

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOGNOZİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof.Dr.GÜNAY SARIYAR

***GLAUCIUM GRANDIFLORUM* BOISS. & HUET
VAR. *GRANDIFLORUM* ALKALOİTLERİ
ÜZERİNDE ARAŞTIRMALAR**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ecz. ÇAĞLAYAN ÜNSAL

69777

İSTANBUL - 1998

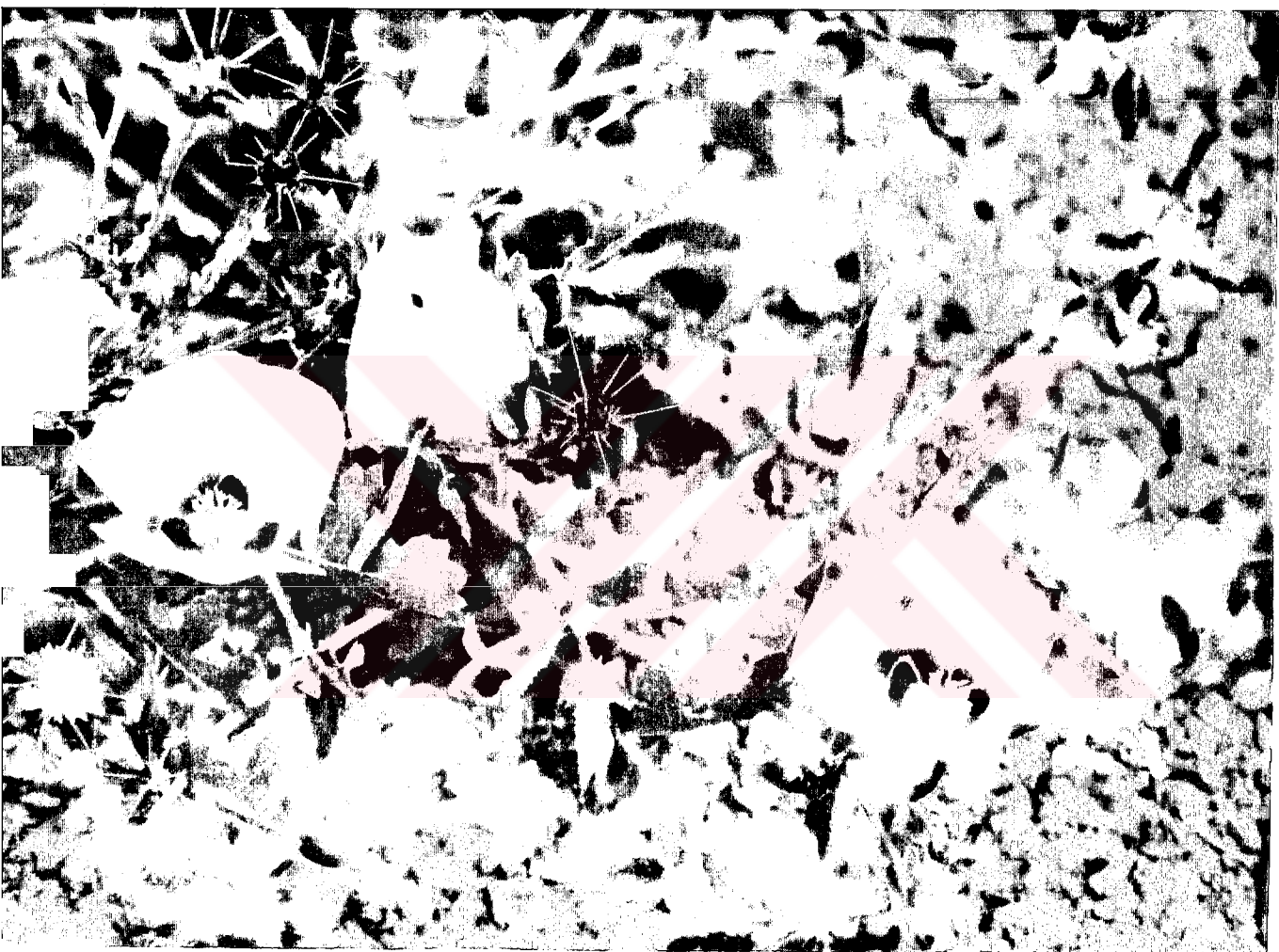
Tezimin hazırlanışı sırasında bilgi ve deneyimleri ile her konuda bana yardımcı olan, her aşamada destek veren tez danışmanım, Farmakognozi Anabilim Dalı Başkanı Prof.Dr. Sayın Günay Sarıyar'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Botanik bölümün hazırlanmasında yardımlarını gördüğüm Prof.Dr. Sayın Neriman Özhatay'a ve çalışmalarına fotoğraf arşivi ile katkıda bulunan, her zaman yakın ilgisini gördüğüm Prof.Dr. Sayın Afife Mat'a teşekkür ederim.

Çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen Farmakognozi Anabilim Dalı öğretim üye ve yardımcılara teşekkür ederim.

Tezimin yazılmasında gerekli titizliği gösteren Y.Tekn. Günay Engin'e, bana desteğini esirgemeyen sevgili aileme teşekkür ederim.

68777



Glaucium grandiflorum var. *grandiflorum*

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
I. GİRİŞ VE AMAÇ	1
II. BOTANİK BÖLÜM	4
III. KİMYASAL BÖLÜM	8
1. Teorik Bölüm	8
2. Deneysel Bölüm	21
A. Materyal	21
B. Genel Metodlar	22
1. Fitokimyasal Ön Denemeler	22
2. Miktar Tayini Yöntemleri	23
3. Alkaloidlerin Tüketilmesi ve Ayrılması	23
3a) Tersiyer Alkaloidlerin Tüketilmesi ve Ayrılması	23
3b) Katerner Alkaloidlerin Tüketilmesi ve Ayrılması	24
4. Kromatografik Yöntemler	24
4a) İnce Tabaka Kromatografisi	24
4b) Preparatif İnce Tabaka Kromatografisi	26
4c) Sütun Kromatografisi	27
5. Erime Dereceleri Tayini	28
6. Spektroskopik Metodlar	28
6a) UV	28
6b) IR	28
6c) ¹ H-NMR	28
6d) KÜTLE	28
3. Bulgular	29

	<u>Sayfa</u>
IV. SONUÇ VE TARTIŞMA	45
V. ÖZET	47
VI. SUMMARY	48
VII. ŞEKİLLER	49
(UV, IR, KÜTLE, ¹ H-NMR SPEKTRUMLARI İLE İLGİLİ)	
VIII. LİTERATÜR	60



I. GİRİŞ VE AMAÇ

Daha çok Güney Batı Asya'da yayılış gösteren *Glaucium* (*Papaveraceae*) cinsi Türkiye'de yabancı kaynaklara bakıldığında sıkça rastlanan "horhed poppy" adının dilimize çevrilmiş şekli olan "boynuzlu gelincik", "boynuzlu haşhaş" isimleriyle bilinmekle birlikte "çanakkıran", "çömlekçatlatan", eşek lalesi", "gülfatma", "gülgülü", "gülgülüm", gülhatun" gibi yöresel isimleriyle de anılmaktadır (7). Bitkinin en sık kullanılan ismi olan "boynuzlu gelincik" ismi ise bitkiye, meyvalarının *Papaver rhoeas* meyvalarından farklı olarak bir boynuza benzer şekilde kıvrık olması nedeniyle verilmiştir (51).

Dünya üzerinde yaklaşık 24 tür ile temsil edilmekte olan *Glaucium* cinsinin 7 türü yurdumuzda yabancı olarak yetişmektedir (12,13,39). Türkiye'de yetişen bu türlerden *G.corniculatum* halk arasında yatıştırıcı ve öksürük kesici olarak kullanılmaktadır. Konya çevresinde "göğündürme", "göğündürme lalesi", "göğüştürme", "kel lale", "öğündüre lalesi", "övündüre lalesi" gibi isimlerle bilinen *G.grandiflorum* türünün meyvalarından bu yörede kan temizleyici ve göz hastalıklarında tedavi edici olarak faydalanılmaktadır (7). Irak Florasında bu bitkinin adının Dioscorides'ten beri bilindiğinden, bitkinin özsuynunun erysipalis (yılancık) tedavisinde kullanıldığından, Halep civarında da göz ilacı olarak kullanımı olduğundan bahsedilmektedir (51).

Glaucium cinsinin alkaloitleri üzerinde yapılan çalışmalardan ilki 1839 yılında Probst tarafından *G.flavum* üzerinde yapılmış ve araştırmacı bu bitkiden bazı alkaloit karışımları elde etmiştir (41). Daha sonra *Glaucium*'lardan saf alkaloit elde edip bunu tanımlayabilen ilk araştırmacı Battandier'dir. Battandier 1892 yılında *G.corniculatum* türünden protopine alkaloidini izole etmiştir (5). 1901 yılında Fischer *G.flavum* türünü inceleyip protopine ve glaucine olarak tanımladığı iki alkaloit elde etmiştir (18). Fischer'in bu bulguları Gadamer tarafından da doğrulanmıştır.

Glaucium türlerinin toprak üstü kısımlarında varlığı saptanmış olan glaucine ve çeşitli tuzları üzerinde klinik ve farmakolojik denemeler yapılmış, bu alkaloidin sempatotik (4), analjezik (21), antiallerjik (33), antitrombotik (35) etkilerinin yanında, özellikle solunum sistemi üzerinde kodein gibi depressif etki yapmaksızın onunkine eş şiddette antitussif bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir (9). Böylece glaucine tedavi alanında önemli bir yer kazanmıştır. Günümüzde antitussif etkiye sahip bitkisel kaynaklı bir ilaç olarak Bulgaristan'da çeşitli preparatları halinde tedavide kullanılmaktadır (24). Bu ilacın elde edildiği tür ise *G.flavum* bitkisidir (24). Glaucine'in tedavi değerinin bilinmesi ve *Glaucium* cinsinin özellikle de *G.flavum* türünün bu alkaloid için doğal bir kaynak olması nedeniyle Türkiye'de yetişen türlerin alkaloidleri de incelenmeye değer görülmüştür. İlk kapsamlı çalışma Gözler tarafından Türkiye için endemik olan 3 *Glaucium* türü *G.acutidentatum*, *G.cappadocicum* ve *G.grandiflorum* var. *torquatum* bitkileri üzerinde olmuştur (22). Bunların içinde glaucine'e kaynak olabilecek yeni bir bitki olarak *G.acutidentatum* türü gösterilmiştir. Daha sonraki yıllarda Gözler ve arkadaşlarının *Glaucium* türleri içinde uygun bir glaucine kaynağı arama çalışmaları devam etmiş, yurdumuzun çeşitli bölgelerinden toplanan değişik türlerinin glaucine miktarları araştırılmış, bu sonuçlara göre Gürün (SİVAS) civarından toplanmış olan *G.acutidentatum* yanında Bulancak (GİRESUN) dan toplanan *G.flavum* türünün ticari amaçla glaucine üretimine elverişli miktarda madde içerdiği saptanmıştır. Aynı zamanda yurdumuzda doğal olarak yetişen *G.flavum* bitkisinin farklı kemotiplerinin bulunduğu ve bu bitkinin taban ile gövde yapraklarını içeren bir drogla yapılacak bir üretimde oldukça yüksek bir verime ulaşılabileceği de bu çalışmanın sonuçları arasında yer almıştır (24).

Glaucium türlerinde glaucine'in yanında tıbbi değeri olan diğer alkaloidlerin de bulunduğu saptanmıştır. Bunların en önemlileri spazmolitik, antikolinerjik, antiaritmik ve antibakteriyel aktiviteleri bilinen protopine ile santral sinir sistemi depresanı olduğu kayıtlı olan corydine'dir (9).

Anabilim dalımızda yaptığımız bioktivite tayinine yönelik bir ön çalışmada *Glaucium* türlerine ait ekstrelerin Brine-Shrimp yöntemi ile sitotoksitesi araştırılmış, *G.grandiflorum* var.*grandiflorum*'un Sivas ve Bolu'dan toplanan örneklerinin oldukça yüksek aktivite gösterdiği saptanmıştır*.

Bu çalışmanın amacı, Türkiye'de yetişen örnekleri araştırılmamış olan *G.grandiflorum* var.*grandiflorum* bitkisine ait iki farklı yöreden toplanan örneklerin alkaloitlerinin incelenerek diğer türler ile farklılık ve benzerliklerinin ortaya konmasına, kemotiplerinin araştırılmasına, glaucine bakımından değerlendirilip değerlendirilemeyeceğine ve türde tıbbi alkaloitlerin varlığının belirlenmesine yöneliktir.

* Bu araştırmanın sonuçları 19-22 Nisan 1998 tarihlerinde yapılan Phytochemical Society of Europe'un düzenlediği "Isokinolin ve Indol alkaloitleri" konulu sempozyumda poster bildiri olarak sunulmuştur.

II. BOTANİK BÖLÜM

PAPAVERACEAE

Kuzey Yarıkürenin ılıman ve subtropikal bölgelerinde yayılış gösteren Papaveraceae familyası dünya üzerinde 41 cins ve 450 tür (8) ile yurdumuzda da 5 cins ve 50 tür (15) ile temsil edilir. Papaveraceae familyasının karakterlerini şöyle sıralayabiliriz (44).

Beyaz, sarı veya turuncu bir lateks taşıyan veya lateksi olmayan bir veya çok yıllık otsular veya odunsu bitkiler. Yapraklar çoğunlukla alternan, bazen oppozit, stipulasız, genellikle parçalı. Sepal 2 veya 3, serbest ve düşücü. Petal 4 veya 6, serbest veya tabanda hafifçe birleşik. Çiçek aktinomorf veya zigomorf. Stamen çok sayıda, bazen 6 veya 4. Ovaryum üst durumlu, sinkarp, 2-20 karpelli. Meyva kapsula, nuks, lomentum veya silikvaya benzeyen uzun bir kapsula, tek veya çok tohumlu (44).

Türkiye'deki bu 5 cins şu özellikleri ile birbirinden ayrılırlar: (6)

1a. Stamen çok sayıda. Petal 4(-6), hepsi tam, meyva kapsula

2a. Stigma ovaryumun tepesinde bir tabla şeklinde. Meyva, stigma tablasının altındaki deliklerle açılan bir kapsula *Papaver*

2b. Stigma böyle değil. Meyva silikvaya benzeyen, uzamış bir kapsula.

3a. Meyva 2 valv ile açılır, 1 veya 2 gözlü

4a. Meyva 3-4 cm boyunda, bir gözlü. Çiçekler basit umbellaya benzer durumda. Lateks turuncu *Chelidonium*

4b. Meyva 10-25 cm boyunda, iki gözlü. Çiçekler tek *Glaucium*

3b. Meyva 3-4 valv ile açılır, bir gözlü *Roemeria*

1b. Stamen 4. Petal 4, içteki iki petal üç parçalı. Meyva çok tohumlu lomentum

Hypecoum

GLAUCIUM CİNSİ

Lateks taşımayan, bir,iki veya çok yıllık otsu bitkiler. Yapraklar pennatifit veya pennatisekt, segmanları çoğunlukla loblu veya dentat. Çiçekler tek, gösterişli. Sepaller 2, çabuk düşücü. Petaller 4, sarı, turuncu, kırmızı veya leylak rengine, ekseriya tabanda lekeli. Stamenler çok sayıda. Ovaryum linear, kısa, ince, zayıf tüylü, tüberküllü veya çıplak. Meyva silikvaya benzer şekilde, linear, 10-20(-25) cm, tohumların içine gömüldüğü süngerimsi bir kısım var. Tohumlar çok sayıda, uzantıları yok (12).

TÜRKİYE'DE YETİŞEN *GLAUCIUM* TÜRLERİ İÇİN AYIRIM ANAHTARI:

Yurdumuzda yetişen *Glaucium* türleri aşağıdaki özellikleri ile birbirinden ayrılırlar (12).

1. Ovaryum tüylü, tüyler yatık veya hemen hemen yatık.
 2. Sepaller 1-2.5 cm; petaller 1.5-3.0 cm; meyva sapları, sapın tabanındaki yapraklardan daha kısa 1. *G.corniculatum*
 2. Sepaller (3.5-) 4-5 cm; petaller 3-6 cm; meyva sapları, sapın tabanındaki yapraklardan daha uzun
3. Bitki tek bir ana gövdeye sahip, 30-60 cm 2. *G.grandiflorum*
3. Bitkinin birçok sayıda gövdesi var, 15 cm ye kadar 3. *G.haussknechtii*
1. Ovaryum tüberküllü veya çıplak, asla tüylü değil
 4. Ovaryum hiç değilse en tepesinde papilsli tüberküllü
 5. Üst yapraklar sinuat-dentat; obtus veya yuvarlaklaşmış loblu; meyva ne torulos ne de tepede attenuat 4. *G.flavum*
 5. Üst yapraklar pennatifit, akut segmanlı; meyva biraz torulos, tepede attenuat 5. *G.leiocarpum*

4. Ovaryum düzgün, tüberkülsüz

6. Taban yapraklar derin pennatifit, sepaller grimsi-siyah 6.*G.acutidentatum*

6. Taban yapraklar obovat-runsinat, dentat; sepaller yeşil 7.*G.cappadocicum*

Türkiye’de yetişen türlerden *G.corniculatum* ve *G.grandiflorum*’un alt tür ve varyeteleri vardır.

G.corniculatum’un 2 alttürü Türkiye’de yetişmektedir ve bu alt türler aşağıdaki özellikleri ile birbirinden ayrılırlar (12).

a. Meyva sapları dik, meyvalar az çok düz, bükülmemiş

subsp.*corniculatum*

b. Meyva sapları bükülmüş, meyvalar yay gibi kıvrık, çoğunlukla bükülmüş

subsp.*refractum*

G.grandiflorum türü aşağıdaki özellikleri ile tanınmaktadır.

***G.grandiflorum* Boiss. & Huet (12).**

Çok yıllık, 1 ana gövde var, gövde dik, pürüzlü, 30-50 cm boyunda. Taban yaprakları pinnatifit veya pinnatisekt, yaprak segmentleri obovat-oblong ve sivri dişli. Gövde yaprakları birbirine benzer, ancak daha küçük ve sarımsı. Sepaller 3-5 cm, hafif pürüzlü ve kaba tüylü. Petaller (3-) 4-6 cm, koyu turuncu - kırmızı renkte, tabanda koyu renk lekeli. Meyva saplı, sap, tabanındaki yapraklardan daha uzun, meyva basık yumuşak tüylü, 10-15 cm boyunda.

Bu türe ait iki varyete *var.grandiflorum* ve *var.torquatum* Türkiye’de yetişmektedir ve bu varyeteler aşağıdaki özellikleri ile birbirinden ayrılırlar (12).

- a. Pedunküller meyvada dik, meyva düz *var.grandiflorum*
b. Pedunküller meyvada bükülmüş, meyva yay gibi kıvrık *var.torquatum*

G.grandiflorum* Boiss. & Huet *var.grandiflorum

Çiçeklenme zamanı : 5-6. aylar

Yetiştği yerler : Tarla kenarları, yol kenarları, kayalık yamaçlar, 600-1850 m.

Türkiye’deki yayılışı : A2 Bilecik, A3 Bolu, A4 Çankırı, A9 Erzurum, B4 Ankara, Konya, B5 Kayseri, B6 Sivas, B6 Maraş, B9 Muş, C6 Gaziantep



Glaucium grandiflorum Boiss. & Huet (51)

1. TEORİK BÖLÜM

Glaucium türlerinden bugüne dek elde edilen alkaloitler Tablo 1’de gösterilmiştir.

Glaucium grandiflorum Boiss. & Huet türünde varlığı saptanıp, tanımlanmış alkaloiatlere ilişkin bazı bilgiler Tablo 2’de verilmiştir.

Tablo1: *Glaucium* türlerinden elde edilen alkaloidler

BİTKİ	ALKALOİT GRUBU	ALKALOİT
<i>Glaucium acutidentatum</i> (22)	Aporfin	corydine, glaucine, isoboldine, isocorydine
	Protopin	protopine
<i>G.aleppicum</i> (2)	Protopin	allocryptopine, protopine
<i>G.arabicum</i> (1,29)	Aporfin	isoboldine, magnofluorine, thaliporphine
	Protoberberin	berberine, canadine, methochloride dihydrate, coptisine, jatrorrhizine, oxyberberine, palmatine, thalifendine,
	Protopin	allocryptopine, 13- oxoallocryptopine, protopine
	Benzofenantridin	(-)-norchelidonine
<i>G.cappodocicum</i> (22)	Aporfin	corydine, glaucine, isocorydine, thalicmidine
	Promorfinan	salutaridine
<i>G.contortuplicatum</i> Boiss. (50)	Aporfin	dicentrine
	Promorfinan	sinoacutine
	Benzilizokinolin	reticuline
<i>G.corniculatum</i> Curt. (3,22,31,42,43)	Aporfin	bulbocapnine, (+)-corydine, corydine N-oxide, dehydrocorydine, dehydrodicentrine,

III. KİMYASAL BÖLÜM

		dehydroglaucine, dicentrine, dicentrinon, glaucine, glaufidine, (+)-isocorydine, isocorydine N-oxide, N-methylcorydine, N-methyl-laurotetanine, norbracteoline, predicentrine, thalicmidine
	Protoberberin	berberine, (-)- α -canadine methohydroxide, β -canadine methohydroxide, coptisine, (-)- β -stylopine methohydroxide, stylopine α -hydroxymethylate
	Protopin	allocryptopine, dihydroprotopine, protopine
	Benzofenantridin	chelerythrine, (+)-chelidonine, (-)-chelidonine, chelirubine, sanguinarine
	Pirolizidin	heliotrine
<i>G.corniculatum</i> <i>ssp.corniculatum</i> (38)	Protoberberin	berberine
	Protopin	allocryptopine, protopine
<i>G.corniculatum</i> <i>ssp.refractum</i> (19,20,38)	Aporfin	bulbocapnine, corydine, dehydrodicentrine, dicentrine, dicentrinone, glaucine, isocorydine, N-methyl-laurotetanine
	Promorfinan	o-methylflavinantine
	Protopin	allocryptopine, protopine
	Benzofenantridin	($\pm$)-chelidonine

<i>G.elegans</i> Fisch. et Mey. (42,43)	Aporfin	corydine, glaucine, glauvine, isoboldine, isocorydine, o-methylatheroline
	Protoberberin	coptisine
	Protopin	allocryptopine, protopin
	Benzofenantridin	chelerythrine, (±)-chelidonine, chelirubine dihydrochelerythrine, sanguinarine
<i>G.fimbrilligerum</i> Boiss. (40,42)	Benzilizokinolin	o-methylarmepavine, N-methyl- coclaurine, reticuline
	Aporfin	(+)-corydine, corytuberine, glaufidine, glaufine, glaunine, glaunidine, isoboldine, (+)- isocorydine, magnofluorine, N-methylindcarpine
	Protoberberin	berberine, coptisine, (-)-iso- corypalmine,
	Protopin	allocryptopine, protopine, chelerythrine, chelidonine, chelirubine, sanguinarine
<i>G.flavum</i> Crantz. (14,37,42,43)	Aporfin	arosine, arosinine, bulbocapnine, cataline, corunnine, (+)-corydine, corytuberine, dehydroglaucine, 6,7-dehydroglaucine, dehydronorglaucine, 6,6'- dehydronorglaucine, dicentrine, didehydroglaucine, dihydropontevedrine, (+)-

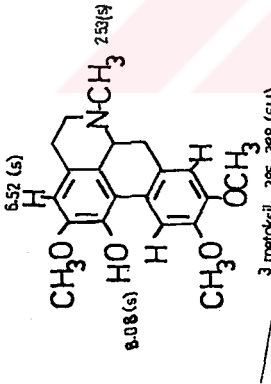
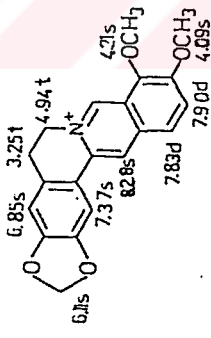
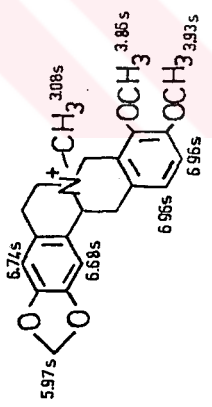
<i>G.flavum</i> Crantz. var. <i>vestitum</i> (10,40,42)	Aporfin	arosine, arosinine, cataline, corunnine, glaucine, pontevedrine, thalicmidine (=thaliporphine)
	Benzofenantridin	6-iminosanguinarine
<i>G.grandiflorum</i> Boiss. et Huet (17,38,42)	Aporfin	(+)-glaucine, glauvine, isoboldine, isocorydine, o-methyl- atheroline (=oxoglaucine), thalicmidine
	Protoberberin	berberine, (±)-tetrahydro- jatrorrhizine (=corypalmine), (±)- tetrahydropalmatine
	Protopin	allocryptopine, protopine
	Benzofenantridin	(-)-8-acetyldihydro- chelerythrine, dihydrochelerythrine, (-)- norchelidonine, sanguinarine
<i>G.grandiflorum</i> Boiss. et Huet var. <i>torquatum</i> (23)	Aporfin	corydine, (+)-glaucine, isocorydine
	Protoberberine	canadine methochloride
	Protopin	allocryptopine, cryptopine, protopine
<i>G.leicarpum</i> Boiss. (25,42,43)	Aporfin	corydine, dehydroglaucine, 6,6a- dehydroglaucine, 6,6a-dehydro- N-norglaucine, glaucine, (+) ve (±)-isoboldine, isocorydine, o-methylatheroline, thaliporphine
	Protopin	protopine
	Benzofenantridin	chelerythrine, chelidonine,

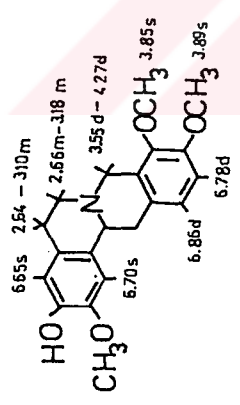
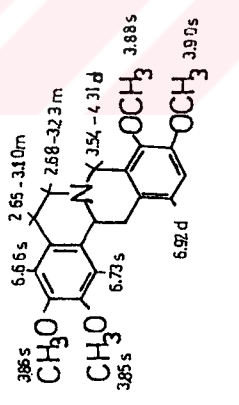
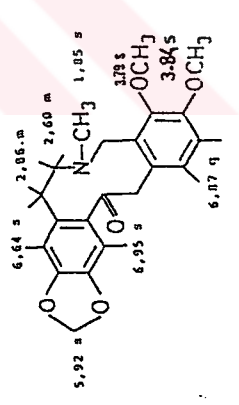
		dihydrosanguinarine, sanguinarine
<i>G.oxylum</i> Boiss. et Buhse (22,40,42,48)	Benzilizokinolin	N-methylcocclaurine
	Aporfin	corydine, corytuberine, dehydrocorydine, domesticine, glaucine, glaufidine, (+) ve (±)- isoboldine, isocorydine, isocorytuberine, magnoflorine iodide, O-methylatheroline, (+)- N-methylcorydinium iodide, N-methyl domesticinium iodide, norisocorydine, predicentrine
	Protoberberin	berberine, coptisine, corysamine, (-)-N-methylcanadinium iodide, (-)-N-methylstylopinium iodide, scoulerine
	Protopin	allocryptopine, protopine
	Benzofenantridin	chelerythrine, chelilutine, chelirubine, sanguinarine
<i>G.pulchrum</i> Stafp.pop.Elika (42)	Aporfin	bulbocapnine, corydine, isocorydine, N-methylindcarpine
	Protopin	protopine
<i>G.squamigerum</i> Kar. et Kir. (40,42,43)	Aporfin	corydine, corytuberine, magnoflorine
	Protoberberin	berberine, canadine, coptisine, corysamine, (-)-N- methylcanadinium iodide, (-)-N- methylisocorypalminium

		hydroxide, N-methylstylopinium hydroxide, N-methylstylopinium hydroxide, N- methyln-tetrahydropalmatinium hydroxide, scoulerine, stylopine
	Protopin	allocryptopine, protopine
	Benzofenantridin	chelerythrine, (-)-chelidonine, (+)-chelirubine, sanguinarine
<i>G.vitelinum</i> Boiss. et Buhse (22,40,42)	Aporfin	bulbocapnine, corydine, corytuberine, dihydrodicentrine, dicentrine, dicentrinone, glaucine, 4-hydroxybulbocapnine, isocorydine, N- methyllaurotetanine, N- methyllindcarpine, neolitsine
	Promorfinan	salutaridine
	Protoberberin	tetrahydropalmatine
	Protopin	protopine, muramine, allocryptopine
	Benzofenantridin	chelerythrine, chelidonine, chelirubine, dihydrochelerythrine, dihydrosanguinarine, sanguinarine

Tablo 2: *Glacium grandiflorum* Boiss & Huet. türünde bulunmuş alkaloidler

ALKALOİT (Adı ve grubu)	Formül ve NMR Spektrumu	Kapalı Formülü ve Erime Derecesi	UV ve Kütle Spektrumu
Corydine (Aporfin)	(27)	$C_{20}H_{23}O_4N$ 143-148°C (22, 27)	UV: EtOH λ 218, 262, 270, 302 nm max KÜTLE: M^+ 341, M^{++} 170.5, 340, 326, 324, 310, 298, 283, 267 (27)
Glaucine (Aporfin)	(27)	$C_{21}H_{25}O_4N$ E.D.: 120-121°C (27)	UV: EtOH λ 218, 281, 303 nm max KÜTLE: M^+ 355, M^{++} 177.5, 354, 340, 338, 324, 297, 281 (27)
Glauvine (Aporfin)	(27)	$C_{20}H_{17}O_5N$ (27)	UV: EtOH λ 228, 258, 324, 396 nm max (27)

ALKALOİT (Adı ve grubu)	Formül ve NMR Spektrumu	Kapalı Formülü ve Erime Derecesi	UV ve Kütle Spektrumu
Thalicmidine (=thaliporphine) (Aporfin)	 (27)	$C_{20}H_{23}O_4N$ 170-172°C (27)	UV: EtOH λ 220, 280, 305 nm max KÜTLE: M^+ 341(%100), 340, 326, 310, 298, 283, 267, 236 (27)
Berberine (protoberberin)	 (48)	$C_{20}H_{18}NO_4$ E.D.: 145°C	UV: EtOH λ 229, 266, 339, 349 nm max KÜTLE: 336, M^+ , 321, 320, 306, 292, 278 (49)
(-)- α -Canadine methohydroxide (protoberberin)	 (23)		UV: EtOH λ 235, 286 nm max KÜTLE: 339, 338, 176, 174, 164, 149 (%100), 142, 127 (36)

ALKALOİT (Adı ve grubu)	Formül ve NMR Spektrumu	Kapalı Formülü ve Erime Derecesi	UV ve Kütle Spektrumu
Tetrahydrojatrorrhizine (=corypalmine) (Protoberberin)	 (30)		
Tetrahydropalmatine (Protoberberin)	 (30)	$C_{21}H_{25}O_4N$ 141-142°C	UV: EtOH λ 280 nm max KÜTLE:M 355, 354, 340, 190, 165, 164, 149, 121 (47)
Allocriptopine (protopin)	 (28)	$C_{20}H_{19}O_5N$ α -160-161° (EtOH-eter) β -164-165 (aseton)	UV: EtOH λ 230, 285 nm max KÜTLE:369(M ⁺), 354, 352, 341, 338, 297, 268, 206, 164 (%100), 149, 134 (28)

ALKALOİT (Adı ve grubu)	Formül ve NMR Spektrumu	Kapalı Formülü ve Erime Derecesi	UV ve Kütle Spektrumu
Protopine (protopin)	(28)	$C_{20}H_{19}O_5N$ 207-208° (MeOH) (28)	UV: EtOH λ 238, 288 nm max KÜTLE: 353M ⁺ , 338, 336, 325, 322, 310, 309, 295, 281, 267, 252, 251, 205, 190, 163, 148(%100), 134 (28)
Cryptopine (protopin)	(46)	$C_{21}H_{23}O_4N$ 222-223° (CHCl ₃ -EtOH) (28)	UV: EtOH λ 234, 286 nm max KÜTLE: 369 (M ⁺), 354, 352, 341, 338, 326, 311, 297, 283, 268, 267, 221, 190, 179, 148 (%100) (28)
Dihydrochelerythrine (benzofenantridin)	(34)	$C_{21}H_{19}NO_4$ 161-162° (CHCl ₃ - MeOH) 164-165° (EtOH) (34)	UV: EtOH λ 227, 282, 318, 350 nm max KÜTLE: 349, 348, 347, 333, 332, 318, 305, 304, 290 (34)

ALKALOİT (Adı ve grubu)	Formül ve NMR Spektrumu	Kapalı Formülü ve Erime Derecesi	UV ve Kütle Spektrumu
8-acetonyldihydro- chelerythrine (benzofenantridin)		$C_{24}H_{23}NO_5$ 193-194°C (Me ₂ OH) (34)	UV: EtOH λ 231, 284, 319 nm max KÜTLE: 405M ⁺ , 348, 299.5, (34)
(-)-Norchelidonine (benzofenantridin)		$C_{19}H_{17}NO_5$ 198-199°C (CHCl ₃ - EtOH) (34)	UV: EtOH λ 239, 288 nm max (34)
Sanguinarine (benzofenantridin)		$C_{20}H_{14}NO_4$ (Cl ⁻) 264-266° (Et ₂ O) (Cl ⁻) 273°C (CHCl ₃ - MeOH) (34)	UV: EtOH Cl ⁻ λ 236, 285, 328, 352, 400, 476 nm max KÜTLE: (Cl ⁻) 347(M ⁺), 333, 332, 317 (%100) (34)

2. DENEYSEL BÖLÜM

A. MATERYAL

Kullanılan materyale ait toplama yer ve tarihleri Tablo 3’de gösterilmiştir.

Materyal	Yer	Tarih	ISTE No
<i>Glaucium grandiflorum</i> Boiss.et Huet var. <i>grandiflorum</i>	Bolu	Temmuz 1997	74322
<i>Glaucium grandiflorum</i> Boiss.et Huet var. <i>grandiflorum</i>	Sivas	Haziran 1995	68159

Tablo 3- *Glaucium grandiflorum* Boiss.et Huet var.*grandiflorum* türüne ait örneklerin toplama yerleri

B- Genel Metotlar

1- Fitokimyasal Ön Denemeler

5g kaba toz edilmiş materyal üzerine 100 ml sıcak su konuldu ve karışım 5 dakika sıcak su banyosunda tutuldu. Soğuduktan sonra pamuktan süzöldü. Bu infüzyonda alkaloit, flavon, antrasen, saponin ve tanen türevleri arandı.

1a) Flavon türevlerinin aranması: 5 ml infüzyon üzerine 5 ml klorhidrik asitli etanol (Shibata belirteci=1k derişik klorhidrik asit, 1k su, 1k etanol) ve biraz magnezyum talaşı ilave edildi. Pembe, turuncu veya mor bir rengin meydana gelip gelmediğı gözlemlendi.

1b) Antrasen türevlerinin aranması: 10 ml infüzyon üzerine 5 damla derişik sülfürik asit konuldu. Karışım 15 dakika sıcak su banyosunda tutulup, glikozitler hidrolize edildi. Karışım soğuduktan sonra 5 ml benzen ile çalkalandı. Benzenli tabaka bir pipetle diğeri bir tübe aktarıldı ve üzerine 3 ml %10'luk amonyak çözeltisi ilave edildi. Kırmızı bir rengin meydana gelip gelmediğı gözlemlendi.

1c) Saponin aranması: 10 ml infüzyon bir deney tübüne konuldu. Tüp baş parmak ile sıkıca kapatıldıktan sonra yatay olarak 30 saniye kuvvetle çalkalandı ve dinlenmeye bırakıldı. 15 dakika sonra tüpte en az 1 cm yükseklikte kalıcı bir köpüğün oluşup oluşmadığı gözlemlendi.

1d) Tanen bileşiklerinin aranması: 10 ml infüzyon üzerine 2ml tuzlu jelatin çözeltisi (sodyum klorür ile doyurulmuş %1'lik jelatin çözeltisi) ilave edildi. Krem renkli bir çökeleğin oluşup oluşmadığı gözlemlendi.

Gallik ve kateşik tanenin ayrılması: 5 ml infüzyon üzerine 3 damla %5'lik FeCl_3 çözeltisi ilave edildi. Mavi siyah (gallik tanen) veya esmer zeytin yeşili (kateşik tanen) rengin oluşup oluşmadığı gözlemlendi.

1e) Alkaloit aranması: 5 ml infüzyon üzerine 3 ml % H_2SO_4 + 3 damla Mayer reaktifi konur. Süt rengi çökelek numunede alkaloit bulunduğunu gösterir.

2- Miktar Tayini Yöntemleri

2a) Su miktar tayini: Etüvde ısıtılarak sabit vaze getirilmiş bir cam tartı kabı içine 1g kaba toz halde drog konulup tam olarak tartıldı. 2 saat 100-105 derecelik etüvde kurutuldu ve bir desikatörde soğutulduktan sonra tartıldı.

2b) Kül miktar tayini: Sabit ağırlığa getirilmiş bir porselen krozedde 1g drog, tam olarak tartıldı. Önce alçak ısıda sonra 800 dereceyi geçmeyen bir ısıda yarım saat yakıldı. Desikatörde soğutulup, tartıldı.

3- Alkaloitlerin Tüketilmesi

Aynı türe ait farklı yerlerden toplanmış bitki örneklerinin topraküstü kısımları laboratuvar ısısında kurutuldu ve orta incelikle toz edildi.

3a) Tersiyer Alkaloitlerin Tüketilmesi ve Ayrılması

Toz edilmiş materyal oda ısısında, etanol ile tüketme sıvısı seyreltik Dragendorff belirtecine karşı pozitif reaksiyon vermeyinceye kadar perkolatörde tüketildi. Etanollü kısımlar alçak baskıda şurup kıvamına dek yoğunlaştırıldı. Bakiye %3'lük sülfürik asit çözeltisi ile alındı. Klorofil, yağ vb. maddelerin uzaklaştırılması için önce petrol eteri daha sonra dietil eter ile tüketildi. Asitli kısım %10'luk amonyak çözeltisi ile kalevilendirildi ve kloroform ile Dragendorff belirtecine karşı pozitif reaksiyon vermeyinceye dek tüketildi. Kloroformlu kısımlar birleştirildi, susuz sodyum sülfat ile suyu alındı, süzüldü ve alçak baskıda kuruluğa dek uçurularak tersiyer alkaloitler elde edildi.

3b) Katerner Alkaloitlerin Tüketilmesi ve Ayrılması

Kloroform ile tüketmeden sonra geriye kalan sulu kısmın pH sı dilüe hidroklorik asit çözeltisi ile 6-7'ye ayarlandı, hacminin 1/4'ü oranında potasyum iyodürün sudaki doymuş çözeltisi ilave edildi. Kloroform ile tüketildi. Susuz sodyum sülfat ile suyu alındı, ekstresi elde edildi. Katerner ekstre daha sonra çalışılmak üzere saklandı.

4. Kromatografik Yöntemler

4a) İnce Tabaka Kromatografisi

4a.1- Silikajel

Laboratuvarda hazırlananlar ve hazır plaklar kullanıldı.

Plakların Hazırlanması: 30 g silikajel (Kieselgel G nach Stahl-Merck) ve 60 ml distile su ile hazırlanan süspansiyon, 20x20 cm boyutlarındaki 5 adet cam plağa 0.25 mm kalınlığında Desaga plak yayıcısı ile yayıldı. 12 saat laboratuvar ısısında kurutulduktan sonra 1 saat 100-105°C lik etüvde aktive edildi.

Hazır Plak: DC-Alufolien Kieselgel 60 F₂₅₄, 0.2 mm (Merck-5554)

Silikajel Adsorban ile Kullanılan Çözücü Sistemleri:

Çözücü Sistemi	No.
Kloroform:MeOH (9:1)	I
Kloroform:MeOH + der. Amonyak (9:1:0.1)	II
Kloroform:MeOH (8:2)	III
Kloroform:MeOH + der.Amonyak (8:2:0.1)	IV
Kloroform:MeOH + der.Amonyak (6:4:0.1)	V
Toluen:Aseton:MeOH + der.Amonyak (45:45:7:3)	VI
Benzen:Aseton:MeOH + der.Amonyak (7:2:1:0.5)	VII
Benzen:Aseton:MeOH + der.Amonyak (8:2:0.03)	VIII
Benzen:Aseton:Dietileter:NH ₃ (40:60:10:3)	IX
Benzen:Aseton (9:1)	X
Benzen:Etilasetat:MeOH (1:1:1)	XI
Etilasetat:Aseton:Metanol:Dietilamin (45:30:20:5)	XII

4a.2- Alüminyum Oksit

40 g alüminyum oksit Alüminium Oxid G (Type E-merck) ve 60 ml distile su ile hazırlanan süspansiyon, Desaga plak yayıcısı ile 20x20 cm boyutlarındaki 5 adet cam plağa 0.25 mm kalınlığında yayıldı. 12 saat oda ısısında kurutulduktan sonra 1 saat 100-105°C lik etüvde aktive edildi.

Çözücü Sistemi	No:
Heptan:Eter:Kloroform (1:6:3)	XIII

Çözücüler, kaplanan plaklarda, laboratuvar ısısında, 15-17 cm yükseltildi. Alkaloitler ya kloroformda, eğer kloroformda çözünmüyorsa kloroforma 1-2 damla metanol damlatılarak çözeltileri halinde plaklara tatbik edildi.

Belirteçler:

- Dragendorff Belirteci:

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

Çözelti B: 8 g. potasyum iyodürün 20 ml sudaki çözeltisi

Stok Çözelti: A ve B çözeltilerinden eşit hacimde alınarak karıştırıldı.

Kromatogramlardaki alkaloit lekelerini belirlemek için 10 ml stok çözelti, 20 ml glasiyal asetik asit ve 100 ml distile su ile karıştırılıp plaklara püskürtüldü.

- %60'lık Sülfürik Asit Çözeltisi

Plaklara asit çözeltisi püskürtüldükten sonra etüvde 105°C de 5' bırakılarak karakteristik renklerin oluşması sağlandı.

4b) Preparatif İnce Tabaka Kromatografisi

Adsorban olarak silikajel kullanıldı.

Plakların hazırlanması:

Kieselgel HF₂₅₄ (Merck) distile su ile süspansiyon haline getirilerek (adsorban 1 k + distile su 1 k) 20x20 cm boyutlarındaki 5 adet cam plağa 0.50 - 1.00 mm kalınlığında yayıldı. Plaklar 12 saat oda ısısında kurutuldu ve 105°C de 1 saat aktive edildi.

Çözücü olarak ince tabaka kromatografisinde en iyi sonuç alınan sistemler kullanıldı. Sürükleme işlemi tamamlandıktan sonra, plak kurutuldu ve gerektiğinde aynı sistemde bir kere daha developpe edildi. Oluşan bantlar UV ışık altında incelendi. Bantların yerlerinin tam olarak belirlenememesi halinde, plağın boyuna çok ince bir şerit halinde Dragendorff belirteci püskürtüldü. Bantlar plaktan

kazandıktan sonra, adsorbanın miktarına göre Pasteur pipetlerinden veya 0.5-2.00 cm çapında sütunlardan kloroform:metanol karışımının değişen oranları ile elüe edildi. Elüatlar, filtre kağıdından süzüldü, alçak baskıda kuruluğa dek distillendi, uygun bir çözücü veya çözücü karışımında çözüldü, tekrar süzülerek kristallenmeye bırakıldı.

4c) Sütun kromatografisi:

4c.1. Silikajel sütun:

Adsorban olarak Kieselgel 60, Korngrösse 0.063 - 0.200 mm 70 - 230 mesh., ASTM (Merck) kullanıldı.

Adsorban çözücü sistemi ile karıştırılarak süspansiyon haline getirildi. Bu süspansiyon, altına pamuk konmuş ve içinde 2 cm yüksekliğinde çözücü bulunan bir sütuna içinde hava kabarcığı kalmamasına dikkat edilerek döküldü. Süspansiyonun sütuna aktarılması sırasında, sütunun musluğu eşit aralıklarla damlar durumda tutuldu ve adsorbanın yerleşmesi için bir gün bu konumda bekletildi.

Sütundan alınan fraksiyonlar İTK ile incelendi. Aynı alkaloit veya alkaloit karışımını içeren fraksiyonlar birleştirildi, alçak baskıda kuruluğa kadar distile edildi. Karışım halinde olan fraksiyonlar preparatif İTK yapılarak saflaştırıldı.

4c.2. Aluminyum oksit sütun:

Adsorban olarak aluminiumoxid aktive neutral, Aktivitätsstufe I (Merck) kullanıldı. Sütunun hazırlanmasında yukarıdaki yol izlendi.

5. Erime derecesi tayini:

Büchi 530 aleti kullanıldı.

6. Spektroskopik metodlar:

6a. UV: Shimadzu UV-2100s ve Shimadzu UV-1601 aletleri kullanıldı.

Spektrumlar, 1 cm'lük kuvartz küvetler kullanılarak maddenin metanoldeki çözeltisi ile alındı. Fenolik alkaloidlerin spektrumları bir küvet dolusu çözeltiye 2 damla 0.1 N NaOH çözeltisi ilave edilerek alındı. Çözeltiye 3 damla 0.1 N HCl çözeltisi ilave edilerek spektrum tekrar alındı*.

6b. IR: Spektrumlar Perkin-Elmer 1600 Series FTIR aletinde alındı.

Maddeler kloroformda çözülerek spektrumları alındı.

6c. ¹H-NMR: Bruker FT 200 Mhz aleti kullanıldı. Çözücü olarak CDCl₃, iç standart olarak TMS kullanıldı.

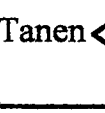
6d. KÜTLE: Spektrumlar, AEI MS-902 modeli alet ile alındı.

*UV spektrumları çekiminde yardımlarını esirgemeyen İ.Ü.Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Öğretim Üyeleri ve yardımcılara teşekkürlerimi sunarım.

3. BULGULAR

1. Fitokimyasal Ön Deneme Sonuçları

Bolu ve Sivas'tan toplanıp gölgede kurutulduktan sonra toz edilen materyalde genel metodlar kısmında bahsedilen fitokimyasal ön deneme sonuçları aşağıdaki tabloda gösterilmiştir.

Örnek	Etken Madde Grubu	Fitokimyasal Ön Deneme Sonuçları
I	Flavon Türevleri	+
	Antrasen Türevleri	-
	Saponin	+
	Tanen 	-
		+
	Alkaloit	+
II	Flavon Türevleri	-
	Antrasen Türevleri	-
	Saponin	-
	Tanen 	-
		+
	Alkaloit	+

Tablo 4- Fitokimyasal ön deneme sonuçları

Örnek I: *G.grandiflorum* var.*grandiflorum* (BOLU)

Örnek II: *G.grandiflorum* var.*grandiflorum* (SİVAS)

Buna göre, Bolu'dan toplanan materyalin topraküstü kısımlarının flavon, saponin, kateşik tanen ve alkaloit; Sivas'tan toplanan materyalin toprak üstü kısımlarının ise kateşik tanen ve alkaloit taşıdığı saptandı.

2- Miktar Tayinlerinin Sonuçları:

Genel metotlar kısmında bahsedildiği şekilde çalışılarak bulunan kül ve su miktar tayini sonuçları aşağıda verilmiştir.

Örnek	Miktar Tayini	Sonuç
I	Su	%4.09
	Kül	%14.16
II	Su	%4.72
	Kül	%9.36

Tablo 5- Su ve kül miktar tayini sonuçları

Örnek I: *G.grandiflorum var.grandiflorum* (BOLU)

Örnek II: *G.grandiflorum var.grandiflorum* (SİVAS)

G.GRANDIFLORUM VAR.GRANDIFLORUM TÜRÜNÜN ALKALOİTLERİ

3a. Alkaloitlerin tüketilmesi:

1995 yılının Haziran ayında Sivas'tan ve 1997 yılının Temmuz ayında Bolu-Gerede'den toplanan materyalin topraküstü kısımları orta incelikte toz edildi, genel metodlar bölümünde anlatıldığı şekilde tüketildi, tersiyer alkaloit ekstraları elde edildi. Aşağıda çalışılan materyal, elde edilen tersiyer ekstre miktarları aşağıda gösterilmiştir.

	Materyal miktarı (g)	Total ekstre miktarı (g)	% Verim
1995 (Sivas)	355	1.9423	%0.54
1997 (Bolu-Gerede)	2500	17.2084	%0.68

Tablo 6- Ekstre miktarları ve % verim

3b. Alkaloitlerin Ayrılması ve Saflaştırılması.

3b.1. 1997-Bolu: 10.4818 g ekstre kloroformda çözüldü ve 20 g silikajel ile karıştırılarak 400 g Kieselgel 60 (korngrosse) 0.063 - 0.200 mm (Merck) ile hazırlanmış 3.5 cm çapındaki sütuna döküldü.

Alkaloitlerin elüsyonu için çözücü olarak sütundan sırasıyla Kloroform, Kloroform-Metanol (9:1) ve Kloroform:Metanol (5:5) geçirildi. 25'er ml'lik toplam 89 fraksiyon alındı. 1-78. fraksiyonlar Kloroform, 78-85. fraksiyonlar Kloroform:Metanol (9:1), 86-89. fraksiyonlar Kloroform:Metanol (5:5) çözücü sistemleri ile alındı. İTK da incelendikten sonra berzer fraksiyonlar birleştirildi. Bu fraksiyonların miktarları aşağıda gösterilmiştir.

Fraksiyon No.	Miktarı (g)	Fraksiyon No.	Miktarı (g)
1	0.4973	28-30	0.1659
2-3	0.1930	31	0.0436
4	0.0066	32-35	0.1065
5	0.0339	36-42	0.1752
6	0.0231	43-44	0.0470
7	0.0332	45	0.0599
8	0.9632	46-47	0.0172
9-10	0.8111	48	0.0098
11-12	0.9598	49-51	0.0630
13-16	1.0782	52	0.0212
17-18	0.1804	53-54	0.0575
19	0.0828	55-63	0.3023
20	0.0435	64	0.0510
21	0.0766	65-66	0.0643
22	0.0403	67-70	0.1448
23	0.0430	71-76	0.1342
24	0.0358	77	0.0715
25	0.0338	78	0.3239
26	0.0568	79	0.3005
27	0.0569	80	0.1397

81	0.1210	86	0.0298
82	0.0530	87	0.0341
83	0.0204	88	0.0819
84	0.0114	89	0.0857
85	0.0326		

Tablo 7- Fraksiyon miktarları (BOLU ekstresi)

Alınan fraksiyonların taşıdığı alkaloitleri ayırmak için yine sütun kromatografisi ve preparatif İTK dan yararlanılmıştır. Her bir alkaloit için uygulanan yöntem, çözücü sistemi ve elde edilen miktar aşağıda anlatılmıştır.

Isocorydine

Fr. 8, 9-10, 11-12, 13-16, 17-18 ve 19 sütundan Kloroformla alınıp çözücüleri uçtuktan sonra kristallendiler (4.0755 g). E.D.: 180°C

Isocorydine+corydine

Fr. 22-25, (152.9 mg) İTK'da bu fraksiyonların her iki alkaloidi taşıdığı saptandı.

Corydine

32-35. fraksiyonun uçurulması ile elde edilen alkaloit, kloroformda çözülerek 1,2 cm çapında bir sütuna koyulan aluminyum oksitten geçirildi. Heptan:Eter:Kloroform (1:6:3) karışımından kristaller halinde elde edildi. E.D.: 140°C

Fr. 26-45 (711 mg) İTK'da bu fraksiyonlar tek leke vermiştir.

Protopine

Fr. 49-51 (63 mg) silikajel plakta Benzen:Aseton:Metanol:der. Amonyak (7:2:1:0.5) Çözücü sisteminde preparatif İTK yapıldı. 3 bant ayrıldı. En üst bant plaktan kazındı, adsorbandan CHCl_3 :MeOH (9:1) karışımı ile elüe edildi. 26.1 mg madde elde edildi.

Protopin+Isocorytuberine

Fr. 52-77 (0.846 mg) İTK'da incelendiğinde protopine şiddetli, isocorytuberine çok zayıf leke verdi.

Isocorytuberine ve Protopine

Fr.78 (323.9 mg) kloroformda ve 1-2 damla MeOH de çözülerek 2 cm çapında bir sütuna konan silikajelden geçirildi. Sütundan çözücü olarak sırasıyla Kloroform, Kloroform:Metanol (99:1), Kloroform:Metanol (95:5), (90:10) ve (80:20) geçirildi. Tüplere toplanan 15 er ml lik fraksiyonlar üzerinde yapılan kromatografik kontrollerde, sütundan Kloroform:Metanol (95:5) ile alınan 6,7 ve 8. fraksiyonların bu alkaloitleri yüksek oranda taşıdığı saptandı. Bu fraksiyonlar silikajel plakta CHCl_3 :MeOH (8:2) çözücü sisteminde preparatif kromatografi yapıldı. İki bant ayrıldı. Üstteki bant plaktan kazınarak, adsorbandan CHCl_3 :MeOH (9:1) karışımı ile elüe edildi (18 mg isocorytuberine). Diğer bant da aynı şekilde kazındı ve elüe edildi (87 mg protopine).

3b.2. 1995-Sivas: 1.9 g ekstre 5 ml kloroformda çözüldü, çok az silikajel ile karıştırıldı ve 100 g Kieselgel 60 Korngrösse 0.063 - 0.200 mm (Merck) ile hazırlanmış sütuna döküldü.

Alkaloitlerin elüsyonu için çözücü olarak önce kloroform sonra Kloroform:Metanol (9:1), en son Kloroform:Metanol (5:5) sütundan geçirildi. Kromatografiye sütundan Metanol geçirilerek son verildi. 20 şer ml lik toplam 115

fraksiyon alındı. ilk 80 fraksiyon Kloroform ile alındı. 81 - 111. fraksiyonlar Kloroform:Metanol (9:1) ile; 112 - 115. fraksiyonlar Kloroform:Metanol (5:5) ile alındı. Son olarak sütun MeOH ile yıkandı.

Bu fraksiyonların çözücülerini uçurulup yoğunlaştırıldı, çok az kloroformda çözündürülerek ince tabaka kromatografisinde incelendi ve benzer fraksiyonlar birleştirildi.

Alınan fraksiyonların miktarları aşağıda gösterilmiştir.

Fraksiyon No.	Miktarı (g)	Fraksiyon No.	Miktarı (g)
1-2	0.0599	46-54	0.0402
3	0.0067	55-70	0.0645
4-6	0.0143	71-80	0.0181
7	0.0028	81-83	0.0768
8-10	0.0221	84-85	0.2119
11	0.0112	86-87	0.2158
12-16	0.1726	88-89	0.1247
17-30	0.1945	90-95	0.0846
31-36	0.0166	96-111	0.0469
37-41	0.013	112-115	0.0673
42-45	0.0169		

Tablo 8- Fraksiyon miktarları (SİVAS ekstresi)

Bu fraksiyonların taşıdığı alkaloitleri ayırmak için preparatif İTK dan yararlanılmıştır.

Isocorydine

11., 12-16.; 17-30. fraksiyonlar isocorydine test maddesi ile değişik çözücü sistemlerinde İTK ile incelenmiş ve bu alkaloidi taşıdıkları saptanmıştır (0.3783 g)

Protopine

37. fraksiyondan 83. fraksiyona dek tüm fraksiyonlarda protopine test maddesi ile yapılan İTK kontrollerinde bu alkaloidin varlığı tespit edilmiştir (0.229 g).

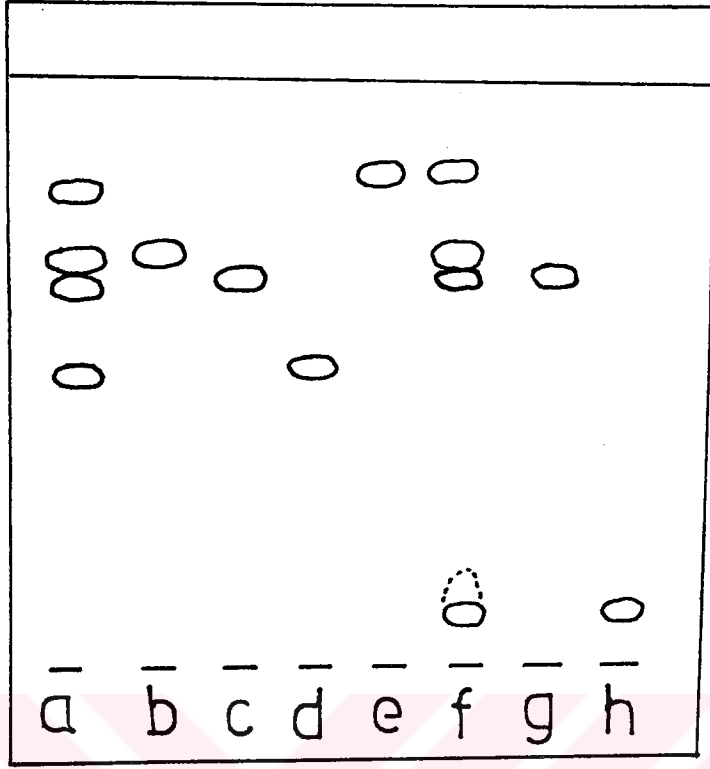
Ayrıca bu alkaloid %60 lık H_2SO_4 ile eflatun renk vermektedir.

Allocryptopine

Fr.84-85 (40 mg) ve Fr.86-87 (47.6 mg) Benzen:Aseton:Dietileter:Amonyak (40:60:10:3) çözücü sisteminde silikajel plakta preparatif İTK yapıldı. Birbirinden ayrılan iki banttın üstteki bant kazınarak alındı. Alkaloid adsorbandan $CHCl_3$:MeOH (9:1) karışımı ile elüe edildi. Süzölüp, tartıldı (30 mg).

N-Methyl canadine

Fr.88-89 (124.7 mg) Etil asetat:Aseton:Metanol:Dietilamin (45:30:20:5) çözücü sistemi ile silikajel plakta preparatif İTK yapıldı. Birbirinden ayrılan iki banttın üstteki bant kazınarak alındı. Alkaloid adsorbandan $CHCl_3$:MeOH (9:1) karışımı ile elüe edildi. Süzölüp, tartıldı (15 mg).



Şekil 1: *G.grandiflorum* var.*grandiflorum* örneklerinin tersiyer alkaloit ekstrelerinin ve şahit maddelerin ince tabaka kromatografisi.

Adsorban: Silikajel

Çözücü Sistemi: Toluen:Aseton:MeOH:der.Amonyak (45:45:7:3).

a-Bolu ekstresi

e- protopine

b- isocorydine

f- Sivas ekstresi

c- corydine

g- allocryptopine

d- isocorytuberine

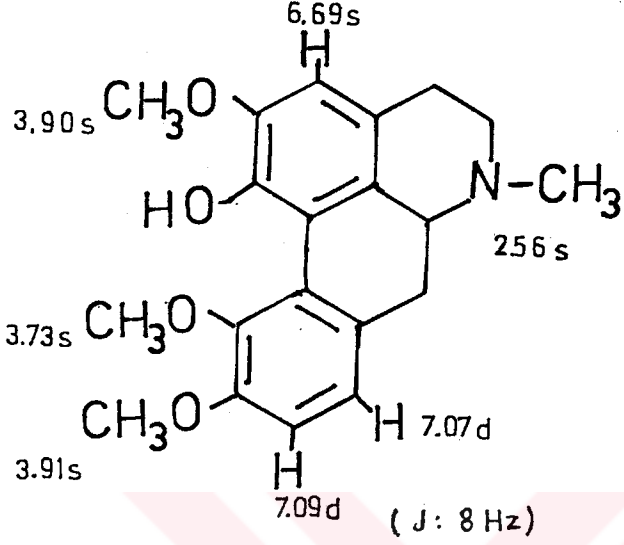
h- N-metil canadine

ALKALOİT	Ç Ö Z Ü C Ü S İ S T E M İ											
	I	II	III	IV	V	VI	VII	IX	XII			
Corydine	0.64	0.82	0.64	0.88		0.44	0.43	0.72				
Isocorydine	0.78	0.85	0.70	0.88		0.54	0.50	0.78				
Isocorytuberine	0.42	0.49	0.52	0.82		0.39	0.31	0.53				
protopine	0.31	0.80	0.31	0.87		0.61	0.54	0.81				
allocryptopine		0.51		0.48	0.68	0.45		0.75	0.72			
N-metil canadine									0.37			

Tablo 9- *G.grandiflorum* var. *grandiflorum* türünden elde edilen alkaloidlerin İTK daki Rf değerleri

APORFIN GRUBU

CORYDINE



E.D.: 140°C

Rf Değerleri (Tablo 9)

UV Spektrumu (Spektrum 1)

MeOH
 λ 222, 264, 270, 304 nm
max

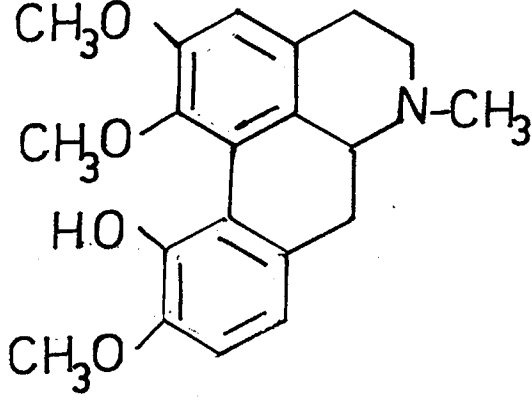
IR Spektrumu (CHCl₃) (Spektrum 2) 1595, 1574, 1492, 1462, 1408, 1371, 1343, 1327, 1285, 1239, 1173, 1139, 1102, 1079, 1048, 1028 cm⁻¹

¹H-NMR Spektrumu (CDCl₃) (Spektrum 3)

Değerler formül üzerinde gösterilmiştir.

Spektral analizlerden elde edilen bulguların literatür verileriyle karşılaştırılması sonucu bu alkaloidin aporfin grubundan CORYDINE olduğu saptandı (27).

ISOCORYDINE



E.D.:180°C

Rf Değerleri (Tablo 9)

UV Spektrumu (Spektrum 4)

MeOH
 λ 221, 267, 304 nm
max

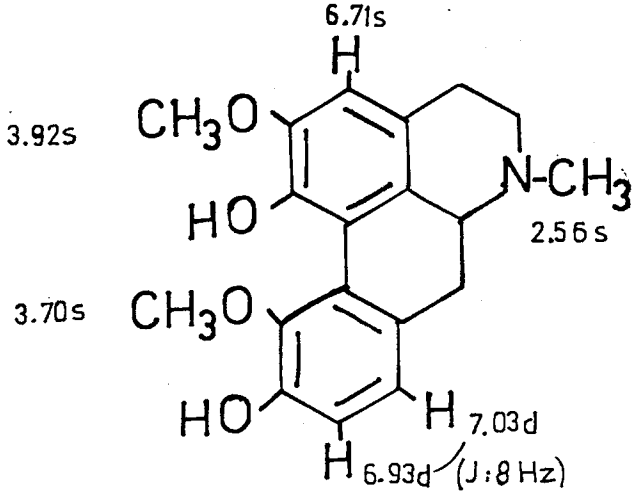
IR Spektrumu (CHCl₃) (Spektrum 5) 1594, 1577, 1497, 1469, 1407, 1371, 1318, 1289, 1239, 1136, 1103, 1077, 1045 cm⁻¹

Şahit isocorydine ile üstüste alınan spektrumda farklılık görülmedi.

Spektral analizlerden elde edilen bulgular literatür verileriyle uygunluk göstermektedir (27).

Ayrıca alkaloidin İTK daki Rf değerleri isocorydine şahit maddesi ile karşılaştırıldığında aralarında bir fark görülmedi.

ISOCORYTUBERINE



Rf Değerleri (Tablo 9)

UV Spektrumu (Spektrum 6)

MeOH
 λ 220, 273, 308 nm
max

IR Spektrumu (CHCl₃) (Spektrum 7) 1463, 1376, 1294, 1238, 1165, 1131, 1076, 1018 cm⁻¹

EIMS (Spektrum 8)
m/e 327(M⁺), 310, 296, 284, 269, 253

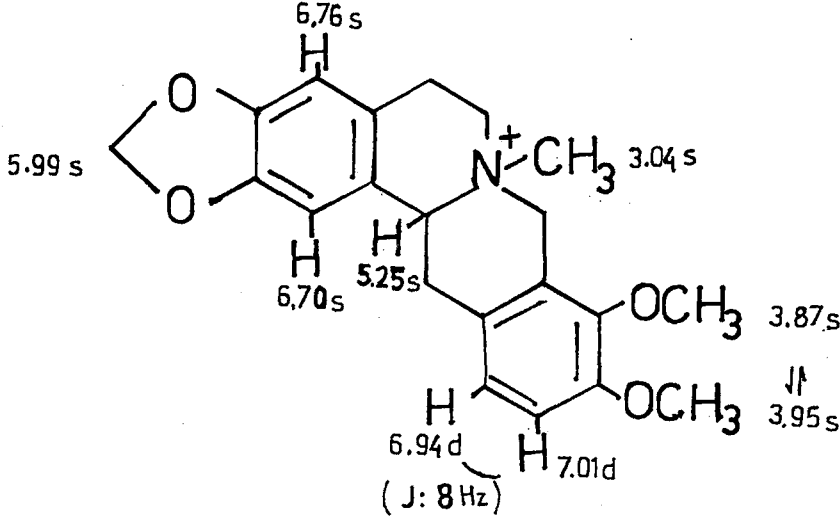
¹H-NMR Spektrumu (CDCl₃) Spektrum (9)

Değerler formül üzerinde gösterilmiştir.

Spektral analizlerden elde edilen bulgular literatür verileriyle uygunluk göstermektedir (26).

PROTOBERBERIN GRUBU

N-METİL CANADINE



Rf Değerleri (Tablo 9)

UV Spektrumu (Spektrum 10)

MeOH

λ 216, 286 nm

max

IR Spektrumu (CHCl₃) (Spektrum 11) 1503, 1462, 1395, 1349, 1282, 1235, 1163, 1086, 1037, 965, 933 cm⁻¹

¹H-NMR Spektrumu (CDCl₃) Spektrum (12)

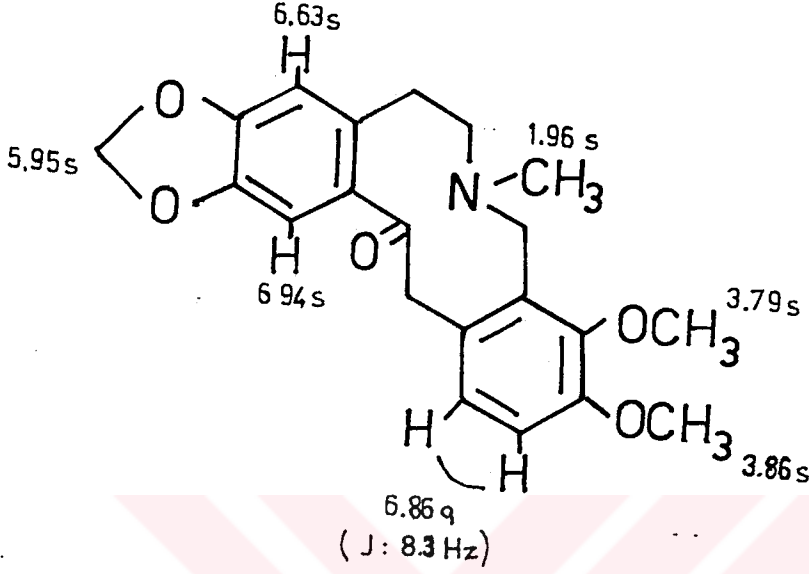
Değerler formül üzerinde gösterilmiştir.

Spektral analizlerden elde edilen bulgular literatür verileriyle uygunluk göstermektedir (23).

Elde ettiğimiz madde miktarı az olduğundan alkaloidin “cis” ya da “trans” yapıda olup olmadığı hakkında kesin bir bulgu saptanamamıştır.

PROTOPIN GRUBU

ALLOCRYPTOPINE



Rf Değerleri (Tablo 9)

UV Spektrumu (Spektrum 13)

MeOH
 λ 206, 285 nm
max

IR Spektrumu (CHCl₃) (Spektrum 14) 1658, 1614, 1582, 1485, 1081, 1039, 923 cm⁻¹

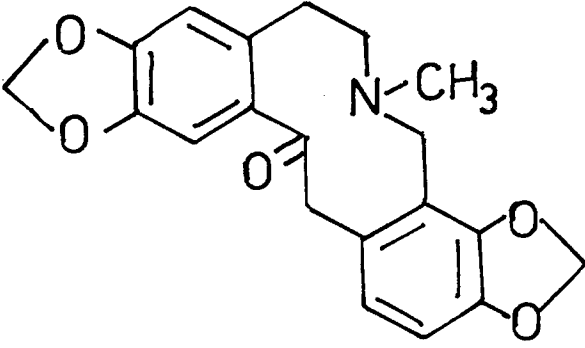
Şahit allocryptopine ile üstüste alınan spektrumda farklılık görülmedi.

¹H-NMR Spektrumu (CDCl₃) Spektrum (15)

Değerler formül üzerinde gösterilmiştir.

Spektral analizlerden elde edilen bulgular literatür verileriyle uygunluk göstermektedir (28).

PROTOPINE



Rf Değerleri (Tablo 9)

UV Spektrumu (Spektrum 16)

MeOH
 λ 240, 290 nm
max

IR Spektrumu (CHCl₃) (Spektrum 17) 1659, 1615, 1503, 1484, 1416, 1367, 920 cm⁻¹

Şahit protopine ile üstüste alınan spektrumda farklılık görülmedi.

Spektral analizlerden elde edilen bulgular literatür verileriyle uygunluk göstermektedir (28).

Ayrıca alkaloidin İTK daki Rf değerleri protopine şahit maddesi ile karşılaştırıldığında aralarında bir fark görülmedi.

IV. SONUÇ VE TARTIŞMA

Bu çalışmada, *Glaucium grandiflorum* Boiss. et Huet var.*grandiflorum* bitkisinin Türkiye'nin iki farklı yöresinde yetişen örneklerinin alkaloitleri incelenmiştir.

Bolu (Gerede) civarından toplanan örnekten aporfin grubundan isocorydine, corydine, isocorytuberine, protopine grubundan protopine, Sivas çevresinden toplanan örnekten ise yine aporfin grubundan isocorydine, protopine grubundan protopine ve allocryptopine ile protoberberin grubundan N-methyl canadine elde edilmiştir (Tablo 10).

BİTKİ	ALKALOİT	ALKALOİT GRUBU
<i>Glaucium grandiflorum</i> var. <i>grandiflorum</i> (BOLU)	corydine	APORFİN
	isocorydine	
	isocorytuberine	
	protopine	PROTOPİN
<i>Glaucium grandiflorum</i> var. <i>grandiflorum</i> (SİVAS)	isocorydine	APORFİN
	N-metil canadine	PROTOBERBERİN
	allocryptopine	PROTOPİN
	protopine	

TABLO 10- *Glaucium grandiflorum* var.*grandiflorum* türünden elde edilen alkaloitler ve grupları

Isocorydine ve protopine'nin her iki örnekte de ana alkaloit olarak bulunduğu saptanmış, corydine alkaloidinin ise oldukça yüksek miktarda sadece Bolu örneğinde bulunduğu ortaya konmuştur.

Varyetesi belirtilmemiş *G.grandiflorum* üzerinde daha önce yapılan çalışmalarda ana alkaloitler olarak protopine'in yanında allocryptopine elde edildiği kayıtlıdır (17,38). Endemik bir varyete olan var.*torquatum* üzerinde yapılan çalışmada da ana alkaloit olarak yine protopin grubundan protopine ve allocryptopine, minör alkaloit olarak aporfin grubundan corydine, glaucine, isocorydine, protopin grubundan cryptopine ve protoberberin grubundan N-methyl canadine bulunduğu belirtilmiştir (22).

Türkiye'nin iki değişik yöresinden toplanmış *G.grandiflorum* var.*grandiflorum* örnekleri, *G.grandiflorum* var.*torquatum* bitkisinden ana alkaloit olarak isocorydine taşınmasıyla farklılık göstermektedir. Isocorydine incelediğimiz her iki örnekte de miktarı en yüksek alkaloittir. Allocryptopine ise Sivas örneğinde minör alkaloit olarak bulunmuştur.

Bu çalışmada, türden ilk kez elde edilen, bir aporfin alkaloidi olan isocorytuberine olmuştur. Bu alkaloit daha önce Rus araştırmacılar tarafından *G.oxylum*'dan elde edilmiştir (32).

İncelediğimiz her iki örnekte de glaucine alkaloidinin varlığı saptanamamıştır.

G.grandiflorum var.*grandiflorum* bitkisinin alkaloitlerinin yapıları spektral yöntemler (UV, IR, ¹H-NMR ve KÜTLE spektrometresi) erime dereceleri tayini ve şahit maddelerle İTK'da Rf değerlerinin kıyaslanması ile aydınlatılmıştır.

V. ÖZET

Bu çalışmada, *G.grandiflorum* Boiss. & Huet var.*grandiflorum* türü alkaloitleri yönünden incelenmiştir.

Bitkinin Türkiye'nin Bolu-Gerede ve Sivas olmak üzere iki ayrı yöresinden toplanan örnekleri çalışılmıştır. Her iki bitki örneğinin de topraküstü kısımlarından tersiyer alkaloit ekstraktları elde edilmiş, bu alkaloitler sütun kromatografisi ve preparatif ince tabaka kromatografisi ile birbirinden ayrılmış ve saflaştırılmıştır.

Elde edilen alkaloitlerin yapıları erime derecesi, ince tabaka kromatografisindeki Rf değerlerinin şahit maddeler ile karşılaştırılması, spektral değerler (UV, IR, ¹H-NMR ve EIMS) ve literatür verileri ile tayin edilmiştir.

Bu çalışmada, *G.grandiflorum* var.*grandiflorum* alkaloitleri yönünden ilk defa incelenmiş, her iki bölgeden toplanan örnekten de isocorydine ve protopine ana alkaloitler olarak izole edilmiştir. Bolu'dan toplanan örnekten, corydine ve bu türde ilk kez varlığı saptanan isocorytuberine elde edilmiştir. Sivas'tan toplanan örnekte ise allocryptopine, ve N-methylcanadine daha az miktarlarda saptanmış alkaloitlerdir.

Sonuç olarak *G.grandiflorum* var.*grandiflorum* bitkisinin farklı yerlerden toplanmış örneklerinde majör alkaloitler aynı fakat minör alkaloitler farklıdır. Ayrıca *G.grandiflorum* var.*grandiflorum*, daha önce çalışılmış olan *G.grandiflorum* var.*torquatum* bitkisinden majör alkaloitleri açısından farklılık göstermektedir.



VI. SUMMARY

The alkaloids of *G.grandiflorum* Boiss. et Huet var.*grandiflorum* have been the subject of our study. The alkaloids of the samples of *G.grandiflorum* Boiss. et Huet var.*grandiflorum* have been investigated which were collected from two different regions of Turkey, Bolu-Gerede and Sivas.

Tertiary alkaloid extracts were prepared from the aerial parts of the two samples and the alkaloids were isolated and purified by column and preparative thin layer chromatographies.

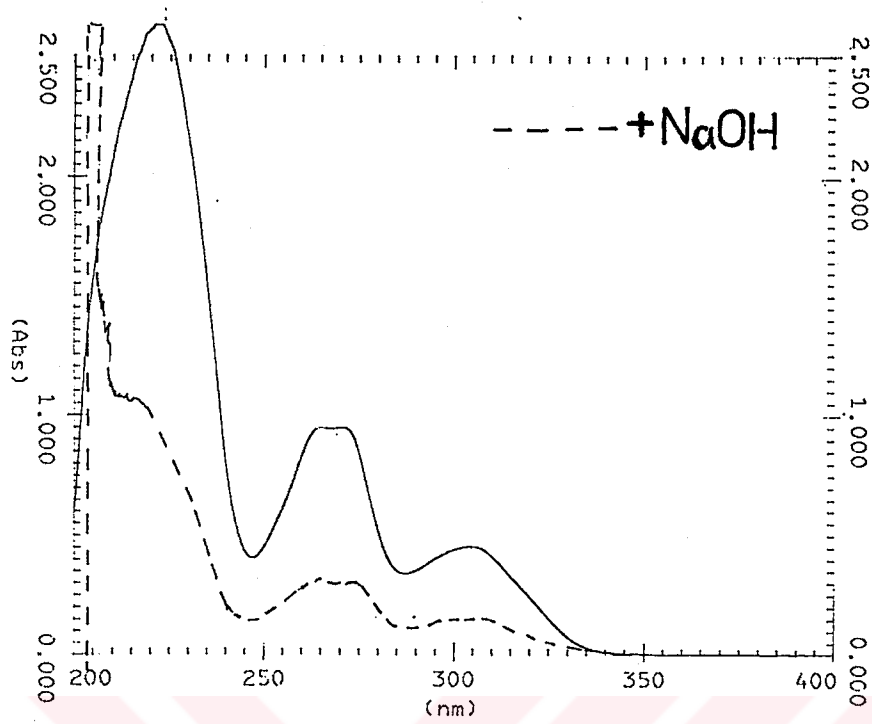
The structures of the alkaloids were confirmed by measuring their melting points, comparing their R_f values on thin layer chromatography with authentic samples, spectral datas (UV, IR, ¹H-NMR and EIMS) and literature findings.

In this study, the alkaloids of *G.grandiflorum* var.*grandiflorum* were investigated for the first time. Isocorydine and protopine were isolated as the major alkaloids from both of the samples. Corydine and isocorytuberine have been obtained from the sample which was collected from Bolu. Isocorytuberine has been isolated for the first time from *G.grandiflorum*. In the sample which was collected from Sivas, the existence of allocryptopine and N-methylcanadine have been shown in smaller amounts.

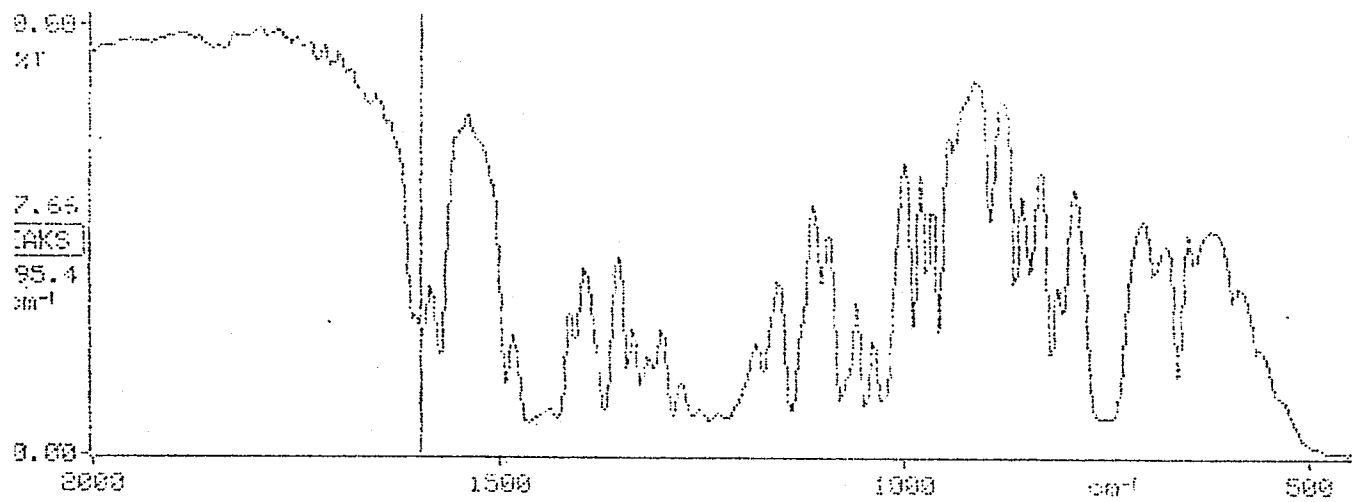
Finally, the major alkaloids of the two samples are the same alkaloids but the minor ones are different for each plant. Also the major alkaloids of var.*grandiflorum* are different from the major alkaloids of var.*torquatum*.

VII. ŞEKİLLER

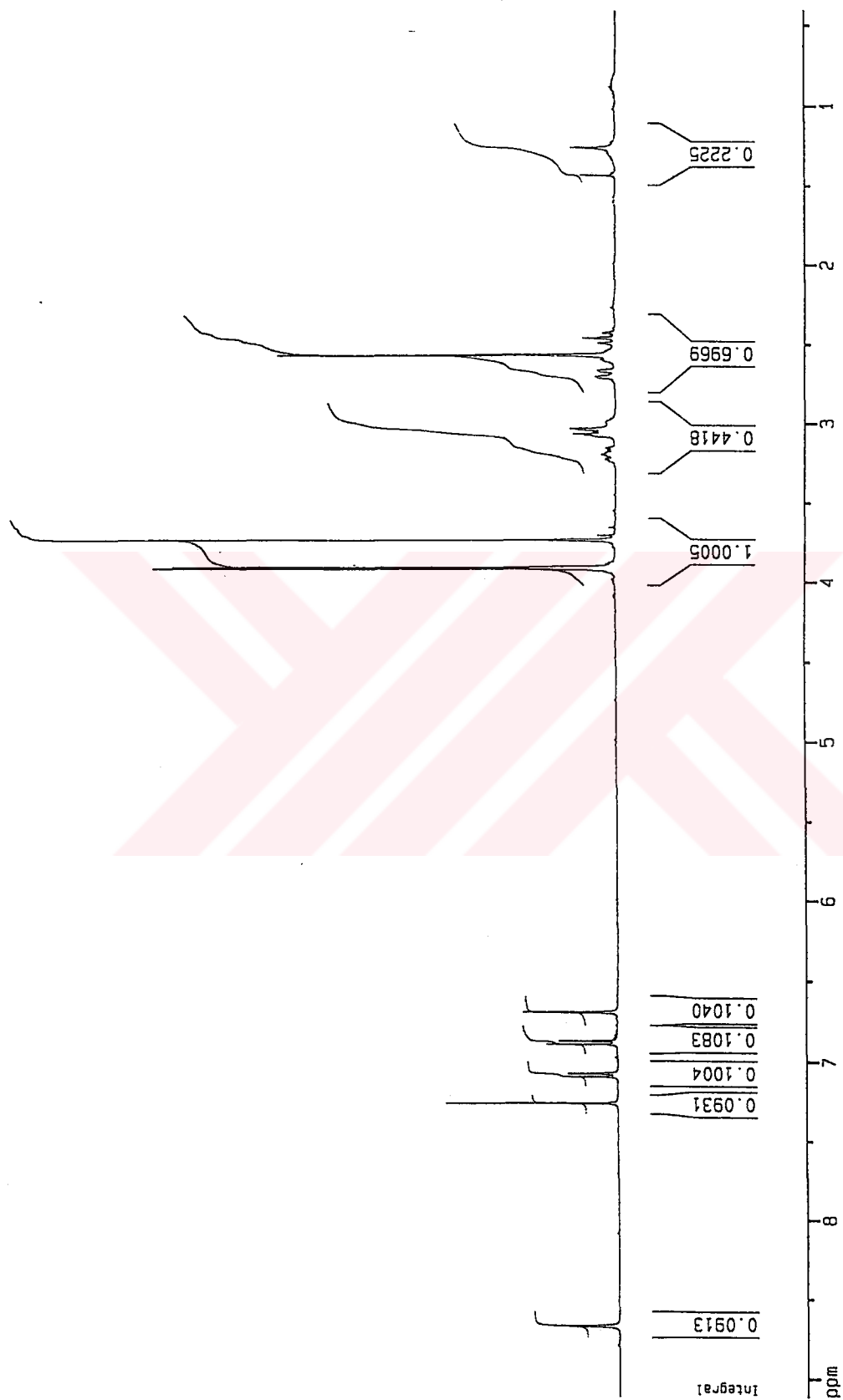
**(UV, IR, KÜTLE, ¹H-NMR
SPEKTRUMLARI İLE İLGİLİ)**



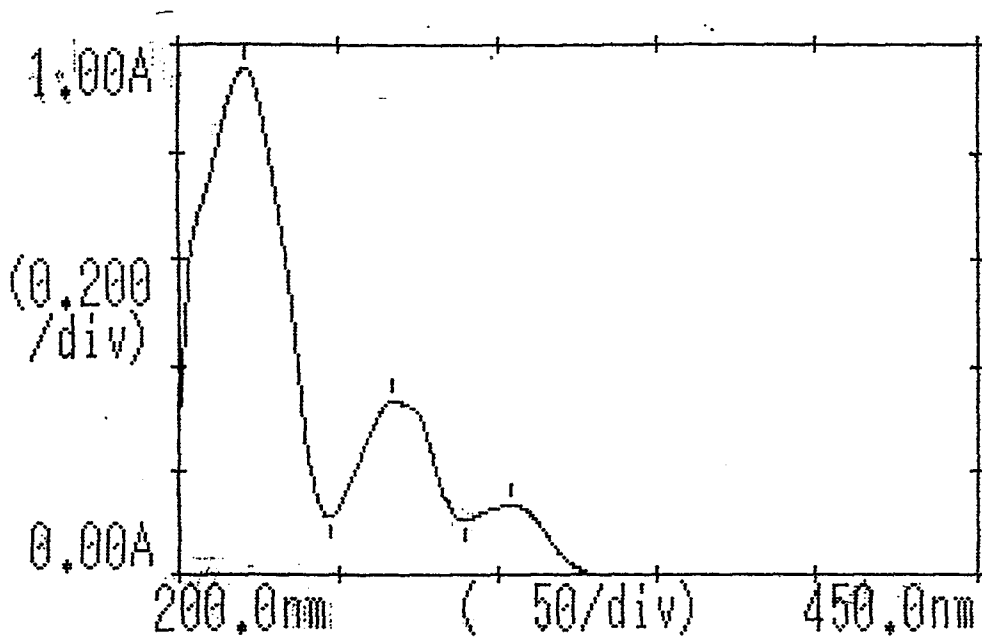
Spektrum 1: Corydine'in UV Spektrumu



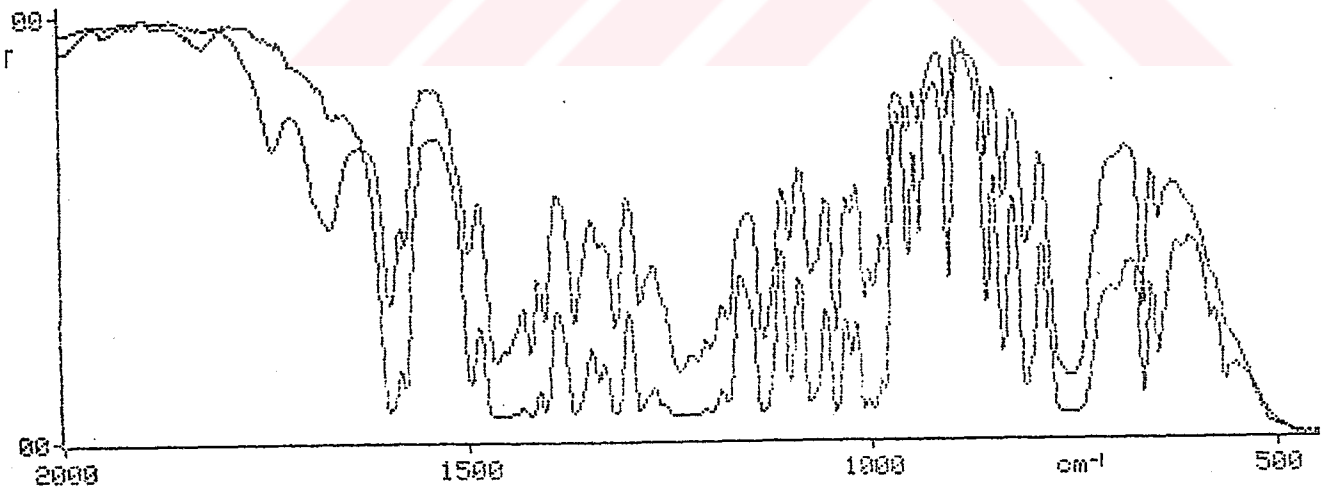
Spektrum 2: Corydine'in IR Spektrumu



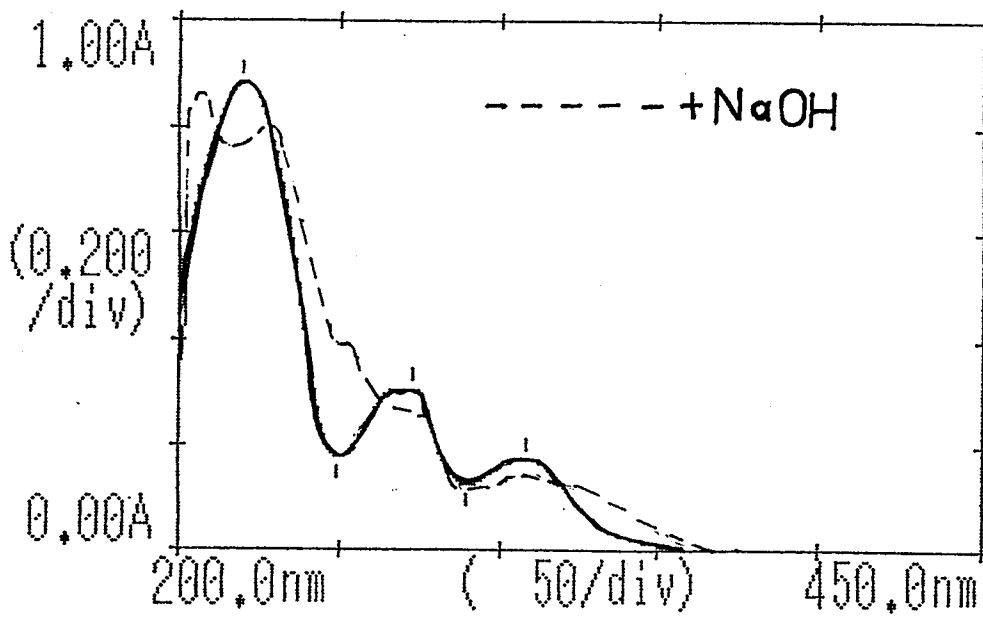
Spektrum 3: Corydine'in ¹H-NMR Spektrumu



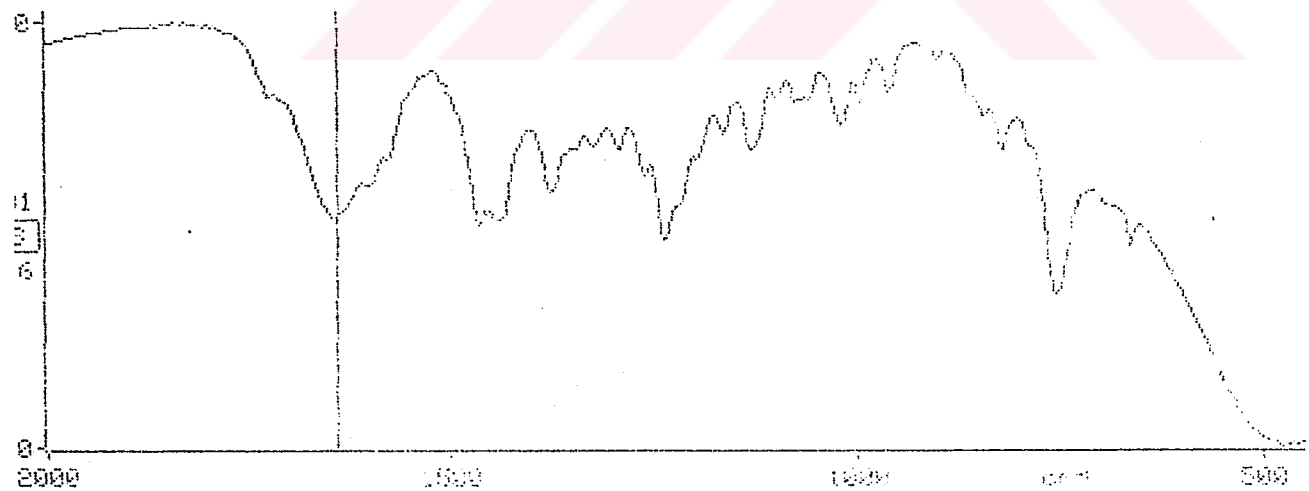
Spektrum 4: Isocorydine'in UV Spektrumu



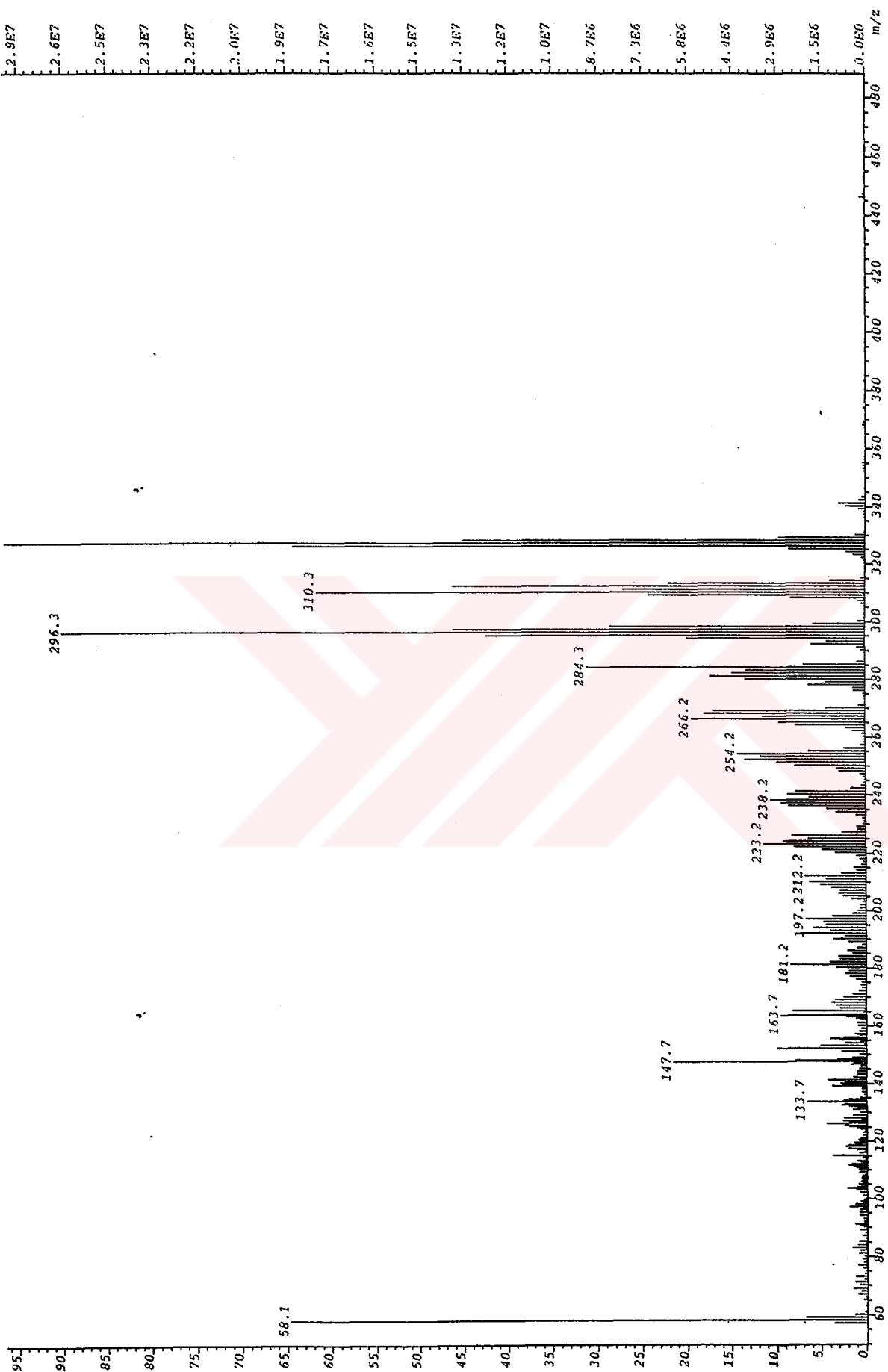
Spektrum 5: Isocorydine'in IR Spektrumu



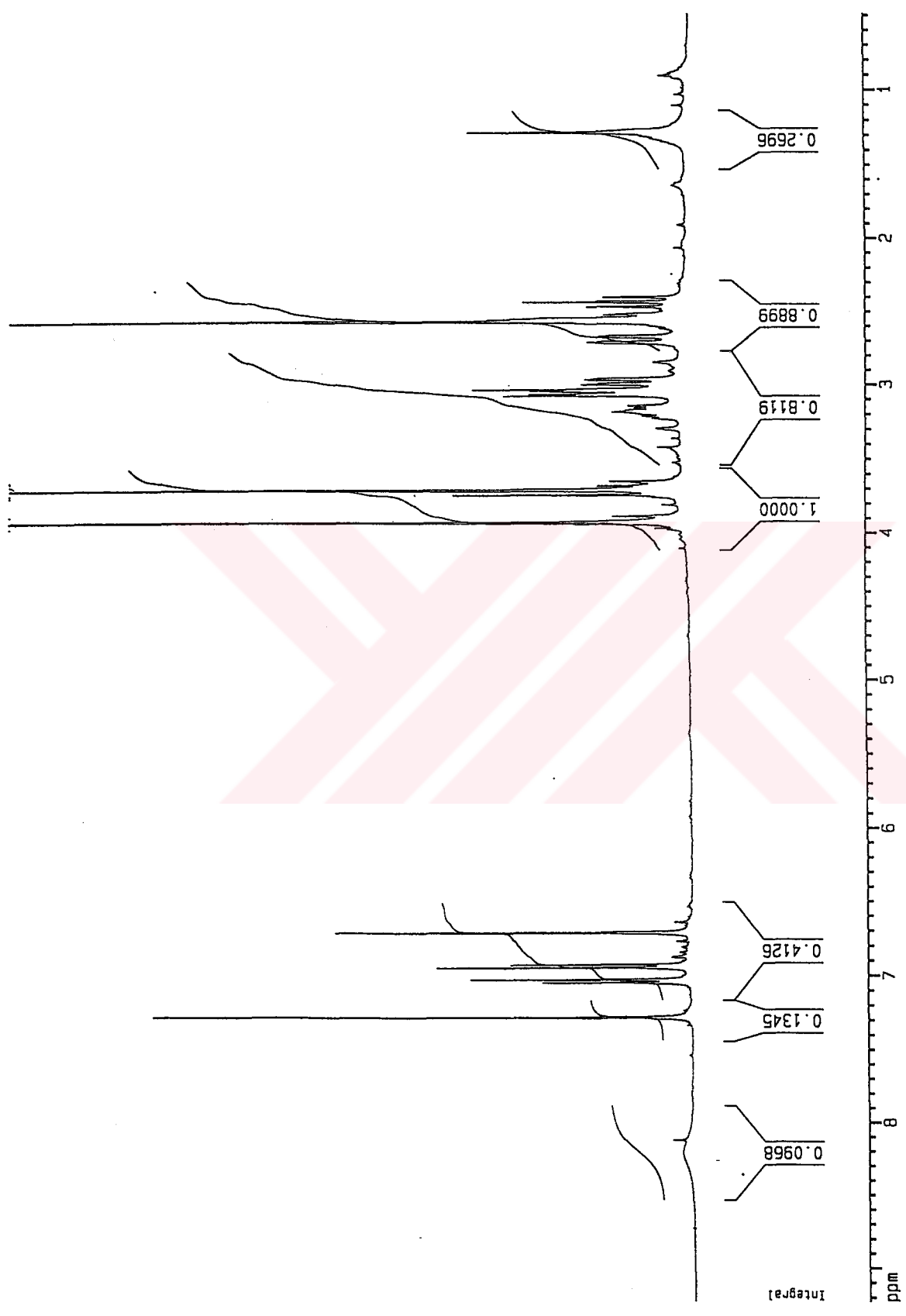
Spektrum 6: Isocorytuberine'in UV Spektrumu



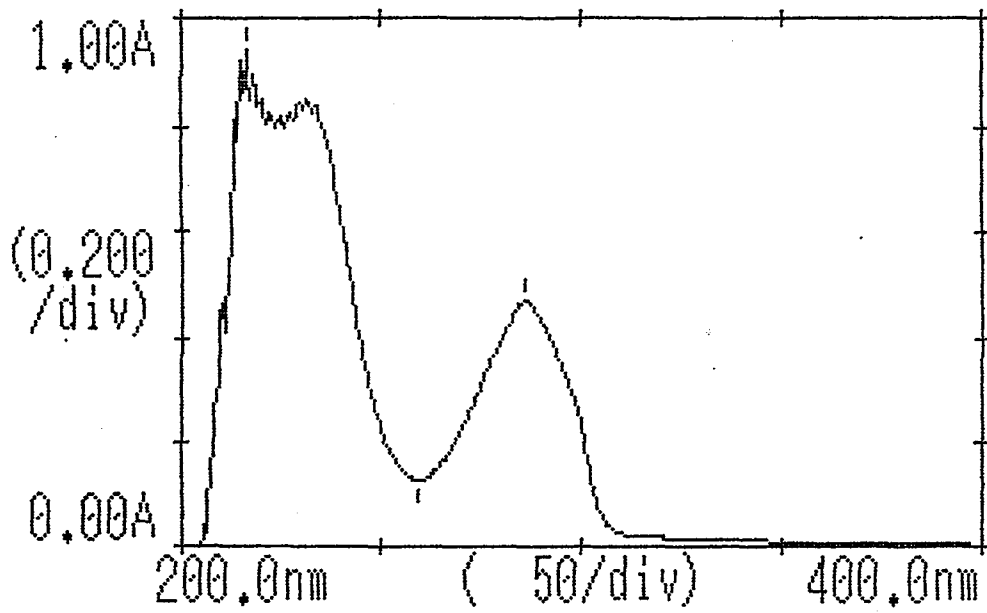
Spektrum 7: Isocorytuberine'in IR Spektrumu



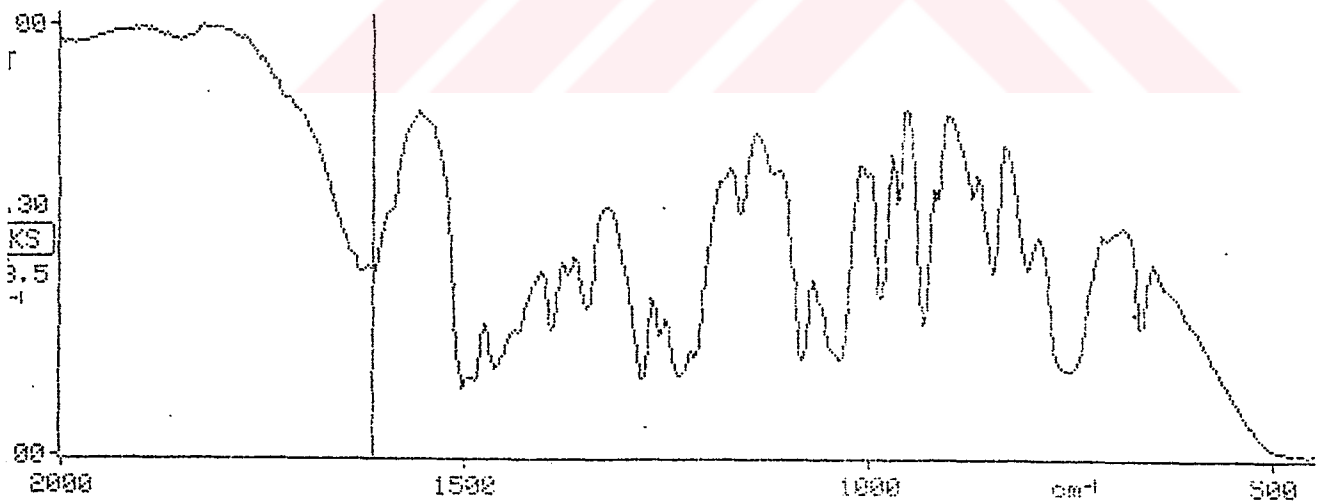
Spektrum 8 : Isocorytuberine'in KÜTLE Spektrumu



Spektrum 9: Isocorytuberine'in ^1H -NMR Spektrumu

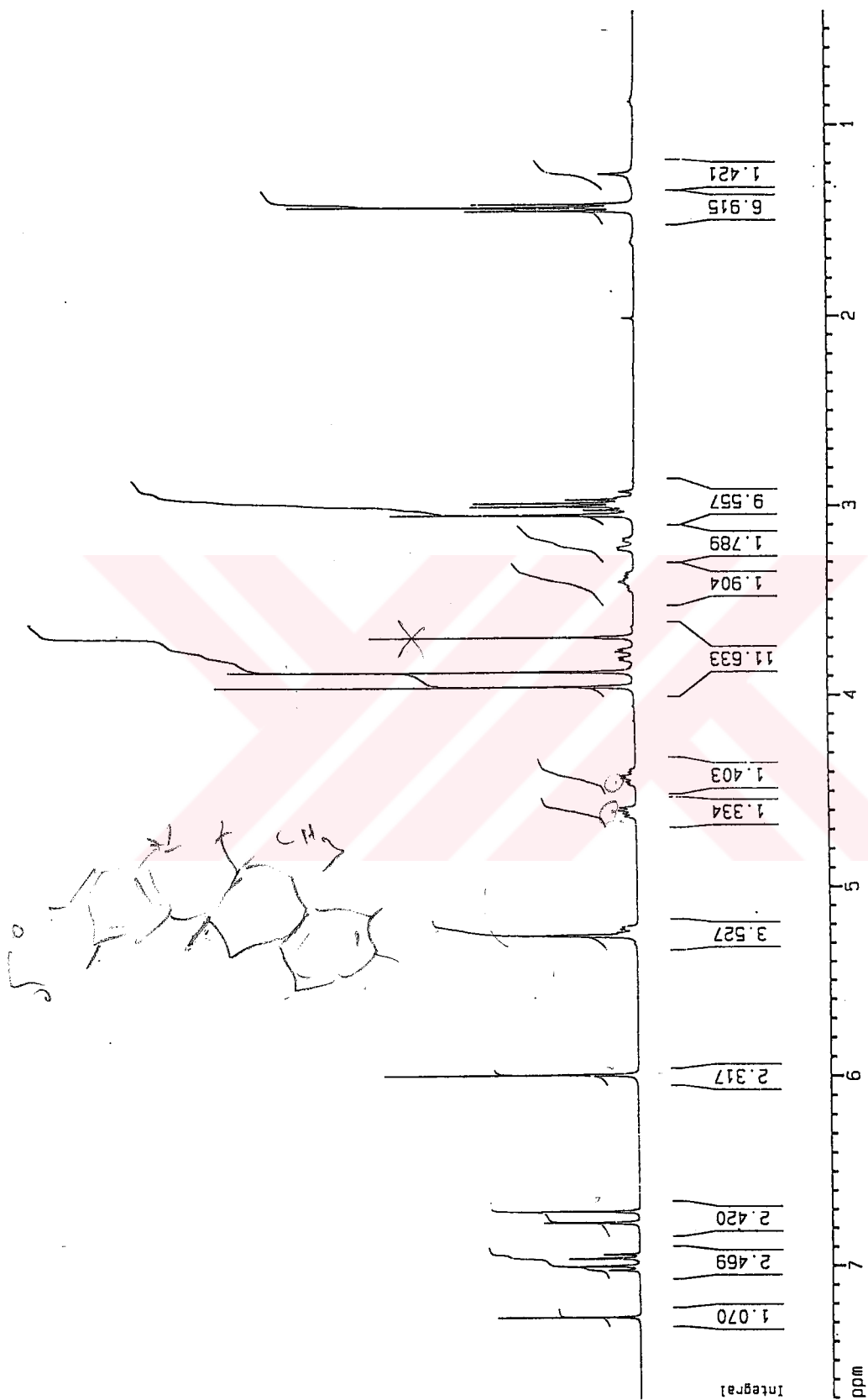


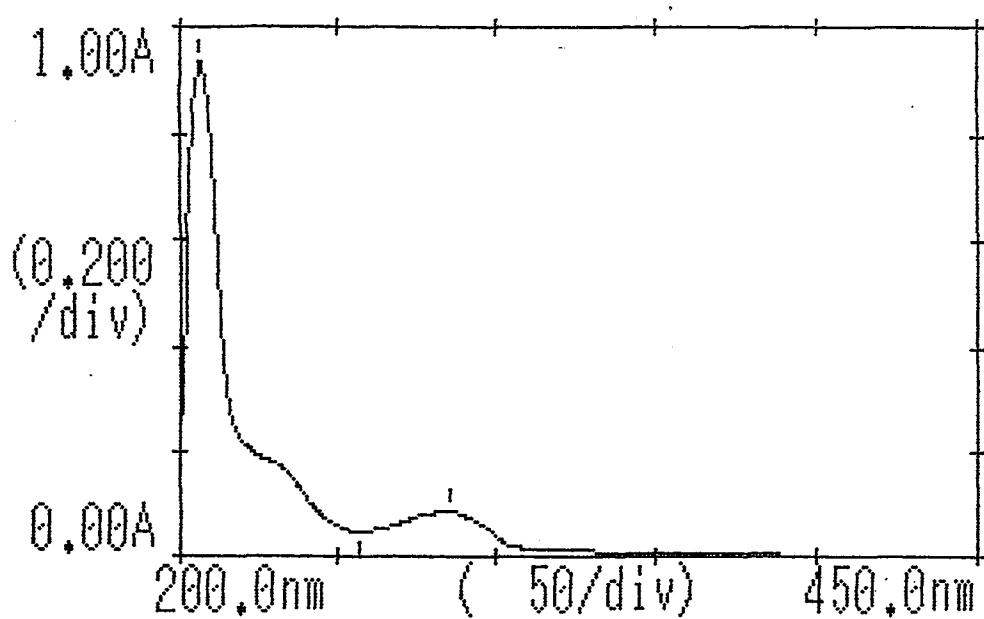
Spektrum 10: N-methyl canadine'in UV Spektrumu



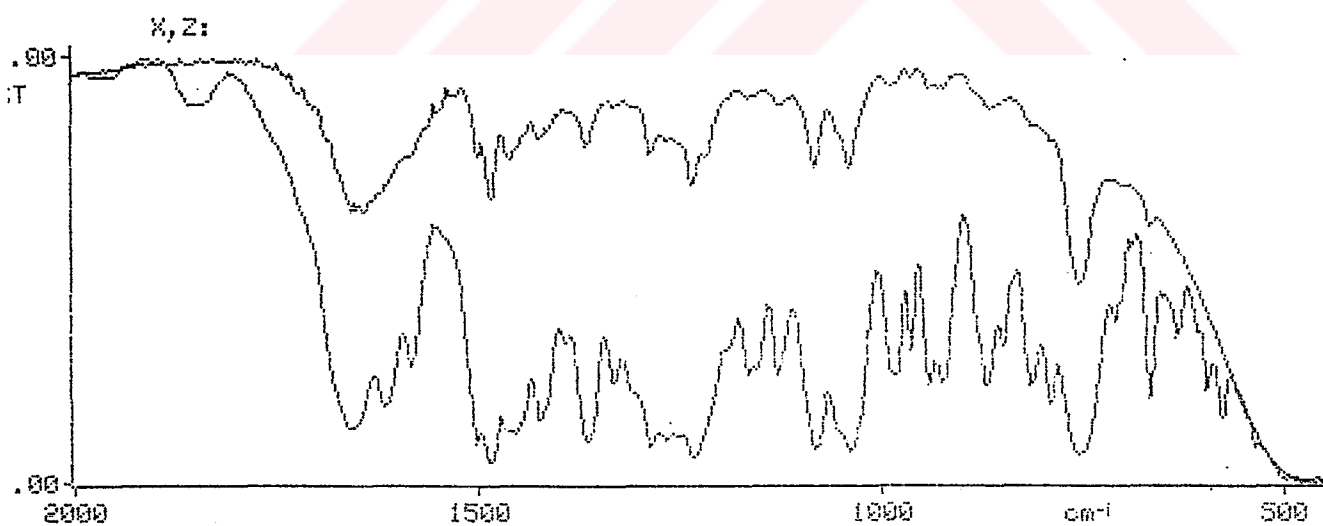
Spektrum 11: N-methyl canadine'in IR Spektrumu

Spektrum 12: N-methyl canadine'in ^1H -NMR Spektrumu

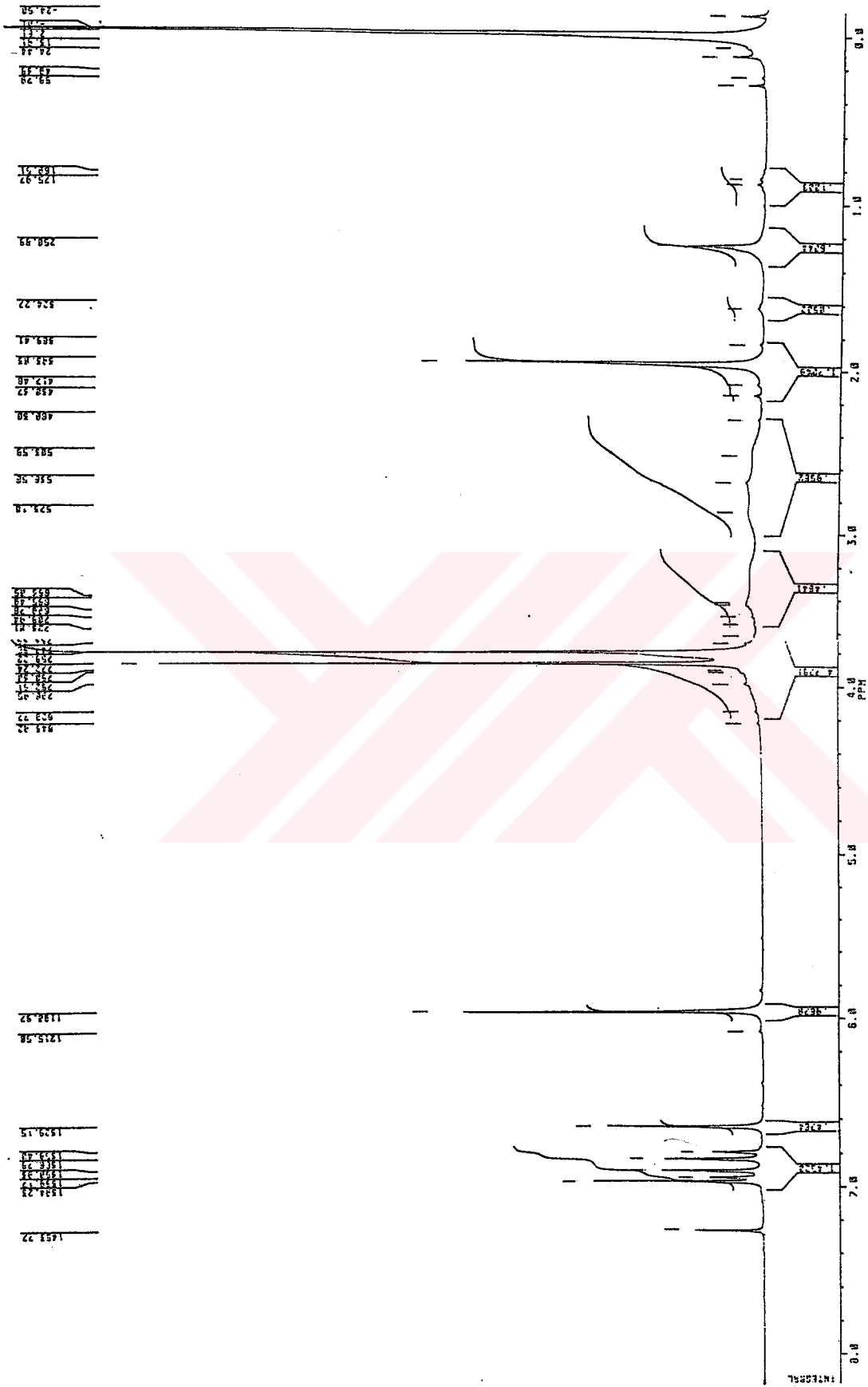




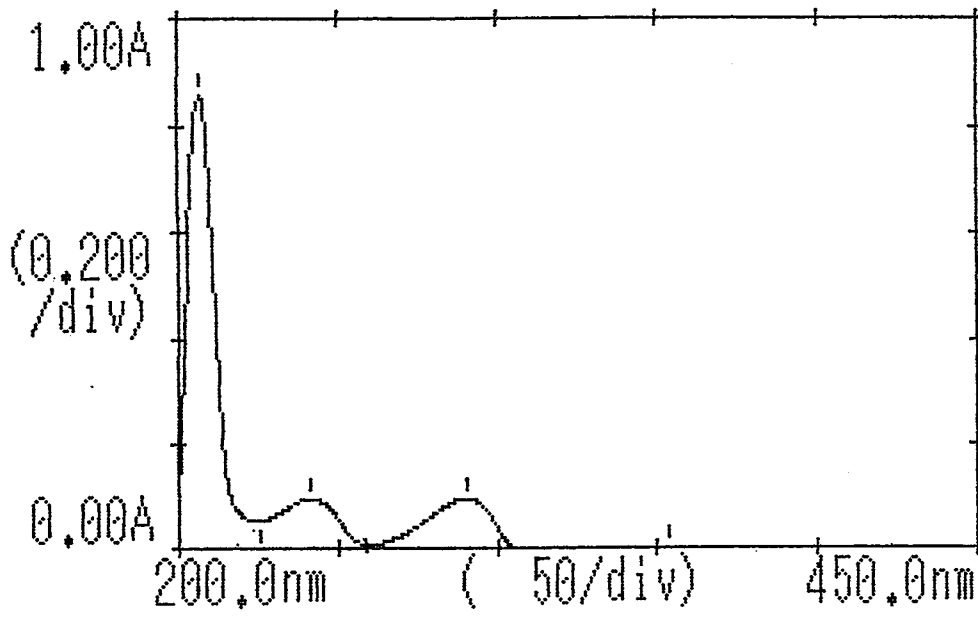
Spektrum 13: Allocryptopine'in UV Spektrumu



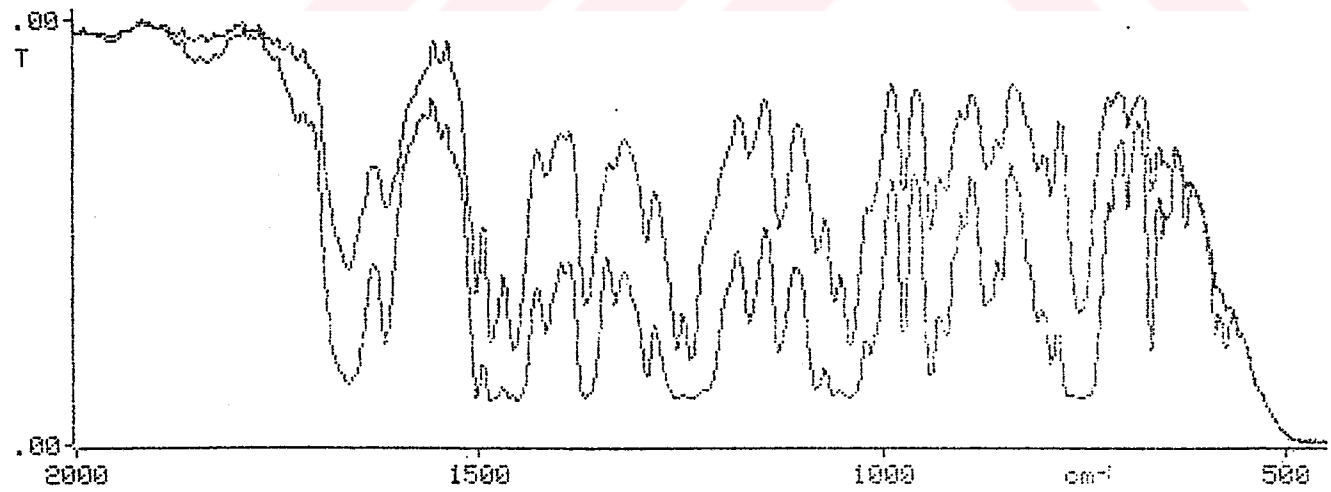
Spektrum 14: Allocryptopine'in IR Spektrumu



Spektrum 15: Allocryptopine' in ¹H-NMR Spektrum



Spektrum 16: Protopine'in UV Spektrumu



Spektrum 17: Protopine'in IR Spektrumu



VIII. LİTERATÜR

1. Al-Khalil,S. Dirasat-Univ.Jordan. 17 B(3), 185 (1990) [C.A. (1992) 116, 170102 r].
2. Al-Khalil,S. Saudi Pharm.J. 4(1), 45 (1996) [C.A. (1986)124, 307486 f].
3. Al-Wakeel,S.A.M., Moubasher,M.H., Roberts,M.F. Biochem. Syst. Ecol. 23, 337 (1995).
4. Aleshinskaya,E.E., Khim.-Farm.Zh. 10 (1), 144 (1976) [C.A. (1979) 84, 159725].
5. Battandier,J.A., Compt.rend. 114, 1122 (1892) [Ref. Gözler,T. Türkiye İçin Endemik *Glaucium* Türlerinin Alkaloidleri Üzerine Araştırmalar, Ege Üniv. Ecz.Fak. Doçentlik tezi 1980].
6. Baytop,A., Farmasötik Botanik Ders Kitabı, s.198, Baha Matbaası, İstanbul, (1972).
7. Baytop,T., Türkçe Bitki Adları Sözlüğü, s.51, Türk Dil Kurumu Yayınları: 578, Türk Tarih Kurumu Basımevi, Ankara (1997).
8. Brummitt,R.K. Vascular Plant Families and Genera 630, Whitstable Litho Ltd. Kew, Great Britain (1992).
9. Bruneton,J. Pharmacognosy, Phytochemistry, Medicinal Plants, 735; 743, Intercept Ltd., England (1995)
10. Castedo,L., Dominguez,D., Pereira,M., Saá,J., Suau,R. Heterocycles 16, 533 (1981) [C.A. (1981) 95, 25358 x]
11. Chen,C.Y., Maclean,D.B. Canadian Journal of Chem. 46, 2501 (1968).
12. Cullen,J. "*Glaucium* A.", in Davis P.H. (ed.) Flora of Turkey and the East Aegean Islands 1, 214, University Press, Edinburgh (1965).
13. Cullen,J., Papaveraceae, Flora Des Iranischen Hochlandes und der Umrahmenden Gebirge (K.H.RECHINGER), 34, 2, Akademische Druck U. Verlagsontalt, Graz, Austria (1966).

14. Daskalova,E., Iskrenova,E., Kiryakov,H.G., Eustatieva,L. Phytochemistry 27, 953 (1988).
15. Davis,P.H. et all. Flora of Turkey and The East Aegean Islands, Vol. 10, (suppl.) University Press, Edinburgh, (1988).
16. Denisenko,O.N., Eliseeva,L.M., Chelombit'ko, V.A., Israilov,A.I. Khim.Prir.Soedin. 5, 769 (1993) [C.A. (1995) 123, 251306 g].
17. El-Afifi,F., Al-Eisawi,D., Al-Khalil,S., Schiff P.L.Jr. J.Nat.Prod. 49, 1166 (1986).
18. Fischer,R., Arch. Pharm. 239, 426 (1901) [Ref. Gözler,T. Türkiye İçin Endemik *Glaucium* Türlerinin Alkaloitleri Üzerine Araştırmalar, Ege Üniv. Ecz.Fak. Doçentlik tezi 1980].
19. Ghanbarpour,A., Shafiee,A., Akhlaghi,S. J.Nat.Prod. 48 (1985).
20. Ghanbarpour,A., Shafiee,A., Parchami,M. Lloydia 41, 472 (1978).
21. Gieske,T.H., Shea,P.J.; U.S. 4, 183, 939 (Cl. 424-258; A61 K31/47), 15 Jan 1980, Appl. 939, 144, 01 Sept. 1978; 5pp [C.A. (1980) 92, 135455].
22. Gözler,T., "Türkiye için Endemik *Glaucium* Türlerinin Alkaloitleri Üzerinde Araştırmalar", Ege Üniv.Ecz.Fak.Doçentlik Tezi (1980).
23. Gözler,T., Planta Med. 46, 179 (1982).
24. Gözler,T., Kadan,G., Glaucine'in Kaynak ve Üretim Yöntemi Üzerine Geliştirme Araştırmaları, VIII. Bitkisel ilaç Hammaddeleri Toplantısı Bildiri Kitapçığı, s.29, (1989).
25. Gözler,T., Unluyol,S. Doğa Bilim Dergisi 6, 21 (1982).
26. Guinaudeau,H., Leboeuf,M., Cavé,A. J.Nat.Prod. 46, 766 (1983).
27. Guinaudeau,H., Leboeuf,M., Debray,M., Cavé,A., J.Nat.Prod. 38, 275 (1975).
28. Guinaudeau,H., Shamma,M. J.Nat.Prod. 45, 237 (1982).
29. Halim,A.F., Saad, H.E.A., Hashish,N.E. Mansoura J.Pharm.Sci 10 (2), 265 (1994) [C.A. (1995) 123, 79491a].
30. Hussain,R.A., Jinwoong,K., Beecher,C.W.W., Kinghorn,D.A. Heterocycles 29, 12 (1989).

31. Israilov, I.A., Karimova, S.U., Denisenko, O.N., Yunusov, M.S., Muraveva, D.A., Yunusov, S.Y. Khim.Prir.Soedin. 6, 751 (1984) [C.A. (1986) 100, 171550 s]
32. Karimova, S.U., Israilov, I.A. Khim.Prir.Soedin. 2, 259 (1984) [C.A. (1979) 101, 69361 q]
33. Kikuchi, H., Kawaguchi, N., Shiokawa, H., Ger.offen. 2, 823, 266 (Cl.A61 K31/445), 14 Dec 1978, Japan Appl. 77/739, 30 May 1977; 25 pp [C.A. (1979) 90, 127537].
34. Krane, B.D., Moses, O.F., Shamma, M., Gözler, B. J.Nat.Prod. 47, 1 (1984).
35. Maasboel, A.G., Sim, A.K., Ger. offen. 2, 717, 001 (Cl. A61 K31/47), 19 Oct. 1978, Appl. 18 Apr 1977; 13 pp [C.A. (1979) 90, 43807].
36. Novák, V., Dolejš, L., Slavík, J. Collect.Czech.Chem.Comm. 37, 3346 (1972).
37. Peled, B., Waisel, J., Carmeli, S. Phytochemistry 27, 1021 (1988).
38. Phillipson, J.D., Gray, A.I., Askari, A.A.R., Khalil, A.A. J.Nat.Prod. 44, 296 (1981).
39. Popov, M. Papaveraceae, Flora U.R.S.S. (V.L.Komarov), Vol.VII, 585, Edition Akademiae Scientiarum U.R.S.S., Mosqua, Leningrad (1937).
40. Preininger, V. "Chemotaxonomy of *Papaveraceae* and *Fumariaceae*", in Brossi, A. (ed.), The Alkaloids 29, 10, Academic Press, New York (1986).
41. Probst, J.M., Ann. 31, 241 (1839) [Ref. Gözler, T. Türkiye İçin Endemik *Glaucium* Türlerinin Alkaloidleri Üzerine Araştırmalar, Ege Üniv. Ecz.Fak. Doçentlik tezi 1980].
42. Santavy, F. "*Papaveraceae* Alkaloids", in Manske, R.H.F. (ed.) The Alkaloids 17, 385, Academic Press, London and New York (1979).
43. Santavy, F. "*Papaveraceae* Alkaloids", in Manske, R.H.F. (ed.) The Alkaloids 12, 333, Academic Press, London and New York (1970).
44. Saraçoğlu, M.S. "Türkiye'nin tek Yıllık *Papaver* L. Türleri Üzerinde Sistematik Araştırmalar" Doktora Tezi, İstanbul (1982).
45. Shafiee, A., Lalezari, I., Rahimi, O. Lloydia 40, 352 (1977).

46. Shamma,M. The Isoquinoline Alkaloids 25, 220, 307, Academic Press, New York and London (1972).
47. Shamma,M., Hillmann,M.J., Jones,C.D. Chem.Rev.69, 779 (1969).
48. Slavikova,L., Slavik,J., Dolejs,L. Collect.Czech.Chem.Comm. 50, 854 (1985) [C.A. (1986) 103, 68246 k].
49. Temizer,H. *Corydalis solida* (L.) Swartz. subsp.*brachyloba* (Boiss.) Cullen & Davis Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar, Doktora Tezi, Ankara (1987).
50. Tin-Wa,M., Farnsworth,N.R., Zirvi,K.A. J.Pharm.Sci. 65, 755 (1976).
51. Townsend, C.C., Guest,E., Flora of Iraq, Vol.4, Part 2, 785, Baghdad, (1980).

