

T. C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BOLU, ABANT GÖLÜ ÇEVRESİNDE YABANI OLARAK
YETİŞEN *GALANTHUS PLICATUS* BIEB. SUBSP.
BYZANTINUS (BAKER) D. A. WEBB
(AMARYLLIDACEAE) BİTKİSİNİN ALKALOİTLERİ
ÜZERİNDE İZOLASYON VE YAPI AYDINLATMA
ÇALIŞMALARI**

İZMİR İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
FARMASÖTİK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ

Farmakognozi Programı

DOKTORA TEZİ

79973

Eczacı Nehir ÜNVER

Danışman Öğretim Üyeleri : Prof. Dr. Tekant GÖZLER

Prof. Dr. Belkıs GÖZLER

İZMİR-1999

Bu çalışmayı çok değerli bilgi ve yardımları ile yöneten hocam Sayın Prof. Dr. Tekant GÖZLER'e ve çalışmalarım sırasında değerli yardım ve ilgisini gördüğüm E. Ü. Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Anabilim Dalı Başkanı hocam Sayın Prof. Dr. Belkıs GÖZLER'e sonsuz saygı ve şükranlarımı sunmayı bir borç bilirim.

Bitkimin toplanması ve tayin edilmesinde kıymetli yardımlarını gördüğüm E. Ü. Eczacılık Fakültesi, Farmakognози Anabilim Dalı öğretim üyesi hocam Sayın Doç. Dr. Mustafa Ali ÖNÜR'e teşekkür ederim.

Spektrumların alınmasında değerli yardımlarını gördüğüm Dr. Christa WERNER'e, spektral analizlerin yapılabilmesi için olanaklarını kullanımımıza sunan Zürich Organik Kimya Enstitüsü öğretim üyelerinden Prof. Dr. Manfred HESSE'ye özellikle teşekkür ederim.

Tezimi maddi açıdan destekleyen Ege Üniversitesi Araştırma Fonu'na ve tüm doktora eğitimim süresince bursiyeri olduğum TÜBİTAK'a da bilhassa teşekkürü bir borç bilirim.

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

İÇİNDEKİLER

I. GİRİŞ.....	1
II. BOTANİK BÖLÜM.....	4
A. <i>GALANTHUS</i> L. GENUSU.....	4
B. <i>GALANTHUS PLICATUS</i> BIEB. SUBSP. <i>BYZANTINUS</i> (BAKER) D. A. WEBB.....	5
III. KİMYASAL BÖLÜM.....	9
A. TEORİK KISIM.....	9
B. PRATİK KISIM.....	24
1. MATERYAL.....	24
2. YÖNTEMLER.....	24
a. Alkaloidlerin Tüketilmesi ve Ayrılması.....	24
b. Alkaloidlerin İnce Tabaka Kromatografisi (İ. T. K.) İle İncelenmesi.....	25
c. Alkaloidlerin Saflaştırılmaları.....	27
1° Sütun Kromatografisi.....	28
2° Preparatif İnce Tabaka Kromatografisi.....	29

3° Kristallendirme.....	29
d. Elde Edilen Saf Alkaloitlerin Tanınması.....	30
3. DENEYLER.....	31
a. Total Alkaloit Ekstresinin Hazırlanması.....	31
b. Total Alkaloit Ekstresindeki Bileşiklerin Saflaştırılmaları.....	32
1° A Kodlu Ana Fraksiyonun Çalışılması.....	33
2° C Kodlu Ana Fraksiyonun Çalışılması.....	37
3° D Kodlu Ana Fraksiyonun Çalışılması.....	39
4° F Kodlu Ana Fraksiyonun Çalışılması.....	44
5° G Kodlu Ana Fraksiyonun Çalışılması.....	44
IV. SPEKTRAL BULGULAR.....	48
A. GN-1 BİLEŞİĞİNİN SPEKTRAL BULGULARI.....	48
B. GN-2 BİLEŞİĞİNİN SPEKTRAL BULGULARI.....	56
C. GN-3 BİLEŞİĞİNİN SPEKTRAL BULGULARI.....	65
D. GN-4 BİLEŞİĞİNİN SPEKTRAL BULGULARI.....	81
E. GN-5 BİLEŞİĞİNİN SPEKTRAL BULGULARI.....	96
F. GN-6 BİLEŞİĞİNİN SPEKTRAL BULGULARI.....	111
G. GN-7 BİLEŞİĞİNİN SPEKTRAL BULGULARI.....	127
H. GN-8 BİLEŞİĞİNİN SPEKTRAL BULGULARI.....	141
I. GN-9 BİLEŞİĞİNİN SPEKTRAL BULGULARI.....	154

J. GN-10 BİLEŞİĞİNİN SPEKTRAL BULGULARI.....	163
K. GN-11 BİLEŞİĞİNİN SPEKTRAL BULGULARI.....	180
V. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	191
A. GN-1 [TRISPHAERIDINE].....	193
B. GN-2 ve GN-3 [N-FORMYLISMINE].....	196
C. GN-4 [(+)-PLICAMINE].....	211
D. GN-5 [(-)-SECOPLICAMINE].....	221
E. GN-6 [(+)-3-O-DEMETHYL-3-EPIMACRONINE].....	230
F. GN-7 [(+)-PLICANE].....	239
G. GN-8 [(+)-TAZETTINE].....	246
H. GN-9 [5,6-DIHYDROBICOLORINE].....	255
I. GN-10 [(+)-3-O-(3-HYDROXYBUTYRIL)TAZETTINOL].....	259
J. GN-11 [(+)-9-O-DEMETHYLHOMOLYCORINE].....	268
ÖZET.....	276
SUMMARY.....	278
KAYNAKLAR.....	280
ÖZGEÇMİŞ.....	301



Galanthus plicatus Bieb. subsp. *byzantinus* (Baker) D. A. Webb

I. GİRİŞ

Ülkemizde halk arasında “Kardelen”, “Garipçe”, “Öksüz Ahmet”, “Aktaş”, “Boynu bükük”, “Kargasoğanı” gibi yerel isimlerle tanınmakta olan *Galanthus* türleri **Amaryllidaceae** familyası üyeleri arasında yer alan çok yıllık, soğanlı, otsu bitkilerdir (2, 15, 16, 169). Türkiye’de bazı *Galanthus* türlerinin topraküstü kısımlarının halk arasında kalbi kuvvetlendirici, midevi ve adet söktürücü olarak, toprakaltı kısımlarının ise taze halde iken ezilip lapa halinde hazırlanarak çıbanları olgunlaştırıcı olarak kullanıldıkları belirtilmektedir (15). Ekonomik açıdan ele alındığında, *Galanthus* türlerinin soğanları ülkemizin ihraç ürünleri arasında yer almaktadır. Özellikle bir kaynağa göre (16) *Galanthus elwesii*, bir diğerine göre (88) *Galanthus elwesii* Hooker fil. ve *Galanthus ikariae* Baker türleri, üçüncü bir kaynağa göre (169) ise *Galanthus elwesii* ve *Galanthus latifolius* adlı iki tür, uzun yıllardan beri başta Hollanda olmak üzere bazı ülkelere süs bitkisi adı altında ihraç edilmektedir (16, 88, 169).

Galanthus türleri kimyasal içerikleri açısından, son yıllarda potansiyel tedavi edici önemleri nedeniyle çok sayıda araştırmaya konu olan lektinleri dışında **Amaryllidaceae** alkaloidleri adıyla bilinen alkaloidler taşıdıkları için ilginçtirler. Bunlar bazı kaynaklara göre izokinolin alkaloidlerinin bir grubu olarak kabul edilmektedirler. *Galanthus* türleri taşıdıkları alkaloidleri bakımından çok yönlü olarak

ve oldukça fazla sayıda araştırma konusu olmuşlardır. Halen de devam etmekte olan bu araştırmalar sonucu muhtelif *Galanthus* türlerinde varlıkları kesinlikle saptanmış **Amaryllidaceae** alkaloidlerinden özellikle bazıları hem yapıları ve hem de sahip oldukları kanıtlanmış ilginç fizyolojik ve farmakolojik etkileri nedeniyle dikkat çekmektedirler. Bu alkaloidlerden, tedavi değeri açısından en önemli olanlarından biri galanthamine adlı alkaloiddir. Bu bileşik antikolinesteraz (18), gevşetici anestezi alan hastalarda plazma kortizol düzeyini artırıcı (36) gibi değişik aktivitelere sahiptir. Tedavide ameliyat sonrası bağırsak-mide-mesane atonisinde, myasthenia gravis'de, miyopati ve poliomyelitis'den sonraki semptomlarda, polinevropati, polinevrit ve omurilik zedelenmelerinde kullanıldığı birincil kaynak göstererek derleme tarzında hazırlanmış ikincil bir kaynaktan bildirilmektedir (60). Söz konusu bu alkaloidin son yıllarda tedavi açısından esas ilgi çeken yönü Alzheimer Hastalığı'ndaki kullanılışıdır. Bu konuda yoğun farmakolojik ve klinik araştırmaların halen sürdürülmekte olduğu primer veya primer kaynaklara dayalı sekonder bazı kaynaklarda ifade edilmektedir (121, 122, 136). Galanthamine söz konusu bu araştırmalar sonucunda bazı ülkelerde ve bazı hastalıklara karşı kullanılmak üzere onay almıştır. Örneğin Avusturya ve Almanya'da yüz nevraljisi gibi bazı endikasyonlara karşı kullanıldığı bildirilmektedir (126). Yine bilinen bir diğer husus, etkili bileşik olarak galanthamine içeren "Nivalin" adlı bir preparatın Alzheimer Hastalığı'na karşı kullanılmak üzere Avusturya'da onaylanmış olmasıdır (126).

Galanthus türlerinde varlığı saptanmış ana alkaloidlerden bir diğeri olan lycorine'in, birkaç RNA ve DNA virüsü üzerinde deneysel olarak saptanmış antiviral etkisinin olduğu da bilinmektedir (49, 70). Örneğin lycorine'in poliomyelitis, Coxsackie B₂, kabakulak, Semliki Forest, Herpes Simplex Tip I virüslerini doza

bağımlı olarak inhibe ettiği bildirilmiştir (69, 70, 71, 157). Ayrıca lycorine ve hippeastrine'in Herpes Simplex Tip I virüsüne karşı da etkili oldukları belirtilmektedir (123). Bunların dışında da *Galanthus* türlerinde varlığı saptanmış diğer bazı **Amaryllidaceae** alkaloidlerinin değişik fizyolojik ve farmakolojik aktivitelerine ait örnekler verilebilir. Tazettine, hippeastrine ve haemanthidine'in P-388 murine lenfositik lösemisinin dahil olduğu bazı tümör sistemlerine karşı sitotoksik aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir (7). Lycorine aynı zamanda antimalaryal ve sitotoksik aktivitelere de sahiptir (102). Söz konusu bu alkaloidin in vitro olarak kuvvetli kardiyotonik etki gösterdiği (1), sıçanlarda uterus ve bağırsak motilitesini artırdığı in vitro olarak gösterilmiştir (128).

Daha farklı ve çeşitli aktivitelere çok sayıda örnek verilebilir. Bu çok değişik ve ilginç fizyolojik ve farmakolojik etkiler yanında, *Galanthus* türlerinin ilginç ve değişik yapıları dolayısıyla dikkat çekici alkaloidlerin belirlenmesi de araştırmacıların ilgisini çekmektedir. Biz özellikle biyolojik aktivite denemeleri yapabilme olanağına sahip olmadığımız için konuya olanaklarımız dahilinde izolasyon ve yapı aydınlatması açısından yaklaştık. Bu nedenlerle araştırmamızın konusu olarak ülkemizde yabani olarak yetişen ve endemik olan *Galanthus* türlerinden biri olan *Galanthus plicatus* Bieb. subsp. *byzantinus* (Baker) D. A. Webb bitkisinin Bolu Abant Gölü yakınlarındaki Ormancı evleri mevki ve çevresinden toplanmış örnekleri üzerinde alkaloidlerinin izolasyonu ve bunların yapılarının modern spektroskopik yöntemler kullanılarak aydınlatılmasını amaçladık.

II. BOTANİK BÖLÜM

Galanthus plicatus Bieb. subsp. *byzantinus* (Baker) D.A. Webb bitkisi çok yıllık soğanlı bir bitki olup, **Amaryllidaceae** familyası üyeleri arasında yer almaktadır (16, 39, 165, 169). Aşağıda yer alan ve bitkinin genus ve tür seviyesinde tanımına ilişkin olarak verilen bilgiler "Flora of Turkey and the East Aegean Islands" (39) adlı kaynaktan derlenmiştir.

A. GALANTHUS L. GENUSU

Soğanlı, skapuslu çok yıllık. Yapraklar tabanda, 2, linear veya oblanceolat. Skapus çiçekli halde iken dik, meyva gelişim döneminde bükülmüş. Çiçekler tek, beyaz, eğik. Spata bitişik 2 parçalı. Hipantiyum ve korona bulunmaz. Periant segmentleri serbest; dıştaki 3 segment akuttan subobtusa kadar, spatulat veya oblanceolattan dar obovata kadar, dik-yayvan, küçük pençe şeklinde; içteki segmentler dıştaki segmentlerin 1/2'sinden 2/3'üne kadar olan uzunlukta, dik, oblong, spatulat veya oblanceolat, emarginat, kuneat, tepede veya bazen de her segmentin dış yüzeyinin tabanında yeşil lekeli. Stamenler periantın tabanında, içteki segmentlerden daha kısa. Filamentler anterlerden çok daha kısa. Anterler bazifiks, sadece tepedeki pordan açılır. Stilus ince, anterlerden uzun, stigma kapitat. Kapsül

elipsoid, subgloboz veya globoz, 3 gözlü. Tohumlar açık kahverengi, strophiolate'dır (39).

B. GALANTHUS PLICATUS BIEB. SUBSP. BYZANTINUS

(BAKER) D.A. WEBB

G. plicatus Bieb., Fl. Taur.-Cauc. 2:255 (1819) subsp. *byzantinus* (Baker) D. A. Webb in Bot. J. Linn. Soc. 76:310 (1978). Syn: *G. byzantinus* Baker in Gard. Chron. ser. 3, 13:226 (1893)! *G. plicatus* Bieb. var. *byzantinus* (Baker) G. Beck in Wien. III. Gartenz. 19:57 (1894)! *G. nivalis* L. subsp. *byzantinus* (Baker) Gottlieb-Tannenhain in Abh. Zool.-Bot. Ges. Wien 2(4):41 (1904)! Ic: Stern, Snowdrops & Snowflakes 47, f. 11 (1956). Harita 54 (39).

Soğan subglobozdan ovoide kadar değişen şekilde, 2-3 x 1.7-2 cm. Yapraklar dar oblanceolattan lineara kadar, kenarları tomurcukta eksplikatif (dışa doğru pilili), olgunlukta bazen biraz geriye doğru bükülmüş, çiçeklenme döneminde (5-)12-17(-21) x 1-1.5 cm, olgunlukta 29-30 x 1.8(-2) cm ve dik, tepede obtus, kukuletalı, mumsu, genellikle ortadamar üst yüzeyde daha açık renkli. Skapus 9-22 cm. Periantın dış segmentleri konveks, eliptikten obovata kadar, (17-) 20-28 x 6-12 mm, içteki segmentler düz, oblong-spatulat, 8 (-10) x 4-7 mm, tabanda ve tepede yeşil lekeli, lekeler bazen ortadan birleşik. Filamentler 0.5-1 mm, anterler 6-7 mm. Kapsül elipsoitten subgloboza kadar, 16 x 12 mm. Çiçeklenme zamanı ocak-nisan. Çayırılık alanlarda veya *Abies* ve *Fagus* orman açıklıklarında, çürümüş yapraklı arazide, 45-1100 m (39).

Endemik. Karadeniz elemanı. Subsp. *plicatus* (Kırım ve Doğu Romanya), yeşil lekelerin iç segmentlerde, sadece tepede varlığı ve tabanda bulunmayışı ile farklılık gösterir. Eldeki veriler ile iyi tanımlanamamış olan iki taksonun durumunu belirlemek için, populasyon çalışmalarının yapılması gereklidir. Bazı koleksiyonlardaki örnekler (A3 Bolu: Abant Gölü'nün 11 km kuzeydoğusu, 1100 m, Pasche 82-10! Bolu Da., A. Baytop (ISTE 21360)! Zonguldak: Zonguldak, Beralet-Sazi 142!) iç segmentlerde dipteki yeşil lekeden yoksundur. Fakat diğer özelliklerden ise bu bölgede yetişen subsp. *byzantinus* materyaline benzer (39).

A1 (E) Kırklareli (Demirköy ormanı, A. Baytop ISTE 27232!) ve A2 (E) İstanbul (Belgrad ormanı, A. Baytop ISTE 8591! & 21010! Brickell & Mathew 8543!) populasyonlarının *G. nivalis* ve *G. plicatus* subsp. *byzantinus* bitkilerinin hibrit toplulukları olduğu ortaya çıkmıştır. Yaprakları dar lineardan çok dar oblanseolata kadar olup, tomurcukta eksplikatif (dışa doğru pilili) veya ara sıra düz; iç periant segmentlerindeki yeşil lekeler tepede ve tabanda veya sadece tepededir (39).

Türkiye'nin soğanlı bitkileri konusunda yayınlanmış farklı bir kaynak (16), ülkemizde mevcut olan 6 *Amaryllidaceae* genusu içinde diğerlerinden beyaz renkli ve sarkık çiçekler taşıması ve çiçek örtüsündeki iç ve dış segmentlerin eşit boyda olmamasıyla ayırdığı *Galanthus* genusu için İngilizce'den Türkçe'ye hiçbir katkı yapmaksızın çevrildiğinde aşağıdaki tanımlamaya yer vermektedir.

Bitki, 2, nadiren 3 taban yapraklı, küçük, soğanlı. Çiçekler tek, eğik; periant 2 sıralı 6 segmentli, dıştaki geniş olan 3 tanesi obovat, konkav, beyaz; içteki küçük olan 3 tane beyaz, tepede ve bazen tabanda da yeşil lekeli. Anterler sarı, bir koni

şeklinde. Kapsül 3 gözlü, çok tohumlu, tohumlar globoz, siyahımsı veya kahverengimsi.

İncelediğimiz kaynaklardan birinde ülkemizde yabancı olarak yetişen *Galanthus* türlerinin sayısının 9 olduğu belirtilmiştir (39, 40). Bir diğer kaynakta (165) Avrupa ile Akdeniz'den Kafkasya'ya kadar yaklaşık 20 türünün mevcut olduğu, üçüncü bir kaynakta ise Avrupa ile Batı Asya'da yayılış gösteren ve dünyada yaklaşık 20 türü bulunan *Galanthus* genusunun, Türkiye'de genellikle sık olmayan ormanlık veya çalılıklarda bulunan 7 türünün var olduğu belirtilmektedir (16). Bu son kaynakta yer alan türlerden biri olarak *Galanthus byzantinus* Baker aşağıdaki tarifi ile verilmiştir.

Galanthus byzantinus Baker in Gard. Chron. Ser. 3, 13 : 226 (1893)

Yapraklar hafif grimsi yeşil, lanseolat, kenarları alta doğru katlanmış, 1-2.5 cm genişliğinde. İç periant segmentleri tabanda ve tepede yeşil lekeli veya hemen hemen tamamıyla yeşil. Yüksek rakımlı ormanlık veya çayırılık alanlarda. Mart-nisan. 2. ve 5. Bölgeler (endemik) (16).

Kırım ve Romanya'daki *G. plicatus* M. Bieb. ile çok benzerdir, fakat iç segmentlerin sadece tepesinde yeşil leke vardır. Muhtemelen 1. bölgede bulunur (16).

Daha yakın zamanlarda "Türkiye Kardelenleri (*Galanthus* L.) I." adı ile yayınlanmış farklı bir diğer kaynakta (169) Türkiye'de mevcut *Galanthus* taksonlarının sayısı 20 (bunlar 7 tür ve bu türlere ait subsp. veya varyeteler halinde ayrılmışlardır) olarak bildirilmiştir.

Çalışmamıza konu olan *Galanthus plicatus* Bieb. subsp. *byzantinus* (Baker) D.A. Webb için bu kaynakta *Galanthus byzantinus* Baker subsp. *byzantinus* Baker adı benimsenmiş ve bizim kullandığımız ismin sinonim olduğu belirtilmiştir. Aynı kaynakta konumuz olan *Galanthus* türü için Türkçe ve Almanca olarak yazılmış detaylı bir tanım da yer almıştır.

Sonuç olarak, Türkiye’de yetişen *Galanthus* türleri üzerinde morfolojik olarak kesin yargılara varmak kolay gözükmemektedir. Ele aldığımız bu son kaynakta (169) Türkiye’de yayılış gösteren tüm *Galanthus* taksonları üzerinde karyolojik araştırmalar yapılamamış olmasına rağmen, Kırım’da yetişen *Galanthus plicatus* Bieb. ile *Galanthus byzantinus* Baker’in $2n=24$ kromozomlu diploid formlar oldukları literatür gösterilerek bildirilmiştir. Ayrıca İstanbul Yalova’dan temin edilmiş bir materyalin kökucu ezme preparatında gerçekleştirilen kromozom sayımı sonucu da verilmiştir. Buna göre, bu örnekte de $2n=24$ bulunmuştur.

III. KİMYASAL BÖLÜM

A. TEORİK KISIM

Galanthus türlerinin sahip oldukları **Amaryllidaceae** alkaloidleri adından da anlaşılacağı gibi bir familyaya özel alkaloidlerdir. Ülkemizde 8 (39) genusu ve bu genuslara dahil yaklaşık 30 türü bulunan (39, 40) **Amaryllidaceae** familyası dünyada 85 genus ve yine yaklaşık 1100 tür ile temsil edilmektedir (165). Bu familyaya dahil birçok türde varlığı saptanmış olan 200 civarında **Amaryllidaceae** alkaloidi bilinmektedir. (67). İlginç yapıları yanında biyojenezleri ve özellikle de biyolojik aktiviteleri ile dikkat çeken bu alkaloidler hakkında derleme şeklinde yapılmış ve ikincil kaynak değeri taşıyan birçok yayın mevcuttur. Örneğin “The Alkaloids Chemistry and Pharmacology” adı altında yayınlanmakta olan bir seri kitabın 2., 6., 11., 15., 30. ve 51. volümlerinde **Amaryllidaceae** alkaloidleri hakkında derlemeler yayınlanmıştır (33, 48, 67, 104, 162, 163). Bunlardan 1998 yılında yayınlanmış olanına (67), göre **Amaryllidaceae** alkaloidleri kimyasal yapılarına göre başlıca lycorine, crinine, narciclasine, galanthamine, tazettine, lycorenine ve montanine adı altında 7 değişik alt grupta toplanmıştır. Bu 7 alt grup dışında aynı kaynaktan *Sceletium* alkaloidleri (**Aizoaceae**)’nden olan ve bazı **Amaryllidaceae** familyası bitkilerinde bulunmuş olan mesembrine tip alkaloidler de farklı bir grup olarak yer almaktadır. **Amaryllidaceae** ve *Sceletium* alkaloidlerinin ortak biyojenetik

prekürsörleri olmasına rağmen yapılan daha ileri araştırmaların bu iki alkaloid sınıfının biyosentezlerinin temelde farklı olduğunu ortaya koyduğu literatür de verilerek belirtilmektedir. Ayrıca yine aynı kaynaktan ayrı bir grup olarak diğerleri adı altında pallidiflorine, obesine, augustamine, phenanthridine, 4-aryltetrahydroisoquinoline ve joubertiamine tip alkaloidler incelenmektedir. Söz konusu 7 alt gruba ait temel halka yapıları ve mevcut olduğu takdirde *Galanthus* türlerinden izole edilmiş bir alkaloid de örnek olarak verilmek üzere bir tablo halinde 18. ve 19. sayfalarda gösterilmiştir (Tablo 1).

Bunun dışında güvenilir ve ikincil kaynak değeri taşıyan bir diğer derlemeler serisi de 13 cilt halinde yayınlanmış olan "The Alkaloids Specialist Periodical Reports" ile başlayıp 1984 yılından beri "Natural Product Reports" ile devam eden periyodik bir serinin muhtelif sayılarında yayınlanmaktadır (55, 56, 57, 58, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101). *Amaryllidaceae* alkaloidlerinin farklı özellikleri nedeniyle yer aldıkları başka derleme türü yayınlar da mevcuttur. Örneğin bunların farmakolojik aktivitelerini konu alan bazı ikincil kaynak değerinde derleme türü yayınlar bulunmaktadır (17, 34, 51, 60, 115, 135). Ayrıca bu alkaloidlerin biyogenezleri ile ilgili ikincil kaynak değerindeki derlemeler de mevcuttur (34, 38).

Dünyada Avrupa'dan Batı Asya'ya kadar yayılış gösteren yaklaşık 20 türü bulunan (16) *Galanthus* genusu bitkileri özellikle alkaloid muhtevaları açısından pek çok araştırmaya konu olmuştur. Primer kaynak değer taşıyan ve *Galanthus* türlerinden birinin fitokimyasal açıdan araştırılmasını konu alan ilk yayın L. Ya. Areshkina tarafından 1940 yılında yapılmıştır. *Galanthus woronowii* türünün bir örneği üzerinde gerçekleştirilen bu çalışmada bitkinin toprakaltı ve topraküstü kısımlarında total alkaloid miktarı incelenmiş ve sırasıyla % 1.03 ve % 0.60 oranında

alkaloit içerdikleri saptanmıştır. İncelenen örnekten bunun dışında yüksek verimde şeker, nişasta ve hemiselüloz elde edildiği de belirtilmiştir (8). Alkaloitlerin izolasyonuna ve yapılarının aydınlatılmasına yönelik olmayan bu araştırma *Galanthus* türlerinden biri üzerinde gerçekleştirilmiş ilk fitokimyasal araştırma olmasından bahsedebiliriz.

Alkaloitlerin izolasyonuna yönelik ilk araştırmanın sonuçları 1947'de yayınlanmıştır (117). N. F. Proskurnina ve L. Ya. Areshkina adlı araştırmacılar tarafından yine *Galanthus woronowii*'nin kurutulmuş ve toz edilmiş soğanları üzerinde gerçekleştirilen bu çalışmada galanthine ve galanthidine adlı iki yeni alkaloidin izolasyonu rapor edilmiştir. Bunlardan galanthidine'in bugün lycorine adı ile bildiğimiz alkaloidin sinonimi olduğu belirtilmelidir (131).

Alkaloit muhtevası açısından incelenmiş *Galanthus* türleri ile bunlarda varlığı saptanmış alkaloidleri gösteren ve ikincil kaynak değeri taşıyan "The Alkaloids Chemistry and Pharmacology" adlı bir seri kitapta yer almış derleme türü yazılardan hazırladığımız bir liste (Tablo 2) 20. sayfada yer almaktadır. Bu tabloyu hazırlarken saptamış olduğumuz bazı hususları belirtmek gereklidir.

1. W. C. Wildman'ın 1960 yılında yayınlanmış olan derlemesinde *Galanthus woronowii* olması gereken bitki doğru bir şekilde yazılmış, ancak otör adı olarak Losinsk kullanılmıştır (162). Yine W. C. Wildman'ın 1968 yılında ve C. Fuganti'nin 1975 yılında yayınladığı *Amaryllidaceae* derlemelerinde *Galanthus woronovii* Losinsk. olarak belirtilmiştir (48, 163). Gerçekte bu tür *Galanthus Woronowii* A. Los.'dur. Zira "Flora URSS" de böyle belirtilmiştir (85). Ancak biz tezimizde bu türe *Galanthus woronowii* A. Los. olarak yer verdik. W. C. Wildman'ın 1968 yılında

yayınlanan derlemesinde yazar makalenin aslını görmemiş, onun abstraktını görmüştür. Söz konusu bu abstrakta bitki adı *Galanthus woronowii* olarak geçmekte, otör adı ise belirtilmemektedir. O halde bu derleme yazarı, hem otör ismini kendi ilave etmiş ve hem de bitkinin adında bir harf hatası yapmıştır (163).

2. W. C. Wildman'ın 1960 yılında yayınlanan derlemesinde (162) *Galanthus nivalis* L. adlı türde varlığı belirtilen nivaline, galanthamine adlı alkaloidin sinonimidir (131).

3. W. C. Wildman, 1968 yılında yayınladığı derlemede *Galanthus nivalis* var. *gracilis* L. olarak bir *Galanthus* türüne yer vermiştir. Bu isim abstrakta yazıldığı gibi alınmıştır (163).

4. Aynı derlemede (163) *Galanthus woronowii* bitkisinde galanthamine, galanthine ve tazettine adlı üç alkaloidin varlığına yer verilmesine rağmen biz derleme yazarının da belirttiği primer kaynakta (167) söz konusu çalışmada galanthine ve tazettine adlı alkaloidlerin rapor edildiğini gördük. Buna karşılık, lycorine ve galanthamine A. P. Yakovleva'nın N. F. Proskurnina ile birlikte yaptıkları önceki bir yayında (118) söz konusu edilmişlerdir. A. P. Yakovleva'nın tek başına yapmış olduğu ikinci yayın (167) bu çalışmanın devamı niteliğindedir.

5. 1975 yılında C. Fuganti'nin yayınladığı derlemede, *Galanthus caucasicus* Baker türünden bahsedilmektedir (48). "Flora URSS" ye göre bunun doğrusu *Galanthus caucasicus* (Baker) Grossh. olmalıdır (85). Ayrıca yazarın alıntı yaptığı 3 abstrakta da otör adı belirtilmemiştir. Buna ilaveten, yazar bu bitki için *Galanthus nivalis* h. şeklinde bir sinonimden bahsetmektedir. Bunun nereden kaynaklandığı

tarafımızdan değerlendirilememiştir. Zira “Flora URSS” de ancak *Galanthus nivalis* var. *caucasicus* Baker adı sinonim olarak bildirilmektedir (85).

6. Aynı derlemede *Galanthus krasnovii* Khokhr. adlı türe yer verilmiştir (48). “Flora of Turkey and the East Aegean Islands” adlı kitapta bu bitki için *Galanthus krasnovii* A. Khokr. adı benimsenmiştir (39). Yine aynı derlemede (48) yazarın primer kaynağa dayanarak bu türde (*Galanthus krasnovii* Khokhr.) lycorine’in varlığının rapor edildiğini saptadığı görülmektedir. Birincil kaynağı görememiş olmamıza rağmen bu kaynağın Chemical Abstracts’daki özetinde lycorine adı hiç geçmemekte, buna karşılık galanthamine’den bahsedilmektedir. Durumun primer literatür bulunarak aydınlatılması gerekir (11).

7. S. F. Martin’in 1987 yılında yayınlamış olduğu derlemede (104) bazı **Amaryllidaceae** bitkilerinde ve bu arada bazı *Galanthus* türlerinde gerçekleştirilmiş galanthamine muhtevası ile ilgili çalışmalara dayanılarak bazı *Galanthus* türlerinde galanthamine varlığına yer verilmiştir. Derlemeyi yapan yazarın incelediği primer kaynaklarda (29, 30, 54, 87) özetle *Galanthus woronowii*, *Galanthus nivalis*, *Galanthus nivalis* subsp. *angustifolius*, *Galanthus elwesii* ve *Galanthus nivalis* var. *gracilis* adlı bitki isimlerine rastlanmaktadır. Derlemesinde ise galanthamine kaynağı olarak *Galanthus elwesii*, *Galanthus nivalis* var. *gracilis*, *Galanthus woronowii* ve *Galanthus nivalis* (*angustifolius*) türlerine yer vermiştir.

8. 1998 yılında O. Hoshino tarafından yayınlanmış olan derlemede (67) *Galanthus elwesii*’de bulunduğu belirtilen alkaloitler arasında yer alan 9-O-demethylgalwesine (91) adlı alkaloidin adı 9-O-demethylgalwesie olarak yer almıştır.

Ayrıca, alkaloid içeriği araştırılmış çeşitli *Galanthus* türleri ve bunlarda varlıkları saptanmış olan alkaloidlerin belirtildiği ikincil kaynak değerindeki "Dictionary of Alkaloids" adlı kitaptan yararlanarak hazırlanmış bir liste ise (Tablo 3) 21. sayfadadır (132). Bu derlemede yer alan *Galanthus voronovii* ve *Galanthus voronvii* adları incelenen kaynaklarda bitkinin adının muhtemelen yanlış yazılmasından veya derleyicilerin yanlışından kaynaklanmıştır. Her ikisi de aynı tür olup, doğru tür adı *Galanthus woronowii* şeklinde yazılmalıdır (132).

Chemical Abstracts taramaları sonucu elde ettiğimiz abstraktlar ve bunlardan hareketle elde edebildiğimiz birincil kaynaklara dayanarak Chemical Abstracts'ların 129. volümünün sonuna kadar olmak kaydıyla alkaloid içerikleri bakımından izolasyon ve yapı aydınlatma açısından incelenen *Galanthus* türleri ve bu türlerden elde edilen alkaloidler ile bunların dahil oldukları alkaloid alt grupları birincil literatür belirtilerek bir tablo halinde derlenmiş ve bu tabloya (Tablo 4) 22. ve 23. sayfalarda yer verilmiştir. Bu derlemede yer alan bitkiler esas olarak tür seviyesinde ele alınmışlardır. Ancak aynı tür altında bu türlere ait varyete veya alttürler ile bunların sinonimlerine de yer verilmiştir. Buna göre;

1. *Galanthus caucasicus* (Baker) Grossh. adı altında *Galanthus caucasicus* ve *Galanthus caucasicus* (Bak.) Grossh.
2. *Galanthus elwesii* Hooker fil. adı altında *Galanthus elwesii* Hook. var. *elwesii*, *Galanthus elwesii* Hook. f. ve *Galanthus elwesii* Hook.
3. *Galanthus ikariae* Baker adı altında *Galanthus ikariae* ssp. *latifolius*
Stern
4. *Galanthus krasnovii* A. Khokr. adı altında *Galanthus krasnovii*

5. *Galanthus nivalis* L. adı altında *Galanthus nivalis*, *Galanthus nivalis* L. subsp. *angustifolius* (G. Koss.) Artjushenko, *Galanthus nivalis* L. var. *gracilis* (Čelak), *Galanthus nivalis* var. *gracilis* (Čelak), *Galanthus nivalis* var. *gracilis* ve *Galanthus nivalis* L. ssp. *nivalis*

6. *Galanthus plicatus* Bieb. adı altında *Galanthus plicatus* Bieb. subsp. *byzantinus* (Baker) D. A. Webb, *Galanthus plicatus* M.B. ve *Galanthus plicatus* ssp. *byzantinus*

7. *Galanthus woronowii* A. Los. adı altında *Galanthus woronowii*, *Galanthus woronovi* ve *Galanthus woronowi* şeklinde yazılmış olan bitkiler incelenmiştir. *Galanthus woronovi* ve *Galanthus woronowi* şeklinde yazılan türler Chemical Abstracts'da ve makalelerde yanlış yazılmıştır. Bu tür esasen *Galanthus woronowii*'dir.

Buna ilaveten, tarafımızdan hazırlanmış bu derlemede (Tablo 4) *Galanthus ikariae* Baker adı altında düzenlenen bölümde incelenen *Galanthus ikariae* ssp. *latifolius* Stern "Flora of Turkey and the East Aegean Islands" adlı kaynakta *Galanthus platyphyllus* Traub & Moldenke bitkisinin sinonimi olarak gösterilmektedir (39).

Tabloda yer verilen demethylhomolycorine'in 9 veya 10-O-demethylhomolycorine olduğu birincil kaynakta bildirilmediği için ayrıca belirtilmiştir.

Galanthus türlerinin alkaloidleri üzerinde fitokimyasal açıdan yapılan bir diğer grup çalışma bu türlere ait çeşitli alkaloidlerin kromatografik olarak veya renk reaksiyonları yardımıyla belirlenmelerine, alkaloidlerin bazılarının veya bitkilere ait

örneklerin total alkaloid miktarlarının değişik yöntemlerle tayinlerinin yapılmalarına yöneliktir (8, 27, 30, 45, 54, 86, 87, 106, 158, 159, 170, 171).

Tarafımızdan incelenen kaynaklarda bahsediler bir diğer grup çalışmada galanthamine'in diğerik *Galanthus* türlerinden üretimine ait bulgular verilmektedir (9, 31, 112).

Buna ilaveten, *Galanthus* türlerinin morfolojik ve fizyolojik özelliklerinin, bunların kışa dayanıklı olmalarının, alkaloidlerinin ve ayrıca galanthamine'in tıbbi etki mekanizmasının tartışıldığı bir derleme türü yayın (127) ile galanthamine'in farklı bitkisel kaynaklar ve ayrıca diğerik *Galanthus* türlerinde bulunuşlarını inceleyen bir başka derleme türü yayın mevcuttur (29).

Muhtelif *Galanthus* türlerinden izole edilmiş, R_f değerleri veya bazı fiziksel ya da spektral özellikleri belirlendiği halde yapıları kesinlikle aydınlatılmamış bazı alkaloidleri rapor eden araştırmalar da vardır (11, 20, 27, 75, 76, 77, 93, 118, 120, 142, 143, 147, 158, 159, 170, 171).

Buna ilaveten, izolasyonu yapıldığı halde, yapıları bilinmeyen alkaloidlerin daha sonradan yapılarının aydınlatılabilmesi için bazı müstakil araştırmalar da yapılmıştır (83, 116, 119).

Galanthus türleri, alkaloidleri dışında, fitokimyasal açıdan, başta son yıllarda yoğun bir şekilde sürdürülmekte olan lektin muhtevaları olmak üzere; karbonhidratlar, flavonozitler, yağ asitleri ve pigmentler gibi diğerik içerik maddeleri bakımından da birçok araştırmannın konusu olmaktadır. Ancak burada bazılarına yer verilmiştir (47, 52, 59, 63, 66, 74, 89, 90, 111, 129, 139, 144, 151, 152, 153, 166). Bunların dışında doku kültürü esaslı bazı araştırma sonuçları da mevcuttur (53, 105).

Ancak araştırma konumuz *Galanthus* alkaloitleri ile sınırlı olduğu için bunlar hakkında daha detaylı bilgi verilmemiştir.

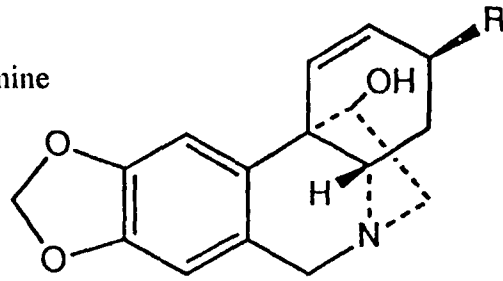
Tezimizin konusunu oluşturan *Galanthus plicatus* Bieb. subsp. *byzantinus* (Baker) D. A. Webb bitkisinin alkaloitlerinin izolasyonu ve yapılarının aydınlatılmasına yönelik üç adet araştırma mevcuttur. Söz konusu araştırmalardan ilkinde ismine, 3-epimacronine ve tazettine adlı üç alkaloit elde edilmiş ve bunların yapıları modern spektroskopik yöntemlerle ve X-ray kristallografisinden yararlanılarak aydınlatılmıştır (4). İkincisinde yine tazettine ve 3-epimacronine adlı bileşikler üzerinde yapılan X-ray kristallografisi çalışmaları rapor edilmiştir (103). Üçüncüsünde ise 11-acetoxygraciline'in izolasyon ve yapı aydınlatılması yapılmıştır (110). Kaynak araştırmalarımız sırasında rastladığımız bir diğer bulgu, Eski Sovyetler Birliği'nin Moldovya bölgesinden Kochuliya köyü civarı yakınlarından temin edilen *Galanthus plicatus* M. B. bitkisi üzerinde yapılan araştırmadır (154). Bu araştırmada, bitkinin topraküstü kısımlarında evvelce *Ungernia trisphaera* Bunge'den elde edilmiş olan (6) trisphaeridine adlı optikçe inaktif bir alkaloidin bulunduğu rapor edilmiştir. Ancak bu sonuç yani *Galanthus plicatus* M. B. bitkisinde trisphaeridine varlığını belirten hiçbir ifade ikincil kaynak değerindeki **Amaryllidaceae** derlemelerinde yer almamıştır.

I. Crinine Tip (5,10b-Ethanophenanthridine Tip)

A. (+)-Crinine Tip

R= OMe

Örnek: Haemanthamine



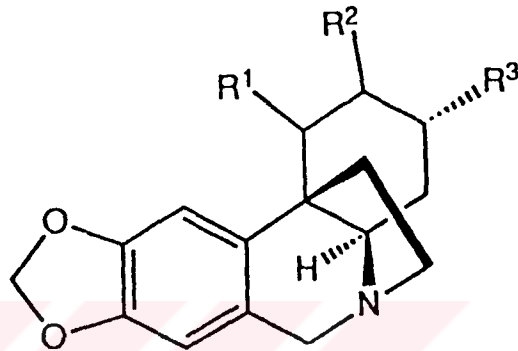
B. (-)-Crinine Tip

R¹= H

R²= H

R³= OH

Örnek: Elwesine



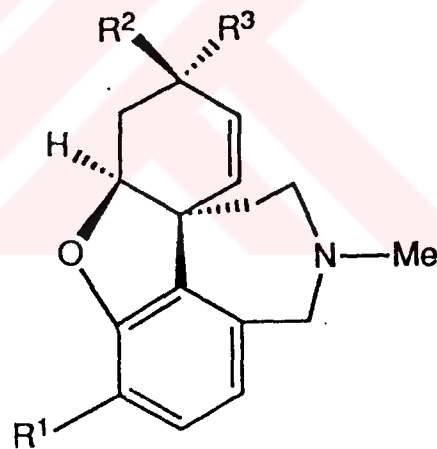
II. Galanthamine Tip (Dibenzofurane Tip)

R¹= OMe

R²= OH

R³= H

Örnek: Galanthamine



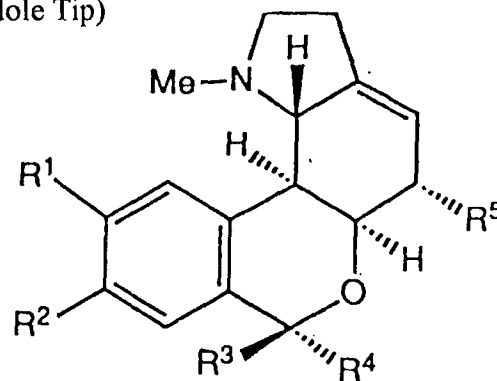
III. Lycorenine Tip (2-Benzopyrano[3,4g]indole Tip)

R¹= R²= OCH₂O

R³= R⁴= O

R⁵= OH

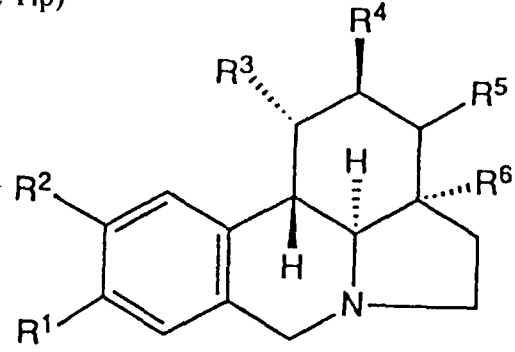
Örnek: Hippeastrine



Tablo 1; Amaryllidaceae Alkaloitlerinin Yedi Alt Grubu

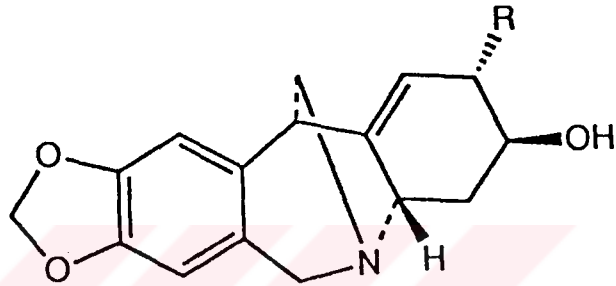
IV. Lycorine Tip (4,5-Ethanophenanthridine Tip)

 $R^1 = R^2 = \text{OCH}_2\text{O}$
 $R^3 = R^4 = \text{OH}$ Örnek: Lycorine

 $R^5 = R^6 = \text{çifte bağ}$


V. Montanine Tip (Methanomorphanthridine Tip)

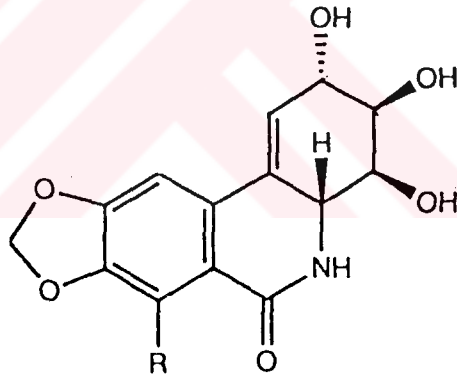
Örnek: ---



VI. Narciclasine Tip (Phenanthridone Tip)

 $R = \text{OH}$

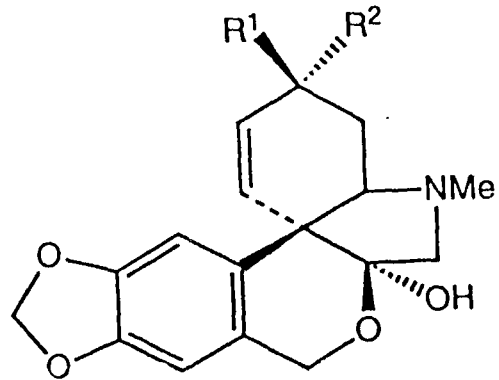
Örnek: Narciclasine



VII. Tazettine Tip (2-Benzopyrano[3,4c]indole Tip)

 $R^1 = \text{OMe}$
 $R^2 = \text{H}$

Örnek: Tazettine



Tablo 1'in Devamı, Amaryllidaceae Alkaloitlerinin Yedi Alt Grubu

<u>Bitki Adı</u>	<u>Alkaloit Adı</u>	<u>Literatür No</u>
<i>Galanthus caucasicus</i> Baker (<i>Galanthus nivalis</i> h.)	Base mp 214° Demethylhomolycorine Galanthamine Galanthine Galanthusine Lycorine Tazettine	48
<i>Galanthus elwesii</i> Hook. f. (<i>Galanthus elwesii</i>)	N-Demethylgalanthamine 9-O-Demethylgalwesie 9-O-Demethylhomolycorine Elwesine Flexinine Galanthamine Galanthine Galasine Galwesine Haemanthamine 16-Hydroxy-9-O-demethylgalwesine 16-Hydroxygalwesine 11-Hydroxyvittatine Leucotamine Lycorine 5-Methoxy-9-O-demethylhomolycorine Narwedine Sanguinine Tazettine	67 67 67 163 163 67, 104, 162, 163 67 67 67 162 67 67 67 67 67, 162, 163 67 67 67 162, 163
<i>Galanthus krasnovii</i> Khokhr.	Lycorine	48
<i>Galanthus nivalis</i> L.	Criwelline Galanthamine Haemanthidine Hippeastrine Lycorine Magnarcine Masonine Nartazine Narwedine Nivalidine Nivaline Tazettine	163 48, 163 163 48, 163 48, 162, 163 163 163 163 48, 163 48 162 48, 162, 163
<i>Galanthus nivalis</i> (<i>augustifolius</i>)	Galanthamine	104
<i>Galanthus nivalis</i> var. <i>gracilis</i> L. (<i>Galanthus nivalis</i> var. <i>gracilis</i>)	Galanthamine	104, 163
<i>Galanthus woronowii</i> Losinsk (<i>Galanthus woronowii</i>) (<i>Galanthus woronowii</i> Losinsk.)	Total alkaloit Galanthamidine Galanthamine Galanthidine Galanthine Lycorine Tazettine	33 162 48, 104, 162, 163 48 48, 162, 163 162 163

Tablo 2. "The Alkaloids" Adlı İkincil Bir Seri Kaynağa Göre (33, 48, 67, 104, 162, 163) Alkaloitleri Açısından Araştırılmış *Galanthus* Türleri ve Bunlarda Varlığı Saptanmış Amaryllidaceae Alkaloitleri

<u>Bitki Adı</u>	<u>Alkaloit Adı</u>
<i>Galanthus caucasicus</i>	Alkaloit, A-00293 Galanthusine
<i>Galanthus elwesii</i>	Elwesine; (-)-form
<i>Galanthus nivalis</i>	Criwelline; (+)-form Magnarcine Masonine Nartazine Narwedine; (+)-form Nivalidine
<i>Galanthus voronovii</i>	Galanthamidine Galanthamine; (-)-form
<i>Galanthus voronvii</i>	Galanthine

Tablo 3. "Dictionary of Alkaloids" Adlı Kaynağa Göre (132) Alkaloitleri Açısından Araştırılmış *Galanthus* Türleri ve Bunlarda Varlığı Saptanmış Amaryllidaceae Alkaloitleri

Alkaloit Grubu	ALKALOIDİN ADI	BİTKİNİN ADI										
		<i>Galanthus caucasicus</i> (Baker)Grossh.	<i>Galanthus elwesii</i> Hooker fil.	<i>Galanthus gracilis</i> Çelak.	<i>Galanthus ikariae</i> Baker	<i>Galanthus krasnovii</i> A. Khokr.	<i>Galanthus nivalis</i> L.	<i>Galanthus plicatus</i> Bieb.	<i>Galanthus woronowii</i> A. Los.			
Crinine	Dihydrovitatine		170									
	Elwesine (Dihydrocrinidine)		21									
	Flexinine		21									
	Haemanthamine		22				20					
	Haemanthidine		170									
	11-Hydroxyvitatine		91									
Galanthamine	N-Demethylgalanthamine		91									
	Galanthamine (Nivaline)	142,145	21,22,91,170		170		10*,11		20,23,24,54,75*,76,77,93*		118,147	
	Leucotamine		91									
	O-Methylleucotamine		91									
	Narwedine		91						20,76			
	Nivalidine								25,26,76,77			
	(6-O-Methylapogalanthamine)											
	Sanguinine		91									
	11-Acetoxygraciline										110	
	Digracine						110					
Graciline	3,4-Dihydro-3-Hydroxygraciline					110						
	Graciline					110						

Tablo 4. Birincil Kaynaklara Göre Alkaloit İçeriği Araştırılmış *Galanthus* Türleri ve Bunlarda Varlığı Saptanan Amaryllidaceae Alkaloitleri

* Bu kaynaklarda alkaloitlerin kromatografik olarak teşhis edildiği belirtilmiştir.

Alkaloit Grubu	ALKALOİDİN ADI	BİTKİNİN ADI											
		<i>Galanthus caucasicus</i> (Baker)Grossh.	<i>Galanthus elwesii</i> Hooker fil.	<i>Galanthus gracilis</i> Çelak.	<i>Galanthus ikariae</i> Baker	<i>Galanthus krasnovii</i> A. Khokr.	<i>Galanthus nivalis</i> L.	<i>Galanthus plicatus</i> Bieb.	<i>Galanthus woronowii</i> A. Los.				
Lycorenine	9-O-Demethylgalwesine		91										
	Demethylhomolycorine	146											
	9-O-Demethylhomolycorine		91,92										
	Galasine		91										
	Galwesine		91										
	Hippeastrine						20,28,76,77						
	16-Hydroxy-9-O-Demethylgalwesine		91										
	16-Hydroxygalwesine		91										
	Masonine							20					
	5-Methoxy-9-O-Demethylhomolycorine		91										
Lycorine	Galanthine	142,145	91		170*							117,118,120,147,167	
	Lycorine (Galanthidine)	142,145	21,22,91,170		170				19,20,23,24,75*,76,77,93*			117,118,120,147	
	Nartazine								20				
Narciclasine	Lycoricidine (Margetine)		114*						114*				
	Narciclasine		114*						114*				
Tazettine	Crivelline								20				
	3-Epimacronine										4		
Diğer	Tazettine	142,145	21,22,170		170				19,20,23,32,76,77,93*		4	167	
	Ismine										4		
	Trisphaeridine										154		
	(E)-N-Feruloyltyramine		91										
	Galanthusine	141,168											
	Hordenine		91										

Tablo 4'ün Devamı. Birincil Kaynaklara Göre Alkaloit İçeriği Araştırılmış *Galanthus* Türleri ve Bunlarda Varlığı Saptanan Amaryllidaceae Alkaloitleri

B. PRATİK KISIM

1. MATERYAL

Bu araştırmaya konu olan *Galanthus plicatus* Bieb. subsp. *byzantinus* (Baker) D. A. Webb bitkisine ait materyal, bitki çiçekli halde iken 6.4.1995 tarihinde Bolu ilimizin Abant Gölü yakınlarındaki Ormancı evleri mevki ve çevresinden (1350-1400 m) toplanarak oluşturulmuştur. Toplanan bitkilerden hazırlanan herbaryum örneklerinin tayini, E. Ü. Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı'nda yapılmıştır.* Söz konusu materyalden hazırlanmış herbaryum örnekleri halen E. Ü. Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı Herbaryumunda 1194 numara ile saklanmaktadır.

Toplanan bitkisel materyal, toprakaltı ve topraküstü kısımları ayrılmaksızın küçük parçalar halinde kesilip oda sıcaklığında, açık havada ve gölgede kurutulduktan sonra Retsch marka değirmende orta incelikte toz haline getirilmiştir.

2. YÖNTEMLER

a. Alkaloidlerin Tüketilmesi ve Ayrılması

Orta incelikte toz haline getirilmiş olan materyal, % 96'lık etanol ile tüketme sıvısı Dragendorff (107) ve Mayer (42) belirteçlerine reaksiyon vermeyinceye kadar oda sıcaklığında perkole edildi. Etanollü çözelti alçak basınç

*Bitkisel örneklerin tayini E. Ü. Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. M. Ali ÖNÜR tarafından yapılmıştır.

altında kuruluğa kadar distillendikten sonra elde edilen bakiye, % 2'lik hidroklorik asidin sulu çözeltisinde çözündürüldü, çözünmeyen kısımlar süzgeç kağıdından süzülerek ayrıldı. Bu işleme sulu asitli çözelti küçük miktarlar halinde ilave edilip, süzmek suretiyle ve süzüntü Dragendorff ile Mayer belirteçlerine karşı olumsuz sonuç verinceye kadar devam edildi. Sonuçta elde edilen bütün asitli çözeltiler birleştirilip, % 25'lik amonyum hidroksit çözeltisi ile pH 9-10 oluncaya kadar bazikleştirildi. Sulu alkali çözelti yine Dragendorff ve Mayer belirteçlerine karşı olumlu yanıt vermeyinceye kadar kloroformla tüketildi. Elde edilen kloroformlu kısımlar birleştirildi. Susuz sodyum sülfat kullanılarak suyundan kurtarıldıktan sonra süzüldü ve kloroform alçak basınç altında kuruluğa kadar distillendi. Bundan sonraki çalışmalar, yukarıda belirtilen şekilde elde edilen total alkaloit ekstresi üzerinden yürütüldü.

b. Alkaloitlerin İnce Tabaka Kromatografisi (İ.T.K.) İle İncelenmesi

İnce tabaka kromatografisi yönteminden, sütun kromatografisi çalışmaları sırasında kazanılan fraksiyonların incelenerek benzer olanlarının birleştirilmesi amacı yanında, gerek preparatif ince tabaka ve vakum uygulamalı sütun kromatografileri için uygun çözücü sistemlerinin geliştirilebilmesi ve gerekse izole edilip saflaştırılan bileşiklerin saflıklarının kontrolü gibi değişik amaçlarla yararlanıldı. İ.T.K. çalışmalarında 0.25 mm adsorban tabakası kalınlığında ve 20x20 cm boyutlarındaki Silica gel 60F₂₅₄ (Merck 5715) hazır cam kromatografi plakları kullanıldı. Çalışmalar oda sıcaklığında gerçekleştirildi. Örnekler kromatografi plaklarına, genellikle kloroform:metanol (80:20) çözücü sistemindeki deneysel olarak saptanmış uygun konsantrasyondaki çözeltileri halinde tatbik edildi. Çözücü sistemleri, plaplarda 15-18 cm arasında yükseltildi.

İnce tabaka kromatografisinde yararlanılan çözücü sistemleri aşağıda belirtilmiştir.

Sistem No Çözücü Sistemi

- I n-Hekzan:Benzen:Aseton (50:45:5)
- II n-Hekzan:Etil asetat:Metanol (80:15:5)
- III n-Hekzan:Etil asetat:Metanol (70:20:10)
- IV n-Hekzan:Etil asetat (70:30)
- V n-Hekzan:Etil asetat (60:40)
- VI n-Hekzan:Etil asetat (50:50)
- VII n-Hekzan:Etil asetat:Metanol (45:45:10)
- VIII Benzen:Etil asetat:Etanol (80:15:5)
- IX Benzen:Kloroform:Metanol:% 25'lik Amonyum hidroksit (70:20:10:10 damla)
- X n-Hekzan:Etil asetat:Aseton (60:30:10)
- XI Benzen:Etil asetat (80:20)
- XII n-Hekzan:Kloroform:Dietilamin (50:40:10)
- XIII Benzen:Etil asetat:Etanol (80:10:10; Amonyak buharı ile doyuruldu)
- XIV Benzen:Etil asetat:Etanol (80:15:5; Amonyak buharı ile doyuruldu)
- XV Benzen:Kloroform:Dietilamin (60:30:10)
- XVI Benzen:Etil asetat:Aseton (90:5:5; Amonyak buharı ile doyuruldu)
- XVII Benzen:Kloroform:Metanol (70:20:10; Amonyak buharı ile doyuruldu)

- XVIII Benzen:Kloroform (80:20; Amonyak buharı ile doyuruldu)
- XIX Siklohekzan:Dietilamin (90:10)
- XX Benzen:Kloroform:Metanol:Dietilamin (55:30:5:10)
- XXI Benzen:Kloroform:Metanol (60:35:5; Amonyak buharı ile doyuruldu)

Alkaloit lekelerinin belirlenmesi için, plaklar önce 254 nm ve 366 nm dalga boyundaki UV ışıklar altında incelendi ve daha sonra Dragendorff (107) püskürtme belirtecinden yararlanıldı.

Dragendorff Belirteci :

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

Çözelti B: 8 g potasyum iyodürün 20 ml sudaki çözeltisi

Püskürtme belirteci olarak, A ve B çözeltilerinden eşit hacimde karıştırıldıktan sonra bu karışımın 1 ml'sinin 2 ml glasiyal asetik asit ve 10 ml su ile karıştırılmasıyla elde edilen çözelti kullanıldı.

c. Alkaloitlerin Saflaştırılmaları

Bu amaçla sütun kromatografisi ve preparatif ince tabaka kromatografisi gibi klasik kromatografik yöntemlerden ve ayrıca gerektiğinde kristallendirme işleminden de yararlanıldı.

1° Sütun Kromatografisi

Bu yöntemden, gerek total alkaloid ekstresinin fraksiyonlandırılarak birleştirilmiş ana fraksiyonların elde edilmesi sırasında ve gerekse elde edilen bu ana fraksiyonların daha ileri fraksiyonlandırılmasında yararlanıldı.

Sütun kromatografisinde adsorban olarak, ana fraksiyonların elde edilmeleri sırasında Silica gel 60 (70-230 Mesh) (Merck 7734) ve ana fraksiyonların daha ileri fraksiyonlandırılmasında uyguladığımız preparatif sütun kromatografisi çalışmalarında ise Silica gel H (Type 60) (5-40 µm) (Merck 7736) kullanıldı. Ayırma tabi tutulan ekstrelerin, ana fraksiyonların ya da ara fraksiyonların 1 g'ı için genellikle 40-50 g adsorban ve bu miktarlara uygun boyutlara sahip cam sütunlar yanında vakum uygulanabilecek şekilde dizayn edilmiş cam sütunlar da kullanıldı. Fraksiyonlarına ayrılacak alkaloid ekstreleri, Silica gel 60 (70-230 Mesh) (Merck 7734) adsorbana emdirilmek suretiyle, katı halde tatbik edildi. Ana fraksiyonların elde edilmesi sırasında, aşağıda belirtilen çözücü sistemlerinden yararlanıldı.

<u>Sistem No</u>	<u>Çözücü Sistemi</u>
XXII	Kloroform
XXIII	Kloroform:Metanol (99:1)
XXIV	Kloroform:Metanol (97.5:2.5)
XXV	Kloroform:Metanol (95:5)
XXVI	Kloroform:Metanol (90:10)
XXVII	Kloroform:Metanol (80:20)

2° Preparatif İnce Tabaka Kromatografisi

Preparatif ince tabaka kromatografisinde, Silica gel 60 G (Merck 7731) ve Silica gel 60 HF₂₅₄ (Merck 7739) kullanılarak, tarafımızdan hazırlanmış 0.50 mm adsorban tabakası kalınlığında ve 20x20 cm boyutlarındaki cam plaklardan veya 0.25 mm adsorban tabakası kalınlığında ve 10x20 cm boyutlarındaki Silica gel 60 F₂₅₄ (Merck 5715) ile 0.50 mm adsorban tabakası kalınlığında 10x20 cm ve 20x20 cm boyutlarındaki Silica gel 60 F₂₅₄ (Merck 5744) hazır cam plaklardan yararlanıldı.

Çözücü sistemi olarak, ince tabaka kromatografisinde yapılan ön denemeler sonucunda en iyi sonuç veren çözücü sistemleri kullanıldı. Çözücü sistemleri, plaklarda tek developman yapılan kromatografilerde 15 cm, iki developman yapılan kromatografilerde önce 15 cm ve daha sonra 18 cm olacak şekilde yükseltildi. Bantların belirlenmesi 254 nm ve 366 nm dalga boylarındaki UV ışık altında incelemek ve daha sonra plağın yan tarafına çok ince bir kısma Dragendorff püskürtme belirteci uygulamak suretiyle yapıldı. Kazınan bantlar kloroform:metanol (80:20) karışımıyla elüe edildi. Bileşikler çözücünün alçak basınç altında distillenmesiyle amorf halde elde edildiler.

3° Kristallendirme

Fraksiyonların saflaştırılmalarında gerektiğinde kristallendirme işleminden de yararlanıldı. Oda sıcaklığında veya gerektiğinde buzdolabında bekletmek suretiyle oluşturulan kristaller, ana kristalizasyon sıvısından arındırıldı ve iyi çözünmedikleri bazı çözücülerle yıkanarak temizlendi. Daha büyük ve temiz kristaller elde etmek amacıyla gerektiğinde kristalizasyon işlemi tekrarlandı.

d. Elde Edilen Saf Alkaloitlerin Tanınması

Kromatografik saflıkta elde edilen alkaloitlerin yapılarını aydınlatmak için değişik spektroskopik yöntemlerden (UV, IR, ^1H , ^{13}C ve 2D NMR, DEPT, EI Kütle, CI Kütle ve ESI Kütle, CD gibi) yararlanıldı. Bunun dışında alkaloitlerin spesifik optik çevirmeleri (α_D) de ölçüldü. Bileşiklerin yapıları spektrumların değerlendirilmesi ile elde edilen veriler yardımıyla aydınlatıldı. Bilinen bileşikler için elde edilen veriler, literatürdeki değerler ile karşılaştırıldı. Yapı aydınlatmasında yararlanılan yöntemlerde kullanılan cihazlara ait teknik bilgiler, aşağıda verilmektedir.

Optik Çevirme: Maddelerin optik çevirme ölçüleri, Perkin-Elmer 241 polarimetresinde yapıldı.

IR Spektrumları: IR spektrumları, Perkin-Elmer 297 Infrared spektrometresinde, maddelerin spektral saflıktaki kloroform içinde uygun konsantrasyondaki çözeltileri veya potasyum bromür pelletleri hazırlanarak alındı.

UV Spektrumları: UV spektrumları, Perkin-Elmer 555 veya Shimadzu UV-160A spektrometrelerinde, 1 cm'lik kuvarz küvetlerde maddelerin metanoldeki % 0.01'lik çözeltileri kullanılarak alındı. Alkaloitlerin gerektiğinde alkali ve asit ortamdaki spektrumları küvetteki çözeltiliye sırasıyla % 1'lik sodyum hidroksit ile % 1'lik hidroklorik asit sulu çözeltileri ilave edilerek alındı.

NMR Spektrumları: ^1H ve ^{13}C NMR ile DEPT spektrumları, Bruker ARX-300, Bruker AMX-600 ve DRX-500 spektrometrelerinde, 2D NMR spektrumları (^1H , ^1H DQF-COSY, TOCSY, HSQC, HMBC, NOESY) da Bruker AMX-600, DRX-500 ve DRX-600 spektrometrelerinde alındı. Spektrumlarının alınmasında

bileşiklerin $CDCl_3$ veya CD_3OD 'deki çözeltilerinden yararlanıldı. Gerektiğinde D_2O kullanıldı.

Kütle Spektrumları: EI Kütle spektrumları, Finnigan MAT SSQ 700, CI Kütle spektrumları Finnigan MAT 90 ve ESI Kütle spektrumları ise Finnigan MAT TSQ 700 spektrometrelerinde alındı.

CD Spektrumları: Bu maksatla bileşiklerin metanol içindeki uygun konsantrasyondaki çözeltileri kullanılarak Jasco J-715 spektropolarimetresinden yararlanıldı.

3. DENEYLER

a. Total Alkaloit Ekstresinin Hazırlanması

Orta incelikte toz edilmiş 3700 g materyal, oda sıcaklığında yaklaşık 80 l % 96'lık etanolla, tüketme sıvısı Dragendorff ve Mayer belirteçlerine karşı olumlu reaksiyon vermeyinceye kadar tüketildi. Etanollü çözelti alçak basınç altında kuruluğa kadar distillendikten sonra bakiye % 2'lik hidroklorik asidin sulu çözeltisi ile çözüldü ve çözünen kısım kalmayınca kadar yıkandı. Çözünmeyen kısımlar süzülerek ayrıldı. Birleştirilen asitli çözeltilerin pH'sı % 25'lik amonyum hidroksit çözeltisiyle 9-10'a ayarlandı. Bazik ekstre, her defasında 2:1 oranında olmak üzere Dragendorff ve Mayer belirteçleri ile reaksiyon vermeyinceye kadar toplam 10 defa olacak şekilde kloroform ile sıvı sıvı ekstraksiyona tabi tutuldu. Elde edilen kloroformlu kısımlar susuz sodyum sülfat ile suyundan arındırıldı ve süzüldü. Kloroform alçak basınç altında kuruluğa kadar distillendi. Bakiye desikatörde sabit ağırlığa kadar bekletildi ve tartıldı. 10.24 g ağırlığında total alkaloit ekstresi elde edildi. Hesaplanan % verim 0.28'dir.

b. Total Alkaloit Ekstresindeki Bileşiklerin Saflaştırılmaları

Total alkaloit ekstresinin 40 katı ağırlığındaki Silica gel 60 (70-230 Mesh) (Merck 7734) ve 1000 ml XXII no'lu çözücü sistemi süspansiyon haline getirilip 4.2 cm çapındaki bir cam kromatografi sütununa dolduruldu. 10.24 g total alkaloit ekstresi, 20 ml kloroform:metanol (80:20) ile çözülüp 20 g Silica gel 60 (70-230 Mesh) (Merck 7734) adsorbana emdirildi. Çözücü açık havada, oda sıcaklığında uçuruldu. Bakiye desikatörde kurutuldu. Bu şekilde hazırlanan ekstre-adsorban karışımı, sütuna ilave edildikten sonra XXII no'lu çözücü sistemi ile dakikada; gündüz 120 damla, gece ise 20-25 damla akış hızında olacak şekilde elüsyona başlandı. Elüsyonun başlangıcından bitimine kadar 600'er ml'lik fraksiyonlar alındı. Alkaloit lekelerinin İ.T.K. ile görülen miktar ve niteliğine bağlı olarak elüsyonda kullanılan çözücü içine gerektiğinde sırasıyla % 1, % 2.5, % 5, % 10 ve % 20 oranlarında metanol ilave edildi. Her fraksiyon, alçak basınç altında distile edildikten sonra kalan bakiye kloroform:metanol (80:20)'nin deneysel olarak saptanan en uygun ve en az miktarında çözüldükten sonra İ.T.K. ile karşılaştırmalı olarak kontrole tabi tutuldu. İ.T.K. denemelerinde elde edilen kromatogramlar önce 254 ve 366 nm dalga boyundaki UV ışık altında incelendi. Daha sonra Dragendorff belirteci püskürtmek suretiyle alkaloit lekeleri görünür hale getirildi. Aynı R_f değerindeki lekelerle sahip olan benzer fraksiyonlar birleştirildi. Alçak basınç altında kuruluğa kadar distillendikten sonra desikatörde sabit ağırlığa gelinceye kadar bekletildi ve tartıldı. Böylece ana sütun fraksiyonları oluşturuldu.

Total alkaloit ekstresinin silikagel sütun kromatografisi ile elde edilen ana fraksiyonları, bunlara verilen kodlar, elüsyonda kullanılan çözücü sistemleri ve ana fraksiyonların ağırlıklarına ait bilgiler 33. sayfada gösterilmiştir.

<u>Birleştirilen</u> <u>Fraksiyon No'ları</u>	<u>Ana Fraksiyonun</u> <u>Kodu</u>	<u>Elüsyonda</u> <u>Yararlanılan</u> <u>Çözücü Sistemi</u>	<u>Ana Fraksiyon</u> <u>Bakiyesinin</u> <u>Ağırlığı (g)</u>
3-4	A	XXII	0.7987
5	B	XXII	0.0968
6-16	C	XXII	0.4361
17-22	D	XXIII	0.4342
23-28	E	XXIII	3.4763
29-39	F	XXIII ve XXIV	0.9685
40-49	G	XXIV	0.3532
50-57	H	XXV ve XXVI	0.1723
58-64	I	XXVI	0.5284
65-70	J	XXVI	0.4852
71-77	K	XXVI ve XXVII	0.4806
78-84	L	XXVII	0.7688
85-91	M	XXVII	0.1503
92-94	N	XXVII	0.0215

1° A Kodlu Ana Fraksiyonun Çalışılması

A kodlu ana sütun fraksiyonu vakum uygulanmak suretiyle preparatif sütun kromatografisine tabi tutuldu. Çözücü sistemi olarak, A kodlu ana fraksiyonu en iyi ayırdığı İ.T.K. ile saptanmış olan I no'lu çözücü sistemi kullanıldı. 40 g Silica gel H

(Type 60) (5-40 μm) (Merck 7736) söz konusu çözücü sisteminin uygun miktarı ile karıştırılarak süspansiyon haline getirildi. Elde edilen süspansiyon, 3.5 cm çapında ve vakum uygulayarak çalışabilmek üzere dizayn edilmiş özel bir cam kromatografi sütununa dolduruldu. 0.7987 g ağırlığında olan A kodlu ana fraksiyon, kloroform:metanol (80:20) karışımının deneysel olarak saptanan en az miktarında çözülüp 1.5 g Silica gel 60 (70-230 Mesh) (Merck 7734) adsorbana emdirildikten ve açık havada kurutulduktan sonra sabit ağırlığa ulaşınca kadar desikatörde tutuldu.

Madde-adsorban karışımı sütuna ilave edildikten sonra, I no'lu çözücü sistemi ile elüsyona başlandı. 900 mbar vakum altında, düzgün bir şekilde ve dakikada 40-50 damla olacak şekilde akış sağlandı. Fraksiyonlar 20'şer ml hacminde alındı. Elüsyona yapılan İ.T.K. sonuçlarına göre karar vermek suretiyle, 83. fraksiyondan itibaren II no'lu çözücü sistemi, 96. fraksiyondan itibaren III no'lu çözücü sistemi ile devam edildi. Alınan fraksiyonların mukayeseli olarak yapılan İ.T.K. sonucu elde edilen kromatogramlar, UV ışık altında incelendi ve Dragendorff belirteci püskürtüldü. Aynı R_f değerine sahip ve benzer alkaloid lekeleri veren fraksiyonlar birleştirildi. Çözücü alçak basınç altında kuruluğa kadar distillendi. Elde edilen ara fraksiyonlar desikatörde bekletilerek sabit ağırlığa getirildikten sonra tartıldı.

A kodlu ana fraksiyondan elde edilen 196.5 mg ağırlığındaki 21-24 no'lu ara fraksiyonun, İ.T.K. ile yapılan kontrolleri sonucunda saf olmadığı anlaşıldı ve preparatif İ.T.K. uygulanmasına karar verildi. Bu nedenle deneysel olarak saptanan en uygun ve en az miktarda kloroform:metanol (80:20) karışımında çözülüp, Silica gel 60 G (Merck 7731) ve Silica gel 60 HF₂₅₄ (Merck 7739) adsorban karışımı ile

kaplanmış 0.50 mm adsorban tabakası kalınlığında ve 20x20 cm boyutlarındaki tarafımızdan hazırlanmış, 6 adet kromatografi plağına uygulandı. Hazırlanan plaklar, X no'lu çözücü sistemi kullanılarak bir kere develope edildi. Önce UV ışık altında incelemek ve daha sonra plak kenarına çok ince bir kısma Dragendorff belirteci püskürtmek suretiyle yeri belirlenen alkaloidal bir bant kazındı. Kloroform:metanol (80:20) karışımı ile elüe edildi. Daha sonra çözücü alçak basınç altında distillendi. Bakiye desikatörde sabit vızne gelinceye kadar bekletilip tartıldı. Böylece 9.7 mg ağırlığında bir bakiye elde edildi. İ.T.K. ile kontrolü sonucunda bakiyenin saf olmadığı anlaşıldı. Buna A-1 kodu verildi.

Yukarıda anlatıldığı şekilde A ana fraksiyonunun preparatif sütun kromatografisine tabi tutulması sonucu elde edilmiş olan 25-32 no'lu ara fraksiyonun bakiyesi 137.9 mg ağırlığındaydı. Yapılan İ.T.K. kontrolleri sonucunda saf olmadığı anlaşıldı ve bu ara fraksiyon, kloroform:metanol (80:20) karışımının uygun miktarında çözüldü. Silica gel 60 G (Merck 7731) ve Silica gel 60 HF₂₅₄ (Merck 7739) adsorban karışımı kullanılarak tarafımızdan hazırlanmış 0.50 mm adsorban tabakası kalınlığında ve 20x20 cm boyutlarındaki 5 adet preparatif kromatografi plağına uygulandı. Plaklar, X no'lu çözücü sistemi kullanılarak bir kere develope edildi. Önce UV ışık altında incelemek ve daha sonra plak kenarına çok ince bir kısma Dragendorff belirteci püskürtmek suretiyle yerleri belirlenen I, II ve III olarak simgelenen üç farklı bant ayrı ayrı kazındı ve kloroform:metanol (80:20) karışımı ile elüe edildi. I no'lu bandın elüsyonu neticesinde 100.4 mg ağırlığında gelen bir bakiye elde edildi. İ.T.K ile kontrolleri sonucunda saf olmadığı anlaşılan söz konusu bu bakiye, yeterli miktarda kloroform:metanol (80:20) karışımında çözüldü. 0.50 mm adsorban tabakası kalınlığında ve 20x20 cm boyutlarındaki 2 adet Silica gel 60F₂₅₄

(Merck 5744) hazır plağa uygulandı. Plaklar, XI no'lu çözücü sistemi ile bir kere develope edildi. Önce UV ışık altında incelemek ve daha sonra plak kenarına çok ince bir kısma Dragendorff belirteci püskürtmek suretiyle yeri belirlenen Ia olarak simgelenen bant kazındı. Kloroform:metanol (80:20) karışımı ile elüe edildi. İ.T.K. ile kontrollerinde saf olduğu saptanan 82.5 mg ağırlığında bir bileşik elde edildi. Bu bileşiğe A-2 kodu verildi.

II no'lu bandın elüe edilmesiyle kazanılan 16.7 mg ağırlığındaki bakiyenin yapılan İ.T.K. kontrolleri sonucunda daha önce elde edilen A-1 bakiyesi ile aynı R_f değerine ve alkaloidal lekeye sahip olduğu, ancak safsızlıklar içerdiği saptandı ve buna A-3 kodu verildi. A-1 ve A-3 bakiyeleri birleştirilip uygun miktarda kloroform:metanol (80:20) karışımı içinde çözüldü. Bir adet 0.5 mm adsorban tabakası kalınlığında ve 20x20 cm boyutlarındaki, Silica gel 60F₂₅₄ (Merck 5744) hazır kromatografi plağına uygulandı. Plak, IX no'lu çözücü sistemi kullanılarak bir kere develope edildi. Önce UV ışık altında incelemek ve daha sonra Dragendorff belirteci püskürterek yeri belirlenen bant kazındı. Kloroform:metanol (80:20) karışımı ile elüe edildi. Çözücü alçak basınç altında distillendikten sonra elde edilen bakiyenin İ.T.K. ile saf olduğu saptandı. 9.9 mg ağırlığındaki saf bileşiğe GN-1 kodu verildi.

III no'lu bandın kloroform:metanol (80:20) karışımı ile elüe edilmesiyle elde edilen bakiyenin yapılan İ.T.K. kontrolleri sonucunda saf olduğu saptandı. 3.4 mg ağırlığındaki bu bileşiğe ise A-4 kodu verildi.

2° C Kodlu Ana Fraksiyonun Çalışılması

C kodlu ana fraksiyon, preparatif sütun kromatografisine tabi tutuldu. Yapılan ön İ.T.K. çalışmaları neticesinde, C kodlu ana fraksiyonu en iyi ayırdığını saptadığımız IV no'lu çözücü sistemi kullanıldı. 0.4361 g ağırlığında olan C kodlu ana fraksiyon, kafi miktarda kloroform:metanol (80:20) karışımında çözülerek 3 g Silica gel 60 (70-230 mesh) (Merck 7734) adsorbana emdirildi. Çözücünün açık havada uçması sağlandı ve daha sonra bakiye sabit ağırlığa ulaşınca kadar desikatörde tutuldu.

25 g Silica gel H (Type 60) (Merck 7736)'dan tartıldı ve IV no'lu çözücü sistemiyle karıştırıldı. Elde edilen süspansiyon 3.5 cm çapındaki ve vakum uygulayarak çalışabilmek üzere dizayn edilmiş özel bir cam kromatografi sütununa dolduruldu.

Madde-adsorban karışımı, sütuna yüklendikten sonra aynı çözücü sistemi ile elüsyona başlandı. 900 mbar vakum altında, dakikada 40-50 damla olacak şekilde düzgün bir akış sağlandı. Fraksiyonlar 30'ar ml hacminde alındı. İ.T.K. sonuçlarına göre elüsyona 14. fraksiyondan itibaren V no'lu, 30. fraksiyondan itibaren VI no'lu, 49. fraksiyondan itibaren VII no'lu çözücü sistemleri ile devam edildi. Mukayeseli olarak yapılan İ.T.K. sonucunda elde edilen kromatogramlar, önce UV ışık altında incelendi. Daha sonra Dragendorff belirteci püskürtmek suretiyle alkaloit lekeleri belirgin hale getirildi. Aynı R_f değerinde ve benzer alkaloidal leke veren fraksiyonlar birleştirildi. Çözücü alçak basınç altında kuruluğa kadar distillendi. Elde edilen fraksiyonlar desikatörde bekletilerek sabit ağırlığa getirildikten sonra tartıldı.

C ana fraksiyonuna preparatif sütün kromatografisi uygulanması sonucunda kazanılan 19.6 mg ağırlığındaki 4 no'lu ara fraksiyonun, İ.T.K. ile yapılan kontrolleri sonucunda saf olmadığı anlaşıldı. Bakiye, kafi miktarda kloroform:metanol (80:20) karışımıyla çözülüp, bir adet 0.50 mm adsorban tabakası kalınlığında ve 20x20 cm boyutlarındaki Silica gel 60F₂₅₄ (Merck 5744) hazır cam preparatif İ.T.K. plağına uygulandı. Plak, XVI no'lu çözücü sistemi kullanılarak iki kez develope edildi. III olarak simgelenen ve önce UV ışık altında incelenen, daha sonra plak kenarına çok ince bir kısma Dragendorff belirteci püskürtülerek yeri belirlenen bir bant kazındı. Kloroform:metanol (80:20) karışımı ile elüe edildi. Alçak basınç altında kuruluğa kadar distillendi. Desikatörde sabit ağırlığa gelinceye kadar bekletildi ve tartıldı. 13.7 mg ağırlığındaki bileşiğin İ.T.K. ile kontrolünde saf olduğu belirlendi ve C-1 kodu verildi.

C ana fraksiyonundan elde edilen 33.9 mg ağırlığındaki 24-26 no'lu ara fraksiyonun İ.T.K. ile kontrolü sonucunda saf olmadığı anlaşıldı ve preparatif İ.T.K. tatbik edilmesine karar verildi. Kafi miktarda kloroform:metanol (80:20) karışımıyla çözülüp, bir adet 0.50 mm adsorban tabakası kalınlığında ve 20x20 cm boyutlarındaki Silica gel 60F₂₅₄ (Merck 5744) hazır cam preparatif İ.T.K. plağına uygulandı. Plak, XVII no'lu çözücü sistemi kullanılarak bir kere develope edildi. I olarak simgelenen bant, önce UV ışık altında ve daha sonra plak kenarına Dragendorff belirteci püskürtmek suretiyle yeri belirlenerek kazındı. Kloroform:metanol (80:20) karışımı ile elüe edildi. Çözücü alçak basınç altında distillendikten sonra bakiye desikatörde sabit ağırlığa gelinceye kadar bekletildi. 21.5 mg ağırlığındaki bileşiğin yapılan İ.T.K. kontrollerinde saf olduğu saptandı. Bu bileşiğe GN-2 kodu verildi.

Yine C ana fraksiyonunun, preparatif sütun kromatografisi sırasında elde edilen 26.1 mg ağırlığındaki 27-29 no'lu ara fraksiyonun İ.T.K. ile kontrol edilmesi sonucunda saf olmadığı anlaşıldı. Bakiye yeterli miktarda kloroform:metanol (80:20) karışımında çözüldü. Bir adet 0.50 mm adsorban tabakası kalınlığında ve 20x20 cm boyutlarındaki Silica gel 60F₂₅₄ (Merck 5744) hazır cam preparatif kromatografi plağına tatbik edildi. Plak, XII no'lu çözücü sistemi kullanılarak bir kere develope edildi. III olarak simgelenen bant, önce UV ışık altında incelemek ve daha sonra plak kenarına Dragendorff belirteci püskürtmek suretiyle yeri belirlenerek kazındı. Kloroform:metanol (80:20) karışımı ile elüe edildi. Bakiye desikatörde sabit vezne gelinceye kadar bekletildi. Elde edilen 19.3 mg ağırlığındaki maddenin İ.T.K. ile kontrolünde saf olduğu belirlendi. Bu maddeye GN-3 kodu verildi.

3° D Kodlu Ana Fraksiyonun Çalışılması

D kodlu ana sütun fraksiyonuna, 25 g Silica gel H (Type 60) (Merck 7736) ve VIII no'lu çözücü sistemi kullanılarak preparatif sütun kromatografisi uygulandı. 25 g silikagel ile söz konusu çözücü sistemi karıştırılarak süspansiyon haline getirildi. Yine 3.5 cm çapında, vakum uygulayarak çalışabilmek üzere dizayn edilmiş özel bir cam kromatografi sütununa dolduruldu.

0.4342 g ağırlığındaki D kodlu ana fraksiyon, yeterli miktarda kloroform:metanol (80:20) karışımı ile çözüldü ve 1.5 g Silica gel 60 (70-230 Mesh) (Merck 7734) adsorbana emdirildi. Çözücünün oda sıcaklığında açık havada uçması sağlandıktan ve bakiyenin desikatörde sabit ağırlığa ulaşincaya kadar tutulmasından sonra madde-adsorban karışımı sütuna yüklendi. 900 mbar vakum altında, dakikada 40-50 damla olacak şekilde düzgün bir akış hızı sağlandı. Fraksiyonlar 20'şer ml

hacminde alındı. Mukayeseli olarak yapılan İ.T.K. çalışmaları sonucunda elde edilen kromatogramlar, önce UV ışık altında incelendi. Daha sonra Dragendorff püskürtme belirteci uygulanarak alkaloid lekeleri belirgin hale getirildi. Aynı R_f değerleri ve benzer alkaloid lekelerine sahip olan fraksiyonlar birleştirildi. Çözücü alçak basınç altında kuruluğa kadar distillendi. Bakiye desikatörde sabit ağırlığa ulaşınca kadar bekletildikten sonra tartıldı.

İ.T.K. kontrolleri sonucunda birleştirilen 71.2 mg ağırlığındaki 8-9 no'lu ara fraksiyonun saf olmadığı anlaşıldı. Bu nedenle, bakiye yeterli miktarda kloroform:metanol (80:20) karışımında çözülüp, Silica gel 60 G (Merck 7731) ve Silica gel 60 HF₂₅₄ (Merck 7739) adsorban karışımı ile tarafımızdan hazırlanmış 0.50 mm adsorban tabakası kalınlığında ve 20x20 cm boyutlarındaki 2 adet preparatif İ.T.K. plağına tatbik edildi. Plaklar, XII no'lu çözücü sistemi kullanılarak bir kere develope edildi. Önce UV ışık altında incelemek ve daha sonra Dragendorff belirteci püskürtülerek yerleri belirlenen IV ve V olarak simgelenen iki bant kazındı. Kloroform:metanol (80:20) karışımıyla elüe edildi. IV no'lu bandın elüe edilmesi neticesinde elde edilen bakiyenin (5.7 mg) saf olmadığı İ.T.K. ile kontrol edilerek anlaşıldı. Bir adet 0.50 mm adsorban tabakası kalınlığında ve 10x20 cm boyutlarındaki Silica gel 60F₂₅₄ (Merck 5744) hazır cam preparatif İ.T.K. plağı kullanılarak ve plak XIII no'lu çözücü sistemi ile iki kez develope edilerek preparatif İ.T.K. uygulandı. Önce UV ışık altında incelemek ve daha sonra plak kenarına çok ince bir kısma Dragendorff belirteci püskürtmek suretiyle yeri belirlenen IVa olarak simgelenen bant kazındı. Kloroform:metanol (80:20) karışımı ile elüe edildi. Çözücü alçak basınç altında kuruluğa kadar distillendi. Bakiye sabit vevne gelinceye kadar

desikatörde bekletildi. Elde edilen 2.9 mg ağırlığındaki bileşiğin İ.T.K. ile kontrollerinde saf olduğu saptandı. Bu bileşiğe D-1 kodu verildi.

8-9 no'lu ara fraksiyona, preparatif İ.T.K. uygulanması sonucunda V olarak simgelenen bandın kazınması ve elüe edilmesiyle elde edilen bakiyenin (13 mg) İ.T.K. ile kontrolleri neticesinde saf olmadığı anlaşıldı. Bir adet 0.50 mm adsorban tabakası kalınlığında ve 20x20 cm boyutlarındaki Silica gel 60F₂₅₄ (Merck 5744) hazır cam preparatif İ.T.K. plağı kullanılarak ve plak XIV no'lu çözücü sistemi ile iki kez developpe edilerek preparatif İ.T.K. uygulandı. Önce UV ışık altında incelemek ve daha sonra plak kenarına çok ince bir kısma Dragendorff belirteci püskürtülerek yeri saptanan Va olarak işaretlenen bant kazındı. Kloroform:metanol (80:20) karışımı ile elüe edildi. Çözücü alçak basınç altında kuruluğa kadar distillendi. Bakiye sabit vevne gelinceye kadar desikatörde bekletildi. Elde edilen 4.8 mg ağırlığındaki bileşiğin İ.T.K. ile kontrol edilmesi sonucunda saf olduğu saptandı. Bu bileşiğe D-2 kodu verildi.

D kodlu ana fraksiyonun vakum uygulamalı preparatif sütun kromatografisi ile saflaştırılması sırasında elde edilen 61.2 mg ağırlığındaki 10-13 no'lu ara fraksiyonun, İ.T.K. ile kontrol edilmesi sonucunda saf olmadığı anlaşıldı. 10-13 no'lu ara fraksiyon, yeterli miktarda kloroform:metanol (80:20) karışımında çözülüp, iki adet Silica gel 60 G (Merck 7731) ve Silica gel 60 HF₂₅₄ (Merck 7739) adsorban karışımı ile tarafımızdan hazırlanmış 0.50 mm adsorban tabakası kalınlığında ve 20x20 cm boyutlarındaki preparatif İ.T.K. plağına uygulandı. Plaklar, XIV no'lu çözücü sistemi ile bir kere developpe edildi. III, IV, V, VI olarak simgelenen ve önce UV ışık altında incelemek ve daha sonra plak kenarına çok ince bir kısma Dragendorff belirteci püskürtmek suretiyle yerleri belirlenen bantlar kazındı.

Kloroform:metanol (80:20) karışımı ile elüe edildi. III no'lu bandın elüe edilip, çözücüsünün alçak basınçta distillenmesi suretiyle kazanılan bakiye (14.9 mg) aseton-metanol üzerinden kristallendirildi. 7.3 mg ağırlığındaki kristallerin İ.T.K. ile kontrol edilmesi sonucu saf olduğu anlaşıldı. Bu maddeye D-3 kodu verildi.

IV olarak işaretlenen bandın kazınıp, elüe edilmesiyle kazanılan bakiyenin (10.3 mg) yapılan İ.T.K. kontrolleri neticesinde saf olmadığı anlaşıldı. Bu nedenle bir adet 0.50 mm adsorban tabakası kalınlığında ve 20x20 cm boyutlarındaki Silica gel 60F₂₅₄ (Merck 5744) hazır cam preparatif İ.T.K. plağı kullanılarak ve plak XIII no'lu çözücü sistemi ile iki kez developpe edilerek preparatif İ.T.K. uygulandı. Önce UV ışık altında incelemek ve daha sonra plak kenarına çok ince bir kısma Dragendorff belirteci püskürterek yeri tespit edilen IVb olarak işaretlenen bant kazındı. Kloroform:metanol (80:20) karışımı ile elüe edildi. Çözücü alçak basınç altında kuruluğa kadar distillendi. Bakiye sabit vezne gelinceye kadar desikatörde bekletildi. 3 mg ağırlığındaki bakiyenin İ.T.K. ile kontrolünde saf olduğu belirlendi. Bu maddeye GN-4 kodu verildi.

V olarak simgelenen bant kazınıp, kloroform:metanol (80:20) karışımı ile elüe edildi. Çözücü alçak basınç altında kuruluğa kadar distillendi. Bakiye sabit vezne gelinceye kadar desikatörde bekletildi. Bakiyenin (6.1 mg) İ.T.K. ile kontrol edilerek saf olduğu saptandı ve D-4 kodu verildi.

Daha sonra yapılan İ.T.K. çalışmalarında D-2 ve D-4 kodlu maddelerin aynı oldukları anlaşıldı. Bunlar GN-5 kodu adı altında birleştirildi.

VI olarak simgelenen bant kazınıp kloroform:metanol (80:20) karışımı ile elüe edildi. Çözücü alçak basınç altında kuruluğa kadar distillendi. Bakiye sabit

vezne gelinceye kadar desikatörde bekletildi. Bakiyenin (12 mg) saf olmadığı İ.T.K. ile belirlendi. Bu nedenle bir adet 0.50 mm adsorban tabakası kalınlığında ve 20x20 cm boyutlarındaki Silica gel 60F₂₅₄ (Merck 5744) hazır cam preparatif İ.T.K. plağı kullanılarak ve plak XIII no'lu çözücü sistemi kullanmak suretiyle iki kez develope edilerek preparatif İ.T.K. uygulandı. Önce UV ışık altında incelemek ve daha sonra plak kenarına çok ince bir kısma Dragendorff belirteci püskürtmek suretiyle yeri tespit edilen VIb olarak simgelenen bant kazındı. Kloroform:metanol (80:20) karışımı ile elüe edildi. Çözücü alçak basınç altında kuruluğa kadar distillendi. Bakiye sabit vezne gelinceye kadar desikatörde bekletildi. 2.4 mg ağırlığındaki bakiyenin İ.T.K. ile saf olduğu saptandı. Bu maddeye D-5 kodu verildi.

Daha sonra yapılan İ.T.K. çalışmaları neticesinde D-1 ve D-5 kodlu maddelerin aynı oldukları anlaşıldı ve bunlar da GN-6 kodu altında birleştirildi.

D kodlu ana fraksiyondan elde edilen 17.5 mg ağırlığındaki 24-27 no'lu ara fraksiyonun İ.T.K. ile kontrol edilmesi sonucu saf olmadığı anlaşıldı. Yeterli miktarda kloroform:metanol (80:20) karışımında çözüldü. Bir adet 0.50 mm adsorban tabakası kalınlığında ve 20x20 cm boyutlarındaki Silica gel 60F₂₅₄ (Merck 5744) hazır cam preparatif İ.T.K. plağına uygulandı. Plak, XV no'lu çözücü sistemi kullanılarak bir kere develope edildi. I olarak işaretlenen ve önce UV ışık altında incelemek daha sonra ise plak kenarına çok ince bir kısma Dragendorff belirteci püskürtülerek yeri belirlenen bir bant kazındı. Kloroform:metanol (80:20) karışımı ile elüe edildi. Bakiye sabit vezne gelinceye kadar desikatörde bekletildi. 5.3 mg ağırlığında elde edilen bileşiğin İ.T.K. ile kontrolü sonucunda saf olduğu belirlendi. Bu bileşiğe GN-7 kodu verildi.

4° F Kodlu Ana Fraksiyonun Çalışılması

0.9685 g ağırlığındaki F kodlu ana fraksiyonun çeşitli çözücü sistemleri denenerek gerçekleştirilen İ.T.K. uygulamaları sonucunda büyük oranda bir ana alkaloit içerdiği belirlendi. Ayırma ve saflaştırma yöntemlerinden biri olan kristallendirme işlemi, metanol üzerinden yapılarak 450 mg ağırlığındaki F-1 kodlu bileşik elde edildi. Bileşiğin İ.T.K. ile saflığı kontrol edildi ve kromatografik saflıkta olduğu saptandı.

Daha sonra yapılan İ.T.K. çalışmaları neticesinde D-3 ve F-1 kodu verilen bileşiklerin aynı oldukları tespit edildi ve bunlar GN-8 kodu adı altında birleştirildi.

5° G Kodlu Ana Fraksiyonun Çalışılması

G kodlu ana sütun fraksiyonu vakum uygulamalı preparatif sütun kromatografisine tabi tutuldu. Bunun için bu fraksiyonu en iyi ayıran IX no'lu çözücü sisteminden yararlanıldı.

20 g Silica gel H (Type 60) (Merck 7736) aynı çözücü sistemi ile karıştırılarak elde edilen süspansiyon, 3.5 cm çapında ve vakum uygulayarak çalışabilmek üzere dizayn edilmiş özel bir cam kromatografi sütununa dolduruldu.

0.3532 g ağırlığında olan G kodlu ana fraksiyon, kafi miktarda kloroform:metanol (80:20) karışımında çözülüp 2 g Silica gel 60 (70-230 mesh) (Merck 7734) adsorbana emdirildi. Oda sıcaklığında ve açık havada çözücüsünün uçması temin edildi ve daha sonra sabit ağırlığa ulaşıncaya kadar desikatörde tutuldu.

Madde-adsorban karışımı sütuna ilave edildikten sonra IX no'lu çözücü sistemi ile elüsyona başlandı. 900 mbar vakum altında dakikada 40-50 damla olacak

şekilde düzgün bir akış elde edilip 20'şer ml hacminde fraksiyonlar alındı. Alınan fraksiyonların mukayeseli olarak yapılan İ.T.K. çalışmaları sonucunda elde edilen kromatogramlar önce UV ışık altında incelendi. Daha sonra Dragendorff belirteci püskürtülerek alkaloid lekeleri belirgin hale getirildi. Aynı R_f değerinde ve benzer alkaloid lekeleri veren fraksiyonlar birleştirildi. Çözücü alçak basınç altında kuruluğa kadar distillendi. Bakiye desikatörde sabit ağırlığa gelinceye kadar bekletildi ve tartıldı.

Bu işlemler neticesinde kazanılan 15.8 mg ağırlığındaki 2 no'lu ara fraksiyonun ve 14.7 mg ağırlığındaki 3 no'lu ara fraksiyonun İ.T.K. ile kontrolleri sonucunda saf olmadığı belirlendi. 2 ve 3 no'lu ara fraksiyonlar ayrı ayrı olmak üzere kafi miktarda kloroform:metanol (80:20) karışımında çözüldü. Birer adet 0.50 mm adsorban tabakası kalınlığında ve 20x20 cm boyutlarındaki Silica gel 60F₂₅₄ (Merck 5744) hazır cam preparatif İ.T.K. plaklarına uygulandı. Plaklar, XVIII no'lu çözücü sistemi kullanılarak bir kere develope edildi. Önce UV ışık altında incelemek ve daha sonra plak kenarına çok ince bir kısma Dragendorff belirteci püskürtmek suretiyle yerleri belirlenen 2A ve 3A olarak simgelenen bantlar ayrı ayrı olmak üzere kazındı. Kloroform:metanol (80:20) karışımı ile elüe edildi. Çözücü alçak basınç altında distillendi. Daha sonra yapılan İ.T.K. kontrolleri sonucunda 2A ve 3A olarak işaretlenen bileşiklerin saf olmadığı ancak benzer alkaloid lekeleri ve aynı R_f değerleri verdikleri için birleştirilmelerine karar verildi. Birleştirilen 4.3 mg ağırlığındaki söz konusu ürüne XIX no'lu çözücü sistemi ile bir adet 0.25 mm adsorban tabakası kalınlığında ve 10x20 cm boyutlarındaki Silica gel 60F₂₅₄ (Merck 5715) hazır cam kromatografi plağı kullanılmak suretiyle tekrar preparatif İ.T.K. uygulandı. Plak, bir kez develope edildi. Önce UV ışık altında incelemek ve daha

sonra plak kenarına çok ince bir kısma Dragendorff belirteci püskürtmek suretiyle yeri tespit edilen 2-3AA olarak işaretlenen bir bant kazındı. Kloroform:metanol (80:20) karışımı ile elüe edildi. Çözücü alçak basınç altında kuruluğa kadar distillendi. Bakiye desikatörde sabit vezne gelinceye kadar bekletildi. Elde edilen 3.6 mg ağırlığındaki bileşiğin İ.T.K. kontrollerinde saf olduğu saptandı. Bu bileşiğe G-1 kodu verildi.

Daha sonra yapılan İ.T.K. çalışmalarında G-1 kodlu bileşiğin A-2, A-4 ve C-1 kodlu bileşiklerle aynı olduğu saptandı. Hepsini GN-9 kodu adı altında birleştirildi.

G kodlu ana fraksiyonun vakum uygulamalı preparatif sütun kromatografisi ile saflaştırılması sırasında elde edilen 46.6 mg ağırlığındaki 5 no'lu ara fraksiyonun İ.T.K. ile kontrol edilmesi sonucunda saf olmadığı anlaşıldı. Bu nedenle bir adet 0.50 mm adsorban tabakası kalınlığında ve 20x20 cm boyutlarındaki Silica gel 60F₂₅₄ (Merck 5744) hazır cam preparatif İ.T.K. plağı kullanılarak ve plak XX no'lu çözücü sistemi ile bir kere develope edilerek preparatif İ.T.K. uygulandı. Önce UV ışık altında incelemek ve daha sonra plak kenarına çok ince bir kısma Dragendorff belirteci püskürterek yeri tespit edilen 5D olarak simgelenen bant kazındı. Kloroform:metanol (80:20) karışımı ile elüe edildi. Çözücü alçak basınç altında kuruluğa kadar distillendi. Bakiye sabit vezne gelinceye kadar desikatörde bekletildi. 14.8 mg ağırlığındaki ürünün yapılan İ.T.K. kontrolleri neticesinde saf olmadığı anlaşıldı. Bir adet 0.50 mm adsorban tabakası kalınlığında ve 20x20 cm boyutlarındaki Silica gel 60F₂₅₄ (Merck 5744) hazır cam preparatif İ.T.K. plağı kullanılarak ve plak XXI no'lu çözücü sistemi kullanmak suretiyle bir kere develope edilerek preparatif İ.T.K. uygulandı. Önce UV ışık altında incelenen ve daha sonra plak kenarına çok ince bir kısma Dragendorff belirteci püskürterek yeri belirlenen

5DD olarak işaretlenen bant kazındı. Kloroform:metanol (80:20) karışımı ile elüe edildi. Çözücü alçak basınç altında distillendikten sonra bakiye sabit ağırlığa ulaşınca kadar desikatörde bekletildi. Elde edilen bakiyenin (10.7 mg) İ.T.K. ile saf olduğu belirlendi ve bu maddeye GN-10 kodu verildi.

G ana fraksiyonundan elde edilen 6-7 no'lu ara fraksiyonun yapılan İ.T.K. kontrolleri neticesinde saf olduğu tespit edildi. Elde edilen 103.4 mg ağırlığındaki bu bileşiğe GN-11 kodu verildi.



IV. SPEKTRAL BULGULAR

A. GN-1 BİLEŞİĞİNİN SPEKTRAL BULGULARI

UV (Spektrum No 1)

MeOH

λ_{maks} nm (log ϵ) 207 (4.48), 252 (4.79), 267 sh (4.42), 279 (4.38), 308 (4.02), 336 (3.73), 352 (3.71).

IR (Spektrum No 2)

KBr

ν_{maks} cm^{-1} 1620, 1585, 1495, 1465, 1415, 1395, 1380, 1335, 1290, 1255, 1225, 1195, 1115, 1105, 1095, 1035, 955, 935, 885, 855, 830, 750.

CI Kütle (Spektrum No 3)

m/z 224 $[\text{M}+\text{H}^+]$.

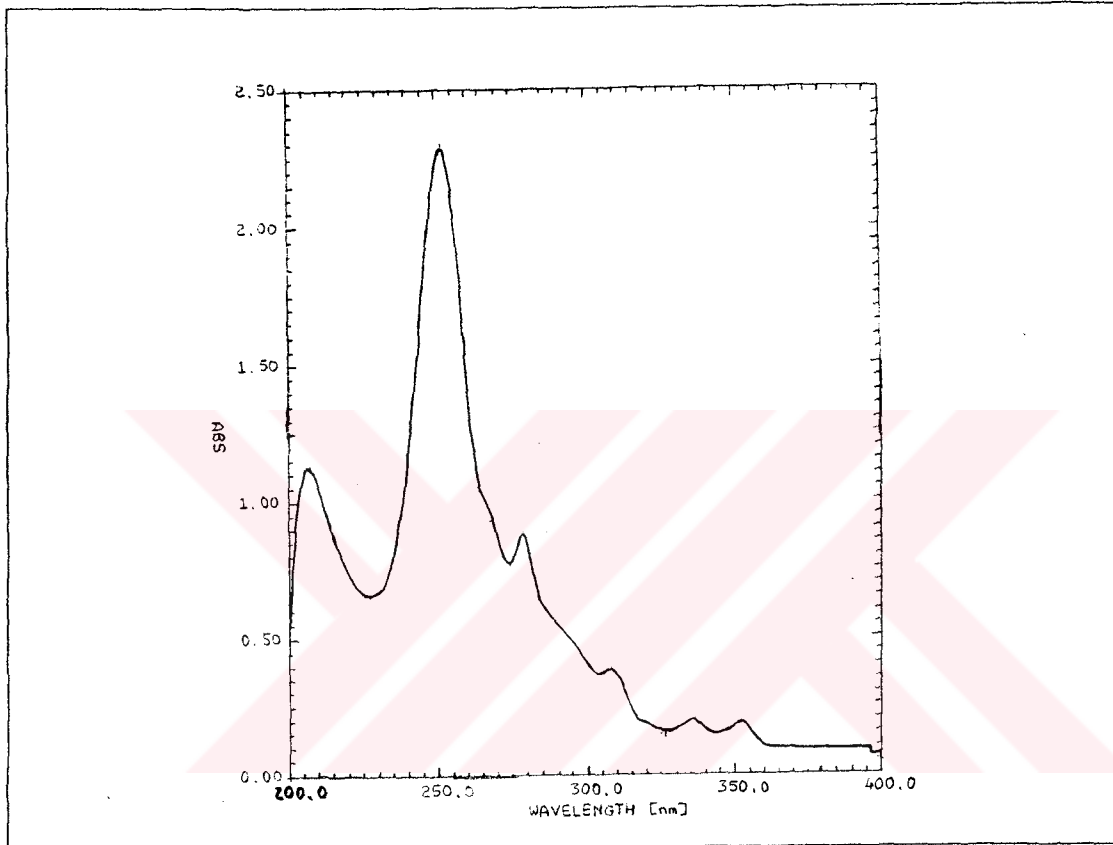
¹H NMR (Spektrum No 4)300 MHz, CD₃OD

δ 8.95 (1H, s, H-6), 8.43 (1H, dd, *J* = 8.1, 1.6, H-1), 7.97 (1H, dd, *J* = 8.1, 1.6, H-4),
7.94 (1H, s, H-10), 7.67 (1H, ddd, *J* = 7.8, 7.0, 1.5, H-3), 7.61 (1H, ddd, *J* = 7.8, 7.0,
1.5, H-2), 7.36 (1H, s, H-7), 6.15 (2H, s, OCH₂O).

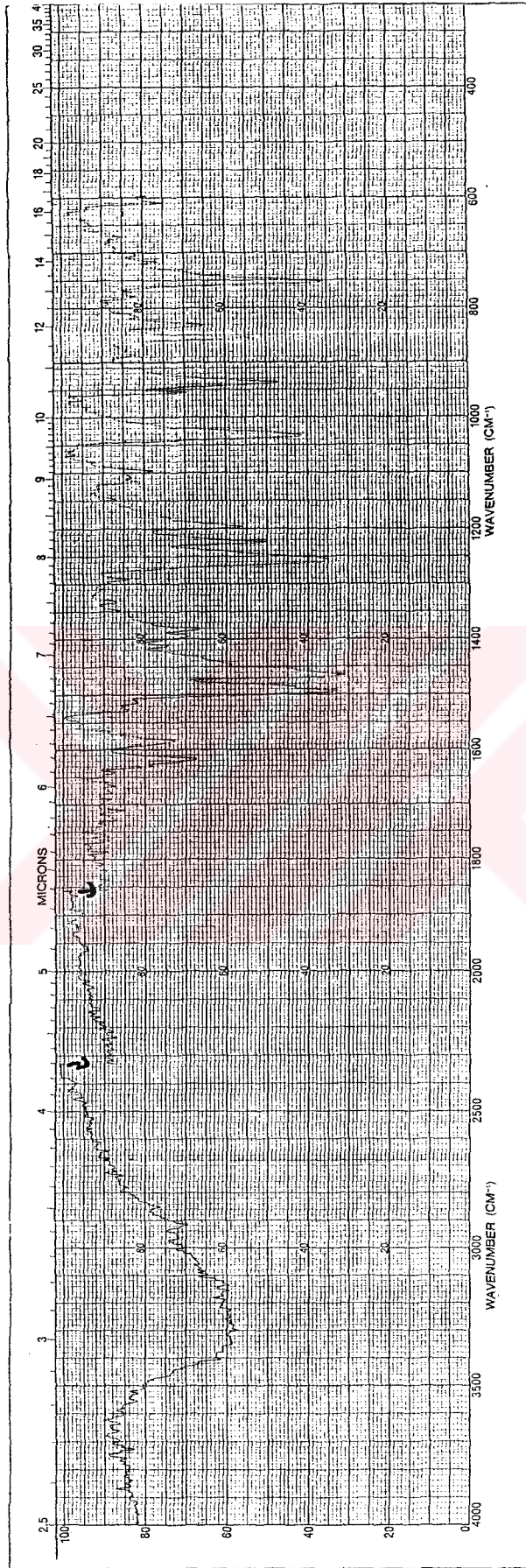
¹³C NMR (Spektrum No 5)75 MHz, CD₃OD

δ 153.7 (C-8), 152.7 (C-6), 150.0 (C-9), 144.3 (C-4a), 131.8 (C-10a), 129.5 (C-4),
129.2 (C-3), 128.0 (C-2), 125.7 (C-6a), 124.3 (C-10b), 123.6 (C-1), 106.4 (C-7),
103.6 (OCH₂O), 100.8 (C-10).

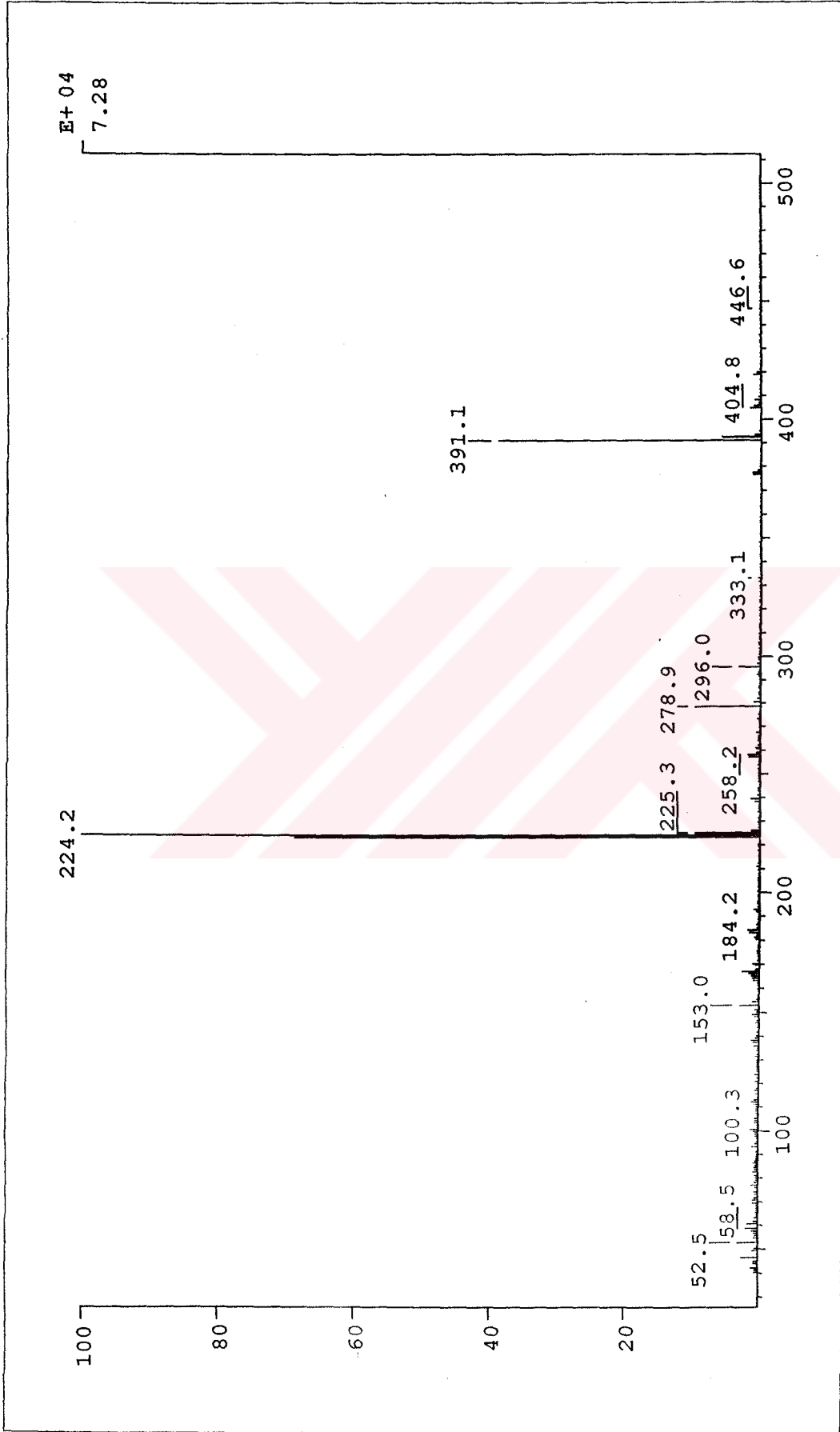
DEPT 135 (Spektrum No 6)



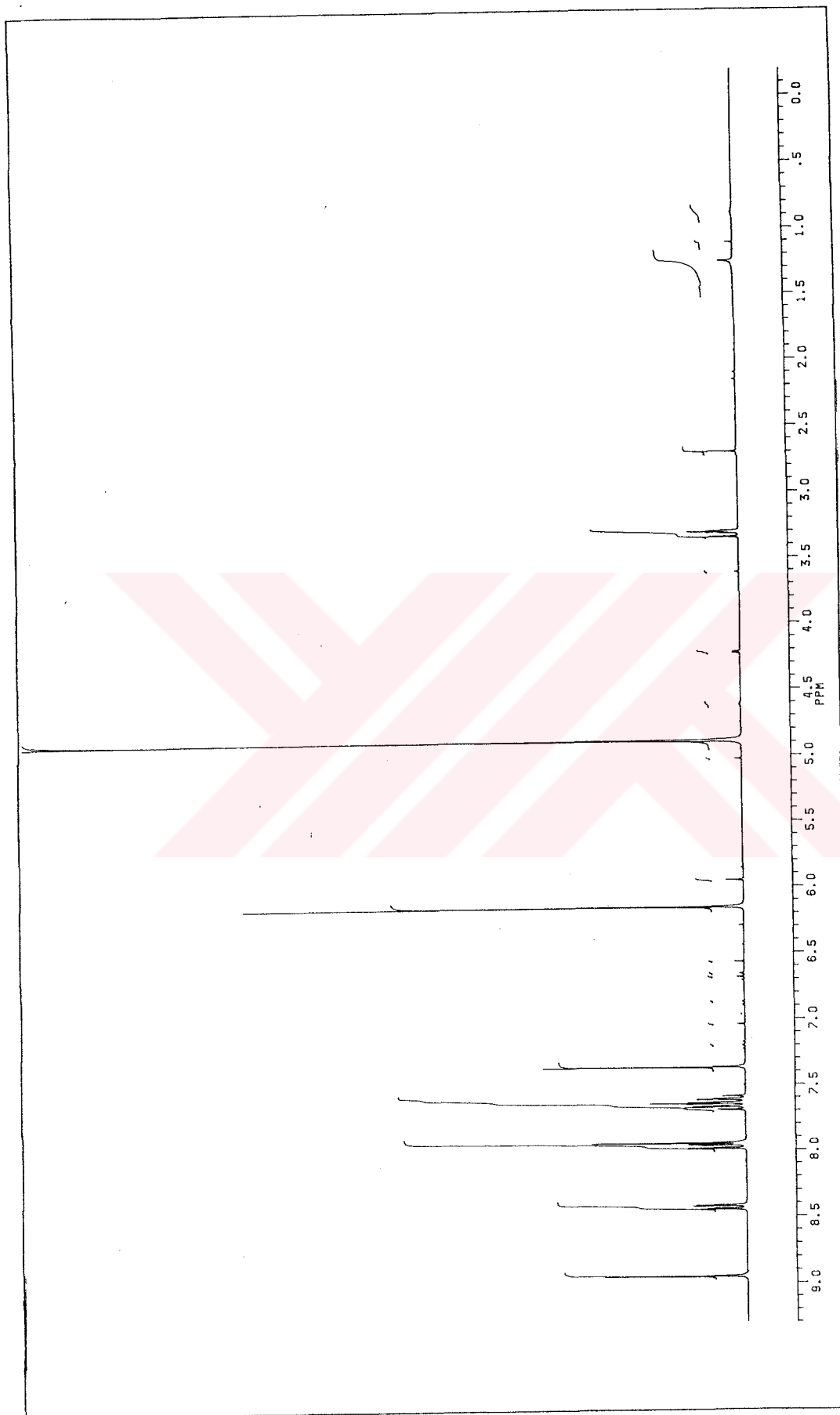
Spektrum No 1. GN-1 Bileşğinin UV Spektrumu

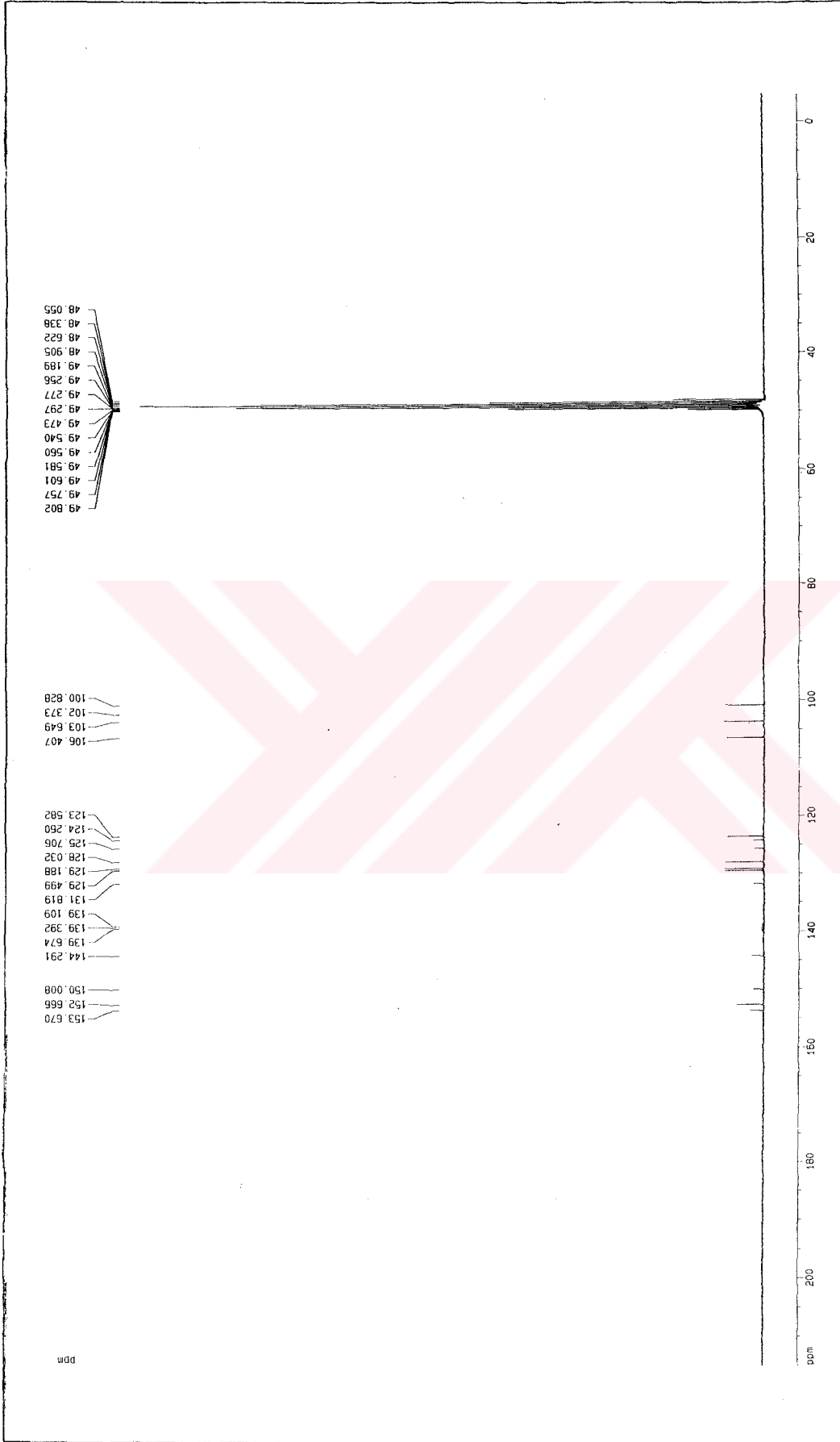


Spektrum No 2. GN-1 Bileşiminin IR Spektrumu

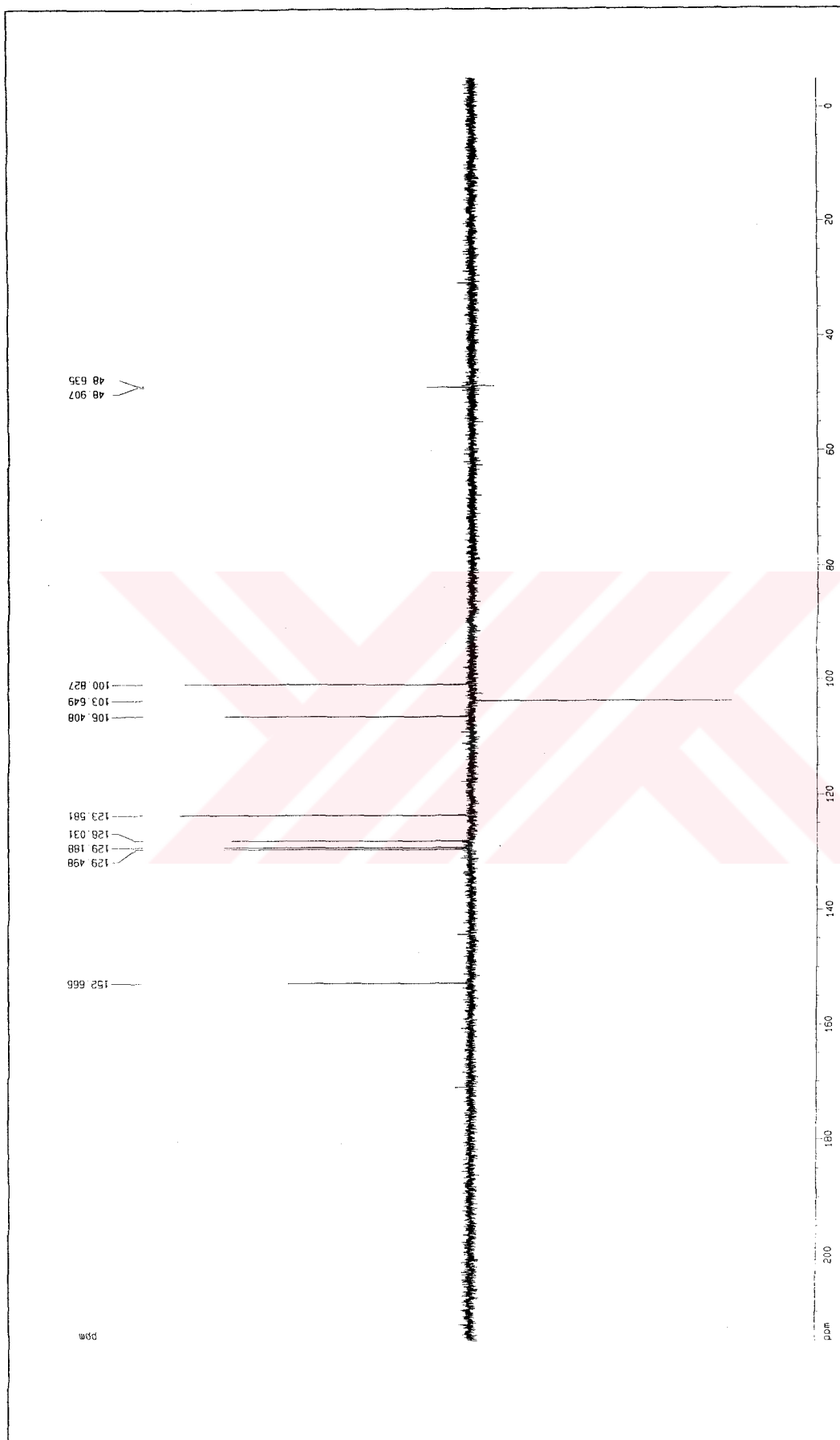


Spektrum No 3. GN-1 Bileşiminin CI Kütle Spektrumu

Spektrum No 4. GN-1 Bileşğinin ^1H NMR Spektrumu



Spektrum No 5. GN-1 Bileşiminin ¹³C NMR Spektrumu



Spektrum No 6. GN-1 Bileşinin DEPT 135 Spektrumu

B. GN-2 BİLEŞİĞİNİN SPEKTRAL BULGULARI

UV (Spektrum No 7)

MeOH

λ_{maks} nm (log ϵ) 292 (3.76).

CD (Spektrum No 8)

MeOH

nm (log ϵ) 313 (0), 293 (-0.33), 270 (-0.10), 236 sh (-0.57), 225 (-1.04), 221 (-0.94),
214 (-1.26).

IR (Spektrum No 9)

CHCl₃

ν_{maks} cm⁻¹ 3440, 3000, 2925, 2895, 1670, 1620, 1600, 1575, 1505, 1480, 1450, 1410,
1380, 1365, 1345, 1295, 1235, 1210, 1160, 1125, 1105, 1080, 1040, 1015, 985, 960,
935, 875, 840.

EI Kütle (Spektrum No 10)

m/z (%) 285 (M⁺, 12), 265 (11), 257 (15), 239 (18), 238 (100), 225 (12), 224 (10),
196 (12), 180 (10), 168 (25), 167 (15), 166 (10), 152 (11), 151 (11), 149 (20), 139
(18), 127 (13), 125 (11), 123 (13), 115 (20), 113 (11), 112 (13), 111 (35), 110 (13),
109 (15), 107 (15), 106 (10), 100 (13), 91 (35), 83 (55), 73 (59), 69 (60), 57 (60), 55
(85).

^1H NMR (Spektrum No 11)

300 MHz, CDCl_3

Majör İzomer

δ 8.06 (1H, s, CHO), 7.40-7.12 (4H, m, H-1, H-2, H-3, H-4), 6.95 (1H, s, H-7), 6.47 (1H, s, H-10), 5.92 (2H, 2s, OCH_2O), 4.26 (1H, d, $J=12.4$, H-6), 4.21 (1H, d, $J=12.4$, H-6), 2.85 (3H, s, NCH_3).

Minör İzomer

δ 7.87 (1H, s, CHO), 7.40-7.12 (4H, m, H-1, H-2, H-3, H-4), 6.96 (1H, s, H-7), 6.48 (1H, s, H-10), 5.91 ve 5.90 (2H, 2s, OCH_2O), 4.37 (1H, d, $J=12.2$, H-6), 4.16 (1H, d, $J=12.2$, H-6), 3.10 (3H, s, NCH_3).

^{13}C NMR (Spektrum No 12)

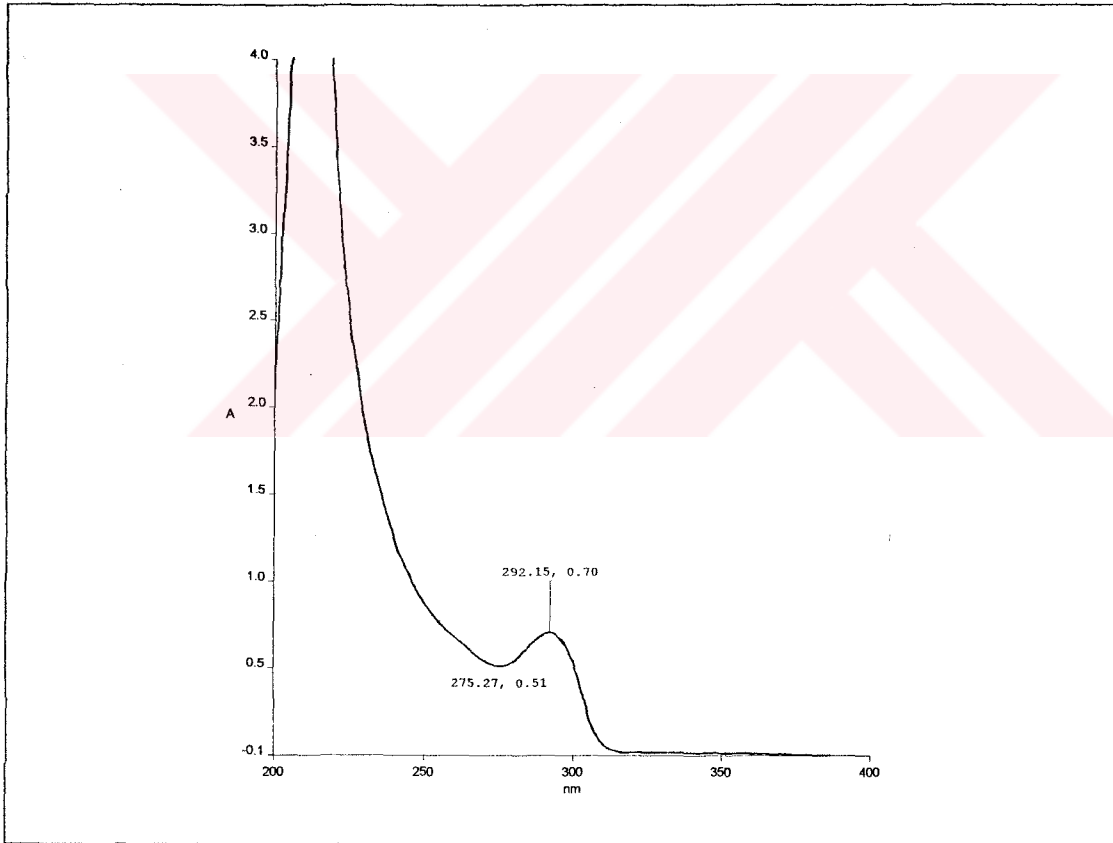
75 MHz, CDCl_3

Majör İzomer

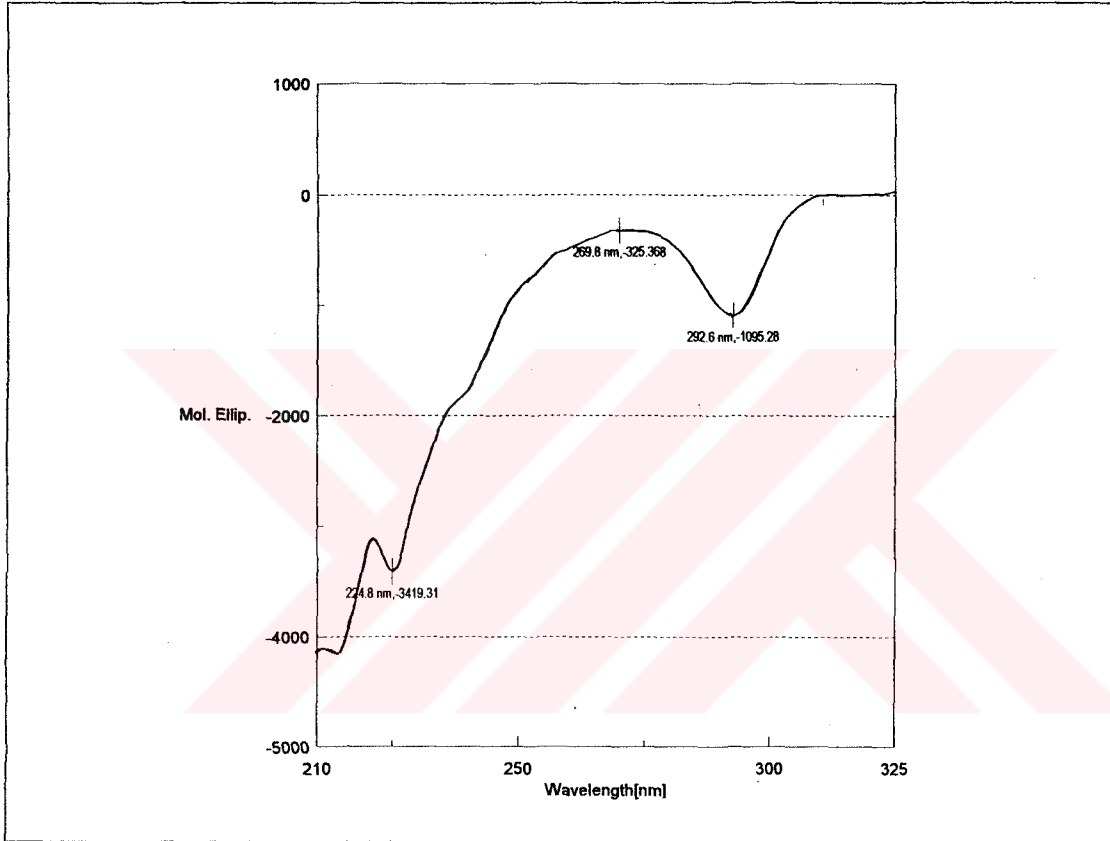
δ 163.1 (CHO), 147.7 (C-8), 147.0 (C-9), 140.4 (C-4a), 137.3 (C-10b), 132.0 (C-6a), 132.0 (C-1), 130.3 (C-10a), 128.9 (C-3), 127.6 (C-2), 126.9 (C-4), 109.6 (C-10), 108.7 (C-7), 101.3 (OCH_2O), 62.4 (C-6), 33.1 (NCH_3).

Minör İzomer

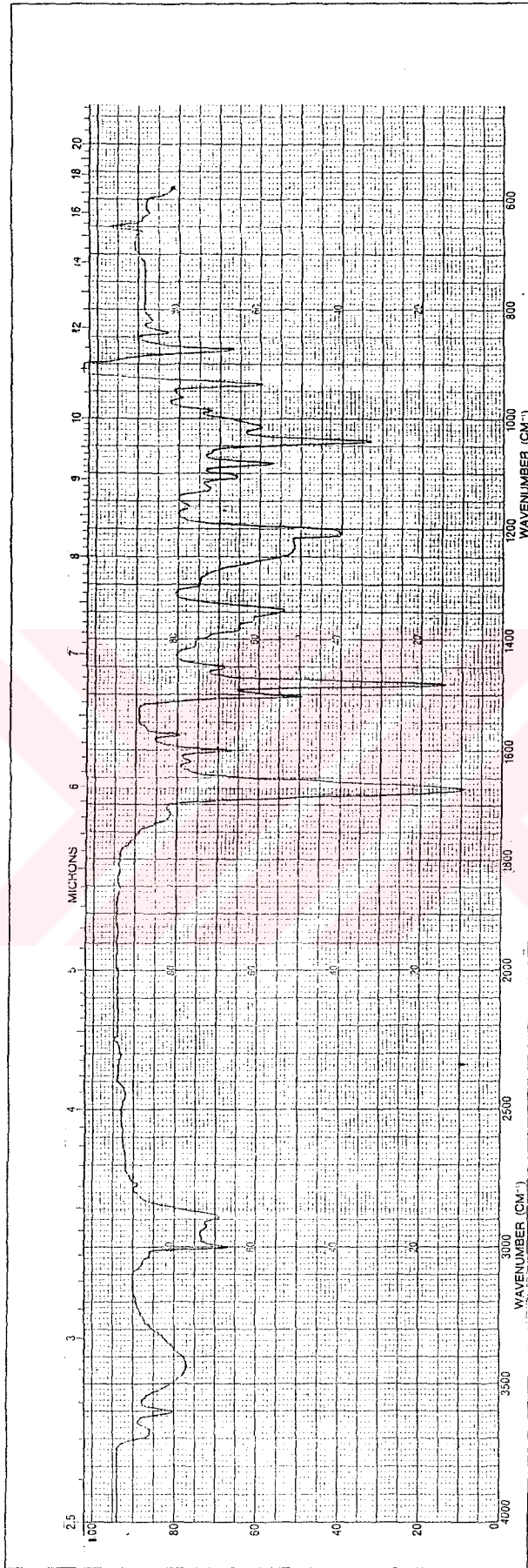
δ 162.4 (CHO), 147.5 (C-8), 146.3 (C-9), 138.8 (C-10b), 138.5 (C-4a), 132.3 (C-6a), 132.3 (C-1), 130.7 (C-10a), 128.9 (C-3), 127.8 (C-2), 126.9 (C-4), 109.8 (C-7), 108.4 (C-10), 101.1 (OCH₂O), 62.2 (C-6), 38.1 (NCH₃).

DEPT 135 (Spektrum No 13)

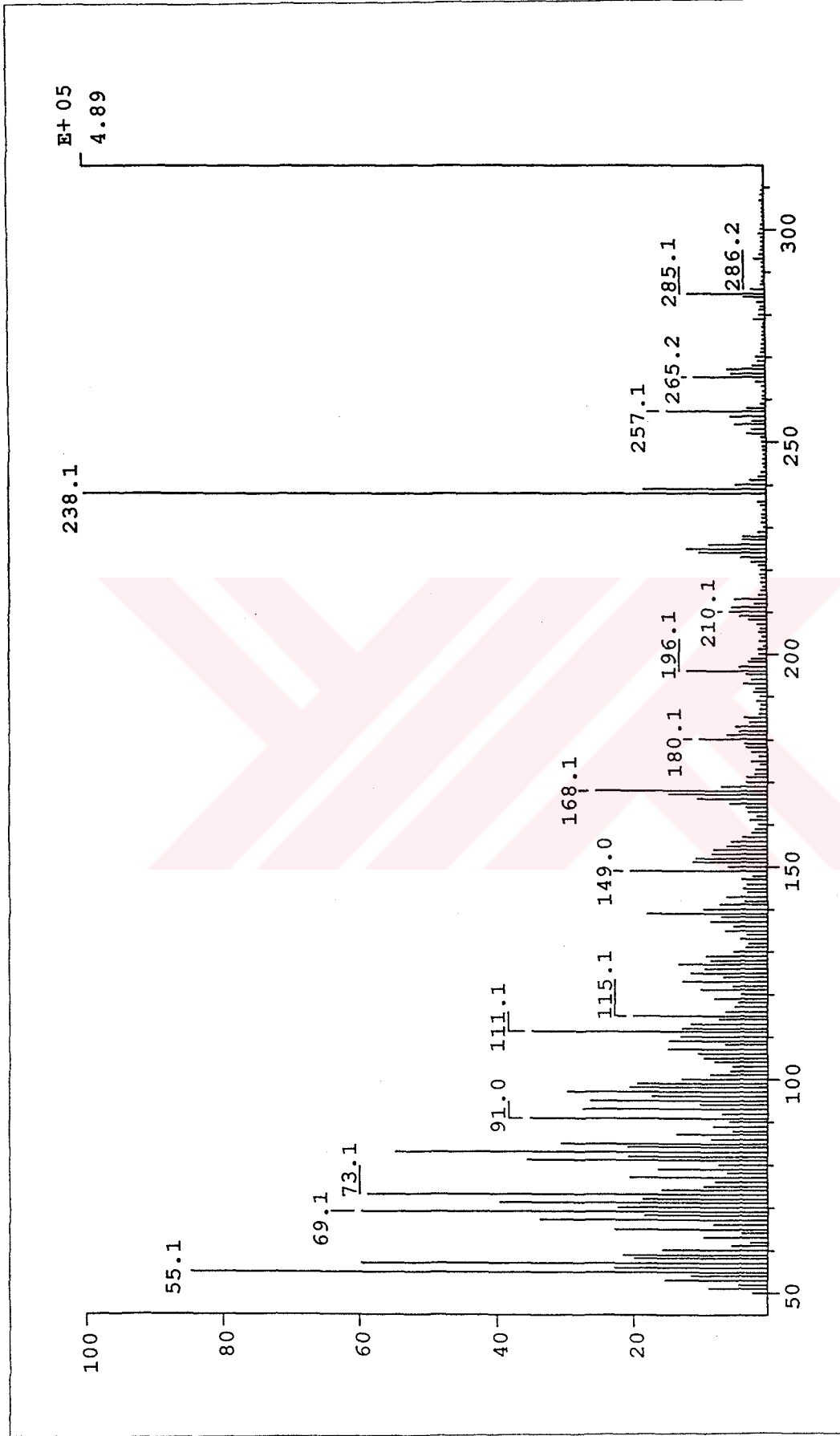
Spektrum No 7. GN-2 Bileşğinin UV Spektrumu



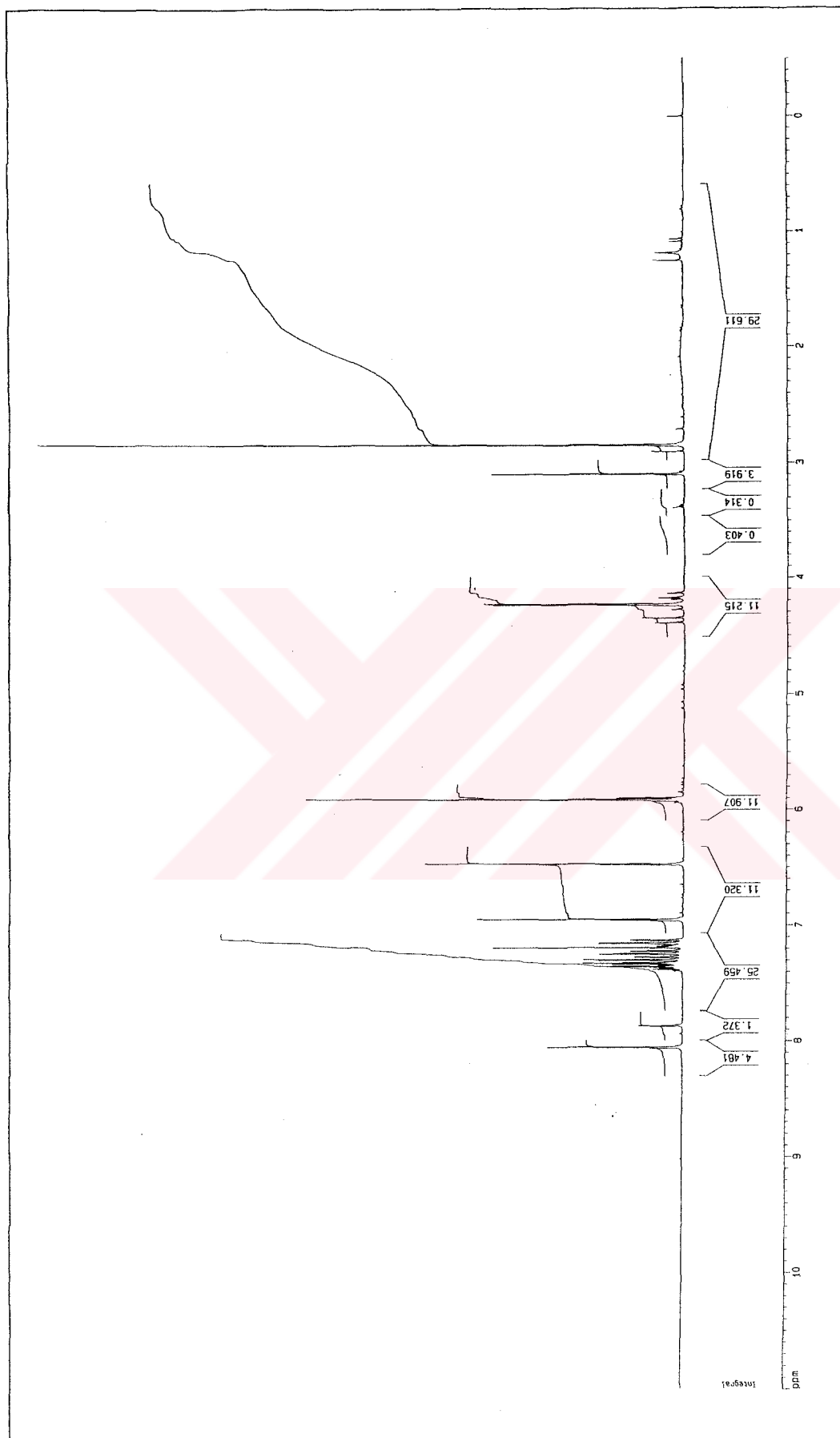
Spektrum No 8. GN-2 Bileşğinin CD Spektrumu

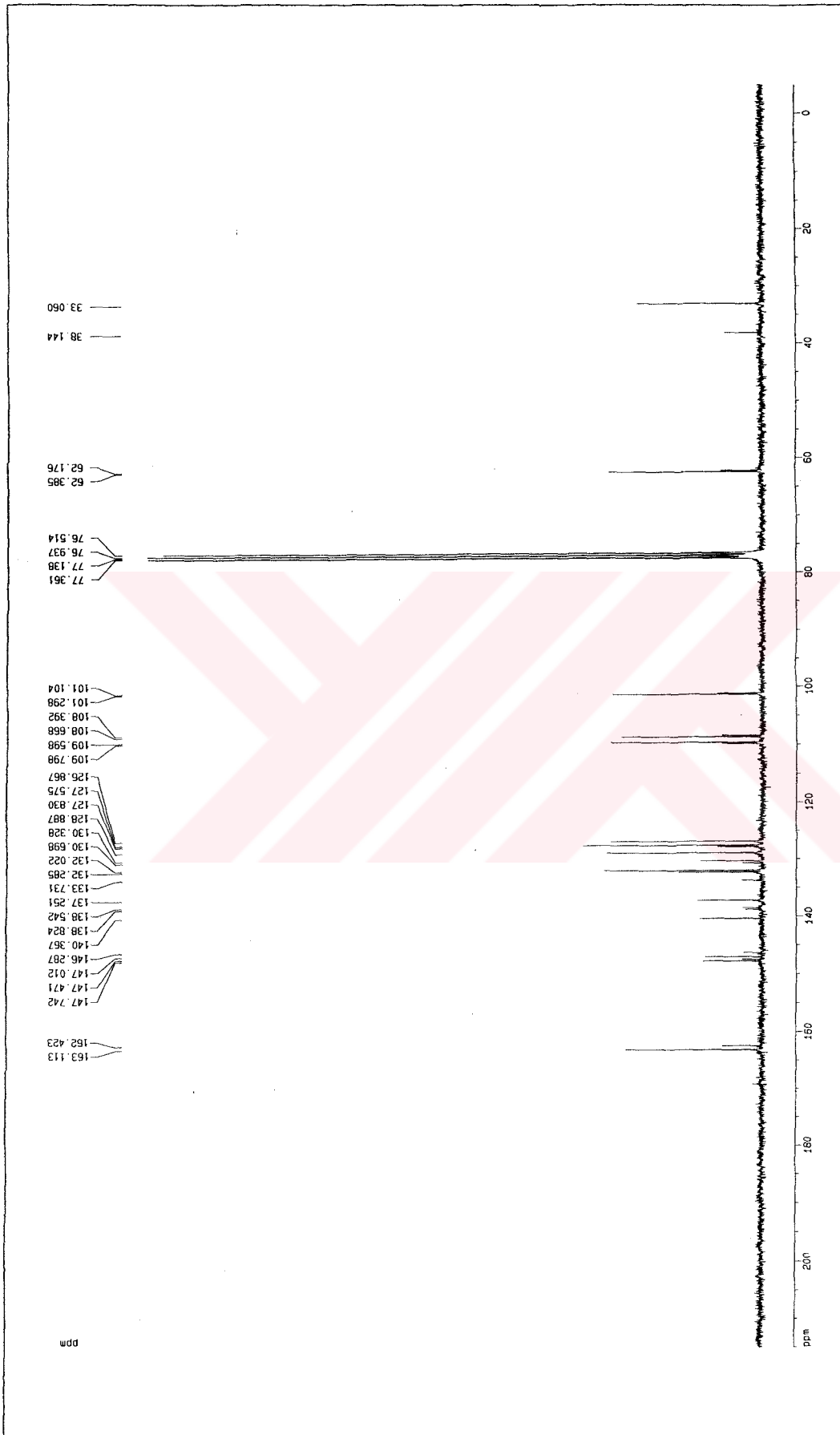


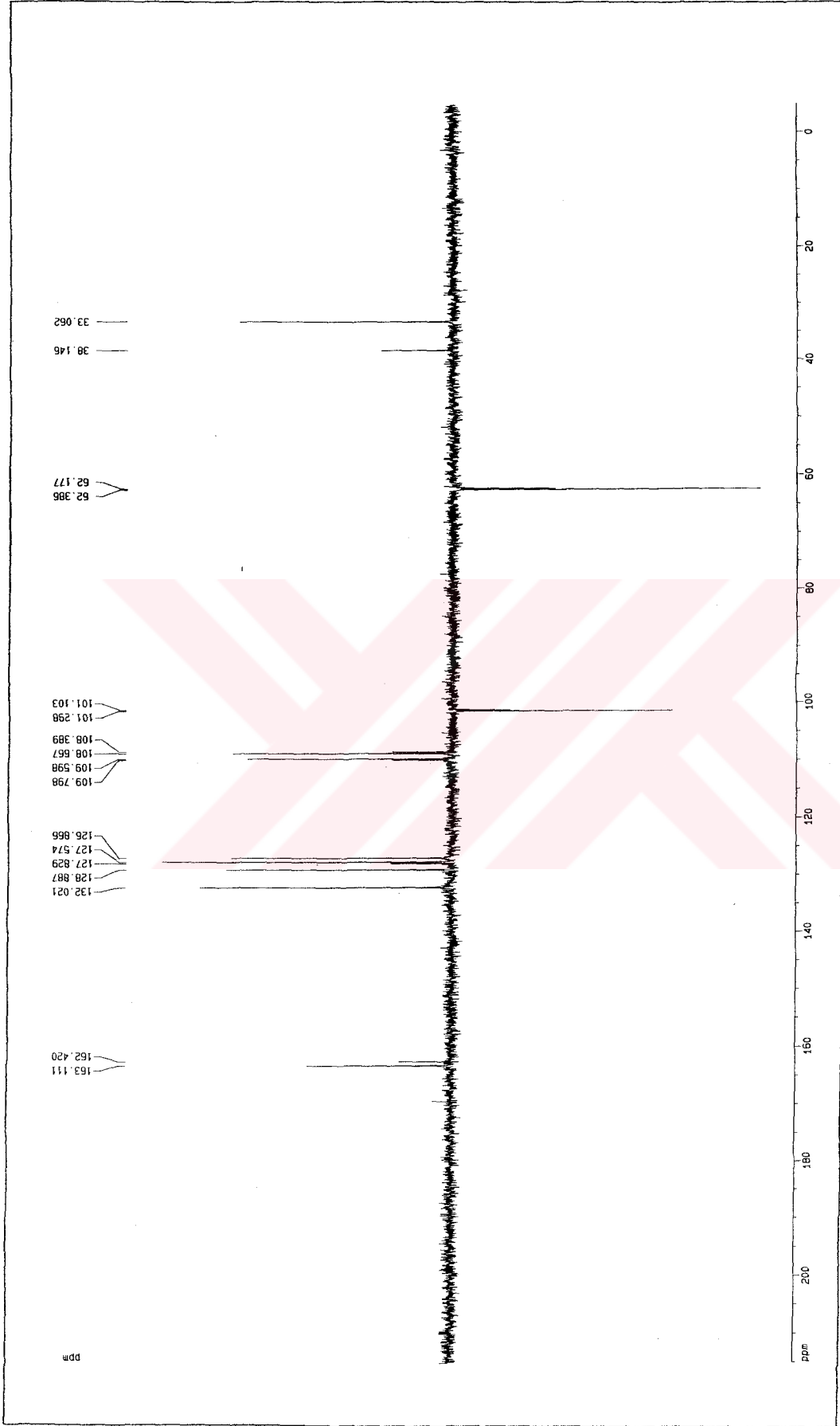
Spektrum No 9. GN-2 Bileşiginin IR Spektrumu



Spektrum No 10. GN-2 Bileşiminin EI Kütle Spektrumu

Spektrum No 11. GN-2 Bileşiminin ^1H NMR Spektrumu

Spektrum No 12. GN-2 Bileşiminin ^{13}C NMR Spektrumu



Spektrum No 13. GN-2 Bileşiminin DEPT 135 Spektrumu

C. GN-3 BİLEŞİĞİNİN SPEKTRAL BULGULARI

UV (Spektrum No 14)

MeOH

λ_{maks} nm (log ϵ) 208 (4.64), 292 (3.71).

CD (Spektrum No 15)

MeOH

nm (log ϵ) 311 (-0.14), 292 (+0.24), 276 (0), 267 sh (+0.07), 258 sh (+0.20), 242 sh (+0.91), 234 (+0.98), 228 (+0.85), 224 (+0.93), 219 sh (+0.84), 214 (+0.59).

IR (Spektrum No 16)

CHCl_3

ν_{maks} cm^{-1} 3350, 2980, 2930, 2900, 2700, 2420, 1720, 1670, 1620, 1600, 1505, 1485, 1450, 1370, 1260, 1215, 1165, 1105, 1080, 1040, 1005, 935, 875, 840.

ESI Kütle (Spektrum No 17)

m/z 286 $[\text{M}+\text{H}^+]$.

^1H NMR (Spektrum No 18)

600 MHz, CDCl_3

Majör İzomer

δ 8.13 (1H, s, CHO), 7.43 (1H, td, $J=7.6, 1.6$, H-3), 7.37 (1H, td, $J=7.5, 1.3$, H-2), 7.31 (1H, dd, $J=7.5, 1.5$, H-1), 7.21 (1H, dd, $J=7.8, 1.0$, H-4), 7.03 (1H, s, H-7), 6.55

(1H, s, H-10), 5.99 (2H, 2s, OCH₂O), 4.33 (1H, d, *J*=12.4, H-6), 4.30 (1H, d, *J*=12.4, H-6), 2.92 (3H, s, NCH₃).

Minör İzomer

δ 7.94 (1H, s, CHO), 7.44 (1H, td, *J*=7.6, 1.5, H-3), 7.37 (1H, td, *J*=7.5, 1.3, H-2), 7.24 (1H, dd, *J*=7.5, 1.5, H-1), 7.24 (1H, dd, *J*=7.5, 1.5, H-4), 7.03 (1H, s, H-7), 6.55 (1H, s, H-10), 5.97 (2H, 2s, OCH₂O), 4.45 (1H, d, *J*=12.2, H-6), 4.23 (1H, d, *J*=12.2, H-6), 3.18 (3H, s, NCH₃).

¹³C NMR (Spektrum No 19)

150 MHz, CDCl₃

Majör İzomer

δ 163.2 (CHO), 147.9 (C-8), 147.1 (C-9), 140.5 (C-4a), 137.4 (C-10b), 132.1 (C-6a), 132.1 (C-1), 130.5 (C-10a), 129.0 (C-3), 127.7 (C-2), 127.0 (C-4), 109.7 (C-10), 108.8 (C-7), 101.4 (OCH₂O), 62.5 (C-6), 33.2 (NCH₃).

Minör İzomer

δ 162.5 (CHO), 147.6 (C-8), 146.4 (C-9), 139.0 (C-10b), 138.7 (C-4a), 132.4 (C-6a), 132.4 (C-1), 130.8 (C-10a), 129.0 (C-3), 128.0 (C-2), 128.0 (C-4), 110.0 (C-7), 108.5 (C-10), 101.2 (OCH₂O), 62.3 (C-6), 38.3 (NCH₃).

DEPT 135 (Spektrum No 20)

¹H, ¹H DQF-COSY (Spektrum No 21) (Tablo 5, 7)

HSQC (Spektrum No 22) (Tablo 6, 8)

HMBC (Spektrum No 23) (Tablo 6, 8)

NOESY (Spektrum No 24) (Tablo 5, 7)

H	δ	$^1\text{H}, ^1\text{H DQF-COSY}$	NOESY
1	7.31		H-6 (4.33,4.30), H-10
2	7.37		-
3	7.43		-
4	7.21		NCH_3
6	4.33	H-6 (4.30)	H-1, H-7, CHO, NCH_3
6	4.30	H-6 (4.33)	H-1, H-7, CHO, NCH_3
7	7.03	-	H-6 (4.33, 4.30), NCH_3
10	6.55	-	CHO, NCH_3
CHO	8.13	-	H-6 (4.33, 4.30), H-10, NCH_3
OCH_2O	5.99	-	-
NCH_3	2.92	-	H-4, H-6 (4.33, 4.30), H-10, CHO

Tablo 5. GN-3 (Majör İzomer) Bileşiğinin 1D ve 2D NMR Bulguları (δ)

H	δ	^{13}C / HSQC	HMBC
1	7.31	132.1	C-3, C-4, C-4a, C-10a, C-10b
2	7.37	127.7	C-1, C-3, C-4, C-4a, C-10b
3	7.43	129.0	C-1, C-4, C-4a, C-10b
4	7.21	127.0	C-2, C-4a, C-10a, C-10b
4a	-	140.5	-
6	4.33	62.5	C-6a, C-7, C-10a
6	4.30	62.5	C-6a, C-7, C-10a
6a	-	132.1	-
7	7.03	108.8	C-6, C-8, C-9, C-10, C-10a, C-10b
8	-	147.9	-
9	-	147.1	-
10	6.55	109.7	C-6, C-6a, C-7, C-8, C-9, C-10b
10a	-	130.5	-
10b	-	137.4	-
CHO	8.13	163.2	C-4a, NCH ₃
OCH ₂ O	5.99	101.4	C-8, C-9
NCH ₃	2.92	33.2	C-4a, CHO

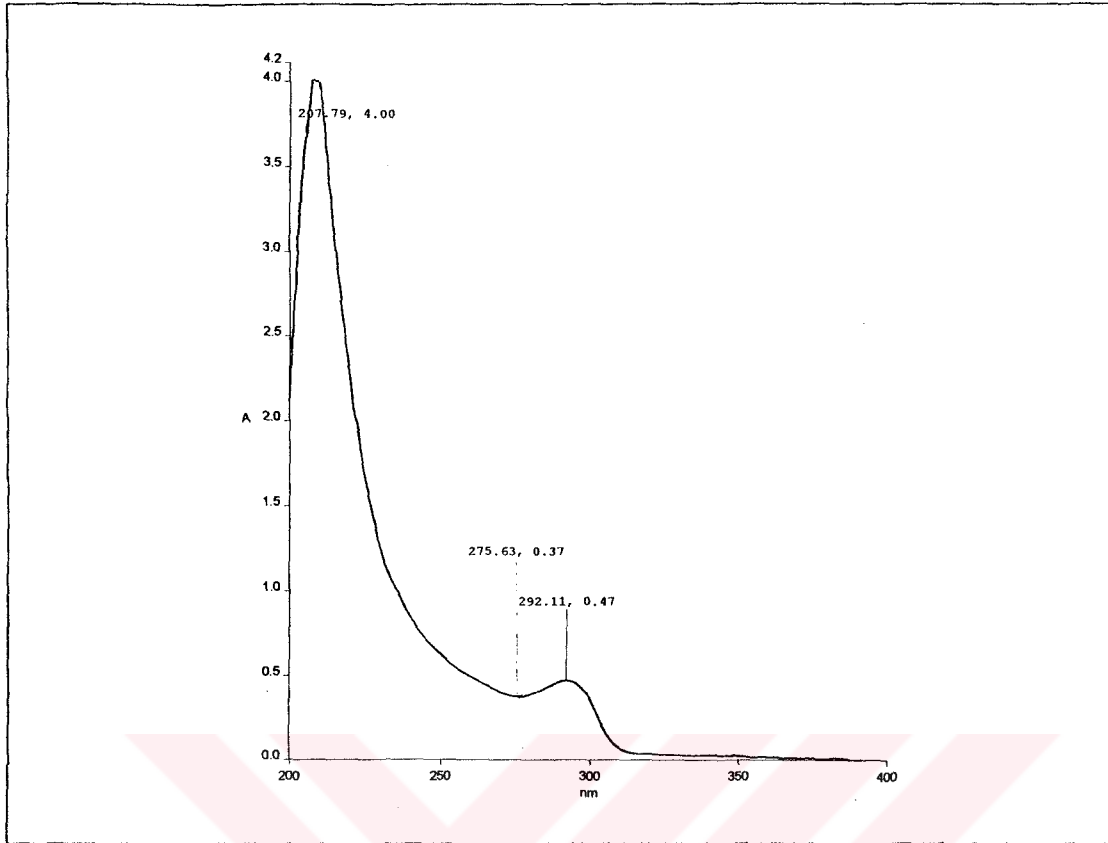
Tablo 6. GN-3 (Majör İzomer) Bileşiğinin 1D ve 2D NMR Bulguları (δ)

H	δ	$^1\text{H}, ^1\text{H DQF-COSY}$	NOESY
1	7.24		H-6 (4.45)
2	7.37		-
3	7.44		-
4	7.24		NCH ₃
6	4.45	H-6 (4.23)	H-1
6	4.23	H-6 (4.45)	H-7
7	7.03	-	H-6 (4.45, 4.23)
10	6.55	-	NCH ₃
CHO	7.94	-	NCH ₃
OCH ₂ O	5.97	-	-
NCH ₃	3.18	-	H-4, H-6 (4.23), H-10, CHO

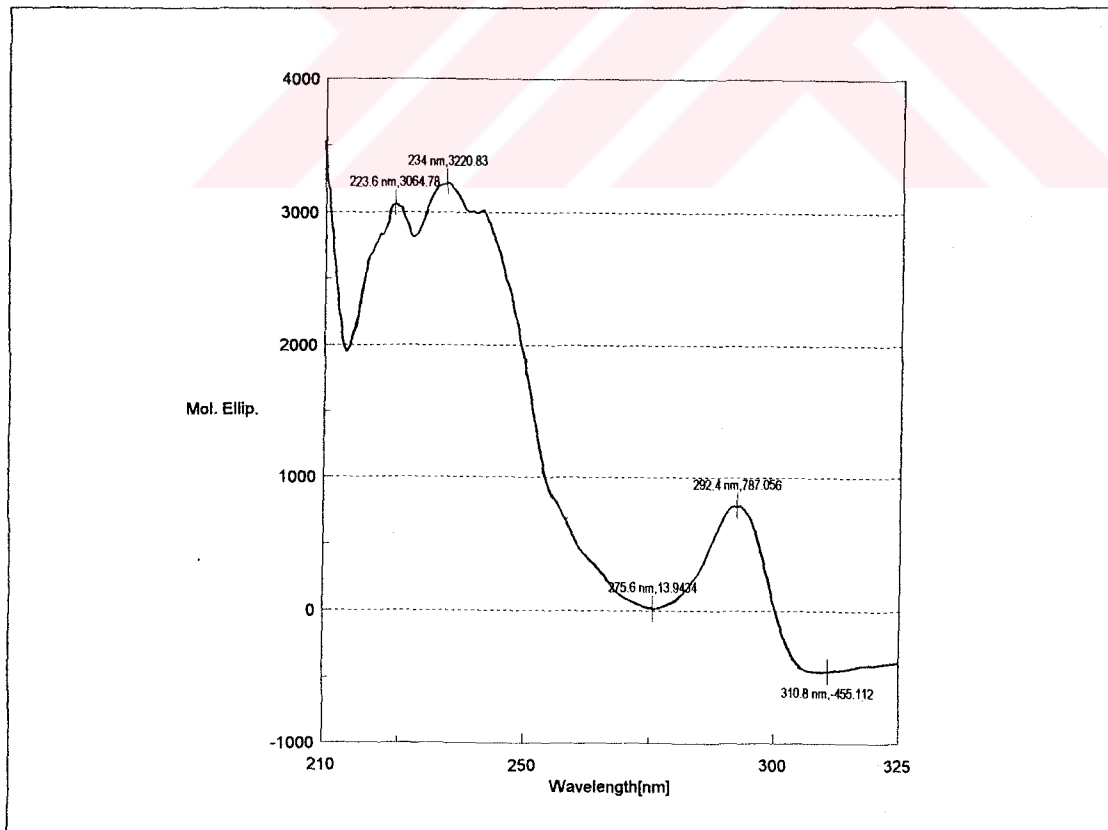
Tablo 7. GN-3 (Minör İzomer) Bileşiminin 1D ve 2D NMR Bulguları (δ)

H	δ	^{13}C / HSQC	HMBC
1	7.24	132.4	C-2, C-3, C-4a, C-10a C-10b
4		128.0	
2	7.37	128.0	C-1, C-3, C-4, C-10b
3	7.44	129.0	C-1, C-2 (4), C-4a
4a	-	138.7	-
6	4.45	62.3	C-7, C-8, C-10a
6	4.23	62.3	C-7, C-10a
6a	-	132.4	-
7	7.03	110.0	C-6, C-6a, C-8, C-9, C-10, C-10a
8	-	147.6	-
9	-	146.4	-
10	6.55	108.5	C-6, C-6a, C-7, C-8, C-9, C-10b
10a	-	130.8	-
10b	-	139.0	-
CHO	7.94	162.5	C-4a, NCH ₃
OCH ₂ O	5.97	101.2	C-8, C-9
NCH ₃	3.18	38.3	C-4a, CHO

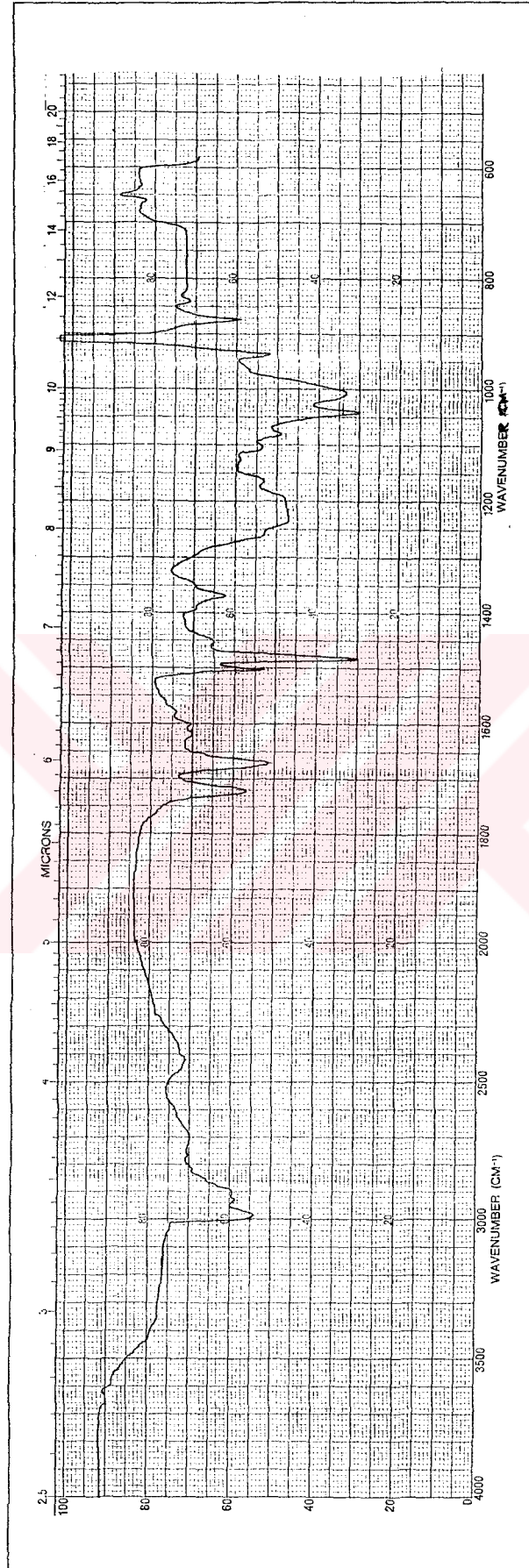
Tablo 8. GN-3 (Minör İzomer) Bileşiğinin 1D ve 2D NMR Bulguları (δ)



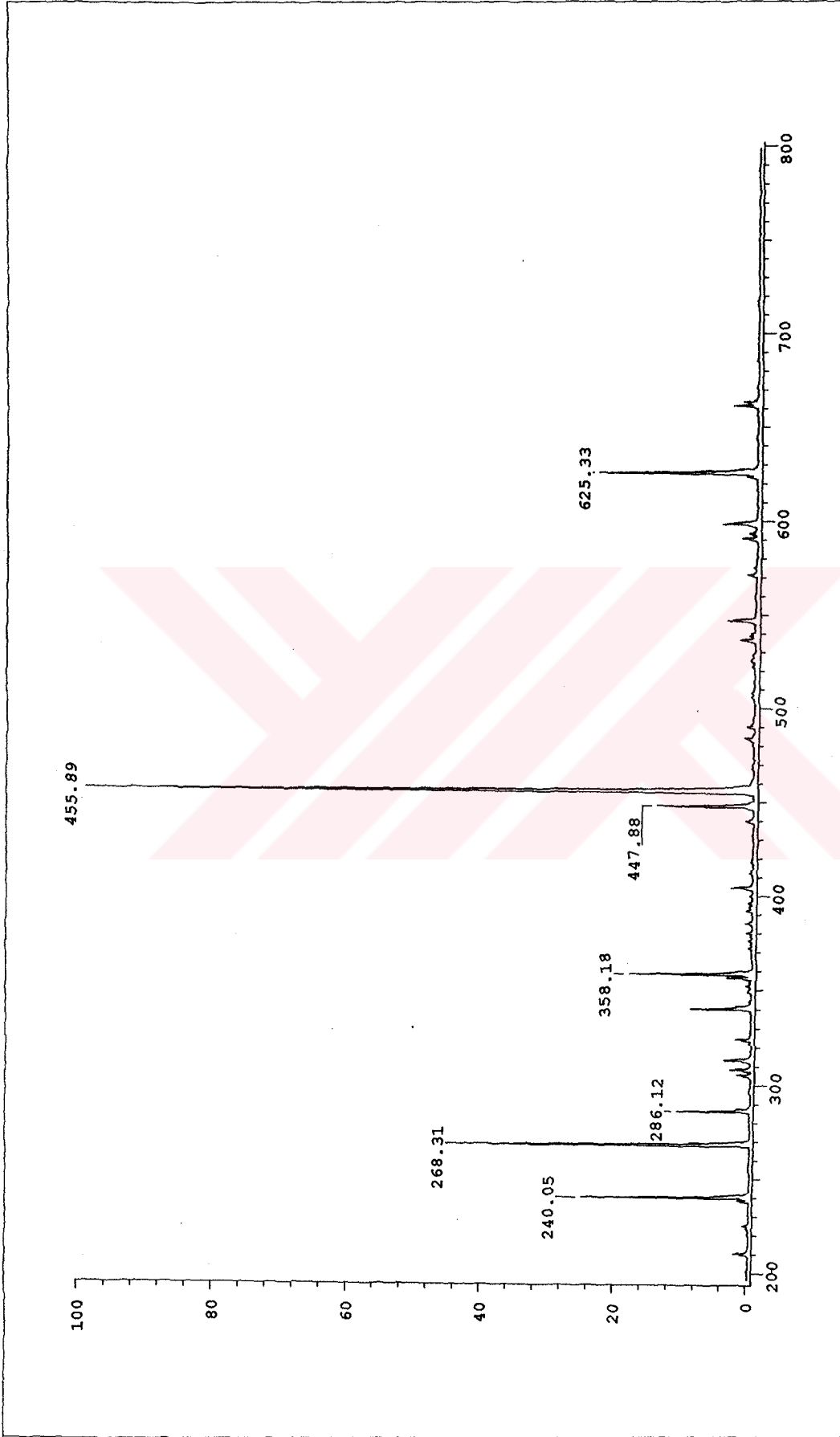
Spektrum No 14. GN-3 Bileşığının UV Spektrumu



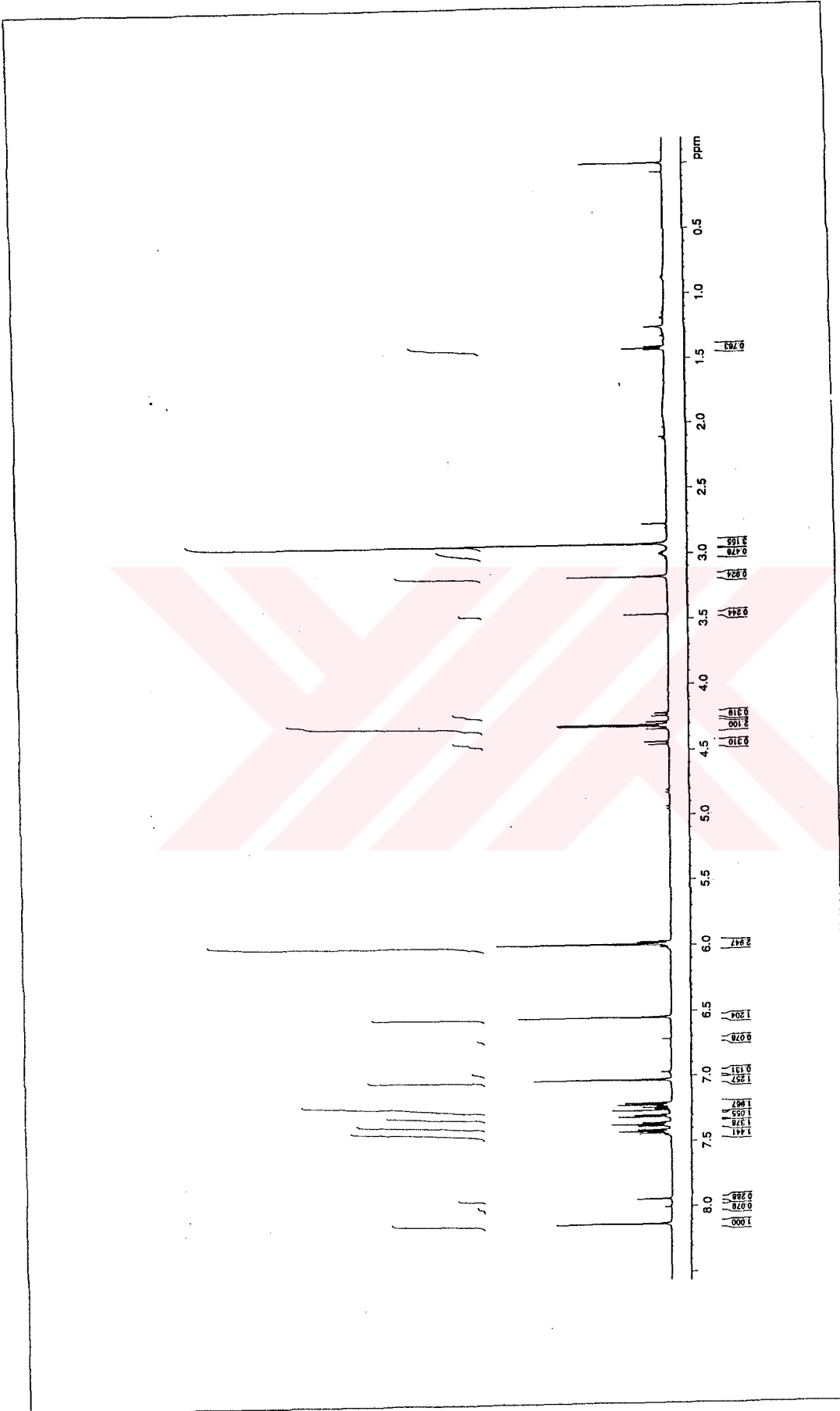
Spektrum No 15. GN-3 Bileşığının CD Spektrumu

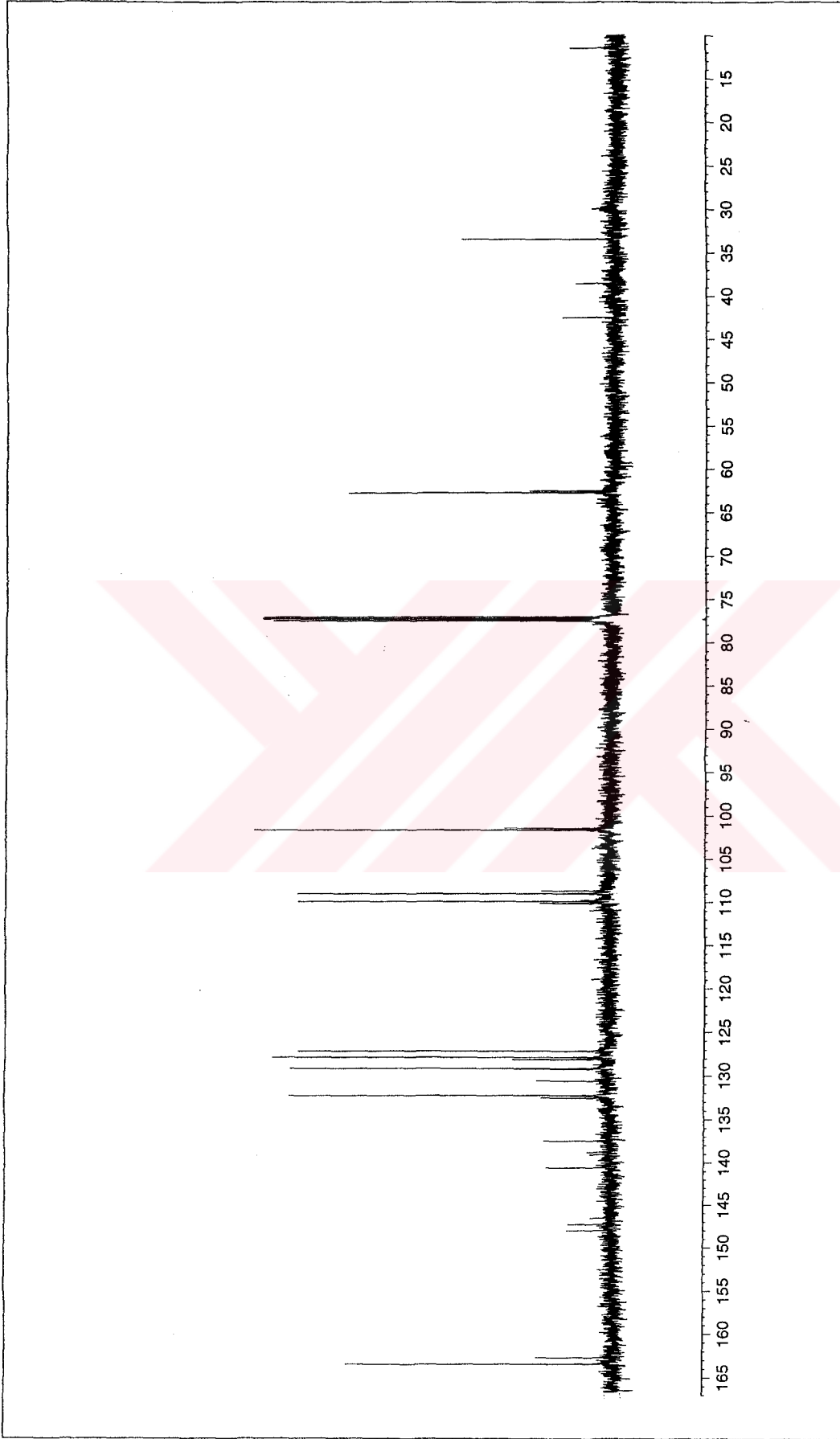


Spektrum No 16. GN-3 Bileşğinin IR Spektrumu

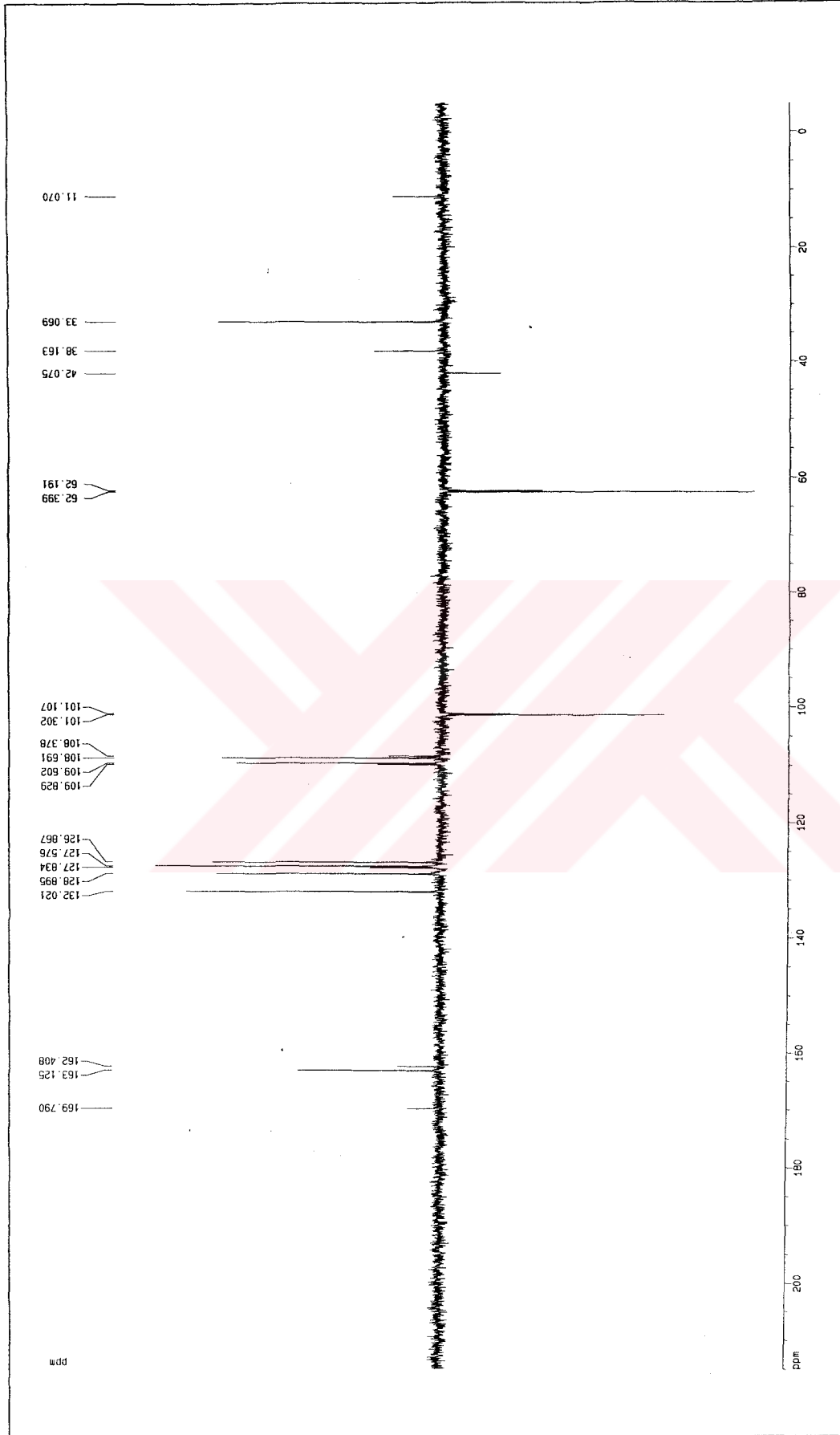


Spektrum No 17. GN-3 Bileşinin ESI Kütle Spektrumu

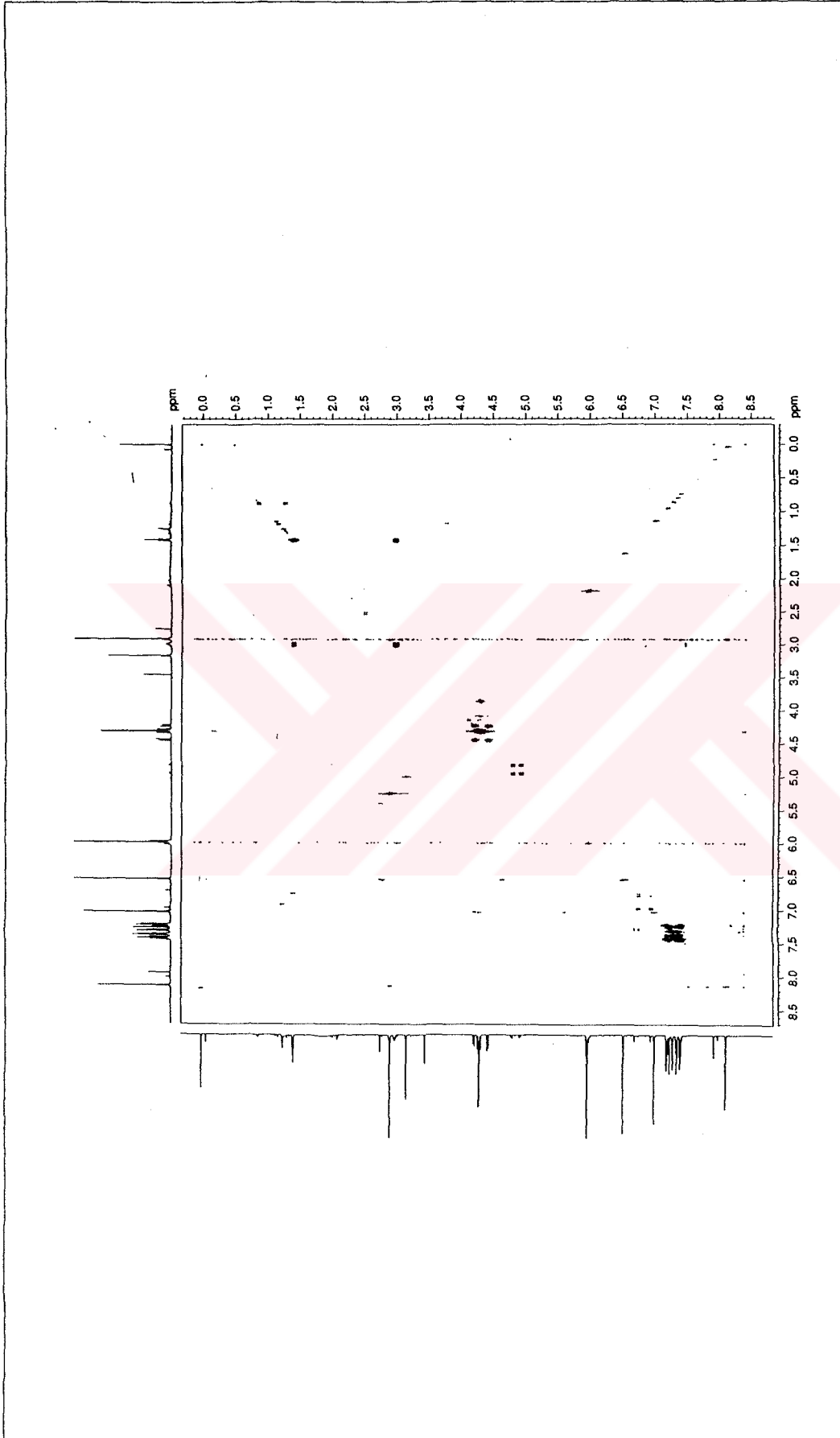
Spektrum No 18. GN-3 Bileşiminin ^1H NMR Spektrumu



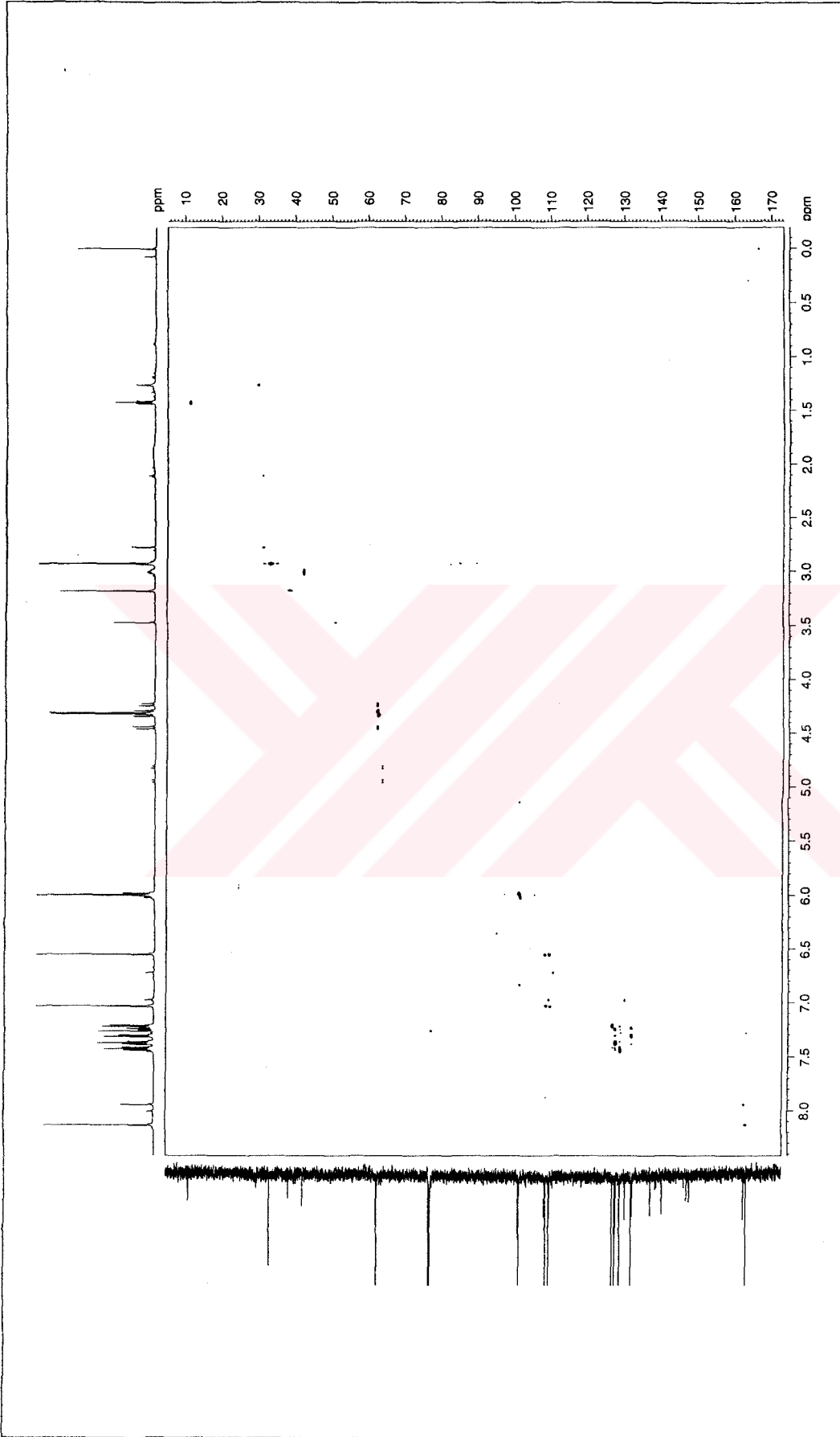
Spektrum No 19. GN-3 Bileşğinin ^{13}C NMR Spektrumu



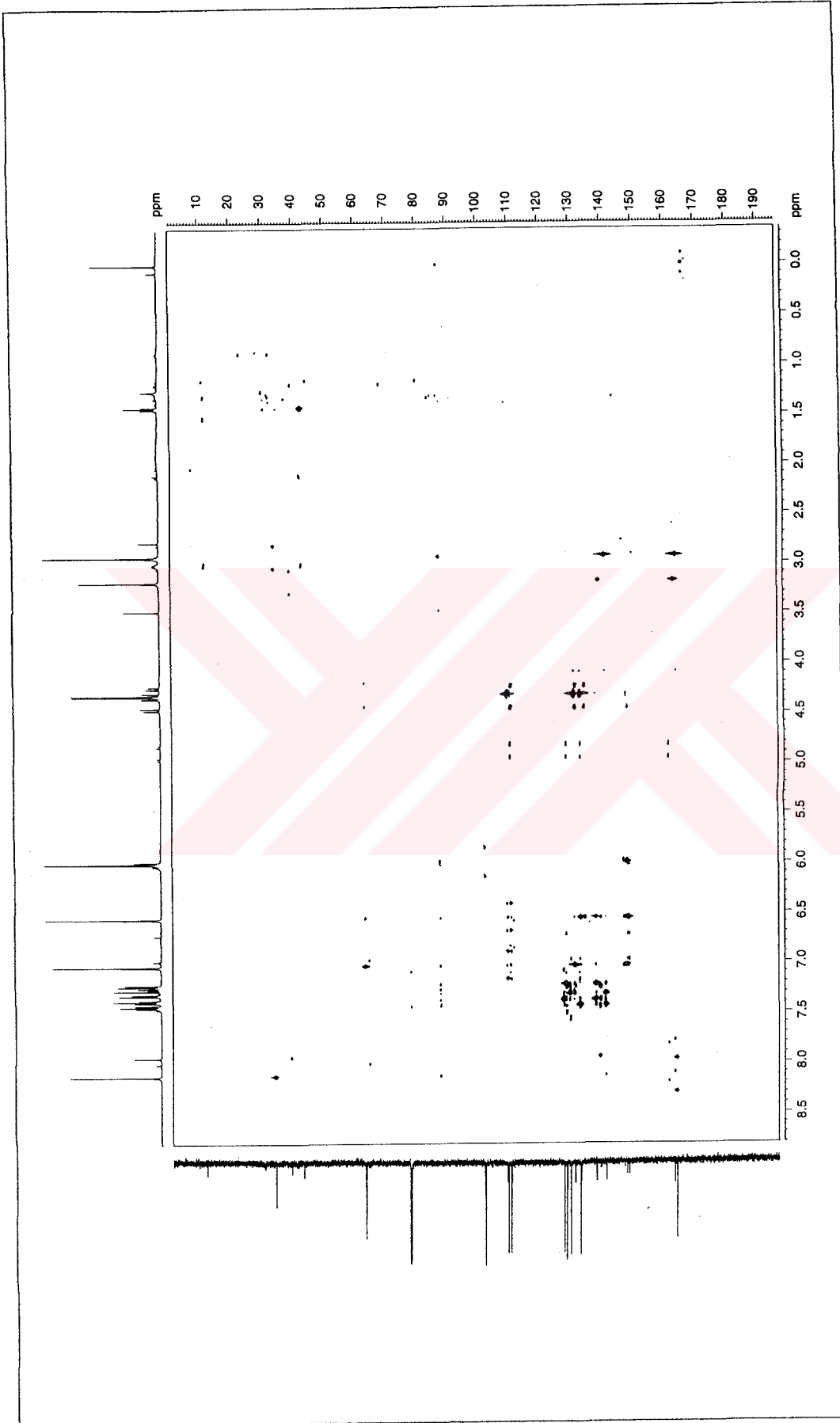
Spektrum No 20. GN-3 Bileşiminin DEPT 135 Spektrumu



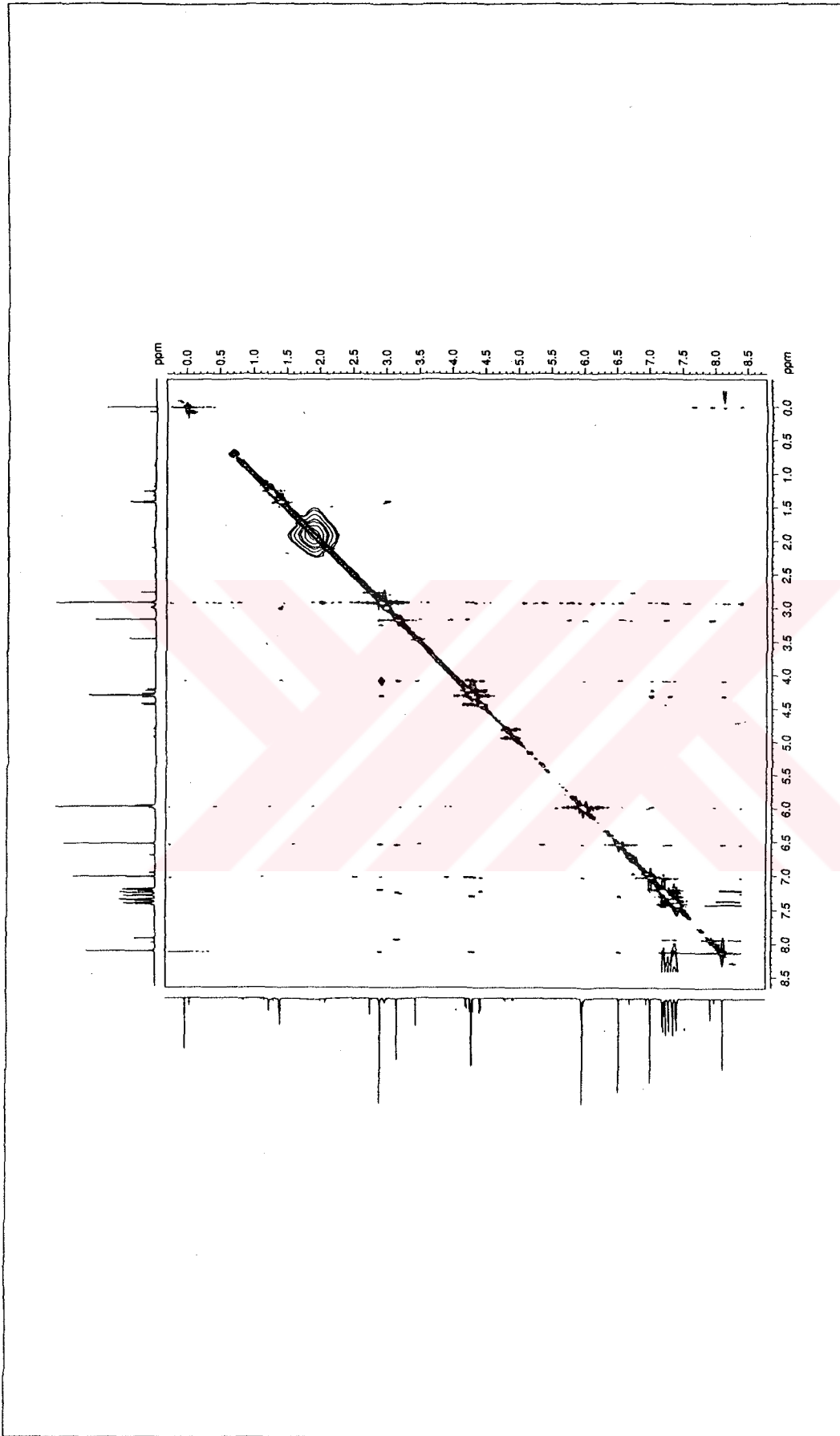
Spektrum No 21. GN-3 Bileşiminin ^1H , ^1H DQF-COSY Spektrumu



Spektrum No 22. GN-3 Bileşiğinin HSQC Spektrumu



Spektrum No 23. GN-3 Bileşiminin HMBC Spektrumu



Spektrum No 24. GN-3 Bileşiminin NOESY Spektrumu

D. GN-4 BİLEŞİĞİNİN SPEKTRAL BULGULARI

$[\alpha]_D +74.4^\circ$ (MeOH; konstr. 0.117).

UV (Spektrum No 25)

MeOH

λ_{maks} nm (log ϵ) 227 (4.22), 278 (3.72), 299 (3.69).

CD (Spektrum No 26)

MeOH

nm (log ϵ) 325 (0), 307 (-0.48), 291 (0), 262 (+1.91), 256 (+1.55), 250 sh (+2.16), 229 (+19.85), 209 (+9.69); 209 nm ötesinde negatif kuyruk.

IR (Spektrum No 27)

CHCl_3

ν_{maks} cm^{-1} 3300, 3000, 2950, 2920, 2860, 1700, 1660, 1645, 1610, 1505, 1465, 1440, 1430, 1405, 1390, 1370, 1350, 1330, 1265, 1215, 1160, 1140, 1100, 1085, 1035, 930.

ESI Kütle (Spektrum No 28)

m/z 463 $[\text{M}+\text{H}^+]$.

^1H NMR (Spektrum No 29)

600 MHz, CDCl_3

δ 7.60 (1H, s, H-9), 7.10 (2H, d, $J=8.4$, H-2' ve H-6'), 6.74 (2H, d, $J=8.4$, H-3' ve H-5'), 6.74 (1H, s, H-12), 6.02 ve 6.01 (2H, 2d, $J=1.3$, OCH_2O), 6.00 (1H, dd, $J=9.8$,

5.1, H-2), 5.54 (1H, d, $J=9.8$, H-1), 4.50 (1H, ddd, $J=14.0$, 8.4, 5.4, H-8'), 4.03 (1H, dd, $J=11.9$, 4.5, H-4a), 3.91 (1H, dt, $J=5.1$, 3.2, H-3), 3.87 (1H, s, H-6a), 3.53 (1H, m, H-8'), 3.46 (3H, s, OCH₃), 2.98-2.89 (2H, m, H-7'), 2.80 (3H, s, NCH₃), 2.44 (1H, m, H-4 β), 1.48 (1H, m, H-4 α).

¹³C NMR (Spektrum No 30)

150 MHz, CDCl₃

δ 169.8 (C-6), 161.5 (C-8), 154.2 (C-4'), 151.3 (C-11), 147.8 (C-10), 135.1 (C-12a), 133.3 (C-1), 131.0 (C-1'), 130.1 (C-2' ve C-6'), 125.5 (C-2), 123.4 (C-8a), 115.3 (C-3' ve C-5'), 108.2 (C-9), 106.0 (C-12), 101.8 (OCH₂O), 70.8 (C-3), 63.9 (C-6a), 59.9 (C-4a), 56.7, (OCH₃), 49.5 (C-8'), 43.9 (C-12b), 33.2 (C-7'), 30.0 (C-4), 28.2 (NCH₃).

DEPT 135 (Spektrum No 31)

¹H, ¹H DQF-COSY (Spektrum No 32) (Tablo 9)

TOCSY (Spektrum No 33) (Tablo 9)

HSQC (Spektrum No 34) (Tablo 10)

HMBC (Spektrum No 35) (Tablo 10)

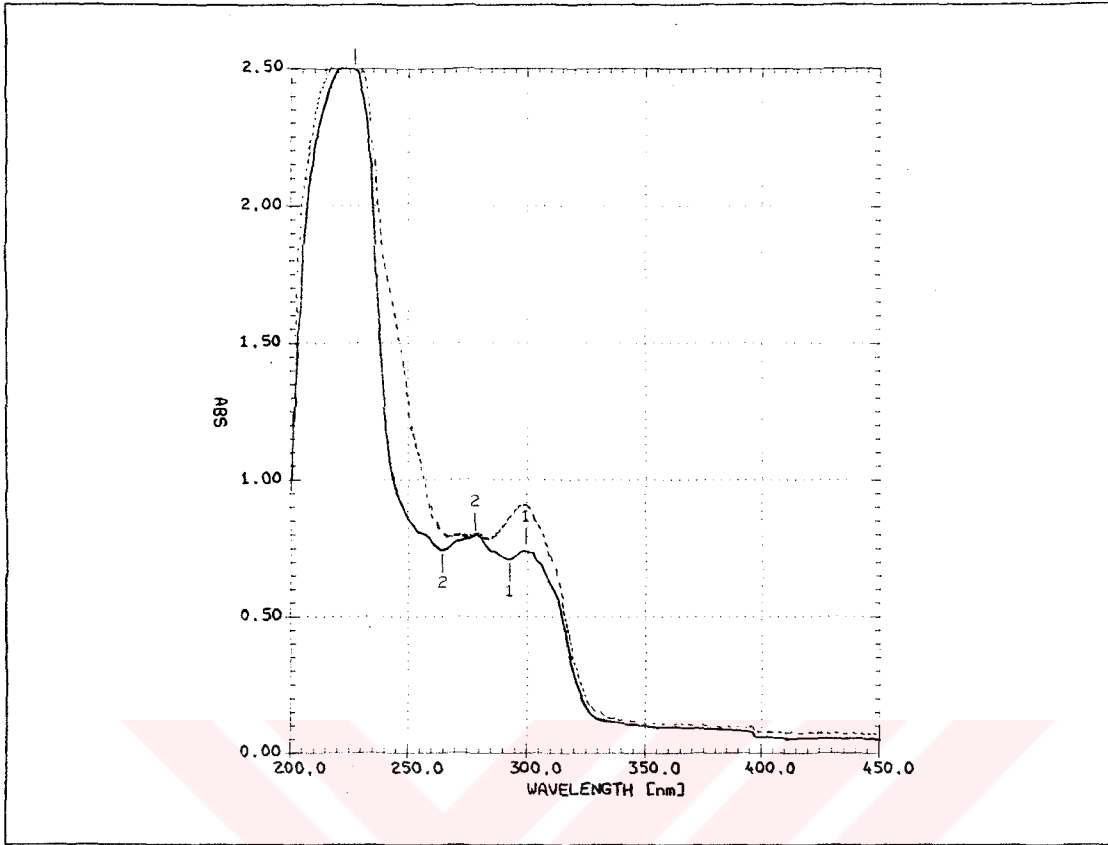
NOESY (Spektrum No 36) (Tablo 9)

H	δ	$^1\text{H}, ^1\text{H DQF-COSY}$	TOCSY	NOESY
1	5.54	H-2	H-2, H-3, H-4 α , H-4 β , H-4a	H-2, H-6a
2	6.00	H-1, H-3	H-1, H-3, H-4 α , H-4 β , H-4a	H-1, H-3
3	3.91	H-2, H-4 β	H-1, H-2, H-4 α , H-4 β , H-4a, OCH ₃ , NCH ₃	H-2, H-4 α , H-4 β , OCH ₃
4 α	1.48	H-3, H-4 β , H-4a	H-1, H-2, H-3, H-4 β , H-4a	H-3, H-6a, NCH ₃
4 β	2.44	H-3, H-4 α , H-4a	H-1, H-2, H-3, H-4 α , H-4a	H-3, H-4a, NCH ₃
4a	4.03	H-4 α , H-4 β	H-1, H-3, H-4 α , H-4 β	H-4 β , H-12, NCH ₃
6a	3.87	-	NCH ₃	H-1, H-4 α , H-7', H-8' (4.50, 3.53)
9	7.60	-	H-12	-
12	6.74	-	H-9	H-4a, OCH ₃
2' (6')	7.10	H-3' (5')	H-3' (5')	H-3' (5'), H-7', H-8' (3.53)
3' (5')	6.74	H-2' (6')	H-2' (6')	H-2' (6')
7'	2.98-2.89	H-8' (4.50, 3.53)	H-8' (4.50, 3.53)	H-2' (6'), H-8' (4.50, 3.53)
8'	4.50	H-7', H-8' (3.53)	H-7', H-8' (3.53)	H-7'
8'	3.53	H-7', H-8' (4.50)	H-7', H-8' (4.50), NCH ₃	H-6a, H-7', H-8' (4.50)
OCH ₂ O	6.02, 6.01	-	-	-
OCH ₃	3.46	-	NCH ₃	H-2, H-4 β
NCH ₃	2.80	-	H-6a, H-8' (3.53), OCH ₃	H-4 β , H-4a, H-6a

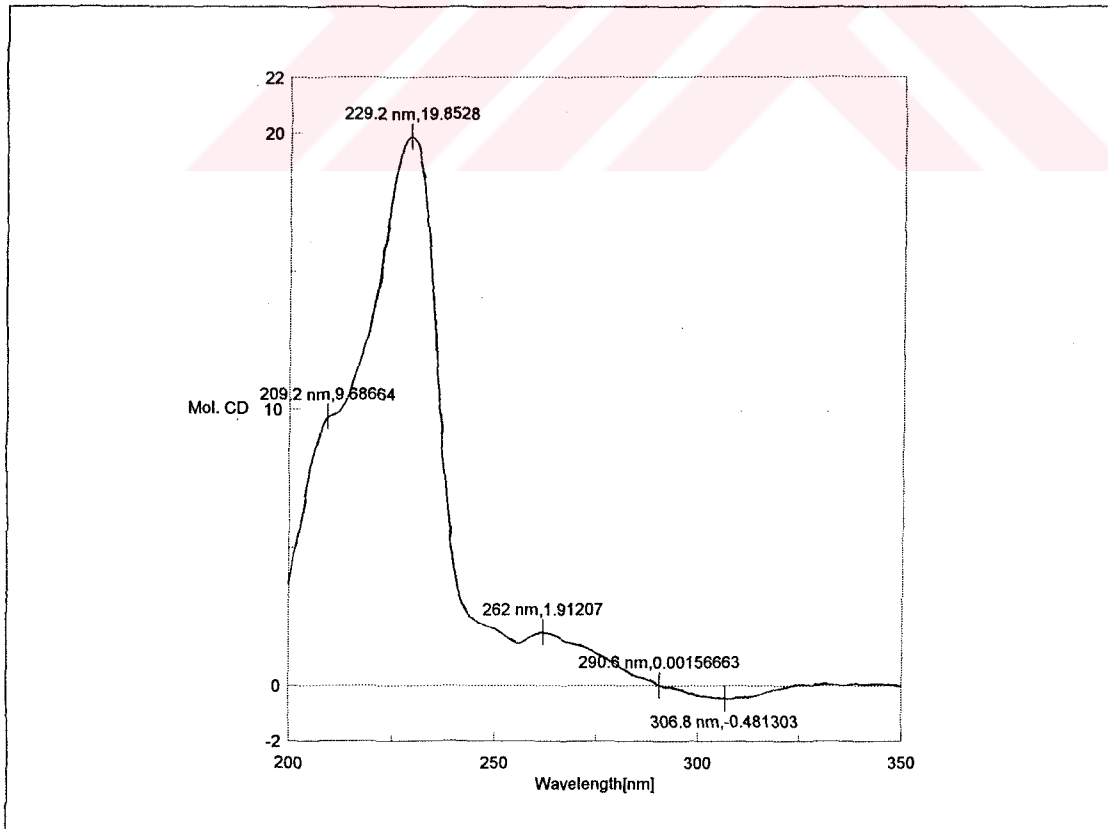
Tablo 9. GN-4 Bileşiminin 1D ve 2D NMR Bulguları (δ)

	¹ H	¹³ C / HSQC	HMBC
1	5.54	133.3	C-3, C-4a, C-12b
2	6.00	125.5	C-3, C-4, C-12b
3	3.91	70.8	OCH ₃
4 α	1.48	30.0	-
4 β	2.44	30.0	-
4a	4.03	59.9	C-6, C-6a, C-12a, C-12b
6	-	169.8	-
6a	3.87	63.9	C-1, C-6, C-8, C-12a, C-12b, C-8'
8	-	161.5	-
8a	-	123.4	-
9	7.60	108.2	C-8, C-10, C-11, C-12a
10	-	147.8	-
11	-	151.3	-
12	6.74	106.0	C-8a, C-10, C-11, C-12b
12a	-	135.1	-
12b	-	43.9	-
1'	-	131.0	-
2' (6')	7.10	130.1	C-4', C-7'
3' (5')	6.74	115.3	C-1', C-4'
4'	-	154.2	-
7'	2.98-2.89	33.2	C-1', C-2' (6'), C-8'
8'	4.50	49.5	C-6a, C-8, C-1', C-7'
8'	3.53	49.5	C-6a, C-8, C-7'
OCH ₂ O	6.02, 6.01	101.8	C-10, C-11
OCH ₃	3.46	56.7	C-3
NCH ₃	2.80	28.2	C-4a, C-6

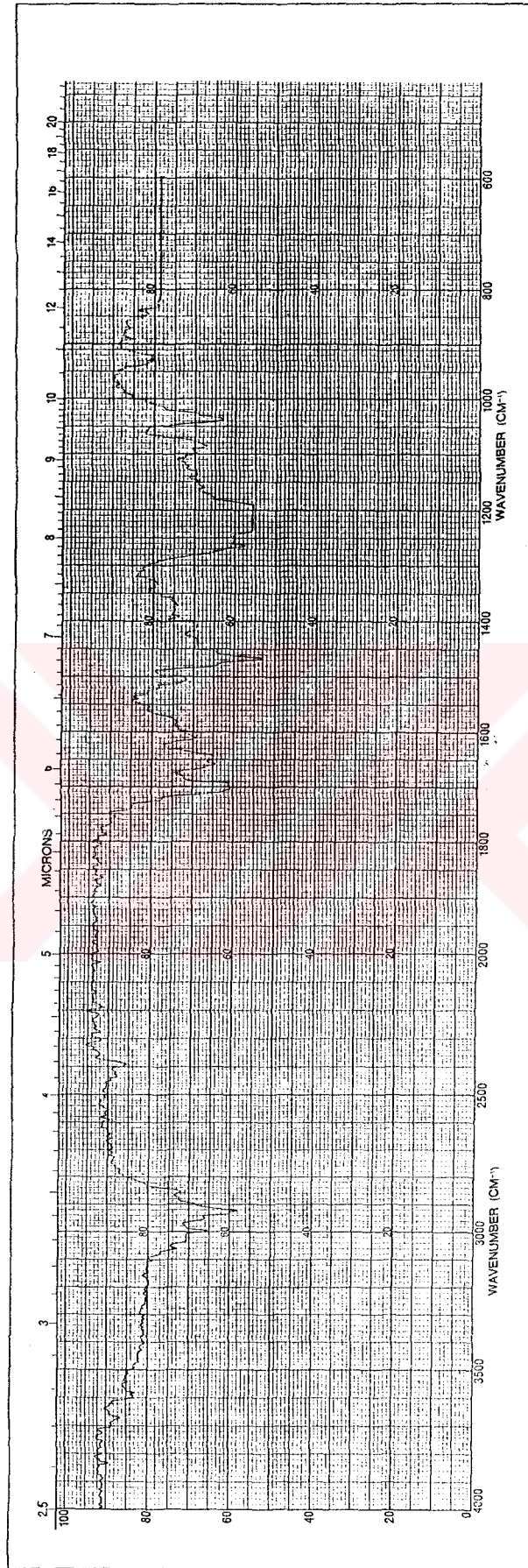
Tablo 10. GN-4 Bileşiminin 1D ve 2D NMR Bulguları (δ)



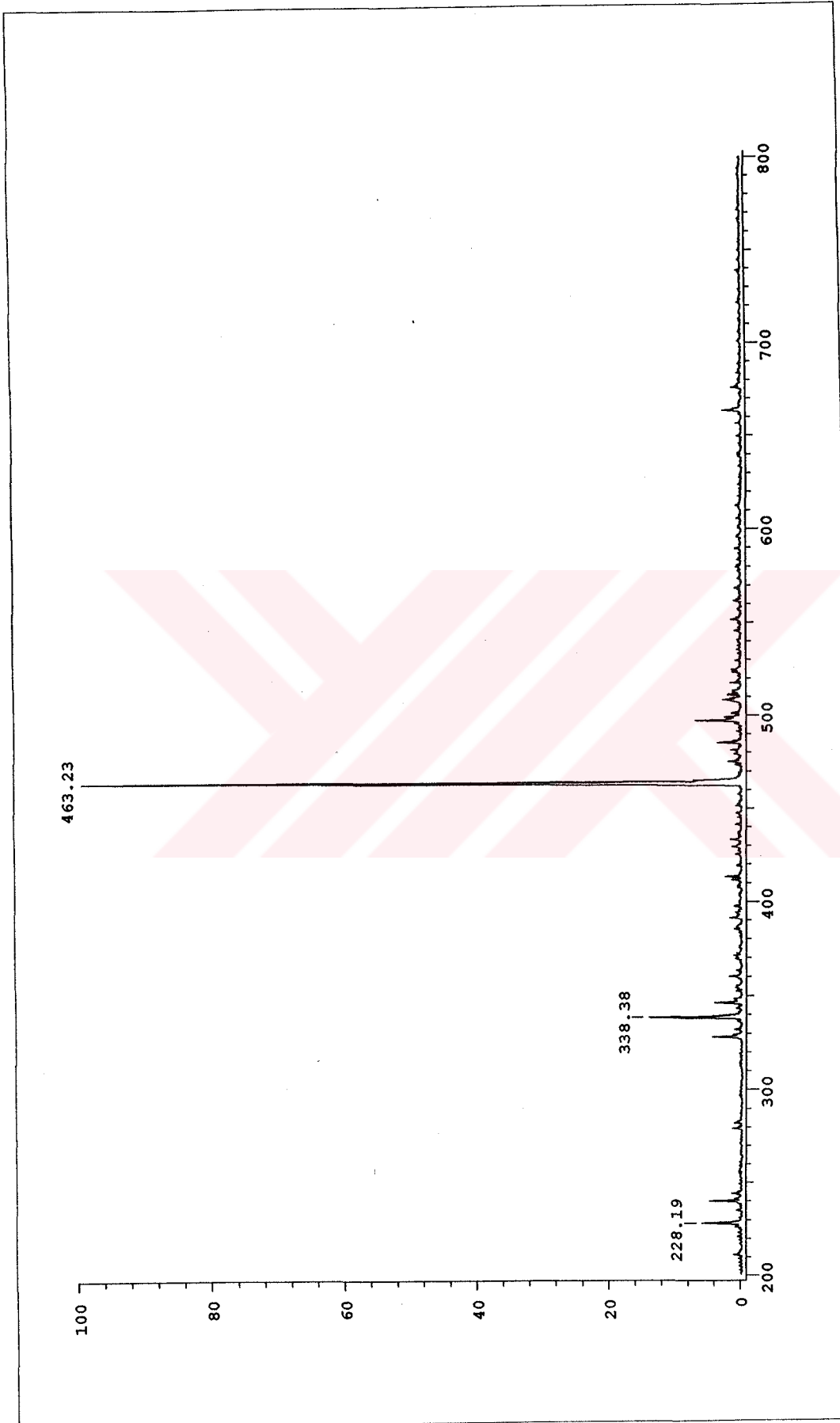
Spektrum No 25. GN-4 Bileşğinin UV Spektrumu



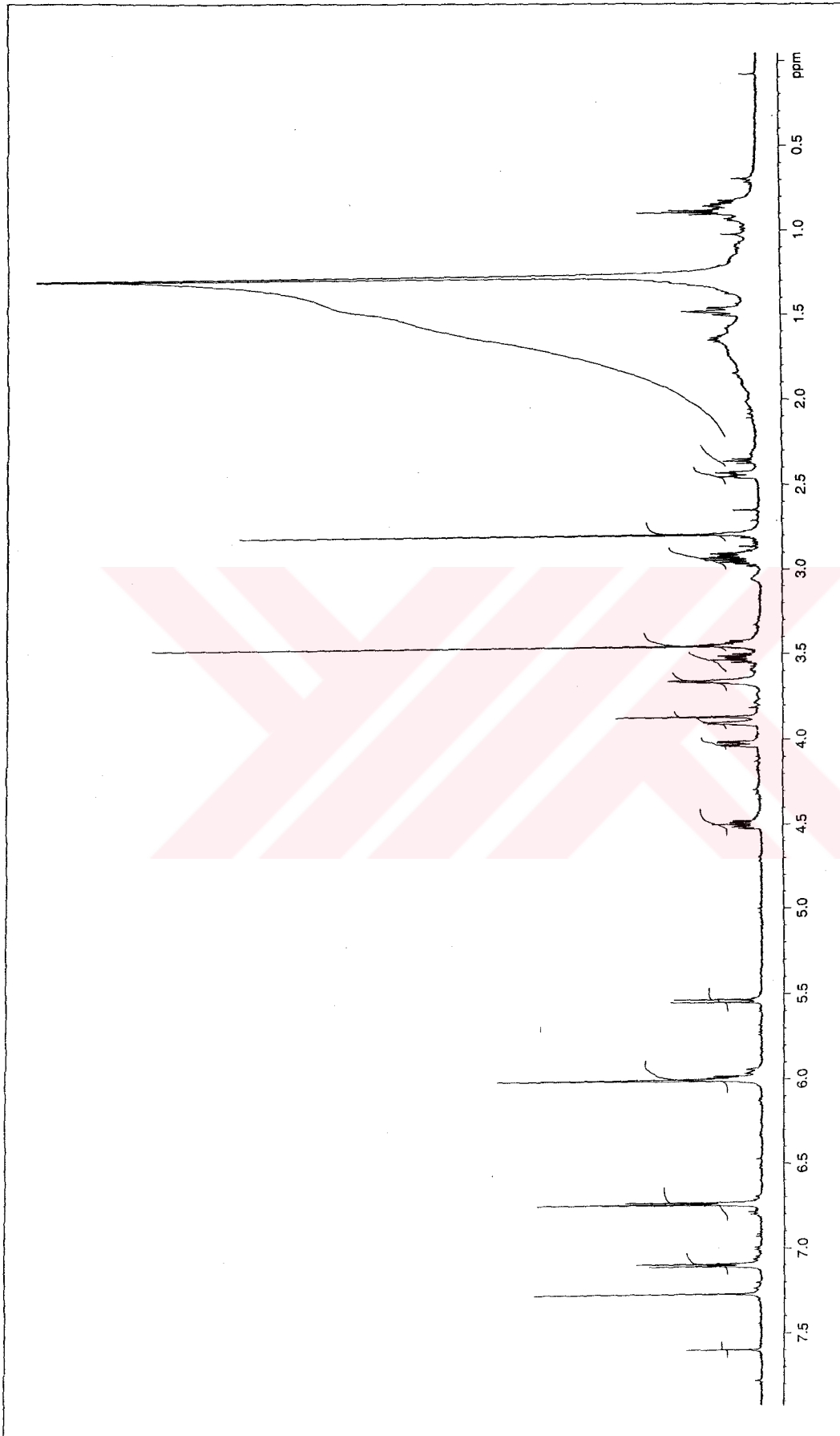
Spektrum No 26. GN-4 Bileşğinin CD Spektrumu



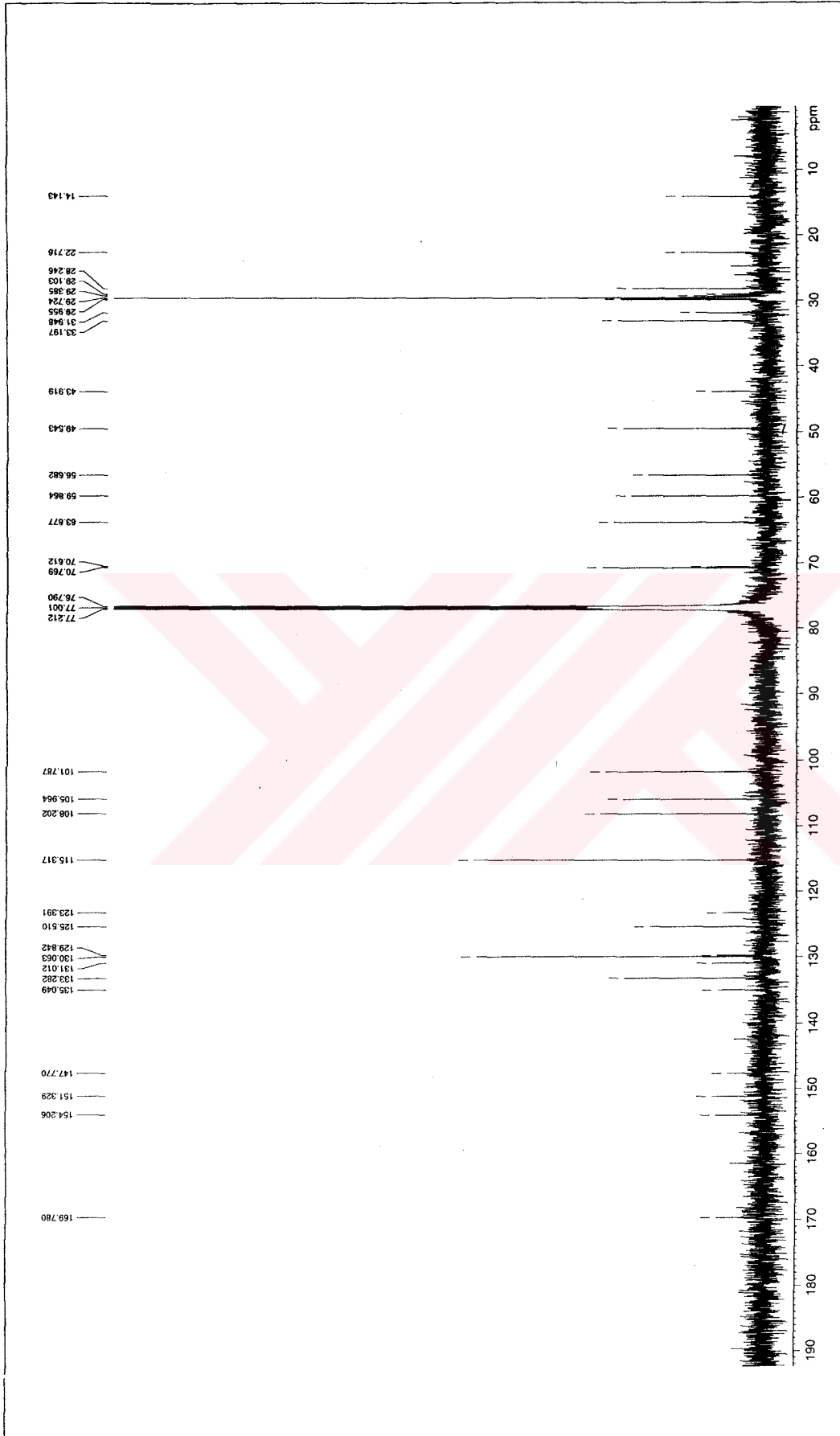
Spektrum No 27. GN-4 Bileşğinin IR Spektrumu

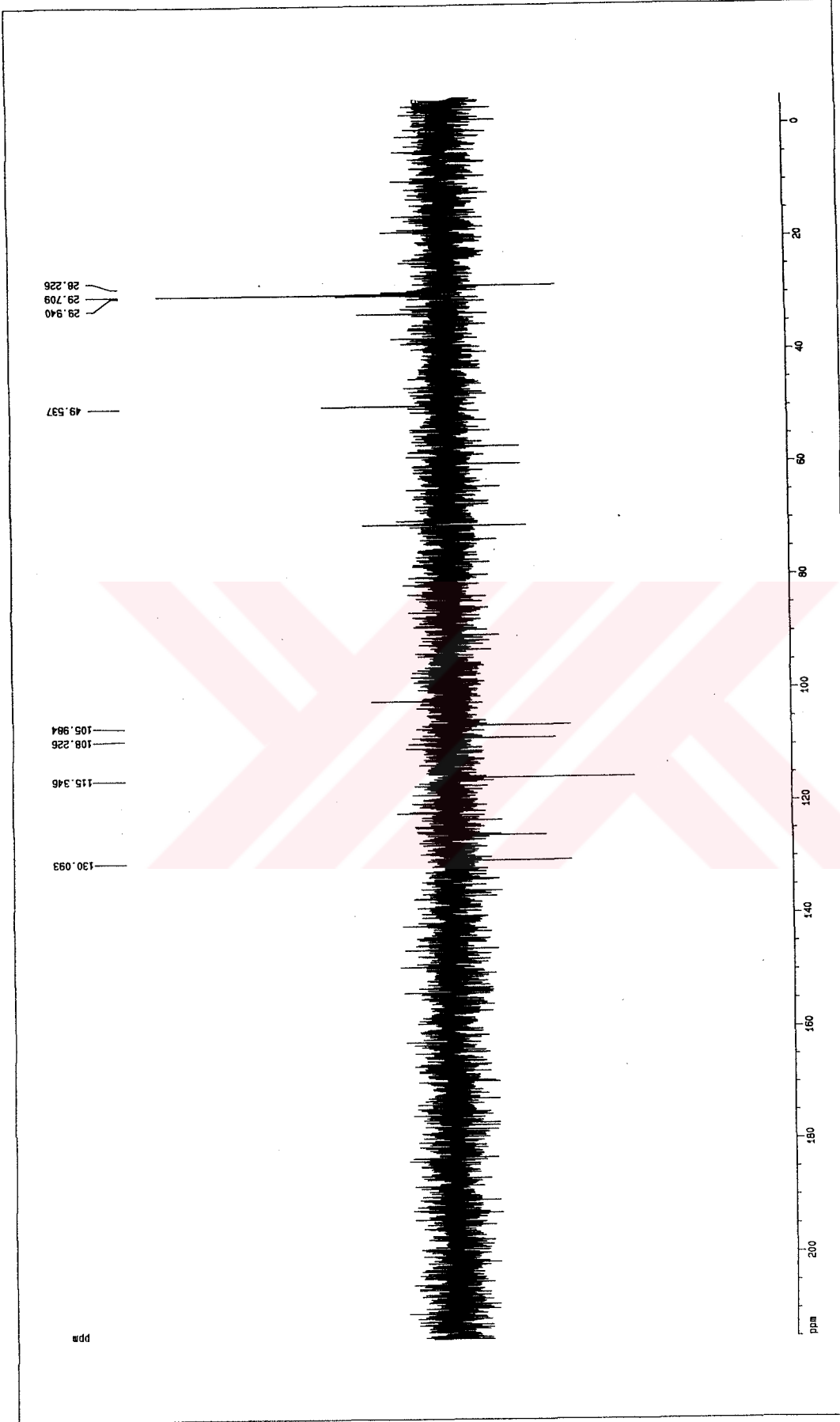


Spektrum No 28. GN-4 Bileşinin ESI Kütle Spektrumu

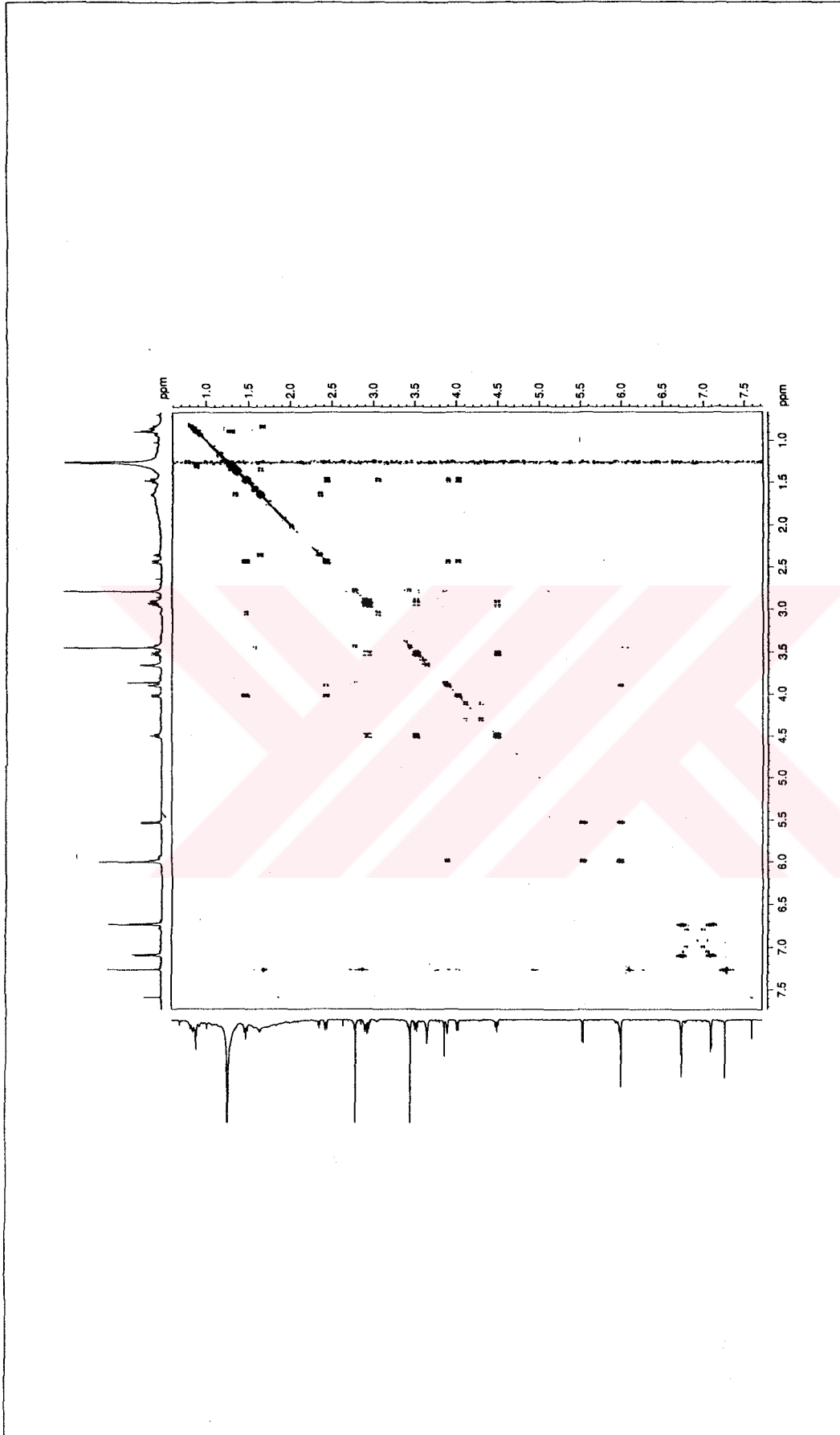


Spektrum No 29. GN-4 Bileşiminin ^1H NMR Spektrumu

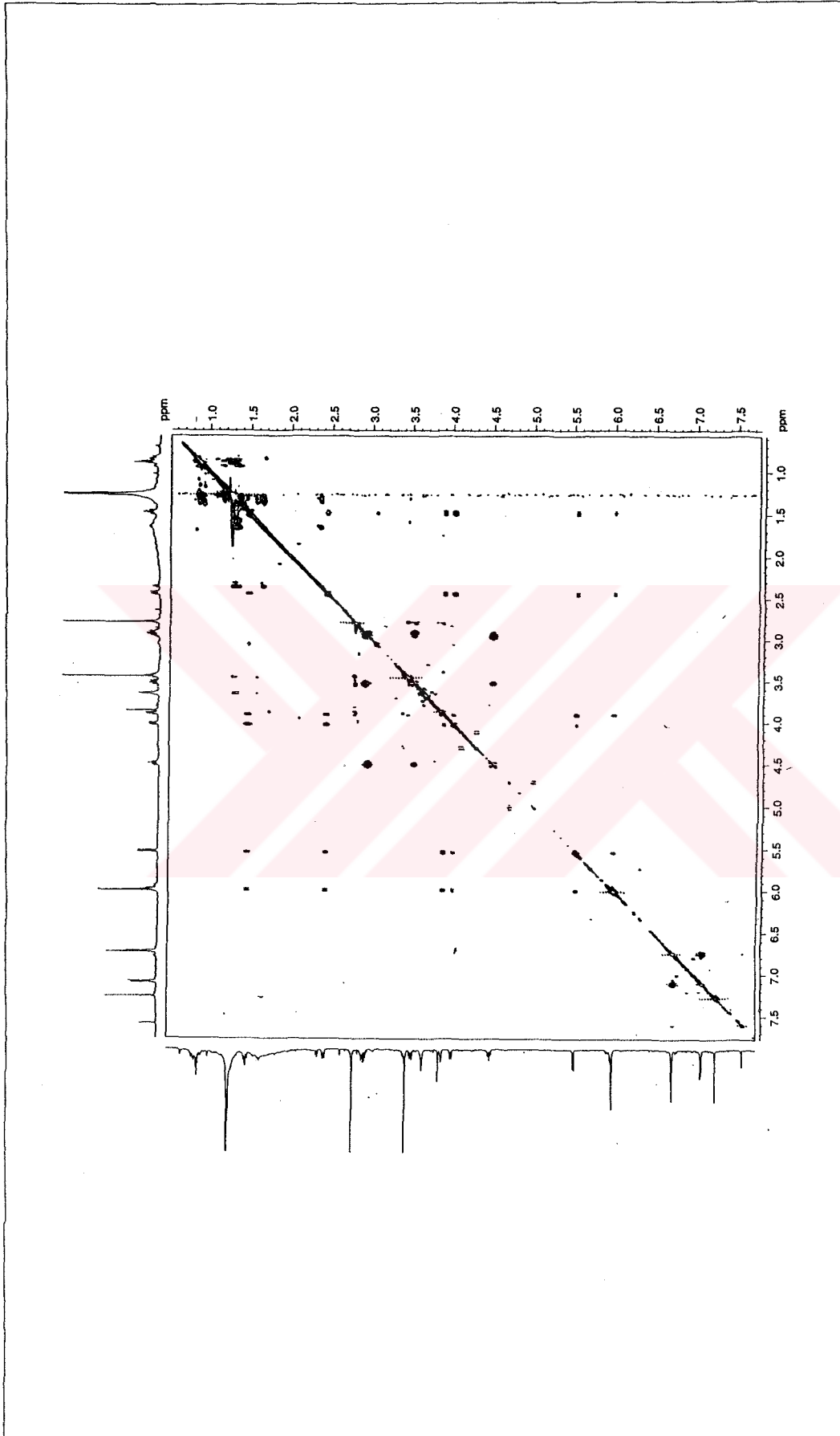
Spektrum No 30. GN-4 Bileşinin ^{13}C NMR Spektrumu



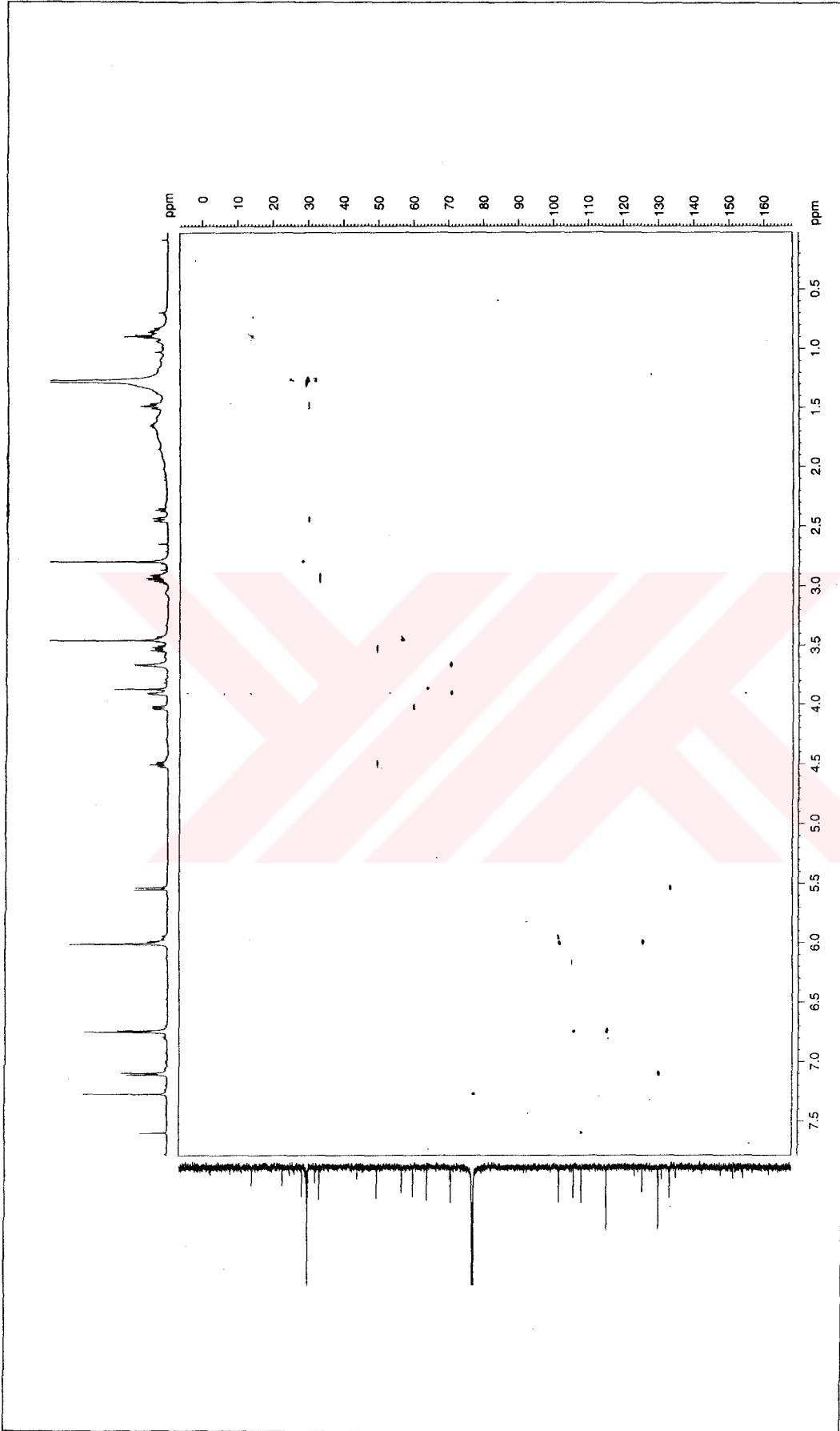
Spektrum No 31. GN-4 Bileşinin DEPT 135 Spektrumu



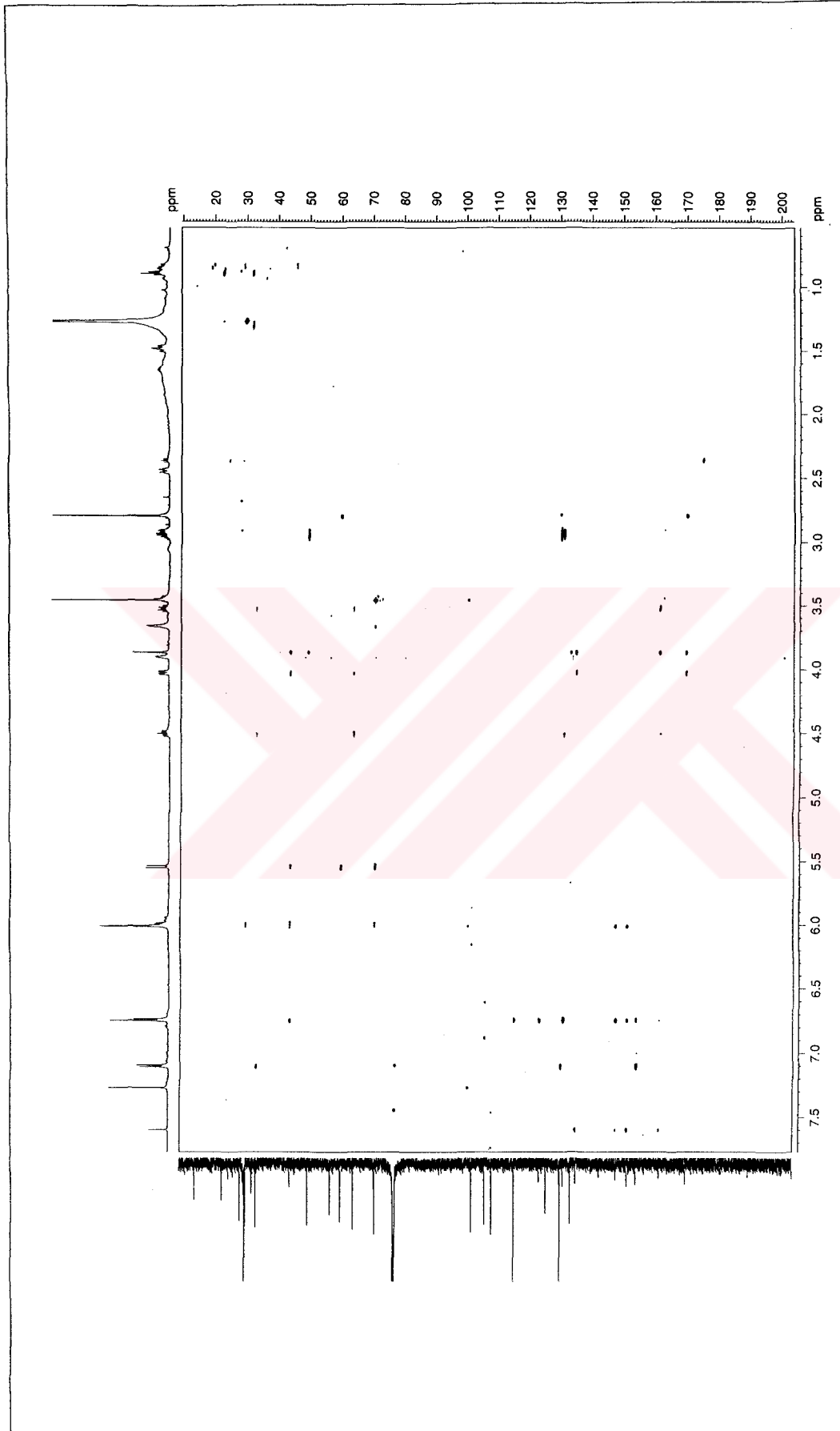
Spektrum No 32. GN-4 Bileşiminin ^1H , ^1H DQF-COSY Spektrumu



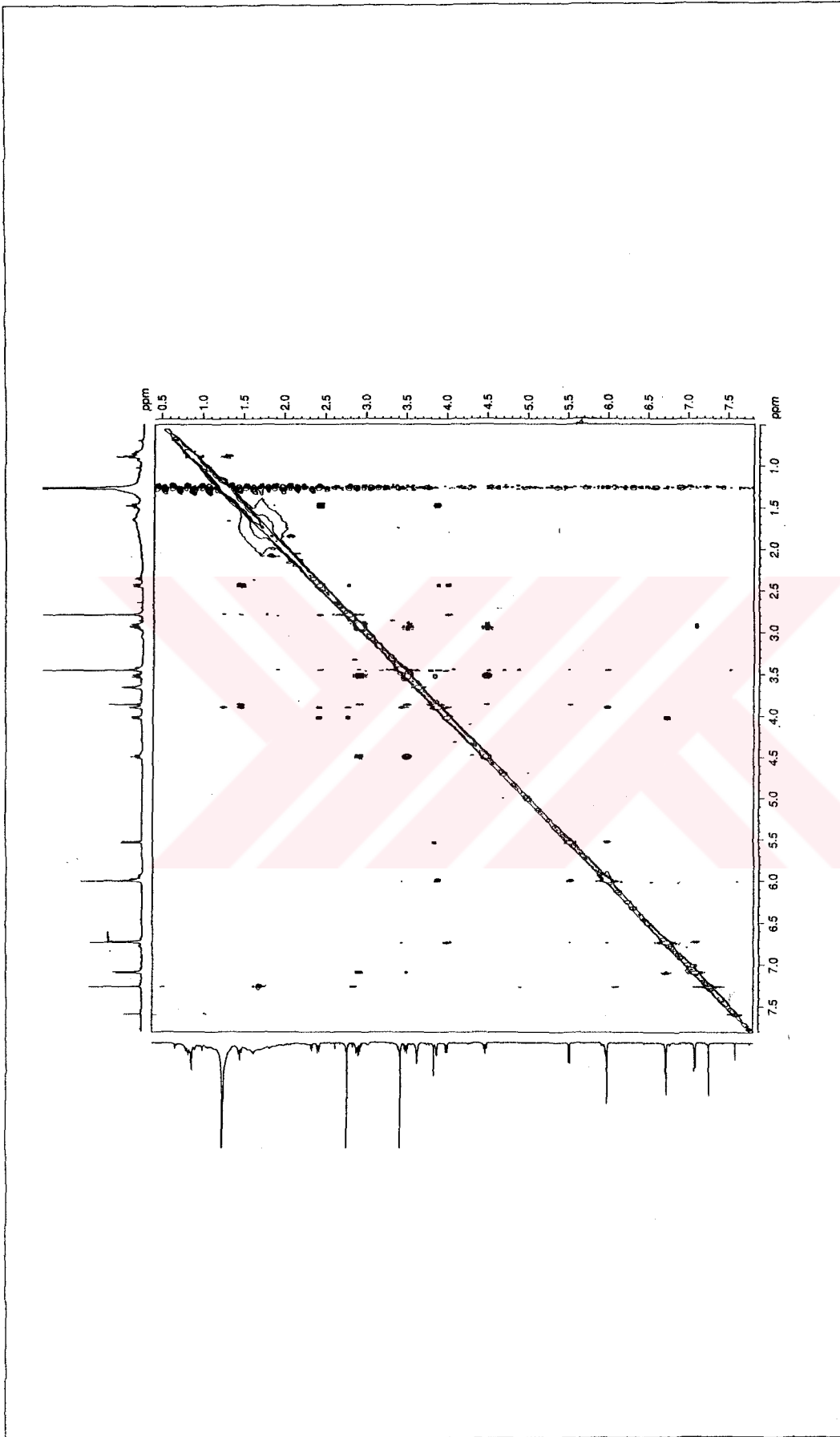
Spektrum No 33. GN-4 Bileşiminin TOCSY Spektrumu



Spektrum No 34. GN-4 Bileşiminin HSQC Spektrumu



Spektrum No 35. GN-4 Bileşiminin HMBC Spektrumu



Spektrum No 36. GN-4 Bileşiminin NOESY Spektrumu

E. GN-5 BİLEŞİĞİNİN SPEKTRAL BULGULARI

$[\alpha]_D -16.9^\circ$ (MeOH; konstr. 0.142).

UV (Spektrum No 37)

MeOH

λ_{maks} nm (log ϵ) 226 (3.97), 287 (3.69).

CD (Spektrum No 38)

MeOH

nm (log ϵ) 325 (0), 313 (-0.22), 308 (0), 289 (+2.11), 262 (+0.72), 245 sh (+2.35), 239 (+3.38), 228 (0), 225 (-0.88), 220 (0), 207 (+18.58), 207 nm ötesinde negatif kuyruk.

IR (Spektrum No 39)

CHCl_3

ν_{maks} cm^{-1} 3300, 3000, 2920, 1665, 1645, 1615, 1505, 1480, 1445, 1425, 1410, 1370, 1360, 1335, 1325, 1265, 1215, 1120, 1090, 1085, 1075, 1040, 935, 925.

ESI Kütle (Spektrum No 40)

m/z 487 $[\text{M}+\text{Na}^+]$, 465 $[\text{M}+\text{H}^+]$.

¹H NMR (Spektrum No 41)600 MHz, CDCl₃

δ 7.23 (1H, s, H-6), 7.03 (2H, d, *J*=8.4, H-2' ve H-6'), 6.75 (2H, d, *J*=8.4, H-3' ve H-5'), 6.72 (1H, s, H-12), 6.46 (1H, s, H-9), 6.33 (1H, dd, *J*=9.9, 4.9, H-2), 6.00 ve 5.96 (2H, 2d, *J*=1.3, OCH₂O), 5.73 (1H, d, *J*=9.9, H-1), 4.30 (1H, d, *J*=16.2, H-8β), 4.12 (1H, d, *J*=16.2, H-8α), 4.09 (1H, m, H-3), 3.96 (1H, m, H-8'), 3.88 (1H, dd, *J*=13.1, 2.8, H-4a), 3.44 (3H, s, OCH₃), 3.17 (1H, m, H-8'), 2.80 (2H, m, H-7'), 2.79 (1H, td, *J*=13.1, 3.8, H-4α), 2.64 (3H, s, NCH₃), 1.94 (1H, *br* d, *J*=13.2, H-4β).

¹³C NMR (Spektrum No 42)150 MHz, CDCl₃

δ 166.9 (C-6a), 163.2 (C-6), 154.7 (C-4'), 148.0 (C-11), 147.5 (C-10), 133.3 (C-1), 130.1 (C-1'), 129.8 (C-2' ve C-6'), 129.2 (C-12a), 128.4 (C-2), 124.4 (C-8a), 115.5 (C-3' ve C-5'), 106.7 (C-12), 104.8 (C-9), 101.5 (OCH₂O), 73.1 (C-3), 61.8 (C-4a), 56.9 (OCH₃), 52.7 (C-12b), 50.7 (C-8), 50.5 (C-8'), 32.3 (C-7'), 29.1 (C-4), 27.5 (NCH₃).

DEPT 135 (Spektrum No 43)

¹H, ¹H DQF-COSY (Spektrum No 44) (Tablo 11)

TOCSY (Spektrum No 45) (Tablo 11)

HSQC (Spektrum No 46) (Tablo 12)

HMBC (Spektrum No 47) (Tablo 12)

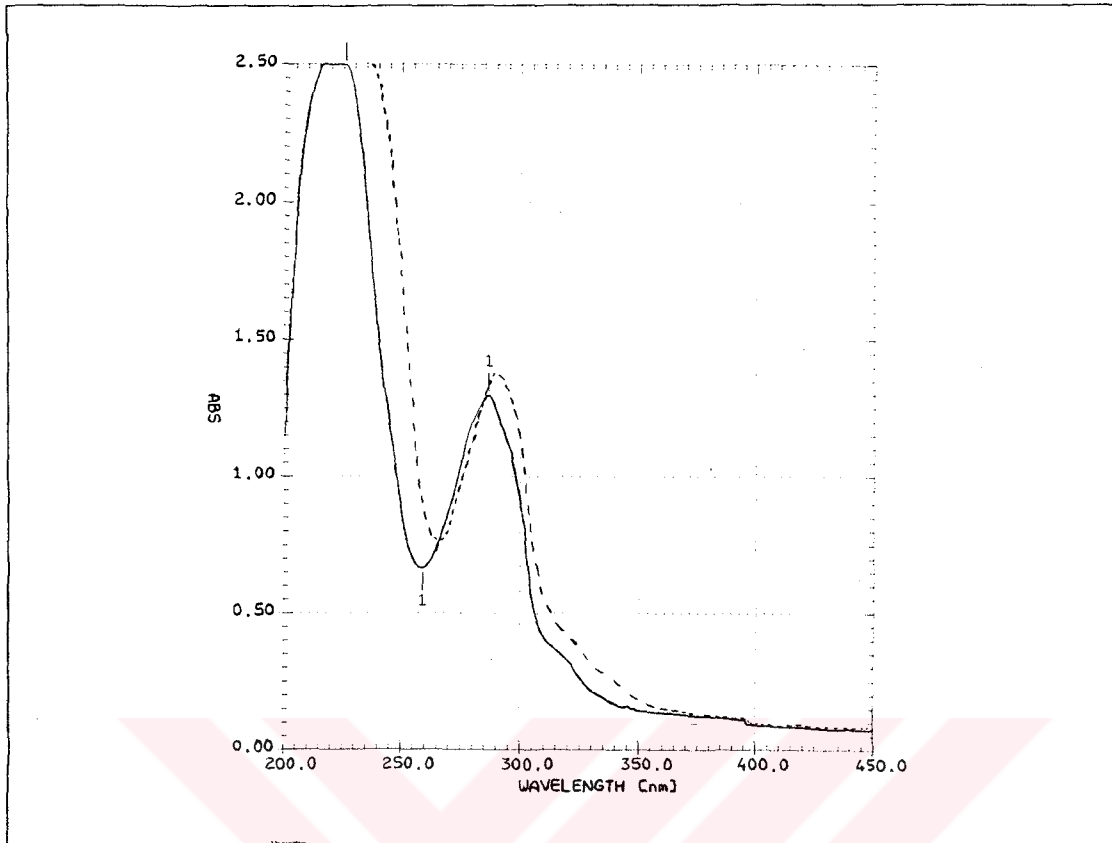
NOESY (Spektrum No 48) (Tablo 11)

H	δ	$^1\text{H}, ^1\text{H DQF-COSY}$	TOCSY	NOESY
1	5.73	H-2	H-2, H-3, H-4 α , H-4 β , H-4a	H-2, H-12
2	6.33	H-1, H-3	H-1, H-3, H-4 α , H-4 β , H-4a, NCH ₃	H-1, H-3, OCH ₃
3	4.09	H-2, H-4 α	H-1, H-2, H-4 α , H-4 β , H-4a	H-2, H-4 α , H-4 β , OCH ₃
4 α	2.79	H-3, H-4 β , H-4a	H-1, H-2, H-3, H-4 β , H-4a	H-6, NCH ₃
4 β	1.94	H-4 α , H-4a	H-1, H-2, H-3, H-4 α , H-4a	H-3, H-4a, H-6, OCH ₃ , NCH ₃
4a	3.88	H-4 α , H-4 β	H-1, H-3, H-4 α , H-4 β	H-1, H-3, H-4 β , H-6, H-12, H-8' (3.96), NCH ₃
6	7.23	-	NCH ₃	H-4 α , H-4a, NCH ₃
8 α	4.12	H-8 β	H-8 β , H-9	H-9, H-2' (6'), H-7', H-8' (3.17)
8 β	4.30	H-8 α	H-8 α , H-9	H-6, H-9, H-7', H-8' (3.17), NCH ₃
9	6.46	-	H-8 α , H-8 β , H-12	H-8 α , H-8 β
12	6.72	-	H-8 α , H-8 β , H-9	H-1
2' (6')	7.03	H-3' (5')	H-3' (5')	H-7', H-8' (3.96, 3.17)
3' (5')	6.75	H-2' (6')	H-2' (6')	H-1, H-4a
7'	2.80	H-8' (3.96, 3.17)	H-8' (3.96, 3.17)	H-2' (6'), H-8' (3.96)
8'	3.96	H-7', H-8' (3.17)	H-7', H-8' (3.17)	H-2' (6'), H-7', NCH ₃
8'	3.17	H-7', H-8' (3.96)	H-7', H-8' (3.96)	H-8 α , H-8 β , H-2' (6'), H-7'
OCH ₂ O	6.00, 5.96	-	-	-
OCH ₃	3.44	-	-	H-2, H-3, H-4 β , H-4a
NCH ₃	2.64	-	H-6	H-4 α , H-4 β , H-4a, H-6, H-8 β , H-8' (3.96, 3.17)

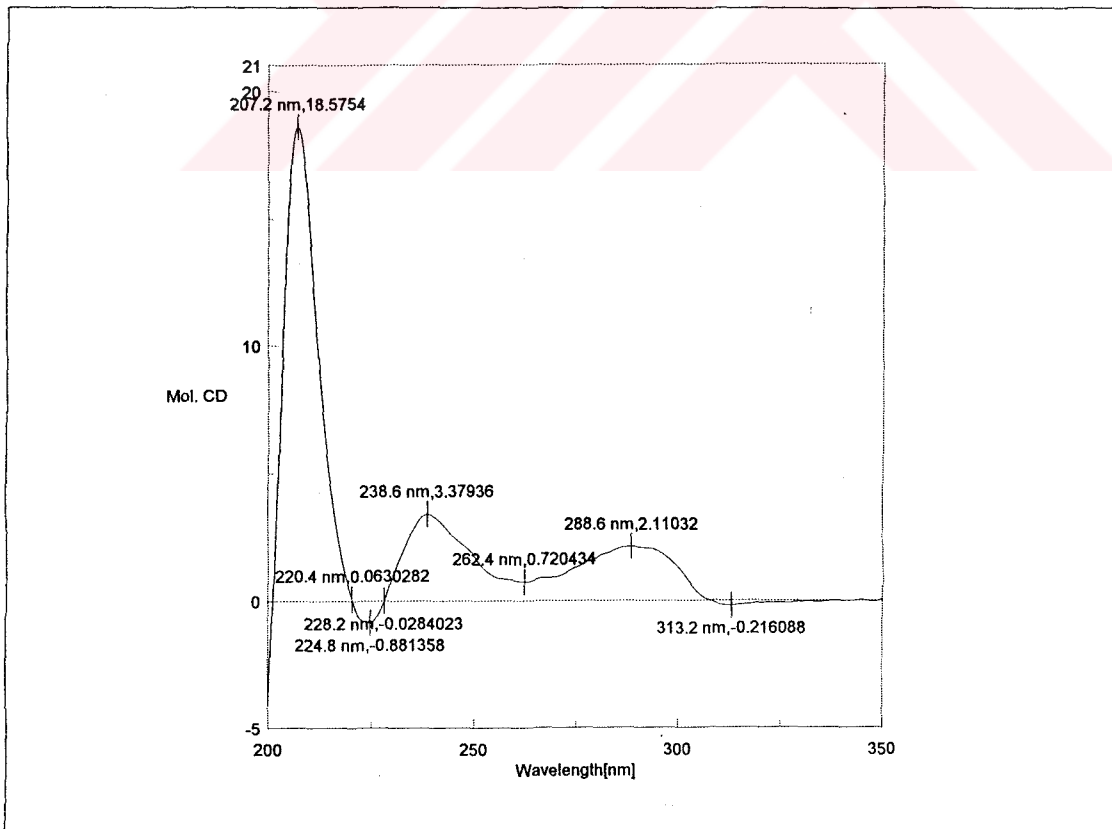
Tablo 11. GN-5 Bileşiminin 1D ve 2D NMR Bulguları (δ)

	¹ H	¹³ C / HSQC	HMBC
1	5.73	133.3	C-3, C-4a, C-12a, C-12b
2	6.33	128.4	C-1, C-3, C-4, C-6a, C-12b
3	4.09	73.1	C-1, C-2, C-4a, OCH ₃
4 α	2.79	29.1	C-4a, C-12b
4 β	1.94	29.1	C-2, C-3, C-4a, C-12b
4a	3.88	61.8	C-3, C-4, C-6, C-6a, C-12a, C-12b, NCH ₃
6	7.23	163.2	C-4a, NCH ₃
6a	-	166.9	-
8 α	4.12	50.7	C-6a, C-8a, C-9, C-12a, C-8'
8 β	4.30	50.7	C-6a, C-8a, C-9, C-12a
8a	-	124.4	-
9	6.46	104.8	C-8, C-10, C-11, C-12, C-12a
10	-	147.5	-
11	-	148.0	-
12	6.72	106.7	C-8a, C-9, C-10, C-11, C-12a, C-12b
12a	-	129.2	-
12b	-	52.7	-
1'	-	130.1	-
2' (6')	7.03	129.8	C-3' (5'), C-4', C-7'
3' (5')	6.75	115.5	C-1', C-4'
4'	-	154.7	-
7'	2.80	32.3	C-2' (6'), C-8'
8'	3.96	50.5	C-6a, C-8, C-1', C-7'
8'	3.17	50.5	C-6a, C-8
OCH ₂ O	6.00, 5.96	101.5	C-10, C-11
OCH ₃	3.44	56.9	C-3
NCH ₃	2.64	27.5	C-4a, C-6

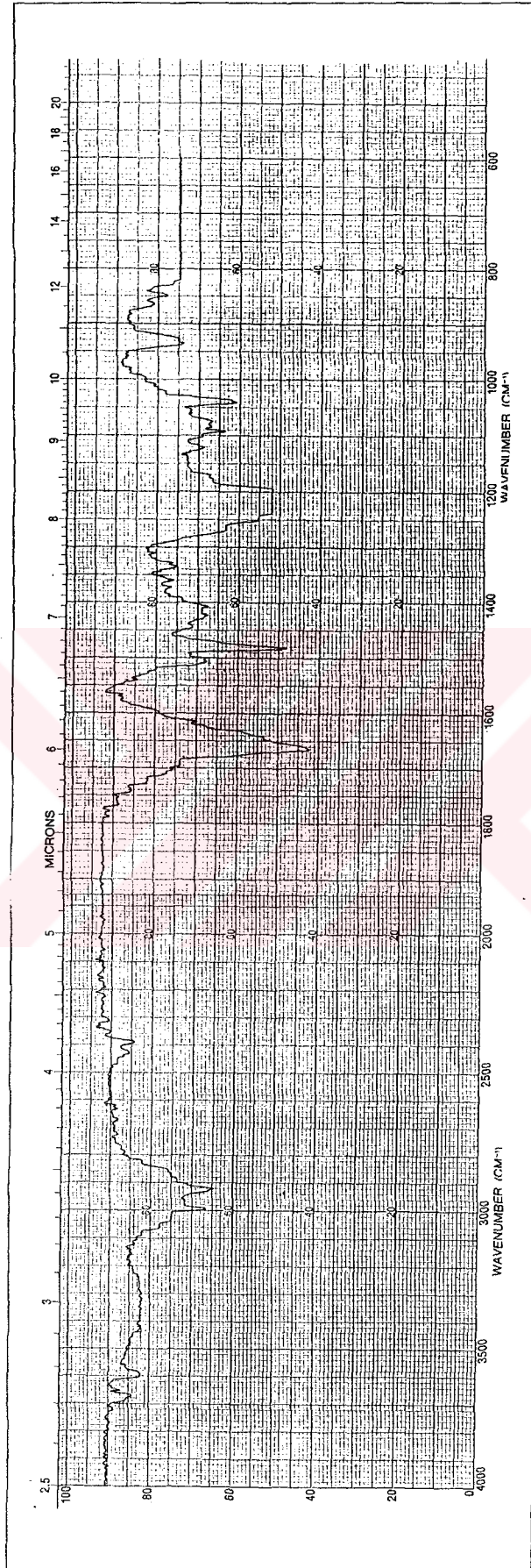
Tablo 12. GN-5 Bileşğinin 1D ve 2D NMR Bulguları (δ)



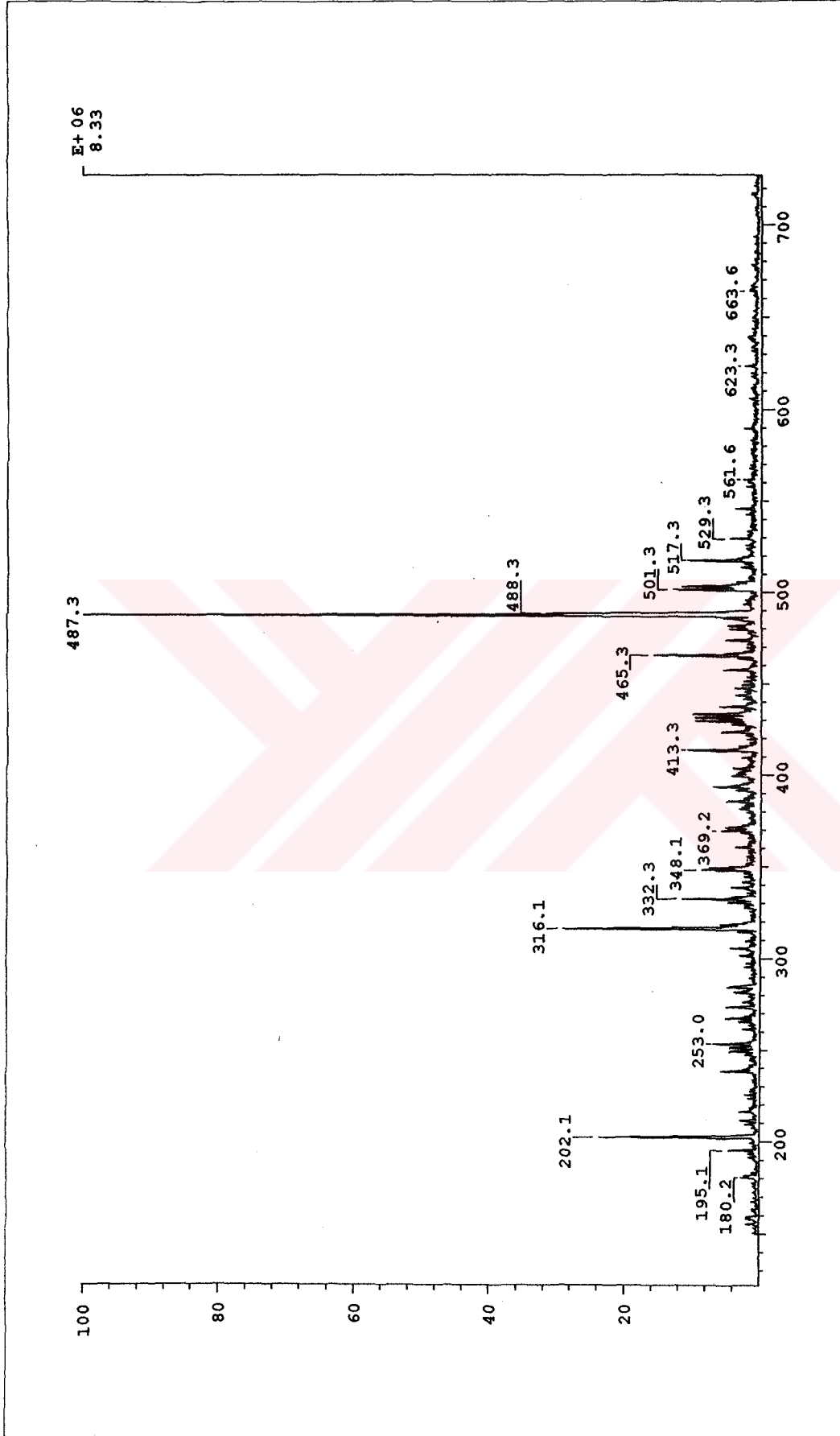
Spektrum No 37. GN-5 Bileşiginin UV Spektrumu



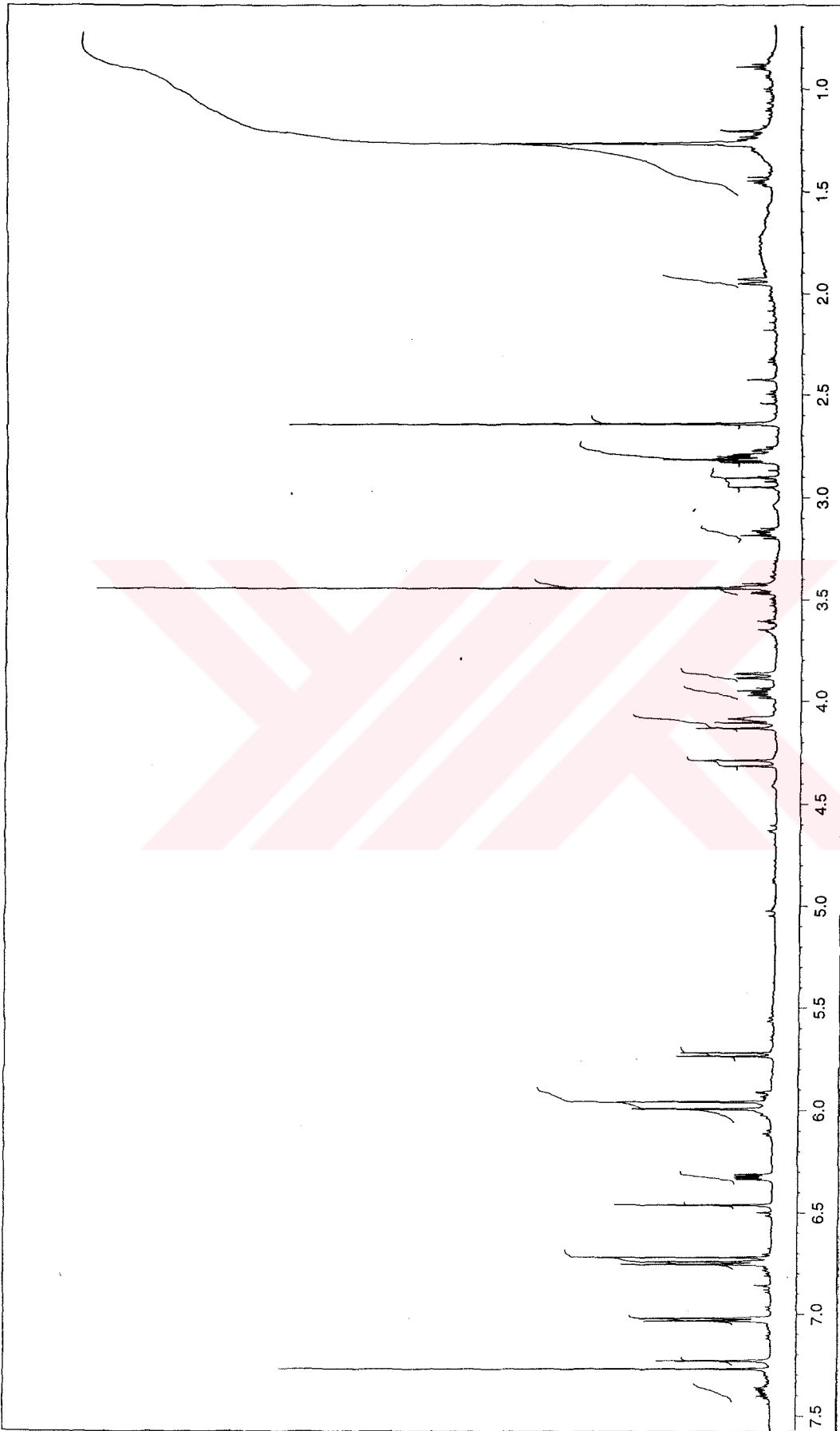
Spektrum No 38. GN-5 Bileşiginin CD Spektrumu

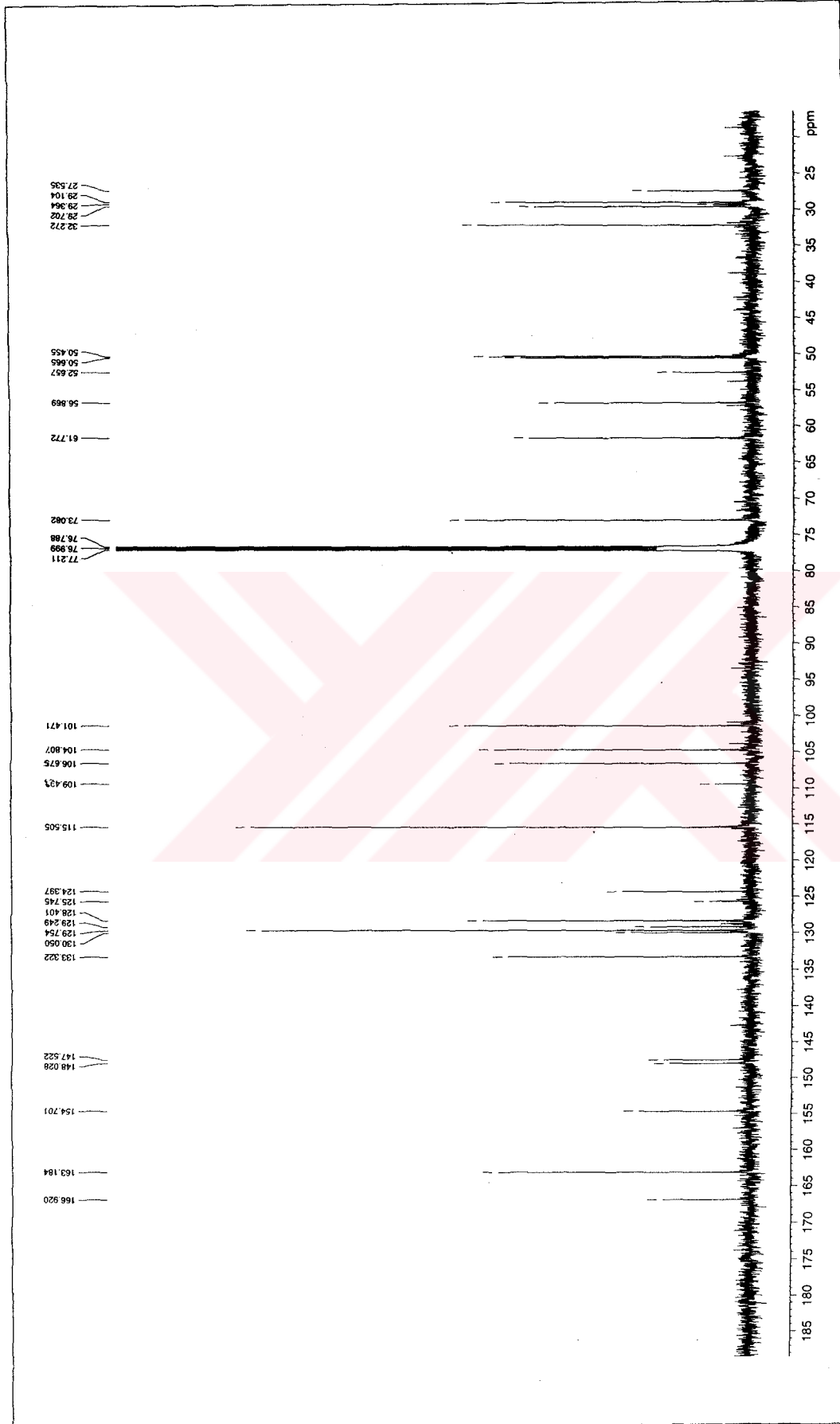


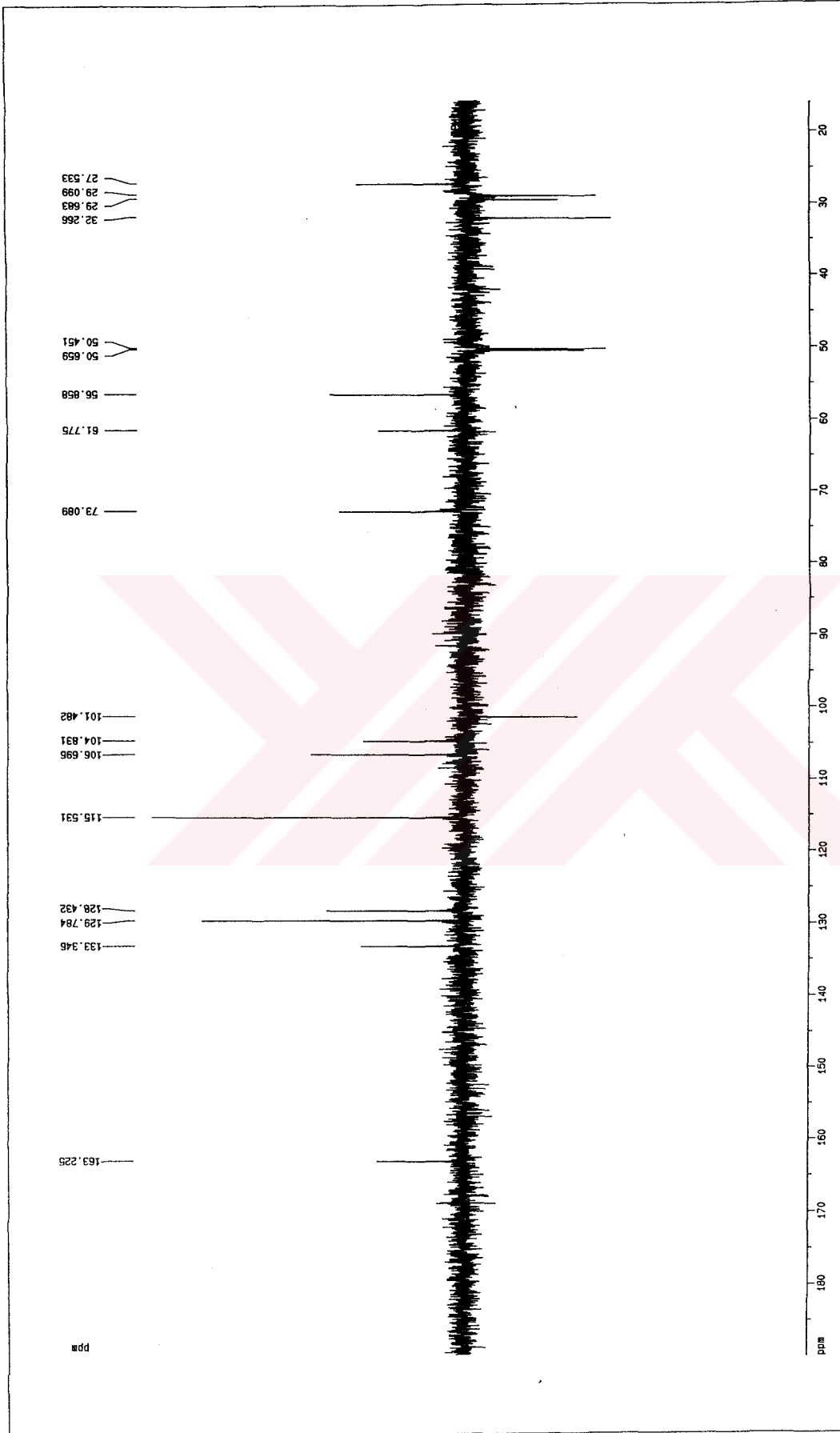
Spektrum No 39. GN-5 Bileşiminin IR Spektrumu



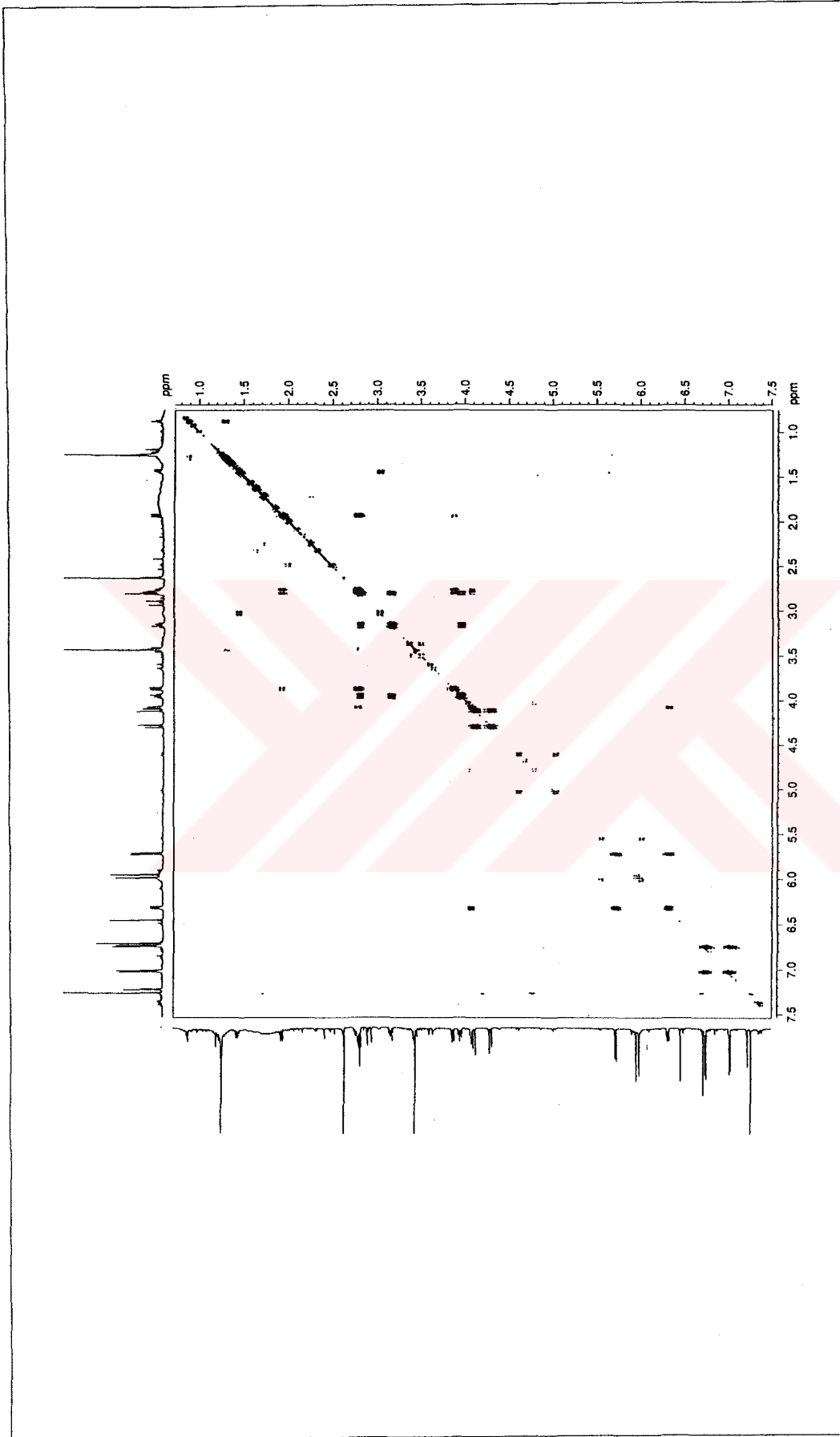
Spektrum No 40. GN-5 Bileşinin ESI Kütle Spektromu

Spektrum No 41. GN-5 Bileşiminin ^1H NMR Spektrumu

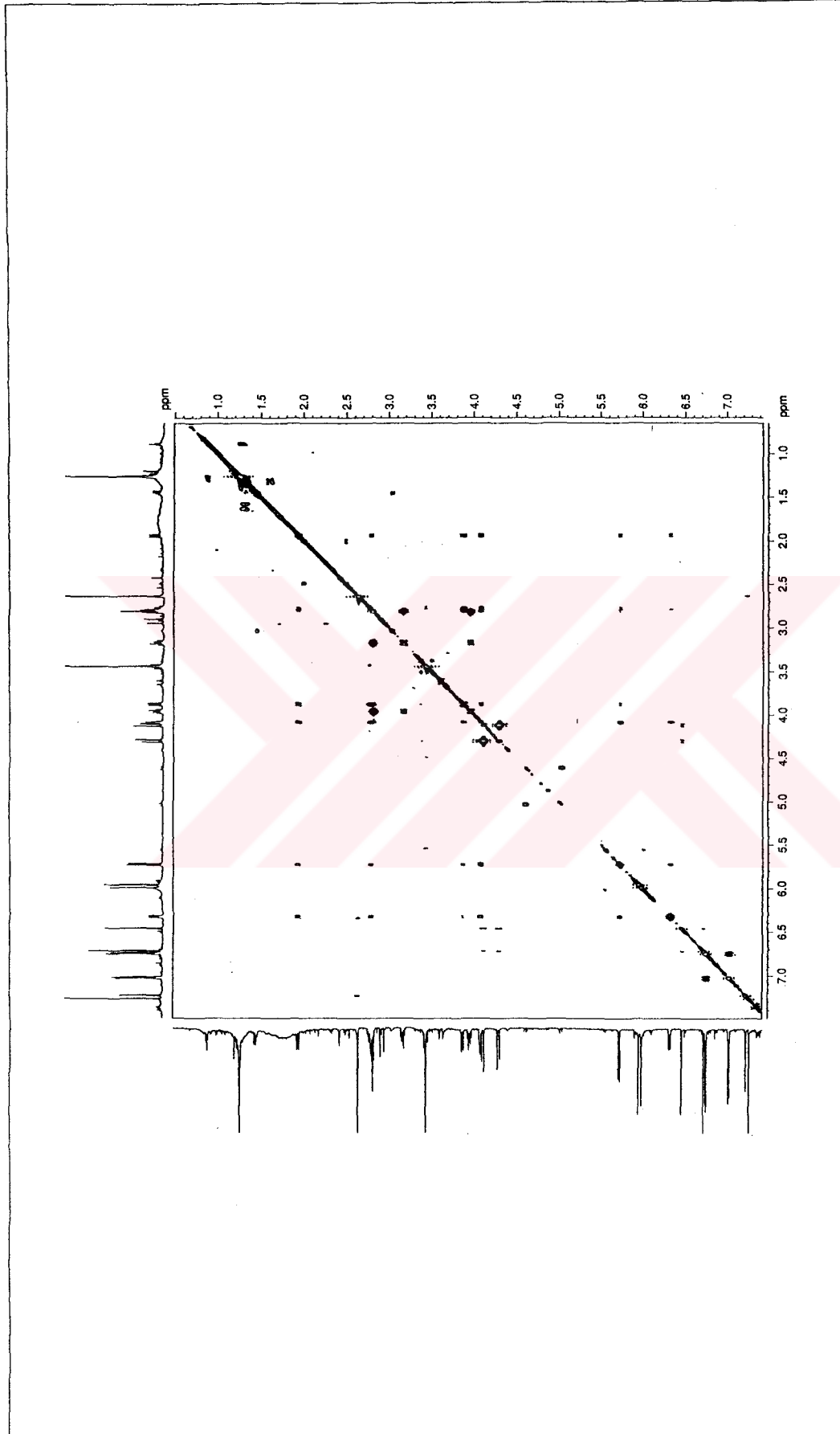
Spektrum No 42. GN-5 Bileşinin ¹³C NMR Spektrumu



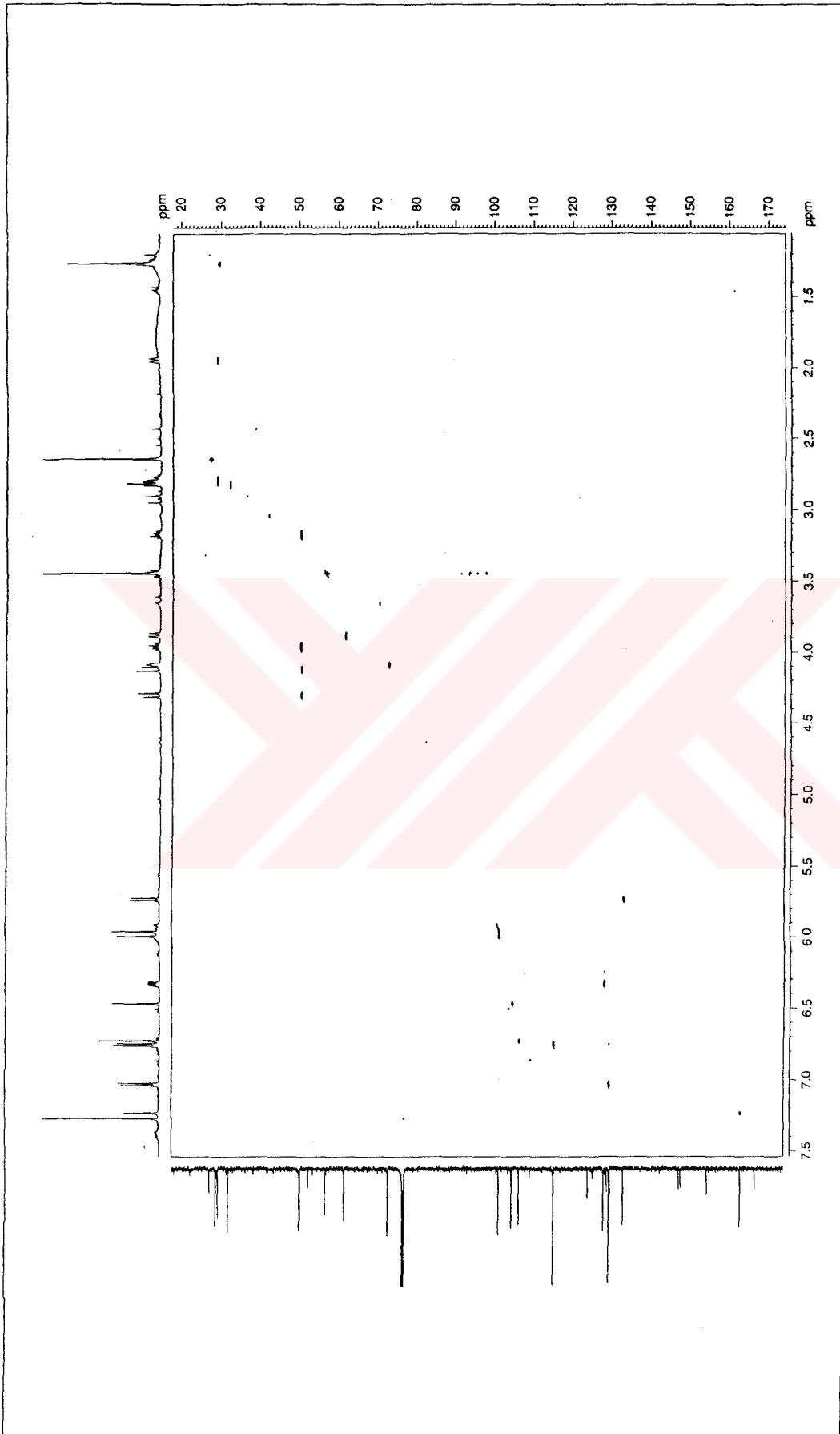
Spektrum No 43. GN-5 Bileşiminin DEPT 135 Spektrumu



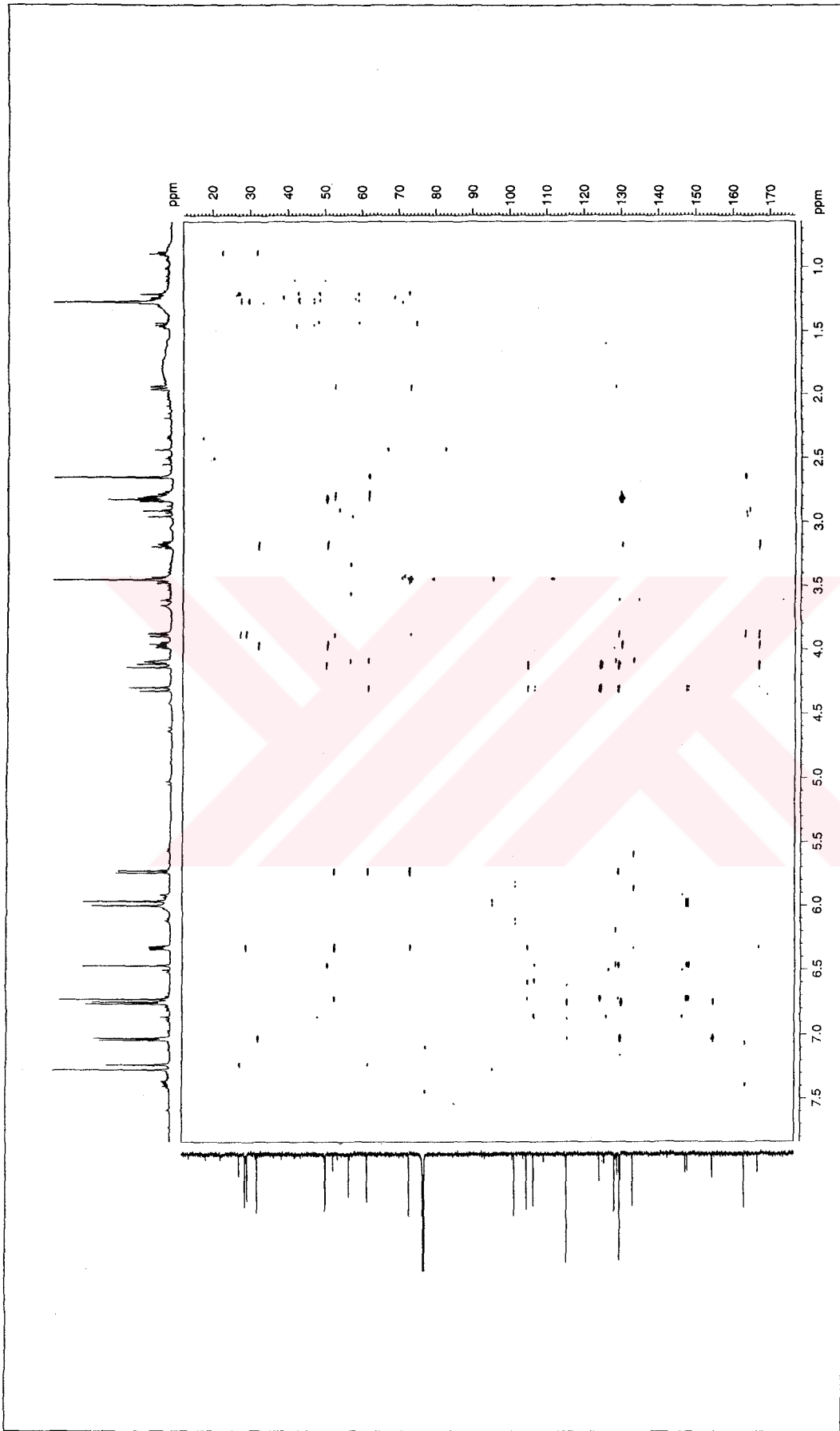
Spektrum No 44. GN-5 Bileşğinin ¹H, ¹H DQF-COSY Spektrumu



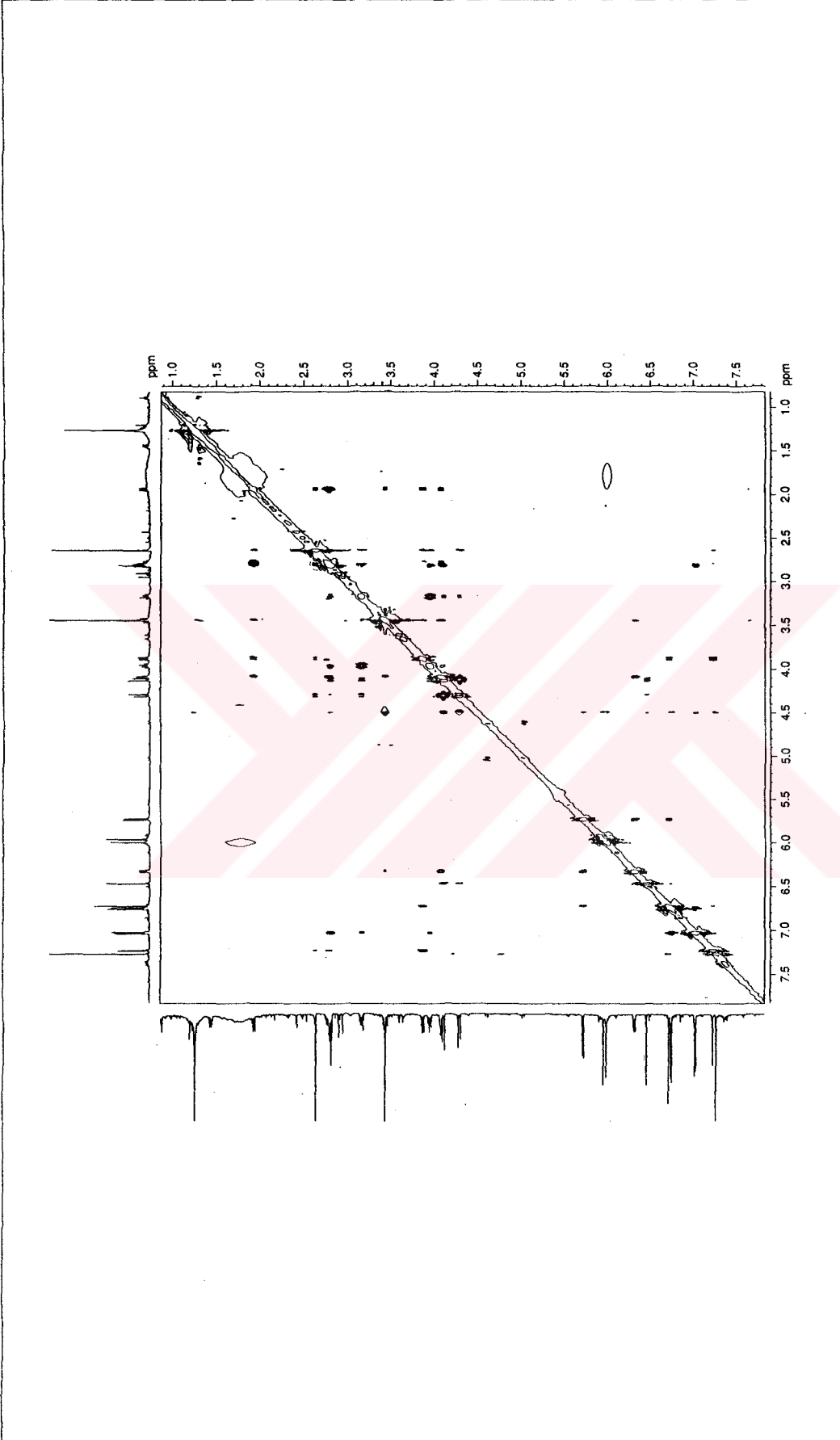
Spektrum No 45. GN-5 Bileşinin TOCSY Spektrumu



Spektrum No 46. GN-5 Bileşiminin HSQC Spektrumu



Spektrum No 47. GN-5 Bileşiminin HMBC Spektrumu



Spektrum No 48. GN-5 Bileşiminin NOESY Spektrumu

F. GN-6 BİLEŞİĞİNİN SPEKTRAL BULGULARI

$[\alpha]_D +120^\circ$ (MeOH; konstr. 0.2).

UV (Spektrum No 49)

MeOH

λ_{maks} nm (log ϵ) 228 (4.34), 262 sh (3.66), 309 (3.42).

CD (Spektrum No 50)

MeOH

nm (log ϵ) 330 (0), 276 (+3.36), 263 (0), 252 (-2.05), 243 (0), 229, (+22.05), 217 sh (+11.77), 217 nm ötesinde negatif kuyruk.

IR (Spektrum No 51)

CHCl₃

ν_{maks} cm⁻¹ 2995, 2925, 2880, 2850, 1715, 1615, 1585, 1575, 1500, 1480, 1405, 1380, 1360, 1275, 1250, 1215, 1145, 1110, 1065, 1040, 930, 885, 840.

EI Kütle (Spektrum No 52)

m/z (%) 298 (5), 297 (28), 282 (19), 229 (8), 190 (38), 184 (33), 169 (6), 167 (8), 155 (45), 154 (9), 153 (17), 149 (23), 123 (8), 105 (100), 91 (12), 83 (10), 81 (15), 77 (23), 71 (11), 69 (24).

CI Kütle (Spektrum No 53)

m/z 316 [M+H⁺].

Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi
Mikroanaliz Laboratuvarı

¹H NMR (Spektrum No 54)600 MHz, CD₃OD

δ 7.44 (1H, s, H-9), 6.90 (1H, s, H-12), 6.09 ve 6.08 (2H, 2d, $J=0.7$, OCH₂O), 5.90 (1H, d, $J=10.3$, H-2), 5.39 (1H, d, $J=10.3$, H-1), 4.65 (1H, t, $J=9.2$, H-6a), 4.49 (1H, dd, $J=9.2, 7.0$, H-3), 3.30 (1H, çözücü sinyali altında kalmış, H-4a), 3.17 (1H, t, $J=10.8$, H-6α), 2.93 (1H, m, H-6β), 2.60 (3H, s, NCH₃), 2.53 (1H, m, H-4eq), 1.85 (1H, t, $J=11.8$, H-4ax).

¹³C NMR (Spektrum No 55)150 MHz, CD₃OD

δ 167.5 (C-8), 154.3 (C-11), 148.9 (C-10), 143.8 (C-12a), 136.2 (C-2), 126.3 (C-1), 119.7 (C-8a), 111.5 (C-9), 105.1 (C-12), 104.0 (OCH₂O), 81.1 (C-6a), 65.8 (C-4a), 64.3 (C-3), 54.7 (C-6), 47.3 (C-12b), 43.5 (NCH₃), 33.5 (C-4).

DEPT 135 (Spektrum No 56)

¹H, ¹H DQF-COSY (Spektrum No 57) (Tablo 13)

TOCSY (Spektrum No 58) (Tablo 14)

HSQC (Spektrum No 59) (Tablo 14)

HMBC (Spektrum No 60) (Tablo 14)

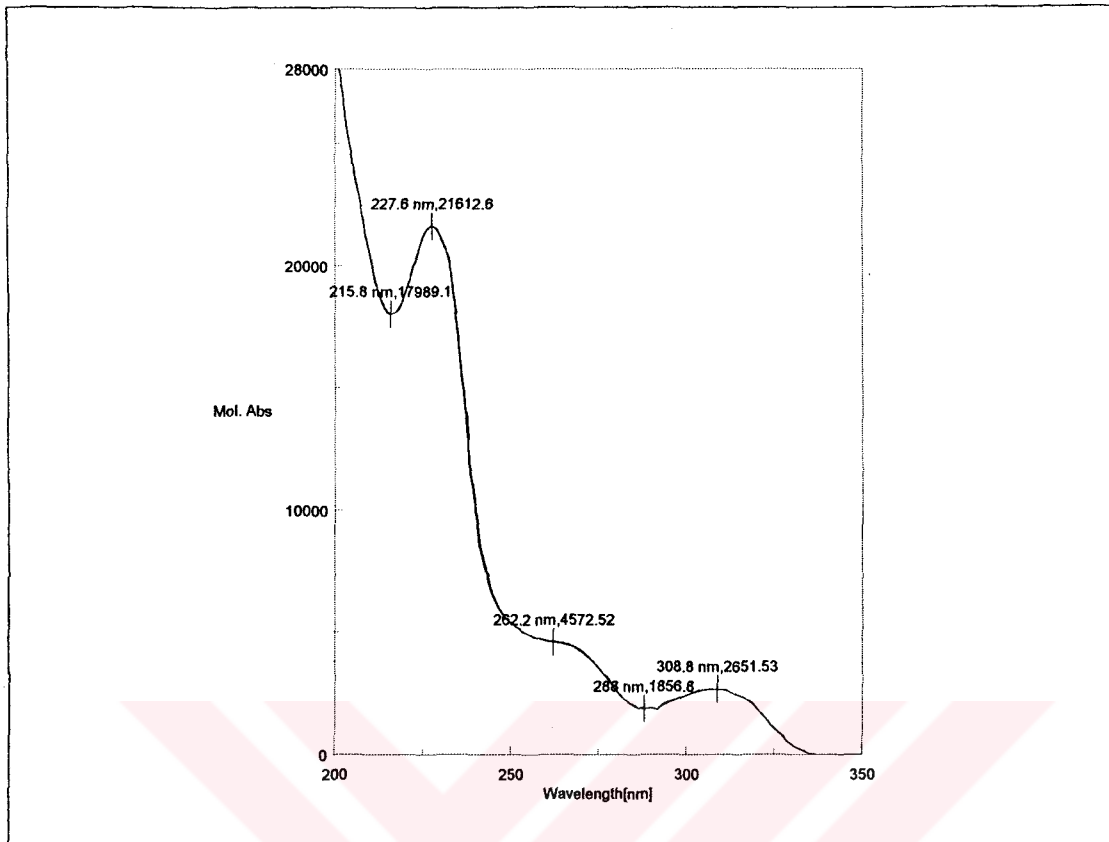
NOESY (Spektrum No 61) (Tablo 13)

H	δ	$^1\text{H}, ^1\text{H DQF-COSY}$	TOCSY	NOESY
1	5.39	H-2	H-2, H-3, H-4eq H-4ax, H-4a	H-2, H-6 α , H-6a, H-12
2	5.90	H-1	H-1, H-3, H-4eq H-4ax	H-1, H-3
3	4.49	H-4eq, H-4ax	H-1, H-2 H-4eq, H-4ax, H-4a	H-2, H-4eq, H-4ax, H-6 α , NCH ₃
4eq	2.53	H-3, H-4ax	H-1, H-2, H-3, H-4ax, H-4a	H-3, H-4ax, H-4a, H-12
4ax	1.85	H-3, H-4eq	H-1, H-3, H-4eq, H-4a	H-4eq, H-4a, H-12
4a	3.30	-	H-3, H-4eq, H-4ax	H-3, H-4eq, H-4ax, H-6a, H-12, NCH ₃
6 α	3.17	H-6 β , H-6a	H-6 β , H-6a	H-1, H-3, H-6 β , H-6a
6 β	2.93	H-6 α , H-6a	H-6 α , H-6a	H-6 α , H-6a, NCH ₃
6a	4.65	H-6 α , H-6 β	H-6 α , H-6 β	H-1, H-4a, H-6 α , H-6 β , NCH ₃
9	7.44	-	-	-
12	6.90	-	-	H-1, H-4eq, H-4ax, H-4a,
OCH ₂ O	6.09, 6.08	-	-	-
NCH ₃	2.60	-	-	H-3, H-4ax, H-4a, H-6 β , H-6a

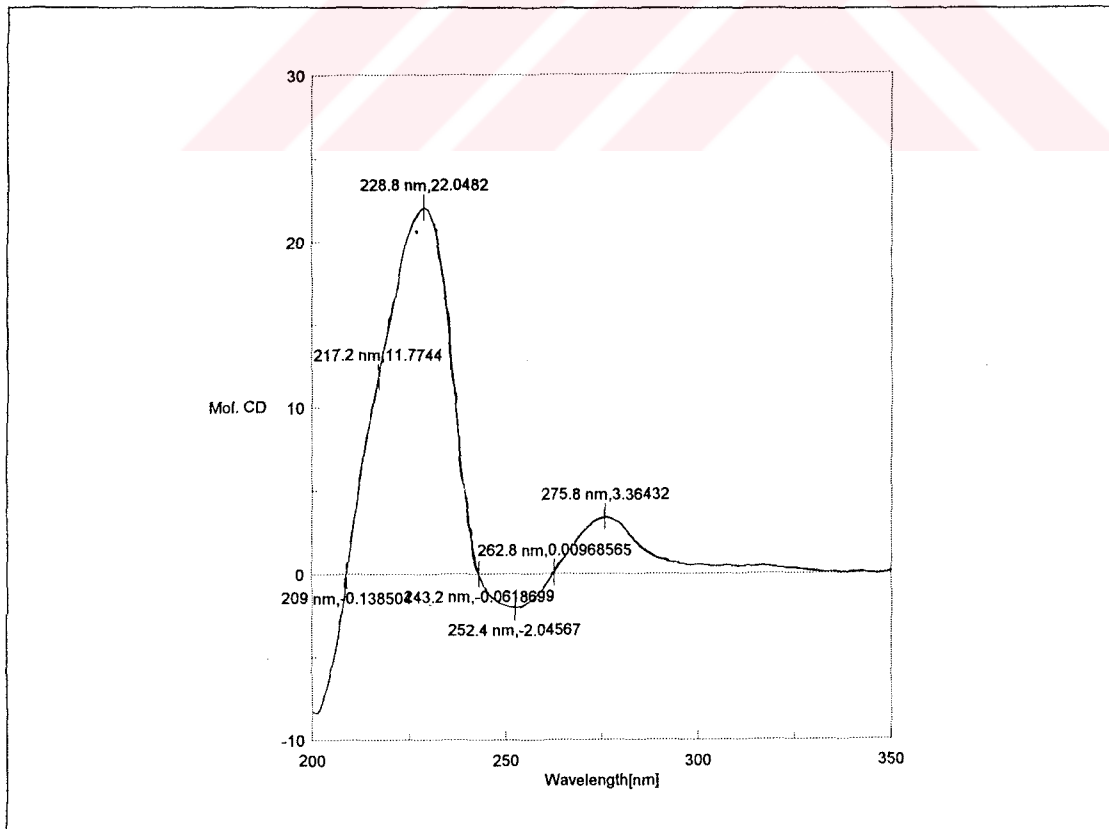
Tablo 13. GN-6 Bileşğinin 1D ve 2D NMR Bulguları (δ)

	¹ H	¹³ C / HSQC	HMBC
1	5.39	126.3	C-3, C-12b
2	5.90	136.2	C-4, C-12b
3	4.49	64.3	C-1, C-2
4eq	2.53	33.5	C-12b
4ax	1.85	33.5	C-3
4a	3.30	65.8	-
6α	3.17	54.7	C-6a, NCH ₃
6β	2.93	54.7	C-12b, NCH ₃
6a	4.65	81.1	C-1
8	-	167.5	-
8a	-	119.7	-
9	7.44	111.5	C-8, C-8a, C-10, C-11, C-12a
10	-	148.9	-
11	-	154.3	-
12	6.90	105.1	C-8, C-8a, C-9, C-10, C-11, C-12b
12a	-	143.8	-
12b	-	47.3	-
OCH ₂ O	6.09, 6.08	104.0	C-10, C-11
NCH ₃	2.60	43.5	C-4a, C-6

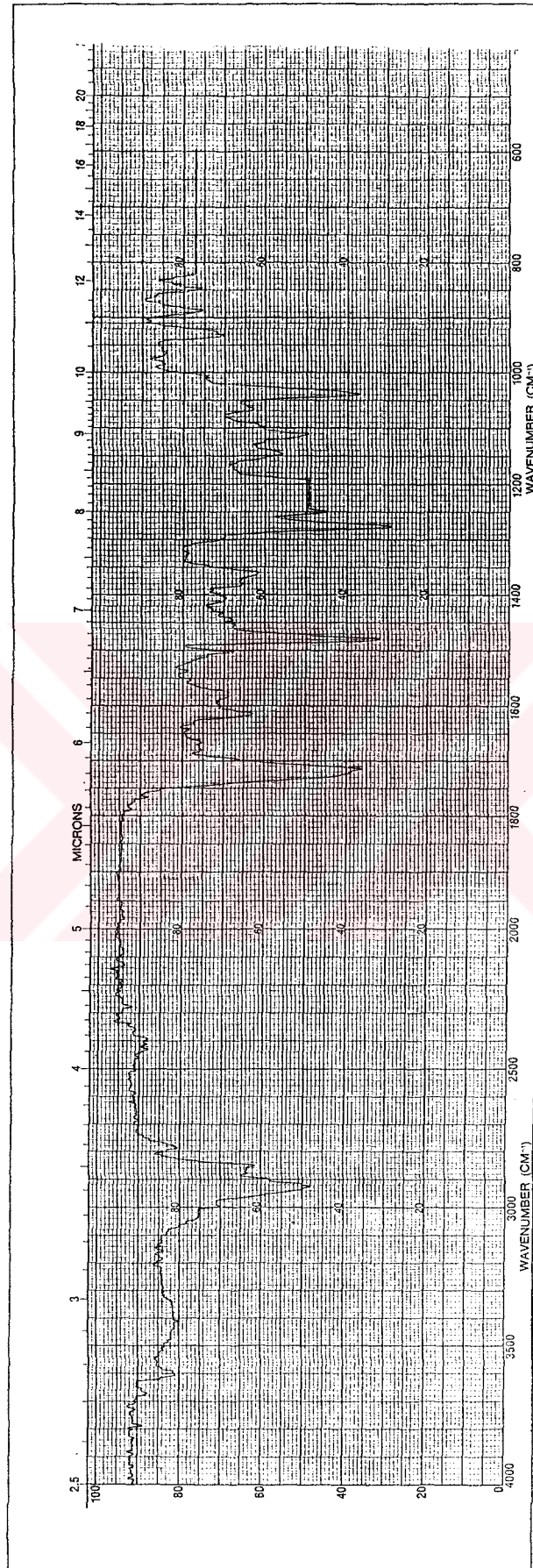
Tablo 14. GN-6 Bileşiğinin 1D ve 2D NMR Bulguları (δ)



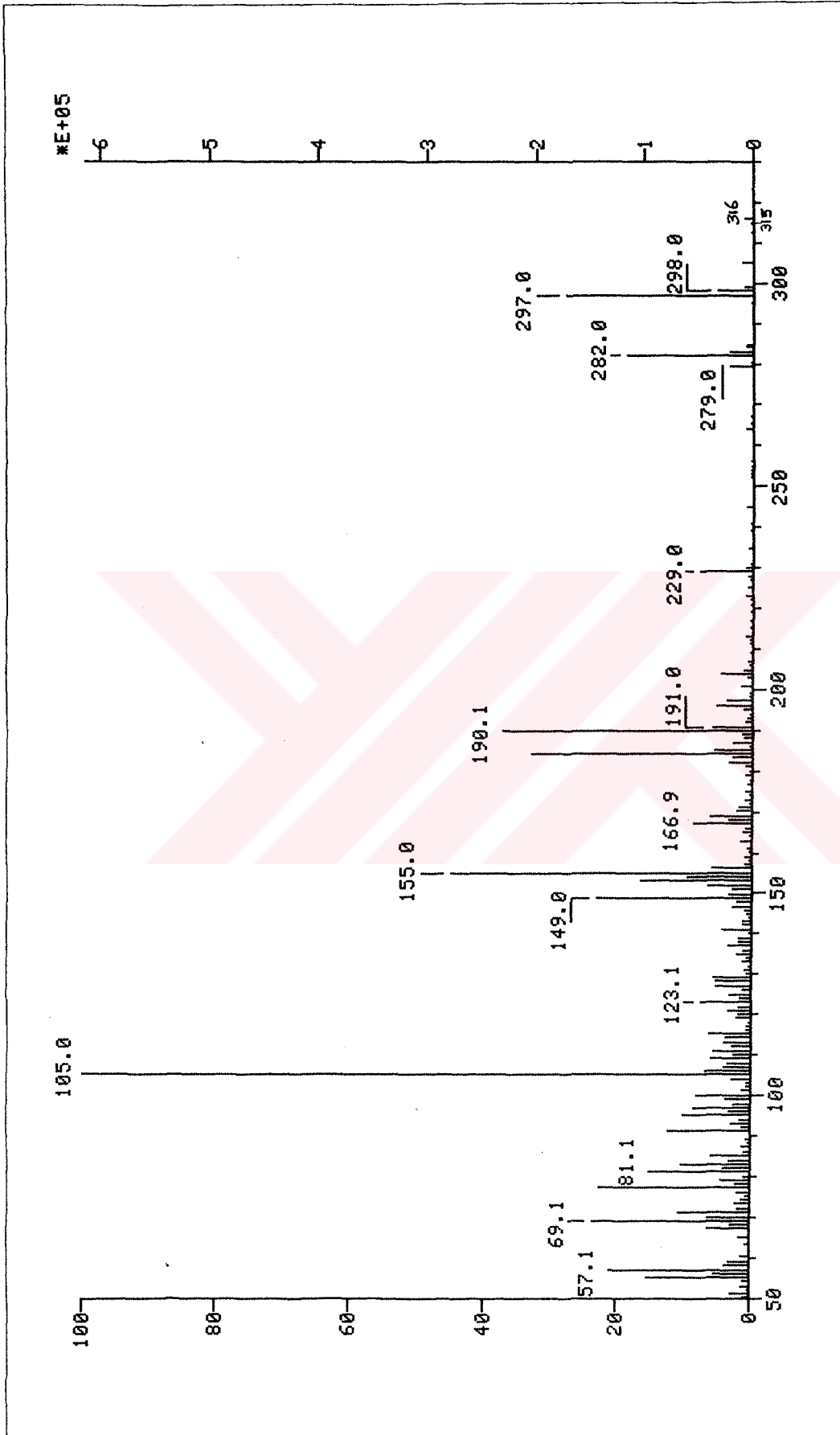
Spektrum No 49. GN-6 Bileşğinin UV Spektrumu



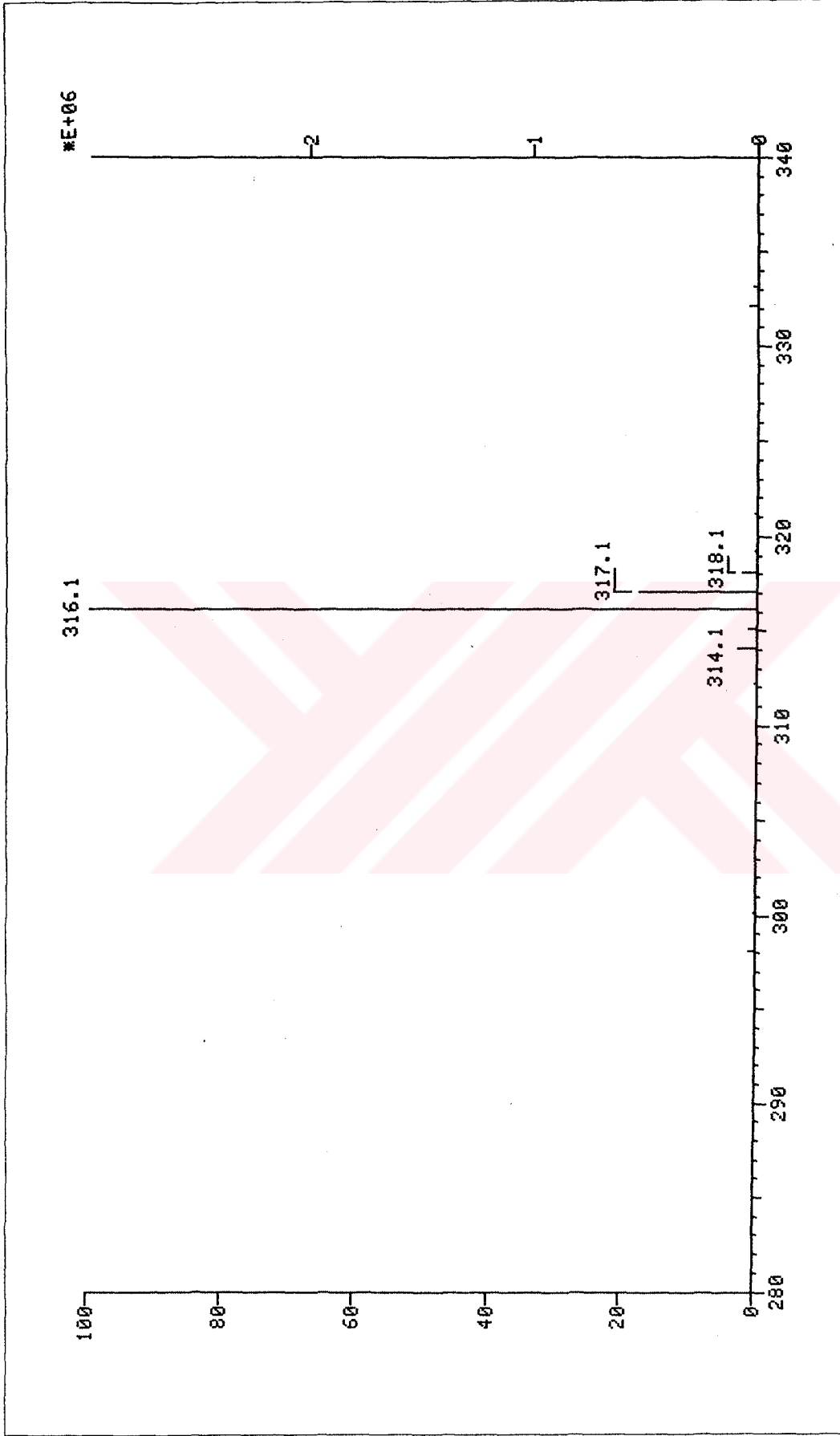
Spektrum No 50. GN-6 Bileşğinin CD Spektrumu



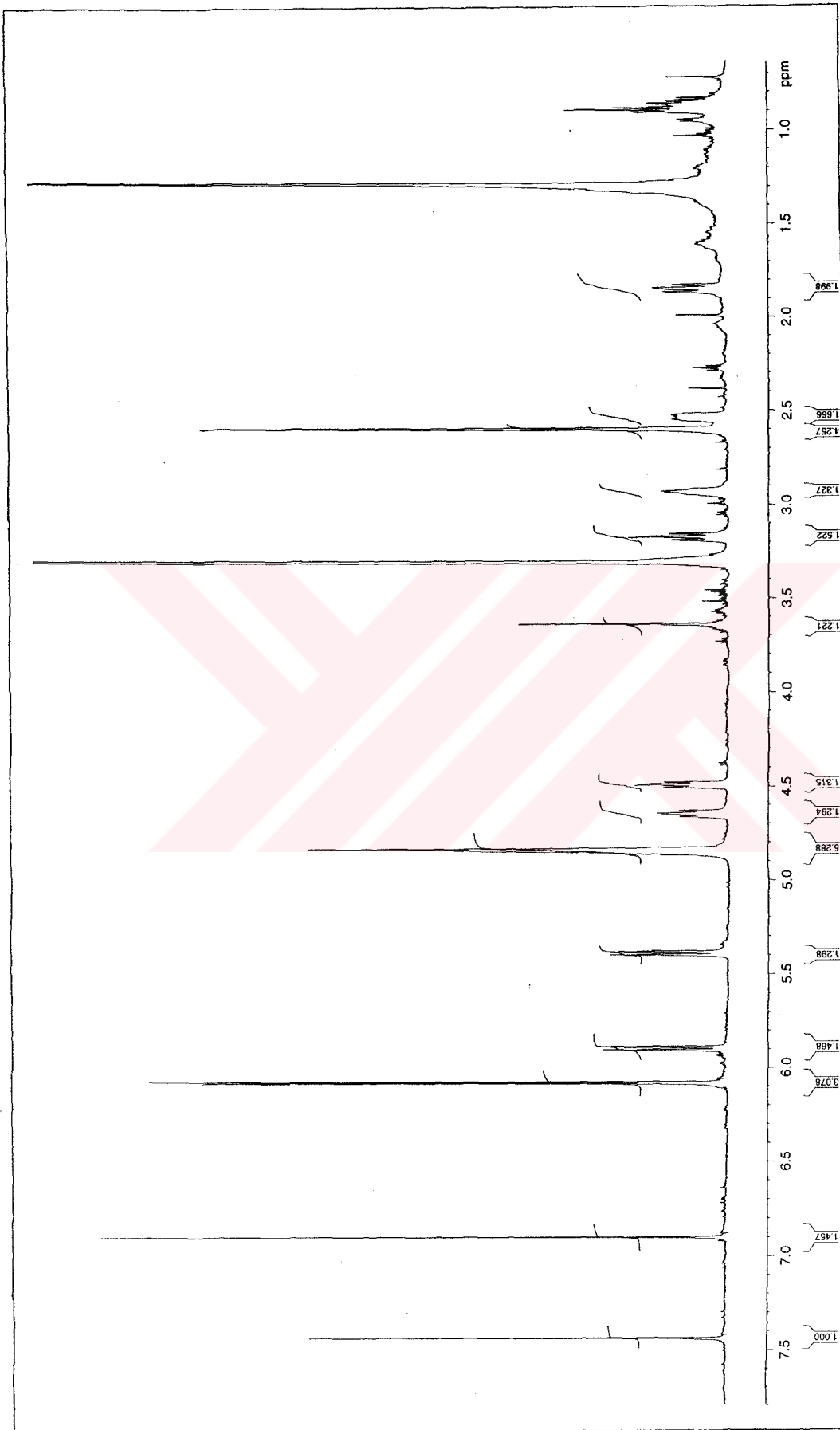
Spektrum No 51. GN-6 Bileşinin IR Spektrumu

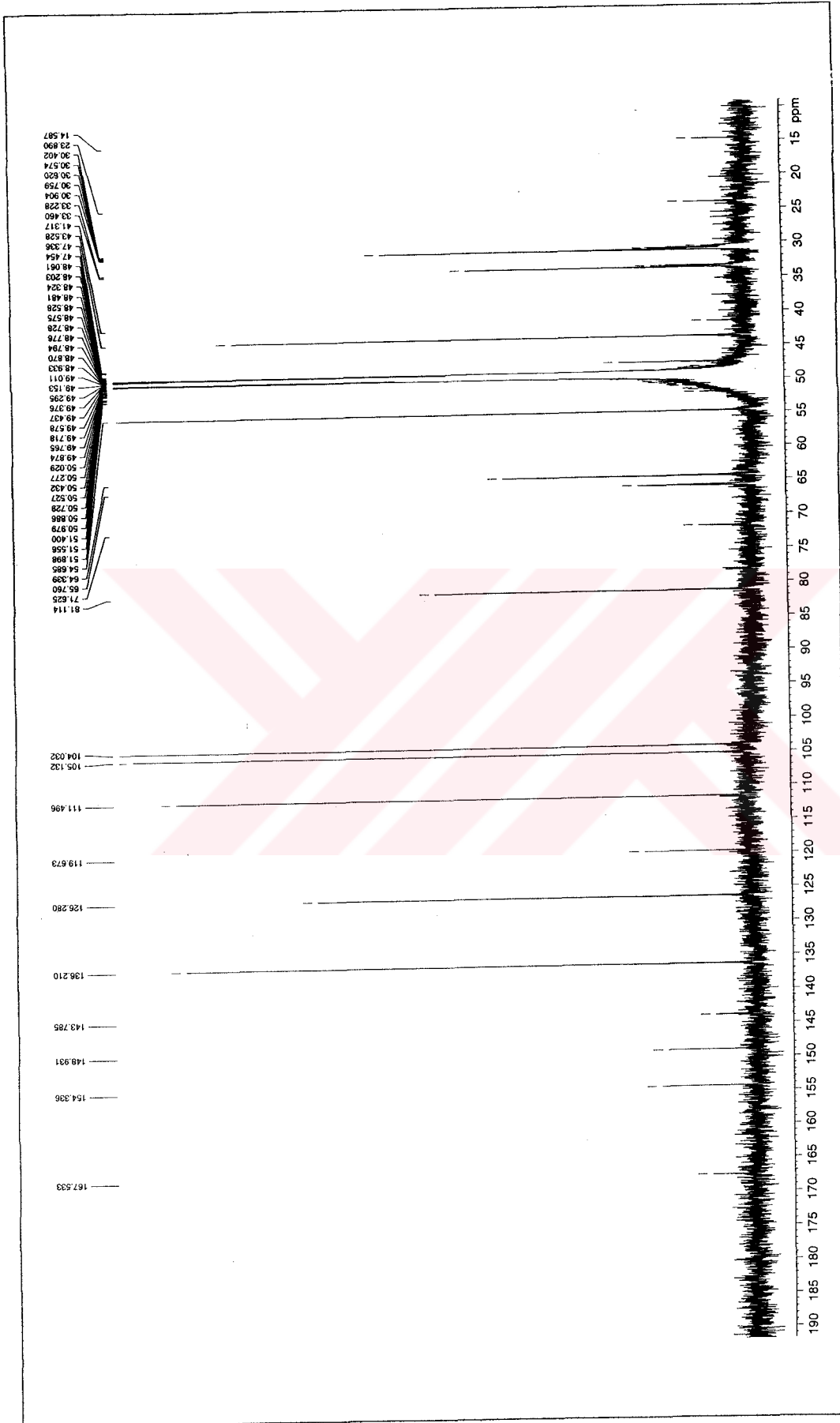


Spektrum No 52. GN-6 Bileşiminin EI Kütle Spektrumu

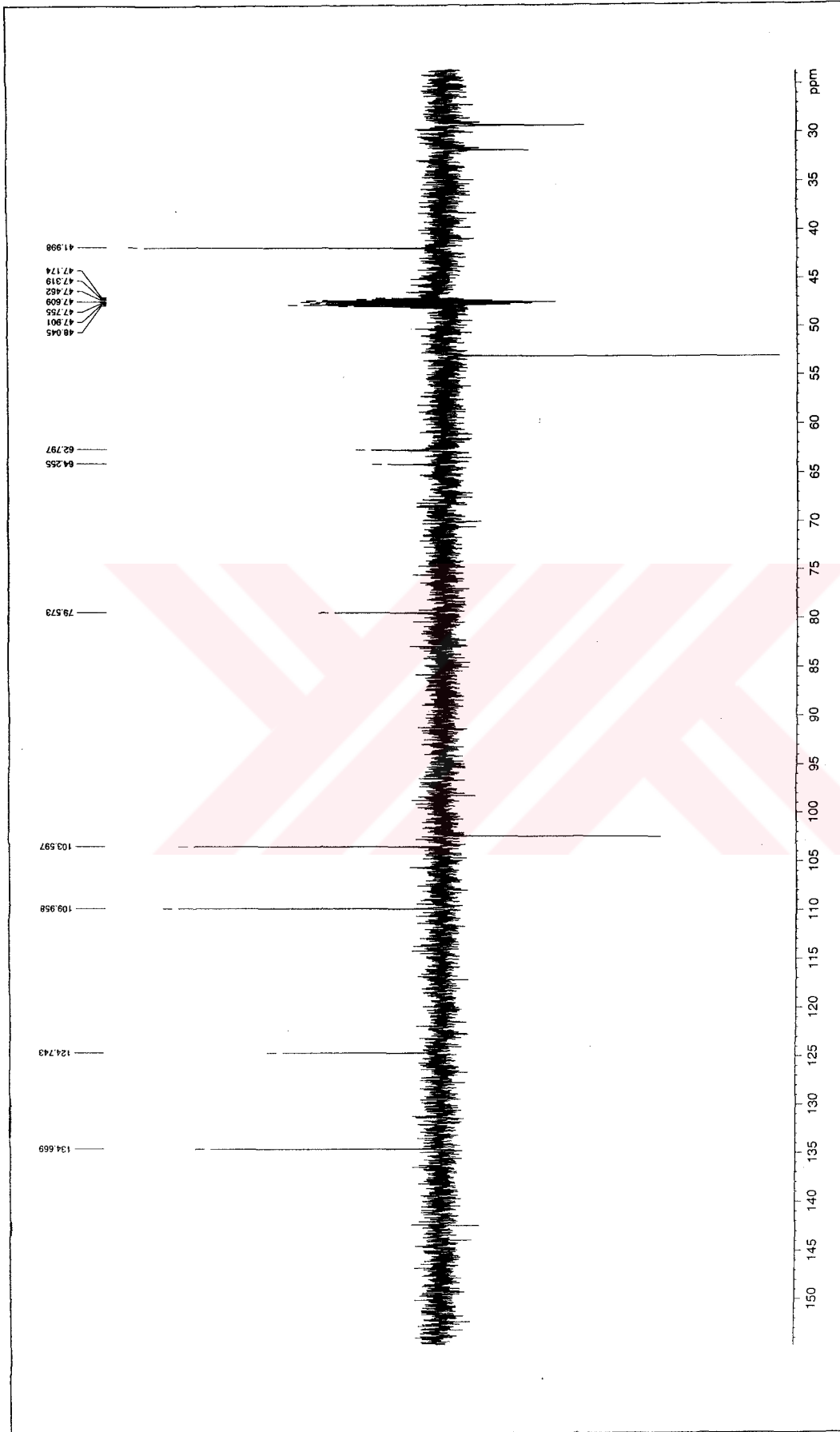


Spektrum No 53. GN-6 Bileşinin CI Kütle Spektrumu

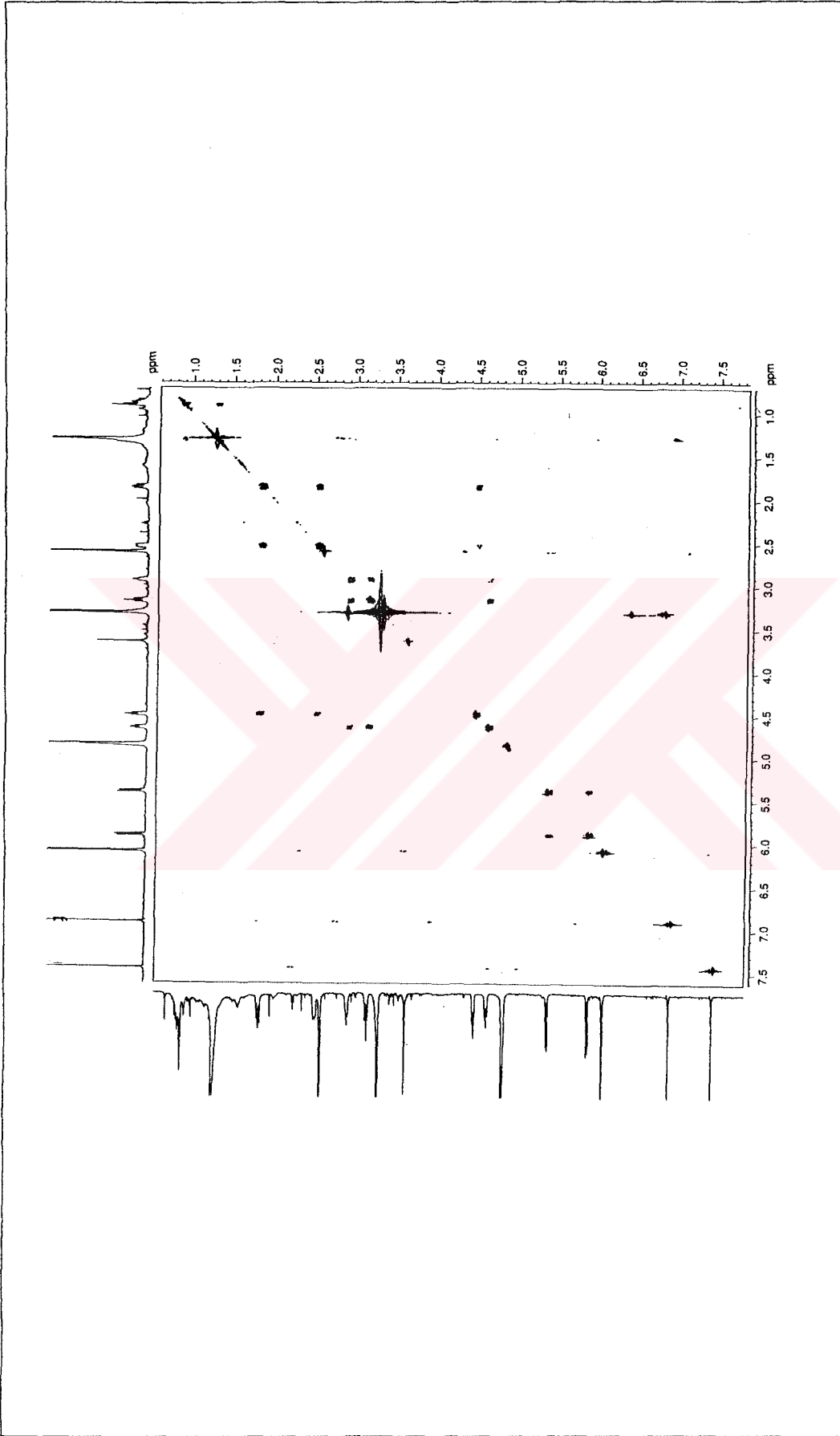
Spektrum No 54. GN-6 Bileşiminin ^1H NMR Spektrumu



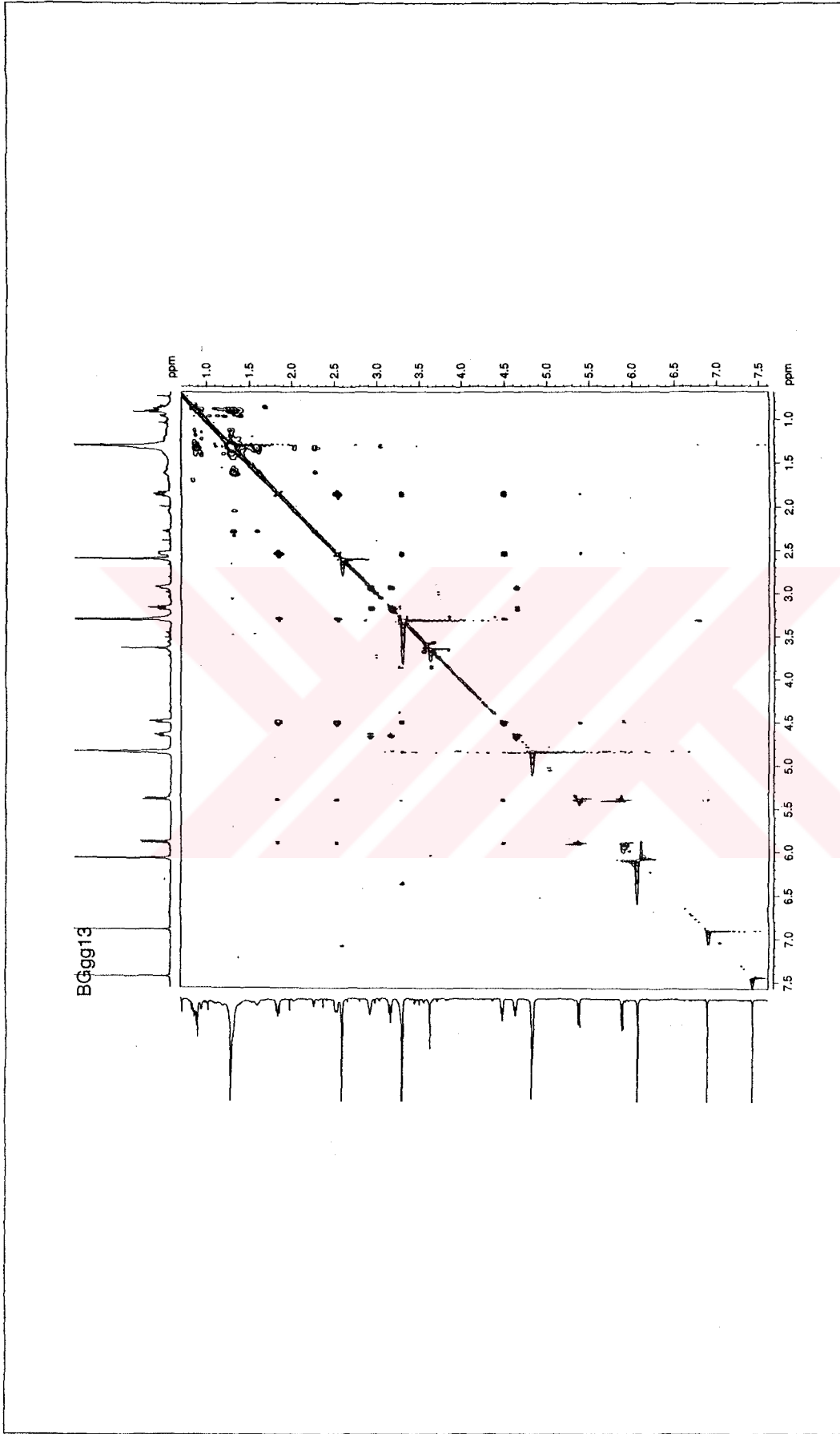
Spektrum No 55. GN-6 Bileşiminin ¹³C NMR Spektrumu



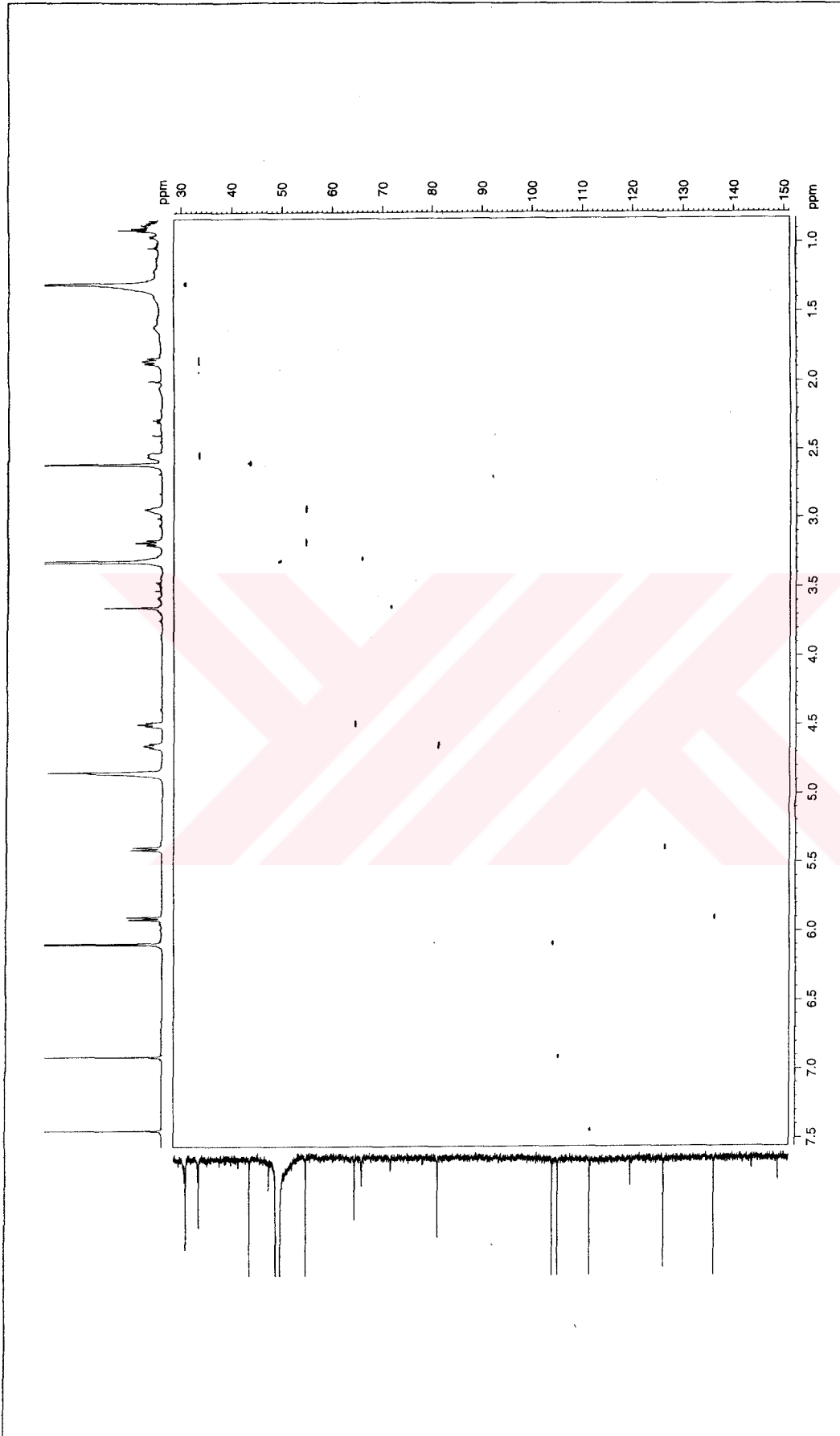
Spektrum No 56. GN-6 Bileşğinin DEPT 135 Spektrumu



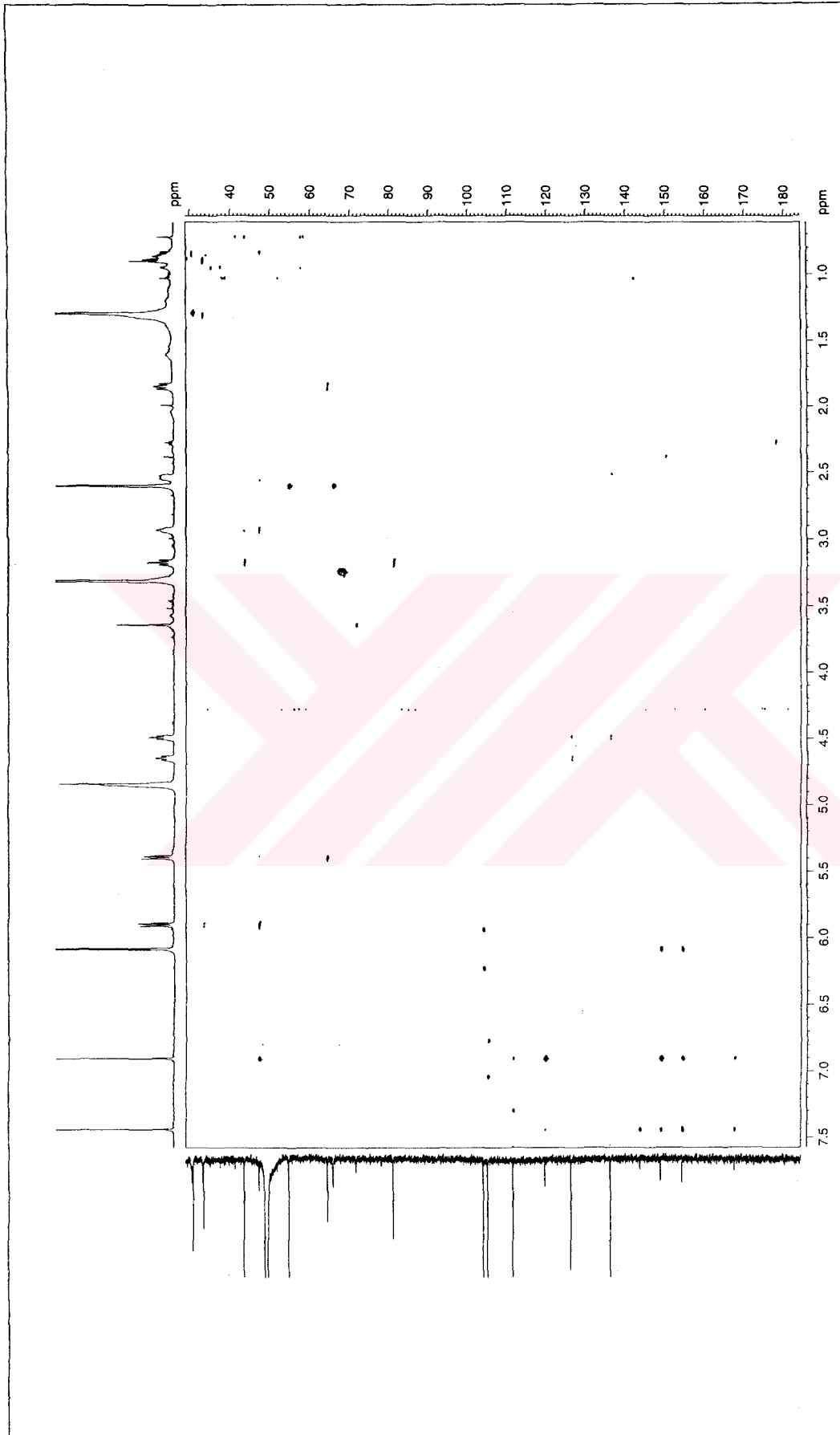
Spektrum No 57. GN-6 Bileşğinin ^1H , ^1H DQF-COSY Spektrumu



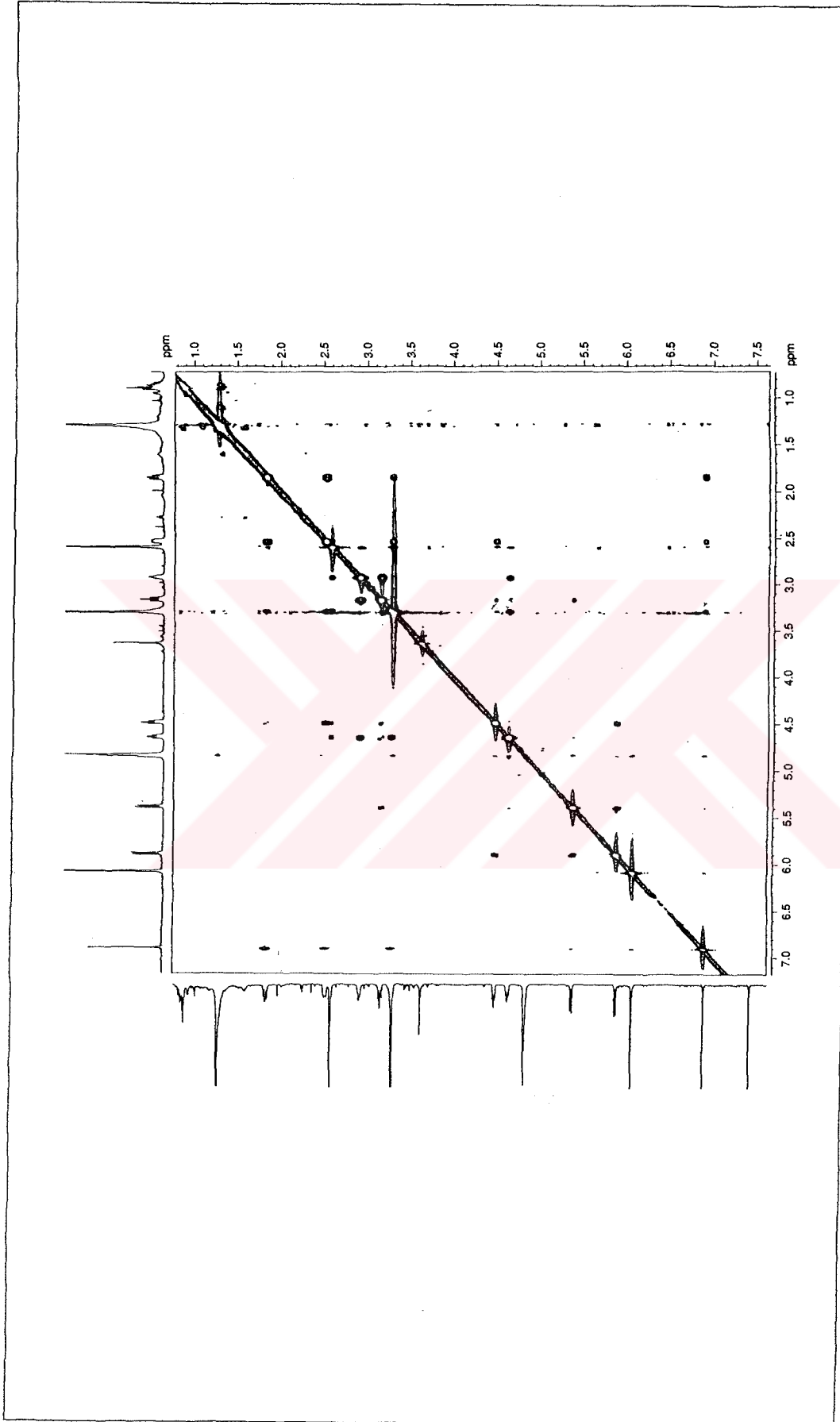
Spektrum No 58. GN-6 Bileşinin TOCSY Spektrumu



Spektrum No 59. GN-6 Bileşiminin HSQC Spektrumu



Spektrum No 60. GN-6 Bileşğinin HMBC Spektrumu



Spektrum No 61. GN-6 Bileşiminin NOESY Spektrumu

G. GN-7 BİLEŞİĞİNİN SPEKTRAL BULGULARI

$[\alpha]_D^{20} +205.9^\circ$ (MeOH; konstr. 0.117).

UV (Spektrum No 62)

MeOH

λ_{maks} nm (log ϵ) 231 sh (4.30), 285 sh (3.35), 319 (3.18).

CD (Spektrum No 63)

MeOH

nm (log ϵ) 350 (0), 323 (+0.98), 300 (-0.08), 293 (+0.09), 273, (-1.43), 257 (+0.02), 238 (+30.19), 221 (+ 9.63), 212 (+12.53), 212 nm ötesinde negatif kuyruk.

IR (Spektrum No 64)

CHCl₃

ν_{maks} cm⁻¹ 2990, 2960, 2920, 2850, 2820, 1695, 1645, 1600, 1500, 1485, 1465, 1450, 1440, 1425, 1400, 1390, 1380, 1330, 1265, 1215, 1160, 1120, 1090, 1040, 980, 935.

ESI Kütle (Spektrum No 65)

m/z 327 [M+H⁺].

¹H NMR (Spektrum No 66)

600 MHz, CD₃Cl

δ 8.21 (1H, s, H-8), 6.93 (1H, s, H-12), 6.83 (1H, s, H-9), 6.13 (1H, d, $J=10.1$, H-2), 6.02 ve 6.01 (2H, 2s, OCH₂O), 5.49 (1H, d, $J=10.1$, H-1), 4.25 (1H, *br* s, H-6a), 3.78

(1H, m, H-3), 3.65 (1H, m, H-4a), 3.45 (3H, s, OCH₃), 2.89 (3H, s, NCH₃), 2.22 (1H, dt, $J=14.1, 5.2$, H-4 β), 1.91 (1H, ddd, $J=14.1, 9.4, 2.6$, H-4 α).

¹³C NMR (Spektrum No 67)

150 MHz, CD₃Cl

δ 171.8 (C-6), 158.1 (C-8), 150.8 (C-11), 147.6 (C-10), 130.9 (C-12a), 130.5 (C-1), 129.6 (C-2), 120.1 (C-8a), 108.8 (C-9), 108.5 (C-12), 101.9 (OCH₂O), 70.9 (C-3), 68.0 (C-6a), 62.4 (C-4a), 56.4 (OCH₃), 40.6 (C-12b), 28.1 (NCH₃), 26.7 (C-4).

¹H, ¹H DQF-COSY (Spektrum No 68) (Tablo 15)

TOCSY (Spektrum No 69) (Tablo 15)

HSQC (Spektrum No 70) (Tablo 16)

HMBC (Spektrum No 71) (Tablo 16)

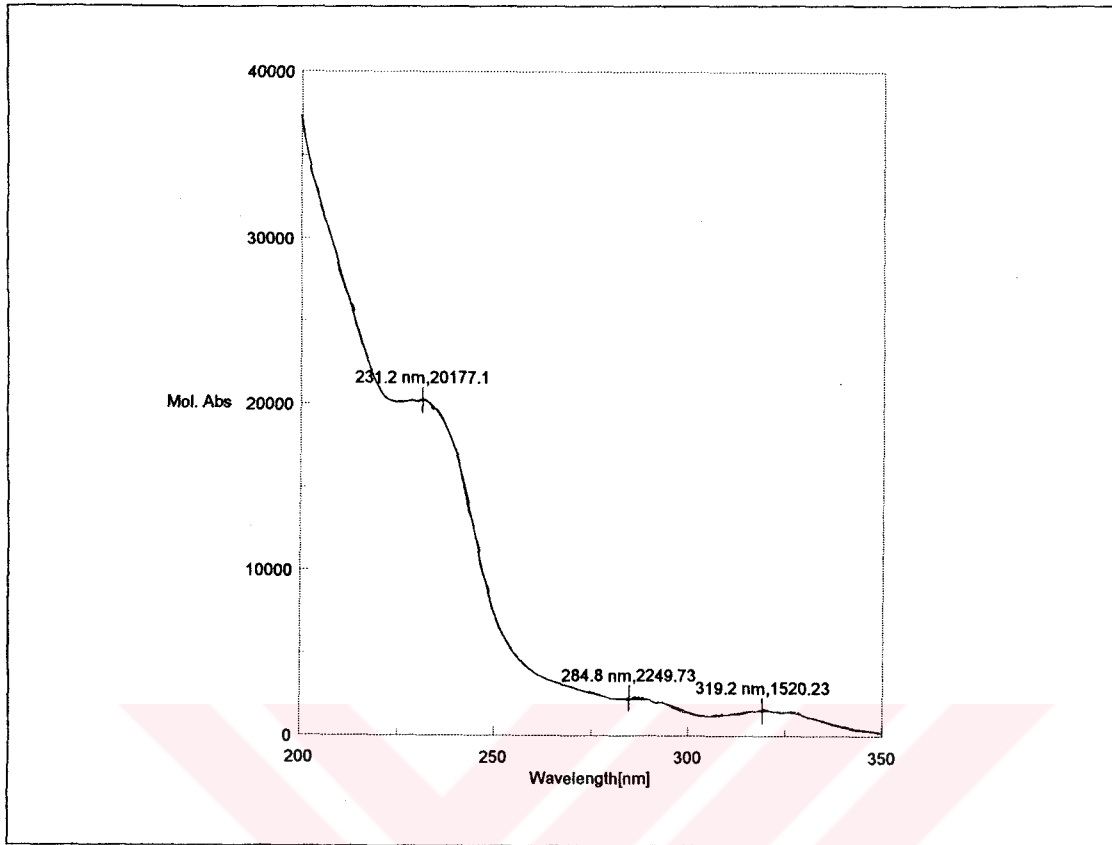
NOESY (Spektrum No 72) (Tablo 15)

H	δ	$^1\text{H}, ^1\text{H DQF-COSY}$	TOCSY	NOESY
1	5.49	H-2	H-2, H-4 α , H-4 β , H-4a	H-2, H-6a, H-12
2	6.13	H-1	H-1, H-3, H-4 α , H-4 β , H-4a	H-1, H-3, OCH ₃
3	3.78	H-4 α , H-4 β	H-1, H-2, H-4 α , H-4 β , H-4a	H-2, H-4 α , H-4 β , OCH ₃ , NCH ₃
4 α	1.91	H-3, H-4 β , H-4a	H-2, H-3, H-4 β , H-4a	H-4 β , H-4a, H-12
4 β	2.22	H-3, H-4 α , H-4a	H-1, H-2, H-3, H-4 α , H-4a	H-3, H-4 α , H-4a, NCH ₃
4a	3.65	H-4 α , H-4 β	H-1, H-3, H-4 α , H-4 β	H-4 α , H-4 β , H-12, NCH ₃
6a	4.25	-	H-8, NCH ₃	H-1
8	8.21	-	H-6a	H-9
9	6.83	-	-	H-8
12	6.93	-	-	H-1, H-4 α , H-4a,
OCH ₂ O	6.02, 6.01	-	-	-
OCH ₃	3.45	-	-	H-2, H-3, H-4 α , H-4 β
NCH ₃	2.89	-	H-6a	H-3, H-4 α , H-4 β , H-4a

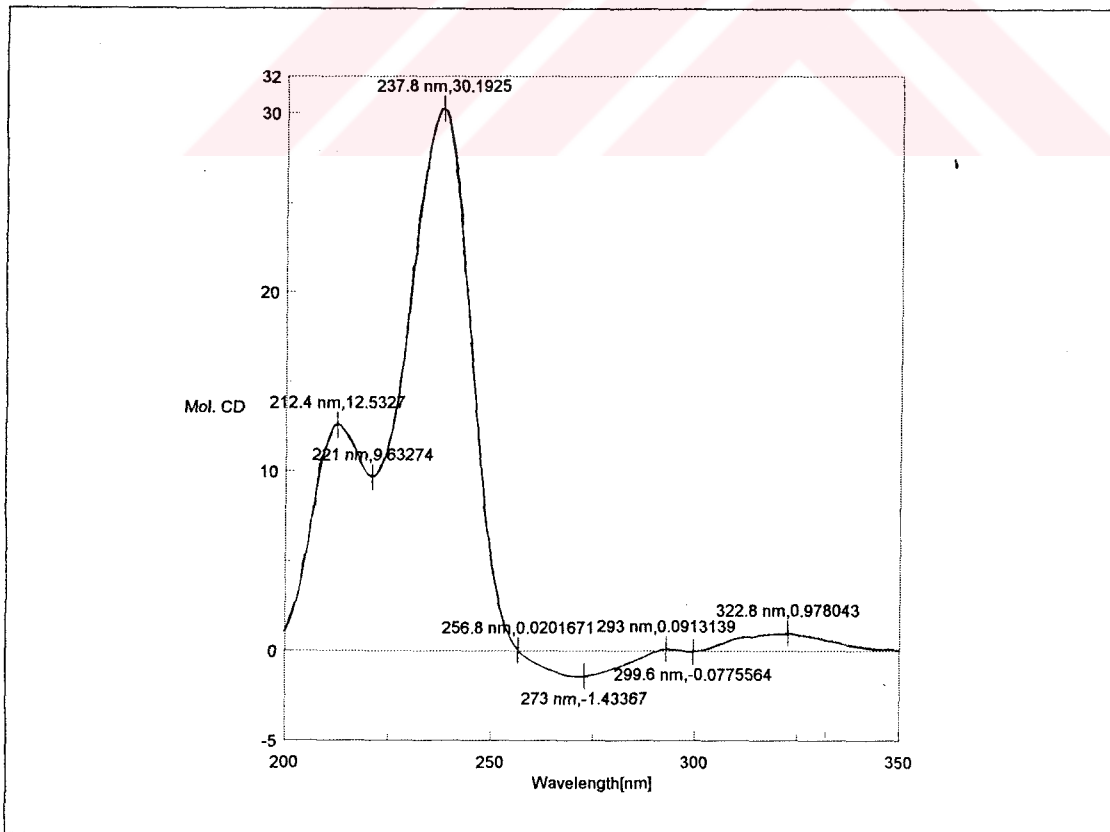
Tablo 15. GN-7 Bileşğinin 1D ve 2D NMR Bulguları (δ)

	¹ H	¹³ C / HSQC	HMBC
1	5.49	130.5	C-3, , C-4a, C-6a, C-12a, C-12b
2	6.13	129.6	C-4, C-12b
3	3.78	70.9	OCH ₃
4 α	1.91	26.7	C-2, C-3, C-4a, C-12b
4 β	2.22	26.7	C-2, C-3, C-4a, C-12b
4a	3.65	62.4	C-1, C-3, C-6, C-12a, C-12b
6	-	171.8	-
6a	4.25	68.0	C-1, C-4a, C-6, C-8
8	8.21	158.1	C-6a, C-8a
8a	-	120.1	-
9	6.83	108.8	C-8, C-10, C-11, C-12, C-12a
10	-	147.6	-
11	-	150.8	-
12	6.93	108.5	C-8, C-8a, C-9, C-10, C-11, C-12a, C-12b
12a	-	130.9	-
12b	-	40.6	-
OCH ₂ O	6.02, 6.01	101.9	C-10, C-11
OCH ₃	3.45	56.4	C-3
NCH ₃	2.89	28.1	C-4a, C-6, C-6a

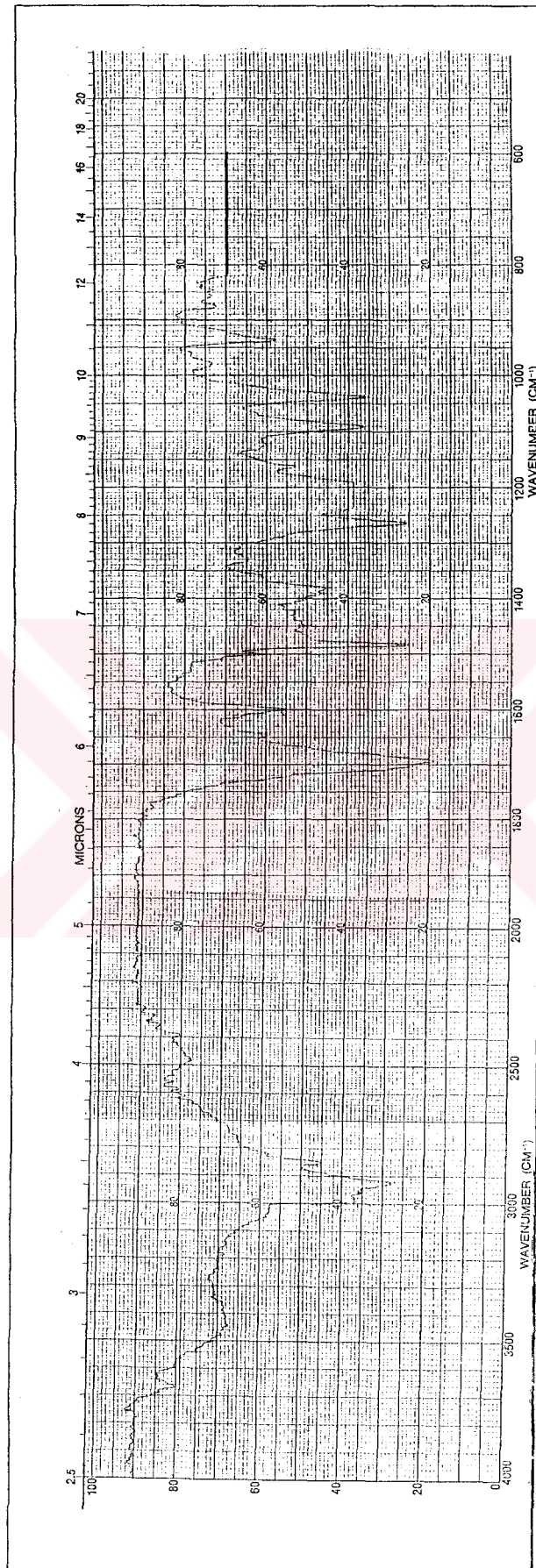
Tablo 16. GN-7 Bileşğinin 1D ve 2D NMR Bulguları (δ)



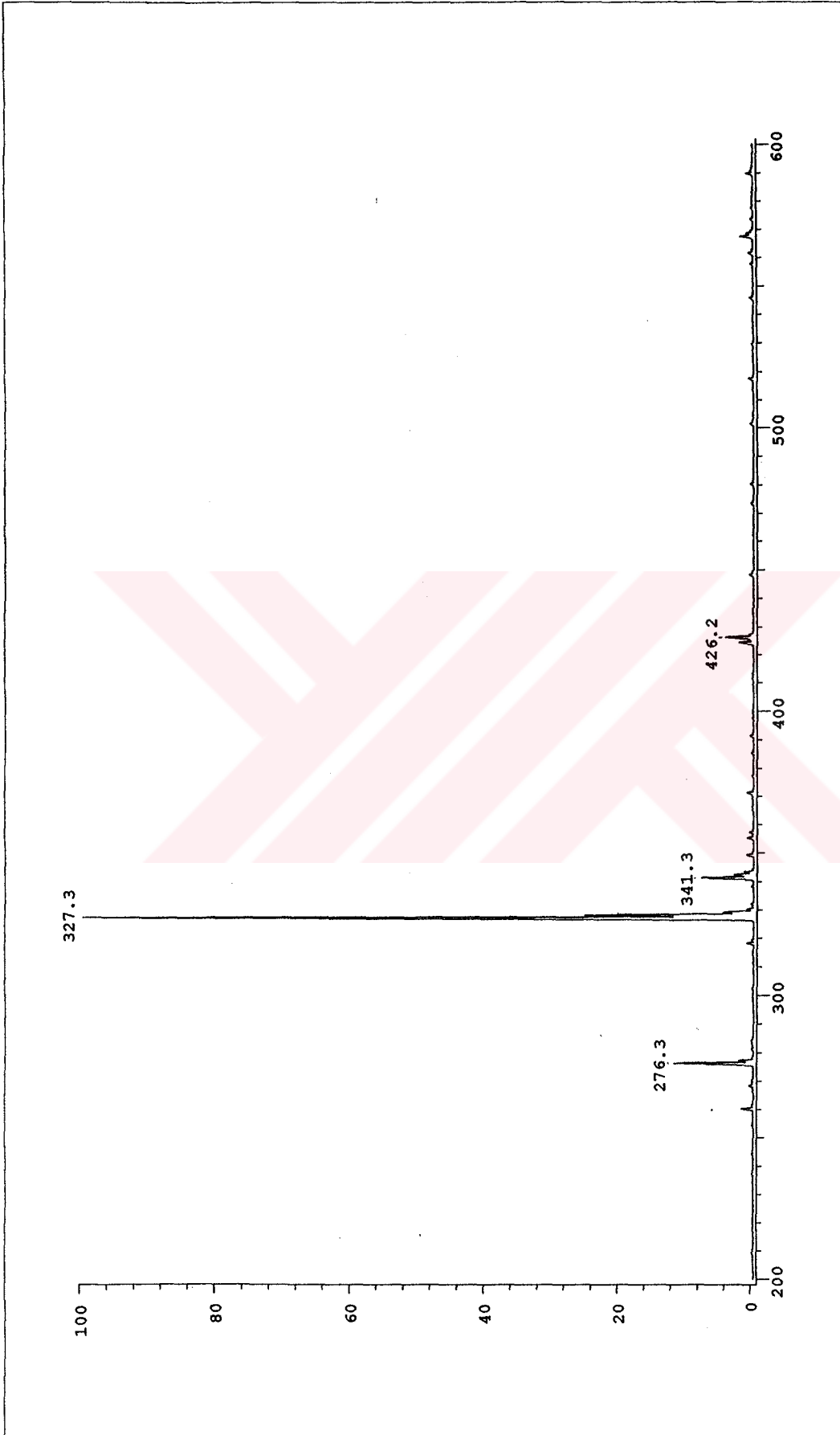
Spektrum No 62. GN-7 Bileşiminin UV Spektrumu



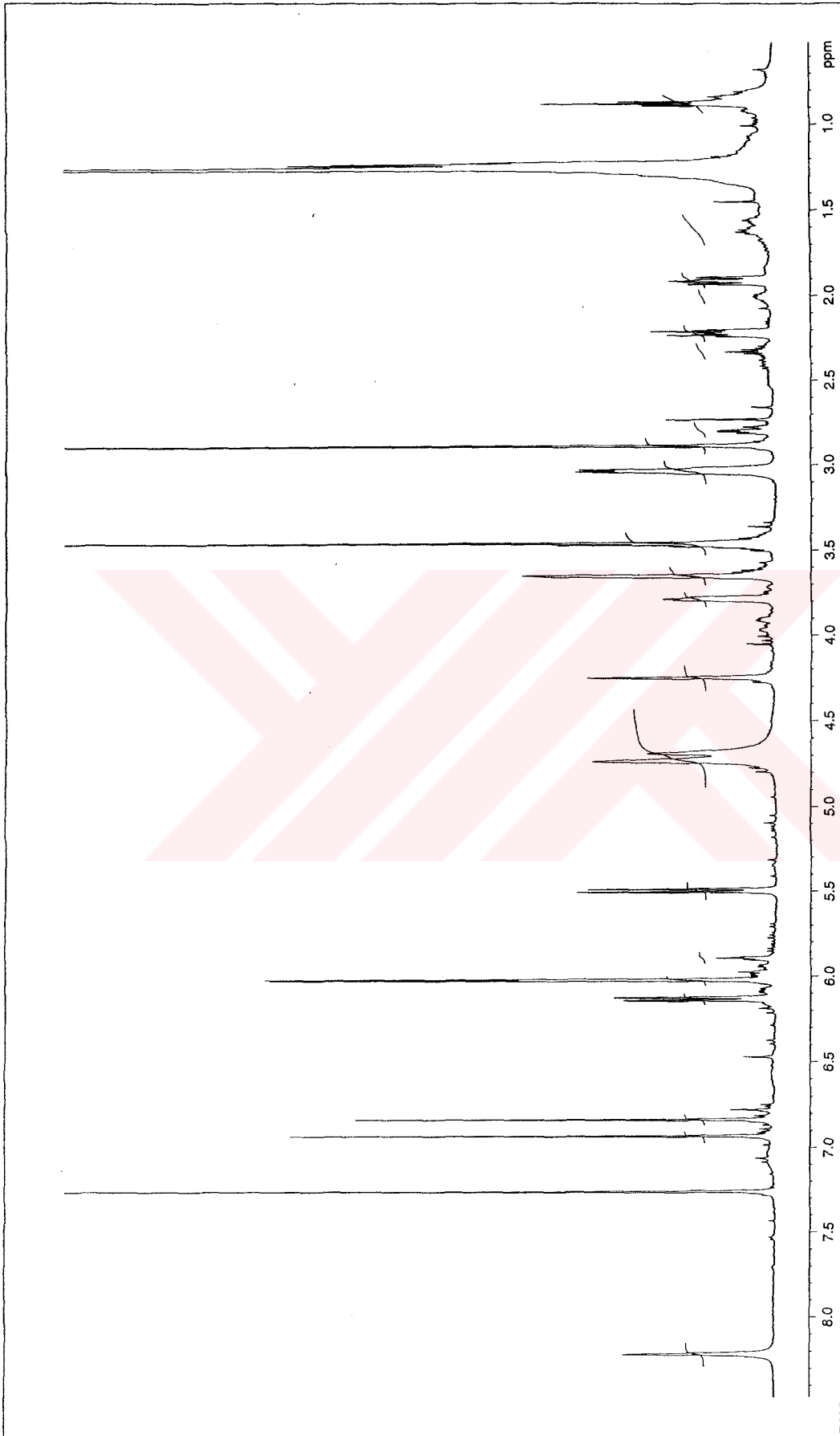
Spektrum No 63. GN-7 Bileşiminin CD Spektrumu

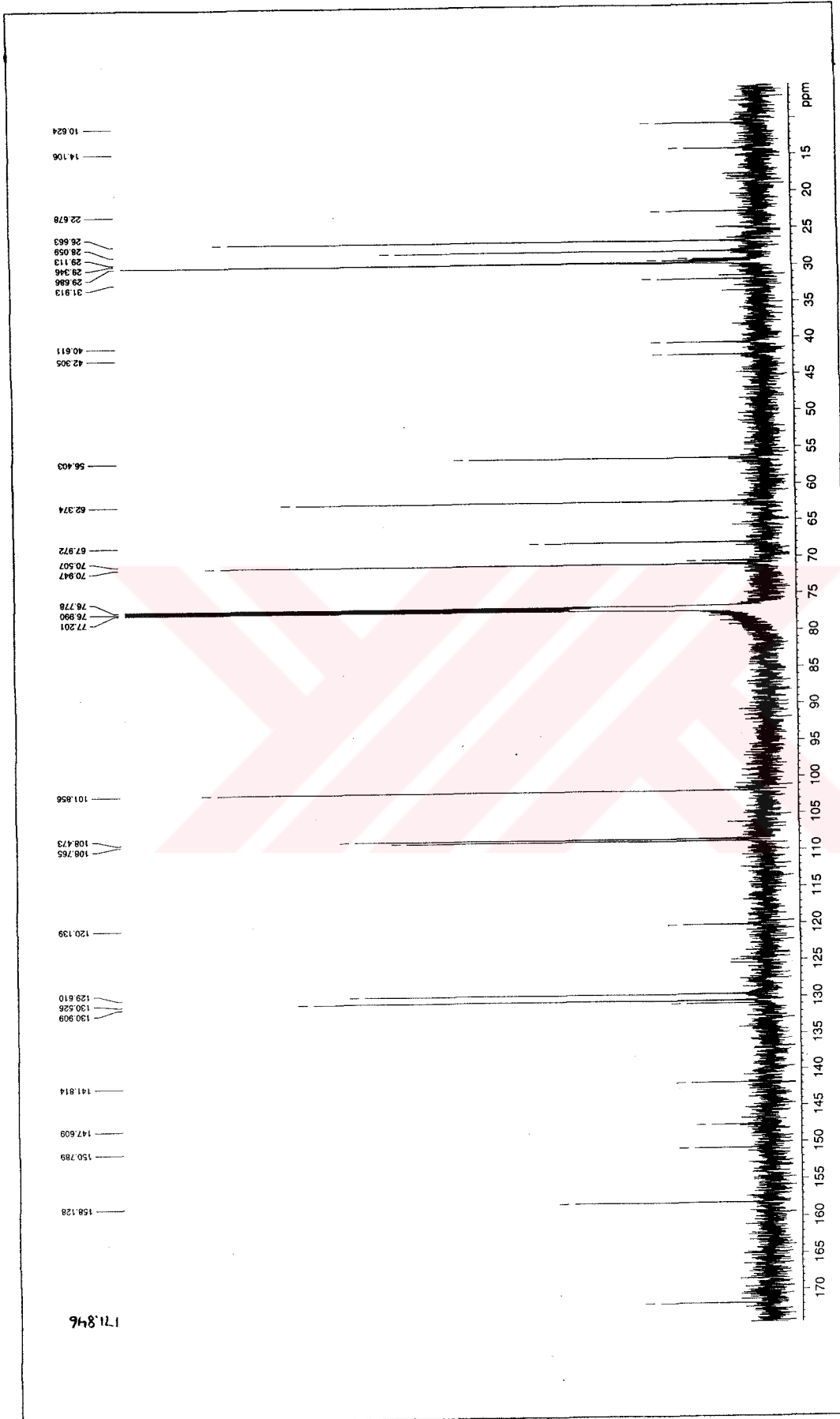


Spektrum No 64. GN-7 Bileşiminin IR Spektrumu

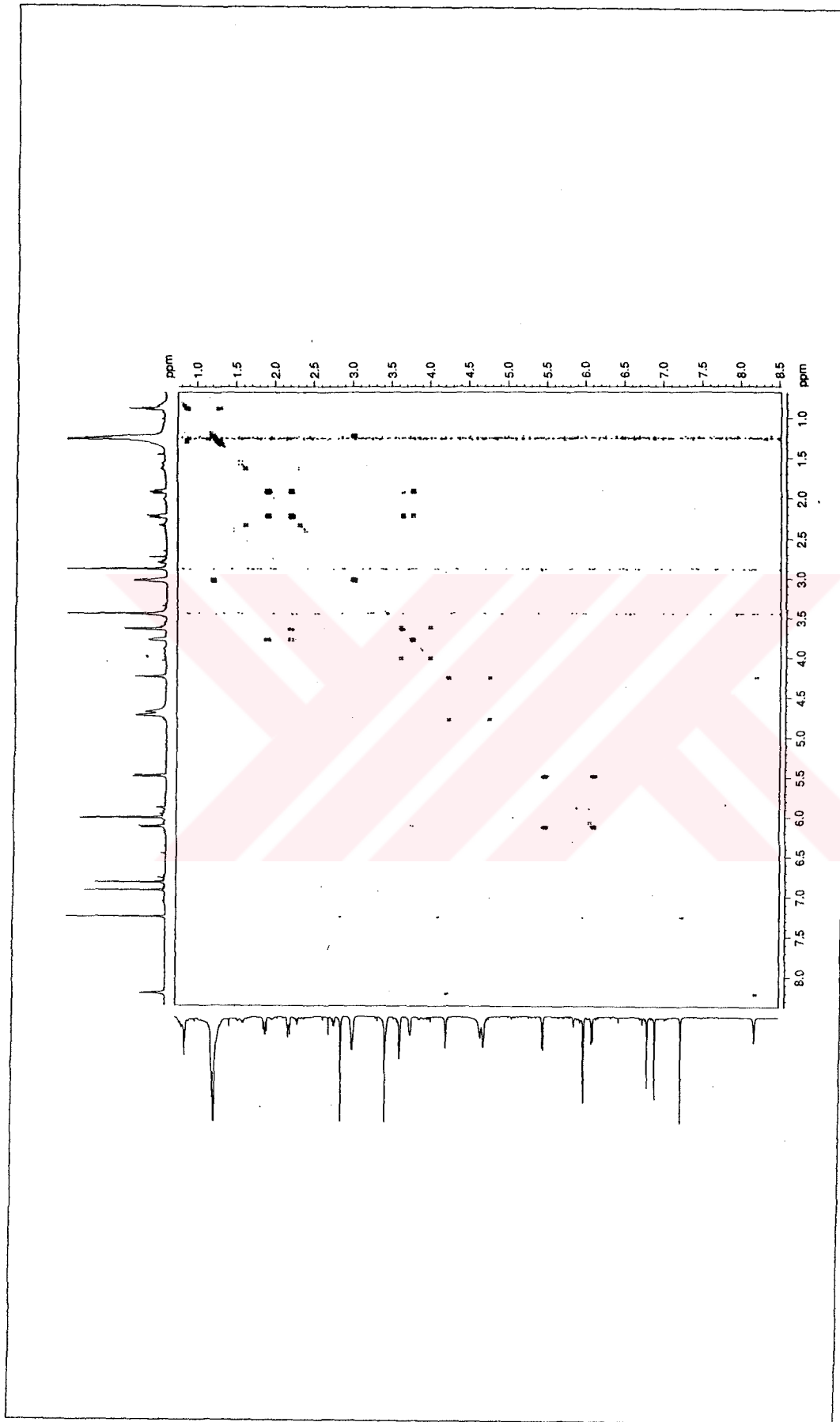


Spektrum No 65. GN-7 Bileşiminin ESI Kütle Spektrumu

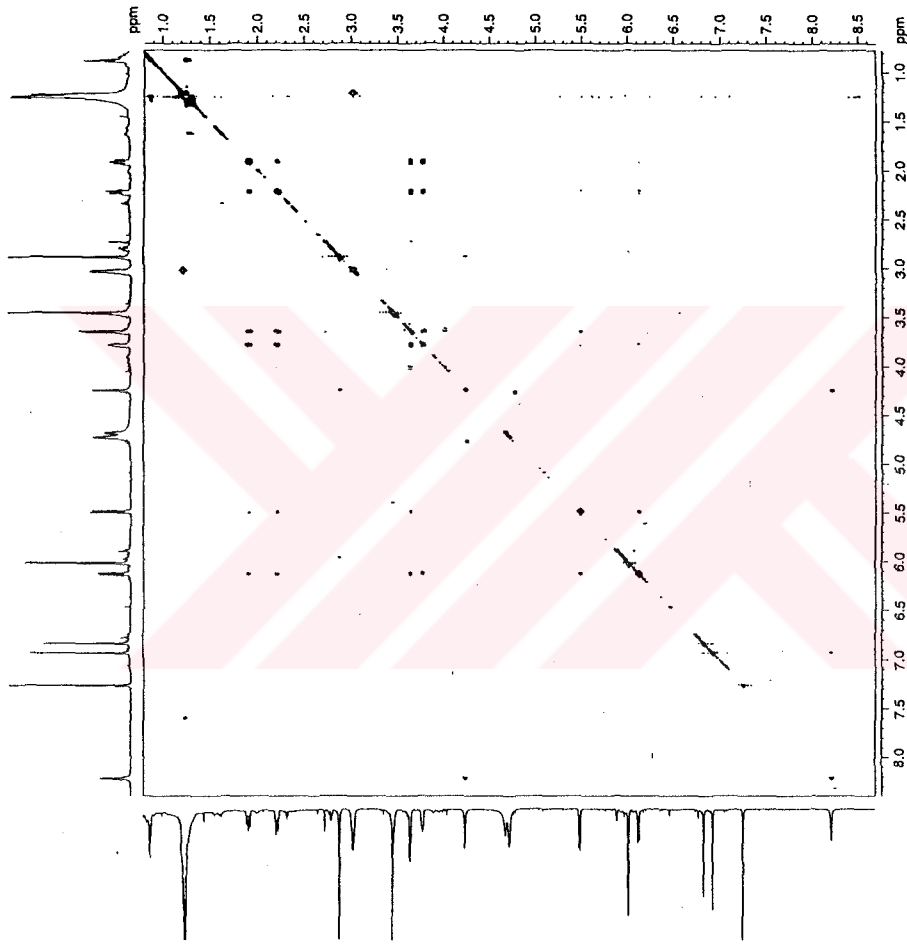
Spektrum No 66. GN-7 Bileşiminin ^1H NMR Spektrumu

Spektrum No 67. GN-7 Bileşiminin ^{13}C NMR Spektrumu

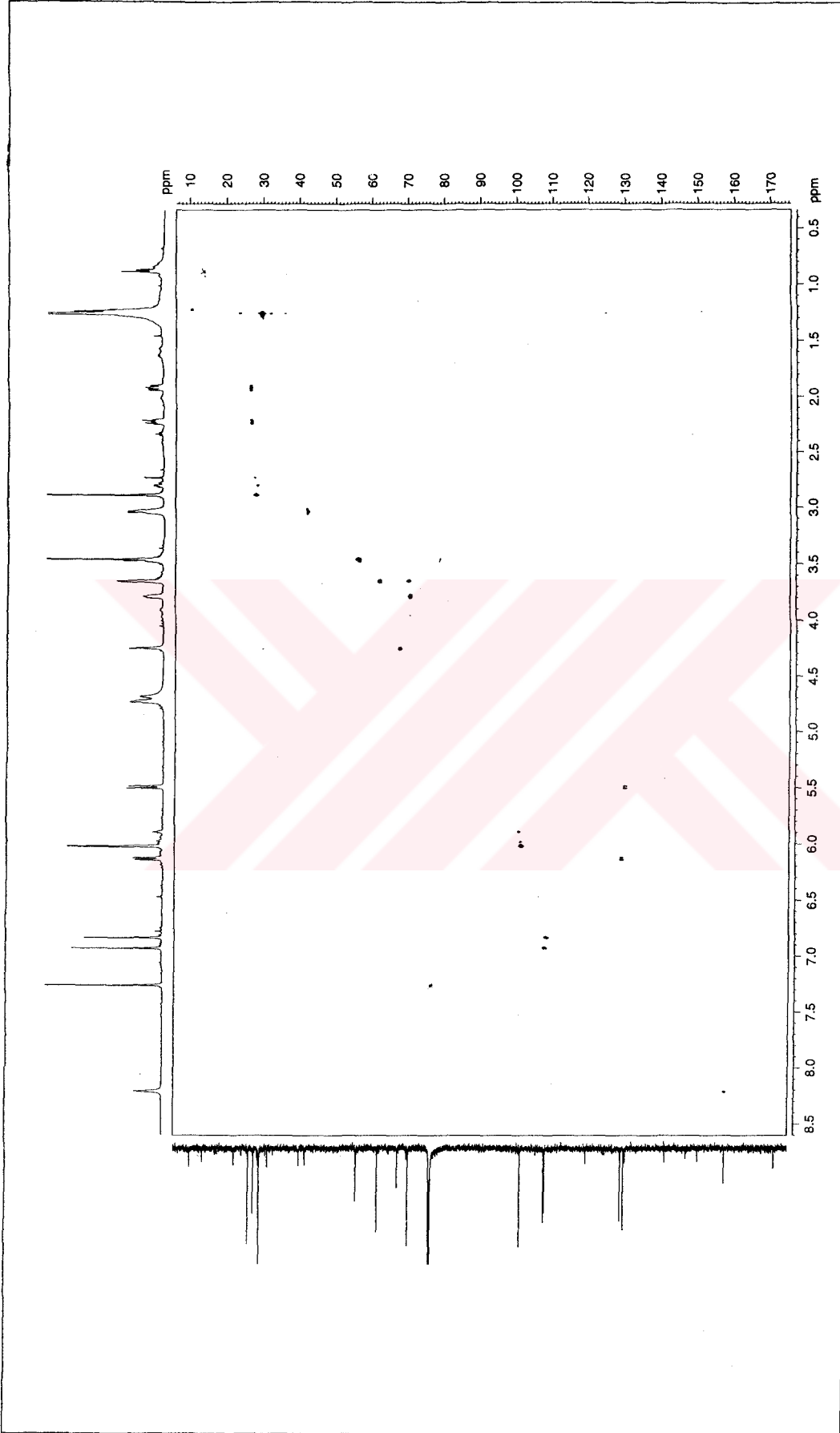
1718'121



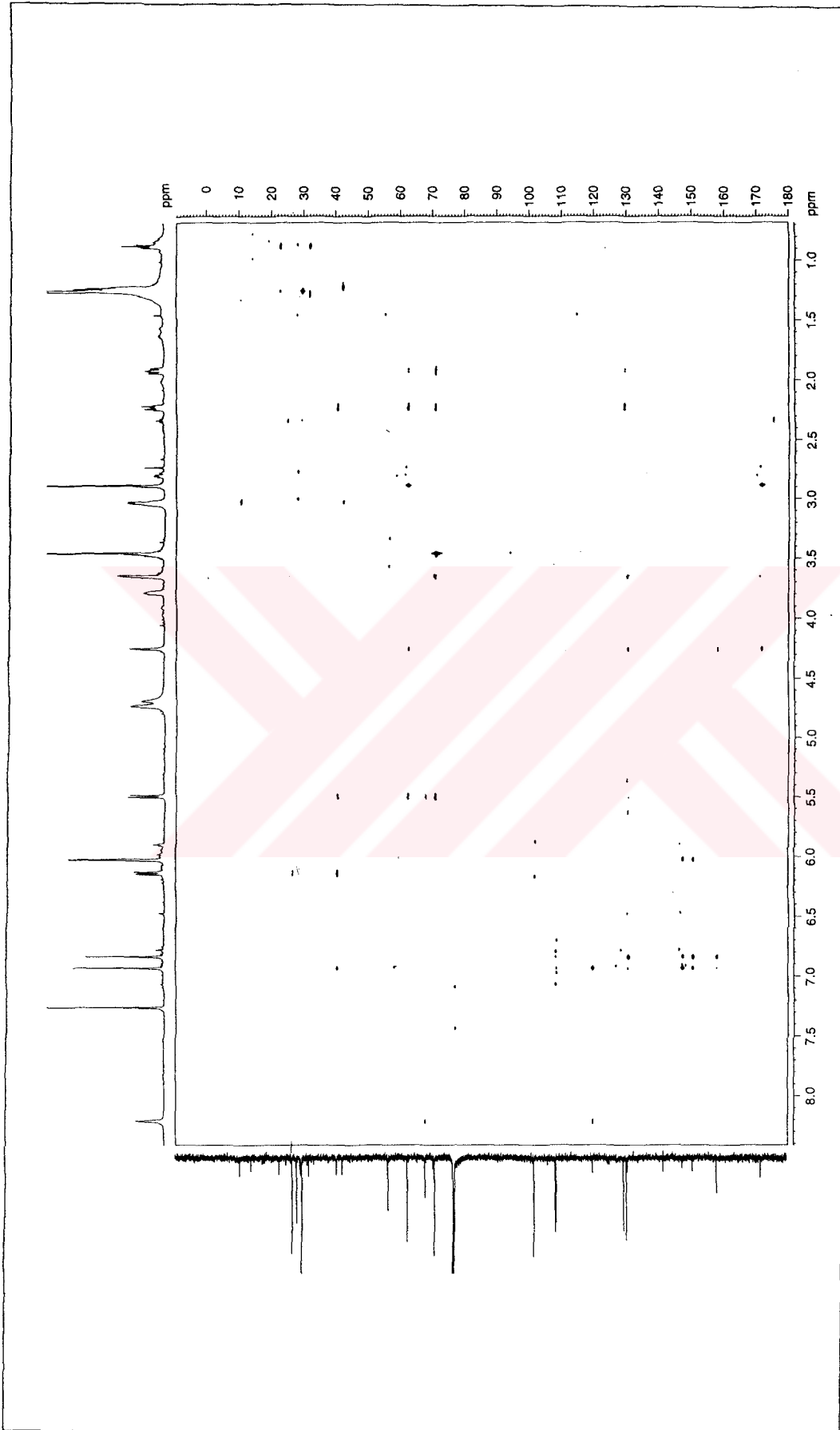
Spektrum No 68. GN-7 Bileşiğinin ¹H, ¹H DQF-COSY Spektrumu



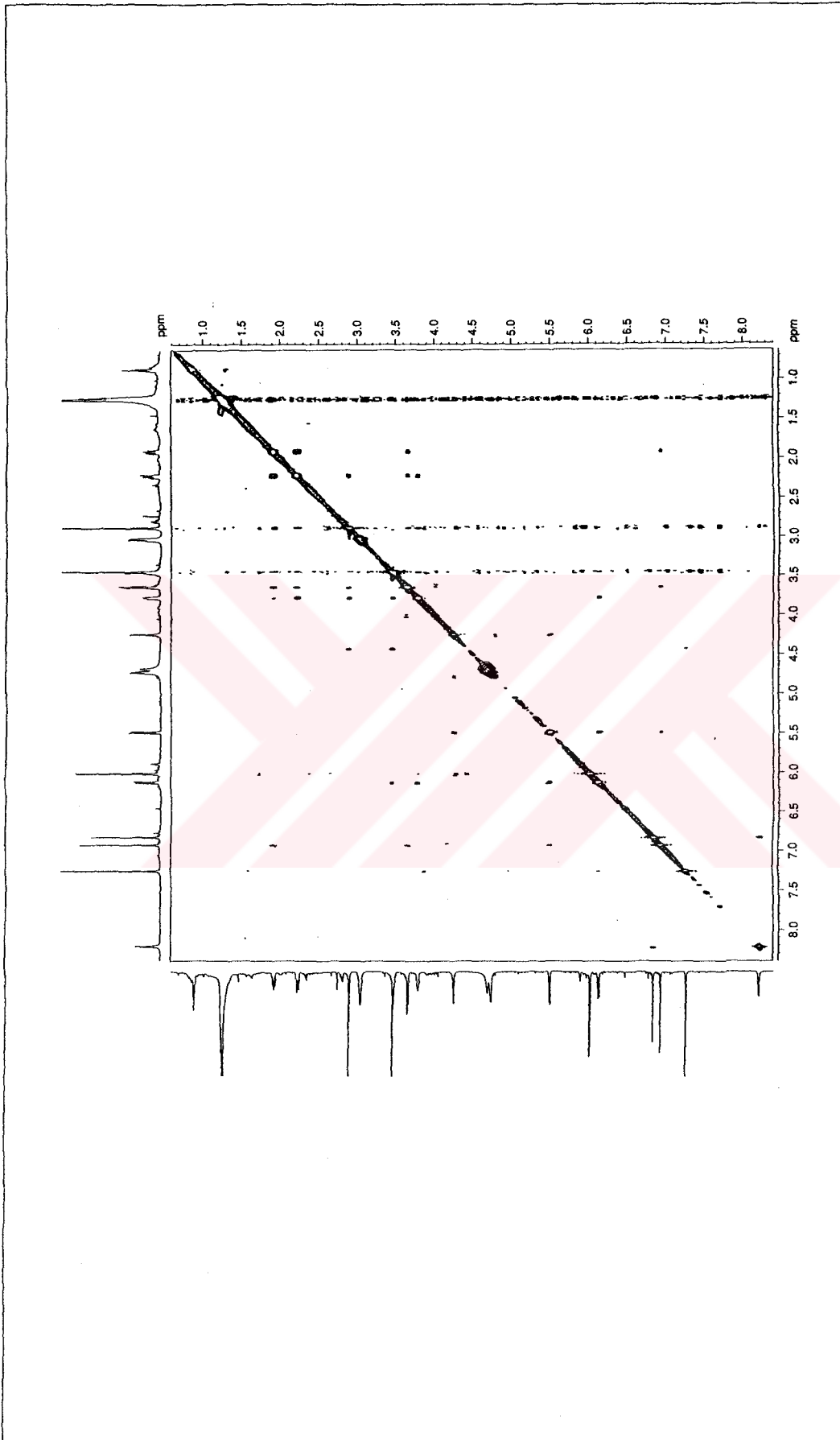
Spektrum No 69. GN-7 Bileşinin TOCSY Spektrumu



Spektrum No 70. GN-7 Bileşiminin HSQC Spektrumu



Spektrum No 71. GN-7 Bileşiğinin HMBC Spektrumu



Spektrum No 72. GN-7 Bileşinin NOESY Spektrumu

H. GN-8 BİLEŞİĞİNİN SPEKTRAL BULGULARI

$[\alpha]_D +142.64^\circ$ (MeOH; konstr. 0.1977).

UV (Spektrum No 73)

MeOH

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

CD (Spektrum No 74)

MeOH

nm (log ϵ) 324 (0), 287 (-1.19), 263 (0), 240 (+10.55), 226 (+5.70), 207 (+70.47),
207 nm ötesinde negatif kuyruk.

IR (Spektrum No 75)

KBr

ν_{maks} cm^{-1} 3340, 3030, 2970, 2940, 2850, 2820, 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, 730, 710.

EI Kütle (Spektrum No 76)

m/z (%) 331 (M^+ , 45), 316 (9), 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).

¹H NMR (Spektrum No 77)600 MHz, CD₃OD

δ 6.75 (1H, s, H-12), 6.54 (1H, s, H-9), 6.06 (1H, dt, $J=10.4, 1.3$, H-2), 5.88 ve 5.87 (2H, 2d, $J=1.2$, OCH₂O), 5.63 (1H, dd, $J=10.4, 1.6$, H-1), 4.94 (1H, dd, $J=14.8, 0.5$, H-8α), 4.58 (1H, d, $J=14.8$, H-8β), 4.13 (1H, dddd, $J=9.8, 6.5, 2, 2$, H-3), 3.45 (3H, s, OCH₃), 3.21 (1H, d, $J=10.9$, H-6α), 2.83 (1H, m, H-4a), 2.64 (1H, d, $J=10.9$, H-6β), 2.39 (3H, s, NCH₃), 2.23 (1H, dddd, $J=13.7, 6.4, 3.9, 1.2$, H-4α), 1.56 (1H, ddd, $J=13.6, 10.0, 2.5$, H-4β).

¹³C NMR (Spektrum No 78)150 MHz, CD₃OD

δ 148.0 (C-10), 147.9 (C-11), 131.0 (C-1), 130.8 (C-2), 129.1 (C-12a), 127.5 (C-8a), 110.2 (C-12), 105.1 (C-9), 102.7 (C-6a), 102.4 (OCH₂O), 74.6 (C-3), 72.0 (C-4a), 66.3 (C-6), 62.7 (C-8), 56.6 (OCH₃), 51.3 (C-12b), 43.2 (NCH₃), 27.5 (C-4).

DEPT 135 (Spektrum No 79)

¹H, ¹H DQF-COSY (Spektrum No 80) (Tablo 17)

HSQC (Spektrum No 81) (Tablo 18)

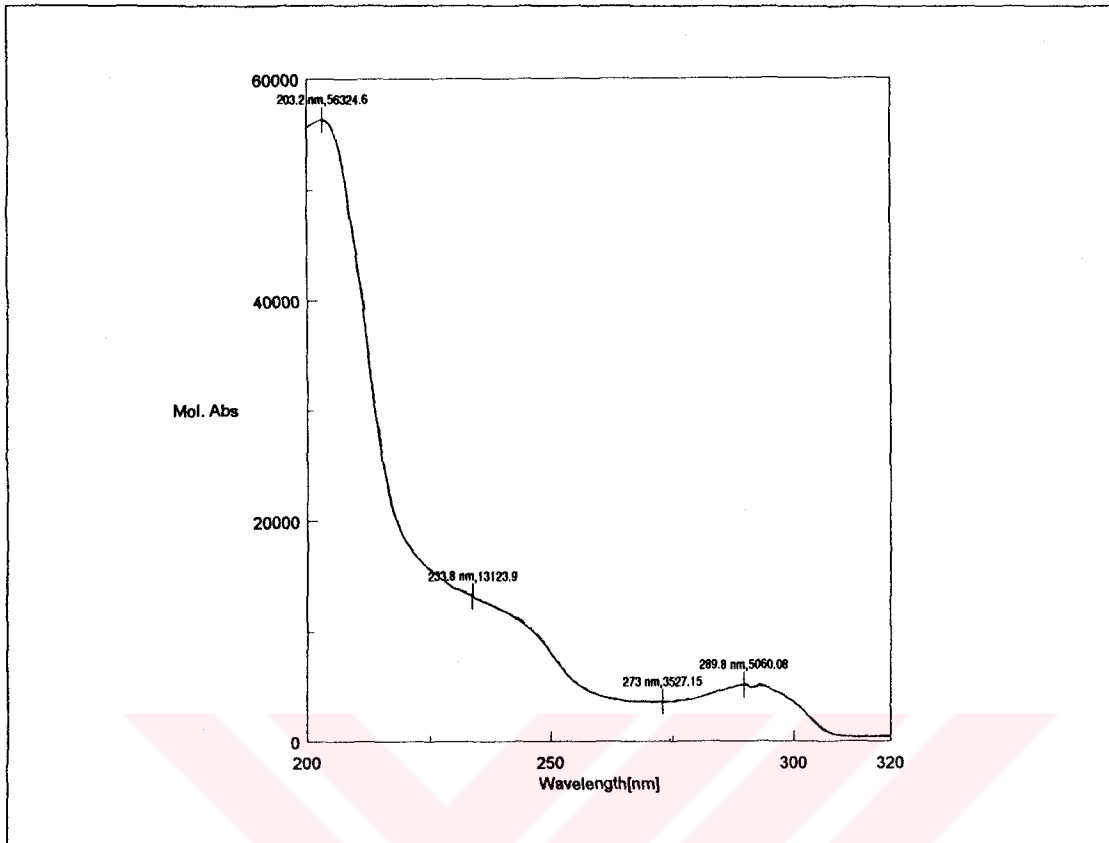
HMBC (Spektrum No 82) (Tablo 18)

H	δ	$^1\text{H}, ^1\text{H DQF-COSY}$
1	5.63	H-2
2	6.06	H-1
3	4.13	H-4 α , H-4 β
4 α	2.23	H-3, H-4 β
4 β	1.56	H-3, H-4 α
4a	2.83	H-4 α
6 α	3.21	H-6 β
6 β	2.64	H-6 α
8 α	4.94	H-8 β
8 β	4.58	H-8 α
9	6.54	-
12	6.75	-
OCH ₂ O	5.88, 5.87	-
OCH ₃	3.45	-
NCH ₃	2.39	-

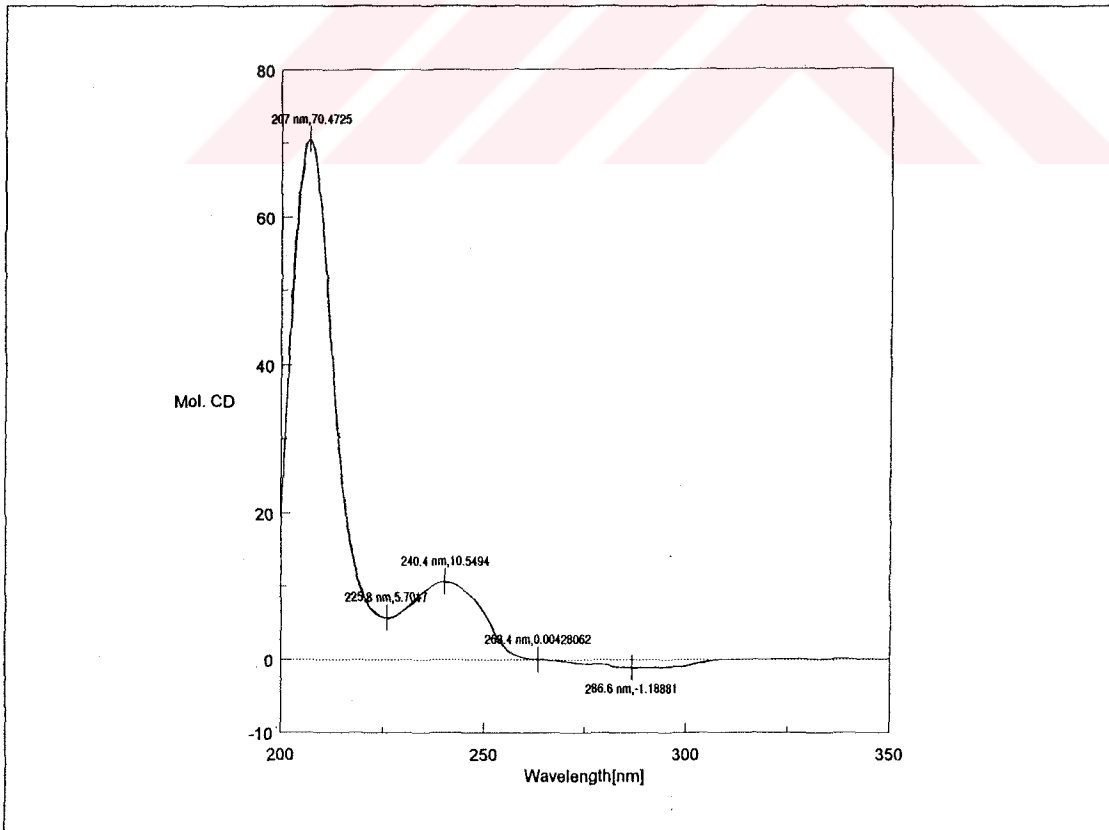
Tablo 17. GN-8 Bileşiminin 1D ve 2D NMR Bulguları (δ)

	^1H	^{13}C / HSQC	HMBC
1	5.63	131.0	C-3, , C-4a, C-6a, C-12a, C-12b
2	6.06	130.8	C-4, C-12b
3	4.13	74.6	C-1, C-4, OCH ₃
4 α	2.23	27.5	C-2, C-3, C-4a, C-12b
4 β	1.56	27.5	C-3, C-4a
4a	2.83	72.0	C-1, C-3, C-12b, NCH ₃
6 α	3.21	66.3	C-4a, C-6a, C-8, NCH ₃
6 β	2.64	66.3	C-4a, C-6a, C-12a, C-12b, NCH ₃
6a	-	102.7	-
8 α	4.94	62.7	C-6a, C-8a, C-9, C-10, C-12, C-12a, C-12b
8 β	4.58	62.7	C-6a, C-8a, C-9, C-10, C-12, C-12a, C-12b
8a	-	127.5	-
9	6.54	105.1	C-8, C-11, C-12, C-12a, C-12b
10	-	148.0	-
11	-	147.9	-
12	6.75	110.2	C-8, C-8a, C-9, C-10, C-12a, C-12b
12a	-	129.1	-
12b	-	51.3	-
OCH ₂ O	5.88, 5.87	102.4	C-10, C-11
OCH ₃	3.45	56.6	C-3
NCH ₃	2.39	43.2	C-4a, C-6, C-6a, C-12b

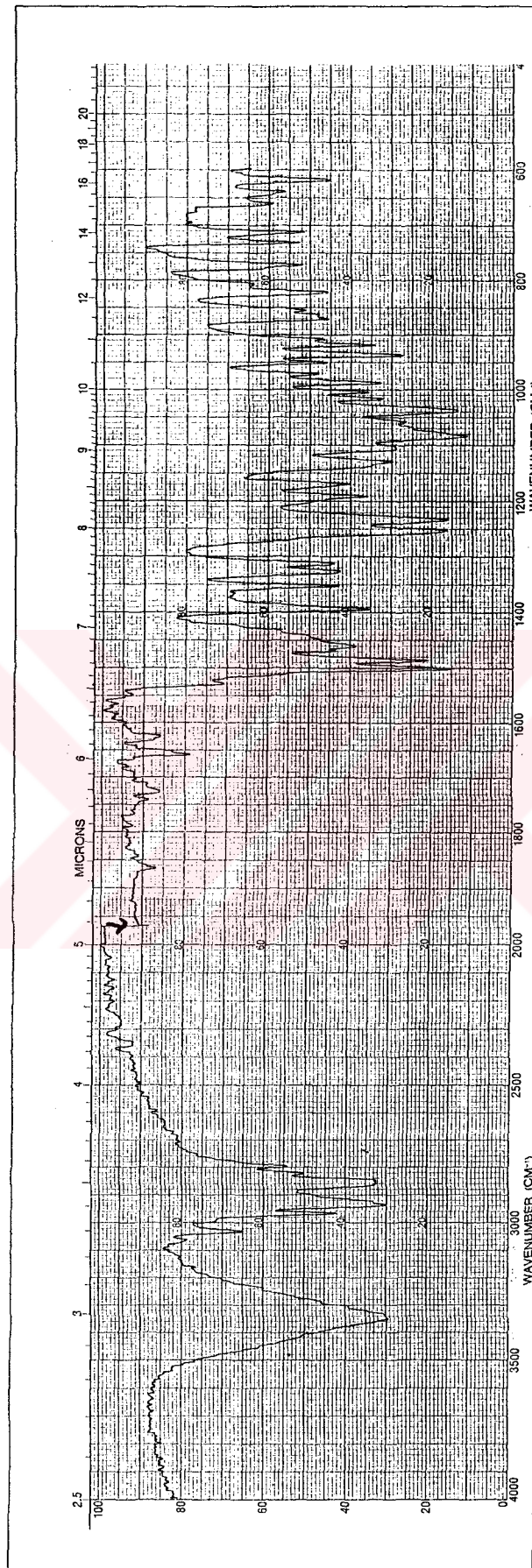
Tablo 18. GN-8 Bileşinin 1D ve 2D NMR Bulguları (δ)



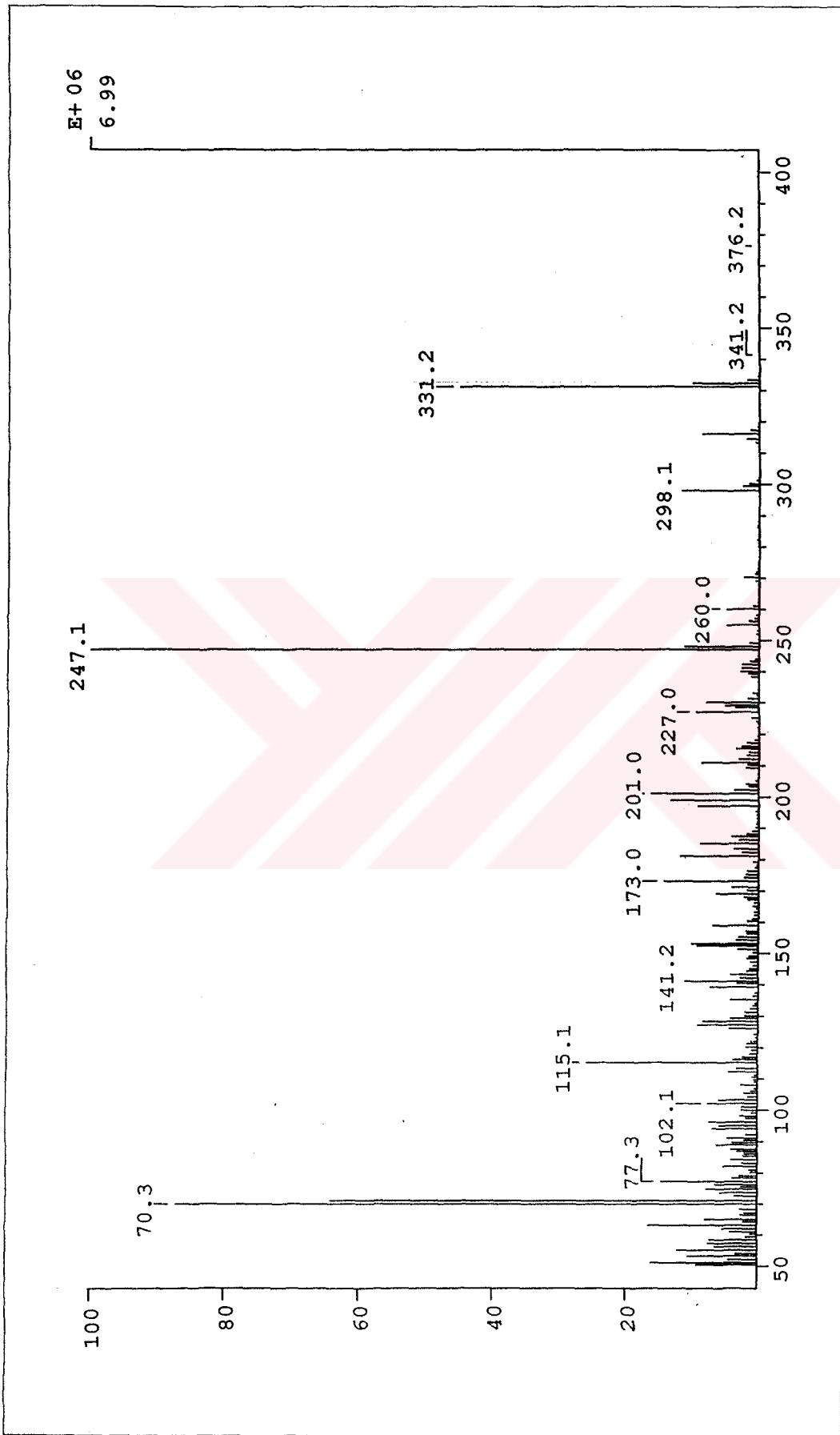
Spektrum No 73. GN-8 Bileşğinin UV Spektrumu



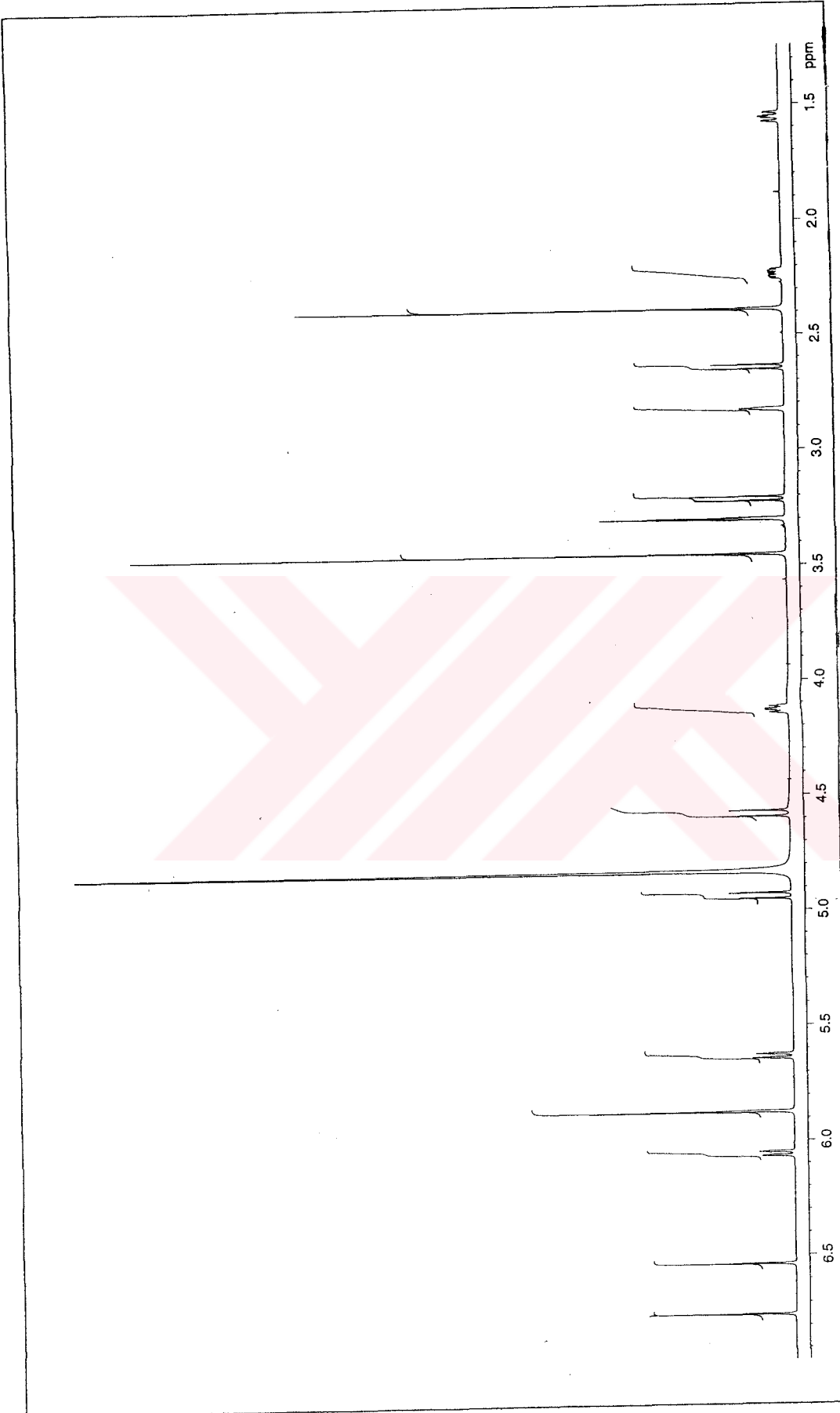
Spektrum No 74. GN-8 Bileşğinin CD Spektrumu



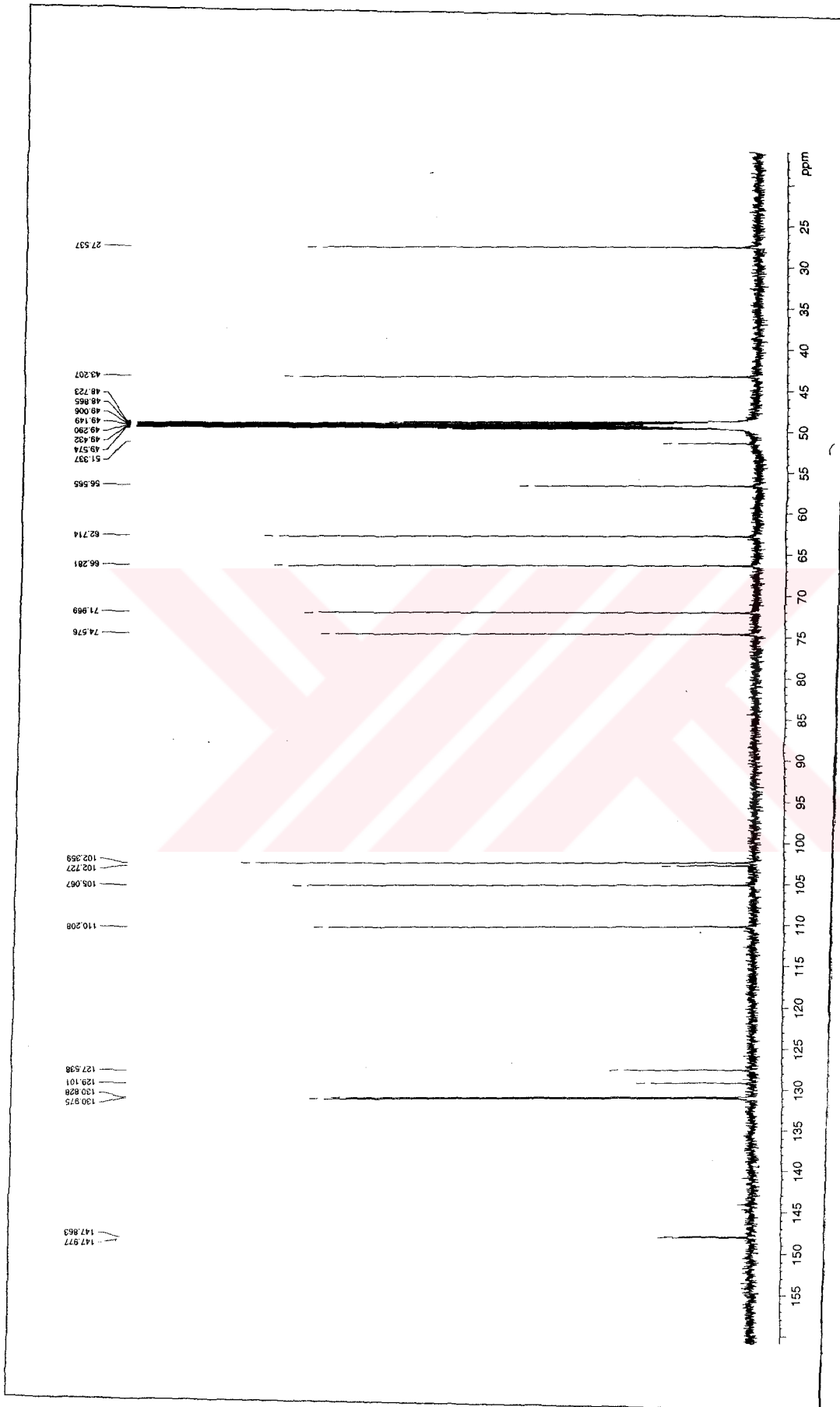
Spektrum No 75. GN-8 Bileşiminin IR Spektrumu

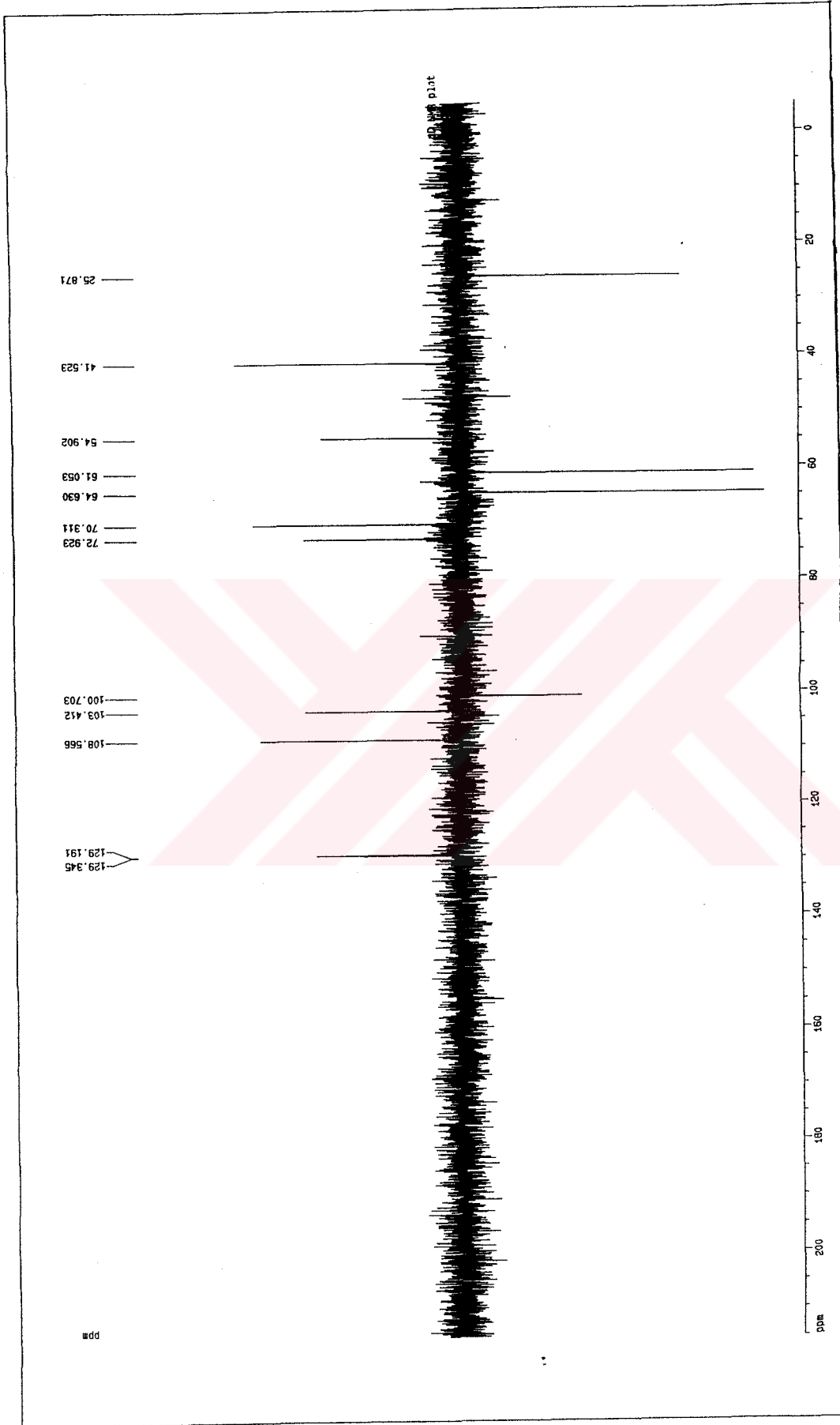


Spektrum No 76. GN-8 Bileşiminin EI Kütle Spektrumu

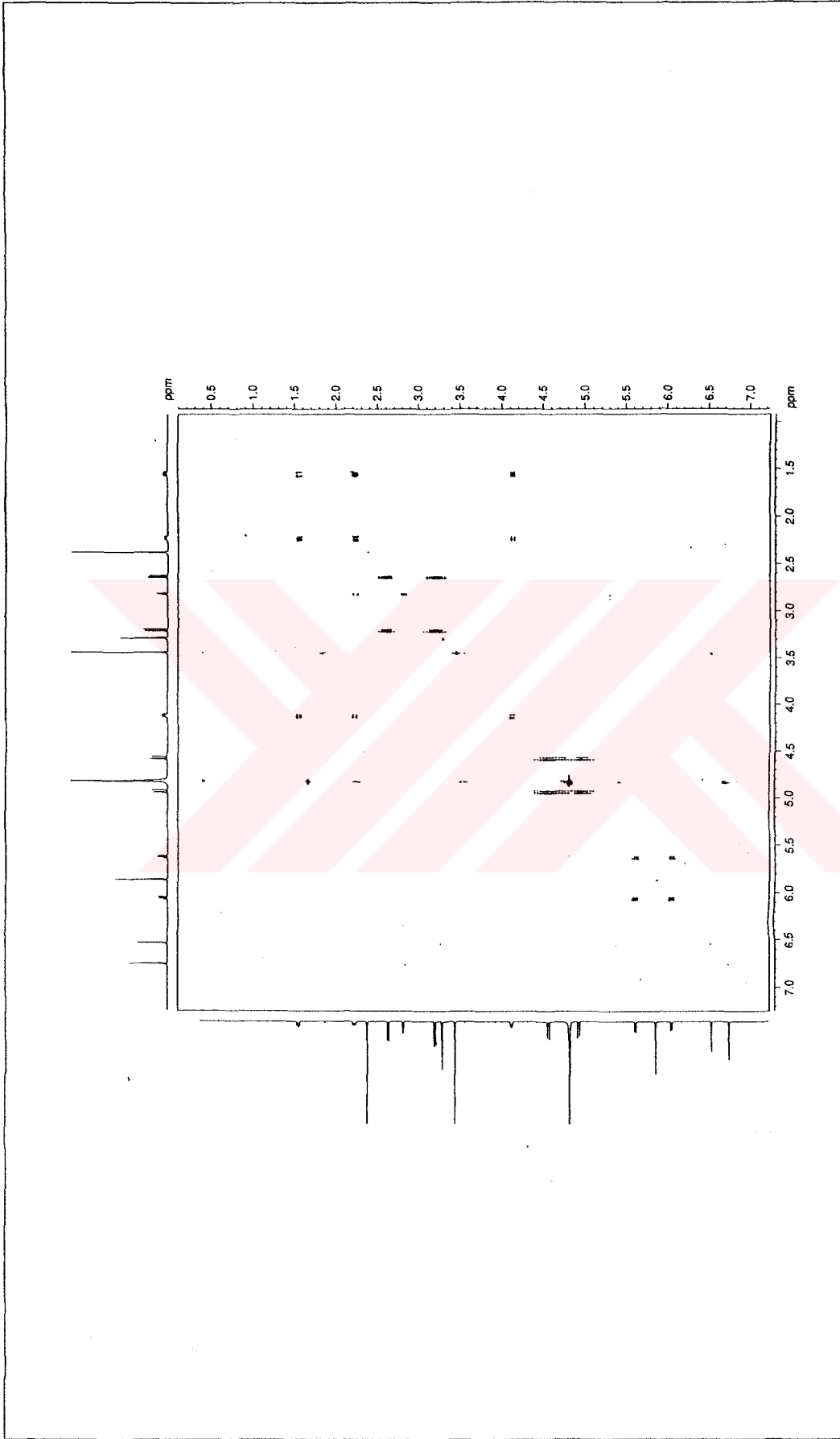


Spektrum No 77. GN-8 Bileşğinin ^1H NMR Spektrumu

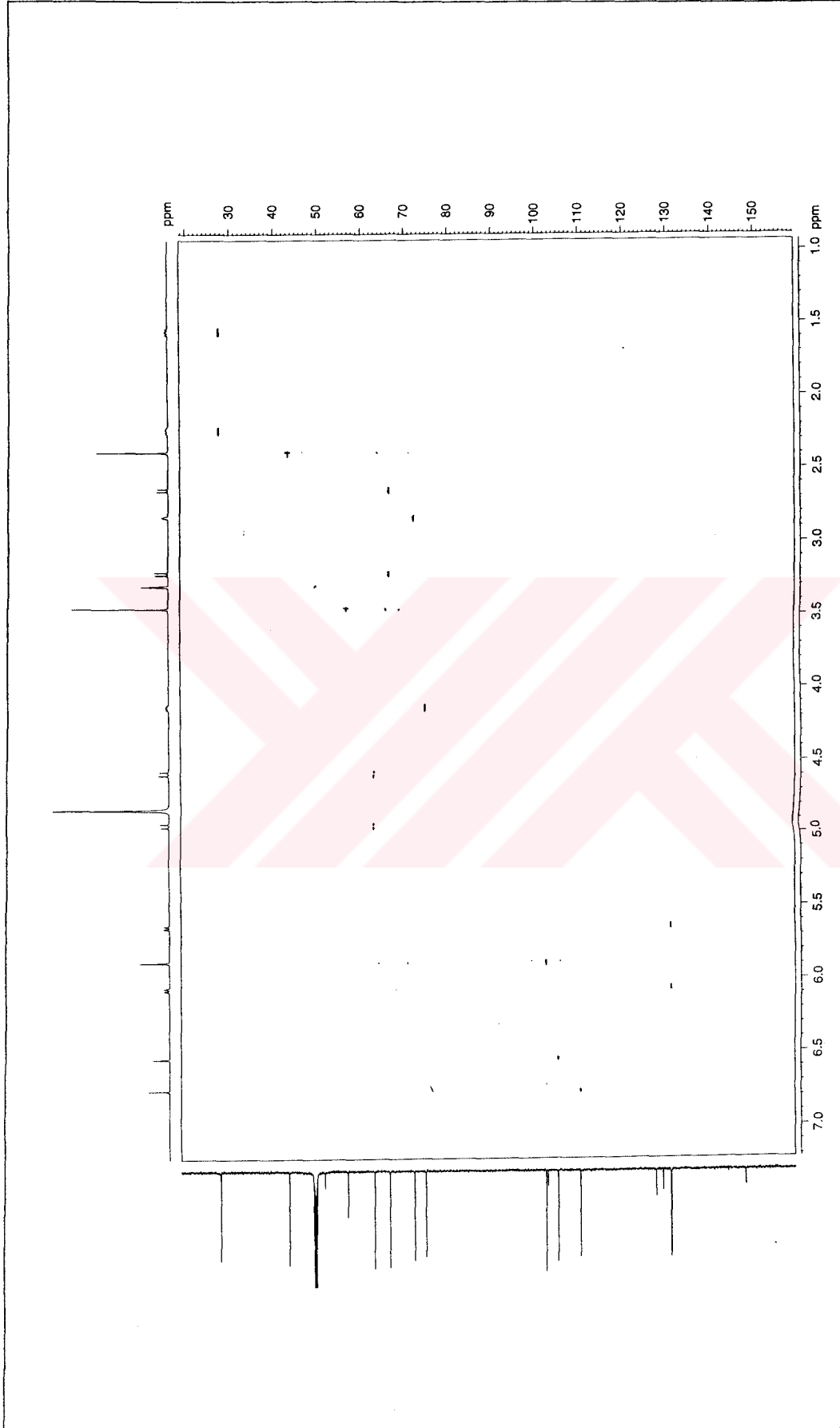
Spektrum No 78. GN-8 Bileşinin ¹³C NMR Spektrumu



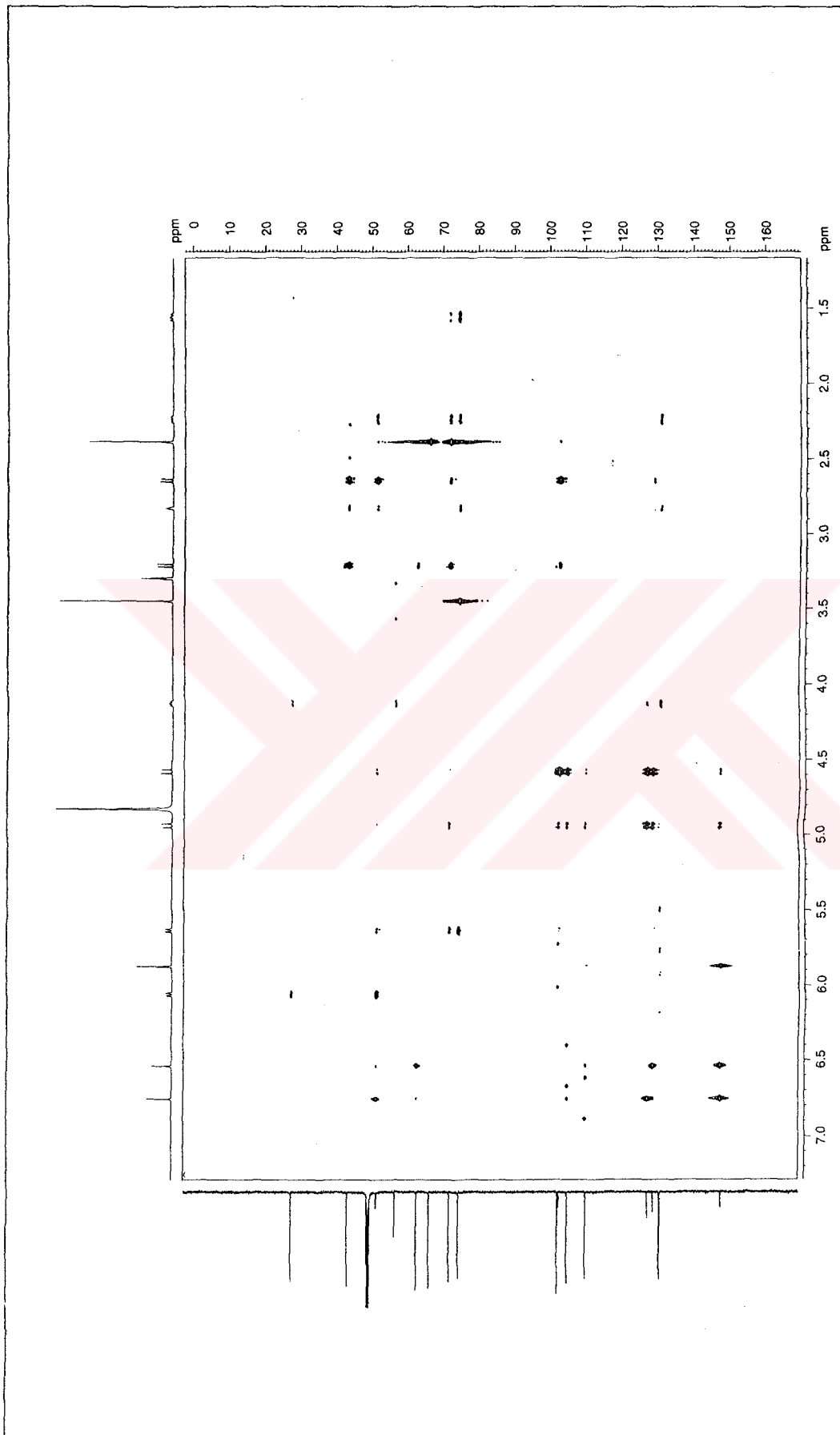
Spektrum No 79. GN-8 Bileşiminin DEPT 135 Spektrumu



Spektrum No 80. GN-8 Bileşiminin ^1H , ^1H DQF-COSY Spektrumu



Spektrum No 81. GN-8 Bileşiminin HSQC Spektrumu



Spektrum No 82. GN-8 Bileşinin HMBC Spektrumu

I. GN-9 BİLEŞİĞİNİN SPEKTRAL BULGULARI

UV (Spektrum No 83)

MeOH

λ_{maks} nm (log ϵ) 219 (4.17), 240 (4.16), 294 (3.88).

IR (Spektrum No 84)

CHCl_3

ν_{maks} cm^{-1} 2990, 2960, 2880, 2810, 2770, 1600, 1580, 1500, 1480, 1455, 1430, 1420, 1360, 1315, 1275, 1220, 1165, 1125, 1100, 1080, 1040, 1000, 955, 935, 870, 850, 835.

EI Kütle (Spektrum No 85)

m/z (%) 239 (M^+ , 17), 238 (100), 225 (5), 196 (8), 180 (6), 168 (5), 139 (4), 107 (4), 86 (3), 77 (<3), 43 (4), 31 (6).

ESI Kütle (Spektrum No 86)

m/z 240 [$\text{M}+\text{H}^+$].

^1H NMR (Spektrum No 87)

300 MHz, CD_3Cl

δ 7.51 (1H, td, $J=7.6, 1.7$, H-3), 7.46 (1H, s, H-10), 7.21 (1H, dd, $J=7.4, 1.7$, H-1), 7.04 (1H, td, $J=7.5, 1.1$, H-2), 6.97 (1H, dd, $J=7.4, 0.8$, H-4), 6.89 (1H, s, H-7), 6.21

(2H, s, OCH₂O), 4.48 (1H, d, $J=12.0$, H-6 α), 4.41 (1H, d, $J=12.0$, H-6 β), 2.95 (3H, s, NCH₃).

¹³C NMR (Spektrum No 88)

75 MHz, CD₃Cl

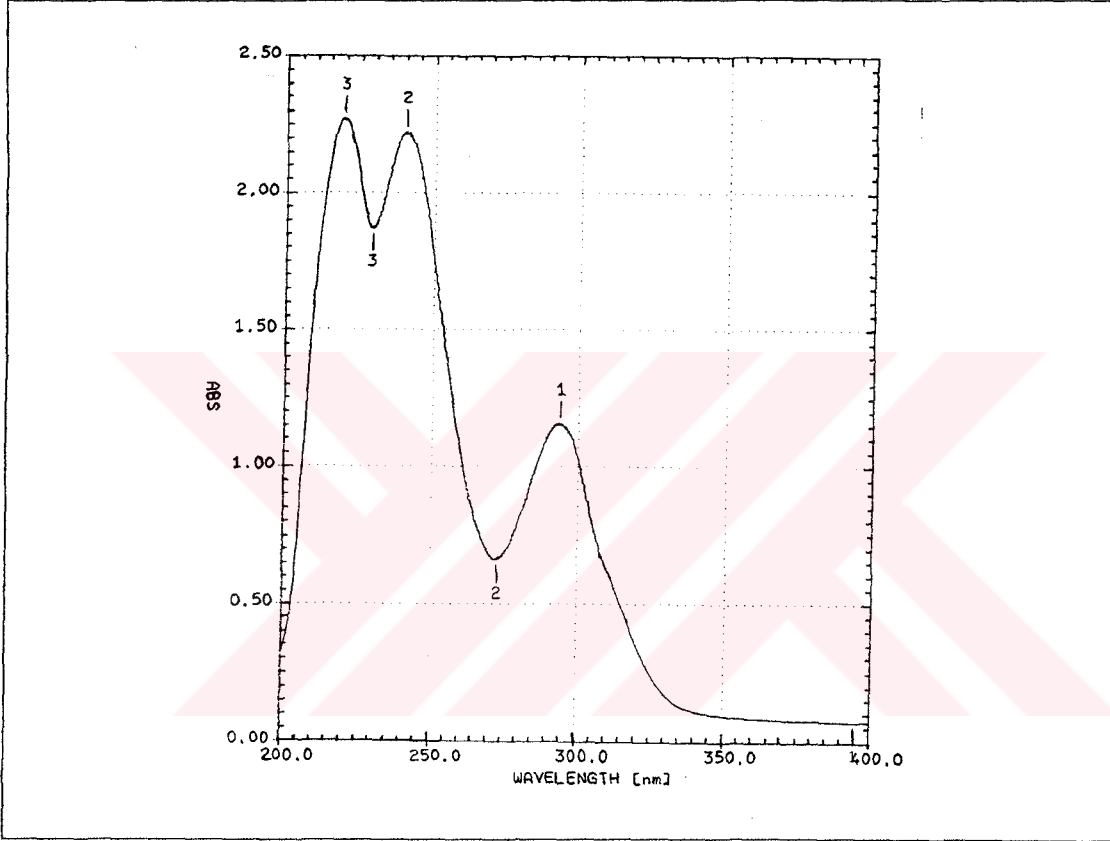
δ 147.5 (C-8*), 147.4 (C-9*), 146.5 (C-4a), 133.8 (C-6a), 131.0 (C-10a), 129.9 (C-4), 128.9 (C-2), 127.2 (C-10b), 118.1 (C-3), 110.8 (C-7**), 110.2 (C-10**), 109.8 (C-1), 101.2 (OCH₂O), 63.6 (C-6), 30.8 (NCH₃).

DEPT 135 (Spektrum No 89)

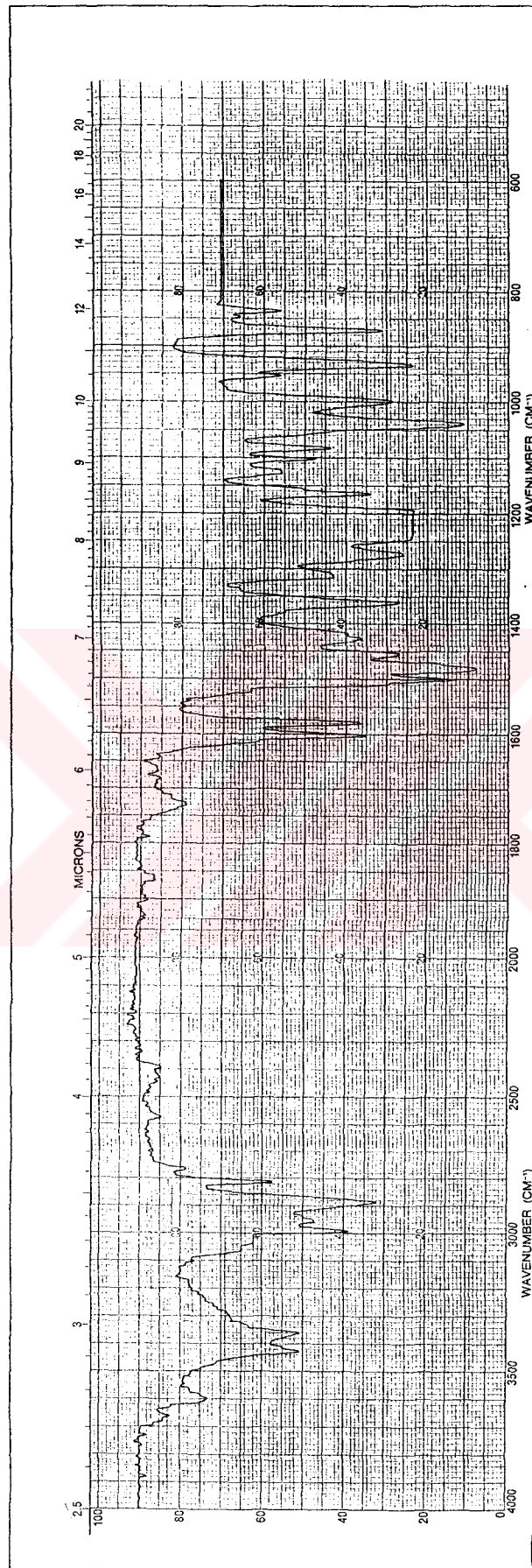


* C-8 ve C-9'un kimyasal kayma değerleri birbirleriyle değişebilir.

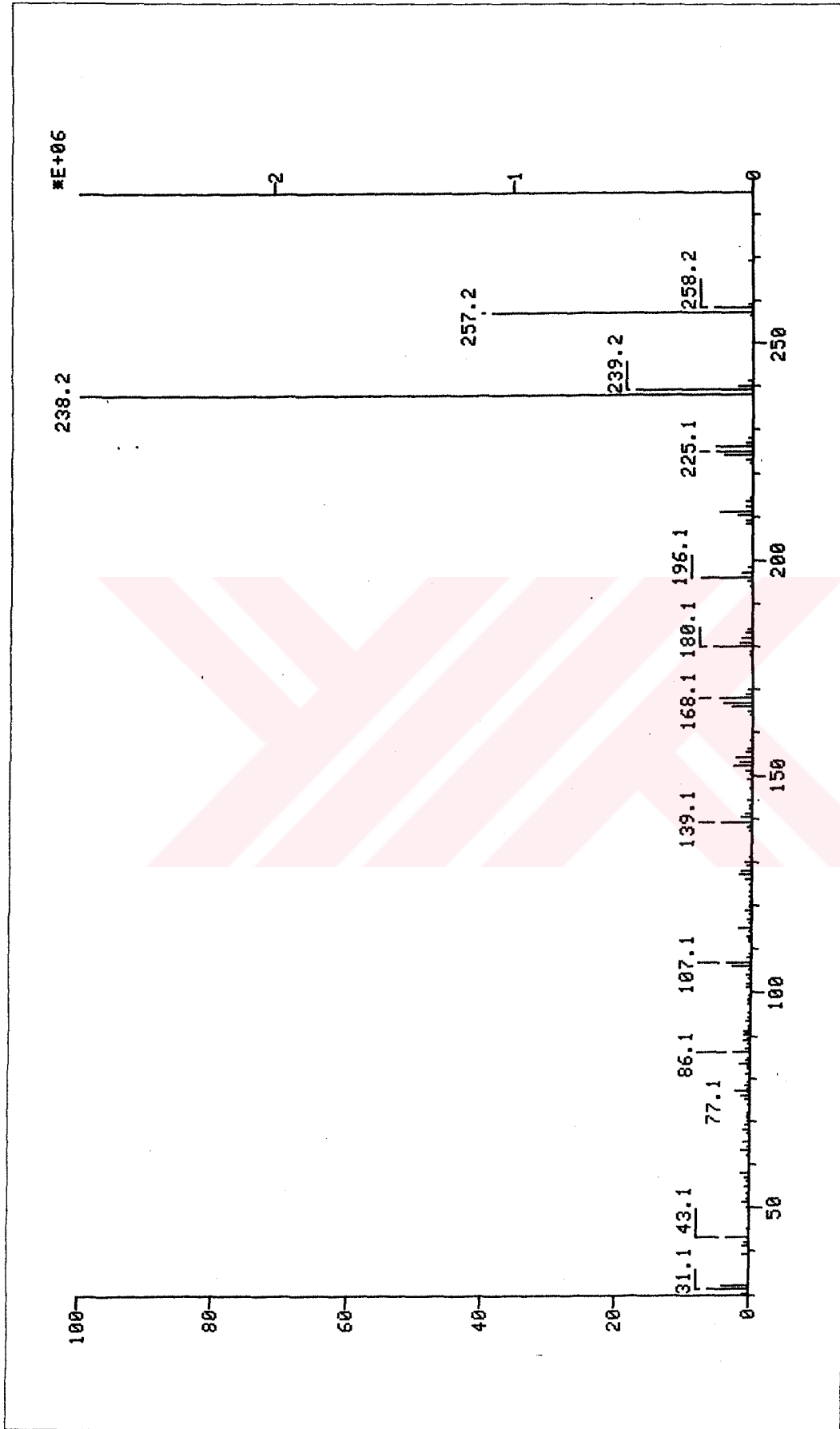
**C-7 ve C-10'un kimyasal kayma değerleri birbirleriyle değişebilir.



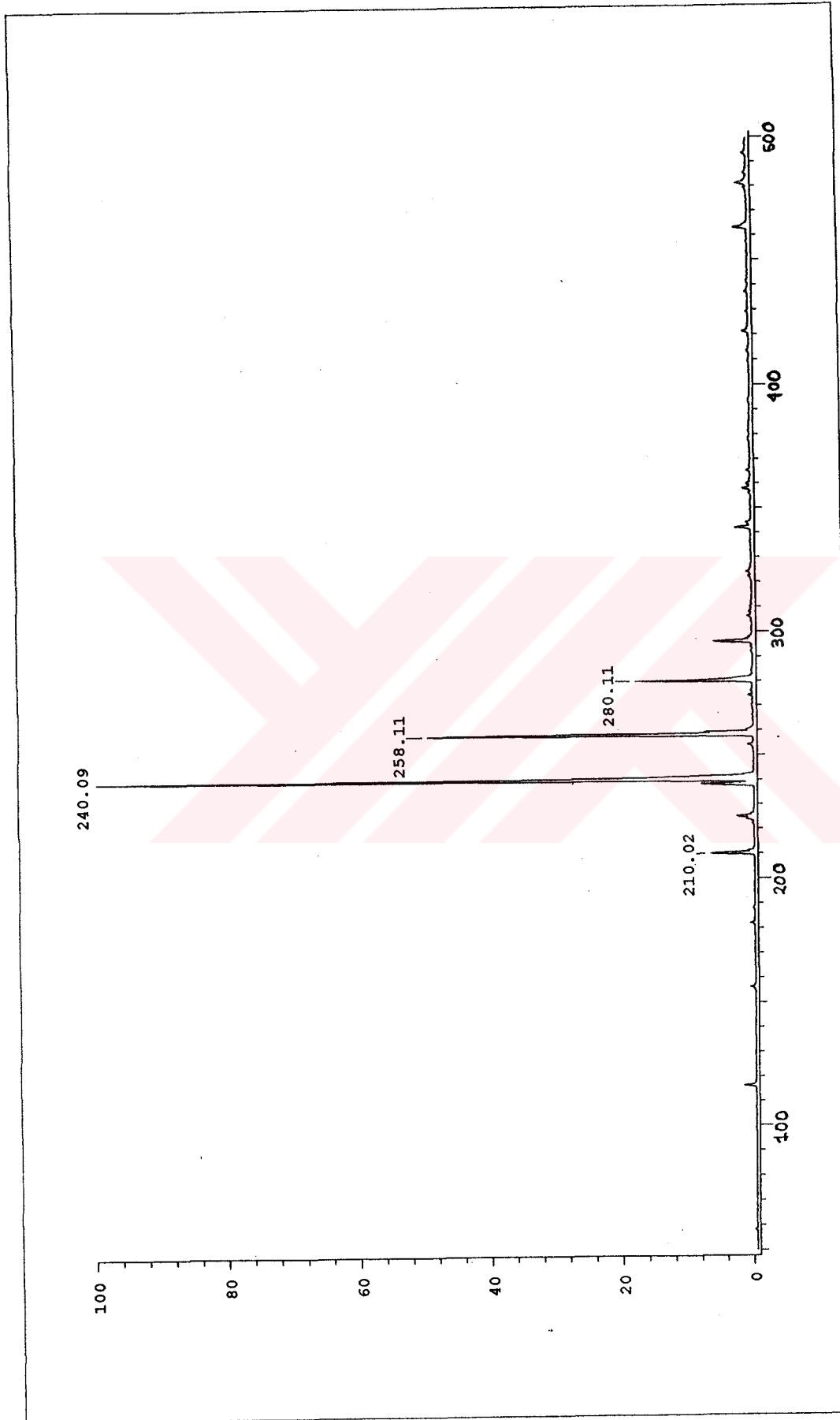
Spektrum No 83. GN-9 Bileşğinin UV Spektrumu



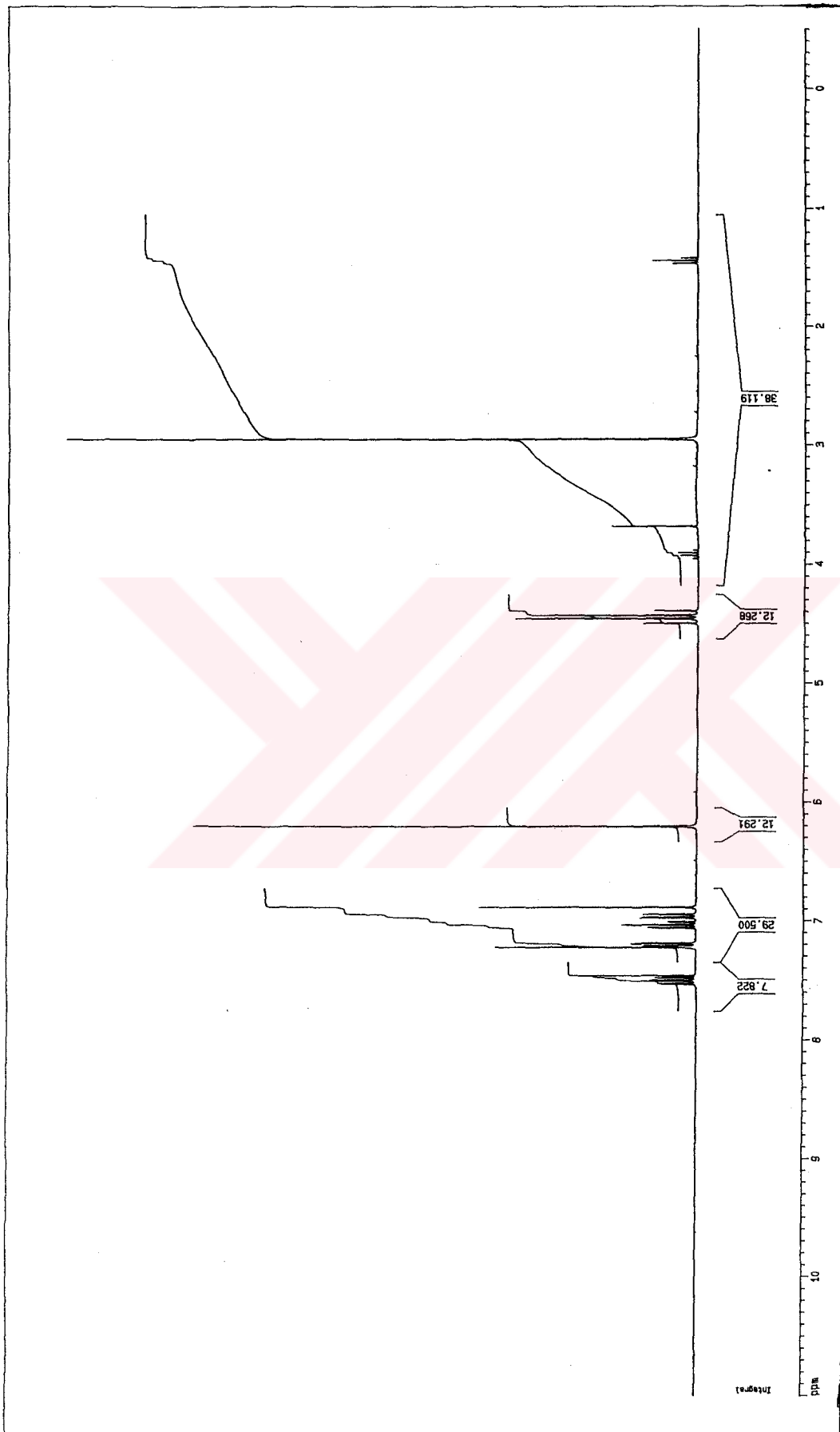
Spektrum No 84. GN-9 Bileşiminin IR Spektrumu

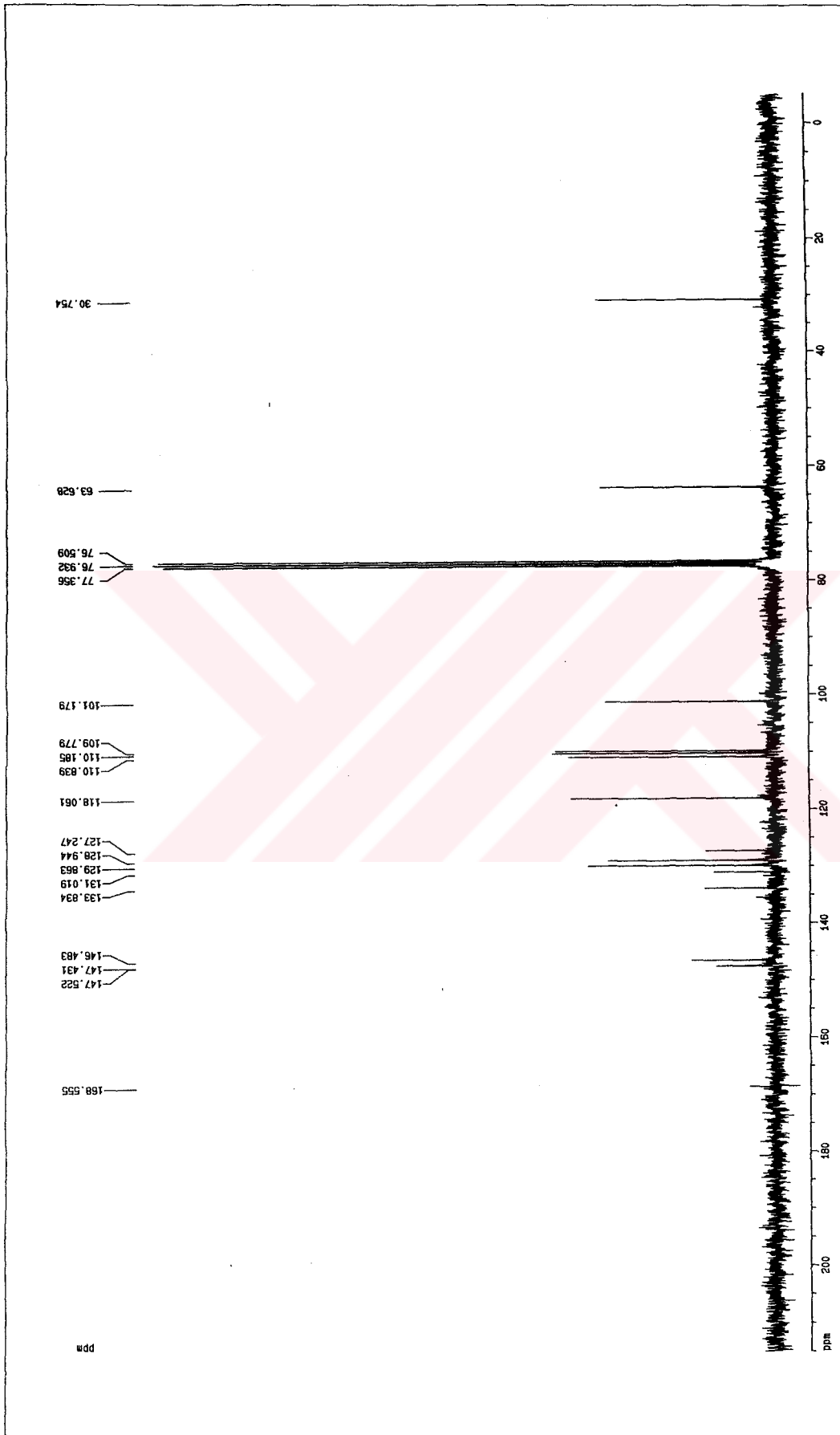


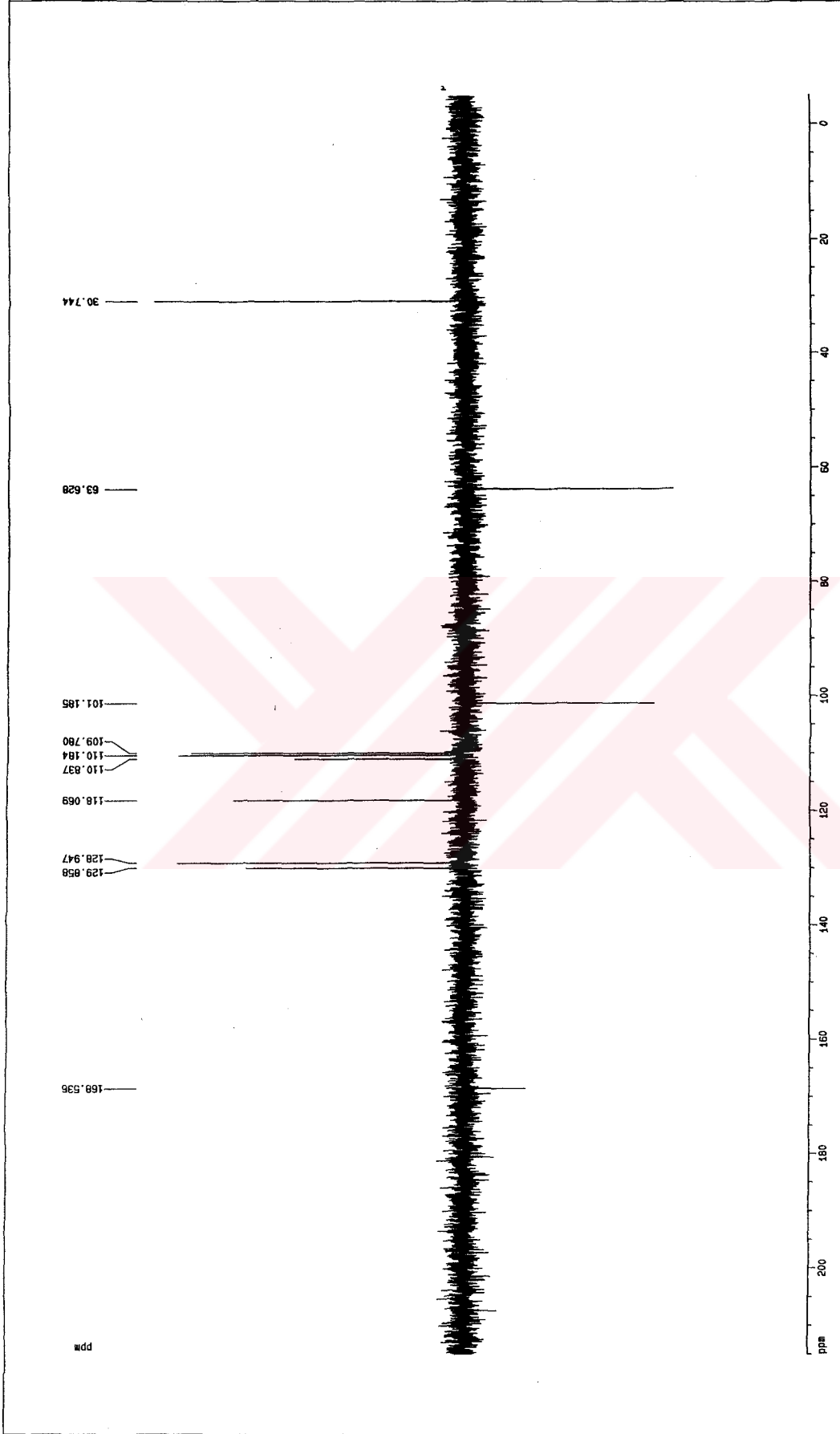
Spektrum No 85. GN-9 Bileşiminin EI Kütle Spektrumu



Spektrum No 86. GN-9 Bileşiminin ESI Kütle Spektrumu

Spektrum No 87. GN-9 Bileşiminin ^1H NMR Spektrumu

Spektrum No 88. GN-9 Bileşiminin ^{13}C NMR Spektrumu



Spektrum No 89. GN-9 Bileşinin DEPT 135 Spektrumu

J. GN-10 BİLEŞİĞİNİN SPEKTRAL BULGULARI

$[\alpha]_D + 63.5^\circ$ (MeOH; konstr. 0.222).

UV (Spektrum No 90)

MeOH

λ_{maks} nm (log ϵ) 214 (4.12), 215 (4.12), 233 (3.87), 292 (3.60).

CD (Spektrum No 91)

MeOH

nm (log ϵ) 309 (-0.37), 292 (-1.00), 265 (0), 241 (+7.93), 226 (+3.96), 221 (+4.52),
221 nm ötesinde negatif kuyruk.

IR (Spektrum No 92)

CHCl_3

ν_{maks} cm^{-1} 3580, 2940, 2860, 1715, 1500, 1485, 1375, 1355, 1330, 1310, 1245, 1185,
1100, 1055, 1040, 1010, 1000, 910, 885, 830, 815, 735, 700, 645.

EI Kütle (Spektrum No 93)

m/z (%) 403 (M^+ , 90), 341 (5), 317 (19), 316 (100), 300 (20), 299 (12), 298 (53), 256
(4), 255 (5), 247 (22), 238 (14), 230 (11), 227 (10), 211 (17), 197 (11), 181 (29), 173
(7), 153 (12), 115 (9), 95 (4), 71 (21), 70 (30).

ESI Kütle (Spektrum No 94)

m/z 404 $[\text{M}+\text{H}^+]$.

¹H NMR (Spektrum No 95)500 MHz, CDCl₃

δ 6.82 (1H, s, H-12), 6.52 (1H, s, H-9), 5.98 (1H, dd, *J*=10.8, 0.8, H-2), 5.93 (2H, s, OCH₂O), 5.73 (1H, dd, *J*=10.4, 1.2, H-1), 5.73 (1H, H-1 sinyali altında kalmış, H-3), 4.99 (1H, d, *J*=14.8, H-8), 4.65 (1H, d, *J*=14.8, H-8), 3.40 (1H, d, *J*=10.8, H-6α), 2.96 (1H, *br s*, H-4a), 2.77 (1H, d, *J*=10.8, H-6β), 2.47 (3H, s, NCH₃), 2.31 (1H, m, H-4eq), 1.75 (1H, m, H-4ax).

3-hidroksibütirik asit

δ 4.24 (1H, m, H-3), 2.57 (1H, dd, *J*=16.5, 3.3, H-2), 2.48 (1H, dd, *J*=16.5, 8.9, H-2), 1.25 (3H, s, H-4).

¹³C NMR (Spektrum No 96)125 MHz, CD₃Cl

δ 146.6 (C-10 ve C-11), 130.1 (C-1), 129.1 (C-2), 126.9 (C-12a), 125.7 (C-8a), 109.1 (C-12), 104.2 (C-9), 101.6 (C-6a), 101.0 (OCH₂O), 69.8 (C-4a), 68.2 (C-3), 65.2 (C-6), 62.0 (C-8), 49.6 (C-12b), 41.9 (NCH₃), 25.9 (C-4).

3-hidroksibütirik asit

δ 172.6 (C-1), 64.3 (C-3), 43.0 (C-2), 22.4 (C-4).

DEPT 135 (Spektrum No 97)

^1H , ^1H DQF-COSY (Spektrum No 98) (Tablo 19)

TOCSY (Spektrum No 99) (Tablo 19)

HSQC (Spektrum No 100) (Tablo 20)

HMBC (Spektrum No 101) (Tablo 20)

NOESY (Spektrum No 102) (Tablo 19)

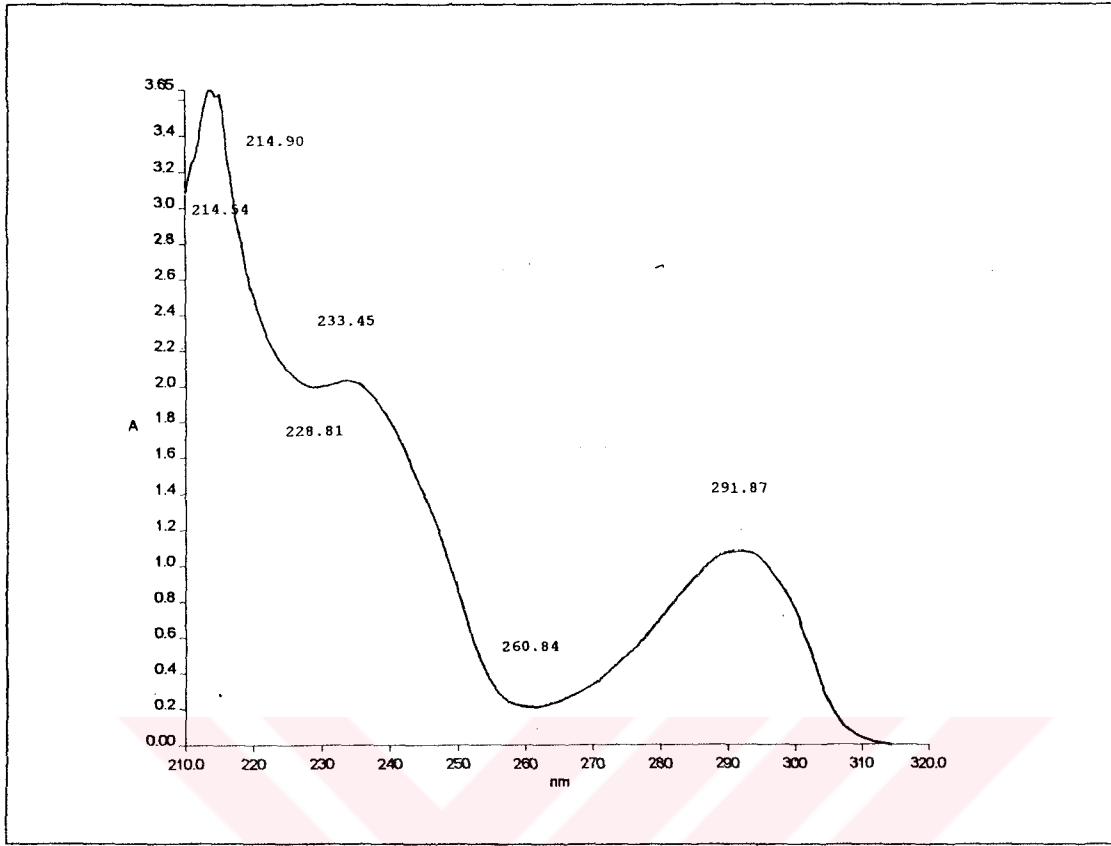


H	δ	$^1\text{H}, ^1\text{H DQF-COSY}$	TOCSY	NOESY
1 (3)	5.73	H-2, H-4eq, H-4ax	H-2, H-4eq, H-4ax, H-4a	H-2, H-4eq, H-12
2	5.98	H-1 (3)	H-1 (3), H-4eq, H-4a	H-1 (3)
4eq	2.31	H-3, H-4ax, H-4a	H-1 (3), H-4ax, H-4a	H-3, H-4ax, H-4a, NCH ₃
4ax	1.75	H-3, H-4eq, H-4a	H-1 (3), H-4eq, H-4a	H-3, H-4eq, H-4a, H-12
4a	2.96	H-4eq, H-4ax	H-1 (3), H-2, H-4eq, H-4ax	H-4eq, H-4ax, NCH ₃
6 α	3.40	H-6 β	H-6 β	H-6 β
6 β	2.77	H-6 α	H-6 α	H-6 α , NCH ₃
8	4.99	H-8 (4.65)	H-8 (4.65), H-9	H-8 (4.65), H-9
8	4.65	H-8 (4.99)	H-8 (4.99), H-9	H-8 (4.99), H-9
9	6.52	-	H-8 (4.99, 4.65), H-12	H-8 (4.99, 4.65)
12	6.82	-	H-9	H-1, H-2, H-4eq, H-4ax, H-4a
OCH ₂ O	5.93	-	-	-
NCH ₃	2.47	-	-	H-3, H-4eq, H-4a, H6 α , H6 β
3-hidroksibutirik asit	2	2.57	H-2 (2.48), H-3	H-2 (2.48), H-3, H-4
	2	2.48	H-2, (2.57), H-3	H-2 (2.57), H-3, H-4
	3	4.24	H-2 (2.57, 2.48), H-4	H-2 (2.57, 2.48), H-4
	4	1.25	H-3	H-2 (2.57, 2.48), H-3

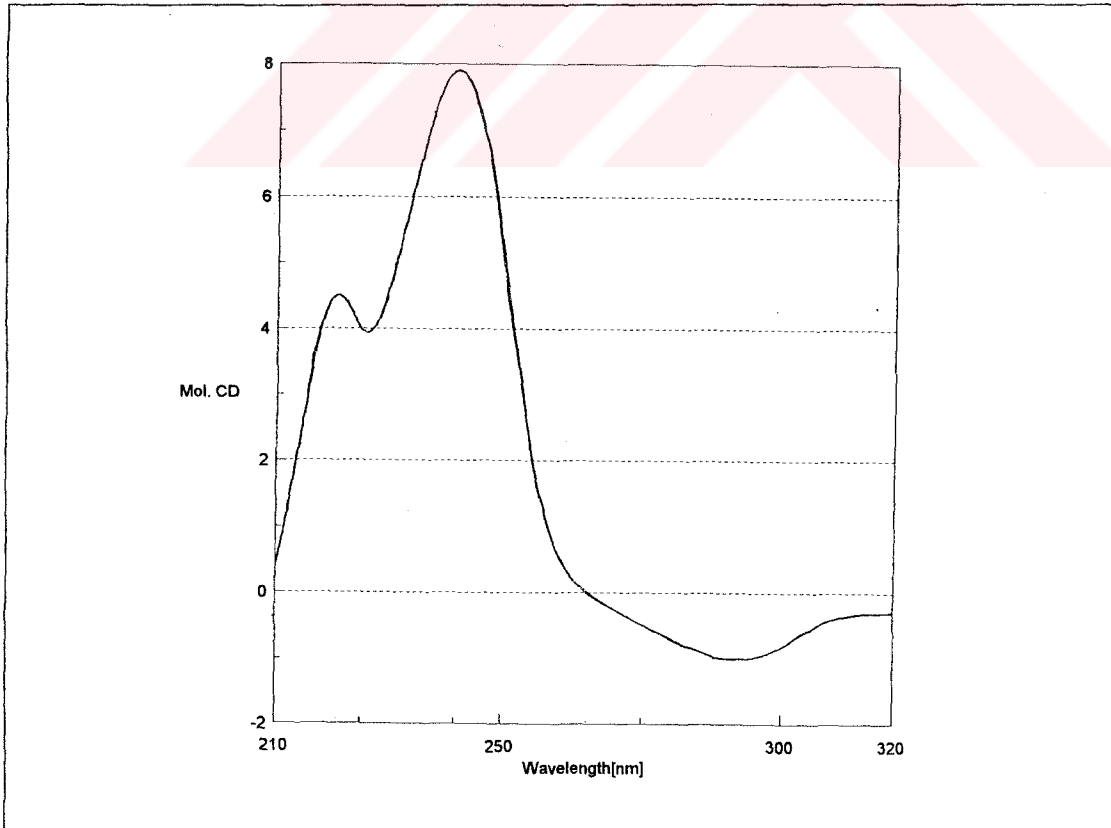
Tablo 19. GN-10 Bileşiminin 1D ve 2D NMR Bulguları (δ)

	¹ H	¹³ C / HSQC	HMBC	
1	5.73	130.1	C-2, C-3, C-4a, C-6a, C-12b	
3		68.2		
2	5.98	129.1	C-4, C-12b	
4eq	2.31	25.9	C-2, C-3, C-4a, C-12b	
4ax	1.75	25.9	C-3, C-4a	
4a	2.96	69.8	-	
6α	3.40	65.2	C-4a, C-6a, C-8, NCH ₃	
6β	2.77	65.2	C-4a, C-6a, C-12b, NCH ₃	
6a	-	101.6	-	
8α	4.99	62.0	C-6a, C-8a, C-9, C-12, C-12a, C-12b	
8β	4.65	62.0	C-6a, C-8a, C-9, C-10, C-12, C-12a, C-12b	
8a	-	125.7	-	
9	6.52	104.2	C-8, C-10 (11), C-12, C-12a, C-12b	
10	-	146.6	-	
11	-	146.6	-	
12	6.82	109.1	C-8, C-8a, C-9, C-10 (11), C-12a, C-12b	
12a	-	126.9	-	
12b	-	49.6	-	
OCH ₂ O	5.93	101.0	C-10, C-11	
NCH ₃	2.47	41.9	C-4a, C-6, C-6a	
3-hidroksibutirik asit	1	-	172.6	-
	2	2.57	43.0	C-1, C-3, C-4
	2	2.48	43.0	C-1, C-3, C-4
	3	4.24	64.3	C-1, C-4
	4	1.25	22.4	C-1, C-2, C-3

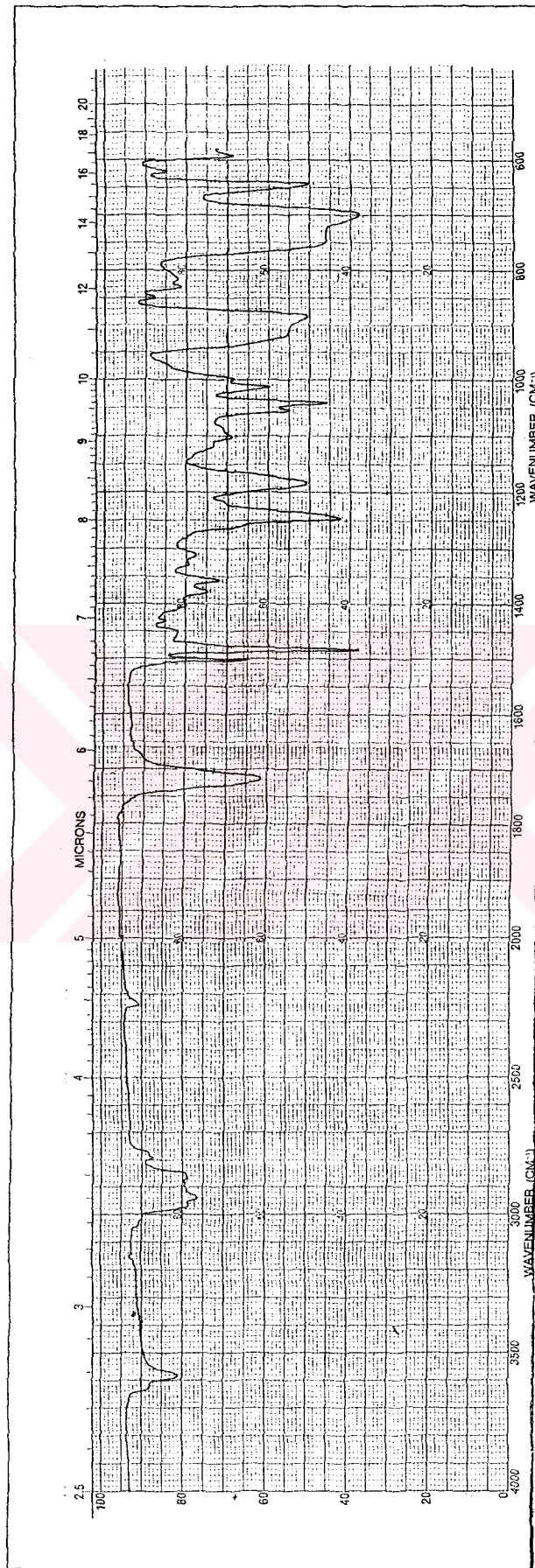
Tablo 20. GN-10 Bileşiminin 1D ve 2D NMR Bulguları (δ)



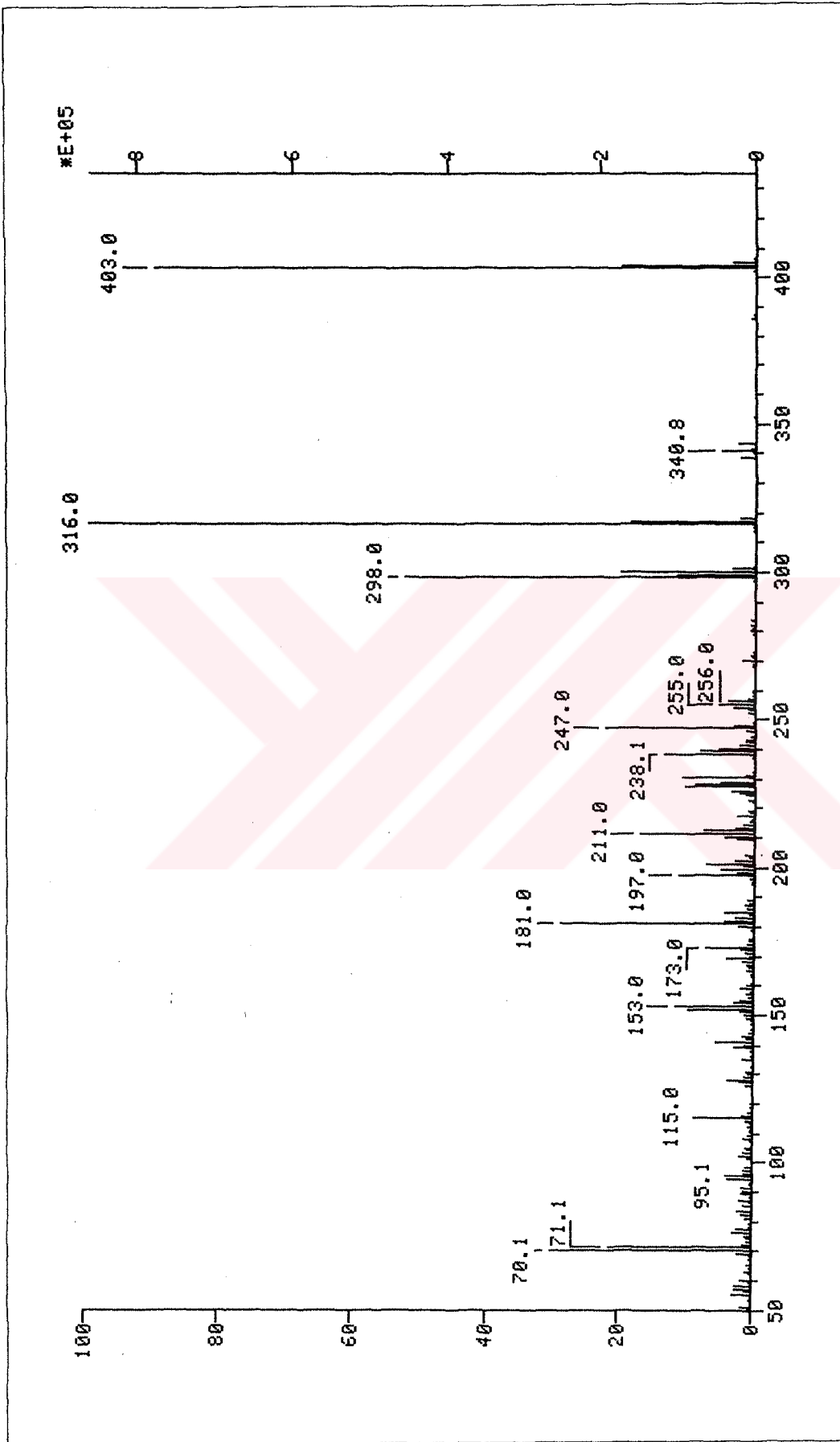
Spektrum No 90. GN-10 Bileşğinin UV Spektrumu



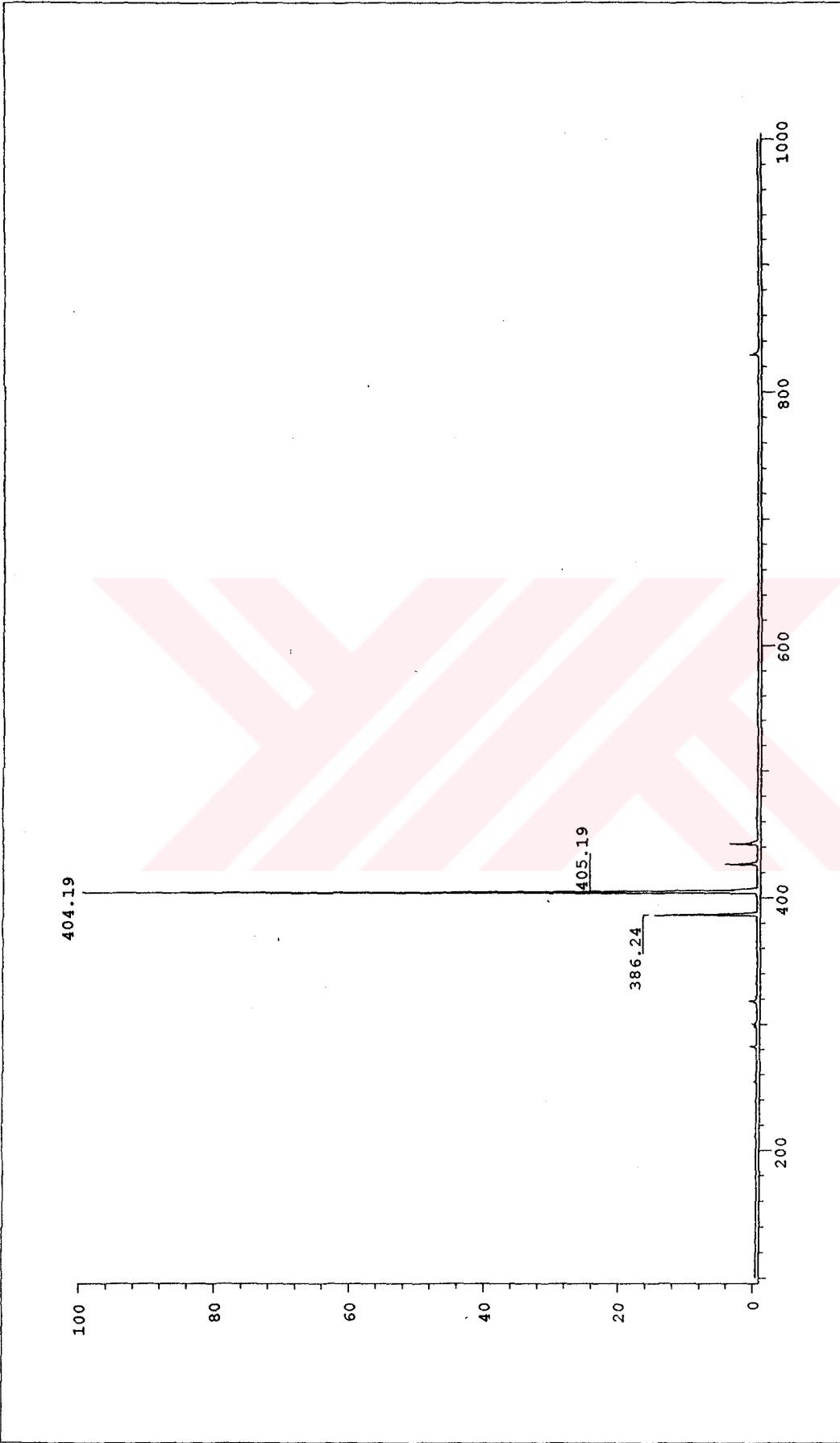
Spektrum No 91. GN-10 Bileşğinin CD Spektrumu



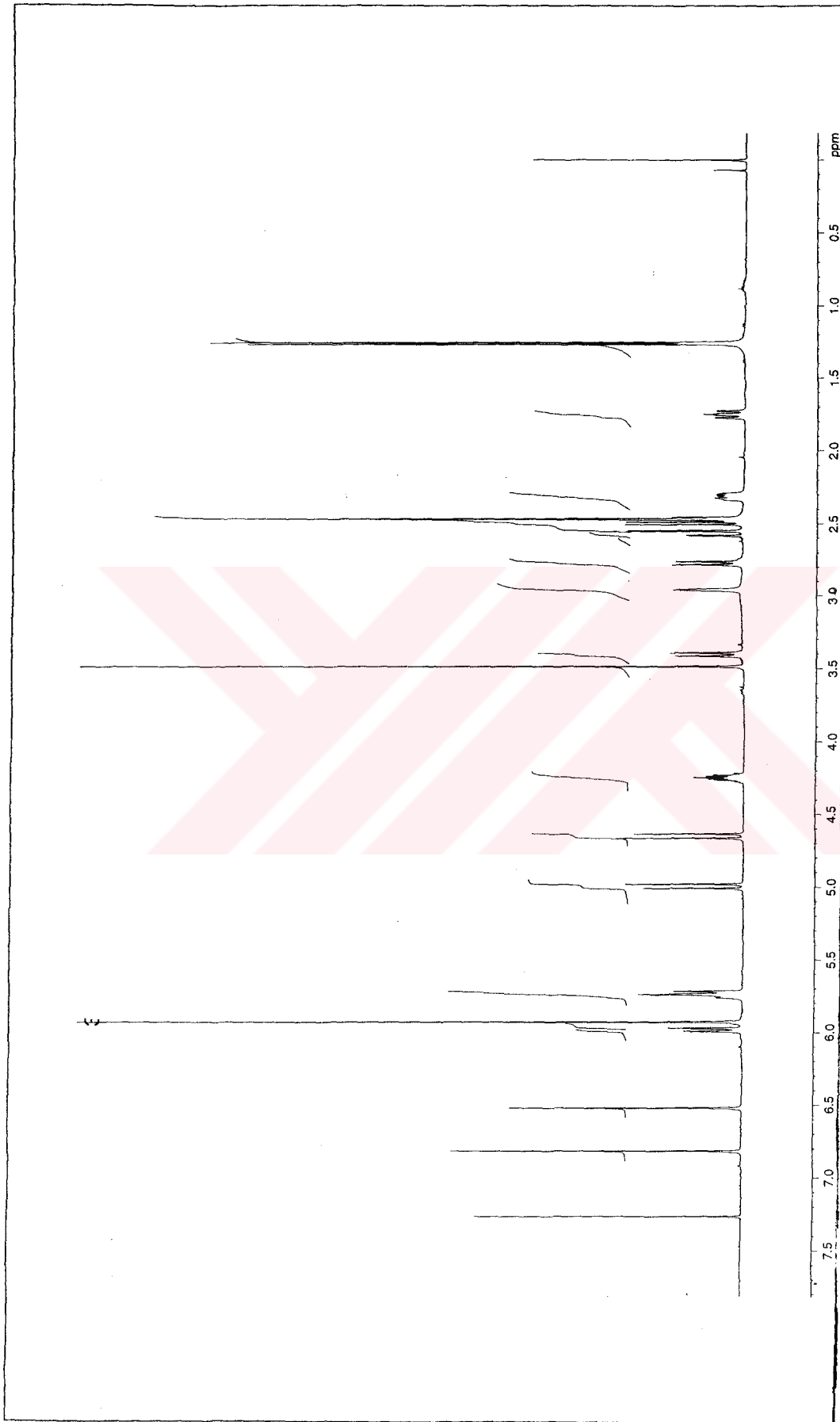
Spektrum No 92. GN-10 Bileşiminin IR Spektrumu

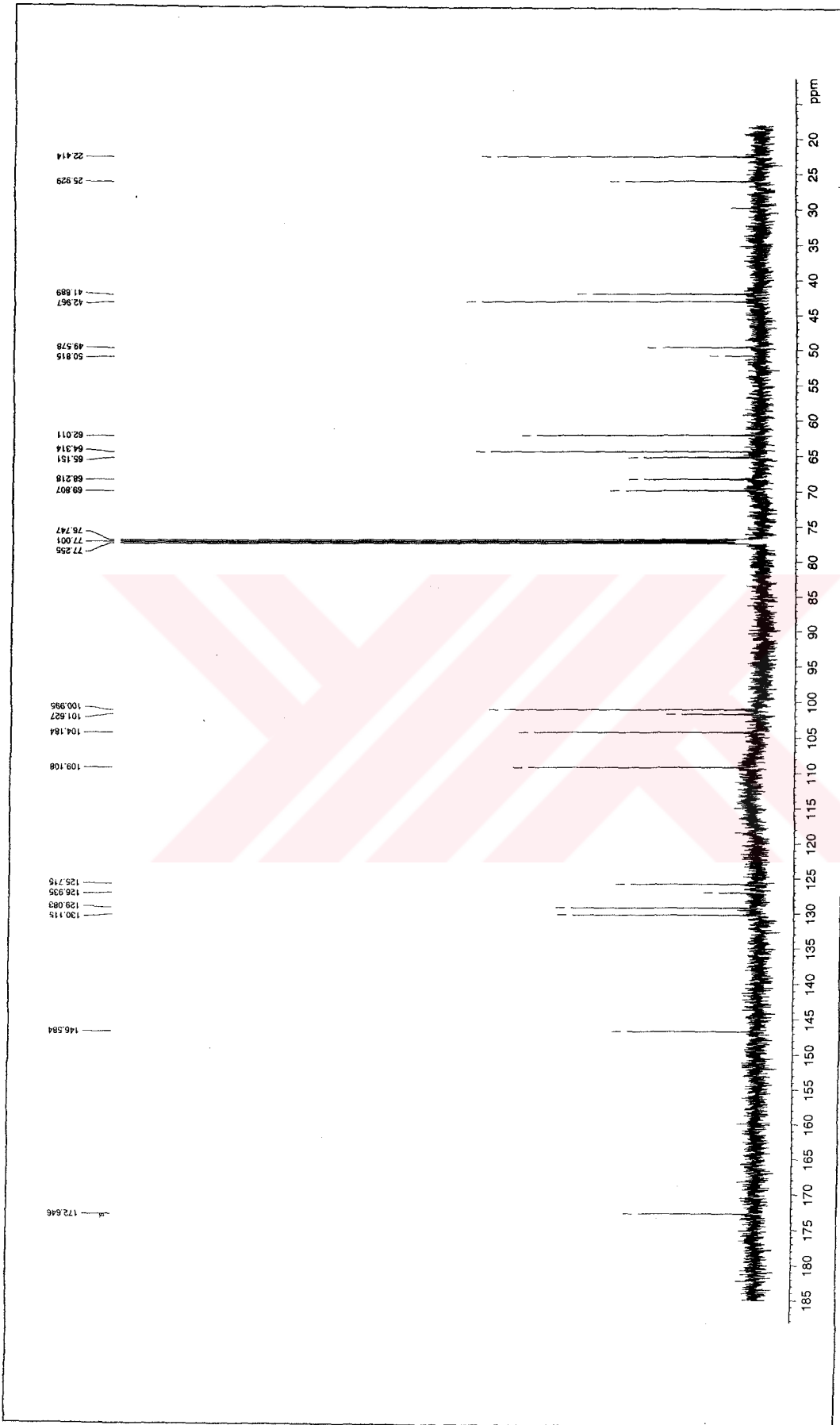


Spektrum No 93. GN-10 Bileşiminin EI Kütle Spektrumu

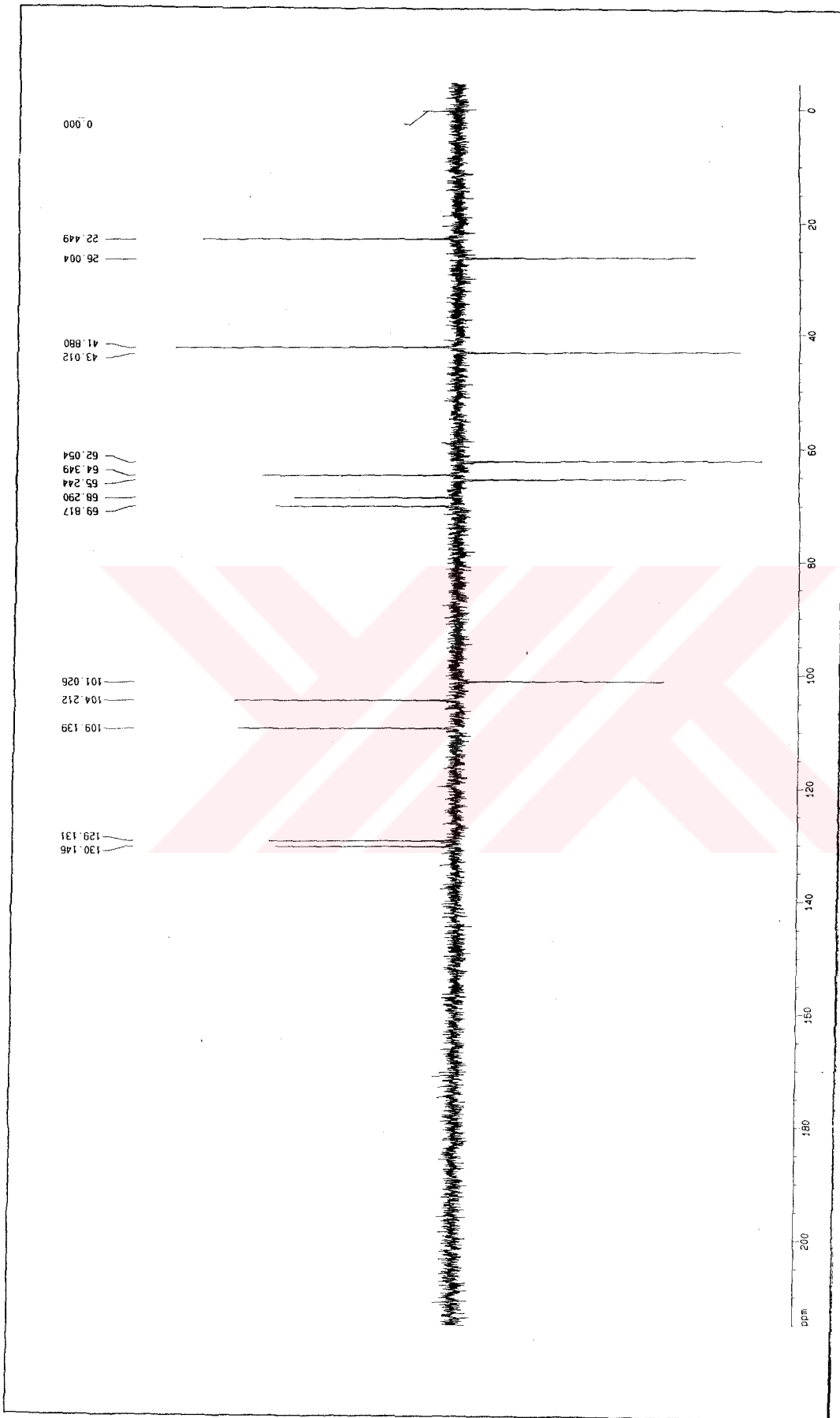


Spektrum No 94. GN-10 Bileşiminin ESI Kütle Spektrumu

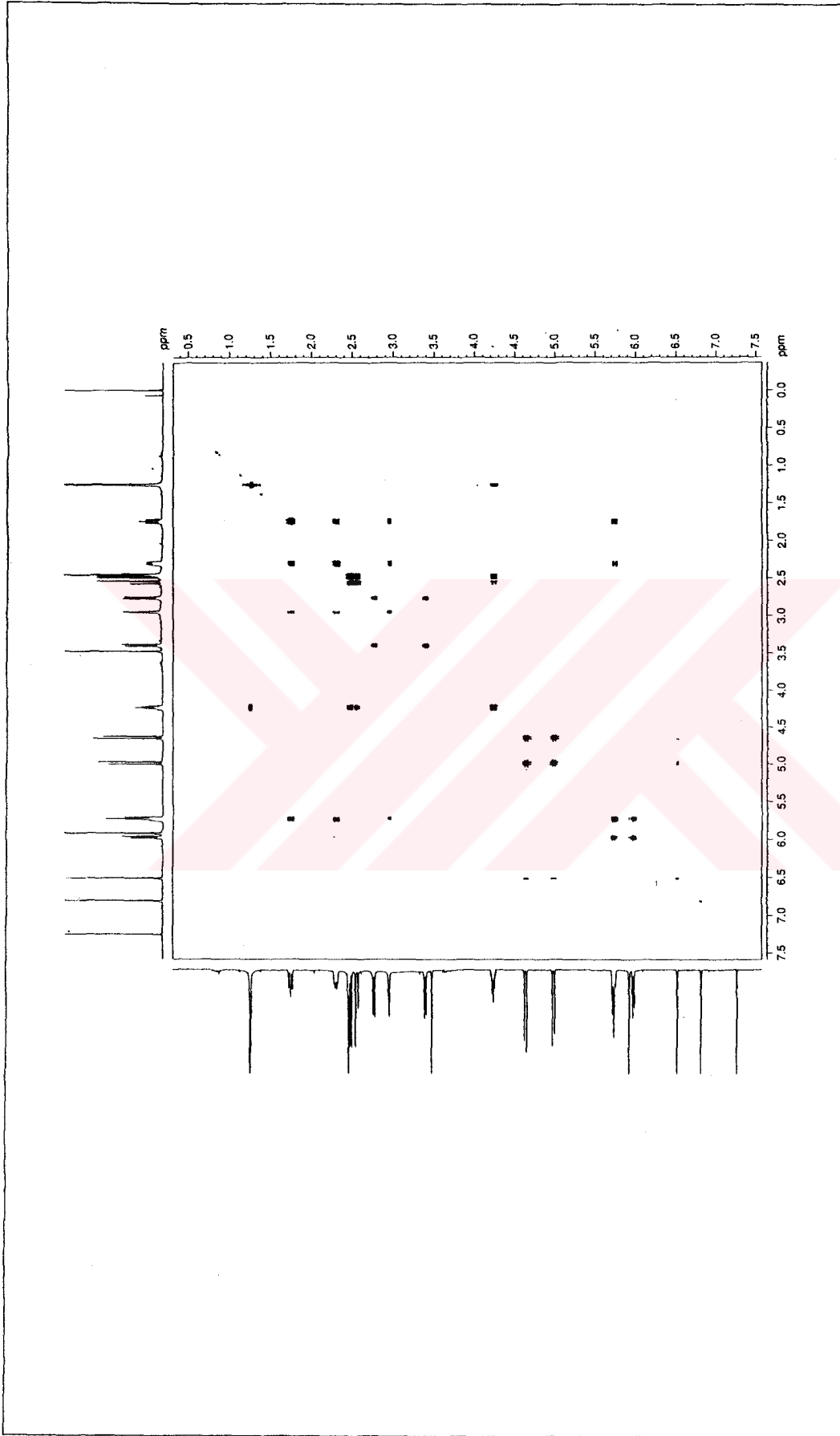
Spektrum No 95. GN-10 Bileşiminin ¹H NMR Spektrumu

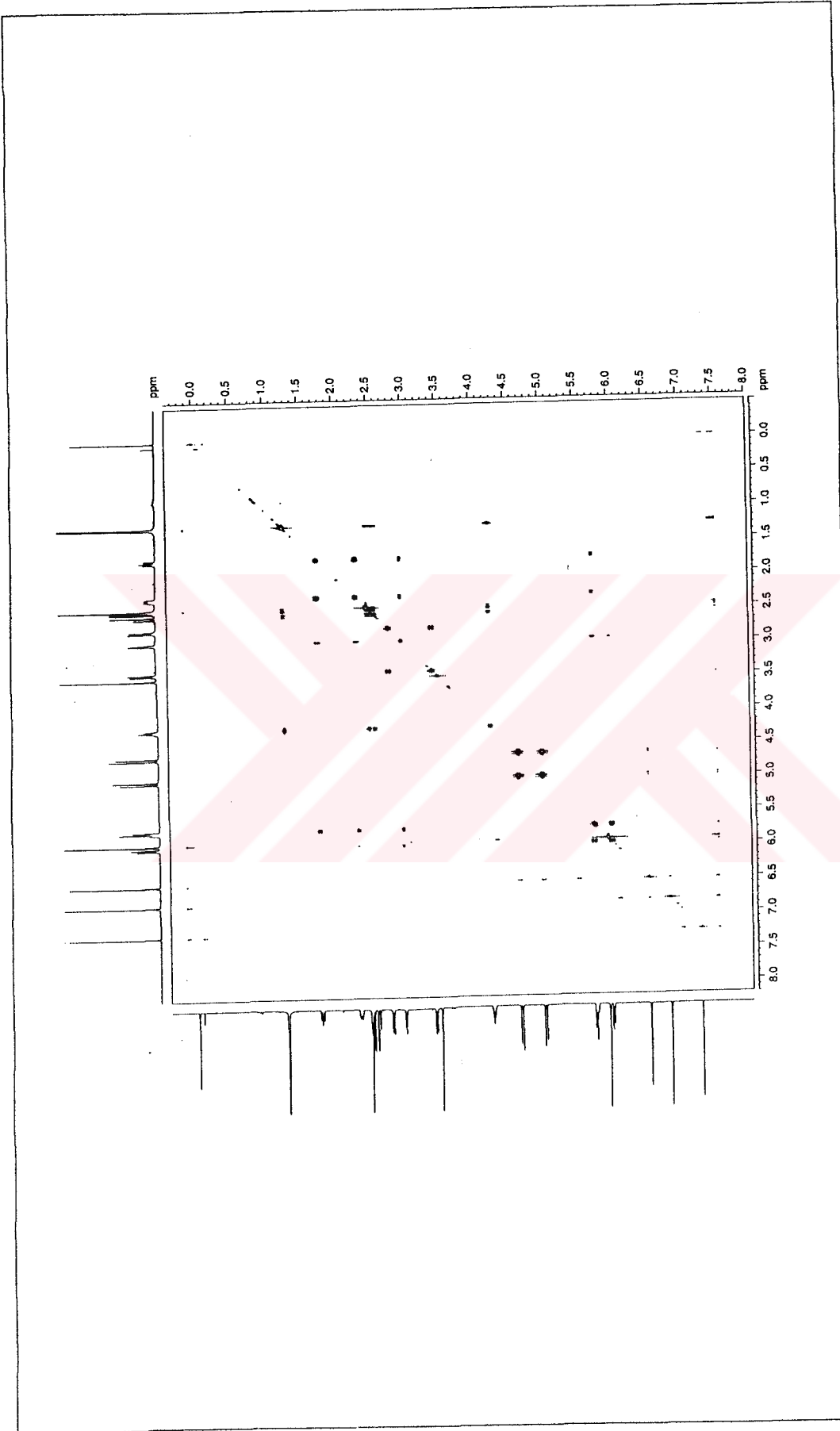


Spektrum No 96. GN-10 Bileşiminin ¹³C NMR Spektrumu

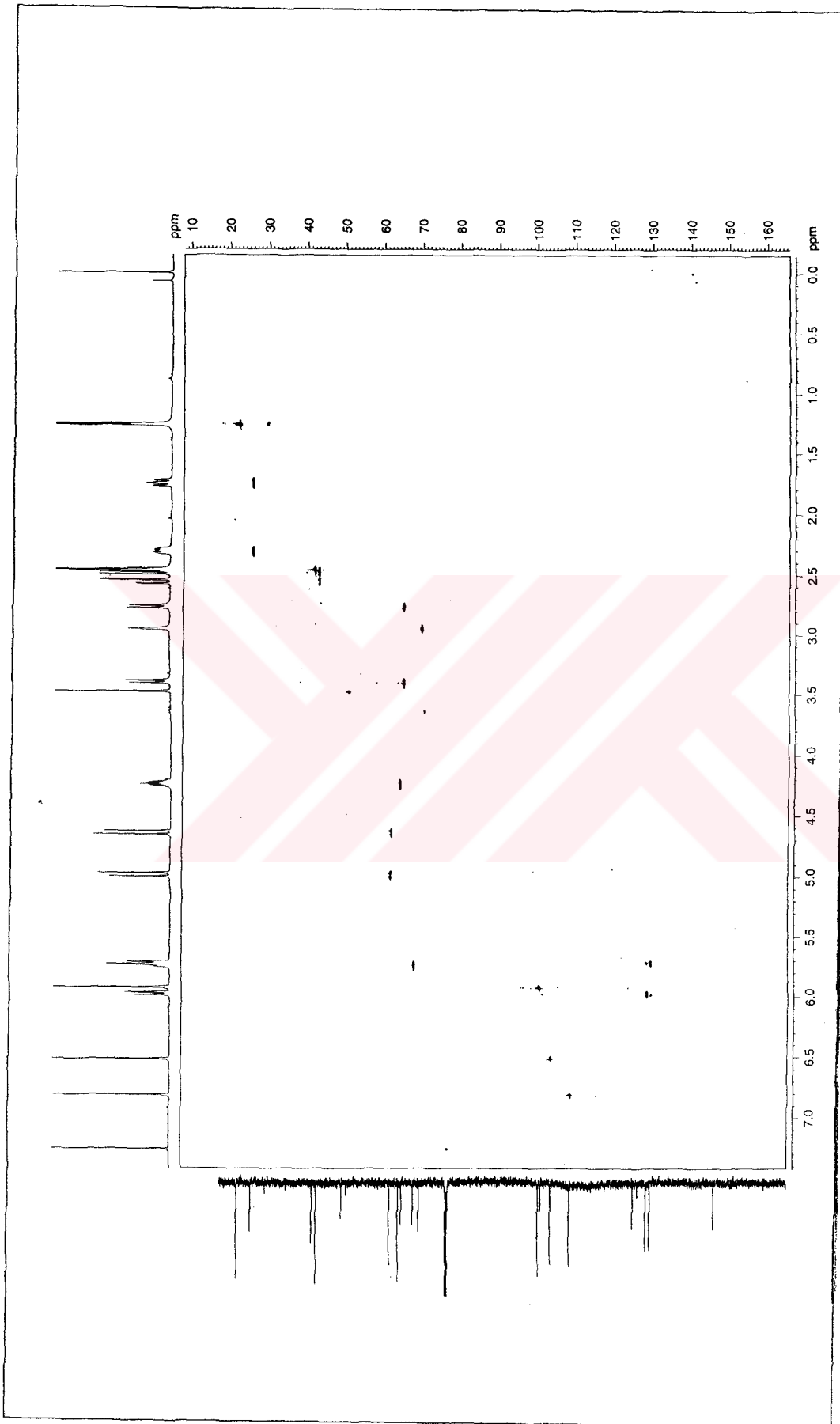


Spektrum No 97. GN-10 Bileşiminin DEPT 135 Spektrumu

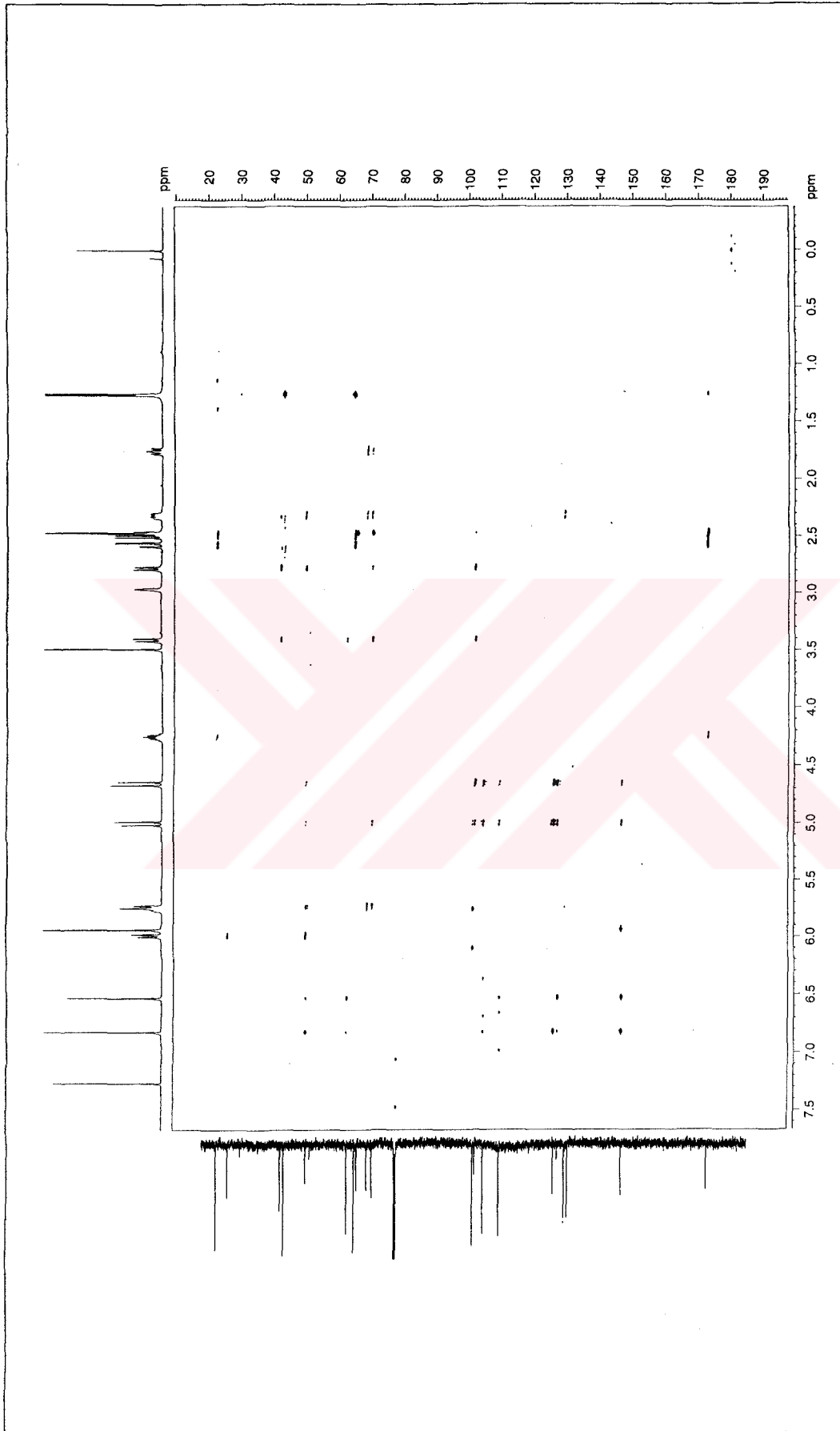
Spektrum No 98. GN-10 Bileşinin ^1H DQF-COSY Spektrumu



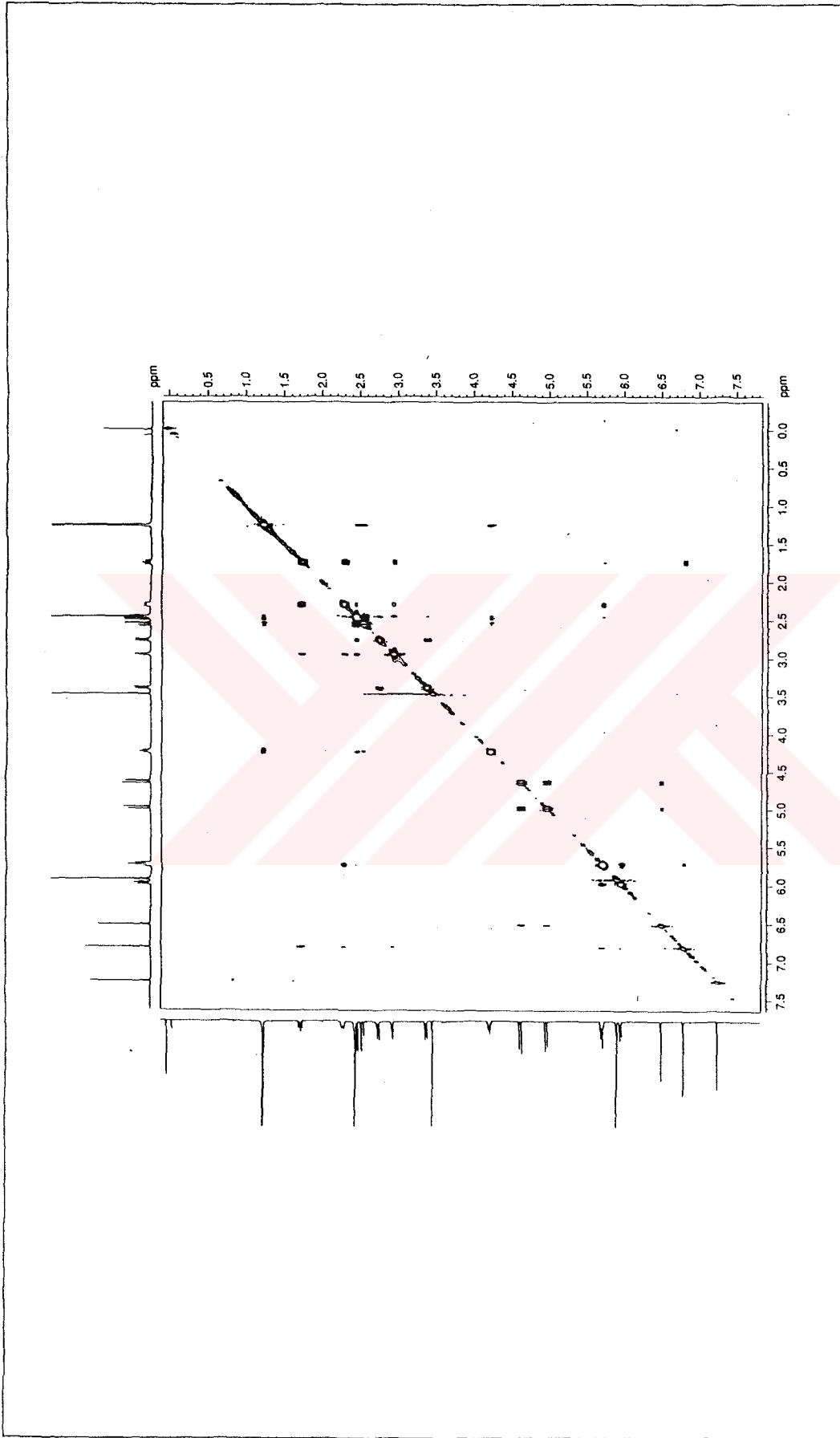
Spektrum No 99. GN-10 Bileşiminin TOCSY Spektrumu



Spektrum No 100. GN-10 Bileşiminin HSQC Spektrumu



Spektrum No 101. GN-10 Bileşiminin HMBC Spektrumu



Spektrum No 102. GN-10 Bileşiminin NOESY Spektrumu

K. GN-11 BİLEŞİĞİNİN SPEKTRAL BULGULARI

$[\alpha]_D +71.2^\circ$ (MeOH; konstr. 0.125).

UV (Spektrum No 103)

MeOH

λ_{maks} nm (log ϵ) 209 (4.36), 227 (4.39), 267 (3.95), 307 (3.79).

CD (Spektrum No 104)

MeOH

nm (log ϵ) 335 (0), 317 (-0.42), 298 (0), 272 (-4.85), 260 (+0.04), 251 (+3.24), 243 (-0.09), 233 (-8.55), 223 (+0.02), 205 (+22.63), 205 nm ötesinde negatif kuyruk.

IR (Spektrum No 105)

KBr

ν_{maks} cm^{-1} 3420, 2920, 2840, 2790, 1710, 1650, 1640, 1610, 1575, 1550, 1510, 1500, 1485, 1460, 1450, 1430, 1345, 1305, 1280, 1260, 1215, 1155, 1075, 1055, 1035, 1025, 1000, 945, 910, 890, 850, 780.

EI Kütle (Spektrum No 106)

m/z (%) 301 (M^+ , <3), 285 (<3), 140 (4), 109 (100), 108 (18), 98 (6), 83 (11), 55 (6), 43 (8).

ESI Kütle (Spektrum No 107)

m/z 302 [$M+H^+$].

¹H NMR (Spektrum No 108)

300 MHz, CD₃OD

δ 7.41 (1H, s, H-8), 7.10 (1H, s, H-11), 5.60 (1H, *br* s, H-4), 4.82 (1H, çözücü sinyali altında kalmış, H-5a), 3.96 (3H, s, OCH₃), 3.23 (1H, m, H-2), 2.82-2.76 (3H, m, H-5, H-5, H-11c), 2.65-2.53 (3H, m, H-3, H-3, H-11b), 2.47-2.41 (1H, m, H-2), 2.10 (3H, s, NCH₃).

¹³C NMR (Spektrum No 109)

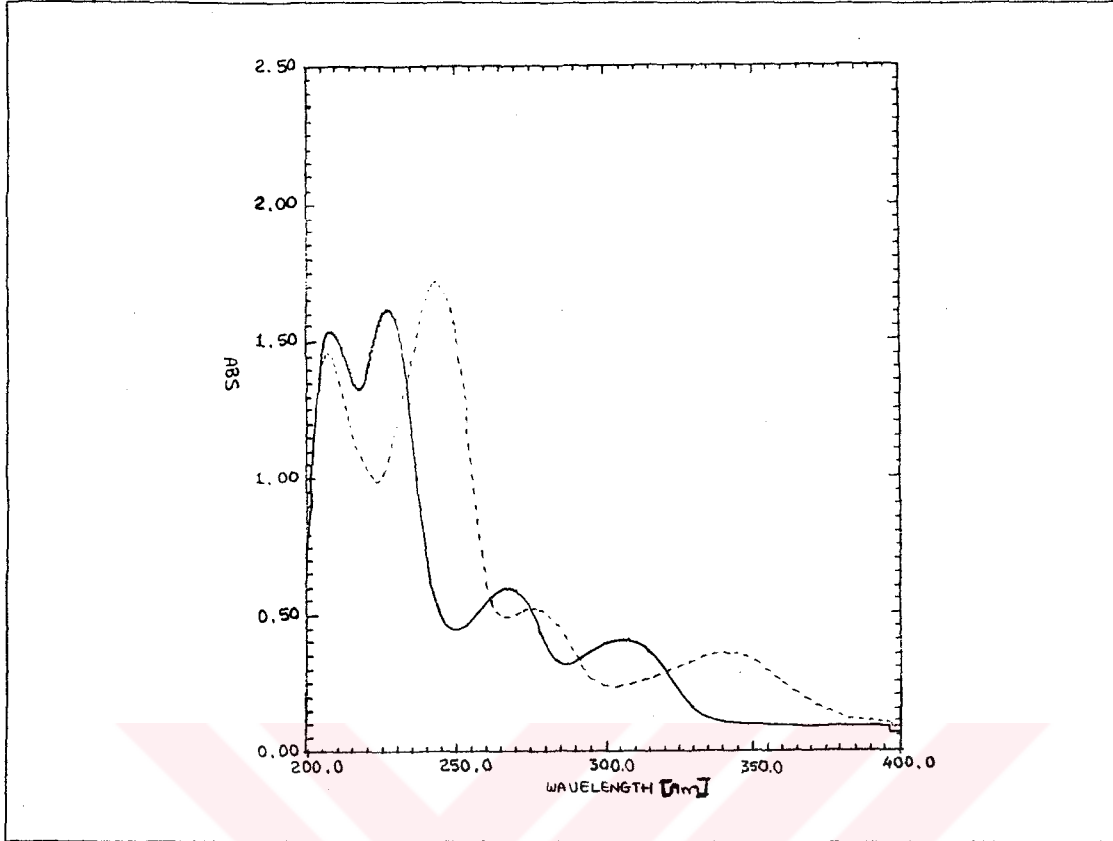
75 MHz, CD₃OD

δ 167.7 (C-7), 153.8 (C-10), 148.0 (C-9), 140.2 (C-3a), 137.2 (C-11a), 117.9 (C-7a), 117.7 (C-4), 117.0 (C-8), 112.1 (C-11), 79.0 (C-5a), 68.2 (C-11c), 57.1 (C-2), 56.7 (OCH₃), 43.5 (C-11b), 43.3 (NCH₃), 32.0 (C-5), 28.4 (C-3).

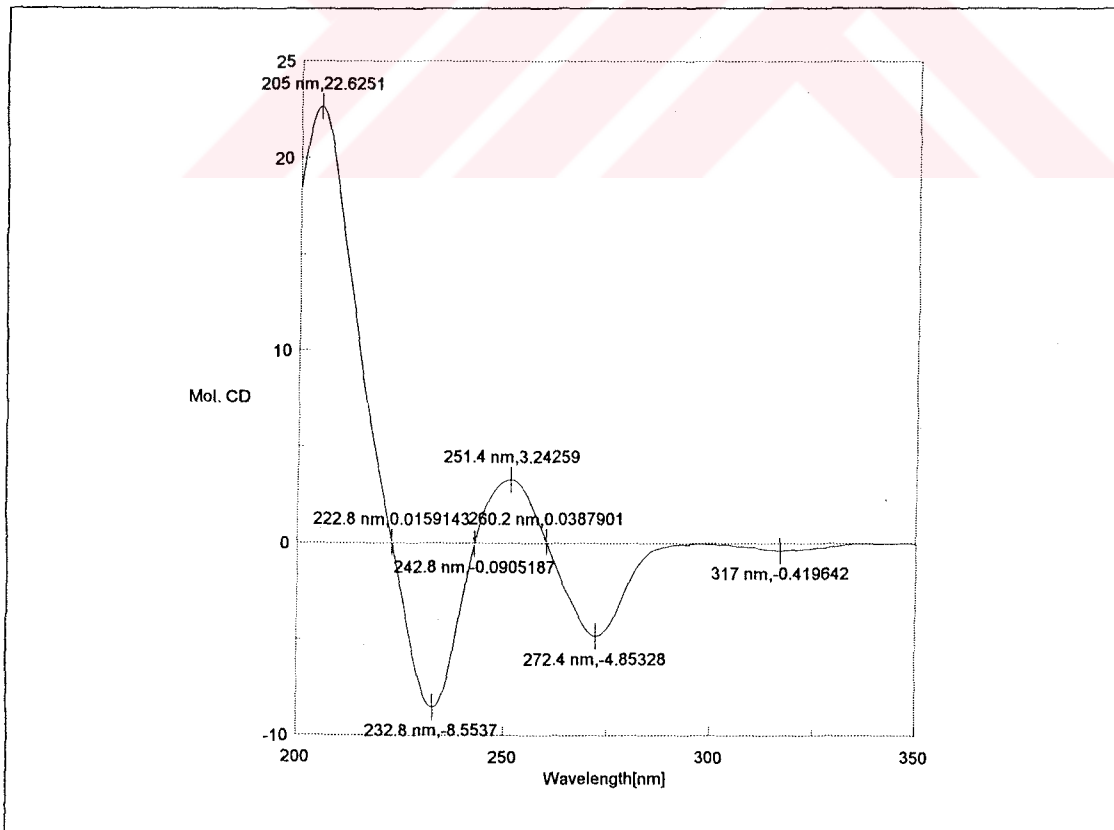
DEPT 90 (Spektrum No 110)

DEPT 135 (Spektrum No 111)

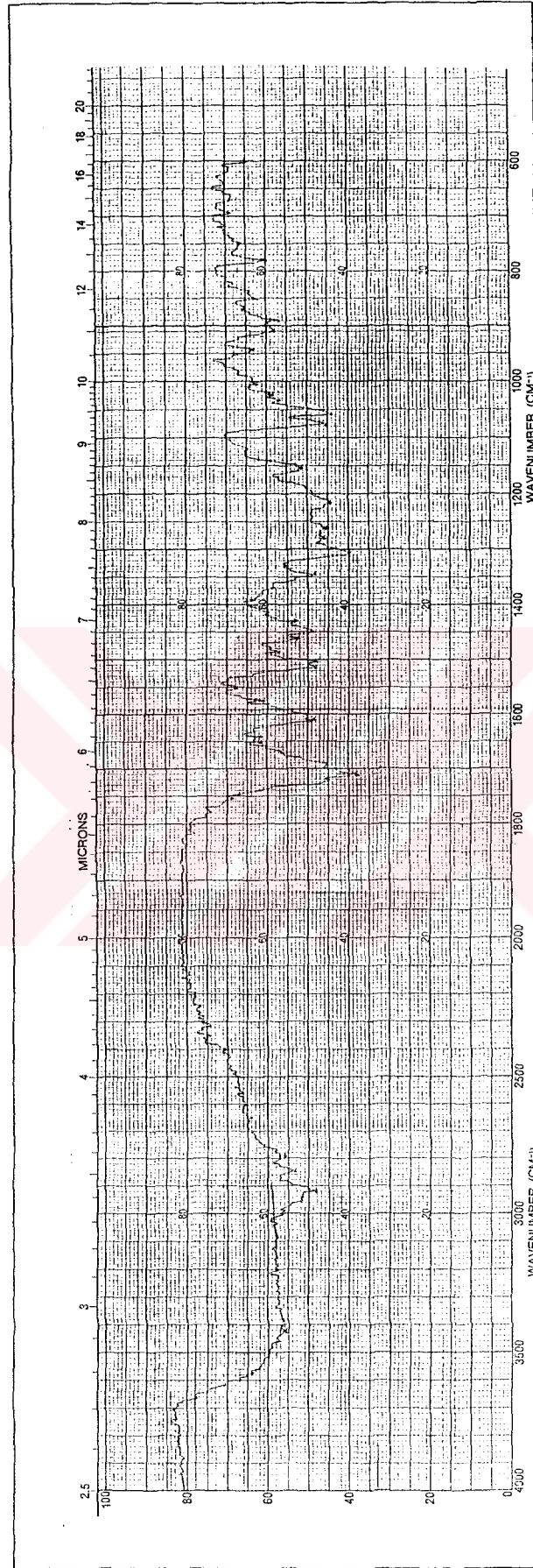
NOESY (Spektrum No 112)



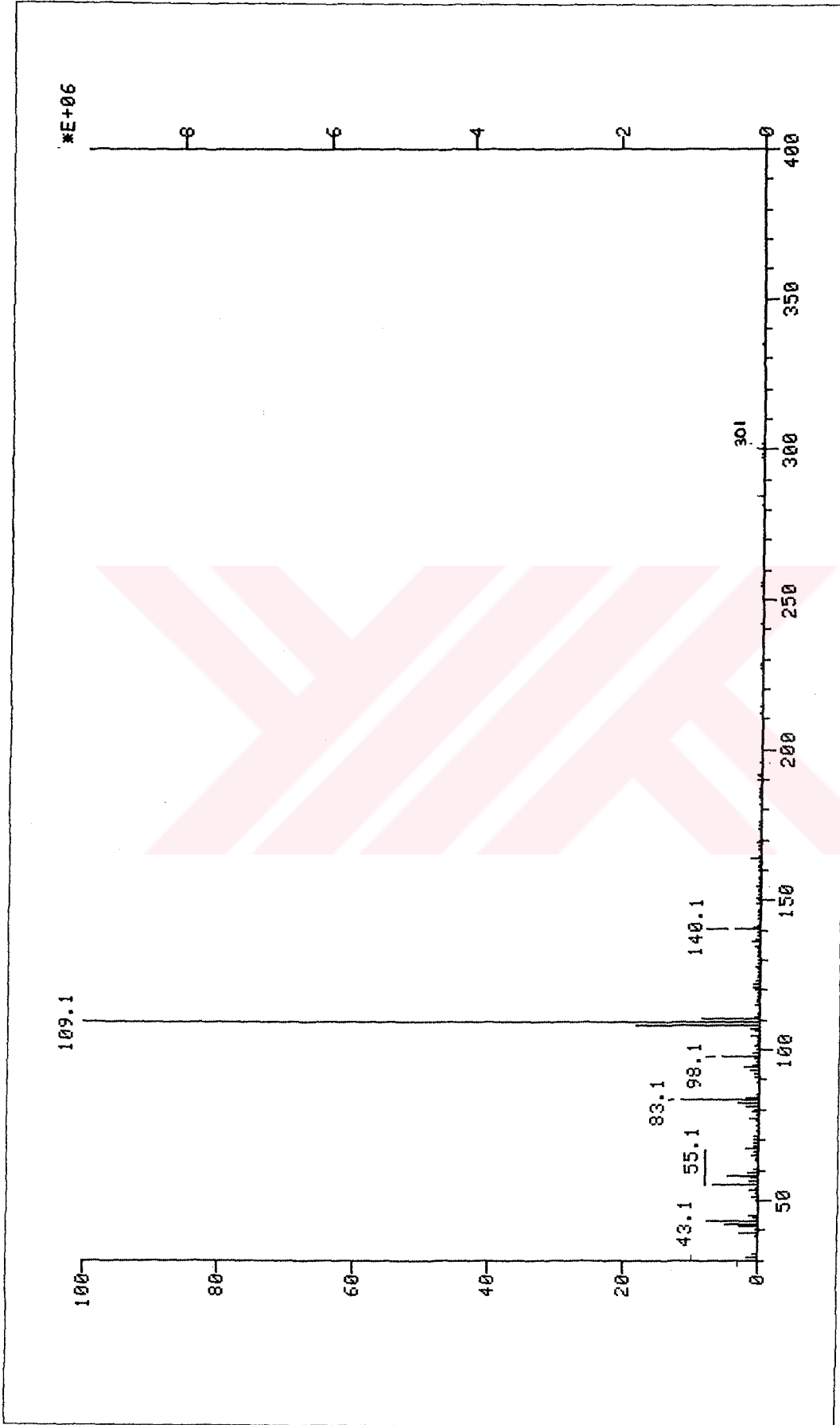
Spektrum No 103. GN-11 Bileşiginin UV Spektrumu



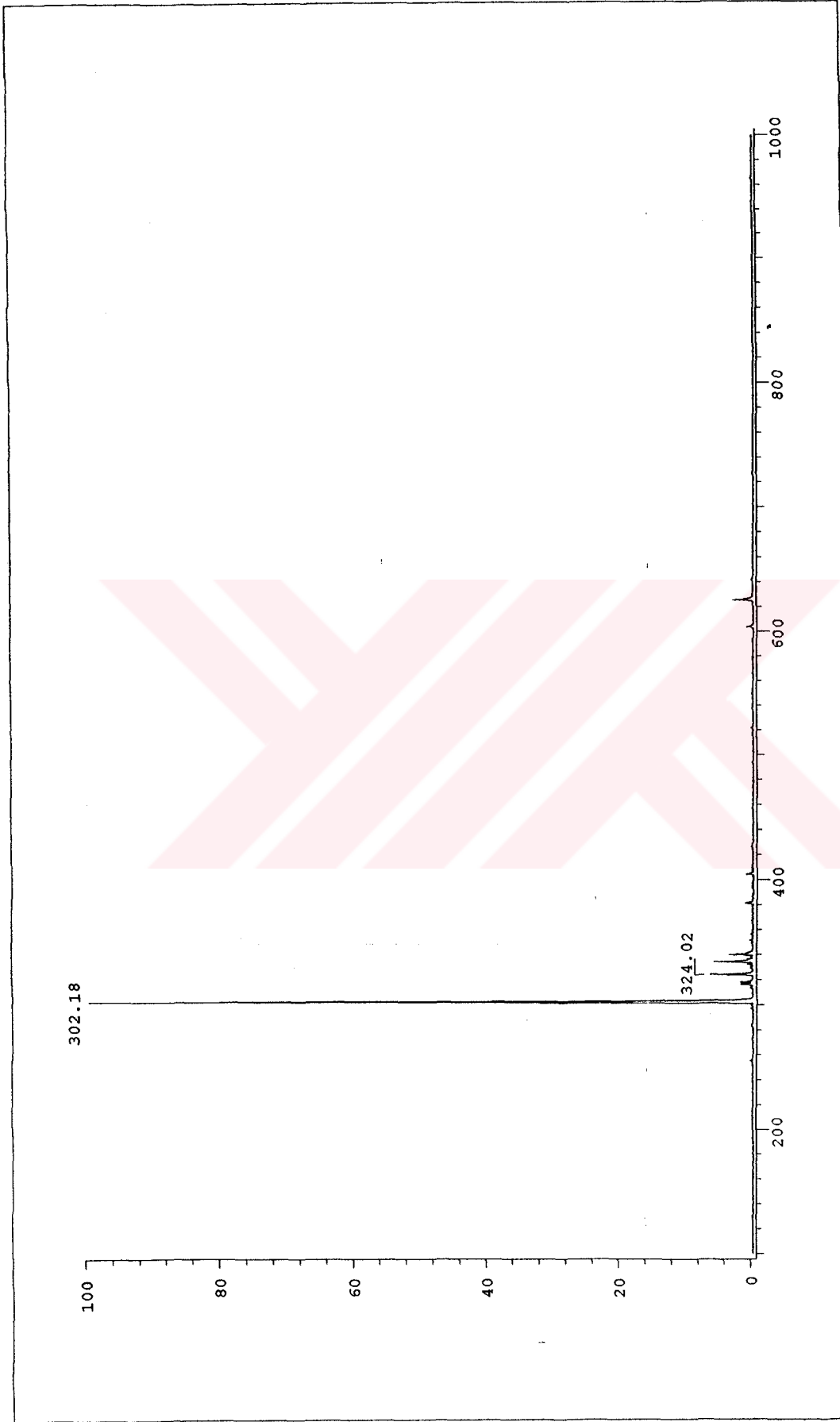
Spektrum No 104. GN-11 Bileşiginin CD Spektrumu



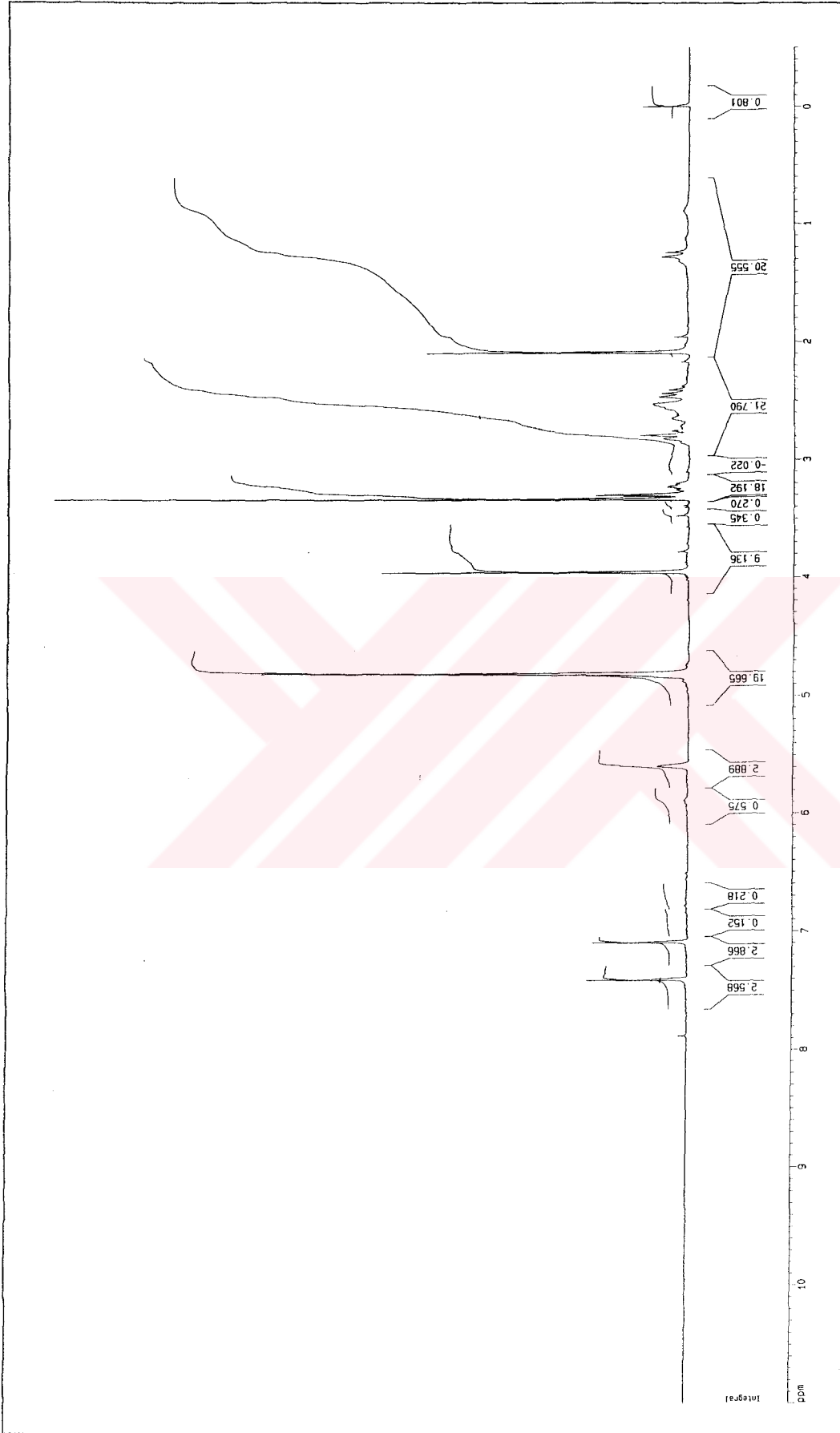
Spektrum No 105. GN-11 Bileşiminin IR Spektrumu

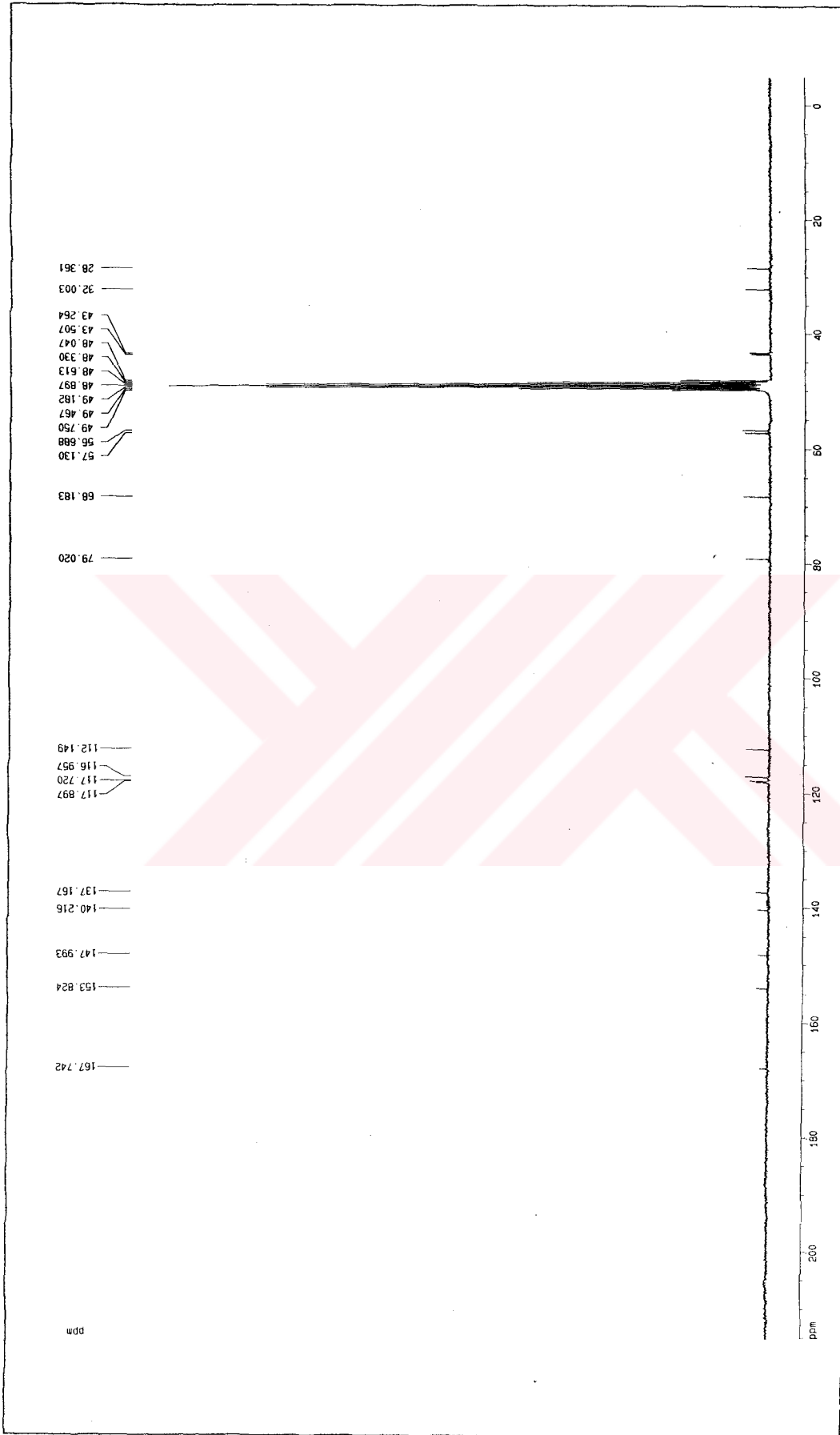


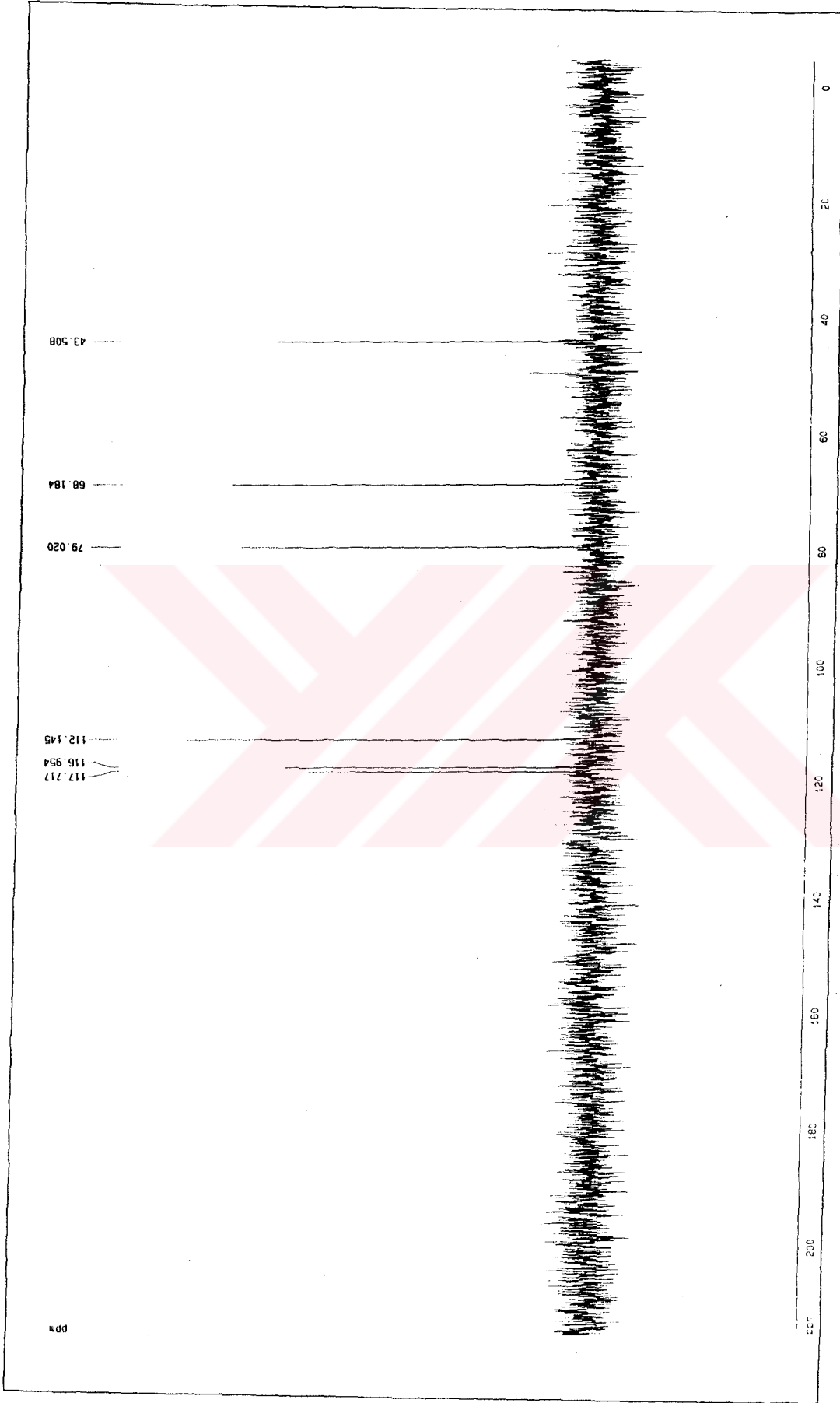
Spektrum No 106. GN-11 Bileşinin EI Kütle Spektrumu



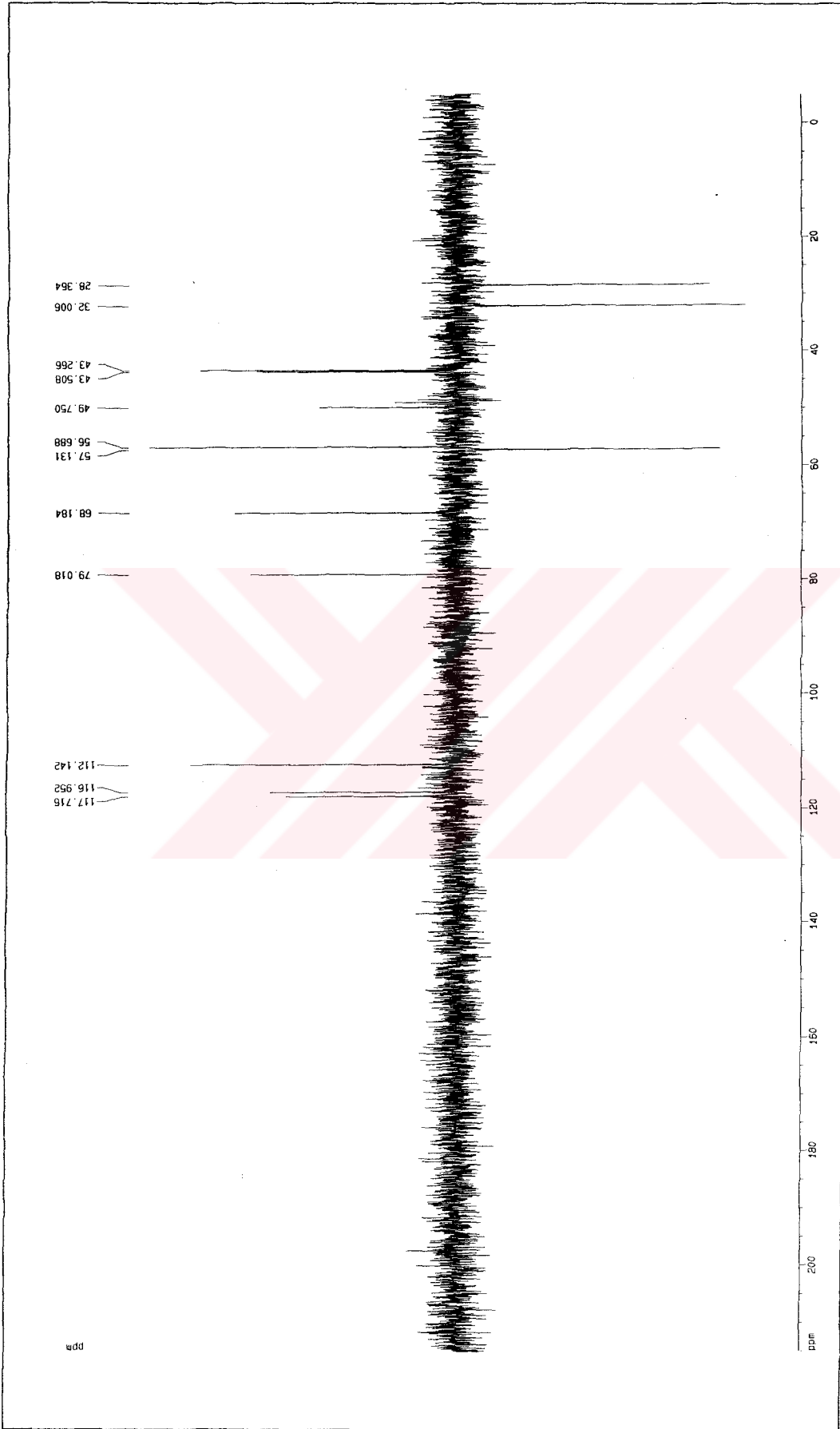
Spektrum No 107. GN-11 Bileşiminin ESI Kütle Spektrumu

Spektrum No 108. GN-11 Bileşinin ^1H NMR Spektrumu

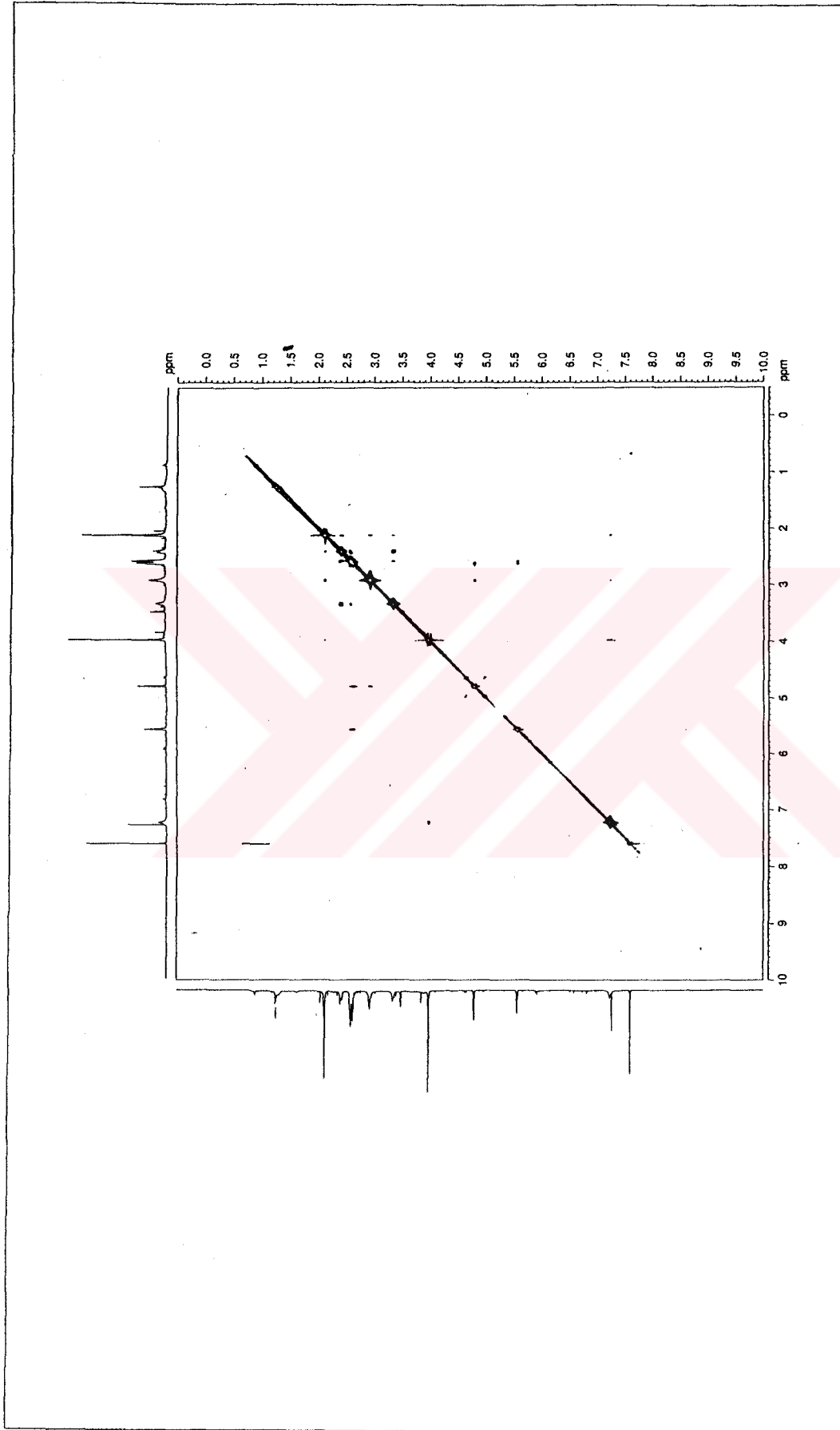
Spektrum No 109. GN-11 Bileşiminin ^{13}C NMR Spektrumu



Spektrum No 110. GN-11 Bileşiminin DEPT 90 Spektrumu



Spektrum No 111. GN-11 Bileşinin DEPT 135 Spektrumu



Spektrum No 112. GN-11 Bileşiminin NOESY Spektrumu

V. TARTIŞMA VE SONUÇ

Amaryllidaceae alkaloitleri ilginç fizyolojik ve farmakolojik etkilere sahip oldukları için bilim adamlarının ve bu doğrultuda fitokimyacıların da ilgisini çekmektedir. Ümit vaadeden farmakolojik aktivitelere sahip yeni alkaloitlerin veya ilginç yeni yapıların potansiyel kaynakları olarak Türkiye *Galanthus* türleri (**Amaryllidaceae**) üzerinde çalışma grubumuz tarafından yürütülen fitokimyasal araştırmalar kapsamında Kuzeybatı Türkiye için endemik olan *Galanthus plicatus* Bieb. subsp. *byzantinus* (Baker) D. A. Webb bitkisini ele aldık.

Bu amaçla Bolu ilimizin Abant Gölü Ormancı evleri mevki ve çevresinden (1350-1400 m) toplanmış olan bitkinin toprakaltı ve topraküstü kısımları birbirlerinden ayrılmaksızın incelenip, bitkinin içerdiği alkaloitler ekstraksiyon ve klasik kromatografik yöntemler kullanılarak saf halde izole edilmiştir. Elde edilen bileşiklerin yapıları modern spektral analiz yöntemleri kullanılarak aydınlatılmıştır.

Öncelikle bitkinin total alkaloit ekstresi hazırlanmış ve bu ekstre silikajel sütun kromatografisi kullanılarak fraksiyonlandırılmıştır. Buradan elde edilen fraksiyonların daha ileri ayırımı ve saflaştırılmasında preparatif sütun ve preparatif ince tabaka kromatografisi yöntemlerinden yararlanılmıştır. Gerektiğinde kristalizasyon işlemi de uygulanmıştır. Bu çalışmaların neticesinde Dragendorff

belirticine olumlu yanıt veren 11 adet bileşik saf halde izole edilmiştir. Bu bileşiklere GN-1'den başlamak üzere GN-11'e kadar kod isimleri verilmiştir.

İzolasyon çalışmalarımız sonucunda saf halde elde edilen söz konusu bu onbir bileşiğin yapıları $[\alpha]_D$, UV, CD, IR, kütle (EI, CI, ESI), 1D (^1H NMR, ^{13}C NMR, DEPT) ve gerektiğinde 2D NMR (^1H , ^1H DQF-COSY, TOCSY, HSQC, HMBC, NOESY) spektroskopik yöntemlerinden yararlanılarak aydınlatılmıştır.



A. GN-1 [TRISPHAERIDINE]

A kodlu ana fraksiyondan amorf halde elde edilen 9.9 mg ağırlığındaki ve Dragendorff belirtecine olumlu yanıt veren bileşiğe, GN-1 kodu verilmiştir.

Bileşiğin dötörometanol içinde ve 300 MHz NMR spektrometresinde alınan ^1H NMR spektrumunda izlenen toplam 9 protona ait sinyalin kimyasal kayma değerlerinin δ 8.95 ve 6.15 arasında olduğu görülmüştür. Alifatik alanda çözücü sinyali dışında hiç sinyal gözlenmediği için bileşiğin tamamen aromatik özellik taşıdığı düşünülmüştür. Aromatik sahada δ 6.15'te izlenen iki hidrojen değerindeki singlet, metilendioksi grubunun varlığına işaret etmektedir. δ 8.95, 7.94 ve 7.36'da izlenen birer proton değerindeki singletlerden ilkinin kimyasal kayma değerinin oldukça yüksek olması, azot gibi bir heteroatoma α -konumda olan imin protonu için uygundur. δ 7.94 ve 7.36'daki sinyallerin de, birbirlerine göre para konumda olan hidrojenlere ait oldukları düşünülebilir. Bunun dışında, aromatik sahada δ 8.43, 7.97, 7.67 ve 7.61'de birer proton değerinde 4 sinyal izlenmektedir. δ 8.43 ve 7.97'deki sinyallerin her ikisi de etkileşme katsayıları 8.1 Hz ve 1.6 Hz olan dublet-dublet şeklinde bölünmüştür. δ 7.67 ve 7.61'deki sinyallerin ikisi de etkileşme katsayıları 7.8 Hz, 7.0 Hz ve 1.5 Hz olan dublet-dublet-dublet şeklinde izlenmektedir. Bu J değerleri ve bölünmeler, söz konusu 4 protonun 1,2-disüstitüe aromatik halkanın protonları olduklarına işaret etmektedir.

Bilinen **Amaryllidaceae** alkaloitlerinin genel yapıları gözönüne alındığında, ^1H NMR'dan sağlanan bu bilgiler, GN-1 kodlu bileşiğin phenanthridine grubundan olabileceğini düşündürmektedir.

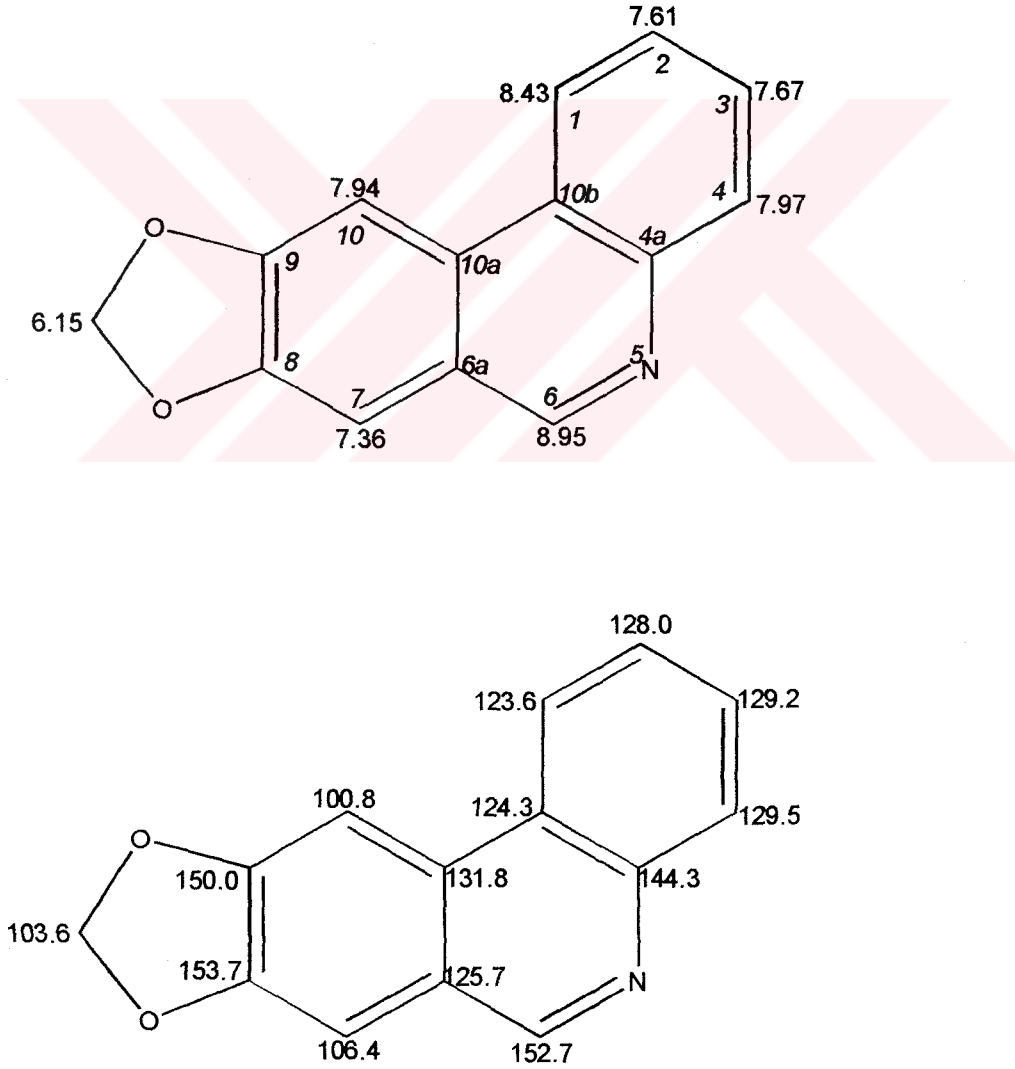
Bileşğin ^{13}C NMR (75 MHz) spektrumunun değerlendirilmesi sonucunda 14 adet karbonun varlığı görülmüştür. DEPT analizi ise bu karbonlardan 6 tanesinin katerner, 7 tanesinin metin ve birinin ise metilen karbonu olduğunu ortaya koymuştur. Bunların içinde en ilgi çekici olan sinyal, δ 152.7'de rezonans yapan metin karbonudur. Bu karbonun oldukça aşağı alanda bulunan kimyasal kayma değeri, phenanthridine çekirdeğinde azot atomuna komşu olan C-6 imin karbonu için uygundur. δ 103.6'da izlenen metilen karbonuna ait sinyal, molekülde metilendioksi grubunun varlığını desteklemektedir. δ 153.7 ve 150.0'da rezonans yapan karbonların kimyasal kayma değerleri, metilendioksi grubuna α -konumda olan katerner C-8 ve C-9 için uygun bulgulardır. Söz konusu iki karbona göre kimyasal kayma değeri yukarı alanda olan δ 144.3 sinyali, azot atomuna α -konumda olan C-4a katerner karbonu için uygundur. δ 106.4 ve 100.8'de görülen sinyaller metilendioksi sübstitüentinin bulunduğu aromatik halkada yer alan ve birbirlerine göre para konumda bulunan aromatik karbonlara aittir.

Molekülde metilendioksi grubunun olduğu bilindiğinden, en az iki oksijenin olması gerekir. Dolayısıyla 1D NMR deneylerinden sağlanan bu bilgilerle, molekülün kapalı formülünün $\text{C}_{14}\text{H}_9\text{NO}_2$ olabileceği ortaya konulmuştur. Bu aşamada ele alınan CI kütle spektrumunda m/z 224'te görülen $[\text{M}+\text{H}^+]$ piki de bu kimyasal formülü doğrulamaktadır.

Yapılan literatür araştırmaları, GN-1 kodlu bileşğin trisphaeridine olabileceğini ortaya koymuştur. Bileşğin 1D NMR spektrumları yanında IR, UV spektrumlarından elde edilen bulguların da trisphaeridine için literatürde verilen değerlerle uyum içerisinde olduğu görülmüştür. Bileşikteki hidrojen ve karbon

kimyasal kayma değerleri, literatürden yararlanarak yerleştirilmiştir (5, 12, 43, 133, 137, 154, 156).

Yukarıdaki bilgilerin ışığında, GN-1 kodlu bileşiğin bir *Galanthus* türü de dahil olmak üzere (154) **Amaryllidaceae** familyasının çeşitli genuserına ait muhtelif türlerde daha önce varlığı saptanmış (67) ve aşağıda açık kimyasal formülünü gösterdiğimiz optikçe inaktif phenanthridine alkaloidi olan trisphaeridine olduğu kesinlik kazanmıştır.



B. GN-2 ve GN-3 [N-FORMYLISMINE]

C kodlu ana fraksiyondan amorf halde elde edilen 19.3 mg ağırlığındaki ve Dragendorff belirtecine olumlu yanıt veren bileşiğe GN-3 kodu verilmiştir.

Bileşiğin 600 MHz NMR spektrometresinde ve dötörökloroform içinde alınan ^1H NMR spektrumunda yaklaşık 3:1 oranında bulunan, biri majör diğeri minör iki izomere ait sinyaller izlenmektedir. Majör izomere ait, aromatik sahada 2 singlet olarak izlenen aromatik hidrojenlere (δ 7.03 ve 6.55) ve birer hidrojen değerinde 2 singlet olarak görülen bir metilendioksi grubuna (δ 5.99) ait sinyaller mevcuttur. Bunun dışında, aromatik sahada δ 7.43, 7.37, 7.31 ve 7.21'de birer proton değerinde 4 sinyal izlenmektedir. δ 7.43'teki protonun etkileşme katsayıları 7.6 Hz ve 1.6 Hz, δ 7.37'deki protonun ise 7.5 ve 1.3 Hz olup, her iki proton da triplet-dublet şeklinde bölünmüştür. δ 7.31'deki protonun etkileşme katsayıları 7.5 ve 1.5 Hz, δ 7.21'deki protonun ise 7.8 ve 1.0 Hz olup, her ikisi de dublet-dublet şeklinde izlenmektedirler. Bu dört protonun J değerleri ve bölünmeleri molekülde bir ABCD sisteminin dolayısıyla 1,2-disüstitüe aromatik bir halkanın varlığına işaret etmektedir. Aromatik sahada ilginç olan sinyal ise δ 8.13'te izlenen singlettir. Bu singletin kimyasal kayma değerinin oldukça aşağı alanda olması, bu protonun muhtemelen bir çifte bağ ve heteroatomdan etkilendiğini düşündürmektedir. Alifatik alanda δ 2.92'de görülen 3 hidrojen değerindeki keskin singlet, molekülde oldukça aşağı alana kaymış bir N-metil grubunun varlığına işaret etmektedir. Buna ilaveten, yine alifatik alanda kimyasal kayma değerleri oldukça aşağı alana kaymış δ 4.33 ve 4.30'da etkileşme katsayıları 12.4 Hz olan iki dublet izlenmektedir. Bu sinyallerin gerek kimyasal kayma ve gerekse J değerleri, oksijen gibi bir heteroatoma α -konumda olan izole

metilen protonlarına ait olduklarını düşündürmektedir. Özet olarak, bileşiğin ^1H NMR spektrumunda toplam 14 hidrojene ait sinyal izlenmektedir.

Bileşiğin ^{13}C NMR (150 MHz) spektrumunda toplam 16 karbona ait sinyal mevcuttur. DEPT analizi sonucunda bu sinyallerden 6 tanesinin katerner, 7 tanesinin metin, 2 tanesinin metilen ve birinin ise metil karbonlarına ait olduğu görülmüştür. Bu sinyallerden en ilgi çekici olanı δ 163.2'de rezonans yapan karbondur. Bu karbonun kimyasal kayma değeri molekülde bir karbonil grubunun varlığına işaret etmektedir. Ayrıca IR spektrumunda 1720 cm^{-1} 'de şiddetli bir absorpsiyon görülmesi de bunu doğrulamaktadır. Bilgi sağlayıcı bir diğer sinyal ise δ 62.5'te rezonans yapan karbondur. Bu karbonun kimyasal kayma değeri oksijen gibi bir heteroatoma α -konumda olan benzilik bir metilen karbonu için uygundur.

Molekülde bir metilendioksi ve bir karbonil grubu olduğu bilindiğinden en az 3 oksijenin olması gerekir. Karbon sayısı 16, hidrojen sayısı ise 14 bulunmuştur. Tek azotlu bileşiklerde kural olarak tek sayıda hidrojen bulunması gerektiğinden, bileşiğin büyük bir olasılıkla bir hidroksil grubuna ait değişebilen bir hidrojen taşıdığı düşünülmüştür. IR spektrumunda 3350 cm^{-1} 'de görülen absorpsiyon da hidroksil grubunun varlığını desteklemektedir. Bu durumda, molekülün kapalı formülü için $\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{NO}_4$ önerilebilir. ESI kütle spektrumunda m/z 286'da görülen $[\text{M}+\text{H}^+]$ piki, hesaplanan molekül ağırlığı olan 285 ile uyum içindedir.

Bilinen **Amaryllidaceae** alkaloitlerinin genel yapıları gözönüne alındığında, 1D NMR analizlerinden elde edilen bu bulgular, bileşiğin phenanthridine alt grubuna ait olabileceğini düşündürmektedir. Ancak bununla birlikte, bileşiğin kesin olarak yapısını belirlemek amacıyla ayrıntılı 2D NMR analizlerinin yapılmasına gerek

görülmüştür. Bu amaçla bileşiğin 600 MHz NMR spektrometresinde ^1H , ^1H DQF-COSY, HSQC, HMBC ve NOESY analizleri gerçekleştirilmiştir.

^1H , ^1H DQF-COSY, HSQC, HMBC ve NOESY deneylerinden elde edilen bulgulardan yararlanılarak bileşiğin ana iskeletinin oluşturulmasına metilendioksi süstituentinin bulunduğu halkadan başlanmıştır. 2 ve 3 bağ aracılığıyla olan ($^2J_{\text{CH}}$ ve $^3J_{\text{CH}}$) karbon-hidrojen korelasyonlarının saptandığı HMBC deneyinden yararlanarak, metilendioksi protonlarının 3 bağ aracılığıyla δ 147.9 ve 147.1'de rezonans yapan karbonlarla yaptıkları korelasyonlar görülmüştür. Bu durumda, δ 147.9 (C-8) ve 147.1 (C-9)'deki karbonlar metilendioksi protonlarının aromatik halkaya bağlandığı yörede bulunan katerner karbonlar olmalıdırlar. δ 6.55'teki proton, 2 bağ aracılığıyla δ 147.1 (C-9) ve 3 bağ aracılığıyla 147.9 (C-8)'daki karbonlarla korelasyon yapmaktadır. δ 7.03'teki protonun ise δ 147.1 (C-9)'deki karbon ile $^3J_{\text{CH}}$, 147.9 (C-8)'daki karbonla $^2J_{\text{CH}}$ korelasyonları görülmektedir. Dolayısıyla metilendioksi grubuyla bu iki protonun aynı halkada yer aldıkları saptanmıştır. δ 7.03 (H-7)'teki proton en fazla bilgi verici korelasyonunu, 3 bağ aracılığıyla, halka dışında yer alan δ 62.5 (C-6)'te rezonans yapan karbonla yapmaktadır. HSQC deneyinde bu karbon üzerinde, hidroksil grubuna α -konumda bulunan ve ^1H , ^1H DQF-COSY deneyinde birbirleriyle etkileşen izole metilen grubu protonlarının (δ 4.33 ve 4.30) yer aldığı saptanmıştır. Bu durum, aromatik halkaya bağlı primer alkol grubunun varlığına işaret etmektedir. Burada belirtilmesi gereken bir husus ise bu hidrojenlere ait sinyallerin, beklenenin aksine bölünme göstermeleridir. Söz konusu protonların manyetik ekivalan olmadığını belirten bu bölünme, molekülde muhtemel bir konformasyonel kısıtlamanın varlığını düşündürmektedir. Bu protonlar (δ 4.33 ve 4.30) ve H-7 (δ 7.03) 3 bağ aracılığıyla δ

130.5 (C-10a)'teki karbonla korelasyon yapmaktadır. δ 4.33 ve 4.30 (H-6) ile δ 132.1 (C-6a) arasında $^2J_{CH}$ korelasyonları izlenmektedir. Ayrıca δ 6.55 (H-10)'teki proton δ 132.1 (C-6a)'deki karbonla 3 bağ aracılığıyla etkileşmektedir. H-10 (δ 6.55) en fazla bilgi verici korelasyonunu, 3 bağ aracılığıyla aromatik halka dışında yer alan δ 137.4 (C-10b)'teki katerner karbonla yapmaktadır. 1H NMR'da 1,2-disübstitüe benzen halkasında bulunduğu tespit edilmiş olan δ 7.31'deki proton ise bu karbonla (δ 137.4) 2 bağ aracılığıyla, 130.5 (C-10a)'teki karbonla ise 3 bağ aracılığıyla korelasyon yapmaktadır. Buna göre, δ 130.5 (C-10a) ve 132.1 (C-6a)'deki karbonlar, sırasıyla aromatik halkaya 1H NMR'da varlığı tespit edilmiş 1,2-disübstitüe benzen halkasının ve primer alkol grubunun bağlanma yöresinde bulunan katerner karbonlardır.

1H NMR'da varlıkları tespit edilmiş olan 1,2-disübstitüe benzen halkasına ait 4 hidrojenin kimyasal kayma değerleri (δ 7.43, 7.37, 7.31 ve 7.21), gerek 1H NMR'da gösterdikleri bölünmelerden ve gerekse HMBC ile NOESY deneylerinden faydalanarak yerleştirilmiştir. δ 7.31'de rezonans yapan dublet-dublet olarak izlenen proton HMBC deneyinde 3 bağ aracılığıyla C-10a (δ 130.5) ve C-4a (δ 140.5) ile etkileşmektedir. Bu protonun NOESY deneyinde H-10 (δ 6.55) ile etkileşmesi görölmektedir. δ 7.21'de dublet-dublet olarak izlenen proton ise HMBC deneyinde 3 bağ aracılığıyla C-10b (δ 137.4) ve 2 bağ aracılığıyla C-4a (δ 140.5) ile korelasyon yapmaktadır. Buna göre, δ 7.31 ve 7.21'deki protonların sırasıyla 1,2-disübstitüe benzen halkasındaki H-1 ve H-4 oldukları tespit edilmiştir. HMBC deneyinde δ 7.21 (H-4) protonunun 3 bağ aracılığıyla δ 127.7 (C-2)'deki karbonla korelasyonu mevcuttur. HSQC deneyinde bu karbon üzerinde triplet-dublet şeklinde bölünen δ

7.37'deki protonun olduğu tespit edilmiştir. δ 7.31 (H-1)'deki protonun ise δ 129.0 (C-3)'daki karbonla yaptığı $^3J_{CH}$ korelasyonu görülmektedir. Triplet-dublet olarak bölünen δ 7.43'teki protonun HSQC deneyinde bu karbon üzerinde olduğu saptanmıştır. Dolayısıyla δ 7.37 ve 7.43'teki protonların sırasıyla 1,2-disüstitüe benzen halkasındaki H-2 ve H-3 oldukları ispatlanmıştır.

N-metil protonlarının (δ 2.92) ise 3 bağ aracılığıyla δ 140.5'teki ve 163.2'deki karbonlarla olan korelasyonları görülmektedir. Ayrıca NOESY deneyinde N-metil protonlarıyla H-4 (δ 7.21) karşılıklı olarak etkileşmektedir. HSQC deneyinde δ 163.2'deki karbon üzerinde bulunduğu tespit edilen δ 8.13'teki proton ise HMBC deneyinde 3 bağ aracılığıyla δ 33.2 (N-metil) ve 140.5 (C-4a)'teki karbonlarla korelasyon yapmaktadır. Buna göre, molekülde 1,2-disüstitüe benzen halkasına bağlı N-metil-N-formil amino grubu da bulunmaktadır.

Bu aşamaya kadar spektral analizlerden elde edilen bilgiler, bileşiğin birçok **Amaryllidaceae** bitkisinde minör alkaloid olarak saptanmış ismine adlı alkaloidin (64, 78, 113, 133, 156) N-formil türevi olduğunu ortaya koymuştur.

GN-3 kodlu bileşiğin 1H NMR spektrumunda minör izomere ait toplam 14 hidrojenin sinyali izlenmektedir. Aromatik sahada 2 singlet olarak görülen aromatik protonlara (δ 7.03 ve 6.55), bir metilendioksi grubuna (δ 5.97) ve 4 aromatik protona ait (δ 7.44, 7.37 ve 7.24'te 2 tane olmak üzere) sinyaller izlenmektedir. δ 7.44 ve 7.37'deki protonlar triplet-dublet, 7.24'teki iki proton ise dublet-dublet olarak bölünürler. Bu dört protonun J değerleri ve bölünmeleri, molekülde 1,2-disüstitüe benzen halkasının varlığına işaret etmektedir. Ayrıca bu sahada δ 7.94'te görülen sinyalin oldukça aşağı alanda olan kimyasal kayma değeri, molekülde majör

izomerde olduğu gibi bir formil grubunun olduğunu düşündürmektedir. Alifatik alanda etkileşimleri 12.2 Hz olan 2 dubletin (δ 4.45 ve 4.23) kimyasal kayma değerlerinin oldukça aşağı alanda olması minör izomerde de primer alkol grubunun mevcut olduğunu ortaya koymaktadır. Buna göre, molekülde hidroksil grubu olması nedeniyle 15 proton olmalıdır. δ 3.18'de görülen 3 proton değerindeki sinyal N-metil grubunun varlığını ve kimyasal kayma değerinin oldukça aşağı alanda olması formil grubuyla süstitüsyonunu açıklamaktadır. Özet olarak, ^1H NMR spektrumunda majör ve minör izomere ait sinyallerin aynı özellikte ve kimyasal kayma değerlerinin çok az farklı olduğu gözlenmiştir.

^{13}C NMR spektrumunda da majör ve minör izomerler birbirlerine çok benzer sinyaller vermektedirler. Majör izomerde olduğu gibi toplam 16 karbona ait sinyal izlenmektedir. Minör izomerde de karbonil grubuna (δ 162.5) ve primer alkol grubuna (δ 62.3) ait sinyaller dikkat çekmektedir.

^1H , ^1H DQF-COSY, HSQC, HMBC ve NOESY deneylerinden elde edilen bulgulardan faydalanılarak, majör izomerde olduğu gibi ana iskeletin oluşturulmasına metilendioksi grubunun bulunduğu halkadan başlanmıştır. HMBC deneyinden yararlanarak metilendioksi protonlarının (δ 5.97) 3 bağ aracılığıyla δ 147.6 ve 146.4'te rezonans yapan karbonlarla yaptıkları korelasyonlar saptanmıştır. Buna göre, δ 147.6 (C-8) ve 146.4 (C-9)'teki karbonlar metilendioksi grubunun aromatik halkaya bağlandığı yörede bulunan katerner karbonlar olmalıdırlar. δ 6.55'teki proton, 2 bağ aracılığıyla 146.4 (C-9) ve 3 bağ aracılığıyla 147.6 (C-8)'daki karbonlarla korelasyon yapmaktadır. δ 7.03'teki protonun δ 147.6 (C-8)'daki karbon ile $^2J_{\text{CH}}$, 146.4 (C-9)'teki karbonla $^3J_{\text{CH}}$ korelasyonları mevcuttur. Bu

durumda metilendioksi grubu ve söz konusu iki proton (δ 7.03 ve 6.55) aynı halkada yer almaktadırlar. δ 7.03 (H-7)'te rezonans yapan proton, en fazla bilgi verici korelasyonunu 3 bağ aracılığıyla, halka dışında bulunan δ 62.3 (C-6)'teki karbonla yapar. ^1H , ^1H DQF-COSY deneyinde etkileşen primer alkol grubu protonlarının (δ 4.45 ve 4.23) HSQC deneyinde bu karbon üzerinde olduğu belirlenmiştir. Bu protonlar (δ 4.45 ve 4.23) ve H-7 (δ 7.03) 3 bağ aracılığıyla δ 130.8 (C-10a)'de rezonans yapan karbonla korelasyon yapmaktadır. H-7 (δ 7.03) ve δ 132.4 (C-6a) arasındaki $^2J_{\text{CH}}$ korelasyonları izlenmektedir. Ayrıca δ 6.55'teki proton da δ 132.4 (C-6a)'te rezonans yapan karbonla 3 bağ aracılığıyla etkileşmektedir. δ 6.55 (H-10)'teki proton en fazla bilgi verici korelasyonunu 3 bağ aracılığıyla halka dışında yer alan δ 139.0 (C-10b)'daki katerner karbonla yapmaktadır. ^1H NMR'da 1,2-disübstitüe benzen halkasında varlığı tespit edilmiş olan, δ 7.24'teki protonun 3 bağ aracılığıyla δ 130.8 (C-10a)'deki karbon ile korelasyonu mevcuttur. Buna göre, δ 130.8 (C-10a) ve 132.4 (C-6a)'teki karbonlar sırasıyla aromatik halkaya 1,2-disübstitüe benzen halkasının ve primer alkol grubunun bağlanma yöresinde bulunan katerner karbonlardır.

^1H NMR'da varlıkları saptanmış 1,2-disübstitüe benzen halkasının 4 hidrojeninin kimyasal kayma değerleri (δ 7.44, 7.37 ve 7.24) gerek ^1H NMR'da gösterdikleri bölünmelerden ve gerekse HMBC deneyinden sağlanan bilgilerden yararlanarak yerleştirilmiştir. δ 7.24'te rezonans yapan ve ^1H NMR'da dublet-dublet olarak bölündüğu saptanmış olan iki proton HMBC deneyinde 2 veya 3 bağ aracılığıyla C-4a (δ 138.7) ve C-10b (δ 139.0) ile etkileşmektedirler. Buna göre, söz

konusu iki protonun (δ 7.24) 1,2-disübstitüe benzen halkasındaki H-1 ve H-4 oldukları tespit edilmiştir.

^1H NMR spektrumunda δ 7.37'deki proton 2 bağ aracılığıyla δ 129.0 (C-3) ve 132.4 (C-1)'te rezonans yapan karbonlarla, 3 bağ aracılığıyla ise δ 128.0 (C-4) ve 139.0 (C-10b)'daki karbonlarla korelasyon yapmaktadır. HSQC deneyinde δ 129.0'da rezonans yapan karbon üzerinde bulunduğu tespit edilen δ 7.44'teki protonun ise C-1 (δ 132.4) ve C-4a (δ 138.7) ile 3 bağ aracılığıyla yapmış olduğu korelasyonlar görülmektedir. Buna göre, δ 7.37 ve 7.44'teki protonların sırasıyla 1,2-disübstitüe benzen halkasındaki H-2 ve H-3 oldukları belirlenmiştir.

N-metil protonlarının (δ 2.92) ise δ 138.7 ve 162.5'teki karbonlarla 3 bağ aracılığıyla olan korelasyonları izlenmektedir. Ayrıca NOESY deneyinde N-metil protonlarıyla H-4 (δ 7.24), karşılıklı olarak etkileşmektedir. HSQC deneyinde δ 162.5'teki karbon üzerinde bulunduğu tespit edilen ve δ 7.94'te rezonans yapan protonun ise δ 38.3 (N-metil) ve 138.7 (C-4a)'deki katerner karbonla $^3J_{\text{CH}}$ korelasyonu mevcuttur. Dolayısıyla molekülde majör izomerde olduğu gibi 1,2-disübstitüe benzen halkasına bağlı N-metil-N-formil amino grubunun da bulunduğu belirlenmiştir.

Sonuç olarak, 2D NMR analizlerinden yararlanarak minör izomerin yapısı ortaya çıkarılmış ve majör izomerle aynı yapısal özelliklere sahip olduğu görülmüştür.

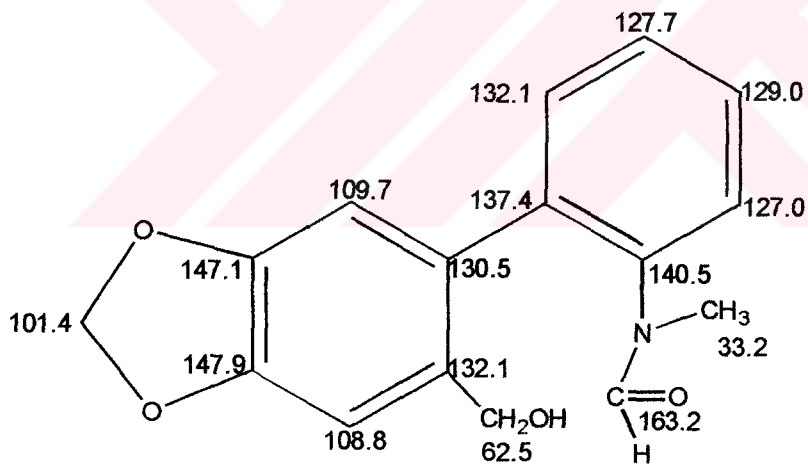
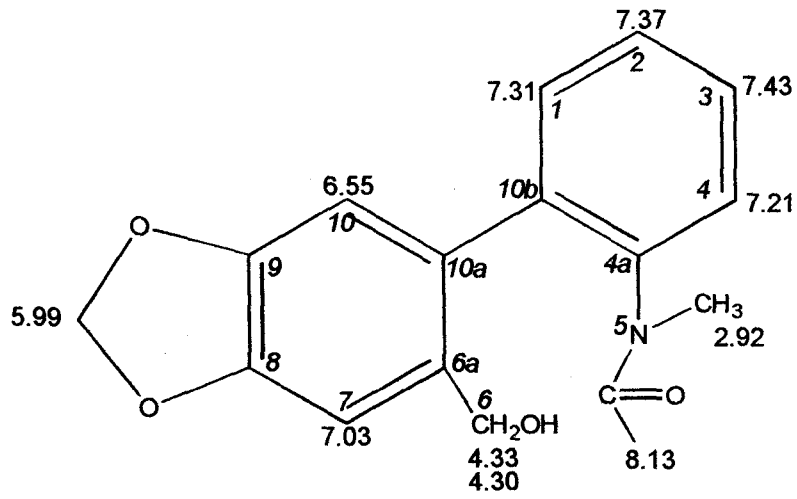
NOESY deneyinde majör izomerde δ 8.13 (CHO)'te görülen proton H-6 (δ 4.33 ve 4.30) ile belirgin olarak etkileşmektedir. N-metil (δ 2.92) protonlarının ise

H-10 (δ 6.55) ile belirgin korelasyonu mevcuttur. Minör izomerde ise δ 7.94 (CHO)'teki proton, primer alkol grubu protonlarıyla (δ 4.45 ve 4.23) ve H-10 (δ 6.55) ile etkileşmez. Bu durumda, majör ve minör izomerleri ayıran farkın N-metil ve formil gruplarının konformasyonundan kaynaklandığı düşünülmüştür.

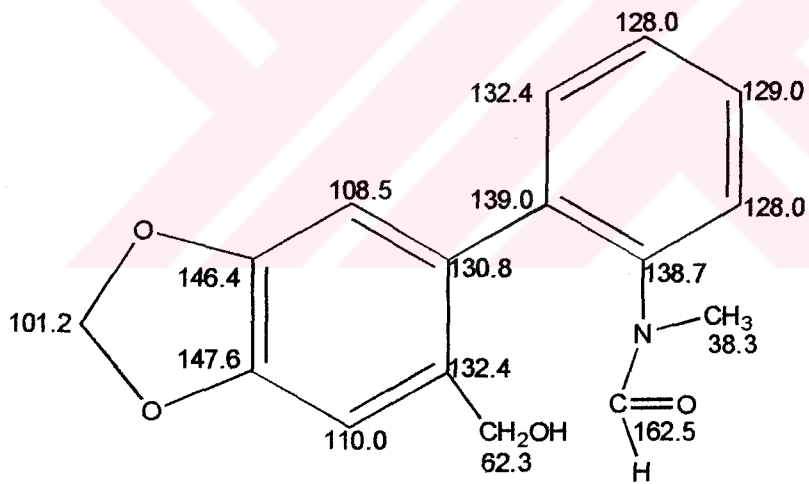
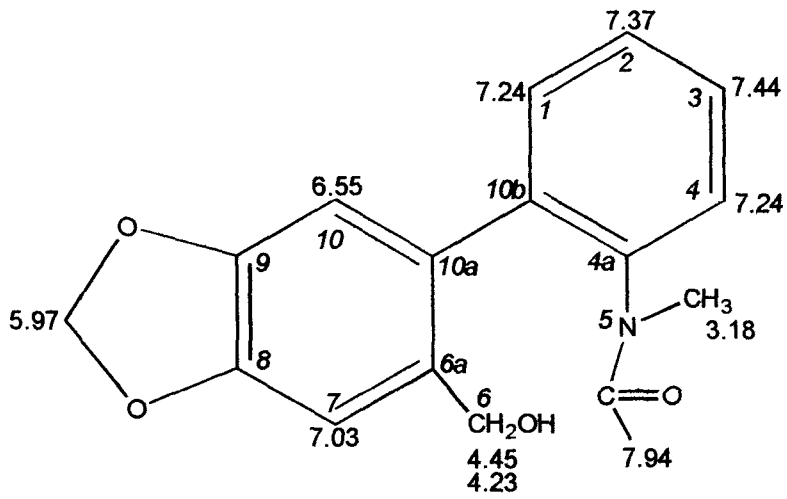
GN-3 kodlu bileşikte kiral merkez bulunmamasına rağmen bifenil sisteminde sigma bağları etrafında dönüş sterik olarak kısıtlandığı için molekülün model üzerinde kiral olduğu düşünülmüştür.

Gerek majör ve gerekse minör izomerlerin N-formil grubu hariç karbon ve hidrojenlerinin kimyasal kayma değerleri ismine için literatürde verilen değerlerle uyum içerisindedir (35, 78, 113, 133, 156). Ayrıca GN-3 kodlu bileşiğin UV ve karbonil grubu hariç IR spektrumlarından elde edilen bulguların da ismine için literatürde verilen değerlere uygun olduğu belirlenmiştir (78, 133).

Yapılan literatür araştırmaları sonucunda doğa için yeni bir madde olduğu tespit edilen ve 205 ile 206. sayfalarda açık kimyasal formülü görülen bileşiğe N-formylismine adı verilmiştir.



GN-3 Majör İzomer



GN-3 Minör İzomer

C kodlu ana sütun fraksiyonundan amorf halde elde edilen 21.5 mg ağırlığındaki ve Dragendorff belirtecine olumlu yanıt veren bileşiğe GN-2 kodu verilmiştir. Bu bileşiğin, 300 MHz NMR spektrometresinde ve dötörökloroform içinde alınan ^1H NMR spektrumunun, GN-3 kodlu bileşiğinki ile aynı olduğu gözlenmiştir. GN-2 kodlu bileşiğin ^1H NMR spektrumunda aromatik sahada majör izomere ait iki aromatik hidrojene (δ 6.95 ve 6.47), birer hidrojen değerinde 2 singlet olarak izlenen bir metilendioksi grubuna (δ 5.92), δ 7.40-7.12 civarında 1,2-disüstitüe benzen halkasının 4 protonuna ve δ 8.06'da singlet olarak izlenen formil grubu protonuna ait sinyaller mevcuttur. Alifatik alanda ise etkileşme katsayıları 12.4 Hz olan, 2 dublet olarak görülen primer alkol grubu protonları (δ 4.26 ve 4.21) ile δ 2.85'te 3 hidrojen değerinde singlet olarak görülen N-metil grubuna ait sinyaller izlenmektedir. Ayrıca bileşiğin IR spektrumunda 3440 cm^{-1} 'de görülen absorpsiyon da molekülde bir hidroksil grubunun varlığına işaret etmektedir.

Aromatik sahada, majör izomerde olduğu gibi minör izomere ait iki aromatik protona (δ 6.96 ve 6.48), bir metilendioksi grubuna (δ 5.91 ve 5.90), δ 7.40-7.12 civarında 1,2-disüstitüe benzen halkasının 4 protonuna ve 7.87'de singlet olarak görülen formil grubunun hidrojenine ait sinyaller mevcuttur. Alifatik alanda etkileşme katsayıları 12.2 Hz olan iki dublet (δ 4.37 ve 4.16), primer alkol grubuna ait olan sinyallerdir. δ 3.10'da ise, 3 proton değerinde N-metil grubuna ait singlet izlenmektedir.

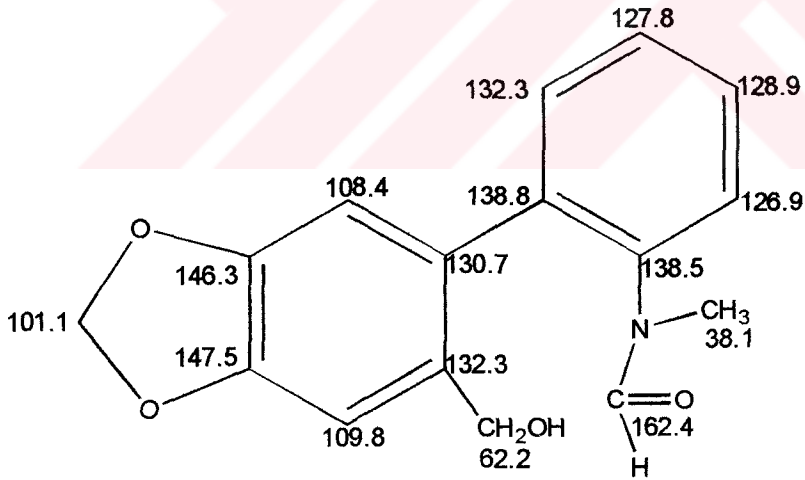
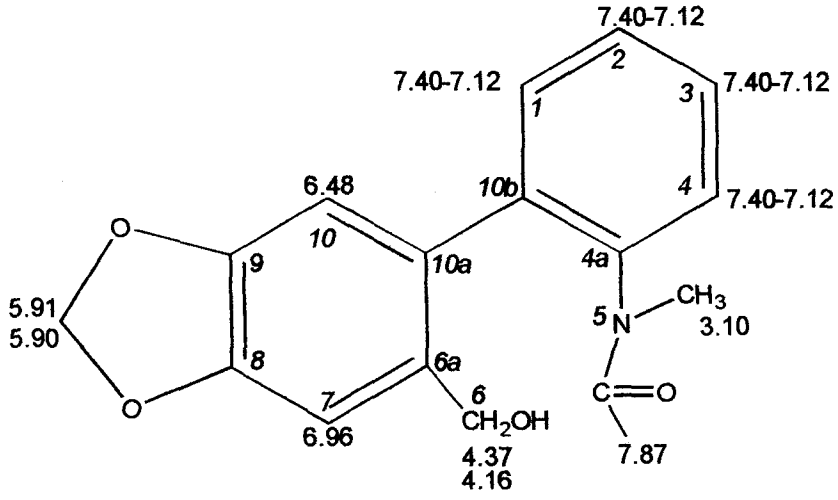
Bileşiğin ^{13}C NMR (75 MHz) spektrumunun da GN-3 kodlu bileşiğinki ile aynı olduğu tespit edilmiştir. GN-3 kodlu bileşikte olduğu gibi majör izomere ait 16 karbonun sinyali izlenmektedir. DEPT analizi, bu sinyallerden 6 tanesinin katerner, 7

tanisinin metin, 2 tanesinin metilen ve birinin ise metil karbonu olduğunu göstermiştir. δ 163.1'de rezonans yapan karbonun kimyasal kayma değeri, molekülde karbonil grubunun varlığını ortaya koymuştur. IR spektrumunda da 1670 cm^{-1} 'de görülen şiddetli absorpsiyon da bunu doğrulamaktadır. δ 62.4'te ve 33.1'de izlenen sinyaller, sırasıyla primer alkol grubu ve N-metil gruplarının varlığına işaret etmektedir.

GN-2 kodlu bileşiğin ^{13}C NMR spektrumunda majör izomerde olduğu gibi minör izomere ait toplam 16 karbonun sinyali izlenmektedir. δ 162.4'te rezonans yapan karbonun kimyasal kayma değeri karbonil grubu için uygun bir bulgudur. δ 62.2 ve 38.1'de izlenen sinyaller, sırasıyla primer alkol grubu ve N-metil gruplarının varlığına işaret etmektedir.

Gerek 1D NMR spektrumlarının aynı olması ve gerekse GN-2 bileşiğinin EI kütle spektrumunda m/z 285 (% 12)'te moleküler iyon pikinin görülmesi nedeniyle GN-2 ve GN-3 kodlu bileşiklerin identik olabilecekleri düşünülmüştür. Ayrıca GN-2 kodlu bileşiğin EI kütle spektrumunda, m/z 257 (% 15) ve 239 (% 18)'da sırasıyla $[\text{M}-28]^+$ ve $[\text{M}-46]^+$ iyonlarına ait pikler görülmektedir. m/z 238 (% 100)'de ise N-metilendioksifenantridinyum iyonuna ait karakteristik parçalanma piki izlenmektedir (113).

GN-2 kodlu bileşiğin CD spektrumunun GN-3 kodlu bileşiğinki ile karşılaştırıldığında birbirlerinin ayna hayali oldukları görülmektedir. CD spektrumları şekil, şiddet ve işaret açısından farklılık gösterirler. Çoğunlukla CD bantlarının şekli ve işaretinin, konfigürasyon ile ilişkili olduğu, örneğin enantiomerlerin spektrumlarının birbirlerinin ayna hayali oldukları bilinmektedir



GN-2 Minör İzomer

C. GN-4 [(+)-PLICAMINE]

Galanthus plicatus subsp. *byzantinus* bitkisinin D kodlu ana fraksiyonundan amorf halde elde edilen 3 mg ağırlığındaki ve Dragendorff belirtecine olumlu yanıt veren bileşiğe GN-4 kodu verilmiştir.

Bileşiğin 600 MHz NMR spektrometresinde ve dötörökloroform içinde alınan ^1H NMR spektrumunda aromatik sahada singlet olarak görülen 2 aromatik protona (δ 7.60 ve 6.74), etkileşme katsayıları 1.3 Hz olan iki dublet şeklinde görülen bir metilendioksi grubuna (δ 6.02 ve 6.01) ve 2 olefinik protona (δ 6.00 ve 5.54) ait sinyaller izlenmektedir. Alifatik alanda ise δ 2.80'de görülen 3 proton değerindeki singlet oldukça aşağı alana kaymış bir N-metil grubunun varlığını düşündürmektedir. Bunun dışında, alifatik alanda δ 3.46'da görülen 3 proton değerinde olan keskin singlet de alifatik karakterli bir metoksil grubunun varlığına işaret etmektedir. ^1H NMR'dan sağlanan bu bulgular **Amaryllidaceae** alkaloidlerinin çeşitli alt gruplarının çok rastlanılan spektral özelliklerindedir. Ancak bunlara ilaveten, aromatik sahada δ 7.10 ve 6.74'te her biri iki hidrojen değerinde 2 dublete (J 8.4 Hz) ait sinyallerin varlığı dikkat çekmiştir. Bu iki dublet, bileşikte bir *p*-disüstitüe benzen halkasının varlığını düşündürmektedir. Alifatik alanda, δ 4.50, 4.03, 3.91, 3.87, 3.53, 2.44 ve 1.48'de birer hidrojen değerinde 7 alifatik protona ait sinyaller mevcuttur. δ 4.50, 4.03, 3.91, 3.87 ve 3.53'te rezonans yapan hidrojenlerin kimyasal kayma değerlerinin nispeten aşağı alanda olması bunların bir heteroatoma komşu olduklarını düşündürmektedir. Bunun dışında, yine alifatik alanda δ 2.98-2.89 civarında 2 hidrojen değerinde multipllet olarak izlenen bir sinyal görülmektedir. Alifatik alanda hemen hemen bütün sinyaller belirgin etkileşmeler göstermiştir. δ 3.87'deki sinyal

ise singlet olarak izlenmektedir. Böylece bileşiğin ^1H NMR spektrumunda toplam 25 protona ait sinyal görülmektedir.

Bileşiğin ^{13}C NMR (150 MHz) spektrumunda ise 26 karbona ait sinyal izlenmektedir. DEPT spektrumu bu karbonlardan 9 tanesinin katerner, 11 tanesinin metin, 4 tanesinin metilen ve ikisinin ise metil karbonları olduğunu göstermiştir. Bunların içinde en dikkat çekici sinyaller δ 161.5 ve 169.8'de rezonans yapan katerner karbonlara ait olanlardır. Bu karbonların kimyasal kayma değerleri, 2 karbonil grubunun varlığına işaret etmektedir. Bu grupların varlığı, IR spektrumunda karbonil gerilme frekans alanında (1700 cm^{-1}) şiddetli absorpsiyonların görülmesi ile de desteklenmektedir. Bileşiğin ^{13}C NMR spektrumunda dikkati çeken bir diğer husus, *Amaryllidaceae* alkaloitlerinin tazettine alt grubuna ait bileşiklerdeki gibi bir spiro merkezin varlığını düşündüren δ 43.9'da rezonans yapan katerner karbona ait olan sinyaldir.

1D NMR analizlerinden elde ettiğimiz bilgiler, bileşiğimizin tazettine'ne benzer bir molekül yapısına sahip olduğunu düşündürmektedir. Ancak bununla birlikte, tazettine ana iskeletinin haricinde bir 1,4-disübstitüebenzen ve 4 tane alifatik protonun bulunması nedeniyle bileşiğin kesin olarak yapısını belirlemek amacıyla ayrıntılı 2D NMR analizlerinin yapılmasına gerek görülmüştür. Bu amaçla bileşiğin 600 MHz NMR spektrometresinde ^1H , ^1H DQF-COSY, TOCSY, HSQC, HMBC ve NOESY analizleri gerçekleştirilmiştir.

^1H , ^1H DQF-COSY, TOCSY, HSQC ve HMBC deneylerinden elde edilen bulgulardan yararlanarak, bileşiğin ana iskeletinin oluşturulmasına metilendioksi sübstitüentinin bulunduğu A halkasından başlanmıştır. 2 ve 3 bağ aracılığıyla olan

($^2J_{CH}$ ve $^3J_{CH}$) karbon-hidrojen korelasyonlarının saptandığı HMBC deneyinden faydalanarak metilendioksi protonlarının (δ 6.02 ve 6.01) 3 bağ aracılığıyla δ 151.3 ve 147.8'de rezonans yapan karbonlarla yaptığı korelasyonlar görülmüştür. Buna göre, söz konusu iki karbon metilendioksi grubunun aromatik halkaya bağlanma yöresinde bulunan katerner karbonlar olmalıdırlar. δ 7.60'ta rezonans yapan protonun δ 147.8 (C-10)'deki karbon ile $^2J_{CH}$, 151.3 (C-11)'teki karbon ile $^3J_{CH}$, δ 6.74'teki protonun ise δ 151.3 (C-11)'teki karbon ile $^2J_{CH}$, 147.8 (C-10)'deki karbonla $^3J_{CH}$ korelasyonları mevcuttur. Dolayısıyla bu protonlar, metilendioksi sübstitüentiyle aynı halkada yer almaktadırlar. δ 7.60'ta rezonans yapan proton δ 135.1'deki karbonla ve δ 6.74'teki proton ise δ 123.4'teki karbonla 3 bağ aracılığıyla korelasyon yapmaktadır. Bu durumda δ 135.1 (C-12a)'de ve 123.4 (C-8a)'te rezonans yapan karbonlar A halkasının katerner karbonları olmalıdırlar. HMBC spektrumunda H-9 (δ 7.60), A halkası dışında yer alan ve δ 161.5'te rezonans yapan karbonil grubu ile 3 bağ aracılığıyla etkileşmektedir. Bu durum muhtemel bir tazettine çekirdeğinin C-8 konumunda bir karbonil grubunun yer almış olabileceğini düşündürmektedir. H-12 (δ 6.74) ise en fazla bilgi verici korelasyonunu 3 bağ aracılığıyla yine A halkası dışında bir merkezde yer alan δ 43.9 (C-12b)'daki katerner karbonla yapmaktadır. Bu karbonun kimyasal kayma değeri, tazettine alt grubuna ait bileşiklerde bulunan spiro karbon için uygun bir bulgudur.

1H , 1H DQF-COSY spektrumunda δ 5.54 (H-1)'teki olefinik proton, sadece 6.00 (H-2) ile etkileşirken, δ 6.00 (H-2)'daki proton ayrıca δ 3.91 (H-3) ile J değeri 5.1 Hz olan bir etkileşme yapmaktadır. HMBC deneyinde δ 5.54'teki protonun 3, δ 6.00'daki protonun ise 2 bağ aracılığıyla δ 70.8 (C-3)'deki karbonla korelasyonu

görülmektedir. İlâveten, 6.00 (H-2)'da rezonans yapan proton ile HSQC deneyinde, üzerinde δ 2.44 ve 1.48'deki hidrojenlerin bulunduğu saptanan δ 30.0 (C-4)'daki karbon arasında $^3J_{CH}$ korelasyonu izlenmektedir. C-3 (δ 70.8) üzerinde yer alan δ 3.91 (H-3)'in nispeten aşağı alanda görülen rezonansı, aynı karbon üzerinde oksijenli bir süstitüentin varlığını düşündürmektedir. HMBC deneyinde, δ 3.46'da izlenen alifatik karakterli metoksil grubu ile δ 70.8'de rezonans yapan C-3 arasındaki $^3J_{CH}$ bağlantısı, H-3 (δ 3.91) ve metoksil grubu karbonu (δ 56.7) arasındaki korelasyonla da kesin bir şekilde doğrulanmaktadır. NOESY deneyinde, metoksil grubunun protonları (δ 3.46), δ 3.91 (H-3) ve 6.00 (H-2) protonları arasındaki etkileşmeler ve bunun yanısıra metoksil grubunun δ 2.44 (H-4) ile de etkileşmesinin mevcut olması, metoksil grubunun C-3 üzerinde bulunduğunu ispatlamaktadır. H-3 (δ 3.91) aynı zamanda 1H , 1H DQF-COSY ve NOESY deneyinde H-4 (δ 2.44 ve 1.48) protonları ile etkileşmektedir. Bunun dışında, δ 5.54'teki proton δ 59.9 (C-4a)'daki karbonla 3 bağ aracılığıyla etkileşmektedir. Buna ilâveten, TOCSY deneyinde de yukarıda bahsedilen bütün protonlar (H-1, H-2, H-3 ve H-4) ile H-4a (δ 4.03)'nın birbirleriyle etkileştikleri görülmektedir. Dolayısıyla bunların muhtemel bir tazettine yapısının C halkasındaki dizilişleri doğrulanmıştır.

HMBC deneyinde 3 bağ aracılığıyla ($^3J_{CH}$) N-metil protonlarının (δ 2.80) hem δ 59.9 (C-4a) ve hem de 169.8 (C-6)'de rezonans yapan karbonlarla etkileştikleri görülmektedir. Buna ilâveten, δ 4.03 (H-4a) protonu 3 bağ aracılığıyla δ 169.8 (C-6)'deki ve 63.9 (C-6a)'daki karbonlarla etkileşmektedir. Böylece ikinci karbonil grubunun C-6'da olduğu ortaya çıkmaktadır. N-metil grubunun nispeten

aşağı alanda görülen rezonansı, D halkasının 5 üyeli bir laktam olma özelliği ile uyuşmaktadır.

δ 3.87'de görülen singlet, HMBC deneyinde δ 169.8 (C-6)'deki karbonla 2 bağ aracılığıyla, δ 133.3 (C-1), 135.1 (C-12a), 161.5 (C-8)'teki karbonlarla 3 bağ aracılığıyla korelasyon yapmaktadır. Buna göre, δ 3.87'de singlet olarak izlenen sinyalin H-6a'da yer alan metin protonuna ait olduğu saptanmıştır. HMBC spektrumunda C-12b (δ 43.9)'nin δ 5.54, 4.03 ve 3.87'deki protonlar ile 2 bağ aracılığıyla ve bunun yanında δ 6.00 (H-2)'daki protonla 3 bağ aracılığıyla yapmış olduğu korelasyonlar görülmektedir. Bu durumda C-12b'nin, muhtemel bir tazettine yapısının C ve D halkalarındaki hidrojenler ile beklenen ve bilgi verici korelasyonları da saptanmış olmaktadır.

Literatürde belirtildiği üzere $J_{2,3}$ yaklaşık 4 Hz civarında olduğu zaman, bileşiğin 3 konumundaki konfigürasyonun (R) olduğu ve metoksil grubunun α , H-3'ün β , çok daha küçük etkileşme katsayısı söz konusu olduğunda ise zıt konfigürasyonun mevcut olduğu ve metoksil grubunun β , H-3'ün ise α olarak yönlendiği bildirilmiştir (61). GN-4 kodlu bileşiğimizin ^1H NMR spektrumunda, $J_{2,3}$ 5.1 Hz olduğu için metoksil grubu α , H-3 ise β olarak yönlendirilmiştir. Buna göre, 3 konumundaki konfigürasyonun (R) olabileceği düşünülmüştür.

NOESY deneyinde H-6a (δ 3.87)'nin H-1 (δ 5.54) ile belirgin korelasyonunun olması, H-6a'nın α oriyantasyonda olduğuna işaret etmektedir. NOESY deneyinde diğer önemli ve bilgi verici korelasyonlar H-12 (δ 6.74) ve H-4a (δ 4.03) arasında mevcut olanlardır. Bu iki proton arasında belirgin NOESY korelasyonları mevcut olması nedeniyle H-4a (δ 4.03) β olarak yönlendirilmiştir. Ayrıca

H-4a (δ 4.03) ile δ 1.48 (H-4) arasında etkileşimin gözlenmemesi ve H-4a (δ 4.03) ile δ 2.44 (H-4) arasında görülen karşılıklı korelasyonlar H-4a (δ 4.03) ve δ 2.44 (H-4)'teki protonun yönlendirmelerinin aynı olduklarını göstermektedir. Buna göre, δ 1.48 (H-4) ise α olarak yönlendirilmiştir. İlâveten, H-6a (δ 3.87) ve 1.48 (H-4 α) arasında karşılıklı etkileşimlerin gözlenmesi bu düşünceyi doğrulamaktadır. H-12 (δ 6.74) ve H-4a (δ 4.03), H-4a ile N-metil protonları (δ 2.80) ve bunun yanında δ 2.44 (H-4 β) ile olan belirgin korelasyonlar, ana iskeletin konformasyonel tercihini ortaya koymaktadır. Ayrıca H-6a (δ 3.87) ve N-metil grubu (δ 2.80) arasında korelasyon da gözlenmektedir.

Buraya kadar elde edilen bilgilerden yararlanarak, tazettine alt grubuna ait bir bileşiğin yapısı oluşturulabilmiştir. Ancak, ^1H ve ^{13}C NMR spektrumlarında varlıkları tespit edilmiş olan bir 1,4-disübstitüe benzen halkası ile 4 alifatik hidrojenin (δ 4.50, 3.53, 2.98-2.89) bu ana iskelete nasıl bağlandıklarını saptamak gereklidir.

^1H , ^1H DQF-COSY deneyinde δ 4.50 ve 3.53'te rezonans yapan ve HSQC deneyinde geminal oldukları doğrulanan protonlarla, δ 2.98-2.89'da birbirine çok yakın kimyasal kayma değerinde multipler şeklinde izlenen 2 protonun izole 4'lü bir spin sisteminin üyeleri olduğu görülmüştür. HMBC deneyinde δ 2.98-2.89'da izlenen 2 proton, 2 bağ aracılığıyla δ 49.5 (C-8') ve 131.0 (C-1')'daki karbonlarla, 3 bağ aracılığıyla ise δ 130.1 (C-2' ve C-6')'deki karbonlar ile korelasyon yapmaktadır. HSQC deneyinde bu karbonlar üzerinde δ 7.10'da 2 hidrojen değerindeki dublet şeklinde görülen protonların olduğu saptanmıştır. δ 4.50 ve 3.53 (H-8')'teki protonların δ 33.2 (C-7')'deki karbonla $^2J_{\text{CH}}$ ve δ 4.50 (H-8')'deki protonun ise

δ 131.0 (C-1')daki karbonla $^3J_{CH}$ korelasyonları görülmektedir. NOESY deneyinde de bu 4 protonun birbirleriyle, δ 2.98-2.89 (H-7')da multipler olarak izlenen protonların ise 2 proton değerindeki dublet (δ 7.10) ile etkileştiği gözlenmiştir. Bu durumda bir 4' substitüe fenetil artığının mevcut olduğu düşünülmektedir. C-4' deki substitüentin bir hidroksil grubu olduğu GN-4 kodlu bileşiğin UV spektumunda % 1'lik sodyum hidroksit ilavesi sonucunda görülen batokromik kayma ile belirlenmiştir. Bu veri IR spektrumunda 3300 cm^{-1} 'de görülen geniş absorpsiyon sinyali ile de doğrulanmıştır. δ 154.2 (C-4')de görülen kimyasal kayma değeri bu katerner karbon için uygundur. Ayrıca δ 7.10 (H-2' ve H-6')daki protonların söz konusu karbonla 3, δ 6.74 (H-3' ve H-5')teki protonların 2 bağ aracılığıyla etkileşmesi bunu desteklemektedir.

Ana iskelet yapı ile fenetil grubunun birbirlerine bağlanmaları hakkındaki esas bilgi HMBC spektrumunun incelenmesiyle elde edilmiştir. H-6a (δ 3.87)'nın δ 49.5 (C-8')te rezonans yapan, H-8' (δ 4.50 ve 3.53) protonlarının ise δ 63.9 (C-6a) ve 161.5 (C-8)'teki karbonil grubu ile 3 bağ aracılığıyla korelasyonları görülmüştür. Buna ilaveten, H-6a (δ 3.87) ve fenetil grubunun 4'lü spin sistemi protonları (δ 4.50, 3.53, 2.98-2.89) arasında belirgin NOESY korelasyonları da gözlenmiştir.

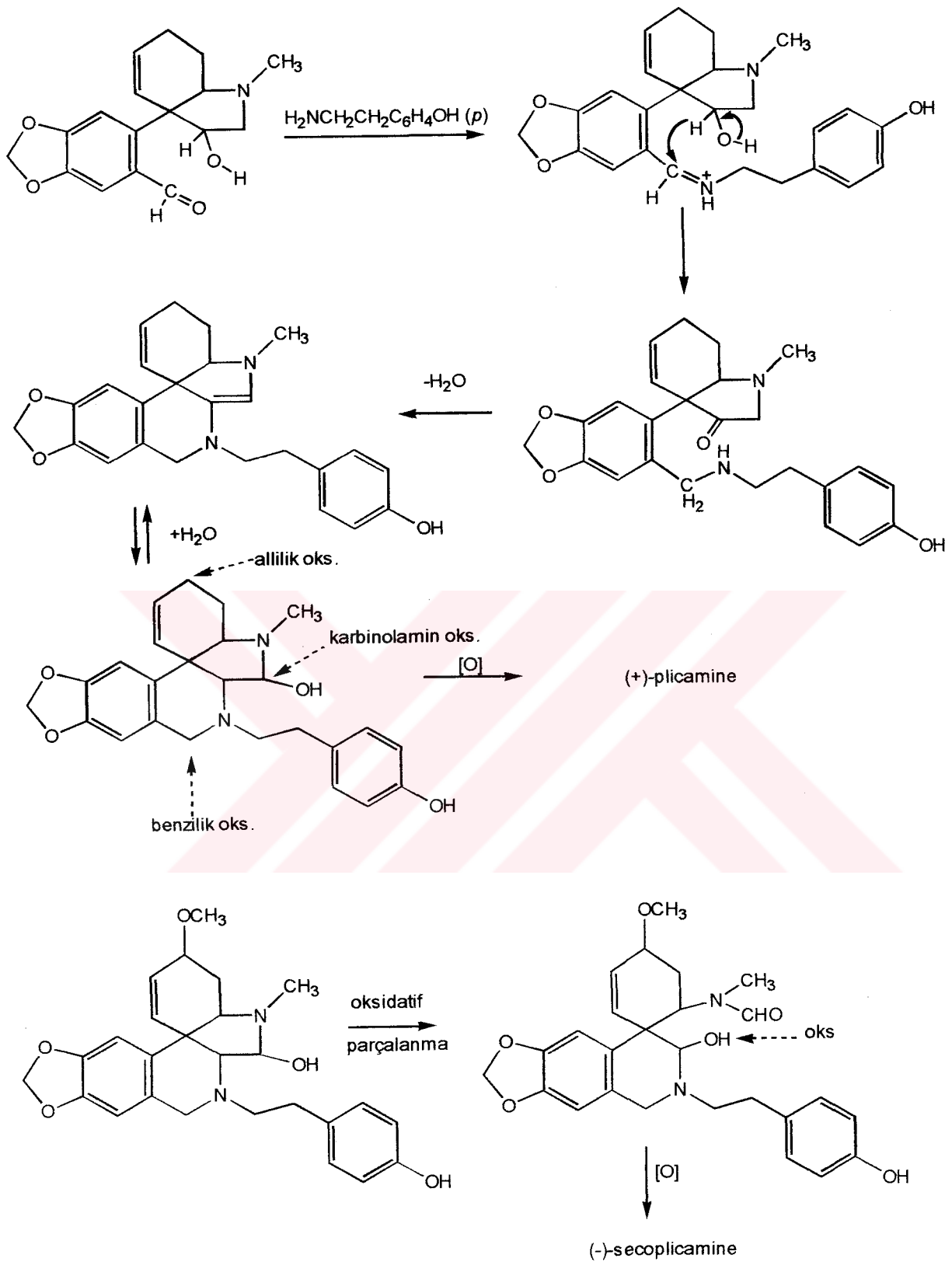
Buraya kadar sağlanan bilgilerden, ana iskelet yapı ile *p*-substitüe fenetil artığının bağlanmasının, tazettine tip bir molekül söz konusu olduğunda, 7 konumundaki oksijen atomu ile yer değiştirmiş ikinci bir azot atomu üzerinden gerçekleşebileceği ortaya çıkmıştır.

Bu durumda, GN-4 kodlu bileşiminin molekül formülü $C_{26}H_{26}N_2O_6$ olmalıdır. ESI kütle spektrumunda m/z 463'te görülen $[M+H^+]$ piki, hesaplanan molekül ağırlığı olan 462 ile uyum içindedir.

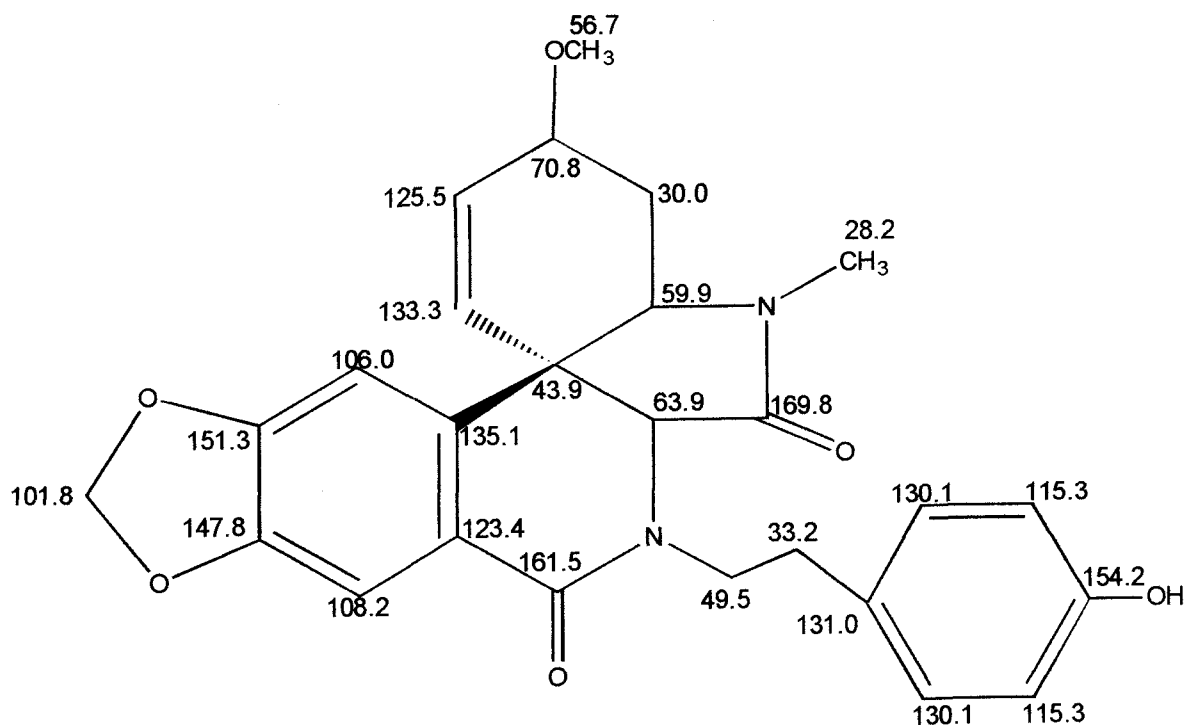
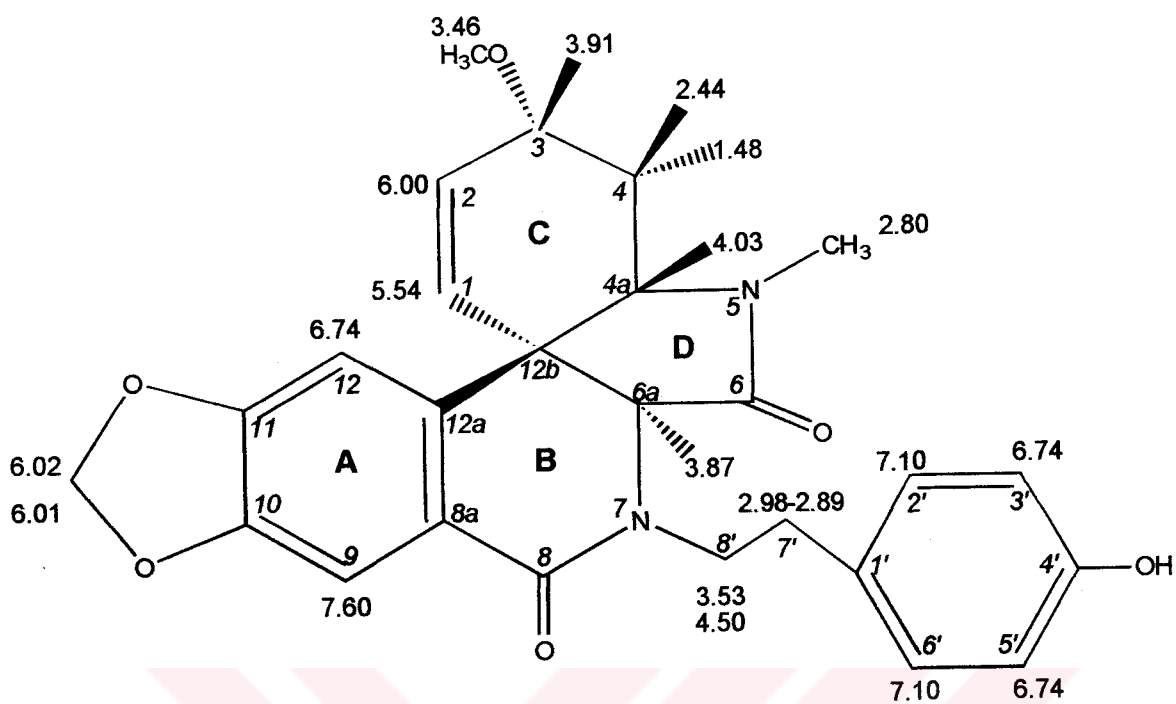
Muhtemel biyojenetik yolağın, crinine ve tazettine yapılarını birbiri ile ilişkilendiren anahtar bir ara ürün olduğu varsayılan aminoaldehit üzerinden yürüdüğü düşünülmüştür (164). Tiramin molekülü bu ara ürün ile bir Schiff bazı oluşturur ve molekül içi düzenleme sonrasında ise halka kapanması meydana gelir. Bunu takip eden hidrasyon ve allilik, benzilik yöreler ile bunun yanında karbinolaminin kolayca meydana gelen oksidasyonları GN-4 bileşimini verebilir (Şema 1).

GN-4 kodlu bileşiminin metanol içinde çekilmiş CD spektrumu stereokimyası bilinen tazettine alt grubuna ait bileşikler (+)-tazettine ve (+)-3-epimacronine'in (82, 103, 164) CD spektrumları ile büyük benzerlik taşımaktadır. Bu nedenle C-12b'deki konfigürasyonun (S) olduğu düşünülmüştür. Ancak bileşimin mutlak konfigürasyonunu saptamak mümkün olmamıştır.

Sonuç olarak, tazettine yapısının 7 konumundaki oksijen atomunun yan zincirde 4-hidroksifenetil artığı ile süstitüe azot atomu ile yer değiştirdiği, doğa için yeni bir alkaloid olan GN-4 kodlu bileşik **Amaryllidaceae** alkaloidlerinin tarafımızdan plicamine adı verilen yeni bir alt grubunu oluşturmaktadır. **Amaryllidaceae** familyası türlerinde bulunan ilk dinitrojenöz alkaloid olma özelliği taşıyan ve 220. sayfada açık kimyasal formülü görülen dekstrojir olan bu bileşiğe (+)-plicamine adı verilmiştir.



Şema 1



D. GN-5 [(-)-SECOPLICAMINE]

D kodlu ana fraksiyonun farklı alt fraksiyonlarından elde edilip D-2 ve D-4 kodları ile tanımlanan bileşiklerin yapılan İ.T.K. çalışmaları neticesinde identik oldukları saptanmıştır. Bu fraksiyonların birleştirilmesiyle toplam 10.9 mg ağırlığında amorf halde elde edilen ve Dragendorff belirtecine olumlu yanıt veren bileşiğe GN-5 kodu verilmiştir.

Levojis olan bileşiğin 600 MHz NMR spektrometresinde ve dötörökloroform içinde alınan ^1H NMR spektrumunda aromatik sahada singlet olarak görülen 2 aromatik protona (δ 6.72 ve 6.46), bölünmeleri 9.9 Hz olan 2 olefinik protona (δ 6.33 ve 5.73) ve bir metilendioksi grubuna (δ 6.00 ve 5.96) ait sinyaller izlenmektedir. Alifatik alanda ise δ 2.64'te 3 hidrojen değerinde singlet olarak izlenen sinyal oldukça aşağı alana kaymış bir N-metil grubunun, δ 3.44'te 3 proton değerinde görülen singlet ise alifatik karakterli bir metoksil grubunun varlığına işaret etmektedir. ^1H NMR'dan sağlanan bu bulgular **Amaryllidaceae** alkaloidlerinin çeşitli alt gruplarının çok rastlanılan spektral özelliklerindedir. Ancak bunlara ilaveten, aromatik sahada δ 7.03 ve 6.75'te her biri iki proton değerinde 2 dublete (J 8.4 Hz) ait sinyallerin gözlenmesi (+)-plicamine adı verilen GN-4 kodlu bileşiği hatırlatmaktadır. Bu iki dublet, bileşikte (+)-plicamine'de olduğu gibi bir *p*-disüstitüe benzen halkasının varlığına işaret etmektedir. Alifatik alanda δ 4.09, 3.96, 3.88, 3.17, 2.79 ve 1.94'te birer hidrojen değerinde, δ 2.80'de ise iki hidrojen değerinde 8 protona ait sinyal izlenmektedir. δ 4.09, 3.96, 3.88 ve 3.17'de rezonans yapan protonların kimyasal kayma değerleri bunların bir heteroatoma komşu olabileceklerine işaret etmektedir. (+)-Plicamine'in ^1H NMR spektrumundan farklı

olarak, GN-5 kodlu bileşiğin ^1H NMR spektrumunda aromatik sahada δ 7.23'te rezonans yapan ve oldukça aşağı alana kaymış bir protona ait sinyal izlenmektedir. Alifatik alanda ise δ 4.30 ve 4.12'de izole metilen grubuna ait olduğu düşünülen ve etkileşme katsayıları 16.2 Hz olan 2 dublete ait sinyaller görülmektedir. Bu protonların kimyasal kayma değerlerinin oldukça aşağı alanda olması bunların azot gibi bir heteroatoma α -konumda olduklarını düşündürmektedir. Buna ilaveten, aromatik protonlardan birinin kimyasal kayma değerinin (δ 6.46), (+)-plicamine'de karşılık gelen hidrojenin kimyasal kayma değeri ile karşılaştırıldığında (δ 7.60) yaklaşık 1.1 ppm yukarı alanda olmasının da bu iki bileşiğin yapısal farklılıklarından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bileşiğin ^1H NMR spektrumunda toplam 27 protona ait sinyal görülmektedir.

GN-5 kodlu bileşiğin ^{13}C NMR (150 MHz) spektrumunda (+)-plicamine'de olduğu gibi 26 karbona ait sinyal izlenmektedir. DEPT spektrumu bu karbonlardan 8 tanesinin katerner, 11 tanesinin metin, 5 tanesinin metilen ve ikisinin ise metil karbonları olduğunu göstermiştir. Bunların içinde en dikkat çekici olan sinyaller, δ 166.9'da ve δ 163.2'de rezonans yapan karbonlara ait olanlardır. Bu iki karbonun kimyasal kayma değerleri, bileşikte iki karbonil grubunun bulunduğu işaret etmektedir. Bu grupların varlığı, bileşiğin IR spektrumunda karbonil gerilme frekans alanında (1665 cm^{-1}) şiddetli absorpsiyonların görülmesi ile de doğrulanmaktadır. DEPT spektrumunda δ 163.2'deki karbonun bir hidrojen taşıdığı görülmektedir. Ayrıca ^{13}C NMR spektrumunda δ 52.7'de rezonans yapan katerner karbona ait sinyal izlenmektedir. Bu kimyasal kayma değeri, tazettine alt grubu bileşiklerde bulunan spiro karbon için uygun bir bulgudur. Bunun dışında, (+)-plicamine'in ^{13}C NMR

spektrumu ile karşılaştırıldığında kolaylıkla gözlenen bir farklılık ise δ 50.7'de görülen bir metilen grubuna ait olan sinyaldir.

Gerek ^1H NMR ve gerekse ^{13}C NMR'dan sağlanan bu bulgular, bazı yapısal farklılıklar olmasına rağmen GN-5 kodlu bileşiğin (+)-plicamine ile analog olduğunu düşündürmektedir. GN-5 kodlu bileşiğin molekül yapısını kesin olarak saptayabilmek için, 2D NMR analizlerinin yapılmasına gerek görülmüştür. Bu nedenle bileşiğin 600 MHz NMR spektrometresinde 2D NMR analizleri (^1H , ^1H DQF-COSY, TOCSY, HSQC, HMBC ve NOESY) gerçekleştirilmiştir.

^1H , ^1H DQF-COSY, TOCSY, HSQC ve HMBC spektrumlarının incelenmesiyle saptanan bulgulardan yararlanarak bileşiğin ana iskeletinin oluşturulmasına metilendioksi süstitüentinin bulunduğu A halkasından başlanmıştır. 2 ve 3 bağ aracılığıyla olan ($^2J_{\text{CH}}$ ve $^3J_{\text{CH}}$) karbon-hidrojen korelasyonlarının saptandığı HMBC deneyinde metilendioksi protonları (δ 6.00 ve 5.96) 3 bağ aracılığıyla δ 147.5 ve 148.0'da rezonans yapan karbonlarla korelasyon yapmaktadır. Dolayısıyla söz konusu karbonlar, metilendioksi grubunun aromatik halkaya bağlandığı yörelerde bulunan katerner karbonlar olmalıdırlar. δ 6.72'de rezonans yapan proton δ 148.0 (C-11)'daki karbon ile 2, δ 147.5 (C-10)'teki karbonla ise 3 bağ aracılığıyla etkileşmektedir. Bunun yanısıra δ 6.46'daki protonun 2 bağ aracılığıyla δ 147.5 (C-10) ve 3 bağ aracılığıyla δ 148.0 (C-11)'daki karbonla yapmış olduğu korelasyonlar görülmektedir. İlgili HMBC ve HSQC korelasyonlarından yararlanarak (+)-plicamine (GN-4)'de ve diğer tazettine yapısına sahip bileşiklerde olduğu gibi metilendioksi grubuyla, δ 6.72 (H-12) ve 6.46 (H-9)'daki protonların aynı halkada yer aldığı saptanmıştır.

δ 6.46 (H-9)'daki proton δ 129.2'deki karbonla 3 bağ aracılığıyla, δ 6.72 (H-12)'deki proton ise bu karbonla 2, δ 124.4'teki karbonla 3 bağ aracılığıyla korelasyon yapmaktadır. Bu durumda δ 124.4 (C-8a) ve δ 129.2 (C-12a)'deki karbonlar A halkasının katerner karbonları olmalıdırlar. δ 6.46 (H-9)'da rezonans yapan proton, en fazla bilgi verici korelasyonunu A halkası dışındaki bir merkezde bulunan δ 50.7 (C-8)'deki karbonla yapar. GN-5 kodlu bileşiğin (+)-plicamine'den farklı olarak δ 50.7'de metilen karbonu taşıdığı ^{13}C NMR spektrumunda belirlenmişti. HSQC deneyinde izole geminal hidrojenlerin (δ 4.30 ve 4.12) bu karbon üzerinde bulunduğu gsterilmiştir. δ 6.72 (H-12)'de rezonans yapan proton ise en fazla bilgi verici korelasyonunu 3 bağ aracılığıyla δ 52.7 (C-12b)'deki katerner karbonla yapar.

GN-5 kodlu bileşik ve (+)-plicamine arasındaki yapısal farklılıklardan biri GN-5 kodlu bileşiğin C-8'de izole bir metilen grubunun olmasıdır. (+)-plicamine'de aynı yrede laktam karbonili mevcuttur.

^1H , ^1H DQF-COSY spektrumunda δ 5.73 (H-1)'teki proton, sadece 6.33 (H-2)'teki hidrojen ile etkileşirken ^1H NMR'da H-2 (δ 6.33) ayrıca δ 4.09 (H-3) ile J değeri 4.9 Hz olan etkileşme yapmaktadır. H-3'ün nispeten aşağı alanda g r r l e n rezonansı da (+)-plicamine'de olduğu gibi δ 73.1 (C-3)'de metoksil grubunun varlığını d u ř u n d r m e k t e d i r . H M B C d e n e y i n d e δ 3.44'teki metoksil grubunun bu karbon ile 3 bağ, δ 4.09 (H-3)'daki protonun da δ 56.7'deki metoksil grubuyla olan $^3J_{\text{CH}}$ korelasyonu bunu doğrulamaktadır. δ 4.09 (H-3)'daki proton ^1H , ^1H DQF-COSY deneyinde δ 2.79 (H-4) ve NOESY deneyinde de δ 2.79 ve 1.94 (H-4)'teki protonlarla etkileşmektedir. Bunun dışında, HMBC deneyinde δ 5.73 (H-1)'teki

protonun δ 73.1 (C-3) ve 61.8 (C-4a)'deki karbonlarla 3 bağ, δ 6.33'teki protonun ise δ 73.1 (C-3) ile 2 bağ ve 29.1 (C-4)'deki karbonlarla 3 bağ aracılığıyla olan korelasyonları izlenmektedir. TOCSY deneyinde H-1 (δ 5.73), H-2 (δ 6.33), H-3 (δ 4.09), H-4 (δ 2.79 ve 1.94) ile H-4a (δ 3.88)'nın birbirleriyle etkileşmeleri bunların C halkasındaki dizilişlerini doğrulamaktadır. Böylece 2D NMR spektrumlarından sağlanan bilgiler ışığında A ve C halkalarının (+)-plicamine'inki ile aynı yapısal özelliklere sahip olduğu ortaya koyulmuştur.

HMBC deneyinde δ 52.7 (C-12b)'deki karbonun δ 5.73 (H-1), 3.88 (H-4a) hidrojenleriyle 2 bağ aracılığıyla, δ 6.33 (H-2), 2.79 ve 1.94 (H-4) hidrojenleriyle 3 bağ aracılığıyla yapmış olduğu korelasyonlar izlenmektedir. Bu durumda C-12b karbonunun, C halkasındaki hidrojenler ile beklenen ve bilgi verici korelasyonları tespit edilmiştir.

Bileşiğin ^{13}C NMR spektrumunda (+)-plicamine'deki gibi 2 karbonil grubuna ait sinyal izlenmesine rağmen, HSQC deneyinde bu sinyallerden birinin (δ 163.2) aşığı alana kaymış δ 7.23'teki proton ile etkileştiği bariz olarak görölmektedir. HMBC deneyinde söz konusu hidrojen δ 61.8 (C-4a) ve 27.5 (N-metil)'teki karbonlarla 3 bağ aracılığıyla belirgin korelasyon göstermektedir. N-metil protonları (δ 2.64) da δ 163.2 (C-6) ve 61.8 (C-4a) ile $^3J_{\text{CH}}$ korelasyonlarına sahiptir. Bu nedenle C-4a (δ 61.8) karbonuna bağlı bir N-metil-N-formilamino artığının mevcut olması gerekir. Bu yapının muhtemelen (+)-plicamine'de bulunan C(6)-C(6a) bağının oksidatif olarak kopması neticesinde meydana geldiği düşünölmektedir. Sonuç olarak bileşiğimiz tazettine tip bileşiklerde bulunan D halkasını taşımamaktadır.

(+)-Plicamine'de bulunan D halkasının, B halkasıyla kaynaştığı C-6a konumundaki oksidatif bağ kopmasının etkisini tanımlamak gerekmektedir. Bu yörede beklenen oksidasyonla uyumlu olarak, bu pozisyon için geriye kalan tek uygun ^{13}C NMR sinyali δ 166.9'da rezonans yapan karbonil grubuna ait olmalıdır. HMBC deneyinde H-8 (δ 4.30 ve 4.12) ve H-4a (δ 3.88)'nın bu karbon ile 3 bağ aracılığıyla yaptığı korelasyonlar, C-6a'da karbonil grubunun varlığını doğrulamaktadır.

^1H , ^1H DQF-COSY spektrumunda, δ 3.96 ve 3.17 (H-8')de rezonans yapan ve 2.80'de multiplet olarak izlenen protonların (H-7'), (+)-plicamine'de olduğu gibi izole 4'lü bir spin sistemine ait hidrojenler oldukları görülmüştür. HMBC deneyinde δ 2.80 (H-7')deki protonlar 2 bağ aracılığıyla δ 50.5 (C-8'), 3 bağ aracılığıyla δ 129.8 (C-2' ve C-6')deki karbonlarla korelasyon yaparlar. δ 3.96 (H-8')daki proton ise δ 32.3 (C-7)'teki karbon ile 2 bağ, δ 130.1 (C-1')deki katerner karbonla 3 bağ aracılığıyla etkileşmektedir. Buna ilaveten, HSQC deneyinde δ 129.8 (C-2' ve C-6')deki karbonlar üzerinde oldukları saptanan δ 7.03 (H-2' ve H-6')de görülen iki proton, 2 bağ aracılığıyla δ 115.5 (C-3' ve C-5')teki karbonlarla korelasyon yapmaktadır. Bu durumda (+)-plicamine'deki gibi *p*-süstitüe fenetil artığının mevcut olduğu ortaya çıkmıştır. H-8' (δ 3.96 ve 3.17) protonlarının C-6a (δ 166.9) ve C-8 (δ 50.7) ile 3 bağ aracılığıyla yaptıkları korelasyonlar ana iskelet yapısı ile *p*-süstitüe fenetil artığının tazetine yapısının 7 konumunda oksijen atomu ile yer değiştirmiş azot atomu üzerinden birbirlerine bağlı olduğunu ortaya koymaktadır. HMBC deneyinde 3 bağ aracılığıyla δ 7.03 (H-2' ve H-6'), 2 bağ aracılığıyla δ 6.75 (H-3' ve H-5') protonları δ 154.7 (C-4')deki katerner karbonla etkileşmektedir. Bu

kimyasal kayma değeri, söz konusu karbonun hidroksil grubu ile süstitüe olabileceğini düşündürmektedir. UV spektrumunda alkali hidroksit (% 1'lik sodyum hidroksit) ilavesi sonucunda batokromik kayma görülmesi, C-4' karbonundaki süstitüentin bir hidroksil grubu olduğunu belirlemiştir. Ayrıca IR spektrumunda 3300 cm^{-1} 'de görülen geniş absorpsiyon sinyali de bunu doğrulamaktadır. NOESY deneyinde de H-8' (δ 3.96 ve 3.17) ile H-7' (δ 2.80) birbirleriyle, ayrıca H-2' ve H-6' (δ 7.03) ile de etkileşmektedirler.

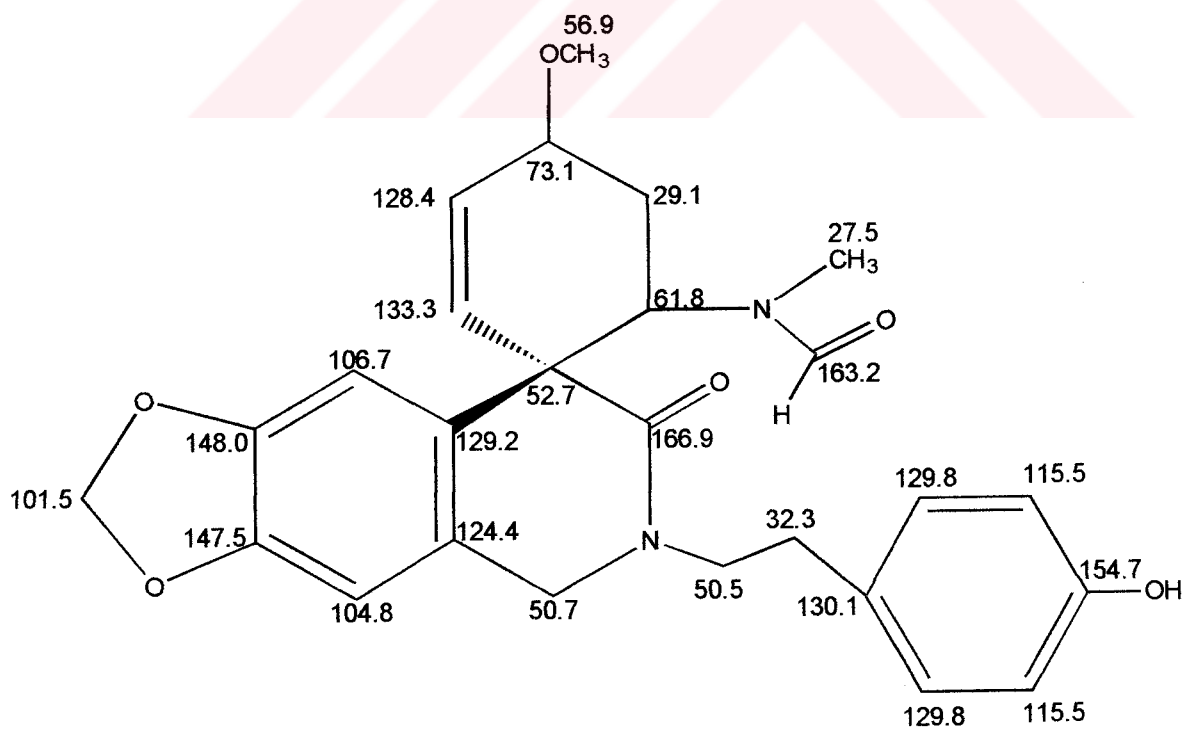
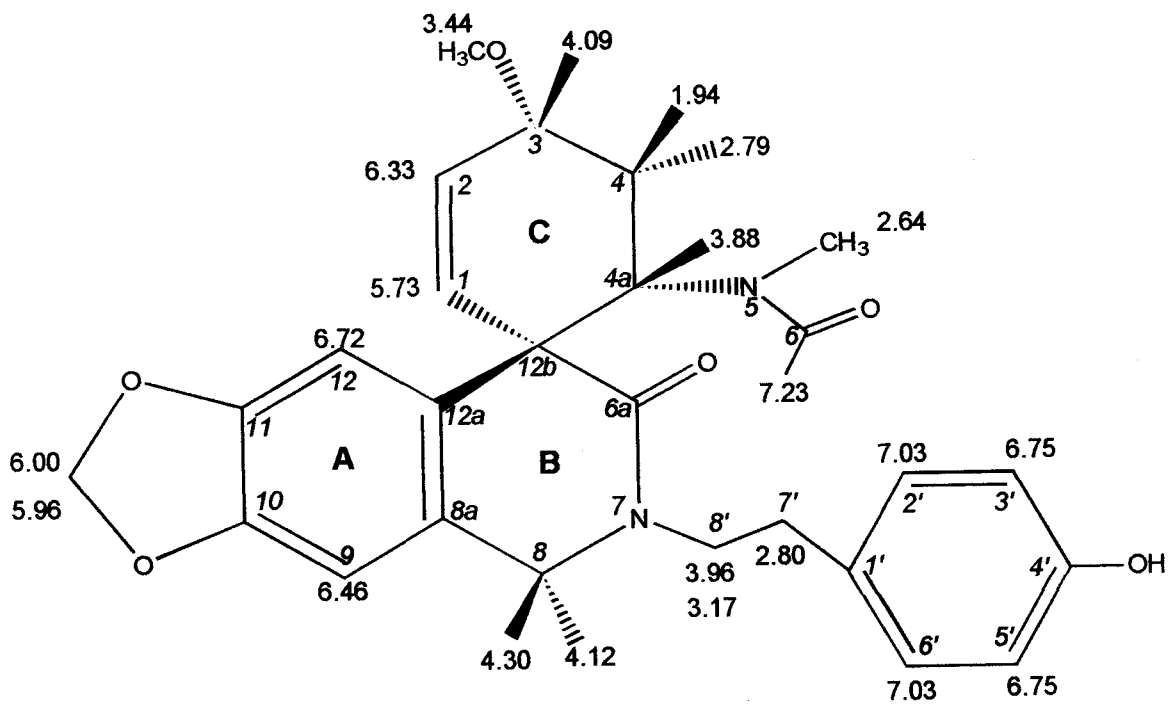
1D ve 2D NMR deneylerinden sağlanan bütün bu bilgilerden hareketle, yapısı ortaya çıkarılan GN-5 kodlu bileşiğin kapalı formülü $\text{C}_{26}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_6$ olmalıdır. Bu formül için hesaplanan molekül ağırlığı 464 olup, ESI kütle spektrumunda 487 $[\text{M}+\text{Na}^+]$ ve 465 $[\text{M}+\text{H}^+]$ piklerinin görülmesi de bunu doğrulamaktadır.

GN-5 kodlu bileşiğimizin stereokimyasını saptamak amacıyla NOESY spektrumu değerlendirilmiştir. C halkası oldukça esnek olmasına rağmen bu halkanın protonlarının ve C-3'teki metoksil grubunun NOESY deneyindeki korelasyonları C halkasının sandalyeye benzer (burkulmuş sandalye) konformasyonda olduğuna işaret etmektedir. C-3'teki metoksil grubunun α , H-3'ün β olarak yönlendiği $J_{2,3}$ 'ün büyüklüğü ile tespit edilmiştir (61). Buna göre, C-3'teki konfigürasyonun (R) olabileceği düşünülmüştür. H-4a (δ 3.88) ve H-12 (δ 6.72) arasında NOESY deneyinde belirgin korelasyon olması, H-4a (δ 3.88)'nın β olarak yönlendiğine işaret etmiştir. Buna ilaveten, H-4a (δ 3.88) ve H-4 (δ 1.94) arasında görülen karşılıklı korelasyonlar, bunların β olarak yönlendiklerini ortaya koymuştur. H-4a (δ 3.88), H-6 (δ 7.23) ve N-metil protonları (δ 2.64) arasında karşılıklı korelasyonlar da gözlenmiştir. NOESY deneyinden elde edilen bulgulardan yararlanarak δ 4.30 ve

4.12 (H-8)'de izlenen geminal protonların yönlenmeleri tespit edilebilmiştir. Bu geminal protonlardan δ 4.12 (H-8)'de rezonans yapanın, 7 konumundaki azot atomuna bağlı etilenik hidrojenlerle (δ 3.17 ve 2.80) belirgin korelasyon göstermesi, uzaysal yakınlığına işaret etmektedir. Ayrıca δ 4.12 (H-8) ile 7.03 (H-2' ve H-6') arasında gözlenen NOESY korelasyonları δ 4.12 (H-8)'deki protonun α olarak yönlendiğini, δ 4.30 (H-8)'daki protonun H-6 (δ 7.23) ve N-metil protonları (δ 2.64) ile etkileşmesi de δ 4.30'daki protonun β olarak yönlendiğini düşündürmektedir.

GN-5 kodlu bileşiğin metanol içinde alınmış CD spektrumu stereokimyası bilinen (+)-tazettine ve (+)-3-epimacronine'inki ile (82, 103, 164) benzerdir. Bu nedenle C-12b'deki konfigürasyonun (S) olduğu düşünülmüştür. Ancak bu bileşiğin de (+)-plicamine'de olduğu gibi mutlak konfigürasyonunu saptamak mümkün olamamıştır.

Biyogenetik açıdan en son oksidatif safhadaki bir değişiklik sonucunda meydana geldiği düşünülen bu bileşik (+)-plicamine ile birlikte **Amaryllidaceae** alkaloidlerinin plicamine adlı yeni bir alt grubunu oluşturmaktadır. Bileşiğe ait muhtemel biyogenetik yolak (+)-plicamine bileşiği anlatılırken verilen 219. sayfada yer alan **Şema 1**'de gösterilmektedir. Doğa için yeni bir alkaloid olan ve 229. sayfada açık kimyasal formülü görülen bu bileşiğe, (-)-secoplicamine adı verilmiştir.



E. GN- 6 [(+)-3-O-DEMETHYL-3-EPIMACRONINE]

D kodlu ana fraksiyonun farklı alt fraksiyonlarından elde edilip, D-1 ve D-5 kodları ile tanımlanan maddelerin, yapılan İ.T.K. çalışmaları sonucunda aynı oldukları tespit edilmiştir. Bu fraksiyonlar birleştirilerek, toplam 5.3 mg ağırlığa sahip amorf ve Dragendorff belirtecine olumlu yanıt veren bileşik elde edilmiş ve bu bileşiğe GN-6 kodu verilmiştir.

Bileşiğin 600 MHz NMR spektrometresinde ve dötörometanol içinde alınan ^1H NMR spektrumunda 15 hidrojene ait sinyal izlenmektedir. Aromatik sahada singlet olarak görülen 2 aromatik hidrojene (δ 7.44 ve 6.90), etkileşme katsayıları 10.3 Hz olan 2 olefinik protona (δ 5.90 ve 5.39) ve yaklaşık 0.7 Hz'lik etkileşme katsayısı ile bölünen birer proton değerinde iki dublet şeklinde görülen bir metilendioksi (δ 6.09 ve 6.08) grubuna ait sinyaller izlenmektedir. Alifatik alanda δ 2.60'ta görülen üç proton değerindeki keskin singlet, N-metil grubunun varlığına işaret etmektedir. Bunun dışında, alifatik alanda δ 4.65, 4.49, 3.17, 2.93, 2.53 ve 1.85'te 6 protona ait sinyal görülmektedir. Bu sinyallerden iki tanesinin (δ 4.65 ve 4.49) diğerlerine göre belirgin oranda aşağı alana kaymış olması, bunların oksijen gibi bir heteroatoma komşu olduklarını düşündürmektedir.

Bilinen **Amaryllidaceae** alkaloidlerinin genel yapıları gözönüne alındığında, ^1H NMR'dan elde edilen bu bilgilerle varlıkları saptanan grupların nitelikleri ve sayıları, GN-6 kodlu bileşiğimizin, tazettine alt grubuna ait olabileceğini düşündürmektedir. GN-6 kodlu bileşiğin ^1H NMR spektrumu ile (+)-tazettine (GN-8) bileşiğinin ^1H NMR spektrumunun benzerlikler taşıması da bunu doğrulamaktadır.

GN-6 kodlu bileşiğin δ 7.44 ve 6.90'da görülen hidrojenlerinin kimyasal kayma değerleri arasındaki farkın (Δ 0.54 ppm), tazettine ile karşılaştırıldığında (Δ 0.21 ppm) daha fazla olduğu görülmüştür. Bu durum, GN-6 bileşiğinin aromatik protonlarından birinin yakınında bulunan ve dolayısıyla da bu hidrojenin kimyasal kayma değerinin aşağı alana kaymasına neden olan bir gruptan etkilendiğini düşündürmüştür. Buna ilaveten, GN-6 kodlu bileşiğin ^1H NMR spektrumunu, tazettine'in ^1H NMR spektrumundan belirgin şekilde farklılaştıran en önemli husus, tazettine'in spektrumunda δ 3-5 arasında görülen iki çift izole metilen grubu protonlarına ait sinyallerin bulunmamasıdır.

GN-6 kodlu bileşiğimizin ^{13}C NMR spektrumu değerlendirildiğinde toplam 17 adet karbona ait sinyal tespit edilmiştir. DEPT spektrumu, bunlardan 6 tanesinin katerner, 7 tanesinin metin, 3 tanesinin metilen ve birinin ise metil karbonları olduğunu göstermiştir. Bu aşamada, ^1H NMR ve ^{13}C NMR'dan sağlanan bilgilerin karşılaştırılmasıyla, ^1H NMR'da 15 hidrojene ait sinyal izlendiği halde ^{13}C NMR'da 16 hidrojenin varlığı ortaya çıkmaktadır. Bu durumda ^1H NMR spektrumunda bir protona ait sinyalin yaklaşık δ 3.30'da muhtemelen şiddetli çözücü sinyali altında kalmış olabileceği düşünülmüştür.

^{13}C NMR spektrumunda δ 167.5'te izlenen sinyal ve kimyasal kayma değeri, muhtemelen bir lakton karbonilinin varlığına işaret etmektedir. Ayrıca IR spektrumunda 1715 cm^{-1} 'de kuvvetli bir absorpsiyon görülmesi de bu düşünceyi doğrulamaktadır. Bunun dışında ^{13}C NMR spektrumunda en ilgi çekici ve en fazla bilgi veren sinyaller, δ 47.3'teki katerner karbona ve 81.1'deki tersiyer karbona ait olanlardır. Bunlardan δ 47.3'te rezonans yapan karbonun kimyasal kayma değeri, tazettine ana halka yapısındaki spiro karbon, yani C-12b karbonu için uygun bir

bulgudur. δ 81.1'de rezonans yapan karbon ise, oksijene α -konumda ve bu nedenle de aşağı alana kaymış bir tersiyer karbonun varlığına işaret etmektedir.

^1H ve ^{13}C NMR spektral bulgularının değerlendirilmesi sonucunda, molekülde bir metilendioksi ve bir lakton grubu olduğu bilindiğinden, yapıda en az 4 oksijenin olması gerekir. Karbon sayısı 17, hidrojen sayısı 16 bulunmuştur. Bileşikte tek azot olduğu bilindiğinden hidrojen sayısı tek olmalıdır. Bu durumda bileşikte bir hidroksil grubunun bulunması gerektiği düşünülmüştür. Bileşiğin IR spektrumunda 2995 cm^{-1} 'de görülen absorpsiyon bunu desteklemektedir. O halde molekülün kapalı formülü için $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{NO}_5$ önerilebilir.

Bileşiğin EI kütle spektrumunda, m/z 315'teki moleküler iyon çok zor farkedilebilir. Ancak bağıl bolluğu daha fazla olan ve m/z 297 (% 28)'de $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}]^+$ iyonuna ait pik görülmektedir. Baz tepe ise m/z 105'te izlenmektedir. Önerilen $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{NO}_5$ kapalı formülü için hesaplanan molekül ağırlığı m/z 316'da $[\text{M}+\text{H}^+]$ iyonunu veren CI kütle analizi ile de doğrulanmıştır.

GN-6 bileşiğinin yapısını kesin olarak ortaya koyabilmek için daha ileri analizler yapılmıştır. Bu nedenle, bileşiğin 600 MHz NMR spektrometresinde ayrıntılı 2D NMR analizleri gerçekleştirilmiştir.

Proton ve karbonların kimyasal kaymalarının kesin değerleri ^1H , ^1H DQF-COSY, TOCSY, HSQC, HMBC deneylerinden yararlanarak saptanmıştır. Ana iskeletin oluşturulmasına metilendioksi süstitüentinin bulunduğu A halkasından başlanmıştır. HMBC deneyinde metilendioksi protonlarının (δ 6.09 ve 6.08) 3 bağ aracılığıyla δ 148.9 ve 154.3'te rezonans yapan karbonlarla olan korelasyonları görülmüştür. Aromatik sahada singlet olarak izlenen δ 7.44 (H-9)'teki proton, söz konusu karbonlarla sırasıyla 2 ve 3 bağ aracılığıyla korelasyon yapmaktadır. Aynı

zamanda δ 6.90 (H-12)'daki protonunun da δ 154.3 (C-11)'teki karbonla 2, δ 148.9 (C-10)'daki karbonla 3 bağ aracılığıyla olan korelasyonları izlenmektedir. Bu nedenle bu iki proton ve metilendioksi grubu, aynı halkada yer almalıdırlar. δ 6.90 (H-12)'daki proton, 3 bağ aracılığıyla δ 119.7'de rezonans yapan katerner karbon ile, δ 7.44 (H-9)'teki proton 2 bağ aracılığıyla δ 119.7 ve 3 bağ aracılığıyla 143.8'deki karbonla korelasyon yapmaktadır. Bu durumda δ 143.8 (C-12a) ve 119.7 (C-8a) karbonlarının A halkasının katerner karbonları oldukları belirlenmiştir. δ 6.90 (H-9)'da görülen proton, A halkası dışında bir merkezde yer alan δ 47.3 (C-12b) karbonu ile 3 bağ aracılığıyla korelasyon yapmaktadır. δ 7.44 (H-12)'teki protonun ise yine A halkası dışında bir merkezde yer alan δ 167.5'te rezonans yapan karbonil grubu ile 3 bağ aracılığıyla korelasyonu mevcuttur. Buraya kadar sağlanan bilgilerden A halkasına spiro merkez (δ 47.3) ve bir lakton karbonilinin (δ 167.5) bulunduğu B halkasının bağlı olduğu görülmüştür.

^1H , ^1H DQF-COSY deneyinde δ 5.39 (H-1)'daki olefinik dublet, sadece δ 5.90 (H-2) ile etkileşmektedir. HSQC deneyinden yararlanarak bu iki protonun karbonlarının sırasıyla δ 126.3 ve 136.2 oldukları saptanmıştır. HMBC deneyinde δ 4.49 (H-3)'da rezonans yapan protonun δ 136.2 (C-2)'deki karbon ile 2, δ 126.3 (C-1)'teki karbonla ise 3 bağ aracılığıyla yaptığı korelasyonlar görülmektedir. Bu protonun oldukça yüksek frekansta kimyasal kayma değerine sahip olması, aynı karbon üzerinde (δ 64.3) oksijenli bir süstitüsyonun varlığını düşündürmektedir. Böylece varlığı daha önceden tahmin edilen hidroksil grubunun C-3'te olabileceği ortaya çıkmaktadır. Aynı zamanda H-3 (δ 4.49), HSQC deneyinde geminal oldukları saptanan δ 2.53 ve 1.85'teki protonlar ile ^1H , ^1H DQF-COSY deneyinde karşılıklı

olarak etkileşmektedir. HMBC deneyinde δ 5.90 (H-2)'daki proton, 3 bağ aracılığıyla δ 2.53 ve 1.85 (H-4)'teki protonların üzerinde bulunduğu karbon (δ 33.5) ile korelasyon yapmaktadır. Buna ilaveten, TOCSY deneyinde yukarıda bahsedilen protonlar (H-1, H-2, H-3, H-4) ile H-4a (δ 3.30)'nın arasındaki korelasyonlar tespit edilmiş ve bunların muhtemel bir tazettine yapısının C halkasındaki dizilişleri doğrulanmıştır.

HMBC deneyinde, N-metil protonları (δ 2.60), 3 bağ aracılığıyla δ 65.8 (C-4a) ve 54.7 (C-6)'deki karbonlar ile korelasyon yapar. ^1H , ^1H DQF-COSY deneyinde etkileşen ve ayrıca HSQC deneyinde δ 54.7 (C-6)'de rezonans yapan karbon üzerinde buldukları tespit edilen δ 3.17 ve 2.93 (H-6)'teki protonların, azot atomuna komşu metilen grubu protonları oldukları saptanmıştır. HMBC deneyinde δ 3.17 (H-6)'deki protonun 2 bağ aracılığıyla δ 81.1 (C-6a)'deki karbonla korelasyonu mevcuttur. Bu geminal protonların hem ^1H , ^1H DQF-COSY ve hem de TOCSY deneyinde δ 4.65 (H-6a)'teki proton ile etkileşmeleri H-6 ve H-6a'nın D halkasındaki dizilişlerini ortaya koymaktadır.

HMBC spektrumunda δ 47.3 (C-12b)'te rezonans yapan karbonunun δ 5.90 (H-2), 2.93 (H-6), 2.53 (H-9)'teki protonlar ile 3 bağ aracılığıyla olan korelasyonları ve δ 5.39 (H-1)'daki proton ile 2 bağ aracılığıyla olan korelasyonu izlenmektedir. Bu durumda δ 47.3'te rezonans yapan C-12b'nin C ve D halkalarının hidrojenleri ile beklenen ve bilgi verici korelasyonları saptanmıştır.

2D NMR spektral bulgularının değerlendirilmesi sonucunda C-3'teki metoksil süstitüenti hariç GN-6 kodlu bileşiğin epimerik bileşikler olan macronine (62, 108) veya 3-epimacronine (4, 78, 82, 113, 155) ile benzer yapısal özelliklere

sahip olduğu gözlenmiş ve bu iki bileşikten birinin 3-O-demetil analogu olduğu düşünülmüştür.

Kütle spektrometrisinden 3. karbonda metoksil süstitüenti taşıyan epimerik bazları birbirinden ayırt etmede yararlanıldığı bilinmektedir (44). Ancak GN-6 kodlu bileşigimiz, bu konumda metoksil süstitüenti yerine hidroksil grubu taşıdığı için, konfigürasyonun tayini H-2 ve H-3 için gözlenen etkileşme katsayılarının büyüklüğüne dayandırılmıştır. $J_{2,3}$ yaklaşık 4 Hz civarında olduğu zaman, bileşigin 3 konumunda (R) konfigürasyonuna sahip olduğu ve H-3 hidrojeninin β , çok daha küçük etkileşme katsayısı söz konusu olduğunda ise zıt konfigürasyonun mevcut olduğu ve H-3'ün ise α olarak yönlendiği bildirilmektedir (61).

GN-6 bileşiginde ^1H NMR spektrumunda 10.3 Hz değerinde olefinik etkileşme değeri olan bir dublet şeklinde izlenen H-2 (δ 5.90) protonu ile H-3 (δ 4.49) protonu arasında daha ileri bir etkileşme görülmez. Bu durum H-2 ve H-3 protonları arasında yaklaşık 90° lik bir dihedral açının mevcut olduğunu ortaya koyar. Bu ise H-3 ancak α olarak yönlendiği zaman mümkündür. Buna ilaveten, bileşigin ^1H NMR spektrumunda stereokimyasal yapıları bilinen ve C-3'te β olarak yönlenmiş oksijenli süstitüsyon taşıyan (+)-tazettine ve (+)-3-epimacronine'in (103) ^1H NMR spektrumlarındakine çok benzer H-2 ve H-3 sinyalleri verdikleri gözlenmiştir (61, 78, 82, 113). Bu nedenle C-3'teki konfigürasyon (+)-tazettine ve (+)-3-epimacronine'inki ile aynı (S) olmalıdır.

GN-6 bileşiginin CD spektrumu stereokimyasal yapısı tespit edilmiş (+)-3-epimacronine ile çok benzerdir (160). Bu nedenle C-12b'nin (S) konfigürasyonda olduğu düşünülmüştür. C-6a'daki konfigürasyon ve kiralite ile C-6'daki metilen hidrojenlerinin yönlennemelerinin, bu üçlü spin sistemi için gözlenen visinal etkileşme

katsayılarından saptanabileceği rapor edilmiştir (82). C-6a'daki kiralitenin (R) olduğu ve H-6a'nın β olarak yönlendiği $J_{6a, 6\alpha}$ ve $J_{6a, 6\beta}$ 'nin büyüklüğüne dayanarak belirlenmiştir.

NOESY spektrumundan elde edilen bulgular, moleküler model üzerinde değerlendirilerek bileşiğin uzaysal yapısı belirlenmiştir. NOESY deneyinde H-12 (δ 6.90), H-4a (δ 3.30) ve H-4 (δ 1.85) arasında gözlenen etkileşmeler, C halkasının sandalyeye benzer konformasyonda olduğu zaman mümkündür. Böyle olduğu takdirde, H-12 (δ 6.90) ile belirgin korelasyon gösteren H-4 (δ 1.85) aksiyal olarak yönlenebilir. H-4a (δ 3.30), H-12 (δ 6.90) ve β olarak yönlendiği tespit edilmiş olan H-6a (δ 4.65) ile etkileştiği için, H-4a (δ 3.30)'nın da β oriyantasyona sahip olduğu söylenebilir. Buna göre, C-4a (δ 65.8)'nin da (+)-3-epimacronine'de olduğu gibi (103) (S) konfigürasyonda olduğu düşünülmüştür. δ 3.17 (H-6)'deki protonun 5.39 (H-1)'daki ve 4.49 (H-3)'daki protonla etkileşmesi, ancak bu protonun α olarak yönlenebilmesi ile mümkündür. N-metil sinyali (δ 2.60) ile δ 2.93 (H-6 β), H-4a (δ 3.30) ve H-6a (δ 4.65) arasında belirgin karşılıklı sinyaller görülmektedir. Bu husus N-metil grubunun konformasyonu hakkında bilgi vermektedir.

GN-6 kodlu bileşiğin UV spektrumu incelendiğinde (+)-3-epimacronine'in UV spektrumu ile benzer olduğu görülmüştür (160).

Bütün bu bulgulardan yararlanarak GN-6 kodlu bileşiğin uzunca bir süreden beri bilinen tazettine alt grubundan bir alkaloid olan (+)-3-epimacronine'in 3-O-demetil türevi olduğu saptanabilmiştir.

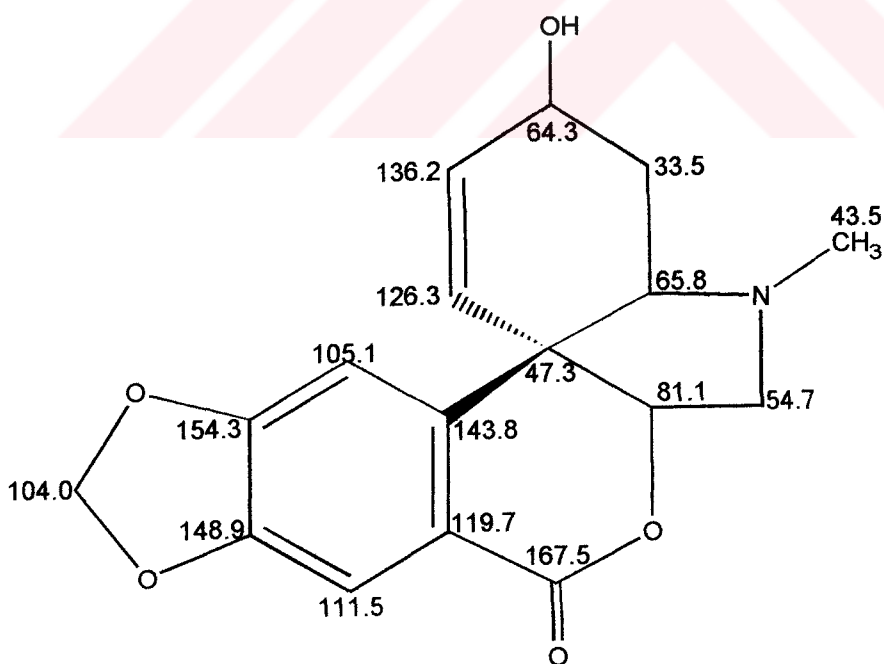
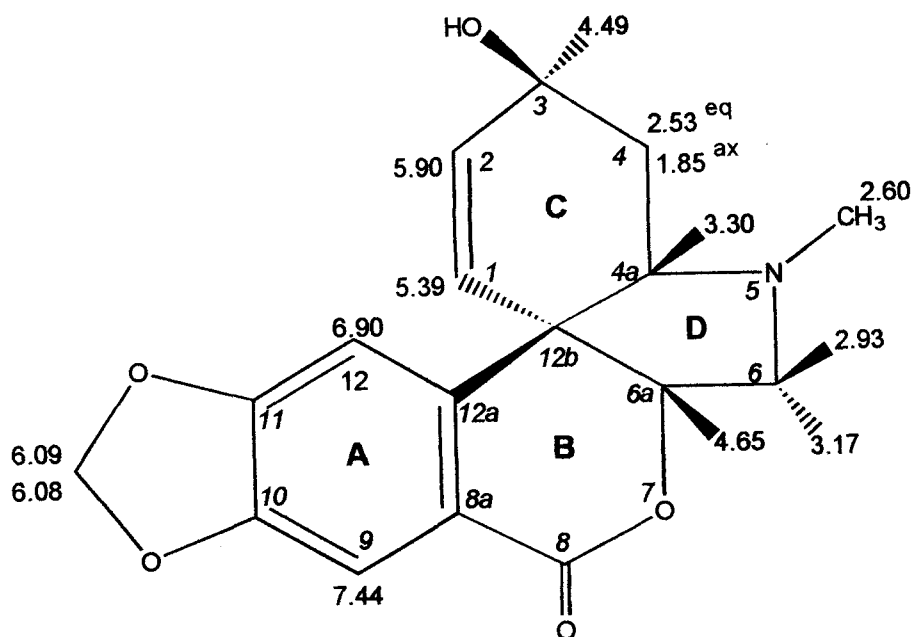
Günümüze kadar, doğal tazettine grubu bileşiklerin C-3'te metoksil grubu taşıdığı bilinmekteydi. 3 konumundan hidroksillenmiş türevlere sadece sentetik

tazettine tip bileşikler arasında rastlanmıştır (72, 161). Ikeda ve arkadaşları, tazettine'in % 10'luk hidroklorik asit içinde 4 saat süreyle su banyosunda ısıtıldığında, demetilasyona uğradığını ve epimerik allilik alkoller olan tazettinol ve isotazettinol'un oluştuğunu bildirmişlerdir (72).

GN-6 kodlu bileşiğin gerçek alkaloid ya da izolasyon sırasında meydana gelen bir artefakt olup olmadığını araştırmak için (+)-3-epimacronine'in otantik örneği (4, 103) üzerinde alkaloid ekstresinin eldesinde kullanılan ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen ürün ile bileşiğimizin karşılaştırmalı olarak yapılan İ.T.K. kontrollerinde 3 konumunda demetilasyon ve söz konusu şartlar altında epimerizasyonun gerçekleşmediği ispatlanmıştır. Bu nedenle (+)-3-O-demethyl-3-epimacronine olarak isimlendirdiğimiz GN-6 kodlu bileşik doğal bir alkaloiddir.

Hippeastrum equestre Herb. bitkisinin alkaloidleri üzerinde circular dichroism çalışmasına dair yakın zamanda yapılmış bir yayında, bu bitkiden yeni bir bileşik olan 3-O-demethyltazettine'in izolasyonu hakkında kısaca bahsedilmiştir. Böylece 3 konumunda hidroksil grubu taşıyan tazettine alt grubuna dahil bir bileşiğin ilk kez doğal olarak meydana geldiği bildirilmiştir (160).

Yapılan literatür araştırmaları sonucunda doğa için yeni bir madde olduğu kesinlik kazanmış olan GN-6 kodlu dekstrojir bileşiğimizin 238. sayfada açık kimyasal formülü görülmektedir.



F. GN-7 [(+)-PLICANE]

Galanthus plicatus subsp. *byzantinus* bitkisinin D kodlu ana fraksiyonundan amorf halde elde edilen 5.3 mg ağırlığındaki Dragendorff belirtecine olumlu yanıt veren bileşiğe GN-7 kodu verilmiştir.

Bileşiğin 600 MHz NMR spektrometresinde ve dötörökloroform içinde alınan ¹H NMR spektrumunda, aromatik sahada singlet olarak görülen iki aromatik protona (δ 6.93 ve 6.83), δ 6.02 ve 6.01'de birer hidrojen değerinde 2 singlet olarak görülen bir metilendioksi grubuna, etkileşme katsayıları 10.1 Hz olan 2 dublet şeklinde görülen olefinik protonlara (δ 6.13 ve 5.49) ait sinyaller izlenmektedir. Alifatik alanda ise δ 2.89'da görülen üç hidrojen değerindeki keskin singlet, kimyasal kayma değeri oldukça aşağı alanda olan bir N-metil grubunun varlığına işaret etmektedir. δ 3.45'te izlenen 3 hidrojen değerindeki keskin singlet ise alifatik karakterli bir metoksil grubu için uygun bir bulgudur. Bu bulgular **Amaryllidaceae** alkaloidlerinin birçoğunda rastlanılan spektral özelliklerdir. Aromatik sahada en ilgi çekici sinyal ise δ 8.21'de singlet olarak izlenen protona aittir. Bu protonun kimyasal kayma değerinin oldukça aşağı alanda olması onun hem benzilik karakterli ve hem de azot gibi bir heteroatoma α -konumda olduğunu düşündürmektedir. Bunun dışında, alifatik alanda δ 4.25, 3.78, 3.65, 2.22 ve 1.91'de 5 protona ait sinyal izlenmektedir. Söz konusu protonlardan üçünün (δ 4.25, 3.78, 3.65) kimyasal kayma değerlerinin oldukça aşağı alanda olması, bunların bir heteroatoma komşu olduklarını düşündürmektedir. δ 2.22 ve 1.91'de izlenen protonların en büyük etkileşme katsayılarının 14.1 Hz olması bu iki protonun geminal olduklarına işaret etmektedir. ¹H NMR'dan sağlanan bu bilgiler GN-7 kodlu

bileşimin tazettine'e benzer bir molekül yapısına sahip olabileceğini düşündürmektedir. ^1H NMR spektrumunda, toplam 18 protona ait sinyal izlenmektedir.

GN-7 kodlu bileşimin ^{13}C NMR (150 MHz) spektrumunda ise, 18 karbona ait sinyal görülmektedir. En fazla dikkat çeken sinyaller, δ 171.8 ve 40.6'da rezonans yapan katerner karbonlar ile δ 158.1'de rezonans yapan metin karbonuna ait olanlardır. δ 171.8'de görülen karbonun kimyasal kayma değeri bileşikte bir karbonil grubunun varlığını düşündürmektedir. Bu grubun varlığı, IR spektrumunda karbonil gerilme frekans alanında 1695 cm^{-1} 'de şiddetli absorpsiyonun görülmesi ile doğrulanmaktadır. δ 40.6'da rezonans yapan katerner karbonun kimyasal kayma değeri ise tazettine alt grubu bileşiklerde bulunan spiro karbon için uygun bir bulgudur. δ 158.1'de görülen karbonun, kimyasal kayma değeri azot atomuna α -konumda benzilik bir karbonun varlığını düşündürmektedir. Ayrıca δ 70.9, 68.0 ve 62.4'te izlenen karbonların kimyasal kayma değerleri bunların da bir heteroatoma komşu olduklarına işaret etmektedir.

1D NMR analizlerinden elde edilen bilgiler, bileşimin tazettine'e benzer bir molekül yapısına sahip olduğunu düşündürse de bileşimin kesin olarak yapısını belirlemek amacıyla 2D NMR analizlerinin yapılmasına gerek görülmüştür. Bu amaçla, bileşimin 600 MHz NMR spektrometresinde ^1H , ^1H DQF-COSY, TOCSY, HSQC, HMBC ve NOESY analizleri gerçekleştirilmiştir.

^1H , ^1H DQF-COSY, TOCSY, HSQC ve HMBC deneylerinden yararlanarak ana iskeletin oluşturulmasına, metilendioksi sübstitüentinin bulunduğu A halkasından başlanmıştır. HMBC deneyinde metilendioksi protonlarının (δ 6.02 ve 6.01) 3 bağ aracılığıyla δ 150.8 ve 147.6'daki karbonlarla yaptıkları korelasyonlar izlenmektedir.

Dolayısıyla bu iki karbon, metilendioksi grubunun aromatik halkaya bağlanma yörelerinde bulunan katerner karbonlar olmalıdırlar. δ 6.93 (H-12)'te rezonans yapan proton δ 147.6 (C-10)'daki karbon ile 3, δ 150.8 (C-11)'deki karbon ile 2 bağ aracılığıyla korelasyon yapmaktadır. δ 6.83 (H-9)'teki protonun ise δ 150.8 (C-11)'deki karbon ile 3, δ 147.6 (C-10)'daki karbon ile 2 bağ aracılığıyla olan korelasyonları mevcuttur. Bu nedenle metilendioksi grubuyla söz konusu 2 aromatik proton, aynı halkada yer almaktadırlar. δ 6.83 (H-9)'teki proton, 3 bağ aracılığıyla δ 130.9'daki katerner karbon ile korelasyon yapmaktadır. δ 6.93 (H-12)'teki proton ise 2 bağ aracılığıyla 130.9'daki ve 3 bağ aracılığıyla 120.1'deki karbonlarla etkileşmektedir. Bu durumda δ 120.1 (C-8a) ve 130.9 (C-12a) A halkasının katerner karbonları olmalıdırlar.

δ 6.93 (H-12)'teki proton ise en fazla bilgi verici korelasyonunu 3 bağ aracılığıyla δ 40.6'da rezonans yapan spiro karbon ile yapmaktadır. H-9 (δ 6.83) ise en fazla bilgi verici korelasyonunu 3 bağ aracılığıyla A halkası dışında yer alan δ 158.1'de rezonans yapan karbonla yapmaktadır. HSQC deneyinde δ 8.21'de görülen protonun, bu karbon (δ 158.1) üzerinde olduğu saptanmıştır. Buna göre, muhtemel bir tazettine yapısındaki C-8'de kimyasal kayma değeri oldukça aşağı alana kaymış benzilik bir protonun varlığı ortaya çıkmıştır. Bu ancak, tazettine molekülünün 7 konumunda bulunan oksijen atomunun azot atomu ile yer değiştirmesiyle mümkündür. O halde GN-7 kodlu bileşik, tazettine yapısının 7 konumunda azot atomu ve çifte bağ taşıyan bir molekül yapısına sahiptir. Buraya kadar sağlanan bilgilerden, A halkasına spiro karbon ile 158.1 (C-8)'deki karbonu taşıyan ve muhtemel bir tazettine yapısının 7 konumundaki oksijen atomu yerine azot atomu bulunan B halkasının bağlı olduğu

görülmüştür. C-7'de azot atomu bulunması, (+)-plicamine ve (-)-secoplicamine adlı bileşikler hatırlatmaktadır.

^1H , ^1H DQF-COSY spektrumunda δ 5.49 (H-1)'daki protonun ^1H NMR'da olduğu gibi yalnızca δ 6.13 (H-2)'teki protonla etkileştiği görülmektedir. HMBC deneyinde δ 5.49 (H-1)'daki proton 3 bağ aracılığıyla δ 70.9 (C-3) ve 62.4 (C-4a)'teki karbonlarla korelasyon yapmaktadır. HSQC deneyinde δ 70.9 (C-3)'daki karbon üzerinde olduğu saptanan δ 3.78 (H-3)'deki protonun rezonansının oldukça aşağı alanda görülmesi, aynı karbon üzerinde oksijenli bir süstitüentin varlığını düşündürmektedir. Alifatik karakterli metoksil grubunun (δ 3.45) bu karbon ile (C-3) 3 bağ aracılığıyla etkileşmesi bunu doğrulamaktadır. NOESY deneyinde de metoksil grubu (δ 3.45), H-2 (δ 6.13) ve H-3 (δ 3.78) ile karşılıklı olarak etkileşmektedir. HMBC deneyinde H-2 (δ 6.13)'nin 3 bağ aracılığıyla δ 26.4 (C-4)'te rezonans yapan karbonla korelasyonu mevcuttur. HSQC deneyinde bu karbon üzerinde olduğu saptanan δ 2.22 ve 1.91 (H-4)'deki protonların ^1H , ^1H DQF-COSY ve NOESY deneylerinde δ 3.65 (H-4a)'teki protonla etkileştikleri görülmüştür. Ayrıca HSQC deneyinde, bu protonun (H-4a) üzerinde bulunduğu saptanan karbon ile (δ 62.4) HMBC deneyinde δ 2.22 ve 1.91 (H-4)'deki protonların 2 bağ aracılığıyla korelasyonları da tespit edilmiştir. Bileşiğin TOCSY spektrumunda yukarıda bahsedilen bütün protonların (H-1, H-2, H-3, H-4 ve H-4a) birbirleriyle etkileştikleri gözlenmiştir. Böylece bu protonların muhtemel bir tazettine yapısının C halkasındaki dizilişleri doğrulanmıştır.

HMBC deneyinde 3 bağ aracılığıyla N-metil protonları δ 62.4 (C-4a) ve 171.8 (C-6)'deki karbonlarla etkileşmektedir. Bu durumda karbonil grubunun C-6'da

bulunduğu ortaya çıkmıştır. N-metil protonlarının oldukça aşağı alanda görülen rezonansı D halkasının 5 üyeli bir laktam olma özelliği ile uyumaktadır. δ 4.25'te singlet olarak izlenen protonun, 3 bağ aracılığıyla δ 62.4 (C-4a), 130.5 (C-1) ve 158.1 (C-8)'deki karbonlarla, 2 bağ aracılığıyla ise δ 171.8 (C-6)'deki karbonla etkileşmesi tazettine'in yapısında C-6a'da bulunan hidroksil grubu yerine bir metin protonu olduğunu ortaya koymaktadır.

Bunun dışında δ 40.6 (C-12b)'da rezonans yapan spiro karbonun HMBC deneyinde 2 bağ aracılığıyla H-1 (δ 5.49) ve H-4a (δ 3.65) ile, 3 bağ aracılığıyla ise H-2 (δ 6.13), H-4 (δ 2.22 ve 1.91) ile yapmış olduğu korelasyonlar izlenmektedir. Böylece C-12b karbonunun C ve D halkalarında bulunan hidrojenlerle olan korelasyonları da saptanmış olmaktadır.

Bu durumda GN-7 kodlu bileşiğimizin molekül formülü $C_{18}H_{18}N_2O_4$ olmalıdır. ESI kütle spektrumunda m/z 327'de görülen $[M+H]^+$ piki hesaplanan molekül ağırlığı olan 326 ile uyum içindedir.

$J_{2,3}$ yaklaşık 4 Hz civarında olduğu zaman, bileşiğin 3 konumundaki konfigürasyonun (R) olduğu ve metoksil grubunun α , H-3'ün ise β , çok daha küçük etkileşme katsayısı söz konusu olduğunda ise zıt konfigürasyonun mevcut olduğu ve metoksil grubunun β , H-3'ün ise α olarak yönlendiği bildirilmiştir (61). 1H NMR'da H-2 (δ 6.13) olefinik etkileşme katsayısı 10.1 Hz olan dublet şeklinde izlendiği için H-3 (δ 3.78) ile arasında daha ileri bir etkileşme gözlenmez. Bu durum H-2 (δ 6.13) ve H-3 (δ 3.78) arasında yaklaşık 90° lik bir dihedral açının mevcut olduğunu ortaya koyar. Bu ise ancak H-3'ün α ve metoksil grubunun β olarak yönlenebilmesi ile

mümkündür. Buna göre, 3 konumundaki konfigürasyonun (S) olabileceği düşünülmüştür.

GN-7 kodlu bileşiğin stereokimyasını saptamak amacıyla NOESY spektrumu değerlendirilmiştir. H-12 (δ 6.93), H-4a (δ 3.65) ve H-4 (δ 1.91) arasındaki etkileşimler C halkasının sandalyeye benzer konformasyona sahip olduğuna işaret etmektedir. H-4a (δ 3.65) ve H-12 (δ 6.93) arasında belirgin NOESY korelasyonları gözlenmesi nedeniyle H-4a (δ 3.65) β olarak yönlendirilmiştir. δ 1.91 (H-4)'deki protonun H-12 (δ 6.93) ile etkileşmesi, bu protonun (δ 1.91) α olarak yönlendiğine işaret etmektedir. Dolayısıyla δ 2.22 (H-4)'deki proton ise β oriyantasyonda olmalıdır. Buna ilaveten, δ 2.22 (H-4 β), N-metil protonları (δ 2.89) ve H-4a (δ 3.65) arasında karşılıklı etkileşmelerin gözlenmesi de N-metil grubunun konformasyonu hakkında bilgi sağlamaktadır. H-6a (δ 4.25) ve H-1 (δ 5.49) arasında gözlenen korelasyon ise H-6a'nın α olarak yönlendiğine işaret etmektedir.

Bileşiğin CD spektrumu ile stereokimyası bilinen (+)-tazettine ve 3-epimacronine'in CD spektrumları karşılaştırıldığında benzer olduğu görülmüştür (41, 82, 103, 160, 164). Bu nedenle C-12b'deki konfigürasyonun (S) olduğu düşünülmüştür.

Sonuç olarak, GN-7 kodlu bileşik, tazettine yapısının 7 konumundaki oksijen atomunun azot atomu ile yer değiştirdiği, C-8'de benzilik bir proton taşıyan ve D halkasının ise 5 üyeli bir laktam olduğu ve **Amaryllidaceae** alkaloidlerinin tarafımızdan plicamine adı verilen yeni bir alt grubuna dahil olan doğa için yeni bir alkaloidtir. Ancak yan zincirde 4-hidroksi fenetil artığı taşınamaması ve bunun yerine 7

G. GN-8 [(+)- TAZETTINE]

Galanthus plicatus subsp. *byzantinus* bitkisinin farklı ana fraksiyonlarından kristal halde elde edilip D-3 ve F-1 kodları ile tanımlanan bileşiklerin yapılan İ.T.K. çalışmaları sonucunda identik oldukları saptanmıştır. Bu fraksiyonlar birleştirilerek toplam 457.3 mg ağırlığında, kristalize halde elde edilen ve Dragendorff belirtecine olumlu yanıt veren bileşiğe GN-8 kodu verilmiştir.

Optikçe aktif olan bileşiğin dötörometanol içinde ve 600 MHz NMR spektrometresinde alınan ¹H NMR spektrumunda aromatik sahada singlet olarak görülen 2 aromatik hidrojene (δ 6.75 ve 6.54), bölünmeleri kolayca saptanabilen 2 olefinik protona (δ 6.06 ve 5.63) ve bir metilendioksi grubuna (δ 5.88 ve 5.87) ait sinyaller izlenmektedir. Alifatik alanda ise δ 2.39'da görülen üç proton değerindeki keskin singlet, N-metil grubunun varlığına işaret etmektedir. Alifatik alanda dikkati çeken diğer sinyaller, biri diğerine göre daha aşağı alana kaymış olan ve iki çift izole metilen grubuna ait olduğu düşünülen sinyallerin varlığıdır. Bu metilen gruplarından birisi, δ 4.94 ve 4.58'de görülen ve etkileşme katsayıları 14.8 Hz olan iki dublet şeklindedir. δ 4.94 sinyalinde 0.5 Hz değerinde bir uzun alan etkileşmesi söz konusu olmasına rağmen gerek kimyasal kayma ve gerekse *J* değerleri, bu sinyallerin oksijene komşu izole benzilik metilen protonlarına ait olduğunu düşündürür. Diğer izole metilen grubunun sinyalleri ise daha yukarı alanda δ 3.21 ve 2.64'te, etkileşme katsayıları 10.9 Hz olan iki dublet şeklinde görülmektedir. Kimyasal kayma değerleri, bu protonların da bir heteroatoma α -konumda olduğunu düşündürmektedir. Alifatik alanda δ 3.45'te izlenen 3 hidrojen değerindeki singlet, alifatik karakterli bir metoksil grubunun bulunduğu işaret etmektedir. Bu sahada izlenen 4 sinyalden

diğerlerine göre oldukça aşağı alanda (δ 4.13) görülen rezonans, bu metoksil grubu ile aynı karbon üzerinde bulunan bir proton için uygundur. Bunlara ilaveten, δ 2.83, 2.23 ve 1.56'da birer hidrojen değerinde üç alifatik protona ait sinyal mevcuttur. δ 2.23 ve 1.56'daki protonların her ikisinin de en büyük etkileşme katsayılarının sırasıyla 13.7 ve 13.6 Hz olduğu dikkate alındığında bunların da bir metilen grubuna ait olabileceği düşünülebilir.

Bilinen **Amaryllidaceae** alkaloitlerinin genel yapıları gözönüne alınarak, ^1H NMR'dan sağlanan bilgilerle, varlığı saptanan grupların nitelikleri ve sayıları, GN-8 kodlu bileşimizin tazettine alt grubundan olabileceğini düşündürmektedir.

^1H NMR spektrumundan sağlanan bilgiler, bileşimizde en az 20 protonun olması gerektiğini ortaya koymaktadır. Tek azotlu bileşiklerde kural olarak tek sayıda hidrojen bulunması gerektiğinden, bileşiğin büyük bir olasılıkla bir hidroksil grubuna ait değişebilen bir hidrojen taşıdığı ve toplam 21 hidrojene sahip olabileceği düşünülmüştür. Bileşiğin IR spektrumunda 3340 cm^{-1} 'de görülen absorpsiyon da hidroksil grubunun varlığını desteklemektedir.

^{13}C NMR (150 MHz) spektrumunun değerlendirilmesi neticesinde 18 adet karbonun varlığı görülmüştür. DEPT analizi bu karbonlardan 6 tanesinin katerner, 6 tanesinin metin, 4 tanesinin metilen ve ikisinin ise metil karbonları olduğunu göstermektedir. Bunların içinde en ilgi çekici olan sinyal, δ 51.3'te rezonans yapan katerner karbondur. Bu kimyasal kayma değeri, tazettine alt grubu bileşiklerde bulunan spiro karbon için uygun bir bulgudur. Bir metilendioksi, bir metoksil ve en az bir hidroksil grubu olduğu bilindiğinden formülde en az dört oksijenin olması gerekir. Bileşiğin EI kütle spektrumu incelendiğinde, moleküler iyon piki m/z 331'de

(% 45) görülmüştür. Bu durumda oksijen sayısı 5, molekülün kapalı formülü de $C_{18}H_{21}NO_5$ olmalıdır.

GN-8 bileşiğinin yapısının kesinlikle ortaya konulabilmesi için daha ileri analizlerin yapılmasına gerek görülmüştür. Bu nedenle, bileşiğin 600 MHz NMR spektrometresinde ayrıntılı 2D NMR analizleri gerçekleştirilmiştir.

1H , 1H DQF-COSY, HSQC ve HMBC deneylerinden elde edilen bilgilerden yararlanarak ana iskeletin oluşturulmasına metilendioksi sübstitüentinin bulunduğu A halkasından başlanmıştır. 2 ve 3 bağ aracılığı ile olan ($^2J_{CH}$ ve $^3J_{CH}$) karbon-hidrojen korelasyonlarını veren HMBC deneyinde, metilendioksi protonlarının (δ 5.88 ve 5.87) 3 bağ aracılığıyla δ 147.9 ve δ 148.0'da rezonans yapan karbonlarla etkileştiği görülmüştür. Aromatik sahada, birbirlerine göre para konumda olan δ 6.75 ve 6.54'te görülen singletlerin, bu karbonlardan sırasıyla δ 148.0 (C-10) ve 147.9 (C-11) ile 3 bağ aracılığıyla etkileşmesi nedeniyle bu iki protonun metilendioksi grubuyla aynı halkada yer aldıkları saptanmıştır. δ 6.54 (H-9)'teki proton δ 129.1'de rezonans yapan katerner karbonla 3 bağ aracılığıyla korelasyon yapmaktadır. Buna ilaveten, δ 6.75 (H-12)'teki protonun ise δ 129.1'deki katerner karbon ile 2, δ 127.5'te rezonans yapan katerner karbon ile 3 bağ aracılığıyla yapmış olduğu korelasyonlar izlenmektedir. Bu durumda δ 127.5 (C-8a) ve 129.1 (C-12a) karbonlarının A halkasının katerner karbonları oldukları belirlenmiştir. δ 6.54 (H-9)'te görülen protonun A halkası dışında yer alan δ 62.7 (C-8)'deki karbon ile 3 bağ aracılığıyla korelasyon yaptığı görülmektedir. HSQC deneyi ile de izole geminal hidrojenlerin (δ 4.94 ve 4.58) bu karbon üzerinde olduğu belirlenmiştir. Daha önce 0.5 Hz değerinde bir uzun alan bölünmesine sahip olduğunu belirttiğimiz H-8'in (δ 4.94), bu

etkileşmeyi muhtemelen aynı düzlemde olması nedeniyle H-9 (δ 6.54) ile gerçekleştirdiği düşünülmüştür. C-8'deki protonların her ikisi de (δ 4.94 ve 4.58), 3 bağ aracılığıyla δ 102.7 (C-6a)'deki katerner karbonla etkileşmektedir. Oldukça aşağı alanda olan bu kimyasal kayma değeri, üzerinde iki oksijen taşıyan bir karbona işaret etmektedir.

δ 6.75 (H-12)'teki proton ise en fazla bilgi verici korelasyonunu halka dışında yer alan δ 51.3 (C-12b)'teki katerner karbon ile yapar. Buraya kadar elde edilen bilgilerden A halkasına, spiro merkez (δ 51.3) ve izole geminal hidrojenlerin (δ 4.94 ve 4.58) bulunduğu B halkasının bağlı olduğu görülmüştür.

^1H , ^1H DQF-COSY spektrumunda δ 5.63 (H-1)'teki dublet, sadece δ 6.06 (H-2)'daki dublet ile etkileşirken her iki proton ^1H NMR spektrumunda muhtemelen δ 4.13 (H-3) ile J değerleri sırasıyla 1.6 ve 1.3 Hz olan etkileşme yapmaktadırlar. ^1H NMR'da dublet-dublet-dublet-dublet şeklinde bölünme gösteren δ 4.13 (H-3)'teki protona ait etkileşme katsayıları 2'şer Hz olan iki adet bölünme gözlenmesi bunu desteklemektedir. HMBC deneyinde δ 5.63'teki proton 3 bağ aracılığıyla δ 74.6 (C-3), 72.0 (C-4a) ve 102.7 (C-6a)'deki karbonlarla, δ 6.06 (H-2)'daki proton ise δ 27.5 (C-4)'teki karbonla etkileşmektedir. Metoksil grubunun hidrojenleri de (δ 3.45), δ 4.13 (H-3)'ün üzerinde bulunduğu karbon (δ 74.6) ile 3 bağ aracılığıyla etkileşmektedir. Bu durum C-3 üzerinde metoksil grubunun bulunduğunu doğrulamaktadır. H-3 (δ 4.13), δ 2.23 ve 1.56 (H-4)'daki protonların etkileşmeleri hem ^1H , ^1H DQF-COSY ve hem ^1H NMR deneyi ile doğrulanmaktadır.

Gerek ^1H , ^1H DQF-COSY deneyinde yukarıda bahsedilen protonlardan H-1 ve H-2, H-3 ve H-4, H-4 (δ 2.23) ve H-4a (δ 2.83)'nın birbirleriyle etkileşmesi ve

gerekse HMBC deneyinden elde edilen bulgular bu hidrojenlerin muhtemel tazettine molekülünün C halkasındaki dizilişlerini doğrulamıştır.

HMBC deneyinde 3 bağ aracılığıyla N-metil (δ 2.39) protonlarının, δ 66.3 (C-6) ve 72.0 (C-4a)'daki karbonlar ile yapmış oldukları korelasyonlar görülmektedir. ^1H , ^1H DQF-COSY deneyinde etkileşen ve ayrıca HSQC deneyinden δ 66.3 (C-6)'teki karbon üzerinde oldukları belirlenen δ 3.21 ve 2.64'teki protonların azot atomuna komşu izole metilen grubuna ait oldukları ortaya çıkmıştır. Bu protonların δ 102.7 (C-6a)'deki karbonla 2 bağ aracılığıyla yapmış olduğu korelasyonlar da HMBC deneyinde izlenmektedir. Böylece muhtemel bir tazettine molekülünün D halkası oluşturulmuştur.

HMBC spektrumunda δ 51.3 (C-12b)'teki karbonun δ 6.06, 2.23 ve 2.64'teki protonlar ile 3 bağ aracılığıyla olan korelasyonları ve δ 5.63 ile 2.83'teki protonlarla da 2 bağ aracılığıyla olan korelasyonları izlenmektedir. Böylece C-12b'nin C ve D halkalarının hidrojenleri ile beklenen ve bilgi verici korelasyonları tespit edilmiştir.

Bileşimizin tüm proton ve karbon kimyasal kayma değerleri bahsedilen bütün bu verilerden yararlanmak suretiyle yerleştirilebilmiştir. Tazettine alt grubunun prototip alkaloidi olan tazettine'in ^1H (50, 61, 80, 82) ve ^{13}C NMR (37) değerleri literatürde yer almıştır. Elde edilen ve literatür değerleriyle uyum içerisinde olan verilerimiz, incelenen bileşiğin tazettine olabileceğini düşündürmüştür. Ancak tazettine iskeletine ve yapısal komponentlerine sahip olmasına rağmen, GN-8 kodlu bileşimizin tazettine'den farklı bir bileşik olma ihtimali de mevcuttur. Zira birden fazla asimetric merkeze sahip olan tazettine molekülünde farklı konfigürasyonların epimerik bileşiklere yol açtığı bilinmektedir. Örneğin tazettine ve criwelline adlı

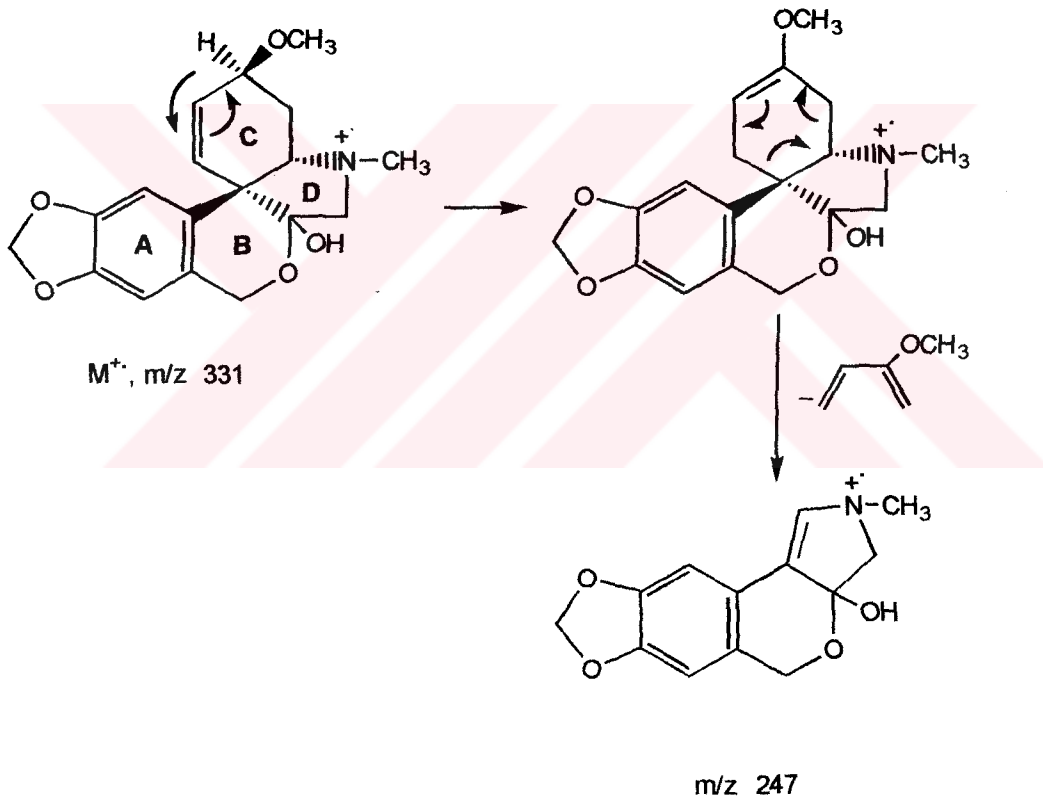
alkaloitler arasındaki tek fark, 3 konumundaki metoksil grubunun konfigürasyonudur. Tazettine'in 3 konumundaki metoksil grubu β , criwelline'de ise α olarak yönlenmiştir (44, 61).

Bu aşamada ele alınan CD spektrumu incelendiğinde, GN-8 bileşiğinin stereokimyasal yapısı bilinen tazettine'inki ile çok benzer olduğu görülmüştür (41, 81, 82, 160). Bu durumda bileşimizdeki C-12b karbonu (+)-tazettine'de olduğu gibi (S) konfigürasyondadır (65, 103, 124).

Literatürde C-3'teki konfigürasyonun H-2 ve H-3 için gözlenen etkileşme katsayılarının büyüklüğünden tespit edilebileceği bildirilmiştir. $J_{2,3}$ yaklaşık 4 Hz civarında olduğu zaman (R) konfigürasyonun söz konusu olduğu ve H-3'ün yönlenmesinin β ve çok daha küçük etkileşme katsayısı söz konusu olduğunda ise zıt konfigürasyonun mevcut olduğu ve H-3'ün yönlenmesinin α olduğu rapor edilmiştir (61). GN-8 kodlu bileşimizin ^1H NMR spektrumunda H-2 ve H-3 arasındaki etkileşme katsayısının 1.3 Hz olduğu gözönüne alındığında, H-3 hidrojeninin yönlenmesinin tazettine'de olduğu gibi α olması gerekir.

Buna ilaveten, kütle spektrometrisi C-3'te metoksil süstitüenti taşıyan epimerik alkaloitleri birbirinden ayırt etmede önemli bir unsur teşkil etmektedir. **Amaryllidaceae** alkaloitleri üzerinde yapılan bazı kütle spektrometrisi çalışmalarında yalnızca bazı asimetric merkezlerde farklı olan epimerik stereoizomerlerin farklı yollarla izleyerek parçalandığı ve bu hususun da epimerleri ayırt edebilmede yarar sağladığı belirtilmiştir (44). Bu durum, C-3 konumunda epimerik olan tazettine ve criwelline için de söz konusudur.

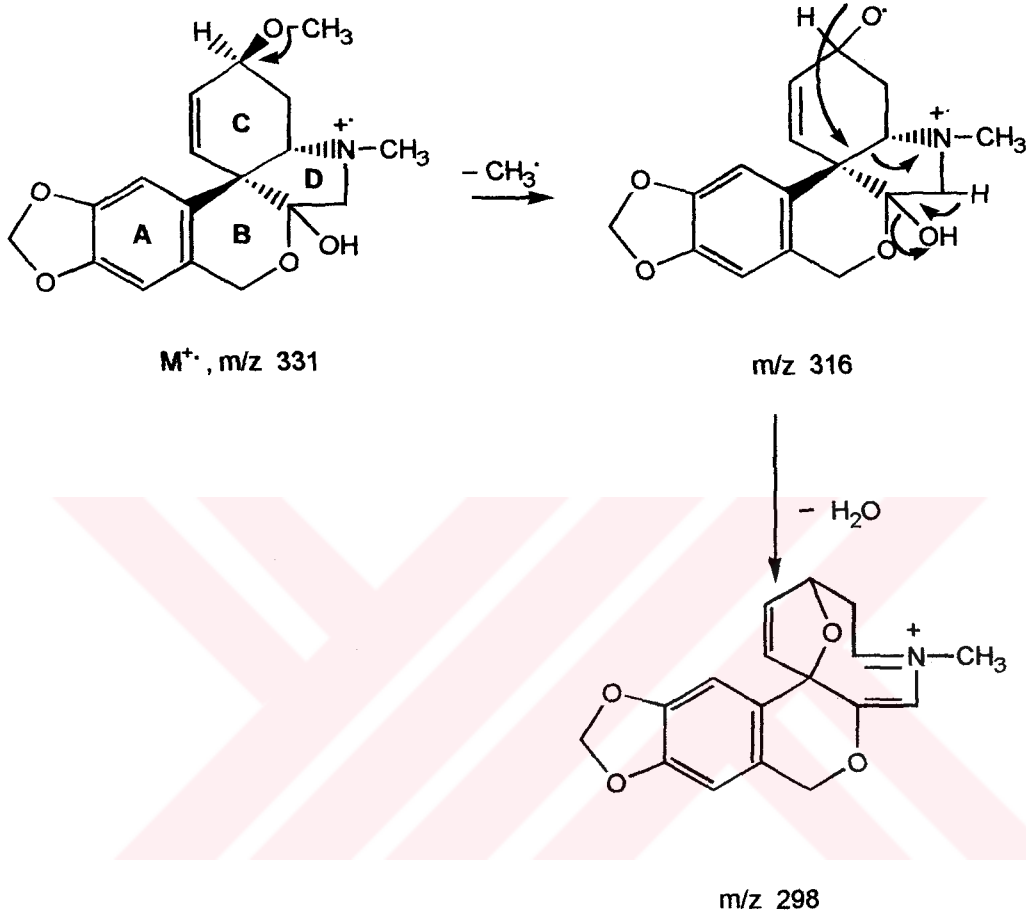
Tazettine'in EI kütle spektrumunda baz tepe m/z 247'de $[M-84]^+$ görülmektedir. Bu iyon büyük bir olasılıkla bir hidrojen transferini takiben C halkasının retro-Diels-Alder mekanizması ile parçalanması sonucunda oluşmaktadır (Şema 2) (44). Criwelline'in EI kütle spektrumunda m/z 247 iyonunun bağıl bolluğunun düşük, tazettine'in EI kütle spektrumunda hiç görülmeyen m/z 301 $[M-30]^+$ iyonunun bağıl bolluğunun ise çok yüksek olduğu saptanmıştır (44). Bu durumda, GN-8 bileşiğinin C-3 konumunda β olarak yönelmiş metoksil grubu taşıyan tazettine olduğu, EI kütle spektrumu ile de doğrulanmaktadır.



Şema 2

Bunun dışında tazettine'in EI kütle spektrumunda görülen bazı önemli iyonlar, bir metil radikalinin atılmasıyla oluşan m/z 316 ve bu iyondan su atılmasıyla

oluşan m/z 298'dir. Bu iyonların muhtemel oluşumları (Şema 3) da gösterilmektedir (44).



Şema 3

Tazettine için önerilen parçalanma şeması ve belirtilen iyon değerleri, bu bileşiğin EI kütle spektrumundan elde edilen değerlerle uyum içerisindedir (44, 50, 109).

Bileşiğin UV spektral bulgularının da, (+)-tazettine'in literatürde gösterilen değerleriyle uyum içerisinde olduğu görülmüştür (160).

H. GN-9 [5,6-DIHYDROBICOLORINE]

Farklı ana ve alt fraksiyonlardan elde edilip, A-2, A-4, C-1 ve G-1 kodları ile tanımlanan bileşiklerin yapılan İ.T.K. çalışmaları sonucunda, identik oldukları tespit edilmiştir. Bu fraksiyonların birleştirilmesiyle toplam 103.2 mg ağırlığında elde edilen, amorf ve Dragendorff belirtecine olumlu yanıt veren bileşiğe GN-9 kodu verilmiştir.

Optikçe inaktif olan bu bileşiğin 300 MHz NMR spektrometresinde ve dötörökloroform içinde alınan ^1H NMR spektrumunda aromatik sahada singlet olarak görülen ve birbirlerine göre para konumda oldukları düşünülen 2 aromatik hidrojene (δ 7.46 ve 6.89) ve iki hidrojen değerinde singlet olarak izlenen bir metilendioksi grubuna (δ 6.21) ait sinyaller izlenmektedir. Bunun dışında, aromatik sahada δ 7.51, 7.21, 7.04 ve 6.97'de birer hidrojen değerinde 4 sinyal izlenmektedir. δ 7.21 ve 6.97'deki protonlar dublet-dublet şeklinde, δ 7.51 ve 7.04'teki protonlar ise triplet-dublet şeklinde bölünürler. Bu dört protona ait bölünmeler ve J değerleri, bu sinyallerin 1,2-disüstitüe benzen halkasının hidrojenlerine ait olduğunu düşündürmektedir. Alifatik alanda, δ 2.95'te görülen 3 hidrojen değerindeki singlet, molekülde N-metil grubunun varlığına işaret etmektedir. İlaveten yine alifatik alanda oldukça aşağı alana kaymış (δ 4.48 ve 4.41) olarak izlenen iki dubletin (J 12.0 Hz) izole bir metilen grubuna ait olduğu düşünülmüştür. Gerek kimyasal kayma ve gerekse J değerleri, bu sinyallerin azot gibi bir heteroatoma α -konumda olan izole benzilik metilen protonlarına ait olduğunu düşündürmektedir. Özetle, bileşiğin 300 MHz ^1H NMR spektrumunda toplam 13 protonun sinyali izlenmektedir.

Bilinen **Amaryllidaceae** alkaloidlerinin genel yapıları gözönüne alındığında ^1H NMR spektrumunun değerlendirilmesiyle elde edilen bu bulgular, GN-9 kodlu bileşiğin phenanthridine grubundan olabileceğini düşündürmektedir.

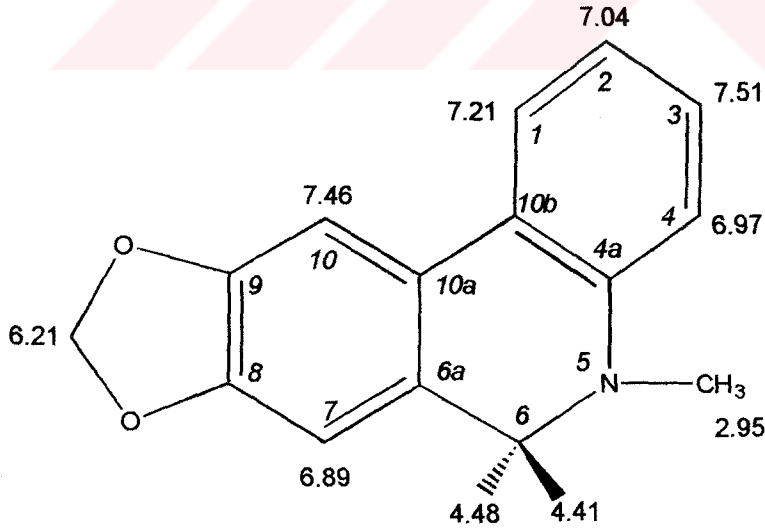
Bileşiminin ^{13}C NMR (75 MHz) spektrumunda 15 karbona ait sinyaller izlenmektedir. DEPT spektrumuna göre bu sinyallerden 6 tanesinin katerner, 6 tanesinin metin, 2 tanesinin metilen ve birinin ise metil karbonlarına ait olduğu görülmüştür. Bu sinyallerden en dikkate değer olanı, δ 63.6'da rezonans yapan karbondur. Bu karbonun kimyasal kayma değeri, azot gibi bir heteroatoma α -konumda olan bir benzilik metilen karbonu için uygundur. Bunun dışında, δ 101.2'de görülen sinyal, molekülde metilendioksi grubunun, 30.8'de izlenen sinyal ise N-metil grubunun varlığını doğrulamaktadır. δ 147.5 ve 147.4'te rezonans yapan katerner karbonların kimyasal kayma değerleri, metilendioksi grubunun aromatik halkaya bağlanma yöresindeki katerner karbonlar için uygundur. δ 146.5'te izlenen sinyal ise diğer ikisine göre nispeten daha yukarı alanda olduğu için azot atomuna α -konumda bulunan bir katerner karbonun (C-4a) varlığına işaret etmektedir.

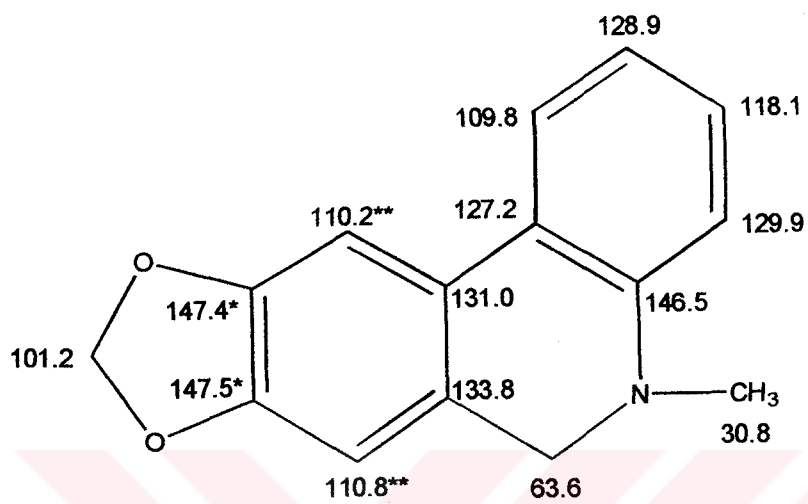
Molekülde bir metilendioksi grubu olduğundan dolayı en az iki oksijenin varlığı bilinmektedir. ID NMR deneylerinden sağlanan bu bulgular, molekülün $\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{NO}_2$ kapalı formülüne sahip olabileceğini ortaya koymuştur. Bileşiğin gerek EI kütle spektrumu incelendiğinde m/z 239'da görülen moleküler iyon piki ve gerekse ESI kütle spektrumunda m/z 240'da görülen $[\text{M}+\text{H}^+]$ piki bu düşüncüyü doğrulamaktadır.

ID NMR deneylerinden sağlanan bilgiler ve yapılan literatür araştırmaları, GN-9 kodlu bileşiğin 5,6-dihydrobicolorine adlı alkaloid olabileceğini

düşündürmüştür. Bileşiğin IR, EI kütle ve 1D NMR bulguları, literatürdeki değerlerle karşılaştırılmış ve uyum içerisinde oldukları görülmüştür. Bileşikteki karbon ve hidrojenlerin kimyasal kayma değerleri, literatürden yararlanarak yerleştirilmiştir. Ancak C-8 ve C-9 ile C-7 ve C-10'un kimyasal kayma değerleri kendi aralarında değişebilir (35, 155).

Sonuç olarak GN-9 kodlu bileşiğin, **Amaryllidaceae** familyasının *Galanthus* generu dışındaki muhtelif türlerinde daha önceden varlığı saptanmış (67), phenanthridine alt grubuna ait bir alkaloid olan 5,6-dihydrobicolorine olduğu kesinlik kazanmıştır. Aşağıda ve 258. sayfada açık kimyasal formülü verilen 5,6-dihydrobicolorine'in *Galanthus* generusundaki varlığı ise ilk kez tarafımızdan bu çalışmada rapor edilmektedir.





I. GN-10 [(+)-3-O-(3-HYDROXYBUTYRIL)TAZETTINOL]

G kodlu ana fraksiyondan amorf halde elde edilen 10.7 mg ağırlığındaki ve Dragendorff belirtecine olumlu yanıt veren bileşiğe, GN-10 kodu verilmiştir.

Bileşiğin 500 MHz NMR spektrometresinde ve dötörokloroform içinde alınan ^1H NMR spektrumunda aromatik sahada singlet olarak görülen 2 aromatik hidrojene (δ 6.82 ve 6.52), bölünmeleri sırasıyla 10.8 ve 10.4 Hz olan 2 olefinik protona (δ 5.98 ve 5.73) ve iki hidrojen değerinde singlet olarak görülen bir metilendioksi grubuna (δ 5.93) ait sinyaller izlenmektedir. δ 5.73'te iki proton değerinde sinyal görülmesi, olefinik protonun yanısıra kimyasal kayma değeri oldukça aşağı alana kaymış bir metin protonunun varlığını düşündürmektedir. Alifatik alanda ise δ 2.47'de görülen üç proton değerindeki singlet, N-metil grubunun varlığına işaret etmektedir. Alifatik alanda biri diğerine göre daha aşağı alana kaymış olan ve iki çift izole metilen grubuna ait olduğu düşünülen sinyaller dikkat çekmektedir. Bu metilen gruplarından birisi δ 4.99 ve 4.65'te görülen ve etkileşme katsayıları 14.8 Hz olan iki dublet şeklindedir. Kimyasal kayma ve J değerleri, bu protonların oksijene komşu izole benzilik metilen grubuna ait olduğunu düşündürmektedir. Diğer izole metilen grubunun sinyalleri ise daha yukarı alanda δ 3.40 ve 2.77'de, etkileşme katsayıları 10.8 Hz olan iki dublet şeklinde görülmektedir. Kimyasal kayma değerleri, bu protonların da bir heteroatoma α -konumda olduğunu düşündürmektedir. δ 1.25'te ise 3 hidrojen değerinde ve bir metil grubunun varlığına işaret eden sinyal gözlenmektedir. Alifatik sahada ayrıca δ 4.24, 2.96, 2.57, 2.48, 2.31 ve 1.75'te 6 protona ait sinyal izlenmektedir. Bu sinyallerden, diğerlerine göre oldukça aşağı alanda görülen rezonans (δ 4.24), oksijen gibi bir

heteroatoma α -konumda bulunan bir proton için uygundur. δ 2.57 ve 2.48'deki protonların her ikisinin de en büyük etkileşme katsayılarının 16.5 Hz olduğu dikkate alındığında, bunların bir metilen grubuna ait olabileceği düşünülebilir.

Bilinen **Amaryllidaceae** alkaloitlerinin genel yapıları gözönüne alındığında ^1H NMR spektrumundan sağlanan bilgilerle varlıkları saptanan grupların nitelikleri ve sayıları GN-10 kodlu bileşiğin tazettine alt grubundan olabileceğini düşündürmektedir.

^{13}C NMR (125 MHz) spektrumunun değerlendirilmesi neticesinde 21 adet karbonun varlığı görülmüştür. DEPT analizi bu karbonlardan 7 tanesinin katerner, 7 tanesinin metin, 5 tanesinin metilen ve ikisinin ise metil karbonları olduğunu ortaya koymuştur. Bunların içinde en ilgi çekici olan, δ 172.6'da izlenen ve kimyasal kayma değeri bir karbonil grubunun varlığına işaret eden sinyaldir. IR spektrumunda 1715 cm^{-1} 'de şiddetli bir absorpsiyon görülmesi de bir karbonil grubunun varlığını doğrulamaktadır. Bunun dışında, ^{13}C NMR spektrumunda ilgi çekici ve bilgi veren sinyaller, δ 101.6 ve 49.6'da rezonans yapan katerner karbonlara ve 22.4'te rezonans yapan metil karbonuna ait olanlardır. δ 49.6'da rezonans yapan katerner karbonun kimyasal kayma değeri, tazettine alt grubuna ait bileşiklerde bulunan spiro karbon için uygun bir bulgudur. δ 101.6'da görülen katerner karbonun ise oldukça aşağı alanda izlenen kimyasal kayma değeri üzerinde iki oksijen taşıyan bir karbonun varlığına işaret etmektedir.

1D NMR analizlerinden sağlanan bulgular GN-10 kodlu bileşiğin tazettine alt grubundan olabileceğini, ancak bazı yapısal farklılıklar taşıdığını göstermiştir. Bileşiğin yapısının kesinlikle ortaya konulabilmesi için daha ileri analizlerin

yapılmasına gerek görülmüştür. Bu nedenle, bileşiğin 500 MHz NMR spektrometresinde ayrıntılı 2D NMR analizleri gerçekleştirilmiştir.

^1H , ^1H DQF-COSY, TOCSY, HSQC ve HMBC deneylerinden elde edilen bulgulardan yararlanarak, ana iskeletin oluşturulmasına metilendioksi süstitüentinin bulunduğu A halkasından başlanmıştır. HMBC deneyinde, metilendioksi protonlarının (δ 5.93) 3 bağ aracılığıyla δ 146.6'da rezonans yapan karbonlarla etkileştiği görülmüştür. Aromatik sahada δ 6.82 ve 6.52'de görülen singletlerin C-10 ve C-11 (δ 146.6) ile 2 veya 3 bağ aracılığıyla etkileşmesi nedeniyle metilendioksi grubuyla bu iki protonun aynı halkada yer aldıkları saptanmıştır. δ 6.52 (H-9)'deki proton, δ 126.9'daki katerner karbonla 3 bağ aracılığıyla korelasyon yapmaktadır. δ 6.82 (H-12)'deki protonun ise δ 126.9'daki katerner karbon ile 2, δ 125.7'deki katerner karbon ile 3 bağ aracılığıyla yapmış olduğu korelasyonlar izlenmektedir. Buna göre, δ 125.7 (C-8a) ve 126.9 (C-12a)'da rezonans yapan karbonlar, A halkasının katerner karbonları olmalıdırlar.

δ 6.52 (H-9)'de görülen proton, en fazla bilgi verici korelasyonunu 3 bağ aracılığıyla A halkası dışında yer alan ve δ 62.0 (C-8)'da rezonans yapan karbon ile yapmaktadır. HSQC deneyi ile izole geminal hidrojenlerin (δ 4.99 ve 4.65), bu karbon üzerinde bulunduğu belirlenmiştir. Bu protonların her ikisi de 3 bağ aracılığıyla δ 101.6 (C-6a)'daki katerner karbonla etkileşmektedir. δ 6.82 (H-12)'de rezonans yapan proton ise en fazla bilgi verici korelasyonunu, A halkası dışında yer alan ve δ 49.6 (C-12b)'da izlenen katerner karbonla yapar. Buraya kadar elde edilen bilgilerden, A halkasına spiro karbon (δ 49.6) ve izole geminal hidrojenler (δ 4.99 ve

4.65) ile muhtemelen iki oksijen taşıyan bir katerner karbonun (δ 101.6) bulunduğu B halkasının bağlı olduğu görülmüştür.

^1H , ^1H DQF-COSY spektrumunda δ 5.98 (H-2)'deki olefinik dublet, δ 5.73'te rezonans yapan protonla etkileşmektedir. ^1H NMR'da bu kimyasal kayma değerinde 2 protonun mevcut olduğu ve bunlardan birinin olefinik olduğu daha önce belirlenmişti. HSQC deneyinde H-1 (δ 5.73)'in δ 130.1'deki karbon üzerinde yer aldığı tespit edilmiştir. Bu proton HMBC deneyinde 3 bağ aracılığıyla δ 68.2 (C-3)'de izlenen karbonla korelasyon yapmaktadır. HSQC deneyinde bu karbon üzerinde δ 5.73'te rezonans yapan protonun bulunduğu belirlenmiştir. O halde δ 5.73'teki ikinci proton C-3 (δ 68.2) üzerindedir. δ 5.98 (H-2)'deki proton ise 3 bağ aracılığıyla δ 25.9 (C-4)'daki karbonla etkileşmektedir. HSQC deneyinde bu karbon üzerinde buldukları saptanan δ 2.31 ve 1.75 (H-4)'teki hidrojenlerin ^1H , ^1H DQF-COSY ve NOESY deneylerinde δ 5.73'teki hidrojenle etkileşmeleri bu protonun C-3 (δ 68.2) üzerinde yer aldığını doğrulamaktadır. Buna ilaveten, ^1H , ^1H DQF-COSY ve NOESY deneylerinde H-4 (δ 2.31 ve 1.75) protonlarının δ 2.96 (H-4a)'da rezonans yapan proton ile etkileştikleri gözlenmiştir.

TOCSY deneyinde de yukarıda bahsedilen bütün protonların (H-1, H-2, H-3, H-4 ve H-4a) arasındaki korelasyonlar tespit edilmiş ve bunların muhtemel bir tazettine yapısının C halkasındaki dizilişleri doğrulanmıştır.

HMBC deneyinde N-metil protonları (δ 2.47), 3 bağ aracılığıyla δ 69.8 (C-4a) ve 65.2 (C-6)'deki karbonlarla korelasyon yapmaktadır. ^1H , ^1H DQF-COSY deneyinde etkileşen ve ayrıca HSQC deneyinde δ 65.2 (C-6)'deki karbon üzerinde buldukları tespit edilen δ 3.40 ve 2.77 (H-6)'deki protonların, azot atomuna α -

konumda olan izole metilen grubuna ait oldukları görülmüştür. HMBC deneyinde bu geminal protonlar, 2 bağ aracılığıyla δ 101.6 (C-6a)'daki katerner karbonla korelasyon yapmaktadır. Bu durumda muhtemel bir tazettine yapısının D halkasında yer alan protonların ve karbonların dizilişleri tespit edilmiştir.

HMBC spektrumunda δ 49.6 (C-12b)'daki karbonun δ 5.98 (H-2), 2.77 (H-6) ve 2.31 (H-4)'deki protonlarla 3 bağ, 5.73 (H-1)'teki proton ile de 2 bağ aracılığıyla olan korelasyonları izlenmektedir. Bu durumda δ 49.6'da rezonans yapan C-12b'nin, C ve D halkalarının hidrojenleri ile beklenen ve bilgi verici korelasyonları saptanmıştır.

Buraya kadar elde edilen bilgilerden yararlanarak, C-3'te metoksil grubu hariç tazettine molekül yapısına sahip bir bileşik oluşturulabilmiştir. Ancak ^1H ve ^{13}C NMR spektrumlarında varlıkları tespit edilmiş olan 4 alifatik hidrojen (δ 4.24, 2.57, 2.48 ve 1.25) ve bir karbonil grubunun (δ 172.6) bu ana iskelete ne şekilde bağlandığını tespit etmek gereklidir.

^1H , ^1H DQF-COSY deneyinde etkileşen ve HSQC deneyinde geminal oldukları doğrulanan protonlarla (δ 2.57 ve 2.48), δ 4.24'te rezonans yapan protonun etkileştikleri gözlenmiştir. Bu protonun kimyasal kayma değerinin oldukça aşağı alana kaymış olması, aynı karbon üzerinde bir hidroksil grubunun varlığına işaret etmektedir. ^1H , ^1H DQF-COSY deneyinde δ 4.24'teki proton ayrıca δ 1.25'te rezonans yapan metil protonları ile de etkileşmektedir. Buna ilaveten, yukarıda bahsedilen 4 protonun (δ 4.24, 2.57, 2.48 ve 1.25) TOCSY ve NOESY deneyinde birbirleriyle olan korelasyonları görülmektedir. HMBC deneyinde δ 172.6'daki karbonla δ 4.24'teki protonun 3, δ 2.57 ve 2.48'deki protonların ise 2 bağ aracılığıyla

yaptıkları korelasyonlar izlenmektedir. Bu durum, molekülde ana iskelet yapıya bağlı 3-hidroksi bütirik asit esteri olduğunu düşündürmektedir.

Tazettine ana halka yapısını düşündüğümüzde bu esterin yapıya C-3 veya C-6a'dan bağlanabileceği ortaya çıkmaktadır. Bu aşamada, HMBC ve NOESY deneylerinden sağlanan bulgular bilgi verici düzeyde olmadığı için ester yapısının moleküle nasıl bağlandığı literatüre dayandırılarak tespit edilmiştir. Hidroksil grubunun açilasyonunun, sekonder alkolün α hidrojeninin kimyasal kayma değerini yaklaşık 1-1.2 ppm aşağı alana kaydıracağı bilinmektedir (130). Tazettine ana halka yapısına sahip bileşiklerde 3 konumundaki hidrojenin kimyasal kayma değerinin yaklaşık 4 ppm civarında olduğu gözönüne alındığında GN-10 kodlu bileşikteki H-3'ün kimyasal kayma değeri (δ 5.73) ester grubunun C-3'te olması gerektiğini ortaya koymaktadır.

EI kütle spektrumunda, m/z 403'te bağlı bolluğu yüksek (% 90) moleküler iyon piki, kolaylıkla gözlenmektedir. Molekülden ester grubunun ayrılmasıyla meydana gelen $[M-87]^+$ iyonuna karşılık gelen baz tepe ise m/z 316'da izlenmektedir. GN-10 kodlu bileşik için önerilen $C_{21}H_{25}NO_7$ kapalı formülü için hesaplanan molekül ağırlığı, ESI kütle spektrumunda m/z 404'te $[M+H]^+$ pikinin görülmesiyle de doğrulanmaktadır.

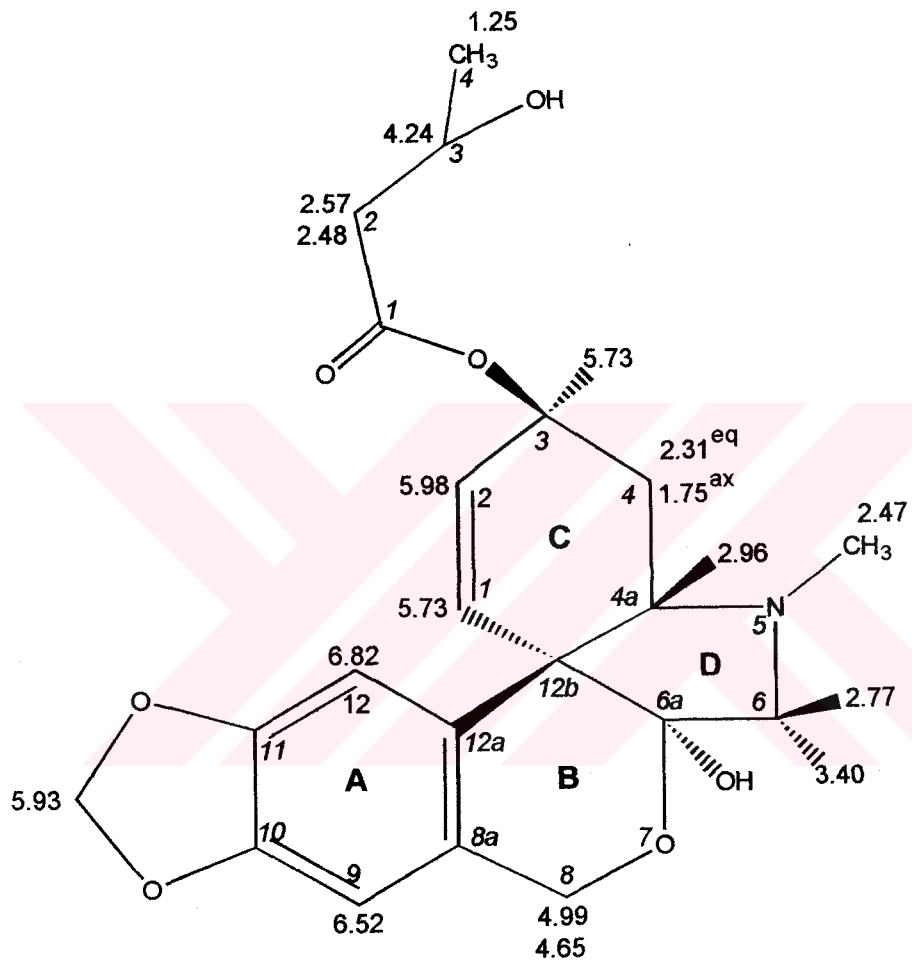
GN-10 kodlu bileşimizin 3 konumundaki konfigürasyonun tayini H-2 ve H-3 için gözlenen etkileşme katsayılarının büyüklüğüne dayandırılmıştır. $J_{2,3}$ yaklaşık 4 Hz civarında olduğu zaman bileşiğin 3 konumunda (R) konfigürasyonuna sahip olduğu ve H-3 hidrojeninin β , çok daha küçük etkileşme katsayısı söz konusu olduğunda ise zıt konfigürasyonun mevcut olduğu, H-3'ün ise α olarak yönlendiği

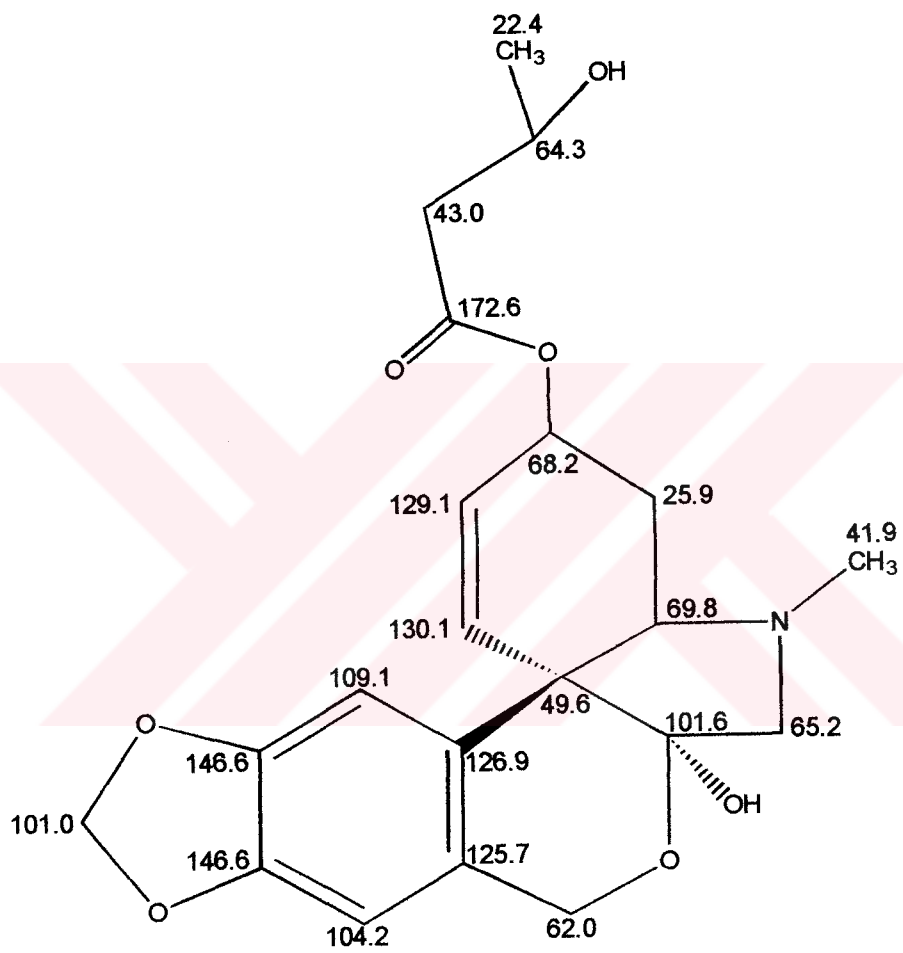
bildirilmektedir (61). Bileşiminin ^1H NMR spektrumunda 10.8 ve 0.8 Hz değerinde etkileşme değerleri olan dublet-dublet şeklinde izlenen δ 5.98 (H-2)'deki hidrojenin, 0.8 Hz değerindeki etkileşmeyi H-3 (δ 5.73) ile gerçekleştirdiği düşünülmüştür. Buna göre, H-3 α oriyantasyonda olmalıdır. Bu, C-3'teki konfigürasyonun, (+)-tazettine'de olduğu gibi (103) (S) olduğuna işaret etmektedir.

GN-10 bileşiminin CD spektrumu stereokimyasal yapısı tespit edilmiş (+)-tazettine'inki ile benzer (160) olduğu için C-12b'nin (S) konfigürasyona sahip olduğu düşünülmüştür.

NOESY spektrumundan elde edilen bulguların moleküler model üzerinde değerlendirilmesi neticesinde H-12 (δ 6.82), H-4a (δ 2.96) ve H-4 (δ 1.75) arasında etkileşmelerin gözlenmesi C halkası sandalyeye benzer konformasyonda olduğu zaman mümkündür. H-12 (δ 6.82) ile belirgin korelasyon gösteren H-4 (δ 1.75), aksiyal olarak yönelmektedir. H-12 (δ 6.82)'nin, H-4a (δ 2.96) ile etkileşmesi, H-4a'nın β olarak yönlendiğine işaret etmektedir. N-metil grubunun H-4a (δ 2.96), H-4eq (δ 2.31) ile etkileşmesi, bu grubun konformasyonu hakkında bilgi vermektedir. N-metil grubu ve δ 2.77 (H-6)'deki hidrojenin arasındaki belirgin etkileşmeler bu protonun β olarak yönlendiği durumda söz konusudur. Buna göre, δ 3.40 (H-6)'ta rezonans yapan proton ise α olarak yönelmiştir.

Bütün bu verilerin ışığında, GN-10 kodlu bileşimin, 3 konumunda 3-hidroksibütirik asit esteri taşıyan tazettinol olduğu tespit edilmiştir. Doğa için yeni bir madde olduğu saptanan, 266. ve 267. sayfalarda açık kimyasal formülü gösterilen bileşik, 3-O-(3-hydroxybutyryl)tazettinol olarak adlandırılmıştır.





J. GN-11 [(+)-9-O-DEMETHYLHOMOLYCORINE]

G kodlu ana fraksiyondan amorf halde elde edilen 103.4 mg ağırlığındaki ve Dragendorff belirtecine olumlu yanıt veren bileşiğe GN-11 kodu verilmiştir.

Bileşiğin 300 MHz NMR spektrometresinde ve dötörometanol içinde alınan ^1H NMR spektrumunda toplam 17 protona ait sinyal görülmektedir. Aromatik sahada singlet olarak izlenen 2 aromatik protona (δ 7.41 ve 7.10) ve küçük etkileşmesi olan singlet şeklinde görülen 1 olefinik protona (δ 5.60) ait sinyaller izlenmektedir. δ 7.41'deki aromatik protonun kimyasal kayma değeri bu hidrojenin yakınında bulunan ve kimyasal kayma değerinin aşağı alana kaymasına neden olan bir gruptan etkilendiğini düşündürmektedir. Alifatik alanda ise δ 3.96'da ve 2.10'da görülen 3'er proton değerinde 2 singlete ait sinyaller sırasıyla aromatik karakterli bir metoksil grubu ve N-metil grubunun varlığına işaret etmektedir. Bunun dışında, alifatik alanda δ 3.23'te multipler olarak görülen bir proton, δ 2.82-2.76 civarında multipler olarak izlenen 3 proton, δ 2.65-2.53 civarında multipler olarak izlenen 3 proton ve δ 2.47-2.41 civarında yine multipler olarak görülen bir proton değerinde 8 protona ait sinyal izlenmektedir. δ 3.23'teki protonun kimyasal kayma değerinin diğer alifatik protonlara göre nispeten aşağı alanda olması onun azot gibi bir heteroatoma α -konumda olabileceğini düşündürmektedir.

Bileşiğin ^{13}C NMR (75 MHz) spektrumu değerlendirildiğinde toplam 17 karbona ait sinyal izlenmektedir. DEPT analizi bunlardan 6 tanesinin katerner, 6 tanesinin metin, 3 tanesinin metilen ve ikisinin ise metil karbonları olduğunu göstermiştir. Bu aşamada, ^1H NMR ve ^{13}C NMR deneylerinden sağlanan bilgiler karşılaştırıldığında ^1H NMR'da 17 protona ait sinyal izlendiği halde ^{13}C NMR'da 18

protonun varlığı tespit edilmiştir. Buna göre, ^1H NMR spektrumunda yaklaşık δ 4.82'de bir protona ait sinyalin şiddetli çözücü sinyali altında kalmış olabileceği düşünülebilir. Bu protonun kimyasal kayma değeri, oksijen gibi bir heteroatoma α -konumda olan bir metin protonu için uygun bir bulgudur.

^{13}C NMR spektrumunda δ 167.7'de izlenen katerner karbona ait sinyal ve kimyasal kayma değeri, molekülde bir lakton karbonilinin varlığına işaret etmektedir. Ayrıca IR spektrumunda 1710 cm^{-1} 'de görülen şiddetli absorpsiyon, bu lakton grubunun varlığını doğrulamaktadır. δ 56.7'de görülen sinyal metoksil grubunun varlığını ortaya koymaktadır. δ 43.5 ve 43.3'te izlenen iki sinyalden ilkinin bir metin, ikincisinin ise metil grubu olduğu DEPT 90 spektrumu ile belirlenmiştir. δ 43.3'teki sinyal N-metil grubunun varlığını doğrulamaktadır. δ 153.8 ve 148.0'daki katerner karbonların kimyasal kayma değerleri, bu karbonların oksijene komşu olduklarına işaret etmektedir. Molekülde bir aromatik metoksilin olduğu gözönüne alındığında ve IR spektrumunda 3420 cm^{-1} 'de geniş absorpsiyon sinyali görülmesi nedeniyle ikinci oksijenli süstitüsyonun bir hidroksil grubu olduğu ortaya çıkmaktadır. Molekülde fenolik bir hidroksil grubunun varlığı, UV spektrumunda % 1'lik sodyum hidroksit ilavesi sonucunda görülen batokromik kayma ile doğrulanmıştır. Bunun dışında, δ 140.2'deki katerner karbonun kimyasal kayma değeri, bu karbonun olefinik karakterli olduğunu düşündürmektedir. Alifatik alanda, δ 79.0'da izlenen metin karbonuna ait sinyal, bu karbonun oksijene komşu olduğuna işaret etmektedir. δ 68.2'deki karbonun kimyasal kayma değeri ise bu karbonun bir heteroatoma α -konumda olabileceğini düşündürmektedir. Bunun dışında, alifatik alanda 3 metilen karbonuna ait sinyaller (δ 57.1, 32.0 ve 28.4) izlenmektedir. δ 57.1'de rezonans

yapan karbonun kimyasal kayma değerinin diğer ikisine göre aşağı alanda olması onun azot gibi bir heteroatoma α -konumda olduğuna işaret etmektedir.

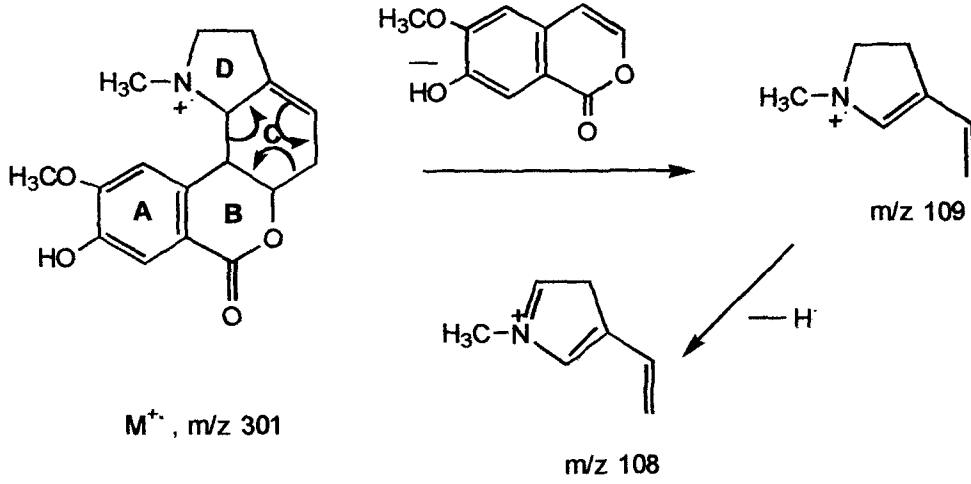
Bilinen **Amaryllidaceae** alkaloitlerinin genel yapıları gözönüne alındığında 1D NMR deneylerinden sağlanan bilgiler, GN-11 kodlu bileşiğin lycorenine alt grubundan homolycorine serisi alkaloitlerden olabileceğini düşündürmektedir.

Molekülde bir aromatik metoksil, bir hidroksil ve bir lakton grubu olduğu bilindiğinden en az 4 oksijenin olması gerekir. Buna göre, 1D NMR deneylerinden elde edilen bilgiler molekülün kapalı formülünün $C_{17}H_{19}NO_4$ olabileceğini ortaya koymuştur. Bu aşamada ele alınan ESI kütle spektrumunda m/z 302'de görülen $[M+H^+]$ piki de bu kimyasal formülü doğrulamaktadır.

Yapılan literatür araştırmaları GN-11 kodlu bileşiğin O-demethylhomolycorine olabileceğini ortaya koymuştur. Bileşiğin EI kütle spektrumu incelendiğinde moleküler iyon pikinin (m/z 301) bağıl bolluğunun gök düşük olduğu grlmŐtur. Bunun yanısıra, m/z 109'da baz tepe olarak görülen pargılanma iyonuna ait sinyalin mevcut olması homolycorine serisi **Amaryllidaceae** alkaloitlerinde C halkasının retro-Diels-Alder pargılanmasının bir özelliğidir. Bu iyon daha sonra 1 hidrojen kaybederek m/z 108 (% 18) pikini vermektedir (**Şema 4**) (*68, 125*).

Kütle spektrumundan elde edilen bilgiler alkaloidin 9-O-demethyl (*3, 14, 46, 73, 79, 84, 91, 92, 113, 134, 138, 140, 148, 160*) veya 10-O-demethylhomolycorine (*13*) olduğuna dair kesin bilgi sağlamamaktadır. Literatürde 9-O-demethylhomolycorine bileşiğinin farklı Şekilde numaralandırıldığı saptanmıştır. Bazı kaynaklarda farklı bir sisteme göre numaralandırılan bu bileşik 8-O-

demethylhomolycorine olarak (14), 10-O-demethylhomolycorine ise 9-O-demethylhomolycorine (13) olarak yer almaktadır.



Şema 4

Literatürde 9-O-demethylhomolycorine ve 10-O-demethylhomolycorine'in erime derecelerinden yararlanarak ayırt edilebileceği bildirilmektedir. P. W. Jeffs ve arkadaşları (73) erime derecesi 138-140 °C olan O-demethylhomolycorine'in 9-O-demethylhomolycorine ve S. Uyeo ile N. Yanaihara (148) tarafından rapor edilen 213-214 °C erime derecesine sahip bileşiğin 10-O-demethylhomolycorine olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Diğer yandan M. P. V. Tato ve arkadaşları ise (140) elde ettikleri 128-130 °C erime derecesine sahip bileşiğin 9-O-demethylhomolycorine olduğunu ve S. Uyeo ile N. Yanaihara (148) tarafından izole edilen bileşiğin 213-214 °C erime derecesine sahip olmasının polimorfizmden kaynaklanabileceğini önermişlerdir. Bu durumu aydınlatmak için M. Kihara ve arkadaşları (79) elde ettikleri ve 127-130°C erime derecesine sahip bileşik ile S. Kobayashi ve arkadaşları (84) tarafından izole edilen 207-208°C'de eriyen O-

demethylhomolycorine bileşiğine NOESY deneyi uygulamışlardır. Her iki bileşikte de metoksil grubu ile H-11 arasında korelasyon gözleendiği halde H-8 ile korelasyon gözlenmediği bildirilmiştir. Dolayısıyla M. Kihara ve arkadaşları (79) bugüne kadar rapor edilen O-demethylhomolycorine'in 9-O-demethylhomolycorine olması gerektiği ve erime dereceleri arasında farklılıklar olmasının polimorfizme bağlı olduğu sonucuna varmışlardır.

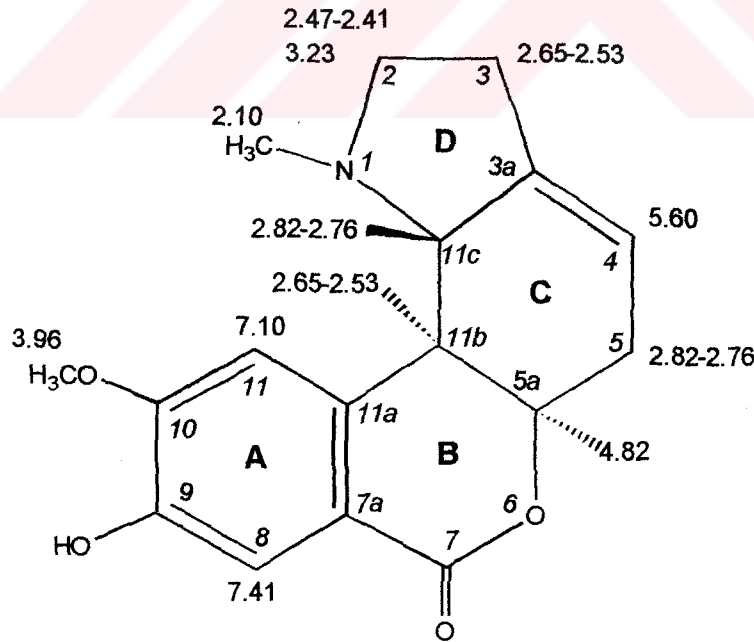
A. Latvala ve arkadaşları ise (91, 92) elde ettikleri farklı erime derecelerine sahip ve 9-O-demethylhomolycorine olduğunu saptadıkları bileşikler üzerinde X-ray analizi gerçekleştirmişlerdir. Erime derecelerinde gözlenen değişikliklerin kristallerde farklı çözücü moleküllerinin yer almasına ve farklı konformerlerin söz konusu olmasına bağlı olduğunu belirtmişlerdir.

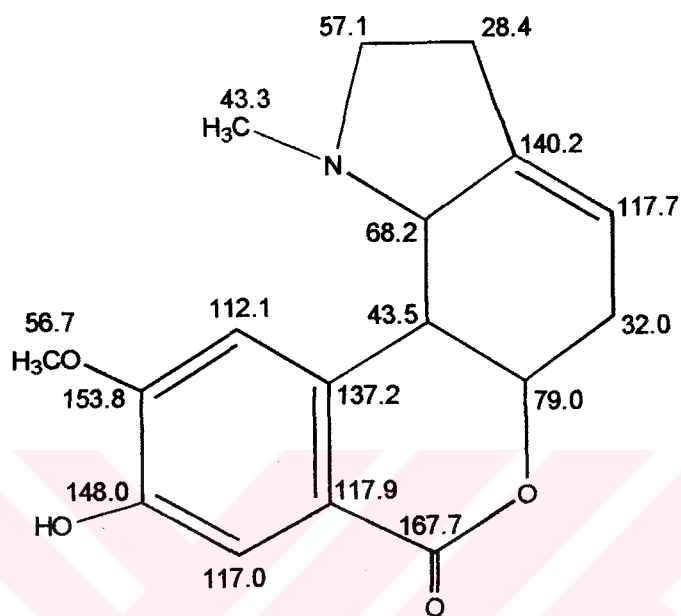
GN-11 kodlu bileşikteki metoksil süstitüentinin konumunu kesin olarak saptayabilmek için NOESY deneyi uygulanmıştır. 600 MHz NMR spektrometresinde dötörökloroform içinde alınan NOESY spektrumunda aromatik sahada izlenen birbirlerine göre para konumda olan iki aromatik protondan kimyasal kayma değeri daha yukarı alanda olan δ 7.10 (H-11) ile metoksil grubu (δ 3.96) arasında belirgin NOESY korelasyonu görülmüştür. δ 7.41 (H-8)'deki proton ile metoksil grubu arasında etkileşme gözlenmemiştir. Bu durumda metoksil grubu, 10 konumunda olmalıdır. Buna göre, GN-11 kodlu bileşiğin 9-O-demethylhomolycorine olduğu tespit edilmiştir. Bileşiğin karbon ve hidrojen kimyasal kayma değerleri, literatürden yararlanarak yerleştirilmiştir (46, 73, 79, 84, 92, 113, 138).

Bileşiğin UV ve IR spektrumlarından elde edilen bulgular bu bileşik için literatürde verilen değerlerle uyumludur (14, 73, 79, 92, 138, 148, 160).

Ayrıca bileşğin metanol içerisinde alınmış CD spektrumunun 9-O-demethylhomolycorine'in CD spektrumu ile benzer olduğu ve elde edilen bulguların literatürde verilen değerlerle uyum içerisinde olduğu görülmüştür. Buna göre, GN-11 kodlu bileşğin B ve C halkalarının cis olarak kaynaştığı da belirlenmiştir (73, 91, 92, 160).

Aşağıda ve 274. sayfada açık kimyasal formülü verilen ve *Galanthus plicatus* Bieb. subsp. *byzantinus* (Baker) D. A. Webb bitkisinden tarafımızdan ilk kez izole edilen bu bileşğin bazı *Galanthus* türlerindeki mevcudiyeti daha evvelce gösterilmiştir (67).





Sonuç olarak, bu araştırmada *Galanthus plicatus* Bieb. subsp. *byzantinus* (Baker) D. A. Webb bitkisinden izole edilerek yapıları aydınlatılan 11 adet **Amaryllidaceae** alkaloidinden 7 adedinin doğa için yeni olduklarının ilk defa bu çalışma ile rapor edildiği belirtilebilir. Bunlardan (+)-plicamine, (-)-secoplicamine ve (+)-plicane plicamine adını verdiğimiz, **Amaryllidaceae** alkaloitlerinin yeni bir alt grubunun ilk örneklerini oluşturmaktadırlar. Yine (+)-3-O-demethyl-3-epimacronine ile (+)-3-O-(3-hydroxybutyryl)tazettinol adlı bileşikler tazettine; N-formylismine ve bunun enantiomeri olan bileşik phenanthridine alt gruplarına dahil doğa için yeni bileşiklerdir. Bunların dışında (+)-tazettine, trisphaeridine, 5,6-dihydrobicolorine ve (+)-9-O-demethylhomolycorine adlı bileşikler ise bilinen **Amaryllidaceae** alkaloitleri olup, bunlardan 5,6-dihydrobicolorine'in *Galanthus* genusundaki mevcudiyeti ilk defa bu çalışma ile gösterilmiş olmaktadır. (+)-Tazettine hariç tezimizde yer alan bütün alkaloitler tür seviyesi için yenidir. Bu neticelerden bazıları bilimsel araştırma makalesi halinde yayınlanmış (149) veya yayına kabul edilmiş olup, yayınlanmak üzeredir (150). Elde edilen bu sonuçlar materyalin daha ayrıntılı araştırılmasına devam edilmesinin başka ilginç sonuçlar vereceğini ortaya koymaktadır ki bu konudaki araştırmalarımıza devam etmek arzusundayız.

ÖZET

Bu çalışmada, Türkiye’de yabancı olarak yetişen ve endemik bir *Galanthus* türü olan *Galanthus plicatus* Bieb. subsp. *byzantinus* (Baker) D. A. Webb bitkisinin topraküstü ve toprakaltı kısımları ayırt edilmeksizin bir bütün olarak ele alınarak alkaloid içeriği açısından incelenmiştir.

Daha önce oda sıcaklığında kurutulmuş ve toz edilmiş bitkisel materyal ilk olarak etanol ile ekstre edilmiş ve ekstraksiyon çözücüsünün uçurulmasıyla elde edilen artık sulu asitli faza alınıp, kalemilendirildikten sonra kloroformla tüketilerek bitkide mevcut total tersiyer bazlardan ibaret bir ekstre hazırlanmıştır.

Total tersiyer bazları içeren ekstrede mevcut alkaloidlerin saflaştırılmaları için sütun ve preparatif İ.T.K. yöntemleri ile gerektiğinde kristalizasyondan yararlanılmıştır. Saflaştırılan bileşiklerin yapıları modern spektroskopik yöntemler kullanılarak aydınlatılmıştır.

Bu çalışmaların sonucunda *Galanthus plicatus* Bieb. subsp. *byzantinus* (Baker) D. A. Webb bitkisinden plicamine alt grubuna ait (+)-plicamine, (-)-secoplicamine ve (+)-plicane; tazettine alt grubuna ait (+)-tazettine, (+)-3-O-demethyl-3-epimacronine ve (+)- 3-O-(3-hydroxybutyryl)tazettinol; phenanthridine alt grubuna dahil N-formylismine ile bunun enantiomeri, trisphaeridine ve 5,6-

dihydrobicolorine ile lycorenine alt grubuna ait (+)- 9-O-demethylhomolycorine adlı alkaloidler izole edilip, yapıları aydınlatılmıştır.

Bunlardan, tazettine hariç bütün alkaloidler tür için, 5,6-dihydrobicolorine genus için, (+)-plicamine, (-)-secoplicamine, (+)-plicane, (+)-3-O-demethyl-3-epimacronine, (+)-3-O-(3-hydroxybutyryl)tazettinol, N-formylismine ile bunun enantiomeri doğa için yeni **Amaryllidaceae** alkaloidleri olup, ilk defa bu çalışma ile rapor edilmiştir. Doğa için yeni olan bu alkaloidlerden (+)-plicamine, (-)-secoplicamine ve (+)-plicane tarafımızdan plicamine olarak adlandırılan **Amaryllidaceae** için yeni bir alt grubun ilk örnekleridir.

SUMMARY

In this study, the combined aerial and underground parts of *Galanthus plicatus* Bieb. subsp. *byzantinus* (Baker) D. A. Webb, a wild growing and an endemic plant of Turkey, have been thoroughly investigated for its alkaloidal content.

The material, initially dried at room temperature and powdered, was first extracted with ethanol. The residue obtained after the evaporation of the extraction solvent was dissolved in acid and filtered. This acidic solution was basified and then it was extracted with chloroform. An extract of total tertiary bases found in the plant was obtained.

Column and preparative thin layer chromatography methods and also crystallization were utilized for the purification of the alkaloids present in the total extract of tertiary bases. The structures of the pure compounds were elucidated by using modern spectroscopic methods.

As a result of these studies, (+)-plicamine, (-)-secoplicamine and (+)-plicane from the plicamines subgroup; (+)-tazettine, (+)-3-O-demethyl-3-epimacronine and (+)-3-O-(3-hydroxybutyryl)tazettinol from the tazettine subgroup; trisphaeridine, 5,6-dihydrobicolorine, N-formylismine and its enantiomer from the phenanthridine

subgroup and (+)-9-O-demethylhomolycorine from the lycorenine subgroup were isolated from *Galanthus plicatus* Bieb. subsp. *byzantinus* (Baker) D. A. Webb and their structures were elucidated.

From this plant, all of the alkaloids except (+)-tazettine and from the genus *Galanthus*, 5,6-dihydrobicolorine have been isolated for the first time, in this study. (+)-Plicamine, (-)-secoplicamine, (+)-plicane, (+)-3-O-demethyl-3-epimacronine, (+)-3-O-(3-hydroxybutyryl)tazettinol, N-formylisimine and its enantiomer are novel **Amaryllidaceae** alkaloids which are reported for the first time in this study. Of these novel alkaloids, (+)-plicamine, (-)-secoplicamine and (+)-plicane are the first examples of the novel subgroup of **Amaryllidaceae**, named as plicamine.

KAYNAKLAR

1. Abdalla, S., Abu Zarga, M., Sabri, S., "Alkaloids of *Sternbergia chusiani* and Effects of Lycorine on Guinea-pig Isolated Pulmonary Artery and Heart.", *Fitoterapia*, **64**, 6, (1993), 518-523.
2. Acartürk, R., "Şifalı Bitkiler Flora ve Sağlığımız", Ankara: Orman Genel Müdürlüğü Mensupları Yardımlaşma Vakfı, 2. Baskı, 1997, 48.
3. Ahmed, Z. F., Rizk, A. M. and Hamouda, F. M., "Phytochemical Studies on Egyptian *Pancreatum* Species", *Lloydia*, **27**, 2, (1964), 115-134.
4. Akıneri, G., Güneş, H. S., "*Galanthus plicatus* ssp. *byzantinus* As a New Source for Some Amaryllidaceae Alkaloids", *J. Fac. Pharm. Gazi*, **15**, 2, (1998), 99-106.
5. Ali, A. A., El Sayed, H. M., Abdallah, O. M. and Steglich, W., "Oxocrinine and Other Alkaloids from *Crinum americanum*", *Phytochemistry*, **25**, 10, (1986), 2399-2401.
6. Allayarov, Kh. B., Abduazimov, Kh. A. and Yunusov, S. Yu., *Uzb. Khim. Zh.*, No. 2 (1964), 46; Vdovin, A. D., Kadyrov, Kh. A., Yagudaev, M. R., Allayarov, Kh. B. and Nistryan, A. K., "Structure of Trisphaeridine", *Chem. Nat. Comp.*, **17**, 3, (1981), 279-280.

7. Antoun, M. D., Mendoza, N. T., Rios, Y. R. et al., "Cytotoxicity of *Hymenocallis expansa* Alkaloids", *J. Nat. Prod.*, **56**, 8, (1993), 1423-1425.
8. Areshkina, L. Ya., "Alkaloids from Snowdrop", *Sovet., Subtropiki*, No. 11-12, (1940), 59; *Khim. Referat. Zhur.* **4**, No. 5, (1941), 100; Chem. Abstr., 1943, **37**:6405₆.
9. Asoeva, E. Z., Murav'eva, D. A., Molodozhnikov, M. M. and Rabinovich, I. M., "Preparation of Galanthamine", U.S.S.R. 186,493 (Cl. C 07c), Oct. 3, 1966, Appl. Sept. 6, 1965. From *Izobret., Prom. Obraztsy, Tovarnye Znaki* **43**, 19, (1966), 35; Chem. Abstr., 1967, **66**:79581j.
10. Asoeva, E. Z., Murav'eva, D. A., Molodozhnikov, M. M., Rabinovich, I. M., "Galanthus krasnovii- a Source for Obtaining Galanthamine", *Farmatsiya (Moscow)*, **17**, 5, (1968), 47-49; Chem. Abstr., 1969, **70**:14355b.
11. Asoeva, E. Z. and Vergeichik, E. N., "Separation and Quantitative Determination of Alkaloids in *Galanthus krasnovii*", *Nauch. Dokl. Vyssh. Shk., Biol. Nauki*, **7**, (1967), 98-101; Chem. Abstr., 1967, **67**:94035y.
12. Banwell, M. G. and Cowden, C. J., "Convergent Routes to the [1,3] Dioxolo [4,5-j] phenanthridin-6(5H)-one and 2,3,4,4a-Tetrahydro[1,3]dioxolo[4,5-j] phenanthridin-6(5H)-one Nuclei. Application to Syntheses of the Amaryllidaceae Alkaloids Crinasiadine, N-Methylcrinasiadine and Trisphaeridine", *Aust. J. Chem.*, **47**, (1994), 2235-2254.
13. Bastida, J., Llabrés, J. M., Viladomat, F., et al., "Narcissus Alkaloids, III. 9-O-Demethylhomolycorine from *Narcissus confusus*", *J. Nat. Prod.*, **50**, 2, (1987),

199-202.

14. Bastida, J., Llabrés, J. M., Viladomat, F., et al., "9-O-Demethylmaritidine: A New Alkaloid from *Narcissus radinganorum*", *Planta Med.*, **54**, (1988), 524-526.
15. Baytop T., "Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi", İstanbul: Sanal Matbaacılık, 1984, 273.
16. Baytop, T. and Mathew, B. "The Bulbous Plants of Turkey", London: B. T., Batsford Ltd., 1984, 21-23.
17. Blasko, G. and Cordell, G. A., "Economic and Medicinal Plant Research", 2, Ed. H. Wagner, H. Hikuno and N. R. Farnsworth, London: Academic Press Inc., 1988, 147-149.
18. Boissier, J.-R., Combes, G., et Pagny, J., "La Galanthamine, Puissant Cholinergique Naturel", *Annales Pharm. Franç.*, **18**, (1960), 888-900.
19. Boit, H.-G., "Über die Alkaloide der Zwiebeln von *Galanthus nivalis* (III. Mitteil. über Amaryllidaceen-Alkaloide)", *Chem. Ber.*, **87**, (1954), 724-725.
20. Boit, H.-G. und Döpke, W., "Alkaloide aus *Hippeastrum aulicum* var. *robustum*", *Die Naturwissenschaften*, **47**, 5, (1960), 109.
21. Boit, H.-G. und Döpke W., "Alkaloide aus *Haementus*-, *Zephyranthes*-, *Galanthus*- und *Crinum*- Arten", *Die Naturwissenschaften*, **48**, 10, (1961) 406-407.
22. Boit, H.-G. und Ehmke H., "Alkaloide von *Sprekelia formosissima*, *Galanthus elwesii*, *Zephyranthes candida* und *Crinum powellii* (VIII. Mitteil. über

- Amaryllidaceen Alkaloide)", *Chem. Ber.*, **88**, 10, (1955), 1590-1594.
23. Briggs, C. K., Highet, P. F., Highet R. J. and Wildman W.C., "Alkaloids of the Amaryllidaceae. VII. Alkaloids Containing the Hemiacetal or Lactone Group", *J. Am. Chem. Soc.*, **78**, (1956), 2899-2094.
24. Bubeva-Ivanova L., *Farmatsiya (Sofia)*, 8, 2, (1957), 23-26; Bubeva-Ivanova, L., "Amaryllidaceenalkaloide, VI Über die Wirkung Einiger Mineralsäuren auf Galanthamin", *Chem. Ber.* **95**, (1962), 1348-1353.
25. Bubeva-Ivanova, L., "Alkaloids of *Galanthus nivalis* var. *gracilis*. II. Nivalidin", *Farmatsiya (Sofia)*, **8**, No. 4, (1958), 24-28; *Abstr. Bulgar. Sci. Lit. Biol. and Med.* No. 3, Abstr. No. 573; *Chem. Abstr.*, 1959, **53**:17422e.
26. Bubeva-Ivanova, L., "Amaryllidaceenalkaloide, VI Über die Wirkung Einiger Mineralsäuren auf Galanthamin", *Chem. Ber.*, **95**, (1962), 1348-1353.
27. Bubeva-Ivanova and Ivanov, V., "Alkaloid Content in *Galanthus nivalis* var. *gracilis* L.", *Tr. Nauchno-Izsled. Inst. Farm.*, **3**, (1961), 70-75; *Chem. Abstr.*, 1964, **61**:14465h.
28. Bubeva-Ivanova, L. and Pavlova, N., "The Alkaloids of *Galanthus nivalis* var. *Gracilis*. VIII. Amaryllidaceae Alkaloids", *Farmatsiya (Sofia)*, **15**, 2, (1965), 103-105; *Chem. Abstr.*, 1965, **63**:18647d.
29. Cherkasov, O. A., "Plant Sources of Galanthamine", *Pharmaceutical Chem. J.*, 1978, 810-813.
30. Cherkasov, O. A., Stikhin, V. A., Savchuk, V. M., "Content of Galanthamine in

- Some Amaryllidaceae Species of the Flora of the Ukrainian SSR”, *Rastit. Resur.*, **20**, 4, (1984), 566-568; Chem. Abstr., 1985, **102**:21280f.
31. Chimiko-Pharmazevtitschen Zavod. “Galanthamine Hydrobromide Extraction” Brit. 942,200 (Cl. C 07g), Nov. 20, 1963; Bulg. Appl. Mar. 2, 1959; 2 pp.; Chem Abstr., 1964, **60**:6707e.
32. Clemo, G. R. and Felton, D. G. I., “Tazettine from Snowdrop Leaves”, *Chem. & Ind.*, (1952), 807-808.
33. Cook, J. W. and Loudon, J. D. “The Alkaloids Chemistry and Pharmacology”, 2, Ed. R. H. F. Manske and H. L. Holmes, New York, Academic Press, 1952, 331-352.
34. Cordell, G. A., “Introduction to Alkaloids”, A Wiley-Interscience Publication, J. Wiley & Sons, Inc., 1981, 533-553.
35. Cowden, C. J., Banwell, M. G. and Ho, I. C. S., “Synthesis of the Putative Structure of 5,6-Dihydrobicolorine”, *J. Nat. Prod.*, **57**, 12, (1994), 1746-1750.
36. Cozanitis, D. A., “Galanthamine Hydrobromide versus Neostigmine”, *Anaesthesia*, **29**, (1974), 163-168.
37. Crain, Jr., W. O., Wildman, W. C. and Roberts, J. D., “Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. Carbon-13 Spectra of Nicotine, Quinine and Some Amaryllidaceae Alkaloids”, *J. Am. Chem. Soc.*, **93**, 4, (1971), 990-994.
38. Dalton, D. R., “Studies in Organic Chemistry”, 7, Ed. P. G. Gassmann, New York: Marcel Dekker, Inc., 1979, 197-215.

39. Davis, P. H. (Ed.) "Flora of Turkey and the East Aegean Islands", 8, Edinburgh: Edinburgh University Press, 1984, 358-381.
40. Davis, P. H. (Ed.) "Flora of Turkey and the East Aegean Islands", 10, Edinburgh: Edinburgh University Press, 1988, 226-227.
41. DeAngelis, G. G. and Wildman, W. C., "Circular Dichroism Studies-I, A Quadrant Rule for the Optically Active Aromatic Chromophore in Rigid Polycyclic Systems", *Tetrahedron*, **25**, (1969), 5099-5112.
42. Deutsches Arzneibuch 9, 1986.
43. Döpke, W., Pham, L. H., Gründemann, E., Bartoszek, M. and Flatau, S., "Alkaloids from *Hippeastrum equestre* Herb." *Pharmazie*, **50**, 7, (1995), 511-512.
44. Duffield, A. M., Aplin, R. T., Budzikiewicz, H., et al., "Mass Spectrometry in Structural and Stereochemical Problems. LXXXII. A Study of the Fragmentation of Some Amaryllidaceae Alkaloids", *J. Am. Chem. Soc.*, **87**, 21, (1965), 4902-4912.
45. Duman, İ., "*Galanthus elwesii* Hook. Üzerinde Kalite Kontrol Çalışmaları" Yüksek Lisans Tezi, E. Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 1997.
46. Evidente, A., Lanzetta, R., Abou-Donia, et al., "9-O-Demethylhomolycorine from Egyptian *Narcissus tazetta*", *Arch. Pharm.*, **327**, (1994), 595-596.
47. Fitches, E., Gatehouse, A. M. R., Gatehouse J. A., "Effects of Snowdrop Lectin (GNA) Delivered via Artificial Diet and Transgenic Plants on the Development of Tomato Moth (*Lacanobia oleracea*) Larvae in Laboratory and Glasshouse Trials",

- J. Insect Physiol.*, **43**, 8, (1997), 727-739.
48. Fuganti, C., "The Alkaloids Chemistry and Pharmacology", 15, Ed. R. H. F. Manske and H. L. Holmes, New York: Academic Press Inc., 1975, 83-164.
49. Gabrielsen, B., Monath, T. P., Huggins, J. W., et al., "Antiviral (RNA) Activity of Selected Amaryllidaceae Isoquinoline Constituents and Synthesis of Related Substances", *J. Nat. Prod.*, **55**, 11, (1992), 1569-1581.
50. Ghosal, S., Kumar, Y. and Singh, S., "Glucosyloxy Alkaloids from *Pancreatium biflorum*", *Phytochemistry*, **23**, 5, (1984), 1167-1171.
51. Ghosal, S., Saini, K. S. and Razdan, S., "*Crinum* Alkaloids: Their Chemistry and Biology", *Phytochemistry*, **24**, 10, (1985), 2141-2156.
52. Gilljam, G., "Envelope Glycoproteins of HIV-1, HIV-2 and SIV Purified with *Galanthus nivalis* Agglutinin Induce Strong Immune Responses", *AIDS Res. Hum. Retroviruses*, **9**, 5, (1993), 431-438.
53. Girmen, M. und Zimmer, K., "In vitro-Kultur von *Galanthus elwesii*. I. Sterilisation, Regeneration, Phytohormone", *Gartenbauwissenschaft*, **53**, 1, (1988), 26-29.
54. Gorbunova, G. M., Patudin, A. V. and Gorbunov V. D., "Galanthamine from Some Species of the Family Amaryllidaceae", *Chem. Nat. Comp.* **14**, (1978), 361-362.
55. Grundon, M. F., "Amaryllidaceae Alkaloids", *Nat. Prod. Rep.*, **1**, (1984), 247-250.

56. Grundon, M. F., "Amaryllidaceae Alkaloids", *Nat. Prod. Rep.*, **2**, (1985), 249-251.
57. Grundon, M. F., "Amaryllidaceae Alkaloids", *Nat. Prod. Rep.*, **4**, (1987), 89-94.
58. Grundon, M. F., "Amaryllidaceae Alkaloids", *Nat. Prod. Rep.*, **6**, (1989), 79-84.
59. Hammer, H., "The Trisaccharide Fraction of Some Plants Belonging to the Amaryllidaceae", *Acta Chem. Scand.* **22**, 1, (1968), 197-199; Chem. Abstr., 1968, **68**:84923t.
60. Hänsel, R., Keller, K., Rimpler, H., Schneider G., (Ed.) "Hagers Handbuch der Pharmazeutischen Praxis", 5, Berlin-Heidelberg: Springer-Verlag, 1993, 213-218.
61. Haugwitz, R. D., Jeffs, P. W. and Wenkert, E., "Proton Magnetic Resonance Spectral Studies of Some Amaryllidaceae Alkaloids of the 5,10b-Ethanophenanthridine Series and of Crivelline and Tazettine", *J. Chem. Soc.*, (1965), 2001-2009.
62. Hauth, H. und Stauffacher, D., "Die Alkaloide von *Crimum macrantherum* Engl.", *Helv. Chim. Acta*, **47**, 24 (1964), 185-194.
63. Hester G., Wright C. S., "The Mannose-specific Bulb Lectin from *Galanthus nivalis* (Snowdrop) Binds Mono- and Dimannosides at Distinct sites. Structure Analysis of Refined Complexes at 2.3 Å and 3.0 Å Resolution". *J. Mol. Biol.*, **262**, 4, (1996), 516-531.
64. Hight, R. J., "Ismine", *J. Org. Chem.*, **26**, (1961), 4767-4768.
65. Hight, R. J. and Hight, P. F., "The Absolute Configuration of Tazettine",

- Tetrahedron Lett.*, No. 34, (1966), 4099-4101.
66. Hoerhammer, L., Wagner, H., Beck, K., "Isolation of New Flavanol Oligosaccharides from the Blossoms of *Leucojum vernum* and *Galanthus nivalis*", *Z. Naturforsch. B*, **22**, 8, (1967), 896; Chem. Abstr., 1968, **69**:3112y.
67. Hoshino, O., "The Alkaloids Chemistry and Pharmacology", 51, Ed. G. A. Cordell, New York: Academic Press Inc., 1998, 323-424.
68. Ibuka, T., Irie, H., Kato, A., et al., "Mass Spectrometry of Some Amaryllidaceae Alkaloids", *Tetrahedron Lett.*, No. 39, (1966), 4745-4748.
69. Ieven, M., Vanden Berghe, D. A. and Vlietinck, A. J., "Inhibition of Polio Virus by Lycorine, a Plant Alkaloid", *Planta Med.*, **36**, (1979), 254-255.
70. Ieven, M., Vanden Berghe, D. A. and Vlietinck, A. J., "Plant Antiviral Agents IV. Influence of Lycorine on Growth Pattern of Three Animal Viruses", *Planta Med.*, **49**, (1983), 109-114.
71. Ieven, M., Vlietinck, A. J., Vanden Berghe, D. A. and Totte, J., "Plant Antiviral Agents. III. Isolation of Alkaloids from *Clivia miniata* Regel (Amaryllidaceae)", *J. Nat. Prod.*, **45**, 5, (1982), 564-573.
72. Ikeda, T., Taylor, W. I., Tsuda, Y., Uyeo, S. and Yajima, H., "The Structure and Stereochemistry of Tazettine", *J. Chem. Soc.*, (1956), 4749-4761.
73. Jeffs, P. W., Abou-Donia, A., Campau, D., Staiger, D., "Structures of 9-O-Demethylhomolycorine and 5 α -Hydroxyhomolycorine. Alkaloids of *Crinum defixum*, *C. scabrum* and *C. latifolium*. Assignment of Aromatic Substitution

- Patterns from ^1H -Coupled ^{13}C Spectra”, *J. Org. Chem.*, **50**, (1985), 1732-1737.
74. Kaku, H. and Goldstein, I. J., “Snowdrop Lectin”, *Methods Enzymol.*, **179**, (1989), 327-331.
75. 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.
76. Kalashnikov, I. D., “Alkaloids of *Galanthus nivalis*”, *Chem. Nat. Comp.* **6**, (1970), 390.
77. Kalashnikov, I. D., “Separation of Alkaloids from *Galanthus nivalis*”, *Farm. Zh. (Kiev)*, **25**, 3, (1970), 40-44; *Chem. Abstr.*, 1970, **73**:91195p.
78. Kihara, M., Koike, T., Imakura, Y., et al., “Alkaloidal Constituents of *Hymenocallis rotata* HERB. (Amaryllidaceae)”, *Chem. Pharm. Bull.*, **35**, 3, (1987), 1070-1075.
79. Kihara, M., Konishi, K., Xu, L. and Kobayashi, S., “Alkaloidal Constituents of the Flowers of *Lycoris radiata* Herb. (Amaryllidaceae)”, *Chem. Pharm. Bull.*, **39**, 7, (1991), 1849-1853.
80. Kobayashi, S., Kihara, M., Hashimoto, T. and Shingu, T., “Synthesis of Optically Active Deoxytazettine Neomethine”, *Chem. Pharm. Bull.*, **24**, 4, (1976), 716-723.
81. Kobayashi, S., Kihara, M., Shingu, T., “Transformation of Tazettine to Pretazettine”, *Heterocycles*, **12**, 12, (1979), 1547-1550

82. Kobayashi, S., Kihara, M., Shingu, T. and Shingu, K. "Transformation of Tazettine to Pretazettine", *Chem. Pharm. Bull.*, **28**, 10, (1980), 2924-2932.
83. Kobayashi, S., Shingu, T. and Uyeo S., "Structure of Galanthamine and Lycoramine", *Chem. & Ind.*, (1956), 177-178.
84. Kobayashi, S., Yuasa, K., Imakura, Y., Kihara, M. and Shingu, T., "Isolation of O-Demethyllycoramine from Bulbs of *Lycoris radiata* Herb.", *Chem. Pharm. Bull.*, **28**, 11, (1980), 3433-3436.
85. Komarov, V. L. (Ed.), "Flora URSS", 4, Leningrad: Academiae Scientiarum URSS, 1935, 476-480.
86. Komizerko, E. I., "Alkaloid Content of Plants of the *Galanthus* Genus", *Byul. Gl. Botan. Sada*, No. 51, (1963), 102-106; Chem. Abstr., 1964, **61**:11003c.
87. Kovtun, L. S., Patudin, A. V., Gorbunova, G. M., et al., "Search for Galanthamine in *Galanthus* L. and *Leucojum* L. Plants in Transcaucasia", *Farm. Zh. (Kiev)*, **6**, (1978), 59-62; Chem. Abstr., 1979, **90**:200291r.
88. Koyuncu, M., "Türkiye'den İhraç Edilen Geofitlerin Korunması ve Üretimi Konusunda Gelişmeler", XI. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Bildiri Kitabı, Ed. M. Coşkun, Ankara: Ankara Üniversitesi Basımevi, 1997, 57-62.
89. Kuiper, P. J. C., Stuijver, B., "Cyclopropane Fatty Acids in Relation to Earliness in Spring and Drought Tolerance in Plants", *Plant Physiol.* **49**, 3, (1972), 307-309; Chem. Abstr., 1972, **76**:110396k.
90. Kwon, Y. H. and Epstein, L., "Isolation and Composition of the 90 kDa

- Glycoprotein Associated with Adhesion of *Nectria haematococca* macronidia”, *Physiol. Mol. Plant Pathol.*, **51**, 1, (1997), 63-74.
91. Latvala, A., Önür, M. A., Gözler, T., et al., “Alkaloids of *Galanthus elwesii*”, *Phytochemistry*, **39**, 5, (1995), 1229-1240.
92. Latvala, A., Önür, M. A., Gözler, T., et al., “Nitrogen Inversion in 9-O-Demethylhomolycorine”, *Tetrahedron:Asymmetry*, **6**, 2, (1995), 361-364.
93. Leifertova, I. and Brazdova, V., “Alkaloids of *Galanthus nivalis* Grown in Slovakian Provinces”, *Cesk. Farm.*, **16**, 7, (1967), 352-354; Chem. Abstr., 1968, **68**: 6133w.
94. Lewis, J. R., “Amaryllidaceae Alkaloids”, *Nat. Prod. Rep.*, **7**, (1990), 549-556.
95. Lewis, J. R., “Amaryllidaceae and *Sceletium* Alkaloids”, *Nat. Prod. Rep.*, **9**, (1992), 183-191.
96. Lewis, J. R., “Amaryllidaceae and *Sceletium* Alkaloids”, *Nat. Prod. Rep.*, **10**, (1993), 291-299.
97. Lewis, J. R., “Amaryllidaceae and *Sceletium* Alkaloids”, *Nat. Prod. Rep.*, **11**, (1994), 329-332.
98. Lewis, J. R., “Amaryllidaceae and *Sceletium* Alkaloids”, *Nat. Prod. Rep.*, **12**, (1995), 339-345.
99. Lewis, J. R., “Amaryllidaceae and *Sceletium* Alkaloids”, *Nat. Prod. Rep.*, **13**, (1996), 171-176.

100. Lewis, J. R., "Amaryllidaceae Alkaloids", *Nat. Prod. Rep.*, **14**, (1997), 303-308.
101. Lewis, J. R., "Amaryllidaceae and *Sceletium* Alkaloids", *Nat. Prod. Rep.*, **15**, (1998), 107-110.
102. Likhitwitayawuid, K., Angerhofer, C. K., Chai, H., et al., "Cytotoxic and Antimalarial Alkaloids from the Bulbs of *Crinum amabile*", *J. Nat. Prod.*, **56**, 8, (1993), 1331-1338.
103. Linden, A., Akineri, G., Noyan, S., Gözler, T. and Hesse, M., "Amaryllidaceae Alkaloids: (+)-Tazettine, (+)-3-O-Demethylcriwelline and (+)-3-Epimacronine at 173K", *Acta Cryst.*, **C54**, (1998), 1653-1659.
104. Martin, S. F., "The Alkaloids Chemistry and Pharmacology", 30, Ed. A. R. Brossi, New York: Academic Press Inc., 1987, 251-376.
105. Moskov, I., Savova, I., Boshnyakova, P., et al., "In vitro Induction of Organogenesis and Callus in Some Bulb Plants. I. Hyacinth (*Hyacinthus orientalis* L.), Snowdrop (*Galanthus nivalis* L.) and Tulip (*Tulipa schrenkii* L.)", *Fiziol. Rast. (Sofia)*, **6**, 1, (1980), 67-75; Chem. Abstr., 1980, **93**:144564e.
106. Muhtar, F., Şener, B. "Türkiye'den İhraç Edilen Bazı Amaryllidaceae Familyası Bitkilerinin Likorin Yönünden Değerlendirilmesi", XI. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı Bildiri Kitabı, Ed. Maksut Coşkun, Ankara: Ankara Üniversitesi Basımevi, 1997, 384-388.
107. Munier, R. and Macheboeuf, M., *Bull. Soc. Chim. Biol.*, **33**, (1951), 846; Stahl, E. (Ed.) "Thin Layer Chromatography", 2nd Ed., Berlin-Heidelberg-New York:

Springer-Verlag, 1969, 873-874.

108. Murphy, C. F. and Wildman, W. C., "Macronine", *Tetrahedron Lett.*, No. 51, (1964), 3857-3861.
109. Mügge, C., Schablinski, B., Obst, K. and Döpke, W., "Alkaloids from *Hippeastrum hybrids*", *Pharmazie*, **49**, 6, (1994), 444-447.
110. Noyan S., Rentsch, G. H., Önür, M. A., et al., "The Gracilines: A Novel Subgroup of the Amaryllidaceae Alkaloids", *Heterocycles*, **48**, 9, (1998), 1777-1791.
111. Parkin, J., "The Carbohydrates of the Foliage Leaf of the Snowdrop (*Galanthus nivalis* L.) and Their Bearing on the First Sugar of Photosynthesis", *Biochem. J.*, **6**, (1912), 1-47; Chem. Abstr., 1912, **6**:1917₄.
112. Paskov, D. S. and Ivanova, Z. C., Chimiko-Pharmazevtitschen Zavod, "Galanthamine Hydrobromide", Fr. 1,481,003 (Cl. A 61k), May 19, 1967; Bulg. Appl. March 2, 1959; 2 pp.; Chem Abstr., 1968, **68**:6178m.
113. Pham. L. H., Gründemann, E. and Döpke, W., "Alkaloids from *Hippeastrum equestre* Herb. (Amaryllidaceae) Part III", *Pharmazie*, **52**, 2, (1997), 160-162.
114. Piozzi F., Marino M. L., Fuganti, C. and Di Martino, A., "Occurrence of Non Basic Metabolites in Amaryllidaceae", *Phytochemistry*, **8**, 9, (1969), 1745-1748.
115. Polt, R., "Amaryllidaceae Alkaloids with Antitumor Activity", *Org. Synth.*, **3**, (1996), 109-148.

116. Proskurnina, N. F., "Alkaloids of *Galanthus woronovi*. Structure of Galanthine", *Doklady Akad. Nauk S.S.S.R.*, **90**, (1953), 565-567; Chem. Abstr., 1955, **49**:12500c.
117. Proskurnina, N. F. and Areshkina, L. Ya., "On the Alkaloids of *Galanthus woronovi*", *J. Gen. Chem. (U.S.S.R.)*, **17**, (1947), 1216-1219.
118. Proskurnina N. F. and Yakovleva A. P., "The Alkaloids of *Galanthus woronovi*. II. Isolation of a New Alkaloid." *J. Gen. Chem. (U.S.S.R.)*, **22**, (1952), 1941-1944.
119. Proskurnina, N. F. and Yakovleva, A. P. "The Alkaloids of *Galanthus woronovi*. III. The Structure of Galanthamine", *J. Gen. Chem. (U.S.S.R.)*, **25**, (1955), 999-1002.
120. Proskurnina N. F. and Yakovleva A. P., "Alkaloids of *Galanthus woronovi*. V. Isolation of Galanthamidine", *J. Gen. Chem. (U.S.S.R.)*, **26**, (1956), 179-180.
121. Rainer, M., "Clinical Studies with Galanthamine", *Drugs of Today*, **33**, 4, (1997), 273-279.
122. Rainer, M., "Galanthamine in Alzheimer's Disease A New Alternative to Tacrine?", *CNS Drugs*, **7**, 2, (1997), 89-97.
123. Renard-Nozaki, J., Kim, T., Imakura, Y., Kihara, M. and Kobayashi, S., "Effects of Alkaloids Isolated from Amaryllidaceae on Herpes Simplex Virus", *Res. Virol.*, **140**, (1989), 115-128.
124. Sato, T. and Koyama, H., "Amaryllidaceae Alkaloids. Part II. Crystal Structure

- of Tazettine Methiodide”, *J. Chem. Soc. (B)*, (1971), 1070-1073.
125. Schnoes, H. K., Smith, D. H., Burlingame, A. L., Jeffs, P. W. and Döpke, W., “Mass Spectra of Amaryllidaceae Alkaloids The Lycorenine Series”, *Tetrahedron*, **24**, (1968), 2825-2837
126. *Scrip* (1996), 2152, 23; Shu, Y.-Z., “Recent Natural Products Based Drug Development: A Pharmaceutical Industry Perspective”, *J. Nat. Prod.*, **61**, 8, (1998), 1053-1071
127. Selezhinskii, G. V., “Snowdrops”, *Khim. Zhizn.*, **3**, (1977), 50-52; Chem. Abstr., 1977, **86**:152586j.
128. Sharaf, A., Fahmy, I. R., Ahmed, Z. F. and Rizk, A. M., “A Pharmacological Study of *Pancreatium sickenbergeri* Asch. et Sfh.”, *Planta Med.*, **8** (1960), 322-327.
129. Shibuya, N., Berry, J. E. and Goldstein, I. J., “One-Step Purification of Murine IgM and Human α_2 -Macroglobulin by Affinity Chromatography on Immobilized Snowdrop Bulb Lectin”, *Arch. Biochem. Biophys.*, **267**, 2, (1988), 676-680.
130. Silverstein, R. M., Bassler, G. C., Morrill, T. C., “Spectrometric Identification of Organic Compounds”, 3rd Ed., New York: John Wiley and Sons, Inc., 1974, 175.
131. Southon, I. W., Buckingham, J., (Ed.) “Dictionary of Alkaloids”, 1, London-New York: Chapman and Hall Ltd., 1989, 453, 664.
132. Southon, I. W., Buckingham, J., (Ed.) “Dictionary of Alkaloids”, 2, London-New York: Chapman and Hall Ltd., 1989, 504.

133. Suau, R., Gómez, A. I. and Rico, R., "Ismine and Related Alkaloids from *Lapiedra martinezii*", *Phytochemistry*, **29**, 5, (1990), 1710-1712.
134. Suau, R., Rico, R., Garcia, A. I. and Gómez, A. I., "New Amaryllidaceae Alkaloids from *Narcissus papyraceus* Ker-Gawler", *Heterocycles*, **31**, 3, (1990), 517-522.
135. Suffness, M. and Cordell, G. A., "The Alkaloids Chemistry and Pharmacology", 25, Ed. A. R. Brossi, New York: Academic Press Inc., 1985, 198-212.
136. Sweeney, J. E., Höhmann, C. F., Moran, T. H. and Coyle, J. T., "A Long-Acting Cholinesterase Inhibitor Reverses Spatial Memory Deficits in Mice", *Pharmacol. Biochem. Behav.* **31**, (1988), 141-147.
137. Şener, B., Könükol, S., Kruk, C. and Pandit, U. K., "Alkaloids from Amaryllidaceae, IV. Alkaloids from the Aerial Parts of *Pancreatum maritimum* L.", *J. Fac. Pharm. Gazi*, **10**, 1, (1993), 83-86.
138. Şener, B., Könükol, S., Kruk, C. and Pandit, U. K., "Alkaloids of Lycorine and Lycorenine Class from *Pancreatum maritimum* L.", *Arch. Pharm.*, **326**, 1, (1993), 61-62.
139. Tammes, T., "New Chromogen, Producing a Blue Pigment, in *Galanthus nivalis* and Several Other Species of the Same Genus", *Rec. trav. botan. néerland*, **15**, (1918), 1-16; *Physiol. Abstracts*, **4**, (1919), 189; Chem. Abstr., 1920, **14**:1563.
140. Tato, M. P. V., Castedo, L. and Riguera, R., "New Alkaloids from *Pancreatum maritimum* L.", *Heterocycles*, **27**, 12, (1988), 2833-2837.

141. Tsakadze, D. M., Abdusamatov, A., Razakov, R. and Yunusov, S. Yu., "The Structure of Galanthusine", *Chem. Nat. Comp.* **6**, (1970), 791-792.
142. Tsakadze, D. M., Abdusamatov, A. and Yunusov, S. Yu., "Alkaloids of *Galanthus caucasicus*", *Chem. Nat. Comp.* **5**, (1969), 281-282.
143. Tsakadze, D. M., Kadyrov, Kh. A., Kiparenko, T. N., Abdusamatov, A., "New Alkaloid from *Galanthus caucasicus*", *Izv. Akad. Nauk Gruz. SSR, Ser. Khim.* **5**, 2, (1979), 191-192; *Chem. Abstr.*, 1980, **92**: 55053z.
144. Tsakadze, D. M., Kiparenko, T. N. and Abdusamatov A., "Rutin and Hyperoside from *Galanthus caucasicus*", *Chem. Nat. Comp.*, **13**, (1977), 105.
145. Tsakadze, D. M., Kiparenko, T. N., Tsitsishvili, N. S., "Alkaloids of *Galanthus caucasicus*", *Soobshch. Akad. Nauk Gruz. SSR*, **55**, 3, (1969), 573-575; *Chem. Abstr.*, 1970, **72**:35723b.
146. Tsakadze, D. M., Kiparenko, T. N., Tsitsishvili, N. S., Abdusamatov, A., Yunusov, S. Yu., "Demethylhomolycorine from the Plant *Galanthus caucasicus*", *Soobshch. Akad. Nauk Gruz. SSR*, **56**, 2, (1969), 305-307; *Chem. Abstr.* 1970, **72**:107840n.
147. Tsitsishvili, N. S., Kiparenko, T. N., Tsitsishvili, G. I., Tsakadze, D. M., "Additional Study of *Galanthus woronowii* for Content of Alkaloids", *Tr. Tbilis. Univ.* No. 137, (1971), 171-174. From *Ref. Zh., Biol. Khim.* 1971, Abstr. No. 18F907; *Chem. Abstr.* 1972, **77**:16541c.
148. Uyeo, S. and Yanaihara, N., "Phenolic Alkaloids Occuring in *Lycoris radiata*",

- J. Chem. Soc.*, (1959), 172-177.
149. Ünver, N., Gözler, T., Walch, N., Gözler, B., Hesse, M., "Two Novel Dinitrogenous Alkaloids from *Galanthus plicatus* subsp. *byzantinus*", *Phytochemistry*, **50**, (1999), 1255-1261.
150. Ünver, N., Noyan, S., Gözler, T., et al., "Three New Tazettine-Type Alkaloids from *Galanthus gracilis* and *Galanthus plicatus* subsp. *byzantinus*", *Planta Med.*, baskıda.
151. Van Damme, E. J. M., Allen, A. K. and Peumans, W. J., "Isolation and Characterization of a Lectin with Exclusive Specificity Towards Mannose from Snowdrop (*Galanthus nivalis*) Bulbs", *FEBS Lett.*, **215**, 1, (1987), 140-144.
152. Van Damme, E. J. M., De Clercq, N., Claessens, F., et al., "Molecular Cloning and Characterization of Multiple Isoforms of the Snowdrop (*Galanthus nivalis* L.) Lectin", *Planta*, **186**, 1, (1991), 35-43.
153. Van Damme, E. J. M., Kaku, H., Perine, F. et al., "Biosynthesis, Primary Structure and Molecular Cloning of Snowdrop (*Galanthus nivalis* L.) Lectin", *Eur. J. Biochem.*, **202**, 1, (1991), 23-30.
154. Vdovin, A. D., Kadyrov, Kh. A., Yagudaev, M. R., Allayarov, Kh. B. and Nistryan, A. K., "Structure of Trisphaeridine", *Chem. Nat. Comp.*, **17**, 3, (1981), 279-280.
155. Viladomat, F., Bastida, J., Tribo, G., Codina, C. and Rubirelta, M. "Alkaloids from *Narcissus bicolor*", *Phytochemistry*, **29**, 4, (1990), 1307-1310.

156. Viladomat, F., Sellés, M., Codina, C. and Bastida, J., "Alkaloids from *Narcissus asturiensis*", *Planta Med.*, **63**, (1997), 583.
157. Vrijssen R., Vanden Berghe, D. A., Vlietinck, A. J. and Boeyé A., "Lycorine: A Eukaryotic Termination Inhibitor?", *J. Biol. Chem.*, **261**, 2, (1986), 505-507.
158. Vulkova, A., "Proof and Determination of the Alkaloids in *Galanthus nivalis* and *Leucojum aestivum*", *Farmatsiya*, No. 2, (1961), 17-22; Chem. Abstr., 1961, 55:21479d.
159. Vulkova, A., "Identification and Determination of the Alkaloids of *Galanthus nivalis* var. *gracilis* and *Leucojum aestivum*", *Farmaciya*, **11**, No. 2, (1961), 17-22; From *Abstr. Bulgar. Sci. Lit., Biol. Med.* 1961, No. 3, Abstr. No. 493; Chem. Abstr. 1963, **58**:5984f.
160. Wagner, J., Pham, H. L. and Döpke, W., "Alkaloids from *Hippeastrum Equestre* Herb, -5. Circular Dichroism Studies", *Tetrahedron*, **52**, 19, (1996), 6591-6600.
161. White, J. D., Chong, W. K. M., Thirring, K., "Phenolic Oxidative Coupling with Hypervalent Iodine. A Synthesis of 6a-Epipretazettine", *J. Org. Chem.*, **48**, 13, (1983), 2300-2302.
162. Wildman, W. C., "The Alkaloids Chemistry and Physiology", 6, Ed. R. H. F. Manske, New York: Academic Press Inc., 1960, 289-413.
163. Wildman, W. C., "The Alkaloids Chemistry and Pharmacology", 11, Ed. R. H. F. Manske and H. L. Holmes, New York: Academic Press Inc., 1968, 307-405.
164. Wildman, W. C. and Bailey, D. T., "Amaryllidaceae Interconversions. Partial

- Syntheses of [2]Benzopyrano[3,4-c]indoles”, *J. Am. Chem. Soc.*, **91**, 1, (1969), 150-157.
165. Willis, J. C., “A Dictionary of the Flowering Plants & Ferns”, 8th Ed., Ed. Airy H. K. Shaw. Cambridge, England: Cambridge University Press, 1988, 49-50, 474.
166. Wright, C. S., Kaku, H. and Goldstein, I. J., “Crystallization and Preliminary X-ray Diffraction Results of Snowdrop (*Galanthus nivalis*) Lectin”, *J. Biol. Chem.*, **265**, 3, (1990), 1676-1677.
167. Yakovleva, A. P., “The Alkaloids of *Galanthus woronowii*. VII. Isolation of Tazettine.” *J. Gen. Chem.*, **33**, (1963), 1647-1648.
168. Yunusov, S. Yu., Kiparenko, T. N., Razakov, R., Abdusamatov, A., Tsakadze, D. M., “Galanthusine, an Alkaloid from Snowdrop, *Galanthus caucasicus*”, *Soobshch. Akad. Nauk Gruz. SSR*, **65**, 2, (1972), 333-336; Chem. Abstr., 1972, 77:45496x.
169. Zeybek, N., Sauer, E. “Türkiye Kardelenleri (*Galanthus* L.) I.”, Bornova-İzmir: Ege Üniversitesi Basımevi, 1995.
170. Zeybek, U., “Über die Alkaloide Verschiedener *Galanthus*-Arten”, Doktorarbeit, Ausgeführt am Institut für Pharmakognosie der Universität Wien, 1983.
171. Zeybek, U., Jurenitsch, J., Kubelka, W. und Jentzsch, K., “HPLC- Bestimmung des Alkaloidgehaltes in Verschiedenen *Galanthus*-Arten”, *Scientia Pharmaceutica*, **50**, 4, (1982), 282-284.

ÖZGEÇMİŞ

1971 yılında İzmir’de doğdum. İlköğrenimimi Alsancak Gazi İlkokulu’nda tamamladım. Ortaöğrenimimi Özel İzmir Amerikan Lisesi’nde tamamladıktan sonra 1989 yılında Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi’ne girdim. Haziran 1993 tarihinde mezun oldum. Eylül 1993 döneminde yüksek lisans eğitimine başladım. Aralık 1993 tarihinde Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı’na Araştırma Görevlisi olarak atandım. Eylül 1995 tarihinde yüksek lisansımı tamamladıktan sonra aynı yıl Eylül döneminde doktora eğitimine başladım. Halen Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı’nda Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktayım. Bekarım.