

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

DANIŞMAN
Prof. Dr. AFİFE MAT

PAPAVER DUBIUM SUBSP. *LAEVIGATUM*
(M. BIEB.) KADEREİT TÜRÜNÜN ALKALOİTLERİ
ÜZERİNDE ARAŞTIRMALAR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ecz. AYL A DELİORMAN

69764

İSTANBUL - 1998

69764



Papaver dubium subsp. *laevigatum*



69764

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

Yüksek lisans çalışmalarına başlamama imkan sağlayan ve devamı sırasında ilgisini esirgemeyen, Farmakognozi Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Günay Sarıyar'a teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim.

Tezimin hazırlanışı sırasında bilgi ve deneyimleri ile her konuda bana yardımcı olan, her aşamada destek veren sevgili hocam Prof. Dr. Afife Mat'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Botanik bölümün hazırlanmasında yardımcı olan sayın Prof. Dr. Neriman Özhatay'a, spektral analizlerin yapılmasında her türlü kolaylığı sağlayan ve çalışmalarına bilgileri ile katkıda bulunan sayın Doç. Dr. Gülaçtı Topçu'ya, ayrıca çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen Farmakognozi Anabilim Dalı öğretim üye ve yardımcılarına çok teşekkür ederim.

Bana her zaman maddi ve manevi destek veren ve bitkimin toplanmasında yardımcı olan aileme sonsuz teşekkürler...



Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Araştırma Fonunca desteklenmiştir.
Proje no: T-456/071197

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
I. GİRİŞ VE AMAÇ	1
II. BOTANİK BÖLÜM	3
III. KİMYASAL BÖLÜM	12
1. Teorik Bölüm	12
2. Deneysel Bölüm	24
A. Materyal	24
B. Genel Metodlar	24
1. Fitokimyasal Ön Denemeler	24
2. Miktar Tayini Yöntemleri	25
3. Alkaloidlerin Tüketilmesi ve Ayrılması	26
4. Kromatografik Yöntemler	26
4a) İnce Tabaka Kromatografisi	26
4b) Preparatif İnce Tabaka Kromatografisi	28
4c) Sütun Kromatografisi	28
5. Spektroskopik Metodlar	29
5a) UV	29
5b) IR	29
5c) ¹ H-NMR	29
5d) Kütle	29
3. Bulgular	30

	Sayfa
IV. SONUÇ VE TARTIŞMA	40
V. ÖZET	43
VI. SUMMARY	44
VII. ŞEKİLLER	45
(UV, IR, KÜTLE, ¹ H-NMR SPEKTRUMLARI İLE İLGİLİ)	
VII. LİTERATÜR	54



I.GİRİŞ VE AMAÇ

Bir kültür bitkisi olan *Papaver somniferum* (Haşhaş) Anadolu'da Hititler döneminden beri yetiştirilmekte ve ilaç olarak kullanılmaktadır. Bu tür üzerindeki ilk kimyasal araştırmalar 1805 yılında Alman eczacı F.W.A Sertürner'in (1783-1841) afyondan ilk kristalize alkaloid olan morfini izole etmesiyle başlamıştır. Bu türün diğer etkili alkaloidleri olan kodein, noskapin (narkotin) ve papaverin günümüzde de tedavi değerini koruyan önemli bitkisel ilaç maddeleri arasında yer almaktadır. Morfin *Papaver somniferum* bitkisinin ana alkaloidi olup en etkili ağrı kesicilerin başında gelir. Ancak ağrı kesici etkisinin yanında bağımlılık yapma özelliğinin olması morfinin ve *Papaver somniferum* bitkisinden hazırlanan preparatların kullanımını çok sınırlamaktadır. Nitekim yurdumuzda da bu bitkinin 1972-1974 yıllarında ekimi yasaklanmıştır. Ancak daha sonra bitkinin kapsüllerinin çizilerek afyon elde edilmemesi koşuluyla tekrar ekimine başlanmıştır. Morfin ve morfin taşıyan türlerin üretimine yönelik devamlı süren baskılar bu alkaloidi taşımayan ancak çok daha fazla kullanım alanı olan kodein ve yarı sentez ile kodein hazırlanmasında yararlanan tebain alkaloidini taşıyan türlerin araştırılmasının önemini ve gerekliliğini ortaya koymuştur. Yurdumuzda da kırk kadar yabancı *Papaver* türünün yetiştirildiğinin kayıtlı olması ve bu türlerin alkaloidleri bakımından araştırılmamış olması nedeniyle 70'li yıllardan itibaren Anabilim dalımızda bu konuda çalışmalara başlanmıştır. Bugüne dek yapılan çalışmalarda morfin taşımayıp sadece kodein taşıyan tür bulunamamış ancak tebain ana alkaloid olarak taşıyan türlerin varlığı saptanmıştır (11, 26, 31, 32, 33, 44).

Bu araştırmalarda ilaç hammadresi kaynağı olarak yararlanılabilecek türlerin ortaya konmasına çalışılırken *Papaver* türünün kemotaksonomisi bakımından büyük önem taşıyan yeni alkaloitler elde edilmiş ve bazı türlerin değişik kimyasal ırklarının bulunduğu saptanmıştır. Bugüne dek yapılan çalışmaların büyük bölümü özellikle çok yıllık *Papaver* türleri üzerinde olmuş, tek yıllık türlerden sadece *P. rhoeas*, *P. lacerum*, *P. commutatum* subsp. *euxinum* ve *P. rhopalotheca* alışılmıştır (1, 21, 39). Bu sonuncu türün tedavi değeri yüksek olan narkotin alkaloidi bakımından zengin olduğu ortaya konmuştur (21).

Rhoeadium seksiyonundaki türlerden *Papaver dubium* , *Papaver rhoeas*'dan sonra en fazla yayılış gösterenlerden biri olup en son yapılan modern taksonomik çalışmada da Türkiye'de alt türlerin olduğu bildirilmektedir (20). Bu alt türlerden *Papaver dubium* subsp. *laevigatum* daha önce üzerinde çalışılan *Papaver lacerum* türü ile sinonim olarak kabul edilmektedir (20).

Bu çalışmanın konusunu oluşturan ve Bolu-Gerede'den toplanan *Papaver dubium* türünün bir alt türü olan subsp. *laevigatum*'un daha önce üzerinde çalışılan, Kayseri ve Denizli (Honaz Dağı) civarından toplanan *Papaver lacerum* rnekleriyle bazı botanik farklılıklar gösterdiği saptanmıştır. Bunun zerine bu bitkilerin alkaloitleri bakımından da farklılık gösterip göstermediğinin ortaya konmasının gerekli olduğu görüşünden hareket edilerek bu çalışmanın yapılmasına karar verilmiştir.

II. BOTANİK BÖLÜM

PAPAVERACEAE FAMILİYASI

Papaveraceae familyasında Kuzey Yarıküre'nin ılıman ve subtropik bölgelerinde yetişen, otsu, tek veya çok yıllık bitkiler bulunur. Çoğunlukla beyaz veya renkli bir lateks taşırlar. Yapraklar alternan dizilişli, tam veya derin parçalı, genellikle tüylüdür. Çiçekler tek, hermafrodit ve aktinomorf; sepal 2-3 tane, ekseriya düşüçüdür. Korolla 2 sıra üzerine dizilmiş 4-6 petalden oluşur, petaller tomurcuktayken buruşuktur. Stamen 4 veya daha çok sayıda, birkaç sıra üzerine dizilmiş; ovaryum hipogin, 2-çok karpelden yapılmış, sinkarp, tek gözlü, çok ovüllüdür. Plasentasyon parietaldir. Stilus çok kısa, stigma parçaları karpel sayısına eşittir. Genel çiçek formülü a. $K_2 C_{2+2} A_{\infty} G_{(2-\infty)}$.

Meyva delik veya yarıkla açılan porisit kapsül tipinde, nadiren kapalıdır. Bazı genuslarda meyva silikva gibidir, ancak arada perde yoktur. Yurdumuzda 7 cins ve 76 tür yetişir (2,45).

PAPAVER CİNSİ

Bütün Akdeniz Bölgesinde yetişen bu *Papaver* cinsinin Anadolu'da 39 kadar türü bulunur (7). Boyu 50-150 cm kadar olan, tek veya çok yıllık bitkilerdir. Gövde ve yaprak mumlu gibidir. Yapraklar lanseolat, sapsız ve amplexikaul, 10-15 cm kadardır; kenarları dişli veya parçalıdır. Çiçek sapı biraz tüylüdür, çiçekler tek tek bulunur. Sepaller kadüktür, petal rengi tür ve varyeteye göre değişir. Stamenler çok sayıdadır. Ovaryum çok bölmelidir, fakat bölmeler merkeze kadar ulaşmaz; plasentalanma parietaldir. Stilus yoktur, stigma ise karpel sayısı kadar ve yıldız şeklinde ışınsal kollu, yası bir tabla veya disk biçimindedir. Kapsül tipi meyva çoğunlukla delik (veya valv) ile açılır, delikler yıldız şeklinde diskin hemen altındadır (2,45).

Türkiye *Papaver* türleri bakımından oldukça zengin sayılır. Boissier'nin Flora Orientalis'inde 11'i çok yıllık, 12'si tek yıllık olmak üzere Türkiye'de 23 *Papaver* türünün yetiştiği kayıtlıdır (5,6). Daha sonra 1905'de Fedde'nin yaptığı *Papaveraceae* monografisinde Türkiye'de 21 çok yıllık ve 17 tek yıllık *Papaver* türünün bulunduğu bildirilmektedir (12). Davis'e ait Flora of Turkey'de 39 *Papaver* türü (19 tek yıllık, 20 çok yıllık) 2 alt tür ve 7 varyetesi ile kayıtlıdır (7,8).

Sistematik yönden çok yıllık türler 3 seksiyon, tek yıllık türler ise 4 seksiyon altında toplanır (3, 7, 8):

□Türkiye'nin tek yıllık *Papaver* türlerini içine alan seksiyonlar:

1. Sect. *Papaver* L. (Syn. Sect. *Mecones* Bernh.)
2. Sect. *Carinatae* Fedde
3. Sect. *Rhoeades* Bernh. (Syn. Sect. *Orthorhoeades* Fedde)
4. Sect. *Argemonidium* Spach (Syn. Sect. *Argemonorhoeades* Fedde)

□Türkiye'nin çok yıllık *Papaver* türlerini içine alan seksiyonlar:

1. Sect. *Oxytona* Bernh. (Syn. Sect. *Macrantha* Elk.)
2. Sect. *Pilosa* Prantl.
3. Sect. *Miltantha* Bernh.

Bu tezin konusunu oluşturan *Papaver dubium* subsp. *laevigatum* türü *Rhoeades* Bernh. seksiyonu içinde yer alır. Bu seksiyon içinde yer alan bitkiler Davis'e ve bu seksiyon üzerinde en son revizyonu yapan Kadereit'e göre farklılık göstermektedir (8, 20).

***Rhoeades* Bernh. Seksiyonu (3):**

Tek yıllık otsu bitkilerdir. Gövde yaprakları amplexikaul değil, bitki genellikle belirgin şekilde setalı. Filamentler ipliksi, kapsula çıplak. Stigma ışınları karinat değil, ışınlar arasındaki açılar az derin, stigma tablası olgunlukta kalıcı.

P.H.Davis'e göre *Rhoeades* Bernh. seksiyonunda yer alan türler (7,8):

Sect. *Papaver* (Syn: Sect. *Orthorhoeades* Fedde)

P. rhoeas L. (Syn: *P. strigosum* (Bönn))

P. lacerum Popov (Syn: *P. laevigatum* auct. non Bieb.)

P. commutatum Fisch. & Mey.

P. postii Fedde

P. syriacum Boiss. & Blanche

P. rhopalotheca Stapf

P. dubium L. (Syn: *P. laevigatum* Bieb., *P. apicigemmatum* Fedde)

P. arenarium Bieb.

P. stylatum Boiss. & Bal.

P. clavatum Boiss. & Hausskn.

J.W. Kadereit'e göre *Rhoeadium* Spach seksiyonunda yer alan türler (20):

Sect. *Rhoeadium* Spach (Syn: Sect. *Rhoeades* Bernh., Sect. *Orthorhoeades* Fedde)

1989 yılında Kadereit tarafından *Rhoeadium* Spach olarak isimlendirilen bu seksiyon üzerinde yapılan modern taksonomik çalışmaya göre seksiyonda 16 tür, 7 alt tür ve 4 varyete olduğu kabul edilmiştir. Bunlardan Türkiye'de yetişenlerin listesi aşağıda verilmiştir:

P. arachnoideum Kadereit

P. arenarium M. Bieb.

P. clavatum Boiss. & Hausskn. ex Boiss.

P. commutatum Fischer & C. Meyer

subsp. *euxinum* Kadereit

P. dubium L.

subsp. *laevigatum* (M. Bieb.) Kadereit

subsp. *lecoqii* (Lamotte) Syme

var. *lecoqii*

var. *albiflorum* Besser

P. guerlekense Stapf (Syn.: *P. rhopalotheca* Stapf)

P. purpureomarginatum Kadereit

P. rhoeas L.

var. *rhoeas*

var. *strigosum* Boenn.

P. stylatum Boiss. & Bal. ex Boiss.

Kadereit *Papaver dubium*'um beş alt türü ve iki varyetesi olduğunu belirtmektedir. Ancak Davis'in florasında böyle bir sınıflandırma yapılmamıştır ve bu florada yer alan *Papaver lacerum* türü Kadereit'in revizyonunda *Papaver dubium* subsp. *laevigatum* alt türünün sinonimi olarak geçmektedir. Bu gruptaki bitkiler üzerinde çalışmalarımız devam edecektir.

***Papaver dubium* L. (7) :**

Tek yıllık bitkiler. Bitki 25-80 cm boyunda, tek veya birkaç gövdeli, çoğunlukla dik veya yayık yükselici. Bitki tabandan itibaren yayık setalı. Yapraklar pinnatisekt, taban yaprakları saplı, gövde yaprakları genellikle sapsız. Pedunkul yatık sık setalı. Petaller 2-4 cm, soluk kırmızı renkte, nadiren beyaz veya pembe renkli, tabanda siyah lekeli, leke bazen oldukça küçük, bazen eksik. Kapsül çıplak, ovoid-oblong, damarlar belirgin, dar uzun tabanlı, uzun/genişlik oranı 3-7:1.

Çiçeklenme zamanı : 4. ve 6. aylar.

Yetiştigi ortamlar : Yol ve tarla kenarı, çayırılık yerler, killi ve kireçli yamaçlar, 1000 m'ye kadar

Türkiye'deki yayılışı : Kuzey, Orta, Doğu, Batı ve Güney Anadolu ve Trakya

Genel yayılışı : Türkiye, Avrupa, Asya ve Kuzey Afrika

İncelenen örnekler: A2(E) İstanbul: Hadımköy, C2 Denizli: Honaz dağı, A1(A) Balıkesir, B1 İzmir: Torbalı, A4 Kastamonu: Kastamonu Daday yolu

***Papaver dubium* subsp. *laevigatum* (M. Bieb.) Kadereit (20) :**

Syn: *P. laevigatum* M. Bieb.

P. rhodopeum Velen.

P. lacerum Popov

P. moeoticum Klokov

Bitki çoğunlukla düzensiz tüy örtüsüne sahip ve puslu yeşil renkte. Alt yapraklar kama biçiminden yuvarlağa kadar değişen tabanlı, sapsız; lopluk yukarıya dönük, dar, testere dişliden düz kenarlıya kadar değişir, çoğunlukla dalgalı, üst yüzey genellikle çıplak. Petaller küçükten büyüğe kadar değişen boyutta taban noktalı, genellikle dar kırmızı kenarlı, petaller nadir olarak siyah kenarlı; anterler bazen tepeden ekli.

Çiçeklenme zamanı : 4. ve7. aylar

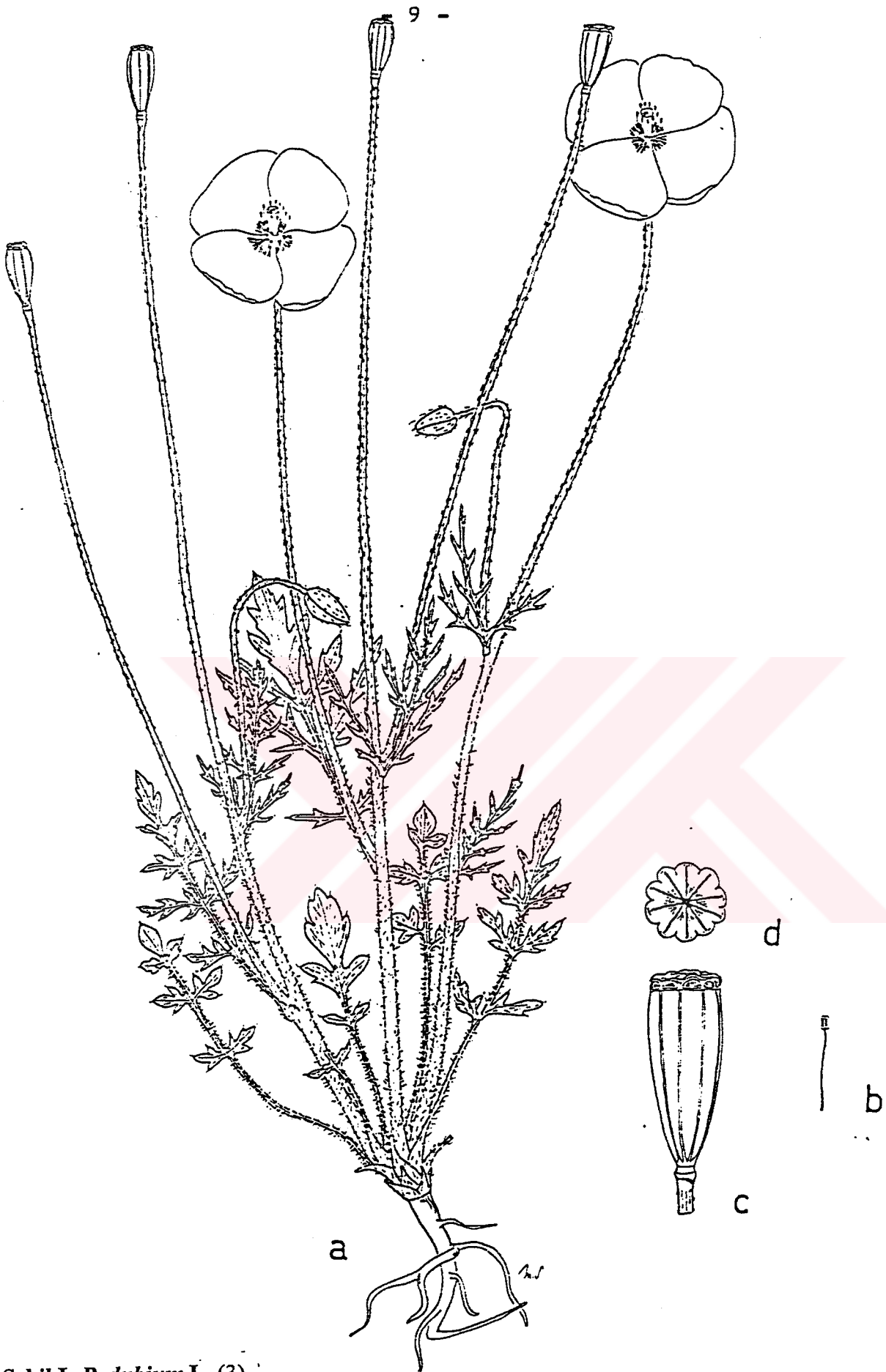
Yetiştığı yerler : Tarla kenarlarındaki ve açık bitki örtüsündeki kalker kayaların üzerinde

Türkiye'deki yayılışı : Kuzey, Orta, Doğu, Batı ve Güney Anadolu ve Trakya

Genel yayılışı : Türkiye, Avrupa (Yunanistan, Bulgaritan), Asya (Rusya)

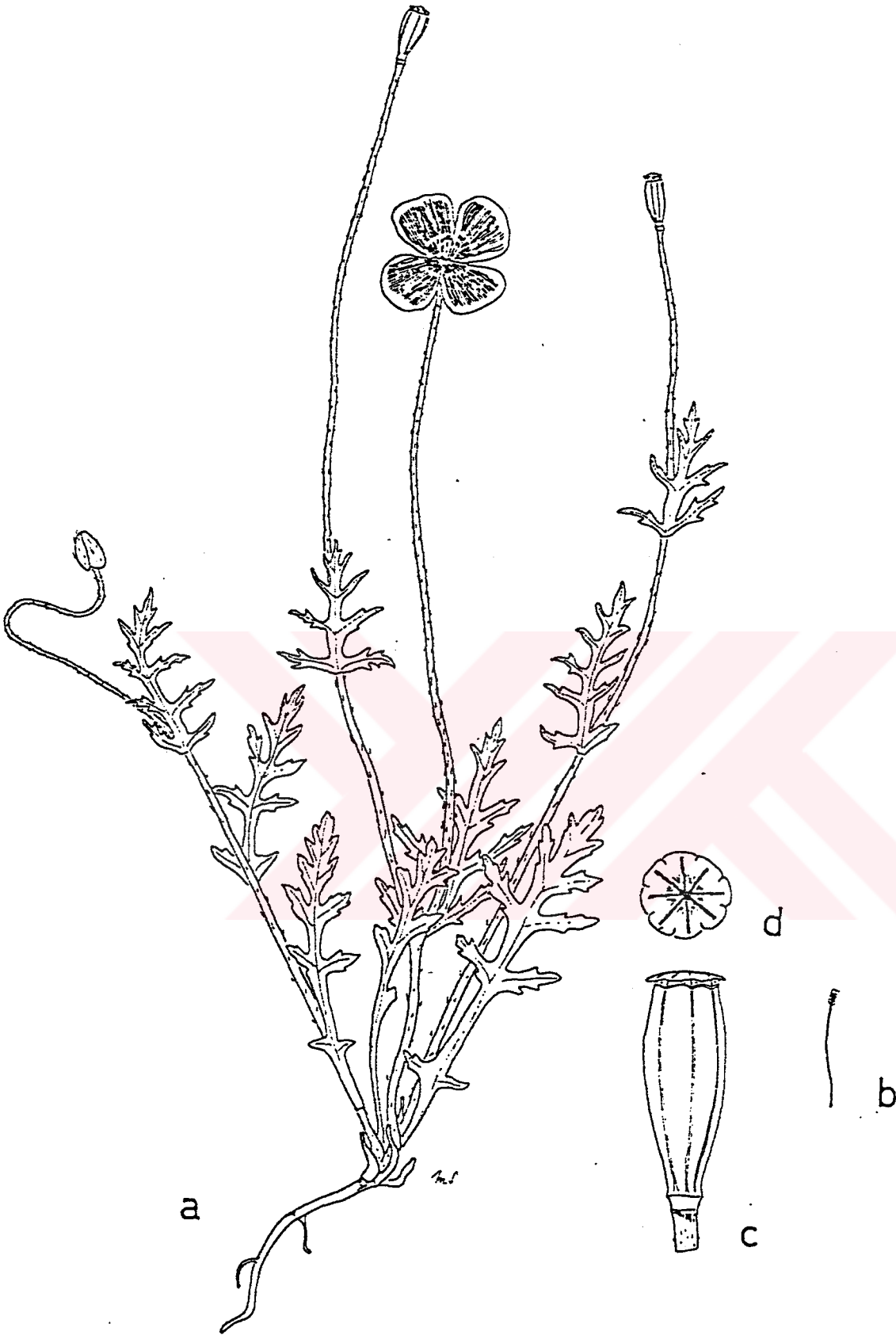
İncelenen örnekler: A2(A) Kocaeli: Gölcük, A3 Bolu: Kıbrısçık, C1 Bodrum: Yalıkavak, A5 Kastamonu: Tosya, A7 Gümüşhane: Torul





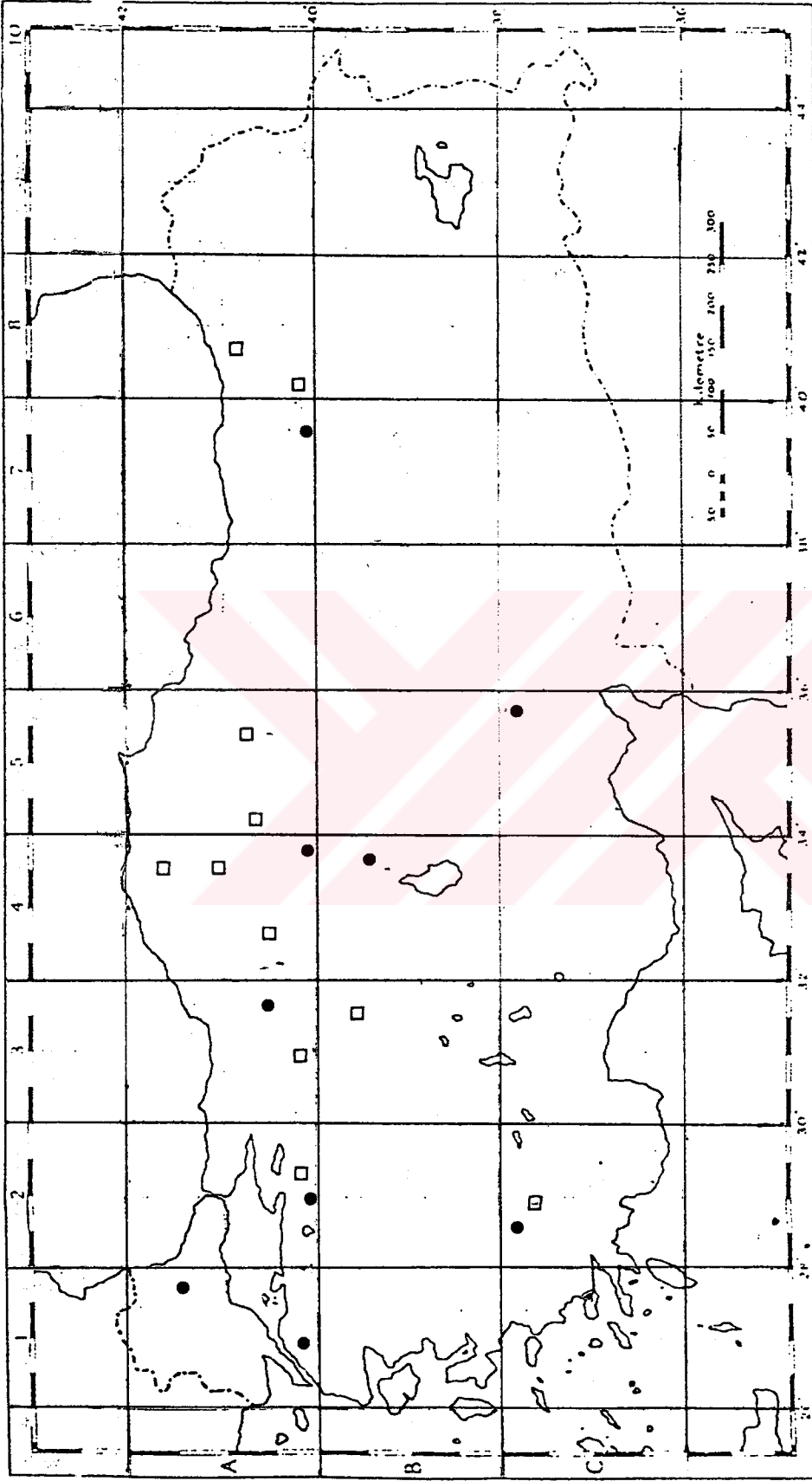
Şekil I: *P. dubium* L. (3)

a: genel görünüş x ¾, b: stamen x 2, c: kapsula x 2, d: stigma tablası x 2



Şekil II: *P. lacerum* Popov (3)

a: genel görünüş x 1/2, b: stamen x 2, c: kapsula x 2, d: stigma tablası x 2



Harita I: *P. dubium* subsp. *laevigatum* ve *P. lacerum* türlerinin Türkiye'deki yayılışı

- *P. dubium* subsp. *laevigatum*
- *P. lacerum*

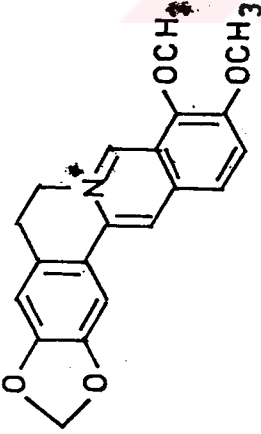
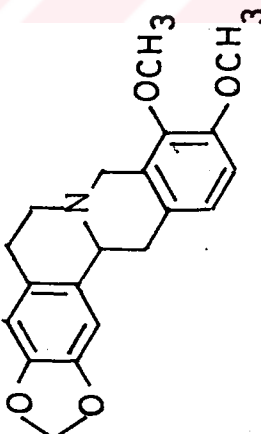
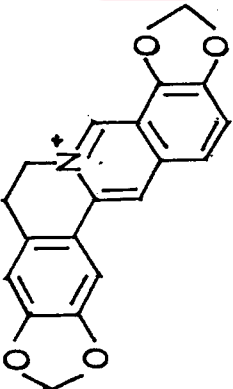
III. KİMYASAL BÖLÜM

1. TEORİK BÖLÜM

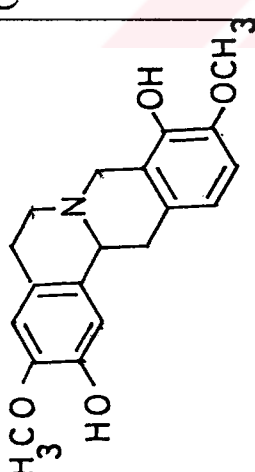
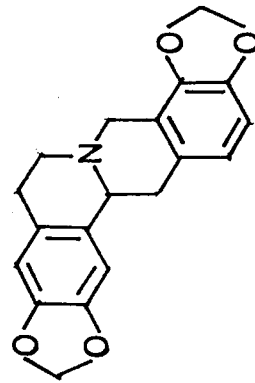
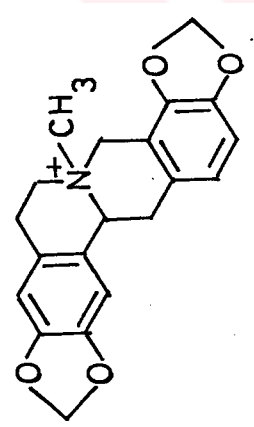
Papaveraceae taksonomik grupları bakımından iyi bilinen ve spesifik isokinolin alkaloidleri bakımından zengin olan bir familyadır. Giriş bölümünde de bildirdiğimiz gibi bu alkaloidlerden bazıları tedavide önemli yer tutar ve diğerleri de bu bağlamda ümit verici alkaloidler olarak göz önünde bulundurulmaktadır. Bu sebepten dolayı geçmişte ve özellikle günümüzde *Papaveraceae* familyasına ait alkaloidlerin yoğun bir şekilde çalışılması tesadüf değildir.

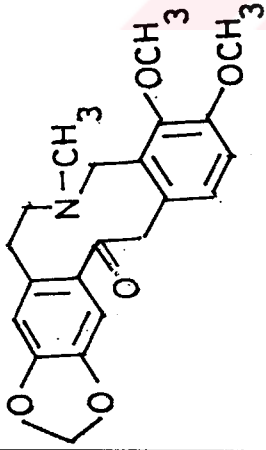
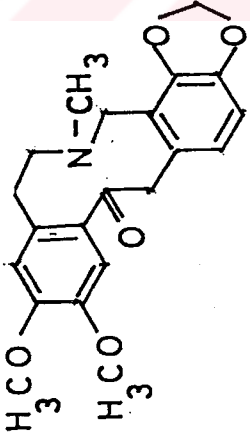
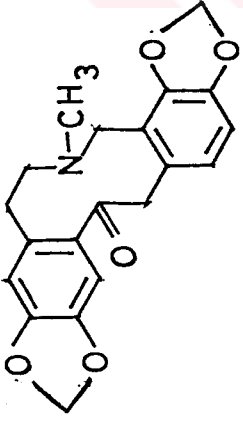
Papaveraceae familyasında yaygın olarak bulunan alkaloidler protoberberin, benzofenantridin ve protopin gruplarında yer alır. Bu gruplarda polar olan katerner alkaloidlere sık olarak rastlanmaktadır ve bu alkaloidler bir çok *Papaveraceae* bitkisinden majör alkaloid olarak izole edilmiştir (28).

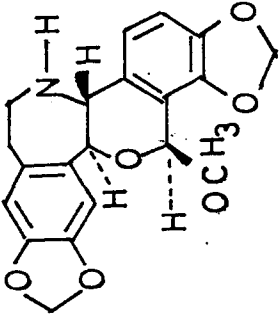
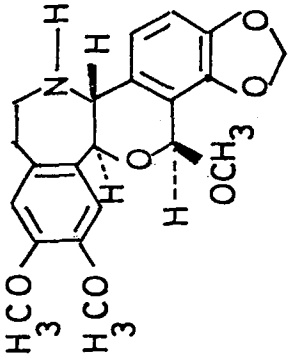
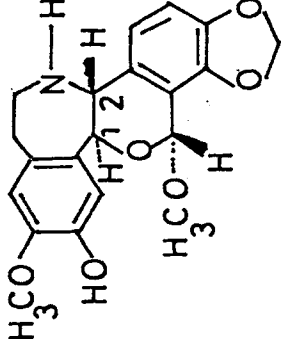
Papaver dubium subsp. *laevigatum* (M.Bieb.) Kadereit türü *Rhoeadium* seksiyonu içinde yer alır. Bu seksiyondaki türlerin majör alkaloidleri çoğunlukla rhoeadin ve protopin grubundandır, ayrıca aporfin grubuna ait alkaloidler de majör alkaloid olarak elde edilmiştir (28). Bu alkaloidlerin varlığı *Rhoeadium* seksiyonu için karakteristik olarak tanımlanabilir. *Papaver dubium* L. ise taşıdığı alkaloidler açısından değişiklik gösteren bir bitkidir. Rhoeadin, proaporfin, aporfin ve protoberberin gruplarından değişik alkaloidleri taşıdığı kayıtlıdır. Örneğin *Papaver dubium* L. var. *lecoqii* (Lamotte) Fedde bitkisinde bazı araştırmacılar majör alkaloid olarak berberin elde etmişken, bazıları rhoeadin ve isorhoeadin elde etmiştir ve berberine de minör alkaloid olarak rastlamışlardır (28). Bu ayrıcalığın detaylı olarak incelenmesi için *Papaver dubium* L. ve alt türlerinden bugüne kadar elde edilmiş olan alkaloidler Tablo I'de özetlenmiştir.

ALKALOİT (Adı ve grubu)	Formül	Tür	UV ve Kütle Spektrumu	NMR Ref.
Berberin Protoberberin		<i>P. dubium</i> L. (9,28) <i>P. dubium</i> ssp. <i>albiflorum</i> (Boiss.) Dost (28) <i>P. dubium</i> ssp. <i>lecoqii</i> (Lamotte) (28)	UV: $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ 266, 339, 349 nm (18,46) KÜTLE: 336 (M ⁺), 321, 320, 306, 292, 278 (46)	(46)
Canadine Protoberberin		<i>P. dubium</i> ssp. <i>lecoqii</i> (Lamotte) (28)		
Coptisine Protoberberin		<i>P. dubium</i> L. (19,28) <i>P. dubium</i> ssp. <i>lecoqii</i> (Lamotte) (28) <i>P. dubium</i> ssp. <i>albiflorum</i> (Boiss.) Dost (38)	UV: $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ 242, 266, 340, 355 nm (48,18) KÜTLE: 355(M ⁺), 320, 319, 148 (%100) (Cl ⁻) (43)	(43)

Tablo I: *Papaver dubium* L. ve alt türlerinde bulunmuş alkaloidler

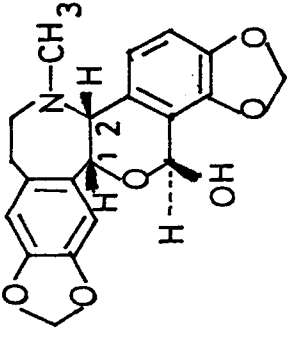
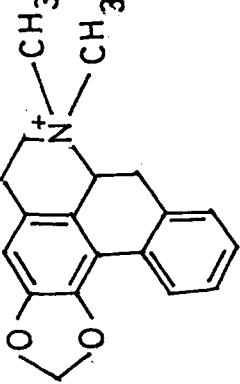
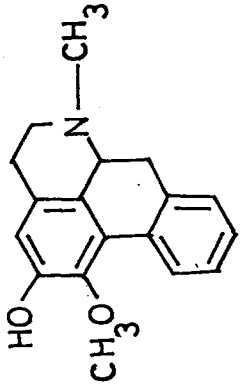
ALKALOİT (Adı ve grubu)	Formül	Tür	UV ve Kütle Spektrumu	NMR Ref.
Scoulerine Protoberberin		<i>P. dubium</i> ssp. <i>lecoqii</i> (Lamotte) (38)		
Stylopine Protoberberin		<i>P. dubium</i> ssp. <i>lecoqii</i> (Lamotte) (28)	UV: $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ 237, 289 nm (18) KÜTLE: 323(M ⁺), 174, 148 (%100) (10)	(44)
α - Stylopine methohydroxide Protoberberin		<i>P. dubium</i> ssp. <i>lecoqii</i> (Lamotte) (28)		

ALKALOİT (Adı ve grubu)	Formül	Tür	UV ve Kütle Spektrumu	NMR Ref.
Allocriptopine Protopine		<i>P. dubium</i> ssp. <i>albiflorum</i> (Boiss.) (28) <i>P. dubium</i> ssp. <i>lecoqii</i> (Lamotte) (28) <i>P. dubium</i> L. (28)	UV: $\lambda_{\text{EtOH}}^{\text{max}}$ 230, 285 nm (14,18) KÜTLE: 369(M ⁺), 354, 352, 341, 338, 297, 268, 206, 164 (%100), 149, 134 (14)	(21)
Cryptopine Protopine		<i>P. dubium</i> ssp. <i>lecoqii</i> (Lamotte) (28)	UV: $\lambda_{\text{EtOH}}^{\text{max}}$ 234, 286 nm (18) KÜTLE: 369(M ⁺), 354, 352, 341, 338, 326, 311, 297, 268, 190, 179, 148 (%100) (14)	(40)
Protopine Protopine		<i>P. dubium</i> L. (28,24) <i>P. dubium</i> ssp. <i>lecoqii</i> (Lamotte) (28)	UV: $\lambda_{\text{EtOH}}^{\text{max}}$ 238(sh), 288 nm (24,21) KÜTLE: 353(M ⁺), 338, 336, 325, 310, 295, 267, 252, 251, 190, 163, 148 (%100) (21)	(24,40)

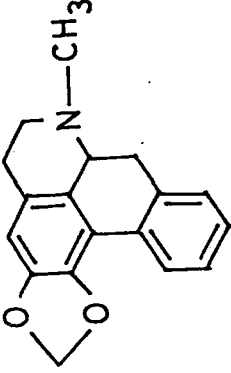
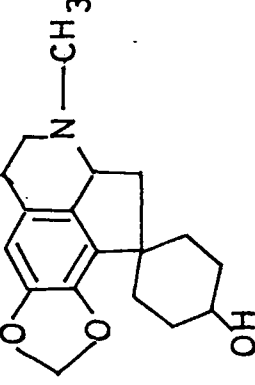
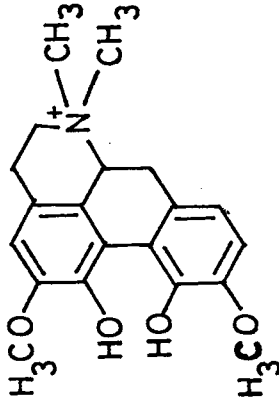
ALKALOİT (Adı ve grubu)	Formül	Tür	UV ve Kütle Spektrumu	NMR Ref.
Papaverrubine A Papaverrubin		<i>P. dubium</i> L. (28) <i>P. dubium</i> ssp. <i>lecoqii</i> (Lamotte) (28)	UV: $\lambda_{\text{EtOH}}^{\text{max}}$ 240, 284 nm (23) KÜTLE: 354(M ⁺), 206, 192, 178, 177(%100), 176 (23)	
Papaverrubine B Papaverrubin		<i>P. dubium</i> L. (28)	UV: $\lambda_{\text{EtOH}}^{\text{max}}$ 235, 286 nm (23) KÜTLE: 385(M ⁺), 370, 206, 193(%100), 192, 178 (23)	
Papaverrubine C Papaverrubin		<i>P. dubium</i> L. (28) <i>P. dubium</i> ssp. <i>lecoqii</i> (Lamotte) (28)	UV: $\lambda_{\text{EtOH}}^{\text{max}}$ 232, 285 nm (23) KÜTLE: 371 (M ⁺), 356, 179 (23)	(23)

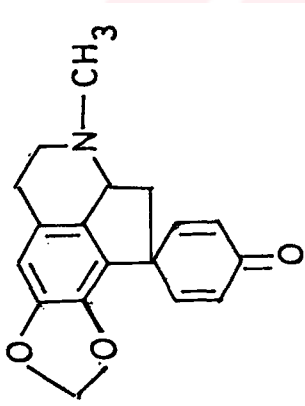
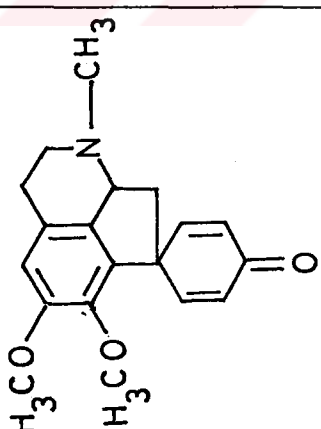
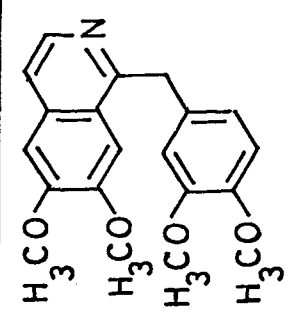
ALKALOİT (Adı ve grubu)	Formül	Tür	UV ve Kütle Spektrumu	NMR Ref.
Papaverrubine D Papaverrubin		<p><i>P. dubium</i> L. (28) <i>P. dubium</i> ssp. <i>lecoqii</i> (Lamotte) (28)</p>	<p>UV: $\lambda_{\text{EtOH}}^{\text{max}}$ 232, 287 nm (23)</p> <p>KÜTLE: 371(M⁺), 206, 192, 179 (23)</p>	(23)
Papaverrubine E Papaverrubin		<p><i>P. dubium</i> L. (28) <i>P. dubium</i> ssp. <i>lecoqii</i> (Lamotte) (28)</p>	<p>UV: $\lambda_{\text{EtOH}}^{\text{max}}$ 289 nm (23)</p> <p>KÜTLE: 354 (M⁺, %100), 206, 192, 178, 177(%100), 176 (23)</p>	
Papaverrubine F Papaverrubin		<p><i>P. dubium</i> L. (23)</p>	<p>UV: $\lambda_{\text{EtOH}}^{\text{max}}$ 238, 286 nm (23)</p> <p>KÜTLE: 385(M⁺), 370, 193 (23)</p>	

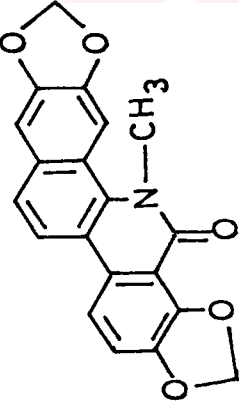
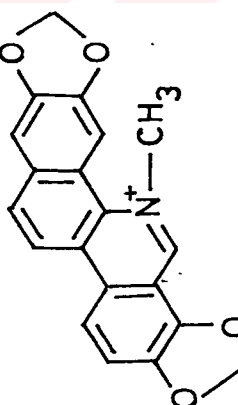
ALKALOİT (Adı ve grubu)	Formül	Tür	UV ve Kütle Spektrumu	NMR Ref.
Dubirheine Rhoeadin		<i>P. dubium</i> L. (42)	UV: $\lambda_{\text{MeOH}}^{\text{max}}$ 242, 293 nm (23,42) KÜTLE: 397(M ⁺), 368, 352, 192, 190, 177(%100), 163 (23)	(23)
Isorhoeadin Rhoeadin		<i>P. dubium</i> ssp. <i>lecoqii</i> (Lamotte) (28)	UV: $\lambda_{\text{MeOH}}^{\text{max}}$ 241, 292 nm (23) KÜTLE: 383(M ⁺), 368, 352, 177(%100) (23)	(23)
Rhoeadine Rhoeadin		<i>P. dubium</i> L. (28,29) <i>P. dubium</i> ssp. <i>lecoqii</i> (Lamotte) (28)	UV: $\lambda_{\text{MeOH}}^{\text{max}}$ 205, 240, 292 nm (23,33) KÜTLE: 383(M ⁺), 368, 352, 206, 192, 177 (%100), 163 (23)	(23)

ALKALOİT (Adı ve grubu)	Formül	Tür	UV ve Kütle Spektrumu	NMR Ref.
Rhoeagenine Rhoeadine		<i>P. dubium</i> L. (28)	UV: $\lambda_{\text{MeOH}}^{\text{max}}$ 243, 290 nm (22) KÜTLE: 369(M ⁺), 314, 311, 206 (%100), 192, 177, 163 (27)	(22)
Aporheine methohydroxide Aporfin		<i>P. dubium</i> L. (28)		
Asimilopine methohydroxide Aporfin		<i>P. lacerum</i> (Popov) (39)	UV: $\lambda_{\text{MeOH}}^{\text{max}}$ 231, 272, 314 nm (14) KÜTLE: 231(M ⁺), 280(%100), 266, 264, 250, 238 (39,10)	(14)

ALKALOİT (Adı ve grubu)	Formül	Tür	UV ve Kütle Spektrumu	NMR Ref.
Corytuberine Aporfin		<p><i>P. dubium</i> L. (15) <i>P. dubium</i> ssp. <i>lecoqii</i> (Lamotte) (28)</p>	<p>UV: $\lambda_{\text{MeOH max}}$ 227, 272, 311 nm (15,18)</p> <p>KÜTLE: 327(M⁺), 312, 296 (%100), 284, 269, 253 (13)</p>	(15)
Corydine Aporfin		<p><i>P. dubium</i> ssp. <i>lecoqii</i> (Lamotte) (28)</p>	<p>UV: $\lambda_{\text{MeOH max}}$ 218, 262, 270, 302 nm (14)</p> <p>KÜTLE: 341(M⁺), 340, 326, 324, 310, 298, 283, 267 (14)</p>	(14)
Isocorydine Aporfin		<p><i>P. lacerum</i> (Popov) (39) <i>P. dubium</i> ssp. <i>lecoqii</i> (Lamotte) (28)</p>	<p>UV: $\lambda_{\text{MeOH max}}$ 221, 267, 304 nm (10,14,14,15,18)</p> <p>KÜTLE: 341(M⁺), 340, 326(%100), 324, 310, 298, 283, 267 (4,5,10)</p>	(4,14)

ALKALOİT (Adı ve grubu)	Formül	Tür	UV ve Kütle Spektrumu	NMR Ref.
Roemerine Aporfin		<i>P. dubium</i> L. (28) <i>P. lacerum</i> (Popov) (28,39)	UV: $\lambda_{\text{MeOH}}^{\text{max}}$ 234, 264 (sh), 273, 285 (sh), 293 (sh), 318 nm (14) KÜTLE: 279(M ⁺), 278, 264, 249 (14)	(14,37)
(-)-Heksahydro- mecambrine B Proaporfin		<i>P. dubium</i> ssp. <i>lecoqii</i> (Lamotte) (28)		
Magnoflorine Aporfin		<i>P. dubium</i> ssp. <i>lecoqii</i> (Lamotte) (28)	UV: $\lambda_{\text{MeOH}}^{\text{max}}$ 227, 271, 310 nm (14) KÜTLE: 342(M ⁺), 341, 58 (14)	(14)

ALKALOİT (Adı ve grubu)	Formül	Tür	UV ve Kütle Spektrumu	NMR Ref.
Mecambrine Proaporfin		<i>P. dubium</i> L. (28) <i>P. dubium</i> ssp. <i>lecoqii</i> (Lamotte) (28) <i>P. lacerum</i> Popov (28,39)	UV: $\lambda_{\text{MeOH}}^{\text{max}}$ 230, 290 nm (39) KÜTLE: 295(M ⁺), 294, 266(%100), 252 (39)	(39)
Pronuciferine Proaporfin		<i>P. lacerum</i> Popov (28,39)	UV: $\lambda_{\text{MeOH}}^{\text{max}}$ 230, 280 nm (39) KÜTLE: 311(M ⁺) (%100), 310, 268, 253, 237, 225, 209 (39)	(39)
Oxyhydrastine Benzilisokinolin		<i>P. dubium</i> L. var. <i>glabrum</i> (28)		

ALKALOİT (Adı ve grubu)	Formül	Tür	UV ve Kütle Spektrumu	NMR Ref.
Oxysanguinarine Benzofenantridin		<p><i>P. dubium</i> L. (28) <i>P. dubium</i> ssp. <i>lecoqii</i> (Lamotte) (28)</p>	<p>UV: $\lambda_{\text{EtOH}}^{\text{max}}$ 241, 281(sh), 289, 331, 348, 370, 385 nm (22)</p> <p>KÜTLE: 347(M⁺) (%100), 346, 318, 289, 203, 159, 69, 44 (22)</p>	(22)
Sanguinarine Benzofenantridin		<p><i>P. dubium</i> L. (17)</p>	<p>UV: $\lambda_{\text{EtOH}}^{\text{max}}$ 236, 285, 328, 352(sh), 400, 476 nm (22)</p> <p>KÜTLE (Cl⁻): 347(M⁺), 333, 332, 317 (%100) (22)</p>	(22)

2. DENEYSEL BÖLÜM

A. MATERYAL

Papaver dubium subsp. *laevigatum* (M. Bieb.) Kadereit türüne ait materyal (ISTE NO : 74231), 1.7.1997 tarihinde Bolu- Gerede yolundan toplandı.

B. GENEL METODLAR

Materyal oda ısısında kurutuldu ve orta incelikte toz edildi.

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 süzüldü. Bu infüzyonda alkaloid, flavon, antrasen, saponin ve tanen türevleri arandı.

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

b) **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 diğer bir tübe aktarıldı ve üzerine 3 ml %10'luk amonyak çözeltisi ilave edildi. Kırmızı bir rengin meydana gelip gelmediği gözlemlendi.

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

d) **Tanen bileşiklerinin aranması:** 10 ml infüzyon üzerine 2 ml 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.

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

2- Miktar Tayini Yöntemleri

a) **Su miktar tayini:** Etüvde ısıtılarak sabit vezne 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 soğuduktan sonra tartıldı.

b) **Kül miktar tayini:** Sabit ağırlığa getirilmiş bir porselen krozede 1g drog tam olarak tartıldı. Önce alçak ısıda sonra 800 °C'yi geçmeyen bir ısıda yarım saat yakıldı. Desikatörde soğutulup, tartıldı.

3- Alkaloitlerin Tüketilmesi ve Ayrılması

a) Tersiyer Alkaloitlerin Tüketilmesi ve Ayrılması

Toz edilmiş materyal oda ısısında, etanol ile tüketme sıvısı Dragendorff belirtecine karşı pozitif reaksiyon vermeyinceye kadar perkolatörde tüketildi. Etanollü kısımlar alçak baskıda şurup kıvamına kadar yoğunlaştırıldı. Bakiye %3'lük hidroklorik 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 kadar tüketildi. Kloroformlu kısımlar birleştirildi, susuz sodyum sülfat ile suyu alındı, süzüldü ve alçak baskıda kuruluğa kadar uçurularak tersiyer alkaloitler elde edildi.

b) Katerner Alkaloitlerin Tüketilmesi ve Ayrılması

Kloroform ile tüketmeden geriye kalan sulu kısmın pH'sı dilüe hidroklorik asit çözeltisi ile 6-7'ye ayarlandı, hacminin ¼'ü oranında potasyum iyodürün sudaki doymuş çözeltisi ilave edildi. Kloroform ile tüketildi. Susuz sodyum sülfat ile suyu alındı, süzüldü, alçak baskıda kuruluğa kadar uçurularak katerner alkaloit ekstresi elde edildi.

4- Kromatografik Yöntemler

a) İnce Tabaka Kromatografisi

Silikajel

Laboratuvarda hazırlanan ve hazır alınan plaklar kullanıldı.

Plakların Hazırlanması: 30g silikajel (Kieselgel G nach Stahl-Merck) ve 60 ml distile su ile hazırlanan süspansiyon, 20x20 boyutlarındaki 5 adet cam plağa 0.25 mm kalınlığında Desega 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:Metanol (8:2)	I
Kloroform:Metanol (9:1)	II
Toluen:Metanol (9:1)	III
Kloroform:Metanol:Amonyak (8:2:0.03)	IV
Sikloheksan:Kloroform:Dietilamin (7:2:1)	V
Kloroform:Etilasetat:Metanol (2:2:1)	VI
Sikloheksan:Dietilamin (9:1)	VIII
Benzen:Aseton:Metanol (7:2:1)	IX
Toluen:Aseton:Etanol:Amonyak (45:45:7:3)	X
Kloroform:Benzen:Metanol (4:5:1)	XI
Benzen:Etanol:Amonyak (8:2:0.03)	XII

Çözücüler, kaplanan plaklarda, laboratuvar ısısında, 15-17 cm yükseltildi. Alkaloitler ya kloroformdaki veya kloroformda çözünmüyorsa metanoldaki çözeltileri halinde plaklara tatbik edildi.

Belirteçler :

Dragendorff Belirteci

Çözelti A : 0.85 g bazik bismut 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.

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

b) Preparatif İnce Tabaka Kromatografisi

Adsorban olarak silikajel kullanıldı.

Plakların Hazırlanması : 45 g Kieselgel HF₂₅₄ (Merck) 110 ml distile su ile süspansiyon haline getirilerek 20x20 cm boyutlarındaki 5 adet cam plağa 0.5-1.0 mm kalınlığında yayıldı. Plaklar 12 saat oda ısısında kurutuldu ve 105 C'lik etüvde 1 saat aktive edildi.

Çözücü olarak ince tabaka kromatografisinde en iyi sonuç alınan sistemler kullanıldı. Sürüklenme 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 0.5-2.0 cm çapında sütunlardan kloroform : metanol karışımının değişen oranları ile elüe edildi. Elüatlar, filtre kağıdından süzüldü, alçak baskıda kuruluğa kadar distillendi, uygun bir çözücü veya çözücü karışımında çözüldü, tekrar süzülerek kristallenmeye bırakıldı.

c) Sütun Kromatografisi

Silikajel Sütun

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

Sütunun Hazırlanması: 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 durumunda tutuldu ve adsorbanın yerleşmesi için bir müddet 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.

5- Spektroskopik Metodlar

a) UV : Shimadzu UV-2100s, Shimadzu UV-1601 ve Jasco UV-530 spectrometer aletleri kullanıldı. Spektrumlar, 1 cm'lik kuvarz küvetler kullanılarak maddenin metanolde hazırlanmış çözeltisi ile alındı. Fenolik alkaloidlerin spektrumları bir küvet dolusu çözeltiye 2 damla 0.1N NaOH çözeltisi ilave edilerek spektrum tekrar alındı.

b) IR : Spektrumlar Perkin-Elmer 1600 series FTIR aletlerinde alındı. Maddeler spektroskopik KBr ile karıştırılıp tablet haline getirildi veya kloroformda çözülerek spektrum alındı.

c) $^1\text{H-NMR}$: Bruker FT 200 mHz aleti kullanıldı. Çözücü olarak CDCl_3 , TFA ve DMSO, iç standart olarak TMS kullanıldı.

d) KÜTLE : Spektrumlar, AEI MS-902 ve FAB-902 modeli alet ile alındı.

3. BULGULAR

1. Fitokimyasal Ön Deneme Sonuçları

Gölgede kurutulan materyal toz edildikten sonra genel metodlar kısmında bahsedilen fitokimyasal ön deneme sonuçları aşağıdaki tabloda özetlenmiştir.

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

Buna göre materyalin toprak üstü kısımlarının flavon ve alkaloit taşıdığı saptanmıştır.

2. Miktar Tayini Sonuçları

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

Miktar Tayini	Sonuç
Su	%2.96
Kül	%12.79

***Papaver dubium* subsp. *laevigatum* Türünün Alkaloitleri**

a) Alkaloitlerin Tüketilmesi

1997 yılının Haziran ayında Bolu- Gerede'den toplanan materyalin toprak üstü kısımları orta incelikte toz edildi ve genel metodlar bölümünde anlatıldığı şekilde tüketilip tersiyer alkaloit ekstresi elde edildi.

Çalışılan materyalden elde edilen ekstrelerin verim hesabı aşağıda verilmiştir:

Materyal miktarı (g)	Total alkaloit ekstre miktarı (g)		% Verim
	Katerner ekstre	Tersiyer ekstre	
2300 g	6g		% 0.260
		0.8380g	% 0.036

b) Tersiyer Alkaloitlerin Ayrılması ve Saflaştırılması

5.4 g ekstre kloroformda çözüldü ve 10 g silikajel ile karıştırılarak 250 g Kieselgel 60 (korngrösse) 0.063- 0.2 mm (Merck) ile hazırlanmış 3.5 cm çapındaki sütuna döküldü. Alkaloitlerin elüsyonu için çözücü sistemi olarak sütundan önce kloroform, sonra kloroform: metanol (9:1) ve kloroform:metanol (8:2) geçirildi. Son olarak sütun metanol geçirilerek yıkandı ve kromatografiye son verildi. 10'ar ml'lik tüplerde toplam 290 fraksiyon alındı. İnce tabaka kromatografisi ile incelendikten sonra benzer fraksiyonlar birleştirildi.

Alınan fraksiyonların miktarı ve hangi çözücü sistemi ile alındıkları aşağıda verilmiştir:

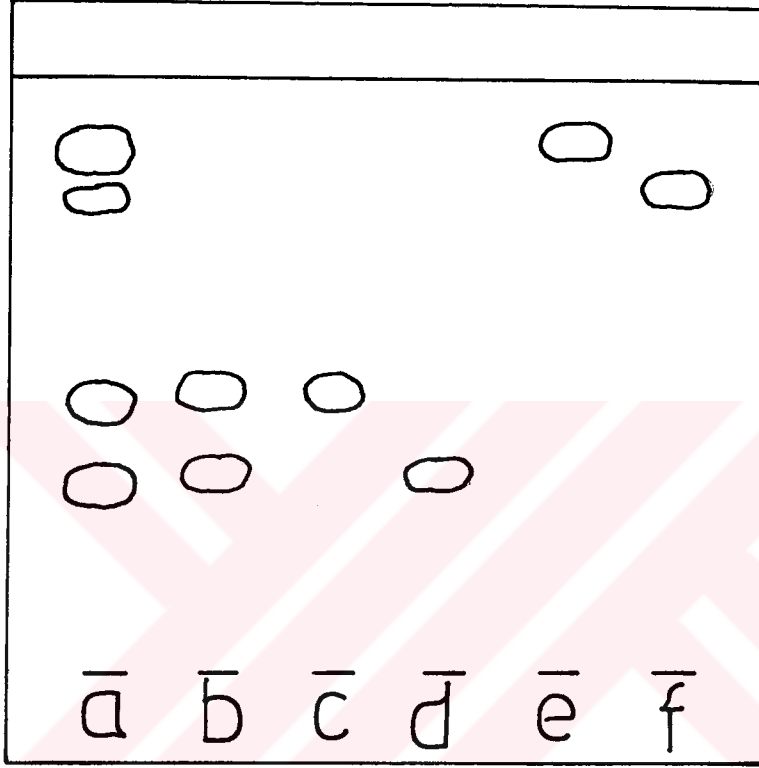
Fraksiyon no	Miktarı (g)	Çözücü sistemi
1-5	0.008	I
6-12	0.015	I
13-23	0.012	I
24-35	0.011	I
36-41	0.009	I
42-44	0.053	I
45-48	0.054	I
49-52	0.075	I
53-58	0.058	I
59-61	0.079	II
62-78	0.110	II
79-98	0.195	II
99-118	0.230	II
119-126	0.086	II
127-130	0.024	II
131-138	0.046	II
139-150	0.049	II
151-158	0.035	II
159-178	0.048	III
179-198	0.045	III
199-218	0.054	III
219-228	0.065	III
229-238	0.059	III
239-245	0.032	III
246-258	0.075	III
259-290	0.082	III

Kloroform : I, Kloroform:Metanol (9:1) : II, Kloroform:Metanol (8:2) : III

Üzerinde çalışılan fraksiyonlar, bu fraksiyonlardan hangi alkaloidin elde edildiği ve miktarları aşağıdaki tabloda belirtilmektedir:

Fraksiyon no	Alkaloid	Miktarı (g)
42-44 (45-48)A	Isocorydine	0.007
(45-48)B	Corydine	0.005
62-78 79-98 99-118	Berberine	0.535
(219-228)A (179-198)A (199-218)A	Thalifendine	0.015

Bitkide majör olarak bulunan katerner yapıdaki berberin ve minör alkaloid olarak bulunan katerner yapıdaki thalifendine tersiyer ekstreden elde edilmiştir. Katerner alkaloid ekstresi ayrıca çalışılmamıştır. Tersiyer ve katerner alkaloid ekstralarının ve elde edilen alkaloidlerin ince tabaka kromatografisi aşağıdadır.



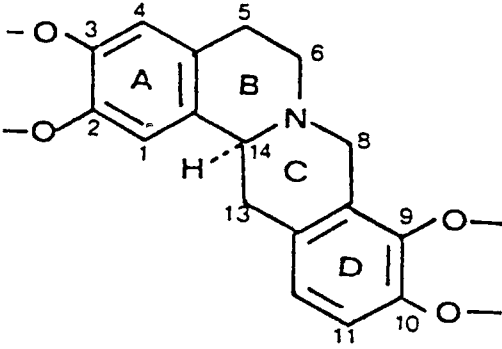
Şekil III: *Papaver dubium* subsp. *laevigatum* türünün tersiyer ve katerner alkaloid ekstralarının ve izole edilen alkaloidlerin ince tabaka kromatografisi.

Adsorban: Silikajel

Çözücü sistemi: Kloroform:Metanol (8:2)

- a- Tersiyer ekstre
- b- Katerner ekstre
- c- Berberin
- d- Thalifendine
- e- Isocorydine
- f- Corydine

PROTOBERBERİN GRUBU



Protoberberin grubu alkaloitler bitkilerde tirozinden hareketle meydana gelir. Bir çok izokinolein türevi alkaloidin başlangıç maddesini oluşturan bu grup, tetrahidroprotoberberinler ve kuaterner protoberberinler olmak üzere iki alt gruba ayrılır. Oksijenli gruplar C-2,3 ve C-9,10 ya da C-2,3 ve C-10-11'dedir. Bazı türevlerde C-1'e hidroksil ya da metoksil grubu; C-13'de ise metil ya da alkol grubu bulunabilir (40).

BERBERİNE*

Silikajel sütundan sarı renkli kristaller halinde 62-78, 79-98, 99-118 no'lu fraksiyonlardan elde edilen alkaloidin şahit berberin ile denenen tüm sistemlerde aynı Rf'de leke verdiği ve IR spektrumunun berberinden farklı olmadığı görüldü.

Rf değerleri: Tablo 2

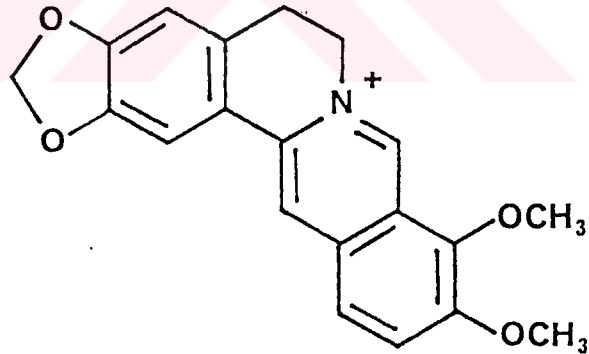
UV spektrumu: Spektrum I

$\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ 265, 349, 429 nm

$\lambda_{\text{min}}^{\text{MeOH}}$ 250, 303, 381 nm

IR spektrumu: (KBr) Spektrum II

1734, 1717, 1700, 1684, 1653, 1635, 1618,
1601, 1569, 1540, 1506, 1480, 1458, 1385,
1363, 1333, 1277, 1231, 1143, 1102, 1060 cm^{-1}



*Bu tezin konusunu oluşturan bitkiden majör olarak elde edilen berberin katerner yapıda olup protoberberin grubuna adını veren alkaloiddir. İlk defa 1826 yılında "xanthopicrit" adı ile *Zanthoxylum caribaeum* (Rutaceae) bitkisinden elde edilmiştir. Dokuz yıl sonra bu kuaterner alkaloit *Berberis vulgaris* (Berberidaceae)'den tekrar elde edilmiştir ve bugün de bu isim ile yayınlanmaktadır.(25)

THALİFENDİNE*

Sütundan koyu kırmızı renkte elde edilen beş fraksiyonda (219-228, 229-238, 239-245, 246-258, 259-290) ince tabaka kromatografisi ile varlığı saptanmış ve preparatif ince tabaka kromatografisinde kloroform:metanol (8:2) sistemi ile izole edilmiştir. ¹H-NMR, kütle ve UV spektrumlarındaki veriler literatür verilerine uymaktadır. Ayrıca seyreltik hidroklorik asit çözeltisinin ilavesi ile sarı renk oluşmaktadır (25, 41, 47).

Rf değerleri: Tablo 2

UV spektrumu: Spektrum III

$\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ 230, 267, 349 nm

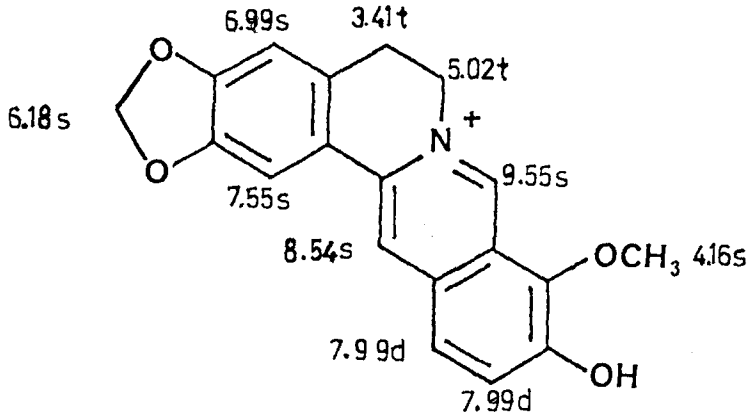
$\lambda_{\text{min}}^{\text{MeOH}}$ 213, 252, 307 nm

¹H-NMR spektrumu: (CHCl₃, DMSO, TFA) (Spektrum IV, V, VI)

TFA'de alınan ¹H-NMR spektrumunun değerleri formül üzerinde gösterilmiştir.

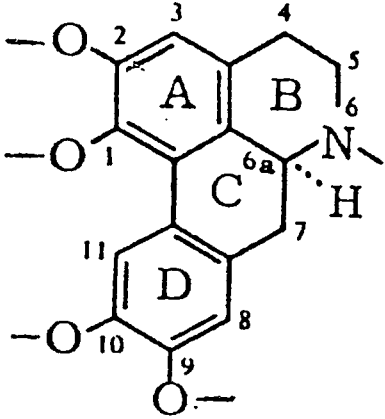
Kütle spektrumu: (FAB, EIMS) (Spektrum VII, VIII)

m/e 322(M⁺), 135, 149, 163, 176



*Kırmızı-turuncu renkli katerner yapıda bir alkaloid olan thalifendine ilk defa *Thalictrum fendleri* bitkisinden 1965 yılında elde edilmiştir.(25)

APORFİN GRUBU



Aporfinler isokinolin alkaloitlerinin büyük bir grubunu oluştururlar. Bitkilerde benzilizokinolinlerin intramoleküler fenolik oksidatif birleşmeleri ile oluşurlar. Azat atomuna genellikle bir metil grubu bağlıdır, bu durumda azot tersiyerdir. Eğer azot sekonder ise alkaloit noraporfin olarak adlandırılır. İki metil grubunun bağlı olduğu birkaç katerner aporfin tuzları da bilinmektedir. C-

1 ve C-2'de hidroksil, metoksil veya metilendioksi gruplarından biri mutlaka bağlıdır. Sübstitüent bağlı olabilecek diğer konumlar ise C-9, C-10 ve C-11'dir; nadir olarak C-3 ve C-8 konumlarından da sübstitüent bağlı olabilir. Bazı durumlarda hidroksil grubu 7. C atomuna bağlı olurken, steporfin 4. C atomundan oksijenlenmiş bilinen tek aporfin alkaloitidir (40).

ISOCORYDINE*

Sütundan alınan 42-44'üncü fraksiyonda reçine ile karışık elde edilen maddeyi temizlemek için fraksiyona kalevi ortamda kloroformla tüketme işlemi uygulandı ve ince tabaka kromatografisinde temizlenen fraksiyonun tek leke verdiği görüldü. Bu maddenin ince tabaka kromatografisinde verdiği lekenin bir süre sonra yeşil renk alması maddenin isocorydine olabileceğini düşündürdü ve şahit isocorydine ile denenen sistemlerde aynı Rf'lerde leke verdiği saptandıktan sonra üst üste IR spektrumu alındı ve maddenin isocorydine olduğuna karar verildi (14).

Rf değerleri: Tablo 2

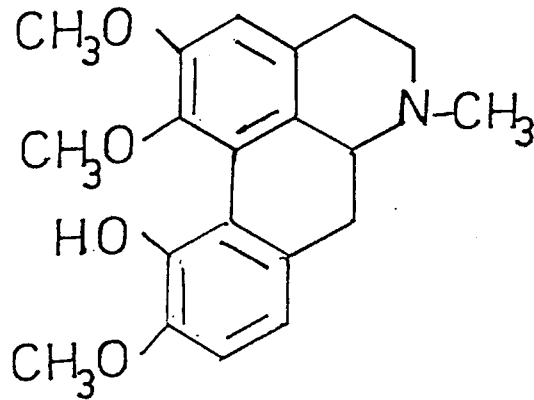
UV spektrumu: (Spektrum IX)

$\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ 221, 266, 302 nm

$\lambda_{\text{min}}^{\text{MeOH}}$ 247, 289 nm

IR spektrumu : (CHCl₃) (Spektrum X)

1594, 1577, 1497, 1469, 1407, 1371, 1318,
1289, 1239, 1136, 1103, 1077, 1045 cm⁻¹



*İsocorydine ilk kez corytuberine'in kısmi metilasyonu ile elde edilmiş, daha sonra Corydalis lutea L. türünden luteanine ismi ile izole edilmiştir.(40)

CORYDINE*

Sütundan alınan 45-48'inci fraksiyonun ince tabaka kromatografisinde iki leke görüldü. Bu fraksiyonu da reçinesinden temizlemek için kalevi ortamda kloroformla tüketme işlemi yapıldı. Daha sonra alttaki bant kloroform:benzen:metanol (4:5:1) sistemi ile preparatif ince tabaka kromatografisi ile alındı. İnce tabaka kromatografisi ile denenen sistemlerde şahit corydine ile aynı Rf'de leke verdiği saptandı ve üst üste alınan IR spektrumunun da corydine'den farklı olmadığı görüldü.(14).

Rf değerleri: Tablo 2

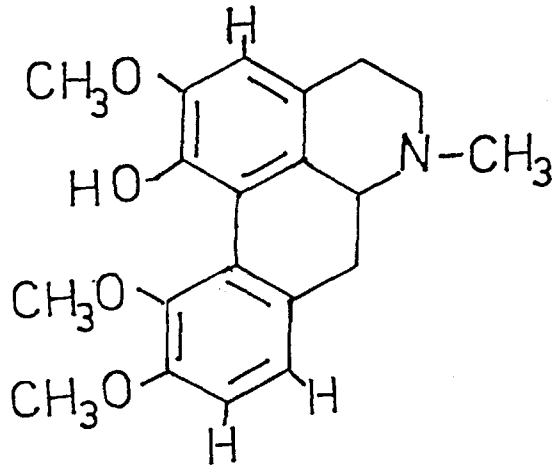
UV spektrumu: (Spektrum XI)

$\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ 223, 265, 304 nm

$\lambda_{\text{min}}^{\text{MeOH}}$ 250, 289 nm

IR spektrumu: (CHCl₃) (Spektrum XII)

1595, 1574, 1462, 1408, 1371, 1343, 1327, 1285,
1239, 1173, 1139, 1102, 1079, 1048, 1028 cm⁻¹



*Corydine ilk kez *Corydalis tuberosa* türünden elde edilmiştir.(40)

ALKALOİT	Ç Ö Z Ü C Ü S İ S T E M İ								
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX
Berberine	0.40	0.36	0.33	0.62					
Thalifendine	0.52	0.60		0.65					
Isocorydine		0.88			0.65	0.31	0.33	0.68	0.55
Corydine		0.75			0.63	0.25		0.64	0.51

Talo 2. *P. dubium* subsp. *laevigatum* türünden elde edilen alkaloidlerin İTK'daki Rf değerleri

IV. SONUÇ VE TARTIŞMA

Bu çalışmada *Rhoeades* seksiyonu içerisinde yer alan *Papaver dubium* subsp. *laevigatum* türünün alkaloidleri incelenmiştir.

Elde edilen alkaloidlerin yapısı spektral analizler alınarak (¹H-NMR, UV, IR ve kütle spektrometresi) ve şahit maddelerle ince tabaka kromatografisinde Rf değerleri kıyaslanarak aydınlatılmıştır.

Bolu- Gerede'den toplanan bitkinin toprak üstü kısımlarından protoberberin grubundan katerner yapıdaki berberin majör alkaloid olarak ve yine protoberberin grubundan katerner yapıdaki kırmızı- turuncu renkli thalifendine ile aporfine grubundan isocorydine ve corydine minör alkaloid olarak elde edilmiştir. *Papaver dubium* L. ve *Papaver dubium* subsp. *lecoqii* (Lamotte) bitkileri üzerinde daha önce yapılmış olan araştırmalarda berberin elde edildiği kayıtlıdır (28). Ancak *Papaver dubium* subsp. *laevigatum* adı altında bitkinin alkaloidleri ile ilgili daha önce yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır. Bu tür için ilginç olan yapısı thalifendine olarak aydınlatılan alkaloidin *Papaveraceae* familyası için yeni olmasıdır. Thalifendine ilk defa *Thalictrum fendleri* Engelm. Ex Gray (*Ranunculaceae*) türünden 1965 yılında elde edilmiştir, daha sonraları da bir çok *Thalictrum* türünde thalifendine'e rastlanmıştır (25).

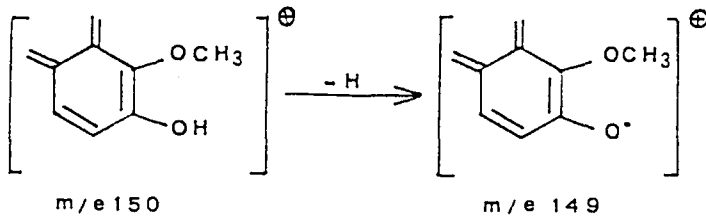
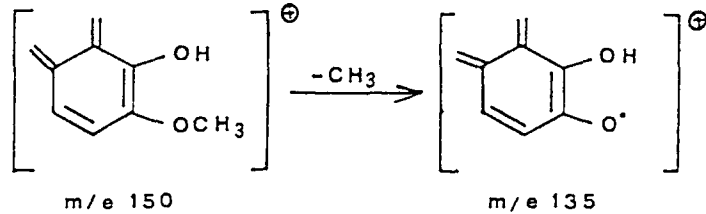
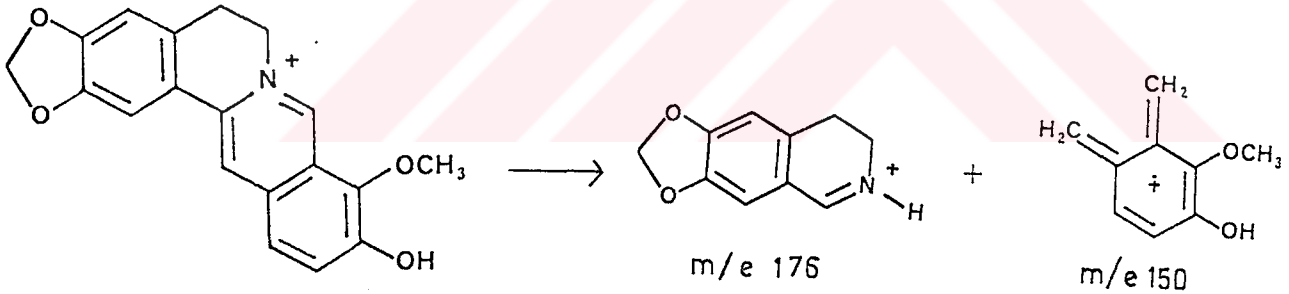
Thalifendine'in yapısının aydınlatılmasında değişik çözücüler içinde alınan ¹H-NMR, EIMS ve FAB tekniği kullanılarak yapılan kütle ve UV spektrumlarından faydalanılmıştır.

Yapıdaki fenolik grubun tespiti için MeOH içinde alınan UV spektrumunda batakromik kayma görülmüştür. Ayrıca katerner protoberberin tuzlarının C-9 ve C-10 konumlarında süstitüe durumda UV spektrumu karakteristik olarak 307 nm'de bir minimum gösterir (41).

¹H-NMR spektrumu ise önce kloroformda alınmış fakat altı aromatik protonun bir tanesi kloroform piki altında kaldığından DMSO'da tekrar ¹H-NMR çekilmiş ve yapıda altı aromatik proton, bir metilendioksi ve bir metoksil grubunun varlığı kanıtlanmıştır. Oksijenli grupların yerlerinin belirlenmesinde protonların ¹H-NMR'daki kimyasal kayma değerlerinden faydalanılmıştır. Thalifendine'in izomeri olan berberubine ile çok benzerlik göstermesi ¹H-NMR spektrumunun literatürde kayıtlı olan TFA'de alınmasını gerektirmiştir. Bunun sonucunda da metilendioksi grubunun C-2,3 konumunda olduğuna karar verilmiştir⁴ (25,41,47).

A ve D halkalarının oksijenli gruplarının tespitinde ¹H-NMR spektrumuna ilave olarak kütle spektrumundan da yararlanılmıştır. Kütle spektrumu ilk olarak FAB tekniği ile alınmış ve molekül ağırlığının 322 olduğu ispatlanmıştır. C-9 hidroksil ve C-10 metoksil konumu EIMS tekniği ile alınan ve aşağıda parçalanma ürünleri verilen kütle spektrumu ile gösterilmiştir.

Thalifendine'in parçalanma ürünleri:



Alınan sonuçlar thalifendine'in literatürde verilen ¹H-NMR ve kütle spektrumu değerleri ile uygunluk göstermektedir (25,41,47) (Spektrum VI, VII, VIII).

Rhoeades seksiyonundaki türlerin alkaloitleri üzerinde yapılan çalışmaların çoğunda isocorydine bulunduğu kayıtlıdır (28). Türkiye'de yetişen ve daha önce alkaloitleri araştırılan *P. lacerum*, *P. rhopalotheca* ve *P. commutatum* subsp. *euxinum* türleri majör alkaloit olarak isocorydine taşımaktadır (1,36,39). Bu çalışmada da aynı alkaloidin elde edilmesi isocorydine'in seksiyonu karakterize ettiğini göstermesi bakımından önemlidir.

Kadereit'in 1984 yılında yayınladığı revizyonda *Papaver dubium* subsp. *laevigatum* türü *Papaver lacerum* türünün sinonimi olarak verilmektedir. 1982'de Mustafa Saraçoğlu'nun "Türkiye'nin Tek Yıllık *Papaver* Türleri Üzerinde Araştırmalar" konulu doktora çalışmasında da *P. lacerum* türü ile *P. dubium* türü arasındaki benzerliğe dikkat çekilmiş ancak iki türün tüylerinin ve yapraklarının farklı olması nedeni ile iki ayrı tür olduğuna karar verilmiştir (3). *Papaver lacerum* üzerinde ilk kez 1981 yılında Kayseri civarından toplanan örnek üzerinde çalışılmış ve ana alkaloit olarak roemerine elde edilmiş, diğer alkaloitlerin ise N-metil asimilobine, mecambriine ve pronuciferine olduğu saptanmıştır (39). Türe ait ikinci örnek Honaz Dağı'ndan (Denizli) toplanmış ve bitkinin roemerine, dehydroroemerine ve mecambriine taşıdığı saptanarak iki tür arasındaki benzerlik ortaya konmuştur*.

Bu çalışmada Bolu- Gerede civarından toplanan örneğin alkaloitleri bakımından daha önceki türlerle benzerlik göstermemesi, botanik incelemede de bazı farklılıklarının bulunduğu saptanması *Papaver dubium* subsp. *laevigatum* ve *Papaver lacerum* türlerinin sinonim oldukları görüşünde bazı tereddütler ortaya koymaktadır. Bu nedenle bu bitkilere ait daha fazla örnek toplamanın botanik ve kimyasal çalışmaların sürdürülmesinin gerekli olduğu kanısındayız.

* İ.Ü Araştırma Fonu 654/210994 No'lu proje kapsamında devam eden çalışmalar sırasında elde edilen sonuçlar.



V. ÖZET

Bu çalışmada Bolu-Gerede'den toplanan *Papaver dubium* subsp. *laevigatum* (M. Bieb) Kadereit türü alkaloidleri yönünden ilk kez incelenmiştir. Bitkinin toprak üstü kısımlarından elde edilen tersiyer alkaloid ekstresi üzerinde çalışılmış, bu alkaloidler sütun kromatografisi ve preparatif ince tabaka kromatografisi ile birbirinden ayrılmış ve saflaştırılmıştır.

Bu türde majör alkaloid olarak protoberberin grubundan katerner yapıdaki berberine, minör alkaloid olarak yine protoberberin grubundan katerner yapıdaki thalifendine, aporfin grubundan isocorydine ve corydine izole edilmiştir. Protoberberin grubundan katerner yapıdaki thalifendine *Papaveraceae* familyası için yeni bir alkaloidtir.

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

Sonuç olarak *Papaver lacerum* türü ile sinonim kabul edilen *Papaver dubium* subsp. *laevigatum* türünün bu çalışmada alkaloidleri bakımından farklı olduğu saptanmıştır.



VI. SUMMARY

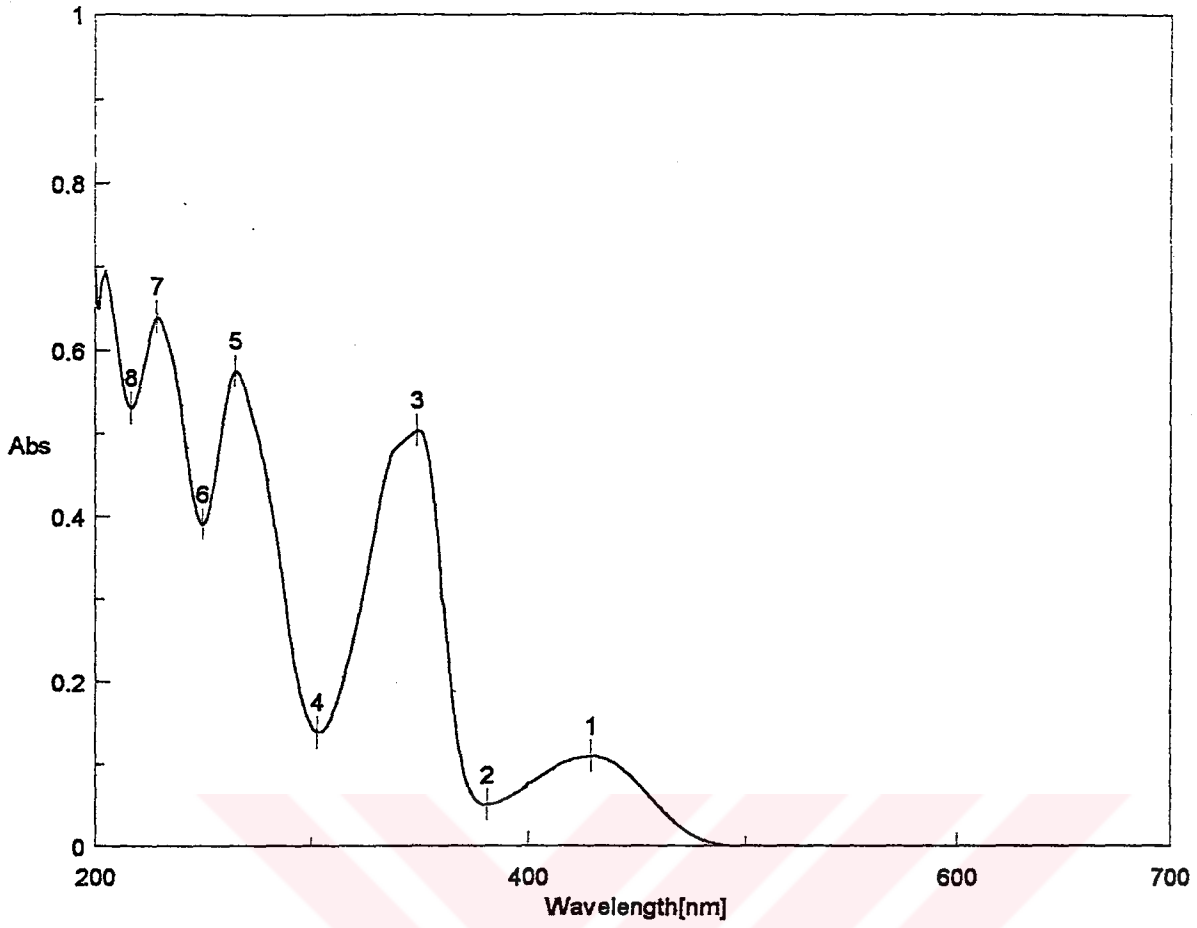
In this study, the alkaloids of *Papaver dubium* subsp. *laevigatum* (M. Bieb) Kadereit which was collected from Bolu-Gerede were investigated for the first time. Total tertiary alkaloidal extract was prepared from the aerial parts of the plant sample and the alkaloids were isolated and purified by column and preparative thin layer chromatographies.

A quaternary protoberberinium salt berberine was isolated as a major alkaloid. The other quaternary protoberberinium alkaloid thalifendine has been isolated as a minor alkaloid together with isocorydine and corydine which belong to aporphine group. The presence of thalifendine has been shown in *Papaveraceae* family for the first time.

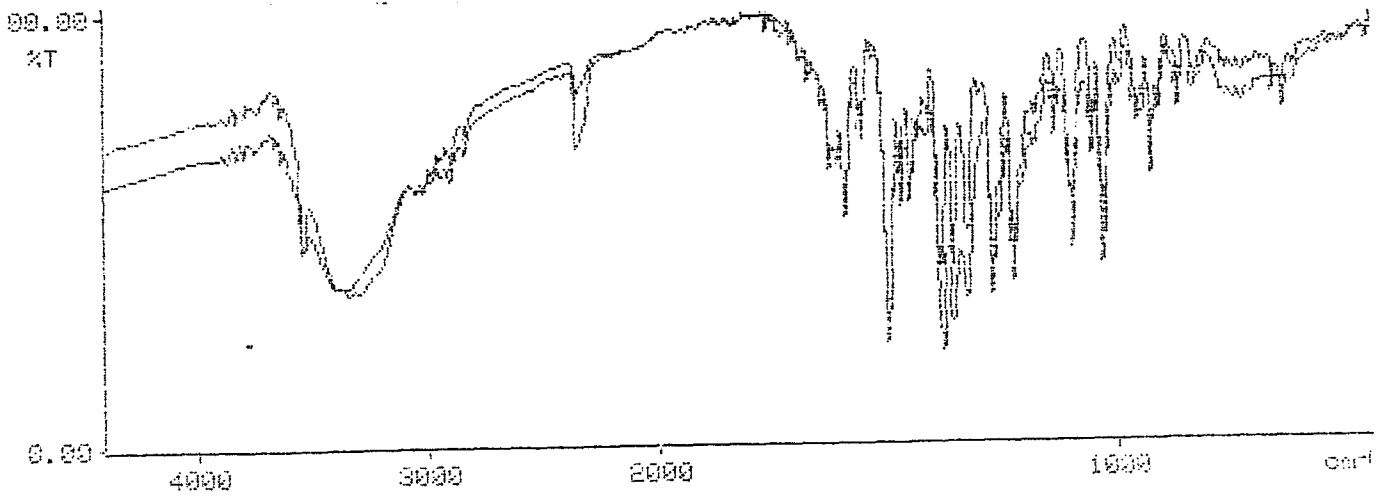
The structure of alkaloids was confirmed by comparing their R_f values on thin layer chromatography with authentic samples, spectral data (UV, ¹H-NMR, EIMS, FAB) and literature findings.

In conclusion, it has been shown that alkaloids of *Papaver dubium* subsp. *laevigatum* which is considered as synonym of *Papaver lacerum* are different from those of *Papaver lacerum*.

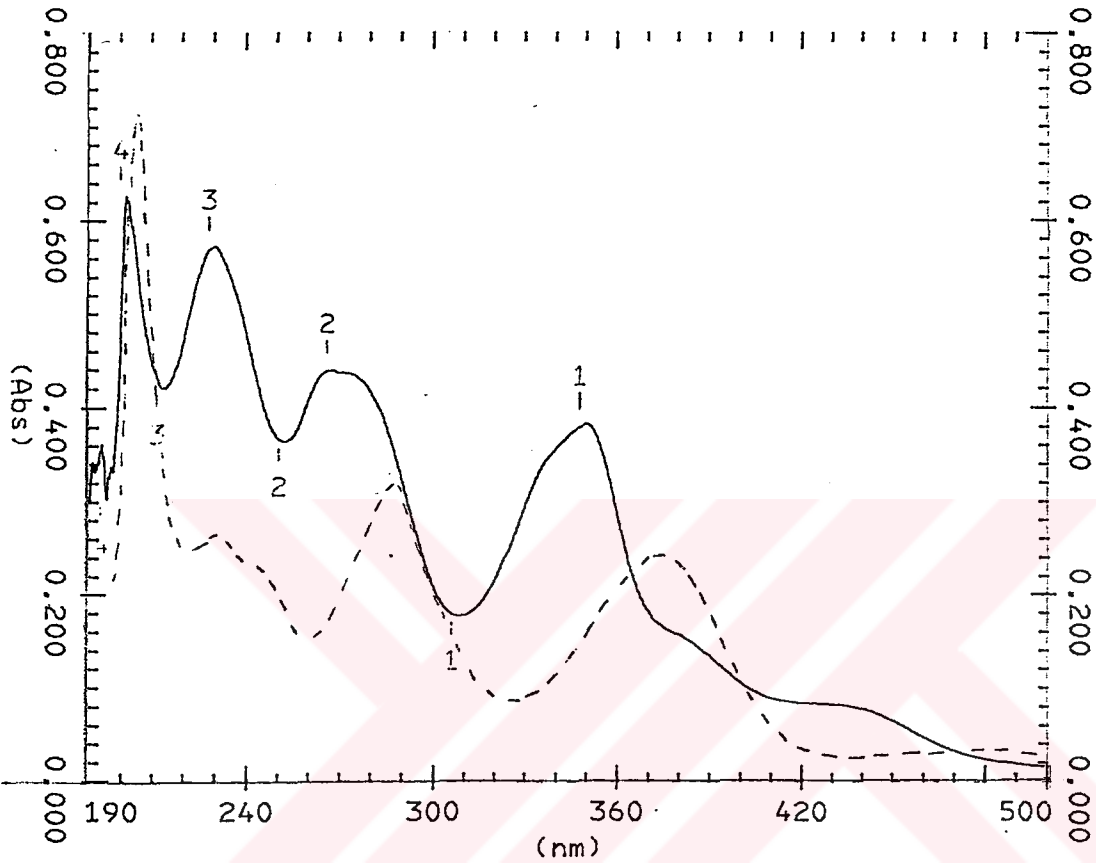
VII. ŞEKİLLER



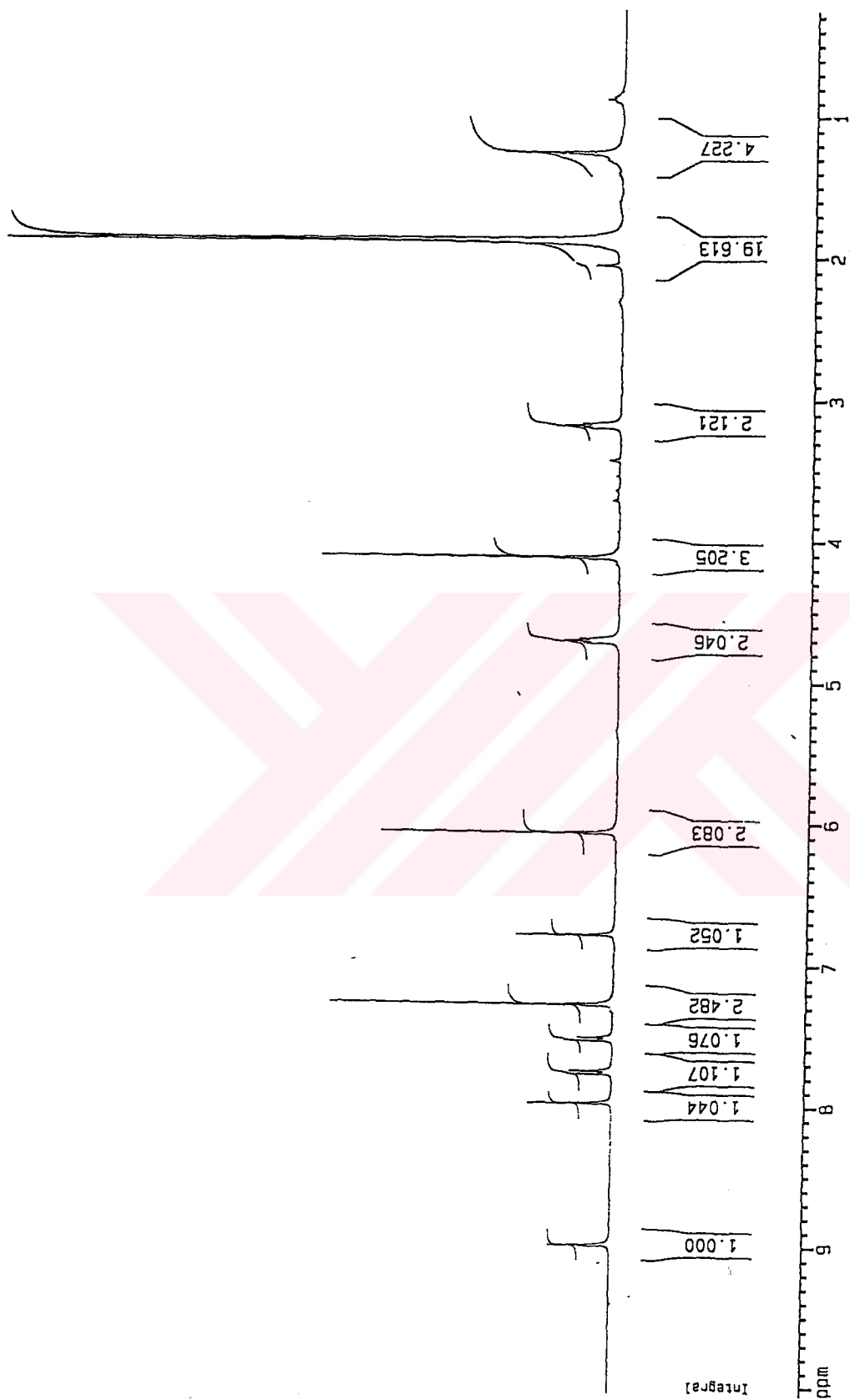
Spektrum I: Berberine'in UV Spektrumu



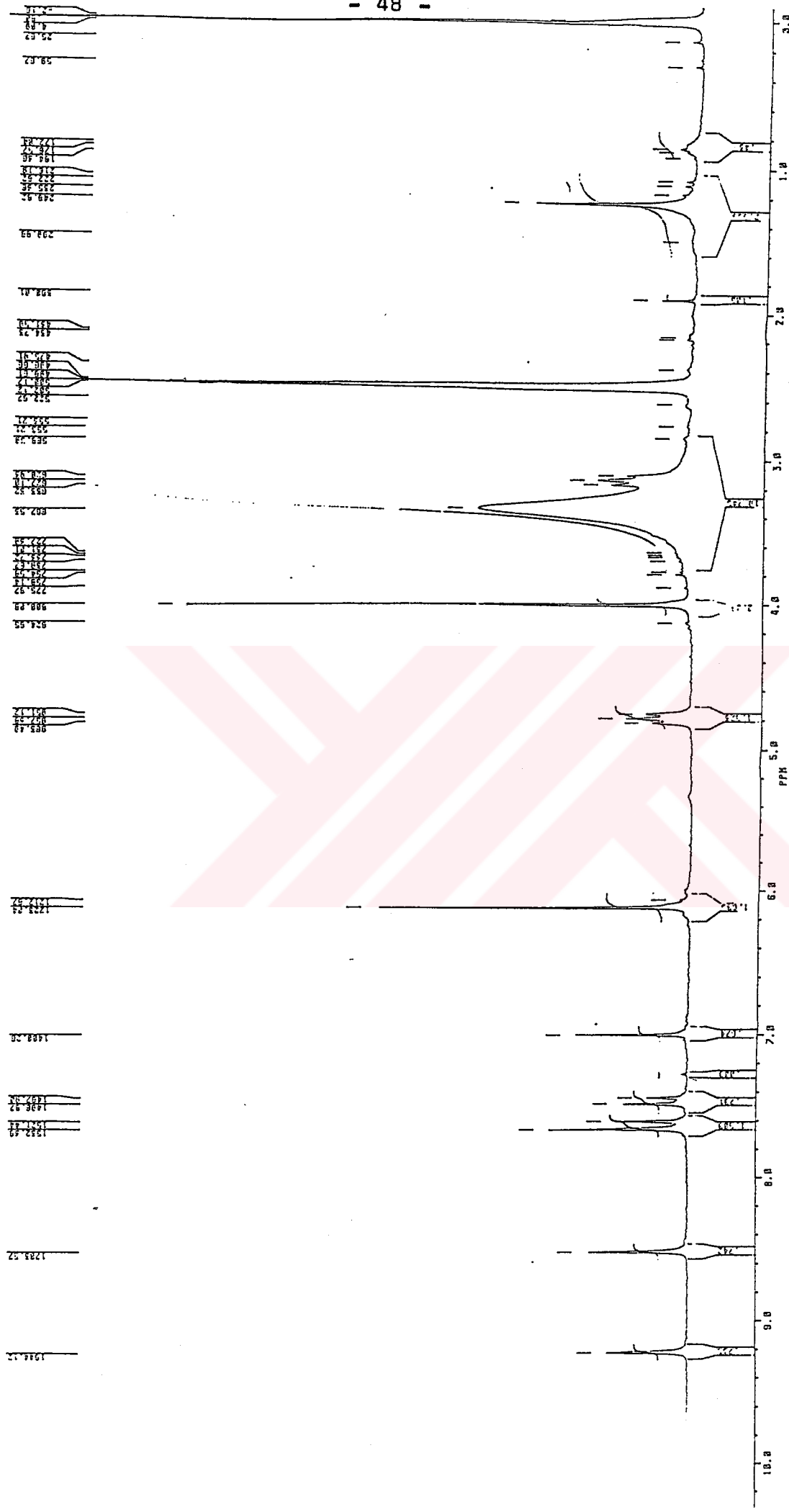
Spektrum II: Berberine'in IR Spektrumu



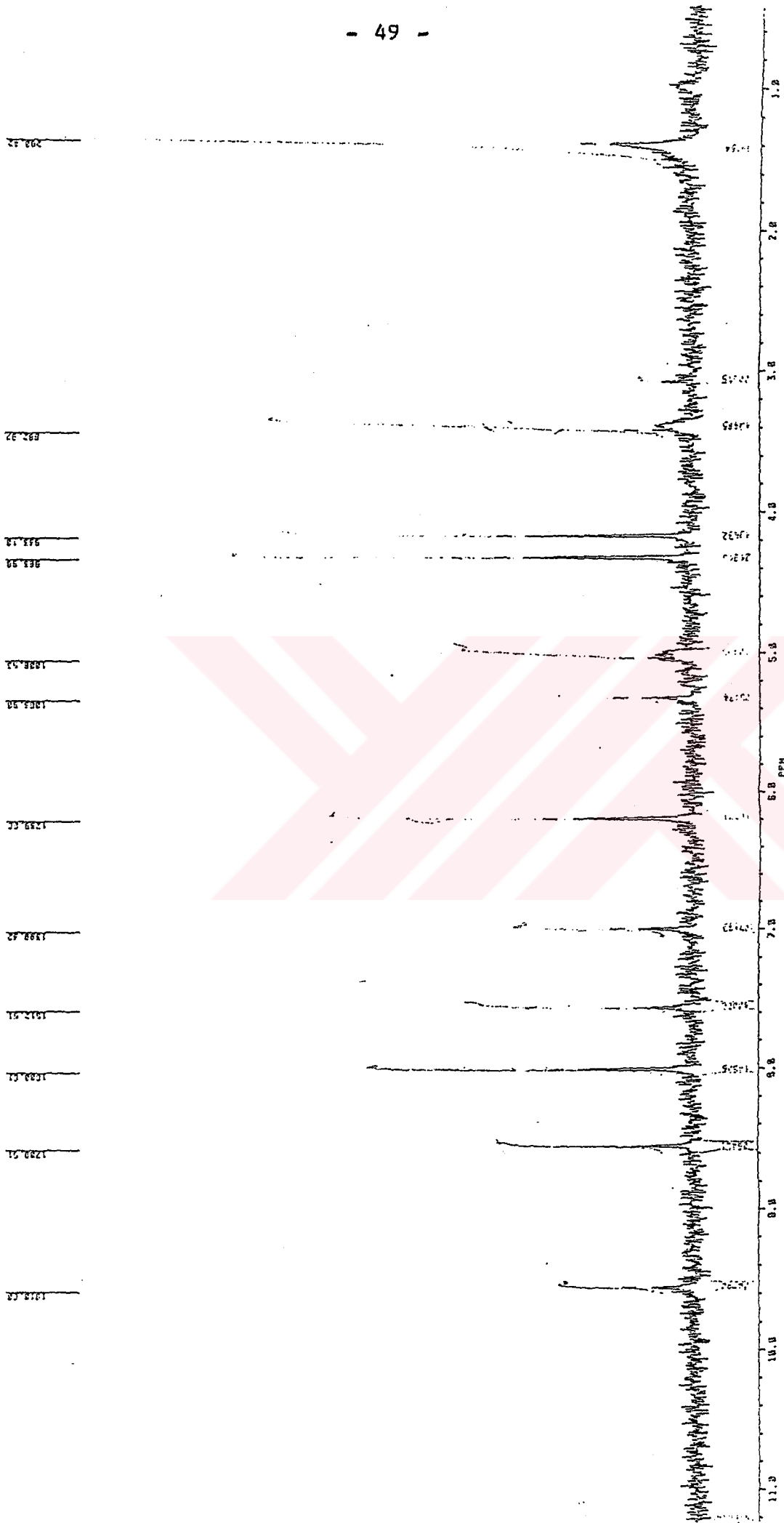
Spektrum III: Thalifendine'in UV Spektrumu



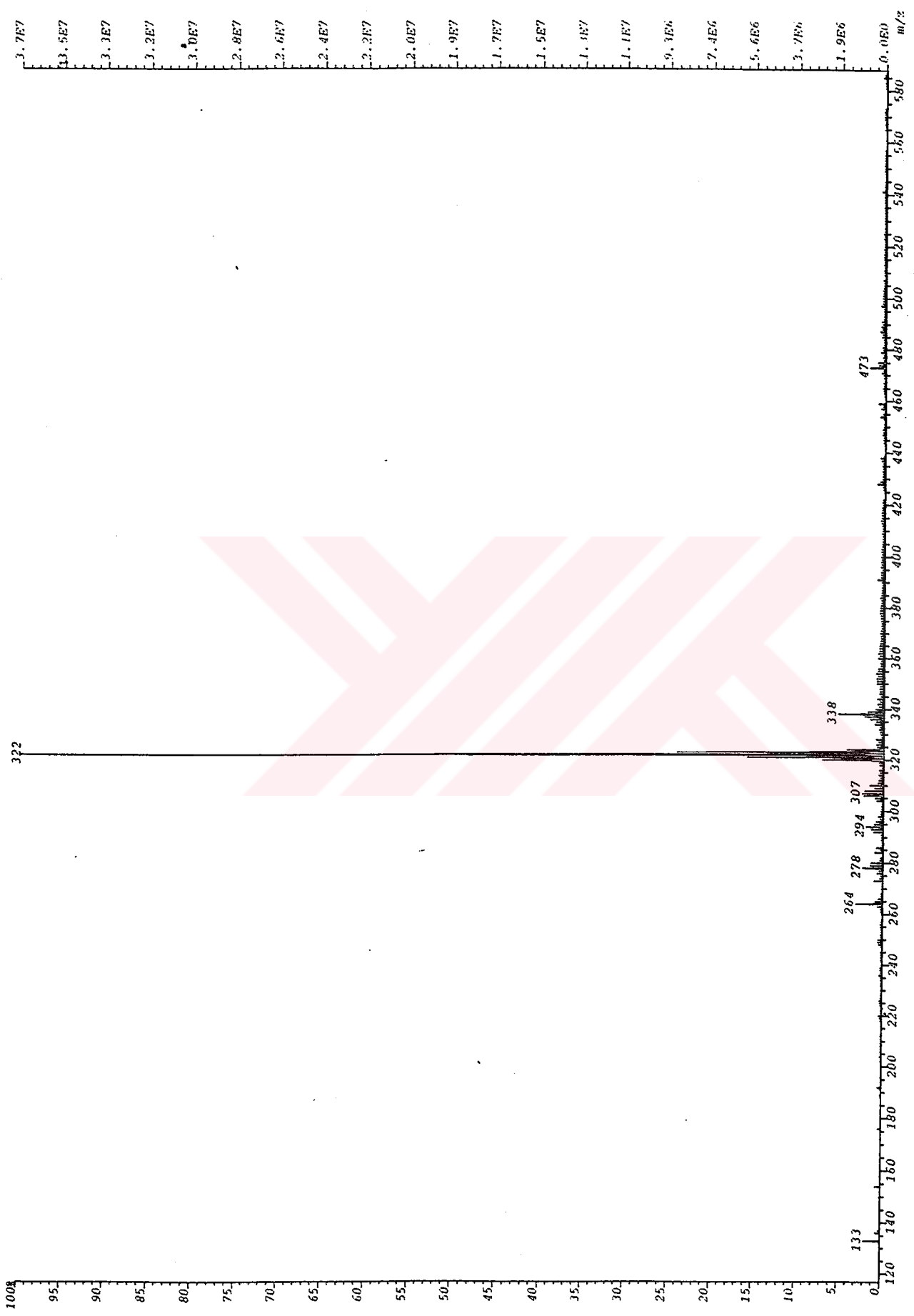
Spektrum IV: Thalifendine in ¹H-NMR Spektrum (CHCl₃)



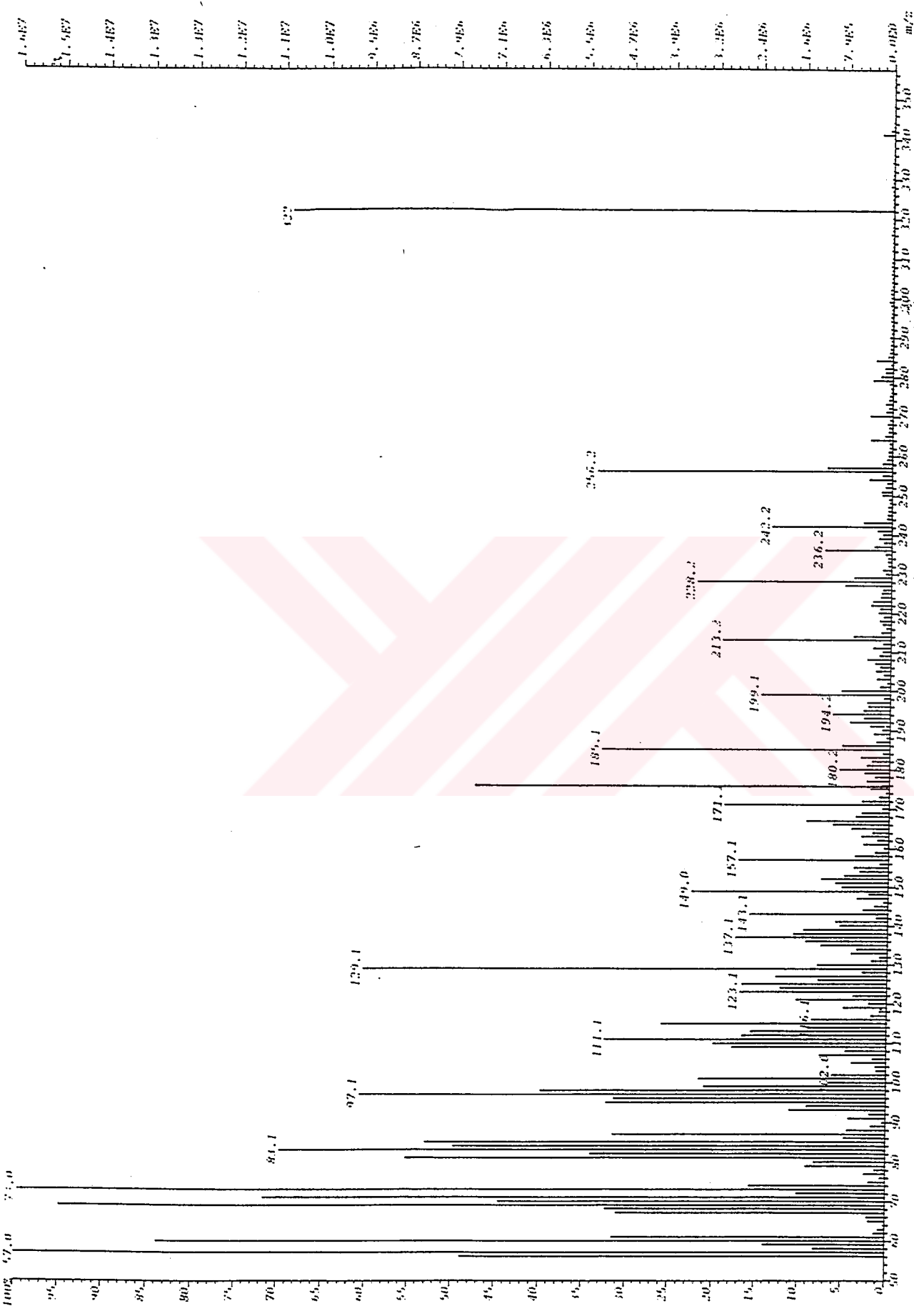
Spektrum V: Thalifendine' in ¹H-NMR Spektrum (DMSO)



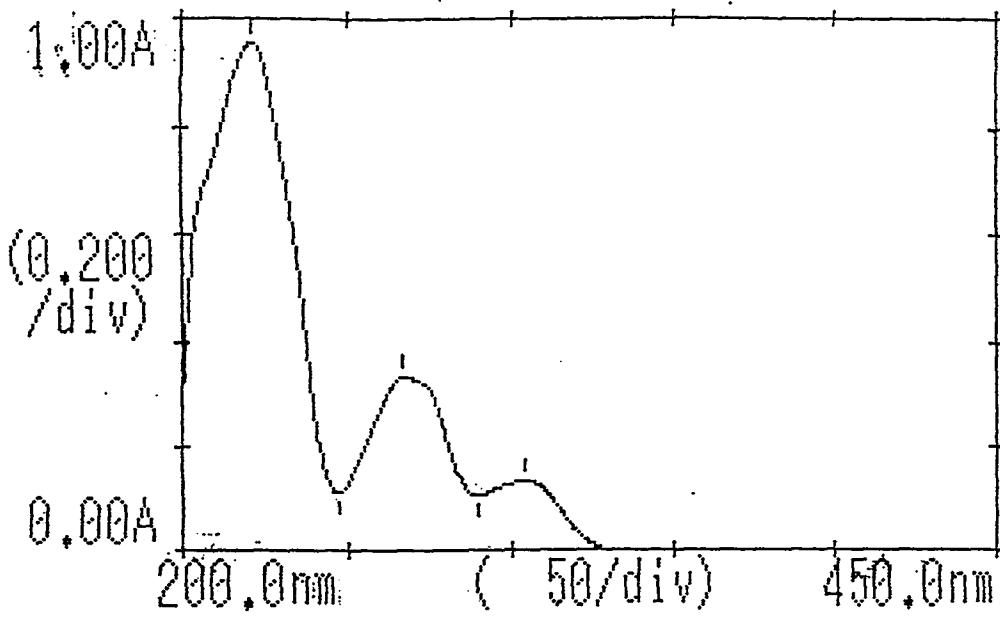
Spektrum VI: Thalifendine' in ¹H-NMR Spektrum (TFA)



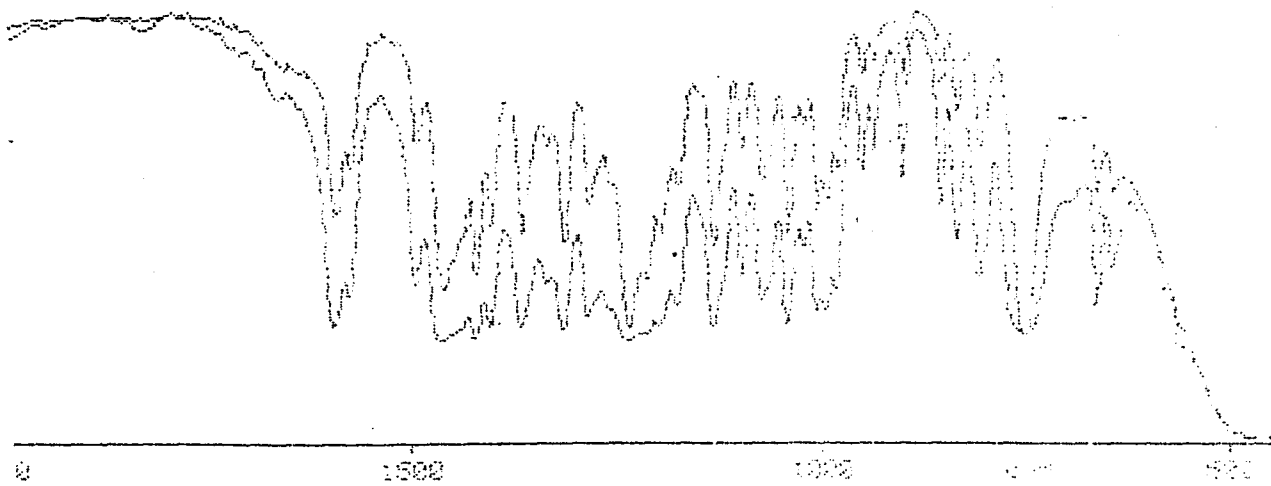
Spektrum VII: Thalifendine'in KÜTLE Spektrumu (FAB)



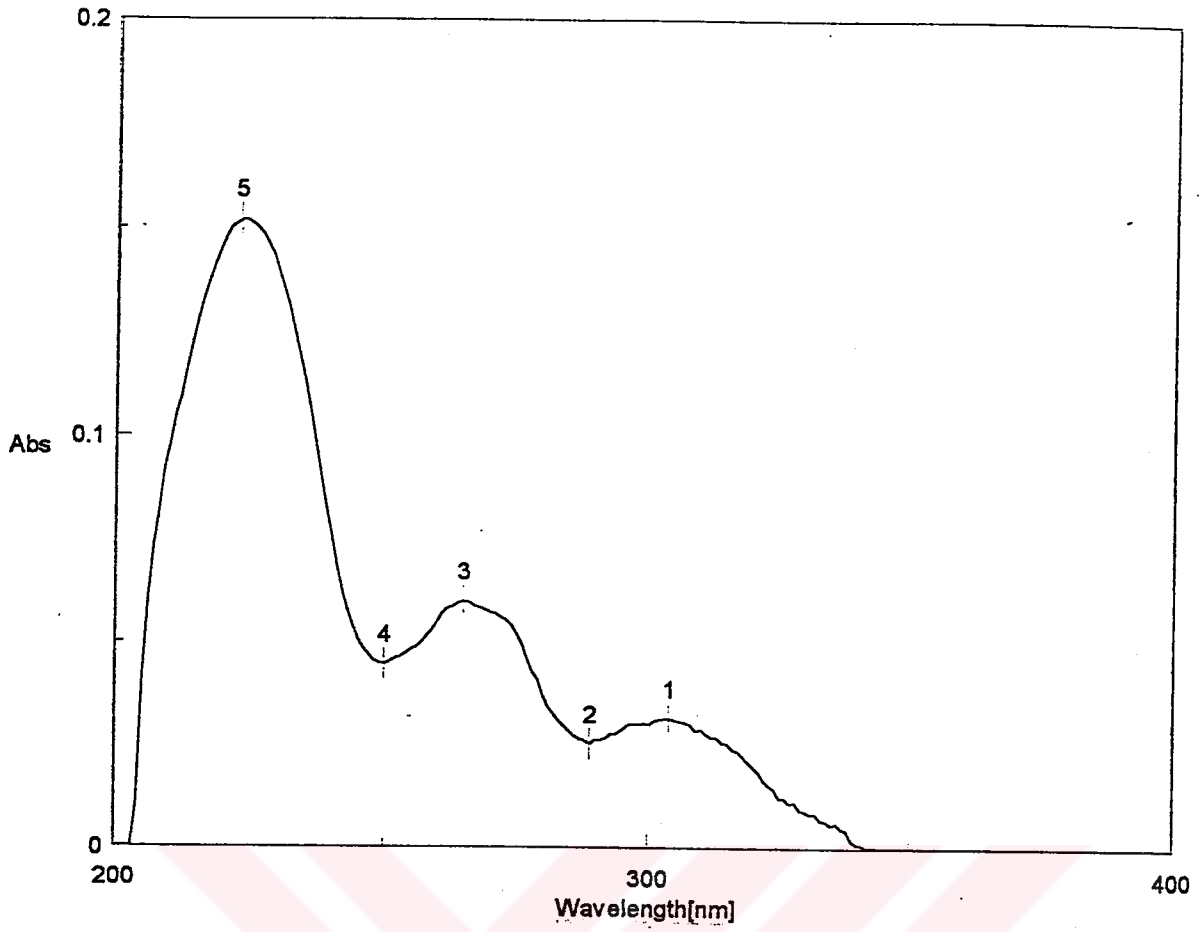
Spektrum VIII: Thalifendine'in KÜTLE Spektrumu (EIMS)



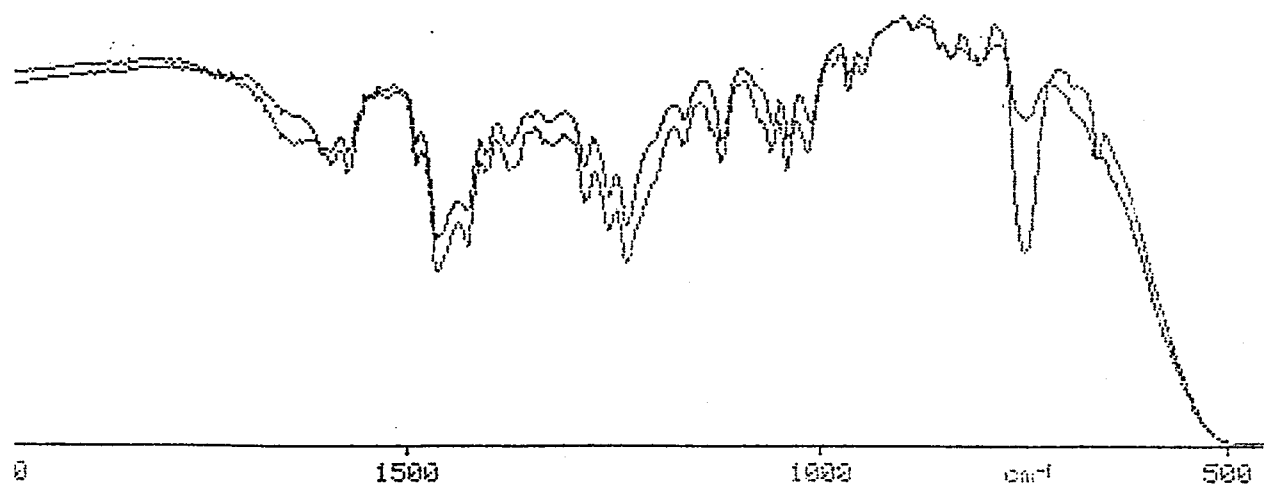
Spektrum IX: Isocorydine'in UV Spektrumu



Spektrum X: Isocorydine'in IR Spektrumu



Spektrum XI: Corydine'in UV Spektrumu



Spektrum XII: Corydine'in IR Spektrumu



VIII. LITERATÜR

1. Atay, M., Saryar, G., Özhatay, N. *Planta Med.* 62, 387-484 (1996).
2. Baytop, A. *Farmasötik Botanik Ders Kitabı*, s. 174, İstanbul (1991).
3. Baytop, A., Saraçoğlu, M. "Türkiye'nin Tek Yıllık *Papaver* Türleri", in Baytop, T. (ed.) *Türkiye'nin Papaver Türleri Üzerinde Araştırmalar*, İstanbul Üniv. Yay. No. 3065, Ecz. Fak. Yay. No. 34, 28 (1982).
4. Bhacuni, D.S., Tevari, S., Dhar, M.M. *Phytochemistry* 11, 1819 (1972).
5. Boissier, E. *Flora Orientalis* 1, 105, Basileae et Genevae (1867).
6. Boissier, E. *Flora Orientalis suppl.* 23, Basileae et Genevae (1888).
7. Cullen, J. "*Papaver* L.", in Davis, P.H. (ed.) *Flora of Turkey and the East Aegean Islands* 1,213 Edinburgh University Press, Edinburgh (1965).
8. Davis, P.H., Mill, R.R., Tan, K. (eds.) *Flora of Turkey and the East Aegean Islands* 10,24, Edinburgh (1988).
9. Egels, W. *Planta Med.* 7, 92 (1959).
10. El- Masry, S., El- Ghazoly, M.G., Omar, A.A., Khafagy, S. M., Phillipson, J.D. *Planta Med.* 41, 61 (1981).
11. Fairbairn, J.W. *Planta Med.* 29, 26 (1976).
12. Fedde, F. "*Papaver* L." in Engler, A. (ed.) *Das Pflanzenreich* 40 (IV, 104), 228, Weinheim (1909).
13. Gasic, O., Preininger, V., Potesilova, H., Bozidan, B. *Glas. Hem. Drus. Beograd* 39 (7-8), 499 (1974) [C.A. (1976) 84, 102292y].
14. Guinaudeau, H., Leboeuf, M., Debray, M., Cavé, A., Paris, R.R. *J. Nat. Prod.* 38, 275 (1975).
15. Guinaudeau, H., Leboeuf, M., Debray, M., Cavé, A., Paris, R.R. *Planta Med.* 27, 304 (1975).
16. Guinaudeau, H., Shamma, M. *J. Nat. Prod.* 45, 237 (1982).
17. Hakim, S.A.E., Migowic, V., Walker, J. *Nature* 189, 198 (1961).

18. Holubek, J., Stroouf, O. Spectral Data and Physical Constants of the Alkaloids I-II, Heyden and Son Ltd, London (1965-1968).
19. Jusiak, L., Soczewinski, E., Waksmundski, A. Diss. Pharm. Pharmacol. 18(5), 479 (1965-1968) [C.A. (1967) 67, 36380w].
20. Kadereit, J.W. A Revision of *Papaver* L. Section *Rhoeadium* Spach, Notes RBG Edinb. 45(2), 225 (1989).
21. Kalav, Y. N. *Papaver rhopalotheca* Stapf ve *Papaver rhoeas* L. Türlerinin Alkaloidleri Üzerinde Araştırmalar, İstanbul Üniv. Ecz. Fak. Doktora Tezi (1986).
22. Krane, D.B., Fagbule, O.M., Shamma, M. J. Nat. Prod. 47, 1 (1984).
23. Montgomery, C.T., Cassels, K.B., Shamma, M. J. Nat. Prod. 46,441 (1983).
24. Nemeckova, A., Santavy, F. Collect. Czech. Chem. Commun. 27,1210 (1962) [C.A.(1962) 57, 5974e].
25. Pelletier, A. Alkaloids: Chemical and Biological Perspectives 5, 363-391 John Willey and Son USA (1987)
26. Phillipson, J.D., Sariyar, G., Baytop, T. Phytochemistry 12, 2431 (1973).
27. Phillipson, J.D., Thomas, O.O., Gray, A., Sariyar, G. Planta Med. 43, 261 (1981).
28. Preininger, V. "Chemotaxonomy of *Papaveraceae* and *Fumariaceae*", in Brossi, A. (ed.) The Alkaloids 29, 1-98, Academic Press, New York (1986).
29. Preininger, V., Vacha, P. Sula, B., Santavy, F. Planta Med. 10, 124 (1962).
30. Sariyar, G. İstanbul Ecz. Fak. Mec. 12, 171 (1976).
31. Sariyar, G. İstanbul Üniv. Ecz. Fak. Mec. 13, 171 (1977).
32. Sariyar, G. Planta Med. 39, 216 (1980).
33. Sariyar, G. Planta Med. 46, 175 (1982).
34. Sariyar, G. Planta Med. 49, 43 (1983).
35. Sariyar, G., Baytop, T. Planta Med. 38, 378 (1980).
36. Sariyar, G., Kalav, Y. N. Planta Med. 56, 232 (1990).
37. Sariyar, G., Öztekin, A. Pl. Méd. et. Phytothér. 15, 106 (1980).
38. Sariyar, G., Phillipson, J.D. Phytochemistry 19, 2189 (1980).

39. Sariyar, G., Phillipson, J.D. J. Nat. Prod. 44, 239 (1981).
40. Shamma, M. The Isoquinoline Alkaloids 25, 220, 307, Academic Press, New York and London (1972).
41. Shamma, M., Rothenberg, S. Lloydia 41(2), 169-178 (1978).
42. Slavik, J. Collect. Czech. Chem. Commun. 28, 1738 (1963).
43. Slavik, J., Slavikova, L. Collect. Czech. Chem. Commun. 41, 290 (1976).
44. Tani, C., Nagakura, N., Hattori, S., Ka, M.T. Yakugaku Zasshi 94(7), 844 (1974).
45. Tanker, N., Koyuncu, M., Coşkun, M. Farmasötik Botanik Ders Kitabı, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, Ankara (1998).
46. Temizer, H. *Corydalis solida* (L.) Swartz. subsp. *brachyloba* (Boiss) Cullen & Davis Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar, Gazi Üniv. Ecz. Fak. Doktora Tezi (1987).
47. Wu, W-N., Beal, J.L., Clark, G.W., Mitscher, L.A. Lloydia 39(1), 65 (1976).