

T.C.  
EGE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

İZMİR, KEMALPAŞA, NİF DAĞINDA YETİŞEN  
*GALANTHUS GRACILIS* ÇELAK. ÜZERİNDE BAZI  
FARMAKOGNOZİK ÇALIŞMALAR

118022

118022

TC. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU  
DOKÜMANTASYON MERKEZİ  
Farmakognozi Programı  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Eczacı Aylin FİLLİK

İZMİR - 2002

T.C.  
EGE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**İZMİR, KEMALPAŞA, NİF DAĞINDA YETİŞEN  
GALANTHUS GRACILIS ÇELAK. ÜZERİNDE BAZI  
FARMAKOGNOZİK ÇALIŞMALAR**

Farmakognozi Programı  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

118022

1. Danışman Öğretim Üyesi: Prof. Dr. M. Ali ÖNÜR
2. Danışman Öğretim Üyesi: Yard. Doç. Dr. Nehir ÜNVER

**Eczacı Aylin FİLLİK**

İZMİR - 2002

Bu çalışmayı yöneten ve çalışmalarım sırasında çok değerli fikir ve yardımlarını gördüğüm Sayın Prof. Dr. M. Ali ÖNÜR'e,

Çalışmalarım sırasında çok değerli yardım ve fikirlerini aldığım ve Türkiye'de bulamadığım bazı yabancı kaynakları sağlamada yardım ve desteklerini gördüğüm Sayın Yard. Doç. Dr. Nehir ÜNVER'e,

Çalışmalarım sırasında çok değerli yardım ve ilgisini gördüğüm Sayın Prof. Dr. Tekant GÖZLER'e,

HPLC yöntemi ile yapmış olduğum çalışmalarda çok değerli zamanlarını ve yardımlarını esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Yaşar HIŞIL'a,

Bu çalışmaya verdiği maddi destek için Ege Üniversitesi Araştırma Fonu'na, ve TÜBİTAK (Proje No . SBAG-2194)'a,

Çalışmalarımın her aşamasında büyük desteklerini gördüğüm aileme ve arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunuyorum.

# İÇİNDEKİLER

I. GİRİŞ.....	1
<b>II. BOTANİK BÖLÜM</b>	
A. TEORİK KISIM.....	4
1. <i>GALANTHUS</i> GENUSU.....	4
2. <i>GALANTHUS GRACILIS</i> ÇELAK. ....	5
B. PRATİK KISIM.....	8
1. MATERYAL ve METOT.....	8
2. BULGULAR.....	11
a. <i>Galanthus gracilis</i> Çelak. Bitkisinin Muhtelif Kısımlarının Anatomik Olarak İncelenmesine Ait Bulgular.....	11
1° Köke Ait İnceleme ve Bulgular.....	11
2° Soğana Ait İnceleme ve Bulgular.....	12
3° Gövdeye Ait İnceleme ve Bulgular.....	13
4° Yaprığa Ait İnceleme ve Bulgular.....	15
5° Spataya Ait İnceleme ve Bulgular.....	17
6° Çiçeğe Ait İnceleme ve Bulgular.....	19
7° Meyvaya Ait İnceleme ve Bulgular.....	26
8° Tohuma Ait İnceleme ve Bulgular.....	27
b. <i>Galanthus gracilis</i> Çelak. Bitkisinin Toz Örneği Üzerinde Gerçekleştirilen Mikroskobik İncelemeye Ait Bulgular .....	29
1° (A <sub>1</sub> ) Kodlu Bulbus Galanthi Toz Droglarının Mikroskobik Olarak İncelenmeleri .....	29
2° (A <sub>3</sub> ) Kodlu Herba Galanthi Toz Droglarının Mikroskobik Olarak İncelenmeleri .....	29

-> 3 ° A<sub>2</sub> ve A<sub>4</sub> Kodlu Herba Galanthi Toz Droglarının Mikroskopik Olarak

İncelenmeleri .....34

**C. TARTIŞMA ve SONUÇ**.....37

### **III. KİMYASAL BÖLÜM**

**A. TEORİK KISIM**.....39

**B. PRATİK KISIM**.....50

1. MATERYAL ve METOT.....50

2. DENEMELER.....52

a. Nem Miktar Tayini.....52

b. Total Kül Miktar Tayini.....52

c. Sülfat Külü Miktar Tayini.....52

d. Alkaloitlerin İ.T.K. İle Teşhis ve Kontrolü.....53

e. Total Alkaloit Miktar Tayini.....55

1° 0.02 N Sülfürik Asit Çözeltisinin Hazırlanması ve Ayarlanması.....56

2° 0.02 N Sodyum Hidroksit Çözeltisinin Hazırlanması ve Ayarlanması.....57

f. Alkaloitlerin İ. T. K. İle Kombine Edilmiş Spektrofotometrik

Miktar Tayini İçin Yapılan Kontrol Çalışmaları.....58

1° Galanthamine İçin Yapılan Kontrol Çalışmaları.....58

2° Lycorine İçin Yapılan Kontrol Çalışmaları.....60

g. Lycorine'nin İ.T.K. ile Kombine Edilmiş Spektrofotometrik

Bir Yöntemle Miktar Tayini.....62

1° Lycorine ile Standart Serinin Hazırlanması ve Ölçü

Eğrisinin Çizimi.....62

2° Bulbus Galanthi'de Lycorine Miktar Tayini.....63

h. Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi ile Lycorine'in Teşhisi ve Miktar Tayini.....	66
1°Lycorine İçin Yapılan Kontrol Çalışmaları.....	66
2° Bulbus Galanthi'de Lycorine Miktar Tayini.....	67
i. Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi ile Galanthamine'in Teşhisi.....	69
3. BULGULAR.....	71
a. Nem Miktar Tayini.....	71
b. Total Kül Miktar Tayini.....	73
c. Sülfat Külü Miktar Tayini.....	75
d. Alkaloitlerin İ.T.K. ile Teşhis ve Kontrolü.....	77
1° Galanthamine'nin İ.T.K. ile Teşhis ve Kontrolü.....	77
2° Lycorine'nin İ.T.K. ile Teşhis ve Kontrolü.....	79
3°Galanthamine ve Lycorine'in İ.T.K. ile Teşhis ve Kontrolü.....	81
e. Total Alkaloit Miktar Tayini.....	83
f. Alkaloitlerin İ.T.K. ile Kombine Edilmiş Spektrofotometrik Miktar Tayini İçin Yapılan Kontrol Çalışmaları .....	84
g. Lycorine'nin İ.T.K. ile Kombine Edilmiş Spektrofotometrik Bir Yöntemle Miktar Tayini.....	93
h. Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi ile Lycorine'in Teşhisi ve Miktar Tayini.....	98
1° Lycorine İçin Yapılan Kontrol Çalışmaları.....	98
2° Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi ile Bulbus Galanthi'de Lycorine Miktar Tayini.....	101
i. Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi ile Galanthamine'in Teşhisi.....	102
C. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	106

<b>ÖZET</b> .....	112
<b>SUMMARY</b> .....	113
<b>KAYNAKLAR</b> .....	114
<b>ÖZGEÇMİŞ</b> .....	124



## I.GİRİŞ

*Galanthus* türleri, *Amaryllidaceae* familyasının dünyada mevcut olduğu bildirilen 85 (74) ve Türkiye’de mevcut olduğu bilinen 8(17) genusu arasında yer alan çok yıllık, soğanlı bitkilerdir(2, 7, 74). Halk arasında Kardelen, Öksüz Ahmet, Garipçe, Boynu bükük, Kargasoğanı, Aktaş gibi yerel isimlerle tanınmaktadırlar(2, 6, 78). *Galanthus* türlerinin topraküstü kısımlarının halk arasında kalbi kuvvetlendirici, midevi ve adet söktürücü olarak, toprakaltı kısımlarının ise taze halde iken ezilip lapa halinde hazırlanarak çıbanları olgunlaştırıcı olarak kullanıldıkları belirtilmektedir(6).

Ekonomik açıdan ele aldığımızda, *Galanthus* türlerinin ekolojik toleransları fazla ve vejetatif yolla üretilmeleri kolay bitkiler olduklarından, dünyanın hemen hemen her tarafında bahçe ve çevre süslemelerinde aranılan ve çok kullanılan bitkiler oldukları, başta Hollanda olmak üzere bazı ülkelere süs bitkisi olarak yurdumuzdan ihraç edildikleri bilinmektedir. Son



yıllarda bu yoğun ihracat sonucu, tahrib olduğu görülen bitkilerin yok olmalarını önlemek için bunların ihracatları ve korunmaları konusunda bazı yasal düzenlemelerin yapıldığı bildirilmiştir(41).

*Galanthus* türleri kimyasal içerikleri açısından, son yıllarda potansiyel tedavi edici etkileri nedeniyle yoğun olarak araştırılan lektinleri yanında alkaloit içerikleri bakımından da çok sayıda araştırmaya konu olmaktadır. Mevcut olanaklarımız nedeniyle çalışma konusu dışında tutulan lektinler bir tarafa bırakılırsa *Galanthus* türlerinin alkaloit içerikleri bizim açımızdan da incelenmeye değerdir. Bu alkaloitlerden, tedavi değeri açısından en önemli olanlardan biri galanthamine adlı alkaloittir. Bu bileşik analjezik, antikolinesteraz, antikolinerjik gibi değişik aktivitelere sahiptir(13). Tedavide ameliyat sonrası bağırsak-midemesane atonisinde, myastenia gravis’de, myopati ve poliomyelitis’ten sonraki semptomlarda, polinevrapati, polinevrit ve omurilik zedelenmelerinde kullanıldığı derleme şeklinde hazırlanmış ikincil bir kaynaktan bildirilmektedir(27). Bu alkaloitlerin tedavi açısından esas ilgi çekici yönü, asetilkolinesteraz inhibitörü aktiviteye sahip olması nedeniyle Alzheimer Hastalığındaki kullanılışıdır(52, 53, 62). Etkili bileşik olarak galanthamine içeren “Nivalin” adlı preparat günümüzde Avusturya’da ve diğer Avrupa topluluğu ülkelerinde onaylanmış olarak bu hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır(55). Buna ilaveten, sentetik galanthamine hidrobromür tuzu içeren “Reminyl” adlı preparat da hafif ve orta şiddette seyreden Alzheimer hastalığının tedavisinde kullanılmak üzere günümüze kadar gelişmiş Avrupa ülkelerinde içeren 21 ülke ve Şubat 2001’de ise Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onaylanmıştır(28, 29, 30). Deneysel epileptojenez ve parkinsonun stabil patolojik durumunda, kolin bloke edici ve kolin potansiyalize edici ilaçların etkilerini inceleyen bir çalışmada, galanthamine’in hayvanlarda oluşturulan deneysel epilepside antikonvulzif bir etki gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca galanthamine’in deneysel parkinsonizmde, metamizilin termor, sertlik ve hipokineziyi azaltıcı etkisini arttırdığı da belirtilmiştir(47).

J. J. J. J.

Ana alkaloidlerden bir diğeri olan lyciorine'in analjezik etkisinin yanı sıra(65), in vitro olarak kuvvetli kardiyotonik etkisi olduğu bildirilmiştir(1). Sıçanlarda uterus ve bağırsak motilitesini arttırdığı in vitro olarak gösterilmiştir(58). Ayrıca bazı RNA ve DNA esaslı virüsler üzerinde deneysel olarak saptanmış antiviral etkisinin olduğu da bilinmektedir(24, 33). Örneğin lycorine'in poliomyelitis, Coxsackie B<sub>2</sub>, kabakulak, Semliki Forest, Herpes Simplex Tip I virüslerini doza bağımlı olarak inhibe ettiği bildirilmiştir(32, 33, 34, 72). Söz konusu bu alkaloidin antimalaryal ve sitotoksik aktiviteyede sahip olduğu gösterilmiştir(46). Bütün bu hususlar söz konusu iki alkaloidin tedavi açısından önemlerini ortaya koymaktadır.

Bu çalışmada esas olarak İzmir ili Kemalpaşa ilçesi Nif Dağında yabani olarak yetişen *Galanthus gracilis* Çelak bitkisinin farklı vejetasyon zamanlarına ait topraküstü ve toprakaltı kısımlarında, gerek total alkaloid miktarı ve gerekse galanthamine ve lycorine alkaloidlerinin miktarı açısından, karşılaştırma yapabilmek amaç olarak belirlenmiştir. Buna ilaveten, incelenen materyalin kalite özelliklerinin saptanmasında esas olabilecek nem ve kül miktar tayini gibi bazı ilave denemeler ile bitkinin farklı vejetasyon dönemlerine ait olan topraküstü ve toprakaltı kısımlarından hazırlanan örnekler üzerinde mikroskopik özelliklerini belirleme açısından anatomik çalışmalar da yapılmıştır. Böylece total alkaloid, galanthamine ve lycorine miktarı açısından zengin olan kaliteli droğun taşınması gereken temel özelliklerin belirlenmesi amaçlanmıştır.

## II. BOTANİK BÖLÜM

### A. TEORİK KISIM

*Galanthus gracilis* Çelak. bitkisi, çok yıllık bir bitki olup, Amaryllidaceae familyası üyeleri arasında yer almaktadır(15,17,76,80). Aşağıda ana amacı bitkinin cins ve tür seviyesinde tanımına yönelik olmak üzere verilen bilgiler 'Flora of Turkey and the East Aegean Islands' adlı kaynaktan hiçbir katkıda bulunulmaksızın derlenmiştir(17).

### 1.GALANTHUS GENUSU

Soğanlı, skapuluslu, çok yıllık. Yapraklar tabanda, 2, linear, veya oblanceolate. Skapus, çiçekli haldeyken dik, meyve gelişim döneminde ise bükülmüş. Çiçekler tek, beyaz ve eğik. Spata bitişik 2 parçalı. Hipantium ve korona bulunmaz. Periant segmentleri serbest; dıştaki 3 segment akuttan subobtusa kadar, spatulat veya oblanceolattan 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 oblanceolat, 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 gözülü. Tohumlar açık kahverengi, strophiolate'dir(17).

## 2. GALANTHUS GRACILIS ĆELAK.

*Galanthus gracilis* Ćelak.in Sitz.-Ber.-Böhm. Ges. Wiss. 1891 : 195,t. 9 (1891). Syn: *G. bulgaricus* Velen. İn. Sched. ; *G. graecus* Sensus Stern et auct., non Orph. Ex Boiss (1882); *G. elwesii* Hooker fil. Subsp. minor D.A. Webb in Bot. J. Linn. Soc. 76:312 (1978)! ? *G. elwesii* Hooker fil. Var. *stenophyllus* Kamari in Bot. Jahrb. Syst. 103:122 (1982) e descr. Ic: Stern, Snowdrops & Snowflakes 41 (1956), as *G. graecus*; Artiushenko, op. Cilt. 12, t. 23 (1974), as *G. graecus*. Map 55(17).

Soğan ovoitten subgloboza kadar, 1.5-2 (-2.8) x 0.8-1.4 (-2) cm. Yapraklar linear, bazen çok dar oblanseolat, tomurcukta yassı, çiçek açınca (5-) 8-11 (-15) cm. x 3-5 (-7) mm., olgunlukta 27 cm. x 3-9 mm.'ye kadar uzayabilir, çoğunlukla belirgin burulmuş , bazen sadece hafif burulu, düz, mumlu, tepede obtus. Skapus 8 -14 cm. Periantın dış segmentleri konveks, dar obovat-spatulat, 15-26 x 7-10 mm., içteki segmentler düz, genellikle tepede farkedilebilir derecede yayılmış, dar oblong-spatulat, 7-11 x 3-5 mm., tabanda ve uçta birbirinden ayrı olan yeşil lekeler, bazen merkezde birleşmiş olabilirler. Filamentler 1 (-2) mm., anterler 4-5 mm. Kapsül ovoitten subgloboza kadar, 11-16 x 10-14 mm., 2n=24. Çiçeklenme zamanı; Şubat-Nisan. *Pinus brutia* ve *Pyrus* ağaçlarının altındaki nemli ve küflü yapraklar arasında, nemli çayırarda veya kireçli kayalıklarda, 200-1820 m. yetişir(17).

Bulgaristan, Yunanistan, Doğu Akdeniz Ülkeleri elemanı. Webb (Bot. J. Linn. Soc. 76:311-313, 1978) ve Kamari (Bot. Jahrb. Syst. 103:119-123,1982), *G. gracilis*'i *Galanthus elwesii* ile özdeşleştirilerek, subspesiyes (subsp. Minor D. A. Webb) veya varyete olarak (var. *stenophyllus* Kamari) sınıflandırmışlar. Varyetelere örnek olarak; *stenophyllus* İsrail, Lesmos; Kamari ve Chiristodovlakis 15834a; Khios, Kamari ve Chiristodovlakis 15833b. İki taksonun genel görünüşleri oldukça benzer olmasına rağmen, bariz olarak farklıdır. *Galanthus elwesii*'de yapraklar, tomurcuklanma döneminde düz ve linear veya bazen çok dar oblanseolattır. Buna

ilave olarak *Galanthus gracilis* yapı olarak daha narin ve genellikle küçük çiçeklidir. Ayrıca *Galanthus gracilis*'te görülen (herbaryum materyalinden saptanması zor bir özellik) içteki yayılmış periant segmentlerinden *Galanthus elwesii*'de bahsedilmez. Lesvos, Samos, Khios ve Güneybatı Türkiye'deki *Galanthus gracilis* ve *Galanthus elwesii* populasyonlarının yanyana yetiştirilerek iki takson arasında oluşan hibridizasyonun olup oluşmadığını tespit etmek için tarla denemelerinin yapılması gerektiği belirtilmektedir(17).

Türkiye'nin soğanlı bitkileri konusunda yayınlanmış farklı bir kaynak ülkemizde mevcut olan 6 Amaryllidaceae genusu içinde diğerlerinden beyaz renkli, sarkık çiçekler taşıması ve çiçek örtüsündeki iç ve dış segmentlerin eşit boyda olmamasıyla ayırdığı *Galanthus* genusu için, İngilizce'den Türkçe'ye hiçbir katkı yapılmaksızın \*derlenen bir tanımlamaya da yer verilmektedir(7).

Bitki, 2, nadiren 3 taban yapraklı küçük soğanlı. Çiçekler tek, eğik; periant 2 sıralı 6 segmentli, dıştaki geniş olan 3 tanesi obovat, konkav, beyaz; içteki küçük olan 3 tane beyaz, tepede ve bazen tabanda da yeşil lekeli. Anterler sarı, bir koni şeklinde. Kapsül 3 gözlü, çok tohumlu, tohumlar globoz, siyahımsı veya kahverengimsi.

İncelenmiş olan kaynaklardan birinde ülkemizde yabani olarak yetişmekte olan *Galanthus* türlerinin sayısının 9 olduğu belirtilmiştir. Bu türler *G. reginaeolgae* Orph. , *G. pilicatus* (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. fosterii* Baker, *G. ikariae* Baker ve *G. caucasicus* (Baker) Grossh olarak bildirilmiştir(17-18). Bir diğer kaynakta Avrupa ve Akdenizden Kafkasya'ya kadar yaklaşık 20 türünün mevcut olduğu(74), üçüncü bir kaynakta ise Avrupa ile Batı Asya'da yayılış gösteren ve dünyada yaklaşık 20 türü bulunan Galanthus genusunun Türkiye'de genellikle sık olmayan ormanlık ve çalılıklarda bulunan 7 türünün var olduğu belirtilmektedir(7).

Daha yakın zamanlarda Türkiye Kardelenleri (*Galanthus* L.) adı ile yayınlanmış farklı bir diğer kaynakta Türkiye'de mevcut *Galanthus* taksonlarının sayısı 20 (bunlar 7 tür ve bu türlere ait subsp. veya varyeteler halinde ayrılmışlardır) olarak bildirilirken, yaprak anatomisi hakkında da bilgiler verilmiştir(80).

Bir diğer kaynakta ise *Galanthus* genusunda 20 tür (25 takson) bulunduğu belirtilmekte ve aynı kaynakta *Galanthus* türlerinin sistematik tayinlerinde yararlı olabilecek yaprağa ait anatomik karakterler ayrıntılı olarak incelenmektedir. 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 karşılaştırmalı çalışmalarda yapılmıştır(16).

İncelediğimiz farklı bir kaynakta ise *Galanthus* genusunun morfolojisi, anatomisi, sitolojisi, döllenmesi, ekolojisi, kültürü, taksonomisi ve hibritleri ile ilgili bilgiler ayrıntılı olarak verilmiştir(15).

Gerçekleştirilen bir diğer araştırmada *Galanthus ikariae* Baker ve *Galanthus rizehensis* Stern'in (Amaryllidaceae) ışık, taramalı ve geçirmeli elektron mikroskoplarıyla polen morfolojileri üzerinde bir çalışmada gerçekleştirilmiştir(63).

Türkiye de yetişen *Galanthus* türleri değişik araştırmacılarca 8 tür 9 takson(5), 7 tür 20 takson(3) ve 8 tür(Baytop) olarak belirtilmektedir. *Galanthus* genusunda ise 20 tür, 25 takson bulunmaktadır(12).

*Galanthus* genusunu gruplandırma da 8 karakter (tür ve alt türleri) veri oluşturabilme potansiyeline sahip olarak tanımlanmıştır. Bu karakterlerin 6 tanesi de ilk olarak bu çalışmada saptanmıştır. Bu karakterlerin bazıları, tek başına veya diğer anatomik verilerle kombinasyon halinde taksonomisi zor olan türleri birbiri arasında ilişkilendirmede yararlı bulunmuştur(13).

## B. PRATİK KISIM

### 1. MATERYAL VE METOT

Mikroskobik incelemelerde kullanılacak materyali oluşturmak için gereken *Galanthus gracilis* Çelak. bitkisi örnekleri bitkiler çiçekli ve meyveli durumda iken sırasıyla 29.03.2000 ve 03.05.2000 tarihlerinde İzmir ili Kemalpaşa ilçesi Nif Dağından toplanmıştır. *Galanthus gracilis* Çelak. Bitkisinin doğadaki görünüşü Resim 1'de yer almaktadır.



Resim 1. Çalışmaya Konu Olan *Galanthus gracilis* Çelak. Bitkisinin Genel Görünüşü

*Galanthus gracilis* Çelak. bitkisinden hazırlanan herbarium örnekleri 1244 ve 1248 numaraları ile Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognози Anabilim Dalı Herbariumunda kayıtlıdır. Resim 2 ve Resim 3'de herbarium örneklerine ait fotoğraflar görülmektedir.

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



Resim 2. Çalışmaya Konu Olan Çiçekli Dönemdeki *Galanthus gracilis* Çelak. Bitkisinin Herbaryum Örneği



Resim 3. Çalışmaya Konu Olan Meyvalı Dönemdeki *Galanthus gracilis* Çelak. Bitkisinin Herbaryum Örneği



*Galanthus gracilis* Çelak. Bitkisine ait örneklerin öncelikle topraküstü kısımları

toprakaltı kısımlarından ayrılmıştır. Her iki grup da temizlendikten sonra ufak parçalara bölünerek açık havada, gölgede ve oda sıcaklığında kurularak drog örnekleri hazırlanmıştır. Temizleme işlemi, gözle görülebilen bütün organik ve anorganik yabancı maddeler yanında bitkiye ait olan kurumuş, lekelenmiş veya bozulmuş bütün kısımlar elle ayrılarak gerçekleştirilmiştir.

İleriki çalışmalarımızda kolaylık sağlaması amacıyla bitkinin farklı vejetasyon dönemlerinde toplanarak kurutulmuş toprakaltı ve topraküstü kısımlarına değişik kodlar verilmiştir. 29.03.2000 tarihinde toplanmış olan çiçekli haldeki *Galanthus gracilis* Çelak. bitkisinden hazırlanan Herba Galanthi örneklerine AÇTÜ, yine aynı tarihte toplanmış olan bitkiden hazırlanan Bulbus Galanthi örneklerine AÇTA kodları verilmiştir. 03.05.2000 tarihinde toplanan meyvalı haldeki bitkiden hazırlanan Herba Galanthi örneklerine AMTÜ, yine aynı tarihte toplanmış olan bitkiden hazırlanan Bulbus Galanthi örneklerine AMTA kodları verilmiştir.

Toz materyalin mikroskobik olarak incelenmesi için yukarıda bahsedildiği şekilde safsızlıklarından kurtarılan örneklerden alınan bir miktar drog, bir tunç havan yardımı ile mekanik olarak orta incelikte toz haline getirilmiştir. Anatmik çalışmalarda ise yukarıda bahsedilen alkol materyalinden yararlanılmıştır. Alkol materyalinde bulunan bitkinin kök, soğan, gövde, yaprak, çiçek ile meyva ve tohumlarına ait çeşitli örneklerden enine ve gerektiğinde boyuna kesitler alınmış, bu kesitlerin Sartur ve Kloralhidrat reaktifleri(14) içinde hazırlanan mikroskobik inceleme preparatları halinde Carl Zeiss Jena marka araştırma mikroskobunda anatomik yapılar açısından karşılaştırmalı olarak incelenmiştir.

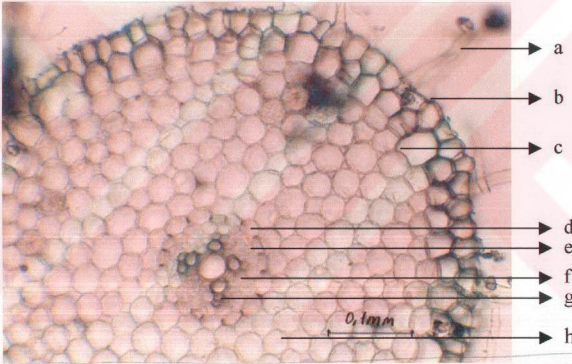
Bu incelemeler sırasında bitkilerin kök, soğan, gövde, yaprak, çiçek ile meyva ve tohumlarına ait sabit ve karakteristik özellikleri, Carl Zeiss Jena mikrofotografi cihazı kullanılarak saptanmıştır.

## 2. BULGULAR

### a. *Galanthus gracilis* Çelak. Bitkisinin Muhtelif Kısımlarının Anatomik Olarak İncelenmesine Ait Bulgular

#### 1° Köke Ait İnceleme ve Bulgular

Kök enine kesitinde, en dışta emici tüy kalıntıları taşıyan epidermis ve bunun altında bir sıra kabuk parankiması hücre çeperlerinin suberinleşmesiyle oluşan eksodermis ile ince çeperli, poligonal ve bazılarında rafit kristali bulunan kabuk parankiması yer almaktadır. Kabuk parankimasının iç kısmında kaspari şeridi belirgin olan, ince çeperli endodermis ve periskl hücreleri ile bunun da iç kısmında merkezde büyük bir trake ve bunun çevresinde üç-

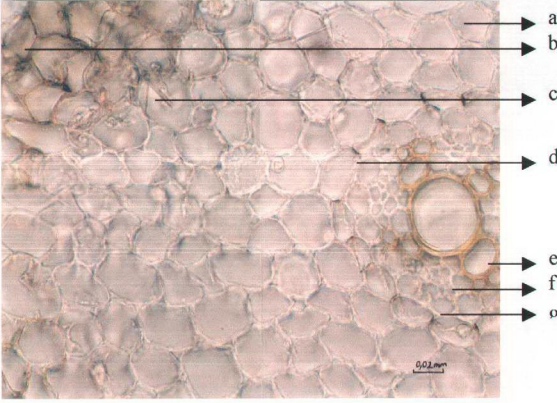


beş(genellikle 3) grup ksilem ve bunların arasında floem bulunmaktadır(Resim 4, Resim 5).

Resim 4: Kök Enine Kesit

a-Emici Tüy, b-Epidermis, c-Eksodermis, d-Endodermis, e-Perisikl, f-Floem, g-Ksilem, h-Kabuk

Parenkiması

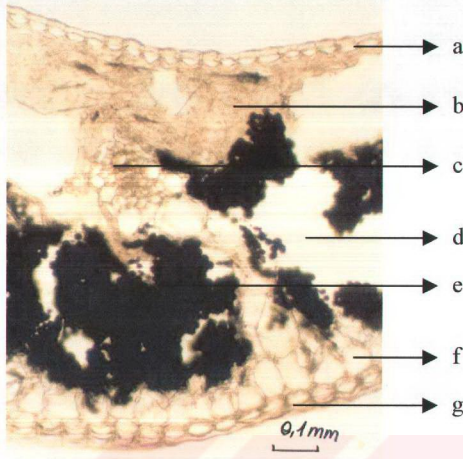


Resim 5: Kök Enine Kesit

a-Kabuk Parenkiması, b-Epidermis, c-Rafit Kristalleri, d-Endodermis, e-Ksilem, f-Floem, g-Perisikl

### 2° Soğana Ait İnceleme ve Bulgular

Genel olarak bir yaprak yapısı gösteren soğan enine kesitinde iç ve dış epidermis hücreleri hafif yanlara doğru basık dikdörtgenimsi, dorsal çeperi kalın, ventral ve lateral çeperleri biraz daha ince, dış epidermin iç kısmında büyük ve nişasta içermeyen hipodermis(bulluform=İçi boş büyük hücre) bulunmaktadır. Bunun iç kısmındaki ince çeperli parankimatik hücreler bol miktarda basit ve bileşik nişasta içermektedir. İletim demetleri arasında hava kanalları yer almaktadır. Gerek iç gerekse dış epidermin iç kısmında yer alan mezofil hücreleri ve iletim demetleri çevresindeki hücrelerde rafit kristalleri ve iletim demeti çevresindeki bazı hücrelerde ne olduğunu tanımlayamadığımız madde birikimi görülmektedir. İç epidermin iç kısmında yer alan mezofil hücreleri sıkışmış durumdadır(Resim 6).



Resim 6:Soğan İç Yaprak enine Kesit

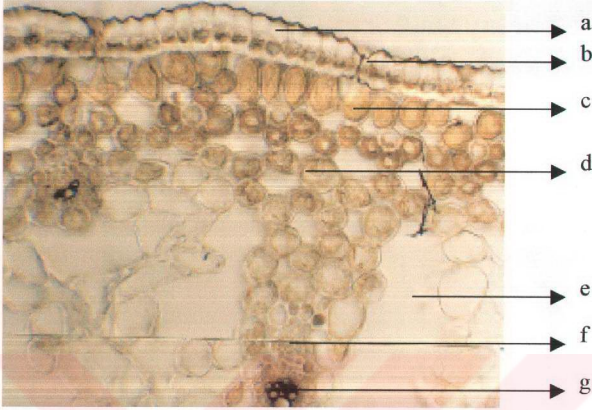
a-İç Epidermis, b-Mezofil Hücreleri, c-İletim Demeti, d-Hava Kanalı, e-Nişasta, f-Hipoderma, g-Dış Epidermis

### 3°Gövdeye Ait İnceleme ve Bulgular

Enine kesitinde, dipte ovalimsi olan gövde uç kısma doğru gidildikçe yassılaşımakta ve yanlara doğru çıkıntılar oluşturmaktadır . Bu çıkıntılarının iç kısmında birkaç kollenkima hücresi bulunmaktadır.

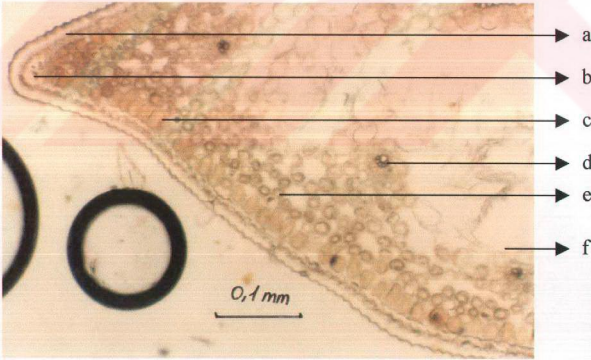
Çizgicikli, ince kutikula ile örtülü ve gömük stoma taşıyan gövde epidermis hücrelerinin dorsal çeperi oldukça kalın, lateral çeperleri ince, ventral çeper laterale göre biraz daha kalın olduğu saptanmıştır. Epidermisin iç kısmında bir sıra palizat ve 3-4 sıra hücre arası boşlukları geniş olan sünger parankiması ile ince çeperli ve kloroplast içermeyen büyük parankimatik hücreler görülmektedir. Bu ince çeperli parankimatik hücrelerin yırtılmasıyla hava kanallarının oluştuğu tespit edilmiştir. Palizat ve sünger parankiması arasında çeperleri biraz

daha kalın ve küçük hücrelerin içersinde ve iletim demeti çevresindeki bazı hücrelerde rafit kristalleri bulunmaktadır(Resim 7, Resim 8, Resim 9). (Resim 7-9)



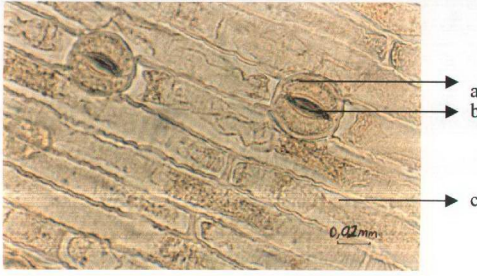
Resim 7:Gövde Enine Kesit

a-Epidermis, b-Stoma, c-Palizat Parenkiması, d-Sünger Parenkiması, e-Hava Kanalı, f-Floem, g-Ksilem



Resim 8: Gövde Enine Kesit

a-Epidermis, b-Kollenkima, c-Palizat Parenkiması, d-İletim Demeti, e-Sünger Parenkiması, f-Hava Kanalı



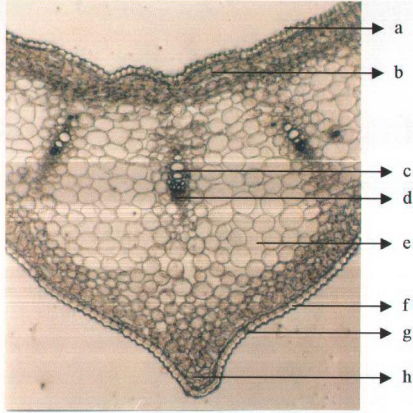
Resim 9: Gövde Yüzeysel Kesit

a-Stoma Hücresi, b-Stoma Açıklığı, c-Epidermis

#### 4° Yaprğa Ait İnceleme ve Bulgular

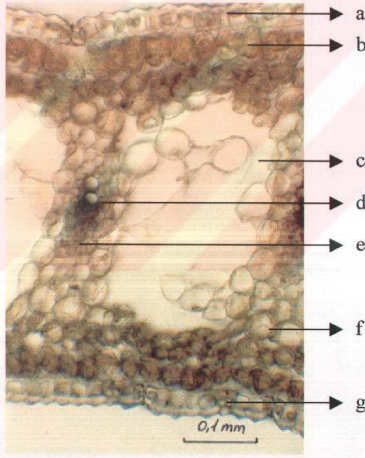
Yaprak enine kesitinde karina belirgin ve karinanın iç kısmında birkaç kollenkima hücresi yer almaktadır. Dış yüzeye doğru hafif papilli olan alt ve üst epidermis hücrelerinin dorsal çeperi kalın, laterale göre biraz daha kalın olan ventral çeper ince ve epidermisteki stomaların gömük olduğu gözlenmektedir. Her iki epidermisin iç kısmında sıkışık bir sıra palizat parankiması ve 2-4 sıra sünger parankiması ile merkeze doğru büyüyen, hücre arası boşlukları artan ince çeperli parankimatik hücreler bulunmaktadır. Palizat ile sünger parankiması arasındaki çeperleri biraz daha kalın ve küçük hücreler ile kolateral iletim demetlerinin çevresindeki bazı hücrelerde rafit kristalleri bulunmaktadır. İletim demetleri arasındaki hava kanalları belirgin ve hava kanallarının bulunduğu yerlerde epidermis dış yüzeye doğru kavis oluşturmamaktadır. (Resim 10, Resim 11, Resim 12)

Yaprak yüzeyel kesitinde epidermis hücrelerinin dikdörtgenimsi ve düz çeperli olduğu, anomositik stomaların kutuplarında kutikulanın çizgicikli olduğu görülmüştür. (Resim 10, Resim 11, Resim 12)



Resim10:Yaprak Enine Kesit Karina Kısmı

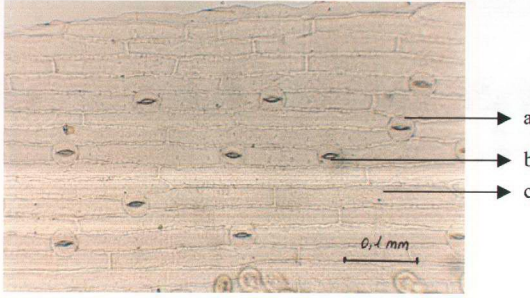
a-Üst Epidermis, b-Palizat Parenkiması, c-Ksilem, d-Floem, e-Parenkima Hücresi, f-Alt Epidermis, g-Stoma, h-Kollenkima



Resim 11:Yaprak Enine Kesitte İletim Demeti

a-Üst Epidermis, b-Palizat Parenkiması, c-Hava Kanalı, d-Ksilem, e-Floem, f-Sünger Parenkiması, g-Alt Epidermis

ve Stoma



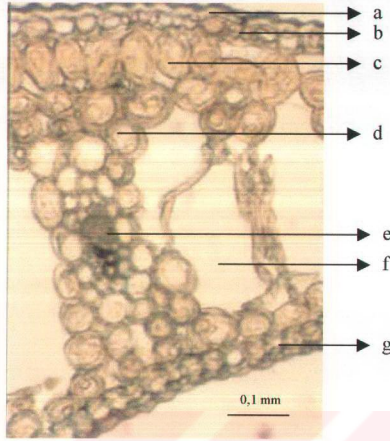
Resim 12:Yaprak Yüzeysel Kesitte Stoma  
a-Stoma, b-Stoma Açıklığı, c-Epidermis

### 5° Spataya Ait İnceleme ve Bulgular

Genel olarak bir yaprak anatomik yapısını gösteren spatada çizgicikli kutikula ile kaplı dış epidermisinin iç kısmında kloroplast içeren bir sıra palizat ve 1-4 sıra sünger parankiması, iç epidermisin iç kısmında ise kloroplast içeren parankima hücresi, kolateral iletim demetleri ile hava kanalları bulunmaktadır. Spatanın birleşme yerlerine(yanlara) doğru gidildikçe dış ve iç epidermis hücreleri birbirine yaklaşmakta ve bunların arasındaki parankimatik hücreler ezilerek veya sıkışarak bir çizgi haline dönüşmektedir. Spatanın orta kısmında normal görünümde olan iç epidermis hücreleri yanlara doğru gidildikçe yassılaşmakta ve spatanın birleşme(yırtilma) yerine yakın yerlerde iç epidermis hücrelerinin dorsal ve ventral çeperleri birbirine temas edecek kadar ezilmiş şekilde ve lateral çeperleri de bir tepsih tanesi görünümü almaktadır.(Resim 13, Resim 14, Resim 15)

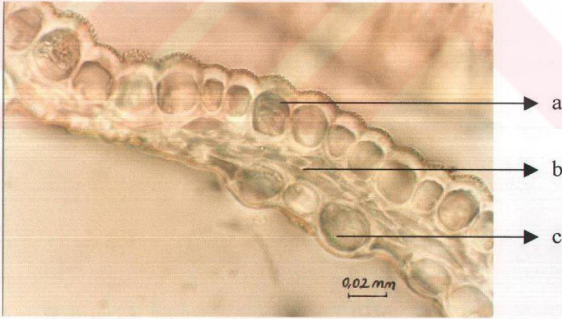
13-15





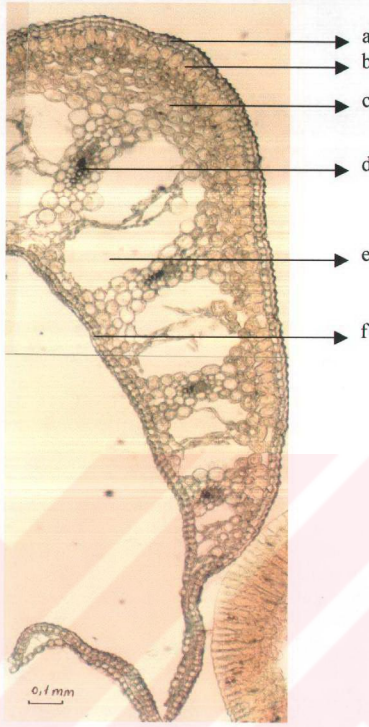
Resim 13: Spata Enine Kesitte İletim Demeti

a-Dış Epidermis, b-Stoma, c-Palizat Parenkiması, d-Sünger Parenkiması, e-İletim Demeti, f-Hava Kanalı, g-İç Epidermis



Resim 14: Spata Enine Kesitinde Spatanın Birleşme(Yırtılma) Yeri

a-Dış Epidermis, b-Ezilmiş Parenkimatik Hücreler, c-İç Epidermis



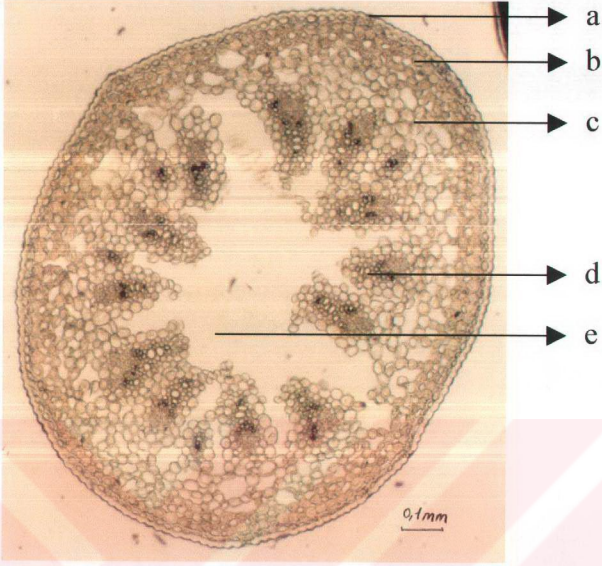
Resim 15: Spata Enine Kesitinin Genel Görünüşü

a-Dış Epidermis, b-Palizat Parenkiması, c-Sünger Parenkiması, d-İletim Demeti, e-Hava Kanalı, f-İç Epidermis

### 6° Çiçeğe Ait İnceleme ve Bulgular

#### Çiçek Sapı:

Genel olarak daire şeklinde olan çiçek sapı enine kesitinde kutikulası ince ve boyuna çizgili, stoması gömük olan yapraktaki gibi kalın çeperli epidermis hücreleri bulunmaktadır. Bunun iç kısmında 2-3 sıra kloroplast içeren sıkışık parankima hücreleri merkeze doğru gidildikçe büyümekte ve hücre arası boşlukları da artmaktadır. Merkezdeki hava kanalı çevresinde kolateral iletim demetleri yer almaktadır. Yine rafitlerin burada gövdedeki gibi olduğu görülmektedir(Resim 16, Resim 17).



Resim 17: Çiçek Sapı Enine Kesitte Genel Görünüş

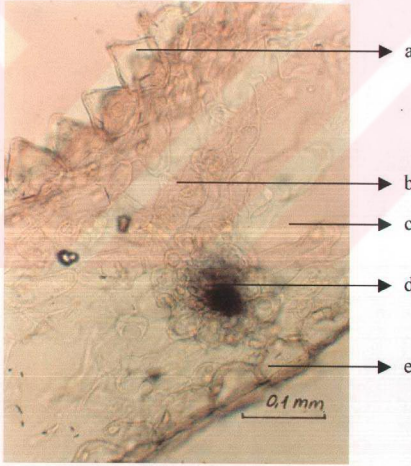
a-Epidermis, b-Palizat Parenkiması, c-Sünger Parenkiması, d-İletim Demeti, e-Hava Kanalı



Resim 16: Çiçek Sapı Yüzeyel Kesit

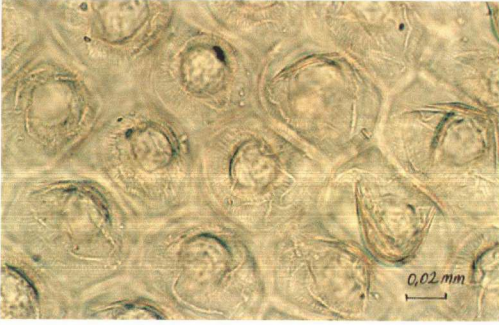
### Dış Tepal:

Genel olarak yaprak enine kesitini andıran dış tepal enine kesitinde ince çeperli dış epidermis hücreleri oldukça kuvvetli papilli ve kutikulası papil boyuna çizgili olmasına rağmen papilsiz iç epidermis hücrelerinin kutikulası parmak izi gibi dalgalı çizgili ve çeperlerinin ince olduğu görülmektedir. Bu papillerin yüksekliği tepalin uç kısmından dip kısmına doğru azalmaktadır. İki epidermis arasında çok ince çeperli ve hücre arası boşlukları geniş parankimatik hücreler ile iletim demetleri arasında hava kanalları bulunmaktadır. Yine rafitlerin yaprak ta olduğu dış epidermisin iç kısımlarında ve iletim demeti çevresinde **bulunduğu** gözlenmiştir. Gerek papilsiz iç epidermis ve gerekse papilli dış epidermis, yüzeysel görünüşlerinde düz çeperli beşgen veya altgenimsi hücrelerden oluşmaktadır (Resim 18, Resim 19, Resim 20).

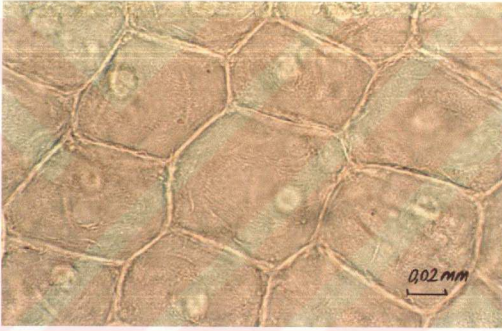


Resim 18: Dış Tepal Enine Kesit

a-Dış Epidermis, b-Parenkima Hücresi, c-Hava Kanalı, d-İletim Demeti, e-İç Epidermis



Resim 19: Dış Tepal Yüzeyel Kesitte Dış Epidermis

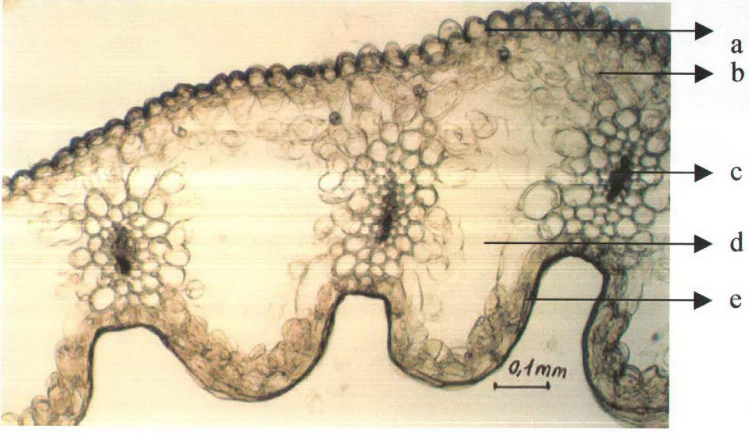


Resim 20: Dış Tepal Yüzeyel Kesitte İç Epidermis

### İç Tepal:

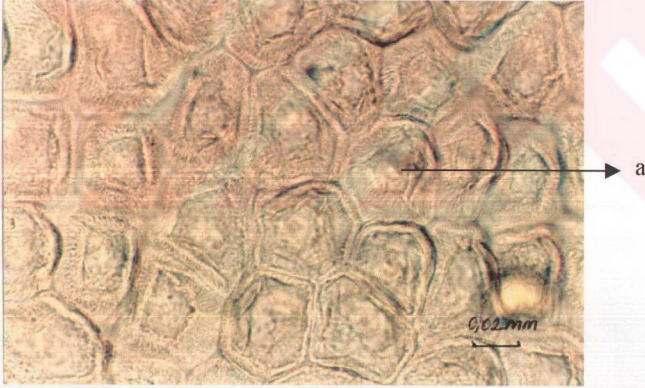
İç tepal enine kesiti anatomik olarak dış tepale benzemektedir. Hava kanallarının bulunduğu yerlerde iç epidermis iç yüzeye doğru oldukça kuvvetli çıkıntılar oluşturarak girintili çıkıntılı bir yapı sergilemektedir. Dış ve iç epiderminin yüzeyel incelenmesinde beşgen veya altıgenimsi olan dış epidermis hücreleri papilli ve kutikulası papil boyunca çizgili iken uzun dikdörtgenimsi olan iç epidermis hücreleri boyuna hafif çizgili bir kutikulayla örtülmektedir (Resim 21, Resim 22, Resim 23).

21-23

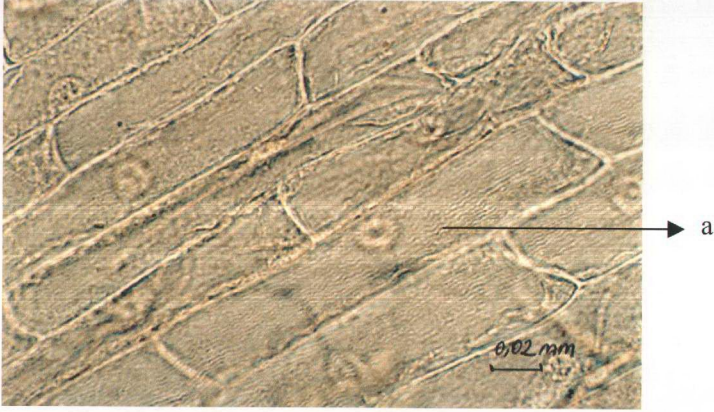


Resim 21: İç Tepal Enine Kesit

a-Dış Epidermis, b-Parenkima Hücreleri, c-İletim Demeti, d-Hava Kanalı, e-İç Epidermis



Resim 22: İç Tepal Yüzeysel Kesit Dış Epidermis (a-Papil)

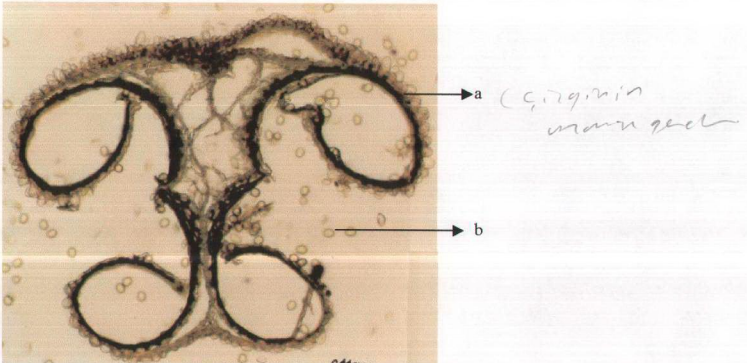


Resim 23: İç Tepal Yüzeysel Kesitte İç Epidermis (a-Kutikula Çizgileri)

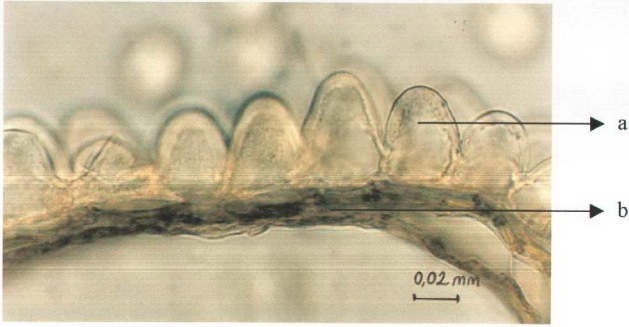
**Anter:**

Anter enine kesitinde, anter epidermisi tepallerdeki dış epidermis gibi kuvvetli papilli ve kutikulasının papil boyunca çizgili olduğu görülmektedir. Lümenleri dar ve kalın çeperli endotesyum hücrelerinin iç yüzeye bakan(ventral) çeperlerinde odunlaşma, yüzeysel kesitlerinde ventral çeperde ağırsı bir kalınlaşma bulunmaktadır. İki teka küçük bir iletim demeti içeren parankimatik bir dokuyla birbirine bağlanmaktadır. Anter içinde bulunan polenlerin incelenmesi sonucunda bilateral simetrlili monokolpat yapıya sahip oldukları saptanmıştır(Resim 24, Resim 25, Resim 26).

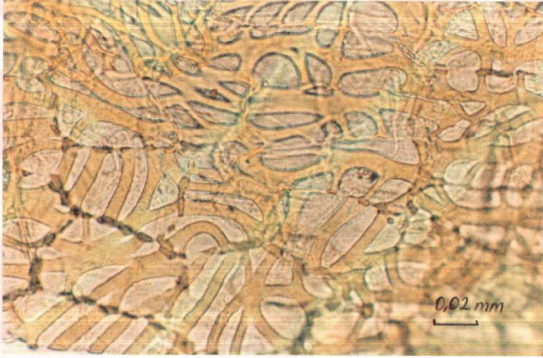
24-26



Resim 24: Anter Enine Kesitinin Genel Görünüşü (a-Endotesyum, b-Polen)



Resim 25: Anter Enine Kesitinde Epidermisteki Papiller  
a-Anter Epidermisi, b-Endotesyum

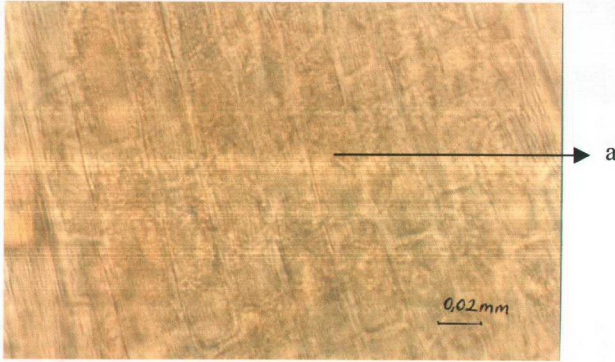


Resim 26 :Anter Endotesyumunda Ağsı Kalınlaşma (Yüzeyel görünüş)

**Flament:**

Enine kesitinde bir tek iletim demeti içeren flament, çiçek sapı anatomik yapısına benzemektedir.Yine çiçek sapında olduğu gibi yüzeyel kesitinde de kutikula çizgilerine rastlanmaktadır (Resim 27).

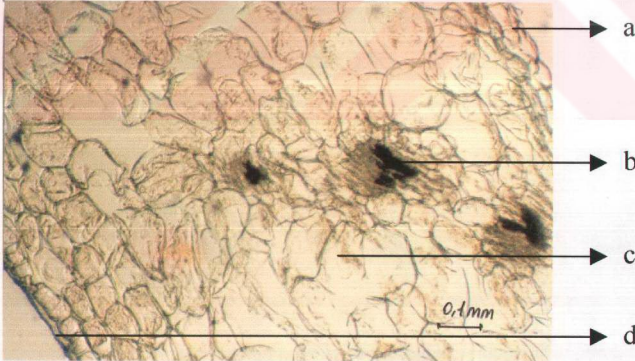




Resim 27: Filament Yüzeysel Kesit (a-Kütikula Çizgileri)

### 7° Meyvaya Ait İnceleme ve Bulgular

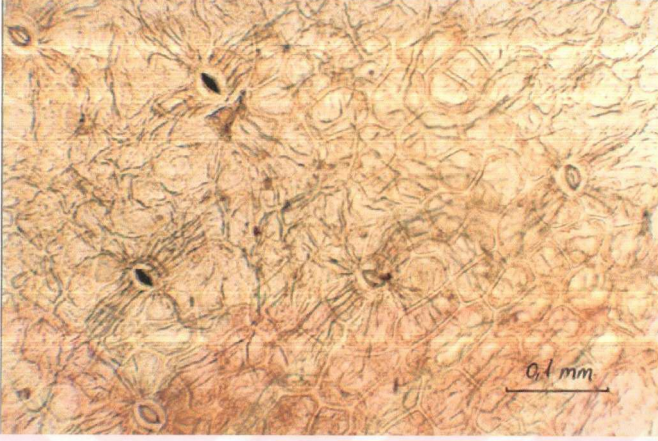
İnce bir kutikula ile örtülü olan ekzokarp hücrelerinin dorsal çeperleri kalın, ventral ve lateral çeperleri ise incedir. Ekzokarpın iç kısmındaki mezokarp hücreleri yanlara doğru uzamakta ve interselüler alanları dıştan endokarpa doğru artmaktadır. Endokarp hücreleri ince çeperli ve dikdörtgenimsi bir şekildedir (Resim 28).



Resim 28: Meyve Enine Kesitinin Genel Görünüşü

a-Endokarp, b-İletim Demeti, c-Mezokarp, d-Ekzokarp

Yüzeyel kesitte poligonal şekilli olan eksokarp hücreleri arasında yer alan anomositik tip stomaların kutikulası stoma eksenine dikey ve stoma kutuplarında stoma eksenine paralel olacak şekilde çizgildir(Resim 29).

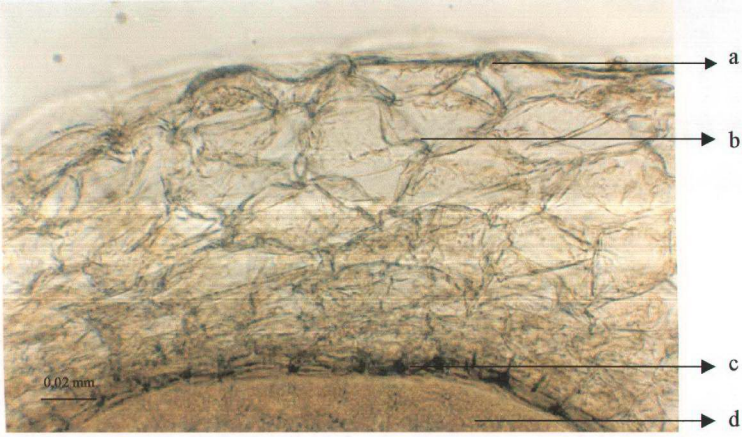


Resim 29: Meyve Yüzeyel Kesiti

### 8° Tohum Ait İnceleme ve Bulgular

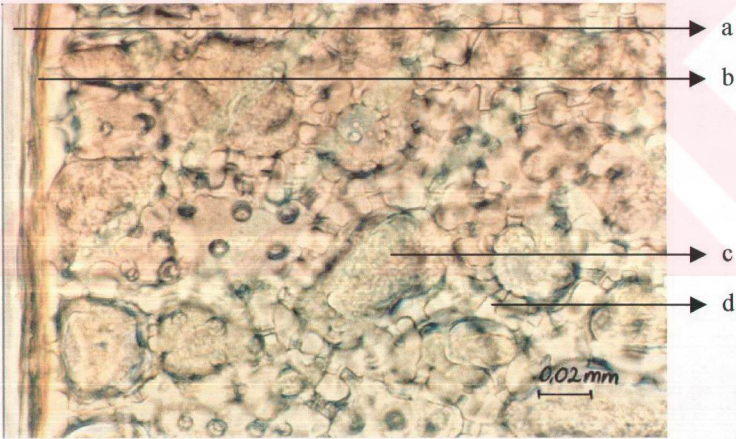
Olgun bir tohum enine kesitinde testa epiderması, testa parankiması ve ezilmiş besi doku sıkışmış olduğundan belirgin olarak görülememektedir. Hücre arası boşlukları bulunmayan kalın çeperli ve basit geçitleri belirgin endosperma hücreleri bol miktarda protein ve yağ içermektedir(Resim 30, Resim 31).

30-31



Resim 30: Olgunlaşmamış Tohum Enine Kesit

a-Testa Epiderması, b-Testa Parenkiması, c- Ezilmiş Besi Doku, d-Endosperma



Resim 31: Olgunlaşmış Tohum Enine Kesit

a-Testa Epiderması, b-Ezilmiş Besi Doku, c-Endosperma, d-Kalınlaşmış Çeper

## b. *Galanthus gracilis* Çelak. Bitkisinin Toz Örneği Üzerinde Gerçekleştirilen

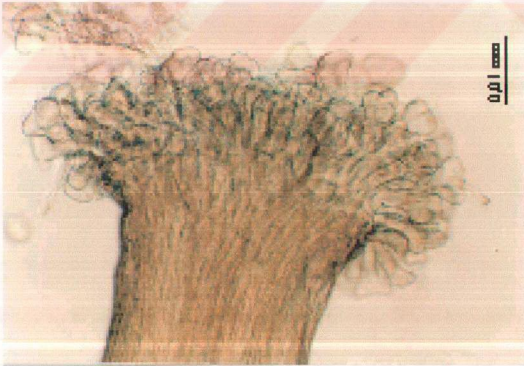
### Mikroskobik İncelemeye Ait Bulgular

#### 1° AÇTÜ Kodlu Herba Galanthi Toz Droğunun Mikroskobik Olarak İncelenmesi

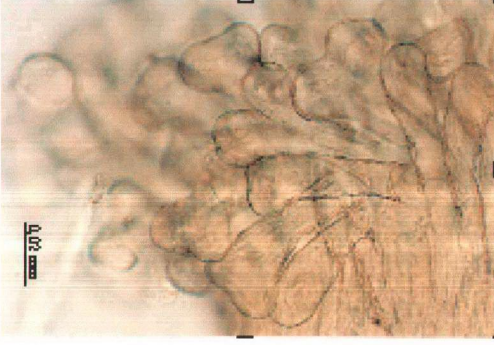
Toz droğun mikroskobik olarak incelenmesinde bol miktarda yeşil renkli yaprak ve gövde epidermisi parçaları ile ağ şeklinde kalınlaşma gösteren antere ait endotesyum parçaları, uzun dikdörtgen şeklinde dış tepalin iç epidermisi ve genişçe dikdörtgen ve poligonal denebilecek tarzda iç tepalin iç epidermisi, nadiren uç kısmı genişlemiş bol miktarda papilli stigmalar ve monokolpat, bilateral simetrik, oval şekilde ve eksin zarı düz polenler mevcuttur. Yine toz drog içinde gerek yaprak gerekse gövdeye ait yay gibi kıvrılmış epidermis parçalarında gözlenmektedir. İç ve dış tepale ait papilli dış epidermis hücreleri de görülmektedir.

#### 2° A<sub>MTÜ</sub> Kodlu Herba Galanthi Toz Droğunun Mikroskobik Olarak İncelenmesi

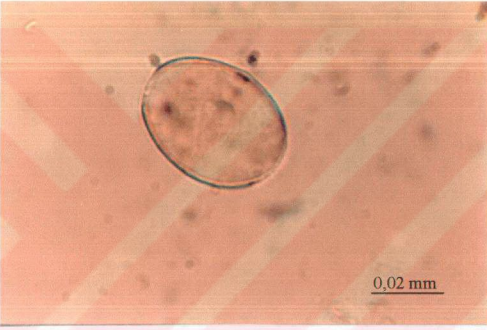
Toz droğun mikroskobik olarak incelenmesinde bol miktarda yaprak ve gövdeye ait yeşil renkli doku parçaları ile bunların epidermis hücrelerine ve az miktarda stoma içeren kütikulası genel olarak stoma eksenine paralel, stoma çevresinde stoma eksenine dikey çizgicikli ekzokarp hücrelerine rastlanmaktadır.



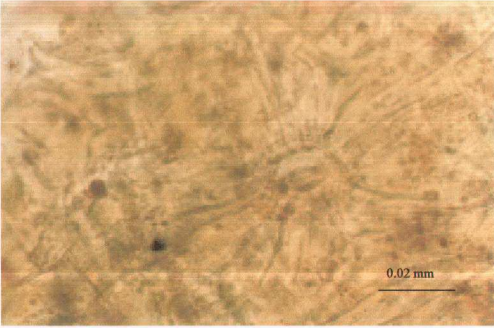
Resim 32: Stigma Genel Görünüş



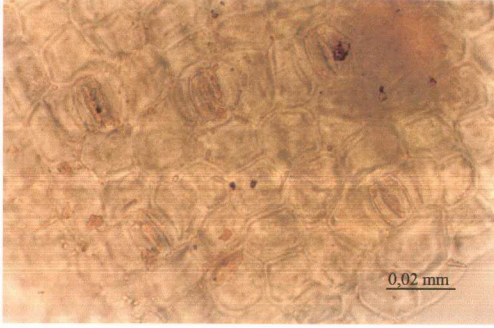
Resim 33: Stigma Papilleri



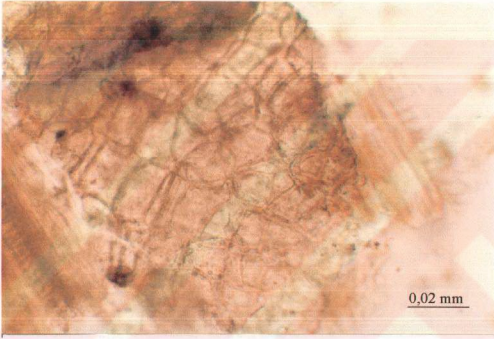
Resim 34: Polen



Resim 35: Meyve Ekzokarpının Yüzeysel Görünüşü



Resim 36:Ovaryum Ekzokarpi



Resim 37: Anter Endotesyumu



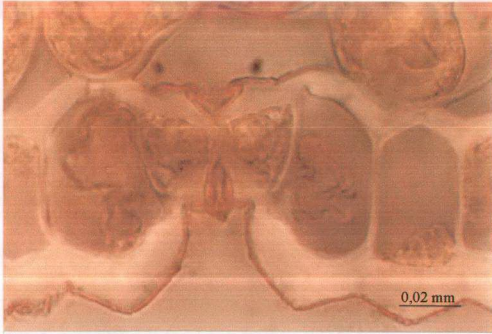
Resim 38:Anter Endotesyumu



Resim 39: İletim Demeti

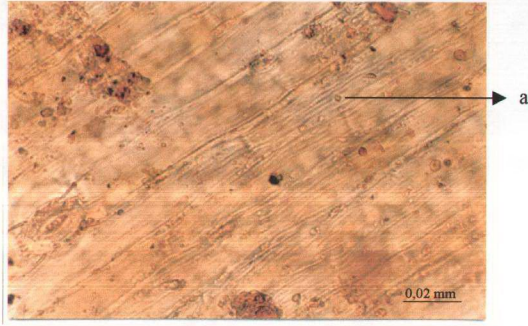


Resim 40: Yaprak Epidermisi

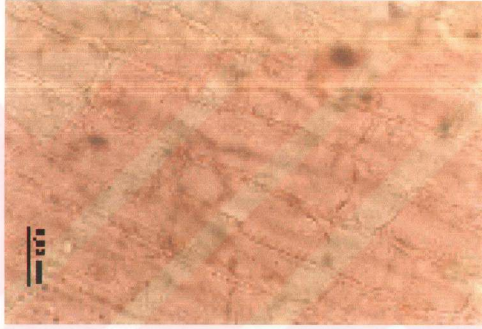


Resim 41: Stoma

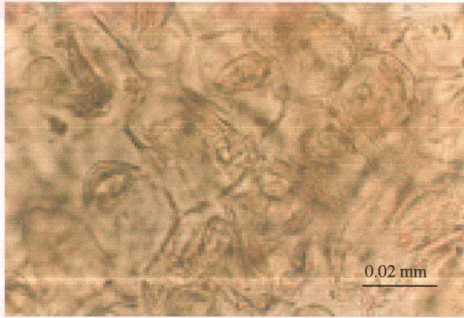
Bu  
dışta



Resim 42: Gövde Epidermisi (a- Kütikula Çizgileri)



Resim 43: İç Tepal İç Epidermis

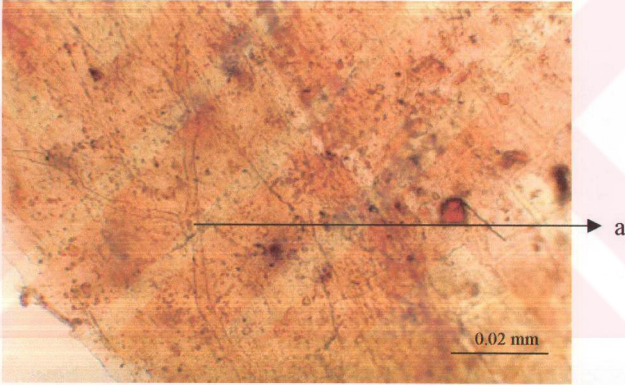


Resim 44: Papilli Çiçek epidermisi

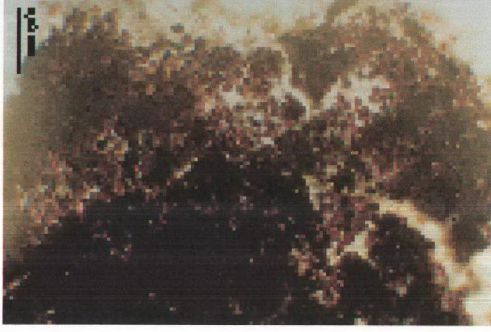


### 3° AÇTA ve A<sub>MTA</sub> Kodlu Bulbus Galanthi Toz Droğlarının Mikroskopik Olarak İncelenmeleri

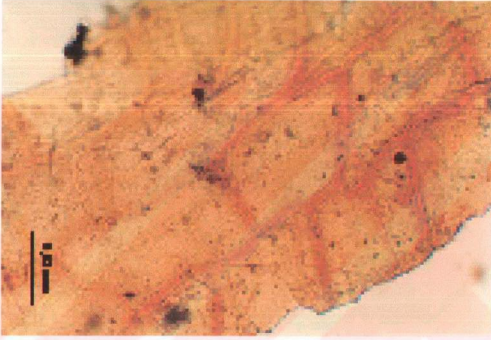
Çiçekli ve meyveli Bulbus Galanthi toz droğunun mikroskopik olarak incelenmesinde herhangi bir farklılık görülmemiştir. Her iki toz droğun mikroskopik olarak incelenmesinde açık kahverengi renkli soğanın ölü dış yaprak parçalarına ait yaprak epidermisi, odun boruları, parenkimatik hücreler içerisinde rafit demetleri ve bu cansız dış yaprak epidermisi üzerinde gelişmiş mantar hiflerine rastlanmaktadır. İç kısmında yer alan canlı yapraklara ait epidermis hücreleri, yuvarlak veya ovalimsi, basit veya bileşik nişasta taneleri ve bazılarında rafit demeti taşıyan parenkimatik hücreler ve bu parenkimatik hücreler arasında odun boruları görülmektedir.



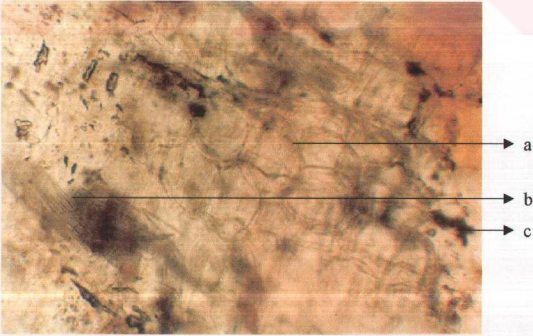
Resim 45: Mantar Hifleri Taşıyan Soğan Dış Yaprak Parçası (a- Mantar Hifi)



Resim 46: Nişasta Taşıyan Soğan Yaprak Parçası

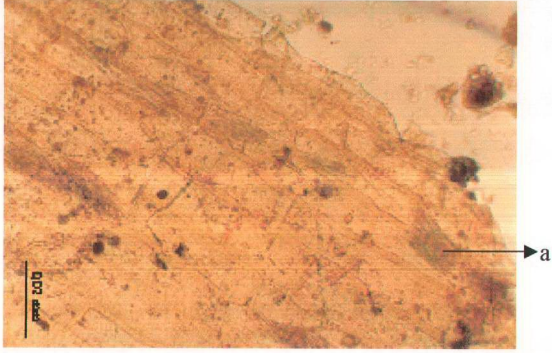


Resim 47: Soğan Dış Yaprak Epidermisi

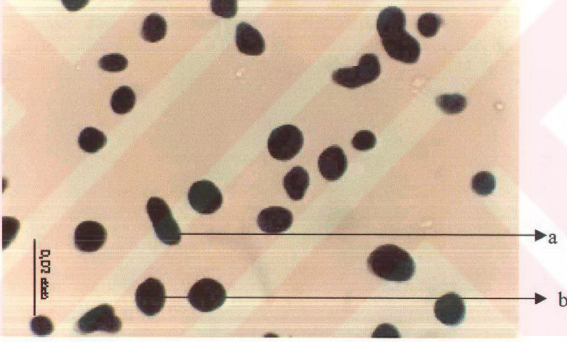


Resim 48: Parankimatik Hücreler ve Nişasta

a- Parenkima Hücreleri, b-Raftit Kristalleri, c-Nişasta



Resim 49: Rafit İçeren Soğan Dış Yaprak Epidermisi (a- Rafit Kristalleri)



Resim 50:Nişasta Taneleri

a-Bileşik Nişasta Tanesi, b-Basit Nişasta Tanesi

### C. TARTIŞMA VE SONUÇ

Galanthus türleri son yıllarda potansiyel tedavi edici özellikleri olan lektinleri ve bunun yanında başta galanthamine ve lycorine olmak üzere gerek tedavi açısından ve gerekse biyolojik aktiviteleri açısından oldukça önemli olan **Amaryllidaceae** alkaloidlerini taşımalarından dolayı çok sayıda araştırmaya konu olmuşlardır. Türkiye’de yabani olarak yetişen *Galanthus* türlerinden biri olan *Galanthus gracilis* Çelak. bitkisinin tayininde yardımcı olmak amacıyla bitkiden hazırlanan alkol materyalinden yararlanılarak kök, gövde, yaprak, meyva, tohum ve çiçeğe ait anatomik karakterler belirlenmiştir. İleride hazırlanabilecek Türk farmakopesinde yer alabileceğini düşündüğümüz Herba ve Bulbus Galanthi droglarına ait bir monografin hazırlanmasına yardımcı olmak amacıyla toz drog örnekleri de anatomik olarak incelenmiştir.

*Galanthus* türleri ile ilgili anatomik çalışmalarda daha çok yaprak anatomisi üzerinde durulmaktadır(16,78). Yaptığımız anatomik çalışmalar sonucunda yaprak enine kesitinde karina belirgin ve karinanın iç kısmında birkaç kollenkima hücresi yer almaktadır. Dış yüzeye doğru hafif papilli olan alt ve üst epidermis hücrelerinin dorsal çeperi kalın, laterale göre biraz daha kalın olan ventral çeper ince ve epidermisteki stomaların gömük olduğu gözlenmektedir. Her iki epidermisin iç kısmında sıkışık bir sıra palizat parankiması ve 2-4 sıra sünger parankiması ile merkeze doğru büyüyen, hücre arası boşlukları artan ince çeperli parankimatik hücreler bulunmaktadır. Palizat ile sünger parankiması arasındaki çeperleri biraz daha kalın ve küçük hücreler ile kolateral iletim demetlerinin çevresindeki bazı hücrelerde rafit kristalleri bulunmaktadır. İletim demetleri arasındaki hava kanalları belirgin ve hava kanallarının bulunduğu yerlerde epidermis dış yüzeye doğru kavis oluşturmamaktadır. Bu bulgular literatürler ile uyumluluk göstermektedir. Yaprak enine kesitinde rafitlerin hava kanalları çevresindeki parankimatik hücreler içinde(78) ve alt ve üst mezofil hücreleri içinde bulunduğu belirtilmiştir(16). Çalışmalarımız sırasında rafitlerin hem kolateral iletim demeti çevresinde ve hem de palizat ile sünger parankiması arasındaki çeperleri biraz daha kalın ve küçük hücrelerde

bulunduğunu saptadık. Bu hücrelerin bazılarında rafit bulunmamasının kesit alınırken rafitlerin üst veya alt kesitte kalmış olmasına bağlı olabileceği kanısındayız. Bizim örneklerimizin yapraklarında bulliform hücreler bulunmazken(16), bazı soğan yapraklarında bulunmaktadır.

Yaprak yüzeyel kesitinde epidermis hücrelerinin uzun, dikdörtgenimsi ve düz çeperli ve anomasitik stomaların kutuplarında kutikulanın çizgicikli olduğu görülen bu epidermis hücrelerinin *Galanthus* genusu içinde minimal sistematik değere sahip olduğu ve ileri derecede değişkenlik gösterdiği belirtilmiştir(16).

İncelediğimiz bir kaynakta çiçek anatomisinin sistematik değer taşımadığı belirtilirken(15) bir diğer kaynakta iki *Galanthus* türünün polen morfolojilerinin farklı olduğu(63) bildirilmiştir. Ancak bu konuda kesin bir yargıya varabilmek devam eden çalışmalarımızın sonuçlanmasıyla mümkün olabilecektir.

## III. KİMYASAL BÖLÜM

### A. TEORİK KISIM

Çalışmamızda konu olan Herba ve Bulbus Galanthi drogları hiçbir farmakopede yer almamıştır. Ancak kalite kontrol denemeleri için 10. Alman Farmakopesi (DAB 10)'nde yer alan yöntemler esas alınmıştır(19). Bu amaçla bu farmakopede yer alan nem, total kül ve sülfat külü miktar tayinlerine ait yöntemler aynen uygulanmıştır. Ayrıca Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) "Tıbbi Bitkisel Materyal İçin Kalite Kontrol Yöntemleri"(71) adlı kitabında yer alan total kül miktar tayini yönteminden de yararlanılmıştır. Drog örnekleri üzerinde, ince tabaka kromatografisi kullanılarak çeşitli teşhis ve saflık kontrolü denemeleri de yapılmıştır.

Bu denemelerin dışında, drog örnekleri üzerinde DAB 10'da farklı drog monografilerinde yer alan titrimetrik esaslı yöntemlerden yararlanılarak geliştirilen ve Anabilim Dalımızda daha önce çalışılmış olan İzmir Karaburun Akdağ'dan toplanmış *Galanthus elwesii* Hook. bitkisi üzerinde uygulanmış olan total alkaloit miktar tayini yöntemi uygulanmıştır(20, 74). Ayrıca fizyolojik ve farmakolojik etkileri nedeniyle, önemli alkaloitler olan galanthamine ve lycorine'in hazırlanan drog örneklerinde mevcut olup olmadıklarının saptanması amacıyla bazı kontrol denemeleri de yapılmıştır. Buna ilaveten, drog örneklerinde lycorine ve galanthamine'in bulunup bulunmadığı yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ile gösterilmiştir.

### **Nem, Kül, Total Alkaloit, Galanthamine ve Lycorine Miktar Tayinleri ile İlgili**

#### **Daha Önce Yapılmış Olan Çalışmalar:**

1940 yılında Areshkina, L. Ya'nın *Galanthus woronowii* üzerinde yaptığı çalışmada soğanlarında % 1.03 ve yapraklarında % 0.60 oranında total alkaloit olduğu saptanmıştır. Ayrıca bitkide yüksek oranda şeker, nişasta ve hemiselüloz varlığı da rapor edilmiştir(3).

1955 yılında Boit, Hans G. ve Ehmke, Horst. *Galanthus elwesii* Hook. bitkisi ve diğer bazı **Amaryllidaceae** bitkileri üzerinde yaptıkları çalışmaları yayınlamışlardır. Bu çalışmalarda total alkaloit miktar tayini yanında galanthamine, lycorine ve bitkideki diğer alkaloitlerin miktarları araştırılmıştır. Türkiye'den Temmuz ayında toplanan 2-5 yıllık bitkiler üzerinde yapılan çalışmada *Galanthus elwesii* Hook. bitkisinde % 0.14 oranında total alkaloit tespit edilmiştir. Bu total alkaloit miktarının % 39'unun galanthamine, % 21'inin lycorine, % 19'unun tazettine ve % 2'sinin ise haemanthamine olduğu bulunmuştur(8).

1961 yılında Bubeva-Ivanova, L. ve Ivanov, V. *Galanthus nivalis var. gracilis* bitkisinin topraküstü kısımlarındaki total alkaloit ve galanthamine miktarını araştırmışlardır. Total alkaloit miktarının % 0.22 - % 1.36 arasında değiştiğini ve farklı bölgelerden toplanan drogların farklı

niktarda galanthamine taşıdığı saptanmıştır. İklim şartları ve toprak cinsi ile droglardaki kalitatif ve kantitatif alkaloid içeriği arasındaki ilişki de bahsedilmiştir(9).

1962 yılında yayınlanan bir çalışmada Ichimura, Y. ve Nishimoto, K. tarafından galanthamine üzerinde fluorometrik bir miktar tayini yapılmıştır. Bu çalışma sülfürik asit içindeki galanthamine'in potasyum permanganat ile muamele edilince floresans göstermesi esasına dayanmaktadır(31).

1962 yılında Bubeva-Ivanova, L. ve Ivanov, V., Bulgaristan'da yetişen *Leucojum aestivum* L. bitkisinden çiçeklenme sırasında ve sonrasında ve bunun yanında meyva olgunlaşmasının erken safhasında toplanarak hazırlanmış drog örnekleri üzerinde araştırma yapmışlardır. Güneydoğu Bulgaristan'da yetişen çiçekli haldeki bitkinin topraküstü kısımlarında galanthamine içeriğinin % 0.22 – 0.54 iken, Kuzeydoğu Bulgaristan'da yetişen çiçekli haldeki bitkilerde bu oranın % 0.01 – 0.06 arasında olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca bitkinin aynı kısımlarından % 0.01 lycorine ve % 0.003 oranında lycorenine izole etmişlerdir(10).

1963 yılında yayınladığı bir çalışmada Komizerko, E. I. *Galanthus* genusunda bulunan alkaloidlerden galanthine ve galanthidine'i kristallendirme yoluyla elde etmiştir. Total alkaloid miktarı ise kromatografik bir yöntemle tespit edilmiştir. Bitkilerde bulunan alkaloid içeriğinin ve bitkinin hangi kısmında mevcut olduklarının bitkinin vejetasyon zamanı ve yetiştiği bölgeye bağlı olduğu bildirilmiştir(38).

1963 yılında yayınladıkları bir çalışmada Konstantinova, El. ve Boichinov, Khr. galanthamine hidrobromür ile hidrate kodein ve kafein içeren preparatlarda, kristalviyole endikatörü kullanarak susuz vasatta, 0.1 N perklorik asit ile, titrimetrik bir tayin yapmışlardır(39).

1965 yılında Mihno, V. V. tarafından galanthamine'in ekstraksiyonu ve kolorimetrik miktar tayini yapılmıştır(48).

1966 yılında Kolusheva, A. ve Vulkova, A. tarafından, galanthamine, lycorine ve nivalidine üzerinde spektrofotometrik araştırmalar yapılmış ve 210 nm ile 360 nm dalga boyları



arasında çalışılmıştır. Bu metot galanthamine'in kantitatif tayininin 286 nm'de yapılmasını önermektedir(37).

Asoeva, E. Z. ve Vergeichik, E. N. 1967 yılında sonuçlarını yayınladıkları bir çalışmada, *Galanthus krasnovii* bitkisinin soğanlarındaki alkaloidlerin ince tabaka kromatografisi ile ayırımlarının ve tayinlerinin yapıldığını bildirmişlerdir. Çalışmada galanthamine miktarı % 0.57 olarak rapor edilmiştir(4).

1967 yılında Leifertova, I. ve Brazdova, V. farklı bölgelerde yetişen *Galanthus nivalis* örnekleri üzerinde yaptıkları çalışmalar sonucunda, bitkinin bütününde ortalama olarak % 0.95, topraküstü kısımlarında % 1.27 ve toprakaltı kısımlarında % 1.65 oranında alkaloid bulunduğunu ve ayrıca alkaloid miktarının bitkinin toplandığı bölgeye göre değiştiğini bildirmişlerdir. Bitkinin soğanlarında elde edilen alkaloid karışımında 7 alkaloid tespit edilmiş ve bunlardan galanthamine, lycorine ve tazettine kromatografik olarak teşhis edilmiştir(45).

1969 yılında, Kuznetsov, V. I., Volkova, N. S. Ve Morozova, V. A. tarafından, galanthamine hidroklorür tuzunun kloroform ile ekstre edildikten sonra bir boyar madde olan ve 0.1 M HCl'de hazırlanmış % 0.1'lik oranj 2B çözeltisi ile renklendirilip, 453 nm'de ekstinksiyonu ölçülerek, spektrokolorimetrik miktar tayini yapılmıştır(43).

1969 yılında Tsakadze, D. M., Abdusabtoev, A., Yunusov, S. Yu. tarafından yayınlanan bir çalışmada çiçekli haldeyken toplanmış *Galanthus caucasicus* (Bak.) Grossh., bitkisinden kuru ağırlık üzerinden hesaplanmak şartıyla % 1.01 oranında (17.3 g) total alkaloid elde edildiği belirtilmiştir. Alkaloid olarak lycorine (4.5 g), galanthine (6.3 g), tazettine (3.6 g), galanthamine (0.4 g) yanında, yapısı tam olarak aydınlatılmamış 0.5 g baz halde lycorenine tip bir alkaloidin izole edildiği rapor edilmiştir(69).

Kalashnikov, I. D. 1970 yılında yayınladığı çalışmada, çiçekli haldeyken toplanan *Galanthus nivalis* L. bitkisinin topraküstü kısımlarından (pedunkullarla beraber yapraklar ve çiçekler) kuru ağırlık üzerinden hesaplanmak şartıyla % 0.41 total alkaloid ve toprakaltı

kısımlarından (soğanlar ve kökler) ise % 0.38 total alkaloid elde edilmiştir. İnce tabaka kromatografisi yardımıyla topraküstü kısımlarında 6 alkaloid ve toprakaltı kısımlarında 7 alkaloid tespit edilmiştir. Topraküstü kısımlarından yine kuru ağırlık üzerinden hesaplanmak şartıyla % 0.016 lycorine, % 0.058 galanthamine, toprakaltı kısımlarından ise % 0.023 lycorine, % 0.059 galanthamine izole edilmiştir. Bu alkaloidler ince tabaka kromatografisi, erime derecesi ve literatür verileriyle karşılaştırmak suretiyle teşhis edilmişlerdir(36).

→ 1972 yılında Volodina, A. D., Dobronrarova, E. K. ve Shakirov, T. T. tarafından lycorine'in 292 nm'de verdiği maksimum absorpsiyona dayanarak, bitkilerin yapraklarında ve tabletlerde, sırasıyla kromatospektrometrik ve spektrofotometrik yöntemlerle kantitatif tayin yapılmıştır(70).

→ 1973 yılında Volodina A. D., Dobronrarova, E. K. ve Shakirov, T. T. tarafından, dihydrolycorine hidroklorür preparatlarında lycorine hidroklorür miktarlarının kromatospektrofotometrik yöntem kullanılarak tayin edildiği bildirilmiştir. Yöntemde lycorine hidroklorür, etanolle elüe edilmiş ve 292 nm'de absorbansı ölçülmüştür. Sonuç 0.05 mg/ml konsantrasyonda hazırlanmış lycorine hidroklorür standartı için tespit edilmiş absorbans ile karşılaştırılarak hesaplanmıştır(71).

→ 1974 yılında Stefanov, Zh., Savchev, P., Mıtkov, Iv. Yabani olarak veya kültürü yapılmak suretiyle yetiştirilen *Leucojum aestivum* L. bitkisinin topraküstü kısımlarında ve soğanlarında galanthamine'in birikmesini ve topraküstü kısımlarındaki bazı organlarda galanthamine'in lokalizasyonunu inceleyen bir çalışma yapmışlardır. Bitkilerde en fazla galanthamine içeriğinin vejetasyonun başlangıcında, tomurcuklanma ve çiçekli dönemde olduğu saptanmıştır. Ayrıca vejetasyonun başlangıcında galanthamine'in soğanlarda en yüksek oranda bulunduğu da tespit edilmiştir(61).

1977 yılında Stefanov, Zh. tarafından yayınlanan bir çalışmada, yabani olarak yetişen ve kültürü yapılan *Leucojum aestivum* L. populasyonlarında bulunan alkaloidlerin kalitatif ve

kantitatif tayini yapılmıştır. Bitkinin soğanlarında ve topraküstü kısımlarında galanthamine ve bazı ana alkaloidlerin kantitatif tayini gerçekleştirilmiştir(60).

➤ 1978 yılında Gorbunova, G. M., Patudin, A. V. ve Gorbunav, V. D. tarafından yayımlanan bir çalışmada *Galanthus nivalis* L. subsp. *angustifolius* (G. Koss) Artjushenko bitkisinin açık havada kurutulmuş yaprakları ve soğanlarında kromatokolorimetrik bir yöntem kullanılarak galanthamine'in miktarı tespit edilmiştir. Galanthamine kuru ağırlık üzerinden hesaplanmak şartıyla yapraklarda % 0.05, soğanlarda ise % 0.73 olarak bulunmuştur. Ayrıca bu türde galanthamine'in ilk kez izole edildiği de rapor edilmiştir(26).

1978 yılında Kovtun, L. S. ve arkadaşları tarafından *Galanthus* ve *Leucojum* türlerinin yaprakları ve soğanlarında, galanthamine miktarının saptandığı bildirilmiştir. *Galanthus woronowii* bitkisinin yapraklarında kuru ağırlık üzerinden hesaplanmak şartıyla en çok % 0.7 ve soğanlarında ise en çok % 0.86 oranında galanthamine tespit edilmiştir(40).

➤ 1980 yılında Wurst, F., Prey, T., Puchinger, L. ve Bancher, E., *Leucojum aestivum* L. bitkisinden hazırlanan ekstrelerde, galanthamine miktarının hızlı ve kantitatif olarak tayinine olanak veren, absorbansın 288 nm'de ölçüldüğü kromatografik esaslı spektrofotometrik bir yöntem geliştirmişlerdir(75).

1982 yılında Gitsba, D. K. ve arkadaşları tarafından yayımlanan bir çalışmada, Abkhaz'ın değişik bölgelerinden toplanan *Leucojum aestivum* L. örneklerinin içerdiği galanthamine miktarının, kuru drog üzerinden hesaplanmak şartıyla en çok % 0.17 olduğu bildirilmiştir. Bu türdeki galanthamine miktarının, muhtemelen hem ekolojik hem de genetik faktörlere bağlı olarak ileri derecede değişkenlik gösterdiği bildirilmiştir(25).

Yine aynı yıl Zeybek, U. ve arkadaşları tarafından yayımlanan bir çalışmada *Galanthus elwesii* Hook. var. *elwesii*, *Galanthus byzantinus* Baker, *Galanthus ikariae* ssp. *latifolius* Stern ve *Galanthus nivalis* L. ssp. *nivalis* bitkilerine ait farklı organlardaki alkaloid içeriğinin karşılaştırılması için yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) kullanılmıştır(79).

1983 yılında El-in A. S., Korany M., Abou-Donia A. ve Sabry N. N. tarafından **Amaryllidaceae** familyası üyelerinden *Crinum longifolium*, *Crinum bulbispermum* ve *Clivia nobilis* bitkilerinde lycorine miktarı, spektrofotometrik veya fluorometrik yöntemlerle tayin edilmiştir. Lycorine miktarı sırasıyla % 0.094, % 0.268 ve % 0.118 olarak bulunmuştur. Ölçümler spektrofotometrik yöntemde 292 nm'de, fluorometrik yöntemde ise 330 nm'de gerçekleştirilmiştir(21).

1983 yılında Claessens, H. A., Van Thiel, M., Westra, P. ve Soeterboek, A. M. tarafından yayınlanmış çalışmada, uzun etkili bir ilaç olan galanthamine'in safra, idrar ve serumda, HPLC ile miktar tayini uygulanmıştır. HPLC ile miktar tayininde normal faz sıvı kromatografisinden yararlanılmış ve ölçümler 235 nm'de yapılmıştır(12).

1983 yılında Evidente, A., Iasiello, I. ve Randazzo, G. tarafından *Sternbergia lutea* Ker-Gawl bitkisinin soğanları ve yapraklarında, zıt fazlı HPLC yöntemi kullanılarak lycorine miktarı kantitatif olarak tespit edilmiştir. Kuru drog ağırlığı üzerinden hesaplanmak şartıyla soğanlarda % 2.107 ve yapraklarda % 0.910 lycorine bulunmuştur(23).

1984 yılında Cherkasov, O. A., Stikhin, V. A., Savchuk, V. M. Ukrayna florasına dahil bazı **Amaryllidaceae** türlerinde galanthamine içeriğini araştırmışlardır. Araştırılan diğer bitki türleri içinde *Galanthus nivalis* ve *Leucojum aestivum* soğanlarında galanthamine'in en yüksek oranda bulunduğunu (< % 0.1) ve *Leucojum vernum* bitkisinin bahar döneminde toplanmış toprakaltı kısımlarında eser miktarda bulunduğunu, *Narcissus angustifolius* bitkisinde ise galanthamine'in mevcut olmadığını belirtmişlerdir(11).

1985 yılında Yamboliev, I. ve Mikhailova, D., biyolojik materyalde, galanthamine'in kantitatif tayini için, yeni bir yöntem geliştirmişlerdir. Spektrofluorometrik esaslı bu yöntemde, ekstinksiyon ve emisyon dalga boyları sırasıyla 286 ve 314 nm olarak bildirilmiştir. Deney hayvanları ve insanlar üzerinde gerçekleştirilen farmakokinetik araştırmalarda, galanthamine miktar tayini için bu yöntemin kullanılabilceği bildirilmiştir(77).

1987 yılında Tokhtabaeva, G. M. tarafından *Narcissus* (Fortune variety) yapraklarında kromatofotokolorimetrik bir teknik kullanılmak suretiyle, bir boyar madde ile kompleks oluşturma esasına dayanarak ve 490 nm'de absorpsiyon ölçülerek galanthamine'in kantitatif tayini yapılmıştır(68).

→ 1987 yılında Tencheva, J., Yamboliev, I., Zhivkova, Z., galanthamine ve metabolitleri olan epigalanthamine ile galanthaminone'un insan plazma ve idrarında analizlerinin yapılması için zıt fazlı sıvı kromatografisine dayanan bir yöntem önermişler ve bu yöntemin farmakokinetik çalışmalarda kullanılabileceğini belirtmişlerdir(66).

→ Tanahashi, T., Poulev, A. ve Zenk, M. H. 1990 yılında terapötik açıdan önemli bir *Amaryllidaceae* alkaloidi olan galanthamine'in çok düşük konsantrasyondaki miktarlarını tayin etmek için, bir radioimmunoassay geliştirmişlerdir. Bu amaçla Bulgaristan kaynaklı *Leucojum aestivum* L. bitkisinin soğanlarındaki ve Güney Afrika'da yetişen bazı *Amaryllidaceae* cinslerinde galanthamine içeriği tayin edilmiştir. Yapılan ön denemeler, galanthamine için spesifik olan radioimmunoassay'in tıbbi bitki yetiştirme yanında doku ve hücre kültürü çalışmalarında da yararlı olabileceğini göstermiştir(64).

1991 yılında Stefanov, I., *Leucojum aestivum* L. bitkisinin populasyonlarında vejetasyonun farklı zamanlarında, topraküstü kısımlarındaki galanthamine miktarını incelemiştir. Bitkinin çiçeklenme zamanında (nisan ayında) topraküstü kısımlarında, galanthamine miktarının (% 0.5) en yüksek düzeye ulaştığını tespit etmiştir(59).

Könükol, S., Şener, B. tarafından 1992 yılında yayınlanan bir çalışmada zıt fazlı sıvı kromatografisi kullanılmak suretiyle çiçekli haldeyken toplanmış *Pancreatium maritimum* L. bitkisinin soğanlarında lycorine'in % 0.6 oranda olduğu bulunmuştur(42).

→ 1993 yılında Poulev, A., Deus-Neumann, B. ve Zenk, M. H., tarafından yayınlanan bir çalışmada, galanthamine'in kantitatif tayini için bir enzimimmunoassay ortaya konmuştur. Bu denemenin, bitki ekstraktları yanında, biyolojik sıvılardaki galanthamine'in hızlı, hassas ve kesin

bir şekilde miktar tayinine olanak verdiği belirtilmiştir. Güney Bulgaristan'ın farklı bölgelerinde yetişen *Leucojum aestivum* L. bitki örneklerinde galanthamine'in bulunuşu araştırılmıştır. Ön denemelerin sonucunda elde edilen bulgular, galanthamine için spesifik olan enzimimmunoassay'in tıbbi bitki yetiştirme yanında, taksonomik ve farmakokinetik çalışmalarda da yararlı olabileceğini göstermiştir(51).

→ 1996 yılında Moraes- Cerdeira, R. M., Bastos, J. K., Burandt, Jr., C. L. ve arkadaşları tarafından yayınlanan bir çalışmada *Narcissus* cv. Ice Follies bitkisinin soğanlarının farklı dokularında kapiller gaz kromatografisi yöntemiyle total alkaloid miktar tayini ile galanthamine ve lycorine alkaloidlerini de içeren birkaç alkaloidin kantitatif tayini yapılmıştır(49).

1997 yılında Muhtar, F. ve Şener, B. Türkiye'den ihraç edilen bazı **Amaryllidaceae** familyası bitkilerinin lycorine yönünden değerlendirilmesini zit fazlı HPLC yöntemi kullanılarak gerçekleştirmişlerdir. Antalya-Akseki'den toplanan *Galanthus elwesii* Hook. bitkisinde % 0.011 ve Trabzon-Sürmene'den toplanan *Galanthus ikariae* Baker bitkisinde % 0.043 oranında, Antalya-Kumluca'da yetişen *Narcissus tazetta* subsp. *tazetta* L. bitkisinde % 0.089 ve Samsun-Terme'den toplanan *Leucojum aestivum* L. bitkisinde % 0.078 oranında lycorine bulunduğunu saptamışlardır(50).

→ 1997 yılında Sellés, M., Bastida, J., Viladomat, F. ve Codina, C. HPLC ile galanthamine ve diğer **Amaryllidaceae** alkaloidlerinin, birbirlerinden ayrılmasını ve miktar tayinlerinin gerçekleşmesini sağlayan bir yöntem geliştirmişlerdir. *Narcissus confusus* Pugsley bitkisinin yapraklarında, soğanlarında, skapus kısımlarında, köklerinde, çiçeklerinde ve *in vitro* kültür yoluyla oluşturulan sürgünlerde alkaloid içerikleri tayin edilmiştir(56).

1997 yılında Duman İ. yüksek lisans tezi çalışmaları sırasında İzmir Karaburun Akdağ'da yabani olarak yetişen *Galanthus elwesii* Hook. bitkisinin meyveli veya çiçekli haldeyken toplanması ile hazırlanan topraküstü ve toprakaltı kısımlarına ait örnekler üzerinde, nem ve kül miktar tayini yanında titrimetrik bir yöntemle total alkaloid miktar tayini yapmış,

ayrıca galanthamine ve lycorine miktarlarını spektrofotometrik ve optik dansitometrik esaslı iki farklı yöntem kullanarak tayin etmiştir(20).

1997 yılında Yalabık, B. yüksek lisans tezi çalışmaları sırasında Balıkesir ili, Susurluk-Mustafa Kemalpaşa karayolu, Karapürçek yol ayrımı mevkiinden meyvalı ve çiçekli halde iken toplanan *Leucojum aestivum* L. bitkisinden hazırlanan topraküstü ve toprakaltı kısımlarına ait örnekler üzerinde, nem ve kül miktar tayini yanında titrimetrik bir yöntemle total alkaloid miktar tayini yapmış, ayrıca galanthamine ve lycorine miktarlarını spektrofotometrik ve optik dansitometrik esaslı iki farklı yöntem kullanarak tayin etmiştir(76).

Yine aynı yıl Tıprıdamaz, R., Ellialtıoğlu, Ş. ve Çakırlar, H. *Galanthus ikariae*'nin doku kültürü yöntemiyle çoğaltılabilmesi için en uygun eksplant tipinin bazal dokuya sahip soğan parçaları ve soğan pul yaprakları olduğunu, en uygun ortam pH'sının 5.5 olduğunu ve % 6 oranında kullanılan sakkaroz'un en yüksek soğancık oluşumunu sağladığını saptamışlardır(69).

1999 yılında Sellés, M., Viladomat, F., Bastida, J. ve Codina, C. tarafından yayınlanan çalışmada İspanya'da yetişen ve meyvalı halde iken toplanmış *Narcissus confusus* Pugsley bitkisinin olgun tohumlarından oluşturulan *in vitro* kültürlerde alkaloid içeriği HPLC yöntemi ile araştırılmış ve farklılaşmamış kallus dokularındaki galanthamine miktarının az olduğu, ancak doku farklılaşmasıyla birlikte bu miktarın arttığı belirtilmiştir(57).

2000 yılında Ingkaninan, K. ve arkadaşları tarafından yayınlanan bir çalışmada yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ile kombine edilmiş UV, kütle spektrometrisi ve biyokimyasal deteksiyon sistemi kullanılarak *Narcissus* (Carlton) soğanlarında asetilkolinesteraz inhibitörlerinin bitki ekstraktlarında ve diğer kompleks karışımlarda tayini için bir yöntem geliştirilmiştir(35).

2000 yılında Zhang J. ve arkadaşları tarafından yayınlanan bir çalışmada preparatlarda galanthamine, lycoramine ve diğer **Amaryllidaceae** alkaloidlerinin ince tabaka kromatografisi ve HPLC ile ayrımları gerçekleştirilmiş ve HPLC ile galanthamine miktar tayini yapılmıştır(80).

2002 yılında Sarier D. yüksek lisans tezi çalışmaları sırasında İzmir, Yamanlar, Karagöl çevresinde yabani olarak yetişen *Galanthus elwesii* Hook. bitkisinin meyvalı ve çiçekli halde iken toplanması ile hazırlanan topraküstü ve toprakaltı kısımlarına ait örnekler üzerinde, nem ve kül miktar tayini yanında titrimetrik bir yöntemle total alkaloit miktar tayini yapmış, galanthamine ve lycorine varlığını İ.T.K. ve spektrofotometrik esaslı iki farklı yöntem kullanarak tespit etmiş ve ayrıca lycorine varlığını HPLC esaslı bir yöntem kullanarak tayin etmiştir(54).





## B. PRATİK KISIM

### 1. MATERYAL VE METOTLAR

*Galanthus gracilis* Çelak bitkisinin, kimyasal çalışmalara konu olan Herba ve Bulbus Galanthi örnekleri, bitki çiçekli halde iken 29.3.2000 ve bitki meyvalı halde iken 3.5.2000 tarihlerinde İzmir ili, Kemalpaşa ilçesi, Nif Dağı, 900 m yükseklikte, vejetasyonun iki farklı zamanında toplandıktan sonra toprakaltı ve topraküstü kısımlarının birbirlerinden ayrılarak küçük parçalar halinde kesilip, uygun şekilde kurutulmasıyla hazırlanmıştır.

Kimyasal çalışmalarımıza konu olan *Galanthus gracilis* Çelak. bitkisinin tabiattaki görünüşü sayfa 8 Resim 1'de görülmektedir.

Topladığımız materyale ait hazırlanan herbaryum örneklerinin tayini Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı'nda gerçekleştirilmiştir.\* Herbaryum örneklerimiz, Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı Herbaryumunda 1244 ve 1248 numaraları altında saklanmaktadır, bunlara ait fotoğraflar sayfa 9'da yer almaktadır(Resim 2, Resim 3).

Herba Galanthi örnekleri, gözle görülen organik ve anorganik, bütün yabancı maddelerden ayıklanarak temizlendikten sonra, toprakaltı ve topraküstü kısımları birbirinden ayrıldı. Ayrılan kısımlar, doğranarak orta irilikte parçalar haline getirilip, açık havada, gölgede ve oda sıcaklığında kurutulmak suretiyle hazırlandı. Benzeri işlemler Bulbus Galanthi örneklerinin hazırlanmasında da aynen gerçekleştirildi. İleriki kısımlarda anlatım kolaylığı sağlamak için bu şekilde hazırlanan çiçekli haldeki Herba Galanthi örneklerine A<sub>CTÜ</sub>, Bulbus Galanthi örneklerine A<sub>CTA</sub>, meyvalı haldeki bitkiden hazırlanan Herba Galanthi örneklerine A<sub>MTÜ</sub>, Bulbus Galanthi örneklerine ise A<sub>MTA</sub> kodları verildi.

---

\*Bitkisel örneklerin tayini E. Ü. Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. M. Ali ÖNÜR tarafından yapılmıştır.

Örnekler, kurutma işleminden sonra muhtelif denemelerde kullanılmadan önce Anabilim Dalı'mızda mevcut Retsch GmbH SK 1 marka elektrikli itki toz etme değirmeninde ince toz (elek çapı 1 mm) haline getirildi.

Hazırlanmış olan örnekler üzerinde DAB 10'un genel kısmında yer alan nem, total kül ve sülfat külü miktar tayinlerine ait yöntemler uygulandı. Ayrıca Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) "Tıbbi Bitkisel Materyal İçin Kalite Kontrol Yöntemleri" adlı kitabında(71) yer alan total kül miktar tayini yönteminden de yararlandı.

Total alkaloit miktarı, titrimetrik esaslı bir yöntem ile tayin edilmiştir(20). Ayrıca saflık ve kalite kontrolü için hazırlanan örneklerin mukayeseli ince tabaka kromatografisi (İ.T.K.) çalışmaları da gerçekleştirilmiştir.

Bu denemeler dışında, fizyolojik ve farmakolojik etkileri nedeniyle droğun taşıdığı en önemli alkaloitler olan galanthamine ve lycorine'in teşhis ve tayinleri İ.T.K. yöntemi, spektrofotometrik esaslı bir yöntemle miktar tayinleri ve bunlara ilaveten yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) kullanılarak teşhis ve tayinleri yapılmıştır.

Araştırmalarımız sırasında gerek kromatografik çalışmalarda referans madde olarak ve gerekse miktar tayini çalışmalarında, ölçü eğrilerinin hazırlanmasın da kullandığımız, galanthamine ve lycorine'e, Anabilim Dalı'mızda *Galanthus elwesii* Hook. bitkisi üzerinde evvelce yapılmış olan bir araştırmada(44) izole edilmiştir. Bu maddelerin saflıkları ve yapıları modern spektral yöntemlerle ( 1D ve 2D NMR, UV, IR ve Kütle spektrometrisi gibi) aydınlatılmıştır. Söz konusu bileşikler, desikatörde fosfor (V) oksit üzerinde sabit ağırlığa gelene kadar kurutulduktan sonra kullanılmıştır. Bu bileşiklere ait spektral bulgular Anabilim Dalımızda mevcuttur.

## 2. DENEMELER

### a. Nem Miktar Tayini

Deneme şartlarında önceden sabit vezne getirilen cam tartım kabında, 1 gram civarında ve tam olarak tartılmış olan drog, 100 - 105 °C lik etüvde sabit vezne gelinceye kadar 1 saat süreyle ısıtılıp, 30 dakika desikatörde soğutulduktan sonra tartıldı. Aynı şekilde gerçekleştirilen ısıtma, soğutma ve tartma işlemlerine son iki tartım arasındaki fark 0.5 mg'dan az olmayacak şekilde sabit vezne gelinceye kadar devam edildi. Buradan droğun içerdiği yüzde nem miktarı hesaplandı.

### b. Total Kül Miktar Tayini

Deney şartlarında önceden sabit ağırlığa getirilmiş bir porselen kroze içinde 1 g civarında drog tam olarak tartıldı. Drog içeren kroze, tablalı ısıtıcı üzerinde drog tamamen kömürleşene kadar tutulup ardından Hereaus yakma fırınına koyuldu. Fırın sıcaklığının 600 °C'ye gelmesinden itibaren drog 1 saat süreyle yakıldı. Desikatöre alındıktan sonra 30 dakika soğutulup, tartıldı. Örnekte homojen olarak bir beyazlaşma görülmediği için krozenin 30 dakika soğutulmasının ardından 1 ml distile su ilave edilerek nemli hale getirildi. Tablalı ısıtıcıda örnek tamamen kuruyana kadar tutuldu. Aynı şekilde gerçekleştirilen yakma, soğutma ve tartma işlemlerine, külü içeren krozenin ağırlığında son iki tartım arasında 0.5 mg'dan fazla fark olmayacak şekilde sabit vezne gelinceye kadar devam edildi. Buradan droğun içerdiği total kül miktarı yüzde olarak hesaplandı.

### c. Sülfat Külü Miktar Tayini

Deney şartlarında sabit ağırlığa getirilmiş bir porselen kروزeye, 1 gram civarında ve tam olarak tartılmış olan drog koyularak tam tartım alındı. Drog üzerine 2 ml % 10'luk sülfürik asit çözeltisinden damla damla ilave edilerek nemlendirildi. Tablalı ısıtıcı üzerinde kademeli olarak önce kuruluğa kadar ardından siyah parçacık kalmayıncaya kadar yakıldı. Sonra kroze 600 °C'yi geçmeyen sıcaklıkta Hereaus marka yakma fırınında 1 saat yakılmasının ardından desikatörde 30

dakika tutularak soğutuldu. Krozeye birkaç damla % 10'luk sülfürik asit çözeltisinden tekrar ilave edilerek yukarıda bahsedilen şekilde tekrar ısıtıldı ve yakıldı. Desikatörde 30 dakika soğutulmasının ardından % 15.8'lik amonyum karbonat çözeltisinden birkaç damla damlatılarak aynı şekilde ısıtılıp, yakıldı ve desikatörde 30 dakika süreyle soğutulduktan sonra tartıldı. Yakma işlemine 600 °C sıcaklıktaki yakma fırınında bir saat süreyle sülfat külü içeren kroze sabit vezne gelinceye kadar *aynı şekilde devam edildi* devam edildi. Buradan droğun içindeki sülfat külü miktarı bulundu. Bu değer daha sonra yüzde olarak hesaplandı.

#### d. Alkaloitlerin İ.T.K. ile Teşhis ve Kontrolü

İnce toz edilmiş ve 100 – 105 °C'lik etüvde sabit ağırlığa gelinceye kadar kurutulmuş olan drog örneklerinden 6 g civarında tam olarak tartıldı. Bir perkolatörde 100 ml % 96'lık 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 reaktifleriyle(19) reaksiyon vermeyinceye kadar devam edildi. Etanollü ekstre alçak basınç altında kuruluğa kadar uçurulup, bakiye 50 ml'lik porsiyonlar halinde % 1'lik hidroklorik asit çözeltisiyle çözülüp, süzüldü. Çözünmeyen kısımlar % 1'lik hidroklorik asit çözeltisi ile porsiyonlar halinde yıkandı. Yıkama işlemine, asitli süzüntü Mayer ve Dragendorff reaktifleri(19) ile reaksiyon vermeyinceye kadar devam edildi (toplam 250 ml % 1'lik hidroklorik asit kullanıldı). Birleştirilmiş asitli çözeltiler 100 ml'lik porsiyonlar halinde 3 defa petrol eteri (40-60 °C) ile ekstre edildi. Petrol eterli kısımlar ayrıldı. Asitli çözelti % 25'lik amonyum hidroksit çözeltisi ilave edilerek kalevilendirildi(pH 9-10). Daha sonra kloroform (6x100 ml) ile tüketildi. Sonuncu ekstraksiyon sırasında kloroformlu fazdan bir miktar alındı. Susuz sodyum sülfat(Merck 6643) ile suyundan kurtarılıp, süzüldü. Kloroform, alçak basınç altında uçuruldu. Bakiye bir miktar % 1'lik hidroklorik asit çözeltisi ile çözülüp, Mayer ve Dragendorff reaktifleri(19) ile alkaloit varlığı kontrol edildi. Alkaloitlerin tamamen tüketildiklerine karar verildikten sonra, birleştirilen kloroformlu kısımlar, susuz sodyum

*Süffat ile*

suyundan kurtarılıp süzüldü. Alçak basınç altında kuruluğa kadar uçuruldu. Bu şekilde total alkaloit ekstresi elde edilmiş oldu.

**Örnek Çözeltilerin Hazırlanışı :** Bu şekilde hazırlanan total alkaloit ekstreleri, kloroform:metanol ( 8 : 2 ) çözücü sisteminde çözülerek, 5mg/1ml konsantrasyonda çözeltiler hazırlandı.

Bu total alkaloit ekstresi hazırlama işlemi A<sub>ÇTÜ</sub>, A<sub>ÇTA</sub>, A<sub>MTÜ</sub> ve A<sub>MTA</sub> kodlu örnekler için gerçekleştirildi.

**Referans Çözelti 1:** 5 mg saf galanthamine bir balon jodede kloroform : metanol (8:2) karışımıyla çözülerek 5 ml'ye tamamlandı. Bu çözeltiliye R<sub>G</sub> kodu verildi.

**Referans Çözelti 2:** 5 mg saf lycorine bir balon jodede kloroform: metanol (8:2) karışımı ile çözülerek 5 ml'ye tamamlandı. Bu çözeltiliye R<sub>L</sub> kodu verildi.

**Referans Çözelti 3:** Çanakkale ili Bayramiç ilçesi Kuşçayırı köyü, Çolapbaşı Küllügedik mevkiinde yabani olarak yetişen *Galanthus nivalis* L. subsp. *cilicicus* (Baker) Gottlieb-Tannenhain bitkisinden 07.03.1999, 24.03.1999, 05.03.2000 (bitki çiçekli haldeyken), 07.05.1999 ve 16.04.2000 (bitki meyvalı halde iken) tarihlerinde toplanan örneklerden benzeri şekilde hazırlanmış total bitki örneğinden elde edilmiş total alkaloit ekstresi kloroform:metanol (8:2) çözücü sisteminde çözülerek, 5mg/5ml konsantrasyonda bir çözelti hazırlandı. Bu çözeltiliye İ<sub>T</sub> kodu verildi.

20x20 cm boyutlarında, 0.25 mm kalınlığındaki Kieselgel 60 F<sub>254</sub> (Merck 5715) hazır kromatografi plağına A<sub>ÇTÜ</sub>, A<sub>ÇTA</sub>, A<sub>MTÜ</sub> ve A<sub>MTA</sub> kodları verilen örnekler sırasıyla 30 µl'lik hacimde ve 1 cm'lik bant halinde tatbik edildi. Bu uygulanan örneklerin aralarına A<sub>ÇTÜ</sub>, A<sub>ÇTA</sub>, A<sub>MTÜ</sub> ve A<sub>MTA</sub> kodları verilen çözeltiler 20 µl'lik hacimde ve 0.5 cm'yi geçmeyen çapta nokta şeklinde Hamilton enjektör kullanılarak sırasıyla tatbik edildi. R<sub>G</sub> ve R<sub>L</sub> kodları verilen referans çözeltileri 25 µl'lik hacimde ve 0.5 cm'yi geçmeyen çapta nokta şeklinde kromatografi plağının tam ortasına 1'er cm aralıklarla Hamilton enjektör kullanılarak yan yana tatbik edildi.

Kromatografi plağı sikloheksan: kloroform: dietilamin (7:2:1) çözücü sisteminde, start çizgisinden itibaren çözücü 17 cm yükselecek şekilde develope edildi.

Aynı tipteki bir diğeri 0.25 mm kalınlığında, 20x20 cm boyutlarındaki Kieselgel 60 F<sub>254</sub> (Merck 5715) hazır kromatografi plağına, aynı çözeltiler aynı şekilde tatbik edildi. Bu kez kromatografi plağı sikloheksan: kloroform: metanol: dietilamin (6:2.5:0.5:1) çözücü sisteminde yukarıda anlatıldığı şekilde develope edildi.

Mobil fazın uzaklaşmasından sonra, her iki plağın da 254 ve 366 nm dalga boylarındaki UV ışık altında değerlendirildikten sonra, fotoğrafları çekildi (Resim 51,52,54,55). Plaklar Dragendorf reaktifi(19) püskürtüldükten sonra, tekrar incelendi ve fotoğrafları çekildi (Resim 53,56).

İkinci bir deneme yine aynı tipteki bir 0.25 mm kalınlığında, 20x20 cm boyutlarındaki Kieselgel 60 F<sub>254</sub> (Merck 5715) hazır kromatografi plağına A<sub>MTA</sub>, A<sub>ÇTA</sub>, A<sub>ÇTÜ</sub> ve A<sub>MTÜ</sub> kodlu örnek çözeltilerinin ve İ<sub>T</sub> kodlu referans çözeltisinin tamamı ve 25'er µl'lik hacimde R<sub>G</sub> ile R<sub>L</sub> kodlu referans çözeltileri, A<sub>MTA</sub>, A<sub>ÇTA</sub>, R<sub>L</sub>, İ<sub>T</sub>, R<sub>G</sub>, A<sub>ÇTÜ</sub> ve A<sub>MTÜ</sub> sıralaması takip edilerek 1,5 cm uzunlukta ve bant şeklinde Hamilton enjektör yardımıyla tatbik edildi. Kromatografi plağı benzen: kloroform: metanol: amonyum hidroksit (40:45:15:12 damla) solvan sisteminde 2 defa develope edildi.

Mobil fazın uzaklaştırılmasından sonra, plağın 254 ve 366 nm dalga boyundaki UV ışık altında değerlendirildikten sonra, fotoğrafı çekildi (Resim 57,58) (Sayfa 81,82). Plak Dragendorf reaktifi(19) püskürtüldükten sonra, tekrar incelendi ve fotoğrafı çekildi (Resim 59) Sayfa 82.) .

#### e. Total Alkaloid Miktar Tayini

İnce toz edilmiş ve 100 – 105 °C'lik etüvde sabit ağırlığa gelene kadar kurutulmuş olan drog örneklerinden, 6 gram civarında tam tartım alındı. Bir perkolatörde 100 ml % 96'lık 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

reaktifleriyle(19) reaksiyon vermeyinceye kadar devam edildi. Etanolü ekstre alçak basınç altında kuruluğa kadar uçurulup, bakiye 50 ml'lik porsiyonlar halinde % 1'lik hidroklorik asit çözeltisiyle çözümlü, süzöldü. Çözünmeyen kısımlar, % 1'lik hidroklorik asit çözeltisiyle küçük porsiyonlar kullanılarak yıkandı. Yıkama işlemine, asitli süzöntü Mayer ve Dragendorff reaktifleri ile reaksiyon vermeyinceye kadar devam edildi(toplam 250 ml % 1'lik hidroklorik asit kullanıldı). Birleştirilmiş asitli çözeltiler 100 ml'lik porsiyonlar halinde 3 defa petrol eteri (40-60 °C) ile ekstre edildi. Petrol eterli kısımlar ayrıldı. Asitli çözeltiler % 25'lik amonyum hidroksit ile kalevilendirildi(pH 9-10). Daha sonra, kloroform (6 x 100 ml) ile tüketildi. Sonucu ekstraksiyon sırasında kloroformlu fazdan bir miktar alındı. Susuz sodyum sülfat (Merck 6643) ile suyundan kurtarılıp, süzöldü. Kloroform, alçak basınç altında uçuruldu. Bir miktar % 1'lik hidroklorik asit çözeltisi ile çözümlü, Mayer ve Dragendorff reaktifleri(19) ile alkaloit varlığı kontrol edildi. Alkaloitlerin tamamen tüketildiğine karar verildikten sonra birleştirilen kloroformlu kısımlar, susuz sodyum sülfat(Merck 6643) ile suyundan kurtarılıp süzöldü. Alçak basınç altında kuruluğa kadar uçuruldu. Bu şekilde total alkaloit ekstresi elde edilmiş oldu.

Total alkaloit ekstresi üzerine, 20 ml 0.02 N ayarlı sülfürik asit çözeltisi ilave edilip, sıcak su banyosunda (50-60°C) ara sıra çalkalanarak ekstrenin tamamen çözünmesi sağlandı. Soğutulduktan sonra üzerine 3 damla metil kırmızısı karışım reaktif çözeltisi(19) ilave edildi. Asidin fazlası 0.02 N ayarlı sodyum hidroksit çözeltisi ile geri titre edildi. Titrasyona, önceden pembe olan renk yeşile döndüğü anda son verildi(19,20).

#### 1° 0.02 N Sülfürik Asit Çözeltisinin Hazırlanması ve Ayarlanması

1000 ml'lik balon jöjeye bir miktar kaynatılıp, soğutulmuş distile su koyuldu. Üzerine büret yardımıyla 2.8 ml % 95-98'lik derişik sülfürik asit (Riedel-de Haën 1830) ilave edildi. Kaynatılıp soğutulmuş distile su ile 1000 ml'ye tamamlandı. Böylece 0.1 N sülfürik asit çözeltisi hazırlanmış oldu. Hazırladığımız 0.1 N sülfürik asit çözeltisinden büret yardımıyla 200 ml yine

1000 ml'lik balon jøjeye alındıktan sonra kaynatılıp sođutulmuş distile suyla 1000 ml'ye tamamlandı. Bőylece 0.02 N sűlfűrik asit çözeltisi hazırlanmış oldu(19).

0.02 N sűlfűrik asit'in ayarlanması için, 100-105  C'lik etűvde kuruluđa kadar ısıtılıp, sabit vezne getirilen, susuz sodyum karbonat(Merck 6398)'tan 30 mg tam tartım alındı. 30 ml kaynatılmış sođutulmuş distile su içinde özűldű.  zerine 0.1 ml metil oranj reaktif çözeltisi(19) ilave edilip, kırmızı-sarı renk oluşana kadar 0.02 N sűlfűrik asit çözeltisi ile titre edildi. Titre edilmiş çözelti dikkatle ısıtılarak karbon dioksit ortamdan uzaklaştırıldı. Sonra sűratle kırmızı-sarı renk tekrar ortaya çıkıncaya kadar titrasyona devam edildi(19).

1 ml 0.02 N sűlfűrik asit çözeltisi 1.0598 mg susuz sodyum karbonata eődeđerdir(22).

Faktör = Teorik Sarfiyat / Pratik Sarfiyat forműlűnden yararlanılarak hesaplandı.

#### 2° 0.02 N Sodyum Hidroksit özeltisinin Hazırlanması ve Ayarlanması

Yaklaşık 4,2 gram sodyum hidroksit (Riedel-de Haėn 1823) tartıldı. Birkaç ml kaynatılıp soğutulmuş distile su ile 1000 ml'lik bir balon joje içinde sűratle yıkanarak karbonatından kurtarıldıktan sonra, kaynatılmış soğutulmuş distile su ile 1000 ml'ye tamamlandı. Bőylece 0.1 N sodyum hidroksit çözeltisi hazırlanmış oldu. Hazırladığımız 0.1 N sodyum hidroksit çözeltisinden bűret yardımıyla 200 ml, 1000 ml'lik bir balon jøjeye alınarak 1000 ml'ye yine kaynatılmış soğutulmuş distile su ile tamamlandı. Bőylece 0.02 N sodyum hidroksit çözeltisi hazırlanmış oldu(19).

0.02 N sodyum hidroksit çözeltisinin ayarlanması için, daha önce hazırladığımız ayarlı 0.02 N sűlfűrik asit çözeltisinden bűret yardımıyla 25 ml bir erlene alındı.  zerine 3 damla metil kırmızısı karışım reaktif çözeltisi(19) damlatıldı. Oluşan pembe renk, yeőile dőnene kadar 0.02 N sodyum hidroksit çözeltisi ile titre edildi. Çözeltinin faktűrű;

$25 \times f \text{ sűlfűrik asit} = t \times f \text{ sodyum hidroksit}$  forműlűnden yararlanılarak hesaplandı (22).

t = Sarf edilen 0.02 N sodyum hidroksit çözeltisinin ml miktarı



## f. Alkaloitlerin İ.T.K. ile Kombine Edilmiş Spektrofotometrik Miktar Tayini İçin

### Yapılan Kontrol Çalışmaları

#### 1° Galanthamine İçin Yapılan Kontrol Çalışmaları

İnce toz edilmiş ve 100 – 105 °C'lik etüvde sabit ağırlığa gelene kadar kurutulmuş olan drog örneklerinden, 6 gram civarında tam tartım alındı. Bir perkolatörde 100 ml % 96'lık 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 reaktifleriyle(19) reaksiyon vermeyinceye kadar devam edildi. Etanollü ekstre alçak basınç altında kuruluğa kadar uçurulup, bakiye 50 ml'lik porsiyonlar halinde % 1'lik hidroklorik asit çözeltisiyle çözülüp, süzüldü. Çözünmeyen kısımlar, % 1'lik hidroklorik asit çözeltisiyle küçük porsiyonlar kullanılarak yıkandı. Yıkama işlemine, asitli süzüntü Mayer ve Dragendorff reaktifleri ile reaksiyon vermeyinceye kadar devam edildi(toplam 250 ml % 1'lik hidroklorik asit kullanıldı). Birleştirilmiş asitli çözeltiler 100 ml'lik porsiyonlar halinde 3 defa petrol eteri (40-60 °C) ile ekstre edildi. Petrol eterli kısımlar ayrıldı. Asitli çözelti % 25'lik amonyum hidroksit ile kalevilendirildi(pH 9-10). Daha sonra, kloroform (6 x 100 ml) ile tüketildi. Sonuncu ekstraksiyon sırasında kloroformlu fazdan bir miktar alındı. Susuz sodyum sülfat(Merck 6643) ile suyundan kurtarılıp, süzüldü. Kloroform alçak basınç altında uçuruldu. Bir miktar % 1'lik hidroklorik asit çözeltisi ile çözülüp, Mayer ve Dragendorf reaktifleri(19) ile alkaloit varlığı kontrol edildi. Alkaloitlerin tamamen tüketildiğine karar verildikten sonra birleştirilen kloroformlu kısımlar, susuz sodyum sülfat (Merck 6643) ile suyundan kurtarılıp süzüldü. Alçak basınç altında kuruluğa kadar uçuruldu. Bu şekilde total alkaloit ekstresi elde edilmiş oldu. Hazırlanan total alkaloit ekstresi kloroform:metanol (8:2) çözücü sisteminde çözülerek bir balon jojeye aktarıldı ve yine aynı çözücü sistemiyle 5 ml'ye tamamlandı.

**Referans Çözelti 1:** 5 mg galanthamine bir balon jodede kloroform:metanol (8:2) ile 5 ml'ye tamamlandı. Bu çözeltiliye R<sub>G</sub> kodu verildi.

Hazırladığımız örnek çözeltisinden 2000 µl, 0.5 mm kalınlığında, 20x20 cm boyutlarındaki Kieselgel 60 F<sub>254</sub> (Merck 5744) hazır kromatografi plağına 10 cm uzunluğunda bir bant şeklinde bir Hamilton enjektör yardımıyla tatbik edildi. Bandın bir kenarına 1.5 cm mesafe bırakıldıktan sonra, 20 µl galanthamine referans çözeltisi(R<sub>G</sub>) yine bir Hamilton enjektör yardımıyla 1 cm uzunluğunda bant şeklinde tatbik edildi. Plak, tatbik noktasından itibaren 17 cm yükselecek şekilde sikloheksan:kloroform:dietilamin (7:2:1) çözücü sisteminde developpe edildi. Bu şartlarda hazırlanan üç adet plağa sırasıyla P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub> ve P<sub>3</sub> kodları verildi.

P<sub>1</sub> kodlu plak, solvan sisteminin uzaklaştırılmasından sonra 254 nm ve 365 nm dalga boyundaki UV ışık altında incelenip, fotoğrafı çekildi(Resim 60,61). P<sub>1</sub> kodlu plaktan referans çözeltisine karşılık gelen bölge kazındı(A<sub>G1</sub>). Kazınan bant yine 100 ml kloroform:metanol (8:2) karışımı ile elüe edildi. Çözücü kuruluğa kadar alçak basınç altında uçuruldu ve bakiye, metanol ile çözümlenerek 10 ml'lik balon jöjeye aktarıldı ve yine metanol ile 10 ml'ye tamamlandı. Hazırlanan bu çözeltinin Shimadzu UV 160 A Spektrofotometresinde 1 cm kalınlığındaki küvetlerde UV spektrumu çekildi(Şekil 2)

Daha sonra P<sub>2</sub> ve P<sub>3</sub> kodlu plaktan kazınan bantlar elüe edildi. Organik çözücüler yoğunlaştırılarak flakonlara aktarıldı. Flakon içerikleri 0.5 mm kalınlıkta, 20x20 cm boyutlarındaki Kieselgel 60 F<sub>254</sub> (Merck 5744) hazır kromatografi plağına 10 cm bant oluşturacak şekilde tatbik edildi. Bantların bir kenarına 1.5 cm mesafe bırakıldıktan sonra, 20 µl galanthamine referans çözeltisi (R<sub>G</sub>), 1 cm uzunluğunda bant şeklinde tatbik edildi. Bu plaklara P<sub>4</sub> ve P<sub>5</sub> kodları verildi.

P<sub>4</sub> ve P<sub>5</sub> kodlu plaklar kloroform:metanol:su (8:2:1) solvan sisteminin alt fazında starttan itibaren 17 cm yükselecek şekilde developpe edildi. P<sub>4</sub> kodlu plak, solvan sisteminin uzaklaştırılmasından sonra, 254 nm ve 366 nm dalga boyundaki UV ışık altında incelenip fotoğrafları çekildi (Resim 62,63). P<sub>5</sub> kodlu plakta ise, referans çözeltisine karşılık gelen bölge kazındı(A<sub>G2</sub>). Kazınan bant, 100 ml kloroform:metanol (8:2) karışımı ile elüe edildi. Organik

çözücü kuruluğa kadar uçuruldu, ve bakiye metanol ile 10 ml'ye tamamlandı. Hazırlanan bu çözeltinin Shimadzu UV 160-A Spektrofotometresinde 1 cm kalınlığındaki küvetlerde UV spektrumu çekildi(Şekil 3) •

### 2° Lycorine İçin Yapılan Kontrol Çalışmaları

İnce toz edilmiş ve 100 – 105 °C'lik etüvde sabit ağırlığa gelene kadar kurutulmuş olan drog örneklerinden, 6 gram civarında tam tartım alındı. Bir perkolatörde 100 ml % 96'lık 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 reaktifleriyle(19) reaksiyon vermeyinceye kadar devam edildi. Etanollü ekstre alçak basınç altında kuruluğa kadar uçurularak, bakiye 50 ml'lik porsiyonlar halinde % 1'lik hidroklorik asit çözeltisiyle çözümlenip, süzülür. Çözünmeyen kısımlar, % 1'lik hidroklorik asit çözeltisiyle küçük porsiyonlar kullanılarak yıkandı. Yıkama işlemine, asitli süzüntü Mayer ve Dragendorff reaktifleri ile reaksiyon vermeyinceye kadar devam edildi(toplam 250 ml % 1'lik hidroklorik asit kullanıldı). Birleştirilmiş asitli çözeltiler 100 ml'lik porsiyonlar halinde 3 defa petrol eteri (40-60 °C) ile ekstre edildi. Petrol eterli kısımlar ayrıldı. Asitli çözelti % 25'lik amonyum hidroksit ile kalemilendirildi(pH 9-10). Daha sonra, kloroform (6 x 100 ml) ile tüketildi. Sonuncu ekstraksiyon sırasında kloroformlu fazdan bir miktar alındı. Susuz sodyum sülfat(Merck 6643) ile suyundan kurtarılıp, süzülür. Kloroform alçak basınç altında uçuruldu. Bir miktar % 1'lik hidroklorik asit çözeltisi ile çözümlenip, Mayer ve Dragendorf reaktifleri(19) ile alkaloid varlığı kontrol edildi. Alkaloidlerin tamamen tüketildiğine karar verildikten sonra birleştirilen kloroformlu kısımlar, susuz sodyum sülfat(Merck 6643) ile suyundan kurtarılıp süzülür. Alçak basınç altında kuruluğa kadar uçuruldu. Bu şekilde total alkaloid ekstresi elde edilmiş oldu.

**Örnek Çözelti 1:** Yukarıda anlatıldığı şekilde hazırlanan Herba Galanthi total alkaloid ekstresi kloroform:metanol (8:2) çözücü sisteminde çözümlenip bir balon jöjeye aktarıldı. Yine aynı çözücüyle 2 ml'ye tamamlandı.

**Örnek Çözelti 2:** Yukarıda anlatıldığı şekilde hazırlanan *Bulbus Galanthi* total alkaloid ekstresi kloroform:metanol (8:2) çözücü sisteminde çözülerek bir balon jojeye aktarıldı. Yine aynı çözücüyle 2 ml'ye tamamlandı.

**Referans Çözelti 2:** 5 mg lycorine bir balon jodede kloroform:metanol(8:2) ile 5 ml'ye tamamlandı. Bu çözeltiliye R<sub>L</sub> kodu verildi.

Hazırladığımız örnek çözeltilerinin her biri ayrı 0.5 mm kalınlıktaki, 20x20 cm boyutlarındaki Kieselgel 60 F<sub>254</sub> (Merck 5744) hazır kromatografi plağına bir Hamilton enjektör yardımıyla, 10 cm uzunluğunda bant halinde tatbik edildi. Bantın bir kenarına 1.5 cm mesafe bırakıldıktan sonra, 20 µl lycorine referans çözeltisi(R<sub>L</sub>) yine Hamilton enjektör yardımıyla 1 cm uzunluğunda bant şeklinde tatbik edildi. Plaklar, tatbik noktasından itibaren 17 cm yükselecek şekilde, sikloheksan:kloroform:metanol:dietilamin (6:2.5:0.5:1) solvan sisteminde developpe edildi. Bunlardan örnek çözeltisi 1 tatbik edilenlere P<sub>6</sub>, P<sub>7</sub> örnek çözeltisi 2 tatbik edilenlere P<sub>8</sub>, P<sub>9</sub> kodları verildi.

P<sub>6</sub> ve P<sub>8</sub> kodlu plaklar solvan sisteminin uzaklaştırılmasının ardından 254 nm ve 366 nm dalga boyundaki UV ışık altında incelenip fotoğrafı çekildi (Resim 64,65,66,67). P<sub>7</sub> ve P<sub>9</sub> nolu plaklardan referans çözeltisine karşılık gelen bantlar ayrı ayrı kazındı(A<sub>L1</sub>, A<sub>L2</sub>). Kazınan bantlar yine ayrı ayrı 100 ml kloroform:metanol(8:2) karışımı ile elüe edildi. Bu plaklara ait organik çözücüler kuruluğa kadar uçuruldu ve bakiyeler metanol ile çözülerek 10 ml'lik balon jojelere aktarıldı. Yine metanolla 10'ar ml'ye tamamlandı. Hazırlanan bu çözeltilerin, Shimadzu UV 160 Spektrofotometresinde 1 cm kalınlığındaki küvetlerde UV spektrumları çekildi(Şekil 5,6).

Daha sonra P<sub>7</sub> ve P<sub>9</sub> kodlu plaklara ait organik çözücüler yoğunlaştırılarak flakonlara aktarıldı. Flakon içerikleri, 0.5 mm kalınlıkta, 20x20 cm boyutlarındaki Kieselgel 60 F<sub>254</sub> (Merck 5744) hazır kromatografi plağına 10 cm bant oluşturacak şekilde tatbik edildi. Bantların bir kenarına 1.5 cm mesafe bırakıldıktan sonra, 20 µl lycorine referans çözeltisi (R<sub>L</sub>), 1 cm uzunluğunda bant şeklinde tatbik edildi. Bu plaklara P<sub>10</sub> ve P<sub>11</sub> kodları verildi.

P<sub>10</sub> ve P<sub>11</sub> kodlu plaklar kloroform:metanol:su (8.5:1.5:1) solvan sisteminin alt fazında starttan itibaren 17 cm yükselecek şekilde develope edildi. Bu plakların, solvan sisteminin uzaklaştırılmasından sonra, 254 nm ve 365 nm dalga boyundaki UV ışık altında incelenip fotoğrafları çekildi (Resim 68,69,70,71). Fotoğraf çekiminin ardından yine bu plaklarda, referans çözeltilisine karşılık gelen bant kazındı (A<sub>L1</sub><sup>I</sup>, A<sub>L2</sub><sup>I</sup>). Kazınan her bir bant, 100 ml kloroform:metanol (8:2) karışımı ile elüe edildi. Organik çözücü kuruluğa kadar uçuruldu. Bakiyeler metanol ile ayrı ayrı çözümlenerek balon jøjeye alınıp, 10 ml'ye tamamlandı. Hazırlanan bu çözeltilerin Shimadzu UV 160-A Spektrofotometresinde 1 cm kalınlığındaki küvetlerde UV spektrumu çekildi (Şekil 7,8)

#### g. Lycorine'nin İ.T.K. ile Kombine Edilmiş Spektrofotometrik Bir Yöntemle Miktar

##### Tayini

Fosfor pentoksit

##### 1° Lycorine ile Standart Serinin Hazırlanması ve Ölçü Eğrisinin Çizimi

Fosfor (V)-oksit içeren bir desikatörde, sabit vevne gelinceye kadar kurutulan lycorine'nin metanol içinde % 0.1'lik (5mg/5ml) çözeltilisi hazırlandı. Bu çözeltiliden spektrofotometrede okunabilen absorpsiyon değerleri açısından en uygun miktarlar olarak saptanan 80, 120, 170, 200, 250, 270 ve 300 µl'lik miktarların her biri, ayrı bir 0.5 mm kalınlıkta, 20x20 cm boyutlarındaki Kieselgel 60 F<sub>254</sub> (Merck 5744) hazır kromatografi plağı üzerine olacak şekilde bir Hamilton enjektörü yardımıyla, 10 cm uzunluğunda bantlar halinde tatbik edildi. Plaklar, tatbik noktasından itibaren 17 cm olacak şekilde sikloheksan:kloroform:metanol:dietilamin (6:2.5:0.5:1) solvan sisteminde yükseltildi. 366 nm dalga boyundaki UV ışık altında lycorine bantlarının yerileri belirlenip kazındı. Kazınan bantlar, 100'er ml kloroform:metanol (8:2) karışımı ile elüe edildi. Organik çözücü kuruluğa kadar uçurulduktan sonra, bakiyeler metanol ile çözümlenerek balon jøjelere alınıp, 10 ml'ye yine metanol ile tamamlandılar. Aynı şartlarda boş deneme çözeltilisi de hazırlandı.

Hazırlanan çözeltilerin 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(Lycorine 1). Daha sonra kantitatif çalışılarak absorbansı ölçülen çözeltilerin, her biri tekrar uçurma balonuna alındı. Organik solvanlar kuruluğa kadar uçuruldu ve bakiye mümkün olduğunca az miktarda kloroform:metanol (8:2) karışımı ilave edilip, tekrar tekrar çözülerek ve kantitatif olarak çalışılarak birer flakona aktarıldı. Flakon içindeki çözeltiler, her biri ayrı 0.5 mm kalınlıkta, 20x20 cm boyutlarındaki Kieselgel 60 F<sub>254</sub> (Merck 5744) hazır kromatografi plağı üzerine, 10 cm uzunluğundaki bantlar halinde tatbik edildi. Plaklar, tatbik noktasından itibaren 17 cm olacak şekilde kloroform:metanol:su (8.5:1.5:1) çözücü sisteminin alt fazında yükseltildi. 366 nm dalga boyundaki UV ışık altında, lycorine bantlarının yeri belirlenip kazındı. Kazınan bantlar 100'er ml kloroform : metanol(8:2) karışımı ile elüe edildi. Organik çözücüler kuruluğa kadar uçurulduktan sonra, bakiyeler metanol ile çözülerek bir balon jojeye alınıp 10 ml'ye metanol ile tamamlandılar. Aynı şartlarda bir de boş deneme çözeltisi hazırlandı.

Hazırlanan çözeltilerin 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(Lycorine 2).

### **2° Bulbus Galanthi'de Lycorine Miktar Tayini**

İnce toz edilmiş ve 100 – 105 °C'lik etüvde sabit ağırlığa gelene kadar kurutulmuş olan drog örneklerinden, 6 gram civarında tam tartım alındı. Bir perkolatörde 100 ml % 96'lık 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 reaktifleriyle (19) reaksiyon vermeyinceye kadar devam edildi. Etanollü ekstre alçak basınç altında kuruluğa kadar uçurulup, bakiye 50 ml'lik porsiyonlar halinde % 1'lik hidroklorik asit çözeltisiyle çözülüp, süzüldü. Çözünmeyen kısımlar. % 1'lik hidroklorik asit çözeltisiyle küçük

porsiyonlar kullanılarak yıkandı. Yıkama işlemine, asitli süzüntü Mayer ve Dragendorff reaktifleri ile reaksiyon vermeyinceye kadar devam edildi (toplam 250 ml % 1'lik hidroklorik asit kullanıldı). Birleştirilmiş asitli çözeltiler 100 ml'lik porsiyonlar halinde 3 defa petrol eteri (40-60 °C) ile ekstre edildi. Petrol eterli kısımlar ayrıldı. Asitli çözelti % 25'lik amonyum hidroksit ile kalevilendirildi(pH 9-10). Daha sonra, kloroform (6 x 100 ml) ile tüketildi. Sonuncu ekstraksiyon sırasında kloroformlu fazdan bir miktar alındı. Susuz sodyum sülfat (Merck 6643) ile suyundan kurtarılıp, süzüldü. Kloroform alçak basınç altında uçuruldu. Bir miktar % 1'lik hidroklorik asit çözeltisi ile çözülüp, Mayer ve Dragendorf reaktifleri(19) ile alkaloit varlığı kontrol edildi. Alkaloitlerin tamamen tüketildiğine karar verildikten sonra birleştirilen kloroformlu kısımlar, susuz sodyum sülfat(Merck 6643) ile suyundan kurtarılıp süzüldü. Alçak basınç altında kuruluğa kadar uçuruldu. Bu şekilde total alkaloit ekstresi elde edilmiş oldu.

Böylece hazırlanan total alkaloit ekstresi, kloroform: metanol (8 : 2) çözücü sistemi içinde çözülerek, 2.5 ml'lik balon jodede yine aynı çözücü karışımıyla 2.5 ml'ye seyreltildi. Bu çözeltinin uygun konsantrasyonu olarak saptanan 2000 µl'si 0.5 mm kalınlıkta, 20x20 cm boyutlarındaki Kieselgel 60 F<sub>254</sub> (Merck 5744) hazır kromatografi plağına 10 cm uzunluğunda bir bant halinde tatbik edildi. Bantın başlangıç ve bitişinden itibaren 1.5 cm bırakarak 20'şer µl referans çözeltisi 2 tatbik edildi. Plak, sikloheksan:kloroform:metanol:dietilamin (6:2.5:0.5:1) çözücü sisteminde yine starttan itibaren 17 cm olacak şekilde develope edildi. Plak, 366 nm dalga boyundaki UV ışık altında incelenerek ekstredeki lycorine bandı, standart ile karşılaştırılarak kazındı. Kazınan bant, kloroform:metanol (8:2) karışımıyla elüe edildi. Organik çözücü kuruluğa kadar uçurulduktan sonra, bakiye metanol ile çözülerek bir balon jodede 5 ml'ye yine metanol ile tamamlandı. Aynı şartlarda, birde boş deneme çözeltisi hazırlandı. Hazırlanan çözeltinin absorpsiyonu, 1 cm kalınlığındaki küvette Shimadzu UV 160A spektrofotometresinde, 292 nm dalga boyunda boş deneme çözeltisine karşı okundu. Lycorine için okunan absorbans değeri önceden hazırlanmış olan ölçü eğrisine (Lycorine 1) yerleştirildi. Verilen absorbans

değerine karşılık gelen konsantrasyon bulunup, lycorine miktarı kuru materyal ağırlığı için yüzde gram olarak hesaplandı.

Daha sonra absorbansı ölçülen çözelti ile balonun muhtevası dikkatli bir şekilde bir uçurma balonuna aktarıldı ve organik solvan alçak basınç altında uçuruldu. Bakiye, yine mümkün olduğunca az miktarda kloroform:metanol (8:2) çözücü sisteminde çözülerek flakona aktarıldı. Flakonun içeriği 0.5 mm kalınlığında, 20x20 cm boyutlarındaki Kieselgel 60 F<sub>254</sub> (Merck 5744) hazır kromatografi plağına 10 cm uzunluğunda bir bant halinde tatbik edildi. Bantın başlangıcından 1.5 cm bırakarak 20 µl referans çözeltisi 2 tatbik edildi. Plak, kloroform:metanol:su (8.5:1.5:1) solvan sisteminde starttan itibaren 17 cm olacak şekilde develope edildi. 366 nm dalga boyundaki UV ışık altında lycorine standardı ile karşılaştırılarak, ekstredeki lycorine bandının yeri belirlenip kazındı. Kazınan bant, kloroform:metanol (8:2) karışımı ile elüe edildi. Organik çözücü kuruluğa kadar uçurulduktan sonra bakiye metanol ile çözülerek bir balon jode 10 ml'ye yine metanol ile tamamlandı. Aynı şartlarda, boş deneme çözeltisi de 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 yine elüsyon yöntemi ile hazırlanmış olan ölçü eğrisine(Lycorine 2) karşı yerleştirildi. Verilen absorbans değerine karşılık gelen konsantrasyon bulunup lycorine miktarı kuru materyal ağırlığı için yüzde gram olarak hesaplandı.

Bu şekilde iki farklı değer elde etmiş olduk. Ancak lycorine için yapılan saflık ve miktar tayini denemelerinden aldığımız neticeler, lycorine miktar tayininde iki aşamalı yöntemin daha sağlıklı sonuçlar verdiğini göstermektedir.



### g. Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi ile Lycorine'nin Teşhisi ve Miktar Tayini

#### 1° Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi ile Lycorine İçin Yapılan Kontrol Çalışmaları

70 g civarında tam olarak tartılan drog bir perkolatörde 24 saat 500 ml % 96'lık etanol ile nasere edildi. Daha sonra drog yaklaşık toplam 1200 ml % 96'lık etanol ile tüketme sıvısı Dragendorff ve Mayer reaktifleri(19) ile reaksiyon vermeyinceye kadar ekstre edildi. Etanollü ekstre alçak basınç altında kuruluğa kadar uçurulup, bakiye 50 ml'lik porsiyonlar halinde % 1'lik hidroklorik asit çözeltisi ile çözülüp, süzüldü. Çözünmeyen kısımlar % 1'lik hidroklorik asit ile porsiyonlar halinde yıkandı. Yıkama işlemine, asitli süzüntü Dragendorff ve Mayer reaktifleri(19) ile reaksiyon vermeyinceye kadar devam edildi (toplam 550ml % 1'lik hidroklorik asit kullanıldı). Birleştirilmiş asitli çözeltiler 150 ml' lik porsiyonlar halinde 3 defa petrol eteri (40-60°C) ile ekstre edildi. Petrol eterli kısımlar ayrıldı. Asitli çözelti % 25'lik amonyum hidroksit ile kalevilendirildi(pH 9-10). Daha sonra, kloroform (6x200 ml) ile tüketme işlemi gerçekleştirildi. Sonucu ekstraksiyonun ardından kloroformlu fazdan bir miktar alınıp susuz sodyum sülfat(Merck 6643) ile suyundan kurtarılıp, süzüldü. Kloroform alçak basınç altında uçuruldu. Kalan bakiye bir miktar % 1'lik hidroklorik asit çözeltisi ile çözülüp, Mayer ve Dragendorf reaktifleri(19) ile alkaloit varlığı kontrol edildi. Birleştirilen kloroformlu kısımlar, susuz sodyum sülfat(Merck 6643) ile suyundan kurtarılıp süzülüp alçak basınç altında kuruluğa kadar uçurularak total alkaloit ekstresi elde edilmiş oldu.

Örnek çözeltilerinin hazırlanışı: A<sub>CTÜ</sub>, A<sub>CTA</sub>, A<sub>MTÜ</sub> ve A<sub>MTA</sub> kodları verilen örneklerden kloroform : metanol (9:1) karışım çözeltisiyle 5 mg/1 ml konsantrasyonda çözeltiler hazırlandı. Çözeltiler Schleicher & Schuell (589<sup>1</sup> Black ribbon ashless) filtre kağıdından süzülerek hazırlandı.

Standart lycorine çözeltisinin hazırlanışı: 3 mg saf lycorine bir balon jodede kloroform : metanol (9:1) karışımı ile 10 ml'ye tamamlandı. Çözelti Schleicher & Schuell (589<sup>1</sup> Black ribbon ashless) filtre kağıdından süzülerek hazırlandı. Bu çözeltiye S<sub>1</sub> kodu verildi.

Karışım çözeltilerinin hazırlanışı: Yukarıda anlatıldığı şekilde hazırlanan A<sub>CTÜ</sub> , A<sub>CTA</sub>, A<sub>MTÜ</sub> ve A<sub>MTA</sub> kodlu her bir örnek çözeltiden 0.7 ml alınıp, 0.3 ml standart lycorine çözeltisi ile karıştırıldı.

Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (HPLC) Analiz Şartları:

Cihaz: Hewlett Packard 1100

Kolon: Hichrom C<sub>18</sub> (300 mm x 4.0 mm id)

Mobil Faz: Kloroform : metanol (9:1)

Akış Hızı: 1 ml / dk.

Dedektör: UV 290 nm (HP 1100)

Sıcaklık: 30 °C

S<sub>L</sub> kodu verilen standart lycorine çözeltisinden 5 µl enjekte edildi. Buna ait olan kromatogram sayfa 98 şekil 11'de verildi.

Her bir bitki bölümüne ait olan ekstrelerden ve yukarıda anlatıldığı şekilde hazırlanan karışım çözeltilerinden 5 µl enjekte edildi. Bunlara ait kromatogramlar sayfa 98 şekil 12-19'da verilmiştir.

## **2° Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi ile Bulbus Galanthi'de Lycorine Miktar Tayini**

70 g civarında tam olarak tartılan drog bir perkolatörde 24 saat 500 ml % 96'lık etanol ile masere edildi. Daha sonra drog yaklaşık toplam 1200 ml % 96'lık etanol ile tüketme sıvısı Dragendorff ve Mayer reaktifleri(19) ile reaksiyon vermeyinceye kadar ekstre edildi. Etanollü ekstre alçak basınç altında kuruluğa kadar uçurulup, bakiye 50 ml'lik porsiyonlar halinde % 1'lik hidroklorik asit çözeltisi ile çözülüp, süzüldü. Çözünmeyen kısımlar % 1'lik hidroklorik asit ile porsiyonlar halinde yıkandı. Yıkama işlemine, asitli süzüntü Dragendorff ve Mayer reaktifleri(19) ile reaksiyon vermeyinceye kadar devam edildi (toplam 550ml % 1'lik hidroklorik asit kullanıldı). Birleştirilmiş asitli çözeltiler 150 ml' lik porsiyonlar halinde 3 defa petrol eteri

(40-60°C) ile ekstre edildi. Petrol eterli kısımlar ayrıldı. Asitli çözelti % 25'lik amonyum hidroksit ile kalevilendirildi(pH 9-10). Daha sonra, kloroform (6x200 ml) ile tüketme işlemi gerçekleştirildi. Sonuncu ekstraksiyonun ardından kloroformlu fazdan bir miktar alınıp susuz sodyum sülfat(Merck 6643) ile suyundan kurtarılıp, süzüldü. Kloroform alçak basınç altında uçuruldu. Kalan bakiye bir miktar % 1'lik hidroklorik asit çözeltisi ile çözülüp, Mayer ve Dragendorf reaktifleri(19) ile alkaloit varlığı kontrol edildi. Birleştirilen kloroformlu kısımlar, susuz sodyum sülfat (Merck 6643) ile suyundan kurtarılıp süzülüp alçak basınç altında kuruluğa kadar uçurularak total alkaloit ekstresi elde edilmiş oldu.

Örnek çözeltilerinin hazırlanışı: A<sub>CTA</sub> ve A<sub>MTA</sub> kodları verilen örneklerden kloroform : metanol (9:1) karışım çözeltisiyle 5mg / 1ml konsantrasyonda çözeltiler hazırlandı. Çözeltiler Schleicher & Schuell (589<sup>1</sup> Black ribbon ashless) filtre kağıdından süzülerek hazırlandı.

Standart lycorine çözeltisinin hazırlanışı: 3 mg saf lycorine bir balon jodede kloroform : metanol (9:1) karışımı ile 10 ml'ye tamamlandı. Bu stok çözeltiden sırasıyla 1 ml, 2 ml ve 3 ml'lik porsiyonlar alınıp yine kloroform : metanol (9:1) karışımı ile 10 ml'ye tamamlandı. Çözeltiler Schleicher & Schuell (589<sup>1</sup> Black ribbon ashless) filtre kağıdından süzülerek hazırlandı. Bunlara S<sub>L1</sub>, S<sub>L2</sub> ve S<sub>L3</sub> kodları verildi.

**Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC) Analiz Şartları:**

Cihaz: Hewlett Packard 1100

Kolon: Hichrom C<sub>18</sub> (300 mm x 4.0 mm id)

Mobil Faz: Kloroform : metanol (9:1)

Akış Hızı: 1 ml / dk.

Dedektör: UV 290 nm (HP 1100)

Sıcaklık: 30 °C

Hazırlanan  $S_{L1}$ ,  $S_{L2}$  ve  $S_{L3}$  kodlu standart seriden 5'er  $\mu$ l enjekte edildi. Absorpsiyonları, HP 1100 UV dedektörde 290 nm dalga boyunda ölçüldü. Elde edilen absorpsiyon eğrileri yardımıyla lycorine için bir ölçü eğrisi hazırlandı (Şekil 20, Sayfa 101).

A<sub>CTA</sub> ve A<sub>MTA</sub> kodları verilen örneklerden hazırlanan örnek çözeltilerinden 5 ve 10  $\mu$ l'lik enjeksiyonlar gerçekleştirildi. Verilen alan değerine karşılık gelen konsantrasyon bulunup lycorine miktarı kuru materyal ağırlığı için yüzde gram olarak hesaplandı.

#### **h. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi ile Galanthamine'nin Teşhisi**

80 g civarında tam olarak tartılan drog bir perkolatörde 24 saat 500 ml % 96'lık etanol ile masere edildi. Daha sonra drog yaklaşık toplam 1200 ml % 96'lık etanol ile tüketme sıvısı Dragendorff ve Mayer reaktifleri(19) ile reaksiyon vermeyinceye kadar ekstre edildi. Etanollü ekstre alçak basınç altında kuruluğa kadar uçurulup, bakiye 50 ml'lik porsiyonlar halinde % 1'lik hidroklorik asit çözeltisi ile çözülüp, süzülür. Çözünmeyen kısımlar % 1'lik hidroklorik asit ile porsiyonlar halinde yıkandı. Yıkama işlemine, asitli süzüntü Dragendorff ve Mayer reaktifleri(19) ile reaksiyon vermeyinceye kadar devam edildi (toplam 550ml % 1'lik hidroklorik asit kullanıldı). Birleştirilmiş asitli çözeltiler 150 ml'lik porsiyonlar halinde 3 defa petrol eteri (40-60°C) ile ekstre edildi. Petrol eterli kısımlar ayrıldı. Asitli çözelti % 25'lik amonyum hidroksit ile kalevilendirildi(pH 9-10). Daha sonra, kloroform (6x200 ml) ile tüketme işlemi gerçekleştirildi. Sonucu ekstraksiyonun ardından kloroformlu fazdan bir miktar alınıp susuz sodyum sülfat (Merck 6643) ile suyundan kurtarılıp, süzülür. Kloroform alçak basınç altında uçuruldu. Kalan bakiye bir miktar % 1'lik hidroklorik asit çözeltisi ile çözülüp, Mayer ve Dragendorff reaktifleri (19) ile alkaloid varlığı kontrol edildi. Birleştirilen kloroformlu kısımlar, susuz sodyum sülfat (Merck 6643) ile suyundan kurtarılıp süzülüp alçak basınç altında kuruluğa kadar uçurularak total alkaloid ekstresi elde edilmiş oldu.

Örnek çözeltilerinin hazırlanışı: A<sub>ÇTÜ</sub>, A<sub>ÇTA</sub>, A<sub>MTÜ</sub> ve A<sub>MTA</sub> kodları verilen örneklerden asetonitril:su (50:50) karışımı ile 5 mg/2.5 ml konsantrasyonda çözeltiler hazırlandı. Çözeltiler Schleicher & Schuell (589<sup>1</sup> Black ribbon ashless) filtre kağıdından süzülerek hazırlandı.

Standart galanthamine çözeltisinin hazırlanışı: 3 mg saf galanthamine bir balon jodede asetonitril:su (50:50) karışımı ile 10 ml'ye tamamlandı. Çözelti Schleicher & Schuell (589<sup>1</sup> Black ribbon ashless) filtre kağıdından süzülerek hazırlandı. Bu çözeltiliye S<sub>G</sub> kodu verildi.

Karışım çözeltilerinin hazırlanışı: Yukarıda anlatıldığı şekilde hazırlanan A<sub>ÇTÜ</sub>, A<sub>ÇTA</sub>, A<sub>MTÜ</sub> ve A<sub>MTA</sub> kodlu her bir örnek çözeltiliden 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 C<sub>18</sub> (250 mm x 4.6 mm id)

Ön Kolon: 201GK54SP

Mobil Faz: Trifloroasetik asit: Su: Asetonitril (0.01:95:5)

Akış Hızı: 1,2 ml/ dk.

Dedektör: UV 289 nm (HP 1100)

Sıcaklık: 25 °C

S<sub>G</sub> kodu verilen standart galanthamine çözeltisinden 5 µl enjekte edildi. Buna ait olan kromatogram sayfa 102 şekil 21'de verildi.

Her bir bitki bölümüne ait olan ekstrelerden ve yukarıda anlatıldığı şekilde hazırlanan karışım çözeltilerinden 10 µl enjekte edildi. Bunlara ait kromatogramlar sayfa 102 şekil (22-29)'da verilmiştir.

### 3.BULGULAR

#### a. Nem Miktar Tayini

Alman Farmakopesi'nde (DAB 10) verilen yöntem kullanılarak AÇTÜ, AÇTA, AMTÜ, AMTA, < kodlu örneklerde ayrı ayrı olmak üzere 6 paralel deneme yapıldı. Bu denemeler sonucunda elde edilen sonuçlar aşağıda yer almaktadır.

#### AÇTÜ Kodlu Örneğe Ait Sonuçlar:

Drog Miktarı (g)	% Nem Miktarı
0.9903	7.5027
1.0073	7.5052
0.9809	7.3707
1.0032	7.7450
1.0057	7.6860
1.0053	7.6200

Sonuçların İstatistiki Açidan Değerlendirilmesi:

N	6
Mean	7.5716
Median	7.5626
St.Deviation	0.01379
Min.	7.3707
Max.	7.7450
Q <sub>1</sub>	7.4269
Q <sub>3</sub>	7.7163

#### AÇTA Kodlu Örneğe Ait Sonuçlar:

Drog Miktarı (g)	% Nem Miktarı
1.0053	7.0520
1.0055	7.0210
1.0103	7.0270
1.0035	7.0354
1.0023	7.0737
1.0045	7.0283

Sonuçların İstatistiki Açıdan Değerlendirilmesi:

N	6
Mean	7.0396
Median	7.03185
St.Deviation	0.01983
Min.	7.0210
Max.	7.0737
Q <sub>1</sub>	7.0188
Q <sub>3</sub>	7.0604

**AMTÜ Kodlu Örneğe Ait Sonuçlar:**

Drog Miktarı (g)	% Nem Miktarı
1.0505	6.1399
1.0066	6.2984
0.9916	6.2727
1.0256	6.2207
1.0188	6.2524
1.0492	6.2428

Sonuçların İstatistiki Açıdan Değerlendirilmesi:

N	6
Mean	6.2378
Median	6.2476
St.Deviation	0.05478
Min.	6.1399
Max.	6.2984
Q <sub>1</sub>	6.1803
Q <sub>3</sub>	6.2953

**AMTA Kodlu Örneğe Ait Sonuçlar:**

Drog Miktarı (g)	% Nem Miktarı
1.0033	6.5483
1.0039	6.5345
1.0128	6.5560
1.0041	6.5830
1.0093	6.5292
1.0184	6.5494

Sonuçların İstatistiki Açıdan Değerlendirilmesi:

N	6
Mean	6.5501
Median	6.54885
St.Deviation	0.01898
Min.	6.5292
Max.	6.5830
Q <sub>1</sub>	6.5301
Q <sub>3</sub>	6.5700

#### b. Total Kül Miktar Tayini

Alman Farmakopesinde (DAB 10) ve "Tıbbi Bitkisel Materyal İçin Kalite Kontrol Yöntemleri" adlı kitapta (71) verilen yöntem kullanılarak A<sub>CTÜ</sub>, A<sub>CTA</sub>, A<sub>MTÜ</sub> ve A<sub>MTA</sub> kodlu örneklerde ayrı ayrı olmak üzere 3 paralel deneme yapılmış ve bu denemelerin sonuçları aşağıda verilmiştir.

#### A<sub>CTÜ</sub> Kodlu Örneğe Ait Sonuçlar:

Drog Miktarı (g)	% Total Kül Miktarı
1.0094	9.1935
1.0085	9.0431
1.0022	9.0700

Sonuçların İstatistiki Açıdan Değerlendirilmesi:

N	3
Mean	9.1022
Median	9.0700
St. Deviation	0.0802
Min.	9.0431
Max.	9.1935
Q <sub>1</sub>	8.9030
Q <sub>3</sub>	9.3014

#### A<sub>CTA</sub> Kodlu Örneğe Ait Sonuçlar:

Drog Miktarı (g)	% Total Kül Miktarı
1.0040	12.7586
1.0053	12.5833
1.0086	12.7206



Sonuçların İstatistiki Açıdan Değerlendirilmesi:

N	3
Mean	12.6875
Median	12.7206
St. Deviation	0.09222
Min.	12.5833
Max.	12.7586
Q <sub>1</sub>	12.4584
Q <sub>3</sub>	12.9166

**A<sub>MTÜ</sub> Kodlu Örneğe Ait Sonuçlar:**

Drog Miktarı (g)	% Total Kül Miktarı
0.9984	17.8385
1.0008	17.7757
1.0040	17.7589

Sonuçların İstatistiki Açıdan Değerlendirilmesi:

N	3
Mean	17.7910
Median	17.7757
St. Deviation	0.04196
Min.	17.7589
Max.	17.8385
Q <sub>1</sub>	17.6868
Q <sub>3</sub>	17.8953

**A<sub>MTA</sub> Kodlu Örneğe Ait Sonuçlar:**

Drog Miktarı (g)	% Total Kül Miktarı
0.9988	16.1694
1.0014	16.2871
1.0031	15.9804

Sonuçların İstatistiki Açıdan Değerlendirilmesi:

N	3
Mean	16.1456
Median	16.1694
St. Deviation	0.1547
Min.	15.9804
Max.	16.2871
Q <sub>1</sub>	15.7613
Q <sub>3</sub>	16.5300

### c. Sülfat Külü Miktar Tayini

Alman Farmakopesi'nde (DAB 10) verilen yöntem kullanılarak AÇTÜ, AÇTA, AMTÜ, AMTA kodlu örneklerde ayrı ayrı olmak üzere 3 paralel deneme yapılmış ve bu denemelerin sonuçları aşağıda verilmiştir.

#### AÇTÜ Kodlu Örneğe Ait Sonuçlar:

Drog Miktarı (g)	% Sülfat Külü
1.0037	12.3742
1.0019	12.4962
1.0083	12.3871

Sonuçların İstatistiki Açidan Değerlendirilmesi:

N	3
Mean	12.4192
Median	12.3871
St. Deviation	0.06702
Min.	12.3742
Max.	12.4962
Q <sub>1</sub>	12.2527
Q <sub>3</sub>	12.5857

#### AÇTA Kodlu Örneğe Ait Sonuçlar:

Drog Miktarı (g)	% Sülfat Külü
1.0042	15.2459
1.0051	15.3517
1.0040	15.2290

Sonuçların İstatistiki Açidan Değerlendirilmesi:

N	3
Mean	15.2755
Median	15.2459
St. Deviation	0.0665
Min.	15.2290
Max.	15.3517
Q <sub>1</sub>	15.1103
Q <sub>3</sub>	15.4407

**A<sub>MTÜ</sub> Kodlu Örneğe Ait Sonuçlar:**

Drog Miktarı (g)	% Sülfat Külü
1.0010	19.5504
1.0341	19.6692
1.0032	19.2783

Sonuçların İstatistiki Açıdan Değerlendirilmesi:

N	3
Mean	19.4993
Median	19.5504
St. Deviation	0.2004
Min.	19.2783
Max.	19.6692
Q <sub>1</sub>	19.0015
Q <sub>3</sub>	19.9971

**A<sub>MTA</sub> Kodlu Örneğe Ait Sonuçlar:**

Drog Miktarı (g)	% Sülfat Külü
1.0042	17.9375
1.0017	18.1127
1.0035	18.0482

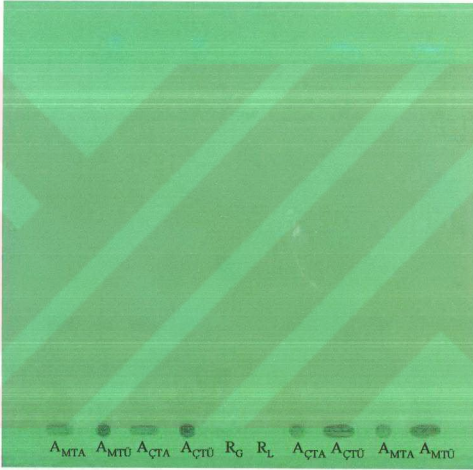
Sonuçların İstatistiki Açıdan Değerlendirilmesi:

N	3
Mean	18.0327
Median	18.0482
St. Deviation	0.08861
Min.	17.9375
Max.	18.1127
Q <sub>1</sub>	17.8127
Q <sub>3</sub>	18.2529

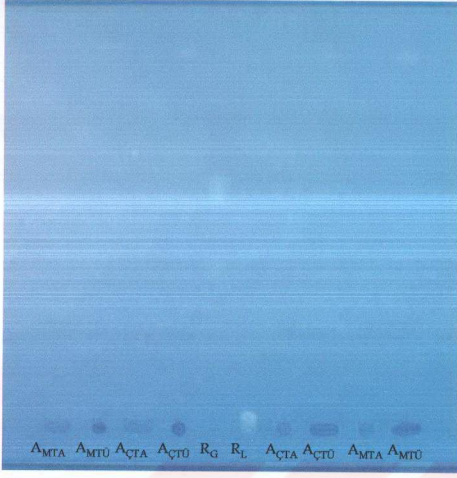
#### d. Alkaloitlerin İ.T.K. ile Teşhis ve Kontrolü

##### 1° Galanthamine'in İ.T.K. ile Teşhis ve Kontrolü

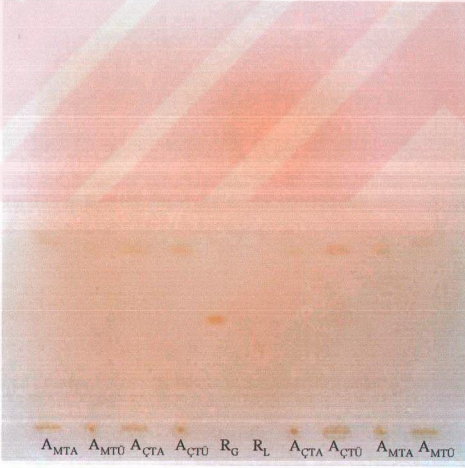
Sikloheksan: kloroform: dietilamin (7:2:1) çözücü sistemi ve 0.25 mm kalınlığında 20x20 cm boyutlarındaki Kieselgel 60 F<sub>254</sub> (Merck 5715) hazır plaklar kullanılarak yapılan kromatografik çalışmalarda, starttan itibaren 17 cm yükselecek şekilde develope edilen kromatografi plağının, 254 ve 366 nm dalga boyundaki UV ışık altında çekilen fotoğrafları Resim 51 ve 52'de, Dragendorff reaktifi (19) püskürtüldükten sonra çekilen fotoğrafı ise Resim 53'de görülmektedir. Galanthamine'in R<sub>f</sub>değeri: 0,29



Resim 51 : Galanthamine'in Teşhisi İçin 254 nm Dalga Boyundaki UV Işık Altında Çekilen Fotoğraf



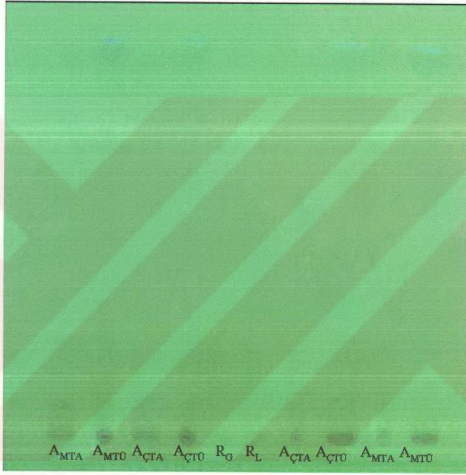
Resim 52 : Galanthamine'in Teşhisi İçin 366 nm Dalga boyundaki UV Işık Altında Çekilen Fotoğraf



Resim 53 : Galanthamine'in Teşhisi İçin Dragendorff Reaktifi Püskürtüldükten Sonra Çekilen Fotoğraf

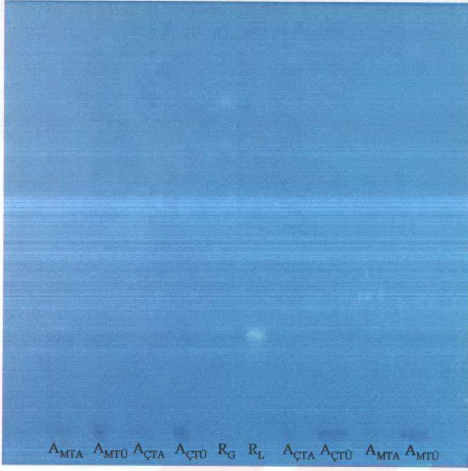
## 2° Lycorine'in İ.T.K. ile Teşhis ve Kontrolü

Sikloheksan:kloroform:metanol:dietilamin (6:2.5:0.5:1) çözücü sistemi ve 0.25 mm kalınlığında 20x20 cm boyutlarındaki Kieselgel 60 F<sub>254</sub> (Merck 5715) hazır plaklar kullanılarak yapılan kromatografik çalışmalarda, starttan itibaren 17 cm yükselecek şekilde develope edilen kromatografi plağının, 254 ve 366 nm dalga boyundaki UV ışık altında çekilen fotoğrafları Resim 54, 55'te, Dragendorff reaktifi püskürtüldükten sonra çekilen fotoğrafı ise Resim 56'da görülmektedir. Lycorine'in R<sub>f</sub> değeri: 0,14



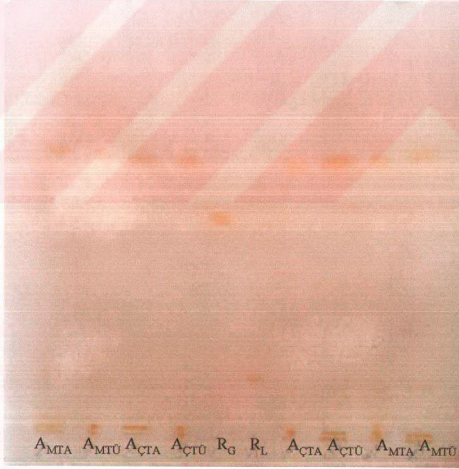
Resim 54 : Lycorine'in Teşhisi İçin 254 nm Dalga Boyundaki UV Işık Altında Çekilen

Fotoğraf



Resim 55 : Lycorine'in Teşhisi İçin 366 nm Dalga Boyundaki UV Işık Altında Çekilen

Fotoğraf

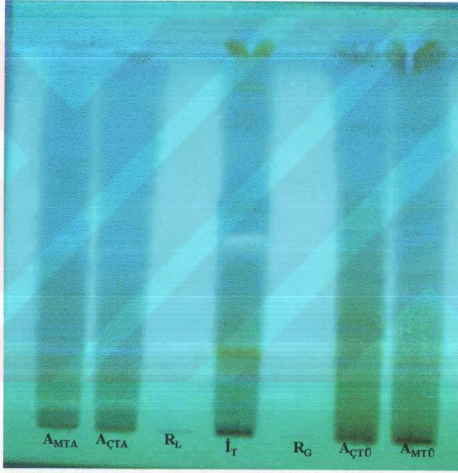


Resim 56 : Lycorine'in Teşhisi İçin Dragendorff Reaktifi Püskürtüldükten Sonra Çekilen

Fotoğraf

### 3° Galanthamine ve Lycorine'in İ.T.K. ile Teşhis ve Kontrolü

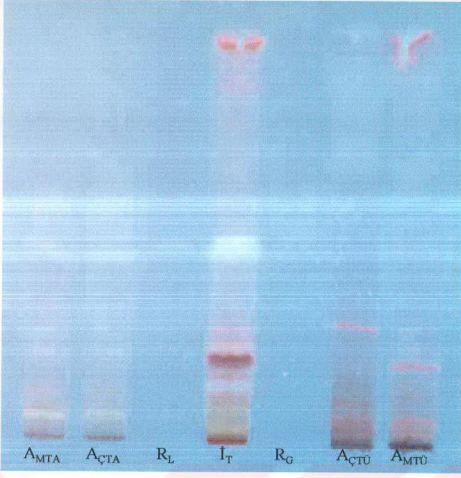
$A_{MTA}$ ,  $A_{CTA}$ ,  $R_L$ ,  $I_T$ ,  $R_G$ ,  $A_{CTÜ}$  ve  $A_{MTÜ}$  kodlu örneklerin sırasıyla uygulandığı benzen:kloroform:metanol: amonyum hidroksit (40:45:15:12 damla) çözücü sistemi ve 0.25 mm kalınlığında, 20x20 cm boyutlarındaki Kieselgel 60 F<sub>254</sub> (Merck 5715) hazır kromatografi plağı kullanılarak yapılan kromatografik çalışmalarda start çizgisinden itibaren çözücü 17 cm yükselecek şekilde 2 kez developpe edilen kromatografi plağının 254 ve 366 nm dalga boylarındaki UV ışık altında çekilen fotoğrafları Resim 57 ve 58'de Dragendorff Reaktifi püskürtüldükten sonra çekilen fotoğrafı ise Resim 59'da görülmektedir. Galanthamine'in  $R_F$  değeri: 0.65, Lycorine'in  $R_F$  değeri: 0.50



Resim 57 : Galanthamine ve Lycorine'in Teşhisi İçin 254 nm UV Işık Altında Çekilen

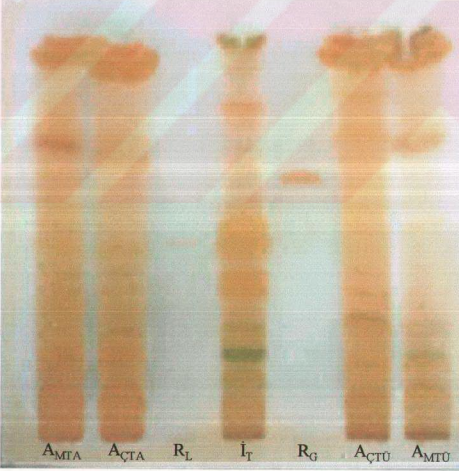
Fotoğraf





Resim 58 : Galanthamine ve Lycorine'in Teşhisi İçin 366 nm UV Işık Altında Çekilen

Fotoğraf



Resim 59 : Galanthamine ve Lycorine'in Teşhisi İçin Dragendorff Reaktifi

Püskürtüldükten Sonra Çekilen Fotoğraf

### e. Total Alkaloit Miktar Tayini

Yapılan denemelerde  $A_{CTU}$ ,  $A_{CTA}$ ,  $A_{MTU}$  ve  $A_{MTA}$  kodlu örneklerde her birinde ayrı ayrı 4 paralel çalışma gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar kuru drog ve galanthamine üzerinden yüzde gram olarak hesaplanmak suretiyle verilmiştir.

#### $A_{CTU}$ Kodlu Örneğe Ait Sonuçlar:

Drog Miktarı (g)	% Total Alkaloit
6.8560	0.1573
6.2593	0.1640
6.2060	0.1513
5.9643	0.1565

Sonuçların İstatistiki Açıdan Değerlendirilmesi:

N	4
Mean	0.1573
Median	0.1569
St. Deviation	0.005213
Min.	0.1513
Max.	0.1640
$Q_1$	0.1490
$Q_3$	0.1656

#### $A_{CTA}$ Kodlu Örneğe Ait Sonuçlar:

Drog Miktarı (g)	% Total Alkaloit
6.2950	0.0934
5.9781	0.0837
6.0336	0.0868
6.1692	0.0811

Sonuçların İstatistiki Açıdan Değerlendirilmesi:

N	4
Mean	0.08625
Median	0.08525
St. Deviation	0.005306
Min.	0.0811
Max.	0.0934
$Q_1$	0.07781
$Q_3$	0.09469

**AMTC Kodlu Örneğe Ait Sonuçlar:**

Drog Miktarı (g)	% Total Alkaloit
7.1649	0.0637
7.6749	0.0537
6.1215	0.0637
6.2003	0.0624

Sonuçların İstatistiki Açıdan Değerlendirilmesi:

N	4
Mean	0.06088
Median	0.06305
St. Deviation	0.004822
Min.	0.0537
Max.	0.0637
Q <sub>1</sub>	0.0532
Q <sub>3</sub>	0.06855

**AMTA Kodlu Örneğe Ait Sonuçlar:**

Drog Miktarı (g)	% Total Alkaloit
6.5856	0.0449
6.7409	0.0439
6.2532	0.0474
6.1630	0.0407

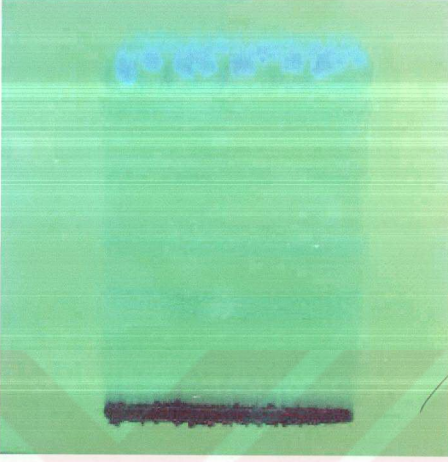
Sonuçların İstatistiki Açıdan Değerlendirilmesi:

N	4
Mean	0.04423
Median	0.0444
St. Deviation	0.002773
Min.	0.0407
Max.	0.0474
Q <sub>1</sub>	0.03981
Q <sub>3</sub>	0.04864

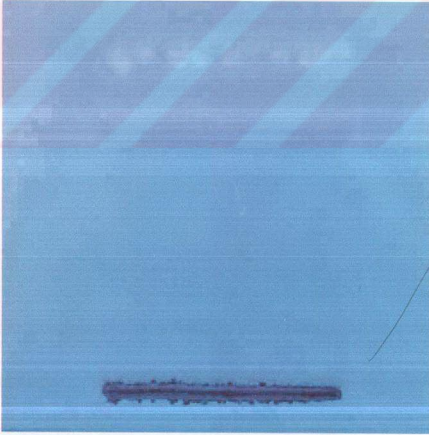
**f. Alkaloitlerin İ.T.K. İle Kombine Edilmiş Spektrofotometrik Miktar Tayini İçin****Yapılan Kontrol Çalışmaları:**

Drog Örneklerinde spektrofotometrik esaslı miktar tayini uygulanarak ölçülebilecek miktarda galanthamine ve lycorine olup olmadığına dair çalışmalar yapılmıştır. Bu amaçla

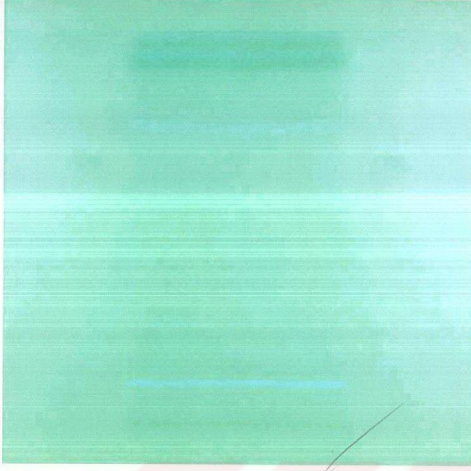
yapılan denemelere ait fotoğraf ve spektrumlar, standart olarak kullandığımız lycorine ve galanthamine'e ait spektrum ve fotoğraflarla birlikte verilmiştir.



Resim 60 : Galanthamine'in Kontrolü İçin P<sub>1</sub> Kodlu Plağa ait 254 nm Dalga Boyundaki UV Işık Altında Çekilen Fotoğraf



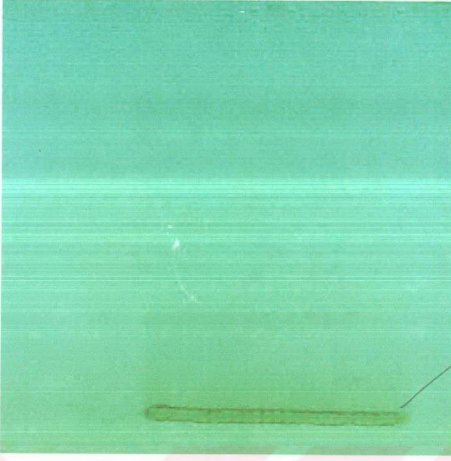
Resim 61 : Galanthamine'in Kontrolü İçin P<sub>1</sub> Kodlu Plağa Ait 366 nm Dalga boyundaki UV Işık Altında Çekilen Fotoğraf



Resim 62: Galanthamine'in kontrolü için P<sub>4</sub> kodlu Plağa ait 254 nm Dalga boyundaki UV Işık Altında Çekilen Fotoğraf



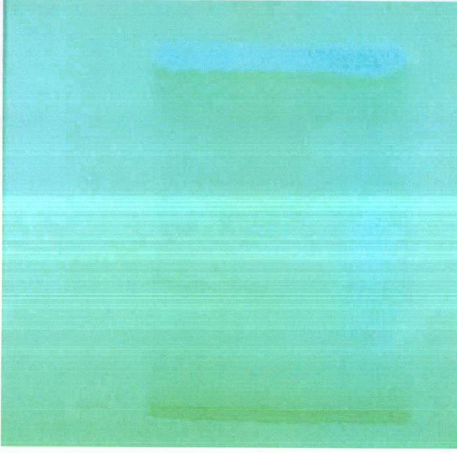
Resim 63: Galanthamine'in kontrolü için P<sub>4</sub> kodlu Plağa ait 254 nm Dalga boyundaki UV Işık Altında Çekilen Fotoğraf



Resim 64 : Lycorine'in Kontrolü İçin P<sub>6</sub> Kodlu Plağa Ait ve 254 nm Dalga Boyundaki UV Işık Altında Çekilen Fotoğraf



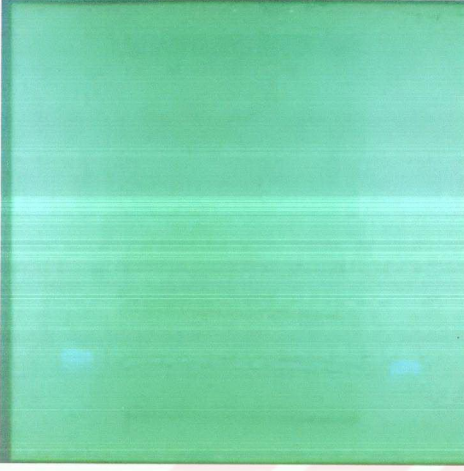
Resim 65 : Lycorine'in Kontrolü İçin P<sub>6</sub> Kodlu Plağa Ait ve 366 nm Dalga Boyundaki UV Işık Altında Çekilen Fotoğraf



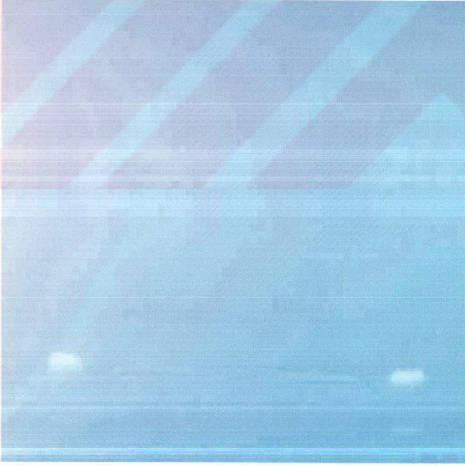
Resim 66 : Lycorine'in Kontrolü İçin P<sub>8</sub> Kodlu Plağa Ait ve 254 nm Dalga boyundaki UV Işık Altında Çekilen Fotoğraf



Resim 67 : Lycorine'in Kontrolü İçin P<sub>8</sub> Kodlu Plağa Ait ve 366 nm Dalga Boyundaki UV Işık Altında Çekilen Fotoğraf

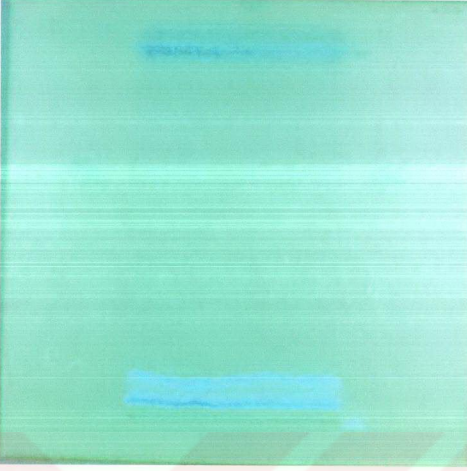


Resim 68: Lycorine'in Kontrolü İçin P<sub>10</sub> Kodlu Plağa Ait ve 254 nm Dalga Boyundaki UV Işık Altında Çekilen Fotoğraf

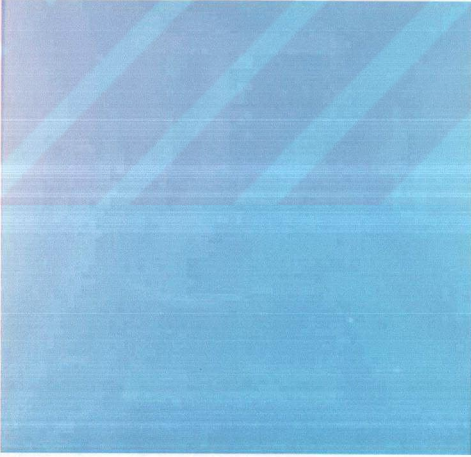


Resim 69: Lycorine'in Kontrolü İçin P<sub>10</sub> Kodlu Plağa Ait ve 366 nm Dalga Boyundaki UV Işık Altında Çekilen Fotoğraf

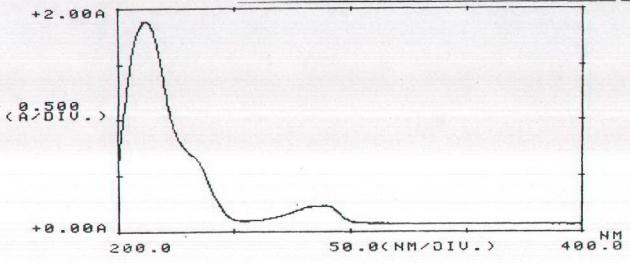




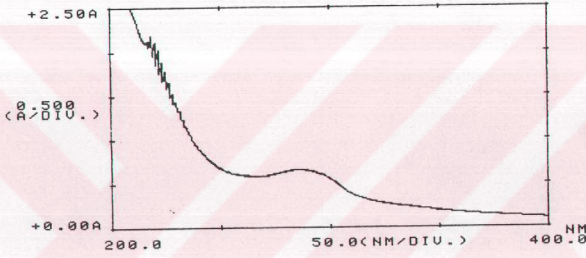
Resim 70: Lycorine'in Kontrolü İçin P<sub>11</sub> Kodlu Plağa Ait ve 366 nm Dalga Boyundaki UV Işık Altında Çekilen Fotoğraf



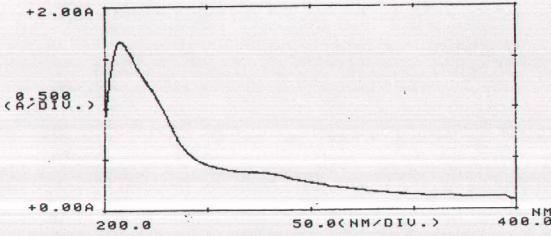
Resim 71: Lycorine'in Kontrolü İçin P<sub>11</sub> Kodlu Plağa Ait ve 366 nm Dalga Boyundaki UV Işık Altında Çekilen Fotoğraf



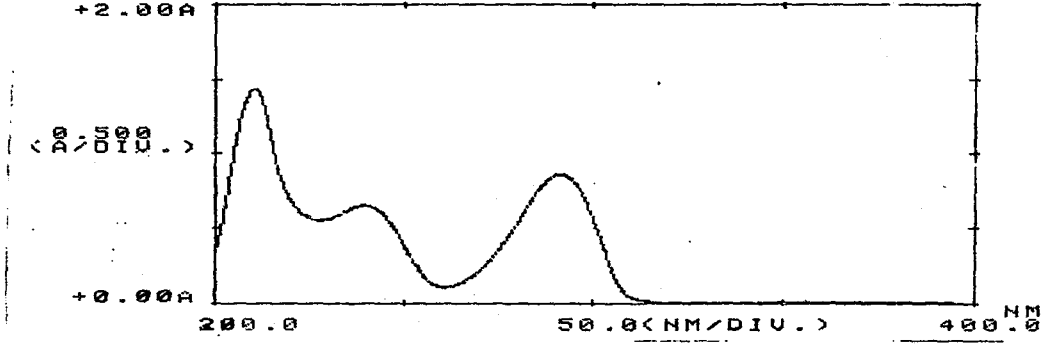
Şekil 1 : Standart Olarak Kullandığımız Galanthamine'e ait UV Spektrumu



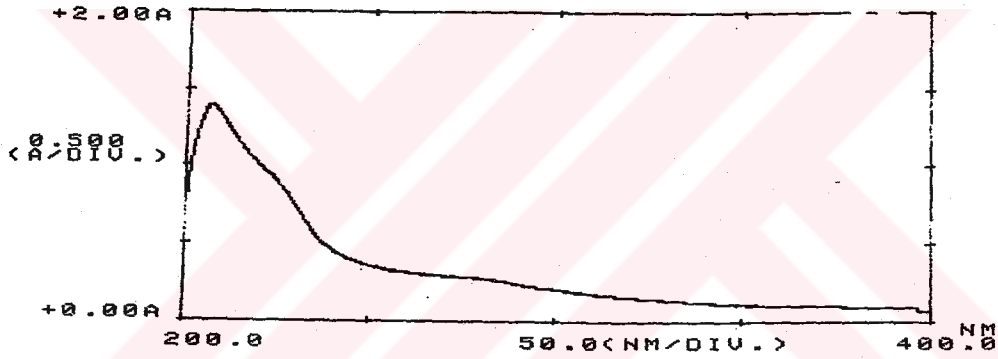
Şekil 2 : AG<sub>1</sub> kodlu banda ait UV Spektrumu



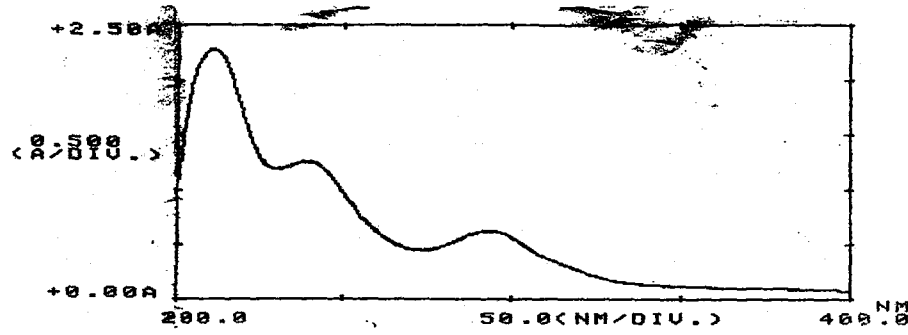
Şekil 3 : AG<sub>2</sub> kodlu banda ait UV Spektrumu



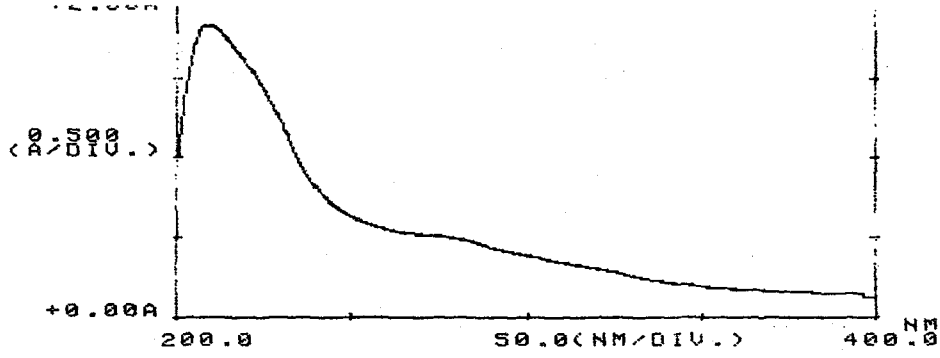
Şekil 4 : Standart Olarak Kullandığımız Lycorine'e ait UV Spektrumu



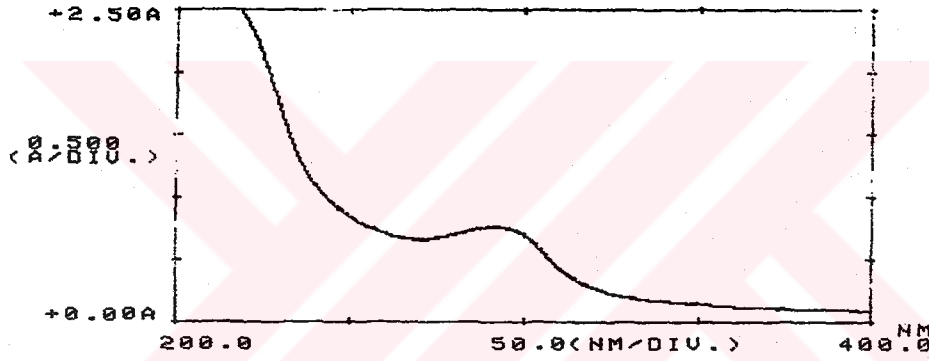
Şekil 5:A<sub>L1</sub> Kodlu Örneğe ait UV Spektrumu



Şekil 6 :A<sub>L2</sub> Kodlu Örneğe ait UV Spektrumu



Şekil 7 : A<sup>1</sup><sub>L1</sub> Kodlu Örneğe ait UV Spektrumu

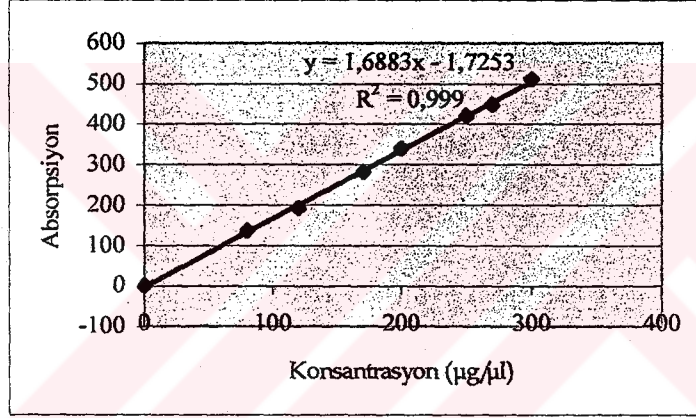


Şekil 8 : A<sup>1</sup><sub>L2</sub> Kodlu Örneğe ait UV Spektrumu

#### g. Lycorine'in İ.T.K. ile Kombine Edilmiş Spektrofotometrik Bir Yöntemle Miktar Tayini

Metotlar kısmında anlatılmış olan ve bu şekilde hazırlanan lycorine standart eğrisine ait absorbanslar 292 nm dalga boyunda UV-160A Shimadzu spektrofotometresinde ölçüldü. Ölçülen absorbans değerleri, çizilen ölçü eğrisi(Şekil 9) ve regresyon denklemi sayfa 94'de yer almaktadır.

Lycorine Miktarı (µg)	Absorbans
80	0.138
120	0.193
170	0.283
200	0.340
250	0.420
270	0.447
300	0.512



Şekil 9: L<sub>1</sub> Kodlu Lycorine Standart Ölçü Eğrisi

ACTA Kodlu Örneğe Ait Sonuçlar:

Örnek No	Drog miktarı (g)	Çözelti Miktarı (ml)	İ.T.K.'ne Tatbik Edilen Miktar (µl)	Absorbans	% Lycorine Miktarı
1	5.5821	2.5	2000	0.371	0.0024
2	5.4732	2.5	2000	0.385	0.0026
3	5.6700	2.5	2000	0.446	0.0029
4	5.9368	2.5	2000	0.400	0.0025

Sonuçların İstatistiki Açıdan Değerlendirilmesi:

N	4
Mean	0.0026
Median	0.00255
St. Deviation	0.000216
Min.	0.0024
Max.	0.0029
Q1	0.002256
Q3	0.002944

AMTA Kodlu Örneğe Ait Sonuçlar:

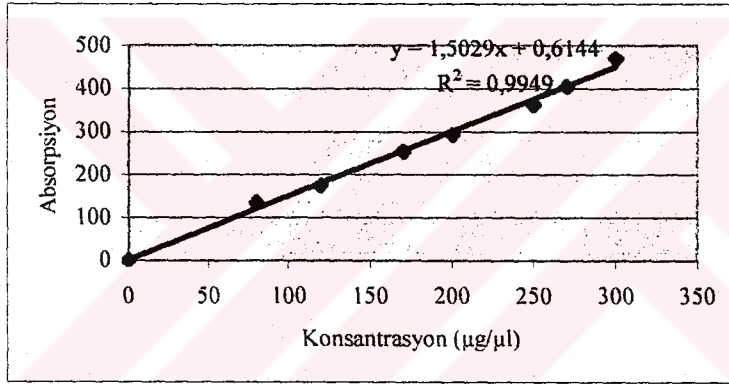
Örnek No	Drog miktarı (g)	Çözelti Miktarı (ml)	İ.T.K.'ne Tatbik Edilen Miktar ( $\mu$ l)	Absorbans	% Lycorine Miktarı
1	5.8117	2.5	2000	0.495	0.0031
2	5.5925	2.5	2000	0.579	0.0038
3	5.7335	2.5	2000	0.504	0.0032
4	5.6501	2.5	2000	0.539	0.0035

Sonuçların İstatistiki Açıdan Değerlendirilmesi:

N	4
Mean	0.0034
Median	0.00335
St. Deviation	0.0003162
Min.	0.0031
Max.	0.0038
Q1	0.002897
Q3	0.003903

Metotlar kısmında anlatılmış olan ve bu şekilde hazırlanan ikinci aşamaya ait lycorine standart eğrisinin absorbansları 292 nm dalga boyunda UV-160  $\Lambda$  Shimadzu spektrofotometresinde ölçüldü. Ölçülen absorbans değerleri, çizilen ölçü eğrisi ve kullanılan regresyon denklemi aşağıda(Şekil 10) ve sayfa 96'de yer almaktadır.

Lycorine Miktarı ( $\mu\text{g}$ )	Absorbans
80	0.135
120	0.175
170	0.254
200	0.293
250	0.362
270	0.405
300	0.470



Şekil 10 : L<sub>2</sub> Kodlu Lycorine Standart Ölçü Eğrisi

ACTA Kodlu Örneğe Ait Sonuçlar:

Örnek No	Drog miktarı (g)	Çözelti Miktarı (ml)	İ.T.K.'ne Tatbik Edilen Miktar ( $\mu\text{l}$ )	Absorbans	% Lycorine Miktarı
1	5.5821	2.5	2000	0.079	0.00058
2	5.4732	2.5	2000	0.075	0.00056
3	5.6700	2.5	2000	0.071	0.00052
4	5.9368	2.5	2000	0.077	0.00054

Sonuçların İstatistiki Açıdan Değerlendirilmesi:

N	4
Mean	0.00055
Median	0,00055
St. Deviation	0.00002582
Min.	0.00052
Max.	0.00058
Q1	0.0005089
Q3	0.0005911

AMTA Kodlu Örneğe Ait Sonuçlar:

Örnek No	Drog miktarı (g)	Çözelti Miktarı (ml)	İ.T.K.'ne Tatbik Edilen Miktar (μl)	Absorbans	% Lycorine Miktarı
1	5.8117	2.5	2000	0.048	0.00034
2	5.5925	2.5	2000	0.042	0.00030
3	5.7335	2.5	2000	0.044	0.00031
4	5.6501	2.5	2000	0.046	0.00033

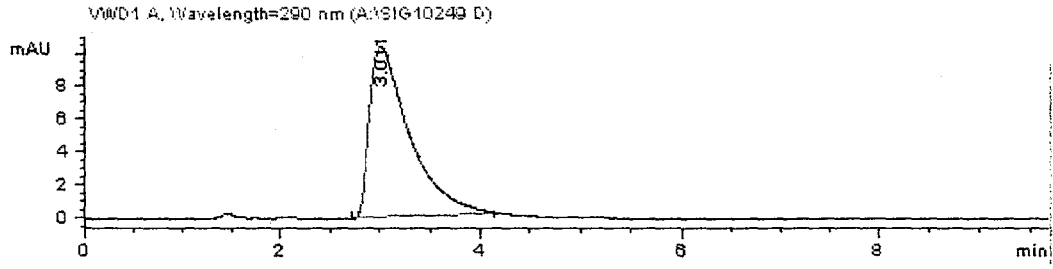
Sonuçların İstatistiki Açıdan Değerlendirilmesi:

N	4
Mean	0.00032
Median	0.00032
St. Deviation	0.00001826
Min.	0.00030
Max.	0.00034
Q1	0.0002909
Q3	0.0003491



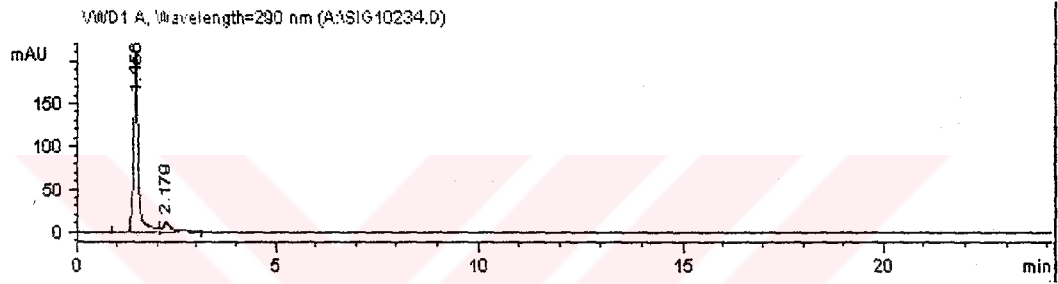
## h. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi ile Lycorine'in Teşhisi ve Miktar Tayini

### 1°Lycorine İçin Yapılan Kontrol Çalışmaları

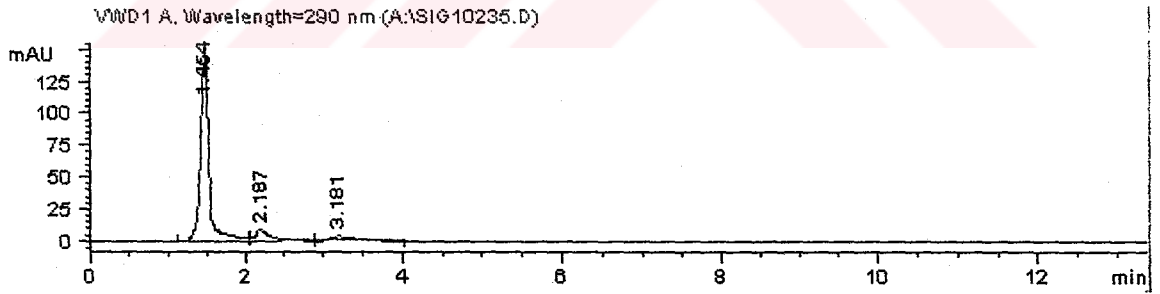


Şekil 11: Standart Lycorine Ait HPLC Kromatogramı

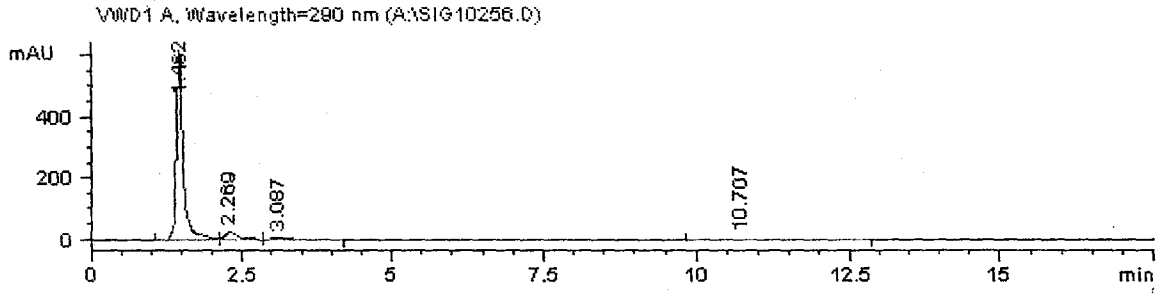
Standart Lycorine'in Retansiyon Zamanı:3,011



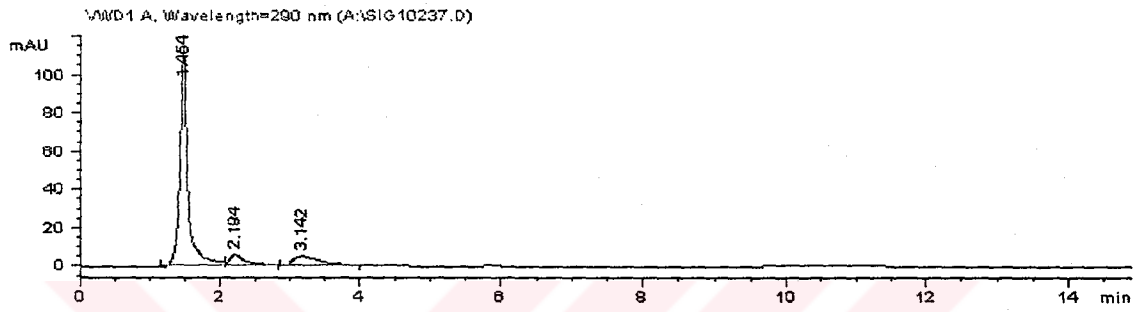
Şekil 12: AÇTÜ Kodlu Örneğe Ait HPLC Kromatogramı



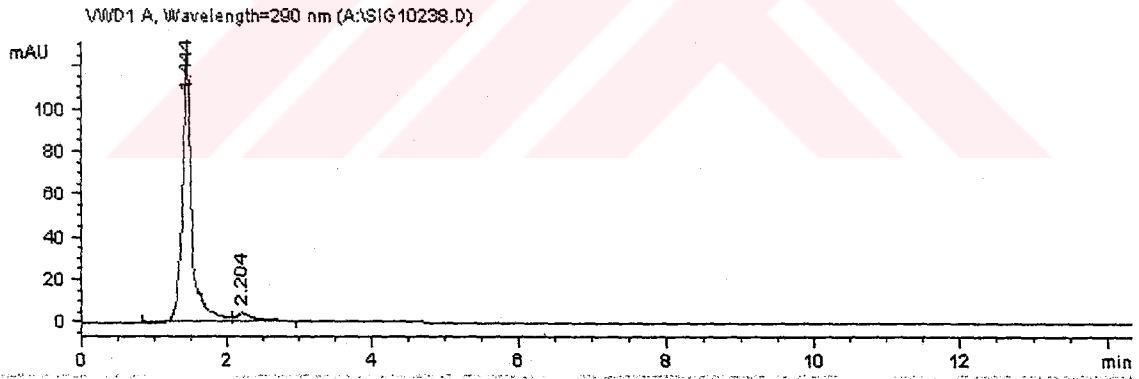
Şekil 13: Standart Lycorine ve AÇTÜ Kodlu Örnek Karışımına ait HPLC Kromatogramı



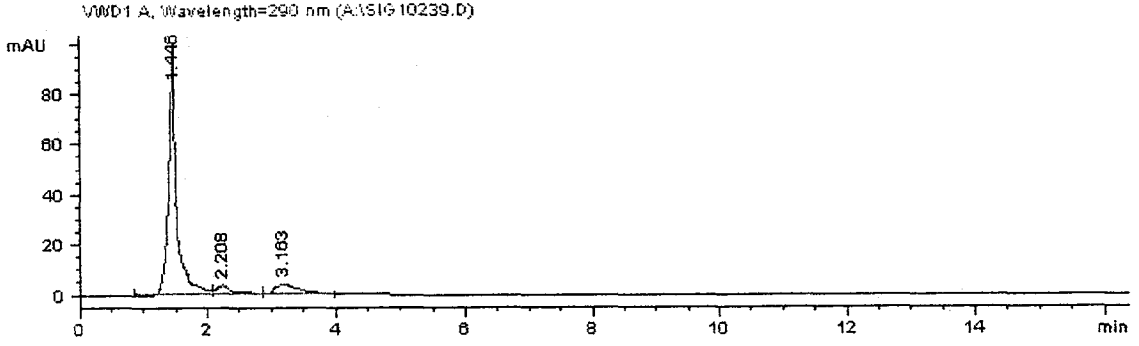
Şekil 14: AÇTA Kodlu Örneğe ait HPLC Kromatogramı



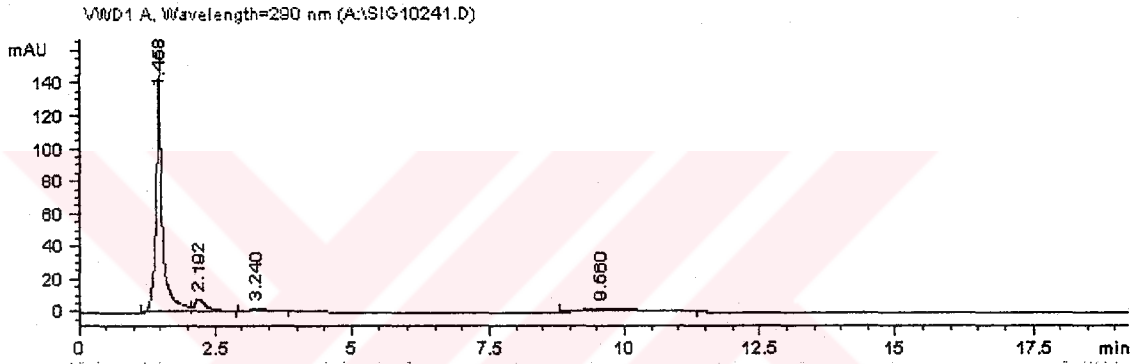
Şekil 15: Standart Lycorine ve AÇTA Kodlu Örnek Karışımına ait HPLC Kromatogramı



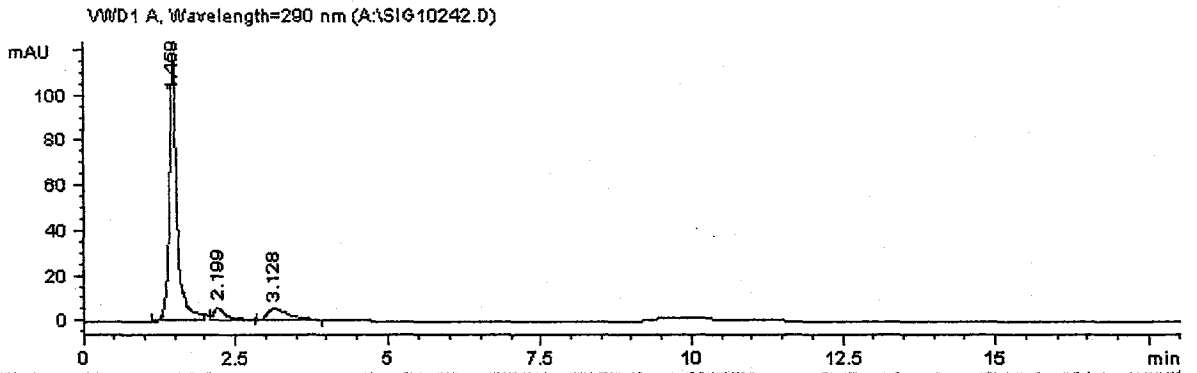
Şekil 16: A<sub>MTU</sub> Kodlu Örneğe ait HPLC Kromatogramı



Şekil 17: Standart Lycorine ve A<sub>MTÜ</sub> Kodlu Örnek Karışımına ait HPLC Kromatogramı



Şekil 18: A<sub>MTA</sub> Kodlu Örneğe ait HPLC Kromatogramı

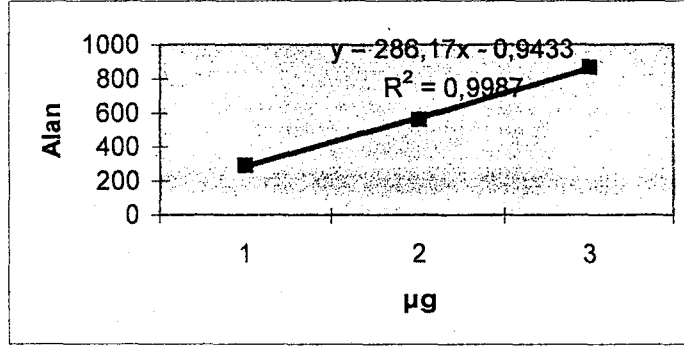


Şekil 19: Standart Lycorine ve A<sub>MTA</sub> Kodlu Örnek Karışımına ait HPLC Kromatogramı

## 2° Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi İle Bulbus Galanthi'de Lycorine Miktar

### Tayini

Metotlar kısmında anlatılmış olan ve bu şekilde hazırlanan lycorine standart serisine ait alan değerleri, çizilen ölçü eğrisi(Şekil 20) ve regresyon denklemi sayfa 101'da yer almaktadır.



Şekil 20: Standart Lycorine'e Ait Ölçü Eğrisi ve Regresyon Denklemi

### ACTÜ Kodlu Örneğe Ait Sonuçlar:

Örnek No	Drog Miktarı (g)	Çözelti Miktarı (ml)	HPLC'de Tatbik Edilen Miktar(µl)	Okunan Alan Değeri	% Lycorine Miktarı
1	84.8549	1	5	192.4644	0.0017
2	84.8549	1	5	226.1060	0.0020
3	84.8549	1	10	493.1513	0.0021
4	84.8549	1	10	438.9066	0.0019

### Sonuçların İstatistiki Açıdan Değerlendirilmesi:

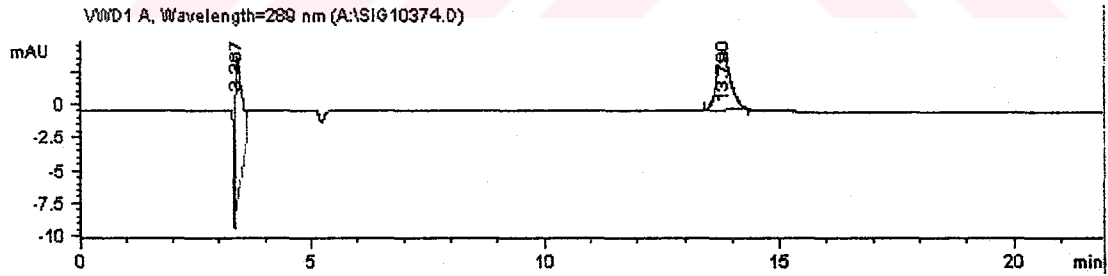
N	4
Mean	0.001925
Median	0.00195
St. Deviation	0.0001708
Min.	0.0017
Max.	0.0021
Q1	0.001653
Q3	0.002197

**AMTA Kodlu Örneğe Ait Sonuçlar:**

Örnek No	Drog Miktarı (g)	Çözelti Miktarı (ml)	HPLC'de Tatbik Edilen Miktar(μl)	Okunan Alan Değeri	% Lycorine Miktarı
1	93.6066	1	5	268.9915	0.00081
2	93.6066	1	5	277.4413	0.00084
3	93.6066	1	10	657.5519	0.00099
4	93.6066	1	10	643.7884	0.00097

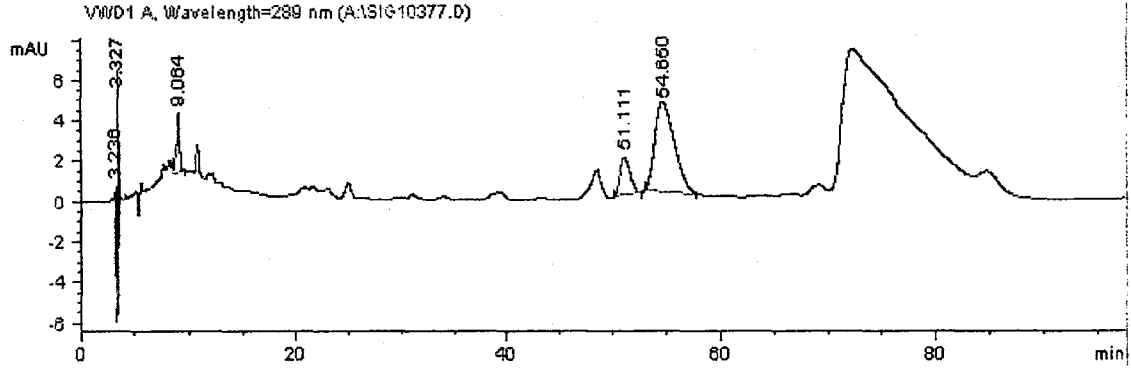
**Sonuçların İstatistiki Açıdan Değerlendirilmesi:**

N	4
Mean	0.0009025
Median	0.000905
St. Deviation	0.00009069
Min.	0.00081
Max.	0.00099
Q1	0.0007582
Q3	0.001047

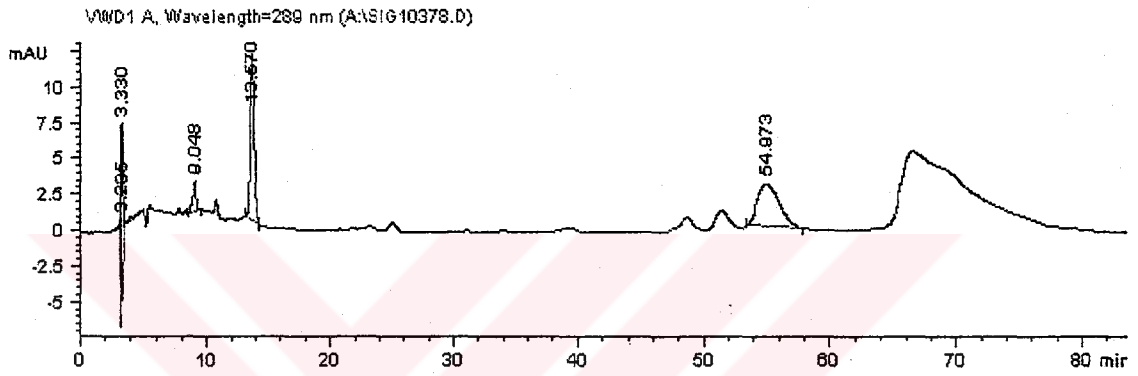
**i. Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi İle Galanthamine'in Teşhisi**

Şekil 21:Standart Galanthamine'e ait HPLC Kromatogramı

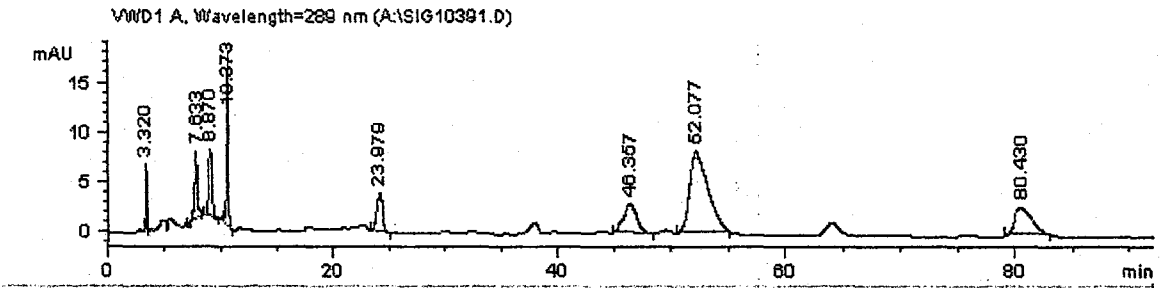
Standart Galanthamine'e ait Retansiyon Zamanı:13,780



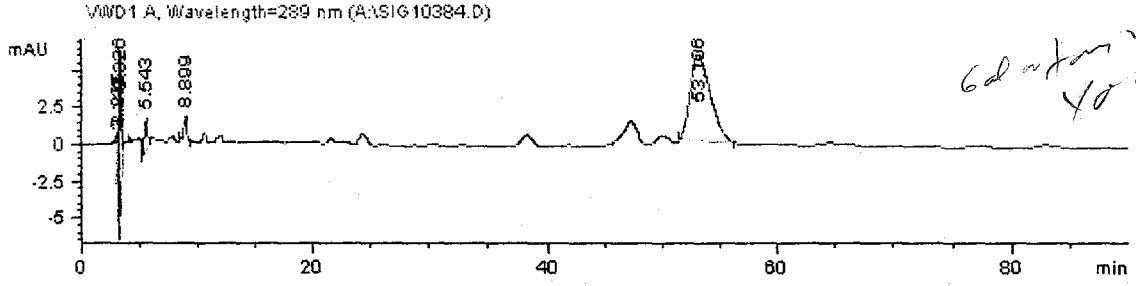
Şekil 22: AÇTÜ Kodlu Örneğe ait HPLC Kromatogramı



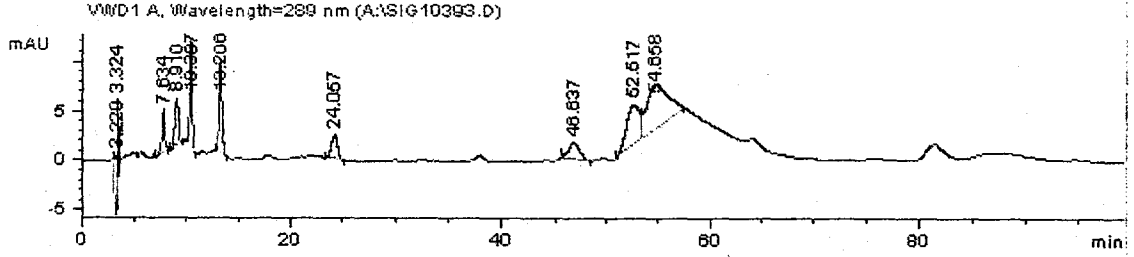
Şekil 23: Standart Galanthamine ve AÇTÜ Kodlu Örnek Karışımına ait HPLC Kromatogramı



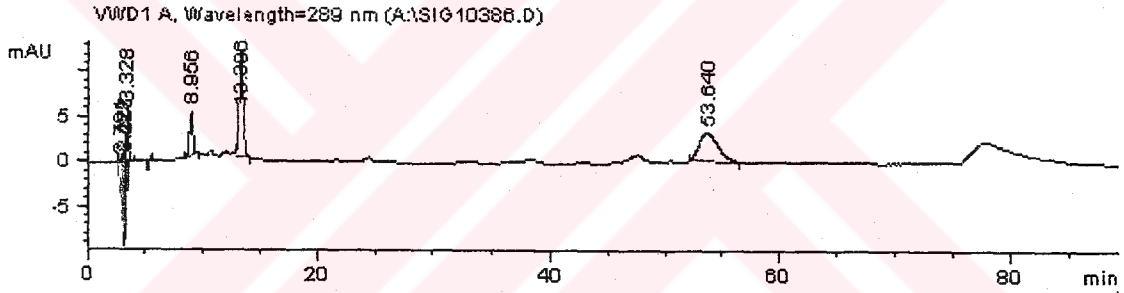
Şekil 24: AÇTA Kodlu Örneğe ait HPLC Kromatogramı



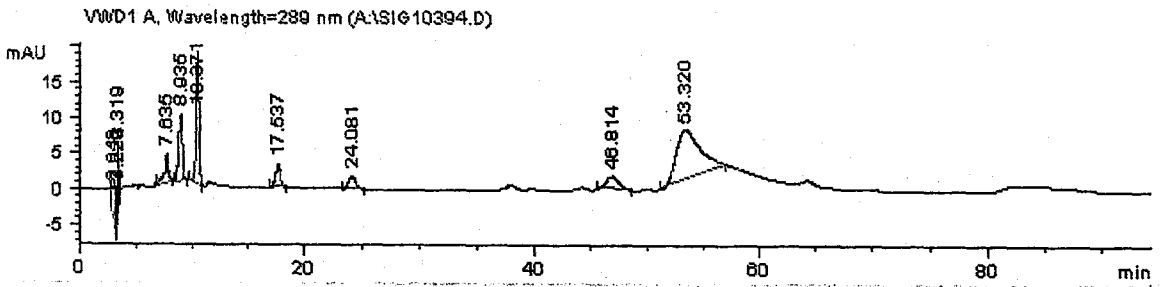
Şekil 25: Standart Galanthamine ve A<sub>CTA</sub> Kodlu Örnek Karışımına ait HPLC Kromatogramı



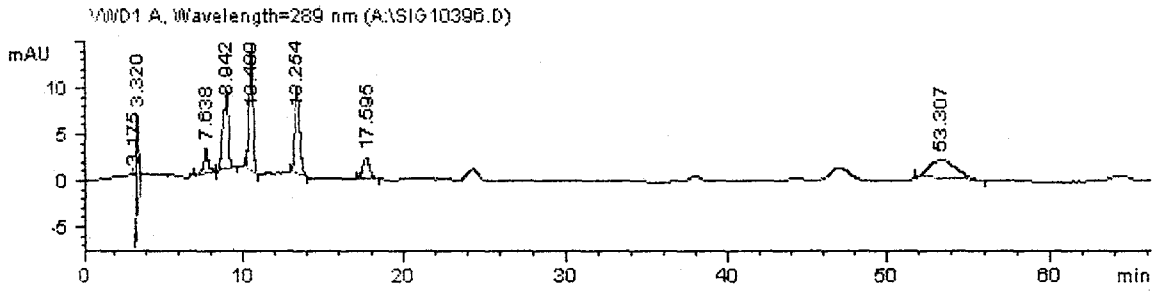
Şekil 26: A<sub>MTÜ</sub> Kodlu Örneğe ait HPLC Kromatogramı



Şekil 27: Standart Galanthamine ve A<sub>MTÜ</sub> Kodlu Örnek Karışımına ait HPLC Kromatogramı



Şekil 28: A<sub>MTA</sub> Kodlu Örneğe ait HPLC Kromatogramı



Şekil 29: Standart Galanthamine ve  $A_{MTA}$  Kodlu Örnek Karışımına ait HPLC Kromatogramı



### C. TARTIŞMA VE SONUÇ

Tezimizin konusunu oluşturan Herba ve Bulbus Galanthi drogları İzmir ili Kemalpaşa ilçesi Nif Dağında yabani olarak yetişen *Galanthus gracilis* Çelak bitkisinden hazırlanmış olup, meyvalı ve çiçekli vejetasyon evrelerine ait muhtelif drog örnekleri üzerinde bunların kalite kontrolleri için esas olabilecek ve başta DAB 10 olmak üzere, çeşitli farmakopelerde bitkisel drogların kalite kontrollerinde uygulanan bazı temel denemeler gerçekleştirilmiştir.

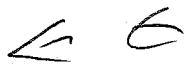
Hazırlanan örnekler, 10. Alman Farmakopesi'nde yer alan gravimetrik nem, total kül ve sülfat külü miktar tayini denemelerine tabi tutulmuşlardır. Ayrıca daha önce geliştirilmiş titrimetrik esaslı bir total alkaloit miktar tayini de yapılmıştır(20, 74). Fizyolojik ve farmakolojik etkileri nedeniyle **Amaryllidaceae** alkaloitlerinin en önemlilerinden olan galanthamine'in hazırlanan drog örneklerinde tümünde, lycorine'in ise Herba Galanthi örneklerinde kromatografik olarak tayin edilebilir miktarda bulunmadığı, alkaloitlerin ince tabaka kromatografisi ile teşhis ve saflık denemelerinde ve ayrıca alkaloitlerin spektrofotometrik miktar tayini için yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Lycorine ve galanthamine isimli alkaloitler içinde tarafımızdan modifiye edilen yüksek basınçlı sıvı kromatografisi yöntemleri ile de galanthamine'in drog örneklerinin tümünde, lycorine'in ise Herba Galanthi örneklerinde bulunmadığı gösterilmiş ve Bulbus Galanthi örneklerinde lycorine miktar tayini gerçekleştirilmiştir.

Bu çerçevede öncelikle nem miktar tayini denemeleri uygulanmış ve ortalama değerler olarak, AÇTÜ kodlu örnek için % 7.5716, AÇTA kodlu örnek için % 6.2378, AMTÜ kodlu örnek için % 7.0395 ,ve AMTA kodlu örnek için % 6.5500 nem oranı saptanmıştır.

Total kül miktar tayini denemesi sonucunda ise, AÇTÜ kodlu örneğin % 9.1022, AÇTA kodlu örneğin % 12.6875, AMTÜ kodlu örneğin % 17.7910, AÇTA kodlu örneğin % 16.1456 total kül içerdikleri bulunmuştur.

Sülfat külü miktar tayini denemelerinin total kül miktar tayini denemelerine göre daha sabit sonuçlar verebileceği düşüncesiyle yaptığımız çalışmanın sonucunda ortalama değerler olarak A<sub>CTÜ</sub> kodlu örnek için % 12.4192, A<sub>CTA</sub> kodlu örnek için % 15.2755, A<sub>MTÜ</sub> kodlu örnek için % 19.4993, A<sub>CTA</sub> kodlu örnek için ise % 18.0327 oranında sülfat külü saptanmıştır.

Tarafımızdan uygulanan bir diğer önemli deneme de drogların teşhis ve saflık kontrolleri maksadıyla uygulanan İ.T.K. çalışmalarıdır. Bu amaçla Anabilim Dalımızda daha önce çalışılmış ve İzmir Karaburun Akdağ'dan toplanmış olan *Galanthus elwesii* Hook. bitkisi üzerinde gerçekleştirilen çalışmalarda kullanılan çözücü sistemleri(20) ile yapılan çeşitli çalışmalar sonucunda elde edilen kromatogramların 254 ve 366 nm dalga boylarındaki UV ışık altında ve Dragendorf reaktifi(19) püskürtüldükten sonra çekilen fotoğrafları bulgular kısmında yer almaktadır. Birinci denemede, sikloheksan:kloroform:dietilamin (7:2:1) çözücü sisteminde galanthamine'in teşhisi için yapılan uygulama sonucunda elde edilen kromatogramda özellikle Dragendorf reaktifi(19) püskürtüldükten sonra çekilen fotoğrafta(Resim ..) referans galanthamine ile aynı R<sub>f</sub> değerine sahip kazanabilecek herhangi bir bant görülmemektedir. Ayrıca lycorine'in teşhisi için kullanılan sikloheksan:kloroform:metanol:dietilamin (6:2,5:0,5:1) çözücü sisteminde daha önce belirtilen şekilde çekilen fotoğraflarda A<sub>CTA</sub> ve A<sub>MTA</sub> kodlu örneklerde lycorine ile aynı R<sub>f</sub> değerine sahip olan bölgelerde bantların varlığı gözlenmiştir. Bunun üzerine ikinci bir deneme daha gerçekleştirilmiştir. Benzen:kloroform:metanol:amonyum hidroksit (40:45:15:12 damla) çözücü sistemiyle ve Anabilim Dalımızda çalışılmakta olup, lycorine taşıdığı modern spektroskopik yöntemlerle tespit edilmiş, Çanakkale ili Bayramiç ilçesi Kuşçayırı köyü, Çolapbaşı Küllügedik mevkiinde yabani olarak yetişen *Galanthus nivalis* L. subsp. *cilicicus* (Baker) Gottlieb-Tannenhain bitkisinden hazırlanmış İ<sub>total</sub> okdu verilen total alkaloid ekstresiyle yapılan uygulama sonucunda, elde edilen kromatogramın fotoğrafı daha önce belirttiğimiz şekilde çekilmiştir. Bu kromatogramda, lycorine referans bandı ile aynı R<sub>f</sub> değerine

sahip *Galanthus nivalis* L. subsp. *cilicicus* (Baker) Gottlieb-Tannenhain bitkisine ve bitkimizin A<sub>CTA</sub> ve A<sub>MTA</sub> kodlu örneklerine ait lycorine bandı bariz şekilde görülmektedir(Resim ..). 

Alkaloitlerin spektrofotometrik miktar tayini için yapılan kontrol çalışmalarında meyveli ve çiçekli vejetasyon dönemlerine ait her bir drog örneği için ayrı olacak şekilde uygulama yapılan plakların fotoğrafları 254 ve 366 nm'deki UV ışık altında çekilmiştir.

Tüm bunlar göz önünde bulundurularak yapmış olduğumuz çalışmaları desteklemek amacıyla, galanthamine'in hazırlanan tüm drog örneklerinde tayin edilebilecek miktarda bulunmadığı yüksek basınçlı sıvı kromatografisiyle tespit edilmiştir. Hazırlanan drog örneklerine ait total alkaloit ekstralarının uygulanması sonucunda standart galanthamine 'in retansiyon zamanına sahip herhangi bir pik görülmemiş, ancak karışım olarak 0,3 ml standart galanthamine ve 0,7 ml total alkaloit ekstresi içeren çözelti enjekte edildiğinde standart galanthamine'in retansiyon zamanına sahip yeni bir pik görülmüştür. Farklı bir yüksek basınçlı sıvı kromatografisi yöntemi kullanılarak lycorine'in Herba Galanthi örneklerinde tayin edilebilecek miktarda bulunmadığı, Bulbus Galanthi örneklerinde ise tayin edilebilecek miktarda bulunduğu tespit edilmiş, buna bağlı olarak da miktar tayini gerçekleştirilmiştir. A<sub>CTA</sub> kodlu örneğin % 0.0017-0.0021 (St. Dev. 0.0001708), A<sub>MTA</sub> kodlu örneğin ise % 0.00081-0.00097 (St.Dev. 0.00009069 ) arasında değişen oranlarda lycorine içerdiği tespit edilmiştir.

Total alkaloit miktar tayini içinse daha önce Anabilim Dalımızda geliştirilen bir yöntem kullanılmıştır(20,74). A<sub>CTÜ</sub> kodlu örneğin % 0.1573 (St. Dev. 0.005213), A<sub>CTA</sub> kodlu örneğin % 0,08625 (St. Dev. 0.005306), A<sub>MTÜ</sub> kodlu örneğin % 0.06088 (St. Dev. 0.004822), A<sub>MTA</sub> kodlu örneğin ise % 0.04423 (St. Dev. 0.002773) arasında değişen oranlarda ve galanthamine'in molekül ağırlığı üzerinden hesaplanmak suretiyle saptanmış total alkaloit içerdiği bulunmuştur.

Yukarıda özetlemeye çalıştığımız bilgilerin ışığında aşağıdaki sonuçlara varmamız mümkündür:

1. Nem, total kül ve sülfat külü miktar tayini denemelerinden elde edilen sonuçlar, Karaburun, Akdağ(İzmir)'dan ve yamanlar, Karagöl(İzmir)'den toplanarak hazırlanmış *Galanthus elwesii* Hook. bitkiler üzerinde daha önce gerçekleştirilen söz konusu denemelere ait sonuçlar(20,54) ile karşılaştırılmıştır. Kemalpaşa, Nif Dağından toplanan *Galanthus gracilis* Çelak. Bitkisine ait drog örneklerinin Karaburun Akdağ'dan ve Yamanlar, Karagöl'den toplanan *Galanthus elwesii* Hook. bitkisine ait drog örneklerine oranla daha az nem içerdiği saptanmıştır. Total kül miktar tayini sonuçları karşılaştırıldığında ise çiçekli toprakaltı örnekleri hariç olmak üzere, Kemalpaşa, Nif Dağı'ndan toplanan *Galanthus gracilis* Çelak. örneklerinin daha yüksek miktarda total kül içerdiği görülmüştür. Sülfat külü denemelerinden elde edilen sonuçlar ise yine çiçekli toprakaltı örnekleri hariç olmak üzere, Kemalpaşa, Nif Dağı'ndan toplanan *Galanthus gracilis* Çelak. örneklerinin Karaburun, Akdağ ve Yamanlar, Karagöl'den toplanan *Galanthus elwesii* Hook. bitkisine ait drog örneklerine oranla daha yüksek oranda sülfat külü içerdiği bulunmuştur. Böylece nem, total kül ve sülfat külü değerlerinin bitki türüne göre farklılıklar gösterebileceği ortaya konulmuştur.

2. Teşhis ve saflık kontrolü amaçlı İ.T.K. denemesinde, farklı bir tür olan *Galanthus elwesii* Hook. bitkisi üzerinde daha önce gerçekleştirilen çalışmalarda olduğu(20,54) gibi 20x20 cm boyutlarında ve 0.25 mm kalınlığındaki Kieselgel F<sub>254</sub> (Merck 5715) hazır plaktan yararlanılmalı, galanthamine için sikloheksan:kloroform:dietilamin (7:2:1) çözücü sistemi, lycorine için ise sikloheksan:kloroform:metanol:dietilamin (6:2.5:0.5:1) çözücü sistemi kullanılmalıdır. Ayrıca her iki alkaloidin meyvalı ve çiçekli vejetasyon evrelerine ait farklı *Galanthus* türleri veya habitasyonu farklı aynı türden hazırlanmış Herba ve Bulbus *Galanthi* droglarındaki bulunuşunu karşılaştırmak için; benzen:kloroform:metanol:amonyum hidroksit (40:45:15:12 damla) çözücü sisteminden yararlanılmalıdır. Çözücü sisteminin ilk ikisi ile plak



bir kez develope edilmeli üçüncüsü ile ise iki kez develope edilip, starttan itibaren 17 cm olacak şekilde yükseltilmelidir. Standart çözücü olarak % 0.1'lik galanthamine ve % 0.1'lik lycorine çözeltisinden, kromatografi plaklarının değerlendirilmesinde galanthamine için 254 nm, lycorine için 254 nm ve 366 nm dalga boyundaki UV ışığından ve Dragendorf(19) reaktif çözeltisinden yararlanılmalıdır.

3. Tıbbi amaçlı bir Herba ve Bulbus Galanthi droğunun kalitesinin saptanmasında total alkaloit miktarının tayin edilmesinden de yararlanılabilir. Bunun için uyguladığımız yöntemden(20) yararlanılabilir. Ayrıca HPLC başta olmak üzere susuz vasatta titrasyon gibi bazı yöntemlerde denenebilir. Total alkaloit miktar tayini denemelerinden elde ettiğimiz sonuçları, Karaburun, Akdağ'dan ve Yamanlar, Karagöl'den toplanarak hazırlanmış *Galanthus elwesii* Hook. bitkisinin örnekleri üzerinde daha önce yapılmış olan denemelerden elde edilen sonuçlar(20,54) ile karşılaştırdığımızda Kemalpaşa, Nif Dağı'ndan toplanmış *Galanthus gracilis* Çelak. bitkisinde daha az total alkaloidin bulunduğunu saptadık. Bitkimizdeki total alkaloit miktarının *Galanthus caucasicus* (Bak.) Grossh.(69), *Galanthus nivalis*(9, 45,36) ve *Galanthus elwesii* Hook.(8) türlerinin taşıdığı total alkaloit miktarlarından daha düşük olduğu gözlenmiştir.

4. Kemalpaşa, Nif Dağı'nda yabani olarak yetişen *Galanthus gracilis* Çelak. bitkisinden hazırlanmış örneklerinde Karaburun Akdağ'dan toplanmış *Galanthus elwesii* Hook. bitkisinden farklı olarak Yamanlar, Karagöl'den toplanmış *Galanthus elwesii* Hook. bitkisi örneklerinde olduğu gibi galanthamine'in tüm örneklerde, lycorine'in ise diğer iki örnekten farklı olarak yalnızca topraküstü kısımlarında tayin edilebilecek oranda bulunmadığı ancak Karaburun, Akdağ'dan toplanmış *Galanthus elwesii* Hook. bitkisine ait örneklerin galanthamine ve lycorine içermesinin habitasyona ve genetik faktörlere bağlı olması mümkün olabilir. Zira, iklim şartları ve toprak cinsi ile drogdaki kalitatif ve kantitatif alkaloit içeriği arasında ilişki olduğu(9) ve değişik bölgelerden toplanan aynı familyadan *Leucojum aestivum* L. örneklerinin içerdiği galanthamine miktarının hem ekolojik ve hem de genetik faktörlere bağlı olarak ileri

derecede değişkenlik gösterdiği bildirilmiştir(25). Ancak bu konunun daha ileri çalışmalarla araştırılması gerekmektedir. Bununla beraber bitkinin bu alkaloidler yerine daha başka alkaloid veya farklı organik yapıda maddeler sentez ettiği düşünülerek, bu maddeler izole edilip kimyasal yapıları aydınlatılabilir ve bitkinin bu yeni maddeleri niçin sentezlediği üzerinde çalışmalar yapılabilir.

Kemalpaşa, Nif Dağı'ndan toplanarak hazırlanmış *Galanthus gracilis* Čelak. bitkisine ait çiçekli toprakaltı ve meyvalı toprakaltı örneklerinin lycorine içeriği spektrofotometrik ve HPLC yöntemi olmak üzere iki farklı yöntemle tespit edilmiştir, ve lycorine miktar tayini denemelerinden elde edilen sonuçlar karşılaştırıldığında Karaburun, Akdağ'dan toplanan *Galanthus elwesii* Hook. bitkisi örneklerine göre daha az lycorine içerdiği saptanmıştır. Bitkimizdeki lycorine miktarının *Galanthus caucasicus* (Bak.) Grossh.(69), *Galanthus nivalis* L.(36), *Galanthus elwesii* Hook.(50) ve *Galanthus ikariae* Baker.(50) türlerinin taşıdığı lycorine miktarından daha az olduğu saptanmıştır.

5. Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ile lycorine ve galanthamine'in teşhis ve miktar tayini çalışmalarında tarafımızdan her biri için farklı olan uygulanan yöntemler yeterli görülebilir. Ancak daha farklı çözücü sistemleri kullanılarak mevcut yöntemin geliştirilmesi mümkündür. Anabilim Dalımızda bu konudaki çalışmalar devam etmektedir.

## ÖZET

Bu çalışmada İzmir ili Kemalpaşa ilçesi Nif Dağında yabani olarak yetişen *Galanthus gracilis* Çelak. bitkisinden vejetasyonun iki farklı zamanında toplanarak hazırlanan Herba ve Bulbus Galanthi droglarında, DAB 10'da yer alan bazı genel kalite kontrol denemeleri olan nem, total kül ve sülfat külü miktar tayini denemeleri ile droğun teşhis ve saflık kontrolü amacıyla farklı solvan sistemleri ile gerçekleştirilen İ.T.K. çalışmaları yapılmıştır.

Ayrıca total alkaloit miktar tayini için DAB 10 ve karşılaştırma amacıyla ile Anabilim Dalımızda daha önce geliştirilmiş olan titrimetrik esaslı bir yöntemden de yararlanılmıştır.

Hazırlanan drog örneklerinde ana alkaloitlerin en önemlileri olan galanthamine ve lycorine'nin varlığı İ.T.K. spektrofotometrik olarak araştırılmış ve lycorine'nin toprakaltı kısımları hariç topraküstü kısımlarında, galanthamine'nin ise hazırlanmış olan drog örneklerinin tümünde miktarlarının tayin edilebilir düzeyde olmadığı saptanmıştır. Ayrıca lycorine'nin hazırlanmış olan drog örneklerinin toprak üstü kısımlarında ve galanthamine'nin ise hazırlanmış olan drog örneklerinde hem toprak üstü hem de toprakaltı kısımlarında tayin edilebilir miktarda bulunmadığı herbiri için farklı HPLC yöntemleri ile de doğrulanmıştır.

## SUMMARY

In this study, on Herba and Bulbus Galanthi which have been prepared at two different times of the vegetation from *Galanthus gracilis* Čelak., growing wildly, in Kemalpaşa, Nif Dağı (İzmir) region, general quality control determinations, mentioned in DAB 10, have been studied. In this concept, assays for humidity, total ash, sulphate ash and also using different solvent systems an assay for identification and control of the purity of Herba and Bulbus Galanthi by thin layer chromatography(T.L.C.) have been carried out.

Additionally, anatomical investigations were carried out on all the specimens. DAB 10 and a titrimetric method which was developed in our department previously, were utilized for the titrimetric determination of total alkaloids.

All the specimens were investigated for the presence of galanthamine and lycorine which are important alkaloids from the physiological and pharmacological point of view, by using T.L.C. and spectrophotometric methods. Galanthamine in all specimens and lycorine in aerial drugs of *Galanthus gracilis* Čelak. Were not present as detectable quantities. Moreover, it was confirmed that galanthamine in the specimens and lycorine in aerial drugs of *Galanthus gracilis* Čelak.were not present as detectable quantity by using high pressure liquid chromatography (HPLC).

In addition, the content of lycorine, one of the most important principle alkaloid of Herba and Bulbus Galanthi, have been quantitatively determined by two different methods based on spectrometry and HPLC.



## KAYNAKLAR

1. Abdalla, S., Abu Zarga, M. , Sabri, S. , 'Alkaloids of *Stenbergia clusiani* and Effects of Lycorine on Guinea-pig isolated Pulmonary artery and Heart'. *Fitoterapia*, **64**, 6, (1993), 518-523
2. Acartürk, R., 'Şifalı Bitkiler Flora ve Sağlığımız', Ankara: OrmanGenel Müdürlüğü Mensupları Yardımlaşma Vakfı, 3. Baskı 2001, 57
3. Areshkina, L. Ya., 'Alakloids From Snowdrop', *Sovet., Subtropiki*, No. 11-12, (1940), 59; *Khim. Referat. Zhur.*, **4**, No. 5, (1941), 100; *Chem. Abstr.*, 1943, 37:6405<sub>6</sub>.
4. Aseova, E. Z. And Vergeichik, E. N., 'Seperation and Quantitative Determination of Alkaloids in *Galanthus krasnovii*', *Nauch. Dokl. Vyssh. Shkj., Biol. Nauki*, **7**, (1967), 98-101; *Chem. Abstr.*, 1967, 67:94035y.
5. Bastos, J. K., Xu, L., Nanayakkara, N. P. D. , et al, 'A Rapid Quantitative Method For the Analyses of Galanthamine and other Amaryllidaceae Alkaloids by Capillary Coloumn Gas Chromatography', *J. Nat. Prod.* **59**, (1996), 638-640.
6. Baytop T., "Türkiye'de Bitkilerle Tedavi", İstanbul: Sanat Matbaacılık, 1999, 246.
7. Baytop, T and Mathew, B., "The Bulbous Plants of Turkey", London: B. T., Batsford Ltd., 1984, 21-23.
8. Boit, H. G. And Ehmke, H., "Alkaloide von *Sprekelia formosissima*, *Galanthus elwesii*, *Zephyranthes candida* und *Crinum powellii* (VIII. Mitteil. Über Amaryllidaceen Alakaloide)", *Chem. Ber.*, **88**, 10, (1955), 1590-1594.
9. Bubeva-Ivanova. L. And Ivanov, V., "Alkaloid Content in *Galanthus nivalis* var. *Gracilis* L.", *Tr. Nauchno-izsled Inst. Farm.*, **3**, (1961) 70-75; *Chem. Abstr.*, 1964, 61:14465h.

10. Bubeva-Ivanova. L. and Ivanov, V., "Amaryllidaceae Alkaloids. V. *Leucojum aestivum*." Tr. Nauchnoizsled. Inst. Farm., 3, (1962), 89-92; Chem. Abstr., 1964, 61:8128g.
11. Cherkasov, O. A., Stichin, V. A., Savchuk, V. M., "Content of Galanthamine in Some Amaryllidaceae Species of the Flora of the Ukrainian SSR", Rastit. Resur., 20, 4, (1984), 566-568; Chem. Abstr., 1985, 102:21280f.
12. Claessens, H. A., Van Thiel, M., Westra, P. Soeterboek, A. M., "High Performance Liquid Chromatographic Determination of Galanthamine. A Long-Acting Anticholinesterase Drug, in Serum, Urine and Bile", J. Chromatogr., 275, 2, (1983), 345-353.
13. Cordell, G. A., "Introduction to Alkaloids", A Wiley-Interscience Publication, J. Wiley & Sons, Inc., 1981, 533-553.
14. Çelebioğlu, S., Baytop, T., "Bitkisel Tozların Tetkiki için Yeni Bir Reaktif", Farmakognozi Enstitüsü Yayınları, No. 10, Farmakolog, 19, (1949), 301; Baytop, A., "Bitkisel Drogların Anatomik Yapısı", İstanbul Üniversitesi Yayınları, İstanbul, (1981), 26-27.
15. Davis, A. P., "The Genus *Galanthus*", ED. B. Mathew, Oregon: Timber Press, Inc., 1999.
16. Davis, A. P. And Barnett, J. R., "The Leaf Anatomy of the Genus *Galanthus* L. (Amaryllidaceae J. St.-Hil.)" Botanical Journal of the Linnean Society, 123, (1997), 333-352.
17. Davis, P. H. (Ed.) "Flora of Turkey and the East Aegean Islands", 8, Edinburg: Edinburg University Press, 1984, 358-381.
18. Davis, P. H. (Ed.) "Flora of Turkey and the East Aegean Islands", 10, Edinburg: Edinburg University Press, 1988, 226-227.

19. Deutsches Arzneibuch (DAB 10) Band 1, Deucher Apotheker Verlag, Stuttgart (1997).
20. Duman, İ., "Galanthus elwesii Hook. Üzerinde Kalite Kontrol Çalışmaları", Yüksek Lisans Tezi, E. Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 1997.
21. El-Din, A. S., Korany, M., Abou-Donia, A., Sabry, N. N. "Spectrophotometric and Fluorimetric Determination of Lycorine in Amaryllidaceae Species.", Acta Pharm. Jugosl, **33**(2), (1983), 143-147.
22. Ergenç, N., "İlaçların Tanınması ve Kantitatif Tayini", İstanbul Üniversitesi Yayınları No:3566, Eczacılık Fakültesi No:35, IV. Baskı, İstanbul, (1989).
23. Evidente, A., Iasiello, I. And Randazzo, G., "Rapid Quantitative Analysis of Lycorine by Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography.", J. Chromatogr., **281**, (1983), 362-366.
24. Gabrielsen, B., Monath, T. P., Huggins, J. W., et al., "Antiviral (RNA) Activity of Selected Amaryllidaceae Isoquinoline Constituents and Synthesis of Related Substances", J. Nat. Prod., **55**, 11, (1992), 1569-1581.
25. Gitsba, D. K., Maisuradze, N. I., Margvelashvili, N. N., Gorbunova, G. M., Cherkasov, O. A., "Galanthamine Content of Leucojum aestivum Populations Growing in the Abkhaz ASSR.", Khim.-Farm. Zh., **16** (2), (1982), 195-196; Chem. Abstr., 1982, **96**:159335s.
26. Gorbunova, G. M., Patudin, A. V. And Gorbunov, V. D., "Galanthamine from Some Species of the Family Amaryllidaceae", Khim. Prir. Soedin., **3**, (1978), 361-362.
27. Hansel, R., Keller, K., Rimpler, H., Schneider G., (Ed.) "Hagers Handbuch der Pharmazeutischen Praxis", 5, Berlin-Heidelberg: Springer-Verlag, 1993, 213-218.

28. <http://www.alzscot.org/info/reminyl.html>
29. [http://www.janssen.com/feature\\_articles/feature02282001.html](http://www.janssen.com/feature_articles/feature02282001.html)
30. <http://www.rxfactstat.com>
31. Ichmura, Y. And Nishimoto, K., "Fluorometric Determination of Galanthamine.", *Bunseki Kagaku*, **11**, (1962), 1024-1027; *Chem. Abstr.*, 1962, **57**:16748d.
32. Ieven, M., van den Berghe, D. A. And Vlietinck, A. J., "Inhibition of Polio Virus by Lycorine, a Plant Alkaloid", *Plant. Med.*, **36**, (1979), 254-255.
33. Ieven, M., van den Berghe, D. A. And Vlietinck, A. J., "Plant Antiviral Agents IV. Influence of Lycorine on Growth Pattern of Three Animal Viruses", *Planta Med.*, **49**, (1983), 109-114.
34. Ieven, M., Vlietinck, A. J., van den Berghe, D. A. And Totte, J., "Plant Antiviral Agents. III. Isolation of Alkaloids from *Clivia miniata* Regel (Amaryllidaceae)", *J. Nat. Prod.*, **45**, 5 (1982), 564-573.
35. Ingkaninan, K., de Best, C. M., van der Heijden, R., et al, "High-Performance Liquid Chromatography with On-Line Coupled UV, Mass Spectrometric and Biochemical Detection for Identification of Acetylcholinesterase Inhibitors from Natural Products." *J. Chromatogr. A.*, **872** (1+2), (2000), 61-73.
36. Kalashnikov, I. D., "Alkaloids from *Galanthus nivalis*", *Khim. Priro. Soedin.*, **6** (3), 1970, 380; *Chem. Nat. Comp.*, **6**. (1970), 390.
37. Kolusheva, A. And Vulkova, A., "Spectrophotometric Examinations of Galanthamine, Lycorine and Nivalidine.", *Farmatsiya (Sofia)*, **16** (5), (1966), 45-49; *Chem. Abstr.*, 1967, **66**:68973n.
38. Komizerko, E. I., "Alkaloid Content of Plants of the *Galanthus* Genus", *Byul. Gl. Botan. Sada*, **51**, (1963), 102-106; *Chem. Abstr.*, 1964, **61**:11003c.

39. Konstantinova, E. I. And Biochinov, Khr., "Nonaqueous Titration of Alkaloids in Drugs.", *Farmatsiya (Sofia)*, **13** (4), (1963), 30-37; *Chem. Abstr.*, 1964, **60**:2721e.
40. Kovtun, L. S., Patudin, A. V., Gorbunova, G. M., et al., "Search for Galanthamine in *Galanthus L.* and *Leucojum L.* Plants in Transcaucasia", *Farm. Zh. (Kiev)*, **6**, (1978), 59-62; *Chem. Abstr.*, 1979, **90**:200291r.
41. Koyuncu, M., "Türkiye'den İhraç Edilen Geofitlerin Korunması ve Üretimi Konusunda Gelişmeler", XI. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Bildiri Kitabı, Ed. M. Coşkun, Ankara: Ankara Üniversitesi Basımevi 1997, 57-62.
42. Könükol, S., Şener, B., "High-Pressure Liquid Chromatographic Analysis of Some Amaryllidaceae Alkaloids from *Pancreatum maritimum L.*", *J. Fac. Pharm. Gazi*, **9** (2), (1992), 89-95.
43. Kuznetsov, V. I., Volkova, N. S., Morozova, V. A., "Extraction and Photometric Determination of Galanthamine." *Farmatsiya (Moskow)*, **18** (1), (1969), 39-40; *Chem. Abstr.*, 1969, **71**:33488j.
44. Latvala, A., Önür, M. A., Gözler, T., Linden, A., Kıvçak, B. And Hesse, M., "Alkaloids of *Galanthus elwesii.*", *Phytochemistry*, **39** (39), (1995), 1229-1240.
45. Leifertova, I. And Brazdova. V., "Alkaloids of *Galanthus nivalis* Grown in Slovakian Provinces" *Cesk. Farm.*, **16**, 7, (1967), 352-354; *Chem. Abstr.*, 1968, **68**:6133w.
46. Likhitwitayawuid, K., Angerhofer, C. K., Chai, H., et al., "Cytotoxic and Antimalarial Alkaloids from the Bulbs of *Crinum amabile*", *J. Nat. Prod.*, **56**, 8, (1993), 1331-1338.

47. Losev, N. A., Tkachenko, E. I., Shalkovskaya, L. N., "Effects of Cholinopotentiating and Cholinoblocking Drugs on a Stable Pathological State in Experimental Epileptogenesis and Parkinsonism.", *Vestn. Akad. Med. Nauk SSSR*, (9), (1985), 23-31; *Chem. Abstr.*, 1985, **103**:206324n.
48. Mikhno. V. V., "Extraction and (Colorimetric) Determination of Galanthamine.", *Farmatsevt. Zh. (Kiev)*, **20** (3), (1965), 44-46; *Chem. Abstr.*, 1966, **64**:5428c.
49. Moraes-Cerdeira, R. M., Bastos, J. K., Burandt, C. L. Jr. Et al, "Alkaloid Content of Different Bulb Plants of *Narcissus* cv. Ice Follies.", *Planta Med.*, **63** (1), (1997), 92-93.
50. Muhtar, F., Şener, B., "Türkiye'den İhraç Edilen Bazı Amaryllidaceae Familyası Bitkilerinin Likörin Yönünden Değerlendirilmesi", XI. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı Bildiri Kitabı, Ed. Maksut Coşkun, Ankara: Ankara Üniversitesi Basımevi, 1997, 384-388.
51. Poulev, A., Deus-Neumann, B. And Zenk, M. H., "Enzyme Immunoassay for Quantitative Determination of Galanthamine.", *Planta Med.*, **59** (5), (1993), 442-446.
52. Rainer, M., "Clinical Studies with Galanthamine", *Drugs of Today*, **33**, 4, (1997), 273-279.
53. Rainer, M., "Galanthamine in Alzheimers Disease a new Alternative to Tacrine?", *CNS Drugs*, **7**, 2, (1997), 89-97.
54. Sarier D., 'İzmir, Yamanlar, Karagöl çevresinde yetişen *Galanthus elwesii* Hook. Üzerinde Bazı Farmakognozik Çalışmalar', Yüksek Lisans Tezi, E.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2002.

55. Scrip(1996), 2152, 23; Shu, Y. Z., "Recent Natural Products Based Drug Development: A Pharmaceutical Industry Perspective", *J. Nat. Prod.*, **61**, 8, (1998), 1053-1071.
56. Sellés, M., Bastida, J., Viladomat, F., Codina, C., "Quantitative Evaluation of Galanthamine and Related Alkaloids in Wild plants and Tissue Cultures of *Narcissus confusus* by High-Performance Liquid Chromatography.", *Analisis*, **25** (5), (1997), 156-158.
57. Sellés, M., Viladomat, F., Bastida, J., Codina, C., "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), (1999), 646-651.
58. Sharaf, A., Fahmy, I. R., Ahmed, Z. F., Rizk, A. M., "A Pharmacological Study of *Pancreaticum sickenbergeri* Asch. Et Sfh." *Planta Med.*, **8**, (1960), 322-327.
59. Stefanov, I., "Development Changes in Wild and Introduced Populations of *Leucojum aestivum* L.", *Farmatsiya (Sofia)*, **41** (2), (1991), 18-23; *Chem. Abstr.*, 1991, 115:275741f.
60. Stefanov, Zh., "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), 1977, 4-10; *Chem. Abstr.*, 1978, 89:102941n.
61. Stefanov, Zh., Savchev, P., Mitkov, Iv., "Quantitative and Qualitative Studies of the Alkaloid Composition of Wildly Growing and Introduced *Leucojum*

- aestivum Populations. I. Dynamics of Galanthamine Accumulation in the Above Ground Parts and Bulbs of Plants and Localization in Some Organs of Above-ground Parts.”, *Farmatsiya (Sofia)*, **24** (6), (1974), 16-19; *Chem. Abstr.*, 1975, **83**:4997s.
62. Sweeney, J. E., Höhmann, C. F., Moran, T. H. And Coyle, J. T., “A Long Acting Cholinesterase Inhibitor Reverses Spatial Memory Deficits in Mice”. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **31**, (1988), 141-147.
63. Şahin, N. F., Şakıyan, N., Pınar, N. M., “An Investigation on the Pollen Morphology of *Galanthus ikariae* Baker and *Galanthus rizehensis* Stern (Amaryllidaceae)”, *Turk. J. Bot.*, **21**, (1997), 305-307.
64. Tamahashi, T., Poulev, A. And Zenk, M. H., “Radioimmunoassay for the Quantitative Determination of Galanthamine.”, *Planta Med.*, **56** (1), (1990), 77-81.
65. Tanker, M., Çitoğlu, G., Gümüşel, B., Şener, B., “Alkaloids of *Sternbergia clusiana* and their Analgesic Effects”, *International Journal of Pharmacognosy*, **34**, 3, (1996), 194-197.
66. Tencheva, J., Yamboliev, I. And Zhivkova, Z., “Reversed-Phase Liquid Chromatography for the Determination of Galanthamine and its Metabolites in Human Plasma and Urine.”, *J. Chromatogr.*, **421** (2), (1987), 396-400.
67. Tıprıdamaz R., Elialtıoğlu Ş. Ve Çakırlar H., ‘The Micropropagation of snowdrop (*Galanthus ikariae* Baker.): Effects of Different Explant types, Carbonhydrate Sources and Doses and pH Changes in the Medium on the Bulblet Formation’, *Tr. J. Of Agriculture and Forestry*, **23** (4), (1999), 823-830.



68. Tokhtabaeva, G. M., "Chromatophotocolorimetric Technique for Determination of Galanthamine in Narcissus", *Khim.-arm. Zh.*, **21** (6), (1987), 703-705.
69. Tsakadze, D. M., Abdusamtoev, A., Yunusov, S. Yu., "Alkaloids of *Galanthus caucasicus*", *Khim. Prir. Soedin.*, **5** (4), 1969, 331; *Chem. Nat. Comp.*, **5**, (1969), 281-282.
70. Volodina, A. D., Dobronravova, E. K. And Shakirov, T. T., "Spectrometric Determination of Lycorine in Plant Raw Material and a Preparation.", *Khim. Prir. Soedin.*, **6**, (1972), 761-764; *Chem. Nat. Comp.*, **161**, (1972), 743-745.
71. Volodina, A. D., Dobronravova, E. K. And Shakirov, T. T., "Quantitative Determination of Lycorine in Dihydrolycorine.", *Khim. Prir. Soedin.*, **9** (4), (1973), 564-565; *Chem. Nat. Comp.*, **4**, (1973), 536.
72. Vrijzen R., van den Berghe, D. A., Vlietinck, A. J. And Boeyé A., "Lycorine: A Eucaryotic Termination Inhibitor?", *J. Biol. Chem.*, **261**, 2, (1986), 505-507.
73. World Health Organization "Quality Control Methods for Medicinal Plant Materials" Geneva, 1998, 28.
74. Willis, J. C., "A Dictionary of the Flowering Plants & Ferns", 8<sup>th</sup> Ed., Ed. Airy H. K: Shaw. Cambridge, England: Cambridge University Press, 1988, 49,474.
75. Wurst, F., Prey, T., Puchinger, L. und Bancher, E., "Eine Neue Methode zur Quantitativen Bestimmung von Galanthamin in Drogenextrakten von *Leucojum aestivum*.", *J. Chromatogr.*, **188**, (1980), 452-456.
76. Yalabık, B., "Leucojum aestivum L. Üzerinde Kalite Kontrol Çalışmaları", Yüksek Lisans Tezi, E. Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 1997.

77. Yamboliev, I., Mikhailova, D., "Extraction Spectrofluorometry Method for Quantitative Determination of Galanthamine in Biological Material.", *Farmatsiya (Sofia)*, **35** (2), (1985), 7-11; Chem. Abstr., 1985, **103**:153137v.
78. Zeybek, N., Sauer, E., "Türkiye Kardelenleri (*Galanthus L.*) I.", Bornova-İzmir: Ege Üniversitesi Basımevi, 1995.
79. Zeybek, U., Jurenitsch, J., Kubelka, W. Und Jentzsch K., "HPLC-Bestimmung des Alkaloidgehaltes in Verschiedenen *Galanthus*-Arten.", *Scientia Pharmaceutica*, **50** (4), (1982), 282-284.
80. Zhang, J., Wang, M., Shen, Y., Ma, G., Hong, D., "Studies on Alkaloids of Amaryllidaceae XII. Identification of Amaryllidaceae Alkaloids by TLC and Determination of Galanthamine by HPLC.", *Yaowu Fenxi Zazhi*, **19** (6), (1999), 399-403; Chem. Abstr., 2000, **132**:227526.

## ÖZET

Bu çalışmada İzmir ili Kemalpaşa ilçesi Nif Dağında yabani olarak yetişen *Galanthus gracilis* Çelak. bitkisinden vejetasyonun iki farklı zamanında toplanarak hazırlanan Herba ve Bulbus Galanthi droglarında, DAB 10'da yer alan bazı genel kalite kontrol denemeleri olan nem, total kül ve sülfat külü miktar tayini denemeleri ile droğun teşhis ve saflık kontrolü amacıyla farklı solvan sistemleri ile gerçekleştirilen İ.T.K. çalışmaları yapılmıştır.

Ayrıca total alkaloid miktar tayini için DAB 10 ve karşılaştırma amacıyla ile Anabilim Dalımızda daha önce geliştirilmiş olan titrimetrik esaslı bir yöntemden de yararlanılmıştır.

Hazırlanan drog örneklerinde ana alkaloidlerin en önemlileri olan galanthamine ve lycorine'nin varlığı İ.T.K. spektrofotometrik olarak araştırılmış ve lycorine'nin toprakaltı kısımları hariç topraküstü kısımlarında, galanthamine'nin ise hazırlanmış olan drog örneklerinin tümünde miktarlarının tayin edilebilir düzeyde olmadığı saptanmıştır. Ayrıca lycorine'nin hazırlanmış olan drog örneklerinin toprak üstü kısımlarında ve galanthamine'nin ise hazırlanmış olan drog örneklerinde hem toprak üstü hem de toprakaltı kısımlarında tayin edilebilir miktarda bulunmadığı herbiri için farklı HPLC yöntemleri ile de doğrulanmıştır.

## SUMMARY

In this study, on Herba and Bulbus Galanthi which have been prepared at two different times of the vegetation from *Galanthus gracilis* Čelak., growing wildly, in Kemalpaşa, Nif Dağı (İzmir) region, general quality control determinations, mentioned in DAB 10, have been studied. In this concept, assays for humidity, total ash, sulphate ash and also using different solvent systems an assay for identification and control of the purity of Herba and Bulbus Galanthi by thin layer chromatography(T.L.C.) have been carried out.

Additionally, anatomical investigations were carried out on all the specimens. DAB 10 and a titrimetric method which was developed in our department previously, were utilized for the titrimetric determination of total alkaloids.

All the specimens were investigated for the presence of galanthamine and lycorine which are important alkaloids from the physiological and pharmacological point of view, by using T.L.C. and spectrophotometric methods. Galanthamine in all specimens and lycorine in aerial drugs of *Galanthus gracilis* Čelak. Were not present as detectable quantities. Moreover, it was confirmed that galanthamine in the specimens and lycorine in aerial drugs of *Galanthus gracilis* Čelak.were not present as detectable quantity by using high pressure liquid chromatography (HPLC).

In addition, the content of lycorine, one of the most important principle alkaloid of Herba and Bulbus Galanthi, have been quantitatively determined by two different methods based on spectrometry and HPLC.

## ÖZGEÇMİŞ

1978 yılında Söke'de doğdum. İlköğrenimimi Hacıkâzımoğlu İlkokulunda tamamladım. Ortaöğrenimimi Söke Hilmi Fırat Anadolu Lisesinde tamamladıktan sonra 1995 yılında Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesine girdim. 1999 yılında mezun oldum. Şubat 2000 döneminde Yüksek Lisans öğrenimime başladım. Eylül 2000'de Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalına Araştırma Görevlisi olarak atandım. Halen aynı görevimi sürdürmekteyim. Bekarım.