

**EGE ÜNİVERSİTESİ ARAŞTIRMA FONU
PROJE RAPORU**

**EGE UNIVERSITY RESEARCH FUND
PROJECT FINAL REPORT**

**Proje No : 94 / ECZ / 002
Türkiye'de Yabani Olarak Yetişen Amaryllidaceae
Familyasına Ait Bazı Türlerde Lycorine ve Galanthamine
Miktar Tayini ile Bu Alkaloidlerin İzolasyonları ve
Kromatografik Olarak Teşhis Edilmeleri Üzerinde**

**Çalışmalar
Proje Yürütücüsü :
Prof. Dr. Tekant GÖZLER**

**Studies on the Isolation, Chromatographic Determination and Assay of the
Alkaloids, Lycorine and Galanthamine, in Some Amaryllidaceae Species
Growing Wild in Turkey**

**Eczacılık Fakültesi, Meslek Bilimleri Bölümü
Fac. of Pharm., Dept. of Pharmaceutical Sciences
Bornova-İZMİR
2001**

Araştırma projesi olarak bu çalışmaya verdiği maddi destek için **Türkiye Bilmsel ve Teknik Araştırma Kurumuna (SBAG-2194)** ve **Ege Üniversitesi Araştırma Fonuna** ncelikle teşekkürü bir borç biliriz.

Çalışmalarımızda elde ettiğimiz verilerin istatistiksel hesaplamalarındaki yardımları için Ege Üniversitesi Bilgisayar Mühendisliği Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde görev yapmakta olan **Uzm. Timur KSE**'ye ve Türkiye'de bulamadığımız bazı kaynakları sağlamadaki kıymetli destek ve yardımlarını gördüğümüz Zürih (İsviçre) Üniversitesi Organik Kimya Enstitüsü ğretim yelerinden Sayın **Prof. Dr. Manfred HESSE**' ye de teşekkür ederiz.

İÇİNDEKİLER

I. GİRİŞ.....	1
II. BOTANİK BÖLÜM.....	4
A. <i>GALANTHUS</i> GENUSU.....	4
B. <i>GALANTHUS ELWESII</i> HOOK.....	5
C. <i>GALANTHUS GRACILIS</i> CELAK.....	6
D. <i>GALANTHUS NIVALIS</i> L.....	8
E. <i>LEUCOJUM</i> GENUSU.....	10
F. <i>LEUCOJUM AESTIVUM</i> L.....	11
III. KİMYASAL BÖLÜM.....	13
A. MATERYAL VE METOTLAR.....	14
B. DENEMELER.....	17
1. Nem Miktar Tayini.....	17
2. Total Kül Miktar Tayini.....	17
3. Sülfat Külü Miktar Tayini.....	17
4. Alkaloidlerin İ.T.K. ile Teşhis ve Kontrolü.....	18
5. Total Alkaloid Miktar Tayini.....	20
a. 0.02 N Sülfürik Asit Çözeltisinin Hazırlanması ve Ayarlanması.....	21
b. 0.02 N Sodyum Hidroksit Çözeltisinin Hazırlanması ve Ayarlanması.....	22
6. Galanthamine ve Lycorine'in Spektrofotometrik Miktar Tayini....	23
7. HPLC Çalışmaları.....	30
C. BULGULAR.....	32
1. Nem Miktar Tayinine Ait Bulgular.....	32
2. Total Kül Miktar Tayinine Ait Bulgular.....	33
3. Sülfat Külü Miktar Tayinine Ait Bulgular.....	34

4. Alkaloidlerin İ.T.K. ile Teşhis ve Kontrolüne Ait Bulgular.....	36
5. Total Alkaloid Miktar Tayinine Ait Bulgular.....	36
6. Galanthamine'in Spektrofotometrik Miktar Tayinine Ait Bulgular.....	37
7. Lycorine'in Spektrofotometrik Miktar Tayinine Ait Bulgular.....	38
8. HPLC Çalışmalarına Ait Bulgular.....	39
D. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	40
IV. ÖZET.....	42
V. SUMMARY.....	43
VI. KAYNAKLAR.....	44
ÖZGEÇMİŞ.....	47

I. GİRİŞ

Özellikle yurdumuzda yabani olarak yetişen bazı türlerinin toprak altı kısımları, ülkemizin ihraç ettiği çiçek soğanları arasında yer alan ve bir kaynağa göre toprak üstü kısımlarının kalp kuvvetlendirici, midevi ve adet söktürücü olarak, toprak altı kısımlarının ise ezildikten sonra haricen, lapa halinde çıbanları olgunlaştırıcı olarak kullanıldığı bilinen (2) *Galanthus* türleri, hem taşıdıkları lektinleri ve hem de Amaryllidaceae alkaloidleri adıyla izokinolin alkaloidlerinin özel bir alt grubunu oluşturan alkaloid içerikleri açısından, gerek tıbbi olarak ve gerekse fitokimyasal açıdan oldukça ilgi çeken **Amaryllidaceae** üyeleridir.

Mevcut olanaklarımız nedeniyle, çalışma konusu dışında tutulan lektinler bir tarafa bırakılırsa, *Galanthus* türlerinin özellikle alkaloid muhtevaları incelenmeye değerdir. Bunların alkaloid muhtevaları tarafımızdan da incelenmiş olup, bu konudaki fitokimyasal araştırmalarımız halen de sürmektedir. Söz konusu alkaloidlerden biri olan galanthamine, sahip olduğu analjezik, antikolinesteraz, antikolinergik (1) ve antikürar (4) özellikleri nedeniyle halen Alzheimer hastalığı başta olmak üzere, bazı sinir sistemi hastalıklarının (ameliyat sonrası bağırsak-, mide-, mesane atonisinde, myasthenia gravis, miyopati (myopathy) ve çocuk felci (poliomyelitis)' den sonraki septomlarda, polinevropati (polyneuropathy), polinevrit (polyneuritis) ve omurilik zedelenmelerinde) tedavisinde onaylanmış bir ilaç olarak kullanılmaktadır (9,19).

Kolin bloke edici ve kolin potansiyalize edici ilaçların etkilerini inceleyen bir çalışmada, hayvanlarda oluşturulan deneysel epilepsi ve parkinsonda galanthamine'nin antikonvulsif bir etki gösterdiği de gösterilmiştir (14). Lycorine başta olmak üzere diğer bazıları ise potansiyel olarak ilaç olma özelliğine sahip oldukları için dikkati çekicidirler. Örneğin, Amaryllidaceae alkaloidlerinden oldukça yaygın olarak bulunanlarından biri olan lycorine antimalaryal ve sitotoksik (13) etkilerine ilaveten çocuk felci (poliomyelitis), koksaki (coxsackie) ve herpes tipi virüslere (Tip 1) karşı antiviral (10), özelliklere sahip olan ve potansiyel olarak ilgi çeken bir bileşiktir. Lycorine, ayrıca özellikle hidroklorür tuzu halinde, akut ve kronik bronşit ile bronşiyal astımda ekspektoran olarak da kullanılmaktadır (18). Lycorine, ökaryotik hücrelerde protein sentezini peptid bağı oluşumu basamağında durdurmaktadır. Bu etki mekanizmasına dayanan antiviral ve antineoplastik etkileri bildirilmektedir (11). Bir kaynaktan, lycorine'nin Murine P-388 lenfositik lösemi ve sarkoma'da büyüme inhibitörü olarak etki gösterdiği belirtilmektedir (16). Bu örneklerden de anlaşılacağı gibi Amaryllidaceae alkaloidleri ve özellikle de galanthamine ile lycorine tedavi açısından dikkate değer bileşiklerdir.

Bu proje esas olarak, İzmir ve çevresinde yabani olarak yetişen bazı *Galanthus* türlerinin, başta total alkaloid miktarları olmak üzere galanthamine ve lycorine miktarları açısından, farklı vejetasyon devrelerine ait toprak üstü ve toprak altı kısımlarında, söz konusu değerler bakımından karşılaştırmalı bir çalışma yapabilmeyi amaçlamaktadır. Burada bir karşılaştırma yapabilmek açısından, ülkemizde yabani olarak yetiştiği gibi kültürü de yapılmakta olan *Leucojum aestivum* bitkisinden hazırlanan benzeri örnekler üzerinde de aynı çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Bunlara ilaveten, *Galanthus* ve *Leucojum* türlerinin incelenen örneklerinin kalite özelliklerinin

saptanmasında esas olabilecek nem, kül miktar tayini gibi bazı denemeler de yapılmıştır. Böylece total alkaloit, galanthamine ve lycorine miktarları açısından zengin olan kaliteli bir droğun taşınması gereken temel kalite özelliklerin saptanması da, bu araştırmayla gerçekleştirilmeye çalışılmıştır.

II. BOTANİK BÖLÜM

Galanthus türleri çok yıllık soğanlı bitkiler olup, dünya üzerinde 85 ve Türkiye'de 8 genusu bulunduğu bilinen (5) **Amaryllidaceae** familyası üyeleri arasında yer almaktadır (21). Aşağıda çalışmaya konu olan türlerin ve genusun tanımına yönelik olarak verilen bilgiler, başta "Flora of Turkey" olmak üzere ilgili bazı kaynaklardan dilimize çevrilmek suretiyle ve hiç bir katkı bulunmaksızın derlenmiştir.

A. *GALANTHUS* GENUSU

Soğanlı, çok yıllık, skapuslu. Yapraklar basal (dipte), 2 tane, linear, şerit şeklinde veya oblanseolate. Skapus (çiçek durumu sapı) çiçeklenme zamanı dik, meyva gelişim döneminde ise yatık (5).

Çiçekler tek, beyaz ve öne doğru eğilmiş, spata (brakte) bitişik iki parçalı. Hypanthial tube ve korona yoktur. Periant segmentleri serbest, dıştaki üç segment akuttan subobtuse'a kadar spatulat veya oblanseolat'dan dar obovat'a kadar kısa küçük kıvrımlı, erekto-patent; içteki segmentler dıştaki segmentlerin 1/2-2/3'ü kadar uzunlukta, emarjinate, oblong, spatulat veya oblanseolat, kuneat, sinus (boşluk)

etrafında yeşil benekli dik ve bazen de her segmentin dış yüzeyinin tabanında yeşil bir benek bulunmaktadır (5).

Stamenler, çiçek örtüsünün ortasında yerleşik ve iç segmentlerden daha kısa. Filamenteler anterlerden çok daha kısa, bazifikset sadece uçtaki terminal pordan yarıp, açılır. Sitalus ince, anterden daha uzun. Stigma kapitat (geniş baş şeklinde). Kapsül elipsoid, subgloboz veya globoz (küre şeklinde), 3 gözlü (5).

Tohumlar açık kahverengi renkte, strofilli'dir (5).

B. *GALANTHUS ELWESII* HOOK.

G. elwesii Hooker fil. in Bot. Mag. 101:t.6166 (1875). Syn: *G.graecus* Orph. ex Boiss., Fl. Or. 5:145 (1882)! *G. maximus* Velen., Fl. Bulg. 540 (1891); *G.elwesii* Hooker fil. var. *whittallii* Moon in The Garden 57:44 (1900). Ic: The Garden 57:45 (1900), as var. *whittallii* ; Arthiushenko, op. cit. 17, f.3 (1974). Map 54 (5).

Soğan, küremsiden ovalimsi şekle kadar 2-3.5 x 1.5-2.5 cm boyutlarında yapraklar dar oblanseolat, tomurcuk halindeyken supervolut, çiçeklenme zamanında (7.5-)12-20(-32) x (0.6-)1.3-2.5(-3) cm'den 36 x 3.2 cm'ye kadar ve olgunlaşma zamanında dik, bazen burulmuş halde. Apeks (yaprak ucu) obtuse, kukulat, üstü toz gibi beyaz bir madde ile kaplı görünümde. Çiçek durumu sapı 12-28 cm, dıştaki çiçek örtüsü segmentleri dışbükey, eliptikten geniş obovat, 20-27 x (9-) 12-19 mm, içteki segmentler düz, uç kısmı çan şeklinde değil, dar oblong-ovate, 10-15 x 5-8 mm boyutlarında, tabanda veya tepe noktasında birbirlerinden ayrı bazen merkezde birleşmiş yeşil benekli (5).

Filament 1 mm, anterler 5-6 mm. Kapsül genişçe elipsoit şekilden küremsi şekle kadar 10-20 x 10-20 mm boyutlarında, $2n=24$ (5).

Çiçeklenme zamanı : (12-) 2-4, açık phrygana* ve kayalık bölgelerde çam ve ardıç ormanlarında dökülmüş yaprakların içinde, 900-1800 m (5).

Bizim bölgemizde bulunan türler arasında yaprak genişliğinde kayda değer bir değişkenlik görülmektedir. Orphanides tarafından Atina'da kültürü yapılan ve Khios'da yine Orphanides tarafından toplanan bitkiler arasından *G. graceus* (G!) tipi teşhis edilmiştir. Bu tip belirgin olarak *Galanthus elwesii* Hook.'yi temsil etmektedir. Ancak Kew'de bulunan *Galanthus elwesii* Hook. tipine göre yaprakları biraz daha dardır (5).

C. GALANTHUS GRACILIS CELAK.

G. gracilis Celak.in Sitz-Ber.-Böhm.Ges.Wiss.1891 : 195, t. 9 (1891). Syn : *G. bulgaricus* Velen. İn sched; *G. graecus* sensu Stern et auct., non Orph. Ex Boiss (1882); *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.

Soğan ovoitten subgloboz'a 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. 3-9 mm.'ye kadar uzayabilir, çoğunlukla belirgin

* Alçak boylu, yumak, yastık teşkil eden, çoğu dikensi çalıların oluşturduğu formasyon.

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 farkedilir 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.

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 elsewii* ile özdeşleştirerek, alttürler (subsp. Minor D. A. Webb) veya varyeteler olarak (var. *stenophyllus* Kamari) sınıflandırmışlar. Varyetelere örnek olarak; *stenophyllus* israil, Lesmo; Kamari ve Chiristodovlakis 1583a; Khios, Kamari ve Chiristodovlakis 1583b. İki taksonun genel görüşleri oldukça benzer olmasına rağmen, bariz olarak farklıdır. *Galanthus elsewii*'de yapraklar, tomurcuklanma döneminde düz ve linear veya bazen çok dar oblanseolatır. 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 elsewii*'de bahsedilmez. Lesvos, Samos, Khios ve Güneybatı Türkiye'deki *Galanthus gracilis* ve *Galanthus elsewii* popülasyonlarının yanyana yetiştirilerek iki takson arasında oluşan hibridizasyonunun oluşup oluşmadığını tespit etmek için tarla denemelerinin yapılması gerektiği belirtilmektedir (5).

D. *GALANTHUS NIVALIS* L.,

Soğan ovoid'den subgloboz'a kadar, 1.5-2.2 (2.7) x 1-2 (-2.4) cm. Yapraklar linear, tomurcukta düz, antesis'de 9-18 (-21) cm x 6-9 mm, olgunlukta 50 x 1 cm'ye kadar, tepede obtus, düz, mumsu. Scapus 11-18 cm. Periantın dış segmentleri konveks, eliptic'den oblanseolate veya dar obovata kadar, 18-28 x (6-) 8-10 mm, içteki segmentler düz, tepede genişlememiş, dar obovat, 7-11 x 5 mm, tepede yeşil lekeli. Filamentler 1-2 mm, anterler 5 mm. Kapsül subgloboz'dan globoz'a kadar 14 x 12-14 mm. 2n=24, 36. Çiçeklenme zamanı kasım-nisan. Çalılarla kaplı yamaçlarda, orman açıklıklarında, s. 1. eğim 600 m.

1. Yapraklar antesiste 16-18 cm, tekrar kıvrılmış çiçeklenme zamanı kasımdan marta (nisan) kadar

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

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

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

Güney Anadolu C2 (Yunanistan) 1s : Kastellorizo, Cap. Ag Stefanos, 10-20m, Stamatiadau 16631. C5 İçel: Kagiraki, 560-600 m, Bakınız 1895 : 10 nr Arslanköy, 1973, Clemie ; 24 I 1975, ex hort. Barron.

Latakia, Lübnan Doğu Akdeniz (mt) elemanı, Coğrafik olarak izole edilmiştir, fakat morfolojik olarak iyi tanımlanmamıştır. Stern tarafından yorumlanan çiçek

sapından spataya kadar olan uzunluğun farklı özellikleri ve içteki segmentlerin tepesindeki yeşil lekenin şeklindeki farklılıklar doğrulanamamıştır. Canlı materyalde subsp. *cilicicus*'un yaprakları yoğun mumsu iken subsp. *nivalis*'in yaprakları ise çoğunlukla yeşil tonlar içeren mumsu görünümündedir. Subsp. *cilicicus*'un çiçeklenme zamanı normalde subsp. *nivalis*'in çiçeklenme zamanından önce olmasına rağmen, kaydadeğer oranda çalışma meydana gelir.

Türün dağılımı : Avrupa, Fransa'dan Orta Rusya'ya ve güneyde Pireneler'e kadar. (5)

Türkiye'nin soğanlı bitkileri konusunda yayınlanmış farklı bir kaynak (3), 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 hiç bir katkı yapılmaksızın derlenen bir tanımlamaya aşağıdaki haliyle yer verilmiştir.

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.

Bir diğer kaynağa göre ülkemizde yayılış gösteren *Galanthus* türlerinin sayısının 9 olduğu belirtilmiştir (5, 6). Farklı bir başka kaynağa göre Avrupa ile Akdeniz'den Kafkasya'ya kadar olan bölgede (20), diğer farklı bir kaynağa göre ise Avrupa ile Batı Asya'da yayılış gösteren ve dünyada yaklaşık 20 türü bulunan *Galanthus* genusunun, Türkiye'de genellikle sık olmayan ormanlık veya çalılıklarda

bulunan 7 türünün mevcut olduğu da belirtilmektedir. (3). Bu son kaynakta yer alan türlerden biri olarak *Galanthus gracilis* Celak., aşağıdaki gibi tarif edilmiştir.

Galanthus gracilis Celako in Sitz, -Ber. Böhm Ges. Wiss. Math. -nat. Cl. 1891 : 184 (1891) (Syn. *Galanthus graecus*)

Yapraklar gri-yeşil, düz, 5-8 mm. genişlikte, linear ve uzunlamasına kıvrık iç periant segmentleri, tabanda ve tepede yeşil lekeli. Aydınlık ormanlarda. Mart-nisan. 1, 6, 7 bölgelerinde (ve Yunanistan ve Bulgaristan'da) (3).

Daha yakın zamanlarda "Türkiye'deki Kardelenleri (*Galanthus* L.) adı ile yayınlanmış farklı bir kaynakta da Türkiye'de mevcut *Galanthus* taksonlarının sayısının 20 (bunlar 7 tür ve bu türe ait subsp. veya varyeteler halinde ayrılmışlardır) olduğu belirtilmiştir. Ayrıca çalışmamıza konu olan *Galanthus* türü için Türkçe ve Almanca olarak yazılmış detaylı bir tanıma da yer verilmiştir (21).

Sonuç olarak, Türkiye'de yetişen *Galanthus* türleri üzerinde morfolojik olarak kesin yargılara varmak kolay gözükmemektedir. Ele aldığımız bu son kaynakta, Türkiye'de yayılış gösteren *Galanthus* taksonları üzerinde kardiyolojik araştırmalar yapılmamış olmasına rağmen, İzmir'in Ödemiş ilçesi Bozdağ mevkisinden temin edilmiş *Galanthus gracilis* Celak.'ın kökucu ezme preparatında gerçekleştirilen kromozom sayımı sonucu $2n=24+0-1$ B olduğu da verilmektedir (21).

E. LEUCOJUM GENUSU

Soğanlı, çok yıllık scapose. Bütün yapraklar, linear, tabandan. Çiçek durumu umbella (Türkiye'deki türlerde) veya tek bir çiçeğe indirgenmiş, 1-2 parçalı spathe (brakte) taşıyan. Çiçekler, beyaz, kampanulat (campanulate) (çay şeklinde) aşağı doğru eğik. Hypanthial tüp ve korona (corona) yok. Çiçek örtüsü parçaları hepsi

serbest, az çok benzer. Filamentler, anterlerden çok daha kısa, anterler apikulat (apiculate) değil. Kapsül hemen hemen küre şeklinde. Tohumlar çok sayıda ve bazen strophiolate (15).

Stern, F. C. 1956. Snowdrops and Snowflakes. London (15).

F. *LEUCOJUM AESTIVUM* L.

I. L. aestivum L., Syst. Nat. ed. 10, 2:975 (1759). Ic: Bot. Mag. 30 : t.1210 (1809); Polunin, Fls. Europe t. 1172 no. 1662 (1969).

Soğan, 25-45 mm çapta. Yapraklar, genişçe, linear, 22-62 cm x 7-45 mm. Scape (çiçek durumu sapı) (8-) 25-60 (-90) cm yapraklarla az çok aynı (eşit) veya biraz daha uzunca, kalın, oyuk basık, 2- kanatlı, kanatlar dar (ensiz), zarlı, hafif dentikulat (denticulate) (dişli) kenarlı. Şemsiye durumu (umbella), 2-5 çiçekli. Brakte (spathe) (20-) 25-40 x 3.5,8 mm, 1-çenetli. Çiçek sapları (8-) 10-65 mm, en uzununu brakte ile aynı ya da daha uzun. Perianth kısımları, beyaz. Genişlemiş ucun hemen altında, yeşil lekeli, 12-20mm. Anteler 4 mm, stilus başı hafifçe kalın, stamenlerden daha uzun. Tohumlar siyah, 5-7 mm; strofiol (strophiole) yok. Çiçeklenme 3-6. Sulu çayırlar. Deniz seviyesi 1100 m. (15).

Baştanbaşa Avrupa (Kuzey hariç) Caucasus, N. & N. W. İran. Avrupa-Sibirya elemanı. Boissier'in (Fl. Or. 5 : 114, 1882) Anadolu'nun tüm kuzey kıyılarında yetiştiğine dair ifadesi doğru olabilir, türler koruma altında. Türk Materyali subsp. *aestivum*'a aittir; subsp. *pulchellum* (Salisb.) Briq., daha küçük beyaz çiçekli ve

yapraksız, çiçek sapları dentikulat (dişli), zarlı kenardan yoksun, Batı Akdeniz bölgesinde görülür (15).

Şüpheli olarak kaydedilen türler;

Leucojum vernum L., Sp. Pl. 289 (1753)

Balls. (Gard. Chron. ser. 3,98:404,1935)" Gaziantep ve Maraş (Türkiye C6) arasında, *Leucojum vernum* açısından zengin, çoğunlukla bataklık ve su birikintisi ile dolu, geniş, düz tabanlı vadiyi izlersiniz." diye yazmıştır. Avrupa'ya endemik olan, onun gördüğü bitkinin *L. vernum* olma olasılığı pek muhtemel değildir; *G. fosteri* veya *G. nivalis*'e benzeyen *Galanthus*'un bir türü olabilir (15).

III. KİMYASAL BÖLÜM

Çalışmamıza konu olan **Herba** ve **Bulbus Galanthi** ve mukayese amacıyla ele aldığımız **Herba** ve **Bulbus Leucoji** drogları hemen hemen hiç bir farmakopede yer almamaktadır. Ancak biz kalite kontrol denemeleri için 9. Alman Farmakopesi (DAB9) 'nde yer alan temel bazı yöntemleri esas aldık. Bu amaçla, anılan farmakopede yer alan nem, total kül ve sülfat külü miktar tayinlerine ait yöntemler aynen uygulanmıştır. Ayrıca , drog örnekleri üzerinde ince tabaka kromatografisi kullanılarak çeşitli teşhis ve saflık kontrolü denemeleri de bizzat tarafımızdan geliştirilen çözücü sistemleri kullanılarak yapılmıştır.

Yukarıda bahsedilen denemeler dışında, DAB 9 ve 9. Fransız Farmakopesi'nde farklı drog monografilerinde yer alan titrimetrik esaslı bir miktar tayini yönteminden, örneklerin total alkaloit miktarlarını tayin amacıyla yararlanılmıştır.

Örnekler üzerinde yapılan bu tayinlere ait mukayese amacıyla kullanılabilecek herhangi bir değer, hemen hemen hiç bir farmakopede mevcut değildir. Ancak, farklı

kaynaklarda bazı *Galanthus* ve *Leucojum* türlerine ait örneklerin total alkaloit miktarlarını tayine yönelik farklı yöntemler kullanan bazı çalışmalar mevcuttur.

A. MATERYAL VE METOTLAR

Kimyasal çalışmaya konu olan *Galanthus elwesii*'ye ait **Herba** ve **Bulbus** örneklerinden bir bölümü İzmir, Karaburun Akdağ'dan 18.3.1995 ve 20.5.1995 tarihlerinde, yine aynı türe ait ikinci seri örnekler ise İzmir, Yamanlar dağı, Karagöl çevresinden 8.8.2000 ve 2.5.2000 tarihlerinde, *Galanthus gracilis*'e ait **Herba** ve **Bulbus** örnekleri İzmir, Kemalpaşa Nif Dağından 29.3.2000 ve 3.5.2000 tarihlerinde, *Galanthus nivialis*'e ait Herba ve Bulbus örnekleri Çanakkale, Bayramiç, Kuşçayırı Köyü, Çolapbaşı-Küllügedik mevkii'nden 7.3.1999 ve 7.5.1999 tarihlerinde, *Leucojum aestivum*'a ait **Herba** ve **Bulbus** örnekleri ise Balıkesir, Susurluk-Mustafa Kemalpaşa karayolu, Karapürçek yol ayrımı yakınlarından 25.4.1995 ve 3.6.1995 tarihlerinde bitki hem çiçekli ve hem de meyvalı halde iken yani vejetasyonunun 2 farklı zamanında, toprak altı ve toprak üstü kısımlarının ayrı ayrı toplanıp uygun şekilde kurutulmalarıyla hazırlanmıştır. Çalışma materyalini oluşturmada esas olan bitkisel materyalden herbaryum örnekleri hazırlanmış olup bunlar Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı Herbaryumunda aşağıda gösterilen numaralar altında saklanmaktadır.

Galanthus elwesii Hook. (Akdağ) 1190 a ve 1190 b

Galanthus elwesii Hook. (Yamanlar Dağı) 1243 a ve 1243 b

Galanthus gracilis Celak (Nif Dağı) 1244 ve 1248

Galanthus nivalis L. ssp. *cilicicus* (Çanakkale) 1232,1233,1234,1240

Leucojum aestivum L. (Balıkesir) 1207 a ve 1207 b

Bu maksatla toplanan her türe ait örneklerin toprak altı ve toprak üstü kısımları ayrılmış, mümkün olduğunca dikkat ve özenle tüm organik veya anorganik safsızlıklardan ayıklanarak kurtarılmış, küçük parçalar halinde doğrandıktan sonra açık havada gölgede ve oda ısısında kurutulmuştur. Bu işlemler, hem çiçekli haldeki ve hem de meyvalı haldeki örneklerle ayrı ayrı uygulanarak sonuçta her türe ait dört farklı örnek oluşturulmuştur. Sadece *Galanthus elwesii* türünün 2 farklı habitasyondan toplanan örnekleri söz konusudur. Hazırlanan kurutulmuş haldeki örnekler muhtelif denemelerde kullanılmadan önce Anabilim Dalımızda mevcut Retsch GmbH SK 1 marka elektrikli değirmende ince toz haline getirildikten sonra kullanılmıştır. Oluşturulan örneklerle verilen kodlar aşağıda bir liste halinde yer almaktadır.

1. Akdağ *G. elwesii* çiçekli toprak üstü : **Açtü**
2. Akdağ *G. elwesii* çiçekli toprak altı : **Açta**
3. Akdağ *G. elwesii* meyvalı toprak üstü : **Amtü**
4. Akdağ *G. elwesii* meyvalı toprak altı : **Amta**
5. Yamanlar *G. elwesii* çiçekli toprak üstü : **Bçtü**
6. Yamanlar *G. elwesii* çiçekli toprak altı : **Bçta**
7. Yamanlar *G. elwesii* meyvalı toprak üstü : **Bmtü**
8. Yamanlar *G. elwesii* meyvalı toprak altı : **Bmta**
9. Nif Dağı *G. gracilis* çiçekli toprak üstü : **Cçtü**

10. Nif Dağı *G. gracilis* çiçekli toprak altı : **Cçta**
11. Nif Dağı *G. gracilis* meyvalı toprak üstü : **Cmtü**
12. Nif Dağı *G. gracilis* meyvalı toprak altı : **Cmta**
13. Çanakkale *G. nivalis* çiçekli toprak üstü : **Dçtü**
14. Çanakkale *G. nivalis* çiçekli toprak altı : **Dçta**
15. Çanakkale *G. nivalis* meyvalı toprak üstü : **Dmtü**
16. Çanakkale *G. nivalis* meyvalı toprak altı : **Dmta**
17. Balıkesir *L. aestivum* çiçekli toprak üstü : **Eçtü**
18. Balıkesir *L. aestivum* çiçekli toprak altı : **Eçta**
19. Balıkesir *L. aestivum* meyvalı toprak üstü : **Emtü**
20. Balıkesir *L. aestivum* meyvalı toprak altı : **Emta**

Araştırmalarımız sırasında gerek tüm kromatografik çalışmalarda şahit madde olarak ve gerekse miktar tayini çalışmalarında ölçü eğrilerinin hazırlanmasında kullandığımız *galanthamine* ve *lycorine* referans maddeleri Anabilim Dalımızda *Galanthus elsewii* Hook. bitkisi alkaloidleri üzerinde evvelce yapılmış olan fitokimyasal bir araştırmada (12) elde edilmiş ve saflıkları kromatografik olarak kontrol edildiği gibi yapıları da modern spektral yöntemlerle (^1H NMR, UV, IR ve kütle spektrometrisi gibi) aydınlatılmıştır. Bu bileşikler desikatörde fosfor (V)-oksit üzerinde sabit ağırlığa kadar kurutulduktan sonra kullanılmışlardır. Söz konusu maddelerin spekturumları Anabilim Dalımızda mevcuttur.

B. DENEMELER

1. Nem Miktar Tayini

Önceden deney şartlarında sabit vezne getirilen cam tartım kabında 1 g civarında drog örneği tam olarak tartıldı. 100-105 °C' lik etüvde 1 saat süre ile ısıldıktan sonra desikatöre alınıp, soğutulup tartıldı. Isıtma, soğutma ve tartma işlemlerine son iki tartım arasında 0.5 mg'dan fazla fark olmayacak şekilde sabit vezne gelinceye kadar devam edildi ve buradan droğun yüzde nem miktarı hesaplandı.

2. Total Kül Miktar Tayini

Deney şartlarında önceden sabit ağırlığa getirilen bir porselen kroze içinde 1 g civarında drog tam olarak tartıldı. Drog içeren kroze, Heraeus marka yakma fırınına kondu. Fırın ısısının 600 °C civarına gelmesinden itibaren drog 1 saat süreyle yakıldı. Desikatöre alındıktan sonra soğumasını takiben tartıldı. Yakma, soğutma ve tartma işlemlerine siyah partiküller kalmayıncaya ve drog içeren krozenin ağırlığında son iki tartım arasında 0.5 mg'dan fazla fark olmayacak şekilde, sabit vezne gelinceye kadar devam edildi. Buradan, örneğin içerdiği total kül miktarı hesaplandı.

3. Sülfat Külü Miktar Tayini

Deney şartlarında önceden sabit ağırlığa getirilen bir porselen kroze içinde 1 g civarında drog tam olarak tartıldı. Üzerine 2 ml %10'luk sülfürik asit çözeltisinden damla damla koyulduktan sonra önce su banyosunda ısıtıldı, sonra açık alevde ve en

son olarak 600 °C'yi geçmeyen Heraeus marka yakma fırınında 1 saat süreyle yakıldı. Desikatörde soğutulduktan sonra bir kaç damla %10'luk sülfürik asit ilavesiyle yukarıda bahsedilen şekilde tekrar ısıtıldı ve yakıldı. Desikatörde soğumasını takiben %15,8'lik amonyum karbonat çözeltisinden bir kaç damla damlatılarak aynı şekilde ısıtılıp, yakıldı ve desikatörde soğutulduktan sonra tartıldı. Yakma işlemine 600 °C'yi geçmeyen yakma fırınında bir saat sürelerle, drog içeren kroze sabit vezne gelinceye kadar devam edildi. Buradan droğun içerdiği sülfat külü miktarı bulundu; bu değer daha sonra yüzde olarak hesaplandı.

4. Alkaloitlerin İ.T.K. ile Teşhis ve Kontrolü

100-105 °C'lik etüvde sabit vezne getirilen drog örneklerinden 6 g civarında tam olarak tartıldı. Bir perkolatörde 24 saat 100 ml %96'lık etanol ile masere edildi. Daha sonra drog yaklaşık toplam 300 ml %96'lık etanol ile tüketildi (İşleme tüetme sıvısı Dragendorff ve Mayer reaktifleri (7) ile reaksiyon vermeyinceye kadar devam 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 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 (35-60 °C) ile ekstre edildi. Petrol eterli kısımlar ayrıldı. Asitli çözelti %25'lik amonyum hidroksit ile (10-11 ml) kalevilendirildi. Daha sonra, kloroform ile (6x100 ml) tüketildi. Sonuncu ekstraksiyondan sonra kloroformlu fazdan bir miktar alındı. Susuz sodyum sülfat ile suyundan kurtarılıp, süzüldü. Kloroform uçuruldu. Bir miktar %1'lik hidroklorik asit

  zeltisi ile   z l p, Mayer ve Dragendorff reaktifleri ile alkaloit varlığı kontrol edildi. Alkaloitlerin tamamen t k tildiğine karar verildikten sonra birleştirilen kloroformlu kısımlar, susuz sodyum sülfat ile muamele edildi. Süzgeç kağıdı ile s z l p, alçak basınç altında kuruluğa kadar uçuruldu. Bu şekilde total alkaloit ekstresi elde edilmiş oldu.

 rnek   zeltilerin Hazırlanışı: Hazırlanan total alkaloit ekstreleri kloroform : metanol (8:2)   z c  sisteminde   z l rek, 5 mg / 1 ml konsantrasyonda bir çözelti hazırlandı.

Bu total alkaloit ekstresi hazırlama işlemleri tüm örnekler için ayrı ayrı olmak üzere gerçekleştirilmiştir.

Referans   zelti 1: 5 mg galanthamine bir balon jodede kloroform:metanol (8:2) ile 5 ml'ye tamamlandı. Bu   zeltiye R_G kodu verildi.

Referans   zelti 2: 5 mg lycorine bir balon jodede kloroform:metanol (8:2) ile 5 ml'ye tamamlandı. Bu   zeltiye R_L kodu verildi.

0.25 mm kalınlığında, 20x20 cm boyutlarındaki Kieselgel 60 F₂₅₄ (Merck 5715) hazır kromatografi plağına her türe ait farklı vejetasyon devrelerine ve farklı kısımlara ait örneklerin çözeltilerinin herbirinden ayrı ayrı olmak üzere 30  l'lik çözeltiler 1 cm uzunluğuunda ve 0.3 cm'yi geçmeyen kalınlıkta bant şeklinde ve 20  l'lik çözeltiler ise 0.5 cm'yi geçmeyen çapta bir nokta şeklinde Hamilton enjektörü yardımıyla tatbik edildi. Plak  zerine, ilk örnek çözeltisinin 1 cm yanına

yine 0.5 cm'yi geçmeyen bir çapta, 20 µl galanthamine referans çözeltisi (R_G) ve en son örnekten sonra 1 cm mesafa bırakılarak da 0.5 cm'yi geçmeyen bir çapta 20 µl lycorine referans çözeltisi (R_L) nokta şeklinde uygulandı. Kromatografi plağı yapılan ön denemelerden sonra tüm örnekler için en iyi ayırımı yaptığını saptamış olduğumuz benzen : kloroform : metanol : % 25 NH₄OH (40:45:15:12 damla) çözücü sisteminde, startan itibaren çözücü 17 cm yükselecek şekilde bir kere develope edildi.

Mobil fazın uzaklaştırılmasından sonra, 254 ve 365 nm dalga boyundaki UV ışık altında değerlendirildi ve Dragendorff revelatör (R) çözeltisi püskürtülerek alkaloid lekeleri gözle görünür hale getirildi.

5. Total Alkaloid Miktar Tayini

100-105 °C'lik etüvde sabit vızne getirilen drog örneklerinden 6 g civarında tam olarak tartıldı. Bir perkolatörde 24 saat 100 ml % 96'lık etanol ile masere edildi. Daha sonra drog yaklaşık toplam 300 ml % 96'lık etanol ile tüketildi (İşleme tüketme sıvısı Dragendorff ve Mayer reaktifleri (7) ile reaksiyon vermeyinceye kadar devam edildi). Etanollü ekstre alçak basınç altında kuruluğa kadar uçurulup, bakiye 50 ml'lik porsiyonlar halinde %1'lik hidroklorik asit çözeltisi ile çözölüp, süzüldü. Çözünmeyen kısımlar %1'lik hidroklorik asit ile porsiyonlar halinde yıkandı. Yıkama işlemine, asitli süzüntü Dragendorff ve Mayer 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 (35-60 °C) ile ekstre edildi. Petrol eterli kısımlar ayrıldı. Asitli çözelti %25'lik amonyum hidroksit ile (10-11 ml) kalevilendirildi. Daha sonra, kloroform ile (6x100 ml) tüketildi. Sonuncu

ekstraksiyondan sonra kloroformlu fazdan bir miktar alındı. Susuz sodyum sülfat ile suyundan kurtarılıp, süzöldü. Kloroform uçuruldu. Bir miktar %1'lik hidroklorik asit çözeltisi ile çözölüp, Mayer ve Dragendorff reaktifleri ile alkaloit varlığı kontrol edildi. Alkaloitlerin tamamen tüketildiğine karar verildikten sonra birleştirilen kloroformlu kısımlar, susuz sodyum sülfat ile muamele edildi. Süzgeç kağıdı ile süzölüp, alçak basınç altında kuruluğa kadar uçuruldu. Bu şekilde total alkaloit ekstresi elde edilmiş oldu. Bu ekstraksiyon işlemleri de her iki örnek için ayrı ayrı uygulandı. Elde edilen total alkaloit ekstresi üzerine, 20 ml 0.02 N ayarlı sülfürik asit çözeltisi ilave edilip, sıcak su banyosunda (50-60 °C) arasıra çalkalayarak çözünme sağlandı. Sonra üzerine 3 damla metil kırmızısı karışım reaktif çözeltisi 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.

a. 0.02 N Sülfürik Asit Çözeltisinin Hazırlanması ve Ayarlanması:

1000 ml'lik balon jojeye bir miktar kaynatılıp, soğutulmuş distile su konuldu. Üzerine büret yardımıyla 2.8 ml % 95-98'lik derişik sülfürik asit (Merck 1.00713) ilave edildi ve kaynatılıp, soğutulmuş distile su ile 1000 ml'ye tamamlandı. Böylece 0.1 N sülfürik asit çözeltisi hazırlandı. Hazırladığımız 0.1 N sülfürik asit çözeltisinden büret yardımıyla 200 ml yine 1000 ml'lik bir balon jojeye alındı ve kaynatılmış soğutulmuş distile su ile 1000 ml'ye tamamlandı. Böylece 0.02 N sülfürik asit çözeltisi hazırlanmış oldu (7).

0.02 N sülfürik asit'in ayarlanması için, 100-105 °C etövde kuruluğa kadar ısıtılıp, sabit vezne getirilen, susuz sodyum karbonat (Merck 6398)'dan 30 mg

civarında tam tartım alındı ve 30 ml kaynatılıp soğutulmuş distile suda çözüldü. Üzerine 0.1 ml metil oranj reaktif çözeltisi (7) ilave edilip, kırmızı-sarı renge kadar 0.02 N sülfürik asit çözeltisi ile titre edildi. Titre edilmiş çözelti dikkat ile ısıtılarak karbon dioksit ortamdan uzaklaştırıldı. Sonra kırmızı-sarı renk tekrar ortaya çıkıncaya kadar titrasyona devam edildi.

1 ml 0.02 N sülfürik asit çözeltisi 1.0598 mg susuz sodyum karbonat'a eşdeğerdir (8)

Faktör = Teorik sarfiyat / Pratik sarfiyat formülünden yararlanarak hesaplandı.

b. 0.02 N Sodyum Hidroksit Çözeltisinin Hazırlanması ve Ayarlanması :

Yaklaşık 4.2 g sodyum hidroksit (Riedel-de Haén 1823) tartıldı. Birkaç ml kaynatılıp soğutulmuş distile su ile 1000 ml'lik balonjoje içinde süratle yıkanarak karbonatından kurtarıldıktan sonra kaynatılıp, soğutulmuş distile su ile 1000 ml'ye tamamlandı. Böylece 0.1 N sodyum hidroksit çözeltisi hazırlanmış oldu. Hazırladığımız 0.1 N sodyum hidroksit çözeltisinden büret yardımıyla 200 ml 1000 ml'lik bir balonjojeye alındı. 1000 ml'ye kaynatılmış soğutulmuş su ile tamamlandı. Böylece 0.02 N sodyum hidroksit çözeltisi hazırlanmış oldu (7).

0.02 N sodyum hidroksit çözeltisinin ayarlanması için, daha önce hazırladığımız ayarlı 0.02 N sülfürik asit çözeltisinden büret yardımıyla 25 ml bir erlene alındı. Üzerine 3 damla metil kırmızısı karışım reaktif çözeltisi (7) damlatıldı.

Oluşan pembe renk, yeşile dönene kadar 0.02 N sodyum hidroksit çözeltisi ile titre edildi. Çözeltinin faktörü;

$$25 \times f_{\text{sülfürik asit}} = f_{\text{sodyum hidroksit}} \times t \quad \text{formülünden yararlanılarak hesaplandı.}$$

t = sarfedilen 0.02 N sodyum hidroksit miktarı (ml olarak) (8)

6. Galanthamine ve Lycorine'nin İ.T.K. ile Kombine Edilmiş Spektrofotometrik Esaslı Bir Yöntemle Miktar Tayinleri

1° Galanthamine ile Standart Serinin Hazırlanması ve Ölçü Eğrisinin Çizimi :

Kurutucu olarak fosfor (V)-oksit içeren bir desikatörde, sabit vezne gelinceye kadar tutulan galanthamine'nin metanol içindeki %0.1'lik bir çözeltisi (5 ml'de 5mg) hazırlandı. Bu çözeltiden spektrofotometrede okunabilen absorpsiyon değerleri açısında en uygun miktarlar olarak saptanan 80, 120, 160, 200, 250, 270, 300 µl'lik porsiyonların her biri ayrı bir İ.T.K. plağı üzerine (Kieselgel 60 G Merck 7731 ve Kieselgel 60 HF₂₅₄ 7739 karışımı kullanarak ve elle çekilerek hazırlanmış 0.5 mm kalınlığındaki plaklara) olacak şekilde bir Hamilton enjektörü yardımıyla 10 cm uzunluğundaki bantlar halinde tatbik edildi. Plaklar, tatbik noktasından itibaren 17 cm yükselecek şekilde siklohekzan : kloroform : dietilamin (7:2:1) çözücü sisteminde developpe edildi. 254 nm dalga boyundaki UV ışık altında galanthamine bantlarının yeri belirlenerek, kazındı. Kazınan bantlar 100'er ml kloroform : metanol (8:2) karışımı ile elüe edildi. Organik çözücü kuruluğa kadar uçurulduktan sonra bakiye metanol ile çözülerek bir balon jojeye aktarılıp, 10 ml'ye tamamlandı. Aynı şartlarda bir boş deneme çözeltisi de hazırlandı.

Hazırlanan serinin absorpsiyonları, 1 cm kalınlığındaki küvetlerde Shimadzu UV 160 A spektrofotometresinde 289 nm boş deneme çözeltisine karşı ölçüldü. Elde edilen absorbans değerleri yardımıyla galanthamine için bir ölçü eğrisi çizildi.

2° Lycorine ile Standart Serinin Hazırlanması ve Ölçü Eğrisinin Çizimi :

Kurutucu olarak fosfor (V)-oksit içeren bir desikatörde, sabit vezne gelinceye kadar kurutulan lycorine'nin metanol içinde % 0.1'lik bir çözeltisi (5 ml'de 5 mg) hazırlandı. Bu çözeltiden spektrofotometrede okunabilen absorpsiyon değerleri açısından en uygun miktarlar olarak saptanan 80, 120, 170, 200, 250, 270, 300 µl'lik porsiyonların herbiri ayrı bir preparatif İ.T.K. plağı üzerine (Kieselgel 60 G Merck 7731 ve Kieselgel 60 HF₂₅₄ 7739 karışımı kullanılarak ve elle çekilerek hazırlanmış 0.5 mm kalınlığındaki plaklara) olacak şekilde bir Hamilton enjektörü yardımıyla 10 cm uzunluğundaki bantlar halinde tatbik edildi. Plaklar tatbik noktasından 17 cm olacak şekilde siklohekzan : kloroform : metanol : dietilamin (6:2,5:0,5:1) çözücü sisteminde yükseltildi. 365 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 çözücü kuruluğa kadar uçurulduktan sonra bakiye, metanol ile çözülerek bir balon jojeye aktarılıp, 10 ml'ye tamamlandı. Aynı şartlarda bir de boş deneme çözeltisi hazırlandı.

Hazırlanan serinin absorpsiyonları, 1 cm kalınlığındaki küvetlerde, Shimadzu UV 160 A spektrofotometresinde 292 nm dalga boyunda boş deneme çözeltisine karşı ölçüldü. Elde edilen absorbans değerleri yardımıyla lycorine için bir ölçü eğrisi çizildi (Lycorine₁). Absorbansı ölçülen çözeltiler ile balon jojelerin muhtevası birer uçurma

balonuna alındı. Alçak basınçta kuruluğa kadar uçuruldu ve bakiye mümkün olduğunca az miktarda kloroform : metanol (8:2) çözücü karışımı ilave edilip, tekrar tekrar çözülerek ve kantitatif olarak çalışılarak birer flakona aktarıldı. Her biri ayrı bir preparatif İ.T.K. plağı üzerine olacak şekilde (Kieselgel 60 G Merck 7731 ve Kieselgel 60 HF₂₅₄ 7739 kullanılarak ve elle çekilerek hazırlanmış 0.5 mm kalınlığındaki plaklara) kapiler kılcallar yardımıyla 10 cm uzunluğundaki bantlar halinde tatbik edildi. Plaklar tatbik noktasından 17 cm olacak şekilde kloroform : metanol (8:2) karışımı ile elüe edildi. Organik çözücü kuruluğa kadar uçurulduktan sonra bakiye, metanol ile çözülerek bir balon jojeye aktarılıp, 10 ml'ye tamamlandı. Aynı şartlarda bir boş deneme çözeltisi de hazırlandı. Hazırlanan bu serinin absorpsiyonları da yine, 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 ikinci bir ölçü eğrisi çizildi (Lycorine₂).

3° Herba ve Bulbus Galanthi'de Galanthamine Miktar Tayini :

100-105 °C'lik etüvde sabit vezne getirilen drog örneklerinden 6 g civarında tam olarak tartıldı. Bir perkolatörde 24 saat 100 ml % 96'lık etanol ile masere edildi. Daha sonra drog yaklaşık olarak toplam 300 ml % 96'lık etanol ile tüketildi. (İşleme tüketme sıvısı Dragendorff ve Mayer reaktifleri (12) ile reaksiyon vermeyinceye kadar devam 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 ile reaksiyon

vermeyinceye kadar devam edildi (toplam 250 ml'lik %1'lik hidroklorik asit kullanıldı). Birleştirilmiş asitli çözeltiler 100 ml'lik porsiyonlar halinde 3 defa petrol eteri (35-60 °C) ile ekstre edildi. Petrol eterli kısımlar ayrıldı. Asitli çözelti %25'lik amonyum hidroksit ile (10-11 ml) kalevilendirildi. Daha sonra, kloroform ile (6x100 ml) tüketildi. Sonuncu ekstraksiyondan sonra kloroformlu fazdan bir miktar alındı. Susuz sodyum sülfat ile suyundan kurtarılıp, süzüldü. Kloroform uçuruldu. Bir miktar %1'lik hidroklorik asit çözeltisi ile çözülüp, Mayer ve Dragendorff reaktifleri ile alkaloit varlığı kontrol edildi. Alkaloitlerin tamamen tüketildiğine karar verildikten sonra birleştirilen kloroformlu kısımlar, susuz sodyum sülfat ile muamele edildi. Süzgeç kağıdı ile süzülüp, 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 ile 5 ml'ye tamamlandı.

Hazırladığımız bu çözeltilerden, galanthamine miktar tayini için en uygun konsatrasyon olarak saptanan miktarlar (500 µl) Kieselgel 60 G (Merck 7731) ve Kieselgel 60 HF₂₅₄ (Merck 7739) karışımı kullanarak ve elle çekilerek hazırlanmış 0.5 mm kalınlığındaki preparatif İ.T.K. plağına 10 cm uzunluğunda bir bant halinde tatbik edildi. Bandın bir kenarına 1.5 cm mesafe bırakıldıktan sonra 20 µl, galanthamine'nin metanol içindeki % 0.1'lik çözeltisi tatbik edildi. Plak, tatbik noktasından itibaren 17 cm yükselecek şekilde, siklohekzan : kloroform : dietilamin (7:2:1) çözücü sisteminde developpe edildi.

Plak, 254 nm dalga boyundaki UV ışık altında incelendi. Ekstredeki galanthamine bandı standart ile de karşılaştırılarak kazındı. Kazınan bant 100 ml

kloroform : metanol (8:2) karışımı ile elüe edildi. Organik çözücü, alçak basınç altında kuruluğa kadar uçurulduktan sonra, bakiye metanol ile çözülerek, bir balonjojede 10 ml'ye tamamlandı. Aynı şartlarda bir de boş deneme çözeltisi hazırlandı.

Hazırlanan çözeltinin absorpsiyonu 1 cm kalınlığındaki küvetlerde, Shimadzu UV 160 A spektrofotometresinde 289 nm dalga boyunda boş deneme çözeltisine karşı okundu.

Galanthamine için okunan absorbans değeri ölçü eğrisine yerleştirilerek, konsantrasyon bulunup, kuru materyal ağırlığı için yüzde gram olarak hesaplandı.

4° Herba ve Bulbus Galanthi'de Lycorine Miktar Tayini :

100-105 °C'lik etüvde sabit vezne getirilen drog örneklerinden 6 g civarında tam olarak tartıldı. Bir perkolatörde 24 saat 100 ml % 96'lık etanol ile masere edildi. Daha sonra drog yaklaşık toplam 300 ml % 96'lık etanol ile tüketildi (İşleme tüketme sıvısı Dragendorff ve Mayer reaktifleri ile reaksiyon vermeyinceye kadar devam 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 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 (35-60 °C) ile ekstre edildi. Petrol eterli kısımlar ayrıldı. Asitli çözelti % 25'lik amonyum hidroksit ile (10-11 ml) kalevilendirildi. Daha sonra, kloroform ile (6x100 ml) tüketildi. Sonuncu

ekstraksiyondan sonra kloroformlu fazdan bir miktar alındı. Susuz sodyum sülfat ile suyundan kurtarılıp, süzöldü. Kloroform uçuruldu. Bir miktar %1'lik hidroklorik asit çözeltisi ile çözölüp, Mayer ve Dragendorff reaktifleri ile alkaloit varlığı kontrol edildi. Alkaloitlerin tamamen tüketildiğine karar verildikten sonra birleştirilen kloroformlu kısımlar, susuz sodyum sülfat ile muamele edildi. Süzgeç kağıdı ile süzölüp, alçak basınç altında kuruluğa kadar uçuruldu. Bu şekilde total alkaloit ekstresi elde edilmiş oldu. Hazırlanan total alkaloit ekstresi kloroform : metanol (8:2) çözöcü sisteminde çözölerek, bir balon jojeye aktarıldı ve yine aynı çözöcü ile 5 ml'ye tamamlandı.

Hazırladığımız çözeltiden, lycorine için uygun konsantrasyon olarak saptanan en uygun miktar (750 µl), Kieselgel 60 G (Merck 7731) ve Kieselgel 60 HF₂₅₄ (Merck 7739) karışımı kullanılarak ve elle çekilerek hazırlanmış 0.5 mm kalınlığındaki preparatif İ.T. K. plağına 10 cm uzunluğunda bir bant halinde tatbik edildi. Bandın bir kenarına 1.5 cm mesafe bırakıldıktan sonra, lycorine'nin metanol içindeki % 0.1'lik çözeltisinden 20 µl tatbik edildi. Plak, tatbik noktasından itibaren 17 cm yükselecek şekilde, sikloheksan : kloroform : metanol : dietilamin (6:2.5:0.5:1) çözöcü sisteminde develop edildi.

Plak, 365 nm dalga boyundaki UV ışık altında incelendi. Ekstredeki lycorine bandı, standart ile de karşılaştırılarak kazındı. Kazınan bant 100 ml kloroform : metanol (8:2) karışımıyla elüe edildi. Organik çözöcü alçak basınçta kuruluğa kadar uçurulduktan sonra bakiye, metanol ile çözöndürölerek bir balon jojede 10 ml'ye tamamlandı. Aynı şartlarda bir de boş deneme çözeltisi hazırlandı. Hazırlanan çözeltinin absorbsiyonu 1 cm kalınlığındaki küvetlerde, Shimadzu UV 160 A

spektrofotometresinde 292 nm dalga boyunda boş deneme çözeltisine karşı okundu. Lycorine için okunan absorbans değeri, lycorine₁ ölçü eğrisine yerleştirilerek konsantrasyon bulunup, kuru materyal ağırlığı için yüzde gram olarak hesaplandı.

Absorbansı ölçülen çözelti ile balon jojenin muthevası bir uçurma balonuna alındı. Alçak basınçta kuruluğa kadar uçuruldu ve bakiye mümkün olduğunca az miktarda kloroform : metanol (8:2) çözücü karışımı ilave edilip, tekrar tekrar çözülerek ve kantitatif çalışılarak bir flakona aktarıldı. Daha sonra flakon içeriği, preparatif İ.T.K. plağı üzerine (Kieselgel 60 G Merck 7731 ve Kieselgel 60 HF₂₅₄ 7739 kullanılarak ve elle çekilerek hazırlanmış 0.5 mm kalınlığındaki plaklara) kapiler kılcallar yardımıyla 10 cm uzunluğunda bir bant halinde tatbik edildi. Bandın bir kenarına 1.5 cm mesafe bırakıldıktan sonra, lycorine'nin metanol içindeki %0.1'lik çözeltisinden 20µl tatbik edildi. Plak, tatbik noktasından itibaren 17 cm yükselecek şekilde kloroform : metanol : su (8.5:1.5:1) çözücü sisteminin alt fazında yükseltildi. 365 nm dalga boyundaki UV ışık altında lycorine bandının yeri, standart ile karşılaştırılarak belirlenip, kazındı. Kazınan bant 100 ml kloroform : metanol (8:2) karışımı ile elüe edildi. Organik çözücü kuruluğa kadar uçurulduktan sonra bakiye, metanol ile çözülerek, bir balon jojeye aktarılıp 10 ml'ye tamamlandı. Aynı şartlarda bir de boş deneme çözeltisi hazırlandı.

Hazırlanan çözeltinin absorpsiyonu, 1 cm kalınlığındaki küvetlerde, Shimadzu UV 160 A spektrofotometresinde 292 nm dalga boyunda boş deneme çözeltisine karşı ölçüldü.

Lycorine için okunan absorbans değeri, lycorine₂ ölçü eğrisine yerleştirilerek konsantrasyon bulunup, kuru materyal ağırlığı için yüzde gram olarak hesaplandı. Bu şekilde iki farklı değer elde edilmiş oldu. Lycorine'nin spektrometrik miktar tayini için yapılan kontrol çalışmalarında aldığımız sonuçlar bize, lycorine₂ eğrisi kullanarak aldığımız neticelerin daha sağlıklı olduğunu göstermiştir.

Yukarıda bahsedilen tüm denemeler en az 3 paralel tayin olacak şekilde gerçekleştirilmiştir.

7. Lycorine'nin Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (HPLC) Yardımıyla Varlığının Saptanması ve Miktarının Tayin Edilmesi

Bu maksatla Hewlett Packard 1100 serisi 20µl'lik manuel enjektörlü HPLC cihazından yararlanıldı. Kolon olarak adsorban büyüklüğü 4.0 mm olan 30 cm x 7.75 mm id'lik Hichrom C₁₈ bir hazır kolon kullanıldı. Mobil faz kloroform : metanol (83:7) olup akış hızı 2 ml/dak. Isı ise 30 °C olacak şekilde çalışıldı. Dedektör olarak değişken dalga boylu UV dedektörü kullanıldı ve 290 nm dalga boyundaki UV ışıktan yararlanıldı.

Bitkisel materyalin çalışmaya hazırlanılması : Sabit vezne getirilmemiş bitkisel materyal tam olarak tartılıp daha evvelce total alkaloit miktar tayini kısmında anlatıldığı şekilde çalışılarak total alkaloit ekstresi hazırlandı. Bu ekstre sabit vezne getirildikten sonra tartıldı. Total alkaloit ekstresinden tam olarak tartılmış 5 mg civarındaki bir örnek alınıp uygun bir balon jojede mobil faz olarak kullanılan çözücü karışımı ile çözülerek 2.5 ml'lik bir çözeltisi haline getirildi. Bu çözeltiden 5 ve 10 µl'lik uygulamalar yapıldı.

Standart lycorine çözeltisinin hazırlanması : Bu maksatla sabit vezne getirilmiş standart kalitede lycorine ve mobil faz çözücü karışımı kullanılarak 3 mg/10µl konsantrasyonda bir çözelti hazırlandı. Bu çözeltiden standart eğrinin hazırlanması maksadıyla 2.5, 5 ve 7.5 µl'lik uygulamalar yapıldı.

HPLC çalışmaları sırasında hazırlanan tek bir örnek çözeltisinden 5 ve 10 µl'lik 3'er paralel tayin yapılmıştır.

C. BULGULAR

1. Nem Miktar Tayini

Alman farmakopesi'nde (DAB 9) verilen yöntem kullanılarak yapılan bu denemenin sonucunda elde edilen ortalama değerler aşağıda bir liste olarak düzenlenmiştir.

İzmir, Karaburun, Akdağ'dan toplanmış G.elwesii'ye ait sonuçlar :

At : %9.103

Açta : %9.365

Amt : %7.665

Amta : %8.946

İzmir, Yamanlar dağından toplanmış G.elwesii'ye ait sonuçlar :

Bt : %8.071

Bta : %6.820

Bmt : %7.359

Bmta : %8.171

İzmir, Nif dağından toplanmış G. gracilis'e ait sonuçlar :

Ct : %7.572

Cta : %6.238

Cmt : %7.040

Cmta : %6.550

anakkale'den toplanmış G. nivialis'e ait sonuçlar :

Dt : %8.813

Dta : %9.438

Dmtü : % 9.967

Dmta : % 9.593

Balıkesir'den toplanmış *L. aestivum*'a ait sonuçlar :

Eçtü : % 11.418

Eçta : % 8.909

Emtü : % 8.895

Emta : % 8.791

2. Total Kül Miktar Tayini

Alman Farmakopesi'nde (DAB 9) verilen yöntem kullanılarak gerçekleştirilen bu denemede elde edilen sonuçlar ortalamaları halinde aşağıda bir liste halinde yer almıştır.

İzmir, Karaburun, Akdağ'dan toplanmış *G. elwesii*'ye ait sonuçlar :

Açtü : %8.957

Açta : %13.879

Amtü : %9.510

Amta : %4.660

İzmir, Yamanlar dağından toplanmış *G. elwesii*'ye ait sonuçlar :

Bçtü : %7.808

Bçta : %15.474

Bmtü : %10.578

Bmta : % 14.317

İzmir, Nif dağından toplanmış *G. gracilis*'e ait sonuçlar :

Cçtü : %9.086

Cçta : %17.791

Cmtü : %12.687

Cmta : %16.146

Çanakkale'den toplanmış *G. nivalis*'e ait sonuçlar :

Dçtü : %8.855

Dçta : %16.151

Dmtü : %8.603

Dmta : %9.943

Balıkesir'den toplanmış *L. aestivum*'a ait sonuçlar :

Eçtü : %5.135

Eçta : %6.886

Emtü : %5.592

Emta : %2.456

3. Sülfat Külü Miktar Tayini

Alman farmakopesi'nde (DAB 9) verilen yöntem kullanılarak gerçekleştirilen denemede elde edilen sonuçların ortalamaları aşağıda bir liste halinde yer almıştır.

İzmir, Karaburun, Akdağ'dan toplanmış *G. elwesii*'ye ait sonuçlar :

Açtü : %12.070

Açta : %18.790

Amtü : %13.980

Amta : %6.690

İzmir, Yamanlar dağından toplanmış *G. elwesii*'ye ait sonuçlar :

Bçtü : %10.484

Bçta : %18.308

Bmtü : %15.852

Bmta : %17.407

İzmir, Nif dağından toplanmış *G. gracilis*'e ait sonuçlar :

Cçtü : %12.419

Cçta : %19.499

Cmtü : %15.276

Cmta : %18.033

Çanakkale'den toplanmış *G. nivalis*'e ait sonuçlar :

Dçtü : %11.645

Dçta : %20.302

Dmtü : %12.200

Dmta : %12.588

Balıkesir'den toplanmış *L. aestivum*'a ait sonuçlar :

Eçtü : %7.496

Eçta : %9.006

Emtü : %8.679

Emta : %3.310

4. Alkaloitlerin İ.T.K. ile Teşhis ve Kontrolü

Yapılan muhtelif İ.T.K. çalışmalarında incelenen tüm türlerin ve bunlara ait değişik örneklerin teşhis ve kontrollerinde kullanılabilecek en iyi çözücü sisteminin benzen : kloroform : metanol : % 25 amonyum hidroksit (40:45:15:12 damla) şeklinde belirtilen karışım olduğu saptanmıştır. Bu developman sistemi de kullanılarak tek developman sistemi kullanılarak tek developman yapmak suretiyle iyi bir ayırım yapılabilir. Kromatografik teşhis ve kontrol çalışmalarında standart olarak galanthamine ve/veya lycorine standart maddelerin uygun konsantrasyondaki çözeltilerinden yararlanılmalıdır.

5. Total Alkaloit Miktar Tayini

Yapılan denemelerde elde edilen sonuçlar en az ve en yüksek değerler olarak aşağıda bir liste halinde yer almıştır.

İzmir, Karaburun, Akdağ'dan toplanmış *G. elwesii*'ye ait sonuçlar :

Açtü : %0.2656-0.2982

Açta : %0.1725-0.1999

Amtü : %0.1199-0.1290

Amta : %0.0927-0.1122

İzmir, Yamanlar dağından toplanmış *G. elwesii*'ye ait sonuçlar :

Bçtü : %0.6605-0.7001

Bçta : %0.1051-0.1333

Bmtü : %0.1567-0.1704

Bmta : %0.1054-0.1194

İzmir, Nif dağından toplanmış *G. gracilis*'e ait sonuçlar :

Cçtü : %0.1513-0.1640

Cçta : %0.0624-0.0637

Cmtü : % 0.0837-0.0934

Cmta : %0.0439-0.0474

Çanakkale'den toplanmış *G. nivalis*'e ait sonuçlar :

Dçtü : %0.0152-0.0192

Dçta : %0.0151-0.3882

Dmtü : %0.0714-0.8743

Dmta : %0.0073-0.0153

Balıkesir'den toplanmış *L. aestivum*'a ait sonuçlar :

Eçtü : %0.1302-0.1550

Eçta : %0.1802-0.1880

Emtü : %0.0638-0.0802

Emta : % 0.1022-0.1139

6. Galanthamine'nin Spektrofotometrik Miktar Tayini Sonuçları :

Sonuçlarda parantez içinde belirtilen değerler (St.dev.) değerleridir.

İzmir, Karaburun, Akdağ'dan toplanmış *G. elwesii*'ye ait sonuçlar :

Açtü : %0.0074-0.0095 (0.0009)

Açta : %0.0241-0.0276 (0.0015)

Amtü : %0.0053-0.0085 (0.0014)

Amta : %0.0123-0.0156 (0.0015)

İzmir, Yamanlar dağından toplanmış *G. elwesii*'ye ait sonuçlar :

Bu örneğin kullanılan yöntemle tayin edilebilecek miktarda galanthamine içermediği yapılan ön çalışmalar sonucunda saptanmıştır.

İzmir, Nif dağından toplanmış *G. gracilis*'e ait sonuçlar :

Bu örneğin kullanılan yöntemle tayin edilebilecek miktarda galanthamine içermediği yapılan ön çalışmalar sonucunda saptanmıştır.

Çanakkale'den toplanmış *G. nivalis*'e ait sonuçlar :

Henüz çalışmalar sonuçlanmamış olmakla birlikte İ.T.K. ön çalışmaları örneklerde galanthamine mevcudiyetini göstermektedir.

Balıkesir'den toplanmış *L. aestivum*'a ait sonuçlar :

Eçtü : %0.0349-0.0430 (0.0370)

Eçta : %0.0176-0.0221 (0.0019)

Emtü : %0.0240-0.0299 (0.0026)

Emta : %0.0190-0.0217 (0.0012)

7. Lycorine'nin Spektrofotometrik Miktar Tayini Sonuçları :

Aşağıda parantez içindeki değerler St. dev. değerleridir. Listede öncelikle birinci çalışma sonucunda elde edilen lycorine değerleri ve sonra ikinci çalışma sonucunda elde edilen lycorine değerleri verilmiştir.

İzmir, Karaburun, Akdağ'dan toplanmış *G. elwesii*'ye ait sonuçlar :

Açtü : %0.0141-0.0247 (0.0044)-0.0048-0.0107 (0.0025)

Açta : %0.0170-0.0201 (0.0013)-0.0117-0.0133 (0.0007)

Amtü : %0.0113-0.0127 (0.0006)-0.0029-0.0049 (0.0009)

Amta : %0.0146-0.0153(0.0003)-0.0098-0.0115 (0.0008)

İzmir, Yamanlar dağından toplanmış *G. elwesii*'ye ait sonuçlar :

Bu örneğin kullanılan yöntemle tayin edilebilecek miktarda lycorine içermediği yapılan ön çalışmalar sonucunda saptanmıştır.

İzmir, Nif dağından toplanmış *G. gracilis*'e ait sonuçlar :

Bu örneğin kullanılan yöntemle tayin edilebilecek miktarda lycorine içermediği yapılan ön çalışmalar sonucunda saptanmıştır.

Çanakkale'den toplanmış *G. nivalis*'e ait sonuçlar :

Henüz çalışmalar sonuçlanmamış olmakla birlikte İ.T.K. ön çalışmaları örneklerde lycorine mevcudiyetini göstermiştir.

Balıkesir'den toplanmış *L. aestivum*'a ait sonuçlar:

Eçtü : %0.0499-0.0570 (0.0032)-0.0312-0.0364 (0.0022)

Eçta : %0.0222-0.0271 (0.0022)-0.0160-0.0185 (0.0130)

Emtü : %0.0227-0.0319 (0.0046)-0.0097-0.0114 (0.0007)

Emta : %0.0182-0.0229 (0.0021)-0.0122-0.0160 (0.0017)

8. HPLC Çalışmalarına Ait Bulgular : HPLC ile yapılan çalışmalar İzmir Nif Dağından toplanan *G. gracilis* örnekleri ile İzmir Yamanlar'dan toplanan *G. elwesii* örneklerinde lycorine bulunmadığını ortaya koymuştur. Çanakkale'den toplanan *G. nivalis*'e ait örneklerde lycorine varlığı HPLC ile de doğrulanmış olup kantitatif çalışmalara devam edilmektedir.

D. TARTIşMA VE SONUÇ

Projemizin konusunu oluşturan farklı tür veya habitasyonlardan hazırlanmış **Herba** ve **Bulbus Galanthi** ile *Leucojum aestivum* türünden elde edilmiş **Herba** ve **Bulbus Leucoji** droglarına ait meyvalı ve çiçekli vejetasyon devrelerine ait muhtelif örnekler üzerinde, bunların kalite kontrollerine esas olabilecek ve başta DAB 10 olmak üzere, muhtelif farmakopelerde bitkisel drogların kontrollerinde müştereken uygulanan nem, total kül ve total alkaloit miktarı gibi temel denemeler gerçekleştirilmiştir. Ayrıca, örneklerin taşımaları muhtemel olan ve gerek bitki kimyası ve gerekse fizyolojik ve farmakolojik açıdan bu bitkilerin sahip oldukları en önemli alkaloitlerden ikisini oluşturan galanthamine ve lycorine'in miktarlarını spektrofotometrik esaslı bir yöntemle tayin ettik. Çalışmalarımız sonucunda vardığımız bazı neticeleri aşağıda maddeler halinde sıraladık.

1. Batı Anadolu bölgesinde yabani olarak yetişen ve iki farklı yerden toplanarak hazırlanmış *G. elwesii* örneklerinin Karaburun-Akdağ'dan toplanarak hazırlanmış örneklerinin hem alkaloit miktarı açısından daha zengin olduğu ve hem de galanthamine ve lycorine içerdiği buna karşılık İzmir-Yamanlar'dan toplanarak hazırlanan aynı türe ait örneklerin ise hem galanthamine ve lycorine içermedikleri ve hem de total alkaloit miktarlarının daha az olduğu saptanmıştır. Bu durumun habitasyona bağlı bir farklılık olup olmadığının daha ileri çalışmalarla araştırılması gerekmektedir.

2. Ülkemizde yabani olarak yetişen muhtelif *Galanthus* türlerinin bir kısmının galanthamine ve/veya lycorine ihtiva ederken diğer bazı türlerin söz konusu bu

alkaloitleri HPLC ile dahi tayin edilebilecek miktarlarda içermedikleri görülmüştür. Her ne kadar tüm *Galanthus* türleri üzerinde çalışılmamış ise de şimdiden *Galanthus* türlerinin söz konusu alkaloitleri içerip içermediklerine göre iki grup halinde ayrılmalarının mümkün olabileceği görülmektedir.

3. Batı bölgelerimizde yabani olarak yetişen *Galanthus* türlerinin tarafımızdan incelenenlerinin sonuçlarına bakılarak, bunların galanthamine içerenlerinde bu alkaloidin miktarlarının oldukça düşük olduğu, buna karşılık *Leucojum aestivum*'un söz konusu alkaloit açısından biraz daha zengin olduğu görülmektedir.

4. *Galanthus* türleri üzerindeki kalite kontrol, bitki kimyası, anatomik ve biyoteknolojik çalışmalar devam ettirilmeye değer olup özellikle bitki kimyası alanındaki araştırmalarımız hayli ilginç sonuçlar vermektedir. Örneğin İzmir, Karaburun, Akdağ'da yabani olarak yetişen *Galanthus elwesii* türü üzerinde tamamladığımız ve sonuçlarını 2 ayrı makale şeklinde yayınladığımız sonuçlar ilginç yeni alkaloit yapılarını içermektedir.

5. Bu proje çerçevesinde yapılan araştırmalar sonucunda elde edilen sonuçlar çalışmalar tamamlandıktan sonra bir orjinal bilimsel araştırma makalesi halinde yazılarak yayınlanacaktır.

IV. ÖZET

Bu araştırmada Batı Anadolu'da yabani olarak yetişen bazı *Galanthus* türleri ile *Leucojum aestivum* türünün meyvalı ve çiçekli olmak üzere 2 farklı vejetasyon devresinde Herba ve Bulbus drogları hazırlanmış, bunların kalite kontrollerine esas olabilecek bazı özellikleri ile tüm örneklerin taşıdıkları total alkaloit, galanthamine ve lycorine miktarları saptanmıştır. Bu çerçevede *G. elwesii* türünün 2 farklı habitasyondan toplanarak oluşturulmuş örnekleri ile *G. gracilis* ve *G. nivalis* türleri ile *L. aestivum*'dan hazırlanan örnekler üzerinde DAB 10'da yazılı gravimetrik esaslı nem, total kül ve sülfat külü tayinleri ile titrimetrik esaslı bir total alkaloit miktar tayini yapılmıştır. Bunlara ilaveten örneklerin değerlerini daha iyi saptayabilmek açısından spektroskopik esaslı bir yöntem kullanılarak söz konusu örneklerin içerik maddeleri arasında eczacılık açısından en ilgi çekici olan alkaloitlerden olan galanthamine ve lycorine'in miktarları da saptanmıştır. Ayrıca söz konusu örneklerin teşhis ve kalite kontrolleri açısından uygulanabilir İ.T.K. yöntemi için uygun bir çözücü sistemi geliştirilmiştir.

V. SUMMARY

In this study, herba and bulbus drugs of some *Galanthus* species and *Leucojum aestivum*, growing wild in Western Turkey, were prepared during two different vegetation periods, flowering and fruiting seasons; some specifications pertaining to their quality control examinations were established; and total alkaloid, galanthamine and lycorine contents of all specimens were determined. In this context, DAB 10 was referred to for the gravimetric determinations of humidity, total ash and sulfate ash, and for the titrimetric determinations of total alkaloids of *G. elwesii* specimens collected from two different habitations, and specimens of *G. gracilis*, *G. nivalis* and *L. aestivum*. Moreover, for a better evaluation of the specimens, a spectroscopic method was utilized for the determination of galanthamine and lycorine contents, since these alkaloids are of considerable interest from the pharmaceutical point of view. Additionally, a suitable solvent system was developed for the thin layer chromatographic method applicable to the determination and quality control examinations of these specimens.

VI. KAYNAKLAR

1. Abd El Hafiz, M. A.; Ramadan, M. A.; Jung, M. L.; Beck J. P.; Anton, R., "Cytotoxic Activity of Amaryllidaceae Alkaloids from *Crinum augustum* and *Crinum bulbispermum*.", *Planta Med.*, 57, (1991), 437-9 (Eng).
2. Baytop, T., "Türkiye'de Tıbbi Bitkiler ile Tedavi", Sanal Matbaacılık, İstanbul, (1984), 273.
3. Baytop, T., Mathew, B., "The Bulbous Plants of Turkey", London : B.T., Batsfort Ltd., 1984, 21-23.
4. Boissier, J. R.; Combes, G.; Pagny, J., "La galanthamine, cholinergique naturel ", *Annales pharm. Franç.*, 18, (1960), 888-900 (French).
5. Brickell, C. D., in "The Flora of Turkey and East Aegean Islands.", VIII, P. H. Davis (ed.), University Press, Edinburgh, (1984), 365-373.
6. Davis, P. H., (Ed.), "Flora of Turkey and the East Aegean Islands",10, Edinburg : Edinburg Universty Press, 1988, 226-227.
7. Deutsches Arzneibuch 9, (1986).
8. Ergenç, N., "İlaçların Tanınması Ve Kantitatif Tayini.", İstanbul Üniversitesi yayınları No: 3566, Eczacılık Fakültesi No:35,IV. Baskı. İstanbul, (1989).
9. Evidente, A.; Iasiello, I.; Randazzo, G., "Rapid quantitative analysis of lycorine by reversed-phase high-performance liquid chromatography.", *J. Chromatogr.*, 281,(1983), 362-6 (Eng).
10. Ieven, M.; Van den Berghe, Dirk A.; Vlietinck, A. J., "Plant antiviral agents. IV. Influence of lycorine on growth pattern of three animal viruses.", *Planta Med.*, 49 (2), 1983, 109-14 (Eng); Chem. Abstr. 100, (1984) 61412r.

11. Ieven, M.; Vlietinck, A. J.; Berghe, A. V.; Totte, J., "Plant antiviral agents. III. Isolation of alkaloids from *Clivia miniata* Regel (Amaryllidaceae)", Journal of Nat. Prod., 45, (1982), 564-573.
12. Latvala, A.; Önür, M. A.; Gözler, T.; Linden, A.; Kivçak, B.; Hesse, M., "Alkaloids of *Galanthus elwesii*.", Phytochemistry, 39 (5), (1995), 1229-40 (Eng).
13. Likhitwitayawuid, K.; Angerhofer, C. K.; Chai, H.; Pezuto, J. M.; Cordell, G. A., "Cytotoxic and antimalarial alkaloids from the bulbs of *Crinum amabile*.", Journal of Natural Products, 56 (8), (1993), 1331-1338.
14. 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 (Russ); Chem. Abstr. 103, (1985), 206324n.
15. Mill., R. R., in "The Flora of Turkey and East Aegean Islands.", VIII, P.H. Davis (ed.), University Press, Edinburgh (1984), 364-365.
16. Pettit G. R.; Gaddamidi V.; Herald D. L.; Singh S. B.; Cragg G. M.; Schmidt J. M. et al., "Antineoplastic agents, 120. *Pancratiun littorale*.", Journal of Natural Products, 49 (6), (1986), 995-1002.
17. Pharmacopée Française IX. Edition.
18. Sadikov, T.; Sharikov, T. T., "The isolation of lycorine", Khim Prirodoobrazovaniya, 1 (1972), 134.
19. Sweeney, J. E.; Hohmann, C. F.; Moran, T. H.; Coyle, J. T., "A long-acting cholinesterase inhibitor reverses spatial memory deficits in mice.", Pharmacol-Biochem-Behav., 31 (1), (1988), 141-7 (Eng).

20. Willis, J. C., "A Dictionary of the Flowering Plants & Ferns", 8th. Ed.,
Ed. Airy H. K. Shaw. Chambridge, England: Cambrige University Press, 1988, 49,
474.

21. Zeybek, N., Sauer, E. "Türkiye Kardelenleri" Ege Üniversitesi Basımevi
Bornova- İzmir (1995).

ÖZGEÇMİŞ

1943 yılında İzmir'de doğdum. İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesinden mezun olduktan sonra aynı fakültede asistan olarak çalışmaya başladım. Bilim Dalı Doktorasını 1970 yılında yine aynı fakültenin Farmasötik Botanik kürsüsünde tamamladım. 1981 Nisan ayında Farmakognozi alanında Üniversite Doçenti, 1988 Ekim ayında ise yine Farmakognozi alanında Üniversite Profesörü ünvanlarını kazandım. Halen Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı Başkanı olarak çalışmakta olup evli ve çocuksuzum.