

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

124058

ÇANAKKALE KAYNAKLI
GALANTHUS NIVALIS L.
SUBSP. *CILICICUS* (BAKER) GOTTLIEB-TANNENHAIN
ÖRNEĞİ ÜZERİNDE
FARMAKOĞNOZİK ARAŞTIRMALAR

**TC YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**

Farmakognozi Programı
Doktora Tezi

Uzman Eczacı
Gülen İrem KAYA


124058

1. Danışman: Prof. Dr. Belkıs GÖZLER
2. Danışman: Prof. Dr. Bijen KIVÇAK


İZMİR


2003

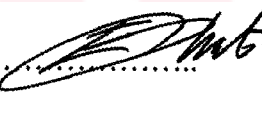
DEĞERLENDİRME KURULU ÜYELERİ

Başkan :...Prof. Dr. Belkis GÖZLER 

Üye: Prof. Dr. Güneş SARITAR 

Üye: Prof. Dr. M. Ali ÖNÜR 

Üye: Prof. Dr. Bigen KIVCAK 

Üye: Yrd. Doç. Dr. İ. Ergün METE 

Doktora Tezinin kabul edildiği tarih:16...Haziran...2003

TC YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

Bu çalışmayı planlayan ve başlatan Prof. Dr. Tekant GÖZLER'e, ve daha sonra tezimin danışmanlığını üstlenerek, değerli bilgi ve yardımları ile yöneten Prof. Dr. Belkıs GÖZLER e,

Her konuda değerli destek ve yardımını gördüğüm Farmakognozi Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Mustafa Ali ÖNÜR'e,

Çalışmalarım sırasında ilgi ve yardımını esirgemeyen Prof. Dr. Bijen KIVÇAK'a,

Spektral analizlerin yapılmasında vaktini ve emeğini benimle paylaşan değerli mesai arkadaşım Yar. Doç. Dr. Nehir Ünver'e, ve bu analizler için laboratuvarının imkanlarını istifademize sunan Hollanda, Leiden Üniversitesi, Leiden/Amsterdam İlaç Araştırma Merkezi (LACDR), Farmakognozi Bölümü öğretim üyesi Sayın Robert Verpoorte'ye,

Araştırmalarımın HPLC Analizleri kısmında, değerli bilgi ve emeğiyle çalışmalarına yardımcı olan E. Ü. Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü öğretim üyesi Prof. Dr. Yaşar HIŞIL'a,

Çalışmalarıma mali destek sağlayan Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu'na (TÜBİTAK) (Proje No: SBAG-2194), E. Ü. Araştırma Fonu'na (Proje No: 99/ECZ/020) ve E. Ü. Bilim-Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi'ne (EBİLTEM) (Proje No: 2001/BİL/019),

Çalışmalarım esnasında beni sonsuz bir sabır ile destekleyen ve özellikle bitkinin toplanmasında büyük emeği olan eşim Kemal KAYA'ya,

İlgi, yardım ve sabırlarından dolayı aileme ve tüm çalışma arkadaşlarıma, en içten teşekkürlerimi, sevgilerimi ve saygılarımı sunuyorum.

İzmir, 2003

G. İrem KAYA

İÇİNDEKİLER

G İRİŞ	1
I. ARAŞTIRMANIN AMACI	1
II. GENEL BİLGİLER	4
A. BİTKİ HAKKINDA BOTANİK BİLGİLER	4
1. <i>GALANTHUS</i> L. GENUSU	4
2. <i>GALANTHUS NIVALIS</i> L.	5
B. KALİTE KONTROL VE MİKTAR TAYİNİ ÇALIŞMALARI	10
1. KALİTE KONTROL ARAŞTIRMALARI	10
2. ALKALOİT MİKTAR TAYİNİ ÇALIŞMALARI.....	11
3. ALKALOİTLERİN TEŞHİSLERİ İÇİN ARAŞTIRMALAR	12
4. ALKALOİT ÜRETİMİNE AİT ARAŞTIRMALAR	12
C. BİYOLOJİK AKTİVİTE TAYİNİ EŞLİĞİNDE İZOLASYON VE YAPI AYDINLATMA ÇALIŞMALARI	15

GEREÇ VE YÖNTEMLER	28
I. BOTANİK ARAŞTIRMALAR	28
A. MATERYAL	28
B. DENEYLER	31
II. KALİTE KONTROL VE MİKTAR TAYİNİ	
ARAŞTIRMALARI	32
A. MATERYAL	32
B. YÖNTEMLER	34
1. Nem Miktar Tayini	34
2. Total Kül Miktar Tayini	34
3. Sülfat Külü Miktar Tayini	35
4. Droğların İnce Tabaka Kromatografisi (İ.T.K) ile Saflık ve Kalite Kontrolü.35	
a. Total Alkaloit Ekstresinin Hazırlanışı	35
b. Örnek ve Standart Çözeltilerinin Hazırlanışı	36
c. Kontrol Çalışmaları	36
5. Total Alkaloit Miktar Tayini	37
6. Droğun İçerdiği Çeşitli Alkaloitler İçin Yapılan Miktar Tayini Çalışmaları ...	37
a. Alkaloitler İçin İ.T.K. Yöntemiyle Yapılan Ön Araştırmalar	37
b. İ.T.K. İle Kombine Edilmiş Spektrometrik Miktar Tayini	38

(1) Miktar Tayin Edilecek Alkaloit İle Standart Serinin Hazırlanması ve Ölçü Eğrisinin Çizilmesi	38
(2) Drog Üzerinde Alkaloit Miktar Tayini Çalışmasının Uygulanması	39
c. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (HPLC) İle Miktar Tayini	40
(1) Standart Alkaloide Ait Ölçü Eğrisinin Hazırlanması	40
C. DENEYLER	41
1. Nem Miktar Tayini	41
2. Total Kül Miktar Tayini	41
3. Sülfat Külü Miktar Tayini	42
4. Alkaloitlerin İ.T.K ile Teşhis ve Kalite Kontrolü	42
a. Örnek Çözeltilerin Hazırlanışı	43
b. Deneyin Yapılışı	44
5. Total Alkaloit Miktar Tayini	44
a. Total Alkaloit Ekstresinin Hazırlanışı	44
b. Total Alkaloit Miktar Tayini Uygulaması	45
c. Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması ve Ayarlanması	46
(1) 0.1 N Sülfürik Asit Çözeltisinin Hazırlanması	46
(2) 0.02 N Sülfürik Asit Çözeltisinin Hazırlanması	46
(3) 0.02 N Sülfürik Asit Çözeltisinin Ayarlanması	46
(4) 0.1 N Sodyum Hidroksit Çözeltisinin Hazırlanması	47
(5) 0.02 N Sodyum Hidroksit Çözeltisinin Hazırlanması	47
(6) 0.02 N Sodyum Hidroksit Çözeltisinin Ayarlanması	47
6. Lycorine ve Galanthamine'in Miktar Tayini	48
a. Lycorine ve Galanthamine İçin İ.T.K. Yöntemiyle Ön Araştırmalar	48

(1) Lycorine İçin Yapılan Kontrol Çalışmaları	48
(2) Galanthamine İçin Yapılan Kontrol Çalışmaları.....	49
b. İ.T.K ile Kombine Edilmiş Spektrofotometrik Teşhis ve Miktar Tayini	51
(1) Lycorine Miktar Tayini	51
(a) Lycorine ile Standart Serinin Hazırlanması ve Ölçü Eğrisinin Çizimi	51
(b) Herba ve Bulbus Galanthi'de Lycorine Miktar Tayininin Uygulanması	52
(2) Galanthamine'in Miktar Tayini	54
c. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi ile Teşhis ve Miktar Tayini	55
(1) Lycorine Miktar Tayini	55
(a) Total Alkaloid Ekstresinin Hazırlanışı	55
(b) Örnek Çözeltilerinin Hazırlanışı	56
(c) Standart Lycorine Çözeltisinin (S _L) Hazırlanışı	56
(d) Standart Lycorine'e Ait Ölçü Eğrisinin Hazırlanması	56
(2) Galanthamine'in HPLC İle Teşhis Edilmesi	57
(a) Örnek Çözeltilerin Hazırlanışı	57
(b) Standart Galanthamine Çözeltisinin (S _G) Hazırlanışı	58
(c) Karışım Çözeltilerinin Hazırlanışı	58

III. BİYOLOJİK AKTİVİTE TAYİNİ EŞLİĞİNDE İZOLASYON

VE YAPI AYDINLATMA ÇALIŞMALARI

A. MATERYAL

B. YÖNTEMLER

1. Alkaloitlerin Tüketilmesi	60
2. Alkaloitlerin İnce Tabaka Kromatografisi (İ.T.K.) ile İncelenmesi	60
3. Alkaloitlerin Saflaştırılmaları	62
a. Sütun Kromatografisi	62
b. Preparatif İnce Tabaka Kromatografisi	63
c. Kristallendirme	64
d. Saf Halde Elde Edilen Bileşiklerin Tanınması	64
4. Brine Shrimp Letalite Deneyi ile Aktivite Tayini	65
a. <i>Artemia Salina</i> Leach Larvalarının Hazırlanışı	65
b. Test Edilecek Bileşiklerin Çözeltilerinin Hazırlanışı	65
c. Deneyin Yapılışı	66
C. DENEYLER	67
1. Total Alkol ve Alkaloit Ekstrelerinin Hazırlanması	67
2. Total Alkol ve Alkaloit Ekstrelerinde Biyolojik Aktivite Tayini	68
3. Total Alkaloit Ekstresindeki Bileşiklerin Saflaştırılmaları	69
4. Ana Fraksiyonlarda Biyolojik Aktivite Tayini	71
5. Biyolojik Açından Aktif Olan Fraksiyonların Çalışılması	72
a. G ₄ Kodlu Ana Fraksiyonun Çalışılması	72
b. G ₆ Ana Fraksiyonun Çalışılması	75
c. G ₁₄ Kodlu Ana Fraksiyonun Çalışılması	76
d. G ₂₁ Kodlu Ana Fraksiyonun Çalışılması	76

BULGULAR	79
I. BOTANİK ARAŞTIRMALARIN BULGULARI	79
A. ANATOMİK BULGULAR	79
1. Köke Ait İnceleme ve Bulgular	79
2. Soğana Ait İnceleme ve Bulgular	81
3. Gövdeye Ait İnceleme ve Bulgular	84
4. Yaprğa Ait İnceleme ve Bulgular	86
5. Spataya Ait İnceleme ve Bulgular	90
6. Çiçeğe Ait İnceleme ve Bulgular	93
a. Çiçek Sapı	93
b. Dış Tepal	94
c. İç Tepal	96
d. Anter	96
e. Filament	98
7. Meyvaya Ait İnceleme ve Bulgular	99
8. Tohuma Ait İnceleme ve Bulgular	102
B. MİKROSKOBİK BULGULAR	103
1. I _{ÇB} ve I _{MB} Kodlu Bulbus Galanthi Toz Droğlarının Mikroskopik Olarak İncelenmeleri	103
2. I _{ÇH} Kodlu Herba Galanthi Toz Droğunun Mikroskopik Olarak İncelenmesi .	104
3. I _{MH} Kodlu Herba Galanthi Toz Droğunun Mikroskopik Olarak İncelenmesi.	110

II. KALİTE KONTROL VE MİKTAR TAYİNİ ÇALIŞMALARINA

AİT BULGULAR111

A. NEM MİKTAR TAYİNİ 111

B. TOTAL KÜL MİKTAR TAYİNİ112

C. SÜLFAT KÜLÜ MİKTAR TAYİNİ113

D. DROGLARIN İ.T.K İLE SAFLIK VE KALİTE KONTROLÜ 115

E. TOTAL ALKALOİT MİKTAR TAYİNİ117

F. LYCORİNE VE GALANTHAMİNE'İN MİKTAR TAYİNİ119

1. Lycorine ve Galanthamine için İ.T.K. Yöntemiyle Ön Araştırmalar 119

a. Lycorine İçin Yapılan Ön Araştırmalar120

b. Galanthamine İçin Yapılan Ön Araştırmalar123

2. Lycorine'in İ.T.K. ile Kombine Edilmiş Spektrofotometrik Yöntemle Miktar Tayini 127

a. Tek Aşamalı Uygulama İle Lycorine Miktar Tayini127

b. İki Aşamalı Uygulama İle Lycorine Miktar tayini130

3. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi Yöntemi ile Teşhis ve Miktar Tayini ...133

a. Lycorine Miktar Tayini133

b. Galanthamine'in Teşhisi139

III. BİYOLOJİK AKTİVİTE TAYİNİ EŞLİĞİNDE İZOLASYON

VE YAPI AYDINLATMA ÇALIŞMALARINA AİT

BULGULAR144

A. BRİNE SHRİMP LETALİTE DENEYLERİNDE ELDE EDİLEN BULGULAR	144
B. İZOLASYONLA ELDE EDİLEN BİLEŞİKLERE AİT BULGULAR.....	145
1. GI-1 BİLEŞİĞİNİN SPEKTRAL BULGULARI	145
2. GI-2 BİLEŞİĞİNİN SPEKTRAL BULGULARI	160
3. GI-3 BİLEŞİĞİNİN SPEKTRAL BULGULARI	171
4. GI-4 BİLEŞİĞİNİN SPEKTRAL BULGULARI	181
5. GI-5 BİLEŞİĞİNİN SPEKTRAL BULGULARI	195
6. GI-6 BİLEŞİĞİNİN SPEKTRAL BULGULARI	200
7. GI-7 BİLEŞİĞİNİN SPEKTRAL BULGULARI	204
TARTIŞMA	209
I. BOTANİK ARAŞTIRMALAR	209
II. KALİTE KONTROL VE MİKTAR TAYİNİ ARAŞTIRMALARI ..	211
A. NEM, TOTAL KÜL VE SÜLFAT KÜLÜ MİKTAR TAYİNİ	212
B. İ.T.K. İLE SAFLIK KONTROLLERİ	214
C. TOTAL ALKALOİT MİKTAR TAYİNİ	214
D. LYCORİNE VE GALANTHAMİNE MİKTAR TAYİNİ	214
III. BİYOLOJİK AKTİVİTE EŞLİĞİNDE İZOLASYON VE YAPI AYDINLATMA ÇALIŞMALARI	216
A. GI-1 {(-)-CAPNOİDİNE}	216
B. GI-2 {(+)-EPİPİNORESİNOL}	225

C. GI-3 {(+)-PİNORESİNOL}	234
D. GI-4 {(+)-BULBOCAPNİNE}	241
E. GI-5 {(-)-LYCORİNE}	248
F. GI-6 {(+)-11-HYDROXYVİTTATİNE}	252
G. GI-7 {(+)-VİTTATİNE}	257
SONUÇ VE ÖNERİLER	262
ÖZET	XXII
ABSTRACT	XXIV
YARARLANILAN KAYNAKLAR	267
ÖZGEÇMİŞ	303

TABLolar

Tablo 1. Muhtelif <i>Galanthus</i> Türleri Üzerinde Yapılmış Olan Kantitatif Çalışmalarda Elde Edilen Total Alkaloit, Galanthamine ve Lycorine Miktarları.....	13
Tablo 2. Muhtelif <i>Galanthus</i> Türleri Üzerinde Yapılmış Olan İzolasyon Çalışmaları Sırasında Elde Edilen Total Alkaloit, Galanthamine ve Lycorine Miktarlar.....	14
Tablo 3. Amaryllidaceae Alkaloitlerinin Dokuz Ana Alt Grubu.....	16 -18
Tablo 4. "The Alkaloids" e Göre Alkaloitleri Açısından Araştırılmış <i>Galanthus</i> Türleri ve Bunlarda Varlığı Saptanmış Amaryllidaceae Alkaloitleri.....	21, 22
Tablo 5. "Dictionary of Alkaloids" Adlı Kaynağa Göre Alkaloitleri Açısından Araştırılmış <i>Galanthus</i> Türleri ve Bunlarda Varlığı Saptanmış Amaryllidaceae Alkaloitleri.....	23
Tablo 6. Birincil Kaynaklara Göre Alkaloit İçeriği Araştırılmış <i>Galanthus</i> Türleri ve Bunlarda Varlığı Saptanmış Amaryllidaceae Alkaloitleri.....	24, 25
Tablo 7. Tablo 6'da Adı Geçen <i>Galanthus</i> Türleri, Alttür ve Sinonimleri.....	26
Tablo 8. İnce Tabaka Kromatografisi (İ.T.K) 'nde Yararlanılan Çözücü Sistemleri.....	61
Tablo 9. Fraksiyonların Elde Edilmesinde Yararlanılan Çözücü Sistemleri.....	63
Tablo 10. Total Alkaloit Ekstresinin Ana Fraksiyonları Hakkında Deneysel Veriler.....	70
Tablo 11. I _{CH} Örneğinde Yapılan Nem Miktar Tayini Sonuçları.....	111
Tablo 12. I _{CH} Örneğinde Yapılan Nem Miktar Tayini Sonuçları.....	111

Tablo 13. I _{MB} Örneğinde Yapılan Nem Miktar Tayini Sonuçları.....	112
Tablo 14. I _{MH} Örneğinde Yapılan Nem Miktar Tayini Sonuçları.....	112
Tablo 15. I _{CB} Örneğinde Yapılan Total Kül Miktar Tayini Sonuçları.....	112
Tablo 16. I _{CH} Örneğinde Yapılan Total Kül Miktar Tayini Sonuçları.....	113
Tablo 17. I _{MB} Örneğinde Yapılan Total Kül Miktar Tayini Sonuçları.....	113
Tablo 18. I _{MH} Örneğinde Yapılan Total Kül Miktar Tayini Sonuçları.....	113
Tablo19. I _{CB} Örneğinde Yapılan Sülfat Külü Miktar Tayini Sonuçları.....	114
Tablo 20. I _{CH} Örneğinde Yapılan Sülfat Külü Miktar Tayini Sonuçları.....	114
Tablo 21. I _{MB} Örneğinde Yapılan Sülfat Külü Miktar Tayini Sonuçları.....	114
Tablo 22. I _{MH} Örneğinde Yapılan Sülfat Külü Miktar Tayini Sonuçları.....	114
Tablo 23. I _{CB} Kodlu Örneğe Ait Total Alkaloit Miktarı Sonuçları.....	117
Tablo 24. I _{CB} Kodlu Örnekteki Total Alkaloit Miktarı Sonuçlarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi	117
Tablo 25. I _{CH} Kodlu Örneğe Ait Total Alkaloit Miktarı Sonuçları.....	117
Tablo 26. I _{CH} Kodlu Örnekteki Total Alkaloit Miktarı Sonuçlarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi.....	118
Tablo 27. I _{MB} Kodlu Örneğe Ait Total Alkaloit Miktarı Sonuçları.....	118
Tablo 28. I _{MB} Kodlu Örnekteki Total Alkaloit Miktarı Sonuçlarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi.....	118
Tablo 29. I _{MH} Kodlu Örneğe Ait Total Alkaloit Miktarı Sonuçları.....	118
Tablo 30. I _{MH} Kodlu Örnekteki Total Alkaloit Miktarı Sonuçlarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi.....	119
Tablo 31. Lycorine İçin Ölçülen Absorbans Değerleri.....	128
Tablo 32. I _{CB} Örneğinde Lycorine Miktar Tayini İçin Yapılan Çalışma.....	128

Tablo 33. I _{CB} Kodlu Örnek İçin Yapılan Çalışma Sonuçlarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi	129
Tablo 34. I _{CH} Örneğinde Lycorine Miktar Tayini İçin Yapılan Çalışma.....	129
Tablo 35. I _{CH} Kodlu Örnek İçin Yapılan Çalışma Sonuçlarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi	129
Tablo 36. I _{MB} Örneğinde Lycorine Miktar Tayini İçin Yapılan Çalışma.....	129
Tablo 37. I _{MB} Kodlu Örnek İçin Yapılan Çalışma Sonuçlarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi.....	130
Tablo 38. I _{MH} Örneğinde Lycorine Miktar Tayini İçin Yapılan Çalışma.....	130
Tablo 39. I _{MH} Kodlu Örnek İçin Yapılan Çalışma Sonuçlarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi.....	130
Tablo 40. Lycorine İçin Ölçülen Absorbans Değerleri.....	131
Tablo 41. I _{CB} Örneğinde Lycorine Miktar Tayini İçin Yapılan Çalışma.....	131
Tablo 42. I _{CB} Kodlu Örnek İçin Yapılan Çalışma Sonuçlarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi.....	132
Tablo 43. I _{CH} Örneğinde Lycorine Miktar Tayini İçin Yapılan Çalışma.....	132
Tablo 44. I _{CH} Kodlu Örnek İçin Yapılan Çalışma Sonuçlarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi	132
Tablo 45. I _{MB} Örneğinde Lycorine Miktar Tayini İçin Yapılan Çalışma.....	132
Tablo 46. I _{MB} Kodlu Örnek İçin Yapılan Çalışma Sonuçlarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi	133
Tablo 47. I _{MH} Örneğinde Lycorine Miktar Tayini İçin Yapılan Çalışma.....	133
Tablo 48. I _{MH} Kodlu Örnek İçin Yapılan Çalışma Sonuçlarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi.....	133

Tablo 49. Lycorine İçin Okunan Alan Değerleri.....	134
Tablo 50. I _{CB} Örneğinde HPLC Yöntemiyle Lycorine Miktar Tayini İçin Yapılan Çalışma.....	134
Tablo 51. I _{CB} Kodlu Örnek İçin Yapılan Çalışma Sonuçlarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi.....	135
Tablo 52. I _{CH} Örneğinde HPLC Yöntemiyle Lycorine Miktar Tayini İçin Yapılan Çalışma.....	135
Tablo 53. I _{CH} Kodlu Örnek İçin Yapılan Çalışma Sonuçlarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi.....	135
Tablo 54. I _{MB} Örneğinde HPLC Yöntemiyle Lycorine Miktar Tayini İçin Yapılan Çalışma.....	135
Tablo 55. I _{MB} Kodlu Örnek İçin Yapılan Çalışma Sonuçlarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi.....	136
Tablo 56. I _{MH} Örneğinde HPLC Yöntemiyle Lycorine Miktar Tayini İçin Yapılan Çalışma.....	136
Tablo 57. I _{MH} Kodlu Örnek İçin Yapılan Çalışma Sonuçlarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi.....	136
Tablo 58. Total Alkol ve Alkaloid Ekstreleri Üzerinde Yapılan BrineShrimp Letalite Deneyi Bulguları.....	144
Tablo 59. Alkaloid Ekstresinin Ana Fraksiyonları Üzerinde Yapılan Brine Shrimp Letalite Deneyi Bulguları.	145
Tablo 60. GI-1 Bileşiğinin 1D ve 2 D NMR Spektral Bulguları	146
Tablo 61. GI-2 Bileşiğinin 1D ve 2 D NMR Spektral Bulguları	147
Tablo 62. GI-3 Bileşiğinin 1D ve 2 D NMR Spektral Bulguları	148

Tablo 63. GI-4 Bileşiminin 1D ve 2 D NMR Spektral Bulguları.....	183
Tablo 64. Bazı <i>Galanthus</i> Türleri Üzerinde Daha Önce Yapılmış Olan Kalite Kontrol Çalışmalarına Ait Karşılaştırmalı Sonuçlar.....	213
Tablo 65. % Lycorine Miktar Tayini Sonuçları.....	216

RESİMLER

Resim 1. <i>Galanthus nivalis</i> L. subsp. <i>cilicicus</i> (Baker) Gottlieb-Tannenhain Bitkisinin Doğadaki Görünüşü.....	29
Resim 2. <i>G. nivalis</i> subsp. <i>cilicicus</i> Bitkisinin Çiçekli Herbarium Örneği.....	30
Resim 3. <i>G. nivalis</i> subsp. <i>cilicicus</i> Bitkisinin Meyvalı Herbarium Örneği.....	30
Resim 4. Galanthamine ve Lycorine 'in Teşhisi İçin 254 nm Dalga Boyundaki UV Işık Altında Çekilen Fotoğraf.....	115
Resim 5. Galanthamine ve Lycorine 'in Teşhisi İçin 366 nm Dalga Boyundaki UV Işık Altında Çekilen Fotoğraf.....	116
Resim 6. Galanthamine ve Lycorine 'in Teşhisi İçin Dragendorff Belirteci Püskürtüldükten Sonra Çekilen Fotoğraf.....	116
Resim 7. 254 nm Dalga Boyundaki UV Işık Altında Çekilen Fotoğraf.....	121
Resim 8. 366 nm Dalga Boyundaki UV Işık Altında Çekilen Fotoğraf.....	121
Resim 9. 254 nm Dalga Boyundaki UV Işık Altında Çekilen Fotoğraf.....	122
Resim 10. 366 nm Dalga Boyundaki UV Işık Altında Çekilen Fotoğraf.....	123
Resim 11. 254 nm Dalga Boyundaki UV Işık Altında Çekilen Fotoğraf.....	124
Resim 12. 366 nm Dalga Boyundaki UV Işık Altında Çekilen Fotoğraf.....	125
Resim 13. 254 nm Dalga Boyundaki UV Işık Altında Çekilen Fotoğraf.....	126

Resim 14. 366 nm Dalga Boyundaki UV Işık Altında Çekilen Fotoğraf.....	127
Resim 15. Kök Enine Kesit.....	79
Resim16. Kök Enine Kesit.....	80
Resim 17. Soğan Dış Yaprak Enine Kesit.....	82
Resim 18. Soğan İç ve Dış Yaprak Enine Kesiti.....	83
Resim 19.Gövde Enine Kesit.....	84
Resim 20. Gövde Enine Kesitte Stoma.....	85
Resim 21. Gövde Yüzeyel Kesit.....	85
Resim 22. Yaprak Enine Kesit.....	87
Resim 23. Yaprak Enine Kesit.....	88
Resim 24. Yaprak Yüzeyel Kesitte Rafit Demeti.....	89
Resim 25. Yaprak Yüzeyel Kesitte Üst Epidermiste Stoma.....	89
Resim 26. Yaprak Yüzeyel Kesitte Alt Epidermiste Stoma.....	90
Resim 27. Spata Enine Kesit Genel Görünüş.....	91
Resim 28. Spata Enine Kesitte Spata Ucu.....	91
Resim 29. Spata Enine Kesitte İletim Demeti.....	92
Resim 30.Çiçek Sapı Enine Kesit Genel Görünüş.....	93
Resim 31. Çiçek Sapı Enine Kesit Genel Görünüşünde Kütikula Kıvrımları.....	94
Resim 32. Dış Tepal Enine Kesit.....	94
Resim 33. Dış Tepal Yüzeysel Kesitinde Dış Epidermis.....	95
Resim 34. Dış Tepal Yüzeysel Kesitinde İç Epidermis.....	95
Resim 35. İç Tepal İç Epidermisi.....	96
Resim 36. Anter Enine Kesitte Epidermiste Papiller.....	96
Resim 37. Anter Enine Kesit Genel Görünüş.....	97

Resim 38. Anter Yüzeysel Kesitte Epidermiste Papiller.....	97
Resim 39. Anter Endotesyumu.....	98
Resim 40. Yüzeysel Kesitte Filament EpidermisHücrelerinin Kütikula Kıvrımları.....	98
Resim 41. Meyve Enine Kesit Genel Görünüş.....	99
Resim 42. Meyve Yüzeysel Kesitinde Stoma ve Stoma Üzerinde Kütikula Çizgileri..	100
Resim 43. Ekzokarp Yüzeysel Kesit.....	101
Resim 44. Endokarp Yüzeysel Kesit.....	101
Resim 45. Tohum Enine Kesit.....	102
Resim 46. Tohum Enine Kesit.....	102
Resim 47. Parenkima Hücrelerinde Nişasta ve Rafit Demeti.....	103
Resim 48. Soğan Epidermis.....	104
Resim 49. Süberinleşmiş Doku Parçaları.....	105
Resim 50. Soğan Dış Yaprığında Mantar Hifleri.....	105
Resim 51. Kök Parçası.....	106
Resim 52. Kök Parçası.....	106
Resim 53. Anter Endotesyumu.....	107
Resim 54. Polen.....	107
Resim 55. İçi Boşalmış Polen.....	107
Resim 56. Papilli Epidermis (Üstten).....	108
Resim 57. Papilli Epidermis (Yandan).....	108
Resim 58. Yaprak Epidermisi.....	108
Resim 59. Yaprak Epidermisi.....	109
Resim 60. Stigma.....	109
Resim 61. Meyva Ekzokarp.....	110

ŞEKİLLER

Şekil 1. Standart Olarak Kullanılan Lycorine'e Ait UV Spektrumu.....	120
Şekil 2. P ₁ Kodlu Plaktan Alınan ve Lycorine Olduğu Düşünülen Bileşiğin UV Spektrumu	120
Şekil 3. P ₂ + P ₃ + P ₄ Kodlu Plaklardan Alınan ve Lycorine Olduğu Düşünülen Bileşiğin UV Spektrumu.....	122
Şekil 4. Standart olarak Kullanılan Galanthamine'e Ait UV Spektrumu.....	123
Şekil 5. P ₅ Kodlu Plaktan Alınan Banda Ait UV Spektrumu.....	124
Şekil 6. P ₆ + P ₇ + P ₈ Kodlu Plaklardan Alınan ve Galanthamine Olduğu Düşünülen Bileşiğin UV Spektrumu.....	125
Şekil 7. P ₆ + P ₇ + P ₈ Kodlu Plaklardan Alınan ve Galanthamine Olduğu Düşünülen Bileşiğin UV Spektrumu.....	126
Şekil 8. Spektrofotometrik Miktar Tayininde Kullanılan Lycorine Standart Ölçü Eğrisi (Tek Aşamalı)	128
Şekil 9. Spektrofotometrik Miktar Tayininde Kullanılan Lycorine Standart Ölçü Eğrisi (İki Aşamalı)	131
Şekil 10. HPLC İle Yapılan Miktar Tayininde Kullanılan Lycorine Standart Ölçü Eğrisi	134
Şekil 11. Standart Lycorine'e Ait Kromatogram.....	137
Şekil 12. I _{CB} Kodlu Örneğin Normal ve Genişletilmiş Kromatogramı.....	138
Şekil 13. I _{CH} Kodlu Örneğin Normal ve Genişletilmiş Kromatogramı.....	138
Şekil 14. I _{MB} Kodlu Örneğin Normal ve Genişletilmiş Kromatogramı.....	138

Şekil 15. I _{MH} Kodlu Örneğin Normal ve Genişletilmiş Kromatogramı.....	139
Şekil 16. Standart Galanthamine'in HPLC Kromatogramı.....	139
Şekil 17. I _{CB} Kodlu Örneğin Normal ve Genişletilmiş Kromatogramı.....	140
Şekil 18. I _{CB} Kodlu Örneğin Galanthamine İle Karışımına Ait Kromatogram.....	140
Şekil 19. I _{CH} Kodlu Örneğin Normal ve Genişletilmiş Kromatogramı.....	141
Şekil 20. I _{CH} Kodlu Örneğin Galanthamine İle Karışımına Ait Kromatogram	141
Şekil 21. I _{MB} Kodlu Örneğin Normal ve Genişletilmiş Kromatogramı	142
Şekil 22. I _{MB} Kodlu Örneğin Galanthamine İle Karışımına Ait Kromatogram	142
Şekil 23. I _{MH} Kodlu Örneğin Normal ve Genişletilmiş Kromatogramı	143
Şekil 24. I _{MH} Kodlu Örneğin Galanthamine İle Karışımına Ait Kromatogram	143

SPEKTRUMLAR

Spektrum 1. GI-1 Kodlu Bileşiğin IR Spektrumu.....	149
Spektrum 2. GI-1 Kodlu Bileşiğin EI Kütle Spektrumu.....	150
Spektrum 3. GI-1 Kodlu Bileşiğin CI Kütle Spektrumu.....	150
Spektrum 4. GI-1 Kodlu Bileşiğin ESI Kütle Spektrumu.....	151
Spektrum 5. GI-1 Kodlu Bileşiğin ¹ H NMR Spektrumu.....	152
Spektrum 6. GI-1 Kodlu Bileşiğin Genişletilmiş ¹ H NMR Spektrumu.....	153
Spektrum 7. GI-1 Kodlu Bileşiğin ¹³ C APT Spektrumu.....	154
Spektrum 8. GI-1 Kodlu Bileşiğin ¹ H, ¹ H COSY-gs Spektrumu.....	155
Spektrum 9. GI-1 Kodlu Bileşiğin HMQC Spektrumu.....	156
Spektrum 10. GI-1 Kodlu Bileşiğin HMBC Spektrumu.....	157
Spektrum 11. GI-1 Kodlu Bileşiğin Genişletilmiş HMBC Spektrumu.....	158

Spektrum 12. GI-1 Kodlu Bileşimin NOESY Spektrumu.....	159
Spektrum 13. GI-2 Kodlu Bileşimin EI Kütle Spektrumu.....	163
Spektrum 14. GI-2 Kodlu Bileşimin ^1H NMR Spektrumu.....	164
Spektrum 15. GI-2 Kodlu Bileşimin Genişletilmiş ^1H NMR Spektrumu.....	165
Spektrum 16. GI-2 Kodlu Bileşimin ^{13}C APT Spektrumu.....	166
Spektrum 17. GI-2 Kodlu Bileşimin ^1H , ^1H COSY-gs Spektrumu.....	167
Spektrum 18. GI-2 Kodlu Bileşimin HMQC Spektrumu.....	168
Spektrum 19. GI-2 Kodlu Bileşimin HMBC Spektrumu.....	169
Spektrum 20. GI-2 Kodlu Bileşimin NOESY Spektrumu.....	170
Spektrum 21. GI-3 Kodlu Bileşimin EI Kütle Spektrumu.....	174
Spektrum 22. GI-3 Kodlu Bileşimin ^1H NMR Spektrumu.....	175
Spektrum 23. GI-3 Kodlu Bileşimin ^{13}C APT Spektrumu.....	176
Spektrum 24. GI-3 Kodlu Bileşimin ^1H , ^1H COSY-gs Spektrumu.....	177
Spektrum 25. GI-3 Kodlu Bileşimin HMQC Spektrumu.....	178
Spektrum 26. GI-3 Kodlu Bileşimin HMBC Spektrumu.....	179
Spektrum 27. GI-3 Kodlu Bileşimin NOESY Spektrumu.....	180
Spektrum 28. GI-4 Kodlu Bileşimin UV Spektrumu.....	184
Spektrum 29. GI-4 Kodlu Bileşimin IR Spektrumu.....	185
Spektrum 30. GI-4 Kodlu Bileşimin EI Kütle Spektrumu.....	186
Spektrum 31. GI-4 Kodlu Bileşimin CI Kütle Spektrumu.....	186
Spektrum 32. GI-4 Kodlu Bileşimin ^1H NMR Spektrumu.....	187
Spektrum 33. GI-4 Kodlu Bileşimin Genişletilmiş ^1H NMR Spektrumu.....	187
Spektrum 34. GI-4 Kodlu Bileşimin ^{13}C APT Spektrumu.....	187
Spektrum 35. GI-4 Kodlu Bileşimin ^1H , ^1H COSY-gs Spektrumu.....	187

Spektrum 36. GI-4 Kodlu Bileşimin Genişletilmiş ^1H , ^1H COSY-gs Spektrumu.....	191
Spektrum 37. GI-4 Kodlu Bileşimin HMQC Spektrumu.....	192
Spektrum 38. GI-4 Kodlu Bileşimin HMBC Spektrumu.....	193
Spektrum 39. GI-4 Kodlu Bileşimin NOESY Spektrumu.....	194
Spektrum 40. GI-5 Kodlu Bileşimin UV Spektrumu.....	196
Spektrum 41. GI-5 Kodlu Bileşimin IR Spektrumu.....	197
Spektrum 42. GI-5 Kodlu Bileşimin ^1H NMR Spektrumu.....	198
Spektrum 43. GI-5 Kodlu Bileşimin ^{13}C APT Spektrumu.....	199
Spektrum 44. GI-6 Kodlu Bileşimin ^1H NMR Spektrumu.....	201
Spektrum 45. GI-6 Kodlu Bileşimin Genişletilmiş ^1H NMR Spektrumu.....	202
Spektrum 46. GI-6 Kodlu Bileşimin Genişletilmiş ^1H NMR Spektrumu.....	202
Spektrum 47. GI-6 Kodlu Bileşimin ^{13}C APT Spektrumu.....	203
Spektrum 48. GI-7 Kodlu Bileşimin ^1H NMR Spektrumu.....	205
Spektrum 49. GI-7 Kodlu Bileşimin Genişletilmiş ^1H NMR Spektrumu.....	206
Spektrum 50. GI-7 Kodlu Bileşimin Genişletilmiş ^1H NMR Spektrumu.....	206
Spektrum 51. GI-7 Kodlu Bileşimin ^{13}C APT Spektrumu.....	207
Spektrum 52. GI-7 Kodlu Bileşimin Genişletilmiş ^{13}C APT Spektrumu.....	208

ŞEMALAR

Şema 1. (+)-Epipinoresinol'ün Kütle Parçalanma Şeması	232
Şema 2. (+)-Bulbocapnine'in EI Kütle Parçalanma Şeması.....	246

GİRİŞ

I. ARAŞTIRMANIN AMACI

Galanthus türleri ülkemizde halk arasında “Kardelen”, “Garipçe”, “Öksüz Ahmet”, “Aktaş”, “Boynu bükük”, “Kargasoğanı” gibi yerel isimlerle tanınmakta olup, Amaryllidaceae familyası üyeleri arasında yer alan çok yıllık, soğanlı, otsu bitkilerdir (5, 25, 287). Bir kaynakta topraküstü kısımlarının kalp kuvvetlendirici, midevi ve adet söktürücü, toprakaltı kısımlarının ise taze halde iken ezilip lapa halinde haricen çıbanları olgunlaştırıcı olarak kullanıldığı belirtilmektedir (25).

Galanthus türleri, dünyanın hemen hemen her tarafında bahçe ve çevre düzenlemelerinde süs bitkisi olarak oldukça yaygın bir şekilde kullanılan bitkilerdir. Bu nedenle ülkemizden bazı türlerin soğanları, başta Hollanda olmak üzere diğer bazı ülkelere çiçek soğanı adı altında ihraç edilmektedir. Bu yoğun ihracat sonucunda tahrip olduğu görülen bitkilerin yok olmalarını önlemek amacıyla, son yıllarda bazı yasal düzenlemelerin yapılmakta olduğu bildirilmiştir (145).

Eczacılık açısından *Galanthus* türleri, taşıdıkları hem lektinleri ve hem de alkaloidleri açısından oldukça ilgi çekicidirler. Bunlardan bazıları, sahip oldukları ilginç farmakolojik etkileri nedeniyle halen tedavi alanında kullanılmakta, diğer bazıları ise

ilaç olabilme potansiyeli taşımaktadır. Bunların arasında tedavi açısından en önemli olanlarından biri galanthamine adlı Amaryllidaceae alkaloididir. Bu bileşik analjezik (111), antikolinesteraz (30), gevşetici anestezi alan hastalarda kortizol düzeyini arttırıcı etkilere sahip olup (59), tedavide ameliyat sonrası bağırsak-mide-mesane atonisinde, myasthenia gravis'de, miyopati ve poliomyelitis'de oluşan semptomlarda, polinevropati, polinevrit ve omurilik zedelenmelerinde kullanıldığı, çok sayıda birincil kaynak kullanılarak hazırlanmış olan derleme tarzındaki bir ikincil bir kaynaktan rapor edilmektedir (110). Galanthamine, uzun süreli merkezi etki gösteren bir kompetitif kolinesteraz inhibitörü olup, Alzheimer hastalığı (AD) gibi kolinerjik ilişkili nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (169, 236). Örneğin, galanthamine'i etken madde olarak içeren "Nivalin" isimli bir preparat, halen Avusturya'da ve Almanca konuşulan ülkelerde Alzheimer Hastalığı'na karşı kullanılmak üzere onay almıştır (224). Ayrıca yine söz konusu ülkelerde yüz nevraljisi gibi endikasyonlarda kullanılmak üzere de pazarlanmaktadır (224). Bu konuda yakın zamandaki bazı gelişmeler, galanthamine hydrobromide içeren "Reminyl" isimli preparatın bir İngiliz firması tarafından Eylül 2000 de piyasaya sunulmuş olması (117-119) ve galanthamine'nin FDA tarafından da onaylanma aşamasında bulunmasıdır.

Galanthus türlerinin taşıdığı ana alkaloidlerin ilgi çekici olanlarından bir diğeri de lycorine'dir. Lycorine'nin birkaç RNA ve DNA virüsü üzerinde saptanmış antiviral etkisinin olduğu bilinmektedir (91). Örneğin çocuk felci, kızamık, Herpes Simplex Tip I gibi bazı virüsleri doza bağımlı olarak inhibe ettiği bildirilmiştir (121-123, 271). Bu bileşik aynı zamanda antimalaryal ve sitotoksik aktiviteye de sahiptir (48, 168). Bir kaynaktan lycorine'in Murine P-388 lenfositik lösemi ve sarkomada büyüme inhibitörü olarak etki ettiği de belirtilmiştir (198). Ayrıca lycorine'in Malt 4, LMTK ve HepG 2

hücre dizinleri üzerinde sitotoksik aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir (275). Yine lycorine üzerinde yapılan diğer çalışmalarda, antiinflamatuvar etkisinin indometasin'den daha yüksek olduğu kanıtlanmıştır. (62). Söz konusu bu alkaloidin *in vitro* olarak kuvvetli kardiyotonik etki gösterdiği (2), yine *in vitro* olarak sıçanlarda uterus ve bağırsak motilitesini arttırdığı gösterilmiştir (222).

Bu iki alkaloidin dışında, başka Amaryllidaceae alkaloidlerinin de ilginç fizyolojik ve farmakolojik aktivitelere sahip olduklarına dair pek çok örnek verilebilir. Örneğin tazettine, hippeastrine ve haemanthidine'in P-388 murine lenfositik lösemnin dahil olduğu bazı tümör sistemlerine karşı sitotoksik aktiviteye sahip oldukları bildirilmiştir (10).

Amaryllidaceae alkaloidleri, yukarıda kısaca örneklenen ilginç fizyolojik ve farmakolojik etkileri nedeniyle, bilim adamlarının ve özellikle bitki kimyası ile uğraşanların ilgilerini çekmektedir. Ümit vadeden farmakolojik aktivitelere sahip olan yeni alkaloidlerin veya yeni ilaç tasarımlarında model oluşturabilecek yeni bileşiklerin potansiyel kaynakları olarak, Türkiye'de yabani olarak yetişen *Galanthus* türleri (Amaryllidaceae) üzerinde araştırma grubumuz tarafından yürütülen fitokimyasal araştırmalar çerçevesinde, ülkemizde yabani olarak yetişen *Galanthus* türlerinden biri olan *Galanthus nivalis* L. subsp. *cilicicus* (Baker) Gottlieb-Tannenhain bitkisi bu araştırmanın konusu olarak seçilmiştir.

Bu araştırmada, Çanakkale ili, Bayramiç ilçesi, Çolapbaşı Küllügedik mevkiinden toplanan *G. nivalis* subsp. *cilicicus* örnekleri üzerinde anatomik araştırmalar, kalite kontrol çalışmaları ve ön biyolojik aktivite deneyi ile yönlendirilen izolasyon ve yapı tayini çalışmalarının gerçekleştirilmesi planlanmıştır. Bu kapsamda, bitkinin biyolojik olarak aktif olduğu saptanmış olan total alkaloid

ekstresinin fraksiyonlandırılması sonucu elde edilen ana fraksiyonlar arasında aktif olduğu saptananların, daha ileri saflaştırmaya tabi tutulması, saf halde elde edilebilen bileşiklerin yapılarının, modern spektroskopik yöntemler kullanarak aydınlatılması amaçlanmıştır.

II. GENEL BİLGİLER

A. BİTKİ HAKKINDA BOTANİK BİLGİLER

Galanthus nivalis L. subsp. *cilicicus* (Baker) Gottlieb-Tannenhain bitkisi, çok yıllık soğanlı bir bitki olup, Amaryllidaceae familyası üyeleri arasında yer almaktadır. (24, 38, 65, 279, 287). Aşağıda amacı bitkinin cins ve tür seviyesinde tanımına yönelik olarak verilen bilgiler, "Flora of Turkey and the East Aegean Islands" adlı kaynaktan hiçbir katkıda bulunulmaksızın derlenmiştir (38).

1. GALANTHUS L. GENUSU

Soğanlı, skapuslu çok yıllık. Yapraklar tabanda, 2, linear veya oblanseoalat. Skapus çiçekli halde iken dik, meyva gelişim döneminde ise bükülmüş. Çiçekler tek, beyaz ve eğik. Spata bitişik 2 parçalı. Hipantiyum ve korona bulunmaz. Periant segmentleri serbest; dıştaki 3 segment akuttan subobtusa kadar, spatulat veya oblanseoalatdan 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 oblanseoalat, 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 (38).

2. *GALANTHUS NIVALIS* L.

Soğan ovoidden subgloboza kadar, 1.5-2.2 (2.7) X 1-2 (-2.4) cm. Yapraklar linear, tomurcukta düz, antesisde 9-18 (-21) cm x 6-9 mm, olgunlukta 50 X 1 cm ye kadar, tepede obtus, düz, mumsu. Skapus 11-18 cm. Periantın dış segmentleri konveks, eliptikden oblanseolat veya dar obovata kadar, 18-28 x (6-)8-10 mm, içteki segmentler düz, tepede genişlememiş, dar obovat, 7-11 X 5 mm, tepede yeşil lekeli. Filamentler 1-2 mm, anterler 5 mm. Kapsül subglobozdan globoza kadar 14 x 12-14mm. $2n = 24, 36$. Çiçeklenme zamanı Kasım- Nisan. Çalılarla kaplı yamaçlarda, orman açıklıklarında, s. l. eğim 600 m.

1. Yapraklar antesisde 16-18 cm, tekrar kıvrılmış çiçeklenme zamanı kasımdan Marta (Nisan) kadar

subsp. *cilicicus* (Baker) Gottlieb-Tannenhain in Abh. Zool- bot. Ges. Wien 2 (4):33 (1904). Syn: *G. cilicicus* Baker in Gard. Chron. Ser 3,21: 214 (1897)!

Ic: Gard. Chron. Ser 3,23:79 (1898) ; Artius-henko, op. Cit 20, t. 5 (1974). Harita 55 $2n=24,36$.

Tip : Totenham (İngiltere) TS. Ware tarafından kültürü yapılmış materyal çalışılarak derlenmişlerdir. 7;1897 (holo. K!).

Güney Anadolu C 2 (Yunanistan) 1s : Kastellorizo, Cap. Ag Stefanos, 10-20m, Stamatiadau 16631. C5 İçel: Kagiraki, 560-600 m, Bakınız 1895:10!nr Arslanköy, 1973, Clemie; 24 I 1975, ex hort. Barron!

Latakia, Lübnan Doğu Akdeniz (mt) elemanı. Coğrafi olarak izole edilmiştir, fakat morfolojik olarak iyi tanımlanmamıştır. Stern tarafından yorumlanan çiçek sapından spataya kadar olan uzunluğun farklı özellikleri ve içteki segmentlerin tepesindeki yeşil lekelenin şeklindeki farklılıklar doğrulanamamıştır. Canlı materyalde subsp. *cilicicus*'un yaprakları yoğun mumsu iken, subsp. *nivalis*'in yaprakları ise çoğunlukla yeşil tonlar içeren mumsu görünümündedir. Subsp. *cilicicus*'un çiçeklenme zamanı normalde subsp. *nivalis*'in çiçeklenme zamanından önce olmasına rağmen, bu süreçler oldukça çakışabilmektedir.

Türün dağılımı: Avrupa, Fransa'dan Orta Rusya'ya ve güneyde Pirenelere kadar (38).

Tarafımızdan incelenen "Flora of Turkey and the East Aegean Islands" adlı kaynağın 8. cildinde, ülkemizde yabancı olarak yetişmekte olan *Galanthus* türlerinin sayısının sekiz tane olduğu belirtilmiştir. 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 (38). Aynı kaynaktan, varlıkları kesin olarak kanıtlanamamış iki türden *G. caucasicus* (Baker) Grossh. ve *G. krasnovii* A. Khokr.'den de bahsedilmektedir.

"Flora of Turkey and the East Aegean Islands" ın 10. cildinde, *G. caucasicus* (Baker) Grossh. türüne tekrar yer verilerek, diğer türlere ilave edildiği belirtilmektedir (37). Aynı kaynağın 11. cildinde ise Türkiye'de onüç tür (ondört takson) bulunduğu belirtilmiştir (68). Bu türlerin isimleri aşağıda verilmektedir.

- 1) *G. plicatus* M. Bieb. {subsp. *plicatus* ve subsp. *byzantinus*}
- 2) *G. elwesii* Hook.
- 3) *G. koeneni* 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

Diğer bir kaynakta, *Galanthus trojanus* A. P. Davis & N. Özhatay ismi ile Türkiye'nin kuzey batısında yeni bir türden bahsedilmektedir. Böylece 2001 yılı itibarıyla Türkiye'deki *Galanthus* türü sayısı ondört (onbeş takson) olmaktadır. Sözkonusu edilen bu çalışmada, anılan yeni tür ile *G. nivalis* ve *G. rizehensis* türlerinin morfolojik farklılıklarından da bahsedilmektedir (64).

Bir kaynakta, *Galanthus* genusunun Avrupa ile Akdeniz'den Kafkasya'ya kadar uzanan bölgede yaklaşık yirmi türünün mevcut olduğu bildirilirken (279), bir diğer kaynakta da bu türlerden yedi tanesinin Türkiye'de genellikle sık olmayan ormanlık ve çalılıklarda bulunduğu belirtilmektedir (24).

"Türkiye Kardelenleri (*Galanthus* L.) I. " adlı kaynakta (287), ülkemizde mevcut *Galanthus* taksonlarının sayısı yirmi (ki bunlar yedi tür ve bu türlere ait subsp. veya varyeteler halinde ayrılmışlardır) olarak bildirilirken, bu türlerin morfolojileri ve yaprak anatomileri yanında, bunlardan bazıları üzerinde gerçekleştirilmiş karyolojik araştırmaların sonuçları ile tayin anahtarı verilmektedir.

Bir başka kaynakta, *Galanthus* genusunun yirmi türü (yirmibeş takson) bulunduğu belirtilmekte ve aynı kaynakta *Galanthus* türlerinin sistematik tayinlerinde yararlı olabilecek yaprağa ait anatomik karakterler ayrıntılı olarak incelenmektedir. Söz konusu bu çalışmada, yaprak enine kesitinde epidermis, stoma, orta damar, palizat hücreleri, hava kanalları ve bulliform hücreler (yaprak epidermisindeki büyük şişkin hücreler) ile yaprağın yüzeyel kesitinde epidermis hücrelerinin şekilleri üzerinde odaklanmış karşılaştırmalı çalışmaların sonuçları da bulunmaktadır (66). Anılan kaynakta yer verilen yirmi türe, *G. trojanus* A. P. Davis & N. Özhatay türü de eklendiği zaman, Avrupa ve Asya'da yirmibir (yirmialtı takson) *Galanthus* türünün yayılış gösterdiği sonucuna varılmaktadır.

Ele alınan farklı bir diğer kaynakta, *Galanthus* genusunun morfolojisi, anatomisi, sitolojisi, döllenmesi, ekolojisi, kültürü, taksonomisi ve hibritleri ile ilgili ayrıntılı bilgiler mevcuttur (65).

Türkiye'de yetişen *Galanthus ikariae* Baker ve *Galanthus rizehensis* Stern bitkileri üzerine yapılmış bir diğer araştırmada, morfolojik, anatomik ve fizyolojik çalışmalara yer verildiği görülmüştür (238).

Bunlara ilaveten, *G. ikariae* Baker ve *G. rizehensis* Stern (237) ve *G. elwesii* Hooker (239) türlerinin polenlerinin ışık taramalı ve geçirmeli elektron mikroskobu ile morfolojik olarak incelendiği bazı çalışmalar da mevcuttur.

Yunanistan'da yetişen dört *Galanthus* taksonu {*Galanthus elwesii* Hook. subsp. *elwesii*, *Galanthus elwesii* Hook. subsp. *minor* D.A.Webb, *G. nivalis* L. subsp. *nivalis*, *G. nivalis* L. subsp. *reginae-olgae* (Orph.) Gottl.-Tann.} örnekleri üzerinde, kültür ve karyotip analiz çalışmaları yapıldığına dair bir araştırma mevcuttur. Anılan kaynakta Yunanistan'da Athos dağı *G. nivalis* L. subsp. *nivalis* türü için tek lokalite olarak gösterilmekte ve ayrıca bu bitkinin Anadolu'da yetişen *G. cilicicus* Baker bitkisi ile hem morfolojik, ve hem de sitolojik yönlerden benzer olduğundan bahsedilmektedir (195).

Literatür araştırmaları sırasında tarafımızdan saptanan bir diğer bilgi, *G. nivalis* L. ile *G. plicatus* subsp. *byzantinus* (Baker) D.A.Webb. arasındaki hibritleşme ile oluşan taksona *G. xvalentinei* nothosubsp. *subplicatus* ismi verilmiş olmasıdır (67). Bu çalışmada yeni hibrid ile ebeveyn bitkiler arasındaki morfolojik farklar tartışılmıştır. Aynı kaynakta Türkiye'de yetişen *G. nivalis* L. ve *G. plicatus* subsp. *byzantinus* bitkilerinin morfolojileri hakkında da bilgi verilmiştir. *G. xvalentinei* için ise yeni bir hibrid tipin tanımlaması yapılmıştır

1999 yılında Meerow, akrabalık ilişkilerinin saptanmasına yönelik plastid *RBCL* ve *TRNL-F* sıralanışlarının kladistik analizine dayanarak Amaryllidaceae'nin sistematigi hakkında bir çalışma yapmıştır (182).

İncelenen diğer bir kaynakta, *G. elwesii* Hook. türünün yüksek miktarda, *G. ikariae* Baker türünün ise daha az oranda ihraç edildiği bildirilmiştir. Anılan bu araştırma, tarla, bahçe ve orman şartlarında üretiminin yapılması amacıyla Çiçek Soğanı Yetiştiricileri Birliği ve Hollanda tarafından desteklenmiştir. Bu araştırmada elde edilen sonuçlar, *Galanthus* soğanlarının tek bir büyüme mevsimi sonunda toplanmasının, yeterli bir ticari üretim için uygun olmadığını ortaya koymuştur (12). Doğadan toplanan

veya kültürü yapılan çiçek soğanlarının ihracının kısıtlanması önerisine de yer verilmiştir (75).

B. KALİTE KONTROL VE MİKTAR TAYİNİ ÇALIŞMALARI

1. KALİTE KONTROL ARAŞTIRMALARI

Bu çalışmanın konusunu oluşturan ve *Galanthus nivalis* L. subsp. *cilicicus* (Baker) Gottlieb-Tannenhain bitkisinden hazırlanan Herba ve Bulbus Galanthi drogları, halen hiçbir farmakopede yer almamaktadır. Literatürde *Galanthus* türlerinden hazırlanmış olan drogların kalite kontrolüne yönelik nem, total kül, sülfat külü standartları ile teşhis ve saflık kontrollerine yönelik kromatografik deneylere ait araştırmalara rastlanmamıştır.

Türkiye'de endemik olarak yetişen bazı *Galanthus* türleri üzerinde Anabilim Dalımızda bir proje kapsamında başlatılmış olan araştırmalarda, bu bitkiler üzerinde fitokimyasal çalışmalar yanısıra, kalite kontrol araştırmaları da gerçekleştirilmiştir. Bu çerçevede, *Galanthus* genusu üzerinde nem, total kül ve sülfat külü miktar tayinini de içeren kalite kontrol çalışmaları, çalışma grubumuz tarafından 1997 yılında başlatılmış (74), ve günümüze dek diğer muhtelif *Galanthus* türleri üzerinde yapılan benzer araştırmalarla devam etmiştir (61, 84). Söz konusu kalite kontrol bulgu ve sonuçlarının, ileride bu bitkilerden hazırlanacak droglar hakkında yazılacak olan monografilere esas oluşturacakları düşünülmüştür.

2. ALKALOİT MİKTAR TAYİNİ ÇALIŞMALARI

Galanthus genusu bitkilerinin özellikle alkaloidleri üzerinde yapılmış miktar tayinleri, bir çok araştırmaya konu olmuştur. Bu çerçevede yapılmış ilk araştırmanın sonuçlarını içeren bilimsel yayın Areshkina tarafından 1940 yılında yapılmıştır. Söz konusu yayında *Galanthus woronowii* türünden hazırlanmış bazı örnekler üzerinde total alkaloid miktar tayini çalışması yapılmış ve bitkinin soğanlarında % 1.03 ve yapraklarında % 0.60 oranında total alkaloid bulunduğu saptanmıştır. Aynı yayında bu bitkide yüksek oranda şeker, nişasta ve hemiselüloz bulunduğu da belirtilmiştir (11).

Değişik *Galanthus* türleri üzerinde günümüze kadar total alkaloid ile galanthamine ve lycorine miktar tayini için yapılmış çalışmalar, literatürden saptanarak izleme kolaylığı açısından tarafımızdan iki tablo halinde aşağıda verilmiştir. Tablo 1 de (Sayfa 13) total alkaloid, galanthamine ve lycorine'in bitkideki bulunuşuna yönelik kantitatif çalışmalarda (spektrofotometrik, kromatokolorimetrik, yüksek basınçlı sıvı kromatografisi gibi) elde edilmiş olan değerler yer almaktadır. Tablo 2 de ise (Sayfa 14), izolasyon çalışmaları sırasında elde edilen total alkaloid ile galanthamine ve lycorine miktarlarına yer verilmiştir.

Galanthus türleri dışında, Amaryllidaceae familyasının başka genuslarına ait türlerde yapılmış galanthamine ve lycorine miktar tayini çalışmaları da mevcuttur (9, 22, 42, 77, 82, 95, 97, 124, 146, 186, 202, 218, 219, 232, 233, 234, 242, 244, 249, 269, 282, 284). Bunlar dışında çeşitli preparat, tablet, safra, idrar, serum ve plazma üzerinde gerçekleştirilen galanthamine ve lycorine miktar tayini çalışmaları da bulunmuştur (54, 140, 143, 150, 247, 268, 270, 285, 290).

Galanthus türleri üzerinde tabloda yer verdiğimiz çalışmalar dışında farklı alkaloidler için yapılmış miktar tayini çalışmalarına da rastlanmıştır (55, 142, 272, 273, 288).

Bunlar dışında *Galanthus* genusu bitkilerinde son yıllarda superkritik sıvılarla ekstraksiyon ve HPLC gibi çeşitli yöntemlerle yapılmış fenolik asit ekstraksiyon ve miktar tayini çalışmaları da vardır (70, 255, 259).

3. ALKALOİTLERİN TEŞHİSLERİ İÇİN ARAŞTIRMALAR

Galanthus türlerinin alkaloidleri üzerinde fitokimyasal açıdan yapılan bir diğer grup çalışma, bu türlere ait çeşitli alkaloidlerin kromatografik olarak veya renk reaksiyonları ile belirlenmelerine yönelik araştırmalardır (96, 272, 273, 288)

4. ALKALOİT ÜRETİMİNE AİT ARAŞTIRMALAR

Tarafımızdan incelenen kaynaklarda tespit ettiğimiz diğer bir grup çalışma da, galanthamine'nin farklı *Galanthus* türlerinden üretimine ait araştırmalardır (14, 52, 197) Ayrıca *Galanthus* türlerinin morfolojik ve fizyolojik özelliklerinin, bitkinin kışa dayanıklı olmasının, alkaloidlerinin ve ayrıca galanthamine'nin tıbbi etki mekanizmasının tartışıldığı bir derleme türü yayın (217) ile galanthamine'nin farklı bitkisel kaynaklar ve ayrıca farklı *Galanthus* türlerinde bulunuşlarını inceleyen bir başka derleme türü yayın da (51) mevcuttur.

Bitki adı (#) (Belirtilmiş ise toplanma yılı, yeri)	Bitkinin çalışılan kısmı	Miktar Tayini Yöntemi	Total Alkaloit Miktarı	Galanthamine	Lycorine	Literatür No		
<i>G. nivalis</i> L. subsp. <i>angustifolius</i> (G. Koss) Arjushenko	Yaprak Soğan Yaprak Soğan	Kromato kolorimetrik	- - % 0.7 % 0.86	% 0.05 % 0.73 - -	- - - -	96 144		
<i>G. ehwesii</i> Hook var. <i>ehwesii</i> (1978)	Soğan ve kök Soğan dış yaprakları	HPLC	-	% 0.090	% 0.063 % 0.0007	288		
<i>G. ehwesii</i> Hook var. <i>ehwesii</i> (1979)	Soğan ve kök Soğan		-	% 0.386 % 0.2565	% 0.005 % 0.0020			
<i>G. byzantinus</i>	Yapraklar Soğan ve kök		-	*	% 0.003 % 0.217			
<i>G. ikariae</i> ssp. <i>latiafolius</i> Stern	Soğan ve kök		-	% 0.05	% 0.75			
<i>G. nivalis</i> L. ssp. <i>nivalis</i>	Soğan (çiçeklerin tomurcuk döneminde) Soğan (çiçekli dönemde) Soğan (yaprak sürmeden önceki dönemde) Tepal yaprakları		-	*	% 0.095 * * % 0.0235			
<i>G. nivalis</i>	Soğan		-	% 0.0122	% 0.0075			
<i>G. ehwesii</i> Hook.	Soğan		HPLC	-	% 0.1		50	
<i>G. ikariae</i> Baker	Soğan		HPLC	-	-		% 0.011 % 0.043	188
<i>G. ehwesii</i> Hook. (1995, Akdağ, İzmir)	Çiçekli Topraküstü Çiçekli Toprakaltı Meyvalı Topraküstü Meyvalı Toprakaltı		Titrimetrik (total alkaloit) ve spektrofotometrik (galanthamine ve lycorine)	% 0.185 % 0.284 % 0.109 % 0.125	% 0.026 % 0.008 % 0.013 % 0.007		% 0.013 % 0.007 % 0.011 % 0.004	74
<i>G. gracilis</i> Çelak. (2000, Nif dağı, İzmir)	Çiçekli Topraküstü Çiçekli Toprakaltı Meyvalı Topraküstü Meyvalı Toprakaltı		Titrimetrik (total alkaloit) ve spektrofotometrik (galanthamine ve lycorine)	% 0.157 % 0.086 % 0.060 % 0.044	*		* 0.0006 * 0.0003	84
<i>G. gracilis</i> Çelak. (2000, Nif dağı, İzmir)	Çiçekli Topraküstü Çiçekli Toprakaltı Meyvalı Topraküstü Meyvalı Toprakaltı	HPLC	- - - -	*	* 0.0019 * 0.0009	84		
<i>G. ehwesii</i> Hook. (2000, Yamanlar dağı, İzmir)	Çiçekli Topraküstü Çiçekli Toprakaltı Meyvalı Topraküstü Meyvalı Toprakaltı	Titrimetrik (total alkaloit) spektrofotometrik ve HPLC (galanthamine ve lycorine)	% 0.661 % 0.120 % 0.166 % 0.111	*	* * * *	61		

* İlgili alkaloidin bulunmadığı tespit edilmiş çalışmalar ; # Bitki isimleri ilgili literatürde belirtildiği şekli ile aynen alınmıştır.

Tablo 1. Muhtelif *Galanthus* Türleri Üzerinde Yapılmış Olan Kantitatif Çalışmalarda Elde Edilen Total Alkaloit, Galanthamine ve Lycorine Miktarları

Bitki adı (#) (Belirtilmiş ise toplanma yılı, yeri)	Bitkinin çalışılan kısmı	Total Alkaloit Miktarı	Galanthamine (=Nivaline)	Lycorine	Literatür No
<i>G. woronowi</i>	Soğan Yaprak	%1.03 %0.60	-	-	11
<i>G. Woronowi</i>	Soğan (kuru ağırlık 25 kg)		12.8 g % 0.051 (kuru ağırlık üzerinden)	-	203
<i>G. nivalis</i> L.	Soğan	%0.09	-	% 0.1-0.2	35
<i>G. Elwesii</i> Hook.	Soğan	%0.14	% 39 (total alkaloit üzerinden)	% 21 (total alkaloit üzerinden)	36
<i>G. Woronovi</i>	Soğan (kuru ağırlık 1.5 kg)	-	-	6 g % 0.4 (kuru ağırlık üzerinden)	206
<i>G. nivalis</i>	Soğan	-	% 0.0007	% 0.018	39
<i>G. elwesii</i> Hook. f.	Soğan	% 0.09	% 29 (total alkaloit üzerinden)	% 37 (total alkaloit üzerinden)	33
<i>G. nivalis</i> var. <i>gracilis</i>	Topraktüstü	% 0.22 -1.36	-	-	40
<i>G. krasnovii</i>	Soğan	-	% 0.57	-	13
<i>G. krasnovii</i>	Soğan	-	% 0.5	-	15
<i>G. nivalis</i>	Toprakaltı Topraktüstü Total bitki örneği	% 1.65 % 1.27 % 0.95	- - -	- - -	155
<i>G. caucasicus</i> (Bak.) Grossh.	Total bitki örneği	% 1.01 17.3 g	- 0.4 g	- 4.5 g	257
<i>G. nivalis</i> L.	Topraktüstü Toprakaltı	% 0.41 -	% 0.058 % 0.059	% 0.016 % 0.023	131

Bitki isimleri ilgili literatürde belirtildiği şekli ile aynen alınmıştır.

Tablo 2. Muhtelif *Galanthus* Türleri Üzerinde Yapılmış Olan İzolasyon Çalışmaları Sırasında Elde Edilen Total Alkaloit, Galanthamine ve Lycorine Miktarları

C. BİYOLOJİK AKTİVİTE EŞLİĞİNDE İZOLASYON VE YAPI AYDINLATMA ÇALIŞMALARI

Amaryllidaceae alkaloidleri, adından da anlaşılacağı gibi, bu familyaya özel alkaloidlerdir. Ülkemizde sekiz genusu ve bu genuslara dahil yaklaşık otuz türü bulunan (37, 38) Amaryllidaceae familyası dünyada seksenbeş genus ve yine yaklaşık binyüz tür ile temsil edilmektedir (279). Bu familyaya ait çeşitli türlerde ikiyüz civarında Amaryllidaceae alkaloidi saptanmıştır (116).

Biyogenetik olarak norbelladine'nin fenolik bağlarla çeşitli şekillerde bağlanması sonucu oluşan Amaryllidaceae alkaloidleri (57) bu familya için özgün olmaları, biyojenezleri ve biyolojik aktiviteleri ile dikkat çekicidirler. Bu alkaloidler hakkında derleme şeklinde yapılmış ve ikincil kaynak değeri taşıyan birçok yayın vardır. Örneğin "The Alkaloids, Chemistry and Pharmacology" adı altında yayınlanmakta olan bir seri kitabın 2. (56), 6. (278), 11. (277), 15. (90), 30. (177) ve 51. (116) ciltlerinde, Amaryllidaceae alkaloidleri hakkında derlemeler bulunmaktadır. Söz konusu derlemelerden 1998 yılında yayınlanmış olan 51. ciltte (116), Amaryllidaceae alkaloidleri yedi ana başlık altında gruplandırılmaktadırlar.

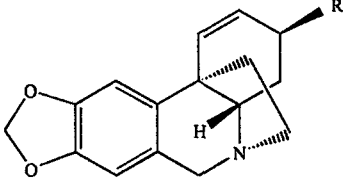
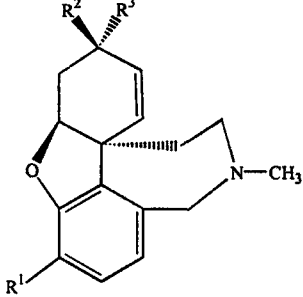
- 1) Lycorine tip alkaloidler
- 2) Crinine tip alkaloidler
- 3) Narciclasine tip alkaloidler
- 4) Galanthamine tip alkaloidler
- 5) Tazettine tip alkaloidler
- 6) Lycorenine tip alkaloidler

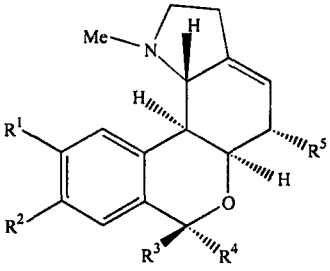
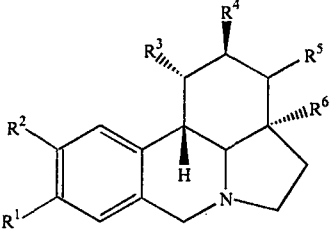
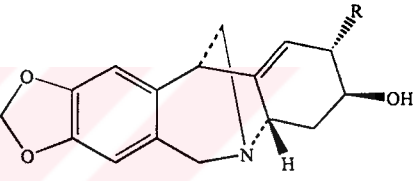
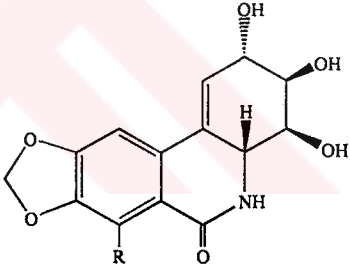
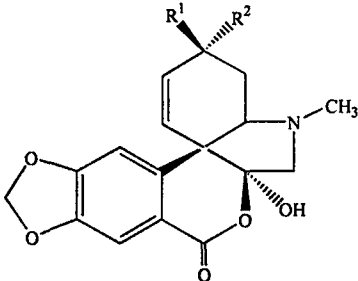
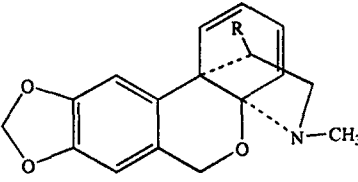
7) Montanine tip alkaloidler

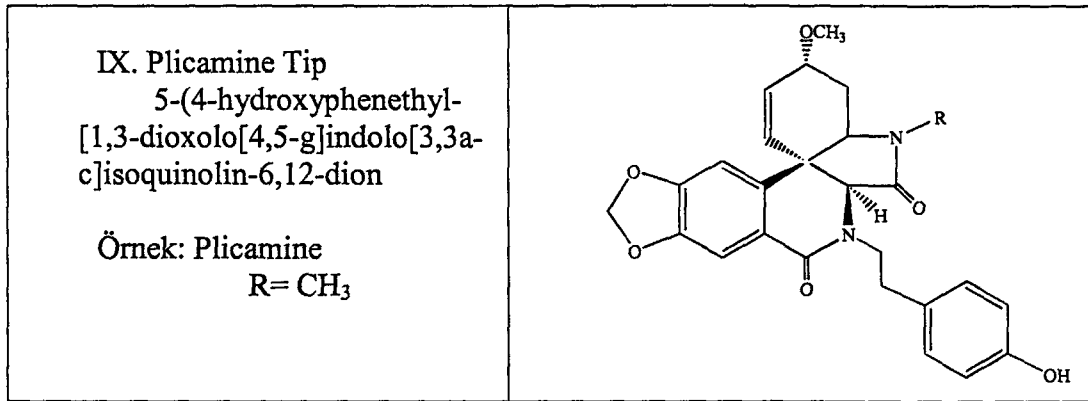
Bu kaynakta, sözkonusu yedi alt grup dışında, *Sceletium* (Aizoaceae) alkaloidlerinden olan ve bazı Amaryllidaceae familyası bitkilerinde bulunmuş olan mesembrine tip alkaloidler de farklı bir grup olarak yer almaktadır. Amaryllidaceae ve *Sceletium* alkaloidlerinin ortak biyojenetik öncül bileşiğe sahip olmalarına karşın, biyosentezlerinin temelini farklı olduğuna ilişkin literatür de, yine bu kaynakta vurgulanmaktadır. Ayrıca yine aynı kaynakta, "Diğerleri" adı altında pallidiflorine, obesine, augustamine, phenanthridine, 4-aryltetrahydroisoquinoline ve joubertamine adındaki alkaloidler de konu edilmektedir.

Son yıllarda Amaryllidaceae alkaloidlerine iki yeni alkaloid alt grubu daha ilave edilmiştir. Plicamine ve graciline olarak isimlendirilen bu alt gruba ait muhtelif alkaloidler, *Galanthus* türlerinden izole edilmişlerdir (190, 260, 262).

Söz konusu olan toplam dokuz alt gruba ait temel halka yapıları ve *Galanthus* türlerinde bulunan örnekleri Tablo 3 de gösterilmektedir.

<p>I. Crinine Tip (5,10b-Ethanophenanthridine)</p> <p>Örnek: Vittatine R= OH</p>	
<p>II. Galanthamine Tip (Dibenzofurane)</p> <p>Örnek: Galanthamine R¹= H R²= H R³= OH</p>	

<p>III. Lycorenine Tip (2-Benzopyrano[3,4g]indole)</p> <p>Örnek: Hippeastrine $R^1 = R^2 = H$ $R^3 = R^4 = O$ $R^5 = OH$</p>	
<p>IV. Lycorine Tip (4,5- Ethanophenanthridine)</p> <p>Örnek: Lycorine $R^1 = R^2 = OCH_2O$ $R^3 = R^4 = OH$ $R^5 = R^6 = \text{çifte bağ}$</p>	
<p>V. Montanine Tip (Methanomorphanthridine)</p> <p>Örnek: Montanine $R = OCH_3$</p>	
<p>VI. Narciclasine Tip (Phenanthridone)</p> <p>Örnek: Narciclasine $R = OH$</p>	
<p>VII. Tazettine Tip (2- Benzopyrano[3,4c]indole)</p> <p>Örnek: Tazettine $R^1 = OCH_3$ $R^2 = H$</p>	
<p>VIII. Graciline Tip (10b,4a-ethanoiminodibenzo[3,4-d]pyrane) (2-benzopyrano[3,4-d]indole)</p> <p>Örnek: Graciline $R = H$</p>	



Tablo 3. Amaryllidaceae Alkaloitlerinin Dokuz Ana Alt Grubu

Amaryllidaceae alkaloitleri konusunda değerli bir diğer literatür derleme serisi de onüç cilt halinde yayınlanmış olan "The Alkaloids Specialist Periodical Reports" ile başlayıp, 1984 yılından bu yana ise "Natural Product Reports" ismi ile devam eden periyodik seridir (100-103, 125, 156-167).

Ayrıca bu alkaloitlerin biyogenezlerini (57, 63) ve farmakolojik aktivitelerini (29, 57, 92, 201, 235) konu alan ikincil kaynak değerindeki diğer derleme türü yayınlar da mevcuttur.

Galanthus genusu bitkileri özellikle alkaloit içerikleri açısından pek çok araştırmaya konu olmuştur. *Galanthus* türlerini fitokimyasal açıdan inceleyen ve bu tür üzerine yapılmış ilk yayın olması dolayısıyla dikkat çeken bir araştırma, 1940 yılında Areshkina tarafından yapılmıştır. Bu yayında *G. woronowii* türü üzerinde total alkaloit miktar tayini çalışması yapılmış, bitkinin toprakaltında % 1.03, topraküstünde ise % 0.60 oranında alkaloit olduğu saptanmıştır. Aynı yayında, bitkide yüksek oranda şeker, nişasta ve hemiselüloz bulunduğu da belirtilmektedir (11).

Galanthus genusu üzerinde ilk izolasyon çalışması, 1947 de Proskurnina ve Areshkina tarafından yapılmıştır. *G. woronowii*'nin kurutulmuş ve toz edilmiş soğanları

üzerinde gerçekleştirilen bu çalışmada, galanthine ve galanthidine isimli iki yeni alkaloid izole edildiği bildirilmiştir. Bu alkaloidlerden galanthidine, bugün lycorine adı ile bilinmektedir (229).

İkincil kaynak değeri taşıyan "The Alkaloids Chemistry and Pharmacology" adlı seri kitapta Amaryllidaceae alkaloidleri, belirli aralıklarla ve farklı kişiler tarafından derlenmişlerdir. Adı geçen kaynakta *Galanthus* türlerinin yer aldığı çalışmalar genel olarak incelenmiş ve bir tablo halinde (Tablo 4) 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 (141). Ancak Wildman'ın 1960 yılında yayınlanan derlemesinde, *G. woronowii* doğru şekilde yazılmış, ancak otör adı olarak Losinsk kullanılmıştır (278). Wildman'ın 1968 yılında ve Fuganti'nin 1975 yılında yayınladığı derlemelerde ise *G. woronovii* Losinsk. olarak belirtilmiştir (90, 277). Wildman'ın bu ikinci derlemesinde, makalenin aslını görmediği, sadece abstraktından yararlandığı anlaşılmaktadır. Bu abstrakta bitki adı doğru olarak yazılmış, ancak otör adı ise belirtilmemiştir. O halde Wildman, otör ismini ilave etmiş, ayrıca bitkinin isminde bir harf hatası yapmıştır.

Bu araştırmada sözkonusu tür, *G. woronowii* A. Los. olarak yer almaktadır.

2) Wildman'ın 1960 yılında yayınlanan derlemesinde (278), *G. nivalis* L. adlı türde varlığı belirtilen nivaline, galanthamine adlı alkaloidin sinonimidir.

3) Wildman'ın 1968 yılında yayınlanan derlemesinde (277), *G. nivalis* L. isimli bir *Galanthus* türüne yer verilmiştir. Bu isim abstrakta olduğu gibi alınmıştır.

TC YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DÜŞÜNMEKTAŞI ENSTİTÜSÜ

4) Aynı derlemede (277), *G. nivalis* L. bitkisinde varlığı belirtilen haemanthidine alkaloidinin adı yanlış olarak yazılmış, primer literatür (34) incelendiğinde doğrusunun haemanthamine olması gerektiği saptanmıştır.

5) Yine Wildman'ın 1968 yılında yayınladığı derlemede (277), *G. woronowii* bitkisinde galanthamine, galanthine ve tazettine adlı alkaloidlerin buldukları belirtilmiş ve Yakovleva'nın 1963 yılında yayınlamış olduğu bir makale (283) kaynak olarak gösterilmiştir. Bu makale tarafımızdan incelenmiş ve araştırmada sadece galanthine ve tazettine adlı alkaloidlerin konu edildiği görülmüştür (283). Buna karşılık lycorine ve galanthamine'in, aynı araştırmacının daha önce 1952 yılında Proskurnina ile birlikte yaptıkları bir yayında (203) konu edildiği görülmektedir. Wildman'ın konu ettiği yayın (283), aslında 1952 deki araştırmanın devamı niteliğindedir. Wildman'ın bu iki yayının sonuçlarını, daha sonraki yayında birleştirdiği görülmektedir.

6) Fuganti'nin 1975 yılında yayınladığı derlemede *G. caucasicus* Baker türünden bahsedilmektedir (90). Ancak yazarın yararlandığını belirttiği her üç abstrakta da otör adı belirtilmemiştir. "Flora URSS" e göre bu ismin doğrusu *Galanthus caucasicus* (Baker) Grossh. olmalıdır (141). Ayrıca yazar bu bitki için *G. nivalis* h. şeklinde bir sinonimden bahsetmektedir. Bu bilginin nereden kaynaklandığı hususu tarafımızdan değerlendirilememiştir. "Flora URSS" de bu bitki için sinonim olarak *G. nivalis* var. *caucasicus* Baker adı bildirilmektedir.

7) Aynı derlemede (90) *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 (38) .

8) Yine bu derlemede (90), yazarın primer kaynağa (13) dayanarak *G. krasnovii* Khokhr. türünde lycorine varlığının saptandığı rapor ettiği görülmektedir. Bu primer

kaynak tarafımızdan görülmemiştir. Ancak bu kaynağın "Chemical Abstracts" da yer alan özetinde lycorine adı hiç geçmemekte, buna karşın galanthamine'den bahsedilmektedir. Durumun primer literatür bulunup incelenmesiyle aydınlığa kavuşturulması uygun olacaktır.

9) 1987 yılında Martin tarafından yapılan derlemede, *Galanthus* türlerindeki galanthamine varlığı, bazı Amaryllidaceae bitkilerinde galanthamine içeriği ile ilgili olarak yapılmış muhtelif çalışmalardan yararlanmak suretiyle rapor edilmiştir (177). Derlemeyi yapan yazarın incelediği primer kaynaklarda (50, 51, 96, 144) özetle *G. woronowii*, *G. nivalis*, *G. nivalis* subsp. *angustifolius*, *G. elwesii* ve *G. nivalis* var. *gracilis* adlı bitki isimlerine rastlanırken, derlemede galanthamine kaynağı olarak *G. woronowii*, *G. nivalis* (*angustifolius*), *G. elwesii*, *G. nivalis* var. *gracilis* türlerine yer verilmektedir.

10) 1998 yılında Hoshino tarafından yayınlanan derlemede (116), *Galanthus elwesii*'de bulunan alkaloitler arasında bulunan ve primer literatürde de (153) 9-O-demethylgalwesine olarak belirtilen alkaloit hatalı olarak 9-O-demethylgalwesine şeklinde yazılmıştır.

Bitki adı*	Alkaloit Adı	Literatür No
<i>G. caucasicus</i> Baker (<i>G. nivalis</i> h.)	Base mp 214 °	90
	Demethylhomolycorine	90
	Galanthamine	90
	Galanthine	90
	Galanthusine	90
	Lycorine	90
	Tazettine	90
<i>G. elwesii</i> Hook. f. (<i>G. elwesii</i>)	<i>N</i> -Demethylgalanthamine	116
	9- <i>O</i> -Demethylgalwasine	116
	9- <i>O</i> -Demethylhomolycorine	116
	Elwesine	277
	Flexinine	277
	Galanthamine	116, 177, 277, 278
	Galanthine	116
	Galasine	116

	Galwesine	116
	Haemanthidine	278
	16-Hydroxy-9-O-demethylgalwesine	116
	16-Hydroxygalwesine	116
	11-Hydroxyvittatine	116
	Leucotamine	116
	Lycorine	116, 277, 278
	5-Methoxy-9-O-demethylhomolycorine	116
	Narwedine	116
	Sanguinine	116
	Tazettine	277, 278
<i>G. krasnovii</i> Khokhr.	Lycorine	90
	Criwelline	277
	Galanthamine	90, 277
	Haemanthamine	277
	Hippeastrine	90, 277
	Lycorine	90, 277, 278
	Magnarcine	277
	Masosine	277
	Nartazine	277
	Narwedine	90, 277
	Nivalidine	90
	Nivaline	278
	Tazettine	90, 277, 278
<i>G. nivalis (angustifolius)</i>	Galanthamine	177
<i>G. nivalis</i> var. <i>gracilis</i> L. (<i>G. nivalis</i> var. <i>gracilis</i>)	Galanthamine	177, 277
<i>G. woronowii</i> Losinsk (<i>G. woronowii</i>) (<i>G. woronovii</i> Losinsk.)	Total alkaloit	56
	Galanthamidine	278
	Galanthamine	90, 177, 277, 278
	Galanthidine	90
	Galanthine	90, 277, 278
	Lycorine	278
	Tazettine	277

*Bitki isimleri literatürde belirtildiği şekli ile aynen alınmıştır

Tablo 4. "The Alkaloids"e Göre Alkaloitleri Açısından Araştırılmış *Galanthus* Türleri ve Bunlarda Varlığı Saptanmış Amaryllidaceae Alkaloitleri.

Yine değerli bir ikincil kaynak olan "Dictionary of Alkaloids" adlı kitap kaynaktan (228) yararlanmak suretiyle, alkaloit içeriği araştırılmış *Galanthus* türleri ve bu türlerden izole edilen alkaloitleri gösteren bir tablo hazırlanmıştır (Tablo 5). Bu kaynakta *G. woronowii* bitkisine ait bilgiler, iki farklı ve her ikisi de hatalı olan isim

altında verilmiştir. Ancak aşağıda sunulan tabloda isimler, kaynaktaki yazılışlarına sadık kalınarak aynen muhafaza edilmişlerdir.

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

Tablo 5. "Dictionary of Alkaloids" Adlı Kaynağa Göre Alkaloitleri Açısından Araştırılmış *Galanthus* Türleri ve Bunlarda Varlığı Saptanmış Olan Amaryllidaceae Alkaloitleri

Bu konuda bir başka tablo da (Tablo 6), "Chemical Abstracts" taramaları sonucunda elde edilen abstraktlar ve bunlardan hareketle ulaşılabilen primer kaynaklara dayanılarak hazırlanmıştır. Bu tabloda izolasyon ve yapı aydınlatma açısından incelenen *Galanthus* türleri, bu türlerden elde edilen alkaloitler ve bu alkaloitlerin dahil olduğu alt gruplar belirtilmiştir.

Alkaloid Grubu	ALKALOİDİN ADI	BİTKİNİN ADI											
		G. caucasicus (Baker)Grosch.	G. elwesii Hooker fil.	G. gracilis Çelak.	G. ikariae Baker	G. krasnovii A.Khokr.	G. nivalis L.	G. plicatus Bieb.	G. woronowii A.Los				
Cinnine	Dihydrovitatine		288										
	Elwesine (Dihydrocinnidine)		33										
	Flexinine		33										
	Haemanthamine		36				34						
	Haemanthidine		288										
	11-Hydroxyvitatine		153										
	N-Demethylgalanthamine		153										
Galanthamine	Galanthamine	253,257	33,36		288	13,15	34,39,42,96			203			
	(Nivaline)		153,288				129,130,131,155			258			
	Leucotamine		153										
	O-Methylleucotamine		153										
	Narwedine		153				34,131						
	Nivalidine							41,42,44,131					
	(6-O-Methylapogalanthamine)												
Graciline	Sanguinine		153										
	11-Acetoxygraciline									190			
	Digracine							190					
	3,4-Dihydro-3-hydroxygraciline							190					
	3-Epi-3,4-dihydro-3-hydroxygraciline							262					
	Graciline							190					
	Plicamine									260			
Plicamine	Secoplicamine									260			
	Plicane									262			

Tablo 6. Birincil Kaynaklara Göre Alkaloid İçeriği Araştırılmış *Galanthus* Türleri ve Bunlarda Vardığı Saptanan Amaryllidaceae Alkaloidleri

Alkaloit Grubu	ALKALOİDİN ADI	BİTKİNİN ADI											
		<i>G. caucasicus</i> (Baker)Grossh.	<i>G. ewesii</i> Hooker fil.	<i>G. gracilis</i> Celak.	<i>G. ikariae</i> Baker	<i>G. krasnovii</i> A.Khokr.	<i>G. nivalis</i> L.	<i>G. plicatus</i> Bieb.	<i>G. woronowii</i> A.Los.				
Lycorine	9-O -Demethylgalwesine		153										
	Demethylhomolycorine	256											
	9-O -Demethylhomolycorine		153,154										
	Galasine		153										
	Galwesine		153										
	Hippeastrine						34,43,130,131						
	16-Hydroxy-9-O -demethylgalwesine		153										
	16-Hydroxygalwesine		153										
	Masonine						34						
	5-Methoxy-9-O -demethylhomolycorine		153										
Lycorine	Galanthine	253,257	153		288							203,206,207,258,283	
	Lycorine	253,257	33,36		288					34,35,39,42,129		203,206,207,258	
	(Galanthidine)		153,288							130,131,155			
	Narzazine									34			
Narciclasine	Lycoricidine (Margettine)		200							200			
	Narciclacine		200							200			
Tazettine	Crivelline									34			
	Tazettine		33,36,288							34,35,39,55,130,131,155	7,171	283	
	Isotazettinol	253,257											
	3-O -(3-hydroxybutyryl)tazettinol			261								262	
	3- Epimacronine											7,171	
	3-O -Demethylmacronine											261	
Diğer	3-O -Demethyl-3-epimacronine											261	
	3-O -Demethylcrivelline											171	
Diğer	Ismine											7	
	N -Formylismine											262	
	Trisphaeridine											261,267	
	(E)-N -Feruloyltyramine		153										
	Galanthusine	251,286											
Hordenine		153											

Tablo 6 nın Devamı. Birincil Kaynaklara Göre Alkaloit İçerdiği Araştırılmış *Galanthus* Türleri ve Bunlarda Varlığı Saptanan Amaryllidaceae Alkaloitleri

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

Türlerin İsimleri	Alt Türler ve Sinonim İsimler
<i>G. caucasicus</i> (Baker) Grossh.	<i>G. caucasicus</i> <i>G. caucasicus</i> (Bak.) Grossh.
<i>G. elwesii</i> Hooker fil.	<i>G. elwesii</i> Hook. var <i>elwesii</i> <i>G. elwesii</i> Hook.f <i>G. elwesii</i> Hook.
<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. 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.s 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> A.Los.	<i>G. woronowii</i> <i>G. woronowi</i> <i>G. woronovi</i>

Tablo 7. Tablo 6 da Adı Geçen *Galanthus* Türlerinin, Alt Tür ve Sinonimleri

Ayrıca, Tablo 7 de *Galanthus ikariae* Baker adı altında incelenen *Galanthus ikariae* ssp. *latifolius* Stern, "Flora of Turkey and the East Aegean Islands" adlı kaynakta *Galanthus platyphyllus* Traub & Moldenke bitkisinin sinonimi olarak gösterilmektedir (38).

Tabloda yer verilen demethylhomolycorine'in 9- veya 10-O-demethyl homolycorine olduğu birincil kaynakta belirtilmediği için ayrıca bildirilmiştir.

Çeşitli *Galanthus* türlerinden izole edilmiş, R_f değerleri veya bazı fiziksel ya da spektral özellikleri belirlendiği halde yapıları kesinlikle aydınlatılamamış bazı alkaloitleri rapor eden araştırmalar da vardır (13, 34, 40, 129, 131, 155, 203, 206, 252, 257, 258, 272, 273, 288, 289).

Bunlara ilaveten, izole edildikleri çalışmalarda yapıları belirlenememiş alkaloitler için, daha sonra yapılarının aydınlatılması için gerçekleştirilmiş olan çeşitli çalışmalara da rastlanmıştır (139, 204, 205).

Galanthus türleri, alkaloitleri dışında, karbonhidratları (109, 196), flavonoidleri (114, 254, 255), yağ asitleri (148) ve pigmentleri (243) yönünden de araştırılmışlardır. *Galanthus* türleri üzerinde 1980 yılından itibaren çeşitli doku kültürü çalışmaları yapılmıştır (94, 187, 218). Ayrıca son yıllarda *Galanthus* türlerinin lektinleri üzerine çok sayıda araştırmanın yapılması da, bu konunun önemine dikkat çekmektedir (69, 72, 73, 83, 85-88, 93, 113, 128, 151, 173, 211, 223, 245, 263-265, 280).

GEREÇ VE YÖNTEMLER

I. BOTANİK ARAŞTIRMALAR

A. MATERYAL

Mikroskobik incelemelerde kullanılacak materyali oluşturmak için gereken *Galanthus nivalis* L. subsp. *cilicicus* (Baker) Gottlieb-Tannenhain bitkisi örnekleri, 7.3.1999 ve 24.3.1999 tarihlerinde bitkiler çiçekli durumdayken, ve 7.5.1999 tarihinde bitki meyvalı halde iken Çanakkale ilinin Bayramiç ilçesinin Kuşçayırı Köyü, Çolapbaşı ve Küllügedik mevkiinden toplanmıştır. Bitkisinin doğadaki görünüşüne ait bir resime, bitki hakkında bir fikir verici olması amacıyla, aşağıda yer verilmiştir (Resim 1).

Çalışmamıza konu olan bitkinin herbaryum örnekleri, Ege Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi Anabilim Dalı Herbaryum'unda 1233, 1234 ve 1240 numaraları altında saklı tutulmaktadır. Resim 2 ve Resim 3 de herbaryum örneklerine ait fotoğraflar görülmektedir.



Resim 1. *G. nivalis* L. subsp. *cilicicus* (Baker) Gottlieb-Tannenhain Bitkisinin Doğadaki Görünüşü

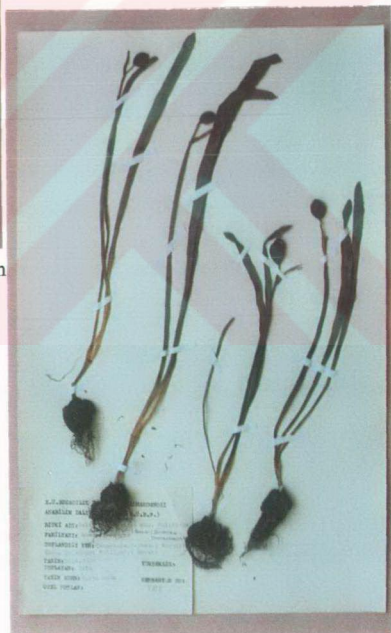
Bitkilerin aynı yerlerde yetişen çeşitli fertlerinden kök, soğan, gövde, yaprak, çiçek ile meyva ve tohumlara ait çeşitli örnekleri içeren alkol materyali, 70° lik etanol kullanılarak hazırlanmıştır.

Bitki materyali öncelikle topraküstü ve toprakaltı kısımları olmak üzere birbirinden ayrılmıştır. Her iki grup da temizlendikten sonra ufak parçalara bölünerek açık havada, gölgede ve oda sıcaklığında kurutularak drog örnekleri hazırlanmıştır.



Resim 2. *G. nivalis* subsp. *cilicicus* Bitkisinin

Çiçekli Herbarium Örneği



Resim 3. *G. nivalis* subsp. *cilicicus*

Bitkisinin Meyvalı Herbarium

Örneği

Temizleme işlemi, gözle görülebilen bütün organik ve anorganik yabancı maddeler yanısıra, bitkiye ait olan kurumuş, lekelenmiş veya bozulmuş bütün kısımların elle ayıklanması suretiyle gerçekleştirilmiştir.

Bitkinin farklı vejetasyon dönemlerinde toplanarak kurutulmuş toprakaltı ve topraküstü kısımlarına değişik kodlar verilmiştir. 7.3.1999 ve 24.3.1999 tarihinde toplanmış olan çiçekli haldeki bitkiden hazırlanan Herba Galanthi örneklerine I_{CH}, yine bu tarihte toplanmış olan bitkiden hazırlanan Bulbus Galanthi örneklerine I_{CB} kodları verilmiştir. 7.5.1999 tarihinde toplanan meyvalı haldeki bitkiden hazırlanan Herba Galanthi örneklerine I_{MH}, yine bu tarihte toplanmış olan bitkiden hazırlanmış olan Bulbus Galanthi örneklerine ise I_{MB} kodları verilmiştir.

B. DENEYLER

Toz materyalin mikroskopik olarak incelenmesi için gerekli olan çalışma materyeli, safsızlıklarından kurtarılan bitki örneklerinden alınan bir miktar bitkisel materyalin, bir tunç havanda mekanik olarak orta incelikte toz haline getirilmesi suretiyle hazırlanmıştır.

Anatomik çalışmalarda, yukarıda bahsedilen alkol materyalinden yararlanılmıştır. Alkol materyalinde bulunan ve bitkinin kök, soğan, gövde, yaprak, çiçek ile meyva ve tohumlarına ait çeşitli örneklerden enine kesitler alınmıştır. Bu kesitler Sartur ve Kloralhidrat reaktifleri (60) içinde hazırlanan mikroskopik inceleme preparatları halinde, Carl Zeiss Jena marka araştırma mikroskopunda, anatomik yapılar açısından karşılaştırmalı olarak incelenmiştir.

Bu incelemeler sırasında, bitkilerin kök, soğan gövde, yaprak, çiçek ile meyva ve tohumlarına ait sabit ve karakteristik özellikler, Carl Zeiss Jena mikrofotografi cihazı kullanılarak saptanmıştır.

II. KALİTE KONTROL VE MİKTAR TAYİNİ ARAŞTIRMALARI

A. MATERYAL

Kalite kontrol çalışmaları için gerekli çalışma materyalini oluşturduğumuz *Galanthus nivalis* L. subsp. *cilicicus* (Baker) Gottlieb-Tannenhain bitkisi, vejetasyonunun iki farklı devresine ait örnekleri de içerebilecek şekilde 7.3.1999 ve 24.3.1999 tarihlerinde bitki çiçekli halde iken, 7.5.1999 tarihinde ise bitki meyvalı halde iken, Çanakkale ilinin Bayramiç ilçesinin Kuşçayırı köyü, Çolapbaşı ve Küllügedik mevkilerinden toprakaltı ve topraküstü kısımları halinde toplanmıştır. Bitkinin genel bir görünüşü Resim 1 de (Sayfa 29) yer almaktadır.

Toplama sırasında herbaryum örnekleri de hazırlanmıştır (Resim 2 ve Resim 3, Sayfa 30). Herbaryum örnekleri Prof. Dr. M. Ali ÖNÜR tarafından tayin edilmiş olup, Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı Herbaryumunda 1233, 1234 ile 1240 numaraları altında saklanmaktadır.

Bulbus *Galanthi* örneklerini hazırlanmak için taze bitkinin topraküstü kısımlarından dikkatle ayrılan toprak altı kısımları, gözle görülebilen organik veya anorganik bütün yabancı maddelerden ayıklanarak temizlendikten sonra, doğranarak orta irilikte parçalar haline getirilip, açık havada, gölgede ve oda ısısında kurutulmuştur. Bitki çiçekli halde iken oluşturulan Bulbus *Galanthi* örneğine I_{CB}, meyvalı haldeyken oluşturulan örneğe ise I_{MB} kodları verilmiştir.

Herba Galanthi örneklerini hazırlamak için ise, taze bitkinin toprak altı kısımlarından dikkatle ayrılan topraküstü kısımları, ayıklanıp temizlendikten sonra orta incelikte kıyılıp, açık havada, gölgede ve oda ısında kurutulmuştur. Çiçekli haldeki bitkilerden oluşturulan Herba Galanthi örneğine I_{CH}, meyvalı haldeki bitkilerden oluşturulan örneğe ise I_{MH} kodları verilmiştir.

Bunların dışında toprakaltı ve topraküstü kısımları ayrılmadan kesilip, kurutulan çiçekli ve meyvalı döneme ait kısımlar karıştırılarak bir karışım drog örneği de (I_K) hazırlanmıştır.

Kurutulan tüm örnekler, deneylerde kullanılmadan önce Anabilim Dalımızda bulunan Retsch GmbH SK 1 marka elektrikli değirmende ince toz (elek çapı 1mm) haline getirilmiştir.

Araştırmalarımız sırasında İ.T.K., spektrofotometre ve yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ile yaptığımız çalışmalarda kullandığımız galanthamine ve lycorine referans bileşikleri, Anabilim Dalımızda *Galanthus elwesii* Hook. bitkisi üzerinde evvelce yapılmış olan bir araştırmada (153) saf halde elde edilmiş olup, yapıları spektral yöntemlerle (1D ve 2D NMR, UV, IR ve MS) kanıtlanmıştır. Bu bileşikler desikatörde fosfor(V)oksit üzerinde sabit ağırlığa gelinceye kadar kurutulduktan sonra kullanılmıştır. Bu bileşiklerin spektral bulguları Anabilim Dalımızda mevcuttur.

B. YÖNTEMLER

1. NEM MİKTAR TAYİNİ

Deney şartlarında önceden sabit ağırlığa getirilen cam nem miktar kabı içerisine 1 g civarında tam olarak tartılan drog, 100-105⁰ C lık etüvde yaklaşık bir saat süre ile tutulur. Etüvden çıkartıldıktan sonra, desikatörde soğutularak tartılır. Isıtma, soğutma ve tartma işlemlerine, son iki tartım arasında 0.5 mg dan fazla fark olmayacak şekilde sabit vezne gelinceye kadar devam edilir ve buradan droğun yüzde nem miktarı hesaplanır.

2. TOTAL KÜL MİKTAR TAYİNİ

1 g civarında drog, deney şartlarında önceden 600⁰ C lık fırında kızdırılarak sabit ağırlığa getirilmiş olan porselen kröze içerisine tam olarak tartılır. Önce 105⁰ C lık bir etüvde bir saat tutulur. Daha sonra fırın sıcaklığı 600⁰ ± 25⁰ C lık fırına konulur ve drog yaklaşık bir saat süre ile yakılır. Bu süre sonunda kröze desikatöre alınıp soğutulur ve tartılır. Yakma, soğutma ve tartma işlemlerine, külü içeren krözenin ağırlığında son iki tartım arasında 0.5 mg dan fazla fark olmayacak şekilde sabit vezne gelinceye kadar devam edilir. Buradan droğun içerdiği kül miktarı yüzde olarak hesaplanır.

3. SÜLFAT KÜLÜ MİKTAR TAYİNİ

Deney şartlarında önceden sabit ağırlığa getirilen bir porselen kröze içine 1 g civarında drog tam olarak tartılır. Üzerine yaklaşık 1-2 ml % 10 luk sulu sülfürik asit çözeltisinden damla damla konular, önce su banyosunda, sonra tablalı ısıtıcıda ısıtılır. Bu işlemlerden sonra 600⁰ C a kadar ısıtılmış bir yakma fırınında yaklaşık bir saat civarında bir süreyle yakılır. Desikatörde soğutulur. Daha sonra üzerine seyreltik sülfürik asit ve ardından amonyum karbonat çözeltisi ilave edilir ve aynı işlem tekrarlanır. Yakma, soğutma ve tartma işlemlerine, sülfat külü içeren kröze sabit vezne gelinceye kadar devam edilir. Buradan droğun sülfat külü miktarı hesaplanır.

4. DROGLARIN İNCE TABAKA KROMATOĞRAFİSİ (İ.T.K.) İLE SAFLIK VE KALİTE KONTROLÜ

a. Total Alkaloit Ekstresinin Hazırlanışı

100-105⁰ C lık etüvde sabit vezne getirilen drog örnekleri tam olarak tartılır. Bir perkalatörde 24 saat % 96 lık etanol ile masere edilir. Daha sonra yine % 96 lık etanol ile genel alkaloit belirteçleri olan Dragendorff ve Mayer reaktifleri (71) ile reaksiyon vermeyinceye kadar ekstre edilir. Etanollü ekstre alçak basınçta kuruluğa kadar distillendikten sonra, porsiyonlar halinde %1 lik sulu hidroklorik asit içerisinde çözündürülüp süzülür. Bu işleme asitli süzüntü Dragendorff ve Mayer reaktifleri ile reaksiyon vermeyinceye kadar devam edilir. Birleştirilen asitli çözeltiler, küçük porsiyonları halinde petrol eteri (35-60⁰) ile ön ekstraksiyona tabi tutulur (Petrol eteri ile

yapılan ön ekstraksiyon işlemi, teşhis ve izolasyon çalışmalarında yapılmayabilir). Asitli çözeltiler daha sonra % 25 lik amonyum hidroksit ilavesiyle kalevilendirilir ve kloroform ile tüketilir. Sonuncu ekstraksiyondan sonra kloroformlu fazdan bir miktar alınır. Susuz sodyum ile suyundan kurtarılıp, süzülür. Kloroform distillenir. % 1 lik hidroklorik asit içinde çözüldürülen bakiyede, Mayer ve Dragendorff reaktifleri ile alkaloit varlığı kontrol edilir. Alkaloit kalmamış ise, ekstraksiyon işlemi sonlandırılır. Birleştirilen kloroformlu kısımlar, susuz sodyum sülfat ile suyundan kurtarılır. Alçak basınç altında kuruluğa kadar distillenir. Bu şekilde total alkaloit ekstresi elde edilmiş olur.

b. Örnek ve Standart Çözeltilerinin Hazırlanışı

Bitkinin çeşitli kısımlarına ait drog örneklerinden yukarıda anlatıldığı gibi elde edilen total alkaloit ekstralarının kloroform-metanol (8:2) içinde belirli konsantrasyondaki çözeltileri hazırlanır. Standart olarak kullanılacak alkaloitlere ait çözeltiler de, benzer bir şekilde uygun konsantrasyonlarda hazırlanır.

c. Kontrol Çalışmaları

Bitkinin çeşitli kısımlarına ait drog örneklerinden elde edilen total alkaloit ekstraları ile standartlara ait çözeltiler hazır kromatografi plağına uygulanır. Kromatografi plağı ekstre ve standart maddeler için ön deneylerle saptanmış uygun bir çözücü sisteminde sürüklenir. Plak kromatografi tankından çıkartıldıktan sonra, 254 ve

366 nm dalga boylarındaki UV ışık altında değerlendirilir, fotoğrafı çekilir. Daha sonra plağa Dragendorff reaktifi püskürtülerek tekrar incelenir ve yine fotoğrafı çekilir.

5. TOTAL ALKALOİT MİKTAR TAYİNİ

Bitkinin çeşitli kısımlarına ait drog örneklerinden "Drogların İnce Tabaka Kromatografisi (İ.T.K.) ile Saflık ve Kalite Kontrolü" bölümünde anlatıldığı gibi elde edilen total alkaloid ekstraları, üzerlerine belirli miktarda ayarlı sülfürik asit çözeltisi ilave edilip, sıcak su banyosunda ara sıra çalkalanarak çözündürülür. Üzerine birkaç damla metil kırmızısı karışım reaktif çözeltisinden (7I) ilave edilir. Asidin fazlası, yine ayarlı sodyum hidroksit çözeltisi ile titre edilir. Reaktifin rengi kırmızı-viyolede yeşile döndüğü an işleme son verilir. Daha sonra gerekli hesap yapılarak, total alkaloid miktarı tayin edilir.

6. DROĞUN İÇERDİĞİ ÇEŞİTLİ ALKALOİTLER İÇİN YAPILAN MİKTAR TAYİNİ ÇALIŞMALARI

a. Alkaloidler İçin İ.T.K. Yöntemiyle Yapılan Ön Araştırmalar

Bitkinin çeşitli kısımlarına ait drog örneklerinden "Drogların İnce Tabaka Kromatografisi (İ.T.K.) ile Saflık ve Kalite Kontrolü" bölümünde anlatıldığı gibi elde edilen total alkaloid ekstralarının ve standart alkaloidlerin çözeltileri hazırlanır.

Hazırlanan total alkaloid ekstraları çözeltileri, uygun adsorban tabakası kalınlığındaki silika jel kromatografi plağına bant şeklinde tatbik edilir. Bandın

kenarlarına 1 cm mesafede nokta şeklinde standart alkaloit çözeltileri uygulanır. Daha sonra plak önceden saptanmış olan çözücü sisteminde develope edilir.

Plak tanktan çıkartılıp kurutulduktan sonra, 254 ve 366 nm dalga boylarındaki UV ışık altında incelenip, fotoğrafları çekilir. Daha sonra plak üzerindeki standart alkaloit lekesine karşılık gelen bant kazınır. Belirli miktarda kloroform-metanol (8:2) karışımı ile elüe edilir. Organik çözücünün vakum altında kuruluğa kadar distillenmesiyle kalan bakiye metanol içerisinde çözüldürülerek bir balon jodede belirli bir hacme tamamlanır. Daha sonra spektrofotometrede UV spektrumu çekilir. Spektrum, standart maddeye ait spektrum ile karşılaştırılır. Uyumlu bir spektrum elde edilemediği takdirde, alkaloidin tek olarak izole edilemediği düşünülür. Bu durumda deney yeni bir plak kullanılarak tekrar edilir. Gerekirse bu işlem daha fazla sayıda plak üzerinde de uygulanır. Kazınan bantlar birleştirilir. Böylece alkaloidi gözle veya fotoğrafla teşhis etmek daha kolay olur.

Uyumlu bir spektrum elde edildiği takdirde, sözkonusu alkaloidin drogdaki varlığı kanıtlanmış olur. Daha sonra miktar tayini çalışmalarına geçilir.

254 ve 366 nm dalga boylarındaki UV ışık altında inceleme sonucunda bir leke görülemediği ve çekilen spektrum uyumlu çıkmadığı takdirde, aranan alkaloidin incelenen drog örneğinde tespit edilebilir miktarlarda bulunmadığı tayin edilmiş olur.

b. İ.T.K. İle Kombine Edilmiş Spektrometrik Miktar Tayini

(1) Miktarı Tayin Edilecek Alkaloit ile Standart Serinin Hazırlanması ve Ölçü Eğrisinin Çizilmesi

Kurutucu olarak fosfor(V)oksit içeren bir desikatörde, sabit vezne gelinceye kadar tutulan alkaloidin metanol içinde belirli konsantrasyondaki bir çözeltisi

hazırlanır. Bu çözeltilerden, spektrofotometrede okunabilen absorpsiyon değerleri açısından en uygun miktarlar olarak saptanan porsiyonların her biri, uygun adsorban tabaka kalınlığındaki ayrı bir hazır kromatografi plağına, bir Hamilton enjektörü yardımıyla bantlar halinde tatbik edilir. Plaklar, ön araştırmalarda kullanılan çözücü sisteminde yükseltilir. 254 ve 366 nm dalga boylarındaki UV ışık altında alkaloide ait bantların yerleri belirlenip kazınır. Kazınan bantlar, belirli miktarda kloroform-metanol (8:2) karışımı ile elüe edilir. Organik çözücünün kuruluğa kadar distillenmesiyle elde edilen bakiyeler metanol içerisinde çözündürülür ve balon jojelerde metanol ile belirli bir hacme tamamlanır. Aynı şartlarda bir de boş deneme çözeltilisi hazırlanır. Hazırlanan serinin absorpsiyonları, 1 cm kalınlığındaki küvetlerde, UV spektrofotometrede o alkaloitin maksimum absorbans gösterdiği saptanmış olan dalga boyunda, boş deneme çözeltilisine karşı ölçülür. Elde edilen absorbans değerleri yardımıyla bir ölçü eğrisi çizilir.

(2) Drog Üzerinde Alkaloit Miktar Tayini Çalışmasının Uygulanması

Bitkinin çeşitli kısımlarına ait drog örneklerinden "Drogların İnce Tabaka Kromatografisi (İ.T.K.) ile Saflık ve Kalite Kontrolü" bölümünde anlatıldığı gibi elde edilen total alkaloit ekstreleri, kloroform-metanol (8:2) çözücü sistemi içinde çözündürülerek, uygun miktarlara tamamlanır. Bu çözeltilinin uygun konsantrasyonu, 0.5 cm kalınlığındaki preparatif İ.T.K. plağı üzerine, bir bant halinde tatbik edilir. Bandın kenarına standart alkaloit çözeltilisi de uygulanır. Plak, standart eğrinin hazırlandığı çözücü sisteminde developpe edilir. Tanktan çıkartılıp kurutulduktan sonra 254 ve 366 nm dalga boylarındaki UV ışık altında incelenir. Ekstredeki alkaloit bandının yeri, standart ile karşılaştırmak suretiyle belirlenip kazınır. Kazınan bant, kloroform-metanol

(8:2) karışımıyla elüe edilir. Organik çözücü kuruluğa kadar distillendikten sonra, bakiye metanol içerisinde çözündürülür ve bir balon jodede belli miktara yine metanol ile tamamlanır. Aynı şartlarda bir de boş deneme çözeltisi hazırlanır. Hazırlanan çözeltinin absorpsiyonu, belirli bir dalga boyunda boş deneme çözeltisine karşı okunur. Okunan absorbans değeri önceden hazırlanmış olan ölçü eğrisine yerleştirilir. Verilen absorbans değerlerine karşılık gelen konsantrasyon bulunup, alkaloit miktarı kuru materyal ağırlığı için yüzde gram (% g) olarak hesaplanır.

c. Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC) İle Miktar Tayini

Bitkinin çeşitli kısımlarına ait drog örneklerinden "Drogların İnce Tabaka Kromatografisi (İ.T.K.) ile Saflık ve Kalite Kontrolü" bölümünde anlatıldığı gibi elde edilen total alkaloit ekstralarının kloroform-metanol (8:2) içerisinde belirli konsantrasyondaki çözeltileri hazırlanır. Standart olarak kullanılacak olan alkaloitte ait çözelti de aynı şekilde uygun konsantrasyonda hazırlanır. Çözeltiler Schleicher& Schuell (589 1 Black ribbon ashless) filtre kağıdından süzülür.

(1) Standart Alkaloitte Ait Ölçü Eğrisinin Hazırlanması

Standart alkaloit çözeltisinden seyreltmek suretiyle farklı konsantrasyonlarda çözeltiler hazırlanır. Bu çözeltilerin her birinden uygun miktarlar Hamilton enjektör ile uygulanarak, belirli dalga boyunda o alkaloitte ait sinyalin alan değeri ölçülür. Uygulanan miktarlara karşı okunan alanı gösteren bir ölçü eğrisi hazırlanır.

İsteğe bağlı olarak eksternal veya internal standart kullanılabilir. Miktar tayini için hazırlanan total alkaloit ekstre çözeltileri uygulamaları da Hamilton enjektör yardımıyla yapılır. Alkaloit ile aynı şartlarda yapılan uygulama sonucunda okunan alan değerlerine karşılık gelen miktar, eğriden yararlanarak hesaplanır. Bu miktar tayininin sonuçları, kuru drog üzerinden % mg olarak hesaplanır.

C. DENEYLER

1. NEM MİKTAR TAYİNİ

Önceden deney şartlarında sabit vezne getirilen cam tartım kabında 1 g civarında drog örneği tam olarak tartıldı. 100-105⁰ C lik etüvde bir saat süre ile ısıtıldıktan sonra desikatöre alındı. 30 Dakika soğutulup tartıldı. Isıtma, soğutma ve tartma işlemlerine son iki tartım arasında 0.5 mg dan fazla fark olmayacak şekilde, sabit vezne gelinceye kadar devam edildi ve buradan drogun yüzde nem miktarı hesaplandı.

2. TOTAL KÜL MİKTAR TAYİNİ

1 g Civarında drog, deney şartlarında önceden sabit ağırlığa getirilen porselen kröze içinde tam olarak tartıldı. Drog içeren kröze, önce bir saat süre ile 105⁰ C lik etüvde tutuldu; daha sonra 600⁰ C a kadar ısıtılmış olan Heraeus marka yakma fırınında bir saat süreyle yakıldı. Desikatöre alındıktan sonra 30 dakika soğutulup, tartıldı. Örnekte homojen olarak bir beyazlaşma görülmediği için krözenin 30 dakika soğutulmasının ardından 1 ml distile su ilave edilerek nemli hale getirildi. Tablalı

ısıtıcıda örnek tamamen kuruyana kadar tutuldu. Yakma, soğutma ve tartma işlemlerine siyah partiküller kalmayınca ve drog içeren krözenin ağırlığında ardarda iki tartım arasında 0.5 mg dan fazla fark kalmayınca kadar devam edildi. Buradan örneğin içerdiği total kül miktarı yüzde olarak hesaplandı.

3. SÜLFAT KÜLÜ MİKTAR TAYİNİ

Deney şartlarında önceden sabit ağırlığa getirilen bir porselen kröze içinde 1 g civarında drog tam olarak tartıldı. Üzerine 2 ml % 10 luk sülfürik asit çözeltisinden damla damla konulduktan sonra önce su banyosunda, ardından tablalı ısıtıcıda ısıtıldı ve en son olarak ısısı 600° C ı geçmeyen Heraeus marka yakma fırınında 1 saat süreyle yakıldı. Desikatörde 30 dakika soğutulduktan sonra birkaç damla % 10 luk sülfürik asit ilavesiyle yukarıda bahsedilen şekilde tekrar ısıtıldı ve yakıldı. Desikatörde 30 dakika soğumasını takiben % 15.8 lik amonyum karbonat çözeltisinden birkaç damla damlatılarak aynı şekilde ısıtılıp yakıldı. Desikatörde soğutulduktan sonra tartıldı. Yakma işlemine bir saatlik sürelerle, drog içeren kröze sabit vevne gelinceye kadar devam edildi. Buradan droğun içerdiği sülfat külü miktarı bulundu; bu değer daha sonra yüzde olarak hesaplandı.

4. ALKALOİTLERİN İ.T.K. İLE TEŞHİS VE KALİTE KONTROLÜ

Orta incelikte toz haline getirilmiş olan yaklaşık 250 g materyal, bir perkolatörde yaklaşık 7.5 L % 96 lık etanol ile 24 saat maserasyona bırakıldı. Daha sonra % 96 lık etanol ile tüketme sıvısı Dragendorff ve Mayer belirteçlerine olumlu

yanıt vermeyinceye kadar oda sıcaklığında perkole edildi. Etanollü çözelti alçak basınç altında kuruluğa kadar distillendikten sonra elde edilen bakiye, 650 ml % 1 lik sulu hidroklorik asit çözeltisinde çözündürüldü. Çözünmeyen kısımlar süzgeç kağıdından süzülerek ayrıldı. Bu işleme % 1 lik sulu hidroklorik asit çözeltisi küçük miktarlar halinde ilave edilip, süzülüp, süzüntü Dragendorff ile Mayer belirteçlerine karşı olumsuz yanıt verinceye kadar devam edildi. Elde edilen asitli çözeltiler birleştirilip, yaklaşık 70 ml % 25 lik amonyum hidroksit çözeltisi kullanmak suretiyle pH ile 9-10 oluncaya kadar bazikleştirildi. Sulu alkali çözelti yine Dragendorff ve Mayer belirteçlerine karşı olumlu yanıt vermeyinceye kadar kloroformla (6X300 ml) tüketildi. Elde edilen kloroformlu kısımlar birleştirildi. Susuz sodyum sülfat üzerinde suyundan kurtarıldıktan sonra süzüldü ve kloroform alçak basınç altında kuruluğa kadar distillendi.

a. Örnek Çözeltilerin Hazırlanışı

Yukarıda anlatıldığı üzere hazırlanan total alkaloid ekstraları kloroform-metanol (8:2) karışımında çözündürülerek, 10 mg/ml konsantrasyonda çözeltileri hazırlandı.

Bu total alkaloid ekstresi hazırlama işlemi, I_{CB} (çiçekli toprak altı), I_{CH} (çiçekli toprak üstü), I_{MB} (meyvalı toprak altı), I_{MH} (meyvalı toprak üstü) ve I_K (bitkinin her iki vejetasyon dönemini ve bütün kısımlarını kapsayan) kodlu örnekler için ayrı ayrı gerçekleştirildi.

Ayrıca galanthamine ve lycorine adlı alkaloidlerin referans çözeltileri, aşağıda belirtilen şekilde hazırlandı.

Referans çözeltisi 1: 5 mg galanthamine bir balon jodede 5 ml kloroform-metanol (8:2) içerisinde çözündürüldü. Bu çözeltiye R_G kodu verildi.

Referans çözeltisi 2 : 5 mg lycorine bir balon jodede 5 ml kloroform-metanol (8:2) içerisinde çözündürüldü. Bu çözeltiye R_L kodu verildi.

b. Deneyin Yapılışı

0.25 mm kalınlığında 20X20 cm boyutlarındaki Kieselgel 60 F 254 (Merck) hazır kromatografi plağına, I_{CB}, I_{CH}, I_{MB}, I_{MH}, I_K kodlu örnek çözeltilerinin herbirinden alınan 500 µl miktardaki çözeltiler, 1.5 cm uzunluğunda ayrı ayrı bantlar şeklinde uygulandı. İlk örneğe ait bandın sol tarafına 1 cm ara bırakmak suretiyle 500 µl lik referans çözeltisi R_G, en son örneğe ait bandın sağ tarafına yine 1 cm mesafe bırakılarak 500 µl lik referans çözeltisi R_L 1.5 cm uzunluğunda bantlar şeklinde uygulandı. Kromatografi plağı, benzen-kloroform-metanol-% 25 NH₄OH (8:9:3:2 damla) çözücü sisteminde, starttan itibaren 17 cm yükselecek şekilde develope edildi.

Plak tanktan çıkartılıp kurutulduktan sonra, 254 ve 366 nm dalga boylarındaki UV ışık altında değerlendirilip, fotoğrafları çekildi (Resim 4, Resim 5) (Sayfa 115, Sayfa 116). Plak Dragendorff reaktifi püskürtüldükten sonra, tekrar incelenip, fotoğrafları çekildi (Resim 6) (Sayfa 116).

5. TOTAL ALKALOİT MİKTAR TAYİNİ

a. Total Alkaloit Ekstresinin Hazırlanışı

İnce toz edilmiş ve 100-105⁰ C lık bir etüvde sabit ağırlığa gelinceye kadar kurutulmuş olan drog örneği, 6 g civarında tam olarak tartıldı. Bir perkolatörde 100 ml

% 96 lik etanol ile 24 saat maserasyona bırakıldı. Süre bitiminde, drog üzerinden toplam 300 ml alkol geçecek şekilde perkolasyona tabi tutuldu. Tüketme işlemine, tüketme sıvısı Mayer ve Dragendorff olumlu yanıt vermeyinceye kadar devam edildi. Etanolün alçak basınç altında distillenmesiyle elde edilen bakiye 50 ml lik porsiyonlar halinde % 1 lik hidroklorik asit çözeltisi içerisinde çözündürülüp, süzüldü. Çözünmeyen kısımlar, % 1 lik hidroklorik asit çözeltisinin küçük porsiyonlarıyla yıkandı. Yıkama işlemine, asitli süzüntü Mayer ve Dragendorff reaktiflerine olumlu yanıt vermeyinceye kadar devam edildi. Bu işlemde toplam 250 ml %1 lik hidroklorik asit kullanıldı. Birleştirilen asitli çözeltiler 100 ml lik porsiyonlar halinde üç defa petrol eteri (35-60⁰) ile ekstre edildi. Petrol eterli kısımlar ayrıldı. Sulu asitli çözelti üzerine 10-11 ml % 25 lik amonyum hidroksit çözeltisi ilave edildi ve pH 9-10 civarına getirildi. Daha sonra kloroform ile (6X100 ml) tüketildi. Sonuncu ekstraksiyon sırasında kloroformlu fazdan bir miktar alındı. Susuz sodyum sülfat ile suyundan kurtarılıp, süzüldü. Kloroform distillenerek uzaklaştırıldı. Bakiye bir miktar % 1 lik hidroklorik asit çözeltisinde çözündürüldü. Mayer ve Dragendorff belirteçleri ile alkaloit bulunup bulunmadığı kontrol edildi. Alkaloitlerin tamamen tüketildiklerine karar verdikten sonra birleştirilen kloroformlu kısımlar, susuz sodyum sülfat ile suyundan kurtarılıp süzüldü. Kloroform alçak basınç altında kuruluğa kadar distillendi.

b. Total Alkaloit Miktar Tayini Uygulaması

Yukarıda anlatıldığı şekilde elde edilen total alkaloit ekstresi üzerine, 20 ml 0.02 N ayarlı sülfürik asit çözeltisi konuldu. Sıcak su banyosunda (50-60° C), ara sıra çalkalayarak ekstrenin tamamen çözünmesi sağlandı. Sonra üzerine metil kırmızısı

karışım reaktif çözeltisi ilave edildi. Asit fazlası 0.02 N ayarlı sodyum hidroksit çözeltisi ile, endikatörün rengi kırmızı-viyolede yeşile dönünceye kadar titre edildi.

c. Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması ve Ayarlanması

(1) 0.1 N Sülfürik Asit Çözeltisinin Hazırlanması

1000 ml lik balon jöjeye bir miktar kaynatılmış soğutulmuş distile su konuldu. Üzerine büret yardımıyla 2.8 ml % 95-98 lik derişik sülfürik asit (Merck) ilave edildi. Daha sonra kaynatılmış soğutulmuş distile su ile 1000 ml ye seyreltildi.

(2) 0.02 N Sülfürik Asit Çözeltisinin Hazırlanması

Hazırlanmış olan 0.1 N sülfürik asit çözeltisinin büretten ölçülerek alınan 200 ml si, 1000 ml lik bir balon jöjeye alındı. Kaynatılmış soğutulmuş distile su ile 1000 ml ye tamamlandı.

(3) 0.02 N Sülfürik Asit Çözeltisinin Ayarlanması

100-105° C lik etüvde kuruluğa kadar ısıtılıp sabit vezne getirilmiş susuz sodyum karbonattan (Merck) 30 mg civarında tam tartım alındı ve 30 ml kaynatılmış soğutulmuş distile su içinde çözdürüldü. Üzerine 0.1 ml metil oranj reaktif çözeltisi (7I) ilave edildi ve ayarlı 0.02 N sülfürik asit çözeltisi ile titre edildi. Ekvivalans

LC FİSKİYOĞALETİM KURULUŞU
BİLGİ YAYINLARI
MÜHÜRÜ

noktasına ulaşan çözelti dikkatle ısıtılarak, ortamdaki karbondioksit uzaklaştırıldı. Sonra kırmızı-sarı renk tekrar ortaya çıkıncaya kadar titrasyona süratle devam edildi.

(4) 0.1 N Sodyum Hidroksit Çözeltisinin Hazırlanması

Yaklaşık 4.2 g sodyum hidroksit (Riedel-de Häen) tartıldı. 100 ml lik bir balon joje içinde, birkaç ml kaynatılmış soğutulmuş distile su ile süratle yıkanarak karbonatından kurtarıldıktan sonra, kaynatılmış soğutulmuş distile suda çözündürülüp, yine su ile 1000 ml ye tamamlandı.

(5) 0.02 N Sodyum Hidroksit Çözeltisinin Hazırlanması

Yukarıda anlatıldığı şekilde hazırlanmış olan 0.1 N sodyum hidroksit çözeltisinin 200 ml si, büretten ölçülerek 100 ml lik bir balon jøjeye alındı ve kaynatılmış soğutulmuş distile su ile 1000 ml ye tamamlandı.

(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 karışım reaktif çözeltisi damlatıldı. Oluşan kırmızı-viyole renk, yeşile dönünceye kadar 0.02 N sodyum hidroksit çözeltisi ile titre edildi.

6. LYCORİNE VE GALANTHAMİNE'İN MİKTAR TAYİNİ

a. Lycorine ve Galanthamine İçin İ.T.K. Yöntemiyle Ön Araştırmalar

(1) Lycorine için Yapılan Kontrol alışmaları

"Total Alkaloit Miktar Tayini" bölümünde anlatılan şekilde elde edilen total alkaloit ekstresi örneği, 2 ml kloroform-metanol (8:2) içerisinde çözündürüldü. Bu şekilde dört tane total alkaloit ekstre çözeltisi örneği hazırlandı.

Hazırlanan bu dört ayrı örnek örnek, P₁, P₂, P₃, P₄ kodları verilen dört adet 0.5 mm tabaka kalınlığındaki Kieselgel 60 F₂₅₄ (Merck) kromatografi plağına, bir Hamilton enjektör yardımıyla 2000 µl hacminde ve 10 cm uzunluğunda bant halinde olmak üzere ayrı ayrı tatbik edildi. Herbir plakta bandın kenarlarına 1 cm mesafede olmak üzere, 20 µl lycorine referans özeltisi (R_L) yine Hamilton enjektörle 1 cm uzunluğunda bant şeklinde tatbik edildi. Plaklar starttan itibaren 17 cm yükselecek şekilde sikloheksan-kloroform-metanol-diethylamin (12:5:1:2) özücü sisteminde developpe edildi.

P₁ kodlu plak, tanktan çıkartılıp kurutulduktan sonra, 254 nm ve 366 nm dalga boylarındaki UV ışık altında incelenip, fotoğrafı çekildi (Resim 7, Resim 8) (Sayfa 121).

Ardından R_L ye karşılık gelen bandın yeri belirlendi. Plaktan kazınarak alınan bant 100 ml kloroform-metanol (8:2) özücü sistemi ile elüe edildi. Çözücünün kuruluğa kadar distillenmesiyle elde edilen bakiye, 3 ml metanolde çözündürüldü. Shimadzu UV-160 spektrofotometresinde 1 cm kalınlığındaki küvet içinde UV spektrumu çekildi (şekil 2) (Sayfa 120).

Benzer bir şekilde, P₂, P₃, P₄ kodlu plaklarda lycorine'e karşılık gelen bantların yeri belirlendi. Bu plaklardan kazınarak alınan bantlar, 100 er ml kloroform-metanol (8:2) çözücü sistemi kullanarak ayrı ayrı elüe edildi. Organik çözücü kuruluğa kadar uçuruldu. Daha sonra plakların bakiyeleri yine kloroform-metanol (8:2) çözücü sistemi ile çözündürülerek bir flakonda birleştirildi. Flakon içeriği, 0.5 mm tabaka kalınlığındaki Kieselgel 60 F₂₅₄ (Merck) kromatografi plağına 10 cm uzunluğunda bir bant halinde tatbik edildi. Bu bandın her iki kenarına 1 cm mesafe bırakılmak suretiyle lycorine referans çözeltisi (R_L), 1 cm uzunluğunda bant şeklinde tatbik edildi. Plak (kloroform-metanol-su) (17:3:2) çözücü sisteminin alt fazında, starttan itibaren 17 cm yükselecek şekilde develope edildi. Tanktan çıkartıldıktan sonra kurutulan plak, 254 nm ve 366 nm dalga boylarındaki UV ışık altında incelenip, fotoğrafları çekildi (Resim 9, Resim 10) (Sayfa 122, Sayfa 123)

Daha sonra lycorine'e karşılık gelen bant belirlenip, kazındı ve 100 ml kloroform-metanol (8:2) karışımı ile eltüe edildi. Organik çözücünün kuruluğa kadar distillenmesiyle elde edilen bakiye, 3 ml metanolde çözündürüldü ve Shimadzu UV-160 spektrofotometresinde 1 cm kalınlığındaki küvet içerisinde UV spektrumu çekildi (Şekil 3) (Sayfa 122).

(2) Galanthamine için Yapılan Kontrol Çalışmaları

"Total Alkaloit Miktar Tayini" bölümünde anlatılan şekilde elde edilen total alkaloit ekstresi, 2 ml kloroform-metanol (8:2) içerisinde çözündürüldü. Bu şekilde dört tane total alkaloit ekstre çözeltisi örneği hazırlandı.

Hazırlanan total alkaloid ekstre çözelti örneklerinin 2000 µl si, Hamilton enjektörü ile P₅, P₆, P₇, P₈ kodları verilen dört adet 0.5 mm tabaka kalınlığındaki Kieselgel 60 F₂₅₄ (Merck) kromatografi plağına, 10 cm uzunluğunda bant halinde ayrı ayrı tatbik edildi. Bandın her iki kenarından 1 cm mesafeye, 20 µl galanthamine referans çözeltisi (R_G) 1 cm uzunluğunda bant şeklinde tatbik edildi. Plaklar starttan itibaren 17 cm yükselecek şekilde sikloheksan-kloroform-dietilamin (7:2:1) çözücü sisteminde develope edildi.

Tanktan çıkartılıp kurutulan P₅ kodlu plak, 254 nm ve 366 nm dalga boylarındaki UV ışık altında incelendikten sonra fotoğrafı çekildi (Resim 11, Resim 12) (Sayfa 124, Sayfa 125). Ardından referansla karşılaştırmak suretiyle yeri belirlenen galanthamine bandı kazınarak alındı ve 100 ml kloroform-metanol (8:2) ile elüe edildi. Organik çözücü kuruluğa kadar uçuruldu. Bakiye 3 ml metanolde çözüldürüldü. Shimadzu UV-160 spektrofotometresinde 1 cm kalınlığındaki küvetlerde UV spektrumu alındı (Şekil 5) (Sayfa 124).

Daha sonra P₆, P₇, P₈ kodlu plaklarda, galanthamine'e karşılık gelen bantların yeri belirlenip, kazındı. Kazınan bantlar 100 er ml kloroform-metanol (8:2) ile elüe edildi. Organik çözücü kuruluğa kadar distillendi. Daha sonra plakların bakiyeleri yine kloroform-metanol (8:2) de çözüldürülerek bir flakonda birleştirildi. Flakon içeriği, 0.5 mm tabaka kalınlığındaki Kieselgel 60 F₂₅₄ (Merck) plağa 10 cm uzunluğunda bant şeklinde tatbik edildi. Bandın her iki kenarına 1 cm mesafe bırakılarak galanthamine referans çözeltisi (R_G), 1 cm uzunluğunda bant şeklinde tatbik edildi. Plak, kloroform-metanol-su (8:2:1) çözücü sisteminin alt fazında, starttan itibaren 17 cm e kadar develope edildi. Daha sonra, 254 nm ve 366 nm dalga boylarındaki UV ışık altında incelenip, fotoğrafları çekildi (Resim 13, Resim 14) (Sayfa 126, Sayfa 127).

Daha sonra referans galanthamine bandının R_f ine yakın konumda bulunan iki bant ayrı ayrı kazındı ve 100 ml kloroform-metanol (8:2) karışımı ile elüe edildi. Organik çözücülerin distillenmesiyle elde edilen bakiyeler 3 ml metanol içinde çözüldürüldü; Shimadzu UV-160 spektrofotometresinde 1 cm kalınlığındaki küvetlerde UV spektrumları çekildi (Şekil 6, Şekil 7) (Sayfa 125, Sayfa 126).

b. İ.T.K ile Kombine Edilmiş Spektrofotometrik Teşhis ve Miktar Tayini

(1) Lycorine Miktar Tayini

(a) Lycorine ile Standart Serinin Hazırlanması ve Ölçü Eğrisinin Çizimi

Kurutucu olarak fosfor(V)oksit içeren bir desikatörde, sabit vezne gelinceye kadar tutulan lycorine'nin metanol içinde % 0.1 lik (5 ml de 5 mg) çözeltisi hazırlandı. Bu çözeltiden, spektrofotometrede okunabilen absorpsiyon değerleri açısından en uygun miktarlar oldukları saptanan 80, 120, 160, 200, 250, 270 ve 300 μ l lik porsiyonların her biri, ayrı ayrı olmak üzere, 0.5 mm adsorban tabakası kalınlığındaki bir İ.T.K Kieselgel 60 F₂₅₄ (Merck) hazır plak üzerine, 10 cm uzunluğunda bantlar halinde tatbik edildi. Plaklar, starttan itibaren 17 cm olacak şekilde sikloheksan-kloroform-metanol-dietilamin (12:5:1:2) çözücü sisteminde yükseltildi. 365 nm dalga boyundaki UV ışık altında yerleri belirlenen lycorine bantları kazındı ve 100 er ml kloroform-metanol (8:2) karışımı ile elüe edildi. Organik çözücünün kuruluğa kadar distillenmesiyle elde edilen bakiyeler metanolde çözüldürüldükten sonra, çözelti hacimleri balon jojelerde metanolla 10 ml ye tamamlandı. Aynı şartlarda bir de boş

deneme çözeltisi hazırlandı. Hazırlanan serinin absorpsiyonları, 1 cm kalınlığındaki küvetlerde, Shimadzu UV 160 A spektrofotometresinde 292 nm dalga boyunda, boş deneme çözeltisine karşı ölçüldü. Elde edilen absorbans değerleri yardımıyla lycorine için bir ölçü eğrisi çizildi (Tek aşamalı) (Şekil 8) (Sayfa 128).

Daha sonra kantitatif çalışılarak absorbansı ölçülen çözeltilerin herbiri tekrar balonlara alındı. Organik çözücüler kuruluğa kadar distillendikten sonra, bakiyeler kloroform-metanol (8:2) karışımının 10 ml sinde çözündürülerek flakonlara aktarıldı. Flakon içindeki çözeltilerin herbiri, ayrı bir 0.5 mm tabaka kalınlığında ve 20X20 cm boyutunda Kieselgel 60 F₂₅₄ (Merck) İ.T.K. plağı üzerine, 10 cm uzunluğundaki bantlar halinde tatbik edildi. Plaklar, starttan itibaren 17 cm olacak şekilde, kloroform-metanol-su (17:3:2) (alt faz) çözücü sisteminde yükseltildi. Lycorine bantlarının yeri, 366 nm dalga boyundaki UV ışık altında belirlendi. Kazınan bantlar 100 er ml kloroform-metanol (8:2) karışımı ile elüe edildi. Organik çözücüler kuruluğa kadar distillendikten sonra, bakiyeler metanol içerisinde çözündürüldü ve 10 ml lik balon jodelerde metanolle 10 ml ye tamamlandı. Aynı şartlarda bir de boş deneme çözeltisi hazırlandı.

Hazırlanan serinin absorpsiyonları, 1 cm kalınlığındaki küvetlerde, Shimadzu UV 160 A spektrofotometresinde 292 nm dalga boyunda boş deneme çözeltisine karşı ölçüldü. Elde edilen absorbans değerleri yardımıyla lycorine için bir ölçü eğrisi çizildi (İki aşamalı) (Şekil 9) (Sayfa 131).

(b) Herba ve Bulbus Galanthi'de Lycorine Miktar Tayininin Uygulanması

"Total Alkaloit Miktar Tayini" bölümünde anlatılan şekilde elde edilen total alkaloit ekstresi örneği, kloroform-metanol (8:2) içinde çözündürülerek, 2.5 ml ye tamamlandı. Bu çözeltinin uygun konsantrasyonu olarak saptanan 1000 µl si, 0.5 mm

kalınlığında 20X20 cm boyutunda Kieselgel 60 F₂₅₄ (Merck) İ.T.K. plağı üzerine, 10 cm uzunluğunda bir bant halinde tatbik edildi. Bandın 1 cm sağına ve 1 cm soluna 1 cm uzunluğunda bir bant halinde 20 µl referans çözeltisi 2 (R_L) tatbik edildi. Plak, sikloheksan- kloroform-metanol-dietilamin (12:5:1:2) çözücü sisteminde, yine starttan itibaren 17 cm olacak şekilde develope edildi. Lycorine bandının yeri, 366 nm dalga boyundaki UV ışık altında lycorine standardı ile karşılaştırılarak belirlendi. Kazınan bant, kloroform-metanol (8:2) karışımıyla elüe edildi. Organik çözücünün kuruluğa kadar distillenmesiyle elde edilen bakiye, metanolde çözüldürüldükten sonra, bir balon jodede yine metanol ile 5 ml ye tamamlandı. Aynı şartlarda bir de boş deneme çözeltisi hazırlandı. Hazırlanan çözeltinin absorpsiyonu, 1 cm kalınlığındaki küvette, Shimadzu UV 160 A spektrofotometresinde, 292 nm dalga boyunda boş deneme çözeltisine karşı okundu. Lycorine için okunan absorpsiyon değeri önceden hazırlanmış olan ölçü eğrisine (Tek aşamalı) yerleştirildi. Verilen absorpsiyon değerlerine karşılık gelen konsantrasyon bulunup, lycorine miktarı kuru materyal ağırlığı için yüzde gram (% g) olarak hesaplandı.

Daha sonra metanollü çözelti dikkatli bir şekilde balona aktarıldı ve organik çözücü alçak basınç altında distillendi. Bakiye, yine kloroform-metanol (8:2) karışımının 10 ml sinde çözüldürülerek flakona aktarıldı. Flakondaki çözelti, 0.5 mm kalınlığında 20X20 cm boyutunda Kieselgel 60 F₂₅₄ (Merck) İ.T.K. plağı üzerine, 10 cm uzunluğunda bant halinde tatbik edildi. Bandın 1 cm sağına ve 1 cm soluna 1 cm uzunluğunda bir bant halinde 20 µl lycorine referans çözeltisi (R_L) tatbik edildi. Plak, starttan itibaren 17 cm olacak şekilde, kloroform-metanol-su (17:3:2) (alt faz) çözücü sisteminde yükseltildi. Lycorine'e karşılık gelen bant, 366 nm dalga boyundaki UV ışık altında belirlendi. Kazınan bu bant 100 ml kloroform-metanol (8:2) karışımı ile elüe

edildi. Organik çözücünün kuruluğa kadar distillenmesiyle ele geçen bakiye, metanolde çözüldürüldü. Daha balon jodede yine metanolla 10 ml ye seyreltildi. Aynı şartlarda bir de boş deneme çözeltisi hazırlandı.

Hazırlanan çözeltinin absorpsiyonu, 1 cm kalınlığındaki küvette, Shimadzu UV 160 A spektrofotometresinde, 292 nm dalga boyunda boş deneme çözeltisine karşı okundu. Lycorine için okunan absorbans değeri önceden hazırlanmış olan ölçü eğrisine (İki aşamalı) yerleştirildi. Okunan absorbans değerlerine karşılık gelen konsantrasyon bulunup, lycorine miktarı kuru materyal ağırlığı için yüzde gram (% g) olarak hesaplandı.

(2) Galanthamine'in Miktar Tayini

Galanthamine için yapılan ön araştırmalarda, deneylerde kullanılan drog miktarının artırılmasına ve çalışmaların daha yüksek konsantrasyonlarda denenmesine rağmen, anlamlı bir UV spektrumu, ve dolayısıyla geçerli olarak kabul edilebilecek absorbans değerleri elde edilemedi. Bu nedenle, drogdaki galanthamine miktarının çok az (eser miktarda) olduğu, ve miktar tayininin spektrofotometrik yöntemle yapılmasının yararlı ve anlamlı olamayacağı kanısına varıldı.

c. Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi ile Teşhis ve Miktar Tayini

(1) Lycorine Miktar Tayini

(a) Total Alkaloit Ekstresinin Hazırlanışı

50 g civarında tam olarak tartılan drog, bir perkolatörde 400 ml % 96 lık etanol ile 24 saat maserasyona bırakıldı. Süre bitiminde, drog üzerinden toplam 1000 ml alkol geçecek şekilde perkolasyona tabi tutuldu. Tüketme işlemine, tüketme sıvısı Mayer ve Dragendorff reaktifleri ile olumlu yanıt vermeyinceye kadar devam edildi. Etanollü çözeltinin alçak basınç altında distillenmesiyle elde edilen bakiye, 500 ml % 1 lik hidroklorik asit çözeltisinde çözündürülüp süzüldü. Çözünmeyen kısımlar, % 1 lik hidroklorik asit çözeltisinin küçük porsiyonları ile yıkandı. Yıkama işlemine, asitli süzüntü Mayer ve Dragendorff reaktifleri ile olumlu reaksiyon vermeyinceye kadar devam edildi. Birleştirilmiş asitli çözeltiler 200 ml lik porsiyonlar halinde üç defa petrol eteri (35-60⁰) ile ekstre edildi. Petrol eterli kısımlar ayrıldı. Sulu asitli çözeltinin pH sı, 20-22 ml % 25 lik amonyum hidroksit çözeltisi ilavesiyle 9-10 civarına getirildi. Daha sonra kloroform ile (6X200 ml) tüketildi. Sonuncu ekstraksiyon sırasında kloroformlu fazdan bir miktar alındı. Susuz sodyum sülfat (Merck) ile suyundan kurtarılıp, süzüldü. Kloroformun kuruluğa kadar distillenmesiyle elde edilen bakiye, bir miktar % 1 lik hidroklorik asit çözeltisinde çözündürüldükten sonra, Mayer ve Dragendorff reaktifleri ile alkaloit varlığı kontrol edildi. Alkaloitlerin tamamen tüketildiklerine karar verildikten sonra birleştirilen kloroformlu kısımlar, susuz sodyum sülfat ile suyundan kurtarılıp süzüldü. Çözelti vakumda kuruluğa kadar distillendi.

(b) Örnek Çözeltilerinin Hazırlanışı

I_{CB} , I_{CH} , I_{MB} , I_{MH} kodları verilen örneklerden, kloroform-metanol (93:7) karışımı ile 5 mg/2.5 ml konsantrasyonda olacak şekilde çözeltiler hazırlandı. Çözeltiler Schleicher& Schuell (589 1 Black ribbon ashless) filtre kağıdından süzüldü.

(c) Standart Lycorine Çözeltisinin (S_L) Hazırlanışı

3.4 mg saf lycorine numunesi, bir balon jofede kloroform-metanol (93:7) içerisinde çözündürüldü ve aynı çözücü karışımı ile 10 ml ye tamamlandı. Çözelti Schleicher& Schuell (589 1 Black ribbon ashless) filtre kağıdından süzüldü. Bu çözeltiliye S_L kodu verildi.

(d) Standart Lycorine'e Ait Ölçü Eğrisinin Hazırlanması

S_L kodlu çözeltilerden 0.34 mg/10 ml, 0.68mg /10 ml ve 1.02mg/10 ml olmak üzere üç dilüsyon hazırlandı. Her birinden 5 μ l uygulanarak, alan değerleri ölçüldü. Alınan sonuçlar doğrultusunda, uygulanan miktara karşı okunan alan şeklinde, lycorine'e ait bir ölçü eğrisi hazırlandı (Şekil 10) (Sayfa 134).

Miktar tayini için eksternal standart kullanıldı. Hazırlanan örnek çözeltilerden 5 ve 10 μ l lik uygulamalar Hamilton enjektörler yardımıyla yapıldı. Okunan alan değerlerine karşılık gelen miktarlar eğriden yararlanılarak hesaplandı. Lycorine miktar

taini sonuçları kuru drog üzerinden % mg olarak tespit edildi. Bunlara ait kromatogramlar, Şekil 12-Şekil 15 de (Sayfa 137-Sayfa 139) yer almaktadır.

Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC) Analiz Şartları :

Cihaz : Hewlett Packard 1100

Kolon : Hichrom C₁₈ (300 mm x 4.0 mm ID)

Mobil Faz : Kloroform: metanol (90:10 v/v)

Akış Hızı: 1 ml/dak

Dedektör : UV- VWD (HP 1100) (Değişken Dalgaboylu Dedektör)

Dalga Boyu: 290 nm

Kolon Sıcaklığı : 30⁰ C

S_L kodu verilen standart lycorine çözeltisine ait olan kromatogram Şekil 11 de (Sayfa 137) verilmiştir.

(2) Galanthamine'in HPLC ile Teşhis Edilmesi

(a) Örnek Çözeltilerinin Hazırlanışı

I_{CB}, I_{CH}, I_{MB}, I_{MH}, kodları verilen örneklerden "Lycorine Miktar Tayini" başlığı altında anlatıldığı gibi hazırlanan total alkaloit ekstresi örneklerinden, asetonitril-su (1:1) karışımı ile 5 mg/2.5 ml konsantrasyonda çözeltiler hazırlandı. Çözeltiler Schleicher& Schuell (589 1 Black ribbon ashless) filtre kağıdından süzüldü.

(b) Standart Galanthamine Çözeltisinin (S_G) Hazırlanışı

2.9 mg saf galanthamine bir balon jodede asetonitril-su (1:1) karışımı ile 10 ml ye tamamlandı. Çözelti Schleicher & Schuell (589 1 Black ribbon ashless) filtre kağıdından süzüldü. Bu çözeltiye S_G kodu verildi.

(c) Karışım Çözeltilerinin Hazırlanışı

Yukarıda anlatıldığı şekilde hazırlanan I_{CB}, I_{CH}, I_{MB}, I_{MH}, kodlu örneklerin herbirinden 0.7 ml alınıp, 0.3 ml standart galanthamine çözeltisi ile karıştırıldı.

Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (HPLC) Analiz Şartları :

Cihaz : Hewlett Packard 1100

Kolon : Vydac C₁₈ (250mm x 4.6mm ID) 201SP54

Önkolon : 201GK54SP

Mobil Faz : Trifloroasetik asit: su: asetonitril (0.01:95:5 v/v/v)

Akış Hızı: 1.2 ml/dak

Dedektör : UV –VWD (HP 1100) (Değişken Dalga boylu Dedektör)

Dalga Boyu: 289 nm

Kolon Sıcaklığı : 25⁰ C

S_G kodu verilen standart galanthamine çözeltisinden 5 µl enjekte edildi. Buna ait olan kromatogram Şekil 16 da (Sayfa 139) verilmiştir.

Her bir bitki bölümüne ait ekstrelerden ve yukarıda anlatıldığı şekilde hazırlanan karışım çözeltilerinden 10 µl enjekte edildi. Bunlara ait kromatogramlar da Şekil 17-Şekil 24 de (Sayfa 140-143) verilmiştir.

III. BİYOLOJİK AKTİVİTE TAYİNİ EŞLİĞİNDE İZOLASYON VE YAPI AYDINLATMA ÇALIŞMALARI

A. MATERYAL

İzolasyon çalışmalarında materyal olarak kullanılan *Galanthus nivalis* L. subsp. *cilicicus* (Baker) Gottlieb-Tannenhain bitkisi, vejetasyonunun iki farklı devresine ait örnekleri de içerebilecek şekilde 5.3.2000 tarihinde bitki çiçekli halde iken, 16.4.2000 tarihinde ise bitki meyvalı halde iken, Çanakkale ilinin Bayramiç ilçesinin Kuşçayırı köyü, Çolapbaşı ve Küllügedik mevkiilerinden toprakaltı ve topraküstü kısımları halinde toplanmıştır.

Yukarıda belirtilen tarihlerde toplanmış olan bitkilere ait hebaryum örnekleri, Prof. Dr. M. Ali ÖNÜR tarafından tayin edilmiş olup, Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı Herbaryumunda sırasıyla 1271 ve 1272 numaraları altında saklanmaktadır.

Bitkisel materyal, gözle görülebilen organik veya anorganik bütün yabancı maddelerden ayıklanarak temizlendikten sonra, doğranarak orta irilikte parçalar haline getirilip, açık havada, gölgede ve oda ısında kurutulmuştur. Daha sonra Anabilim Dalımızda bulunan Retsch GmbH SK 1 marka elektrikli değirmende ince toz (elek çapı 1mm) haline getirilmiştir.

B. YÖNTEMLER

1. ALKALOİTLERİNİN TÜKETİLMESİ

Orta incelikte toz haline getirilmiş olan materyal, % 96 lik etanol ile tüketme sıvısı Dragendorff ve Mayer belirteçlerine olumlu reaksiyon vermeyinceye kadar oda sıcaklığında perkole edilir. Etanollü çözelti alçak basınç altında kuruluğa kadar distillendikten sonra elde edilen bakiye, % 2 lik hidroklorik asidin sulu çözeltisinde çözündürülür; çözünmeyen kısımlar süzgeç kağıdından süzülerek ayrılır. Bu işleme süzüntü Dragendorff ile Mayer belirteçlerine karşı olumlu sonuç vermeyinceye kadar devam edilir. Sonuçta elde edilen asitli çözeltiler birleştirilip, % 25 lik amonyum hidroksit çözeltisi ile pH 9-10 oluncaya kadar bazikleştirilir. Bu çözelti yine Dragendorff ve Mayer belirteçlerine karşı olumlu yanıt vermeyinceye kadar kloroformla tüketilir. Elde edilen kloroformlu kısımlar birleştirilir. Susuz sodyum sülfat kullanılarak suyundan kurtarıldıktan sonra süzülür. Kloroformun alçak basınç altında kuruluğa kadar distillenmesiyle total alkaloit ekstresi elde edilir.

2. ALKALOİTLERİN İNCE TABAKA KROMATOĞRAFİSİ (İ.T.K.) İLE İNCELENMESİ

İnce tabaka kromatografisi yönteminden, sütun kromatografisi çalışmaları sırasında kazanılan fraksiyonların incelenerek benzer olanlarının birleştirilmesi amacı yanında, gerek preparatif ince tabaka ve vakum uygulamalı sütun kromatografileri için uygun sistemlerin geliştirilebilmesi ve gerekse izole edilip saflaştırılan bileşiklerin safliklarının kontrolü gibi değişik amaçlarla yararlanılmıştır.

Bu araştırmada yapılan İ.T.K. alışmalarında 0.25 mm adsorban tabakası kalınlığında ve 20X20 cm boyutlarındaki silika jel 60 F 254 (Merck 5715) hazır cam kromatografi plaklarından yararlanılmıştır. alışmalar oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir. Örnekler kromatografi plaklarına, genellikle kloroform-metanol (8:2) zc sistemindeki deneysel olarak saptanmış uygun konsantrasyondaki zeltileri halinde tatbik edilmiş, ve üzücü sistemleri plaklarda 15-18 cm arasında yükseltilmiştir.

İnce tabaka kromatografisinde yararlanılan üzücü sistemleri aşağıda belirtilmiştir (Tablo 8).

No	zc Sistemi
I	Benzen-Aseton (97:3)
II	Benzen-Aseton (9:1)
III	Benzen-Metanol (9:1)
IV	Sikloheksan-Dietilamin (9:1)
V	Benzen-Aseton (19:1)
VI	Benzen-Metanol (19:1)
VII	Benzen-Metanol (97:3)
VIII	Benzen-Kloroform-Aseton-Dietilamin (11:5:2:2)
IX	Benzen-Asetonitril-Etil Asetat-Metanol-Amonyum hidroksit (% 25)(6:8:4:1:1)
X	Benzen-Kloroform-Metanol (7:2:1)
XI	Benzen-Kloroform-Asetonitril-Metanol (5:2:2:1)
XII	Benzen-Kloroform-Metanol- Amonyum hidroksit (% 25) (7:9:4:2 damla)

Tablo 8. İ.T.K. nde Yararlanılan zc Sistemleri

3. ALKALOİTLERİN SAFLAŞTIRILMALARI

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

a. Sütun Kromatografisi

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

Bu araştırma kapsamında yapılan sütun kromatografisi çalışmalarında, adsorban olarak, ana fraksiyonların fraksiyonlandırılmasında silika jel 60 (70-230 Mesh) (Merck 7734) ve bu fraksiyonların daha ileri ayırımında kullanılan preparatif sütun kromatografisi çalışmalarında ise silika jel H (Type 60) (5-40 µm) (Merck 7736) kullanılmıştır. Fraksiyonlandırılacak karışımların 1 g ı için genellikle 40-50 g adsorban, ve bu miktarlara uygun boyutlarda cam sütunlar kullanılmıştır. Bazı çalışmalarda, vakum uygulanabilecek şekilde tasarlanıp imal edilmiş cam sütunlardan da yararlanılmıştır. Sütuna uygulanacak karışımların yoğun çözeltileri bir miktar adsorbanla karıştırıldıktan sonra, çözücü bertaraf edilmiştir. Bu şekilde elde edilen toz halindeki karışım sütuna ilave edildikten sonra elüsyona başlanmıştır.

Ana fraksiyonların elde edilmesi sırasında, aşağıda belirtilen çözücü sistemlerinden yararlanılmıştır (Tablo 9).

No	Çözücü Sistemi
XIII	Kloroform
XIV	Kloroform-Metanol (98:2)
XV	Kloroform-Metanol (95:5)
XVI	Kloroform-Metanol (92.5:7.5)
XVII	Kloroform-Metanol (90:10)
XVIII	Kloroform-Metanol (85:15)
XIX	Kloroform-Metanol (80:20)

Tablo 9. Fraksiyonların Elde Edilmesinde Yararlanılan Çözücü Sistemleri

b. Preparatif İnce Tabaka Kromatografisi

Preparatif ince tabaka kromatografisinde, 0.25 mm adsorban tabakası kalınlığında ve 10X20 cm ve 20X20 cm boyutlarındaki silika jel 60 F₂₅₄ (Merck 5715) ile 0.50 mm adsorban kalınlığında 20X20 cm boyutlarındaki silika jel 60 F₂₅₄ (Merck 5744) hazır cam plaklardan yararlanılmıştır.

Çözücü sistemi olarak, ince tabaka kromatografisinde yapılan ön deneyler sonucunda en iyi sonuç veren çözücü sistemleri kullanılmıştır. Çözücü sistemleri plaklarda tek sürükleme yapılan kromatografilerde 17 cm, ardarda iki sürükleme yapılan kromatografilerde önce 15 cm ve daha sonra 18 cm olacak şekilde yükseltilmiştir. Bantlar, 254 nm ve 366 nm dalga boylarındaki UV ışık altında incelemek ve daha sonra plağın yan tarafına çok ince bir kısma Dragendorff püskürtme belirteci uygulamak suretiyle belirlenmiştir. Alınan bantların elüsyonu kloroform-metanol (8:2) karışımıyla yapılmıştır. Çözücünün alçak basınçta distillenmesiyle bileşikler amorf halde elde edilmişlerdir.

c. Kristallendirme

Fraksiyonların saflaştırılmalarında gerektiğinde kristallendirme işleminden de yararlanılmıştır. Oda sıcaklığında ve gerektiğinde buzdolabında bekletmek suretiyle oluşturulan kristaller, süzülerek alındıktan sonra çözünmedikleri çözücülerle yıkanarak temizlenmişlerdir. Bileşiklerin saflığı açısından gerektiğinde kristalizasyon işlemi tekrarlanmıştır.

d. Saf Halde Elde Edilen Bileşiklerin Tanınması



Kromatografik saflıkta elde edilen bileşiklerin yapılarını aydınlatmak için değişik spektroskopik yöntemlerden {UV, IR, 1D (^1H , ^{13}C) ve 2D NMR, EIMS, CIMS ve ESİ-MS } yararlanılmıştır. Ayrıca bileşiklerin spesifik optik çevirmeleri $\{[\alpha]_D\}$ de ölçülmüştür. Literatürde kayıtlı olan bileşikler için elde edilen veriler, rapor edilmiş olan değerlerle karşılaştırılmıştır. Yapıların aydınlatılmasında kullanılan analitik yöntemlerde kullanılan cihazlara ait teknik bilgiler aşağıda sunulmuştur.

Optik çevirme: Bileşiklerin optik çevirmeleri, Perkin Elmer 341 Polarimetresinde ölçülmüştür.

UV Spektrumları: Shimadzu UV-160 A Spektrometresinde, 1 cm lik kuvarz kuvvetlerde, bileşiklerin metanoldeki % 0.01 lik çözeltileri kullanılarak alınmıştır. Alkali ve asit ortamda ölçülen spektrumlar ise, kuvvetteki çözeltilere % 1 lik sodyum hidroksit veya % 1 lik hidroklorik asit sulu çözeltileri ilave edilerek alınmıştır.

IR Spektrumları: Jasco FT/IR-430 Infrared Spektrometresinde, bileşiklerin potasyum bromür içerisindeki pelletleri hazırlanarak alınmıştır.

NMR Spektrumları: Bileşiklerin ^1H ve ^{13}C NMR spektrumları, Bruker DPX-300, Bruker DMX-400 ve Bruker DMX-600 NMR Spektrometrelerinde, 2D NMR spektrumları (^1H , ^1H COSY-gs, HMQC, HMBC, NOESY) ise Bruker DMX-600 NMR Spektrometrelerinde, CDCl_3 veya CD_3OD deki çözeltileri içerisinde alınmış, ve gerektiğinde D_2O değişimi yapılmıştır.

Kütle spektrumları: EI Kütle spektrumları, Finnigan MAT 900, CI Kütle spektrumları Finnigan MAT 90, ESI Kütle spektrumları ise Finnigan MAT TSQ 700 spektrometrelerinde alınmıştır.

4. BRINE SHRIMP LETALİTE DENEYİ İLE AKTİVİTE TAYİNİ (180, 181,183)

a. *Artemia salina* Leach Larvalarının Hazırlanışı

3.8 g deniz tuzu, 100 ml distile suda çözündürülüp bir tanka konulur. İçine brine shrimp (*Artemia salina* Leach) yumurtaları eklenir. Devamlı ışık altında bırakılan yumurtalardan, iki gün içinde larvalar çıkar.

b. Test Edilecek Bileşiklerin Çözeltilerinin Hazırlanışı

Ekstreler 1000, 100, 10 ppm olmak üzere üç ayrı konsantrasyonda, fraksiyonlar ve kontrol maddesi kolşisin 500, 50, 5 ppm olmak üzere yine üç ayrı konsantrasyonda hazırlanır.

1000 ppm lik konsantrasyonun hazırlanması için, 20 mg madde 2 ml kloroform-metanol (8:2) de çözündürülür. Üç ayrı flakona 0.5 ml konur.

100 ppm konsantrasyonun hazırlanması için, geriye kalan 0.5 ml den alınan 0.2 ml çözelti, 1.8 ml kloroform-metanol (8:2) eklenerek seyreltilir. Bu çözültiden alınan 0.5 ml üç porsiyon, üç ayrı flakona konulur.

Arta kalan 0.5 ml çözeltiye aynı yöntemin uygulanmasıyla 10 ppm lik konsantrasyonlar hazırlanır ve üç ayrı flakona 0.5 er ml konulur. Bir flakona da kontrol amacıyla sadece 0.5 ml kloroform-metanol (8:2) konulur. Daha sonra tüm flakonlardaki çözücüler kuruluğa kadar uçurulur.

500, 50 ve 5 ppm konsantrasyonda çözültelerin hazırlanması için de aynı uygulama ancak bu kez 10 mg bileşiğin tartılmasıyla başlanarak yapılır.

c. Deneyin Yapılışı

Her flakona bir miktar deniz tuzu çözeltisi konulur. Herbirinin içine 48 saat sonra yumurtadan çıkıp hazır hale gelmiş olan *Artemia salina* larvalarından on adedi sayılarak ilave edilir. Flakondaki çözelti hacmi, deniz tuzu çözeltisi ile 5 ml ye tamamlanır.

24 saat sonra canlı kalmış olan larvalar sayılır ve kaydedilir. Veriler bir bilgisayar programı yardımıyla değerlendirilir ve LC₅₀ olarak hesaplanır.

C. DENEYLER

1. TOTAL ALKOL VE ALKALOİT EKSTRELERİNİN HAZIRLANMASI

Orta incelikte toz haline getirilmiş 8.7 Kg materyal, oda sıcaklığında yaklaşık 160 litre % 96 lık etanol ile tüketme sıvısı Dragendorff ve Mayer belirteçlerine olumlu reaksiyon vermeyinceye kadar perkolasyon yöntemiyle tüketildi. Etanollü çözeltinin alçak basınç altında kuruluğa kadar distillenmesiyle elde edilen bu total alkol ekstresinin yaklaşık 50 mg civarındaki bir miktarı biyolojik aktivite çalışmaları için ayrıldı. Kalan bakiye, % 2 lik hidroklorik asitte çözündürüldü. Çözünmeyen kısımlar süzgeç kağıdından süzülerek ayrıldı. Bu işleme sulu asitli çözeltinin küçük miktarlarını kullanmak suretiyle, süzüntüler Dragendorff ile Mayer belirteçlerine karşı olumsuz sonuç verinceye kadar devam edildi. İşlemin sonunda elde edilen asitli çözeltiler birleştirilip, % 25 lik amonyum hidroksit çözeltisi ile pH 9-10 oluncaya kadar alkalilendirildi. Bu sulu alkali çözelti, yine Dragendorff ve Mayer belirteçlerine karşı olumlu yanıt vermeyinceye kadar toplam 10 defa 500 ml kloroform ile ekstraksiyona tabi tutuldu. Birleştirilen kloroformlu kısımlar susuz sodyum sülfat ile suyundan kurtarıldıktan sonra süzüldü ve kloroform alçak basınç altında kuruluğa kadar distillendi. Bakiye desikatörde sabit vızne gelinceye kadar bekletildi ve tartıldı. 5.1172 g ağırlığında total alkaloit ekstresi elde edildi (Verim % 0.057). Bu ekstreden biyolojik aktivite çalışmaları için yaklaşık 50 mg civarındaki bir miktar ayrıldıktan sonra kalan kısmı üzerinde izolasyon çalışmaları gerçekleştirildi.

2. TOTAL ALKOL VE ALKALOİT EKSTRELERİNDE BİYOLOJİK AKTİVİTE TAYİNİ

3.8 g deniz tuzu (Sigma 9883), 100 ml distile suda çözüldü. Hazırlanan deniz tuzu çözeltisi tanka kondu ve üzerine brine shrimp yumurtaları eklendi. Devamlı ışık altında bırakılan yumurtalardan, 48 saat içinde larvalar çıktı.

Total alkol ekstresinden 1000, 100, 10 ppm olmak üzere üç ayrı konsantrasyonda örnekler hazırlandı. Deneyler iki paralel şekilde yapıldığı için aşağıda anlatılan işlemler iki kez tekrarlandı.

Bu amaçla total alkol ekstresinden 20 mg tartıldı ve 2 ml kloroform-metanol (8:2) içinde çözüldü. Üç flakonun herbirine bu çözeltiden 0.5 ml konuldu. Böylece 1000 ppm konsantrasyonda üç örnek hazırlanmış oldu. 100 ppm konsantrasyondaki örnekleri hazırlamak için, geriye kalan 0.5 ml den alınan 0.2 ml çözelti, 1.8 ml kloroform-metanol (8:2) ilavesiyle seyreltildi; bu çözeltiden de üç ayrı flakona 0.5 ml alındı. Geriye kalan 0.5 ml lik çözelti, 10 ppm konsantrasyondaki örnekleri hazırlamak için kullanıldı. Bu amaçla, bu çözeltiden 0.2 ml alındı, üzerine 1.8 ml kloroform-metanol (8:2) ilave edilerek seyreltildi. Bu çözeltiden de üç ayrı flakona 0.5 ml alınarak, üç tane 10 ppm konsantrasyonda örnek hazırlanmış oldu.

Standart olarak aynı şekilde hazırlanmış olan kolşisin kullanıldı. Ayrıca boş deneme için ekstre taşımayan flakon hazırlandı.

Flakonların içindeki çözücüler uçuruldu. Daha sonra her bir flakon içine 2 ml deniz tuzu çözeltisi konulduktan sonra üzerlerine canlı brine shrimp larvalarından sayılarak onar tane eklendi. Daha sonra 5 ml ye yine deniz tuzu çözeltisi ile tamamlandı. 24 saat sonra flakonların içindeki canlı brine shrimp larvaları sayıldı ve

kaydedildi. Veriler bilgisayar yardımıyla değerlendirildi ve LC₅₀ olarak hesaplandı. Sonuçlar iki paralel tayinin ortalaması olarak değerlendirildi.

Bu deneyler, aynı şekilde total alkaloid ekstresine de uygulandı. Yine iki paralel halinde 1000:100:10 ppm lik üç farklı konsantrasyonda çalışıldı. Sonuçlar, iki paralelin ortalaması olarak LC₅₀ olarak verildi.

3. TOTAL ALKALOİT EKSTRESİNDEKİ BİLEŞİKLERİN SAFLAŞTIRILMALARI

380 g Silika jel 60 (70-230 Mesh) (Merck) tartıldı ve 1000 ml XVI no lu çözücü sistemi ile süspansiyon haline getirilip 6.5 cm çapındaki bir cam kromatografi sütununa dolduruldu.

5.06 g total alkaloid ekstresi, 20 ml kloroform-metanol karışımında (8:2) çözüldürülüp, 15 g silika jel 60 (70-230 Mesh) (Merck) adsorbanla karıştırıldı. Çözücü açık havada, oda sıcaklığında uçuruldu. Bakiye desikatörde kurutuldu. Bu şekilde hazırlanan ekstre-adsorban karışımı sütuna ilave edildikten sonra, XVII no lu çözücü sistemi ile gündüz dakikada 120 damla, geceleri ise dakikada 15-20 damla akış hızında olacak şekilde elüsyon gerçekleştirildi. Elüsyonun başlangıcından bitimine kadar 500 er ml lik fraksiyonlar alındı. Alkaloid lekelerinin İ.T.K. nde görülen nitelik ve miktarlarına bağlı olarak gerek duyulduğunda, elüsyon çözücüsünün polaritesini artırmak amacıyla içine sırasıyla % 2, % 5, % 7.5, %10, % 15 ve % 20 oranlarında metanol ilave edildi. Alınan her fraksiyon, İ.T.K. ile karşılaştırmalı olarak kontrole tabi tutuldu. Kromatogramlar önce 254 ve 366 nm dalga boyundaki UV ışık altında incelendi. Ayrıca Dragendorff belirteci püskürtmek suretiyle alkaloidal nitelikli

bileşiklerin saptanmasına çalışıldı. Aynı R_f değerindeki lekelerle sahip olan benzer fraksiyonlar birleştirildi. Alçak basınç altında kuruluğa kadar distillendikten sonra desikatörde sabit ağırlığa gelinceye kadar bekletildi ve tartıldı. Total alkaloid ekstresinin sütun kromatografisinde fraksiyonlandırılmasıyla elde edilen bu ana fraksiyonlara verilen kodlar, elüsyonda kullanılan çözücü sistemleri ve ana fraksiyonların ağırlıklarına ait bilgiler Tablo 10 da gösterilmiştir.

Fraksiyon Numaraları	Ana Fraksiyonun Kodu	Elüsyonda Yararlanılan Çözücü Sistemleri	Ana Fraksiyon Bakıyesinin Ağırlığı
3	G ₁	XIII	0.0218
4	G ₂	XIII	0.0275
5	G ₃	XIII	0.0303
6-7	G ₄ *	XIII	0.2630
8	G ₅	XIII	0.0436
9-12	G ₆ *	XIII	0.1758
13-14	G ₇	XIII -XIV	0.0897
15-17	G ₈	XIV	0.0472
18-20	G ₉	XIV	0.3380
21-22	G ₁₀	XIV	0.0526
23-24	G ₁₁	XIV	0.0260
25-29	G ₁₂	XIV -XV	0.2173
30	G ₁₃	XV	0.0699
31-33	G ₁₄ *	XV	0.7337
34-35	G ₁₅	XV	0.1578
36-38	G ₁₆	XV	0.1505
39-43	G ₁₇	XV	0.2433
44-47	G ₁₈	XV -XVI	0.1168
48-50	G ₁₉	XVI	0.1685
51-54	G ₂₀	XVI	0.2119
55-59	G ₂₁ *	XVI -XVII	0.2376
60-65	G ₂₂	XVII	0.2841
66-68	G ₂₃	XVII	0.0925
69-71	G ₂₄	XVII	0.0770
72-73	G ₂₅	XVII - XVIII	0.0448
74-83	G ₂₆	XVIII-XIX	0.2942
84-90	G ₂₇	XIX	0.1659
91-96	G ₂₈	XIX	0.0790

* Daha ileri fraksiyonlandırmaya tabi tutulmuş olan ana fraksiyonlar

Tablo 10. Total Alkaloid Ekstresinin Ana Fraksiyonları Hakkında Deneysel Veriler

4. ANA FRAKSİYONLARDA BİYOLOJİK AKTİVİTE TAYİNİ

3.8 g deniz tuzu (Sigma 9883), 100 ml distile suda çözüldürüldü. Hazırlanan deniz tuzu çözeltisi tanka konuldu ve üzerine brine shrimp yumurtaları eklendi. Devamlı ışık altında bırakılan yumurtalardan, 48 saat içinde larvalar çıktı.

Fraksiyonlandırma işlemi sonucunda elde edilen ve miktarı 100 mg in üstünde olan fraksiyonlara brine shrimp letalite deneyi uygulandı. Bu amaçla, çalışılacak ana fraksiyonların herbirinden, tek paralel olarak, 500, 50, 5 ppm lik üç farklı konsantrasyonda örnekler hazırlandı. Standart olarak kullanılan kolşisin bileşiğinden de iki paralel olarak yine 500, 50, 5 ppm olmak üzere üç ayrı konsantrasyonda üçer örnek hazırlandı.

Bu amaçla, herbir fraksiyondan ve kolşisin'den ayrı ayrı 10 ar mg tartıldı; 2 ml kloroform-metanol (8:2) içinde çözüldürüldü. Herbir örnek üç ayrı flakona 0.5 ml olmak üzere konuldu. Böylece 500 ppm lik konsantrasyonda örnekler hazırlanmış oldu. 50 ppm konsantrasyondaki örnekleri hazırlamak için, geriye kalan 0.5 ml den alınan 0.2 ml çözelti, 1.8 ml kloroform-metanol (8:2) eklenerek seyreltildi ve bu örnekten de üç ayrı flakona 0.5 er ml alındı. Geriye kalan 0.5 ml lik örnekten de 0.2 ml alındı; üzerine 1.8 ml kloroform-metanol (8:2) ilave edilerek seyreltildi. Bunun içinden de üç ayrı flakona 0.5 ml alınarak, üç tane 5 ppm konsantrasyonda örnek hazırlanmış oldu.

Flakonların içindeki çözücüler uçuruldu. Her bir flakon içine 2 ml deniz tuzu çözeltisi konarak, 48 saat sonra yumurtadan çıkıp, canlanan brine shrimp larvalarından onar tane sayılarak eklendi. Daha sonra 5 ml ye yine deniz tuzu çözeltisi ile tamamlandı. 24 saat sonra flakon içindeki canlı brine shrimp larvaları sayıldı ve kaydedildi. Veriler bilgisayar yardımıyla değerlendirildi ve LC₅₀ olarak hesaplandı.

5. BİYOLOJİK AÇIDAN AKTİF OLAN FRAKSİYONLARIN ÇALIŞILMASI

a. G₄ Kodlu Ana Fraksiyonun Çalışılması

G₄ kodlu ana sütun fraksiyonu, vakum uygulamak suretiyle preparatif sütun kromatografisine tabi tutuldu. Çözücü sistemi olarak, en iyi ayırdığı İ.T.K ile saptanmış olan III no lu çözücü sistemi kullanıldı. 40 g silika jel H (Type 60) (5-40 µm) (Merck) söz konusu çözücü sisteminin uygun miktarı ile karıştırılarak süspansiyon haline getirildi. Elde edilen süspansiyon, 3.5 cm çapında ve tasarımı vakum uygulayarak çalışabilmek üzere yapılmış olan özel bir cam kromatografi sütununa dolduruldu.

G₄ kodlu fraksiyon (0.263 g), az bir miktarda kloroform-metanol karışımında (8:2) çözündürüldü; 2.75 g silika jel 60 (70-230 Mesh) (Merck) adsorbana ilave edilip iyice karıştırıldı. Önce açık havada kurutuldu ve daha sonra sabit ağırlığa ulaşınca kadar desikatörde bekletildi.

Ekstre-adsorban karışımı sütuna ilave edildikten sonra, I no lu çözücü sistemi ile elüsyona başlandı. 900 mbar vakum altında, dakikada 40-50 damla olacak şekilde homojen bir akış sağlandı. 25 ml lik fraksiyonlar toplandı. Yapılan İ.T.K. sonuçlarına dayanılarak, elüsyona 35. fraksiyondan itibaren II no lu, 44. fraksiyondan itibaren ise III no lu çözücü sistemi ile devam edildi. Fraksiyonların uygun çözücü sistemlerinde mukayeseli olarak yapılan İ.T.K. kontrolleri sonucunda elde edilen kromatogramlar, UV ışık altında incelendi; ayrıca Dragendorff belirteci püskürtüldü. Benzer fraksiyonlar birleştirildi. Çözücü alçak basınç altında kuruluğa kadar distillendi. Elde edilen ara fraksiyonlar desikatörde bekletilerek sabit ağırlığa getirildikten sonra tartıldı.

Ana komponent olarak alkaloidal nitelikli bir bileşik taşıyan 9-10 no lu ara fraksiyonun (19.5 mg) İ.T.K. kontrolleri, muhtelif kirliliklerin bulunduğunu gösterdi. Bu nedenle bu ara fraksiyon, 20X20 cm boyutlarında ve 0.5 mm tabaka kalınlığında bir tane silika gel 60 F₂₅₄ (Merck) hazır kromatografi plağına uygulandı. Plak IV no lu çözücü sisteminde 2 kez developpe edildi. Önce UV ışık altında incelemek ve daha sonra plak kenarına çok ince bir kısma Dragendorff belirteci püskürtmek suretiyle yeri belirlenen bant kazındı. Bu bant kloroform-metanol (8:2) karışımı ile elüe edildi. Daha sonra çözücü alçak basınç altında distillendi. Bakiye desikatörde sabit vezne gelinceye kadar bekletilip tartıldı. 2.8 mg ağırlığındaki bakiyenin İ.T.K. kontrolleri saf olduğunu ortaya koydu. Böylece 9-10 no lu ara fraksiyondan tek olarak elde edilen bu bileşiğe GI-1 kodu verildi.

G₄ ana fraksiyonunun preparatif sütun kromatografisine tabi tutulması sonucu elde edilmiş olan ara fraksiyonlardan bir diğeri olan 31-35 no lu ara fraksiyonun (18.9 mg) İ.T.K. kontrolleri, bu fraksiyonun nonalkaloidal bir bileşik yanısıra muhtelif safsızlıklar içerdiğini ortaya koydu. Bu nedenle preparatif İ.T.K. ile saflaştırılmasına karar verildi. Fraksiyon, bir adet 0.5 mm kalınlığında ve 20x20 cm boyutlarındaki silika jel 60 F₂₅₄ (Merck) hazır kromatografi plağına uygulandı. Plak VII no lu çözücü sistemi kullanılarak iki defa developpe edildi. UV ışık altında incelemek suretiyle yeri belirlenen bant kazındı ve kloroform-metanol (8:2) karışımı ile elüe edildi. Daha sonra çözücü alçak basınç altında distillendi. Desikatörde sabit vezne gelinceye kadar bekletilen 10.7 mg ağırlığındaki bakiyenin İ.T.K. kontrolleri sonucunda, hala bazı safsızlıklar içerdiği anlaşıldı. Bu nedenle ikinci kez preparatif İ.T.K. ile saflaştırması yoluna gidildi. 10.7 mg ağırlığındaki bakiye, bir adet 0.5 mm tabaka kalınlığında ve 20X20 cm boyutlarındaki silika jel 60 F₂₅₄ (Merck) hazır kromatografi plağına

uygulandı. Plak VIII no lu çözücü sistemi kullanılarak bir defa develope edildi. UV ışık altında yeri belirlenen bant kazındı ve kloroform-metanol (8:2) karışımı ile elüe edildi. Çözücünün alçak basınç altında distillenmesiyle elde edilen bakiye desikatörde sabit vezne gelinceye kadar bekletilip tartıldı. İ.T.K. kontrolleri, elde edilmiş olan 7.7 mg ağırlığındaki bileşiğin saf olduğunu gösterdi. Bu bileşiğe GI-2 kodu verildi.

G₄ ana fraksiyonunun preparatif sütun kromatografisine tabi tutulması sonucu elde edilmiş olan ara fraksiyonlardan 40-42 no lu ara fraksiyonun (43.6 mg) İ.T.K. kontrolleri, nonalkaloidal karakterli bir bileşik yanısıra muhtelif safsızlıklar taşıdığını gösterdi. Bu ara fraksiyon, bir adet 0.5 mm adsorban tabakası kalınlığında ve 20X20 cm boyutlarındaki silika jel 60 F₂₅₄ (Merck) hazır kromatografi plağına uygulandı. Plak VI no lu çözücü sistemi kullanılarak iki kez develope edildi. UV ışık altında yeri belirlenen ana bant kazındı ve kloroform-metanol (8:2) karışımı ile elüe edildi. Çözücü alçak basınç altında distillendi. Desikatörde sabit vezne gelinceye kadar bekletilip tartılan 21.7 mg ağırlığındaki bileşiğin İ.T.K. kontrolleri, hala bazı safsızlıklar taşıdığını gösterdi. Bu nedenle bileşik tekrar bir adet 20X20 cm boyutlarında ve 0.5 mm kalınlığındaki silika jel 60 F₂₅₄ (Merck) hazır kromatografi plağına uygulandı. Plak VIII no lu çözücü sistemi kullanılarak bir defa develope edildi. UV ışık altında incelemek suretiyle yeri belirlenen ana bant kazındı ve kloroform-metanol (8:2) karışımı ile elüe edildi. Çözücü alçak basınç altında distillendi. Bakiye desikatörde sabit vezne gelinceye kadar bekletilip tartıldı. Elde edilen 20.4 mg ağırlığındaki bakiyenin İ.T.K. kontrolleri, bileşiğin saf olarak kazanılmadığını gösterdiği için, tekrar preparatif İ.T.K. uygulanmasına karar verildi. Bakiye bir tane 0.5 mm adsorban tabakası kalınlığında ve 20X20 cm boyutlarındaki silika jel 60 F₂₅₄ (Merck) hazır kromatografi plağına uygulandı ve IX no lu çözücü sisteminde iki kez develope edildi. UV ışık

altında yeri belirlenen ana bant kazınarak alındı; kloroform-metanol (8:2) karışımı ile elüe edildi; çözücü alçak basınç altında distillendi. Desikatörde sabit vezne kadar kurutulan 3.5 mg ağırlığındaki bakiyenin İ.T.K. ile kontrolü, saf halde elde edildiğini ortaya koydu. Bu bileşiğe GI-3 kodu verildi.

b. G₆ Kodlu Ana Fraksiyonun Çalışılması

G₆ kodlu ana sütun fraksiyonu vakum uygulamak suretiyle preparatif sütun kromatografisine tabi tutuldu. Çözücü sistemi olarak, en iyi ayırdığı İ.T.K ile saptanmış olan II no lu çözücü sistemi kullanıldı. 40 g silika jel H (Type 60) (5-40 µm) (Merck), söz konusu çözücü sisteminin uygun miktarı ile karıştırılarak süspansiyon haline getirildi. Bu süspansiyon 3.5 cm çapında ve vakum uygulayarak çalışabilmek üzere tasarımı yapılmış ve imal ettirilmiş özel bir cam kromatografi sütununa dolduruldu.

0.1758 g ağırlığındaki G₆ kodlu ana fraksiyon, kloroform-metanol (8:2) karışımının deneysel olarak saptanan en az miktarında çözülüp, 2.5 g silika jel 60 (70-230 Mesh) (Merck) adsorbanla karıştırıldı; açık havada kurutulduktan sonra sabit ağırlığa ulaşınca kadar desikatörde tutuldu.

Ekstre-adsorban karışımı sütuna ilave edildikten sonra, II no lu çözücü sistemi ile elüe edildi. Akış 900 mbar vakum altında ve dakikada 40-50 damla olacak şekilde ayarlandı. 25 ml lik fraksiyonlar toplandı. Bu fraksiyonlar İ.T.K. ile mukayeseli olarak incelendi. R_f değerleri yanısıra, UV ışık altındaki görüntü ve Dragendorff belirteci ile renklendirme sonuçlarına göre benzerlik gösteren fraksiyonlar birleştirildi. Elde edilen bu ara fraksiyonlar desikatörde bekletilerek sabit ağırlığa getirildikten sonra tartıldı.

G₆ kodlu ana fraksiyondan elde edilen 11.2 mg ağırlığındaki 24-29 no lu ara fraksiyonun İ.T.K. kontrolleri, bu fraksiyonda ana komponent olarak alkaloidal bir bileşiğin bulunduğunu, ancak yanısıra safsızlıklar da içerdiğini ortaya koydu. Bu nedenle preparatif İ.T.K. uygulanmasına karar verildi. Fraksiyon, bir adet 20x20 cm boyutlarında ve 0.25 mm tabaka kalınlığında silika jel 60 F₂₅₄ (Merck) hazır kromatografi plağına uygulandı. Plak X no lu çözücü sisteminde iki kez ardarda develope edildi. Önce UV ışık altında incelenerek ve daha sonra plak kenarında çok ince bir bölüme Dragendorff belirteci püskürtülerek yeri belirlenen ana bant kazındı. Kloroform-metanol (8:2) karışımı ile elüe edildikten sonra çözücü alçak basınçta distillendi. Bakiye desikatörde sabit vızne gelinceye kurutuldu. İ.T.K. nde saf olduğu anlaşılan 3.5 mg ağırlığındaki bileşiğe GI-4 kodu verildi.

c. G₁₄ Kodlu Ana Fraksiyonun Çalışılması

0.7337 g ağırlığındaki G₁₄ kodlu ana sütun fraksiyonunun çeşitli çözücü sistemlerinde yapılan İ.T.K. kontrolleri, tek bir alkaloidal bileşiği oldukça büyük bir konsantrasyonda içerdiğini ortaya koydu. Metanolden kristalizasyon ile elde edilen 312 mg ağırlığında ve kromatografik saflıktaki bileşiğe GI-5 kodu verildi (e.d. 250-255° C).

d. G₂₁ Kodlu Ana Fraksiyonun Çalışılması

G₂₁ kodlu ana sütun fraksiyonu vakum uygulamak suretiyle preparatif sütun kromatografisine tabi tutuldu. Çözücü sistemi olarak, en iyi ayırdığı İ.T.K ile saptandı.

olan XIII no lu çözücü sistemi kullanıldı. 40 g silika jel H (Type 60) (5-40 μ m) (Merck) söz konusu çözücü sisteminin uygun miktarı ile karıştırılarak süspansiyon haline getirildi. Bu süspansiyon 3.5 cm çapında, vakum uygulayarak çalışmaya olanak sağlayacak şekilde özel olarak tasarlanıp imal edilmiş olan bir cam kromatografi sütununa dolduruldu.

G₂₁ kodlu ana fraksiyon (0.2376 g), kloroform-metanol (8:2) karışımının deneysel olarak saptanan en az miktarında çözülüp, 2.5 g silika jel 60 (70-230 Mesh) (Merck) adsorbanla karıştırıldı. Bu karışım açık havada kurutulduktan sonra sabit ağırlığa ulaşınca kadar desikatörde tutuldu.

Ekstre-adsorban karışımı sütuna ilave edildikten sonra, XI no lu çözücü sistemi ile elüe edildi. 900 mbar vakum altında, dakikada 40-50 damla olacak şekilde akış sağlandı. 25 şer ml lik fraksiyonlar toplandı. Bu fraksiyonlar İ.T.K. nde kıyaslandı; UV ışık altında incelendi ve Dragendorff belirteci püskürtüldü. Benzer lekeler veren fraksiyonlar birleştirildi. Çözücüler alçak basınç altında kuruluğa kadar distillendi. Elde edilen ara fraksiyonlar desikatörde bekletilerek sabit ağırlığa getirildikten sonra tartıldı.

G₂₁ kodlu ana fraksiyondan elde edilen 14.9 mg ağırlığındaki 33-35 no lu ara fraksiyonun İ.T.K. kontrolleri, ana komponent olarak içerdiği alkaloidal bir bileşiğin yanısıra bazı safsızlıklar da bulunduğunu gösterdi. Bu nedenle fraksiyonun preparatif İ.T.K. ile saflaştırılmasına karar verildi. Fraksiyon mümkün olan en az miktarda kloroform-metanol (8:2) karışımında çözündürülüp, bir adet silika gel 60 F₂₅₄ (Merck) hazır kromatografi plağına (20X20 cm; 0.25 mm tabaka kalınlığı) uygulandı. Plak ardarda iki kez XII no lu çözücü sisteminde developpe edildi. Önce UV ışık altında incelemek ve daha sonra plak kenarına çok ince bir kısma Dragendorff belirteci püskürtmek suretiyle yeri belirlenen ana bant kazındı ve kloroform-metanol (8:2)

karışımı ile elüe edildi. Çözücü alçak basınç altında distillendi. Bakiye desikatörde sabit vezne gelinceye kadar bekletildi. İ.T.K. kontrolleriyle saf olduğu anlaşılan 7.8 mg ağırlığındaki alkaloidal bileşiğe GI-6 kodu verildi.

G₂₁ kodlu ana fraksiyondan elde edilen 7.7 mg ağırlığındaki 36-40 no lu ara fraksiyonun İ.T.K. ile yapılan kontrolleri sonucunda, yine alkaloidal karakterli bir bileşiği ana komponent olarak içerdiği, ancak yanısıra bazı safsızlıkları da taşıdığı belirlendi. Saflaştırma için preparatif İ.T.K. uygulanmasına karar verildi. Fraksiyon 0.25 mm adsorban tabakası kalınlığına sahip olan bir adet silika jel 60 F₂₅₄ (Merck 5) (20X20 cm) hazır kromatografi plağına uygulandı. Plak XII no lu çözücü sistemi kullanılarak iki defa developpe edildi. Hem UV ışık altında ve hem de plağın kenarına çok ince bir kısma Dragendorff belirteci püskürtmek suretiyle yeri belirlenen bant kazındı. Kloroform-metanol (8:2) karışımı ile elüe edildikten sonra çözücü alçak basınçta distillendi. Desikatörde sabit vezne gelinceye kadar bekletilen 2.9 mg ağırlığındaki bileşiğin İ.T.K. kontrolleri, kromatografik saflıkta olduğunu oraya koydu. Bu bileşiğe GI-7 kodu verildi.

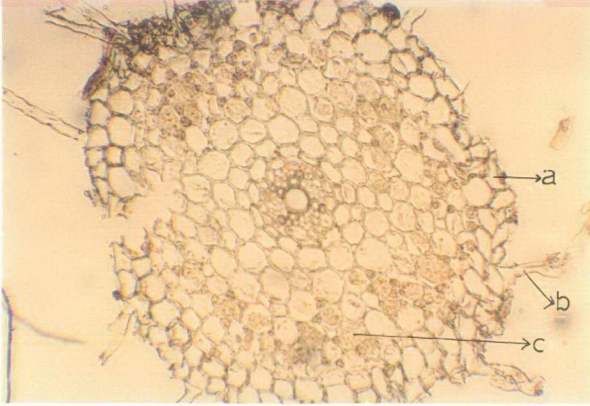
BULGULAR

I. BOTANİK ARAŞTIRMALARIN BULGULARI

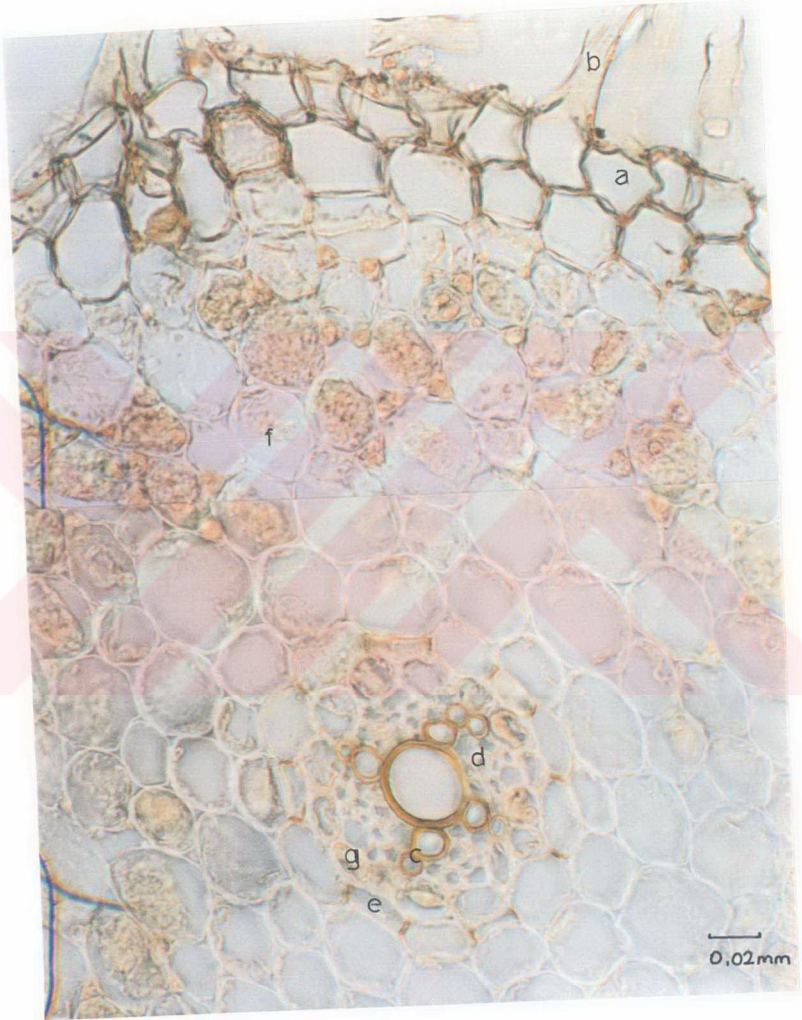
A. ANATOMİK BULGULAR

1. KÖKE AİT İNCELEME VE BULGULAR

Kök epidermisi ve bunun altındaki bir sıra kabuk parenkiması hücrelerinin çeperleri süberinleşerek ekzodermisi oluşturmaktadır. Epidermiste emici tüy kalıntıları bulunmaktadır. Kabuk parenkimasını oluşturan hücreler ince çeperli, poligonaldır ve bunların, dış yüzeye yakın bazı hücreleri rafit kristali içermektedir (Resim 15, Resim 16).



Resim 15. Kök Enine Kesit
a-Epidermis, b-Emici Tüy, c-Kabuk Parenkiması



Resim 16. Kök Enine Kesit

a-Epidermis, b-Emici Tüy, c- Ksilem, d- Floem, e-Endodermis, f-Kabuk Parenkiması, g-Periskl

Kabuk parenkimasının iç kısmında yer alan endodermis hücreleri ince çeperlidir ve bu hücrelerdeki kaspari şeridi belirgin olarak görülmektedir. Endodermisin iç kısmında bir sıra periskl hücreleri ve bunun iç kısmında merkezde büyük bir trake ve bunun etrafında radial ve ışınsal olarak dizilmiş üç veya dört sıralı, iki veya üç odun borusundan oluşan protoksilem ve bunların arasında floem hücreleri yer almaktadır. Öz de görülmemektedir.

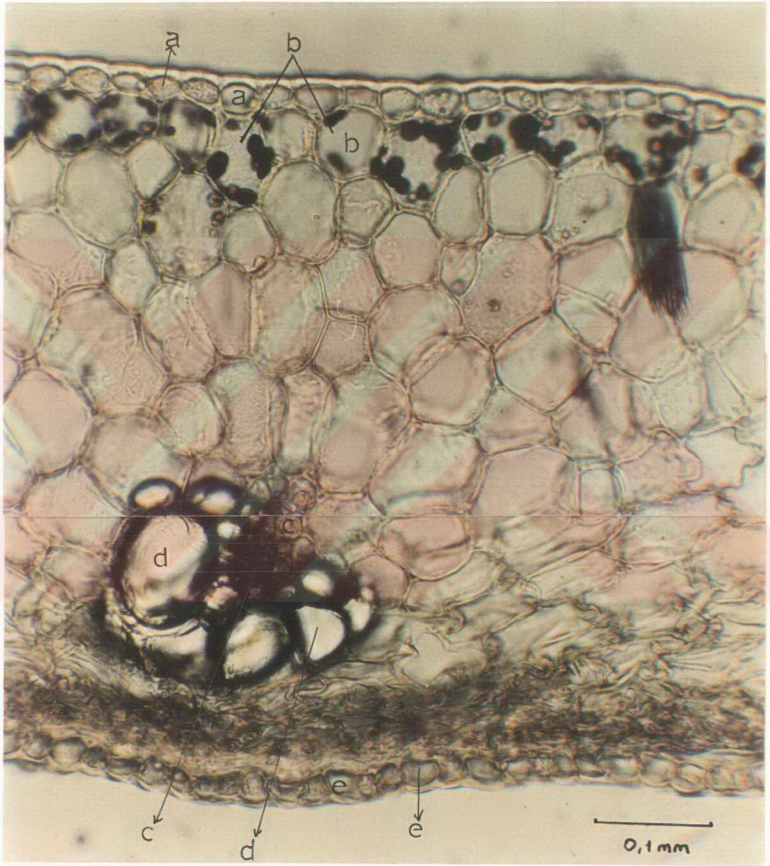
2. SOĞANA AİT İNCELEME VE BULGULAR

Epidermisin iç kısmında bulunan parenkimatik hücreler ince çeperlidir ve az miktarda nişasta taşımaktadır. İletim demetleri çevresindeki bazı parenkimatik hücrelerin içinde ve hücre çeperine yapışık durumda niteliği tanımlanamayan madde birikimi görülmektedir (Resim 17).

Soğan yapraklarının mikroskopik incelenmesinde, iç ve dış epidermis hücrelerinin dorsal çeperlerinin çok kalın, lateral çeperlerinin ince ve ventral çeperlerinin lateral çeperlere göre biraz daha kalın olduğu saptanmıştır.

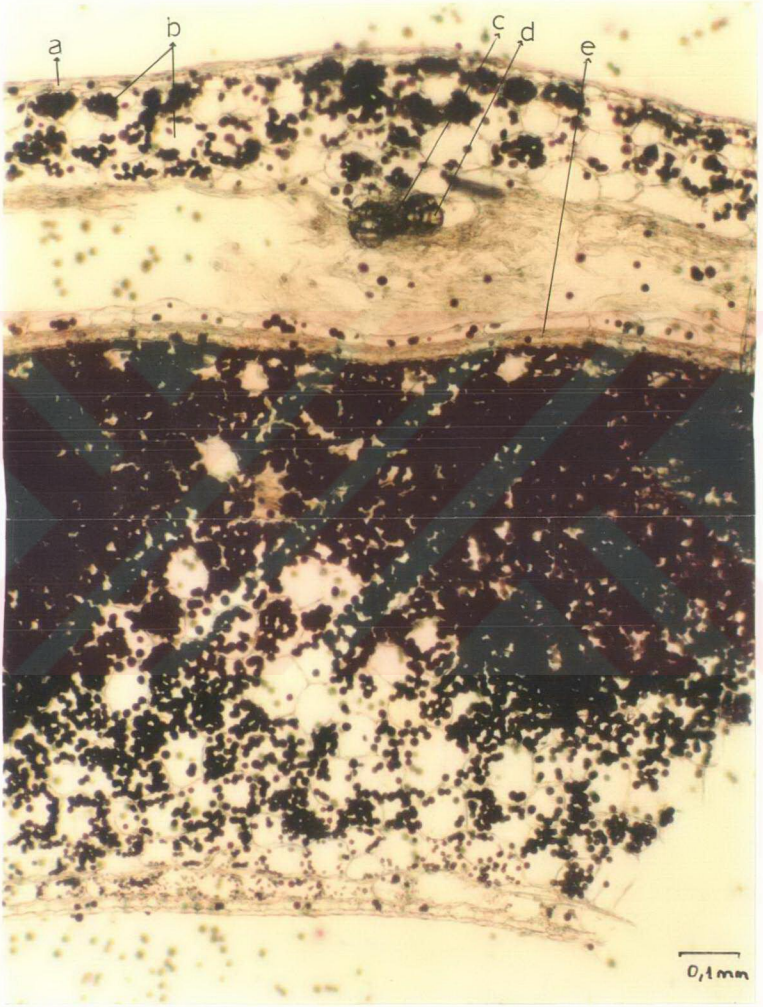
Sıkışık ve ince çeperli mezofil hücreleri dıştan merkeze doğru azalan miktarda nişasta taşımaktadır. Mezofilde yer alan iletim demetlerinin çevresinde ve dış epidermisin iç kısmında ikinci sıradaki bazı parenkimatik hücreler rafit içermektedir. Mezofildeki nişastaların, basit, ikili, üçlü veya dörtlü bileşik, yuvarlak, küremsi veya oval, hilumun konsatrik, nokta şeklinde olduğu saptanmıştır.

Soğanın canlı dış yapraklarında dış epidermisin iç kısmındaki birkaç sıra mezofil hücresi içinde az miktarda nişasta bulunmaktadır. Buna karşın soğanın iç yapraklarında nişasta miktarının oldukça fazla olduğu gözlenmektedir (Resim 18).



Resim 17. Soğan Dış Yaprak Enine Kesit

a-Dış Epidermis, b-Parenkima Hücreleri, c-İletim Demeti, d-Madde Birikimi, e-İç Epidermis

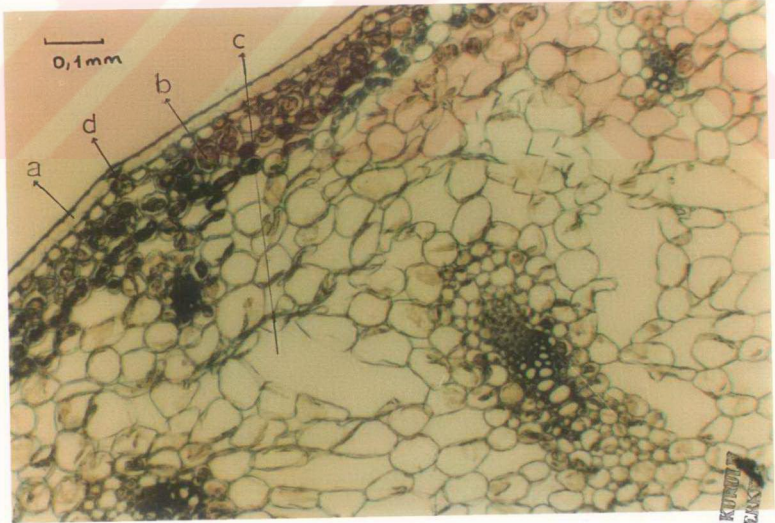


Resim 18. Soğan İç ve Dış Yaprak Enine Kesiti

a-Dış Epidermis, b-Parenkima Hücreleri, c-İletim Demeti, d-Madde Birikimi, e-İç Epidermis

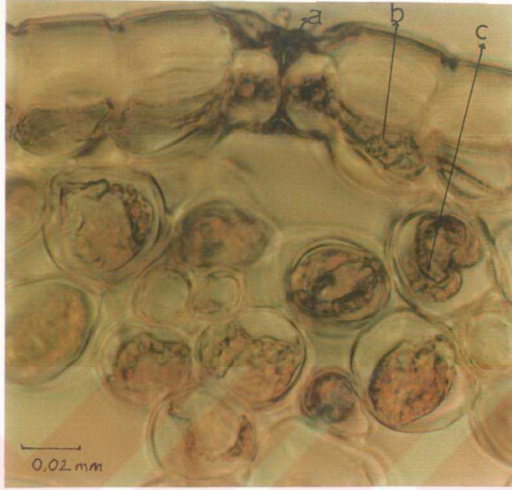
3. GÖVDEYE AİT İNCELEME VE BULGULAR

Çiçek durumu sapı, tam daire değil, hafif basık üçgenimsi şekildedir. Stomalar gömüktür. Epidermis hücrelerinin altında kloroplast içeren parenkimatik hücreler yuvarlaktır. Epidermisin hemen altında bulunan hücrelerdeki intersellüler alanlar daha azdır ve hücreler küçüktür. Merkeze doğru gittikçe hücreler büyümekte ve hücreler arası boşluklar genişlemektedir. Dört esas iletim demeti bir haç şeklinde yer alırken, bunların arasında daha küçük iletim demetleri de bulunmakta ve iletim demetleri arasında, yaprakta olduğu gibi, hava kanalları (boşluk) görülmektedir. Ancak gövdenin merkezinde ince çepirli parenkimatik hücreler vardır (Resim 19, Resim 20, Resim 21).

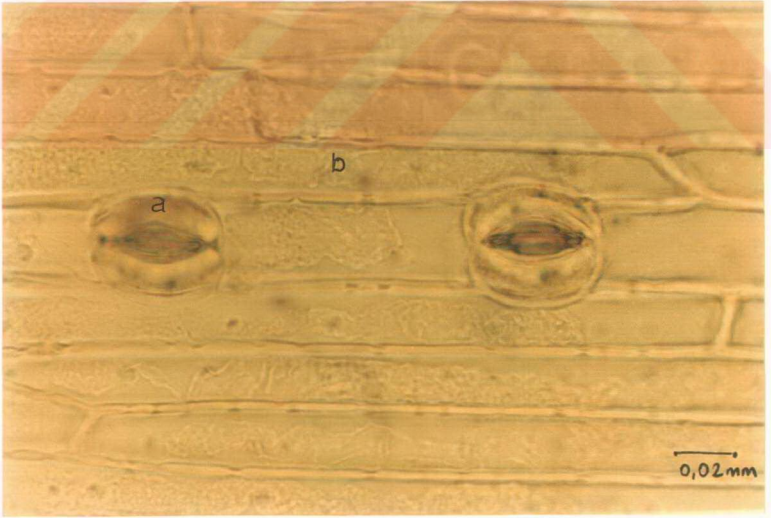


Resim 19. Gövde Enine Kesit

a- Epidermis, b- Parenkima Hücresi, c- Hava Kanalı, d- Stoma



Resim 20. Gövde Enine Kesitte Stoma
a- Stoma, b- Epidermis, c- Parenkima hücresi



Resim 21. Gövde Yüzeyel Kesit
a-Stoma, b-Epidermis

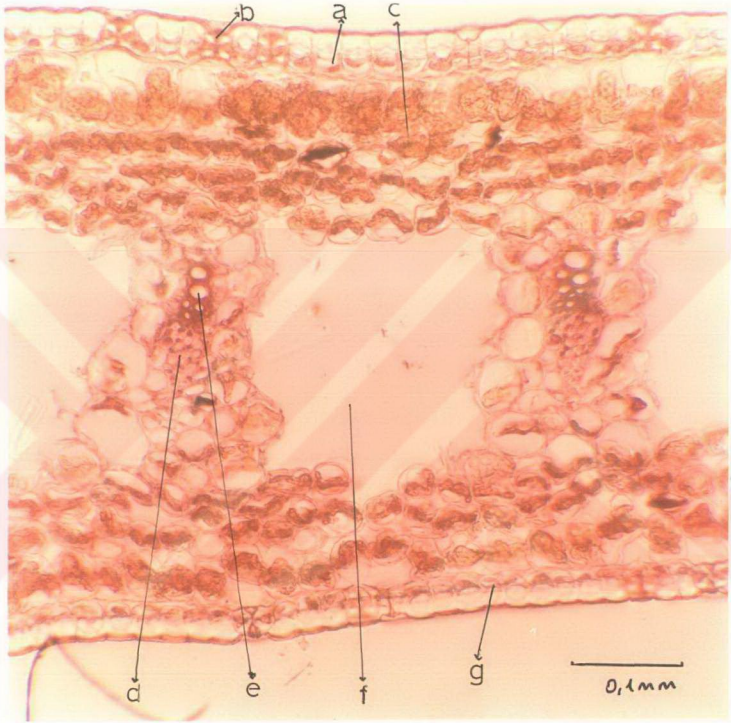
4. YAPRAĞA AİT İNCELEME VE BULGULAR

Kütikulası ince, amarillis tipinde stomaları gömük olan yaprağın, üst ve alt epidermis hücrelerinin iç kısma bakan çeperi (ventral), yan çeperlere (lateral) göre iki kat kalın, ancak dış yüzeye bakan çeperi (dorsal) oldukça kalın olarak görünmektedir. Üst epidermisin iç kısmında sıkışık palisat parenkiması, bunun da iç kısmında, geniş hücre arası boşluklar ve kloroplast içeren parenkima hücreleri yer almaktadır. Gerek alt, gerekse üst epidermis hücrelerinin iç kısmındaki birinci ve ikinci sıra mezofil hücrelerinin arasında çeperleri diğerlerine göre biraz kalınca, kloroplast içermeyen ve bazılarında rafit bulunan küçük hücreler bulunmaktadır (Resim 22, Resim 23, Resim 24).

Koleteral iletim demetine sahip yaprağın iletim demetleri arasında hava kanalları, ve alt epidermisinin hemen iç kısmında hücre arası boşlukları fazla olmayan 3-4 sıra sünger parenkiması hücreleri bulunmaktadır.

Yaprağın orta kısmından alınan enine kesitte mezofildeki iletim demetinin yanlarında yer alan hava kanalları boş olarak görülürken, dip kısmında ise dolu olarak gözlenmektedir.

Epidermis yüzeyel kesitinde, epidermis hücrelerinin yaprak boyuna paralel olarak uzamış dikdörtgenimsi, hücre çeperlerinin kalın ve basit geçitlerin belirgin olduğu görülmüştür. Dört komşu hücreli stomanın ekseninin de yaprak boyuna paralel olduğu saptanmıştır (Resim 25, Resim 26).



Resim 22. Yaprak Enine Kesit

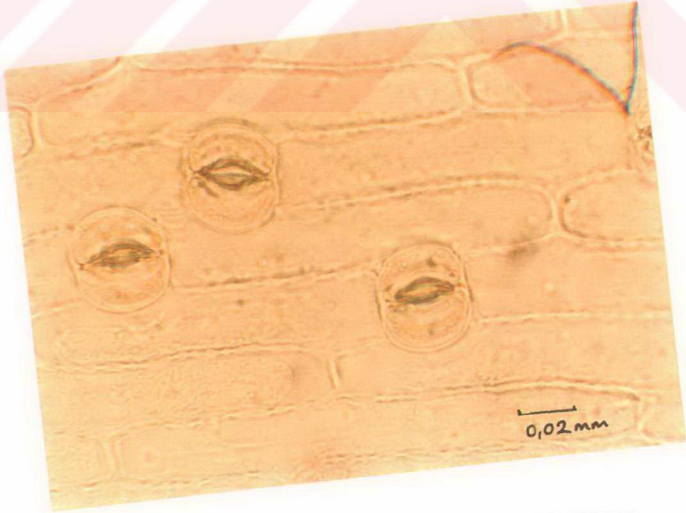
a-Üst Epidermis, b-Stoma, c-Parenkima Hücresi, d-Floem e-Ksilem f-Hava Kanalı, g-Alt Epidermis



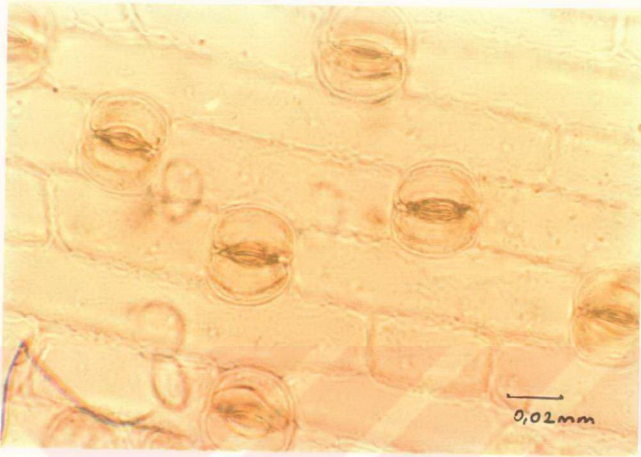
Resim 23. Yaprak Enine Kesit
a-Üst Epidermis, b-Stoma, c-Ksilem, d-Floem, e-Parenkima Hücresi,
f-Alt Epidermis



Resim 24. Yaprak Yüzeysel Kesitte Rafit Demeti



Resim 25. Yaprak Yüzeysel Kesitte Üst Epidermiste Stoma



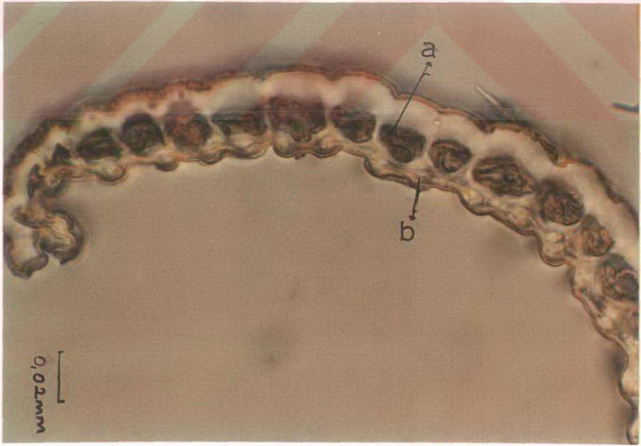
Resim 26. Yaprak Yüzeyel Kesitte Alt Epidermiste Stoma

5. SPATAYA AİT İNCELEME VE BULGULAR

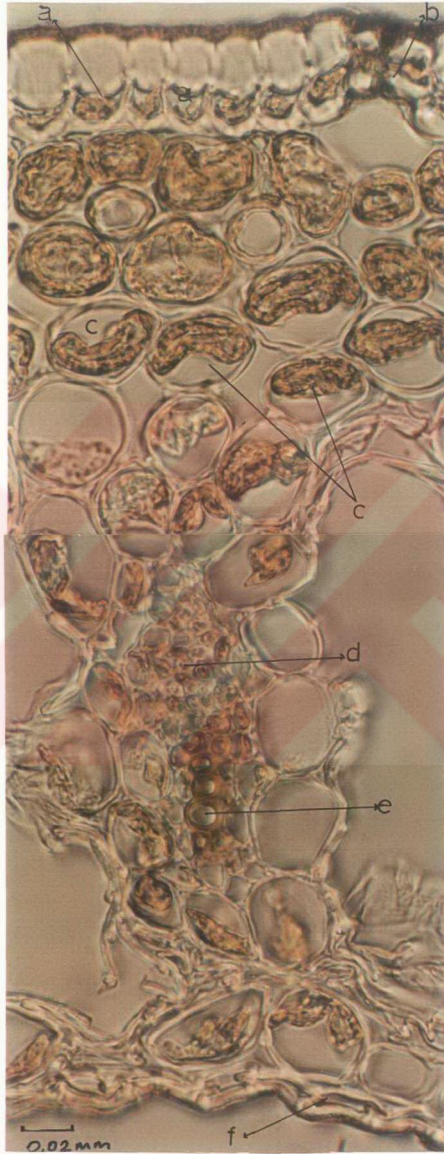
Spata genel olarak bitkinin yaprak yapısına benzer bir anatomik yapı göstermektedir (Resim 27). İç epidermis hücrelerinin ezilmiş, basılmış veya yassı, ancak lateral çeperlerinin şişkin olduğu görülmektedir. Spatanın ortasından yanlara doğru gidildikçe, iç epidermis hücreleri yassılaşıyor ve ventral ve dorsal çeper birbirine temas eder duruma gelmekte ve lateral çeper oldukça kalın (tespih gibi) görünmektedir. Spatanın ince zar gibi olan kısımlarında parenkimatik hücreler yer almamakta ve iki epidermis birbirine yapışık halde görülmektedir. Bazı kesitlerde, iletim demetine yakın olan iç epidermis hücreleri normal büyüklükte, dorsal, ventral veya lateral çeperleri ince olarak da görülebilmektedir (Resim 28, Resim 29).



Resim 27. Spata Enine Kesit Genel Görünüş
a-Dış (abaksial) Epidermis, b-İç (adaksial) Epidermis



Resim 28. Spata Enine Kesitte Spata Ucu
a-Dış (abaksial) Epidermis, b-İç (adaksial) Epidermis



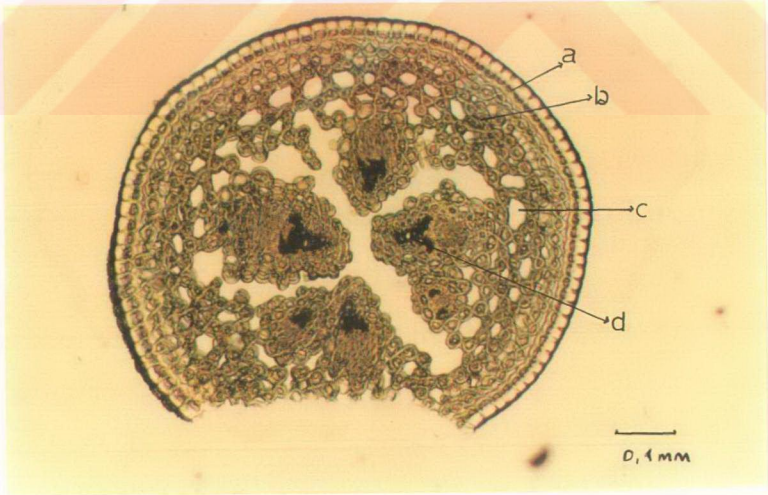
Resim 29. Spata Enine Kesitte İletim Demeti
 a-Dış (abaksial) Epidermis, b-Stoma, c-Parenkima Hücreleri, d-Floem, e-
 Ksilem, f-İç (adaksial) Epidermis

6. ÇİÇEĞE AİT İNCELEME VE BULGULAR

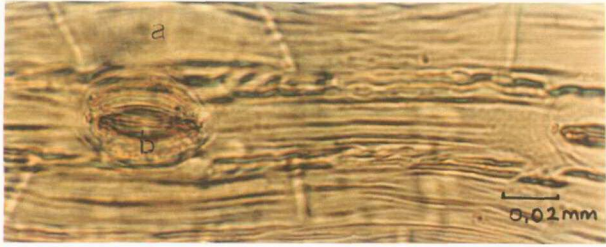
a. Çiçek sapı

Genellikle daire veya oval şeklinde, nadiren köşeli olan çiçek sapının kütikulası boyuna çizgiciklidir (Resim 30, Resim 31). Epidermis hücrelerinin dorsal çeperleri, yapraktaki gibi oldukça kalındır. Ventral çeperler dorsale göre, lateral çeperlerin ki ise ventrale göre incedir.

Epidermisin iç kısmında ilk üç sıradaki parenkima hücrelerinin çeperleri merkeze doğru incelmekte ve hücreler arası boşluklar azalmaktadır. Bu parenkima hücrelerinin iç kısmındaki hücrelerin, hücre arası boşlukları daha geniştir. Çiçek sapı kalınlığına göre 4-12 adet kolateral iletim demeti bulunmaktadır.

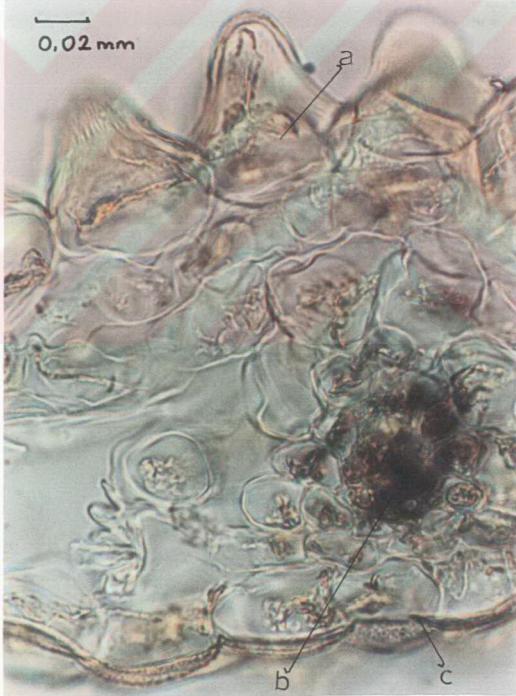


Resim 30. Çiçek Sapı Enine Kesit Genel Görünüş
a-Epidermis, b-Parenkima Hücresi, c-Hava Kanalı, d İletim Demeti



Resim 31. Çiçek Sapı Yüzeyel Kesit Genel Görünüşünde Kütikula Kıvrımları
a-Epidermis Hücresi, b-Stoma

b. Dış tepal



Resim 32. Dış Tepal Enine Kesit

a-Dış Epidermis, b-İletim Demeti, c-İç Epidermis

Epidermisin iç kısmında 1. ve 2. sıra parenkima hücreleri arasında ve iletim demeti çevresinde kloroplast içermeyen bazı hücrelerin içerisinde de rafit demetleri görülmektedir.

Dış tepal enine kesitinde, dış epidermisin kuvvetli papilli ve kutikulası çizgicikli, iç epidermisin ise hafif papilli, kütikulasının noktacıklı olduğu gözlenmiştir.

Mezofil, içerisinde koleteral iletim demeti bulunan ve ince çeperli parenkimatik hücrelerden oluşmaktadır (Resim 32). Bu parenkimatik hücrelerin bazıları rafit taşımaktadır. Dış ve iç epidermis hücreleri yüzeysel olarak incelendiğinde, epidermis hücrelerinin çeperlerinin düz beşgen veya altıgen şeklinde köşeli ve nükleusların belirgin olduğu saptanmıştır (Resim 33, Resim 34).



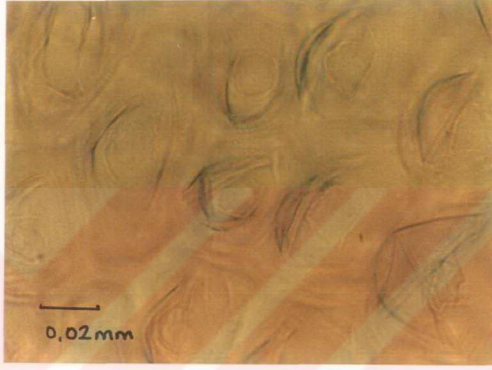
Resim 33. Dış Tepal Yüzeysel Kesitinde Dış Epidermis



Resim 34. Dış Tepal Yüzeysel Kesitinde İç Epidermis

c. İç Tepal

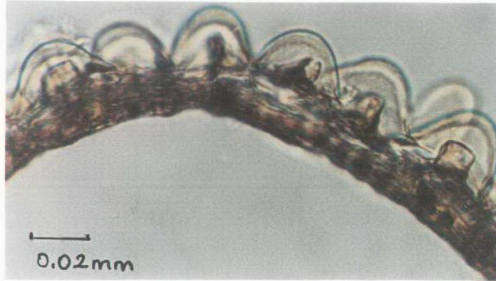
İç tepal ile dış tepalin anatomik yapıları benzer olmakla birlikte, dış epidermiste yer alan papillerin daha kuvvetli olduğu tespit edilmiştir (Resim 35).



Resim 35. İç Tepal Dış Epidermis

d. Anter

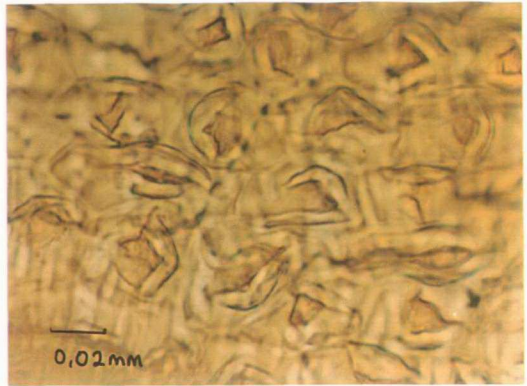
Anter enine kesitinde, epidermis hücrelerinin ince çeperli, büyük, dış yüzeye doğru kuvvetli papilli, endotesyum hücrelerinin ise yassı, odunlaşmış çepere sahip olduğu tespit edilmiştir (Resim 36, Resim 37, Resim 38). Endotesyumdaki ağsı kalınlaşma yüzeyel kesitlerde karakteristik olarak izlenmektedir (Resim 39).



Resim 36. Anter Enine Kesitte Epidermiste Papiller



Resim 37. Anter Enine Kesit Genel Görünüş



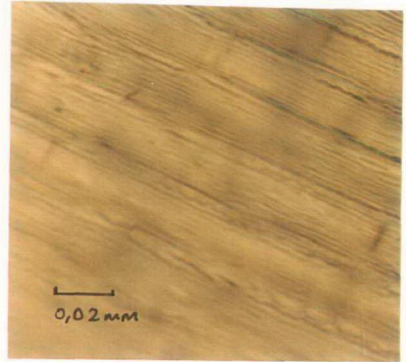
Resim 38. Anter Yüzeysel Kesitte Epidermiste Papiller



Resim 39. Anter Endotesyumu

e. Filament

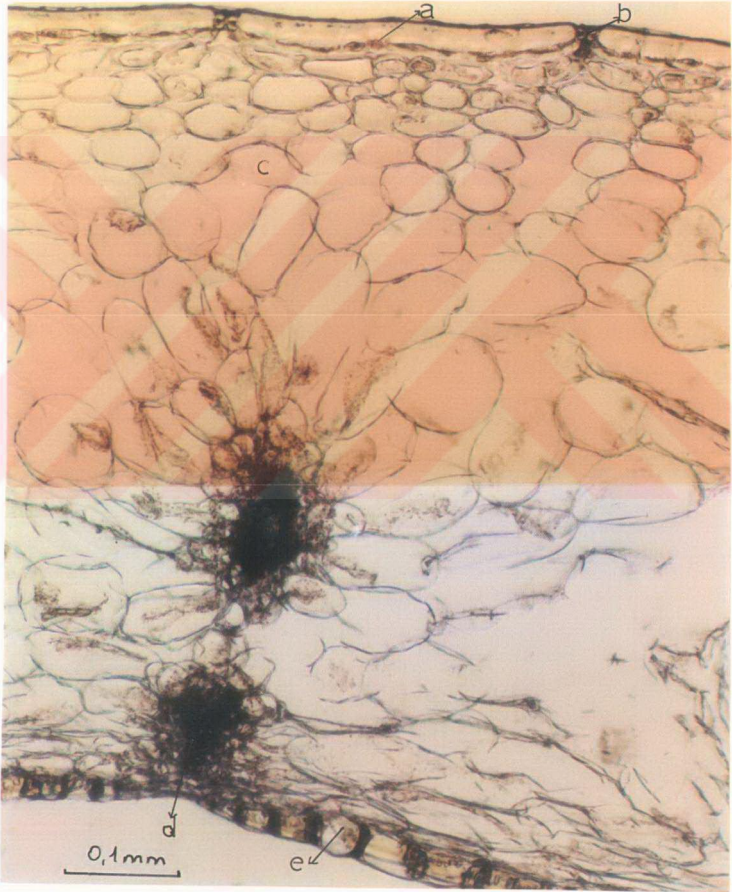
Filamentte, kütikula boyuna çizgili ve dikdörtgenimsi epidermis hücreleri oldukça uzun ve ince çeperlidir (Resim 40).



Resim 40. Yüzeyel Kesitte Filament Epidermis Hücrelerinin Kütikula Kıvrımları

7. MEYVAYA AİT İNCELEME VE BULGULAR

Meyva enine kesitinde, ekzokarp hücrelerinin dorsal çeperinin oldukça kalın, lateral ve ventral çeperlerin daha ince olduğu saptanmıştır (Resim 41). Stomalar epidermis içerisine gömülmüştür. Mezokarp hücreleri ekzokarptan endokarpa doğru büyümekte

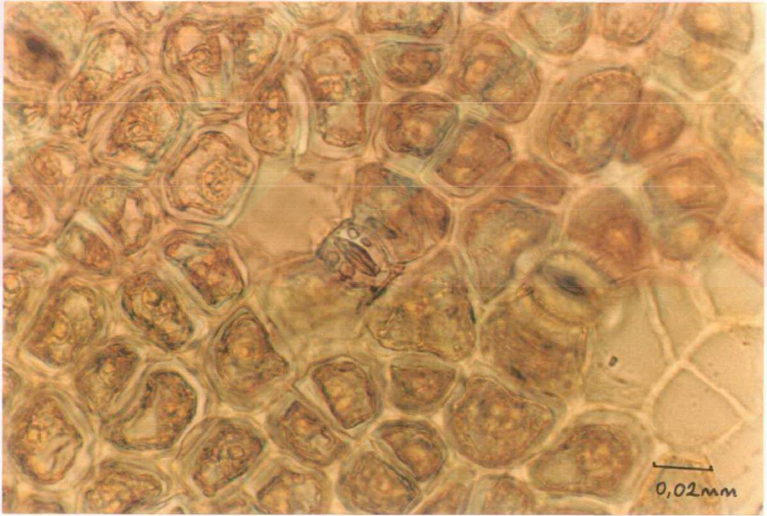


Resim 41. Meyve Enine Kesit Genel Görünüş

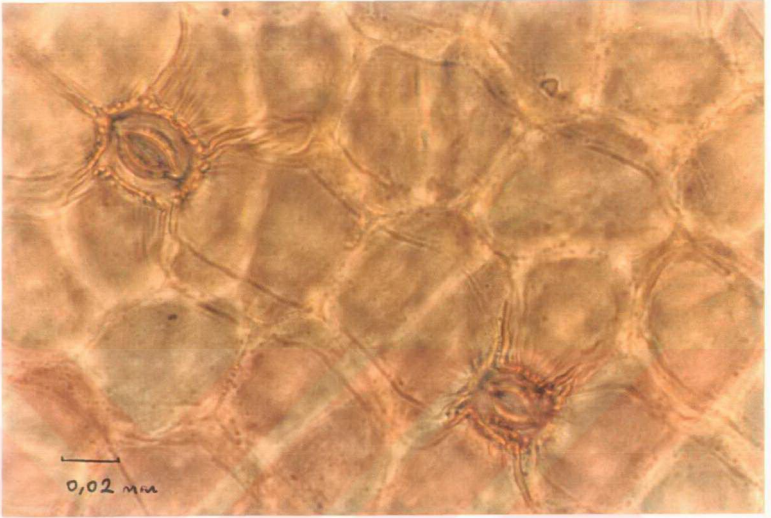
a-Ekzokarp, b-Stoma, c-Mezokarp Hücreleri, d-İletim Demeti, e-Endokarp

ve çeperleri de incelmektedir. Endokarp hücrelerinin dorsal ve ventral çeperleri ince, lateral çeperleri ise kalınlaşmış ve odunlaşmış bir yapı göstermektedir.

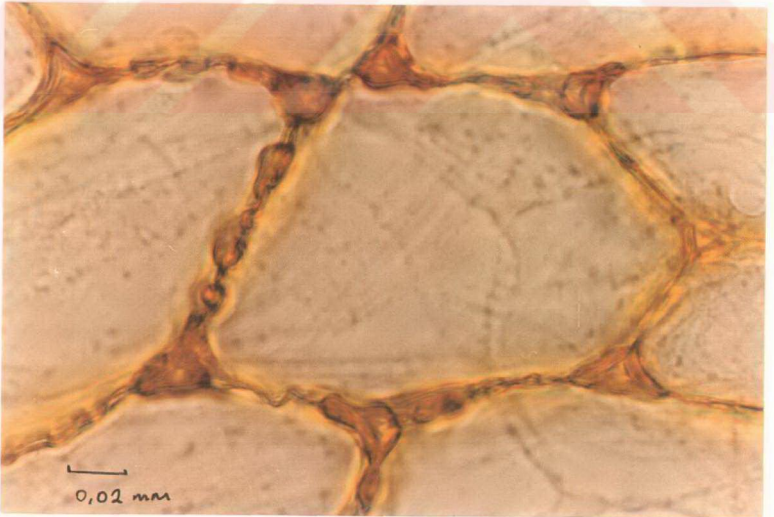
Ekzokarp ve endokarp yüzeysel olarak incelendiğinde, hücrelerin beşgen veya altıgenimsi ve kalın çeperli olduğu görülmektedir. Ekzokarpta yer alan 4-5 komşu hücreli stomaların üzerini, stoma eksenine dikey çizgili kütikula örtmektedir (Resim 42, Resim 43, Resim 44).



Resim 42. Meyve Yüzeysel Kesitinde Stoma ve Stoma Üzerindeki Kütikula Çizgileri



Resim 43. Ekozokarp Yüzeysel Kesit

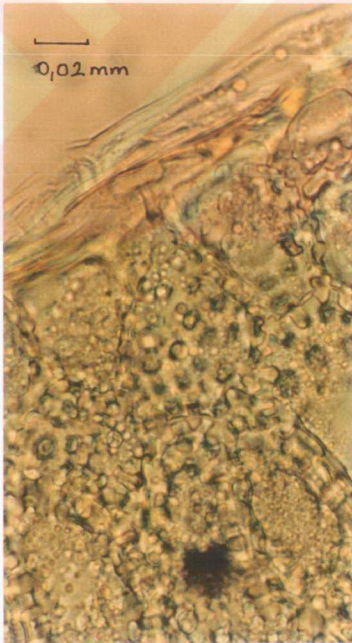


Resim 44. Endokarp Yüzeysel Kesit

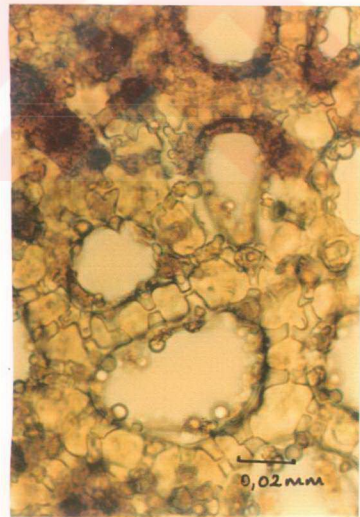
8. TOHUMA AİT İNCELEME VE BULGULAR

Tohumda, testa ezilmiş besi doku, endosperma ve embriyo bulunmaktadır. Testa ince çeperli bir sıra hücreden oluşmaktadır. Yağ ve protein taşıyan heksagonal endosperma hücrelerinin çeperleri oldukça kalındır ve basit geçitleri belirgindir (Resim 45, Resim 46).

Embriyo ince çeperli parenkimatik hücrelerden oluşmaktadır. İncelendiğinde karakteristik bir yapı saptanamamıştır.



Resim 45. Tohum Enine Kesit

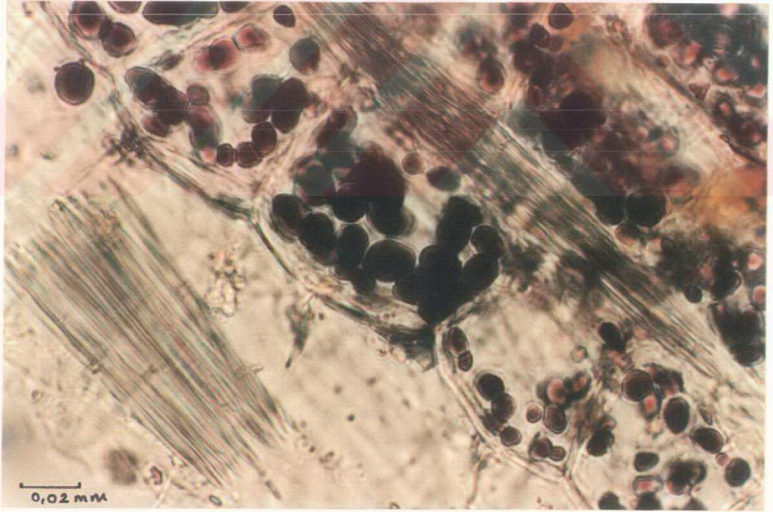


Resim 46. Tohum Enine Kesit

B. MİKROSKOBİK BULGULAR

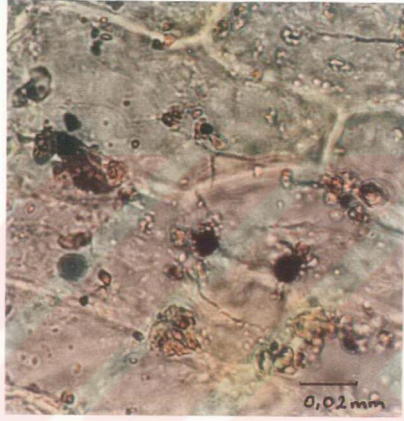
1. I_{CB} ve I_{MB} Kodlu Bulbus Galanthi Toz Droğunun Mikroskopik Olarak İncelenmeleri

Çiçekli ve meyvalı Bulbus Galanthi toz droğunun mikroskopik olarak incelenmesinde herhangi bir farklılık görülmemiştir. Her iki toz droğun mikroskopik olarak incelenmesinde, soğanın iç kısmındaki canlı yapraklara ait içerisinde bol miktarda nişasta ve rafit kristali taşıyan doku parçalarına (Resim 47),



Resim 47. Parenkima Hücrelerinde Nişasta ve Rafit Demeti

soğan yapraklarına ait epidermis hücrelerine (yüzeysel görünüşte) (Resim 48), soğanın cansız dış yapraklarına ait süberinleşmiş doku parçalarına (Resim 49), hücre dışına çıkmış nişastaya ve rafit demetlerine sıkça rastlanmaktadır. Kahverengi renkli cansız (ölü) dış yaprak epidermisi üzerinde gelişmiş mantar hifleri de saptanmıştır (Resim 50).

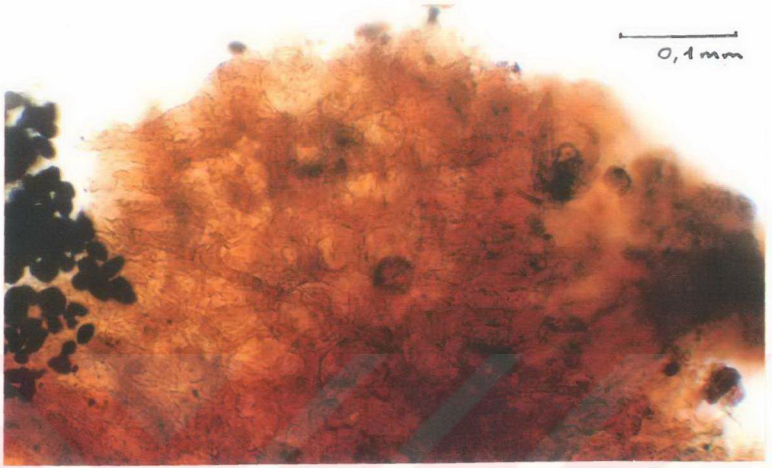


Resim 48. Soğan Epidermis

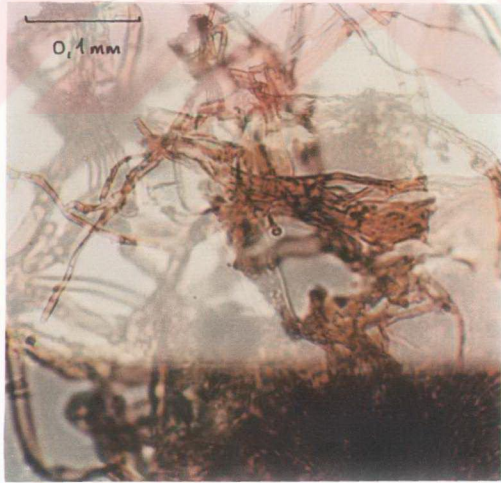
Emici tüy içeren kök parçaları ile odun boruları boyuna olarak görünmektedir (Resim 51, Resim 52).

2. I_{CH} Kodlu Herba Galanthi Toz Droğunun Mikroskopik Olarak İncelenmesi

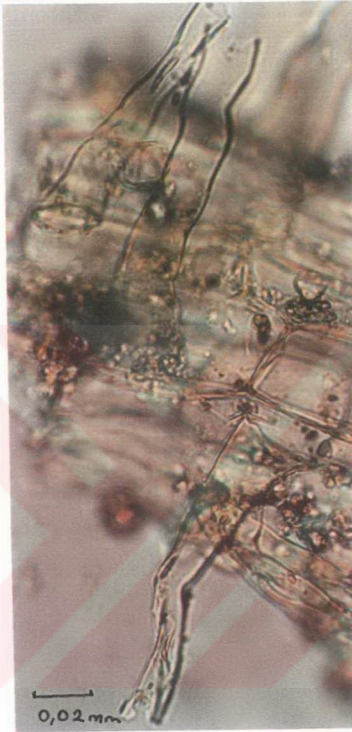
Toz droğun mikroskopik incelenmesinde, çiçeğe ait anter endotesyumu (Resim 53), polen (Resim 54, Resim 55), iç ve dış tepale ait papilli çiçek epidermisine (Resim 56, Resim 57) sıkça rastlanmaktadır.



Resim 49. Süberinleşmiş Doku Parçaları



Resim 50. Soğan Dış Yapağında Mantar Hifleri

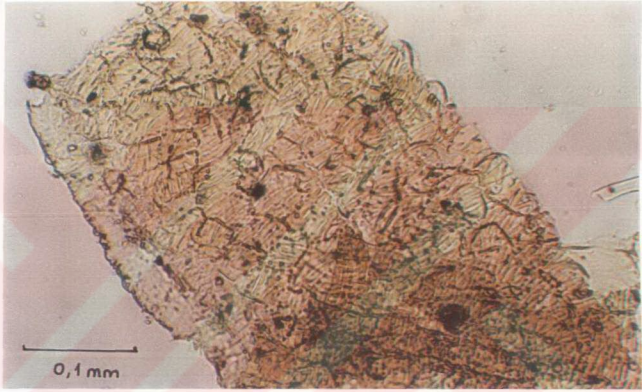


Resim 51. Kök Parçası



Resim 52. Kök Parçası

Ayrıca rafit içeren parenkimatik hücreler, anamositik tip stoma taşıyan ince, uzun ve düz çepirli epidermis hücreleri içeren yaprak ve gövdeye ait doku parçaları da bol miktarda görülmektedir (Resim 58, Resim 59). Nadiren papilli stigma da gözlenmiştir (Resim 60).



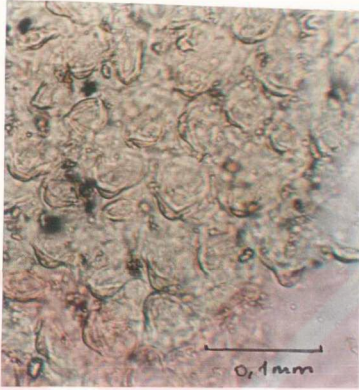
Resim 53. Anter Endotesyumu



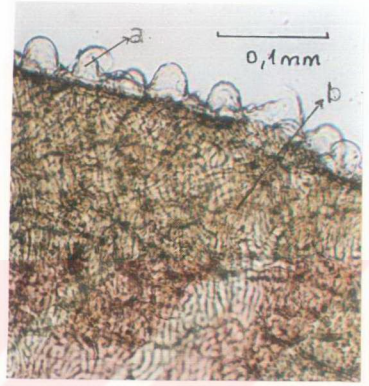
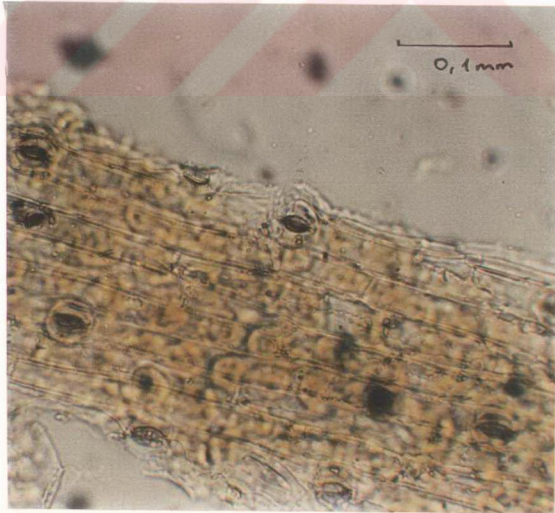
Resim 54. Polen



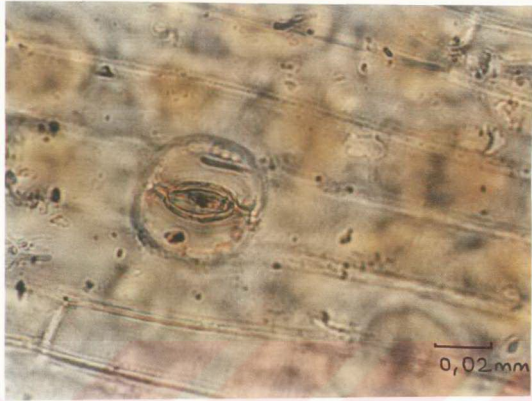
Resim 55. İçi Boşalmış Polen



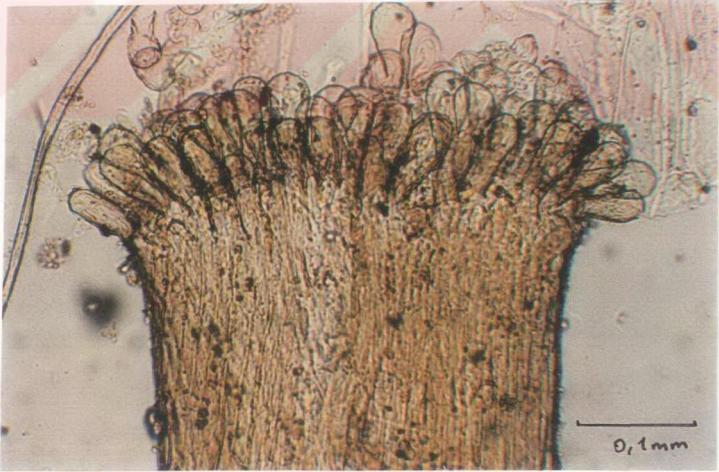
Resim 56. Papilli Epidermis (Üstten)

Resim 57. Anter Parçası
a-Papil, b-Endotesyum

Resim 58. Yaprak Epidermisi



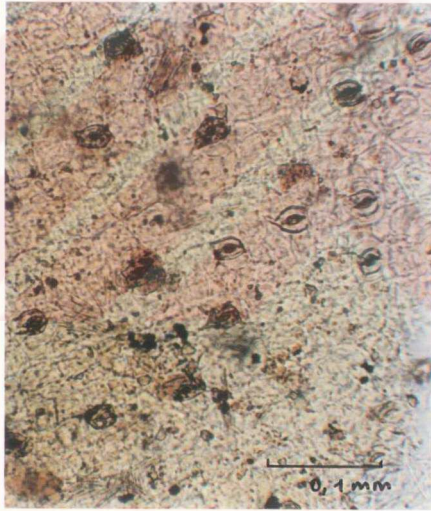
Resim 59. Yaprak Epidermisi



Resim 60. Stigma

3. I_{MH} Kodlu Herba Galanthi Toz Droğunun Mikroskopik Olarak İncelenmesi

Meyvalı haldeyken toplanmış olan bitkiden hazırlanmış olan Herba Galanthi toz droğunun mikroskopik olarak incelenmesinde, bol miktarda yaprak ve gövdeye ait yeşil renkli doku parçaları görülmüştür. Üzeri stoma eksenine dikey olarak çizgili kütikula ile örtülü stoma taşıyan ekzokarp parçalarına az oranda rastlanmaktadır (Resim 61).



Resim 61. Meyva Ekzokarp

II. KALİTE KONTROL VE MİKTAR TAYİNİ ÇALIŞMALARINA AİT BULGULAR

A. NEM MİKTAR TAYİNİ

Alman Farmakopesi'nin (7I) genel kısmında belirtilen yöntem esas alınarak I_{ÇB}, I_{ÇH}, I_{MB}, I_{MH} kodlu örnekler üzerinde ayrı ayrı olmak üzere üç paralel deney yapıldı. Bu deneylerde elde edilen sonuçlar aşağıda yer almaktadır (Tablo 11-Tablo 14).

Drog Miktarı (g)	% Nem Miktarı
1.0001	9.509
1.0002	9.538
1.0002	9.268
Ortalama % Nem Miktarı: 9.438	

Tablo 11. I_{ÇB} Örneğinde Yapılan Nem Miktar Tayini Sonuçları

Drog Miktarı (g)	% Nem Miktarı
1.0000	8.840
1.0000	8.810
1.0000	8.790
Ortalama % Nem Miktarı: 8.813	

Tablo 12. I_{ÇH} Örneğinde Yapılan Nem Miktar Tayini Sonuçları

Drog Miktarı (g)	% Nem Miktarı
1.0000	9.620
1.0000	9.450
1.0000	9.710
Ortalama % Nem Miktarı: 9.593	

Tablo 13. I_{MB} Örneğinde Yapılan Nem Miktar Tayini Sonuçları

Drog Miktarı (g)	% Nem Miktarı
1.0000	9.950
1.0000	10.030
1.0000	9.920
Ortalama % Nem Miktarı: 9.967	

Tablo 14. I_{MH} Örneğinde Yapılan Nem Miktar Tayini Sonuçları

B. TOTAL KÜL MİKTAR TAYİNİ

Alman Farmakopesi'nin genel kısmında belirtilen yöntem esas alınarak I_{CB}, I_{CH}, I_{MB}, I_{MH} kodlu örnekler üzerinde ayrı ayrı olmak üzere üç paralel deney yapıldı. Bu deneylerde elde edilen sonuçlar aşağıda yer almaktadır (Tablo 15-Tablo 18).

Drog Miktarı (g)	% Total Kül Miktarı
1.0001	15.688
1.0002	16.097
1.0001	16.668
Ortalama % Total Kül Miktarı: 16.151	

Tablo 15. I_{CB} Örneğinde Yapılan Total Kül Miktar Tayini Sonuçları

Drog Miktarı (g)	% Total Kül Miktarı
1.0000	8.890
1.0003	8.607
1.0001	9.069
Ortalama % Total Kül Miktarı: 8.855	

Tablo 16. I_{CH} Örneğinde Yapılan Total Kül Miktar Tayini Sonuçları

Drog Miktarı (g)	% Total Kül Miktarı
1.0003	10.167
1.0004	9.056
1.0003	10.607
Ortalama % Total Kül Miktarı: 9.943	

Tablo 17. I_{MB} Örneğinde Yapılan Total Kül Miktar Tayini Sonuçları

Drog Miktarı (g)	% Total Kül Miktarı
1.0000	8.730
1.0001	8.659
1.0000	8.420
Ortalama % Total Kül Miktarı: 8.603	

Tablo 18. I_{MH} Örneğinde Yapılan Total Kül Miktar Tayini Sonuçları

C. SÜLFAT KÜLÜ MİKTAR TAYİNİ

Alman Farmakopesi'nin genel kısmında belirtilen yöntem esas alınarak I_{CB}, I_{CH}, I_{MB}, I_{MH} kodlu örnekler üzerinde ayrı ayrı olmak üzere üç paralel deney yapıldı. Bu deneylerde elde edilen sonuçlar aşağıda yer almaktadır (Tablo 19-Tablo 22).

Drog Miktarı (g)	% Sülfat Külü Miktarı
1.0003	20.134
1.0001	20.008
1.0003	20.584
Ortalama % Sülfat Külü Miktarı: 20.302	

Tablo 19. I_{CB} Örneğinde Yapılan Sülfat Külü Miktar Tayini Sonuçları

Drog Miktarı (g)	% Sülfat Külü Miktarı
1.0002	11.568
1.0002	11.678
1.0002	11.688
Ortalama % Sülfat Külü Miktarı: 11.645	

Tablo 20. I_{CH} Örneğinde Yapılan Sülfat Külü Miktar Tayini Sonuçları

Drog Miktarı (g)	% Sülfat Külü Miktarı
1.0000	12.750
1.0002	12.707
1.0003	12.306
Ortalama % Sülfat Külü Miktarı: 12.588	

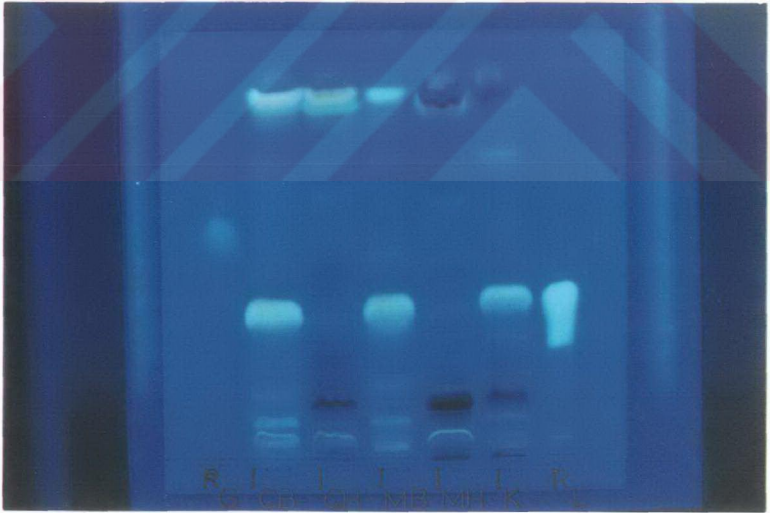
Tablo 21. I_{MB} Örneğinde Yapılan Sülfat Külü Miktar Tayini Sonuçları

Drog Miktarı (g)	% Sülfat Külü Miktarı
1.0003	12.046
1.0002	12.458
1.0003	12.096
Ortalama % Sülfat Külü Miktarı:12.200	

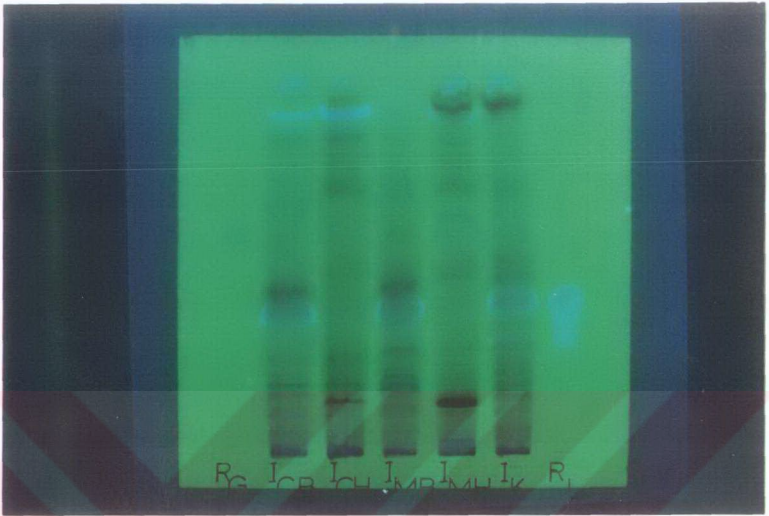
Tablo 22. I_{MH} Örneğinde Yapılan Sülfat Külü Miktar Tayini Sonuçları

D. DROGLARIN İ.T.K İLE SAFLIK VE KALİTE KONTROLÜ

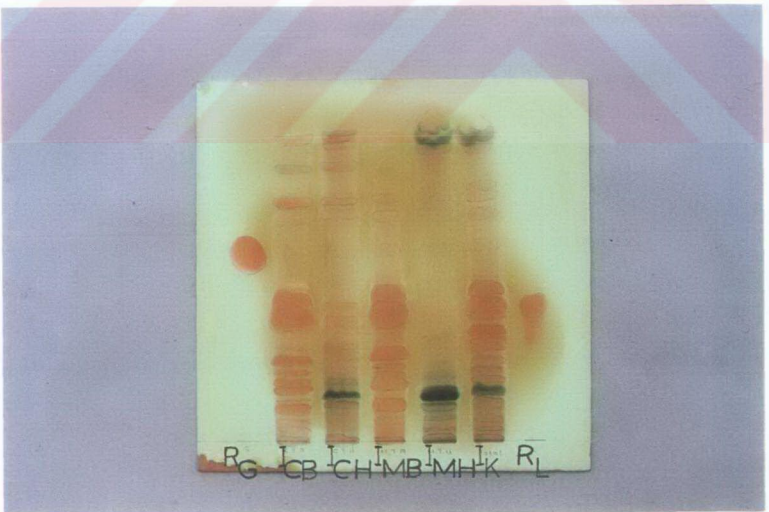
R_G , I_{CB} , I_{CH} , I_{MB} , I_{MH} , I_K ve R_L kodlu örnekler, yanyana olmak üzere, 0.25 mm kalınlığında, 20X20 cm boyutlarındaki Kieselgel 60 F_{254} (Merck) hazır kromatografi plağına uygulandı. Benzen- kloroform-metanol-amonyum hidroksit (% 25) (8:9:3:2 damla) çözücü sistemi içerisinde starttan itibaren 17 cm yükselecek şekilde ardarda iki kez developpe edilen kromatografi plağının 254 ve 366 nm dalga boylarındaki UV ışık altında çekilen fotoğrafları Resim 4 ve Resim 5 de, Dragendorff reaktifli püskürtüldükten sonra çekilen fotoğrafı ise Resim 6 da görülmektedir. Galanthamine'nin R_f değeri 0.56 ve Lycorine'nin R_f değeri 0.4 dür.



Resim 4. Galanthamine ve Lycorine'in Teşhisi İçin 254 nm Dalga Boyundaki UV Işık Altında Çekilen Fotoğraf



Resim 5. Galanthamine ve Lycorine'in Teşhisi İçin 366 nm Dalga Boyundaki UV Işık Altında Çekilen Fotoğraf



Resim 6. Galanthamine ve Lycorine'in Teşhisi İçin Dragendorff Belirteci Püskürtüldükten Sonra Çekilen Fotoğraf

E. TOTAL ALKALOİT MİKTAR TAYİNİ

Yapılan deneylerde I_{CB} , I_{CH} , I_{MB} , I_{MH} kodlu örneklerin her birinden ayrı ayrı beş paralel çalışma gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar kuru drog ve galanthamine üzerinden yüzde olarak hesaplanmak suretiyle verilmiştir (Tablo 23-Tablo30).

Drog miktarı (g)	% Total Alkaloid
6.0998	0.0164
6.1339	0.0151
6.1087	0.0193
6.1602	0.0185
6.1569	0.0145

Tablo 23. I_{CB} Kodlu Örneğe Ait Total Alkaloid Miktarı Sonuçları

N	Mean	Median	St. Deviation	Min	Max	Q_1	Q_3
5	0.0168	0.0164	0.0021	0.0145	0.0193	0.0148	0.0189

Tablo 24. I_{CB} Kodlu Örnekteki Total Alkaloid Miktarı Sonuçlarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

Drog miktarı (g)	% Total Alkaloid
6.1044	0.0152
6.1076	0.0152
6.0950	0.0192
6.1025	0.0152
6.1708	0.0185

Tablo 25. I_{CH} Kodlu Örneğe Ait Total Alkaloid Miktarı Sonuçları

N	Mean	Median	St. Deviation	Min	Max	Q ₁	Q ₃
5	0.0167	0.0152	0.0020	0.0152	0.0192	0.0152	0.0189

Tablo 26. I_{CH} Kodlu Örnekteki Total Alkaloit Miktarı Sonuçlarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

Drog miktarı (g)	% Total Alkaloit
6.0735	0.0152
6.0708	0.0152
6.0825	0.0153
6.1219	0.0146
6.1239	0.0186

Tablo 27. I_{MB} Kodlu Örneğe Ait Total Alkaloit Miktarı Sonuçları

N	Mean	Median	St. Deviation	Min	Max	Q ₁	Q ₃
5	0.0158	0.0152	0.0016	0.0146	0.0186	0.0149	0.0170

Tablo 28. I_{MB} Kodlu Örnekteki Total Alkaloit Miktarı Sonuçlarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

Drog miktarı (g)	% Total Alkaloit
6.0574	0.0874
6.0609	0.0714
6.0600	0.0874
6.0634	0.0833
6.1190	0.0724

Tablo 29. I_{MH} Kodlu Örneğe Ait Total Alkaloit Miktarı Sonuçları

N	Mean	Median	St. Deviation	Min	Max	Q ₁	Q ₃
5	0.0804	0.0833	0.0079	0.0714	0.0874	0.0719	0.0874

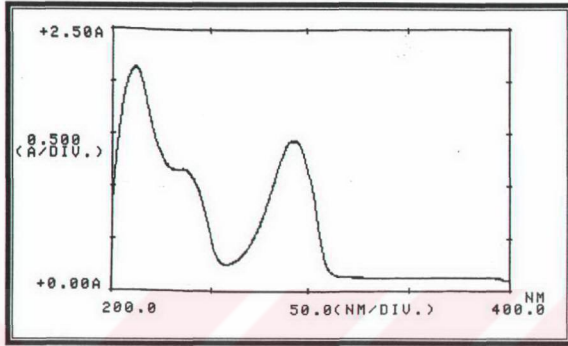
Tablo 30. I_{MH} Kodlu Örnekteki Total Alkaloit Miktarı Sonuçlarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

F. LYCORİNE VE GALANTHAMİNE'İN MİKTAR TAYİNİ

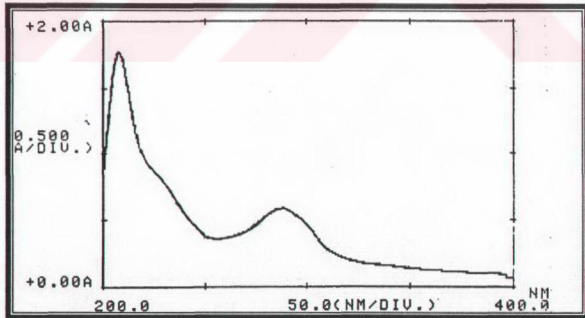
1. LYCORİNE VE GALANTHAMİNE İÇİN İ.T.K. YÖNTEMİYLE ÖN ARAŞTIRMALAR

Drog örneklerinde ölçülebilecek miktarda galanthamine ve lycorine bulunup bulunmadığına dair çalışmalar yapılmıştır. Bu amaçla yapılan deneylere ait fotoğraf ve spektrumlar, standart olarak kullanılan lycorine ve galanthamine'e ait spektrum ve fotoğraflarla birlikte verilmiştir.

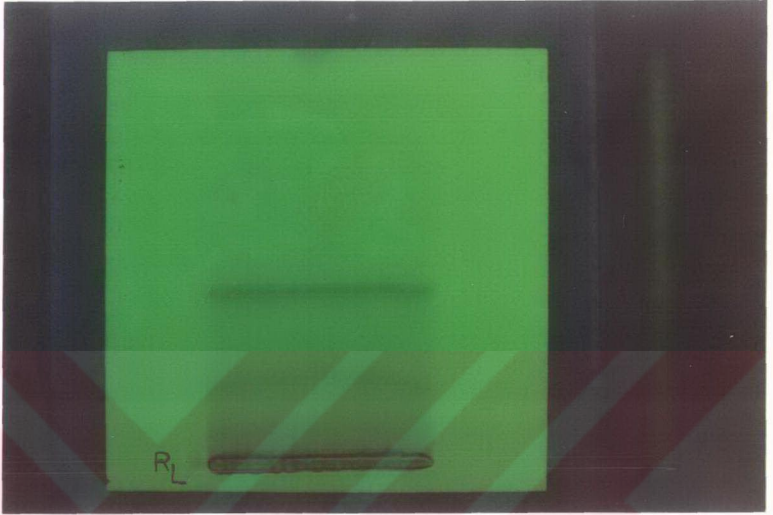
a. Lycorine için Yapılan Ön Araştırmalar



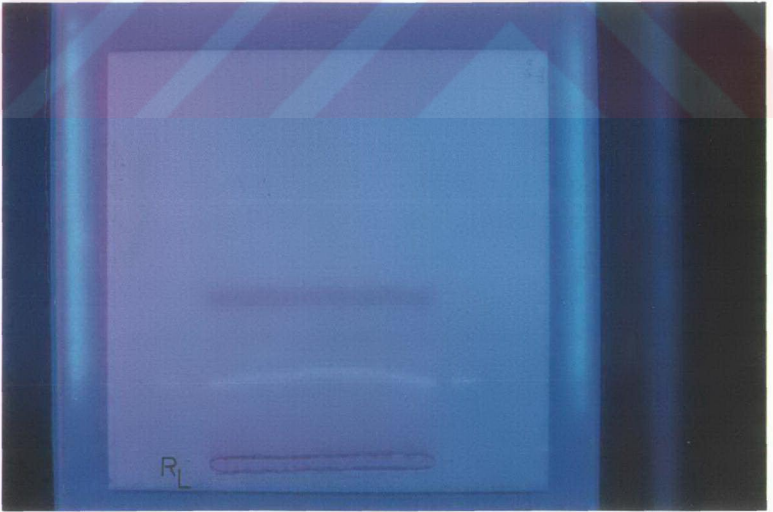
Şekil 1. Standart Olarak Kullanılan Lycorine'e Ait UV Spektrumu
 $[\lambda_{\max}(\text{MeOH}) (\log \epsilon) 291.8 (3.57), 211.2 (3.74)]$



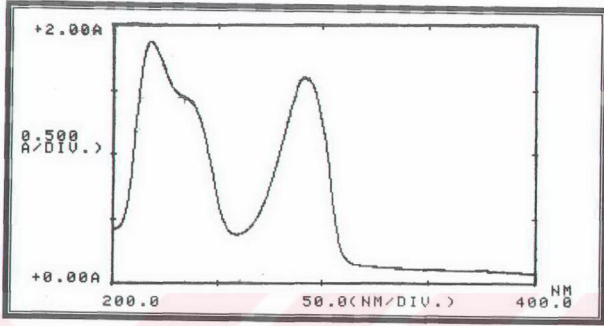
Şekil 2. P₁ Kodlu Plaktan Alınan ve Lycorine Olduğu Düşünülen Bileşiğin UV Spektrumu



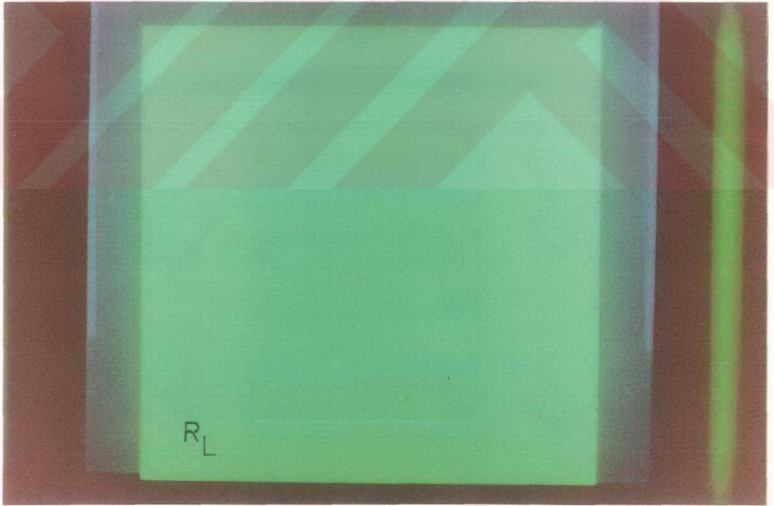
Resim 7. 254 nm Dalga Boyundaki UV Işık Altında Çekilen Fotoğraf



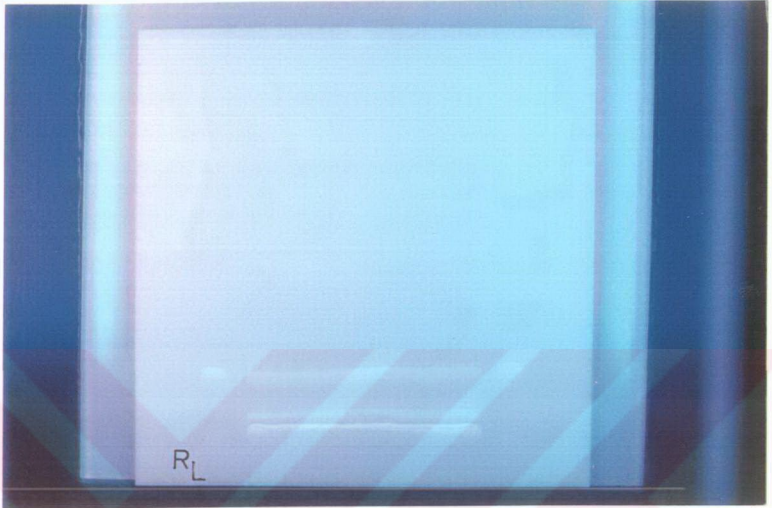
Resim 8. 366 nm Dalga Boyundaki UV Işık Altında Çekilen Fotoğraf



Şekil 3. P₂+P₃+P₄ Kodlu Plaklardan Alınan ve Lycorine Olduğu Düşünülen Bileşimin UV Spektrumu

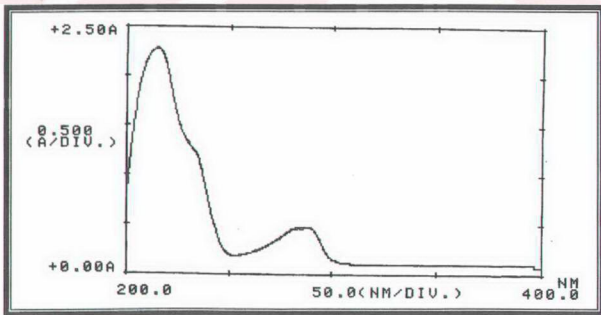


Resim 9. 254 nm Dalga Boyundaki UV Işık Altında Çekilen Fotoğraf



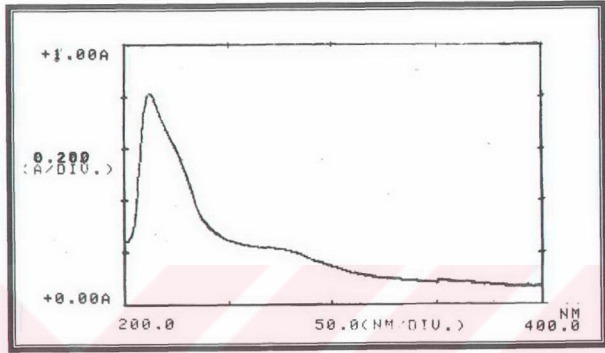
Resim 10. 365 nm Dalga Boyundaki UV Işık Altında Çekilen Fotoğraf

b. Galanthamine için Yapılan Ön Araştırmalar

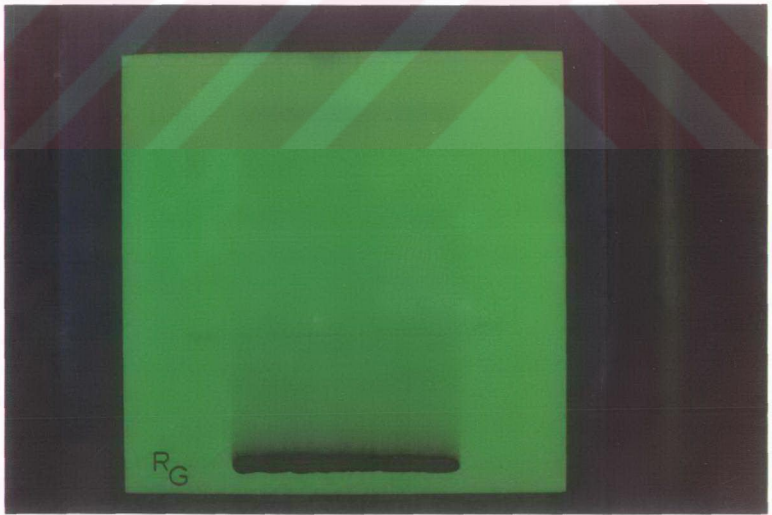


Şekil 4. Standart Olarak Kullanılan Galanthamine'e ait UV Spektrumu

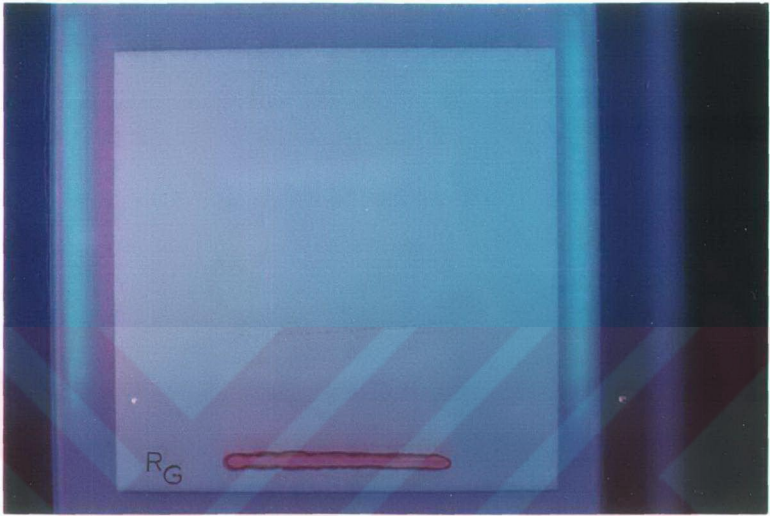
$[\lambda \text{ max (MeOH) (log } \epsilon) \text{ 287.4 (3.61), 215.4 (4.29)]}$



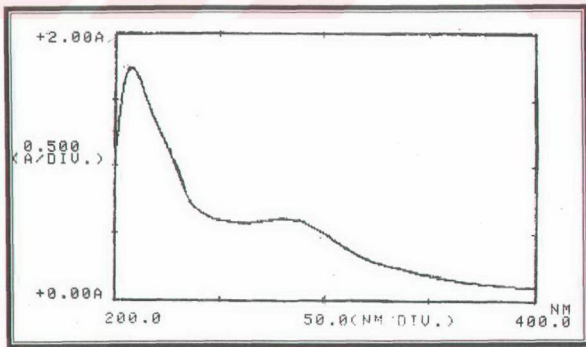
Şekil 5. P₅ Kodlu Plaktan Alınan Banda Ait UV Spektrumu



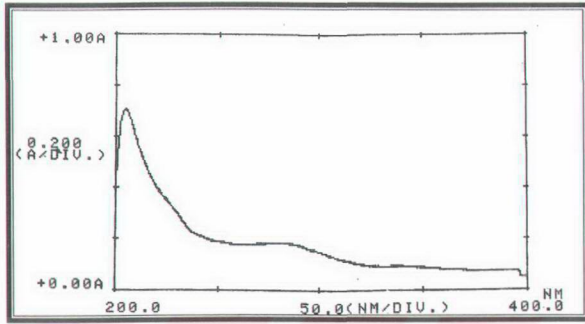
Resim 11. 254 nm Dalga Boyundaki UV Işık Altında Çekilen Fotoğraf



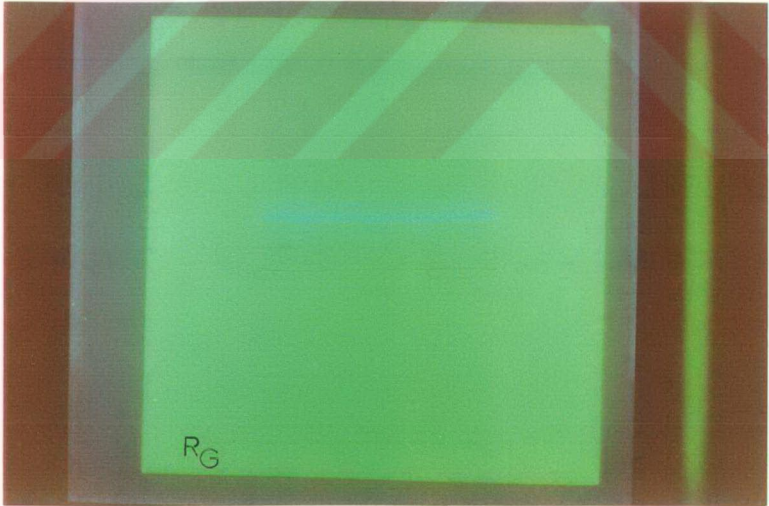
Resim 12. 365 nm Dalga Boyundaki UV Işık Altında Çekilen Fotoğraf



Şekil 6. P₆+P₇+P₈ kodlu Plaklardan Alınan ve Galanthamine Olduğu Düşünülen Bileşiğin UV Spektrumu



Şekil 7. P₆+P₇+P₈ kodlu Plaklardan Alınan ve Galanthamine Olduğu Düşünülen Bileşiğin UV Spektrumu



Resim 13. 254 nm Dalga Boyundaki UV Işık Altında Çekilen Fotoğraf



Resim 14. 365 nm Dalga Boyundaki UV Işık Altında Çekilen Fotoğraf

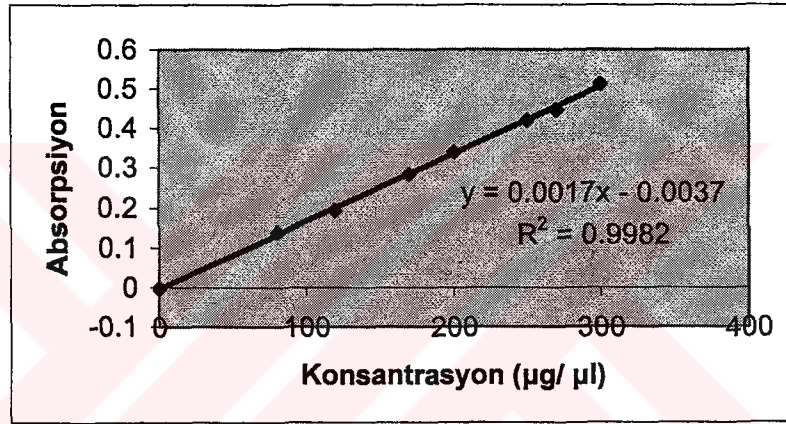
2. LYCORINE'İN İ.T.K İLE KOMBİNE EDİLMİŞ SPEKTROFOTOMETRİK YÖNTEMLE MİKTAR TAYİNİ

a. Tek Aşamalı Uygulama İle Lycorine Miktar Tayini

Metodlar kısmında anlatılmış olan ve bu şekilde hazırlanan lycorine standart eğrisine (tek aşamalı) ait absorpsiyonlar 292 nm dalga boyunda UV-160 A Shimadzu spektrofotometresinde ölçüldü. Ölçülen absorpsiyon değerleri (Tablo 31) çizilen ölçü eğrisi (Şekil 8) ve regresyon denklemi aşağıda yer almaktadır.

Uygulanan hacim (μ l)	Ölçülen Absorbans Değeri
80	0.138
120	0.193
170	0.283
200	0.340
250	0.420
270	0.447
300	0.512

Tablo 31. Lycorine İçin Ölçülen Absorbans Değerleri



Şekil 8. Lycorine Standart Ölçü Eğrisi (Tek Aşamalı)

Drog miktarı (g)	6.0753	6.0753	6.0747	6.0747
Çözelti miktarı(ml)	2.5	2.5	2.5	2.5
İ.T.K. ne tatbik edilen miktar (ml)	1	1	1	1
Absorbans	425	350	449	437
% Lycorine	0.0052	0.0042	0.0055	0.0053

Tablo 32. İÇB Örneğinde Lycorine Miktar Tayini İçin Yapılan Çalışma

N	Mean	Median	St. Deviation	Min	Max	Q ₁	Q ₃
4	0.0051	0.0053	0.0006	0.0042	0.0055	0.0045	0.0055

Tablo 33. I_{CB} Kodlu Örnek İçin Yapılan Çalışma Sonuçlarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

Drog miktarı (g)	6.0615	6.0650	6.0601	6.0988
Çözelti miktarı (ml)	2.5	2.5	2.5	2.5
İ.T.K.ne tatbik edilen miktar (ml)	2	2	2	2
Absorbans	1200	1153	1586	1464
% Lycorine	0.0073	0.0070	0.0097	0.0089

Tablo 34. I_{CH} Örneğinde Lycorine Miktar Tayini İçin Yapılan Çalışma

N	Mean	Median	St. Deviation	Min	Max	Q ₁	Q ₃
4	0.0082	0.0081	0.0013	0.0070	0.0097	0.0071	0.0095

Tablo 35. I_{CH} Kodlu Örnek İçin Yapılan Çalışma Sonuçlarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

Drog miktarı (g)	6.1294	6.1294	6.1105	6.1105
Çözelti miktarı (ml)	2.5	2.5	2.5	2.5
İ.T.K. ne tatbik edilen miktar (ml)	1	1	1	1
Absorbans	336	338	326	293
% Lycorine	0.0041	0.0041	0.0040	0.0036

Tablo 36. I_{MB} Örneğinde Lycorine Miktar Tayini İçin Yapılan Çalışma

N	Mean	Median	St. Deviation	Min	Max	Q ₁	Q ₃
4	0.0040	0.0041	0.0001	0.0036	0.0041	0.0037	0.0041

Tablo 37. I_{MB} Kodlu Örnek İçin Yapılan Çalışma Sonuçlarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

Drog miktarı (g)	6.1009	6.1563	6.1569	6.1117
Çözelti miktarı (ml)	2.5	2.5	2.5	2.5
İ.T.K. ne tatbik edilen miktar (ml)	2	2	2	2
Absorbans	918	1033	1297	1074
% Lycorine	0.0056	0.0062	0.0078	0.0065

Tablo 38. I_{MH} Örneğinde Lycorine Miktar Tayini İçin Yapılan Çalışma

N	Mean	Median	St. Deviation	Min	Max	Q ₁	Q ₃
4	0.0065	0.0064	0.0009	0.0056	0.0078	0.0058	0.0075

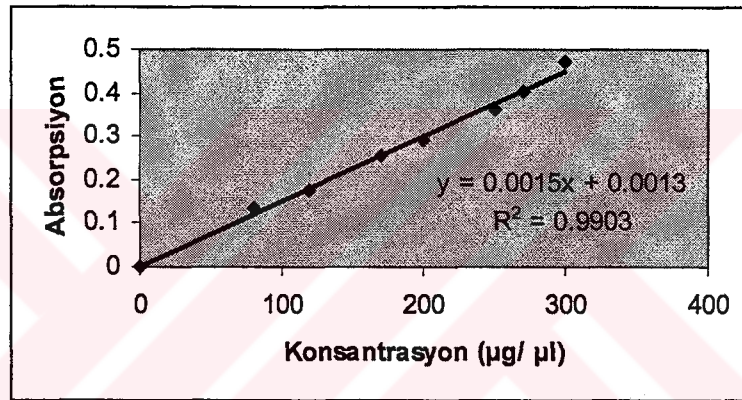
Tablo 39. I_{MH} Kodlu Örnek İçin Yapılan Çalışma Sonuçlarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

b. İki Aşamalı Uygulama İle Lycorine Miktar Tayini

Metotlar kısmında anlatılmış olan ve bu şekilde hazırlanan lycorine (iki aşamalı) standart serisine ait absorbanslar da yine 292 nm de Shimadzu UV-160 spektrofotometresinde ölçüldü. Ölçülen absorbans değerleri (Tablo 40), bu değerler ile çizilen ölçü eğrisi ve regresyon denklemi (Şekil 9) aşağıda yer almaktadır.

Uygulanan hacim (μ l)	Ölçülen Absorbans Değeri
80	0.135
120	0.175
170	0.254
200	0.293
250	0.362
270	0.405
300	0.470

Tablo 40. Lycorine İçin Ölçülen Absorbans Değerleri



Şekil 9. Lycorine Standart Ölçü Eğrisi (İki Aşamalı)

Drog miktarı (g)	6.0753	6.0753	6.0747	6.0747
Çözelti miktarı(ml)	2.5	2.5	2.5	2.5
İ.T.K. ne tatbik edilen miktar (ml)	1	1	1	1
Absorbans	176	155	262	238
% Lycorine	0.0024	0.0021	0.0036	0.0033

Tablo 41. İÇB Örneğinde Lycorine Miktar Tayini İçin Yapılan Çalışma

N	Mean	Median	St. Deviation	Min	Max	Q ₁	Q ₃
4	0.0029	0.0029	0.0007	0.0021	0.0036	0.0022	0.0035

Tablo 42. I_{CB} Kodlu Örnek İçin Yapılan Çalışma Sonuçlarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

Drog miktarı (g)	6.0615	6.0650	6.0601	6.0988
Çözelti miktarı (ml)	2.5	2.5	2.5	2.5
İ.T.K. ne tatbik edilen miktar (ml)	2	2	2	2
Absorbans	96	79	76	70
% Lycorine	0.0007	0.0005	0.0005	0.0005

Tablo 43. I_{CH} Örneğinde Lycorine Miktar Tayini İçin Yapılan Çalışma

N	Mean	Median	St. Deviation	Min	Max	Q ₁	Q ₃
4	0.0006	0.0005	0.0001	0.0005	0.0007	0.0005	0.0007

Tablo 44. I_{CH} Kodlu Örnek İçin Yapılan Çalışma Sonuçlarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

Drog miktarı (g)	6.1294	6.1294	6.1105	6.1105
Çözelti miktarı (ml)	2.5	2.5	2.5	2.5
İ.T.K. ne tatbik edilen miktar (ml)	1	1	1	1
Absorbans	165	161	124	121
% Lycorine	0.0022	0.0022	0.0017	0.0016

Tablo 45. I_{MB} Örneğinde Lycorine Miktar Tayini İçin Yapılan Çalışma

N	Mean	Median	St. Deviation	Min	Max	Q ₁	Q ₃
4	0.0019	0.0020	0.0003	0.0016	0.0022	0.0016	0.0022

Tablo 46. I_{MB} Kodlu Örnek İçin Yapılan Çalışma Sonuçlarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

Drog miktarı (g)	6.1009	6.1563	6.1569	6.1117
Çözelti miktarı (ml)	2.5	2.5	2.5	2.5
İ.T.K. ne tatbik edilen miktar (ml)	2	2	2	2
Absorbans	56	45	54	55
% Lycorine	0.0004	0.0003	0.0004	0.0004

Tablo 47. I_{MH} Örneğinde Lycorine Miktar Tayini İçin Yapılan Çalışma

N	Mean	Median	St. Deviation	Min	Max	Q ₁	Q ₃
4	0.0004	0.0004	0.0001	0.0003	0.0004	0.0003	0.0004

Tablo 48. I_{MH} Kodlu Örnek İçin Yapılan Çalışma Sonuçlarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

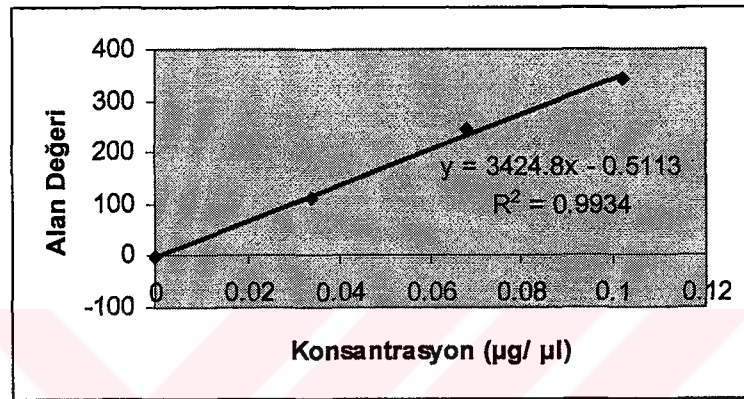
3. YÜKSEK BASINÇLI SIVI KROMATOĞRAFİSİ YÖNTEMİ İLE TEŞHİS VE MİKTAR TAYİNİ

a. Lycorine Miktar Tayini

Ölçümlerde bulunan değerler (Tablo 49), bu değerler ile çizilen ölçü eğrisi ve regresyon denklemi (Şekil 10) aşağıdadır.

Konsantrasyon (μg)	Tatbik Hacmi (μl)	Okunan Alanlar
0.034	5	110.450
0,068	5	243.330
0,102	5	343.340

Tablo 49. Lycorine İçin Okunan Alan Değerleri



Şekil 10. HPLC İle Yapılan Miktar Tayininde Kullanılan Lycorine Standart Ölçü Eğrisi

Yüksek basınçlı sıvı kromatografisiyle kuru drog üzerinden ve daha önce belirtilen yöntemle hesaplanmış lycorine miktar tayini sonuçları (Tablo 50-Tablo 57) aşağıdadır.

Drog miktarı (g)	Uygulanan miktar (μl)	Okunan Alan Değeri	% Lycorine Miktarı
3.9198	5	96.7121	0.0035
3.9198	5	78.3333	0.0028
3.9198	10	235.9103	0.0043
3.9198	10	237.4883	0.0039

Tablo 50. İÇB Örneğinde HPLC Yöntemiyle Lycorine Miktar Tayini İçin Yapılan Çalışma

N	Mean	Median	St. Deviation	Min	Max	Q ₁	Q ₃
4	0.0036	0.0037	0.0006	0.0028	0.0043	0.0030	0.0042

Tablo 51. I_{CB} Kodlu Örnek İçin Yapılan Çalışma Sonuçlarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

Drog miktarı (g)	Uygulanan miktar (μl)	Okunan Alan Değeri	% Lycorine Miktarı
2.9345	5	49.7960	0.0012
2.9345	5	54.9477	0.0013
2.9345	10	122.7620	0.0015
2.9345	10	121.3378	0.0015

Tablo 52. I_{CH} Örneğinde HPLC Yöntemiyle Lycorine Miktar Tayini İçin Yapılan Çalışma

N	Mean	Median	St. Deviation	Min	Max	Q ₁	Q ₃
4	0.0014	0.0014	0.0002	0.0012	0.0015	0.0012	0.0015

Tablo 53. I_{CH} Kodlu Örnek İçin Yapılan Çalışma Sonuçlarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

Drog miktarı (g)	Uygulanan miktar (μl)	Okunan Alan Değeri	% Lycorine Miktarı
12.1027	5	160,9494	0.0019
12.1027	5	175.9305	0.0021
12.1027	10	442.7423	0.0026
12.1027	10	445.5793	0.0026

Tablo 54. I_{MB} Örneğinde HPLC Yöntemiyle Lycorine Miktar Tayini İçin Yapılan Çalışma

N	Mean	Median	St. Deviation	Min	Max	Q ₁	Q ₃
4	0.0023	0.0024	0.0004	0.0019	0.0026	0.0020	0.0026

Tablo 55. I_{MB} Kodlu Örnek İçin Yapılan Çalışma Sonuçlarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

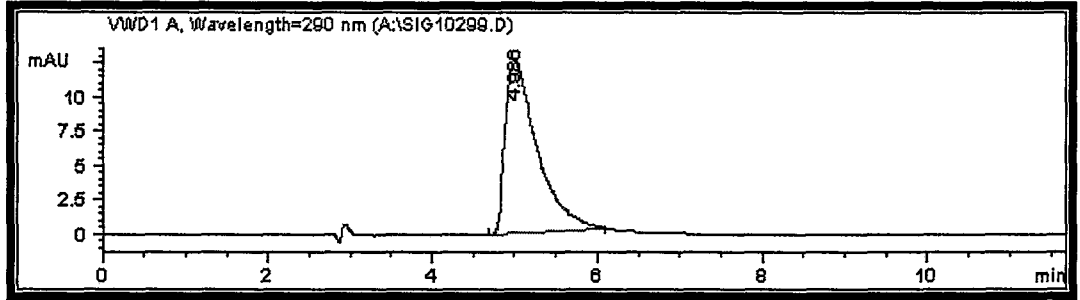
Drog miktarı (g)	Uygulanan miktar (µl)	Okunan Alan Değeri	% Lycorine Miktarı
6.2483	5	51.6650	0.0006
6.2483	5	59.6027	0.0007
6.2483	10	133.6308	0.0008
6.2483	10	129.9638	0.0007

Tablo 56. I_{MH} Örneğinde HPLC Yöntemiyle Lycorine Miktar Tayini İçin Yapılan Çalışma

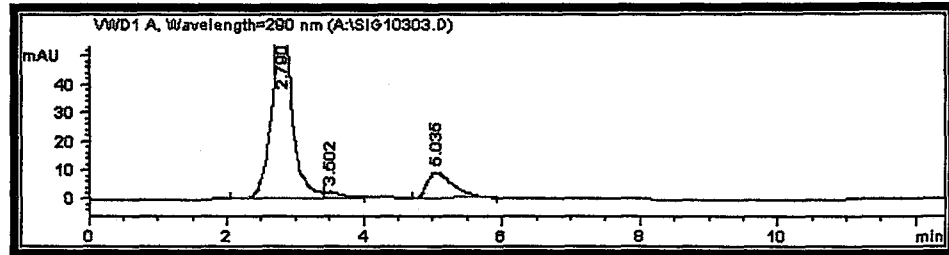
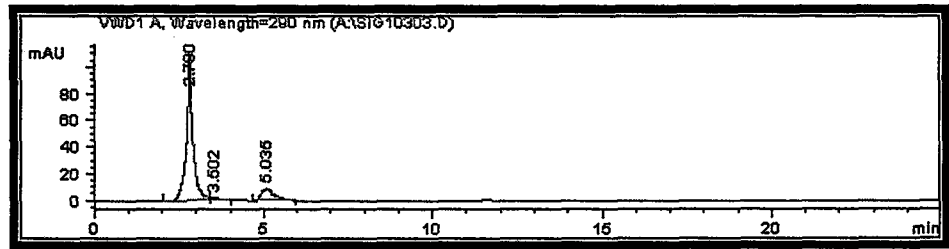
N	Mean	Median	St. Deviation	Min	Max	Q ₁	Q ₃
4	0.0007	0.0007	0.0001	0.0006	0.0008	0.0006	0.0008

Tablo 57. I_{MH} Kodlu Örnek İçin Yapılan Çalışma Sonuçlarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

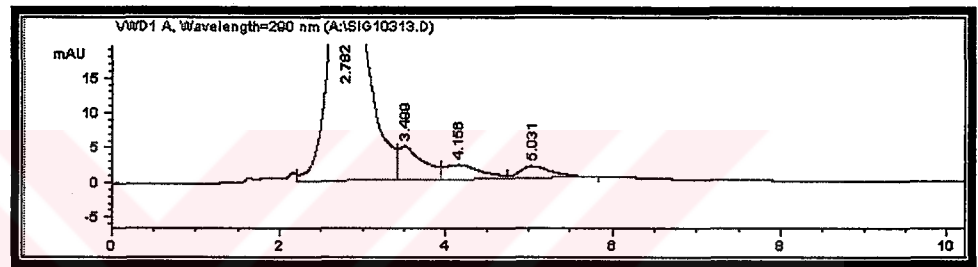
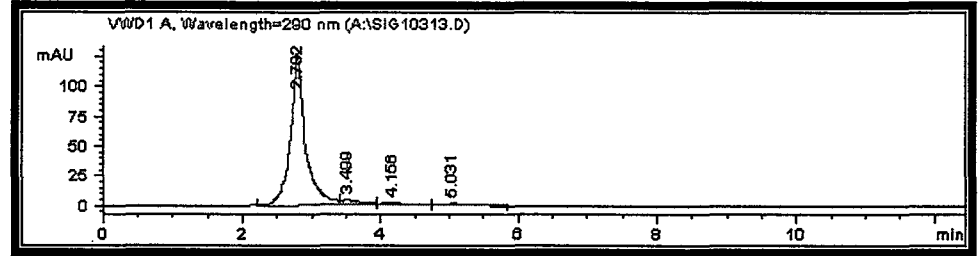
Lycorine Miktar Tayinine Ait Kromatogramlar:



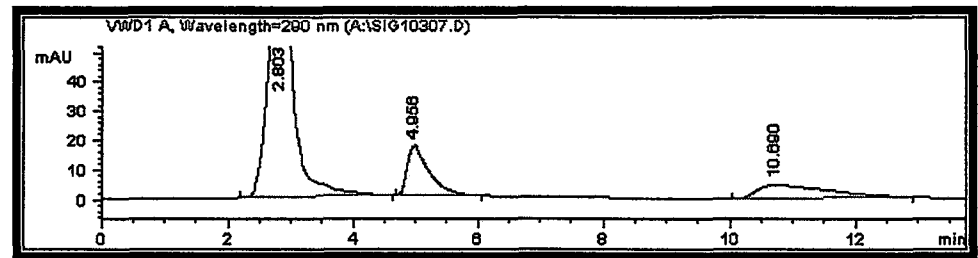
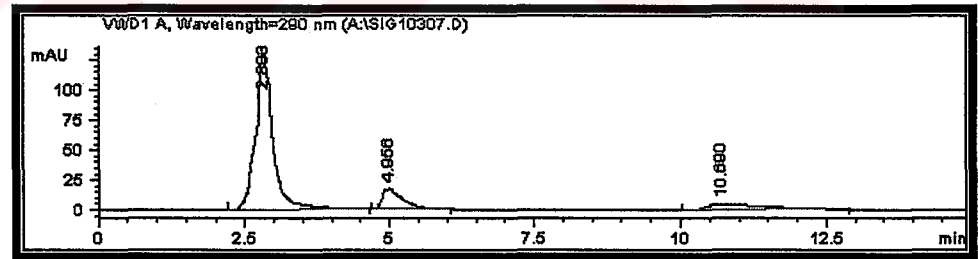
Şekil 11. Standart Lycorine'e ait Kromatogram



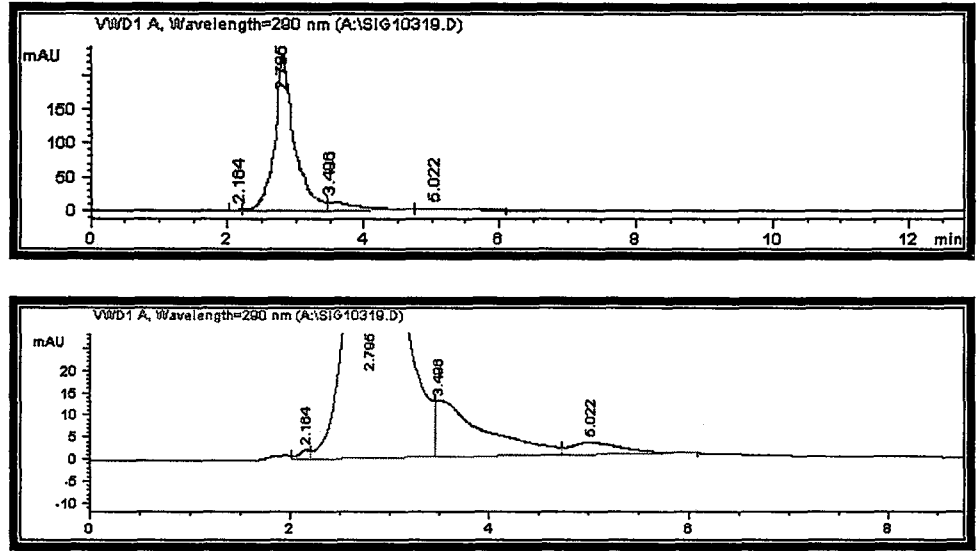
Şekil 12. İCB Kodlu Örneğin Normal ve Genişletilmiş Kromatogramları



Şekil 13. I_{CH} Kodlu Örneğin Normal ve Genişletilmiş Kromatogramları



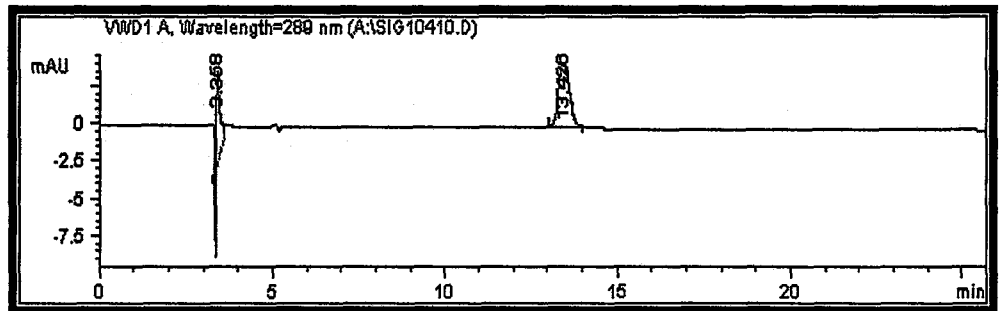
Şekil 14. I_{MB} Kodlu Örneğin Normal ve Genişletilmiş Kromatogramları



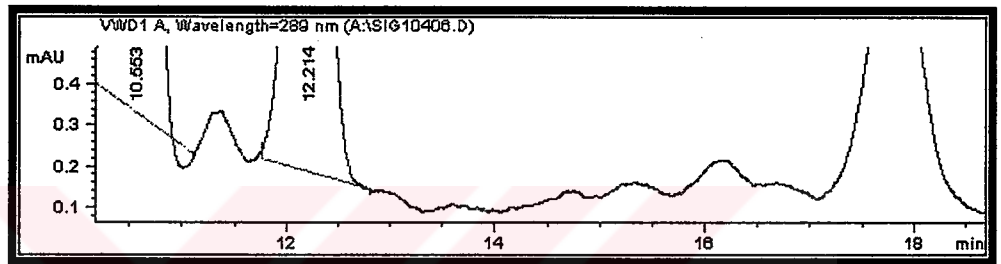
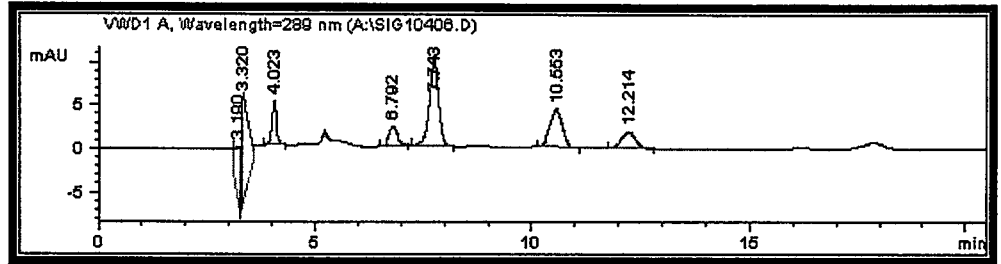
Şekil 15. I_{MH} Kodlu Örneğin Normal ve Genişletilmiş Kromatogramları

b. Galanthamine'in Teşhisi

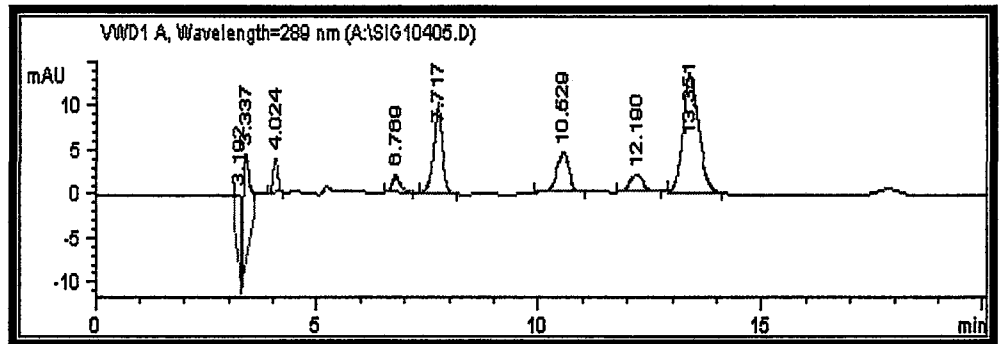
Galanthamine'in teşhisi için yapılan HPLC çalışmalarında elde edilen kromatogramlar aşağıdadır.



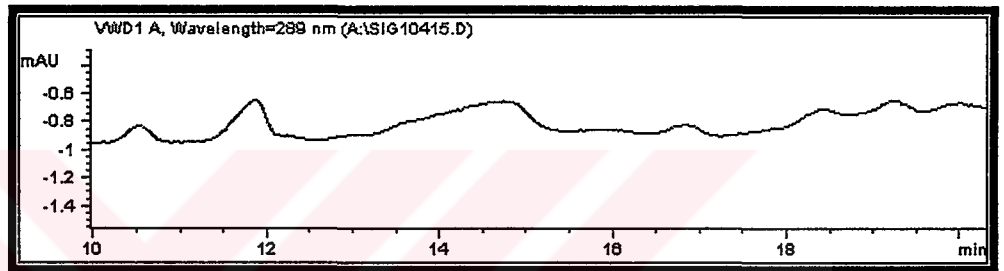
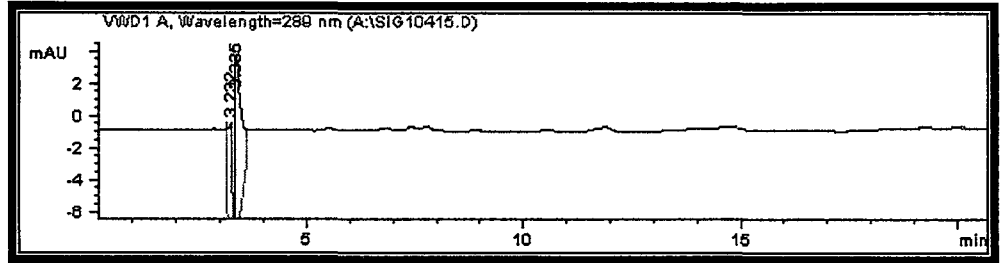
Şekil 16. Standart Galanthamine'nin HPLC Kromatogramı



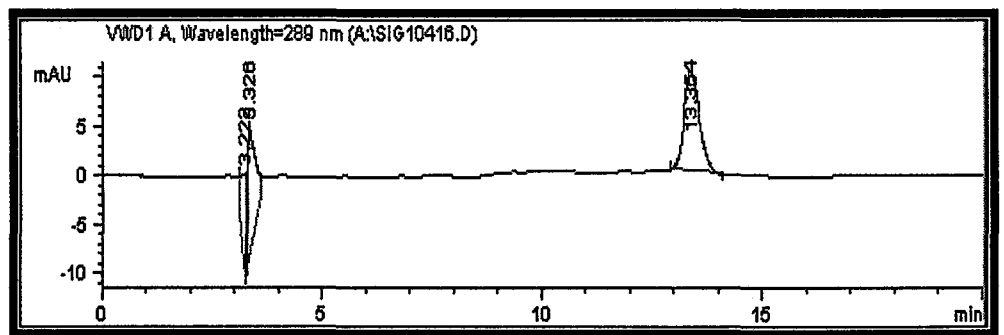
Şekil 17. I_{CB} Kodlu Örneğin Normal ve Genişletilmiş Kromatogramları



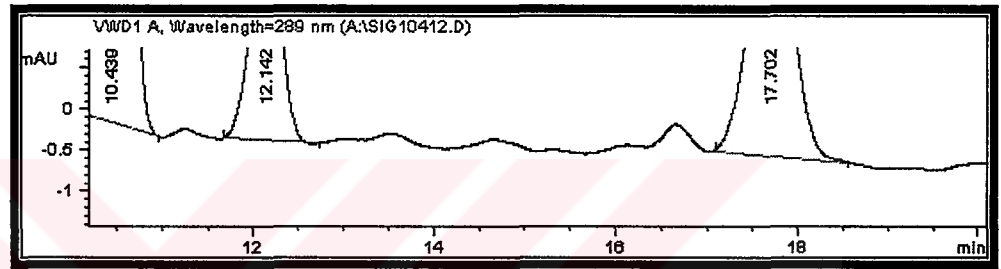
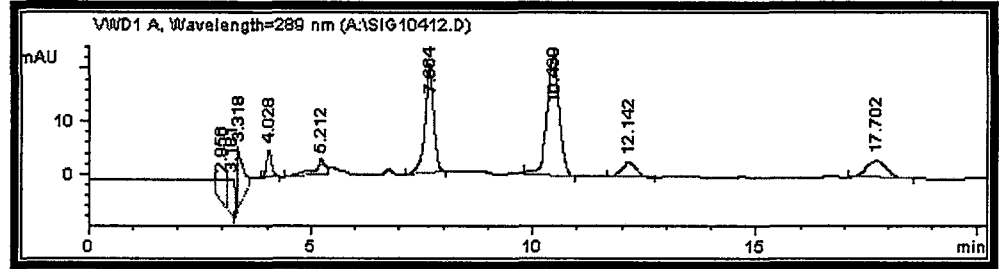
Şekil 18. I_{CB} Kodlu Örneğin Galanthamine İle Karışımına Ait Kromatogram



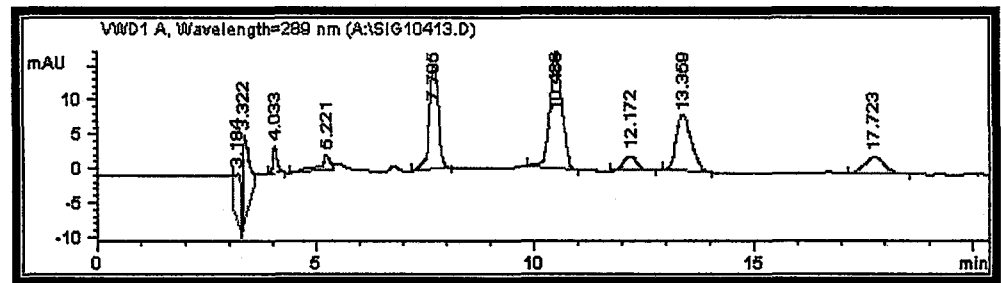
Şekil 19. I_{CH} Kodlu Örneğin Normal ve Genişletilmiş Kromatogramları



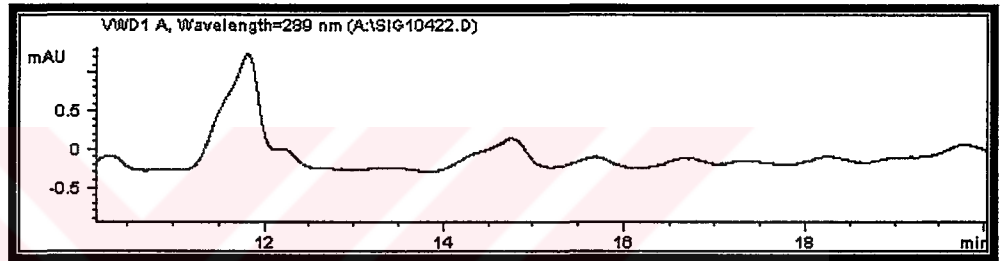
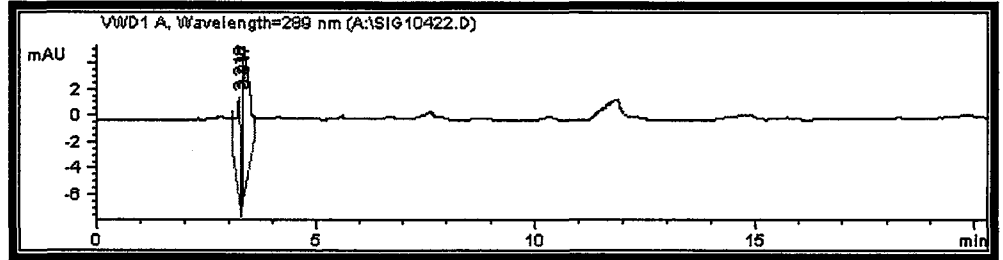
Şekil 20. I_{CH} Kodlu Örneğin Galanthamine İle Karışımına Ait Kromatogram



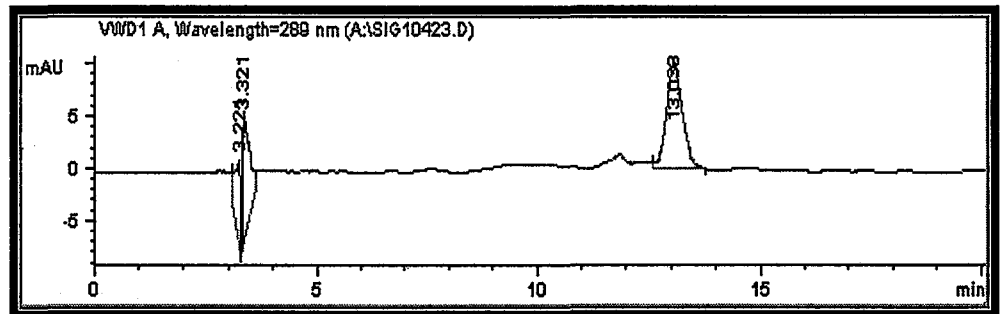
Şekil 21. I_{MB} Kodlu Örneğin Normal ve Genişletilmiş Kromatogramları



Şekil 22. I_{MB} Kodlu Örneğin Galanthamine İle Karışımına Ait Kromatogram



Şekil 23. I_{MH} Kodlu Örneğin Normal ve Genişletilmiş Kromatogramları



Şekil 24. I_{MH} Kodlu Örneğin Galanthamine İle Karışımına Ait Kromatogram

III. BİYOLOJİK AKTİVİTE TAYİNİ EŞLİĞİNDE İZOLASYON VE YAPI AYDINLATMA ÇALIŞMALARINA AİT BULGULAR

A. BRINE SHRIMP LETALİTE DENEYLERİNDE ELDE EDİLEN BULGULAR

Galanthus nivalis L. subsp. *cilicicus* (Baker) Gottlieb-Tannenhain bitkisinin total alkol ve alkaloit ekstreleri üzerinde uygulanan brine shrimp letalite deneyi sonucunda elde edilen verilerin ilgili bilgisayar programı yardımıyla değerlendirilmesiyle elde edilen LC₅₀ değerleri Tablo 58 de sunulmuştur.

Örnekler	ppm	LC ₅₀
Total Alkol Ekstresi	1000:100:10	643.4949
Total Alkaloit Ekstresi	1000:100:10	42.6926

Tablo 58. Total Alkol ve Alkaloit Ekstreleri Üzerinde Yapılan Brine Shrimp Letalite Deneyi Bulguları

Galanthus nivalis L. subsp. *cilicicus* (Baker) Gottlieb-Tannenhain bitkisinin total alkaloit ekstresinin silika jel sütunda fraksiyonlandırılmasıyla elde edilen ana fraksiyonların, Brine shrimp letalite deneyi ile test edilen sitotoksik aktivitelerine ilişkin LC₅₀ değerleri Tablo 59 da sunulmuştur. Tabloda yer almayan ana fraksiyonlar, yeterli miktarda olmamaları (<100 mg) nedeniyle sözkonusu aktivite deneyine tabi tutulamamışlardır.

Fraksiyon No	ppm	LC ₅₀
6-7	500:50:5	43.5626
9-12	500:50:5	134.8429
18-20	500:50:5	> 1000
25-29	500:50:5	> 1000
31-33	500:50:5	327.2673
34-35	500:50:5	> 1000
36-38	500:50:5	> 1000
39-43	500:50:5	> 1000
44-47	500:50:5	> 1000
48-50	500:50:5	> 1000
51-54	500:50:5	> 1000
55-59	500:50:5	513.2960
60-65	500:50:5	> 1000
74-83	500:50:5	> 1000
84-90	500:50:5	> 1000
Kolşisin	500:50:5	0.3018

Tablo 59. Alkaloit Ekstresinin Ana Fraksiyonları Üzerinde Yapılan Brine Shrimp Letalite Deneyi Bulguları

B. İZOLASYONLA ELDE EDİLEN BİLEŞİKLERE AİT BULGULAR

1. GI-1 BİLEŞİĞİNİN SPEKTRAL BULGULARI

$[\alpha]_D -54.9^0$ (MeOH; c 0.1)

IR (Spektrum 1)

ν_{maks} (KBr) 2919, 1756, 1503, 1475, 1378, 1248, 1238, 1115, 1036, 1030, 989,

969, 929, 818, 742 cm^{-1}

EI Kütütle (Spektrum 2)

m/z (%) 206 (1), 191 (14), 190 (100), 175 (3), 149 (3), 132 (4), 131 (3), 117 (3),
91 (5), 77 (4)

CI Kütütle (Spektrum 3)

m/z 368 [M+H]⁺

ESI Kütütle (Spektrum 4)

m/z 413 [M + 2 Na]⁺, 391 [M + Na]⁺, 368 [M+H]⁺.

¹H NMR (Spektrum 5)

(600 MHz, CDCl₃) δ 7.13 (1H, d, *J*= 7.9 Hz, H-2'), 6.93 (1H, d, *J*= 7.9 Hz, H-3'), 6.67 (1H, s, H-8), 6.40 (1H, s, H-5), 6.10 (2H, s, OCH₂O), 5.848 ve 5.847 (2H, 2s, OCH₂O), 5.62 (1H, d, *J*= 3.2 Hz, H-9), 4.02 (1H, d, *J*= 3.2 Hz, H-1), 3.06 (1H, dt, *J*= 10.9, 4.1 Hz, H-3), 2.74 (1H, ddd, *J*= 15.2, 10.8, 4.3 Hz, H-4), 2.53 (3H, s, NCH₃), 2.52 (1H, td, *J*= 10.8, 3.1 Hz, H-3), 2.46 (1H, dt, *J*= 15.4, 3.5 Hz, H-4) ppm

Genişletilmiş ¹H NMR (Spektrum 6)¹³C APT (Spektrum 7)

(150 MHz, CDCl₃) δ 167.0 (C-10), 148.8 (C-4'), 146.3 (C-6), 145.9 (C-7), 144.1 (C-5'), 141.4 (C-1'), 130.0 (C-8a), 125.0 (C-4a), 116.0 (C-2'), 112.9 (C-3'), 109.8 (C-6'), 108.2 (C-5) 107.5 (C-8), 103.8 (OCH₂O), 100.8

(OCH₂O), 82.8 (C-9), 66.1 (C-1), 51.3 (C-3), 45.0 (*N*-CH₃), 29.7 (C-4) ppm

¹H, ¹H COSY-gs (Spektrum 8) (Tablo 60)

HMQC (Spektrum 9) (Tablo 60)

HMBC (Spektrum 10) (Tablo 60)

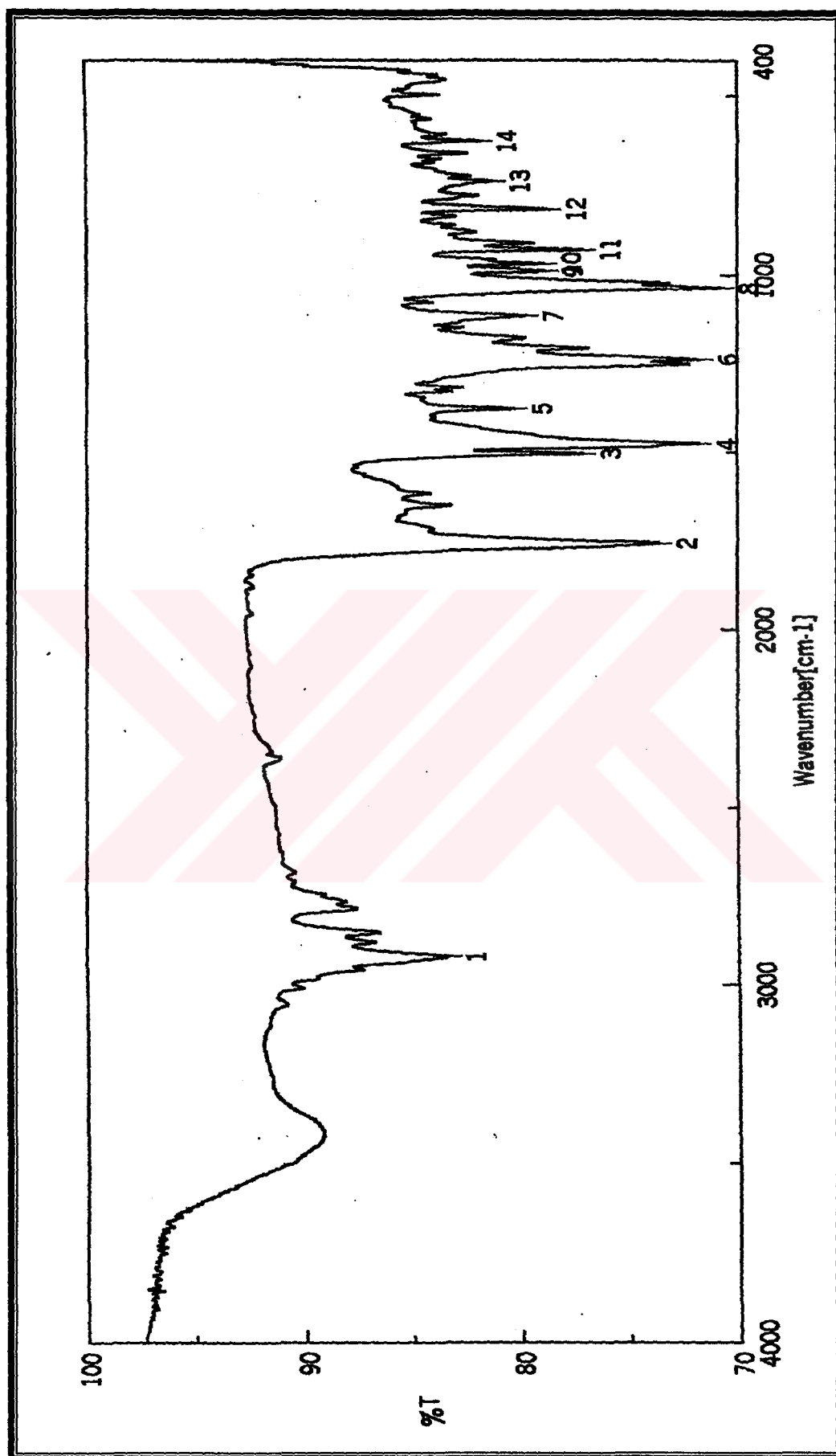
Genişletilmiş HMBC (Spektrum 11)

NOESY (Spektrum 12) (Tablo 60)

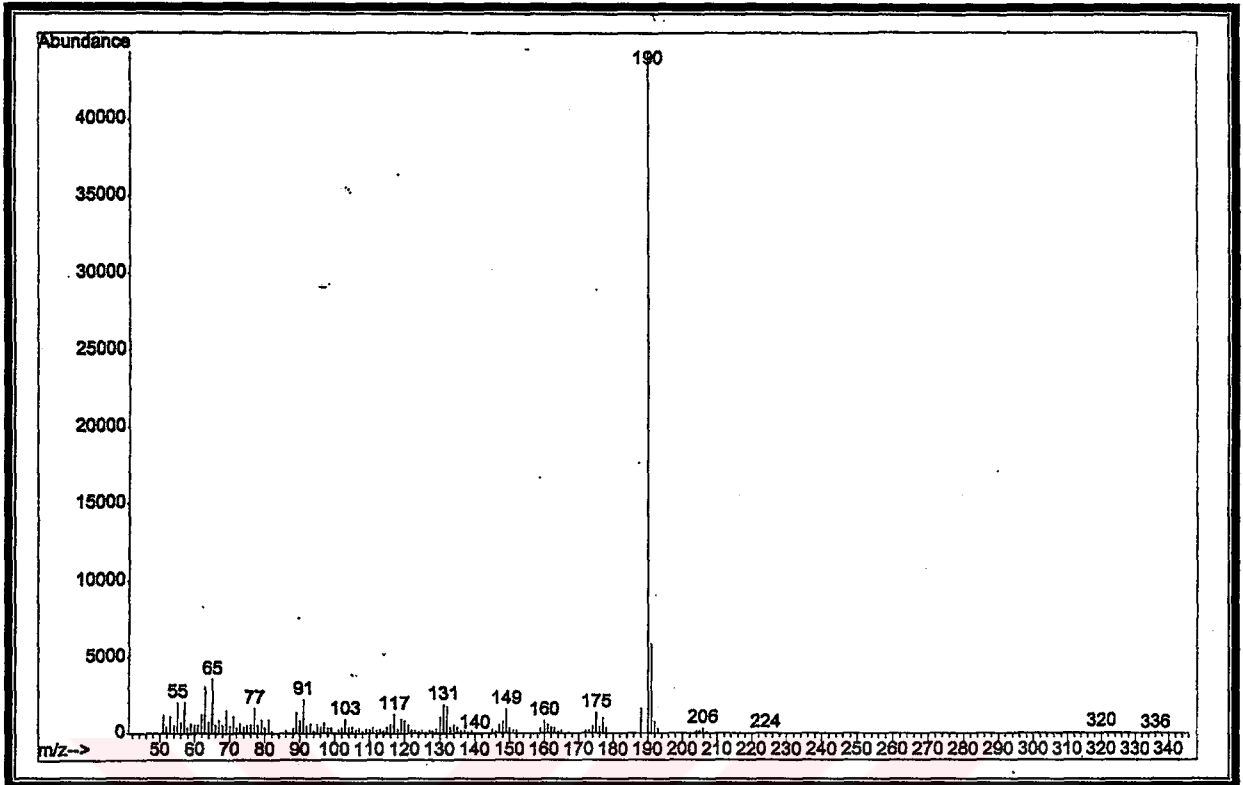


H	¹ H (δ)	HMQC (δ)	HMBC-gs	¹ H, ¹ H COSY-gs	NOESY
1	4.02	66.1	C-1', C-4a, C-8, C-8a, C-9, N-CH ₃	H-8, H-9	H-2', H-8, H-9, NCH ₃
3	2.52	51.3	C-1, C-4, N-CH ₃	H-3 (δ 3.06), H-4	H-3 (δ 3.06)
3	3.06	51.3	C-1, C-4, C-4a, C-8a, N-CH ₃	H-3 (δ 2.52), H-4	H-3 (δ 2.52), H-4, NCH ₃
4	2.46	29.7	C-4a, C-5, C-8a	H-3, H-4 (δ 2.74)	H-3, H-4 (δ 2.74), H-5
4	2.74	29.7	C-3, C-4a, C-5, C-8a	H-3, H-4 (δ 2.46)	H-2', H-3, H-4 (δ 2.46), H-5
5	6.40	108.2	C-4, C-4a, C-6, C-7	-----	H-4
8	6.67	107.5	C-1, C-6, C-7, C-8a	H-1	H-1, H-9
9	5.62	82.8	C-1, C-1', C-2', C-6', C-10	H-1, H-2'	H-1, H-2', H-8, NCH ₃
2'	7.13	116.0	C-3', C-4', C-6', C-9	H-3', H-9	H-1, H-3', H-4 (δ 2.74), H-9, NCH ₃
3'	6.93	112.9	C-1', C-4', C-5'	H-2'	H-2'
OCH ₂ O	5.85	100.8	C-6, C-7	-----	-----
OCH ₂ O	6.10	103.8	C-4', C-5'	-----	-----
NCH ₃	2.53	45.0	C-1, C-3	-----	H-1, H-3 (δ 3.06), H-9

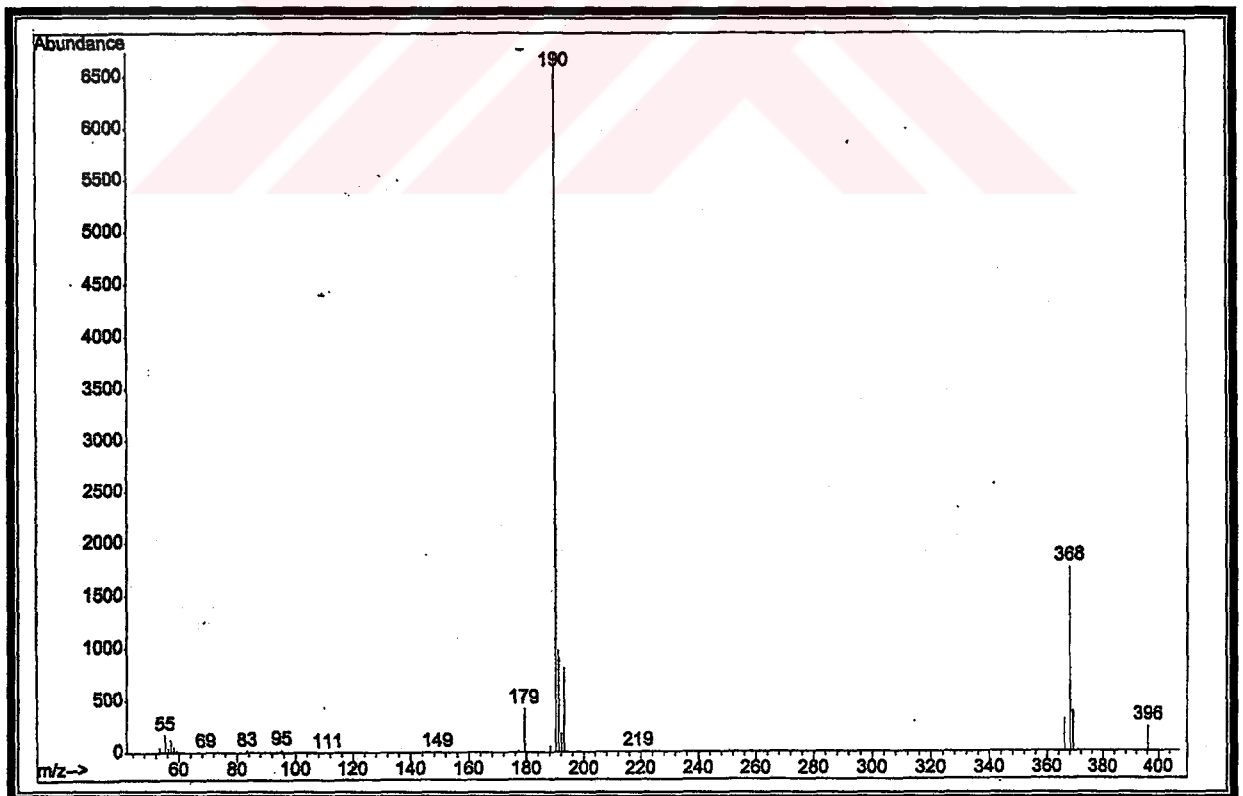
Tablo 60. GI-1 Bileşiminin 1D ve 2D NMR Spektral Bulguları



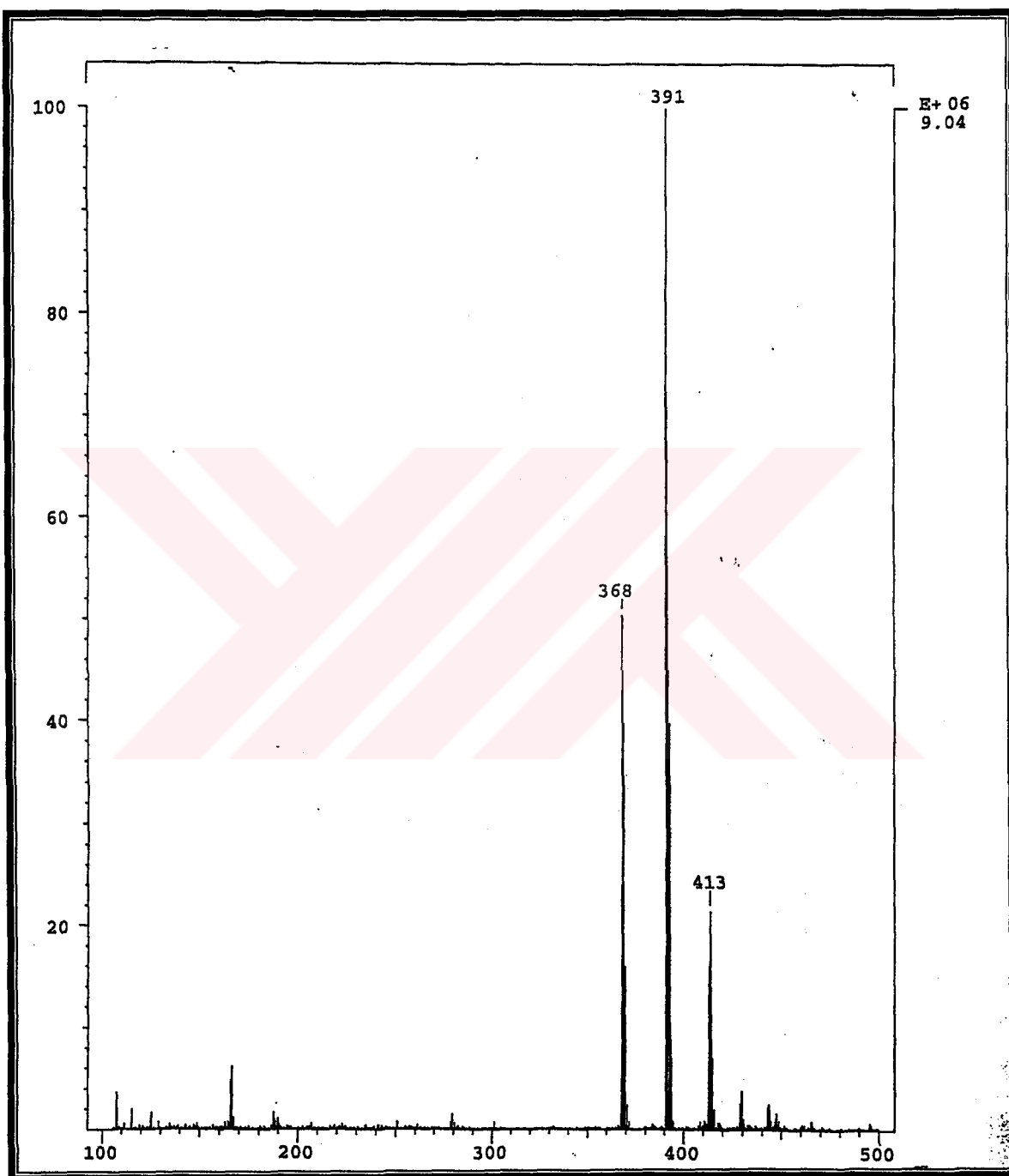
Spektrum 1. GI-1 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu



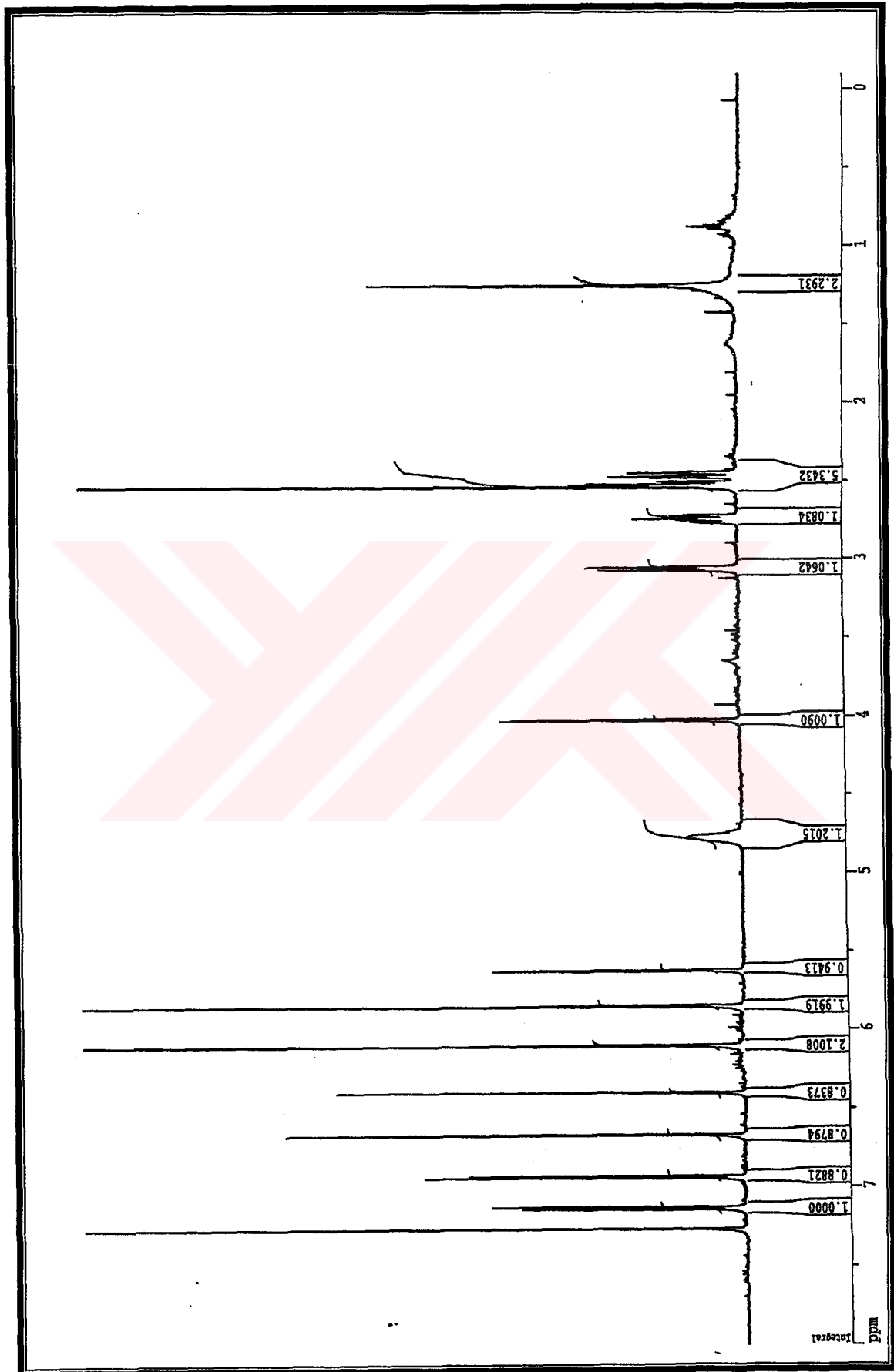
Spektrum 2. GI-1 Kodlu Bileşğin EI Kütle Spektrumu

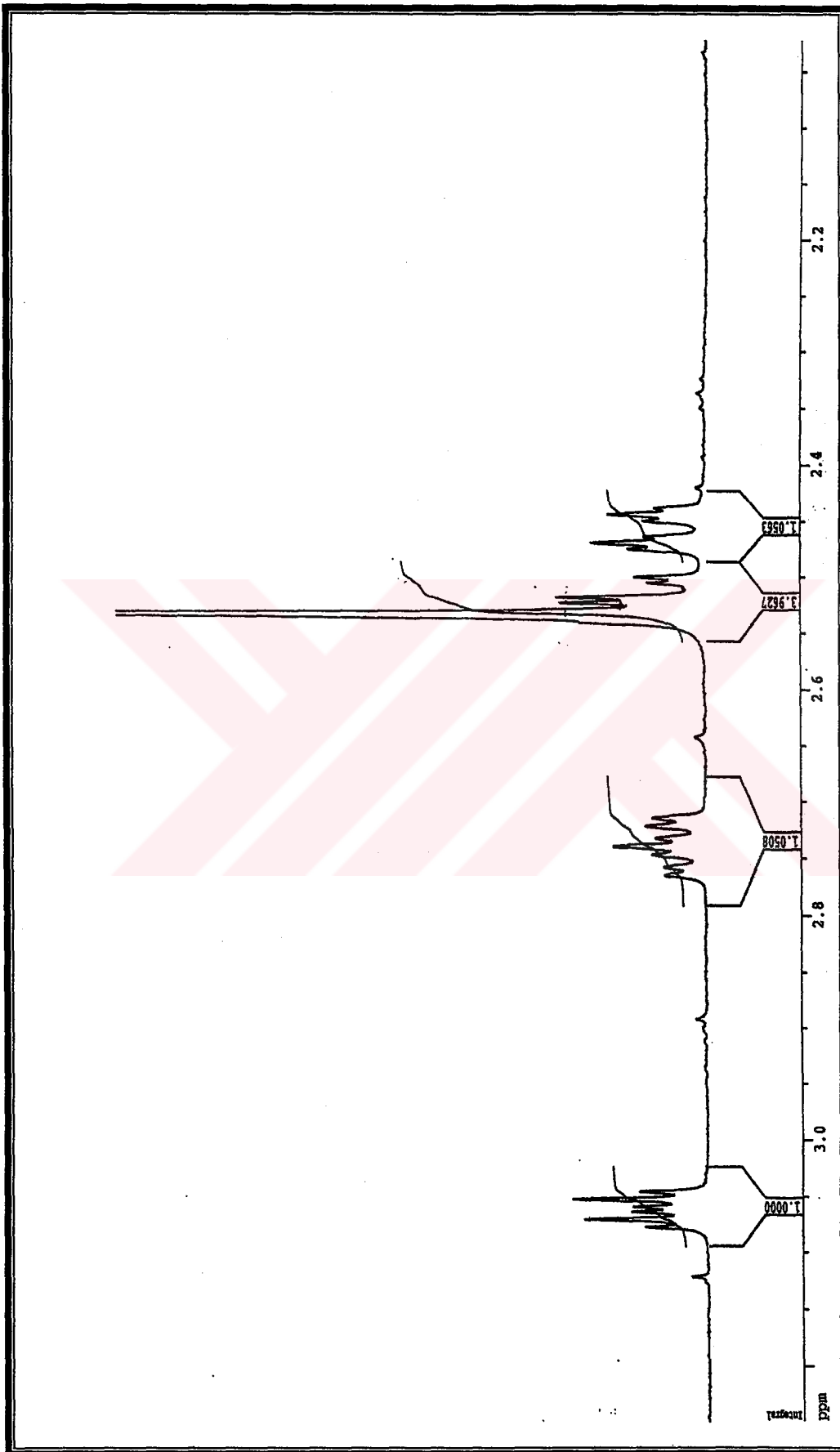


Spektrum 3. GI-1 Kodlu Bileşğin CI Kütle Spektrumu

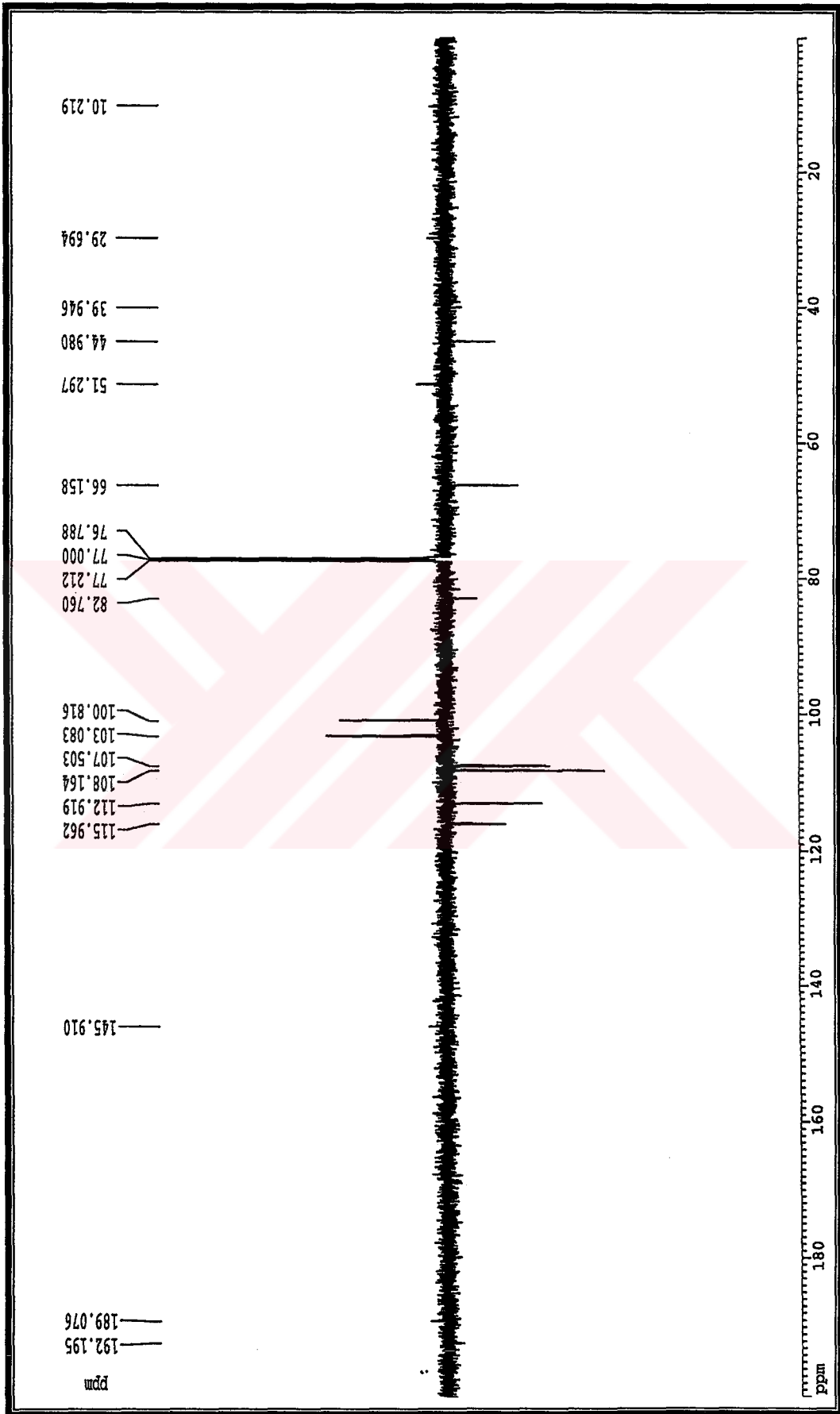


Spektrum 4. GI-1 Kodlu Bileşğin ESI Kütle Spektrumu

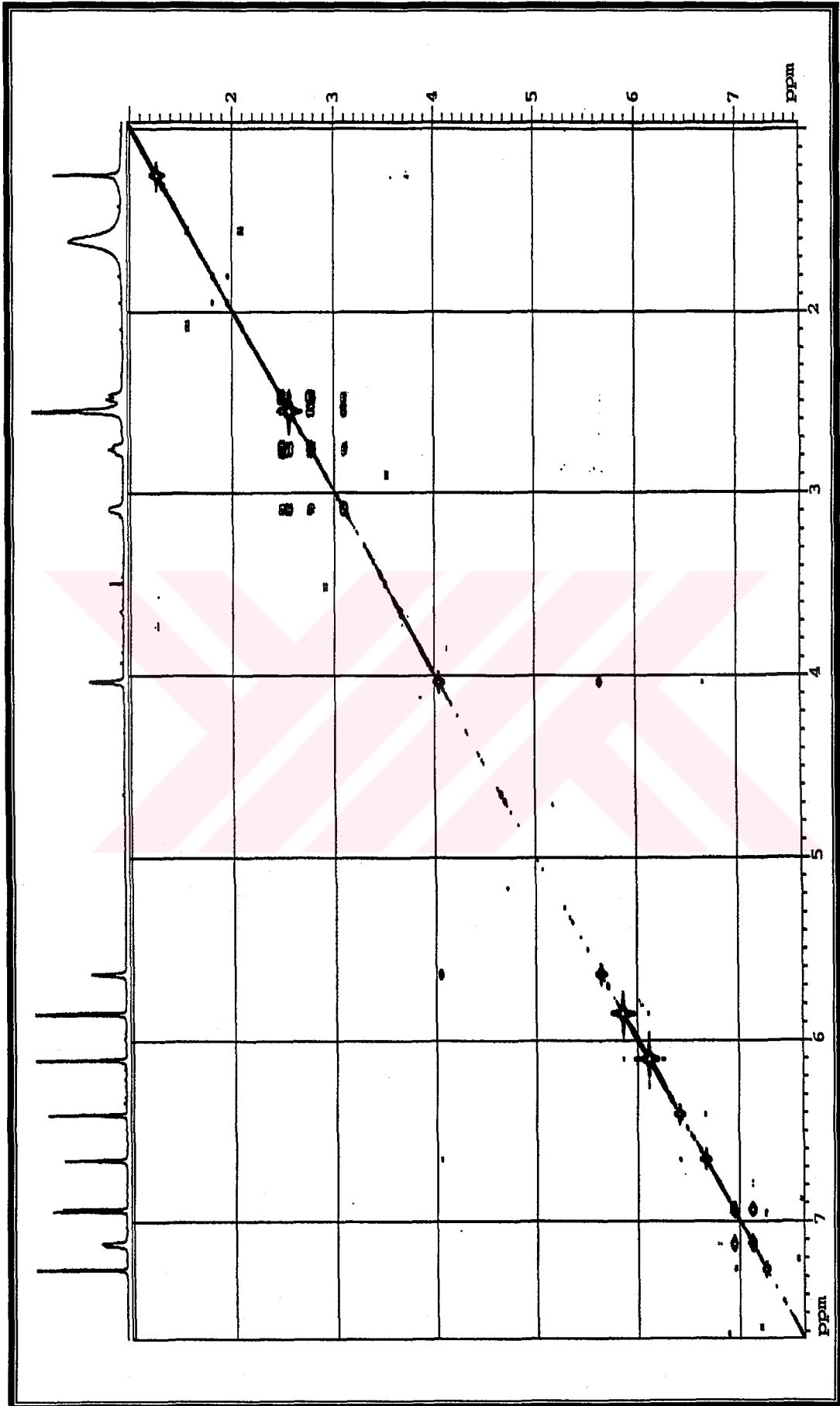
Spektrum 5. GI-1 Kodlu Bileşimin ^1H NMR Spektrumu

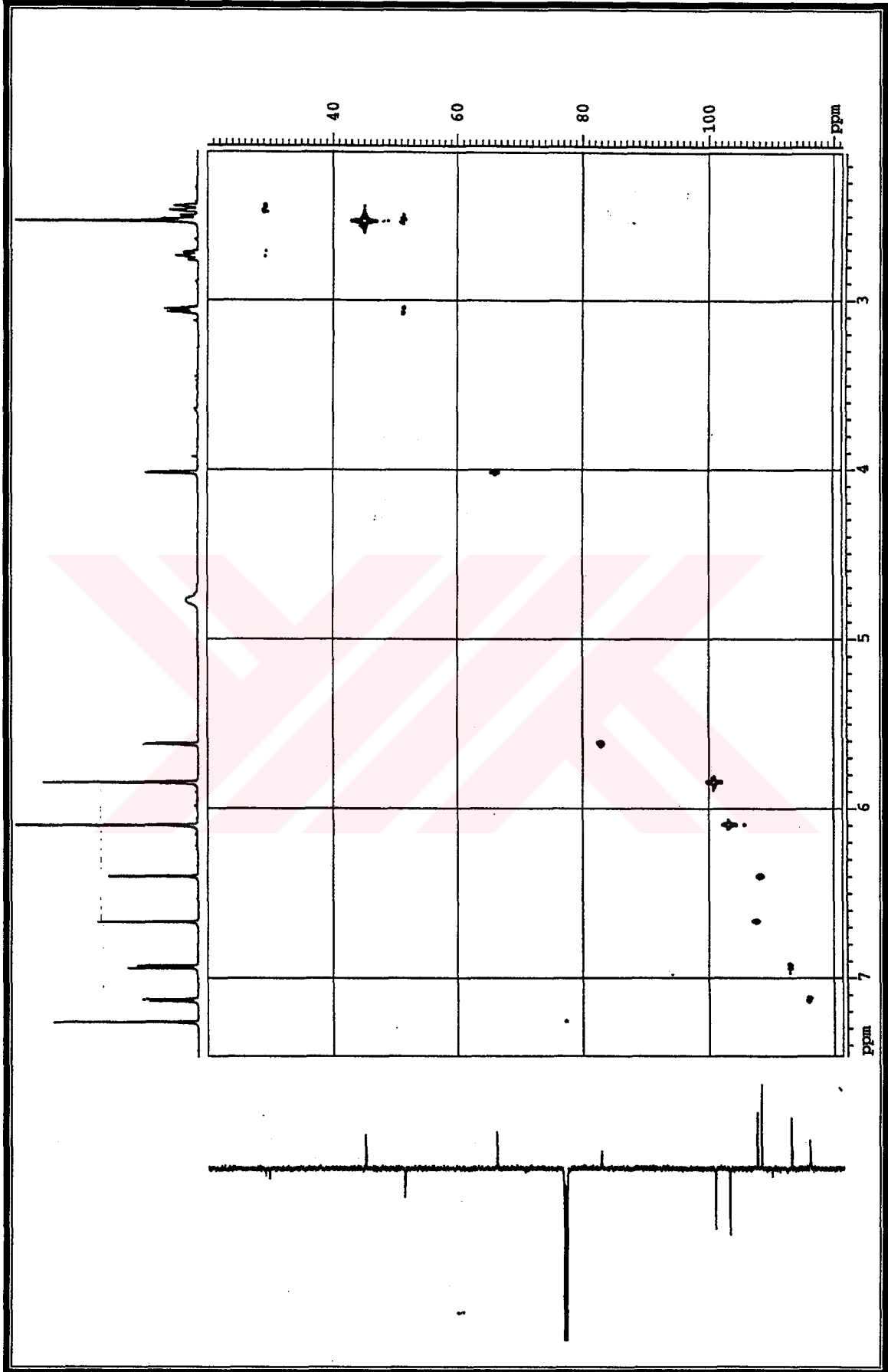


Spektrum 6. GI-1 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR Spektrumu

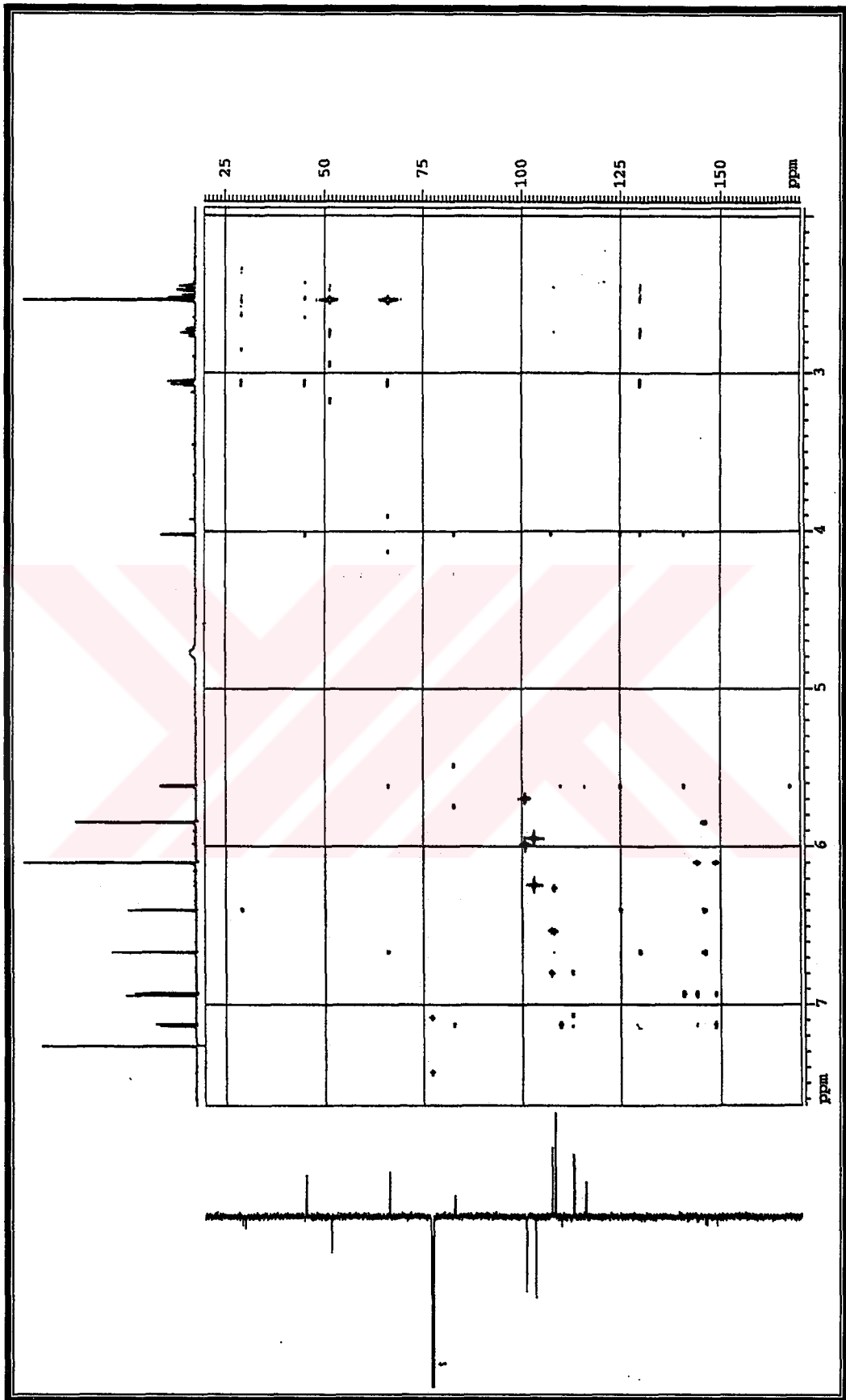


Spektrum 7. GI-1 Kodlu Bileşigin ¹³C APT Spektrumu

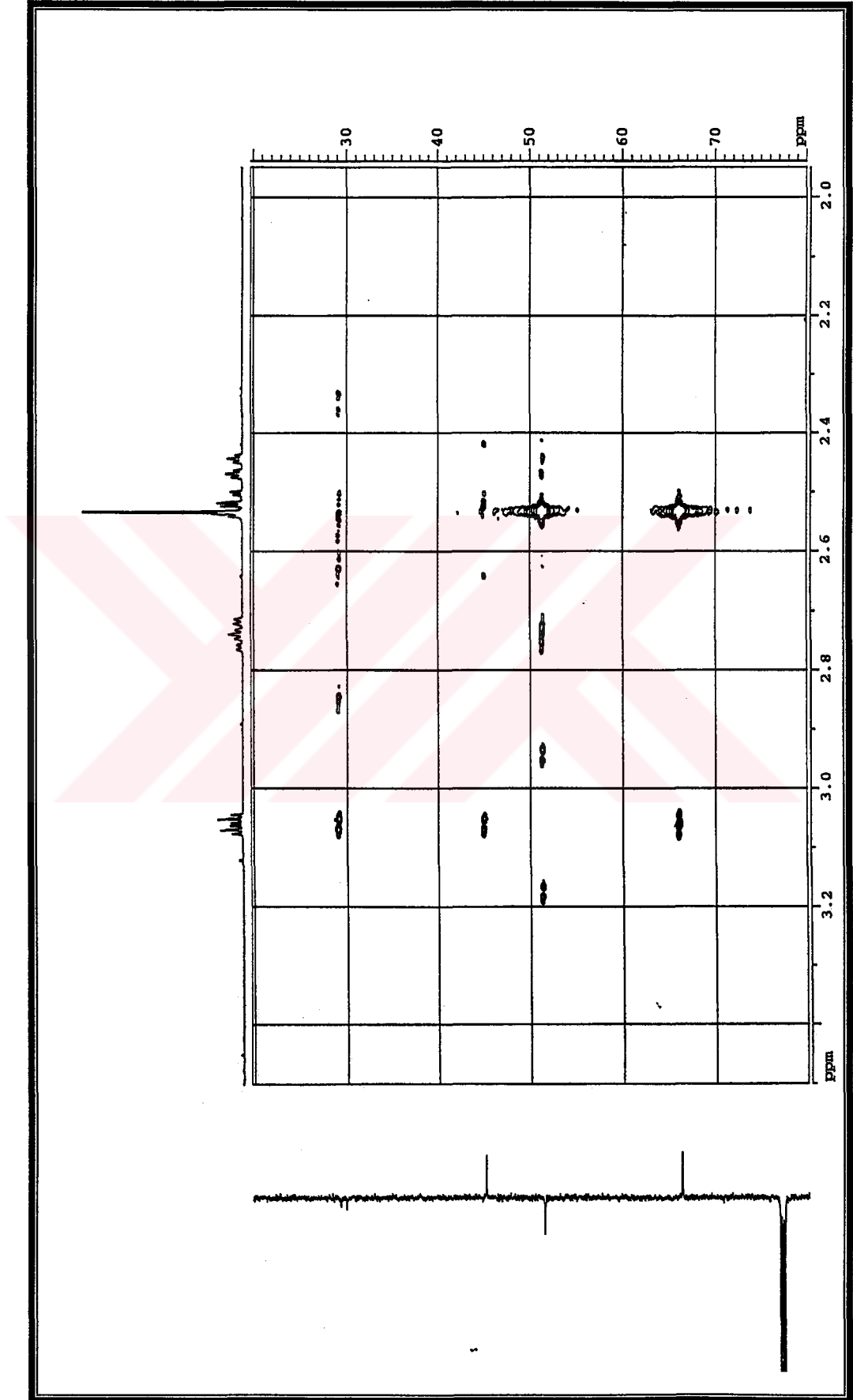
Spektrum 8. GI-1 Kodlu Bileşğin ^1H , ^1H COSY-gs Spektrumu



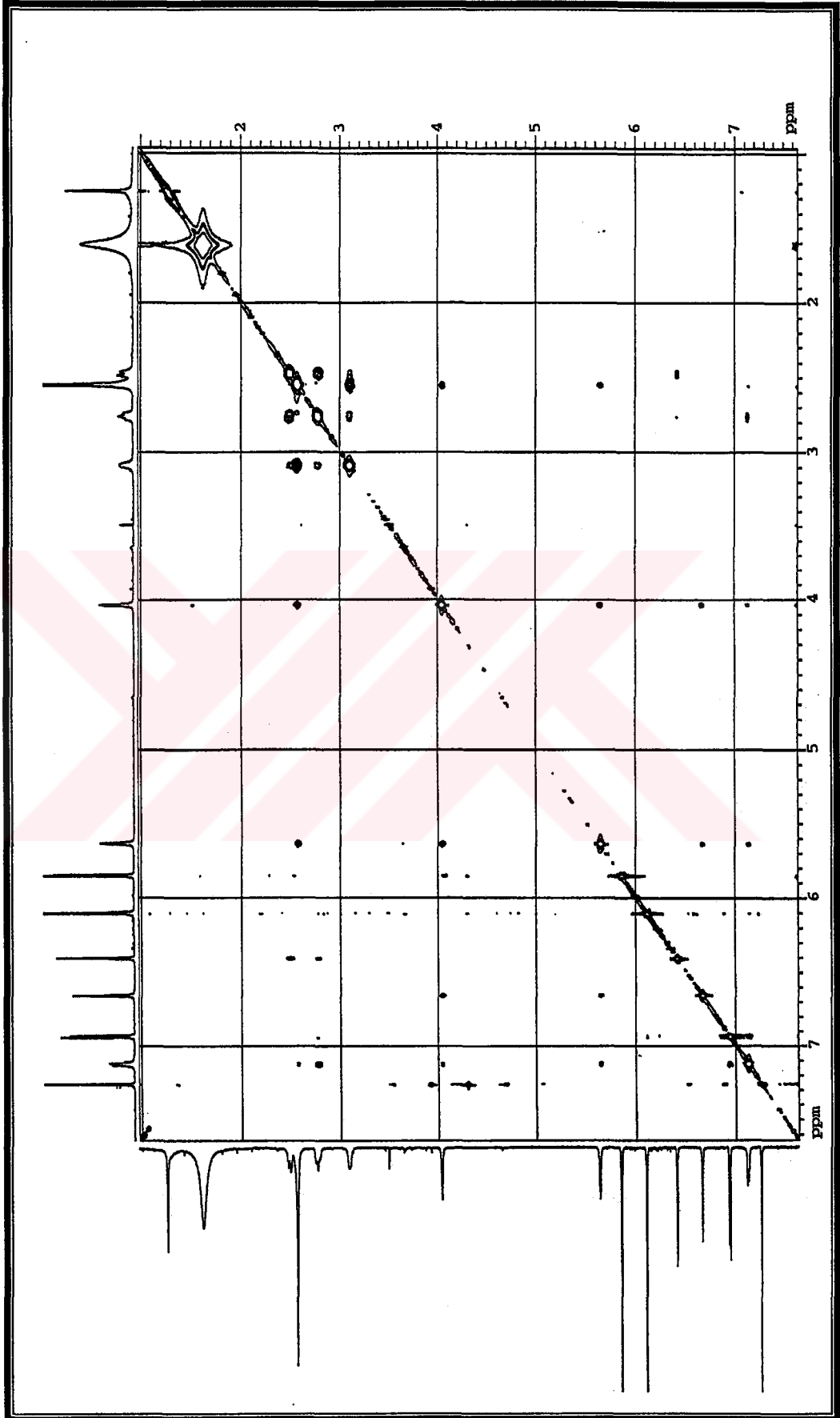
Spektrum 9. GI-1 Kodlu Bileşğin HMQC Spektrumu



Spektrum 10. GI-1 Kodlu Bileşğin HMBC Spektrumu



Spektrum 11. GI-1 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş HMBC Spektrumu



Spektrum 12. GI-1 Kodlu Bileşğin NOESY Spektrumu

2. GI-2 BİLEŞİĞİNİN SPEKTRAL BULGULARI

$[\alpha]_D +67.4^0$ (MeOH; c 0.14)

EI Kütle (Spektrum 13)

m/z (%) 358 (M^+ , 32), 205 (12), 163 (18), 152 (30), 151 (100), 150 (16), 137 (47), 131 (27), 124 (15), 123 (10), 109 (12), 103 (10), 81 (12), 81 (17), 77 (14), 65 (16), 55 (16), 53 (12)

1H NMR (Spektrum 14)

(600 MHz, $CDCl_3$) δ 6.95 (1H, d, $J= 1.2$ Hz, H-2'), 6.91 (1H, d, $J= 1.5$ Hz, H-2), 6.893 (1H, d, $J= 8.1$ Hz, H-5), 6.890 (1H, d, $J= 8.1$ Hz, H-5'), 6.84 (1H, dd, $J= 1.7, 8.1$ Hz, H-6), 6.79 (1H, dd, $J= 1.0, 8.1$ Hz, H-6'), 4.86 (1H, d, $J= 5.3$ Hz, H-7'), 4.43 (1H, d, $J= 7.1$ Hz, H-7), 4.12 (1H, d, $J= 9.5$ Hz, H-9_{ax}), 3.92 (3H, s, 3'-OCH₃), 3.90 (3H, s, 3-OCH₃), 3.86-3.82 (2H, m, H-9_{eq}, H-9'_{ax}), 3.36-3.31 (2H, m, H-8', 9'_{eq}), 2.91 (1H, dd, $J= 6.9, 14.7$ Hz, H-8) ppm

Genişletilmiş 1H NMR (Spektrum 15)

^{13}C APT (Spektrum 16)

(150 MHz, $CDCl_3$) δ 146.7 (C-3), 146.4 (C-3'), 145.3 (C-4), 144.6 (C-4'), 133.1 (C-1), 130.3 (C-1'), 119.2 (C-6), 118.4 (C-6'), 114.2 (C-5, C-5'), 108.5

(C-2), 108.4 (C-2'), 87.7 (C-7), 82.1 (C-7'), 71.0 (C-9), 69.7 (C-9'),
56.0 (OCH₃), 55.9 (OCH₃), 54.5 (C-8) 50.2 (C-8') ppm

¹H, ¹H COSY-gs (Spektrum 17) (Tablo 61)

HMQC (Spektrum 18) (Tablo 61)

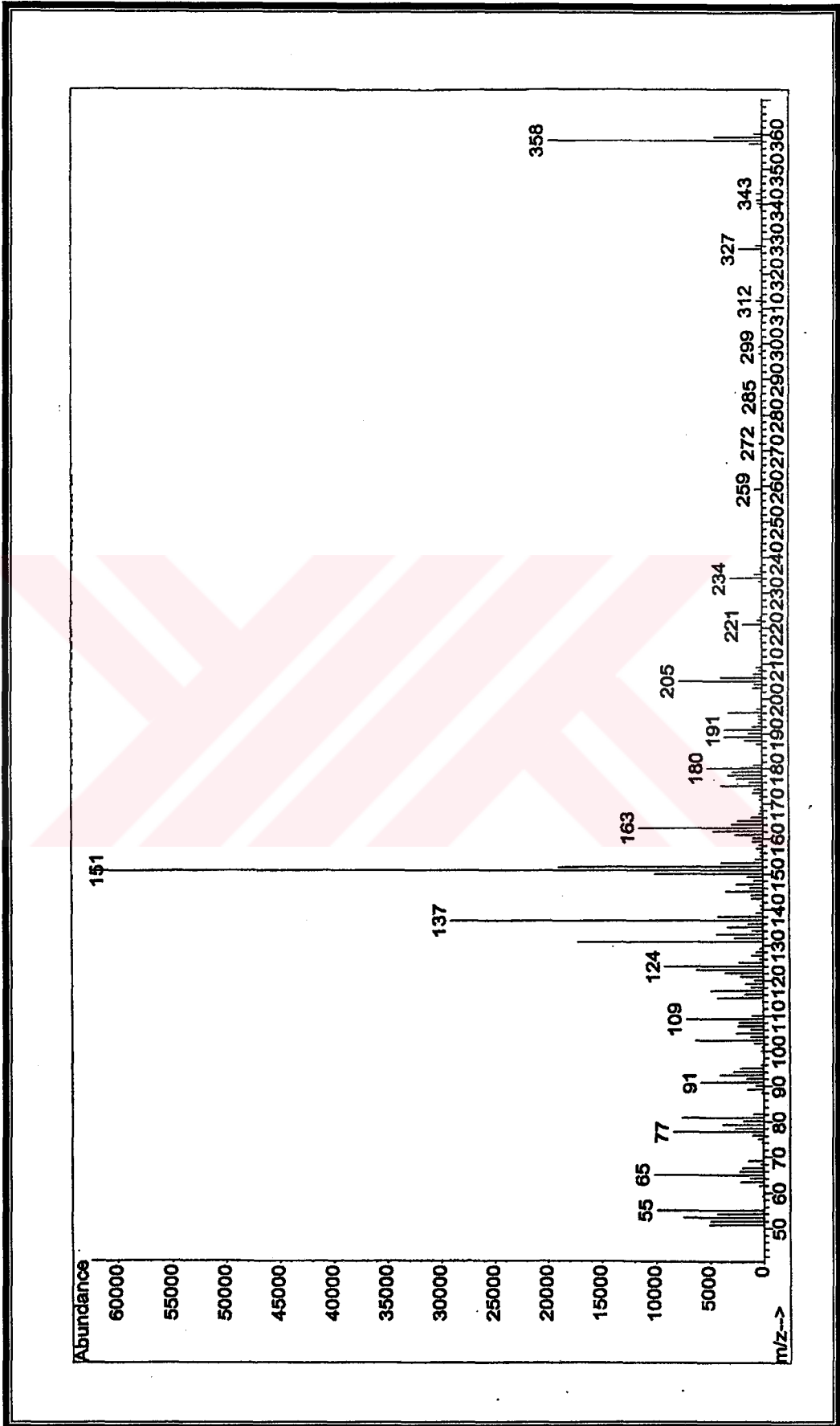
HMBC (Spektrum 19) (Tablo 61)

NOESY (Spektrum 20) (Tablo 61)

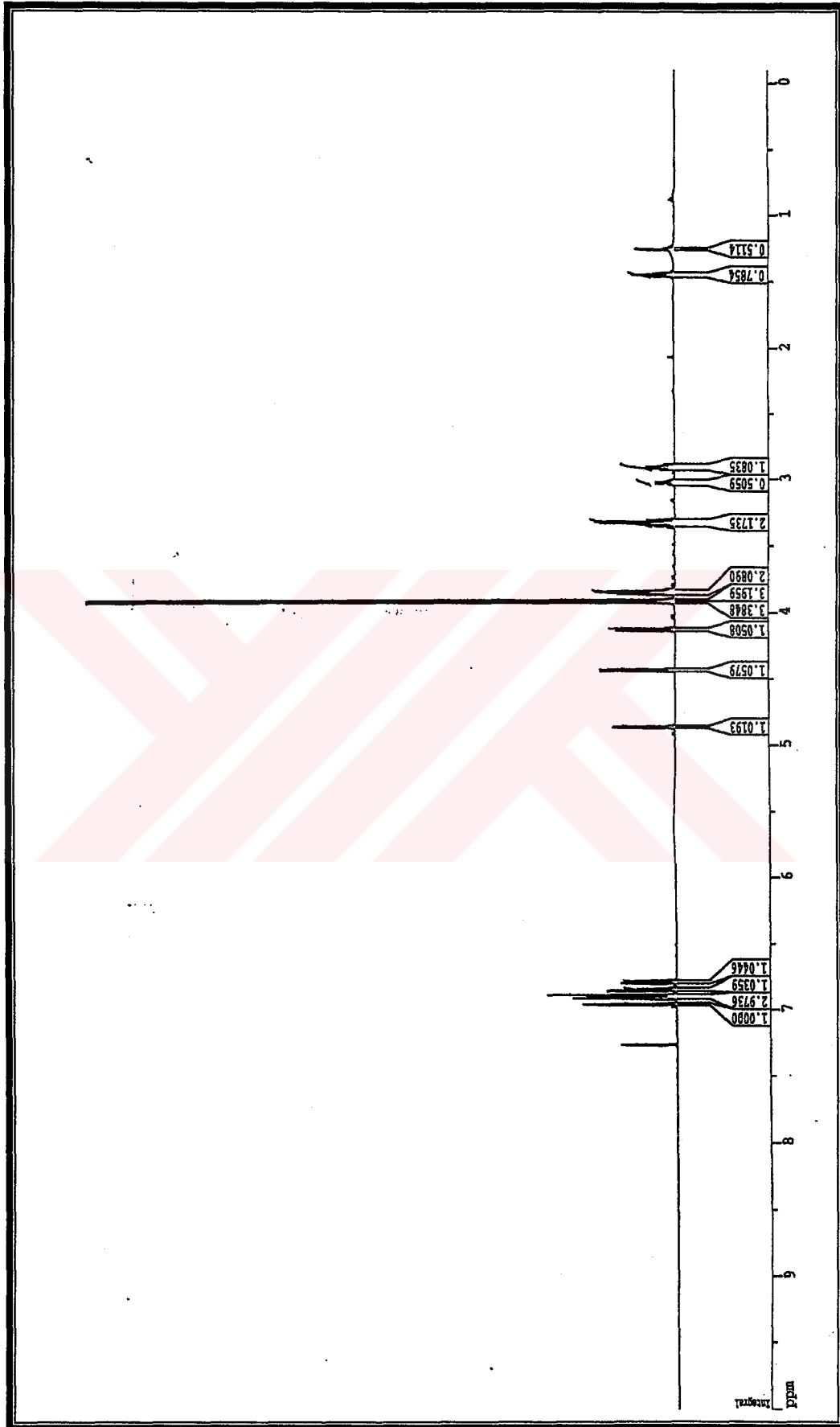


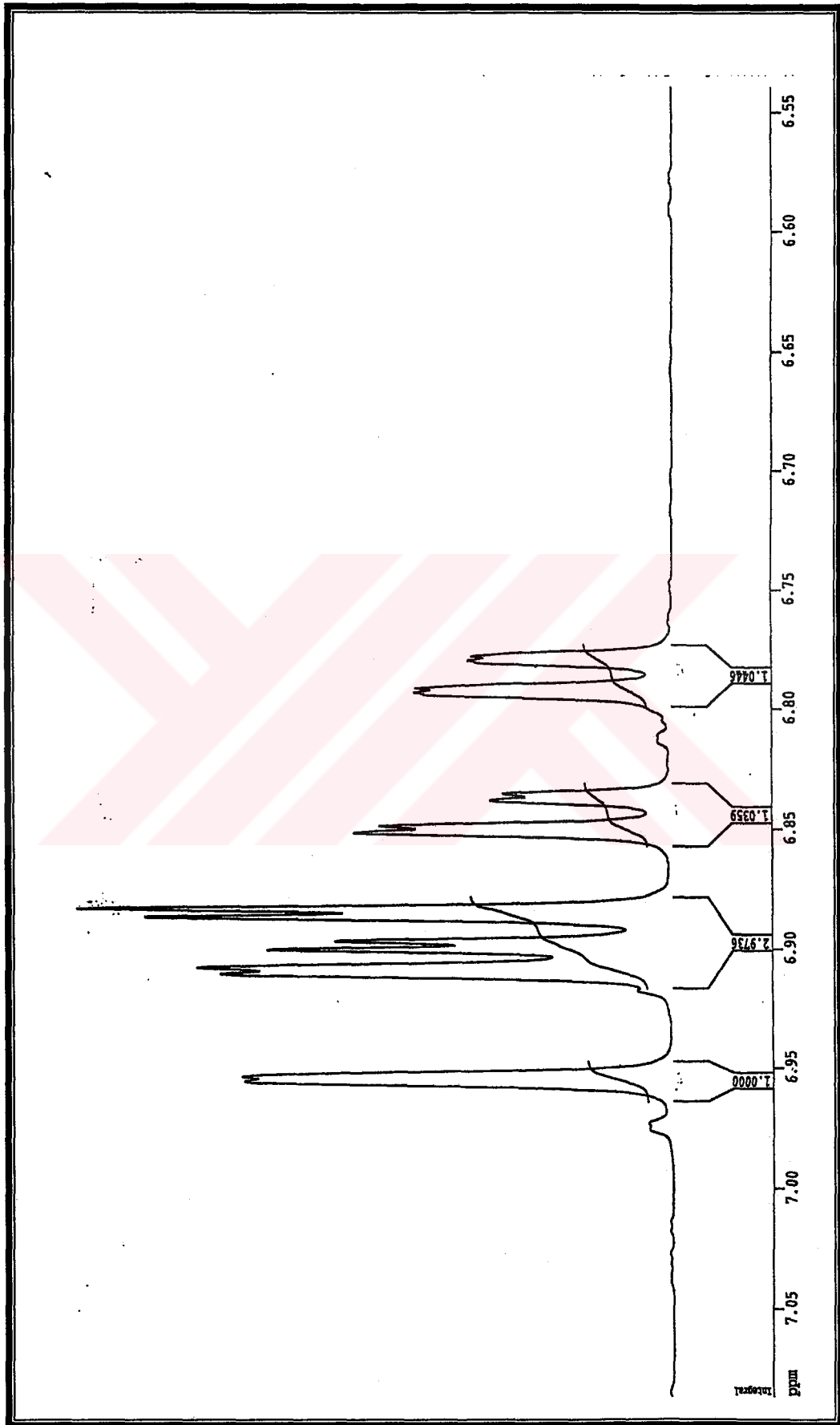
H	^1H (δ)	$^{13}\text{C}/\text{HMQC}$ (δ)	HMBC-gs	$^1\text{H}, ^1\text{H}$ COSY-gs	NOESY
2	6.91	108.5	C-1, C-3, C-4, C-5, C-6, C-7	H-6, H-7	H-7, H-8, H-9 _{eq} , 3-OCH ₃
2'	6.95	108.4	C-1', C-3', C-4', C-5', C-6', C-7'	H-6', H-7'	H-7', H-8', H-9' _{ax} , C-9' _{eq} , 3'-OCH ₃
5	6.893	114.2	C-1, C-3, C-4, C-6	H-6	H-6
5'	6.890	114.2	C-1', C-3', C-4', C-6'	H-6'	H-6'
6	6.84	119.2	C-2, C-3, C-4, C-5, C-7	H-2, H-5, H-7	H-5, H-7, H-8, H-9 _{ax}
6'	6.79	118.4	C-2', C-3', C-4', C-5', C-7'	H-2', H-5', H-7'	H-5', H-7', H-8', H-9' _{eq}
7	4.43	87.7	C-1, C-2, C-6, C-8, C-8', C-9, C-9'	H-2, H-6, H-8, H-9 _{ax} , H-9 _{eq}	H-2, H-6, H-8, H-9 _{ax} , H-9' _{ax}
7'	4.86	82.1	C-1', C-2', C-6', C-8', C-8, C-9'	H-2', H-6', H-8', H-8', H-9 _{ax} , H-9 _{eq} , H-9'	H-2', H-6', H-8, H-8', H-9 _{eq} , H-9' _{ax} , H-9' _{ax}
8	2.91	54.5	C-8', C-9'	H-7, H-7', H-8', H-9 _{ax} , H-9 _{eq}	H-2, H-6, H-7, H-8', H-9 _{ax} , H-9 _{eq}
8'	3.36-3.31	50.2	C-7, C-7', C-8, C-8', C-9, C-9'	H-7', H-8, H-9' _{ax} , H-9' _{eq}	H-2', H-62, H-7, H-8, H-9' _{ax} , H-9' _{eq}
9 _{ax}	4.12	71.0	C-7, C-7', C-8, C-8'	H-7', H-8, H-9 _{eq}	H-2, H-6, H-7, H-8, H-9 _{eq}
9 _{eq}	3.86-3.82	71.0	C-7, C-7', C-8, C-8'	H-7, H-7', H-8, H-8'/H-9', H-9 _{ax}	H-2, H-6, H-7', H-8, H-9 _{ax}
9' _{eq}	3.86-3.82	69.7	C-7, C-7', C-8, C-8'	H-8', H-9 _{ax}	H-2', H-6', H-7, H-9 _{ax}
9' _{ax}	3.36-3.31	69.7	C-7, C-7', C-8, C-8', C-9, C-9'	H-7', H-8', H-9' _{eq}	H-2', H-6', H-7', H-8, H-9 _{ax} /H-9' _{eq}
OCH ₃	3.90	56.0*	C-3	H-2	H-2
OCH ₃	3.92	55.9*	C-3'	H-2'	H-2'

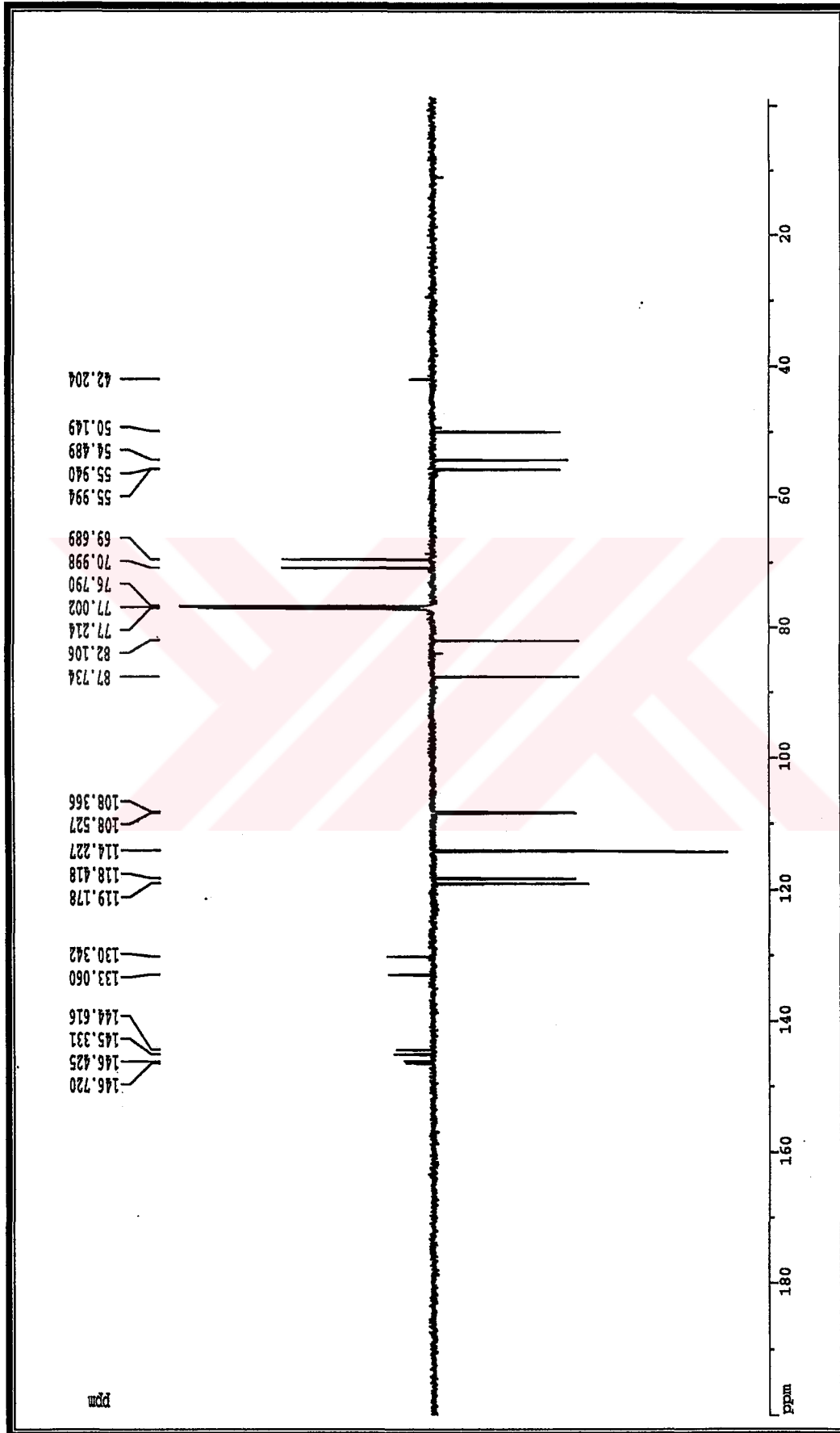
Tablo 61. GI-2 Bileşiminin 1D ve 2D NMR Spektral Bulguları



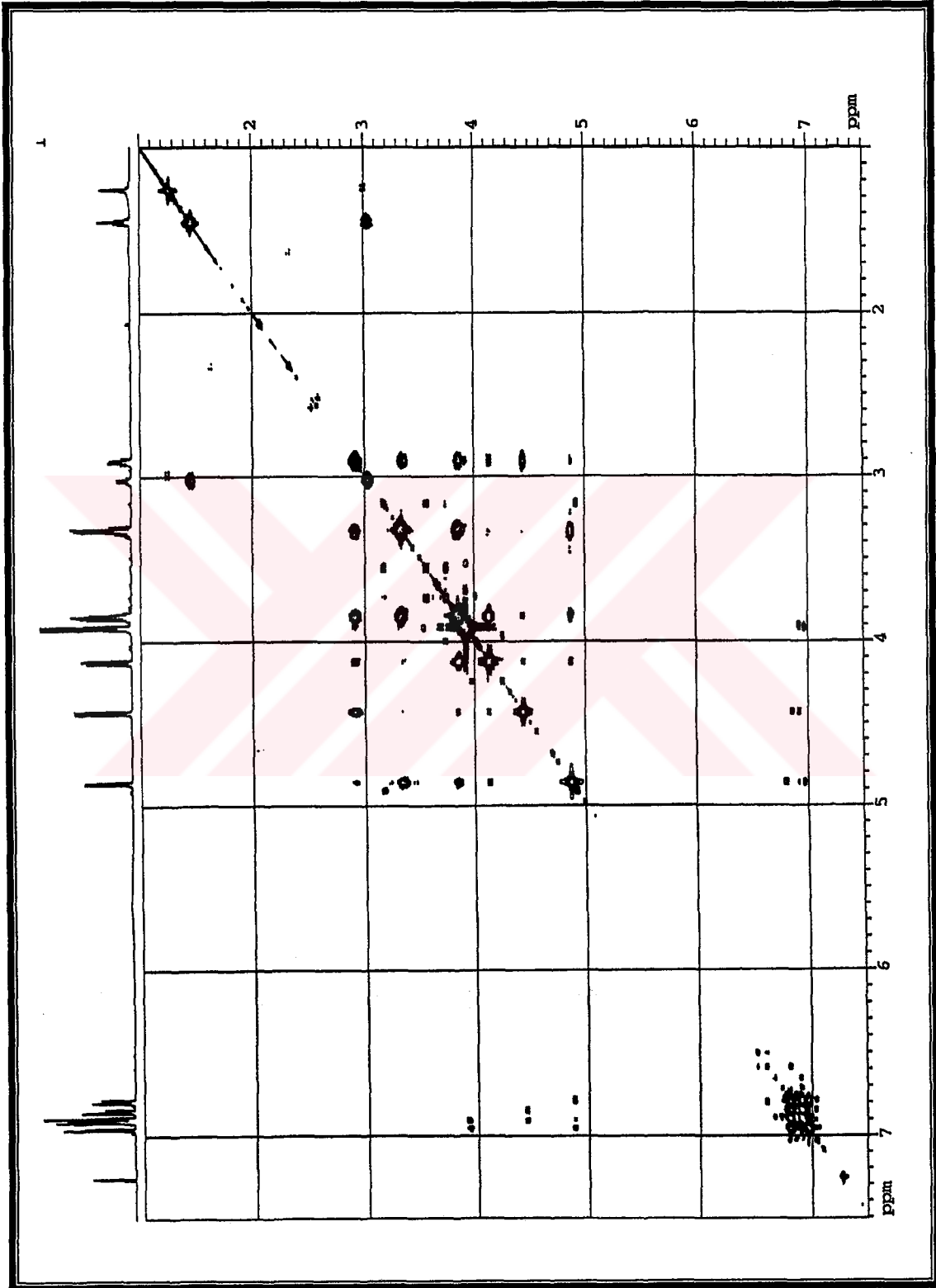
Spektrum 13. GI-2 Kodlu Bileşimin EI Kütle Spektrogramu

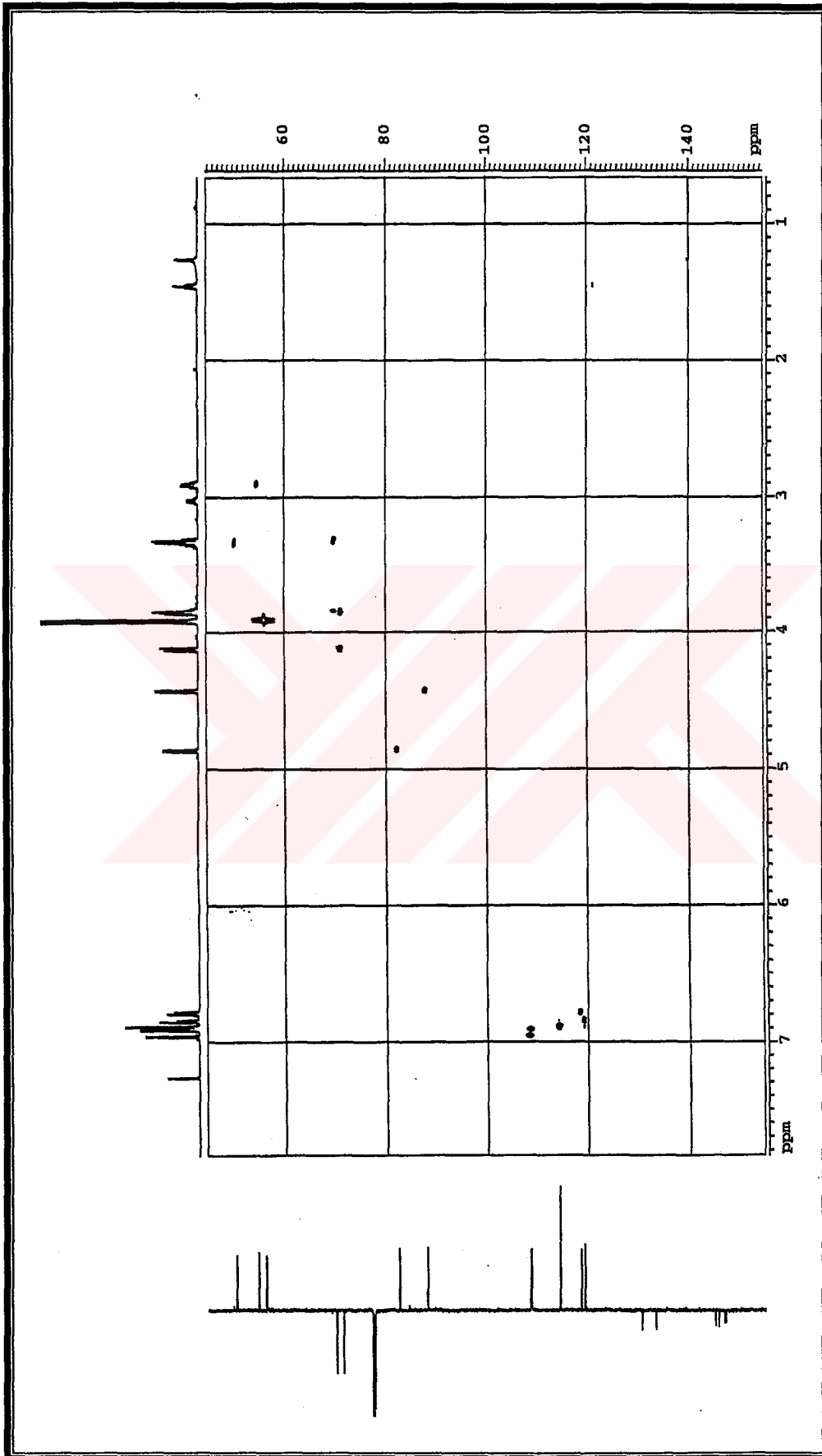
Spektrum 14. GI-2 Kodlu Bileşğin ^1H NMR Spektrumu

Spektrum 15. GI-2 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR Spektrumu

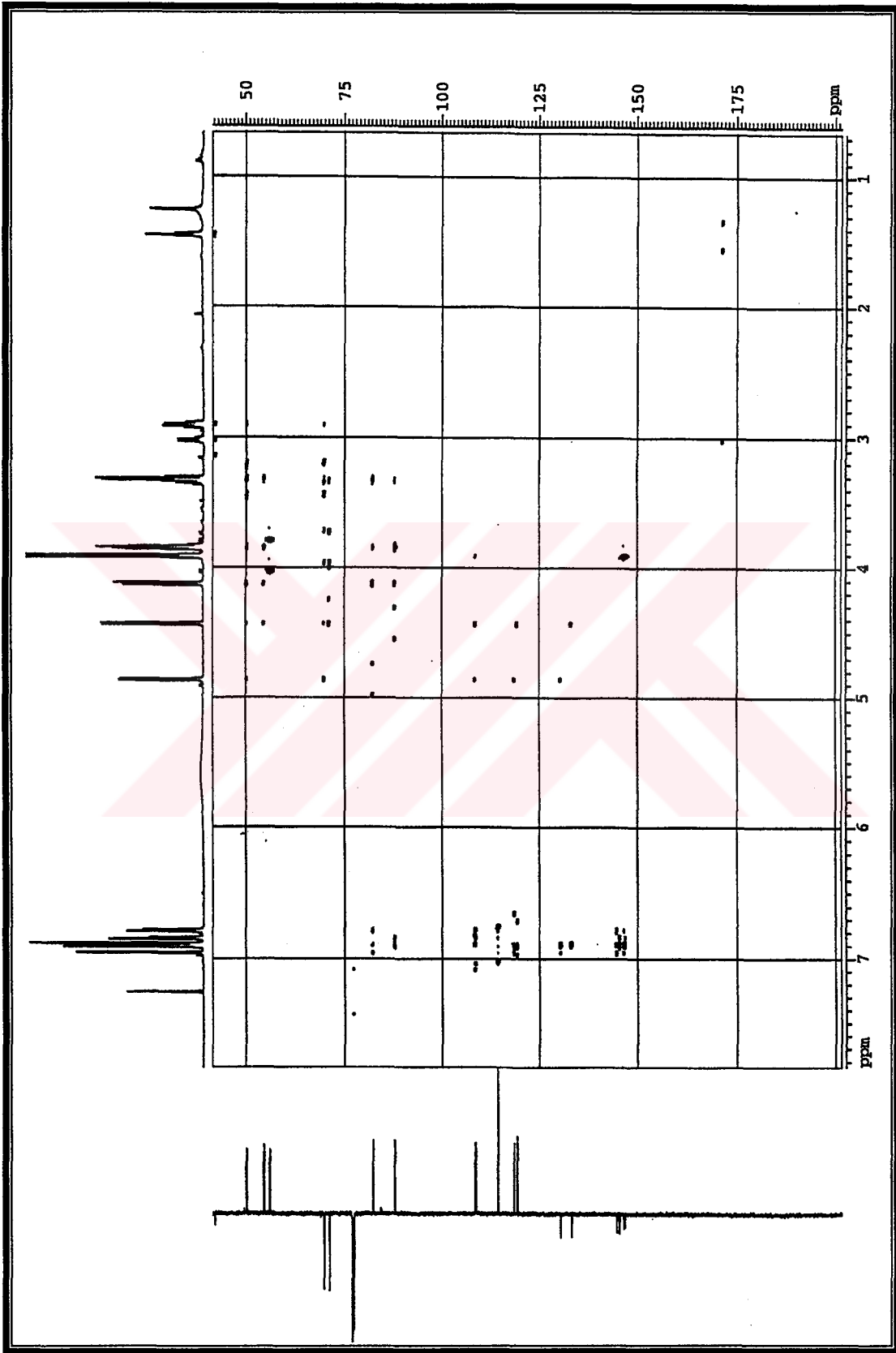


Spektrum 16. GI-2 Kodlu Bileşğin ^{13}C APT Spektrumu

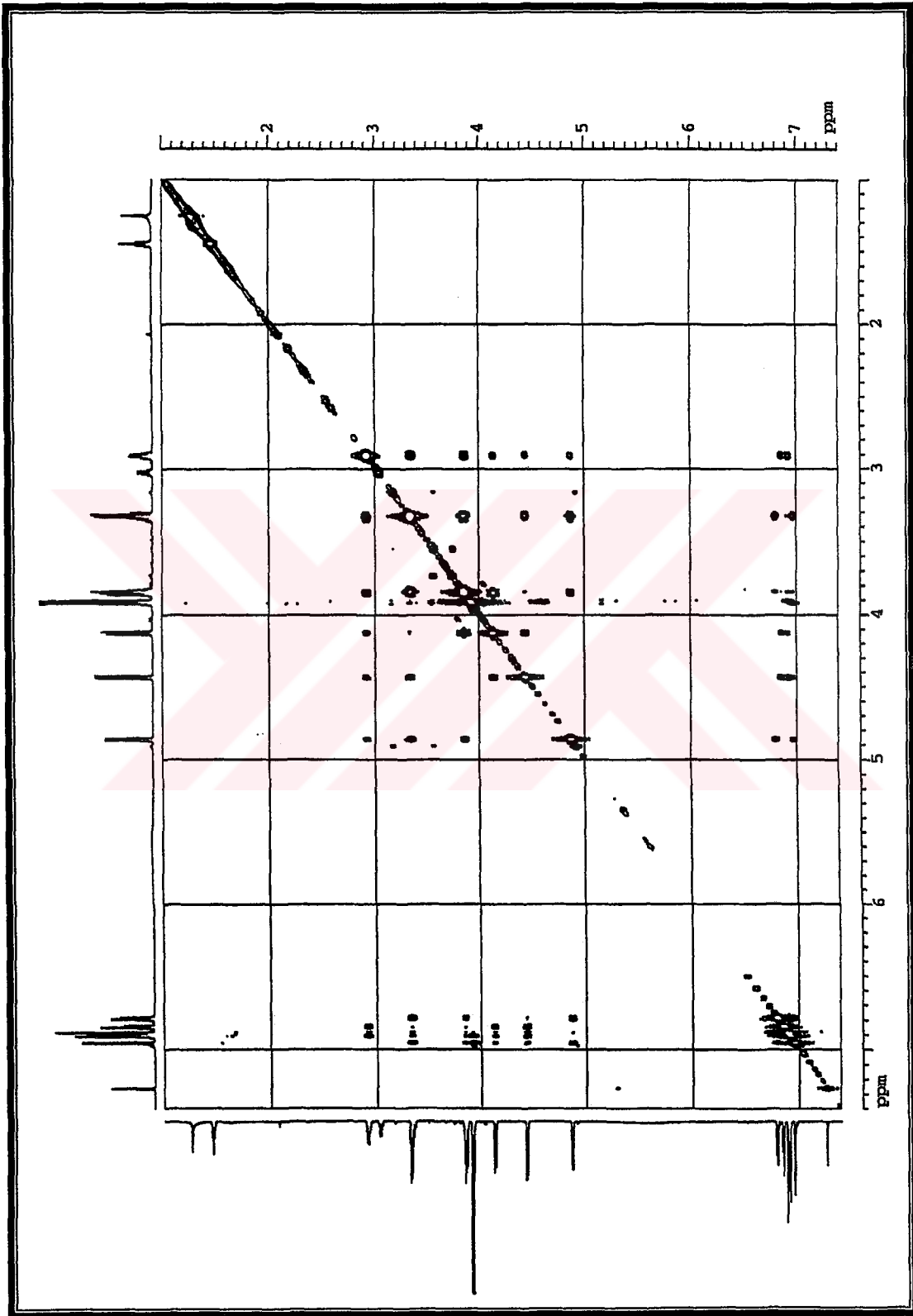
Spektrum 17. GI-2 Kodlu Bileşğin ^1H , ^1H COSY-gs Spektrumu



Spektrum 18. GI-2 Kodlu Bileşğin HMQC Spektrumu



Spektrum 19. GI-2 Kodlu Bileşğin HMBC Spektrumu



Spektrum 20. GI-2 Kodlu Bileşin NOESY Spektrumu

3. GI-3 BİLEŞİĞİNİN SPEKTRAL BULGULARI

$[\alpha]_D +36.3^0$ (MeOH; c 0.11)

EI Kütle (Spektrum 21)

m/z (%) 358 (M^+ ,16), 205 (10), 163 (22), 152 (31), 151 (100), 150 (22), 137 (50), 131 (37), 124 (18), 123 (11), 103 (14), 91 (12), 81 (17), 77 (18), 65 (20), 55 (27), 54 (10), 53 (15), 52 (10), 51 (10)

1H NMR (Spektrum 22)

(600 MHz, $CDCl_3$) δ 6.90 (2H, d, $J= 1.6$ Hz, H-2, 2'), 6.89 (2H, d, $J= 8.2$ Hz, H-5, 5'), 6.82 (2H, dd, $J= 1.7, 8.1$ Hz, H-6, 6'), 5.59 (2H, s, 4- ve 4'-OH), 4.74 (2H, d, $J= 4.2$ Hz, H-7, 7'), 4.25 (2H, dd, $J= 6.8, 9.0$ Hz, H-9, 9'), 3.91 (6H, s, 3- ve 3'-OCH₃), 3.88 (2H, dd, $J= 3.5, 9.2$ Hz, H-9, 9'), 3.10 (2H, dd, $J= 6.4, 4.5$ Hz, H-8, 8') ppm

^{13}C APT (Spektrum 23)

(150 MHz, $CDCl_3$) δ 146.7 (C-3, 3'), 145.2 (C-4, 4'), 132.9 (C-1, 1'), 119.0 (C-6, 6'), 114.3 (C-5, 5'), 108.6 (C-2, 2'), 85.9 (C-7, 7'), 71.7 (C-9, 9'), 56.0 (3- ve 3'-OCH₃), 54.2 (C-8, 8') ppm

$^1H, ^1H$ COSY-gs (Spektrum 24) (Tablo 62)

HMQC (Spektrum 25) (Tablo 62)

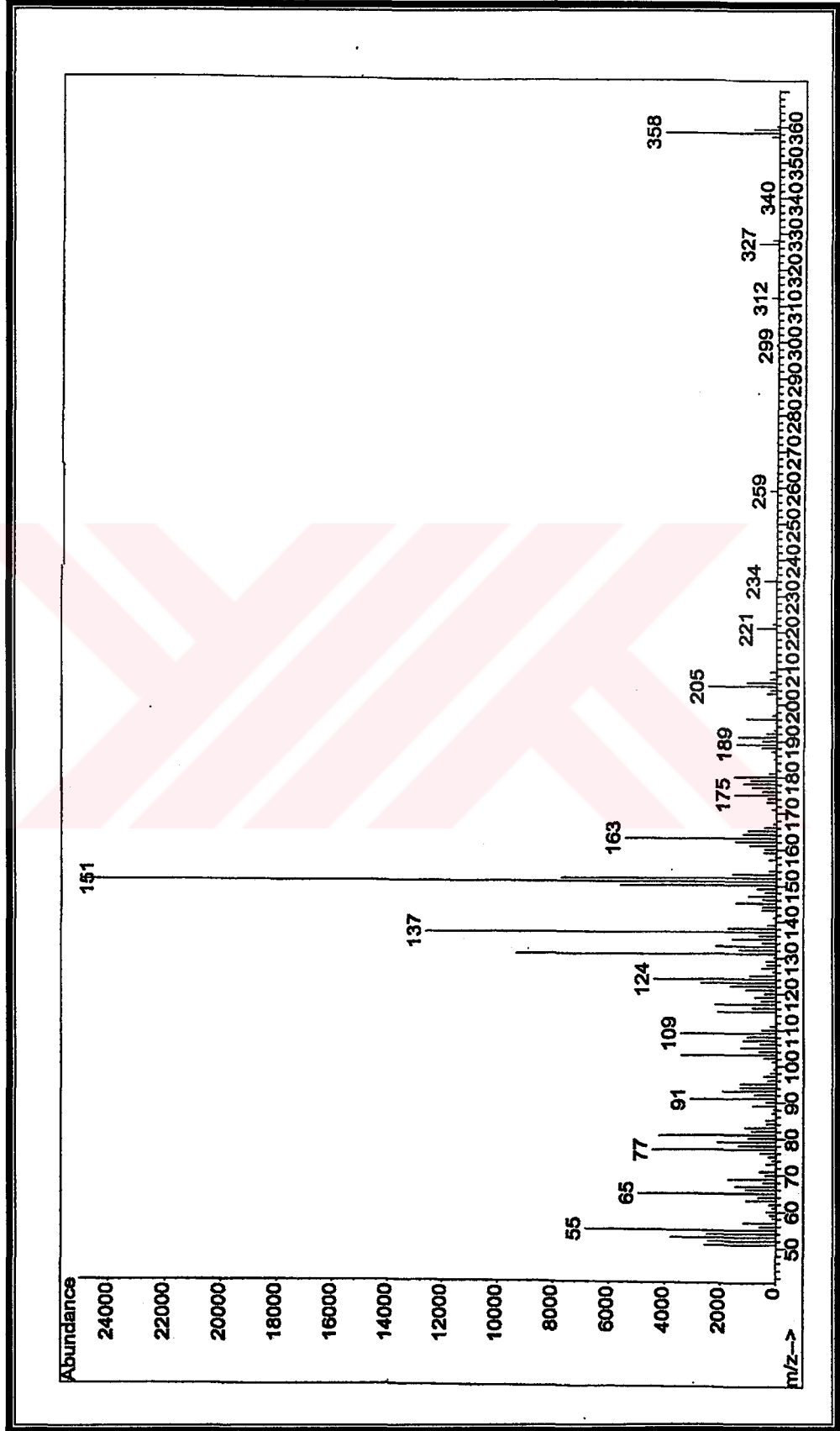
HMBC (Spektrum 26) (Tablo 62)

NOESY (Spektrum 27) (Tablo 62)

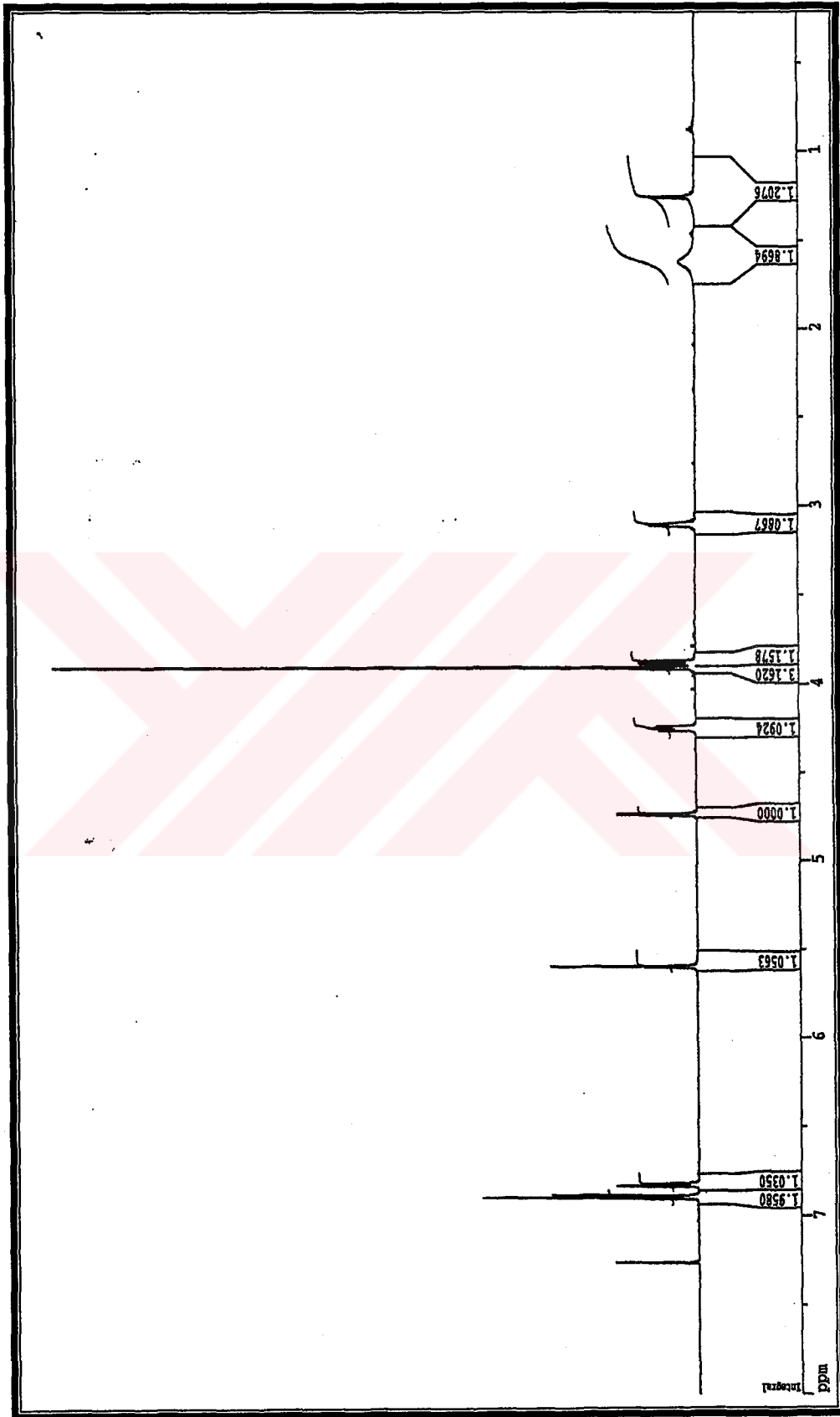


H	¹ H (δ)	¹³ C/HMQC (δ)	¹ H, ¹ H COSY-gs	HMBC	NOESY
1,1'	---	132.9	-----	-----	-----
2,2'	6.90	108.6	-----	C-1,1', C-3,3', C-4,4', C-6,6', C-7,7'	H-7,7', H-8,8', H-9,9', OCH ₃
3,3'	-----	146.7	-----	-----	-----
4,4'-OH	5.59	145.2	-----	C-3,3', C-4,4', C-5,5'	-----
5,5'	6.89	114.3	-----	C-1,1', C-2,2', C-3,3', C-4,4', C-6,6'	-----
6,6'	6.82	119.0	-----	C-2,2', C-4,4', C-7,7'	H-7,7', H-8,8'
7,7'	4.74	85.9	H-8,8'	C-1,1', C-2,2', C-6,6', C-8,8', C-9,9'	H-2,2', H-6,6', H-8,8', H-9,9'
8,8'	3.10	54.2	H-7,7', H-9,9'	-----	H-2,2', H-6,6', H-7,7', H-9,9'
9,9'	4.25	71.7	H-8,8', H-9,9' (3.88)	C-7,7', C-8,8'	H-8,8', H-9,9' (3.88)
9,9'	3.88	71.7	H-8,8', H-9,9' (4.25)	C-7,7', C-8,8'	H-2,2', H-7,7', H-9,9' (4.25)
OCH ₃	3.91	56.0	-----	C-3,3'	H-2,2'

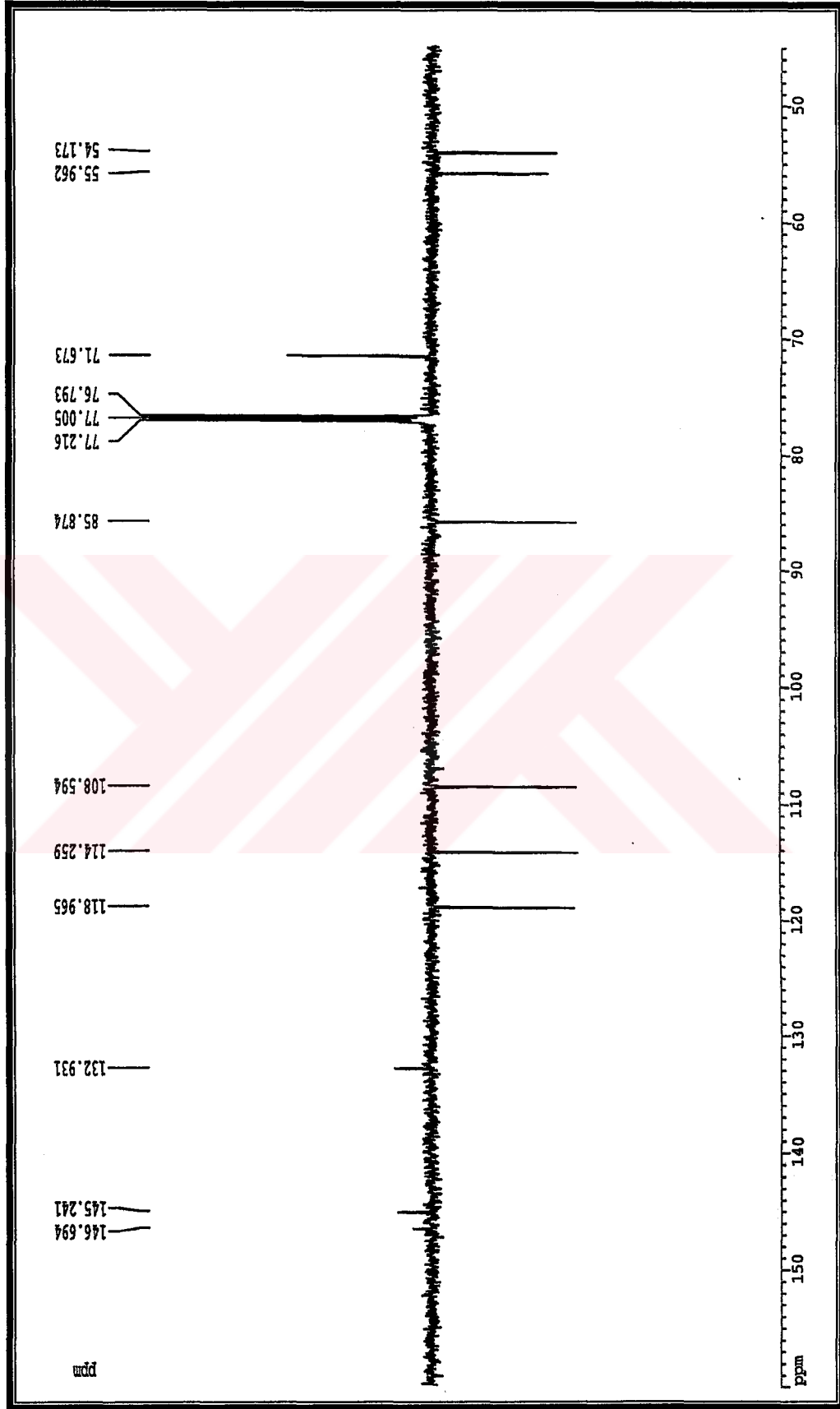
Tablo 62. Gl-3 Bileşiminin 1D ve 2D NMR Spektrel Bulguları

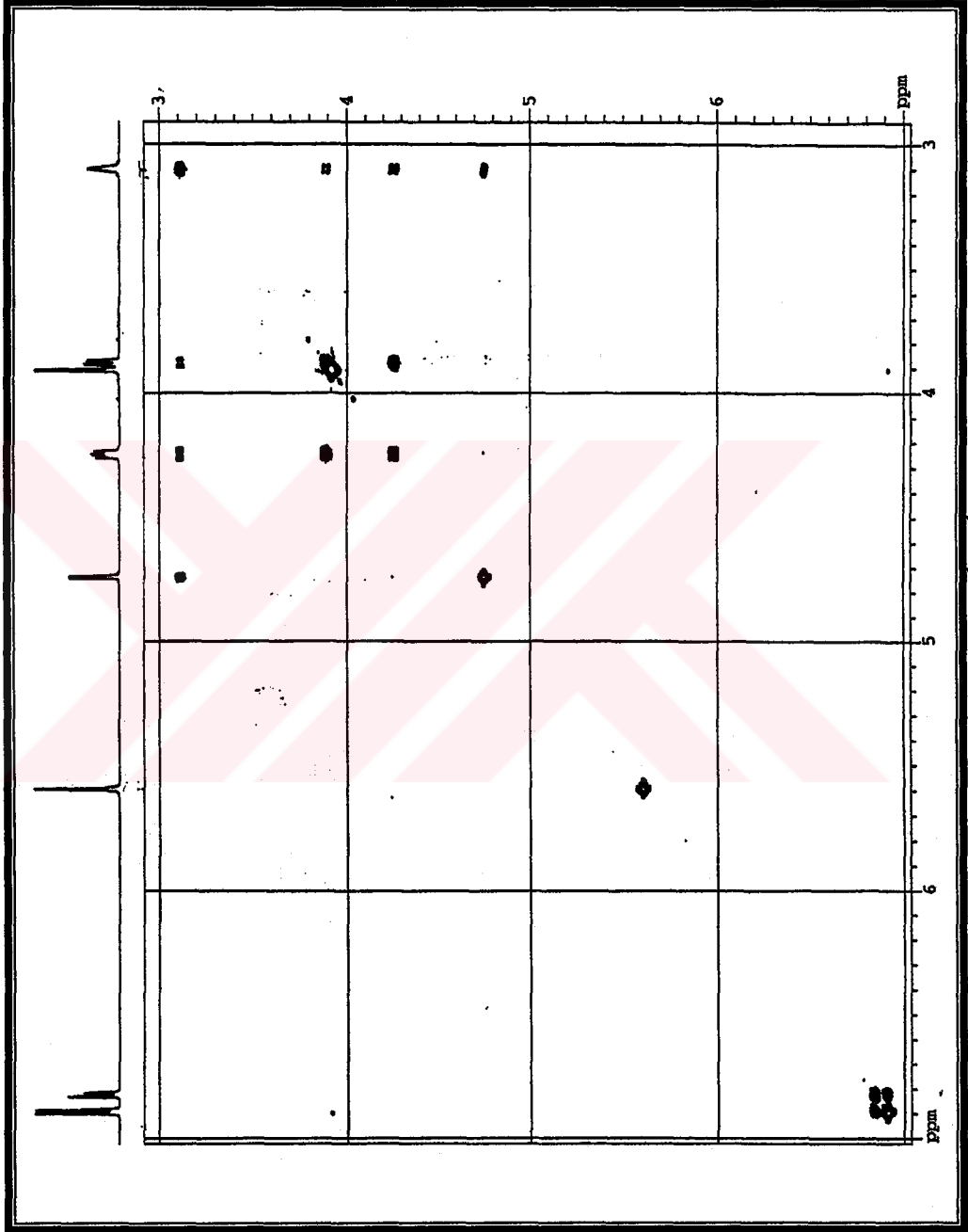


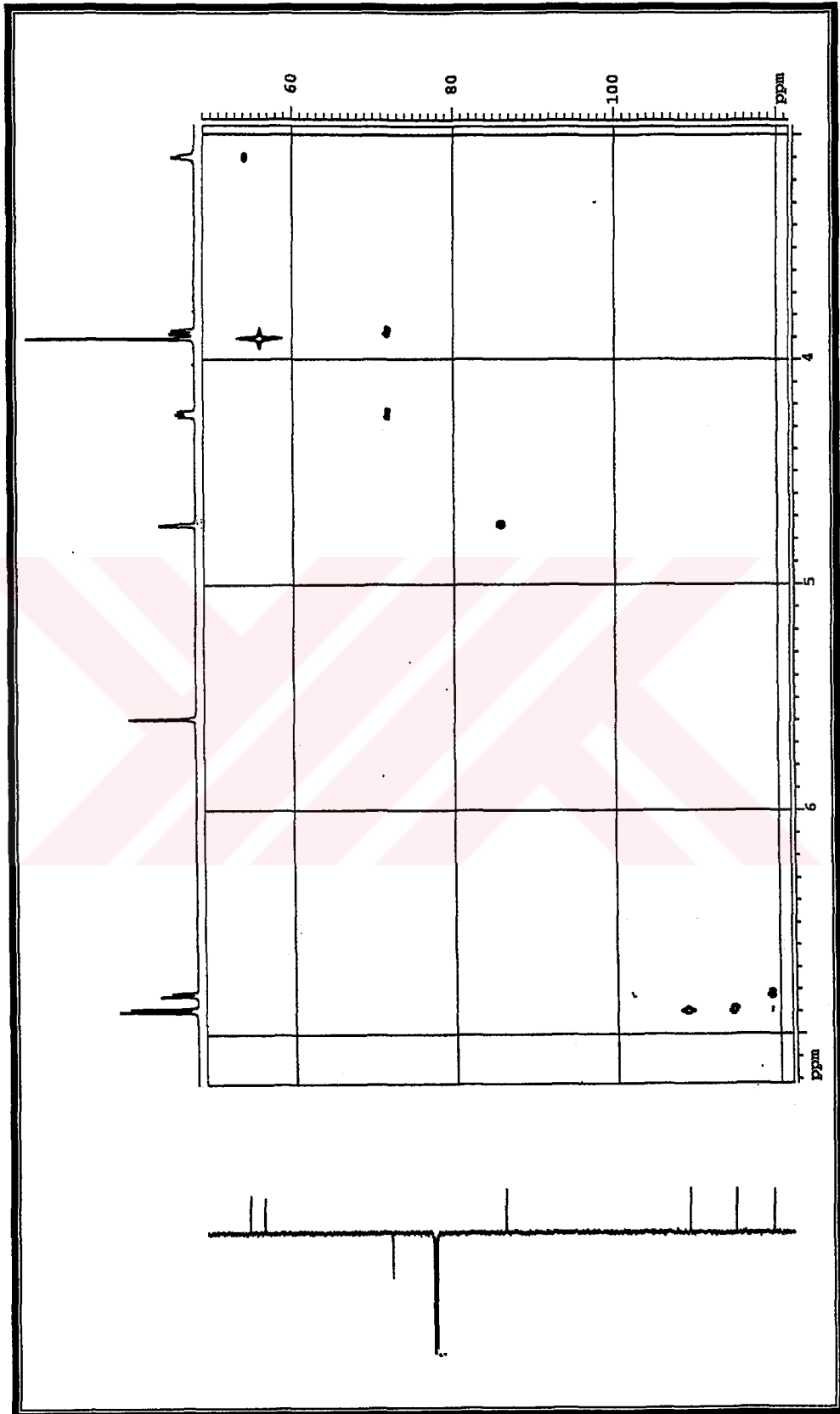
Spektrum 21. GI-3 Kodlu Bileşin EI Kütle Spektrumu



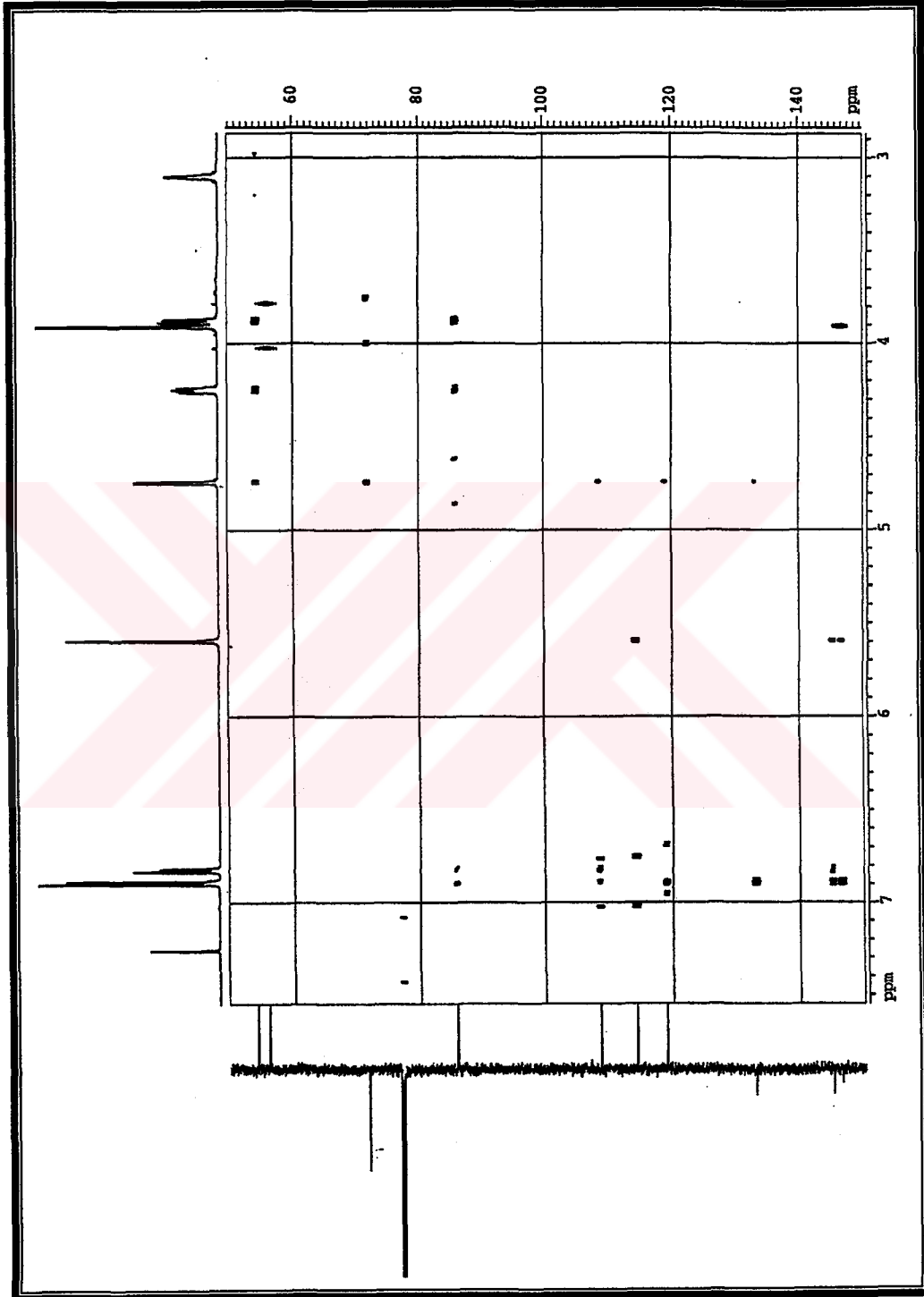
Spektrum 22. GI-3 Kodlu Bileşğin ^1H NMR Spektrumu

Spektrum 23. GI-3 Kodlu Bileşin ^{13}C APT Spektrumu





Spektrum 25. GI-3 Kodlu Bileşğin HMQC Spektrumu



Spektrum 26. GI-3 Kodlu Bileşenin HMBC Spektrumu

4. GI-4 BİLEŞİĞİN SPEKTRAL BULGULARI

$[\alpha]_D + 21.9^0$ (CHCl₃; c 0.16)

UV (Spektrum 28)

λ_{\max} (MeOH) (log ϵ) 224 (3.98), 269 (3.68), 307 (3.40) nm

λ_{\max} (MeOH+NaOH) (log ϵ) 209 (4.03), 222sh (3.96), 270 (3.61), 307 (3.36) nm

IR (Spektrum 29)

ν_{\max} (KBr) 3443, 2921, 2360, 1614, 1451, 1372, 1278, 1219, 1123, 1078, 1049, 952
cm⁻¹

EI Kütle (Spektrum 30)

m/z (%) 326 (18), 325 (94), 324 (53), 311 (18), 310 (94), 308 (15), 283 (12), 282 (16),
280 (15), 165 (11), 152 (8), 77 (8), 58 (30)

CI Kütle (Spektrum 31)

m/z 326 [M+H]⁺

¹H NMR (Spektrum 32)

(600 MHz, CDCl₃) δ 6.84 (1H, d, J = 8.9 Hz, H-9), 6.83 (1H, d, J = 8.9 Hz, H-8), 6.63
(1H, s, H-3) 6.10 (1H, d, J = 0.9 Hz, OCH₂O), 5.95 (1H, d, J = 0.9 Hz,
OCH₂O), 3.91 (3H, s, OCH₃), 3.13 (1H, ddd, J = 16.9, 11.6, 5.7 Hz, H-4),
3.07 (1H, dd, J = 13.6, 3.5 Hz, H-7), 3.02 (1H, dd, J = 11.4, 5.8 Hz, H-5),

2.97 (1H, d, $J=12.8$ Hz, H-6a), 2.65 (1H, dd, $J=16.3, 13.3$ Hz, H-4), 2.53 (3H, s, NCH₃), 2.50 (1H, td, $J=11.8, 3.7$ Hz, H-5), 2.46 (1H, t, $J=13.4$ Hz, H-7) ppm

Genişletilmiş ¹H NMR (Spektrum 33)

¹³C APT (Spektrum 34)

(150 MHz, CDCl₃) δ 148.3 (C-10), 146.1 (C-2), 142.9 (C-11), 140.6 (C-1), 129.5 (C-7a), 129.0 (C-11c), 127.5 (C-3a), 127.0 (C-11b), 119.3 (C-8), 118.3 (C-11a), 110.9 (C-9), 107.7 (C-3), 100.3 (OCH₂O), 62.7 (C-6a), 56.2 (OCH₃), 52.9 (C-5), 43.8 (NCH₃), 35.2 (C-7), 29.7 (C-4) ppm

¹H, ¹H COSY-gs (Spektrum 35) (Tablo 63)

Genişletilmiş ¹H, ¹H COSY-gs (Spektrum 36)

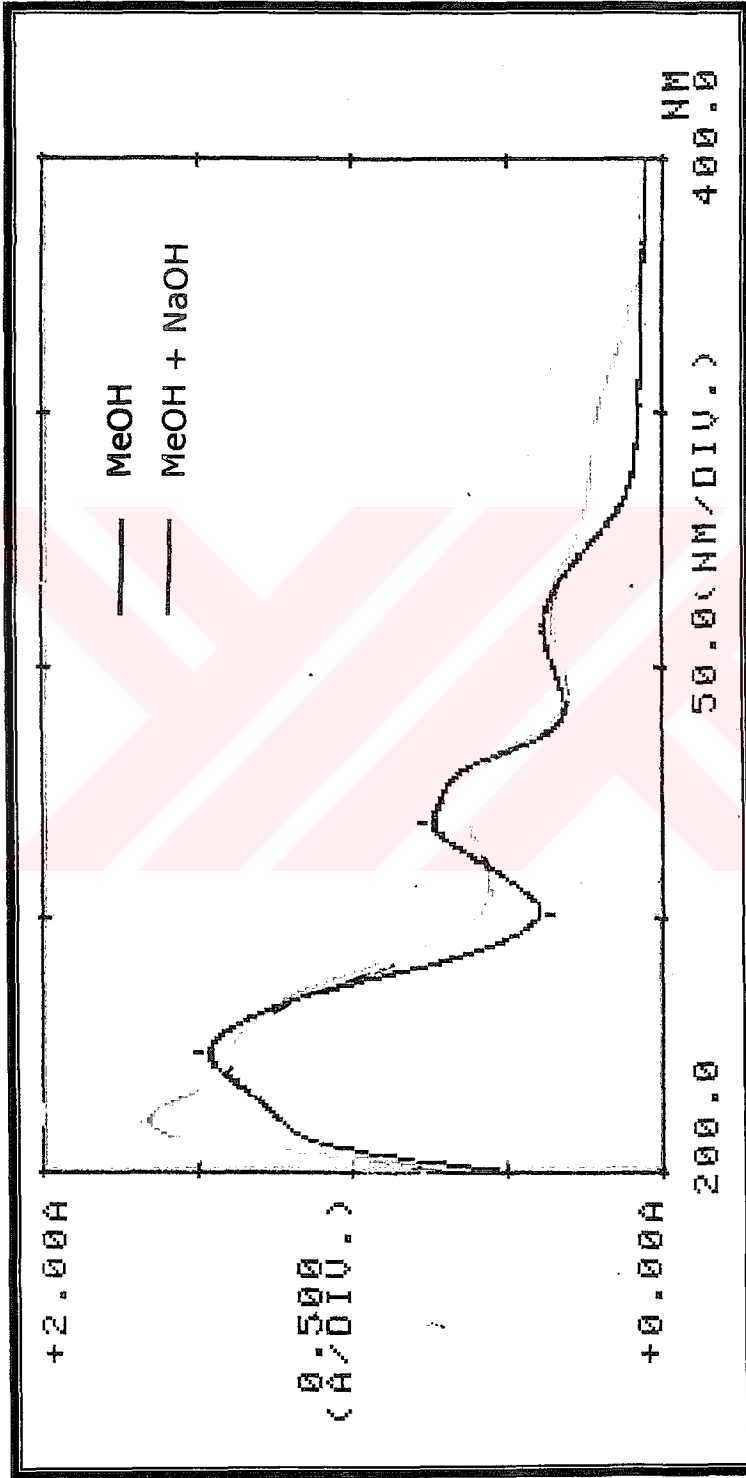
HMQC (Spektrum 37) (Tablo 63)

HMBC (Spektrum 38) (Tablo 63)

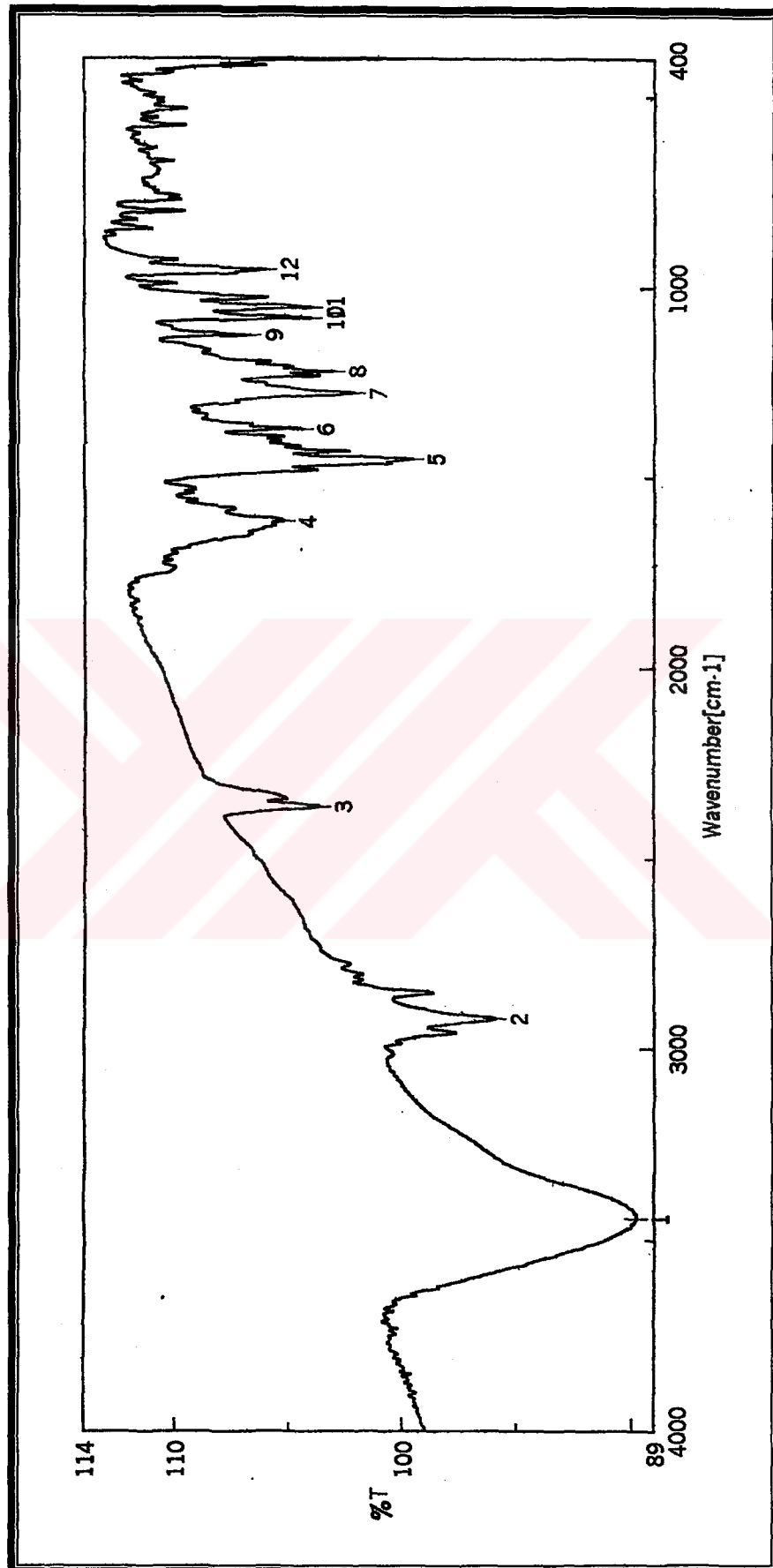
NOESY (Spektrum 39) (Tablo 63)

H	¹ H (δ)	¹³ C/HMQC (δ)	HMBC	¹ H, ¹ H COSY-gs	NOESY
3	6.63	107.7	C-1, C-2, C-4, C-11c	H-4 (δ 2.65, 3.13)	H-4
4	3.13	29.7	C-3a, C-5	H-3, H-4 (δ 2.65), H-5	H-3, H-4 (δ 2.65)
4	2.65	29.7	C-3a	H-3, H-4 (δ 3.13), H-5 (δ 2.50)	H-3, H-4 (δ 3.13), H-5 (δ 3.02)
5	3.02	52.9	C-3a, C-4, C-6a, NCH ₃	H-4 (δ 3.13), H-5 (δ 2.50)	H-4, H-5 (δ 2.50)
5	2.50	52.9	C-6a	H-4, H-5 (δ 3.02)	H-4, H-5 (δ 3.02)
6a	2.97	62.7	C-7	H-7	H-7(δ 2.46)
7	3.07	35.2	C-6a, C-7a, C-8	H-8, H-7 (δ 2.46), H-6a	H-7(δ 2.46)
7	2.46	35.2	C-6a, C-7a, C-8	H-8, H-7 (δ 3.07), H-6a	H-7(δ 3.07), H-6a
8	6.83	119.3	C-7, C-9, C-10, C-11a	H-7	H-7(δ 3.07)
9	6.84	110.9	C-7a, C-8, C-11	OCH ₃	OCH ₃
OCH ₂ O	6.10	100.3	C-1, C-2	----	----
OCH ₂ O	5.95	100.3	C-1, C-2	----	----
OCH ₃	3.91	56.2	C-10	H-9	H-9
NCH ₃	2.53	43.8	C-5, C-6a	----	H-5 ve/veya H-7

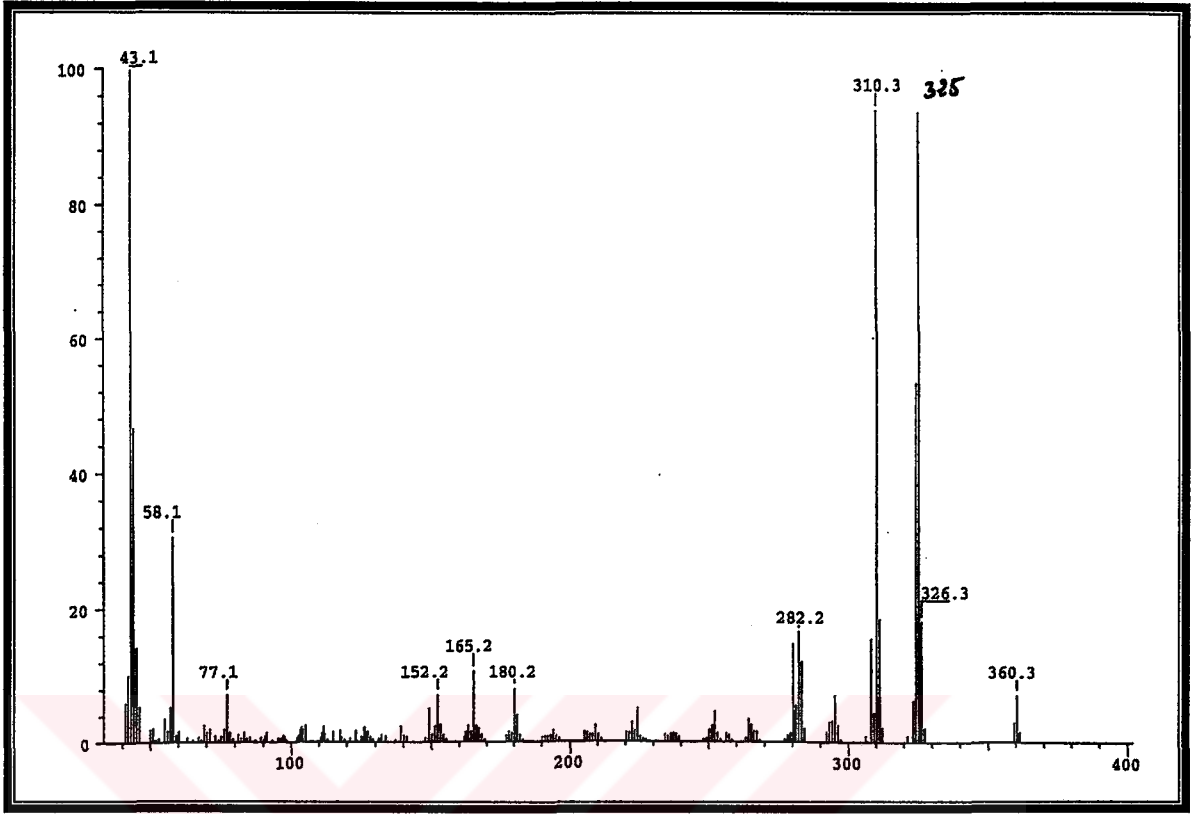
Tablo 63. GI-4 Bileşiminin 1D ve 2D NMR Spektral Bulguları



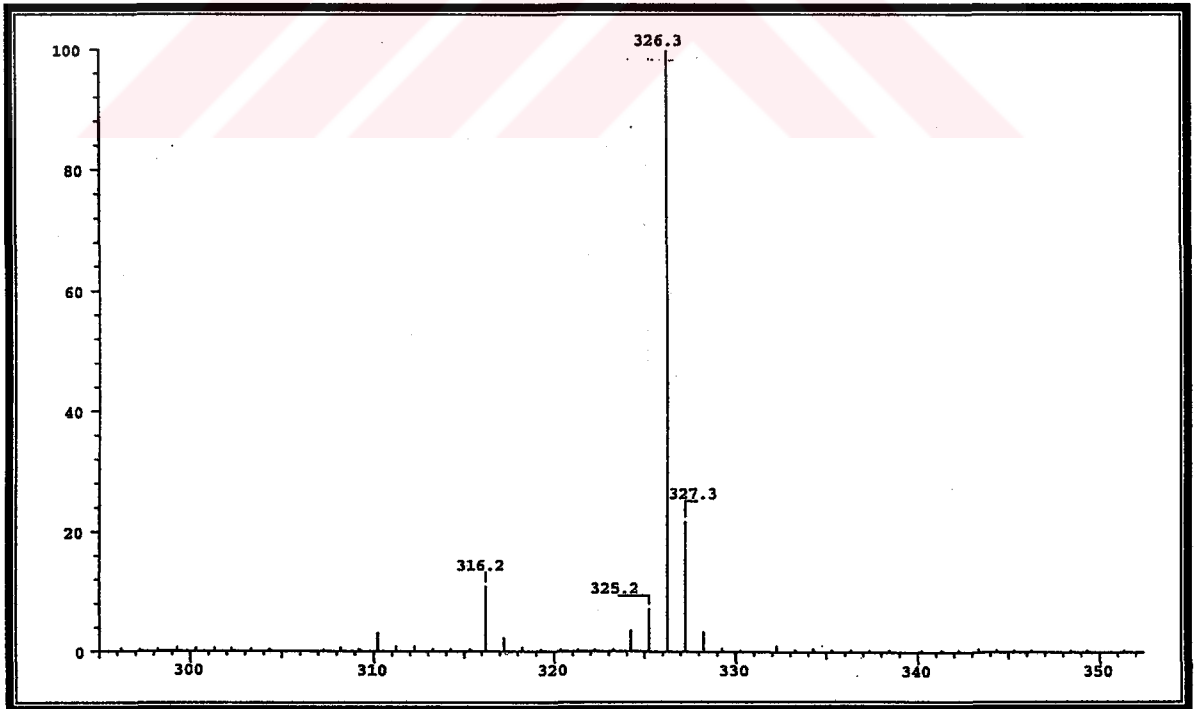
Spektrum 28. GI-4 Kodlu Bileşimin UV Spektrumu



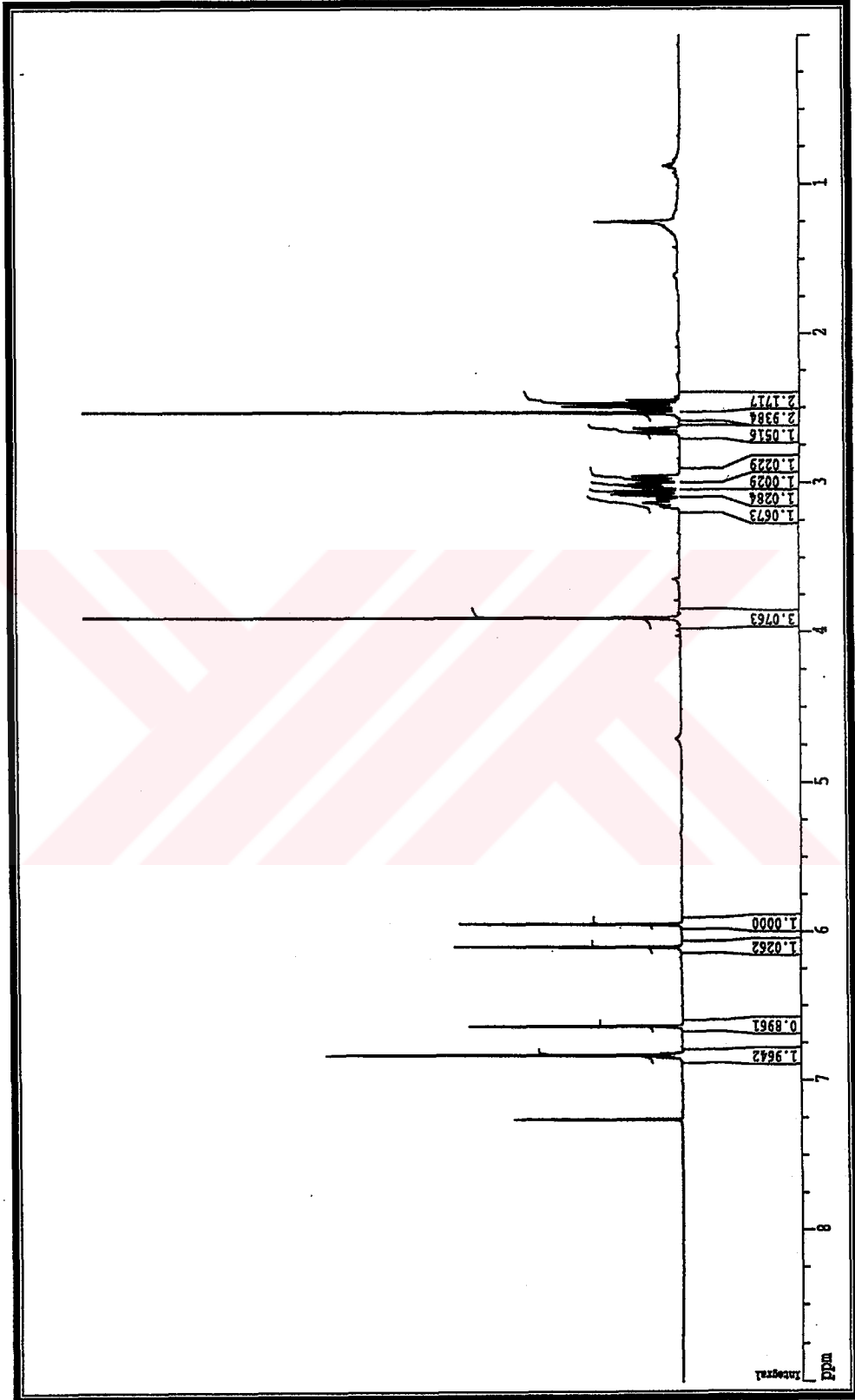
Spektrum 29. GI-4 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu



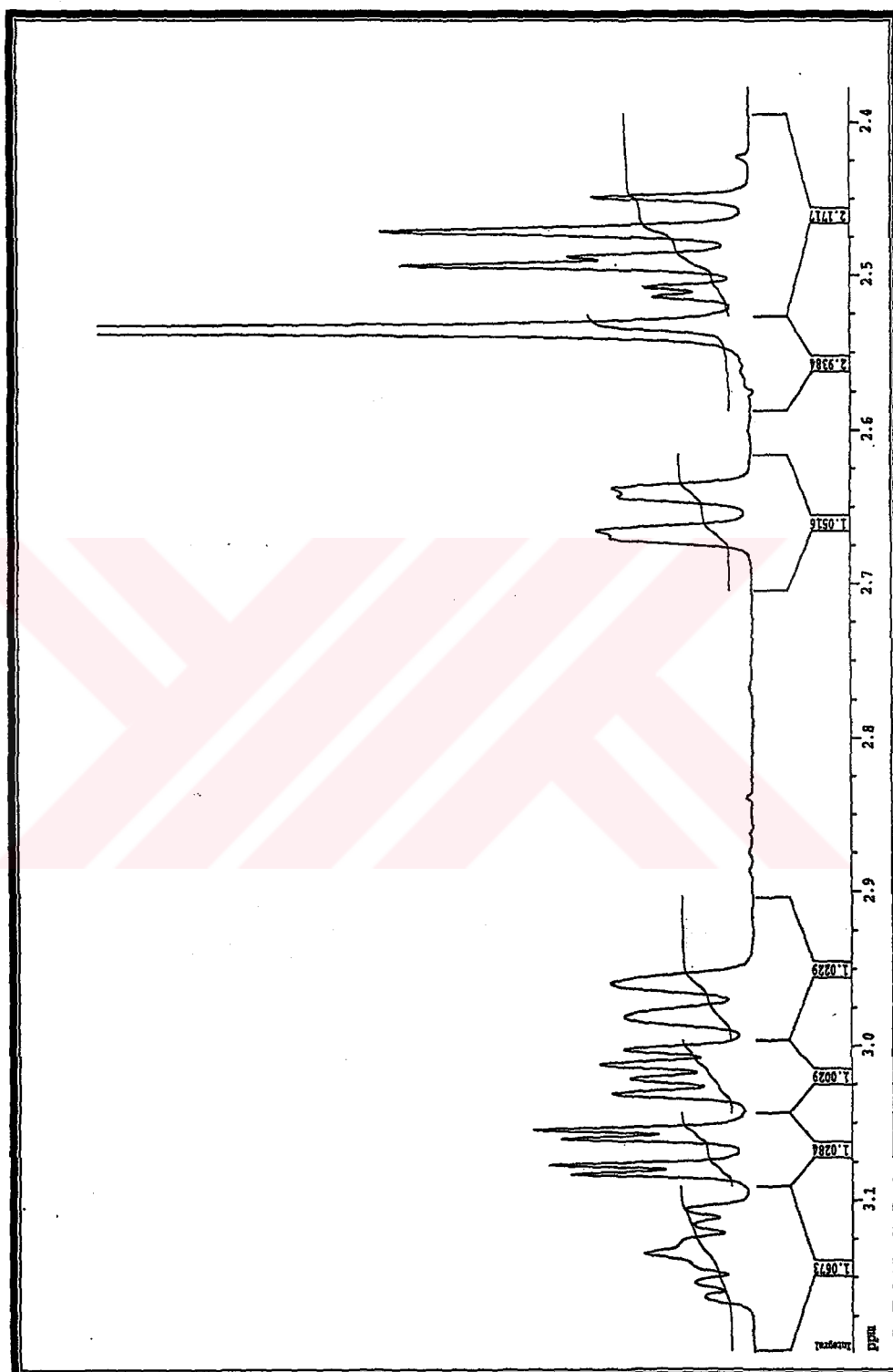
Spektrum 30. GI-4 Kodlu Bileşğin EI Kütle Spektrumu

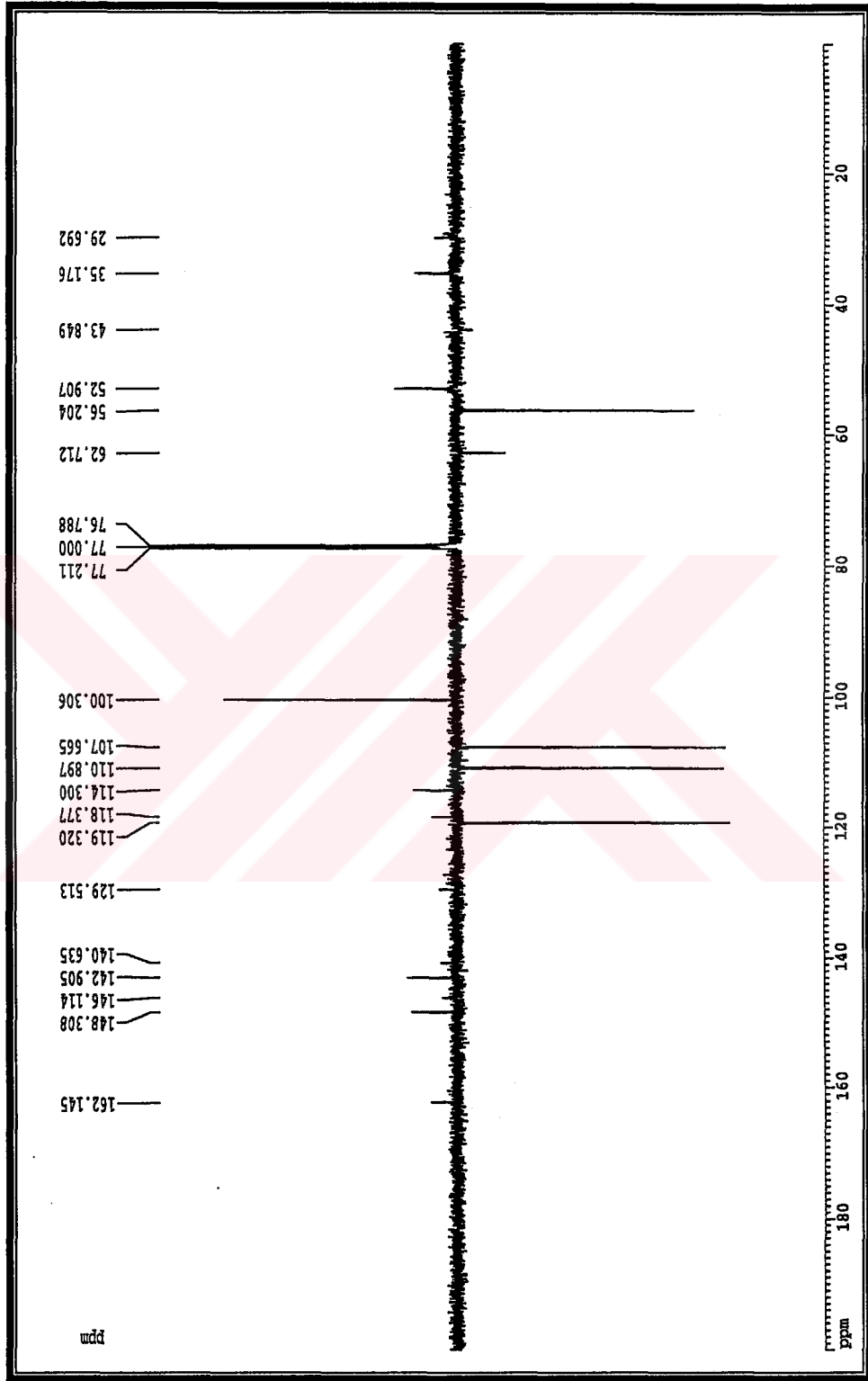


Spektrum 31. GI-4 Kodlu Bileşğin CI Kütle Spektrumu

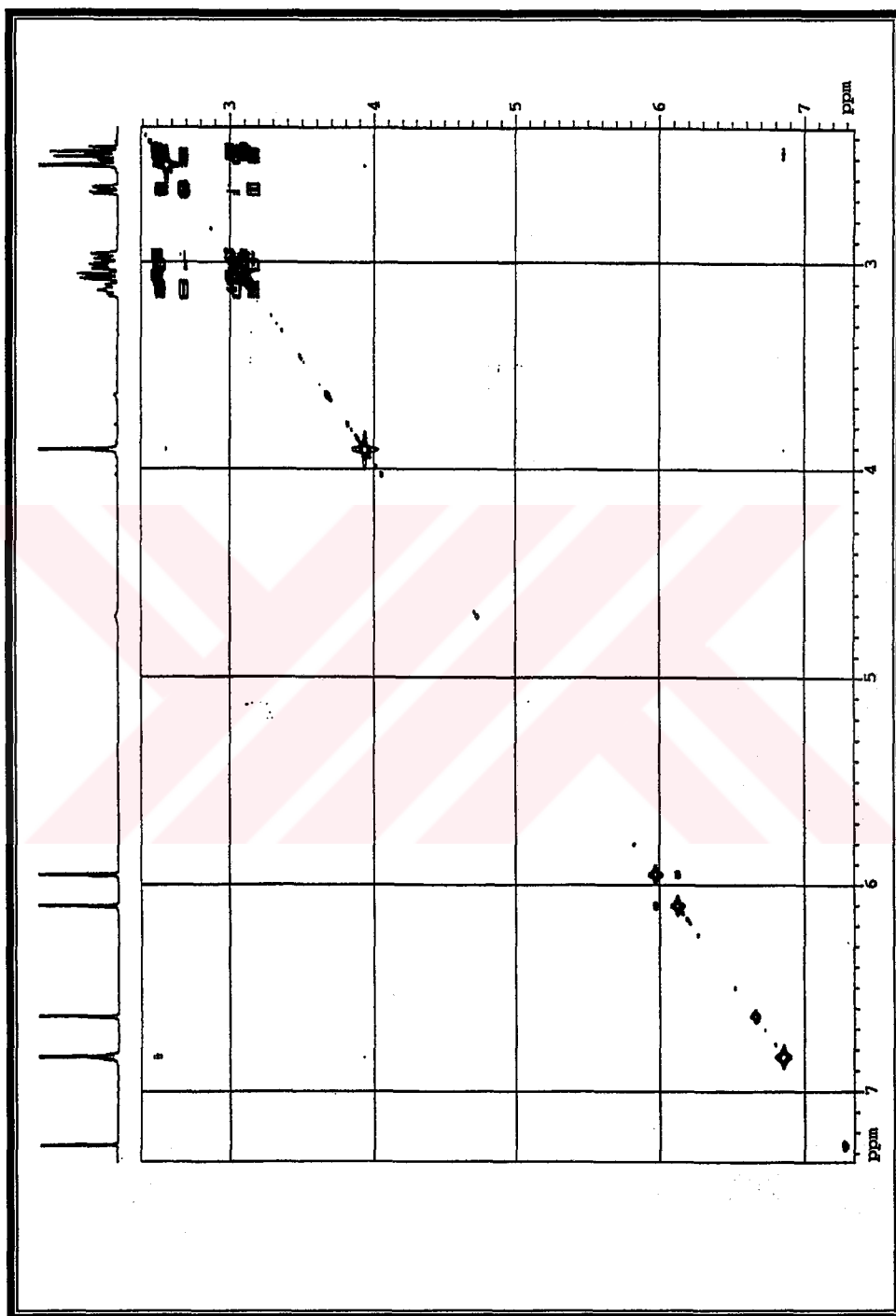


Spektrum 32. GI-4 Kodlu Bileşğin ¹H NMR Spektrumu

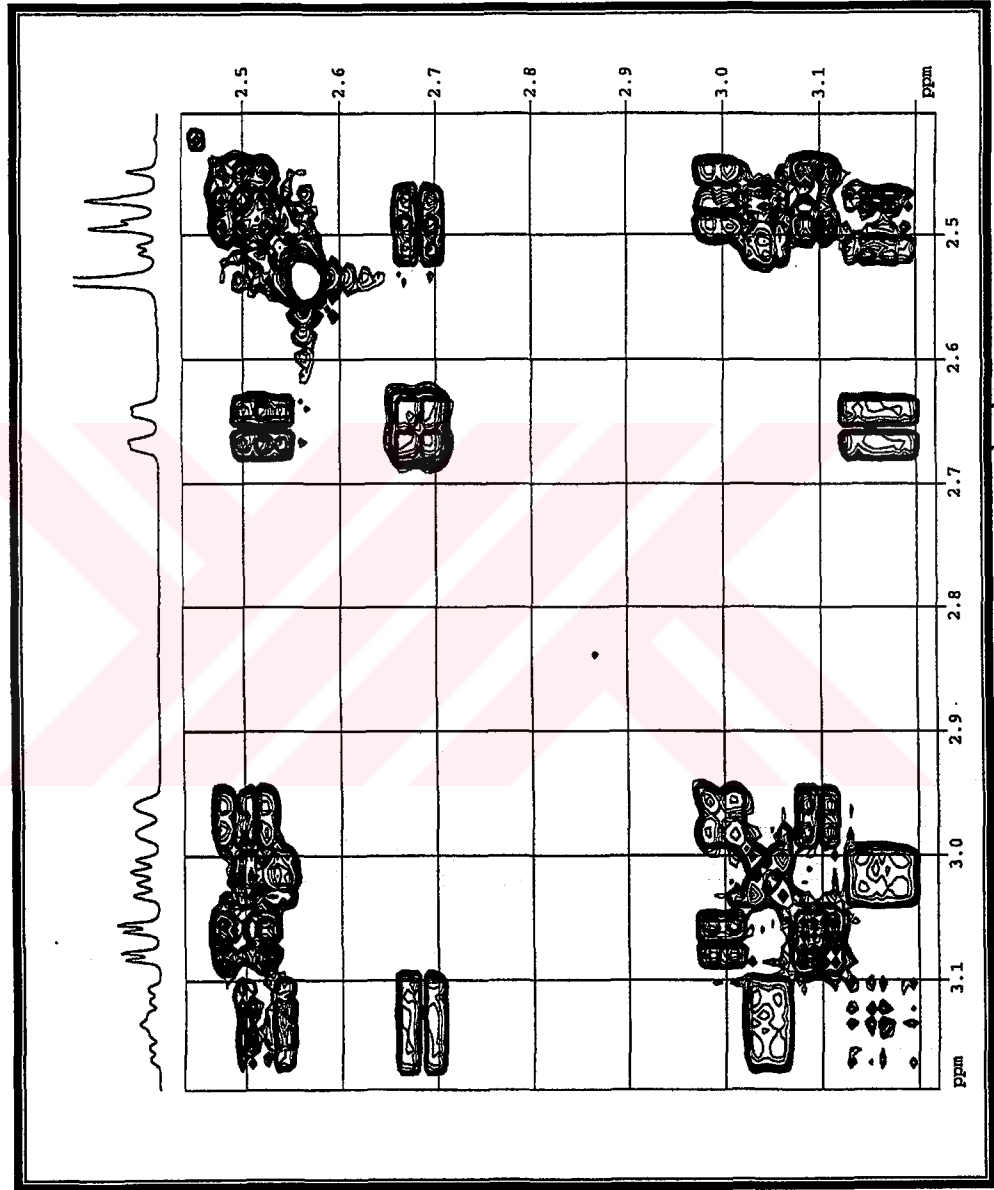
Spektrum 33. GI-4 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR Spektrumu



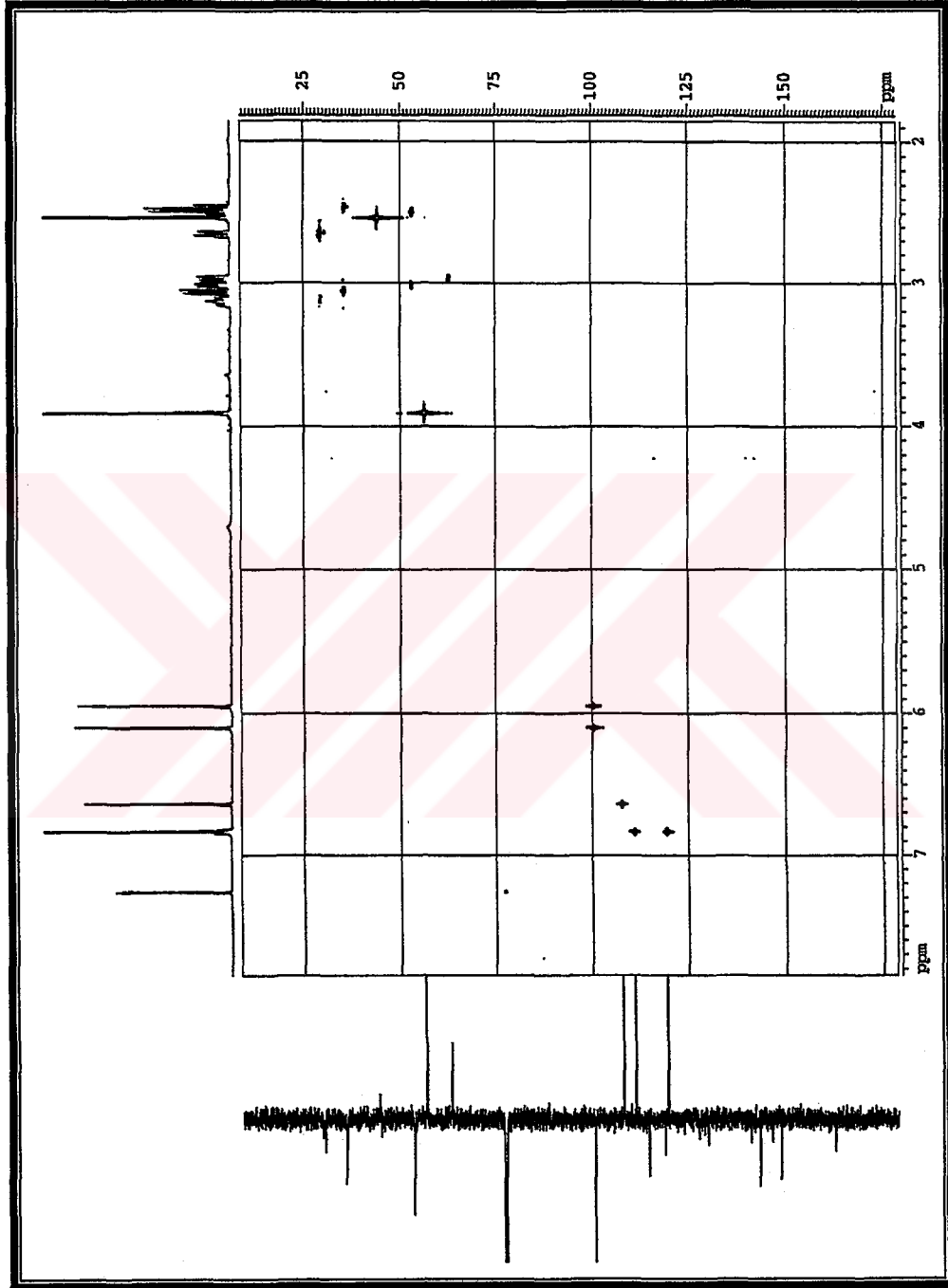
Spektrum 34. GI-4 Kodlu Bileşğin ¹³C APT Spektrumu



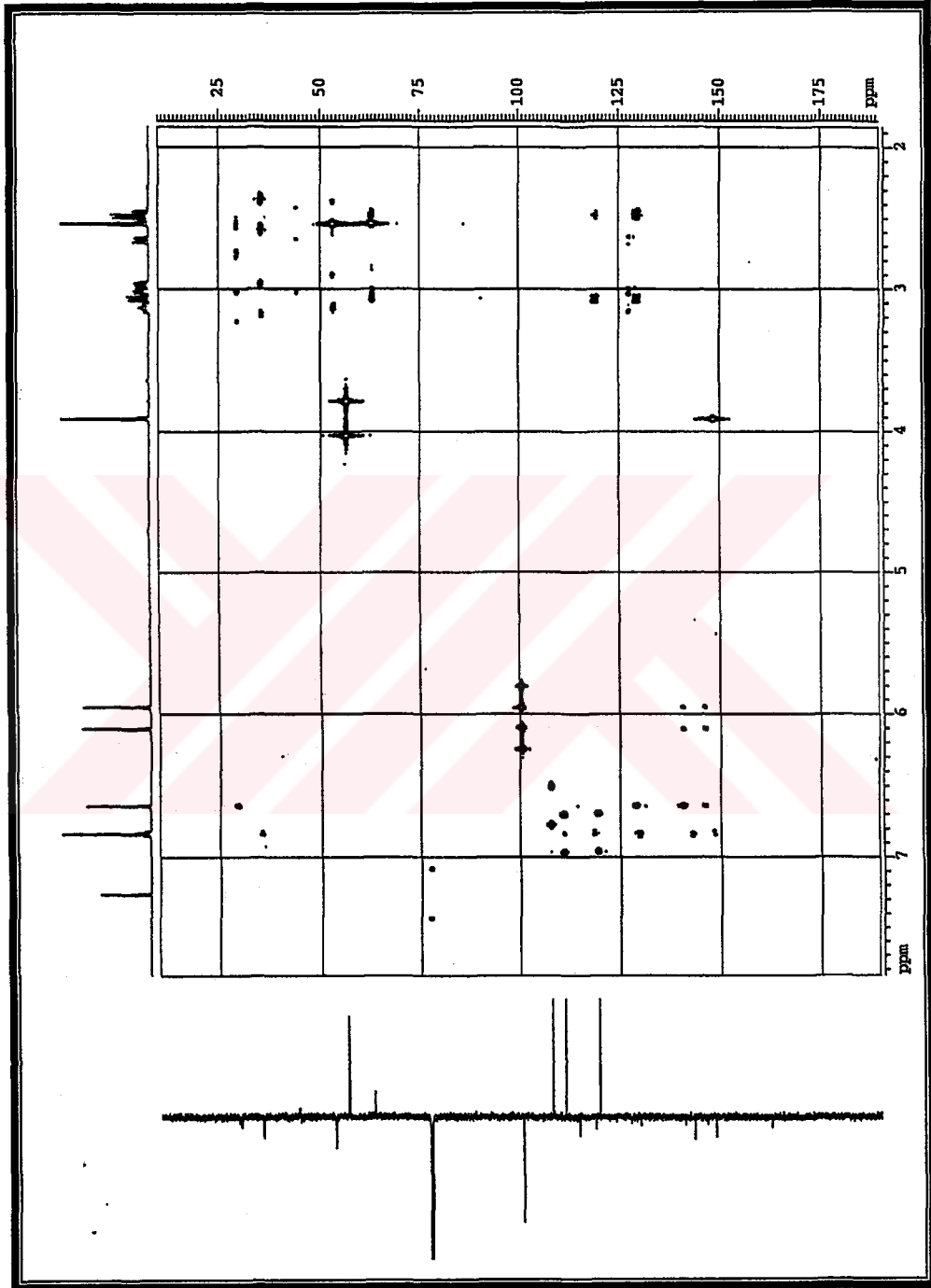
Spektrum 35. GI-4 Kodlu Bileşğin ^1H , ^1H COSY -gs Spektrumu



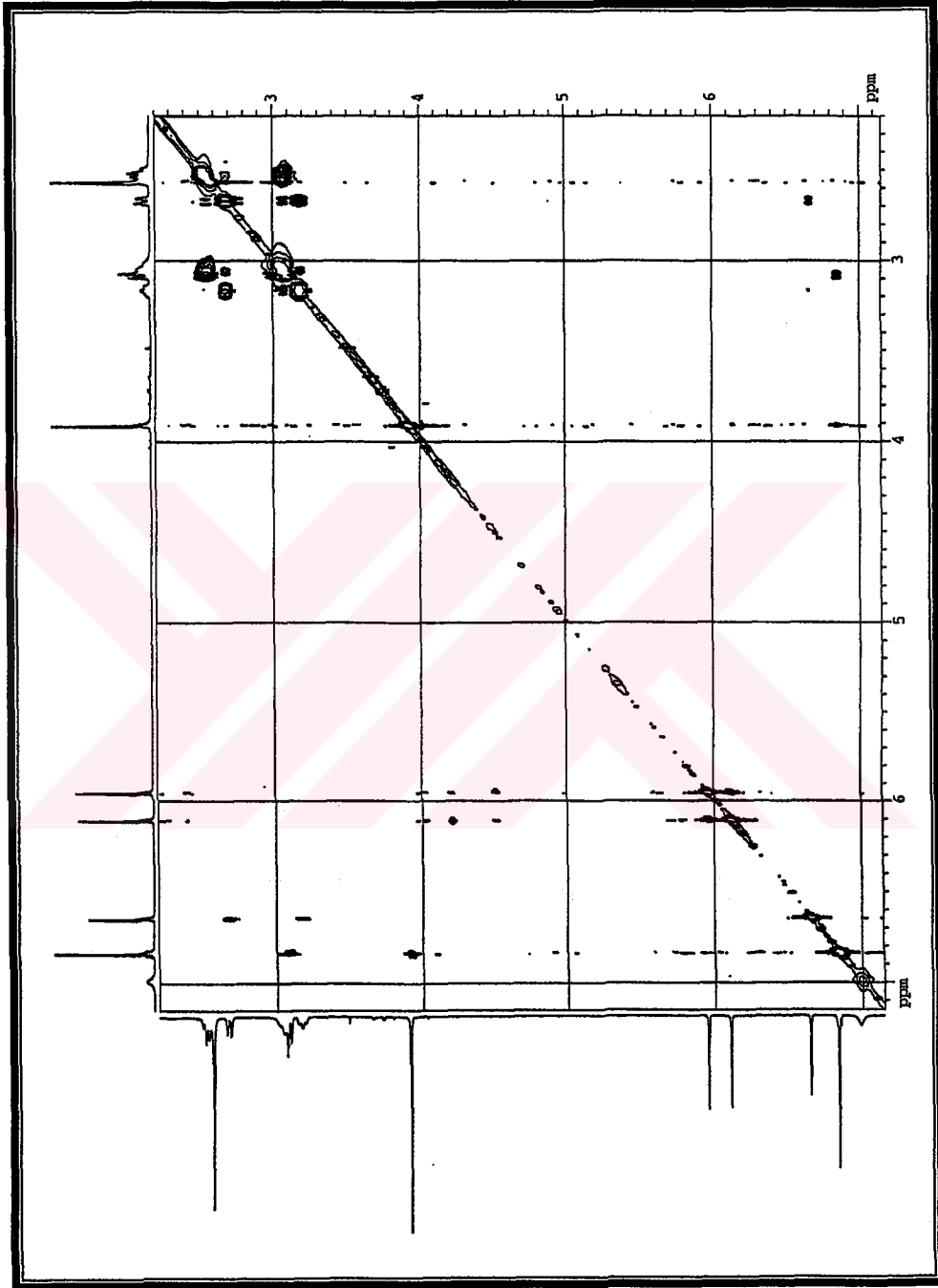
Spektrum 36. GI-4 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H , ^1H COSY-gs Spektrumu



Spektrum 37. GI-4 Kodlu Bileşğin HMQC Spektrumu



Spektrum 38. GI-4 Kodlu Bileşğin HMBC Spektrumu



Spektrum 39. 6I-4 Kodlu Bileşiğin NOESY Spektrumu

5. GI-5 BİLEŞİĞİNİN SPEKTRAL BULGULARI

$[\alpha]_D - 87.0^0$ (MeOH; c 0.096)

UV (Spektrum 40)

λ_{\max} (MeOH) (log ϵ) 291 (3.93), 235 sh (3.84), 217 (3.92) nm

IR (Spektrum 41)

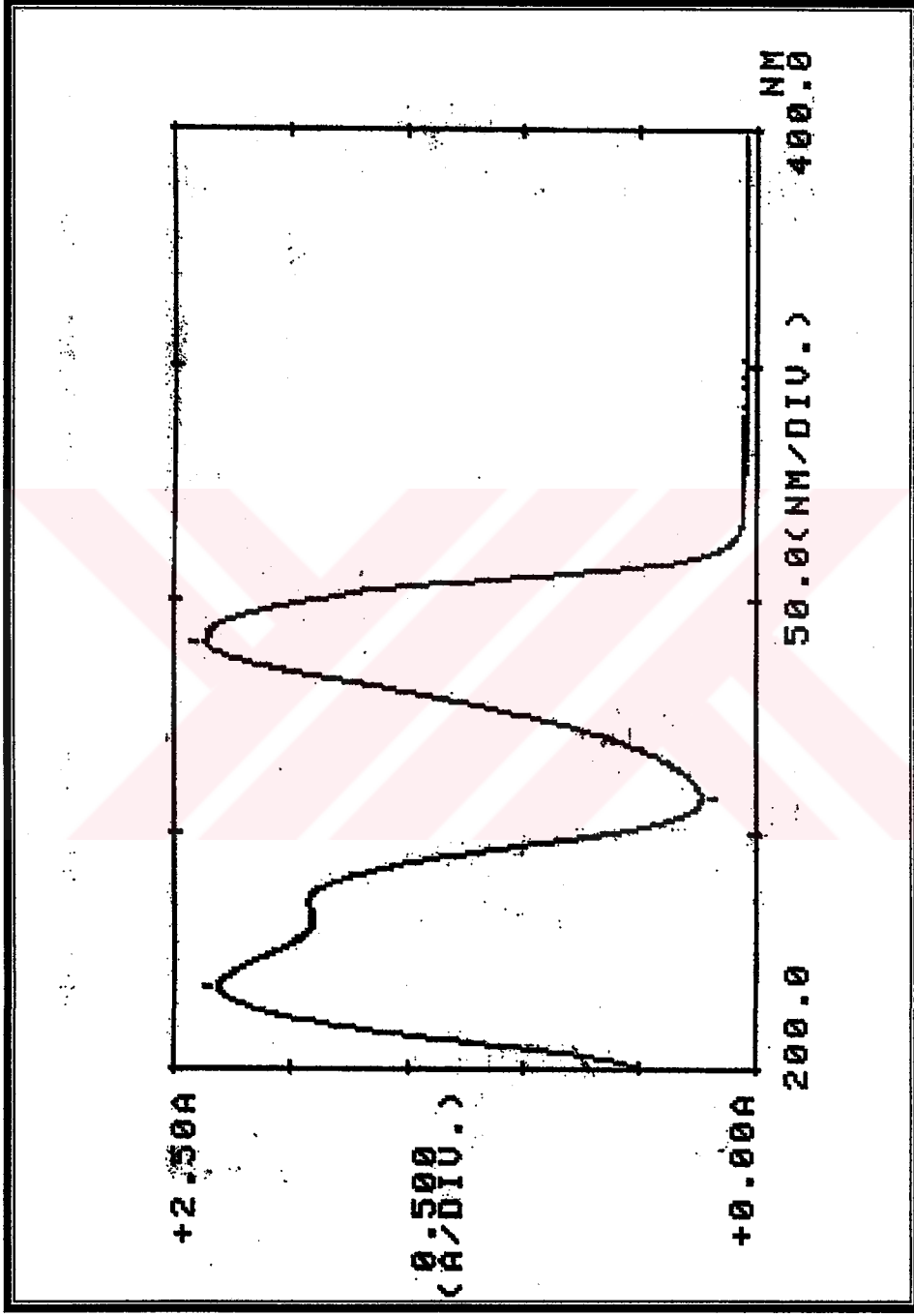
ν_{\max} (KBr) 3334, 2922, 2885, 1621, 1500, 1485, 1356, 1337, 1310, 1261, 1239, 1132,
1039, 1001, 938, 879, 862, 842, 744 cm^{-1}

^1H NMR (Spektrum 42)

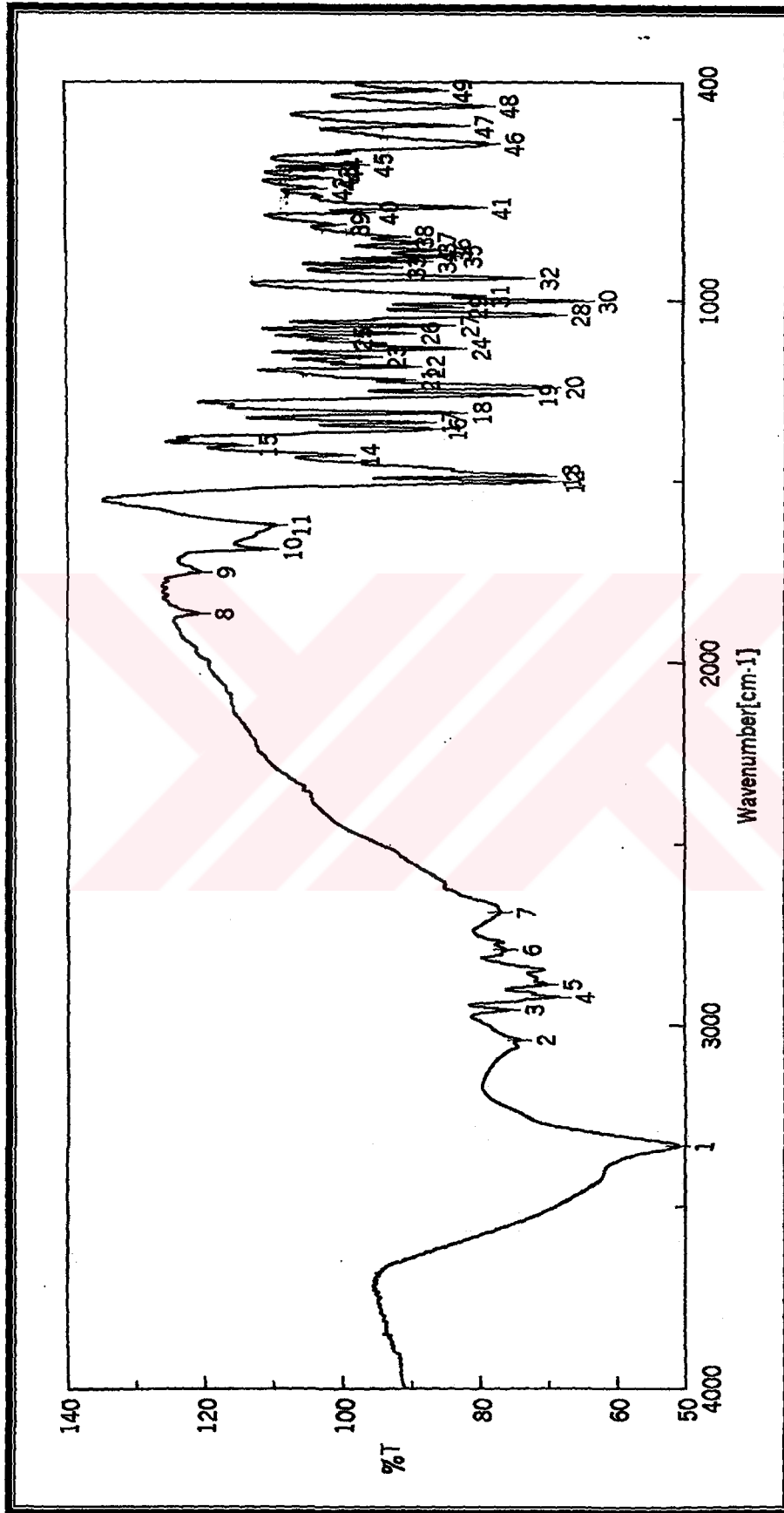
(300 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}-\text{CD}_3\text{COOD}$ [3:1]) δ 6.98 (1H, s, H-11), 6.82 (1H, s, H-8), 5.970 ve 5.967 (2H, 2s, OCH_2O), 5.78 (1H, brs, H-3), 4.58 (1H, s, H-1), 4.50 (1H, d, $J=13.9$ Hz, H-7 β), 4.25 (1H, m, H-2), 4.22 (1H, d, $J=14.4$ Hz, H-7 α), 3.96 (1H, d, $J=11.5$ Hz, H-16), 3.78 (1H, m, H-5 α), 3.52 (1H, m, H-5 β), 2.99 (1H, d, $J=11.6$ Hz, H-15), 2.94-2.75 (2H, m, H-4 α ve H-4 β) ppm

^{13}C APT (Spektrum 43)

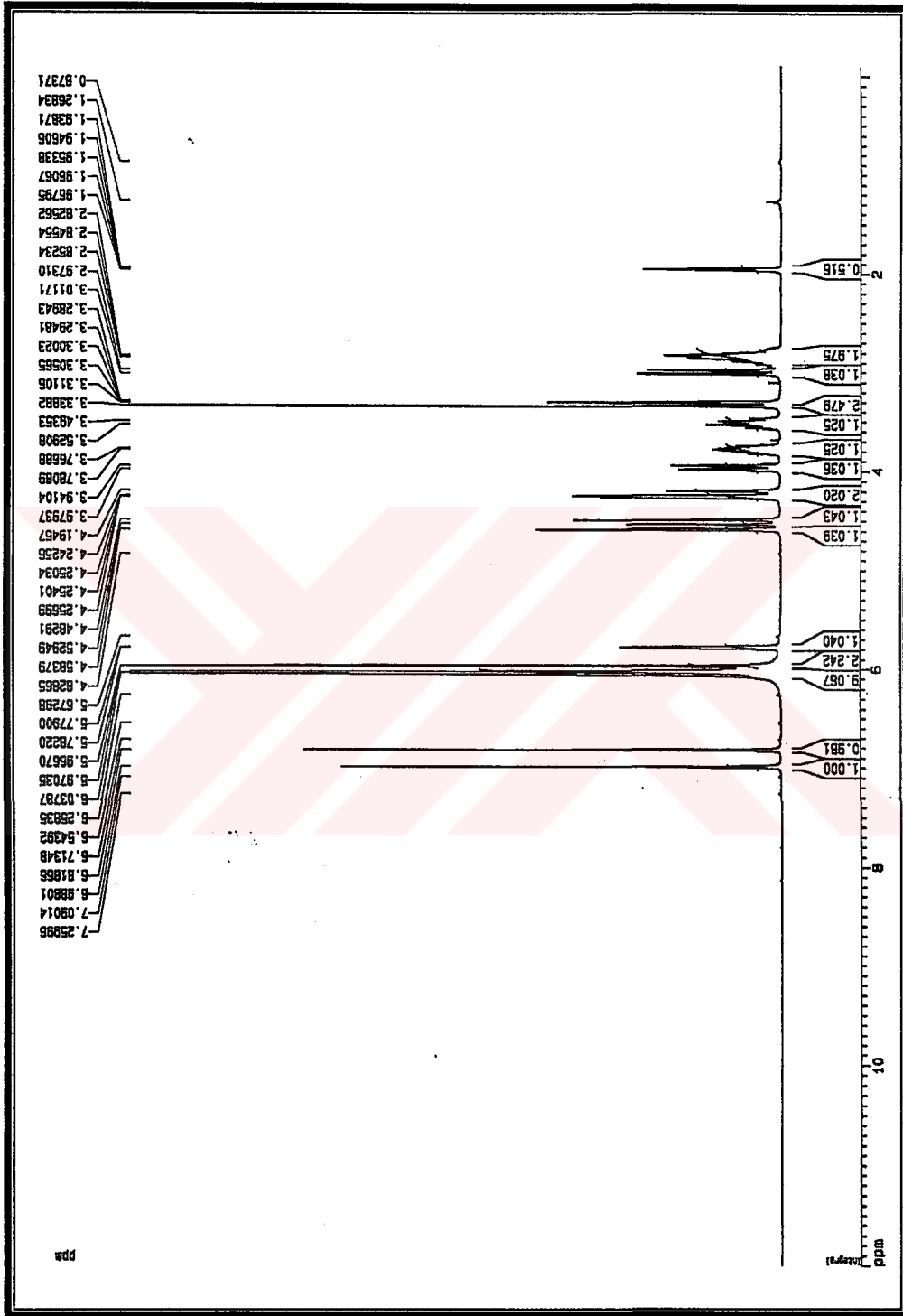
(75 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}-\text{CD}_3\text{COOD}$ [3:1]) δ 149.8 (C-9), 148.1 (C-10), 137.6 (C-12), 130.5 (C-13), 125.4 (C-14), 123.0 (C-3), 108.8 (C-8), 106.4 (C-11), 102.9 (OCH_2O), 71.8 (C-1), 70.1 (C-2), 62.1 (C-16), 55.2 (C-7), 54.3 (C-5), 38.2 (C-15), 30.3 (C-4) ppm



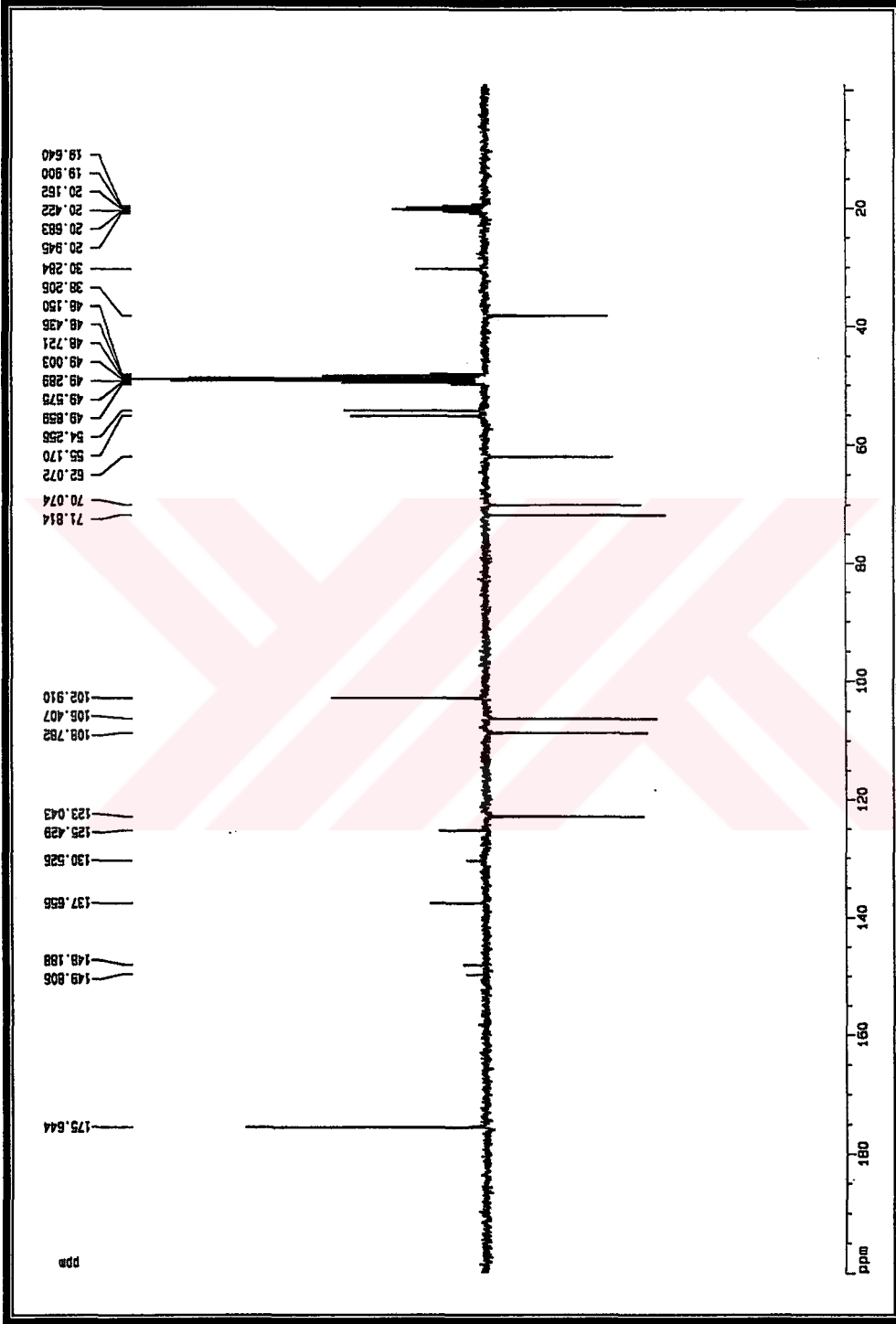
Spektrum 40. GI-5 Kodlu Bileşğin UV Spektrumu



Spektrum 41. GI-5 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu



Spektrum 42. GI-5 Kodlu Bileşğin ¹H NMR Spektrumu



Spektrum 43. GI-5 Kodlu Bileşin ¹³C APT Spektrumu

6. GI-6 BİLEŞİĞİN SPEKTRAL BULGULARI

$[\alpha]_D + 11.9^0$ (MeOH; c 0.304)

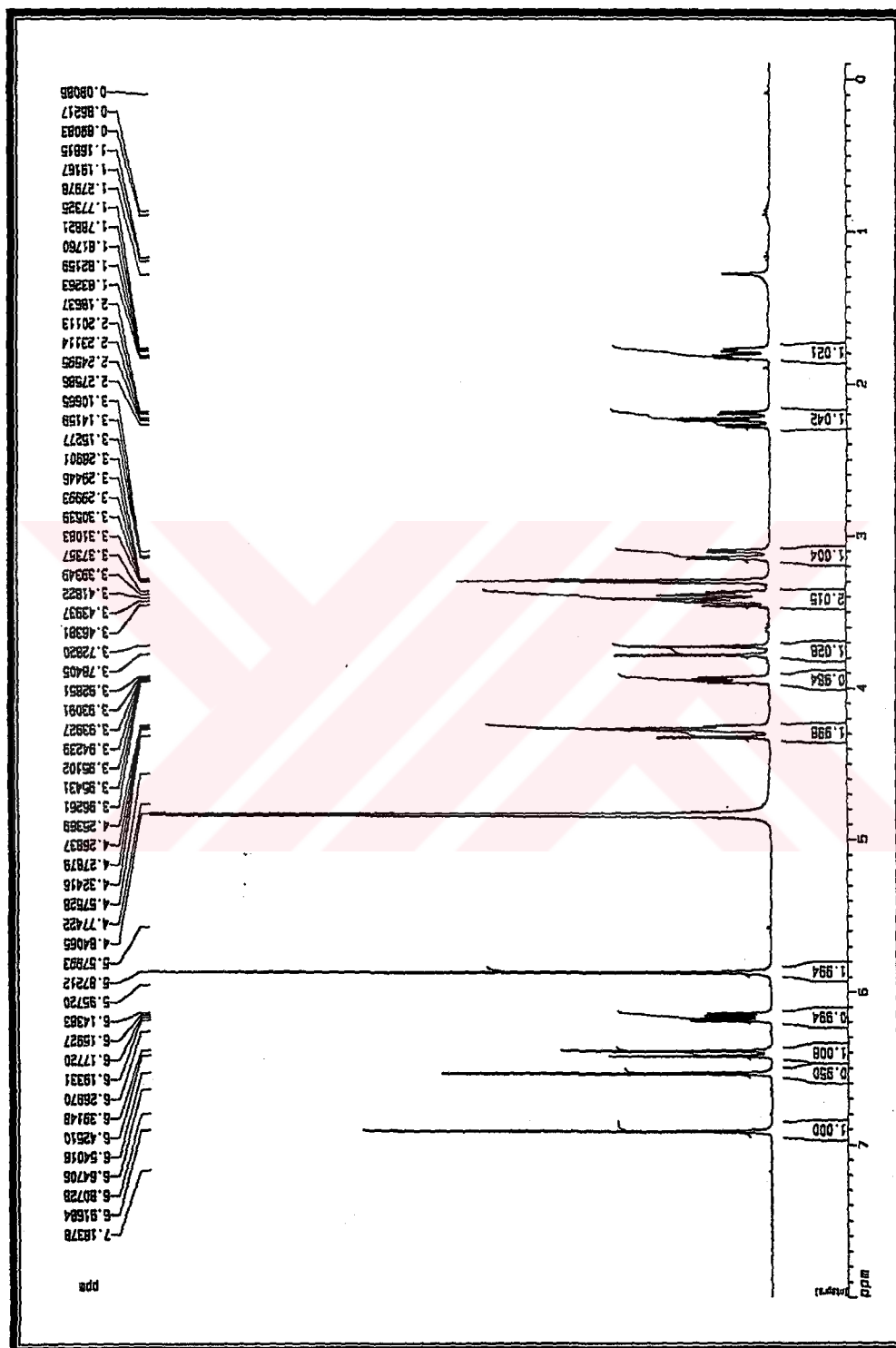
^1H NMR (Spektrum 44)

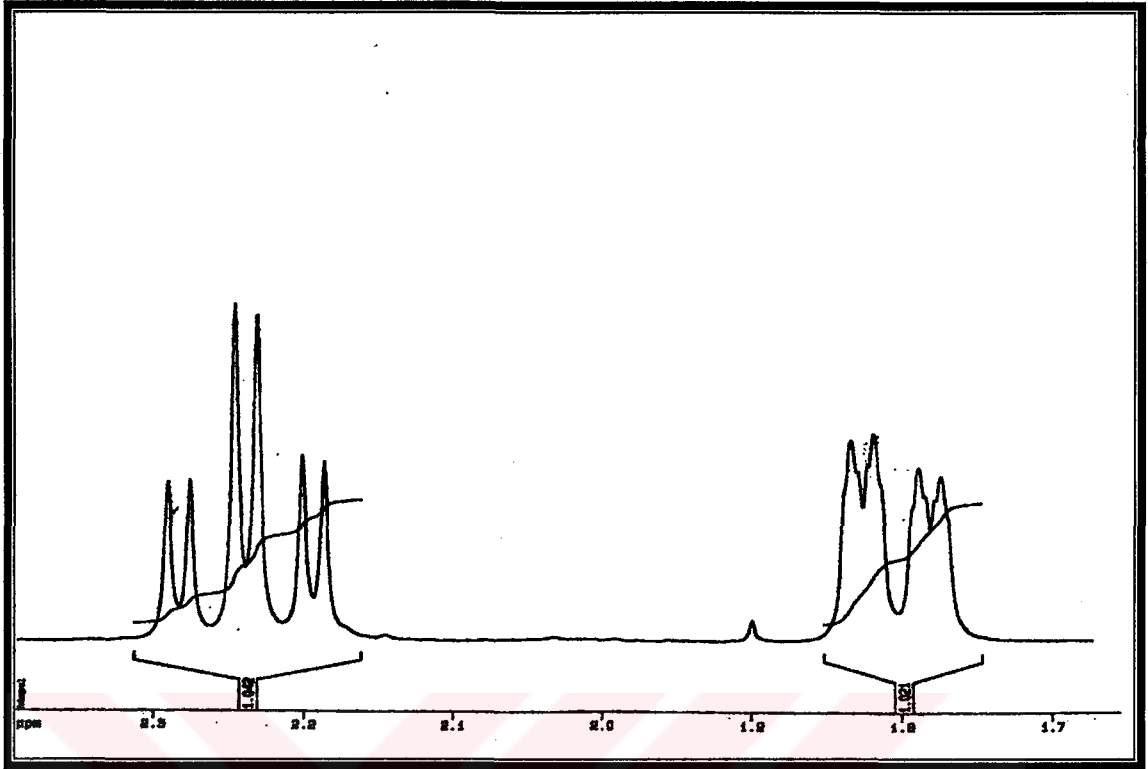
(300 MHz, CD_3OD) δ 6.92 (1H, s, H-10), 6.54 (1H, s, H-7), 6.41 (1H, d, $J= 10.1$ Hz, H-1), 6.17 (1H, dd, $J= 10.1, 4.8$ Hz, H-2), 5.87 (2H, s, OCH_2O), 4.29 (1H, d, $J= 16.7$ Hz, H-6), 4.27 (1H, m, H-3), 3.95 (1H, ddd, $J= 7.0, 3.3, 0.9$ Hz, H-11), 3.76 (1H, d, $J= 16.8$ Hz, H-6) 3.43 (1H, dd, $J= 13.7, 7.3$ Hz, H-12), 3.41 (1H, dd, $J= 13.1, 4.6$ Hz, H-4a), 3.12 (1H, dd, $J= 13.8, 3.4$ Hz, H-12), 2.24 (1H, td, $J= 13.2, 4.4$ Hz, H-4 α), 1.80 (1H, dd, $J= 13.3, 4.5$ Hz, H-4 β) ppm

Genişletilmiş ^1H NMR (Spektrum 45, 46)

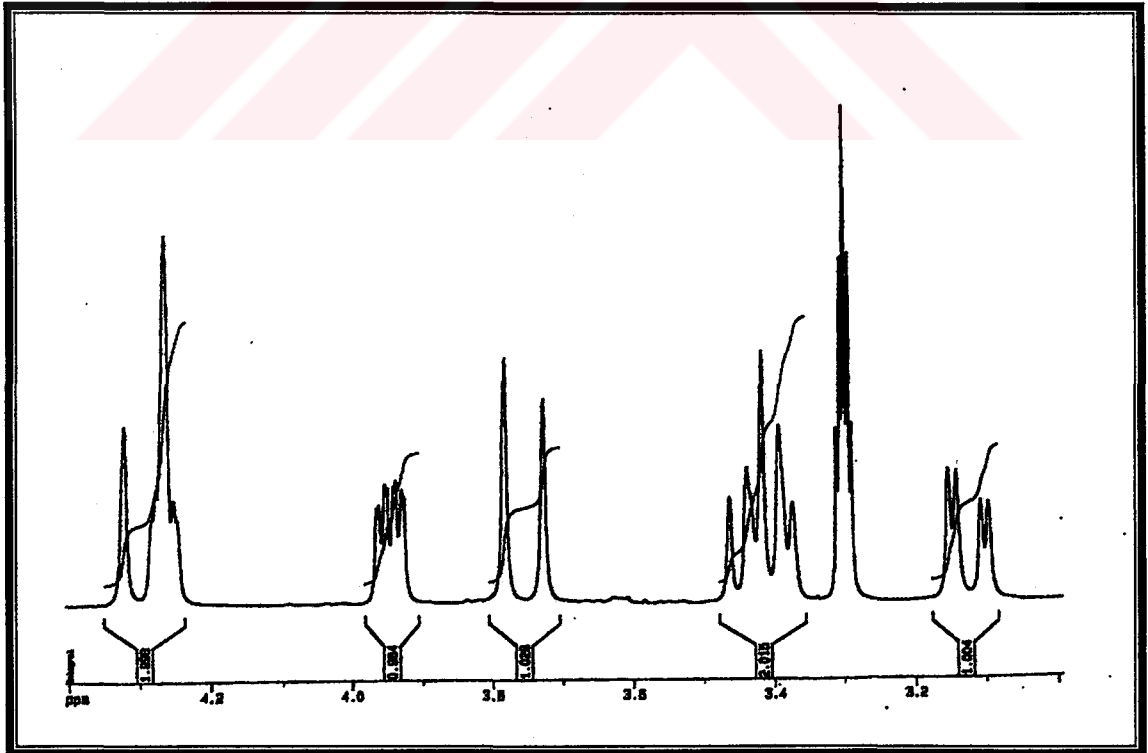
^{13}C APT (Spektrum 47)

(75 MHz, CD_3OD) δ 148.2 (C-9), 147.7 (C-8), 137.1 (C-10a), 132.9 (C-2), 128.0 (C-1), 126.9 (C-6a), 107.8 (C-7), 104.3 (C-10), 102.2 (OCH_2O), 81.0 (C-11), 64.7 (C-3), 63.8 (C-12), 63.7 (C-4a), 61.7 (C-6), 51.4 (C-10b), 33.1 (C-4) ppm

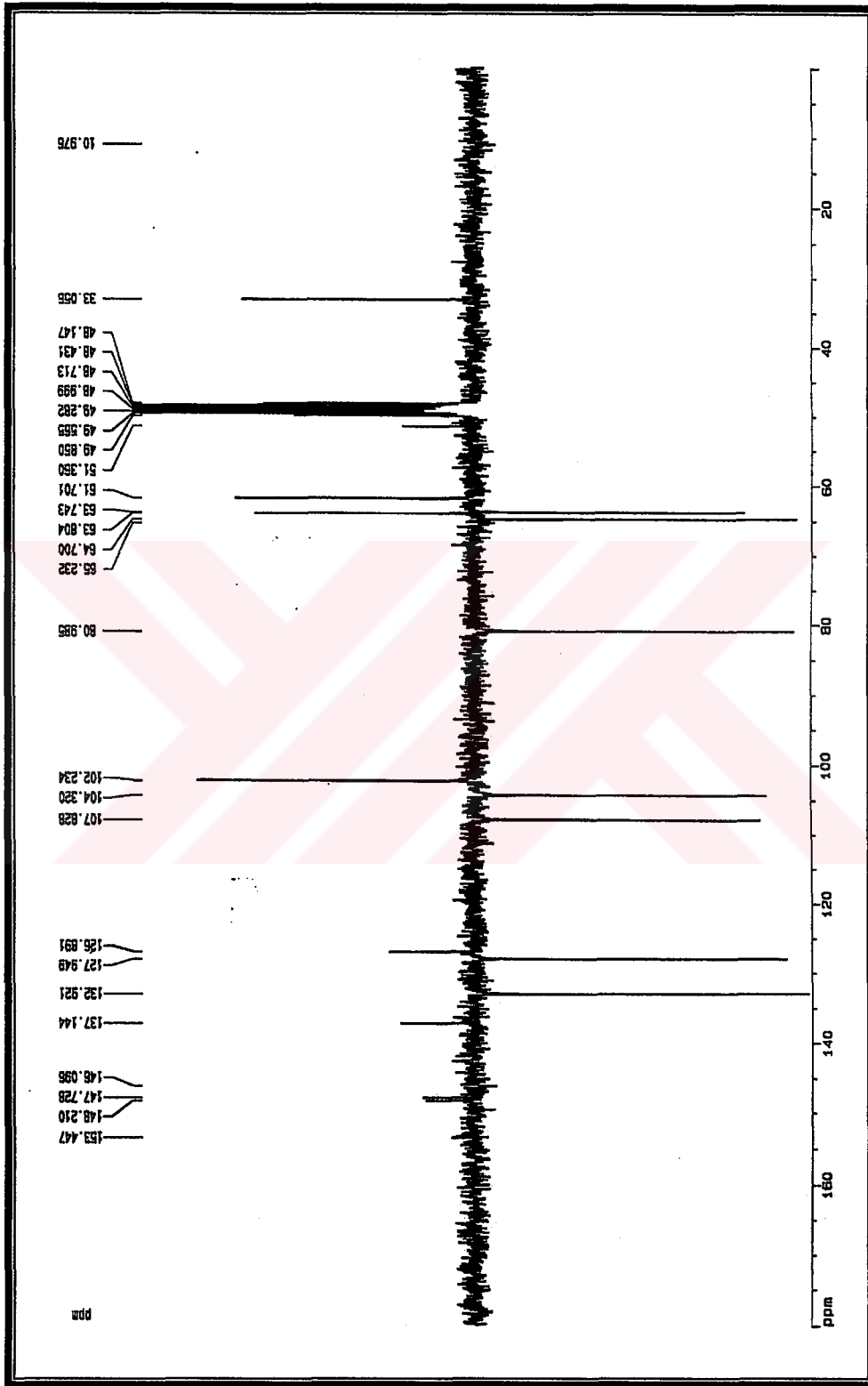
Spektrum 44. GI-6 Kodlu Bileşğin ^1H NMR Spektrumu



Spektrum 45. GI-6 Kodlu Bileşiğın Genişletilmiş ^1H NMR Spektrumu



Spektrum 46. GI-6 Kodlu Bileşiğın Genişletilmiş ^1H NMR Spektrumu



Spektrum 47. GI-6 Kodlu Bileşin ^{13}C APT Spektrumu

7. GI-7 BİLEŞİĞİNİN SPEKTRAL BULGULARI

$[\alpha]_D + 26.0^0$ (CHCl₃; c 0.128)

¹H NMR (Spektrum 48)

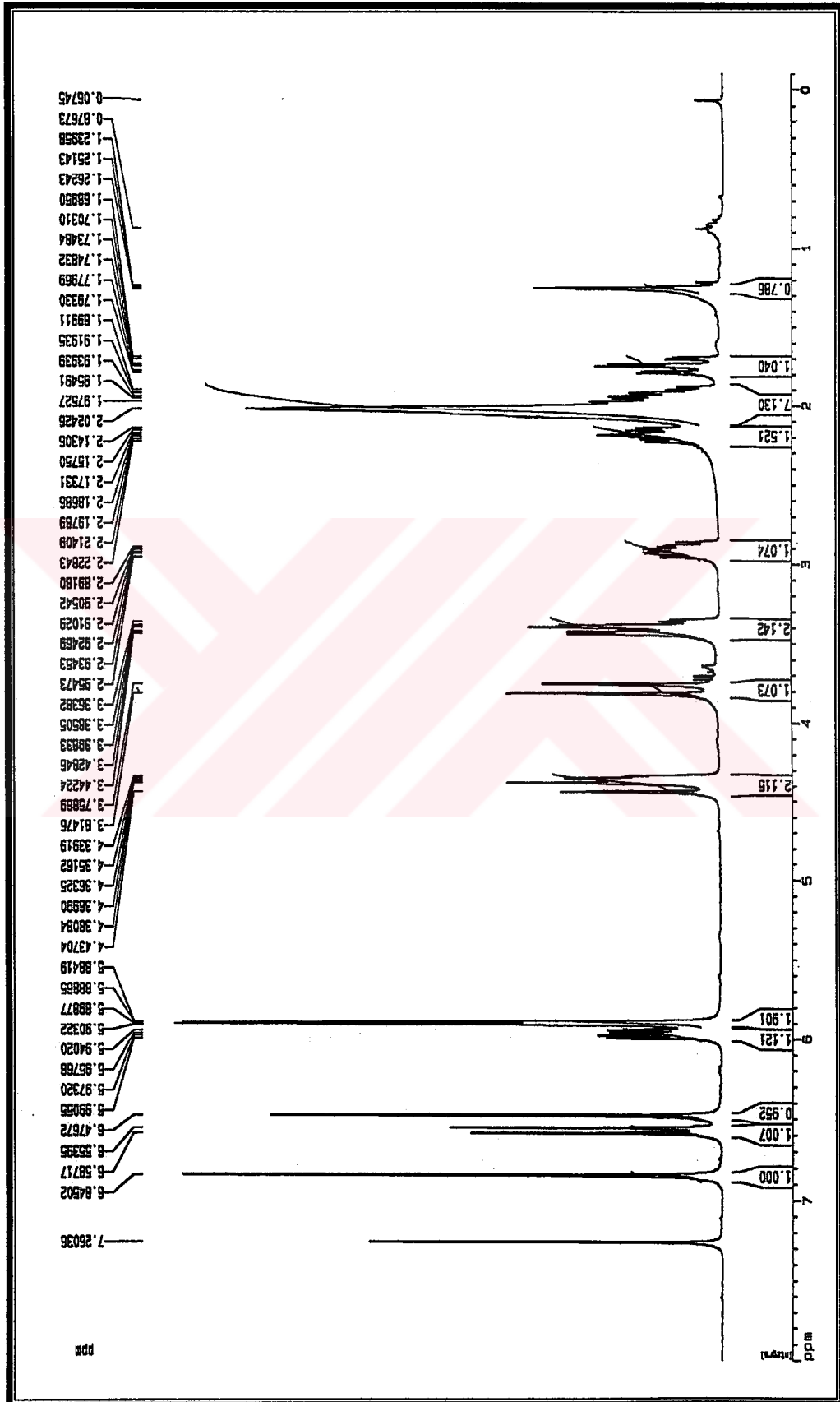
300 MHz (CDCl₃) δ 6.84 (1H, s, H-10), 6.57 (1H, d, $J= 10.0$ Hz, H-1), 6.48 (1H, s, H-7), 5.96 (1H, dd, $J= 10.0, 5.2$ Hz, H-2), 5.90 ve 5.89 (2H, 2d, $J=1.4$ Hz, OCH₂O), 4.41 (1H, d, $J= 16.7$ Hz, H-6), 4.34 (1H, m, H-3), 3.78 (1H, d, $J= 16.8$ Hz, H-6), 3.41 (2H, m, H-12, H-4a), 2.91 (1H, m, H-12), 2.18 (1H, m, H-11), 2.02 (1H, dd, $J= 13.5, 2.4$ Hz, H-4), 1.93 (1H, td, $J= 10.7, 6.0$ Hz, H-11), 1.74 (1H, td, $J= 13.5, 4.1$ Hz, H-4) ppm

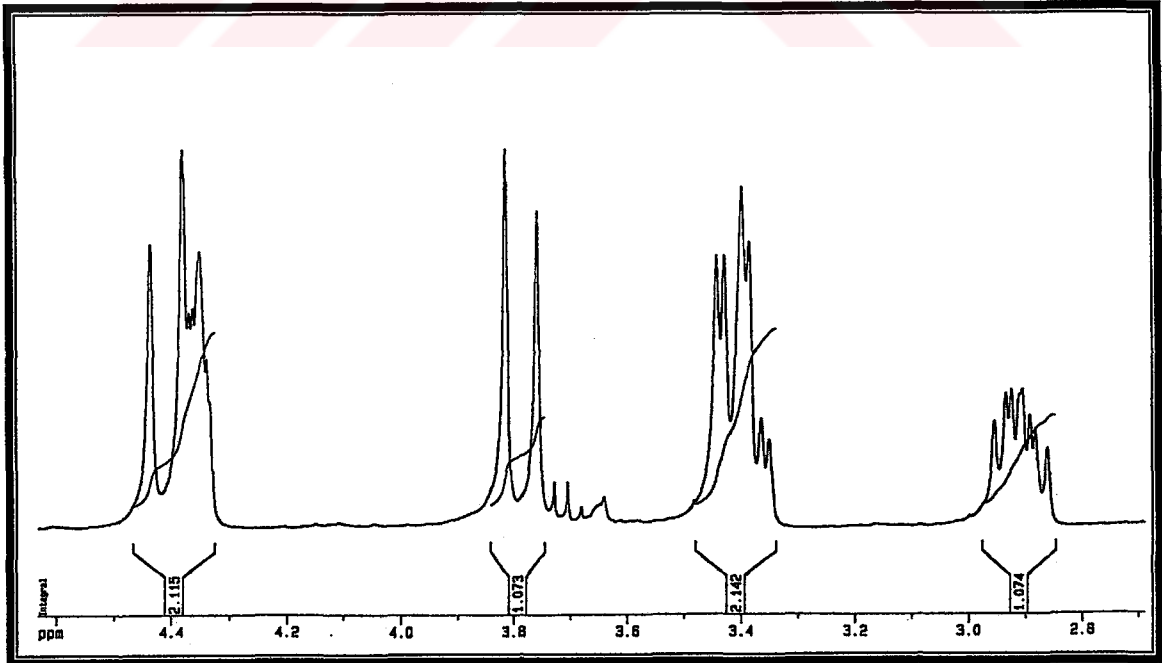
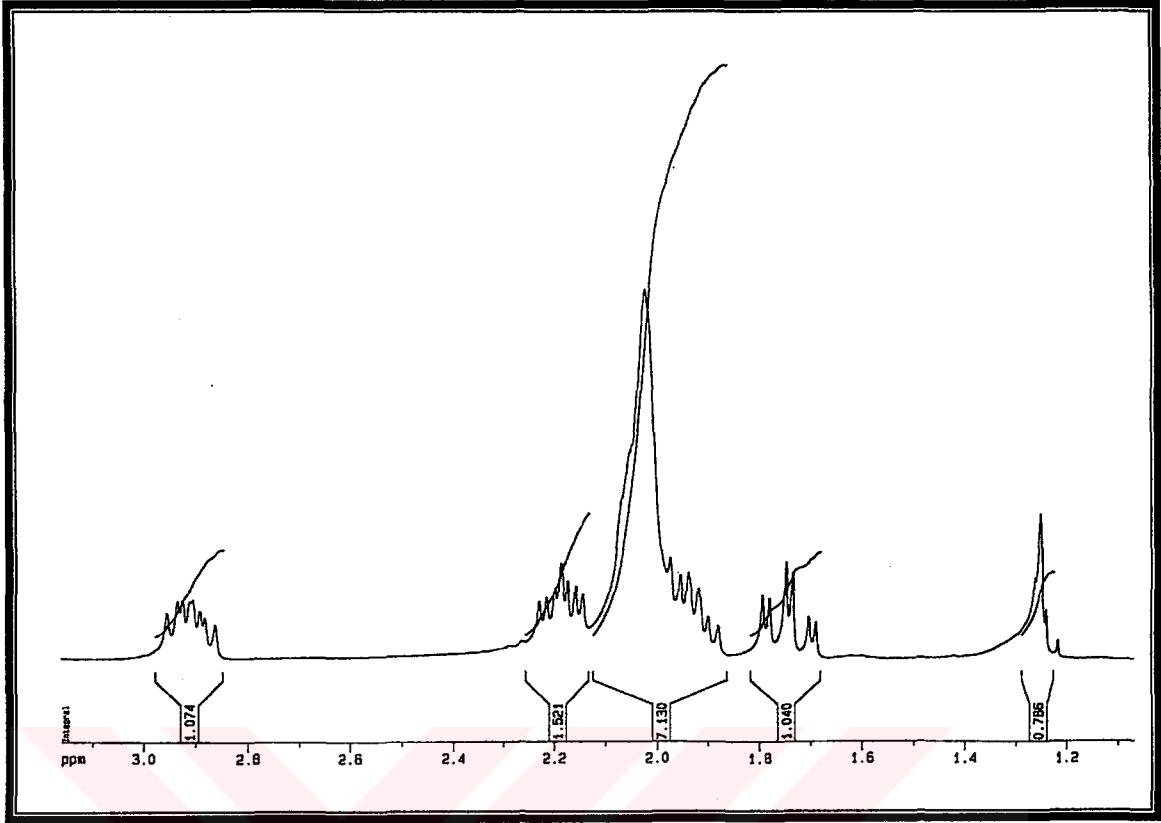
Genişletilmiş ¹H NMR (Spektrum 49, 50)

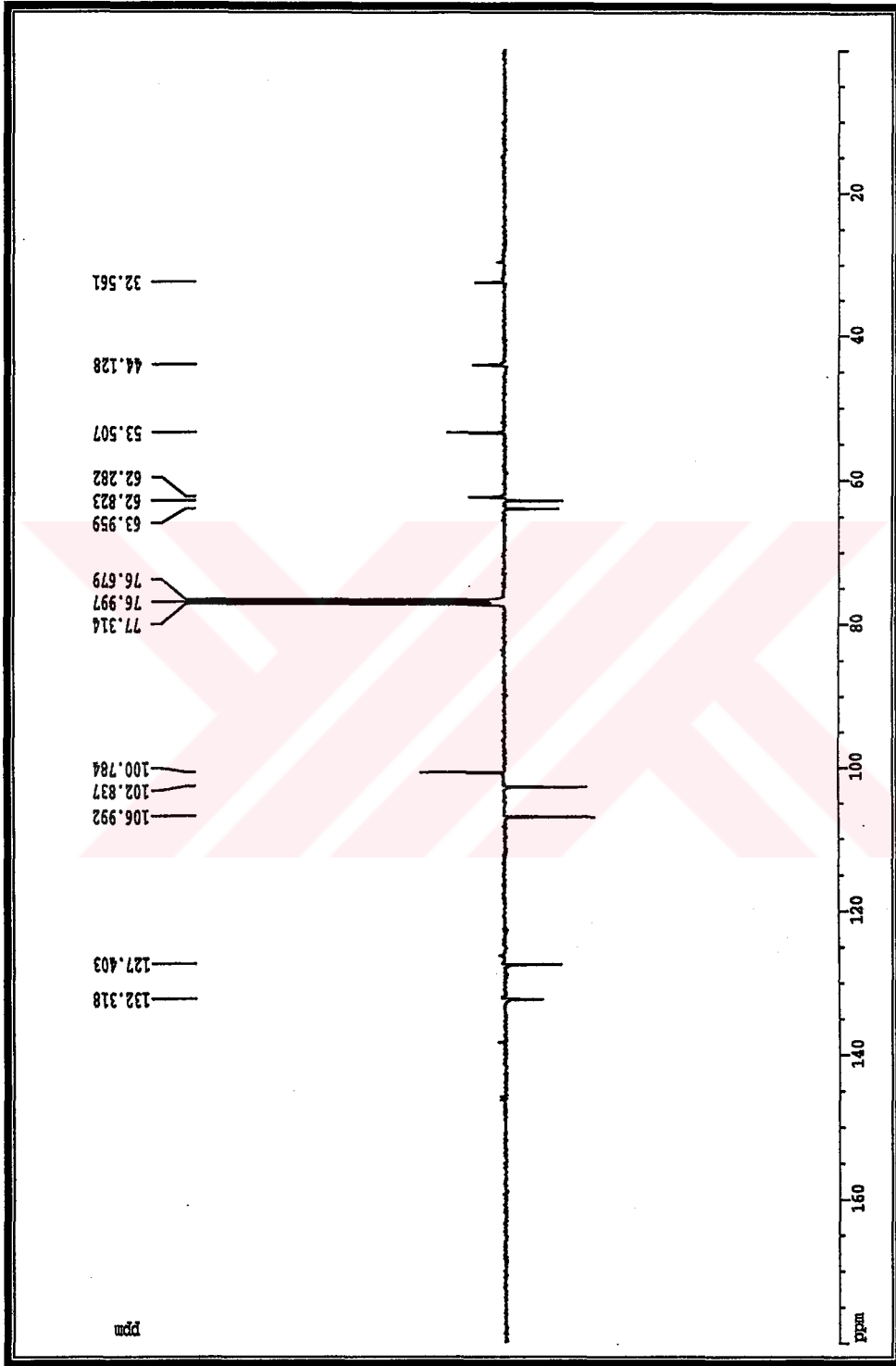
¹³C APT (Spektrum 51)

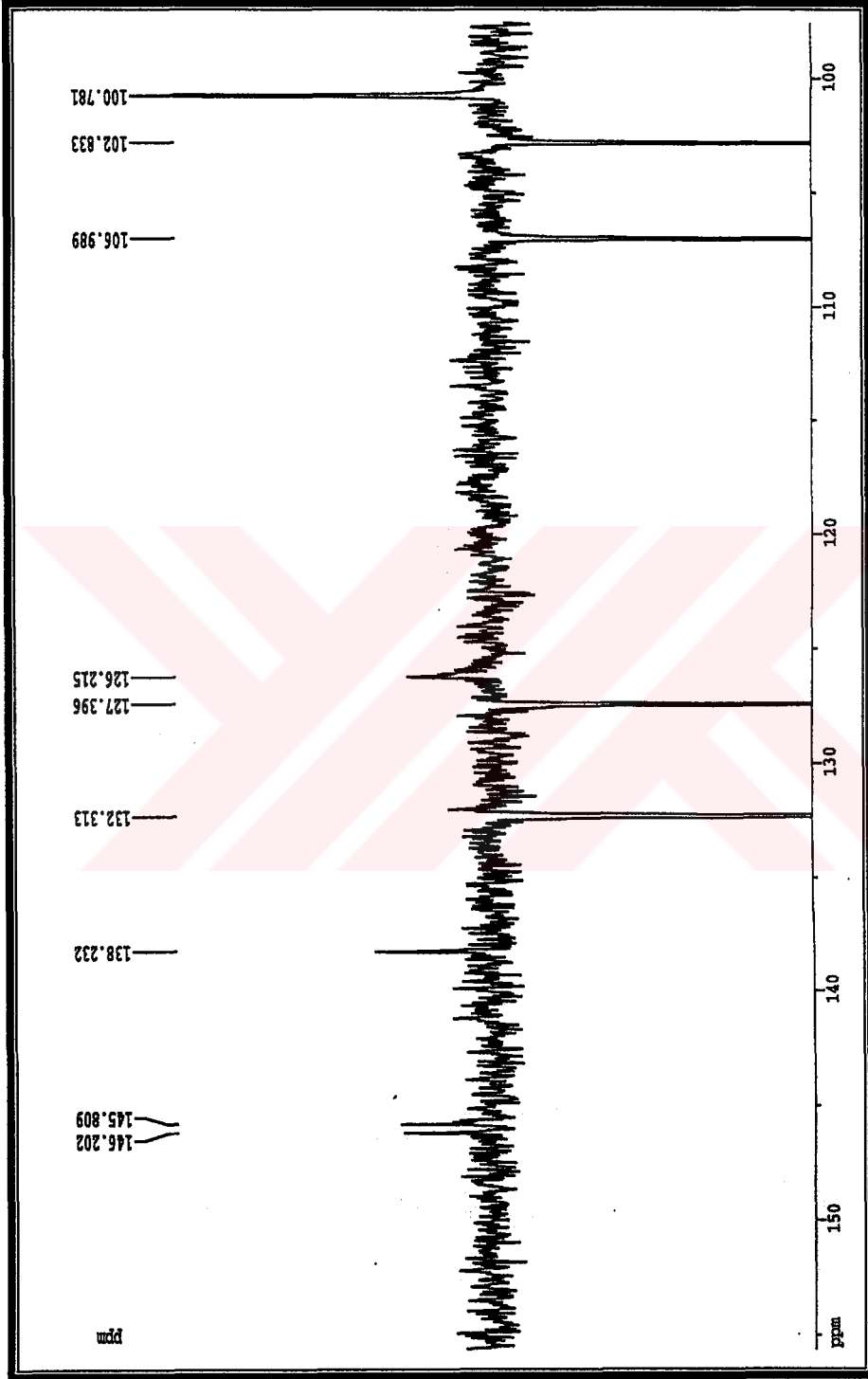
100 MHz (CDCl₃) δ 146.2 (C-9), 145.8 (C-8), 138.2 (C-10a), 132.3 (C-1), 127.4 (C-2), 126.2 (C-6a), 107.0 (C-7), 102.8 (C-10), 100.8 (OCH₂O), 64.0 (C-3), 62.8 (C-4a), 62.3 (C-6), 53.5 (C-12), 44.1 (C-10b), 44.1 (C-11), 32.6 (C-4) ppm

Genişletilmiş ¹³C APT (Spektrum 52)





Spektrum 51. GI-7 Kodlu Bileşğin ^{13}C APT Spektrumu



Spektrum 52. GI-7 Kodlu Bileşin Genişletilmiş ¹³C APT Spektrumu

TARTIŞMA

I. BOTANİK ARAŞTIRMALAR

Çalışmamızda, Türkiye'de yabancı olarak yetişen ondört türden biri olan *Galanthus nivalis* L. subsp. *cilicicus* (Baker) Gottlieb-Tannenhain bitkisinin tayininde yardımcı olmak amacıyla bitkiden hazırlanan alkol materyalinden yararlanılarak kök, gövde, yaprak, meyva, tohum ve çiçeğe ait anatomik karakterler belirlenmiştir. Ayrıca, Herba ve Bulbus *Galanthi* droglarına ait ileride hazırlanabilecek bir monografinin hazırlanmasına yardımcı olmak amacıyla, bu droglara ait toz drog örnekleri anatomik olarak da incelenmiştir.

Bu çalışmalarda, yaprak epidermisini örten kutikulanın ince, amarillis tipinde stomaları gömük olan alt ve üst epidermis hücrelerinin ventral çeperlerinin, lateral çeperlere göre iki kat kalın, dorsal çeperlerin ise oldukça kalın olduğu gözlenmektedir. Üst epidermisin iç kısmındaki sıkışık palisat parenkiması, bunun iç kısmında da hücre arası boşlukları geniş ve kloroplast içeren parenkima hücreleri yer almaktadır. Koleteral iletim demetleri arasında bulunan hava kanalları, yaprağın uç kısmından dip kısmına doğru gittikçe ince çeperli parenkimatik hücreler ile doldurulmaktadır. Alt epidermisin hemen iç kısmında hücre arası boşlukları fazla olmayan 3-4 sıra kloroplast içeren parenkima hücreleri bulunmaktadır. Bu bulgular literatürler ile uyumludur (66, 238, 240, 287).

Yaprak enine kesitinde, asimileme parenkiması içerisinde (287) iletim demetine yakın parenkima hücreleri içerisinde (240) ve alt ve üst mezofil hücreleri içerisinde veya hava kanallarına yakın olan parenkimatik hücrelerde (66) rafitlerin bulunduğu belirtilmektedir. Çalışmalarımız sırasında, rafitlerin hem iletim demeti çevresinde, ve hem de üst ile alt mezofil hücrelerinin birinci (palisat hücreleri) ve ikinci sırası arasındaki çeperleri biraz daha kalın olan kloroplast içermeyen küçük hücrelerin bazılarında bulunduğu saptanmıştır. Bu hücrelerin bazılarında rafit bulunmamasının, kesit alınması sırasında rafitlerin üst veya alt kesitte kalmış olmasına bağlı olabileceği kanaatine varılmıştır.

Uzun dikdörtgenimsi, hücre çeperleri kalın ve basit geçitleri belirgin olarak saptanan epidermis hücrelerinin, *Galanthus* genusu içerisinde minimal sistematik değere sahip olduğu ve ileri derecede değişkenlik gösterdiği belirtilmiştir (66, 240).

Kritik bir sistematik değere sahip olmadığı bildirilen (66) hava kanallarının bulunup bulunmayışı ve büyüklüğü, kesitin alındığı yaprak bölgesine göre farklılık gösterebilmektedir. Uç ve orta kısımlarında hava kanalı iyi bir şekilde görülürken, dip kısma yakın yerlerden alınan kesitlerde hava kanalları görülemeyebilir.

Monokotil bitkilerin kök anatomik yapılarında endodermisde kalınlaşmanın, her tarafta eşit veya at nalı şeklinde olduğu rapor edilmiştir (23, 266). Primer kök yapısı gösteren *G. nivalis* L. subsp. *cilicicus* bitkisinin köklerinde ise, endodermiste kalınlaşma bulunmamakta ve kaspari şeridi belirgin olarak görülmektedir. *G. ikariae* Baker, *G. plicatus* Bieb., *G. rizehensis* Stern bitkileri üzerinde anatomik çalışma yapan Şahin tarafından da benzer kök anatomisi bulguları bildirilmektedir (240). Ayrıca kökün bu anatomik özelliklerinin, aynı familyada bulunan *Leucojum aestivum* L. türünün kökünde de benzer olduğu görülmüştür (149).

Gövdeden alınan enine kesitlerde elde edilen bulgular, diğer çalışmalarla uyum göstermekte (240), bizim bulgularımızdan farklı olarak, gövde anatomisinde sistolit ve kübik kalsiyum okzalat kristallerine rastlandığı da bildirilmektedir.

Tohum enine kesitinde testanın iç kısmında yer alan endosperma hegzagonal ve kalın çepelidir. Basit geçitleri belirgindir ve parenkimatik hücrelere sahiptir. Bu özellikler literatür ile uyumludur (240).

İncelediğimiz bir kaynakta çiçek anatomisinin sistematik değer taşımadığı belirtilmiştir (65).

Ayrıca bazı *Galanthus* türlerinin polenlerinin ışık taramalı ve geçirmeli elektron mikroskobu ile morfolojik olarak incelendiği ve karşılaştırıldığı çalışmalar mevcuttur (237, 239). İmkanlar elvermediği için halihazırda tarafımızdan gerçekleştirilememiş olan bu tarz bir çalışmanın, gelecekteki araştırmalarımızda yapılması planlanmaktadır.

II. KALİTE KONTROL VE MİKTAR TAYİNİ ARAŞTIRMALARI

Tezimizin konusunu oluşturan Herba ve Bulbus Galanthi drogları, Çanakkale ili, Bayramiç ilçesi, Kuşçayırı köyü, Çolapbaşı ve Küllügedik mevkiinde yabani olarak yetişen *Galanthus nivalis* L. subsp. *cilicicus* (Baker) Gottlieb-Tannenhain bitkisinden hazırlanmışlardır. Meyvalı ve çiçekli vejetasyon devrelerine ait ayrı ayrı drog örnekleri üzerinde, bunların kalite kontrolleri için esas olabilecek bazı temel deneyler gerçekleştirilmiştir.

Kalite kontrol deneyleri için, 10. Alman Farmakopesi'nde yer alan bazı ana yöntemler esas alınmıştır (71). Bu amaçla anılan farmakopede yer alan, gravimetrik

esaslı nem, total kül ve sülfat külü miktar tayinlerine ait temel yöntemler aynen veya kısmi değişikliklerle uygulanmıştır. Bu konuda Dünya Sağlık Örgütü (WHO) “Tıbbi Bitkisel Materyal İçin Kalite Kontrol Yöntemleri” (281) adlı kitabında yer alan total kül miktar tayini yönteminden de yararlanılmıştır.

Droğun teşhis ve saflık kontrolü için, ince tabaka kromatografisi (İ.T.K.) çalışmaları uygulanmıştır.

Drog örneklerindeki total alkaloit miktarı, DAB 10 da farklı drog monografilerinde yer alan yöntemlerden yararlanılarak geliştirilmiş olup, daha önce tarafımızdan *Galanthus elwesii* Hook. bitkisi üzerinde uygulanmış olan (74, 284) titrimetrik esaslı bir miktar tayini yöntemi ile tayin edilmiştir.

Ayrıca fizyolojik ve farmakolojik etkileri nedeniyle, droğun en önemli alkaloitlerinden olan galanthamine ve lycorine'nin miktar tayini için de çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Bu amaçla İ.T.K. yöntemi ile kombine olarak yürütülen ön araştırmalar ile alkaloitlerin varlıkları tespit edilmiş, tayin edilebilecek miktarda olanların miktarları spektrofotometrik ve yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemleri ile tayin edilmiştir.

A. NEM, TOTAL KÜL VE SÜLFAT KÜLÜ MİKTAR TAYİNİ

Nem miktar tayini deneylerinde, ortalama değerler olarak, çiçekli dönemde toplanmış bitkinin toprak altı kısmından hazırlanmış örnek (I_{CB}) için % 9.438, çiçekli dönemde toplanmış bitkinin toprak üstü kısmından hazırlanmış örnek (I_{CH}) için % 8.813, meyvalı dönemde toplanmış bitkinin toprak altı kısmından hazırlanmış örnek

(I_{MB}) için % 9.593 ve meyvalı dönemde toplanmış bitkinin toprak üstü kısmından hazırlanmış örnek (I_{MH}) için % 9.967 nem oranı saptanmıştır.

Total kül miktar tayini deneyleri sonucunda, I_{CB} kodlu örneğin % 16.151, I_{CH} kodlu örneğin % 8.855, I_{MB} kodlu örneğin % 9.943 ve I_{MH} kodlu örneğin % 8.603 total kül içerdikleri bulunmuştur.

Sülfat külü miktar tayini deneylerinin total kül miktar tayinine göre daha sabit sonuçlar verebileceği düşüncesiyle yaptığımız çalışmanın sonucunda ortalama değerler olarak, I_{CB} kodlu örnek için % 20.302, I_{CH} kodlu örnek için % 11.645, I_{MB} kodlu örnek için % 12.588 ve I_{MH} kodlu örnek için % 12.200 oranında sülfat külü saptanmıştır.

Çalışmamızda nem, total kül ve sülfat külü miktar tayini çalışmalarında elde edilen sonuçlar, bir fikir vermesi amacıyla, daha önce diğer *Galanthus* genusu bitkileri ile yapılan benzeri çalışmaların sonuçları ile karşılaştırmalı olarak ta gösterilmiştir (Tablo 64).

		Bitki İsimleri ve Toplandıkları Yerler			
	Bitkinin Çalışılan Kısmı	<i>G. elwesii</i> (Akdağ, İzmir) (74)	<i>G. elwesii</i> Yamanlar dağı, İzmir) (61)	<i>G. gracilis</i> (Nif Dağı, İzmir) (84)	<i>G. nivalis</i> subsp. <i>cilicicus</i> * (Bayramiç, Çanakkale)
Nem Miktar Tayini (%)	Çiçekli T. altı	9.365	6.8137	6.2378	9.438
	Çiçekli T. üstü	9.103	8.0705	7.5716	8.813
	Meyvalı T. altı	8.946	8.1712	6.5500	9.593
	Meyvalı T. üstü	7.665	7.3590	7.0395	9.667
Sülfat Külü Miktar Tayini (%)	Çiçekli T. altı	18.79	18.3077	15.2755	20.302
	Çiçekli T. üstü	12.07	10.4837	12.4192	11.645
	Meyvalı T. altı	6.69	17.4070	18.0327	12.598
	Meyvalı T. üstü	13.98	15.8523	19.4993	12.200
Total Kül Miktar Tayini (%)	Çiçekli T. altı	13.879	15.4747	12.6875	16.151
	Çiçekli T. üstü	8.9567	7.8083	9.1022	8.855
	Meyvalı T. altı	4.6597	14.3170	16.1456	9.943
	Meyvalı T. üstü	9.5097	10.5776	17.7910	8.603

* Bu araştırmada elde edilen sonuçlar

Tablo 64. Bazı *Galanthus* Türleri Üzerinde Daha Önce Yapılmış Olan Kalite Kontrol Çalışmalarına Ait Karşılaştırmalı Sonuçlar

B. İ.T.K. İLE SAFLIK KONTROLLERİ

Drogların İ.T.K. ile saflık ve kalite kontrolü için yapılan çalışmalarda, çözücü sistemi olarak benzen-kloroform-metanol-amonyum hidroksit (8:9:3:2 damla) kullanılmıştır. Developmandan sonra kromatografi plaklarının fotoğrafları, önce 254 ve 366 nm dalga boylarındaki UV ışık altında ve daha sonra Dragendorff reaktifi püskürtüldükten çekilmiştir. Sözkonusu fotoğraflar, “Bulgular” kısmında sunulmuştur.

C. TOTAL ALKALOİT MİKTAR TAYİNİ

Total alkaloid miktar tayini için, daha önce Anabilim Dalımızda geliştirilmiş olan bir yöntem kullanılmıştır (74, 284). Total alkaloid içeriği, galanthamine'in molekül ağırlığı üzerinden hesaplanmıştır. I_{CH} kodlu örneğin % 0.0152-0.0192 (St. Dev. 0.0020), I_{CB} kodlu örneğin % 0.0145-0.0193 (St. Dev. 0.0021), I_{MH} kodlu örneğin % 0.0714-0.0874 (St. Dev. 0.0079) ve I_{MB} kodlu örneğin ise % 0.0146-0.0186 (St. Dev. 0.0016) arasında değişen oranlarda total alkaloid içerdiği bulunmuştur. Bu miktarlar kuru drog ağırlıkları üzerinden hesaplanmıştır. Örnekler arasında en fazla total alkaloid miktarına sahip olanın, meyvalı dönemde toplanmış toprak üstü (I_{MH}) olduğu saptanmıştır.

D. LYCORİNE VE GALANTHAMİNE MİKTAR TAYİNİ

Fizyolojik ve farmakolojik etkileri nedeniyle droğun en önemli alkaloidlerinden olan galanthamine ve lycorine miktarlarının tayini için çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Bu amaçla, öncelikle İ.T.K. ile kombine olarak yürütülen ön araştırmalar ile alkaloidlerin

varlıkları saptanmış, sözkonusu alkaloitleri içerdikleri saptanabilen örneklerde, imkanlarımız dahilinde olan UV spektrofotometrik ve oldukça hassas sonuçlar veren Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC) miktar tayini yöntemleri olmak üzere iki farklı yöntem kullanmak suretiyle miktar tayini yapılmıştır.

Miktar tayini çalışmalarına başlamadan önce yapılan ön araştırmalarda, muhtelif literatürde yer alan çözücü sistemleri derlenmiş ve ön deneyler sonrasında örneklerimiz için en uygun olan çözücü sistemi seçilmiştir. Bu uygulamaların sonucunda elde edilen kromatogramların fotoğrafları ve saflık kontrolü amacıyla çekilen UV spektrumları, bu bölümün “Bulgular” kısmında yer almaktadır.

Lycorine'in drog örneklerindeki varlığı, İ.T.K. yöntemiyle yapılan ön araştırmalar ile kanıtlanmış, miktarları hem spektrofotometrik olarak ve hem de HPLC ile tayin edilmiştir.

Galanthamine ile ilgili kontrol çalışmasında, drog örneğinin arttırılmasına ve daha yüksek konsantrasyonlarla denenmesine rağmen anlamlı bir kromatogram ve UV spektrumu elde edilememiştir. Galanthamine'in, incelenen drog örneklerinde hesaplanabilir miktarda bulunmadığı saptanmış ve bu bulgu, HPLC ile yapılan çalışmalarla da doğrulanmıştır.

Tablo 65 de spektrofotometrik ve HPLC yöntemleriyle yapılmış olan miktar tayini çalışmalarından edilen sonuçlar toplu olarak verilmektedir. Elde edilen sonuçlarda yöntem farklılığına bağlı olarak bazı farklılıklar görülmesine rağmen, sonuçlar arasında belirgin bir uyumun varlığı açıkça görülmektedir.

Miktar Tayini Yöntemi	Drog Örnekleri			
	I _{ÇB}	I _{ÇH}	I _{MB}	I _{MH}
Spektrofotometrik (tek basamaklı)	0.0042-0.0055 St.Dev.0.0006	0.0070-0.0097 St. Dev. 0.0013	0.0036-0.0041 St. Dev. 0.0001	0.0056-0.0078 St. Dev. 0.0009
Spektrofotometrik (iki basamaklı)	0.0021-0.0036 St.Dev.0.0007	0.0005-0.0007 St. Dev. 0.0001	0.0016-0.0022 St. Dev. 0.0003	0.0003-0.0004 St. Dev. 0.0001
HPLC	0.0028-0.0043 St.Dev.0.0006	0.0012-0.0015 St.Dev.0.0002	0.0019-0.0026 St. Dev.0.0004	0.0006-0.0008 St.Dev. 0.0001

Tablo 65. % Lycorine Miktar Tayini Sonuçları

III. BİYOLOJİK AKTİVİTE EŞLİĞİNDE İZOLASYON VE YAPI AYDINLATMA ÇALIŞMALARI

A. GI-1 {(-)-CAPNOIDINE}

G₄ kodlu ana fraksiyona uygulanan sütun kromatografisi esnasında elde edilen 9-10 no lu fraksiyonun preparatif ince tabaka kromatografisi ile saflaştırılması sırasında kazanılan ve Dragendorff belirteci ile karakteristik alkaloid reaksiyonu veren 2.8 mg ağırlığındaki optikçe aktif bileşiğe GI-1 kodu verilmiştir.

Bileşiğin potasyum bromür içerisinde alınan IR spektrumunda (Spektrum 1) 1756 cm⁻¹ de izlenen C=O gerilme bandı, bu karbonil grubunun muhtemelen bir γ -lakton halkasında yer almış olabileceğini düşündürmüştür (225). Laktonlarda C-O asimetrik gerilme titreşimlerinin 1250-1111 cm⁻¹ de karbonilden de daha şiddetli bir bant şeklinde görüldüğü bilinmektedir (225). Buna göre, bileşiğimizin IR spektrumunda

1238 cm^{-1} de izlenen ve karbonil C=O gerilme bandından daha şiddetli olan sinyal, C-CO-O gerilme titreşimine ait olmalıdır.

Bileşiğin EI Kütle spektrumunda (Spektrum 2) baz tepe m/z 190 dadır. Moleküler iyonu saptamak üzere yapılan CI kütle spektrometrik incelemede (Spektrum 3), $[M+H]^+$ iyonuna ait olduğu düşünülen iyon m/z 368 de görülmüştür. ESI kütle spektrumunda (Spektrum 4) görülen m/z 368 $[M+H]^+$, 391 $[M+Na]^+$ ve 413 $[M+2 Na]^+$ pikleri de molekül ağırlığının 367 olduğunu desteklemektedir. Bu bulgular, bileşiğin EI kütle spektrometrisi esnasında, yapısal özelliğine bağlı olarak son derece kolayca parçalandığını, bu nedenle moleküler iyon vermediğini, ancak bu parçalanmadan doğan m/z 190 iyonunun stabil olduğunu göstermiştir.

GI-1 Bileşiğinin dötörökloroform içerisinde 600 MHz NMR spektrometresinde alınan ^1H NMR spektrumunda (Spektrum 5, 6) aromatik sahada dört tane hidrojene eşdeğer sinyaller mevcuttur. Bunlardan ikisi singletler (δ 6.67 ve 6.40), diğer ikisi ise (δ 7.13 ve 6.93), 7.9 Hz lik etkileşme katsayıları nedeniyle birbirlerine göre *orto* konumda olan hidrojenlere ait oldukları düşünülen iki dublet halindedir. δ 6.10 da izlenen iki hidrojenlik singlet ile, δ 5.848 ve 5.847 deki birer hidrojenlik iki singlet, bileşikte iki tane metilendioksi grubunun varlığını çağrıştırmaktadır.

Alifatik bölgede δ 2.53 de üç hidrojenlik singlet, azota bağlı bir metil grubunun bulunduğunu göstermektedir. 2.5-3 ppm alanında yer alan ve herbiri birer hidrojene eşdeğer olan dört tane sinyalin etkileşme katsayıları, bu hidrojenler hakkında epeyce bilgi sağlamaktadır. Örneğin 15.4 Hz lik J değerleri nedeniyle, δ 2.74 ve 2.46 da sinyal veren hidrojenlerin bir metilen grubu oluşturduğu söylenebilmektedir. Benzer bir şekilde, δ 3.06 ile 2.52 deki hidrojenlerin de (J 10.9 Hz) geminal bir çift oluşturduğu anlaşılmaktadır. Ayrıca bu metilen gruplarından birinde yer alan δ 2.52 sinyalinin 10.8

Hz lik bir J değeri ile diğer metilen grubunun δ 2.74 de sinyal veren hidrojenle etkileşmesi, visinal bir ilişkiye ve dolayısıyla dörtlü bir spin sisteminin varlığına işaret etmektedir. Bu sinyallerin haricinde, δ 5.62 ve 4.02 de, etkileşme katsayıları J 3.2 Hz olan iki dublet mevcuttur. Bir izole visinal sistemi çağrıştıran bu sinyallerin gerek oldukça aşağı alanda yer alan kimyasal kayma değerleri ve gerekse etkileşme katsayıları dikkat çekicidir.

^{13}C APT spektrumunda (Spektrum 7) δ 45.0 daki sinyal bir *N*-metil grubunun, δ 100.8 ve 103.8 deki sinyaller ise iki tane metilendioksi grubunun bulunduğunu doğrulayan verilerdir. δ 51.3 ve 29.7 deki sekonder karbon sinyalleri, ^1H NMR spektrumunda saptanan dörtlü spin sistemiyle uyumludur. ^{13}C APT spektrumunda altı tane tersiyer karbona ait sinyaller açıkça görölmektedir. Bunlardan dört tanesi (δ 107.5, 108.2, 112.9 ve 116.0) aromatik alandadır. Bu durum da, ^1H NMR spektrumundan saptanan dört tane aromatik hidrojen bulgusuyla uyumludur. Bu spektrumun da en ilgi çekici unsurları, alifatik sahada ve oldukça aşağı alanda (δ 66.1 ve 82.8) izlenen tersiyer karbon sinyalleridir. Bu sinyallerin ^1H NMR spektrumunda yine aşağı alanda görölen metin hidrojenleriyle (δ 51.3 ve 29.7) ilişkilendirilebileceği düşünölmüştür. ^{13}C APT spektrumunda katerner karbon sinyallerinin net bir şekilde ayırdedilemediği görölmektedir.

^1H ve ^{13}C NMR spektrumlarından sağlanan verilerin değerlendirilmesi sonucunda, GI-1 bileşinin bilinen Amaryllidaceae alkaloidleri alt sınıflarından hiçbirisinin temel iskeleti ile uyumlu olmadığı göröldüğünden, daha ileri analizlerinin yapılmasına gerek görölmüştür. Bu nedenle, bileşinin 600 MHz NMR spektrometresinde ayrıntılı 2 D NMR analizleri gerçekleştirilmiştir.

HMQC deneyi (Spektrum 9) sonuçlarına göre hidrojenlerle üzerlerinde yer aldıkları karbonlar eşleştirilmiştir (Tablo 60).

$^1\text{H}, ^1\text{H}$ COSY spektrumunun (Spektrum 8) değerlendirilmesiyle saptanan etkileşmeler, aromatik bölgede δ 7.13 ve 6.93 protonlarının *orto* ilişkilerini, iki metilen grubuna ait hidrojenlerin (δ 2.46 ve 2.74 çifti ile 2.52 ve 3.06 çifti) karşılıklı etkileşmeleri ise, dörtlü spin sisteminin varlığını doğrulamaktadır (Tablo 60). Çok ilginç olan bulgu, ^1H NMR spektrumuna göre bir izole visinal sisteme ait olduğu düşünülen ve $^1\text{H}, ^1\text{H}$ COSY deneyinde de birbirleriyle etkileşen δ 4.02 ve 5.62 sinyallerinin, ilaveten bazı aromatik hidrojenlerle de etkileşmelerinin saptanmış olmasıdır. Bu çerçevede, δ 4.02 sinyalinin δ 6.67 sinyali ile, ve δ 5.62 sinyalinin ise δ 7.13 sinyali ile etkileştiği görülmektedir.

Yapı hakkında daha kesin bilgiler, HMBC spektrumundan (Spektrum 10, 11) sağlanmıştır. 2 ve 3 bağ aracılığıyla ($^2J_{CH}$ ve $^3J_{CH}$) hidrojen-karbon korelasyonlarının saptandığı HMBC spektrumunun değerlendirilmesine δ 6.67 de izlenen singletle başlanmıştır. Bu sinyalin, δ 66.1 (C-1) ve 146.3 (C-6) ile $^3J_{CH}$, δ 145.9 (C-7) ve 130.0 (C-8a) ile de $^2J_{CH}$ korelasyonları, δ 6.40 (H-5) daki singletin ise δ 29.7 (C-4) ve δ 145.9 (C-7) ile 3 bağ, δ 125.0 (C-4a) ve 146.3 (C-6) ile de 2 bağ aracılığıyla etkileşmeleri, bileşikte bulunan benzen halkalarından birisini oluşturan karbonların kimyasal kayma değerlerinin yerleştirilmesine olanak sağlamıştır. İlaveten diğer metilendioksi grubu hidrojenlerinin de δ 145.9 ve 146.3 ile $^3J_{CH}$ etkileşmeleri, 1,2,4,5-tetrasüstitübenzen halkasının varlığını doğrulamaktadır. Bu halkada da, en dikkat çekici bulgulardan bir tanesi, δ 6.40 singletini (H-5), δ 29.7 da rezonans yapan karbonla (C-4) ilişkilendiren etkileşmedir. Bu karbonun dörtlü spin sistemini oluşturan metilen gruplarından birisini taşıdığı daha önce saptanmış bulunmaktadır. Önemli diğer bulgu, diğer singletin (δ

6.67), δ 66.1 de sinyal veren karbonla (C-1) etkileşmesidir. İlaveten, *N*-metil grubu hidrojenlerinin de, aynı karbonla (δ 66.1) $^3J_{CH}$ etkileşmesi olduğu görülmektedir. *N*-Metilin ikinci $^3J_{CH}$ etkileşmesi, dörtlü spin sisteminin diğer metilen grubunu taşıyan δ 51.3 sinyali (C-3) iledir. Tüm bu bulgular, 6,7-metilendioksi-*N*-metil-1,2,3,4-tetrahidroizokinolin halkasının varlığını kanıtlamıştır.

Öte yandan, ikinci bir fenil halkası üzerinde bulunması gereken δ 7.13 (H-2') sinyalinin, δ 148.8 (C-4'), 109.8 (C-6') ve δ 82.8 (C-9) sinyalleri ile $^3J_{CH}$, δ 112.9 (C-3') ile $^2J_{CH}$ korelasyonuna sahip olduğu görülmektedir. Bu hidrojen ile *orto* konumda olan δ 6.93 (H-3') sinyalinin ise, δ 141.4 (C-1') ve 144.1 (C-5') ile $^3J_{CH}$, 148.8 (C-4') ile $^2J_{CH}$ korelasyonu gösterdiği saptanmıştır. İlaveten metilendioksi gruplarından bir tanesi de (δ 6.10), üç bağ aracılığı ile, δ 148.8 (C-4') ve δ 144.1 (C-5') ile etkileşmektedir. Bu verilerin değerlendirilmesiyle, ikinci aromatik halkanın karbon kimyasal kayma değerlerinin yerleştirilmesi mümkün olmuştur.

Sözkonusu bu halkanın hidrojenlerinin yukarıda konu edilen etkileşmeleri arasında en dikkat çekici olanı, H-2' (δ 7.13) hidrojenini δ 82.8 de sinyal veren ve üzerinde δ 5.62 de rezonans yapan hidrojenin (H-9) bulunduğu karbonla üç bağ aracılığıyla ilişkilendiren etkileşmedir. Zira, daha önceki bulgularımıza göre, δ 82.8 ve 66.1 de rezonans yapan karbonlar üzerinde, birbirlerine göre visinal konumda olan metin hidrojenleri (sırasıyla δ 5.62 ve 4.02) bulunmaktadır. Bu husus, tetrahidroizokinolin çekirdeği ile ikinci fenil halkasının bağlantısını sağlayan bulguyu oluşturmaktadır. Yine çok önemli bir bulgu, bu hidrojenlerden bir tanesinin (δ 5.62), δ 167.0 da rezonans yapan karbonil grubu ile $^3J_{CH}$ etkileşmesi sergilemesidir. IR spektral verilerine göre, beşli bir lakton halkasına ait olabileceği düşünülmüş olan karbonil

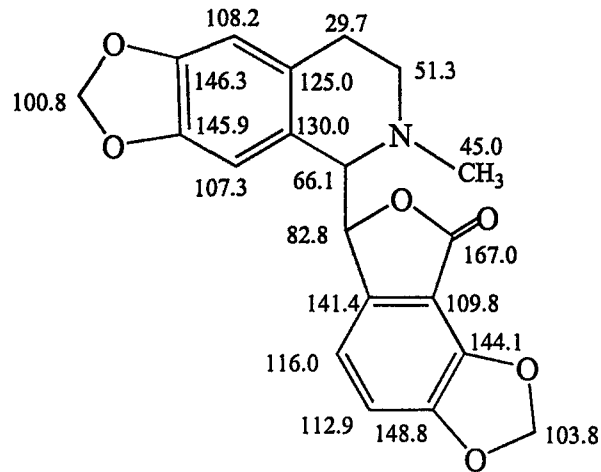
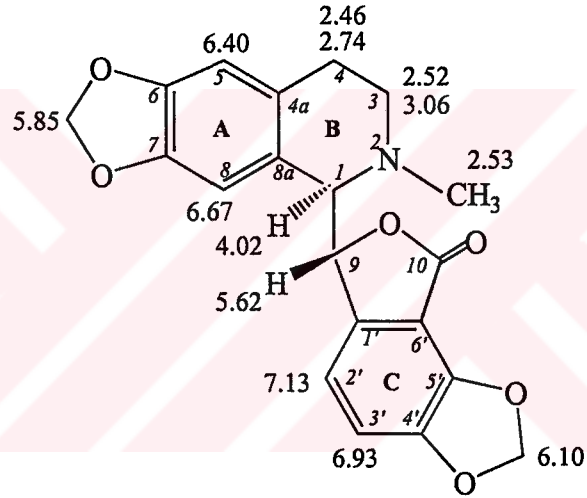
grubunun varlığı dikkate alındığında, ikinci halka sisteminin ftalid yapısında olduğu ortaya çıkmaktadır.

Bileşiğin yapısı hakkında yukarıda özetlenen 1D ve 2D NMR deneyleriyle elde edilen veriler, GI-1 bileşiğinin, bilinen Amaryllidaceae alkaloidlerinden hiçbirisine uymadığını göstermektedir. Buna karşılık, bu bulguların değerlendirilmesi ve yorumlanmasıyla yazılabilen açık kimyasal formüle göre, GI-1 bileşiğinin izokinolin alkaloidlerinin ftalidizokinolin alt sınıfından, A ve C halkalarında süstitüent olarak metilendioksi grupları taşıyan bir alkaloid olduğu belirlenmektedir.

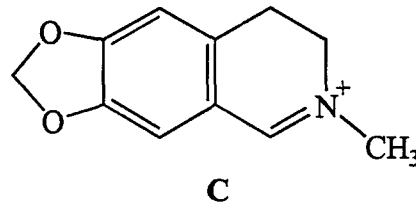
Ftalidizokinolin çekirdeğine sahip olan bileşikler, C-1 ve C-9 konumlarındaki konfigürasyonlarına göre, eritro ve threo enantiomerik çiftleri olmak üzere dört tane farklı stereoizomer halinde bulunabilirler. *N*-metilftalidizokinolinlerin ¹H NMR spektrumlarında, H-8 in kimyasal kayma değerinin, eritro ve threo çiftleri arasındaki ayırım için iyi bir kriter oluşturduğu rapor edilmiştir. Bu araştırmaya göre, eritro serisinde, H-8 in kimyasal kayma değeri δ 6.4-6.5 arasında iken, threo seride daha aşağı alanda δ 6.66 da görülmektedir (76). GI-1 Kodlu bileşiğin δ 6.67 olan H-8 kimyasal kayma değeri, onun threo serisinden olduğunu açıkça ortaya koymaktadır. Ayrıca eritro ve threo ayırımının, bazı ¹³C NMR kimyasal kayma değerlerine göre yapılabildiği de rapor edilmiştir (120). Ancak, bu yöntemle sağlıklı bir değerlendirme yapılabilmesi için, her bir seriden bir diastereoizomerin aynı şartlarda elde edilmiş olan ¹³C NMR değerlerinin kıyaslanması daha doğru olacaktır.

Hem eritro ve hem de threo seride, optik çevirme ile absöüt konfigürasyon arasında doğrudan bir bağıntı olduğu, ve negatif rotasyona sahip olan bileşiklerin C-1 deki konfigürasyonun (R) olduğu kanıtlanmıştır (174). GI-1 Bileşiğinin optik çevirmesi -54.9⁰ olarak ölçülmüştür. Buna göre bileşiğimizin 1R absöüt konfigürasyonuna sahip

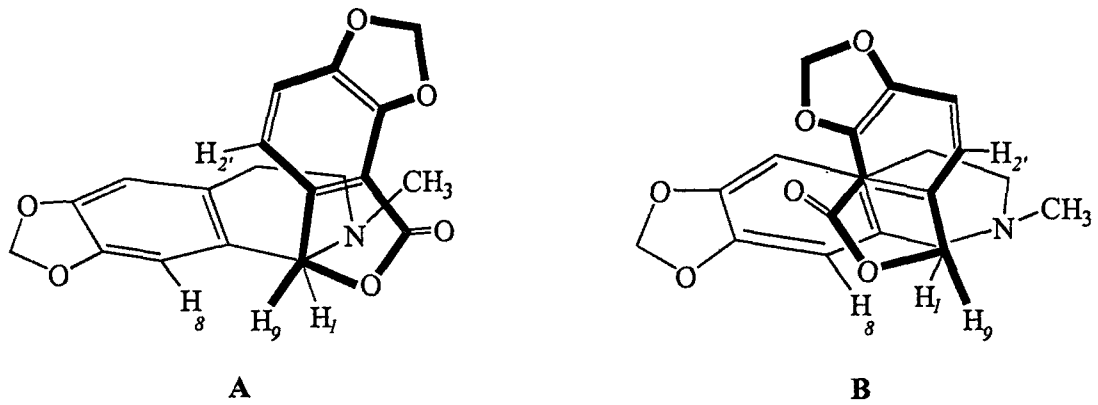
olduğu ortaya çıkmaktadır. Literatür araştırmaları, threo seride 1R,9R konfigürasyona sahip olan bileşiğin (-)-capnoidine (27) olduğunu ortaya koymuştur. Bu bileşiğin bilinen diğer stereoizomerleri, enantiomeri olan (+)-adlumidine (27, 76) ve diastereoizomeri olan (+)-bicuculline (27) dir. (-)-Capnoidine'in açık kimyasal formülü aşağıda sunulmaktadır. 1D ve 2D NMR analizlerine göre saptanan ve formül üzerine yerleştirilmiş olan kimyasal kayma değerlerinin, literatürde rapor edilen değerlerle uyum içerisinde olduğu görülmektedir (27).



NMR verilerinin yanısıra, kütle spektral verileri de önerilen yapıya uygundur. C-1 ve C-9 karbonları arasındaki bağı çift yönlü benzilik olmasına bağlı olarak çok kolay parçalanması nedeniyle, EI kütle spektrumunda bir moleküler iyon piki görülememesi, buna karşılık izokinolinyum iyonunun (C) (m/z 190) baz tepeyi oluşturması, ftalidizokinolin alkaloidleri için karakteristik hususlardır (191).



Elango ve arkadaşları (76) NMR ve nOe deneyleri ile eritro ve threo serisinden *N*-nor ve *N*-metil ftalidizokinolinlerin çözültideki tercihli konformasyonlarını araştırmışlardır. Bu çalışmanın sonuçlarına göre, threo serisinden olan bileşikler, aşağıda formülü verilmiş olan (A) konformasyonunu tercih eden eritro karşıtlarından farklı olarak, (B) de gösterilmiş olan konformasyonu tercih etmektedirler. Bu verilere göre, (-)-capnoidine'in de çözültide (B) ile gösterilen konformasyonu tercih etmesi gerekmektedir. Bu hususu doğrulamak üzere GI-1 bileşiği üzerinde yapılan NOESY deneyinde (Spektrum 12) elde edilen bulgular, Elango ve arkadaşlarının araştırmalarında rapor edilen nOe etkileşmeleri ile tamamen uyumludur (Tablo 62). Örneğin H-8 (δ 6.67), H-1 (δ 4.02) ve H-9 (δ 5.62) ile karşılıklı olarak etkileşmektedir. H-9, H-8 ile etkileşmesine ilaveten, H-1, H-2' (δ 7.13) ve *N*-CH₃ (δ 2.53) etkileşme göstererek, bu hidrojenlerin uzaysal yakınlıkları hakkında önemli bilgiler vermektedir.



Capnoidine, ilk olarak 1933 yılında Manske tarafından *Corydalis sempervirens* bitkisinden izole edilip isimlendirilmiştir (176). Yapısı 1950 yılında yine Manske tarafından düzeltilerek kesinleştirilmiştir (175). Absolüt konfigürasyonu ise Blaha ve arkadaşları tarafından kanıtlanmıştır (26). (-)-Capnoidine daha sonra çok sayıda *Corydalis* (27, 174) ve *Fumaria* (27, 98, 174, 226, 241) türlerinden izole edilmiştir.

(-)-Capnoidine, çalışmamızda alkaloid ekstresinin brine-shrimp letalite testi ile aktif olduğu saptanmış olan G₄ no lu fraksiyondan elde edilmiştir. Bu nedenle ftalidizokinolin grubu alkaloidlerin potansiyel terapötik etkileri üzerinde bir literatür araştırması yapılmıştır.

Bu araştırmalar, ftalidizokinolinlerin önemli potansiyel aktivitelere sahip olduğunu göstermiştir. Örneğin bu çekirdeğe sahip olan bazı bileşiklerin narkotik, analjezik ve antitussif etkileri rapor edilmiştir (220, 231).

1996 yılında yapılmış olan bir araştırmada, bazı ftalidizokinolinlerin miyokard hücresi üzerindeki etkileri incelenmiş, bazılarının kalp atımı amplitüdünü azalttığı, bazılarının ise artırdığı saptanmıştır (127).

Ftalidizokinolin grubu alkaloidlerin, sıçan beynindeki sinaptik membranlarda GABA antagonist etkisi de çalışılmış, ve yapı ile fizyolojik aktivite arasında bir korelasyon olduğu ortaya konulmuştur. Örneğin 1S konfigürasyona sahip olan eritro

türevlerin, 1R konfigürasyonlu karşıtlarına göre, reseptöre daha yüksek afinite gösterdikleri, ayrıca reseptöre bağlanma derecesinin, bileşiklerin çözeltideki konformasyonlarına da bağlı olduğu rapor edilmiştir. Bu araştırma sonuçları, hem GABA agonistlerinin ve hem de flalidizokinolinlerin bağlandıkları reseptör yöresinin aynı konformasyona sahip olduğuna işaret etmektedir (133).

Literatür araştırmalarımız sırasında, (-)-capnoidine üzerinde yapılmış olan bir farmakolojik incelemeye rastlanmamıştır.

B. GI-2 {(+)-EPIPINOESINOL}

G₄ kodlu ana fraksiyonunun alt fraksiyonlarından elde edilen ve Dragendorff belirteciye olumsuz yanıt vermesi nedeniyle nonalkoloidal olduğu düşünülen 7.7 mg ağırlığındaki optikçe aktif olan bileşiğe GI-2 kodu verilmiştir.

GI-2 kodlu bileşiğin 600 MHz NMR spektrometresinde dötorokloroform içinde alınan ¹H NMR spektrumunun (Spektrum 14) aromatik sahasında altı hidrojene karşılık gelen sinyaller görülmektedir. Özellikle δ 7.00-6.75 bölgesi genişletilmiş olan spektrumun (Spektrum 15) değerlendirilmesi sonucunda, iki tane ABX sisteminin varlığını gösteren bulgular elde edilmiştir. δ 6.79 ve 6.84 deki dublet-dubletlerin etkileşme katsayılarından, bu hidrojenlerin *orto* ve *meta* bölünmeleri olduğu, δ 6.91 ve 6.95 deki sinyallerin ise *meta* etkileşmelere sahip olduğu görülmektedir. *Meta* etkileşme katsayılarının mertebelerine göre, δ 6.95 sinyali δ 6.79 ile (*J* 1.2 Hz), δ 6.91 sinyali ise δ 6.84 sinyali ile (*J* 1.5 Hz) eşleşmektedir. Ancak her iki ABX sisteminin *orto* bölünmeli sinyallerinin δ 6.893 ve 6.890 gibi çok yakın kimyasal kayma değerlerine

sahip olmaları ve etkileşme katsayılarının aynı olması (J 8.1 Hz) nedeniyle, bu iki hidrojenin hangisinin, sözkonusu iki farklı ABX sisteminin hangisiyle eşleştiğini söyleyebilmek mümkün olamamıştır.

Alifatik bölgede oldukça aşağı alanda δ 4.86, 4.43, 4.12 de dubletler halinde izlenen herbiri birer hidrojen değerindeki sinyallere ilaveten, δ 3.86-3.82 de iki hidrojen değerinde bir multipler mevcut. Sözkonusu tüm değerlerin oldukça aşağı alanda olması, bunların oksijen gibi bir heteroatoma α -konumunda olabileceklerinin düşündürmüştür. δ 3.92 ve 3.90 da üç hidrojenlik entegrasyonlara sahip olan iki singlet, bileşikte iki tane metoksil grubunun varlığına işaret etmektedir. Spektrumun daha yukarı alanında δ 3.36-3.31 de iki hidrojene eşdeğer bir multipler ile δ 2.91 de bir hidrojen değerinde bir dublet-dublet görülmektedir. Özetle, ^1H NMR spektrumundan elde edilen bu verilere göre, bileşikte toplam yirmi protona ait sinyal mevcuttur.

Bileşiğin ^{13}C APT spektrumunda (Spektrum 16) ondokuz adet sinyal izlenebilmektedir. Bunlardan altı tanesi katerner, dokuz tanesi tersiyer, iki tanesi sekonder karbonlara aittir. δ 55.99 ve 55.94 de rezonans veren ve primer karbonlara ait olduğu görülen iki sinyal, bileşikte iki tane metoksil grubunun bulunduğunu doğrulamaktadır.

Bileşiğin EI Kütle spektrumunda (Spektrum 13) m/z 358 de moleküler iyon a ait olduğu düşünülen pik görülmektedir. Baz tepe ise m/z 151 dedir.

Bileşiğin yapısının aydınlatılması çalışmalarında daha fazla veri sahibi olabilmek amacıyla, çift boyutlu NMR ($^1\text{H}, ^1\text{H}$ COSY, HMQC, HMBC, NOESY) deneylerinin de yapılmasına gerek duyulmuştur.

HMQC deneyi (Spektrum 18) sonuçlarına göre (Tablo 61), hidrojenlerle $^1J_{CH}$ etkileşmesi gösteren karbonlar saptanmış, böylece hidrojenler üzerinde yer aldıkları karbonlarla eşleştirilmiştir. Bu sonuçlar, 1H NMR da δ 6.893 ve 6.890 da rezonans yapan hidrojenlerin üzerinde yer aldıkları karbonların da aynı kimyasal kayma değerine (δ 114.2) sahip olduğunu ortaya koymuştur. Böylece bileşikte bulunan karbon sayısının yirmi olduğu belirlenmiştir. Ayrıca bu deney sonuçları, geminal hidrojenlerin saptanmasında da yardımcı olmuştur.

$^1H, ^1H$ COSY spektrumu (Spektrum 17), 1H NMR spektrumunda okunan etkileşme katsayıları yardımıyla eşleştirilen hidrojenlerin aynı ABX sistemine dahil olduğunu doğrulamıştır. Ancak çok yakın kimyasal kayma değerine sahip oldukları için ayırdedilememeyen δ 6.893 ve 6.890 sinyallerinin hangi sistemlerin üyesi olduğunu belirlenmesi konusunda $^1H, ^1H$ COSY spektrumu da yetersiz kalmıştır. Alifatik sahada, δ 4.86 sinyalinin δ 3.86-3.82 ve 3.36-3.31 sinyalleriyle, δ 4.43 sinyalinin ise daha belirgin bir şekilde δ 2.91 ve 4.12 sinyalleriyle etkileşmesi, ait oldukları hidrojenlerin, iki farklı alifatik hidrojen dizisine ait olabilecekleri izlenimini uyandırmıştır. Ancak hem δ 4.86 nın ve hem de δ 4.43 ün δ 3.86-3.82 deki iki hidrojenlik küme ile etkileşmesi, kesin yargılara varmayı engellemiştir.

Yapı hakkında daha kesin bilgiler, HMBC deneyinden elde edilen verilerle sağlanmıştır (Tablo 61). 2 ve 3 bağ aracılığıyla ($^2J_{CH}$ ve $^3J_{CH}$) hidrojen-karbon korelasyonlarının saptandığı HMBC spektrumunun (Spektrum 19) değerlendirilmesine en aşağı alanda bulunan sinyalden (δ 6.95) başlanmıştır. Bu sinyal, δ 130.3 (C-1') ve 146.4 (C-3') sinyalleri arasında $^2J_{CH}$, δ 118.4 (C-6'), 144.6 (C-4') ve 82.1 (C-7') sinyalleri arasında $^3J_{CH}$ korelasyonları saptanmıştır. δ 118.4 de sinyal veren karbonun

üzerinde yer alan H-6' (δ 6.79) nün, δ 144.6 (C-4'), 108.4 (C-2') ve 82.1 (C-7') sinyalleriyle üç bağ aracılığıyla etkileştiği görülmüştür. δ 3.92 de rezonans yapan metoksil grubu hidrojenleri üç bağ aracılığıyla δ 146.4 sinyaliyle etkileşmektedir. Bu durumda δ 144.6 da rezonans yapan karbonun üzerinde bir fenolik hidroksilin yer aldığı ileri sürülebilmektedir. Bu bulgulara göre, 3-metoksi-4-hidroksi sübstitüsyonuna sahip olan bir aromatik halkanın hidrojen ve karbonlarına ait kimyasal kayma değerlerinin yerleştirilmesi mümkün olmuştur. Ayrıca bu fenil halkasının, δ 82.1 gibi oldukça aşağı alanda rezonans yapması nedeniyle muhtemelen bir heteroatoma komşu olduğu düşünülen bir alifatik karbonla bağlantısı da saptanmıştır.

Benzer bir çalışma diğer aromatik halkanın hidrojen ve karbon kimyasal kayma değerlerinin yerleştirilmesi için yürütülmüştür. δ 6.84 (H-6) sinyalinin δ 145.3 (C-4) ve 87.7 (C-7), δ 6.91 sinyalinin ise δ 145.3 (C-4), 119.2 (C-6) ve 87.7 (C-7) sinyalleri ile $^3J_{CH}$ etkileşmeleri gösterdiği saptanmıştır. δ 3.90 da rezonans yapan metoksil grubu hidrojenlerinin δ 146.7 ile üç bağ aracılığıyla etkileşmesi ile, bu grubun fenil halkası üzerindeki yeri saptanmıştır. δ 145.3 deki kimyasal kaymanın mertebesi, bu karbonun oksijenli bir sübstitüsyon taşıdığına işaret etmektedir. Bu bilgilerin $^1H, ^1H$ COSY ve HMQC deneylerinden elde edilen verilerle birlikte değerlendirilmesi sonucunda, bileşikte mevcut olan ikinci aromatik halkanın da yine 3-metoksi-4-hidroksi sübstitüsyona sahip olduğu belirlenmiş, ayrıca hidrojen ve karbonlarına ait kimyasal kayma değerleri de yerleştirilebilmiştir. Bu halkanın ilişkilendirildiği alifatik karbonun (δ 87.7) taşıdığı hidrojenin (δ 4.43), δ 54.5 (C-8) ve 71.0 (C-9) da sinyal veren karbonlarla olan korelasyonları, sözkonusu üç karbonun bir dizi oluşturduğu fikrini doğurmuştur.

Benzer bir şekilde, diğ er aromatik halkanın hidrojenleriyle HMBC etkileşmeleri gösteren karbon (δ 82.1) üzerindeki hidrojenin (δ 4.86), δ 50.2 (C-8') ve 69.7 (C-9') de sinyal veren karbonlarla korelasyonları ise, sözkonusu üç karbonun bir dizi oluşturduğunu ortaya koymuştur.

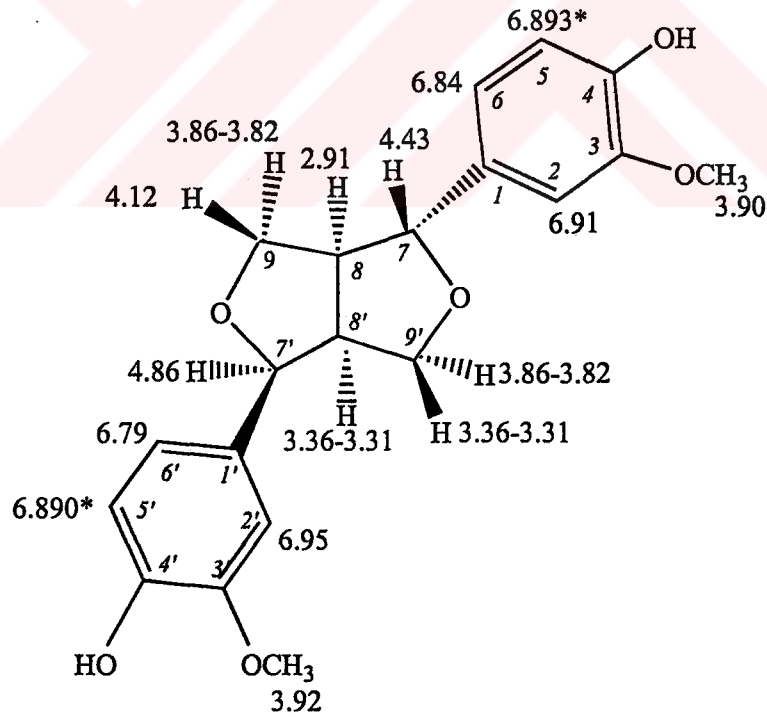
Yukarıdaki verilerin ışığında saptanan iki sistemin, kimyasal kayma değerlerindeki farklılıklara rağmen, yapısal açıdan büyük benzerlik gösterdiği görülmektedir. Örneğin benzilik karbonlara ait olan δ 87.7 ve 82.1 sinyalleri gibi, δ 71.0 ve 69.7 sinyallerinin de muhtemelen oksijen atomlarına α -konumda olan karbonlara ait oldukları söylenebilmektedir. Bu iki sistemin birbirleriyle birleşme şeklinin saptanmasında yine uzun alan etkileşmelerinden yararlanılmıştır. Örneğin, δ 4.43 (H-7) sinyalinin δ 50.2 (C-8') ve 69.7 (C-9') ile etkileşmesi, ya da δ 2.91 (H-8) sinyalinin hem δ 50.2 (C-8') hem de 69.7 (C-9') sinyalleriyle korelasyonları yapının şekillenmesine yardımcı olmuştur.

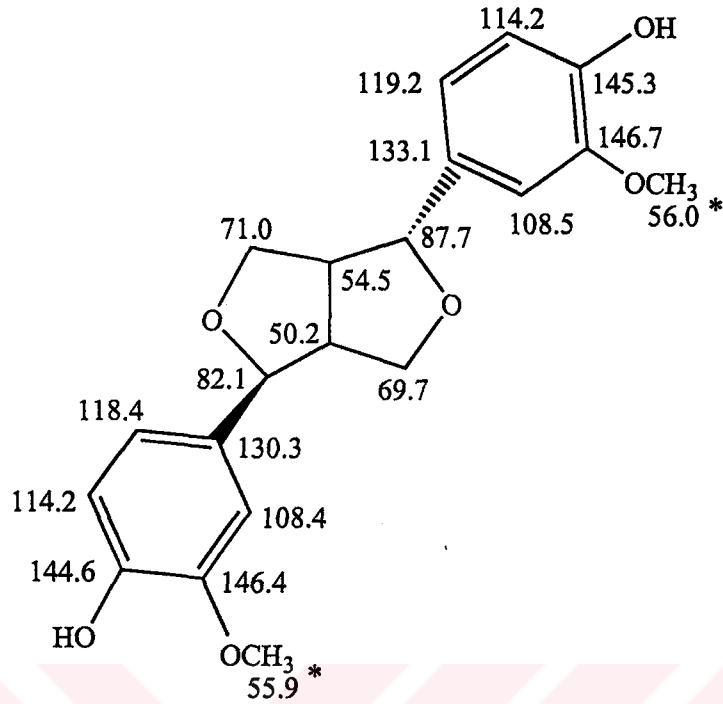
Buraya kadar yapılan değerlendirmeler sonucunda bileşikte yirmi tane karbon, yirmiiki tane hidrojen ve en az altı tane oksijen atomunun bulunabileceği ortaya çıkmaktadır. $C_{20}H_{22}O_6$ olarak yazılan bu kapalı formül için hesaplanan molekül ağırlığı 358 dir, ve EI kütle spektrumunda saptanan moleküler iyon piki ile tamamen uyumludur.

Elimizdeki verilere göre yaptığımız literatür araştırmaları, GI-2 nin iki tane identik halka taşıyan bir tetrahidrofurofuran yapısına sahip bir lignan olduğunu göstermiştir. Ancak tüm hidrojen ve karbon kimyasal kayma değerlerinin farklı olması nedeniyle, sözkonusu yapının simetri unsuru taşımadığı kanısına varılmıştır. Böyle bir durum, 7,7'-konumlarındaki aril gruplarının bir tanesinin aksiyal, diğ erinin ise

ekvatoryel olarak yönlenmiş olduğu epi-serisi için sözkonusudur. Bu seriden olup, her iki aril grubu da 3-metoksi-4-hidroksi süstitüsyon taşıyan tetrahidrofurofuran lignan epipinoresinol'dür (16, 192, 209). Epipinoresinol'ün açık kimyasal formülü aşağıda verilmiştir.

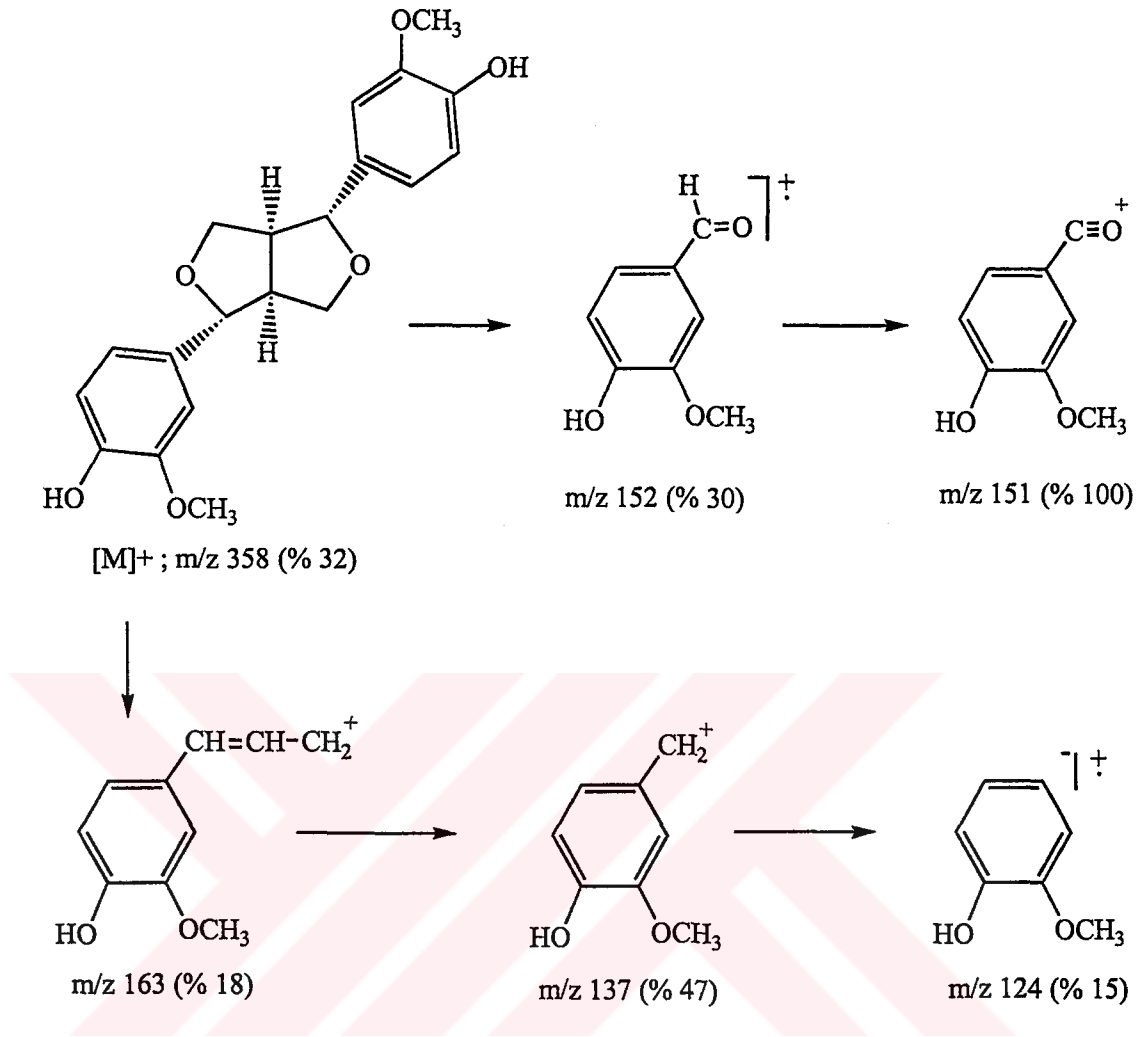
Bileşiğin konfigürasyonel niteliklerinin kanıtlanmasında NOESY deneyinden yararlanılmıştır (Spektrum 20) (Tablo 61). Oksimetilen protonlarından en aşağı alanda yer alan ve aksiyal oryantasyonu bilinen H-7 nin (δ 4.43), H-9 (δ 4.12), H-8'/H-9' (δ 3.36-3.31) ile etkileşmeleri, sözkonusu hidrojenlerin de aksiyal olarak yönlendiğini göstermektedir. Benzer bir değerlendirmeyle, ekvatoryel yönlenmeli olan H-7' (δ 4.86) nün, H-8 (δ 2.91) ve H-9eq/ H-9'eq (δ 3.86-3.82) ile etkileşmeleri de, bu hidrojenlerin de ekvatoryel yönlenmeye sahip olduklarını göstermiştir.





Dekstrojir olan epipinoresinol'ün tüm spektral verileri, literatürde kayıtlı olanlarla uyumludur (16, 209). Kütle parçalanmaları da tetrahidrofurofuranlar için karakteristik olan parçalanma değerlerine uymaktadır (Şema 1) (99).

Epipinoresinol ilk olarak 1960 yılında Weinges tarafından *Picea excelsa* (Pinaceae) bitkisinden izole edilmiştir (274). Bugüne kadar doğadan gerek (+)-epipinoresinol ve gerekse (-)-epipinoresinol (symplocosigenol) olarak adlandırılmış olan enantiomerik şekilleri halinde (16), Cupressaceae (134), Oleaceae (209), Urticaceae (215), Pandanaceae (126), Loganiaceae (192), Eucommiaceae (179) gibi diğer birçok familyaya ait türden izole edilmiş bulunmaktadır.



Şema 1. (+)-Epipinoresinol'ün Kütle Parçalanma Şeması

Literatür araştırmalarında, lignan sınıfından bileşiklerin Amaryllidaceae familyasında bulunuşuna dair sadece bir tek kayda rastlanmıştır. Lin ve arkadaşları tarafından 1995 yılında gerçekleştirilmiş olan bu araştırmada, *Hymenocallis littoralis* bitkisinden, lignanların dibenzilbutan alt sınıfından bir bileşik olan secoisolariciresinol'un izole edildiğinden bahsedilmiştir (170). Ancak, bilgimiz dahilinde, günümüze dek *Galanthus* genusuna ait herhangi bir türden rapor edilmiş olan bir lignan bulunmamaktadır. Dolayısıyla araştırmamızda hem lignan yapısında bir

bileşik *Galanthus* genusundan ilk kez rapor edilmekte, ve hem de Amaryllidaceae familyasında, dibenzilbutan alt sınıfına ilaveten furofuran alt sınıfından da lignanların var olduğu ortaya konulmaktadır.

Lignanların halk tababetinde kullanılmaları yaklaşık 1000 yıl geçmişe kadar uzanmaktadır. Çin ve Japon halk tıbbında hastalıkların tedavisinde lignan muhtevaları açısından zengin bitkilerin kullanıldığı bilinmektedir. Dolayısıyla, günümüzün ilaç kimyası alanında bu bileşiklerin yeni terapötik ajanların geliştirilmesinde potansiyel lider bileşikler olarak düşünölmeleri şaşırıcı değildir. Halk tababetinde kullanılan lignanca zengin bitkilerden çoğunun kimyasal bileşenlerinin henüz tanımlanmamış olmasına karşın, bazı diğerleri üzerinde yapılan fitokimyasal ve farmakolojik araştırmalar sonucunda, aktiviteleri ortaya konulmuştur.

1995 Yılında Okuyama ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen bir araştırmada, *Fagraea racemosa* (Loganiaceae) bitkisinin metanol ekstresinin sıçan aortasında norepinefrinle indüklenen kontraksiyonlarını inhibe ettiği, ve farelerde asetik asitle indüklenen ağrı üzerinde analjezik etki yaptığı ortaya konulmuştur. Bu aktivitelerin lignan taşıyan fraksiyonlarda bulunması nedeniyle yapılan izolasyon çalışmalarında elde edilen muhtelif lignanlar, ayrı ayrı aktivite deneylerine tabi tutulmuştur. Bu lignanlar arasında bulunan (+)-epipinoresinol'ün, norepinefrinle indüklenen vazokonstriksiyonun inhibisyonunda test edilen diğer bazı lignanlardan daha etkili olduğu saptanmıştır (192).

Bu bileşik bizim çalışmamızda da, alkaloit ekstresinin brine shrimp letalite testi ile aktif olduğu saptanmış olan G₄ no lu ana fraksiyondan izole edilmiştir.

C. GI-3 {(+)-PINORESINOL}

G₄ kodlu ana fraksiyonun alt fraksiyonlarından elde edilen ve Dragendorff belirtecine olumsuz yanıt vermesi nedeniyle nonalkaloidal olduğu düşünülen 3.5 mg ağırlığındaki optikçe aktif olan bileşiğe GI-3 kodu verilmiştir.

Bileşiğin EI kütle spektrumunda (Spektrum 21) m/z 358 de, moleküler iyonla ait olduğu düşünülen bir pik görülmektedir. Baz tepe ise m/z 151 dedir.

Bileşiğin oldukça sade görünen ¹³C APT spektrumunda (Spektrum 23) on adet sinyal görülmüştür. Bu karbonlardan üç tanesi katerner, beş tanesi tersiyer, bir tanesi sekonder, bir tanesi de primer karbonlara aittir. δ 56.0 da rezonans veren sinyal, molekülde süstitüent olarak metoksil grubu varlığını düşündürmüştür. Alifatik karbonlardan iki tanesinin (δ 85.9 ve 71.7) oldukça aşağı alanda bulunmaları, bu karbonların muhtemelen bir heteroatoma göre α -konumda bulduklarını düşündürmektedir. Yine bu spektrumda katerner karbonlara ait oldukları saptanan δ 145.2 ve 146.7 değerleri, aromatik halka üzerinde iki tane oksijenli süstitüsyon bulunduğuna işaret etmektedir.

Bileşiğin 600 MHz NMR spektrometresinde dötörkloroform içinde alınan ¹H NMR spektrumunda (Spektrum 22), aromatik sahada üç hidrojene karşılık gelen sinyaller görülmektedir. δ 6.90 (*J* 1.6 Hz), 6.89 (*J* 8.2 Hz) ve 6.82 (*J* 8.1, 1.7 Hz) de izlenen sinyallerin bölünmeleri ve etkileşme katsayıları, bu hidrojenlerin bir ABX sistemi oluşturduklarını ortaya koymaktadır. Alifatik bölgede, δ 5.59 daki singlete ilaveten, δ 4.74, 4.25 ve 3.88 de yine kimyasal kayma değerleri oldukça aşağı alanda olan, ve tümü rezolüsyonu iyi multipler halinde bölünmüş olan üç tane sinyal

izlenmektedir. Bunlardan δ 4.25 ve 3.88 de görülen dublet-dubletlerin eşleşen etkileşme değışmezleri (J 9.2 Hz), sözkonusu sinyallerin geminal konumda olan hidrojenlere ait olabileceklerini düşündürmüştür. Bu hidrojenlere göre daha yukarı alanda δ 3.10 da görülen sinyalin etkileşme katsayılarından bir tanesi (J 6.4 Hz), sözkonusu hidrojenin, metilen grubu hidrojenlerinden bir tanesi ile (δ 4.25) visinal etkileşme içerisinde olduğuna işaret etmektedir. δ 3.91 de görülen keskin singlet, sübstitüent olarak bir aromatik metoksil grubunun bulunduğunu doğrulamaktadır.

Özellikle alifatik sahada görülen hidrojenlerin etkileşmeleri hakkında daha fazla bilgi sağlamak amacıyla $^1\text{H}, ^1\text{H}$ COSY deneyine başvurulmuştur (Spektrum 24) (Tablo 62). Bu spektrumun değerlendirilmesi sonucunda, hem δ 4.74 deki sinyalin, ve hem de geminal çift olan δ 3.88 ve 4.25 sinyallerinin, δ 3.10 da izlenen sinyal ile etkileştiği, ancak δ 4.74 de rezonans yapan hidrojen ile metilen grubu hidrojenleri arasında herhangi bir etkileşme olmadığı görülmüştür. Bu bilgilerin ışığında, δ 3.10 da rezonans yapan hidrojenin merkezi bir konumda olup, metilen hidrojenleri ile δ 4.74 de rezonans yapan metin hidrojeninin arasında yer aldığına karar verilmiştir.

Bileşiğin yapısını aydınlatmak amacıyla başvuru olan çift-dimensiyonlu NMR tekniklerinden biri olan HMQC deneyinde (Spektrum 25), $^1J_{\text{CH}}$ korelasyonlarının değerlendirilmesiyle, hidrojenlerin üzerlerinde yer aldıkları karbonların eşleştirilmesi mümkün olmuştur (Tablo 62).

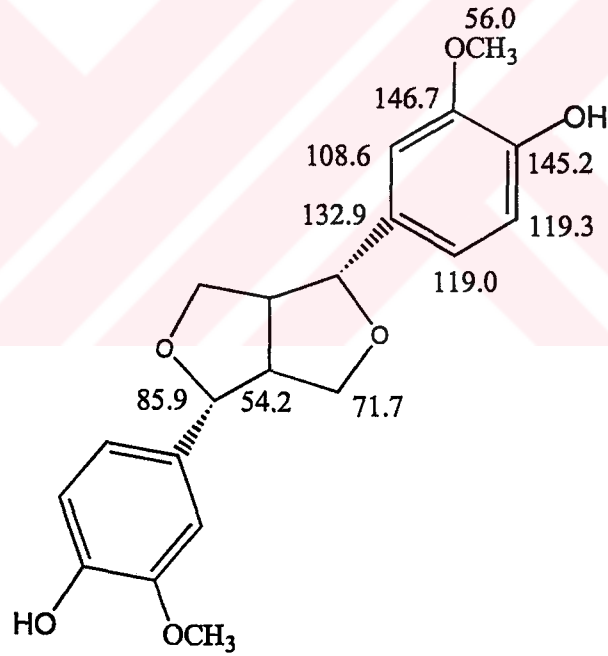
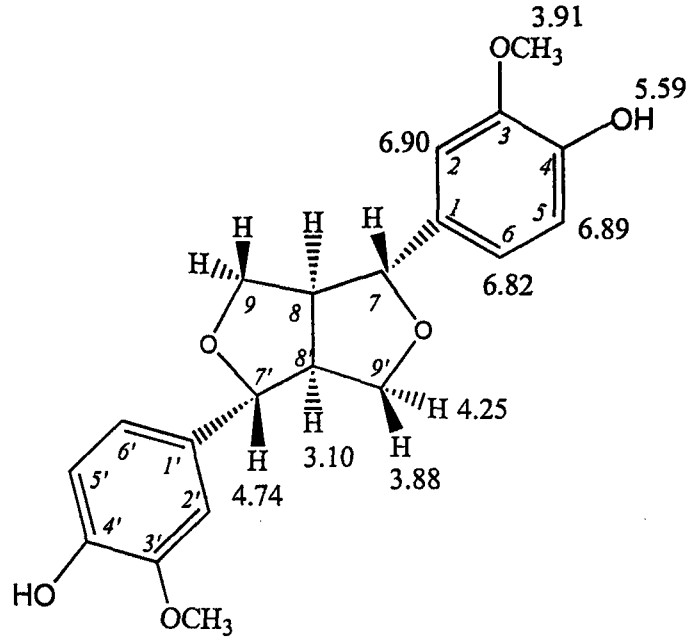
Yapı hakkında daha kesin bilgiler, yine çift-boyutlu bir NMR tekniği olan HMBC deneyinin (Spektrum 26) sonuçlarının değerlendirilmesiyle elde edilmiştir. HMQC deneyinde herhangi bir karbonla eşleşmeyen δ 5.59 sinyalinin iki ve üç bağ aracılığıyla C-H etkileşmeleri, sözkonusu sinyalin bir fenolik hidrojene ait olduğunu

ortaya koymuştur. İlâveten, gerek aromatik hidrojenlerin $^2J_{CH}$ ve $^3J_{CH}$ korelasyonları, ve gerekse metoksil grubunun $^3J_{CH}$ korelasyonları (Tablo 62), fenil halkasında yer alan tüm karbonların kimyasal kayma değerlerinin yerleştirilebilmesine olanak sağlamış, ve fenil üzerindeki süstitüsyonun 3-metoksi-4-hidroksi şeklinde olduğunu kanıtlamıştır. Aromatik halkanın bileşiğin alifatik bölümü ile ilişkilendirilmesi, δ 6.90 ve 6.82 sinyallerinin, δ 85.9 rezonans yapan karbon ile $^3J_{CH}$ aracılığı ile korelasyonu sayesinde mümkün olmuştur. Gerek δ 85.9 karbonu üzerinde yer alan hidrojenin (δ 4.74), ve gerekse diğer alifatik hidrojenlerin saptanan $^2J_{CH}$ ve $^3J_{CH}$ değerleri, bu hidrojenlerin birbirlerine komşu olan üç karbon üzerinde bulduklarını kanıtlamaktadır. Bu korelasyonlar ve karbonların kimyasal kayma değerleri dikkate alındığında, δ 71.7 de sinyal veren karbonun muhtemelen bir heteroatoma komşu olduğu, δ 85.9 da rezonans yapan karbonun da yine bir heteroatoma komşu olduğu, ancak benzilik olması nedeniyle diğerinden de daha aşağı alanda sinyal verdiği söylenebilmektedir.

Bu aşamada yapısı kısmen belirlenmiş olan bileşiğimizin spektral verileri, on tane karbon, onbir tane hidrojen ve muhtemelen üç tane oksijene sahip olduğunu ortaya koymaktadır. $C_{10}H_{11}O_3$ olarak saptanan bu formülün molekül ağırlığı 179 dur. Buna karşılık bileşiğin EI kütle spektrumundan bulunan molekül ağırlığı 358 dir, ve bu sayı hesaplanan rakamın tam iki katıdır. Bu bulguya göre, bileşikte bir simetri unsurunun bulunduğu fikri ağır basmıştır.

Yapılan literatür araştırmaları, bitkilerde yaygın olarak bulunan sekonder metabolitlerden birisi olan lignanların bir alt grubunu oluşturan furofuran tipi bileşiklerde, stereokimyasal özelliklere bağlı olarak simetri unsurunun görüldüğünü ortaya koymuştur.

Bu verilerin ışığında yapılan literatür araştırmaları, GI-3 kodlu bileşiğin, lignanların furofuran alt sınıfından pinoresinol ya da bir diastereoizomeri olabileceğini göstermiştir (16). Simetrik furofuranlarda, normal seride 7,7'-konumlarda yer alan aril grupları diekvatoryel, dia serisinde ise diaksiyal konumlardadır. Bu iki diastereoizomerin birbirinden ayırdedilmesinde, 9-konumundaki metilen hidrojenlerinin kimyasal kayma değerlerinden yararlanılmaktadır. Normal seriyi temsil eden diekvatoryel bileşiklerde H-9,9' α -konumundaki hidrojenler δ 4.2-4.4 de, H-9,9' β ise δ 3.8-4.0 arasında rezonans yaparlar. Buna karşılık dia seriyi temsil eden ve aril gruplarının diaksiyal olduğu bileşiklerde bu hidrojenler, aril gruplarının gölgeleyici etkisiyle, daha yukarı alanda (H-9,9' α δ 3.65-4.0 de, H-9,9' β ise δ 3.3-3.65 de) görülürler (16). Bileşiğimizin ^1H NMR spektrumunda sırasıyla δ 4.25 ve 3.88 de okunan kimyasal kayma değerleri, GI-3 kodlu bileşikteki aril gruplarının diekvatoryel olduklarını, dolayısıyla bileşiğin pinoresinol olduğunu açıkça ortaya koymuştur. Pinoresinol'n açık kimyasal formülü aşağıda verilmektedir.



Bileşik üzerinde yapılan NOESY deneyinde (Spektrum 27) (Tablo 62), metoksil grubunun irradyasyonu ile δ 6.90 sinyalinde görülen NOE etkisi, aromatik halkalardaki 3-metoksi-4-hidroksi sübstitüsyonunu doğrulamıştır. Ayrıca 9-konumundaki hidrojenlerin yönlenmelerinin saptanmasında da yine NOESY bulgularından

yararlanılmıştır. H-8,8' nün (δ 3.10) çekirdek düzleminin altında yer aldığı bilindiğinden, bu hidrojenle etkileşen δ 4.25 sinyalinin de aynı uzaysal yönlenmeye sahip olan hidrojene ait olması gerekir. Benzer bir şekilde, H-7,7' nün (δ 4.74) uzaysal yönlenmesinin çekirdek düzlemi üzerinde olduğu bilindiğinden, sözkonusu hidrojenle NOE etkisi gösteren H-9/9' metilen hidrojenlerinin de (δ 3.88) β -yönlenmeli olduğu söylenebilmektedir.

Bileşiğin hidrojen ve karbonlarına ait kimyasal kayma değerleri, 1D ve 2D NMR analiz verilerine dayanılarak yerleştirilmiş, ve sonuçların literatür verileriyle tamamen uyum içerisinde olduğu görülmüştür (3, 16, 58, 107, 138, 178, 185, 213).

GI-3 bileşiğinin EI kütle spektrumunda (Spektrum 21) görülen piklerin değerleri ve bağlı bollukları, pinoresinol için literatürde kayıtlı olan verilere uygundur (3, 58, 99, 138, 215). Bileşiğin kütle parçalanması, aynen (+)-epipinoresinol için önerildiği şekilde (Sayfa 232) gerçekleşmektedir.

Pinoresinol, ilk kez 1897 yılında Bamberger tarafından izole edildiğinden (18) bu yana, birçok familyaya ait çeşitli genoslardan (179) izole edilmiştir. Araştırmalarımız, doğal kaynaklardan izole edilmiş olan pinoresinol'ün daha büyük bir oranda dekstrojir enantiomeri olduğunu, ancak diğer enantiomerik formunun da (16, 172) doğada bulunduğunu göstermiştir.

Bu araştırmamızın kapsamında izole edilip yapıları aydınlatılmış olan (+)-pinoresinol, ve daha önce konu edilmiş olan (+)-epipinoresinol adlı bileşikler, lignan yapısındaki bileşiklerin *Galanthus* genusunda bulunuşlarının ilk örnekleridir. Ayrıca Amaryllidaceae familyasında, dibenzilbutan alt sınıfına ilaveten (170), furofuran alt sınıfından da lignanların var olduğu ilk kez bu araştırmada ortaya konulmaktadır.

Lignanların potansiyel olarak değişik ve önemli farmakolojik aktivitelere sahip oldukları bilinmektedir (16). Pinoresinol üzerinde yapılmış olan araştırmalar, bu bileşimin de belirgin ve terapötik olarak ümit vadeden farmakolojik aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir. Örneğın, pinoresinol'ün, antitümöral aktivitesi nedeniyle Tümör Nekroz Faktör- α (TNF- α) olarak adlandırılmış olup, daha sonra immunolojik ve inflammatuvar olaylarda etkinliği saptanmış olan sitokinın üretim ve fonksiyonunu inhibe etme özelliğine sahip olduğu, ve bu özelliğinden dolayı da antiinflamatuvar aktivite gösterdiği ileri sürölmektedir (53, 108).

Ayrıca pinoresinol'ün düşük dansiteli lipoprotein oksidasyonunu inhibe ettiği ve taşıdığı fenol grubu nedeniyle antioksidan aktivite gösterdiği de rapor edilmiştir (49, 126).

Bunun yanı sıra hematofaj bir böcek olan ve Chagas hastalığına sebebiyet veren *Rhodnius prolixus* ve *Oncopeltus fasciatus* larvalarına karşı toksik etki gösterdiği de belirtilmektedir (45, 46). Özellikle Orta ve Güney Amerika'da görölen bu parazit hastalığının kemoterapisi için yeterli ilaçların bulunmadığı, hastalığın önlenmesi için vektör böceklerle savaşmanın kemoterapi kadar önem taşıdığı dikkate alındığında, pinoresinol'ün Chagas hastalığının eradikasyonu çalışmalarındaki önemi açıkça ortaya çıkmaktadır.

Bir diğer kaynakta, pinoresinol'ün cAMP fosfodiesterazın etkili bir inhibitörü olduğu belirtilmekte, ve bu etkisiyle ilişkili olabilecek diğer bazı fizyolojik özellikleri de tanımlanmaktadır. Örneğın aynı kaynakta pinoresinol monoglikozit'in antihipertansif bir ajan olduğu rapor edilmektedir (16).

Fagraea racemosa (Loganiaceae) bitkisi üzerinde geręekleřtirilen bir araştırmada, komponentleri arasında (+)-pinoresinol'ün de bulunduğu lignan

fraksiyonunun sıçan aortasında norepinefrinle indülenen kontraksiyonlarını inhibe ettiği, ve farelerde asetik asitle indüklenen ağrı üzerinde analjezik etki yaptığı ortaya konulmuştur. İzolasyonla elde edilen (+)-pinoresinol üzerinde yapılan deneylerde, norepinefrinle indüklenen vazokonstriksiyonun inhibisyonunda diğer bazı lignanlara kıyasla daha güçlü bir etkiye sahip olduğu görülmüştür. (+)-Pinoresinol analjezik aktivite açısından da test edilmiş, ve farelerde asetik asitle indüklenen ağrıyı doza-bağımlı olarak inhibe ettiği saptanmıştır. İlâveten, bu bileşiğin kobaylarda yüzeysel ve infiltrasyon anesteziği olarak dikkate değer bir aktivite gösterdiği de belirtilmiştir (192).

Söz konusu bileşik bu çalışmamızda da, alkaloit ekstresinin brine shrimp letalite testi ile aktif olduğu saptanmış olan G₄ no lu fraksiyondan elde edilmiştir.

D. GI-4 {(+) BULBOCAPNINE}

G₆ kodlu ana fraksiyonun sütun kromatografisi uygulaması sırasında elde edilen 24-29 nolu ara fraksiyonun preparatif ince tabaka kromatografisi ile saflaştırılmasıyla elde edilen ve Dragendorff belirteci ile karakteristik alkaloit reaksiyonu veren 3.5 mg ağırlığındaki optikçe aktif bileşiğe GI-4 kodu verildi.

Bu bileşiğin 600 MHz NMR spektrometresinde dötörkloroform içinde alınan ¹H NMR spektrumunda (Spektrum 32, 33) aromatik sahada δ 6.84 ve 6.83 de herbiri birer hidrojen değerinde iki dublet (J 8.9 Hz) olarak görülen sinyaller, birbirlerine göre *orto* konumda olan iki hidrojenin bulunduğunu göstermektedir. Yine bu alanda δ 6.63 de bir hidrojen değerinde bir singlet olarak izlenen sinyal de, yapıda izole bir protonun bulunduğuna işaret etmektedir. δ 6.10 ve 5.95 de yine birer hidrojen değerindeki dubletler (J 0.9 Hz), bir metilendioksi sübstitüentinin bulunduğunu kanıtlamaktadır.

Alifatik bölgede δ 3.91 de görülen üç hidrojenlik keskin singlet, bileşikte bulunan bir diğer süstitüentin, bir aromatik metoksil grubu olduğunu göstermektedir. Bu alanda δ 3.13, 3.07, 3.02, 2.97, 2.65, 2.50 ve 2.46 da olmak üzere herbiri birer hidrojen değerinde yedi tane sinyal mevcuttur. Bu sinyallerin bölünmeleri belirgindir ve etkileşme katsayıları saptanabilmektedir. Okunabilen bu J değerlerinden sağlanan bilgilerle, etkileşme katsayıları 16.9 Hz olan δ 3.13 ve 2.65 sinyalleri ile, 13.6 Hz lik ortak J değerine sahip olan δ 3.07 ile 2.46 sinyallerinin geminal hidrojenlere ait oldukları söylenebilmektedir. Benzer bir şekilde, δ 3.02 ile 2.50 sinyallerinin 11.8 Hz olan ortak J değerleri, bu sinyallerin ait oldukları hidrojenlerin bir metilen grubu oluşturduğunu ortaya koymaktadır. Böylece, bileşikte bulunan yedi adet alifatik hidrojen altı tanesinin, üç tane metilen şeklinde gruplandırıldığı anlaşılmaktadır. δ 2.53 de görülen üç hidrojen değerindeki keskin singlet de yapıda bir *N*-Metil grubunun varlığını göstermektedir.

^{13}C APT spektrumunun (Spektrum 34) özellikle aromatik alanı, karbon sayısı konusunda kesin bilgi sağlayamamıştır. Buna karşılık, δ 43.8 ve δ 56.2 de izlenen primer karbon sinyalleri, sırasıyla *N*-Metil ve aromatik metoksil gruplarının varlığını doğrulamaktadır. δ 100.3 deki sekonder karbon sinyali metilendioksi grubuna, δ 52.9, 35.2 ve 29.7 deki sekonder karbon sinyalleri ise, ^1H NMR spektrumuna göre varlığı saptanmış olan üç tane metilen grubunun karbonlarına aittir. δ 119.3, 110.9 ve 107.7 deki aromatik tersiyer karbon sinyalleri, üç tane aromatik hidrojenin varlığını teyit etmektedir. Bu spektrumda dikkati çeken bir bulgu, bir alifatik tersiyer karbonun rezonansına ait olan δ 62.7 sinyalidir. Bu sinyal, muhtemelen ^1H NMR spektrumunda görülen yegane alifatik metin hidrojenini (δ 2.97) taşıyan karbona ait olmalıdır.

Özellikle alifatik sahada görülen hidrojenlerin etkileşmeleri hakkında daha fazla bilgi sağlamak amacıyla $^1\text{H}, ^1\text{H}$ COSY deneyine başvurulmuştur (Spektrum 35, 36). Bu spektrumunda, δ 3.02 ve 2.50 de rezonans yapan metilen grubu hidrojenleri, diğer bir geminal çifti oluşturan δ 3.13 ve 2.65 sinyalleri ile karşılıklı visinal etkileşmeler göstermektedir (Tablo 63). Bu nedenle sözkonusu dört hidrojenin bir dörtlü spin sisteminin üyeleri olduğu düşünülmüştür. Ayrıca, δ 3.02 ve 2.50 sinyallerinin, izole aromatik hidrojenle de (δ 6.63) etkileşmeleri bulunduğu için, dörtlü spin sisteminin sözkonusu izole aromatik hidrojeni taşıyan halka ile bağlantısı yapılabilmektedir. Yine bir geminal çifte ait olan δ 3.07 ve 2.46 sinyallerinin, δ 2.97 ile etkileşmeleri üçlü bir spin sisteminin varlığına işaret etmektedir. Bu metilen hidrojenlerinin δ 6.83 de sinyal veren aromatik hidrojenle etkileşmesi de ilginç bir bulgu olarak not edilmiştir.

Bileşiğin yapısını aydınlatmak amacıyla yapılan çift boyutlu NMR tekniklerinden biri olan HMQC deneyinde (Spektrum 37), $^1J_{CH}$ korelasyonlarının değerlendirilmesiyle, hidrojenlerin üzerinde yer aldıkları karbonlarla eşleştirilmesi mümkün olmuştur (Tablo 63) (Sayfa 183).

Yapı hakkında daha kesin bilgiler, yine çift boyutlu bir NMR tekniği olan HMBC deneyinin (Spektrum 38) sonuçlarının yorumlanmasıyla elde edilmiştir (Tablo 65). Bileşiğin karbon iskeletini oluşturma işlemine, birbirlerine *orto* konumda yer alan δ 6.84 ve 6.83 sinyallerinin $^3J_{CH}$ etkileşmelerinin değerlendirilmesiyle başlanmıştır. Bulgular, bu iki hidrojenin yer aldığı fenil halkasının 1,2,3,4-tetrasubstitüe olduğunu ve iki konumun (δ 148.3 ve 142.9) oksijenli süstitüentlere bağlandığını ortaya koymuştur. δ 3.91 de izlenen metoksil hidrojenlerinin $^3J_{CH}$ korelasyonu, bu grubun δ 148.3 de rezonans yapan karbona bağlı olduğunu göstermiştir. δ 142.9 da sinyal veren karbonun

üzerinde fenolik bir hidroksil grubunun bulunabileceği öngörülmüştür. Böylece fenil halkası üzerinde yer alan tüm karbonların kimyasal kayma değerleri yerleştirilebilmiştir. Bu halkanın molekülün diğer komponentlerine bağlantısını sağlayan korelasyon, δ 6.83 (H-8) sinyali ile, üçlü spin sisteminin metilen grubunu taşıyan karbon (δ 35.2) arasındaki üç bağ aracılığıyla etkileşmedir.

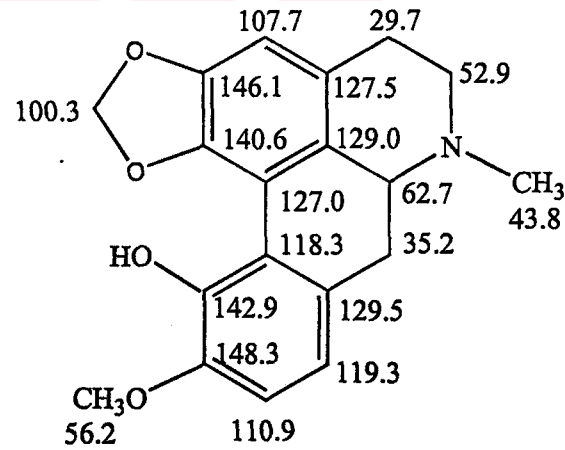
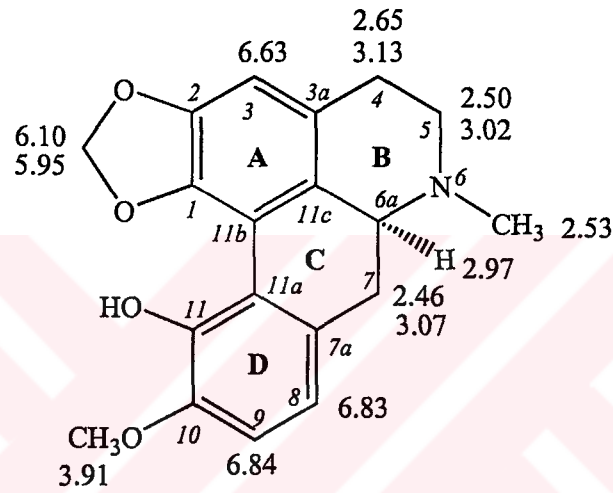
Diğer bir aromatik hidrojen olan δ 6.63 (H-3) sinyalinin de, metilendioksi grubunun bağlandığı δ 140.6 (C-1) karbonu ile üç bağ ve 146.1 (C-2) karbonu ile iki bağ aracılığıyla etkileştiği görülmektedir. Bu sinyal ayrıca δ 29.7 (C-4) ve 129.0 (C-11c) da rezonans yapan karbonlarla da üç bağ aracılığı ile etkileşmektedir. δ 29.7 da sinyal veren karbon, dörtlü spin sisteminin üyesi olan δ 3.13 ve 2.65 hidrojenlerini taşımaktadır. Böylece, metilendioksi süstituentini taşıyan halkanın etilen grubu ile bağlantısı yapılabilmektedir.

Buraya kadar elde edilen bilgilerle oluşturulmuş olan parçacıkları birleştirmek için *N*-Metil grubu hidrojenlerinin (δ 2.53) $^3J_{CH}$ korelasyonlarından yararlanılmıştır. Bu sinyal, hem dörtlü spin sistemine ait diğer metilen karbonu (C-5)(δ 52.9) ile, ve hem de üçlü spin sisteminin metin üyesini oluşturan karbonla (C-6a)(δ 62.7) üç bağ aracılığı ile etkileşmektedir. Böylece alifatik sistemlerin hem birbirlerine, ve hem de bulunan iki fenil halkalarına bağlantıları sağlanmıştır.

Elde edilen bu veriler, GI-4 bileşiğinin izokinolin alkaloidlerinin bir alt grubu olan aporfin iskeleti taşıdığına işaret etmektedir. Böyle olduğu takdirde, $C_{19}H_{19}NO_4$ kapalı formülüne sahip olması gereken bileşik için hesaplanan molekül ağırlığı 325 dir. Gerçekten de bileşiğin EI kütle spektrumunda (Spektrum 30) m/z 325 de görülen

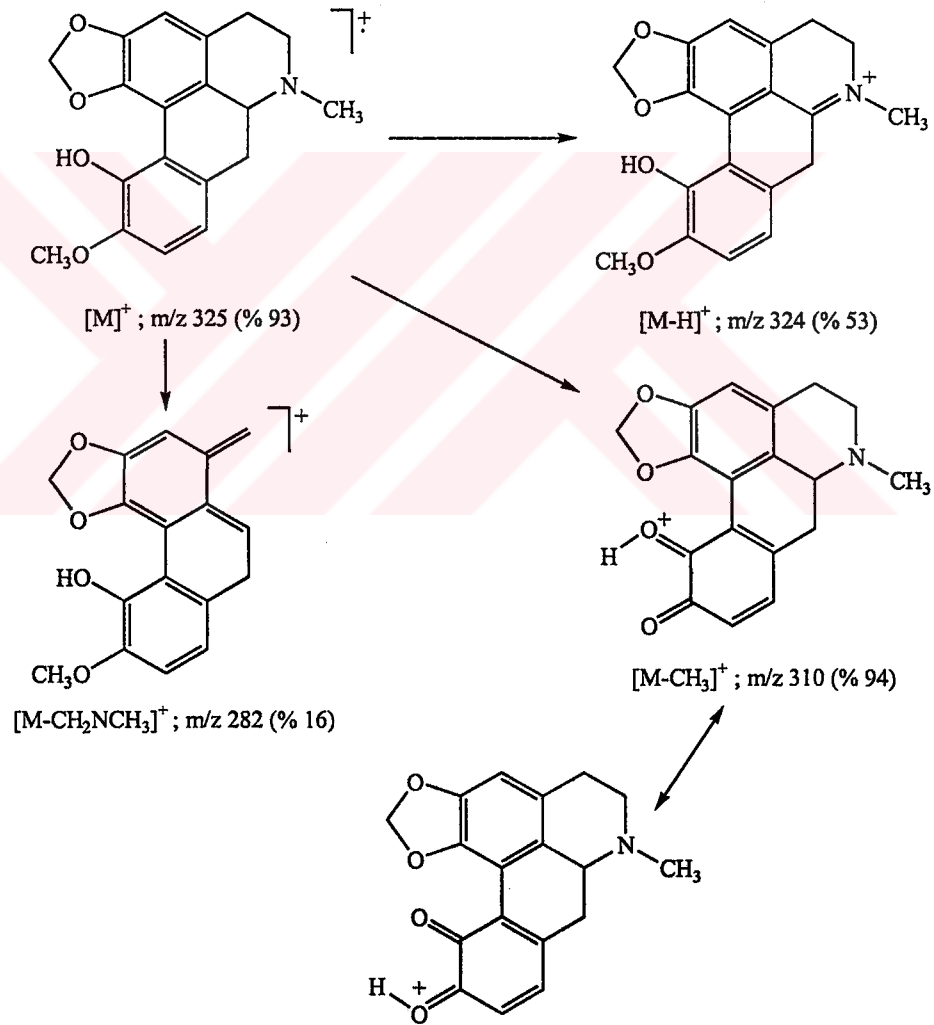
Spektroskopik analizlerden elde edilen bulguların değerlendirilmesiyle yazılan açık kimyasal formül, 11-hidroksi-1,2-metilendioksi-10-metoksiaporfin yapısına işaret etmektedir. Literatür araştırmaları, bu bileşiğin bulbocapnine adı ile bilinen ve izokinolin alkaloitlerinin aporfin alt sınıfından bir alkaloit olduğunu ortaya koymuştur.

(+)-Bulbocapnine'in açık kimyasal formülü ile ^1H ve ^{13}C NMR kimyasal kayma değerleri aşağıda sunulmaktadır.



Tarafımızdan saptanan tüm spektral bulgular, literatürle uyum içerisindedir ve önerilen yapıyı tamamen desteklemektedir (17, 120, 191, 220, 227). Örneğin, EI kütle

spektrumunda $[M-H]^+$ pikinin % 53 lük bir bağıl bolluğa sahip olması, bileşiğin 1,2,10,11-sübstitüsyona sahip olduğunun bir göstergesidir (220). Zira alternatif 1,2,9,10-sübstitüsyon durumunda $[M-H]^+$ piki genellikle baz tepedir. Ayrıca EI kütle spektrumundaki parçalanmalar, yine sözkonusu sübstitüsyonu doğrulamaktadır (Şema 2) (191, 220). Bir metoksil kaybı ile oluşan iyondaki rezonans stabilizasyonu, $[M-15]^+$ pikinin % 93 gibi yüksek bir bağıl bollukta görülmesine neden olmaktadır.



Şema 2. (+)-Bulbocapnine'in EI Kütle Parçalanma Şeması

GI-4 bileşiği için önerilen yapıyı doğrulayan bir başka veri, UV spektroskopisinde okunan absorpsiyon maksimumlarıdır. UV maksimum absorpsiyon değerleri, aporfinlerin yapılarının aydınlatılmasında bilgi vericidir. Örneğin bileşiğimizde olduğu üzere C-1,2,10,11 sübstitüsyon durumunda, 220, 270 ve 305 nm lere olmak üzere üç tane karakteristik absorpsiyon bulunması gerekmektedir (220). Gerçekten de bileşiğimizin metanol içerisinde alınan UV spektrumunda okunan λ_{maks} değerleri 224, 269 ve 307 nm dedir (Spektrum 28).

Aporfin alkaloitlerinde optik çevirmenin, absolut konfigürasyon için sağlam bir kriter oluşturduğu saptanmıştır. Dekstrojir aporfinlerde C-6a daki absolut konfigürasyon (S), levojir olanlarda ise (R) dır (221). Buna göre, optik çevirmesi + 21.9⁰ olan bileşiğimizin absolut konfigürasyonunun yukarıdaki formülde gösterildiği üzere 6a-S, diğer bir ifadeyle, 6a-konumundaki hidrojenin α -yönlenmeli olduğu belirlenmektedir.

Literatürde bulbocapnine için bulduğumuz ilk kayıt 1892 yılına aittir. Freund ve arkadaşları *Corydalis liscava* (tuberosa) bitkisinden elde ettikleri alkaloidal bileşiğe bulbocapnine adını vermişlerdir (132). "Dictionary of Organic Compounds" adlı kitapta da *Bulbocapnos cavus* bitkisinden izole edildiği yazılıdır. Bu bitkilerden başka yine çeşitli *Corydalis*, *Glaucium*, *Cassyta*, *Laurus*, *Lindera* (104-106), *Hypecoum* (193) türlerinden ve *Dicentra canadensis* (132) bitkisinden izole edildiğine dair bilgiler de mevcuttur.

Bulbocapnine'in apomorfin ve amfetaminin etkilerini antagonize ettiği, merkezi sinir sistemini baskılayıp, farelerde katalepsi meydana getirdiği belirtilmektedir (57). Rios tarafından yapılmış olan bir derleme makalesinde, bulbocapnine için adrenolitik, antimikrobiyal, katatonik, CNS depresanı, kompetitif dopaminerjik antagonist ve dopaminerjik agonist etki, DA₁ antagonisti, beyindeki ATP ve triptofan seviyesini

arttırıcı, laşiviral ve tükürük salgısını arttırıcı etkiler belirtilmiştir (1, 210). Aynı literatürde bulbocapnine'in bütirikolinesterazı, şartlı refleksleri, dihidropteridin redüktazı, dopamin'e duyarlı adenilat siklazı, tirozin hidroksilazı ve testosteron tarafından indüklenen Δ^5 -3-kosteroid izomerazı inhibe ettiği de yer almaktadır. Bunun dışında monosinaptik refleks depresanı, nöroleptik, parasempatolitik, parasempatomimetik, sedatif, sempatomimetik etkili olduğu da belirtilmektedir.

Söz konusu bileşik bu çalışmamızda da alkaloit ekstresinin brine-shrimp letalite testi ile aktif olduğu saptanmış olan G₆ nolu fraksiyondan elde edilmiştir.

E. GI-5 {(-)-LYCORINE}

G₁₄ kodlu ana fraksiyondan amorf halde elde edilen ve Dragendorff belirtecine olumlu yanıt veren 312 mg ağırlığındaki optikçe aktif olan bileşiğe GI-5 kodu verilmiştir.

Olağan NMR çözücülerinde çözünürlüğü çok az olan bileşiğin ¹H NMR spektrumu, dötörometanol-dötöresetikasit (3:1) çözücü karışımı içinde alınmıştır.

¹H NMR spektrumunun (Spektrum 42) aşağı alanında görülen iki singletin (δ 6.98 ve 6.82) iki tane aromatik protona, δ 5.970 ve 5.967 daki iki singletin bir metilendioksi grubunun hidrojenlerine ve δ 5.78 de geniş singlet şeklinde görülen sinyalin de bir olefinik protona ait olduğu düşünülmüştür. Alifatik sahada δ 4.50 ve 4.22 de izlenen iki dubletin (J 14 Hz) gerek kimyasal kayma ve gerekse etkileşme değerleri, bu sinyallerin muhtemelen bir heteroatoma komşu olması nedeniyle aşağı alana kaymış bir izole metilen grubunun hidrojenlerine ait olduklarına işaret etmektedir.

δ 4.58 de singlet ve δ 4.25 deki multipler olarak görülen iki sinyal de, yine bir heteroatoma yakınlıkları nedeniyle oldukça aşağı alanda sinyal veren iki hidrojene ait olmalıdır. Alifatik alanda göze çarpan diğer iki sinyal, δ 3.96 ve 2.99 da izlenen ve etkileşme katsayıları 11.5 Hz olan iki dublettir. Bunların dışında δ 3.78 ve 3.52 birer, ve δ 2.94-2.75 civarında ise iki hidrojene ait olan üç tane multipler görülmektedir. Metoksil ve *N*-metil gruplarına ait sinyaller mevcut değildir.

GI-5 in IR spektrumundan (Spektrum 41) elde edilen bulgular, bileşikte bir karbonil grubunun bulunmadığını göstermektedir. Buna karşılık, bir C=C gerilme titreşiminden kaynaklandığı düşünülen 1621 cm^{-1} , ve O-H gerilmesinden kaynaklanan 3334 cm^{-1} deki karakteristik absorpsiyonlar, bileşikte olefinik bir grupla, hidroksil fonksiyonlarının varlıklarını doğrulamaktadır.

IR ve ^1H NMR verilerinden elde edilen bulgular, bilinen Amaryllidaceae alkaloidlerinin genel yapıları ışığında değerlendirildiğinde, bu bileşiğin crinine, lycorine veya montanine alt gruplarından birine ait olabileceği, ancak bileşimizde sadece bir tane olefinik hidrojenin bulunması nedeniyle, lycorine ve montanine grupları açısından ön değerlendirmeye alınmasının daha uygun olacağı düşünülmüştür. Bu amaçla bu iki grubun alifatik hidrojenlerinin nitelikleri ve kimyasal kayma değerleri karşılaştırılmıştır. ^1H NMR değerleri açısından oldukça benzer özellikler gösterdikleri saptanan bu iki grup arasındaki en belirgin fark, lycorine serisinde iki tane *trans*-visinal metin hidrojenin bulunmasına karşılık, montanine grubunda tek bir metin hidrojenin bulunmasıdır. Bileşimizin ^1H NMR spektrumunda δ 3.96 ve 2.99 daki dubletlerin 11.5 Hz olan etkileşme katsayıları, bu sinyallerin *trans*-visinal konumdaki metin

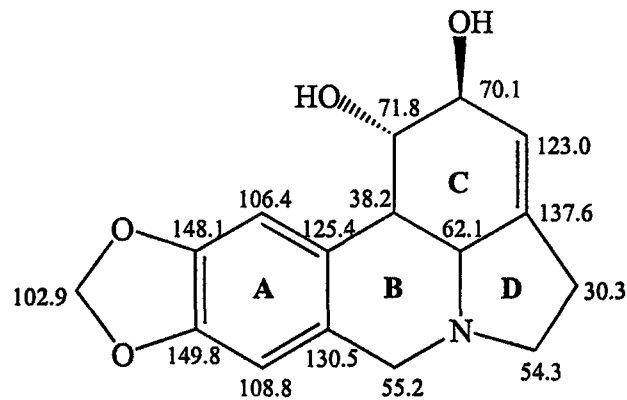
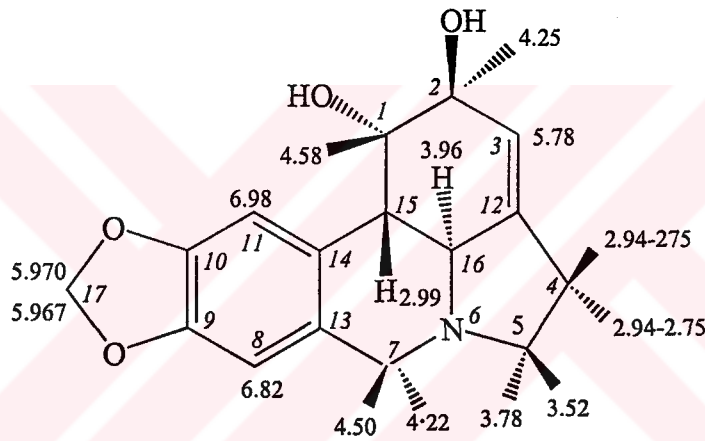
hidrojenlerine ait olduklarını göstermektedir. Bu bulguya göre GI-5 bileşiğinin, lycorine alt grubundan bir alkaloid olduğu ortaya çıkmıştır.

Bileşiğin ^{13}C APT NMR (Spektrum 43) spektrumunun değerlendirilmesi sonucunda onaltı adet karbonun varlığı görülmüştür. Bu karbonlardan beş tanesi katerner, yedi tanesi metin ve dört tanesi metilen karbonlarına aittir. Bu bulgular, A halkası üzerinde C-9,10 da metilendioksi süstitüsüyonu, $\Delta^3(12)$ doymamışlık ve C-1 ve C-2 konumlarında oksijenli fonksiyonlar taşıyan bir lycorine çekirdeği ile uyumludur. Örneğin, δ 102.9 da sekonder karbon sinyali, metilendioksi grubuna aittir. δ 149.8 ve 148.1 de rezonans yapan katerner karbonların kimyasal kayma değerleri, metilendioksi grubuna α -konumda olan C-9 ve C-10 için uygun bulgulardır. δ 106.4 ve 108.8 de görülen sinyaller ise, A-halkasında yer alan C-8 ve C-11 no lu karbonlara aittir. δ 137.6 ve δ 123.0 de izlenen sinyaller, sırasıyla katerner C-12 ve tersiyer C-3 karbonlarına aittir ve moleküldeki olefinik bağın varlığını kanıtlayan bulgulardır. δ 71.8 ve 70.1 sinyalleri, oksijenli fonksiyonlar taşıyan C-1 ve C-2, δ 62.1 sinyali ise 6-konumundaki azota α -konumda olan C-16 için uygun değerlerdir (**81, 152, 230**). 38.2 de izlenen ve tersiyer bir karbona ait olan sinyal, C-15 için literatürde rapor edilen değerle aynıdır. ^{13}C NMR spektrumunda δ 55.2 (C-7), 54.3 (C-5) ve 30.3 (C-4) da izlenen üç sinyal, sırasıyla C-7, C-5 ve C-4 de yer alan üç tane alifatik metilen karbonuna aittir.

Yukarıdaki veriler, GI-5 bileşiğinin, A-halkası üzerinde bir metilendioksi, C-1 ve C-2 konumlarında da iki tane hidroksil fonksiyonu taşıyan lycorine alt sınıfından bir alkaloid olduğunu ortaya koymuştur. Yapılan literatür araştırmaları, bu bileşiğin fiziksel özellikleri ve spektral değerlerinin (UV, IR ve 1D NMR bulguları) lycorine adlı

alkaloide ait değerlerle tamamen uyum içerisinde olduğunu göstermiştir (81, 92, 121, 152, 184, 230).

GI-5 kodlu bileşik, *Galanthus* türü de dahil olmak üzere (33, 35, 36, 153) Amaryllidaceae familyasının çok sayıda gen­usuna ait muhtelif türlerde (116) daha önce varlığı saptanmış olup, aşağıda açık kimyasal formülü verilen lycorine'dir. Hidrojen ve karbonlara ait kimyasal kayma değerleri, literatüre göre yerleştirilmiştir (81, 121, 152, 230).



Lycorine'in *G. nivalis* subsp. *cilicicus* bitkisinde bulunuşu ilk kez bu araştırmada rapor edilmektedir.

Lycorine, *Galanthus nivalis* subsp. *cilicicus* bitkisinin alkaloit ekstresinin brine-shrimp letalite testi ile aktif olduğu saptanmış olan G₁₄ no lu fraksiyonun ana alkaloidini oluşturmaktadır. Lycorine'in DNA'ya bağlanma aktivitesi taşıdığı (214), hücre bölünmesini ve büyümeyi çok güçlü bir şekilde inhibe ettiği (81, 115) ve belirgin sitotoksik aktivitesi olduğu (184, 250) literatürde kayıtlıdır. Bu nedenle, G₁₄ no lu fraksiyonda izlenen aktivitenin, fraksiyonun majör komponenti olan lycorine'den kaynaklandığı düşünülebilir.

Antiviral aktiviteye sahip olduğu da (121) rapor edilmiş olan lycorine'in antiparazitik aktivitesi de araştırılmıştır. Bu araştırmalarda *Entamoeba histolytica*'ya karşı aktivite gösterdiği, buna karşılık *Tripanosoma cruzii* ve *Leishmania donovani*'ye etkili olmadığı rapor edilmiştir (250). Antimalaryal aktivite açısından *Plasmodium falciparum*'a karşı test edilmiş, bazı araştırmalara göre aktif olmadığı, diğer bazı araştırmalara göre ise orta derecede bir aktivite gösterdiği belirtilmiştir (250).

F. GI-6 {(+)-11-HYDROXYVITTATINE}

G₂₁ kodlu ana fraksiyondan amorf halde elde edilen ve Dragendorff belirteciye olumlu yanıt veren 7.8 mg ağırlığındaki optikçe aktif olan bileşiğe GI-6 kodu verilmiştir.

Bileşiğin 300 MHz NMR spektrometresinde ve dötörometanol içinde alınan ¹H NMR spektrumunda (Spektrum 44) toplam onbeş protona ait sinyal görülmektedir. Aromatik sahada, iki aromatik protona ait iki singlet (δ 6.92 ve 6.54), etkileşme

katsayıları 10.1 Hz olan ve iki olefinik hidrojene ait olduğu düşünülen iki dublet (δ 6.41 ve 6.17) ve bir metilendioksi grubunun varlığına işaret eden iki protonluk bir singlet (δ 5.87) bulunmaktadır.

Aynı spektrumun alifatik alanında görülen ve herbiri birer hidrojen değerinde olan dokuz tane sinyalin hemen hemen tümü, rezolüsyonu iyi olan multipler halinde bölünmüşlerdir (Spektrum 45, 46). Sözkonusu sinyallerden yedi tanesinin kimyasal kayma değerleri (δ 4.29, 4.27, 3.95, 3.76, 3.43, 3.41 ve 3.12) oldukça aşağı alandadır. Bu nedenle, ait oldukları hidrojenlerin bir heteroatoma α -konumda olabilecekleri düşünülmüştür. Metoksil ve *N*-metil grubuna ait sinyaller mevcut değildir.

^1H NMR verilerinden elde edilen bu ön bulgular bilinen Amaryllidaceae alkaloidlerinin genel yapıları ışığında değerlendirildiğinde, GI-6 kodlu bileşiğin crinine, lycorine ya da montanine alt gruplarından birine ait olabileceği, ancak bileşimizde iki tane olefinik hidrojenin bulunmasından dolayı, crinine çekirdeğine sahip olmasının daha büyük bir olasılık olduğu düşünülmüştür.

Bileşiğin ^{13}C APT NMR spektrumunda (Spektrum 47) onaltı adet karbonun varlığı görülmüştür. Bu karbonlardan beş tanesi katerner, yedi tanesi metin, dört tanesi metilen karbonlarına aittir.

Bu bulgular, A halkası üzerinde C-8,9 da metilendioksi süstitüsüyonu, $\Delta 1(2)$ doymamışlık ve C-3 konumunda oksijenli bir fonksiyon taşıyan crinine çekirdeği için uygundur. Örneğin δ 102.2 sekonder karbon sinyali, metilendioksi grubuna aittir. δ 148.2 ve 147.7 de rezonans yapan katerner karbonların kimyasal kayma değerleri, metilendioksi grubuna α -konumda olan C-9 ve C-8 için uygun bulgulardır. δ 107.8 ve 104.3 de görülen sinyaller ise, A halkasında yer alan C-7 ve C-10 no lu karbonlara aittir.

Yine ^{13}C NMR spektrumunda δ 128.0 (C-1) ve 132.9 (C-2) da izlenen ve iki tersiyer karbona ait olan sinyaller, bileşikteki varlığı ^1H NMR spektral bulgularıyla saptanmış olan olefinik bağı kanıtlamaktadır. Bu karbonların crinine çekirdeği için karakteristik olduğu üzere C-1,2 konumlarında yer aldığı düşünülmüştür. δ 81.0, 64.7 ve 63.7 de izlenen sinyaller tersiyer karbonlara, δ 63.8, 61.7 ve 33.1 sinyalleri ise sekonder karbonlara aittir. Literatür verileriyle karşılaştırıldığında, bu değerlerin δ 81.0 rezonansı (C-11) dışındaki beş tanesinin, 3-konumunda bir hidroksil sübstitüsü bulunan crinine halkası için uygun olduğu ve sırasıyla C-3, C-4a, C-12, C-6 ve C-4 karbonlarına ait olduğu görülmektedir (199). Ancak C-11 konumu nonsüstitüe olduğu takdirde yaklaşık δ 44 de bir triplet şeklinde izlenmesi gereken bir sinyalin mevcut olmaması, buna karşılık δ 81.0 gibi oldukça aşağı alanda bir tersiyer karbona ait sinyal bulunması, C-11 konumunda muhtemelen oksijenli bir sübstitüsyonun varlığına işaret etmektedir. Bu öneriyi destekleyen bir husus, sözkonusu karbona göre α -konumda bulunan C-10b karbonuna ait kimyasal kayma değerinin de aşağı alana kayarak, δ 51.4 de çıkmış olmasıdır.

Yukarıdaki veriler GI-6 bileşiğinin, Amaryllidaceae alkaloidlerinin crinine alt sınıfından olan ve C-1,2 arasında doymamışlık, C-3 ve C-11 konumunda hidroksil fonksiyonları taşıyan bir alkaloid olduğunu göstermektedir. Ancak bileşiğin adının konulabilmesi için gerekli olan bir husus, 3-konumundaki konfigürasyonun saptanmasıdır. Zira 11-hydroxyvittatine ve bulbispermine adlı alkaloidler aynı kimyasal yapıya sahip olup, sadece 3-konumundaki hidroksil grubunun uzaysal yönlenmesiyle birbirinden farklılık gösterirler. 11-Hydroxyvittatine'de aksiyal yönlenmeli ve halka düzleminin üstünde olan hidroksil grubu, bulbispermine'de ekvatoryel yönlenmeli ve

halka düzleminin altındadır. Bu iki stereoizomerin tanımlanmalarında C-1, C-2, C-3 ve C-4a daki ^{13}C NMR kimyasal kayma değerlerinin 2.7-4.2 ppm kadar farklılık gösterdiği ileri sürülmüştür (189).

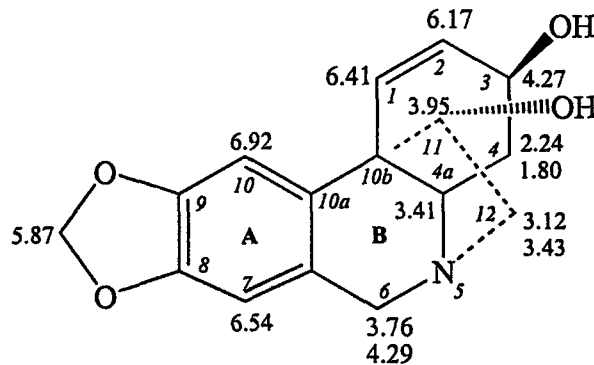
Bir diğer ayırma kriteri optik çevirmenin sayısal değeridir. Zira C-3 konumundaki epimerizasyonun yaklaşık 100° lik bir optik çevirme farkına neden olduğu saptanmıştır. 11-Hydroxyvittatine'de olduğu üzere 3β -hidroksil taşıyan epimerlerde optik çevirmenin sayısal mertebesi $+10^\circ$ ila $+15^\circ$ arasında iken, epi türevler olarak tanımlanan 3α -hidroksilli türevlerde yaklaşık 100° daha fazladır. Örneğin 11-Hydroxyvittatine için $+12^\circ$ olan bu değer, bulbispermine için $+106.7^\circ$ olarak saptanmıştır (8, 80). GI-6 kodlu bileşiğimizin metanol içerisinde ölçülen optik çevirmesinin $+12^\circ$ olduğu saptanmıştır. Bu bulgu, 3-konumundaki konfigürasyonun (S) olduğunun ve 3-hidroksil grubunun uzaysal yönelmesinin halka düzleminin önünde olduğunun kanıtını oluşturmaktadır.

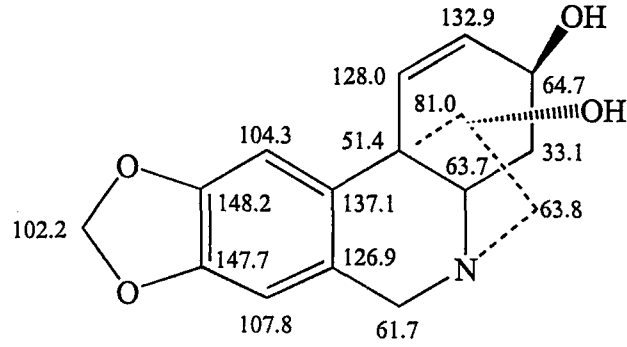
Yapılan literatür araştırmaları da, bu bileşiğin spektral değerlerinin (1D NMR bulguları) 11-hydroxyvittatine adlı alkaloidde ait değerlerle uyum içinde olduğunu ortaya koymaktadır (135, 152, 189, 194, 199). Ancak birbirine çok yakın kimyasal kayma değerlerine sahip olan H-4a ve H-12 nin sayısal değerlerinin literatüre uygun olarak yerleştirilmesi esnasında, bu hususta farklı araştırmacıların farklı görüşlerde oldukları görülmüştür. Bazı çalışmalarda H-12, H-4a ya göre daha aşağı alanda (189, 199), diğer bazılarında ise H-4a daha aşağı alandadır (135, 194). Bu nedenle, GI-6 Kodlu bileşiğimizin ^1H NMR spektrumunda δ 3.46-3.37 arasında entegrasyonu iki hidrojene eşdeğer olarak görülen sinyal kümesinin bölünmeleri ve etkileşme değişmezleri ayrıntılı olarak değerlendirilmiş, ve δ 3.43 ve δ 3.41 de rezonans yapan iki tane dublet-dublet

tarafından oluşturulduğu görülmüştür. Bu sinyallerden hangisinin H-4a ve hangisinin H-12 olduğunu belirlemek için ise komşu hidrojenlerle etkileşmeleri irdelenmiştir.

H-12 metilen ve H-11 metin hidrojenleri izole bir üçlü-spin sistemi oluşturmaktadır. Buna göre 12-konumundaki metilen hidrojenlerinin birbirleriyle geminal, H-11 ile visinal etkileşme sergilemeleri beklenecektir. H-11 in (δ 3.95) visinal etkileşme katsayıları 7.0 ve 3.3 Hz dir. Bu değerlerin karşılıkları δ 3.12 (3.4 Hz) ve 3.43 (7.3 Hz) sinyallerinde bulunmaktadır. Söz konusu iki hidrojenin birbirleriyle olan geminal etkileşmeleri sırasıyla 13.8 ve 13.7 Hz dir. Böylece kümeyi oluşturan iki sinyalden daha aşağı alanda olanın H-12 hidrojeninin rezonansı olduğu ortaya çıkmaktadır. Ancak bu bulgunun doğrulanması için H-4a sinyali de ayrıntılı olarak yorumlanmıştır. Bir dublet-dublet olarak bölünmüş olan H-4a (δ 3.41) nın 13.1 Hz lik bölünmesi H-4 α (δ 2.24) ile trans-vinilik konumunda olduğuna işaret etmektedir.

Aşağıda açık kimyasal formülü verilmiş olan 11-hydroxyvittatine'in hidrojen ve karbonlarına ait kimyasal kayma değerleri, literatürden yararlanmak suretiyle yerleştirilmiştir (135, 152, 189, 194, 199).





11-hydroxyvittatine daha önce Amaryllidaceae familyasının *Rhodophiala* (276), *Sternbergia* (2, 80, 194), *Hippeastrum* (189, 199, 208), *Pancreatum* (4, 246) genuslarına ait muhtelif türlerinden ve *Galanthus elwesii*'den rapor edilmiş bulunmaktadır (152). *Galanthus nivalis* subsp. *cilicicus* bitkisinde bulunuşu ise ilk kez bu araştırmada rapor edilmektedir.

11-Hydroxyvittatine'in sahip olduğu 5,10b-etanofenantridin çekirdeğinden dolayı potansiyel biyolojik aktiviteye sahip olduğu rapor edilmiştir (250). Söz konusu bileşiğin çalışmamızda da, alkaloit ekstresinin brine shrimp letalite testi ile aktif olduğu saptanmış olan G₂₁ no lu fraksiyonundan elde edilmiş olması, söz konusu öneriyi desteklemektedir.

G. GI-7 {(+)-VITTATINE}

G₂₁ kodlu ana fraksiyondan amorf halde elde edilen ve Dragendorff belirtecine olumlu yanıt veren 2.9 mg ağırlığındaki optikçe aktif olan bileşiğe GI-7 kodu verilmiştir.

Bileşğin 300 MHz NMR spektrometresinde ve dötörkloroform içinde alınan ^1H NMR spektrumunda (Spektrum 48), toplam onaltı protona ait sinyal görülmektedir. Aromatik sahada, singlet olarak görülen iki aromatik protona (δ 6.84 ve 6.48) ilaveten, etkileşme katsayıları 10 Hz olan iki olefinik protona (δ 6.57 ve 5.96) ve yaklaşık 1.4 Hz lik etkileşme katsayısı ile bölünen birer proton değerinde iki dublet şeklinde görülen bir metilendioksi grubu hidrojenlerine ait sinyaller (δ 5.90 ve 5.89) izlenmektedir.

Alifatik alanda (Spektrum 49, 50) δ 4.41, 4.34, 3.78, 2.91, 2.18, 2.02, 1.93 ve 1.74 de görülen sinyallerin herbiri birer hidrojen, δ 3.41 de görülen sinyal ise iki hidrojen değerindedir. Bunlardan δ 4.41, 4.34, 3.78, 3.41 ve 2.91 sinyallerinin kimyasal kayma değerlerinin oldukça aşağı alanda olması, ait oldukları hidrojenlerin bir heteroatoma α -konumda olabileceklerini düşündürmektedir. Alifatik alanda görülen bu sinyallerin bazıları rezolüsyonu iyi multipler halindedir. Örneğin J değerlerinden yararlanılarak, δ 4.41 ve 3.78 ile δ 2.02 ve 1.74 hidrojenlerinin geminal çiftler oluşturduğu söylenebilmektedir. Ancak δ 2.91 ve 2.18 gibi belirgin bir şekilde dublet-dublet olarak bölünmüş olan sinyallere ait frekans değerlerinin okunmamış olması nedeniyle, bunlara ait sağlıklı etkileşme katsayısı değerleri elde edilememiştir. Dolayısıyla sözkonusu sinyallerin bölünmeleri multipler olarak rapor edilmiştir. Metoksil ve *N*-metil grubuna ait sinyaller mevcut değildir.

Bileşğin ^{13}C APT NMR spektrumunun (Spektrum 51, 52) değerlendirilmesi sonucunda onaltı adet karbonun varlığı görülmüştür. Bu karbonlardan beş tanesi katerner, altı tanesi metin, beş tanesi metilen karbonlarına aittir.

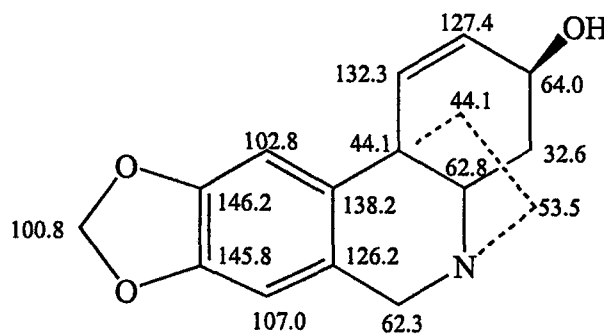
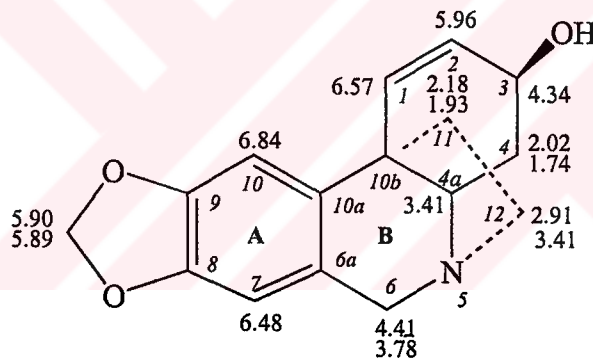
Bu aşamada elde edilmiş olan spektral veriler, GI-7 nin crinine alt grubundan olabileceğini düşündürmüştür. Zira, ^1H NMR bulguları daha önce konu edilmiş olan 11-

hidroksivittatine ile oldukça benzer niteliktedir. Ancak, 11-hydroxyvittatine'de bulunan ve H-11 e ait olan δ 3.95 civarındaki sinyalin bulunmayışı, buna karşılık aynı konumda kimyasal kayma değerleri daha yüksek alanda çıkan bir metilen grubunun (δ 2.18 ve 1.93) yer alması, en belirgin farklılığı oluşturmaktadır.

Bileşiğe ait ^{13}C NMR verileri de, A halkası üzerinde C-8,9 da bir metilendioksi sübstitüsyonu, Δ 1(2) doymamışlık ve C-3 konumunda oksijenli bir fonksiyon taşıyan crinine çekirdeği için uygundur. Örneğin δ 100.8 sekonder karbon sinyali, metilendioksi grubuna aittir. δ 146.2 ve 145.8 de rezonans yapan katerner karbonların kimyasal kayma değerleri, metilendioksi grubuna α -konumda olan C-9 ve C-8 için uygun değerlerdir. δ 102.8 ve 107.0 da görülen sinyaller ise, A halkasında yer alan, sırasıyla C-10 ve C-7 nolu karbonlara aittir. δ 132.3 (C-1) ve 127.4 (C-2) de izlenen ve tersiyer karbonlara ait olan sinyaller, bileşikteki olefinik bağın varlığını kanıtlayan bulgulardır. δ 63.9 sinyali, oksijenli fonksiyon taşıyan C-3, δ 62.3, 62.8 ve 53.5 sinyalleri ise, sırasıyla azota α -konumda olan C-6, C-4a ve C-12 için uygun değerlerdir (89, 189, 246). 11-Hydroxyvittatine'in hidroksil fonksiyonu taşıyan 11 no lu karbonun δ 81.0 de rezonans yapmasına karşılık, GI-7 bileşiğinde aynı konuma ait sinyalin bir sekonder karbona ait olduğu ve δ 44.1 de sinyal verdiği görülmektedir. GI-7 nin ^{13}C NMR spektrumunda en yukarı alanda yer alan δ 32.6 sinyali C-4 e aittir. 11-Hydroxyvittatine'de de bu değer δ 33.1 olduğu görülmektedir.

Yukarıdaki veriler, GI-7 bileşiğinin, C-1 ve C-2 arasında doymamışlık olan 3-konumunda hidroksil fonksiyonu taşıyan crinine alt sınıfından bir alkaloid yapısına sahip olup, 11-hydroxyvittatine adlı bileşiğin C-11 de alkol fonksiyonu taşımayan analogu olduğuna işaret etmektedir. Yapılan literatür araştırmaları da, bu bileşiğin

fiziksel özelliği ve spektral değerlerinin vittatine adlı alkaloidde ait değerlere uygun olduğunu göstermiştir (31, 32, 89, 136, 137, 189, 194, 246). GI-7 bileşiğinin + 26° olarak ölçülen optik çevirmesi, 3-konumundaki hidroksil grubunun konfigürasyonunun, (+)-11-hydroxyvittatine'de de olduğu üzere, β olduğuna işaret etmektedir. Zira (+)-crinane serisinde, 3 β -OH taşıyan türevlerin oldukça küçük pozitif rotasyon değerleri verdiği, buna karşılık 3 α -OH taşıyan türevlerin optik çevirmelerinin yaklaşık 100° daha fazla olduğu bilinmektedir (8). (+)-Vittatine'nin açık kimyasal formülü aşağıda verilmektedir. Hidrojen ve karbonlara ait kimyasal kayma değerleri, literatüre uygun olarak yerleştirilmiştir (89, 136, 137, 189, 194, 246).



(+)-Vittatine ilk olarak *Hippeastrum vittatum* bitkisinden 1956 yılında Hans-G. Boit tarafından izole edilmiştir. Bu bileşik crinidine adıyla da bilinen (-)-crinine'nin enantiomeridir (31, 32).

Vittatine'in varlığı daha önce, Amaryllidaceae familyasının *Hippeastrum* (19, 32, 79, 189, 208), *Nerine* (31), *Pancreatum* (6, 31, 212, 246), *Rodophiala* (276), *Crinum* (28), *Hymenocallis* (136, 170), *Lycoris* (137), *Narcissus* (20, 147), *Sternbergia* (194), *Zephyranthes* (112) genuslarına ait muhtelif türlerde rapor edilmiş bulunmaktadır. Buna karşılık, bir *Galanthus* türünde bulunuşuna dair bir kayda rastlanmamıştır. Buna göre, (+)-vittatine'in *Galanthus* genusunda ve *G. nivalis* subsp. *cilicicus* türünde bulunuşu, ilk kez bu araştırmada rapor edilmektedir.

Vittatine'in taşıdığı 5,10b-etanofenantridin çekirdeğinden dolayı potansiyel biyolojik aktiviteye sahip olduğu rapor edilmiştir (47, 250). Ayrıca analjezik etkisi ve köpekler üzerinde taşikardik etkisi (21, 92) kanıtlanmıştır.

(+)-Vittatine bu çalışmamızda da alkaloit ekstresinin brine shrimp letalite testi ile aktif olduğu saptanmış olan G₂₁ no lu fraksiyonundan elde edilmiştir.

SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Araştırmamızın ilk aşamasında, Türkiye’de yabani olarak yetişen *Galanthus* türlerinden biri olan *Galanthus nivalis* subsp. *cilicicus* bitkisinin tayininde yardımcı olması amacıyla, kök, gövde, yaprak, meyva, tohum ve çiçeğe ait anatomik karakterler belirlenmiştir. Ayrıca, Herba vya Bulbus Galanthi droglarına ait ileride hazırlanabilecek monografilerin yazılmasına yardımcı olmak üzere, toz drog örnekleri üzerinde mikroskobik incelemeler yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar, Türkiye’de yetişen *Galanthus* türleri üzerinde benzer çalışmalar yapılmasının, ve bu araştırmaların sonuçlarının kıyaslanmasının amaçlanan hedefler doğrultusundaki önemini ortaya koymaktadır.

Çalışmamızın ikinci aşamasında, *G. nivalis* subsp. *cilicicus* bitkisinin, Herba ve Bulbus Galanthi drogları için kaynak bitki olarak belirlenmesi halinde, bu droglar için hazırlanacak monografilerde yararlanılabilecek teşhis ve kalite kontrol deneylerine yönelik bazı araştırmalar gerçekleştirilmiştir. Bunların sonuçlarına göre:

1. Gravimetrik esaslı yabancı madde tayini deneyi (çok temiz bir drog hazırladığımız için tarafımızdan uygulanmamış olan) ile nem ve total kül miktar tayini deneylerine, DAB 10 da bu tayinler için mevcut yöntemler esas alınarak mutlaka yer

verilmelidir. Bu takdirde nem ve total kül tayinlerine ait sınır değerler için, tarafımızdan bu araştırmada saptanmış olan ortalama değerler esas alınmalıdır. Muhtemel bir monografide sülfat külü tayinine yer verilmesi için geçerli bir gerekçe tarafımızdan saptanamamıştır.

2. Teşhis ve saflık kontrolü amaçlı İ.T.K. deneyinde, *Galanthus elwesii* Hook. bitkisi için saptanmış olan ve grubumuzun diğer çalışmalarında (74, 61, 84) incelenmiş olan *Galanthus* türlerinde de uygulandığı üzere:

a. Galanthamine için, sikloheksan-kloroform-dietilamin (7:2:1) ve kloroform-metanol-su (8:2:1), lycorine için, sikloheksan-kloroform-metanol-dietilamin (12:5:1:2) ve kloroform-metanol-su (17:3:2) (alt faz) çözücü sistemlerinde tek developman uygulanmalı ve çözücü sistemi starttan itibaren 17 cm olacak şekilde yükseltilmelidir.

b. Ayrıca her iki alkaloidin çiçekli ve meyvalı vejetasyon devrelerine ait Herba ve Bulbus *Galanthi* droglarındaki bulunuşunu karşılaştırmak için, benzen-kloroform-metanol-amonyum hidroksit (8:9:3:2 damla) çözücü sistemi iki developman olarak uygulanmalıdır.

c. Standart çözelti olarak galanthamine ve lycorine'in ve % 0.1 lik çözeltileri kullanılmalıdır.

d. Kromatografi plaklarının değerlendirilmesinde, galanthamine için 254 nm, lycorine için ise hem 254 ve hem de 366 nm dalga boylarındaki UV ışığında inceleme yapılmalı ve ayrıca her ikisi için de Dragendorff belirtecinden yararlanılmalıdır.

3. Tıbbi amaçlı bir Herba veya Bulbus *Galanthi* droğunun kalitelerinin saptanmasında total alkaloit miktarı deneyinden yararlanılabilir. Bu amaçla tarafımızdan uygulanmış olan titrimetrik esaslı metot yeterli görülebilir. Ancak susuz

vasatta titrasyon gibi diğerk bazı yöntemler de araştırılıp, yeniden değerklendirme yapılmalıdır.

4. Galanthamine ve lycorine için bir hammadde ihtiyacı söz konusu olduğu takdirde, *Galanthus nivalis* L. subsp. *cilicicus* (Baker) Gottlieb-Tannenhain bitkisinin galanthamine kaynağı olarak uygun olmadığı, lycorine elde edilmesi için ise, bitkinin vejetasyonunun çiçekli devresinde toplanan bitkiden hazırlanmış bir Bulbus Galanthi droğundan yararlanılması gerektiği belirtilmelidir.

Araştırmamızın biyolojik aktivite eşliğinde izolasyon ve yapı aydınlatma çalışmaları aşamasında, *Galanthus nivalis* subsp. *cilicicus* bitkisinin total alkaloid ekstresinin brine shrimp letalite deneyi ile aktif oldukları saptanan fraksiyonlarından yedi tane bileşik izole edilmiş ve yapıları aydınlatılmıştır. Bu bileşiklerden (+)-pinoresinol ve (+)-epipinoresinol lignanların furofuran alt sınıfından bileşiklerdir.

Literatürde lignan sınıfından bir bileşidin Amaryllidaceae familyasında bulunuşuna dair mevcut olan tek kayıt, *Hymenocallis littoralis* bitkisinden, dibenzilbutan alt sınıfından bir bileşik olan secoisolariciresinol'un izole edilmesidir (170). Ancak, bilgimiz dahilinde, günümüze dek *Galanthus* genusuna ait herhangi bir türdeki varlığı rapor edilmiş olan bir lignan yapısı bulunmamaktadır. Dolayısıyla bu araştırmamızın kapsamında izole edilip yapıları aydınlatılmış olan (+)-pinoresinol ve (+)-epipinoresinol adlı bileşikler, lignan yapısındaki bileşiklerin *Galanthus* genusundaki bulunuşlarının ilk örnekleridir. Ayrıca Amaryllidaceae familyasında, dibenzilbutan alt sınıfına ilaveten, furofuran alt sınıfından da lignanların var olabileceği ilk kez bu araştırmada ortaya konulmaktadır.

Çalışmada elde edilip yapısı aydınlatılan alkaloidal bileşiklerden (-)-lycorine, Amaryllidaceae alkaloidlerinin lycorine alt sınıfından, (+)-vittatine ve (+)-11-

hydroxyvittatine ise crinine alt sınıfındandır. (+)-Vittatine'in *G. nivalis*. subsp. *cilicicus* bitkisindeki varlığı, *Galanthus* genusu seviyesinde bir yenilik oluşturmaktadır. Daha önce *Galanthus* genusunun muhtelif türlerinde bulunuşu rapor edilmiş olan lycorine ve 11-hydroxyvittatine'in *G. nivalis*. subsp. *cilicicus*'da bulunuşları da yine ilk kez bu araştırmada rapor edilmektedir.

Araştırmamızda izole edilmiş olan bileşikler açısından oldukça ilginç bir diğer sonuç, ilk kez Amaryllidaceae familyası üyesi olan bir türde, klasik çekirdek yapılarına sahip olan Amaryllidaceae alkaloitlerinin haricinde, (-)-capnoidine ve (+)-bulbocapnine adlı iki tane izokinolin alkaloidinin bulunmuş olmasıdır.

Bilindiği üzere, Amaryllidaceae familyasının üyeleri, sadece bu familyaya ait türler tarafından sentezlenen, ve bu nedenle de "Amaryllidaceae Alkaloitleri" adı altında özel bir grup olarak sınıflandırılmış olan alkaloitler taşırlar (21). Amaryllidaceae alkaloitleri de temelde izokinolin türevidirler (116). Buna rağmen, şimdiye dek hiçbir Amaryllidaceae türünden "Amaryllidaceae Alkaloitleri" dışında, klasik izokinolinler olarak tanımlanan diğer alkaloitlerin (220) izolasyonu rapor edilmemiştir. Klasik izokinolinlerin ftalidizokinolin alt sınıfından bir bileşik olan (-)-capnoidine'in ve aporfin alt sınıfından bir alkaloit olan (+)-bulbocapnine'in bu araştırmada bir *Galanthus* türünden izole edilmiş olması, şimdiye dek geçerli olan bu kuralı değiştirmekte, ve Amaryllidaceae bitkilerinin alkaloit profilinde, "Amaryllidaceae Alkaloitleri"nin haricinde klasik izokinolin alkaloitlerinin de var olabileceğini ortaya koymaktadır.

Galanthus nivalis subsp. *cilicicus*'da Amaryllidaceae alkaloitlerinin yanısıra, klasik izokinolin alkaloitlerinin de bulunuyor olması, bu bitkinin alkaloit profilini çok dikkat çekici bir hale getirmektedir. Bu araştırma sonucunda, konumuzu oluşturan türün, bilinen Amaryllidaceae alkaloitlerinin yanısıra, klasik izokinolin alkaloitlerinin

değişik alt gruplarından bileşiklerin biyosentezini de yapabildiği kanıtlandığı için, bu bitki üzerinde yapılacak daha ileri araştırmalarda, kimyasal içeriği açısından olduğu kadar, biyojenetik perspektiften de incelenmesi ve değerlendirilmesi gerekliliği ortaya çıkmaktadır.



ÖZET

Bu çalışmada, Türkiye'de yabani olarak yetişen bir *Galanthus* türü olan *Galanthus nivalis* subsp. *cilicicus* (Baker) Gottlieb-Tannenhain bitkisi, üç farklı açıdan ele alınarak ayrıntılı olarak incelenmiştir.

Bitki üzerinde gerçekleştirilen botanik araştırmalarda, bitkinin tayininde yararlanılabilecek ve muhtemel monografilerde yer alabilecek anatomik ve mikroskobik özellikleri araştırılmıştır.

Kalite kontrol ve miktar tayini çalışmalarının yapıldığı araştırmalarda, Herba ve Bulbus Galanthi droglarının kalite kontrollerine esas oluşturabilecek bazı deneyler gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, hem çiçekli ve hem de meyvalı vejetasyon dönemlerindeki bitkilerden ayrı ayrı hazırlanan drog örneklerinde nem, total kül ve total sülfat külü deneyleri yapılmış ve sonuçlar % değerler halinde belirtilmiştir. Bu drogların teşhis ve saflık kontrollerinde yararlanmak amacıyla bazı İnce Tabaka Kromatografisi (İ.T.K.) çalışmaları yapılmıştır. Ayrıca bu droglarda total alkaloit miktar tayini yapılmış ve sonuçlar verilmiştir. İlâveten, bu genusun önemli alkaloitleri arasında yer alan galanthamine ve lycorine'in incelenen örneklerdeki miktarları, İ.T.K. ile kombine edilmiş spektrofotometri ve Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (HPLC) olmak üzere iki farklı yöntemle tayin edilmiştir. Sonuçlar, galanthamine'in, bitkide kantitatif olarak hesaplanabilecek miktarda bulunmadığını göstermiştir.

Biyolojik aktivite eşliğinde izolasyon ve yapı aydınlatma çalışmalarının yapıldığı araştırmalarda, oda ısısında kurutulmuş ve toz edilmiş total bitkisel materyalden hazırlanan total alkol ve total alkaloid ekstraktları ile silika jel sütunda fraksiyonlandırılan alkaloid ekstraktının ana fraksiyonları brine shrimp letalite deneyine tabi tutulmuşlardır. Anlamlı sitotoksik aktivite gösteren fraksiyonlar, preparatif sütun kromatografisi, preparatif İ.T.K. ve diğer saflaştırma yöntemlerinden yararlanılarak saflaştırılmıştır. Elde edilen bileşiklerin yapıları spektroskopik yöntemler (UV, IR, 1D ve 2D NMR, EIMS, CIMS, ESI-MS) kullanılarak aydınlatılmıştır.

Bu çalışmaların sonucunda Amaryllidaceae alkaloidlerinin crinine alt grubundan (+)-vittatine ve (+)-11-hydroxyvittatine, lycorine alt grubundan (-)-lycorine elde edilmiştir. Bunlardan (+)-vittatine varlığı genus seviyesinde, diğer iki alkaloidin varlığı ise tür seviyesinde yenilik getirmektedir. İlginç bir sonuç, Amaryllidaceae familyası üyesi olan bir türde, ilk kez klasik çekirdek yapılarına sahip olan Amaryllidaceae alkaloidlerinin haricinde, (-)-capnoidine ve (+)-bulbocapnine adlı iki tane izokinolin alkaloidinin bulunmuş olmasıdır. Bu sonuç, *Galanthus nivalis* subsp. *cilicicus* üzerinde ileride yapılacak olan araştırmalarda, bitkinin kimyasal içeriği açısından olduğu kadar, biyojenetik perspektiften de incelenmesi ve değerlendirilmesi gerekliliğini ortaya koymaktadır.

Araştırmamızın kapsamında elde edilmiş olan (+)-pinoresinol ve (+)-epipinoresinol adlı bileşikler, lignan yapısındaki bileşiklerin *Galanthus* genusunda bulunuşlarının ilk örnekleridir. Ayrıca Amaryllidaceae familyasında, daha önce bulunmuş olan dibenzilbutan alt sınıfına ilaveten, furofuran alt sınıfından da lignanların var olduğu ilk kez bu araştırmada ortaya konulmaktadır.

ABSTRACT

In this study, *Galanthus nivalis* subsp. *cilicicus* (Baker) Gottlieb-Tannenhain, which is a wild-growing *Galanthus* species of Turkey, has been thoroughly investigated by three different approaches.

In botanical investigations carried out on the plant, anatomical and microscobical characteristics, which may be used in the determination of the species and may be included in a prospective monograph about this plant drug, were investigated.

In the course of the studies on the quality control and assays, some experiments, which may establish basis for the quality control of Herba and Bulbus Galanthi drugs, were conducted. In this context, humidity, total ash and sulfate ash were determined for drug specimens prepared separately from plants in flowering and fruiting stages, and the results were reported as percentage values. Thin Layer Chromatographic (TLC) studies were carried out with the aim of their utilization in the identification and purity control of these plant drugs. Assays were conducted for the total alkaloidal content and results were presented. Moreover, the investigated specimens were quantitatively analyzed for two of the principle alkaloids of this genus, galanthamine and lycorine, by using two different methods, one being a spectrophotometry combined with TLC and the other being High Pressure Liquid Chromatography (HPLC). Results show that galanthamine is not present in the plant in amounts sufficient for a meaningful assay.

In the studies where biological activity guided isolation and structure elucidation investigations are conducted, total alcohol and total alkaloidal extracts prepared from plant material dried at room temperature and powdered, as well as the main fractions of the alkaloidal extract fractionated on a column of silica gel, were subjected to the brine shrimp lethality test. Fractions which displayed cytotoxic activity have been purified by preparative TLC, preparative column chromatography and other purification methods. The structures of the compounds thus obtained were elucidated by using spectral techniques (UV, IR, 1D ve 2D NMR, EIMS, CIMS, ESI-MS).

As a result of these studies, the Amaryllidaceae alkaloids, (+)-vittatine and (+)-11-hydroxyvittatine from the crinine subgroup and (-)-lycorine from the lycorine subgroup were obtained. Of these compounds, the occurrence of (+)-vittatine is new at the genus level, whereas the other two alkaloids are new for the species. An interesting result was that two isoquinoline alkaloids, (-)-capnoidine ve (+)-bulbocapnine, were found for the first time in a species of the Amaryllidaceae family, which has been known to elaborate only Amaryllidaceae alkaloids with the classical skeletons. This result has confirmed that in the future studies on *Galanthus nivalis* subsp. *cilicicus*, it is necessary to investigate and evaluate this plant from a biogenetic point of view as well as for its chemical content.

(+)-Pinoresinol ve (+)-epipinoresinol obtained in this study comprise the first examples for the occurrence of lignans in the *Galanthus* genus. Moreover, the presence of lignans of the furofurane subgroup in the Amaryllidaceae, in addition to the already described dibenzylbutane lignans, were reported for the first time in this study.

YARARLANILAN KAYNAKLAR

1. Abbasoğlu, U., Şener, B., Gőnay, Y., Temizer, H. (1991). Antimicrobial Activity of Some Isoquinoline Alkaloids, *Arch. Pharm. (Weinheim)*, 324: 379-380
2. 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): 518-513
3. Abe, F., Yamauchi, T. (1988). 9 α -Hydroxypinoresinol, 9 α -Hydroxymediopinoresinol and Related Lignans from *Allamanda nerifolia*, *Phytochemistry*, 27 (2): 575-577
4. Abou-Donio, A. H., Giulio, A. D., Evidente, A., Gaber, M., Habib, A-A., Lanzetta, R., El Din, A. A. S. (1991). Narciclasine-4-O- β -D-Glucopyranoside, A Glucosyloxy Amidic Phenanthridone Derivative from *Pancratium maritimum*, *Phytochemistry*, 30(10): 3445-3448
5. Acartőr, R. (2001). Őifalı Bitkiler, Flora ve Sağlığımız. 3. Baskı. Orman Genel Mődőrliđő Mensepları YardımlaŐma Vakfı, Ankara, 57
6. Ahmed, Z. F., Rızk, A. M., Hamouda, F. M. (1964). Phytochemical Studies on Egyptian *Pancratium* species, *Lloydia*, 27(2): 115-134

7. Akineri, G., Güneş, H. S. (1998). *Galanthus plicatus* ssp. *byzantinus* as a New Source for Some Amaryllidaceae Alkaloids, *J. Fac.Pharm. Gazi*, 15(2): 99-106
8. Ali, A. A., Ramadan, M. A., Frahm, A. W. (1984). Alkaloidal Constituents of *Crinum bulbispermum* III: Bulbispermine, A New Alkaloid of *Crinum bulbispermium*, *Planta Med.*, 67: 424-427
9. Amico, A., Stefanizzi, L. (1978). Cytochemical Localization of Lycorine in Plants of *Sternbergia lutea* Ker Gawl, *Quart. J. Crude Drug Res.*, 16 (2): 65-70
10. 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, *J. Nat. Prod.*, 56(8): 1423-1425
11. Areshkina, L. Ya. (1940). Alkaloids from Snowdrop, *Sovet. Subtropiki*, (11-12): 59; *Khim.Referat. Zhur.* (1941). 4(5): 100; *Chem. Abstr.* (1943). 37: 6405₆
12. Arslan, N., Koyuncu, M., Ekim, T., Lilien, K. H., Borochoy, A., Halevy, A. H.(1996). Commercial Propagation of Snowdrops (*Galanthus elweii* Hook.) in Different Environments, Seventh International Symposium on Flower Bulbs, Herzliya, Israel, 10-16 March 1996. *Acta- Horticulturae* (1997). (430): 743-746; *CAB Abstracts IB*:90-6605-819-6
13. Asoeva, E. Z. Vergeichik, E. N. (1967). Separation and Quantitative Determination of Alkaloid in *Galanthus krasnovii*, *Nauch. Dokl. Vyssh. Shk., Biol., Nauki*, 7: 98-101; *Chem. Abstr.* (1967). 67: 94035y
14. Asoeva, E. Z., Murav'eva, D. A., Molodozhnikov, M. M., Rabinovich, I. M., Preparation of Galanthamine, USSR 186,493 (Cl.C 07c), Oct.3,1966, Appl. Sept. 6, 1965; *Izobret., Prom. Obraztsy, Tovaryne Znaki* (1966). 43(19): 35; *Chem. Abstr.* (1967). 66:79581j

15. Asoeva, E. Z., Murav'eva, D. A., Molodozhnikov, M. M., Robinovich, I. M. (1968). *Galanthus krasnovii*- A Source for Obtaining *Galanthamine*, *Farmatsiya (Moscow)*, 17(5): 47-49; *Chem. Abstr.* (1969). 70: 14355b
16. Ayres, D. C., Loike, J. D. (1990). *Lignans*, Cambridge University Press, Cambridge, 42-57, 208-216
17. Baarschers, W. H., Arndt, R. R., Pachler, K., Weisbach, J. A., Douglas, B. (1964). Nuclear Magnetic Resonance Study of Aporphine Alkaloids, *J. Chem. Soc.*, 4778-4782
18. Bamberger M. (1897). *Monatsh*, 18: 481; Esterfield, T. H., Bee, J. (1910). Resin Acids of the Coniferae. II. Metairesinol, *J. Chem. Soc.*, 97: 1028-1032; *Chem. Abstr.* (1910). 4:12685
19. Bastida J., Codina C., Porras C. L. and Paiz, L. (1996). Alkaloids from *Hippeastrum solandrifolium*, *Planta Med.*, 62: 74-75
20. Bastida, J., Contreras J. L., Codina, C., Wright, C. W. and Phillipson, J. D. (1995). Alkaloids from *Narcissus cantabricus*, *Phytochemistry*, 40(5): 1549-1551
21. Bastida, J., Viladomat, F., Codina, C. (1998). *Narcissus* Alkaloids, in *Studies in Natural Products Chemistry*, Atta-ur-Rahman (Ed.), Vol. 20, Elsevier Science, Amsterdam, 323-405
22. Bastos, J. K., Xu, L., Dhammika Nanayakkara, N. P., Burandt, C. L., Moreas-Cerdeira, R. M., McChesney J. D. (1996). A Rapid Quantitative Method for the Analysis of Galanthamine and Other Amaryllidaceae Alkaloids by Capillary Column Gas Chromatography, *J. Nat. Prod.*, 59: 638-640

23. Baytop, A. (1972). Bitkisel Drogların Anatomik Yapısı, Baha Matbaası, İstanbul, 71-82
24. Baytop, T., Mathew, B. (1984). The Bulbous Plants of Turkey, B.T. Batsford Ltd., London, 21-23
25. Baytop, T. (1999). Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi, Sanal Matbaacılık, İstanbul, 246
26. Bláha, K., Jun J. H., Kovář, J., Pijeswska L., Šantavý, F. (1964). Zur Konfiguration Stickstoffhaltiger Verbindungen XVIII. Bestimmung der Relativen und Absoluten Konfiguration der Phthalidisochinolin-Alkaloide, *Coll. Czech. Chem. Commun.*, 2: 2328-2340
27. Blaskó, G., Gula, D. J., Shamma, M. (1982). Phthalideisoquinoline Alkaloids, *J. Nat Prod.*, 45(2): 105-122
28. Blaskó G., Elango, V., Şener, B., Freyer, A. J., Shamma, M. (1982). Secophthalideisoquinolines, *J. Org. Chem.*, 47: 880-885
29. 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, 147-149
30. Boissier, J. R., Combes, G., Pagny, J. (1960). La Galanthamine, Puissant Cholinergique Naturel, *Annales Pharm. Franç.*, 18: 888-900
31. Boit, H. G. und Ehmke H. (1957). Alkaloide von *Nerine corusca*, *N. flexuosa*, *Panocratium illyricum*, *Lycoris aurea* und *L. incarnata*, *Chem. Ber.*, 90: 369-73
32. Boit, H. G. (1956). Alkaloide von *Chlidanthus fragrans*, *Vallota purpurea*, *Nerine undulata* und *Hippeastrum vittatum*, *Chem. Ber.*, 89: 1129-34

33. Boit, H. G., Döpke, W. (1961). Alkaloide aus *Haemanthus*-, *Zephyranthes*-, *Galanthus*- und *Crinum*-Arten, *Die Naturwissenschaften*, 48(10): 406-407
34. Boit, H. G., Döpke, W. (1960). Alkaloide aus *Hippeastrum aulicum* var. *robustum*, *Die Naturwissenschaften*, 47(5): 109
35. Boit, H. G. (1954). Über die Alkaloide der Zwiebeln von *Galanthus nivalis* (III. Mitteil. Über Amaryllidaceen Alkaloide), *Chem. Ber.*, 87: 724-725
36. Boit, H. G., Ehmke, H. (1955). Alkaloide von *Sprekelia formosissima*, *Galanthus elwesii*, *Zephyranthes candida* und *Crinum powelli* (VIII. Mitteil. Über Amaryllidaceen Alkaloide), *Chem. Ber.*, 88(10): 1590-1594
37. 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, 226-227
38. 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, 358-381
39. 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, *J. Am. Chem. Soc.*, 78: 2899-2094
40. Bubeva-Ivanova, L., Ivanov, V. (1961). Alkaloid Content in *Galanthus nivalis* var *gracilis* L. , *Tr. Nauchno-Izsled. Inst. Farm.*, 3: 70-75; *Chem. Abstr.* (1964). 61: 14465h
41. Bubeva-Ivanova, L. (1958). Alkaloids of *Galanthus nivalis* var. *gracilis*. II. Nivalidin", *Farmatsiya (Sofia)*, 8(4): 24-28; *Abstr. Bulgar. Sci. Lit. Biol. And Med.* (3), *Abstr. No.573*; *Chem. Abstr.* (1959). 53: 17422e

42. Bubeva-Ivanova, L. (1962). Amaryllidaceenalkaloide, VI Über die Wirkung einiger Mineralsäuren auf Galanthamine, *Chem. Ber.*, 95: 1348-1353
43. 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
44. Bubeva-Ivanova, L. (1957). *Farmatsiya (Sofia)*, 8(2): 23-26; Bubeva-Ivanova, L., Amaryllidaceenalkaloide, VI Über die Wirkung Einiger Mineralsäuren auf Galanthamine, *Chem. Ber. (1962)*. 95: 1348-1353
45. Cabral, M. M. O., Kelecom, A., Garcia, E. S. (1999). Effects of the Lignan, Pinoresinol on the Moulting Cycle of the Bloodsucking Bug *Rhodnius prolixus* and of the Milkweed Bug *Oncopeltus fasciatus*, *Fitoterapia*, 70: 561-567
46. Cabral, M. M. O., Azambuja, P., Gottlieb, O. R., Garcia E. S. (2000). Effects of Some Lignans and Neolignans on the Development and Excretion of *Rhodnius prolixus*, *Fitoterapia*, 71: 1-9
47. Campbell, W. E., Gammon, D. W., Nair, J. J., Codina, C., Bastida, J., Viladomat, F., Smith, P. J., Albrecht C. F. (1998). Structure Activity Studies on Alkaloids from Indigenous Amaryllidaceous Species, in *Natural Product Analysis*, Schreier, P., Herderich, M., Humpf, H-U., Schwab, W. (Eds.), Friedr. Vieweg and Sohn Verlagsgesellschaft mbH, Wiesbaden, 327-329
48. Campbell, W. E., Nair, J. J., Gammon, D. W., Bastida, J., Codina, C., Viladomat, F., Smith, P. J., Albrecht, C. F. (1998). Cytotoxic and Antimalarial Alkaloids from *Brunsvigia littoralis*, *Planta Med.*, 64: 91-93

49. Chen, C-C., Chen, H-Y., Shiao, M-S, Lin, Y-L., Kuo, Y-H., Ou, J-C. (1999). Inhibition of Low Density Lipoprotein Oxidation by Tetrahydrofuran Lignans from *Forsythia suspensa* and *Magnolia coco*, *Planta Med.*, 65: 709-711
50. 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
51. Cherkasov, O. A. (1978). Plant Sources of Galanthamine, *Pharmaceutical Chem. J.*, 810-813
52. Chimiko-Pharmazevtitschen Zavod. (1963). Galanthamine Hydrobromide Extraction, *Brit. J. Pharm.* 942; 200 (Cl.C 07g), Nov 20,; *Bulg. Appl.Mar.* (1959), 2: 2pp.; *Chem. Abstr.* (1964). 60: 6707e
53. Cho, J. Y., Kim, A. R., Park, M. H. (2001). Lignans from the Rhizomes of *Coptis japonica* Differentially Act as Anti-Inflammatory Principles, *Planta Med.*, 67: 312-316
54. Claessens, H. A., Van Thiel, M., Westra, P., Soetherboek, A. M. (1983). High Performance Liquid Chromatographic Determination of Galanthamine. A Long-Acting Anticholinesterase Drug in Serum, Urine and Bile, *J. Chromatogr.*, 275(2): 345-353
55. Clemo, G. R., Felton, D. G. I. (1952). Tazettine from Snowdrop Leaves, *Chem & Ind.*, 807-808
56. 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, 331-52

57. Cordell, G. A. (1981). Introduction to Alkaloids, J. Wiley & Sons, Inc., New York, 533-553
58. Cowan, S., Stewart, M., Abbiw, D. K., Latif, Z., Sarker, S. D., Nash, R. J. (2001). Lignans from *Strophantus gratus*, *Fitoterapia*, 72: 80-82
59. Cozantitis, D. A. (1974). Galanthamine Hydrobromide versus Neostigmine, *Anaesthesia*, 29: 163-168
60. 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, 26-27
61. Çelik Sarıer, D. (2002). İzmir, Yamanlar, Karagöl Çevresinde Yetişen *Galanthus elwesii* Hook. Üzerinde Bazı Farmakognozik Çalışmalar, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir
62. Çitoğlu, G., Tanker, M., Gümüşel, B. (1998). Antiinflammatory Effects of Lycorine and Haemanthidine, *Phytotherapy Research*, 12: 206
63. 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, 197-215
64. 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
65. Davis, A. P. (1999). The Genus *Galanthus*, Timber Press Inc., Oregon, 130-133

66. 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
67. 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
68. 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, 265-270
69. De Clerq, E. (2000). Current Lead Natural Products for the Chemotherapy of Human Immunodeficiency Virus (HIV) Infection, *Medicinal Reserch Reviews*, 20(5): 323-349
70. Demirbaş, A., Tüzen, M., Özdemir, M. (1999). Supercritical Fluid Extraction of Phenolic Acids in Snowdrop, *Energy, Education, Scince and Technology*, 2(2): 47-52; *Chem. Abstr.* (2000). 134: 83619
71. Deutsches Arzneibuch 10, (1997)
72. 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 Reserch*, 12: 229-241
73. Down, R. E., Ford, L., Woodhouse, S. D., Raemaekers, R. J .M., Leitch, B., Gatehouse, J. A., Gatehouse, A. M. R. (2000). Snowdrop Lectin (GNA) Has No

- Acute Toxic Effects on A Beneficial Insect Predator, the 2-Spot Ladybird (*Adalia bipunctata* L.), *J. Insect Physiol.*, 46: 379-391
74. Duman, İ. (1997). *Galanthus elwesii* Hook. Üzerinde Kalite Kontrol Çalışmaları, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir
75. Ekim, T., Arslan, N., Koyuncu, M., Lilien, K. H., Borochoy, A., Halevy, A. H. (1996). Developments in Conservation and Propagation of Flowerbulbs Native to Turkey, Proceedings of the Seventh International Symposium on Flower Bulbs, Herzliya, Israel, 10-16 March 1996; (1997). *Acta- Horticulturae*, (430): 773-778; *CAB Abstracts IB:90-6605-819-6*
76. Elango, V., Freyer, A. J., Blasko, G., Shamma, M. (1982). The NMR Spectra and Conformations of the Phtalideisoquinolines, *J. Nat Prod.*, 45(5): 517-522
77. El-Din, A. S., Korany, M., Abou-Donia, A., Sabry, N. N. (1983). Spectrophotometric and Fluorimetric Determination of Lycorine in Amaryllidaceae Species., *Acta Pharm. Jugosl.*, 33(2): 143-147
78. El-Moghazi, A. M., Ali A. A. (1976). Microchemical Identification of Amaryllidaceae Alkaloids, *Planta Med.*, 30: 369-374
79. El-Moghazi, A. M., Ali, A. A. and Mesbah, M. K. (1975). Phytochemical Investigation of *Hippeastrum vittatum* Growing in Egypt, *Planta Medica*, 28: 336-342
80. Evidente, A. (1986). Identification of 11-Hydroxyvittatine in *Sternbergia lutea*, *J. Nat Prod.*, 49(1): 168-169

81. Evidente, A., Cicala, M. R., Giudicianni, I., Randozza, G. , Riccio, R. (1983). ^1H and ^{13}C NMR Analysis of Lycorine and α - Dihydrolycorine, *Phytochemistry*, 22(2): 581-584
82. Evidente, A., Iasiello, I., Randazzo, G. (1983). Rapid Quantitative Analysis of Lycorine by Reserved-Phase High-Performance Liquid Chromatography, *J. Chromatogr.*, 281: 362-366
83. Fenton, B., Stanley, K., Fenton, S., Balton-Smith, C. (1999). Differential Binding of the Insecticidal Lectin GNA to Human Blood Cells., *The Lancet*, 354: 1354-1355
84. Fillik A. (2002). İzmir, Kemelpaşa, Nif Dağına Yetişen *Galanthus gracilis* Çelak. Üzerinde Bazı Farmakognozok Çalışmalar, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir
85. 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
86. Fitches, E., Woodhouse S. D., Edwards, J. P., Gatehouse, J. A. (2001). *In vitro* and *In vivo* Binding of Snowdrop (*Galanthus nivalis* agglutinin; GNA) and Jackbean (*Conavalia ensiformis*; Con A) Lectins within Tomato Moth (*Lacanobia oleracea*) Larvae; Mechanisms of Insecticidal Actions, *J. Insect Physiol.*, 47: 777-787
87. Fitches, E., Gatehouse, A. M. R., Gatehouse J. A. (1997). Effects of Snowdrop Lectin (GNA) Delivered via Artificial Diet and Transgenic Plants on the

- Devevelopment of Tomato Moth (*Lacanobia oleracea*) Larvae In Laborotary and Glasshouse Trials, *J. Insect Physiol.*, 43(8): 727-739
88. Fitsches, E., Gatehouse, J. A. (1998). A Comparison of the Short and Long Term Effects of Insectisidal Lectins on the Activities of Soluble and Brush Border Enzymes of Tomato Moth Larvae (*Lacanobia oleracea*), *J. Insect Physiol.*, 44: 1213-1224
89. 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
90. 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, 83-164
91. Gabrielsen, B., Monath, T. P., Huggins, J. W., Kefauver, D. F., Pettit, G. R., Groszek, G., Hollingshead, M., Kirsi, J. J., Shannon, W. M., Schubert, E. M., Dare, J., Ugarkar, B., Ussery, M. A., Phelan, M. J. (1992). Antiviral (RNA) Activity of Selected Amaryllidaceae Isuquinoline Constituents and Synthesis of Related Substances, *J. Nat. Prod.*, 55(11): 1569-1581
92. Ghosal, S., Saini, K. S., Razdan, S. (1985). *Crinum* Alkaloids: Their Chemistry and Biology, *Phytochemistry*, 24 (10): 2141-2156
93. Gilljam, G. (1993). Envelope Glycoproteins of HIV-1, HIV-2 and SIV Purified with *Galanthus nivalis* Agglutinin Induce Strong Immune Responses, *AIDS Res. Hum. Retroviruses*, 9(5): 431-438

94. Girmen, M., Zimmer, K. (1988). Invitro-Kultur von *Galanthus elwesii*. I. Sterilisation, Regeneration, Phytohormone, *Gartenbauwissenschaft*, 53(1): 26-29
95. 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., *Khim-Farm. Zh.*, 16(2): 198-196; *Chem. Abstr.* (1982). 96: 159335s
96. Gorbunova, G. M., Patudin, A. V., Gorbunov V. D. (1978). Galanthamine from Some Species of the Family Amaryllidaceae, *Chem. Nat. Comp.*, 14: 361-362
97. 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, *J. of Plant Nutrition*, 18(8): 1705-1710
98. Gözler, B., Gözler, T., Shamma, M. (1983). Egenine: A Possible Intermediate in Phthalideisoquinoline Biogenesis, *Tetrahedron*, 39 (4): 577-580
99. Greger, H., Hofer, O. (1980). New Unsymmetrically Substituted Tetrahydrofurofuran Lignans from *Artemisia absinthium*, *Tetrahedron*, 36: 3551-3558
100. Grundon, M. F. (1984). Amaryllidaceae Alkaloids, *Nat. Prod. Rep.*, 1: 247-250.
101. Grundon, M. F. (1985). Amaryllidaceae Alkaloids, *Nat. Prod. Rep.*, 2: 249-251.
102. Grundon, M. F. (1987). Amaryllidaceae Alkaloids, *Nat. Prod. Rep.*, 4: 89-94
103. Grundon, M. F. (1989). Amaryllidaceae Alkaloids, *Nat. Prod. Rep.*, 6, 79-84

104. Guinaudeau, H., Lebeoeuf, M., Cave, A. (1975). Aporphine Alkaloids, *Lloydia*, 38(4): 275-338
105. Guinaudeau, H., Lebeoeuf, M., Cave, A. (1979). Aporphine Alkaloids, *J. Nat. Prod.*, 42(4): 325-360
106. Guinaudeau, H., Lebeoeuf, M., Cave, A. (1983). Aporphinoid Alkaloids, III., *J. Nat. Prod.*, 46 (6): 761-835
107. Guz, N. R., Stermitz, F. R. (2000). Spectral Comparisons of Coniferyl and Cinnamyl Alcohol Epoxide Derivatives with A Purported Cis-Epoxyconiferyl Alcohol Isolate, *Phytochemistry*, 54: 897-899
108. Habtemariam, S. (2000). Natural Inhibitors of Tumour Necrosis Factor- α Production, Secretion and Function, *Planta Med.*, 66: 303-313
109. Hammer, H. (1968). The Trisaccharide Fraction of Some Plants Belonging to the Amaryllidaceae, *Acta Chem. Scand.* 22(1): 197-199; *Chem. Abstr.* (1968). 68: 84923t
110. Hänsel, R., Keller, K., Rimpler, H. (1993). *Galanthus*, in Hagers Handbuch der Pharmazeutischen Praxis, Schneider, G. (Ed.), Vol. 5, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg, 213-218
111. Harvey A. L. (1995). The Pharmacology of Galanthamine and its Analogues, *Pharmac. Ther.*, 68 (1): 113-128
112. Herera, M. R., Machocho, A. K., Brun, R., Viladomat, F., Codina, C., Bastida, J. (2001). Crinane and Lycorane Type Alkaloids from *Zephyranthes citrina*, *Planta Med.*, 67: 191-193
113. Hester, G., Wright, C. S. (1996). The Mannose-specific Bulb Lectin from *Galanthus nivalis* (Snowdrop) Binds Mono- and Dimannosides at Distinct

- sites. Structure Analysis of Refined Complexes at 2.3 Å and 3.0 Å Resolution, *J. Mol. Biol.*, 262(4): 516-531
114. Hoerhammer, L., Wagner, H., Beck, K. (1967). Isolation of New Flavanol Oligosaccharides from the Blossoms of *Leucojum vernum* and *Galanthus nivalis*, *Z. Naturforsch. B*, 22(8): 896; *Chem. Abstr.* (1968). 69: 3112y
115. Hohmann, J., Fargo, P., Molnar, J., Wolfrad, K., Molnar, A., Thalhammer, T., Mathe, I., Shaples, D. (2002). Antiproliferative Amaryllidaceae Alkaloids Isolated from the Bulbs of *Sprekelia formosissima* and *Hymenocallis x festalis*, *Planta Med.*, 68: 454-457
116. Hoshino, O. (1998). The Alkaloids Chemistry and Pharmacology, Cordell G. A (Ed.), Vol. 51, Academic Press Inc., New York, 323-424
117. <http://www.alzscot.org/info/reminy1.html>
118. <http://www.pslgroup.com/dg/1e81da.htm>
119. <http://www.us.reminy1.com/consumer/about/index.jsp>
120. Hughes, D. W., MacLean, D. B. (1981). The ¹³C-NMR Spectra of Isoquinoline Alkaloids, in The Alkaloids, Manske, R. H. F., Rodrigo, R. G. A. (Eds.), Vol. 18, Academic Press Inc., New York, 217-262
121. Ieven, M., Vlietinck, A. J., Vanden Berghe, D. A., Totte, J., Dommissse, R., Esmans, E., Alderweireldt, F. (1982). Plant Antiviral Agents III. Isolation of Alkaloids from *Clivia miniata* Regel (Amaryllidaceae), *J. Nat. Prod.*, 45(5): 564-573
122. Ieven, M., Vanden Berghe, D. A., Vlietinck, A. J. (1983). Plant Antiviral Agents IV. Influence of Lycorine on Growth Pattern of Three Animal Viruses, *Planta Med.*, 49: 109-114

123. Ieven, M., Vanden Berghe, D. A., Vlietinck, A. J. (1979). Inhibition of Polio Virus by Lycorine, A Plant Alkaloid, *Planta Med.*, 36: 254-255
124. Ingkaninnan, 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, *J. of Chromatogr. A*, 872: 61-73
125. Jin, Z., Li, Z., Huang, R. (2002). Muscarine, Imidazole, Oxazole, Thiazole, Amaryllidaceae and *Sceletium* Alkaloids, *Nat. Prod. Rep.*, 19: 454-476
126. Jong, T-T., Chau, S-W. (1998). Antioxidative Activities of Constituents Isolated from *Pandanus odoratisimus*, *Phytochemistry*, 49(7): 2145-2148
127. Kadota, S., Sun, X. L., Basnet, P., Namba, T., Momose, Y. (1996). Effects of Alkaloids from *Corydalis decumbens* on Contraction and Electrophysiology of Cardiac Myocytes, *Phytotherapy Research*, 10(1): 18-22; *Chem. Abstr.* (1996). 124: 249678
128. Kaku, H., Goldstein, I. J. (1989). Snowdrop Lectin, *Methods Enzymol.*, 179: 327-331
129. 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
130. Kalashnikov, I. D. (1970). Separation of Alkaloids from *Galanthus nivalis*, *Farm. Zh. (Kiev)*, 25(3): 40-44; *Chem. Abstr.* (1970). 73: 91195p

131. Kalashnikov, I. D. (1970). Alkaloids of *Galanthus nivalis*, *Chem. Nat. Comp.*, 6: 390
132. Kametani, T. (1969). The Chemistry of the Isoquinoline Alkaloids, Hirokawa Publishing Company, Inc., Tokyo, 81-108, 136-142
133. Kardos, J., Blaskó, G., Kerekes, P., Kovács, I., Simonyi, M. (1984). Inhibition of [³H] GABA Binding to Rat Brain Synaptic Membranes By Biccuculline Related Alkaloids, *Biochemical Pharmacology*, 33(22): 3537-3545
134. Kawai, S., Sugishita, K., Ohashi, H. (1999). Identification of *Thuja occidentalis* Lignans and its Biosynthetic Relationship, *Phytochemistry*, 51: 243-247
135. Kıvçak, B., Gözler, T. (1993) *Sternbergia sicula* Alkaloitleri , *Ege Üniversitesi Eczacılık Fak. Derg.*, 1(2) : 65-71
136. Kihara, M., Koike, T., Imakura, Y., Kida, K., Shingu, T., Kobayashi, S. (1987). Alkaloidal Constituents of *Hymenocallis rotata* Herb. (Amaryllidaceae), *Chem. Pharm. Bull.*, 35 (3), 1070-75
137. Kihara, M., Konishi, K., Xu, L., Kobayashi, S. (1991) Alkaloidal Constituents of the Flowers of *Lycoris radiata* Herb. (Amaryllidaceae), *Chem. Pharm. Bull.* 39 (7): 1849-1853
138. Kim, Y-G., Lee, H., Ozawa, S., Sasaya, T., Moon, C-K. (1994). Lignans of *Abies koreana* Wilson, *Makuzai Gakkaishi*, 40 (4), 414-418
139. Kobayashi, S., Shighu, T., Uyeo S. (1956). Structure of Galanthamine and Lycoramine, *Chem. & Ind.*, 177-178

140. Kolusheva, A., Vulkova, A. (1966). Spectrophotometric Examinations of Galanthamine, Lycorine and Nivalidine, *Farmatsiya (Sofia)*, 16(5): 45-49; *Chem. Abstr.* (1967). 66: 68973n
141. Komarov, V. L. (1935). Flora URSS, Vol. 4, Academiae Scientiarum URSS, Leningrad, 476-480
142. Komizerko, E. I. (1963). Alkaloid Content of Plants of the *Galanthus* Genus, *Byul. Gl. Botan. Sada*, 51, 102-106; *Chem. Abstr.* (1964). 61: 11003c
143. Konstantinova, E. I., Boichinov, Khr. (1963). Nonaqueous Titration of Alkaloids in Drugs, *Farmatsiya (Sofia)*, 13(4): 30-37; *Chem. Abstr.* (1964). 60: 2721e.
144. Kovtun, L., Patudin, A. V., Gorbunova, G. M., Gorbunov, V. D., Stikhin, V. A., Gogitidze, S. D., Nakaidze, A. K. (1978). Search for Galanthamine in *Galanthus* L. and *Leucojum* L. Plants in Transcaucasia, *Farm Zh. (Kiev)*, 6: 59-62; *Chem. Abstr.* (1979). 90: 200291r
145. Koyuncu, M. (1997). Türkiye’de İhraç Edilen Geofitlerin Korunması ve Üretimi Konusunda Gelişmeler, XI. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı Bildiri Kitabı, Coşkun, M. (Ed.), Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara, 57-62.
146. Könükol, S., Şener, B. (1992). High-Pressure Liquid Chromatographic Analysis of Some Amaryllidaceae Alkaloids from *Pancreatium maritimum* L., *J. Fac. Pharm. Gazi*, 9(2): 89-95
147. Kreh, M., Matusch, R., Witte, L. (1995). Capillary Gas Chromatography-Mass Spectrometry of Amaryllidaceae Alkaloids, *Phytochemistry*, 38(3): 773-776

148. Kuiper, P. J. C., Stuiver, B. (1972). Cyclopropane Fatty Acids in Relation to Earliness in Spring and Drought Tolerance in Plants, *Plant Physiol.*, 49(3): 307-309; *Chem. Abstr.* (1972). 76: 110396k
149. Kutbay, H. G., Kılınç, M., Karaer, F. (1993). *Leucojum aestivum* L. (Amaryllidaceae)'nin Morfolojisi ve Anatomisi Üzerinde Bir Araştırma, *Doğa-Tr. J. of Botany*, 17: 215-219
150. 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: 3488j
151. Kwon, Y. H., Epstein, L. (1997). Isolation and Composition of the 90 kDa Glycoprotein Associated with Adhesion of *Nectria haematococa* macroconidia, *Physiol. Mol. Plant Pathol.*, 51(1): 63-74
152. Latvala, A. (1994). Strukturaufklärung der Amaryllidaceen-Alkaloide aus *Galanthus elwesii* Hooker fil., Ph.D. Tezi, Zürich Üniversitesi, Felsefe Fakültesi II, Zürich
153. Latvala, A., Önür, M. A., Gözler, T., Linden, A., Kıvçak, B., Hesse, M. (1995). Alkaloids of *Galanthus elwesii*, *Phytochemistry*, 39(5): 1229-1240
154. Latvala, A., Önür, M. A., Gözler, T., Linden, A., Kıvçak, B., Hesse, M. (1995). Nitrogen Inversion in 9-O-Demethylhomolycorine, *Tetrahedron Asymetry*, 6(2): 361-365
155. Leifertova, I., Brazdova, V. (1967). Alkaloids of *Galanthus nivalis* Grown in Slovakian Provinces, *Cesk. Farm.*, 16(7), 352-354; *Chem Abstr.* (1968). 68: 6133 w
156. Lewis, J. R. (1990). Amaryllidaceae Alkaloids, *Nat. Prod. Rep.*, 7: 549-556

157. Lewis, J. R. (1992). Amaryllidaceae and *Sceletium* Alkaloids, *Nat. Prod. Rep.*,
9: 183-191
158. Lewis, J. R. (1993). Amaryllidaceae and *Sceletium* Alkaloids, *Nat. Prod. Rep.*,
10: 291-299
159. Lewis, J. R. (1994). Amaryllidaceae and *Sceletium* Alkaloids, *Nat. Prod. Rep.*,
11: 329-332
160. Lewis, J. R. (1995). Amaryllidaceae and *Sceletium* Alkaloids, *Nat. Prod. Rep.*,
12: 339-345
161. Lewis, J. R. (1996). Amaryllidaceae and *Sceletium* Alkaloids, *Nat. Prod. Rep.*,
13: 171-176
162. Lewis, J. R., (1997). Amaryllidaceae Alkaloids, *Nat. Prod. Rep.*, 14: 303-308
163. Lewis, J. R., (1998). Amaryllidaceae and *Sceletium* Alkaloids, *Nat. Prod. Rep.*,
15: 107-110
164. Lewis, J. R. (1999). Miscellaneous Alkaloids: Amaryllidaceae, *Sceletium*,
Muscarine, Imidazole, Oxazole, Peptide and Other Miscellaneous Alkaloids,
Nat. Prod. Rep., 16: 389-416
165. Lewis, J. R. (2000). Amaryllidaceae, Muscarine, Imidazole, Oxazole, Thiazole
and Peptide Alkaloids, and Other Miscellaneous Alkaloids, *Nat. Prod. Rep.*,
17: 57-84
166. Lewis, J. R. (2001). Amaryllidaceae, *Sceletium*, Imidazole, Oxazole, Thiazole,
Peptide and Miscellaneous Alkaloids, *Nat. Prod. Rep.*, 18: 95-128
167. Lewis, J. R. (2002). Amaryllidaceae, *Sceletium*, Imidazole, Oxazole, Thiazole,
Peptide and Miscellaneous Alkaloids, *Nat. Prod. Rep.*, 19: 223-258

168. Likhitwitayawuid, K., Angerhofer, C. K., Chai, H., Pezzuto, J. M., Cordell, G. A., Ruangrunsi, N. (1993). Cytotoxic and Antimalarial Alkaloids from the Bulbs of *Crinum amabile*, *J. Nat. Prod.*, 56(8): 1331-1338
169. Lilienfeld, S. (2002). Galanthamine- 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
170. 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
171. Linden, A., Akneri, G., Noyan, S., Gözler, T., Hesse, M. (1998). Amaryllidaceae Alkaloids: (+)-Tazettine, (+)-3-*O*-Demethylcriwelline and (+)-3-Epimacronine at 173 K, *Acta Cryst. C*, 54: 1653-1659
172. Lin-gen, Z., Seligmann, O., Jurcic, K., Wagner, H. (1982). Inhaltstoffe von *Daphne tangutica*, *Planta Med.*, 45: 172-176
173. 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
174. MacLean, D. B. (1985). Phthalideisoquinoline Alkaloids and Related Compounds, in *The Alkaloids Chemistry and Pharmacology*, Brossi, A. R. (Ed.), Vol. 24, Academic Pres, Orlando, 253-286
175. Manske, R. H. F. (1950). The Alkaloids of Fumariaceous Plants. XLIV. *Corydalis incida* (Thunb.) Pers. and the Constitutions of Adlumidine and Capnoidine, *J. Am. Chem. Soc.*, 72: 3207-3208

176. Manske, R. H. F. (1933). Alkaloids of Fumaraceous Plants. VI. *Corydalis sempervirens* (L.) Pers, *Can. J. Research*, 8: 407-411; *Chem. Abstr.* (1933). 27: 35765
177. Martin, S., F. (1987). The Amaryllidaceae Alkaloids, in *The Alkaloids Chemistry and Pharmacology*, Brossi, A. R. (Ed.), Vol. 30, Academic Press Inc., New York, 251-376
178. Maruyama, J., Kobayashi, M., Miyashita, M., Kouno, I., Irie, H., (1994). A Synthesis of (\pm)- Pinoresinol and Its Related Compound Using Potassium Persulfate ($K_2S_2O_8$) Oxidation of Benzoylacetates, *Heterocycles*, 37 (2): 839-845
179. Massanet, G. M., Pando, E., Rodriguez-Luis, F., Zubia, E. (1989). Lignans: A Review, *Fitoterapia*, 60 (1): 3-35
180. McLaughlin, J. L., Chang, C-J., Smith D. L. (1991). "Bench-Top" Bioassays for the Discovery of Bioactive Natural Products: An Update, in *Studies in Natural Products Chemistry*, Atta-ur Rahman (Ed.), Vol. 9, Elsevier Science, Amsterdam, 383-409
181. McLaughlin, J. L. (1991). Crown Gall Tumours on Potato Discs and Brine Shrimp Lethality: Two Simple Bioassays for Higher Plant Screening and Fractionation, in *Methods in Plant Biochemistry*, Hostetmann, K. (Ed.), Vol. 6, Academic Pres, London, 1-32
182. 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

183. Meyer, B. N., Ferrigni, N. R., Putnam, J. E., Jakobsen, L. B., Nichols, D. E., Mclaughlin, J. L. (1982). Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents, *Planta Med.*, 45: 31-34
184. Min, B. S., Gao, J. J., Nakamura, N., Kim, Y. H., Hattori, M. (2001). Cytotoxic Alkaloids and a Flavan from the Bulbs of *Crinum asiaticum* var. *japonicum*, *Chem. Pharm. Bull.*, 49 (9), 1217-1219
185. Miyazawa, M., Kasahara, H., Kameoka, H. (1992). Phenolic Lignans from Flower Buds of *Magnolia fargesii*, *Phytochemistry*, 31 (10): 3666-3668
186. 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 Med.*, 63 (1): 92-93
187. 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
188. 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, 384-388
189. Mügge, C., Schablinski, B., Obst, K., Döpke, W. (1994). Alkaloids from *Hippeastrum* hybrids, *Pharmazie*, 49: 444-447

190. 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
191. Ohashi, M., Wilson, J. M., Budzikiewicz, H., Shamma, M., Slusarchyk, W. A., Djerassi, C. (1963). Mass Spectrometry in Structural and Stereochemical Problems. XXXI. Aporphines and Related Alkaloids, *J. Am. Chem. Soc.*, 85: 2807-2810
192. Okuyama, E., Suzumura K., Yamazaki, M. (1995). Pharmacologically Active Components of Todopon Puok (*Fagraea racemosa*), A Medicinal Plant from Borneo, *Chem. Pharm. Bull.*, 43(12): 2200-2204
193. Pabuçcuoğlu, V., Arar, G., Gözler, T., Freyer, A. J., Shamma, M. (1989). Nitrotyrasanguinarine: An Unusual Nitrated Benzophenanthridine Alkaloid from *Hypecoum* Species, *J. Nat. Prod.*, 52(4): 716-719
194. Pabuçcuoğlu, V., Richomme, P., Gözler, T., Kivçak, B., Freyer, A. J., Shamma, M. (1989). Four New Crinine-Type Alkaloids From *Sternbergia* Species, *J. Nat. Prod.*, 52(4): 785-791
195. Papanicolaou, K., Zacharof, E. (1983). Cytological Notes and Taxonomic Comments on Four *Galanthus* L. Taxa from Greece, *Isr. J. Bot.*, 32: 22-32
196. Parkin, J. (1912). The Carbohydrates of The Folige Leaf of the Snowdrop (*Galanthus nivalis* L.), and Their Bearing on the First Sugar of Photosynthesis, *Biochem. J.*, 6: 1-47; *Chem. Abstr.* (1912). 6: 1917₄
197. 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

198. Pettit, G. R., Gaddamidi, V., Herald, D. H., Singh, S. B., Cragg, G. M., Schmidt, J. M., Boettner, F. E., Williams, M., Sagawa, Y. (1986). Antineoplastic Agents, 120. *Pancratium littorale*, *J. Nat. Prod.*, 49(6): 995-1002
199. Pham, H., Grundemann, E., Döpke, W. (1997). Alkaloids from *Hippeastrum equestre* Herb. (Amaryllidaceae), *Pharmazie*, 52 (2): 160-163
200. Piozzi, F., Marino, M. L., Fuganti, C. , Di Martino, A. (1969). Occurrence of Non Basic Metabolites in Amaryllidaceae, *Phytochemistry*, 8(9): 1745-1748
201. Polt, R. (1996). Amaryllidaceae Alkaloids with Antitumor Activity, *Org. Synth.*, 3: 109-148
202. Poulev, A., Deus-Neumann, B., Zenk, M. H. (1993). Enzyme Immunoassay for the Quantitative Determination of Galanthamine, *Planta Med.*, 59 (5): 442-446
203. Proskurnina, N. F., Yakovleva, A. P. (1952). The Alkaloids of *Galanthus woronovi*. II. Isolation of a New Alkaloid, *J. Gen. Chem. (USSR)*, 22: 1941-1944
204. Proskurnina, N. F. (1953). Alkaloids of *Galanthus woronovi*. Structure of Galanthine, *Doklady Akad. Nauk S.S.S.R.*, 90: 565-567; *Chem. Abstr.* (1955). 49: 12500c
205. Proskurnina, N. F., Yakovleva, A. P. (1955). The Alkaloids of *Galanthus woronovi* III. The Structure of Galanthamine., *J. Gen. Chem. (U.S.S.R.)*, 25: 999-1002
206. Proskurnina, N. F., Yakovleva, A. P. (1956). Alkaloids of *Galanthus woronovi*. V. Isolation of Galanthamidine, *J. Gen. Chem. (USSR)*, 26: 179-180

207. Proskurnina, N. F., Areshkina, L. Y. (1947). On the Alkaloids of *Galanthus woronovi*, *J. Gen. Chem. (USSR)*, 17: 1216-1219
208. Quirion, J-C., Husson, H. P., Weniger, B., Jimenez, F., Zanoni, T. A. (1991). (-)-3-O-Acetylnarcissidine, A New Alkaloid from *Hippeastrum puniceum*, *J. Nat. Prod.*, 54(4): 1112-1114
209. Rahman, M. M. A., Dewick, P. M., Jackson, D. E., Lucas, J. A. (1990). Lignans of *Forsythia intermedia*, *Phytochemistry*, 29(6): 1971-1980
210. Rios, J. L., Simeon, S., Villar, A. (1989). Pharmacological Activity of Aporphinoid Alkaloids, *Fitoterapia*, 60(5): 387-411
211. 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
212. Sandberg, F., Michel, K. H. (1963). Phytochemische Studien über die Alkaloide von *Pancreatium maritimum*, *Lloydia*, 26(2): 78-90
213. Sauvain, M., Kunesch, N., Poission, J., Gantier, J-C., Gayral, P., Dedet, J-P. (1996). Isolation of Leishmanicidal Triterpenes and Lignans from the Amazonian Liana *Doliocarpus dentatus* (Dilleniaceae), *Phytotherapy Research*, 10: 1-4
214. Schmeda-Hirschmann, G., Astudillo, L., Bastida, J., Viladomat, F., Codina, C. (2000). DNA Binding Activity of Amaryllidaceae Alkaloids, *Bol. Soc. Chil. Quim.*, 45: 515-518
215. Schöttner, M., Reiner, J., Tayman, F. S. K. (1997). (+)-Neo-Olivil from Roots of *Urtica dioica*, *Phytochemistry*, 46(6): 1107-1109

216. Schöttner, M., Ganßer, D., Spitteller, G. (1997). Lignans from the Roots of *Urtica dioica* and Their Metabolites Bind to Human Sex Hormone Binding Globulin (SHBG), *Planta Med.*, 63: 529-532
217. Selezhinski, G. V. (1977). Snowdrops, *Khim. Zhizn.*, 3: 50-52; *Chem. Abstr.* (1977). 86: 152586j
218. Sellés, M., Bastida, J., Viladomat, 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, *Analysis*, 25(5): 156-158
219. 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 Rep.*, 18(7-8): 646-651
220. Shamma, M. (1972). The Isoquinoline Alkaloids, Academic Press, New-York, 219-221, 377.
221. Shamma, M., Hillman, M. J. (1969). The Relationship Between the Ring D-Substituents and the Absolute Configuration for the Aporphine Alkaloids, *Experientia*, 25: 544-547
222. Sharaf, A., Fahmy, I. R., Ahmed, Z. F., Rizk, A. M. (1960). A Pharmacological Study of *Pancreatium sickenberi* Asch. Et Sfh., *Planta Med.*, 8: 322-327
223. Shibuya, N., Berry, J. E., Godstein, I. J. (1988). One-Step Purification of Murine Ig M and Human α_2 -Macroglobulin by Affinity Chromatography on Immobilized Snowdrop Bulb Lectin, *Arch. Biochem. Biophys.*, 267(2): 676-680

224. Shu, Y.-Z. (1998). Recent Natural Products Based Drug Development: A Pharmaceutical Industry Perspective, *J. Nat. Prod.*, 61: 1053-1071
225. Silverstein, R., Bassler, G. C., Morrill, T. C. (1974). Spectrometric Identification of Organic Compounds, 3th Ed., John Wiley and Sons, Inc., New York, 102-104
226. Slavík, J., Slavíková, L., (1979). Alkaloids From *Corydalis cava* (L.) Schw.et Koerte, *Coll. Czech. Chem. Commun.*, 44: 2261-2274
227. Soh, K. S., Lahey, F. N., Greenhalgh, R. (1966). The Structure of Hernandine, *Tetrahedron Letters*, (43): 5279-5283
228. Southon, I. W., Buckingham, J. (Eds.) (1989). Dictionary of Alkaloids, Indexes, Chapman and Hall Ltd., New York, 504
229. Southon, I. W., Buckingham, J. (Eds.) (1989). Dictionary of Alkaloids, Vol. 14, Chapman and Hall Ltd., New York, 163, 260, 453, 664.
230. Spohn, M., Brecht, V., Frahm, A. W. (1994). Revised Assignment of ¹³C-NMR-Signals to Quarternary Carbons of the Amaryllidaceae Alkaloid Lycorin, *Arch. Pharm. (Weinheim)*, 327: 123-124
231. Stanek, J. (1967). Phthalideisoquinoline Alkaloids in The Alkaloids Chemistry and Physiology, Manske, R. H. F. (Ed), Vol. 9, Academic Press Inc., New-York, 117-131
232. Stefanov, I. (1991). Developmental Changes in Wild and Introduced Populations of *Leucojum aestivum* L., *Farmatsiya (Sofia)*, 41(2): 18-23; *Chem. Abstr.* (1991). 115: 275741f
233. 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 (Sofia)*, 27 (4): 4-10; *Chem. Abstr.* (1978). 89: 102941n
234. 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
235. 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, 198-212.
236. Sweeney, J. E., Höhmann, C. F., Moran, T. H., Coyle, J. T. (1988). A Long-Acting Cholinesterase Inhibitor Reverses Spatial Memory Deficits in Mice, *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 31: 141-147
237. Şahin, N. F., Şakıyan, N., Pınar, N. M. (1997). An Investigation on the Pollen Morphology of *Galanthus ikariae* Baker and *Galanthus rizehensis* Stern (Amaryllidaceae), *Turk. J. Bot.*, 21: 305-307
238. Şahin, N. F. (1998). Morphological Anatomical and Physiological Studies on *Galanthus ikariae* Baker and *G. rizehensis* Stern (Amaryllidaceae) Grown around NE Turkey, *Pak. J. Bot.*, 30(1): 117-131
239. Şahin, N. F. (2000). Polen Morphology of *Galanthus elwesii* Hooker (Amaryllidaceae), *Pak. J. Bot.*, 32(1): 5-6

240. Şahin, N. F. (1995). Trabzon yöresi *Galanthus* L. (=Kardelen) Türlerinin Morfolojik ve Palinolojik Yönden İncelenmesi, Doktora Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon
241. Şener, B. (1985). Turkish Species of *Fumaria* and Their Alkaloids, V. Alkaloids from *Fumaria capreolata* and *Fumaria asepala*, *J. Nat Prod.*, 48(4): 670
242. Takagi, S., Katagi, T., Takebayashi, K. (1968). Gas Liquid Chromatography of Alkaloids. II. Quantitative Analysis of Alkaloids of *Lycoris radiata* Herb., *Chem. Pharm. Bull.*, 16(6): 1121-1123
243. 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
244. Tanahashi, T., Poulev, A., Zenk, M. H. (1990). Radioimmunoassay for the Quantitative Determination of Galanthamine, *Planta Med.*, 56(1): 77-81
245. Tang, K., Tinjuangjun, P., Xu, Y., Sun, X., Gatehouse, J. A., Ronald, P. C., Qi, H., Lu, X., Chritou, P., Kohli, A. (1999). Particle-Bombardment-Mediated Co-transformation of Elite Chinese Rice Cultivars With Genes Conferring resistance to Bacterial Blight and Sap-Sucking Insect Pests, *Planta*, 208: 552-563.
246. Tato, M. P. V., Castedo, L., Riguera R. (1988). New Alkaloids from *Panocratium maritimum* L., *Heterocycles*, 27(12): 2833-2838

247. Tencheva, J., Yamboliev, I., Zhivkova, Z. (1987). Reversed-Phase Liquid Chromatography for the Determination of Galanthamine and Its Metabolites in Human Plasma and Urine, *J. Chromatogr.*, 421(2): 396-400
248. Tıpıdamaz, R., Ellialtıoğlu, Ő., akırlar, H. (1999). Kardelenin (*Galanthus ikariae* Baker.) Doku Kltr Yoluy-la oğaltımı: Eksplant Tipi, Ortam pH'sı ve Karbonhidrat Kaynağının Soğancık OluŐumuna Etkisi, *Tr. J. of Agriculture and Forestry*, 23(4): 823-830
249. Tokhtabaeva, G. M. (1987). Chromatophotocolorimetric Technique for Determination of Galanthamine and its Metabolites in *Narcissus*, *Khim-Farm. Zh.*, 21(6): 703-705
250. Tram, N. T. N., Titorenkova, T. V., Bankova, V. St., Handjeva, N. V., Popov, S. S. (2002). *Crinum* L.(Amaryllidaceae), *Fitoterapia*, 73: 183-208
251. Tsakadze, D. M., Abdusamatov, A., Razakov, R., Yunusov, S. Y. (1970). The Structure of Galanthusine, *Chem. Nat. Comp.*, 6: 791-792
252. Tsakadze, D. M., Kadyrov, Kh. A., Kiparenko, T. N., Abdusamatov, A. (1980). New Alkaloid from *Galanthus caucasicus*, *Izv. Akad. Nauk Gruz. SSR, Ser. Khim.*, (1979). 5(2): 191-192; *Chem. Abstr.* (1980). 92: 55053z
253. Tsakadze, D. M., Kiparenko, T. N., Tsitsishvili, N. S. (1969). Alkaloids of *Galanthus caucasicus*, *Soobshch. Akad. Nauk Gruz. SSR*, 55(3): 573-575; *Chem. Abstr.* (1970). 72: 35723b
254. Tsakadze, D. M., Kiparenko, T. N., Abdusamatov, A. (1977). Rutin and Hyperoside from *Galanthus caucasicus*, *Chem. Nat. Comp.*, 13: 105
255. Tsakadze, D., Abdusamatov, A., Samsoniya, Sh. (2000). Phenolic Compounds from *Galanthus caucasicus*, *Bull. Georgian Acad. Sci.*, 158(3): 433-434

256. Tsakadze, D. M., Kiparenko, T. N., Tsitsishvili, N. S., Abdusamatov, A., Yunusov, S. Y. (1969). Demethylhomolycorine from the Plant *Galanthus caucasicus*, *Soobshch. Akad. Nauk Gruz. SSR*, 56(2): 305-307; *Chem. Abstr.* (1970). 72: 107840n
257. Tsakadze, D. M., Abdusamatov, A., Yunusov, S. Y. (1969). Alkaloids of *Galanthus caucasicus*, *Chem. Nat. Comp.*, 5: 281-282
258. 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
259. Tüzen, M., Özdemir, M., (2003). Chromatographic Determination of Phenolic Acids in the Snowdrop by HPLC, *Turk. J. Chem.*, 27: 49-54
260. Ünver, N., Gözler, T., Walch, N., Gözler, B., Hesse, M.. (1999). Two Novel Dinitrogenous Alkaloids from *Galanthus plicatus* subsp. *byzantinus* (Amaryllidaceae), *Phytochemistry*, 50: 1255-1261
261. Ünver, N., Noyan, S., Gözler, T., Önür, M. A., Gözler, B., Hesse, M. (1999). Three New Tazettine-Type Alkaloids from *Galanthus gracilis* and *Galanthus plicatus* subsp. *byzantinus*, *Planta Med.*, 65: 347-350
262. 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
263. 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 Lett.*, 215(1): 140-144
264. Van Damme, E. J. M., De Clerq, N., Claessens, F., Hemschoote, K., Peeters, B., Peumans, W. J., Molecular Cloning and Characterization of Multiple Isoforms of the Snowdrop (*Galanthus nivalis* L.) Lectin, *Planta*, 186, 35-43
265. 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, *Eur. J. Biochem.*, 202(1): 23-30
266. Vardar, Y. (1969). Bitki Anatomisi Dersleri, Yüksek Bitkilerin Genel Yapısı, Ege Üniversitesi Matbaası, İzmir
267. Vdovin, A. D., Kadyron, Kh., A., Yagudaev, M. R., Allayarov, Kh. B., Nistryan, A. K. (1981). Structure of Trisphaeridine, *Chem. Nat. Comp.*, 17(3): 279-280
268. Volodina, A. D., Dobronravova, E. K., Shakirov, T. T. (1972). Spectrophotometric Determination of Lycorine in Plant Raw Material and A Preparation, *Chem. Nat. Comp.*, 161: 743-745
269. Volodina, A. D., Dobronravova, E. K., Shakirov, T. T. (1970). Polarographic Determination of Galanthamine in *Ungernia victoris*, *Chem. Nat. Comp.*, 6: 459-461
270. Volodina, A. D., Dobronravova, E. K., Shakirov, T. T. (1973). Quantitative Determination of Lycorine in Dihydrolycorine, *Chem. Nat. Comp.*, 4: 536

271. Vrijssen, R., Vanden Berghe, D. A., Vlietinck, A. J., Boeye, A. (1986). Lycorine: A Eucaryotic Termination Inhibitor?, *J. Biol. Chem.*, 261(2): 505-507
272. Vulkova, A. (1961). Proof and Determination of the Alkaloids in *Galanthus nivalis* and *Leucojum aestivum*, *Farmatsiya*, 2: 17-22; *Chem. Abstr.* (1961). 55: 21479d
273. Vulkova, A. (1961). Identification and Determination of the Alkaloids of *Galanthus nivalis* var. *gracilis* and *Leucojum aestivum*, *Farmaciya*, 11(2): 17-22; *Abstr. Bulgar. Sci.Lit., Biol. Med.*, (1961). (3), *Abstr. No.* 493; *Chem. Abstr.* (1963). 58: 5984f
274. Weinges, K. (1960). Spruce Exudation Lignans, *Tetrahedron Letters*, (20): 1-2; *Chem. Abstr.* (1961). 55:13339
275. Weniger, B., Italiano, L., Beck, J.-P., Bastida, J., Bergañon, S., Codina, C., Lobstein, A., Anton, R. (1995). Cytotoxic Activity of Amaryllidaceae Alkaloids, *Planta Med.*, 61:77-79
276. Wildman, W. C., Brown, C. L. (1968). Mass Spectra of 5,11b-Methanomorphanthridine Alkaloids. The Structure of Pancracine, *J. Nat. Chem. Society.*, 90: 6439-6446
277. 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, 307-405
278. 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, 289-413

279. Willis, J. C. (1988). Amaryllidaceae, in A Dictionary of the Flowering Plants & Ferns, 8th Ed., Shaw, A. H. K. (Ed.), Cambridge University Press, Cambridge, 49-50, 474
280. Wright, C. S., Kaku, H., Golstein, I. J. (1990). Crystallization and Preliminary X-Ray Diffraction Results of Snowdrop (*Galanthus nivalis*) Lectin, *J. Biol. Chem.*, 265(3): 1676-1677
281. World Health Organization (1998), Quality Control Methods for Medicinal Plant Materials, Geneva, 28
282. Wurst, F., Prey, T., Puchinger, L., Bancher, E. (1980). Eine Neue Methode Zur Quantitativen Bestimmung von Galanthamine in Drogenextrakten von *Leucojum aestivum*. *J. Chromatogr.*, 188: 452-456
283. Yakovleva, A. P. (1963). The Alkaloids of *Galanthus woronowii*. VII. Isolation of Tazettine, *J. Gen. Chem.*, 33: 1647-1648
284. Yalabık, B. (1997). *Leucojum aestivum* L. Üzerinde Kalite Kontrol Çalışmaları, Yüksek Lisans tezi, Ege Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir
285. 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
286. Yunusov, S. Y., Kiparenko, T. N., Razakov, R., Abdusamatov, A., Tsakadze, D. M. (1972), Galanthusine, an Alkaloid from Snowdrop, *Galanthus caucasicus*, *Soobshch. Akad. Nauk. Gruz. SSR.*, 65(2): 333-336; *Chem. Abstr.* (1972). 77: 45496x

287. Zeybek, N., Sauer, E. (1995). Türkiye Kardelenleri (*Galanthus* L.) I., Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir
288. Zeybek, U. (1983). Über die Alkaloide Verschiedener *Galanthus*-Arten”, Doktora Tezi, Viyana Üniversitesi, Farmakognozi Enstitüsü, Viyana
289. Zeybek, U., Jurenitsch, J., Kubelka, W., Jentzsch, K. (1982). HPLC-Bestimmung des Alkaloidgehaltes in Verschiedenen *Galanthus*-Arten, *Scientia Pharmaceutica*, 50(4): 282-284
290. 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

ÖZGEÇMİŞ

1971 yılında Aydın'da doğdum. İlköğrenimimi İzmir Yeşilyurt İlkokulu'nda, ortaöğrenimimin orta kısmını İzmir Özel Türk Lisesi, lise kısmını ise Bornova Anadolu Lisesi'nde tamamladım. 1989-1993 yıllarında Ege Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi'nde lisans eğitimimi tamamladıktan sonra, 1994 yılı Eylül ayında E. Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nde Farmakognozi Yüksek Lisans Programına kayıtlı oldum. 1995 yılı Temmuz ayında E. Ü. Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi Anabilim Dalı'nda araştırma görevlisi kadrosuna atandım. 1997 yılı Eylül ayında yüksek lisans eğitimimi tamamladıktan sonra, aynı yıl Eylül döneminde doktora eğitimime başladım. Halen Ege Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi Anabilim Dalı'nda araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım. Evliyim.