

T.C
EGE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TAZETTİNE ADLI ALKALOİD ÜZERİNDE FOTOKİMYASAL ARAŞTIRMALAR

T 99467

Farmasötik Kimya Programı
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Eczacı Özlem AKGÜL

Danışman Öğretim Üyesi
Prof. Dr. Belkıs GÖZLER

TC YÜKSEKÖĞRETİM BAKANLIĞI
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

İZMİR-2000

Bu çalışmayı çok değerli bilgi ve yardımları ile yöneten hocam Sayın Prof. Dr. Belkıs GÖZLER'e sonsuz saygı ve şükranlarımı sunmayı bir borç bilirim.

Kaynaklarımın bulunmasında kıymetli yardımlarını gördüğüm E.Ü. Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi Anabilim Dalı öğretim üyesi hocam Sayın Prof. Dr. Tekant GÖZLER'e teşekkür ederim.

Spektrumların alınmasında değerli yardımlarını gördüğüm Dr. Christa WERNER'e teşekkürü bir borç bilirim.

Çalışmalarım süresince beni her türlü yardımlarıyla destekleyen çalışma arkadaşlarıma ve aileme sonsuz sevgi ve teşekkürlerimle.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ	1
TEORİK BÖLÜM	3
I. Tazettine Hakkında Genel Bilgiler.....	3
A. Tazettine'in Yapısı.....	3
B. Tazettine'in Doğada Bulunuşu.....	4
C. Tazettine'in Biyojenetik Oluşumu.....	4
D. Tazettine'in Sentezi.....	6
E. Tazettine'in Spektral Bulguları.....	8
1. ¹ H NMR Bulguları.....	8
2. ¹³ C NMR Bulguları.....	9
3. Kütle Spektral Bulguları.....	9
4. X-Işını Analizleri.....	11
F. Tazettine'in Stereokimyası.....	11
G. Tazettine'in Farmakolojisi.....	12
II. Fotokimyasal Tepkimeler.....	13
A. Fiziksel Yolaklar	13
B. Kimyasal Yolaklar.....	14
DENEYSEL BÖLÜM	16
I. Materyal.....	16

II. Yöntemler.....	16
A. İnce Tabaka Kromatografisi (İ.T.K.).....	16
B. Sütun Kromatografisi.....	17
C. Preparatif İnce Tabaka Kromatografisi.....	17
III. Deneyler.....	18
A. Fotokimyasal Tepkime.....	18
B. Ham Ürünün Fraksiyonlandırılması.....	18
C. Bileşiklerin Preparatif İ.T.K. ile Safaştırılmaları.....	19
1. 4 No lu Fraksiyonun Safaştırılması.....	19
2. 8A Fraksiyonunun Safaştırılması.....	20
3. 8C Fraksiyonunun Safaştırılması.....	20
BULGULAR.....	21
I. Tazettine'in Spektral Bulguları.....	21
II. OA1 Bileşiğinin Spektral Bulguları.....	29
III. OA4 Bileşiğinin Spektral Bulguları.....	43
IV. OA5 Bileşiğinin Spektral Bulguları.....	57
TARTIŞMA VE SONUÇ.....	70
I. OA1 Bileşiği.....	70
II. OA4 Bileşiği	76
III.OA5 Bileşiği	80
ÖZET	86
SUMMARY.....	87
KAYNAKLAR.....	88
ÖZGEÇMİŞ.....	95

ŞEKİL, ŞEMA, TABLO VE SPEKTRUMLAR

ŞEKİLLER

Şekil 1 Tazettine'in Açık Kimyasal Formülü.....	3
Şekil 2 <i>dl</i> -Tazettine'in Total sentez Ara Ürünleri.....	7
Şekil 3 OA1 Bileşiğinin Açık Kimyasal Formülü Üzerinde..... ¹ H ve ¹³ C NMR Bulgularının Gösterilmesi	75
Şekil 4 OA4 Bileşiğinin Açık Kimyasal Formülü Üzerinde ¹ H ve ¹³ C NMR Bulgularının Gösterilmesi	79
Şekil 5 OA5 Bileşiğinin Açık Kimyasal Formülü Üzerinde..... ¹ H ve ¹³ C NMR Bulgularının Gösterilmesi	84

ŞEMALAR

Şema 1 Haemanthidine'den Tazettine Oluşum Reaksiyonu.....	5
Şema 2 Tazettine'nin EI Kütle Parçalanması I	10
Şema 3 Tazettine'nin EI Kütle Parçalanması II	11
Şema 4 Tazettine'den N-metil crinasiadine Oluşum Reaksiyonu.....	73

TABLolar

Tablo 1 OA1 Bileşiğinin 1D ve 2D NMR Bulguları (δ).....	30
Tablo 2 OA-4 Bileşiğinin 1D ve 2D NMR Bulguları (δ).....	44
Tablo 3 OA4 Bileşiğinin 2D NMR Bulguları (δ).....	45
Tablo 4 OA5 Bileşiğinin 1D ve 2D NMR Bulguları (δ).....	58
Tablo 5 OA5 Bileşiğinin 2D NMR Bulguları (δ).....	59

SPEKTRUMLAR

Spektrum No 1	Tazettine'in UV Spektrumu.....	23
Spektrum No 2	Tazettine'in IR Spektrumu.....	24
Spektrum No 3	Tazettine'in ¹ H NMR Spektrumu.....	25
Spektrum No 4	Tazettine'in ¹³ C NMR Spektrumu.....	26
Spektrum No 5	Tazettine'in EI-MS Spektrumu.....	27
Spektrum No 6	Tazettine'in CD Spektrumu.....	33
Spektrum No 7	OA1 Bileşığının ¹ H NMR Spektrumu.....	31
Spektrum No 8	OA1 Bileşığının ¹ H NMR Spektrumu (Genişletilmiş).....	32
Spektrum No 9	OA1 Bileşığının ¹³ C NMR Spektrumu.....	33
Spektrum No 10	OA1 Bileşığının CIMS Spektrumu.....	34
Spektrum No 11	OA1 Bileşığının ESI-MS Spektrumu.....	35
Spektrum No 12	OA1 Bileşığının ¹ H, ¹ H DQF COSY Spektrumu.....	36
Spektrum No 13	OA1 Bileşığının ¹ H, ¹ H DQF COSY Spektrumu (Geniş.).....	37
Spektrum No 14	OA1 Bileşığının TOCY Spektrumu.....	38
Spektrum No 15	OA1 Bileşığının HSQC Spektrum.....	39
Spektrum No 16	OA1 Bileşığının HMBC Spektrumu.....	40
Spektrum No 17	OA1 Bileşığının HMBC Spektrumu (Genişletilmiş).....	41
Spektrum No 18	OA1 Bileşığının ROESY Spektrumu.....	42
Spektrum No 19	OA4 Bileşığının ¹ H NMR Spektrumu.....	46
Spektrum No 20	OA4 Bileşığının ¹ H NMR Spektrumu (Genişletilmiş).....	47
Spektrum No 21	OA4 Bileşığının ¹ H NMR Spektrumu (Genişletilmiş).....	48
Spektrum No 22	OA4 Bileşığının ¹³ C NMR Spektrumu.....	49
Spektrum No 23	OA4 Bileşığının ESI-MS Spektrumu.....	50
Spektrum No 24	OA4 Bileşığının ¹ H, ¹ H DQF COSY Spektrumu.....	51
Spektrum No 25	OA4 Bileşığının TOCY Spektrumu.....	52
Spektrum No 26	OA4 Bileşığının HSQC Spektrumu.....	53
Spektrum No 27	OA4 Bileşığının HMBC Spektrumu.....	54
Spektrum No 28	OA4 Bileşığının ROESY Spektrumu.....	55
Spektrum No 29	OA4 Bileşığının ROESY Spektrumu (Genişletilmiş).....	56
Spektrum No 30	OA5 Bileşığının ¹ H NMR Spektrumu.....	60

Spektrum No 31	OA5 Bileşığının ^1H NMR Spektrumu (Genişletilmiş).....	61
Spektrum No 32	OA5 Bileşığının ^1H NMR Spektrumu (Genişletilmiş).....	62
Spektrum No 33	OA5 Bileşığının ^1H NMR Spektrumu (Genişletilmiş).....	63
Spektrum No 34	OA5 Bileşığının ^{13}C NMR Spektrumu.....	64
Spektrum No 35	OA5 Bileşığının $^1\text{H}, ^1\text{H}$ DQF COSY Spektrumu.....	65
Spektrum No 36	OA5 Bileşığının TOCY Spektrumu.....	66
Spektrum No 37	OA5 Bileşığının HSQC Spektrumu.....	67
Spektrum No 38	OA5 Bileşığının HMBC Spektrumu.....	68
Spektrum No 39	OA5 Bileşığının NOESY Spektrumu.....	69



GİRİŞ

Yeni ilaçların geliştirilmesinde çok yararlanılan bir yöntem, moleküler modifikasyon ya da diğer adıyla moleküler manipulasyondur. Bu yöntemde belirli bir biyolojik aktiviteye sahip olan bir molekül lider bileşik olarak kabul edilir ve bu bileşiğin homolog türevleri veya analogları hazırlanır. Amaç, lider molekülden daha selektif etkili, istenmeyen yan etkileri minimuma indirilmiş, ya da biyoyararlanımı daha yüksek olan yeni ilaç moleküllerinin yaratılmasıdır. Lider bileşikten hareketle dizayn edilen bu yeni türevler total sentezle elde edilebileceği gibi, lider bileşik üzerinde yapılacak yarısentetik modifikasyonlarla da kazanılabilir. Böylece tedavi açısından ümit verici yeni bileşiklere ulaşılması mümkün olur.

Sentetik ya da yarı sentetik ilaçların birçoğunda, tedavi değeri olduğu bilinen biyolojik kaynaklı bileşikler model olarak seçilmiştir. Küçük miktarlarıyla bile önemli fizyolojik ve farmakolojik aktivite gösterebilen biyolojik kaynaklı bileşikler olarak tanımlanan alkaloidlerin de, ilaç kimyacıları tarafından ümit vadeden ilaç lider bileşikleri olarak düşünölmeleri son derece doğaldır.

Lider bileşik olarak düşünölen molekül üzerinde, kalitatif ve kantitatif yapı-etki ilişkileri kurallarına uygun olarak rasyonel tasarımlar yapmak ve daha sonra bu analogların total sentezlerini gerçekleştirmek, çok uygulanan yöntemlerden birisidir. Bu yolla, biyojenetik olarak mümkün olmayan ve dolayısıyla doğal kaynaklarda izole edilemeyecek bazı analoglarının da sentezlerinin gerçekleştirilmesiyle, yapılarının ayrıntılı bir şekilde incelenebilmesi, buna bağlı olarak daha etkili bileşiklerin tasarlanması ve elde edilmesi imkanı doğur. Ancak total sentezin rantabl olmaması durumunda, bizzat model oluşturan bileşik ya da onun öncül bileşikleri üzerinde yarı sentetik yollardan birisi olan fotokimyasal

tepkimelerdir. Ancak bu tür tepkimelerin sonucunda bazen beklenenin dışında ilginç bileşiklere de ulaşılabilmektedir. Ayrıca fotokimyasal tepkimeler, model bileşiğin ışığa maruz kaldığında davranışını belirlemesi, diğer deyişle ışık stabilitesi konusunda bilgi vermesi açısından da önem taşır.

Bu temel fikirden hareketle, bu çalışmamızın kapsamında, doğal bir kaynaktan izolasyonla elde edilmiş bir alkaloid olan tazettine ([2]-benzopirano[3,4-c]indol)'in fotokimyasal tepkimesi ile oluşacak ürünlerin elde edilmesi ve yapılarının modern spektral yöntemlerde yararlanılarak aydınlatılması amaçlanmaktadır. Bu yolla öncelikle tazettine'in ışık karşısındaki kimyasal stabilitesi irdelenmiş olacaktır. Ayrıca, tazettine'de varolduğu bilinen aktivitenin fotokimyasal ürünlerde ne yönde bir değişme göstereceği hususunun da gelecekte yeni bir çalışma için ilginç bir konu oluşturacağı düşünülmektedir.

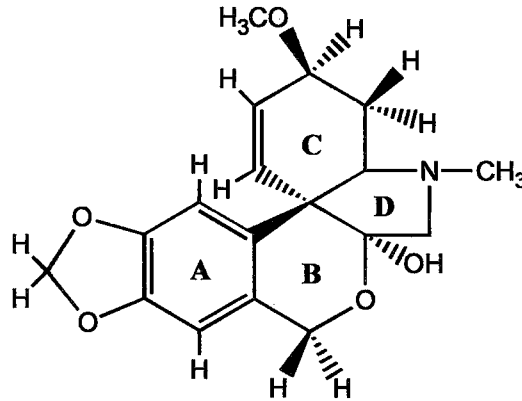
TEORİK BÖLÜM

I. TAZETTİNE HAKKINDA GENEL BİLGİLER

A. Tazettine'in Yapısı

Sadece Amaryllidaceae familyasına özgü olmaları nedeniyle "Amaryllidaceae Alkaloidleri" olarak isimlendirilen ve yaklaşık 200 kadar üyesi bulunan (24) bir grup alkaloid, 9 alt grup halinde sınıflandırılır. Bu alt gruplardan bir tanesi "tazettine grubu"dur ve bu alt sınıfın prototipi de, aşağıda açık kimyasal formülü verilmiş olan tazettine'dir. Bazı kaynaklara göre, biyojenetik olarak türedikleri varsayılan crinane alt grubu içerisinde de mütalaa edilmektedirler.

Tazettine çekirdek yapı olarak [2]-benzopirano[3,4-c]indol halka sistemine sahiptir.



ŞEKİL 1

B. Tazettine'in Doğada Bulunuşu

Tazettine doğada ilk kez Spath ve Kahovec tarafından *Narcissus tazetta* adlı bitkinin soğanlarında bulunmuştur (19). Günümüze kadar tazettine izole edilen Amaryllidaceae genus ve türleri aşağıda kısaca özetlenmektedir:

Galanthus caucasicus Baker (*G. nivalis* H.) (48, 27, 32), *G. elwesii* Hook. f. (*G. elwesii*), *G. nivalis* L., *G. woronovii*, (50, 51) *G. plicatus* Bieb., (47, 11, 15, 53, 9, 10, 14, 16, 25, 26, 31) *Crinum americanum* (46), *C. giganteum* (39), *Hippeastrum equestre* (17), *H. johnsonii* (43), *Hymenocallis expansa* (7), *H. littoralis* (34), *H. rotata* (28), *H. concinna* (42), *Lycoris radiata* (29), *Narcissus cantaricus* (8), *N. tazetta* (3), *Pancratium maritimum* (4), *Sternbergia lutea* (40, 6), *S. sicula* (40, 41), *Narcissus folli* (1), *N. kristalli* (1), *N. tazetta* (1), *Rhodophiala bifida* (49), *Ungernia spiralis* (6), *U. trisphaera* (5), *Zephyranthes sulfurea* (44).

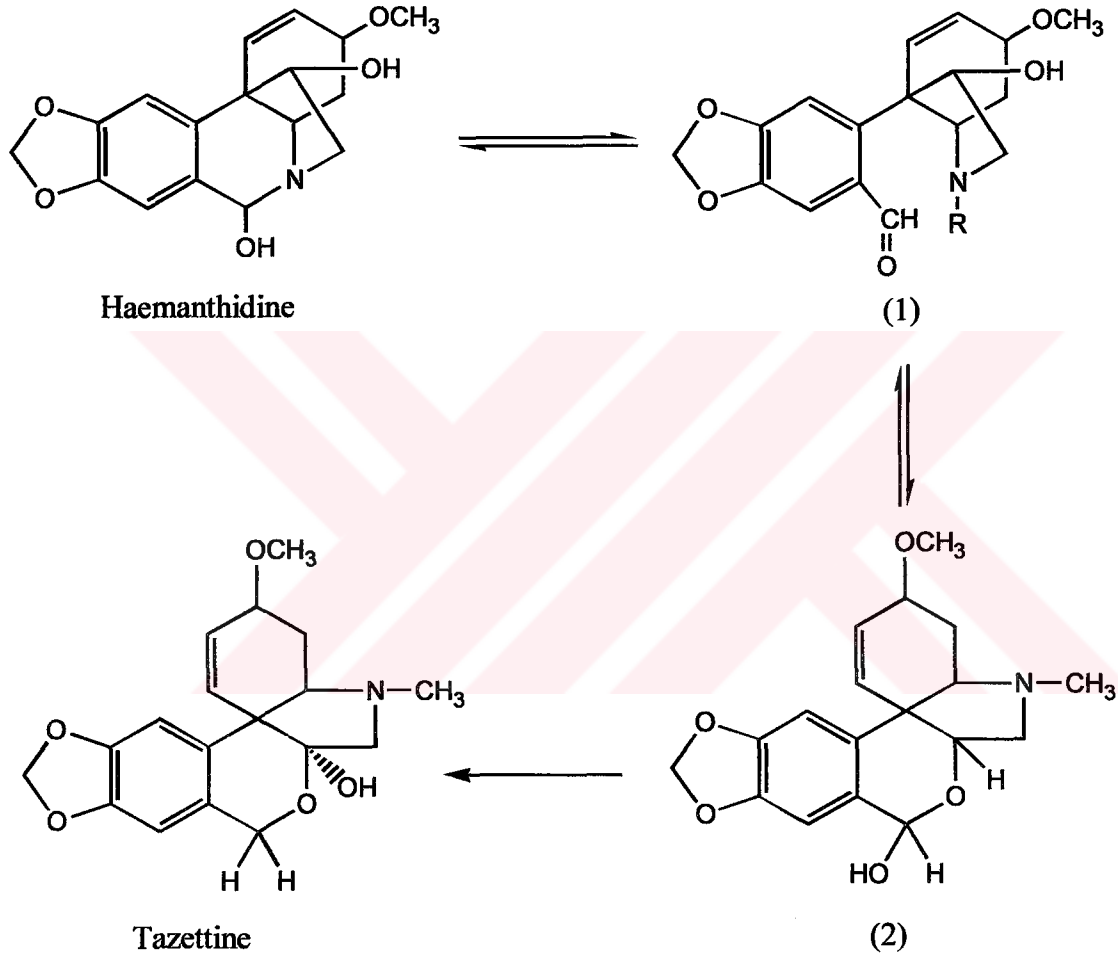
Lycoris radiata ve *Narcissus tazetta*'dan elde edilen alkaloid ekstraktları ile yapılan çalışmalar sonucunda doğal olarak elde edilen alkaloidin (+)-pretazettine olduğu, (+)-tazettine'nin ise izolasyon esnasında ortaya çıkan bir yan ürün olduğu belirtilmiştir (7).

Leucojum aestivum'dan izole edildiği bir çalışmada ise, tazettine'nin, epimeri olan isotazettine şeklinde bulunduğu ve su ile muamaleden sonra tazettine'e dönüştüğü saptanmıştır (53).

C. Tazettine'in Biyojenetik Oluşumu

5,10b-etanofenantridin iskeleti taşıyan crinane grubu alkaloidlerden özellikle C-11 konumunda hidroksil grubu taşıyan türevlerin 2-benzopirano[3,4-c]indol halkası içeren tazettine ve benzeri bileşiklerin biyosentetik ve kimyasal öncül bileşikleri olduğuna inanılmaktadır (37). Crinane grubu bir Amaryllidaceae alkaloidi olan haemanthidine'in kolayca tazettine'e dönüşebilmesi, yapısında crinane çekirdeğinden tazettine çekirdeğine dönüşümüne olanak sağlayacak unsurların bulunmasıyla mümkün olmaktadır. Bu gerekli komponentler, crinane halkasının 11-konumunda bir hidroksil grubu ve allilik 3-metoksil grubudur. Söz konusu ikinci komponent tazettine'de de aynı konumda ve aynı oksidasyon aşamasındadır. Haemanthidine'de 11-konumundaki oksijenasyonun bir hidroksil olmasına karşılık,

tazettine'de karşı gelen konumdaki oksijenli sübstitüsyon bir ketondur. Dolayısıyla haemanthidine'den tazettine'e çevirmeyi sağlayan yolak, C-6 ve C-11 konumlarında aynı anda oluşan bir oksidasyon-redüksyon işlemini içermektedir (**Şema 1**)



Şema 1

Haemanthidine açık zincir (1) ve hemiasetal (2) şekilleri arasında dengede bulunur. Ancak (1) no lu açık zincir formunun herhangi bir anda sadece çok küçük bir miktarda bulunduğu düşünülmektedir; zira bu alkaloidin IR spektrumunda karbonile ait bir gerilme bandı izlenmediği gibi, UV spektrumunda beklenen metilen-dioksifenil kromoforuna ait absorpsiyon görülmektedir. Haemanthidine'in

alkali sodyum nitroprusiyat ve asetaldehit ile yapılan sekonder amin tanımlama deneyinde pozitif sonuç alınamamıştır. Buna rağmen uygun ortamda, tepkime ara ürünleri olarak (1) ve (2) no lu bileşiklerin bulunma olasılıklarını çok yüksek olduğu düşünülmektedir.

Yapılan kimyasal deneyler, haemanthidine'nin C-6 ve C-11 konumunda cereyan ettiği düşünülen oksidasyon-redüksiyon tepkimelerinin, ne bazik bir iyota, ne de 5,10b-etanofenantridin halka sistemine gereksinimi olmadığını ortaya koymuştur. Çevrilme tepkimesi çok büyük bir ihtimalle intramolekülerdir, veya (1) ya da (2) no lu bileşikler üzerinden hidrür transferiyle gerçekleşmektedir.

Biyomimetik kimyasal tepkimeler, azotun katernize olması halinde, hem B halkasının açılışının ve hem de çevrilmenin son derece kolay bir şekilde yürüdüğünü göstermiştir.

Tazettine'in ekstraksiyon işlemleri sırasında pretazettine'den rearranjman ile oluştuğu iddia edilmiştir. Örneğin tazettine için iyi bir kaynak olarak bilinen *Sprekelia formosissima* ve *Ismene calanthina* üzerinde yapılan deneylerde, ekstraksiyon esnasında bazik şartlardan kaçınıldığında tazettine bulunmadığı, buna karşılık pretazettine izole edildiği gösterilmiştir. Asit ortamda oldukça stabil olan pretazettine, hafif bazik bir ortamda bile kolayca tazettine'e dönüşmektedir. Hatta baz haldeki pretazettine'in 70⁰ C de 1 saat süreyle su içinde ısıtılması bile, tazettine'e dönüşümü için yeterli olabilmektedir.

5,10b-etanofenantridin alkaloidlerinin [2]benzopirano[3,4-c]indol çekirdeğine biyosentetik dönüşümü, *Sprekelia formosissima* L.'nin tritumla işaretli alkaloidlerle beslenmesi sırasında gözlenmiştir. Bu bitkinin haemanthamine'i haemanthidine'e ve ardından tazettine'e geri dönüşümsüz olarak çevirdiği gösterilmiştir (52) Ayrıca bu dönüşümün sıcaklık, çözücü ve pH dan etkilendiği ortaya konmuştur.

D. Tazettine'in Sentezi

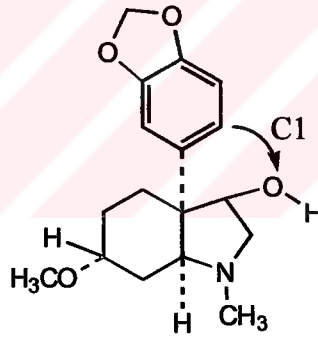
Haemanthidine'nin asit ve bazlara olan duyarlılığı sonucunda birçok sentetik yapının oluştuğu ve metil iyodürle ısıtılması sonucu tazettine elde edildiği bulunmuştur. Buradaki dönüşümün haemanthidine'nin C-11'deki hidrür transferi ve C-6 aldehitinin iç Cannizaro indirgemesi ile oluştuğu düşünülmektedir. Reaksiyonun C-11 epimeri üzerinden meydana gelmediği saptanmıştır (23).

Primer ve sekonder aminlerin alkilasyonu sonucu tersiyer bazların oluştuğu Eschweiler-Clark metilasyonu ile hemanthidine'nin metilasyonu sonucu iyi verimle tazettine oluştuğu bilinmektedir. Aslında pretazettine'nin gerçek reaksiyon ürünü olduğu fakat ürünün izolasyonunda kullanılan kuvvetli bazın tazettine'e dönüşümüne neden olduğu düşünülmektedir. Bu hipotezi test etmek için haemanthidine, Eschweiler reaksiyonuna tabi tutulmuştur. Reaksiyon tamamlandığında orijinal çalışmada kullanılan bazdan daha yumuşak bir bazla izolasyon yapılmış ve elde edilen tek ürünün pretazettine olduğu gözlenmiştir (51).

dl-tazettine'nin total sentezinin yapıldığı bir çalışmada 2,3-metilendioksifenilasetondan başlanarak 4a ve 4b bileşikleri elde edilmiştir. Epimer 4b den C₁ biriminin istenen girişi başarısız olması sonucunda epimer 4a yoluyla bu interpolasyon gerçekleştirilmiştir. Trimetil ortofosfat, polyfosforik asit ve asitle hidroliz sonucu 6a-epipretazettine sentezlenmiştir. Moffat Pfitzner oksidasyonu ve (Bu)₄NF₄⁻ ile sililasyonunu takiben dl-tazettine elde edilmiştir (21).

4a OH=α

4b OH=β



(±)-Tazettine'nin total sentezi 4-metoksibenzil alkolden başlanarak gerçekleştirilmiştir. Son basamaklarda elde edilen tazettindiol'den (±)tazettine'nin 2 yolla sentezlendiği gözlenmiştir. Birinci yolda selektif sililasyonu içeren Danishefsky yönteminin uygulanmasını takiben Swern reaktifi ile oksidasyon ve desililasyona tabi tutularak (±)-tazettine elde edilmiştir. Bunlara alternatif olarak dimetilsulfoksit -trifloroasetikasit anhidrit reaktifi ile oksidasyonun tazettindiol'den direkt olarak (±)-tazettine elde edilmesine olanak sağladığı gözlenmiştir (2).

Bu sentezde önemli olan basamak intramoleküler palladyumla katalizlenen alken arilasyonunun uygulanması (\pm)-tazettine'nin sterik olarak kontrol edilen sentezlerinin etkili bir şekilde gerçekleşmesini sağlamıştır. Palladyumla sentezlenen siklizasyon Amaryllidaceae alkaloidlerinin geniş bir çeşidinde ortak olarak bulunan katerner karbon-aril bağının oluşumu için yeni bir strateji oluşturmuştur. Bu basamakta gözlenen sterik bağlanmanın hassasiyeti, giriş olayının tercihen aril palladyum σ bağı ve alken π bağının eklips yönlenmesine sahip konformasyonlarda ortaya çıktığını göstermiştir.

E. Tazettine'in Spektral Bulguları

1. ^1H NMR Bulguları

Tazettine'in ^1H NMR spektrumunda (Spektrum No 3) aşağı alanda A halkasının birbirlerine göre *p*-konumunda yönlenmiş olan aromatik hidrojenlerine ait olan rezonanslar iki singlet halinde izlenir. Yine aşağı alanda görülen diğer iki sinyal ise C-1 ve C-2 konumlarında yer alan olefinik protonlara aittir. Birbirleriyle yaklaşık 10 Hz lik bir etkileşme değişmezi ile bölünen bu hidrojenlerden H-2, H-3 ile çoğu kez okunamayan bir *J* değeriyle etkileşir. $J_{2,3}$ ün küçük bir değer olması, C-3 konumundaki konfigürasyonun (S) olduğunun ve bu konumda yer alan alifatik metoksil sübstitüentinin β -yönlenmeli olduğunun kanıtıdır (22).

Tazettine'in ^1H NMR spektrumunda, metilendioksi, alifatik metoksil ve N-metil grubunun hidrojenlerine ait olan rezonanslar, bu gruplar için beklenen normal kimyasal kayma değerlerinde izlenir.

Tazettine için oldukça karakteristik olup tanımlamaya yardımcı olan sinyaller, iki çift izole hidrojene aittir. Bunlardan C-8 de yer alan ve B halkasındaki oksijene α konumda olmaları nedeniyle oldukça aşağı alanda rezonans veren benzilik hidrojenler, birbirleriyle yaklaşık 15 Hz civarında bölünen iki dublet halinde izlenirler. C-6 da yer alan izole hidrojenler ise, daha yukarı alanda ve yaklaşık 11 Hz civarında bir *J* değeriyle bölünmüş iki dublet halinde görülürler.

C-4 de yer alan geminal hidrojenler H-3 ve H-4a ile etkileşmeleri nedeniyle, iyi bölünen multipler şeklinde spektrumun en yukarı alanında çıkarlar. Bu

sinyallere ait J değerleri, tazettine'in B, C ve D halkalarının konformasyonel tercihini saptamak için güvenle kullanılan kriterlerdir.

Alifatik alanda izlenen tek metin olan H-3, H-2 ve H-4 ile etkileşmeleri nedeniyle multiplet şeklinde yaklaşık δ 4 ppm civarında izlenir.

2. ^{13}C NMR Bulguları

Tazettine'in ^{13}C NMR spektrumunda (Spektrum No 4) 18 tane sinyal görülür. DEPT ya da çift dimensiyonlu ^1H , ^{13}C COSY deneyleri yapıldığı takdirde, bu sinyallerin 2 tanesinin metil, 4 tanesinin metilen, 6 tanesinin metin karbonlarına ait olduğu, geri kalan 6 karbonun da katerner olduğu saptanabilir.

Tazettine'in ^{13}C NMR spektrumunda en bilgi verici olan iki sinyal yaklaşık δ 51 ve δ 103 de rezonans veren katerner karbonlara aittir. Bunlarda ilki, alifatik bir spiro karbon için karakteristik bir değerdir ve tazettine'in C-12b karbonuna aittir. Oldukça aşağı alanda görülen ikinci sinyal ise C-6a ya aittir. Bu karbon gerek taşıdığı alifatik tersiyer alkol grubu ve gerekse B halkasının 7-konumunda yer alan oksijene α -konumda olması nedeniyle, bu denli büyük bir kimyasal kayma değerinde izlenmektedir.

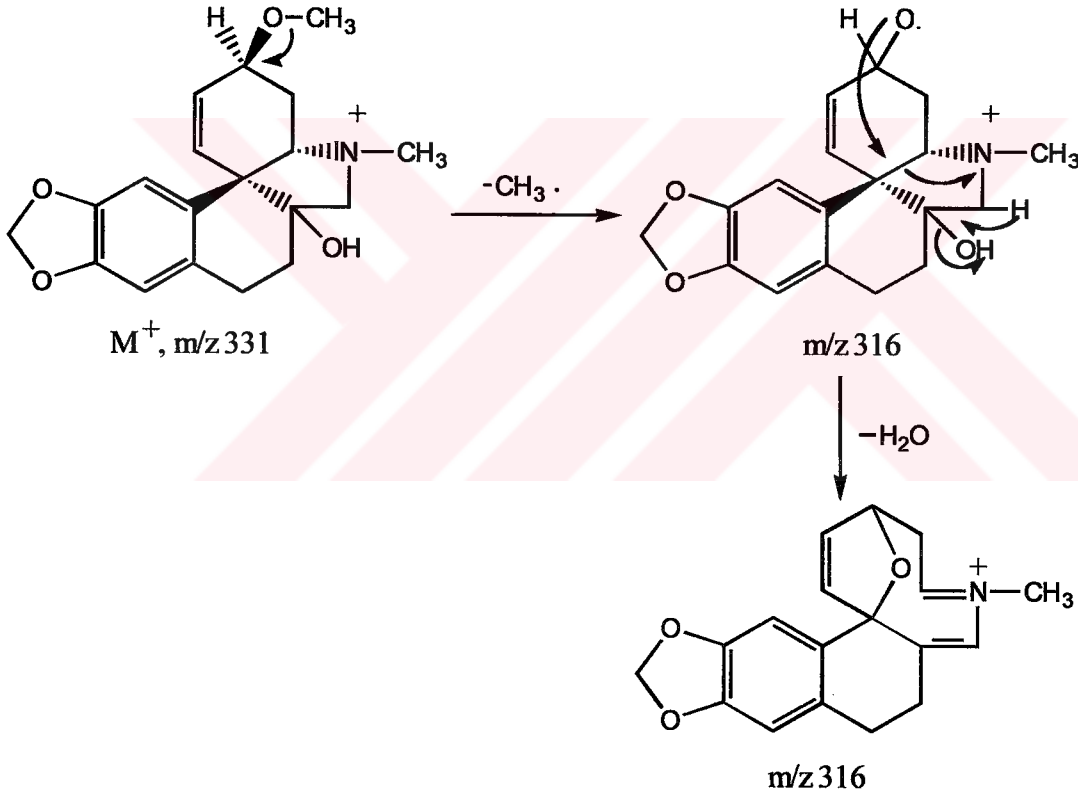
Keza δ 60-70 arasında bulunan 4 tane sinyal, kimyasal çevreleri nedeniyle aşağı alanda çıkması gereken C-3, C-4a, C-6 ve C-8 karbonlarına aittir ve tazettine'in tanımlanmasında yardımcı olmaktadır.

3. Kütle Spektral Bulguları

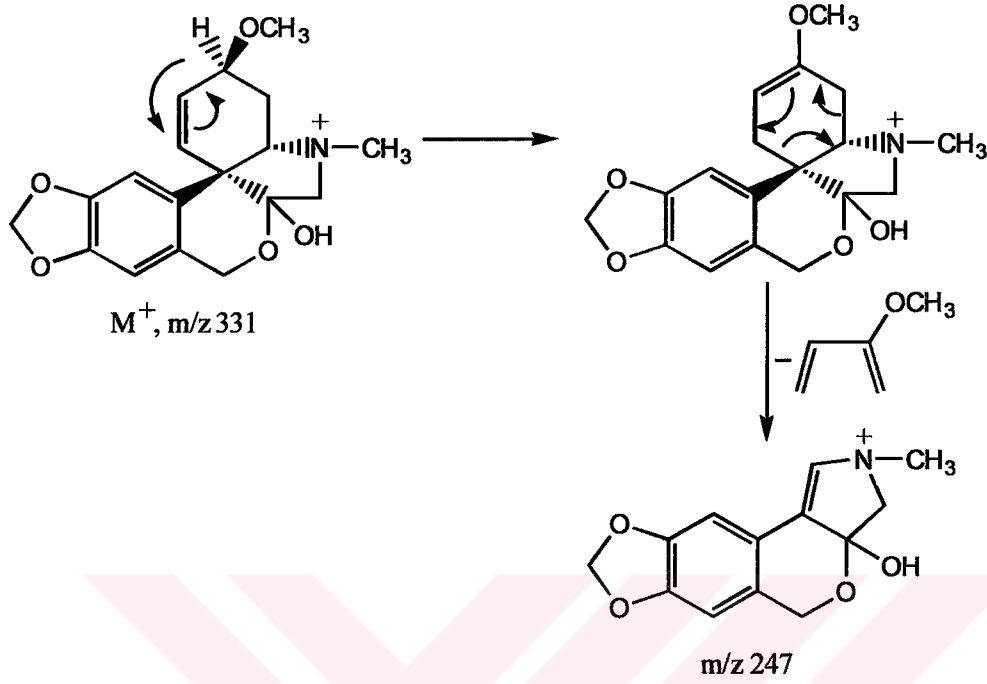
$\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{NO}_5$ kapalı formülüne sahip olan tazettine için hesaplanan molekül ağırlığı 331 dir. Bileşiğin EI kütle spektrumunda (Spektrum No 5) moleküler iyon yaklaşık %45-50 bağıl bollukta izlenebilmektedir. Baz tepe m/z 247 dedir ve $[\text{M}-84]^+$ iyonuna karşı gelmektedir. Bu iyon; bir hidrojen transferini takiben, C halkasının retro-Diels-Alder mekanizması ile parçalanması sonucunda oluşmaktadır. (18)

Ayrıca bileşikten bir metil radikalinin atılması ile oluşan m/z 316 ve bu iyondan su atılmasıyla oluşan m/z 298 iyonlarının muhtemel oluşumları da Şema 2 de gösterilmiştir.

Tazettine'i, C-3 konumundaki epimeri olan criwelline'den ayırmak için EI kütle spektrumu kullanılmaktadır. Zira tazettine'de baz tepeyi oluşturan m/z 247 iyonunun bağıl bolluğu criwelline'de çok düşüktür. Ayrıca criwelline'de çok yüksek bağıl bollukta bulunan m/z 301 $[M-30]^+$ iyonu, tazettine'in EI kütle spektrumunda hiç görülmemektedir (Şema 3).



Şema 2



Şema 3

4. X-ışını Analizi

Uyeo ve yardımcıları tazettine'nin kimyasal dellilerinin temeline dayanarak yapısını ve konformasyonel özellikleri üzerinde çalışmaya başlamışlardır. Bu çalışmada tek kristal X-ray analizini kullanarak tazettine metiliodürün kesin moleküler yapısı bulunmuştur. Buradan 6 üyeli 2 halka olan B ve C nin bozulmuş yarım sandalye konformasyonuna, 5 üyeli halka olan D nin bir düzlemde bulunan C(4a), N(5) ve C(6) atomları ile yarım sandalye konformasyonuna sahip olduğu saptanmıştır. B ve D halka birleşmesinin cis, C ve D de trans olduğu gözlenmiştir.

F. Tazettine'in Stereokimyası

Tazettine'de C-3, C-4a, C-6a ve C-12b de olmak üzere 4 tane kiral merkez mevcuttur. Bu kiral merkezlerdeki konfigürasyonlar 3(R), 4a(S), 6a(S) ve 12b(S)

dir. Tazettine'in absolut konfigürasyonu, tek kristal üzerinde yapılan X-ışını analizleri ile kesinlik kazanmıştır (35, 45).

Ancak bu merkezlerdeki konfigürasyonların saptanmasında, başka spektral bulgularda destekleyici olmaktadır. Örneğin daha önce tazettine'in ¹H NMR spektrumunda konu edildiği üzere, C-3 konumunun konfigürasyonu $J_{2,3}$ değerinin sayısal mertebesiyle saptanabilmektedir (22).

Bileşiğin CD spektrumu (Spektrum No 6), 12b deki konfigürasyon hakkında bilgi sağlarken, tek dimensiyonlu nOe ya da çift dimensiyonlu NOESY (veya ROESY) deneyleriyle, gerek kiral merkezlerin konfigürasyonu ve gerekse B, C ve D halkalarının tercihli konformasyonları hakkında bilgi sahibi olmak mümkün olmaktadır.

G. Tazettine'in Farmakolojisi

Tazettine'in öncül bileşiği olduğu kabul edilen pretazettine'in, farelerde 25 mg/kg dozda viral olarak indüklenen bir kanser türü olan Rauscher Lösemisi'nde yaşam süresini uzatıcı etkisi olduğu saptanmış, ancak pretazettine'in tazettine'e dönüşümü ile antiviral aktivitenin ortadan kalktığı rapor edilmiştir (20).

¹³ Antilösemik etkiye sahip olan pretazettine, tazettine'nin 3-epitazettadiol dönüşümünü takiben 3-epitazettadiol'ün manganoksitle oksidasyonu sonucu elde edildi ve yapısı spektral bulgularla doğrulandı (30). Başka bir çalışma pH 10 da pretazettine'nin tazettine dönüştüğü belirtilmiştir (12). Pretazettinenin tazettine'e dönüşümü antiviral aktiviteyi bozduğu gözlenmiştir (13). Yapılan çalışmalarda Tazettine'nin hafif hipotansif etkisi bulunduğu ve immun sisteme etkisinin çok düşük olduğu tespit edilmiştir (52).

Başka bir çalışmada tazettine'nin sitotoksitesi araştırılmıştır. Tümör panel hücrelerinde çeşitli derecelerde seçici sitotoksik aktiviteye sahip olduğu gözlenmiştir. Aktivite için kriter olarak $ED_{50} \leq 50\mu\text{g/ml}$ alınarak, tazettine'nin BC1'e ve vinblastine rezistanslı KB hücrelerine karşı inaktif oldukları ve (+)-tazettine'nin CO12 hücrelerine karşı aktivitesinin olduğu ispatlanmıştır (7).

II. FOTOKİMYASAL TEPKİMELER (36)

Organik moleküllerin çoğunda temel enerjili haldeki tüm elektronlar çiftler oluşturur. Pauli Prensibine göre, bu elektron çiftinin elektronlarından bir tanesinin spini diğerine zıttır. Ancak bu elektron çiftlerinden bir tanesi daha yüksek enerjili kademeye geçtiğinde, çifti oluşturan bu iki elektron artık aynı orbitali paylaşmazlar. Spinleri ise zıt yönde olabileceği gibi, aynı yönde de olabilir. Bu durumdaki iki elektronun spinleri aynı ise triplet (T), zıt ise singlet (S) olarak adlandırılırlar. Dolayısıyla, hemen hemen tümüyle singlet olan temel enerjili elektronları uyarılmış singlet (örneğin S_1) ya da uyarılmış triplet (örneğin T_1) haline yükseltmek için, farklı miktarlarda enerjiye ve farklı dalga boylarına gereksinim olacaktır.

Bir organik kimya laboratuvarında gerçekleştirilen tepkimelerin birçoğu, elektronik olarak temel enerji düzeyindeki moleküller arasında cereyan eder. Fotokimyasal bir tepkimede ise, molekül önce ışık absorplamak suretiyle elektronik olarak uyarılmış enerji düzeyine geçer. Ancak, bir molekül ışık absorpladığında cereyan eden tek olay uyarılmış hale geçmesi değildir. Görünür ve UV ışığın enerjisi, kovalent bağların enerjisi ile büyüklük açısından hemen hemen eşdeğer olduğu için, cereyan etmesi mümkün olan bir başka olay molekülün iki parçaya ayrılmasıdır. Bu olaya "fotoliz" adı verilir.

Işık absorpsiyonu sonucunda uyarılmış hale geçen bir molekül uzun bir süre bu halde kalmaz, yani bir şekilde bu fazla enerjisinden kurtulması gerekir. Bunu da fiziksel ve kimyasal olarak sınıflandırabileceğimiz yollarla gerçekleştirecektir.

A. Fiziksel Yollar

1. S_1 uyarılmış enerji düzeyinde olan bir molekül vibrasyonel kademelerden yavaş yavaş inerek, yani enerjiyi küçük miktarlar halinde çevreye yayarak S_0 temel enerji düzeyine geri döner. Söz konusu enerji miktarının büyük olması nedeniyle bu uzun süren bir işlemdir. Bu yolağa "İç Konversiyon" [Internal Conversion (IC)] adı verilir. Bu yolağın yavaş olması nedeniyle, S_1 enerji kademesinde olan moleküllerin çoğu başka yolları tercih ederler.

2. S_1 uyarılmış enerji seviyesinde olan bir molekül, fazla enerjisini çok kısa bir sürede ışık enerjisi şeklinde geri verir ve S_0 temel enerji durumundaki daha az enerjili bir titreşim seviyesine düşer. Genellikle 10^{-9} saniye gibi kısa bir sürede cereyan eden bu işleme "fluoresans" adı verilir. Fluoresans da çok sıklıkla rastlanan bir yolak değildir, zira işlem oldukça yavaştır. Bu nedenle floresans olayına sadece küçük ya da aromatikler gibi rijit moleküllerde rastlanmaktadır.

3. T_1 enerji kademesinde olan bir molekül, ısı ya da ışık neşrederek S_0 temel enerjili haline dönebilir. İkinci durumda olaya "fosforesans" adı verilir.

4. Uyarılmış S_1 ya da T_1 enerji kademesindeki bir bileşik fazla enerjisini tümüyle çevresindeki bir başka moleküle aktarabilir. Bu olaya "fotosensitizasyon" denir. Böylece donör S_0 temel enerjili haline dönerken, akseptör olan diğer molekül, uyarılmış enerjili hale geçer.

B. Kimyasal Yolaklar

Genellikle hem uyarılmış singlet ve hem de uyarılmış tripletlere sahip bileşikler kimyasal tepkimelere girebilirler. Ancak bu olay tripletler için daha olağandır, zira onların dayanıklılık süreleri daha uzundur. Örneğin uyarılmış singletlerin ömrü 10^{-10} saniyeden kısadır ve bu nedenle kimyasal bir tepkimeye girme şansı bulamadan yukarıda bahsedilmiş olan fiziksel tepkimelerden birine girerler. Bu nedenle fotokimyanın çoğunlukla uyarılmış tripletlere ait bir olay olduğu söylenebilir.

Aşağıda şematik olarak özetlenen fotoreaksiyonlardan en sıklıkla rastlananlar, serbest radikallere dönüşme ve farklı moleküller halinde dekompoze olma tepkimeleridir.

(1) (A-B-C).....	A-B. + C \cdot	Serbest radikaller vererek parçalanma
(2) (A-B-C).....	E + F	Farklı moleküllere dekompozisyon
(3) (A-B-C).....	A-C-B	Molekül içi rearanjman
(4) (A-B-C).....	A-B-C'	Fotozomerizasyon
(5) (A-B-C).....	A-B-C-H + R \cdot	Hidrojen atomu transferi
(6) (A-B-C).....	(ABC) $_2$	Fotodimerizasyon
(7) (A-B-C).....	ABC + A*	Fotosensitizasyon

Fotoreaksiyonların bazıları (1, 2, 3 ve 4 no lu tepkimeler) unimoleküler, bazıları ise bimoleküler (5, 6 ve 7 no lu tepkimeler) dir. Bimoleküler tepkimelerde, iki tane uyarılmış molekülün birbiriyle etkileşmesi biraz nadirdir, zira herhangi bir zaman biriminde bulunan uyarılmış molekül konsantrasyonu pek yüksek değildir. Bu nedenle fotoreaksiyon genelde uyarılmış bir molekülle, temel enerjili haldeki bir başka molekül arasında cereyan eder.

Fotoreaksiyonların bazı türlerinin sonucunda serbest radikaller ve karbenler oluştuğu için, primer tepkimeleri sekonder tepkimeler takip edebilir.

Bazı istisnalar dışında hemen hemen tüm primer fotoreaksiyon ürünleri temel enerjili hallerinde bulunurlar.

Fotokimyasal bir mekanizmanın anlaşılabilmesi için, tepkimeye giren moleküllerin tümünün buldukları enerji durumlarının, bunların kararlı oldukları sürelerin ve cereyan edebilecek tüm yan tepkimelerin bilinmesi gerekir. Fotokimyasal mekanizmaların tayininde kullanılan yöntemler, herhangi bir organik mekanizmanın aydınlatılması için kullanılanların aynısıdır, örneğin ürünlerin tanımlanması, izotop işaretlemesi, ara ürünlerin yakalanması ve tanımlanması, reaksiyon kinetiği gibi. Ancak ışık absorplayan bir molekülün ve meydana gelen fotoreaksiyonda oluşan tüm radikallerin kaderlerini kesin olarak tayin edebilecek bilgilere henüz ulaşamamıştır.

DENEYSEL BÖLÜM

I. MATERYAL

Bu araştırmanın başlangıç materyali olan tazettine, fakültemizin Farmakognozi Anabilim Dalında *Galanthus plicatus* Bieb. Subsp. *Byzantinus* (Baker) D. A. Webb bitkisiyle yapılan çalışmalarda saf halde elde edilmiş olup, yapısı spektral analiz yöntemleri ile kesin olarak saptanmıştır.

II. YÖNTEMLER

A. İnce Tabaka Kromatografisi (İ.T.K.)

Bu yöntemden; bileşiğin fotokimyasal tepkimesini kontrol edebilmek, sütun kromatografisi sonucu elde edilen benzer bileşikleri birleştirmek ve bu bileşiklerin safılıklarını tayin edebilmek amacıyla yararlanıldı. İ.T.K. çalışmalarında 0.25 mm kalınlığında, 20X20 cm boyutlarındaki Kieselgel 60F₂₅₄ (Merck 5715) hazır kromatografi plakları kullanıldı. Çalışmalar oda sıcaklığında yapıldı ve developman işlemi kromatografi tanklarının çözücü buharı ile doyurulmasından sonra gerçekleştirildi. Bileşiklere ait lekelerin belirlenmesinde 254 nm dalga boyundaki UV ışığından faydalanıldı. Ayrıca lekelerin alkaloidal karakterlerinin saptanmasında Dragendorf belirteci kullanıldı.

Dragendorf Belirteci: (38)

Çözelti A: 0.85 g bizmut nitratın 10 ml asetik asit ve 40 ml sudaki çözeltisi

Çözelti B: 8 g potasyum iyodürün 20 ml sudaki çözeltisi

Kullanımdan önce A ve B çözeltileri eşit hacimde karıştırıldı ve bu karışımın 1ml sine 2 ml glasiyel asetik asit ve 10 ml su ilave edilerek kullanıldı.

B. Sütun Kromatografisi

Bu yöntem fotokimyasal tepkimeler sonucunda elde edilmiş bileşiklerin fraksiyonlandırılmasında kullanıldı.

Sütun kromatografisinde adsorban olarak Silika jel 60H (Merck) kullanıldı. Ayırma tabi tutulan tepkime ürünlerinin 1 g 'ı için 20 g adsorban ve bu miktara uygun boyutlara sahip olan 24 mm çapındaki bir cam sütun kullanıldı. Sütun kromatografisinde yararlanılan çözücü sistemleri aşağıda belirtilmiştir.

<u>NO</u>	<u>ÇÖZÜCÜ SİSTEMİ</u>
I	Benzen : kloroform : etil asetat (9:0.5:1)
II	Benzen : kloroform : etil asetat (5:1:4)
III	Benzen : kloroform : etil asetat :metanol (5:1:4:1)
IV	Benzen : kloroform : etil asetat :metanol (5:1:4:2)
V	Kloroform : metanol (8:2)

C. Preparatif İ.T.K.

Preparatif İ.T.K. nde Silika jel G (Merck) ve Silika jel HF₂₅₄ (Merck) ile hazırlanan 0.5 mm kalınlığında 20x20 cm boyutlarındaki cam plaklardan ve Silika jel 60 F₂₅₄ ile kaplanmış hazır plaklardan yararlanıldı. Çözücü sistemi olarak İ.T.K. de en iyi sonucu veren çözücü sistemleri kullanıldı. Developman sonrasında plaklar UV ışığı altında incelendi. Belirlenen bantlar kloroform:metanol (8:2) karışımı ile elüe edildi. Çözücünün alçak basınçta distillenmesiyle bileşikler saf halde elde edildi.

III. DENEYLER

A. Fotokimyasal Tepkime

7.2 mg tazettine 25 ml lik bir balonda 5 ml metanolde çözüldürölüp bir balonda direkt güneş ışığına maruz bırakıldı. 24 saat aralıklarla yapılan İ.T.K. kontrolleriyle maddenin fotokimyasal tepkimeye girip girmediği izlendi. Bu deneylerde ilk 24 saatte tepkime ceryan etmediği, ikinci 24 saatte yeni bir bileşiğin oluştuğu, ancak başlangıç bileşiğinin halen mevcut olduğu, üçüncü 24 saatte ise tazettine'e ait lekenin tamamen kaybolduğu ve değişik ürünlerin oluştuğu saptandı.

Bu deney aynı miktar başlangıç bileşiği ile yukarıda belirtilen şartlarda tekrarlandı.

Tepkimedede oluşan ürünlerin yeterli miktarda elde edilebilmesi amacıyla, 959.8 mg tazettine 400 ml metanolde çözüldürüp 250 ml'lik 2 balon içinde doğrudan güneş ışığına maruz bırakıldı. Günde 2 defa yapılan İ.T.K. kontrolleri ile tazettine'in tamamen kaybolduğu saptanıncaya kadar işleme devam edildi. Daha sonra tepkime karışımı alçak basınçta rotavaporda distillendi.

B. Ham Ürünün Fraksiyonlandırılması

Fotokimyasal tepkime sonucunda elde edilen ve en çok sayıda bileşikden oluştuğu İ.T.K. ile saptanan ham ürün yaklaşık 20 ml kloroform:metanol (8:2) karışımında çözüldürülerek bir porselen kapsüle alındı. Üzerine 1 g Silika jel 60H ilave edildi. Bir süre su banyosunda azot gazı akımı altında, daha sonra oda ısısında bırakılarak tamamen kuru hale gelmesi sağlandı.

20 g Silika jel 60H tartıldı.100 ml I no lu çözücü sisteminde süspansiyon haline getirildi.Çapı 24 mm olan bir cam sütuna dolduruldu. Adsorban yüksekliği (18 cm) sabit hale geldikten sonra madde-silika jel karışımı sütuna ilava edildi ve I no lu çözücü sistemi ile elüsyona başlandı. 65. fraksiyona kadar 5 ml, 65. fraksiyondan sonra 10 ml, 95. fraksiyondan sonra 15 ml, 200. fraksiyondan sonra 50 ml lik fraksiyonlar alındı.

Her fraksiyon uygun çözücü sistemi kullanılarak İ.T.K. ile kontrol edildikten sonra benzer lekeleri içeren fraksiyonlar birleştirildi ve rotavaporda alçak basınçta distilasyonla çözücüsünden kurtarıldı. İ.T.K. ile yapılan kontrollerde görülen bileşik lekelerinin miktarına ve niteliğine bağlı olarak elüsyon çözücüsü değiştirildi. Sütun kromatografisinde elde edilen fraksiyonların içerdiği madde miktarları ve elüsyonlarında kullanılan çözücü sistemleri aşağıda gösterilmiştir.

<u>Fraksiyon no</u>	<u>Çözücü sistemi</u>	<u>Bakiye miktarı (g)</u>
4 (10-12)	I	0.0091
8 (56-99)	I	0.0832

C. Bileşiklerin Preparatif İ.T.K. Yöntemiyle Saf Halde Elde edilmesi

Fotokimyasal tepkime sonucunda elde edilen bileşiklerin preparatif İ.T.K. yöntemiyle saflaştırılması işlemlerinde aşağıda yazılı olan çözücü sistemlerinden yararlanılmıştır.

<u>SİSTEM NO</u>	<u>ÇÖZÜCÜ SİSTEMİ</u>
I	1. Benzen:kloroform:etil asetat (1:2:2)* 2. Benzen:kloroform:etil asetat (2:2:1)*
II	1. Benzen:kloroform:etil asetat (5:1:4) 2. Benzen:kloroform:etil asetat (1:2:2)

* Tank amonyak gazıyla doyurulmuştur.

1. 4 No Lu Fraksiyonun Saflaştırılması

10-12 nolu fraksiyonların birleştirilmesi ile elde edilen 4. fraksiyonun (9.1mg) uygun solvan sistemleri ile yapılan İ.T.K. kontrollerinde, saf halde olduğu saptandı. Dragendorf belirteci ile turuncu renk veren alkaloidal karakterli bu bileşiğe OA1 kodu verildi.

2. 8 NO LU FRAKSİYONUN SAFLAŞTIRILMASI:

Bu fraksiyonun saflaştırılmasında da preperatif İ.T.K. yönteminden yararlanıldı. Bunun için silika jel HF₂₅₄ (Merck) ve silika jel 60G ile hazırlanan 0.5 mm kalınlığındaki 20X20 cm lik plaklar kullanıldı. 83.2 mg olan fraksiyon yaklaşık 1ml kloroform:metanol (1:1) karışımında çözündürülerek 6 plağa uygulandı. İ.T.K. ile saptanan II no lu solvan sisteminde preperatif İ.T.K. yapıldı. UV ışığı altında incelemek suretiyle 2 bant (8A, 8C) kazınarak alındı. Kloroform:metanol (8:2) karışımında elüe edilen ürünlerin yapılan İ.T.K. kontrollerinde yeterince saf olmadıkları saptanarak daha ileri saflaştırma yöntemlerine tabi tutuldu.

2. 8A Fraksiyonun Saflaştırılması

Bu fraksiyonun saflaştırılmasında preperatif İ.T.K. kullanıldı. 4.4 mg olan fraksiyon yaklaşık 0.5 ml kloroformda çözündürülerek 0.5 mm kalınlığında silika jel 60 F₂₅₄ ile kaplanmış 10 X 20 cm'lik 1 adet hazır plağa uygulandı. Developman İ.T.K. ile saptanan en uygun çözücü sistemi olan II no lu solvan sisteminde yapıldı. UV ışığı altında tespit edilen majör bant plaktan kazındı ve kloroform:metanol (8:2) karışımında elüe edildi. Çözücü alçak basınçta rotavaporda distillendi. Çeşitli çözücü sistemleri ile yapılan İ.T.K. kontrollerinde 1.9 mg olan ürünün kromatografik saflıkta olduğu anlaşıldı. Dragendorf belirtecine olumlu yanıt veren bu bileşiğe OA4 kodu verildi.

3. 8C Fraksiyonun Saflaştırılması

Bu fraksiyonun saflaştırılmasında, 11.5 mg civarında fraksiyon yaklaşık 0.5 ml kloroformda çözündürülerek 0.5 mm kalınlığında silika jel F₂₅₄ ile kaplanmış 1 adet 10X20 cm lik hazır plağa uygulandı. İ.T.K. ile saptanan en uygun çözücü sistemi olan II no lu solvan sisteminde developpe edildi. UV ışığı altında saptanan majör bant kazınarak alındı ve kloroform:metanol (8:2) karışımında elüe edildi. Çözücüsünün alçak basınçta distilasyonu ile elde edilen 6.7 mg olan ürünün saf olduğu anlaşıldı. Dragendorf belirtecine olumlu yanıt vermesi ile alkaloidal karakterli olduğu saptanan bu bileşiğe OA5 kodu verildi.

BULGULAR

I. TAZETTİNE'İN SPEKTRAL BULGULARI

$[\alpha]_D$
MeOH
+143 ° (c 0.98)

UV (Spektrum No 1)

MeOH

λ_{maks} nm (log ϵ) 203 (4.75), 234 sh (4.12), 290 (3.70).

IR (Spektrum No 2)

KBr

ν_{maks} cm⁻¹ 3340, 3030, 2970, 2940, 2850, 2800, 1500, 1485, 1460, 1395, 1350,
1325, 1310, 1250, 1235, 1190, 1170, 1130, 1105, 1085, 1040, 1015, 1005, 990,
970, 950, 935, 920, 870, 820, 770.

¹H NMR (Spektrum No 3)

MeOD

δ 6.75 (1H, s, H-12)
6.54 (1H, s, H-9)
6.06 (1H, ddd, $J=10.4, 1.8, 1.3$ Hz, H-2)
5.88 (1H, d, $J=1.2$ Hz, OCH₂O)

5.87 (1H, *d*, $J=1.2$ Hz, OCH₂O)
 5.63 (1H, *dt*, $J=10.4, 1.8$ Hz, H-1)
 4.94 (1H, *dd*, $J=14.7, 0.5$ Hz, H-8 α)
 4.58 (1H, *d*, $J=14.8$ Hz, H-8 β)
 4.13 (1H, *dddd*, $J=9.8, 6.5, 2.0, 2.0$ Hz, H-3)
 3.45 (3H, *s*, OCH₃,)
 3.21 (1H, *d*, $J=10.9$ Hz, H-6 α)
 2.83 (1H, *m*, H-4 β)
 2.64 (1H, *d*, $J=10.9$ Hz, H-6 β)
 2.39 (3H, *s*, NCH₃)
 2.23 (1H, *dddd*, $J=13.5, 6.4, 3.9, 1.2$ Hz, H-4 α)
 1.56 (1H, *ddd*, $J=13.5, 10.0, 2.5$ Hz, H-4 β)

¹³C NMR (Spektrum No 4)

MeOD

δ 2.75 (C-4), 43.2 (NCH₃), 51.3 (C-12b), 56.6 (C-12), 62.7 (C-8), 66.3 (C-6),
 72.0 (C-4a), 74.6 (C-3), 102.4 (OCH₂O), 105.1 (C-9), 110.2 (C-12), 127.5 (C-8a),
 129.1 (C-12a), 130.8 (C-2), 131.0 (C-1), 147.9 (C-10), 148.0 (C-11).

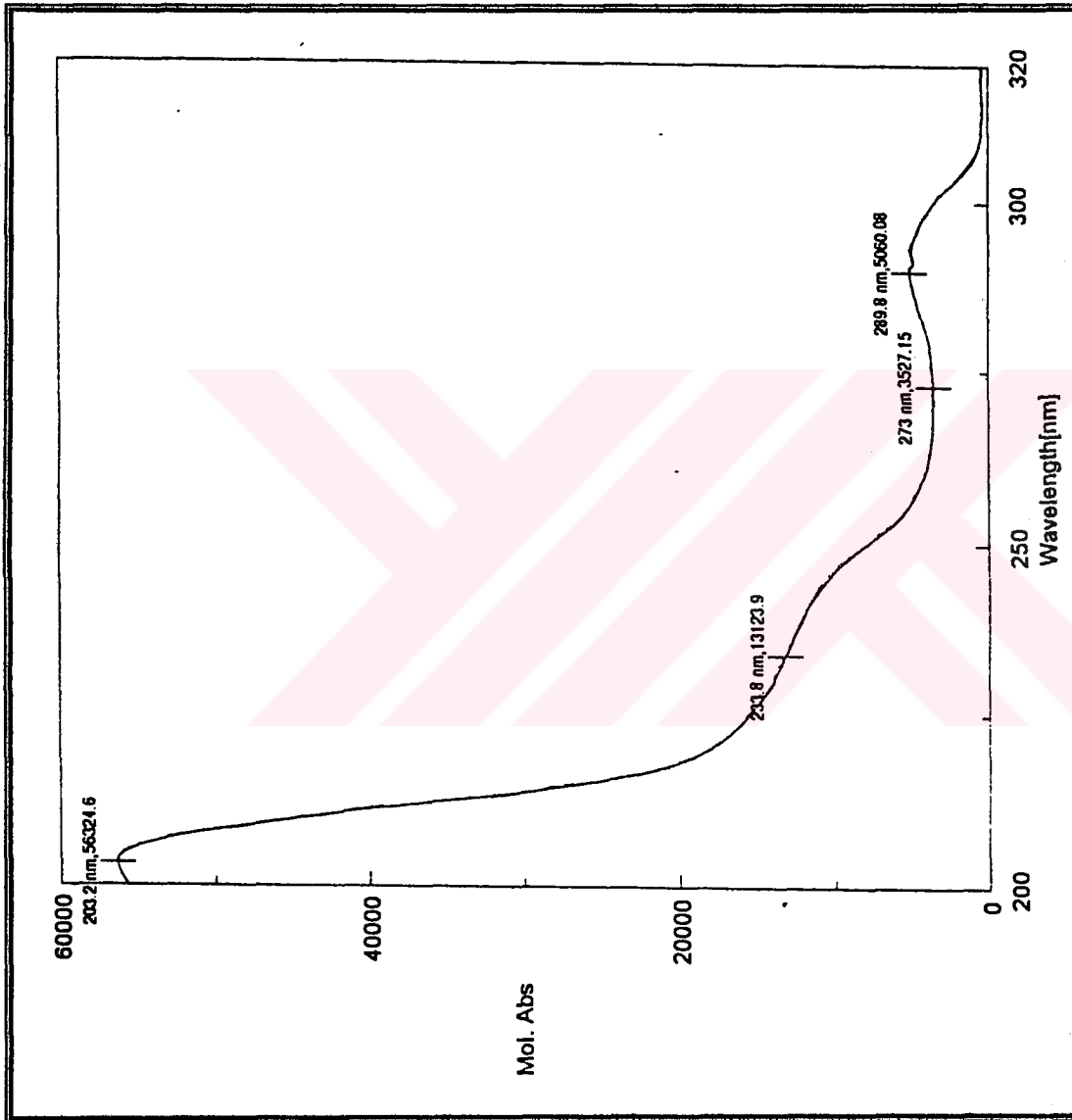
EI Kütile (Spektrum No 5)

m/z (%) 331 (M⁺, 45), 298 (12), 260 (5), 248 (11), 247 (100), 227 (9), 201(16),
 199 (13), 181 (12), 173 (14), 153 (10), 141 (11), 115 (26), 102 (8), 77 (15), 71 (64),
 70 (87), 63 (16), 55 (12), 53 (11), 51 (16).

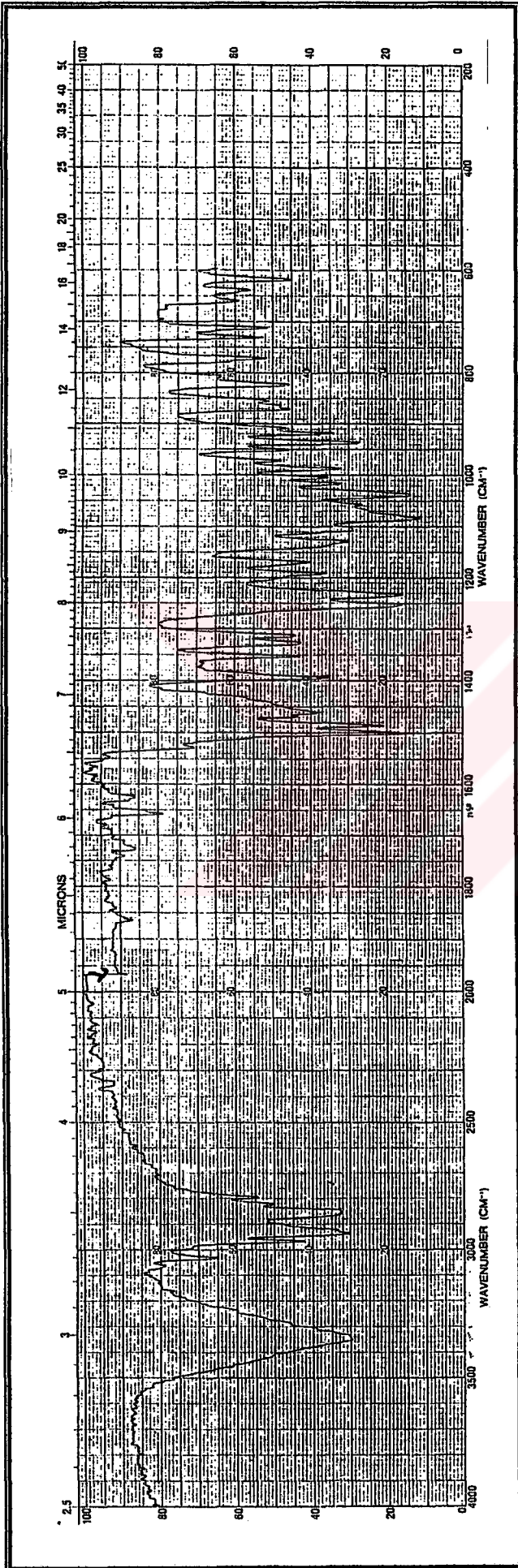
CD (Spektrum No 6)

MeOH

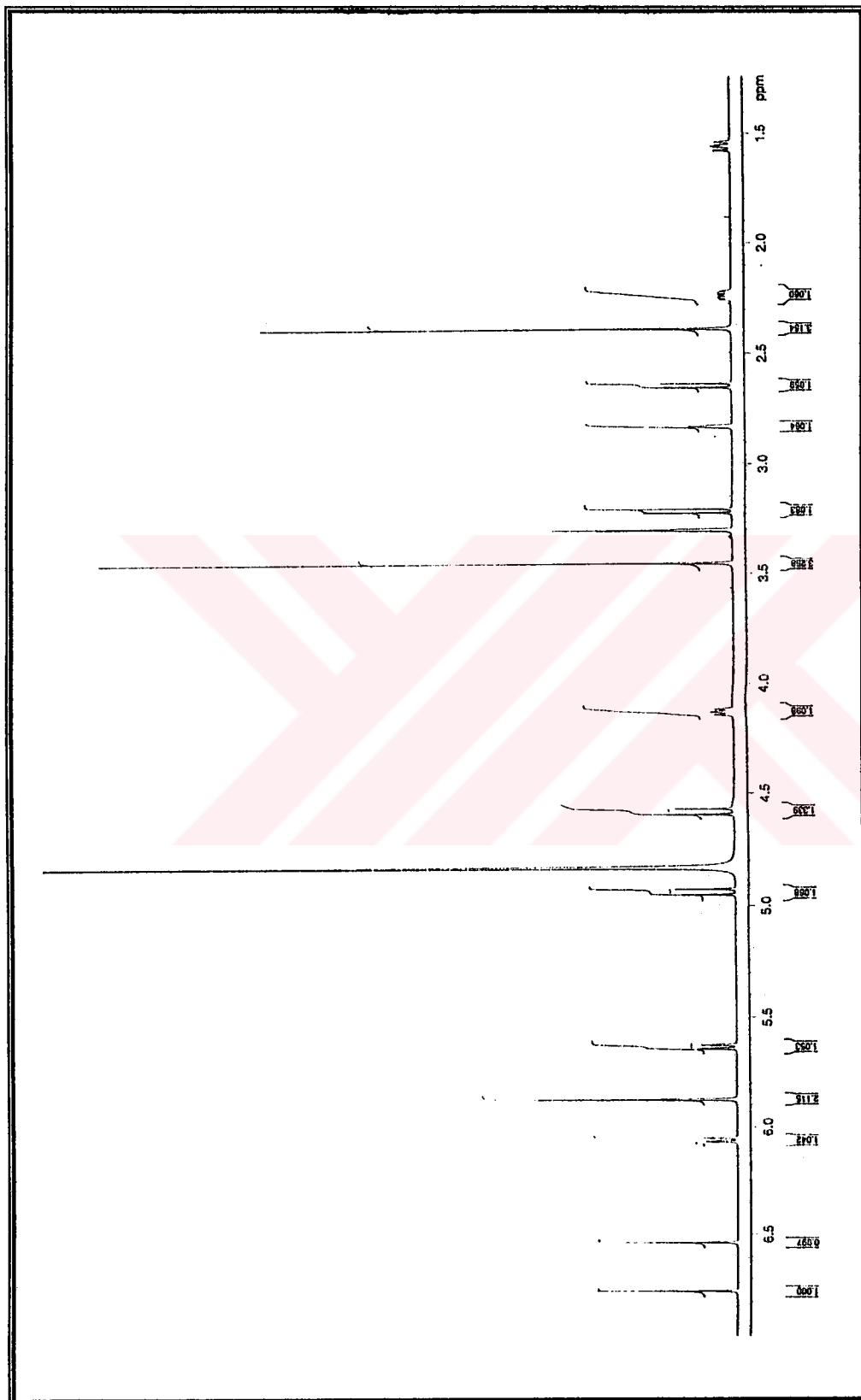
Nm (log ϵ) 324 (0), 286 (-1.19), 263 (0), 240 (+10.55), 226 (+3.45), 207
 (+70.47), 207 nm ötesinde negatif kuyruk.



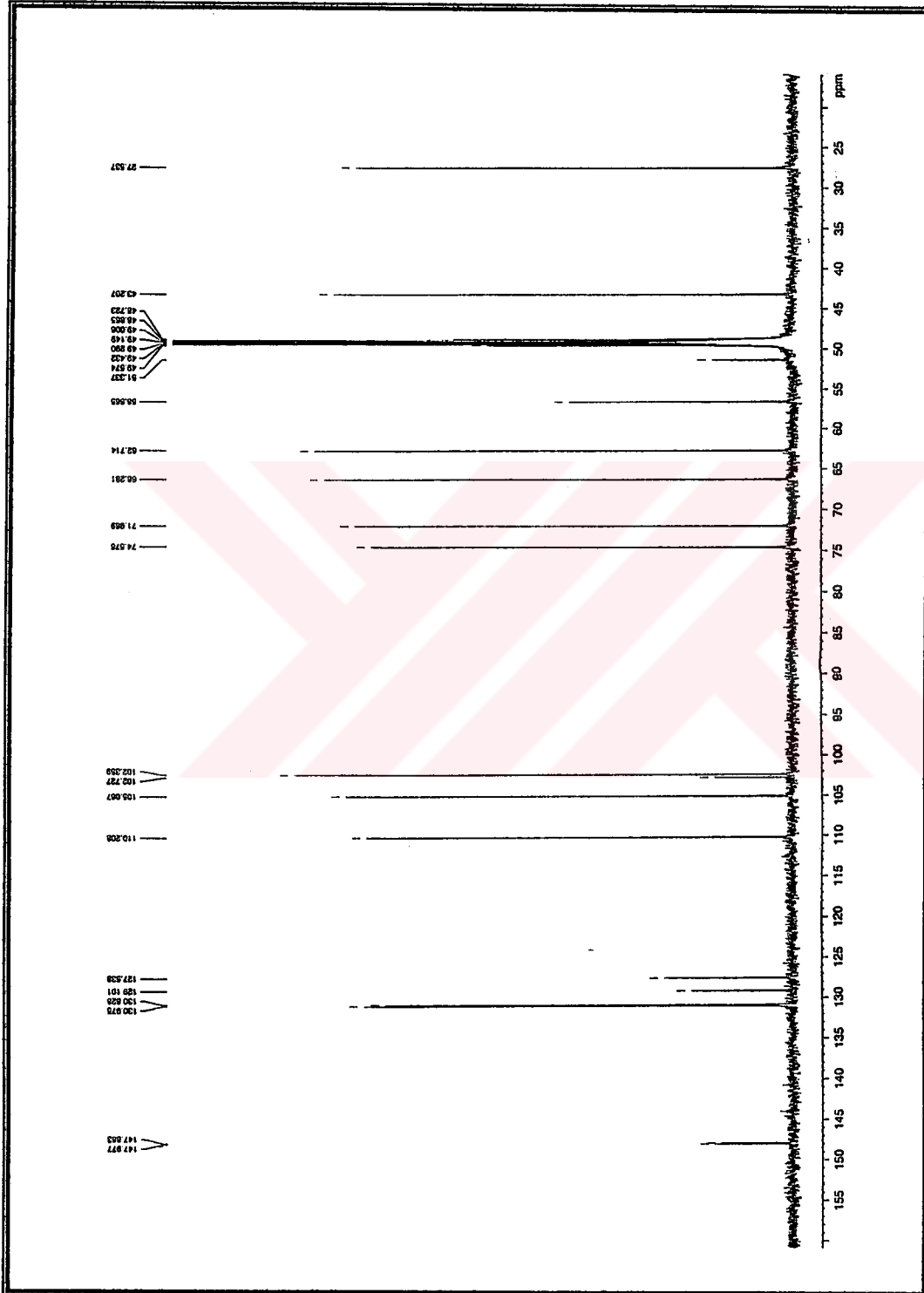
Spektrum No 1. Tazettine'in UV Spektrumu



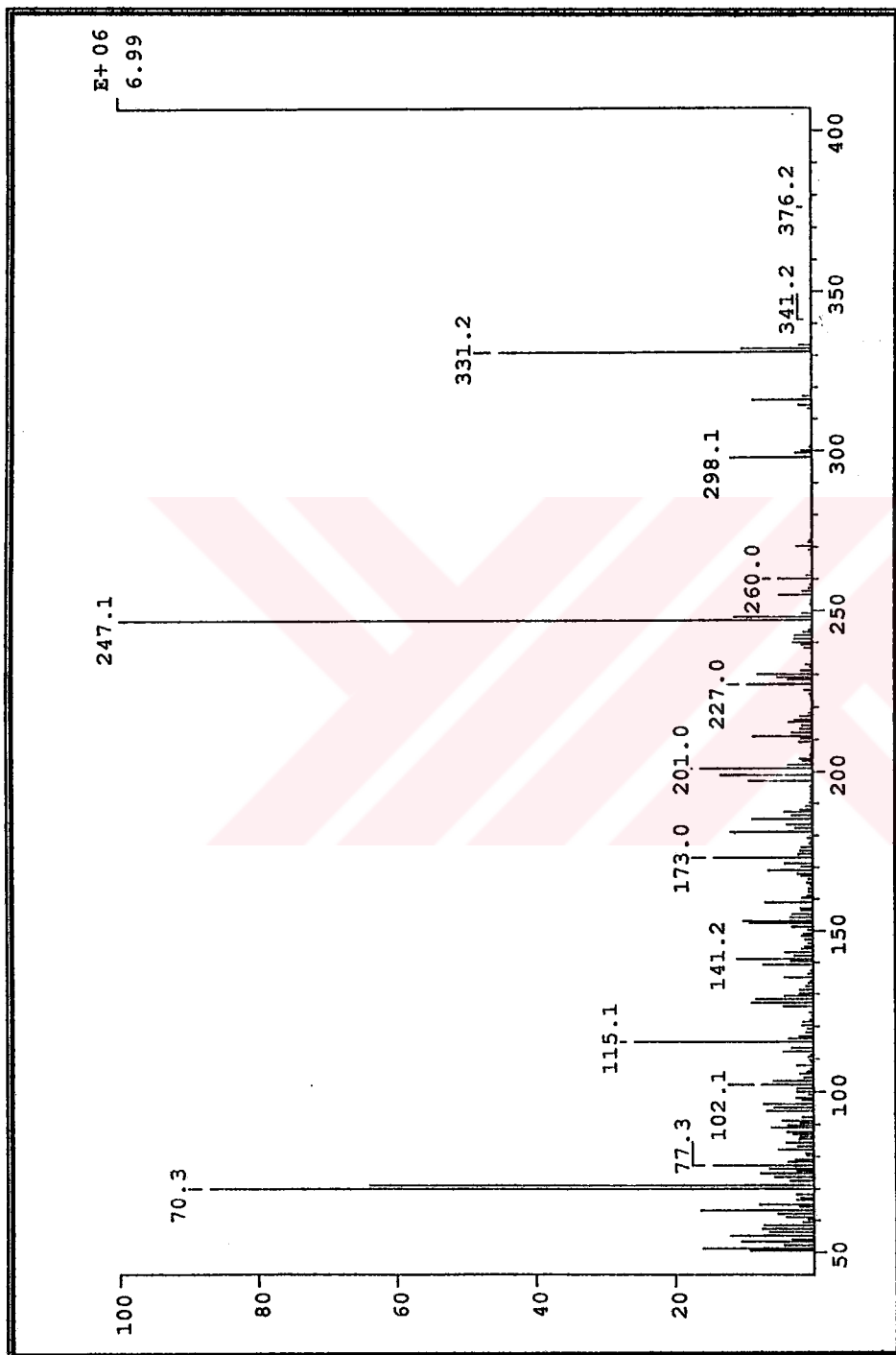
Spektrum No 2. Tazettine in IR Spektrum



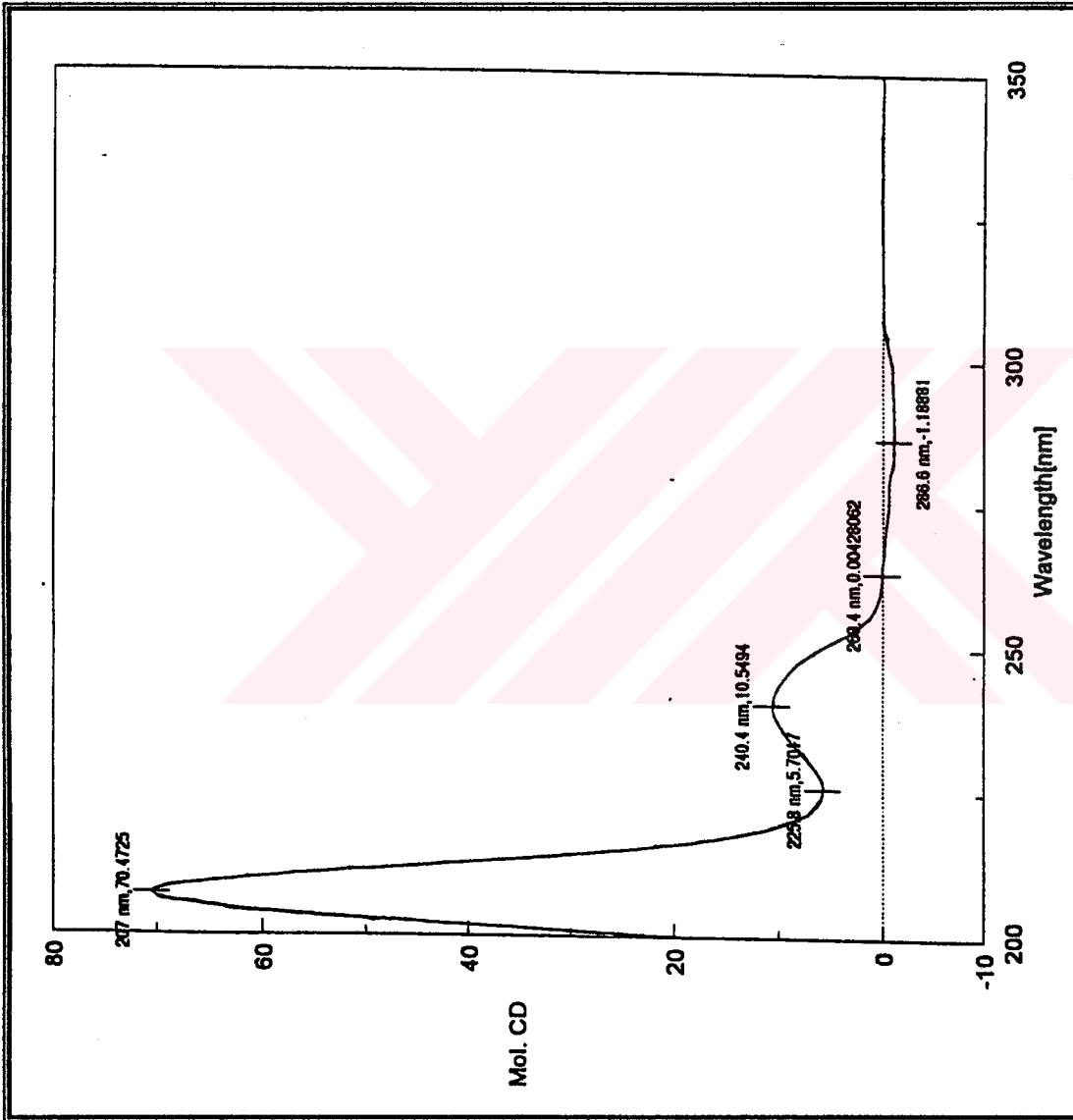
Spektrum No 3. Tazettine'in ^1H NMR Spektrumu



Spektrum No 4. Tazettine'in ^{13}C NMR Spektrumu



Spektrum No 5. Tazettine'in EI-MS Spektrumu



Spektrum No 6. Tazettine'in CD Spektrumu

I. OA1 Bileşğinin Spektral Bulguları**¹H NMR (Spektrum No 7-8)****CDCl₃**

- δ** 3.80 (3H, s, NCH₃)
6.12 (2H, s, OCH₂O)
7.30 (1H, *td*, *J*=7.6/1.0 Hz, H-2)
7.40 (1H, *d*, *J*=8.1 Hz, H-4)
7.51 (1H, *ddd*, *J*=1.4/7.2/8.3 Hz, H-3)
7.62 (1H, s, H-10)
7.91 (1H, s, H-7)
8.09 (1H, *dd*, *J*=1.1/8.1 Hz, H-1)

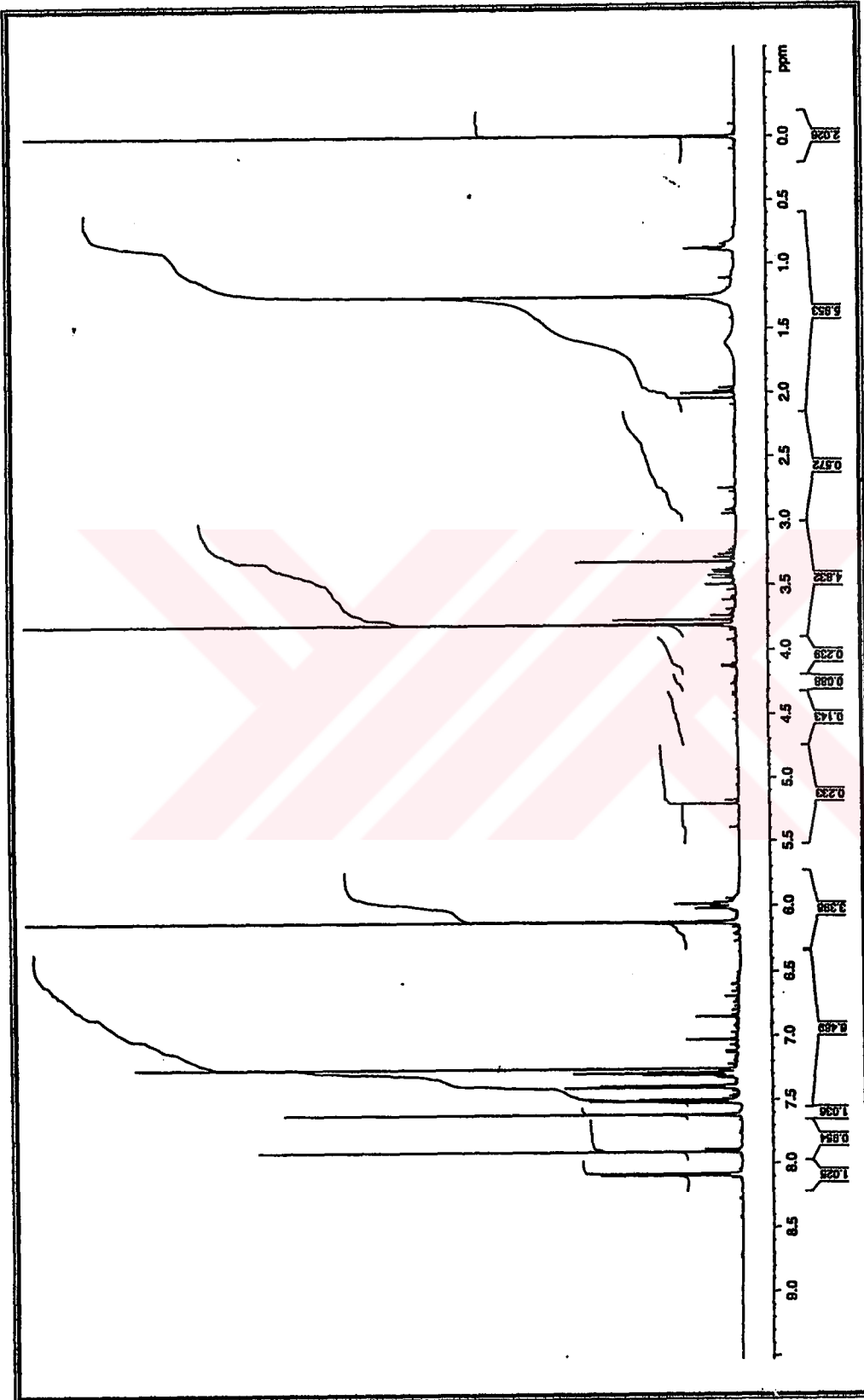
¹³C NMR (Spektrum No 9)**CDCl₃**

- δ** 30.00 (NCH₃), 100.41 (C-10), 101.93 (OCH₂O), 107.02 (C-7), 115.00 (C-4), 119.23 (C-10b), 121.31 (C-6a), 122.32 (C-2), 122.91 (C-1), 128.88 (C-3), 130.42 (C-10a), 137.45 (C-4a), 148.40 (C-8), 152.18 (C-9), 160.98 (C-6).

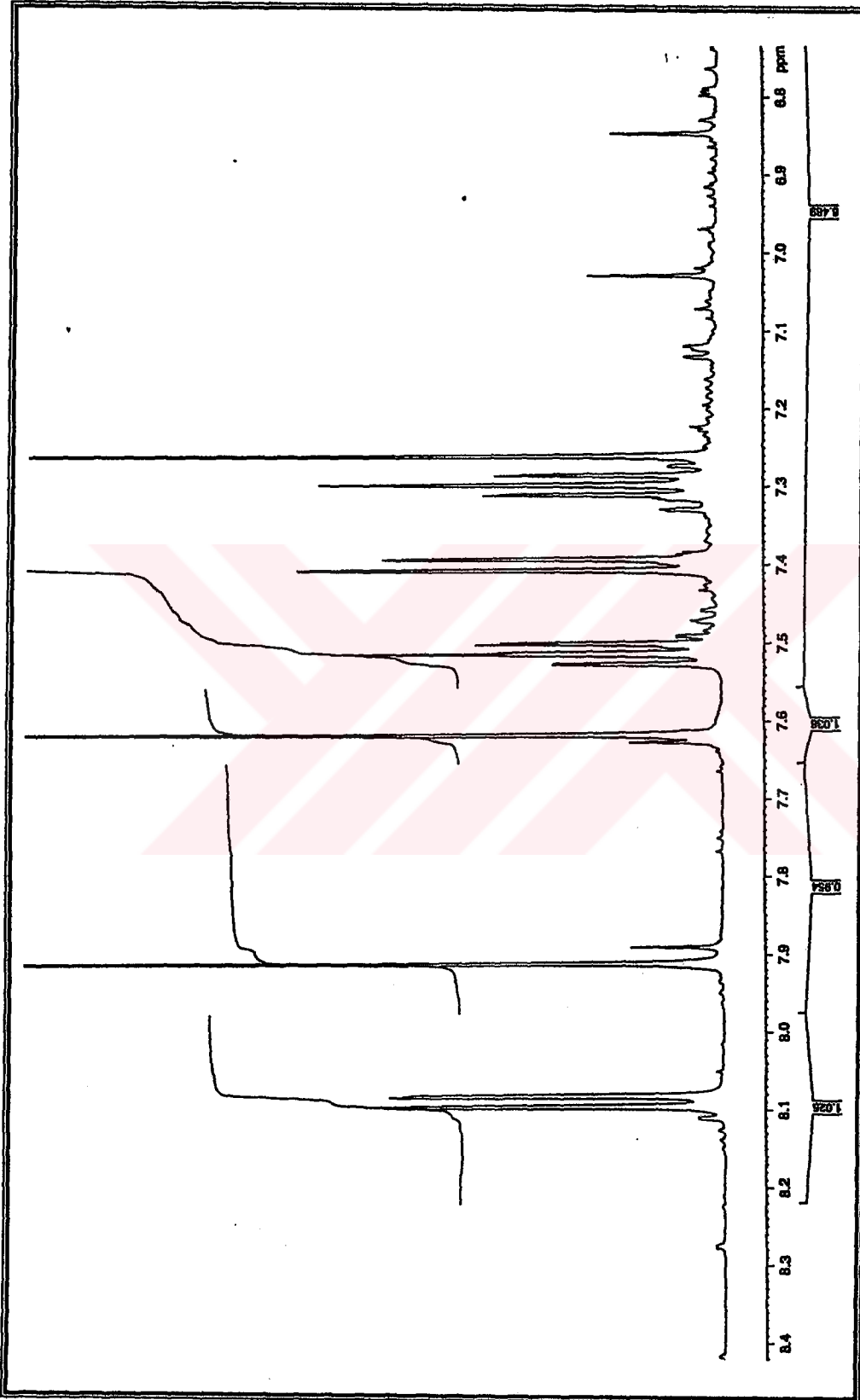
CIMS (Spektrum No 10)**ESI-MS (Spektrum No 11)****¹H, ¹H DQF COSY (Spektrum No 12)****¹H, ¹H DQF COSY (Genişletilmiş) (Spektrum No 13)****TOCY (Spektrum No 14)****HSQC (Spektrum No 15)****HMBC (Spektrum No 16)****HMBC (Genişletilmiş) (Spektrum No 17)****ROESY (Spektrum No 18)**

	¹ H NMR	HSQC	¹ H, ¹ H DQF COSY	ROESY	HMBC
H-1	8.09	122.91	7.30	7.62	128.88, 130.42, 137.45
H-2	7.30	122.32	7.51, 8.09		115.00, 119.23, 122.91
H-3	7.51	128.88	7.30, 7.40		115.00, 122.91, 137.45
H-4	7.40	115.00	7.51	3.80	119.23, 122.32, 128.88
H-7	7.91	107.02			100.41, 121.31, 130.42, 148.40, 152.18, 160.98
H-10	7.62	100.41		8.09	107.02, 119.23, 121.31, 148.40, 152.18, 160.98
OCH ₂ O	6.12	101.93			148.40, 152.18
NCH ₃	3.80	30.00		7.40	115.00, 137.45, 160.98

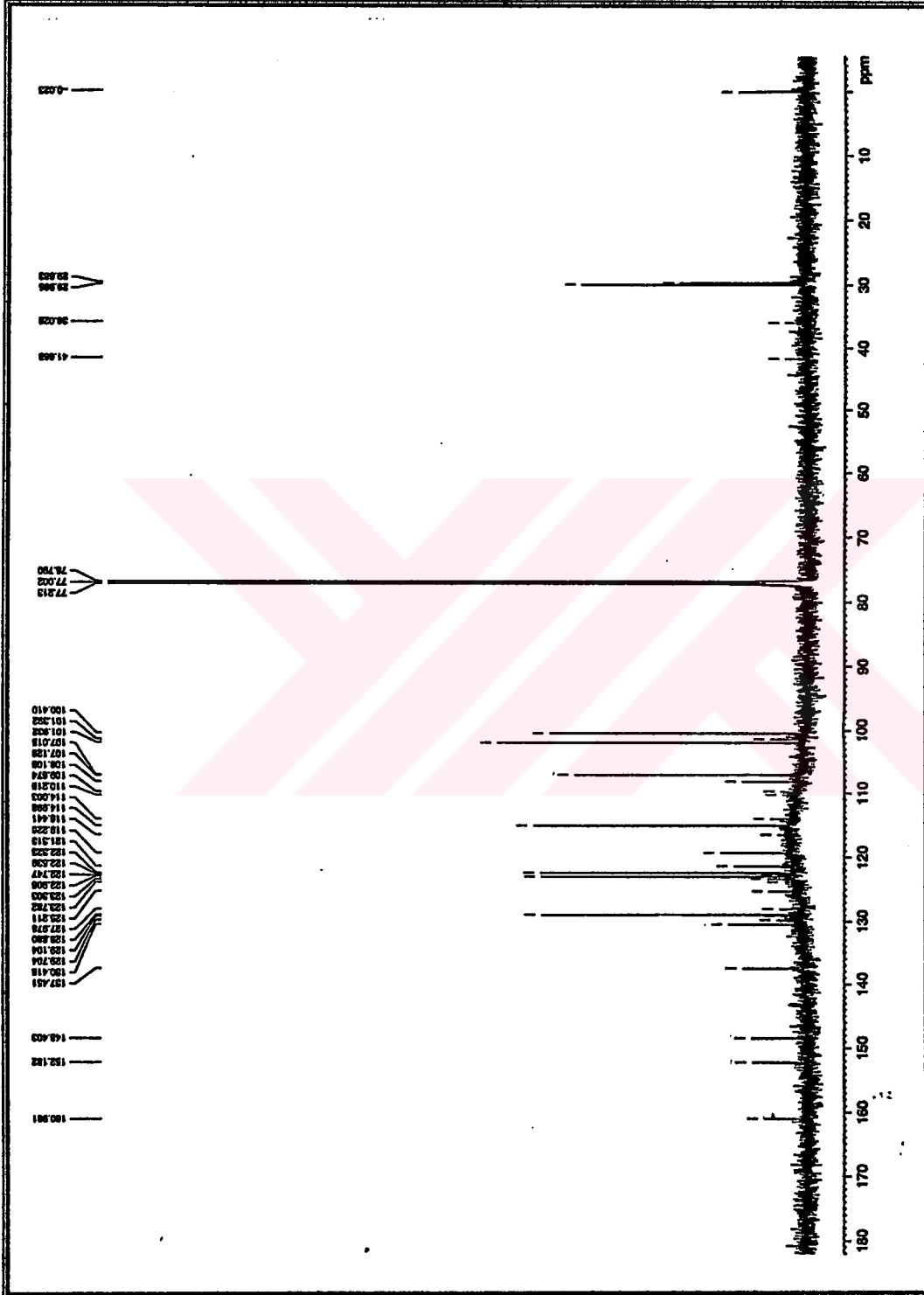
TABLO 1. OA1 Bileşiminin 1D ve 2D NMR Bulguları (δ)



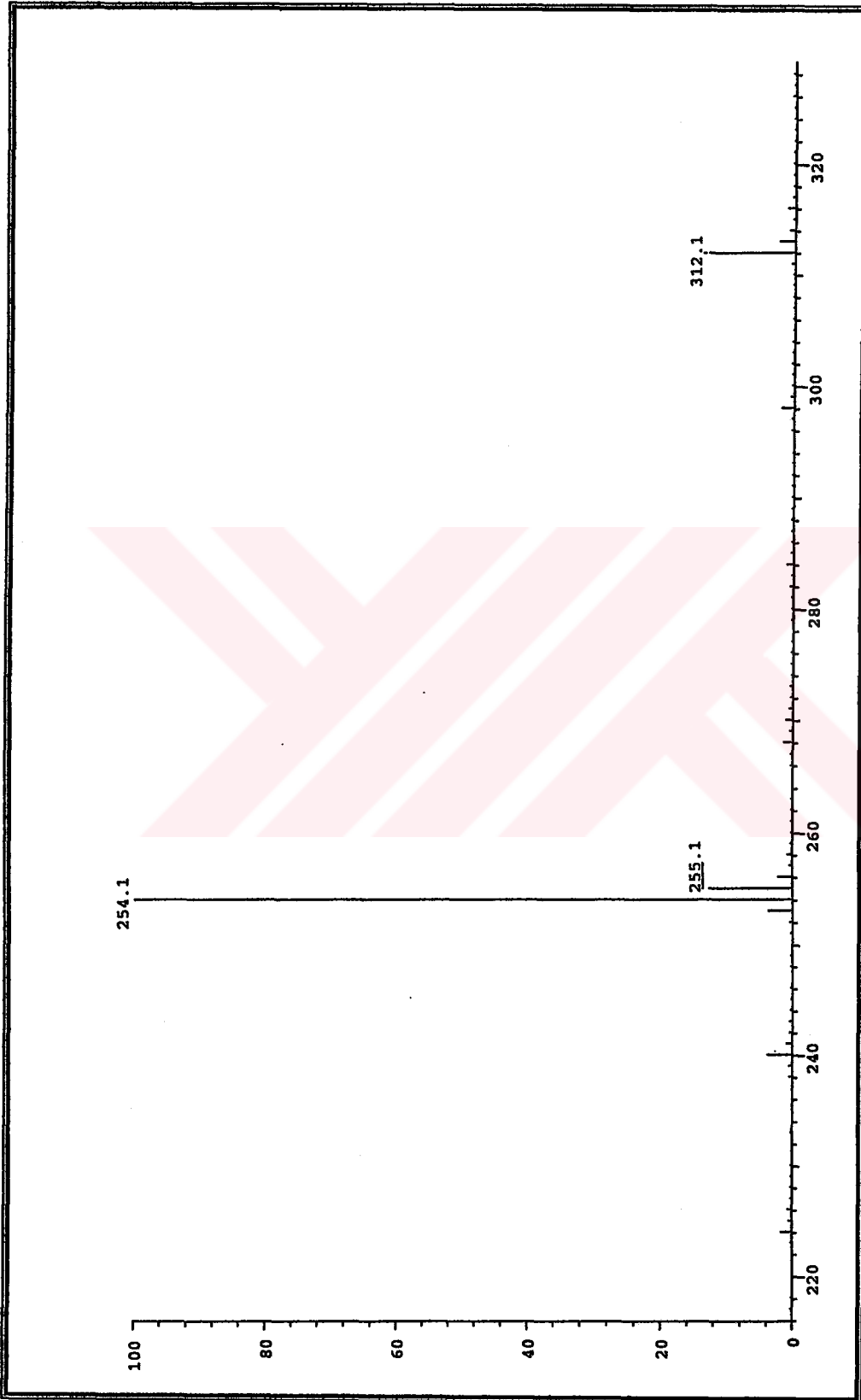
Spektrum No 7. OA1 Bileşiminin ^1H NMR Spektrumu



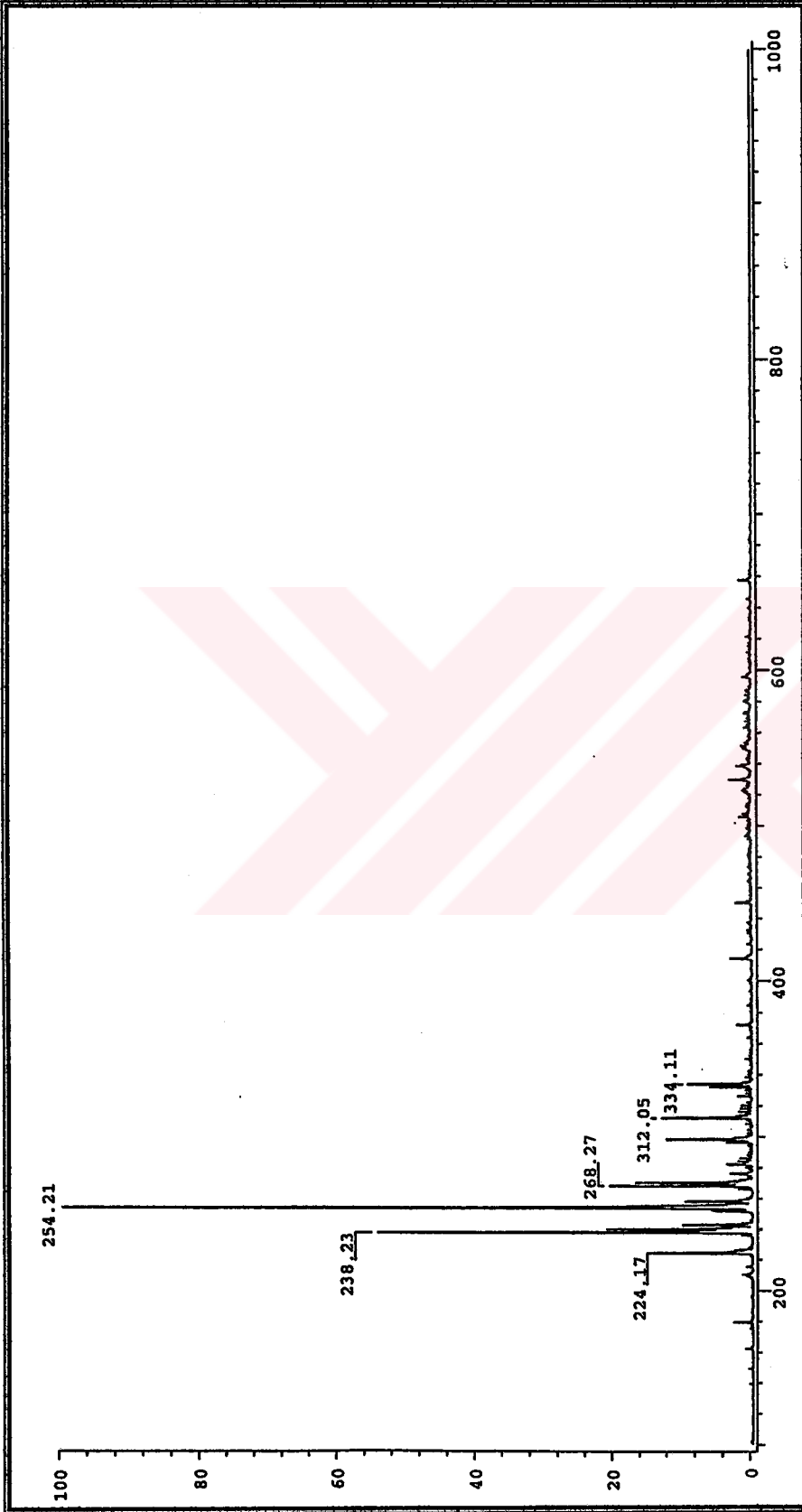
Spektrum No 8. OA1 Bileşğinin ^1H NMR Spektrumu (Genişletilmiş)



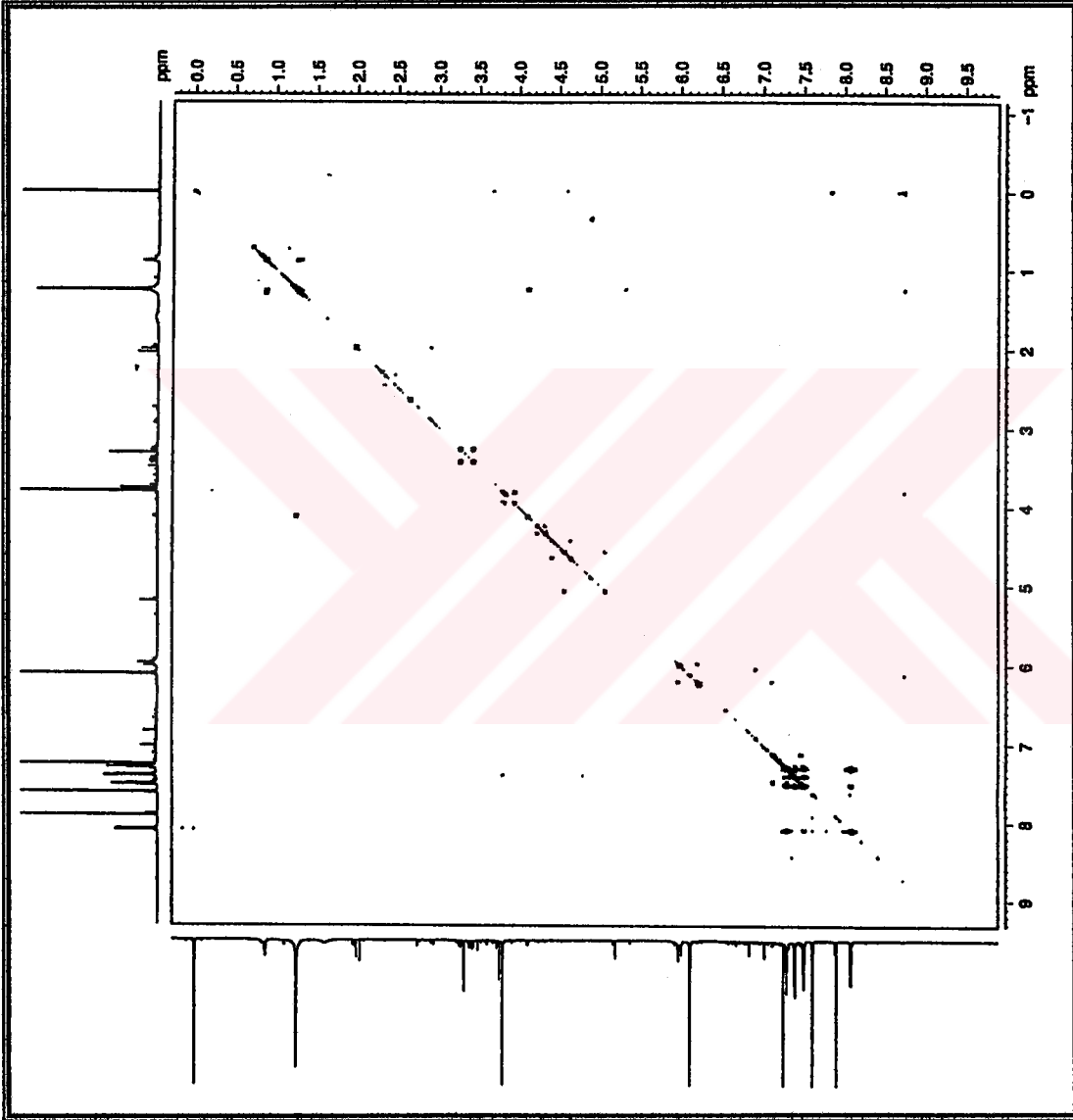
Spektrum No 9. OA1 Bileşğinin ^{13}C NMR Spektrumu



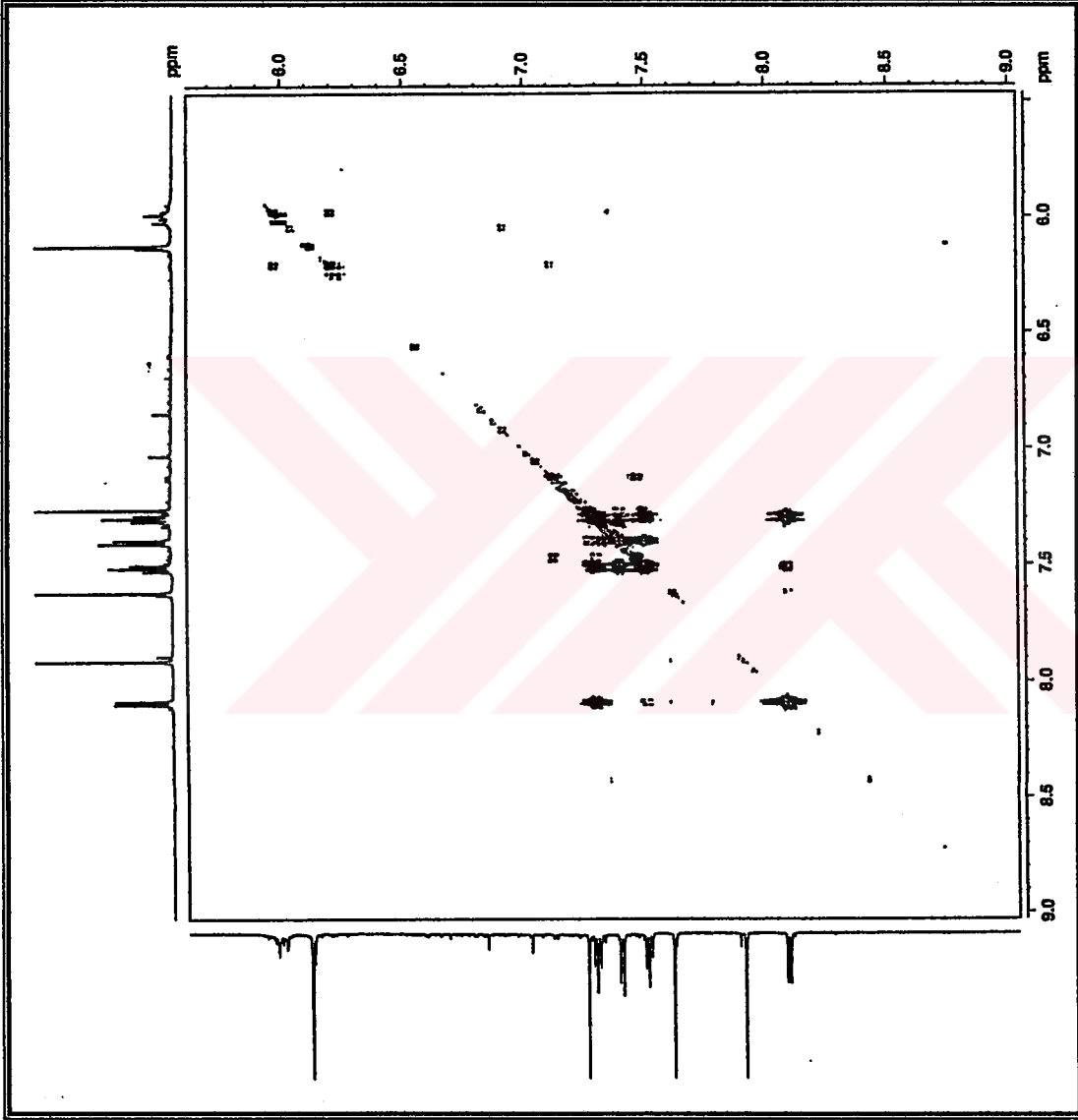
Spektrum No 10. OA1 Bileşğinin CIMS Spektrumu



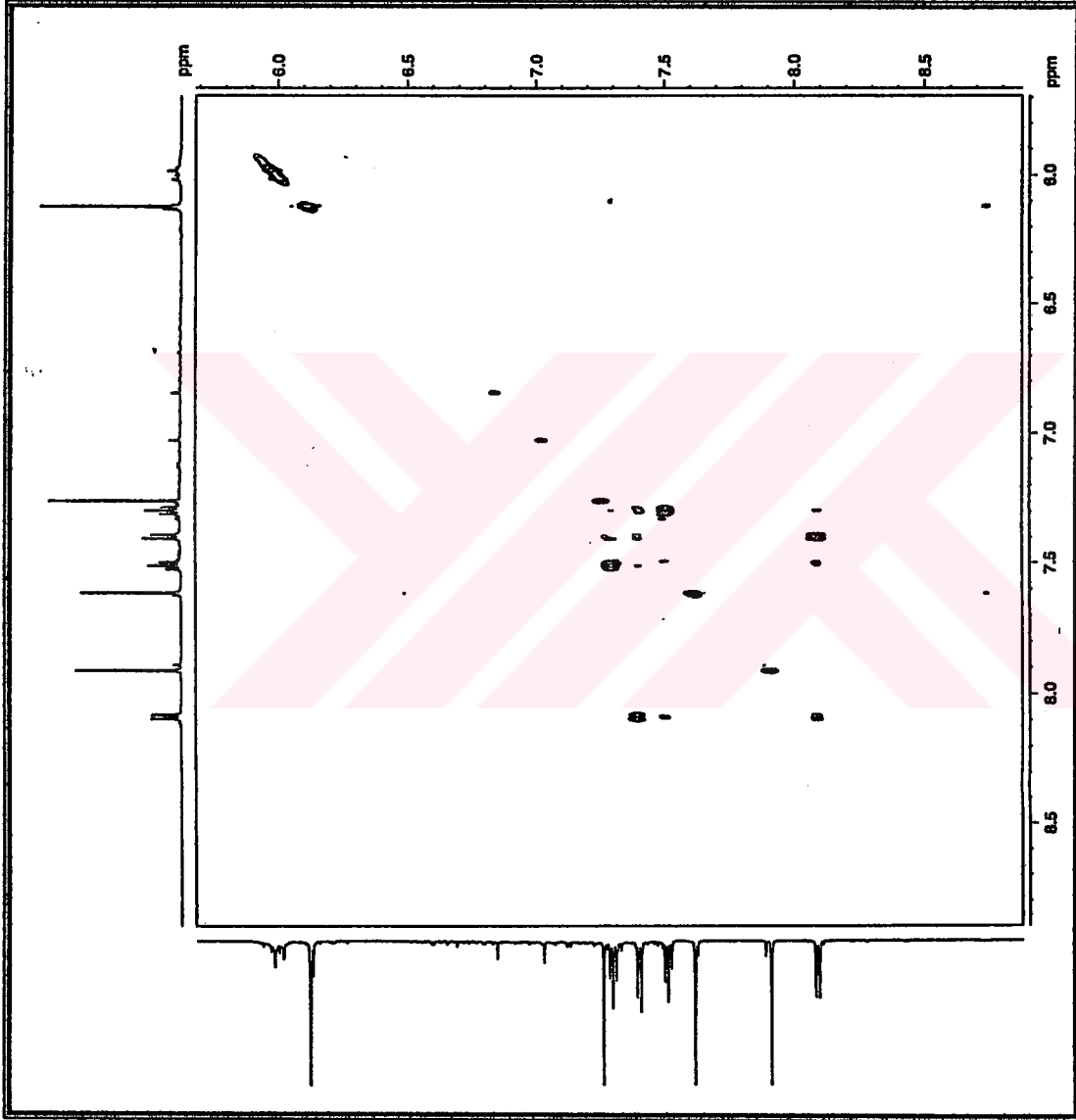
Spektrum No 11. OA1 Bileşiminin ESI-MS Spektrumu



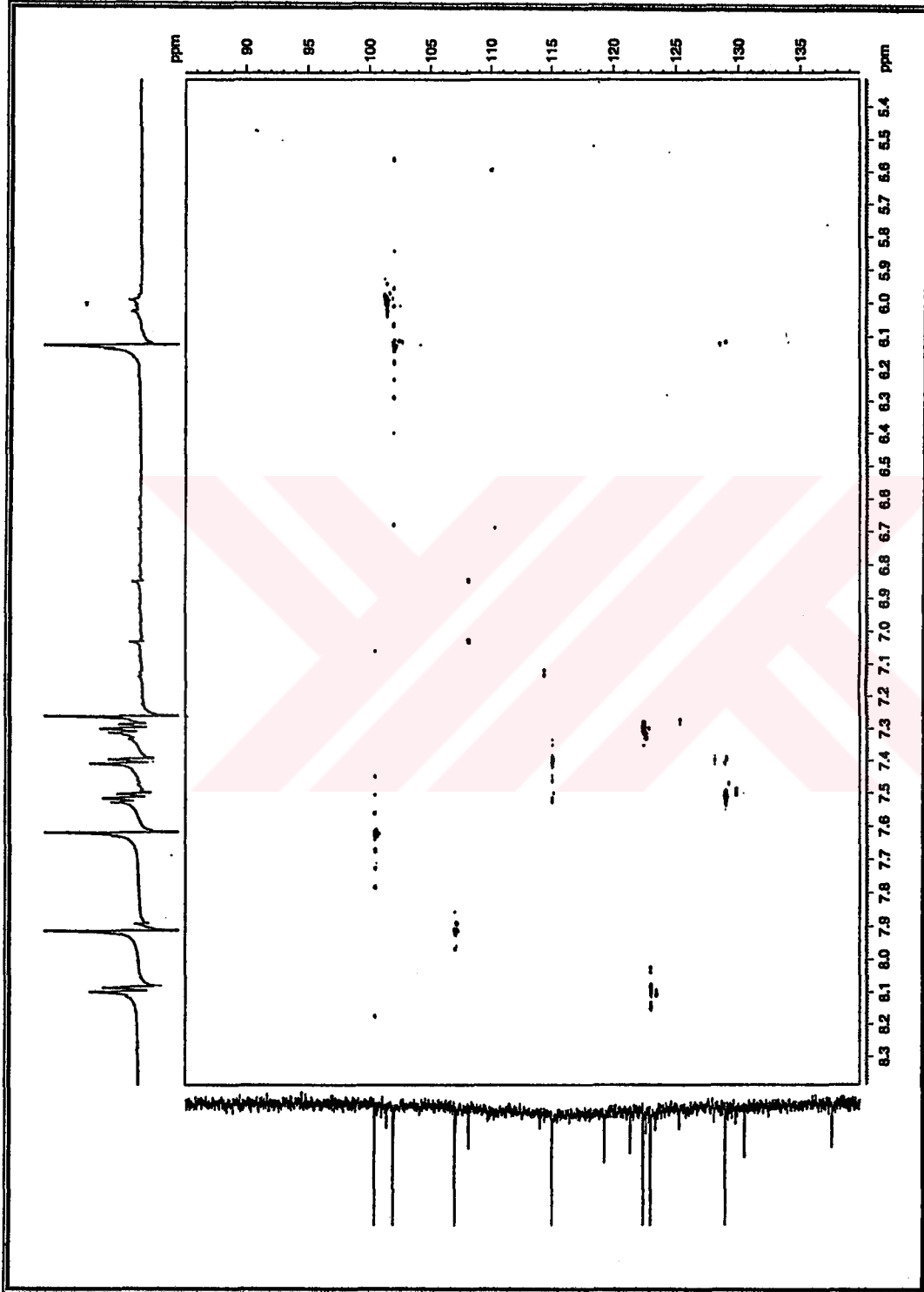
Spektrum No 12. OA1 Bileşinin ^1H , ^1H DQF COSY Spektrumu



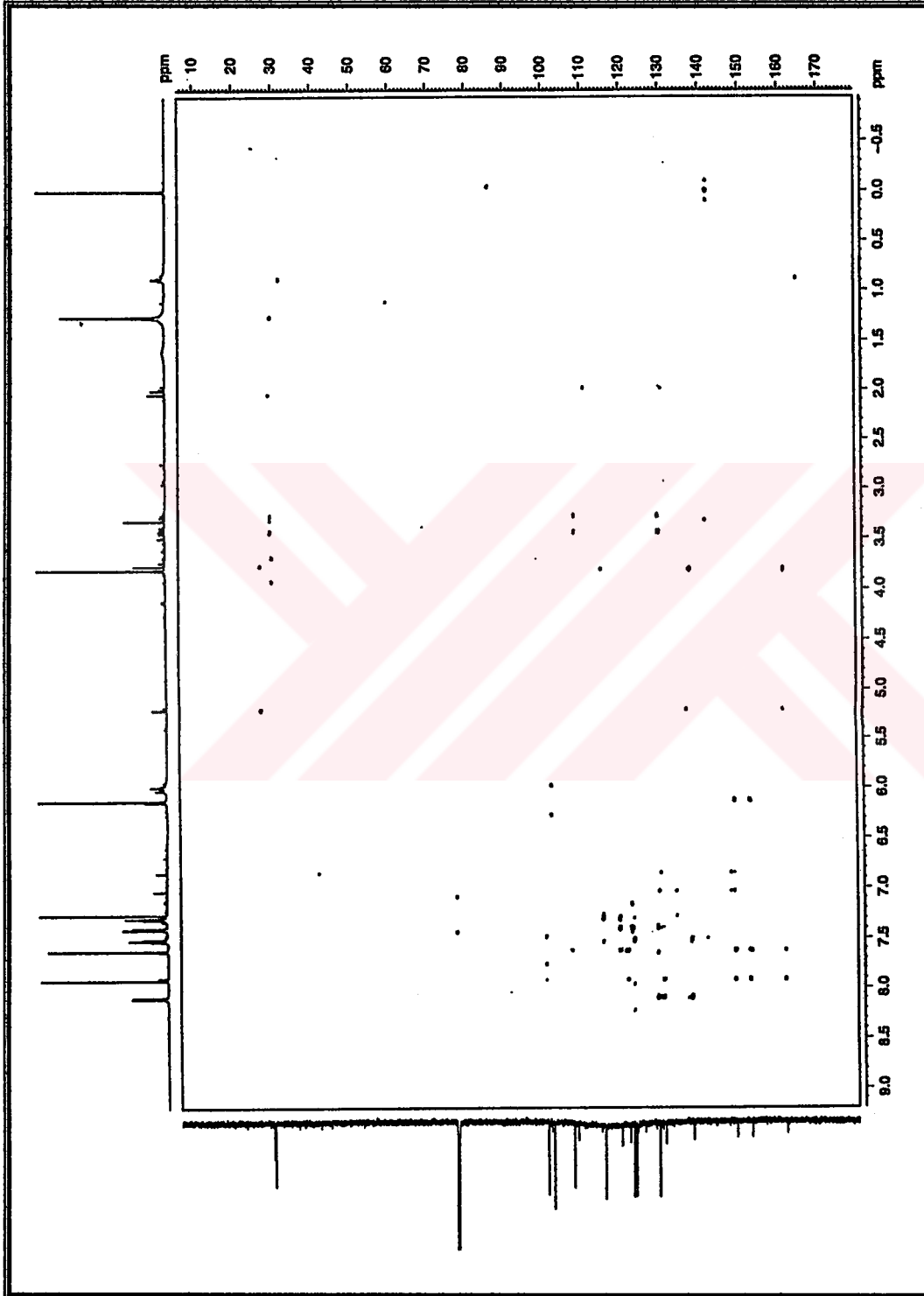
Spektrum No 13. OA1 Bileşğinin ^1H , ^1H DQF COSY Spektrumu (Genişletilmiş)



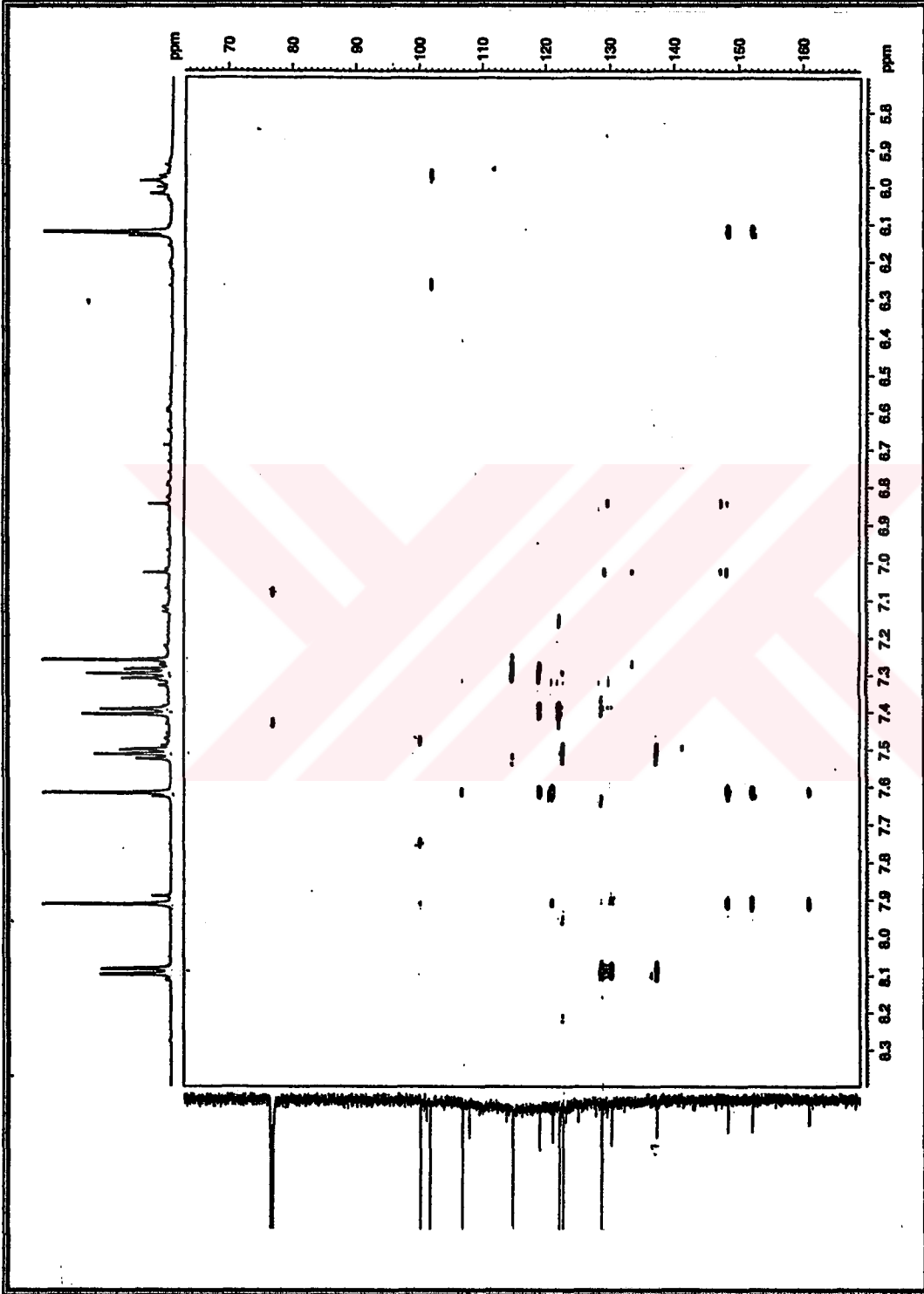
Spektrum No 14. OA1 Bileşğinin TOCY Spektrumu



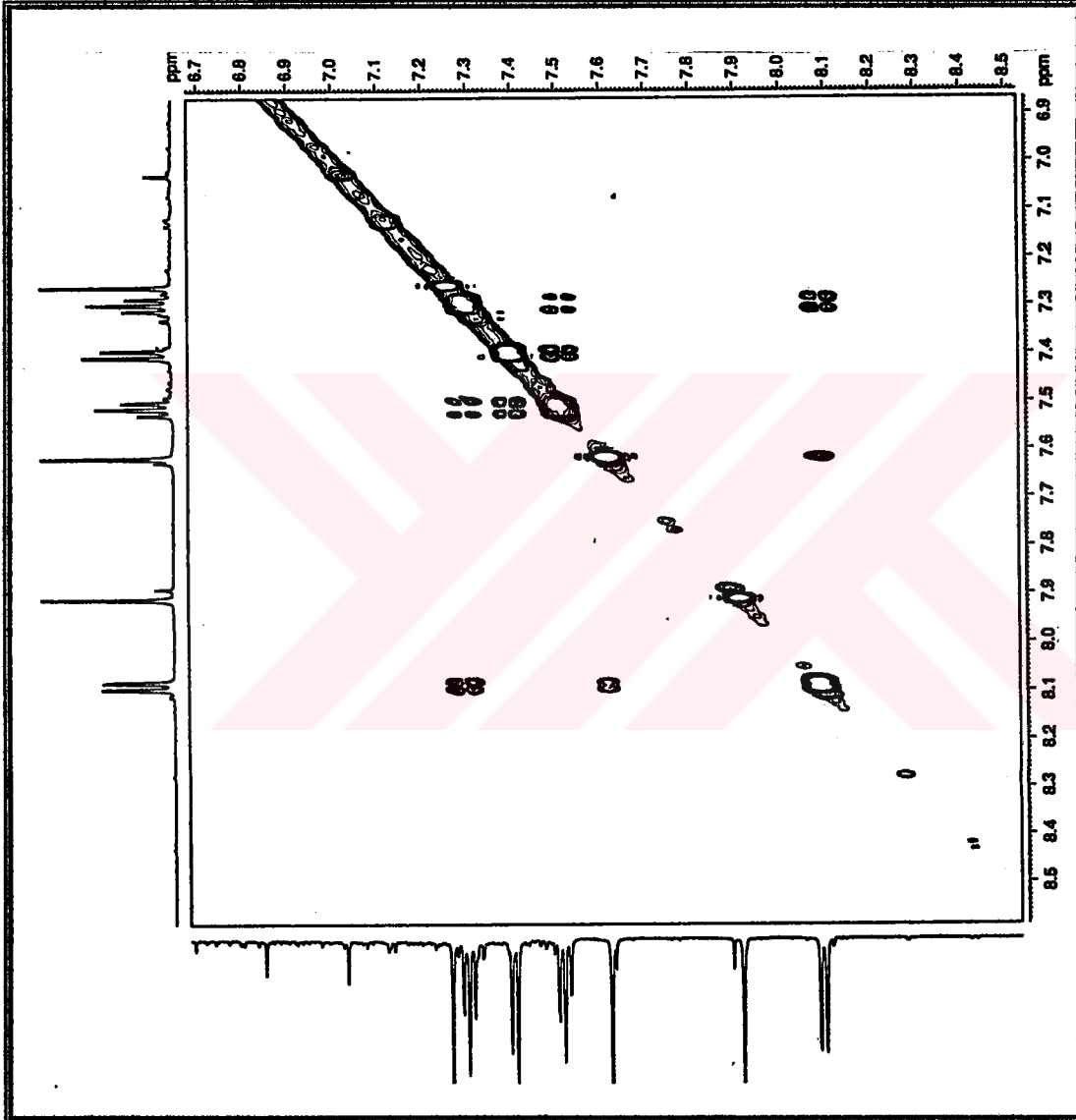
Spektrum No 15. OA1 Bileşiminin HSQC Spektrum



Spektrum No 16. OA1 Bileşiminin HMBC Spektrumu



Spektrum No 17. OA1 Bileşğinin HMBC Spektrumu (Genişletilmiş)



Spektrum No 18. OA1 Bileşiminin ROESY Spektrumu

III. OA4 BİLEŞİĞİNİN SPEKTRAL BULGULARI

¹H NMR (Spektrum No 19-21)

CDCl₃

δ	2.24 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> =8.7/13.9 Hz, H-4β)
	2.61 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> =5.5/13.9 Hz, H-4α)
	3.41 (1H, <i>s</i> , OCH ₃)
	3.98 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> =9.8 Hz, H-6)
	3.99-4.02 (1H, <i>m</i> , H-3)
	4.05 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> =9.7 Hz, H-6)
	4.61 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> =15.0 Hz, H-8)
	4.76 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> =15.0 Hz, H-8)
	5.90 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> =1.5/10.1 Hz, H-1)
	5.96 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> =1.3 Hz, OCH ₂ O)
	5.97 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> =1.3 Hz, OCH ₂ O)
	6.12 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> =2.2/10.0 Hz, H-2)
	6.51 (1H, <i>s</i> , H-9)
	6.99 (1H, <i>s</i> , H-12)
	8.78 (1H, <i>s</i> , CHO)

¹³C NMR (Spektrum No 22)

CDCl₃

δ	32.87 (C-4), 49.51 (C-6), 56.74 (OCH ₃), 57.01 (C-6a), 63.83 (C-8), 73.37 (C-3), 89.80 (C-12b), 101.43 (OCH ₂ O), 104.49 (C-9), 108.08 (C-12), 123.39 (C-12a), 125.23 (C-8a), 126.40 (C-1), 130.90 (C-2), 147.43 (C-11), 147.63 (C-10), 160.83 (CHO), 204.31 (C-4a).
---	---

ESI-MS (Spektrum No 23)

¹H, ¹H DQF COSY (Spektrum No 24)

TOCSY (Spektrum No 25)

HSQC (Spektrum No 26)

HMBC (Spektrum No 27)

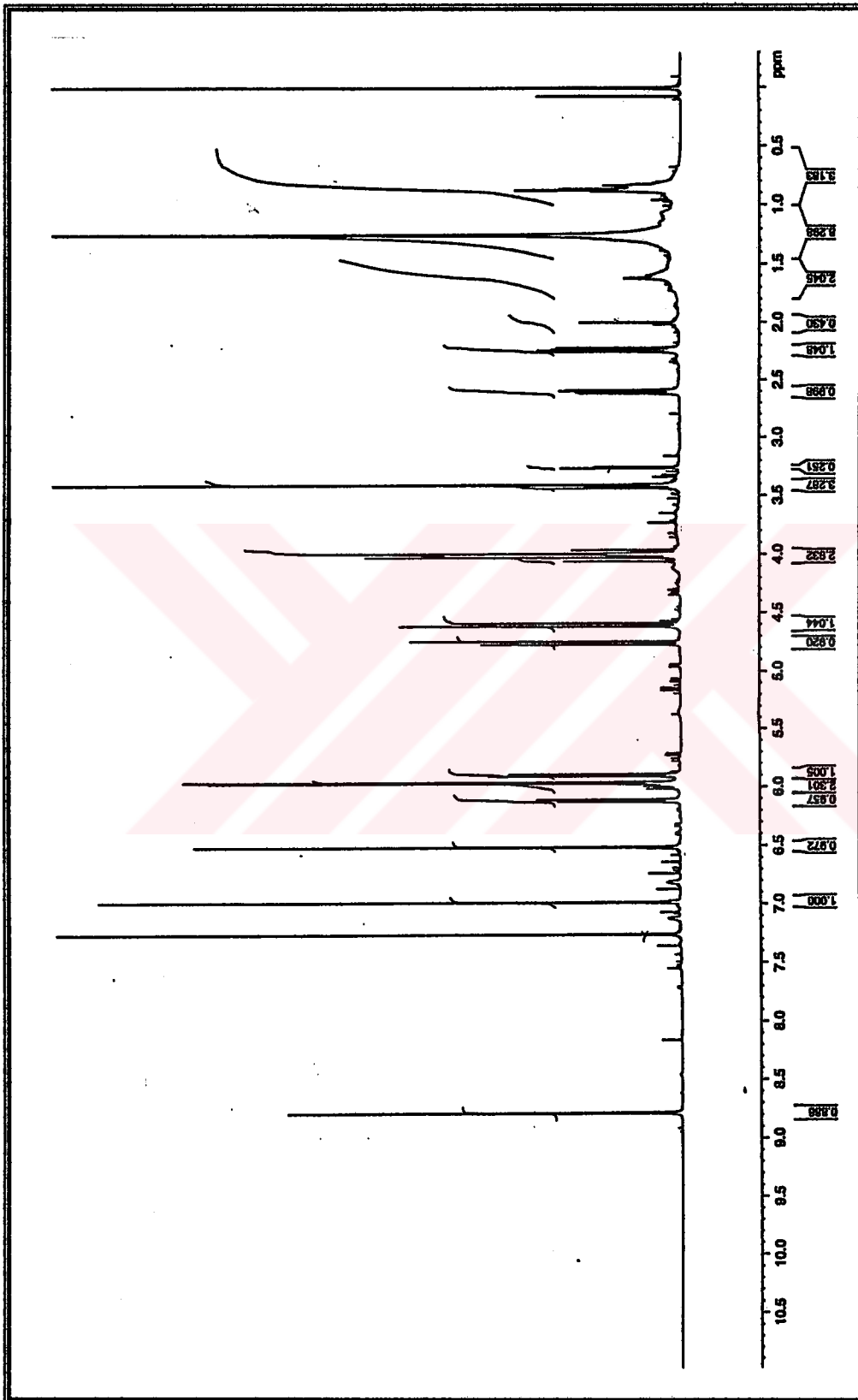
ROESY (Spektrum No 28-29)

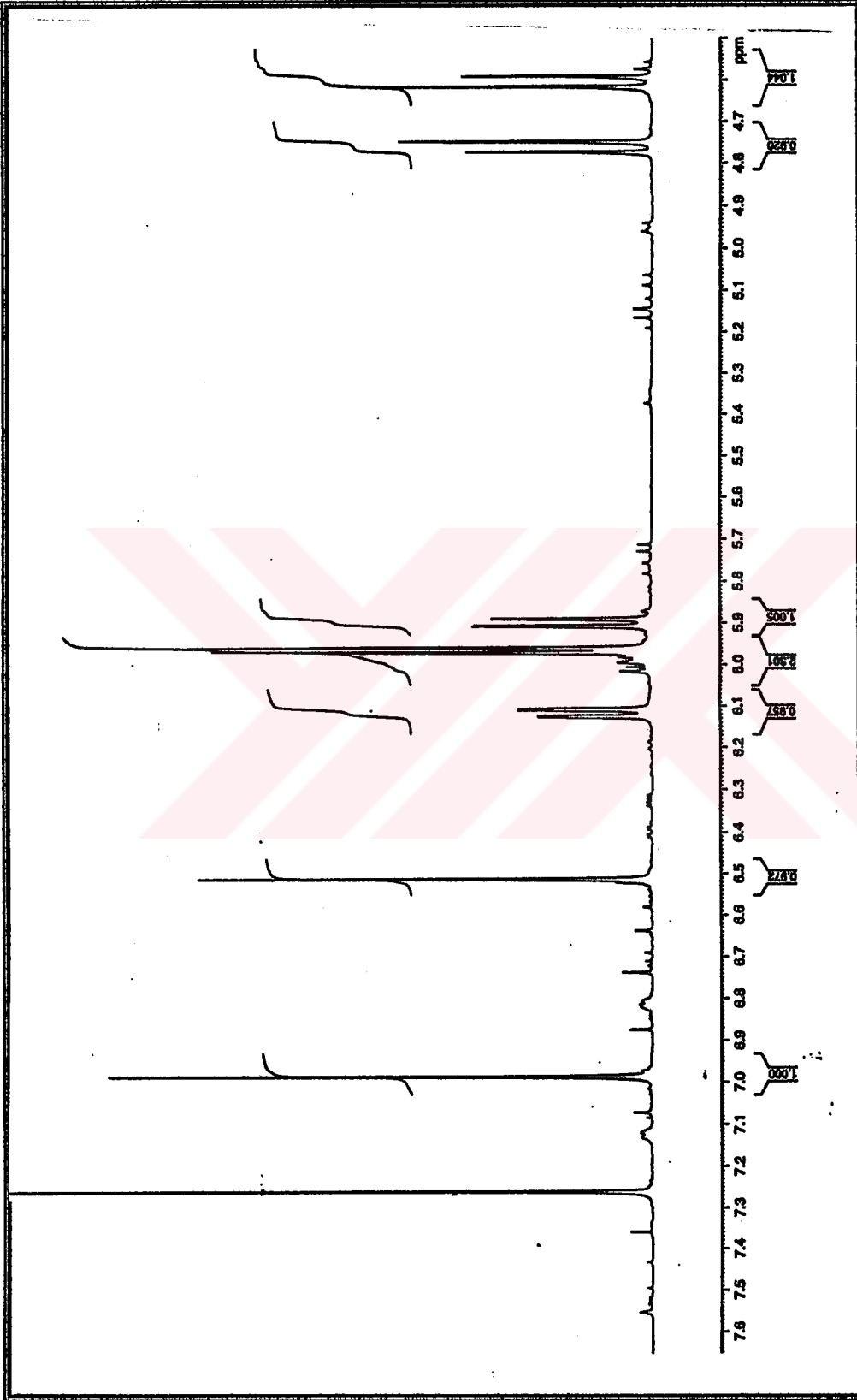
	¹ H NMR	HSQC	¹ H, ¹ H DQF COSY
H-1	5.90	126.40	6.12, 3.99-4.02
H-2	6.12	130.90	5.90, 3.99-4.02
H-3	3.99-4.02	73.37	2.61, 2.24
H-4 α	2.61	32.87	2.24, 4.05/3.99/3.98
H-4 β	2.24	32.87	2.61, 4.05/3.99/3.98
H-8	4.76	63.83	4.61
	4.61	63.83	4.76
H-9	6.51	104.49	
H-12	6.99	108.08	
CH ₂	4.05	49.51	2.61, 2.24
	3.98	49.51	2.61, 2.24
CHO	8.78	160.83	
OCH ₂ O	5.97	101.43	
	5.96	101.43	
OCH ₃	3.41	56.74	

Tablo 2. OA4 Bileşinin 1D ve 2D NMR Bulguları (δ)

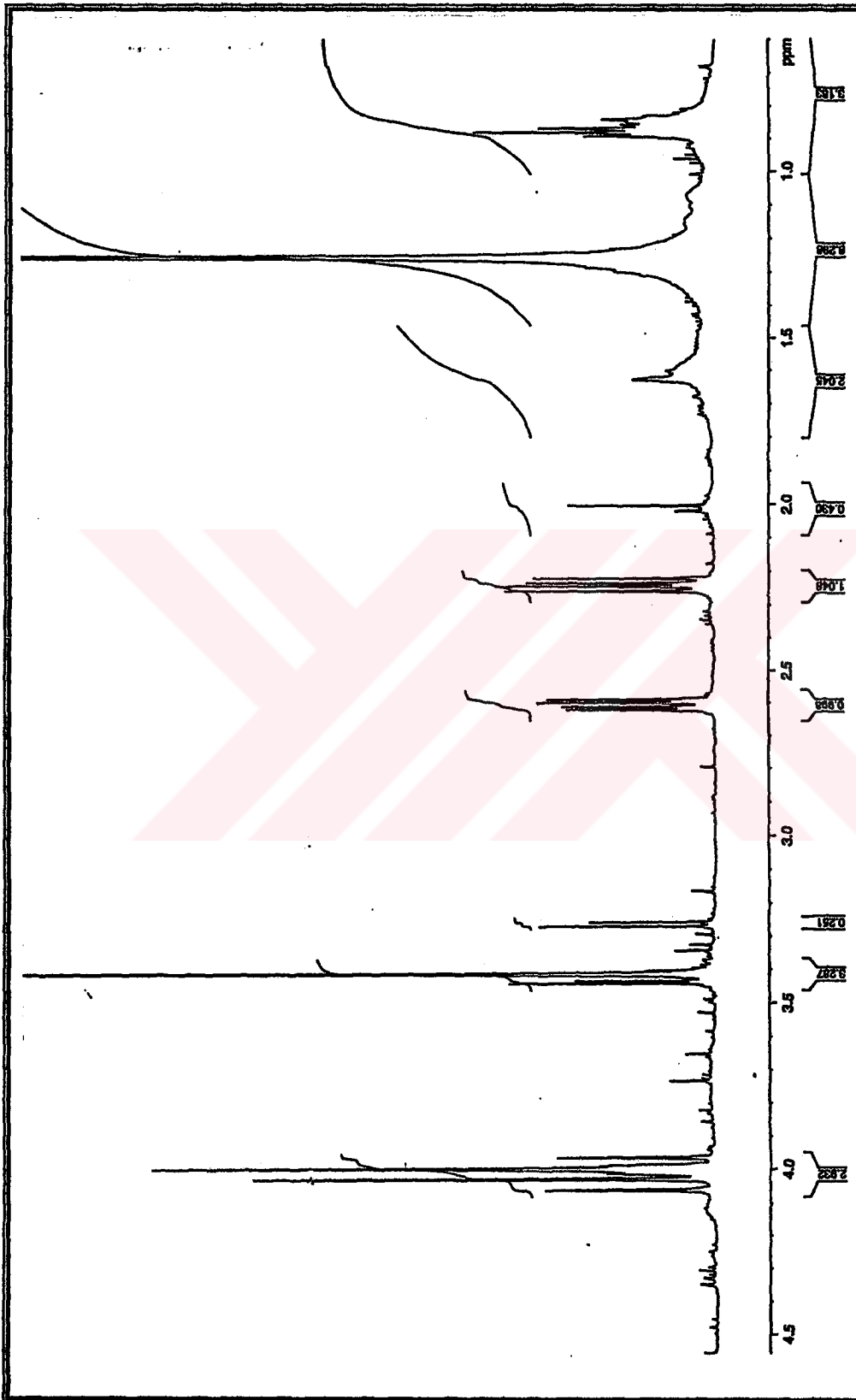
	TOCSY	HMBC	ROESY
H-1	4.05/3.99-4.02/3.97, 6.12	49.51, 56.74(57), 73.37, 89.80, 123.39, 204.31	2.61, 6.99
H-2	4.05/3.99-4.02/3.97, 5.90	32.87, 56.74(57)	2.61, 3.98/3.99-4.02/4.05
H-3	2.61, 2.24, 6.12, 5.90, 8.78	89.80, 204.31	
H-4 α	2.24, 4.05/3.99-4.02/3.97	56.74(57), 73.37, 89.80, 130.90	3.98/3.99-4.02/4.05, 6.12
H-4 β	2.61, 4.05/3.99-4.02/3.97, 5.90	56.74(57), 73.37, 89.80, 130.90	3.98/3.99-4.02/4.05, 6.12
H-8	4.61, 6.51	89.80, 104.49, 123.39, 125.23	2.24, 6.51
H-9	4.76, 6.51	89.80, 104.49, 123.39, 125.23	6.51
H-12	6.99, 4.76, 4.61	63.83, 108.08, 123.39, 147.63	4.76, 4.61
CH ₂	6.51	56.74(57), 104, 123, 125, 147.43	5.90
CHO	2.61, 2.24, 6.12, 5.90, 8.78	89.80, 204.31	2.24, 2.61, 3.41, 6.12
OCH ₂ O	4.05/3.99-4.02/3.97	49.51	2.61, 3.98/3.99-4.02/4.05
OCH ₃		147.43, 147.63	
		73.37	2.61, 3.98/3.99-4.02/4.05, 6.12

Tablo 3. OA4 Bileşiğinin 2D NMR Bulguları (δ)

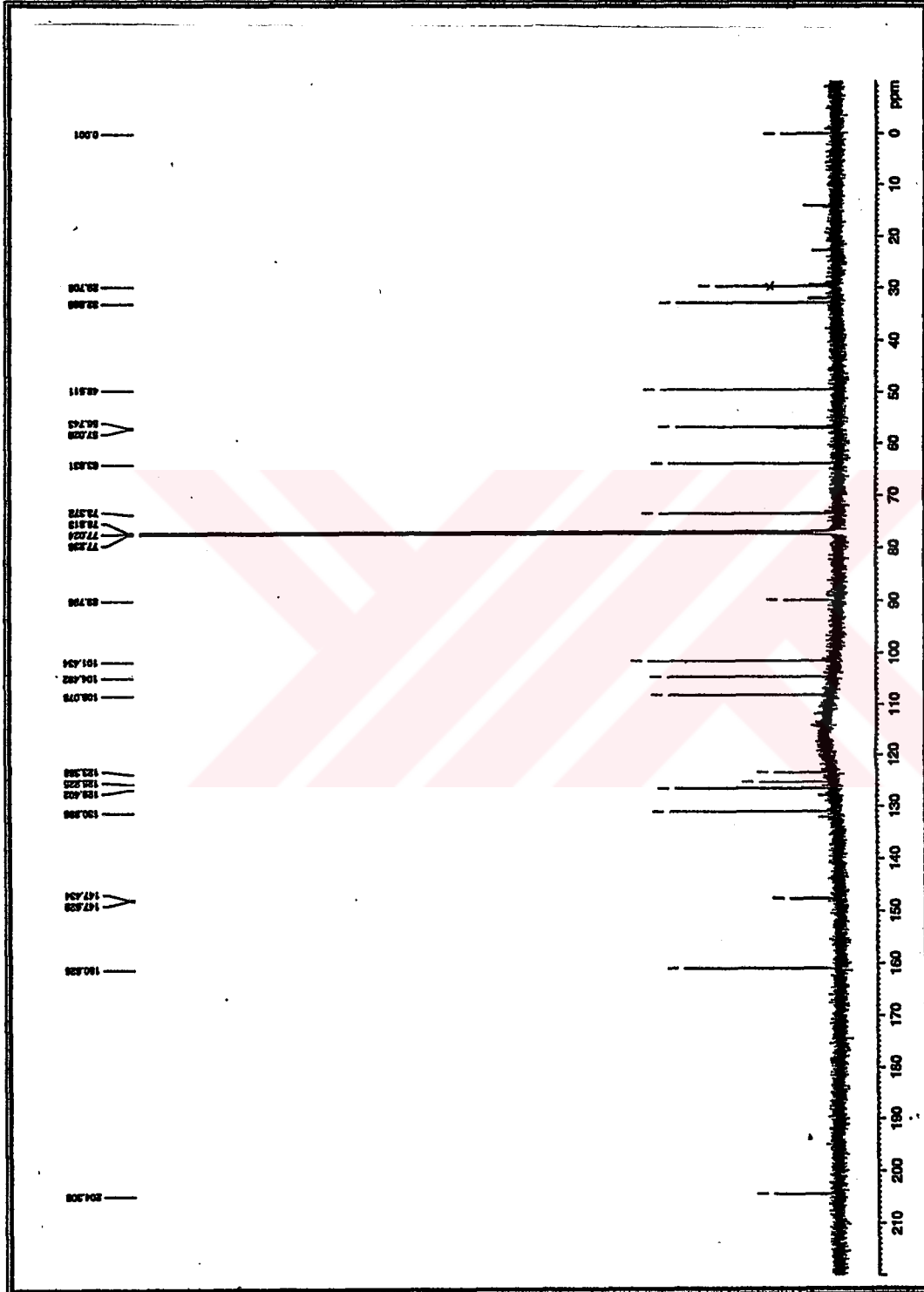
Spektrum No 19. OA4 Bileşinin ¹H NMR Spektrum



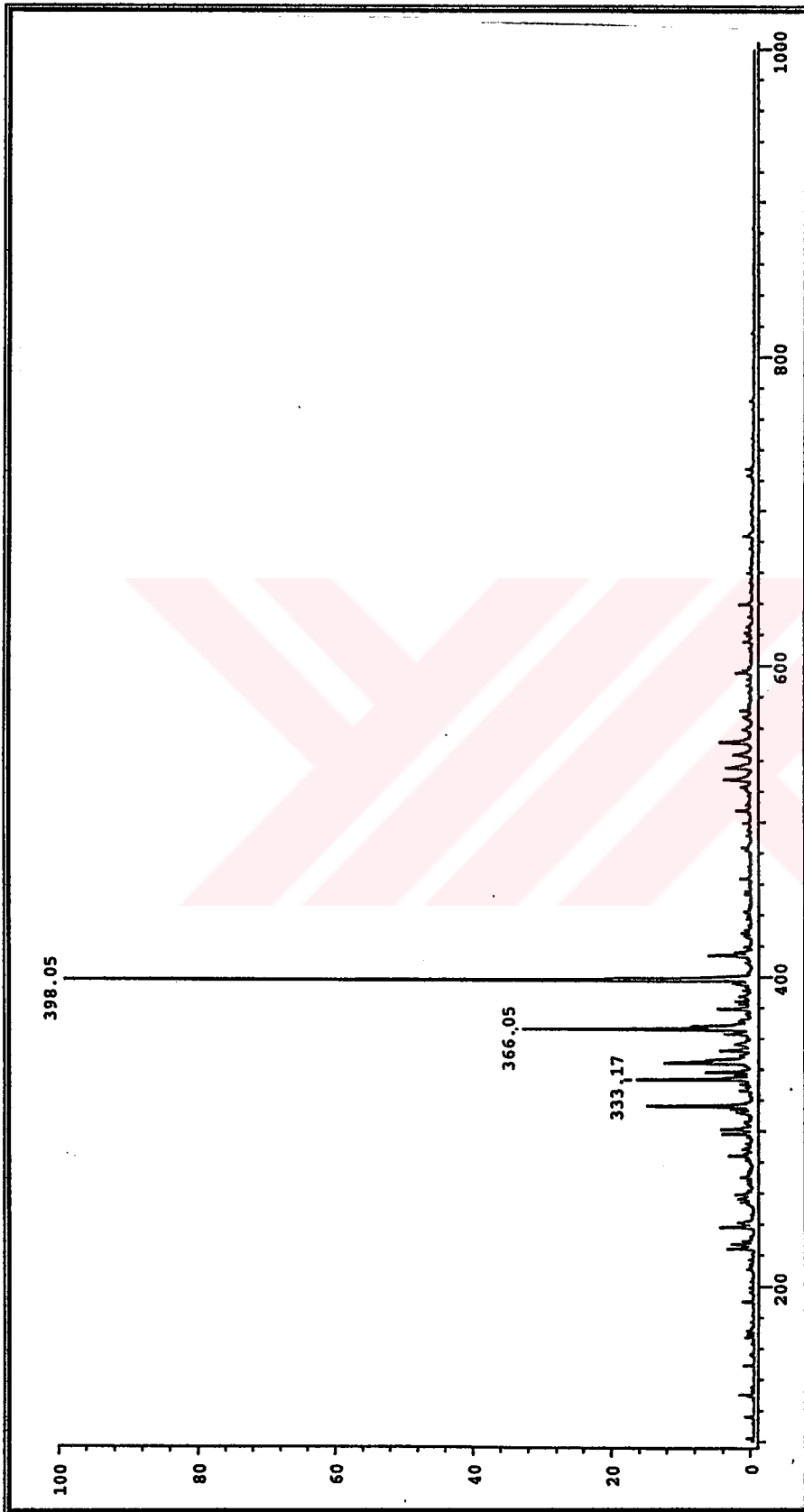
Spektrum No 20. OA4 Bileşiminin ^1H NMR Spektrumu (Genişletilmiş)



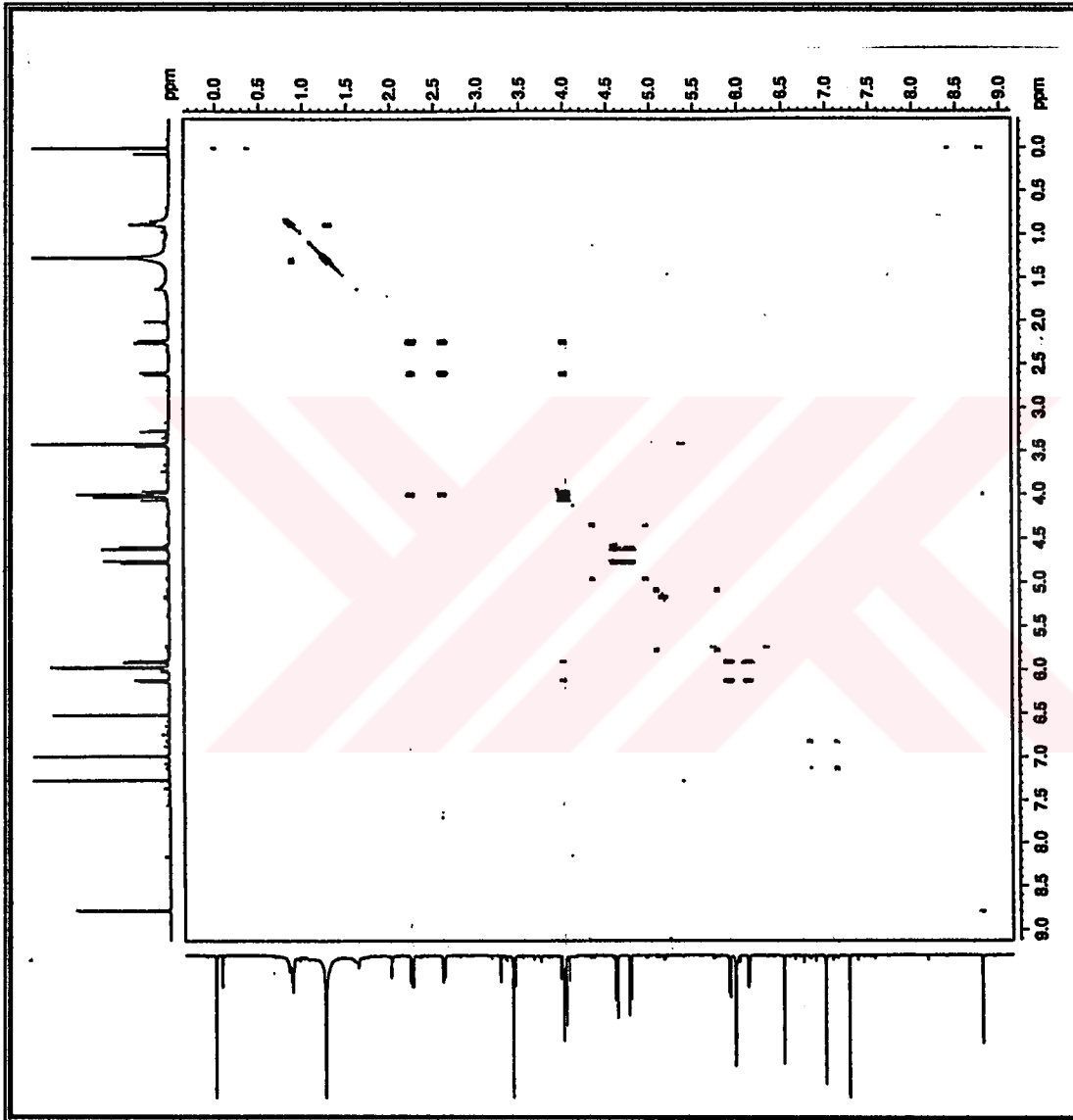
Spektrum No 21. OA4 Bileşiminin ^1H NMR Spektrumu (Genişletilmiş)



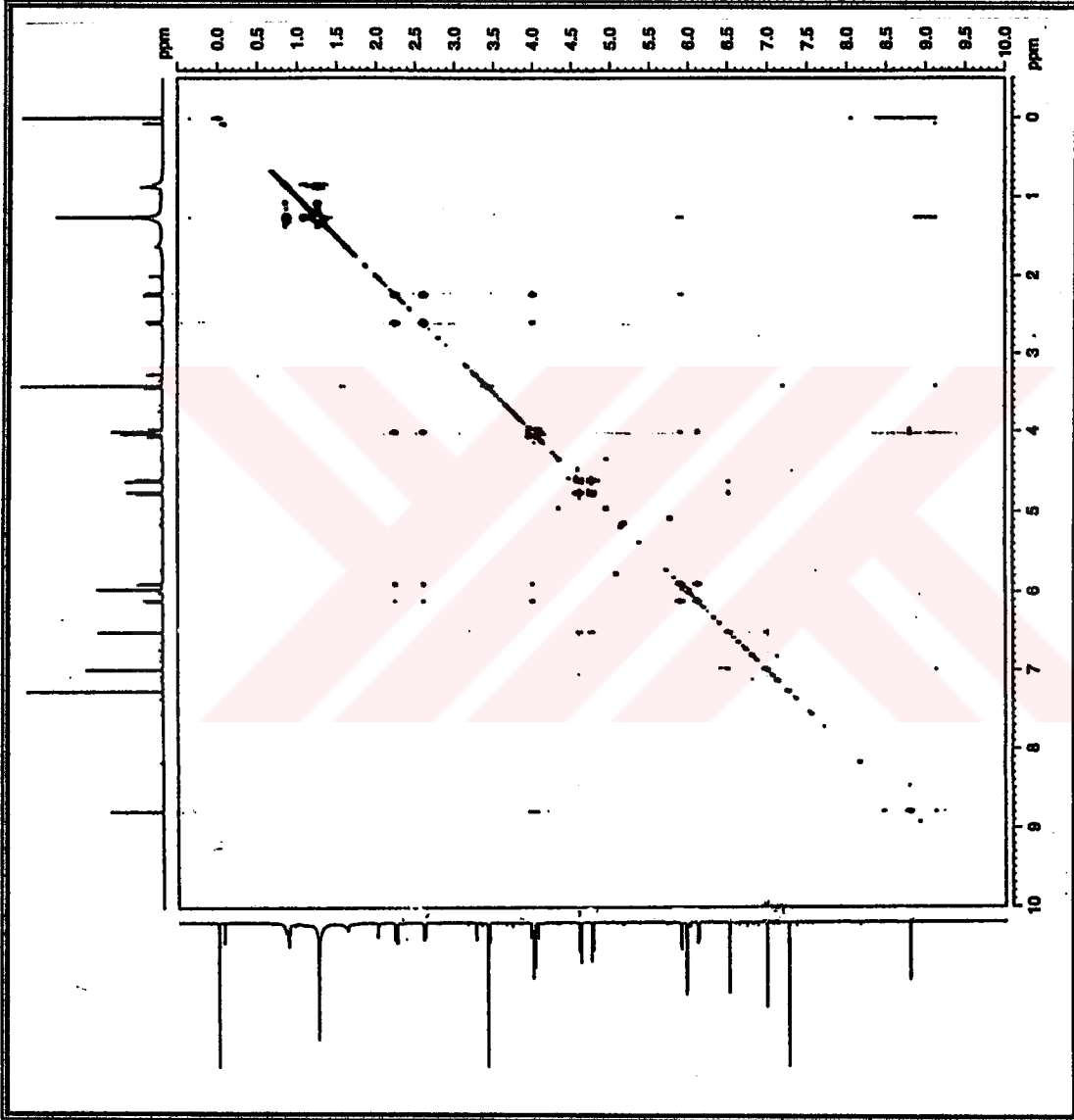
Spektrum No 22. OA4 Bileşiminin ¹³C NMR Spektrumu



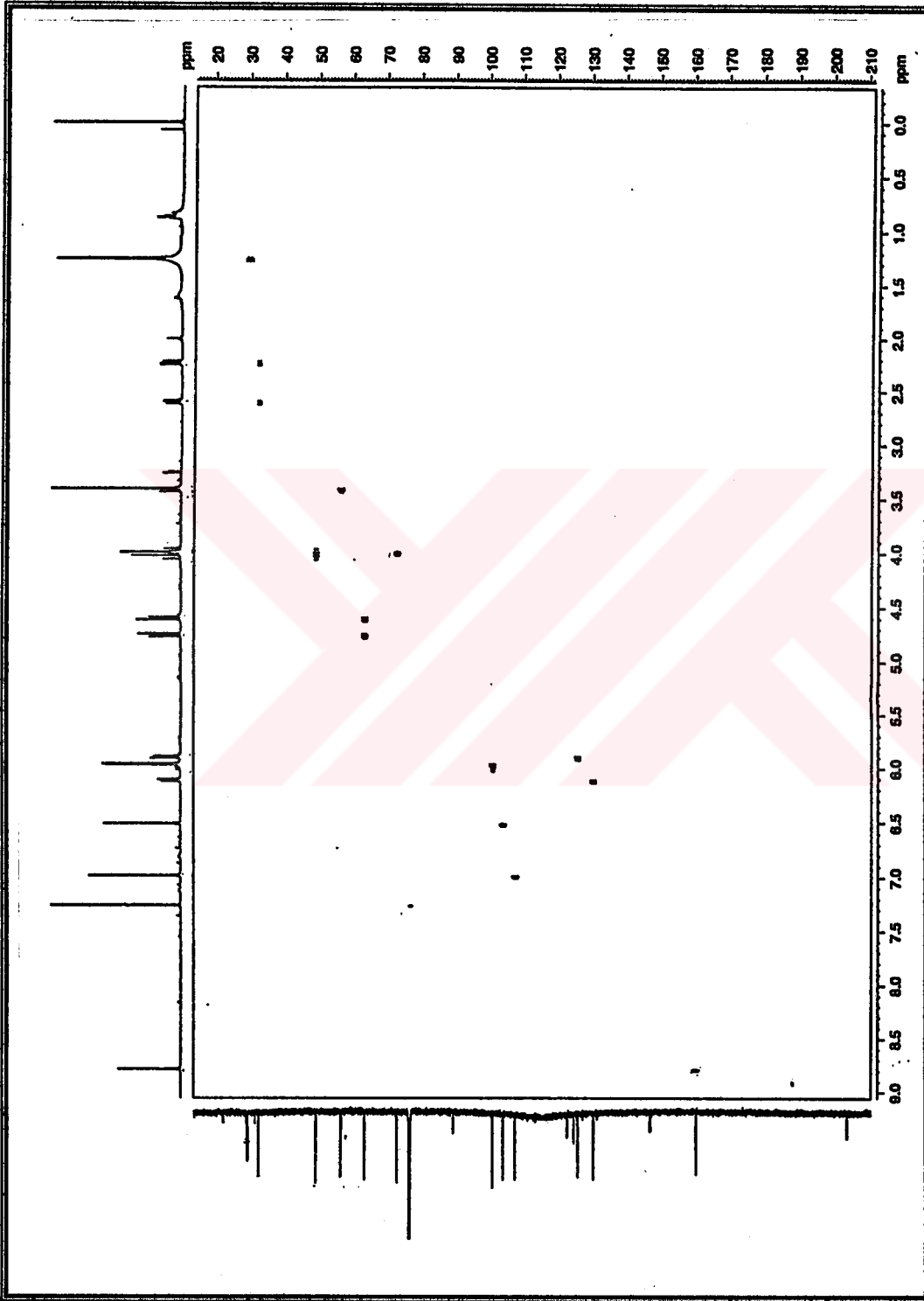
Spektrum No 23. OA4 Bileşğinin ESI-MS Spektrumu



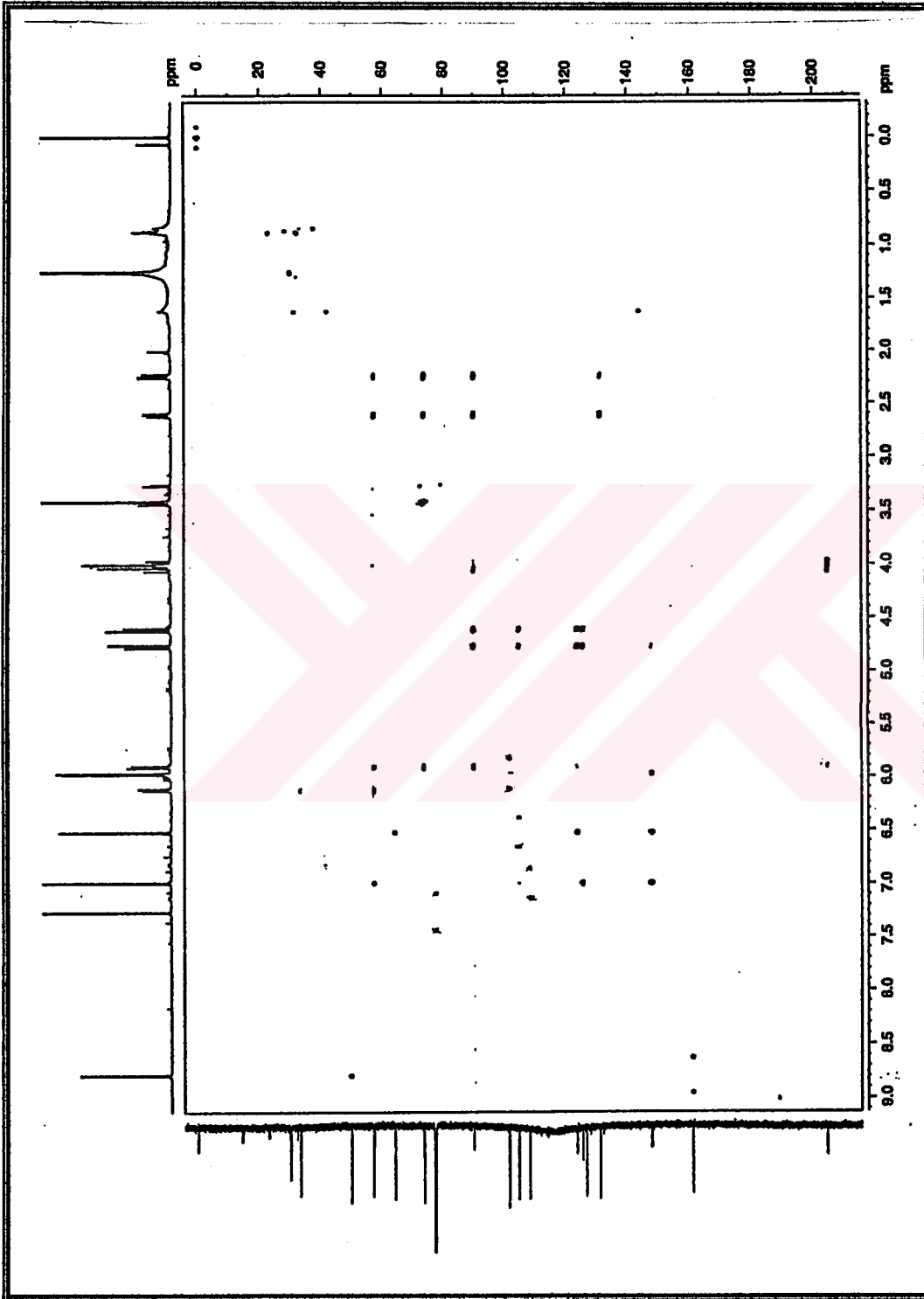
Spektrum No 24. OA4 Bileşinin ^1H , ^1H DQF COSY Spektrumu



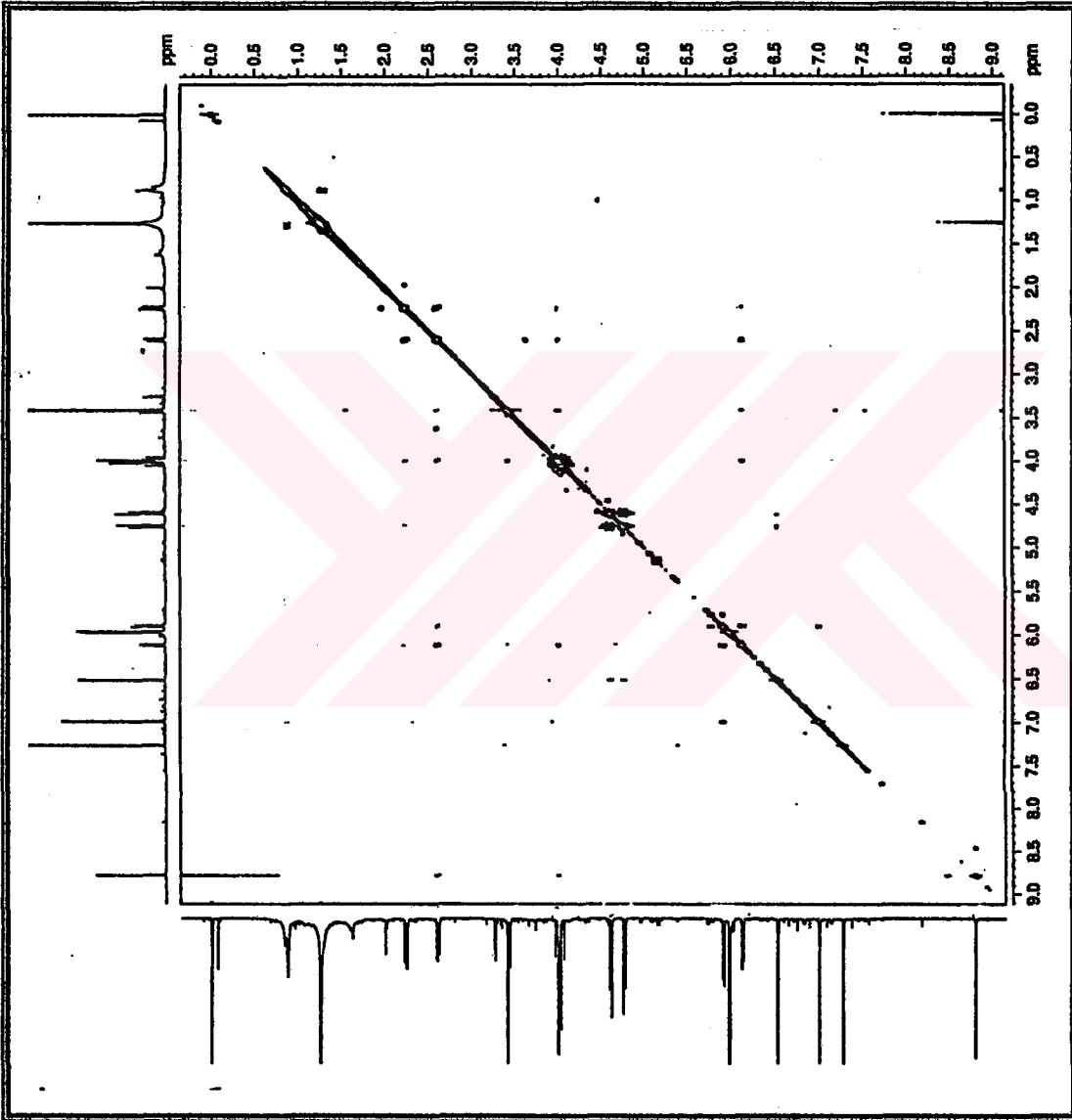
Spektrum No 25. OA4 Bileşinin TOCY Spektrumu



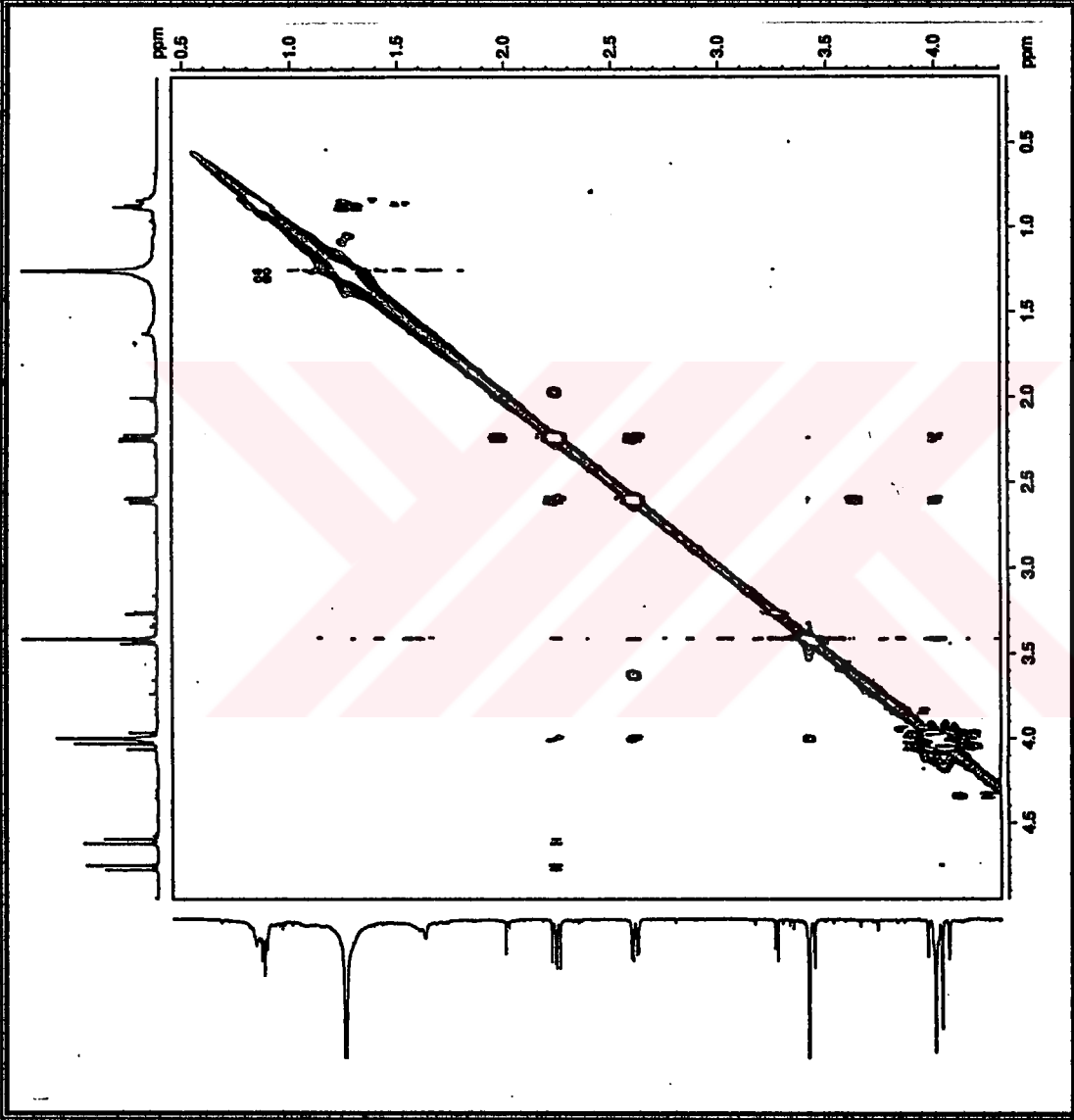
Spektrum No 26. OA4 Bileşğinin HSQC Spektrumu



Spektrum No 27. OA4 Bileşğinin HMBC Spektrumu



Spektrum No 28. OA4 Bileşinin ROESY Spektrumu



Spektrum No 29. OA4 Bileşğinin ROESY Spektrumu (Genişletilmiş)

IV. OA5 BİLEŞİĞİNİN SPEKTRAL BULGULARI

¹H NMR (Spektrum No 30-33)

CDCl₃

δ	1.98 (1H, <i>ddd</i> , <i>J</i> =2.8/4.3/10.1 Hz, H-4β)
	2.43 (1H, <i>dddd</i> , <i>J</i> =10.1 Hz, H-4α)
	2.93 (3H, <i>s</i> , N-CH ₃)
	3.47 (3H, <i>s</i> , O-CH ₃)
	3.72 (1H, <i>m</i> , H-4a)
	3.74 (1H, <i>m</i> , H-3)
	4.61 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> =14.6 Hz, H-8β)
	5.03 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> =14.6 Hz, H-8α)
	5.57 (1H, <i>dt</i> , <i>J</i> =10.5/1.4 Hz, H-1)
	5.93 (1H, <i>s</i> , OCH ₂ O)
	6.12 (1H, <i>dt</i> , <i>J</i> =10.5/1.5 Hz, H-2)
	6.52 (1H, <i>s</i> , H-9)
	6.85 (1H, <i>s</i> , H-12)

¹³C NMR (Spektrum No 34)

CDCl₃

δ	25.76 (C-4), 27.85 (NCH ₃), 45.21 (C-12), 56.24 (OCH ₃), 60.72 (C4a), 61.65 (C-8), 70.86 (C-3), 95.68 (C-6a), 101.11 (OCH ₂ O), 104.10 (C-9), 109.83 (C- 12), 125.71 (C-8a), 125.77 (C-12a), 127.88 (C-2), 129.36 (C-1), 146.89 (C-10), 147.00 (C-11), 170.27 (C-6)
---	---

¹H, ¹H DQF COSY (Spektrum No 35)

TOCSY (Spektrum No 36)

HSQC (Spektrum No 37)

HMBC (Spektrum No 38)

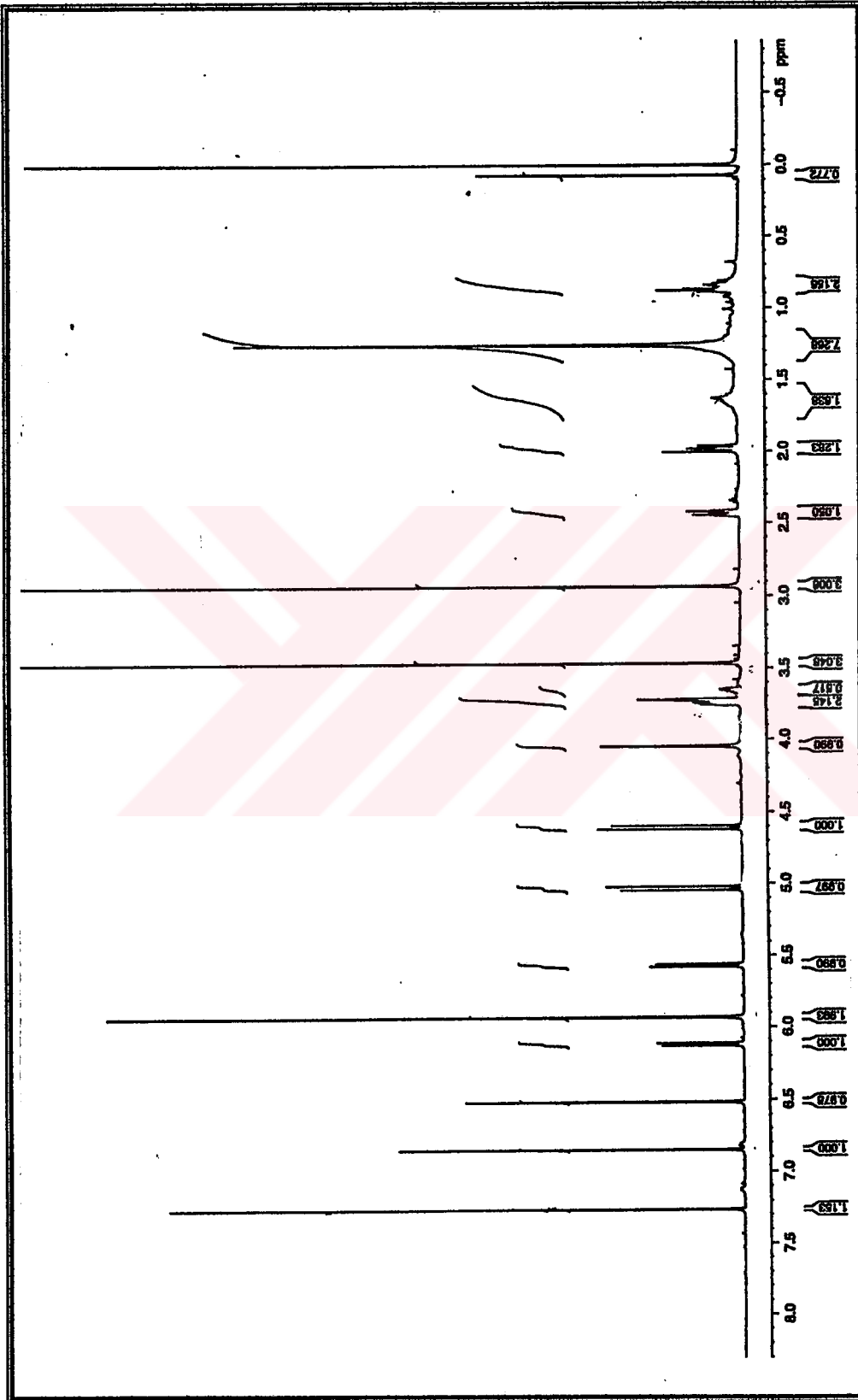
NOESY (Spektrum No 39)

	¹ H NMR	HSQC	¹ H, ¹ H DQF COSY
H-1	5.57	129.36	6.12, 3.72(3.74)
H-2	6.12	127.88	3.72(3.74), 5.57
H-3	3.74	70.86	
H-4 α	2.43	25.76	1.98, 3.72(3.74)
H-4 β	1.98	25.76	
H-4a	3.72(3.74)	60.72	2.43, 1.98
H-8 α	5.03	61.65	4.61
H-8 β	4.61	61.65	5.03
H-9	6.52	104.10	
H-12	6.85	109.83	
O-CH ₃	3.47	56.24	
OCH ₂ O	5.93	101.11	
N-CH ₃	2.93	27.85	

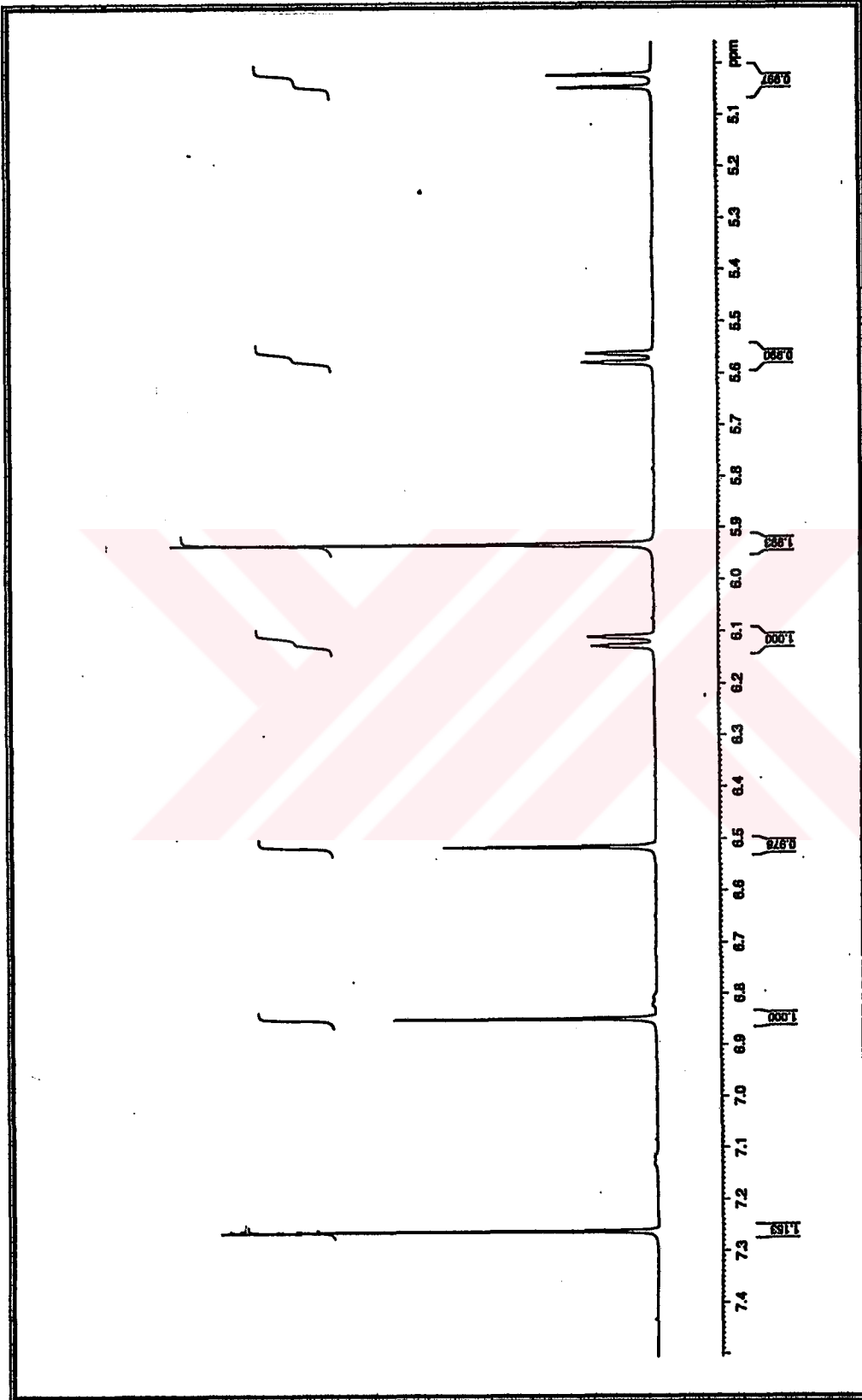
Tablo 4. OA5 Bileşğinin 1D ve 2D NMR Bulguları (δ)

	TOCSY	HMBC	NOESY
H-1	1.98, 2.43, 3.72(3.74), 6.12	45.21, 60.72, 70.86	
H-2	1.98, 2.43, 3.72(3.74), 5.57	25.76, 45.21	O-CH ₃
H-3	1.98, 2.43, 5.57, 6.12		
H-4 α	1.98, 3.72(3.74)	45.21, 60.72, 70.86, 129.36	N-CH ₃
H-4 β	2.43, 3.72(3.74)	60.72, 70.86	3.72(3.74)
H-4a		56.24, 70.86, 127.88, 129.36	N-CH ₃ , O-CH ₃
H-8 α	4.61	95.68, 104.10, 109.83, 125.77	
H-8 β	5.03	95.68, 104.10, 125.77	6.52
H-9		45.21, 61.65, 109.83, 125.77, 146.89(147.00)	5.03, 4.61
H-12		45.21, 104.10, 125.71, 146.89(147.00)	1.98, 3.72(3.74), 5.57, 6.12
O-CH ₃		70.86	1.98, 2.43, N-CH ₃ , 3.74, 6.12
OCH ₂ O		146.89(147.00)	
N-CH ₃		60.72, 170.27	3.72(3.74)

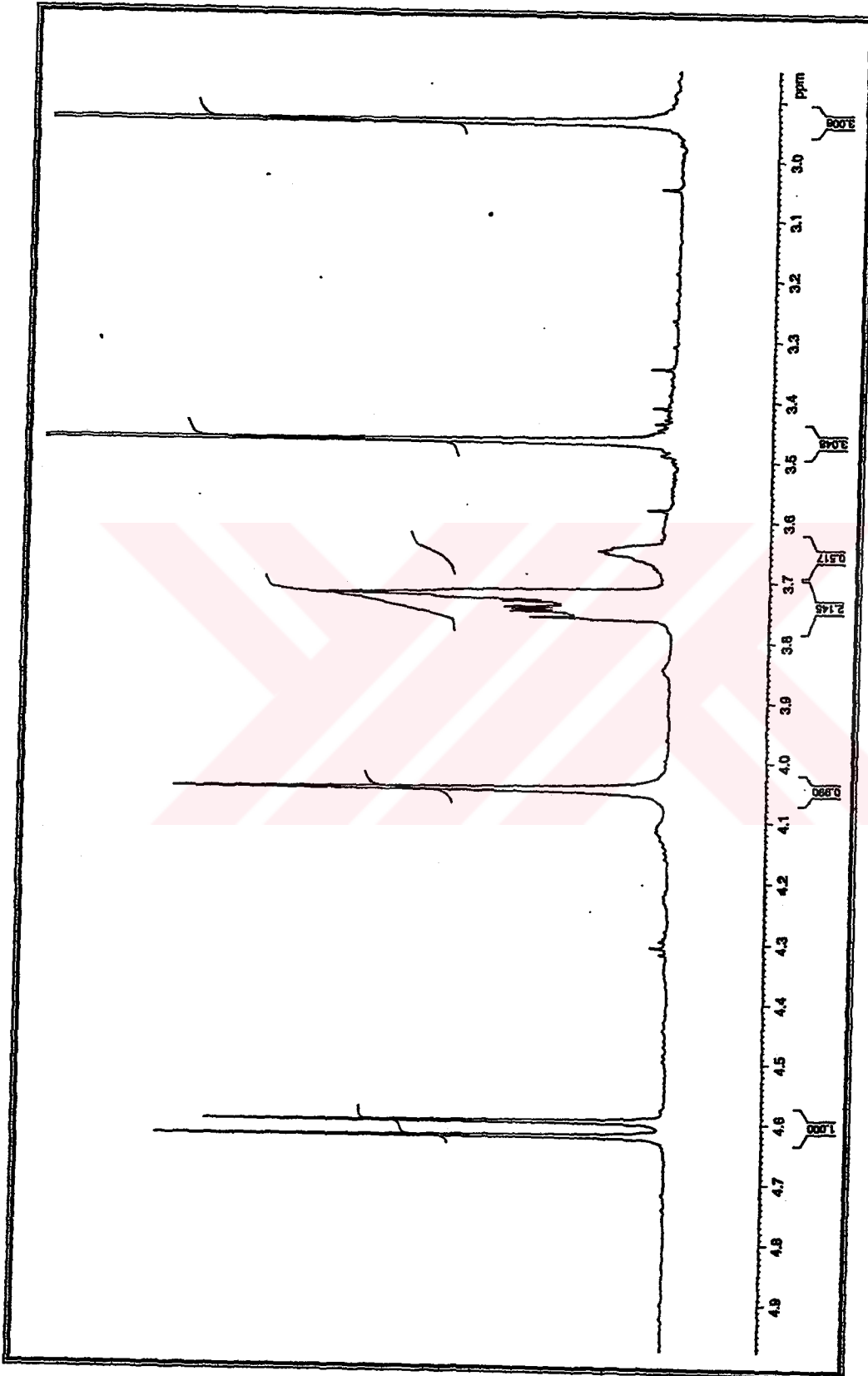
Tablo 5. OA5 Bileşinin 2D NMR Bulguları (δ)



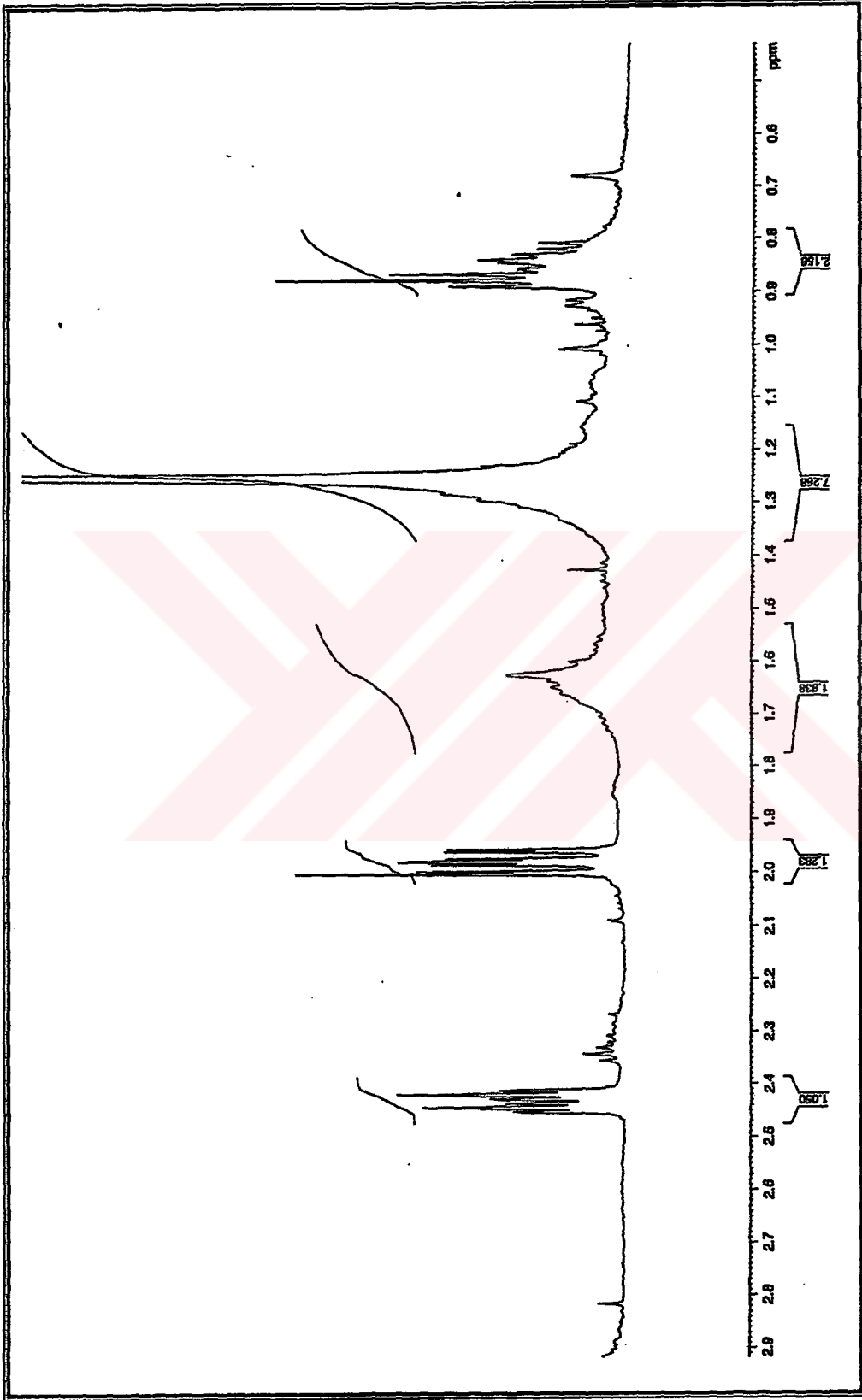
Spektrum No 30. OA5 Bileşğinin ^1H NMR Spektrumu



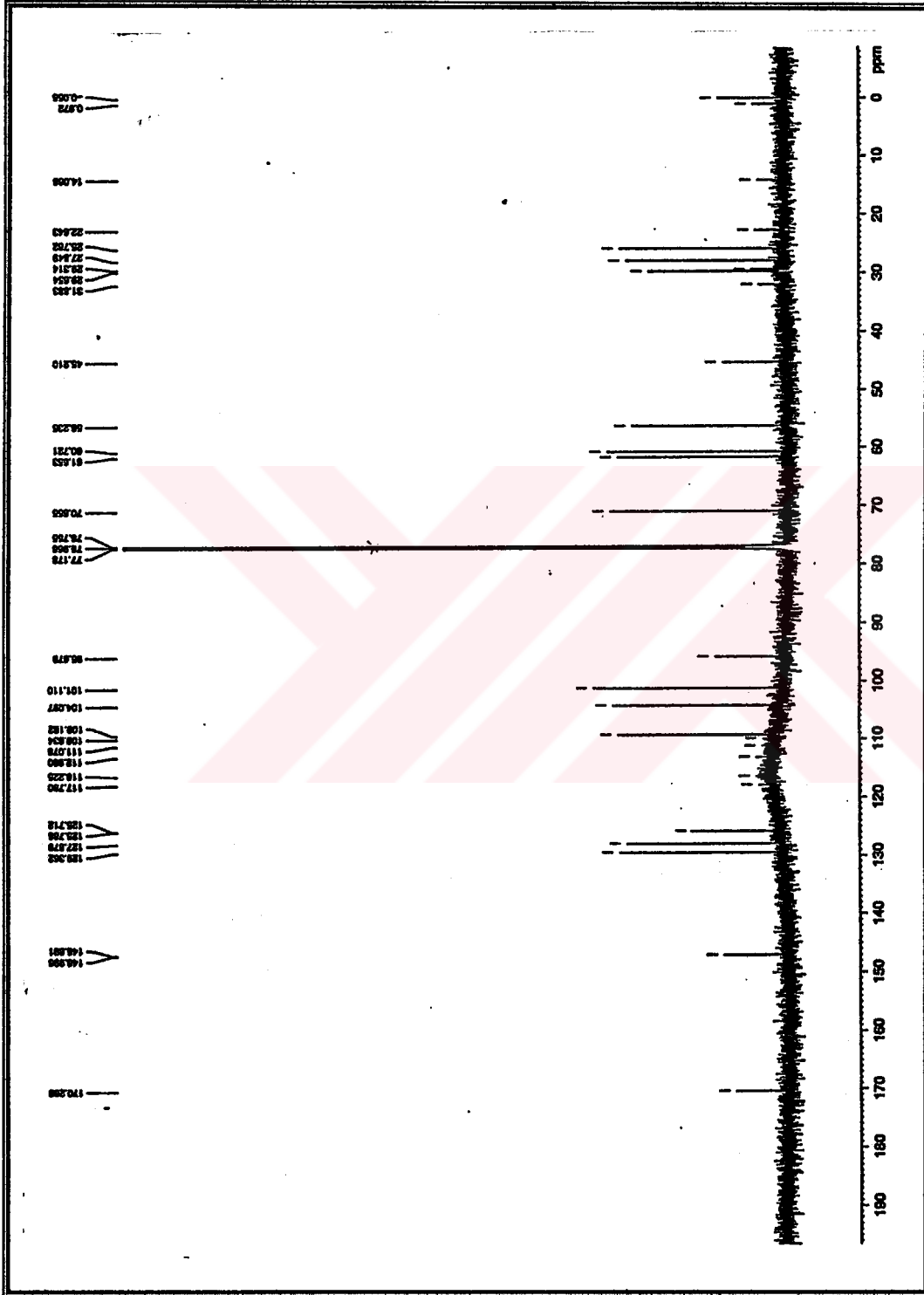
Spektrum No 31. OA5 Bileşiminin ^1H NMR Spektrumu (Genişletilmiş)



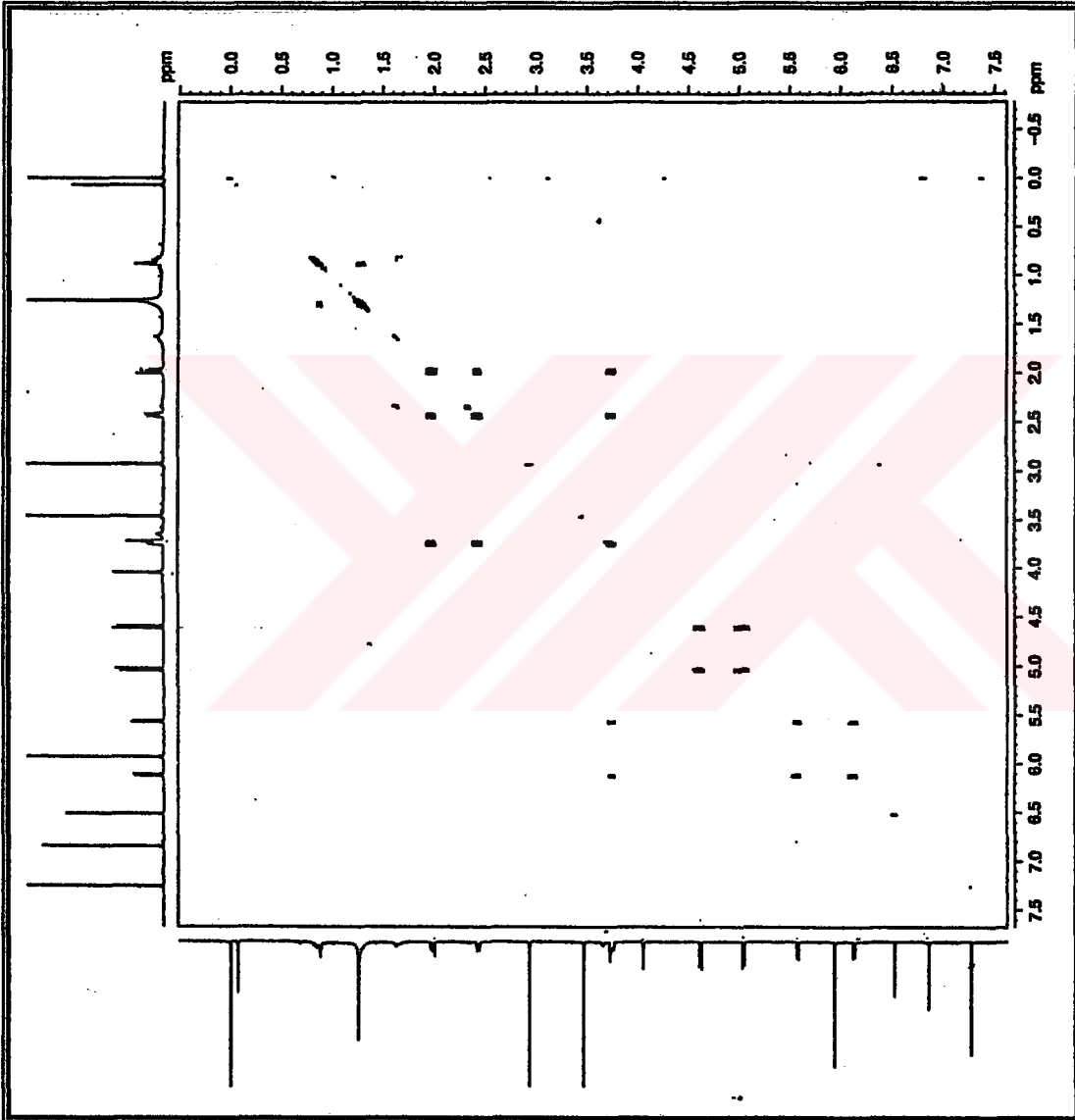
Spektrum No 32. OA5 Bileşğinin ^1H NMR Spektrumu (Genişletilmiş)



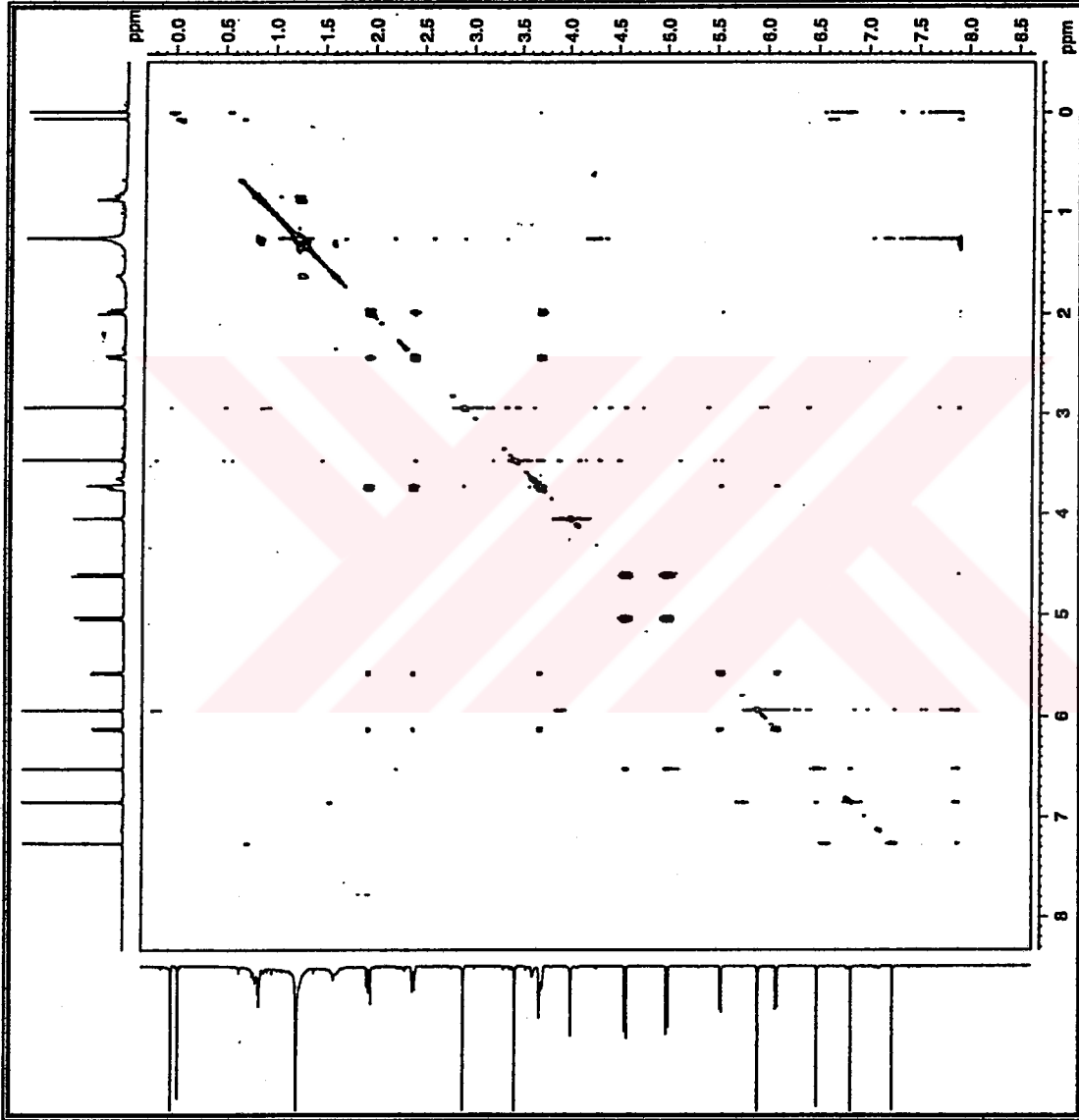
Spektrum No 33. OA5 Bileşğinin ^1H NMR Spektrumu (Genişletilmiş)



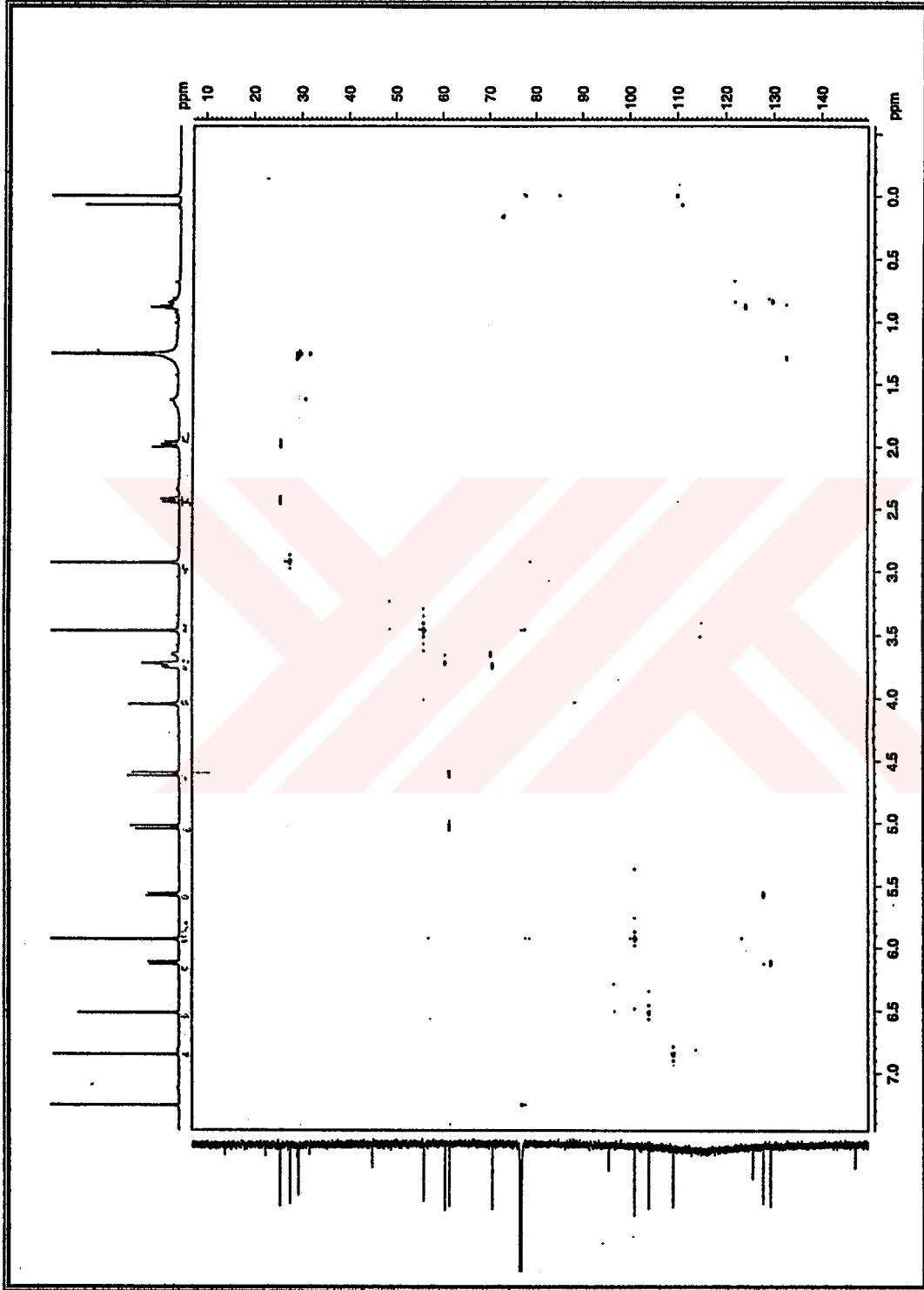
Spektrum No 34. OA5 Bileşinin ¹³C NMR Spektrumu



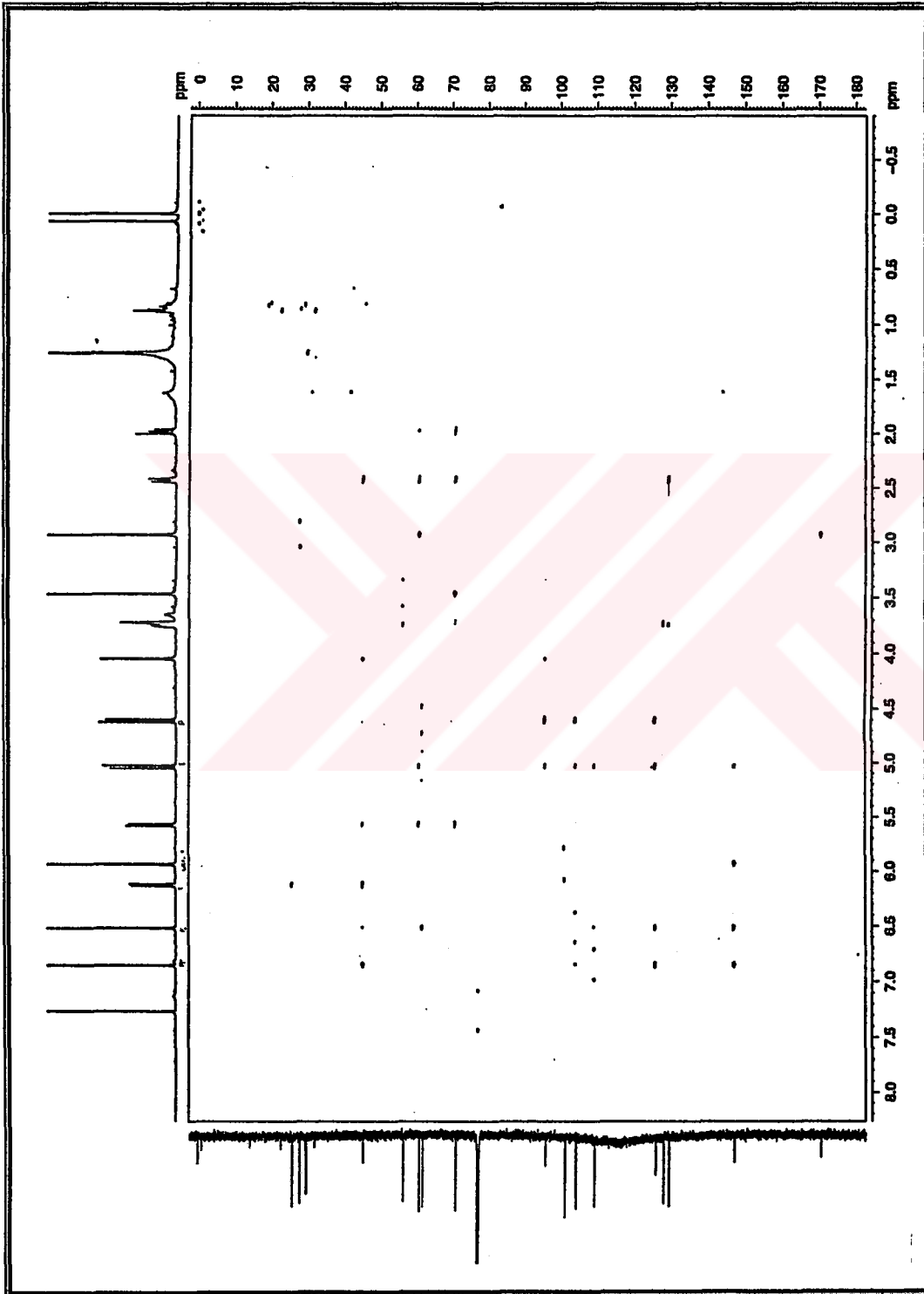
Spektrum No 35. OA5 Bileşğinin ^1H , ^1H DQF COSY Spektrumu



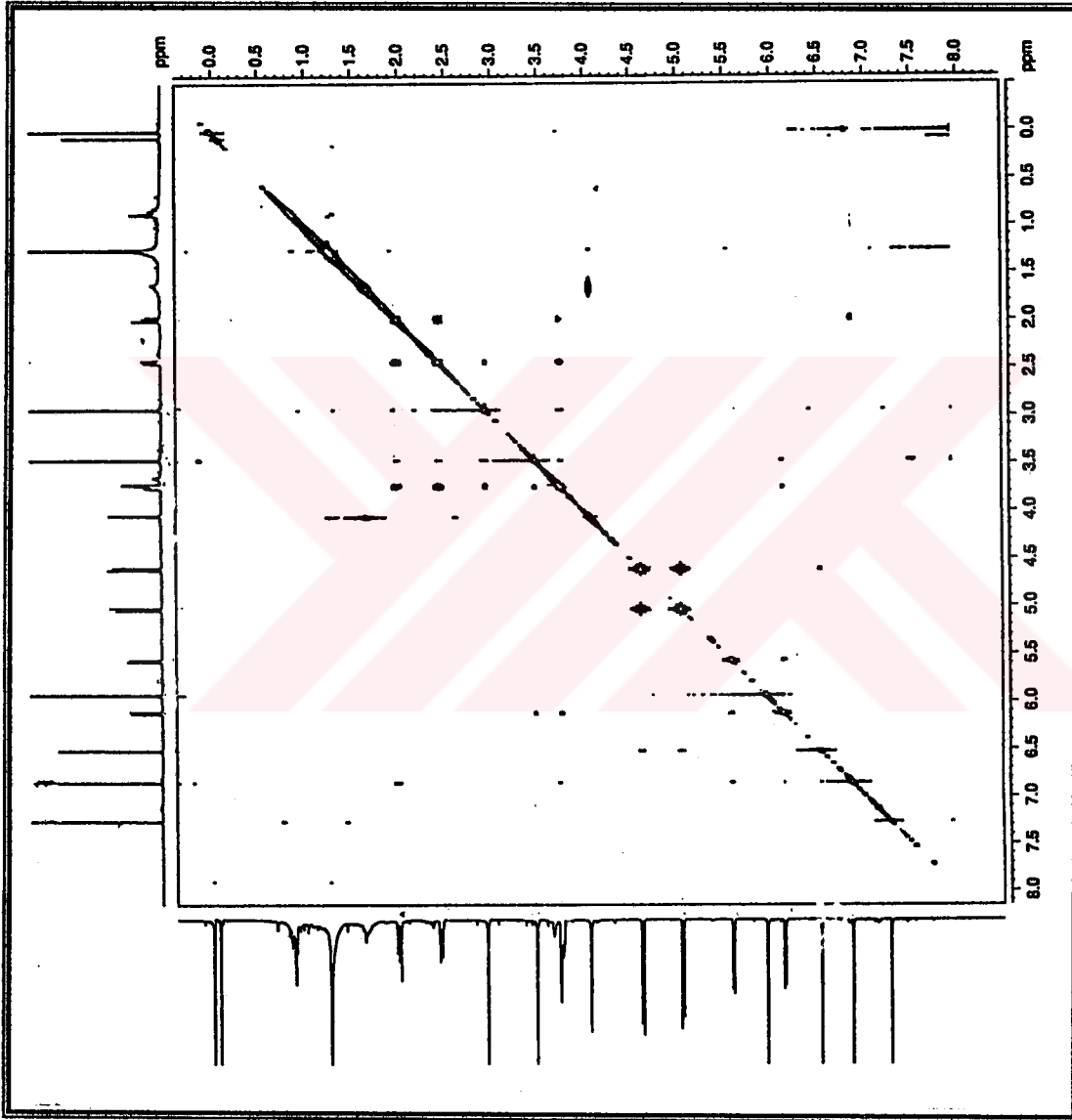
Spektrum No 36. OA5 Bileşinin TOCY Spektrumu



Spektrum No 37. OA5 Bileşğinin HSQC Spektrumu



Spektrum No 38. OA5 Bileşinin HMBC Spektrumu



Spektrum No 39. OA5 Bileşğinin NOESY Spektrumu

TARTIŞMA VE SONUÇ

I. OA1 BİLEŞİĞİ

OA1 kodlu bileşiğin 600 MHz NMR spektrometresinde CDCl_3 içerisinde alınan ^1H NMR spektrumunda (Spektrum No 7-8) alifatik alanda sadece δ 3.80 de 3 hidrojen değerinde keskin bir singlet görülmektedir. Bu aşamada sözkonusu sinyalin alifatik bir metoksile ya da kimyasal çevresi nedeniyle aşağı alana kaymış bir N-metil grubuna ait olduğu düşünülmüştür. Aşağı alanda δ 6.12 deki 2 hidrojen değerindeki singlet, bileşikte metilendioksi grubunun bulunduğunu göstermektedir. Bu iki sinyal haricinde δ 7.30-8.09 arasında, 6 tane aromatik hidrojene ait sinyaller görülmüştür. Hareket bileşiği olan tazettine'de sadece A halkasında birbirine göre *p*-konumda 2 aromatik hidrojenin varlığı gözönüne alındığında, fotokimyasal tepkime sonucunda bir aromatzasyonun cereyan etmiş olduğu anlaşılmaktadır.

Aromatik sahadaki sinyallerden 2 tanesi (δ 7.62 ve 7.91) tazettine'de olduğu üzere birbirine göre *p*-konumda olan 2 hidrojene aittir. Ancak bu sinyallerin tazettine'in ^1H NMR spektrumunda izlenen 2 singlete (δ 6.54 ve 6.75) göre oldukça aşağı alanda olması, aromatzasyon oluşumunu destekleyen diğer bir bulgudur. Diğer 4 sinyalin bölünmeleri ve etkileşme katsayıları, bu hidrojenlerin 1,2-disübstitüebenzen halkasında bulduklarını, δ 8.09 ve 7.40 daki sinyallerin ise bu halkanın 3 ve 6 konumlarında yer aldığını göstermektedir.

Bileşiğin CDCl_3 içerisinde alınan ^{13}C NMR spektrumunda (Spektrum No 9) 15 tane karbona ait sinyaller izlenmektedir. Beklendiği üzere, yukarı alanda sadece δ 30.00 da bir sinyal mevcuttur. Diğer sinyallerin tümü δ 100 den daha

aşağı alandadır. Çift dimensiyonlu NMR tekniklerinden HSQC deneyine ait spektrumun (Spektrum No 15) değerlendirilmesi, proton taşıyan karbonlarla üzerlerindeki hidrojenlerin korelasyonunu sağlamış (Tablo 1), ayrıca karbonların niteliklerine de ışık tutmuştur. Buna göre, bileşikte bulunan karbonların 1 tanesinin metil, 1 tanesinin metilen, 6 tanesinin metin niteliğinde olduğu, ayrıca 7 tane de katerner karbonun bulunduğu söylenebilmektedir.

Katerner karbonlardan en aşağı alanda, δ 160.98 de izlenen sinyal, bir karbonilin varlığına işaret etmektedir. Tazettine'de mevcut olmayan bu işlevsel grup, fotoreaksiyon sırasında aromatisasyonla birlikte bir oksidasyonun da cereyan etmiş olduğunu göstermiştir. Bu verilerin ışığında, OA1 bileşiğinin tazettine'de bulunan [2]benzopirano[3,4-c]indol çekirdeğine artık sahip olmadığı anlaşıldığından, oluşan yeni yapının aydınlatılabilmesi amacıyla, muhtelif çift dimensiyonlu NMR tekniklerinden yararlanılmıştır.

$^1\text{H}, ^1\text{H}$ DQF COSY deneyinde (Tablo 1) δ 8.09 daki hidrojenin δ 7.30 da sinyal veren hidrojenle karşılıklı olarak etkileştiği, sözkonusu ikinci sinyalin ilaveten δ 7.51 sinyaliyle yine karşılıklı olarak etkileştiği, δ 7.51 sinyalinin ayrıca δ 7.40 sinyaliyle de karşılıklı olarak etkileştiği izlenmektedir. Bu durum sözkonusu hidrojenlerin 1,2-disübstitüebenzen halkası üzerindeki göreceli sıralamalarının δ 8.09, 7.30, 7.51 ve 7.40 şeklinde olduğunu ortaya koymaktadır.

Bileşikteki $^2J_{CH}$ ve $^3J_{CH}$ korelasyonlarını saptamak üzere yapılan HMBC deneyinde (Spektrum No 16), δ 6.12 de izlenen metilendioksi hidrojenleri, 3 bağ aracılığıyla δ 148.40 ve 152.18 de rezonans veren karbonlara bağlanmaktadır. Keza gerek δ 7.62 ve gerekse δ 7.91 de sinyal veren hidrojenler de $^2J_{CH}$ ve $^3J_{CH}$ korelasyonu ile δ 152.18 ve 148.40 karbonlarıyla bağlanmaktadır. Bu hidrojenlerin δ 121.31 ve 130.42 karbonlarıyla olan korelasyonları, tazettine'de olduğu üzere, bir 1,2,4,5-tetrasübstitüebenzen halkasının (A halkası) varlığını teyit etmektedir.

δ 7.91 sinyalinin $^3J_{CH}$ korelasyonu ile δ 160.98 de sinyal veren karbonil grubuna bağlanması, bir benzilik oksidasyonun cereyan etmiş olduğunu göstermektedir. δ 160.98 karbonunun N-metil grubu hidrojenleriyle de 3 bağ aracılığıyla etkileşmesi, bu karbonilin laktam işlevsel grubuna ait olduğunu göstermektedir. Böylece bileşiğimizin ^1H NMR spektrumunda izlenen N-metil

grubu hidrojenlerinin (δ 3.80) tazettine'dekine (δ 2.39) kıyasla yaklaşık 1.4 ppm kadar aşağı alana kaymış olmasının açıklaması da yapılmış olmaktadır.

δ 3.80 de izlenen N-metil hidrojenlerinin HMBC spektrumunda görülen diğer önemli bir korelasyonu δ 137.45 de sinyal veren karbon ile olmaktadır. Bu karbon, 1,2-disübstitüebenzen halkasında yer alan δ 7.51 ve 8.09 hidrojenleriyle de $^3J_{CH}$ korelasyonu sergilemektedir. Böylece laktam grubu ile 1,2-disübstitüebenzen halkasının ilişkilendirilmesi mümkün olmaktadır.

δ 119.23 de rezonans veren karbonun, 1,2-disübstitüebenzen halkasında yer alan δ 7.30 ve 7.40 hidrojenlerinin yanısıra, A halkasında yer alan δ 7.62 singletiyle de $^3J_{CH}$ korelasyonu vermesi sonucunda ortaya çıkan çekirdek yapının, B halkası kısmen doymuş olan bir fenantren halkası olduğu görülmüştür.

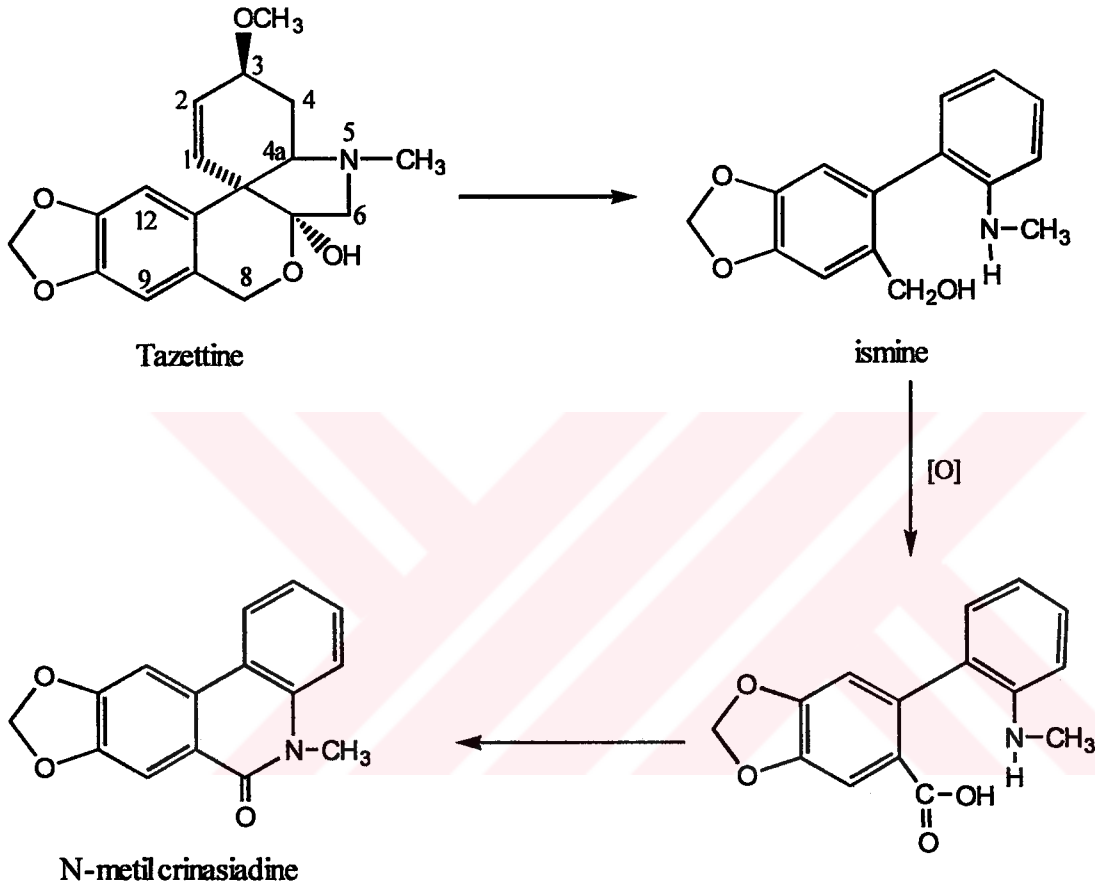
ROESY deneyinde (Spektrum No 18), A halkasındaki H-1 ile C halkasındaki H-10 un uzaysal korelasyonu yanısıra, N-metil grubu hidrojenlerinin C halkasındaki δ 7.40 rezonansını veren hidrojen ile uzaysal olarak etkileşmesi, diğer NMR deneylerinden sağlanan bulgularla yazılan açık kimyasal formülün tamamen destekler niteliktedir.

NMR deneyleriyle belirlenen yapının kapalı formülü $C_{15}H_{11}NO_3$ dür. Bu formül için hesaplanan molekül ağırlığı 253 dür. Bu bulgu, bileşiğin amonyakla alınan CIMS spektrumunda (Spektrum No 10) m/z 254 de görülen $[M+H]^+$ pikiyle uyum içindedir. Ayrıca, bileşiğin ESI-MS spektrumunda (Spektrum No 11) okunan ve yine $[M+H]^+$ iyonuna karşı gelen m/z 254 piki de, bileşiğimizin molekül ağırlığını teyit eden bir diğer bulgudur.

OA1 bileşiği, N-methylcrinasiadine adı altında Amaryllidaceae familyasına ait *Lapiedra martinezii* adlı türden izole edilmiş ve tanımlanmış bulunmaktadır (33).

Çalışmamızda OA1 bileşiği, saf haldeki tazettine'in ışığa maruz bırakılmasıyla gerçekleşen bir fotokimyasal tepkime sonucunda oluşmuştur. Bu tepkime sırasında öncelikle tazettine'in C-3 konumunda bir demetoksilasyon cereyan ettiği düşünülmektedir. Oluşan karbanyondan hareketle cereyan eden oksidatif aromatisasyon sırasında C-6a ve C-12b arasındaki bağın parçalanmasını takiben, C-5 ile C-6 ve C-6a ile C-7 arasındaki bağlarında parçalandığı, ve ismine adı ile bilinen bir alkaloidin meydana geldiği varsayılmaktadır. Daha sonra, primer

alkol grubunun karboksilli aside oksidasyonunu takiben dehidratasyonla B halkasını oluşturan laktam işlevsel grubunun meydana geldiği düşünülmektedir (Şema 4).



Şema 4

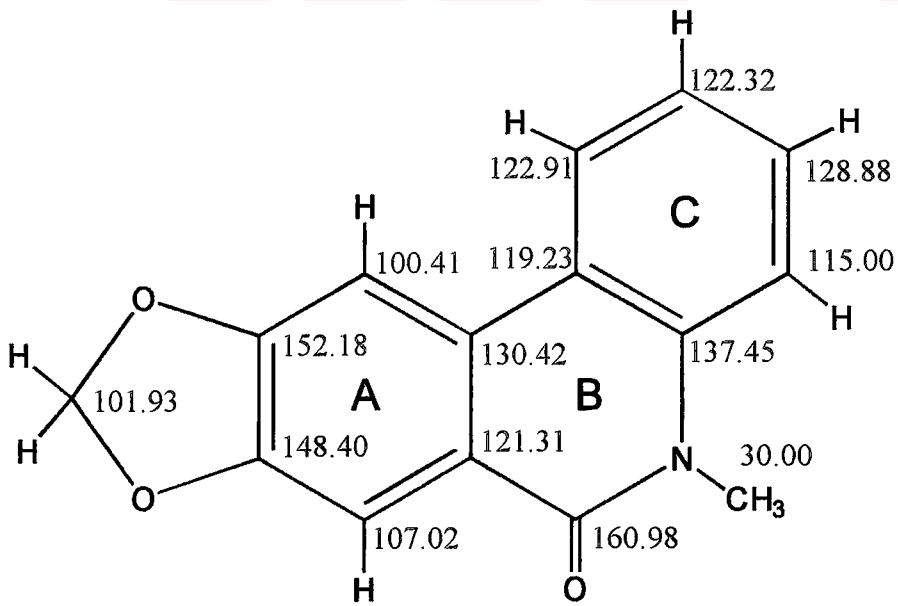
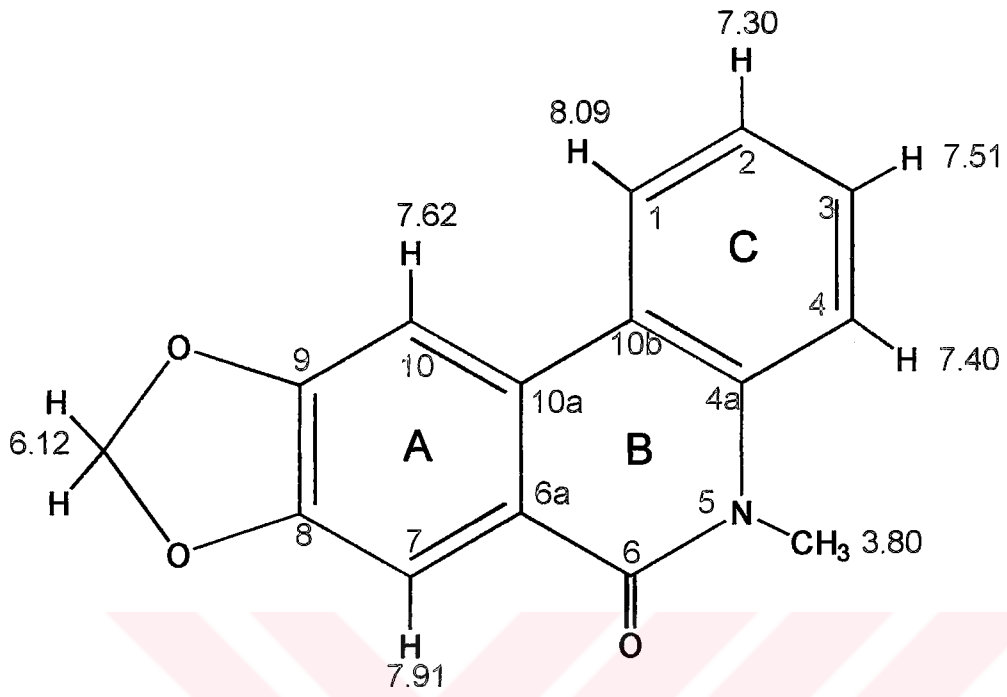
Bu bulgu, şimdiye kadar Amaryllidaceae familyasının doğal alkaloidlerinin bir alt grubu olarak kabul edilen basit fenantridinlerin gerçekte doğal olmayıp, tazettine grubu alkaloidlerin izolasyon işlemleri sırasında ışık ve oksijene maruz kalması sonucunda oluşan ürünler olabilecekleri hususunu gündeme getirmektedir.

Daha önce yapılan çalışmalarda, bizzat tazettine'in de doğal bir alkaloid olmayıp, alkali ortamda ekstraksiyon sırasında doğal bir alkaloid olan pretazettine'den rearanjmanla meydana geldiği ortaya konulmuştur (51).

Literatüre göre pretazettine ise, biyojenetik yolda crinane alt grubundan haemanthidine adlı alkaloidten dönüşümle meydana gelen bir alkaloiddir (37).

Bu bilgiler birbirine eklendiğinde, 4-konumunda hidroksil fonksiyonu taşıyan crinane grubu alkaloidleri içeren bitkilerde gerçekleştirilen izolasyon işlemleri sırasında, tazettine alt grubuna ait alkaloidlerin oluşabileceği, müteakiben bu alkaloidlerin de, bu çalışmada kanıtlandığı üzere, basit fenantiridin grubu alkaloidlere dönüşebileceği ortaya çıkmaktadır. Böylece tazettine ve fenantridin alt grubu alkaloidlerin birçok bitkide yanyana bulunmuş olası da beklenen bir sonuç olarak kabul edilebilecektir (37). Ancak basit fenantiridin grubundan olan bir alkaloidin izolasyon işlemi şartlarında oluştuğu ve dolayısıyla doğal alkaloid olmayabileceğine ait ileri sürdüğümüz bu hipotez, işaretlenmiş karbon kullanılmak suretiyle bitkideki biyogenez yolları açıklanabildiği takdirde kesinlik kazanabilecektir.

Şekil 3'te OA1 bileşiğinin ^1H ve ^{13}C NMR bulguları açık kimyasal formülü üzerinde gösterilmektedir.



ŞEKİL 3

II. OA 4 BİLEŞİĞİ

OA4 kodlu bileşiğin 600 MHz NMR spektrometresinde CDCl_3 içerisinde alınan ^1H NMR spektrumu (Spektrum No19-21), hareket bileşiği olan tazettine'in ^1H NMR spektrumuna oldukça benzer öğeler içermektedir. Örneğin aşağı alanda birbirine göre *p*-konumunda olan aromatik hidrojenlere ait iki singlet (δ 6.99 ve 6.51), δ 6.12 ve 5.90 da olefinik H-1 ve H-2 olefinik hidrojenlerine ait dublet-dublet şeklinde bölünmüş iki sinyal ve δ 5.96 ve 5.97 de metilendioksi grubunun hidrojenlerinin rezonansına ait olan iki dublet (J 1.3 Hz) görülmektedir. H-8 in izole hidrojenleri δ 4.76 ve 4.61 de belirgin dubletler (J 15.0 Hz) halindedir. Keza H-6 nın hidrojenlerine ait olduğu düşünülen diğer izole metilen grubu hidrojenleri, δ 4.05 ve 3.98 de 9.8 Hz lik bir etkileşme değişmezi ile bölünmüş halde görülmektedir. Bu sinyallerin altında bir multipler halinde bulunan bir sinyal ise, H-3 için beklenen kimyasal kayma değerindedir. Yukarı alanda çok iyi bölünmüş iki dublet-dubletin (δ 2.61 ve 2.24) kimyasal kayma değerleri ve etkileşme değişmezleri, H-4 hidrojenleri için uygundur. Ayrıca 3-konumundaki metoksil grubuna ait bir sinyalde δ 3.41 de keskin bir singlet halinde mevcuttur.

Ancak buraya kadar tazettine'le benzerlik gösterdiği düşünülen bileşiğin spektrumunda dikkati çeken üç farklı unsur, oldukça aşağı alanda görülen bir singlet (δ 8.78) in varlığı, buna karşılık bir N-metil grubuna ve H-4a ya ait olması gereken sinyallerin bulunmamasıdır.

OA4 bileşiğinin ^{13}C spektrumunda (Spektrum No 22) ilk dikkati çeken husus, δ 160.83 ve 204.31 de olmak üzere iki tane karbonil grubuna ait sinyallerin varlığıdır.

Bileşik üzerinde gerçekleştirilen çift-dimensiyonlu NMR tekniklerinden biri olan HSQC spektrumunun (Spektrum No 26) değerlendirilmesi, δ 8.78 de görülen hidrojenin δ 160.83 de sinyal veren karbon ile korelasyonunu sağlamıştır. Böylece bileşimizde bir formil grubunun bulunduğu belirlenmiştir. HSQC spektrumu yardımı ile protone karbonların kimyasal kayma değerleri yanısıra, karbonların nitelikleri hakkındada bilgi alınmıştır (Tablo 2). Buna göre bileşikte 1 metil, 4 metilen, 6 metin ve 7 katerner karbon olmak üzere toplam 18 tane karbon bulunmaktadır.

^1H , ^1H DQF COSY spektrumu (Spektrum No 24), ^1H NMR spektrumundan elde edilen bilgilerle saptanan etkileşmeleri doğrulamaktadır (Tablo 2); örneğin H-1 ve H-2 in birbirleriyle olan etkileşmelerine ilaveten H-3 ile etkileşmeleri, H-3 ün H-4 ile visinal etkileşmesi, izole H-8 hidrojenlerinin sadece birbirleriyle etkileşmeleri gibi. TOCSY spektrumundan (Spektrum No 25) alınan bilgiler, ^1H , ^1H DQF COSY den elde edilen bilgileri doğrulamanın yanısıra, H-8, H-9 ve H-12 den oluşan bir spin sisteminin bulunduğunu göstermektedir (Tablo 2-3). C-6 konumunda yer alan hidrojenlere ait sinyallerin H-3 ile çakışması nedeni ile, diğer spin sistemlerinin ayırdedilebilmesi mümkün olamamıştır.

Bileşiğin iskeletini oluşturmaya yardımcı olacak bilgiler HMBC spektrumunun (Spektrum No 27) değerlendirilmesi ile kazanılmıştır (Tablo 3). A halkasındaki metilendioksi sübstitüenti ile birbirlerine göre *p*-konumunda bulunan aromatik hidrojenlerin $^2J_{\text{CH}}$ ve $^3J_{\text{CH}}$ korelasyonlarının değerlendirilmesi, bunu takiben H-8 in 3 bağ aracılığı ile olan tüm etkileşmeleri, OA4 bileşiğinde hem A, hemde B halkalarının aynen muhafaza edildiği izlenimini vermektedir.

H-1 in $^3J_{\text{CH}}$ korelasyonları, δ 204.31 de sinyal veren karbonilin C-4a konumunda olması gerektiğini ortaya koymuştur. Bu husus, H-3 ile söz konusu karbon arasındaki 3 bağ korelasyonu ile de doğrulanmıştır. Böylece bileşiğin ^1H NMR spektrumunda C-4a ya ait bir hidrojen sinyaline rastlanmamasının nedeni de belirlenmiştir. Bu bulgu bileşikte C-4a ile 5-konumunda bulunan azot arasındaki bağın kopmuş olduğuna işaret etmektedir.

δ 8.78 de sinyal veren formil hidrojeninin yegane $^3J_{\text{CH}}$ korelasyonu, δ 49.51 de rezonans veren ve üzerinde izole metilen hidrojenlerini taşıyan karbon iledir. Bu bulgu, söz konusu karbonun yerini C-6 olarak belirlemektedir.

Bu bulguların ışığında, yukarıda açık kimyasal formülü verilmiş olan OA4 bileşiğinin bir seko-tazettine türevi olduğu ortaya çıkmaktadır.

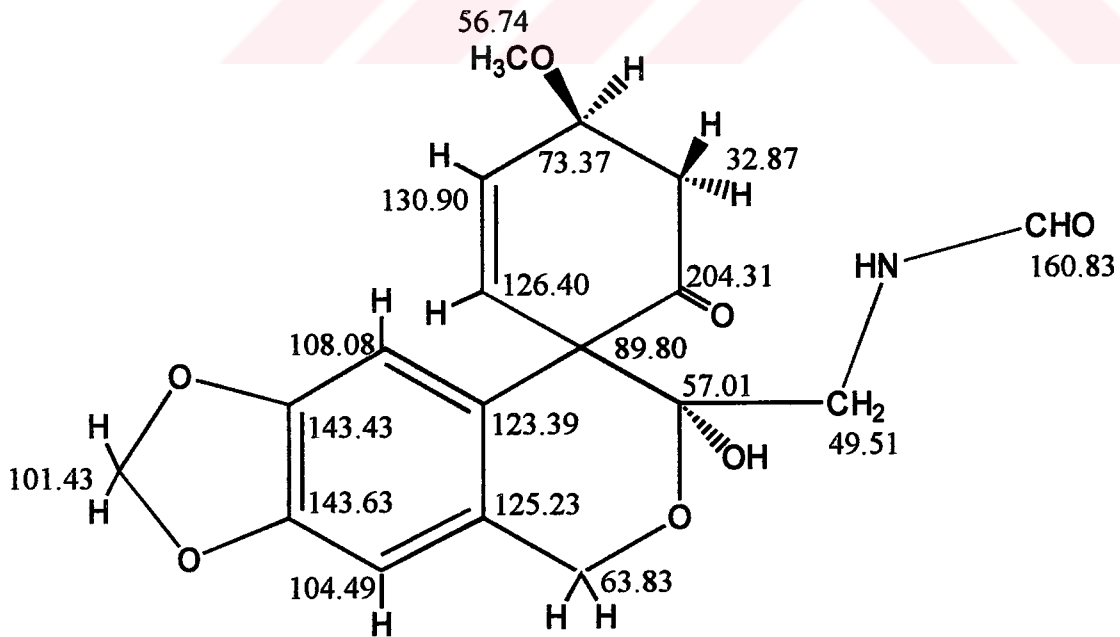
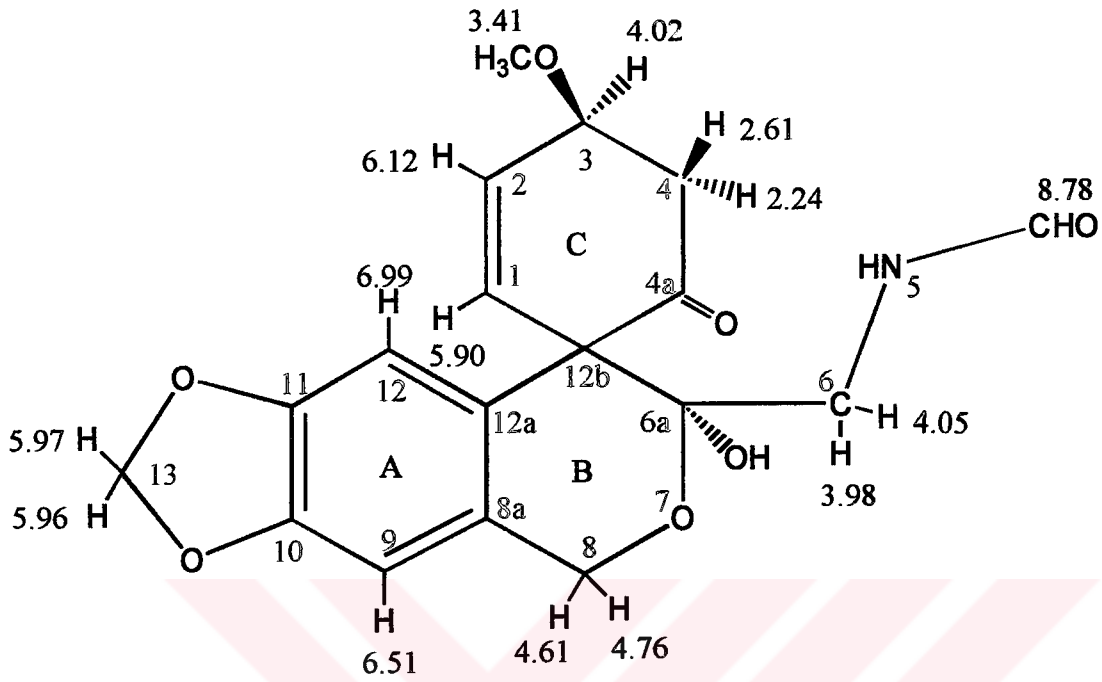
Önerilen yapı ile NMR spektrumundan elde edilen değerlerin uyum içinde olduğu görülmektedir. Örneğin tazettine'in ^1H NMR spektrumunda δ 1.56 ve 2.23 de görülen H-4 sinyallerinin, δ 2.24 ve 2.61 gibi daha aşağı alan değerlerine kaymış olması, C-4a daki karbonil oluşumunun sonucudur. Benzer bir şekilde, OA4 ün H-6 sinyalleri (δ 3.98 ve 4.05), tazettine'de karşı gelen değerlere kıyasla (δ

2.64 ve 3.21) oldukça aşağı alanda yer almaktadır ve bu hidrojenler için önerilen kimyasal çevre ile uyumludur.

Bileşiğin ROESY spektrumunda (Spektrum No 28-29) görülen uzaysal etkileşmelerden konfigürasyon hakkında bilgi veren bir bulgu, formil hidrojeni (δ 8.78) ile (δ 2.61) H-4 ve H-3 arasında görülen korelasyonlardır. $J_{2,3}$ 2.2 Hz olması nedeniyle, H-3 ün oryantasyonu α olarak saptanabildiğinden, bu hidrojenle etkileşen hidrojenlerin de aynı yapısal yönlenmeye sahip olacakları düşünülür. Böylece δ 2.61 de rezonans veren sinyalin H-4 α , geminal eşi olan δ 2.24 sinyalinin ise H-4 β olduğu ortaya çıkmaktadır.

OA4 bileşiğinin fotokimyasal tepkime sırasındaki muhtemel oluşumu: (a) C-4a nın oksidasyonu ile 4a-OH sübstitüsyonunun oluşması, (b) müteakip oksidasyon sırasında C-4a ve C-5 arasındaki bağın kopması ve C-4a da karbonil işlevsel grubunun meydana gelmesi, ve (c) N-metil grubunun oksidasyonu ile formil grubunun oluşması olarak açıklanabilir.

Şekil 4 te OA4 bileşiğinin ^1H ve ^{13}C NMR bulguları açık kimyasal formülü üzerinde gösterilmektedir.



Şekil 4

III. OA5 BİLEŞİĞİ

OA5 kodlu fotokimyasal tepkime ürününün 600 MHz NMR spektrometresinde CDCl_3 içerisinde alınan ^1H NMR spektrumunda (Spektrum No 30-33) en dikkati çeken husus, hareket bileşiği olan tazettine'in ^1H NMR spektrumu ile olan büyük benzerliğidir. Gerçekten de aromatik sahada δ 6.85 ve 6.52 de birer singlet halinde rezonans veren hidrojenler, A halkasında bulunan *p*-hidrojenler için uygun değerdedir. Tazettine'in ^1H NMR spektrumunda bu rezonanslar sırasıyla δ 6.75 ve 6.54 de görülür. Benzer bir şekilde, δ 6.12 ve 5.57 de görülen olefinik hidrojen rezonansları da, tazettine'in ^1H NMR spektrumunda hemen hemen aynı kimyasal kayma değerlerinde (δ 6.06 ve 5.63) izlenmektedir. Yine C-8 konumunda bulunan benzilik izole hidrojenler, δ 5.03 ve 4.61 de rezonans vermektedir ki tazettine için karşı gelen değerler δ 4.58 ve 4.94 dür. A halkasında bulunan metilendioksi sübstitüentinin ve alifatik 3-metoksil gruplarının hidrojenlerine ait rezonanslar sırasıyla δ 5.93 ve 3.47 dedir. Tazettine için karşı gelen değerler ise δ 5.87 ve 3.45 tir.

H-4 deki hidrojenlere ait sinyaller, spektrumun oldukça yukarı alanında, δ 2.43 (H-4 α) ve 1.99 (H-4 β) da iyi bölünmüş multipler halinde görülmektedir. Söz konusu değerler tazettine için δ 2.23 ve 1.56 dır. Buna göre H-4 β nin rezonansı, tazettine'e göre bir miktar daha aşağı alana kaymış bulunmaktadır.

δ 3.74 (H-3) nin iyi bölünmüş bir sinyal olmasına rağmen, δ 3.72 (H-4a) ile çakıştığı için etkileşme değişmezleri okunamamıştır. İlk bakışta geniş bir singlet olarak algılanan δ 3.72 sinyalinin ise gerçekte küçük etkileşme değişmezine sahip olan bir triplete benzediği görülmektedir. Hareket bileşiğimiz olan tazettine'in spektrumunda bu değerler sırasıyla δ 4.13 (H-3) ve δ 2.83 (H-4a) dür. Böylece OA5 bileşiğinin özellikle H-4a hidrojeninin rezonansının, tazettine'deki karşı gelen değere kıyasla belirgin bir şekilde (yaklaşık 1 ppm) aşağı alana kaymış olduğu görülmüştür.

Bileşiğimizin ^1H NMR spektrumunda, tazettine'in spektrumuna kıyasla en belirgin farklılık gösteren özellik, δ 2.93 de görülen 3 hidrojen değerindeki singlettir. Bu durum, tazettine'de δ 2.39 civarında rezonans veren N-metil grubu hidrojenlerinin, değişik bir kimyasal çevre nedeniyle 0.54 ppm kadar aşağı alanda

sinyal verdiğini göstermektedir. Keza tazettine'in spektrumunda δ 2.83 de rezonans veren H-4a ya ait sinyalin, OA5 bileşğinde δ 3.72 ye kaymış olması, fotokimyasal tepkime sonucunda tazettine'in D halkasında bir değişikliğin meydana geldiğine işaret etmektedir.

Bu değişikliğin konumu ve niteliği ^1H NMR spektrumunda H-6 ya ait izole hidrojen sinyallerinin bulunmamasından anlaşılabilir. ^1H NMR spektrumundan elde edilen tüm bu veriler, C-6 da oksidasyonla bir karbonil grubunun meydana geldiğini düşündürmüştür. Böylece D halkası bir laktam niteliği kazanacaktır. Bu husus N-metil grubuna ait sinyalin aşağı alanda çıkması için çok geçerli bir gerekçe oluşturmaktadır. Keza OA5 bileşğinin ^{13}C NMR spektrumunda (Spektrum No 34) δ 170.27 de görülen sinyal, oluştuğu varsayılan karbonil grubunun gerçekten bulunduğunu kanıtlayan bir bulgudur.

OA5 in ^{13}C NMR spektrumundaki sinyaller, 18 tane karbonun varlığını göstermektedir. 600 MHz de alınan HSQC spektrumundan (Spektrum No 37) elde edilen bilgiler, bu sinyallerden 2 tanesinin metil, 2 tanesinin metilen, 6 tanesinin de katerner karbonlara ait olduğunu kanıtlamıştır. Böylece tazettine'de mevcut olan 3 metilenin bir tanesinin oksidasyonu ile, aynı konumda bir karbonil grubunun oluştuğu da kesin bir şekilde belirlenmiştir.

Bu verilerin ışığında OA5 bileşğinin, C-6 konumunda metilen yerine karbonil taşıyan bir tazettine türevi olduğu söylenebilmektedir. Böyle bir bileşğın kapalı kimyasal formülü $\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{NO}_6$ dir ve hesaplanan moleköl ağırlığı 345 dir.

OA5 bileşğinin yapısını doğrulamak ve özellikle katerner karbonların kimyasal kayma değerlerini saptayabilmek amacıyla bir dizi çift-dimensiyonlu NMR deneyi gerçekleştirilmiştir.

OA5 bileşğinin TOCSY spektrumunda (Spektrum No 36) görülen çapraz sinyaller (Tablo 5), H-1 (δ 5.57), H-2 (δ 6.12), H-3 (δ 3.74), H-4 α (δ 2.43) ve H-4 β (δ 1.99) ve H-4a (δ 3.72) nın aynı spin sistemine dahil olduğunu, buna karşılık C-8 de bulunan hidrojenlerin izole olup sadece birbirleriyle etkileştiklerini göstermektedir.

$^1\text{H}, ^1\text{H}$ DQF COSY spektrumunda (Spektrum No 35) C-4 konumundaki hidrojenlerin birbirleriyle olan etkileşmelerine ilaveten H-3 ve H-4a ile etkileştiği görülmektedir. Keza H-3 ve H-4a da, H-4 geminal hidrojenleriyle etkileşirler.

Olefinik hidrojenler olan H-1 ve H-2 nin birbirleriyle beklenen etkileşmelerine ilaveten, δ 3.72-3.74 de rezonans veren H-3 ve H-4a hidrojenlerinden her ikisiyle ya da sadece bir tanesi ile etkileştikleri görülmektedir. Bu bulgu, ^1H NMR spektrumundan okunan bölünme ve etkileşme değişmezleri ile birarada değerlendirildiğinde ortaya çıkan durum şöyledir: H-2 nin sadece vinilik etkileşmesine ait olan 10.5 Hz değerinin okunabilmesine karşılık, gerçekte iki küçük etkileşmesi daha bulunan bir dublet-triplet olduğu görülmektedir. Buna göre H-2 nin, H-3 ün yanısıra, C-4 te yer alan hidrojenlerden biriyle de oldukça büyük bir açı ve küçük bir J değeri ile etkileştiği söylenebilmektedir. Benzer bir şekilde H-1 (δ 5.57) sinyali de bir dublet-triplettir. Bu sinyalin iki küçük bölünmesinin, H-3 ve H-4a ile etkileşmeleri sonucunda meydana gelmiş olması gerekir.

Özellikle katerner karbonların kimyasal kayma değerlerinin saptanabilmesi amacıyla değerlendirilen HMBC spektrumunda (Spektrum No 38), δ 5.93 deki metilendioksi sinyali birbirinden ayırdedilemeyen δ 146.89 ve 147.00 karbonlarıyla $^3J_{\text{CH}}$ etkileşmesi vermiştir. Bu değerler C-10 ve C-11 için değiştirilebilen değerler olarak kabul edilmiştir. A halkasının H-9 ve H-12 hidrojenlerinin $^3J_{\text{CH}}$ korelasyonları, katerner karbonlar C-8a ve C-12a' nın kimyasal kayma değerlerinin yerleştirilebilmesini sağlamıştır. Bu değerler H-8 α (δ 5.03) ile δ 125.77 de rezonans veren C-12a nın arasındaki $^3J_{\text{CH}}$ korelasyonuyla da doğrulanmıştır. δ 6.85 te rezonans veren hidrojen, beklendiği üzere, δ 45.21 de sinyal veren spiro karbonla 3 bağ aracılığıyla etkileşmektedir. C-8 konumunda bulunan benzilik hidrojenlerin 3 bağ aracılığıyla δ 95.68 de rezonans veren katerner karbon ile etkileşmesi, söz konusu karbon kimyasal kayma değerinin C-6a ya ait olduğunu doğrulamaktadır.

N-metil grubu hidrojenlerinin $^3J_{\text{CH}}$ korelasyonları δ 60.72 de ve 170.27 de rezonans veren karbonlardır. Dolayısıyla bu sinyallerin sırasıyla 4a ve 6 konumlarında bulunan karbonlara ait olduğu ve buna bağlı olarak da karbonil grubunun C-6 konumunda bulunduğu kanıtlanmaktadır. HMBC spektrumundaki diğer korelasyonların değerlendirilmesiyle, B halkasına ait karbonların da kimyasal kayma değerleri yerleştirilmiştir.

OA5 bileşiği, C-3, C-4a, C-6a ve C-12b de olmak üzere 4 tane kiral merkeze sahiptir. Bu merkezlerden kolayca epimerizasyona maruz kalabilen C-3

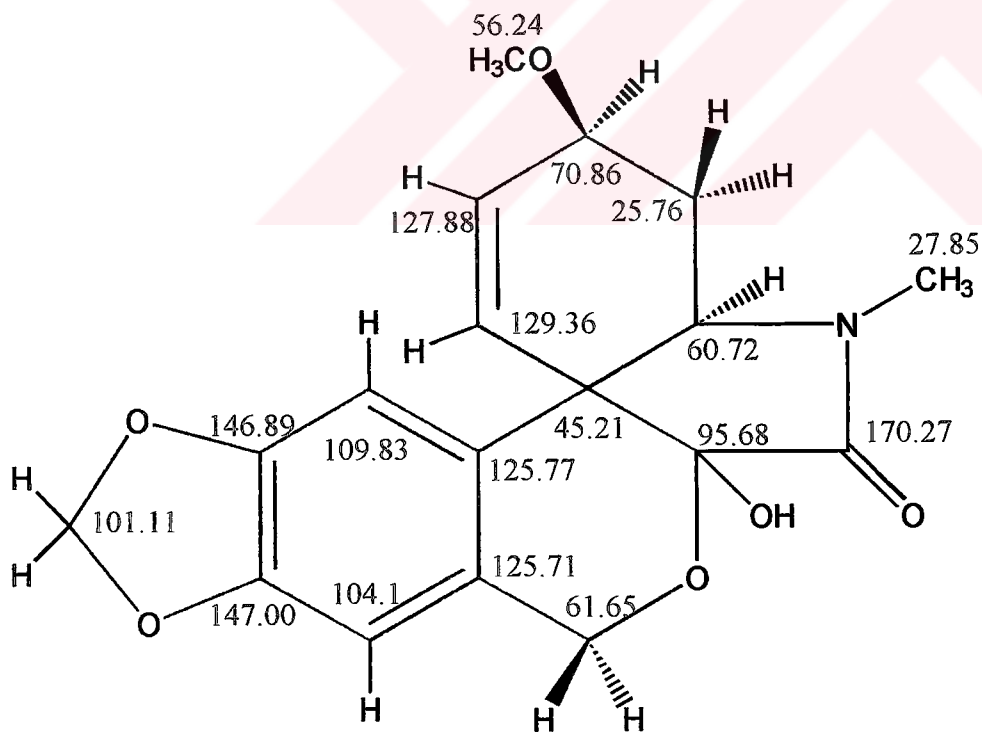
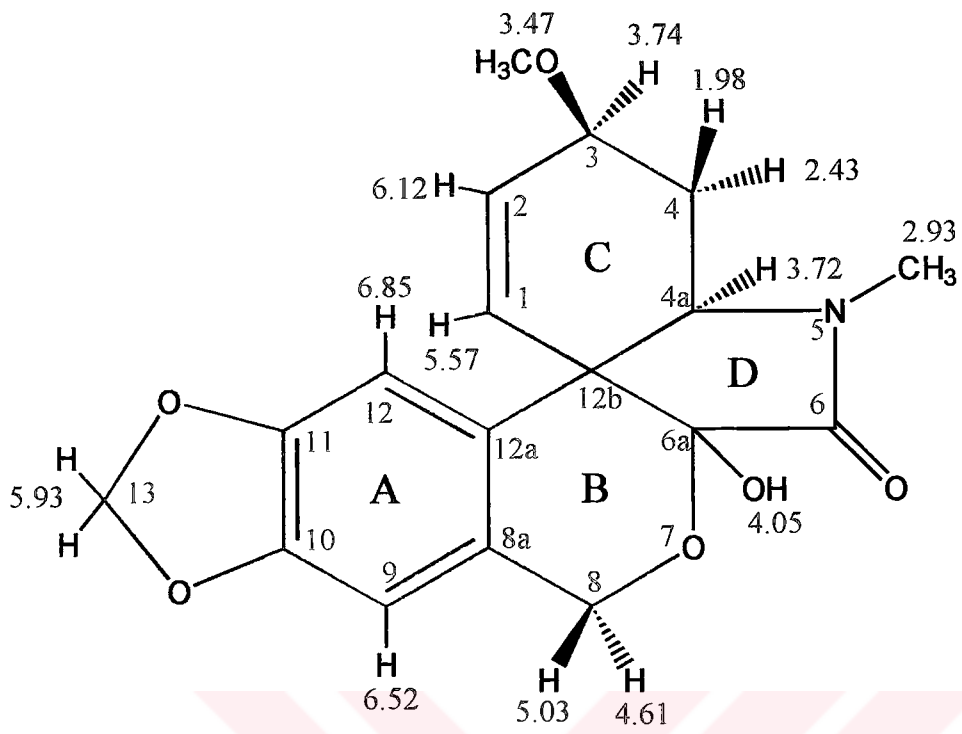
konumundaki konfigürasyonun saptanması için ^1H NMR spektrumu bulgularından yararlanılmıştır.

Tazettine grubuna ait bileşiklerde $J_{2,3}$ ün 4 Hz civarında olması bileşiğin 3(R) konfigürasyonuna sahip olduğunu, daha küçük etkileşmelerin ise bu merkezde 3(S) konfigürasyonunu belirlediği literatürde kayıtlıdır (22). OA5 bileşiğinde H-2 ve H-3 arasındaki etkileşme katsayısı küçük olduğu için (J 1.4 Hz), C-3 deki konfigürasyonun 3(S) olduğuna, dolayısıyla metoksil grubunun, hareket bileşiği olan tazettine'de olduğu üzere β -yönlenmeli olduğuna karar verilmiştir.

OA5 bileşiğinin konformasyonel tercihini saptamak amacıyla gerçekleştirilen NOESY deneyinde (Spektrum No 39), beklendiği üzere, H-12 (δ 6.85) ile H-1 (δ 5.57) ve δ 1.98 de rezonans veren H-4 arasında uzaysal etkileşmeler saptanmıştır. Bu durum, δ 1.98 rezonansını veren hidrojenin β -yönlenmeli olduğunu kanıtlamaktadır. H-9 (δ 6.52) ile uzaysal etkileşme gösteren H-8 sinyalinin (δ 4.61), β yönlenmeli olduğu, Dreiding modelleri üzerinde yapılan uygulamalarda açıkça görülmektedir.

N-metil grubu hidrojenlerinin δ 3.72 de rezonans veren 4a β ile uzaysal korelasyonu, N-metil grubunun da düzlemin önüne doğru yönlenmiş olarak bulunduğunu göstermektedir. Yukarıda belirtilen yönlenmelere bağlı olarak, B halkasının yarım-sandalye konformasyonunda bulunduğu ortaya çıkmaktadır. Yukarıda belirtilen spektral bulgular sonucunda kazanılan bileşik kısaca 6-oksotazettine olarak tanımlanabilir. Bu bileşik, tazettine'in metanol çözeltisi içinde fotokimyasal tepkimeye tabi tutulmasıyla, azota komşu olan metilen grubunun oksidasyonu ile C-6 konumunda bir karbonil grubunun oluşması sonucunda kazanılmış bulunmaktadır.

Şekil 5 te OA5 bileşiğinin ^1H ve ^{13}C NMR bulguları açık kimyasal formülü üzerinde gösterilmektedir.



ŞEKİL 5

Özetle, tazettine adlı alkaloidin metanollü çözeltisi halinde ışık etkisine maruz bırakılması sonucunda oluşan fotokimyasal tepkime kazanılan ve yapıları tek ve çift-boyutlu NMR teknikleriyle aydınlatılan ürünlerin oluşmasında, temel olarak oksidatif mekanizmaların etkili olduğu görülmüştür. Bu olaylar, aromatisasyon, bağ kopmalarını takibeden rearanjmanlarla yeni çekirdek yapıların oluşumu ve bazı konumların oksidasyon aşamalarının değişmesi şeklinde özetlenebilir.

Sonuçlardan en ilginç olanı muhakkak ki tazettine'in fotokimyasal tepkime sonucunda tamamen farklı bir çekirdek olan fenantridin grubundan bir bileşiğe dönüşmüş olmasıdır. Bu durum daha önce doğal bir kaynaktan elde edilmiş olan bu fenantridin türevinin, belki de doğal bir alkaloid olmayıp, izolasyon şartlarında ışık etkisiyle meydana gelmiş bir bileşik olabileceği hususunu gündeme getirmiştir. Söz konusu bu bulgu, fenantridin çekirdeğine sahip olan alkaloidlerin biyogenezleri üzerinde ayrıntılı çalışmaların yapılması gerektiğini ortaya koymaktadır.

ÖZET

Daha önce yapılmış olan fitokimyasal çalışmalar sırasında doğal kaynaklardan elde edilmiş olan tazettine adlı Amaryllidaceae alkaloidi, metanollü çözeltisinde güneş ışığına maruz bırakılmıştır. Cereyan eden fotokimyasal tepkime sonucunda, ortamda hiç tazettine kalmadığı görülmüştür. Oluşan alkaloidal nitelikli ürünler, sütun ve preparatif ince tabaka kromatografisi yöntemleriyle saflaştırılmıştır. Elde edilen ürünlerden 3 tanesinin yapıları, tek ve çift-boyutlu NMR teknikleri kullanılarak aydınlatılmıştır.

Sonuçların değerlendirilmesi, fotoreaksiyonda temel olarak oksidatif mekanizmaların etken olduğunu göstermiştir.

Ürünlerimizden bir tanesi olup, daha önce doğal bir kaynaktan izolasyonu rapor edilmiş olan N-methylcrinasiadine'in (OA1), hareket bileşiği olan tazettine'den tamamen farklı bir çekirdek yapısına sahip olması, sözkonusu alkaloidin gerçekte doğal bir bileşik olmayıp, ekstraksiyon işlemleri sonucunda oluşan bir ürün olabileceği hususunu, araştırılması gereken bir konu olarak gündeme getirmiştir.

SUMMARY

Tazettine, an Amaryllidaceae alkaloid obtained from natural sources during previous phytochemical studies, has been subjected to sunlight in methanolic solution. At the termination of the photochemical reaction, no tazettine remained in the reaction medium. The alkaloidal products of the reaction have been purified by column and preparative thin layer chromatographic methods. The structures of three of the products have been elucidated by one and two-dimensional NMR spectroscopic techniques.

The evaluation of the results revealed that, in general, oxidative mechanisms were operative during the photochemical process.

One of the products, N-methylcrinasiadine (OA1), the isolation of which has been previously reported from a natural source, incorporates a distinctly different structure from the starting compound, tazettine. This finding hints that N-methylcrinasiadine may not well be a natural alkaloid, but an artefact of isolation, a fact which definitely requires further investigations on the matter.

KAYNAKLAR

1. Abduazimov, Kh. A. and Yunusov, S. Yu., " An Investigation of the Alkaloids of *Ungernia trisphaera*, *Narcissus tazetta*, *N. Kristalli* and *N. folli*", *Khim. Prir. Soedin.*, **3**, (1967), 64; *Chem. Abstr.*, **67**, (1969), 22057j.
2. Abelman, Matthew M., Overman, Larry E., and Tran, Vinh D., "Constraction of Quaternary Carbon Centers by Palladium-Catalyzed Intramoleküler Alkene Insertions. Synthesis of the Amaryllidaceae Alkaloids (\pm)-Tazettine and (\pm)-6a-Epipretazettine", *J. Am. Chem. Soc.*, **112**, 1990, 6959-6964.
3. Abou – Donia, A.A., Darwish, F.A. and Ghazy Alexandria, N.M., *F. Pharm Sci.*, **3**, 122 (1989). *Chem. Abstr.* **112**, (1990), 95556.
4. Abou-Donia, A.H., De Giulio, A., Evidente, A., Gaber, M., Habib, A.A.*, Lanzetta, R. and Seif El Din, A.A., "Narciclasine-4-o- β -D-Glucopyranoside, A Glucosyloxy Amidic Phenantridone Derivate From *Pancratum maritimum*", *Phytochemistry*, **30**, (1991), 3445.
5. Allayarov, Kh. and Abduazimov, Kh., *Probl. Osvoeniga Pustyn*, **1**, (1970), 83; *Chem. Abstr.*, **75**, (1971), 148488j.
6. Allayarov, Kh., Abdusamatov, A. and Yunusov, S.Yu., "Alkaloids of *Ungernia spiralis* and *Sternbergia lutea*", *Khim.Prir. Soedin.*, **6**, (1970), 143; *Chem. Abstr.*, **73**, (1970), 68771.

7. Antoun, M.D., Mendoza, M.T., Rios, Y.R., et al., "Cytotoxicity of *Hymenocallis exposita* Alkaloids", *J. Nat. Prod.*, 56, 8, (1993), 1423-1425.
8. Bastida, J., Contreras, J.L., Codina, C., Wright, C.W. and Phillipson, I.D., "Alkaloids From *Narcissus cantabricus*", *Phytochemistry*, 40, (1995), 1549.
9. Boit, H.-G., Döpke, W., "Alkaloide aus *Haementus*-, *Zephyranthes*-, *Galantus*- und *Crinum*-Arten", *Die Naturwissenschaften*, 48, 10, (1961), 406-407.
10. Boit, H.-G., Ehme, H., "Alkaloide von *Sprekelia formosissima*, *Galantus elwesii*, *Zephyranthes candida* und *Crinum Powellii* (VIII). Mitteil. Über Amaryllidaceenalkaloide", *Chem. Ber.*, 88, 10, (1955), 1590-1594.
11. Briggs, C. K., Hight, R. J., Wildman W. C., "Alkaloids of the Amaryllidaceae. VII Alkaloids Containing the Hemiacetal or Lactone Group", *J. Am. Chem. Soc.*, 78, (1956), 2899-2904.
12. Brossi, A., "The Alkaloids Chemistry and Pharmacology", 25, *Academic Press Inc.*; (1985), 201.
13. Brossi, A., "The Alkaloids Chemistry and Pharmacology", 25, *Academic Press Inc.*; (1985), 211.
14. Bubevo-Ivano, L., "Alkaloids of *Galantus nivalis* var. *Gracilis*. II. Nivalidin", *Farmatsiya (Sofia)*, 8, No. 4, 1958, 24-28; Abstr. *Bulgar. Sci. Lit. Biol. And Med.* o. 3, Abstr. No.573; *Chem. Abstr.*, (1959), 53: 17422e.
15. Bubevo-Ivano, L., *Farmatsiya (Sofia)*, 8, 2, (1957), 23-26; Bubevo-Ivano. L., "Amaryllidaceenalkaloide VI. Über Die Wirkung Einiger Mineralsäuren auf Galanthamin", *Chem. Ber.*, 95, (1962), 1348-1353.

16. Clemo, G. R., Felton, D. G. I., "Tazettine from Snowdrop Leaves", *Chem. & Ind.*, (1952), 807-808.
17. Döpke, W., Lam, L.H., Gründeman, E., Bartoszek, M. and Flatau, S., *Planta Med.* 61, 564 (1955).
18. Duffield, A.M., Aplin, R.T., Budzikiewicz, H., et. Al., "Mass spektrometry in Structural and Stereochemical Problems. LXXXII. A Study of The Fragmentation of Some Amaryllidaceae Alkaloids", *J. Am. Chem. Soc.*, 87, (1965), 4902.
19. E. Spath and L. Kahovec, *Ber.*, (1934), 67, 1501.
20. Furusawa, E., Furusawa, S., Lee, J. Y. B. and Patanavanich, S., *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 152, (1976), 186.
21. Harry E. Ensly, Richard V. C. Carr, Robert S. Martin, Tillman E. Pierce, "Total Synthesis of dl-Tazettine", *J. Am. Chem. Soc.*, (1980), 102:8.
22. Haugwitz, R. D., Jeffs, P. W., Wenkert, E., "Proton Magnetic Rezonance Special Studies of Some Amaryllidaceae Alkaloids of the 5,10b-Ethanophenanthridine Series and of Criwellina and Tazettina", *J. Chem. Soc.*, (1965), 2001-2009.
23. Hendrickson, James B., Bogard, Terry L., Fisch, Marcia E., Grossert, Stuart, and Yoshimura Norman, "The Stereospecific Total Synthesis of Haemanthidine and Tazettine", *J. Am. Chem. Soc.*, 7781-7789, (1974), 96:25.
24. Ibuka, T., Irie, H., Kato, A., et al., "Mass Spectrometry of Some Amaryllidaceae Alkaloids", *Tetrahedron Lett.*, No. 39, (1966), 4745-4748.
25. Kalashnikov, I. D., "Alkaloids from *Galanthus nivalis*", *Chem. Nat. Comp.*, 6, (1970), 390.

26. Kalashnikov, I. D., "Study of Common Snowdrop Bulb Alkaloids by Thin-Layer Chromatography", *Issled. Obl. Lek. Sredstv.* (1969), 228-231, From Ref. Zh., Biol. Khim., 1970, Abstr. No. 14F1106; Chem. Abstr., 1971, 74: 136420x.
27. Kalashnikov, L.D., "Alkaloids of *Galanthus nivalis*", *Khim. Prir. Soedin.*, **6**, (1970), 380, Chem. Abstr., **73**, (1970), 127734.
28. Kihara, M., Koike, T., Imakura, Y., Kida, K., Shingu, T. and Kobayashi, S., "Synthesis of Scelletium and Amaryllidaceae Alkaloids, (±)-Mesemberine and (±)-Dihydromaritidine, (±)-Epidihydromaritidine, (±)-Elwesine, and (±)-Epielwesine", *Chem. Pharm. Bull.*, **35**, 1070 (1987).
29. Kihara, M., Konishi, K., Xu, L. and Kobayashi, S., "Alkaloidal Constituents of the Flowers of *Lycoris radiata*", *Chem. Pharm. Bull.*, **39**, (1991), 1849-1853.
30. Kobayashi, S., Kihara, M., Shingu, K., "Transformation of Tazettine to Pretazettine", *Chem. Pharm. Bull.*, **28**, 10, (1980), 2924-2932.
31. Latvala, A., Önür, M. A., Gözler, T., et al., "Alkaloids of *Galanthus elsewii*", *Phytochemistry*, **39**, 5, (1995), 1229-1290.
32. Leifertova, L., Brazdova, V., "Alkaloids of *Galanthus nivalis* Grown In Slovakian Provinces", *Cesk. Farm.*, **16**, (1967), 352-354.
33. Lewis, J. R., "Amaryllidaceae and Scelletium Alkaloids", *Natural Product Reports*, **9**, (1992), 185.
34. Lin, Long-ze, L., Hu., S. -F., Chai, H. -B., Pengsuparp, T., Pengsuparp, Pezutto, J.M., Cordell, G. A. and Ruangrunsi, N., "Lycorine Alkaloids From *Hymenocallis littoralis*", *Phytochemistry*, **40**, 1295 (1995).

35. Linden, A., Akıneri, G., Noyan, S., Gözler, T. and Hesse, M., "Amaryllidaceae Alkaloids: (+)-Tazettine, (+)-3-O-demethylcriwelline and (+)-3-Epimacronine at 173 K ", *Acta Cryst.*, C54, (1998), 1653-1659.
36. March, J., "Advanced Organic Chemistry", McGraw-Hill Book Company, New York, 1977, pp. 208-224.
37. Martin, Stephen F., "The Alkaloids Chemistry and Pharmacology", 30, *Academik Press Inc.*; 1987.
38. Munier, R., Macheboeuf, M., *Bull., Soc. Chim. Biol.*, 33, (1951), 846; E. Stahl, (Ed.), "Thin-Layer Chromatography", 2nd ed., Berlin. Heidelberg-New York: Springer-Verlag., 1969, 873-874.
39. Murav'eva, D.A. and D.I. Popova, "Alkaloids of the Epigeal Organs of *Crinum giganteum* ", *Khim. Prir. Soedin*, 518, (1986); *Chem. Abstr.* 105, (1986), 222795.
40. Pabuccuoğlu, V., Richomme, P., Gözler, T., Kivçak, B., Freyer, A. J. and Shamma, M., "Four New Crinine-Type Alkaloids From *Sternbergia* Species ", *J. Nat. Prod.*, 52, (1989), 785.
41. Phokas, G., *Pharm. Acta Helv.*, 44, (1969), 257.
42. Rao, E.V., Devi, V., and Rao, R.V., *Curr. Sci.*, 38, (1969), 341.
43. Rao, R.V., Nazar A. and Vimaladevi, M., *Indian J. Pharm.*, 33, (1971), 56.
44. Rao, R.V.K., *Indian J. Pharm.*, 31, (1969), 86.
45. Sato, T., Koyama, H., "Amaryllidaceae Alakloids. Part II. Crystal Structure of Tazettine Methiodide", *J. Chem. Soc. (B)*, (1971), 1070-1073.

46. Trimino, Z., Iglesias, Sanchez, C. L.M. and Spengler, I., *Rev. Cubana Quim.*, **3**, 57, (1988). *Chem. Abstr.*, **109**, 3880 (1988).
47. Tsakadze, D. M., Abdusamatov, A., Yunusov S. Yu., "Alkaloids of *Galanthus caucasicus*", *Chem. Nat. Comp.*, **5**, (1969), 281-282.
48. Tsakadze, D.M., Abdusamatov, D., and Yunusov, S. Yu., "Alkaloids of *Galanthus caucasicus*", *Khim. Prir. Soedin.*, **5**, (1969), 331; *Chem. Abstr.*, **72**, (1970), 51804.
49. Wildman, W.C. and Brown, C.L., *J. Amer. Chem. Soc.* **90**, (1968), 6439.
50. Wildmann, W. C., "The Alkaloids Chemistry and Pharmacology", 11, Ed. R. H. F. Manske, H. L. Holmes, New York; *Academic Press Inc.*; 1968, 307-405.
51. Wildmann, W. C., Bailey, D. T., "Amaryllidaceae Interconversions. Partial Syntheses of [2]benzopyrano[3,4-c]indoles", *J. Am. Chem. Soc.*, **91**, 1, (1969), 150-157.
52. Wildmann, W.C., "The Alkaloids Chemistry and Pharmacology", 6, *Academic Press Inc.*; 1960, 377.
53. Yakovleva, A. P., "Alkaloids of *galanthus woronowii*. VII Isolation of Tazettine", *J. Gen. Chem.*, **33**, (1963), 1647-1648. Zeybek, U., Jurenitsch, J., Kubelka, W., Jentzsh, K., "HPLC-Bestimmung des Alkaloidgehaltes in Vershidenen *Galanthus*-Arten", *Scienta Pharmaceutica*, **50**, 4, (1982), 282-284.

ÖZGEÇMİŞ

1976 yılında Merzifon'da doğdum. İlköğrenimimi İstanbul Şile'deki Demirtaşpaşa İlkokulunda, orta öğrenimimi Balıkesir Sırrı Yırcalı Anadolu Lisesi'nde tamamladım. 1994 yılında Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesini kazandım. 1998 yılında bu okuldan mezun oldum. Aynı yıl Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nün açtığı Farmasötik Kimya Programı Yüksek Lisans sınavını kazandım. 1999 yılının Aralık ayında Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nün Araştırma Görevlisi kadrosuna atandım. Halen Farmasötik Kimya Anabilim Dalında Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktayım.