

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GALANTHUS RIZEHENSIS STERN BİTKİSİNİN FARMAKOGNOZİK
YÖNDEN DEĞERLENDİRİLMESİ

Farmakognozi Programı

Doktora Tezi

Uzman Eczacı
Buket BOZKURT SARIKAYA

1. Danışman: Prof. Dr. Mustafa Ali ÖNÜR
2. Danışman: Doç. Dr. Nehir SOMER

İZMİR
2010

DEĞERLENDİRME KURULU ÜYELERİ

(Adı Soyadı)

(İmza)

Başkan : Prof.Dr.M.Ali ÖNÜR



Üye : Prof.Dr.Günay SARIYAR



Üye : Prof.Dr.Bijen KIVÇAK



Üye : Prof.Dr.Varol PABUÇÇUOĞLU



Üye : Doç.Dr.Nehir SOMER



Doktora Tezinin kabul edildiği tarih: 19.07.2010

ÖNSÖZ

Çalışmamı değerli bilgi ve yardımlarıyla yöneten, kıymetli deneyimlerini benimle paylaşan Prof. Dr. Mustafa Ali ÖNÜR'e,

Çok değerli bilgi ve yardımlarıyla tezimi planlayan, her konuda desteklerini gördüğüm, vaktini ve emeğini benim için harcayan Doç. Dr. Nehir SOMER'e,

Her konuda yardımlarını gördüğüm Farmakognozi Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Bijen KIVÇAK'a,

Spektral analizlerin yapılabilmesi için olanaklarını kullanımımıza sunan ve her konuda desteğini gördüğüm Barcelona Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Bitki Fizyolojisi ve Edafoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Jaume BASTIDA'ya,

Araştırmalarımın Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi kısmında değerli bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan Barcelona Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Bitki Fizyolojisi ve Edafoloji Anabilim Dalı'ndan Dr. Strahil BERKOV'a,

Çalışmalarına mali destek sağlayan Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu'na (TÜBİTAK) (Proje No: TBAG-104T272), EBİLTEM (Proje No: 2007/BİL/007), E. Ü. Araştırma Fonu'na (Proje No: 09/ECZ/014), bursiyeri olarak görev aldığım TÜBİTAK-BİDEB (Bilim İnsanı Destekleme Daire Başkanlığı)-Yurt Dışı Araştırma Burs Programı'na,

Bitkinin toplanmasında yardımlarını ve misafirperverliklerini esirgemeyen başta Kadriye ATALAY olmak üzere Maçka, Güzelyayla köyü halkına,

Çalışmalarım sırasında beni sonsuz bir sabırla destekleyen sevgili eşim F. Doğan SARIKAYA'ya ve aileme,

en içten teşekkürlerimi sunuyorum.

İzmir, 2010

Buket BOZKURT SARIKAYA

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	I
İÇİNDEKİLER.....	II
TABLO DİZİNİ.....	XI
RESİM DİZİNİ.....	XIV
SPEKTRUM DİZİNİ.....	XVII
ŞEKİL DİZİNİ.....	XX

BÖLÜM I

GİRİŞ VE GENEL BİLGİLER.....	1
1. ARAŞTIRMANIN AMACI.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2.1. BOTANİK ÇALIŞMALAR.....	5
2.1.1. <i>Galanthus</i> L. Genusu.....	5
2.1.2. <i>Galanthus rizehensis</i> Stern.....	5
2.2. KALİTE KONTROL VE MİKTAR TAYİNİ ÇALIŞMALARI.....	10
2.2.1. Kalite Kontrol Çalışmaları.....	10
2.2.2. Alkaloit Miktar Tayini Çalışmaları.....	11
2.2.3. Alkaloit Teşhis Çalışmaları.....	12
2.2.4. Alkaloit Üretim Çalışmaları.....	12

2.3. BİYOLOJİK AKTİVİTE REHBERLİĞİNDE İZOLASYON VE YAPI AYDINLATMA ÇALIŞMALARI.....	12
2.3.1. Genel Bilgiler.....	12
2.3.2. Asetilkolinesteraz İnhibitör Aktivite Rehberliğinde İzolasyon ve Yapı Aydınlatma Çalışmaları.....	17

BÖLÜM II

GEREÇ VE YÖNTEM.....	40
1. BOTANİK ARAŞTIRMALAR.....	40
1.1. GEREÇ.....	40
1.2. DENEYLER.....	43
2. KALİTE KONTROL VE MİKTAR TAYİNİ ARAŞTIRMALARI.....	43
2.1. GEREÇ.....	43
2.2. YÖNTEMLER.....	44
2.2.1. Nem Miktar Tayini.....	44
2.2.2. Total Kül Miktar Tayini.....	45
2.2.3. Sülfat Külü Miktar Tayini.....	45
2.2.4. Hidroklorik Asitte Çözünmeyen Kül Miktar Tayini.....	46
2.2.5. Total Alkaloit Miktar Tayini.....	46
2.2.5.1. Total Alkaloit Ekstresinin Hazırlanışı.....	46
2.2.5.2. Total Alkaloit Miktar Tayini Deneyinin Yapılışı.....	47
2.2.6. Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC) ile Alkaloit Miktar Tayini.....	47
2.2.6.1. Alkaloit Ekstresinin Hazırlanışı.....	47
2.2.6.2. Standart Alkaloide Ait Ölçü Eğrisinin Hazırlanması.....	48

2.2.6.3. Alkaloit Miktar Tayini.....	48
2.3. DENEYLER.....	48
2.3.1. Nem Miktar Tayini.....	48
2.3.2. Total Kül Miktar Tayini.....	49
2.3.3. Sülfat Külü Miktar Tayini.....	49
2.3.4. Hidroklorik Asitte Çözünmeyen Kül Miktar Tayini.....	49
2.3.5. Total Alkaloit Miktar Tayini.....	50
2.3.5.1. Total Alkaloit Ekstresinin Hazırlanışı.....	50
2.3.5.2. Total Alkaloit Miktar Tayini Deneyinin Yapılışı.....	51
2.3.5.3. Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması ve Ayarlanması.....	51
2.3.5.3.1. 0.1 N Sülfürik Asit Çözeltisinin Hazırlanması.....	51
2.3.5.3.2. 0.02 N Sülfürik Asit Çözeltisinin Hazırlanması.....	51
2.3.5.3.3. 0.02 N Sülfürik Asit Çözeltisinin Ayarlanması.....	52
2.3.5.3.4. 0.1 N Sodyum Hidroksit Çözeltisinin Hazırlanması.....	52
2.3.5.3.5. 0.02 N Sodyum Hidroksit Çözeltisinin Hazırlanması.....	52
2.3.5.3.6. 0.02 N Sodyum Hidroksit Çözeltisinin Ayarlanması.....	52
2.3.6. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi ile Likorin ve Galantaminin Teşhis ve Miktar Tayini.....	53
2.3.6.1. Alkaloit Ekstrelerinin Hazırlanışı.....	53
2.3.6.2. Örnek Çözeltilerinin Hazırlanışı.....	53
2.3.6.3. Likorin Miktar Tayini	53
2.3.6.3.1. Standart Likorine ait Ölçü Eğrisinin Hazırlanması.....	53
2.3.6.3.2. Deneyin Yapılışı.....	54
2.3.6.4. Galantaminin HPLC ile Teşhisi.....	55
2.3.6.4.1. Standart Galantamin Çözeltisinin Hazırlanması.....	55

2.3.6.4.2. Karışım Çözeltilerinin Hazırlanışı.....	55
--	----

3. GAZ KROMATOĞRAFİSİ-KÜTLE SPEKTROMETRİSİ (GC-MS)

YÖNTEMLERLE DROĞUN İÇERDİĞİ ALKALOİTLERİN TESPİTİ.....	55
---	-----------

3.1. GEREÇ.....	55
-----------------	----

3.2. YÖNTEM.....	56
------------------	----

3.2.1. Alkaloid Ekstresinin Hazırlanışı.....	56
--	----

3.2.2. Uygulamanın Yapılışı.....	57
----------------------------------	----

3.3. DENEY.....	57
-----------------	----

3.3.1. Alkaloid Ekstresinin Hazırlanışı.....	57
--	----

3.3.2. Deneyin Yapılışı.....	58
------------------------------	----

4. BİYOLOJİK AKTİVİTE REHBERLİĞİNDE İZOLASYON VE YAPI

AYDINLATMA ÇALIŞMALARI.....	59
------------------------------------	-----------

4.1. GEREÇ.....	59
-----------------	----

4.2. YÖNTEMLER.....	59
---------------------	----

4.2.1. Alkaloid Ekstraksiyonu.....	59
------------------------------------	----

4.2.2. Alkaloidlerin İnce Tabaka Kromatografisi ile (İ.T.K.) İncelenmesi.....	60
---	----

4.2.3. Alkaloidlerin Saflaştırılmaları.....	60
---	----

4.2.3.1. Sütun Kromatografisi.....	60
------------------------------------	----

4.2.3.2. Preparatif İnce Tabaka Kromatografisi.....	61
---	----

4.2.3.3. Kristallendirme.....	63
-------------------------------	----

4.2.4. Saf Halde Elde Edilen Bileşiklerin Tanımlanması.....	63
---	----

4.2.5. Biyolojik Aktivite Tayini.....	65
---------------------------------------	----

4.2.5.1. İ.T.K. Deneyi ile Asetilkolinesteraz İnhibitör Aktivite	
--	--

Tayini.....	65
-------------	----

4.2.5.2. Mikroplaka Deneyi ile Asetilkolinesteraz İnhibitör Aktivite Tayini.....	65
4.3. DENEYLER.....	66
4.3.1. Total Alkaloit Ekstresinin Hazırlanması.....	66
4.3.2. Total Alkaloit Ekstresi Üzerinde Fraksiyonlandırma Çalışmaları.....	66
4.3.3. Total Alkaloit Ekstresinin Ana Fraksiyonları Üzerinde İ. T. K. Yöntemiyle Asetilkolinesteraz İnhibitör Aktivite Tayini.....	67
4.3.4. Biyolojik Olarak Aktif Olan Fraksiyonların Çalışılması.....	69
4.3.4.1. G ₂ Kodlu Ana Fraksiyon Üzerinde Çalışmalar.....	69
4.3.4.2. G ₉ Kodlu Ana Fraksiyon Üzerinde Çalışmalar.....	69
4.3.4.3. G ₈₋₉ Kodlu Ana Fraksiyon Üzerinde Çalışmalar.....	69
4.3.4.4. G ₁₃ Kodlu Ana Fraksiyon Üzerinde Çalışmalar.....	72
4.3.4.5. G ₁₆ Kodlu Ana Fraksiyon Üzerinde Çalışmalar.....	73
4.3.4.6. G ₁₇ Kodlu Ana Fraksiyon Üzerinde Çalışmalar.....	74
4.3.4.7. G ₁₉ Kodlu Ana Fraksiyon Üzerinde Çalışmalar.....	75
4.3.4.8. G ₂₁ Kodlu Ana Fraksiyon Üzerinde Çalışmalar.....	76
4.3.5. Mikroplaka Deneyi ile Saf Maddelerin Asetilkolinesteraz İnhibitör Aktivitelerinin Tayini.....	77

BÖLÜM III

BULGULAR.....	78
1. BOTANİK ARAŞTIRMALARIN BULGULARI	78
1.1. ANATOMİK BULGULAR.....	78
1.1.1. Köke ait İnceleme ve Bulgular.....	78
1.1.2. Soğana ait İnceleme ve Bulgular	79

VII

1.1.3. Çiçek Durum Sapına (Skapus) ait İnceleme ve Bulgular	83
1.1.4. Yaprğa ait İnceleme ve Bulgular.....	86
1.1.5. Spataya ait İnceleme ve Bulgular.....	89
1.1.6. Çiçeğe ait İnceleme ve Bulgular.....	92
1.1.6.1. Çiçek Sapı.....	92
1.1.6.2. Dış Tepal.....	93
1.1.6.3. İç Tepal.....	95
1.1.6.4. Anter.....	96
1.1.7. Meyveye ait İnceleme ve Bulgular.....	98
1.1.8. Tohuma ait İnceleme ve Bulgular.....	102
1.1.9. Ovaryuma ait İnceleme ve Bulgular.....	104
1.2. MİKROSKOBİK BULGULAR.....	106
1.2.1. ÇTÜ Kodlu Herba Galanthi Toz Droğunun Mikroskopik Olarak İncelenmesi.....	106
1.2.2. MTÜ Kodlu Herba Galanthi Toz Droğunun Mikroskopik Olarak İncelenmesi.....	109
1.2.3. ÇTA ve MTA Kodlu Bulbus Galanthi Toz Droğlarının Mikroskopik Olarak İncelenmeleri.....	110
2. KALİTE KONTROL VE MİKTAR TAYİNİ ÇALIŞMALARINA AİT BULGULAR.....	115
2.1. NEM MİKTAR TAYİNİ.....	115
2.2. TOTAL KÜL MİKTAR TAYİNİ.....	116
2.3. SÜLFAT KÜLÜ MİKTAR TAYİNİ.....	117
2.4. HİDROKLORİK ASİTTE ÇÖZÜNMEYEN KÜL MİKTAR TAYİNİ.....	118
2.5. TOTAL ALKALOİT MİKTAR TAYİNİ.....	118

2.6. YÜKSEK BASINÇLI SIVI KROMATOĞRAFİSİ (HPLC) YÖNTEMİ İLE TEŞHİS VE MİKTAR TAYİNİ.....	120
2.6.1. Likorin Miktar Tayini.....	120
2.6.1.1. Likorin Miktar Tayinine ait Kromatogramlar.....	124
2.6.2. Galantamin Teşhisi.....	127
3. GAZ KROMATOĞRAFİSİ-KÜTLE SPEKTROMETRESİ (GC-MS) YÖNTEMİYLE ALKALOİT TESPİTİ ÇALIŞMALARINA AİT BULGULAR.....	130
4. BİYOLOJİK AKTİVİTE REHBERLİĞİNDE İZOLASYON VE YAPI AYDINLATMA ÇALIŞMALARINA AİT BULGULAR.....	132
4.1. ASETİLKOLİNESTERAZ İNHİBİTÖR AKTİVİTE TAYİNİNE AİT BULGULAR.....	132
4.2. İZOLASYONLA ELDE EDİLEN BİLEŞİKLERE AİT BULGULAR.....	134
4.2.1. GR-1 Bileşiğinin Spektral Bulguları.....	134
4.2.2. GR-2 Bileşiğinin Spektral Bulguları.....	146
4.2.3. GR-3 Bileşiğinin Spektral Bulguları.....	152
4.2.4. GR-4 Bileşiğinin Spektral Bulguları.....	157
4.2.5. GR-5 Bileşiğinin Spektral Bulguları.....	162
4.2.6. GR-6 Bileşiğinin Spektral Bulguları.....	167
4.2.7. GR-7 Bileşiğinin Spektral Bulguları.....	171
4.2.8. GR-8 Bileşiğinin Spektral Bulguları.....	177
4.2.9. GR-9 Bileşiğinin Spektral Bulguları.....	183
4.2.10. GR-10 Bileşiğinin Spektral Bulguları.....	189
4.2.11. GR-11 Bileşiğinin Spektral Bulguları.....	201

BÖLÜM IV

TARTIŞMA	213
1. BOTANİK ARAŞTIRMALAR	213
2. KALİTE KONTROL VE MİKTAR TAYİNİ ARAŞTIRMALARI	215
2.1. NEM, TOTAL KÜL, SÜLFAT KÜLÜ, HİDROKLORİK ASİTTE ÇÖZÜNMEYEN KÜL MİKTARI.....	216
2.2. TOTAL ALKALOİT MİKTAR TAYİNİ.....	217
2.3. YÜKSEK BASINÇLI SIVI KROMATOĞRAFİSİYLE (HPLC) LİKORİN MİKTAR TAYİNİ VE GALANTAMİN TEŞHİSİ.....	218
3. GAZ KROMATOĞRAFİSİ-KÜTLE SPEKTROMETRESİ (GC-MS) YÖNTEMİYLE ALKALOİT TESPİTİ	219
4. BİYOLOJİK AKTİVİTE EŞLİĞİNDE İZOLASYON VE YAPI AYDINLATMA ÇALIŞMALARI	220
4.1. GR-1 (1-ASETİL- β -KARBOLİN).....	220
4.2. GR-2 (NARSİPRİMİN).....	225
4.3. GR-3 (İNKARTİN).....	227
4.4. GR-4 (AROLİKORİSİDİN).....	230
4.5. GR-5 (<i>N-TRANS</i> -FERULOİL TİRAMİN).....	233
4.6. GR-6 (LİKORİN).....	235
4.7. GR-7 (<i>O</i> -METİL NORBELLADİN).....	238
4.8. GR-8 (VİTTATİN).....	241
4.9. GR-9 (11-OH VİTTATİN).....	244
4.10. GR-10 (İNKARTİN <i>N</i> -OKSİT).....	248
4.11. GR-11 (LİKORİN <i>N</i> -OKSİT).....	253

BÖLÜM V

SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....259

BÖLÜM VI

ÖZET.....XXI

ABSTRACT.....XXIII

BÖLÜM VII

YARARLANILAN KAYNAKLAR.....263

ÖZGEÇMİŞ

TABLO DİZİNİ

Tablo 1. Çeşitli <i>Galanthus</i> Türleri Üzerinde Yapılmış Olan Kantitatif Çalışmalarda Elde Edilen Total Alkaloid, Galantamin ve Likorin Miktarları.....	13
Tablo 2. Çeşitli <i>Galanthus</i> Türleri Üzerinde Yapılmış Olan İzolasyon Çalışmaları Sırasında Elde Edilen Total Alkaloid, Galantamin ve Likorin Miktarları.....	16
Tablo 3. Asetilkolinesteraz İnhibitör Aktiviteye Sahip Amaryllidaceae Türleri ve Alkaloidleri.....	18
Tablo 4. Amaryllidaceae Alkaloidlerinin Dokuz Ana Alt Grubu.....	25
Tablo 5."The Alkaloids, Chemistry and Biology"’e Göre Alkaloidleri Açısından Araştırılmış <i>Galanthus</i> Türleri ve Bu Türlerde Saptanmış Amaryllidaceae Alkaloidleri.....	30
Tablo 6. "Dictionary of Alkaloids"’e Göre Alkaloidleri Açısından Araştırılmış <i>Galanthus</i> Türleri ve Bu Türlerde Varlığı Saptanmış Olan Amaryllidaceae Alkaloidleri.....	31
Tablo 7. Primer Kaynaklara Göre Alkaloid İçeriği Araştırılmış <i>Galanthus</i> Türleri ve Bunlarda Varlığı Saptanan Amaryllidaceae Alkaloidleri.....	32
Tablo 8. Tablo 7’de Adı Geçen <i>Galanthus</i> Türlerinin Alt Tür ve Sinonimleri.....	38
Tablo 9. İ.T.K., Preparatif İ.T.K. ve Preparatif Sütun Kromatografilerinde Yararlanılan Çözücü Sistemleri.....	62
Tablo 10 . Ana Fraksiyonların Elde Edilmesinde Kullanılan Çözücü Sistemleri.....	63
Tablo 11. Total Alkaloid Ekstresinin Ana Fraksiyonları Hakkında Deneysel Veriler.....	68
Tablo 12. <i>G. rizehensis</i> Bitkisinden Hazırlanan Örnekler Üzerinde Yapılan Nem Miktar Tayini Sonuçları.....	115

Tablo 13. <i>G. rizehensis</i> Bitkisinden Hazırlanan Örnekler Üzerinde Yapılan Total Kül Miktar Tayini Sonuçları.....	116
Tablo 14. <i>G. rizehensis</i> Bitkisinden Hazırlanan Örnekler Üzerinde Yapılan Sülfat Külü Miktar Tayini Sonuçları.....	117
Tablo 15. <i>G. rizehensis</i> Bitkisinden Hazırlanan Örnekler Üzerinde Yapılan Hidroklorik Asitte Çözünmeyen Kül Miktar Tayini Sonuçları.....	118
Tablo 16. ÇTÜ Kodlu Örneğe ait Total Alkaloit Miktarı Sonuçları.....	118
Tablo 17. ÇTÜ Kodlu Örneğe ait Total Alkaloit Miktarı Sonuçlarının İstatiksel Olarak Değerlendirilmesi.....	119
Tablo 18. ÇTA Kodlu Örneğe ait Total Alkaloit Miktarı Sonuçları.....	119
Tablo 19. ÇTA Kodlu Örneğe ait Total Alkaloit Miktarı Sonuçlarının İstatiksel Olarak Değerlendirilmesi.....	119
Tablo 20. MTÜ Kodlu Örneğe ait Total Alkaloit Miktarı Sonuçları.....	119
Tablo 21. MTÜ Kodlu Örneğe ait Total Alkaloit Miktarı Sonuçlarının İstatiksel Olarak Değerlendirilmesi.....	119
Tablo 22. MTA Kodlu Örneğe ait Total Alkaloit Miktarı Sonuçları.....	120
Tablo 23. MTA Kodlu Örneğe ait Total Alkaloit Miktarı Sonuçlarının İstatiksel Olarak Değerlendirilmesi.....	120
Tablo 24. Likorin için Okunan Alan Değerleri.....	121
Tablo 25. ÇTÜ Örneğinde HPLC Yöntemiyle Likorin Miktar Tayini Sonuçları....	122
Tablo 26. ÇTÜ Örneğinde HPLC Yöntemiyle Likorin Miktar Tayini Sonuçlarının İstatiksel Olarak Değerlendirilmesi.....	122
Tablo 27. ÇTA Örneğinde HPLC Yöntemiyle Likorin Miktar Tayini Sonuçları...122	
Tablo 28. ÇTA Örneğinde HPLC Yöntemiyle Likorin Miktar Tayini Sonuçlarının İstatiksel Olarak Değerlendirilmesi.....	123

Tablo 29. MTÜ Örneğinde HPLC Yöntemiyle Likorin Miktar Tayini Sonuçları...	123
Tablo 30. MTÜ Örneğinde HPLC Yöntemiyle Likorin Miktar Tayini Sonuçlarının İstatiksel Olarak Değerlendirilmesi.....	123
Tablo 31. MTA Örneğinde HPLC Yöntemiyle Likorin Miktar Tayini Sonuçları...	124
Tablo 32. MTA Örneğinde HPLC Yöntemiyle Likorin Miktar Tayini Sonuçlarının İstatiksel Olarak Değerlendirilmesi.....	124
Tablo 33. ÇTÜ Örneğinin GC-MS Yöntemiyle Analizi Sonucu Elde Edilen Bulgular.....	130
Tablo 34. ÇTA Örneğinin GC-MS Yöntemiyle Analizi Sonucu Elde Edilen Bulgular.....	130
Tablo 35. MTÜ Örneğinin GC-MS Yöntemiyle Analizi Sonucu Elde Edilen Bulgular.....	131
Tablo 36. MTA Örneğinin GC-MS Yöntemiyle Analizi Sonucu Elde Edilen Bulgular.....	131
Tablo 37. GR-1 Kodlu Bileşiğin 1D ve 2D NMR Spektral Bulguları.....	135
Tablo 38. GR-10 Kodlu Bileşiğin 1D ve 2D NMR Spektral Bulguları.....	190
Tablo 39. GR-11 Kodlu Bileşiğin 1D ve 2D NMR Spektral Bulguları.....	202
Tablo 40. Bazı <i>Galanthus</i> Türleri Üzerinde Daha Önce Yapılmış Olan Kalite Kontrol Çalışmalarına ait Karşılaştırmalı Sonuçlar.....	217

RESİM DİZİNİ

Resim 1. <i>Galanthus rizehensis</i> Stern Bitkisinin Doğadaki Görünüşü.....	41
Resim 2. <i>Galanthus rizehensis</i> Stern Bitkisinin Çiçekli Herbaryum Örneği.....	42
Resim 3. <i>Galanthus rizehensis</i> Stern Bitkisinin Meyveli Herbaryum Örneği.....	42
Resim 4. Kök Enine Kesiti.....	79
Resim 5. Kök Enine Kesiti.....	79
Resim 6. Soğan Dış Yaprığının Enine Kesit.....	80
Resim 7. Çini Mürekkebinde Soğan Enine Kesitinde Madde Birikimi.....	81
Resim 8. Soğan Dış Yaprığında Nişastalar.....	81
Resim 9. Soğan Orta Yaprığının Enine Kesiti.....	82
Resim 10. Soğan İç Yaprığında Rafitler.....	82
Resim 11. Çiçek Durumu Sapı Enine Kesiti Genel Görünüş.....	84
Resim 12. Çiçek Durumu Sapı Enine Kesiti.....	84
Resim 13. Çiçek Durum Sapı Enine Kesitinde Karina.....	85
Resim 14. Çiçek Durum Sapı Yüzeysel Kesiti.....	85
Resim 15. Yaprak Enine Kesiti.....	87
Resim 16. Yaprak Enine Kesiti.....	88
Resim 17. Alt Epidermis Yüzeysel Kesitindeki Stomalar.....	88
Resim 18. Üst Epidermis Yüzeysel Kesitindeki Stomalar.....	89
Resim 19. Yaprak Yüzeysel Kesitinde Rafit Demeti.....	89
Resim 20. Spata Enine Kesiti.....	90
Resim 21. Spata Enine Kesitinde Genel Görünüş.....	91
Resim 22. Spata Enine Kesitinde Spatanın Birleşme (Yırtılma) Yeri.....	91
Resim 23. Çiçek Sapı Enine Kesitinde Genel Görünüş.....	92

Resim 24. Çiçek Sapı Yüzeysel Kesitindeki Stomalar ve Kütikula Kıvrımları.....	93
Resim 25. Dış Tepal Enine Kesiti.....	94
Resim 26. Dış Tepal Enine Kesiti.....	94
Resim 27. Dış Tepal Yüzeysel Kesitinde Dış Epidermis.....	95
Resim 28. Dış Tepal Yüzeysel Kesitinde İç Epidermis.....	95
Resim 29. İç Tepal Yüzeysel Kesitinde İç Epidermis.....	96
Resim 30. Anter Enine Kesitinde Epidermisdeki Papiller.....	96
Resim 31. Anter Yüzeysel Kesitinde Epidermisdeki Papiller.....	97
Resim 32. Ağsı Kalınlaşmış Anter Endotesyumu.....	97
Resim 33. Meyve Enine Kesiti Genel Görünüş.....	99
Resim 34. Meyve Enine Kesitinde Stoma.....	100
Resim 35. Meyve Yüzeysel Kesitinde Stoma ve Çevresindeki Kütikula Çizgileri..	100
Resim 36. Ekzokarpın Yüzeysel Kesiti.....	101
Resim 37. Endokarpın Yüzeysel Kesiti.....	101
Resim 38. Tohum Enine Kesiti.....	102
Resim 39. Tohum Enine Kesiti.....	103
Resim 40. Tohum Enine Kesiti.....	103
Resim 41. Ovaryum Enine Kesiti.....	104
Resim 42. Ovaryum Yüzeysel Kesitinde Rafit Demeti ve Stomalar.....	105
Resim 43. Papilli Anter Epidermisi (Yandan Görünüş).....	106
Resim 44. Papilli Anter Epidermisi (Üstten Görünüş).....	107
Resim 45. Dış Tepalin Dış Epidermis Hücreleri.....	107
Resim 46. Dış Tepalin İç Epidermis Hücreleri.....	108
Resim 47. Polenler.....	108
Resim 48. Yaprak Alt Epidermisinde Stomalar.....	109

Resim 49. Ekzokarpta Stoma.....	109
Resim 50. Mezokarpta Rafit İçeren Parenkimatik Hücreler.....	110
Resim 51. Kabuk Parenkiması Hücreleri.....	111
Resim 52. Emici Tüyleler.....	111
Resim 53. İletim Demetleri.....	112
Resim 54. Rafit Demetleri.....	112
Resim 55. Süberinleşmiş Doku Parçaları.....	113
Resim 56. Soğan Yapağıında Mantar Hifleri.....	113
Resim 57. Soğan Yaprak Epidermisi ve Nişastalar.....	114
Resim 58. Nişastalar.....	114
Resim 59. <i>Galanthus rizehensis</i> Total Alkaloit Ekstresinin, 1-51. Fraksiyonlarının Asetilkolinesteraz İnhibitör Aktiviteleri	133
Resim 60. <i>Galanthus rizehensis</i> Total Alkaloit Ekstresinin, 52-118. Fraksiyonlarının Asetilkolinesteraz İnhibitör Aktiviteleri	133

SPEKTRUM DİZİNİ

Spektrum 1. GR-1 Kodlu Bileşiğın HR-ESI K�t�le Spektrumu.....	136
Spektrum 2. GR-1 Kodlu Bileşiğın ¹ H NMR Spektrumu.....	137
Spektrum 3. GR-1 Kodlu Bileşiğın Genişletilmiş ¹ H NMR Spektrumları.....	138
Spektrum 4. GR-1 Kodlu Bileşiğın Genişletilmiş ¹ H NMR Spektrumları.....	139
Spektrum 5. GR-1 Kodlu Bileşiğın ¹³ C NMR Spektrumu.....	140
Spektrum 6. GR-1 Kodlu Bileşiğın DEPT Spektrumu.....	141
Spektrum 7. GR-1 Kodlu Bileşiğın Normal ve Genişletilmiş ¹ H, ¹ H COSY Spektrumları.....	142
Spektrum 8. GR-1 Kodlu Bileşiğın NOESY Spektrumu.....	143
Spektrum 9. GR-1 Kodlu Bileşiğın HSQC Spektrumu.....	144
Spektrum 10. GR-1 Kodlu Bileşiğın HMBC Spektrumu.....	145
Spektrum 11. GR-2 Kodlu Bileşiğın EI K�t�le Spektrumu.....	147
Spektrum 12. GR-2 Kodlu Bileşiğın ¹ H NMR Spektrumu.....	148
Spektrum 13. GR-2 Kodlu Bileşiğın Genişletilmiş ¹ H NMR Spektrumu.....	149
Spektrum 14. GR-2 Kodlu Bileşiğın ¹³ C NMR Spektrumu.....	150
Spektrum 15. GR-2 Kodlu Bileşiğın DEPT Spektrumu.....	151
Spektrum 16. GR-3 Kodlu Bileşiğın EI K�t�le Spektrumu.....	153
Spektrum 17. GR-3 Kodlu Bileşiğın ¹ H NMR Spektrumu.....	154
Spektrum 18. GR-3 Kodlu Bileşiğın ¹³ C NMR Spektrumu.....	155
Spektrum 19. GR-3 Kodlu Bileşiğın DEPT Spektrumu.....	156
Spektrum 20. GR-4 Kodlu Bileşiğın EI K�t�le Spektrumu.....	158
Spektrum 21. GR-4 Kodlu Bileşiğın ¹ H NMR Spektrumu.....	159
Spektrum 22. GR-4 Kodlu Bileşiğın Genişletilmiş ¹ H NMR Spektrumu.....	160

Spektrum 23. GR-4 Kodlu Bileşiğın ^{13}C NMR Spektrumu.....	161
Spektrum 24. GR-5 Kodlu Bileşiğın EI Kütleye Spektrumu.....	163
Spektrum 25. GR-5 Kodlu Bileşiğın ^1H NMR Spektrumu.....	164
Spektrum 26. GR-5 Kodlu Bileşiğın Genişletilmiş ^1H NMR Spektrumu.....	165
Spektrum 27. GR-5 Kodlu Bileşiğın ^{13}C NMR Spektrumu.....	166
Spektrum 28. GR-6 Kodlu Bileşiğın EI Kütleye Spektrumu.....	168
Spektrum 29. GR-6 Kodlu Bileşiğın ^1H NMR Spektrumu.....	169
Spektrum 30. GR-6 Kodlu Bileşiğın ^{13}C NMR Spektrumu.....	170
Spektrum 31. GR-7 Kodlu Bileşiğın EI Kütleye Spektrumu.....	172
Spektrum 32. GR-7 Kodlu Bileşiğın ^1H NMR Spektrumu.....	173
Spektrum 33. GR-7 Kodlu Bileşiğın Genişletilmiş ^1H NMR Spektrumu.....	174
Spektrum 34. GR-7 Kodlu Bileşiğın ^{13}C NMR Spektrumu.....	175
Spektrum 35. GR-7 Kodlu Bileşiğın DEPT Spektrumu.....	176
Spektrum 36. GR-8 Kodlu Bileşiğın EI Kütleye Spektrumu.....	178
Spektrum 37. GR-8 Kodlu Bileşiğın CD Spektrumu.....	179
Spektrum 38. GR-8 Kodlu Bileşiğın ^1H NMR Spektrumu.....	180
Spektrum 39. GR-8 Kodlu Bileşiğın Genişletilmiş ^1H NMR Spektrumu.....	181
Spektrum 40. GR-8 Kodlu Bileşiğın ^{13}C NMR Spektrumu.....	182
Spektrum 41. GR-9 Kodlu Bileşiğın EI Kütleye Spektrumu.....	184
Spektrum 42. GR-9 Kodlu Bileşiğın CD Spektrumu.....	185
Spektrum 43. GR-9 Kodlu Bileşiğın ^1H NMR Spektrumu.....	186
Spektrum 44. GR-9 Kodlu Bileşiğın Genişletilmiş ^1H NMR Spektrumu.....	187
Spektrum 45. GR-9 Kodlu Bileşiğın ^{13}C NMR Spektrumu.....	188
Spektrum 46. GR-10 Kodlu Bileşiğın UV Spektrumu	191
Spektrum 47. GR-10 Kodlu Bileşiğın IR Spektrumu.....	192

Spektrum 48. GR-10 Kodlu Bileşiğın HR-ESI Kütıle Spektrumu.....	193
Spektrum 49. GR-10 Kodlu Bileşiğın ¹ H NMR Spektrumu.....	194
Spektrum 50. GR-10 Kodlu Bileşiğın Genişletilmiş ¹ H NMR Spektrumu.....	195
Spektrum 51. GR-10 Kodlu Bileşiğın ¹³ C NMR Spektrumu.....	196
Spektrum 52. GR-10 Kodlu Bileşiğın ¹ H ¹ H COSY Spektrumu.....	197
Spektrum 53. GR-10 Kodlu Bileşiğın NOESY Spektrumu.....	198
Spektrum 54. GR-10 Kodlu Bileşiğın HSQC Spektrumu.....	199
Spektrum 55. GR-10 Kodlu Bileşiğın HMBC Spektrumu.....	200
Spektrum 56. GR-11 Kodlu Bileşiğın UV Spektrumu.....	203
Spektrum 57. GR-11 Kodlu Bileşiğın IR Spektrumu.....	204
Spektrum 58. GR-11 Kodlu Bileşiğın HR-ESI Kütıle Spektrumu.....	205
Spektrum 59. GR-11 Kodlu Bileşiğın ¹ H NMR Spektrumu.....	206
Spektrum 60. GR-11 Kodlu Bileşiğın Genişletilmiş ¹ H NMR Spektrumu.....	207
Spektrum 61. GR-11 Kodlu Bileşiğın ¹³ C NMR Spektrumu.....	208
Spektrum 62. GR-11 Kodlu Bileşiğın ¹ H ¹ H COSY Spektrumu.....	209
Spektrum 63. GR-11 Kodlu Bileşiğın NOESY Spektrumu.....	210
Spektrum 64. GR-11 Kodlu Bileşiğın HSQC Spektrumu.....	211
Spektrum 65. GR-11 Kodlu Bileşiğın HMBC Spektrumu.....	212

ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 1. HPLC ile Yapılan Miktar Tayininde Kullanılan Likorin Standart Ölçü Eğrisi ve Regresyon Denklemi.....	121
Şekil 2. Standart Likorine ait Kromatogram.....	124
Şekil 3. Standart Likorine ait UV Spektrumu.....	125
Şekil 4. ÇTÜ Kodlu Örneğin Normal ve Genişletilmiş Kromatogramları.....	125
Şekil 5. ÇTA Kodlu Örneğin Normal ve Genişletilmiş Kromatogramları.....	126
Şekil 6. MTÜ Kodlu Örneğin Normal ve Genişletilmiş Kromatogramları.....	126
Şekil 7. MTA Kodlu Örneğin Normal ve Genişletilmiş Kromatogramları.....	127
Şekil 8. Standart Galantamine ait Kromatogram.....	127
Şekil 9. ÇTÜ Kodlu Örneğe ait Kromatogram.....	128
Şekil 10. ÇTÜ Kodlu Örneğin Galantaminle Karışımına ait Kromatogram.....	128
Şekil 11. ÇTA Kodlu Örneğe ait Kromatogram.....	128
Şekil 12. ÇTA Kodlu Örneğin Galantaminle Karışımına ait Kromatogram.....	128
Şekil 13. MTÜ Kodlu Örneğe ait Kromatogram.....	129
Şekil 14. MTÜ Kodlu Örneğin Galantaminle Karışımına ait Kromatogram.....	129
Şekil 15. MTA Kodlu Örneğe ait Kromatogram.....	129
Şekil 16. MTA Kodlu Örneğin Galantaminle Karışımına ait Kromatogram.....	129

BÖLÜM I

GİRİŞ VE GENEL BİLGİLER

1. ARAŞTIRMANIN AMACI

Ülkemizde halk arasında “kardelen”, “boynu bükük”, “garipçe”, “aktaş”, “karga soğanı”, “öksüz Ahmet” gibi isimlerle tanınan *Galanthus* türleri, Amaryllidaceae familyası üyeleri arasında yer alan, çok yıllık, otsu, soğanlı bitkilerdir (5, 30, 376). *Galanthus* türleri, Avrupa, Yakın Doğu Ülkeleri ve Anadolu'nun çeşitli bölgelerinde yayılış göstermektedir (83). Bir kaynakta toprak üstü kısımlarının kalp kuvvetlendirici, midevi ve adet söktürücü, soğanlarının ise lapa halinde çıban olgunlaştırıcı olarak kullanıldığı belirtilmektedir (30).

Dünyanın birçok ülkesinde güzel çiçekleri nedeniyle süs bitkisi olarak kullanılan *Galanthus* türlerinin soğanları bu nedenle ihraç edilmektedir. Ancak son yıllarda bunların ihracatlarıyla ilgili bazı düzenlemelerin yapıldığı bildirilmektedir. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı tarafından resmi gazetede yayınlanan *Galanthus* türlerinin de dahil olduğu “Doğal Çiçek Soğanlarının 2010 Yılı İhracat Listesi Hakkında Tebliğ” gereğince bunların ihracatlarıyla ilgili sınırlama getirilmiştir. Bu tebliğe göre Antalya ili, Alanya ve Gündoğmuş ilçe sınırları içerisinde yetişen *Galanthus elwesii* (Toros Kardeleni) hariç, *G. elwesii* Hook. ve *G. woronowii* Losinsk. türleri dışında *Galanthus* türlerinin doğadan toplanarak ihracatı yasaktır.

Söz konusu bu iki türün ihracatı ise kotayla sınırlandırılmıştır (321).

Galanthus türleri çok sayıda araştırmaya konu olan alkaloidleri ve lektinleri nedeniyle ilgi çekicidir (144, 325). Farmakolojik etkilerinden dolayı ilaç olarak kullanılma potansiyeli taşıyan birçok alkaloidde sahip olan *Galanthus* türlerinin, içermiş oldukları alkaloidlerden bazıları ise günümüzde tedavi alanında kullanılmaktadır. Bunlardan en önemlisi hiç kuşkusuz galantamin adlı alkaloiddir. *Galanthus* türleri ve Amaryllidaceae familyasının diğer bazı üyelerinde de görülen bu alkaloid, Alzheimer Hastalığı (AH) gibi kolinerjik ilişkili nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde kullanılan güvenli bir ilaçtır (115, 211, 309). Klinik olarak kullanılan asetilkolinesteraz inhibitörleri arasında önemli bir yere sahip olan galantamin hidrobromür tuzu halinde, “Reminyl^R” jenerik ismi altında piyasada yer almaktadır (45, 230). Bunun dışında galantaminin analjezik (139), gevşetici anestezi alan hastalarda kortizol düzeyini artırıcı etkili olduğu (74), tedavide ameliyat sonrası mide-bağırsak-mesane atonisinde, myasthenia gravisde, miyopati ve poliomyelitisde oluşan semptomlarda, omurilik zedelenmeleri, polinevrit, polinevropatide kullanıldığı belirtilmiştir (138).

Galantaminin beyindeki kolinerjik nörotransmisyon üzerinde iki farklı mekanizmayla açıklanabilen etkisi mevcuttur. Düşük dozlarda allosterik olarak nikotinik asetilkolin reseptörlerine (nAChRs) bağlanarak fonksiyonlarını etkin hale getirirken, yüksek dozda asetilkolinesteraz (AChE) inhibitör aktivite göstermektedir (225, 287). Yapılan birçok araştırma neticesinde galantaminin, sinaptik transmisyonu kolaylaştırıcı (286), apoptozisi ve oksidatif hasarı önleyerek nöroprotektif etki gösterdiği, çeşitli deneysel şartlarda öğrenme kabiliyetini artırdığı, özellikle serebral iskemiye karşı etkili olduğu saptanmıştır (16, 111, 151, 155, 219, 220). AH'nın patojenezinde rolü olan β -amiloid plakların agregasyonunu inhibe ettiği ve ayrıca β -

amiloid 1-40 tarafından indüklenen oksidatif stres ve hücrel apoptozisi önemli oranda azalttığı rapor edilmiştir (230, 237). Galantaminin tek başına veya başka bileşiklerle birlikte organofosfor zehirlenmelerinde koruyucu veya toksik etkileri giderici etkileri de mevcuttur (9, 148). Ayrıca, galantaminin şizofreni hastalığında görülebilen bozulmuş dopaminerjik nörotransmisyon üzerinde olumlu etkileri olduğu ve bu hastalıkta görülen konuşma bozukluğu gibi birtakım semptomların giderilmesinde yararlı olabileceği klinik çalışmalarda gösterilmiştir (71, 286). Bir başka çalışmada ise galantaminin (Reminyl), obestin isimli sentetik ilaçla kombine olarak, kadınlarda hipoöstrojenik sendromla birlikte görülen öğrenme bozukluklarında kullanılabileceği bildirilmiştir (284). Bunlara ilaveten söz konusu alkaloidin glutamat nörotoksitesine karşı kortikal nöronlarda koruyucu aktiviteye sahip olduğu da gösterilmiştir (315).

Önemli farmakolojik aktivitelere sahip olan bir diğer Amaryllidaceae alkaloidi olan likorin; antiviral (90, 149, 384), antimalaryal (314) antifungal (129), antiparazitik (224), antiinflamatuvar (79) gibi biyolojik aktivitelere sahiptir. Bunlara ilaveten askorbik asit biyosentez inhibitörü (17, 142), asetilkolinesteraz inhibitörü (102), RNA ve protein biyosentezini inhibe edici (156, 195, 357), antiproliferatif, DNA ve tRNA ile etkileşmeleri mevcut olup (143, 166, 210), çeşitli mekanizmalarla antitümöral (190, 214, 234, 362) etkileri de bulunmaktadır.

Amaryllidaceae türlerinde en yaygın olarak bulunan ve önemli fizyolojik aktivitelere sahip olan galantamin ve likorin dışında diğer alkaloidlerin de önemli biyolojik aktivitelere sahip oldukları kanıtlanmıştır. Örnek olarak tazettin, hipeastrin, hemantidinin, P-388 murine lenfositik lösemisinin dahil olduğu bazı tümör tiplerine karşı sitotoksik aktiviteye sahip oldukları tespit edilmiştir (14). Trisferidin, 2-O-asetillikorin, pretazettin, pankratistatin, narsiklasin, 7-deoksinarisiklasin (likorisidin),

krinamin, narsiprimin, arolikorisidin, likorenan-7-on ve hamentamin adlı Amaryllidaceae alkaloidleri de çeşitli mekanizmalarla antitümör aktivite gösterdikleri ispatlanmış bileşiklerdir (42, 154, 231, 233, 235, 257, 380, 385). Narsiklasin ise antimitotik etkisi tanımlanmış bir Amaryllidaceae alkaloididir (64, 259).

Bufenamin, hipeastrin, klivimin isimli alkaloidler antiinvasiv etkili Amaryllidaceae alkaloidleridir (110). Ayrıca 6-hidroksiamentamin ve hamentamin ise antimalaryal aktiviteye sahiptir (314).

Amaryllidaceae alkaloidlerinin sahip oldukları farklı aktivitelere çok sayıda örnek vermek mümkündür. Söz konusu alkaloidler farmakolojik ve fizyolojik etkileri nedeniyle başta bitki kimyasıyla uğraşanlar olmak üzere araştırmacıların ilgisini çekmektedir. Bu araştırmada ümit verici farmakolojik aktivitelere sahip olan yeni alkaloidlerin ve yeni ilaçların tasarımı için model olabilecek yeni bileşiklerin potansiyel kaynakları olarak, Türkiye *Galanthus* türleri üzerinde araştırma grubumuz tarafından yürütülen fitokimyasal çalışmalar kapsamında, Trabzon ili, Maçka ilçesi, Güzelyayla köyünden topladığımız *Galanthus rizehensis* Stern bitkisi üzerinde biyolojik aktivite rehberli izolasyon ve yapı aydınlatma çalışmalarıyla, bitkinin ilk defa tarafımızdan kapsamlı olarak incelenmesi sebebiyle anatomik araştırmalar, kalite kontrol çalışmaları yapılması planlanmıştır. Böylece bitkinin farmakognozok olarak farklı yönlerden değerlendirilmesi amaç olarak belirlenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2. 1. BOTANİK ÇALIŞMALAR

Galanthus genusu bitkileri çok yıllık soğanlı bitkiler olup, Amaryllidaceae familyası üyeleri arasında yer almaktadır (31, 52, 83, 366, 376). Aşağıda cins ve tür seviyesinde verilen bilgiler “Flora of Turkey and the East Aegean Islands” adlı kaynaktan hiçbir katkıda bulunulmaksızın derlenmiştir (52).

2. 1. 1. *Galanthus* L. Genusu

Soğanlı skapuslu çok yıllık. Yapraklar tabanda, 2, linear veya oblanseoalat. Skapus (çiçek durum sapı) çiçekli durumda dik, meyveli durumda bükülmüş. Çiçekler tek, beyaz ve eğik. Spata bitişik 2 parçalı. Hipantiyum ve korona yoktur. Periant segmentleri serbest; dıştaki 3 segment akuttan subobtusa kadar, spatulat veya oblanseolatdan dar obovata kadar, dik-yayvan, küçük pençe şeklinde; içteki segmentler dıştaki segmentlerin 1/2 sinden, 2/3 üne kadar olan uzunlukta, dik, oblong, spatulat veya oblanseolat, emarginat, kuneat, tepede veya bazen de her segmentin dış yüzeyinin tabanında yeşil lekeli. Stamenler periantın tabanında, içteki segmentlerden daha kısa. Filamentler anterlerden çok daha kısa. Anterler bazifiks, sadece tepedeki pordan açılır. Stilus ince, anterlerden uzun, stigma kapitat. Kapsül elipsoid, subgloboz veya globoz, 3 gözlü. Tohumlar açık kahverengi, strofiyolatdır (52).

2. 1. 2. *Galanthus rizehensis* Stern

Soğan ovoidden subgloboza kadar, 1.5-2 x 1.1-1.5 cm. Yapraklar linear, tomurcukta düz, çiçekli dönemde 9-16 x 3-7.5 (-10) mm, olgunlukta tekrar kıvrılarak 20 cm x 10 mm'ye kadar, tepede obtus, düz, koyu yeşil. Skapus 10-15 cm (-20) cm.

Periantın dış segmentleri hafif konveks, dikdörtgenimsi-eliptik, 15-20 x (6-) 8 mm, içteki segmentler düz, tepede genişlememiş, dikdörtgenimsi-spatula şeklinde, 8-9 x 5-6 mm. $2n=24, 36$. Çiçeklenme zamanı Ocak-Nisan. *Paliurus* ve *Ruscus* çalılıkları açıklıklarında hafif kumlu toprakta, çürümüş yapraklı orman açıklıklarında, deniz seviyesi - 1200 m.

Tip: (Türkiye A7 Trabzon) Trabzon civarından, 1933, Balls, kültür. (23 i 1953)

F. C. Stern (holo. BM !).

Başlıca Kuzeydoğu Anadolu. A6 Samsun: Çetirli Pınar Köy, 100 m, Tobey 1714a! Ordu: Samsun'un 80 km doğusu, deniz seviyesinde, Grey-Wilson & Hewer 9! A7 Trabzon: Sümela Manastırı, 1200 m, Stainton 8156! A8 Trabzon: Trabzon'dan Rize'ye doğru 42. km, Grey-Wilson & Hewer 17!

Kuzey İran. Karadeniz elemanı. Kafkaslardaki *G. transcaucasicus* Fomin (?= *G. caspius* (Rupr.) Grossh.) tanımlamaya göre *G. rizehensis* ile oldukça benzer görünmektedir, ancak yeterli materyal olmadığı sürece iki takson arasındaki ilişkiyi tespit etmek güçtür.

“Flora of Turkey and the East Aegean Islands” isimli kaynağın 8. cildine göre, ülkemizde yabancı olarak yetişen 8 adet *Galanthus* türünün olduğu bildirilmiştir. Bunlar *G. reginae-olgae* Orph., *G. plicatus* (Bieb.) subsp. *byzantinus* (Baker) D.A. Webb, *G. elwesii* Hook., *G. gracilis* Celak., *G. nivalis* L. (subsp. *nivalis* ve subsp. *cilicicus*), *G. rizehensis* Stern, *G. fosteri* Baker, *G. ikariae* Baker'dır (52). Bunların yanında varlıkları kesin olarak kanıtlanmamış *G. caucasicus* (Baker) Grossh. ve *G. krasnovii* A. Khokr. türlerinden de bahsedilmiştir.

Aynı kaynağın 10. cildinde *G. caucasicus* (Baker) Grossh. türü tekrar ele alınarak diğer türlere ilave edilmiştir (53). Yine aynı kaynağın 11. cildinde ise

Türkiye’de on üç tür (on dört takson) bulunduğu belirtilmiştir **(82)**. Buna ilave olarak, bir diğer kaynakta Türkiye’nin kuzeybatısında yetişen *G. trojanus* A. P. Davis & N. Özhatay ismiyle bahsedilen türle birlikte Türkiye’deki *Galanthus* türü sayısı on dört tür (on beş takson) olmaktadır **(86)**. Bu türlerin isimleri aşağıda yer almaktadır.

1. *G. plicatus* M. Bieb. {subsp. *plicatus* ve subsp. *byzantinus*}
2. *G. elwesii* Hook.
3. *G. koenianus* Lobin.
4. *G. alpinus* Sosn.
5. *G. fosteri* Baker
6. *G. krasnovii* A. P. Khokhr.
7. *G. woronowii* Losinsk. {*G. ikariae* subsp. *latifolius* Stern}
8. *G. ikariae* Baker
9. *G. rizehensis* Stern
10. *G. gracilis* Čelak
11. *G. nivalis* L.
12. *G. cilicicus* Baker = {*G. nivalis* L. subsp. *cilicicus* (Baker) Gottl.-Tann.}
13. *G. peshmenii* A. P. Davis & C. D. Brickell
14. *G. trojanus* A. P. Davis & N. Özhatay

“Türkiye Kardelenleri (*Galanthus* L.) I.” adlı kaynakta **(376)** ülkemizde yedi *Galanthus* türünün, bunlara ait subsp. veya varyetelerle birlikte 20 taksonla temsil edildiği bildirilmiş ve yine aynı kaynakta bu türlerin morfolojileri, yaprak anatomileri ve bazı türler üzerinde gerçekleştirilmiş karyolojik araştırma sonuçlarıyla, tayin anahtarına yer verilmiştir.

Bir başka kaynakta *Galanthus* genusunun Avrupa ve Akdeniz’den Kafkasya’ya

kadar uzanan bölgede yaklaşık yirmi türle (366), bir diğer kaynakta ise bu türlerden yedi tanesinin Türkiye’de genellikle sık olmayan ormanlık ve çalılıklarda bulunduğu bildirilmektedir (31). Başka bir kaynakta ise yirmi türle (yirmi beş takson) temsil edildiği belirtilmektedir (84). Aynı kaynakta yaprağa ait anatomik özelliklere ayrıntılı biçimde yer verilmiştir. Söz konusu kaynakta yer verilen yirmi türe *G. trojanus* A. P. Davis & N. Özhatay türü de eklendiği zaman Avrupa ve Asya’da *Galanthus* cinsinin yirmi bir türle (yirmi altı takson) yayılış gösterdiği belirtilebilir.

Galanthus türlerinin sistematik tayinlerinde yararlı olabilecek bir başka kaynakta *Galanthus* genusunun morfolojisi, anatomisi, sitolojisi, döllenmesi, ekolojisi, kültürü, taksonomisi ve hibritleri hakkında ayrıntılı bilgiler bulunmaktadır (83).

Galanthus ikariae Baker ve *Galanthus rizehensis* Stern bitkileri üzerinde yapılmış bir çalışmada, bitkilere ait morfolojik, anatomik ve fizyolojik özellikler incelenmiştir (312). *Galanthus ikariae* Baker, *G. rizehensis* Stern ve *G. elwesii* Hook. türlerinin polenlerinin elektron mikroskopuyla morfolojilerinin incelendiği çalışmalar da bulunmaktadır (311, 313).

G. nivalis L. türü üzerinde yapılmış yaprak, tepal anatomisi ve klorofil içeriğiyle ilgili bir çalışma da bulunmaktadır (285).

Yunanistan’da yetişen dört *Galanthus* taksonu {*G. elwesii* Hook. subsp. *elwesii*, *G. elwesii* Hook. subsp. *minor* D. A. Webb, *G. nivalis* L. subsp. *nivalis*, *G. nivalis* L. subsp. *reginae-olgae* (Orph.) Gottl.-Tann.} üzerinde yapılan araştırmada *G. nivalis* L. subsp. *nivalis* türünün Yunanistan’da Athos Dağı’nda yetiştiği ve Anadolu’da yetişen *G. cilicicus* Baker bitkisiyle morfolojik ve sitolojik yönlerden benzer olduğu bildirilmektedir (253).

Bir diğer çalışmada, *G. nivalis* L. ile *G. plicatus* subsp. *byzantinus* (Baker) D.

A. Webb taksonları arasındaki hibritleşmeyle oluşan taksona *G. xvalentinei* nothosubsp. *subplicatus* adı verilmiş olup, bu taksonlarla ilgili morfolojik özellikler ve oluşan yeni hibritle ebeveyn bitkiler arasındaki farklar tartışılmıştır. Ayrıca Türkiye’de yetişen *G. nivalis* L. ile *G. plicatus* subsp. *byzantinus* (Baker) D. A. Webb bitkilerinin morfolojileri hakkında da bilgi verilmiştir. *G. xvalentinei* türü için ise yeni bir hibrit tipin tanımlaması yapılmıştır (85).

Meerow ve arkadaşları, Amaryllidaceae familyasının sistematığı hakkında akrabalık ilişkilerinin saptanmasına yönelik *RBCL* ve *TRNL-F* sıralanışlarının kladistik analizine dayanarak bir çalışma yapmışlardır (236). Buna ilaveten, *Leucojum* ve *Galanthus* türleri arasındaki filogenetik analizleri konu alan bir çalışma da mevcuttur (215).

Son yıllarda Amaryllidaceae familyasında yer alan cinslerin genotiplerini belirleyebilmek için moleküler markör teknikleri kullanılan çalışmalar yapılmıştır. (91, 92, 280, 293). *G. rizehensis*’in de içinde yer aldığı çeşitli *Galanthus* türlerinin DNA içeriğini araştıran kapsamlı bir çalışma da gerçekleştirilmiştir (383). Marmara bölgesinde bulunan üç *Galanthus* türünün (*G. plicatus* subsp. *byzantinus*, *G. nivalis* ve *G. xvalentinei* nothosubsp. *subplicatus*) incelendiği bir tez çalışmasında, morfolojik olarak *G. nivalis* diye tanımlanan türün genetik açıdan Avrupa’da kabul edilen *G. nivalis*’ten farklı olarak *G. xvalentinei* nothosubsp. *subplicatus* örnekleriyle aynı olduğu bildirilmiştir. *G. xvalentinei* nothosubsp. *subplicatus* örneklerinin moleküler analizi sonucunda melezleme belirtisi ya da değişkenlik göstermediği, yapılan filogenetik analizler sonucu genetik olarak ayrı ve sabit bir tür olduğu belirtilmiştir. Morfolojik olarak *G. plicatus* subsp. *byzantinus* olarak tanımlanan bitkilerin nükleer DNA seviyesinde *G. plicatus*’a yakın durduğu ancak kloroplast sekanslarının *G. xvalentinei* nothosubsp. *subplicatus*’a benzer olduğu bildirilmiştir.

Bu iki genom arasındaki uyumsuzluğun nedeninin eski bir melezden kaynaklanmış olabileceği, bu sonuçların da Türkiye’de *G. nivalis* bulunmadığına dair bir kanıt olabileceği ve dolayısıyla *G. xvalentinei* nothosubsp. *subplicatus* adlı türün melez olarak değil, taksonomik bir birim (takson) olarak tekrar değerlendirilmesi ve yeniden adlandırılması gerektiği belirtilmiştir (76).

Farklı bir çalışmada, Avrupa, Türkiye ve Kafkasya’da doğal olarak yetişen *Galanthus* türleri, DNA’ya dayalı taksonomik sınıflandırma yapılarak *G. nivalis*, *G. elwesii*, *G. woronowii*, *G. krasnovi* ve *G. alpinus* olmak üzere beş grupta toplanmıştır. *G. nivalis* ve *G. woronowii* türlerinin Gürcistan ve Türkiye’de yabani olarak yaygın bir şekilde yetiştiği belirtilmiştir. Ticari öneme sahip olan *G. nivalis*, *G. elwesii*, *G. woronowii* türlerinde cpDNA ve nrDNA analizlerinde çok belirgin farklılıklar olduğu belirtilmiştir (120). 2008 yılında yapılan bir çalışmada ise Türkiye’de yetişen *Galanthus* türlerinin genetik çeşitliliği araştırılmıştır (322). Çalışma grubumuz tarafından Türkiye *Galanthus* türleri üzerinde yürütülen araştırmalar kapsamında Türkiye’nin çeşitli bölgelerinden topladığımız *Galanthus* türlerinden elde edilen örnekler üzerinde genetik çeşitlilik, DNA seviyesinde AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) tekniği kullanılarak belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre Türkiye’nin farklı bölgelerinden toplanan aynı türler farklı gruplarda yer almış ve dolayısıyla bu durum genetik varyasyonun yüksek olduğuna işaret etmiştir (12).

2. 2. KALİTE KONTROL VE MİKTAR TAYİNİ ÇALIŞMALARI

2. 2. 1. Kalite Kontrol Çalışmaları

Çalışmamızın konusunu oluşturan *Galanthus rizehensis* Stern bitkisinden hazırlanan Herba ve Bulbus Galanthi drogları hiçbir farmakopede yer almamaktadır.

Bu amaçla, Türkiye’de yetişen *Galanthus* türleri üzerinde çalışma grubumuz tarafından yürütülen araştırmalar kapsamında, fitokimyasal çalışmaların yanı sıra kalite kontrol çalışmaları da gerçekleştirilmiştir. *Galanthus* türlerinden hazırlanan droglar üzerinde nem, total kül ve sülfat külü miktar tayinleriyle, teşhis ve saflık kontrollerine ait çalışmalar gerçekleştirilmiştir (7, 77, 97, 116, 167). Elde edilen bulgu ve sonuçların, ileride bu bitkilerden hazırlanacak droglar hakkında yazılabilecek monograflara esas oluşturacakları düşünülmüştür.

2. 2. 2. Alkaloit Miktar Tayini Çalışmaları

Galanthus türlerinin içermiş oldukları alkaloitler hakkında yapılmış birçok miktar tayini çalışması bulunmaktadır. Bu alanda ilk olarak 1940 yılında L. Ya. Areshkina tarafından *Galanthus woronowii* bitkisi üzerinde total alkaloit miktar tayini çalışması yapılmış ve bitkinin soğanlarında % 1.03, yapraklarında % 0.60 oranında total alkaloit olduğu tespit edilmiştir (15). Ayrıca aynı çalışmada bu bitkide yüksek oranda şeker, nişasta ve hemiselüloz bulunduğu da bildirilmiştir.

Çeşitli *Galanthus* türleri üzerinde bitkideki total alkaloit, galantamin ve likorin miktarlarını kantitatif olarak tayin etmeye yönelik araştırmalara ve izolasyon çalışmaları sonucu elde edilen total alkaloit, galantamin ve likorin miktarlarına ait değerler sırasıyla Tablo 1 ve Tablo 2’de verilmiştir.

Ayrıca Amaryllidaceae familyasının *Galanthus* türleri dışında diğer üyeleri üzerinde yapılmış galantamin ve likorin miktar tayini çalışmaları da mevcuttur (13, 28, 56, 59, 78, 80, 88, 98, 100, 109, 112, 123, 128, 131, 132, 152, 177, 178, 186, 209, 218, 226, 239, 241, 244, 262, 270, 271, 291, 292, 303, 304, 305, 316, 319, 326, 354, 361, 369, 371). Bunlara ilaveten çeşitli preparat, tablet, safra, idrar, serum ve plazma üzerinde galantamin ve likorin miktar tayini çalışmaları da yapılmıştır (68, 147, 181, 184, 189, 227, 247, 294, 297, 324, 352, 355, 356, 372, 379, 381).

Galantamin ve likorin miktar tayinleri dışında *Galanthus* türleri üzerinde yapılmış diğer alkaloidlere ait miktar tayini çalışmaları da mevcuttur (69, 183, 242, 358, 359, 377).

Bunlara ilaveten *Galanthus* türleri üzerinde süperkritik sıvılarla ekstraksiyon ve HPLC gibi yöntemlerle yapılmış fenolik asit ekstraksiyonu ve miktar tayini çalışmaları da bulunmaktadır (89, 246, 330, 338).

2. 2. 3. Alkaloid Teşhis Çalışmaları

Galanthus genusunun alkaloidleri üzerinde yapılan bir grup çalışma da alkaloidlerin kromatografik olarak veya renk reaksiyonlarıyla belirlenmelerine dayanmaktadır (41, 99, 130, 150, 238, 295, 358, 359, 377).

2. 2. 4. Alkaloid Üretim Çalışmaları

Literatürde galantaminin çeşitli *Galanthus* türlerinden üretimine ait araştırmalar bulunmaktadır (19, 67, 255). *Galanthus* türlerinin morfolojik ve fizyolojik özelliklerinin, alkaloidlerinin ve galantaminin tıbbi etki mekanizmasının tartışıldığı derleme türünde bir yayın da mevcuttur (288). Başka bir derleme türü yayında ise galantaminin *Galanthus* türlerinde ve farklı bitkisel kaynaklarda bulunuşları incelenmiştir (65).

2. 3. BİYOLOJİK AKTİVİTE REHBERLİĞİNDE İZOLASYON VE YAPI AYDINLATMA ÇALIŞMALARI

2. 3. 1. Genel Bilgiler

Alzheimer hastalığı (AH) demansın en sık rastlanan bir formu olup, asetilkolin nöromedyatörünün eksikliği veya β -amiloid plak oluşumuyla karakterizedir.

Özellikle gelişmiş ülkelerde belirli yaş üzerindeki insanların yaşamını olumsuz

Bitki Adı (#) (Belirtilmiş ise toplama yılı, yeri)	Bitkinin Çalışılan Kısmı	Yöntem	Total Alkaloit Miktarı	Galantamin	Likorin	Literatür
<i>G. nivalis</i> subsp. <i>angustifolius</i> (G. Koss) Artjushenko (Balkarsk ASSR)	Yaprak Soğan	Kromatokolorimetrik	- -	% 0.05 % 0.73	- -	130
<i>G. woronowii</i> (Abzhar and Abkha, ASSR)	Yaprak Soğan		% 0.7 % 0.86	- -	- -	185
<i>G. woronowii</i> A. Los.	Soğan (Vejetasyon Başlangıcı) Soğan (Tomurcuklu Dönemde) Soğan (Çiçekli Dönemde) Soğan (Meyveli Dönemde) Soğan (Vejetasyon Sonu)	Kromato-Kütle- Spektrofotometrik Yöntem	- - - - -	% 0.09 % 0.13 % 0.17 % 0.20 % 0.23	- - - - -	178
<i>G. elwesii</i> Hook var. <i>elwesii</i> (Yamanlardağı, İzmir, 1978) <i>G. elwesii</i> Hook var. <i>elwesii</i> (Yamanlardağı, İzmir, 1979) <i>G. byzantinus</i> (Yalova) <i>G. ikariae</i> ssp. <i>latiafolius</i> Stern (Giresun) <i>G. nivalis</i> L. ssp. <i>nivalis</i> (Donau-Au, Korneuburg)	Soğan ve Kök Soğan Dış Yaprakları Soğan ve Kök Soğan Yapraklar Soğan ve Kök Soğan Soğan ve Kök Soğan (Tomurcuklu Dönemde) Soğan (Çiçekli dönemde) Soğan (yapraklar oluşmadan önce) Tepal Yaprakları	HPLC	- - - - - - - - - - - -	% 0.090 * % 0.386 % 0.2565 * * % 0.05 % 0.09 * * * % 0.0122	% 0.063 % 0.0007 % 0.005 % 0.002 % 0.003 % 0.217 % 0.75 % 0.95 * % 0.0235 * % 0.0075	377
<i>G. nivalis</i>	Soğan		-	≤% 0.1	-	66
<i>G. elwesii</i> Hook. (Akseki, Antalya) <i>G. ikariae</i> Baker (Sürmene, Trabzon)	Soğan Soğan	HPLC	- -	- -	% 0.011 % 0.043	243
<i>G. elwesii</i> Hook. (Akdağ, İzmir, 1995)	Çiçekli Toprak üstü Çiçekli Toprak altı Meyveli Toprak üstü Meyveli Toprak altı	Titrimetrik (total alkaloit) ve spektrofotometrik (galantamin ve likorin)	% 0.185 % 0.284 % 0.109 % 0.125	% 0.026 % 0.008 % 0.013 % 0.007	% 0.013 % 0.007 % 0.011 % 0.004	169

Tablo 1. Çeşitli *Galanthus* Türleri Üzerinde Yapılmış Olan Kantitatif Çalışmalarda Elde Edilen Total Alkaloit, Galantamin ve Likorin Miktarları

Bitki Adı (#) (Belirtilmiş ise toplama yılı, yeri)	Bitkinin Çalışılan Kısmı	Yöntem	Total Alkaloit Miktarı	Galantamin	Likorin	Literatür
<i>G. gracilis</i> Çelak. (Nif Dağı, İzmir, 2000)	Çiçekli Toprak üstü Çiçekli Toprak altı Meyveli Toprak üstü Meyveli Toprak altı	Titrimetrik (total alkaloit) ve spektrofotometrik (galantamin ve likorin)	% 0.157 % 0.086 % 0.060 % 0.044	* * * *	* % 0.0006 * % 0.0003	116
<i>G. gracilis</i> Çelak. (Nif Dağı, İzmir, 2000)	Çiçekli Toprak üstü Çiçekli Toprak altı Meyveli Toprak üstü Meyveli Toprak altı	HPLC	- - - -	* * * *	* 0.0019 * 0.0009	116
<i>G. elwesii</i> Hook. (Yamanlar Dağı, İzmir, 2000)	Çiçekli Toprak üstü Çiçekli Toprak altı Meyveli Toprak üstü Meyveli Toprak altı	Titrimetrik (total alkaloit) ve spektrofotometrik ve HPLC (galantamin ve likorin)	% 0.661 % 0.120 % 0.166 % 0.111	* * * *	* * * *	77
<i>G. trojanus</i> A. P. Davis & N. Özhatay (Bayramiç, Çanakkale, 1999)	Çiçekli Toprak üstü Çiçekli Toprak altı Meyveli Toprak üstü Meyveli Toprak altı	HPLC	- - - -	* * * *	0.0041 0.0036 0.0007 0.0023	167, 168
<i>G. trojanus</i> A. P. Davis & N. Özhatay (Bayramiç, Çanakkale, 1999)	Çiçekli Toprak üstü Çiçekli Toprak altı Meyveli Toprak üstü Meyveli Toprak altı	Titrimetrik (total alkaloit) ve spektrofotometrik (galantamin ve likorin)	0.0167 0.0168 0.0804 0.0158	* * * *	0.0006 0.0029 0.0004 0.0019	167
<i>G. plicatus</i> Bieb. subsp. <i>byzantinus</i> (Baker) D. A. Webb	Çiçekli Toprak üstü Çiçekli Toprak altı Meyveli Toprak üstü Meyveli Toprak altı	HPLC	- - - -	* * * *	* * * *	7, 168
<i>G. plicatus</i> Bieb. subsp. <i>byzantinus</i> (Baker) D. A. Webb	Çiçekli Toprak üstü Çiçekli Toprak altı Meyveli Toprak üstü Meyveli Toprak altı	Titrimetrik (total alkaloit) ve spektrofotometrik (galantamin ve likorin)	0.1466 0.1739 0.1070 0.1165	* * * *	* * * *	7

Tablo 1'in Devamı. Çeşitli *Galanthus* Türleri Üzerinde Yapılmış Olan Kantitatif Çalışmalarda Elde Edilen Total Alkaloit, Galantamin, Likorin Miktarları

Bitki Adı (#) (Belirtilmiş ise toplama yılı, yeri)	Bitkinin Çalışılan Kısmı	Yöntem	Total Alkaloit Miktarı	Galantamin	Likorin	Literatür
<i>G. krasnowii</i> Hohrjakov	Soğan (Vejetasyon Başlangıcı)	Kromato-Kütle- Spektrofotometrik Yöntem	-	% 0.05	-	178
	Soğan (Tomurcuklu Dönemde)		-	% 0.09	-	
	Soğan (Çiçekli Dönemde)		-	% 0.14	-	
	Soğan (Meyveli Dönemde)		-	% 0.19	-	
	Soğan (Vejetasyon Sonu)		-	% 0.22	-	
<i>G. caucasicus</i> Bacer A. Grossheim	Soğan (Vejetasyon Başlangıcı)	Kromato-Kütle- Spektrofotometrik Yöntem	-	% 0.04	-	178
	Soğan (Tomurcuklu Dönemde)		-	% 0.07	-	
	Soğan (Çiçekli Dönemde)		-	% 0.10	-	
	Soğan (Meyveli Dönemde)		-	% 0.11	-	
	Soğan (Vejetasyon Sonu)		-	% 0.12	-	
<i>G. latifolius</i> Wor	Soğan (Vejetasyon Başlangıcı)	Kromato-Kütle- Spektrofotometrik Yöntem	-	% 0.01	-	178
	Soğan (Tomurcuklu Dönemde)		-	% 0.03	-	
	Soğan (Çiçekli Dönemde)		-	% 0.05	-	
	Soğan (Meyveli Dönemde)		-	% 0.08	-	
	Soğan (Vejetasyon Sonu)		-	% 0.09	-	

Bitki isimleri literatürde belirtildiği şekli ile aynen verilmiştir; * İlgili alkaloit bulunmamıştır.

Tablo 1'in Devamı. Çeşitli *Galanthus* Türleri Üzerinde Yapılmış Olan Kantitatif Çalışmalarda Elde Edilen Total Alkaloit, Galantamin, Likorin Miktarları

Bitki Adı (#)	Çalışılan Kısım	Total Alkaloit Miktarı	Galantamin (=Nivalin)	Likorin	Literatür No
<i>G. woronowi</i>	Soğan Yaprak	% 1.03 % 0.60	-	-	15
<i>G. Woronowi</i>	Soğan	-	12.8 g (% 0.051)	-	268
<i>G. woronowii</i>	Soğan	-	% 0.09-0.23	-	178
<i>G. nivalis</i> L.	Soğan	% 0.09	-	% 0.1-0-2	47
<i>G. elwesii</i> Hook.	Soğan	% 0.14	% 39	% 21	51
<i>G. Woronovi</i>	Soğan	-	-	6 g (% 0.4)	267
<i>G. nivalis</i>	Soğan	-	% 0.0007	% 0.018	54
<i>G. elwesii</i> Hook.f.	Soğan	% 0.09	% 29	% 37	48
<i>G. nivalis</i> var. <i>gracilis</i>	Toprak üstü	% 0.22-1.36	-	-	58
<i>G. krasnovii</i>	Soğan	-	% 0.57	-	20
<i>G. krasnovii</i>	Soğan	-	% 0.5	-	18
<i>G. krasnovii</i>	Soğan	-	% 0.05-0.22	-	178
<i>G. nivalis</i>	Toprak altı	% 1.65	-	-	194
	Toprak üstü	% 1.27	-	-	
	Total bitki örneği	% 0.95	-	-	
<i>G. caucasicus</i> (Bak.) Grossh.	Total bitki örneği	% 1.01 17.3 g	- 0.4 g	- 4.5 g	334
<i>G. caucasicus</i>	Soğan	-	% 0.04-0.12	-	178
<i>G. nivalis</i> L.	Toprak üstü	% 0.41	% 0.058	% 0.016	163, 330
	Toprak altı	-	% 0.059	% 0.023	
<i>G. latifolius</i>	Soğan	-	% 0.01-0.09	-	178

Bitki isimleri literatürde belirtildiği şekli ile aynen verilmiştir.

Tablo 2. Çeşitli *Galanthus* Türleri Üzerinde Yapılmış Olan İzolasyon Çalışmaları Sırasında Elde Edilen Total Alkaloit, Galantamin ve Likorin Miktarları

yönde etkileyen sağlık problemlerinin başında gelmektedir. Oksidatif stresle de ilişkili olduğu öne sürülen bu hastalığın, son araştırmalara göre dünya genelinde on üç milyon insanı etkilediği bildirilmiştir (263, 279, 289, 290). Asetilkolinesteraz inhibitör aktiviteye sahip olan bileşikler AH'nin tedavisinde önemli role sahiptir (145). Amaryllidaceae alkaloidleri arasında yer alan galantamin, AH'nin tedavisinde kullanılan, kompetitif, reversibl, asetilkolinesteraz inhibitörü olup kan beyin engelini geçerek, beyinde kolinerjik aktiviteyi belirgin şekilde artıran önemli bir bileşiktir.

Asetilkolinesteraz enzimini inhibe edici aktivitenin uygulanmasında kullanılan en yaygın yöntemlerden birisi *in vitro* kolorimetrik esasa dayanan Ellman yöntemidir (103). Gerek İ.T.K. yöntemi ve gerekse mikropilaya okuyucu yardımıyla antikolinesteraz aktivitenin saptanması deneylerinin esasını oluşturan bu yöntem (217, 276) *Galanthus* türleri de dahil olmak üzere Amaryllidaceae familyasının çeşitli bitkileri üzerinde uygulanmıştır (Tablo 3).

Antikolinesteraz aktivitenin tespit edilmesinde yararlanılan Ellman yöntemi dışında değişik yöntemlerden, *Galanthus* türleri ve Amaryllidaceae familyasının diğer türleri üzerinde yapılan çalışmalarda yararlanılmıştır (152, 228, 275).

Çeşitli yöntemlerle Amaryllidaceae familyası üyelerinden hazırlanan muhtelif ekstratlar ve bunlardan elde edilen alkaloidler üzerinde yapılmış asetilkolinesteraz inhibitör aktivite çalışmaları Tablo 3'de yer almaktadır.

2. 3. 2. Asetilkolinesteraz İnhibitör Aktivite Rehberliğinde İzolasyon ve Yapı Aydınlatma Çalışmaları

Ülkemizde sekiz genusu ve bu genuslara dahil yaklaşık otuz türü bulunan (52, 53) Amaryllidaceae familyası, dünyada ise seksen beş genus ve yaklaşık bin yüz türle temsil edilmektedir (366). Alkaloid içeren en önemli yirmi familya arasında yer

Bitki Adı	Alkaloit Adı	Ekstre (Çalışılan Kısım)	Yöntem	Literatür No
<i>Amaryllis belladonna</i> L.	-	Metanol (Soğan) Toluen (Soğan)	Ellman	276
<i>Chlidanthus fragrans</i> Herbert	-	Metanol (Soğan) Toluen (Soğan)		
<i>Crinum bulbispermum</i> Burm. f.	Krinamin 6-Hidroksi krinamin 8 α -Etoksi prekriwellin N-Demetil-8 α -etoksipretazettin N-Demetil-8 β -etoksipretazettin 3-O-Asetil hamayin	-	Ellman	101, 102
<i>Crinum glaucum</i> A. Chev.	Hamayin Krinamin Likorin	Metanol (Soğan)	Modifiye Ellman	146
<i>Crinum jagus</i> (Thomps.)	Hamentamin			
<i>Crinum macowanii</i> Baker	Hamayin Likorin	-	Ellman	101, 102
<i>Crinum moorei</i> Hook.	Çerilin Epibufanisin Epivittatin Krinin Krinamidin 1-O-asetillikorin			
<i>Crinum powelli</i> Baker	-	Alkol (Soğan)	Fast Blue B Testi	228
<i>Crinum powelli</i> Baker	-	Metanol (Soğan) Toluen (Soğan)	Ellman	276
<i>Cyrtanthus falcatus</i> R. A. Dyer	Tazettin	-	Ellman	101, 102
<i>Eucharis amazonica</i> Linden	-	Metanol (Soğan) Toluen (Soğan)	Ellman	276
<i>Euchoris grandiflora</i> Planch.	Sanguinin	-	Ellman	217

Tablo 3. Asetilkolinesteraz İnhibitör Aktiviteye Sahip Amaryllidaceae Türleri ve Alkaloitleri

Bitki Adı	Alkaloit Adı	Ekstre (Çalışılan Kısım)	Yöntem	Literatür No
<i>Galanthus elwesii</i> Hook.	İnkartin	Alkaloit (Total)	Ellman	40
<i>Galanthus elwesii</i> Hook	-	Alkaloit (Yaprak)	Ellman	32
<i>Galanthus elwesii</i> Hook.	-	Kloroform-metanol (Soğan) Alkaloit (Soğan)	Ellman	250
<i>Galanthus ikariae</i> L.	-	Kloroform-metanol (Soğan) Alkaloit (Soğan)	Ellman	250
<i>Galanthus ikariae</i> L.	2-Demetoksimontanin	Alkaloit (Soğan)	Ellman	250
	3-Epihidroksibulbispermin			
	Galantamin			
	Krinin			
	Likorin			
<i>Galanthus nivalis</i> L.	-	Alkaloit (Yaprak)	Ellman	32
<i>Galanthus nivalis</i> L.	-	Alkol (Soğan)	Fast Blue B Testi	228
<i>Galanthus reginae-olgae</i> Orph. subsp. <i>vernalis</i> Kamari	-	Metanol, n-Hekzan, Diklorometan, Etil asetat (Toprak üstü, Toprak altı)	Ellman	70
<i>Habranthus robustus</i> Herb.	-	Metanol (Soğan)	Ellman	276
<i>Hippeastrelia</i>	-	Metanol (Soğan) Toluen (Soğan)		
<i>Hymenocallis festalis</i> Worsley	-	Metanol (Soğan) Toluen (Soğan)		
<i>Hymenocallis</i> "Sulphur Queen"	-	Metanol (Soğan)		
<i>Ismene festalis</i> Worsley	-	Alkol (Soğan)	Fast Blue B Testi	228
<i>Leucojum aestivum</i> L.	-	Alkaloit (Yaprak, Soğan)	Ellman	32
<i>Leucojum aestivum</i> L.	-	Kloroform-metanol (Soğan) Alkaloit (Soğan)	Ellman	250
<i>Leucojum vernum</i> L.	-	Alkol (Soğan)	Fast Blue B Testi	228
<i>Narcissus assoanus</i> Dufour	-	Alkol (Soğan)	Ellman	217

Tablo 3'ün Devamı. Asetilkolinesteraz İnhibitör Aktiviteye Sahip Amaryllidaceae Türleri ve Alkaloitleri

Bitki Adı	Alkaloit Adı	Ekstre (Çalışılan Kısım)	Yöntem	Literatür No
<i>Narcissus</i> “Avalanche”	-	Metanol (Soğan) Toluen (Soğan)	Ellman	276
<i>Narcissus baeticus</i> Fdez. Casas	-	Alkol (Soğan)	Ellman	217
<i>Narcissus bujei</i> Fdez. Casas				
<i>Narcissus cantabricus</i> DC				
<i>Narcissus</i> “Carlton”	-	Metanol (Soğan)	Ellman, Akış-Biyokimyasal Dedeksiyon, On-line HPLC-UV-Biyokimyasal Dedeksiyon, On-line HPLC-UV-MS-Biyokimyasal Dedeksiyon	152
<i>Narcissus confusus</i> Pugsley	-	Alkol (Soğan)	Ellman	217
<i>Narcissus</i> cv “Bridal Crown”	-	Alkol (Soğan)	HPLC-MS Sürekli Akış Yöntemi	114
<i>Narcissus dubius</i> Gouan	-	Alkol (Soğan)	Ellman	217
<i>Narcissus eugeniae</i> Fdez. Casas				
<i>Narcissus fernandesii</i> Pedro				
<i>Narcissus</i> “Grand Soleil d’Or”	-	Metanol (Soğan)	Ellman	276
<i>Narcissus jacatanus</i> Fdez. Casas	-	Alkol (Soğan)	Ellman	217
<i>Narcissus jonquilla</i> L.	Dihidrogalantamin	Metanol (Total)	Modifiye “Fast Blue B” testi	241
<i>Narcissus legionensis</i> Pugsley	-	Alkol (Soğan)	Ellman	217
<i>Narcissus leonensis</i> Pugsley				
<i>Narcissus moschatus</i> L.				
<i>Narcissus muñozii-garmendiae</i> Fdez. Casas				
<i>Narcissus panizzianus</i> Parl.				
<i>Narcissus perez-chiscanoi</i> Fdez. Casas				
<i>Narcissus poeticus</i> L.				
<i>Narcissus pseudonarcissus</i> L.	-	Alkol (Soğan)	Fast Blue B Testi	228

Tablo 3’ün Devamı. Asetilkolinesteraz İnhibitör Aktiviteye Sahip Amaryllidaceae Türleri ve Alkaloitleri

Bitki Adı	Alkaloit Adı	Ekstre (Çalışılan Kısım)	Yöntem	Literatür No
<i>Narcissus</i> “Sir Winston Churchill”	Ungiminorin	Etanol (Soğan)	Ellman	153
<i>Narcissus tazetta</i> subsp. <i>tazetta</i> L.	-	Kloroform-metanol (Soğan) Alkaloit (Soğan)	Ellman	250
	3-Epihidroksibulbispermin	Alkaloit (Soğan)		
	Hemantamin	Alkaloit (Soğan)		
	N-Norgalantamin	Alkaloit (Soğan)		
<i>Narcissus tortuosus</i> Haworth	-	Alkol (Soğan)	Ellman	217
<i>Nerine bowdenii</i> W. Wats	-	Alkol (Soğan)	Fast Blue B Testi	228
<i>Nerine bowdenii</i> W. Wats	-	Metanol (Soğan) Toluen (Soğan)	Ellman	276
<i>Nerine bowdenii</i> W. Wats	Ambellin	Toluen (Soğan)	Ellman	349
	Bufanisin			
	Filifolin			
	11-O-asetilambellin			
	Undulatin			
<i>Pancreatium maritimum</i> L.	-	Alkaloit (Soğan)	Ellman	32
	-	Kloroform-metanol (Soğan) Alkaloit (Soğan)	Ellman	250
<i>Rhodophila bifida</i> (Herb.) Traub	-	Metanol (Soğan) Toluen (Soğan)	Ellman	276
<i>Sprekelia formosissima</i> L.	-	Metanol (Soğan)		
<i>Sternbergia colchiciflora</i> W. Et K.	-	Alkaloit (Total)	Ellman	32
<i>Zephyranthes candida</i> (Lindl.) Herb.	-	Metanol (Soğan) Toluen (Soğan)	Ellman	276
<i>Zephyranthes concolor</i> Lindl.	-	Alkaloit (Soğan)	Ellman	32
*	Assoanin	-	Ellman	217
*	Çerilin	-	Ellman	101

Tablo 3’ün Devamı. Asetilkolinesteraz İnhibitör Aktiviteye Sahip Amaryllidaceae Türleri ve Alkaloitleri

Bitki Adı	Alkaloit Adı	Çalışılan Kısım	Yöntem	Literatür No
*	2- <i>O</i> -asetillikorin	**	Ellman	101, 102
	1,2-Di- <i>O</i> -asetillikorin			
*	Epinorgalantamin	-	Ellman	217
	Galantamin			
	11-Hidroksi galantamin			
	Oksoasosanin			
	Psödolikorin			

*Amaryllidaceae familyasına ait çeşitli türlerinden izole edildikleri rapor edilmiştir.

**İlgili literatürlerde likorinden asetilasyonla elde edildiği bildirilmiştir.

Tablo 3'ün Devamı. Asetilkolinesteraz İnhibitör Aktiviteye Sahip Amaryllidaceae Türleri ve Alkaloitleri

alan bu familyaya ait çeşitli türlerde beş yüz civarında Amaryllidaceae alkaloidi saptanmıştır (160).

Amaryllidaceae alkaloidleri biyojenetik olarak norbelladinin fenolik bağlarla çeşitli şekillerde bağlanması sonucu oluşmuş olup (73) biyojenezleri ve biyolojik aktiviteleri açısından dikkat çekicidirler. Bu alkaloidler hakkında derleme şeklinde yapılmış ve ikincil kaynak değeri taşıyan yayınlar mevcuttur. "The Alkaloids, Chemistry and Biology" adı altında yayınlanmakta olan bir seri kitabın 2. (72), 6. (363), 11. (364), 15. (121), 30. (229) ve 51. (144) ciltlerinde, Amaryllidaceae alkaloidleriyle ilgili derlemeler bulunmaktadır. Söz konusu derlemelerden 1998 yılında yayınlanmış olan 51. ciltte (144) Amaryllidaceae alkaloidleri yedi ana başlık altında toplanmıştır.

- 1) Likorin tip alkaloidler
- 2) Krinin tip alkaloidler
- 3) Narsiklasin tip alkaloidler
- 4) Galantamin tip alkaloidler
- 5) Tazettin tip alkaloidler
- 6) Likorenin tip alkaloidler
- 7) Montanin tip alkaloidler

Aynı kaynakta, bu yedi alt grup dışında, *Sceletium* (Aizoaceae) alkaloidlerinden olan ve bazı Amaryllidaceae familyası bitkilerinde de bulunan mesembrin tip alkaloidler de farklı bir grup olarak yer almaktadır. Amaryllidaceae ve *Sceletium* alkaloidlerinin ortak biyojenetik öncül bileşiğe sahip olmalarına karşın, biyosentezlerinin temelini farklı olduğuna ilişkin literatür de, yine bu kaynakta yer almaktadır. Ayrıca "Diğerleri" adı altında pallidiflorin, obesin, augustamin, fenantridin, 4-ariltetrahidroizokinolin ve joubertamin adındaki alkaloidlere de yer

verilmiştir.

Bunlara ilaveten daha sonra, Amaryllidaceae alkaloitlerine iki yeni alkaloit alt grubu daha ilave edilmiştir. Plikamin ve grasilin olarak isimlendirilen bu alt gruplara ait çeşitli alkaloitler, *Galanthus* türlerinden (248, 339, 340, 343) ve plikamin alt grubuna dahil plikamin alkaloidi *Crytanthus* türünden izole edilmiştir (55).

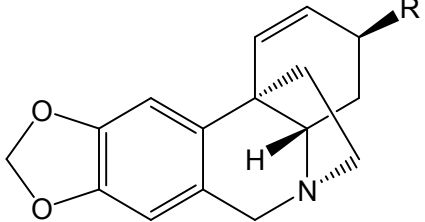
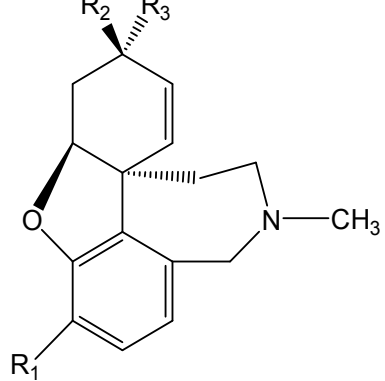
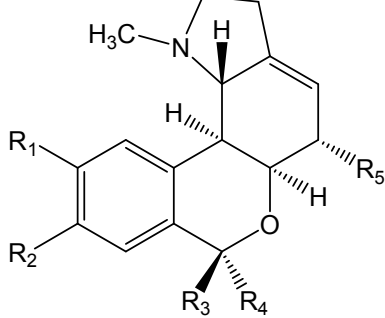
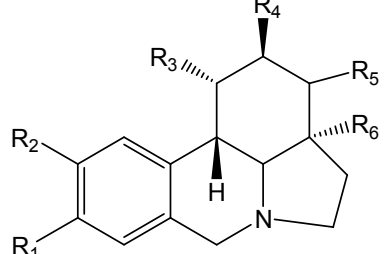
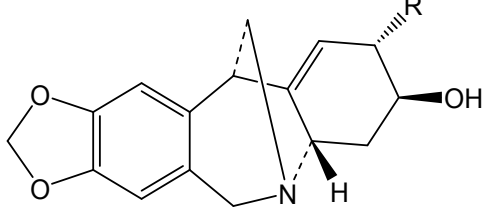
Söz konusu dokuz alt gruba ait temel halka yapıları ve *Galanthus* türlerinde bulunan örnekleri Tablo 4'de verilmiştir.

Amaryllidaceae alkaloitleriyle ilgili değerli bir diğer literatür derleme serisi de on üç ciltlik "The Alkaloids Specialist Periodical Reports" ile başlayıp, 1984 yılından bu yana ise "Natural Product Reports" ismiyle devam eden periyodik seridir (133-136, 157-161, 196-207).

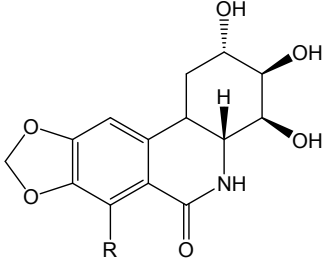
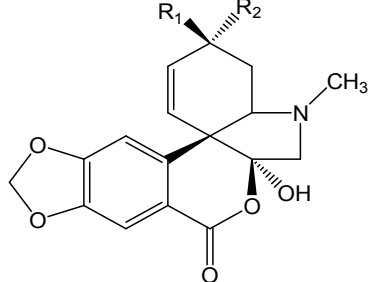
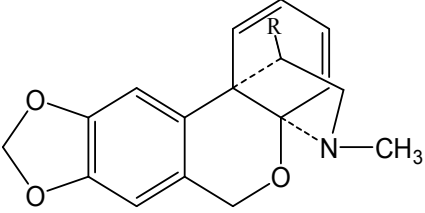
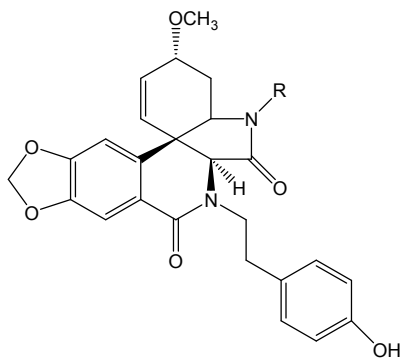
Bunlara ek olarak, "The Alkaloids, Chemistry and Biology" adlı seri kitabın 2006 yılında yayınlanan 63. cildinde *Narcissus* türlerinden elde edilen alkaloitlerin kimyasal ve biyolojik özellikleriyle ilgili derleme türü yayınlı (27) Amaryllidaceae alkaloitlerinin biyojenezlerini ve farmakolojik aktivitelerini konu alan yine derleme türünde çalışmalar da mevcuttur (43, 73, 81, 125, 251, 261, 308).

Galanthus türleri içermiş oldukları alkaloitleri açısından pek çok araştırmaya konu olmuştur. Bu genus üzerine yapılmış ilk araştırma, 1940 yılında Areshkina tarafından yapılmıştır. Bu çalışmada *G. woronowii* üzerinde total alkaloit miktar tayini çalışması yapılmış, bitkinin toprak altında % 1.03, toprak üstünde ise % 0.60 oranında alkaloit olduğu saptanmıştır. Aynı yayında, bitkide yüksek oranda şeker, nişasta ve hemiselüloz bulunduğu da belirtilmektedir (15).

Galanthus genusu üzerinde ilk izolasyon çalışması ise, 1947 yılında Proskurnina ve Areshkina tarafından yapılmıştır (266). *G. woronowii*'nin soğanlarından elde edilen drog üzerinde gerçekleştirilen çalışmada, galantin ve

<p>I. Krinin Tip (5,10b-Etanofenantridin)</p> <p>Örnek: Vittatin R= OH</p>	
<p>II. Galantamin Tip (Dibenzofuran)</p> <p>Örnek: Galantamin R₁= OMe R₂= H R₃= OH</p>	
<p>III. Likorenin Tip (2-Benzopirano[3,4g]indol)</p> <p>Örnek: Hippeastrin R₁= R₂= H R₃= R₄= O R₅= OH</p>	
<p>IV. Likorin Tip (4,5- Etanofenantridin)</p> <p>Örnek: Likorin R₁= R₂= OCH₂O R₃= R₄= OH R₅= R₆=çifte bağ</p>	
<p>V. Montanin Tip (Methanomorfentantridin)</p> <p>Örnek: Montanin R= OCH₃</p>	

Tablo 4. Amaryllidaceae Alkaloitlerinin Dokuz Ana Alt Grubu

<p>VI. Narsiklasin Tip (Fenantridon)</p> <p>Örnek: Narsiklasin R= OH</p>	
<p>VII. Tazettin Tip (2- Benzopirano[3,4c]indol)</p> <p>Örnek: Tazettin R₁= OCH₃ R₂= H</p>	
<p>VIII. Grasilin Tip (10b,4a-etanoiminodibenzo[3,4d] piran)(2benzopirano[3,4d]indol)</p> <p>Örnek: Grasilin R= H</p>	
<p>IX. Plikamin Tip 5-(4-hidroksifenetil-[1,3-dioksolo [4,5-g]indolo[3,3a-c]izokinolin-6,12-dion</p> <p>Örnek: Plikamin R= CH₃</p>	

Tablo 4'ün Devamı. Amaryllidaceae Alkaloitlerinin Dokuz Ana Alt Grubu

galantidin isimli iki yeni alkaloit izole edilmiştir. Bu alkaloitlerden galantidin, bugün likorin adıyla bilinmektedir (298).

"The Alkaloids Chemistry and Biology" adlı seri halinde yayınlanan kitapta Amaryllidaceae alkaloitleri, belirli aralıklarla ve farklı kişiler tarafından

derlenmişlerdir. Bu kaynakta *Galanthus* türlerinin yer aldığı çalışmalar genel olarak incelenmiş ve bir tablo halinde (Tablo 5) sunulmuştur. Ancak bu tablonun hazırlanması esnasında tarafımızdan saptanmış olan bazı hususların belirtilmesinde yarar görülmektedir:

1) *Galanthus Woronowii* A. Los. adındaki tür, "Flora USSR"'da isminin bu yazılışı ve belirtilen otör adıyla yer almaktadır (182). Ancak Wildman'ın 1960 yılında yayınlanan derlemesinde, *G. woronowii* doğru şekilde yazılmış, ancak otör adı olarak Losinsk kullanılmıştır (363). Wildman'ın 1968 yılında ve Fuganti'nin 1975 yılında yayınladığı derlemelerde ise *G. woronovii* Losinsk. olarak belirtilmiştir (121, 364). Wildman'ın 1968 yılında yaptığı derlemesinde, makalenin aslını görmediği, sadece makale özetinden yararlandığı anlaşılmaktadır. Bu özetinde bitki adı doğru olarak yazılmış, ancak otör adı ise belirtilmemiştir. O halde Wildman, otör ismini eklemiş, ayrıca bitkinin isminde bir harf hatası yapmıştır. Bu araştırmada söz konusu tür, *G. woronowii* A. Los. olarak yer almaktadır.

2) Wildman'ın 1960 yılında yayınlanan derlemesinde (363), *G. nivalis* L. adlı türde varlığı belirtilen nivalin, galantamin adlı alkaloid için kullanılan sinonim isimdir.

3) Wildman'ın 1968 yılında yayınlanan derlemesinde (364), *G. nivalis* var. *gracilis* L. isimli bir *Galanthus* türüne yer verilmiştir. Bu isim makale özetinde olduğu gibi alınmıştır.

4) Aynı derlemede (364), *G. nivalis* L. bitkisinde bulunduğu belirtilen hemantidin alkaloidi yanlış olarak yazılmış, primer literatür (49) incelendiğinde doğrusunun hemantamin olması gerektiği saptanmıştır.

5) Yine Wildman'ın 1968 yılında yayınladığı derlemede (364) *G. woronowii* bitkisinde galantamin, galantin ve tazettin adlı alkaloidlerin buldukları belirtilmiş

ve Yakovleva'nın 1963 yılında yayınlamış olduğu bir makale (370) kaynak olarak gösterilmiştir. Bu makale tarafımızdan incelenmiş ve araştırmada sadece galantin ve tazettin adlı alkaloitlerin belirtildiği görülmüştür (370). Buna karşılık likorin ve galantaminin, aynı araştırmacının daha önce 1952 yılında Proskurnina ile birlikte yaptıkları bir yayında (268) konu edildiği görülmektedir. Wildman'ın konu ettiği yayın (370), esasen 1952'deki araştırmanın devamı niteliğinde olup, Wildman'ın bu iki yayının sonuçlarını, daha sonraki yayında birleştirdiği görülmektedir.

6) Fuganti'nin 1975 yılında yayınladığı derlemede, *G. caucasicus* Baker türünden bahsedilmekte (121), ancak yazarın referans gösterdiği üç makale özetinde de otör adı yer almamaktadır. "Flora URSS"e göre bu ismin doğrusu *Galanthus caucasicus* (Baker) Grossh. olmalıdır (182). Ayrıca yazar bu bitki için *G. nivalis* h. şeklinde bir sinonimden bahsetmektedir. Bu bilginin kaynağı ise tespit edilememiştir. "Flora URSS"de bu bitki için sinonim olarak *G. nivalis* var. *caucasicus* Baker adı bildirilmektedir.

7) Aynı derlemede (121) *G. krasnovii* Khokhr. adlı bir türe de yer verilmiştir. "Flora of Turkey and the East Aegean Islands" adlı kaynakta bu bitki için *G. krasnovii* A. Khokhr. adı kullanılmıştır (52). Yine bu derlemede (121), yazarın primer kaynağa (20) dayanarak *G. krasnovii* Khokhr. türünde likorin varlığının saptandığını rapor ettiği görülmektedir. Bu primer kaynağa ulaşamamakla birlikte bu kaynağın "Chemical Abstracts" da yer alan özetinde likorin adı hiç geçmemekte, buna karşın galantaminden bahsedilmektedir.

8) Martin tarafından 1987 yılında yapılan derlemede, *Galanthus* türlerindeki galantamin varlığı, bazı Amaryllidaceae türlerinde galantamin içeriğiyle ilgili olarak yapılmış çeşitli çalışmalardan yararlanılarak rapor edilmiştir (229). Derlemeyi yapan yazarın incelediği primer kaynaklarda (65, 66, 130, 185) *G. woronowii*, *G. nivalis*, *G.*

nivalis subsp. *angustifolius*, *G. elwesii* ve *G. nivalis* var. *gracilis* adlı bitki isimlerine rastlanırken, derlemede galantamin kaynağı olarak *G. woronowii*, *G. nivalis* (*angustifolius*), *G. elwesii*, *G. nivalis* var. *gracilis* türlerine yer verilmektedir.

9) Hoshino tarafından 1998 yılında yapılan derlemede (144), *Galanthus elwesii*'de bulunan alkaloidlerden 9-*O*-demetilgalwesin, primer literatürde "9-*O*-demethylgalwesine" (192) olarak belirtmesine rağmen hatalı olarak "9-*O*-demethylgalwesie" şeklinde yazılmıştır.

Yine bu alanda değerli bir kaynak olan "Dictionary of Alkaloids" adlı kitap kaynaktan (299) yararlanarak, alkaloid içeriği araştırılmış *Galanthus* türleri ve bu türlerden izole edilen alkaloidleri gösteren bir tablo hazırlanmıştır (Tablo 6). Bu kaynaktan *G. woronowii* bitkisine ait bilgiler, iki farklı ve hatalı olan isim altında yer almaktadır. Ancak ilgili tablodaki isimler kaynaktaki yazılışlarına sadık kalınarak aynen yazılmıştır.

Bu konuda "Chemical Abstracts" taramaları sonucunda elde edilen özetler ve bunlardan hareketle ulaşılabilen primer kaynaklara dayanılarak bir başka tablo daha hazırlanmıştır (Tablo 7). Burada izolasyon, yapı aydınlatma ve gaz kromatografisi-kütle spektrometresiyle incelenen *Galanthus* türleri, bu türlerden elde edilen alkaloidler ve bu alkaloidlerin dahil olduğu alt gruplar yer almaktadır.

Bitki Adı	Alkaloit Adı	Literatür No
<i>G. caucasicus</i> Baker (<i>G. nivalis</i> h.)	Baz E. D. 214 ⁰ Demetilhomolikorin Galantamin Galantin Galantusin Likorin Tazettin	121
<i>G. elwesii</i> Hook. f. (<i>G. elwesii</i>)	<i>N</i> -Demetilgalantamin 9- <i>O</i> -Demetilgalwasin 9- <i>O</i> -Demetilhomolikorin Elwesin Fleksinin Galantamin Galantin Galasin Galwesin Hemantidin 16-Hidroksi-9- <i>O</i> -Demetilgalwesin 16-Hidroksigalwesin 16-Hidroksivittatin Lökotamin Likorin 5-Metoksi-9- <i>O</i> -Demetilhomolikorin Narwedin Sanguinin Tazettin	144 144 144 363 363 144, 229, 363, 364 144 144 144 144 363 144 144 144 144 144 363, 364 144 144 144 363, 364
<i>G. krasnovii</i> Khokhr.	Likorin Kriwellin Galantamin Hemantamin Hippeastrin Likorin Magnarsin Masosin Nartazin Narwedin Nivalidin Nivalin Tazettin	121 364 121, 364 364 121, 364 121, 363, 364 364 364 364 121, 364 121 363 121, 363, 364
<i>G. nivalis</i> (<i>angustifolius</i>)	Galantamin	229
<i>G. nivalis</i> var. <i>gracilis</i> L. (<i>G. nivalis</i> var. <i>gracilis</i>)	Galantamin	229, 364

Tablo 5. "The Alkaloids, Chemistry and Biology"e Göre Alkaloitleri Açısından Araştırılmış *Galanthus* Türleri ve Bu Türlerde Saptanmış Amaryllidaceae Alkaloitleri

Bitki Adı	Alkaloit Adı	Literatür No
<i>G. woronowii</i> Losinsk (<i>G. woronowii</i>) (<i>G. woronowii</i> Losinsk.)	Total Alkaloit	72
	Galantamidin	363
	Galantamin	121, 229, 363, 364
	Galantidin	121
	Galantin	121, 363, 364
	Likorin	363
	Tazettin	364

*Bitki isimleri literatürde belirtildiği şekli ile aynen alınmıştır

Tablo 5'in Devamı. "The Alkaloids, Chemistry and Biology" e Göre Alkaloitleri Açısından Araştırılmış *Galanthus* Türleri ve Bu Türlerde Saptanmış Amaryllidaceae Alkaloitleri

Bitki Adı	Alkaloit Adı
<i>Galanthus caucasicus</i>	Alkaloit, A-00293 Galantusin
<i>Galanthus elwesii</i>	Elwesin; (-)-form
<i>Galanthus nivalis</i>	Kriwellin; (+)-form Magnarsin Masonin Nartazin Narwedin; (+)-form Nivalidin
<i>Galanthus voronovii</i>	Galantamidin Galantamin; (-)-form
<i>Galanthus voronvii</i>	Galantin

*Bitki isimleri literatürde belirtildiği şekli ile aynen alınmıştır

Tablo 6. "Dictionary of Alkaloids" e Göre Alkaloitleri Açısından Araştırılmış *Galanthus* Türleri ve Bu Türlerde Varlığı Saptanmış Olan Amaryllidaceae Alkaloitleri

Alkaloit Grubu	Alkaloit Adı	Bitki Adı	Literatür No
Krinin	A-1	<i>G. nivalis</i> L.	33
	A-2	<i>G. nivalis</i> L.	33
	A-3	<i>G. nivalis</i> L.	33
	A-4	<i>G. nivalis</i> L.	33
	Bufanisin	<i>G. elwesii</i> Hook.	32, 41
	Dihidrovittatin	<i>G. elwesii</i> Hook.	377, 378
	Elwesin (Dihidrokrinidin)	<i>G. elwesii</i> Hook.	48
	3-Epihidroksibulbispermin	<i>G. ikariae</i> L.	250
	Fleksinin	<i>G. elwesii</i> Hook.	48
	G5	<i>G. elwesii</i> Hook.	41
	G6	<i>G. elwesii</i> Hook.	41
	G7	<i>G. elwesii</i> Hook.	41
	Hamayin	<i>G. nivalis</i> L. <i>G. elwesii</i> Hook.	33, 36, 37 37
	3-O-(2"-butenoil)-11-O- (3'-hidroksibutanoil) hamayin	<i>G. nivalis</i> L.	33, 36
	3-O-(2" -bütenoil)-11-O-3'-hidroksibutanoil) hamayin izomer	<i>G. nivalis</i> L.	33
	3,11-O-(3',3"-dihidroksibutanoil) hamayin	<i>G. nivalis</i> L.	33, 36, 37
	3,11-3"-O-(3',3",3"-trihidroksibutanoil) hamayin	<i>G. nivalis</i> L.	36, 37
	3,3',-O-(3',3"-dihidroksibutanoil) hamayin	<i>G. nivalis</i> L.	37
	11,3',-O-(3',3"-dihidroksibutanoil) hamayin	<i>G. nivalis</i> L.	37
	11-O-(3'-hidroksibutanoil) hamayin	<i>G. nivalis</i> L. <i>G. elwesii</i> Hook.	32, 33, 36, 37 32, 37
	Hemantamin	<i>G. elwesii</i> Hook. <i>G. nivalis</i> L.	32, 33, 38, 41, 51 49
	6-Hidroksihemantamin	<i>G. elwesii</i> Hook.	32
	Hemantidin	<i>G. elwesii</i> Hook.	377, 378
	Krinin	<i>G. elwesii</i> Hook. <i>G. ikariae</i> L.	38, 41 250

Tablo 7. Primer Kaynaklara Göre Alkaloit İçeriği Araştırılmış *Galanthus* Türleri ve Bunlarda Varlığı Saptanan Amaryllidaceae Alkaloitleri

Alkaloit Grubu	Alkaloit Adı	Bitki Adı	Literatür No
Krinin	Krinin	<i>G. reginae-olgae</i> Orph. subsp. <i>vernalis</i> Kamari	41, 70
	Maritidin	<i>G. elwesii</i> Hook.	32, 41
	Vittatin	<i>G. trojanus</i> A. P. Davis & N. Özhatay <i>G. elwesii</i> Hook.	170 32, 33
	11-Hidroksivittatin	<i>G. elwesii</i> Hook. <i>G. plicatus</i> Bieb. <i>G. trojanus</i> A. P. Davis & N. Özhatay <i>G. nivalis</i> L.	192 342 170 32
Galantamin	Galantamin (Nivalin)	<i>G. caucasicus</i> (Baker) Grossh. <i>G. elwesii</i> Hook. <i>G. ikariae</i> Baker <i>G. krasnovii</i> A. Khokr. <i>G. latifolius</i> Rupr. <i>G. nivalis</i> L. <i>G. reginae-olgae</i> Orph. subsp. <i>vernalis</i> Kamari <i>G. woronowii</i> Losinsk.	178, 331, 334, 335 32, 38, 41, 48, 51, 192, 295, 378, 250, 377, 378 18, 20, 178 178 49, 54, 56, 130, 163, 164, 194 70 165, 178, 266, 336
	<i>N</i> -Demetilgalantamin(Norgalantamin)	<i>G. elwesii</i> Hook.	41, 192
	<i>N</i> -Formilgalantamin	<i>G. elwesii</i> Hook.	41
	<i>N</i> -Formilnorgalantamin	<i>G. elwesii</i> Hook.	32
	Epinorgalantamin	<i>G. elwesii</i> Hook.	32
	Likoramin	<i>G. elwesii</i> Hook.	32
	Nor-likoramin (<i>N</i> -Demetillikoramin)	<i>G. elwesii</i> Hook.	32, 41
	Lökotamin	<i>G. elwesii</i> Hook.	192
	<i>O</i> -Metillökotamin	<i>G. elwesii</i> Hook.	32, 41, 192
	Narwedin	<i>G. elwesii</i> Hook. <i>G. nivalis</i> L.	32, 41, 192 49
	Nivalidin (6- <i>O</i> -Metilapogalantamin)	<i>G. nivalis</i> L.	56, 57, 65, 164
	Sanguinin	<i>G. elwesii</i> Hook.	192

Tablo 7'nin Devamı. Primer Kaynaklara Göre Alkaloit İçeriği Araştırılmış *Galanthus* Türleri ve Bunlarda Varlığı Saptanan Amaryllidaceae Alkaloitleri

Alkaloit Grubu	Alkaloit Adı	Bitki Adı	Literatür No
Grasilin	11-Asetoksigrasilin	<i>G. gracilis</i> Celak.	248
	Digrasin	<i>G. gracilis</i> Celak.	248
	3,4-Dihidro-3-hidroksigrasilin	<i>G. gracilis</i> Celak.	248
	3-Epi-3,4-dihidro-3-hidroksigrasilin	<i>G. gracilis</i> Celak.	343
Plikamin	Plikamin	<i>G. plicatus</i> Bieb.	340
	Plikan	<i>G. plicatus</i> Bieb.	343
	Sekoplikamin	<i>G. plicatus</i> Bieb.	340
Likorenin	G1	<i>G. elwesii</i> Hook.	41
	G2	<i>G. elwesii</i> Hook.	41
	G3	<i>G. elwesii</i> Hook.	41
	G4	<i>G. elwesii</i> Hook.	41
	Galantusin	<i>G. woronowii</i> Losinsk.	178
		<i>G. caucasicus</i> (Baker) Grossh.	178
	Galasin	<i>G. elwesii</i> Hook.	192
	Galwesin	<i>G. elwesii</i> Hook.	32, 33, 41, 192
	Demetilgalwesin	<i>G. elwesii</i> Hook.	32
	8-O-demetilgalwesin	<i>G. elwesii</i> Hook.	33
	9-O-Demetilgalwesin	<i>G. elwesii</i> Hook.	32, 192
	Demetilhomolikorin	<i>G. caucasicus</i> (Baker) Grossh.	178, 331, 335
		<i>G. woronowii</i> Losinsk.	178
	8-O-Demetilhomolikorin*	<i>G. elwesii</i> Hook.	33, 40
	9-O-Demetilhomolikorin*	<i>G. elwesii</i> Hook.	192, 193
	Hippeastrin	<i>G. elwesii</i> Hook.	32, 33, 40
		<i>G. nivalis</i> L.	49, 60, 163, 164
	Homolikorin	<i>G. elwesii</i> Hook.	33
16-Hidroksi-9-O-demetilgalwesin	<i>G. elwesii</i> Hook.	192	
16-Hidroksigalwesin	<i>G. elwesii</i> Hook.	192	

Tablo 7'nin Devamı. Primer Kaynaklara Göre Alkaloit İçeriği Araştırılmış *Galanthus* Türleri ve Bunlarda Varlığı Saptanan Amaryllidaceae Alkaloitleri

Alkaloit Grubu	Alkaloit Adı	Bitki Adı	Literatür No
Likorenin	Likorenan	<i>G. reginae-olgae</i> Orph. subsp. <i>vernalis</i> Kamari	70
	Masonin	<i>G. nivalis</i> L.	49
		<i>G. elwesii</i> Hook.	33
	2-Metoksi-8- <i>O</i> -demetilhomolikorin*	<i>G. elwesii</i> Hook.	33
	5-Metoksi-9- <i>O</i> -demetilhomolikorin*	<i>G. elwesii</i> Hook.	192
	2-Metoksihomolikorin	<i>G. elwesii</i> Hook.	33
Neronin	<i>G. reginae-olgae</i> Orph. subsp. <i>vernalis</i> Kamari	70	
Likorin	A-5	<i>G. nivalis</i> L.	33
	Anhidrolikorin	<i>G. nivalis</i> L.	33
		<i>G. elwesii</i> Hook.	33
	Galantin	<i>G. caucasicus</i> (Baker) Grossh.	178, 333, 334, 335
		<i>G. elwesii</i> Hook.	33, 192
		<i>G. ikariae</i> Baker	377, 378
		<i>G. woronowii</i> Losinsk.	178, 266, 268, 336
	İnkartin	<i>G. elwesii</i> Hook.	32, 33, 37, 40
<i>G. nivalis</i> L.		32, 33	
Karanin	<i>G. nivalis</i> L.	33	
Likorin (Galantidin)		<i>G. caucasicus</i> (Baker) Grossh.	178, 333, 334, 335
		<i>G. elwesii</i> Hook.	32, 33, 37, 40, 41, 48, 51, 192, 377, 378
		<i>G. ikariae</i> Baker	250, 377, 378
		<i>G. nivalis</i> L.	32, 33, 36, 37, 47, 49, 54, 163, 164, 165, 194
		<i>G. trojanus</i> A. P. Davis & N. Özhatay	170
		<i>G. woronowii</i> Losinsk.	178, 266, 267, 268, 336
		<i>G. krasnowii</i> A. Khokr.	178
<i>G. latifolius</i> Rupr.	178		
2- <i>O</i> -(3'-Asetoksibutanoil) likorin		<i>G. nivalis</i> L.	33, 36
		<i>G. elwesii</i> Hook.	37

Tablo 7'nin Devamı. Primer Kaynaklara Göre Alkaloit İçeriği Araştırılmış *Galanthus* Türleri ve Bunlarda Varlığı Saptanan Amaryllidaceae Alkaloitleri

Alkaloit Grubu	Alkaloit Adı	Bitki Adı	Literatür No
Likorin	2?-O-(3'-Hidroksibutanoil)likorin	<i>G. nivalis</i> L.	33
	2-O-(3'-Hidroksibutanoil)likorin	<i>G. elwesii</i> Hook.	37
	2?-O-(3'-Hidroksibutanoil)likorin izomer	<i>G. nivalis</i> L.	33
	Ungeremin	<i>G. nivalis</i> L.	36
Narsiklasin	8-O-Demetilvaskonin	<i>G. nivalis</i> L.	37
	Likorisidin (Margetin)	<i>G. elwesii</i> Hook. <i>G. nivalis</i> L.	260
Fenantridin	Narsiklasin	<i>G. elwesii</i> Hook. <i>G. nivalis</i> L.	260
	N-Formilismine	<i>G. plicatus</i> Bieb.	343
	İsmine	<i>G. plicatus</i> Bieb. <i>G. nivalis</i> L.	8 32, 33, 36, 37
	Trisferidin	<i>G. plicatus</i> Bieb. <i>G. plicatus</i> Bieb. <i>G. elwesii</i> Hook. <i>G. nivalis</i> L.	344 351 32, 33, 41 32, 33
Tazettin	Kriwellin	<i>G. nivalis</i> L.	49
	Makronin	<i>G. nivalis</i> L.	33
	3-O-Demetilmakronin	<i>G. gracilis</i> Celak.	344
	3-Epimakronin	<i>G. plicatus</i> Bieb. <i>G. nivalis</i> L.	8, 213 32, 33, 37
	3-O-Demetil-3-epimakronin	<i>G. plicatus</i> Bieb.	344

Tablo 7'nin Devamı. Primer Kaynaklara Göre Alkaloit İçeriği Araştırılmış *Galanthus* Türleri ve Bunlarda Varlığı Saptanan Amaryllidaceae Alkaloitleri

Alkaloit Grubu	Alkaloit Adı	Bitki Adı	Literatür No	
Tazettin	Tazettin	<i>G. caucasicus</i> (Baker) Grossh.	178, 331, 333, 335	
		<i>G. elwesii</i> Hook.	32, 41, 48, 51, 377, 378	
		<i>G. ikariae</i> Baker	250	
		<i>G. nivalis</i> L.	32, 33, 36, 37, 47, 54, 69, 163, 164, 194	
		<i>G. reginae-olgae</i> Orph. subsp. <i>vernalis</i> Kamari	70	
		<i>G. woronowii</i> Losinsk.	178, 370	
		<i>G. krasnowii</i> A. Khokr.	178	
		<i>G. latifolius</i> Rupr.	178	
		<i>G. plicatus</i> Bieb	213	
	6-Deoksitazettin	<i>G. nivalis</i> L.	33	
	3- <i>O</i> -(3-Hidroksibütiril) tazettinol	<i>G. plicatus</i> Bieb.	343	
	İzotazettinol (3- <i>O</i> -Demetilkriwellin)	<i>G. gracilis</i> Celak.	213, 344	
Montanin	2-Demetoksimontanin	<i>G. ikariae</i> Baker	250	
Diğer Alkaloitler	Bulbokapnin	<i>G. trojanus</i> A. P. Davis & N. Özhatay	170	
	3-Epihidroksibulbispermin	<i>G. ikariae</i> Baker	250	
	(E)- <i>N</i> -feruloiltiramin	<i>G. elwesii</i> Hook.	192	
	Galantindol	<i>G. plicatus</i> Bieb.	342	
	Galantusin	<i>G. caucasicus</i> (Baker) Grossh.	329, 335, 375	
	Grasilamin	<i>G. gracilis</i> Celak.	339	
	Hordenin		<i>G. elwesii</i> Hook.	32, 33, 40, 192
			<i>G. plicatus</i> Bieb.	342
			<i>G. nivalis</i> L.	33
	Hordenin-türevi alkaloit	<i>G. elwesii</i> Hook.	32	
Kapnoidin	<i>G. trojanus</i> A. P. Davis & N. Özhatay	170		
<i>N</i> -Metiltiramin	<i>G. elwesii</i> Hook.	33		

Tablo 7'nin Devamı. Primer Kaynaklara Göre Alkaloit İçeriği Araştırılmış *Galanthus* Türleri ve Bunlarda Varlığı Saptanan Amaryllidaceae Alkaloitleri *: İlgili literatürlerde kullanılan numaralandırma esas alınmıştır.

?: İlgili literatürde bileşikteki süstitüentın konumu ve moleküler iyon piki ile ilgili açıklama getirilmiştir.

Bu derlemede yer alan bitkiler tür seviyesinde ele alınmışlardır. Aynı tür adı altında, bu türlere ait alt türlerle, bunların sinonimlerine de yer verilmiştir. Tablo 7’de adı geçen *Galanthus* türlerinin alt tür ve sinonimleri aşağıdaki tabloda verilmiştir (Tablo 8).

Tür İsimleri	Alt Türler ve Sinonim İsimleri
<i>G. caucasicus</i> (Baker) Grossh.	<i>G. caucasicus</i> <i>G. caucasicus</i> (Bak.) Grossh.
<i>G. elwesii</i> Hook.	<i>G. elwesii</i> Hook. var <i>elwesii</i> <i>G. elwesii</i> Hook.f <i>G. elwesii</i> Hooker fil.
<i>G. ikariae</i> Baker	<i>G. ikariae</i> ssp. <i>latifolius</i> Stern
<i>G. krasnovii</i> A. Khokr.	<i>G. krasnovi</i>
<i>G. latifolius</i> Rupr.	<i>G. platyphyllus</i> Traub & Moldenke
<i>G. nivalis</i> L.	<i>G. nivalis</i> <i>G. nivalis</i> L subsp. <i>angustifolius</i> (G. Koss.) Artjushenko <i>G. nivalis</i> L var. <i>gracilis</i> (Čelak) <i>G. nivalis</i> var. <i>gracilis</i> (Čelak) <i>G. nivalis</i> var. <i>gracilis</i> <i>G. nivalis</i> L. ssp. <i>nivalis</i>
<i>G. plicatus</i> Bieb.	<i>G. plicatus</i> Bieb. subsp. <i>byzantinus</i> (Baker) D. A. Webb <i>G. plicatus</i> M.B. <i>G. plicatus</i> ssp. <i>byzantinus</i>
<i>G. woronowii</i> Losinsk.	<i>G. woronowii</i> <i>G. woronowi</i> <i>G. woronovi</i> <i>G. woronowii</i> A. Los.

Tablo 8. Tablo 7’de Adı Geçen *Galanthus* Türlerinin Alt Tür ve Sinonimleri

Ayrıca, Tablo 8’de *Galanthus ikariae* Baker adı altında incelenen *Galanthus ikariae* subsp. *latifolius* Stern, "Flora of Turkey and the East Aegean Islands" adlı kaynakta *Galanthus platyphyllus* Traub & Moldenke bitkisinin sinonimi olarak gösterilmektedir (52).

Tablo 8’de yer alan *G. caucasicus* (Baker) Grossh. bitkisinden elde edilen demetilhomolikorinin, 8 veya 9-O-demetil homolikorin olduğu birincil kaynakta

bildirilmemiştir.

Çeşitli *Galanthus* türlerinden izole edilmiş, R_f değerleri, fiziksel veya spektral özellikleri belirlendiği halde yapıları tam olarak aydınlatılamamış bazı alkaloidlerin rapor edildiği araştırmalar da mevcuttur (**20, 49, 58, 163, 165, 194, 267, 268, 333, 334, 336, 358, 359, 377, 378**).

Bunlara ek olarak, izole edildikleri çalışmalarda yapıları belirlenememiş ancak daha sonra yapıları aydınlatılmış alkaloidlere dair çalışmalar da bulunmaktadır (**180, 265, 269**).

Galanthus türleri, alkaloidlerinin yanısıra karbonhidratları (**24, 137, 254**), flavonoidleri (**141, 330, 332**), yağ asitleri (**188**), pigmentleri (**318**) ve fenolik asitleri (**89, 246, 330, 338**) yönünden de araştırılmışlardır.

Galanthus türleri üzerinde 1980 yılından itibaren çeşitli doku kültürü çalışmaları yapılmıştır (**22, 127, 240, 292, 302**). Ayrıca 1987 yılından itibaren *Galanthus* türlerinin lektinleri üzerine çok sayıda araştırmanın mevcut olması da bu konunun önemini ortaya koymaktadır (**23, 87, 95, 117, 118, 126, 216, 232, 278, 281, 328, 337, 345, 346, 347, 348, 374**).

BÖLÜM II

GEREÇ VE YÖNTEM

1. BOTANİK ARAŞTIRMALAR

1. 1. GEREÇ

Galanthus rizehensis Stern bitkisi iki farklı dönemde; 11.03.2007 tarihinde çiçekli halde iken, 02.05.2007 tarihinde ise meyveli halde iken, Trabzon ili, Maçka ilçesi, Güzelyayla köyünden toplanmış ve Prof. Dr. M. Ali ÖNÜR tarafından tayin edilmiştir. Bitkiye ait herbaryum örnekleri Ege Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi Anabilim Dalı Herbaryumunda, 1371 ve 1376 numaraları altında saklanmaktadır. Bitkinin doğadaki görünüşüne ait bir fotoğraf Resim 1 'de, bitkiye ait herbaryum örneklerinin fotoğrafları ise Resim 2 ve Resim 3 'de görülmektedir.

Bitkinin aynı yerde yetişen çeşitli fertlerinden, çiçekli ve meyveli dönemde ayrı ayrı olmak üzere bitkinin soğanlarıyla birlikte tüm organlarını içeren örnekler, 70° lik etanol kullanılarak alkol materyali hazırlanmış ve anatomik çalışmalarda kullanılmak üzere saklanmıştır.

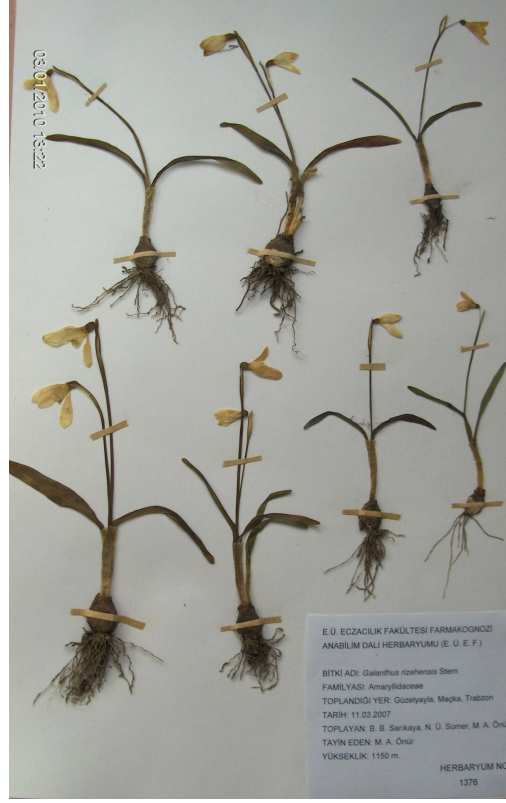
Bitkisel materyalin öncelikle toprak üstü ve toprak altı kısımları ayrılıp temizlenmiştir. Daha sonra ufak parçalar halinde küçültülerek, gözle görülebilen yabancı maddeler, bitkiye ait bozulmuş kısımlar gibi çeşitli safsızlıklar elle

ayıklanarak temizlenmiştir. Bitkisel materyal gölgede ve oda sıcaklığında kurutularak drog örnekleri hazırlanmıştır.

Bitkinin çiçekli ve meyveli dönemlerinde toplanıp kurutulmuş örneklerinden, çiçekli haldeki bitkiden hazırlanan Herba Galanthi örneklerine ÇTÜ, aynı dönemdeki Bulbus Galanthi örneklerine ÇTA, meyveli haldeki bitkiden hazırlanan Herba Galanthi örneklerine MTÜ, aynı dönemdeki Bulbus Galanthi örneklerine MTA kodları verilmiştir.



Resim 1. *Galanthus rizehensis* Stern Bitkisinin Doğadaki Görünüşü



Resim 2. *Galanthus rizehensis* Stern Bitkisinin Çiçekli Herbaryum Örneği



Resim 3. *Galanthus rizehensis* Stern Bitkisinin Meyveli Herbaryum Örneği

1. 2. DENEYLER

G. rizehensis bitkisinden hazırlanan drogların mikroskopik olarak incelenebilmesi için safsızlıklarından temizlenen kurutulmuş bitki örnekleri tunc havanda mekanik olarak orta incelikte toz haline getirilmiştir.

Anatomik çalışmalarda, hazırlanışı daha önce anlatılan alkol materyali kullanılmıştır. Bu materyalden kök, soğan, çiçek durumu sapı, yaprak, çiçek, meyve, tohum ve ovaryuma ait örneklerden enine ve yüzeysel kesitler alınmıştır. Sartur (75) ve kloralhidrat reaktifleri (29) içerisinde hazırlanan mikroskopik inceleme preparatları Carl Zeiss Jena marka araştırma mikroskopunda anatomik yapılar açısından karşılaştırmalı olarak incelenmiş, sabit ve karakteristik yapılar Carl Zeiss Jena marka mikrofotografi cihazı kullanılarak tespit edilmiştir.

2. KALİTE KONTROL VE MİKTAR TAYİNİ ARAŞTIRMALARI

2. 1. GEREÇ

Kalite kontrol çalışmalarında kullanılmak üzere, *Galanthus rizehensis* Stern bitkisi vejetasyonunun iki farklı döneminde, 11. 03. 2007 tarihinde bitki çiçekli halde iken, 02. 05. 2007 tarihinde ise bitki meyveli halde iken, Trabzon ili, Maçka ilçesi, Güzelyayla köyünden toplanmıştır. Bitkiye ait herbaryum örnekleri Ege Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi Anabilim Dalı Herbaryumunda 1371 ve 1376 numaraları altında saklanmaktadır.

Herba Galanthi ve Bulbus Galanthi örneklerini hazırlamak için taze bitkinin toprak üstü ve toprak altı kısımları gözle görülebilen bütün yabancı maddelerinden

ayıklanarak temizlendikten sonra, orta incelikte parçalar olacak şekilde doğranmış, gölgede, oda sıcaklığında kurutulmuştur. Bitkinin çiçekli ve meyveli dönemlerinde toplanıp kurutulmuş örneklerden, çiçekli haldeki bitkiden hazırlanan Herba Galanthi örneklerine ÇTÜ, aynı dönemdeki Bulbus Galanthi örneklerine ÇTA, meyveli haldeki bitkiden hazırlanan Herba Galanthi örneklerine MTÜ, aynı dönemdeki Bulbus Galanthi örneklerine MTA kodları verilmiştir. Bunların dışında çiçekli ve meyveli kısımlar karıştırılarak, toprak altı ve toprak üstü kısımlarını birlikte içerecek şekilde bir karışım drog örneği de hazırlanmış ve GR-T kodu verilmiştir.

Bitkisel materyal gözle görülen bütün yabancı maddelerinden temizlendikten sonra, toprak altı ve toprak üstü kısımları ayrılarak uygun büyüklükte olacak şekilde doğranmış ve gölgede, oda sıcaklığında kurutulmuştur. Kurutma işi tamamlandıktan sonra tüm örnekler Retsch GmbH SK 1 marka elektrikli değirmende ince toz (elek çapı 1mm) haline getirilmiştir.

Alkaloit miktar tayini çalışmalarında kullandığımız galantamin ve likorin referans maddelerinden galantamin ve likorin daha önce çalışma grubumuz tarafından yapı aydınlatma ve izolasyon çalışmalarını tamamladığımız *G. woronowii* Losinsk. bitkisinden (341) saf halde elde edilmiş olup, bu bileşiklere ait spektral bulgular (1D ve 2D NMR, UV, IR, MS) anabilim dalımızda mevcuttur.

2. 2. YÖNTEMLER

2. 2. 1. Nem Miktar Tayini

Önceden sabit ağırlığa getirilmiş camdan yapılmış tartım kabı içerisine 1 g civarında drog tam olarak tartılarak konur. 100-105⁰C'lik etüvde 1 saat süreyle tutulur. Etüvden çıkartılarak desikatörde belirli bir süre soğuması için bekletildikten

sonra tartılır. Bu işlemlere son iki tartım arasındaki fark 0.5 mg'dan fazla olmayacak şekilde sabit vezne gelinceye kadar devam edilerek, droğun yüzde nem miktarı hesaplanır.

2. 2. 2. Total Kül Miktar Tayini

600 ± 25⁰ C'lik Heraeus marka yakma fırınında önceden 1 saat yakılıp soğutulmuş sabit ağırlığa getirilen porselen kröze içerisine 1 g civarında drog tam olarak tartılarak konur. Öncelikle 100-105°C'lik etüvde 1 saat süreyle kurutulur. Daha sonra 600 ± 25⁰ C'lik yakma fırınında 1 saat yakılır. Fırından çıkartılarak desikatörde soğuması için bekletildikten sonra tartılır. Bu işlemlere külü içeren krözenin ağırlığında son iki tartım arasındaki fark 0.5 mg'dan fazla olmayacak şekilde sabit vezne gelinceye kadar devam edilerek, droğun içerdiği total kül miktarı yüzde olarak hesaplanır.

2. 2. 3. Sülfat Külü Miktar Tayini

600 ± 25⁰ C'lik Heraeus marka yakma fırınında önceden 1 saat yakılıp soğutulmuş sabit ağırlığa getirilen porselen kröze içerisine 1 g civarında drog tam olarak tartılarak konur. Droğun üzerine 2 ml % 10'luk sülfürik asit çözeltisi damla damla ilave edilir. Önce su banyosunda kuruluğa kadar bekletildikten sonra ardından tablalı ısıtıcıda duman çıkışı bitene kadar yakılır. Daha sonra 600±25⁰ C'lik yakma fırınında 1 saat süreyle yakılır. Fırından çıkartılarak desikatörde soğuması için bekletilir. Daha sonra üzerine % 10'luk sülfürik asit eklenir, benzer şekilde ısıtılıp, yakılır. Soğumasının ardından % 15.8'lik amonyum karbonat çözeltisi ilave edilir ve aynı işlem tekrarlanır. Yakma, soğutma ve tartma işlemlerine sülfat külü içeren kröze sabit vezne gelinceye kadar devam edilir. Droğun yüzde sülfat külü miktarı hesaplanır.

2. 2. 4. Hidroklorik Asitte Çözünmeyen Kül Miktar Tayini

600 ± 25⁰ C'lik Heraeus marka yakma fırınında önceden 1 saat yakılıp soğutularak sabit ağırlığa getirilen porselen kröze içerisine 1 g civarında drog tam olarak tartılarak konur. Öncelikle 100-105⁰C'lik etüvde 1 saat süreyle kurutulur. Daha sonra 600±25⁰C'lik fırınında 1 saat süreyle yakılır. Fırından çıkartılarak desikatörde bir miktar soğuması için bekletildikten sonra tartılır. Bu işlemlere son iki tartım arasındaki fark 0.5 mg'dan fazla olmayacak şekilde sabit vezne gelinceye kadar devam edilir. Daha sonra krozede kalan bakiye üzerine, distile su ve HCl konulur. Krozenin ağzı saat camıyla kapatılır ve tablalı ısıtıcı üzerinde ısıtılıp kaynaması sağlanır. Soğuduktan sonra kül bırakmayan süzgeç kağıdı (589¹ Black ribbon) kullanılarak süzülür. Süzüntü nötr oluncaya kadar sıcak distile suyla süzgeç kağıdı yıkanır. Üzerinde kalan bakiyeyle birlikte süzgeç kağıdı tekrar krozenin içerisine konur ve son iki tartım arasındaki fark 0.5 mg'dan fazla olmayacak şekilde sabit vezne gelinceye kadar yakma işlemine devam edilir. Böylece droğun % olarak hidroklorik asitte çözünmeyen kül miktarı hesaplanır.

2. 2. 5. Total Alkaloit Miktar Tayini

2. 2. 5. 1. Total Alkaloit Ekstresinin Hazırlanışı

100-105⁰C'lik etüvde sabit vezne getirilmiş toz drog örnekleri tam olarak tartılır. 24 saat % 96'lık etanolla bir perkolatörde masere edilir. Daha sonra % 96'lık etanolla Mayer ve Dragendorff (93, 104) reaktifleriyle reaksiyon vermeyinceye kadar ekstre edilir. Etanollü ekstre alçak basınç altında kuruluğa kadar distillendikten sonra, % 1'lik sulu hidroklorik asit içerisinde çözündürülüp süzülür. Bu işleme asitli süzüntü Mayer ve Dragendorff reaktifleriyle reaksiyon vermeyinceye kadar devam edilir. Birleştirilen asitli çözeltiler küçük porsiyonlar halinde, petrol eteriyle ön ekstraksiyona tabi tutulur. Bu işlemde sonra asitli çözeltiler derişik amonyum

hidroksit çözeltisiyle alkalilendirilir ve ardından kloroformla ekstraksiyon yapılır. Mayer ve Dragendorff reaktifleriyle reaksiyon vermeyinceye kadar ekstraksiyona devam edilir. Kontrol için sonuncu ekstraksiyondan sonra kloroformlu fazdan bir miktar alınıp, susuz sodyum sülfatla suyundan kurtarılır, süzülür. Kloroform distillenip, % 1'lik hidroklorik asit içinde çözündürülen bakiyede Mayer ve Dragendorff belirteçleriyle alkaloit varlığı kontrol edilir. Alkaloit varsa ekstraksiyon işlemine devam edilir, yoksa ekstraksiyon sonlandırılır. Ekstraksiyon sonucunda kloroformlu kısımlar birleştirilerek susuz sodyum sülfatla suyundan kurtarılır. Alçak basınç altında kuruluğa kadar distillenir. Böylece total alkaloit ekstresi elde edilmiş olur.

2. 2. 5. 2. Total Alkaloit Miktar Tayini Deneyinin Yapılışı

Çiçekli ve meyveli dönemde toplanan bitkinin toprak altı ve toprak üstü kısımlarından hazırlanan total alkaloit ekstreleri üzerine belirli miktarda ayarlı sülfürik asit çözeltisi ilave edilir. Sıcak su banyosunda ara sıra çalkalanarak çözündürülür. Üzerine birkaç damla metil kırmızısı karışım reaktif çözeltisinden (104) ilave edilir. Asidin fazlası, ayarlı sodyum hidroksit çözeltisiyle titre edilir. Renk kırmızı-menekşe renginden yeşile döndüğü an işleme son verilir. Daha sonra gerekli hesap yapılarak, total alkaloit miktarı tayin edilir.

2. 2. 6. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (HPLC) ile Alkaloit Miktar Tayini

2. 2. 6. 1. Alkaloit Ekstresinin Hazırlanışı

Drog örneklerinden 200 mg tartılır. Üzerine 5 ml % 2'lik hidroklorik asit çözeltisi eklenerek 5 saat süreyle 40⁰C'de ultrasonik banyoda ekstre edilir. Bu işlemin ardından 1 ml % 26'lık amonyum hidroksit çözeltisiyle baziklendirilir ve 4 ml distile su eklenir. 5000 rpm'de 10 dk boyunca santrifüj edilir. Üstte kalan sıvı

başka bir tübe aktarılarak distile suyla 10 ml'ye tamamlanır. Bu çözeltiden 3 ml alınarak Extrelut-N (Merck) kolonuna yüklenerek 10 dk bekletilir. Bunu takiben kloroformla elüsyon yapılır. Ele geçen kloroformlu bakiye alçak basınç altında kuruluğa kadar uçurulur. Böylece alkaloit ekstresi elde edilmiş olur.

2. 2. 6. 2. Standart Alkaloide Ait Ölçü Eğrisinin Hazırlanması

% 0.1'lik TFA'lı (Trifloraasetik asit) su kullanılarak hazırlanan standart alkaloit çözeltisinden seyreltmek suretiyle farklı konsantrasyonlarda hazırlanılan çözeltilerin her birinden uygun miktarlarda Hamilton enjektörle alınıp uygulanarak, belirli dalga boyunda ilgili alkaloide ait sinyalin alan değeri ölçülür. Uygulanan miktara karşı okunan alan değerini gösteren bir ölçü eğrisi hazırlanır ve denklem hesaplanır.

2. 2. 6. 3. Alkaloit Miktar Tayini

Her bir örnek için üç paralel olacak şekilde hazırlanan total alkaloit ekstreleri ve standart bileşik % 0.1'lik TFA'da çözülür. Çözeltiler filtreden (Syringe 100x13 mm, 0.45 µm) süzülür. Hamilton enjektörle uygulama yapılır. Belirli bir dalga boyunda okunan alan değerlerine karşılık gelen miktar, ölçü eğrisinden yararlanılarak hesaplanır. Sonuçlar kuru drog üzerinden % miktar olarak tespit edilir.

2. 3. DENEYLER

2. 3. 1. Nem Miktar Tayini

Önceden sabit vezne getirilmiş cam tartım kabı içerisine 1 g civarında drog tam olarak tartıldı. 100-105⁰C'lik etüvde 1 saat tutuldu. Etüvden çıkartılarak desikatörde 30 dk soğuması için bekletildikten sonra tartıldı. Bu işlemlere son iki tartım arasındaki fark 0.5 mg'dan fazla olmayacak şekilde sabit vezne gelinceye kadar

devam edilerek, droğun yüzde nem miktarı hesaplandı.

2. 3. 2. Total Kül Miktar Tayini

600 ± 25⁰C'lik Heraeus marka yakma fırınında önceden 1 saat yakılıp, soğutularak sabit ağırlığa getirilen porselen kröze içerisine 1 g civarında drog tam olarak tartılarak kondu. Önce 100-105⁰C'lik etüvde 1 saat kurutuldu. Daha sonra 600±25⁰C'lik yakma fırınında 1 saat yakıldı. Desikatörde 30 dk soğuması için bekletildikten sonra tartıldı. Yakma, soğutma ve tartma işlemlerine son iki tartım arasındaki fark 0.5 mg'dan fazla olmayacak şekilde sabit vezne gelinceye kadar devam edilerek, droğun yüzde total kül miktarı hesaplandı.

2. 3. 3. Sülfat Külü Miktar Tayini

600 ± 25⁰ C'lik Heraeus marka yakma fırınında önceden 1 saat yakılıp soğutularak sabit ağırlığa getirilen porselen kröze içerisine 1 g civarında drog tam olarak tartılarak kondu. Droğun üzerine 2 ml % 10'luk sülfürik asit çözeltisi damla damla ilave edildi. Su banyosu üzerinde kuruluğa kadar bekletildikten sonra tablalı ısıtıcıda duman çıkışı bitene kadar yakıldı. Bir sonraki aşamada 600 ± 25⁰C'lik yakma fırınında 1 saat yakılmasının ardından desikatörde 30 dk soğutuldu. Drog içeren krözeye birkaç damla %10'luk sülfürik asit çözeltisinden tekrar ilave edildi, yukarıda anlatılana benzer şekilde ısıtılıp, yakıldı. Desikatörde 30 dk soğutulmasının ardından, birkaç damla % 15.8'lik amonyum karbonat çözeltisi ilave edildi. Drog içeren kröze sabit vezne gelinceye kadar 1'er saat süreyle yakma fırınında yakıldı ve desikatörde 30 dk soğutulmasını takiben tartıldı. Hesaplamalar sonucunda droğun içerdiği yüzde sülfat külü miktarı bulundu.

2. 3. 4. Hidroklorik Asitte Çözünmeyen Kül Miktar Tayini

600 ± 25⁰C'lik Heraeus marka yakma fırınında önceden 1 saat yakılıp soğutularak sabit ağırlığa getirilen porselen kröze içerisine 1 g civarında drog tam

olarak tartılarak kondu. 100-105⁰C'lik etüvde 1 saat süreyle tutuldu. Daha sonra 600±25⁰C'lik yakma fırınında 1 saat süreyle yakıldı. Desikatörde 30 dk soğuması için bekletildikten sonra tartıldı. Bu işlemlere son iki tartım arasındaki fark 0.5 mg'dan fazla olmayacak şekilde sabit vezne gelinceye kadar devam edildi. Daha sonra drog içeren krözenin içine 15 ml distile su ve 10 ml HCl konuldu. Krözenin ağzı saat camıyla kapatıldı ve 10 dk plak ısıtıcı üzerinde ısıtıldı. Soğuduktan sonra kül bırakmayan süzgeç kağıdından (589¹ Black ribbon) süzülerek süzüntü nötr oluncaya kadar sıcak distile suyla süzgeç kağıdı yıkandı. Üzerinde kalan bakiyesiyle birlikte süzgeç kağıdı tekrar krözenin içerisine yerleştirildi. Son iki tartım arasındaki fark 0.5 mg'dan fazla olmayacak şekilde sabit vezne gelinceye kadar yakma işlemine devam edildi. Böylece droğun % olarak hidroklorik asitte çözünmeyen kül miktarı hesaplandı.

2. 3. 5. Total Alkaloit Miktar Tayini

2. 3. 5. 1. Total Alkaloit Ekstresinin Hazırlanışı

100-105⁰C'lik etüvde sabit vezne getirilmiş toz drog örneğinden 3 g civarında tam tartım alındı. 24 saat % 96'lık 100 ml etanolle bir perkolatörde masere edildi. Daha sonra perkolasyon yöntemiyle % 96'lık etanol kullanılarak tüketme sıvısı Mayer ve Dragendorff reaktifleriyle reaksiyon vermeyinceye kadar toplamda 300 ml alkolle tüketme işlemi gerçekleştirildi. Etanol alçak basınç altında distillendikten sonra bakiye 50 ml'lik porsiyonlar halinde %1'lik hidroklorik asit çözeltisi içerisinde çözümlenip süzüldü. Çözünmeyen kısımlar %1'lik hidroklorik asit çözeltisinin küçük porsiyonlarıyla yıkandı. Bu işleme asitli süzüntü Mayer ve Dragendorff reaktifleriyle reaksiyon vermeyinceye kadar devam edildi ve toplam 250 ml %1'lik hidroklorik asit çözeltisi kullanıldı. Birleştirilen asitli çözeltiler, 100 ml'lik porsiyonlar halinde üç kez petrol eteriyle, toplamda 300 ml solvan kullanılarak

ekstraksiyona tabi tutuldu. Petrol eterli kısımlar ayrıldı. Bu işlemden sonra asitli çözeltiler birleştirilerek % 26'lık amonyum hidroksit çözeltisiyle pH 9-10 olacak şekilde alkalilendirildi ve ardından kloroformla (6x100 ml) ekstraksiyon yapıldı. Sonuncu ekstraksiyonda kloroformlu kısımdan bir miktar alınıp susuz sodyum sülfatla suyundan kurtarıldı. Süzüldükten sonra kloroform distillenerek uzaklaştırıldı. Bakiye % 1'lik HCl içerisinde çözündürülerek Mayer ve Dragendorff belirteçleriyle alkaloit varlığı kontrol edildi. Ekstraksiyonun bittiğine karar verildikten sonra kloroformlu kısımlar birleştirilerek bir miktar susuz sodyum sülfatla suyundan kurtarılıp distillendi. Böylece total alkaloit ekstresi elde edilmiş oldu.

2. 3. 5. 2. Total Alkaloit Miktar Tayini Deneyinin Yapılışı

Hazırlanan total alkaloit ekstresi üzerine, 20 ml 0.02 N ayarlı sülfürik asit çözeltisi eklendi. 50-60⁰C'lik sıcak su banyosunda ara sıra çalkalayarak ekstrenin tamamen çözünmesi sağlandı. Üzerine metil kırmızısı karışım reaktif çözeltisi ilave edildi. Asidin fazlası 0.02 N ayarlı sodyum hidroksit çözeltisiyle kırmızı-menekşe renkten yeşil renge dönene kadar titre edildi.

2. 3. 5. 3. Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması ve Ayarlanması

2. 3. 5. 3. 1. 0.1 N Sülfürik Asit Çözeltisinin Hazırlanması

1000 ml'lik balon jojeye bir miktar kaynatılıp soğutulmuş distile su konulduktan sonra üzerine büret yardımıyla 2.8 ml % 98'lik sülfürik asit (Merck) eklenerek, 1000 ml'ye kaynatılmış soğutulmuş distile suyla tamamlandı.

2. 3. 5. 3. 2. 0.02 N Sülfürik Asit Çözeltisinin Hazırlanması

Hazırlanmış olan 0.1 N sülfürik asit çözeltisinin büretle ölçülerek alınan 200 ml'si 1000 ml'lik bir balon jojeye aktarıldıktan sonra kaynatılmış soğutulmuş distile suyla 1000 ml'ye tamamlandı.

2. 3. 5. 3. 3. 0.02 N Sülfürik Asit Çözeltisinin Ayarlanması

100-105⁰C'lik etüvde kuruluğa kadar ısıtılıp, sabit vezne getirilmiş susuz sodyum karbonattan (Merck) 30 mg civarında tam tartım alındı. 30 ml kaynatılıp soğutulmuş distile su içinde çözüldürüldü. Üzerine 0.1 ml metil oranj reaktif çözeltisi (0.1 g metil oranj reaktifi 80 ml distile suda çözüldürülür ve etanolle 100 ml'ye tamamlanır) (104) ilave edildi ve hazırlanan 0.02 N sülfürik asit çözeltisiyle titre edildi. Kırmızı-sarı renge dönerek ekivalans noktasına ulaşan çözelti dikkatle ısıtılarak karbondioksiti uzaklaştırıldı. Sonra kırmızı-sarı renk tekrar ortaya çıkana kadar titrasyona devam edildi.

2. 3. 5. 3. 4. 0.1 N Sodyum Hidroksit Çözeltisinin Hazırlanması

4.2 g sodyum hidroksit (Merck) tartıldı. 1000 ml'lik bir balon jojede, süratle birkaç ml kaynatılıp soğutulmuş distile suyla yıkanarak karbonatından kurtarıldıktan sonra, 1000 ml'ye kaynatılıp soğutulmuş distile suyla tamamlandı.

2. 3. 5. 3. 5. 0.02 N Sodyum Hidroksit Çözeltisinin Hazırlanması

Yukarıda hazırlanışı anlatılan 0.1 N sodyum hidroksit çözeltisinden büretle 200 ml ölçülerek alındı ve 1000 ml'lik bir balon jojede kaynatılıp soğutulmuş distile suyla 1000 ml'ye tamamlandı.

2. 3. 5. 3. 6. 0.02 N Sodyum Hidroksit Çözeltisinin Ayarlanması

Ayarlı 0.02 N sülfürik asit çözeltisinin 25 ml'si, büretten ölçülerek bir erlenmayere alındı. Üzerine 3 damla metil kırmızısı reaktif çözeltisi (0.1 g metil kırmızısı ve 50 mg metilen mavisi etanolde çözüldürülüp, yine etanolle 100 ml'ye tamamlanır) (104) eklendi. Oluşan kırmızı-menekşe renk, yeşile dönene kadar 0.02 N sodyum hidroksit çözeltisiyle titrasyon yapıldı.

2. 3. 6. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi ile Likorin ve Galantaminin Teşhis ve Miktar Tayini

Bitkiye ait ÇTÜ, ÇTA, MTÜ, MTA kodlu örneklerden alkaloit ekstresinin hazırlanmasında literatür incelenmiş ve *G. rizehensis* için en uygun miktarda alkaloit ekstresi elde edilecek şekilde modifiye edilmiştir (35). Kullanılan miktar tayini yöntemi (244) ise likorin ve galantamin alkaloitlerinin aynı anda teşhisine ve miktar tayinine imkan sağlamaktadır.

2. 3. 6. 1. Alkaloit Ekstrelerinin Hazırlanışı

ÇTÜ, ÇTA, MTÜ, MTA kodlu örneklerden 200 mg tartıldı. Drog üzerine 5 ml % 2'lik hidroklorik asit çözeltisi eklenerek 5 saat süreyle 40⁰C'lik ultrasonik banyoda ekstre edildi. Bu işlemin ardından 1 ml derişik amonyum hidroksit ve 4 ml distile su eklendi. 5000 rpm'de 10 dk boyunca santrifüje tabi tutuldu. Toz droğa ait partiküller çöktükten sonra üstte toplanan sıvı kısım başka bir tübe aktarılarak distile suyla 10 ml'ye tamamlandı. Bu çözeltilerden 3 ml alınarak Extrelut-N (Merck) kolonuna yüklendi. 10 dk bekletildikten sonra kloroformla 3x5 ml olacak şekilde elüsyon yapıldı. Ele geçen kloroformlu bakiye alçak basınç altında distillendi. Böylece alkaloit ekstresi elde edildi.

2. 3. 6. 2. Örnek Çözeltilerinin Hazırlanışı

200 mg drogdan hareketle ekstraksiyonu yapılan ÇTÜ, ÇTA, MTÜ, MTA kodlu örneklere ait alkaloit ekstraları, 1 ml % 0.1'lik TFA (Trifloroasetik asit)'lı suda çözüldü. Elde edilen çözeltiler filtreden (Sem Concept Syringe 100x13 mm, 0.45 µm) süzüldü.

2. 3. 6. 3. Likorin Miktar Tayini

2. 3. 6. 3. 1. Standart Likorine ait Ölçü Eğrisinin Hazırlanması

2 mg saf likorin bir balon jodede, 10 ml % 0.1'lik TFA'lı suda çözüldü.

Ardından filtreden (Sem Concept Syringe 100x13 mm, 0.45 µm) süzüldü. Bu örneğe L_S kodu verildi. L_S kodlu çözeltilerden 0.5 µg/ml, 1.5 µg/ml, 2.5 µg/ml, 5 µg/ml, 10 µg/ml, 14 µg/ml, 20 µg/ml, 24 µg/ml, 30 µg/ml konsantrasyonlarında çözeltiler hazırlandı. Her birinden üç kez 20'şer µl uygulanarak alan değerleri ölçüldü (Tablo 24). Uygulanan miktara karşı okunan alan değerleriyle likorine ait bir ölçü eğrisi ve regresyon denklemi hazırlandı (Şekil 1). Standart likorine ait kromatogram ve UV spektrumu ise sırasıyla Şekil 2 ve 3'de verilmiştir.

2. 3. 6. 3. 2. Deneyin Yapılışı

Hazırlanan örnek çözeltilerinden üç paralel uygulama olacak şekilde her birinden üç kez Hamilton enjektör yardımıyla 20 µl uygulama yapıldı. Okunan alan değerlerine karşılık gelen miktarlar ölçü eğrisinden yararlanılarak hesaplandı. Likorin miktar tayini sonuçları kuru drog üzerinden % miktar olarak tespit edildi (Tablo 25-32). Örneklere ait kromatogramlar Şekil 4-7'de verilmiştir.

Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi Analiz Şartları:

Cihaz: Hewlett Packard 1100 [Katerner pompa, vakum degas, termostatlı kolon kompartmanı manuel enjektör (20 µl lup, Rheodyne 7725i)]

Kolon: Hichrom C₁₈ (250 mm x 4.6 mm ID, 5 µm)

Mobil Faz: TFA-su-asetonitril (0.01:90:10)

Akış Hızı: 1ml/dk

Dedektör: Agilent DAD-1200

Dalga Boyu: 290 nm

Kolon Sıcaklığı: 25⁰C

Elde edilen verilerin analizi "Agilent Chem Station Software" ile yapılmıştır.

2. 3. 6. 4. Galantaminin HPLC ile Teşhisi

2. 3. 6. 4. 1. Standart Galantamin Çözeltisinin Hazırlanması

2.5 mg saf galantamin bir balon jodede 10 ml % 0.1'lik TFA'lı suda çözüldü. Ardından filtreden (Sem Concept Syringe 100x13 mm, 0.45 µm) süzüldü. Süzüntüden 400 µg/ml olacak şekilde % 0.1'lik TFA'lı suyla seyreltme yapılarak bu çözeltiye G_S kodu verildi.

2. 3. 6. 4. 2. Karışım Çözeltilerinin Hazırlanışı

Daha önce hazırlamış olduğumuz total alkaloid ekstrelerinden, içerdiği oldukları alkaloid oranları göz önünde tutularak ÇTÜ ve MTÜ kodlu örneklerden 300'er µl, ÇTA ve MTA kodlu örneklerden 200'er µl alınarak G_S standart çözeltisinin 50 µl'isiyle karıştırıldı.

G_S çözeltisinden 10 µl enjekte edilerek elde edilen kromatogram Şekil 8'de verilmiştir.

ÇTÜ, ÇTA, MTÜ ve MTA kodlu örneklere ait ekstrelerden ve yukarıda anlatıldığı gibi hazırlanan karışım çözeltilerinden 20 µl olacak şekilde enjekte edildi. Bunlara ait kromatogramlar da Şekil 9-16'da verilmiştir.

3. GAZ KROMATOĞRAFİSİ-KÜTLE SPEKTROMETRESİ (GC-MS) YÖNTEMİYLE DROĞUN İÇERDİĞİ ALKALOİTLERİN TESPİTİ

3. 1. GEREÇ

Gaz Kromatografisi-Kütle Spektroskopisi (GC-MS) çalışmalarında kullanılmak üzere, *Galanthus rizehensis* Stern bitkisi vejetasyonunun iki farklı döneminde, 11.03.2007 tarihinde bitki çiçekli halde iken, 02.05.2007 tarihinde ise

bitki meyveli halde iken, Trabzon ili, Maça ilçesi, Güzelyayla köyünden toplanmıştır. Bitkiye ait herbaryum örnekleri Ege Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi Anabilim Dalı Herbaryumunda 1371 ve 1376 numaraları altında saklanmaktadır.

Herba Galanthi ve Bulbus Galanthi örneklerini hazırlamak için taze bitkinin toprak üstü ve toprak altı kısımları gözle görülebilen bütün yabancı maddelerinden ayıklanarak temizlendikten sonra, orta incelikte parçalar olacak şekilde doğranmış, gölgede, oda sıcaklığında kurutulmuştur. Kurutma işi tamamlandıktan sonra tüm örnekler Retsch GmbH SK 1 marka elektrikli değirmende ince toz (elek çapı 1mm) haline getirilmiştir.

Bitkinin çiçekli ve meyveli dönemlerinde toplanıp kurutulmuş örneklerden, çiçekli haldeki bitkiden hazırlanan Herba Galanthi örneklerine ÇTÜ, aynı dönemdeki Bulbus Galanthi örneklerine ÇTA, meyveli haldeki bitkiden hazırlanan Herba Galanthi örneklerine MTÜ, aynı dönemdeki Bulbus Galanthi örneklerine MTA kodları verilmiştir.

3. 2. YÖNTEM

Alkaloit ekstresinin hazırlanışı ve kullanılan yöntem için literatür incelenmiş (32), bitkiye ait en uygun sonuçları elde etmek için bazı modifikasyonların yapılması uygun görülmüştür.

3. 2. 1. Alkaloit Ekstresinin Hazırlanışı

Toz drog örneğinden 500 mg tartılır. Üzerine metanol eklenerek 30 dk süreyle ultrasonik banyoda bekletilir. Bu işlemin ardından metanollü çözelti süzülerek alınır, kalan bakiye üzerine tekrar metanol eklemek suretiyle aynı işlem iki kez daha

tekrarlanır. Ele geçen metanollü çözeltiler alçak basınç altında uçurularak üzerine % 2'lik sülfürik asit çözeltisi eklenerek asitlendirilir, süzülür. Aynı işlem iki kez daha tekrarlanıp asitli kısımlar birleştirilir. Asitli çözelti dietil eterle sıvı-sıvı ekstraksiyona tabi tutulur. Eterli kısım uzaklaştırıldıktan sonra asitli çözelti üzerine derişik amonyak çözeltisi ilave edilerek pH 9-10 olacak şekilde bazikleştirilir. Kalevi çözelti kloroformla üç kez ekstre edilerek kloroformlu kısımlar birleştirilir, susuz sodyum sülfatla içermesi muhtemel suyundan kurtarılır ve kloroformlu çözelti alçak basınç altında distillenir. Böylece alkaloid ekstresi elde edilmiş olur.

3. 2. 2. Uygulamanın Yapılışı

Hazırlanan alkaloid ekstresi metanol içinde, uygun olduğu belirlenen konsantrasyonda gaz kromatografisi-kütle spektrometresine uygulanır.

3. 3. DENEY

3. 3. 1. Alkaloid Ekstresinin Hazırlanışı

ÇTÜ, ÇTA, MTÜ, MTA kodlu örneklerin her birinden 500 mg tartıldı. Drog üzerine 5 ml metanol eklenerek 30 dk süreyle ultrasonik banyoda bekletildi. Bu işleminin ardından metanollü çözelti süzülerek alındı. Bakiye üzerine tekrar 5 ml metanol eklemek suretiyle bu işlemler toplam 3 kez tekrarlandı. Birleştirilen metanollü çözeltiler alçak basınç altında kuruluğa kadar distillenip üzerine 10 ml % 2'lik sülfürik asit çözeltisi eklenerek asitlendirildi, süzüldü. Aynı işlem 2 kez daha tekrarlanıp asitli kısımlar birleştirildi. Asitli çözelti 3x10 ml dietil eterle sıvı-sıvı ekstraksiyona tabi tutuldu. Eterli kısımlar toplanarak uzaklaştırıldı. Bu aşamadan sonra asitli çözelti üzerine derişik amonyak çözeltisi ilave edilerek pH 9-10 olacak şekilde ayarlandı. Kalevi çözelti 3x10 ml kloroformla ekstre edilerek kloroformlu kısımlar birleştirildi, bir miktar susuz sodyum sülfat ilave edilip suyundan kurtarıldı

ve alçak basınç altında kuruluğa kadar distillendi. Böylece alkaloit ekstresi elde edildi.

3.3.2. Deneyin Yapılışı

ÇTÜ, ÇTA, MTÜ, MTA kodlu örneklerden yukarıda tarif edildiği şekilde elde edilen total alkaloit ekstreleri 5 mg/250 µl konsantrasyonda olacak şekilde metanolde çözülerek gaz kromatografisi-kütle spektrometresine uygulanmıştır. Alkaloitlerin teşhisi NIST 05 veritabanı (NIST Mass Spectral Database, PC-Version 5.0 (2005), National Institute of Standardization and Technology, Gaithersburg, MD), Barselona Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi'nde yer alan GC-MS kütüphane verileri, literatür bilgileri ve daha önce saf olarak elde edilip yapısı aydınlatılan maddelere ait kütle spektrumlarında yer alan karakteristik parçalanmalar göz önünde bulundurularak gerçekleştirilmiştir.

Cihaz: Hewlett-Packard 6890+MSD 5975, (Hewlett-Packard, Palo Alto, CA, USA)

Mod: EI (70 eV)

Kolon: HP-5 MS (30m x 0.25mm x 0.25µm)

Kolon Sıcaklık Programı: 100-180°C arası 15°C/dk artış,

180-300°C arası 5°C/dk artış,

300°C'de 10 dk sabit

Enjektör Sıcaklığı: 250°C

Taşıyıcı Gaz: Helyum

Akış Hızı: 0.8 ml /dk

4. BİYOLOJİK AKTİVİTE REHBERLİĞİNDE İZOLASYON VE YAPI AYDINLATMA ÇALIŞMALARI

4. 1. GEREÇ

Galanthus rizehensis Stern bitkisi vejetasyonunun iki farklı döneminde, 11.03.2007 tarihinde bitki çiçekli halde iken, 02.05.2007 tarihinde ise bitki meyveli halde iken, Trabzon ili, Maçka ilçesi, Güzelyayla köyünden toplanmıştır. Bitkisel materyal gözle görülen bütün yabancı maddelerinden temizlendikten sonra, toprak altı ve toprak üstü kısımları ayrılarak uygun büyüklükte olacak şekilde doğranmış ve gölgede, oda sıcaklığında kurutulmuştur. Kurutma işi tamamlandıktan sonra Retsch GmbH SK 1 marka elektrikli değirmende ince toz (elek çapı 1mm) haline getirilmiştir.

İzolasyon çalışmalarında, bitkiye ait çiçekli dönemde toplanan toprak üstü, toprak altı ve meyveli dönemde toplanan toprak üstü, toprakaltı kısımlarının tozları birleştirilerek kullanılmıştır.

4. 2. YÖNTEMLER

4. 2. 1. Alkaloit Ekstraksiyonu

Orta incelikte toz haline getirilmiş materyal, oda sıcaklığında % 96'lık etanolla Mayer ve Dragendorff alkaloit belirteçlerine pozitif reaksiyon vermeyinceye kadar perkolasyon yöntemiyle tüketilir. Etanollü çözeltilerin birleştirilip alçak basınç altında kuruluğa kadar distillenmesiyle ele geçen bakiye, % 2'lik hidroklorik asit çözeltisinde çözündürülür, çözünmeyen kısımlar süzgeç kağıdından süzülerek ayrılır.

Bu işleme süzüntü Mayer ve Dragendorff alkaloit belirteçlerine olumlu sonuç vermeyinceye kadar devam edilir. Asitli çözeltiler birleştirilerek derişik amonyum hidroksit çözeltisiyle pH 9-10 olacak şekilde bazikleştirilir. Elde edilen alkali çözelti kloroformla Mayer ve Dragendorff alkaloit belirteçlerine karşı olumlu sonuç vermeyinceye kadar tüketilir. Kloroformlu kısımlar birleştirilir. Susuz sodyum sülfatla suyundan kurtarılarak süzülür. Kloroformun alçak basınç altında distillenmesiyle total alkaloit ekstresi elde edilmiş olur.

4. 2. 2. Alkaloitlerin İnce Tabaka Kromatografisi ile (İ.T.K.) İncelenmesi

İ.T.K. çalışmalarında 20x20 cm boyutlarında, 0.25 mm kalınlığında silikajel 60 F₂₅₄ (Merck 5715) hazır cam kromatografi plakları kullanılmıştır. Çalışmalar oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir. Örnekler kromatografi plaklarına uygulanarak deneysel olarak saptanmış uygun konsantrasyonlardaki çözeltileri halinde uygulanmış ve plaklar deneysel olarak saptanmış çözücü sistemlerinde (Tablo 9) yükseltilmişlerdir. İ.T.K. yönteminden, sütun kromatografisi çalışmaları sırasında elde edilen fraksiyonların benzer olanlarının birleştirilmesi, preparatif ince tabaka ile vakum uygulamalı preparatif sütun kromatografileri için uygun çözücü sistemlerinin geliştirilmesi ve izole edilen bileşiklerin saflıklarının kontrolü için yararlanılmıştır.

4. 2. 3. Alkaloitlerin Saflaştırılmaları

Bu amaçla sütun kromatografisi, preparatif vakumlu sütun kromatografisi ve preparatif ince tabaka kromatografisi yöntemlerinden ve gerektiğinde kristallendirme işlemlerinden yararlanılmıştır.

4. 2. 3. 1. Sütun Kromatografisi

Sütun kromatografisi yönteminden, total alkaloit ekstresinin fraksiyonlandırılmasında ve elde edilen ana fraksiyonların daha ileri fraksiyonlandırma işlemlerinde faydalanılmıştır. Adsorban olarak, total alkaloit

ekstresinden ana fraksiyonların elde edilmesinde silika jel 60 (70-230 Mesh) (Merck 7734) ve bu fraksiyonların daha ileri ayrımında kullanılan preparatif sütun kromatografisi çalışmalarında silika jel H (Type 60) (5-40 µm) (Merck 7736) kullanılmıştır. Fraksiyonlandırılacak ekstrelerin 1 g'ı için yaklaşık 35-40 g adsorban ve bu miktarlara uygun boyutlarda silindirik cam sütunlar kullanılmıştır. Gerekğinde vakum uygulanabilecek şekilde imal edilmiş cam sütunlardan da yararlanılmıştır. Öncelikle sütuna uygulanacak olan ekstrenin yoğun çözeltisi bir miktar adsorban üzerine eklenmiş, ara sıra karıştırılıp bekletilerek çözücüsü uzaklaştırılmıştır. Bu şekilde elde edilen toz halindeki ekstre-adsorban karışımı sütuna ilave edilmiş ve elüsyon yapılmıştır. Total alkaloid ekstresinde ana fraksiyonların elde edilmesi için kullanılan çözücü sistemleri Tablo 10'da verilmiştir.

4. 2. 3. 2. Preparatif İnce Tabaka Kromatografisi

Preparatif ince tabaka kromatografisinde, 0.25 mm adsorban tabakası kalınlığında, 20x20 boyutlarında silika jel 60 F₂₅₄ (Merck 5715) ile 0.50 mm adsorban tabakası kalınlığında, 20x20 boyutlarındaki silika jel 60 F₂₅₄ (Merck 5744) hazır cam plaklar kullanılmıştır. Ön denemeler sonucu uygun olduğu saptanan çeşitli çözücü sistemleri kullanılmıştır. Çözücü sistemleri plaklarda tek developman yapıldığında 17 cm, ardı ardına iki developman yapıldığında ise önce 15 cm ve sonra 18 cm olacak şekilde yükseltilmiştir. Bantlar, 254 nm ve 366 nm dalga boylarındaki UV ışık altında incelenerek ve Dragendorff alkaloid belirtecini plağın çok ince bir kısmına püskürterek tespit edilmiştir. Plaktan kazımak suretiyle alınan bantlar kloroform-metanol (8:2) çözücü karışımıyla elüe edilmiştir. Alçak basınç altında distilasyonla çözücü uzaklaştırılarak bileşikler amorf halde elde edilmiştir. Bunu takiben gerektiğinde kristalizasyon işlemi de uygulanmıştır.

No	Çözücü Sistemi
I	Sikloheksan-Kloroform-Asetonitril-Dietilamin (24:14:1:1)
II	Sikloheksan-Kloroform-Metanol-Amonyum Hidroksit (%26) (30:70:3:10 damla)
III	Sikloheksan-Kloroform-Metanol-Amonyum Hidroksit (%26) (3:6:1:2 damla)
IV	Kloroform-Metanol (8:2)
V	Kloroform-Aseton-Dietilamin (9:1:1 damla)
VI	Kloroform-Aseton-Metanol-Dietilamin (8:1:1:1 damla)
VII	Benzen-Kloroform-Aseton-Metanol-Amonyum Hidroksit (%26) (16:18:4:4:4 damla)
VIII	Benzen-Kloroform-Aseton-Metanol-Amonyum Hidroksit (%26) (6:7:2:3:2 damla)
IX	Benzen-Kloroform-Metanol (14:5:1; Amonyak buharıyla doyuruldu)
X	Benzen-Kloroform-Metanol-Amonyum Hidroksit (%26) (7:2:1:2 damla)
XI	Benzen-Kloroform-Metanol-Amonyum Hidroksit (%26) (12:5:3:6 damla)
XII	Benzen-Kloroform-Metanol-Amonyum Hidroksit (%26) (9:8:3:6 damla)
XIII	Benzen-Kloroform-Metanol-Amonyum Hidroksit (%26) (3:5:2:3 damla)
XIV	Kloroform-Metanol (37:3)
XV	Sikloheksan-Kloroform-Aseton-Etanol-Amonyum Hidroksit (%26) (7:8:3:2:4 damla)
XVI	Sikloheksan-Kloroform-Aseton-Etanol-Amonyum Hidroksit (%26) (4:9:4:3:4 damla)
XVII	Kloroform-Metanol (9:1; Amonyak buharıyla doyuruldu)
XVIII	Sikloheksan-Kloroform-Aseton-Metanol-Amonyum Hidroksit (%26) (6:9:4:1:6 damla)
XIX	Sikloheksan-Kloroform-Aseton-Metanol-Amonyum Hidroksit (%26) (4:9:3:3:6 damla)
XX	Sikloheksan-Kloroform-Aseton-Metanol-Amonyum Hidroksit (%26) (2:11:3:4:6 damla)
XXI	Sikloheksan-Kloroform-Aseton-Metanol-Amonyum Hidroksit (%26) (2:5:2:1:3 damla)
XXII	Sikloheksan-Kloroform-Aseton-Metanol-Amonyum Hidroksit (%26) (3:9:5:3:6 damla)

Tablo 9. İ.T.K., Preparatif İ.T.K. ve Preparatif Sütun Kromatografilerinde Yararlanılan Çözücü Sistemleri

No	Çözücü sistemi
XXIII	Kloroform
XXIV	Kloroform: Metanol (98:2)
XXV	Kloroform: Metanol (95:5)
XXVI	Kloroform: Metanol (92.5:7.5)
XXVII	Kloroform: Metanol (90:10)
XXVIII	Kloroform: Metanol (85:15)
IV	Kloroform: Metanol (80:20)
XXIX	Kloroform: Metanol (70:30) + %1

Tablo 10. Ana Fraksiyonların Elde Edilmesinde Kullanılan Çözücü Sistemleri

4. 2. 3. 3. Kristallendirme

Fraksiyonların saflaştırılmaları sırasında kristallendirme işleminden de yararlanılmıştır. Kristal halde alkaloidlerin daha stabil olması ve daha güvenli saklanması açısından bu yöntem avantaj sağlamaktadır. Bu amaçla, uygun polaritede seçilen az miktarda çözücünde, elde edilen amorf bileşiğin çözünmesi sağlanmış, ardından havayla teması az olacak şekilde oda sıcaklığında veya buzdolabında kristallerin oluşması için bir süre bekletilmiştir. Kristaller hızlı bir şekilde önce kendi çözücüsünde, daha sonra kristalleri zor çözen veya çözmeyen bir çözücü kullanılarak yıkama işlemi gerçekleştirilip, temizlenmişlerdir. Ele geçen kristallerin içermesi muhtemel safsızlıkları uzaklaştırmak için gerektiğinde kristalizasyon işlemi tekrarlanmıştır.

4. 2. 4. Saf Halde Elde Edilen Bileşiklerin Tanımlanması

Kromatografik olarak saf halde elde edilen bileşiklerin yapılarının aydınlatılmasında çeşitli spektroskopik yöntemlerden [UV, IR, 1D NMR (^1H , ^{13}C), 2D NMR (COSY, NOESY, HMBC, HSQC), EIMS, HR-ESIMS, CD]

faýdalanılmıştır. Ayrıca bileşiklerin spesifik optik çevirmeleri de ($[\alpha]_D$) ölçülmüştür. Verilerin değerlendirilmesinde mevcut literatür bilgilerinden de yararlanılmıştır. Elde edilen saf maddelerin yapılarının aydınlatılması için kullanılan analitik yöntemlerde kullanılan cihazlara ait teknik bilgiler aşağıda yer almaktadır.

Optik Çevirme: Bileşiklerin optik çevirmelerinin ölçülmesinde Perkin-Elmer 241 ve 341 polarimetrelerinden yararlanılmıştır.

UV Spektrumları: Bileşiklerin UV spektrumları 1 cm'lik kuvarz küvetlerde metanoldeki % 0.01'lik çözeltilerinde, Ultraspec 3000 marka UV-visible spektrometresi (Pharmacia Biotech) kullanılarak alınmıştır.

IR Spektrumları: Bileşiklerin IR spektrumları, kloroform içinde sodyum klorür disk kullanılarak Avatar 320 FT-IR Thermo Nicolet spektrometresinde veya bileşiklerin çözüldükleri metanol gibi uygun bir çözücüde direkt olarak spektrumlarının alınmasını mümkün kılan Thermo Scientific Smart Miracle IR spektrometrelerinde alınmıştır. Her iki yöntemde de bileşiklerin 0.5 mg/ 1 ml konsantrasyonda olacak şekilde hazırlanan çözeltileri kullanılmıştır.

NMR Spektrumları: Bileşiklere ait ^1H ve ^{13}C NMR ve 2D NMR spektrumları (^1H , ^1H COSY, NOESY, HSQC, HMBC) Varian Gemini 300, Varian VNMRs 400 veya Varian İnova 500 NMR spektrometrelerinde CDCl_3 , CD_3OD veya $\text{DMSO}-d_6$ çözücüleri içerisinde alınmıştır.

Kütle spektrumları: EI kütle spektrumları CG-MS Hewlett Packard 6890 + MSD 5975 spektrometresinde, HRESI kütle spektrumları LC/MSD-TOF (2006) Agilent Technologies spektrometresinde alınmıştır.

CD (Dairesel Dikroizm) Spektrumları: Bileşiklerin CD spektrumları 1 mg/ml konsantrasyonunda metanol içerisinde Jasco-J-810 spektropolarimetresinde alınmıştır.

4. 2. 5. Biyolojik Aktivite Tayini

Asetilkolinesteraz inhibitör aktivitenin tayini, elde edilen ana fraksiyonlar üzerinde ince tabaka kromatografisi (İ.T.K.) deneyi (102, 173, 276, 277), izole edilen saf maddeler üzerinde ise mikrolaka deneyi (102, 217, 276) kullanılarak tayin edilmiştir. *In vitro* Ellman yöntemi her iki denemenin esasını oluşturmaktadır (103). Gerek İ.T.K. ve gerekse mikrolaka deneyinde enzimin, substratla (asetiltiyokolin) etkileşmesi sonucunda oluşan tiyokolin, Ellman reaktifi olarak bilinen 5,5'-ditiyobis-(2-nitrobenzoik asit) (DTNB) ile tepkimeye girerek 2-nitrobenzoat-5-merkaptotiyokolin ve sarı renkli 5-tiyo-2-nitrobenzoat oluşturmaktadır.

4. 2. 5. 1. İ. T. K. Deneyi ile Asetilkolinesteraz İnhibitör Aktivite Tayini

Bu yöntemde organik çözücüde çözülmüş olan ana fraksiyonlar silika jel kromatografi plağına uygulandıktan sonra organik çözücü karışımında develop edilip, oluşan lekelerin inhibitör etkileri substrat, boyar madde ve enzim çözeltilerini püskürtmek suretiyle Ellman yönteminden yararlanılarak saptanmıştır. Kolorimetrik esasa dayanan yöntemde, İ.T.K deneyinde sarı zemin üzerinde beyaz olarak görülen lekeler inhibisyonun varlığını göstermektedir.

4. 2. 5. 2. Mikrolaka Deneyi ile Asetilkolinesteraz İnhibitör Aktivite Tayini

Mikrolaka deneyi saf halde elde edilen bileşiklerin asetilkolinesteraz enzimini inhibe edici potansiyellerini, Ellman yönteminden yararlanarak kantitatif olarak ölçmek amacıyla kullanılmıştır. Metanolde çözülen bileşiklerin uygun konsantrasyonlarda çözeltileri hazırlanmış ve absorbansları 405 nm dalga boyunda mikrolaka okuyucu yardımıyla ölçülmüş ve bileşiklerin IC₅₀ değerleri hesaplanmıştır. Çözeltilerin renklenme (sarı renk) şiddeti ne kadar düşüğe inhibisyonun derecesi o kadar fazla olmaktadır.

4. 3. DENEYLER

4. 3. 1. Total Alkaloit Ekstresinin Hazırlanması

Uygun incelikte toz haline getirilmiş 13.1 kg materyal, oda sıcaklığında % 96'lık etanol ile perkolasyona tabi tutularak bu işleme tüketme sıvısı Dragendorff ve Mayer alkaloit belirteçleriyle reaksiyon vermeyinceye kadar toplam 429.5 l etanol kullanılarak devam edildi. Ele geçen etanollü kısımlar alçak basınç altında kuruluğa kadar distillendi ve böylece total alkol ekstresi hazırlandı. Bakiye önce % 2'lik hidroklorik asit çözeltisiyle sıcak su banyosunda (40-50⁰C) çözündürüldü. Daha sonra soğutma işlemi uygulayarak reçine v.b. asitte çözünmeyen kısımlar katılaştırılıp süzgeç kağıdından süzülerek uzaklaştırıldı. Bu işleme asitli sulu çözelti Dragendorff ve Mayer alkaloit belirteçleriyle reaksiyon vermeyinceye kadar devam edildi. Bu şekilde elde edilen asitli sulu kısımlar birleştirilip, % 26'lık amonyum hidroksit çözeltisiyle pH 9-10 olacak şekilde kalevilendirildi. Ele geçen bu sulu alkali çözelti kloroformla yine Dragendorff ve Mayer alkaloit belirteçleriyle reaksiyon vermeyinceye kadar ekstraksiyona tabi tutuldu. Kloroformlu kısımlar birleştirilip, susuz sodyum sülfatla suyundan kurtarılıp süzüldü. Kloroform alçak basınç altında kuruluğa kadar distillendi. Bakiye desikatörde sabit vezne gelinceye kadar bekletilip, tartıldı. 10.7366 g ağırlığında % 0.082 verimle total alkaloit ekstresi elde edildi.

4. 3. 2. Total Alkaloit Ekstresi Üzerinde Fraksiyonlandırma Çalışmaları

Silika jel 60 (70-230 Mesh) (Merck)'den 400 g tartıldı ve 1200 ml XXIII No'lu çözücü sistemiyle süspansiyon haline getirildikten sonra 6.5 cm çaplı cam sütuna yüklendi. 10.7366 g total alkaloit ekstresi kloroform-metanol (8:2) karışımında çözülüp, 25 g silika jel 60 (70-230 Mesh) (Merck)'e adsorbe edildi. Karışım oda

sıcaklığında ara sıra karıştırılarak çözücüsü uzaklaştırıldı. Geriye kalan bakiye desikatörde kurutuldu. Bu şekilde hazırlanan ekstre-adsorban karışımı daha önceden silika jel yüklenerek hazırlanan sütuna ilave edildi. XXIII No'lu çözücü sistemiyle gündüz dakikada 120 damla, gece ise 15-20 damla akış hızında oda sıcaklığında, her fraksiyon 500 ml olacak şekilde elüsyon gerçekleştirildi. Alkaloit lekelerinin İ.T.K.'da görülen nitelik ve miktarlarına göre elüsyon çözeltisinin polaritesi belirli oranlarda metanol eklenerek (% 2, % 5, % 7.5, %10, % 15, % 20, % 30 + % 1 NH₄ OH) kademeli olarak artırıldı. Elde edilen her fraksiyon üzerinde uygun çözücü sistemleriyle İ.T.K yapıldı. Kromatogramlar önce UV lambası altında 254 ve 366 nm dalga boyundaki UV ışık altında incelendi. Ayrıca Dragendorff alkaloit belirteci püskürtülerek alkaloidal özellikli bileşiklerin saptanmasına çalışıldı. Aynı R_f değerinde lekelerle sahip olan ve alkaloit içerikleri bakımından yakın özellik gösteren fraksiyonlar birleştirildi, alçak basınç altında çözücüsünden kurtarıldı, sabit ağırlığa gelinceye kadar desikatörde bekletildi ve tartıldı. Bu şekilde elde edilen ana fraksiyonlara verilen kodlar, elüsyon için kullanılan çözücü sistemleri ve ana fraksiyonların ağırlıkları Tablo 11'de gösterilmiştir.

4. 3. 3. Total Alkaloit Ekstresinin Ana Fraksiyonları Üzerinde İ. T. K. Yöntemiyle Asetilkolinestراز İnhibitör Aktivite Tayini

Bu yöntemde, bitkiden elde edilen ana fraksiyonlar 10 mg/ml konsantrasyonda, standart olarak kullanılacak olan galantamin ise 1.5 mg/ml konsantrasyonda olacak şekilde kloroform-metanol (8:2) çözücü karışımı içerisinde çözüldü. Fraksiyonlara ait örnek çözeltileri, önceden yapılan denemeler sonucu en uygun miktar olarak saptanan 5 µl hacminde, standart çözeltisi ise 2.5 µl hacminde olmak üzere, silika jel 60 F₂₅₄ (0.2 mm, Alüminyum tabaka, Merck) plak üzerine, Hamilton enjektör yardımıyla tatbik edildi. Plaklar kloroform-metanol (8:2) çözücü sisteminde develop

Fr. No	Ana Fr. Kodu	Çözücü Sistemi	Miktar (g)
1-3	G ₁	XXIII	0.0465
4-5	G ₂	XXIII	0.1348
6	G ₃	XXIII	0.4591
7-8	G ₄	XXIII	0.3064
9	G ₅	XXIII	0.0985
10	G ₆	XXIII	0.1119
11-15	G ₇	XXIII	0.3726
16-17	G ₈	XXIII	0.2108
18-21	G ₉	XXIII	0.5097
22-24	G ₁₀	XXIII	0.2526
25-27	G ₁₁	XXIII	0.1411
28-36	G ₁₂	XXIII-XXIV	0.2595
37-46	G ₁₃	XXIV	0.9937
47-50	G ₁₄	XXIV-XXV	0.2101
51	G ₁₅	XXV	0.1462
52-58	G ₁₆	XXV	2.5135
59-67	G ₁₇	XXV-XXVI	0.6613
68-69	G ₁₈	XXVI	0.2540
70-76	G ₁₉	XXVI-XXVII	1.0645
77-79	G ₂₀	XXVII	0.1158
80-86	G ₂₁	XXVII-XXVIII	0.5384
87-88	G ₂₂	XXVIII	0.1786
89-95	G ₂₃	XXVIII-IV	0.2294
96-100	G ₂₄	IV	0.0982
101-108	G ₂₅	IV-XXIX	0.1117
109	G ₂₆	XXIX	0.0475
110	G ₂₇	XXIX	0.1632
111	G ₂₈	XXIX	0.1249
112-114	G ₂₉	XXIX	0.3898
115	G ₃₀	XXIX	0.1022
116	G ₃₁	XXIX	0.0393
117-118	G ₃₂	XXIX	0.0973

Tablo 11. Total Alkaloit Ekstresinin Ana Fraksiyonları Hakkında Deneysel Veriler

edildi. Daha sonra Tampon A içinde hazırlanan 1 mM DTNB ve 1 mM ATCI (DTNB: 5,5'-ditiyobis[2-nitrobenzoik asit], ATCI: Asetiltiyokolin iyodür, Tampon A: 50 mM Tris-HCl, pH 8) karışım çözeltisi plağa püskürtüldü. 3-5 dk beklenerek plağın kuruması sağlandı. Ardından plağa 3 ünite/ml olacak şekilde Tampon A içerisinde hazırlanan enzim çözeltisi (AChE Type VI-S: from Electric Eel)

püskürtüldü. Enzim çözeltisinin püskürtülmesiyle sarı renkli zemin üzerinde bir süre sonra inhibisyonun varlığını gösteren beyaz renkli bölgeler oluştu. Bu aşamadan sonra maksimum 20 dk içinde plakların fotoğrafları çekildi (Resim 59, 60).

4. 3. 4. Biyolojik Olarak Aktif Olan Fraksiyonların Çalışılması

4. 3. 4. 1. G₂ Kodlu Ana Fraksiyon Üzerinde Çalışmalar

Alkaloit yapıda bileşik içerdiği Dragendorff belirteciyle tespit edilen bu ana fraksiyon preparatif ince tabaka kromatografisine tabi tutuldu. Bu amaçla 20x20 boyutlarında, 0.5 mm kalınlığında silika gel 60 F₂₅₄ (Merck) hazır kromatografi plakları kullanıldı. Plaklar I No'lu çözücü sisteminde bir kez developpe edildi. UV ışık altında incelenerek ve daha sonra plağın kenarına çok ince bir kısmına Dragendorff belirteci püskürtülerek yeri saptanan, 0.31 R_f değerine sahip bant plaktan kazınarak kloroform-metanol (8:2) çözücü karışımıyla elüe edildi. Çözücü alçak basınç altında distillendi. Ele geçen bakiyede bulunan bileşik kendiliğinden kristallendi. 2 mg ağırlığındaki kristal yapıdaki bileşiğin İ.T.K. ile kontrol edilerek saf olduğu saptandı. Böylece sarı renkli kristal haldeki bu bileşiğe GR-1 kodu verildi.

4. 3. 4. 2. G₉ Kodlu Ana Fraksiyon Üzerinde Çalışmalar

Total alkaloit ekstresinin fraksiyonlandırılması sırasında G₉ ana fraksiyonun çözücüsünün uzaklaştırılması sonucunda, krem renkli kristal yapıda bir bileşik elde edilmiştir. İ.T.K. ile saf olduğu tespit edilen 33.8 mg ağırlığındaki ve Dragendorff belirteciyle olumlu sonuç vermeyen bu maddeye GR-2 kodu verilmiştir.

4. 3. 4. 3. G_{8,9} Kodlu Ana Fraksiyon Üzerinde Çalışmalar

G₉ kodlu ana fraksiyondan GR-2 kodlu madde elde edildikten sonra G₈ ve G₉ kodlu ana fraksiyonların uygun çözücü sistemleri kullanılarak elde edilmiş İ.T.K. plakları UV ışık altında incelenerek ve Dragendorff alkaloit belirteci püskürtülerek alkaloidal lekeler saptandı. Böylece söz konusu fraksiyonların benzer özellikler

göstermesi ve biyolojik olarak aktif olması nedeniyle daha ileri saflaştırma işlemleri için birleştirilmelerine karar verildi. Bu şekilde G₈ ve G₉ ana sütun fraksiyonlarının birleştirilmesiyle oluşturulan 0.593 g ağırlığındaki G₈₋₉ kodlu fraksiyon, vakum uygulamak suretiyle preparatif sütun kromatografisine tabi tutuldu. Çözücü sistemi olarak çeşitli denemeler sonucunda en uygun çözücü sistemi olduğuna karar verilen II No'lu çözücü sistemi kullanıldı. 40 g silika jel H (Type 60) (5-40 µm) (Merck) söz konusu çözücü karışımıyla (170 ml) süspansiyon haline getirilip 3.5 cm çapında, vakum uygulanabilen cam kromatografi sütununa dolduruldu.

G₈₋₉ kodlu fraksiyon, bir miktar kloroform:metanol (8:2) çözücü karışımında çözüldürüldü. Daha sonra 1.53 g silika jel 60 (70-230 Mesh) adsorbana ekstre-çözücü karışımı ilave edildi. Oda sıcaklığında ara sıra karıştırılarak çözücüsünden kurtarıldı ve sabit ağırlığa gelinceye kadar desikatörde bekletildi. Bu şekilde hazırlanan ekstre-adsorban karışımı sütuna eklenerek II No'lu çözücü sistemiyle elüsyona başlandı. 800-900 mbar vakum altında, dakikada 40-50 damla olacak şekilde homojen bir akış hızı sağlanıp, 30 ml'lik fraksiyonlar elde edilecek şekilde elüsyon yapıldı. İ.T.K. sonuçlarına dayanarak elüsyona 17. fraksiyondan itibaren III No'lu çözücü sistemiyle, 25. fraksiyondan itibaren ise IV No'lu çözücü sistemiyle devam edilerek toplam 30 adet fraksiyon alındı. Çeşitli çözücü sistemleri kullanılarak karşılaştırmalı olarak yapılan İ.T.K. kontrolleri sonucunda elde edilen kromatogramlar, UV ışık altında incelenerek ve Dragendorff alkaloid belirteciyle kontrol edilerek benzer fraksiyonlar birleştirildi. Çözücü alçak basınç altında kuruluğa kadar distillendi. Elde edilen ara fraksiyonlar desikatörde bekletilerek sabit ağırlığa getirildikten sonra tartıldı.

Ana bileşen olarak alkaloid yapısında bir madde içerdiği saptanan 0.3586 g ağırlığındaki 4-7 No'lu ara fraksiyonun İ.T.K. ile kontrolü sonucu çeşitli kirlilikler

içerdiği görüldüğü için bu ara fraksiyonun tekrar preparatif sütun kromatografisine tabi tutulmasına karar verildi. Bu amaçla 35 g silika jel H (Type 60) (5-40 µm) (Merck) V No'lu çözücü karışımıyla (160 ml) süspansiyon haline getirilip 3.5 cm çapında, vakum uygulanabilen cam kromatografi sütununa dolduruldu. Söz konusu ara fraksiyon kloroform-metanol (8:2) çözücü karışımıyla çözündürülüp, 1 g silika jel 60 (70-230 Mesh) adsorbana ilave edildi. Ekstre adsorban karışımı önce oda sıcaklığında ara sıra karıştırmak suretiyle çözücüsü uzaklaştırıldıktan sonra, desikatörde sabit vızne ulaşınca kadar bekletildi. Karışım vakum uygulanabilecek şekilde tasarlanmış cam kromatografi sütununa eklendi. V No'lu çözücü sistemiyle elüsyona başlandı. 800-900 mbar vakum altında, dakikada 40-50 damla olacak şekilde akış sağlanarak 25 ml'lik fraksiyonlar toplandı. Yapılan İ.T.K. sonuçlarına göre 12. fraksiyondan sonra çözücü sisteminin polaritesi bir miktar artırılarak VI No'lu çözücü sistemiyle elüsyona devam edildi. Toplam yirmi bir fraksiyon alınarak elüsyon tamamlandı. Çeşitli İ.T.K denemeleri yapılarak elde edilen kromatogramlar UV ışık altında incelendi ve Dragendorff alkaloit belirteciyle kontrol edildi. Benzer özellik gösteren fraksiyonlar birleştirildi. Çözücü alçak basınç altında distillendi. Elde edilen ara fraksiyonlar desikatörde bekletilerek sabit ağırlığa getirildikten sonra tartıldı. Alkaloit içerdiği saptanan 5-8 No'lu ara fraksiyon, muhtelif kirliliklerinden kurtarılmak üzere tekrar preparatif sütun kromatografisine tabi tutulmasına karar verildi. Bu amaçla 35 g silika jel H (Type 60) (5-40 µm) (Merck) VII No'lu çözücü karışımıyla (160 ml) süspansiyon haline getirilip 3.5 cm çapında, vakum uygulanabilen cam kromatografi sütununa dolduruldu. 1 g silika jel 60 (70-230 Mesh) tartıldı. Kloroform:metanol (8:2) çözücü karışımıyla çözündürülmüş 0.2444 g ağırlığındaki fraksiyon adsorbana ilave edildi. Ara sıra karıştırılarak oda sıcaklığında bir süre bekletildi, ardından desikatörde sabit vızne ulaşınca kadar bekletildi.

Hazırlanan bu karışım önceden adsorbanla hazırlanmış sütuna eklendi ve VII No'lu çözücü sistemiyle elüsyona başlandı. Fraksiyonlar 20'şer ml alındı. 16. fraksiyondan sonra VIII. çözücü sistemiyle elüsyona devam edildi. Toplam yirmi bir fraksiyon alındı. İ.T.K denemeleri sonucunda elde edilen kromatogramlar UV ışık altında incelendi ve Dragendorff alkaloit belirteciyle kontrol edildi. Fraksiyonlardan benzer olanları birleştirildi. Çözücü alçak basınç altında distillendi. Elde edilen ara fraksiyonlar desikatörde sabit ağırlığa gelene kadar bekletildikten sonra tartıldı. Alkaloit içerdiği saptanan 188.4 mg ağırlığındaki 8-9 No'lu ara fraksiyon muhtelif kirliliklerinden kurtarılmak üzere 20x20 boyutunda, 0.5 mm kalınlığında silika gel 60 F₂₅₄ (Merck) yedi tane hazır kromatografi plaklarına uygulandı. Plaklar IX No'lu çözücü sisteminde bir kez develope edildi. UV ışık altında incelenerek ve daha sonra plağın kenarına çok ince bir kısmına Dragendorff belirteci püskürtülerek yeri saptanan, 0.45 R_f değerine sahip bant kazındı. Kloroform-metanol (8:2) çözücü karışımıyla elüe edildi. İ.T.K. kontrolleriyle saf olduğu saptanan ve amorf halde edilen 36 mg ağırlığındaki bu bileşiğe GR-3 kodu verildi.

4. 3. 4. 4. G₁₃ Kodlu Ana Fraksiyon Üzerinde Çalışmalar

Dragendorff belirteciyle alkaloit yapıda bileşik içerdiği tespit edilen, biyolojik olarak aktif G₁₃ kodlu ana fraksiyon, muhtelif kirliliklerinden temizlemek ve mevcut alkaloidini izole etmek amacıyla öncelikle preparatif sütun kromatografisine tabi tutuldu. 40 g silika jel H (Type 60) (5-40 µm) (Merck) X No'lu çözücü karışımıyla (180 ml) süspansiyon haline getirilip 3.5 cm çapında, vakum uygulanabilen cam kromatografi sütununa dolduruldu. Kloroform-metanol (8:2) çözücü karışımında çözüldürülmüş 0.9940 g ağırlığındaki fraksiyon 3 g silika jel 60 (70-230 Mesh) adsorbana emdirildi. Ekstre-adsorban karışımı oda sıcaklığında ara sıra karıştırılarak çözücüsünden kurtarıldı, ardından desikatörde bekletilerek sabit ağırlığa gelmesi

sağlandı ve sütuna ilave edildi. X No'lu çözücü sistemiyle elüsyona başlandı. 800-900 mbar vakum altında, dakikada 40-50 damla olacak şekilde elüsyon yapıldı. 20 ml'lik fraksiyonlar alındı. İ.T.K. kontrollerinden elde edilen sonuçlara göre 29. fraksiyondan sonra XI, 34. fraksiyondan sonra XII, 41. fraksiyondan sonra XIII, 47. fraksiyondan sonra ise IV No'lu çözücü sistemiyle elüsyona devam edildi. Toplam elli altı fraksiyon alınarak elüsyona son verildi. Alkaloit içerdiği saptanan fraksiyonlardan 11-12 No'lu ara fraksiyondan kristallendirme yöntemiyle açık kahverengi renkte 5.6 mg ağırlığında elde edilen bileşiğe GR-4 kodu verildi.

G₁₃ kodlu ana fraksiyonun preparatif sütun kromatografisi yöntemiyle fraksiyonlandırılması sonucunda elde edilen ve alkaloit içerdiği saptanan 17-18 ara fraksiyon (48.8 mg) mevcut kirliliklerinden temizlemek ve alkaloidi izole etmek amacıyla 20x20 boyutlarında, 0.5 mm kalınlığında iki adet silika gel 60 F₂₅₄ (Merck) hazır kromatografi plağına uygulandı. Plaklar XIV No'lu çözücü sisteminde iki kez developpe edildi. UV ışık altında incelenerek ve plağın kenarına çok ince bir kısmına Dragendorff alkaloit belirteci püskürtülerek yeri saptanan, 0.53 R_f değerine sahip bant plaktan kazındı. Kloroform-metanol (8:2) çözücü karışımıyla elüe edildi. Elde edilen amorf madde desikatörde bekletilip sabit ağırlığa gelmesinin ardından tartıldı. 6.2 mg ağırlığındaki bu bileşiğe GR-5 kodu verildi.

4. 3. 4. 5. G₁₆ Kodlu Ana Fraksiyon Üzerinde Çalışmalar

Total alkaloit ekstresinin sütun kromatografisiyle fraksiyonlandırılması sırasında ve G₁₆ kodlu ana fraksiyonun çözücüsünün distillenmesi esnasında kirli beyaz renkli bir çökelti oluştu. Biyolojik olarak aktif olduğu saptanan fraksiyondan elde edilen ve daha sonra uygun çözücülerle muhtelif kirliliklerinden temizlenen bileşiğin saflığı İ.T.K. ile kontrol edildi ve 1.517 g ağırlığındaki bu bileşiğe GR-6 kodu verildi.

4. 3. 4. 6. G₁₇ Kodlu Ana Fraksiyon Üzerinde Çalışmalar

Asetilkolinesteraz inhibitör aktivite gösterdiği İ.T.K. yöntemiyle saptanan ve alkaloit yapıda bileşikler içerdiği Dragendorff belirteciyle tespit edilen G₁₇ kodlu ana fraksiyona preparatif sütun kromatografisi yapılmasına karar verildi. 31 g silika jel H (Type 60) (5-40 µm) (Merck) XV No'lu çözücü karışımıyla (170 ml) süspansiyon haline getirilip 3.5 cm çapında, vakum uygulanabilen cam kromatografi sütununa dolduruldu. Kloroform-metanol (8:2) çözücü karışımının mümkün olan en az miktarında çözüldürülmüş 0.6613 g miktarındaki fraksiyon, 2.01 g silika jel 60 (70-230 Mesh) adsorbana emdirildi. Oda sıcaklığında ara sıra karıştırılarak çözücüsü bertaraf edilip, ardından desikatörde sabit vezne gelinceye kadar bekletildi ve sütuna yüklendi. 800-900 mbar vakum altında, dakikada 40-50 damla olacak şekilde akış sağlanarak XV No'lu çözücü sistemiyle elüsyona başlandı. 25'er ml olacak şekilde alınan fraksiyonlar üzerinde yapılan çeşitli İ.T.K. denemeleri sonucunda elüsyona 21. fraksiyondan sonra XVI No'lu çözücü sistemiyle, 32. fraksiyondan sonra ise IV No'lu çözücü sistemiyle devam edildi. Toplam otuz sekiz adet fraksiyon alındı. Alınan fraksiyonlar üzerinde İ.T.K. ile çeşitli denemeler yapılarak benzer fraksiyonlar birleştirildi. Dragendorff belirteci püskürtülerek alkaloit içeren fraksiyonlar tespit edildi. Çözücü alçak basınç altında distillendi. Elde edilen ara fraksiyonlar desikatörde sabit ağırlığa gelene kadar bekletildikten sonra tartıldı. İki farklı alkaloit içerdiği Dragendorff belirteciyle tespit edilen 5-7 No'lu ara fraksiyon (47.95 mg) söz konusu alkaloitleri ayırmak amacıyla preparatif İ.T.K. kromatografisine tabi tutuldu. 20x20 boyutlarında, 0.5 mm kalınlığında iki adet silika gel 60 F₂₅₄ (Merck) hazır kromatografi plağı kullanıldı. Plaklar XVII No'lu çözücü sistemiyle bir kez developpe edildi. 0.68 ve 0.55 R_f değerlerine sahip iki bant plaktan kazınarak alındı. 0.55 R_f değerindeki bandın kromatografik olarak standartla kontrol

edilmesi sonucu GR-6 kodlu bileşik ile identik olduğu anlaşıldı. 0.68 R_f değerine sahip olan bandın ise kloroform-metanol (8:2) çözücü sistemiyle elüe edilmesiyle 8.5 mg ağırlığında elde edilen amorf bileşiğe GR-7 kodu verildi.

4. 3. 4. 7. G₁₉ Kodlu Ana Fraksiyon Üzerinde Çalışmalar

Alkaloit yapıda bileşik içerdiği Dragendorff belirteciyle tespit edilen ve biyolojik olarak aktif olduğu İ.T.K. yöntemiyle saptanan G₁₉ kodlu ana fraksiyon preparatif sütun kromatografisine tabi tutuldu. 38.87 g silika jel H (Type 60) (5-40 µm) (Merck) ön denemeler sonucunda en uygun çözücü sistemi olduğuna karar verilen XVIII No'lu çözücü karışımıyla (175 ml) süspansiyon haline getirilip 3.5 cm çapında, vakum uygulanabilen cam kromatografi sütununa dolduruldu. Kloroform-metanol (8:2) çözücü karışımında çözüldürülmüş 1.0645 g ağırlığındaki fraksiyon, 2.92 g silika jel 60 (70-230 Mesh) üzerine adsorbe edildi. Oda sıcaklığında ara sıra karıştırılarak çözücüsü uzaklaştırıldı. Ardından desikatörde bekletilerek sabit vezne gelmesi sağlandı ve sütuna yüklendi. 800-900 mbar vakum altında, dakikada 40-50 damla akış hızında olacak şekilde XVIII No'lu çözücü sistemiyle elüsyona başlandı. 20 ml'lik fraksiyonlar alındı. Yapılan çeşitli İ.T.K. denemeleri sonucunda 47. fraksiyondan sonra XIX No'lu, 54. fraksiyondan sonra XX No'lu ve 58. fraksiyondan sonra IV No'lu çözücü sistemleriyle elüsyon yapıldı. Toplam altmış bir fraksiyon elde edildi. İ.T.K denemeleri neticesinde alkaloit içerdiği saptanan 8-9 No'lu ara fraksiyon metanolla kristalizasyona tabi tutuldu. 11.6 mg ağırlığında parlak beyaz renkli kristal halde edilen bileşiğe GR-8 kodu verildi.

Benzer şekilde İ.T.K denemeleri sonucunda alkaloit içerdiği saptanan 18-19 No'lu ara fraksiyon asetonla kristallendirilerek elde edilen, 100 mg ağırlığında beyaz renkli kristal bileşiğe ise GR-9 kodu verildi.

4. 3. 4. 8. G₂₁ Kodlu Ana Fraksiyon Üzerinde Çalışmalar

Asetilkolinesteraz inhibitör aktivite gösterdiği İ.T.K. yöntemiyle tespit edilen ve alkaloit yapıda bileşikler içerdiği Dragendorff alkaloit belirteciyle saptanan G₂₁ No'lu ana fraksiyon, preparatif sütun kromatografisine tabi tutuldu. 34.09 g silika jel H (Type 60) (5-40 µm) (Merck) ön denemeler sonucu ayırımın en iyi olarak gerçekleştiği çözücü sistemi olarak saptanan XXI No'lu çözücü karışımıyla (173 ml) süspansiyon haline getirildi. 3.5 cm çapında, vakum uygulanabilen cam kromatografi sütununa dolduruldu. Kloroform-metanol (8:2) çözücü karışımının mümkün olan en az miktarında çözündürülmüş 0.5384 g ağırlığındaki fraksiyon, 2.395 g silika jel 60 (70-230 Mesh) üzerine adsorbe edildi. Oda sıcaklığında ara sıra karıştırılarak çözücüsü uzaklaştırılıp, ardından desikatörde bekletilip, sabit vızne gelmesi sağlandı ve sütuna dolduruldu. 800-900 mbar vakum altında, dakikada 40-50 damla olacak şekilde XXI No'lu çözücü sistemiyle elüsyona başlandı. 25'er ml olacak şekilde alınan fraksiyonlar üzerinde yapılan çeşitli İ.T.K. denemeleri sonuçlarına dayanarak elüsyona 26. fraksiyondan sonra XXII No'lu çözücü sistemiyle, 42. fraksiyondan sonra ise IV No'lu çözücü sistemiyle devam edildi. Toplam elli dört adet fraksiyon alındı. Fraksiyonlar üzerinde İ.T.K. ile çeşitli denemeler yapılarak benzer fraksiyonlar birleştirildi ve Dragendorff belirtecinden yararlanılarak alkaloit içeren fraksiyonlar tespit edildi.

Alkaloit içerdiği saptanan fraksiyonlardan 19-26 No'lu ara fraksiyondan metanolla kristallendirme suretiyle 12.5 mg ağırlığında GR-10 kodu verilen bileşik elde edildi. Benzer şekilde 29 No'lu ara fraksiyon metanole kristallendirildi. 7.9 mg ağırlığındaki kristal yapılu bileşiğe ise GR-11 kodu verildi.

4. 3. 5. Mikroplaka Deneyi ile Saf Maddelerin Asetilkolinesteraz İnhibitör Aktivitelerinin Tayini

Saf halde elde edilen bileşiklerin asetilkolinesteraz enzimini inhibe edici etkileri, Ellman yönteminden yararlanarak tayin edildi. Bileşiklerin metanol içinde 0.006-600 µg/ml konsantrasyon aralığında çözeltileri hazırlandı. Standart olarak ise galantaminin 0.003-300 µg/ml konsantrasyon aralığındaki çözeltileri kullanıldı. Standart ve örnek çözeltileri 96 kuyucuklu mikroplakaya uygulandı. Çözeltilerin absorbansları 405 nm dalga boyunda mikroplaka okuyucu yardımıyla ölçüldü. Sonuçta bileşiklerin IC₅₀ değerleri GraphPad Prism V3.0 (GraphPad Software, San Diego, CA) programı kullanılarak hesaplandı.

BÖLÜM III

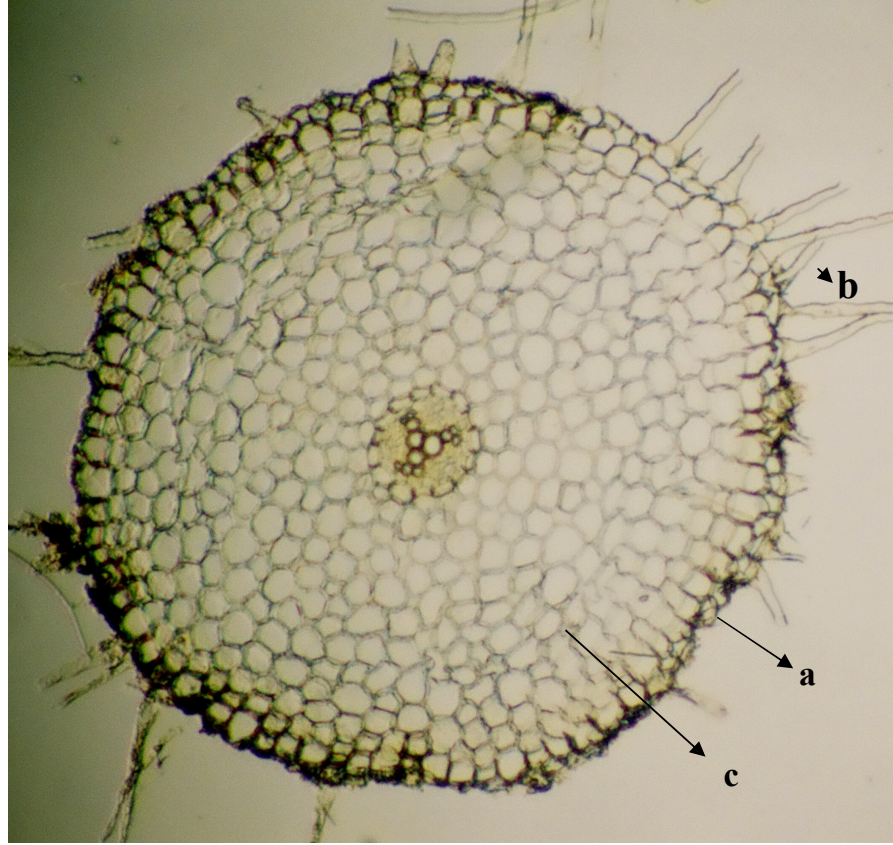
BULGULAR

1. BOTANİK ARAŞTIRMALARIN BULGULARI

1. 1. ANATOMİK BULGULAR

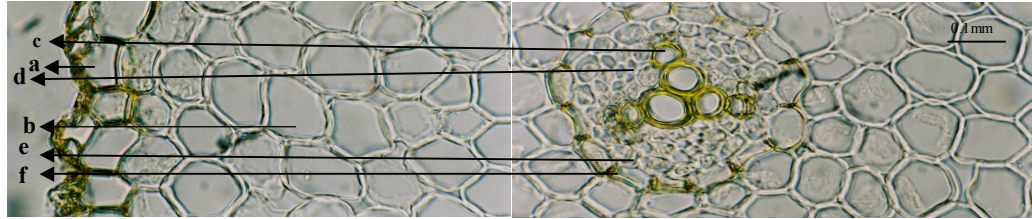
1. 1. 1. Köke ait İnceleme ve Bulgular

Kök enine kesitinde, üzerinde bol emici tüylerin bulunduğu epidermis ve epidermisin altındaki sırada yer alan kabuk parenkiması hücrelerinin çeperleri yer yer süberinleşerek ekzodermisi oluşturmaktadır. Kabuk parenkiması hücreleri ince çeperli ve poligonal şekillidir. Kabuk parenkimasının iç kısmında yer alan endodermis hücreleri de ince çeperli olup, kaspari şeridi belirgin bir şekilde görülmektedir. Endodermisin iç kısmında periskl hücreleri ve bunun iç kısmında floem, protoksilem ve metaksilemden oluşan triark iletim demetleri bulunmaktadır (Resim 4, 5).



Resim 4. Kök Enine Kesiti

a: epidermis b: emici tüy c: kabuk parenkiması



Resim 5. Kök Enine Kesiti

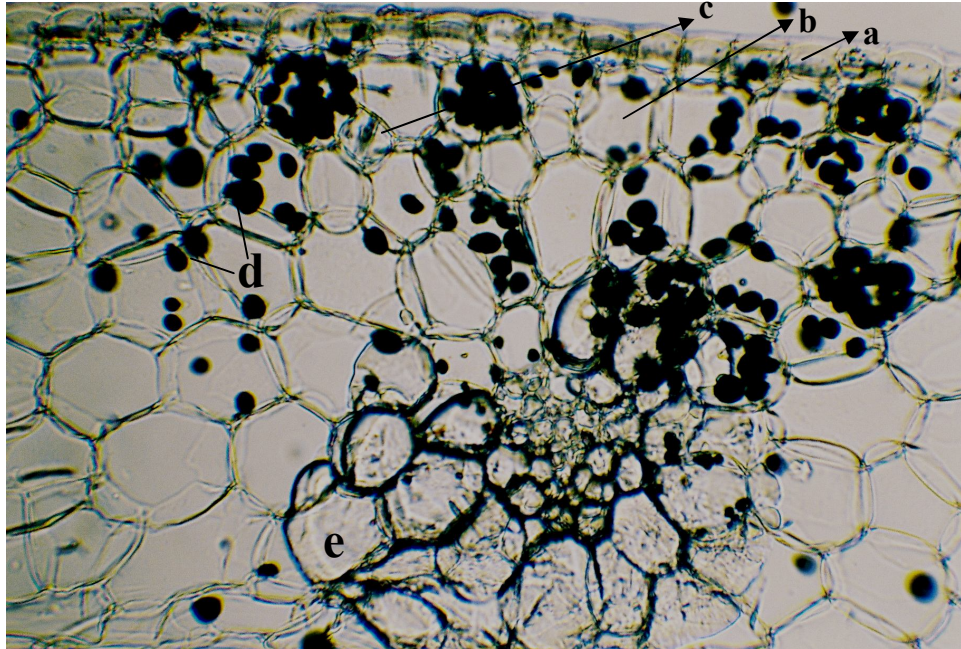
a: epidermis b: kabuk parenkiması c: ksilem d: floem e: periskl f: endodermis

1. 1. 2. Soğana ait İnceleme ve Bulgular

Soğan yaprak enine kesitleri üzerinde yapılan incelemelerde (Resim 6), epidermis hücrelerinin dorsal çeperi kalın, ventral çeperi biraz ince, lateral çeperinin ise daha ince olduğu görülmektedir. Dış ve iç epidermis hücreleri içerisinde oldukça

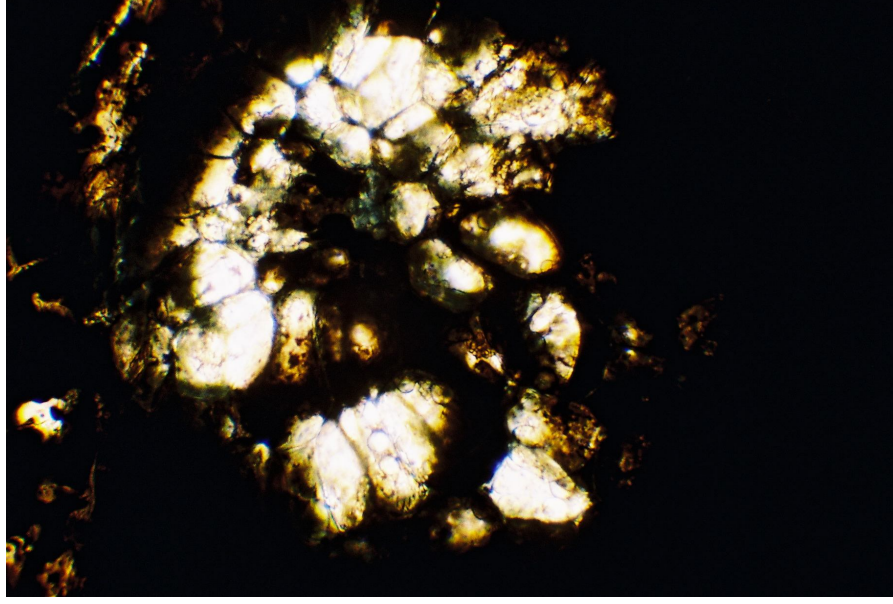
küçük, mor renkli, ne olduğunu tanımlayamadığımız yapılar bulunmaktadır. İki epidermis arasında sıkışık olarak bulunan mezofil hücrelerinin dış epidermisten, iç epidermise doğru çapları artarken, çeperlerinin incelmesi ve içlerinde çoğunlukla basit olmak üzere ikili, üçlü ve dörtlü bileşik nişastaların bulunduğu görülmektedir. Soğana ait dış, orta ve iç yapraktan alınan enine kesitler karşılaştırıldığında nişasta miktarı iç yapraklarda daha fazladır. Mezofil dokusu içinde yer alan bazı iletim demetlerinin çevresindeki hücrelerde ne olduğunu tanımlayamadığımız madde birikimleri bulunmaktadır (Resim 6, 7). İç epiderminin iç kısmındaki ince çeperli parenkimatik hücreler ezilmiş ve sıkışmış olarak görülmektedir.

Dış epiderminin iç kısmında, birinci ve ikinci sıradaki parenkima hücrelerinin arasında bulunan küçük hücrelerde ve iletim demetini çevreleyen bazı parenkimatik hücrelerde rafit kristalleri bulunmaktadır (Resim 9, 10).

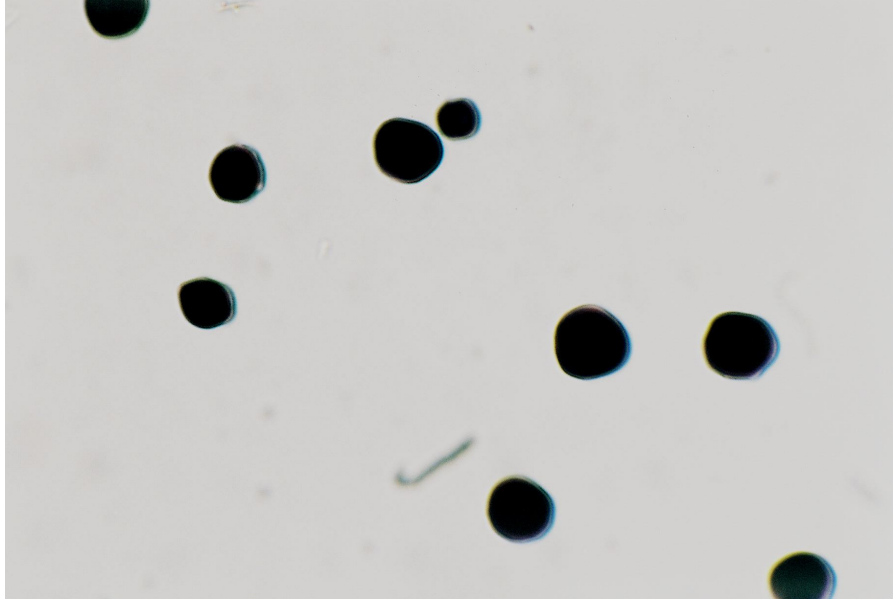


Resim 6. Soğan Dış Yaprakının Enine Kesiti

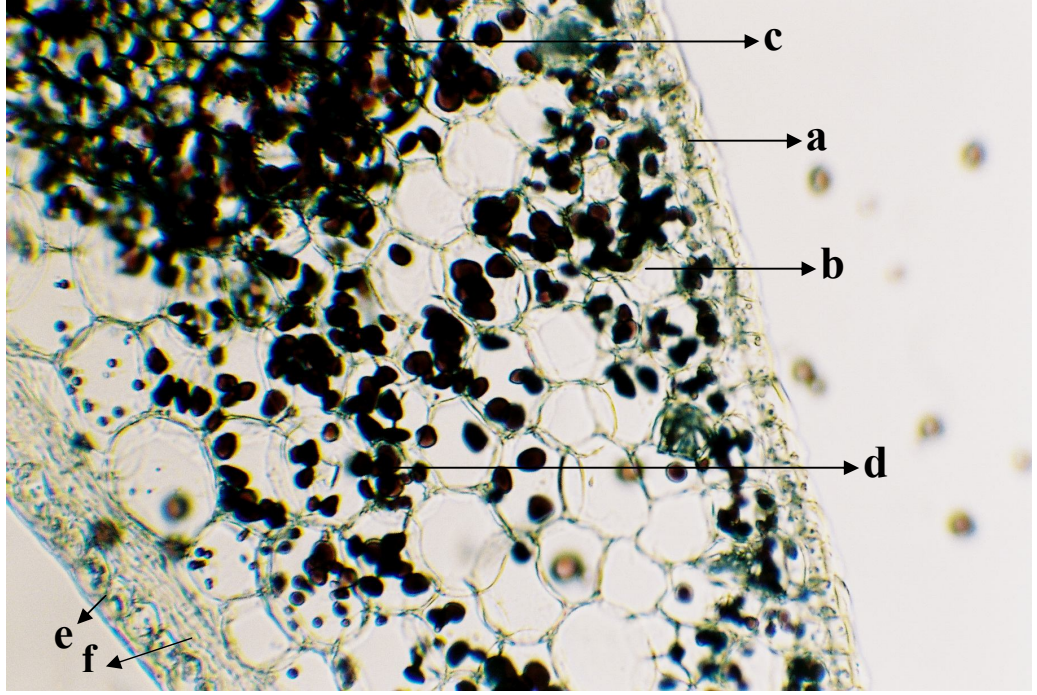
a: dış epidermis b: parenkima hücresi c: rafit içeren hücre d: nişastalar
e: madde birikimi



Resim 7. Çini Mürekkebinde Soğan Enine Kesitinde Madde Birikimi

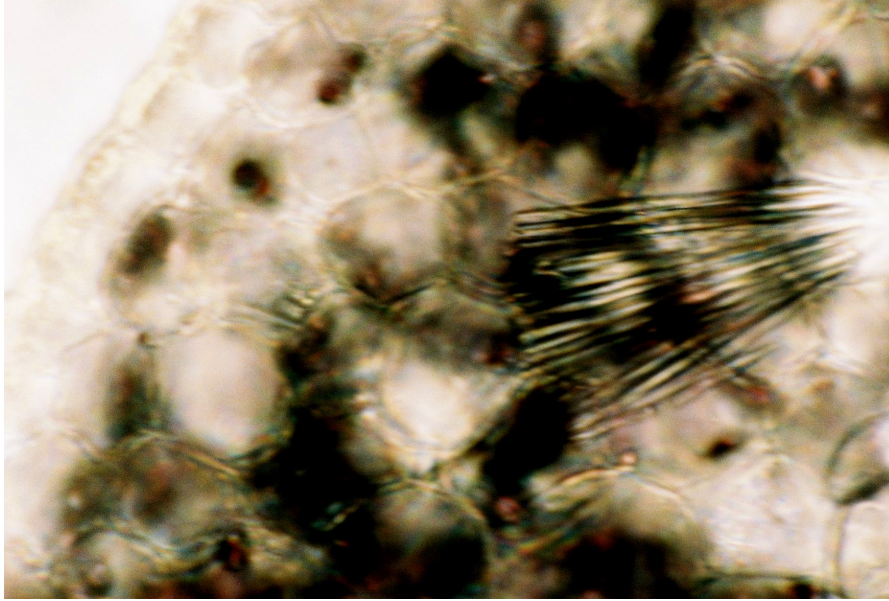


Resim 8. Soğan Dış Yapağında Nişastalar



Resim 9. Soğan Orta Yaprağının Enine Kesiti

- a: dış epidermis b: parenkima hücreleri c: iletim demeti d: nişastalar e: iç epidermis
f: sıkışmış parenkima hücreleri



Resim 10. Soğan İç Yaprağında Rafitler

1. 1. 3. Çiçek Durumu Sapına (Skapus) ait İnceleme ve Bulgular

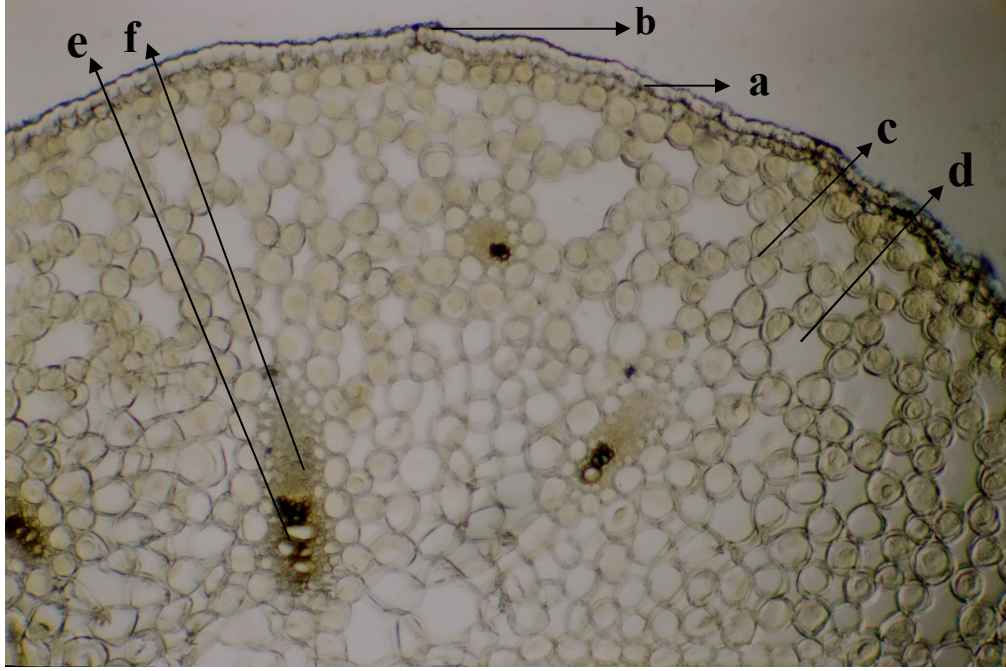
Çiçek durumu sapına ait karakteristik özellikleri belirlemek amacıyla dip, orta ve uç kısımlardan enine ve yüzeysel kesitler alınarak incelenmiştir. Enine kesitlere bakıldığında (Resim 11, 12) genel olarak skapusun tam yuvarlak değil, eliptik ve iki taraftan dış yüzeye doğru çıkıntı oluşturduğu görülmektedir (Resim 13). Bu çıkıntılar dip kısma doğru belirginleşerek artmaktadır. Çizgili kütikula ile örtülü epidermis hücreleri, ventral çeperlerinin içe doğru oluşturmuş olduğu kubbemsi-papilimsi yapılarla karakterizedir. Dorsal çeperler kalın olup, hücrelerin birbirine bakan yüzeylerinde ise incelmeye gözlenmektedir. Stomalar genellikle mezofitik veya çok hafif higrofitik özelliktedir. Epidermisin altındaki yuvarlak şekilli hücrelerin bol kloroplast içerdiği ve bu kloroplast miktarının merkeze doğru azaldığı gözlenmektedir. Epidermisin 1-2 sıra altındaki hücrelerden iletim demetlerine kadar olan bölgede intersellüler boşluklar fazlaşmıştır. İletim demetlerinin sayıları skapus kalınlığına göre değişebilmekle birlikte genellikle 8-11 adet gözlenmekte ve dağınık halde bulunmaktadır.

Skapusun orta ve dip kısımlarından alınan enine kesitlerde, uç kısımlara oranla intersellüler boşlukların fazlaştığı saptanmıştır. Epidermis hücrelerinin iç yüzeye doğru oluşturmuş olduğu kubbemsi-papilimsi çıkıntılar yine gözlenmekle birlikte, daha hafif bir şekilde olduğu izlenmiştir. Bu kısımlarda stomalar hafif higrofitik tiptedir.

Dip kısımlardan alınan enine kesitlerde, skapusun her iki yanında belirginleşen çıkıntının içinde 2-4 adet hücrenin çeperleri kalınlaşarak kollenkimayı oluşturduğu gözlenmiştir (Resim 13).

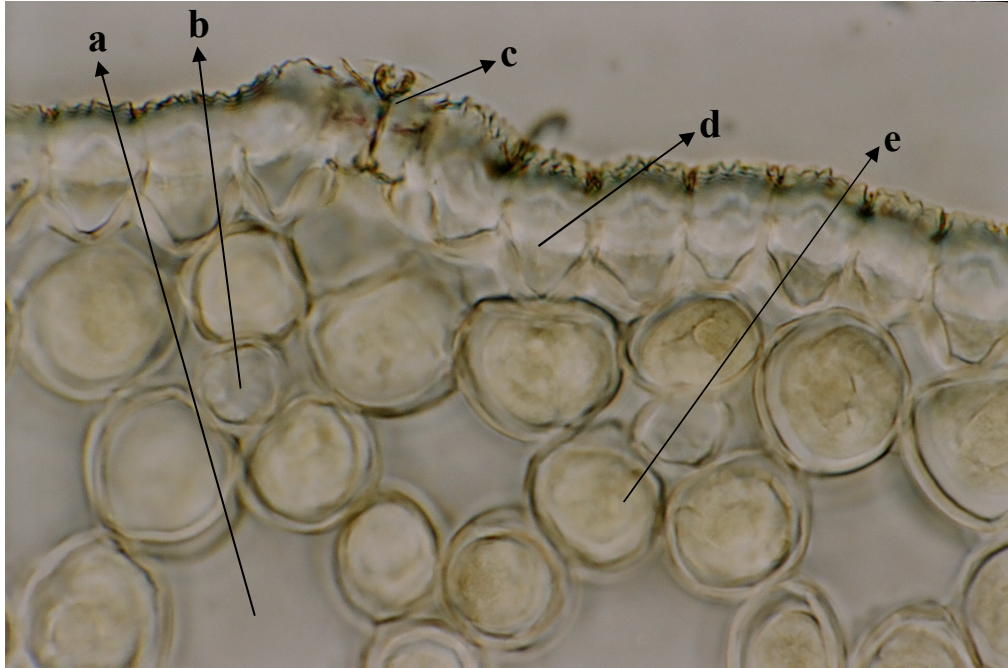
Skapustan alınan yüzeysel kesitler yaprakla karşılaştırıldığında daha az oranda stoma içerdiği belirlenmiştir (Resim 14). Kütikulası boyuna çizgicikli olan epidermis

hücrelerinin dikdörtgenimsi, uzun hücreler şeklinde ve dört komşu hücreye sahip stomaların kutuplarında hafif bir kalınlaşmanın bulunduğu gözlenmiştir.



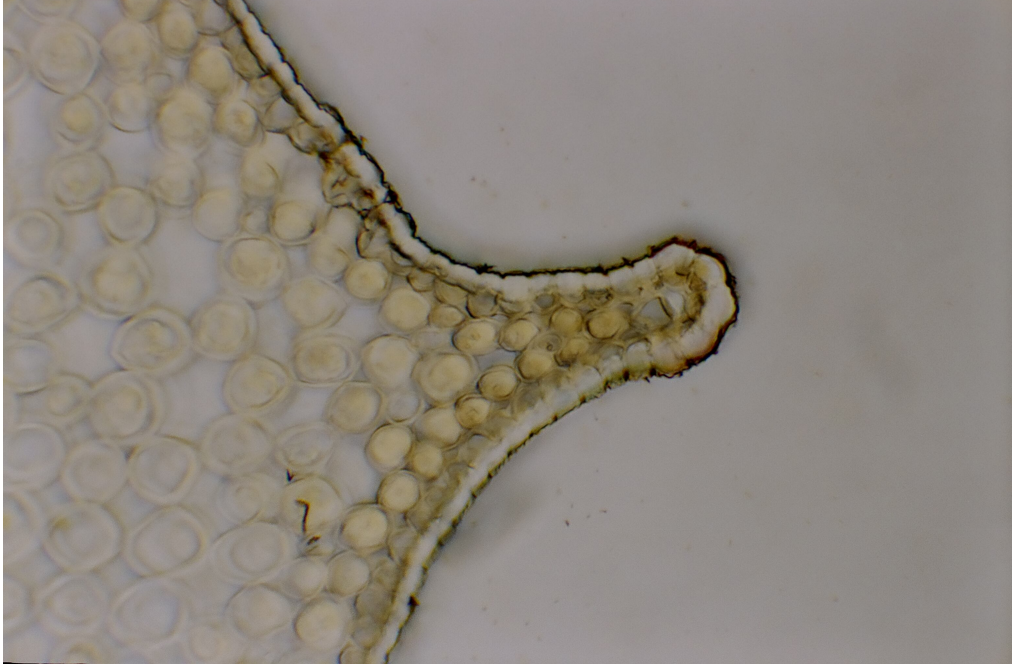
Resim 11. Çiçek Durumu Sapı Enine Kesiti Genel Görünüş

a: epidermis b: stoma c: mezofil hücreleri d: intersellüler boşluk e: ksilem f: floem

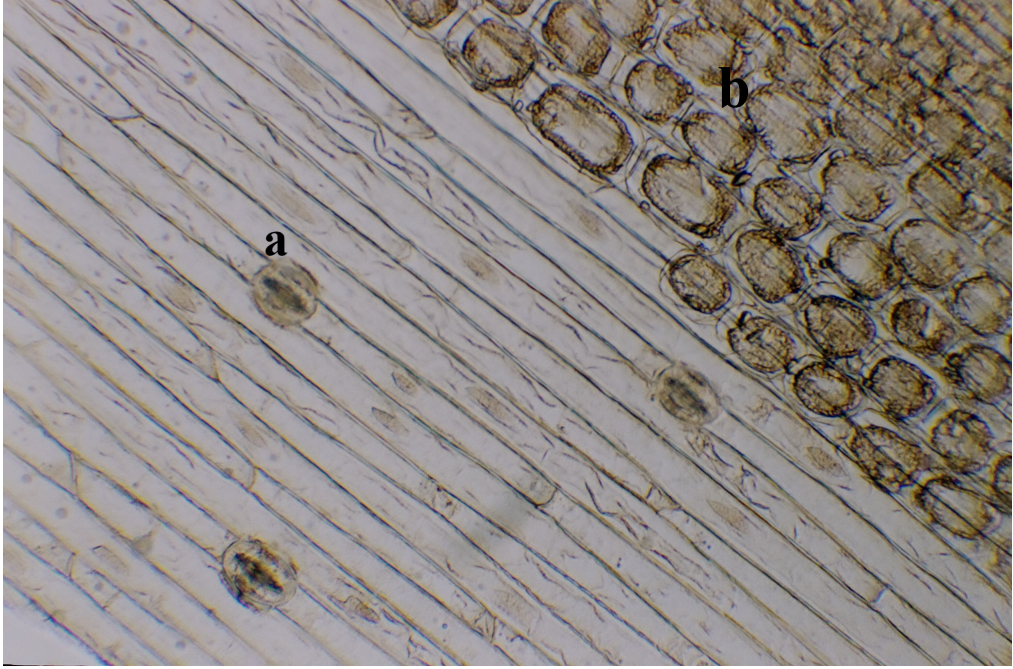


Resim 12. Çiçek Durumu Sapı Enine Kesiti

a: intersellüler boşluk b: rafit içeren hücre c: stoma d: epidermis e: mezofil hücresi



Resim 13. Çiçek Durumu Sapı Enine Kesitinde Karina

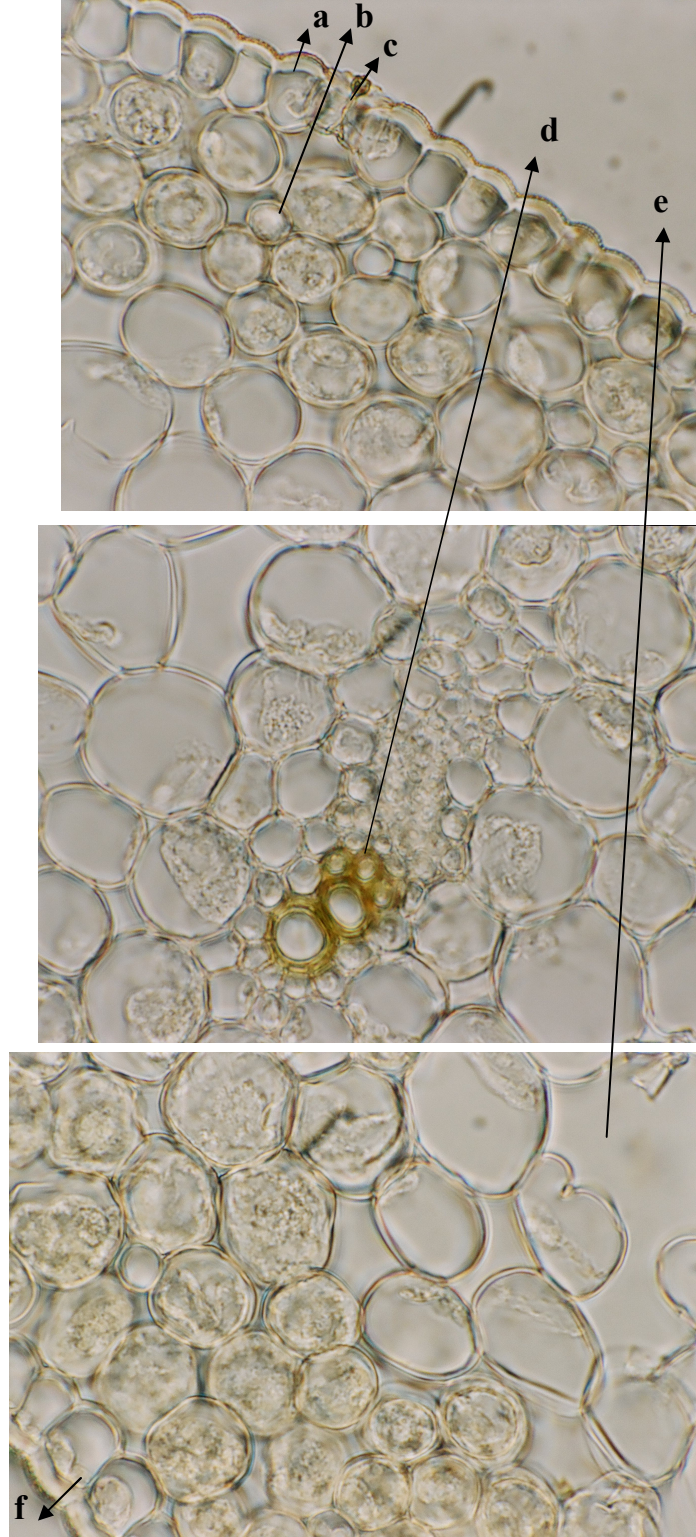


Resim 14. Çiçek Durumu Sapı Yüzeysel Kesiti
a: Stoma b: Kloroplast İçeren Hücreler

1. 1. 4. Yaprğa ait İnceleme ve Bulgular

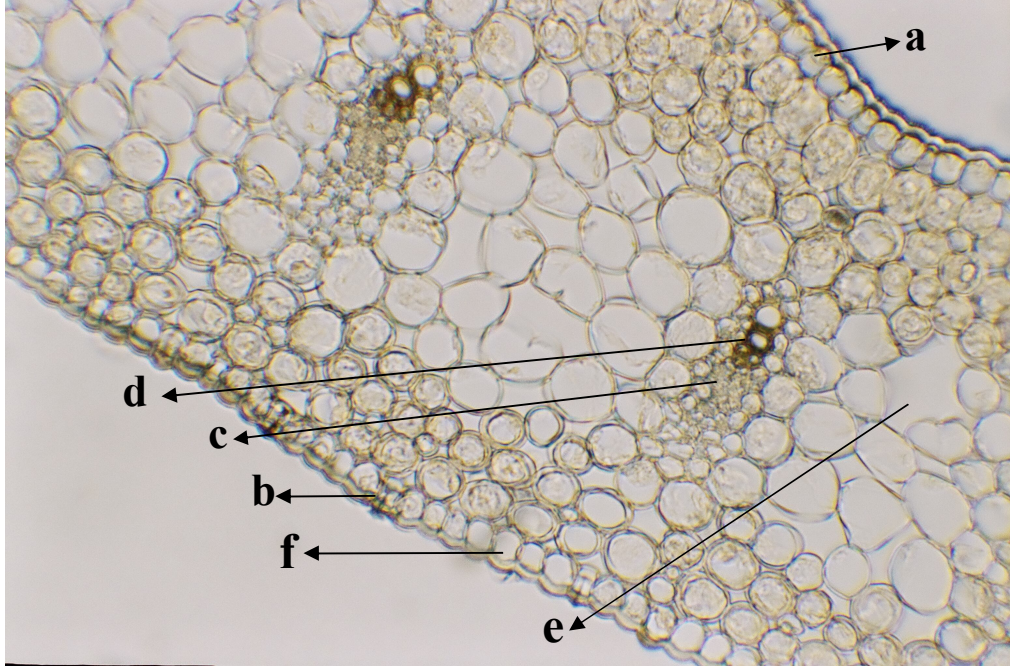
Yapraktan alınan enine kesitlerde (Resim 15, 16) karina belirgin ve karina epidermisinin iç kısmında 2-3 adet kollenkima hücresi bulunmaktadır. Yaprak yüzeysel kesitlerinde epidermis hücreleri hafif dalgalı çeperli, dikdörtgenimsi, uzundur. Anomositik tipteki stomaların ekseni yaprak boyuna paralel olup stomanın kutuplarında stoma çeperlerinin biraz daha kalın olduğu görölmektedir. Daha kalın alınan yüzeysel kesitlerde, bazı mezofil hücrelerinde rafit kristallerine rastlanmaktadır (Resim 17-19). Gerek üst ve gerekse alt epidermis hücreleri dikdörtgenimsi ve dış yüzeye doğru hafif kubbemsi olup, çizgili ince kütikulayla örtülmüştür. Epidermis hücrelerinin dış yüzeye bakan (dorsal) çeperlerinin, iç kısma bakan (ventral) çeperlere ve yan çeperlere (lateral) göre oldukça kalın olduğu göze çarpmaktadır. Epidermisteki stomalar mezofitiktir.

Amfistomatik yaprağın farklı kısımlarından alınan enine kesitlerde, dorsal çeperler uç kısımdan dip kısma doğru incelmektedir. Üst epidermisin iç kısmında tek sıra, sıkışık ve boyu eninden biraz uzun, alt epidermisin iç kısmında yine tek sıra, yuvarlak ve nispeten gevşek dizilişli palizat parenkiması, her iki palizat parenkimasının iç kısmında 2-3 sıra sünger parenkiması ve merkeze doğru büyüyen, hücreler arası boşlukları artan, ince çeperli sünger parenkiması hücreleri bulunmaktadır. İki iletim demeti arasında yer alan bazı hücreler parçalanarak hava kanalını oluşturmaktadır. Bu hava kanalının bulunduğu yerlerde epidermis dış yüzeye doğru kavis şeklinde çıkıntı ve iletim demetinin bulunduğu yerlerde girinti oluşturmaktadır. Palizat ve sünger parenkimaları arasındaki kloroplast içermeyen küçük hücrelerde ve iletim demetlerini çevreleyen bazı hücrelerde rafit kristalleri görölmektedir.



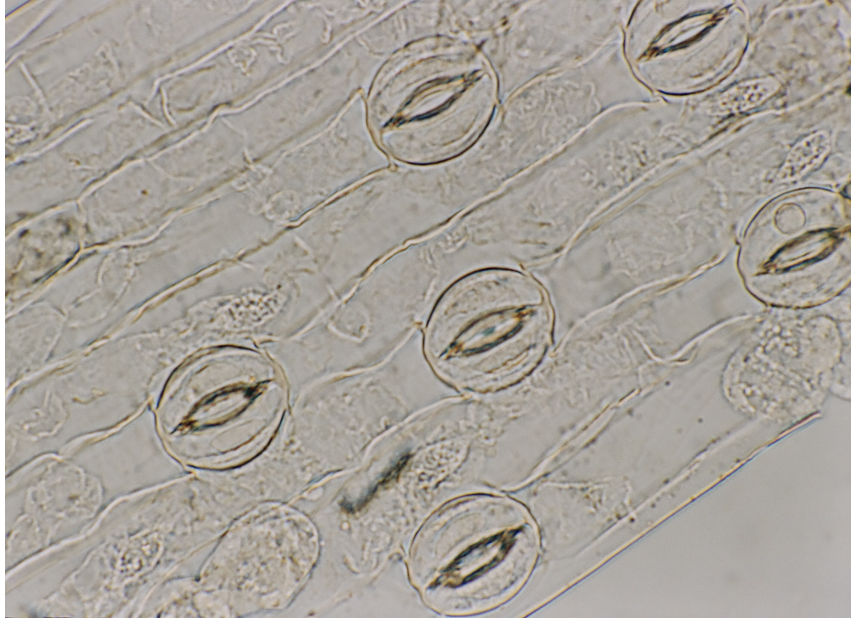
Resim 15. Yaprak Enine Kesiti

a: alt epidermis b: : rafit içeren hücre c: stoma d: iletim demetleri e: hava kanalı
f: üst epidermis



Resim 16. Yaprak Enine Kesiti

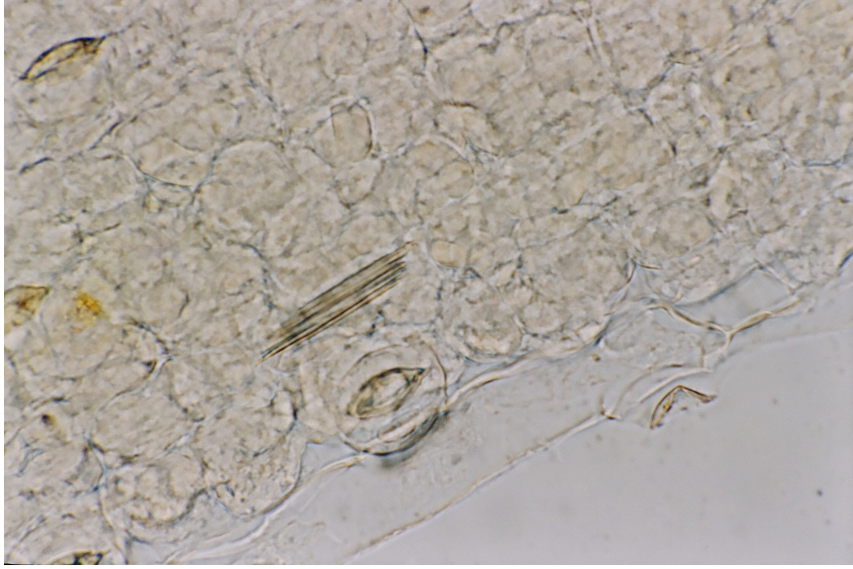
a: üst epidermis b: stoma c: floem d: ksilem e: hava kanalı f: alt epidermis



Resim 17. Alt Epidermis Yüzeysel Kesitindeki Stomalar



Resim 18. Üst Epidermis Yüzeysel Kesitindeki Stomalar



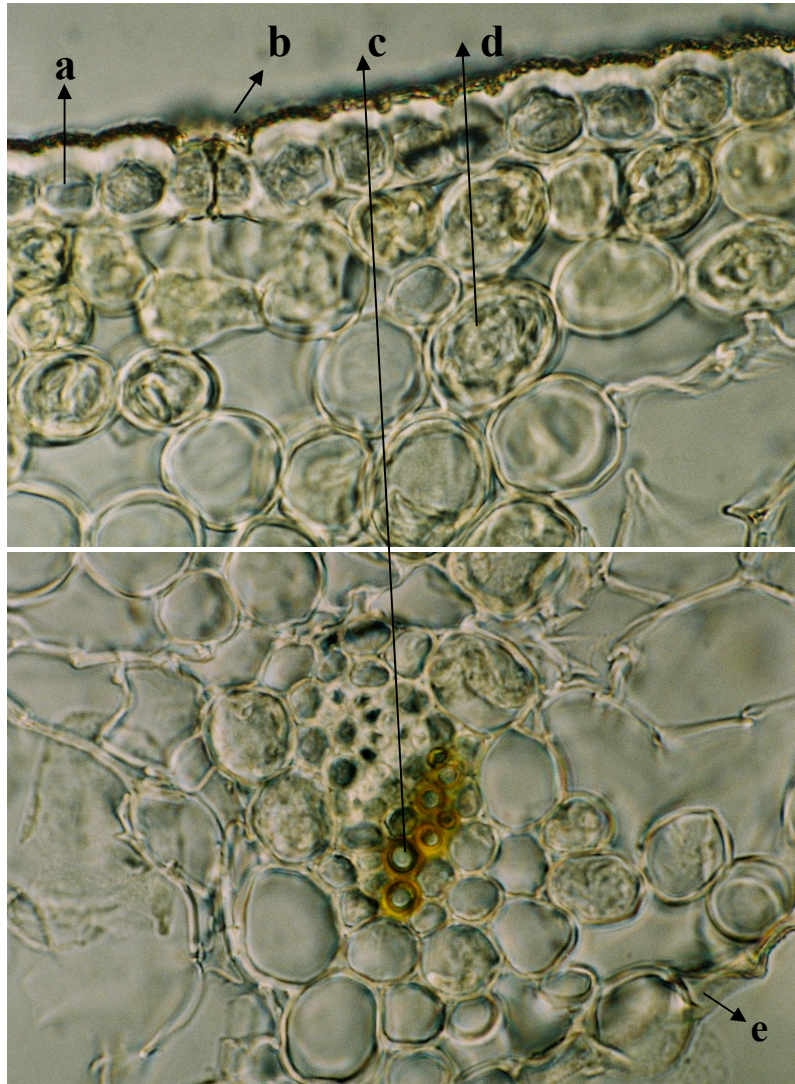
Resim 19. Yaprak Yüzeysel Kesitinde Rafit Demeti

1. 1. 5. Spataya ait İnceleme ve Bulgular

Genel olarak yaprak anatomik yapısına benzer özellik gösteren spatanın stomaları hafif kserofitik olup, dış epidermis çizgili kütikula ile kaplıdır. Dış epidermisin iç kısmında 1. sıra palizat ve 2-3 sıra sünger parenkiması ve iç epidermisin iç kısmında çeperleri ince, bazı yerlerde büyük ve yuvarlak parenkima hücreleri bulunmaktadır. Bu ince çeperli hücrelerin parçalanarak iletim demetleri

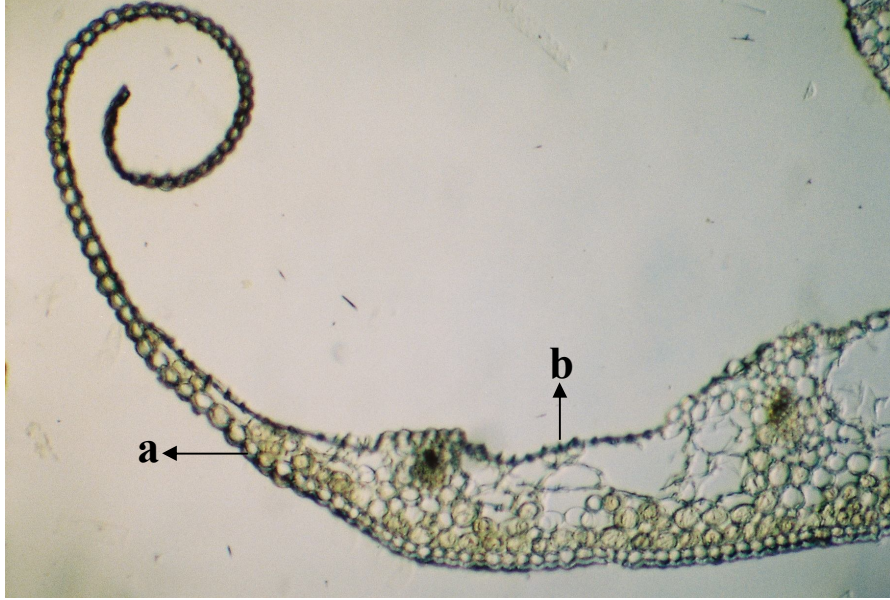
arasında hava kanallarını oluşturdıkları görülmektedir. Karından yanlara doğru parenkima hücrelerinin sıra sayısı azalmakta, iç epidermis hücrelerinin dorsal ve ventral çeperleri incelmekte, birbirine yaklaşmakta, spatanın yırtılma yerine yakın kısmında ise temas eder duruma gelmektedir. Bu hücrelerin lateral çeperleri kalın olup, dış epidermisin iç kısmında adeta tespih dizisi gibi bir sıra oluşturmaktadır.

Dış epidermisin iç kısmındaki palizat ve sünger parenkiması hücreleri arasında bulunan küçük hücrelerde rafit kristalleri bulunmaktadır.



Resim 20. Spata Enine Kesiti

a: dış epidermis b: stoma c: iletim demeti d: mezofil hücresi e: iç epidermis



Resim 21. Spata Enine Kesitinde Genel Görünüş
a: dış (abaksial) epidermis b: iç (adaksial) epidermis



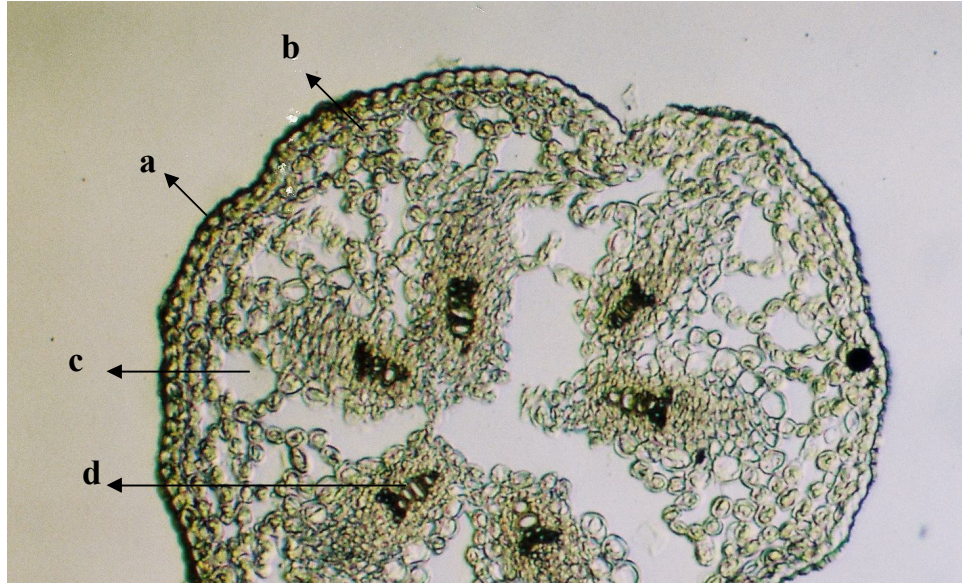
Resim 22. Spata Enine Kesitinde Spatannın Birleşme (Yırtılma) Yeri

1. 1. 6. Çiçeğe ait İnceleme ve Bulgular

1. 1. 6. 1. Çiçek Sapı

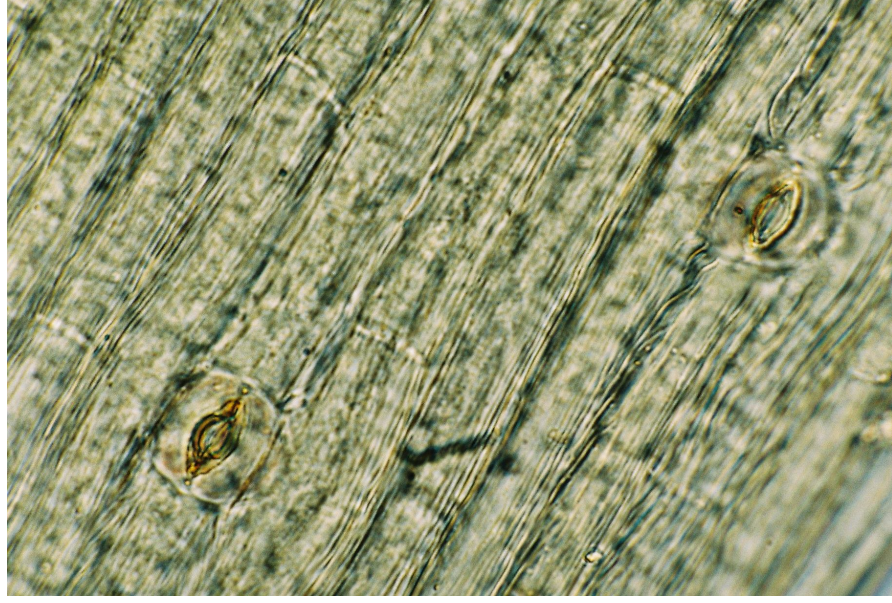
Çiçek sapı genel olarak daire veya oval şeklinde olup hafif girinti ve çıkıntılara sahiptir. Anatomik olarak skapusa benzeyen çiçek sapı epidermisinin dorsal çeperi kalın olup epidermisten merkeze doğru mezofil hücreleri arasındaki intersellüler alanların arttığı, hücre çeperlerinin incelendiği görülmektedir. Epidermisteki stomalar genel olarak mezofitik olup çok hafif gömüktür. Parenkimatik doku içerisinde radyal dizilişli, koleteral, kapalı iletim demetleri bulunmaktadır (Resim 23).

Çiçek sapından alınan yüzeysel kesitlerde, yaprak epidermisine benzer şekilde dikdörtgenimsi epidermis hücrelerinin bulunduğu görülmüştür (Resim 24). Ancak yapraktan farklı olarak kütikula kıvrımları belirgindir. Çok fazla sayıda olmayan stomaların kutuplarında hafif çeper kalınlaşması mevcuttur.



Resim 23. Çiçek Sapı Enine Kesitinde Genel Görünüş

a: epidermis b: parenkima hücresi c: hava kanalı d: iletim demeti

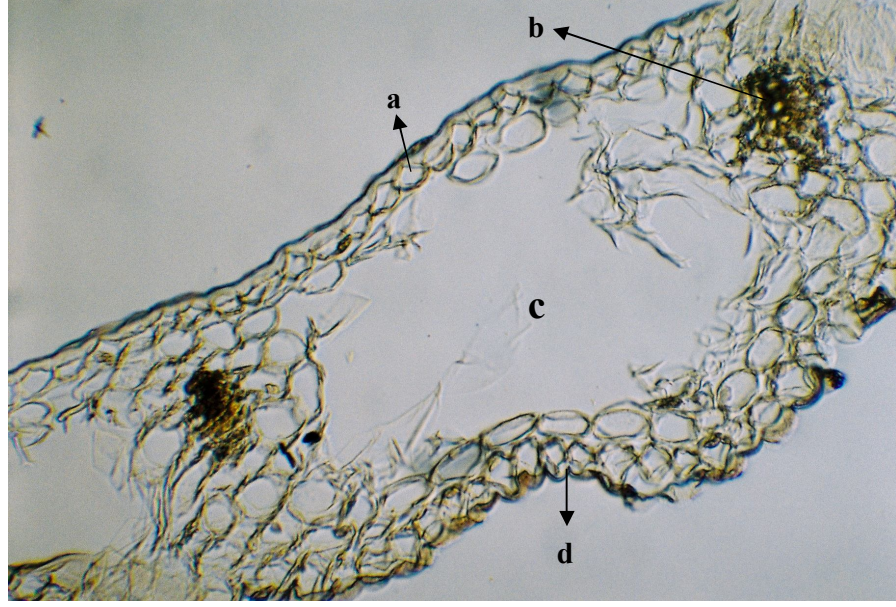


Resim 24. Çiçek Sapı Yüzeysel Kesitindeki Stomalar ve Kütikula Kıvrımları

1. 1. 6. 2. Dış Tepal

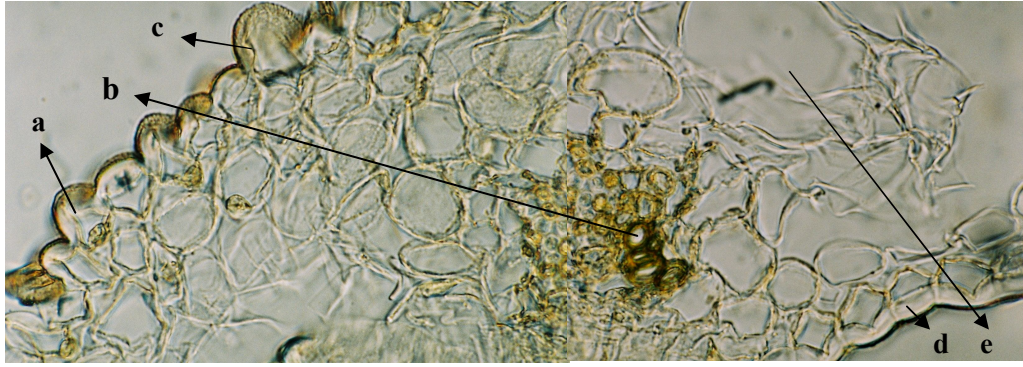
Yaprak anatomik yapısını andıran dış tepalde, dış epidermis hücreleri kuvvetli papilli, kütikulası papil boyuna paralel çizgiciklidir. İç epidermis hücreleri ise papilli olmayıp, dorsal çeperleri oldukça kalın hücrelerden oluşmaktadır. İki epidermis arasında yer alan mezofil hücreleri ince çeperli ve iletim demetleri arasındaki hava kanalları oldukça geniştir (Resim 25, 26).

Her iki epidermis, yüzeysel kesitler alınarak incelenmiş, dış epidermis hücrelerinin kütikulası papil boyuna paralel çizgicikli, iç epidermis hücrelerinin kütikulası noktacıklı ve nükleuslarının belirgin olduğu saptanmıştır (Resim 27, 28).



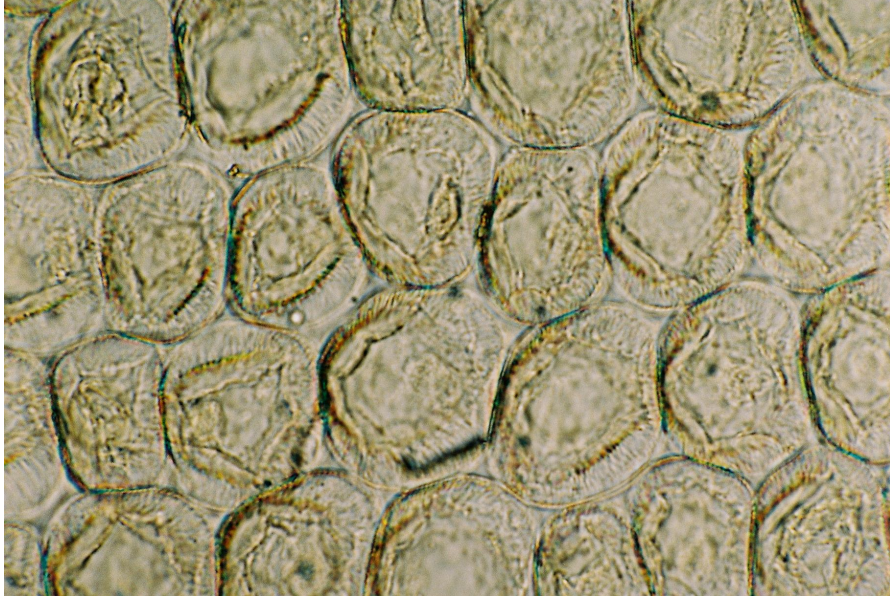
Resim 25. Dış Tepal Enine Kesiti

a: iç epidermis b: iletim demeti c: hava kanalı d: dış epidermis

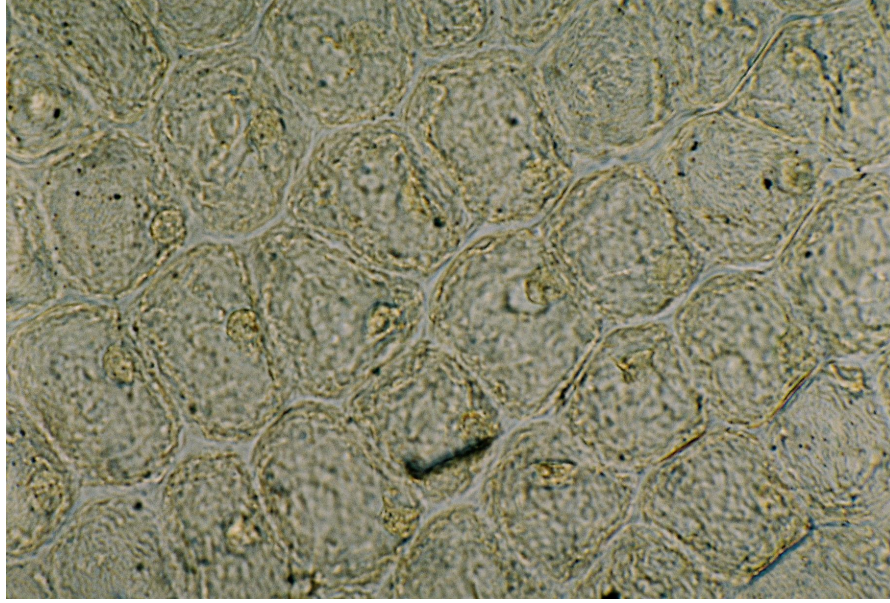


Resim 26. Dış Tepal Enine Kesiti

a: dış epidermis b: iletim demeti c: papiller d: iç epidermis e: hava kanalı



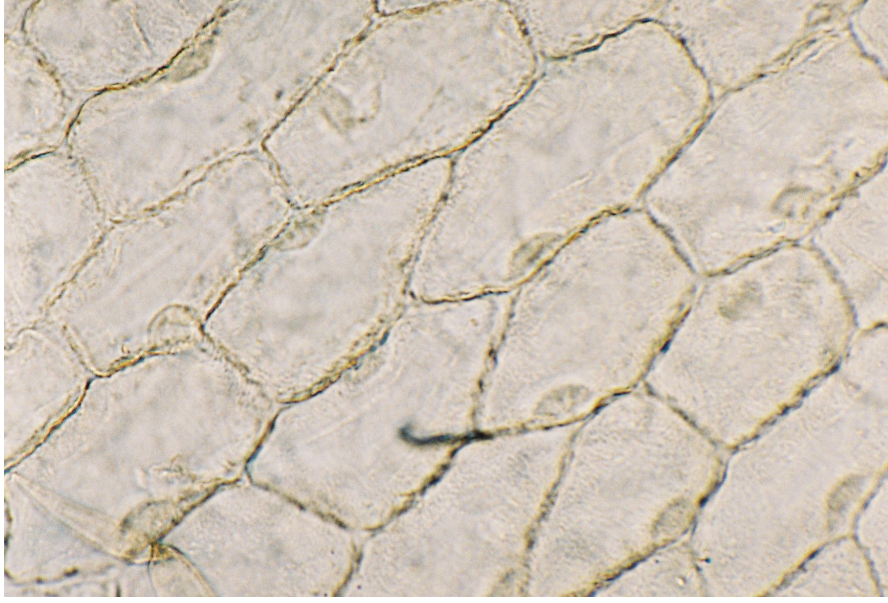
Resim 27. Dış Tepal Yüzeysel Kesitinde Dış Epidermis



Resim 28. Dış Tepal Yüzeysel Kesitinde İç Epidermis

1. 1. 6. 3. İç Tepal

İç tepal üzerinde yapılan enine kesit ve yüzeysel kesit incelemelerinde dış tepalle benzerlik gösterdiği saptanmış olup, farklı olarak iç tepale ait iç epidermis yüzeysel olarak incelendiğinde iç epidermis hücrelerinin daha uzun olduğu görülmüştür (Resim 29).



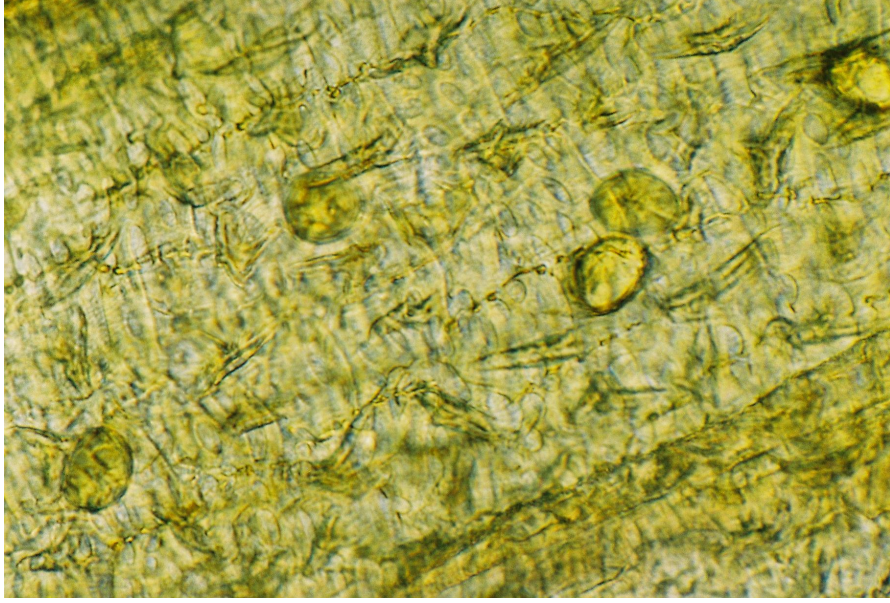
Resim 29. İç Tepal Yüzeysel Kesitinde İç Epidermis

1. 1. 6. 4. Anter

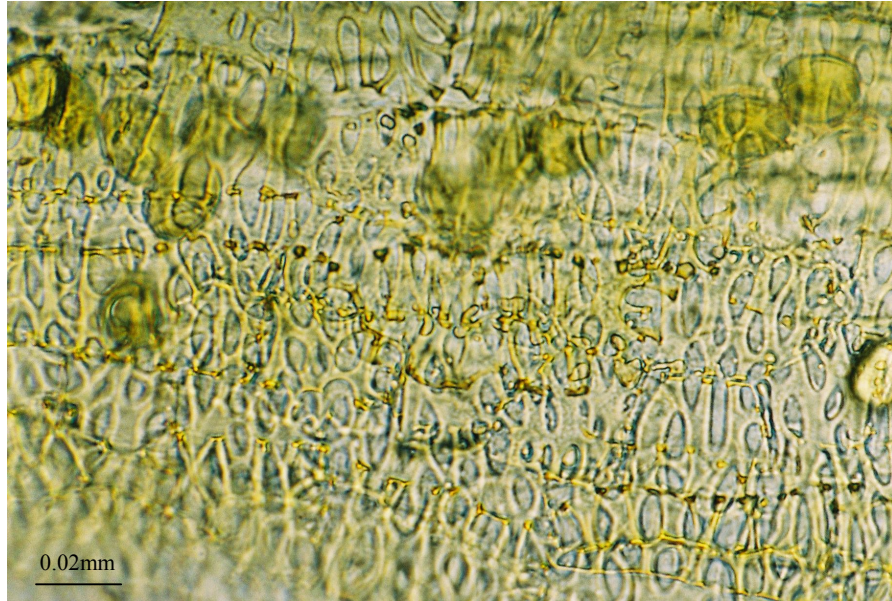
Anterden alınan enine ve yüzeysel kesitlerde, polenlerin bol olarak görüldüğü epidermis hücrelerinin dış yüzeye doğru kuvvetli ve sivri papillere sahip olduğu, odunlaşmış çepere sahip endotesyum hücrelerinin karakteristik ağsı kalınlaşma gösterdiği saptanmıştır (Resim 30-32).



Resim 30. Anter Enine Kesitinde Epidermisdeki Papiller



Resim 31. Anter Yüzeysel Kesitinde Epidermisdeki Papiller

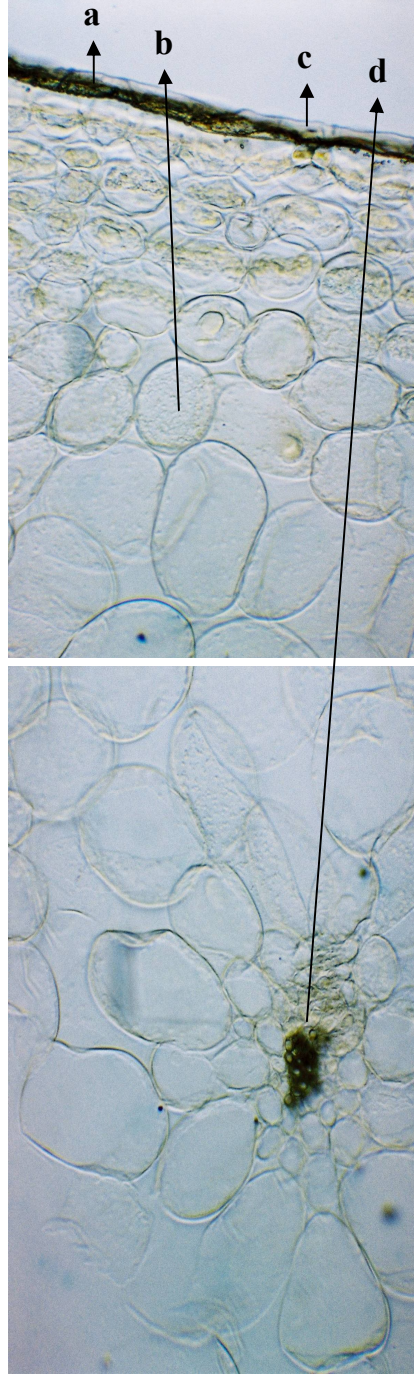


Resim 32. Ağsı Kalınlaşmış Anter Endotesyumu

1. 1. 7. Meyveye ait İnceleme ve Bulgular

Meyve enine kesitlerinde ekzokarp hücreleri yanlara doğru uzamış, dorsal çeperleri kalın, ventral ve lateral çeperler ise ince olarak izlenmiştir. Amarillis tipte stomalar hafif kserofitik ve stoma açıklığı ne olduğunu tanımlayamadığımız madde birikimiyle kapatılmıştır. Ekzokarpın iç kısmında yer alan ilk 2. ve 3. sırada mezokarp hücreleri yanlara doğru hafif uzamış olup, bol kloroplast içermektedir. 2. ve 3. sıradan itibaren ise mezokarp hücrelerinin çeperleri incelmekte, daha yuvarlak ve merkeze doğru da ovalimsi bir görünüm sergilemektedir. Merkeze doğru hücreler daha serbest bir şekilde dizilmiş ve intersellüler boşluklar genişlemiş olmasına rağmen belirgin hava kanallarına rastlanmamıştır (Resim 33).

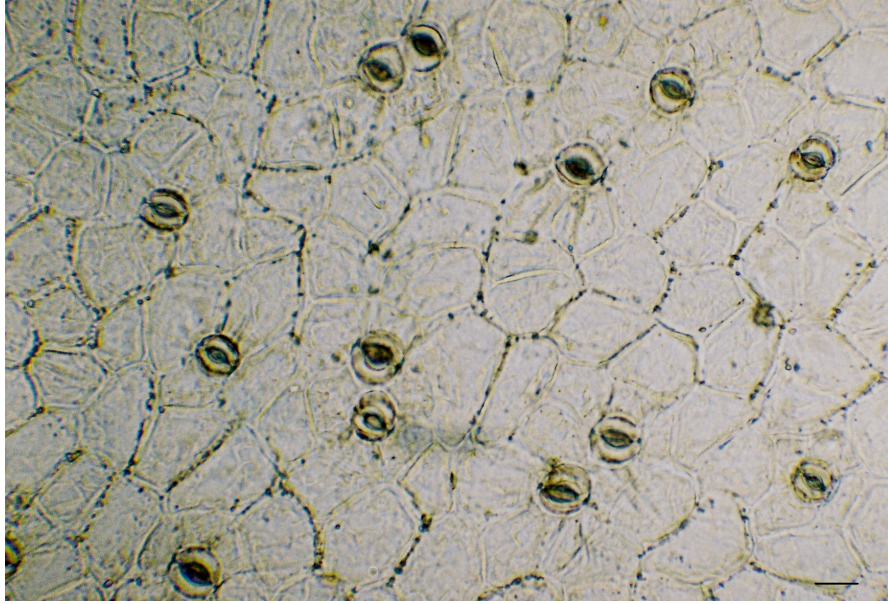
Meyve ekzokarpının ve endokarpının yüzeysel olarak incelenmelerinde hücrelerin beşgenimsi veya altıgenimsi şekilde olduğu, ekzokarptaki 4-5 komşu hücrelerine sahip stomaların eksenine dik bir şekilde kütikula çizgilerinin bulunduğu, endokarp hücrelerinin lateral çeperlerinin ekzokarp hücrelerine göre daha ince olduğu saptanmıştır (Resim 34-37).



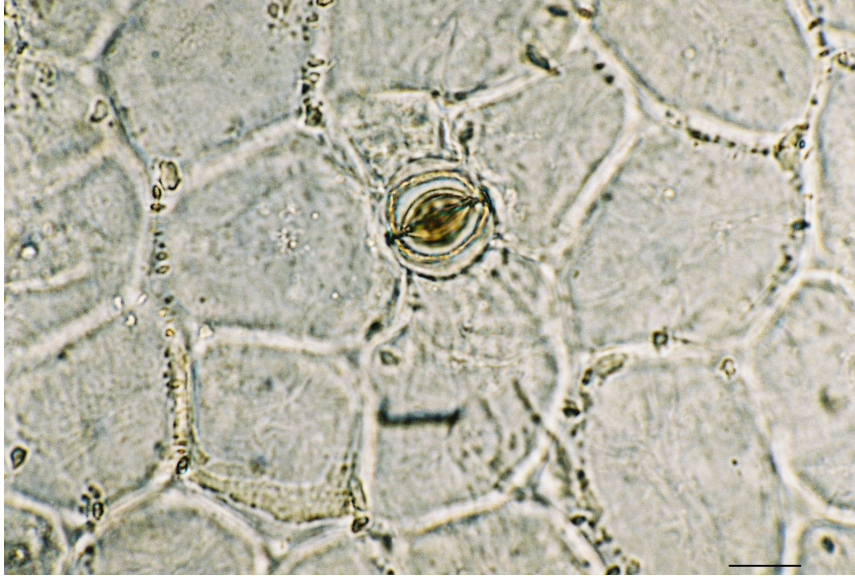
Resim 33. Meyve Enine Kesiti Genel Görünüş
a: Ekzokarp b: Mezokarp c: Stoma d: İletim Demetleri



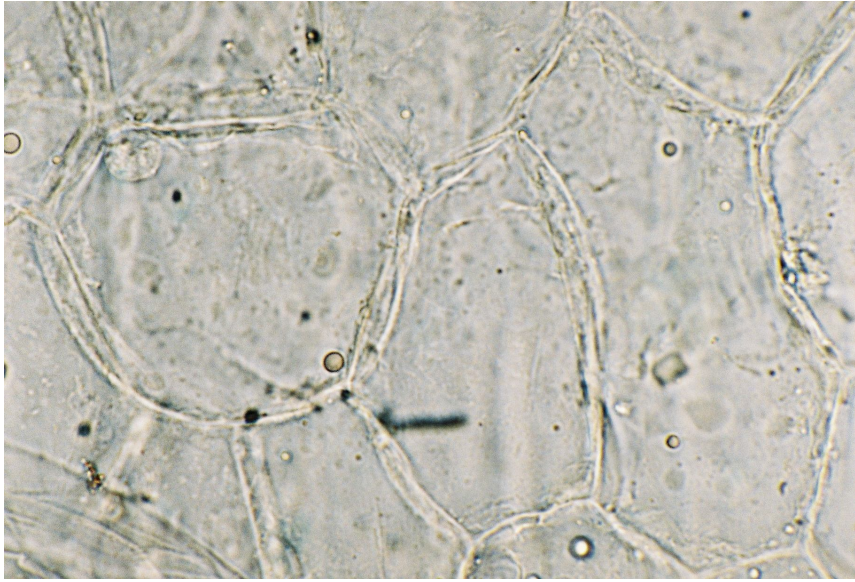
Resim 34. Meyve Enine Kesitinde Stoma
a: Madde birikimi



Resim 35. Meyve Yüzeysel Kesitinde Stoma ve Çevresindeki Kütikula
Çizgileri



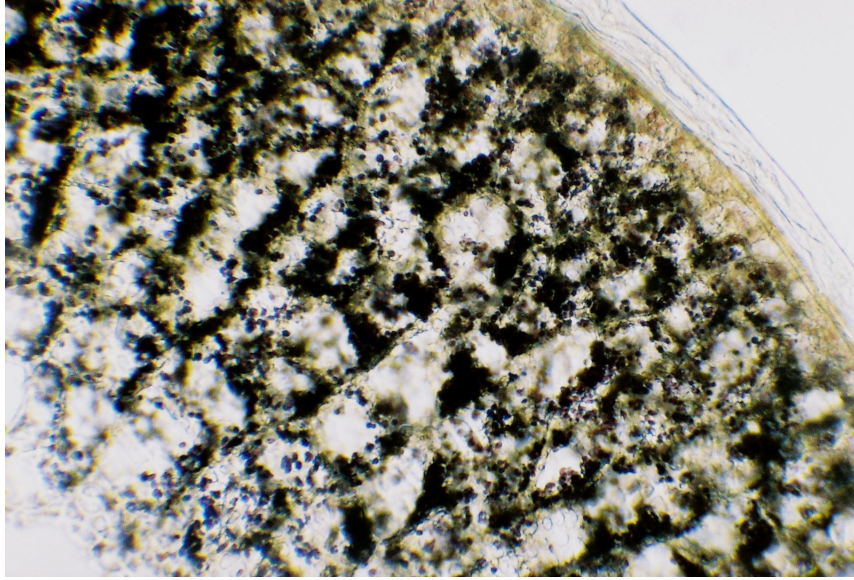
Resim 36. Ekzokarpın Yüzeysel Kesiti



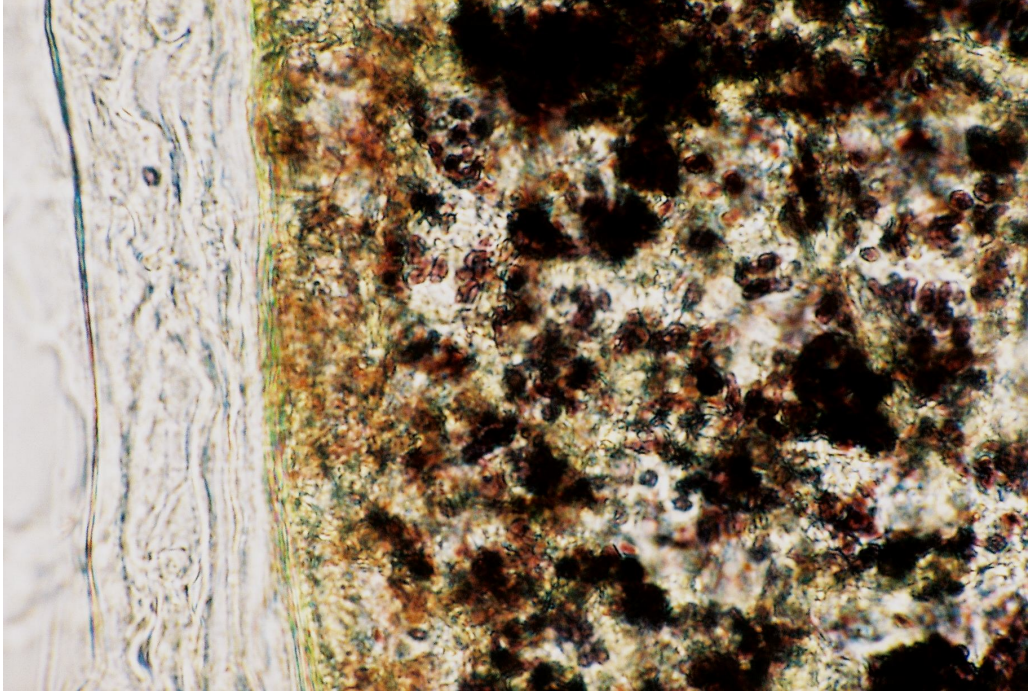
Resim 37. Endokarpın Yüzeysel Kesiti

1. 1. 8. Tohuma ait İnceleme ve Bulgular

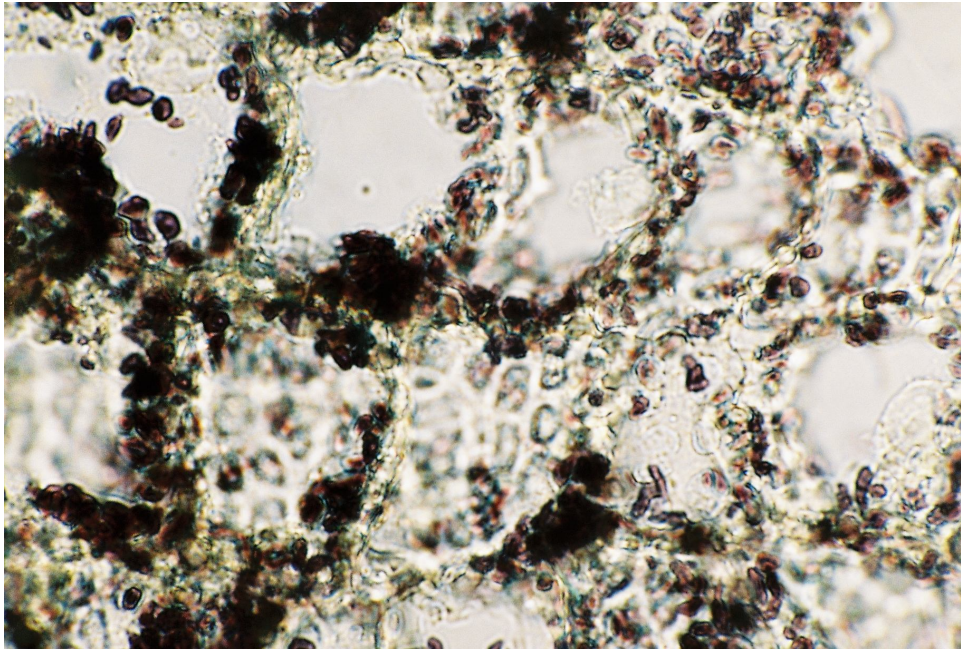
Testa, ezilmiş besi doku ve embriyodan oluşan tohumda, dışta koruyucu bir tabaka olarak bulunan testa hücresinin sıkışmış ve ezilmiş olduğu görülmektedir. Testanın altındaki ezilmiş besi doku hücreleri sarı-kahverengi renktedir. Daha içeride yer alan ve bol nişasta taşıyan dikdörtgenimsi endosperma hücrelerinin ise çeperleri kalın, basit geçitleri belirgindir. Bu endosperma hücreleri içerisinde nişastayla beraber yağ ve protein de bulunmaktadır (Resim 38-40).



Resim 38. Tohum Enine Kesiti



Resim 39. Tohum Enine Kesiti



Resim 40. Tohum Enine Kesiti

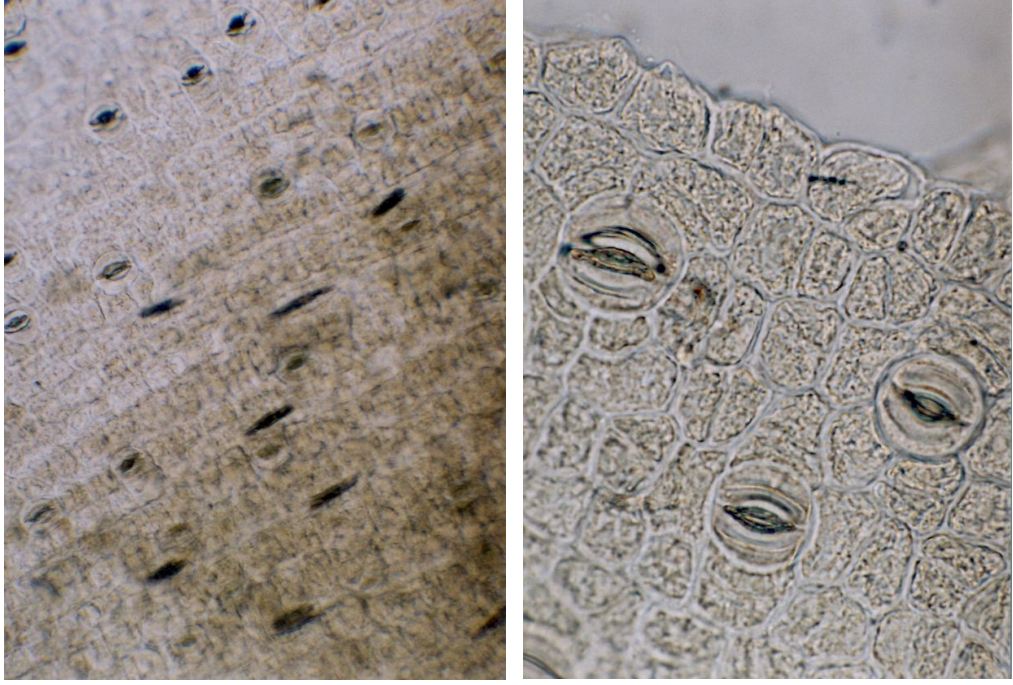
1. 1. 9. Ovaryuma ait İnceleme ve Bulgular

Ovaryuma ait enine ve yüzeysel kesitler incelendiğinde ekzokarp hücrelerinin dikdörtgenimsi olduğu, stomaların kseroftik, hücreler arası boşlukların ise az olduğu görülmektedir. Ekzokarpın iç kısmında, birinci ve ikinci sıra arasındaki bazı hücrelerde rafit kristalleri yer almaktadır (Resim 41, 42).



Resim 41. Ovaryum Enine Kesiti

a: stoma b: ekzokarp

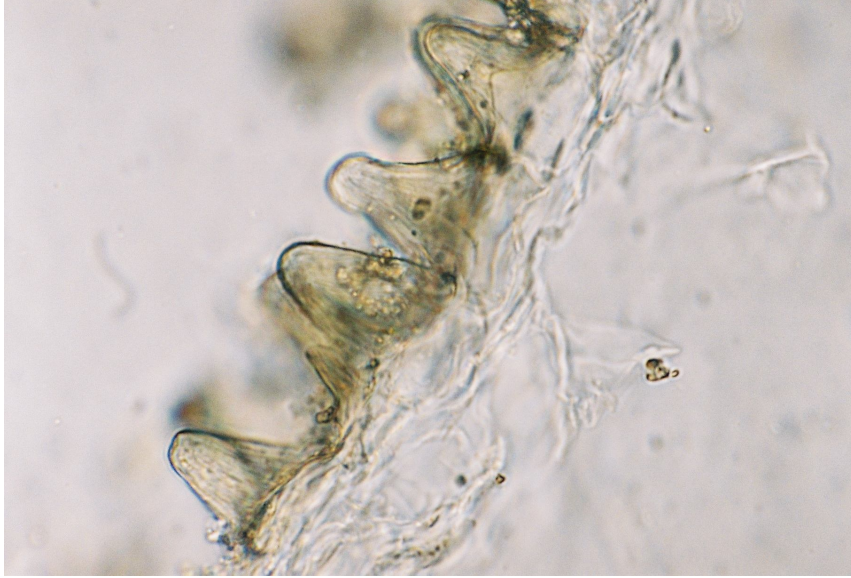


Resim 42. Ovaryum Yüzeysel Kesitinde Rafit Demeti ve Stomalar

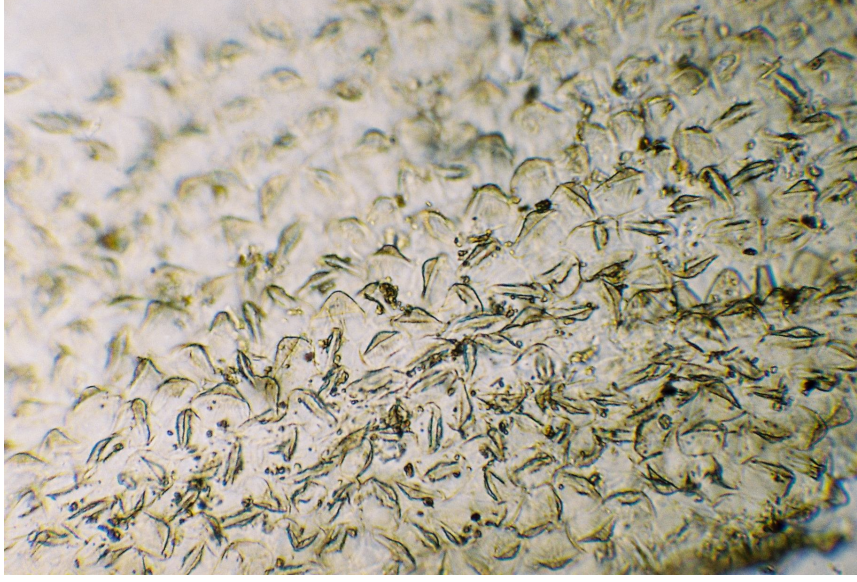
1. 2. MİKROSKOBİK BULGULAR

1. 2. 1. ÇTÜ Kodlu Herba Galanthi Toz Droğunun Mikroskopik Olarak İncelenmesi

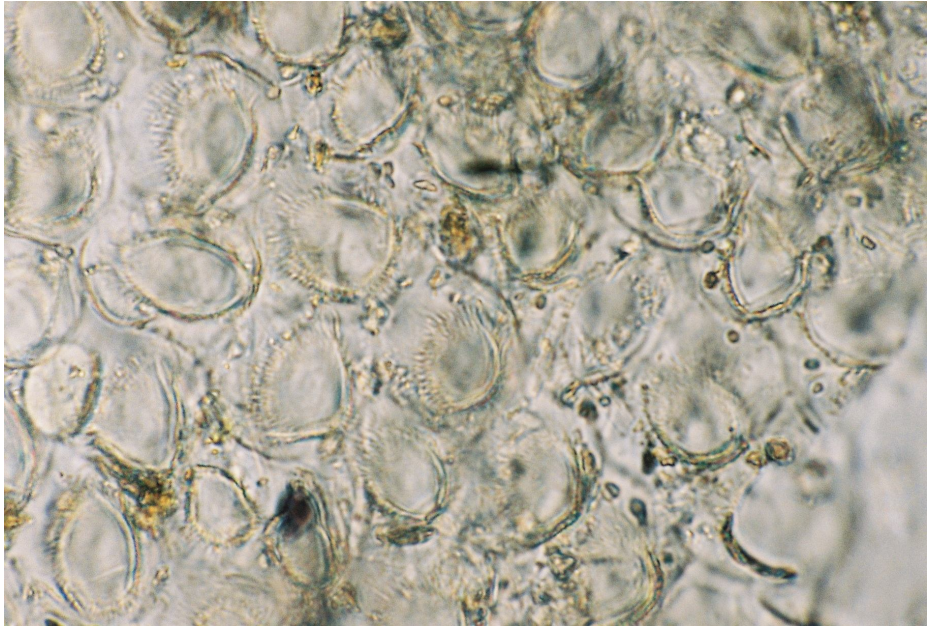
Toz droğun mikroskopik olarak incelenmesiyle yaprağa ait stomalı epidermis hücrelerine, çiçeğe ait papilli anter epidermisine, dış tepale ait iç ve dış epidermis hücrelerine ve ovalimsi, düz ekzin zarı bulunan polenlere rastlanmıştır (Resim 43-48).



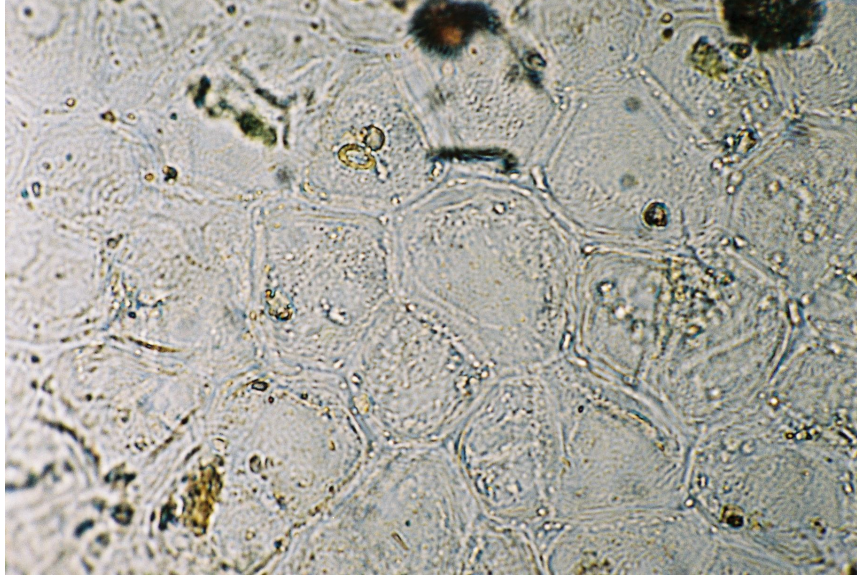
Resim 43. Papilli Anter Epidermisi (Yandan Görünüş)



Resim 44. Papilli Anter Epidermisi (Üstten Görünüş)



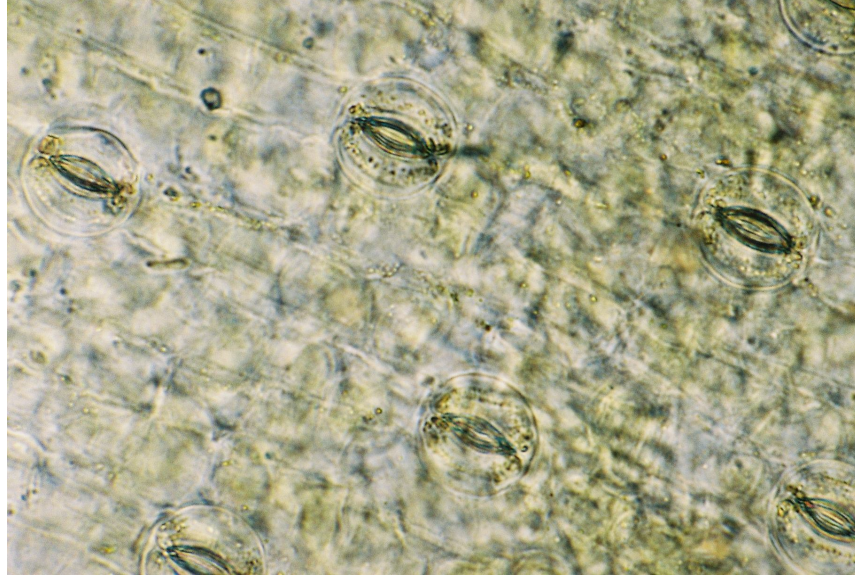
Resim 45. Dış Tepalin Dış Epidermis Hücreleri



Resim 46. Dış Tepalin İç Epidermis Hücreleri



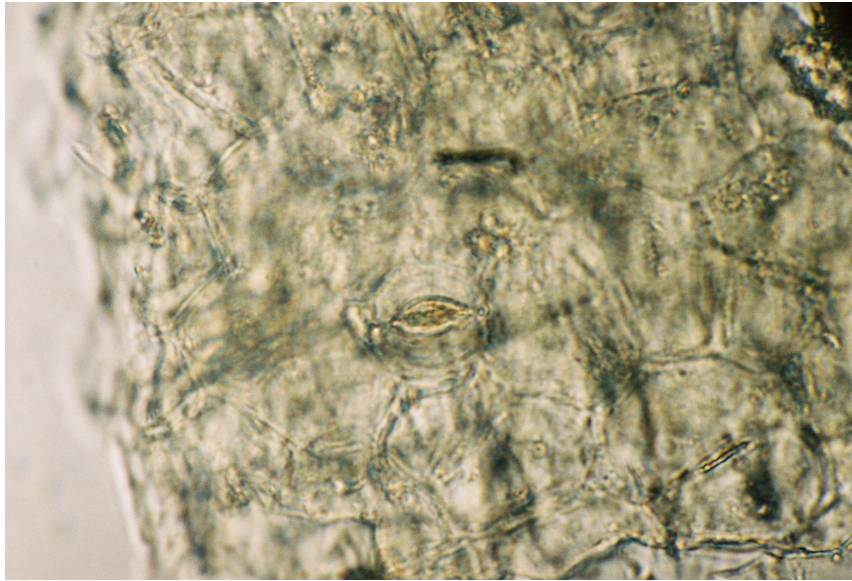
Resim 47. Polenler



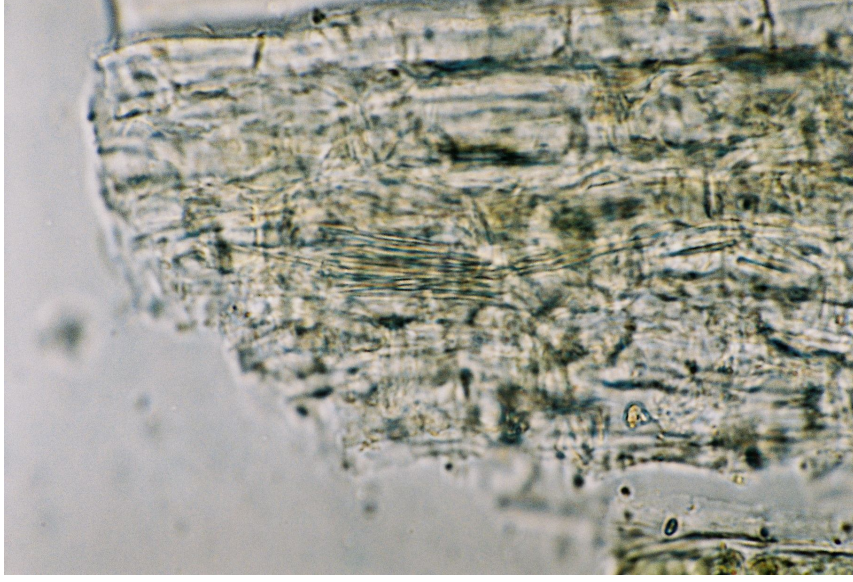
Resim 48. Yaprak Alt Epidermisinde Stomalar

1. 2. 2. MTÜ Kodlu Herba Galanthi Toz Droğunun Mikroskopik Olarak İncelenmesi

Toz droğun mikroskopik olarak incelenmesi sonucu üst epidermis, stomaların daha bol olarak izlendiği alt epidermis, iletim demetleri, mezofilde rafit demetleri gibi yapıların yanı sıra meyveye ait ekzokarp hücreleri ve rafit kristallerinin bulunduğu mezokarp hücreleri tespit edilmiştir (Resim 49, 50).



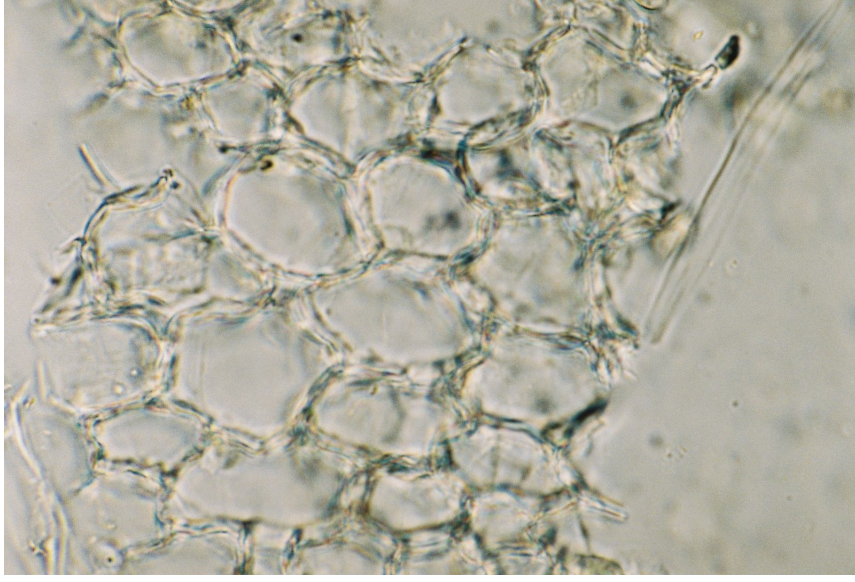
Resim 49. Ekzokarpta Stoma



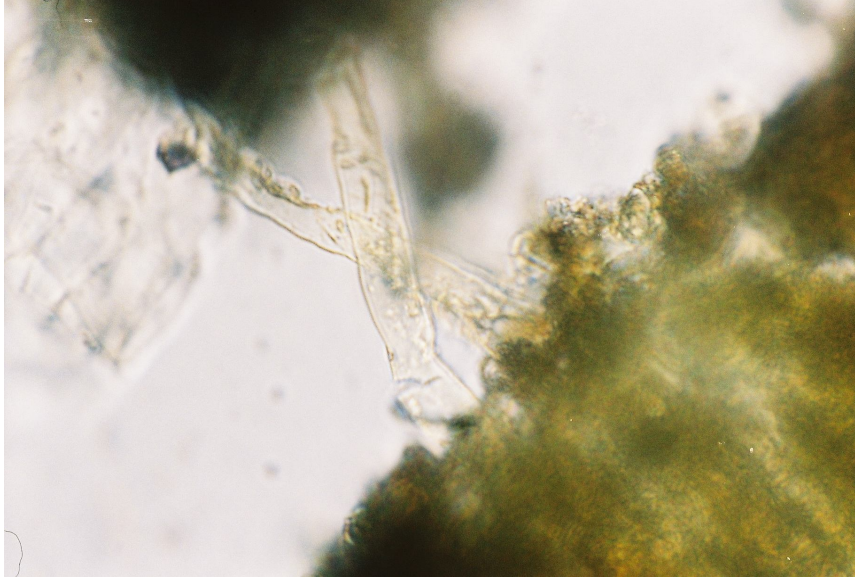
Resim 50. Mezokarpa Rafit İçeren Parenkimatik Hücreler

1. 2. 3. TA ve MTA Kodlu Bulbus Galanthi Toz Droğlarının Mikroskopik Olarak İncelenmeleri

iekli ve meyveli Bulbus Galanthi toz droğlarının mikroskopik olarak incelenmesinde herhangi bir farklılık görülmemiştir. Her iki toz droğun incelenmesi sonucu bol nişasta içeren soğan yapraklarına ait parenkimatik doku parçalarına, iletim demetlerine, rafitlere, emici tüylere (Resim 51-54), çeşitli sberinleşmiş doku parçalarına rastlanmıştır (Resim 55). Canlı olmayan soğan dış yaprakları üzerinde gelişmiş mantar hifleri de tespit edilmiştir (Resim 56).



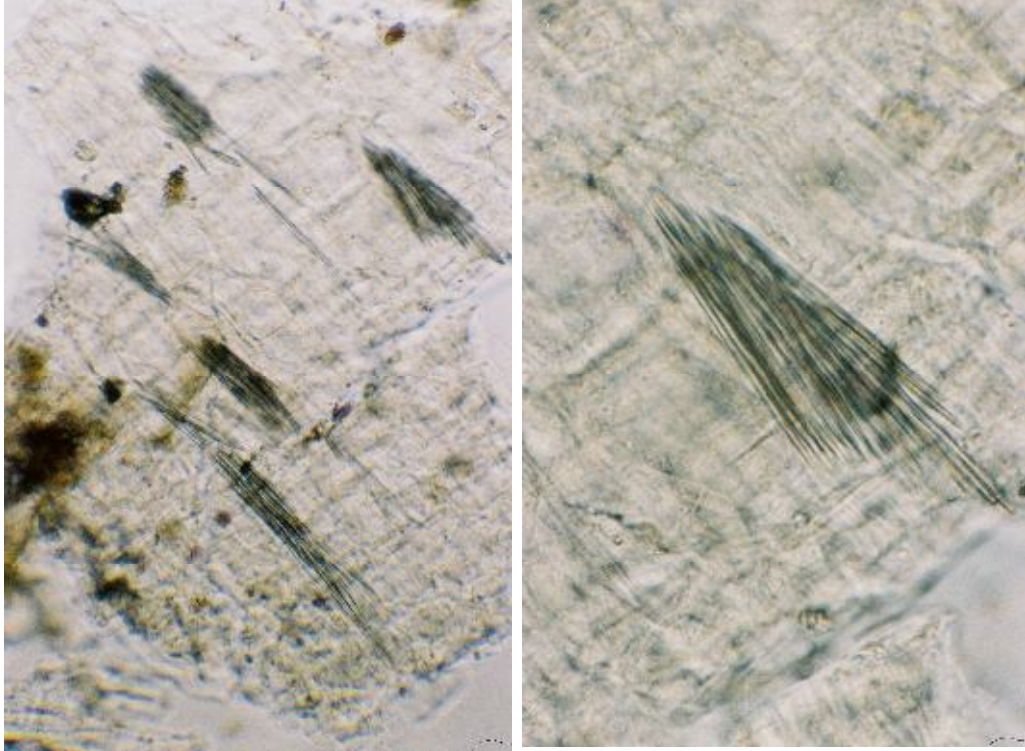
Resim 51. Kabuk Parenkiması Hücreleri



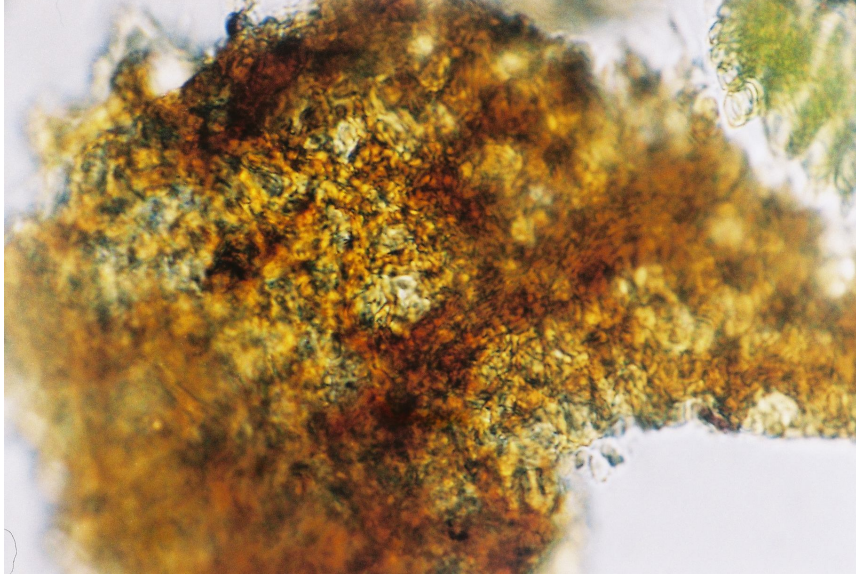
Resim 52. Emici Tüylar



Resim 53. İletim Demetleri



Resim 54. Rafit Demetleri

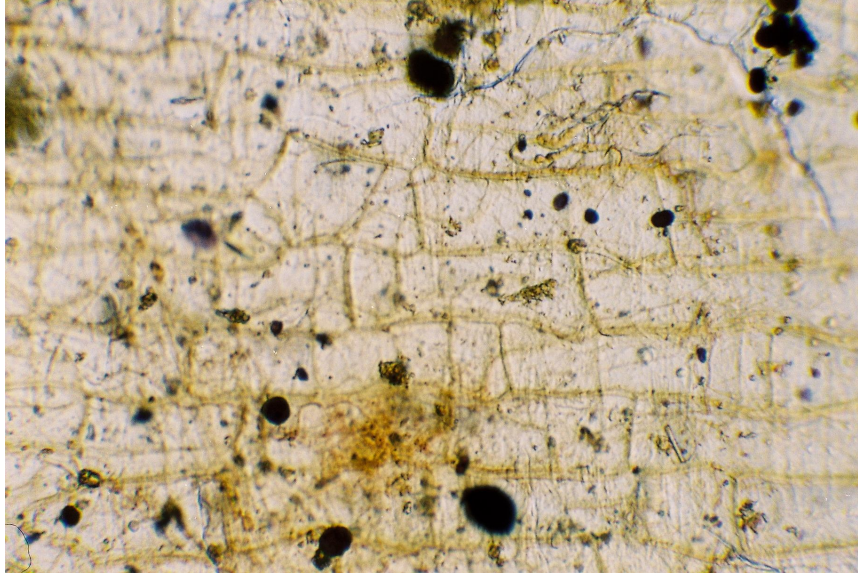


Resim 55. Süberinleşmiş Doku Parçaları

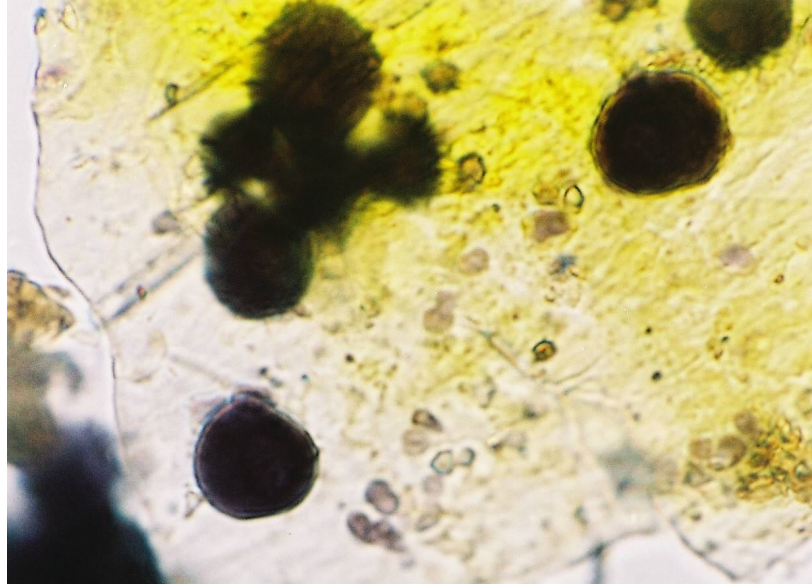


Resim 56. Soğan Yaprığında Mantar Hifleri

a: Mantar Hifleri



Resim 57. Soğan Yaprak Epidermisi ve Nişastalar



Resim 58. Nişastalar

2. KALİTE KONTROL VE MİKTAR TAYİNİ ÇALIŞMALARINA AİT BULGULAR

2. 1. NEM MİKTAR TAYİNİ

ÇTÜ, ÇTA, MTÜ, MTA kodlu örnekler üzerinde 3 paralel halinde nem miktar tayini deneyleri yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar aşağıda verilmiştir (Tablo 12).

Drog	Drog Miktarı (g)	% Total Nem Miktarı
ÇTÜ	1.0003	7.2878
ÇTÜ	1.0000	7.2600
ÇTÜ	1.0002	7.3885
Ortalama % Nem Miktarı: 7.3121		
MTÜ	1.0003	7.3378
MTÜ	1.0001	7.3193
MTÜ	1.0000	7.4700
Ortalama % Nem Miktarı: 7.3757		
ÇTA	1.0001	6.1394
ÇTA	1.0000	6.2400
ÇTA	1.0001	6.1994
Ortalama % Nem Miktarı: 6.1929		
MTA	1.0000	7.4300
MTA	1.0001	7.5493
MTA	1.0000	7.5400
Ortalama % Nem Miktarı: 7.5064		

Tablo 12. *G. rizehensis* Bitkisinden Hazırlanan Örnekler Üzerinde Yapılan Nem Miktar Tayini Sonuçları

2. 2. TOTAL KÜL MİKTAR TAYİNİ

ÇTÜ, MTÜ, ÇTA, MTA kodlu örnekler üzerinde 3 paralel halinde total kül miktar tayini deneyleri yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar aşağıda yer almaktadır (Tablo 13).

Drog	Drog Miktarı (g)	% Total Kül Miktarı
ÇTÜ	1.0002	9.2082
ÇTÜ	1.0001	9.1791
ÇTÜ	1.0000	9.0900
Ortalama % Kül Miktarı: 9.1591		
MTÜ	1.0003	9.3972
MTÜ	1.0000	9.2500
MTÜ	1.0000	9.4700
Ortalama % Kül Miktarı: 9.3724		
ÇTA	1.0003	16.0852
ÇTA	1.0003	16.2851
ÇTA	1.0003	15.8453
Ortalama % Kül Miktarı: 16.0719		
MTA	1.0001	11.0200
MTA	1.0002	11.9676
MTA	1.0000	11.5700
Ortalama % Kül Miktarı: 11.5192		

Tablo 13. *G. rizehensis* Bitkisinden Hazırlanan Örnekler Üzerinde Yapılan Total Kül Miktar Tayini Sonuçları

2. 3. SÜLFAT KÜLÜ MİKTAR TAYİNİ

ÇTÜ, MTÜ, ÇTA, MTA kodlu örnekler üzerinde 3 paralel halinde sülfat külü miktar tayini deneyleri yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar aşağıda yer almaktadır (Tablo 14).

Drog	Drog Miktarı (g)	% Sülfat Külü Miktarı
ÇTÜ	1.0000	13.0100
ÇTÜ	1.0002	12.6375
ÇTÜ	1.0001	13.2387
Ortalama % Sülfat Külü Miktarı: 12.9621		
MTÜ	1.0001	13.5686
MTÜ	1.0000	13.6900
MTÜ	1.0002	13.8372
Ortalama % Sülfat Külü Miktarı: 13.6986		
ÇTA	1.0003	19.3642
ÇTA	1.0002	19.6281
ÇTA	1.0000	19.2400
Ortalama % Sülfat Külü Miktarı: 19.4108		
MTA	1.0000	14.8200
MTA	1.0001	14.4886
MTA	1.0002	14.5671
Ortalama % Sülfat Külü Miktarı: 14.6252		

Tablo 14. *G. rizehensis* Bitkisinden Hazırlanan Örnekler Üzerinde Yapılan Sülfat Külü Miktar Tayini Sonuçları

2. 4. HİDROKLORİK ASİTTE ÇÖZÜNMEYEN KÜL MİKTAR TAYİNİ

ÇTÜ, MTÜ, ÇTA, MTA kodlu örnekler üzerinde 3 paralel halinde hidroklorik asitte çözünmeyen kül miktar tayini deneyleri yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar aşağıda yer almaktadır (Tablo 15).

Drog	Drog Miktarı (g)	% Hidroklorik Asitte Çözünmeyen Kül Miktarı
ÇTÜ	1.0000	3.1577
ÇTÜ	1.0001	3.1090
ÇTÜ	1.0001	3.1157
Ortalama % Hidroklorik Asitte Çözünmeyen Kül Miktarı: 3.1275		
MTÜ	0.9999	4.0080
MTÜ	1.0003	3.9976
MTÜ	1.0002	3.6987
Ortalama % Hidroklorik Asitte Çözünmeyen Kül Miktarı: 3.9014		
ÇTA	1.0001	7.2382
ÇTA	1.0003	7.1096
ÇTA	1.0002	7.3808
Ortalama % Hidroklorik Asitte Çözünmeyen Kül Miktarı: 7.2429		
MTA	1.0000	5.5891
MTA	1.0000	5.7900
MTA	1.0001	5.4310
Ortalama % Hidroklorik Asitte Çözünmeyen Kül Miktarı: 5.6034		

Tablo 15. *G. rizehensis* Bitkisinden Hazırlanan Örnekler Üzerinde Yapılan Hidroklorik Asitte Çözünmeyen Kül Miktar Tayini Sonuçları

2. 5. TOTAL ALKALOİT MİKTAR TAYİNİ

ÇTÜ, ÇTA, MTÜ, MTA kodlu örnekler üzerinde her bir örnek için 5 paralel olmak üzere miktar tayini çalışmaları yapılmıştır. Sonuçlar kuru drog ve likorin üzerinden yüzde olarak hesaplanmak suretiyle verilmiştir (Tablo 16-23).

Drog Miktarı (g)	% Total Alkaloit
3.0004	0.0114
3.0125	0.0113
3.1504	0.0108
3.1208	0.0109
3.0051	0.0113

Tablo 16. ÇTÜ Kodlu Örneğe ait Total Alkaloit Miktarı Sonuçları

N	Mean	St. Sapma	Min	Max
5	0.0111	0.0003	0.0108	0.0114

Tablo 17. ÇTÜ Kodlu Örneğe ait Total Alkaloit Miktarı Sonuçlarının İstatiksel Olarak Değerlendirilmesi

Drog Miktarı (g)	% Total Alkaloit
3.1078	0.0827
3.0100	0.0854
3.1600	0.0814
3.0002	0.0857
3.1200	0.0824

Tablo 18. ÇTA Kodlu Örneğe ait Total Alkaloit Miktarı Sonuçları

N	Mean	St. Sapma	Min	Max
5	0.0835	0.0019	0.0857	0.0814

Tablo 19. ÇTA Kodlu Örneğe ait Total Alkaloit Miktarı Sonuçlarının İstatiksel Olarak Değerlendirilmesi

Drog Miktarı (g)	% Total Alkaloit
3.0004	0.0142
3.0905	0.0138
3.0107	0.0142
3.0205	0.0141
3.0098	0.0142

Tablo 20. MTÜ Kodlu Örneğe ait Total Alkaloit Miktarı Sonuçları

N	Mean	St. Sapma	Min	Max
5	0.0141	0.0002	0.0138	0.0142

Tablo 21. MTÜ Kodlu Örneğe ait Total Alkaloit Miktarı Sonuçlarının İstatiksel Olarak Değerlendirilmesi

Drog Miktarı (g)	% Total Alkaloit
3.0104	0.1017
3.0025	0.1019
3.0008	0.1020
3.0578	0.1001
3.0256	0.1012

Tablo 22. MTA Kodlu Örneğe ait Total Alkaloit Miktarı Sonuçları

N	Mean	St. Sapma	Min	Max
5	0.1014	0.0008	0.1001	0.1020

Tablo 23. MTA Kodlu Örneğe ait Total Alkaloit Miktarı Sonuçlarının İstatiksel Olarak Değerlendirilmesi

2. 6. YÜKSEK BASINÇLI SIVI KROMATOĞRAFİSİ (HPLC) YÖNTEMİ İLE TEŞHİS VE MİKTAR TAYİNİ

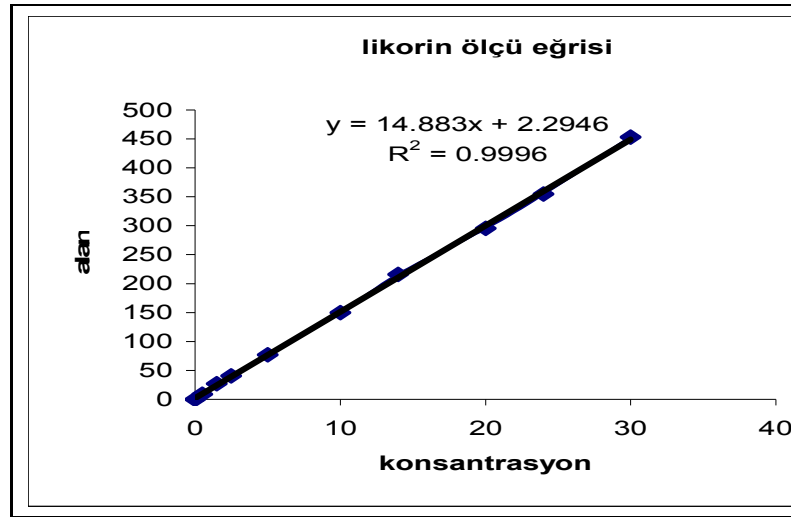
G. rizehensis bitkisinden hazırlanan ÇTÜ, ÇTA, MTÜ ve MTA kodlu örnekler üzerinde likorin miktar tayini ve galantamin teşhisi yapılmıştır.

2. 6. 1. Likorin Miktar Tayini

ÇTÜ, ÇTA, MTÜ ve MTA kodlu örnekler üzerinde eksternal standart olarak likorinle yapılan ölçümler sonucunda bulunan değerler Tablo 24'de, bu değerlerle çizilen ölçü eğrisi ve regresyon denklemi Şekil 1'de verilmiştir.

Konsantrasyon ($\mu\text{g/ml}$)	Tatbik Hacmi (μl)	Ortalama Alan Değerleri
0.5	20	8.96039
1.5	20	27.12876
2.5	20	40.36770
5	20	76.95145
10	20	149.79984
14	20	216.12718
20	20	295.57013
24	20	354.96039
30	20	452.96985

Tablo 24. Likorin için Okunan Alan Değerleri



Şekil 1. HPLC ile Yapılan Miktar Tayininde Kullanılan Likorin Standart Ölçü Eğrisi ve Regresyon Denklemi

HPLC (Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi) ile kuru drog üzerinden, daha önce belirtilen yöntemle hesaplanmış likorin miktar tayini sonuçları aşağıda verilmiştir. Her bir örnek için 3 ayrı paralel çalışma yapılmıştır (Tablo 25-32).

Drog	Drog Miktarı (mg)	Uygulanan Miktar (µl)	Okunan Alan Değeri	% Likorin Miktarı
ÇTÜ	200 mg	20	13.27305	0.00738
		20	12.41502	0.00680
		20	12.95107	0.00716
ÇTÜ	200 mg	20	14.61897	0.00828
		20	15.86849	0.00912
		20	15.56449	0.00892
ÇTÜ	200 mg	20	14.90831	0.00848
		20	15.47594	0.00886
		20	14.19502	0.00800

Tablo 25. ÇTÜ Örneğinde HPLC Yöntemiyle Likorin Miktar Tayini Sonuçları

N	Mean	St. Sapma	Min	Max
9	0.00811	0.00080	0.00680	0.00910

Tablo 26. ÇTÜ Örneğinde HPLC Yöntemiyle Likorin Miktar Tayini Sonuçlarının İstatiksel Olarak Değerlendirilmesi

Drog	Drog Miktarı (mg)	Uygulanan Miktar (µl)	Okunan Alan Değeri	% Likorin Miktarı
ÇTA	200 mg	20	165.58223	0.10971
		20	165.01767	0.10934
		20	168.41347	0.11162
ÇTA	200 mg	20	173.81450	0.11525
		20	169.47554	0.11233
		20	178.46788	0.11837
ÇTA	200 mg	20	181.92813	0.12070
		20	181.29706	0.12027
		20	177.73672	0.11788

Tablo 27. ÇTA Örneğinde HPLC Yöntemiyle Likorin Miktar Tayini Sonuçları

N	Mean	St. Sapma	Min	Max
9	0.11505	0.00450	0.10934	0.12070

Tablo 28. ÇTA Örneğinde HPLC Yöntemiyle Likorin Miktar Tayini
Sonuçlarının İstatiksel Olarak Değerlendirilmesi

Drog	Drog Miktarı (mg)	Uygulanan Miktar (µl)	Okunan Alan Değerleri	% Likorin Miktarı
MTÜ	200 mg	20	24.13389	0.01467
		20	23.26951	0.01409
		20	28.47901	0.01759
MTÜ	200 mg	20	19.94511	0.01186
		20	19.03353	0.01125
		20	16.58694	0.00960
MTÜ	200 mg	20	23.53695	0.01427
		20	20.62485	0.01232
		20	21.87201	0.01315

Tablo 29. MTÜ Örneğinde HPLC Yöntemiyle Likorin Miktar Tayini Sonuçları

N	Mean	St. Sapma	Min	Max
9	0.01320	0.00230	0.00960	0.01759

Tablo 30. MTÜ Örneğinde HPLC Yöntemiyle Likorin Miktar Tayini
Sonuçlarının İstatiksel Olarak Değerlendirilmesi

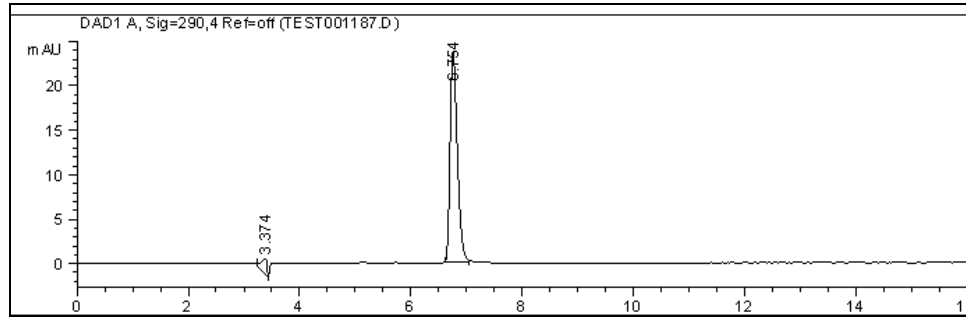
Drog	Drog Miktarı (mg)	Uygulanan Miktar (µl)	Okunan Alan Değeri	% Likorin Miktarı
MTA	200 mg	20	278.84692	0.18582
		20	274.93527	0.18319
		20	279.75284	0.18643
MTA	200 mg	20	319.82022	0.21335
		20	312.28525	0.20829
		20	321.00449	0.21414
MTA	200 mg	20	333.25320	0.22237
		20	332.83710	0.22209
		20	331.69739	0.22133

Tablo 31. MTA Örneğinde HPLC Yöntemiyle Likorin Miktar Tayini Sonuçları

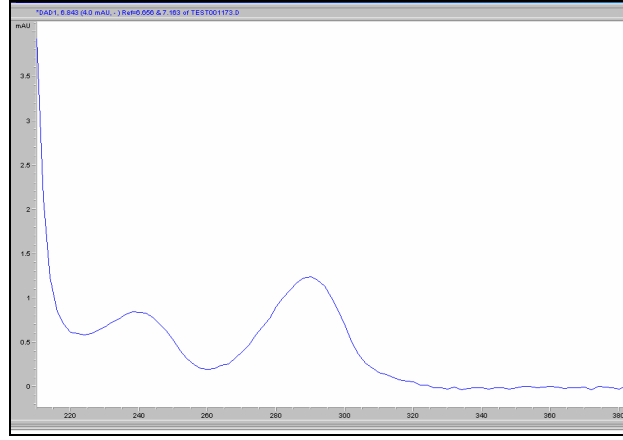
N	Mean	St. Sapma	Min	Max
9	0.20633	0.01570	0.18319	0.22237

Tablo 32. MTA Örneğinde HPLC Yöntemiyle Likorin Miktar Tayini Sonuçlarının İstatiksel Olarak Değerlendirilmesi

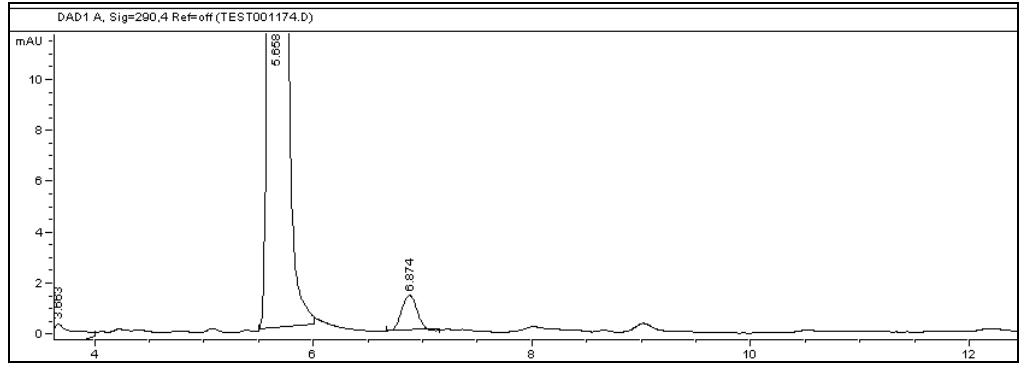
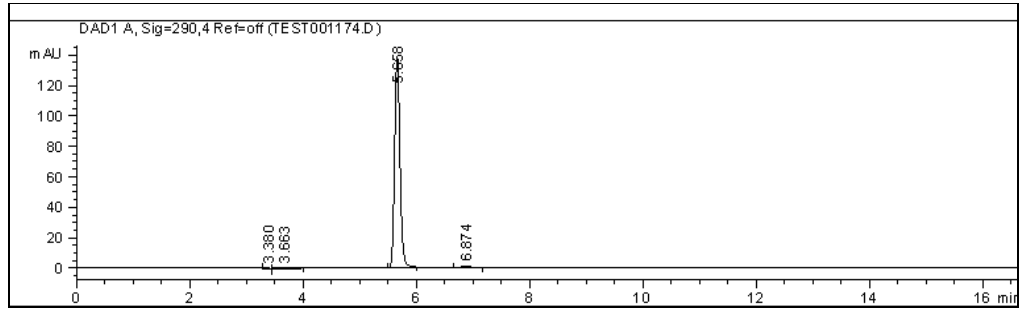
2. 6. 1. 1. Likorin Miktar Tayinine ait Kromatogramlar



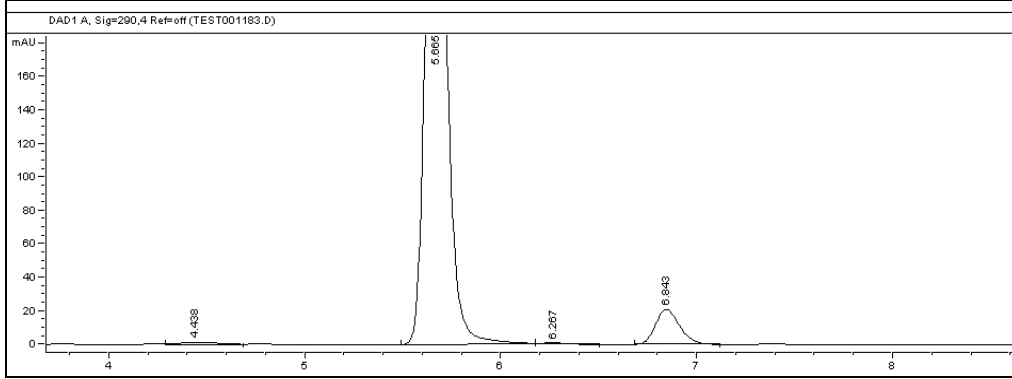
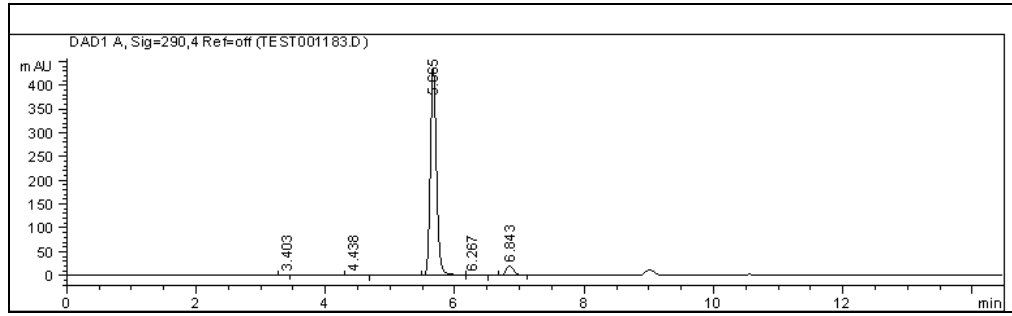
Şekil 2. Standart Likorine ait Kromatogram



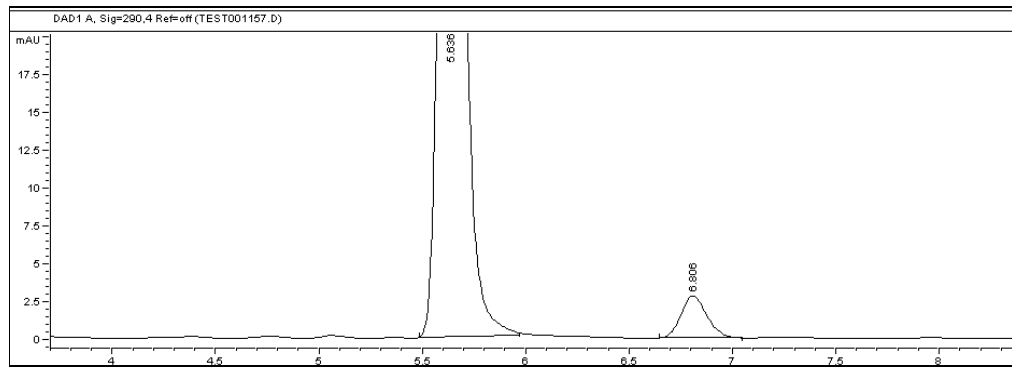
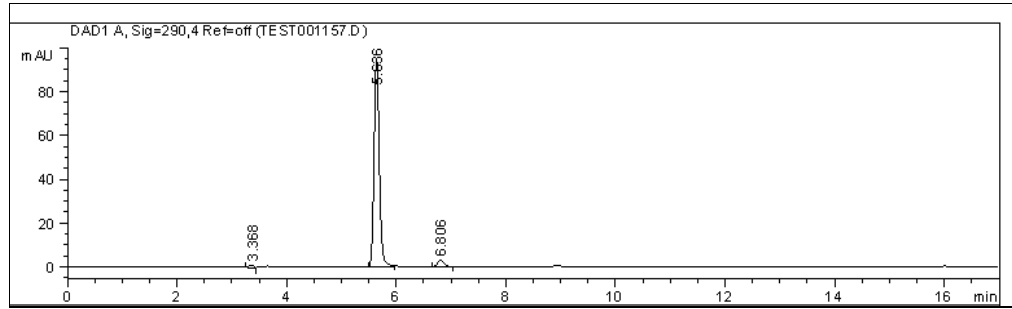
Şekil 3. Standart Likorine ait UV Spektrumu



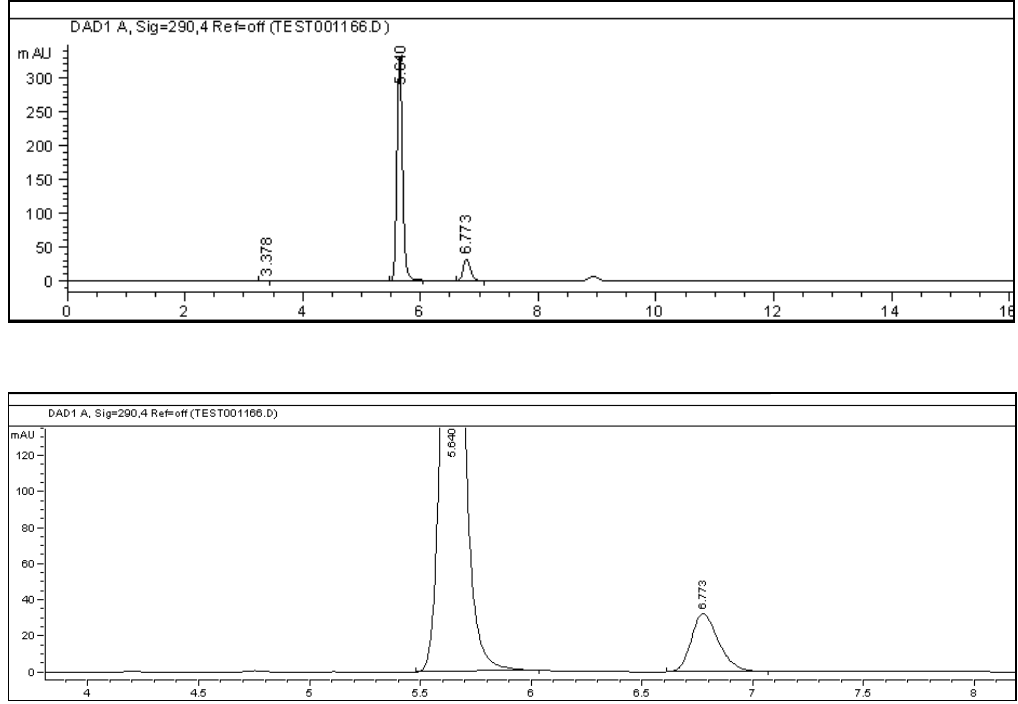
Şekil 4. ÇTÜ Kodlu Örneğin Normal ve Genişletilmiş Kromatogramları



Şekil 5. ÇTA Kodlu Örneğin Normal ve Genişletilmiş Kromatogramları



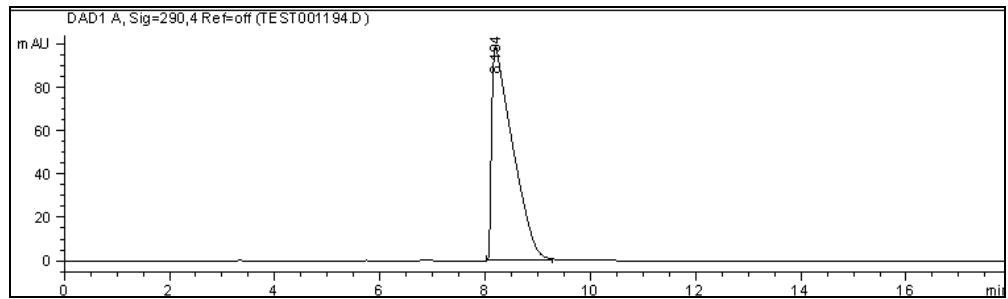
Şekil 6. MTÜ Kodlu Örneğin Normal ve Genişletilmiş Kromatogramları



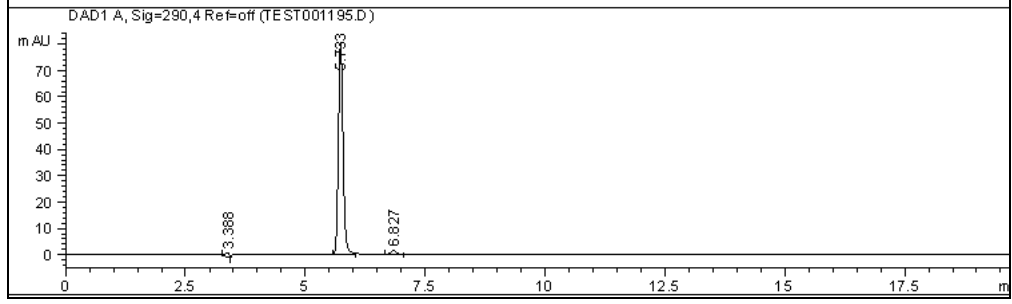
Şekil 7. MTA Kodlu Örneğin Normal ve Genişletilmiş Kromatogramları

2. 6. 2. Galantamin Teşhisi

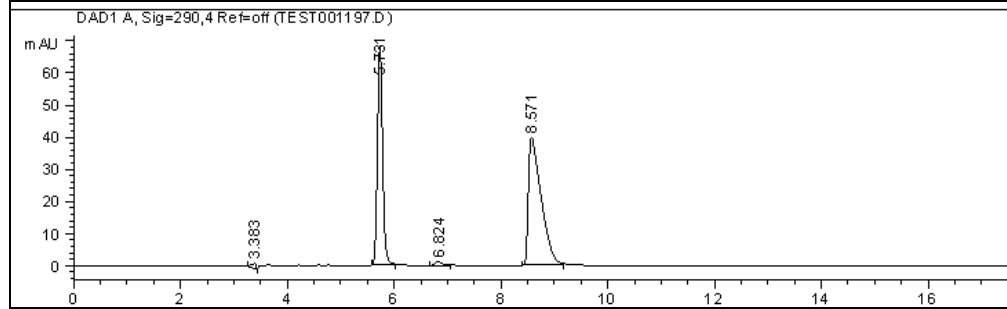
G. rizehensis bitkisinden hazırlanılan ÇTÜ, ÇTA, MTÜ ve MTA örneklerinde standart galantamine ait herhangi bir pik görülmemiş ancak standart galantaminle ÇTÜ, ÇTA, MTÜ ve MTA örneklerine ait alkaloit ekstresini içeren karışım çözeltisi enjekte edildiğinde standart galantaminin retensiyon zamanına sahip pik ortaya çıkmıştır. Galantamin teşhisi için yapılan HPLC çalışmalarında elde edilen sonuçlara ait kromatogramlar aşağıda verilmiştir (Şekil 8-16).



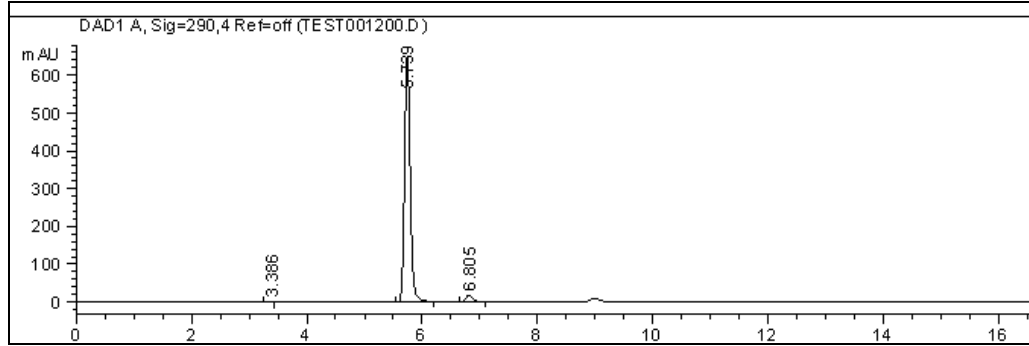
Şekil 8. Standart Galantamine ait Kromatogram



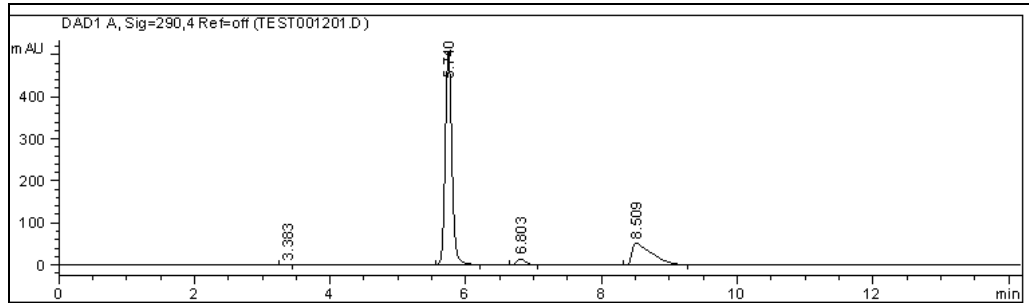
Şekil 9. ÇTÜ Kodlu Örneğe ait Kromatogram



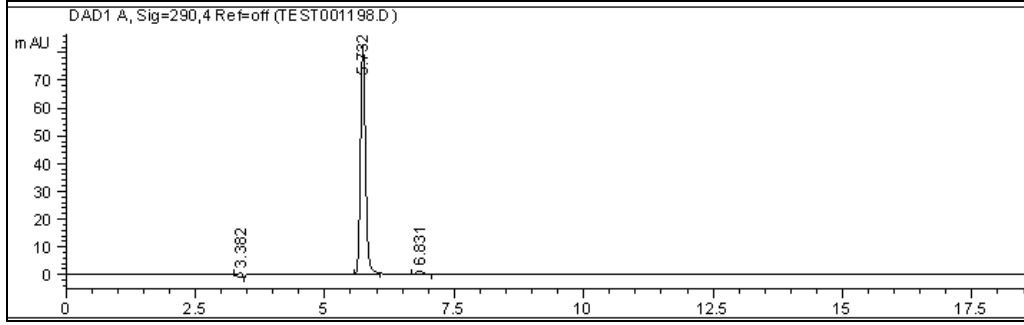
Şekil 10. ÇTÜ Kodlu Örneğin Galantaminle Karışımına ait Kromatogram



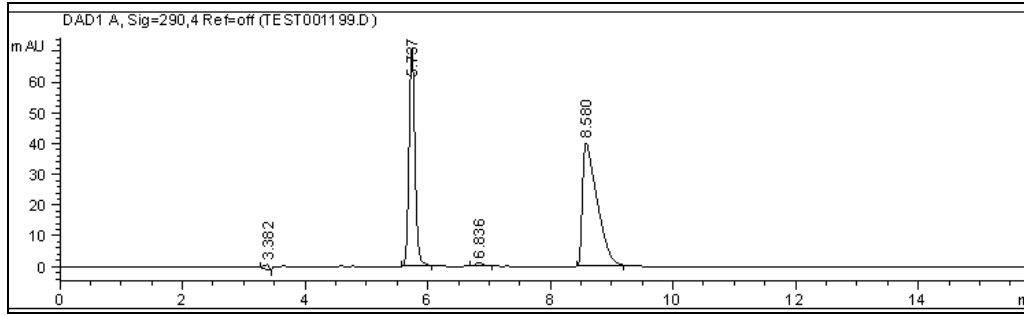
Şekil 11. ÇTA Kodlu Örneğe ait Kromatogram



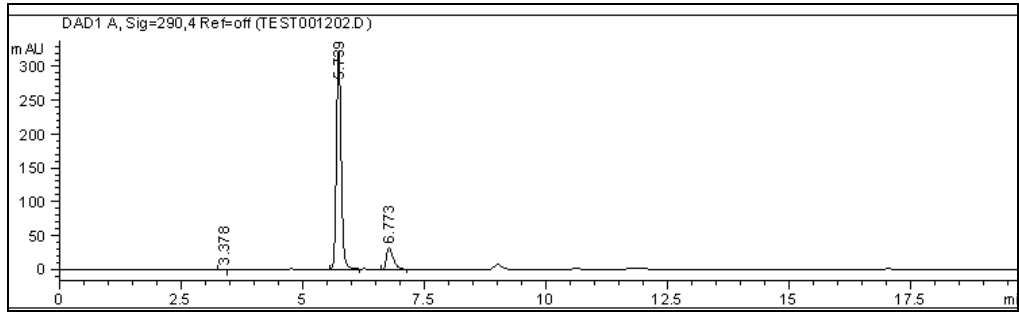
Şekil 12. ÇTA Kodlu Örneğin Galantaminle Karışımına ait Kromatogram



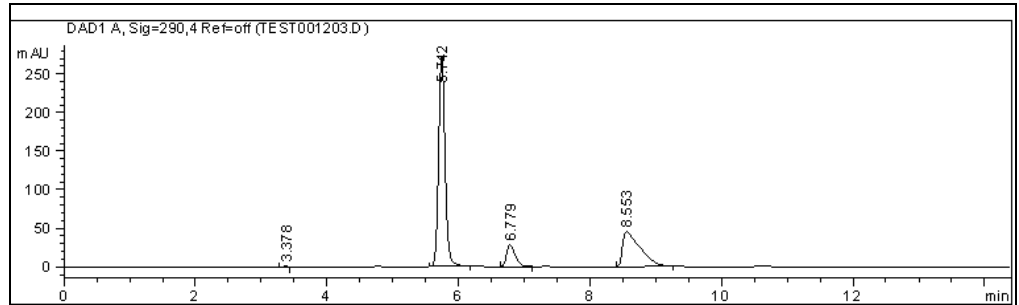
Şekil 13. MTÜ Kodlu Örneğe ait Kromatogram



Şekil 14. MTÜ Kodlu Örneğin Galantaminle Karışımına ait Kromatogram



Şekil 15. MTA Kodlu Örneğe ait Kromatogram



Şekil 16. MTA Kodlu Örneğin Galantaminle Karışımına ait Kromatogram

3. GAZ KROMATOĞRAFİSİ-KÜTLE SPEKTROMETRESİ (GC-MS) YÖNTEMİYLE ALKALOİT TESPİTİ ÇALIŞMALARINA AİT BULGULAR

Yapılan deneyler sonucu elde edilen bulgular aşağıda verilmiştir (Tablo 33-36).

Alkaloid Adı	R.Z.	M ⁺	Karakteristik İyonlar (m/z)	Literatür
1-Asetil β -karbolin	15.98	210(90)	182(49), 168(100), 167 (39), 140(38), 114 (12)	NIST 05, S, 264, 382
İsmin*	20.01	257(39)	238(100), 211(5), 196(10), 168(5)	32, 33, S
Trisferidin	20.26	223(100)	222(34), 167(8), 165(9), 164(13), 138(18)	10, 34
11,12-Didehidro anhidrolikorin	25.15	249(60)	248(100), 190(21), 163(6), 123(5), 95(12)	34

Tablo 33. ÇTÜ Örneğinin GC-MS Yöntemiyle Analizi Sonucu Elde Edilen Bulgular
R.Z.: Retensiyon Zamanı, **NIST 05:** NIST Mass Spectral Database, PC-Version 5.0 (2005), National Institute of Standardization and Technology, Gaithersburg, MD,
S: Barselona Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi GC-MS Veri Tabanı, * Eser Miktarında

Alkaloid Adı	R.Z.	M ⁺	Karakteristik İyonlar (m/z)	Literatür
Horidenin	8.73	165(1)	121(3), 107(5), 91(4), 77(7), 58 (100)	32, 33, 34, S
Vittatin	23.22	271(100)	254(13), 228(24), 199(78), 187(66), 157(21), 128(28)	32, 34, S
Anhidrolikorin*	23.64	251(48)	250(100), 220(2), 192(12), 191(14), 165(9), 124(8)	NIST 05, 34
O-Asetilkarantin*	23.92	313(60)	312(8), 252(99), 240(5), 226(100), 211(11), 194(5)	NIST 05, 39
11,12-Didehidro anhidrolikorin	25.16	249(57)	248(100), 190(21), 163(7), 123(5), 95(12)	34
Galantin	26.44	317(20)	318(5), 316(17), 298(9), 284(14), 268(18), 266(14), 244(15), 243(98), 242(100)	S
İnkartin	27.12	333(47)	332(100), 296(6), 259(73), 258(94)	32, S
Likorin	27.18	287(25)	268(21), 250(27), 227(67), 226(100), 211(5), 147(10)	41, 210, S

Tablo 34. ÇTA Örneğinin GC-MS Yöntemiyle Analizi Sonucu Elde Edilen Bulgular
R.Z.: Retensiyon Zamanı, **NIST 05:** NIST Mass Spectral Database, PC-Version 5.0 (2005), National Institute of Standardization and Technology, Gaithersburg, MD,
S: Barselona Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi GC-MS Veri Tabanı, * Eser Miktarında

Alkaloid Adı	R.Z.	M ⁺	Karakteristik İyonlar (m/z)	Literatür
1-Asetil β -karbolin	15.98	210(86)	182(49), 168(100), 167 (39), 140(38), 114 (12)	NIST 05, S, 264, 382
İsmin	19.99	257(39)	238(100), 211(5), 196(17), 168(12)	32, 33
Trisferidin	20.26	223(100)	222(39), 167(9), 165(11), 164(15), 138(22)	10, 34
İnkartin	27.12	333(48)	332(100), 296(6), 259(73), 258(94)	32, S
Epimakronin*	28.05	329(25)	314(23), 255(19), 245(100), 201(78)	32, S

Tablo 35. MTÜ Örneğinin GC-MS Yöntemiyle Analizi Sonucu Elde Edilen Bulgular

R.Z.: Retensiyon Zamanı, **NIST 05:** NIST Mass Spectral Database, PC-Version 5.0 (2005), National Institute of Standardization and Technology, Gaithersburg, MD,

S: Barcelona Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi GC-MS Veri Tabanı, * Eser Miktarda

Alkaloid Adı	R.Z.	M ⁺	Karakteristik İyonlar (m/z)	Literatür
Hordenin	8.62	165(5)	121(4), 107(10), 91(5), 77(8), 58 (100)	32, 33, 34, S
İsmin	20.01	257(33)	238(100), 211(7), 196(9), 168(7)	32, 33, S
Trisferidin	20.26	223(100)	222(35), 167(8), 165(9), 164(12), 138(19)	10, 34
Galantamin*	21.96	287(86)	286(100), 270(14), 244(24), 230(13), 216(34)	NIST 05, 35, 187, S
Vittatin	23.28	271(100)	254(21), 228(25), 199(60), 187(94), 157(17), 128(24)	32, 34, S
11-Deoksi tazettin*	23.38	315(26)	300(49), 250(6), 231(100), 211(169), 169(9), 141(15)	NIST 05, 34
Anhidrolikorin	23.62	251(42)	250(100), 220(2), 192(11), 191(10), 165(3), 124(6)	NIST 05, 34
8-O-Demetil Maritidin	23.63	273(100)	256(22), 230(20), 201(82), 189(42), 174(23)	32, 34, S
O-Asetilkarantin	23.92	313(38)	312(4), 270(3), 252(67), 240(7), 226(52), 211(5), 194(7), 154(3)	NIST 05, 39
1-Asetilpluvin	24.28	329(81)	328(11), 286(3), 268(80), 254(20), 242(100), 228(13), 198(5), 182(7), 151(5)	39
Assoanin	24.69	267(54)	266(100), 250(20), 222(11), 205(5), 193(6), 180(8)	S
11,12-Didehidro Anhidrolikorin	25.16	249(63)	248(100), 190(21), 163(5), 123(5), 95(11)	34

Tablo 36. MTA Örneğinin GC-MS Yöntemiyle Analizi Sonucu Elde Edilen Bulgular

Tazettin*	25.73	331(27)	316(16), 298(20), 260(7), 247(90), 227(16), 211(19), 201(21), 181(20), 152(18), 141(14), 128(12), 115(24)	41, 96
Hippamin	26.04	301(25)	300(16), 268(18), 250(60), 227(90), 226(100)	32, 108
Galantin	26.44	317(20)	318(5), 316(17), 298(9), 284(14), 268(18), 266(14), 244(15), 243(98),242(100)	S
Sternbergin	26.55	331(40)	270(31), 229(79), 228(100)	222, S
11-Hidroksi vittatin	26.67	287(7)	258(100), 242(19), 212(12), 186(14), 181(18), 152(13)	27, 34, S
İnkartin	27.14	333(48)	332(100), 296(16), 259(71), 258(81)	32, S
Likorin	27.20	287(28)	268(25), 250(28), 227(70), 226(100), 211(5), 147(11)	41, 210, S
Epimakronin*	28.05	329(25)	314(20), 255(22), 245(100), 201(67)	32, S

Tablo 36'nın Devamı. MTA Örneğinin GC-MS Yöntemiyle Analizi Sonucu Elde Edilen Bulgular

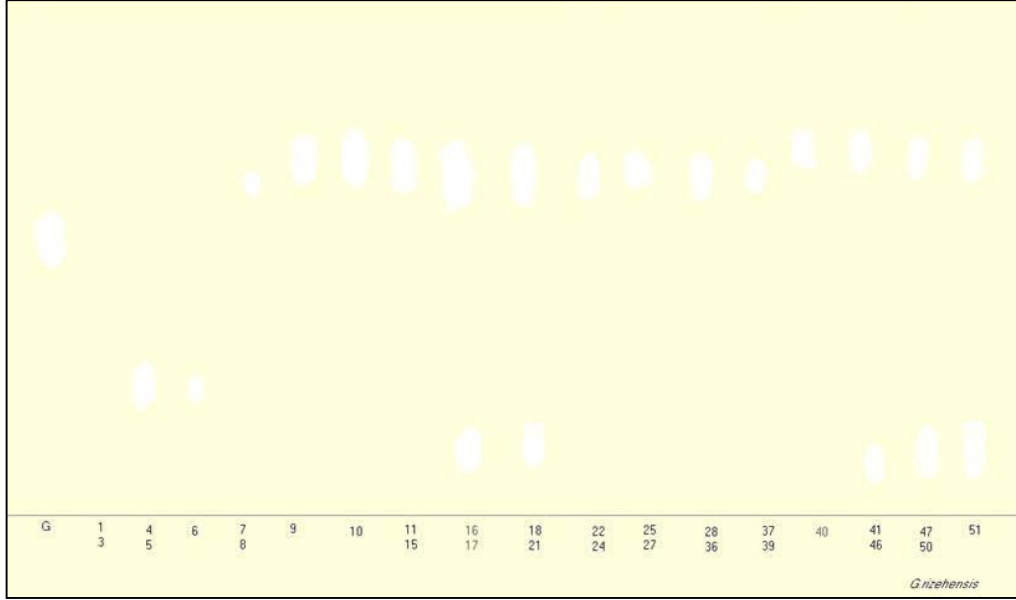
R.Z.: Retensiyon Zamanı, **NIST 05:** NIST Mass Spectral Database, PC-Version 5.0 (2005), National Institute of Standardization and Technology, Gaithersburg, MD,

S: Barselona Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi GC-MS Veri Tabanı, * Eser Miktarda

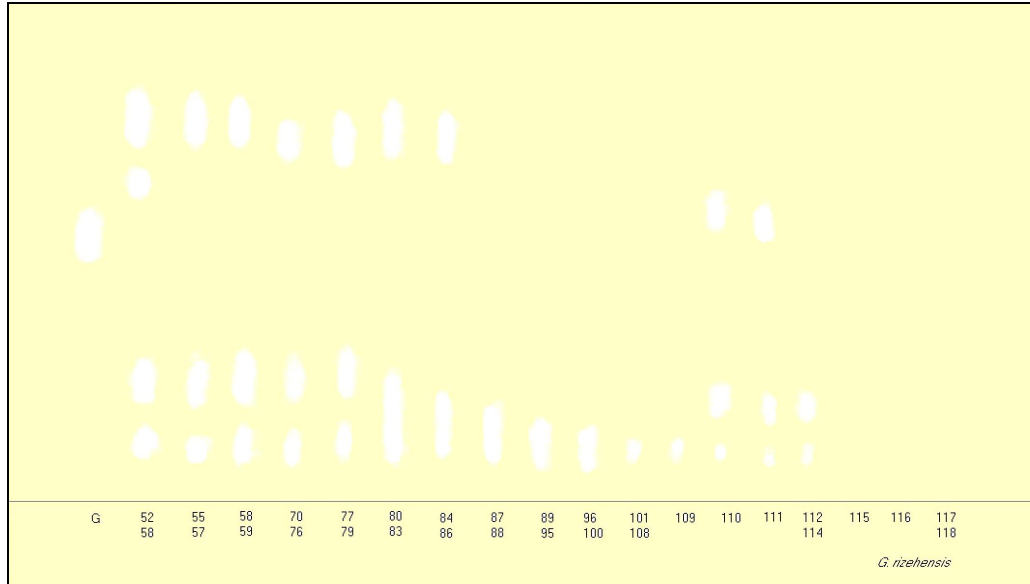
4. BİYOLOJİK AKTİVİTE REHBERLİĞİNDE İZOLASYON VE YAPI AYDINLATMA ÇALIŞMALARINA AİT BULGULAR

4. 1. ASETİLKOLİNESTERAZ İNHİBİTÖR AKTİVİTE TAYİNİNE AİT BULGULAR

Galanthus rizehensis Stern bitkisinin total alkaloit ekstresinden elde edilen fraksiyonlar üzerinde İ.T.K. yöntemiyle asetilkolinesteraz inhibitör aktivite deneyi uygulanmıştır. Sarı zemin üzerinde görülen beyaz lekeler inhibisyonun varlığını göstermiştir. Tespit edilen aktif fraksiyonlar Resim 59 ve 60'da görülmektedir.



Resim 59 . *Galanthus rizehensis* Total Alkaloit Ekstresinin, 1-51. Fraksiyonlarının Asetilkolinesteraz İnhibitör Aktiviteleri (G: Galantamin)



Resim 60. *Galanthus rizehensis* Total Alkaloit Ekstresinin, 52-118. Fraksiyonlarının Asetilkolinesteraz İnhibitör Aktiviteleri (G: Galantamin)

4. 2. İZOLASYONLA ELDE EDİLEN BİLEŞİKLERE AİT BULGULAR

4. 2. 1. GR-1 Bileşiminin Spektral Bulguları

HR-ESI Kütle (Spektrum 1)

m/z : 211.0866 $[M + H]^+$ (Teorik Değer: 211.0862)

1H NMR (Spektrum 2)

(300 MHz, $CDCl_3$) δ 8.55 (1H, d, $J = 4.8$ Hz, H-3), 8.16 (1H, d, $J = 4.8$, H-4), 8.15 (1H, m, H-5), 7.62 (1H, *brd*, $J = 8.0$ Hz, H-8), 7.60 (1H, ddd, $J = 8.6, 0.8$ Hz, H-7), 7.34 (1H, ddd, $J = 8.6, 2.0$ Hz, H-6), 2.91 (s, 3H) ppm

Genişletilmiş 1H NMR (Spektrum 3, 4)

^{13}C NMR (Spektrum 5)

(125 MHz, $CDCl_3$) δ 203.3 (C=O), 141.2 (C-8a), 138.2 (C-3), 136.1 (C-1), 135.5 (C-9a), 131.6 (C-4a), 129.3 (C-7), 121.8 (C-5), 120.8 (C-6), 120.6 (C-4b), 119.1 (C-4), 112.0 (C-8), 25.9 (CH_3) ppm

DEPT 135 (Spektrum 6)

1H , 1H COSY (Spektrum 7) (Tablo 37)

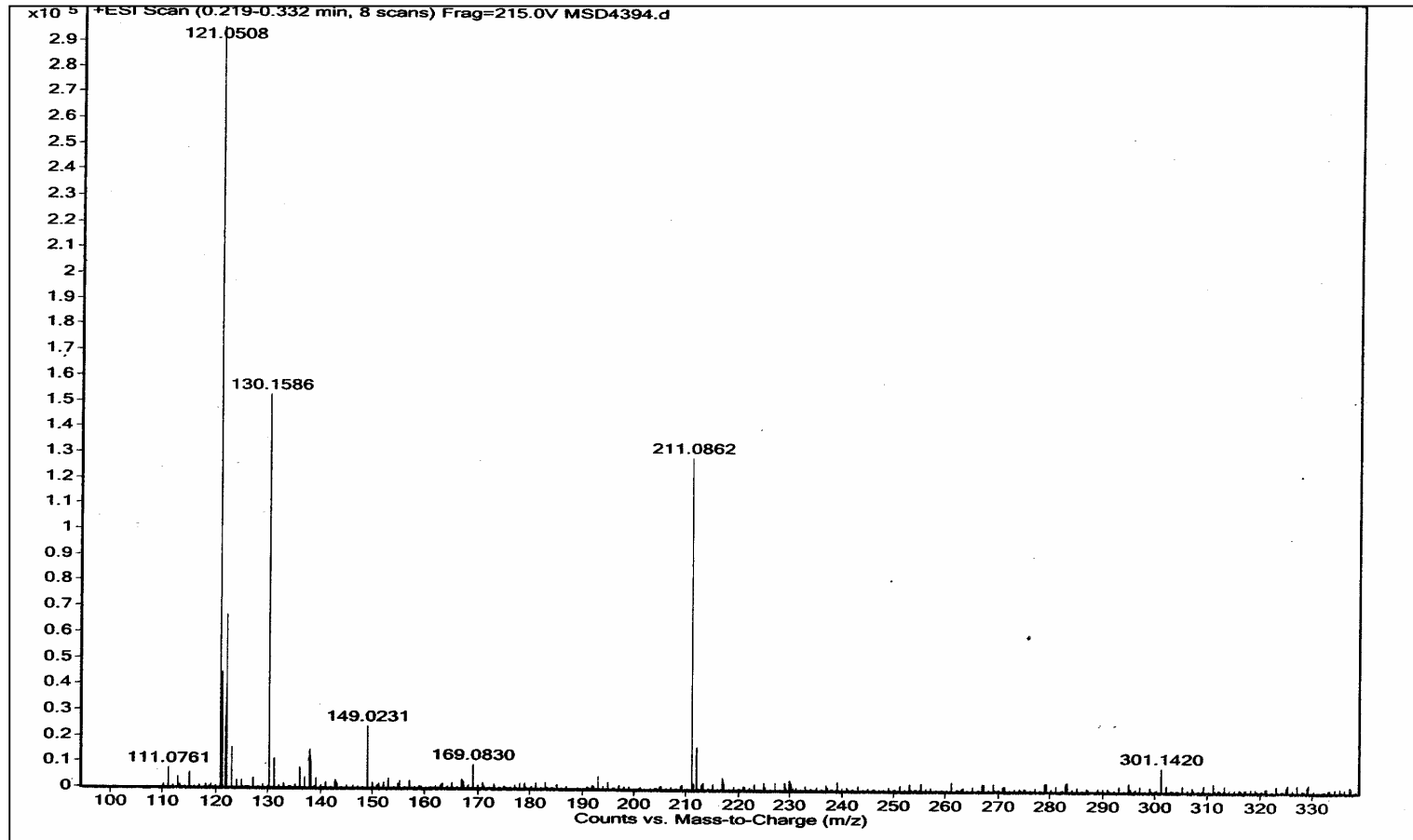
NOESY(Spektrum 8) (Tablo 37)

HSQC (Spektrum 9) (Tablo 37)

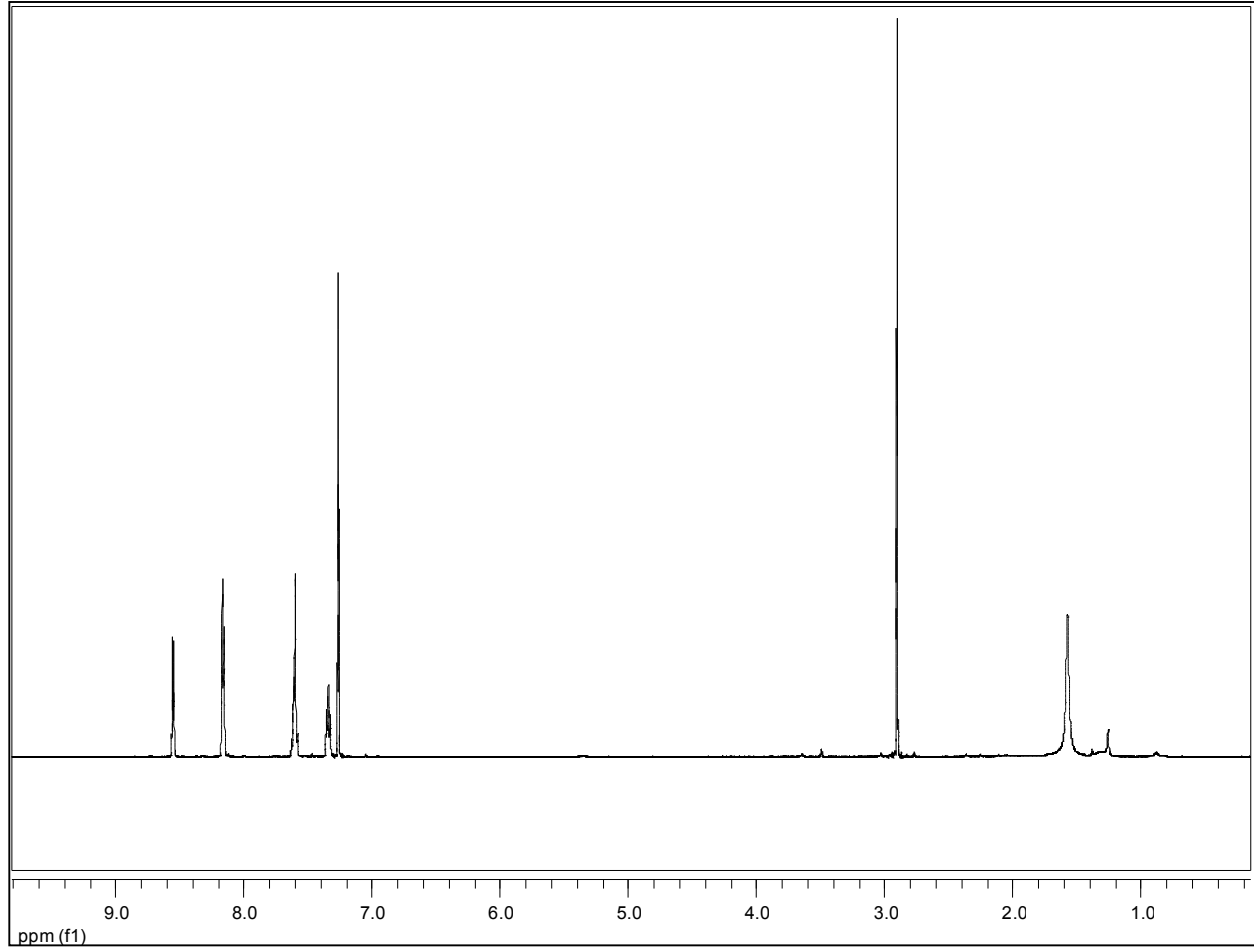
HMBC (Spektrum 10) (Tablo 37)

H	¹ H (δ)	¹³ C (δ)/HSQC	HMBC	¹ H, ¹ H COSY	NOESY
1	-	136.1	-	-	-
3	8.55	138.2	C-1, C-4, C-4a	H-4	H-4
4	8.16	119.1	C-3, C-4a, C-9a,	H-3	H-3
4a	-	131.6	-	-	-
4b	-	120.6	-	-	-
5	8.15	121.8	C-4b, C-7, C-8a	H-6, H-7	H-6
6	7.34	120.8	C-4b, C-5, C-8a	H-5, H-7	H-5, H-7
7	7.60	129.3	C-8	H-5, H-6, H-8	H-6
8	7.62	112.0	C-6	-	-
8a	-	141.2	-	-	-
9	10.3	-	-	-	-
9a	-	135.5	-	-	-
<u>COCH</u> ₃	-	203.3	-	-	-
<u>COCH</u> ₃	2.91	25.9	C-1, <u>COCH</u> ₃	-	-

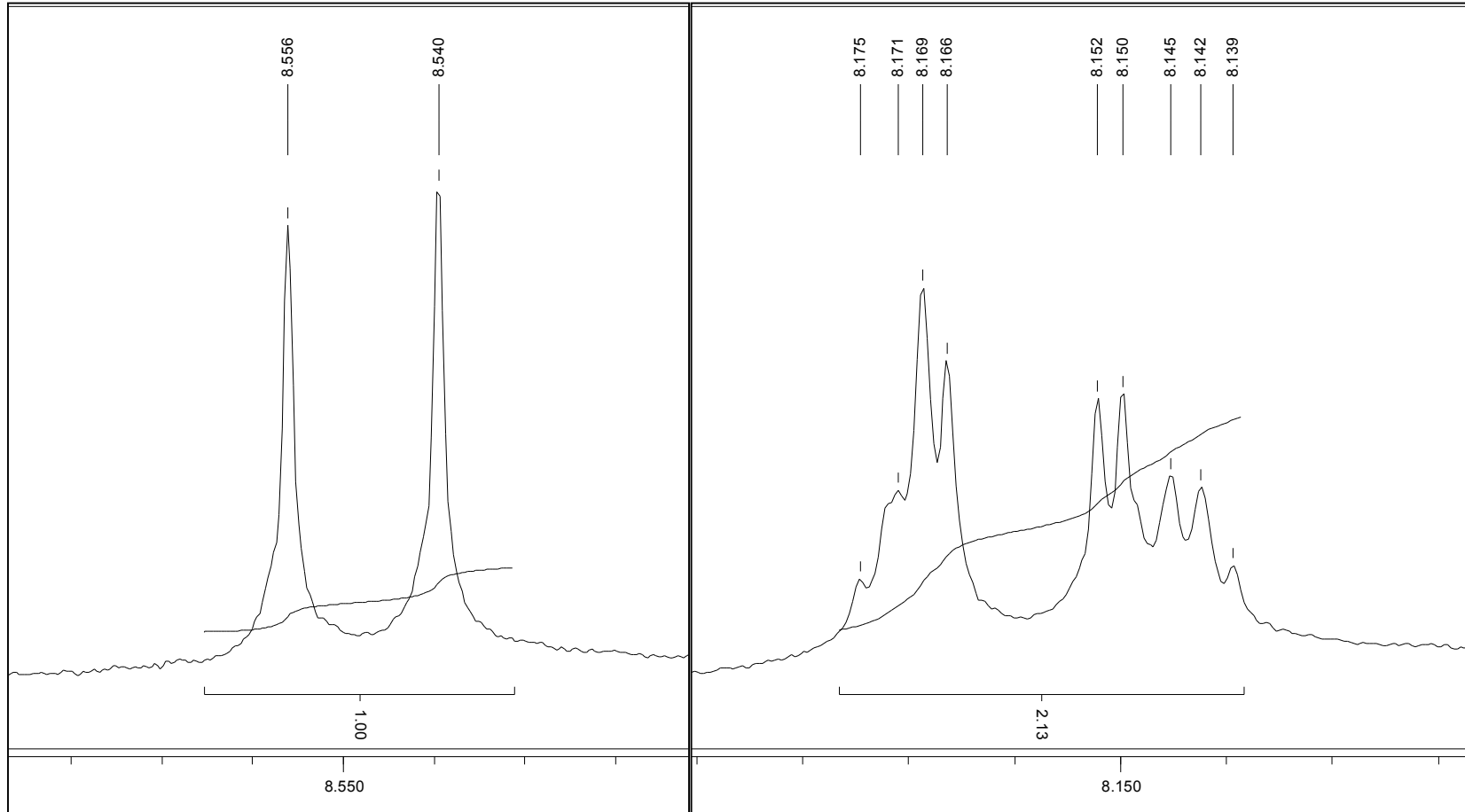
Tablo 37. GR-1 Kodlu Bileşğin 1D ve 2D NMR Spektral Bulguları



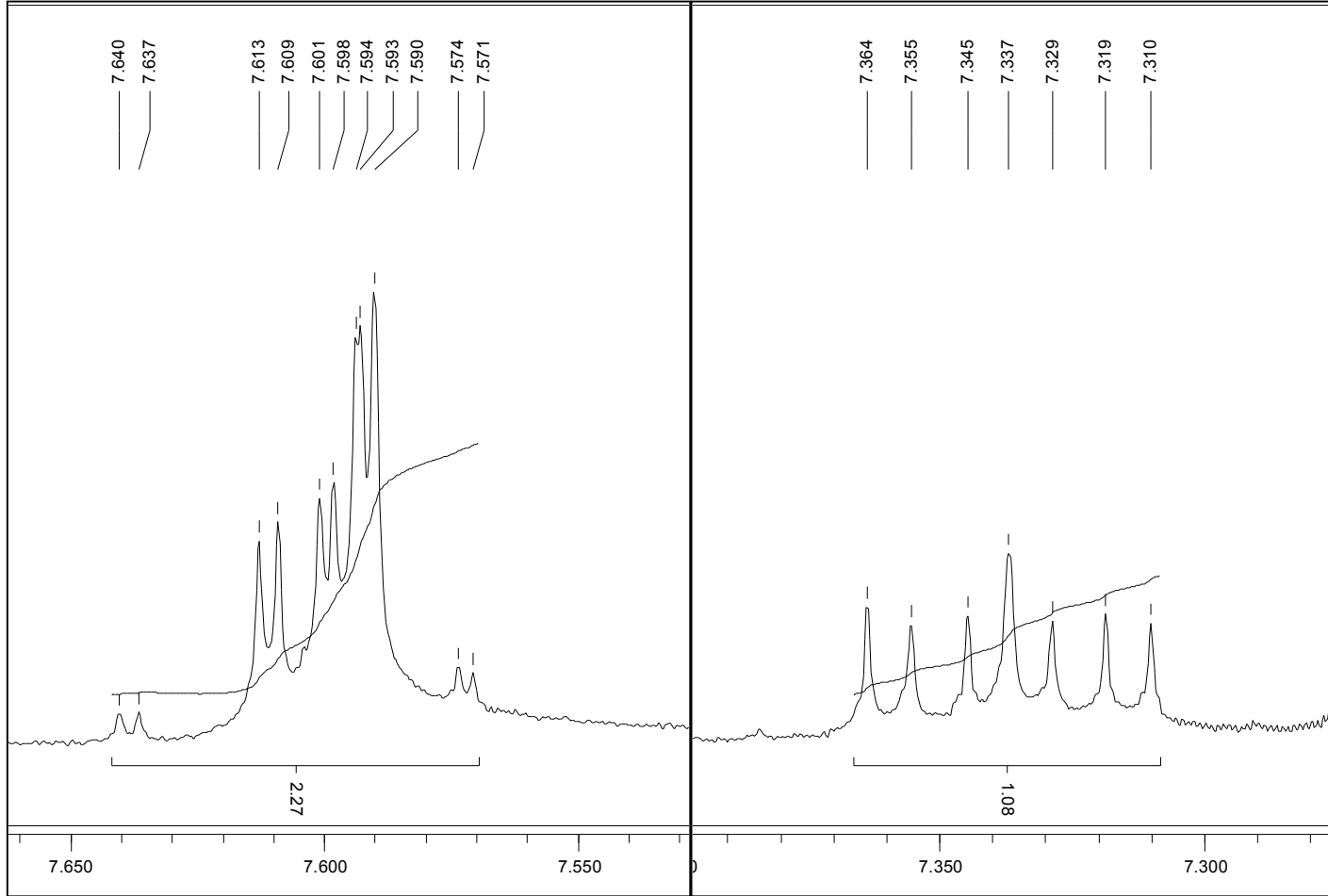
Spektrum 1. GR-1 Kodlu Bileşğin HR-ESI Kütle Spektrumu

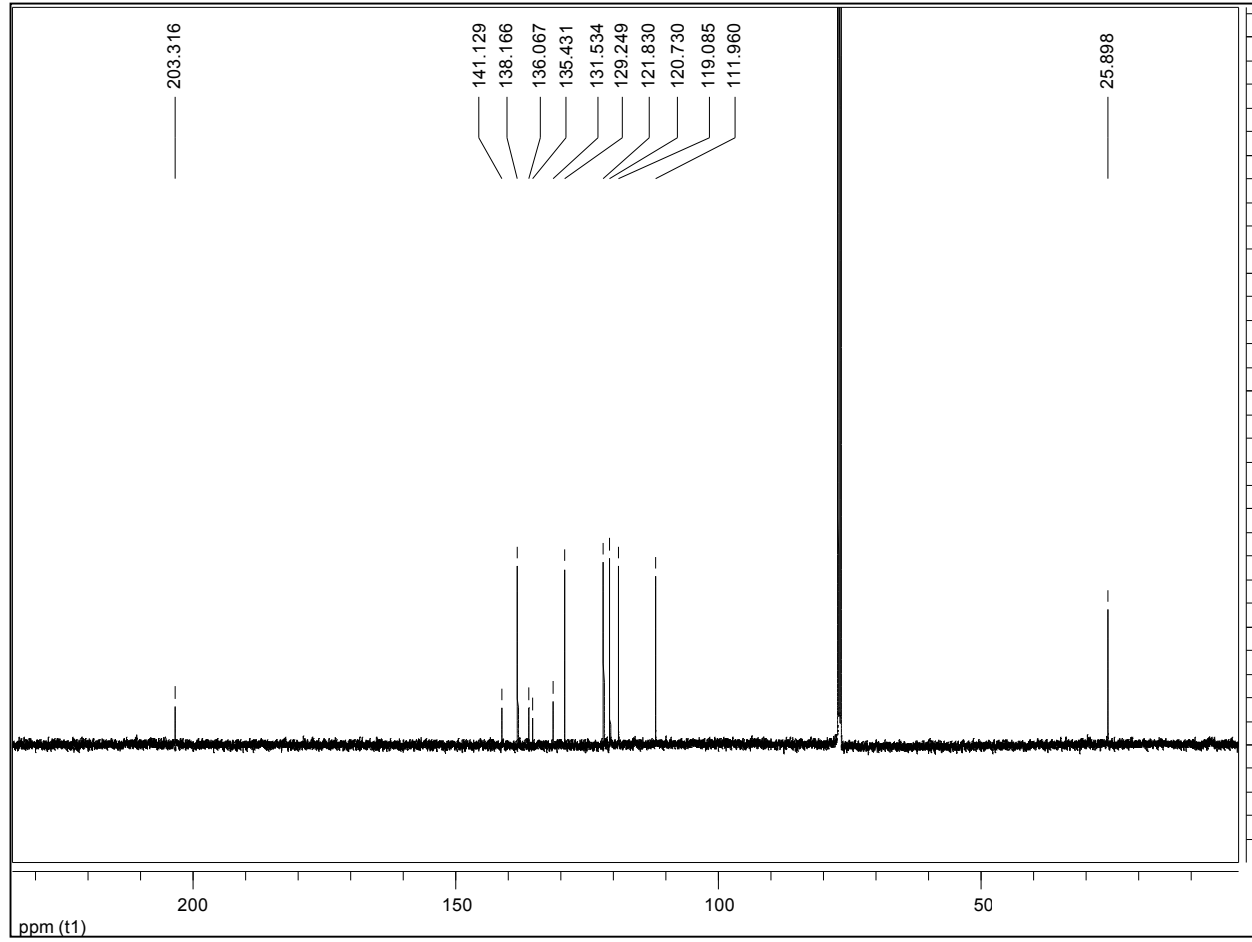


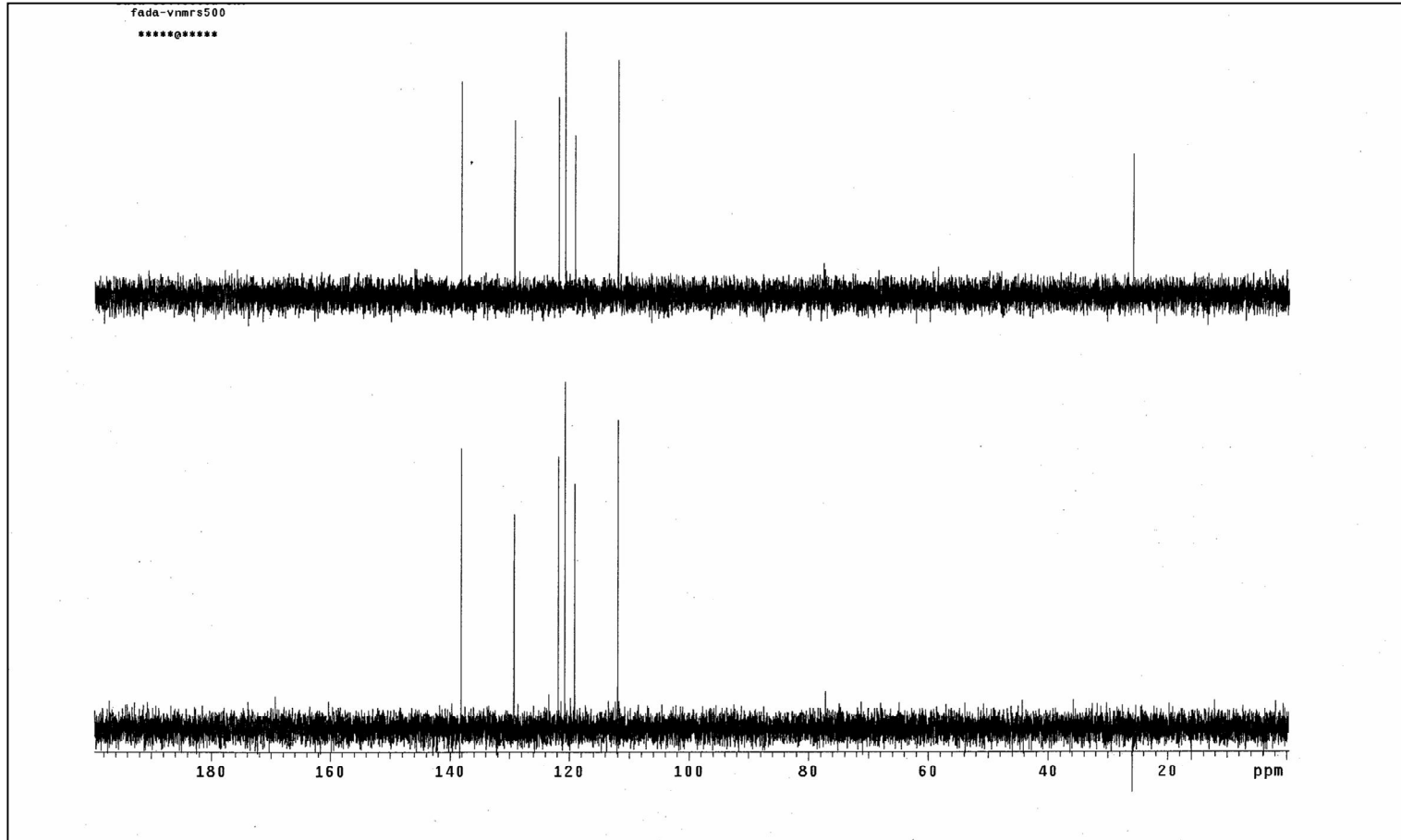
Spektrum 2. GR-1 Kodlu Bileşğin ^1H NMR Spektrumu



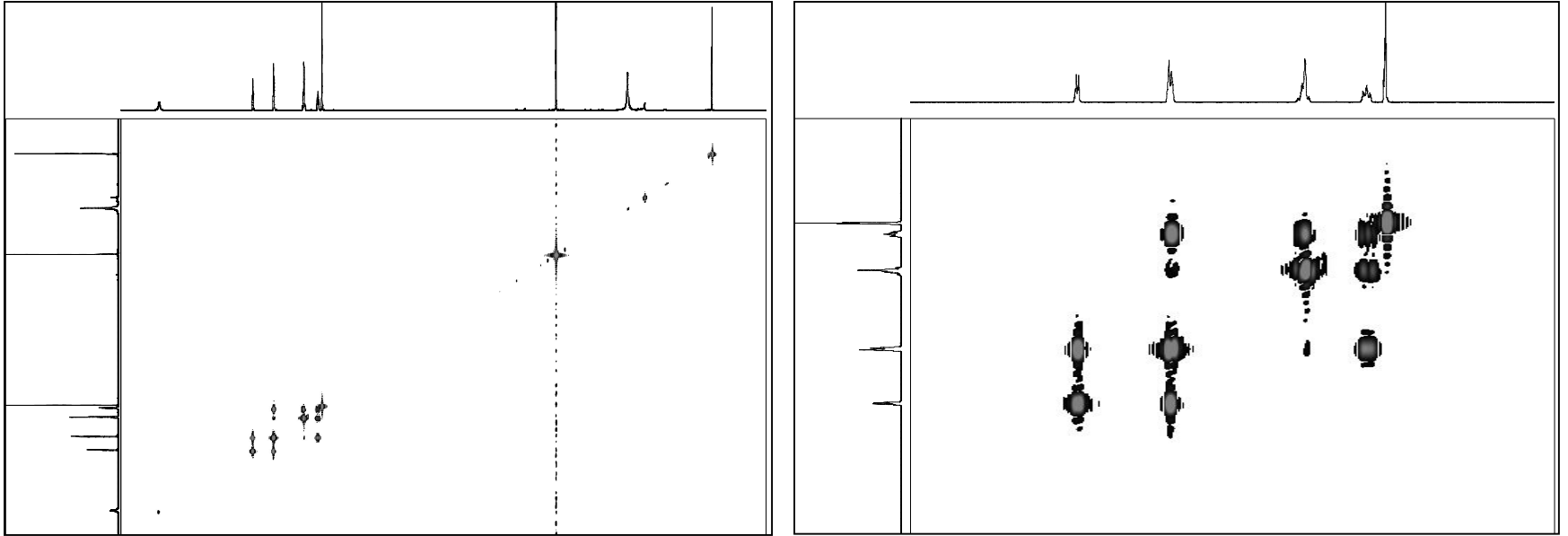
Spektrum 3. GR-1 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR Spektrumları

Spektrum 4. GR-1 Kodlu Bileşimin Genişletilmiş ^1H NMR Spektrumları

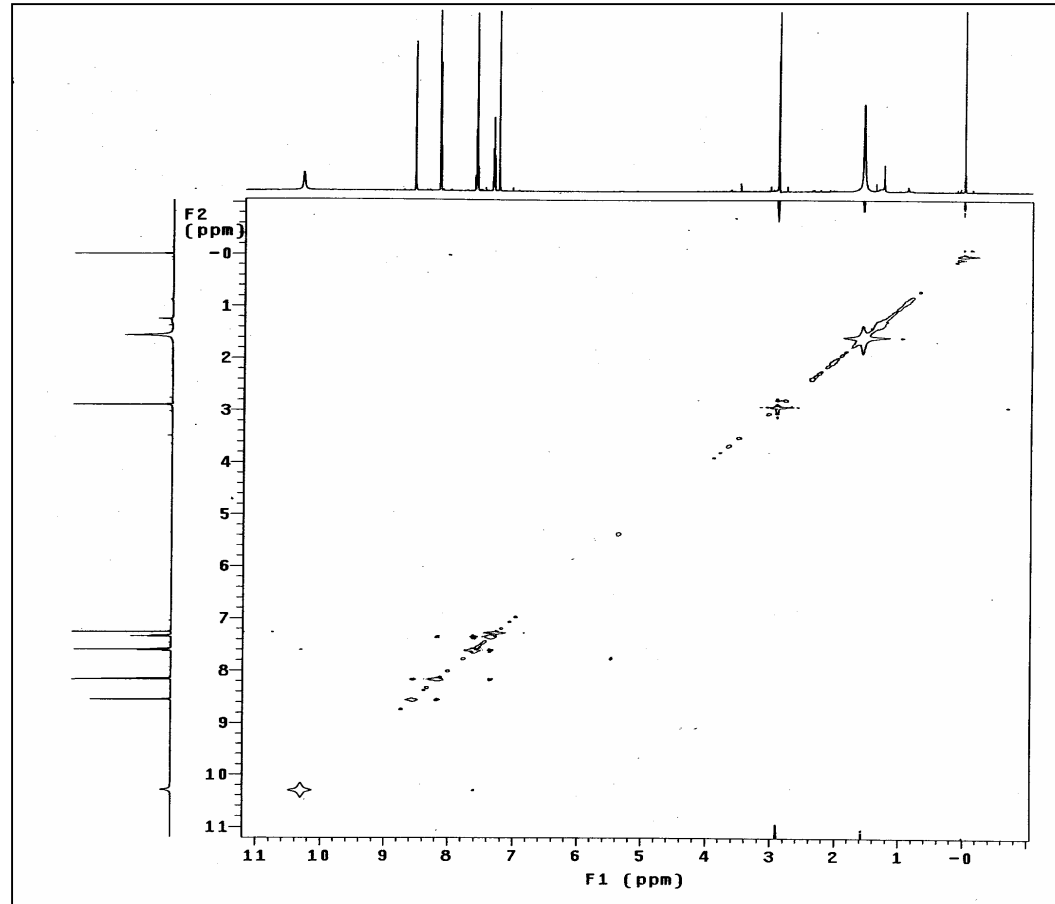
Spektrum 5. GR-1 Kodlu Bileşğin ¹³C NMR Spektrumu



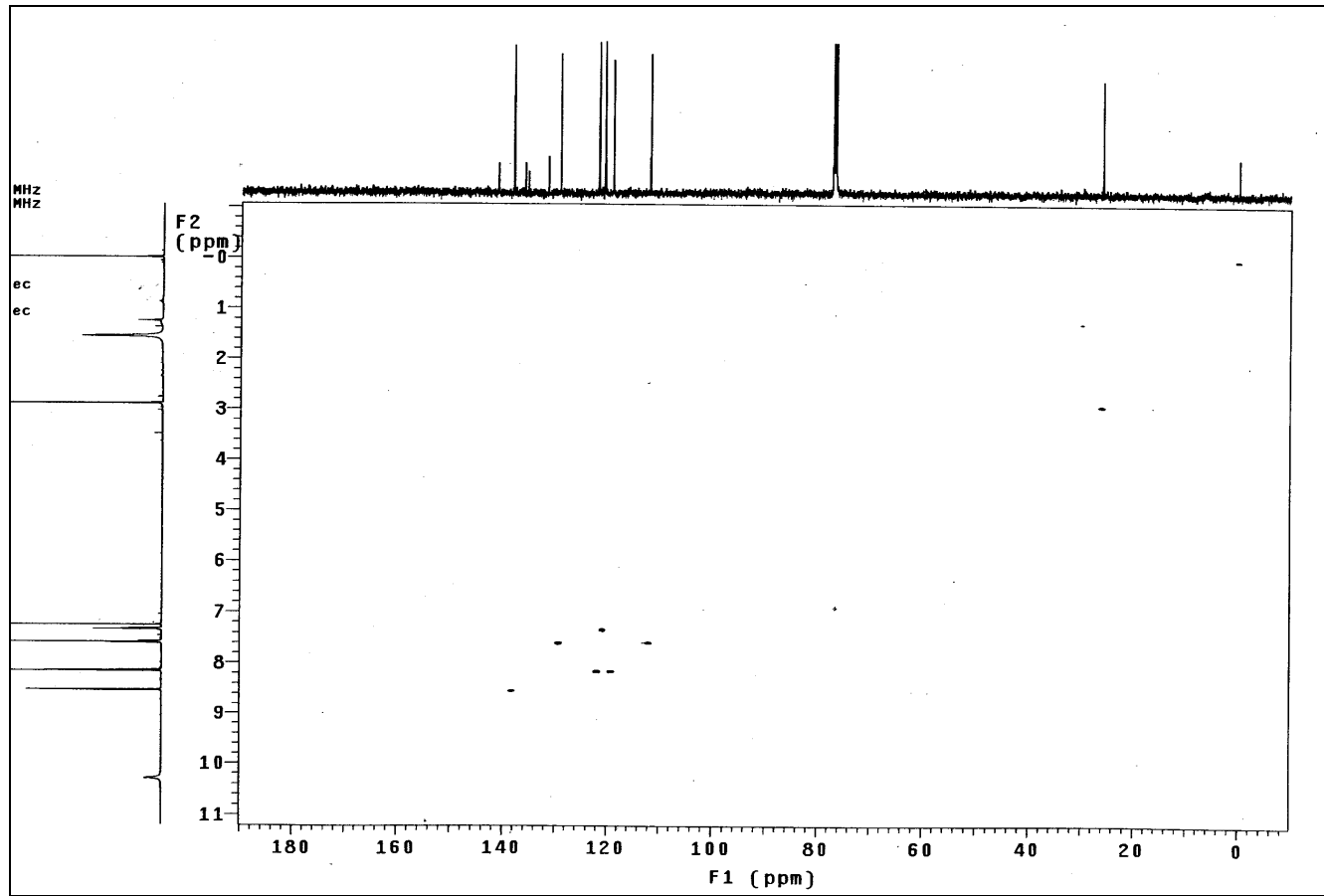
Spektrum 6. GR-1 Kodlu Bileşğin DEPT Spektrumu



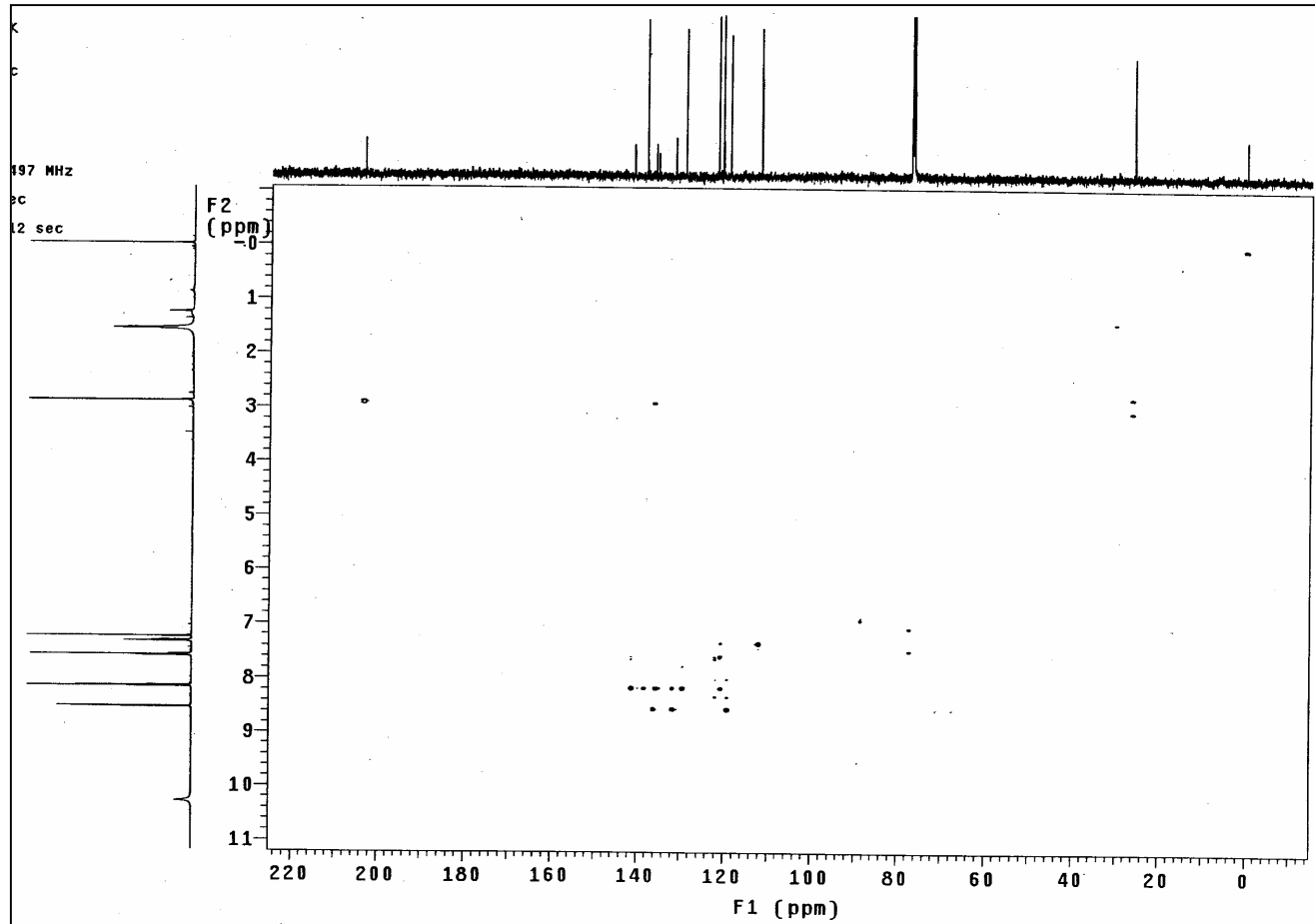
Spektrum 7. GR-1 Kodlu Bileşğin Normal ve Genişletilmiş ^1H , ^1H COSY Spektrumları



Spektrum 8. GR-1 Kodlu Bileşiğın NOESY Spektrumu



Spektrum 9. GR-1 Kodlu Bileşğin HSQC Spektrumu



Spektrum 10. GR-1 Kodlu Bileşğin HMBC Spektrumu

4. 2. 2. GR-2 Bileşğinin Spektral Bulguları

EI Kütlev (Spektrum 11)

m/z (%): 271 (M^+ , 100), 242 (7), 225 (2), 213 (16).

1H NMR (Spektrum 12)

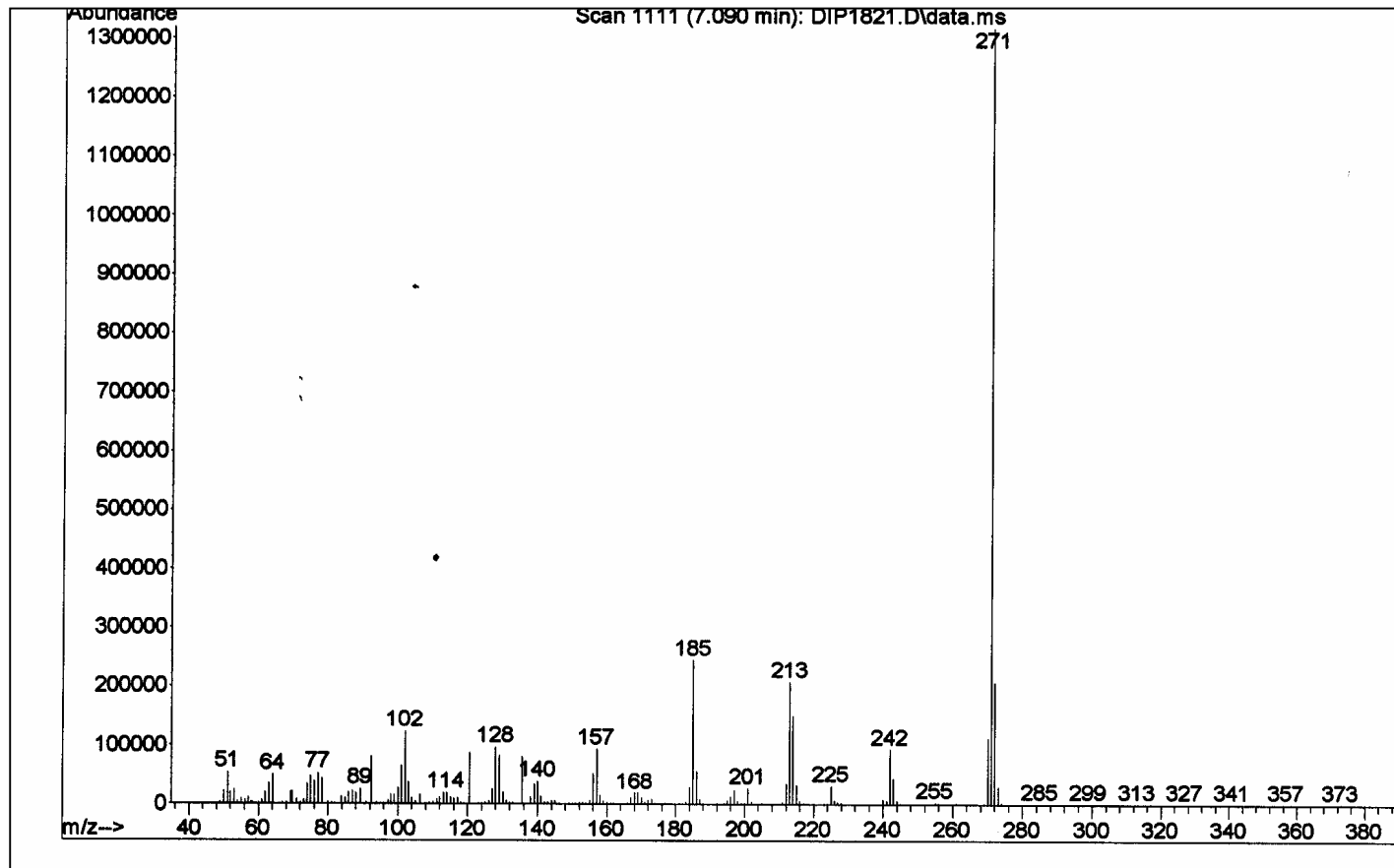
(300 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 7.89 (1H, dd, $J = 8.1, 0.9$ Hz, H-1), 7.70 (1H, s, H-10), 7.26 (1H, t, $J = 8.1$ Hz, H-2), 7.11 (1H, dd, $J = 8.1, 0.9$ Hz, H-3), 6.34 (2H, s, OCH₂O) ppm

Genişletilmiş 1H NMR (Spektrum 13)

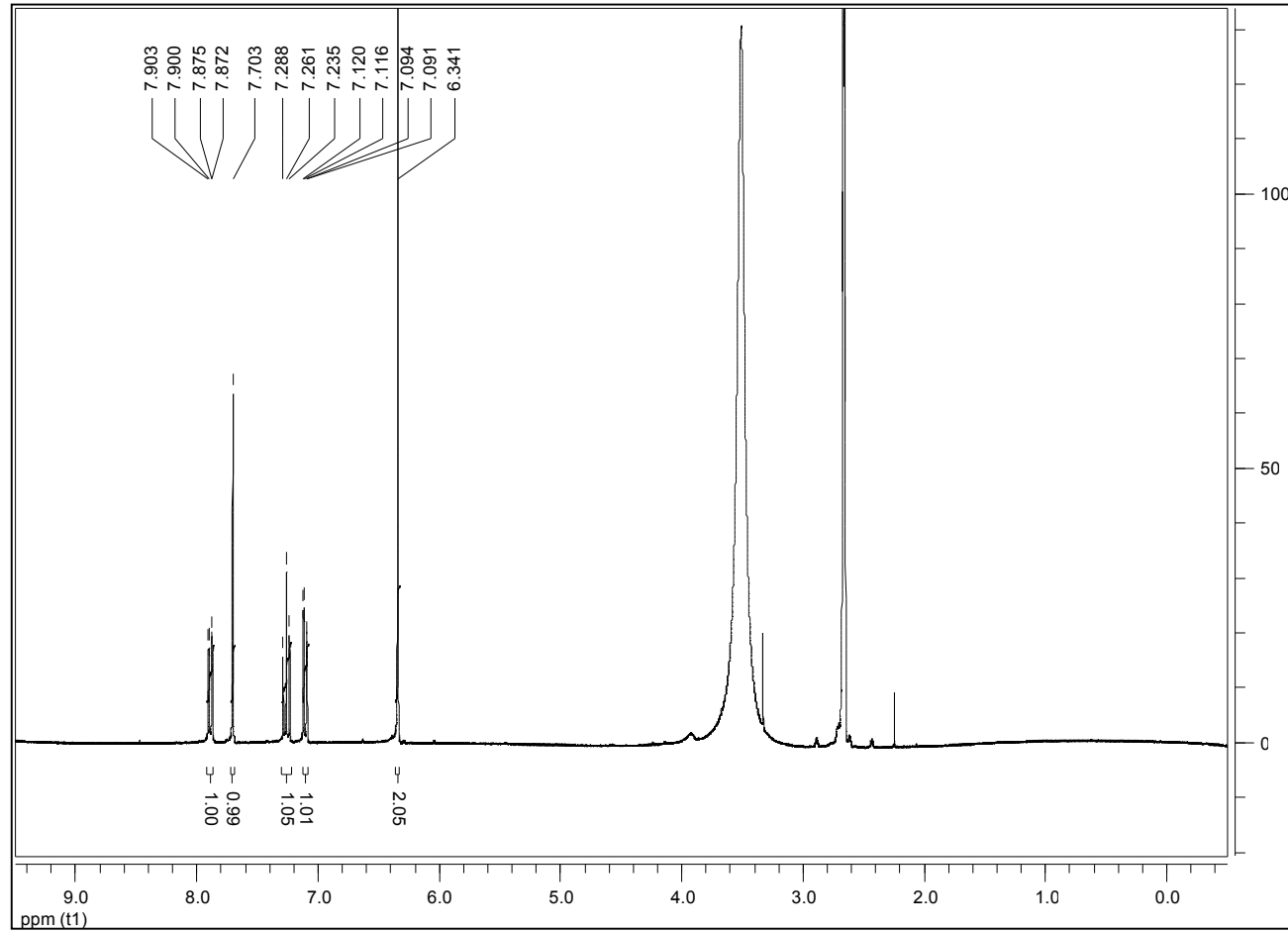
^{13}C NMR (Spektrum 14)

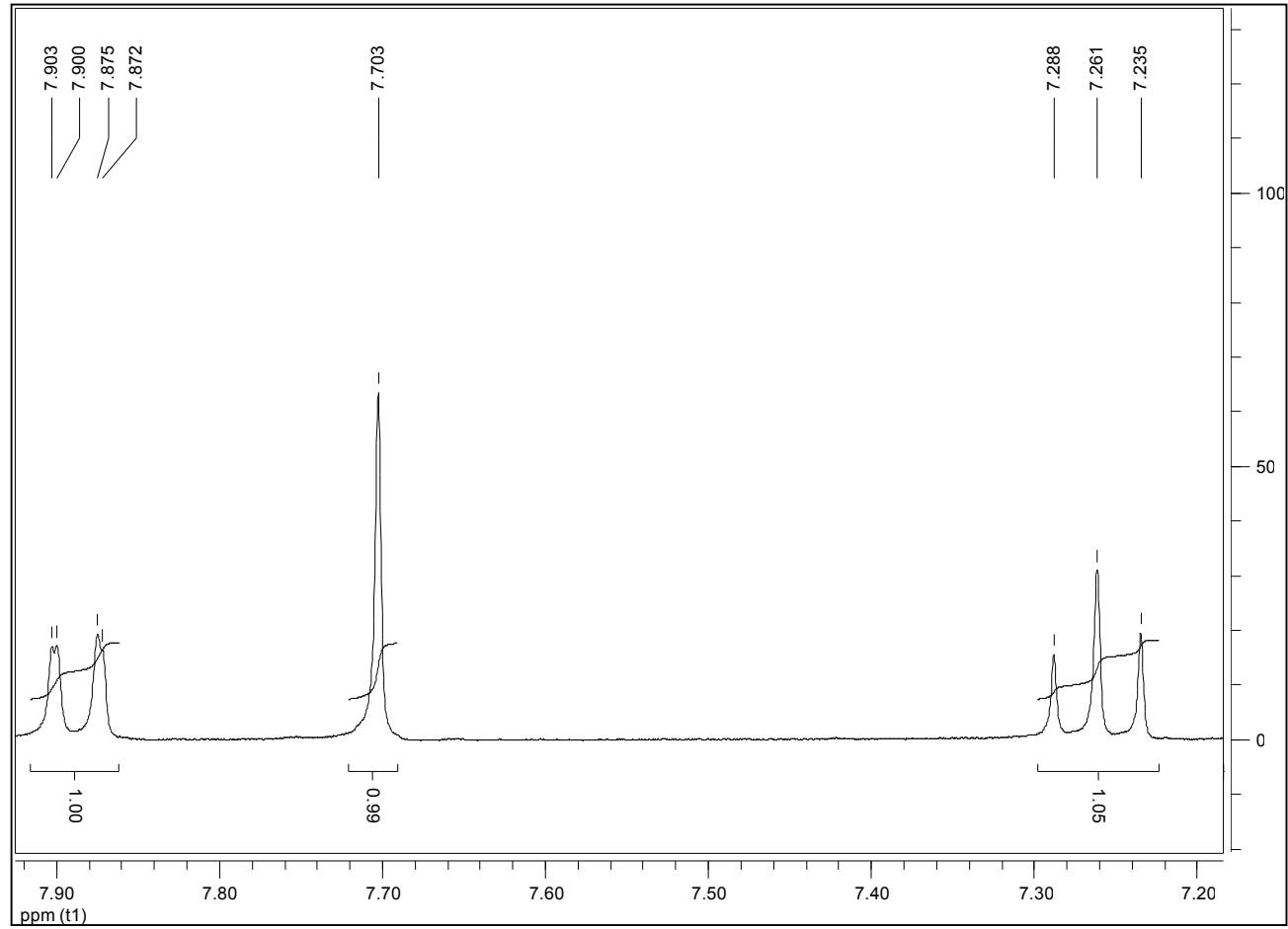
(100 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 165.6 (C=O), 154.3 (C-9), 145.6 (C-4), 145.1 (C-7), 133.0 (C-8), 132.6 (C-6a), 124.6 (C-4a), 123.9 (C-2), 120.1 (C-10b), 114.5 (C-1), 114.2 (C-3), 107.8 (C-10a), 103.0 (OCH₂O), 94.4 (C-10) ppm

DEPT 135 (Spektrum 15)

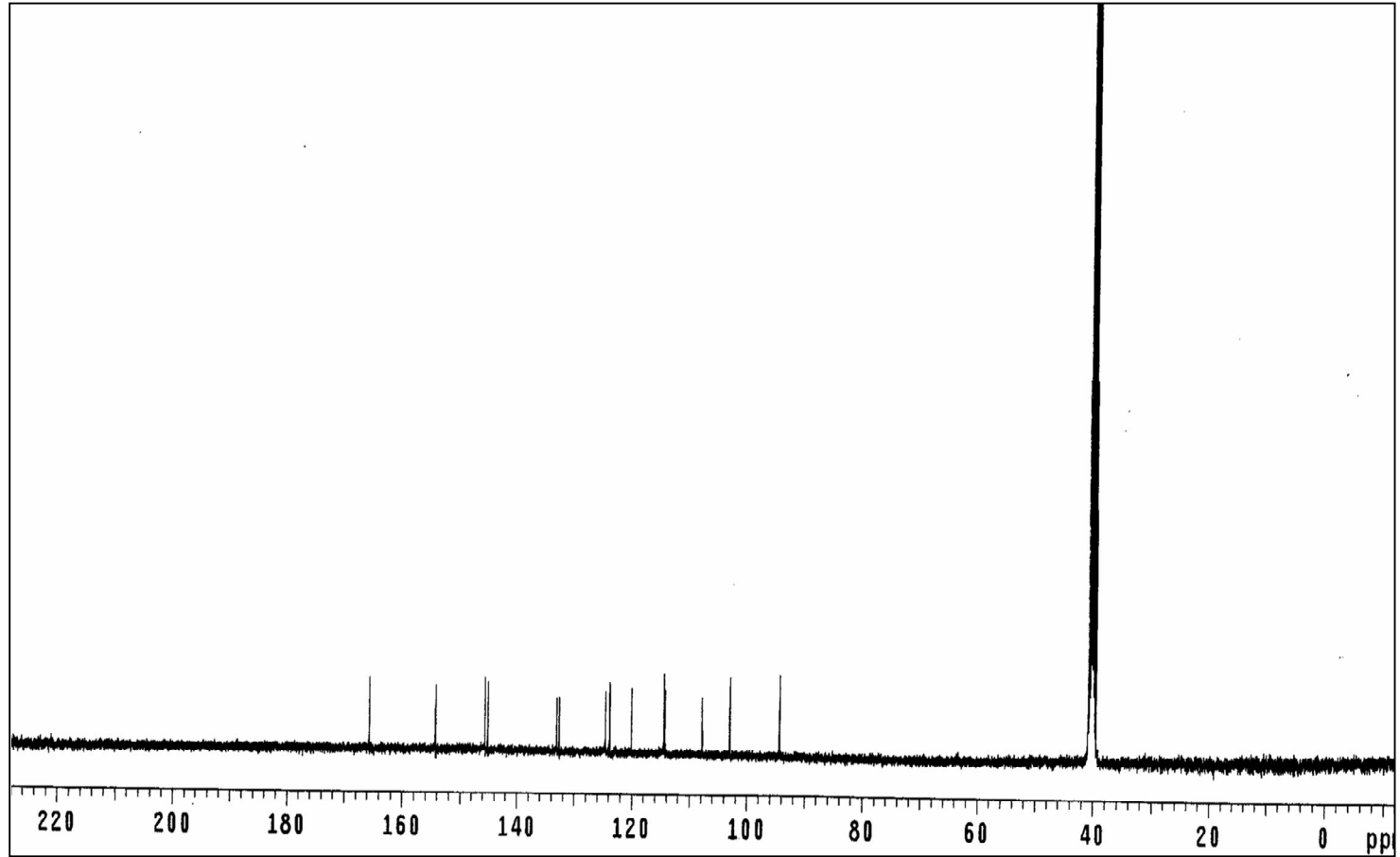


Spektrum 11. GR-2 Kodlu Bileşğin EI Kütle Spektrumu

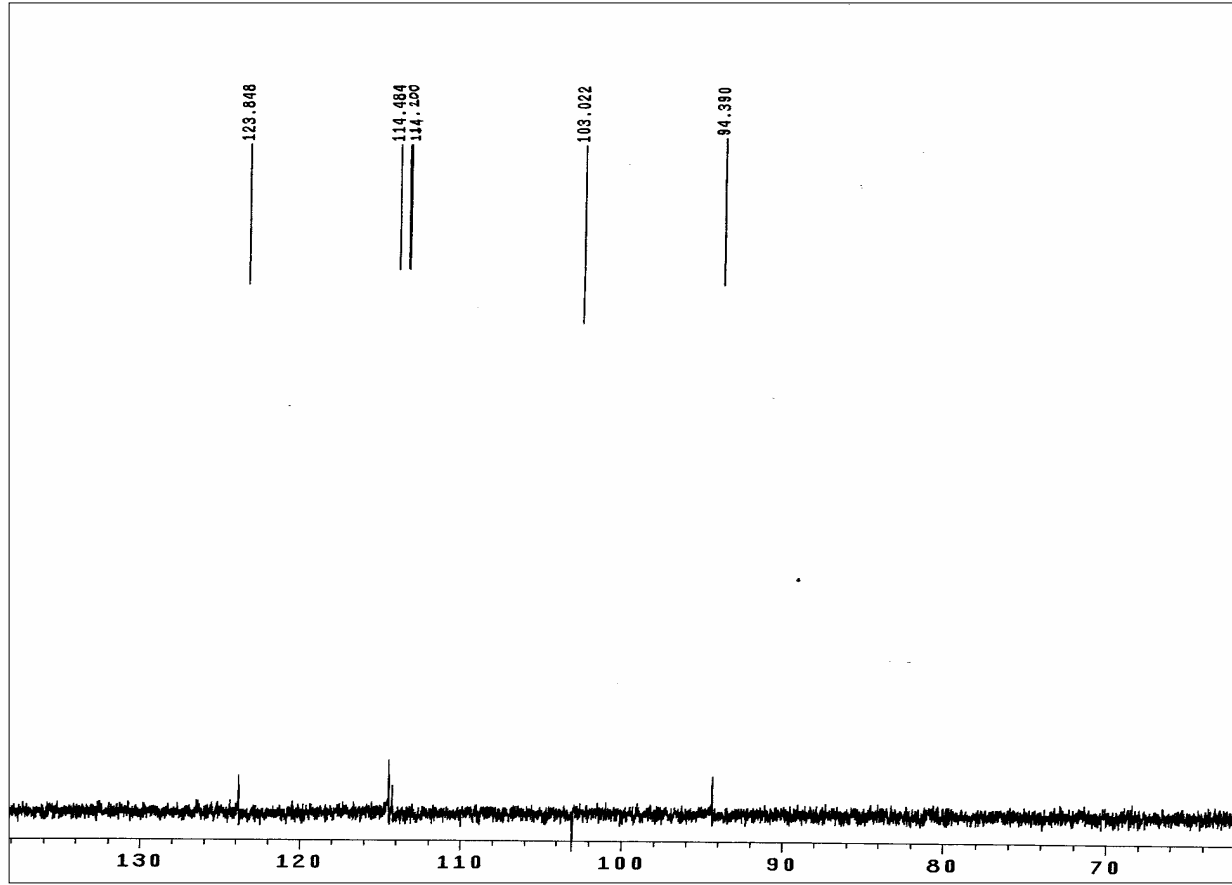
Spektrum 12. GR-2 Kodlu Bileşğin ^1H NMR Spektrumu



Spektrum 13. GR-2 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR Spektrumu



Spektrum 14. GR-2 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR Spektrumu



Spektrum 15. GR-2 Kodlu Bileşğin DEPT Spektrumu

4. 2. 3. GR-3 Bileşğinin Spektral Bulguları

$[\alpha]_D -22.4^0$ (CHCl₃; c 0.05)

EI Kütle (Spektrum 16)

m/z (%): 333 (M⁺, 50), 332 (84), 296 (11), 259 (71), 258 (81)

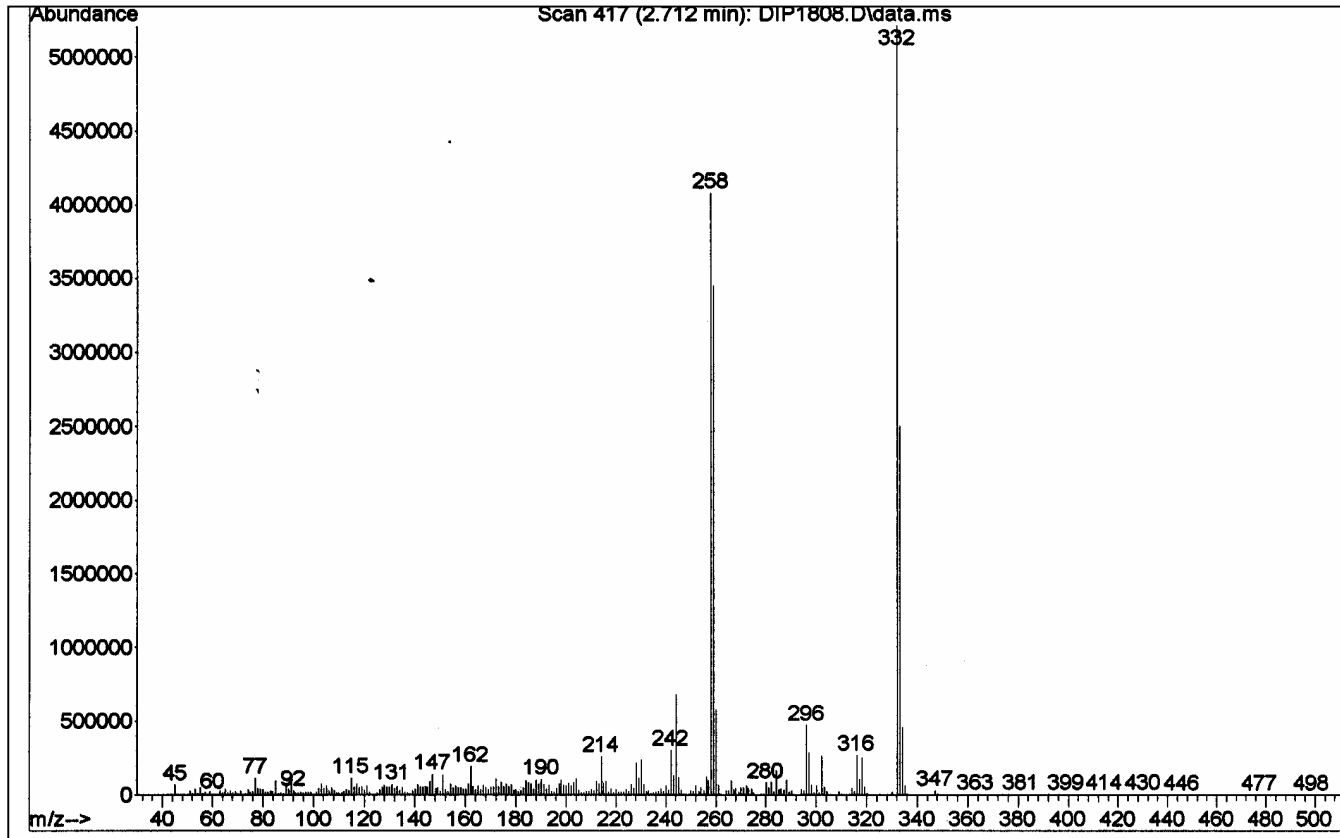
¹H NMR (Spektrum 17)

(400 MHz, CDCl₃) δ ppm 6.82 (1H, s, H-10), 6.62 (1H, s, H-7), 4.50 (1H, *brs*, H-1), 4.11 (1H, d, $J = 14.0$ Hz, H-6), 3.89 (1H, Ar-OMe sinyali altında kalmış, H-2), 3.88 (3H, s, 9-OMe), 3.84 (3H, s, 8-OMe), 3.70 (1H, d, $J = 14.0$ Hz, H-6), 3.57 (3H, s, 2-OMe), 3.52 (1H, *brd*, $J = 1.2$ Hz, H-3), 3.24 (1H, ddd, $J = 8.0, 1.6$ Hz, H-12), 2.86 (1H, d, $J = 10.8$ Hz, H-10b), 2.65 (1H, m, H-12), 2.61 (1H, d, $J = 10.8$ Hz, H-4a), 2.42 (1H, m, H-11), 2.04 (1H, ddd, $J = 14.4, 6.4, 2.6$ Hz, H-11) ppm

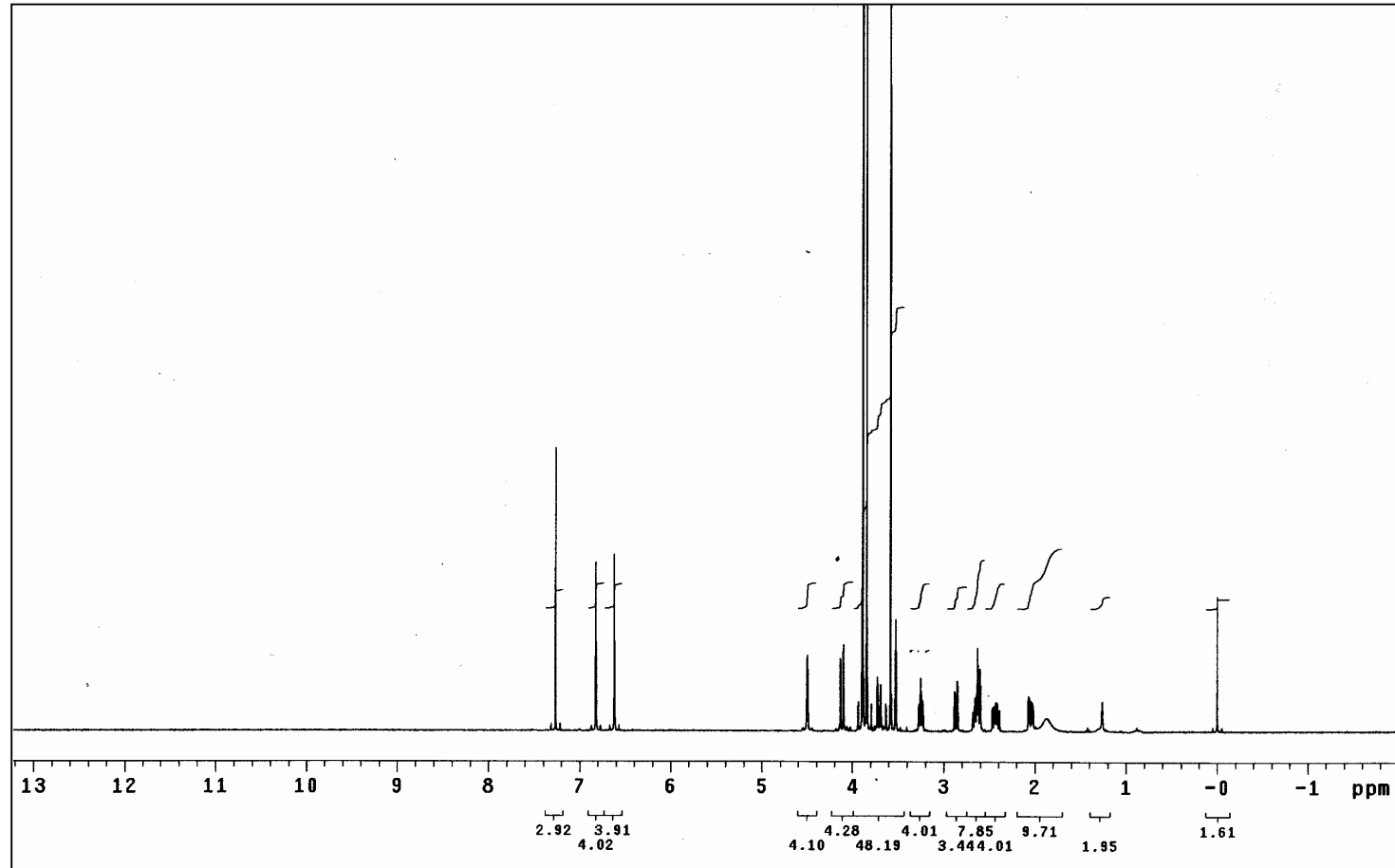
¹³C NMR (Spektrum 18)

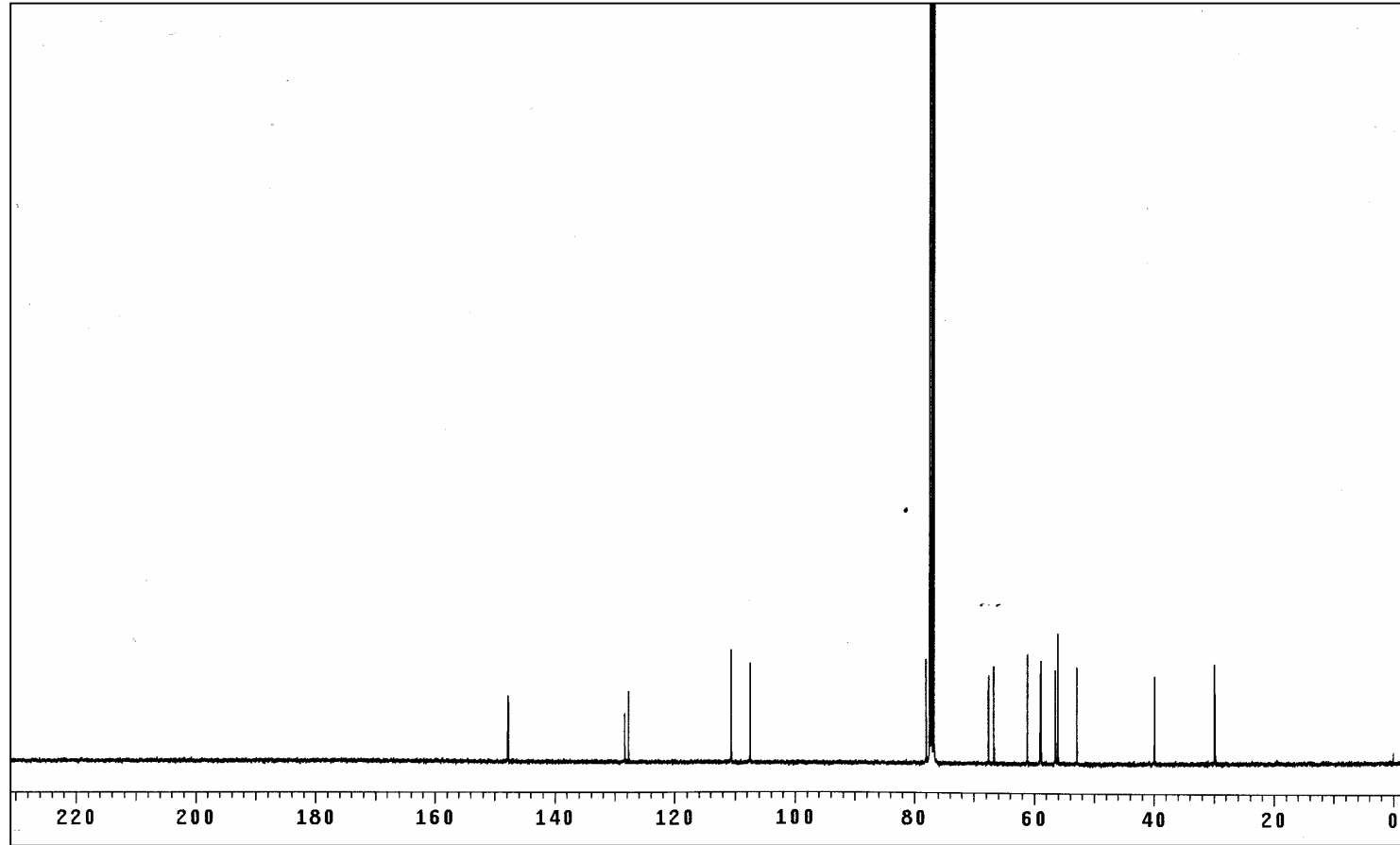
(100 MHz, CDCl₃) δ ppm 147.8 (C-9), 147.7 (C-8), 128.3 (C-6a), 127.7 (C-10a), 110.6 (C-7), 107.5 (C-10), 78.0 (C-2), 67.5 (C-1), 66.7 (C-4), 61.1 (C-4a), 59.0 (C-3), 58.8 (2-OMe), 56.5 (C-6), 56.1 (9-OMe), 56.0 (8-OMe), 52.8 (C-12), 39.9 (C-10b), 29.9 (C-11) ppm

DEPT 135 (Spektrum 19)

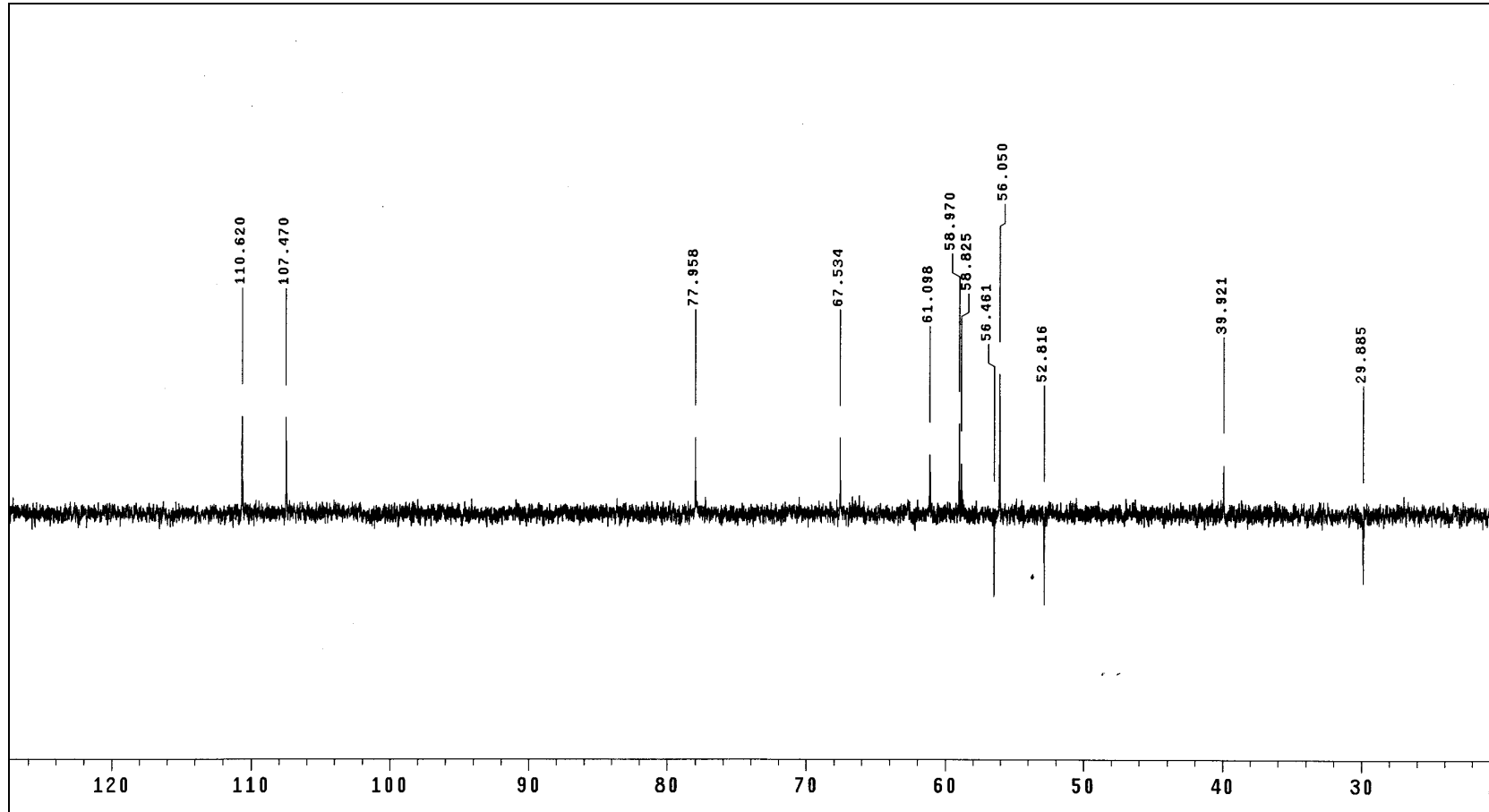


Spektrum 16. GR-3 Kodlu Bileşğin EI Kütle Spektrumu

Spektrum 17. GR-3 Kodlu Bileşğin ^1H NMR Spektrumu



Spektrum 18. GR-3 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR Spektrumu



Spektrum 19. GR-3 Kodlu Bileşğin DEPT Spektrumu

4. 2. 4. GR-4 Bileşğinin Spektral Bulguları

EI Kütle (Spektrum 20)

m/z (%): 255 (M⁺, 100), 226 (9), 169 (6), 141 (12), 127 (7), 113 (8), 57 (7)

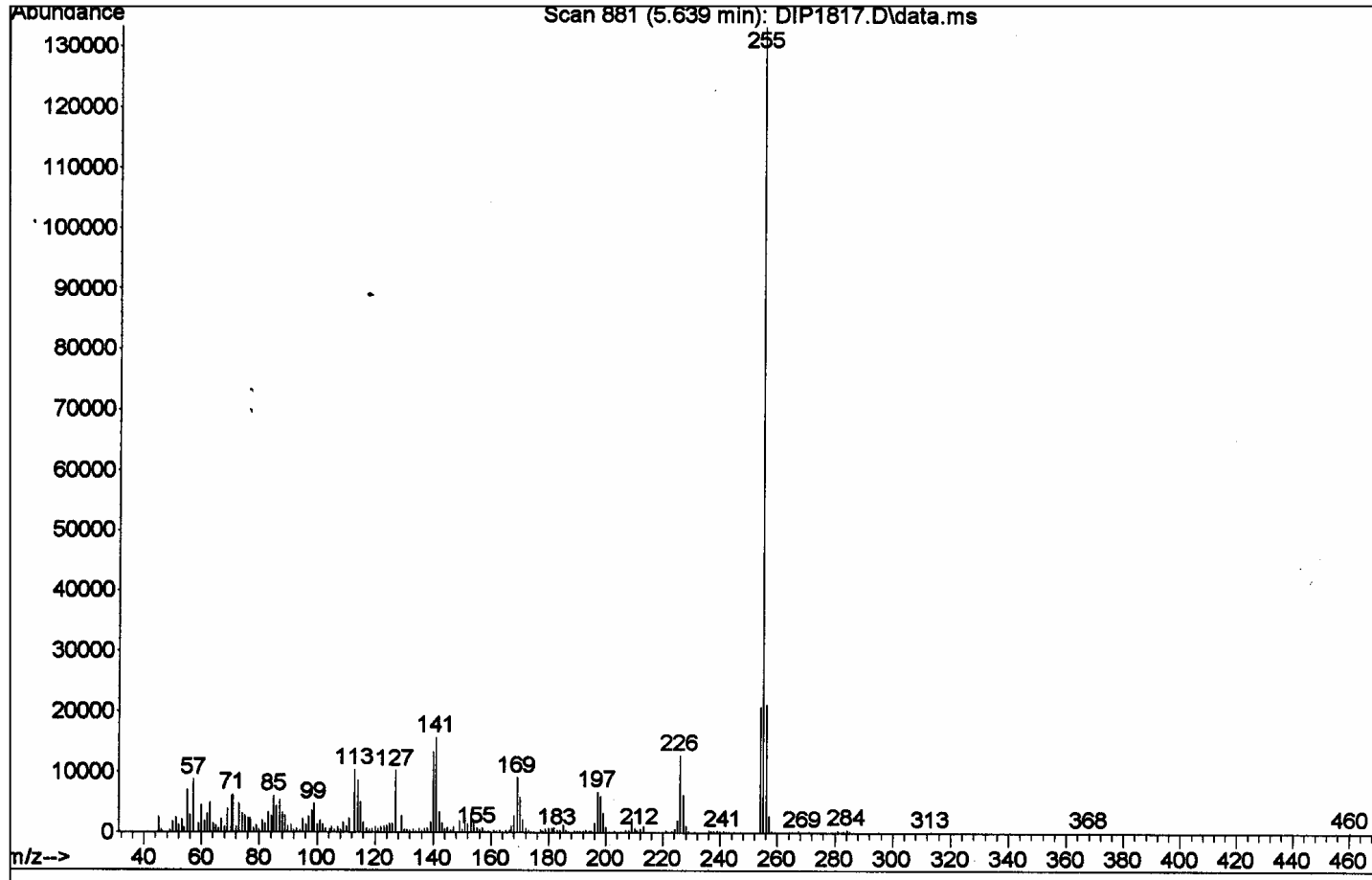
¹H NMR (Spektrum 21)

(300 MHz, DMSO-d₆) δ 8.13 (1H, s, H-10), 7.9 (1H, dd, *J* = 8.1, 0.9 Hz, H-1),
7.81 (1H, s, H-7), 7.20 (1H, t, *J* = 8.1 Hz, H-2), 7.08 (1H, dd, *J* = 8.1, 0.9 Hz, H-3),
6.38 (2H, s, OCH₂O) ppm

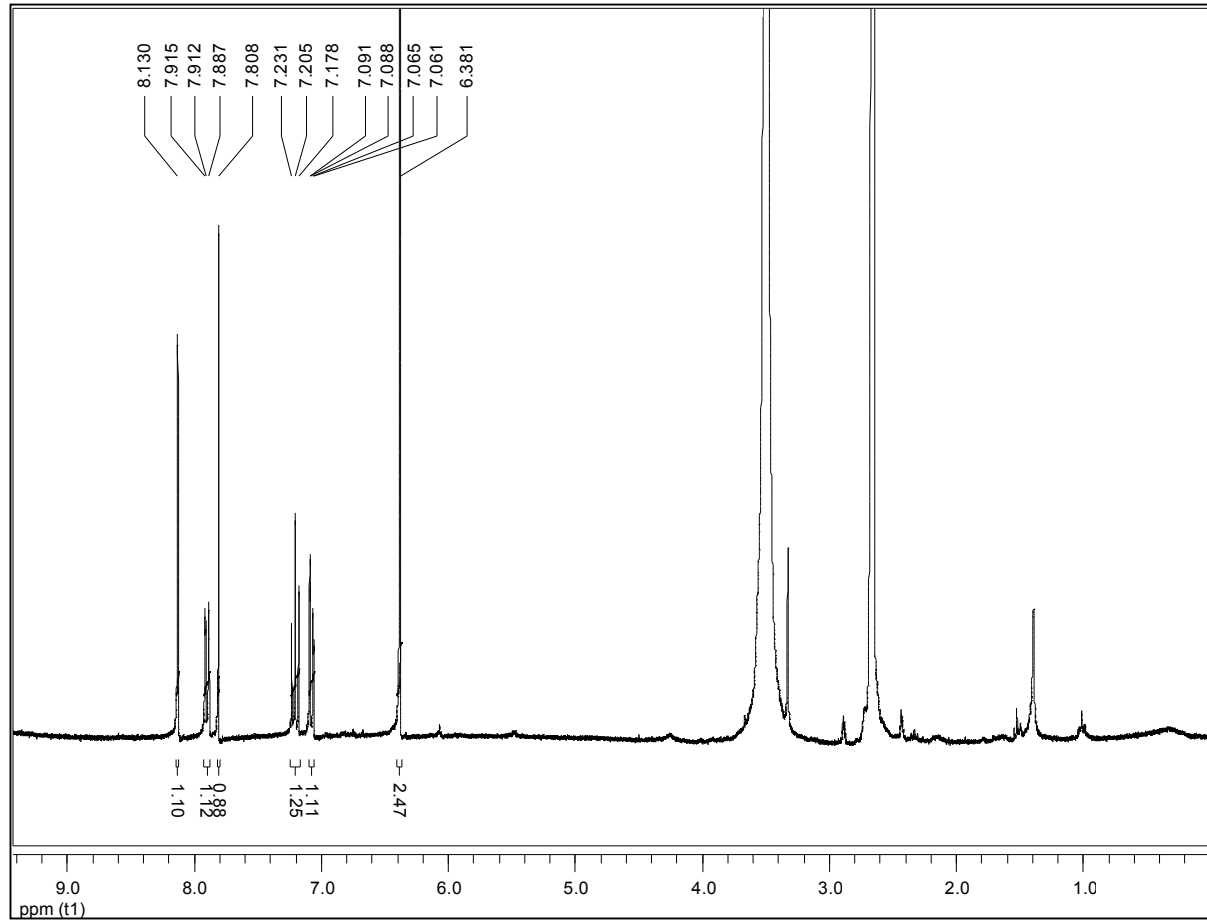
Genişletilmiş ¹H NMR (Spektrum 22)

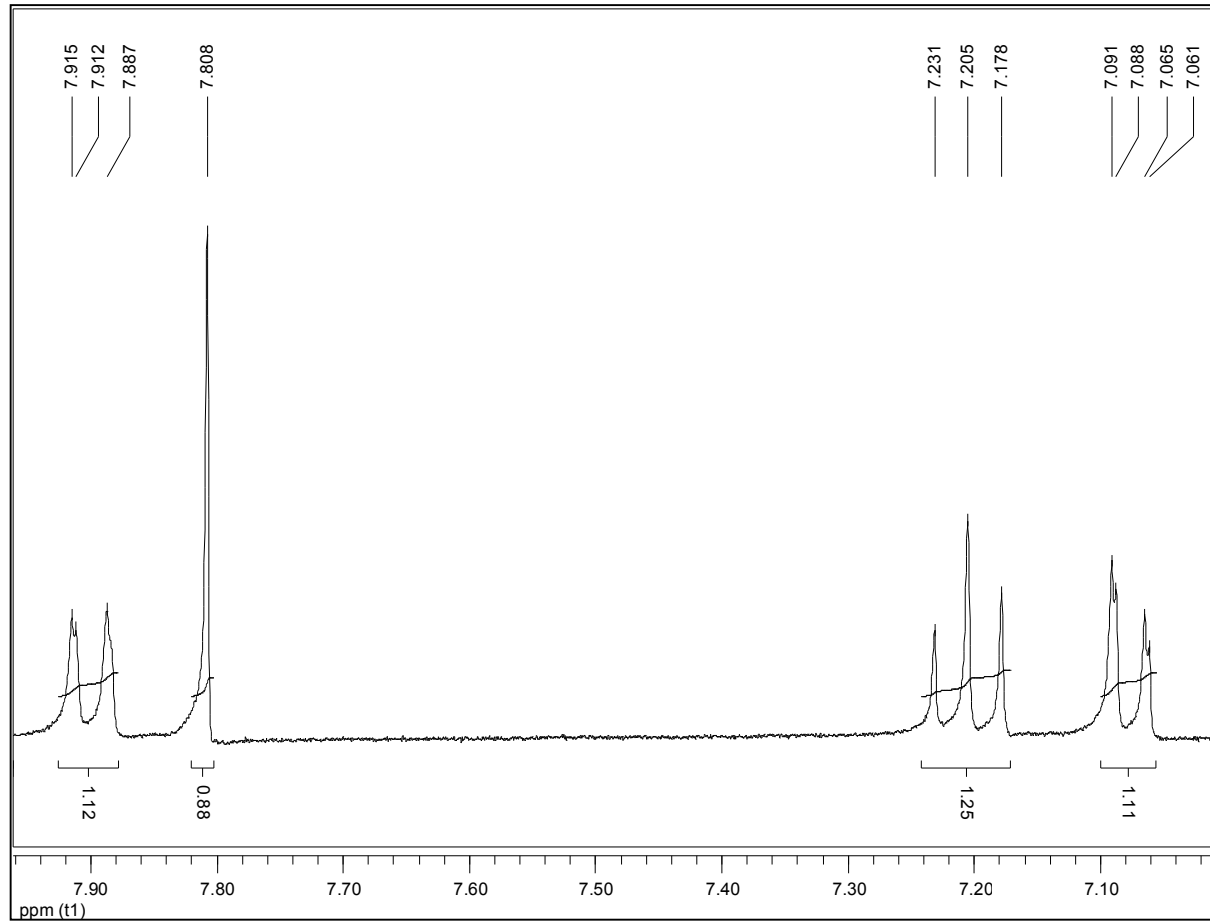
¹³C NMR (Spektrum 23)

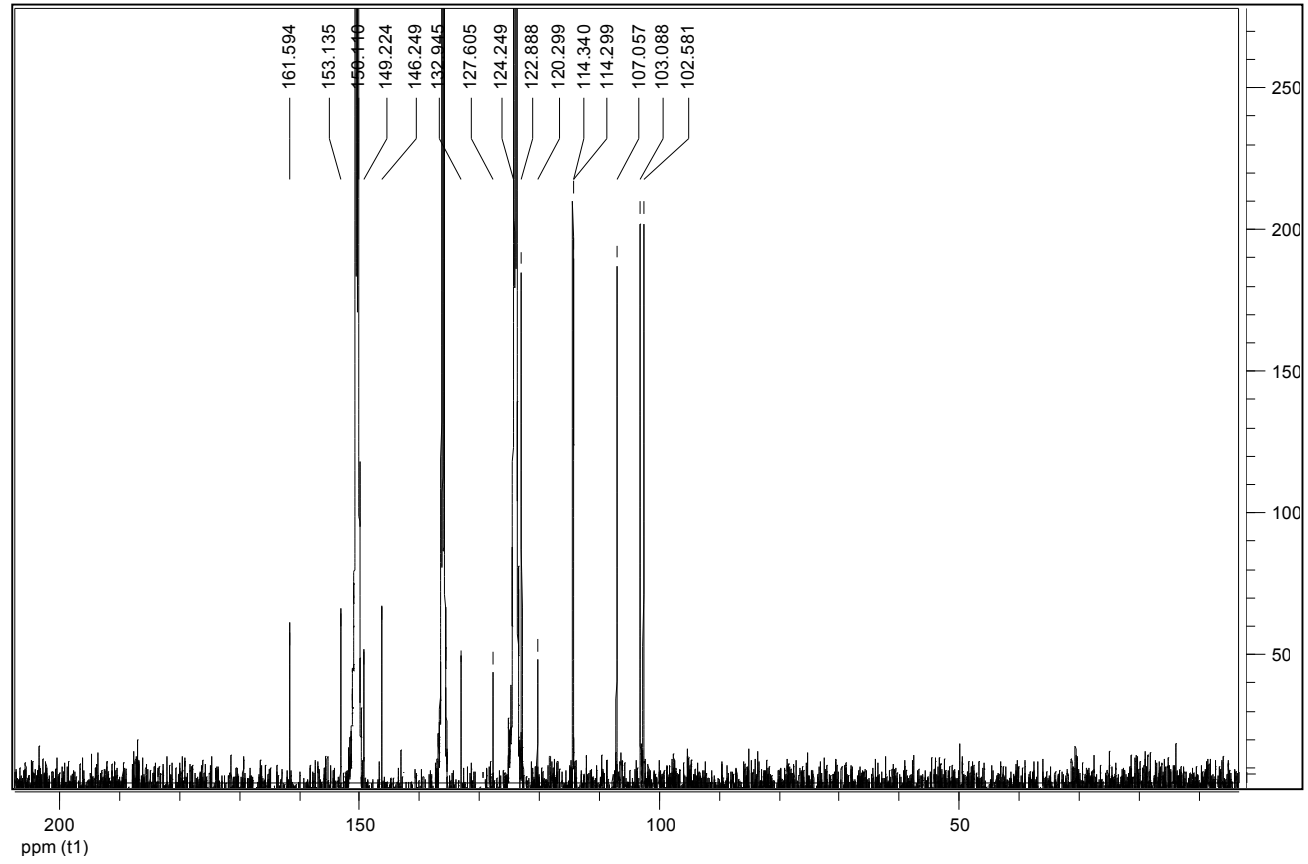
(100 MHz, DMSO-d₆) δ 161.6 (C=O), 153.1 (C-9), 149.2 (C-8), 146.3 (C-4),
133.0 (C-6a), 127.6 (C-10a), 124.3 (C-4a), 122.9 (C-2), 120.3 (C-10b), 114.3 (C-1),
114.3 (C-3), 107.1 (C-7), 103.1 (OCH₂O), 102.6 (C-10) ppm



Spektrum 20. GR-4 Kodlu Bileşğin EI Kütle Spektrumu

Spektrum 21. GR-4 Kodlu Bileşğin ^1H NMR Spektrumu

Spektrum 22. GR-4 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR Spektrumu

Spektrum 23. GR-4 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR Spektrumu

4. 2. 5. GR-5 Bileşiminin Spektral Bulguları

EI Kütle (Spektrum 24)

m/z (%): 313 (M^+ , 17), 194 (31), 193 (56), 192 (66), 178 (13), 177 (100), 145 (36), 120 (33), 117(16)

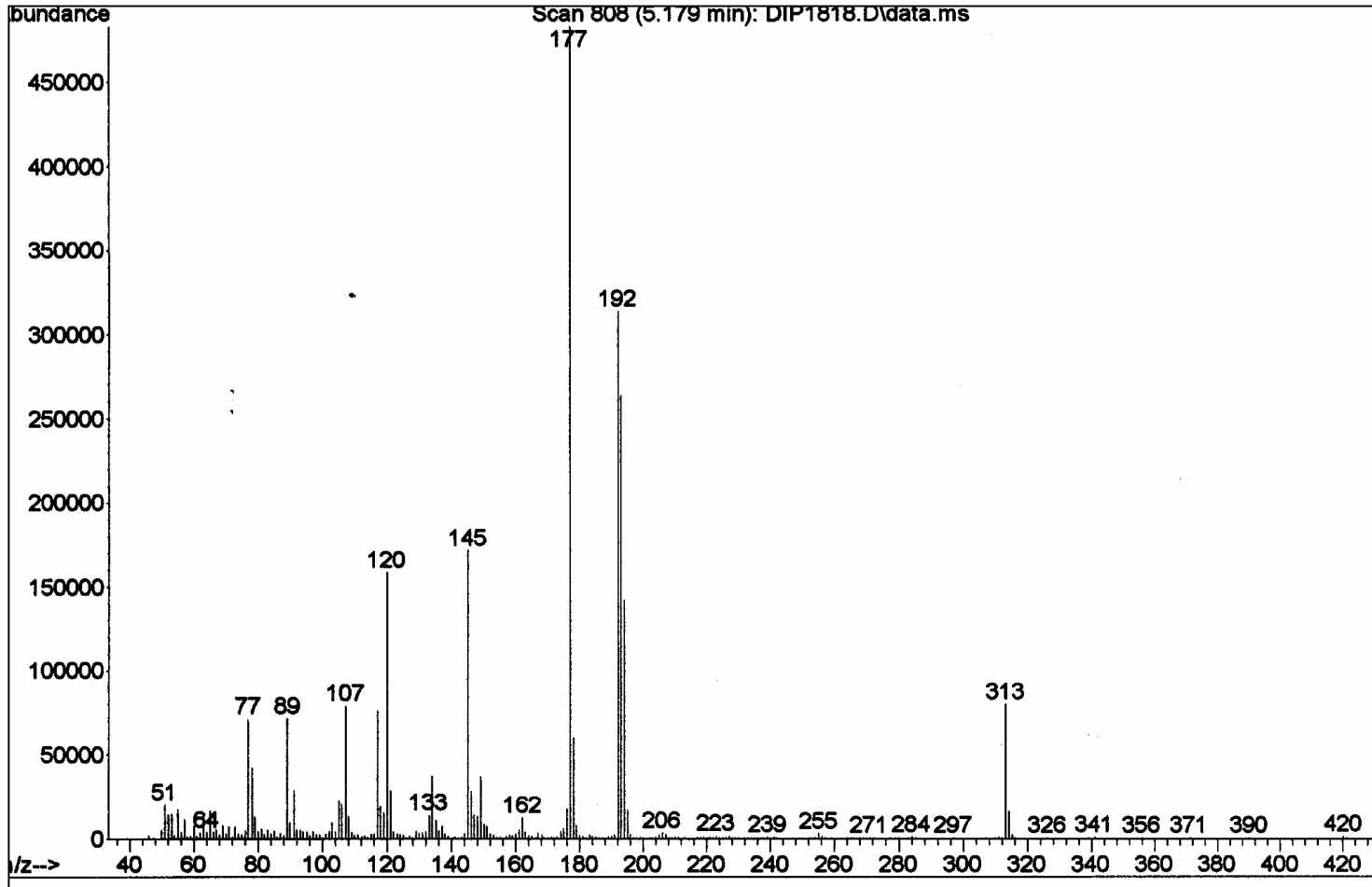
^1H NMR (Spektrum 25)

(300 MHz CD_3OD) δ 7.60 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, H-2), 7.29 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-2'), 7.20 (3H, m, H-2''', H-6''', H-6'), 6.96 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5'), 6.89 (2H, dd, $J = 8.4, 2.1$ Hz, H-3''', H-5'''), 6.57 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-3), 4.05 (3H, s, OMe), 3.63 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, H-1''), 2.92 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, H-2'') ppm

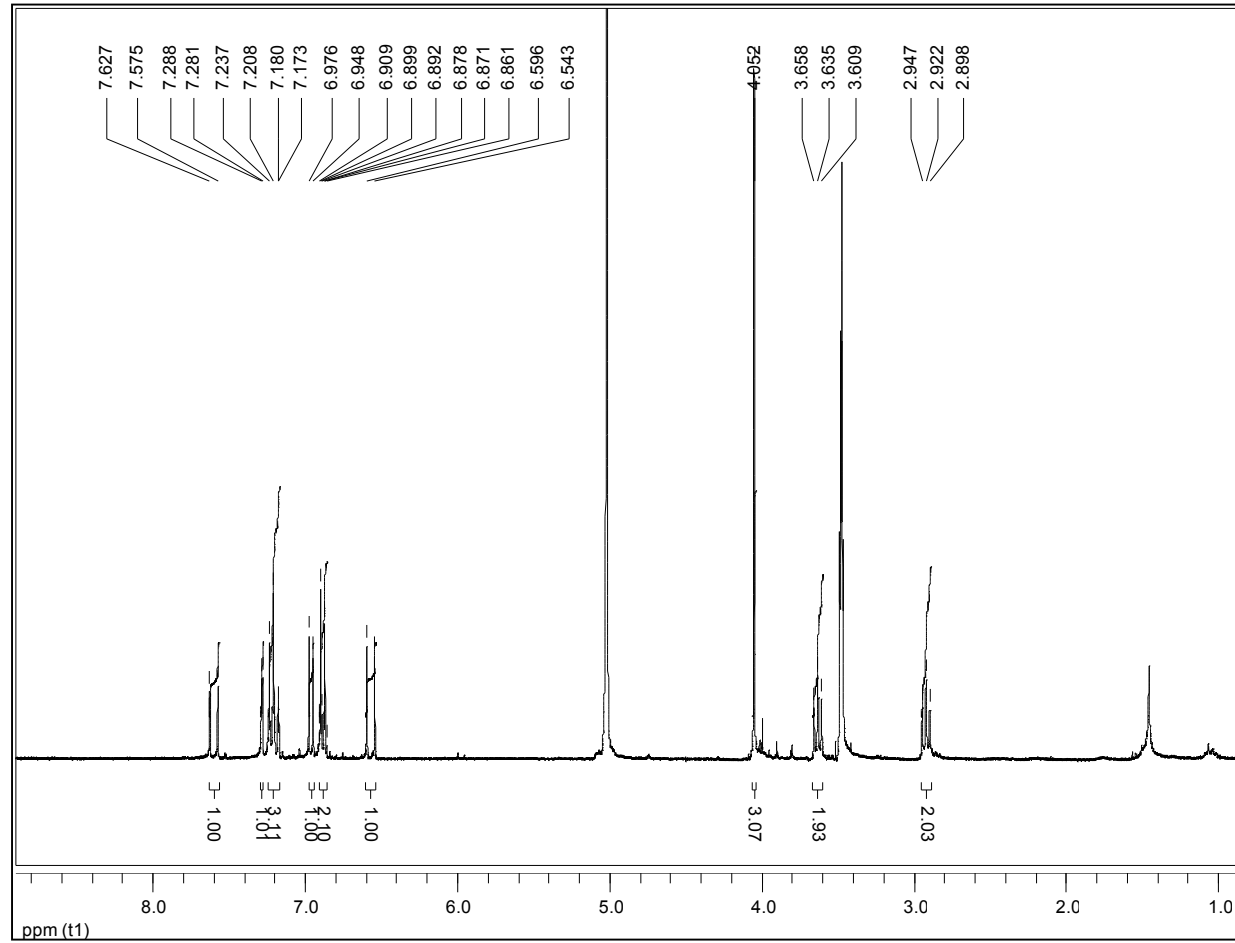
Genişletilmiş ^1H NMR (Spektrum 26)

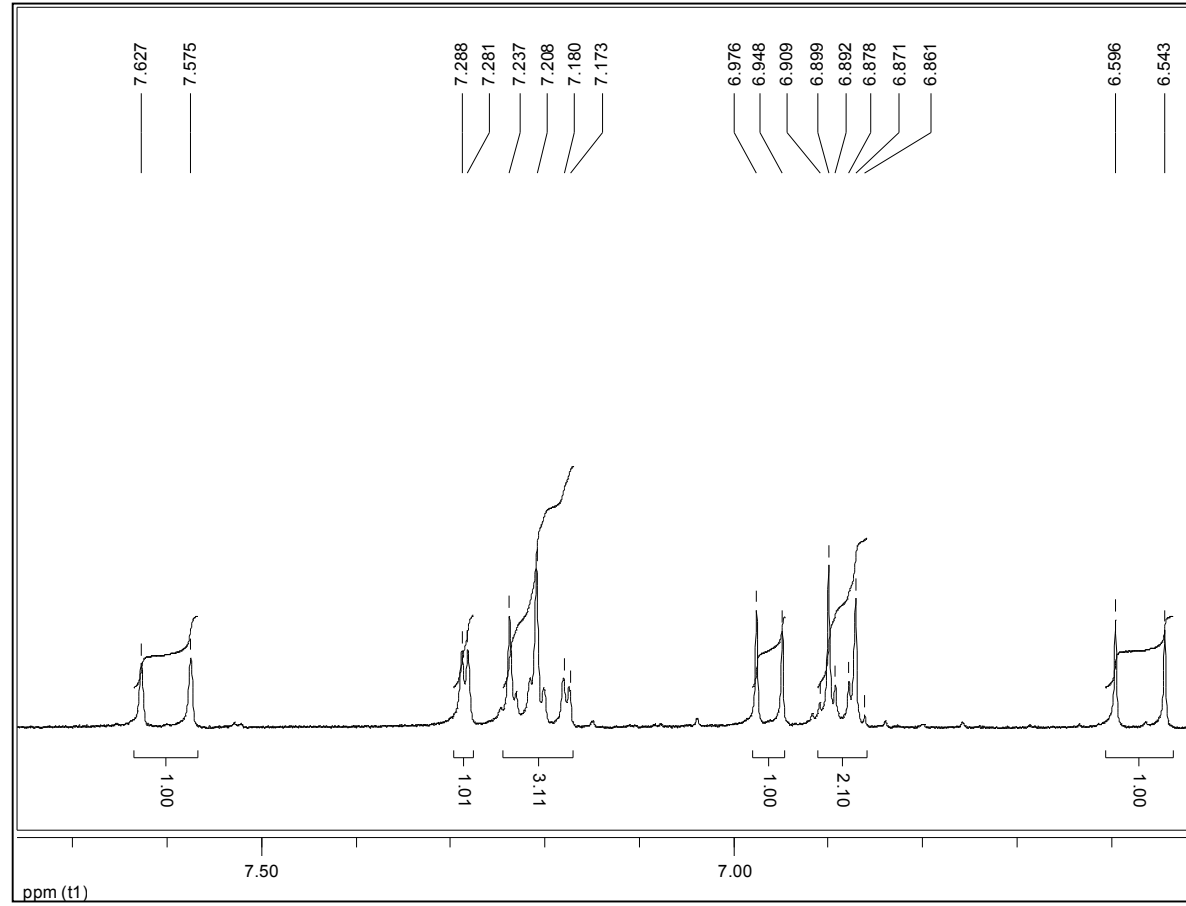
^{13}C NMR (Spektrum 27)

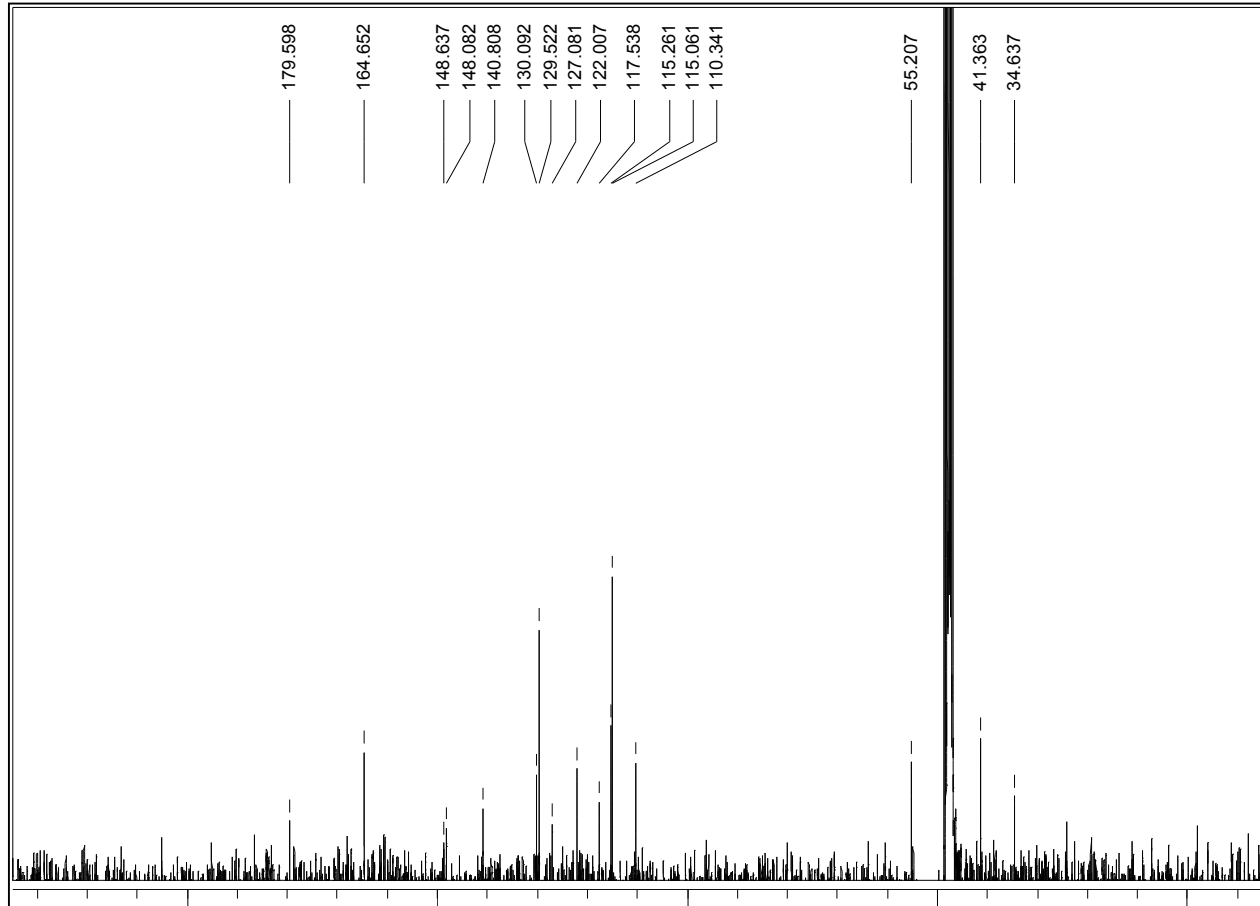
(100 MHz CD_3OD) δ 179.6 (C-1), 164.7 (C-4'''), 148.6 (C-3'), 148.1 (C-4'), 140.8 (C-3), 130.1 (C-1'''), 129.5 (C-2''', C-6'''), 127.1 (C-1'), 122.0 (C-6'), 117.5 (C-2), 115.3 (C-5'), 115.1 (C-3''', C-5'''), 110.3 (C-2'), 55.2 (OMe), 41.4 (C-1''), 34.6 (C-2'') ppm



Spektrum 24. GR-5 Kodlu Bileşğin EI Kütle Spektrumu

Spektrum 25. GR-5 Kodlu Bileşğin ^1H NMR Spektrumu

Spektrum 26. GR-5 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR Spektrumu

Spektrum 27. GR-5 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR Spektrumu

4. 2. 6. GR-6 Bileşiminin Spektral Bulguları

$[\alpha]_D^{-80^0}$ (MeOH; c 0.05)

EI Kütle (Spektrum 28)

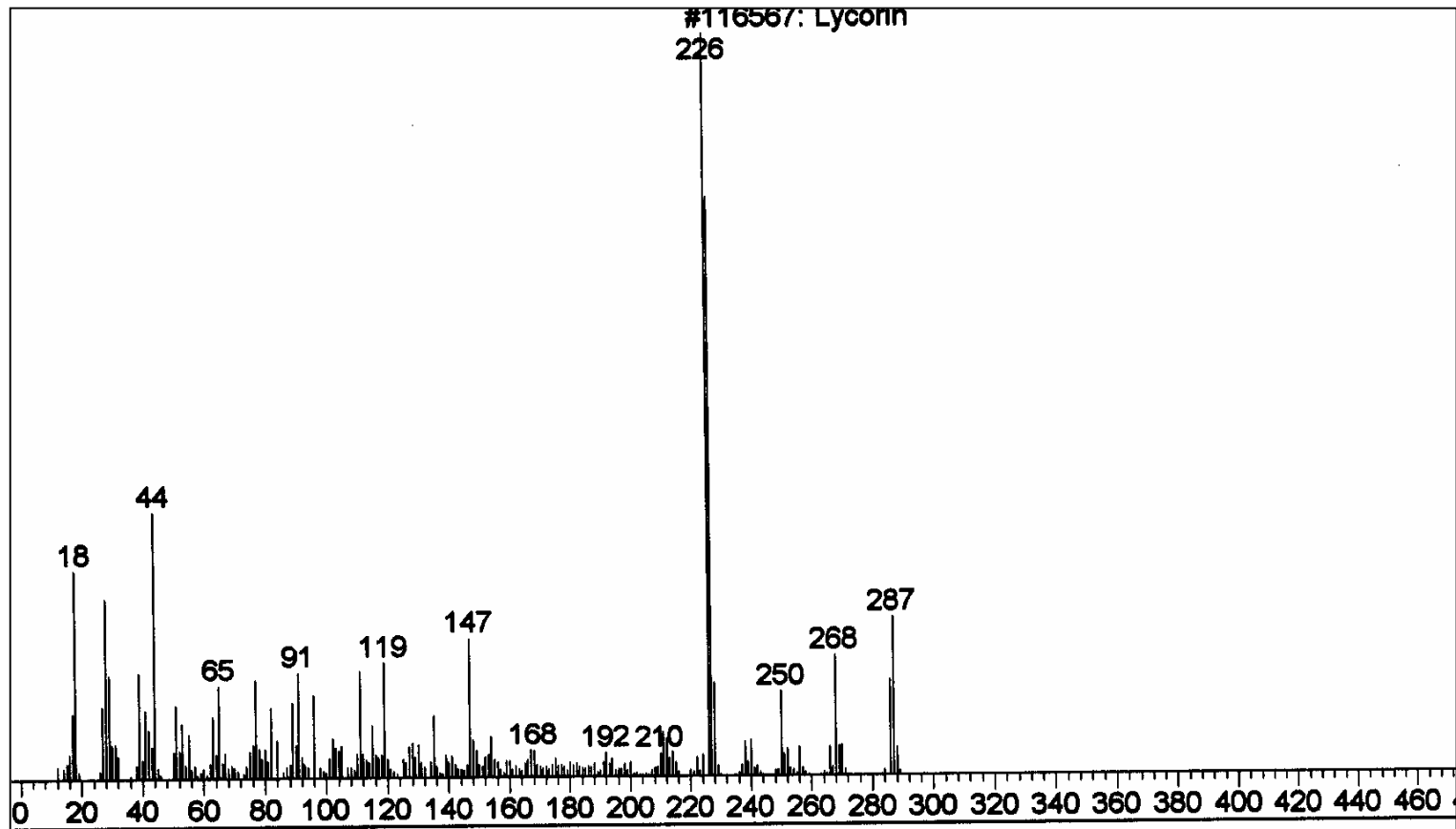
m/z (%): 287 (M^+ , 19), 268 (17), 250 (26), 227 (63), 226 (100), 211 (6), 147 (18)

1H NMR (Spektrum 29)

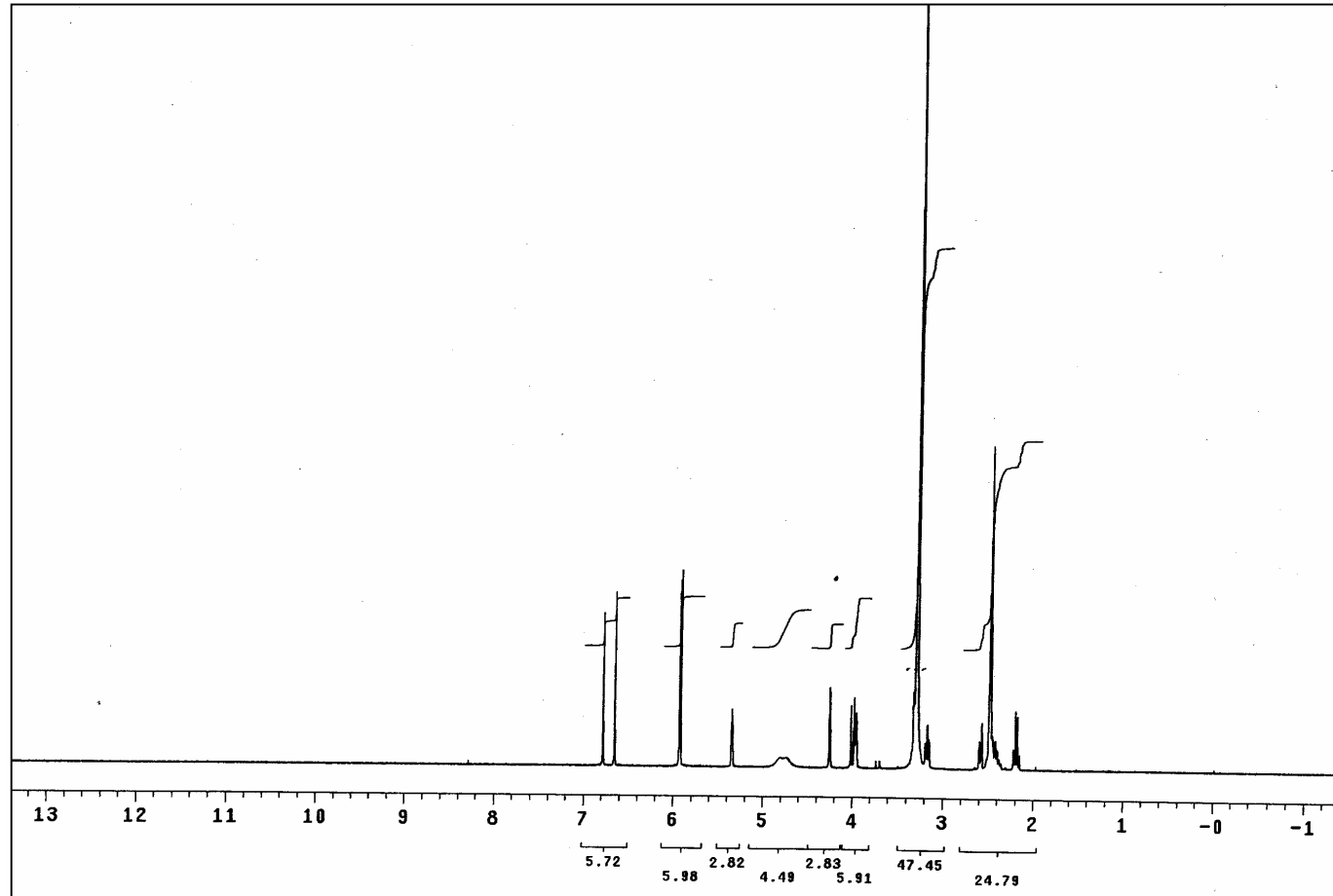
(400 MHz, DMSO-d₆) δ 6.78 (1H, s, H-10), 6.65 (1H, s, H-7), 5.93 ve 5.92 (2H, 2s, OCH₂O), 5.35 (1H, *brs*, H-3), 4.25 (1H, *brs*, H-1), 4.00 (1H, d, $J= 14.0$ Hz, H-6 β), 3.96 (1H, *brs*, H-2), 3.30 (1H, DMSO-d₆ pikinin altında kalmış, H-6 α), 3.17 (1H, m, H-12 β), 2.59 (1H, d, $J= 10.4$ Hz, H-4a), 2.49 (1H, d, $J= 10.4$ Hz, H-10b), 2.47 (1H, m, H-11 α), 2.40 (1H, m, H-11 β), 2.19 (1H, dd, $J= 17.2, 8.8$ Hz, H-12 α) ppm

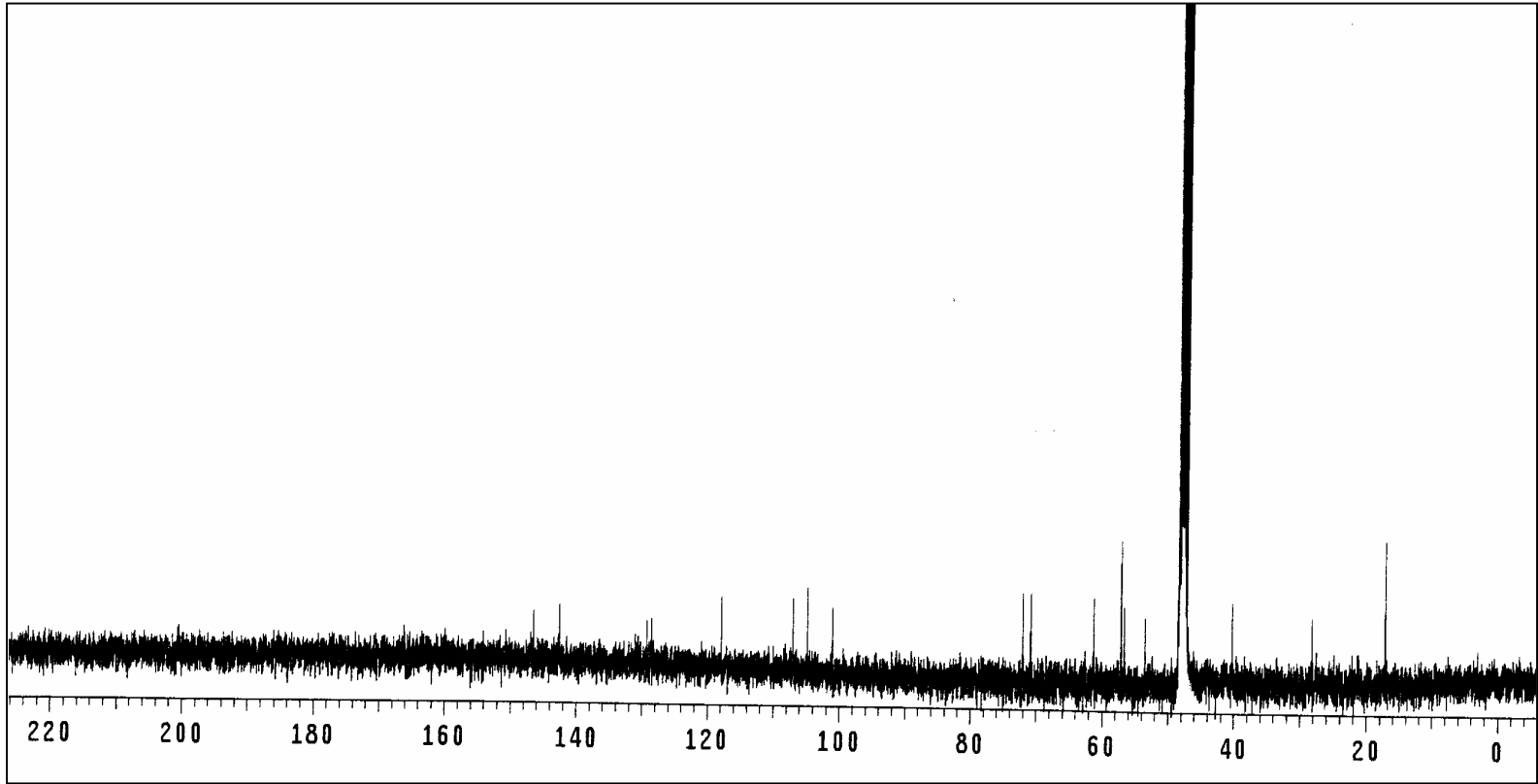
^{13}C NMR (Spektrum 30)

(100 MHz, CD₃OD) δ 147.0 (C-9), 146.5 (C-8), 142.6 (C-4), 129.3 (C-6a), 128.6 (C-10a), 117.9 (C-3), 107.0 (C-7), 104.9 (C-10), 101.0 (OCH₂O), 72.0 (C-2), 70.8 (C-1), 61.3 (C-4a), 55.2 (C-6), 54.3 (C-12), 38.2 (C-10b), 30.3 (C-11) ppm



Spektrum 28. GR-6 Kodlu Bileşğin EI Kütle Spektrumu

Spektrum 29. GR-6 Kodlu Bileşigin ^1H NMR Spektrumu



Spektrum 30. GR-6 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR Spektrumu

4. 2. 7. GR-7 Bileşğinin Spektral Bulguları

EI Kütle (Spektrum 31)

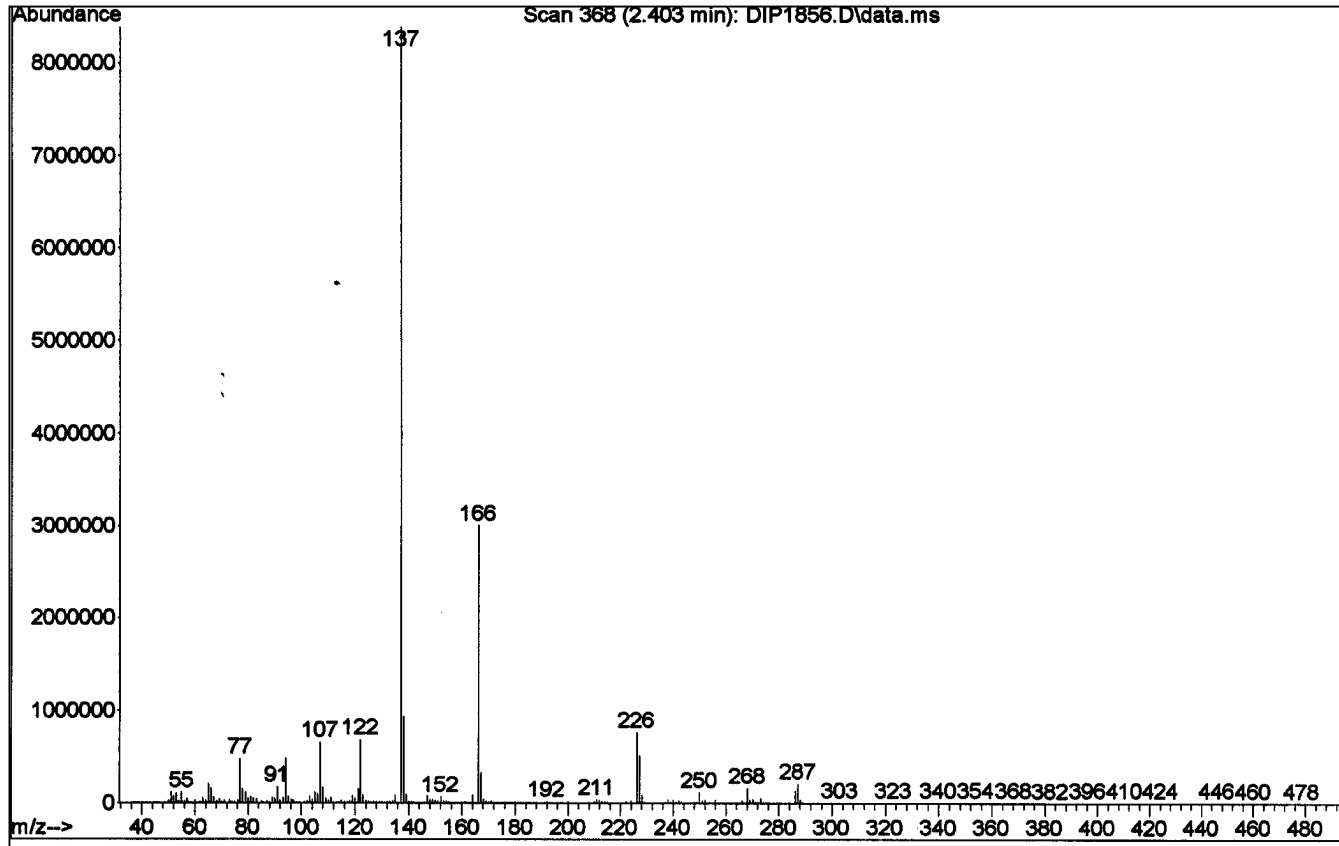
m/z (%): 273 (M⁺, 0.5), 166 (28), 137 (100), 122 (7), 107 (8), 94 (6), 77 (5).¹H NMR (Spektrum 32)

(400 MHz, CD₃OD) δ 7.01 (2H, d, *J* = 8.4 Hz, H-2, H-6), 6.88 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-5'), 6.80 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2'), 6.75 (1H, dd, *J* = 8.0, 2.0 Hz, H-6'), 6.71 (2H, d, *J* = 8.4 Hz, H-3, H-5), 3.83 (3H, s, OMe), 3.73 (2H, s, β'), 2.85 (m, 2H, α), 2.74 (m, 2H, β) ppm

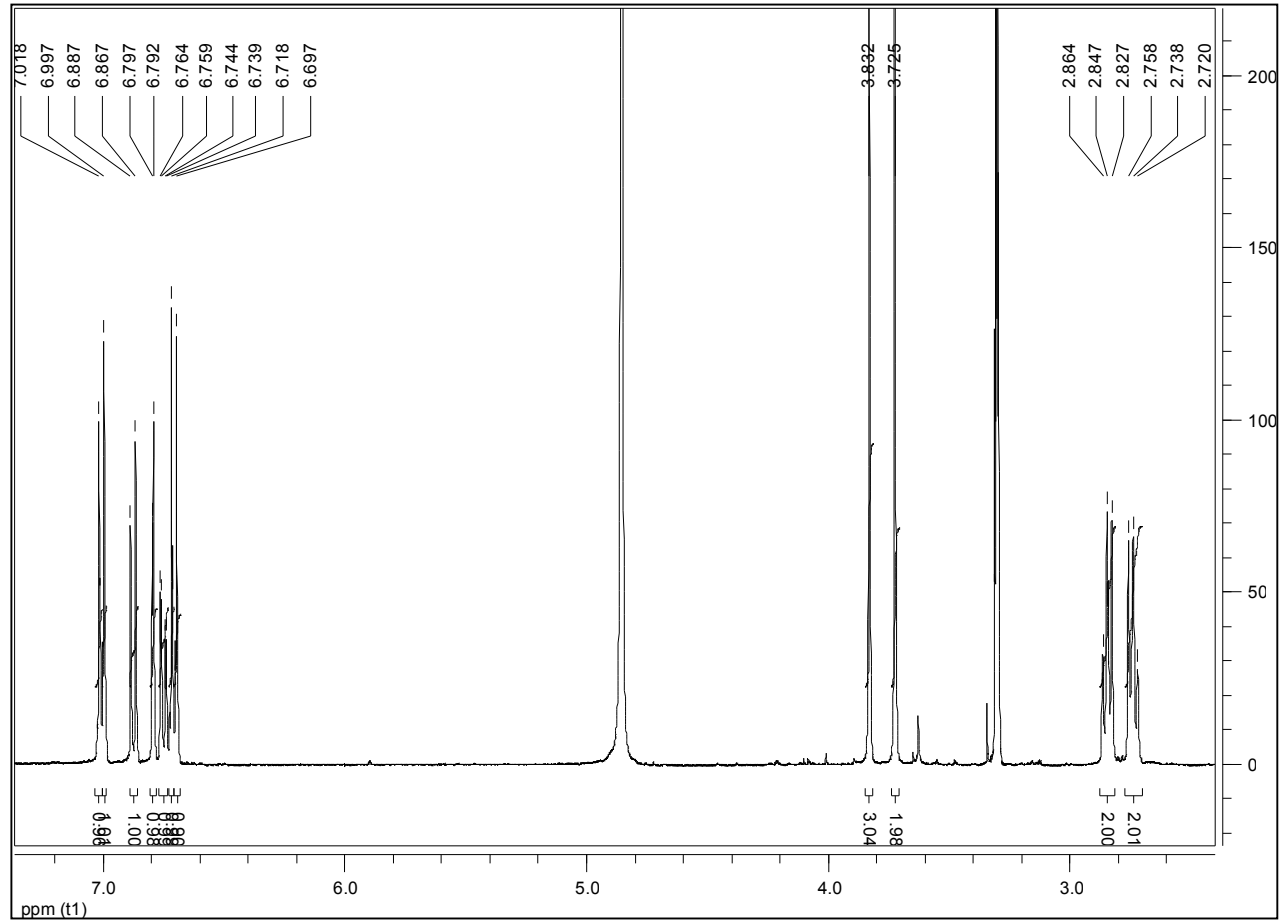
Genişletilmiş ¹H NMR (Spektrum 33)¹³C NMR (Spektrum 34)

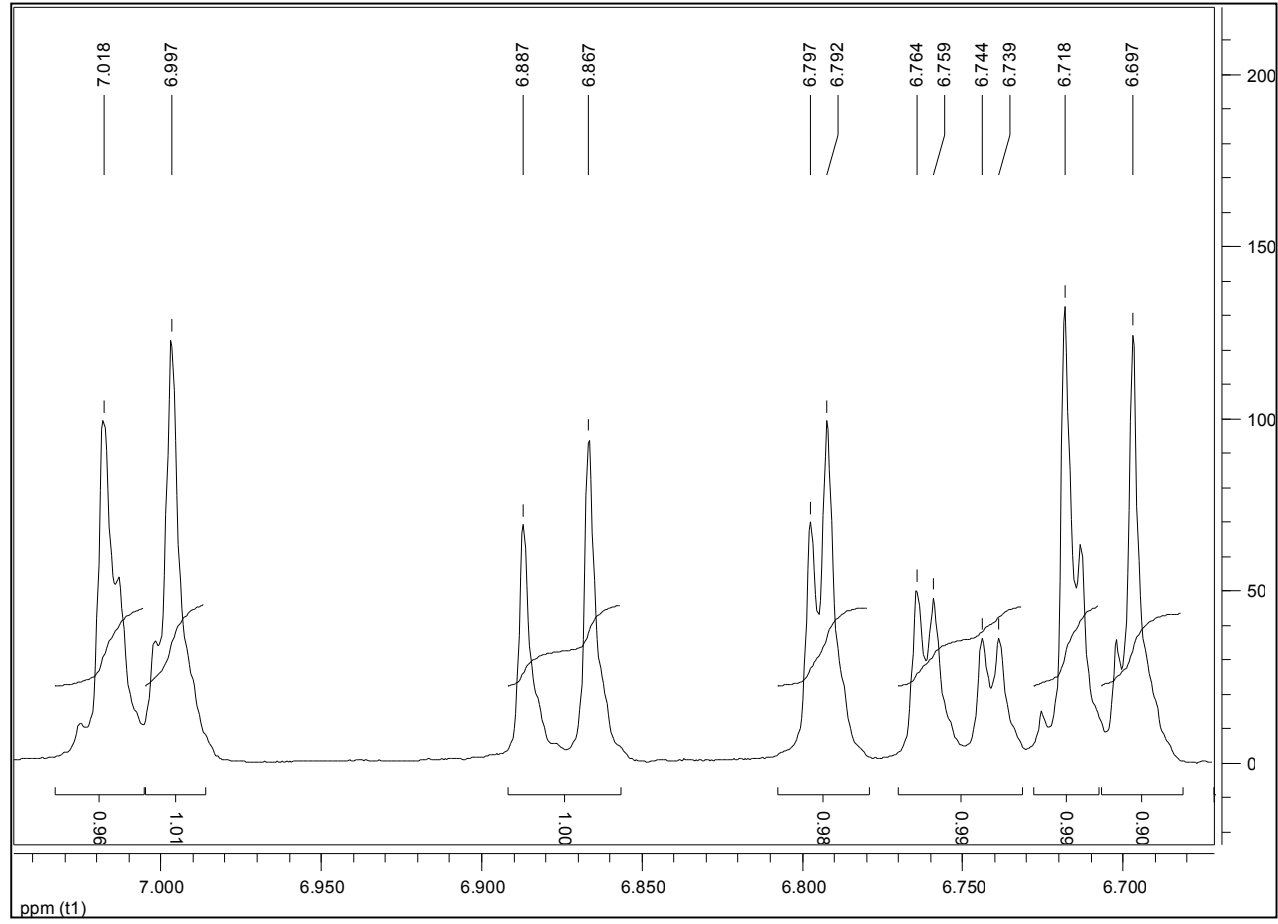
(100 MHz, CD₃OD) δ 155.7 (C-4), 147.4 (C-4'), 146.4 (C-3'), 129.8 (C-1'), 129.3 (C-1), 129.2 (C-2 ve C-6), 119.8 (C-6'), 115.5 (C-2'), 115.0 (C-3, C-5), 111.3 (C-5'), 55.0 (OMe), 52.0 (C-β'), 49.6 (C-α), 33.4 (C-β) ppm

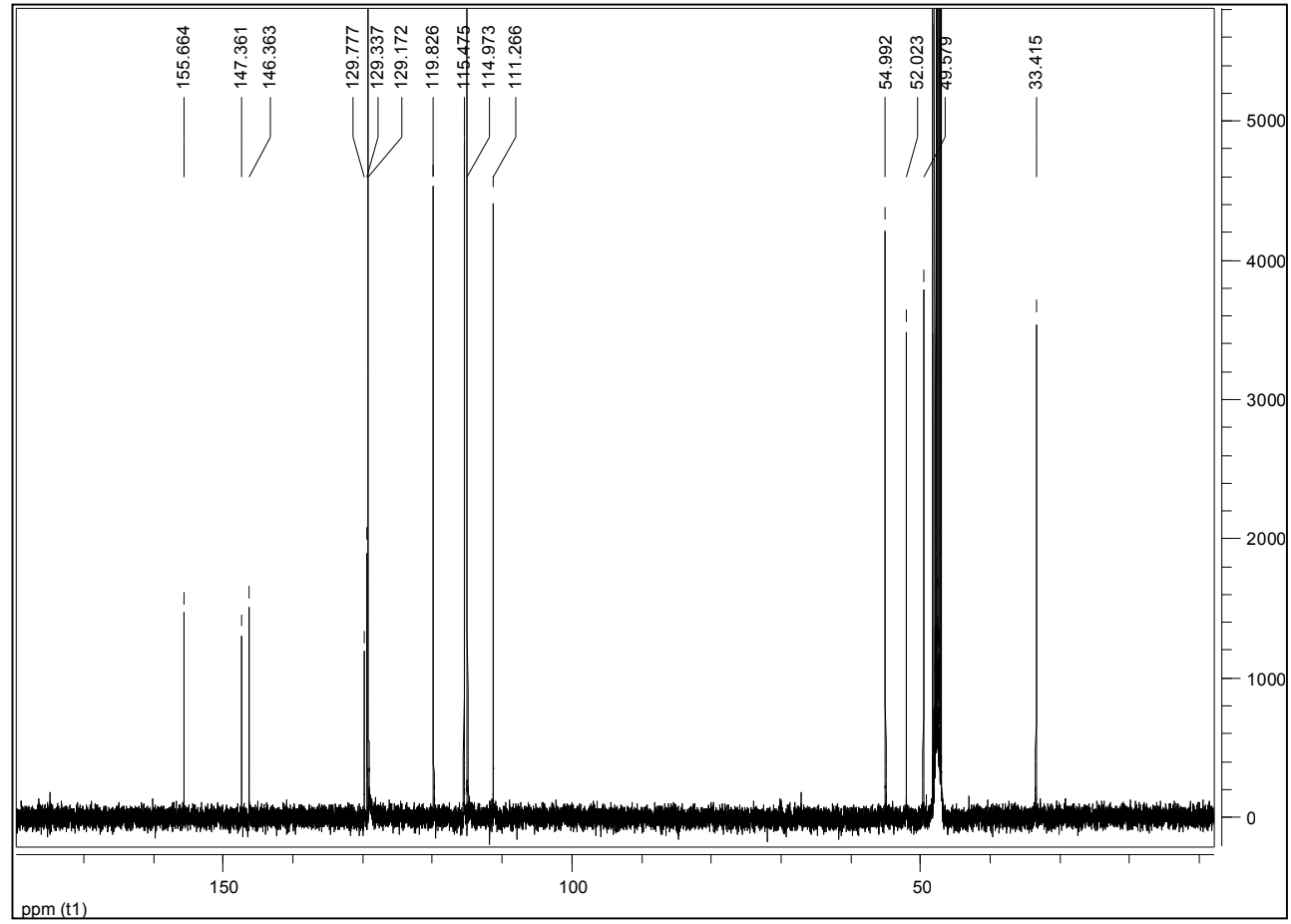
DEPT 135 (Spektrum 35)

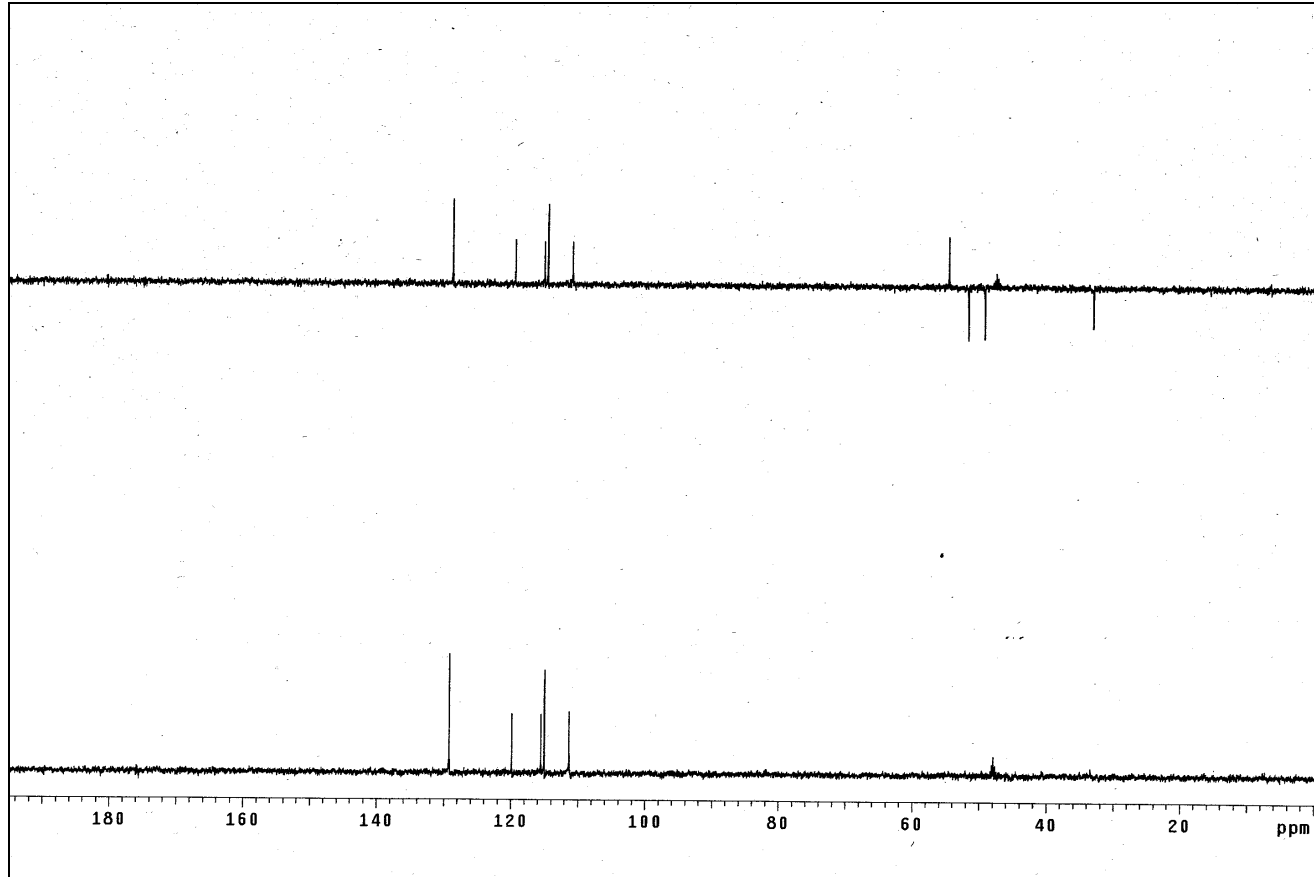


Spektrum 31. GR-7 Kodlu Bileşğin EI Kütle Spektrumu

Spektrum 32. GR-7 Kodlu Bileşğin ^1H NMR Spektrumu

Spektrum 33. GR-7 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR Spektrumu

Spektrum 34. GR-7 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR Spektrumu



Spektrum 35. GR-7 Kodlu Bileşğin DEPT Spektrumu

4. 2. 8. GR-8 Bileşiminin Spektral Bulguları

$[\alpha]_D^{+9^0}$ (MeOH; c 0.1)

EI Kütle (Spektrum 36)

m/z (%): 271 (M^+ ,100), 254 (10), 228 (25), 199 (78), 187 (73), 157 (21), 128

(32)

CD (Spektrum No 37)

(MeOH, $[\theta]_\lambda$: $[\theta]_{\min 254.8} -6577$, $[\theta]_{\max 267.2} +5714$)

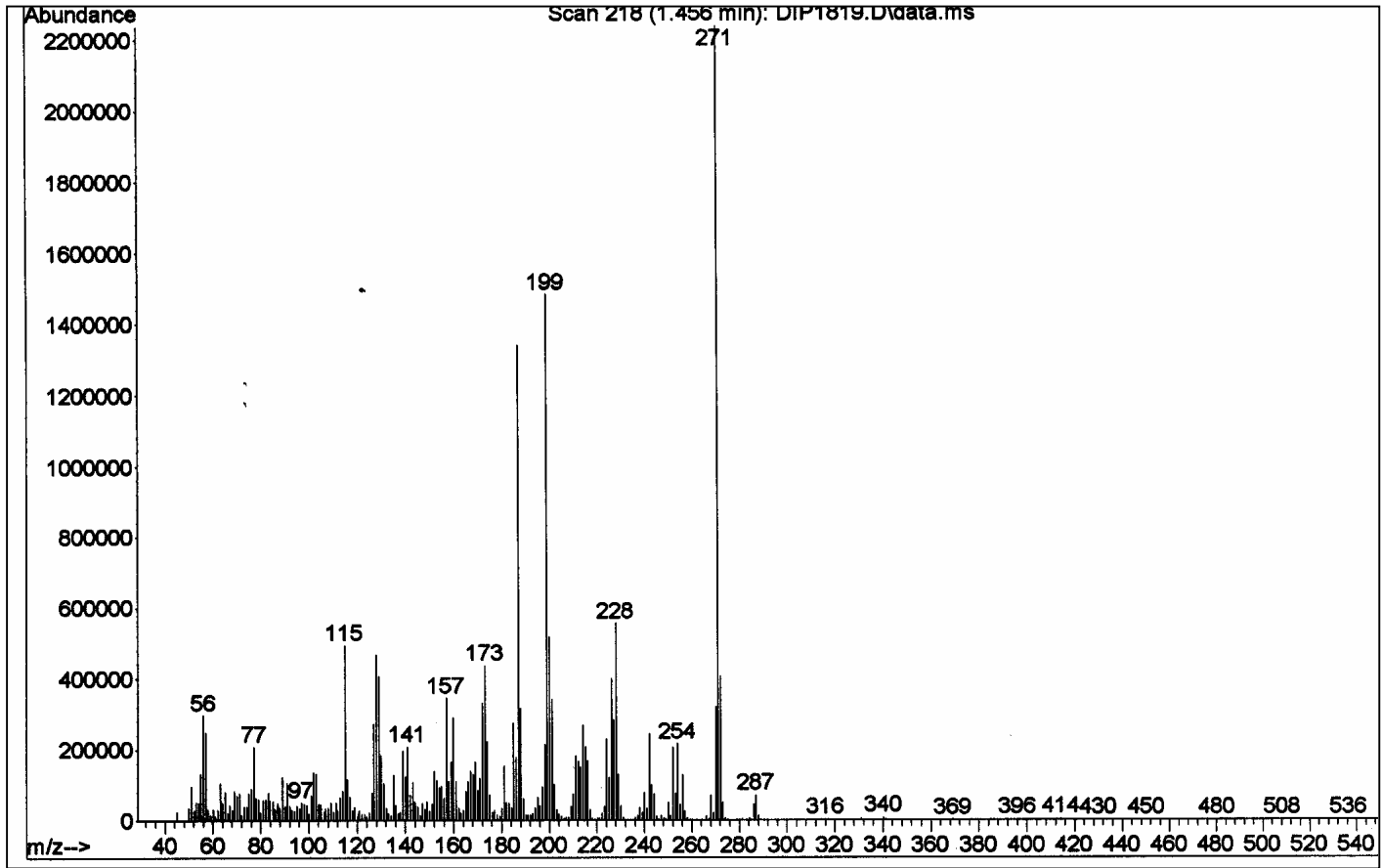
1H NMR (Spektrum 38)

(300 MHz, CD_3OD) δ 6.84 (1H, s, H-10), 6.58 (1H, d, $J = 9.9$ Hz, H-1), 6.46 (1H, s, H-7), 5.96 (1H, dddd, $J = 9.9, 5.4, 1.2$ Hz, H-2), 5.89 (1H, d, $J = 1.5$ Hz, OCH_2O), 5.88 (1H, d, $J = 1.5$ Hz, OCH_2O) 4.37 (1H, d, $J = 16.8$ Hz, H-6 β), 4.34 (1H, m, H-3), 3.75 (1H, d, $J = 17.1$ Hz, H-6 α), 3.36 (2H, m (td-benzeri), H-4a ve H-12 α), 2.89 (1H, m, H-12 β), 2.17 (1H, m, H-11), 2.00 (1H, m, H-4), 1.91 (1H, m, H-11), 1.73 (1H, td, $J = 13.5, 4.2$ Hz, H-4) ppm

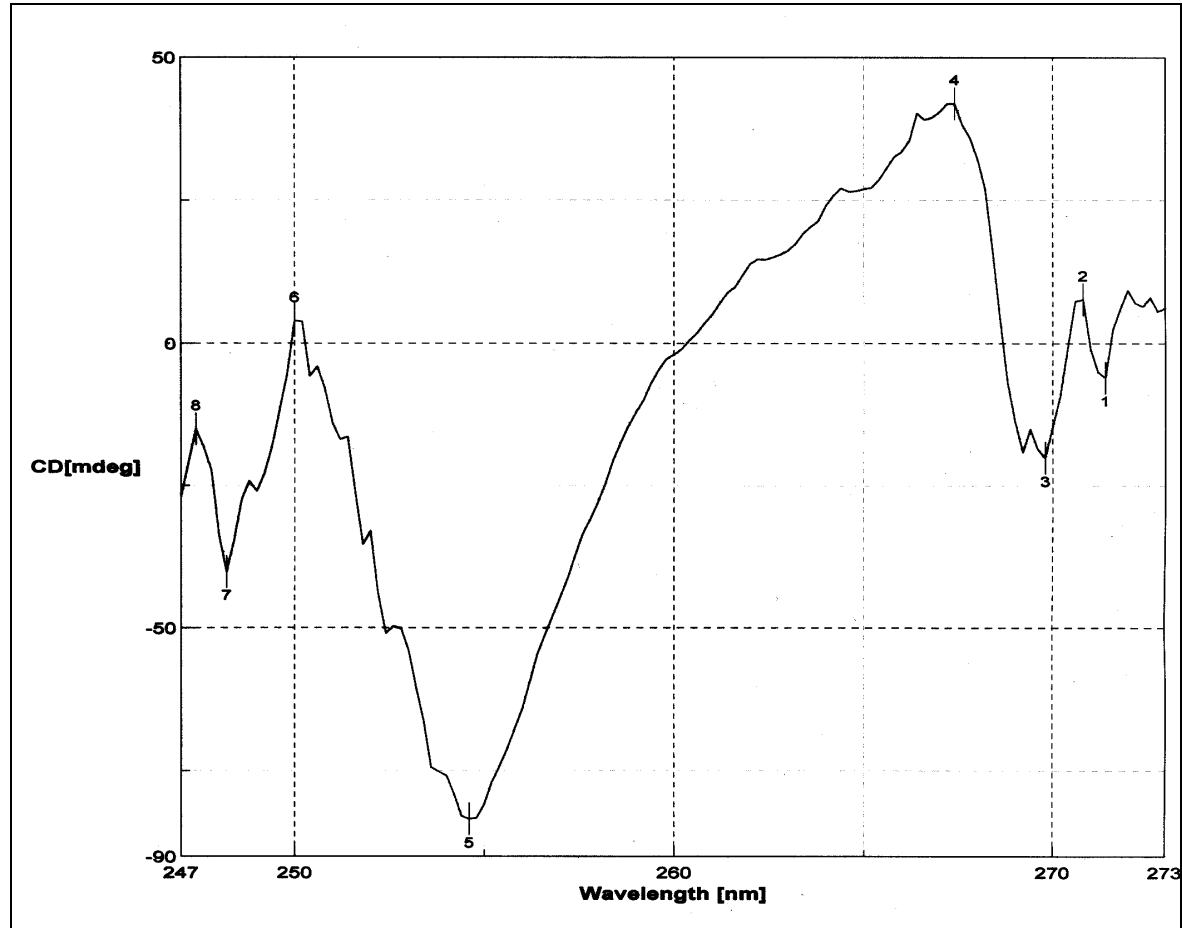
Genişletilmiş 1H NMR (Spektrum 39)

^{13}C NMR (Spektrum 40)

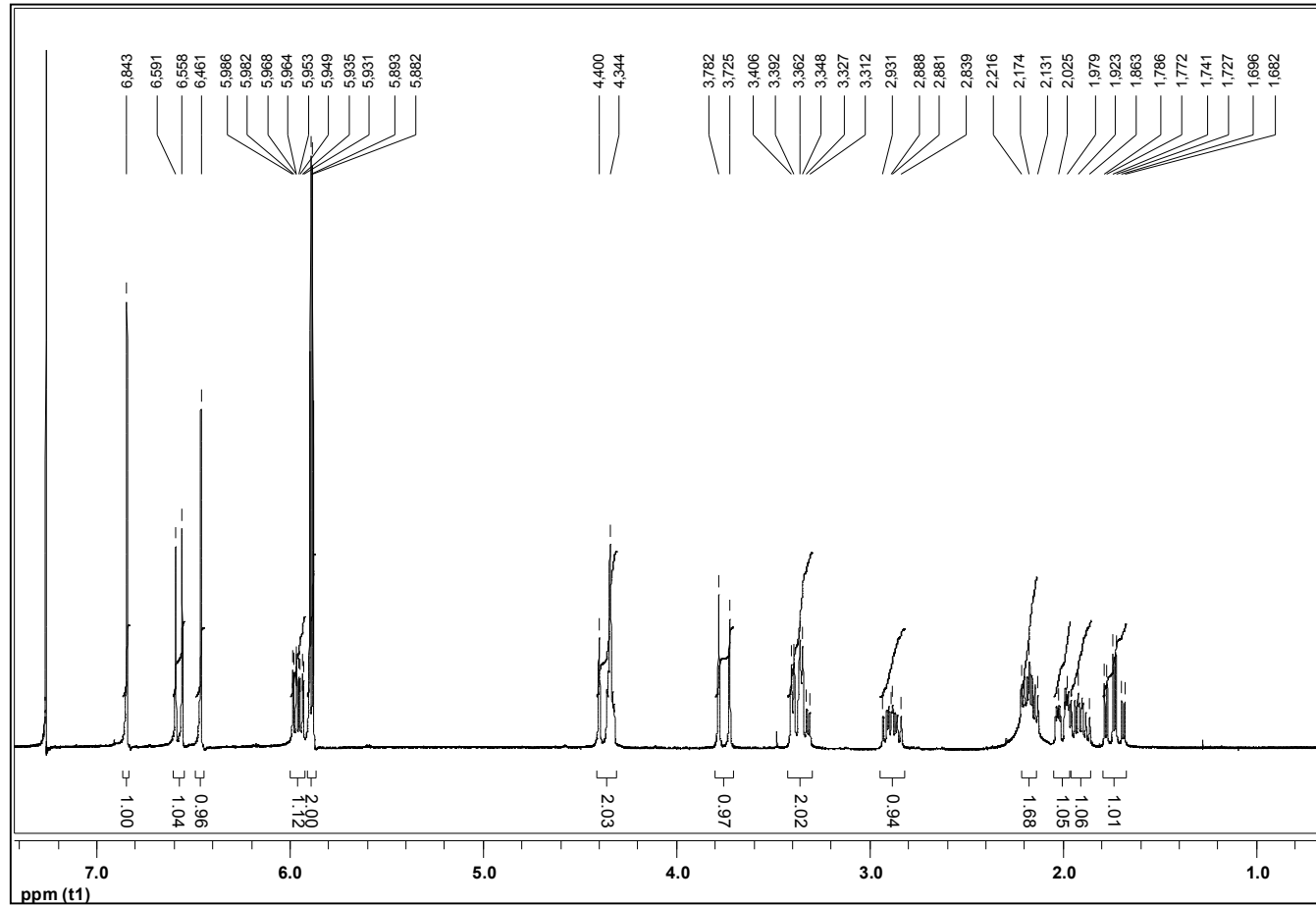
(100 MHz, CD_3OD) δ 146.5 (C-9), 146.1 (C-8), 138.5 (C-10a), 132.4 (C-1), 127.9 (C-2), 126.4 (C-6a), 107.3 (C-7), 103.2 (C-10), 101.1 (OCH_2O), 64.3 (C-3), 63.2 (C-4a), 62.6 (C-6), 53.9 (C-12), 44.6 (C-10b), 44.4 (C-11), 33.0 (C-4) ppm

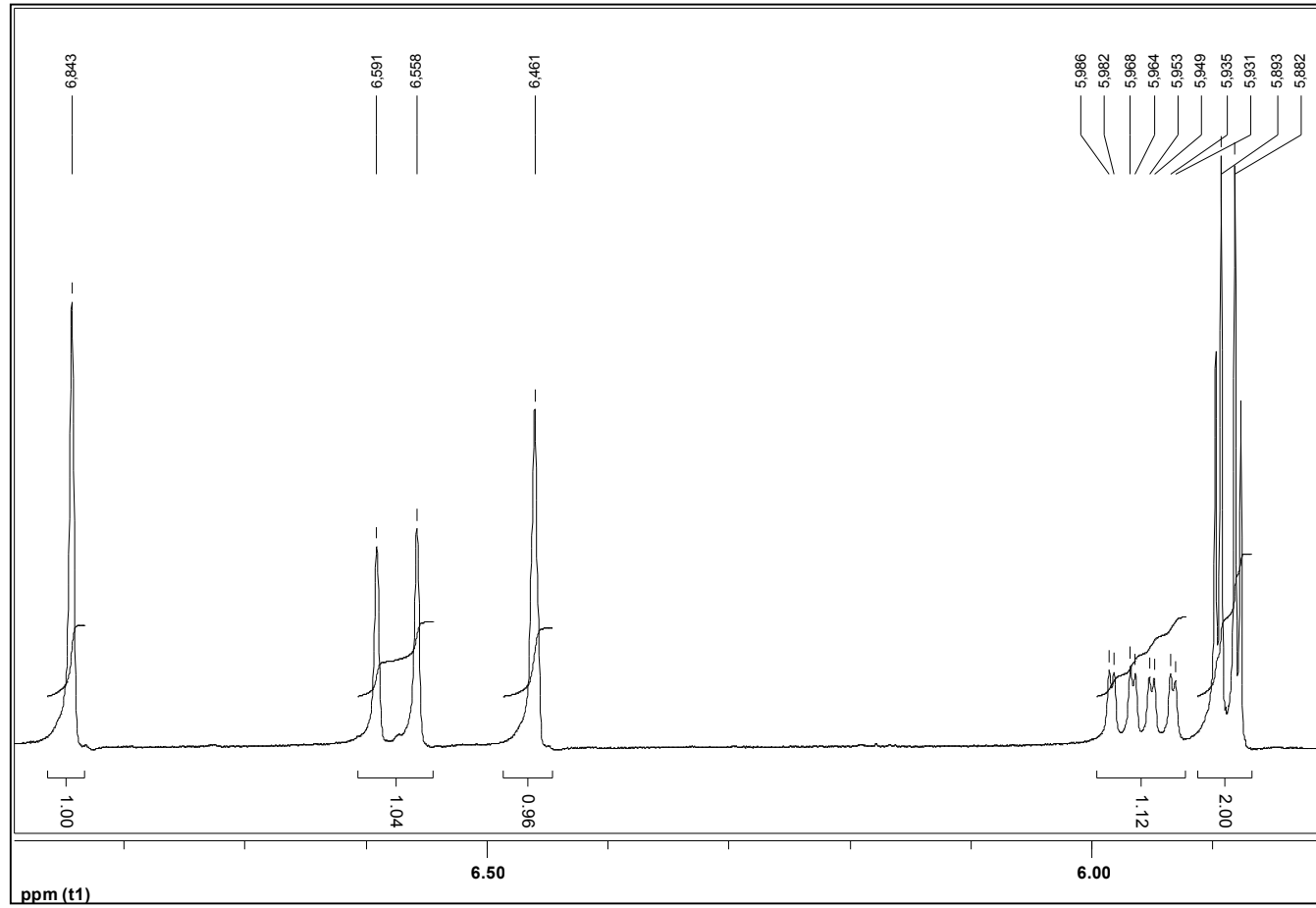


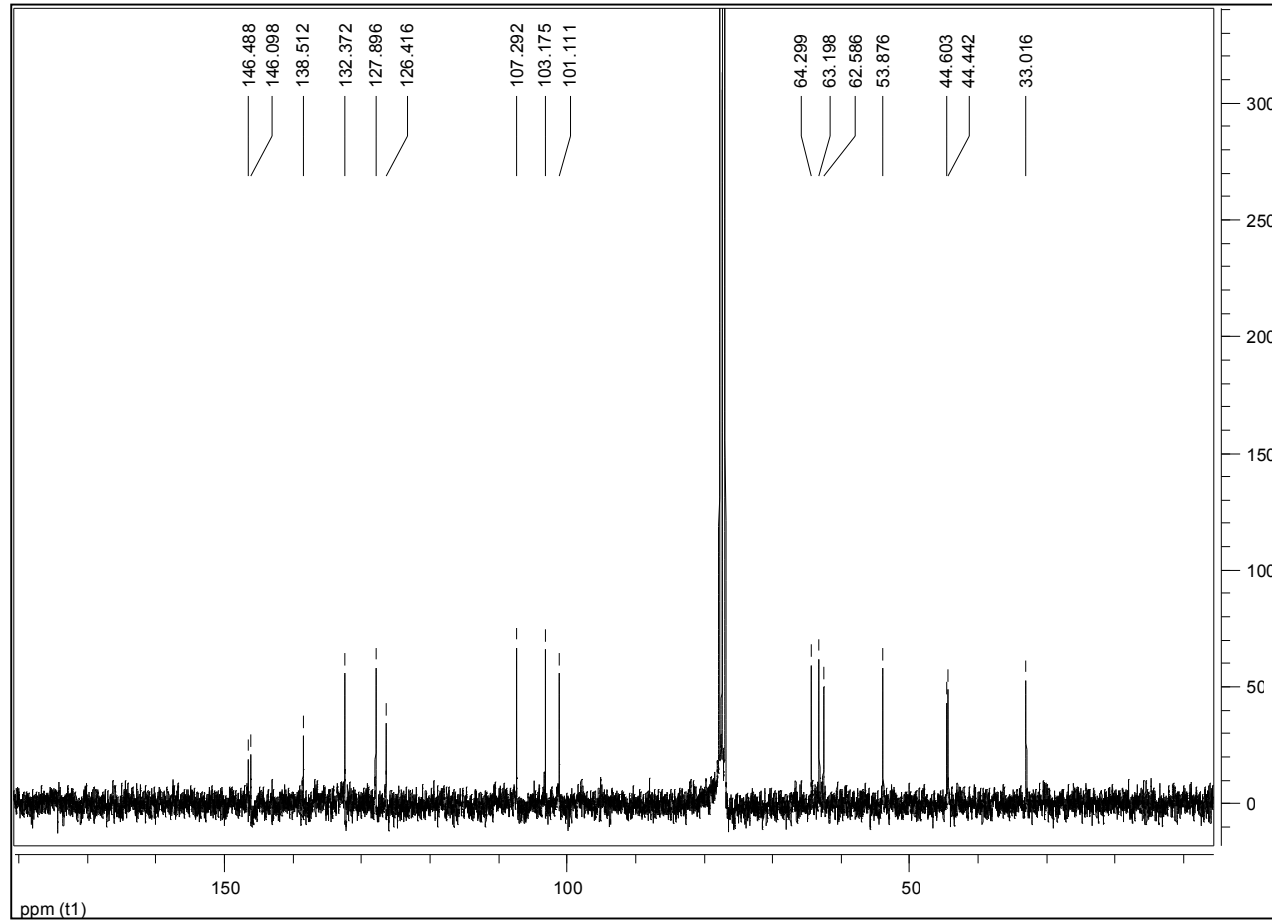
Spektrum 36. GR-8 Kodlu Bileşğin EI Kütle Spektrumu



Spektrum 37. GR-8 Kodlu Bileşğin CD Spektrumu

Spektrum 38. GR-8 Kodlu Bileşğin ^1H NMR Spektrumu

Spektrum 39. GR-8 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR Spektrumu

Spektrum 40. GR-8 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR Spektrumu

4. 2. 9. GR-9 Bileşiminin Spektral Bulguları

$[\alpha]_D^{+11^0}$ (MeOH; c 0.05)

EI Kütle (Spektrum 41)

m/z (%): 287 (M^+ , 7), 258 (100), 242 (14), 212 (22), 186 (20), 181 (84), 152

(23)

CD (Spektrum No 42)

(MeOH, $[\theta]_\lambda$: $[\theta]_{\min 249.4} -11032$, $[\theta]_{\max 275.2} +7798$)

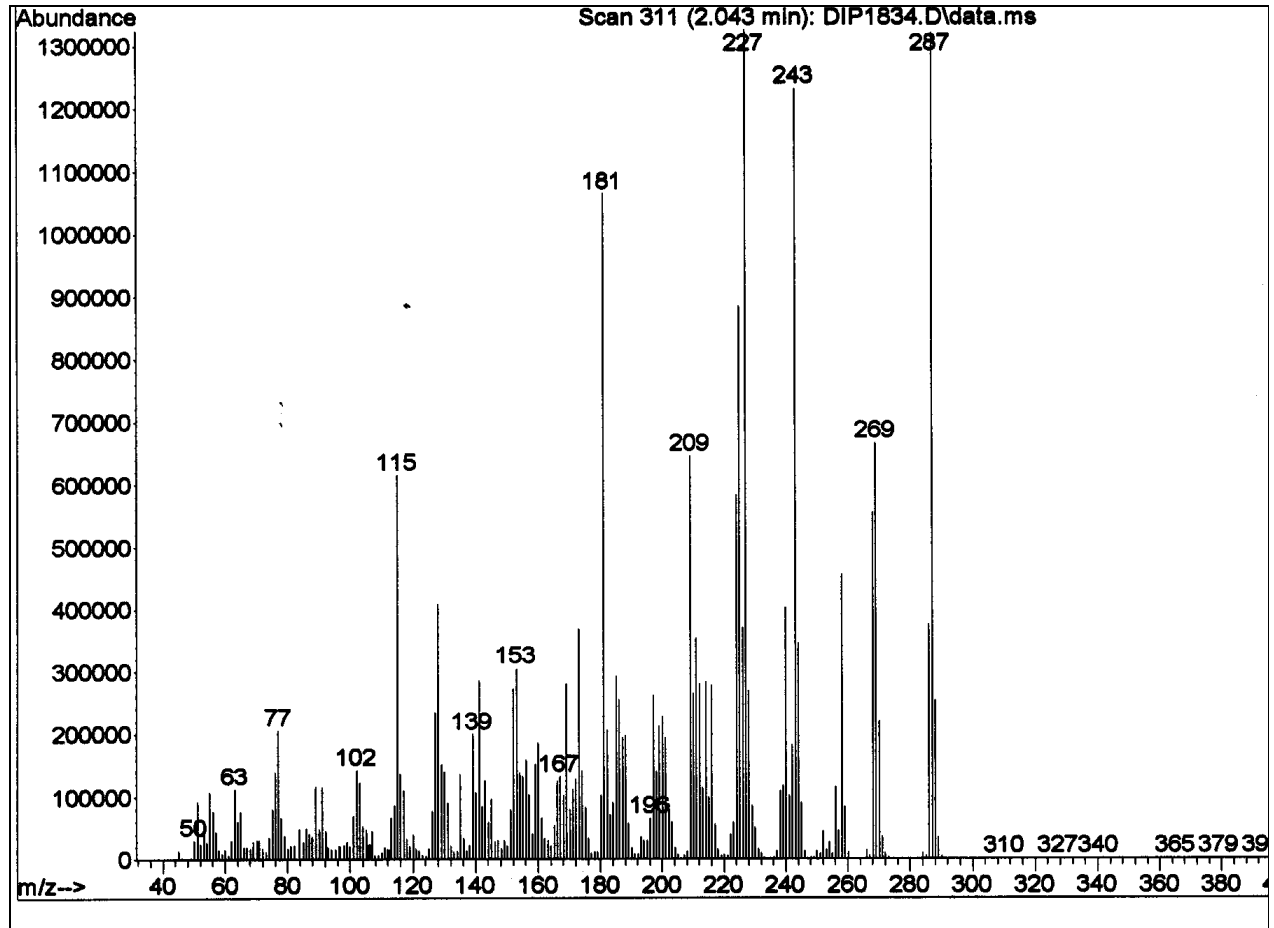
1H NMR (Spektrum 43)

(300 MHz, CD_3OD) δ 7.09 (1H, s, H-10), 6.72 (1H, s, H-7), 6.59 (1H, d, $J = 9.9$ Hz, H-1), 6.35 (1H, dddd, $J = 9.9, 5.1, 1.2$ Hz, H-2), 6.01 (2H, s, OCH_2O), 4.47 (1H, d, $J = 16.8$ Hz, H-6 β), 4.44 (1H, m, H-3), 4.12 (1H, dddd, $J = 7.0, 3.4, 1.2$ Hz, H-11), 3.93 (1H, d, $J = 16.8$ Hz, H-6 α), 3.64-3.55 (2H, m, H-4a ve H-12 α), 3.30 (1H, dd, $J = 14.0, 3.3$ Hz, H-12 β), 2.41 (1H, dt, $J = 13.4, 4.5$ Hz, H-4 α), 1.98 (1H, m, H-4 β) ppm

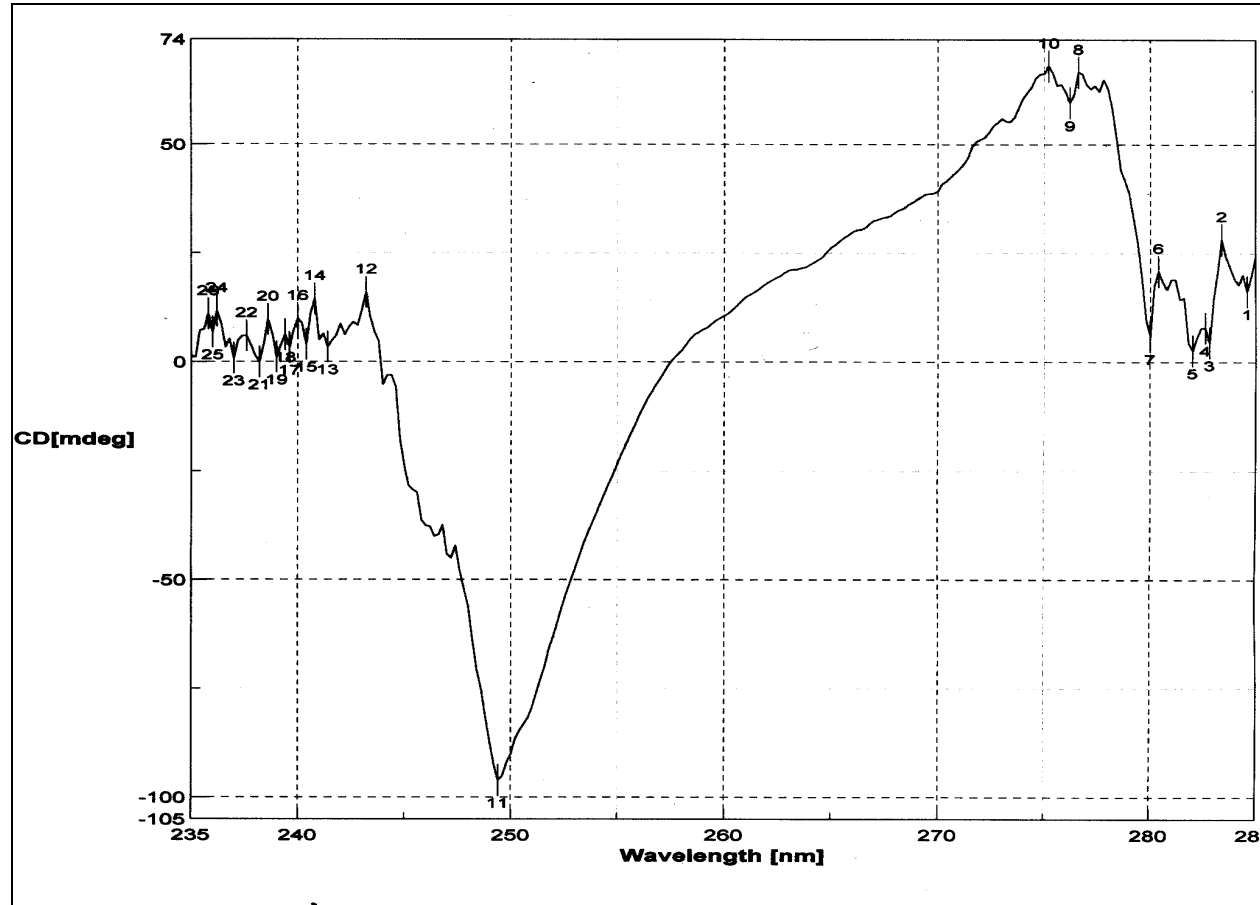
Genişletilmiş 1H NMR (Spektrum 44)

^{13}C NMR (Spektrum 45)

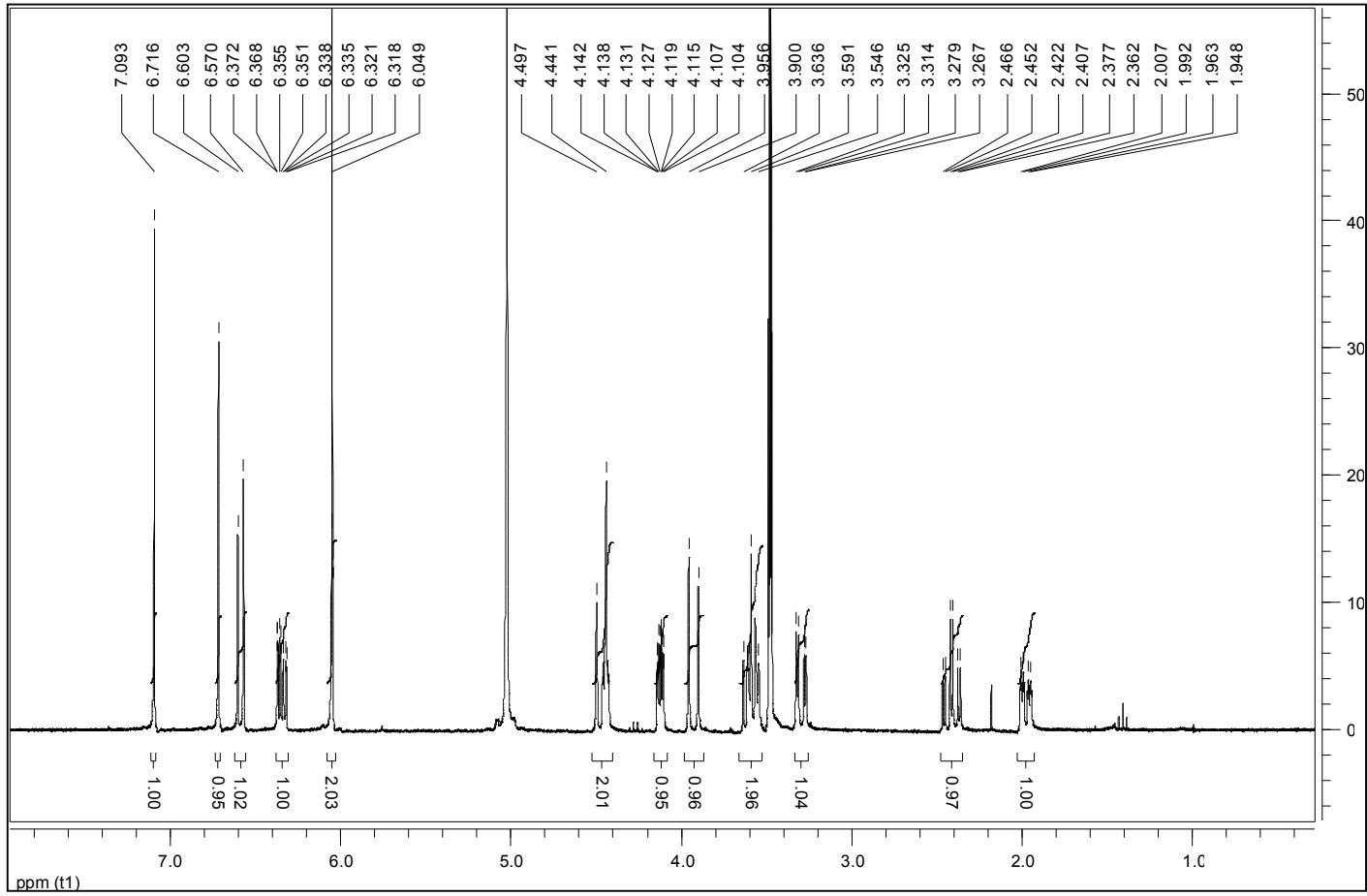
(100 MHz, CD_3OD) δ 146.7 (C-9), 146.3 (C-8), 135.7 (C-10a), 131.5 (C-1), 126.5 (C-2), 125.5 (C-6a), 106.4 (C-7), 102.9 (C-10), 100.8 (OCH_2O), 79.6 (C-11), 63.3 (C-3), 62.4 (C-4a), 62.3 (C-6), 60.3 (C-12), 49.9 (C-10b), 31.6 (C-4) ppm

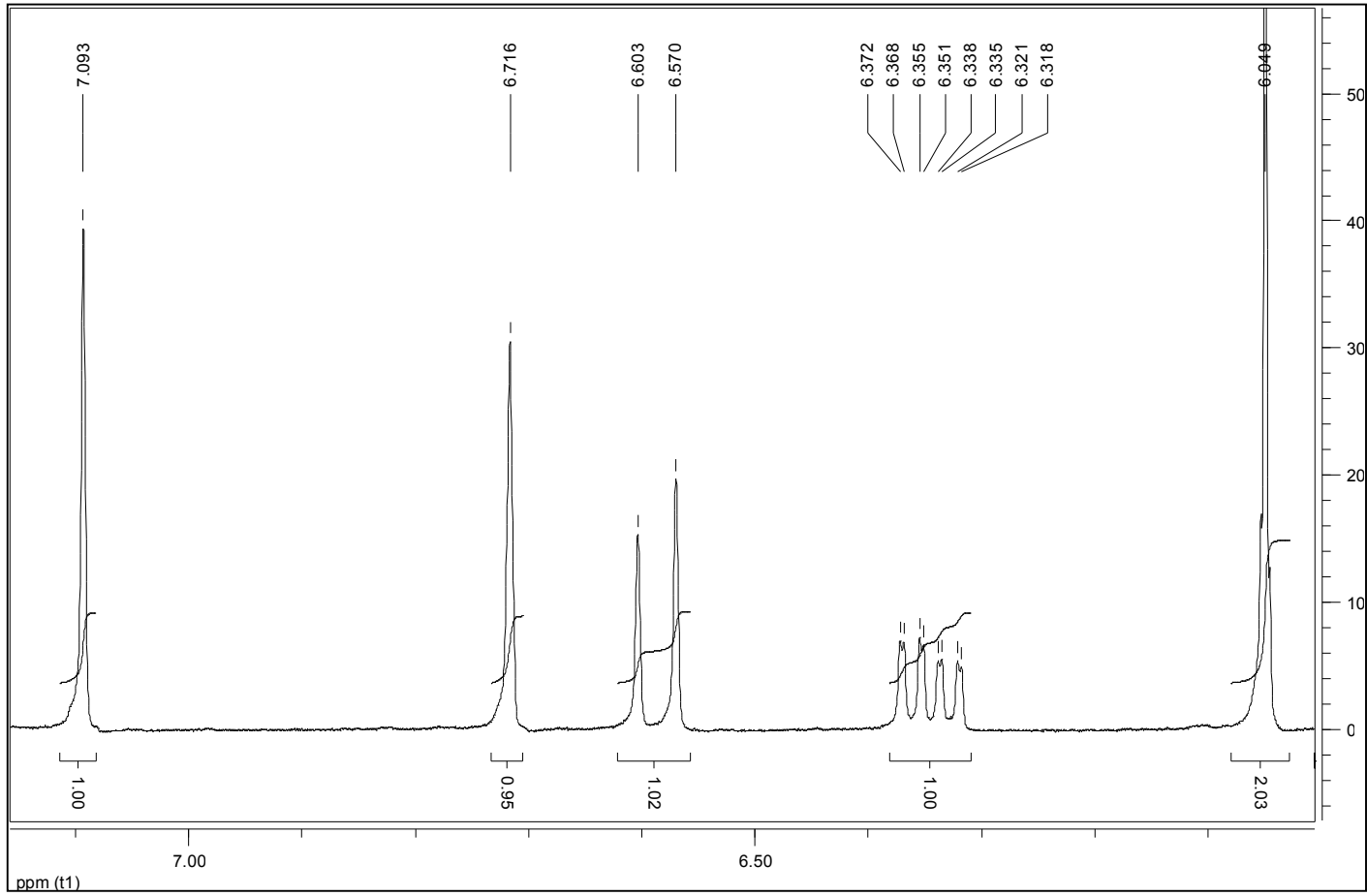


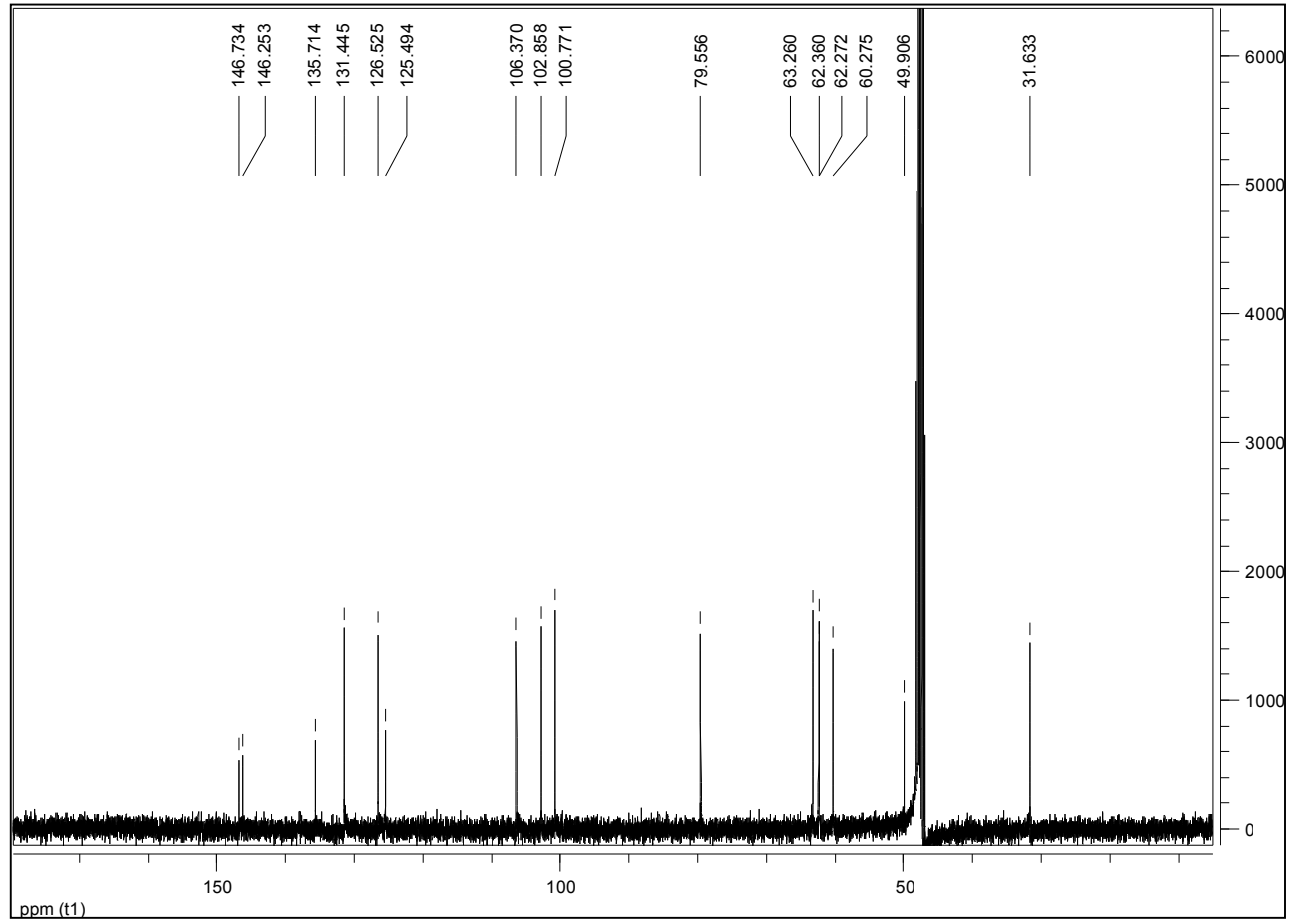
Spektrum 41. GR-9 Kodlu Bileşğin EI Kütle Spektrumu



Spektrum 42. GR-9 Kodlu Bileşğin CD Spektrumu

Spektrum 43. GR-9 Kodlu Bileşğin ^1H NMR Spektrumu

Spektrum 44. GR-9 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR Spektrumu

Spektrum 45. GR-9 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR Spektrumu

4. 2. 10. GR-10 Bileşğinin Spektral Bulguları

$[\alpha]_D -14.4^0$ (CHCl₃; c 0.05)

UV (Spektrum 46)

λ_{maks} (MeOH) (log ϵ) 212 (2.47), 235 (3.48), 281 (2.14), 316 (1.52) nm

IR (Spektrum 47)

ν_{maks} (CHCl₃) 3342, 2941, 2832, 1515, 1454, 1281, 1215, 1083 cm⁻¹

HR-ESI Kütle (Spektrum 48)

m/z (%): 350.1598 [M+H]⁺ (Teorik Değeri: 350.1599)

¹H NMR (Spektrum 49)

(500 MHz, CD₃OD) δ 7.00 (1H, s, H-10), 6.92 (1H, s, H-7), 4.74 (1H, d, $J = 13.5$ Hz, H-6 α), 4.59 (1H, *brs*, H-1), 4.28 (1H, d, $J = 13.5$ Hz, H-6 β), 4.10 (1H, m, H-12 α), 3.92 (3H, s, 9-OMe), 3.89 (1H, *brs*, H-2), 3.88 (3H, s, 8-OMe), 3.74 (1H, m, H-12 β), 3.55 (3H, s, 2-OMe), 3.43 (1H, d, $J = 13.0$ Hz, H-4a), 3.38 (1H, *brs*, H-3), 3.23 (1H, m, H-11 β), 2.55 (1H, d, $J = 13.0$ Hz, H-10b), 2.02 (1H, d, $J = 13.0, 5.5$ Hz, H-11 α) ppm

Genişletilmiş ¹H NMR (Spektrum 50)

¹³C NMR (Spektrum 51)

(125 MHz, CD₃OD) δ 149.7 (C-9), 148.1 (C-8), 128.6 (C-10a), 123.4 (C-6a), 112.1 (C-7), 107.9 (C-10), 77.5 (C-4a), 76.4 (C-2), 70.3 (C-6), 68.1 (C-12), 65.2 (C-1), 64.0 (C-4), 59.1 (2-OMe), 58.4 (C-3), 56.4 (9-OMe), 56.1 (8-OMe), 37.3 (C-10b), 29.7 (C-11) ppm

¹H, ¹H COSY (Spektrum 52) (Tablo 38)

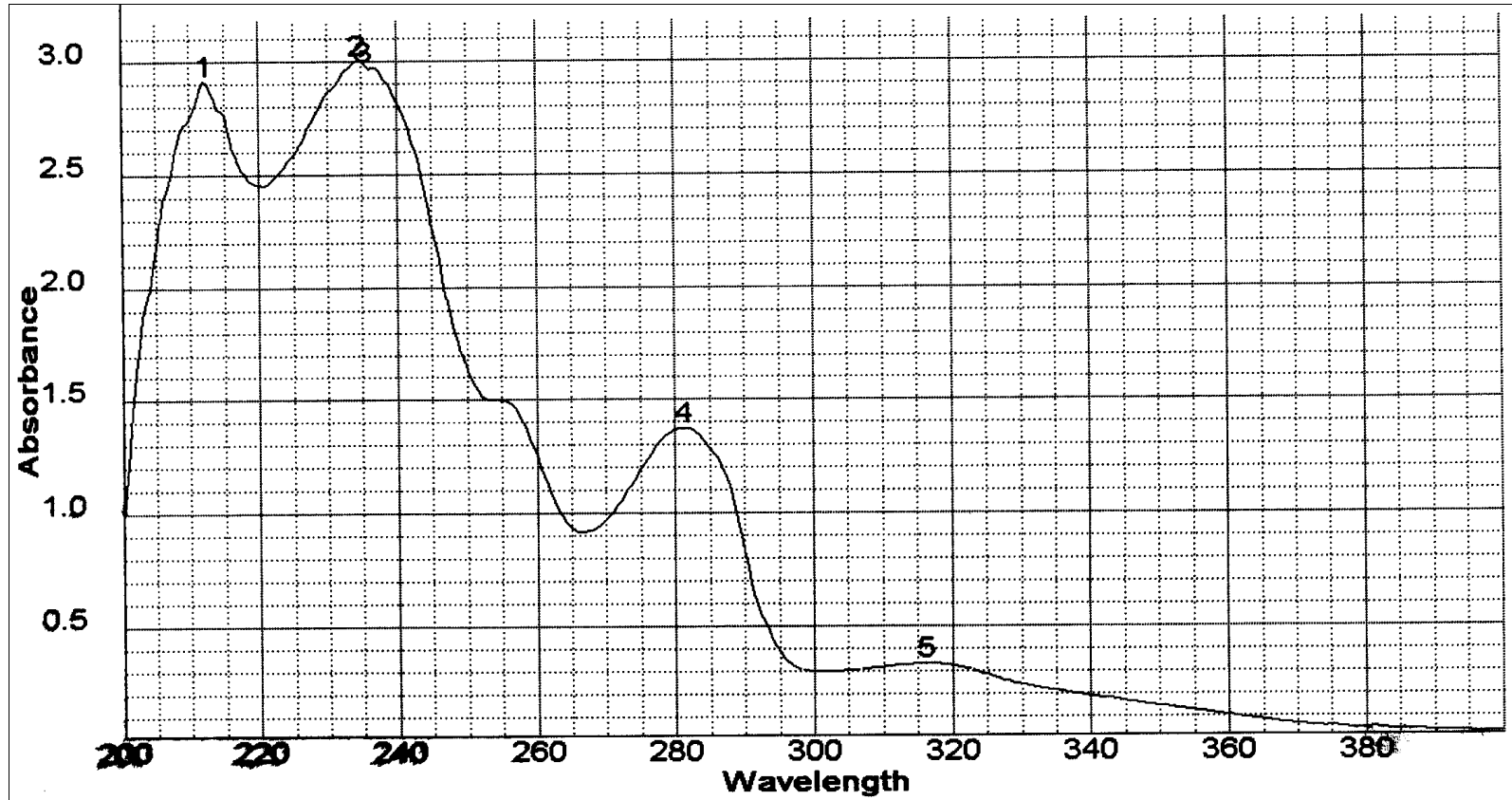
NOESY (Spektrum 53) (Tablo 38)

HSQC (Spektrum 54) (Tablo 38)

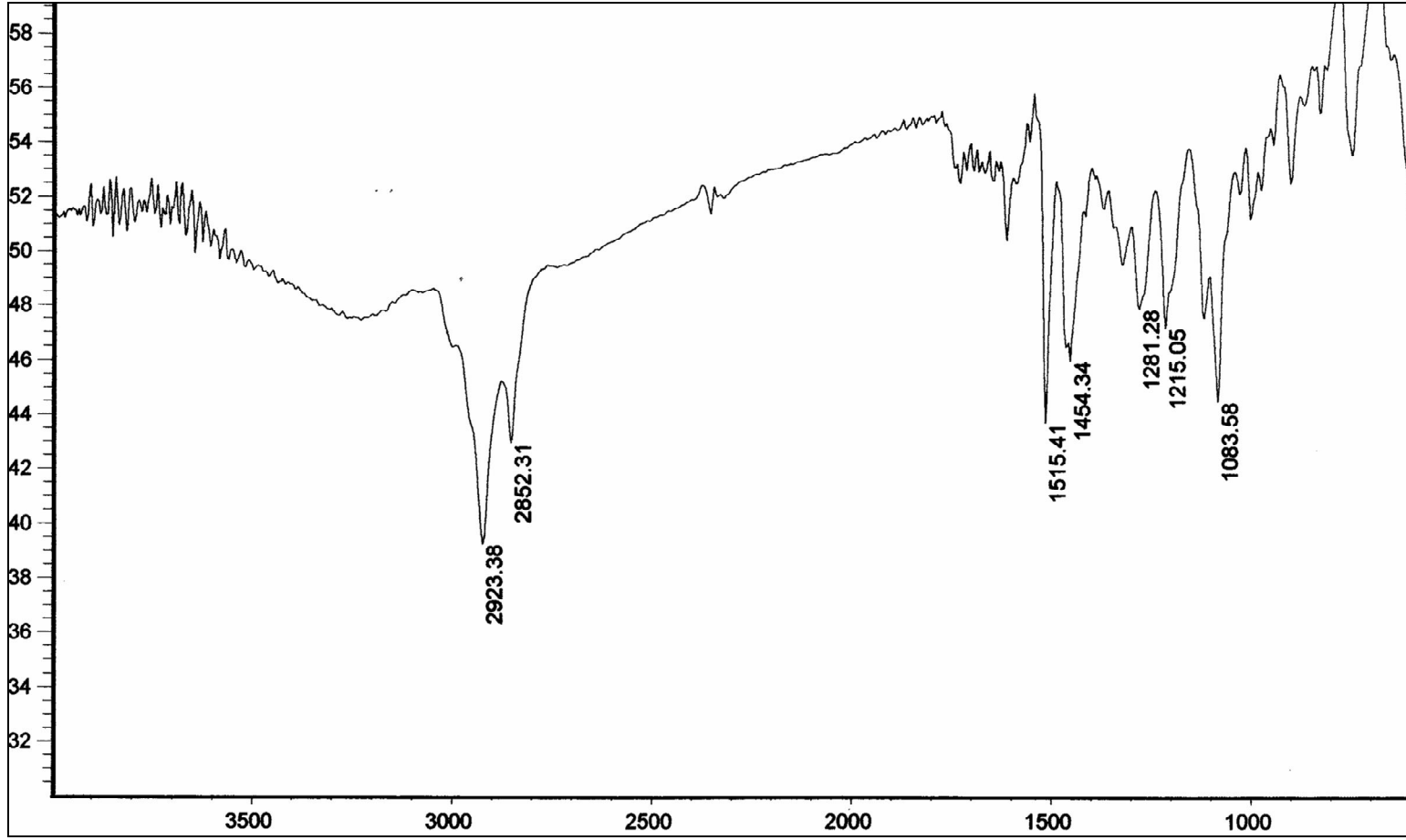
HMBC (Spektrum 55) (Tablo 38)

H	H(δ)	^{13}C (δ)/HSQC	HMBC	^1H , ^1H COSY	NOESY
1	4.59	65.2	C-3, C-4a	H-2, H-3, H-10b	H-2, H-10
2	3.89	76.4	C-1, 2-OMe, C-3, C-4, C-10b	H-1, H-3	H-1
3	3.38	58.4	C-1, C-2, 2-OMe	H-1, H-2	-
4	-	64.0	-	-	-
4a	3.43	77.5	C-1, C-4	H-10b	H-2, H-11 α
6 α	4.74	70.3	C-4a, C-6a, C-10a, C-7	H-6 β	H-6 β
6 β	4.28	70.3	C-6a, C-10a, C-7, C-12	H-6 α , H-7	H-6 α , H-12 β
6a	-	123.4	-	-	-
7	6.92	112.1	C-6, C-6a, C-8, C-9, C-10a	H-6 β , 8-OMe	H-6 α , 8-OMe
8	-	148.1	-	-	-
9	-	149.7	-	-	-
10	7.00	107.9	C-6a, C-8, C-9, C-10a, C-10b	9-OMe, H-10b	H-1, 9-OMe
10a	-	128.6	-	-	-
10b	2.55	37.3	C-1, C-4a, C-10, C-10a	H-1, H-4a, H-10	H-1, H-6 β
11 α	2.02	29.7	C-3, C-4, C-4a	H-11 β , H-12 β	H-11 β
11 β	3.23	29.7	C-3, C-4, C-12	H-11 α , H-12 α , H-12 β	H-11 α
12 α	4.10	68.1	-	H-11 β , H-12 β	H-12 β
12 β	3.74	68.1	-	H-11 β , H-12 α	H-12 α
9-OMe	3.92	56.4	C-9	H-10	H-10
8-OMe	3.88	56.1	C-8	H-7	H-7
2-OMe	3.55	59.1	C-2	-	H-1, H-2, H-3

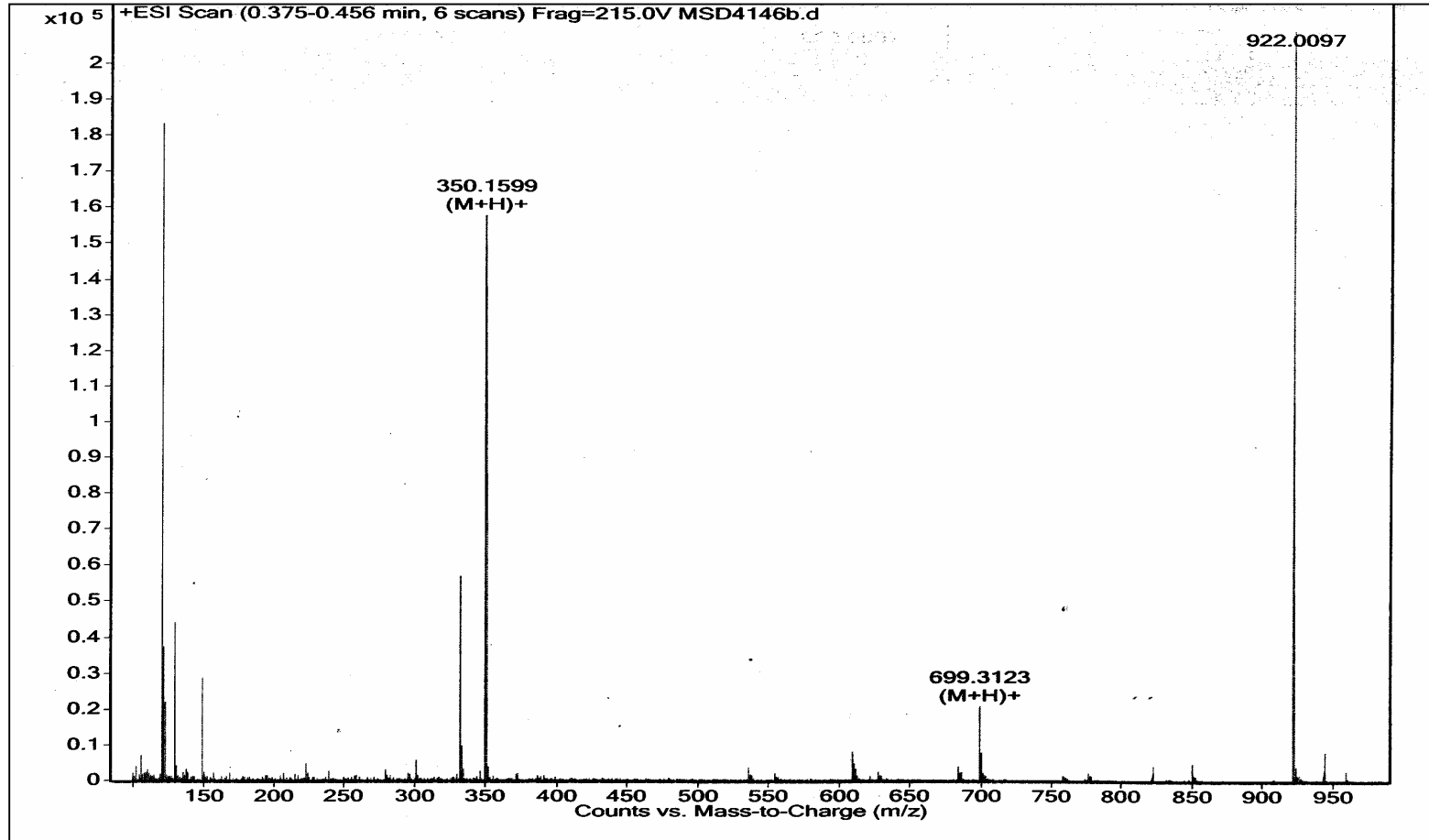
Tablo 38. GR-10 Kodlu Bileşiğin 1D ve 2D NMR Spektral Bulguları



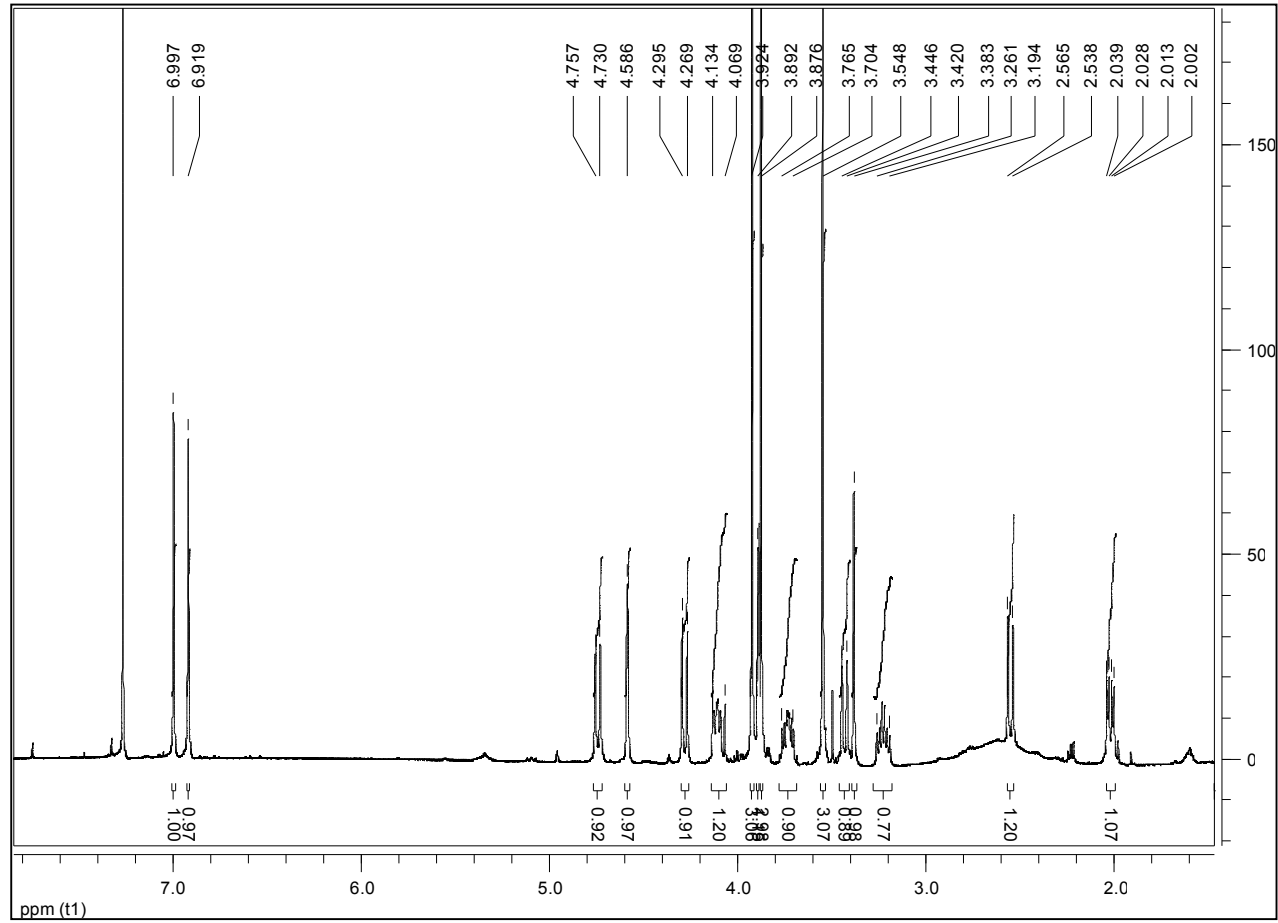
Spektrum 46. GR-10 Kodlu Bileşğin UV Spektrumu

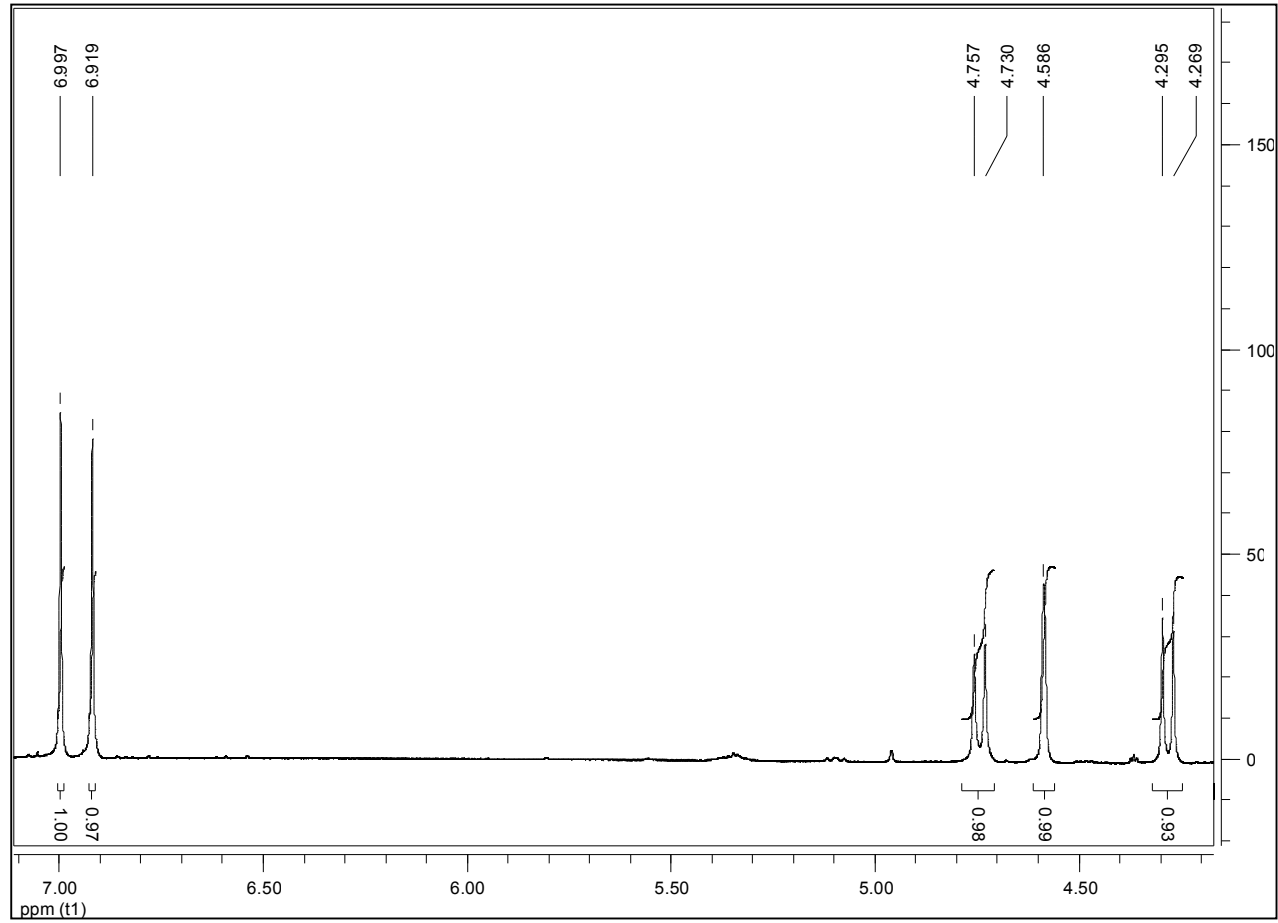


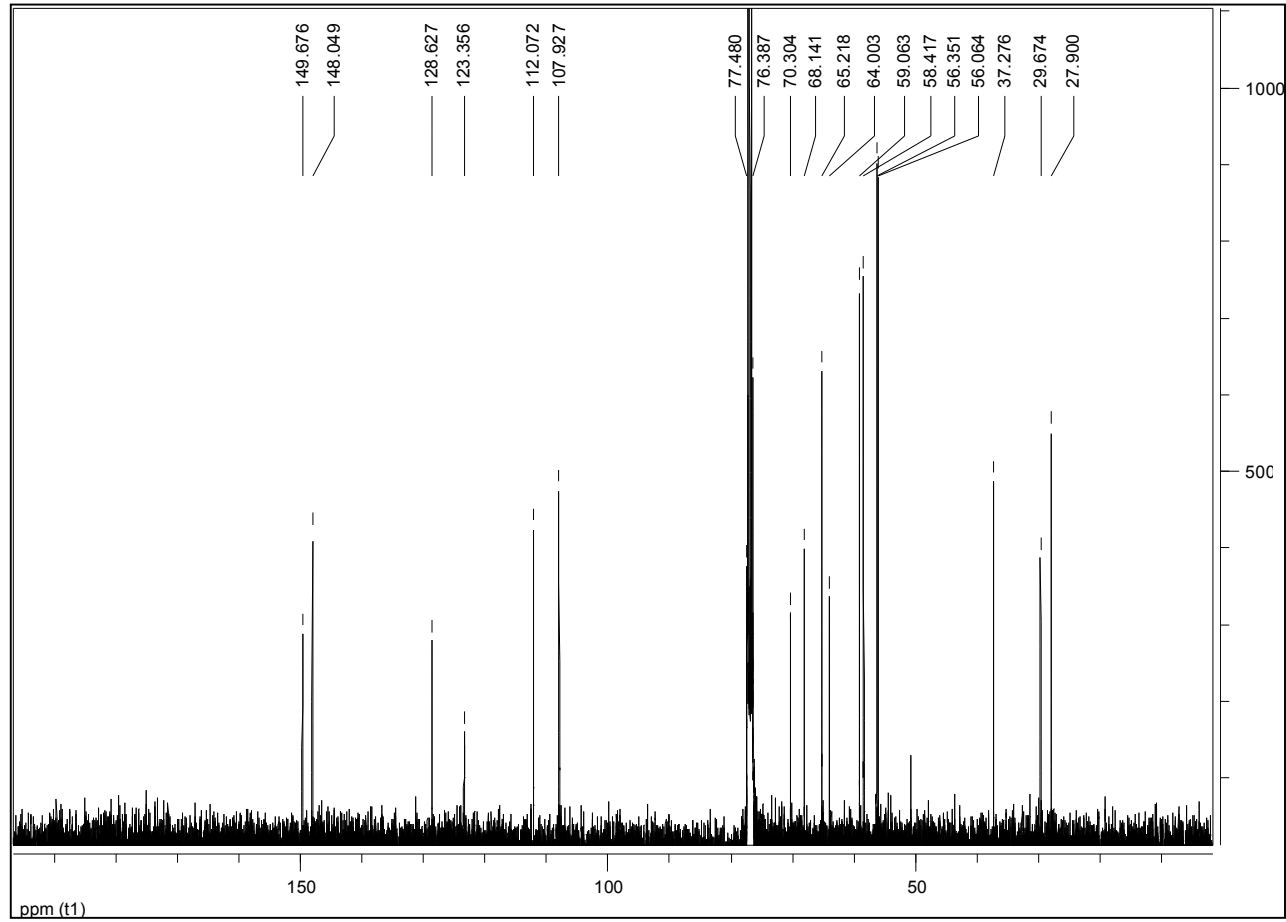
Spektrum 47. GR-10 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu

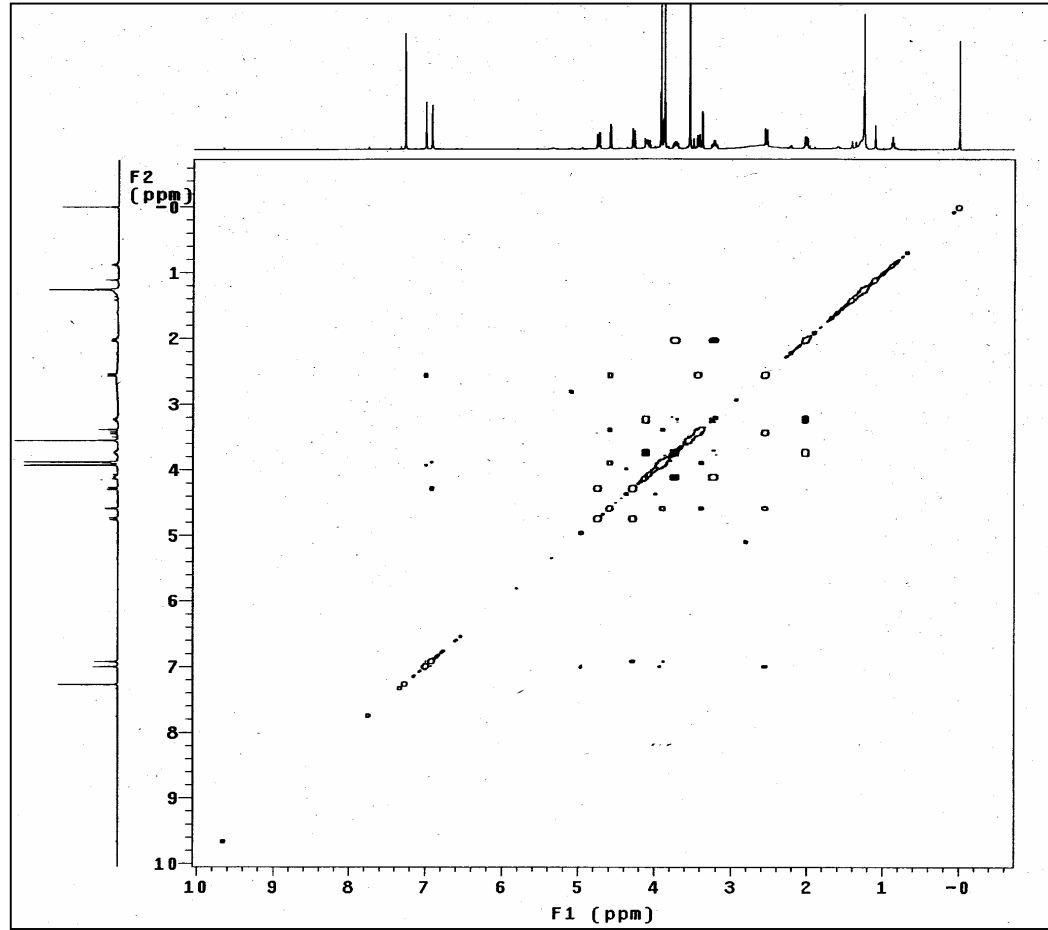


Spektrum 48. GR-10 Kodlu Bileşğin HR-ESI Kütle Spektrumu

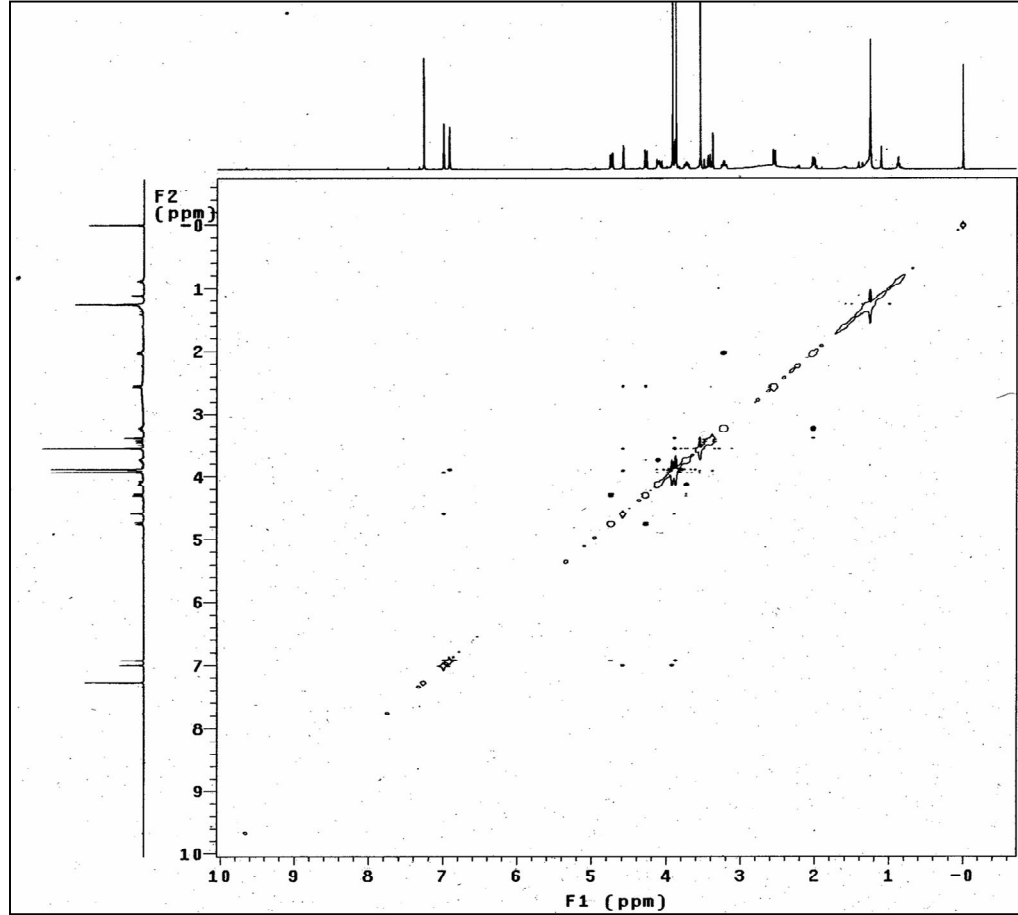
Spektrum 49. GR-10 Kodlu Bileşğin ^1H NMR Spektrumu

Spektrum 50. GR-10 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR Spektrumu

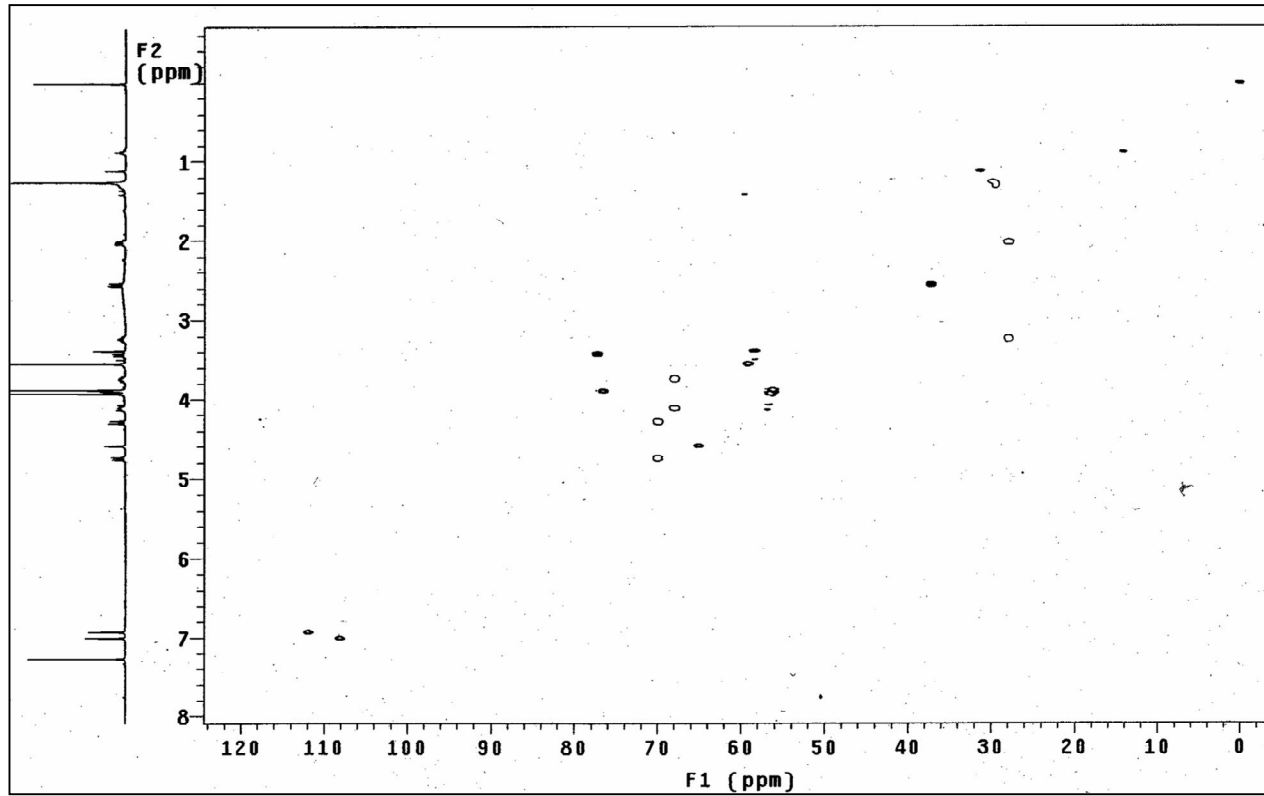
Spektrum 51. GR-10 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR Spektrumu



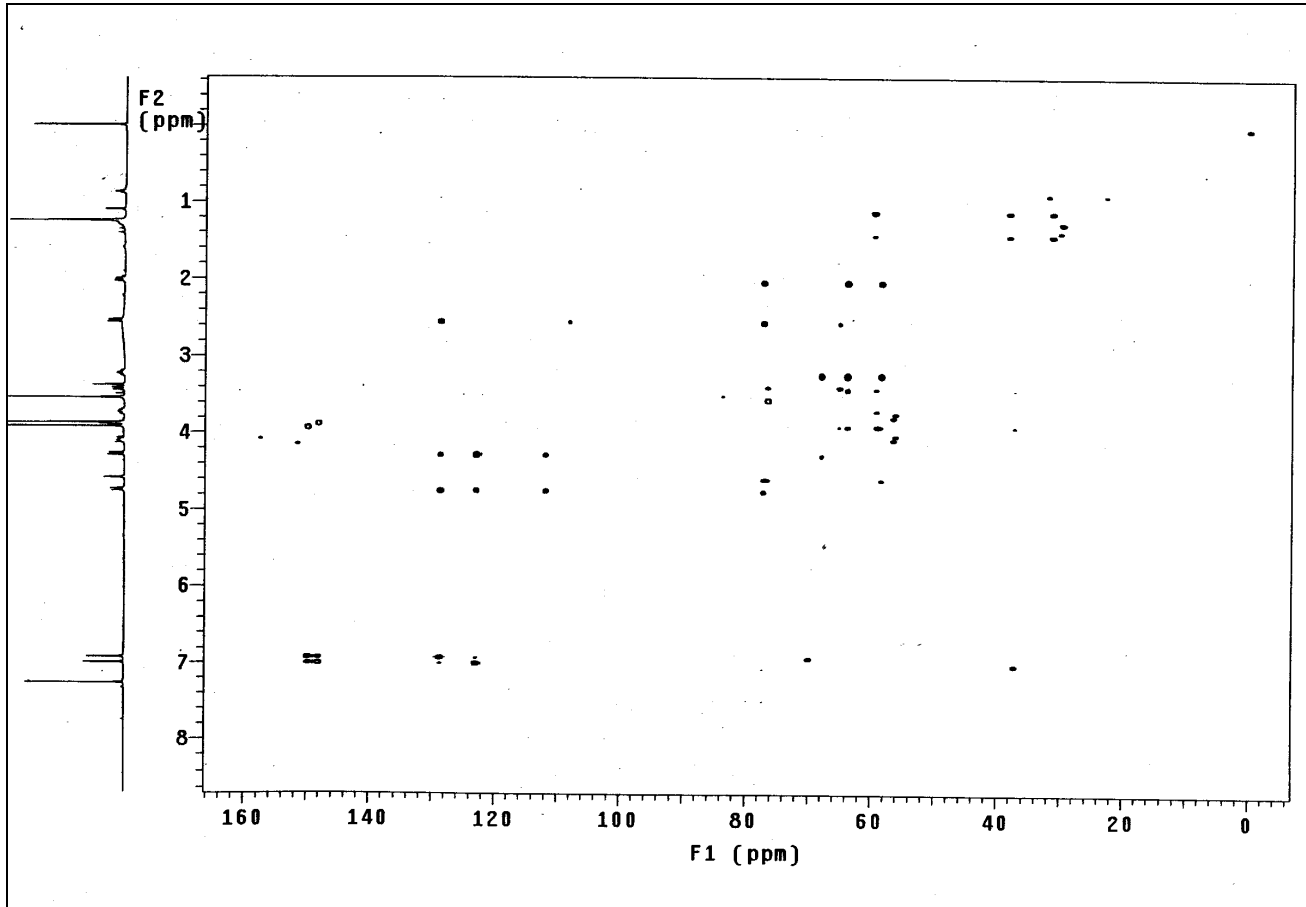
Spektrum 52. GR-10 Kodlu Bileşğin ^1H H COSY Spektrumu



Spektrum 53. GR-10 Kodlu Bileşğin NOESY Spektrumu



Spektrum 54. GR-10 Kodlu Bileşğin HSQC Spektrumu



Spektrum 55. GR-10 Kodlu Bileşiğin HMBC Spektrumu

4. 2. 11. GR-11 Bileşiğinin Spektral Bulguları

$[\alpha]_D -58.4^0$ (MeOH; c 0.05)

UV (Spektrum 56)

λ_{maks} (MeOH) (log ϵ) 218 (2.47), 234 (2.45), 293 (2.46) nm

IR (Spektrum 57)

ν_{maks} (MeOH) 3332, 2945, 2833, 1489, 1240, 1020, 925, 889 cm^{-1}

HR-ESI Kütle (Spektrum 58)

m/z (%): 326.0999 $[M + Na]^+$ (Teorik Değer: 326.1000)

^1H NMR (Spektrum 59)

(500 MHz, CD_3OD) δ 6.95 (1H, s, H-10), 6.67 (1H, s, H-7), 5.95 (1H, d, $J = 1.0$ Hz, OCH_2O), 5.94 (1H, d, $J = 1.0$ Hz, OCH_2O), 5.75 (1H, *brs*, H-3), 4.77 (1H, d, $J = 14.5$ Hz, H-6 α), 4.59 (1H, *brs*, H-1), 4.55 (1H, d, $J = 14.5$ Hz, H-6 β), 4.16 (1H, *brs*, H-2), 4.06 (1H, d, $J = 11.0$ Hz, H-4a), 3.88 (1H, m, H-12 α), 3.78 (1H, m, H-12 β), 3.35 (1H, d, $J = 11.0$ Hz, H-10b), 3.00 (1H, m, H-11 α), 2.82 (1H, m, H-11 β) ppm

Genişletilmiş ^1H NMR (Spektrum 60)

^{13}C NMR (Spektrum 61)

(125 MHz, CD_3OD) δ 148.9 (C-9), 148.3 (C-8), 137.9 (C-4), 128.2 (C-10a), 125.6 (C-6a), 122.7 (C-3), 108.4 (C-7), 105.9 (C-10), 102.7 (C- OCH_2O), 72.9 (C-4a), 72.3 (C-2), 71.2 (C-1), 69.2 (C-12), 68.8 (C-6), 35.7 (C-10b), 27.3 (C-11) ppm

^1H , ^1H COSY (Spektrum 62) (Tablo 39)

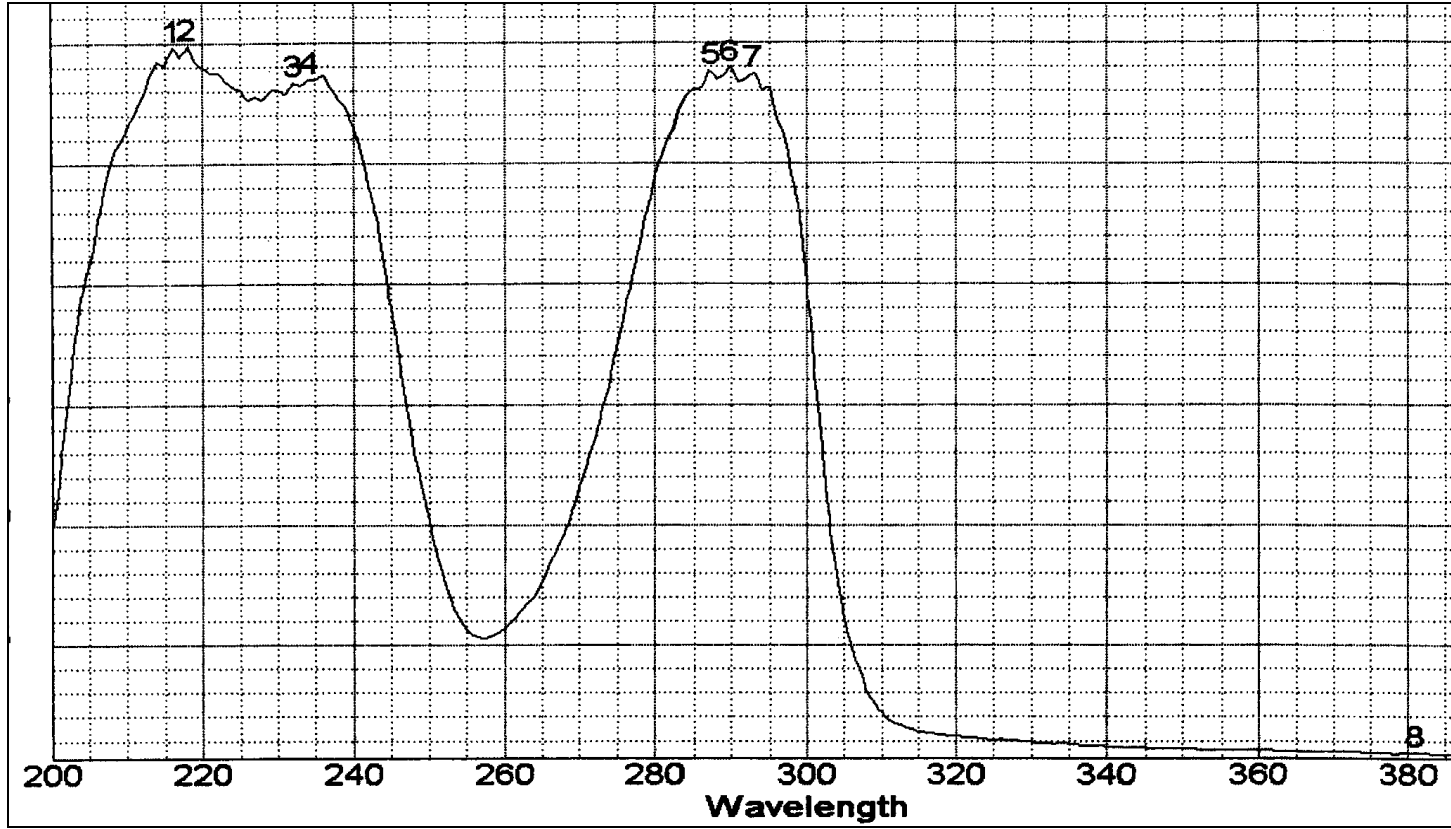
NOESY (Spektrum 63) (Tablo 39)

HSQC (Spektrum 64) (Tablo 39)

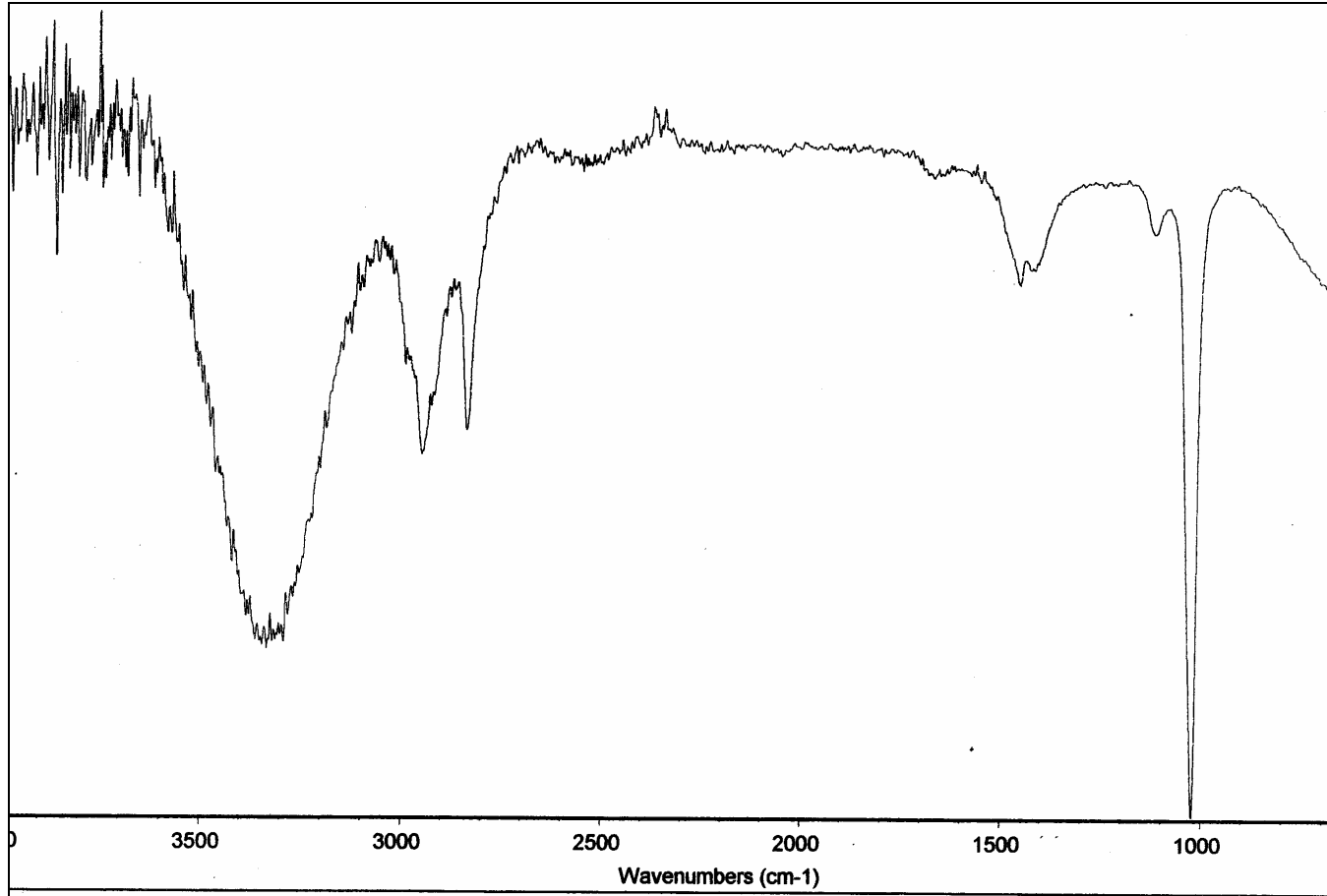
HMBC (Spektrum 65) (Tablo 39)

H	¹ H (δ)	¹³ C (δ)/HSQC	HMBC	¹ H, ¹ H COSY	NOESY
1	4.59	71.2	C-2, C-3, C-4a, C-10b	H-2, H-3, H-10b	H-2, H-10, H-10b
2	4.16	72.3	-	H-1, H-3, H-4a	H-1, H-3
3	5.75	122.7	-	H-1, H-2, H-4a, H-11a, H-11b	H-2
4	-	137.9	-	-	-
4a	4.06	72.9	C-4	H-2, H-3, H-6β, H-10b, H-11a, H-11b	-
6α	4.55	68.8	C-4a, C-6a, C-7, C-10a	H-4a, H-6β, H-7, H-10b	H-6β
6β	4.77	68.8	C-6a, C-7, C-8, C-10a, C-12	H-6α, H-7, H-10b	H-6α, H-12β
6a	-	125.6	-	-	-
7	6.67	108.4	C-6, C-8, C-9, C-10a	H-6α, H-6β	H-6α
8	-	148.3	-	-	-
9	-	148.9	-	-	-
10	6.95	105.9	C-6a, C-8, C-9, C-10b	H-10b	H-1
10a	-	128.2	-	-	-
10b	3.35	35.7	C-4a, C-10a	H-1, H-4a, H-6α, H-6β, H-10,	H-1
11a	3.00	27.3	C-3, C-4, C-12	H-3, H-4a, H-11b, H-12α, H-12β	H-11b
11b	2.82	27.3	C-3, C-4	H-3, H-4a, H-11a, H-12α, H-12β	H-11a
12α	3.88	69.2	C-4, C-4a	H-11a, H-11b, H-12β	H-12β
12β	3.78	69.2	C-11	H-11a, H-11b, H-12α	H-12α, H-6β
OCH ₂ O	5.94, 5.95	102.7	C-8, C-9	-	-

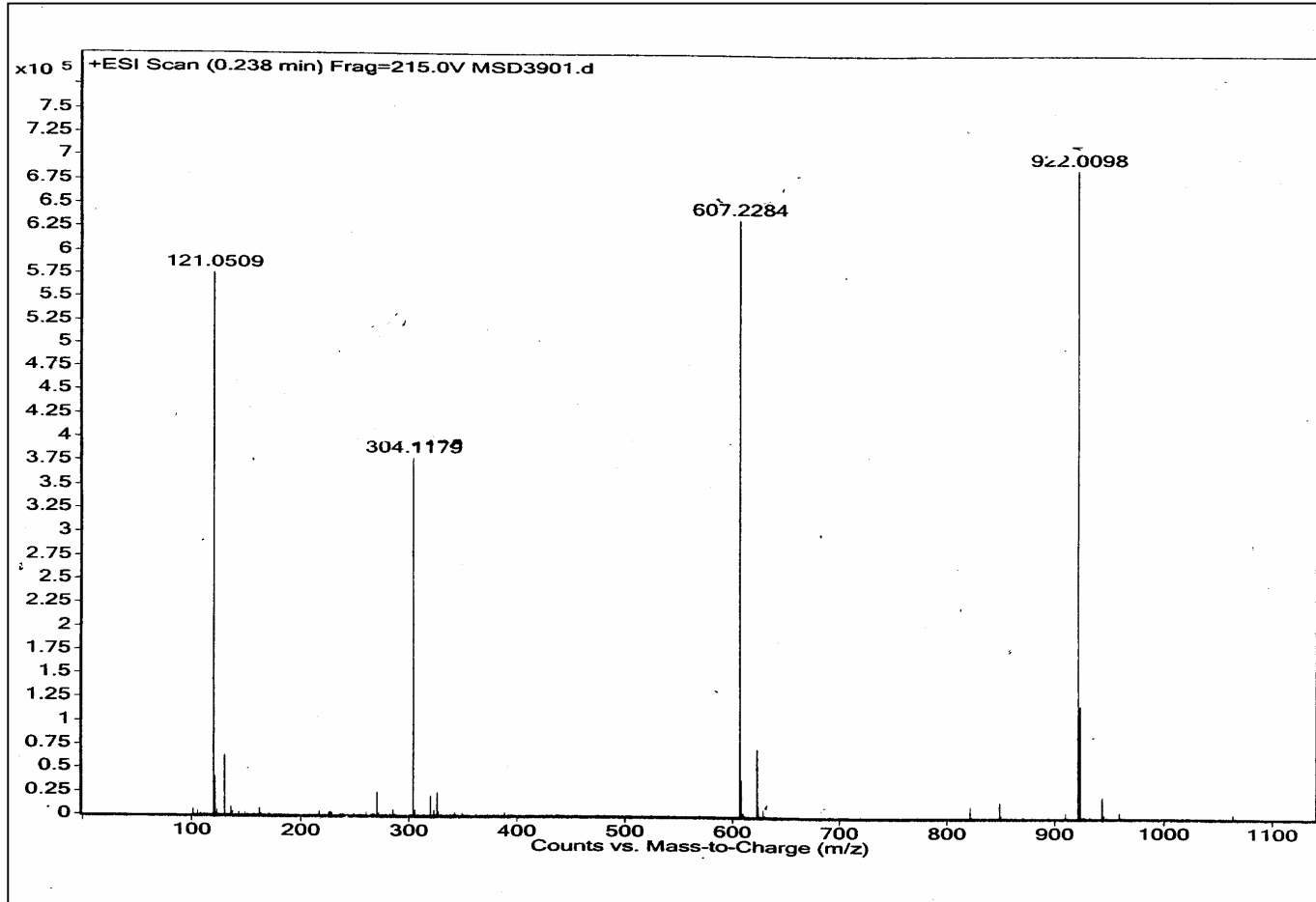
Tablo 39. GR-11 Kodlu Bileşiğin 1D ve 2D NMR Spektral Bulguları



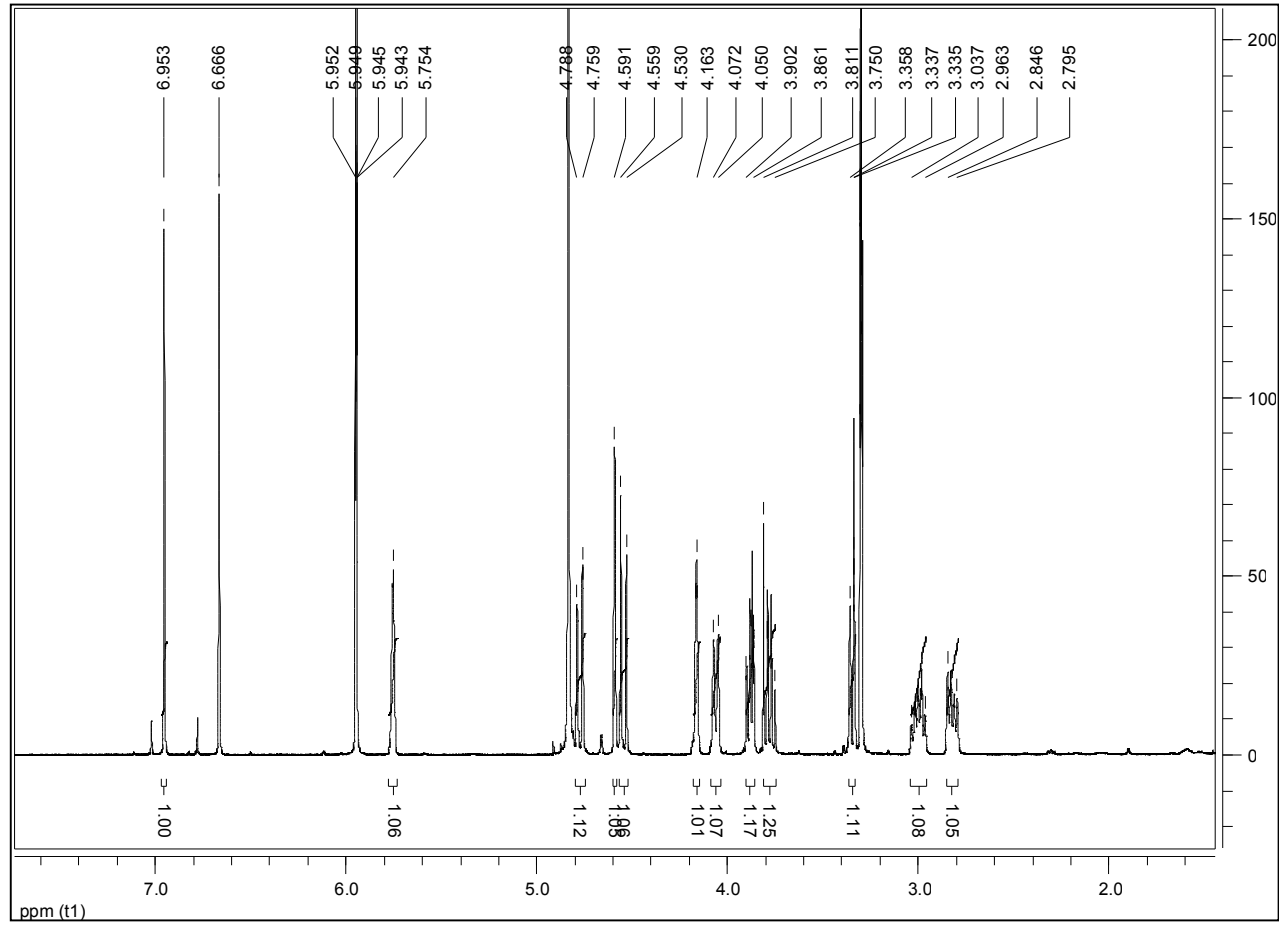
Spektrum 56. GR-11 Kodlu Bileşimin UV Spektrumu

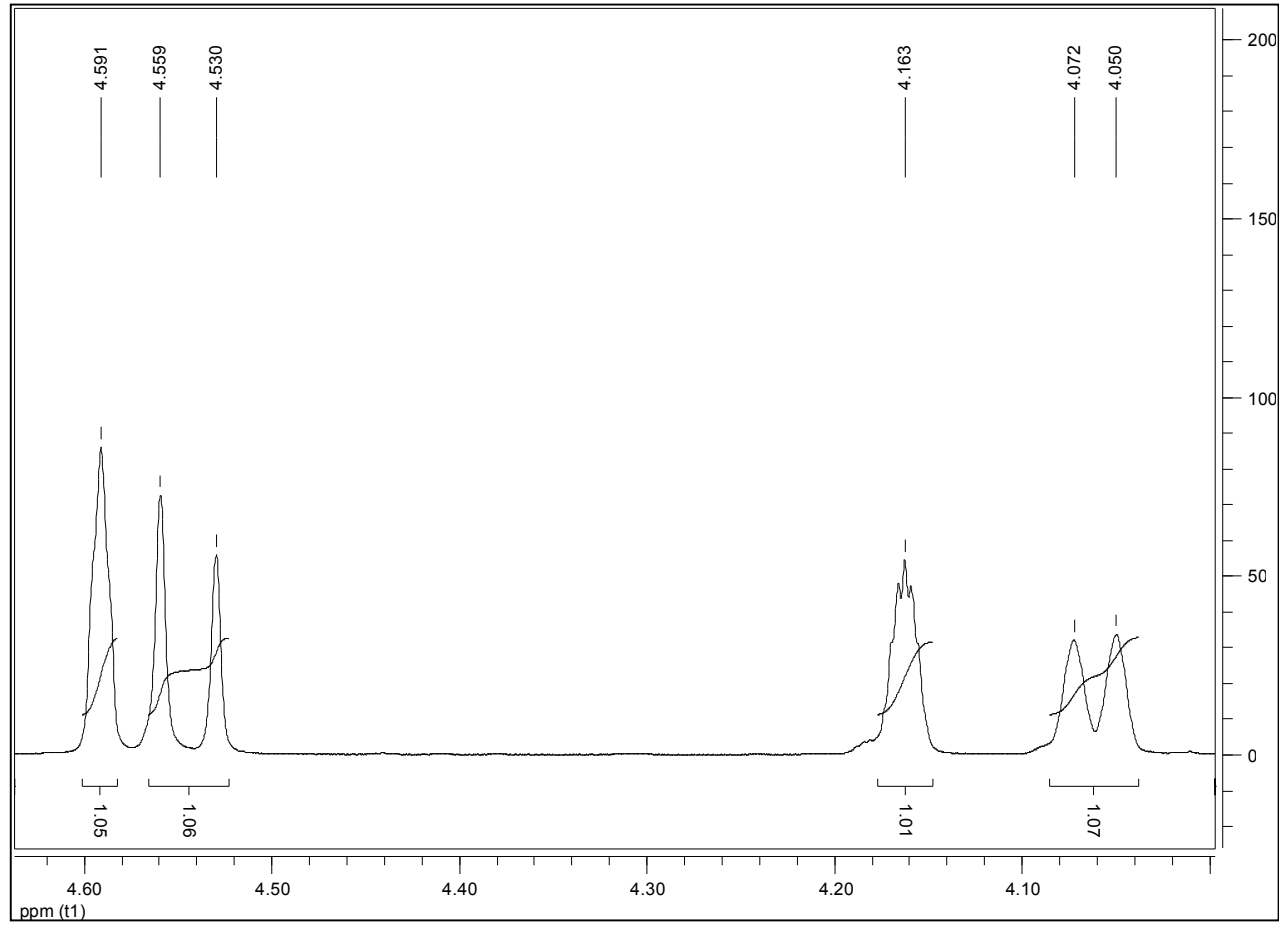


Spektrum 57. GR-11 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu

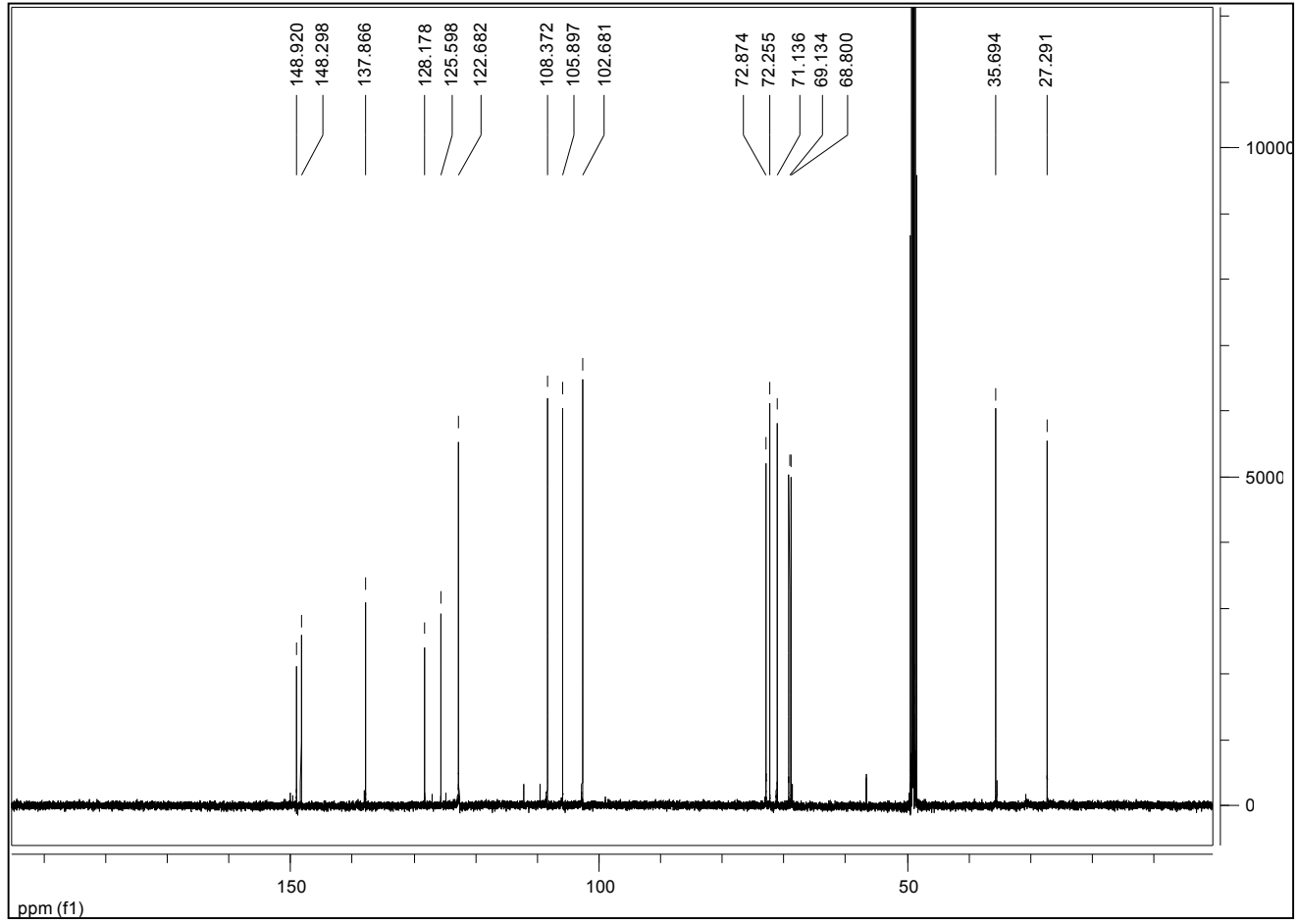


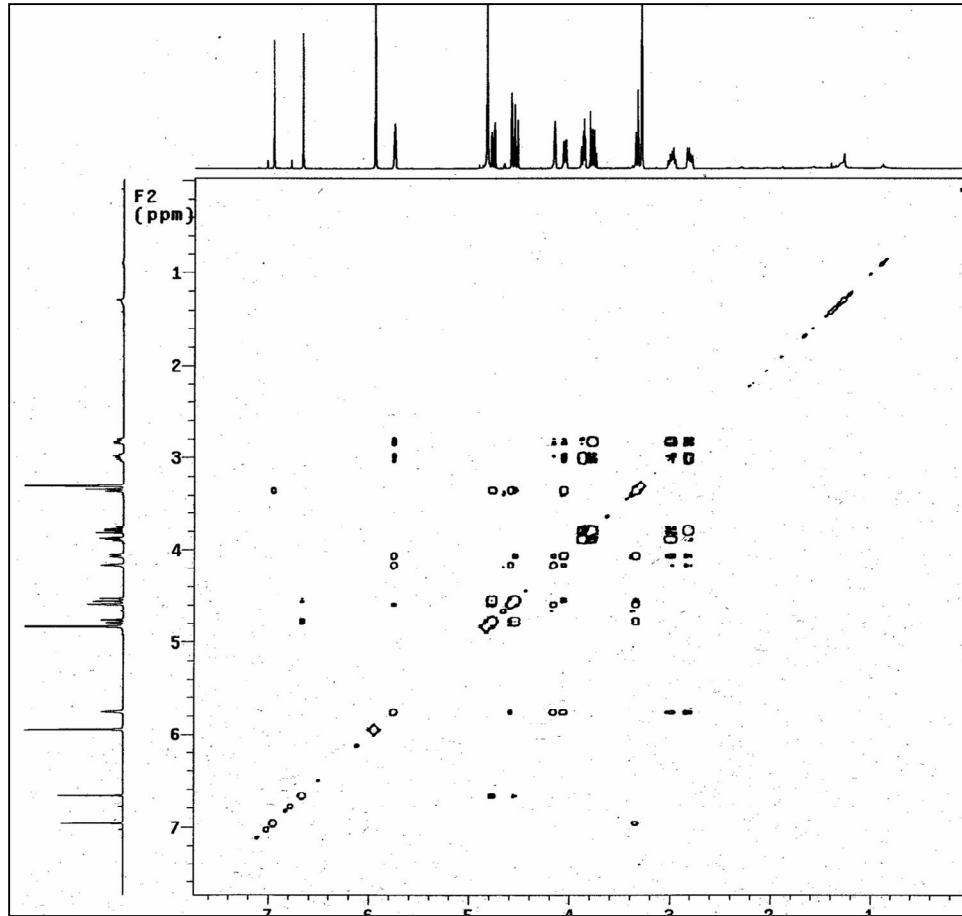
Spektrum 58. GR-11 Kodlu Bileşğin HR-ESI Kütle Spektrumu

Spektrum 59. GR-11 Kodlu Bileşğin ^1H NMR Spektrumu

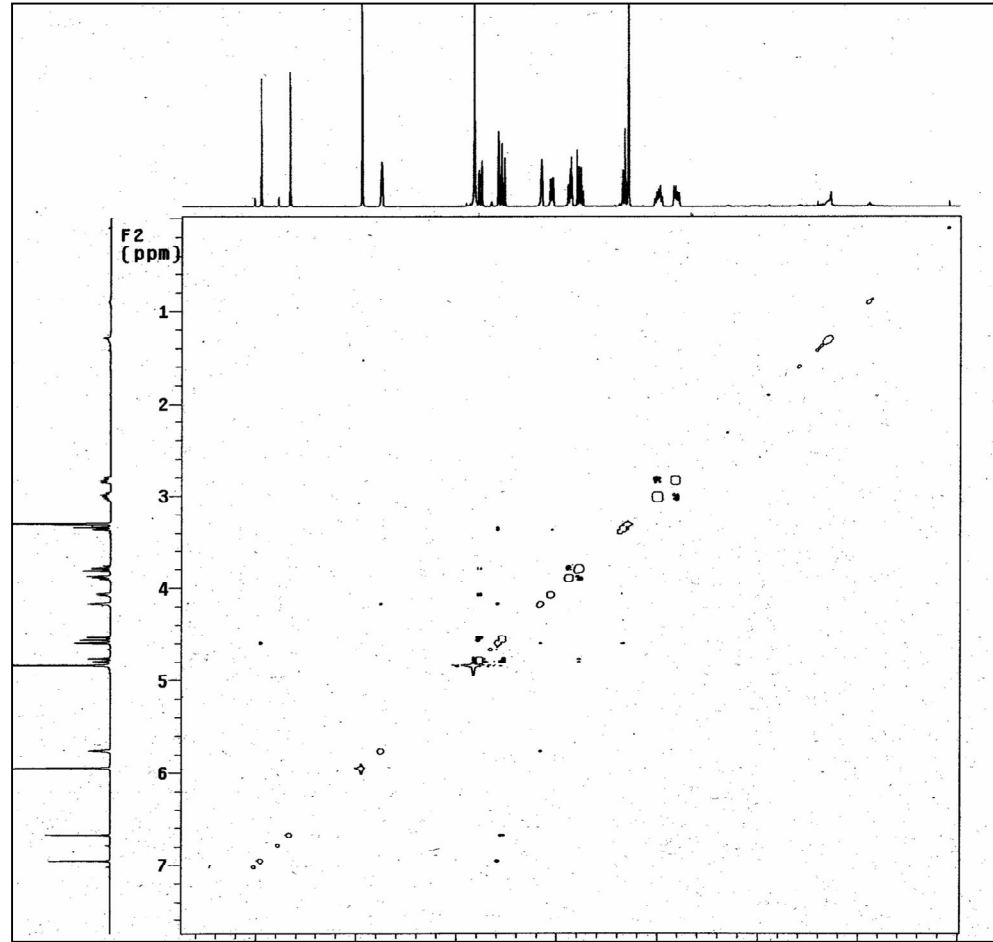


Spektrum 60. GR-11 Kodlu Bileşimin Genişletilmiş ^1H NMR Spektrumu

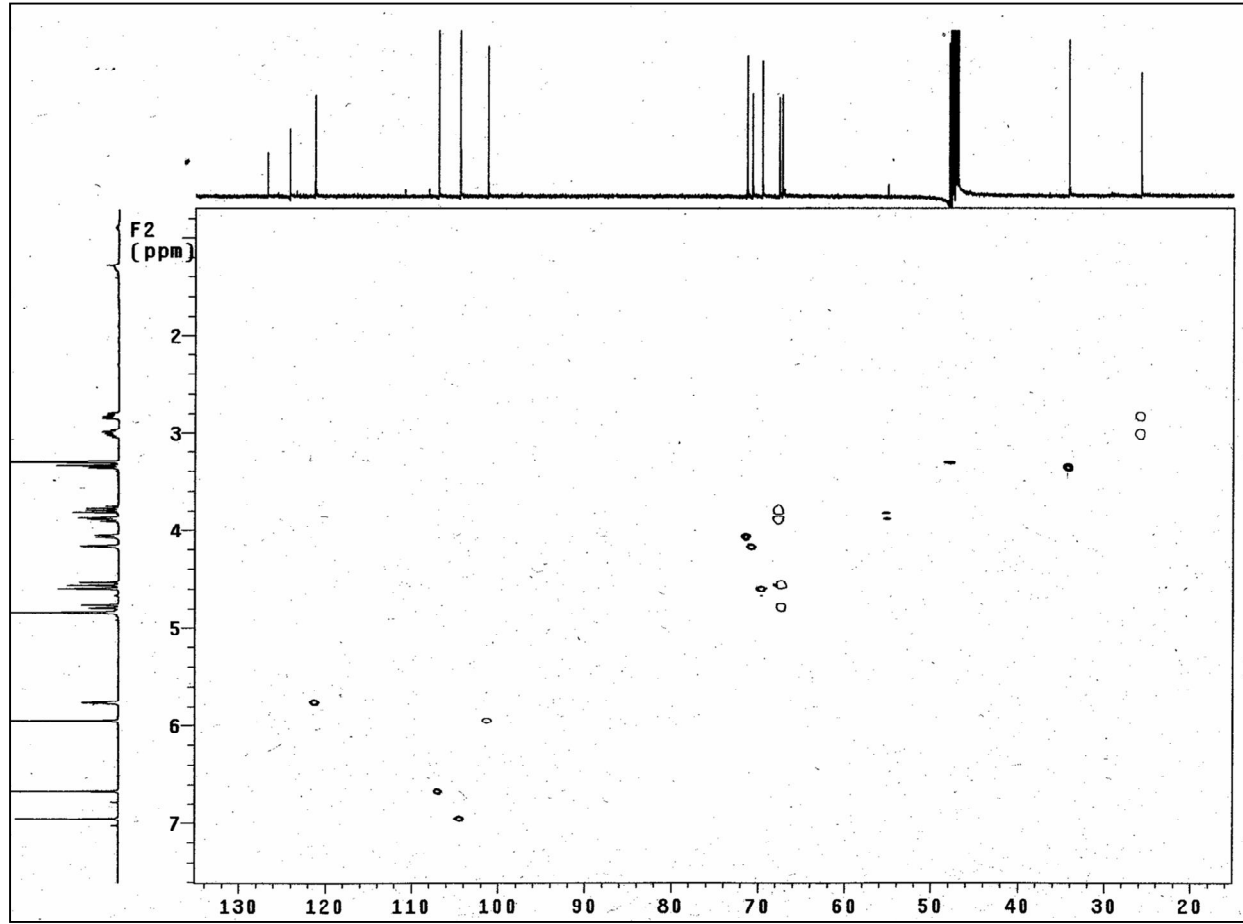
Spektrum 61. GR-11 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR Spektrumu



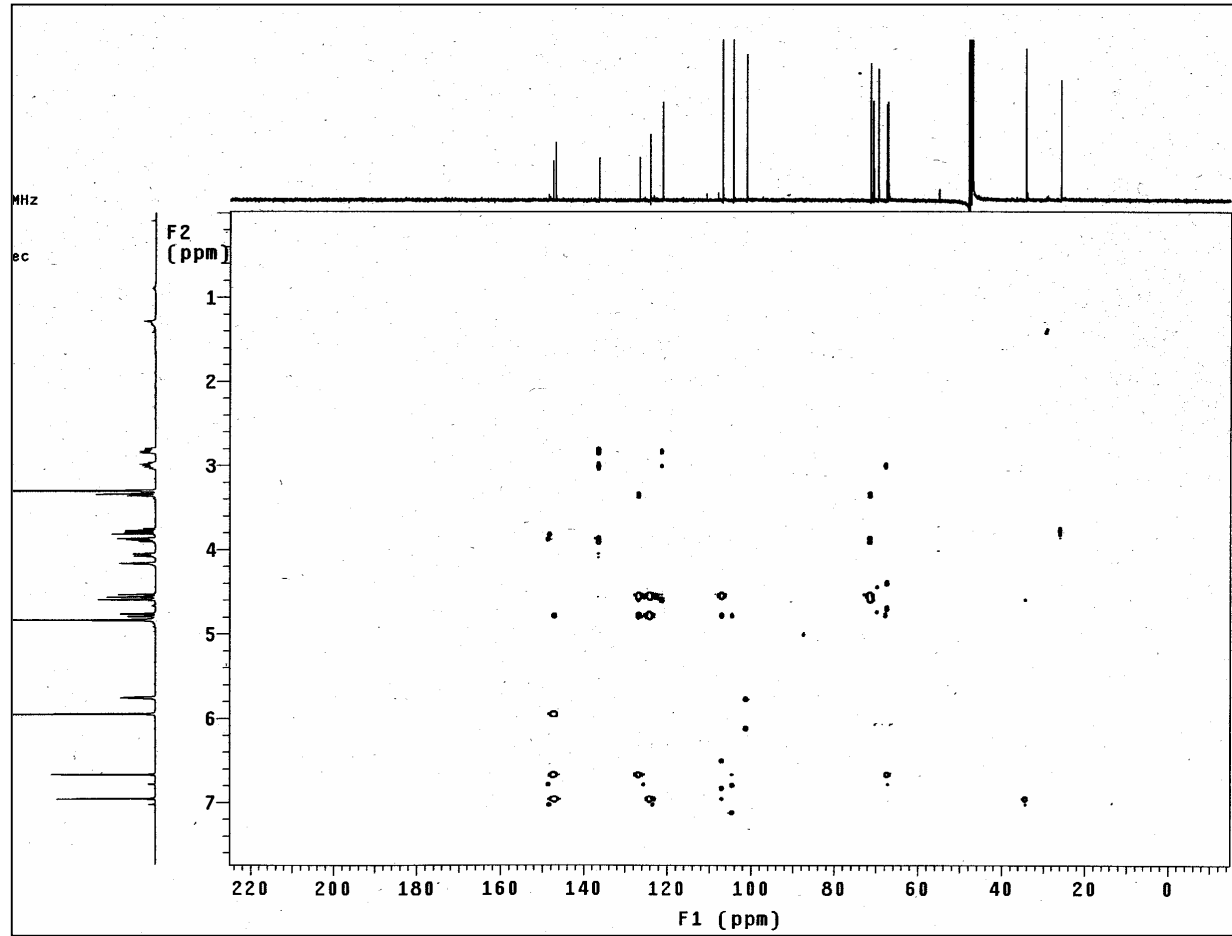
Spektrum 62. GR-11 Kodlu Bileşğin ^1H H COSY Spektrumu



Spektrum 63. GR-11 Kodlu Bileşğin NOESY Spektrumu



Spektrum 64. GR-11 Kodlu Bileşğin HSQC Spektrumu



Spektrum 65. GR-11 Kodlu Bileşğin HMBC Spektrumu

BÖLÜM IV

TARTIŞMA

1. BOTANİK ARAŞTIRMALAR

Çalışmamızda Trabzon ili, Maçka ilçesi, Güzelyayla Köyü'nden, 11.03.2007 tarihinde çiçekli halde iken, 02.05.2007 tarihinde ise meyveli halde iken toplanan *Galanthus rizehensis* Stern bitkisinin tayininde yardımcı olabilecek anatomik özelliklerin tespit edilmesi amacıyla alkol materyali hazırlanmıştır. Bundan yararlanılarak bitkinin kök, çiçek durumu sapı, yaprak, çiçek, meyve, tohum ve ovaryumuna ait anatomik karakterler belirlenmiştir. Ayrıca Herba ve Bulbus Galanthi droglarına ait toz drog örnekleri de anatomik olarak incelenmiştir.

Bu çalışmalarda yaprakta, epidermis hücrelerinin dış yüzeye bakan (dorsal) çeperlerinin, ventral ve lateral çeperlere göre oldukça kalın olduğu gözlenmektedir. Yaprığın uç, orta ve dip kısımlarından alınan kesitler karşılaştırıldığında dorsal çeperlerin uç kısımda en kalın olup, dip kısmına doğru giderek incelendiği görülmüştür. Amarillis tip stomalar diğer *Galanthus* türlerinde de görüldüğü şekilde alt epidermiste, üst epidermise göre daha bol olarak bulunmaktadır (312). Epidermisin hemen altındaki mezofil hücreleri bol kloroplastlı olup, iç kısma doğru kloroplast miktarı azalmaktadır. Kolateral iletim demetlerinin arasında yer alan mezofil hücrelerinin çeperleri incedir. *Galanthus* genusunun sistematik olarak

değerlendirilmesinde hava kanallarının kritik bir öneme sahip olmadığı literatürde belirtilmiş olup, bitkiden hazırlanan enine kesitler incelendiğinde, yaprağın daha geniş olarak bulunduğu orta kısımlarda belirgin ve geniş iken uç ve dip kısımlarda daralıp, yer yer kaybolduğu tespit edilmiştir. Elde edilen bütün bu bulgular literatürle de uyumludur **(84, 310, 312)**.

Genel olarak monokotil bitkilerin kök endodermislerinde kalınlaşma görüldüğü rapor edilmiştir **(29, 350)**. Daha önce *G. rizehensis* ve diğer bazı *Galanthus* türleri üzerinde yapılan anatomik çalışmalarda endodermiste kalınlaşma tespit edilmekle birlikte **(312)** yaptığımız enine kesit incelemelerinde endodermis hücrelerinin ince çeperli olduğu saptanmıştır. Kaspari şeridi belirgin olarak izlenmiştir.

Çiçek durumu sapının çeşitli kısımlarından alınan enine ve yüzeysel kesitlerde elde edilen bulgular genel olarak literatürde yer alan bulgularla uyumlu olup **(312)**, dairesel çiçek durumu sapı şekli dip kısımlara (kın) doğru giderek eliptikleşip, her iki uçta çıkıntı (karina) oluşturması karakteristik olarak görülmektedir. Ayrıca bu karinaların uç kısmında 2-4 adet hücrenin çeperleri kalınlaşarak kollenkimaya benzer hücreler oluşturduğu gözlenmiştir.

Meyveye ait incelemelerde ekzokarpın iç kısmında yer alan ilk 2-3 sırada yer alan mezokarp hücrelerinin yassı ve bol kloroplast içerdiği görülmektedir. 2-3. sıradan sonra ise mezokarp hücrelerinin çeperleri incelmekte, daha yuvarlak ve merkeze doğru ovalimsi bir görünüş almaktadır. Ayrıca merkeze doğru hücreler daha serbest bir şekilde dizilmektedir. Ekzokarptan alınan yüzeysel kesitlerde 4-5 komşu hücresine sahip anomositik tip stomalar, eksenlerine dik bir şekilde görülen kütikula çizgileriyle karakterizedir.

Galanthus türlerinde çiçek anatomisinin sistematik açıdan çok farklılık göstermediği, incelemiş olduğumuz bir kaynakta belirtilmiş olup **(83)**, elde ettiğimiz

bulgular da bu düşünceyi desteklemektedir.

Tohum enine kesitleri incelendiğinde endospermayı oluşturan hücrelerin kalın çeperli ve basit geçitlerinin belirgin olduğu görülmüştür. Nişastaların bol olarak bulunduğu tohumda karakteristik özellikte bir yapıya rastlanmamıştır.

2. KALİTE KONTROL VE MİKTAR TAYİNİ ARAŞTIRMALARI

Tezimizin konusunu oluşturan *Galanthus rizehensis* Stern bitkisinden elde edilen Herba ve Bulbus Galanthi drogları üzerinde çeşitli kalite kontrol çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

Bu amaçla Avrupa Farmakopesi (104) ve Avrupa Farmakopesi Adaptasyonu Türk Farmakopesi'nde (21) yer alan bazı ana yöntemler esas alınmıştır. Gravimetrik esaslı nem, total kül, sülfat külü, hidroklorik asitte çözünmeyen kül miktar tayini yöntemleri aynen veya kısmi değişikliklerle uygulanmıştır. Ayrıca bu konuda 10. Alman Farmakopesi (93) ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) "Tıbbi Bitkisel Materyal için Kalite Kontrol Yöntemleri" (367) isimli kaynaklardan da yararlanılmıştır.

Drog örneklerindeki total alkaloit miktarı, 6. Avrupa Farmakopesi'nde (104) farklı drog monografilerinde yer alan yöntemlerden yararlanılarak geliştirilmiş olup, daha önce çalışma grubumuz tarafından çeşitli Amaryllidaceae türleri üzerinde uygulanmış olan titrimetrik esaslı bir yöntemle tayin edilmiştir (7, 77, 78, 116, 167).

Ayrıca fizyolojik ve farmakolojik etkileri nedeniyle Amaryllidaceae alkaloitleri arasında önemli bir yere sahip olan galantamin ve likorin alkaloitlerinin varlıkları hazırlanan drog örneklerinde yüksek basınçlı sıvı kromatografisi yöntemiyle (HPLC) araştırılmış olup, tayin edilebilecek miktarda saptanan likorinin miktar tayini gerçekleştirilmiştir.

2. 1. NEM, TOTAL KÜL, SÜLFAT KÜLÜ, HİDROKLORİK ASİTTE ÇÖZÜNMEYEN KÜL MİKTARI

Galanthus rizehensis Stern bitkisinden hazırlanan droglar üzerinde gerçekleştirilen nem miktar tayini denemelerinde, ortalama değer olarak bitkinin çiçekli dönemde toplanmış toprak üstü kısımlarından hazırlanmış ÇTÜ kodlu örnek için % 7.3121, toprak altı kısımlarından hazırlanmış ÇTA kodlu örnek için % 6.1929, meyveli dönemde toplanmış toprak üstü kısımlarından hazırlanmış MTÜ kodlu örnek için % 7.3757, toprak altı kısımlarından hazırlanmış MTA kodlu örnek için % 7.5064 nem oranı tespit edilmiştir.

Total kül miktar tayini deneyleri sonucunda ÇTÜ kodlu örnek için % 9.1591, ÇTA kodlu örnek için % 16.0719, MTÜ kodlu örnek için % 9.3724, MTA kodlu örnek için % 11.5192 total kül oranı tespit edilmiştir.

Sülfat külü miktar tayini deneyleri sonucunda ÇTÜ kodlu örnek için % 12.9621, ÇTA kodlu örnek için % 19.4108, MTÜ kodlu örnek için % 13.6986, MTA kodlu örnek için % 14.6252 oranında sülfat külü saptanmıştır.

Hidroklorik asitte çözünmeyen kül miktar tayini deneyleri sonucunda ÇTÜ kodlu örneğin % 3.1275, ÇTA kodlu örneğin % 7.2429, MTÜ kodlu örneğin % 3.9014, MTA kodlu örneğin ise % 5.6034 hidroklorik asitte çözünmeyen kül oranına sahip olduğu bulunmuştur.

Elde edilen nem, total kül, sülfat külü, hidroklorik asitte çözünmeyen kül miktar tayini sonuçları daha önce diğer *Galanthus* türleri üzerinde yapılmış benzer çalışmaların sonuçları ile karşılaştırmalı olarak incelenmiş olup bir tablo halinde verilmiştir (Tablo 40). Elde edilen değerler literatürle uyum içerisindedir (**7, 77, 97, 116, 167**).

Tür İsmi	Bitkinin Çalışılan Kısmı	Nem Miktar Tayini (%)	Total Kül Miktar Tayini (%)	Sülfat Külü Miktar Tayini (%)	Hidroklorik Asitte Çözünmeyen Kül Miktar Tayini (%)
<i>G. elwesii</i> Hook. (Akdağ, İzmir) (97)	Çiçekli T. Altı	9.3650	13.879	18.7900	-
	Çiçekli T. Üstü	9.1030	8.9567	12.0700	
	Meyveli T. Altı	8.9460	4.6597	6.6900	
	Meyveli T. Üstü	7.6650	9.5097	13.9800	
<i>G. elwesii</i> Hook. (Yamanlar Dağı, İzmir) (77)	Çiçekli T. Altı	6.8137	15.4747	18.3037	-
	Çiçekli T. Üstü	8.0705	7.8083	10.4837	
	Meyveli T. Altı	8.1712	14.3170	17.4070	
	Meyveli T. Üstü	7.3590	10.5776	15.8523	
<i>G. gracilis</i> Celak (116)	Çiçekli T. Altı	6.2378	12.6875	15.2755	-
	Çiçekli T. Üstü	7.5716	9.1022	12.4192	
	Meyveli T. Altı	6.5500	16.1456	18.0327	
	Meyveli T. Üstü	7.0395	17.7910	19.4993	
<i>G. trojanus</i> A.P. Davis and N. Özhatay (167)	Çiçekli T. Altı	9.4380	16.1510	20.3020	-
	Çiçekli T. Üstü	8.8130	8.8550	11.6450	
	Meyveli T. Altı	9.5930	9.9430	12.5980	
	Meyveli T. Üstü	9.6670	8.6030	12.2000	
<i>G. plicatus</i> subsp. <i>byzantinus</i> (Baker) D. A. Webb (7)	Çiçekli T. Altı	7.9186	14.0214	19.8838	-
	Çiçekli T. Üstü	8.3750	13.6235	17.6097	
	Meyveli T. Altı	9.3902	9.1173	11.2920	
	Meyveli T. Üstü	9.1367	10.2371	13.3700	
<i>G. rizehensis</i> Stern*	Çiçekli T. Altı	6.1929	16.0719	19.4108	7.2429
	Çiçekli T. Üstü	7.3121	9.1591	12.9621	3.1275
	Meyveli T. Altı	7.5064	11.5192	14.6252	5.6034
	Meyveli T. Üstü	7.3757	9.3724	13.6986	3.9014

* Bu araştırmada elde edilen sonuçlar

Tablo 40. Bazı *Galanthus* Türleri Üzerinde Daha Önce Yapılmış Olan Kalite Kontrol Çalışmalarına ait Karşılaştırmalı Sonuçlar

2. 2. TOTAL ALKALOİT MİKTAR TAYİNİ

Bitkinin içermiş olduğu total alkaloid miktarını tespit etmek amacıyla 6. Avrupa Farmakopesi'nde (104) alkaloid içeren droglar üzerinde uygulanan total alkaloid miktar tayini yöntemlerinden yararlanılarak daha önce Anabilim Dalımızda geliştirilmiş olan bir yöntem kullanılmıştır (7, 77, 78, 97, 116, 167, 169, 371). Total

alkaloit içeriği, likorinin moleköl ağırlığı üzerinden hesaplanmış olup, ÇTÜ kodlu örneğin % 0.0111, ÇTA kodlu örneğin % 0.0835, MTÜ kodlu örneğin % 0.0141, MTA kodlu örneğin % 0.1014 oranında total alkaloit içerdiği saptanmıştır. Bu değerler kuru drog ağırlıkları üzerinden hesaplanmıştır. En fazla total alkaloit içeriğine MTA kodlu örneğin sahip olduğu bulunmuştur. Literatürle kıyaslandığında oldukça düşük değerlerde görülen total alkaloit miktarının (7, 78, 116, 167) *Galanthus* türlerinin kromozomlarında görülen polimorfizmden kaynaklandığı düşünölmektedir.

2. 3. YÜKSEK BASINÇLI SIVI KROMATOĞRAFİSİYLE (HPLC) LİKORİN MİKTAR TAYİNİ VE GALANTAMİN TEŞHİSİ

Likorin ve galantamin göstermiş oldukları fizyolojik ve farmakolojik etkileri nedeniyle Amaryllidaceae alkaloitleri arasında önemli bir yere sahiptir. Bu nedenle bu alkaloitlerin bitkideki miktarlarının tayin edilmesi kalite kontrol çalışmalarını açısından önem taşımaktadır. Söz konusu alkaloitlerin hazırlanan drog örneklerinde bulunuşları yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemiyle araştırılmıştır. Bitkiden hazırladığımız örnekler üzerinde likorinin varlığı HPLC ile tayin edilmiştir. ÇTÜ kodlu örnekte % 0.0081, ÇTA kodlu örnekte % 0.1151, MTÜ kodlu örnekte % 0.0132, MTA kodlu örnekte % 0.2063 oranında likorin varlığı bulunmuş olup, galantaminin ise incelenen drog örneklerinde hesaplanabilir miktarda bulunmadığı tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, Tablo 1'de belirtilen değerler içerisinde yer almaktadır (Sayfa 13).

3. GAZ KROMATOĞRAFİSİ-KÜTLE SPEKTROMETRESİ (GC-MS) YÖNTEMİYLE ALKALOİT TESPİTİ

Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi, son yıllarda Amaryllidaceae familyasının çeşitli üyelerinden elde edilen ekstraların içermiş olduğu alkaloidlerin belirlenmesinde kullanılan hızlı ve güvenilir bir yöntemdir (41, 187, 327). Bitkiden hazırlanan droglar üzerinde yapılan GC-MS analizleri sonucunda elde edilen bulgular, NIST 05 veri tabanı [NIST Mass Spectral Database, PC-Version 5.0 (2005), National Institute of Standardization and Technology, Gaithersburg, MD], İspanya-Barselona Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi'nde izole edilmiş maddelerin kütle spektrumları, tarafımızdan izole edilerek saf olarak elde edilmiş bileşiklere ait kütle spektrumları ve ilgili literatürlerden yararlanılarak değerlendirilmiştir. *G. rizehensis*'in alkaloid içeriği GC-MS yöntemiyle ilk kez tarafımızdan bu çalışmada rapor edilmektedir.

GC-MS analizleri sonucunda, ÇTÜ kodlu örnekte dört adet (1-asetil- β -karbolin, ismin, trisferidin, 11,12-didehidroanhidrolikorin), ÇTA kodlu örnekte sekiz adet (hordenin, vittatin, anhidrolikorin, *O*-Asetilkarantin, 11, 12-didehidroanhidrolikorin, galantin, inkartin, likorin), MTÜ kodlu örnekte beş adet (1-asetil- β -karbolin, ismin, trisferidin, inkartin, epimakronin), MTA kodlu örnekte 20 adet (hordenin, ismin, trisferidin, galantamin, vittatin, 11-deoksitazettin, anhidrolikorin, 8-*O*-demetilmaritidin, *O*-asetilkarantin, 1-asetilpluvin, assoanin, 11, 12-didehidroanhidrolikorin, tazettin, hippamin, galantin, sternbergin, 11-hidroksivittatin, inkartin, likorin ve epimakronin) olmak üzere toplam yirmi bir adet alkaloid saptanmıştır. Bu alkaloidler Amaryllidaceae alkaloidlerinin çeşitli alt gruplarına ait olup, en çok likorin tip alkaloidlere rastlanmıştır. Ayrıca incelenen örneklerde krinin,

tazettin, fenantridin, galantamin tip alkaloidler de tespit edilmiştir. Bunların dışında gerek Amaryllidaceae familyasının bazı türlerinde, gerekse başka familyalara ait türlerde **(32, 256)** sık rastlanan hordenin adlı bileşik ÇTA ve MTA kodlu örneklerde tespit edilmiştir. İlgi çekici bir sonuç ise 1-asetil β -karbolin adlı indol yapısına sahip bileşiğin ÇTÜ ve MTÜ kodlu örneklerde saptanmasıdır. β -karbolin tip alkaloidler Amaryllidaceae familyasında daha önce sadece iki türde rapor edilmiştir **(274, 373)**. 1-Asetil β -karbolin alkaloidi izolasyon çalışmalarımız sırasında da *G. rizehensis*'den izole edilmiş olup, Amaryllidaceae familyasında tarafımızdan ilk kez rapor edilmektedir.

Genel olarak bitkiden hazırlanan örneklerden toprak altı kısımların, toprak üstü kısımlara oranla daha fazla sayıda alkaloid içerdiği görülmektedir. Meyveli dönemde toplanan bitkiden elde edilen örneklerde ise çiçekli döneme göre daha fazla sayıda alkaloid tespit edilmiştir. Daha önce yapmış olduğumuz titrimetrik total alkaloid miktar tayini sonuçlarını destekler biçimde en fazla alkaloid içeriğinin MTA kodlu örnekte olduğu saptanmıştır.

4. BİYOLOJİK AKTİVİTE REHBERLİĞİNDE İZOLASYON VE YAPI AYDINLATMA ÇALIŞMALARI

4. 1. GR-1 (1-ASETİL- β -KARBOLİN)

G₂ kodlu ana fraksiyon üzerinde preparatif ince tabakası kromatografisi yöntemiyle saflaştırılarak elde edilen 2 mg ağırlığındaki, sarı renkli kristal bileşiğe GR-1 kodu verilmiştir.

Bu bileşiğin 300 MHz NMR spektrometresinde dötoro kloroform içinde alınan

^1H NMR spektrumunda, aromatik sahada toplam 6 adet proton saptanmıştır. δ 8.55 ve δ 8.16'da izlenen iki protonun dublet şeklinde (J 4.8 Hz) bölündüğü görülmektedir. Bu bölünme 2, 3, 4- trisüstitüe piridin halkasında yer alan aromatik protonlar için karakteristiktir. Bunların dışında δ 8.15'de multiplet, 7.62'de geniş dublet, 7.60'da dublet-dublet-dublet ve 7.34'de dublet-dublet-dublet şeklinde bölünen protonlara ait sinyaller mevcuttur. Söz konusu bu dört protonun bölünmeleri dikkate alındığında bileşikte 1, 2- disüstitüe benzen halkasının bulunabileceği düşünülmüştür. Ayrıca spektrumda izlenen 3H değerinde singlet sinyal (δ 2.91), bileşikte kimyasal kayma değeri nispeten aşağı alanda yer alan bir metil grubunun varlığına işaret etmektedir.

Bileşiğin ^{13}C NMR spektrumunda 13 adet karbon tespit edilmiştir. DEPT analizi sonucunda bu sinyallerden altı tanesinin katerner, altı tanesinin metin, birinin ise metil karbonlarına ait olduğu görülmüştür. Bu sinyallerden en ilginç olanı δ 203.3'de rezonans yapan olup, molekülde karbonil grubunun olduğuna işaret etmektedir. ^1H NMR spektrumunda yer alan δ 2.91'deki metil grubunun kimyasal kayma değeri göz önüne alındığında, δ 25.9'da rezonans yapan karbonun karbonil grubuna komşu olduğunu söylemek mümkündür. Bu bulgular bileşikte asetil grubunun varlığını ortaya koymaktadır.

1D NMR yöntemleriyle elde edilen bu bulgular neticesinde, GR-1 bileşiğinin Amaryllidaceae alkaloidlerinin mevcut alt gruplarına ait olmadığı görüldüğü için 500 MHz NMR spektrometresinde 2D NMR (^1H , ^1H COSY, HSQC, HMBC, NOESY) analizleri gerçekleştirilmiştir.

HSQC deneyiyle moleküldeki hidrojenlerin üzerinde yer aldıkları karbonlar eşleştirilmiştir (Tablo 37).

^1H , ^1H COSY spektrumunda δ 8.15, 7.62, 7.60 ve 7.34 protonlarının görülen

etkileşmeleri (Tablo 37) ve ^1H NMR spektrumundan elde edilen bulgular 1, 2-disübstitüe benzen halkasının olduğunu doğrulamaktadır. Bunun dışında ^1H , ^1H COSY spektrumunda δ 8.55 ve 8.16'daki protonların birbirleriyle korelasyonları görülmüştür.

2 ve 3 bağ aracılığıyla hidrojen-karbon korelasyonlarının saptandığı HMBC deneyinde δ 8.55'deki protonun 136.1'deki katerner karbonla 3 bağ aracılığıyla yapmış olduğu korelasyon izlenmektedir. Bileşikteki asetil grubuna ait metil protonları ise δ 136.1'deki karbonla 3 bağ aracılığıyla etkileşmektedir. Bu durumda δ 8.55 ve 8.16 protonlarıyla birlikte asetil grubunun aynı halkada yer aldığını söylemek mümkündür.

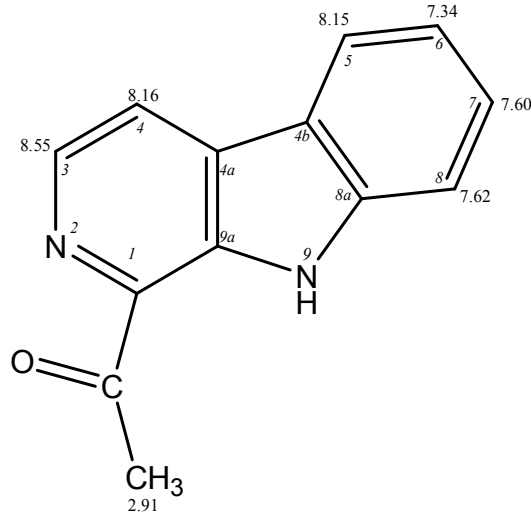
Bileşiğin ESI kütle spektrumunda m/z 211.0866 $[\text{M}+\text{H}]^+$ da izlenen pik, molekülde iki adet azot atomu bulunduğuna işaret etmektedir. NMR bulguları da göz önüne alındığında bileşiğin azot atomu içeren üçüncü bir halka içerdiği ve molekülün bu üç halkanın kondansasyonu ile oluşan bir yapıya sahip olduğu düşünülebilir. Elde edilen bulgular ve yapılan literatür araştırmaları sonucunda GR-1 kodlu bileşiğin β -karbolin çekirdeğine sahip olduğu saptanmıştır.

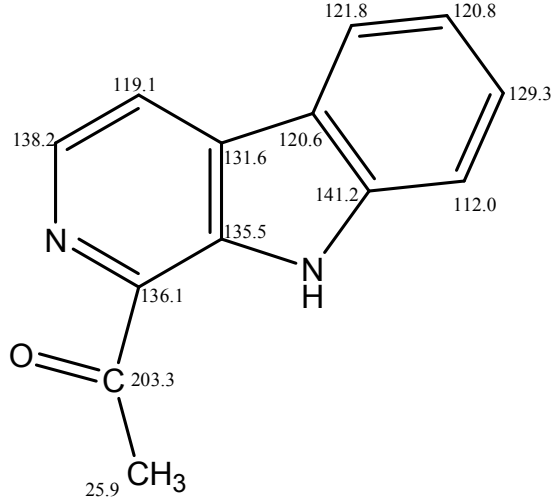
β -karbolin çekirdeğinde yer alan bir diğer halka olan pirol halkasında yer alan katerner karbonların yerleştirilmesinde ise HMBC deneyinden yararlanılmıştır. δ 8.55 (H-3)'de rezonans yapan proton, δ 136.1 (C-1), δ 119.1 (C-4) ve δ 131.6'da rezonans yapan karbonlarla etkileşme göstermektedir. O halde δ 131.6'daki sinyal C-4a konumu için uygun bir bulgudur. δ 8.16 (H-4)'da rezonans yapan proton, δ 138.2 (C-3), δ 131.6 (C-4a) ve δ 135.5'deki karbonlarla etkileşme göstermektedir. δ 8.15 (H-5)'de rezonans yapan proton ise δ 129.3 (C-7), δ 120.6 ve δ 141.2'deki karbonlarla etkileşmektedir. Bu bulgular doğrultusunda δ 135.5 sinyali, C-9a konumu için, δ 141.2 sinyali ise C-8a konumu için uygun olup, azot atomuna komşu

oldukları için nispeten aşağı alana kaydıkları düşünülmektedir. δ 120.6 sinyali ise C-4b için uygun bir bulgudur.

β -karbolin halkasının dışındaki süstitüentin durumu ve yeri konusunda bilgi sahibi olabilmek için HMBC spektrumu verileri değerlendirilmiş ve ^1H NMR spektrumunda δ 8.55'de görülen sinyalin δ 136.1 ile etkileştiğini, yine aynı halkada bulunan asetil süstitüsyonuna ait 3H değerindeki singlet sinyalin δ 203.3 (C=O) ve δ 136.1'deki karbonlarla etkileşme gösterdiği görülmüş ve bu verilere dayanarak δ 136.1'de rezonans yapan karbonun 1 numaralı pozisyonda olması gerektiğine karar verilmiştir.

Elde edilen bütün veriler ve literatür bilgileri (**264**, **373**, **382**) ışığında GR-1 kodlu maddenin 1-asetil β karbolin adlı alkaloid olduğu sonucuna varılmıştır.





1-asetil- β -karbolin bileşiği ilk olarak Simaroubaceae familyasından *Ailanthus malabarica* DC. bitkisinden izole edilmiştir (**162**), daha sonra aynı familyadan *Picrasma quassioides* (D. Don) Bennet (**249**), Umbelliferae familyasından *Ligusticum chuanxiong* Hort. (**61**), Araceae familyasından *Pinellia pedatisecta* Schott (**272**), Caryophyllaceae familyasından *Arenaria kansuensis* Maxim. (**368**), Hypodematiaceae familyasından *Hypo-dematium squamuloso-pilosum* Ching (**382**), Cucurbitaceae familyasından *Siraitia grosvenorii* (**208**) bitkilerinden izole edilmiştir. Amaryllidaceae familyasında ilk olarak 1986 *Crinum augustum* Rox. bitkisinden “perlolirin” isimli β -karbolin alkaloidi izole edilmiştir (**274**). *Hippeastrum vittatum* Herbert. bitkisinden ise aynı ana halka yapısına sahip “vittakarbolin” alkaloidi elde edilmiş olup (**373**), 1-asetil β -karbolin alkaloidi Amaryllidaceae familyasında ilk olarak tarafımızdan *G. rizehensis* bitkisinden izole edilmiştir.

Doğada oldukça geniş bir yayılış gösteren indol alkalotlerinin alt sınıfında yer almakta olan β -karbolin alkaloidleri sedatif, anksiyolitik, hipnotik, antikonvulzan, antitümöral, antiviral, antimikrobiyal aktivite gibi biyolojik etkilerinin yanı sıra monoamin oksidaz, benzodiazepin ve serotonin reseptörleriyle etkileşme göstermektedir (**62**). Bunun dışında GR-1 kodlu madde üzerinde asetilkolinesteraz

inhibitör aktivite tayini *in vitro* Ellman esasına dayalı mikropilaka deneyiyle ilk kez tarafımızdan yapılmış olup aktivite gözlenmemiştir.

4. 2. GR-2 (NARSİPRİMİN)

G₉ kodlu ana fraksiyondan kristallendirilerek elde edilen 33.8 mg ağırlığındaki açık kahverengi renkli kristal maddeye GR-2 kodu verilmiştir.

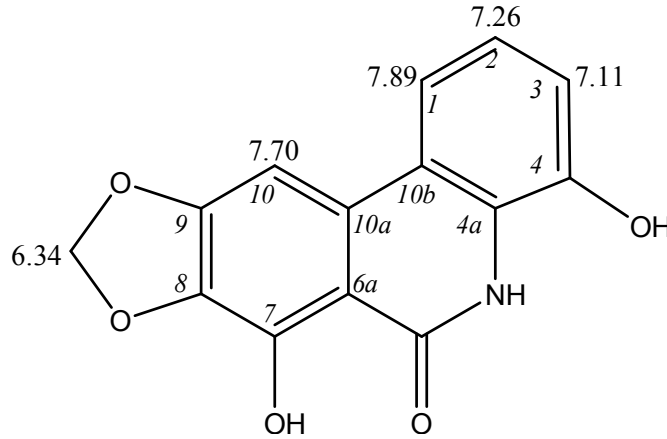
Dimetilsülfoksit-d₆ solvanı içerisinde, 300 MHz NMR spektrometresinde alınan ¹H NMR spektrumunda 6 adet proton yer almaktadır. δ 7.89, 7.70, 7.26 ve 7.11'deki sinyaller aromatik protonlara, 2H değerinde singlet olarak izlenen δ 6.34'deki sinyal ise metilendioksi grubuna aittir. Alifatik alanda çözücü sinyali dışında hiç sinyal gözlenmemektedir. δ 7.89 ve 7.11'deki sinyallerin her ikisi de etkileşme katsayıları 8.1 ve 0.9 Hz olarak dublet-dublet şeklinde bölünmüştür. δ 7.26'daki sinyal ise ($J= 8.1$ Hz) triplet şeklinde izlenmektedir. Bu J değerleri ve bölünmeleriyle söz konusu protonların 1, 2, 3- trisüstitüe benzen halkasının protonları oldukları sonucuna varılmıştır. δ 7.70'deki proton ise singlet olarak izlenmektedir.

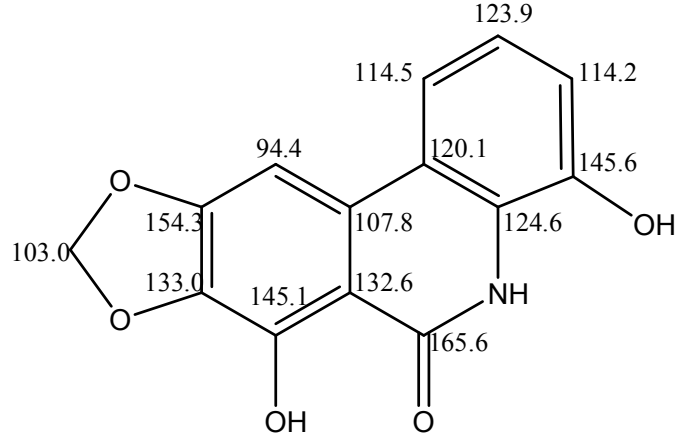
Bileşiğin ¹³C NMR spektrumunun değerlendirilmesi sonucu toplam 14 adet karbonun varlığı görülmüştür. DEPT analizi ise bu karbonlardan 5 tanesinin protone olduğunu ortaya koymuştur. Dolayısıyla bileşikte 9 adet katerner karbon yer almaktadır. δ 165.6'da gözlenen sinyal bir karbonil grubunun varlığına işaret etmektedir. Protonların tamamının aromatik sahada gözlenmesi ve karbonil grubuna ait sinyalin spektrumda yer alması bileşiğin Amaryllidaceae alkaloidleri alt sınıfından Narsiklasin tip olabileceğini düşündürmüştür. ¹H NMR spektrumunda singlet olarak izlenen bir hidrojenin yer alması, molekülde 7 konumunda bir süstitüsyonun

olabileceğini göstermektedir. ^{13}C NMR spektrumunda δ 154.3, 145.6, 145.1, 133.0' daki sinyaller sırasıyla C-9, C-4, C-7, C-8 katerner karbonlarına aittir. δ 154.3 ve 133.0 metilendioksi grubuna komşu katerner karbonlar, δ 145.6 ve 145.1'de izlenen karbonların kimyasal kayma değerleri ise hidroksil grubu içeren katerner karbonlar için uygun bulgulardır. Metilendioksi grubuna ait karbon değeri de beklendiği üzere δ 103.0'da rezonans yapmıştır.

Bir dimensiyonlu NMR deneylerinden sağlanan bilgiler molekülün kapalı formülünün $\text{C}_{14}\text{H}_9\text{NO}_5$ olabileceğine işaret etmektedir. Bu aşamada ele alınan EI Kütle spektrumunda m/z 271'de moleküler iyon piki görülmekte olup bu kimyasal formülü doğrulamaktadır.

Yapılan literatür araştırmaları ve elde edilen bileşiğe ait bulgular değerlendirildiğinde GR-2 kodlu maddenin narsiprimin olduğunu ortaya koymuştur. Bileşiğin protonları literatür bilgileriyle de karşılaştırılarak yerleştirilmiş olup (**259**), karbon bulguları ise ilk defa tarafımızdan rapor edilmektedir.





Narsiprimin adlı alkaloid daha önce Amaryllidaceae familyasından *Zephyranthes tubispatha* (L'Her.) Herb (300), “arolikorisidinol” adı altında *Lycoris sanguinea* Maxim. (317) bitkisinden, *Crinum latifolium* L. (380), ve *Narcissus* türlerinden (259) elde edilmiş olup *Galanthus* genusunda ilk defa tarafımızdan rapor edilmektedir.

Narsiprimin alkaloidi üzerinde literatürde antitümöral aktivitesiyle ilgili bir çalışma yer almaktadır (380). Bileşik üzerinde asetilkolinesteraz inhibitör aktivite tayini *in vitro* Ellman esasına dayalı mikropilaka deneyiyle yapılmış ve herhangi bir aktivite gözlenmemiştir. Bu çalışma ilk defa tarafımızdan yapılmıştır.

4. 3. GR-3 (İNKARTİN)

G₉ kodlu ana fraksiyondan GR-2 kodlu madde elde edildikten sonra G₈ ve G₉ kodlu fraksiyonlar birleştirilmiş ve preparatif sütun kromatografisine tabi tutulmuş, ardından nonalkaloidal yapıda maddeleri uzaklaştırmak için bu işlem birkaç kez tekrarlanmış ve en son preparatif İ. T. K. yöntemiyle amorf olarak elde edilen 36 mg ağırlığındaki bileşiğe GR-3 kodu verilmiştir.

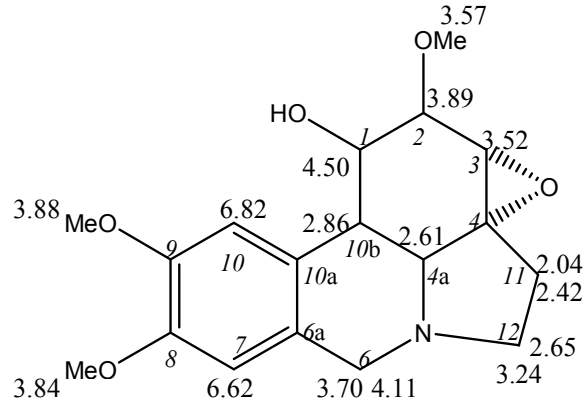
Bileşğin ^1H NMR spektrumu, 400 MHz NMR spektrometresinde, dötoro kloroform içinde alınmıştır. Spektrumda toplam yirmi iki protona ait sinyal görülmektedir.

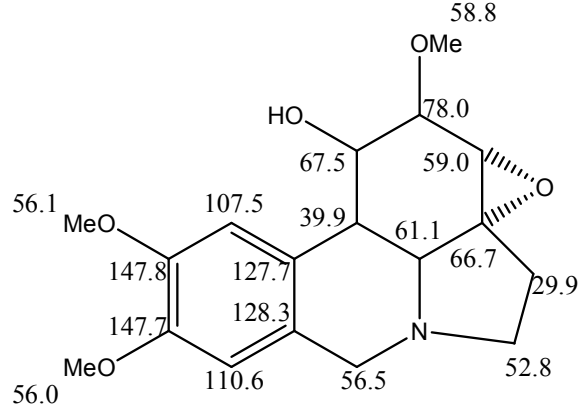
Aromatik sahada iki singlet protonun (δ 6.82 ve 6.62) bulunması bileşikte *para* konumunda iki hidrojeni bulunan bir aromatik halkanın varlığını düşündürmektedir. Alifatik alanda ise δ 4.50, 3.89, 3.52'de görülen sinyallerin kimyasal kayma değerlerinin spektrumun nispeten aşağı alanda görülmesi oksijenli bir heteroatoma komşu olabileceklerine işaret etmektedir. Etkileşme katsayıları 14 Hz olan δ 4.11 ve 3.70'de izlenen protonlar geminal çift oluşturmaktadır. δ 2.86 ve 2.61'deki protonların birbirleriyle bölünen (J 10.8 Hz) visinal protonlar oldukları görülmektedir. δ 3.24, 2.65, δ 2.42 ve 2.04'de dört adet protona ait sinyal izlenmektedir. Bunlara ilaveten, spektrumda iki adet aromatik *O*-Metil grubuna (δ 3.88, 3.84) ve bir adet alifatik *O*-Metil grubuna (δ 3.57) ait sinyaller bulunmaktadır. Spektrumda *N*-metil grubuna ait sinyal gözlenmemiştir. ^1H NMR spektrumundan elde edilen bu bulgular doğrultusunda molekülün Amaryllidaceae alkaloitlerinin likorin alt grubuna dahil olabileceğini söylemek mümkündür. Ancak spektrumda likorin tip bileşikler için karakteristik olan olefinik protona ait sinyal izlenmemekte ve bunun yerine kimyasal kayma değeri oksijen gibi bir heteroatoma komşu olmasından dolayı aşağı alana kaymış bir alifatik proton bulunmaktadır.

Bileşğin ^{13}C NMR spektrumunda toplam on sekiz adet karbona ait sinyaller görülmektedir. DEPT spektrumu bu karbonlardan 5 tanesinin katerner, 7 tanesinin metin, 3 tanesinin metilen, 3 tanesinin de metil grubuna ait olduğunu göstermektedir. δ 147.8 ve 147.7'de rezonans yapan katerner karbonların kimyasal kayma değerleri aromatik metoksil gruplarına komşu 9 ve 8 numaralı pozisyonlar için uygun değerlerdir. δ 110.6 ve 107.5'deki sinyaller ise moleküldeki 7 ve 10 numaralı

konumlarda yer alan metin gruplarına aittir. δ 58.8, 56.1, 56.0 sinyalleri ise *O*-metil gruplarına aittir. Bileşikte azota komşu olmalarından dolayı C-6 (δ 56.5), C-12 (δ 52.8) ve C-4a (δ 61.1) sinyalleri bir miktar aşağı alana kaymıştır. δ 78.0 (C-2) 67.5 (C-1) , 66.7 (C-4) ve 59.0 (C-3)'da görülen nispeten aşağı alanda yer alan sinyaller bileşikte 1, 2, 3 ve 4 konumunda oksijenli süstitüsyonların yer aldığını doğrulamaktadır. Bu sinyallerden δ 66.7 (C-4)'deki karbonun katerner olması ve δ 59.0 (C-3)'daki metin karbonun kimyasal kayma değerinin beklenilenden aşağı alanda gözlenmesi bileşikte C3-C4 epoksi köprüsünün varlığına işaret etmektedir.

Bileşiğe ait EI kütle spektrumu m/z 333'de izlenmiştir. 1D NMR bulgularıyla birlikte değerlendirildiğinde bileşiğin kapalı formülü $C_{18}H_{23}NO_5$ olmalıdır. Elde edilen spektral bulgular ve literatür verileri birlikte değerlendirildiğinde GR-3 kodlu bileşiğin likorin alt grubundan inkartin adlı alkaloid olduğu tespit edilmiştir. Bileşiğe ait proton ve karbon kimyasal kayma değerleri literatürle de uyumlu olup (**40, 176**) aşağıda açık kimyasal yapısı verilen bileşik üzerinde gösterilmiştir.





İnkartin daha önce Amaryllidaceae familyasında *Lycoris incarnata* Comes ex Sprenger'den (176), *Galanthus elwesii* Hook.'dan (37, 40) izole edilmiş olup, gaz kromatografisi yöntemiyle *G. elwesii* Hook., *G. nivalis* L., *Leucojum* (32) ve *Panocratium* (327) türlerinde varlığı tespit edilmiştir. *G. rizehensis* bitkisinde bulunuşu ise ilk kez bu araştırmada rapor edilmektedir.

GR-3 kodlu madde üzerinde asetilkolinesteraz inhibitör aktivite tayini *in vitro* Ellman esasına dayalı mikropilaka deneyiyle yapılmıştır. Pozitif kontrol olarak galantaminin (IC_{50} 0.59 μ M) kullanıldığı deneyde inkartine ait IC_{50} değeri 427.93 μ M olarak hesaplanmıştır. Daha önce inkartinin asetilkolinesteraz inhibitör aktivitesi bir çalışmada rapor edilmiş ve tarafımızdan elde edilen sonucu destekler nitelikte belirgin bir aktivite görülmediği belirtilmiştir (40).

4. 4. GR-4 (AROLİKORİSİDİN)

G₁₃ kodlu ana fraksiyona preparatif sütun uygulanarak elde edilen (11-12) No'lu fraksiyondan kristallendirme yöntemiyle 5.6 mg ağırlığında GR-4 kodu verilen bileşik elde edilmiştir.

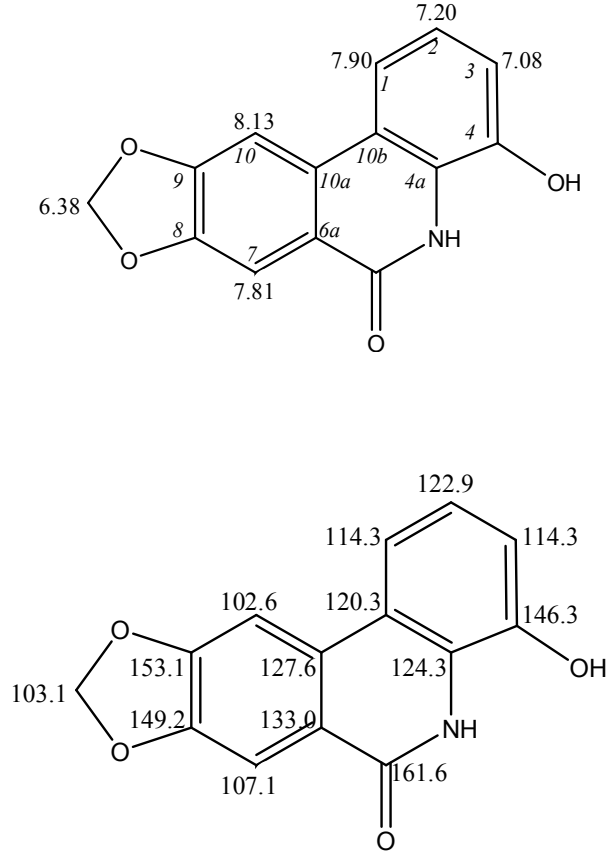
Dimetilsülfoksit-d₆ solvanı içerisinde 300 MHz NMR spektrometresinde

alınan spektrumda görülen 7 adet protonun tamamı aromatik sahada yer almaktadır. ^1H NMR spektrumunda δ 8.13 ve 7.81'de görülen iki singlet sinyal birbirlerine göre *para* konumda oldukları düşünülen iki aromatik protona aittir. δ 6.38'de 2H değerinde metilendioksi grubuna ait karakteristik sinyal görülmektedir. δ 7.90, 7.20 ve 7.08'de birer hidrojen değerinde 3 sinyal izlenmektedir, δ 7.90 ve 7.08'deki protonlar dublet-dublet olarak bölünmekte olup (J 8.1 ve 0.9 Hz), δ 7.20'deki proton triplet (J 8.1 Hz) olarak bölünmektedir. Söz konusu 3 protonun J değerleri ve bölünmeleri 1, 2, 3- trisüstitüe benzen halkasına ait olduklarına işaret etmektedir. Molekülün ^1H NMR spektrumundan elde edilen bu bulgular doğrultusunda daha önce yapısı aydınlatılan GR-2 kodlu narsiprimin maddesine oldukça benzer olduğunu söylemek mümkündür.

Bileşiğin ^{13}C NMR spektrumunun değerlendirilmesi sonucu toplam 14 karbonun varlığı görülmüştür. Oldukça aşağı alanda karşımıza çıkan δ 161.6'da izlenen sinyal bileşikte karbonil grubunun olabileceğini düşündürmektedir. Narsiprimine benzer şekilde protonların tamamının aromatik sahada gözlenmesi ve karbonil grubuna ait sinyalin spektrumda yer alması bileşiğin Amaryllidaceae alkaloidlerinin narsiklasin alt grubuna ait olabileceğine işaret etmektedir. δ 153.1, 149.2, 146.3, 133.0 sinyalleri sırasıyla C-9, C-8, C-4 ve C-6a için uygun bulgulardır. δ 107.1 ve 102.6'da görülen sinyaller sırasıyla 7. ve 10. konumlardaki karbonlara aittir. δ 103.1'de metilendioksi süstitüsyonuna ait karbon sinyali izlenmektedir.

Tek boyutlu NMR deneylerinden elde edilen bu bilgiler ışığında molekülün kapalı formülü $\text{C}_{14}\text{H}_9\text{NO}_4$ olmalıdır. Bileşiğin EI kütle spektrumunda görülen m/z 255 moleküler iyon piki de bu kapalı formülle uyum içerisindedir. Elde edilen bu bulgular ve literatür verileri değerlendirildiğinde GR-4 kodlu maddenin narsiprimin adlı maddenin, 7. konumunda hidroksil grubu taşımayan analogu olan

arolikorisidin olduğu tespit edilmiştir.



Arolikorisidin daha önce Amaryllidaceae familyasından *Lycoris sanguinea* Maxim. (317), *Crinum latifolium* L. (380) bitkilerinde tespit edilmiş olup *Galanthus* genusunda ilk kez tarafımızdan bu araştırmada rapor edilmektedir.

Literatürde arolikorisidinin antitümöral aktivitesinin bulunduğunu tespit eden bir çalışma bulunmaktadır (380). GR-4 kodlu madde üzerinde asetilkolinesteraz inhibitör aktivite tayini *in vitro* Ellman esasına dayalı mikrolaka deneyiyle ilk defa tarafımızdan yapılmış olup, herhangi bir aktivite gözlenmemiştir.

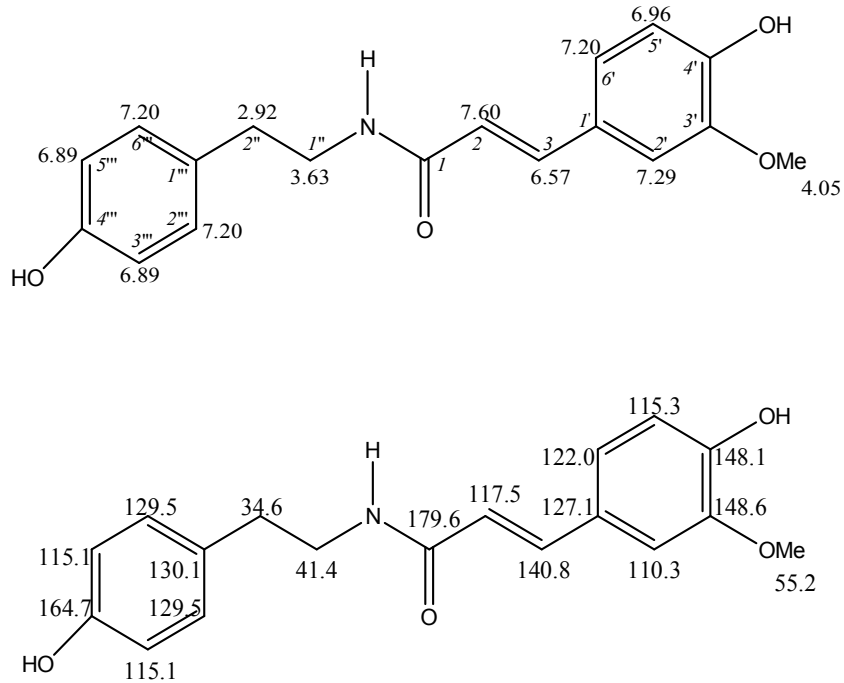
4. 5. GR-5 (*N-TRANS-FERULOİL TİRAMİN*)

G₁₃ kodlu ana fraksiyondan preparatif sütun uygulanarak elde edilen (17-18) numaralı fraksiyondan preparatif ince tabaka kromatografisiyle saflaştırma yapılmış, elde edilen 6.2 mg ağırlığındaki maddeye GR-5 kodu verilmiştir.

Dötoro metanol içerisinde 300 MHz NMR spektrometresinde çekilen bileşiğin ¹H NMR spektrumunda 16 adet protona ait sinyaller yer almaktadır. δ 7.60 ve 6.57'de iki dublet (J 15.6 Hz) olarak izlenen sinyaller olefinik protonlara aittir. Ayrıca kimyasal kaymaları δ 7.29 ve 6.89 arasında olan 7 adet aromatik proton gözlenmiştir. δ 7.20 ve 6.89'da her biri 2H değerinde olan birbirleriyle 8.4 Hz'lik bölünme gösteren protonların gözlenmesi bileşikte 1, 4- disüstitüe benzen halkasının varlığına işaret etmektedir. Bunların dışında kalan üç protonun (δ 7.29, 7.20 ve 6.96) etkileşme katsayıları göz önünde bulundurulduğunda bileşikte bir ABX sisteminin yer aldığı ve dolayısıyla 1, 3, 4- trisüstitüe başka bir aromatik halkanın bulunduğunu ortaya koymaktadır. δ 4.05'de üç proton değerinde olan singlet bileşikte metoksil grubu olduğunu göstermektedir. Spektrumun yukarı alanında δ 3.63 ve 2.92'de iki proton değerinde iki triplet sinyal (J 7.5 Hz) bileşikte birbirine komşu iki metilen grubunun varlığını düşündürmektedir. δ 3.63'deki sinyalin nispeten aşağı alana kaydığı için bir heteroatoma komşu olabileceği düşünülmüştür.

Bileşiğin ¹³C NMR spektrumunda toplam 18 adet karbona ait sinyal görülmektedir. δ 179.6'da rezonans yapan karbon bileşikte karbonil grubunun bulunduğuna işaret etmektedir. Amit grubuna komşu çifte bağa ait karbonlar ise karakteristik bir şekilde δ 140.8 ve 117.5'de rezonans yapmıştır. Bunların dışında aromatik sahada izlenen 7 adet sinyal (δ 130.1, 129.5, 122.0, 115.3, 115.1 (2), 110.3) metin karbonlarına aittir. Aromatik

halkalardaki katerner karbonlara ait sinyaller ise δ 164.7, 148.6, 148.1, 130.1 ve 127.1'de izlenmişlerdir. Alifatik alanda δ 55.2'deki sinyal bileşikteki metoksil grubuna, δ 41.4 ve 34.6'da rezonans yapan sinyaller ise iki metilen grubuna aittir. GR-5 kodlu maddenin EI kütle spektrumunda moleküler iyon piki m/z 313'de izlenmektedir. Baz tepe ise m/z 177'de yer almaktadır. Elde edilen bütün veriler ve kütle spektrumu GR-5 kodlu maddenin iki benzen halkası taşıyan amit içeren bir yapı olan *N*-feruloiltiramin maddesi olduğunu göstermiştir. Molekülün *trans* ya da *cis* olduğunu ayırt etmek için δ 7.60 ve 6.57'deki olefinik protonların etkileşme katsayısı değerlerinden yararlanılmıştır. *J* 15.6 Hz civarında izlenen etkileşme katsayısı bu protonların birbirlerine göre *trans* konumunda bulunduğunu kanıtlamaktadır. Söz konusu protonlar *cis* olduğu takdirde bahsedilen etkileşmelerin 11-12 Hz civarı olması gerekmektedir (**113**, **191**, **221**). Bütün bu veriler ışığında, *N-trans*-feruloil tiramin olduğu anlaşılan bileşikle ilgili bulgular literatürle de uyum içerisindedir (**191**, **221**).



N-trans-feruloil tiramin daha önce çeşitli familyalara ait değişik türlerde rapor edilmekle birlikte (94, 282, 320), Amaryllidaceae familyasında ilk kez 1994 yılında *Galanthus elwesii* Hooker fil. bitkisinden izole edilmiş olup (192) tarafımızdan *Galanthus* genusunda ikinci kez rapor edilmektedir.

GR-5 kodlu bileşik üzerinde asetilkolinesteraz inhibitör aktivite tayini *in vitro* Ellman esasına dayalı mikroparka deneyiyle yapılmış ve herhangi bir aktivite gözlenmemiştir. Daha önce literatürde *N-trans*-feruloil tiramin üzerinde bu konuyla ilgili yapılmış bir çalışmaya rastlanmamıştır.

4. 6. GR-6 (LİKORİN)

G₁₆ kodlu ana fraksiyondan kristallendirme yöntemiyle 1.52 g ağırlığında elde edilen bileşiğe GR-6 kodu verilmiştir.

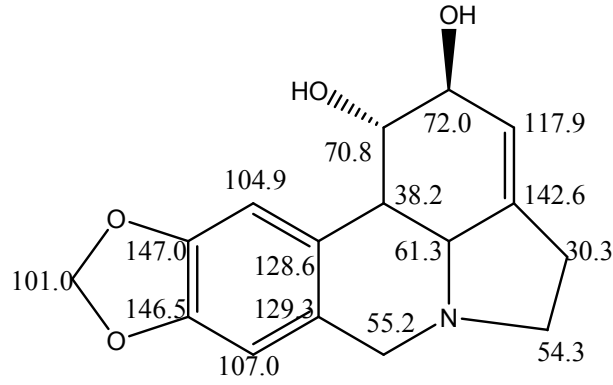
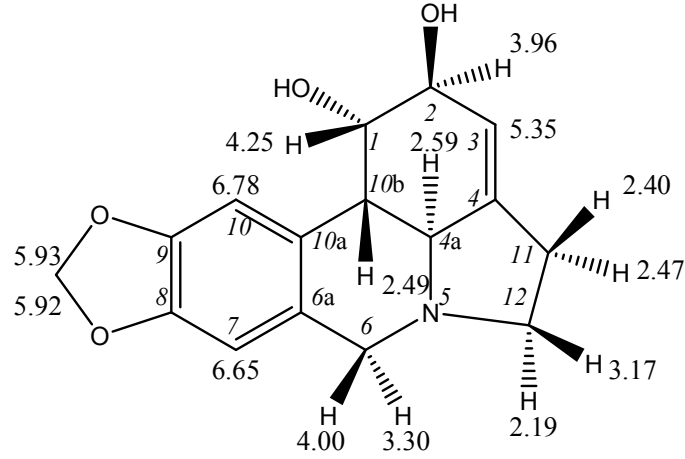
Dimetil sülfoksit-d₆ içerisinde alınan ¹H NMR spektrumunda toplam 17 adet protona ait sinyaller gözlenmiştir. Aromatik sahada δ 6.78 ve 6.65'de iki singlet ve δ 5.93 ve 5.92'de metilendioksi grubunun hidrojenlerine ait olduğu düşünülen iki ayrı singlet sinyal izlenmiştir. Bunlara ilaveten spektrumun aşağı alanında δ 5.35'de geniş singlet sinyal bileşikte olefinik bir protonun olabileceğine işaret etmektedir. Alifatik sahada δ 4.00 ve 3.30'da izlenen sinyaller nispeten aşağı alana kaymış olup, etkileşme katsayıları da (*J* 14 Hz) göz önüne alındığında bileşikte bir heteroatoma komşu olabilecek izole bir metilen grubunun yer aldığını söylemek mümkündür. δ 4.25 ve 3.96'da rezonans yapan protonların yine bir heteroatoma komşu oldukları için bir miktar aşağı alana kaydıkları düşünülmüştür. Bunların dışında alifatik alanda δ 3.17, 2.47, 2.40 ve 2.19'da 4 adet protonun ilk 3'ü multipler, δ 2.19'daki proton ise dublet dublet (*J* 17.2, 8.8 Hz) olarak izlenmektedir. Bileşikte ayrıca δ 2.59 ve 2.49'da

birbirleriyle bölünen (J 10.8 Hz) iki dublet sinyal izlenmiştir. Spektrumda metoksil veya *N*-metil gruplarına ait sinyaller bulunmamaktadır. ^1H NMR deneyinden elde edilen bu bulgular bileşiğin Amaryllidaceae alkaloidlerinin likorin alt grubuna dahil bir alkaloid olduğuna işaret etmektedir.

^{13}C NMR spektrumunda ise toplam 16 adet karbona ait sinyaller bulunmaktadır. δ 101.0'da metilendioksi grubuna ait karbon sinyali yer almaktadır. δ 147.0 ve 146.5'de rezonans yapan karbonlar metilendioksi grubuna α -konumda olan katerner karbonlar için uygun değerlerdir. δ 107.0 ve 104.9'da izlenen sinyaller sırasıyla C-7 ve C-10 konumlarına aittir. δ 142.6 ve 117.9'da rezonans yapan karbonlar molekülde Δ 3(4) doymamışlık olduğunu doğrular nitelikte olup sırasıyla C-4 ve C-3 konumları için uygun bulgulardır. δ 70.8 ve 72.0'da rezonans yapan karbonlar, likorin tip bir çekirdekte oksijenli fonksiyon taşıyan C-1 ve C-2 konumlarına ait olmalıdır. Azot atomuna komşu olmalarından dolayı bir miktar aşağı alana kayan δ 61.3, 55.2 ve 54.3'de izlenen üç sinyalin sırasıyla C-4a, C-6, C-12 konumlarına ait olduğu düşünülmüştür. δ 38.2 ve 30.3'de izlenen sinyaller sırasıyla C-10b ve C-11 için uygun bulgulardır.

Bileşiğin EI Kütle spektrumunda m/z 287'de moleküler iyon piki görülmekte olup, baz tepe likorin tip alkaloidler için karakteristik olan m/z 226'da izlenmiştir. 1D NMR deneyleri sonucu elde edilen bulgularla birlikte GR-6 kodlu bileşiğin $\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{NO}_4$ kapalı formülüne sahip likorin olduğu tespit edilmiştir.

Aşağıda açık kimyasal formülü verilen GR-6 kodlu bileşiğin proton ve karbonlarına ait kimyasal kayma değerleri literatürden yararlanılarak yerleştirilmiştir **(107, 125, 191, 301)**.



Likorin daha önce *Galanthus* genusunda (32, 47, 48, 170, 178, 250, 333) ve Amaryllidaceae familyasının diğer üyelerinden (27, 144) elde edilmiş olup, *G. rizehensis* bitkisinde ilk kez tarafımızdan bu araştırmada rapor edilmektedir.

Likorin üzerinde yapılmış birçok biyolojik aktivite çalışmaları bulunmaktadır (17, 79, 90, 129, 143, 156, 170, 190, 216, 314). GR-6 kodlu bileşik üzerinde asetilkolinesteraz inhibitör aktivite tayini *in vitro* Ellman esasına dayalı mikroplaka deneyiyle yapılmış ancak IC₅₀ değeri hesaplamaya yeterli bir aktivite saptanmamıştır. Literatürde likorinin asetilkolinesteraz inhibitör aktivitesiyle ilgili çeşitli çalışmalar yer almaktadır. Tarafımızdan yapılan deneyle aynı yöntemin kullanıldığı bir çalışmada likorine ait IC₅₀ değeri hesaplanmamıştır (217). Buna karşılık likorinin

zayıf aktivite gösterdiği (102) ve aktif bulunduğu (250) çalışmalar da mevcuttur.

4. 7. GR-7 (O-METİL NORBELLADİN)

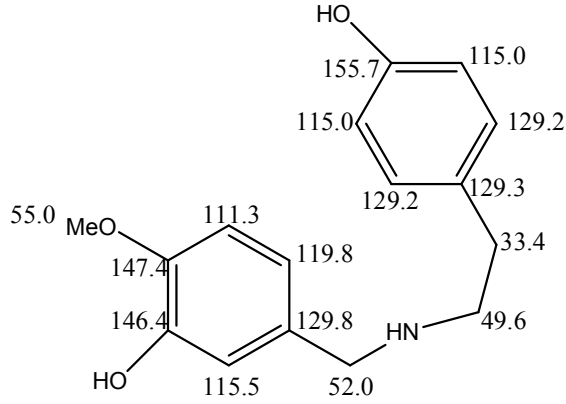
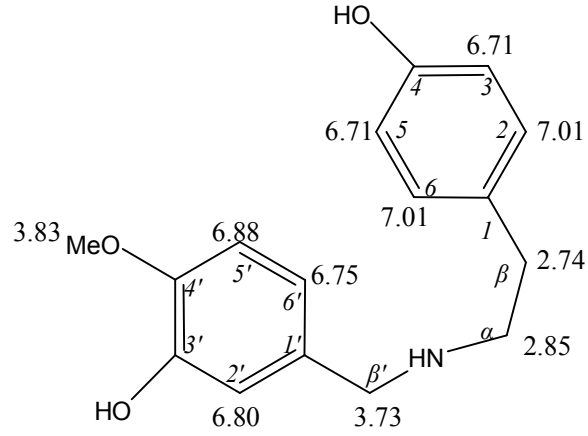
G₁₇ kodlu ana fraksiyon üzerinde yapılan preparatif sütun çalışmasıyla elde edilen 5-7 No'lu fraksiyon daha sonra preparatif ince tabaka kromatografisi yöntemiyle saflaştırılıp, 8.5 mg ağırlığında GR-7 kodlu bileşik elde edilmiştir.

Bileşiğe ait ¹H NMR spektrumu incelendiğinde aromatik sahada 7 adet proton bulunmaktadır. δ 7.01 ve δ 6.71'de ikişer hidrojen değerinde dublet olarak izlenen sinyallerin (*J* 8.4 Hz) varlığı dikkat çekmektedir. Bu iki dublet bileşikte *para*-disübstitüe benzen halkasının olabileceğine işaret etmektedir. δ 6.88'deki proton, dublet (*J* 8.0 Hz), δ 6.80'deki proton, dublet (*J* 2.0 Hz) ve δ 6.75'deki proton, dublet-dublet (*J* 8.0, 2.0 Hz) olarak bölünmektedir. Bu protonların bölünmeleri ve etkileşme katsayıları göz önüne alındığında bir ABX sistemi oluşturdukları tespit edilmiştir. Bu protonların bulunduğu aromatik halkanın 1, 3, 4- trisübstitüe benzen halkası olması gerektiği düşünülmüştür. Alifatik sahada 3 adet ikişer proton değerinde sinyaller izlenmektedir. δ 3.73'de iki proton değerindeki singlet yapıda izole bir metilen grubunun olduğuna işaret etmektedir. δ 2.85 ve 2.74'de multipler olarak görülen ikişer proton değerindeki sinyallerin ise iki metilen grubuna ait olduğu düşünülmüştür. δ 3.73 ve 2.85'deki protonların kimyasal kayma değerlerinin nispeten aşağı alanda olması bunların azot gibi bir heteroatoma komşu olabileceklerine işaret etmektedir. ¹H NMR spektrumunda ayrıca singlet olarak izlenen üç proton değerinde (δ 3.83) aromatik metoksil grubuna ait sinyal de bulunmaktadır.

Bileşiğin ¹³C NMR spektrumunda toplam 16 adet karbon belirlenmiştir. DEPT

spektrumu bu karbonlardan 5 tanesinin katerner, 7 tanesinin metin, 3 tanesinin metilen, 1 tanesinin metil karbonları olduğunu göstermektedir. δ 155.7, 147.4, 146.4'de rezonans yapan karbonların kimyasal kayma değerleri göz önüne alındığında oksijenli süstitüent taşıyan katerner aromatik karbonlara ait olabilecekleri düşünülmüştür. δ 129.2 ve 115.0'da izlenen sinyaller 1, 4- disüstitüe benzen halkasındaki metin karbonları için uygun bulgulardır. δ 119.8, 115.5 ve 111.3'de rezonans yapan karbonlar ise 1, 3, 4- trisüstitüe benzen halkasındaki metin karbonlarına aittir. δ 129.8 ve 129.3'de ise iki tane katerner karbona ait sinyal görülmektedir. Alifatik alanda δ 55.0'da aromatik metoksil grubuna ait sinyal izlenmektedir. Buna ilaveten, alifatik sahada 3 tane metilen grubuna ait sinyal de görülmektedir. Bunlardan δ 52.0 ve 49.6'da, azot gibi bir heteroatoma komşu olduklarından dolayı nispeten aşağı alana kaymış olan karbonlar rezonans yapmıştır. δ 33.4'de ise yine metilen grubuna ait karbon sinyali bulunmaktadır. Tek dimensiyonlu NMR yöntemleriyle elde ettiğimiz bu bulgular doğrultusunda iki hidroksil grubu ve bir aromatik metoksil grubu bulunduğu düşünülen bileşikte kapalı kimyasal formülü $C_{16}H_{19}NO_3$ olmalıdır. Bileşiğin EI kütle spektrumunda m/z 273'de izlenen moleküler iyon piki de bu kapalı formülü doğrulamaktadır. Bütün bu verilerden yararlanılarak GR-7 kodlu maddenin, Amaryllidaceae alkaloitlerinin biyosentezinde önemli bir ara ürün olan *O*-metil norbelladin olduğu sonucuna varılmıştır.

Elde edilen bulgular doğrultusunda bileşiğin karbon ve protonlarına ait kimyasal kayma değerleri, literatürden yararlanılarak yerleştirilmiştir (**124, 125, 223**).



O-metil norebelladin, daha önce Amaryllidaceae familyasından *Crinum kirkii* Baker (223), *C. asiaticum* L. ve *C. augustum* Roxb. türlerinde (125) ve çalışma grubumuz tarafından gerçekleştirilen bir araştırmada *Galanthus trojanus* A. P. Davis & N. Özhatay bitkisinde rapor edilmiştir (171). *G. rizehensis* bitkisinde varlığı ise ilk kez bu çalışmada bildirilmektedir.

GR-7 kodlu bileşik üzerinde asetilkolinesteraz inhibitör aktivite tayini *in vitro* Ellman esasına dayalı mikropılaka deneyiyle yapılmış ancak IC₅₀ değeri hesaplamaya yeterli bir aktivite bulunmamıştır. Bu çalışma ilk defa tarafımızdan gerçekleştirilmiştir.

4. 8. GR-8 (VİTTATİN)

G₁₉ kodlu ana fraksiyona preparatif sütun kromatografisi uygulanarak elde edilen (8-9) No'lu fraksiyondan kristalizasyon yöntemiyle beyaz renkli 11.6 mg ağırlığında elde edilen bileşiğe GR-8 kodu verilmiştir.

Bileşiğin ¹H NMR spektrumu, 300 MHz spektrometresinde, dötoro metanol içinde alınmıştır. Spektrumda toplam on altı protona ait sinyal görülmektedir.

Aromatik sahada singlet olarak izlenen iki aromatik proton (δ 6.84 ve 6.46), etkileşme katsayıları 9.9 Hz olan iki olefinik proton (δ 6.58 ve 5.96), birer proton değerinde iki dublet şeklinde görülen bir metilendioksi grubuna ait sinyaller (δ 5.89, 5.88) bulunmaktadır.

Alifatik alanda, sekiz tane birer hidrojen değerinde (δ 4.37, 4.34, 3.75, 2.89, 2.17, 2.00, 1.91 ve 1.73) sinyaller ve bir adet iki hidrojen değerinde (δ 3.36) sinyal yer almaktadır. Bu protonlardan δ 4.37 ve 3.75'de izlenen protonların oldukça aşağı alanda olması bir heteroatoma α -konumda olabileceklerini, etkileşme katsayılarının $J=16.8$ Hz olarak görülmesi de geminal protonlar olduklarını ortaya koymaktadır. Benzer şekilde δ 4.34, 3.36, 2.89'da izlenen sinyallere ait protonların bir heteroatoma α -konumda olmalarından dolayı spektrumun nispeten aşağı alanına kaydıklarını söylemek mümkündür. Etkileşme katsayıları sağlıklı bir şekilde okunamayan protonların sinyalleri multipler olarak rapor edilmiştir. Metoksil ve *N*-metil grubuna ait sinyallere rastlanmamıştır.

¹H NMR spektrumundan elde edilen bu bilgiler ışığında, bileşiğin krinin, likorin veya montanin tip çekirdeğe sahip bir Amaryllidaceae alkaloidi olabileceği düşünülmüştür. Ancak molekülde iki olefinik hidrojenin bulunmasından dolayı krinin çekirdeğine sahip olma olasılığının yüksek olduğu söylenebilir.

Bileşğin ^{13}C NMR spektrumunda toplam on altı adet karbona ait sinyaller görülmektedir.

^{13}C NMR spektrumu verilerine dayanarak bileşğin, C-8,9'da bir metilendioksi süstitüsüyonu (δ 101.1), Δ 1(2) arasında bir doymamışlık ve C-3 konumunda oksijenli bir süstitüsyon taşıdığını söylemek mümkün olup, bu bulgular krinin çekirdek yapısı için uygundur. δ 146.5 ve 146.1'de rezonans yapan karbonların kimyasal kayma değerleri metilendioksi grubuna α konumda olan C-9 ve C-8 için uygun bulgulardır. δ 132.4 (C-1) ve 127.9 (C-2)'da görülen iki tersiyer karbona ait sinyaller bileşikteki olefinik bağa aittir. δ 64.3'de izlenen sinyal oksijenli fonksiyon taşıyan bir karbon için uygun bir bulgudur. δ 63.2, 62.6, 53.9'daki sinyaller azota α konumda olan karbonlara aittir.

Literatür verileriyle karşılaştırıldığında elde edilen bulguların 3 konumunda bir hidroksil süstitüsüyonu bulunan krinin halkası için uygun olduğu saptanmıştır (**125**, **245**). Bu grup alkaloidlerde 3 konumunun konfigürasyonunun saptanması için önemli bir kriter optik çevirmenin sayısal değeridir. C-3 konumundaki epimerizasyonun yaklaşık 100^0 'lık bir optik çevirme farkına neden olduğu tespit edilmiştir. 3β -hidroksil taşıyan epimerlerde optik çevirmenin sayısal değeri $+10^0$ - $+15^0$ arasında iken, epi-türevler olarak tanımlanan 3α -hidroksil taşıyan türevlerde yaklaşık 100^0 daha fazladır (**105**). GR-8 kodlu bileşğimizin metanol içerisinde çekilen optik çevirmesinin, 3 konumundaki konfigürasyonunun S olduğunu ve dolayısıyla 3-hidroksil grubunun uzaysal yönlenmesinin halka düzleminin önünde olduğunu ortaya koymaktadır. Buna ilaveten, literatürde 3 konumundaki konfigürasyonun saptanması için C-1, C-2, C-3 ve C-4a'daki karbonların ^{13}C NMR spektrumundaki kimyasal kayma değerlerinin 2.7-4.2 ppm kadar farklılık gösterdiği kayıtlıdır (**245**).

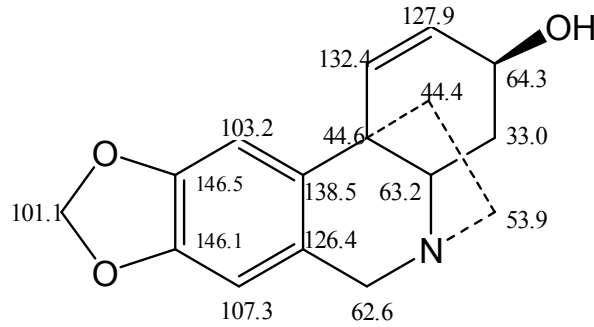
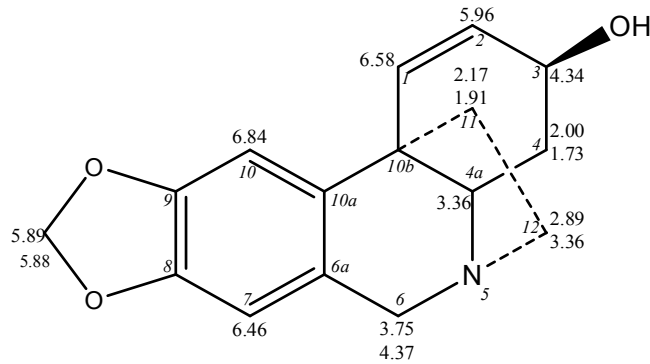
11 numaralı konumda yukarı alanda izlenen bir metilen grubunun yer alması

(δ 2.17 ve 1.91), ayrıca ^{13}C NMR spektrumunda δ 44.4'de izlenen karbon sinyali bu konumun non-süstitüe olduğunu ortaya koymaktadır.

Bileşiğin EI Kütle spektrumunda m/z 271'de moleküler iyon piki görülmekte olup, baz tepe m/z 271'de kaydedilmiştir.

Krinin tip alkaloidlerin mutlak konfigürasyonları CD (Circular Dichroism) yöntemiyle saptanabilir. GR-8 kodlu bileşiğin CD spektrumu alındığında 254.8 nm'de minimum, 267.2 nm'de maksimum izlenmekte olup, Amaryllidaceae alkaloidlerinin krinin alt grubundan α -konumda 5, 10b-etano köprüsü taşıyan alkaloidlerin CD spektrumlarıyla benzer olduğu tespit edilmiştir (**360**).

Elde edilen spektral bulgular ve yapılan literatür araştırmaları sonucu GR-8 kodlu bileşiğin vittatin adlı alkaloid olduğunu ortaya koymuştur. Aşağıda açık kimyasal yapısı verilen vittatinin kimyasal kayma değerleri literatüre uygun olarak yerleştirilmiştir (**46, 50, 119, 125, 174, 175, 245, 252, 323**).



Vittatin alkaloidi daha önce Amaryllidaceae familyasında *G. trojanus* A. P. Davis & N. Özhatay (170), *G. elwesii* Hook. (32, 33), *Hippeastrum* (25, 27, 46, 99, 245, 273, 296), *Narcissus* (26, 187), *Pancratium* (6, 32, 50, 283, 323, 327), *Sternbergia* (32, 34, 252), *Nerine* (50), *Hymenocallis* (174, 212), *Zephyranthes* (140), *Crinum* (44), *Rodophiala* (365) ve *Lycoris* (175) türlerinde rapor edilmiştir. *G. rizehensis* bitkisinde varlığı ise ilk kez bu çalışmada bulunmuştur.

Vittatin üzerinde yapılan bir çalışmada *Candida albicans*'a karşı antifungal, *Staphylococcus aureus*'a, *Escherichia coli*'ye karşı antibakteriyel etki gösterdiği saptanmıştır (106). Çalışma grubumuz tarafından yapılan bir araştırmada, brine shrimp letalite testiyle vittatinin, belirgin sitotoksik aktivite gösterdiği ispatlanmıştır (170).

GR-8 kodlu bileşik üzerinde asetilkolinesteraz inhibitör aktivite tayini ilk defa tarafımızdan *in vitro* Ellman esasına dayalı mikropilaka deneyiyle bu çalışmada yapılmış olup, aktivite gözlenmemiştir.

4. 9. GR-9 (11-HİDROKSİ VİTTATİN)

G₁₉ kodlu ana fraksiyondan preparatif sütun kromatografisi uygulanarak elde edilen (18-19) No'lu fraksiyondan kristalizasyon yöntemiyle saflaştırılan 100 mg ağırlığındaki beyaz bileşiğe GR-9 kodu verilmiştir.

Bileşiğin 300 MHz NMR spektrometresinde dötoro metanol içinde alınan ¹H NMR spektrumunda toplam on beş protona ait sinyaller görülmektedir.

Aromatik sahada singlet olarak izlenen iki aromatik protona (δ 7.09 ve 6.72), etkileşme katsayıları 9.9 Hz olan iki olefinik protona (δ 6.59 ve 6.35) ve iki proton değerinde singlet olarak izlenen metilendioksi grubuna ait (δ 6.01) sinyaller

görülmektedir.

Alifatik alanda δ 4.47, 4.44, 4.12, 3.93, 3.30, 2.41 ve 1.98'de birer hidrojen değerinde, δ 3.64-3.55'de iki hidrojen değerinde toplam dokuz adet protona ait sinyal izlenmektedir. Özellikle δ 4.47, 4.44, 4.12, 3.93, 3.64-3.55, 3.30'daki sinyallerin kimyasal kayma değerlerinin oldukça aşağı alanda olması bir heteroatoma α -konumda olabileceklerini düşündürmektedir. δ 4.47 ve 3.93'de izlenen hidrojenlerin etkileşme katsayıları 16.8 Hz olduğu için bunların geminal protonlar oldukları söylenebilir. Metoksil ve *N*-metil grubuna ait sinyaller mevcut değildir.

Bileşiğin ^{13}C NMR spektrumunda toplam on altı adet karbona ait sinyaller görülmektedir.

δ 146.7 ve 146.3'de rezonans yapan katerner karbonların kimyasal kayma değerleri, metilendioksi grubuna komşu C-9 ve C-8 konumları için uygun bulgulardır. δ 106.4 ve 102.9'da izlenen sinyaller ise sırasıyla 7. ve 10. konumlarındaki metin karbonlarına aittir. δ 131.5 ve 126.5'deki sinyaller $\Delta 1(2)$ arasında bir doymamışlık olduğunu göstermektedir. δ 100.8'deki karbon sinyali metilendioksi süstitüsyonuna aittir. Kimyasal kayma değerleri göz önüne alındığında δ 79.6, 63.3, 62.3, 60.3'de rezonans yapan karbonların bir heteroatoma α konumda olduklarını söylemek mümkündür.

Bu aşamada elde edilen spektral veriler, GR-9 kodlu maddenin krinin alt grubuna dahil vittatin (GR-8) ile oldukça benzer olduğunu ortaya koymuştur. Ancak vittatinde, ^1H NMR spektrumunda, H-11 konumunda iki protona ait sinyal gözlenirken, GR-9 kodlu bileşikte δ 4.12'de bir hidrojen değerindeki sinyalin izlenmesi bu konumda oksijenli bir süstitüsyonun olduğuna işaret etmektedir. Buna ilaveten bileşiğin ^{13}C NMR spektrumunda C-11'in vittatinde δ 44.0 civarında rezonans yaparken, GR-9'da δ 79.6'da rezonans yapması da söz konusu karbonun

oksijenli bir süstitüsyona sahip olduğunu doğrulamaktadır.

Elde edilen bulgular literatür bilgileriyle birlikte değerlendirildiğinde GR-9 bileşiğinin, C-1 ve C-2 arasında doymamışlık olan, 3 ve 11 konumlarında hidroksil grubu taşıyan krinin alt grubundan 11-hidroksi vittatin olduğuna işaret etmektedir **(105, 125, 245)**.

Bileşiğin EI Kütle spektrumunda ise m/z 287'de görülen moleküler iyon piki (m/z 258: baz tepe) 11-hidroksi vittatinle uyumludur.

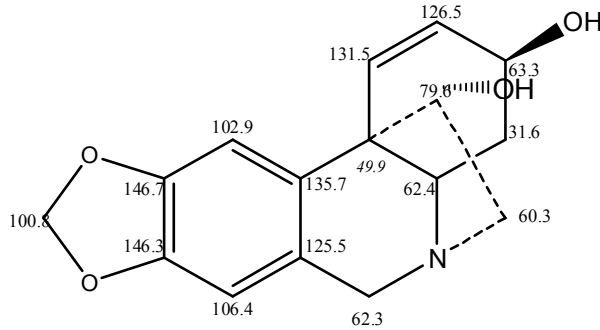
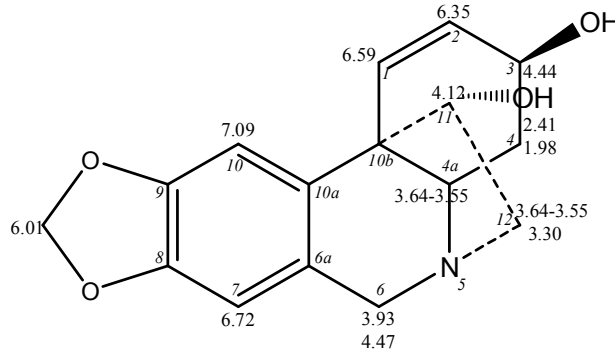
GR-8 kodlu bileşik (vittatin) için de olduğu gibi bu tip alkaloidler için önemli bir ayırma kriteri optik çevirmenin sayısal değeridir. 11-hidroksi vittatinde olduğu gibi 3 β -hidroksil taşıyan epimerlerde optik çevirmenin sayısal değeri +10⁰ ile +15⁰ arasındayken, epi türevler olarak tanımlanan 3 α -hidroksilli türevlerde bu değer yaklaşık 100⁰ fazladır. Örneğin 11-hidroksi vittatin için +11⁰ civarı olan bu değer, bulbispermin için +106.7⁰ olarak saptanmıştır **(11, 105)**. GR-9 kodlu bileşiğin optik çevirmesinin ise +11⁰ olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak 3 konumunun konfigürasyonunun (S) olduğu ve söz konusu hidroksil grubunun uzaysal yönelmesinin halka düzleminin önünde olduğu ortaya konmuştur. Buna ilaveten literatürde 3 konumundaki konfigürasyonu farklı olan stereoizomerlerin saptanmasında (Örnek: 11-hidroksi vittatin, bulbispermin) C-1, C-2, C-3 ve C-4a'daki ¹³C NMR kimyasal kayma değerlerinin 2.7-4.2 ppm kadar farklılık gösterdiği de kayıtlıdır **(245)**.

Bileşikteki 11, 12 ve 4a konumundaki hidrojenlerin yerleştirilmesinde protonların birbirleriyle etkileşmeleri ve literatürden yararlanılmıştır. H-11 metin ve H-12 metilen hidrojenleri izole bir üçlü-spin sistemi oluşturmaktadır. 12 konumundaki metilen hidrojenleri birbirleriyle geminal, H-11 ile visinal bölünme göstermektedir. H-12 β 'nin geminal etkileşme katsayısı 14.0 Hz iken, visinal

etkileşmesi 3.3 Hz olup, H-11 protonuyla bölünmektedir.

CD (Circular Dichroism) spektrumunda 249 nm'de minimum, 275 nm'de maksimum izlenmekte olup, Amaryllidaceae alkaloidlerinin krinin alt grubundan α -konumda 5, 10b-etano köprüsü taşıyan CD spektrumlarıyla uyum içerisinde olduğu tespit edilmiştir (360).

Aşağıda açık kimyasal formülü verilen 11-hidroksi vittatinin proton ve karbonlarına ait kimyasal kayma değerleri, literatürden yararlanılarak yerleştirilmiştir (105, 172, 191, 245, 252, 258).



11-hidroksi vittatin daha önce Amaryllidaceae familyasında, *Galanthus elwesii* Hook. (192), *G. trojanus* A. P. Davis & N. Özhatay (170), *G. plicatus* subsp. *byzantinus* (Baker) D. A. Webb (342), *G. nivalis* L. (32) türleriyle, *Rhodophiala*

(365), *Crinum* (4), *Panocratium* (2, 3, 32, 63, 323, 327), *Sternbergia* (1, 34, 105, 252), *Hippeastrum* (106, 258, 273) genuslarına ait türlerde ve *Hippeastrum* hibritlerinde (245) rapor edilmiştir.

11-hidroksi vittatinin *Candida albicans*'a karşı antifungal aktivite gösterdiği ve *Staphylococcus aureus* üzerinde antibakteriyel aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (106). Çalışma grubumuz tarafından yapılan bir araştırmada, 11-hidroksi vittatin brine shrimp letalite testiyle belirgin sitotoksik aktivite göstermiştir (170).

GR-9 kodlu bileşik üzerinde asetilkolinesteraz inhibitör aktivite tayini *in vitro* Ellman esasına dayalı mikroplaka deneyiyle yapılmış ancak sonuç olarak belirgin aktivite tespit edilmemiştir. Literatürde 11-hidroksi vittatinin asetilkolinesteraz inhibitör aktivitesiyle ilgili yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır.

4. 10. GR-10 (İNKARTİN N-OKSİT)

G₂₁ kodlu ana fraksiyon üzerinde preparatif sütun kromatografisi uygulanmış, 19-26 No'lu ara fraksiyon kristallenmeye bırakılarak elde edilen 12.5 mg ağırlığındaki bileşiğe GR-10 kodu verilmiştir.

Bileşiğin ¹H NMR spektrumu, 500 MHz NMR spektrometresinde, dötoro kloroform içerisinde alınmıştır. Spektrumda toplam yirmi iki adet protona ait sinyaller görülmektedir.

Aromatik sahada iki adet proton (δ 7.00 ve 6.92) bulunmaktadır. Bu aromatik protonlar singlet olduklarından birbirlerine göre *para* konumunda yer aldıkları bir aromatik halkada bulduklarını söylemek mümkündür. Etkileşme katsayıları 13.5 Hz olan δ 4.74 ve 4.28'deki protonlar geminal çift oluşturmakta olup, bir heteroatoma komşu olduklarından dolayı aşağı alana kaydıklarını söylemek

mümkündür. δ 4.59, 3.89, 3.38'de izlenen sinyallerin spektrumun nispeten aşağı alanında yer alması oksijen gibi bir heteroatoma komşu olabileceklerini düşündürmektedir. Bileşiğin IR spektrumu incelendiğinde de 3342 cm^{-1} 'de yer alan, O-H gerilmelerinden kaynaklanan karakteristik absorpsiyonlar bileşikte hidroksil fonksiyonunun varlığına işaret etmektedir. Spektrumda ayrıca δ 3.23 ve 2.02 ile δ 3.74 ve 4.10'da 4 protona karşılık gelen multipler sinyaller izlenmektedir. δ 3.92, 3.88 ve 3.55'de 3 adet *O*-Metil grubuna ait sinyal mevcuttur. δ 3.43 ve 2.55'de izlenen protonların etkileşme katsayıları (J 13 Hz) birbirlerine göre *trans*-visinal konumda bulduklarına işaret etmektedir. Spektrumda *N*-metil grubuna ve olefinik protona ait sinyaller yer almamaktadır. Elde edilen ^1H NMR bulguları, GR-10 kodlu bileşiğin daha önce yapısını aydınlattığımız *Amaryllidaceae* alkaloidlerinin likorin alt grubundan inkartin (GR-3) ile oldukça benzer olduğuna işaret etmektedir. ^1H NMR spektrumunda, inkartinle GR-10 kodlu bileşik arasında gözlenen en önemli fark ise, azot atomuna komşu olan H-6 (δ 4.74 ve 4.28), H-4a (δ 3.43) ve H-12 (δ 4.10 ve 3.74) protonlarının kimyasal kayma değerlerinin beklenilenden daha aşağı alanda gözlenmesidir (0.8-1.1 ppm).

Bileşiğin ^{13}C NMR spektrumunda toplam on sekiz adet karbona ait sinyaller görülmektedir. Hidrojenlerin üzerlerinde yer aldıkları karbonların eşleştirilmesi HSQC deneyinden yararlanılarak yapılmıştır (Tablo 38). δ 149.7 ve 148.1'de rezonans yapan karbonların kimyasal kayma değerleri aromatik metoksil gruplarına α -konumda olan katerner karbonlar için uygundur. Birbirlerine göre *para* konumunda yer alan iki singlet protonun üzerinde yer aldığı karbonlar da δ 112.1 (C-7) ve 107.9 (C-10)'da izlenmiştir. Bunların dışında, ^{13}C NMR spektrumunda, 5 adet metin (δ 77.5, 76.4, 65.2, 58.4 ve 37.3) ve 3 adet metilen (δ 70.3, 68.1 ve 29.7) karbonuna ait sinyaller yer almaktadır. HSQC deneyinde, birbirleriyle *trans*-visinal

konumda olan H-4a ve H-10b protonlarının sırasıyla δ 77.5 ve 37.3'de rezonans yapan karbonlar üzerinde yer aldığı saptanmıştır. ^{13}C NMR ve HSQC bulguları, GR-10 kodlu bileşiğin inkartinele çok benzer olduğunu doğrulamakla birlikte, GR-10 kodlu bileşiğe ait C-4a (δ 77.5), C-6 (δ 70.3) ve C-12 (δ 68.1) karbonlarının kimyasal kayma değerleri, inkartine göre beklenenden oldukça aşağı alanda gözlenmiştir. Bileşiğe ait HR-ESI kütle spektrumu incelendiğinde (m/z 350.1598 $[\text{M}+\text{H}]^+$) kapalı formülün $\text{C}_{18}\text{H}_{23}\text{NO}_6$ olduğu tespit edilmiştir. Bu aşamada elde edilen bulgular değerlendirildiğinde bileşikte *N*-oksit fonksiyonu olabileceği ortaya çıkmaktadır. Bileşiğin yapısını kesin olarak aydınlatılabilmek için, HSQC tekniğine ilaveten diğer 2D NMR tekniklerinden (^1H , ^1H COSY, HMBC ve NOESY) yararlanılmıştır.

HMBC deneyinde δ 7.00 (H-10)'da izlenen proton, $^3J_{\text{CH}}$ aracılığıyla δ 148.1 (C-8), 123.4 (C-6a) ve 37.3 (C-10b) karbonlarıyla, $^2J_{\text{CH}}$ aracılığıyla ise δ 149.7 (C-9), 128.6 (C-10a) karbonlarıyla etkileşmektedir. δ 6.92 (H-7)'de izlenen proton ise δ 149.7 (C-9), 128.6 (C-10a) ve 70.3 (C-6) karbonlarıyla 3 bağ aracılığıyla, δ 148.1 (C-8) ve 123.4 (C-6a) karbonlarıyla 2 bağ aracılığıyla korelasyon göstermektedir. HSQC deneyinde C-6 (δ 70.3) üzerinde yer aldığı tespit edilen δ 4.74 (H-6 α)'deki proton ise HMBC deneyinde δ 77.5 (C-4a)'da izlenen karbonla 3 bağ aracılığıyla etkileşmektedir. Bu şekilde 1D ve 2D NMR bulgularından yararlanılarak likorin ana halka yapısında bulunan A ve B halkalarında yer alan proton ve karbon kimyasal kayma değerleri yerleştirilmiştir.

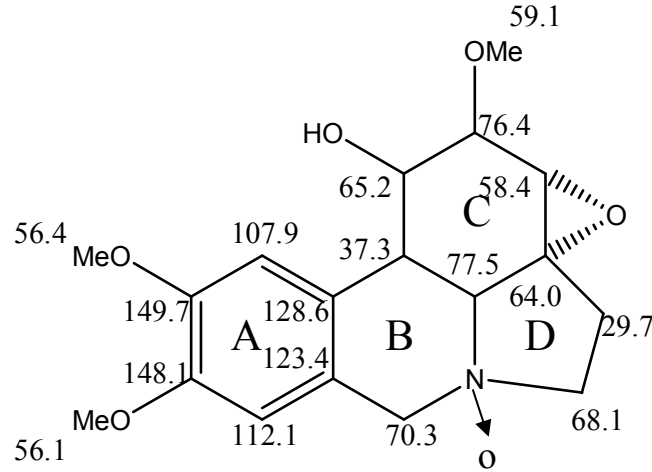
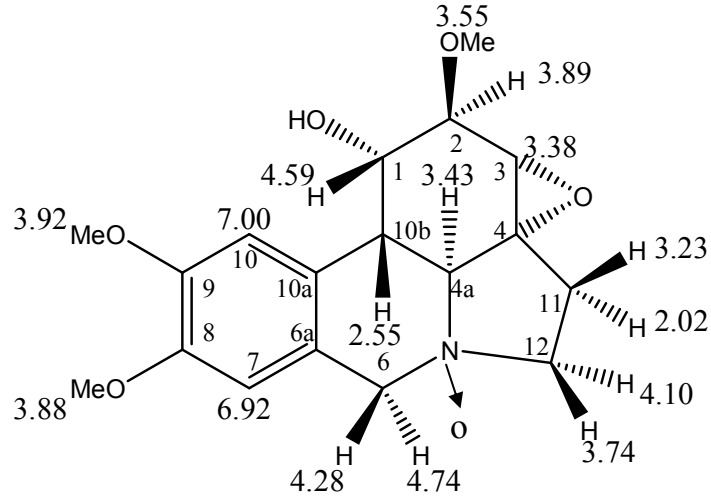
^1H , ^1H COSY deneyinde görülen korelasyonlar (Tablo 38) δ 4.59 (H-1), 3.89 (H-2), 3.38 (H-3) ve 3.43 (H-4a) protonlarının, bileşiğin C halkasındaki dizilişlerini doğrulamaktadır. HMBC deneyinde δ 4.59 (H-1)'daki protonun δ 77.5 (C-4a)'deki karbonla, δ 3.89 (H-2)'daki protonun ise δ 37.3 (C-

10b)'deki karbonla 3 bağı aracılığıyla etkileşmeleri, B ve C halkalarının kaynaştıklarını ortaya koymaktadır. δ 4.10, 3.74, 3.23 ve 2.02'deki protonların birbirleriyle etkileşmeleri, likorin çekirdeğinin D halkasındaki iki metilen grubunun varlığını doğrular niteliktedir. Bunlara ek olarak, HMBC deneyinde δ 4.28 (H-6 β) protonuyla C-12 (δ 68.1) arasında $^3J_{CH}$ korelasyonu gözlenmiştir. HSQC deneyinde, δ 29.7 karbonu üzerinde yer aldıkları saptanan δ 3.23 ve 2.02 (H-11) protonları, δ 64.0 (C-4)'daki karbonla $^2J_{CH}$ korelasyonu göstermektedir. Bu verilerin değerlendirilmesiyle D halkasının proton ve karbon kimyasal kayma değerleri yerleştirilmiştir.

NOESY spektrumundan elde edilen bulguların moleküler model üzerinde değerlendirilmesiyle, H-10 (δ 7.00) protonunun, H-1 (δ 4.59) ile etkileşmesi, H-1'in çekirdek düzleminin üzerinde yer aldığına ve β yönlendiğine işaret etmektedir. H-1 (δ 4.59) ile etkileşen δ 2.55 (H-10b)'deki proton da β yönlenebilir. Bu durumda δ 2.55 (H-10b) ile etkileşen δ 4.28 (H-6 β)'de izlenen sinyalin de aynı uzaysal yönlenebilirliğe sahip olan hidrojene ait olması gerekmektedir. Böylece 6 numaralı konumda yer alan δ 4.74 (H-6 α) ve 4.28 (H-6 β) protonlarının sırasıyla α ve β olarak yönlendiği ortaya çıkmaktadır. Bunlara ilaveten, spektrumda δ 4.28 (H-6 β)'de izlenen sinyalin H-12 β (δ 3.74) ile etkileştiği izlenmiştir. δ 3.43 (H-4a)'deki protonun ise δ 3.89 (H-2) ve δ 2.02 (H-11)'deki protonlarla korelasyonu, söz konusu protonların da α yönlendiğini ortaya koymaktadır. δ 3.88'deki aromatik metoksil grubu, H-7 (δ 6.92) ile ve 3.92'deki aromatik metoksil ise H-10 (δ 7.00) ile etkileştiğinden sırasıyla 8 ve 9 numaralı katerner karbonlara bağlı oldukları kanıtlanmıştır.

Elde edilen bütün bulgular ışığında GR-10 kodlu bileşiğin inkartin *N*-oksit

olduğu tespit edilmiştir. Bileşiğe ait proton ve karbon kimyasal kayma değerleri aşağıda açık kimyasal formül üzerinde gösterilmiştir.



İnkartin daha önce Amaryllidaceae familyasında *Lycoris incarnata* Comes ex Sprenger (176), *Galanthus elwesii* Hook. türlerinden (37, 40) izole edilmiş olup, gaz kromatografisi yöntemiyle *G. elwesii* Hook., *G. nivalis* L. ve *Leucojum aestivum* L. (32) ve *Pancratium* (327) türlerinde tespit edilmiştir. İnkartin *N*-oksit ise doğa için yeni bir bileşiktir. Amaryllidaceae familyasının çeşitli üyelerinde alkaloit *N*-oksitlerin rapor edildiği bazı çalışmalar da bulunmaktadır (63, 175, 176, 179, 306,

307, 353).

Bileşğin asetilkolinesteraz inhibitör aktivite tayini *in vitro* Ellman esasına dayalı mikroplaka deneyiyle yapılmıştır. Pozitif kontrol olarak galantaminin (IC_{50} 0.59 μ M) kullanıldığı deneyde GR-10 kodlu bileşiğe ait IC_{50} değeri 138.02 μ M olarak hesaplanmıştır. İnkartin (GR-3) (IC_{50} 427.93 μ M) ile karşılaştırıldığında inkartin *N*-oksitin asetilkolinesteraz inhibitör aktivitesinin daha kuvvetli olduğunu söylemek mümkündür.

4. 11. GR-11 (LİKORİN *N*-OKSİT)

G_{21} kodlu ana fraksiyon üzerinde preparatif sütun kromatografisi uygulanması sonucu elde edilen 29 No'lu ara fraksiyonun kristallenmeye bırakılmasıyla elde edilen 7.9 mg ağırlığındaki bileşiğe GR-11 kodu verilmiştir.

Dötoro metanol içerisinde alınan 1H NMR spektrumunda toplam 17 adet protona ait sinyaller gözlenmiştir. Spektrumda aromatik sahada iki adet singlet proton görülmektedir (δ 6.95 ve 6.67). δ 5.95 ve 5.94'de ise iki dublet şeklinde (J 1.0 Hz) metilendioksi grubuna ait sinyaller izlenmektedir. δ 5.75'de geniş singlet olarak izlenen sinyal, olefinik protonun varlığına işaret etmektedir. Spektrumda nispeten aşağı alanda yer alan δ 4.77 ve 4.55'de etkileşme katsayıları 14.5 Hz olan iki proton molekülde bir heteroatoma komşu olabilecek izole bir metilen grubunun bulunduğunu düşündürmektedir. δ 4.59 ve 4.16'da rezonans yapan protonların da bir heteroatoma komşu oldukları için nispeten aşağı alana kaydıklarını söylemek mümkündür. Bileşğin IR spektrumu incelendiğinde 3322 cm^{-1} 'de izlenen, O-H gerilmelerinden kaynaklanan karakteristik absorpsiyonlar, bileşikte hidroksil fonksiyonlarının varlığına işaret etmektedir. Bunlara ilaveten, δ 3.88, 3.78, 3.00 ve

2.82'de birer proton değerinde 4 adet multiplet sinyal izlenmiştir. Spektrumda metoksil veya *N*-metil gruplarına ait sinyaller bulunmamaktadır. Elde edilen bu bulguların, daha önce yapısı aydınlatılan GR-6 kodlu likorinin bulgularıyla çok benzer olduğu saptanmıştır. δ 4.06 ve 3.35 (J 11 Hz)'de izlenen sinyaller de likorin tip alkaloidlerde görülen *trans*-visinal konumdaki H-4a ve H-10b için uygundur. ^1H NMR spektrumunda, GR-11 kodlu bileşikle likorin arasında gözlenen en önemli fark ise, azot atomuna komşu olan H-6 (δ 4.77 ve 4.55), H-4a (δ 4.06) ve H-12 (δ 3.88 ve 3.78) protonlarının kimyasal kayma değerlerinin beklenilenden bir miktar aşağı alana kaymış olmasıdır (0.5-1.5 ppm).

^{13}C NMR spektrumunda ise toplam 16 adet karbona ait sinyaller bulunmaktadır. Çift boyutlu NMR tekniklerinden biri olan HSQC deneyinde $^1J_{CH}$ korelasyonlarının değerlendirilmesiyle, hidrojenlerin üzerlerinde yer aldıkları karbonların eşleştirilmesi mümkün olmuştur. ^{13}C NMR spektrumunda δ 102.7'de metilendioksi grubuna ait karbon sinyali yer almaktadır. δ 148.9 ve 148.3'de izlenen sinyallerin kimyasal kayma değerleri ise metilendioksi grubuna α -konumda olan katerner karbonlar için uygundur. Birbirlerine göre *para* konumunda yer alan iki singlet protonun üzerinde yer aldığı karbonlar da δ 108.4 (C-7) ve 105.9 (C-10)'da rezonans göstermişlerdir. δ 137.9 (C-4) ve 122.7 (C-3)'de izlenen sinyaller molekülde olefinik bağın olduğunu doğrulamaktadır. Bunların dışında, ^{13}C NMR spektrumunda, 4 adet metin (δ 72.9, 72.3, 71.2 ve 35.7) ve 3 adet metilen (δ 69.2, 68.8 ve 27.3) karbonlarına ait sinyaller yer almaktadır. HSQC deneyinde, birbirleriyle *trans*-visinal konumda olan H-4a ve H-10b protonlarının sırasıyla δ 72.9 ve 35.7'de rezonans yapan karbonlar üzerinde yer aldığı saptanmıştır. ^{13}C NMR ve HSQC bulguları GR-11 kodlu bileşiğin, GR-6 kodlu bileşikle (likorin) çok benzer olduğuna işaret etmektedir. Ancak GR-11 kodlu bileşiğe ait C-4a (δ 72.9), C-

6 (δ 68.8) ve C-12 (δ 69.2) karbonları likorine göre beklenenden oldukça aşağı alanda gözlenmiştir. Bu aşamada elde edilen bulgular ve bileşiğe ait ESI kütle spektrumu (m/z 326.0990 $[M+H]^+$) birlikte değerlendirildiğinde bileşikte *N*-oksit fonksiyonu olabileceği ortaya çıkmaktadır. Bileşiğin yapısını kesin olarak belirleyebilmek için, HSQC deneyine ilaveten diğer 2D NMR tekniklerinden (1H , 1H COSY, HMBC ve NOESY) yararlanılmıştır.

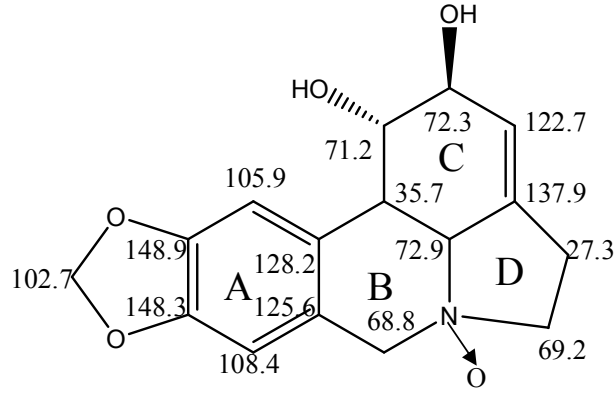
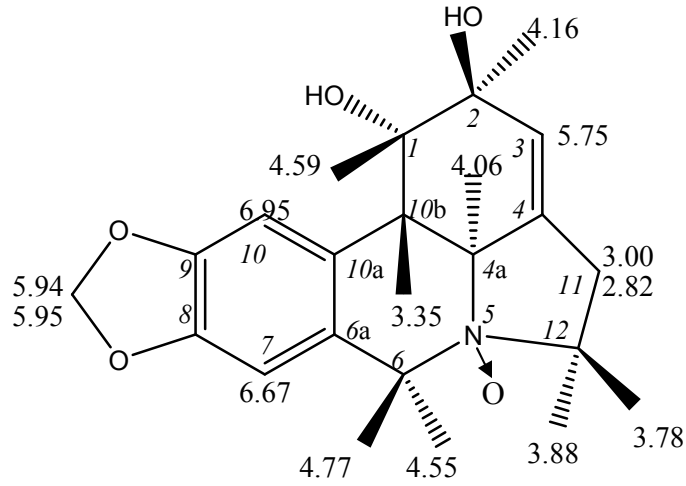
HMBC spektrumunun değerlendirilmesine en aşağı alanda bulunan sinyalden (δ 6.95) başlanmıştır. Bu protonla δ 148.3 (C-8), 125.6 (C-6a) ve 35.7 (C-10b) sinyalleri arasında $^3J_{CH}$, 148.9 (C-9) ile $^2J_{CH}$ korelasyonları saptanmıştır. δ 6.67 (H-7)'de izlenen protonla δ 148.3 (C-8), 148.9 (C-9), 128.2 (C-10a) ve 68.8 (C-6) karbonları etkileşme göstermiştir. Bunlara ilaveten H-6 (4.55)'deki protonla 72.9 (C-4a)'da rezonans yapan karbon 3 bağ aracılığıyla korelasyon göstermektedir. Böylece 1D ve 2D NMR bulgularından yararlanılarak muhtemel bir likorin çekirdeğinde yer alan A ve B halkalarında bulunan proton ve karbon kimyasal kayma değerleri yerleştirilmiştir.

1H , 1H COSY deneyinde görülen korelasyonlar (Tablo 39) likorin çekirdeğinin C halkasındaki protonların (δ 5.75, 4.59, 4.16, 4.06 ve 3.35) dizilişlerini doğrulamaktadır. HMBC deneyinde δ 4.59'daki protonun 2 ve 3 bağ aracılığıyla sırasıyla C-10b (δ 35.7) ve C-4a (δ 72.9) karbonlarıyla etkileşmesi B ve C halkalarının kaynaştıklarını desteklenmektedir. 1H , 1H COSY deneyinde, 1H NMR bulgularını destekleyici olarak δ 3.88, 3.78, 3.00 ve 2.82'deki protonların birbirleriyle etkileşmeleri, likorin çekirdeğinin D halkasındaki dörtlü spin sisteminin varlığına işaret etmektedir. Buna ilaveten, HMBC deneyinde δ 4.77 (H-6)'deki protonla C-12 (δ 69.2) arasında $^3J_{CH}$ korelasyonu gözlenmesi, δ 3.00 ve δ 2.88 (H-11)'deki protonların iki bağ aracılığıyla δ 137.9 (C-4)'daki karbonla etkileşmesi,

δ 3.88 (H-12 α)’deki protonunun ise üç bağ aracılığıyla δ 137.9 (C-4) ve δ 72.9 (C-4a)’da rezonans yapan karbonlarla etkileşmeleri mevcuttur. Bu verilerin değerlendirilmesiyle D halkasının proton ve karbon kimyasal kayma değerlerinin yerleştirilmesi m¼mk¼n olmuştur.

Bileşiğin konfig¼rasyonel niteliklerinin kanıtlanması için NOESY deneyinden yararlanılmıştır. Spektrumun en aşağı alanında yer alan sinyal H-10 (δ 6.95) ile H-1 (δ 4.59) etkileşmesi, H-1’in β y¼nlendiđine işaret etmektedir. H-1 (δ 4.59) ile etkileşen H-10b (δ 3.35) de β oryantasyona sahip olmalıdır. H-10b (δ 3.35) ile H-2 (δ 4.16) protonunun NOESY spektrumunda herhangi bir etkileşme göstermemesi, H-2’nin α y¼nlendiđine işaret etmektedir. H-10b ile *trans*-visinal etkileşmeye sahip olan H-4a (δ 4.06) protonu ise molekül d¼zleminin altında olup α y¼nlenmiřtir. H-7 (δ 6.67) ile etkileşen δ 4.55 (H-6)’deki proton α , δ 4.77 ise proton ise β y¼nlenmeye sahip olmalıdır. H-6 β (δ 4.77)’nın δ 3.78 (H-12) ile etkileşmesi g¼zlendiđinden s¼z konusu protonun da β y¼nlendiđini s¼ylemek m¼mk¼nd¼r. Bu durumda ^1H NMR sinyali δ 3.88 (H-12)’de izlenen protonun α oryantasyona sahip olduğu ortaya çıkmaktadır.

$\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{NO}_5$ kapalı form¼l¼ne sahip GR-11 kodlu bileşiğin proton ve karbon kimyasal kayma değerleri 1D ve 2D NMR bulguları ve literat¼rden yararlanılarak aşağıda açık kimyasal form¼l¼zerinde g¼sterilmektedir.



Likorin daha önce *Galanthus* genusuna ait çeşitli türlerden (32, 47, 48, 170, 178, 250, 333) ve Amaryllidaceae familyasının diğer üyelerinden (27, 144) rapor edilmiştir. Likorin *N*-oksit ise doğa için yeni bir bileşik olup ilk kez tarafımızdan bu çalışmada izole edilip yapısı aydınlatılmıştır.

Bileşiğin asetilkolinesteraz inhibitör aktivite tayini *in vitro* Ellman esasına dayalı mikropilaka deneyiyle yapılmıştır. Pozitif kontrol olarak galantaminin (IC_{50} 0.59 μ M) kullanıldığı deneyde, GR-11 kodlu bileşiğe ait IC_{50} değeri 1423.09 μ M olarak hesaplanmıştır. Daha önce elde edilen GR-6 kodlu bileşik için (likorin) uygulanan mikropilaka deneyinde asetilkolinesteraz inhibitör aktivite IC_{50} değeri hesaplamaya yeter derecede olmamasına rağmen, likorin *N*-oksitin düşük de olsa

aktivite göstermesi ilginç bir bulgudur. Molekülde *N*-oksit fonksiyonunun aktiviteyi bir miktar artırması söz konusu olabilir. Bu durum inkartin ve inkartin *N*-oksit için de geçerlidir.

BÖLÜM V

SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Araştırmamızda ilk olarak, ülkemizde yabani olarak yetişen *Galanthus rizehensis* Stern bitkisinin tayinine yardımcı olmak ve Herba ve Bulbus Galanthi droglarına ait ileride hazırlanabilecek monografilerin yazılmasına kaynak oluşturabilmek amacıyla çiçek durumu sapı, kök, yaprak, çiçek, meyve ve tohuma ait anatomik karakterler belirlenmiş, toz drog örnekleri üzerinde de mikroskopik incelemeler yapılmıştır.

Çalışmamızın ikinci aşamasında *G. rizehensis* bitkisinin kaynak olarak seçildiği Herba ve Bulbus Galanthi drogları için yazılacak monografilerde yer alabilecek kalite kontrol deneylerine yönelik bazı araştırmalar yapılmıştır. Bu çerçevede, ÇTÜ, ÇTA, MTÜ, MTA kodlu örnekler üzerinde nem, total kül, sülfat külü ve hidroklorik asitte çözünmeyen kül miktarları Avrupa Farmakopesi'nde yer alan yöntemler esas alınarak tayin edilmiştir. Elde edilen bulgulardan ileride hazırlanabilecek monografilerde söz konusu deneylere ait sınır değerlerin saptanmasında yararlanılabilir.

Herba ve Bulbus Galanthi droglarının kalitelerinin saptanmasında total alkaloit miktar tayini önemli bir deneydir. Bu amaçla tarafımızdan uygulanan titrimetrik esaslı yöntem kullanılabilir. Buna ilaveten, diğer başka modern yöntemlerin de araştırılıp, uygulanabilirliği değerlendirilmelidir.

Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi yöntemiyle gerçekleştirilen galantamin ve likorin teşhis ve miktar tayinleri deneyleri sonucunda, *G. rizehensis*'in likorin içerdiği saptanmış ve bu alkaloidin miktarı tayin edilmiştir. Galantaminin ise bitkide kantitatif olarak hesaplanabilecek düzeyde bulunmadığı ve dolayısıyla bitkinin galantamin kaynağı olarak kullanılamayacağı belirtilebilir. Buna ilaveten, likorin elde edilmesi için meyveli dönemde toplanmış bitkinin toprak altı kısımlarından hazırlanan Bulbus Galanthi droğundan (MTA) yararlanılması uygun olacaktır.

Gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC-MS) yöntemi, karışım halinde bileşenleri içeren ekstraların içeriklerinin araştırılmasında kullanılan hızlı ve güvenilir bir yöntemdir. Araştırmamızda *G. rizehensis* bitkisinden hazırlanan droğların, GC-MS yöntemiyle alkaloid içeriklerinin tayini ilk kez tarafımızdan gerçekleştirilmiştir. Bu çalışma sonucunda toplam yirmi bir adet alkaloid saptanmış olup, alkaloid içeriği açısından en zengin droğun meyveli dönemde toplanmış bitkiden hazırlanan Bulbus Galanthi droğu (MTA) olduğu tespit edilmiştir.

Biyolojik aktivite eşliğinde izolasyon ve yapı aydınlatma çalışmalarında, *G. rizehensis* bitkisinden hazırlanan total alkaloid ekstresi fraksiyonlandırıldıktan sonra her bir fraksiyonun *in vitro* Ellman esasına dayalı olarak İ.T.K. yöntemiyle asetilkolinesteraz inhibitör aktivitesi standart olarak galantamin kullanılarak belirlenmiştir. Aktif fraksiyonlar üzerinde izolasyon çalışmaları sonucunda on bir adet bileşik elde edilmiş ve yapıları aydınlatılmıştır. Bu bileşiklerden (-)-likorin, (-)-inkartin Amaryllidaceae alkaloidlerinin likorin alt grubundan, (+)-vittatin, (+)-11-hidroksi vittatin ise krinin alt grubundandır. Bu bileşiklerin *G. rizehensis* bitkisinde bulunuşları ilk kez tarafımızdan bu araştırmada rapor edilmektedir.

Araştırmamızda elde edilen narsiprimin ve arolikorisidin adlı alkaloidler ise Amaryllidaceae alkaloidlerinin narsiklasin alt sınıfında yer almaktadır. Narsiprimin

ve arolikorisidin daha önce Amaryllidaceae familyasının bazı üyelerinde rapor edilmekle birlikte *Galanthus* genusunda ilk kez bu araştırma sonucunda tespit edilmişlerdir.

N-trans-feruloiltiramin ve Amaryllidaceae alkaloitlerinin biyosentez yollarında önemli rol oynayan *O-metilnorbelladin* alkaloitleri de yapısı aydınlatılan bileşikler arasındadır.

Araştırmamızda izole edilmiş bileşikler açısından oldukça ilginç bir sonuç ise 1-asetil- β -karbolin adlı indol alkaloidinin bulunmuş olmasıdır. β -karbolin yapısına sahip alkaloitler Amaryllidaceae familyasında daha önce sadece iki çalışmada saptanmıştır (274, 373). 1-asetil- β -karbolin ise Amaryllidaceae familyasında ilk kez tarafımızdan izolasyon çalışmalarımız sırasında tespit edilmiştir. Bu bulguyu destekleyici olarak bitkiden hazırlanan çeşitli drog örnekleri üzerinde gerçekleştirdiğimiz Gaz kromatografisi-Kütle Spektrometrisi analizi sonucunda da ÇTÜ ve MTÜ kodlu örneklerde tespit edilmiştir .

Bu bileşikler dışında, Amaryllidaceae alkaloitlerinin likorin alt sınıfından likorin *N*-oksit ve inkartin *N*-oksit alkaloitleri de doğa için yeni bileşiklerdir.

İzolasyon ve yapı aydınlatma işlemlerinin tamamlanmasının ardından elde edilen saf bileşikler üzerinde *in vitro* Ellman esasına dayalı mikropilaka yöntemiyle asetilkolinesteraz inhibitör aktivite deneyi, standart olarak galantamin kullanılarak gerçekleştirilmiş ve aktif bulunan bileşiklerin IC₅₀ değerleri hesaplanmıştır. İnkartin, likorin *N*-oksit ve inkartin *N*-oksit alkaloitlerine ait IC₅₀ değerleri hesaplanmıştır. Likorin alkaloidinin mikropilaka deneyiyle aktivitesi tespit edilmezken, likorin *N*-oksitin aktivitesi saptanmıştır. Bu bulguya paralel olarak inkartin *N*-oksitin göstermiş olduğu aktivite de inkartine göre daha yüksek olarak bulunmuştur.

G. rizehensis bitkisinin farklı iskelet yapılarına sahip çeşitli Amaryllidaceae

alkaloitleri yanında ilginç kimyasal profile sahip olduğu ve β -karbolin alkaloidi de içerdii için biyojenetik açıdan incelenmesi gerektiği belirtilebilir. *In vitro* Ellman esasına dayalı mikropkaka yöntemiyle asetilkolinesteraz inhibitör aktivite deneyi sonucunda elde edilen bulgular *N*-oksit fonksiyonu taşıyan alkaloitlerin, taşımayanlara göre daha aktif olduğunu göstermiş olup, ileride bu konuda daha detaylı çalışmaların yapılması düşünülmektedir.

BÖLÜM VI

ÖZET

***GALANTHUS RIZEHENSIS* STERN BİTKİSİNİN FARMAKOGNOZİK YÖNDEN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Bu çalışmada, Türkiye’de yabancı olarak yetişen bir *Galanthus* türü olan *Galanthus rizehensis* Stern bitkisi çeşitli açılardan ele alınarak ayrıntılı olarak incelenmiştir.

İlk çalışmamızda, Herba ve Bulbus Galanthi drogları üzerinde anatomik ve mikroskopik araştırmalar yapılmıştır.

Drog örneklerinin kalite kontrol araştırmaları Avrupa Farmakopesi’ne göre gerçekleştirilmiştir. Bu kapsamda drogların nem, total kül, sülfat külü ve hidroklorik asitte çözünmeyen kül miktarları araştırılmış ve sonuçlar % değerler olarak rapor edilmiştir.

Galanthus genusunun önemli alkaloidleri arasında yer alan galantamin ve likorin, *G. rizehensis* bitkisinden hazırlanan dört farklı drog örneğinde, yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemiyle kantitatif olarak araştırılmıştır. Bunlara ilaveten, *G. rizehensis*’den hazırlanan dört farklı drog örneğinin içerdiği yirmi bir farklı alkaloid kapiler gaz kromatografisi-kütle spektrometresi

(CGC-MS) yöntemiyle tespit edilmiştir. *G. rizehensis* bitkisinin alkaloid içeriği GC-MS yöntemiyle ilk kez bu çalışmada rapor edilmiştir.

Biyolojik aktivite rehberliğinde izolasyon ve yapı aydınlatma çalışmalarının yapıldığı araştırmalarda, oda sıcaklığında kurutulmuş ve toz edilmiş total bitkisel materyalden hazırlanan total alkaloid ekstresinin silika jel sütunda fraksiyonlandırılmasıyla elde edilen ana fraksiyonlar *in vitro* Ellman yöntemine dayalı İ.T.K. deneyinden yararlanılarak asetilkolinesteraz inhibitör aktivite testine tabi tutulmuşlardır. Antikolinesteraz aktivite gösteren fraksiyonlar, preparatif sütun kromatografisi, preparatif İ.T.K. ve diğer saflaştırma yöntemlerinden yararlanılarak saflaştırılmışlardır. Elde edilen bileşiklerin yapıları spektroskopik yöntemler (UV, IR, CD, 1D ve 2D NMR, EIMS, HR-ESIMS) kullanılarak aydınlatılmıştır.

Bu çalışmaların sonucunda *Galanthus rizehensis* Stern'den, Amaryllidaceae alkaloidlerinin likorin alt grubundan (-)-likorin, (-)- inkartin, (-)-likorin *N*-oksit ve (-)- inkartin *N*-oksit, narsiklasin alt grubundan narsiprimin ve arolikorisidin, krinin alt grubundan (+)-vittatin ve (+)-11-hidroksivittatin, bunlara ilaveten *N*-trans feruloiltiramin, *O*-metilnorbelladin ile indol tip alkaloid olan 1-asetil β karbolin alkaloidleri izole edilmiş ve yapıları aydınlatılmıştır. Bunlardan (-)-likorin *N*-oksit ve (-)- inkartin *N*-oksit ilk kez bu çalışmada izole edilmiştir. 1-asetil β karbolin familya bazında, narsiprimin ve arolikorisidin genus bazında yeni bileşikler olup, diğer altı bileşik ise tür için yenidirler.

Ayrıca izole edilmiş olan her bir bileşik üzerinde *in vitro* Ellman metoduna dayalı mikropilaka deneyi kullanılarak asetilkolinesteraz inhibitör aktiviteleri çalışılmıştır. (-)- İnkartin, (-)-likorin *N*-oksit ve (-)- inkartin *N*-oksit antikolinesteraz aktivite göstermiş olup, bunların IC₅₀ değerleri hesaplanmıştır.

ABSTRACT**PHARMACOGNOSTIC EVALUATION OF *GALANTHUS RIZEHENSIS*****STERN**

In this study, *Galanthus rizehensis* Stern, which is a wild-growing *Galanthus* species of Turkey, has been thoroughly investigated by several approaches.

As the first study, the anatomical and microscobical investigations on Herba and Bulbous Galanthi have been carried out.

The quality control investigations of drug specimens have been determined according to European Pharmacopoeia . In this concept humidity, total ash, sulphated ash and hydrochloric acid-insoluble ash of drug specimens were determined and the results were reported as percentage values.

Four different drug specimens prepared from *G. rizehensis*, were quantitatively analyzed for the two principle alkaloids of *Galanthus* genus, galanthamine and lycorine, by using High Pressure Liquid Chromatography (HPLC). Moreover, identification of twenty one alkaloids in four different drug specimens of *G. rizehensis* were determined by capillary gas chromatography-mass spectrometry (CGC-MS). The alkaloid content of *G. rizehensis* was reported for the first time by GC-MS in this study.

In the studies where biological activity guided isolation and structure elucidation investigations are conducted, total alkaloidal extract prepared from plant

material dried at room temperature and powdered, was fractionated on a column of silica gel and the obtained main fractions were subjected to the acetylcholinesterase inhibitor activity test by using T.L.C. assay, based on *in vitro* Elman method. Fractions which showed anticholinesterase activity have been purified by preparative column chromatography, preparative T.L.C., and other purification methods. The structures of the compounds thus obtained were elucidated by using spectral techniques (UV, IR, CD, 1D and 2D NMR, EIMS, HR-ESIMS).

As a result of these studies, the Amaryllidaceae alkaloids, (-)-lycorine, (-)-incartine, (-)-lycorine *N*-oxide and (-)-incartine *N*-oxide from the lycorine subgroup, narciprimine and arolycoricidine from the narciclasine subgroup, (+)-vittatine and (+)-11-hydroxyvittatine from the crinine subgroup, moreover *N*-trans feruloyltyramine, *O*-methylnorbelladine and an indole type alkaloid 1-acetyl β carboline were isolated from *Galanthus rizehensis* Stern and their structures were elucidated. Of these compounds, (-)-lycorine *N*-oxide and (-)-incartine *N*-oxide have been isolated for the first time in this study. The occurrence of 1-acetyl β carboline is new at the family level, narciprimine and arolycoricidine are new at the genus level, whereas the other six alkaloids are new for the species.

In addition, acetylcholinesterase inhibitory activity of each compound were performed by using microplate assay, based on *in vitro* Ellman method. Incartine, incartine *N*-oxide and lycorine *N*-oxide displayed anticholinesterase activity and their IC₅₀ values were calculated.

BÖLÜM VII

YARARLANILAN KAYNAKLAR

1. Abdalla S., Abu Zarga M., Sabri S. (1993). Alkaloids of *Sternbergia clusiani* and Effects Lycorine on Guinea-Pig Isolated Pulmonary Artery and Heart, *Fitoterapia*, 64 (6): 513-518
2. Abou-Donio A. H., Amer M. E., Darwish F. A., Kasem F. F., Hammoda H. M., Abdel-Kader M. S., Zhou B. N., Kingston D. G. I. (2002). Two New Alkaloids of the Crinane Series from *Pancreatium sickenbergeri*, *Planta Medica*, 68 (4): 379-381
3. Abou-Donio A. H., Giulio A., Evidente A., Gaber M., Habib A. A., Lanzetta R., El-Din A. (1991). Narciclasine-4-O- β -D-Glucopyranoside, A Glucosyloxy Amidic Phenanthridone Derivative from *Pancreatium maritimum*, *Phytochemistry*, 30 (10): 3445-3448
4. Aboul-Ela M. A., El-Lakany A. M., Hammoda H. M. (2004). Alkaloids from the Bulbs of *Crinum bulbispermum*, *Pharmazie*, 59 (11): 894-895
5. Acartürk R. (2001). Şifalı Bitkiler, Flora ve Sağlığımız. 3. Baskı. Orman Genel Müdürlüğü Mensupları Yardımlaşma Vakfı, Ankara
6. Ahmed Z. F., Rızk A. M., Hamouda F. M. (1964). Phytochemical Studies on Egyptian *Pancreatium* Species, *Lloydia*, 27 (2): 115-134
7. Akbulut İ. (2004). Bolu, Abant Gölü Çevresinde Yetişen *Galanthus plicatus*

- Bieb. subsp. *byzantinus* (Baker) D. A. Webb Üzerinde Bazı Farmakognozik Çalışmalar, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Bornova, İzmir
8. Akineri G., Güneş H. S. (1998). *Galanthus plicatus* ssp. *byzantinus* as a New Source for Some Amaryllidaceae Alkaloids, *Journal of Faculty of Pharmacy of Gazi University*, 15 (2): 99-106
 9. Albuquerque E. X., Edna F. R., Aracava Y., Fawcett W. P., Oliveira M., Randall W. R., Hamilton T. A., Kan R. K., Romano Jr. J. A., Adler M. (2006). Effective Counter Measure Against Poisoning by Organophosphorus Insecticides and Nerve Agents, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 10335: 13220-13225
 10. Ali A., El Sayed H., Abdallah O., Steglich W. (1986). Oxocrinine and Other Alkaloids from *Crinum americanum*, *Phytochemistry*, 25 (10): 2399-2401
 11. Ali A. A., Ramadan M. A., Frahm A. W. (1984). Alkaloidal Constituents of *Crinum bulbispermum* III: Bulbispermine, A New Alkaloid of *Crinum bulbispermum*, *Planta Medica*, 67: 424-427
 12. Altan F., Uzan I., Sarikaya B., Kaya G. I., Unver-Somer N., Onur M. A., Tanyolac B. (2010). Phylogenetic Analysis of *Galanthus* spp. by AFLP Markers Distributed in Turkey, Plant & Animal Genomes XVIII Conference, San Diego, CA, p: 693
 13. Amico A., Stefanizzi L. (1978). Cytochemical Localization of Lycorine in Plants of *Sternbergia lutea* Ker Gawl, Quart, *Journal of Crude Drug Research*, 16 (2): 65-70
 14. Antoun M. D., Mendoza N. T., Rios Y. R., Proctor G. R., Wickramaratne D. B. M., Pezzuto J. M., Kinghorn A. D. (1993). Cytotoxicity of *Hymenocallis*

expansa Alkaloids, *Journal of Natural Products*, 56 (8): 1423-1425

15. Areshkina L. Ya. (1940). Alkaloids from Snowdrop, *Sovet. Subtropiki*, (11-12): 59, *Khim. Referat. Zhur.*, 4 (5): 100, (1941), *Chem. Abstr.* (1943), 37: 6405₆
16. Arias E., Alés E., Gabilan N. H., Cano-Abad M. F., Villarroya M., García A. G., López M. G. (2004). Galantamine Prevents Apoptosis Induced by β -Amyloid and Thapsigargin: Involvement of Nicotinic Acetylcholine Receptors, *Neuropharmacology*, 46: 103-114
17. Arrigoni O., Arrigoni Liso R., Calabrese G. (1975). Lycorine as an Inhibitor of Ascorbic Acid Biosynthesis, *Nature*, 256: 513-514
18. Asoeva E. Z., Murav'eva D. A., Molodozhnikov M. M., Rabinovich I. M. (1968). *Galanthus krasnovii*-A Source for Obtaining Galanthamine, *Farmatsiya (Moscow)*, 17 (5): 47-49, *Chem. Abstr.* (1969), 70: 14355b
19. Asoeva E. Z., Murav'eva D. A., Molodozhnikov M. M., Rabinovich I. M. (1966). Preparation of Galanthamine, *USSR 186,493 (Cl. C 07c)*, Oct.3, 1966, *Appl. Sept. 6, 1965, Izobret., Prom. Obratzsy, Tovaryne Znaki*, 43 (19), 35, *Chem. Abstr.* (1967), 66: 79581j
20. Asoeva E. Z., Vergeichik E. N. (1967). Separation and Quantitative Determination of Alkaloid in *Galanthus krasnovii*, *Nauchnye Doklady Vyssei Shkoly Biologicheskie Nauki*, 7: 98-101, *Chem. Abstr.* (1967), 67: 94035y
21. Avrupa Farmakopesi Adaptasyonu Türk Farmakopesi (2004). s:117-265
22. Bach A., Pawlowska B. (2007). Phenolic Compounds Level in *Galanthus elwesii* Cultures as a Response to *In vitro* Stress, *Acta Physiologiae Plantarum*, 29 (1): 34-35

23. Balzarini J., Van Laethem K., Hatse S., Froeyen M., Van Damme E., Bolmstedt A., Peumans W., De Clercq E., Schols D. (2005). Marked Depletion of Glycosylation Sites in HIV-1 gp120 under Selection Pressure by the Mannose-Specific Plant Lectins of *Hippeastrum* hybrid and *Galanthus nivalis*, *Molecular Pharmacology*, 67 (5): 1556-1565
24. Barbakadze V., Mulkijanyan K., Merlani M., Gogilashvili L., Amiranashvili L. (2007). Structure of Glucofructan from Bulbs of *Galanthus platyphyllus* Traub et Moldenke (Amaryllidaceae), *Bulletin of the Georgian National Academy of Sciences*, 175 (2): 86-88
25. Bastida J., Codina C., Porras C. L., Paiz L. (1996). Alkaloids from *Hippeastrum solandriifolium*, *Planta Medica*, 62: 74-75
26. Bastida J., Contreras J. L., Codina C., Wright C. W., Phillipson J. D. (1995). Alkaloids from *Narcissus cantabricus*, *Phytochemistry*, 40 (5): 1549-1551
27. Bastida J., Lavilla R, Viladomat F. (2006). Chemical and Biological Aspects of *Narcissus* Alkaloids, ed: Cordell GA, The Alkaloids, Vol: 63, Elsevier, Amsterdam, p: 87
28. Bastos J. K., Xu L., Nanayakkara N. P. D., Burandt Jr. C. L., Moraes-Cerdeira R. M., McChesney J. D. A. (1996). Rapid Quantitative Method for the Analysis of Galanthamine and Other Amaryllidaceae Alkaloids by Capillary Column Gas Chromatography, *Journal of Natural Products*, 59: 638-640
29. Baytop A. (1972). Bitkisel Drogların Anatomik Yapısı, Baha Matbaası, İstanbul
30. Baytop T. (1999). Türkiye’de Bitkilerle Tedavi, Sanal Matbaacılık, İstanbul
31. Baytop T., Mathew B. (1984). The Bulbous Plants of Turkey, B.T. Batsford

Ltd., London, p: 21-23

32. Berkov S., Bastida J., Nikolova M., Viladomat F., Codina C. (2008a). Rapid TLC/GC-MS Identification of Acetylcholinesterase Inhibitors in Alkaloid Extracts, *Phytochemical Analysis*, 19 (5): 411-419
33. Berkov S., Bastida J., Sidjimova B., Viladomat F., Codina C. (2008b). Phytochemical Differentiation of *Galanthus nivalis* and *Galanthus elwesii* (Amaryllidaceae): A case study, *Biochemical Systematics and Ecology*, 36: 638-645
34. Berkov S., Bastida J., Tsvetkova R., Viladomat F. (2009a). Alkaloids from *Sternbergia colchiciflora*, *Zeitschrift für Naturforschung*, 64c: 311-316
35. Berkov S., Bastida J., Viladomat F., Codina C. (2008c). Analysis of Galanthamine-Type Alkaloids by Capillary Gas Chromatography-Mass Spectrometry in Plants, *Phytochemical Analysis*, 19: 285-293
36. Berkov S., Codina C., Viladomat F., Bastida J. (2007a). Alkaloids from *Galanthus nivalis*, *Phytochemistry*, 68: 1791-1798
37. Berkov S., Cuadrado M., Osorio E., Viladomat F., Codina C., Bastida J. (2009b). Three New Alkaloids from *Galanthus nivalis* and *Galanthus elwesii*, *Planta Medica*, 75 (12): 1351-1355
38. Berkov S., Evstatieva L., Sidjimova B., Popov S. (2005a). Isolation and Identification of Alkaloids from Bulgarian *Galanthus elwesii*, *Biokhimiya, Biofizika, Molekulyarnaya Biologiya i Genetika, Microbiologiya i Fiziologiya*, 96 (2): 89-94
39. Berkov S., Pavlov A., Ilieva M., Burrus M., Popov S., Stanilova M. (2005b). CGC-MS of Alkaloids in *Leucojum aestivum* Plants and Their *In vitro* Cultures, *Phytochemical Analysis*, 16: 98-103

40. Berkov S., Reyes-Chilpa R., Codina C., Viladomat F., Bastida J. (2007b). Revised NMR Data for Incartine: An Alkaloid from *Galanthus elwesii*, *Molecules*, 12: 1430-1435
41. Berkov S., Sidjimova B., Evstatieva L., Popov S. (2004). Intraspecific Variability in the Alkaloid Metabolism of *Galanthus elwesii*, *Phytochemistry*, 65 (5): 579-586
42. Bibby M. C., Holwell S. E., Pettit G. R. (1999). Anti-Vascular and Anti-Tumor Effects of the Novel Agent Pancratistatin Phosphate; Biological Basis for Antiangiogenic Therapy Conference, Milan, Italy
43. Blasko G., Cordell G. A. (1988). Recent Developments in the Chemistry of Plant Derived Anticancer Agents, in Economic and Medicinal Plant Research, Wagner H., Hikuno H., Farnsworth N. R. (Eds.), Vol. 2, Academic Press Inc., London, p: 147-149
44. Blasko G., Elango V., Şener B., Freyer A. J., Shamna M. (1982). Secophthalideisoquinolines, *The Journal of Organic Chemistry*, 47: 880-885
45. Boissier J. R., Combes G., Pagny J. (1960). La Galanthamine, Puissant Cholinergique Naturel, *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 18: 888-900
46. Boit H. G. (1956). Alkaloide von *Chlidanthus fragrans*, *Vallota purpurea*, *Nerine undulata* und *Hippeastrum vittatum*, *Chemische Berichte*, 89: 1129-1134
47. Boit H. G. (1954). Über die Alkaloide der Zwiebeln von *Galanthus nivalis* (III. Mitteil. Über Amaryllidaceen Alkaloide), *Chemische Berichte*, 87: 724-725
48. Boit H. G., Döpke W. (1961). Alkaloide aus *Haemanthus*-, *Zephranthes*-, *Galanthus*- und *Crinum*-Arten, *Die Naturwissenschaften*, 48 (10): 406-407

49. Boit H. G., Döpke W. (1960). Alkaloide aus *Hippeastrum aulicum* var. *robustum*, *Die Naturwissenschaften*, 47 (5): 109
50. Boit H. G., Ehmke H. (1957). Alkaloide von *Nerine corusco*, *N. flexuosa*, *Pancratium illyricum*, *Lycoris aurea* und *L. incartana*, *Chemische Berichte*, 890: 369-373
51. Boit H. G., Ehmke H. (1955). Alkaloide von *Sprekelia formosissima*, *Galanthus elwesii*, *Zephyranthes candida* und *Crinum powelli* (VIII. Mitteil. Über Amaryllidaceen Alkaloide), *Chemische Berichte*, 888 (10): 1590-1594
52. Brickell C. D. (1984). *Galanthus* L., In Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Davis, P. H. (Ed.), Vol 8, Edinburgh University Press, Edinburgh, p: 358-381
53. Brickell C. D. (1988). *Galanthus* L., In Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Davis P. H., Mill R. R., Tan K., (Eds), Vol 10, Edinburgh University Press, Edinburgh, p: 226-227
54. Briggs C. K., Hight P. F., Hight R. J., Wildman W. C. (1956). Alkaloids of the Amaryllidaceae. VII. Alkaloids Containing the Hemiacetal or Lactone Group, *Journal of the American Chemical Society*, 78: 2899-2094
55. Brine N. D., Campbell W. E., Bastida J., Herrera M. R., Viladomat F., Codina C., Smith P. J. (2002). A Dinitrogenous Alkaloid from *Cyrtanthus obliquus*, *Phytochemistry*, 61 (4): 443-447
56. Bubeva-Ivanova L. (1962a). Amaryllidaceenalkaloide, VI Über die Wirkung einiger Mineralsäuren auf Galanthamine, *Chemische Berichte*, 95: 1348-1353
57. Bubeva-Ivanova L. (1957). *Farmatsiya (Sofia)*, 8 (2): 23-26, Bubeva-Ivanova, L., Amaryllidaceenalkaloide, VI Über die Wirkung Einiger Mineralsäuren

- auf Galanthamine, *Chemische Berichte*, (1962) 95: 1348-1353
58. Bubeva-Ivanova L., Ivanov V. (1961). Alkaloid Content in *Galanthus nivalis* var *gracilis* L., *Tr. Nauchnoizsled. Inst. Farm.*, 3: 70-75, *Chem. Abstr.* (1964), 61: 14465h
 59. Bubeva-Ivanova L., Ivanov V. (1962b). Amaryllidaceae Alkaloids. V *Leucojum aestivum*, *Tr. Nauchnoizsled. Inst. Farm.* 3: 89-92, *Chem. Abstr.* (1964), 61: 8128 g
 60. Bubeva-Ivanova L., Pavlova N. (1965). The Alkaloids of *Galanthus nivalis* var. *gracilis* VIII. Amaryllidaceae Alkaloids, *Farmatsiya (Sofia)*, 15 (2): 103-105, *Chem. Abstr.* (1965), 63:18647d
 61. Cao F., Liu W., Wen Y., He Z., Qin W. (1983). Studies on Chemical Constituents of *Ligusticum chuanxing*, *Zhongcaoyao*, 14 (6): 241-242
 62. Cao R., Peng W., Wang Z., Xu A. (2007). Beta-Carboline Alkaloids: Biochemical and Pharmacological Functions, *Current Medical Chemistry*, 14 (4): 479-500
 63. Cedrón J. C., Oberti J. C., Estevez-Braun A., Ravelo A. G., Arco-Aguilar M. Del Lopez M. (2009). *Pancratium canariense* as an Important Source of Amaryllidaceae Alkaloids, *Journal of Natural Products*, 72: 112-116
 64. Ceriotti G. (1967). Narciclasine: An Antimitotic Substance from *Narcissus* Bulbs, *Nature*, 213: 595-596
 65. Cherkasov O. A. (1978). Plant Sources of Galanthamine, *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 810-813
 66. Cherkasov O. A., Stikhin V. A., Savchuk V. M. (1984). Content of Galanthamine in Some Amaryllidaceae Species of the Flora of the Ukrainian SSR, *Rastit. Resur.*, 20 (4): 566-568, *Chem. Abstr.* (1985), 102:

21280f

67. Chimiko-Pharmazevtitschen Zavod. (1963). Galanthamine Hydrobromide Extraction, *Brit. 942: 200 (Cl. C 07g)*, Nov. 20., *Bulg. Appl. Mar. (1959)*, 2: 2pp., *Chem. Abstr. (1964)*, 60: 6707e
68. Claessens H. A., Van Thiel M., Westra P., Soetherboek A. M. (1983). High Performance Liquid Chromatographic Determination of Galanthamine. A Long-Acting Acetylcholinesterase Drug in Serum, Urine and Bile, *Journal of Chromatography*, 275 (2): 345-353
69. Clemo G. R., Felton D. G. I. (1952). Tazettine from Snowdrop Leaves, *Chemical and Industry*, 807-808
70. Conforti F., Loizzo M. R., Marrelli M., Menichini F., Statti G. A., Uzunov D., Menichini F. (2010). Quantitative Determination of Amaryllidaceae Alkaloids from *Galanthus reginae-olgae* subsp. *vernalis* and *In vitro* Activities Relevant for Neurodegenerative Diseases, *Pharmaceutical Biology*, 48 (1): 2-9
71. Conley R., Boggs D., Kelly D., McMahon R., Dickinson D., Feldman S., Ball M. P., Buchanan R. W. (2009). The Effects of Galantamine on Psychopathology in Chronic Stable Schizophrenia, *Clinical Neuropharmacology*, 32 (2): 69-74
72. Cook J. W., Loudon J. D. (1952). Alkaloids of the Amaryllidaceae, in the Alkaloids Chemistry and Pharmacology, Manske R. H. F., Holmes H. L. (Eds.), Vol. 2, Academic Press Inc., New York, p: 331-352
73. Cordell G. A. (1981). Introduction to Alkaloids, J. Wiley & Sons, Inc., New York, p: 533-553
74. Cozanitis D. A. (1974). Galanthamine Hydrobromide Versus Neostigmine,

Anaesthesia, 29: 163-168

75. Çelebioğlu S., Baytop T. (1949). Bitkisel Tozların Tetkiki İçin Yeni Bir Reaktif, Farmakognozi Enstitüsü Yayınları, No. 10, Farmakolog, 19, 301; Baytop A. (1972). Bitkisel Droğların Anatomik Yapısı, Baha Matbaası, İstanbul, s: 26-27
76. Çelen Z. (2005). The Molecular Phylogenetic Analysis of Selected *Galanthus* Species from Northwest Turkey, Master Thesis, Molecular Biology and Genetics, Boğaziçi University, İstanbul
77. Çelik Sarier D. (2002). İzmir, Yamanlar, Karagöl Çevresinde Yetişen *Galanthus elwesii* Hook. Üzerinde Bazı Farmakognozok Çalışmalar, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir
78. Çiçek D. (2010). *Sternbergia sicula* Tineo ex Guss. Bitkisinin Kalite Kontrol Açısından Değerlendirilmesi, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir
79. Çitoğlu G., Tanker M., Gümüşel B. (1998). Antiinflammatory Effects of Lycorine and Haemanthidine, *Phytotherapy Research*, 12: 205-206
80. Çitoğlu G. S., Yılmaz B. S., Bahadır Ö. (2008). Quantitative Analysis of Lycorine in *Sternbergia* Species Growing in Turkey, *Chemistry of Natural Compounds*, 44 (6): 826-828
81. Dalton D. R. (1979). Biosynthesis of 1-Phenetyltetrahydroisoquinoline and Other C₆-C₂ + C₆-C₁ Alkaloids Derived From Tyrosine, in Studies in Organic Chemistry, Gassmann, P. G. (Ed.), Vol. 7, Marcel Dekker Inc., New-York, p: 197-215
82. Davis A. P. (2000). *Galanthus* L., in Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Güner A., Özhatay N., Ekim T., Başer K. H. C. (Eds.), Vol 11,

Edinburgh University Press, Edinburgh, p: 265-270

83. Davis A. P. (1999). The Genus *Galanthus*, Timber Press Inc., Oregon, p: 15-170
84. Davis A. P., Barnett J. R. (1997). The Leaf Anatomy of the Genus *Galanthus* L. (Amaryllidaceae J. St.- Hil.), *Botanical Journal of the Linnean Society*, 123: 333-352
85. Davis A. P., Byfield A., Özhatay N., Taylor K. (2001). *Galanthus xvalentinei* nothosubsp. *subplicatus* (Amaryllidaceae): A New *Galanthus* Hybrid From North-western Turkey, *Kew Bulletin*, 56: 639-647
86. Davis A. P., Özhatay, N. (2001). *Galanthus trojanus*: A New Species of *Galanthus* (Amaryllidaceae) from North-Western Turkey, *Botanical Journal of the Linnean Society*, 137: 409-412
87. De Clerq E. (2000). Current Lead Natural Products for the Chemotherapy of Human Immunodeficiency Virus (HIV) Infection, *Medicinal Reserch Reviews*, 20 (5): 323-349
88. De Laurentis N., Armenise D., Rosato A., Leone L., Milillo M. A. (2007). Alkaloids Extracted from *Pancretium maritimum*, *Rivista Italiana EPPOS*, 43: 3-9
89. Demirbaş A., Tüzen M., Özdemir M. (1999). Supercritical Fluid Extraction of Phenolic Acids in Snowdrop, *Energy, Education, Science and Technology*, 2 (2): 47-52, *Chem. Abstr. (2000)*, 134: 83619
90. Deng L., Dai P., Ciro A., Smee D. F., Djaballah H., Shuman S. (2007). Identification of Novel Antipoxviral Agents: Mitoxantrone Inhibits Vaccinia Virus Replication by Blocking Virion Assembly, *The Journal of Virology*, 81 (24): 13392-13402

91. Deng C. L., Jian Z., Longdou L., Wujun G., Shufen L., Qiong W. (2006a). Study on Germplasmic Resources of *Lycoris longituba* using RAPD and ISSR, *Analele Științifice ale Universitatii, Alexandru Ioan Cuza, Secțiunea Genetică și Biologie Moleculară*, TOM VII, 111-120
92. Deng C. L., Zhou J., Gao W. J., Sun F. C., Qin R. Y., Lu L. D. (2006b). Assessment of Genetic Diversity of *Lycoris longituba* (Amaryllidaceae) Detected by RAPDs, *Journal of Genetics*, 85 (3): 205-207
93. Deutsches Arzneibuch 10, (1997)
94. Dong S. W., Shang M. Y., Wang X., Zhang S. X., Li C., Cai S. Q. (2009). Chemical Constituents Isolated from *Saruma henryi*, *Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences*, 18 (2): 146-150
95. Down R. E., Ford L., Woodhouse S. D., Davison G. M., Majerus M. E. N., Gatehouse J. A., Gatehouse A. M. R. (2003). Tritrophic Interactions Between Transgenic Potato Expressing Snowdrop Lectin (GNA), An Aphid Pest (Peach-Potato Aphid; *Myzus persicae* (Sulz.) and a Beneficial Predator (2-Spot ladybird; *Adalia bipunctata* L.), *Transgenic Research*, 12: 229-241
96. Duffield A., Aplin R., Budzikiewicz H., Djerassi C., Murphy C., Wildman W. (1965). Mass Spectrometry and Stereochemical Problems. LXXXII. A study of the Fragmentation of Some Amaryllidaceae Alkaloids, *Journal of American Chemical Society*, 87: 4902-4917
97. Duman İ. (1997). *Galanthus elwesii* Hook. Üzerinde Kalite Kontrol Çalışmaları, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir
98. El-Din A. S., Korany M., Abou-Donia A., Sabry N. N. (1983). Spectrophotometric and Fluorimetric Determination of Lycorine in

- Amaryllidaceae Species, *Acta Pharmaceutica Jugoslavia*, 33 (2): 143-147
99. El-Moghazi A. M., Ali A. A. (1976). Microchemical Identification of Amaryllidaceae Alkaloids. Part I. Crinidine, Vittatine, Crinamine, Powelline, Hippacine, Lycorine and B II, *Planta Medica*, 30 (4): 369-374
100. Elgorashi E. E., Drewes S. E., Van Staden J. (2002). Organ-to-Organ and Seasonal Variation in Alkaloids from *Crinum macowanii*, *Fitoterapia*, 73: 490-495
101. Elgorashi E. E., Malan S. F., Stafford G. I., Staden Van J. (2006). Quantitative Structure-Activity Relationship Studies on Acetylcholinesterase Enzyme Inhibitory Effects of Amaryllidaceae Alkaloids, *South African Journal of Botany*, 72: 224-231
102. Elgorashi E. E., Stafford G. I., Van Staden J. (2004). Acetylcholinesterase Enzyme Inhibitory Effects of Amaryllidaceae Alkaloids, *Planta Medica*, 70 (3): 260-262
103. Ellman L., Courtney K. D., Andres Jr. V., Featherstone R. M. (1961). New and Rapid Colorimetric Determination of Acetylcholinesterase Activity, *Biochemical Pharmacology*, 7: 88-95
104. European Pharmacopoeia, Sixth Edition (2007). p: 1261-1266
105. Evidente A. (1986). Identification of 11-Hydroxyvittatine in *Sternbergia lutea*, *Journal of Natural Products*, 49 (1): 168-169
106. Evidente A., Andolfi A., Abou-Donia A. H., Touema S. M., Hammada H. M., Shawky E., Motta A. (2004). Amarbellisine, A Lycorine-Type Alkaloid from *Amaryllis belladonna* L. Growing in Egypt, *Phytochemistry*, 65: 2113-2118
107. Evidente A., Cicala M. R., Giudicianni I., Randozza G., Riccio R. (1983a). ^1H and ^{13}C NMR Analysis of Lycorine and α -Dihydrolycorine,

Phytochemistry, 22 (2): 581-584

108. Evidente A., Iasiello I., Randazzo G. (1984). Hippamine, a Minor Alkaloid from *Sternbergia lutea*, *Journal of Natural Products*, 47: 1061-1062
109. Evidente A., Iasiello I., Randazzo G. (1983b). Rapid Quantitative Analysis of Lycorine by Reserve-Phase High-Performance Liquid Chromatography, *Journal of Chromatography*, 281: 362-366
110. Evidente A., Kireev A. S., Jenkins A. R., Romero A. E., Steelant W. F. A., Van Slambrouck S., Kornienko A. (2009). Biological Evaluation of Structurally Diverse Amaryllidaceae Alkaloids and their Synthetic Derivates. Discovery of Novel Leads for Anticancer Drug Design, *Planta Medica*, 75 (5): 501-507
111. Ezoulin J. M., Ombetta J. E., Dutertre-Catella H., Warnet J. M., Massicot F. (2008). Antioxidative Properties of Galantamine on Neuronal Damage Induced by Hydrogen Peroxide in SK-N-SH Cells, *NeuroToxicology*, 29 (2): 270-277
112. Fan H., Luan W., Li G. (2006). Determination of Alkaloids in *Lycoris radiata* with Microwave-Assisted Extraction Coupled with High Performance Liquid Chromatography, *Fenxi Ceshi Xuebao*, 25 (3): 27-30
113. Fang J. B., Jia W., Gao W. Y, Yao Z., Teng J., Zhao A. H., Duan H. Q. (2007). Antitumor Constituents from *Alternanthera philoxeroides*, *Journal of Asian Natural Products Research*, 9 (6): 511-515
114. F. de Jong C., Derks R. J. E., Bruyneel B., Niessen W., Irth H. (2006). High-Performance Liquid Chromatography-Mass Spectrometry-Based Acetylcholinesterase Assay for the Screening of Inhibitors in Natural Extracts, *Journal of Chromatography A*, 1112: 303-310

115. Feldman H. H., Pirttila T., Dartigues J. F., Everitt B., Van Baelen B., Brashear H. R., Berlin J. A., Battisti W. P., Kavanagh S. (2009). Analyses of Mortality Risk in Patients with Dementia Treated with Galantamine, *Acta Neurologica Scandinavica*, 119: 22-31
116. Fillik A. (2002). İzmir, Kemalpaşa, Nif Dağında Yetişen *Galanthus gracilis* Çelak. Üzerinde Bazı Farmakognozik Çalışmalar, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir
117. Fitches E., Audsley N., Gatehouse J. A., Edwards J. P. (2002). Fusion Proteins Containing Neuropeptides as Novel Insect Control Agents: Snowdrop Lectin Delivers Fused Allatostatin to Insect Haemolymph Following Oral Ingestion, *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 32: 1653-1661
118. Fouquaert E., Smith D. F., Peumans W. J., Proost P., Balzarni J., Savvides S. N. (2009). Related Lectins from Snowdrop and Maize Differ in their Carbohydrate-Binding Specificity, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 380: 260-265
119. Frahm A. W., Ali A. A., Ramadan M. A. (1985). ¹³C Nuclear Magnetic Resonance Spectra of Amaryllidaceae Alkaloids, *Magnetic Resonance in Chemistry*, 23 (10): 804-808
120. Friesen N. (2005). DNA Taxonomy of the Genus *Galanthus*, Species Identification and Illegal Trade, *Organisms Diversity and Evolution* 5, *Electronic Supplement*, 13: 26
121. Fuganti C. (1975). The Amaryllidaceae Alkaloids, in the Alkaloids Chemistry and Pharmacology, Manske R. H. F., Holmes H. L. (Eds.), Vol. 15, Academic Press Inc., New York, p: 83-164

122. Geng Z., Lu H., Zhang M. (2008). Technology of Supercritical CO₂ Extraction for Galanthamine from *Lycoris aurea*, *Zhongcaoyao*, 39 (4): 543-546
123. Georgieva L., Berkov S., Kondakova V., Bastida J., Viladomat F., Atanassov A., Codina C. (2007). Alkaloid Variability in *Leucojum aestivum* from Wild Populations, *Journal of Biosciences*, 62 (9/10): 627-635
124. Ghosal S., Saini K. S., Arora V. K. (1983). Latisoline, A Novel Glucoalkaloid from *Crinum latifolium*, *Journal of Chemical Research*, 117: 238-239
125. Ghosal S., Saini K. S., Razdan S. (1985). *Crinum* Alkaloids: Their Chemistry and Biology, *Phytochemistry*, 24 (10): 2141-2156
126. Gilljam G. (1993). Envelope Glycoproteins of HIV-1, HIV-2 and SIV Purified with *Galanthus nivalis* Agglutinin Induce Strong Immune Responses, *AIDS Research and Human Retroviruses*, 9 (5): 431-438
127. Girmen M., Zimmer K. (1988). *In vitro*-Kultur von *Galanthus elwesii*. I. Sterilisation, Regeneration, Phytohormone, *Gartenbauwissenschaft*, 53 (1): 26-29
128. Gitsba D. K., Maisuradze N. I., Margvelashvili N. N., Gorbunova G. M., Cherkasov O. A. (1982). Galanthamine Content of *Leucojum aestivum* Populations Growing in the Abkhaz ASSR. *Khimiko Farmatsevticheskii Zhurnal*, 16 (2): 19-196, *Chem. Abstr.* (1982), 96: 159335s
129. Giudicea L. D., Massardoa D. R., Pontieria P., Wolf K. (2005). Interaction between Yeast Mitochondrial and Nuclear Genomes: Null Alleles of RTG Genes Affect Resistance to the Alkaloid Lycorine in Rho0 Petites of *Saccharomyces cerevisiae*, *Gene*, 354: 9-14
130. Gorbunova G. M., Patudin A. V., Gorbunov V. D. (1978). Galanthamine

from Some Species of the Family Amaryllidaceae, *Chemistry and Natural Compounds*, 14: 361-362

131. Gorinova N. I., Atanassov A. L., Stojanov D. V. (1995). Characteristics of Natural Growing Areas for *Leucojum aestivum* L. in Bulgaria Based on Chemical Composition of Plants, *Journal of Plant Nutrition*, 18 (8): 1705-1710
132. Gotti R., Fiori J., Bartolini M., Cavrini V. (2006). Analysis of Amaryllidaceae Alkaloids from *Narcissus* by GC-MS and Capillary Electrophoresis, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 42: 17-24
133. Grundon M. F. (1984). Amaryllidaceae Alkaloids, *Natural Product Reports*, 1: 247-250
134. Grundon M. F. (1985). Amaryllidaceae Alkaloids, *Natural Product Reports*, 2: 249-251
135. Grundon M. F. (1987). Amaryllidaceae Alkaloids, *Natural Product Reports*, 4: 89-94
136. Grundon M. F. (1989). Amaryllidaceae Alkaloids, *Natural Product Reports*, 6, 79-84
137. Hammer H. (1968). The Trisaccharide Fraction of Some Plants Belonging to the Amaryllidaceae, *Acta Chemica Scandinavica*, 22 (1): 197-199, *Chem. Abstr.* (1968), 68: 84923t
138. Hansel R., Keller K., Rimpler H. (1993). *Galanthus*, in Hagers Handbuch der Pharmazeutischen Praxis, Schneider G. (Ed.), Vol. 5, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg, p: 213-218
139. Harvey A. L. (1995). The Pharmacology of Galanthamine and Its Analogues,

Pharmacology & Therapeutics, 68 (1): 113-128

140. Herera M. R., Machocho A. K., Brun R., Vilodomat F., Codina C., Bastida J. (2001). Crinane and Lycorane Type Alkaloids from *Zephranthes citrina*, *Planta Medica*, 67: 113-128
141. Hoerhammer L., Wagner H., Beck K. (1967). Isolation of New Flavanol Oligosaccharides from the Blossoms of *Leucojum vernum* and *Galanthus nivalis*, *Zeitschrift für Naturforsch B*, 22 (8): 896, *Chem. Abstr.* (1968), 69: 3112y
142. Hoffman D. G., Bousquet W. F., Miya T. S. (1966). Lycorine Inhibition of Drug Metabolism and Ascorbic Acid Biosynthesis in the Rat, *Biochemical Pharmacology*, 15: 391-393
143. Hohmann J., Forgo P., Molnar J., Wolfard K., Molnar A., Thalhammer T., Mathe I. (2002). Antiproliferative Amaryllidaceae Alkaloids Isolated from the Bulbs of *Sprekelia formosissima* and *Hymenocallis x festalis*, *Planta Medica*, 68 (5): 454-457
144. Hoshino O. (1998). The Alkaloids Chemistry and Pharmacology, Cordell G. A (Ed.), Vol. 51, Academic Press Inc., New York, p: 323-424
145. Hostettmann K., Borloz A., Urbain A., Marston A. (2006). Natural Product Inhibitors of Acetylcholinesterase, *Current Organic Chemistry*, 10 (23): 825-847
146. Houghton P. J., Agbedahunsi J. M., Adegbulugbe A. (2004). Choline Esterase Inhibitory Properties of Alkaloids from Two Nigerian *Crinum* species, *Phytochemistry*, 65: 2893-2896
147. Hsieh Y., Yang Y., Lin P., Chen S. (2009). Simultaneous Determination of Galantamine, Rivastigmine and NAP 226-90 in Plasma by MEKC and Its

Application in Alzheimer's Disease, *Electrophoresis*, 30: 644-653

148. Hu J., Zhu Q., Liu Y. (2007). Pharmaceutical Plasters Containing Scopolamine and Galanthamine for Preventing Poisoning of Organophosphorous Pesticides. *Faming Zhunali Shenqing Gongkai Shuomingshu*, 18
149. Hwang C., Chu J. J., Yang P. L., Chen W., Yates M. V. (2008). Rapid Identification of Inhibitors that Interfere with Poliovirus Replication Using a Cell-based Assay, *Antiviral Research*, 77: 232-236
150. Ichimura Y., Nishimoto K. (1962). Fluorimetric Determination of Galanthamine, *Bunseki Kagaku*, 11: 1024-1027, *Chem. Abstr.* (1962), 57: 16748d
151. Iliev A. I., Traykov V. B., Mantchev G. T., Stoykov I., Prodanov D. (2000). A Post-Ischaemic Single Administration of Galanthamine, a Cholinesterase Inhibitor, Improves Learning Ability in Rats, *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 52: 1151-1156
152. Ingkaninan K., De Best C. M., Van Der Heijden R., Hofte A. J. P., Karabatak B., Irth H., Tjaden U. R., Van Der Greef J., Verpoorte R. (2000). High-performance Liquid Chromatography with On-line Coupled UV, Mass Spectrometric and Biochemical Detection for Identification of Acetylcholinesterase Inhibitors from Natural Products, *Journal of Chromatography A*, 872: 61-73
153. Ingkaninan K., Hazekamp A., Best de C. M., Irth H., Tjaden U. R., Heijden Van der R. (2000). The Application of HPLC with On-Line Coupled UV/MS-Biochemical Detection for Isolation of an Acetylcholinesterase Inhibitor from *Narcissus* "Sir Winston Churchill", *Journal of Natural Products*, 63: 803-806

154. Ingrassia L., Lefranc F., Dewelle J., Pottier L., Mathieu V., Spiegl-Kreinecker S., Sauvage S., El Yazidi M., Dehoux M., Berger W., Quaquebeke E. V., Kiss R. (2009). Structure-Activity Relationship Analysis of Novel Derivates of Narciclasine (An Amaryllidaceae Isocarbostryril Derivate) as Potential Anticancer Agents, *Journal of Medicinal Chemistry*, 52 (4) : 1100-1114
155. Ji X., Li C., Luc Y., Chena Y., Guoa L. (2007). Post-ischemic Continuous Administration of Galantamine Attenuates Cognitive Deficits and Hippocampal Neurons Loss after Transient, *Neuroscience Letters*, 416: 92-95
156. Jimenez A., Santos A., Alonso G., Vazquez D. (1976). Inhibitors of Protein Synthesis in Eukaryotic Cells. Comparative Effects of Some Amaryllidaceae Alkaloids, *Biochimica et Biophysica Acta*, 425 (3): 342-348
157. Jin Z. (2003). Amaryllidaceae and Sceletium Alkaloids, *Natural Product Reports*, 20: 606-614
158. Jin Z. (2005). Amaryllidaceae and Sceletium Alkaloids, *Natural Product Reports*, 22: 111-126
159. Jin Z. (2007). Amaryllidaceae and Sceletium Alkaloids, *Natural Product Reports*, 24: 886-905
160. Jin Z. (2009). Amaryllidaceae and Sceletium Alkaloids, *Natural Product Reports*, 26: 363-381
161. Jin Z., Li Z., Huang R. (2002). Muscarine, Imidazole, Oxazole, Thiazole, Amaryllidaceae and *Sceletium* Alkaloids, *Natural Product Reports*, 19: 454-476
162. Joshi B. S., Kamat V. N., Gawad D. H. (1977). Some β -carboline Alkaloids of *Ailanthus malabarica* DC, *Heterocycles*, 7 (1): 193-200

163. Kalashnikov I. D. (1970a). Alkaloids of *Galanthus nivalis*, *Chemistry of Natural Compounds*, 6: 390
164. Kalashnikov I. D. (1970b). Separation of Alkaloids from *Galanthus nivalis*, *Farmatsevt Zhurnal (Kiev)*, 25 (3): 40-44, *Chem. Abstr. (1970)*, 73: 91195p
165. Kalashnikov I. D. (1969). Study of Common Snowdrop Bulb Alkaloids by Thin-Layer Chromatography, *Issled. Obl. Lek. Sredstv.*, 228-231, *Ref. Zh. Biol. Khim. (1970). Abstr. No. 14F1106, Chem. Abstr. (1971)*, 74: 136420x
166. Karadeniz H., Gülmez B., Şahinci F., Erdem A., Kaya G. İ., Ünver N., Kıvçak B., Özsöz M. (2003). Disposable Electrochemical Biosensor for the Detection of The Interaction Between DNA and Lycorine Based on Guanine and Adenine Signals, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 33 (2): 295-302
167. Kaya G. İ. (2003). Çanakkale Kaynaklı *Galanthus nivalis* L. subsp. *cilicicus* (Baker) Gottlieb-Tannenhain Örneği Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar, Doktora Tezi, Ege Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir
168. Kaya G. İ., Fillik A., Hışıl Y., Ünver N. (2004). High Pressure Liquid Chromatographic Analysis of Lycorine in Four *Galanthus* Species Growing in Turkey, *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1 (2): 105-114
169. Kaya G. İ., Gözler T. (2003). Quantitative Evaluation of the Specimens of *Galanthus elwesii*, *Journal of Faculty of Pharmacy of Gazi University*, 20 (2): 71-78
170. Kaya G. İ., Ünver N., Gözler B., Bastida J. (2004). (-)-Capnoidine and (+)-Bulbocapnine from an Amaryllidaceae Species, *Galanthus nivalis* subsp. *cilicicus*, *Biochemical Systematics and Ecology*, 32 (11): 1059-1062
171. Kaya G. İ., Ünver-Somer N. (2007). *Galanthus trojanus* Türünün Alkaloit

İçeriğinin Araştırılması, Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı Bildiri
Özetleri, Kuşadası

172. KIVÇAK B., GÖZLER T. (1993). *Sternbergia sicula* Alkaloidleri, *Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 1 (2): 65-71
173. Kiely J. S., Moos W. H., Pavia M. R., Schwarz R. D., Woodard G. L. (1991). A Silica Gel Plate-Based Qualitative Assay for Acetylcholinesterase Activity: A Mass Method to Screen for Potential Inhibitors, *Analytical Biochemistry*, 196: 439-442
174. Kihara M., Koike T., Imakura Y., Kida K., Shingu T., Kobayashi S. (1987). Alkaloidal Constituents of *Hymenocallis rotata* HERB. (Amaryllidaceae), *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 35 (3): 1070-1075
175. Kihara M., Konishi K., Xu L., Kobayashi S. (1991). Alkaloidal Constituents of the Flowers of *Lycoris radiata* HERB. (Amaryllidaceae), *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 39: 1849-1853
176. Kihara M., Xu L., Konishi K., Kida K., Nagao Y., Kobayashi S., Shingu T. (1994). Isolation and Structure Elucidation of a Novel Alkaloid, Incartine, A Supposed Biosynthetic Intermediate, from Flowers of *Lycoris incarnata*, *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 42: 289-292
177. Kintsurashvili L. (2006). Alkaloids of *Narcissus tazetta* L. Introduced in Georgia. *Sakartvelos Mecnierebata Akademiis Macne, Kimiis Seria*, 32 (3-4): 454-456
178. Kintsurashvili L., Vachnadze V. (2007). Plants of the Amaryllidaceae Family Grown and Introduced in Georgia: A Source of Galanthamine, *Pharmaceutical Chemistry Journal* (Translated from *Khimiko-Farmatsevticheskii Zhurnal*), 41 (9): 38-40

179. Kobayashi S., Satoh K., Numato A., Shingu T., Kihara M. (1991). Alkaloid *N*-oxides from *Lycoris sanguinea*, *Phytochemistry*, 30 (2): 675-677
180. Kobayashi S., Shighu T., Uyeo S. (1956). Structure of Galanthamine and Lycoramine, *Chemical and Industry*, 177-178
181. Kolusheva A., Vulkova A. (1996). Spectrofotometric Examination of Galanthamine, Lycorine and Nivalidine, *Farmatsiya (Sofia)*, 16 (5): 45-49, *Chem. Abstr. (1967)*, 66: 68973n
182. Komarov V. L. (1935). Flora URSS, Vol. 4, Academiae Scientiarum URSS, Leningrad, p: 476-480
183. Komizerko E. I. (1963). Alkaloid Content of Plants of the *Galanthus* Genus, *Byul. Gl. Botan. Sada*, 51: 102-106, *Chem. Abstr. (1964)*, 61: 11003c
184. Konstantinova E. I., Boichinov Khr. (1963). Nonaqueous Titration of Alkaloids in Drugs, *Farmatsiya (Sofia)*, 13 (4): 30-37, *Chem. Abstr. (1964)*, 61: 11003c
185. Kovtun L., Patudin A. V., Gorbunova G. M., Gorbunov V. D., Stikhin V. A., Gogitidze S. D., Nakaidze A. K. Search for Galanthamine in *Galanthus* L. and *Leucojum* L. Plants in Transcaucasia, *Farmatsevt Zhurnal (Kiev)*, 6: 59-62, (1978), *Chem. Abstr. (1979)*, 90: 200291r
186. Könükol S., Şener B. (1992). High-Pressure Liquid Chromatographic Analysis of some Amaryllidaceae Alkaloids from *Pancreatium maritimum* L., *Journal of Faculty of Pharmacy of Gazi University*, 9 (2): 89-95
187. Kreh M., Matusch R., Witte L. (1995). Capillary Gas Chromatography-Mass Spectrometry of Amaryllidaceae Alkaloids, *Phytochemistry*, 38: 773-776
188. Kuiper P. J. C., Stuiiver B. (1972). Cyclopropane Fatty Acids in Relation to Earlines in Spring and Drought Tolerance in Plants, *Plant Physiology*, 49 (3):

307-309, *Chem. Abstr.* (1972), 76: 110396k

189. Kuznetsov V. I., Volkova N. S., Morozova V. A. (1969). Extraction and Photometric Determination of Galanthamine, *Farmatsiya (Moscow)*, 18 (1): 39-40, *Chem. Abstr.* (1969), 71: 33488j
190. Lamoral-Theys D., Andolfi A., Goietsenoven G. V., Cimmino A., Le Calve B., Wauthoz N., Megalizzi V., Gras T., Bruyere C., Dubois J., Mathieu V., Kornienko A., Kiss R., Evidente A. (2009). Lycorine, the Main Phenanthridine Amaryllidaceae Alkaloid, Exhibits Significant Antitumor Activity in Cancer Cells That Display Resistance to Proapoptotic Stimuli: An Investigation of Structure-Activity Relationship and Mechanistic Insight, *Journal of Medicinal Chemistry*, 52 (20): 6244-6256
191. Latvala A. (1994). Strukturaufklärung der Amaryllidaceen-Alkaloide aus *Galanthus elwesii* Hooker fil., Doktora Tezi, Zürich Üniversitesi, Felsefe Fakültesi II, Zürich
192. Latvala A., Önür M. A., Gözler T., Linden A., Kivçak B., Hesse M. (1995a). Alkaloids of *Galanthus elwesii*, *Phytochemistry*, 39 (5): 1229-1240
193. Latvala A., Önür M. A., Gözler T., Linden A., Kivçak B., Hesse M. (1995b). Nitrogen Inversion in 9-O-Demethylhomolycorine, *Tetrahedron Asymetry*, 6 (2): 361-365
194. Leifertova I., Brazdova V. (1967). Alkaloids of *Galanthus nivalis* Grown in Slovakian Provinces, *Ceskoslovenska Farmacie*, 16 (7), 352-354, *Chem Abstr.* (1968), 68: 6133 w
195. Leo P. D., Dalessandro G., Santis A. D., Arrigoni O. (1973). Inhibitory Effect of Lycorine on Cell Division and Cell Elongation, *Plant and Cell Physiology*, 14 (3): 481-486

196. Lewis J. R. (1990). Amaryllidaceae Alkaloids, *Natural Product Reports*, 7: 549-556
197. Lewis J. R. (1992). Amaryllidaceae and *Sceletium* Alkaloids, *Natural Product Reports*, 9: 183-191
198. Lewis J. R. (1993). Amaryllidaceae and *Sceletium* Alkaloids, *Natural Product Reports*, 10: 291-299
199. Lewis J. R. (1994). Amaryllidaceae and *Sceletium* Alkaloids, *Natural Product Reports*, 11: 329-332
200. Lewis J. R. (1995). Amaryllidaceae and *Sceletium* Alkaloids, *Natural Product Reports*, 12: 339-345
201. Lewis J. R. (1996). Amaryllidaceae and *Sceletium* Alkaloids, *Natural Product Reports*, 13: 171-176
202. Lewis J. R. (1997). Amaryllidaceae Alkaloids, *Natural Product Reports*, 14: 303-308
203. Lewis J. R. (1998). Amaryllidaceae and *Sceletium* Alkaloids, *Natural Product Reports*, 15: 107-110
204. Lewis J. R. (2000). Amaryllidaceae, Muscarine, Imidazole, Oxazole, Thiazole and Peptide Alkaloids and Other Miscellaneous Alkaloids, *Natural Product Reports*, 17: 57-84
205. Lewis J. R. (2001). Amaryllidaceae, *Sceletium*, Imidazole, Oxazole, Thiazole, Peptide and Miscellaneous Alkaloids, *Natural Product Reports*, 18: 95-128
206. Lewis J. R. (2002). Amaryllidaceae, *Sceletium*, Imidazole, Oxazole, Thiazole, Peptide and Miscellaneous Alkaloids, *Natural Product Reports*, 19: 223-258
207. Lewis J. R. (1999). Miscellaneous Alkaloids: Amaryllidaceae, *Sceletium*, Muscarine, Imidazole, Oxazole, Peptide and Other Miscellaneous Alkaloids,

Natural Product Reports, 16: 389-416

208. Li J., Huang X., Zhang Y., He X., Su X. (2007). Study on the Chemical Constituents of *Siraitia grosvenorii*, *Zhongguo Zhongyao Zazhishi*, 32 (6): 548-549
209. Li X., Xiong Y., Jiang L., Zhu H., Wen Z. (2008). Extraction of Galanthamine and Lycorine from *Lycoris* Herb. with One Step Method, *Huagong Jinzhan*, 27 (6): 904-907
210. Likhitwitayawuid K., Angerhofer C., Chai H., Pezzuto J., Cordell G. (1993). Cytotoxic and Antimalarial Alkaloids from the Bulbs of *Crinum amabile*, *Journal of Natural Products*, 56 (8): 1331-1338
211. Lilienfeld S. (2002). Galantamine-A Novel Cholinergic Drug with a Unique Dual Mode of Action for the Treatment of Patients with Alzheimer's Disease, *CNS Drug Reviews*, 8 (2): 159-176
212. Lin L. Z., Hu S. F., Chai H. B., Pengsuparp T., Pezzuto J. M., Cordell G. A., Ruangrunsi N. (1995). Lycorine Alkaloids from *Hymenocallis littoralis*, *Phytochemistry*, 40 (4): 1295-1298
213. Linden A., Akineri G., Noyan S., Gözler T., Hesse M. (1998). Amaryllidaceae Alkaloids: (+)-Tazettine, (+)-3-O-Demethylcriwelline and (+)-3-Epimacronine at 173 K, *Acta Crystallographica Section C*, 54: 1653-1659
214. Liu X. S., Jiang J., Jiao X. Y., Wub Y. E., Lin J. H., Cai Y. M. (2009). Lycorine Induces Apoptosis and Down-Regulation of Mcl-1 in Human Leukemia Cells, *Cancer Letters*, 274: 16-24
215. Lledo Ma D., Davis A. P., Crespo M. B., Chase M. W., Fay M. F. (2004). Phylogenetic Analysis of *Leucojum* and *Galanthus* (Amaryllidaceae) Based

- on Plastid MatK and Nuclear Ribosomal Spacer (ITS) DNA Sequences and Morphology, *Plant Systematics and Evolution*, 246 (3-4): 223-243
216. Loc N. T., Tinjuangjun P., Gatehouse A. M. R., Christou P., Gatehouse J. A. (2002). Linear Transgene Constructs Lacking Vector Backbone Sequences Generate Transgenic Rice Plants Which Accumulate Higher Levels of Proteins Conferring Insect Resistance, *Molecular Breeding*, 9: 231-244
217. Lopez S., Bastida J., Viladomat F., Codina C. (2002). Acetylcholinesterase Inhibitory Activity of some Amaryllidaceae Alkaloids and *Narcissus* Extracts, *Life Sciences*, 71: 2521-2529
218. Lopez S., Bastida J., Viladomat F., Codina, C. (2003). Galanthamine Pattern in *Narcissus confusus* Plants, *Planta Medica*, 69 (12): 1166-1168
219. Lorrio S., Negrado P., Roda J. M., García A. G., López M. G. (2007a). Effects of Memantine and Galantamine Given Separately or in Association, on Memory and Hippocampal Neuronal Loss after Transient Global Cerebral Ischemia in Gerbils, *Brain Research*, 1254: 128-137
220. Lorrio S., Sobrado M., Arias E., Roda J. M., García A. G., López M. G. (2007b). Galantamine Postischemia Provides Neuroprotection and Memory Recovery against Transient Global Cerebral Ischemia in Gerbils, *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutic*, 322: 591-599
221. Ma J., Jones S. H., Hecht S. M. (2004). Phenolic Acid Amides: A New Type of DNA Strand Scission Agent from *Piper caninum*, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 12: 3885-3889
222. Machocho A. K. (2000). Alkaloids from Kenyan Amaryllidaceae. Ph.D. Thesis, Universidad de Barcelona, p: 111
223. Machocho A. K., Bastida J., Codina C., Viladomat F., Brun R., Chhabra S. C.

- (2004). Augustamine Alkaloids from *Crinum kirkii*, *Phytochemistry*, 65: 3143-3149
224. Mackey Z. B., Baca A. M., Mallari J. P., Apsel B., Shelat A., Hansell E. J., Chiang P. K., Wolff B., Guy K. R., Williams J., McKerrow J. H. (2006). Discovery of Trypanocidal Compounds by Whole Cell HTS of *Trypanosoma brucei*, *Chemical Biology & Drug Design*, 67 (5): 355-363
225. Maelicke A., Edson X., Albuquerque B. (2000). Allosteric Modulation of Nicotinic Acetylcholine Receptors as a Treatment Strategy for Alzheimer's Disease, *European Journal of Pharmacology*, 393: 165-170
226. Makhkamova A. U., Safonova E. V. (1994). Method for Quantitative Determination of Lycorine in Leaves of *Ungernia sewerzowi*, *Khimiya Prirodnikh Soedinenii*, 4: 571-572
227. Maláková J., Nobilis M., Svoboda Z., Lída M., Holčápek M., Květina J., Klimeš J., Palička V. (2007). High-performance Liquid Chromatographic Method with UV Photodiode-Array, Fluorescence and Mass Spectrometric Detection for Simultaneous Determination of Galanthamine and Its Phase I Metabolites in Biological Samples, *Journal of Chromatography B*, 853: 265-274
228. Marston A., Kissling J., Hostettmann K. (2002). A Rapid TLC Bioautographic Method for the Detection of Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase Inhibitors in Plants, *Phytochemical Analysis*, 13: 51-54
229. Martin S. F. (1987). The Amaryllidaceae Alkaloids, In the Alkaloids Chemistry and Pharmacology, Brossi, A. R. (Ed.), Vol. 30, Academic Press Inc., New York, p: 251-376
230. Matharu B., Gibson G., Parsons R., Huckerby T. N., Moore S. A., Cooper L.

- J., Millichamp R., Allsop D., Austen B. (2009). Galanthamine Inhibits β -Amyloid Aggregation and Cytotoxicity, *Journal of the Neurological Sciences*, 280: 49-58
231. Matveenko M., Banwell M. G., Joffeb M., Wanb S., Fantinob E. (2009). Biological Evaluation of Ent-Narciclasine, Ent-Lycoricidine, and Certain Enantiomerically-Related Congeners, *Chemistry & Biodiversity*, 6 (5): 685-692
232. McCafferty H. R. K., Moore P. H., Zhu Y. J. (2008). Papaya Transformed with the *Galanthus nivalis* GNA Gene Produces a Biologically Active Lectin with a Spider Mite Control Activity, *Plant Science*, 175 (3): 385-393
233. McLachlan A., Kekre N., McNulty J., Pandey S. (2005). Pancratistatin: A Natural Anti-Cancer Compound that Targets Mitochondria Specifically in Cancer Cells to Induce Apoptosis, *Apoptosis*, 10: 619-630
234. McNulty J., Nair J. J., Bastida J., Pandey S., Griffin C. (2009). Structure-Activity Studies on the Lycorine Pharmacophore: A Potent Inducer of Apoptosis in Human Leukemia Cells, *Phytochemistry*, 70 (7): 913-919
235. McNulty J., Nair J. J., Codina C., Bastida J., Pandey S., Gerasimoff J., Griffin C. (2007). Selective Apoptosis-Inducing Activity of Crinum-type Amaryllidaceae Alkaloids, *Phytochemistry*, 68 (7): 1068-1074
236. Meerow A. W., Fay M. F., Guy C. L., Li Q.-B., Zaman F. Q., Chase M. W. (1999). Systematics of Amaryllidaceae Based on Cladistic Analysis of Plastid *RBCL* and *TRNL-F* Sequence Data, *American Journal of Botany*, 86 (9): 1325-1345
237. Melo J. B., Sousa C., Garção P., Oliveira C. R., Agostinho P. (2009). Galantamine Protects Against Oxidative Stress Induced by Amyloid-Beta

- Peptide in Cortical Neurons, *European Journal of Neuroscience*, 29: 455-464
238. Mikhno V. V. (1965). Extraction and (Colorimetric) Determination of Galanthamine, *Farmatsevt Zhurnal (Kiev)*, 20 (3): 44-46, *Chem. Abstr. (1966)*, 64: 5428c
239. Moreas-Cerdeira R. M., Bastos J. K., Burandt C. L. Jr., Dhammika Nanayakkara N. P., Mikell J., McChesney J. D. (1997). Alkaloid Content of Different Bulb Parts of *Narcissus* cv. Ice Follies, *Planta Medica*, 63 (1): 92-93
240. Moskov I., Savova I., Boshnyakova P., Staneva K., Stoeva A., Atanasov A. (1980). *In vitro* Induction of Organogenesis and Callus in Some Bulb Plants. I. Hyacinth (*Hyacinthus orientalis* L.), Snowdrop (*Galanthus nivalis* L.) and Tulip (*Tulipa schrenkii* L.)”, *Fiziol. Rast. (Sofia)*, 6 (1): 67-75, *Chem. Abstr. (1980)*, 93: 144564e
241. Mroczek T. (2009a). Highly Efficient, Selective and Sensitive Molecular Screening of Acetylcholinesterase Inhibitors of Natural Origin by Solid-phase Extraction-Liquid Chromatography/electrospray Ionisation-Octopole-Orthogonal Acceleration Time-of-Flight-Mass Spectrometry and Novel Thin-Layer Chromatography-Based Bioautography, *Journal of Chromatography A*, 1216: 25519-2528
242. Mroczek T., Mazurek J. (2009b). Pressurized Liquid Extraction and Anticholinesterase Activity-Based Thin-Layer Chromatography with Bioautography of Amaryllidaceae Alkaloids, *Analytica Chimica Acta*, 633: 188-196
243. Muhtar F., Şener B. (1997). Türkiye’den İhraç Edilen Bazı Amaryllidaceae Familyası Bitkilerinin Likorin Yönünden Değerlendirilmesi, XI. Bitkisel İlaç

- Hammaddeleri Toplantısı Bildiri Kitabı, Coşkun M. (Ed.). Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara, s: 384-388
244. Mustafa N. R., Rhee I. K., Verpoorte R. (2003). Rapid Method for Determination of Galanthamine in Amaryllidaceae Plants Using HPLC, *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 26 (19): 3217-3223
245. Mügge C., Schablinski B., Obst K., Döpke W. (1994). Alkaloids from *Hippeastrum* Hybrids, *Pharmazie*, 49: 444-447.
246. Nikolova M., Gevrenova R. (2005). Determination of Phenolic Acids in Amaryllidaceae Species by High Performance Liquid Chromatography, *Pharmaceutical Biology*, 43 (3): 289-291
247. Nirogi R. V. S., Kandikere V., Mudigonda K., Maurya S. (2007). Quantitative Determination of Galantamine in Human Plasma by Sensitive Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Using Loratadine as an Internal Standard, *Journal of Chromatographic Science*, 45 (2): 97-103
248. Noyan S., Rentsch G. H., Önür M. A., Gözler T., Gözler B., Hesse M. (1998). The Gracilines: A Novel Subgroup of the Amaryllidaceae Alkaloids, *Heterocycles*, 48 (9): 1777-1791
249. Ohmoto T., Koiko K. (1982). Studies on the Constituents of *Picrasma quassioides* Bennet. I. On the Alkaloidal Constituents, *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 30 (4): 1204-1209
250. Orhan I., Sener B. (2003). Bioactivity-Directed Fractionation of Alkaloids from Some Amaryllidaceae Plants and Their Anticholinesterase Activity, *Chemistry of Natural Compounds*, 39 (4): 383-386
251. Osorio O., Robledo S. M., Bastida J. (2008). Alkaloids with Antiprotozoal

- Activity, *The Alkaloids* ed: Cordell GA, Vol: 66, Elsevier, Amsterdam, p: 113
252. Pabuççuoğlu V., Richomme P., Gözler T., Kivçak B., Freyer A. J., Shamma M. (1989). Four New Crinine-Type Alkaloids from *Sternbergia* species, *Journal of Natural Products*, 52 (4): 785-791
253. Papanicolaou K., Zacharof E. (1983). Cytological Notes and Taxonomic Comments on Four *Galanthus* L. Taxa from Greece, *Israel Journal of Botany*, 32: 22-32
254. Parkin J. (1912). The Carbohydrates of the Folige Leaf of the Snowdrop (*Galanthus nivalis* L.), and their Bearing on the First Sugar of Photosynthesis, *Biochemical Journal*, 6: 1-47, *Chem. Abstr.* 6: 19174
255. Paskov D. S., Ivanova Z. C. (1967). Galanthamine Hydrobromide, *Chimiko-Parmazevtischen Zavod, Fr.1*, 481, 003 (Cl.A 61 k), May 19, *Bulg. Appl. March 2. (1959)*, 2pp., *Chem. Abstr. (1968)*, 68: 6178m
256. Pellati F., Benvenuti S. (2007). Chromatographic and Electrophoretic Methods for the Analysis of Phenethylamine Alkaloids in *Citrus aurantium*, *Journal of Chromatography A*, 1161: 74-88
257. Pettit G. R., Backhaus R. A., Boyd M. R., Meerow A. W. (1993). Antineoplastic Agents, 256. Cell Growth Inhibitory Isocarbostryls from *Hymenocallis*, *Journal of Natural Products*, 56 (10): 1682-1687
258. Pham L. H., Gründemann E., Döpke W. (1997). Alkaloids from *Hippeastrum equestre* Herb. (Amaryllidaceae), *Pharmazie*, 52 (2): 160-163
259. Piozzi F., Fuganti C., Mondelli R., Ceriotti G. (1968). Narciclasine and Narciprimine, *Tetrahedron*, 24: 1119-1131
260. Piozzi F., Marino M. L., Fuganti C., Di Martino A. (1969). Occurrence of Non

Basic Metabolites in Amaryllidaceae, *Phytochemistry*, 8 (9): 1745-1748

261. Polt R. (1996). Amaryllidaceae Alkaloids with Antitumor Activity, *Organic Syntheses*, 3: 109-148
262. Poulev A., Deus-Neumann B., Zenk M. H. (1993). Enzyme Immunoassay for the Quantitative Determination of Galanthamine, *Planta Medica*, 59 (5): 442-446
263. Praticò D. (2008). Oxidative Stress Hypothesis in Alzheimer's Disease: A Reappraisal, *Trends in Pharmacological Sciences*, 29 (12): 609-615
264. Proksa B., Uhrin D., Sturdikova M., Fуска J. (1990). 1-Asetil- β -karbolin, a New Metabolite of *Streptomyces kasugaensis*, *Acta Biotechnologia*, 10 (4): 337-340
265. Proskurnina N. F. (1953). Alkaloids of *Galanthus woronovi*. Structure of Galanthine, *Doklady Akademii Nauk S.S.S.R.*, 90: 565-567, *Chem. Abstr.* (1955), 49: 12500c
266. Proskurnina N. F., Areshkina L. Y. (1947). On the Alkaloids of *Galanthus woronovi*, *Journal of General Chemistry of the U.S.S.R.*, 17: 1216-1219
267. Proskurnina N. F., Yakovleva A. P. (1956). Alkaloids of *Galanthus woronovi*. V. Isolation of Galanthamidine, *Journal of General Chemistry of the U.S.S.R.*, 26: 179-180
268. Proskurnina N. F., Yakovleva A. P. (1952). The Alkaloids of *Galanthus woronovi*. II. Isolation of a New Alkaloid, *Journal of General Chemistry of the U.S.S.R.*, 22: 1941-1944
269. Proskurnina N. F., Yakovleva A. P. (1955). The Alkaloids of *Galanthus woronovi* III. The Structure of Galanthamine, *Journal of General Chemistry of the U.S.S.R.*, 25: 999-1002

270. Ptak A., El Tahchy A., Dupire F., Boisbrun M., Henry M., Chapleur Y., Mos M., Laurain-Mattar D. (2009). LCMS and GCMS for the Screening of Alkaloids in Natural and *In vitro* Extracts of *Leucojum aestivum*, *Journal of Natural Products*, 72: 142-147
271. Qian D., He H., Yang Z., Lu J., Yang J. (2009). Extraction and HPLC Determination of Galanthamine and Lycoramine in *Lycoris radiata*, *Yauwu Fenxi Zazhi*, 29 (1): 104-106
272. Qin W., Wang S., Fan Z., Zhang L., Li L. (1983). Studies on the Chemical Constituents of Zhang Yie Ban Xia (*Pinellia pedatisecta*). II., *Zhongcaoyao*, 14 (10): 443-445
273. Quirion J. C., Husson H. P., Weniger B., Jimenez F., Zannoni T. A. (1991). (-)-3-O Acetylnarcissidine, a New Alkaloid from *Hippeastrum puniceum*, *Journal of Natural Products*, 54 (4): 1112-1114
274. Ramadan M. A. (1996). Phytochemical Investigation of the Minor Alkaloids and Phenolic Compounds of *Crinum bulbispermum* and *Crinum augustum* (Amaryllidaceae) Cultivated in Egypt. Ph. D. Thesis, Assiut University, Assiut, Egypt
275. Rhee I. K., Appels N., Luijendijk T., Irth H., Verpoorte R. (2003a). Determining Acetylcholinesterase Inhibitory Activity in Plant Extracts Using a Fluorimetric Flow Assay, *Phytochemical Analysis*, 14 (3): 145-149
276. Rhee I. K., Van de Meent M., Ingkaninan K., Verpoorte R. (2001). Screening for Acetylcholinesterase Inhibitors from Amaryllidaceae Using Silica gel Thin-Layer Chromatography in Combination with Bioactivity Staining, *Journal of Chromatography A*, 915: 217-223
277. Rhee I. K., Van Rijn R. M., Verpoorte R. (2003b). Qualitative Determination

- of False-Positive Effects in the Acetylcholinesterase Assay Using Thin Layer Chromatography, *Phytochemical Analysis*, 14: 127-131
278. Ripoll C., Favery B., Lecomte P., Van Damme E., Peumans W., Abad P., Jauanin L. (2003). Evaluation of the Ability of Lectin from Snowdrop (*Galanthus nivalis*) to Protect Plants Against Root-Knot Nematodes, *Plant Science*, 164: 517-523
279. Riviere C., Delaunay J. C., Immel F., Cullin C., Monti J. P. (2009). The Polyphenol Piceid Destabilizes Preformed Amyloid Fibrils and Oligomers *In vitro*: Hypothesis on Possible Molecular Mechanisms, *Neurochemical Research*, 34: 1120-1128
280. Roh M. S., Kurita S., Zhao X. Y., Suh J. K. (2002). Identification and Classification of the Genus *Lycoris* Using Molecular Markers, *Korean Society for Horticultural Sciences*, 43 (2): 120-132
281. Romeis J., Babendreier D., Wackers F. L. (2003). Consumption of Snowdrop Lectin (*Galanthus nivalis* Agglutinin) Causes Direct Effects on Adult Parasitic Wasps, *Oecologia*, 134 (4): 528-36
282. Ruecker G., Breitmaier E., Zhang G. L., Mayer R. (1994). Alkaloids from *Dactylicapnos torulosa*, *Phytochemistry*, 36 (2): 519-523
283. Sandberg F., Michel K. H. (1963). Phytochemische Studien über die Alkaloide von *Pancratium maritimum*, *Lloydia*, 26 (2): 78-90
284. Sapronov N. S., Fedotova Y. O., Masalova O. O., Losev N. A. (2008). Combined Use of Reminyl (Galanthamine) and Obestine (Oestradiol) for the Treatment of Cognitive Disorders in Women with Hypoestrogenic Syndrome, *Eksperimental'naya i Klinicheskaya Farmakologiya*, 71 (3): 36-

285. Ščepánková I., Hudák J. (2004). Leaf and Tepal Anatomy, Plastid Ultrastructure and Chlorophyll Content in *Galanthus nivalis* L. and *Leucojum aestivum* L., *Plant Systematics and Evolution*, 243 (3-4): 211-219
286. Schilstrom B., Ivanov V. B., Wiker C., Svensson T. H. (2007). Galantamine Enhances Dopaminergic Neurotransmission *In vivo* via Allosteric Potentiation of Nicotinic Acetylcholine Receptors, *Neuropsychopharmacology*, 32: 43-53
287. Schrattenholz A., Pereira E. F., Roth U., Weber K. H., Albuquerque E. X., Maelicke A. (1996). Agonist Responses of Neuronal Nicotinic Acetylcholine Receptors are Potentiated by a Novel Class of Allosterically Acting Ligands, *Molecular Pharmacology*, 49 (1): 1-6
288. Selezhinski G. V. (1977). Snowdrops, *Khim. Zhizn.*, 3: 50-52, *Chem. Abstr.* (1977), 86: 152586j
289. Selkoe D. J. (1997) Alzheimer's Disease: Genotypes, Phenotypes and Treatments, *Science*, 275: 630-631
290. Selkoe D. J. (2007). Developing Preventive Therapies for Chronic Diseases: Lessons Learned from Alzheimer's Disease, *Nutrition Reviews*, 65 (64): 239-243
291. Sellés M., Bastida J., Vilodamat F., Codina C. (1997). Quantitative Evaluation of Galanthamine and Related Alkaloids in Wild Plants and Tissue Cultures of *Narcissus confusus* by High Performance Liquid Chromatography, *Analisis*, 25 (5): 156-158
292. Sellés M., Viladomat F., Bastida J., Codina C. (1999). Callus Induction, Somatic Embryogenesis and Organogenesis in *Narcissus confusus*: Correlation Between the State of Differentiation and the Content of

- Galanthamine and Related Alkaloids, *Plant Cell Reports*, 18 (7-8): 646-651
293. Shi S., Qiu Y., Wu L., Fu C. (2006). Interspecific Relationships of *Lycoris* (Amaryllidaceae) Inferred From Inter-Simple Sequence Repeat Data, *Scientia Horticulturae*, 110: 285-291
294. Si T., Sun L., Zhang H., Shu L. (2002). Determination of Galanthamine in Plasma by High-performance Liquid Chromatography with Fluorescent Detection, *Zhongguo Linchuang Yaolixue Zazhi*, 18 (1): 66-69
295. Sidjimova B., Berkov S., Popov S., Evstatieva L. (2003). Galanthamine Distribution in Bulgarian *Galanthus* spp., *Pharmazie*, 58: 935-936
296. Silva A. F. S., De Andrade J. P., Machado K. R. B., Rocha A. B., Apel M. A., Sobral M. E. G., Henriques A. T., Zuanazzi J. A. S. (2008). Screening for Cytotoxic Activity of Extracts and Isolated Alkaloids from Bulbs of *Hippeastrum vittatum*, *Phytomedicine*, 15 (10): 882-885
297. Song H., Li Z., Shi J., Fan G., Liu T., Ji Y. (2003). Studies on HPLC Determination of Galanthamine in Human Plasma with UV Detection and Its Pharmacokinetics, *Zhongguo Yaoxue Zazhi*, 38 (5): 366-368
298. Southon I. W., Buckingham J. (Eds.). (1989a). Dictionary of Alkaloids, Indexes, Chapman and Hall Ltd., New York, p: 504
299. Southon I. W., Buckingham J. (Eds.). (1989b). Dictionary of Alkaloids, Vol. 14, Chapman and Hall Ltd., New York, p: 163, 260, 453, 664
300. Spenglers I., Trimino Z. (1989). Determination of the Presence of Lactams in the Plant *Zephyranthes tubispatha* Herb, Amaryllidaceae, *Revista Cubana de Farmacia*, 23 (1-2): 151-154
301. Spohn M., Brecht V., Frahm A. W. (1994). Revised Assignment of ¹³C-NMR-Signals to Quarternary Carbons of the Amaryllidaceae Alkaloid

Lycorin, *Archiv der Pharmazie (Weinheim)*, 327: 123-124

302. Staikidou I., Selby C., Hanks G. (2006). Stimulation of *In vitro* Bulblet Growth in *Galanthus* species with Sucrose and Activated Charcoal, *Acta Horticulturae* (Proceedings of the Vth International Symposium on *In vitro* Culture and Horticultural Breeding, 2004, Volume 1), 421-426
303. Stefanov I. (1991). Development Changes in Wild and Introduced Population of *Leucojum aestivum* L., *Farmatsiya (Sofia)*, 41 (2): 18-23, *Chem. Abstr. (1991)*, 115: 275741f
304. Stefanov Zh. (1977). Quantitative and Qualitative Study of the Alkaloid Composition of Wild and Introduced *Leucojum aestivum* L. Populations. Part II. Method for the Simultaneous Quantitative Determination of Galanthamine and Some of the Major Alkaloids in the Above Ground Parts and Bulbs of the Plant, *Farmatsiya*, 27 (4): 4-10, *Chem. Abstr. (1978)*, 89:102941n
305. Stefanov Zh., Savchev P., Mitkov I. (1974). Qualitative and Quantitative Studies of the Alkaloid Composition of Wildly Growing and Introduced *Leucojum aestivum* L. Populations. I. Dynamics of Galanthamine Accumulation in the Aboveground Parts and Bulbs of Plants and Localization in Some Organs of Aboveground Parts, *Farmatsiya (Sofia)*, 24 (6): 16-19, *Chem. Abstr. (1975)*, 83: 4997s
306. Suau R., Gomez A. I., Rico R., Tato P. V., Castedo L., Riguera R. (1988). Alkaloid N-Oxides of Amaryllidaceae, *Phytochemistry*, 27 (10): 3285-3287
307. Suau R., Rico R., Garcia A. I., Gomez A. (1990). New Amaryllidaceae Alkaloids from *Narcissus papyraceus* Ker-Gawler, *Heterocycles*, 31 (3): 517-522
308. Suffness M., Cordell G. A. (1985). Antitumor Alkaloids, In the Alkaloids

- Chemistry and Pharmacology, Brossi A. R. (Ed)., Vol. 25, Academic Press Inc., New York, p: 198-212
309. Sweeney J. E., Höhmann C. F., Moran T. H., Coyle J. T. (1988). A Long-Acting Cholinesterase Inhibitor Reverses Spatial Memory Deficits in Mice, *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 31: 141-147
310. Şahin N. F. (1998). Morphological Anatomical and Physiological Studies on *Galanthus ikariae* Baker and *G. rizehensis* Stern (Amaryllidaceae) Grown around NE Turkey, *Pakistan Journal of Botany*, 30 (1): 117-131
311. Şahin N. F. (2000). Polen Morphology of *Galanthus elwesii* Hooker (Amaryllidaceae), *Pakistan Journal of Botany*, 32 (1): 5-6
312. Şahin N. F. (1995). Trabzon Yöresi *Galanthus* L. (=Kardelen) Türlerinin Morfolojik ve Palinolojik Yönünden İncelenmesi, Doktora Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon
313. Şahin N. F., Şakıyan N., Pınar N. M. (1997). An Investigation on the Pollen Morphology of *Galanthus ikariae* Baker and *Galanthus rizehensis* Stern (Amaryllidaceae), *Turkish Journal of Botany*, 21: 305-307
314. Şener B., Orhan İ., Satayavivad J. (2003). Antimalarial Activity Screening of Some Alkaloids and the Plant Extracts from Amaryllidaceae, *Phytotherapy Research*, 17 (10): 1220-1223
315. Takada-Takatori Y., Kume T., Sugimoto M., Katsuki H., Niidome T., Sugimoto H., Fujii T., Okabe S., Akaike A. (2006). Neuroprotective Effects of Galanthamine and Tacrine against Glutamate Neurotoxicity, *European Journal of Pharmacology*, 549: 19-26
316. Takagi S., Katagi T., Takebayashi K. (1968). Gas Liquid Chromatography of Alkaloids. II. Quantitative Analysis of Alkaloids of *Lycoris radiata* Herb.,

Chemical & Pharmaceutical Bulletin, 16 (6): 1121-1123

317. Takagi S., Yamaki M. (1974). On the Constituents of the Bulbs of *Lycoris sanguinea* Maxim, *Yakugaku Zasshi*, 94 (5): 617-622
318. Tammes T. (1919). New Chromogen, Producing a Blue Pigment, in *Galanthus nivalis* and Several Other Species of the Same Genus, *Rec. Trav. Botan. Néerland*, (1918), 15: 1-16, *Physiol. Abstracts*, 4: 189, *Chem. Abstr.* (1920), 14: 1563
319. Tanahashi T., Poulev A., Zenk M. H. (1990). Radioimmunoassay for the Quantitative Determination of Galanthamine, *Planta Medica*, 56 (1): 77-81
320. Tanaka H., Nakamura T., Ichino K., Ito K. (1989). A Phenolic Amide from *Actinodaphne longifolia*, *Phytochemistry*, 28 (9): 2516-2517
321. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Doğal Çiçek Soğanlarının 2010 Yılı İhracat Listesi Hakkında Tebliğ (No: 2009/55). Resmî Gazete (Tarih: 12.11.2009 Sayı: 27404)
322. Taşçı N. (2008). The Genetic Diversity of the *Galanthus* Species in Turkey, Master Thesis, Molecular Biology and Genetics, Boğaziçi University, İstanbul
323. Tato M. P. V., Castedo L., Riguera R. (1988). New Alkaloids from *Pancreaticum maritimum* L., *Heterocycles*, 27 (12): 2833-2838
324. Tencheva J., Yamboliev I., Zhivkova Z. (1987). Reversed-Phase Liquid Chromatography for the Determination of Galanthamine and Its Metabolites in Human Plasma and Urine, *Journal of Chromatography*, 42 (2): 396-400
325. Tinjuangjun P. (2002). Snowdrop Lectin Gene in Transgenic Plants: Its Potential for Asian Agriculture, *AgBiotechNet*, 4: 1-5
326. Tokhtabaeva G. M. (1987). Chromatophotocolorimetric Technique for

Determination of Galanthamine and Its Metabolites in *Narcissus*, *Khimiko Farmatsevticheskii Zhurnal*, 21 (6): 703-705

327. Torras-Claveria L., Berkov S., Jáuregui O., Caujapé J., Vilodamat F., Codina C., Bastida J. (2010). Metabolic Profiling of Bioactive *Pancreatium canariense* Extracts by GC-MS, *Phytochemical Analysis*, 21: 80-88
328. Trebicki P., Harding R. M., Powell K. S. (2009). Anti-Metabolic Effects of *Galanthus nivalis* Agglutinin and Wheat Germ Agglutinin on Nymphal Stages of the Common Brown Leafhopper Using a Novel Artificial Diet System, *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 131 (1): 99-105
329. Tsakadze D. M., Abdusamatov A., Razakov R., Yunusov S. Y. (1970). The Structure of Galanthusine, *Chemistry of Natural Compounds*, 6: 791-792
330. Tsakadze D. M., Abdusamatov A., Samsoniya Sh. (2000). Phenolic Compounds from *Galanthus caucasicus*, *Bulletin of the Georgia Academy of Science*, 158 (3): 433-434
331. Tsakadze D. M., Abdusamatov A., Yunusov S. Y. (1969a). Alkaloids of *Galanthus caucasicus*, *Chemistry of Natural Compounds*, 5: 281-282
332. Tsakadze D. M., Kiparenko T. N., Abdusamatov A. (1977). Rutin and Hyperoside from *Galanthus caucasicus*, *Chemistry of Natural Compounds*, 13: 105
333. Tsakadze D. M., Kiparenko T. N., Tsitsishvili N. S. (1969b). Alkaloids of *Galanthus caucasicus*, *Soobshcheniya Akademii Nauk Gruzii, SSR*, 55 (3), 573-575, *Chem. Abstr.* (1970), 72: 35723b
334. Tsakadze D. M., Kiparenko T. N., Tsitsishvili N. S., Abdusamatov A., Yunusov S. Y. (1969c). Demethylhomolycorine from the Plant *Galanthus caucasicus*, *Soobshcheniya Akademii Nauk Gruzii, SSR*, 56 (2): 305-307,

Chem. Abstr. (1970), 72: 107840n

335. Tsakadze D. M., Samsoniya S. A., Ziaev R., Abdusamatov A. (2005). Alkaloid and Phenolic Compounds of *Galanthus caucasicus*, *Magnolia obovata*, *Cocculus laurifolius* and *Veratrum lobelianum* Grown in Georgia, *Molecular Diversity*, 9: 41-44
336. Tsitsishvili N. S., Kiparenko T. N., Tsitsishvili G. I., Tsakadze D. M. (1971). Additional Study of *Galanthus woronowii* for Content of Alkaloids, *Tr. Tbilis. Univ. No. 137, 171-174, Ref. Zh., Biol. Khim. (1971), Abstr. No. 18F907, Chem Abstr. (1972), 77:16541c*
337. Tullis R. H., Duffin R. P., Handlet H. H., Sodhi P., Menon J., Joyce J. A., Kher V. (2009). Reduction of Hepatitis C Virus Using Lectin Affinity Plasmapheresis in Dialysis Patients, *Blood Purification*, 27 (1): 64-69
338. Tüzen M., Özdemir M. (2003). Chromatographic Determination of Phenolic Acids in the Snowdrop by HPLC, *Turkish Journal of Chemistry*, 27: 49-54
339. Ünver N. (2007). New Skeletons and New Concepts in Amaryllidaceae Alkaloids, *Phytochemistry Reviews*, 6: 125-135
340. Ünver N., Gözler T., Walch N., Gözler B., Hesse M. (1999a). Two Novel Dinitrogenous Alkaloids from *Galanthus plicatus* subsp. *byzantinus* (Amaryllidaceae), *Phytochemistry*, 50: 1255-1261
341. Ünver-Somer N., Kaya G. İ., Sarıkaya B. Önür M. A. (2007). *Galanthus woronowii* Losinsk. Üzerinde Fitokimyasal Araştırmalar, XVII. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Kuşadası
342. Ünver N., Kaya G. İ., Werner C., Verpoorte R., Gözler B. (2003). Galanthindole: A New Indole Alkaloid from *Galanthus plicatus* ssp. *byzantinus*, *Planta Medica*, 69 (9): 869-871

343. Ünver N., Noyan S., Gözler B., Gözler T., Werner C., Hesse M. (2001). Four New Amaryllidaceae Alkaloids from *Galanthus gracilis* and *Galanthus plicatus* subsp. *byzantinus*, *Heterocycles*, 55 (4): 641-652
344. Ünver N., Noyan S., Gözler T., Önür M. A., Gözler B., Hesse M. (1999b). Three New Tazettine-Type Alkaloids from *Galanthus gracilis* and *Galanthus plicatus* subsp. *byzantinus*, *Planta Medica*, 65: 347-350
345. Van Damme E. J. M., Allen A. K, Peumans W. J. (1987). Isolation and Characterization of Multiple Isoforms of a Lectin with Exclusive Specificity Towards Mannose from Snowdrop (*Galanthus nivalis*) Bulbs, *Febs Letters*, 215 (1): 140-144
346. Van Damme E. J. M., Allen A. K, Peumans W. J. (2007). Related Mannose-Specific Lectins from Different Species of the Family Amaryllidaceae, *Physiologia Plantarum*, 73 (1): 52-57
347. Van Damme E. J. M., Kaku H., Perine F., Goldstein I. J., Peeters B., Yagi F., Decock B., Peumans W. J. (1991). Biosynthesis, Primary Structure and Molecular Cloning of Snowdrop (*Galanthus nivalis* L.) Lectin, *European Journal of Biochemistry*, 202 (1): 23-30
348. Van Damme E. J. M., Lannoo N., Peumans W. J. (2008). Plant Lectins, *Advances in Botanical Research*, 48: 107-209
349. Van Rijn R. M., Rhee In K., Verporte R. (2010). Isolation of Acetylcholinesterase Inhibitory from *Nerine bowdenii*, *Natural Product Research*, 24 (3): 222-225
350. Vardar Y. (1969). Bitki Anatomisi Dersleri, Yüksek Bitkilerin Genel Yapısı, Ege Üniversitesi Matbaası, İzmir
351. Vdovin A. D., Kadyron Kh. A., Yagudaev M. R., Allayarov Kh. B., Nistryan

- A. K. (1981). Structure of Trisphaeridine, *Chemistry of Natural Compounds*, 17 (3): 279-280
352. Verhaeghe T., Diels L., Vries R. De, Meulder M. De, Jong J. De. (2003). Development and Validation of a Liquid Chromatographic-Tandem Mass Spectrometric Method for the Determination of Galantamine in Human Heparinised Plasma, *Journal of Chromatography B*, 789: 337-346
353. Viladomat F., Bastida J., Tribo G., Codina C., Rubiralta M. (1990). Alkaloids from *Narcissus bicolor*, *Phytochemistry*, 29 (4): 1307-1310
354. Volodina A. D., Dobronravova E. K., Shakirov T. T. (1970). Polarographic Determination of Galanthamine in *Ungernia victoris*, *Chemistry of Natural Compounds*, 6: 459-461
355. Volodina A. D., Dobronravova E. K., Shakirov T. T. (1972). Spectrofotometric Determination of Lycorine in Plant Raw Material and A Preparation, *Chemistry of Natural Compounds*, 161: 743-745
356. Volodina A. D., Dobronravova E. K., Shakirov T. T. (1973). Quantitative Determination of Lycorine in Dihydrolycorine, *Chemistry of Natural Compounds*, 4: 536
357. Vrijssen R., Vanden Berghe D. A., Vlietinck A. J., Boeye A. (1986). Lycorine: An Eukaryotic Termination Inhibitor?, *The Journal of Biological Chemistry*, 261 (2): 505-507
358. Vulkova A. (1961a). Identification and Determination of the Alkaloids of *Galanthus nivalis* var. *gracilis* and *Leucojum aestivum*, *Farmacija*, 11 (2): 17-22, *Abstr. Bulgar. Sci. Lit., Biol. Med., (1961). (3), Abstr. No. 493, Chem. Abstr. (1963), 58: 5984f*
359. Vulkova A. (1961b). Proof and Determination of the Alkaloids in *Galanthus*

- nivalis* and *Leucojum aestivum*, *Farmatsiya*, 2: 17-22, *Chem. Abstr.* (1961), 55: 21479d
360. Wagner J., Pham H. L., Döpke W. (1996). Alkaloids from *Hippeastrum equestre* Herb.-5. Circular Dichroism Studies, *Tetrahedron* 52 (19): 6591-6600
361. Wang X., Huang M., Han Z., Zhou J. (2007). GC-MS Analysis of Chemical Components from the Bulbs of *Lycoris aurea*, *Zhongcaoyao*, 38 (2): 188-217
362. Weniger B., Italiano L., Beck J. P., Bastida J., Bergoñón S., Codina C. (1995). Cytotoxic Activity of Amaryllidaceae Alkaloids, *Planta Medica*, 61: 77-79
363. Wildman W. C. (1960). Alkaloids of the Amaryllidaceae, In *The Alkaloids Chemistry and Physiology*, Manske R. H. F. (Ed.), Vol. 6, Academic Press Inc., New York, p: 289-413
364. Wildman W. C. (1968). The Amaryllidaceae Alkaloids, In *The Alkaloids Chemistry and Pharmacology*, Manske R. H. F., Holmes H. L. (Eds.), Vol. 11, Academic Press Inc., New York, p: 307-405
365. Wildman W. C., Brown C. L. (1968). Mass Spectra of 5, 11b-Methanomorphanthridine Alkaloids. The Structure of Pancracine, *Journal of the Natural Chemical Society*, 90: 6439-6446
366. Willis J. C. (1988). Amaryllidaceae, In *a Dictionary of the Flowering Plants & Ferns*, 8th Ed., Shaw A. H. K. (Ed.), Cambridge University Press, Cambridge, p: 49-50
367. World Health Organization (1998). *Quality Control Methods for Medicinal Plant Materials*, Geneva, p: 28
368. Wu F. E., Koike K., Nikaido T., Sakamoto Y., Ohmoto T., Ikeda K. (1989). New β -Carboline Alkaloids from a Chinese Medicinal Plant, *Arenaria*

- kansuensis*. Structures of Arenarines A, B, C, and D., *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 37 (7): 1808-1809
369. Wurst F., Prey T., Puchinger L., Bancher E. (1980). Eine Neue Methode Zur Quantitativen Bestimmung von Galanthamine in Drogenextrakten von *Leucojum aestivum*, *Journal of Chromatography*, 188: 452-456
370. Yakovleva A. P. (1963). The Alkaloids of *Galanthus woronowii*. VII. Isolation of Tazettine, *Journal of the General Chemistry*, 33 (5): 1691-1693
371. Yalabık B. (1997). *Leucojum aestivum* L., Üzerinde Kalite Kontrol Çalışmaları, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir
372. Yamboliev I., Mikhailova D. (1985). Extraction Spectrofluorometry Method for Quantitative Determination of Galanthamine in Biological Material, *Farmatsiya (Sofia)*, 35 (2): 7-11, *Chem. Abstr. (1985)*, 103: 153137v
373. Youssef D. T. A. (2001). Alkaloids of the Flowers of *Hippeastrum vittatum*, *Journal of Natural Products*, 64 (6): 839-841
374. Yunhe L., Jorg R. (2009). Impact of Snowdrop Lectin (*Galanthus nivalis* agglutinin; GNA) on Adults of the Green Lacewing, *Chrysoperia carnea*, *Journal of Insect Physiology*, 55 (2): 135-142
375. Yunusov S. Y., Kiparenko T. N., Razakov R., Abdusamatov A., Tsakadze D. M. (1972). Galanthusine, an Alkaloid from Snowdrop, *Galanthus caucasicus*, *Soobshcheniya Akademii Nauk Gruzii, SSR.*, 65 (2): 333-336, *Chem. Abstr. (1972)*, 77: 45496x
376. Zeybek N., Sauer E. (1995). Türkiye Kardelenleri (*Galanthus* L.) I., Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir
377. Zeybek U. (1983). Über die Alkaloide Verschiedener *Galanthus*-Arten,

Doktora Tezi, Viyana Üniversitesi, Farmakognozi Enstitüsü, Viyana

378. Zeybek U., Jurenitsch J., Kubelka W., Jentzsch K. (1982). HPLC-Bestimmung des Alkaloidgehaltes in Verschiedenen *Galanthus*-Arten, *Scientia Pharmaceutica*, 50 (4): 282-284
379. Zhang J., Wang M., Shen Y., Ma G., Hong S. (1999). Studies on Alkaloids of Amaryllidaceae. XII. Identification of Amaryllidaceae Alkaloids by TLC and Determination of Galanthamine by HPLC, *Yaowu Fenxi Zazhi*, 19 (6): 399-403, *Chem. Abstr.* (2000), 132: 227526
380. Zhang W., Shen Y., Shi Q., Zhang C., Su J., Li H., Li R., Xu X. (2008). Natural Alkaloids Containing Lycorenan-7 one, Narciprimine and Arolycoridine with Antitumor Effect, *Faming Zhuanli Gongkai Shuomingshu*, 9
381. Zhang Y., Liu M., Wen A., Yang L., Li W., Yuan J., Gao X. (2007). LS-MS/MS Determination of Galanthamine in Human Plasma, *Yaowu Fenxi Zazhi*, 27 (7): 973-976
382. Zhou T. S., Ye W. C., Wang Z. T., Che C. T., Zhou R. H., Xu G. J., Xu L. S. (1998). β -Carboline Alkaloids from *Hypodematium squamuloso-pilosum*, *Phytochemistry*, 49 (6): 1807-1809
383. Zonneveld B. J. M., Grimshaw J. M., Davis A. P. (2003). The Systematic Value of Nuclear DNA Content in *Galanthus*, *Plant Systematics and Evolution*, 241: 89-102
384. Zou G., Puig-Basagoiti F., Zhang B., Qing M., Chen L., Pankiewicz K. W., Felczak K., Yuan Z., Shi P. (2009). A Single-amino Acid Substitution in West Nile Virus 2K Peptide between NS4A and NS4B Confers Resistance to Lycorine, A Flavivirus Inhibitor, *Virology*, 384: 242-252

385. Zupko I., Rethy B., Hohmann J., Molnar J., Ocsovszki I., Falkay G. (2009).
Antitumor Activity of Alkaloids Derived from Amaryllidaceae Species, *In vivo*, 23 (1): 41-48

ÖZGEÇMİŞ

1980 yılında Ankara'da doğdum. Lise öğrenimimi Afyon Süleyman Demirel Fen Lisesi'nde tamamladıktan sonra 1999 yılında Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'ne girerek 2003 yılında mezun oldum. Aynı yıl E.Ü. Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı'nda yüksek lisans öğrenimime başladım ve Araştırma Görevlisi olarak atandım. 2005 yılında yüksek lisans eğitimimi tamamladıktan sonra aynı Anabilim Dalında doktora eğitimime başladım. 2009 yılında Barselona Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi'nde TÜBİTAK-BİDEB-Yurt Dışı Araştırma Burs Programı kapsamında, altı ay süreyle bursiyer olarak çalıştım. Halen E.Ü. Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı'nda Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktayım. Yabancı dilim İngilizce'dir. Evliyim.