



T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü



GLAUCIUM FLAVUM CRANTZ. BİTKİSİNİN FARMAKOĞNOZİK AÇIDAN DEĞERLENDİRİLMESİ

Yüksek Lisans Tezi

Duygu OYAN

Farmakognozi Anabilim Dalı

İzmir
2019

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

**GLAUCIUM FLAVUM CRANTZ BİTKİSİNİN
FARMAKOĞNAZİK AÇIDAN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Duygu OYAN

Danışman
Doç. Dr. Buket BOZKURT

Farmakognozi Anabilim Dalı
Farmakognozi Programı

İzmir
2019

Tez Deęerlendirme Kurulu Üyeleri

(Adı Soyadı)

(İmza)

Başkan : Doç. Dr. Buket Bozkurt

.....
.....

(Danışman)

Üye

: Prof. Dr. Melur Sonep

Üye

: Doç. Dr. M. Zeliha Sonep

Yüksek Lisans Tezinin kabul edildiği tarih: 09.07.2019

Önsöz

Yüksek lisans eğitimime başladığım andan itibaren deneysel çalışmalar yaparak sonuca ulaşabileceğim bir tez yapmak istemekteydim. Danışman hocam Doç. Dr. Buket Bozkurt'un proje yürütücüsü olduğu “*Türkiye Florasında Yetişen Glaucium Türlerinin GC-MS Tekniği Rehberliğinde Alkaloid Profillerinin Araştırılması ve Biyolojik Aktivite Potansiyellerinin Belirlenmesi*” (Proje no: 315S064) adlı projede bursiyer olmam tez konumun belirlenmesinde etkili olmuştur.

Çalışmada Papaveraceae familyasına mensup *Glaucium* genusundan üç farklı lokasyondan toplanan *Glaucium flavum* Crantz. bitkisinin içerdiği alkaloidler GC-MS (Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi) tekniği ile tespit edilerek birbirleriyle karşılaştırılmıştır. Bitki ekstralarında asetilkolinesteraz ve butirikolinesteraz inhibitör etki araştırılmıştır. Farklı lokasyonlardan toplanan *G. flavum* bitkileri farmakognozik açıdan değerlendirilmiş ve karşılaştırılmıştır.

Yüksek lisans eğitimimi mezun olduğum fakültede tamamlamak, tezim için yaptığım laboratuvar çalışmalarını kendimi güvende hissettiğim ve her zaman destek bulacağımı bildiğim bir ortamda yapmak, duyduğum saygı ve sevgiyi sonuna kadar hak eden öğretim üyeleri ile çalışmak ve rehberliklerini almak benim için çok önemliydi. Bu temennilerimin gerçekleşmesi beni çok gururlandırmaktadır. Bilimsel gerçekliğe gönül vermiş herkesin hedeflerine ulaşması dileğiyle...

İzmir, 21.06.2019

Duygu OYAN

Özet

***Glaucium flavum* Crantz. Bitkisinin Farmakognozik Açıdan Değerlendirilmesi**

Papaveraceae familyasının *Glaucium* genusunu dahil *Glaucium flavum*, genellikle sarı çiçekli olarak 500 m'den az yükseklikte su kenarlarındaki kumlarda ve erozyona uğramış kayalık alanlarda yetişmektedir. İçerdiği izokinolin alkaloidleri sebebiyle antitussif, nöroprotektif, antienflamatuar ve antibakteriyel etkileri mevcuttur.

Üç farklı lokasyondan toplanan *Glaucium flavum* bitkisinin toprak üstü kısımları üzerinde Avrupa Farmakopesi'nde yer alan “*kurutmada kayıp, total kül, sülfat külü ve hidroklorik asitte çözünmeyen kül*” miktar tayinleri yapılmıştır. Bitkilerin alkaloid profili GC-MS yöntemi ile tespit edilmiştir. Bitki örneklerinin alkaloid ekstraları üzerinde asetilkolinesteraz ve butirilkolinesteraz inhibitör aktiviteleri çalışılmıştır.

Bitkilerin alkaloid profiline bakıldığında Şakran, İzmir'den toplanan Buluncak, Giresun kültürü olan bitkide glausin; Mordoğan, İzmir'den toplanan bitkide izokoridin; Karabiga, Çanakkale'den toplanan bitkide molekül ağırlığı 337 olan bir alkaloid majör olarak bulunmuştur. Bitkilerden hazırlanan ekstraların hepsinde asetilkolinesteraz ve butirilkolinesteraz inhibitör aktivite potansiyeli tespit edilmiştir. Çalışılan bitkiler arasında en yüksek aktivite Karabiga, Çanakkale'den toplanan bitki ekstresinde gözlenmiştir. Asetilkolinesteraz inhibitör aktivite için en yüksek IC₅₀ değeri 8,98 µg/mL iken, butirilkolinesteraz için en yüksek IC₅₀ değeri 17,46 µg/mL'dir.

Aynı bitkinin farklı lokasyonlardan toplanan örneklerinde alkaloid profili ve biyolojik aktivite açısından farklılıklar tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler; *Glaucium flavum*; Papaveraceae; alkaloid; GC-MS; asetilkolinesteraz inhibitör

Abstract

Pharmacognostic Evaluation of *Glaucium flavum* Crantz.

Glaucium flavum, species of *Glaucium* belonging to Papaveraceae family, grows mostly with yellow flowers in sand in waterside and rocky areas which suffered from erosion below 500 meters height. Due to the isoquinoline alkaloid it content, it has antitussive, neuroprotective, anti-inflammatory and antibacterial effects.

Herba of *Glaucium flavum* collected from three distinct locations were studied with “Loss on drying, total ash, sulfate ash and ash insoluble in HCl” in accordance with European Pharmacopoeia. Alkaloid profile of the plant is detected by GC-MS “(Gas Chromatography-Mass Spectrometry)” method. Inhibitory activities of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase were examined on alkaloid extracts of the plant samples.

Glaucine was found to be major compound in the plant that was collected from Sakran, Izmir which is a Bulancak, Giresun culture form; isocorydine was major compound in the plant that was collected from Mordogan, Izmir; an alkaloid with a molecular weight of 337 was found to be major compound in the plant that was collected from Karabiga, Canakkale. Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibitory activity potentials were detected in all extracts obtained from the plants. The highest activity between the examined plants is found in the plant extract that was collected from Karabiga, Canakkale. For the acetylcholinesterase inhibitory activity, the highest IC₅₀ value is 8,98 µg/mL whereas the highest IC₅₀ value is 17,46 µg/mL for the butyrylcholinesterase inhibitory activity.

Difference of alkaloid profile and biological activity were detected between the samples of the plant that are collected from different locations.

Keywords; *Glaucium flavum*; Papaveraceae; alkaloid; GC-MS; acetylcholinesterase inhibitory

İçindekiler

Önsöz.....	II
Özet.....	III
Abstract.....	IV
İçindekiler	V
Tablolar Dizini	VII
Şekiller Dizini.....	VIII
Kısaltma Listesi.....	IX
Giriş.....	1
1.1. Araştırmanın Problemi.....	10
1.2. Araştırmanın Sorusu.....	11
1.3. Araştırmanın Hipotezleri.....	11
1.4. Araştırmanın Varsayımları	12
1.5. Araştırmanın Sınırlılıkları.....	13
1.6. Araştırmanın Amacı	13
Genel Bilgiler	14
2.1. <i>Glaucium</i> Genusu	14
2.2. <i>Glaucium flavum</i>	14
2.3. Kalite Kontrol Çalışmaları	15
2.4. Alkaloit Teşhis Çalışmaları.....	16
2.5. Biyolojik Aktivite Çalışmaları	16
Gereç ve Yöntem.....	18
3.1. Gereç.....	18
3.2. Yöntemler	18
3.2.1 Kalite Kontrol Çalışmaları	18
3.2.1.1. Kurutmada Kayıp Miktar Tayini.....	18
3.2.1.2. Total Kül Miktar Tayini	19
3.2.1.3. Sülfat Külü Miktar Tayini	19
3.2.1.4. Hidroklorik Asitte Çözünmeyen Kül Miktar Tayini	20
3.2.2. Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometrisi (GC-MS) Yöntemiyle Alkaloit Teşhis Çalışmaları.....	20
3.2.2.1. Alkaloit Ekstresinin Hazırlanışı.....	21
3.2.3. Biyolojik Aktivite Çalışmaları	22

3.2.3.1. Asetilkolinesteraz İnhibitör ve Butirilkolinesteraz İnhibitör Aktivite Çalışması	22
Bulgular	24
4.1. Kalite Kontrol Çalışmaları	24
4.1.1. Kurutmada Kayıp Miktar Tayini	24
4.1.2. Total Kül Miktar Tayini	25
4.1.3. Sülfat Külü Miktar Tayini	26
4.1.4. Hidroklorik Asitte Çözünmeyen Kül Miktar Tayini	27
4.2. Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometrisi (GC-MS) Yöntemiyle Alkaloid Teşhis Çalışmaları.....	29
4.3. Biyolojik Aktivite Çalışmaları	36
Tartışma	38
5.1. Kalite Kontrol Çalışmaları	38
5.2. Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometrisi (GC-MS) Yöntemiyle Alkaloid Teşhis Çalışmaları.....	38
5.3. Biyolojik Aktivite Çalışmaları	44
Sonuç ve Öneriler.....	53
Kaynaklar	54
Teşekkür.....	64
Özgeçmiş	65

Tablolar Dizini

Tablo-1. <i>Glaucium Flavum</i> bitkisinin literatüre göre içerdiği alkaloidleri ve kimyasal formülleri.....	2
Tablo-2. <i>G. flavum</i> bitkisinin farklı lokasyonlardan toplanan GLF-1, GLF-2 ve GLF-3 kodlu örneklerine ilişkin kurutmada kayıp miktar tayini sonuçları	24
Tablo-3. <i>G. flavum</i> bitkisinin farklı lokasyonlardan toplanan GLF-1, GLF-2 ve GLF-3 kodlu örneklerine ilişkin total kül miktar tayini sonuçları.....	25
Tablo-4. <i>G. flavum</i> bitkisinin farklı lokasyonlardan toplanan GLF-1, GLF-2 ve GLF-3 kodlu örneklerine ilişkin sülfat külü miktar tayini sonuçları	26
Tablo-5. <i>G. flavum</i> bitkisinin farklı lokasyonlardan toplanan GLF-1, GLF-2 ve GLF-3 kodlu örneklerine ilişkin hidroklorik asitte çözünmeyen kül miktar tayini sonuçları	28
Tablo-6. GLF-1 kodlu örnekte bulunan alkaloid yüzdesi	30
Tablo-7. GLF-1 kodlu örnekte bulunan alkaloidlerin kimyasal formülü.....	31
Tablo-8. GLF-2 kodlu örnekte bulunan alkaloid yüzdesi	33
Tablo-9. GLF-2 kodlu örnekte bulunan alkaloidlerin kimyasal formülü.....	34
Tablo-10. GLF-3 kodlu örnekte bulunan alkaloid yüzdesi	35
Tablo-11. GLF-3 kodlu örnekte bulunan alkaloidlerin kimyasal formülü.....	36
Tablo-12. GLF-1, GLF-2 ve GLF-3 kodlu örneklerin biyolojik aktivite deneyleri sonucu	37
Tablo-13. <i>Glaucium</i> türlerinde tespit edilen alkaloidler	39
Tablo-14. <i>Glaucium</i> ekstrelerinin literatürde bulunan biyolojik aktivite sonuçları...45	
Tablo-15. GLF-1, GLF-2 ve GLF-3 örneklerinden elde edilen alkaloidlerin, literatürdeki AChE ve BuChE inhibisyon değerleri.....	48

Şekiller Dizini

Şekil-1. <i>Glaucium flavum</i> bitkisinin doğadaki görünüşü.....	15
Şekil-2. GLF-1 kodlu örnekten hazırlanan alkaloit ekstresine ait GC-MS kromatogramı	29
Şekil-3. GLF-2 kodlu örnekten hazırlanan alkaloit ekstresine ait GC-MS kromatogramı	33
Şekil-4. GLF-3 kodlu örnekten hazırlanan alkaloit ekstresine ait GC-MS kromatogramı	35



Kısaltma Listesi

GC-MS	: Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi
AH	: Alzheimer hastalığı
AChE	: Asetilkolinesteraz
BuChE	: Butirilkolinesteraz
PDE	: Fosfodiesteraz
KOAH	: Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı
IUCN	: Dünya Doğa ve Doğal Kaynakları Koruma Birliği
FABAL	: Farmasötik Bilimler Araştırma Laboratuvarı
IC ₅₀	: Tam inhibisyonu sağlayacak konsantrasyonunun yarı değeri
DTBN	: 5,5'-ditiyobis-(2-nitrobenzoik asit)
¹ H- NMR	: Proton Nükleer Manyetik Rezonans
¹³ C- NMR	: Karbon-13 Nükleer Manyetik Rezonans
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
UPLC	: Ultra Performans Sıvı Kromatografisi
FTMS	: Fourier Dönüşüm Kütle Spektrometresi
İTK	: İnce Tabaka Kromatografisi
HCl	: Hidroklorik asit
TUBİTAK	: Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu

Giriş

Papaveraceae familyası karşılıklı çiçeklere sahip çok yıllık otsu bitkilerdir (Brickell, 1984). Dünya üzerinde 42 cins ve 775 tür ile Akdeniz Bölgesi, Avrupa, Güneybatı ve Orta Asya, Kuzey Amerika'da yayılış göstermektedir (Kubitzki, Rohwer ve Bittrich, 1993; Xu ve Deng, 2017). Ülkemizde 5 cins ve 50 türü bulunmaktadır. *Glaucium* genusu, Papaveraceae familyasının ülkemizdeki cinslerinden biridir ve 7 tür ile temsil edilmektedir.(Brummitt, 1992; Mowat, 1964). Daha çok "boynuzlu gelincik" olarak bilinen *Glaucium* genusu bir veya çok yıllık, çiçekli otsu bitkilerdir. Halk arasında Boynuzlu haşhaş, çanakkıran, çömlekçatlatan, eşek lâlesi, gülfatma, gülhatun gibi isimlerle bilinmektedir (Baytop, 1997). Ülkemizde bulunan türleri; *G. corniculatum*, *G. grandiflorum*, *G. haussknechtii*, *G. flavum*, *G. leiocarpum*, *G. acutidentatum* ve *G. cappadocicum*'dur (Brickell, 1984). *Glaucium flavum*; Batı Avrupa, Kuzey Amerika ve Asya'da yetişir (Meyer, Meyer, Wissenbach ve Maurer,2013).

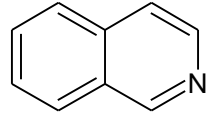
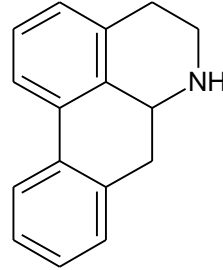
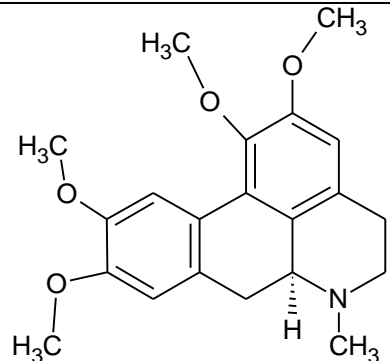
Glaucium flavum, genellikle sarı çiçekli ara sıra kırmızı veya kırmızı-lila çiçekli olarak 500 m'den az yükseklikte su kenarlarındaki kumlarda ve erozyona uğramış kayalık alanlarda yetişmektedir (Brickell, 1984; Doncheva, Doycheva ve Philipov, 2016).

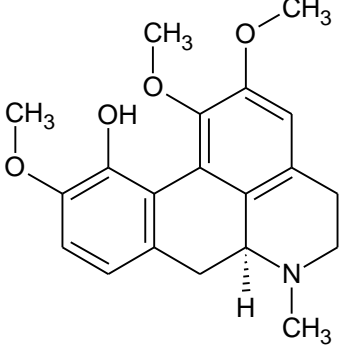
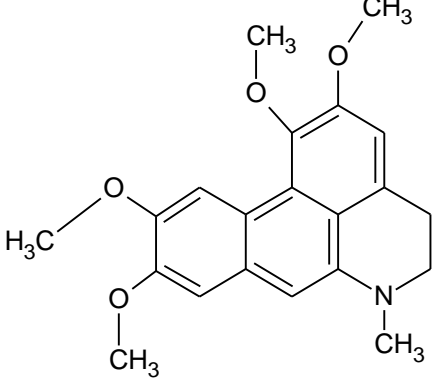
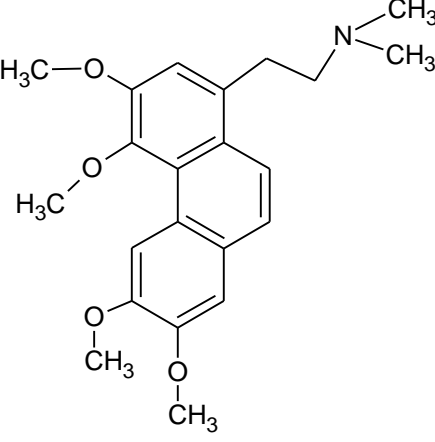
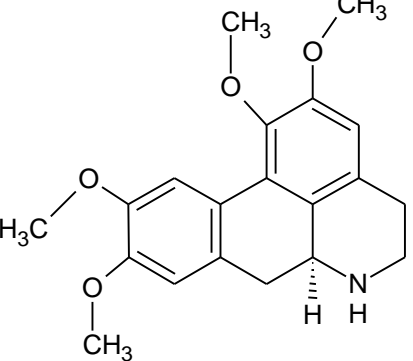
Glaucium flavum Crantz. ülkemizde deniz gelinciği, sarı boynuzlu gelincik, Gündürmelalesi, kumgelincik isimleriyle bilinir (Erdem, Velioglu, Yıkılmaz ve Kuloğlu-Akpınar, 2011; Pirhan ve Gemici, 2015 ;Sırma ve Kadioğlu, 2010; Yılmaz ve Korkmaz, 2017). Sinonimleri *Chelidonium glaucium* L. ve *Glaucium luteum* Scop.'tur (Brickell, 1984).

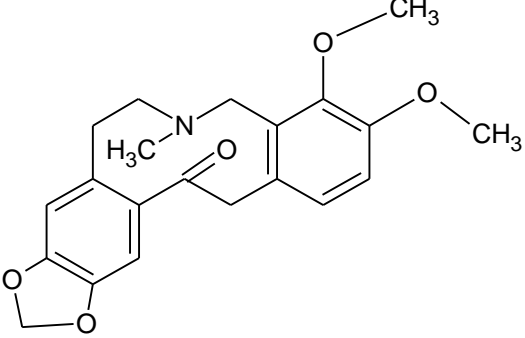
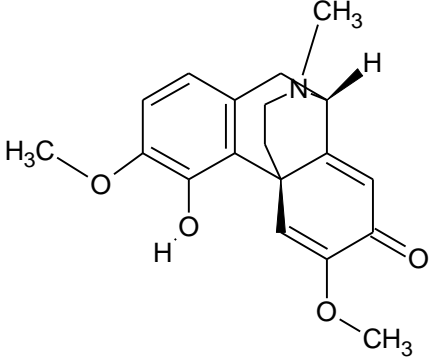
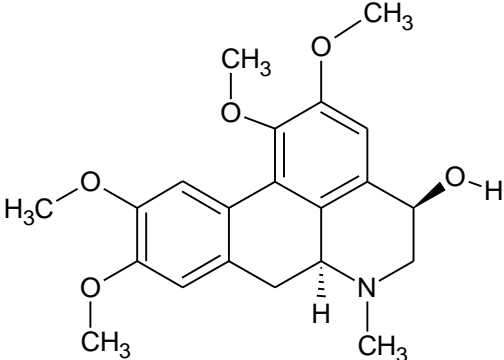
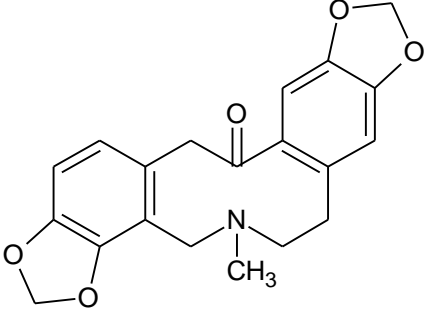
Glaucium flavum içerdiği izokinolin alkaloidler sebebiyle belirgin farmakolojik etkilere sahip bitkilerdendir. İzokinolin grubu alkaloidler; aporfin, benzilizokinolin, benzofenantiridin, protoberberin ve morfinan gruplara ait alkaloidler ile bu bitkide temsil edilmekle birlikte aporfin grubu alkaloidler çeşit olarak en fazla bulunan alkaloidlerdir (Israilov, Karimova ve Yunusov, 1979). Bu alkaloidlerin başında aporfin grubu alkaloidlerden olan glausin gelir. Dehidroglausin, *N*-Me-sekoglausin, norglausin, allokriptopin, salutaridin, izokoridin, katalin, protopin, izoboldin, korunin, kelidonin, sanguinarin, koridin, talikmidin (taliporfin), pontevedrin, kelirubin, magnoflorin, oksoglausin, *N,N*-dimetilhernovin, brakteolin ve bokkonolin bitkinin diğer alkaloidleridir (Tablo-1) (Arafa, Mohamed ve Eldahmy, 2016;

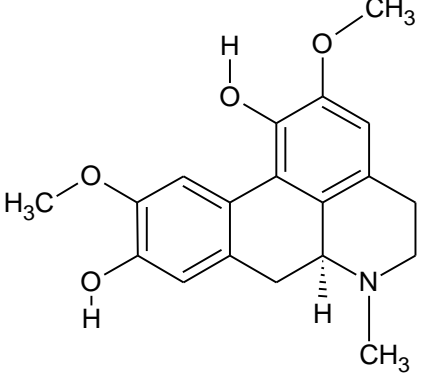
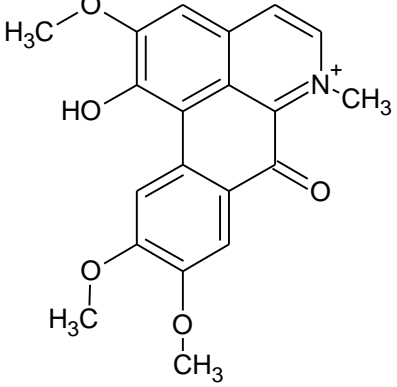
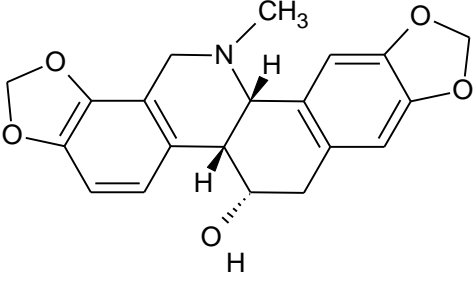
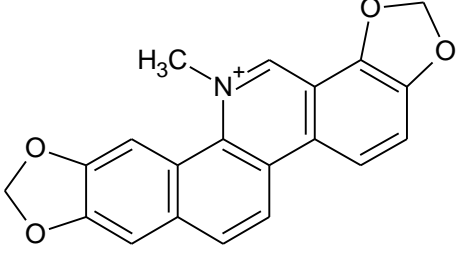
Daskalova, Iskrenova, Kiryakov ve Evstatieva, 1988; Doncheva vd., 2016; Grundon, 2007; Ivanovska ve Philipov, 1996; Lovkova, Buzuk ve Sokolova, 2008; Nikolova, Berkov, Doycheva, Stoyanov ve Stanilova, 2018; Och vd., 2017)). Norglausin, talikmidin, izoboldin, allokriptopin, salutaridin'in farklı lokasyonlardan toplanan bitkilerde bulunma durumu değişkenlik göstermektedir. Alkaloit miktarları farklı lokasyondan toplanan bitkilerde farklılık gösterir. (Doncheva vd., 2016; Kintsurashvili ve Vachnadze, 2000). Bitkinin yaprakları nikel ve kalay elementi içerir. Bu elementlerin konsantrasyonlarındaki farklılığın alkaloit içeriğini değiştirdiği saptanmıştır (Lovkova vd., 2008).

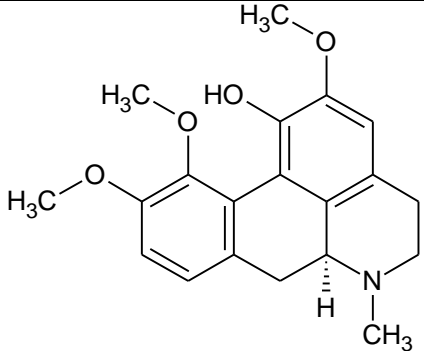
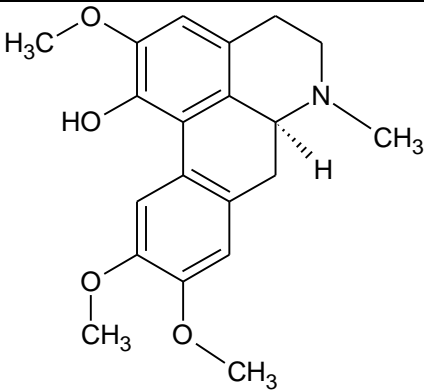
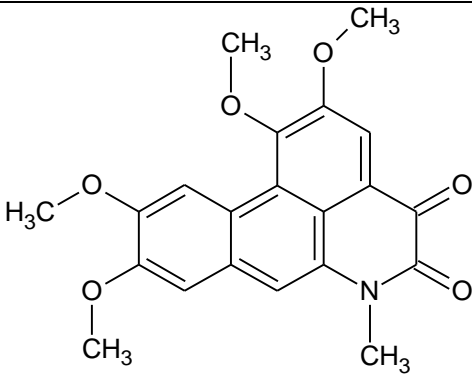
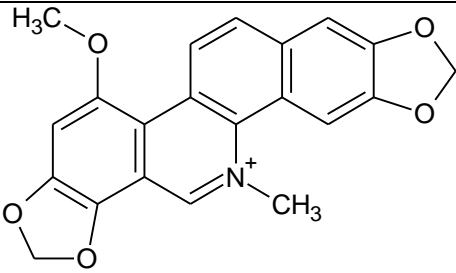
Tablo-1. *Glaucium Flavum* bitkisinin literatüre göre içerdiği alkaloitleri ve kimyasal formülleri

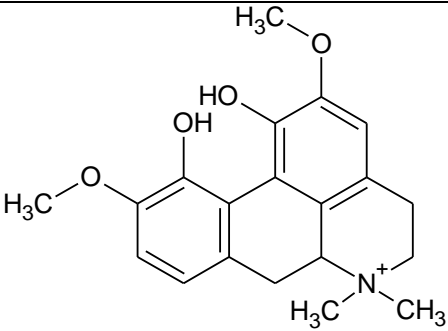
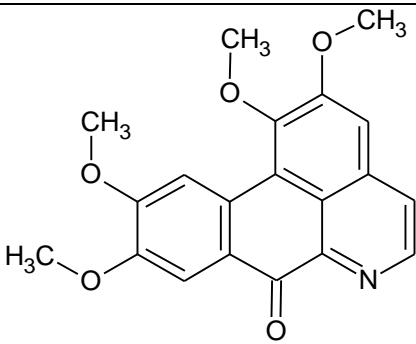
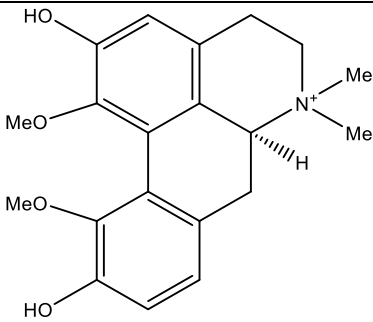
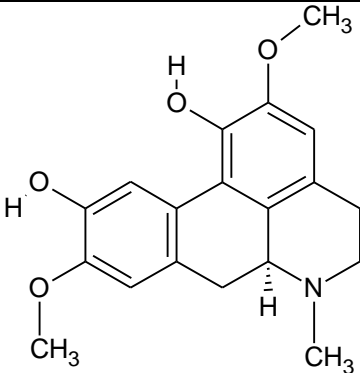
No	Bileşik İsmi	Kimyasal Formül
1.	İzokinolin iskelet	
2.	Aporfin iskelet	
3.	Glausin	

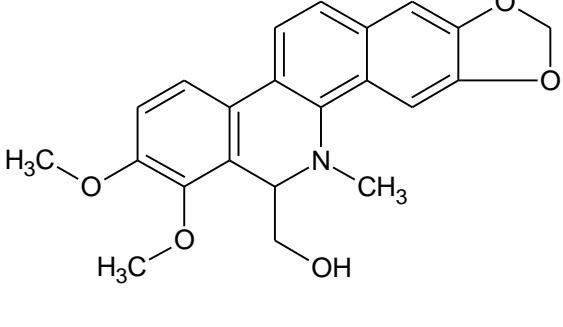
4.	İzokoridin	 <p>The structure of İzokoridin is a pentacyclic alkaloid. It features a central benzene ring fused to a six-membered ring containing a nitrogen atom with a methyl group (CH₃) and a hydrogen atom (H) attached. This is further fused to a five-membered ring with two methoxy groups (OCH₃) and a hydroxyl group (OH). The fifth ring is a six-membered ring with two methoxy groups (OCH₃).</p>
5.	Dehidroglausin	 <p>The structure of Dehidroglausin is a pentacyclic alkaloid. It features a central benzene ring fused to a six-membered ring containing a nitrogen atom with a methyl group (CH₃) attached. This is further fused to a five-membered ring with two methoxy groups (OCH₃) and a methyl group (H₃C). The fifth ring is a six-membered ring with two methoxy groups (OCH₃).</p>
6.	<i>N</i> -Me-sekoglausin	 <p>The structure of <i>N</i>-Me-sekoglausin is a pentacyclic alkaloid. It features a central benzene ring fused to a six-membered ring containing a nitrogen atom with two methyl groups (CH₃) attached. This is further fused to a five-membered ring with two methoxy groups (OCH₃) and a methyl group (H₃C). The fifth ring is a six-membered ring with two methoxy groups (OCH₃).</p>
7.	Norglausin	 <p>The structure of Norglausin is a pentacyclic alkaloid. It features a central benzene ring fused to a six-membered ring containing a nitrogen atom with two hydrogen atoms (H) attached. This is further fused to a five-membered ring with two methoxy groups (OCH₃) and a methyl group (H₃C). The fifth ring is a six-membered ring with two methoxy groups (OCH₃).</p>

8.	Allokriptopin	 <p>The structure of Allokriptopin consists of a central benzene ring. At the 1-position, there is a methoxy group (-OCH₃). At the 2-position, there is another methoxy group (-OCH₃). At the 3-position, there is a carbonyl group (-C(=O)-) which is part of a 6-membered ring containing a nitrogen atom with a methyl group (-N(CH₃)-). At the 4-position, there is a 2,3-dihydrobenzofuran group.</p>
9.	Salutaridin	 <p>The structure of Salutaridin is a complex polycyclic system. It features a central benzene ring with a methoxy group (-OCH₃) at the 1-position and a hydroxyl group (-OH) at the 2-position. This benzene ring is fused to a 6-membered ring containing a nitrogen atom with a methyl group (-N(CH₃)-) and a hydrogen atom (-H) shown with a wedge bond. This nitrogen-containing ring is further fused to a 6-membered ring with a carbonyl group (=O) and a methoxy group (-OCH₃). The entire structure is fused to a 6-membered ring with a methyl group (-CH₃) and a hydrogen atom (-H) shown with a dashed bond.</p>
10.	Katalin	 <p>The structure of Katalin is a complex polycyclic system. It features a central benzene ring with a methoxy group (-OCH₃) at the 1-position and another methoxy group (-OCH₃) at the 2-position. This benzene ring is fused to a 6-membered ring with a hydroxyl group (-OH) shown with a wedge bond and a nitrogen atom with a methyl group (-N(CH₃)-) and a hydrogen atom (-H) shown with a dashed bond. This nitrogen-containing ring is further fused to a 6-membered ring with a methoxy group (-OCH₃) and a methyl group (-CH₃). The entire structure is fused to a 6-membered ring with a methyl group (-CH₃) and a hydrogen atom (-H) shown with a dashed bond.</p>
11.	Protopin	 <p>The structure of Protopin consists of a central benzene ring. At the 1-position, there is a 2,3-dihydrobenzofuran group. At the 2-position, there is a carbonyl group (-C(=O)-) which is part of a 6-membered ring containing a nitrogen atom with a methyl group (-N(CH₃)-). At the 3-position, there is a 2,3-dihydrobenzofuran group.</p>

12.	İzoboldin	 <p>The structure of İzoboldin is a complex polycyclic alkaloid. It features a central hexahydroindole ring system. One of the fused rings is a benzene ring substituted with a methoxy group (H₃C-O) and a hydroxyl group (H-O). Another fused ring is a benzene ring with a methoxy group (O-CH₃) and a hydroxyl group (H-O). The nitrogen atom in the ring is substituted with a methyl group (CH₃).</p>
13.	Korunin	 <p>The structure of Korunin is a complex polycyclic alkaloid. It features a central hexahydroindole ring system. One of the fused rings is a benzene ring substituted with a methoxy group (H₃C-O) and a hydroxyl group (HO). Another fused ring is a benzene ring with two methoxy groups (H₃C-O and -O-CH₃). The nitrogen atom in the ring is substituted with a methyl group (CH₃) and carries a positive charge (N⁺).</p>
14.	Kelidonin	 <p>The structure of Kelidonin is a complex polycyclic alkaloid. It features a central hexahydroindole ring system. The fused rings include benzene rings with acetal protecting groups (1,3-dioxolane rings). The nitrogen atom in the ring is substituted with a methyl group (CH₃). Stereochemistry is indicated with wedged and dashed bonds for the hydrogen atoms at the bridgehead positions.</p>
15.	Sanguinarin	 <p>The structure of Sanguinarin is a complex polycyclic alkaloid. It features a central hexahydroindole ring system. The fused rings include benzene rings with acetal protecting groups (1,3-dioxolane rings). The nitrogen atom in the ring is substituted with a methyl group (H₃C) and carries a positive charge (N⁺).</p>

16.	Koridin	 <p>The structure of Koridin is a complex polycyclic molecule. It features a central benzene ring fused to a six-membered ring containing a nitrogen atom with a methyl group (CH₃) and a hydrogen atom (H) attached. This central system is further fused to two other rings, one of which is a benzene ring with three methoxy groups (H₃C-O) and one hydroxyl group (HO). Another ring is fused to the right, containing a methoxy group (H₃C-O).</p>
17.	Talikmidin	 <p>The structure of Talikmidin consists of a central benzene ring fused to a six-membered ring with a nitrogen atom (N) and a methyl group (CH₃). This is further fused to a benzene ring with a hydroxyl group (HO) and a methoxy group (H₃C-O). Another benzene ring is fused to the bottom, with two methoxy groups (O-CH₃).</p>
18.	Pontevedrin	 <p>The structure of Pontevedrin is a complex polycyclic molecule. It features a central benzene ring fused to a six-membered ring with a nitrogen atom (N) and a methyl group (CH₃). This is further fused to a benzene ring with two methoxy groups (H₃C-O). Another benzene ring is fused to the top, with two methoxy groups (O-CH₃). The structure also includes a carbonyl group (C=O) and a lactam-like ring system.</p>
19.	Kelirubin	 <p>The structure of Kelirubin is a complex polycyclic molecule. It features a central benzene ring fused to a six-membered ring with a nitrogen atom (N⁺) and a methyl group (CH₃). This is further fused to a benzene ring with a methoxy group (H₃C-O). Another benzene ring is fused to the right, with a methoxy group (O-CH₃). The structure also includes a furan-like ring system.</p>

20.	Magnoflorin	
21.	Oksoglausin	
22.	<i>N,N</i> -dimetilhernovin	
23.	Brakteolin	

24.	Bokkonolin	
-----	------------	--

G. flavum'un etanollü ekstresi ile yapılan çalışmada antiinflamatuvar, antifungal ve antibakteriyel olduğu gösterilmiştir (Arafa vd., 2016). İçinde bulunan alkaloidlerden dolayı antitussif, bronkodilatör, hipoglisemik ve hipotansif etki gösterir (Cabo, Cabo, Jimenez ve Zarzuelo, 1988; Cortijo vd., 1999; Orallo, Alzueta, Compos- Toimil ve Calleja, 1995). Bitki ekstresi antitümöral etki gösterir; özellikle meme kanseri üzerindeki etkisi çalışılmıştır (Bournine vd., 2013).

Glausin, antitussif etki gösterir. Uzun zamandır Doğu Avrupa'da öksürük kesici olarak kullanılan glausinin antitussif etkisi kanıtlanmış ve kodein ile karşılaştırıldığında solunumu deprese etmemesi, bağırsak hareketlerine olumsuz etkisi olmaması ve alışkanlık oluşturmaması gibi avantajlarının olduğu görülmüştür (Arafa vd., 2016; Kartaloğlu, Okutan ve İlvan, 2001; Ruhle, Criscuolo, Dieterich, Kohler ve Riedel, 1984). Glausinin bronkomotor tonus üzerinde etkisi yoktur (Constant, Slavin, Lehane, Jordan ve Jones, 1983). Glausin [(S)-(+)-1,2,9,10-tetrametoksiaporfin)], selektif olmayan α -adrenoreseptör antagonistidir. Fosfodiesteraz (PDE) 4 inhibitörü ve kalsiyum kanal blokörü olduğundan astım ve KOAH (Kronik obstrüktif akciğer hastalığı) tedavisinde kullanılabilir. Nöradrenalinin başlattığı kasılmayı inhibe edebilmektedir. (Cortijo vd., 1999; Ivorra vd., 1992; Orallo, Alzueta, Loza vd., 1993). Glausin, antioksidan etki gösterir (Spasova, Philipov, Nikolaeva-Glomb, Galabov ve Milkova, 2008). Ayrıca; glausin düşük mide toksisitesi ile antipiretik, analjezik ve antiinflamatuvar etki gösterir (Pinto, Borrelli Bombardelli Cristoni ve Capasso, 1998). (+)-Glausin hidroklorür ile yapılan çalışmada glausinin kalp atış hızını azalttığı ve kan basıncını düşürdüğü gösterilmiştir (Orallo vd., 1995).

Aporfin iskelet taşıyan moleküllerde antikonvülsan etki gözlenmiştir (Neumeyer, Law, Meldrum, Anlezark ve Watling, 1981). Glausinin D₁ reseptörleri üzerinden

dopaminerjik etkileri olduğu görülmüştür. Glausinin halojenlenerek kullanıldığı bir deneyde D₁ benzeri dopaminerjik reseptörlere, D₂ benzeri reseptörlerden daha güçlü bağlandığı ispatlanmıştır. Glausin, psikoaktif ilaç olarak kullanılabilir fakat halusinasyon ve sedasyon gibi yan etkilerinden dolayı keyif verici amaçlı kullanımı vardır. (Asencio vd., 2005; Chang, Hagel ve Facchini, 2015; Dargan vd., 2008).

Glacium flavum bitkisinin toprak üstü kısımlarının etanollü ekstresinden kromatografi ile elde edilen izokinolin alkaloidleri ile yapılan çalışmada oksoglausinin kompleman aktiviteyi açık bir şekilde baskıladığı, antikor sentezini inhibe ettiği saptanmıştır. Glausin, 3-hidroksiglausin ve dehidroglausinin oksoglausin kadar olmasa da antikor sentezini inhibe ettiği, izoboldin ve brakteolinin fagasitozu engellediği görülmüştür (Ivanovska ve Philipov,1996).

Anemone coronaria bitkisinin etanollü ekstresinden izole edilen %63,4 glausin içeren fraksiyon hiperglisemiyi azaltırken antinosiseptif etki göstermiştir. Diyabetik nöropatinin sebep olduğu ağrıda glausinin kullanılabilceği kanıtlanmıştır (Raafat ve El-Lakany, 2018).

“*Alzheimer hastalığı (AH)*” nörodejeneratif bir hastalıktır. Önemli bir nörotransmitter olan asetilkolinin sinaptik kavşaklarda düzeyinin azalması AH’de görülen olumsuz durumlardan bir tanesidir. Asetilkolinesteraz (AChE), asetilkolin seviyesini düzenler (Bartus, Dean, Beer ve Lippa, 1982; Greig, Lahiri ve Sambamurti, 2002). AChE inhibitörleri, sinaptik kavşaklardaki asetilkolin düzeyinin artmasını sağlar (Doody, 2003, Bajic, v.d.). Butirilkolinesteraz (BuChE) da asetilkolin seviyesini etkilese de AChE kadar etkili değildir (greig, lahiri,sambamurti, 2002; bartus, dean, beer, lippa,1982). BuChE inhibitörleri, limbik sistemde asetilkolin düzeyi üzerinde rol sahibidir (Bajic vd., 2016; Doody, 2003). AChE inhibitörleri ve BuChE inhibitörleri, AH tedavisinde kullanılır (Greig vd., 2002; Bartus vd.,1982). Glausin ve oksoglausin AChE’yi inhibe edebiliyorken BuChE’yi inhibe edememektedir; fakat AChE üzerindeki inhibisyonu da güçlü değildir (Hung, T. M. vd., 2011). Denizli’den toplanan *Glaucium corniculatum* ekstresi ile yapılan bir çalışmada ekstrenin AChE’yi inhibe ederken BuChE’yi inhibe etmediği kaydedilmiştir (Orhan, Şener, Choudhary ve Khalid, 2004).

Sivas’tan toplanan major alkaloidi glausin olan *Glaucium acutidentatum* bitkisinin metanollü ve sulu ekstralarında yapılan çalışmada ekstrenin nöroprotektif, antienflamutar ve antimutajenik olduğu belirlenmiştir. AH’de önemli rol aldığı

bilinen oksidatif stresi, nöroprotektif özelliğinden dolayı azaltan ekstre nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde kullanılabilir (Chen, Guo ve Kong, 2012; Hamamcıoğlu, Koçancı ve Aslım, 2018).

Erzincan'dan toplanan *Glaucium grandiflorum* var. *grandiflorum* bitkisinin toprak üstü kısımlarının metanollü ekstresi ile yapılan çalışmada bitkinin DNA hasarını önleyen iyi bir antioksidan olduğu; içerdiği alkaloidlerden dolayı nöroprotektif etki gösterdiği ve AChE'yi inhibe ettiği kanıtlanmıştır. Ayrıca prostaglandin üretimini inhibe eden indometazin ile karşılaştırıldığında düşük de olsa COX-2 inhibisyonu yaptığı saptanmıştır (Özsoy, Yılmaz-Özden, Aksoy-Sağırılı, Şahin ve Sarı, 2018).

Glaucium genusundan *Glaucium leiocarpum* Boiss, *Glaucium cornulatum* Curt. ve *Glaucium flavum* bitkilerinin halk arasında kullanımı mevcuttur. *Glaucium leiocarpum* Boiss. bitkisinin yapraklarından yapılan çay Türkiye'de öksürük kesici ve uyku verici olarak; *Glaucium flavum* bitkisinin kökleri Cezayir'de siğillerin ve enflamatuvar hastalıkların tedavisinde, tohumları İran'da toz edilerek laksatif olarak, *Glaucium cornulatum* Curt. bitkisinin toprak üstü kısımlarının dekoksasyonu Ürdün'de artritte kullanılmaktadır (al-Qura'n, 2019; Bournine vd., 2013; Deniz, Serteser ve Kargıoğlu, 2010; Safa vd., 2013).

G. flavum "IUCN (Dünya Doğa ve Doğal Kaynakları Koruma Birliği)" tehdit altındaki türlerin kırmızı listesinde en az endişe veren türler arasında bulunmaktadır.

1.1. Araştırmanın Problemi

Kuzey yarımkürenin ılıman ve subtropikal bölgelerinde yayılan Papaveraceae familyasının üyesi olan *Glaucium* cinsi, ülkemizde 7 tür ile temsil edilmektedir (Brummitt, 1992; Mowat, 1960).

Glaucium flavum bitkisinden elde edilen glausin, antitussif olarak kullanılan bir izokinolin alkaloididir. Kodein ile kıyaslandığında yoksunluk oluşturmadığından avantajlıdır (Constant vd., 1983). Glausinin ayrıca bronkodilatör ve antienflamatuvar etkileri vardır (Cortijo vd., 1999). *Glaucium flavum*, glausin yanında koridin ve protopin gibi önemli biyolojik aktivitelere sahip alkaloidler de barındırır.

Ülkemizde 1982 yılından sonra *Glaucium* genusu araştırılmaya başlanmıştır (Gözler, 1982). Bugüne kadar *Glaucium grandiflorum* var. *torquatum*, *Glaucium corniculatum*, *Glaucium acutidentatum* ve *Glaucium grandiflorum* var. *grandiflorum* türleri üzerinde yapılan çalışmalar mevcuttur (Gözler, 1982; Hamamcıoğlu vd.,

2018; Orhan vd., 2004; Özsoy vd., 2018; Sarı, 1999; Sarıyer ve Unsal, 1998). Ülkemizin biyolojik bir değeri olan *Glaucium* cinsiyle yapılan fitokimyasal çalışmalar sınırlı sayıdadır. Daha önce ülkemizde yetişen *G. flavum* örnekleriyle GC-MS ile yapılmış alkaloit teşhis veya tarama çalışması yoktur. GC-MS yöntemi az miktarda materyalle uygulananabilen, hızlı ve güvenilir bir yöntemdir.

Dünya’da *Glaucium* cinsi ile ilgili yapılan çalışmalardan, Doncheva ve arkadaşlarının yaptığı çalışma göstermiştir ki; aynı türün farklı lokasyonlardan toplanan örnekleri kemotaksanomik açıdan farklılık gösterebilmektedir (Doncheva vd., 2014). Tez çalışmamızda kullanılan üç farklı lokasyondan toplanmış *G. flavum* türlerinin barındırdığı alkaloitler tespit edildiğinde; veriler, gelecekte yapılması mümkün bir yapı izolasyon aydınlatma çalışmasına yol gösterecektir.

Üç farklı lokasyondan toplanan *G. flavum* örneklerinin potansiyel antikolinesteraz aktivitesi AH gibi nörodejenaratif hastalıklarda, biyoaktivite yönlendirmeli daha ileri fitokimyasal çalışmalar için yön verici olabilir.

Bu çalışma da elde edilecek sonuçlar literatüre katkı sağlamak ile birlikte yol gösterici olma özelliği taşıyacaktır.

1.2. Araştırmanın Sorusu

Glaucium genusu ülkemizde özellikle kıyı kesimlerinde geniş yayılım göstermektedir. Farklı lokalitelerden toplanan bitki örnekler kimyasal içerik, kalite kontrol ve biyolojik aktivite açısından değerlendirildiğinde ne gibi farklılıklar ortaya çıkacağı bu araştırmanın ana sorusunu oluşturmaktadır. Elde edilen veriler *Glaucium flavum* türünün kemotaksanomik açıdan önemini ortaya koyacaktır.

1.3. Araştırmanın Hipotezleri

Farklı lokasyonlardan topladığımız *Glaucium flavum* türlerinin kalite kontrol “(kurutmada kayıp miktar tayini, total kül miktar tayini, sülfat külü miktar tayini, hidroklorik asitte çözünmeyen kül miktar tayini)”, GC-MS yöntemiyle alkaloit profilinin tayini, hazırlanan alkaloit ekstraktları üzerinde AChE ve BuChE inhibitör aktivite sonuçlarının birbirinden az ya da çok farklılık göstereceği ön görülmektedir.

Bitkilerin yetişmiş olduğu coğrafi bölgenin özellikleri, denizden yüksekliği, bulunduğu bölgenin nemi, toprağın yapısı, sanayi bölgelerine ve otoyollara yakınlığı

gibi dış etkenler bitkinin kalite kontrol parametrelerini oldukça değiştirmektedir. Tezimizde seçmiş olduğumuz üç farklı lokasyondan toplanan örneklerin de farklı kalite kontrol sonuçlarına sahip olacağı beklenmektedir.

Aynı türün farklı lokasyonlardan toplanan örnekleri, çeşitli kromatografik yöntemler kullanılarak karşılaştırıldığında sonuçları oldukça çeşitlilik gösterdiği ile alakalı bir çok çalışma literatürde mevcuttur. Bu tezde kullanılan üç farklı yerden toplanan bitki örneklerin de GC-MS yöntemiyle kimyasal içerikleri incelendiğinde farklı sonuçlar göstereceği beklenmektedir.

Bitkilerin biyolojik aktivite potansiyelleri içermiş oldukları kimyasal bileşenlerle bire bir ilişkilidir. AChE ve BuChE inhibitör aktivite gösteren sekonder metabolitlerin başında alkaloidler gelmektedir. İzokinolin alkaloidleri açısından zengin olduğunu bildiğimiz *Glaucium* türleri üzerinde yapılan çeşitli aktivite çalışmalarında antikolinesteraz aktivite gösterdikleri kanıtlanmıştır. Bu çalışmada farklı kalite kontrol özelliklerine ve farklı kimyasal profile sahip olacağını ön gördüğümüz üç farklı *Glaucium flavum* örneğinin biyolojik aktivite sonuçları açısından da farklılık sergileyeceği ön görülmektedir.

Bu farklılıkların ortaya konması ve sonuçların birbirleriyle karşılaştırılması hedeflenmektedir. Bu sonuçlar kalite kontrol, kimyasal içerik ve biyolojik aktivite olarak en uygun ve en zengin içeriğe sahip olan örneğin tespit edilmesine imkan sağlayacak ve bitki üzerinde yapılacak olan daha ileri izolasyon ve yapı aydınlatma çalışmalarına ışık tutacaktır.

1.4. Araştırmanın Varsayımları

Farklı lokasyonlardan toplanacak olan bitki türlerinin kalite kontrol (kurutmada kayıp miktar tayini, total kül miktar tayini, sülfat külü miktar tayini, hidroklorik asitte çözünmeyen kül miktar tayini), GC-MS yöntemiyle alkaloid profilinin tayini, hazırlanan alkaloid ekstraktları üzerinde AChE ve BuChE inhibitör aktivite sonuçlarının birbirinden farklılık göstereceği varsayılmaktadır. “2018 adrese dayalı nüfus kayıt sistemi verilerine göre” Türkiye nüfusunun %7’si 65 yaş üstüdür “(Türkiye İstatistik Kurumu)”. Nörodejenaratif hastalıkların artan yaşla birlikte görülme sıklığı artmaktadır. AH’nin tedavisi semptomatik olarak yapılmaktadır. Kolinesteraz enzim inhibitörleri bu amaçla kullanılır. *Glaucium* cinsinde bulunan

berberin, sanguinarin, kelidonin ve protopin alkaloidlerinde de AChE inhibitör etki görüldüğünden *G. flavum* bitki ekstrelerinde de antikolinesteraz aktivite potansiyeli olacağı varsayılmaktadır (Hostettmann, Borloz, Urbain ve Marston, 2006).

1.5. Araştırmanın Sınırlılıkları

Birbirinden kalite kontrol, kimyasal profil ve biyolojik aktivite olarak farklı özellikler göstereceğini tahmin ettiğimiz bitkiler birbirine çok yakın olmayan ve farklı coğrafik özelliklere sahip olan üç lokasyon seçilebilmiştir. Daha geniş arazi çalışmaları sonucu toplanabilecek fazla sayıda örnekle daha kapsamlı çalışmalar planlanarak bitkinin kemotaksonomik açıdan zenginliği ortaya konabilir. Yapmış olduğumuz GC-MS yöntemi ile alkaloid profil çalışması ve *in vitro* biyolojik aktivite çalışmaları, daha ileri izolasyon ve miktar tayini çalışmaları ile *in vivo* ve klinik denemeler için ön basamak niteliği oluşturmaktadır.

1.6. Araştırmanın Amacı

Glacium flavum bitkisinin üç farklı lokasyondan toplanan türleri üzerinde Avrupa Farmakopesi'nde yer alan standartlar dahilinde kalite kontrol çalışmaları gerçekleştirmek, GC-MS yöntemiyle alkaloid profilini ortaya koymak ve bitki örneklerinden hazırlanan alkaloid ekstralarının biyolojik aktivite potansiyellerini belirlemek, sonuçları karşılaştırmalı olarak analiz etmek bu araştırmanın amacını oluşturmaktadır.

Genel Bilgiler

2.1. *Glaucium Genusu*

Sert, lateks taşımayan saplı tek yıllık, iki yıllık veya çok yıllık bitkiler. Yapraklar pennatifit veya pennatisekt, parçalar genellikle loblu veya dişli. Çiçekler tek, gösterişli. Çanak yaprak 2, hemen geçici. Taç yapraklar 4, sarı, turuncu, kırmızı veya leylak rengi, genellikle üstü benekli. Stamenler çok sayılı. Ovaryum linear, tüylü, tüberküllü veya pürüzsüz. Meyve silikvaya benzer, linear, 10-20(-25) cm, tohumların saklı olduğu yumuşak bir bölüm ile. Tohumlar çok sayıda, uzantısız.

Türkiye’de yedi türü bulunmaktadır. Bu türler; *G. corniculatum*, *G. grandiflorum*, *G. haussknechtii*, *G. flavum*, *G. leiocarpum*, *G. acutidentatum* ve *G. cappadocicum*’dur (Brickell, 1984).

2.2. *Glaucium flavum*

İki yıllık ya da uzun ömürlü. Saplar papiller tüysüz, 30-50 cm. Radikal yapraklar lir şeklinde-pinnatifid (iğne kenarlı), sinüslü-dişli. Sap yapraklar amplexikol, yuvarlak veya geniş, mukronat parçalı. Sepaller kesin tüylü. Petaller genellikle sarı, bazen kırmızı veya kırmızı-leylak rengi. Yumurtalık yoğun olarak papilloz-tuberkulat. Silikva 15-25 cm, düz veya kavisli, papilloz-tuberkulat bunların boylarının çoğundan uzun (eski meyvelerde tamamen düzgün), ne yer yer boğumlu ne de en ucunda seyrek. Fl. 5-7. Deniz kıyısında, genellikle s.l. yakınında, denizden uzak nehir yataklarında da tutunur.

Avusturya’dan tarif edildi.

Kıyılarda yaygın. A1(E) Tekirdağ: Marmaraereğlisi’nden Tekirdağ’a, 25 m, *D.* 39251! A2(E) İstanbul: Makriköy’den S. Stefano’ya, *Azn.*! A2(A) Kocaeli: Pendik, *Azn.*! A3 Zonguldak: Ereğli, *Kühne* 3324! A4 Kastamonu: İnebolu, *D.* 38542! A5 Sinop: Sinop, 1 m, *D.* 38086! A7 Trabzon: Platana, *Balls* 332! A8 Rize: Fındıklı, *D.* 32046! B1 İzmir: İzmir, *Barbey* 101. C1 Muğla: Marmaris, Armellibükü, *Khan et al.* 134! C3 Antalya, *Smith* 261! Is.: Lesvos, *Cand*; Kios, *Platt* 189; Rodhos, *Aucher*! Avrupa’da habitatın uygun olduğu, Kuzeybatı Africa, Batı Kafkasya (Brickell, 1984).

Şekil-1. *Glaucium flavum* bitkisinin doğadaki görünüşü



2.3. Kalite Kontrol Çalışmaları

Glaucium cinsine ait farmakope ve monograflarda herhangi bir bilgi bulunmamaktadır. Kalite kontrol çalışmaları “*Türk Farmakopesi, Avrupa Farmakopesi Adaptasyonu’nda*” bulunan yöntemler baz alınarak yapılmıştır. Üç farklı lokasyondan toplanan *Glaucium flavum* bitkisinin kurutulup toz haline getirilmiş toprak üstü kısımlarına kalite kontrol çalışmaları kapsamında “*kurutmada kayıp, total kül, sülfat külü ve hidroklorik asitte çözünmeyen kül miktar tayini*” yapılmıştır. Yapılan literatür araştırmasında *Glaucium* cinsine ait kalite kontrol çalışmasının olmadığı görülmüştür.

2.4. Alkaloit Teşhis Çalışmaları

Glacium flavum bitkisi yapısında izokinolin alkaloitleri içerir. Sulu ekstresinde %3,74 oranında, yapraklarında 7,24- 17,68 mg/g alkaloit bulunur (Lazarova ve dimitrov, 2009; Lovkova vd., 2008). Bitkinin bileşenlerini alkaloitlerin yanında yağlı ve fenolik kısımlar oluşturur (Nikolova vd., 2018). Yapraklarında bulunan mineral elementler potasyum ve nikelidir (Lovkova vd., 2008).

Glausin, dehidroglausin, *N*-Me-sekoglausin, norglausin, allokritopin, salutaridin, izokoridin, katalin, protopin, izoboldin, korunin, kelidonin, sanguinarin, koridin, Talikmidin, pontevedrin, kelirubin, magnoflorin, oksoglausin, *N,N*-dimetilhernovin, brakteolin ve bokkonolin bitkide tespit edilen alkaloitlerdir (Arafa vd., 2016; Daskalova vd., 1988; Doncheva vd.,2016; Grundon, 2007; Ivanovska ve Philipov, 1996; Lovkova vd., 2008; Nikolova vd., 2018; Och vd., 2017)). Glausin veya izokoridin bitkinin toplandığı lokasyona bağlı olarak genellikle major alkaloit olarak bulunmaktadır (Doncheva vd.,2016; Nikolova vd., 2018; Och vd., 2017).

2.5. Biyolojik Aktivite Çalışmaları

Yaşlı nüfusun artması demansın en sık görülen türü olan AH'nin de artmasına neden olmuştur. AH, asetilkolin eksikliği veya β -amiloid plak oluşumu ile görülmektedir. Merkezi sinir sistemindeki metabolik oksidatif reaksiyonların yarattığı oksidatif stres de hastalık sebeplerinden gösterilmektedir (Pratico, 2008). Asetilkolin sentezi için gerekli olan AChE enziminin aynı zamanda β -amiloid plak oluşumunu da artırdığı gösterilmiştir (Inestrosa vd., 1996). AH'nin semptomatik tedavi şekillerinden bir tanesi sinaptik kavşaklarda asetilkolin düzeyini dengede tutmaya çalışmaktır.(Selkoe, 2007). BuChE de AChE gibi nörotransmitter seviyesini etkiler. Ortamda selektif asetilkolinesteraz inhibitörü varsa BuChE asetiltiyokolin üzerinden asetilkolin seviyesini etkilemeye devam eder (Greig vd., 2002). Fizostigmin, galantamin ve hüperzin A, alkaloit olan doğal AChE inhibitörleridir. Galataminin gibi Amaryllidaceae familyasının bir çok alkaloidinde de AChE inhibitör etki saptanmıştır. *Glacium flavum* Crantz. bitkisinin de dahil olduğu Papaveraceae familyası alkaloit bakımından zengin olduğundan içerdiği izokinolin alkaloitlere bakıldığında protoberberin ve benzofenantridin tip alkaloitlerden olan berberin, sanguinarin, kelidonin ve protopin alkaloitlerinde de AChE inhibitör etki

görülmüştür (Hostettmann vd., 2006). AChE inhibitörlerinin yanında β -amiloid plak oluşumuna öncülük eden β -sekretaz ve α -sekretaz enzimlerinin inhibe edilmesi de AH'ye karşı etkili olabilmektedir (Inestrosa vd., 1996). BuChE, anormal amiloid öncü proteinlerinin üretimini destekleyerek nörotik plakların olgunlaşmasını sağlar. BuChE inhibitörü, bu sebeple nörotoksisteyi iyileştirerek hastalığın tedavisine fayda sağlar (Greig vd., 2002). AH'nin bir diğer etkeni olarak gösterilen oksidatif stres mitokondriyel bozukluk, kalsiyum dengesinde bozulma, membran hasarı ve anormal protein yığılmasına sebep olarak nörodejenerasyona, sonrasında da hücre ölümüne sebep olmaktadır (Pratico, 2008). Major alkaloidi glausin olan *Glacium* türlerinin ekstrelerinin oksidatif stresi azalttığı kaydedilmiştir (Chen vd., 2012; Hamamcıoğlu vd., 2018; Özsoy vd., 2018).

Bu çalışmada farklı lokasyonlardan toplanan *Glacium flavum* Crantz. bitkisinin ekstreleri üzerinde biyolojik aktivite GC-MS tekniği kullanılarak alkaloid çeşitliliği saptandıktan sonra; AChE inhibitör aktivite ve BuChE inhibitör aktivite deneyi gerçekleştirilmiştir. *In vitro* kolorimetrik esasa dayanan Ellman yöntemi kullanılmıştır (Ellman, Courtney, Andres ve Featherstone, 1961).

Ellman yöntemi, substrat olan asetiltiyokolinin AChE enzimi ile tiyokolin ve asetata parçalanması ve Ellman reaktifi de denilen “5-5'-ditiyobis-(2-nitrobenzoikasit)” eklenmesi ile sarı renkli 5-tiyo-2-nitrobenzoikasit oluşması esasına dayanmaktadır. Oluşan sarı renk, kolorimetrik olarak ölçülmektedir. Renklenme ne kadar düşükse inhibasyon o kadar çoktur. Aynı deney BuChE enzim inhibasyonunu ölçmek için de kullanılır. Substrat olarak butiriltiyokolin enzim olarak da butirilkolinesteraz eklendiğinde ortaya çıkan tiyokolin, Ellman reaktifi ile sarı renk oluşturmaktadır ve BuChE inhibasyon aktivitesi de gözlenmektedir. (Ellman vd., 1961).

Bitki ekstresinde AChE inhibitör aktiviteyi incelemek için asetiltiyokolin ve asetilkolinesteraz kullanılmıştır. BuChE inhibitör aktiviteyi incelemek için butiriltiyokolin ve butirilkolinesteraz kullanılmıştır. Her iki çalışmada da standart olarak galantamin kullanılmıştır.

Gereç ve Yöntem

3.1. Gereç

Şakran, İzmir'den toplanan Bulancak, Giresun kültürü olan bitki 24.07.2016 tarihinde çiçekli olarak toplanmış ve toprak üstü kısımları kullanılmıştır. Daha önce Bulancak, Giresun çevresinde herbaryum kaydı bulunan bitki bölgeye yapmış olduğumuz arazi çalışmaları sırasında kentleşme ve doğal floranın bozulmasından dolayı bulunamamıştır. Prof. Dr. Mustafa Ali Önür tarafından daha önceki zamanlarda Bulancak, Giresun'dan toplanıp Şakran, İzmir'de kültürü yapılan örnek çalışma materyallerimizden biri olarak seçilmiş ve GLF-1 kodu verilmiştir. Bitkiye ait herbaryum örneği “Ege Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi Anabilim Dalı herbaryumunda” 1590 numara altında saklanmaktadır.

Mordoğan, İzmir'den toplanan bitki 30.05.2016 tarihinde çiçekli olarak toplanmış ve toprak üstü kısımları kullanılmıştır. Deneylerde GLF-2 kodu verilmiştir. Bitkiye ait herbaryum örneği “Ege Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi Anabilim Dalı herbaryumunda” 1542 numara altında saklanmaktadır.

Karabiga, Çanakkale'den toplanan bitki 09.10.2016 tarihinde çiçekli olarak toplanmış ve toprak üstü kısımları kullanılmıştır. Deneylerde GLF-3 kodu verilmiştir. Bitkiye ait herbaryum örneği “Ege Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi Anabilim Dalı herbaryumunda” 1588 numara altında saklanmaktadır.

3.2. Yöntemler

3.2.1 Kalite Kontrol Çalışmaları

Üç farklı lokasyondan toplanan *Glaucium flavum* Crantz. örneklerine “kurutmada kayıp, total kül, sülfat külü ve hidroklorik asitte çözünmeyen kül tayinleri” Avrupa Farmakopesi'ne göre yapılmıştır.

3.2.1.1. Kurutmada Kayıp Miktar Tayini

Üç paralel deney yapıldı. Sabit ağırlığa getirdiğim cam tartım kapları içerisine 1,0001 g, 1,0008 g, 1,0001g toz edilmiş drog kondu. Cam tartım kapları 100-

105°C'lik etüvde 1 saat tutuldu. 1 saat sonunda etüvden çıkarılan kaplar desikatör içerisinde soğutuldu ve tartım yapıldı. Etüvde 1 saat tutma ve soğutma işlemi, “iki tartım arasında 0,5 mg'dan fazla fark” olmayıp sabit vezne gelene kadar devam ettirildi ve droğun yüzde kurutmada kayıp miktarları hesaplandı (Avrupa Farmakopesi Türk Adaptasyonu).

3.2.1.2. Total Kül Miktar Tayini

Üç paralel deney yapıldı. “600 ± 25°C'lik yakma fırınında (Heraeus marka)” 1 saat yakıp soğuttuğum porselen krözeler içerisine 1,0005 g, 1,0006 g, 1,0006 g toz edilmiş drog kondu. Etüvde “100-105°C'de 1 saat” beklettiğim krözeler devamında “600 ± 25°C'lik yakma fırınında” 1 saat yakıldı. Fırından çıkarttığım krözeler desikatörde soğutuldu ve tartıldı. Bu işlemlere içerisinde kül bulunan porselen krözelerin ağırlığında, “iki tartım arasındaki fark 0,5 mg'dan fazla olmayıp sabit vezne gelene kadar” devam edildi. Droğun içerdiği kül miktarları yüzde olarak hesaplandı (Avrupa Farmakopesi Türk Adaptasyonu.).

3.2.1.3. Sülfat Külü Miktar Tayini

Üç paralel deney yapıldı. “600 ± 25°C'lik yakma fırınında (Heraeus marka)” 1 saat yakıp soğuttuğum porselen krözeler içerisine 1,0003 g, 1,0003 g, 1,0001 g toz edilmiş drog konuldu. Droğların bulunduğu krözeler 2 ml %10'luk sülfürik asit çözeltisi damla damla ilave edildi. Ardından krözeler tablalı ısıtıcıda duman çıkışı bitene kadar; devamında “600 ± 25°C'lik yakma fırınında” 1 saat süre ile yakıldı. Fırından çıkarılan krözeler desikatörde soğutuldu. Soğuduktan sonra üzerlerine 1-2 damla %10'luk sülfürik asit çözeltisi eklendi; aynı şekilde tablalı ısıtıcı ve fırında yakılıp desikatörde soğutuldu. Soğuyan krözeler içerisine 1-2 damla “%15,8'lik amonyum karbonat çözeltisi” eklendi; aynı şekilde tablalı ısıtıcı ve fırında yakılıp desikatörde soğutularak tartıldı. “Tartımlar arasındaki fark 0,5 mg'dan fazla olmaya dek” fırında yakma, soğutma ve tartım işlemlerine devam edildi. Droğun yüzde olarak sülfat külü miktarları hesaplandı (Avrupa Farmakopesi Türk Adaptasyonu).

3.2.1.4. Hidroklorik Asitte Çözünmeyen Kül Miktar Tayini

Üç paralel deney yapıldı. “ $600 \pm 25^{\circ}\text{C}$ 'lik yakma fırınında (Heraeus marka) 1 saat” yakıp soğuttuğum porselen krözeler içerisine 1,0004 g, 1,0003 g, 1,0003 g toz edilmiş drog konuldu. Etüvde “ $100-105^{\circ}\text{C}$ 'de 1 saat” kuruttuğum krözeler devamında “ $600 \pm 25^{\circ}\text{C}$ 'lik yakma fırınında 1 saat” yakıldı. Fırından çıkardığım krözeler desikatörde soğutuldu ve tartıldı. Bu işlemlere içerisinde kül bulunan porselen krözelerin ağırlıklarında, iki tartım arasındaki fark 0,5 mg'dan fazla olmayıp sabit vevne gelene kadar devam edildi. Krözelerde kalan bakiyeler üzerine 15 ml distile su ve 10 ml “%36'lık hidroklorik asit çözeltisi” konuldu. Ağızları saat camı ile kapatılmış krözeler, tablalı ısıtıcı üzerinde kaynayana kadar ısıtıldı. Soğuyunca “kül bırakmayan süzgeç kağıdı” (kantitatif tip) kullanılarak süzüldü. Süzüntüler nötrleşinceye kadar sıcak distile su ile yıkandı. Üzerindeki bakiyeyle birlikte süzgeç kağıtları porselen krözeler konuldu ve iki tartım arasındaki fark 0,5 mg'dan fazla olmayıp sabit vevne gelinceye kadar “1 saat $600 \pm 25^{\circ}\text{C}$ 'lik yakma fırınında yakma ve desikatörde soğutma işlemi” tekrarlandı. Drogün yüzde olarak hidroklorik asitte çözüneyen kül miktarları hesaplandı (Avrupa Farmakopesi Türk Adaptasyonu.).

3.2.2. Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometrisi (GC-MS) Yöntemiyle Alkaloit

Teşhis Çalışmaları

GLF-1, GLF-2 ve GLF-3 kodlu bitkilerden hazırlanan alkaloit ekstreleri 1 mg/ml konsantrasyona sahip olacak şekilde metanolde çözümlenerek GC-MS uygulanmıştır.

Ege Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, FABAL'da “(Farmasötik Bilimler Araştırma Laboratuvarı)” yapılan GC-MS özellikleri aşağıdaki gibidir.

Cihaz: Thermo GC-Trace Ultra Ver: 2.0., Thermo MS DSQ II (Thermo Fisher Scientific, San Jose, CA, USA)

Mod: Elektron enerjisi 70 eV, elektron impact mod (EI, 70 eV).

Kolon: TR-5 MS kolon “(30 m uzunluk x 0.25 mm iç çap x 0.25 µm film kalınlığı)”.

Kolon Sıcaklık Programı: “80 °C 1 dk,

80 – 250 °C, (10 °C/ dk),

250 °C de 2 dk,

250 – 300 °C (10 °C/dk)

300 °C de 10 dk.”

Enjektör Sıcaklığı: 250 °C

Taşıyıcı Gaz: Helyum.

Taşıyıcı Gaz Akış Hızı: 0.8 ml/dak.

Tüm enjeksiyonlar splitless mod’da yapılmıştır.

Elde edilen spektrumlar, “*Xcalibur (version 2.07; Thermo Fisher Scientific San Jose, CA, USA)*” yazılımı kullanılarak, elektronik kütüphane verilerine “*NIST MS Search 2.0 (National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD, USA)*” yazılımı kullanılarak değerlendirilmiştir. Yazılımın yanında literatür taraması, retansiyon zamanı ve “*Ege Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakognosi Anabilim Dalı’nda*” saf maddelerden aynı yöntem ile elde edilen spektrumlar karşılaştırılarak alkaloid teşhisi tamamlanmıştır.

3.2.2.1. Alkaloid Ekstresinin Hazırlanışı

GLG-1, GLF-2 ve GLF-3 kodlu bitkilerden elde edilen droglar kurutulup toz haline getirildi ve hepsinden ayrı ayrı alkaloid ekstresi hazırlandı.

Kurutulup toz haline getirilen droglardan GLF-1’den 4,0082 g, GLF-2’den 4,0061 g ve GLF-3’ten 4,0024 g tartıldı. Her birinin üzerine 40 ml metanol ilave edildi ve ultrasonik banyoda oda sıcaklığında 30 dk bekletildi. Bekletildikten sonra süzüldü. 40 ml metanol ilavesi, ultrasonik banyoda 30 dk bekletme ve süzme işlemleri iki defa daha tekrarlandı. Üç işlem sonundaki süzüntüler birleştirilerek alçak basınç altında metanol uçurulup 80 ml “%2’lik sülfirik asit çözeltisi” eklenip asitlendirildi ve süzüldü. Asitli çözelti 3 defa 80 ml dietil eter ile sıvı-sıvı ekstrasyonu yapıldı ve eterli kısımlar uzaklaştırıldı. Üzerine “%25’lik amonyak çözeltisi” kontrollü şekilde konularak pH 9-10 arasına gelene kadar bazikleştirildi. Bazik çözelti 80 ml kloroform ile 3 defa ekstrasyona tabi tutularak kloroformlu kısımlar birleştirildi. Kloroformlu kısımlar, “*susuz sodyum sülfat*” ile içermesi muhtemel suyundan kurtarıldı ve alçak basınç altında uçuruldu. Alkaloid ekstraları, her bir toz drogda bu işlemler uygulanarak elde edildi.

Drogdan hareketle elde edilen alkaloid ekstresine, metanol içerisinde uygun koşullarda GC-MS uygulandı.

3.2.3. Biyolojik Aktivite Çalışmaları

AChE inhibitör ve BuChE inhibitör aktivite çalışması yapılmıştır.

3.2.3.1. Asetilkolinesteraz İnhibitör ve Butirilkolinesteraz İnhibitör Aktivite Çalışması

Üç farklı lokasyondan topladığımız *Glaucium flavum* Crantz. bitkisinden hazırlanan alkaloid ekstreleri metanolde çözülerek farklı konsantrasyonlarda “(1000 µg/ml, 100 µg/ml, 10 µg/ml, 1 µg/ml, 0.1 µg/ml, 0.01 µg/ml)” hazırlanarak AChE inhibe edici etkileri araştırıldı. Alkaloid ekstrelerinin hazırlanışında yukarıda GC-MS ile alkaloid teşhis deneyinde anlattığımız yöntemin aynısı kullanıldı. Mikroplakalara konulan farklı konsantrasyondaki ekstrelere *in vitro* kolorimetrik ölçüm esasına dayanan Ellman yöntemi uygulandı. Absorbanslar 405 nm dalga boyunda mikroplaka okuyucu “(VersaMax™ Tunable Microplate Reader)” ile ölçüldü. Ölçümler 3 paralel şekilde yapıldı. Ölçülen absorbans sonuçları doğrultusunda elde edilen IC₅₀ (tam inhibisyonu sağlayacak konsantrasyonunun yarı değeri) değerleri “Prism programı (GraphPad Prism Version 5.0 for Windows, GraphPad Software, San Diego, CA, USA)” ile hesaplandı.

Asetilkolinesteraz inhibitör aktivite deneyi için; 0,04 mM disodyum fosfat (Na₂HPO₄), 0,2 Mm “5,5'-ditiyobis-(2-nitrobenzoik asit) (DTNB)” ve 0,24 Mm asetilkolin iyot distile su ile çözündürüldü. Solusyon PH'si 7.5 olarak ayarlandıktan sonra 50 ml'ye tamamlandı. Asetilkolin ve Ellman reaktifi olarak bilinen DTNB içeren substrat solusyonuna, ayrı ayrı standart ve farklı konsantrasyonlardaki ekstreler eklenerek oluşan sarı rengin şiddeti ölçüldü. Standart olarak kullanılan galantamin “Ege Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi Anabilim Dalı'nda” daha önce Amaryllidaceae familyası üzerinde yürütülen izolasyon çalışmaları sırasında elde edilmiştir.

Butirilkolinesteraz inhibitör aktivite deneyi için; 0,04 mM disodyum fosfat (Na₂HPO₄), 0,2 Mm DTNB ve 0,24 Mm S-butiriltiyokolin iyot distile su ile çözündürüldü. Solusyon pH'si 7.5 olarak ayarlandıktan sonra 50 ml'ye tamamlandı.

Butiriltiyokolin ve “*Ellman reaktifi olarak bilinen DTNB*” içeren subsrat solusyonuna, ayrı ayrı standart ve farklı konsantrasyonlardaki ekstreler eklenerek oluşan sarı rengin şiddeti ölçüldü. Standart olarak galantamin kullanıldı.



Bulgular

4.1. Kalite Kontrol Çalışmaları

Üç farklı lokasyondan toplanan *Glaucium flavum* Crantz. örneklerine kurutmada kayıp, total kül, sülfat külü ve hidroklorik asitte çözünmeyen kül tayinleri yapılmıştır.

4.1.1. Kurutmada Kayıp Miktar Tayini

GLF-1, GLF-2 ve GLF-3 kodlu örneklere 3 paralel halinde kurutmada kayıp miktar tayini deneyi yapılmıştır. Elde edilen bulgular aşağıdaki Tablo-2’de sunulmuştur.

Tablo-2. *G. flavum* bitkisinin farklı lokasyonlardan toplanan GLF-1, GLF-2 ve GLF-3 kodlu örneklerine ilişkin kurutmada kayıp miktar tayini sonuçları

Drog	Drog Miktarı	% Kurutmada Kayıp Miktarı	Ortalama Kurutmada Kayıp Miktarı
GLF-1	1,0006	7,9724	7,9835
	1,0000	7,9934	
	0,9999	7,9847	
GLF-2	1,0000	8,1245	8,0342
	1,0002	7,9934	
	1,0007	7,9847	
GLF-3	1,0001 g	8,2642	8,2473
	1,0008 g	8,2534	

	1,0001 g	8,2242	
--	----------	--------	--

Üç farklı lokasyondan toplanan GLF-1, GLF-2 ve GLF-3 kodlu örneklerle ilişkin kurutmada kayıp miktar tayini sonuçları için her örneğe 3 paralel şekilde tayin yöntemi uygulandı. GLF-1 kodlu örneğin kurutmada kayıp miktarı %7,9724, %7,9934 ve %7,9847 olarak tespit edildi. GLF-1 kodlu örnek için kurutmada kayıp miktarı ortalama %7,9835'tir. GLF-2 kodlu örneğin kurutmada kayıp miktarı %8,1245, %8,1401 ve %8,1377 olarak tespit edildi. GLF-2 kodlu örnek için kurutmada kayıp miktarı ortalama %8,0342'dir. GLF-3 kodlu örneğin kurutmada kayıp miktarı %8,2642, %8,2534 ve %8,2242 olarak tespit edildi. GLF-3 kodlu örnek için kurutmada kayıp miktarı ortalama %8,2473'tür.

4.1.2. Total Kül Miktar Tayini

GLF-1, GLF-2 ve GLF-3 kodlu örneklerle 3 paralel halinde total kül miktar tayini deneyi yapılmıştır. Elde edilen bulgular aşağıdaki Tablo-3'de sunulmuştur.

Tablo-3. *G. flavum* bitkisinin farklı lokasyonlardan toplanan GLF-1, GLF-2 ve GLF-3 kodlu örneklerine ilişkin total kül miktar tayini sonuçları

Drog	Drog Miktarı	% Total Kül Miktarı	Ortalama Total Kül Miktarı
GLF-1	1,0000	12,0129	12,0187
	1,0003	12,0247	
	1,0002	12,0186	
GLF-2	1,0005	12,8789	12,8965

	1,0003	12,9102	
	1,0002	12,9003	
GLF-3	1,0006 g	14,2115	14,0787
	1,0006 g	14,0116	
	1,0005 g	14,0129	

Üç farklı lokasyondan toplanan GLF-1, GLF-2 ve GLF-3 kodlu örneklerle ilişkin total kül miktar tayini sonuçları için her örneğe 3 paralel şekilde tayin yöntemi uygulandı. GLF-1 kodlu örneğin total kül miktarı %12,0129, %12,0247 ve %12,0186 olarak tespit edildi. GLF-1 kodlu örnek için total kül miktarı ortalama %12,0187'dir. GLF-2 kodlu örneğin total kül miktarı %12,8789, %12,9102 ve %12,9003 olarak tespit edildi. GLF-2 kodlu örnek için total kül miktarı ortalama %12,8964'tür. GLF-3 kodlu örneğin total kül miktarı %14,2115, %14,0116 ve %14,0129 olarak tespit edildi. GLF-3 kodlu örnek için total kül miktarı ortalama %14,0787'dir.

4.1.3. Sülfat Külü Miktar Tayini

GLF-1, GLF-2 ve GLF-3 kodlu örneklerle 3 paralel halinde sülfat külü miktar tayini deneyi yapılmıştır. Elde edilen bulgular aşağıdaki Tablo-4'de sunulmuştur.

Tablo-4. *G. flavum* bitkisinin farklı lokasyonlardan toplanan GLF-1, GLF-2 ve GLF-3 kodlu örneklerine ilişkin sülfat külü miktar tayini sonuçları

Drog	Drog Miktarı	% Sülfat Külü Miktarı	Ortalama Sülfat Külü Miktarı
GLF-1	1,0003	14,9636	14,9004

	1,0007	14,8547	
	1,0004	14,8830	
GLF-2	1,0003	15,9523	15,8497
	1,0001	15,7845	
	1,0000	15,8123	
GLF-3	1,0003 g	17,1149	16,8411
	1,0003 g	16,3951	
	1,0001 g	17,0133	

Üç farklı lokasyondan toplanan GLF-1, GLF-2 ve GLF-3 kodlu örneklere ilişkin sülfat külü miktar tayini sonuçları için her örneğe 3 paralel şekilde tayin yöntemi uygulandı. GLF-1 kodlu örneğin sülfat külü miktarı %14,9636, %14,8547 ve %14,8830 olarak tespit edildi. GLF-1 kodlu örnek için sülfat külü miktarı ortalama %14,9004'tür. GLF-2 kodlu örneğin sülfat külü miktarı %15,9523, %15,7845 ve %15,8123 olarak tespit edildi. GLF-2 kodlu örnek için sülfat külü miktarı ortalama %15,8497'dir. GLF-3 kodlu örneğin sülfat külü miktarı %17,1129, %16,3951 ve %17,0133 olarak tespit edildi. GLF-3 kodlu örnek için sülfat külü miktarı ortalama %16,8411'dir.

4.1.4. Hidroklorik Asitte Çözünmeyen Kül Miktar Tayini

GLF-1, GLF-2 ve GLF-3 kodlu örneklere 3 paralel halinde hidroklorik asitte çözünmeyen kül miktar tayini deneyi yapılmıştır. Elde edilen bulgular aşağıdaki Tablo-5'de sunulmuştur.

Tablo-5. *G. flavum* bitkisinin farklı lokasyonlardan toplanan GLF-1, GLF-2 ve GLF-3 kodlu örneklerine ilişkin hidroklorik asitte çözünmeyen kül miktar tayini sonuçları

Drog	Drog Miktarı	% Hidroklorik Asitte Çözünmeyen Kül Miktarı	Ortalama Hidroklorik Asitte Çözünmeyen Kül Miktarı
GLF-1	1,0000	0,1239	0,1223
	1,0003	0,1221	
	1,0002	0,1209	
GLF-2	1,0005	0,1654	0,1556
	1,0003	0,1458	
	1,0002	0,1556	
GLF-3	1,0004 g	0,2299	0,1999
	1,0003 g	0,1499	
	1,0003 g	0,2199	

Üç farklı lokasyondan toplanan GLF-1, GLF-2 ve GLF-3 kodlu örneklere ilişkin hidroklorik asitte çözünmeyen kül miktar tayini sonuçları için her örneğe 3 paralel şekilde tayin yöntemi uygulandı. GLF-1 kodlu örneğin hidroklorik asitte çözünmeyen kül miktarı %0,1221, %0,1209 ve %0,1239 olarak tespit edildi. GLF-1 kodlu örnek için hidroklorik asitte çözünmeyen kül miktarı ortalama %0,1223'tür. GLF-2 kodlu örneğin hidroklorik asitte çözünmeyen kül miktarı %0,1654, %0,1458 ve %0,1556 olarak tespit edildi. GLF-2 kodlu örnek için hidroklorik asitte çözünmeyen kül miktarı ortalama %0,1556'dır. GLF-3 kodlu örneğin hidroklorik

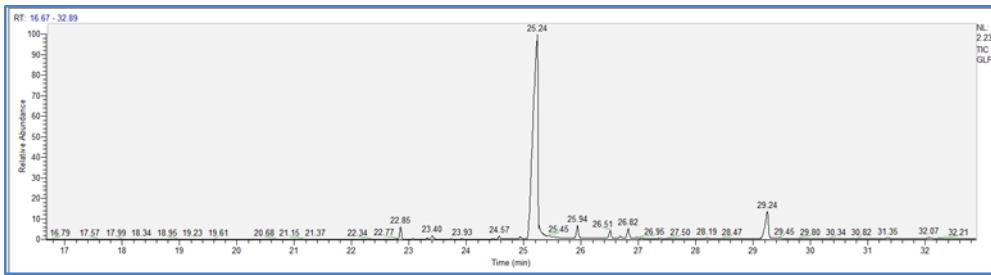
asitte çözünmeyen kül miktarı %0,2299, %0,1499 ve %0,2199 olarak tespit edildi. GLF-3 kodlu örnek için hidroklorik asitte çözünmeyen kül miktarı ortalama %0,1999'dur.

4.2. Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometrisi (GC-MS) Yöntemiyle Alkaloit Teşhis Çalışmaları

GLF-1, GLF-2 ve GLF-3 bitkilerinin kurutulup toz haline getirilip hazırlanmış alkaloit ekstresinden GC-MS yöntemiyle analizi ile elde edilen sonuçlar aşağıdaki tablolarda (Tablo-6, Tablo-8, Tablo-10) sunulmuştur.

GLF-1 kodlu bitkiden hazırlanan ekstreye GC-MS tekniği uygulanmış ve bitkinin alkaloit profili çıkarılmıştır. %82,37 glausin, %8,17 dehidroglausin, %2,27 protopin, %1,84 norglausin, %1,45 izoboldin, %0,42 izokoridin, %0,39 M369, %0,37 M325, %0,19 M329, %0,11 retikulin ve %0,07 salutaridin Bulancak, Giresun'dan toplanıp Şakran, İzmir'de kültürü yapılan GLF-1 kodlu bitkide saptanmıştır (Tablo-5).

Şekil-2. GLF-1 kodlu örnekten hazırlanan alkaloit ekstresine ait GC-MS kromatogramı

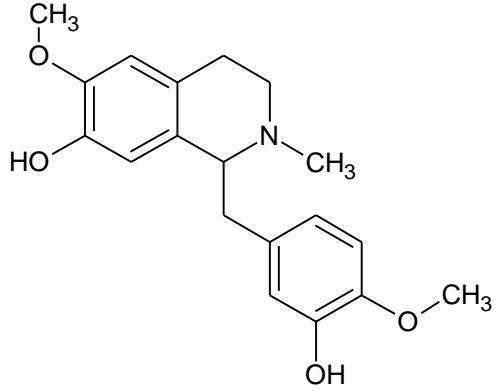
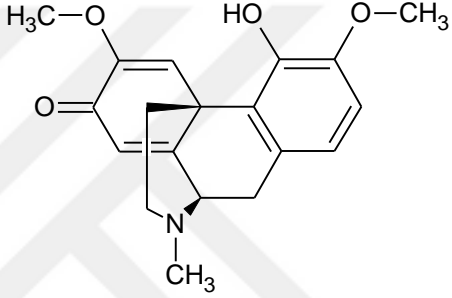
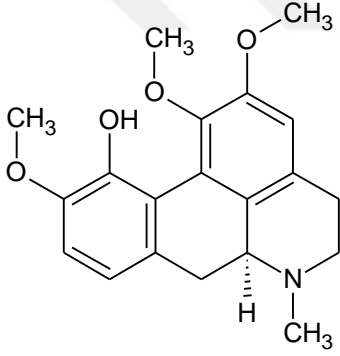
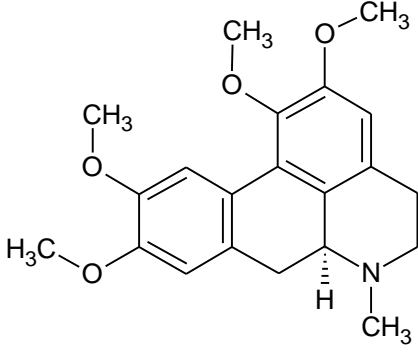


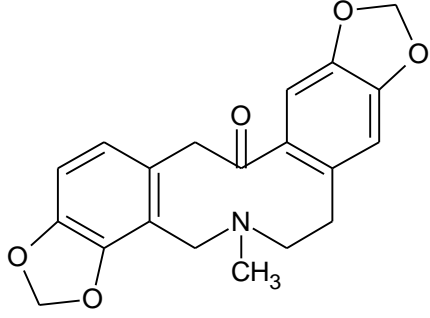
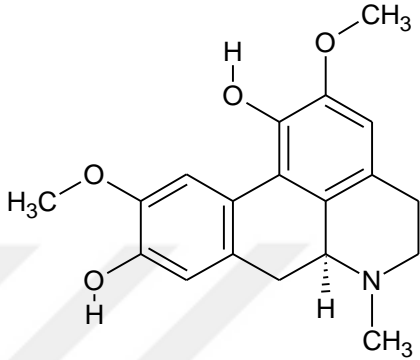
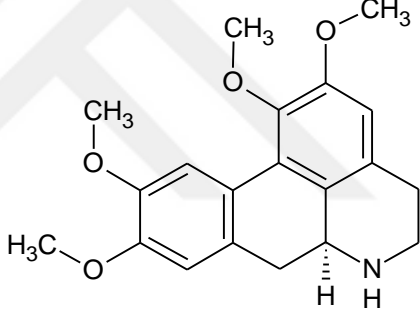
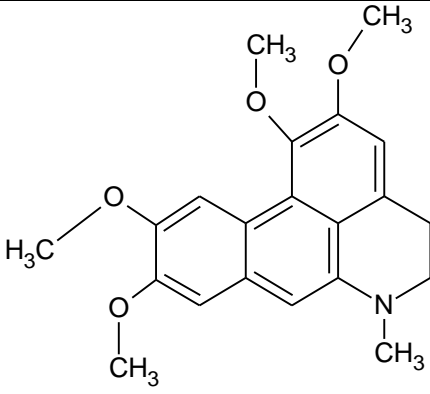
Tablo-6. GLF-1 kodlu örnekte bulunan alkaloid yüzdesi

No	Bileşik İsmi	RT	MA	%
1.	Retikulin	22,77	329	0.11
2.	M329	22,85	329	0.19
3.	Salutaridin	23,40	327	0.07
4.	İzokoridin	24,57	341	0.42
5.	M325	24,93	325	0.37
6.	Glausin	25,24	355	82.37
7.	Protopin	25,94	353	2.27
8.	İzoboldin	26,51	327	1.45
9.	M369	26,69	369	0.39
10.	Norglausin	26,82	341	1.84
11.	Dehidroglausin	29,24	353	8.17

*RT: Retansiyon zamanı, MA: Molekül Ağırlığı

Tablo-7. GLF-1 kodlu örnekte bulunan alkaloidlerin kimyasal formülü

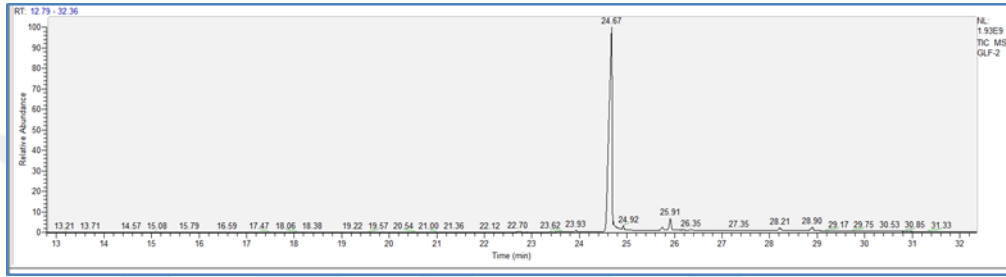
No	Bileşik İsmi	Kimyasal Formül
1.	Retikulin	
3.	Salutaridin	
4.	İzokoridin	
6.	Glausin	

7.	Protopin	
8.	İzoboldin	
10.	Norglausin	
11.	Dehidroglausin	

GLF-2 kodlu bitkiden hazırlanan ekstreye GC-MS tekniği uygulanmış ve bitkinin alkaloid profili çıkarılmıştır. Alkaloidlerin birbirlerine göre bulunuşları yüzde olarak

hesaplanmıştır. %93,39 izokoridin, %3,74 protopin, %1,03 M341, %1,00 N-metillaurotetanin, %0,80 M355 ve %0,05 retikulin, Mordoğan, İzmir’den toplanan GLF-2 kodlu bitkide saptanmıştır (Tablo-7).

Şekil-3. GLF-2 kodlu örnekten hazırlanan alkaloid ekstresine ait GC-MS kromatogramı

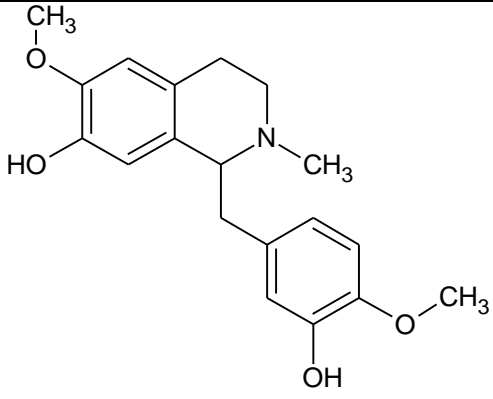
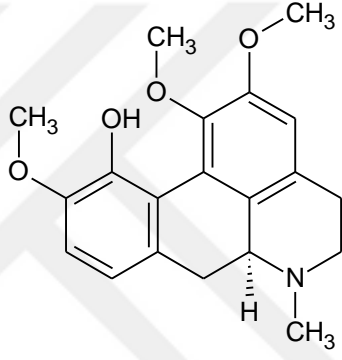
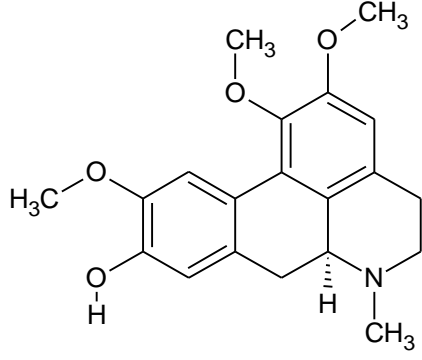
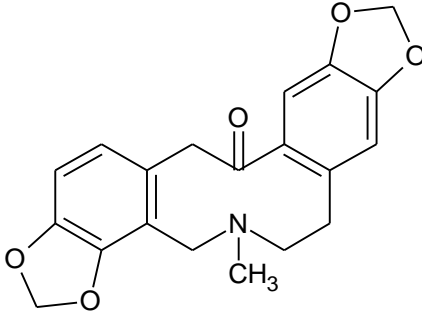


Tablo-8. GLF-2 kodlu örnekte bulunan alkaloid yüzdesi

No	Bileşik İsmi	RT	MA	%
1.	Retikulin	22,76	329	0.05
2.	İzokoridin	24,67	341	93.38
3.	N-Metillaurotetanin	24,92	341	1.00
4.	M355	25,74	355	0.80
5.	Protopin	25,91	353	3.74
6.	M341	28,88	341	1.03

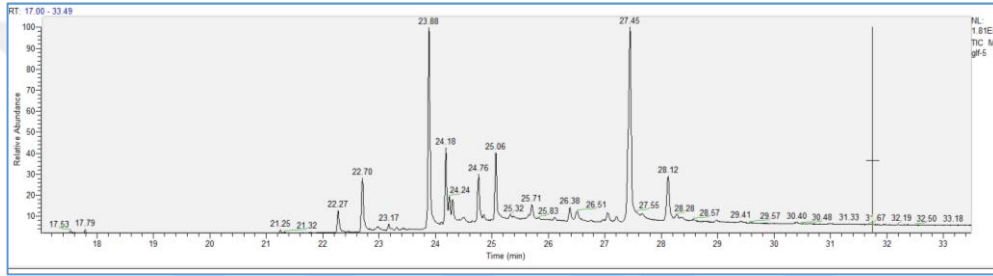
*RT: Retansiyon zamanı, MA: Molekül Ağırlığı

Tablo-9. GLF-2 kodlu örnekte bulunan alkaloidlerin kimyasal formülü

No	Bileşik İsmi	Kimyasal Formül
1.	Retikulin	
2.	İzokoridin	
3.	<i>N</i> -metillaurotetanin	
5.	Protopin	

GLF-3 kodlu bitkiden hazırlanan ekstreye GC-MS tekniği uygulanmış ve bitkinin alkaloid profili çıkarılmıştır. %35,7 M337, %25,96 reframidin, %8,27 M281, %8,02 M337, %8,00 retikulin, %7,85 M339, %3,12 M281, %1,72 M325 ve %1,36 norreframidin Karabiga, Çanakkale'den toplanan GLF-3 kodlu bitkide saptanmıştır (Tablo-9).

Şekil-4. GLF-3 kodlu örnekten hazırlanan alkaloid ekstresine ait GC-MS kromatogramı



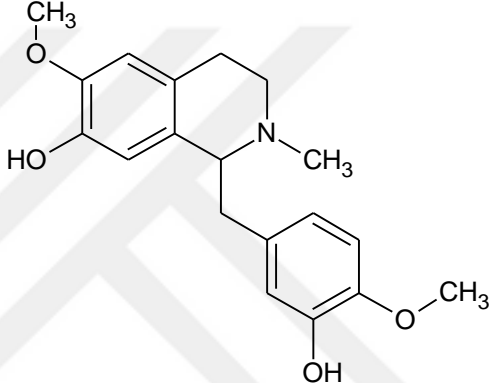
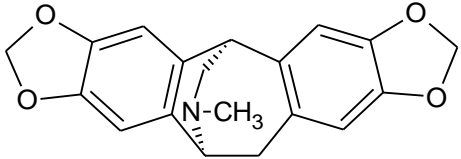
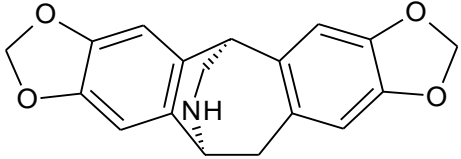
Tablo-10. GLF-3 kodlu örnekte bulunan alkaloid yüzdesi

No	Bileşik İsmi	RT	MA	%
1.	M281	22,27	281	3.12
2.	Retikulin	22,70	329	8.00
3.	Reframidin	23,89	323	25.96
4.	M337	24,18	337	8.02
5.	Norreframidin	24,24	309	1.36
6.	M325	24,30	325	1.72
7.	M281	25,06	281	8.27

8.	M337	27,45	337	35.70
9.	M339	28,12	339	7.85

*RT: Retansiyon zamanı, MA: Molekül Ağırlığı

Tablo-11. GLF-3 kodlu örnekte bulunan alkaloidlerin kimyasal formülü

No	Bileşik İsmi	Kimyasal Formül
2.	Retikulin	
3.	Reframidin	
5.	Norreframidin	

4.3. Biyolojik Aktivite Çalışmaları

GLF-1, GLF-2 ve GLF-3 bitkilerinin biyolojik aktivite deneyleri sonucu elde edilen sonuçlar aşağıdaki Tablo-12’de sunulmuştur.

Tablo-12. GLF-1, GLF-2 ve GLF-3 kodlu örneklerin biyolojik aktivite deneyleri sonucu

Kod	IC ₅₀ AChE (µg/mL)	IC ₅₀ BuChE (µg/mL)
GLF-1	14,18	35,25
GLF-2	21,01	33,38
GLF-3	8,98	17,46
Galantamin (Standart)	0,043	0,711

Biyolojik aktivite deneylerinde Ellman yöntemi, standart olarak AChE ve BuChE inhibitör etkisi bilinen galantamin kullanılmıştır.

AChE için IC₅₀ değeri; Bulancak, Giresun'dan toplanıp Şakran, İzmir'de kültürü yapılan GLF-1 kodlu bitkide 14,18 µg/mL, Mordoğan, İzmir'den toplanan GLF-2 kodlu bitkide 21,01 µg/mL ve Karabiga, Çanakkale'den toplanan GLF-3 kodlu bitkide 8,98 µg/mL'dir.

BuChE için IC₅₀ değeri; Bulancak, Giresun'dan toplanıp Şakran, İzmir'de kültürü yapılan GLF-1 kodlu bitkide 35,25 µg/mL, Mordoğan, İzmir'den toplanan GLF-2 kodlu bitkide 33,38 µg/mL ve Karabiga, Çanakkale'den toplanan GLF-3 kodlu bitkide 17,46 µg/mL'dir.

Tartışma

5.1. Kalite Kontrol Çalışmaları

Üç farklı lokasyondan toplanan *G. flavum* örneklerinde (GLF-1, GLF-2 ve GLF-3) “kurutmada kayıp, total kül, sülfat külü ve hidroklorik asitte çözünmeyen kül miktarı tayinleri” yapılmıştır. *Glaucium* genusu ile alakalı farmakope ve monografarda herhangi bir kayıt bulunmadığı için; bitkinin “kurutmada kayıp, total kül, sülfat külü ve hidroklorik asitte çözünmeyen kül miktarı tayinlerine” ait sınır değerler de bulunmamaktadır. Elde ettiğimiz sonuçlar ileride “Avrupa Farmakopesi Türk Adaptasyonu’nda” yer alabilecek *Glaucium flavum* monografında kullanılabilir.

Yapılan “kurutmada kayıp miktarı tayini sonuçları” üç örnekte de birbiriyle uyumlu olup sonuçlar oldukça yakındır. Ortalama olarak %8,0883 oranında kurutmada kayıp miktarı tespit edilmiştir. En fazla kurutmada kayıp miktarı GLF-3 kodlu örnekte saptanırken en az GLF-1 kodlu örnekte saptanmıştır; aradaki fark %0,2638’dir. Total kül ve sülfat külü miktarı tayini sonuçlarında örneklerde yaklaşık %1’lik farklar mevcuttur. GLF-1 ve GLF-2’de bulunan total kül miktarı %12’lik dilimin içindeyken GLF-3, %14 oranında total kül barındırmaktadır. Sülfat külü miktarı sonuçlarına bakıldığında ise ortalama $15 \pm 0,97$ kül miktarı olmakla birlikte örnekler arasında %1 civarı bir farklılık gözlenmiştir. “Hidroklorik asitte çözünmeyen kül miktarı” tüm örneklerde %0,2 nin altındadır. Sonuçlar birbiri ile uyumludur.

5.2. Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometrisi (GC-MS) Yöntemiyle Alkaloid

Teşhis Çalışmaları

Yapılan literatür araştırmasının sonucuna göre *Glaucium* türlerinde tespit edilen alkaloidler, alkaloidlerin teşhis yöntemi ve bitkinin teşhisde kullanılan kısımları Tablo-13’de gösterilmiştir.

Tablo-13. *Glaucium* türlerinde tespit edilen alkaloidler

No	Bitki türü	Çalışılan kısım	Alkaloid Teşhis Yöntemi	Tespit edilen alkaloidler	Kaynak
1.	<i>G. flavum</i>	Toprak üstü kısımları	¹ H-NMR ¹³ C-NMR	Glausin, katalan, oksoglausin ve pontevedrin	Arafa vd., 2016
2.	<i>G. flavum</i>	Toprak üstü kısımları	¹ H-NMR GC-MS	Glausin, izokoridin, izoboldin, norglausin, protopin, salutaridin, <i>N</i> -Me-sekoglausin, dehidroglausin ve allokriptopin	Doncheva vd., 2016
3.	<i>G. flavum</i>	Çiçeklenme dönemi toprak üstü kısımları	GC-MS	Salutaridin, protopin, izokoridin ve glausin	Nikolova vd., 2018
4.	<i>G. flavum</i>	Çiçekli bitkinin kökleri	HPLC	Protopin	Bournie vd., 2013
5.	<i>G. flavum</i>	Tüm kısımlar	UPLC	Metilhernovin, sanguinarin, glausin,	Och vd., 2017

				protopin ve <i>N,N</i> - dimetil- hernovin	
6.	<i>G. flavum</i>	Toprak üstü kısmıları	FTMS	Glausin ve izokoridin	Chang vd., 2015
7.	<i>G. flavum</i>	Kökleri	FTMS	Sanguinarin, keleritrin, allokriptopin, protopin, glausin ve izokoridin	Chang vd., 2015
8.	<i>G. flavum</i>	Yaprakları	İTK	Glausin, izoboldin, izokoridin, protopin, talikmidin, oksoglausin ve allokriptopin	Lovkova vd., 2008
9.	<i>G. flavum</i>	Çiçeklenme döneminde tüm kısmılar	Kolon kromatografisi	Glausin, izokoridin, protopin, allokriptopin, izoboldin, korunin, sanguinarin ve keletritrin	Kintsurashvili ve Vachnadze, 2000
10.	<i>G. corniculatum</i>	Çiçeklenme döneminde tüm	Kolon kromatografisi	Glausin, izokoridin, protopin,	Kintsurashvili ve Vachnadze,

		kısımlar		allokriptopin ve talikmidin	2000
11.	<i>G. flavum</i>	Sap ve yaprakları	Kolon kromatografisi	Glausin, dehidroglausin, taliporfin, izoboldin ve oksoglausin	Ivanovska ve Philipov, 1996
12.	<i>G. acutidentatum</i>	Toprak üstü kısımları	GC-MS	Glausin ve oksoberberin	Hamamcıoğlu vd., 2018
13.	<i>G. corniculatum</i>	Toprak üstü kısımları	GC-MS ¹ H-NMR	Glausin, protopin, allokriptopin, koridin, izokoridin, norglausin, kelidonin ve berberin	Doncheva vd., 2014
14.	<i>G. flavum</i>	Toprak üstü kısımları	¹ H-NMR ¹³ C-NMR	Glausin, talikmidin, izokoridin ve norizokoridin	Petitto, Serafini, Gallo, Multari ve Nicoletti, 2010
15.	<i>G. leicarpum</i> Boiss.	Toprak üstü kısımları	İTK	Glausin, dehidroglausin, oksoglausin, N-metilglausin, lastourvillin, predisentrin,	Sarı, 1999

				dihidroponte-vedrin, sekoglausin, protopin ve allokriptopin	
16.	<i>G. flavum</i>	Tüm kısımlar	İTK ¹ H-NMR	Didehidrogla- usin, dihidrokeliru- bin, norsanguinarin , norkelidonin ve katalin	Daskalova vd., 1988
17.	<i>G. flavum</i>	Tüm kısımlar	¹ H-NMR	Glausin, izokoridin, izoboldin ve salutaridin	Peled, Waisel ve Carmeli, 1988
18.	<i>G. grandiflorum</i> Boiss. ve Huet	Tüm kısımlar	Kromatografi	Norkelidonin, protopin, dihidrokeleritri n, 8- asetonildihidro keleritrin ve allokriptopin	el-Afifi, al- Eisawi, al- Khalil ve Schiff, 1986
19.	<i>G. flavum</i>	Tüm kısımlar	HPLC	Glausin	Pekic, Lepojevic, Slavica ve Petrovic, 1986

20.	<i>G. grandiflorum</i> <i>var torquatum</i>	Çiçeklenme döneminde tüm kısımlar	İTK	Glausin ve koridin	Gözler, 1982
21.	<i>G. grandiflorum</i> <i>var torquatum</i>	Çiçeklenme döneminde tüm kısımlar	¹ H-NMR	Kriptopin ve allokriptopin	Gözler, 1982

Üç farklı lokasyondan toplanan *G. flavum* bitkilerinin toprak üstü kısımları kurutulup toz edildi ve arkasından alkaloid ekstraktları hazırlanarak GC-MS tekniği kullanılarak alkaloid profili oluşturuldu. Bitki örneklerinin GC-MS spektrumlarında gözlemlenen pikler çözümlenirken başlıca Ege Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakognози Anabilim Dalı'nda başta Papaveraceae familyası olmak üzere izokinolin alkaloidleri içeren çeşitli familyaların türlerinde şimdiye kadar yapılmış olan izolasyon çalışmaları sonucunda yapısı aydınlatılıp saf olarak elde edilmiş yüz civarı alkaloidin önceden GC-MS cihazında kromatogramları alınarak oluşturulmuş 'İzokinolin Alkaloidleri GC-MS kütüphanesi'nden yararlanılmıştır. Bunun yanında NIST MS Search 2.0 (National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD, USA) veri tabanı ve mevcut literatür bilgisinden yararlanılmıştır. Bu veriler ışığında yapısı tespit edilemeyen ancak GC-MS spektrumuna bakıldığında izokinolin alkaloidlerinin spesifik parçalanma ürünlerine sahip olduğu saptanan maddeler molekül ağırlıkları kod olarak verilerek tabloda yer almıştır.

GLF-1 kodlu örnekte major alkaloid glausin, GLF-2 kodlu örnekte izokoridin ve GLF-3 kodlu örnekte M337 kodlu alkaloiddir. GLF-1 kodlu bitki en çeşitli alkaloid profiline sahiptir. Literatüre göre *Glaucium* türlerinde en sık rastlanan alkaloidler glausin, protopin ve izokoridin alkaloidleridir. *Glaucium* türlerinden literatüre en çok konu olmuş tür *Glaucium flavum*'dur. Bir çok *Glaucium flavum* türünde major alkaloid olarak glausine rastlanmakla birlikte, literatürden farklı olarak GLF-2 ve GLF-3 kodlu örneklerde glausine rastlanmamıştır. Her üç örnekte de retikulin

alkaloidi bulunmaktadır. İzokoridin ve protopin çalıştığımız üç bitkiden ikisinde bulunmaktadır. GLF-2 kodlu örnekte saptanan *N*-metillaurotetanin alkaloidi tür bazında ilk defa tarafımızdan *G. flavum* bitkisinde teşhis edilmiştir. GLF-3 kodlu örnekte bulunan reframidin ve norreframidin alkaloidleri ise daha önce literatürde *Glaucium* türlerinde rastlanmamıştır. Papaveraceae familyasından *Roemeria refracta* ve *Papaver anomalum* bitkisinde reframidin daha önce rapor edilmiştir (Gözler, B., Gözler, T., Freyer ve Shamma, 1998; Southon ve Buckingham, 1989). Norreframidin ise *Roemeria refracta* bitkisinde saptanmıştır (Gözler vd., 1998). Reframidin ve norreframidin alkaloidlerinin, mevcut bilgilerimize göre ilk defa *Glaucium* genusunda varlığı bu çalışmada gösterilmiştir. Literatürde glausin, protopin ve izokoridin alkaloidlerinden sonra *Glaucium* türlerinde en sık rastlanan alkaloidler arasında yer alan salutaridin alkaloidi GLF-1 kodlu örnekte %0,07 oranında tespit edilmiştir. Diğer örneklerde bu alkaloidler GC-MS spektrumlarında gözlenmemiştir.

5.3. Biyolojik Aktivite Çalışmaları

Üç farklı lokasyondan toplanan *G. flavum* bitkilerinin toprak üstü kısımları kurutulup toz edildi ve ekstraları hazırlandı. Ekstrelerin AChE ve BuChE inhibitör aktivitesi, Ellman yöntemiyle tespit edildi. Standart olarak galantamin kullanıldı. Ekstrelerin IC₅₀ değerlerine bakıldığında azalan sırayla GLF-3, GLF-1 ve GLF-2 örneklerinin AChE enzimini inhibe etme özelliği olduğu görüldü. Ekstrelerin BuChE enzimini inhibe etme özelliği ise azalan sırayla GLF-3, GLF-2 ve GLF-1'dir. AChE ve BuChE enzimini inhibe etme özelliği en fazla olan örnek Karabiga, Çanakkale'den toplanan GLF-3 kodlu örnektir.

Tablo-14. *Glaucium* ekstrelerinin literatürde bulunan biyolojik aktivite sonuçları

No	Bitki Adı	AChE % veya IC ₅₀	BuChE IC ₅₀	Literatür
1.	<i>G. grandiflorum</i> var. <i>grandiflorum</i>	0,12 mg/ml	-	Özsoy vd., 2018
2.	<i>G. corniculatum</i> (L.) J. H. Rudolph	%9,34 (10 µg/ml)	0 (10 µg/ml)	Orhan vd., 2004
3.	<i>G. flavum</i>	%30,06 (10 µg/ml)	-	Berkov, Bastida, Nikolova, Viladomat ve Codina, 2008
4.	<i>G. flavum</i>	6,81 µg/ml	13,18 µg/ml	Puzyrevska, 2017

*-: BuChE inhibitör aktivitesi çalışılmamıştır.

Daha önce çalışılıp literatüre girmiş *Glaucium* türlerinin hepsinde, bizim bulgularımızda da olduğu gibi, AChE inhibitör etki saptanmıştır (Berkov vd., 2008; Orhan vd., 2004; Özsoy vd., 2018; Puzyrevska, 2017). Literatürde *G. corniculatum* (L.) J. H. Rudolph bitkisinin ekstresinin BuChE inhibitör aktivitesi yokken, *G. flavum* bitkilerinde BuChE inhibitör aktivite vardır (Berkov vd., 2008; Orhan vd., 2004; Puzyrevska, 2017). Çalışılan örneklerimizin hepsinde BuChE inhibitör aktivite saptanmıştır.

AChE enzimini inhibe etme yeteneği en fazla olan GLF-3 kodlu örneğin içerdiği alkoit profiline bakıldığında reframidin ve norreframidine ilişkin AChE enzimini inhibe etme yeteneği ile ilgili bir literatür yoktur. Ayrıca bu örnekte major alkoiti dahil olmak üzere önceden tanımlanmamış alkoitler bulunduğundan AChE

enzimini inhibe etme yeteneğinin sahip olduğu farklı yapıdaki kimyasal bileşenleriyle alakalı olduğu düşünülebilir.

AChE enzimini inhibe etme yeteneği açısından ikinci sırada bulunan GLF-1 kodlu örneğin içeriğinin çoğunu oluşturan glausin ve dehidroglausinin AChE için IC₅₀ değerlerine bakıldığında glausin için yaklaşık 89 µM ve dehidroglausin için yaklaşık 128 µM olduğunu görüyoruz (Hung, T. M. vd., 2011; Klicova, 2018; Murray, Faraoni, Castro, Alza ve Cavallaro, 2013; Tao, Jiang, Li ve Cai, 2016; Ulrichova, Walterova, Preininger ve Simanek, 1983). GLF-1 kodlu örneğin inhibisyon derecesinin çok yüksek olmamasının fakat inhibisyon özelliğinin var olmasının sebebi bitkinin içerdiği glausin kaynaklı olabileceği düşünülmektedir. Bitkinin içerdiği diğer alkaloidlerin literatürdeki AChE için IC₅₀ değerlerine bakıldığında; norglausin ve salutaridin alkaloidlerinin AChE için IC₅₀ değerlerinin 1000 µM'dan büyük olduğu yani inhibisyon üzerinde etkisi olmadığı anlaşılmaktadır (Cahlikova, Macakova vd., 2010; Hruskova, 2018). İçerdiği izokoridin alkaloidinin AChE için IC₅₀ değerlerinin ya olmadığı ya da 50 µM'dan büyük olduğu, retikulin alkaloidinin AChE için IC₅₀ değerlerinin 50 µM'dan büyük olduğu görülmektedir (Cahlikova, Macakova vd., 2010; Host'alkova, 2015; Host'alkova, Opletal vd., 2015; Hung, T. vd., 2010; Lee, Wu, Tsai ve Chen, 2015; Murray vd., 2013; Ulrichova vd., 1983; Wan Othman vd., 2016). İçerdiği izoboldin alkaloidinin AChE için IC₅₀ değerlerinin literatürde 8,4±10 µM olmasına karşın bitki alkaloidlerinin %1,45'ini oluşturuyor olması inhibisyonda çok katkıda bulunamayacağını düşündürmekle birlikte bilindiği gibi farklı kimyasal yapılara sahip çok sayıda bileşenden oluşan bitki ekstraktlarında her bir bileşenin biyolojik aktivite potansiyelinin, karışım halinde sinerjik etki oluşturarak aktiviteyi artırdıkları bir gerçektir (Murray vd., 2013). Başka bir deyişle tek başlarına ortalama biyolojik aktiviteye sahip olan bileşenler bir araya geldiklerinde sinerjik etki göstererek total etkiyi oldukça artırabilir, tek başına gösterdikleri etkiden çok daha kuvvetli aktivite sonuçları sergileyebilirler.

AChE enzimini inhibe etme yeteneği açısından son sırada bulunan GLF-2 kodlu bitkiden elde edilen örnek, en iyi AChE inhibisyonu özelliği gösteren GLF-3 kodlu bitkiden elde edilen örnekle karşılaştırıldığında inhibisyon oranının yarısından bile düşük olduğu görülmektedir. GLF-2 kodlu bitkinin alkaloid içeriğinin %93,38'ni kapsayan ve bitkinin major alkaloidi olan izokoridin literatürde AChE için IC₅₀ değerine bakıldığında ya etkisinin hiç olmadığı ya da oldukça düşük olduğu

görülmektedir (Host'alkova, 2015; Host'alkova, Opletal vd., 2015; Huang, Su ve Li, 2013; Hung, T. vd., 2010; Ulrichova vd., 1983). İçeriğinin %3,74'ünü oluşturan protopinin ise AChE için IC₅₀ değerinin elde edildiği bitkiden bitkiye farklılık gösterdiği fakat inhibisyon oranının genellikle yüksek olmadığı saptanmıştır (Ahmed, Ghalib, Sasikala ve Mueen, 2013; Cahlikova, Macakova vd., 2010; Cahlikova, Opletal vd., 2010; Chlebek vd., 2016; Hung, T. M. vd., 2011; Kim, D. K. vd., 2004; Kim, S. R. vd., 1999; Murray vd., 2013; Puzyrevska, 2017; Şener ve Orhan, 2005; Siatka vd., 2017; Tao vd., 2016; Wangchuk vd., 2012; Xiao vd., 2011). İçerdiği diğer alkaloidler *N*-metillaurotetanin ve retikulindir. Bu iki alkaloidin de AChE için IC₅₀ değeri 500 µM'dan fazla olup aktif olarak değerlendirilmemektedir (Cahlikova, Macakova vd., 2010; Chlebek vd., 2011; Chlebek, 2012; Hosta'lkova, 2015; Klicova, 2018; Lee vd., 2015; Murray vd., 2013; Puzyrevska, 2017; Wan Othman vd., 2016).

BuChE enzimini inhibe etme yeteneği en fazla olan GLF-3 kodlu bitkinin major alkaloidi de dahil olmak üzere diğer önceden saptanmamış alkaloidleri, reframidin ve norreframidin için BuChE enzimini inhibe etme aktiviteleriyle ilgili veri yoktur. İçerdiği retikulün ise literatürde 33 µM ve 65 µM arasında BuChE için IC₅₀ değerine sahiptir (Cahlikova, Macakova vd., 2010; Hosta'lkova, 2015; Lee vd., 2015; Murray vd., 2013; Wan Othman vd., 2016). Önceden saptanmamış alkaloidleri ile beraber retikulünün de BuChE inhibitör aktivite üzerinde etkili olduğu düşünülebilir.

BuChE enzimini inhibe etme yeteneği açısından ikinci sırada bulunan GLF-2 kodlu bitkinin major alkaloidi olan izokoridin alkaloidinin BuChE enzimini inhibe etme yeteneği çeşitli literatürlerde değişkenlik göstermektedir. BuChE için IC₅₀ değerinin ya 1000 µM'dan ya da 100 µM'dan yüksek olduğu literatürde geçmekle birlikte genel olarak aktif bulunmadığını söylemek mümkündür (Hosta'lkova, 2015; Host'alkova, Opletal vd., 2015; Huang vd., 2013; Hung, T. vd., 2010; Ulrichova vd., 1983). Diğer alkaloidlerinin literatürdeki BuChE için IC₅₀ değerleri; protopin için 26 µM ve 333 µM arasında, *N*-metillaurotetanin için 1000 µM'dan yüksek olduğu ve retikulün için 33 µM ve 65 µM arasında olduğu görülmüştür (Ahmed vd., 2013; Cahlikova, Macakova vd., 2010; Cahlikova, Opletal vd., 2010; Chlebek vd., 2011; Chlebek vd., 2012; Chlebek vd., 2016; Hosta'lkova, 2015; Host'alkova, Opletal vd., 2015; Huang vd., 2013; Hung, T. vd., 2010; Hung, T. M. vd., 2011; Kim, D. K. vd., 2004; Kim, S. R. vd., 1999; Klicova, 2018; Murray vd., 2013; Puzyrevska, 2017;

Siatka vd., 2017; Şener ve Orhan, 2005; Tao vd., 2016; Ulrichova vd., 1983; Wan Othman vd., 2016; Wangchuk vd., 2012; Xiao vd., 2011). Retikulin alkaloitinin, GLF-2 örneğinin alkaloitleri arasında sadece %0,05 oranında yer bulması, bitkinin BuChE inhibitör aktivitesiyle direkt olarak ilişkilendirilmesini mümkün kılmamaktadır.

BuChE enzimini inhibisyonu aktivitesi en düşük olan bitki GLF-1 kodlu bitkidir. İçerdiği major alkaloit olan glausinin BuChE üzerine inhibitör etkisi, literatürde inaktif olduğu yönündedir. Literatürde içeriğindeki diğer alkaloitlerden dehidroglausin ve izoboldin için BuChE inhibitör aktivite çalışılmamıştır. Norglausin ve salutaridinin BuChE inhibitör aktivitesi yoktur (Cahlikova, Macakova vd., 2010; Hruskova, 2018). Literatürde BuChE için IC₅₀ değerleri; protopin için 26 µM ve 333 µM arasında ve retikulin için 33 µM ve 65 µM arasında verilmiştir (Ahmed vd., 2013; Cahlikova, Macakova vd., 2010; Cahlikova, Opletal vd., 2010; Chlebek vd., 2016; Hung, T. M. vd., 2011; Kim, D. K. vd., 2004; Kim, S. R. vd., 1999; Lee vd., 2015; Murray vd., 2013; Puzyrevska, 2017; Siatka vd., 2017; Şener ve Orhan, 2005; Tao vd., 2016; Wan Othman vd., 2016; Wangchuk vd., 2012; Xiao vd., 2011). Bitki içeriğindeki protopin ve retikulin toplamda alkaloit içeriğinin %2,38'ini oluşturmaktadır. Bu alkaloitler BuChE inhibitör aktivitenin görülmesinde etkili olmuş olabilir. Diğer bir alkaloiti olan izokoridinin literatürde belirgin bir BuChE inhibitör aktivitesi bulunmamaktadır (Hosta'lkova, 2015; Host'alkova, Opletal vd., 2015; Ulrichova vd., 1983). İzokoridinin ekstrede bulunma oranının da düşük (%0,42) olmasından dolayı BuChE inhibitör aktiviteye katkı sağlamadığını düşünebiliriz.

Tablo-15. GLF-1, GLF-2 ve GLF-3 örneklerinden elde edilen alkaloitlerin, literatürdeki AChE ve BuChE inhibisyon değerleri

No	Elde Edilen Bitki	Alkaloit	AChE % veya IC ₅₀ (µM)	BuChE IC ₅₀ (µM)	Literatür
1.	<i>Corydalis</i>	Protopin	16,1	-	Kim, D.K. vd.,

	<i>speciosa</i> <i>maxim.</i>				2004; Ahmed vd., 2013
2.	<i>Chelidonium</i> <i>majus</i>	Protopin	423±20,5	322±13,3	Cahlikova, Opletal vd., 2010
3.	<i>Corydalis</i> <i>ternata</i>	Protopin	50	-	Kim, S. R. vd., 1999; Ahmed vd., 2013
4.	<i>Corydalis</i> <i>tuber</i>	Protopin	10,2±0,3	26,8±3,2	Hung, T. M. Vd., 2011; Murray vd., 2013
5.	<i>Corydalis</i> <i>yanhusuo</i>	Protopin	591±33	-	Xiao vd., 2011
6.	<i>Corydalis</i> <i>yanhusuo</i>	Protopin	128,55±3,91	-	Tao vd., 2016
7.	<i>Eschscholzia</i> <i>californica</i>	Protopin	423±10,5	333±3,3	Cahlikova, Macakova vd., 2010
8.	<i>Fumaria</i> <i>vaillantii</i>	Protopin	18,1	-	Şener ve Orhan, 2005
9.	<i>Glaucium</i> <i>flavum</i>	Protopin	230±21	208,9±17,7	Puzyrevska, 2017
10.	<i>Argemone</i> <i>platyceras</i>	Protopin	230±21	208,9±17,7	Siatka vd., 2017
11.	<i>Fumaria</i> <i>officinolis</i>	Protopin	230±21	209±18	Chlebek vd., 2016
12.	<i>Peumus</i>	Ízokoridin	>1000	>1000	Host'alkova,

	<i>boldus</i>				Opletal vd., 2015
13.	<i>Stephania rotunda</i> Lour.	Ízokoridin	>50	-	Hung, T. vd., 2010
14.		Ízokoridin	>1000	>100	Ulrichova vd., 1983
15.	<i>Peumus boldus</i> Mol.	Ízokoridin	>1000	657,1	Host'alkova, 2015
16.	<i>Stephania rotunda</i>	Ízokoridin	>50	-	Huang vd.,2013
17.	<i>Corydalis tuber</i>	Ízoboldin	8,4±10	-	Huang vd.,2013; Murray vd.,2013
18.		Glausin	Ínhibisyon yok	Ínhibisyon yok	Ulrichova vd., 1983
19.	<i>Corydalis tuber</i>	Glausin	89±0,8	-	Hung,T. M. vd., 2011; Murray vd.,2013
20.	<i>Liriodendron tulipifera</i> L.	Glausin	89±0,8	-	Klicova, 2018
21.	<i>Liriodendron tulipifera</i> L.	Norglausin	3771±1230	8032±1671	Hruskova, 2018
22.	<i>Corydalis yanhusuo</i>	Dehidroglausin	128,55±3,91	-	Tao vd., 2016
23.	<i>Peumus boldus</i>	N-metillaurotetanin	898±10,5	>1000	Host'alkova, 2015
24.	<i>Liriodendron</i>	N-metillaurotetanin	898±10,5	>1000	Klicova, 2018

	<i>tulipifera</i> L.				
25.	<i>Eschscholzia californica</i>	<i>N</i> -metillaurotetanin	898±10,5	>1000	Cahlikova, Macakova vd., 2010
26.	<i>Glaucium flavum</i>	<i>N</i> -metillaurotetanin	898±100,5	>1000	Puzyrevska, 2017
27.	<i>Corydalis cava</i>	<i>N</i> -metillaurotetanin	898±10,5	>1000	Chlebek vd., 2012
28.	<i>Peumus boldus</i> Mol.	<i>N</i> -metillaurotetanin	898,03±10,52	>1000	Host'alkova, 2015
29.	<i>Cryptocarya infectoria</i>	<i>N</i> -metillaurotetanin	Test edilmemiş	218,81	Wan Othman vd., 2016
30.	<i>Corydalis cava</i>	<i>N</i> -metillaurotetanin	898±10,5	>1000	Chlebek vd., 2011
31.	<i>Peumus boldus</i> Mol.	Retikulin	509,05±44,25	33,61±3,04	Host'alkova, 2015
32.	<i>Anona glabra</i>	Retikulin	%24,3±6 (10 µg/ml)	-	Lee vd., 2015
33.	<i>Cryptocarya griffithiana</i>	Retikulin	301,01	65,04	Wan Othman vd., 2016
34.	<i>Eschscholzia californica</i>	Retikulin	509±4,4	43,9±1,1	Cahlikova, Macakova vd., 2010
35.	<i>Corydalis tuber</i>	Retikulin	509,05±44,25	33,61±3,04	Murray vd., 2013

36.	<i>Eschscholzia californica</i>	Salutaridin	>1000	>1000	Cahlikova, Macakova vd., 2010
-----	---------------------------------	-------------	-------	-------	-------------------------------------

*-: Aktivite çalışılmamıştır.



Sonuç ve Öneriler

Ülkemizin biyolojik bir zenginliği olan *G. flavum* üç farklı lokasyondan toplanarak kalite kontrol, alkaloid teşhis ve biyolojik aktivite çalışmaları yapılmıştır. Sonuçlar birbirleriyle karşılaştırılmıştır.

Kalite kontrol çalışmalarının sonucuna göre; kurutulup toz edilmiş bitkilere uygulanan kurutmada kayıp miktarları %8 dolaylarındadır, bitkilerin total kül miktarları karşılaştırıldığında ortalama %12,99'dur ve yaklaşık %1'lik farklar mevcuttur, sülfat külü miktarları ortalama %15,86'dır, hidroklorik asitte çözünmeyen kül miktarı %0,16 olarak tespit edilmiştir.

Bitki ekstralarında GC-MS yöntemi ile saptanan alkaloidlere bakıldığında, farklı lokasyonlardan toplanan bitkilerin major alkaloidleri de dahil olmak üzere farklı alkaloid profillerine sahip olduğu görülmektedir. *N*-metillaurotetanin, *G. Flavum* türünde ilk kez, Reframidin ve norreframidin alkaloidleri ise *Glaucium* genusunda ilk kez tarafımızdan bu çalışmada rapor edilmiştir.

Bitkilerde saptanan AChE ve BuChE inhibitör aktivite sonuçlarına bakıldığında en yüksek inhibitör etki GLF-3 kodlu örnekte tespit (AChE için IC₅₀, 8,98 µg/ml; BuChE için IC₅₀, 17,46 µg/ml) edilmiştir.

Aynı türün farklı lokasyonlardan toplanan örneklerinin farklı kimyasal içeriğe sahip olduğunu ve alkaloidlerin farklı oranlarda bulunduğunu tespit ettiğimiz bu çalışma *Glaucium flavum* türünün kemotaksonomik açıdan önemini ortaya koymaktadır. Az miktarda örnekle pratik ve doğru sonuçlar alabildiğimiz GC-MS yöntemi, özellikle zengin kimyasal içeriğe sahip ve yeni madde içerme olasılığı yüksek örnekleri belirlemek ve böylelikle daha ileri izolasyon ve yapı tayini çalışmalarını gerçekleştirmek için iyi bir rehberdir. Bu çalışmanın sonuçları ışığında hem biyolojik olarak aktif hem de kimyasal profil açısından zengin olan GLF-1 ve GLF-3 kodlu örnekler ileride yapılacak olan daha kapsamlı fitokimyasal çalışmalar için tercih edilebilir.

Kaynaklar

- Ahmed, F., Ghalib, R., Sasikala, P. ve Mueen Ahmed, K. (2013). Cholinesterase Inhibitors from Botanicals. *Pharmacognosy Reviews*, 7(14), s. 122. doi:10.4103/0973-7847.120511
- al-Qura'n, S. (2009). Ethnopharmacological Survey of Wild Medicinal Plants in Showbak, Jordan. *Journal of Ethnopharmacology*, 123(1), s.47. doi:10.1016/j.jep.2009.02.031
- Arafa, A. M., Mohamed, M. E. ve Eldahmy, S. I. (2016). The Aerial Parts of Yellow Horn Poppy (*Glaucium flavum* Cr.) Growing in Egypt: Isoquinoline Alkaloids and Biological Activities. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research; Cuddalore*, 8 (5), (s.323-330).
- Asencio, M., Hurtado-Guzman, C., Lopez, J. J., Cassels, B. K., Protais, P. ve Chagraoui, A. (2005). Structure–affinity Relationships of Halogenated Predicentrine and Glaucine Derivatives at D1 and D2 Dopaminergic Receptors: Halogenation and D1 Receptor Selectivity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 13 (11), s. 3702. doi: 10.1016/j.bmc.2005.03.022
- Avrupa Farmakopesi Türk Adaptasyonu (2004). (s.117-265).
- Bajic, V., Milovanovic, E. S., Spremo-Potparevic, B., Zivkovic, L., Milicevic, Z., Stanimirovic, J., Bogdanovic, N. ve Isenovic, E. R. (2016). Treatment of Alzheimer's Disease: Classical Therapeutic Approach. *Current Pharmaceutical Analysis*, (s. 12).
- Bartus, R.T., Dean, R. L., Beer, B. ve Lippa, A. S. (1982). The Cholinergic Hypothesis of Geriatric Memory Dysfunction. *Science*, 217 (4558), s.409 s.412-414 doi: 10.1126/science.7046051
- Baytop, T. (2007). Türkçe Bitki Adları Sözlüğü. (3. Baskı), (s.51-52). Ankara: Türk Dil Kurumu
- Berkov, S., Bastida, J., Nikolova, M., Viladomat, F. ve Codina, C. (2008). Rapid TLC/GC-MS identification of Acetylcholinesterase Inhibitors in Alkaloid Extracts. *Phytochemical Analysis*, 19(5), s. 413. doi:10.1002/pca.1066
- Bournine , L., Bensalem, S., Peixoto, P., Gonzalez, A., Maiza-Benabdesselam, F., Bedjoua, F., ... Bellahcène, A. (2013). Revealing The Anti-Tumoral Effect of Algerian *Glaucium flavum* Roots Against Human Cancer Cells.

- Phytomedicine, 20, (s. 1212), (s. 1214-1217).
doi:10.1016/j.phymed.2013.06.007
- Brickell, C. D. (1984). In Flora of Turkey and the East Aegean Islands (8. Cilt).
Davis, P. H. (Ed.), *Glaucium adans* (s.214-216). Edinburgh: Edinburgh
University Press
- Brummitt, R. K. (1992). Vascular Plant Families and Genera, Royal Botanic
Gardens, Kew
- Cabo, J., Cabo, P., Jimenez, J. ve Zarzuelo, A. (1988). *Glaucium flavum* Crantz. Part
V: Hypoglycemic Activity of The Aqueous Extract, Phytherapy Research,
2 (4), s.199-200. doi:10.1002/ptr.2650020411
- Cahlikova, L., Macakova, K., Kunes, J., Kurfürst, M., Opletal, L., Cvacka, J., ...
Blunden, G. (2010). Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase
Inhibitory Compounds from *Eschscholzia californica* (Papaveraceae).
Natural Product Communications, 5(7), s. 1037.
doi:10.1177/1934578x1000500710
- Cahlikova, L., Opletal, L., Kurfürst, M., Macakova, K., Kulhankova, A. ve
Hostalkova, A. (2010). Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase
Inhibitory Compounds from *Chelidonium majus* (Papaveraceae). Natural
Product Communications, 5(11), s. 1752.
doi:10.1177/1934578x1000501110
- Chang, L., Hagel, J. M. ve Facchini, P. J. (2015). Isolation and Characterization of
O-methyltransferases Involved in the Biosynthesis of Glaucine in *Glaucium
flavum*. Plant Physiology, 169, (s. 1127).
- Chen, X, Guo, C. ve Kong, J. (2012). Oxidative Stress in Neurodegenerative
Diseases. Neural Regen Research, 7 (5), s.9, doi: 10.3969/j.issn.1673-
5374.2012.05.009
- Chlebek, J., Macakova, K., Cahlikova, L., Kurfürst, M., Kunes, J. ve Opletal, L.
(2011). Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase Inhibitory
Compounds from *Corydalis cava* (Fumariaceae). Natural Product
Communications, 6(5), s. 608. doi:10.1177/1934578x1100600507
- Chlebek, J. (2012). Studium Biologicke Aktivity Alkaloidu Izolovanyh Z *Corydalis
cava* (Fumariaceae). (s. 85).

- Chlebek, J., Novak, Z., Kassemova, D., Safratova, M., Kostelnik, J., Maly, L., ... Cahlikova, L. (2016). Isoquinoline Alkaloids from *Fumaria officinalis* L. and Their Biological Activities Related to Alzheimer's Disease. *Chemistry & Biodiversity*, 13(1), s. 96. doi:10.1002/cbdv.201500033
- Constant, O., Slavin, B., Lehane, J. R., Jordan, C. ve Jones, J. G. (1983). Effect of The Antitussive Glaucine on Bronchomotor Tone in Man. *Thorax*, 38, (s. 539).
- Cortijo, J., Villagrasa, V., Pons, L., Berto, L., Martí-Cabrera, M., Martínez-Losa, ... Morcillo, E. J. (1999). Bronchodilator and Anti-Inflammatory Activities of Glaucine: In Vitro Studies In Human Airway Smooth Muscle and Polymorphonuclear Leukocytes. *British Journal of Pharmacology*, 127 (7), s. 1644-1649. doi: 10.1038/sj.bjp.0702702
- Dargan, P. I., Button, J., Hawkings, L., Archer, J. R. H., Ovaska, H., Lidder, S., ... Wood, D. M. (2008). Detection of the Pharmaceutical Agent Glaucine as a Recreational Drug. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 64, s. 554. doi: 10.1007/s00228-007-0451-9
- Daskalova, E., Iskrenova, E., Kiryakov, H. G. ve Evstatieva, L. (1988). Minor Alkaloids of *Glaucium flavum*. *Phytochemistry*, 27(3), s. 953-954. doi:10.1016/0031-9422(88)84134-7
- Deniz, L., Serteser, A. ve Kargıoğlu, M. (2011). Uşak Üniversitesi ve Yakın Çevresindeki Bazı Bitkilerin Mahalli Adları ve Etnobotanik Özellikleri. *AKÜ Fen Bilimleri Dergisi*, 2010-01, (s.66).
- Doncheva, T., Kostova, N., Yordanova, G., Saadi, H., Akrib, F., Dimitrov, D. ve Philipov, S. (2014). Comparison of Alkaloid Profile from *Glaucium corniculatum* (Papaveraceae) of Algerian and Bulgarian Origin. *Biochemical Systematics and Ecology*, 56, s. 278–280. doi:10.1016/j.bse.2014.07.007
- Doncheva, T., Doycheva, I. ve Philipov, S. (2016). Alkaloid Chemotypes Of *Glaucium flavum* (Papaveraceae) From Bulgaria. *Biochemical Systematics and Ecology*, 68, s.1-3. doi: 10.1016/j.bse.2016.06.014
- Doody, R. S. (2003). Current Treatments for Alzheimer's Disease: Cholinesterase Inhibitors. *The Journal of Clinical Psychiatry*, 64 (9), (s. 11-17).

- Dünya Doğa ve Doğal Kaynakları Koruma Birliği. Erişim adresi:
<https://www.iucnredlist.org/species/165436/1082657>
- Erdem, A., Veliöđlu, H. M., Yıkılmaz, F. ve Kuloğlu-Akpınar, F. (Ed.) (2011).
Tekirdağ Değerleri Sempozyumu. (s. 41). İstanbul: Ege Basım
- el-Afifi, F., al-Eisawi, D., al-Khalil, S. ve Schiff, P. L. (1986). Alkaloids of
Glaucium grandiflorum. Journal of Natural Products, 49(6),s. 1166.
doi:10.1021/np50048a055
- Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres, V. ve Featherstone, R. M. (1961). A New
and Rapid Colorimetric Determination of Acetylcholinesterase Activity.
Biochemical Pharmacology, 7(2), s.89-91. doi:10.1016/0006-
2952(61)90145-9
- Gözler, T. (1982). Alkaloids of Turkish *Glaucium* Species. Planta Medica, 46(11), s.
179-180. doi:10.1055/s-2007-971209
- Gözler, B., Gözler. T., Freyer, A. J. ve Shamma, M. (1988). Some Unusual Pavine
and Isopavine Alkaloids from *Roemeria refracta*. Journal of Natural
Products, 51(4), (s. 760).
- Greig,N., Lahiri, D. ve Sambamurti, K. (2002). Butyrylcholinesterase: An Important
New Target in Alzheimer's Disease Therapy. International Psychogeriatrics,
14 (1),(s.79)(s. 86-87).
- Grundon, M. F. (Ed.) (2007) The Alkaloids (6. Cilt) (s. 149-151), (s.173-175). Büyük
Britanya: Royal Society of Chemistry
- Hamamcıoğlu, B, Koçancı, F. G. ve Aslım, B. (2018). Phytochemical Screening and
Evaluation of Neuroprotective, Anti-mutagenic and Anti-genotoxic Effects
of Turkish Endemic *Glaucium acutidentatum*. South African Journal of
Botany, 117, s.236-237. doi:10.1016/j.sajb.2018.05.027
- Hosta'lkova, A. (2015). Studium Obsahovych Latek Vybranych Taxonu Z Radu
Laurales A Ranunculales S Potencialne Neuroprotektivni Aktivitou. (s. 90-
91).
- Host'alkova, A., Opletal, L., Kunes, J., Novak, Z., Hrabınova, M., Chlebek, J., ...
Cahlikova, L. (2015). Alkaloids from *Peumus boldus* and their
Acetylcholinesterase, Butyrylcholinesterase and Prolyl Oligopeptidase
Inhibition Activity. Natural Product Communications, 10(4), s. 578.
doi:10.1177/1934578x1501000410

- Hostettmann, K., Borloz, A., Urbain, A. ve Marston, A. (2006). Natural Product Inhibitors of Acetylcholinesterase. *Current Organic Chemistry*, 10(8),s.822-829 s.834-835. doi:10.2174/138527206776894410
- Hruskova, M. (2018). Alkaloidy Dreva Druhu *Liriodendron tulipifera* L. A Jejich Aktivita Vuci Lidskym Cholinesterasam. (s. 44).
- Huang L., Su T. ve Li X. (2013). Natural Products as Sources of New Lead Compounds for the Treatment of Alzheimer's Disease, *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 13, (s. 1868).
- Hung, T., Dang, N., Kim, J., Jang, H.-S., Ryoo, S.-W., Lee, J., ... Min, B. (2010). Alkaloids from Roots of *Stephania rotunda* and Their Cholinesterase Inhibitory Activity. *Planta Medica*, 76(15), s. 1763. doi:10.1055/s-0030-1249814
- Hung, T. M., Thuong, P. T., Nhan, N. T., Mai, N. T. T., Quan, T. L., Choi, J. S., ... Bae, K. H. (2011). Cholinesterase Inhibitory Activities of Alkaloids from *Corydalis tuber*. *Natural Product Sciences*, 17 (2), (s. 110-111).
- Inestrosa, N. C., Alvarez, A., Perez, C. A., Moreno, R. D., Vicente, M., Linker, C., ... Garrido, J. (1996). Acetylcholinesterase Accelerates Assembly of Amyloid- β -Peptides into Alzheimer's Fibrils: Possible Role of the Peripheral Site of the Enzyme. *Neuron*, 16(4), s. 886-888. doi:10.1016/s0896-6273(00)80108-7
- Israilov, I. A., Karimova, S. U. ve Yunusov, M. S. (1979). *Glaucium* Alkaloids. (s. 104-105). New York: Plenum Publishing Corporation
- Ivanovska, N. ve Philipov, S. (1996). Comparative Study on the Immunological Activity of a Series of Isoquinoline Alkaloids. *Phytotherapy Research*, 10, (s. 62-64).
- Ivorra, M. D., Lugnier, C. , Schott, C. , Catret, M. , Noguera, M. A. , Anselmi, E. ve D'Ocon, P. (1992). Multiple Actions of Glauanine on Cyclic Nucleotide Phosphodiesterases, Alpha 1-Adrenoceptor and Benzothiazepine Binding Site at The Calcium Channel. *British Journal of Pharmacology*, 106 (2), (s. 389).
- Kartaloğlu, Z., Okutan, O. ve İlvan, A. (2001) Öksürük. *Tüberküloz ve Toraks Dergisi*, 49 (4), (s. 537).

- Kim, D. K., Lee, K. T., Baek, N.-I., Kim, S.-H., Park, H. W., Lim, J. P., ... Eun, J. S. (2004). Acetylcholinesterase Inhibitors from the Aerial Parts of *Corydalis speciosa*. Archives of Pharmacal Research, 27(11), s. 1130. doi:10.1007/bf02975117
- Kim, S. R., Hwang, S. Y., Jang, Y. P., Park, M. J., Markelonis, G. J., Oh, T. H. ve Kim, Y. C. (1999). Protopine from *Corydalis ternata* has Anticholinesterase and Antiamnesic Activities. Planta Medica, 65(3),s. 219. doi:10.1055/s-1999-13983
- Kintsurashvili, L. G. ve Vachnadze, V. Y. (2000). Alkaloids of *Glaucium corniculatum* and *G. flavum* Growing in Georgia. Chemistry of Natural Compounds, 36 (2), (s. 225).
- Klicova, A. (2018). Alkaloidy Dřeva Druhu *Liriodendron tulipifera* L. A Jejich Biologická Aktivita. (s. 14).
- Kubitzki, K., Rohwer, J. G. ve Bittrich, V. (Ed.) (1993). Flowering Plants: Dicotyledons (2. Cilt). (s.494-506). Berlin: Springer-Verlag. doi:10.1007/978-3-662-02899-5
- Lazarova, M. ve Dimitrov, K. (2009). Selective Recovery of Alkaloids from *Glaucium flavum* Crantz Using Integrated Process Extraction-Pertraction. Separation Science and Technology, 44, s.233. doi: 10.1080/01496390802391197
- Lee, S.-S., Wu, D.-Y., Tsai, S.-F. ve Chen, C.-K. (2015). Anti-Acetylcholinesterase Alkaloids from *Annona glabra* Leaf. Natural Product Communications, 10(6), s. 892. doi:10.1177/1934578x1501000625
- Lovkova, M. Y., Buzuk, G. N. ve Sokolova, S. M. (2008) Genetic Aspects Of The Interrelation Between Alkaloids And Chemical Elements in *Atropa belladonna* L. and *Glaucium flavum* Crantz. Plants. Applied Biochemistry and Microbiology, 45 (4), s. 418. doi: 10.1134/S0003683808040145
- Meyer, G. M. J., Meyer. M. R., Wissenbach, D. K. ve Maurer, H. H. (2013). Studies On The Metabolism And Toxicological Detection Of Glaucine, An Isoquinoline Alkaloid from *Glaucium flavum* (Papaveraceae), In Rat Urine Using GC-MS, LC-MSn And LC-High Resolution MSn. Journal of Mass Spectrometry, 48 (1), s. 24. doi.org/10.1002/jms.3112
- Mowat, A. B. (1964). Genus *Glaucium*

- mill. In: Tutin, T. G., Heywood, V., Burges, N., Valentine, D., Walters, S. ve Webb, D. (Ed. et al.), *Flora Europaea*. (Cilt 1), (s.251). Cambridge: Cambridge University Press
- Murray, A. P., Faraoni, M. B., Castro, M. J., Alza, N. P. ve Cavallaro, V. (2013). Natural AChE Inhibitors from Plants and their Contribution to Alzheimer's Disease Therapy. *Current Neuropharmacology*, 11, (s. 390).
- Neumeyer, J. L., Law, S. J., Meldrum, B., Anlezark, G. ve Watling, K. J. (1981). Aporphines. 34. (-)-2,10,11-Trihydroxy-N-n-propylnoraporphine, a Novel Dopaminergic Aporphine Alkaloid with Anticonvulsant Activity. *Journal of Medicinal Chemistry*, 24(7), s. 898-899. doi:10.1021/jm00139a027
- Nikolova, M. T, Berkov, S. H., Doycheva, I. V, Stoyanov, S. S. ve Stanilova, M. I. (2018). GC/MS Based Metabolite Profiling Of Five Populations Of *Glaucium flavum* (Ranunculales: Papaveraceae) From The Black Sea Coast of Bulgaria. *Acta Zoologica Bulgarica*, 11, (s. 93)
- Och, A., Szewczyk, K., Pecio, L., Stochmal, A., Zaluski, D. ve Bogucka-Kocka, A. (2017). UPLC-MS/MS Profile of Alkaloids with Cytotoxic Properties of Selected Medicinal Plants of the Berberidaceae and Papaveraceae Families. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, s. 4. doi: 10.1155/2017/9369872
- Orallo, F. , Alzueta, A. F., Loza, M. I. , Vivas, N. , Bada-a, A. , Campos, M., ... Cadavid, M. I. (1993). Study of The Mechanism of The Relaxant Action of (+)-Glaucine in Rat Vas Deferens. *British Journal of Pharmacology*, 110 (3), (s. 945-947).
- Orallo, F., Alzueta, A. F., Compos- Toimil, M. ve Calleja, J. M. (1995). Study of The *in vivo* and *in vitro* Cardiovascular Effects of (+)-Glaucine and N-Carboethoxysecoglaucine in Rats. *British Journal of Pharmacology*, 114, (s. 1421-1423), (s.1425).
- Orhan, I., Şener, B., Choudhary, M. I. ve Khalid, A. (2004). Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase Inhibitory Activity of Some Turkish Medicinal Plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 91, s. 58-59. doi:10.1016/j.jep.2003.11.016
- Özsoy, N., Yılmaz-Özden, T., Aksoy-Sağırılı, P. Şahin, H. ve Sarı, A. (2018). Antioxidant, Anti-acetylcholinesterase, Anti-inflammatory and DNA

- Protection Activities of *Glaucium grandiflorum* var. *grandiflorum*. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 17(2), (s. 680-684).
- Pekic, B., Lepojevic, Z., Slavica, B. ve Petrovic, S. M. (1986). High-Performance Liquid Chromatographic Determination of Glaucine in *Glaucium flavum* Crantz. Chromatographia, 21 (49), (s. 227).
- Peled, B., Waisel, Y. ve Carmeli, S. (1988). Alkaloid Content in Various Chemocotypes of *Glaucium flavum* from Israel. Phytochemistry, 27(4), s. 1021-1022. doi:10.1016/0031-9422(88)80265-6
- Petitto, V., Serafini, M., Gallo, F. R., Multari, G. ve Nicoletti, M. (2010). Alkaloids from *Glaucium flavum* from Sardinia. Natural Product Research, 24(11), s.1034-1035. doi:10.1080/14786410902904418
- Pirhan, A. F. ve Gemici, Y. (2015). Didim, Milas, Ören ve Bodrum (Türkiye) Florası. Bağbahçe Bilim Dergisi, 2 (2) , (s.82).
- Pinto, L., Borrelli, F., Bombardelli, E., Cristoni, A. ve Capasso, F. (1998). Anti-inflammatory, Analgesic and Antipyretic Effects of Glaucine in Rats and Mice. Pharmacy and Pharmacology Communications, 4, (s. 503-504).
- Pratico, D. (2008). Oxidative Stress Hypothesis in Alzheimer's Disease: A Reappraisal. Trends in Pharmacological Sciences, 29(12), s.609 s.611. doi:10.1016/j.tips.2008.09.001
- Puzyrevska, J. (2017). Biologicka Aktivita Obsahovych Latek Rostlin Xxxiv. Alkaloidy Nati *Glaucium flavum* Crantz A Jejich Vliv Na Lidské Cholinesterasy. (s. 41-42).
- Raafat, K. ve El-Lakany, A. (2017). Phytochemical and Antinociceptive Investigations of *Anemone coronaria* Active Part Ameliorating Diabetic Neuropathy Pain. Planta Medica International Open, 5, s. 6-7 s.12. doi: 10.1055/s-0044-100148
- Ruhle, K. H., Criscuolo, D., Dieterich, H. A., Kohler, D. ve Riedel, G. (1984). Objective Evaluation of Dextromethorphan and Glaucine as Antitussive Agents. British Journal of Clinical Pharmacology, 17 (5), s.522. doi: 10.1111/j.1365-2125.1984.tb02384.x
- Safa, O., Soltanipoor, M. A., Rastegar, S., Kazemi, M., Dehkordi, K. N. ve Ghannadi, A. (2013). An Ethnobotanical Survey on Hormozgan Province, Iran. Avicenna Journal of Phytomedicine, 3(1), (s.71).

- Sarı, A. (1999). Alkaloids from *Glaucium leiocarpum*. *Planta Medica*, 65(05), s. 492. doi:10.1055/s-2006-960827
- Sarıyar, G. ve Unsal, C. (1998). Alkaloids from *Glaucium grandiflorum* var. *grandiflorum*. *İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Mecmuası*, 32, (s. 55-58).
- Selkoe, D. J. (2007). Developing Preventive Therapies for Chronic Diseases: Lessons Learned from Alzheimer's Disease. *Nutrition Reviews*, 65, s. 241-242. doi:10.1111/j.1753-4887.2007.tb00370.x
- Şener, B. ve Orhan, İ. (2005). Discovery of Drug Candidates from Some Turkish Plants and Conservation of Biodiversity. *Pure and Applied Chemistry*, 77(1), s. 58. doi:10.1351/pac200577010053
- Sırma, M. ve Kadioğlu, İ. (2010). Erzincan İli-Otlukbeli İlçesi Buğday Ekim Alanlarında Saptanan Önemli Yabancı Ot Türleri, Rastlanma Sıklıkları Ve Yoğunlukları. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 27 (1),(s.32).
- Siatka, T., Adamcová, M., Opletal, L., Cahlíková, L., Jun, D., Hrabínová, M., ... Chlebek, J. (2017). Cholinesterase and Prolyl Oligopeptidase Inhibitory Activities of Alkaloids from *Argemone platyceras* (Papaveraceae). *Molecules*, 22(7), s. 1181. doi:10.3390/molecules22071181
- Southon I. W., Buckingham J. (Eds.). (1989). *Dictionary of Alkaloids*, Vol. 14, Chapman and Hall Ltd., New York, p: 911
- Spasova, M., Philipov, S., Nikolaeva-Glomb, L., Galabov, A.S. ve Milkova, T. (2008). Cinnamoyl- and Hydroxycinnamoyl Amides of Glaucine and Their Antioxidative and Antiviral Activities. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 16 (15), s. 7458-7459. doi: 10.1016/j.bmc.2008.06.010
- Tao, Y., Jiang, Y., Li, W. ve Cai, B. (2016). Zeolite Based Solid-Phase Extraction Coupled with UPLC-Q-TOF-MS for Rapid Analysis of Acetylcholinesterase Binders from Crude Extract of *Corydalis yanhusuo*. *RSC Advances*, 6(100), s. 984884. doi:10.1039/c6ra24585d
- Türkiye İstatistik Kurumu. Erişim adresi: <http://www.tuik.gov.tr/>
- Ulrichova, J., Walterova, D., Preininger, V. ve Simanek, V. (1983). Inhibition of Butyrylcholinesterase Activity by Some Isoquinoline Alkaloids. *Planta Medica*, 48(07), s. 175. doi:10.1055/s-2007-969916

- Wan Othman, W. N. N., Liew, S. Y., Khaw, K. Y., Murugaiyah, V., Litaudon, M. ve Awang, K. (2016). Cholinesterase Inhibitory Activity of Isoquinoline Alkaloids from Three *Cryptocarya* Species (Lauraceae). *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 24(18), s. 5. doi:10.1016/j.bmc.2016.07.043
- Wangchuk, P., Keller, P. A., Pyne, S. G., Sastraruji, T., Taweechotipatr, M., Rattanajak, R., ... Kamchonwongpaisan, S. (2012). Phytochemical and Biological Activity Studies of the Bhutanese Medicinal Plant *Corydalis crispera*. *Natural Product Communications*, 7(5), s. 577. doi:10.1177/1934578x1200700507
- Xiao, H.-T., Peng, J., Liang, Y., Yang, J., Bai, X., Hao, X.-Y., ... Sun, Q.-Y. (2011). Acetylcholinesterase Inhibitors from *Corydalis yanhusuo*. *Natural Product Research*, 25(15), s. 1421. doi:10.1080/14786410802496911
- Xu, Z. ve Deng, M. (2017). *Identification and Control of Common Weeds* (2. Cilt). (s.415-432). Hollanda: Springer
- Yılmaz, C. ve Korkmaz, H. (Ed.) (2017). *Terme'nin Biyoçeşitlilik ve Doğal Ortam Özellikleri* (s. 173). Trabzon: Serander

Teşekkür

Bu tez T.C. Ege Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından (Proje No: 16-BİL-002 ve 17-ECZ-003) ve TÜBİTAK tarafından (Proje No: 315S064) desteklenmiştir.

Şakran, İzmir'den toplanan Buluncak, Giresun kültür örneğinin temini için Prof. Dr. Mustafa Ali Önür'e, Mordoğan, İzmir bitki örneklerinin toplanmasında emeği geçen Prof. Dr. Mustafa Ali Önür, Prof. Dr. Gülen İrem Kaya ve Prof. Dr. Nehir Somer'e teşekkür ederim.

Çalışmalarına bilgisi ile yol gösteren, sadece danışmanlığı ile değil yardımsever kişiliği ile de destekleyen Doç. Dr. Buket BOZKURT'a; bana olan sıcak kanlı davranışları sebebiyle çalışma ortamımda beni motive eden Ege Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi Anabilim Dalı öğretim üyelerine ve araştırma görevlilerine; bitkinin toplanmasında ve sonrasındaki çalışmalarım sırasında beni destekleyen ve bana sabırla yaklaşan özellikle kardeşime, anneme, babama ve eşime içtenlikle teşekkür ederim.

İzmir, 21.06.2019

Duygu OYAN

Özgeçmiş

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : Oyan, Duygu

Uyruđu : T.C.

Dođum tarihi ve yeri : 25/08/1992 ve Bandırma/ Balıkesir

Medeni hali : Evli

Telefon : 0 (535) 263 37 04

e-posta : duyguulkar@gmail.com

Eđitim Derecesi, Okul/ Program, Mezuniyet yılı

Yüksek Lisans: Ege Üniversitesi/ Farmakognozi Programı -Devam ediyor

Lisans: Ege Üniversitesi/ Eczacılık Fakóltesi 2010-2015

İş Deneyimi, Yıl, Çalıştığı Yer, Görev

2016-2019 Balıkesir Bandırma Devlet Hastanesi- Eczacı

2019, Devam ediyor Duygu Eczanesi- Eczacı

Yabancı dil

İngilizce