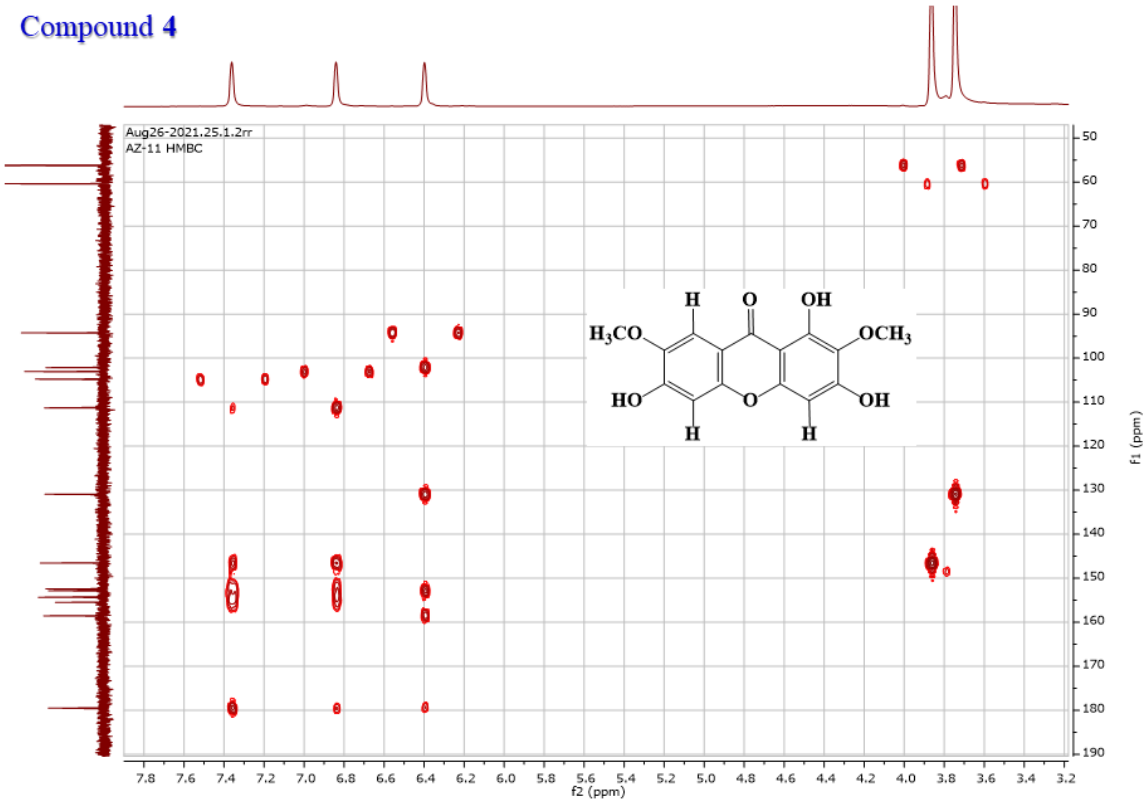
Şekil Ek 93. 1,3,6-trihidroksi-2,7-dimetoksiksantonun (**AZ-11**) ^{13}C NMR Spektrumu (**A**) ve DEPT-135 Spektrumu (**B**).



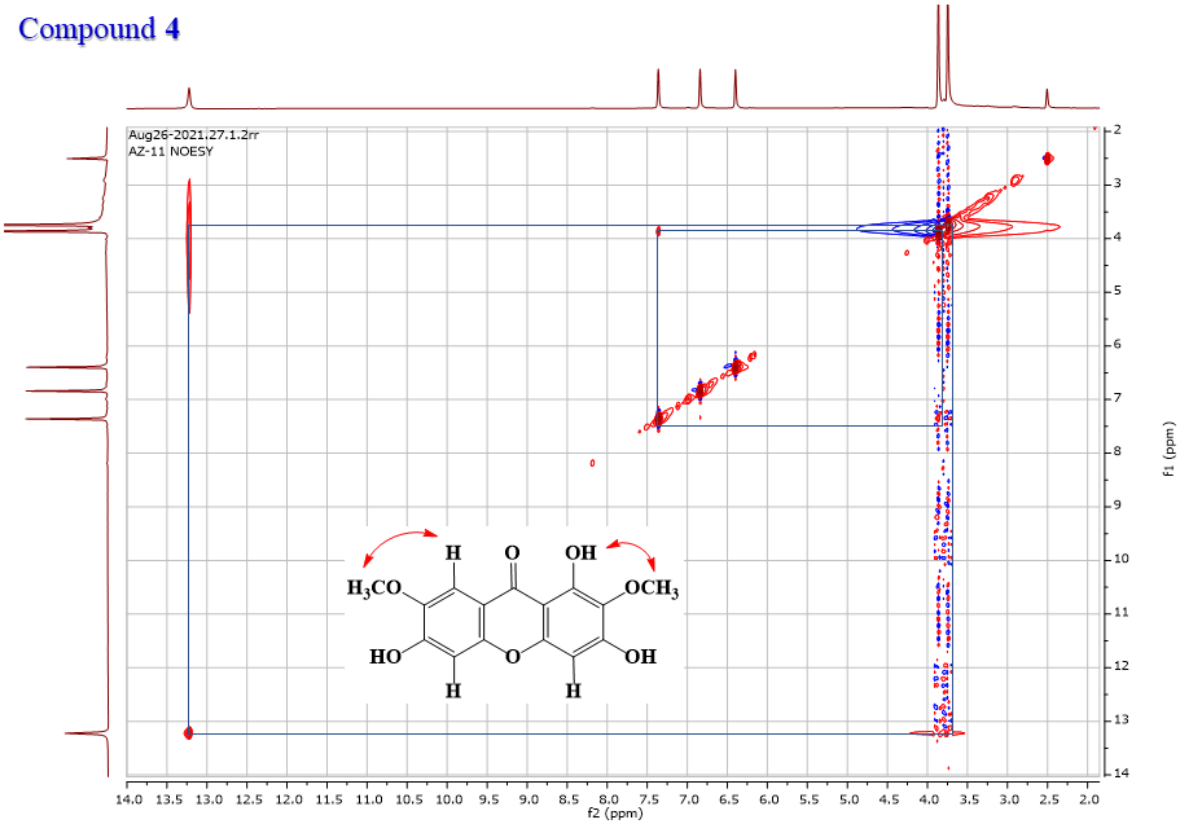
Şekil Ek 94. 1,3,6-trihidroksi-2,7-dimetoksiksantonun (**AZ-11**) COSY Spektrumu.



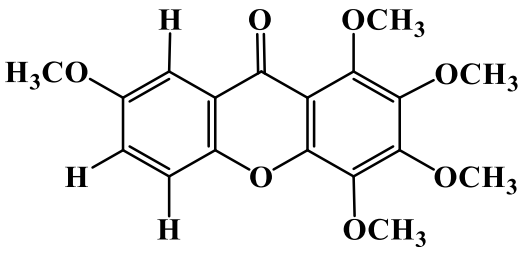
Şekil Ek 95. 1,3,6-trihidroksi-2,7-dimetoksiksantonun (**AZ-11**) HSQC Spektrumu.



Şekil Ek 96. 1,3,6-trihidroksi-2,7-dimetoksiksantonun (**AZ-11**) HMBC Spektrumu.

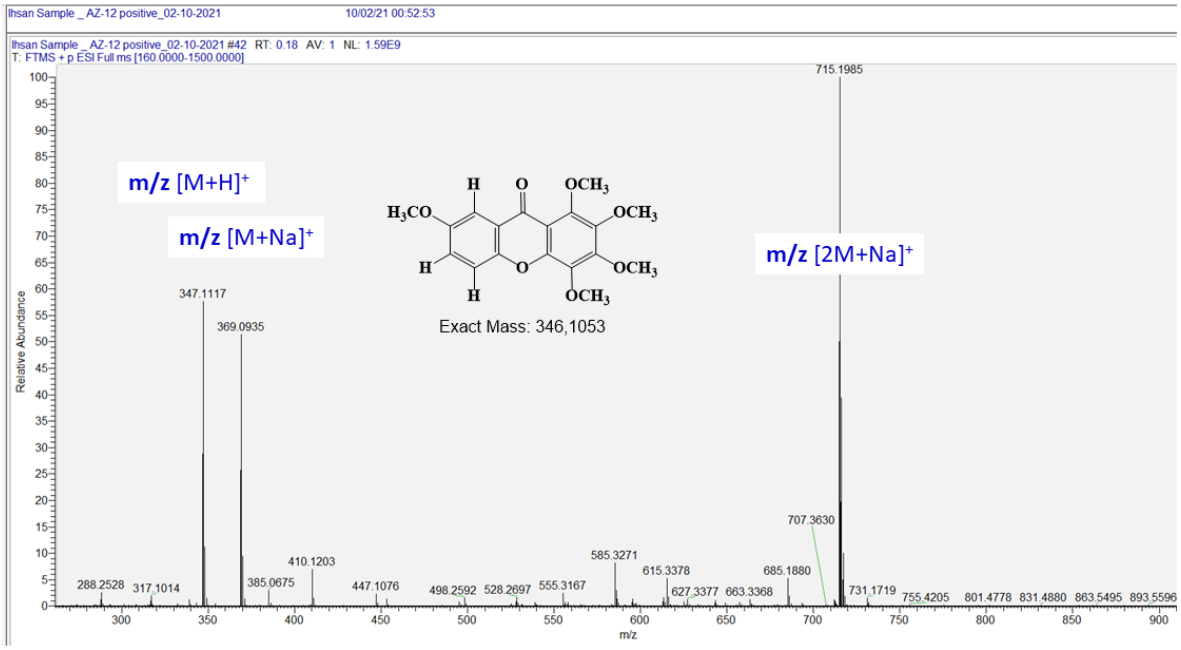


Şekil Ek 97. 1,3,6-trihidroksi-2,7-dimetoksiksantonun (**AZ-11**) HSQC Spektrumu.

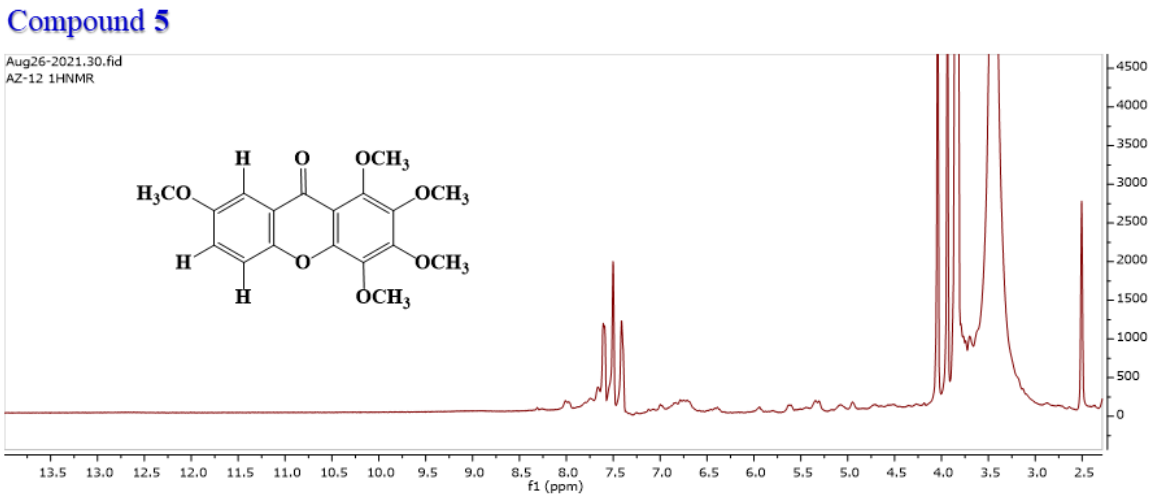


Exact Mass: 346,1053

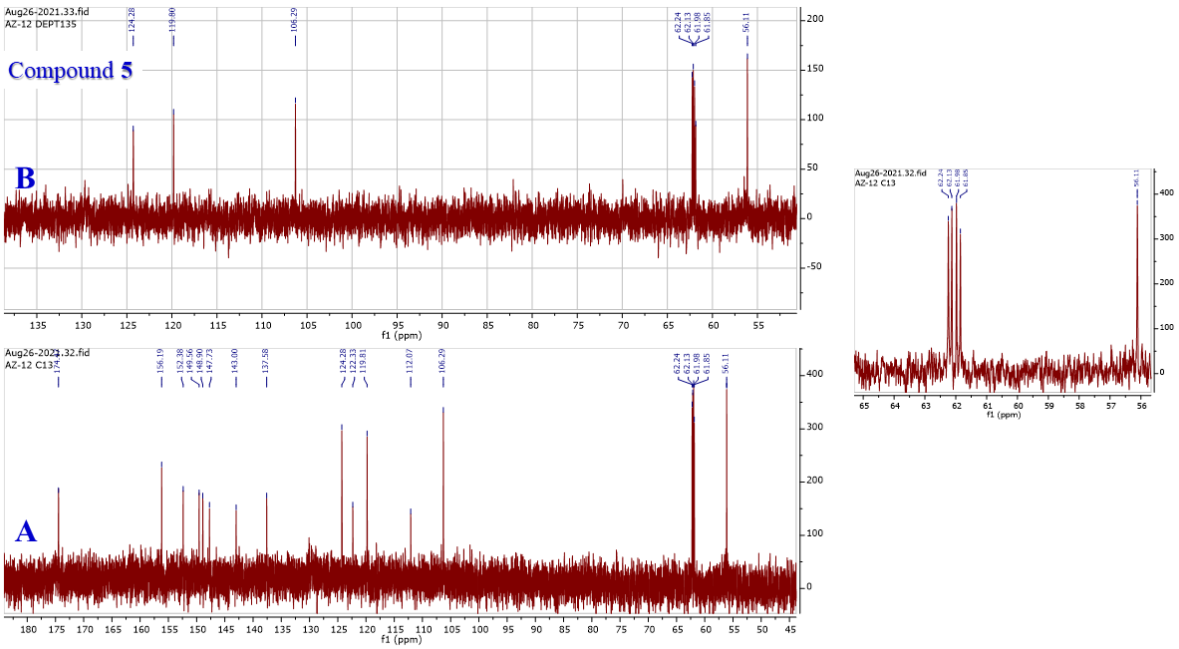
Şekil Ek 98. 1,2,3,4,7-pentametoksiksantonun yapısı (**AZ-12**).



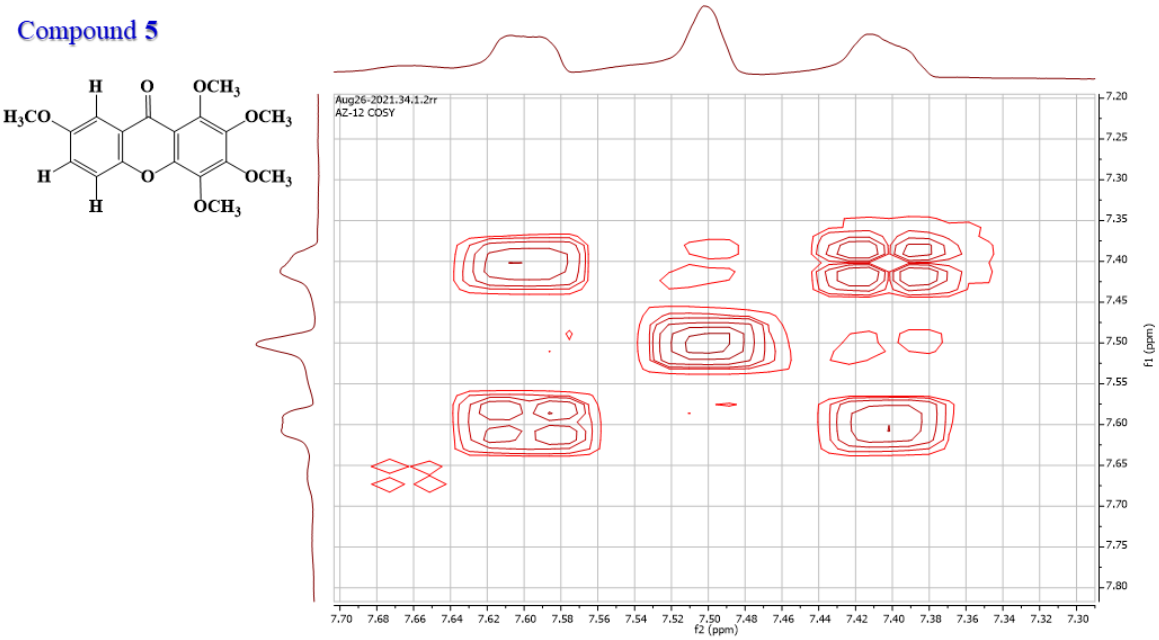
Şekil Ek 99. 1,2,3,4,7-pentametoksiksantonun (**AZ-12**) pozitif iyon HRMS Spektrumu.



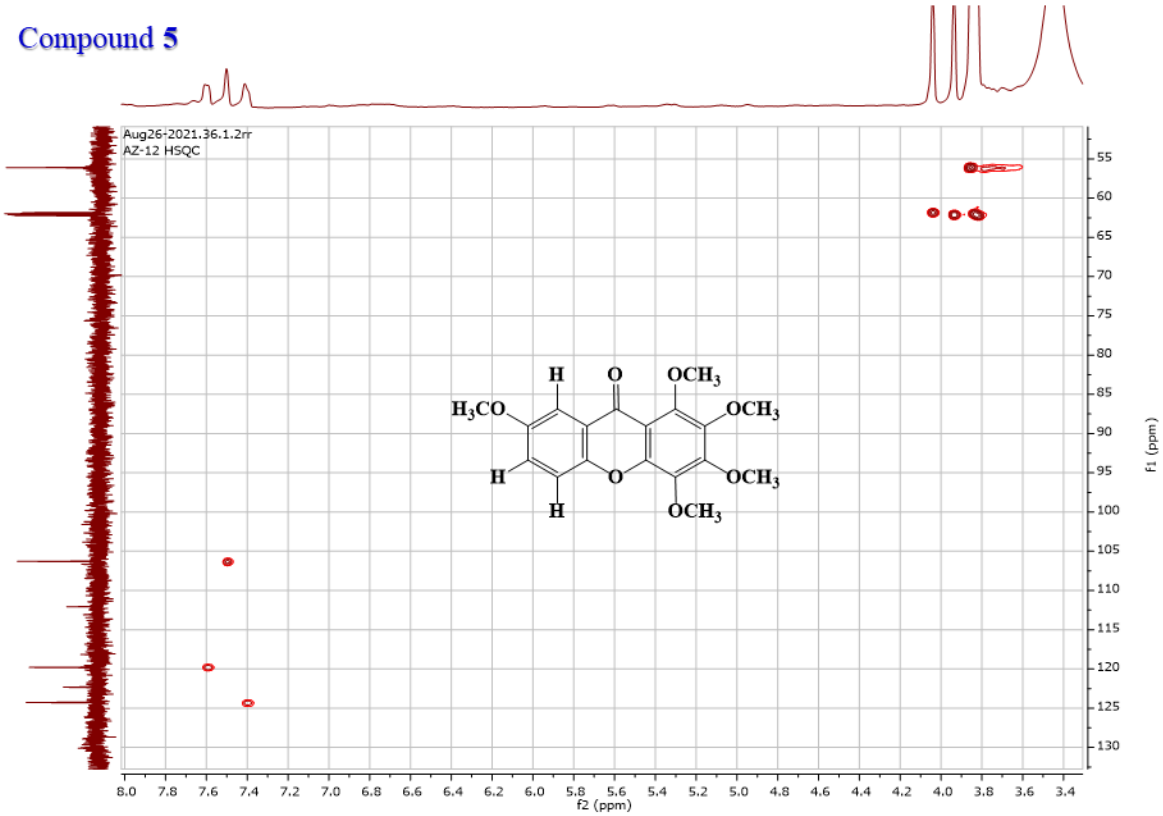
Şekil Ek 100. 1,2,3,4,7-pentametoksiksantonun (**AZ-12**) ^{1}H NMR Spektrumu.



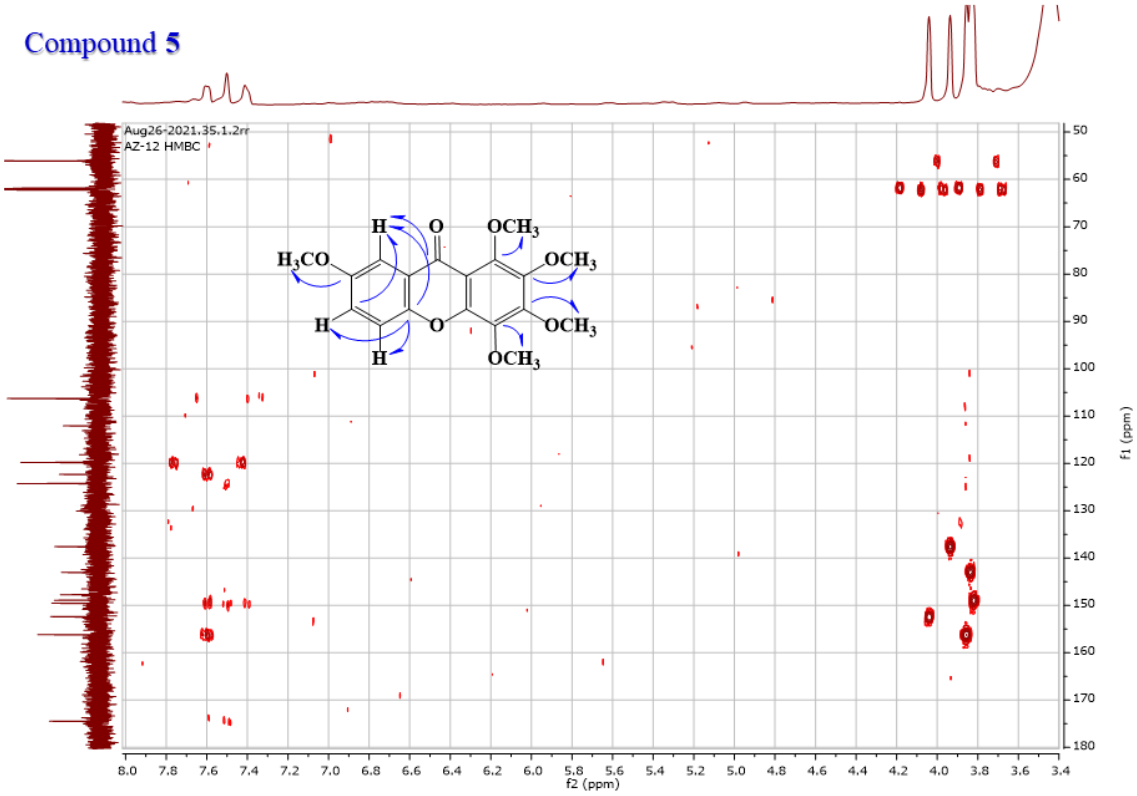
Şekil Ek 101 A & B. 1,2,3,4,7-pentametoksiksantonun (**AZ-12**) ^{13}C NMR Spektrumu (**A**) ve DEPT-135 (**B**) Spektrumu.



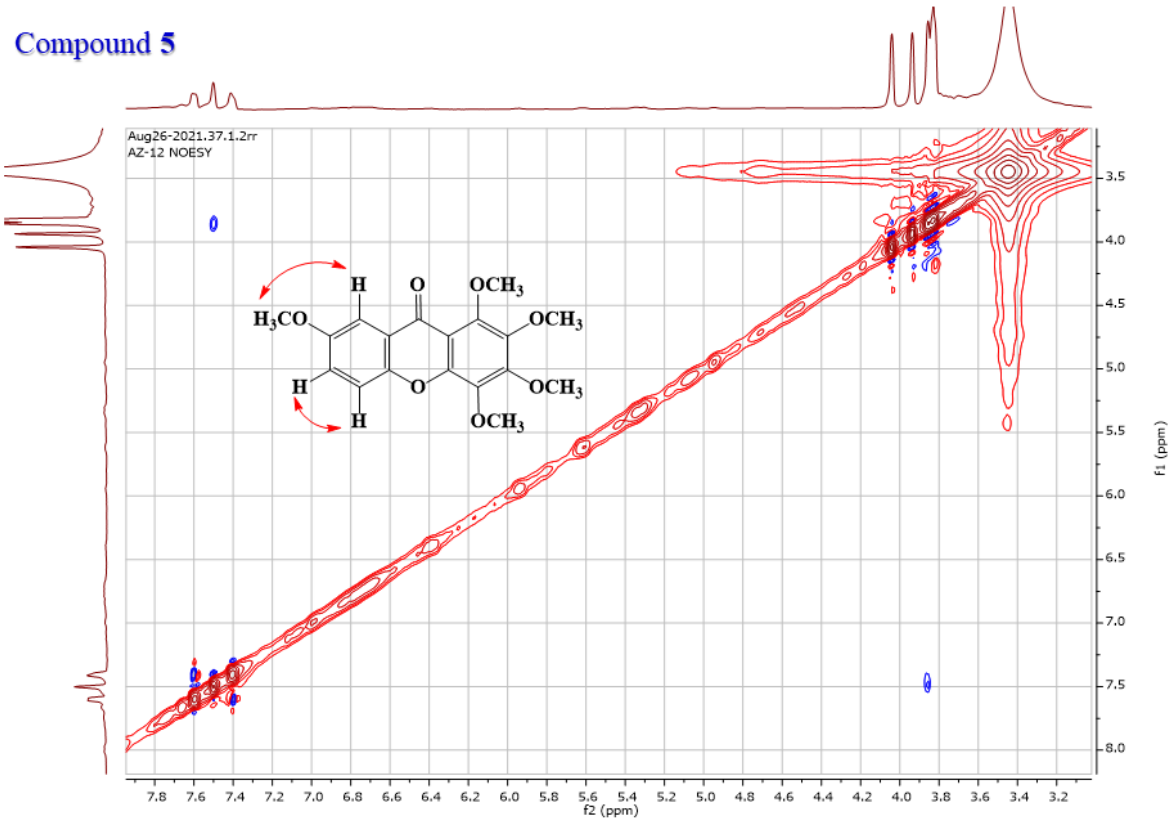
Şekil Ek 102. 1,2,3,4,7-pentametoksiksantonun (**AZ-12**) COSY Spektrumu.



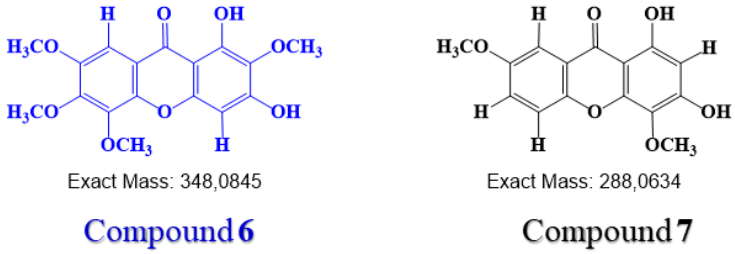
Şekil Ek 103. 1,2,3,4,7-pentametoksiksantonun (**AZ-12**) HSQC Spektrumu.



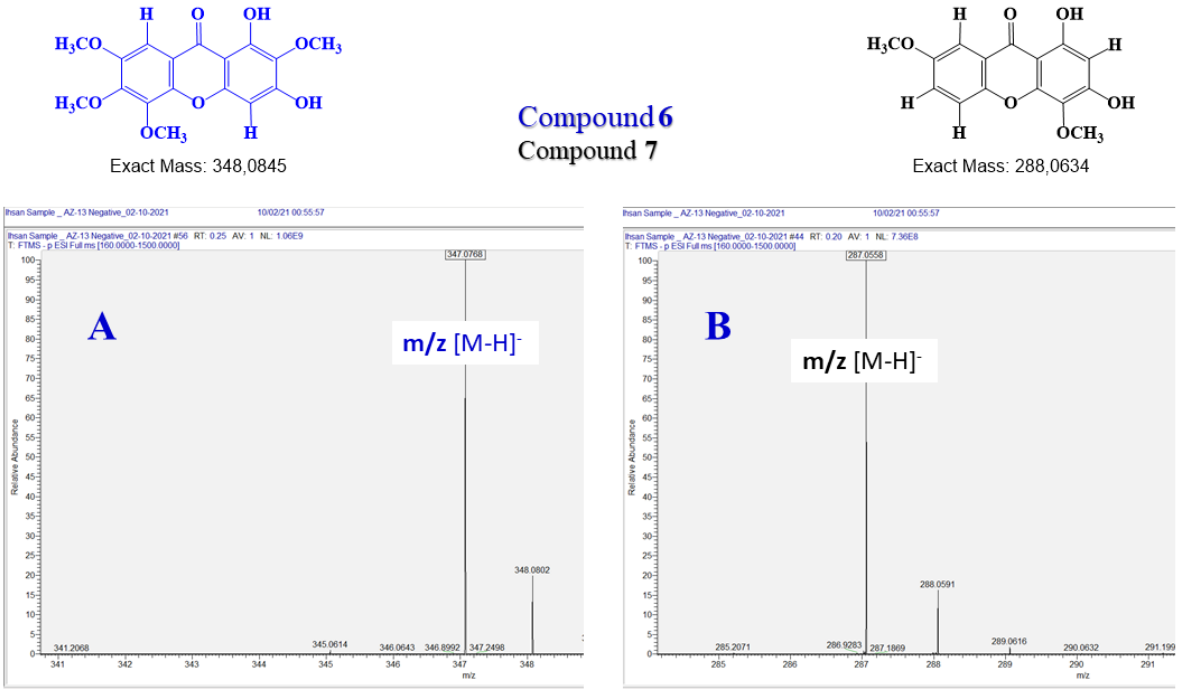
Şekil Ek 104. 1,2,3,4,7-pentametoksiksantonun (**AZ-12**) HMBC Spektrumu.



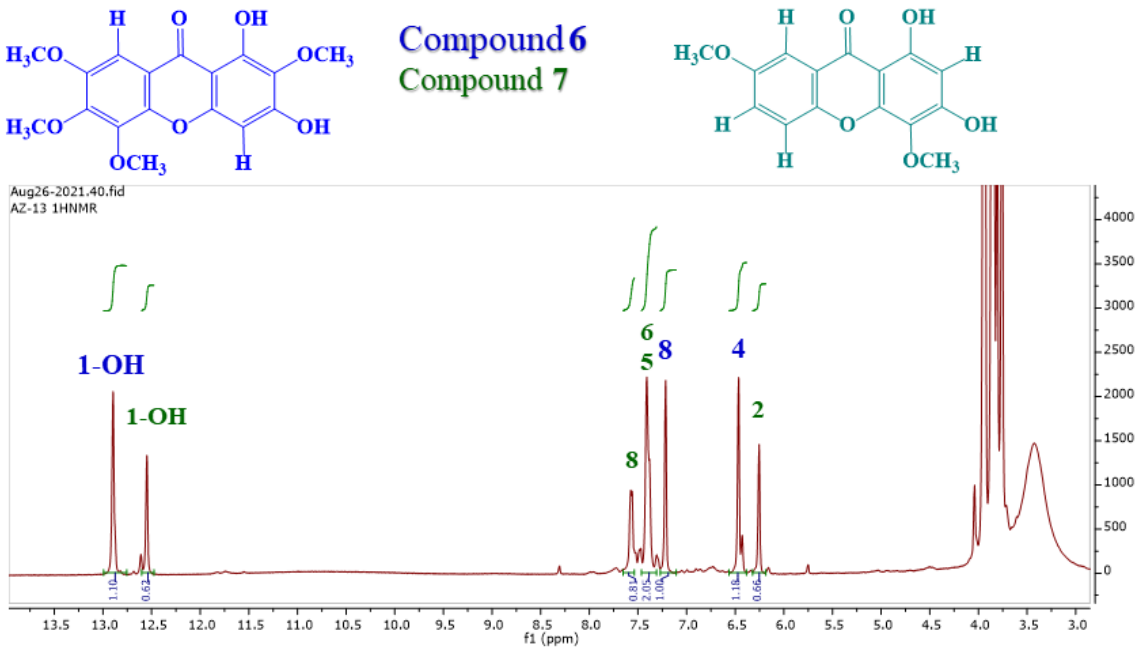
Şekil Ek 105. 1,2,3,4,7-pentametoksiksantonun (**AZ-12**) NOESY Spektrumu.



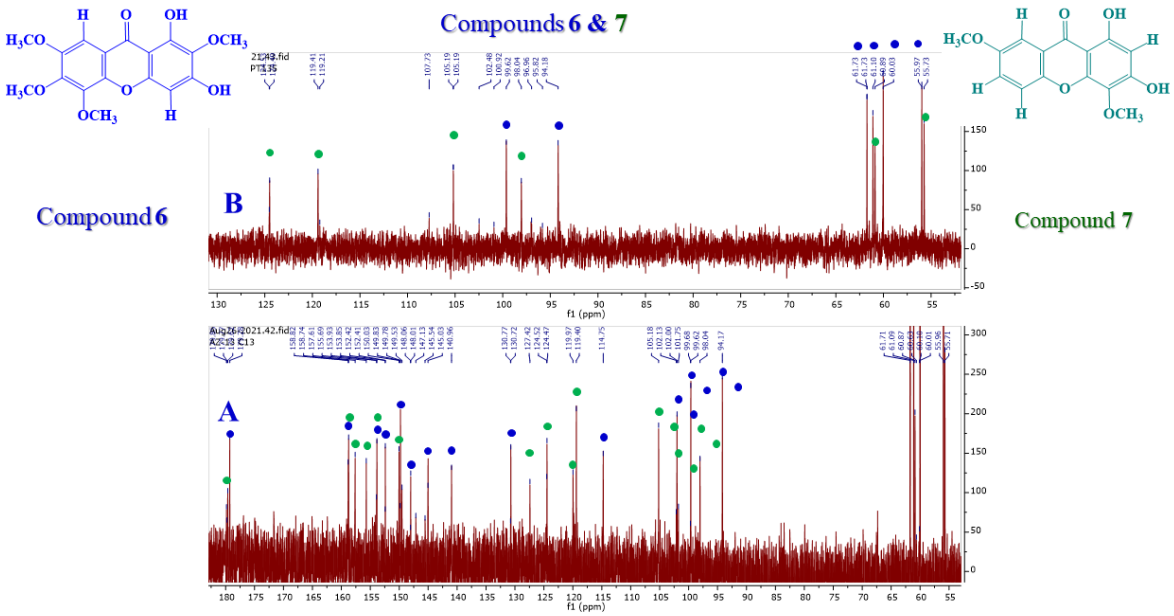
Şekil Ek 106. 1,3-dihidroksi-2,5,6,7-trimetoksiksanton (**AZ-13 majör**) ve1,3-dihidroksi-4,7-dimetoksiksanton (**AZ-13 minör**) yapıları.



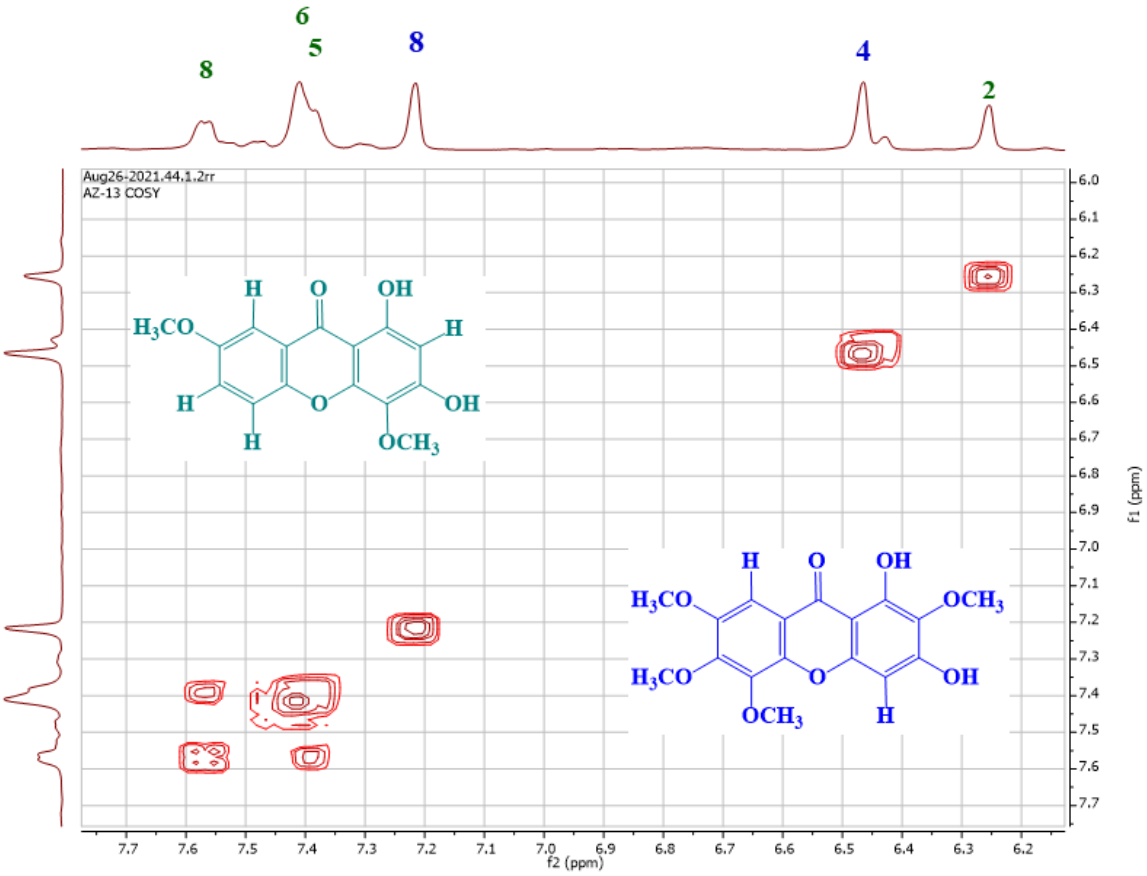
Şekil Ek 107. 1,3-dihidroksi-2,5,6,7-trimetoksiksanton (**AZ-13 majör**) (**A**) ve 1,3-dihidroksi-4,7-dimetoksiksanton (**AZ-13 minör**) (**B**) karışımının negatif iyon HRMS Spektrumu.



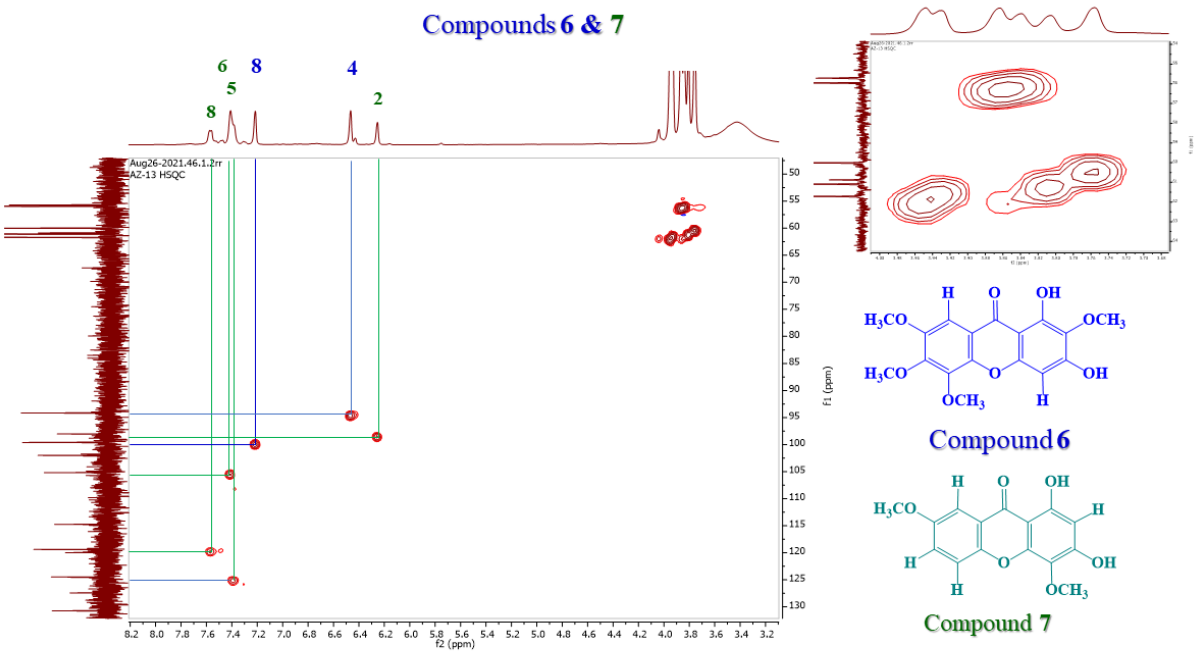
Şekil Ek 108. 1,3-dihidroksi-2,5,6,7-trimetoksiksanton (**AZ-13 majör**) ve 1,3-dihidroksi-4,7-dimetoksiksanton (**AZ-13 minör**) karışımının ^{1}H NMR Spektrumu.



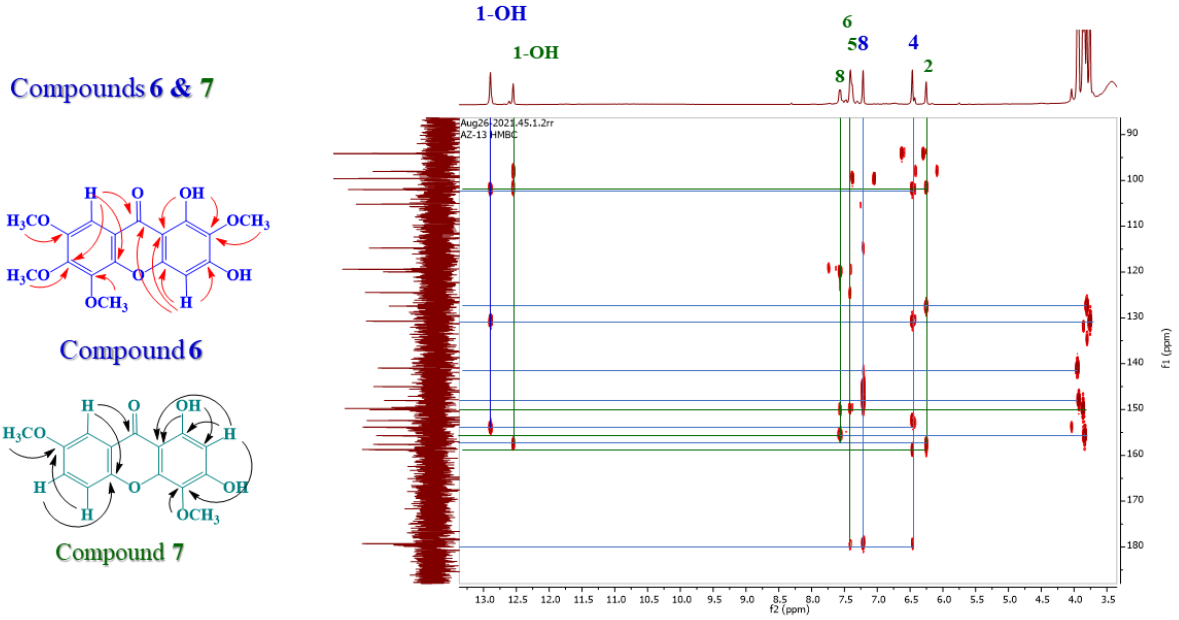
Şekil Ek 109 A & B. 1,3-dihidroksi-2,5,6,7-trimetoksiksanton (**AZ-13 majör**) (**A**) ve 1,3-dihidroksi-4,7-dimetoksiksanton (**AZ-13 minör**) (**B**) karışımının ^{13}C NMR Spektrumu (**A**) ve DEPT-135 (**B**) Spektrumu.



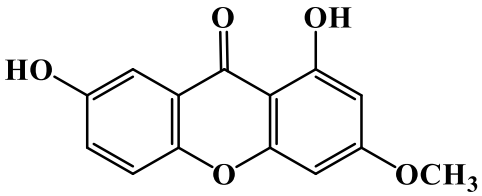
Şekil Ek 110. 1,3-dihidroksi-2,5,6,7-trimetoksiksanton (**AZ-13 majör**) ve 1,3-dihidroksi-4,7-dimetoksiksanton (**AZ-13 minör**) karışımının COSY Spektrumu.



Şekil Ek 111. 1,3-dihidroksi-2,5,6,7-trimetoksiksanton (**AZ-13 majör**) ve 1,3-dihidroksi-4,7-dimetoksiksanton (**AZ-13 minör**) karışımının HSQC Spektrumu.

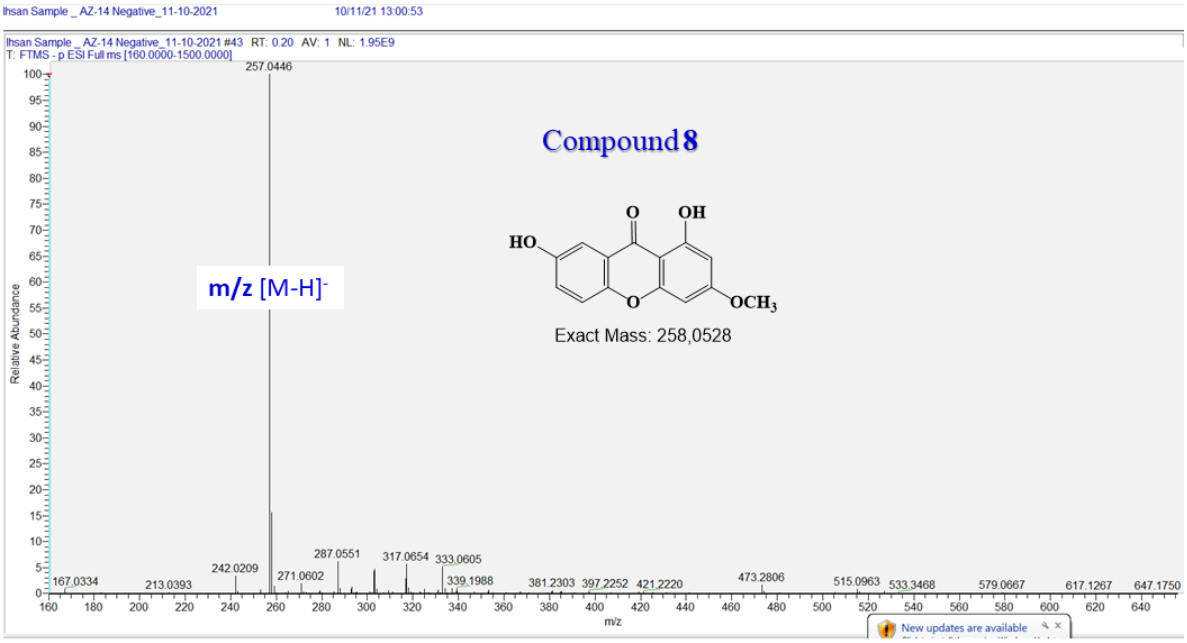


Şekil Ek 112. 1,3-dihidroksi-2,5,6,7-trimetoksiksanton (**AZ-13 majör**) ve 1,3-dihidroksi-4,7-dimetoksiksanton (**AZ-13 minör**) karışımının HMBC Spektrumu.

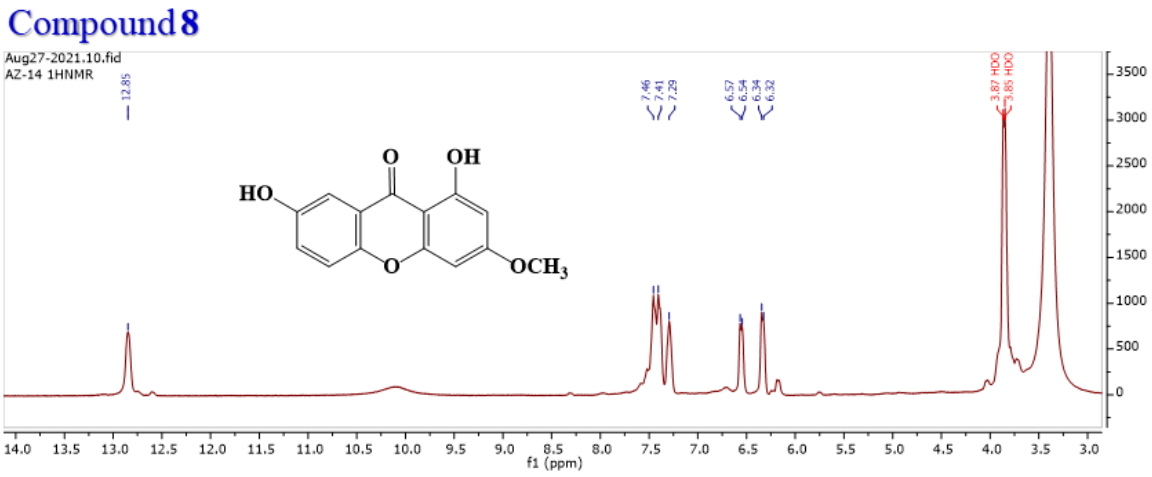


Exact Mass: 258,0528

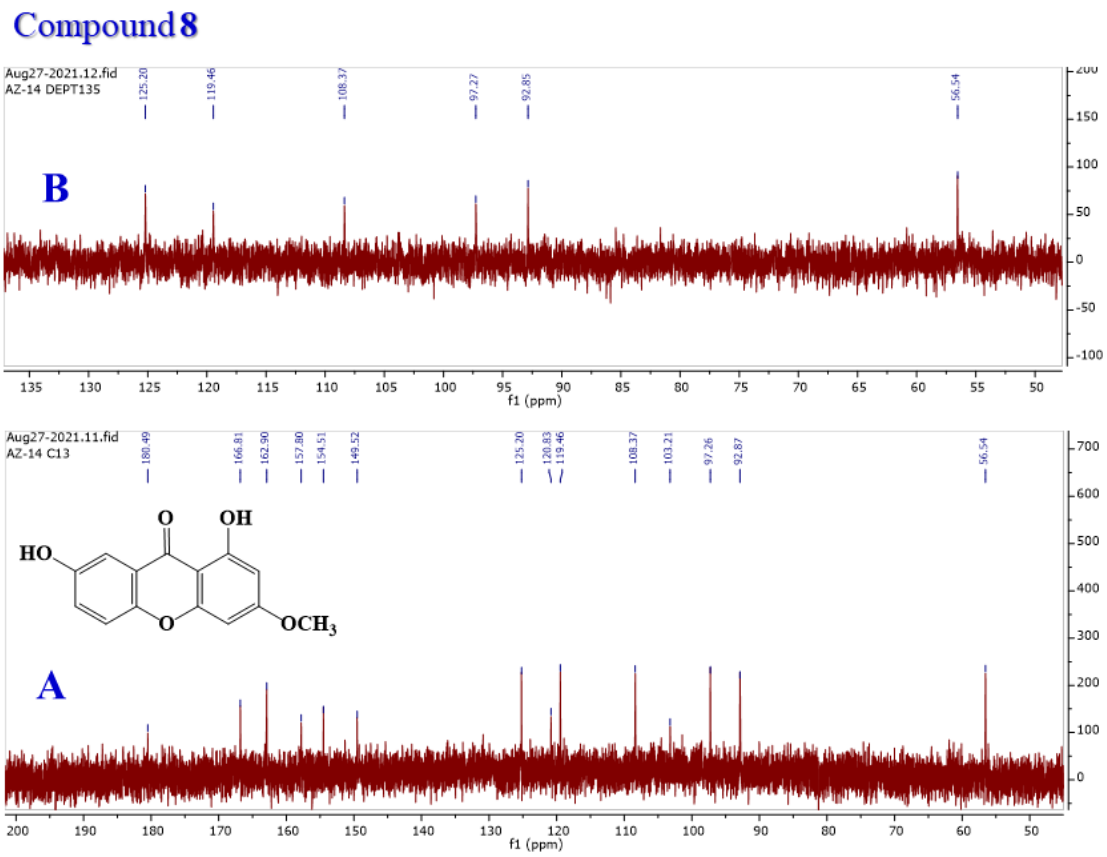
Şekil Ek 113. 1,7-dihidroksi-3-metoksiksantonun yapısı (**AZ-14**).



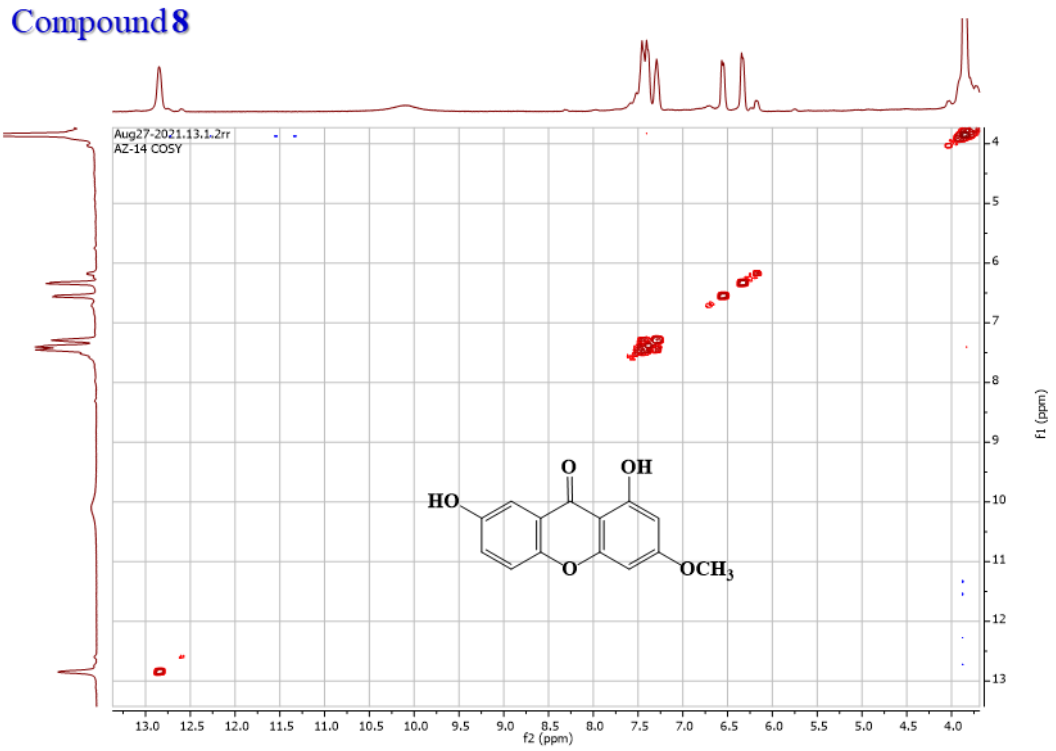
Şekil Ek 114. 1,7-dihidroksi-3-metoksiksantonun (**AZ-14**) negative iyon HRMS Spektrumu.



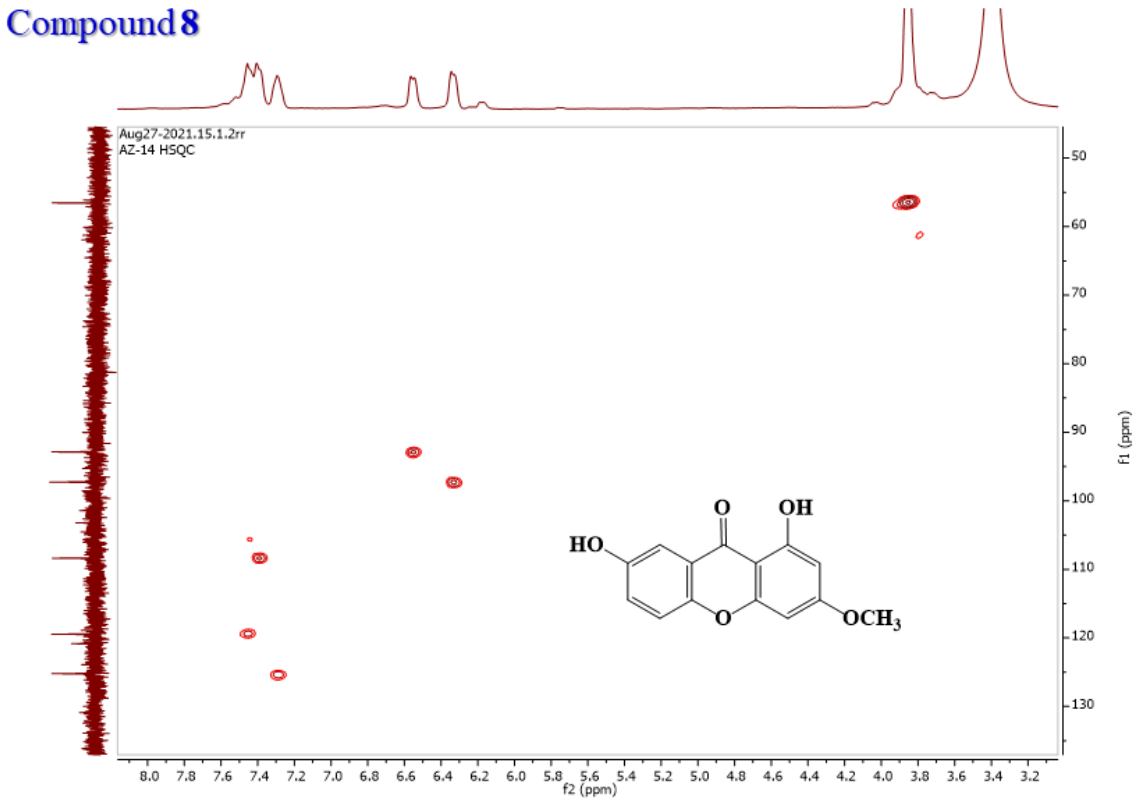
Şekil Ek 115. 1,7-dihidroksi-3-metoksiksantonun (**AZ-14**) ^{1}H NMR Spektrumu.



Şekil Ek 116 A & B. 1,7-dihidroksi-3-metoksiksantonun (**AZ-14**) ^{13}C NMR Spektrumu (**A**) ve DEPT-135 Spektrumu (**B**).

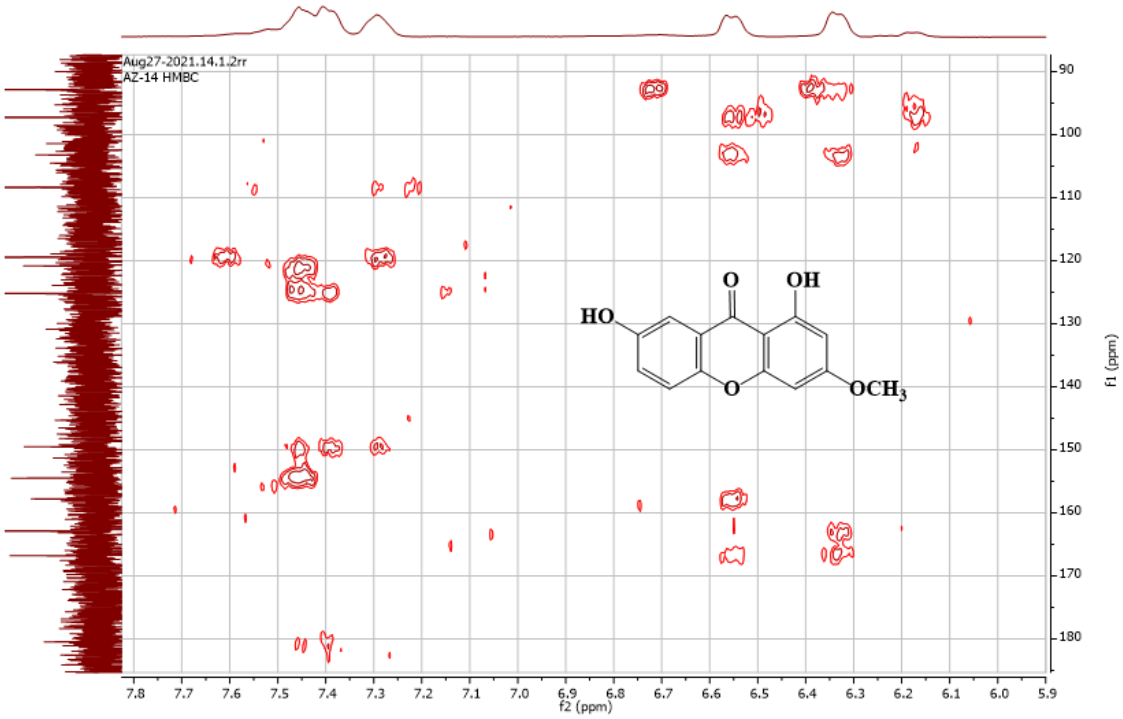


Şekil Ek 117. 1,7-dihidroksi-3-metoksiksantonun (**AZ-14**) COSY Spektrumu.

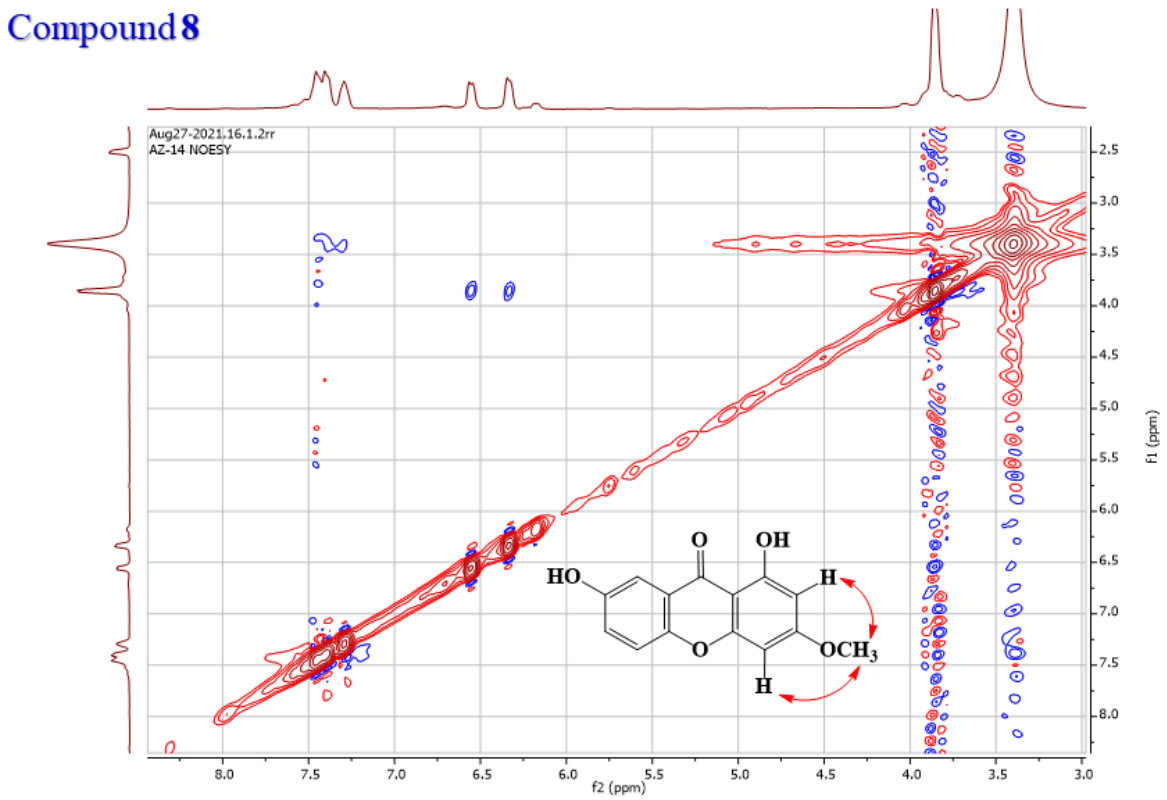


Şekil Ek 118. 1,7-dihidroksi-3-metoksiksantonun (**AZ-14**) HSQC Spektrumu.

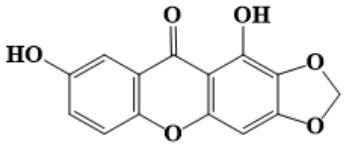
Compound **8**



Şekil Ek 119. 1,7-dihidroksi-3-metoksiksantonun (**AZ-14**) HMBC Spektrumu.

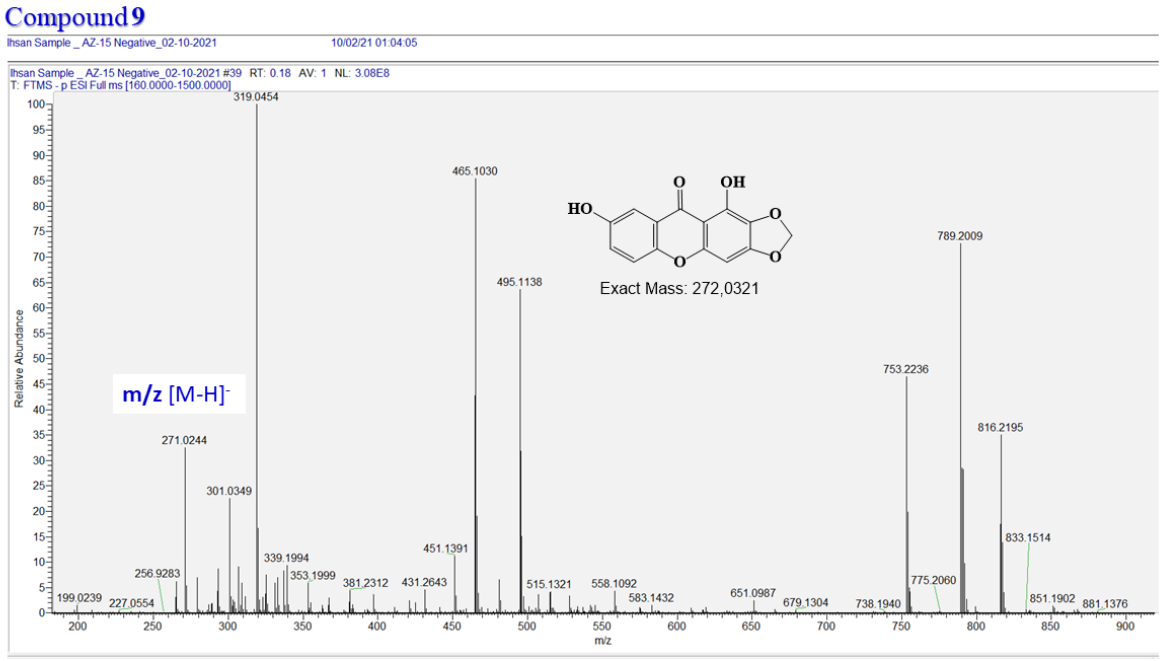


Şekil Ek 120. 1,7-dihidroksi-3-metoksiksantonun (**AZ-14**) NOESY Spektrumu.

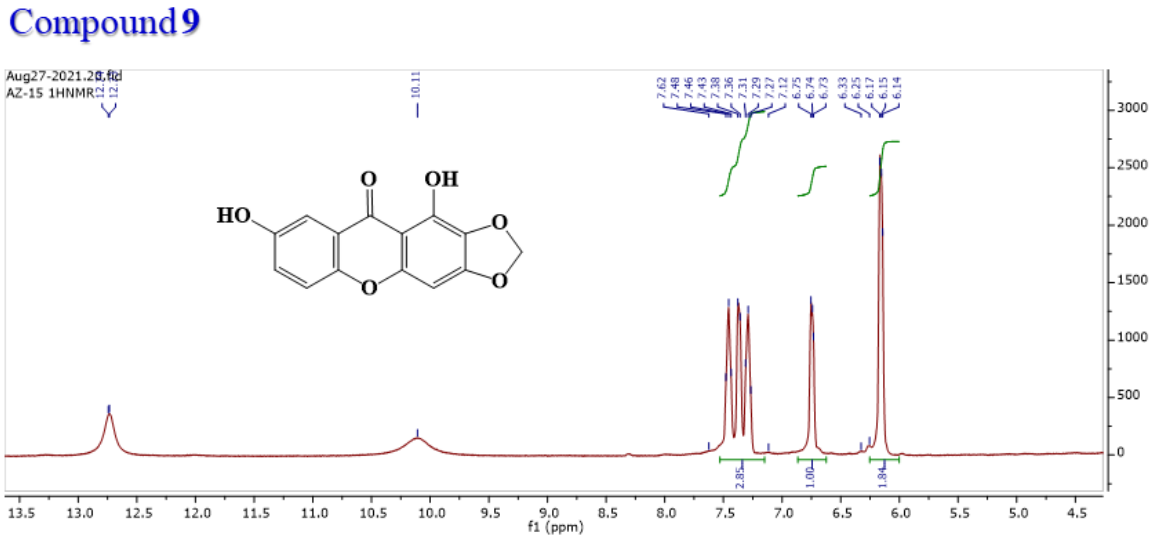


Exact Mass: 272,0321

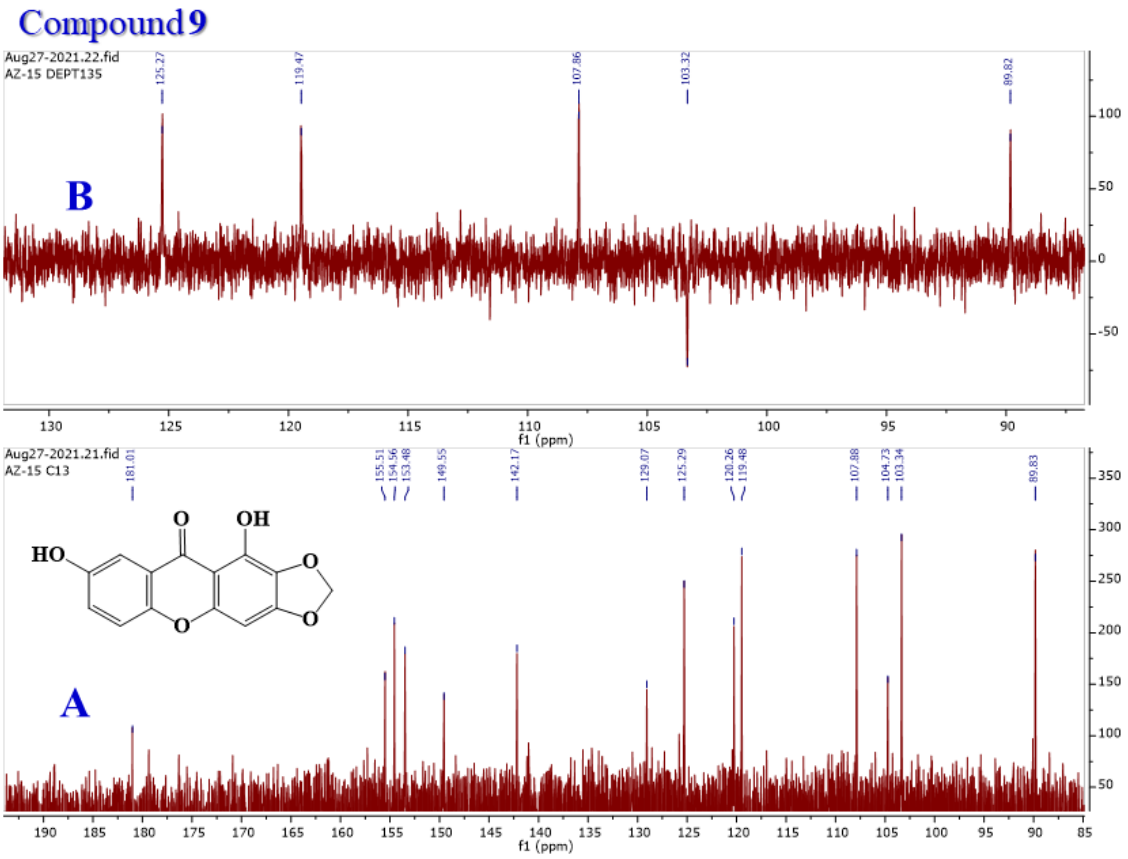
Şekil Ek 121. 1,7-dihidroksi-2,3-metilendioksi-ksantonun (**AZ-15**) yapısı.



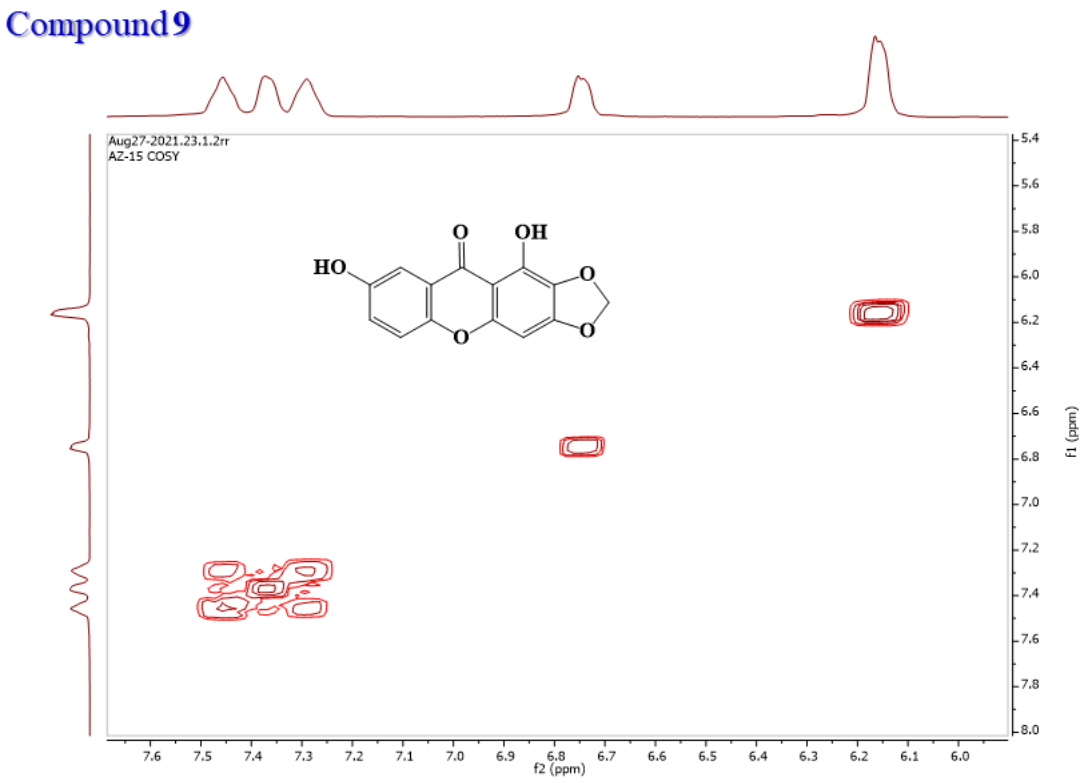
Şekil Ek 122. 1,7-dihidroksi-2,3-metilenoksi-ksantonunun (**AZ-15**) negatif iyon HRMS Spektrumu.



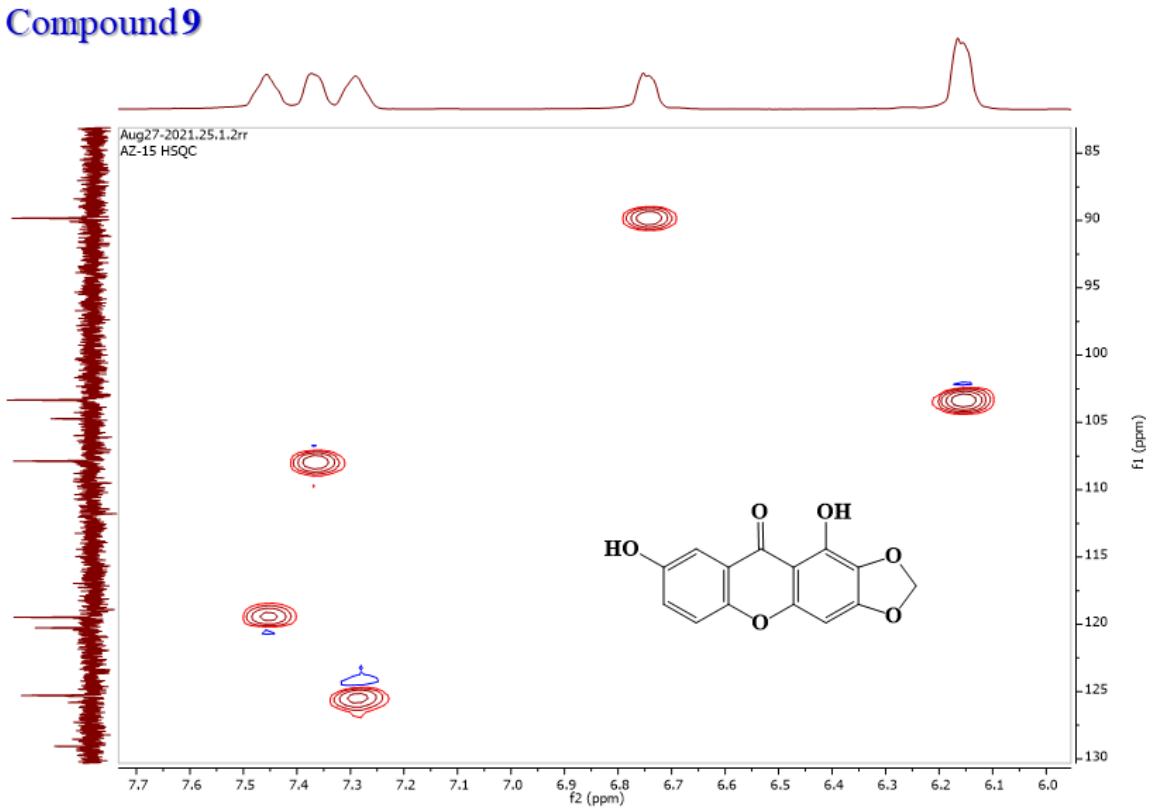
Şekil Ek 123. 1,7-dihidroksi-2,3-metilenoksi-ksantonunun (**AZ-15**) ^{1}H NMR Spektrumu.



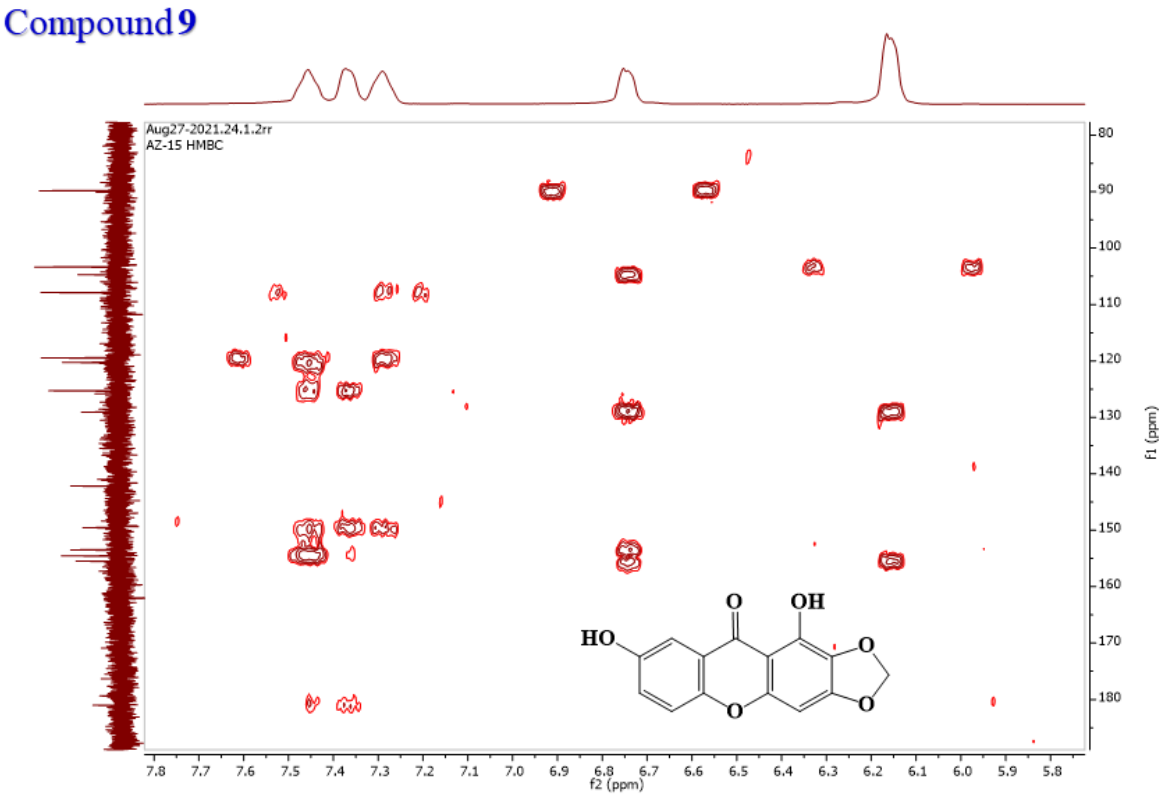
Şekil Ek 124 A & B. 1,7-dihidroksi-2,3-metilenoksi-ksantonunun (**AZ-15**) ^{13}C NMR Spektrumu (**A**) ve DEPT-135 Spektrumu (**B**).



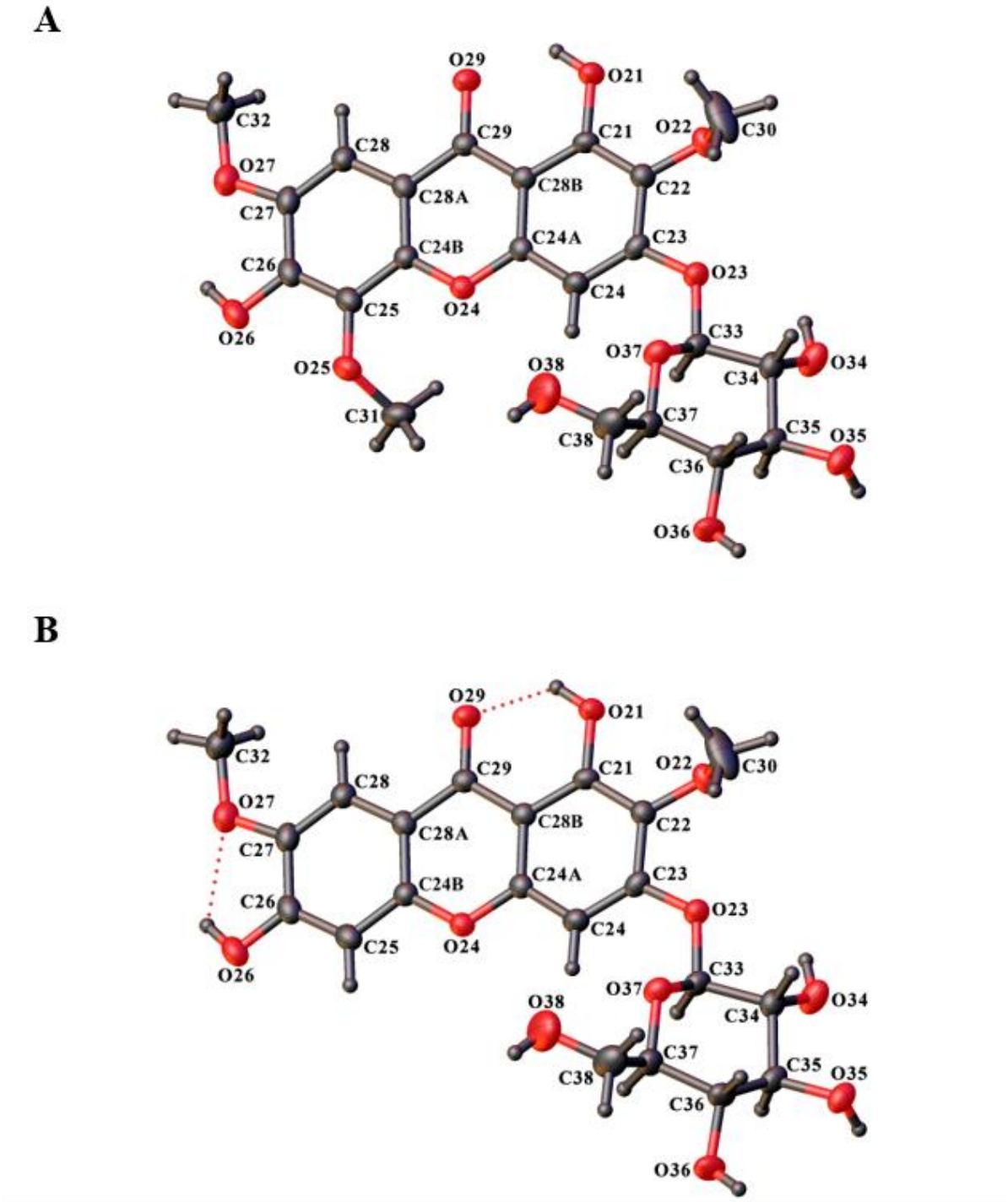
Şekil Ek 125. 1,7-dihidroksi-2,3-metilenoksi-ksantonunun (**AZ-15**) COSY Spektrumu.



Şekil Ek 126. 1,7-dihidroksi-2,3-metilenoksi-ksantonunun (**AZ-15**) HSQC Spektrumu.



Şekil Ek 127. 1,7-dihidroksi-2,3-metilenoksi-ksantonunun (**AZ-15**) HMBC Spektrumu.



Şekil Ek 128. Majör bileşik **AZ-1** (A) ve minör bileşik **AZ-2**'in (B) yer değiştirme elipsoid çizimleri.

EK 2 - Tezden Türetilmiş Yayınlar

1. A. Ünlü, K. Teralı, Z. Uğurlu Aydın, A. A. Dönmez, H. S. Yusufoğlu ve İ. Çalış, Isolation, Characterization and In Silico Studies of Secondary Metabolites from the Whole Plant of *Polygala inexpectata* Peşmen & Erik. *Molecules*, c. 27, sayı 3, ss. 684, **2022**.
2. İ. Çalış, A. Ünlü, Z. Uğurlu Aydın, A. A. Dönmez, H. S. Yusufoğlu, S. Jurt ve A. Linden, Xanthones and Xanthone O-*β*-D-glucosides from the Roots of *Polygala azizsancarii* Dönmez. *Chem. Biodiversity*, **2022**. Doi: 10.1002/cbdv.202200499.

EK 3 - Tezden Türetilmiş Bildiriler

1- XIV Internatıonal Symposıum Actual Problems of Chemistry, Biology and Technology of Natural Compounds Devoted To 30-Year Annıversary Of The Independence Of The Republıc Of Uzbekıstan, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan Acad. S.Yu. Yunusov Institute of the Chemistry of Plant Substances, 7 – 8 October **2021**, Tashkent".
2- International Conference On Bioactive Natural Products, In memory of Prof. Dr. Ayhan Uluben, Bezmialem Vakıf Üniversitesi, 30 November **2021**, İstanbul – Turkey.