

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

AMASYA, AKDAĞ'DAN TOPLANAN *GALANTHUS FOSTERI* BAKER
BİTKİSİ ÜZERİNDE FARMAKOGNOZİK ÇALIŞMALAR

Farmakognozi Anabilim Dalı Programı

Doktora Tezi

Uzman Eczacı

Ahmet EMİR

DANIŞMAN

Prof. Dr. Mustafa Ali ÖNÜR

İZMİR

(2015)

DEĞERLENDİRME KURULU ÜYELERİ

(Adı Soyadı)

(İmza)

Başkan : Prof.Dr. M. Ali ÖNÜR



(Danışman)

Üye : Prof.Dr. Bijen KINCAK



Üye : Prof.Dr. Fatma İOŞUN



Üye : Prof.Dr. Aygün SARI



Üye : Prof.Dr. Özgen ÖZER



Doktora Tezinin kabul edildiği tarih: 09/11/2015

ÖNSÖZ

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

Her konudaki yardımlarından dolayı, Farmakognozi Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Bijen KIVÇAK'a,

Spektral analiz sonuçlarının değerlendirilmesinde yardımcı olan Prof. Dr. Nehir SOMER'e,

Çalışmamı her aşamasında ilgi ve yardımını gördüğüm Doç. Dr. Buket Bozkurt'a,

NMR analizlerini gerçekleştiren EBİLTEM NMR Uydu Laboratuvarı operatörü Uzm. Salih GÜNNAZ'a,

CD analizlerinin yapılmasında değerli yardımlarını gördüğüm Barselona Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Bitki Fizyolojisi ve Edafoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Jaume BASTIDA'ya,

GC-MS ve LC-MS analizlerinin yapılabilmesi için olanaklarını kullanımımıza sunan Farmasötik Bilimler Araştırma Laboratuvarı (FABAL)'na ve cihaz kullanım ve izlem sorumlusu Uzm. Çiğdem YENGİN'e,

Çalışmalarına mali destek sağlayan E.Ü. Araştırma Fonu'na (Proje No : 2014/ECZ/020),

Tüm akademik çalışmalarında bana yardımcı olan, sabırla beni destekleyen sevgili eşim Arş. Gör. Ceren EMİR'e teşekkür ederim.

İzmir, 2015

Ahmet EMİR

ÖZET

AMASYA, AKDAĞ'DAN TOPLANAN *GALANTHUS FOSTERI* BAKER BİTKİSİ ÜZERİNDE FARMAKOGNOZİK ÇALIŞMALAR

Bu çalışmada, Türkiye’de yabani olarak yetişen bir *Galanthus* türü olan *Galanthus fosteri* Baker bitkisi çeşitli açılardan ele alınarak ayrıntılı olarak incelenmiştir.

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

Drog örneklerinin kalite kontrol araştırmaları (kurutmada kayıp, total kül, sülfat külü ve hidroklorik asitte çözünmeyen kül) Avrupa Farmakopesi’ne göre gerçekleştirilmiştir ve sonuçlar % değerler olarak rapor edilmiştir. Buna ilaveten drogların total alkaloid miktarları titrimetrik bir yöntemle tayin edilmiştir.

Galanthus genusunun önemli alkaloidleri arasında yer alan galantamin ve likorin, *G. fosteri* bitkisinden hazırlanan dört farklı drog örneğinde, yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemiyle kalitatif ve kantitatif olarak araştırılmıştır. Bunlara ek olarak, *G. fosteri*’den hazırlanan dört farklı drog örneğinin içermiş olduğu yirmi üç farklı alkaloid kapiler gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (CGC-MS) yöntemiyle tespit edilmiştir. *G. fosteri* bitkisinin alkaloid içeriği GC-MS yöntemiyle ilk kez bu çalışmada rapor edilmiştir.

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

Bu çalışmaların sonucunda *Galanthus fosteri* Baker’dan, Amaryllidaceae alkaloidlerinin likorin alt grubundan (-)-galantin, (-)-inkartin, (-)-oksoinkartin ve (-)-9-O-metilpsödolikorin, hemantamin alt grubundan (+)-vittatin, (-)-3,11-O-diasetil-9-O-demetilmaritidin ve (+)-11-O-asetil-9-O-demetilmaritidin, galantamin alt

grubundan (-)-galantamin, bunlara ilaveten hordenin ve *O,N*-dimetilnorbelladin adlı bileşikler izole edilmiş ve yapıları aydınlatılmıştır. Bunlardan (-)-oksoinkartin, (-)-3,11-*O*-diasetil-9-*O*-demetilmaritidin ve (+)-11-*O*-asetil-9-*O*-demetilmaritidin, ilk kez bu çalışmada izole edilmiştir. (-)-9-*O*-metilpsödolikorin ve *O,N*-dimetilnorbelladin genus bazında yeni bileşikler olup, (-)-galantin, (-)-inkartin ve (+)-vittatin ise tür seviyesinde yenidir.

Ayrıca izole edilmiş olan her bir bileşiğin *in vitro* Ellman metoduna dayalı mikrolaka deneyi kullanılarak asetilkolinesteraz ve bütirilkolinesteraz inhibitör aktiviteleri çalışılmıştır. Bunlardan (-)-9-*O*-metilpsödolikorin, (-)-3,11-*O*-diasetil-9-*O*-demetilmaritidin, (+)-11-*O*-asetil-9-*O*-demetilmaritidin, hordenin ve *O,N*-dimetilnorbelladin anti-asetilkolinesteraz aktivite gösterirken, (-)-galantin, (-)-inkartin, (-)-9-*O*-metilpsödolikorin, (+)-vittatin, (+)-11-*O*-asetil-9-*O*-demetilmaritidin, hordenin ve *O,N*-dimetilnorbelladin ise anti-bütirilkolinesteraz aktivite göstermiştir. Aktif olan tüm bileşiklerin IC₅₀ değerleri hesaplanmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Galanthus fosteri* Baker; Kalite kontrol çalışmaları; Antikolinesteraz aktivite rehberliğinde izolasyon.

ABSTRACT
PHARMACOGNOSTICAL STUDIES ON *GALANTHUS FOSTERI*
BAKER COLLECTED FROM AKDAG, AMASYA

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

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

The quality control investigations (loss on drying, total ash, sulphated ash and hydrochloric acid-insoluble ash) of drug specimens have been determined according to European Pharmacopoeia and the results were reported as percentage values. Moreover, the total alkaloidal contents of the drugs were determined by a titrimetric method.

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

In the studies where biological activity guided isolation and structure elucidation investigations are conducted, total alkaloidal extract prepared from plant material dried at room temperature and powdered, was fractionated on a column of silica gel and the obtained main fractions were subjected to the acetylcholinesterase and butrylcholinesterase inhibitor activity tests by using a microplate assay, based on *in vitro* Ellman method. Fractions which showed anticholinesterase activity, have been purified by preparative column chromatography, preparative T.L.C., and other purification methods. The structures of the compounds thus obtained were elucidated by using spectral techniques (UV, IR, CD, 1D and 2D NMR, ESIMS, HR-ESIMS).

As a result of these studies, the Amaryllidaceae alkaloids (-)-galanthine, (-)-incartine, (-)-oxoincartine and (-)-9-*O*-methylpseudolycorine from the lycorine subgroup, (+)-vittatine, (-)-3,11-*O*-diacetyl-9-*O*-demethylmaritidine and (+)-11-*O*-acetyl-9-*O*-demethylmaritidine from the haemanthamine subgroup, (-)-galanthamine from the galanthamine subgroup, moreover hordenine and *O,N*-dimethylnorbelladine

were isolated from *Galanthus fosteri* Baker and their structures were elucidated. Of these compounds, (-)-oxoincartine (-)-3,11-*O*-diacetyl-9-*O*-demethylmaritidine and (+)-11-*O*-acetyl-9-*O*-demethylmaritidine have been isolated for the first time in this study. The occurrence of (-)-9-*O*-methylpseudolycorine and *O,N*-dimethylnorbelladine are new at the genus level, (-)-galanthine, (-)-incartine and (+)-vittatine are new for the species.

Additionally, acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibitory activity of each compound were performed by using a microplate assay, based on *in vitro* Ellman method. (-)-9-*O*-methylpseudolycorine, (-)-3,11-*O*-diacetyl-9-*O*-demethylmaritidine and (+)-11-*O*-acetyl-9-*O*-demethylmaritidine, hordenine and *O,N*-dimethylnorbelladine showed anti-acetylcholinesterase activity; (-)-galanthine, (-)-incartine, (-)-9-*O*-methylpseudolycorine, (+)-vittatine, (+)-11-*O*-acetyl-9-*O*-demethylmaritidine, (-)-galanthamine, hordenine and *O,N*-dimethylnorbelladine displayed anti-butyrylcholinesterase activity. The IC₅₀ values of all the active compounds were calculated.

Keywords: *Galanthus fosteri* Baker; Quality control investigations; Anticholinesterase activity guided isolation.

İçindekiler

Önsöz	I
Özet	II
Abstract	IV
İçindekiler	VI
Tablo Dizini	XII
Resim Dizini	XIII
Spektrum Dizini	XV
Şekil Dizini	XVII
Kısaltmalar	XVIII
GİRİŞ VE AMAÇ	1
I. BÖLÜM	4
1. GENEL BİLGİLER.....	4
1.1 Bitki Hakkında Botanik Bilgiler.....	4
1.1.1 <i>Galanthus</i> L. Cinsi.....	4
1.1.2 <i>Galanthus fosteri</i> Baker	4
1.2 Kalite Kontrol ve Miktar Tayini Çalışmaları	9
1.2.1 Kalite Kontrol Çalışmaları.....	9
1.2.2 Alkaloit Miktar Tayini Çalışmaları.....	10
1.2.3 Alkaloitlerin Teşhisleri İçin Araştırmalar	10
1.2.4 Alkaloit Üretimine Ait Araştırmalar.....	11
1.3. Biyolojik Aktivite Rehberliğinde İzolasyon ve Yapı Aydınlatma Çalışmaları	18
1.3.1. Genel Bilgiler	18
1.3.2. Antikolinesteraz Aktivite Rehberliğinde İzolasyon ve Yapı Aydınlatma Çalışmaları	27
II. BÖLÜM	47
1.GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	47
1.1 Botanik Araştırmalar	47
1.1.1 Materyal	47
1.1.2 Deneyler	49
1.2 Kalite Kontrol ve Miktar Tayini Araştırmaları.....	50
1.2.1 Materyal.....	50

1.2.2 Yöntemler.....	51
1.2.2.1 Kurutmada Kayıp Miktar Tayini	51
1.2.2.2 Total Kül Miktar Tayini	51
1.2.2.3 Hidroklorik Asitte Çözünmeyen Kül Miktar Tayini	51
1.2.2.4 Sülfat Külü Miktar Tayini.....	52
1.2.2.5 Total Alkaloit Miktar Tayini.....	52
1.2.2.6 Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi ile Alkaloitlerin Miktar Tayini.....	53
1.2.2.6.1 Ekstrelerin Hazırlanışı	53
1.2.2.6.2 Standart Alkaloite Ait Ölçü Eğrisinin Hazırlanması	53
1.2.2.6.3 Deneyin Yapılışı	53
1.2.3 Deneyler	54
1.2.3.1 Kurutmada Kayıp Miktar Tayini	54
1.2.3.2 Total Kül Miktar Tayini	54
1.2.3.3 Hidroklorik Asitte Çözünmeyen Kül Miktar Tayini	54
1.2.3.4 Sülfat Külü Miktar Tayini.....	55
1.2.3.5 Total Alkaloit Miktar Tayini.....	55
1.2.3.5.1 Total Alkaloit Ekstresinin Hazırlanışı	55
1.2.3.5.2 Total Alkaloit Miktar Tayini Uygulaması	56
1.2.3.5.3 Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması ve Uygulanması.....	56
1.2.3.5.3.1 0.02 N Sülfürik Asit Çözeltisinin Hazırlanması ve Ayarlanması.....	56
1.2.3.5.3.2 0.02 N Sodyum Hidroksit Çözeltisinin Hazırlanması ve Ayarlanması.....	57
1.2.3.6 Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC) İle Alkaloitlerin Miktar Tayini.....	57
1.2.3.6.1 Likorin Miktar Tayini	57
1.2.3.6.1.1 Alkaloit Ekstresinin Hazırlanışı	57
1.2.3.6.1.2 Örnek Çözeltilerin Hazırlanışı.....	58
1.2.3.6.1.3 Standart Likorin Çözeltisinin Hazırlanışı	58
1.2.3.6.1.4 Standart Likorin'e Ait Ölçü Eğrisinin Hazırlanması ...	58
1.2.3.6.1.5 Standart Galantamin Çözeltisinin Hazırlanışı	58

1.2.3.6.1.6 Standart Galantamin'e Ait Ölçü Eğrisinin Hazırlanması	58
1.2.3.6.1.7 Deneyin Yapılışı	58
1.3. Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GC-MS) Yöntemiyle	
Droğun İçerdiği Alkaloitlerin Tespiti	59
1.3.1. Gereç	59
1.3.2. Yöntem	59
1.3.2.1. Alkaloit Ekstresinin Hazırlanışı	60
1.3.2.2. Uygulamanın Yapılışı	60
1.3.3. Deney	60
1.3.3.1. Alkaloit Ekstresinin Hazırlanışı	60
1.3.3.2. Deneyin Yapılışı	61
1.4. Biyolojik Aktivite Rehberliğinde İzolasyon ve Yapı Aydınlatma	
Çalışmaları	61
1.4. 1. Materyal	61
1.4.2. Yöntemler	62
1.4.2.1. Alkaloit Ekstraksiyonu	62
1.4.2.2. Alkaloitlerin İnce Tabaka Kromatografisi ile (İ.T.K.)	
İncelenmesi	62
1.4.2.3. Alkaloitlerin Saflaştırılmaları	63
1.4.2.3.1. Sütun Kromatografisi	64
1.4.2.3.2. Preparatif İnce Tabaka Kromatografisi	64
1.4.2.4. Saf Halde Elde Edilen Bileşiklerin Tanımlanması	65
1.4.2.5. Biyolojik Aktivite Tayini	66
1.4.2.5.1. Mikroplaka Deneyi ile Asetilkolinesteraz İnhibitör Aktivite	
Tayini	66
1.4.3. Deneyler	66
1.4.3.1. Total Alkaloit Ekstresinin Hazırlanması	66
1.4.3.2. Total Alkaloit Ekstresi Üzerinde Fraksiyonlandırma	
Çalışmaları	67
1.3.4.4. Biyolojik Olarak Aktif Olan Fraksiyonların Çalışılması	68
1.3.4.4.1. B Kodlu Ana Fraksiyonlar Üzerinde Çalışmalar	68
1.3.4.4.2. D Kodlu Ana Fraksiyonlar Üzerinde Çalışmalar	70

1.3.4.4.3. K-L Kodlu Ana Fraksiyonlar Üzerinde Çalışmalar	71
1.3.4.4.4. M Kodlu Ana Fraksiyonlar Üzerinde Çalışmalar	72
1.3.4.4.5. O Kodlu Ana Fraksiyonlar Üzerinde Çalışmalar	73
1.3.4.4.6. T-U Kodlu Ana Fraksiyonlar Üzerinde Çalışmalar	75
1.4.3.5. Mikroplaka Deneyi ile Saf Maddelerin Asetilkolinesteraz İnhibitör Aktivitelerinin Tayini	76
III. BÖLÜM	77
1. BOTANİK ARAŞTIRMALARIN BULGULARI	77
1.1. Anatomik Bulgular	77
1.1.1. Köke Ait İnceleme ve Bulgular	77
1.1.2. Soğana Ait İnceleme ve Bulgular	79
1.1.3. Çiçek Durumu Sapına (Skapus) Ait İnceleme ve Bulgular	82
1.1.4. Yaprğa Ait İnceleme ve Bulgular	85
1.1.5. Spataya Ait İnceleme ve Bulgular	88
1.1.6. Çiçeğe Ait İncele ve Bulgular	89
1.1.6.1. Çiçek Sapı	89
1.1.6.2. Dış tepal	92
1.1.6.3. İç Tepal	93
1.1.7. Antere Ait İnceleme ve Bulgular	95
1.1.8. Meyvaya Ait İnceleme ve Bulgular	96
1.1.9. Ovaryuma Ait İnceleme ve Bulgular	98
1.2. Mikroskobik Bulgular	100
1.2.1. ÇTÜ Kodlu Droğun Mikroskobik Olarak İncelenmesi	100
1.2.2. MTÜ Kodlu Droğun Mikroskobik Olarak İncelenmesi	103
1.2.3. ÇTA ve MTA Kodlu Droğun Mikroskobik Olarak İncelenmesi..	104
2. KALİTE KONTROL VE MİKTAR TAYİNİ ÇALIŞMALARINA AİT BULGULAR	107
2.1. Kurutmada Kayıp Miktar Tayini	107
2.2. Total Kül Miktar Tayini	108
2.3. Hidroklorik Asitte Çözünmeyen Kül Miktar Tayini	109
2.4. Sülfat Külü Miktar Tayini	110
2.5. Total Alkaloit Miktar Tayinine Ait Bulgular	111

2.6. Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi ile Likorin ve Galantamin Miktar Tayini	112
2.6.1. Likorin Ölçü Eğrisinin Hazırlanması	112
2.6.2. Galantamin Ölçü Eğrisinin Hazırlanması	114
2.6.3. Ekstrelelere Ait Likorin ve Galantamin Miktar Tayini Sonuçları..	118
3. GAZ KROMATOĞRAFİSİ-KÜTLE SPEKTROMETRESİ (GC-MS) YÖNTEMİYLE ALKALOİT TESPİTİ ÇALIŞMALARINA AİT BULGULAR	120
4. BİYOLOJİK AKTİVİTE REHBERLİĞİNDE İZOLASYON VE YAPI AYDINLATMA ÇALIŞMALARINA AİT BULGULAR	124
4.1. Antikolinesteraz Aktivite Tayinine Ait Bulgular	124
4.2. İzolasyonla Elde Edilen Bileşiklere Ait Bulgular	126
4.2.1. GF-1 Bileşiğinin Spektral Bulguları	126
4.2.2. GF-2 Bileşiğinin Spektral Bulguları	131
4.2.3. GF-3 Bileşiğinin Spektral Bulguları	144
4.2.4. GF-4 Bileşiğinin Spektral Bulguları	158
4.2.5. GF-5 Bileşiğinin Spektral Bulguları	163
4.2.6. GF-6 Bileşiğinin Spektral Bulguları	167
4.2.7. GF-7 Bileşiğinin Spektral Bulguları	172
4.2.8. GF-8 Bileşiğinin Spektral Bulguları	177
4.2.9. GF-9 Bileşiğinin Spektral Bulguları	191
4.2.10. GF-10 Bileşiğinin Spektral Bulguları	196
IV. BÖLÜM	201
TARTIŞMA	201
1. BOTANİK ARAŞTIRMALAR	201
2. KALİTE KONTROL VE MİKTAR TAYİNİ ARAŞTIRMALARI	203
2.1 Kurutmada Kayıp, Total Kül, Hidroklorik Asitte Çözünmeyen Kül ve Sülfat Külü Miktar Tayini	203
2.1 Total Alkaloit Miktar Tayini	206
2.2. Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisiyle (HPLC) Likorin Miktar Tayini ve Galantamin Teşhisi	206
3. GAZ KROMATOĞRAFİSİ-KÜTLE SPEKTROMETRESİ (GC-MS) YÖNTEMİYLE ALKALOİT TESPİTİ	206

4. BİYOLOJİK AKTİVİTE REHBERLİĞİNDE İZOLASYON VE YAPI AYDINLATMA ÇALIŞMALARI	207
4.1. GF-1 [(-)-İnkartin]	207
4.2. GF-2 [(-)-Oksoinkartin].....	209
4.3. GF-3 [(-)-3,11-O-diasetil-9-O-demetilmaritidin]	213
4.4. GF-4 [(-)-Galantamin]	217
4.5. GF-5 [(-)-Galantin]	220
4.6. GF-6 [(-)-9-O-Metilpsödolikorin]	221
4.7. GF-7 (O,N-Dimetilnorbelladin)	223
4.8. GF-8 [(+)-11-O-asetil-9-O-demetilmaritidin]	225
4.9. GF-9 (Hordenin)	229
4.10. GF-10 [(+)-Vittatin]	230
V. BÖLÜM	233
SONUÇ VE ÖNERİLER	233
VI. BÖLÜM	236
YARARLANILAN KAYNAKLAR	236
ÖZGEÇMİŞ	277

Tablo Dizini

Tablo 1. Çeşitli <i>Galanthus</i> Türleri Üzerinde Yapılmış Olan Kantitatif Çalışmalarda Elde Edilen Total Alkaloid, Galantamin ve Likorin Miktarları.....	12
Tablo 2. Çeşitli <i>Galanthus</i> Türleri Üzerinde Yapılmış Olan İzolasyon Çalışmaları Sırasında Elde Edilen Total Alkaloid, Galantamin ve Likorin Miktarları.....	17
Tablo 3. Kolinesteraz İnhibitör Aktiviteye Sahip Amaryllidaceae Türleri ve Alkaloidleri	20
Tablo 4. Amaryllidaceae Alkaloidlerinin 10 Ana Alt Grubu.....	28
Tablo 5. "The Alkaloids, Chemistry and Biology"'e Göre Alkaloidleri Açısından Araştırılmış <i>Galanthus</i> Türleri ve Bu Türlerde Saptanmış Amaryllidaceae Alkaloidleri	33
Tablo 6. "Dictionary of Alkaloids"'e Göre Alkaloidleri Açısından Araştırılmış <i>Galanthus</i> Türleri ve Bu Türlerde Varlığı Saptanmış Olan Amaryllidaceae Alkaloidleri	35
Tablo 7. Primer Kaynaklara Göre Alkaloid İçeriği Araştırılmış <i>Galanthus</i> Türleri ve Bunlarda Varlığı Saptanan Amaryllidaceae Alkaloidleri	36
Tablo 8. Tablo 7’de Adı Geçen <i>Galanthus</i> Türlerinin Alt Tür ve Sinonimleri	45
Tablo 9. İ.T.K., Preparatif İ.T.K. ve Preparatif Sütun Kromatografilerinde Yararlanılan Çözücü Sistemleri	63
Tablo 10. Ana Fraksiyonların Elde Edilmesinde Kullanılan Çözücü Sistemleri.....	64
Tablo 11. Total Alkaloid Ekstresinin Ana Fraksiyonları Hakkında Deneysel Veriler	68
Tablo 12. <i>G. fosteri</i> Bitkisinden Hazırlanan Örnekler Üzerinde Yapılan Kurutmada Kayıp Miktar Tayini Sonuçları	107
Tablo 13. <i>G. fosteri</i> Bitkisinden Hazırlanan Örnekler Üzerinde Yapılan Total Kül Miktar Tayini Sonuçları	108
Tablo 14. <i>G. fosteri</i> Bitkisinden Hazırlanan Örnekler Üzerinde Yapılan Hidroklorik Asitte Çözünmeyen Kül Miktar Tayini Sonuçları	109
Tablo 15. <i>G. fosteri</i> Bitkisinden Hazırlanan Örnekler Üzerinde Yapılan Sülfat Külü Miktar Tayini Sonuçları	110
Tablo 16. ÇTÜ Kodlu Örneğe Ait Total Alkaloid Miktarı Sonuçları.....	111
Tablo 17. ÇTA Kodlu Örneğe ait Total Alkaloid Miktarı Sonuçları.....	111
Tablo 18. MTÜ Kodlu Örneğe ait Total Alkaloid Miktarı Sonuçları.....	112

Tablo 19. MTA Kodlu Örneğe ait Total Alkaloit Miktarı Sonuçları.....	112
Tablo 20. Uygulanan Likorin Konsantrasyonuna Karşı Okunan Alan Değerleri....	113
Tablo 21. Uygulanan Galantamin Konsantrasyonuna Karşı Okunan Alan Değerleri.....	115
Tablo 22. ÇTA Kodlu Örnekte HPLC Yöntemiyle Likorin Miktar Tayini Sonuçları	119
Tablo 23. ÇTA Kodlu Örnekte HPLC Yöntemiyle Likorin Miktar Tayini Sonuçlarının İstatiksel Olarak Değerlendirilmesi	119
Tablo 24. MTÜ Kodlu Örnekte HPLC Yöntemiyle Galantamin Miktar Tayini Sonuçları	119
Tablo 25. MTÜ Kodlu Örnekte HPLC Yöntemiyle Galantamin Miktar Tayini Sonuçlarının İstatiksel Olarak Değerlendirilmesi	119
Tablo 26. ÇTÜ Örneğinin GC-MS Yöntemiyle Analizi Sonucu Elde Edilen Bulgular.....	120
Tablo 27. ÇTA Örneğinin GC-MS Yöntemiyle Analizi Sonucu Elde Edilen Bulgular.....	121
Tablo 28. MTÜ Örneğinin GC-MS Yöntemiyle Analizi Sonucu Elde Edilen Bulgular.....	122
Tablo 29. MTA Örneğinin GC-MS Yöntemiyle Analizi Sonucu Elde Edilen Bulgular.....	123
Tablo 30. <i>Galanthus fosteri</i> Total Alkaloit Ekstresinin, A-J Fraksiyonlarının Antikolinesteraz Aktiviteleri.....	124
Tablo 31. <i>Galanthus fosteri</i> Total Alkaloit Ekstresinin, K-V Fraksiyonlarının Antikolinesteraz Aktiviteleri	125
Tablo 32. GF-2 Bileşiğinin 1D ve 2D NMR Spektral Bulguları	132
Tablo 33. GF-3 Kodlu Bileşiğin 1D ve 2D NMR Spektral Bulguları	145
Tablo 34. GF-8 Kodlu Bileşiğin 1D ve 2D NMR Spektral Bulguları	178
Tablo 35. Bazı <i>Galanthus</i> Türleri Üzerinde Daha Önce Yapılmış Olan Kalite Kontrol Çalışmalarına ait Karşılaştırmalı Sonuçlar	204

Resim Dizini

Resim 1. <i>Galanthus fosteri</i> Baker Bitkisinin Doğadaki Görünüşü	47
Resim 2. <i>Galanthus fosteri</i> Baker Bitkisinin Çiçekli Herbaryum Örneği	48

Resim 3. <i>Galanthus fosteri</i> Baker Bitkisinin Meyveli Herbaryum Örneği.....	48
Resim 4. Kök Enine Kesitinin Genel Görünüşü	78
Resim 5. Kök Enine Kesiti.....	78
Resim 6. Soğan Dış Yaprak Enine Kesiti	80
Resim 7. Soğan Dış Yaprak Enine Kesiti	81
Resim 8. Soğan Dış Yaprakta Nişastalar	81
Resim 9. Çiçek Durumu Sapı Enine Kesitinin Genel Görünüşü	83
Resim 10. Çiçek Durum Sapı Enine Kesitinde Stoma.....	84
Resim 11. Çiçek Durum Sapı Yüzeyel Kesiti	84
Resim 12. Yaprak Enine Kesiti	86
Resim 13. Alt Epidermis Yüzeyel Kesiti	87
Resim 14. Üst Epidermis Yüzeyel Kesiti	87
Resim 15. Spata Enine Kesitinin Genel Görünüşü	88
Resim 16. Spata Enine Kesiti	89
Resim 17. Çiçek Sapı Enine Kesitinin Genel Görünüşü	90
Resim 18. Çiçek Sapı Enine Kesiti	91
Resim 19. Çiçek Sapı Yüzeyel Kesitinde Stomalar	91
Resim 20. Dış Tepalin Enine Kesiti	92
Resim 21. Dış Tepalin Dış Epidermisinde Papiller	93
Resim 22. İç Tepalin Enine Kesiti	94
Resim 23. İç Tepalin Dış Epidermisinde Papiller	94
Resim 24. Anter Enine Kesitinin Genel Görünüşü	95
Resim 25. Anterde Papiller	96
Resim 26. Meyve Enine Kesitinin Genel Görünüşü	97
Resim 27. Meyve Enine Kesiti	97
Resim 28. Meyve Yüzeyel Kesitte Stoma.....	98
Resim 29. Ovaryum Enine Kesitinin Genel Görünüşü	99
Resim 30. Ovaryum Yüzeyel Kesitte Stomalar	99
Resim 31. İletim Demeti Parçası.....	100
Resim 32. Stomalı Epidermis Parçası	100
Resim 33. Mezofil Hücreleri.....	101
Resim 34. Polen Hücreleri	101
Resim 35. Papilli Anter Epidermis Parçası	102

Resim 36. Papilli Anter Epidermis Parçası	102
Resim 37. Rafit Kristalleri	103
Resim 38. Ekzokarpta Stoma	103
Resim 39. Mezokarpta Rafit İçeren Parenkimatik Hücreler	104
Resim 40. Süberinleşmiş Doku Parçaları.....	104
Resim 41. Soğan Yaprak Epidermisi ve Nişastalar	105
Resim 42. Soğan Yaprığında Mantar Hifleri	105
Resim 43. Emici Tüy	106
Resim 44. Rafit Demetleri.....	106

Spektrum Dizini

Spektrum 1. GF-1 Kodlu Bileşiğin ESI Kütle Spektrumu	127
Spektrum 2. GF-1 Kodlu Bileşiğin ¹ H NMR Spektrumu	128
Spektrum 3. GF-1 Kodlu Bileşiğin ¹ H NMR Spektrumu	129
Spektrum 4. GF-1 Kodlu Bileşiğin ¹ H NMR Spektrumu	130
Spektrum 5. GF-2 Kodlu Bileşiğin UV Spektrumu	133
Spektrum 6. GF-2 Kodlu Bileşiğin IR Spektrumu.....	134
Spektrum 7. GF-2 Kodlu Bileşiğin HR-ESI Kütle Spektrumu.....	135
Spektrum 8. GF-2 Kodlu Bileşiğin ¹ H NMR Spektrumu	136
Spektrum 9. GF-2 Kodlu Bileşiğin Genişletilmiş ¹ H NMR Spektrumu	137
Spektrum 10. GF-2 Kodlu Bileşiğin Genişletilmiş ¹ H NMR Spektrumu	138
Spektrum 11. GF-2 Kodlu Bileşiğin ¹³ C NMR Spektrumu	139
Spektrum 12. GF-2 Kodlu Bileşiğin HSQC Spektrumu	140
Spektrum 13. GF-2 Kodlu Bileşiğin ¹ H, ¹ H COSY Spektrumu	141
Spektrum 14. GF-2 Kodlu Bileşiğin NOESY Spektrumu	142
Spektrum 15. GF-2 Kodlu Bileşiğin HMBC Spektrumu	143
Spektrum 16. GF-3 Kodlu Bileşiğin UV Spektrumu	146
Spektrum 17. GF-3 Kodlu Bileşiğin IR Spektrumu	147
Spektrum 18. GF-3 Kodlu Bileşiğin HR-ESI Kütle Spektrumu	148
Spektrum 19. GF-3 Kodlu Bileşiğin CD Spektrumu	149
Spektrum 20. GF-3 Kodlu Bileşiğin ¹ H NMR Spektrumu	150
Spektrum 21. GF-3 Kodlu Bileşiğin Genişletilmiş ¹ H NMR Spektrumu	151
Spektrum 22. GF-3 Kodlu Bileşiğin Genişletilmiş ¹ H NMR Spektrumu.....	152

Spektrum 23. GF-3 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR Spektrumu	153
Spektrum 24. GF-3 Kodlu Bileşğin HSQC Spektrumu	154
Spektrum 25. GF-3 Kodlu Bileşğin ^1H , ^1H COSY Spektrumu	155
Spektrum 26. GF-3 Kodlu Bileşğin NOESY Spektrumu	156
Spektrum 27. GF-3 Kodlu Bileşğin HMBC Spektrumu	157
Spektrum 28. GF-4 Kodlu Bileşğin ESI Kütle Spektrumu	159
Spektrum 29. GF-4 Kodlu Bileşğin ^1H NMR Spektrumu	160
Spektrum 30. GF-4 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR Spektrumu	161
Spektrum 31. GF-4 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR Spektrumu	162
Spektrum 32. GF-5 Kodlu Bileşğin ESI Kütle Spektrumu	164
Spektrum 33. GF-5 Kodlu Bileşğin ^1H NMR Spektrumu	165
Spektrum 34. GF-5 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR Spektrumu	166
Spektrum 35. GF-6 Kodlu Bileşğin ESI Kütle Spektrumu	168
Spektrum 36. GF-6 Kodlu Bileşğin ^1H NMR Spektrumu	169
Spektrum 37. GF-6 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR Spektrumu	170
Spektrum 38. GF-6 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR Spektrumu	171
Spektrum 39. GF-7 Kodlu Bileşğin ESI Kütle Spektrumu	173
Spektrum 40. GF-7 Kodlu Bileşğin ^1H NMR Spektrumu	174
Spektrum 41. GF-7 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR Spektrumu	175
Spektrum 42. GF-7 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR Spektrumu	176
Spektrum 43. GF-8 Kodlu Bileşğin UV Spektrumu	179
Spektrum 44. GF-8 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu	180
Spektrum 45. GF-8 Kodlu Bileşğin HR-ESI Kütle Spektrumu	181
Spektrum 46. GF-8 Kodlu Bileşğin CD Spektrumu	182
Spektrum 47. GF-8 Kodlu Bileşğin ^1H NMR Spektrumu	183
Spektrum 48. GF-8 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR Spektrumu	184
Spektrum 49. GF-8 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR Spektrumu	185
Spektrum 50. GF-8 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR Spektrumu	186
Spektrum 51. GF-8 Kodlu Bileşğin HSQC Spektrumu	187
Spektrum 52. GF-8 Kodlu Bileşğin ^1H , ^1H COSY Spektrumu	188
Spektrum 53. GF-8 Kodlu Bileşğin NOESY Spektrumu	189
Spektrum 54. GF-8 Kodlu Bileşğin HMBC Spektrumu	190
Spektrum 55. GF-9 Kodlu Bileşğin ESI Kütle Spektrumu	192

Spektrum 56. GF-9 Kodlu Bileşğin ^1H NMR Spektrumu	193
Spektrum 57. GF-9 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR Spektrumu	194
Spektrum 58. GF-9 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR Spektrumu	195
Spektrum 59. GF-10 Kodlu Bileşğin ESI Kütle Spektrumu	197
Spektrum 60. GF-10 Kodlu Bileşğin ^1H NMR Spektrumu	198
Spektrum 61. GF-10 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR Spektrumu	199
Spektrum 62. GF-10 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR Spektrumu	200

Şekil Dizini

Şekil 1. Likorin Standart Ölçü Eğrisi ve Regresyon Denklemi	113
Şekil 2. Standart Likorine Ait HPLC Kromatogramı	114
Şekil 3. Standart Olarak Kullanılan Likorine Ait UV Spektrumu	114
Şekil 4. Galantamin Standart Ölçü Eğrisi ve Regresyon Denklemi	115
Şekil 5. Standart Galantamine Ait HPLC Kromatogramı	116
Şekil 6. Standart Olarak Kullanılan Galantamine Ait UV Spektrumu	116
Şekil 7. ÇTA Ekstresine Ait HPLC Kromatogramı	117
Şekil 8. ÇTA Ekstersine Ait Likorin Pikinin UV Spektrumu	117
Şekil 9. MTÜ Ekstresine Ait HPLC Kromatogramı	117
Şekil 10. MTÜ Ekstresine Ait Galantamin Pikinin UV spektrumu	118
Şekil 11. ÇTÜ Ekstresine Ait HPLC Kromatogramı	118
Şekil 12. MTA Ekstresine Ait HPLC Kromatogramı	118

KISALTMALAR

AChE:	Asetilkolinesteraz
BuChE:	Butirilkolinesteraz
CD:	Circular Dichroism
CDCl ₃ :	Dötoro Kloroform
CD ₃ OD:	Dötoro Metanol
ÇTA:	Çiçekli Toprak Altı
ÇTÜ:	Çiçekli Toprak Üstü
DAD:	Diode Array Detector
GC-MS:	Gas Chromatography–Mass Spectrometry
¹ H- ¹ H COSY:	Correlation Spectroscopy
HMBC:	Heteronuclear Multiple-Bond Correlation Spectroscopy
HSQC:	Heteronuclear Single-Quantum Correlation Spectroscopy
HPLC:	High Performance Liquid Chromatography
HR-ESI-MS:	High Resolution-Electrospray Ionisation-Mass Spectrometry
Hz:	Hertz
IC ₅₀ :	Half Maximal Inhibitory Concentration
IR:	Infrared
İ.T.K.:	İnce Tabaka Kromatografisi
LC-ESI-MS:	Liquid Chromatography-Electrospray Ionization- Mass Spectrometry
m/z:	Mass-To-Charge Ratio
MTA:	Meyveli Toprak Altı
MTÜ:	Meyveli Toprak Üstü
NMR:	Nükleer Manyetik Rezonans
NOESY:	Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy
UV:	Ultra-viyole
[α] _D :	Spesifik Optik Çevirme Derecesi

GİRİŞ VE AMAÇ

Galanthus L. türleri (Amaryllidaceae) Avrupa, Anadolu ve Yakın Doğu'da yayılış gösteren çok yıllık, soğanlı, otsu bitkiler olup, ülkemizde halk arasında "Kardelen", "Öksüz Ahmet", "Garipçe", "Boynu bükük", "Kargasoğanı", "Aktaş" gibi yerel isimlerle tanınmaktadırlar (1- 4). Ayrıca bir kaynakta halk arasında toprak üstü kısımlarının kalbi kuvvetlendirici, midevi ve adet söktürücü etkileri nedeniyle, toprak altı kısımlarının ise taze halde iken ezilip lapa halinde hazırlanarak çıbanları olgunlaştırıcı olarak kullanıldıkları belirtilmektedir (2).

Ekolojik toleransları fazla ve vejetatif yolla üretilmeleri kolay olan *Galanthus* türleri, güzel çiçekleri nedeniyle birçok ülkede bahçe ve çevre düzenlemelerinde süs bitkisi olarak yaygın bir şekilde kullanılan bitkilerdir. Bu nedenle ülkemizden bazı türlerin soğanları, yurt dışına çiçek soğanı adı altında ihraç edilmektedir. Yoğun ihracat sonucu, tahrip olduğu görülen bitkilerin yok olmalarını önlemek için bunların ihracatları ve korunmaları konularında her yıl yenilenen yasal düzenlemeler yapılmıştır. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı'nın yayınladığı "Doğal Çiçek Soğanlarının 2015 Yılı İhracat Listesi Hakkında Tebliğ" gereğince Antalya ili, Manavgat ilçesi, Taşağıl Beldesi ve İbradı İlçesi sınırları içerisinde yetişen popülasyonlar hariç olmak üzere *Galanthus elwesii* Hook. (Toros kardeleni) soğanları ve *Galanthus woronowii* Losinsk. (Karadeniz kardeleni) soğanlarının ihraç edilmesine izin verilmiş olup, bunların ihracatı da kotayla sınırlandırılmıştır (5).

Galanthus türleri, antitümör, antiviral ve antifungal etkileri nedeniyle yoğun olarak araştırılan lektin ve alkaloid içerikleri bakımından çok sayıda araştırmaya konu olmaktadır (6-8). Bu türlerde saptanan Amaryllidaceae alkaloidleri birçok farklı fizyolojik ve farmakolojik etkiye sahiptirler. Amaryllidaceae alkaloidleri, bitkilerde bulunan önemli alkaloid alt gruplarından biri olan izokinolin alkaloidlerine dahil olup, tedavi değeri açısından en önemli olanı galantamindir. Bu bileşik analjezik (9), antikolinesteraz (10, 11), antiviral (12), sitotoksik (13, 14), antimikrobiyal ve antioksidan (15) gibi değişik aktivitelere sahiptir. Ayrıca nikotinik asetilkolin reseptör agonistiyle beraber kullanıldığında, Alzheimer ve Parkinson Hastalıklarında nöroprotektif etkisi mevcuttur (16). Bu alkaloidin tedavi açısından esas ilgi çekici yönü, asetilkolinesteraz inhibitörü aktiviteye sahip olması nedeniyle Alzheimer Hastalığı'ndaki kullanılışıdır (17-19). Örneğin etken bileşik olarak galantamin içeren

"Nivalin" adlı bir preparat günümüzde Avusturya'da ve diğer Almanca konuşulan ülkelerde onaylanmış olarak bu hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır (20).

Galantamin, iki farklı mekanizmayla beyindeki kolinerjik nörotransmisyon üzerinde etkilidir. Düşük dozlarda allosterik olarak, nikotinic asetilkolin reseptörlerine (nAChRs) bağlanarak fonksiyonlarını etkin hale getirirken, yüksek dozda asetilkolinesteraz (AChE) inhibitör aktivite göstermektedir (21, 22). Yapılan birçok araştırma neticesinde galantaminin, sinaptik transmisyonu kolaylaştırıcı (23), apoptozisi ve oksidatif hasarı önleyerek nöroprotektif etki gösterdiği, çeşitli deneysel şartlarda öğrenme kabiliyetini artırdığı, özellikle serebral iskemiye karşı etkili olduğu saptanmıştır (24-29). Alzheimer hastalığının patojenezinde rolü olan β -amiloid plakların agregasyonunu inhibe ettiği ve ayrıca β -amiloid 1-40 tarafından indüklenen oksidatif stres ve hücrel apoptozisi önemli oranda azalttığı rapor edilmiştir (30, 31). Ayrıca, galantaminin şizofreni hastalığında görülebilen bozulmuş dopaminerjik nörotransmisyon üzerinde olumlu etkileri olduğu ve bu hastalıkta görülen konuşma bozukluğu gibi birtakım semptomların giderilmesinde yararlı olabileceği klinik çalışmalarda gösterilmiştir (23, 32).

Galanthus türlerinde, yaygın olarak bulunan ve farmakolojik açıdan yoğun olarak araştırılan bir diğer bileşik de likorin adlı alkaloittir. Likorin'in analjezik (33, 34) etkisinin yanı sıra, *in vitro* olarak kuvvetli kardiyotonik (35) etkisi olduğu bildirilmiştir. Sıçanlarda uterus ve bağırsak motilitesini artırdığı *in vitro* olarak gösterilmiştir (36). Bunlara ilaveten, farklı analiz yöntemleri kullanılarak, likorinin DNA ve/veya RNA ile etkileşmesini gösteren çalışmalar mevcuttur (37, 38). Söz konusu bu alkaloidin antiviral (39- 42), antienflamatuar (43), antimalaryal (44, 45), antifungal (46), hepatoprotektif (34, 47) sitotoksik (13, 48) ve antitümör (49-53) aktivitelere sahip olduğu saptanmıştır. Bazı çalışmalarda, trikomoniyazis hastalığında etken olan trikomonas vaginalis adlı parazit grubuna karşı etkili olduğu ortaya konulmuştur (54-56).

Bu iki alkaloidin dışında farklı biyolojik aktivitelere sahip olan Amaryllidaceae alkaloidleri de mevcuttur. Örneğin bufenamin, hipeastrin, klivimin, trisferidin, 2-O-asetillikorin, pretazettin, pankratistatin, narsiklasin, 7-deoksinarisiklasin (likorisidin), krinamin, narsiprimin, arolikorisidin, bulbispermin, likorenan-7-on ve hamentamin adlı Amaryllidaceae alkaloidleri çeşitli mekanizmalarla antitümör aktivite gösteren bileşiklerdir (53, 57-68). Tazettin, hipeastrin, hemantidinin, P-388 murine lenfositik

löseminin dahil olduğu bazı tümör tiplerine karşı sitotoksik aktiviteye sahip oldukları tespit edilmiştir (69).

Ayrıca hemantamin, dihidrolikorin, narsidin ve sanguinin antiprotozoal etkiye sahiptir (70, 71). Hipeastrin, 11-hidroksivittatin ve hemantamin antiviral etkisi bulunan alkaloidlerdir (42). Norbelladin ise antioksidan ve antienflamatuar etkiye sahiptir (72). Son olarak 6-hidroksihamantamin ve hamentamin antimalaryal aktivitesi bulunan alkaloidlerdir (73, 74).

Bunların dışında zengin kimyasal çeşitliliğe sahip oldukları için farklı farmakolojik ve fizyolojik etkilere sahip daha birçok Amaryllidaceae alkaloidine örnek verilebilir. Araştırmamızda doğa için yeni olan, biyolojik olarak aktif olan Amaryllidaceae alkaloidlerinin izolasyonunu hedefledik. Bu amaçla Amasya ili Ziyaret beldesi, Adatepe mevkinde yetişen *Galanthus fosteri* bitkisi üzerinde biyolojik aktivite rehberli izolasyon ve yapı aydınlatma çalışmalarıyla birlikte, bitkinin farmakognozik yönden değerlendirilmesi amacıyla kalite kontrol çalışmalarının yapılması planlanmıştır.

I. BÖLÜM

1. GENEL BİLGİLER

1.1 Bitki Hakkında Botanik Bilgiler

Galanthus türleri, çok yıllık soğanlı bitkiler olup, Amaryllidaceae familyası üyeleri arasında yer almaktadırlar (3, 4, 75-77). Aşağıda bitkinin cins ve tür seviyesinde tanımına yönelik olarak verilen bilgiler, “Flora of Turkey and The East Aegean Islands” adlı kaynaktan, hiç bir katkıda bulunulmaksızın alınmıştır (76).

1.1.1 *Galanthus* L. Cinsi

Soğanlı, skapuslu, çok yıllık. Yapraklar tabanda 2, linear veya oblanseolat. Skapus çiçekli halde iken dik, meyva gelişim döneminde bükülmüş. Çiçekler tek, beyaz, eğik. Spata bitişik 2 parçalı. Hipantiyum ve korona bulunmaz. Periant segmentleri serbest; dıştaki 3 segment akuttan subobtusa kadar, spatulat veya oblanseolattan dar obovata kadar, dik-yayvan, küçük pençe şeklinde; içteki segmentler dıştaki segmentlerin 1/2'sinden 2/3'üne kadar olan uzunlukta, dik, oblong, spatulat veya oblanseolat, emarginat, kuneat, tepede veya bazen de her segmentin dış yüzeyinin tabanında yeşil lekeli. Stamenler, periantın tabanında, içteki segmentlerden daha kısa. Filamentler anterlerden çok daha kısa. Anterler bazifiks, sadece tepedeki pordan açılır. Stilus ince, anterlerden uzun, stigma kapitat. Kapsül elipsoid, subgloboz veya globoz, 3 gözlü. Tohumlar açık kahverengi, strofiyolattır (76).

1.1.2 *Galanthus fosteri* Baker

Soğan sublobozdan ovoide kadar, (2-) 2.5x1.5-2.2 cm. Yapraklar dar oblanseolattan şerit şekline kadar, tomurcukta supervolute, çiçekli dönemde 6-15x(0.5-) 1.2 (-2) cm, olgunlukta kıvrılarak 20 (-25)x2.2 cm'e kadar, tepede obtus, hafif kukuletalı veya kukuletasız, parlak koyu yeşil. Skapus 8-23 cm. periantın dış segmentleri hafif konveks, eliptikten dar obonata kadar, 19 (-26)x9 (-12) mm, içteki segmentler düz, tepede hafif genişlemiş, dikdörtgenimsi-spatula şeklinde (8-) 10 (-12)x(3-) 4 (-6) mm, tabanda ve tepede ayrı yeşil lekeler. Filamentler 1 mm, anterler 4-5 mm. Kapsül subglobozdan ovoide kadar, 10 (-13)x10 mm. 2n=24. Çiçeklenme zamanı Şubat-Nisan. Fagus veya Quercus orman kenarlarında, kayalık alanlarda ve kalker çatlaklarında, 800-1700 m.

Tip: (Türkiye A5 Amasya) Amasya civarından (28 iii 1889), kültürü, M. Foster (holo. K!).

Küzey-Güney Anadolu. A5 Amasya: Amasya, 800-1600 m, Born m. 1889: 1! Sinop: Sinop, Hamsaros'tan sonra, 15 m, Tobey 1714! A6 Samsun: d. Ladik, Ak Da. Dere Basalon Köy'den, Tobey 987! Amasya: Ak Da., 1450 m, Alpınar (ISTE 36618)! A/B6 Sivas: Sivas, 1908, Siehe (cult. 1910)! C5 Adana: d. Bahçe, Dumanlı Da. Haruniye yukarısında 1400m, D. 26830! C6 Gaziantep: Gaziantep, 905 m, Haradj. 830! Hatay: Belen'den İskendurun'a, 3 iv 1981, cult. 15 iii 1982, Sonderhausen 761!

Latakia, Lübnan. Doğu Akdeniz (mt) elemanı.

“Flora of Turkey and the East Aegean Islands” isimli kaynağın 8. Cildinde ülkemizde yabancı olarak yetişmekte olan *Galanthus* türlerinin sayısının sekiz olduğu bildirilmiştir. Bunlar, *G. reginae-olgae* Orph., *G. plicatus* (Bieb.) subsp. *byzantinus* (Baker) D. A. Webb, *G. elwesii* Hook., *G. gracilis* Celak., *G. nivalis* L. (subsp. *nivalis* ve subsp. *cilicicus*), *G. rizehensis* Stern, *G. fosteri* Baker, *G. ikariae* Baker olarak belirtilmiştir. Ayrıca *G. caucasicus* (Baker) Grossh. ve *G. krasnovii* A. Khokhr. isimli varlıkları kesin olarak kanıtlanmamış iki türden de bahsedilmektedir (76).

Yukarıda adı geçen kaynağın 10. cildinde *G. caucasicus* (Baker) Grossh. türü tekrar ele alınarak diğer türlere ilave edilmiştir (78). Yine aynı kaynağın 11. cildinde ise Türkiye’de on üç tür (on dört takson) bulunduğu belirtilmiştir (79). Buna ilave olarak, farklı bir kaynakta Türkiye’nin kuzeybatısında yetişen *G. trojanus* A. P. Davis & N. Özhatay ismiyle bahsedilen türle birlikte Türkiye’deki *Galanthus* türü sayısı on dört tür (on beş takson) olmaktadır (80). Bu türlerin isimlerine aşağıda yer verilmiştir.

- 1) *G. plicatus* M. (Bieb.) {subsp. *plicatus* ve subsp. *byzantinus*}
- 2) *G. elwesii* Hook.
- 3) *G. koenenianus* Lobin.
- 4) *G. alpinus* Sosn.
- 5) *G. fosteri* Baker
- 6) *G. krasnovii* A. P. Khokhr.
- 7) *G. woronowii* Losinsk. {=*G. ikariae* subsp. *latifolius* Stern}
- 8) *G. ikariae* Baker

9) *G. rizehensis* Stern

10) *G. gracilis* Čelak.

11) *G. nivalis* L.

12) *G. cilicicus* Baker {=*G. nivalis* L. subsp. *cilicicus* (Baker)

Gottl.-Tann.}

13) *G. peshmenii* A.P. Davis & C.D. Brickell

14) *G. trojanus* A.P. Davis & N. Özhatay

Ülkemizin soğanlı bitkileri konusunda yayınlanmış bir kaynakta Türkiye’de bulunan altı Amaryllidaceae genusu içinde diğerlerinden beyaz renkli ve sarkık çiçekler taşıması ve çiçek örtüsündeki iç ve dış segmentlerin eşit boyda olmamasıyla ayırdığı *Galanthus* genusu için aşağıdaki tanımlamaya yer verilmektedir (75).

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 tohumludur. Tohumlar globoz, siyahımsı veya kahverengimsi olup strofiyolattır.

“Türkiye Kardelenleri (*Galanthus* L.) I.” adlı kaynakta (4) ülkemizde yedi *Galanthus* türü, bunlara ait subsp. veya varyetelerle birlikte 20 taksonla temsil edildiği bildirilirken, yine aynı kaynakta bu türlerin morfolojileri, yaprak anatomileri ve bazı türler üzerinde gerçekleştirilmiş karyolojik araştırma sonuçlarıyla birlikte tayin anahtarına da yer verilmiştir.

Bir başka kaynakta *Galanthus* genusunun Avrupa ve Akdeniz’den Kafkasya’ya kadar uzanan bölgede yaklaşık yirmi türle (77), bir diğer kaynakta ise bu türlerden yedi tanesinin Türkiye’de genellikle sık olmayan ormanlık ve çalılıklarda bulunduğu belirtilmektedir (75).

Galanthus türlerinin sistematik tayinlerinde yararlı olabilecek yaprağa ait anatomik özelliklerin incelendiği bir kaynakta yaprak enine kesitinde epidermis, stoma, orta damar, palizat hücreleri, hava kanalları ve bulliform hücreler (yaprak epidermisindeki büyük şişkin hücreler) ile yaprağın yüzeysel kesitinde epidermis hücrelerinin şekilleri üzerinde karşılaştırmalı çalışmaların sonuçları verilmiştir (81). Bu kaynakta yer alan yirmi tür dışında *G. trojanus* A. P. Davis & N. Özhatay türü ile birlikte, Avrupa ve Asya ‘da yirmibir (yirmialtı takson) *Galanthus* türünün yayılış göstermektedir.

Ayrıca *Galanthus* genusunun morfolojisi, anatomisi, sitolojisi, dölleme, ekolojisi, kültürü, taksonomisi ve hibritleri ile ilgili ayrıntılı bilgilerin yer aldığı kaynaklar da bulunmaktadır (82-84).

Bunlara ilaveten, *Galanthus ikariae* Baker ve *Galanthus rizehensis* Stern, bitkileri üzerinde morfolojik, anatomik ve fizyolojik (85), *Galanthus gracilis* Celak üzerinde morfolojik ve anatomik (86) çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Ayrıca, *Galanthus* genusu üzerinde çalışma grubumuz tarafından yürütölüp, tamamlanan 6 adet anatomik çalışma mevcuttur. *G. woronowii* Losinsk. (87), *G. rizehensis* (88), *G. trojanus* A. P. Davis & N. Özhatay (89), *Galanthus plicatus* Bieb. subsp. *byzantinus* (Baker) D. A. Webb (7), *G. elwesii* Hook.(90) ve *G. gracilis* Celak. (12), türleri üzerinde gerçekleştirilen araştırmalarda bitkilerin kök, soğan, çiçek durumu sapı (skapus), yaprak, çiçek, meyva ve tohumlarından hazırlanan farklı örnekler üzerinde anatomik incelemeler ile bitkilerden hazırlanan toz drog örnekleri üzerinde mikroskopik incelemeler yapılmıştır.

Galanthus plicatus M. Bieb., *G. gracilis* Celak, ve *G. elwesii* Hook. türlerinin vejetatif ve çiçeğe ait organlarında kalsiyum okzalat kristallerinin varlığı araştırılmıştır. Rafit tipinde olan kristallerin varlığı tüm vejetatif organlarda, tepallerde ve ovaryumda saptanmıştır (91).

Galanthus nivalis L. bitkisi üzerinde tepallerdeki yeşil lekenin fonksiyonunun araştırıldığı bir çalışma yürütölmüştür. Bu çalışmada, yeşil leke bulunan iç tepallerin esas olarak bitkiyi çekici hale getirdikleri için tozlaşmaya yardımcı oldukları ve bunun yanında da fotosentez için de önemli oldukları belirtilmektedir (92).

Yunanistan'da yetişen dört *Galanthus* taksonu {*G. elwesii* Hook. subsp. *elwesii*, *G. elwesii* Hook. subsp. *minor* D. A. Webb, *G. nivalis* L. subsp. *nivalis*, *G. nivalis* L. subsp. *reginae-olgae* (Orph.) Gottl.-Tann.} üzerinde yapılan araştırmada *G. nivalis* L. subsp. *nivalis* türünün Yunanistan'da Athos Dağı'nda yetiştiği ve Anadolu'da yetişen *G. cilicicus* Baker bitkisiyle morfolojik ve sitolojik yönlerden benzer olduğu bildirilmektedir (93). Ayrıca Yunanistan'ın Samothraki adasında endemik olarak bulunan başka bir taksonun (*G. samothracicus*) ise *G. nivalis* ile morfolojik yönden benzerlik gösterdiği literatürde bildirilmektedir (94).

G. nivalis L. ile *G. plicatus* subsp. *byzantinus* (Baker) D. A. Webb arasındaki hibritleşme ile oluşan taksona *G. xvalentinei* Beck nothosubsp. *subplicatus* adının verildiği bir çalışmada, yeni hibrit ile ebeveyn bitkiler arasındaki morfolojik farklar

tartışılmıştır. Ayrıca Türkiye’de yetişen *G. nivalis* L. ve *G. plicatus* subsp. *byzantinus* bitkilerin morfolojileri hakkında bilgi verilmiştir. *G. xvalentinei* nothosubsp. *subplicatus* için ise yeni bir hibrit tipin tanımlaması yapılmıştır (95).

Galanthus türleri arasındaki evrimsel ilişkiyi ortaya koyan farklı filogenetik araştırmalar bulunmaktadır (96, 97). Buna ilaveten, *Leucojum* ve *Galanthus* türleri arasındaki filogenetik analizleri konu alan bir çalışma da mevcuttur (98).

Meerow ve arkadaşları (1999) tarafından yürütülen bir çalışmada ise akrabalık ilişkilerinin saptanmasına yönelik plastid RBCL ve TRNL-F sıralanışlarının kladistik analizine dayanarak Amaryllidaceae familyasının sistematigi incelenmiştir (99).

Son yıllarda Amaryllidaceae familyasında yer alan cinslerin genotiplerini belirleyebilmek için moleküler markır teknikleri kullanılarak çalışmalar yapılmıştır. (100-103). *Galanthus* türlerinin DNA içeriğini araştıran kapsamlı bir çalışma gerçekleştirilmiştir (104). Marmara bölgesinde bulunan üç *Galanthus* türünün (*G. plicatus* subsp. *byzantinus*, *G. nivalis* ve *G. xvalentinei* nothosubsp. *subplicatus*) incelendiği bir tez çalışmasında, morfolojik olarak *G. nivalis* diye tanımlanan türün genetik açıdan Avrupa’da kabul edilen *G. nivalis*’ten farklı olarak *G. xvalentinei* nothosubsp. *subplicatus* örnekleriyle aynı olduğu bildirilmiştir. *G. xvalentinei* nothosubsp. *subplicatus* örneklerinin moleküler analizi sonucunda melezleme belirtisi ya da değişkenlik göstermediği, yapılan filogenetik analizler sonucu genetik olarak ayrı ve sabit bir tür olduğu belirtilmiştir. Morfolojik olarak *G. plicatus* subsp. *byzantinus* olarak tanımlanan bitkilerin nükleer DNA seviyesinde *G. plicatus*’a yakın durduğu ancak kloroplast sekanslarının *G. xvalentinei* nothosubsp. *subplicatus*’a benzer olduğu bildirilmiştir. Bu iki genom arasındaki uyumsuzluğun nedeninin eski bir melezden kaynaklanmış olabileceği, bu sonuçların da Türkiye’de *G. nivalis* bulunmadığına dair bir kanıt olabileceği ve dolayısıyla *G. xvalentinei* nothosubsp. *subplicatus* adlı türün melez olarak değil, taksonomik bir birim (takson) olarak tekrar değerlendirilmesi ve yeniden adlandırılması gerektiği belirtilmiştir (105).

Farklı bir çalışmada, Avrupa, Türkiye ve Kafkasya’da doğal olarak yetişen *Galanthus* türleri, DNA’ya dayalı taksonomik sınıflandırma yapılarak *G. nivalis*, *G. elwesii*, *G. woronowii*, *G. krasnovi* ve *G. alpinus* olmak üzere beş grupta toplanmıştır. *G. nivalis* ve *G. woronowii* türlerinin Gürcistan ve Türkiye’de yabani olarak yaygın bir şekilde yetiştiği belirtilmiştir. Ticari öneme sahip olan *G. nivalis*, *G. elwesii*, *G. woronowii* türlerinde cpDNA ve nrDNA analizlerinde çok belirgin farklılıklar olduğu

belirtilmiştir **(106)**. 2008 yılında AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) tekniği ile yapılan bir çalışmada ise Türkiye’de yetişen *Galanthus* türlerinin genetik çeşitliliği araştırılmış olup, *G. alpinus*, *G. krasnovii* ve *G. trojanus* için ulaşılan sonuçlar, sadece morfolojik verilere dayanarak oluşturulan taksonomiye göre belirgin farklılıklar içermektedir **(107)**. Çalışma grubumuz tarafından Türkiye *Galanthus* türleri üzerinde yürütülen araştırmalar kapsamında Türkiye’nin çeşitli bölgelerinden topladığımız *Galanthus* türlerinden elde edilen örnekler üzerinde genetik çeşitlilik, DNA seviyesinde AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) tekniği kullanılarak belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre Türkiye’nin farklı bölgelerinden toplanan aynı türler farklı gruplarda yer almış ve dolayısıyla bu durum genetik varyasyonun yüksek olduğuna işaret etmiştir **(108)**.

1.2 Kalite Kontrol ve Miktar Tayini Çalışmaları

1.2.1 Kalite Kontrol Çalışmaları

Türkiye’de yetişen bazı *Galanthus* türleri üzerinde Anabilim Dalımızda fitokimyasal çalışmaların yanısıra **(109-111)**, kalite kontrol çalışmaları da gerçekleştirilmiştir. Bu çerçevede, *Galanthus* genusu üzerinde kalite kontrol çalışmaları, çalışma grubumuz tarafından 1997 yılında başlatılmış **(90)**, ve günümüze kadar diğer muhtelif *Galanthus* türleri üzerinde yapılan benzer araştırmalarla devam etmiştir **(81, 87, 88, 112-115)**.

Çalışmamızın konusunu oluşturan, Amasya ili, Ziyaret beldesi Adatepe mevkisinden farklı tarihlerde toplanan *G. fosteri* bitkisinin toprak üstü ve toprak altı kısımlarından hazırlanan Herba ve Bulbus Galanthi drogları hiçbir farmakopede yer almamaktadır. Literatürde *G. fosteri* türünden hazırlanmış olan drogların kalite kontrolüne yönelik deneylere ait araştırmalara rastlanmamıştır. Kalite kontrol deneyleri için Avrupa Farmakopesi **(116)** ve Avrupa Farmakopesi Adaptasyonu Türk Farmakopesi **(117)** incelenmiş, bu kaynaklarda yer alan genel yöntemlerden yararlanılarak çalışmamız gerçekleştirilmiştir. Elde edilen bulgu ve sonuçların, ileride bu bitkilerden hazırlanacak droglar hakkında yazılabilecek monograflara yardımcı olabilecekleri düşünülmüştür.

1.2.2 Alkaloit Miktar Tayini Çalışmaları

Galanthus genusu bitkilerine ait alkaloit miktar tayini ile ilgili yapılmış primer kaynak değeri taşıyan ilk bilimsel yayın L. Ya. Areshkina tarafından 1940 yılında yapılmıştır. *G. woronowii* türünden hazırlanmış bazı örnekler üzerinde gerçekleştirilen bu çalışmada bitkinin soğanlarında ve yapraklarında sırasıyla % 1.03 ve % 0.60 oranında total alkaloit bulunduğu saptanmıştır. Aynı yayında incelenen örnekten yüksek oranda şeker, nişasta ve hemiselüloz elde edildiği de bildirilmiştir (118).

Galanthus türleri üzerinde yapılan miktar tayini ile ilgili (total alkaloit, galantamin ve likorin miktar tayini) çalışmalar, tablolar halinde verilmiştir. Tablo 1 de total alkaloit, galantamin ve likorinin miktarlarının kantitatif olarak tespit edildiği çalışmalarda (spektrofotometrik, kromatokolorimetrik, yüksek basınçlı sıvı kromatografisi gibi) elde edilmiş olan bulgular yer almaktadır. Tablo 2 de ise izolasyon çalışmaları sırasında elde edilen total alkaloit ile galantamin ve likorin miktarları verilmiştir.

Galanthus türleri dışında, Amaryllidaceae familyasının başka genuslarına ait türlerde yapılmış galantamin ve likorin miktar tayini çalışmaları da mevcuttur (115, 119, 120-160). Bunların dışında çeşitli preparat, tablet, safra, idrar, serum ve plazma üzerinde de gerçekleştirilen galantamin ve likorin miktar tayini çalışmaları da bulunmaktadır (161-181).

Galantamin ve likorin miktar tayinleri dışında *Galanthus* türleri üzerinde yapılmış tazettin, hipeastrin, hemantamin ve hamayin gibi alkaloitlere ait miktar tayini çalışmaları da mevcuttur (121, 182-187).

Bunların dışında *Galanthus* türleri üzerinde süperkritik sıvılarla ekstraksiyon ve HPLC gibi çeşitli yöntemlerle yapılmış fenolik asit ekstraksiyon ve miktar tayini çalışmalarına da rastlanmıştır (188-191).

1.2.3 Alkaloitlerin Teşhisleri İçin Araştırmalar

Özellikle önceki yıllarda, *Galanthus* türleri üzerinde fitokimyasal bir diğer grup çalışma ise bu türlere ait alkaloitlerin kromatografik olarak veya renk reaksiyonları ile belirlenmelerine yönelik araştırmalardır (185-187, 192-197).

1.2.4 Alkaloid Üretimine Ait Araştırmalar

Galantaminin *Galanthus* türlerinden üretimine ait araştırmalar yapılmış olmakla birlikte **(198-200)** farklı Amaryllidaceae bitkilerinden üretime yönelik çalışmalar da mevcuttur **(201-203)**.

Ayrıca *Galanthus* türlerinin morfolojik ve fizyolojik özelliklerinin, bitkinin kısa dayanıklı olmasının, alkaloidlerinin ve galantaminin etki mekanizmasının tartışıldığı bir derleme türü yayın **(204)** ile farklı bitkisel kaynaklar ve ayrıca farklı *Galanthus* türlerinde bulunuşlarını inceleyen bir diğerk derleme türü yayın da mevcuttur **(205)**.



Bitki adı (#) (Belirtilmiş ise toplama yılı, yeri)	Bitkinin Çalışılan Kısım	Miktar Tayini Yöntemi	Total Alkaloit Miktarı	Galantamin	Likorin	Literatür No
<i>G. nivalis</i> L. subsp. <i>angustifolius</i> (G. Koss) Artjushenko	Yaprak Soğan	Kromato Kolorimetrik	- -	%0.05 %0.73	- -	194
<i>G. woronowii</i> (Abzhar and Abkha, ASSR)	Yaprak Soğan		% 0.7 % 0.86	- -	- -	206
<i>G. woronowii</i> A. Los.	Soğan (Vejetasyon Başlangıcı) Soğan (Tomurcuklu Dönemde) Soğan (Çiçekli Dönemde) Soğan (Meyveli Dönemde) Soğan (Vejetasyon Sonu)	Kromato-Kütle- Spektrofotometrik Yöntem	- - - - -	% 0.09 % 0.13 % 0.17 % 0.20 % 0.23	- - - - -	139
<i>G. elwesii</i> Hook. var. <i>elwesii</i> (1978) <i>G. elwesii</i> Hook. var. <i>elwesii</i> (1978) <i>G. byzantinus</i> <i>G. ikariae</i> ssp. <i>latiafolius</i> Stern <i>G. nivalis</i> L. ssp. <i>nivalis</i>	Soğan ve Kök Soğan dış yaprakları Soğan ve Kök Soğan Yapraklar Soğan ve Kök Soğan Soğan ve Kök Soğan (çiçeklerin tomurcuk döneminde) Soğan (çiçekli dönemde) Soğan (yaprak sürmeden önceki dönemde)Tepal yaprakları	HPLC	- - - - - - - - - - -	%0.090 * %0.386 %0.2565 * * %0.05 %0.09 * * * %0.0122	%0.063 %0.0007 %0.005 %0.0020 %0.003 %0.217 %0.75 %0.95 * %0.0235 * %0.0075	187
<i>G. nivalis</i>	Soğan	-	-	%0.1	-	207
<i>G. elwesii</i> Hook <i>G. ikariae</i> Baker	Soğan Soğan	HPLC	- -	- -	%0.011 %0.043	208

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

Bitki adı (#) (Belirtilmiş ise toplama yılı, yeri)	Bitkinin çalışılan kısmı	Miktar Tayini Yöntemi	Total Alkaloit Miktarı	Galantamin	Likorin	Literatür No
<i>G. elwesii</i> Hook. (1995, Akdağ, İzmir)	Çiçekli Toprak üstü Çiçekli Toprak altı Meyvalı Toprak üstü Meyvalı Toprak altı	Titrimetrik (total alkaloit) Spektrofotometrik (galantamin ve likorin)	%0.185 %0.284 %0.109 %0.125	%0.026 %0.008 %0.013 %0.007	%0.013 %0.007 %0.011 %0.004	209
<i>G. cilicicus</i> Baker (Yeniköy, İçel)	Çiçekli Toprak üstü Çiçekli Toprak altı	HPLC	-	0.016 0.015	* 0.004	210
<i>G. elwesii</i> (Çimi Köyü, Antalya)	Çiçekli Toprak üstü Çiçekli Toprak altı	HPLC	-	0.346 0.042	* *	211
<i>G. elwesii</i> (İbradi, Antalya)	Çiçekli Toprak üstü Çiçekli Toprak altı	HPLC	-	0.287 0.095	* 0.005	211
<i>G. elwesii</i> (Kayrak, Antalya)	Çiçekli Toprak üstü Çiçekli Toprak altı	HPLC	-	* *	* 0.015	211
<i>G. woronowii</i> (Derepazarı, Rize)	Çiçekli Toprak üstü Çiçekli Toprak altı	Titrimetrik	% 0.499 % 0.412	-	-	212
<i>G. woronowii</i> (Çaykara, Trabzon)	Çiçekli Toprak üstü Çiçekli Toprak altı	Titrimetrik	% 247 % 250	-	-	212
<i>G. plicatus</i> Bieb. subsp. <i>byzantinus</i> (Baker) D. A. Webb	Çiçekli Toprak üstü Çiçekli Toprak altı Meyveli Toprak üstü Meyveli Toprak altı	HPLC	- - - -	* * * *	* * * *	213,214
<i>G. plicatus</i> Bieb. subsp. <i>byzantinus</i> (Baker) D. A. Webb	Çiçekli Toprak üstü Çiçekli Toprak altı Meyveli Toprak üstü Meyveli Toprak altı	Titrimetrik (total alkaloit) ve spektrofotometrik (galantamin ve likorin)	% 0.1466 % 0.1739 % 0.1070 % 0.1165	* * * *	* * * *	213

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

Bitki adı (#) (Belirtilmiş ise toplama yılı, yeri)	Bitkinin Çalışılan Kısım	Miktar Tayini Yöntemi	Total Alkaloit Miktarı	Galantamin	Likörin (%)	Literatür No
<i>G. gracilis</i> Celak (2000, Nif dağı, İzmir)	Çiçekli Toprak üstü Çiçekli Toprak altı Meyvalı Toprak üstü Meyvalı Toprak altı	Titrimetrik (total alkaloit) Spektrofotometrik (galantamin ve likörin)	%0.157 %0.086 %0.060 %0.044	* * * *	* % 0.0006 * % 0.0003	12
<i>G. xvalentinei</i> nothosubsp. <i>subplicatus</i>	Çiçekli Toprak üstü Çiçekli Toprak altı	HPLC	- -	- -	- % 0.0028	215
<i>G. gracilis</i> Celak (2000, nif dağı, İzmir)	Çiçekli Toprak üstü Çiçekli Toprak altı Meyvalı Toprak üstü Meyvalı Toprak altı	HPLC	- - - -	* * * *	* 0.0019 * 0.0009	214
<i>G. elwesii</i> Hook. (2000, Yamanlar dağı, İzmir)	Çiçekli Toprak üstü Çiçekli Toprak altı Meyvalı Toprak üstü Meyvalı Toprak altı	Titrimetrik (total alkaloit) Spektrofotometrik ve HPLC (galantamin ve Likörin)	%0.661 %0.120 %0.166 %0.111	* * * *	* * * *	90
<i>G. trojanus</i> A.P. Davis & N. Özhatay Gottlieb-Tannenhein (1999, Bayramiç, Çanakkale)	Çiçekli Toprak üstü Çiçekli Toprak altı Meyvalı Toprak üstü Meyvalı Toprak altı	HPLC	- - - -	* * * *	0.0014 0.0036 0.0007 0.0023	89,214
<i>G. trojanus</i> A.P. Davis & N. Özhatay Gottlieb-Tannenhein (1999, Bayramiç, Çanakkale)	Çiçekli Toprak üstü Çiçekli Toprak altı Meyvalı Toprak üstü Meyvalı Toprak altı	Titrimetrik (total alkaloit) Spektrofotometrik ve İ.T.K. (galantamin ve likörin)	0.0167 0.0168 0.0804 0.0158	* * * *	0.0006 0.0029 0.0004 0.0019	89

Tablo 1 in devamı. Çeşitli *Galanthus* türleri Üzerinde Yapılmış Olan Kantitatif Çalışmalarda Elde Edilen Total Alkaloit, Galantamin ve Likörin Miktarları

Bitki adı (#) (Belirtilmiş ise toplama yılı, yeri)	Bitkinin Çalışılan Kısmı	Miktar Tayini Yöntemi	Total Alkaloit Miktarı	Galantamin	Likorin	Literatür No
<i>G. trojanus</i> A.P. Davis & N. Özhatay Gottlieb-Tannenhein (2014, Bayramiç, Çanakkale)	Çiçekli Toprak üstü Çiçekli Toprak altı	HPLC	- -	- -	- 0.009	210
<i>G. trojanus</i> A.P. Davis & N. Özhatay Gottlieb-Tannenhein (2014, Çan, Çanakkale)	Çiçekli Toprak üstü Çiçekli Toprak altı	HPLC	- -	- -	0.012 0.004	210
<i>G. woronowii</i>	Yaprak Soğan	Kromato Kolorimetrik	- -	%0.05 %0.73	- -	206
<i>G. woronowii</i>	Soğan (Vejetasyon Başlangıcı) Soğan (Tomurcuklu Dönemde) Soğan (Çiçekli Dönemde) Soğan (Meyveli Dönemde) Soğan (Vejetasyon Sonu)	Kromato-kütle-spektrofotometrik teknik	-	% 0.09 % 0.13 % 0.17 % 0.20 % 0.23	-	139
<i>G. krasnowii</i> Hohnjakov	Soğan (Vejetasyon Başlangıcı) Soğan (Tomurcuklu Dönemde) Soğan (Çiçekli Dönemde) Soğan (Meyveli Dönemde) Soğan (Vejetasyon Sonu)	Kromato-kütle-spektrofotometrik teknik	-	% 0.05 % 0.09 % 0.14 % 0.19 % 0.22	-	139
<i>G. caucasicus</i> Baker A.Grossheim	Soğan (Vejetasyon Başlangıcı) Soğan (Tomurcuklu Dönemde) Soğan (Çiçekli Dönemde) Soğan (Meyveli Dönemde) Soğan (Vejetasyon Sonu)	Kromato-kütle-spektrofotometrik teknik	-	% 0.04 % 0.07 % 0.10 % 0.11 % 0.12	-	139

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

Bitki adı (#) (Belirtilmiş ise toplama yılı, yeri)	Bitkinin Çalışılan Kısmı	Miktar Tayini Yöntemi	Total Alkaloit Miktarı	Galantamin	Likorin	Literatür No
<i>G. latifolius</i> Wor.	Soğan (Vejetasyon Başlangıcı) Soğan (Tomurcuklu Dönemde) Soğan (Çiçekli Dönemde) Soğan (Meyveli Dönemde) Soğan (Vejetasyon Sonu)	Kromato-kütle- spektrofotometrik teknik	-	% 0.01 % 0.03 % 0.05 % 0.08 % 0.09	-	139
<i>G. woronowii</i> Losinsk. (Çaykara, Trabzon) <i>G. woronowii</i> Losinsk. (Arhavi, Artvin) <i>G. woronowii</i> Losinsk. (Aralık Köyü, Artvin) <i>G. woronowii</i> Losinsk. (Aralık Köyü yakını, Artvin) <i>G. woronowii</i> Losinsk. (Borçka, Artvin) <i>G. woronowii</i> Losinsk. (Kemalpaşa, Artvin) <i>G. woronowii</i> Losinsk. (Derepazarı, Rize)	Çiçekli Toprak altı Çiçekli Toprak üstü Çiçekli Toprak altı Çiçekli Toprak üstü Çiçekli Toprak altı Çiçekli Toprak üstü Çiçekli Toprak altı Çiçekli Toprak üstü Çiçekli Toprak altı Çiçekli Toprak üstü Çiçekli Toprak altı Çiçekli Toprak üstü Çiçekli Toprak altı Çiçekli Toprak üstü	HPLC	-	% 0.004 % 0.002 % 0.014 % 0.003 % 0.006 % 0.008 % 0.002 % 0.002 % 0.002 % 0.002 % 0.0005 % 0.0002 % 0.005 % 0.004	% 0.069 % 0.028 % 0.077 % 0.008 % 0.038 % 0.070 % 0.101 % 0.045 % 0.071 % 0.052 % 0.364 % 0.234 % 0.051 % 0.067	216

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

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

Bitki adı (#) (belirtilmiş ise toplama yılı, yeri)	Bitkinin çalışılan kısmı	Total alkoloit Miktarı	Galantamin	Likorin	Litaratür No
<i>G. woronowii</i>	Soğan Yaprak	%1.03 %0.60	-	-	118
<i>G. woronowii</i>	Soğan (kuru ağırlık 25kg)	-	12.8g %0.051 (kuru ağırlık üzerinden)	-	217
<i>G. woronowii</i>	Soğan	-	% 0.09-0.23	-	139
<i>G. woronowii</i> Losinsk.	Total bitki örneği	-	366mg	1.84g	218
<i>G. nivalis</i> L.	Soğan	%0.09		%0.1-0.2	219
<i>G. elwesii</i> Hook	Soğan	%0.14	%39 (total alkoloit üzerinden)	%21 (total alkoloit üzerinden)	220
<i>G. woronowii</i>	Soğan (kuru ağırlık 1.5kg)			6g %0.4 (kuru ağırlık üzerinden)	221
<i>G. nivalis</i>	Soğan		%0.0007	%0.018	222
<i>G. elwesii</i> Hook. f.	Soğan	%0.09	%29 (total alkoloit üzerinden)	%37 (total alkoloit üzerinden)	223
<i>G. nivalis</i> var. <i>gracilis</i>	Topraküstü	%0.22-1.36	-	-	224
<i>G. krasnovii</i>	Soğan	-	%0.57	-	225
<i>G. krasnovii</i>	Soğan	-	%0.5	-	226
<i>G. krasnovii</i>	Soğan	-	% 0.05-0.22	-	139
<i>G. nivalis</i>	Toprakaltı Topraküstü Total bitki örneği	%1.65 %1.27 %0.95	-	-	48
<i>G. caucasicus</i> (Bak.) Grossh.	Total bitki örneği	%1.01 17.3g	- 0.4g	- 4.5g	227
<i>G. caucasicus</i>	Soğan	-	% 0.04-0.12	-	139
<i>G. nivalis</i>	Topraküstü Toprakaltı	%0.41 -	%0.058 %0.059	%0.016 %0.023	190, 228
<i>G. latifolius</i>	Soğan	-	% 0.01-0.09	-	139
<i>G. rizehensis</i>	Total bitki örneği	-	-	1.52g	229

Tablo 2. Çeşitli *Galanthus* türleri Üzerinde Yapılmış Olan İzolasyon Çalışmalarında Elde Edilen Total Alkaloit, Galantamin ve Likorin Miktarları. #Bitki isimleri ilgili literatürde belirtildiği şekli ile aynen alınmıştır.

1.3. Biyolojik Aktivite Rehberliğinde İzolasyon ve Yapı Aydınlatma Çalışmaları

1.3.1. Genel Bilgiler

Dünya genelinde yaklaşık 24 milyon insanı etkileyen demansın en sık nedeni olan Alzheimer hastalığı, zihinsel fonksiyonların geri dönüşümsüz bir şekilde harap olmasına neden olan nörodejeneratif bir hastalıktır (230). Hastalık, beyin dokularında fosforillenmiş tau proteinlerinden oluşan nörofibriler yumaklar ve β -amiloid proteinlerden oluşan amiloid plaklar ile kendini gösterir (231-234).

Alzheimer hastalığının standart ve etkin bir tedavisi olmamakla beraber uygulanan tedavi semptomatiktir. Hastalıktaki temel sorun nöron kaybı ve kolinerjik sistemdeki nörotransmitter madde azalmasıdır. Nöron kaybı geri dönüştürülemez iken, kolinesteraz inhibitörleri kullanılarak, kolinerjik etkinliğin artırılması mortaliteyi etkilememekte, ancak hastanın yaşam kalitesinde artış ve hastalık evresinde stabilizasyon sağlamaktadır (235, 236).

İnsan beyni, 7. kromozom tarafından kodlanan asetilkolinesteraz (AChE) ve 3. kromozom tarafından kodlanan butirilkolinesteraz (BuChE) olmak üzere iki tip kolinesteraz enzimi içerir (237-239). Asetilkolinesterazın kolinerjik sistemdeki işlevi iyi bilinmekle birlikte butirilkolinesterazın rolü yeterince anlaşılmış değildir (237, 239, 240). Nöronlarda lokalize olan asetilkolinesteraz enziminin, kolinesteraz aktivitenin % 80'inden, glial hücrelerde bulunan butirilkolinesteraz enziminin ise % 20'sinden sorumlu olduğu düşünülmektedir. (241-243). Ancak her iki enzim de tek başına asetilkolin metabolizmasının ve kolinerjik iletimin sağlıklı işlemesi için yeterli değildir (238, 239, 244). Normal insan beyinde durum bu şekilde iken, Alzheimer hastalarında asetilkolinesteraz enzim aktivitesi azalır, butirilkolinesteraz enzim aktivitesi ise artmaktadır (245, 246). Ayrıca her iki enzimin aktivitesi amiloid plaklar ve nörofibriler yumaklarda aşırı derecede artış göstermektedir (242, 247). Yapılan çalışmalarda, butirilkolinesteraz enziminin amiloid plakların patolojik formu olan nöritik plaklara dönüşmelerinde etkili olduğu gözlenmiştir. Dolayısıyla AH'nın tedavisinde, asetilkolinesteraz enziminin yanısıra butirilkolinesteraz enziminin de inhibe edilmesi, asetilkolin miktarının artmasını sağlamakla beraber amiloid plakların nöritik plaklara dönüşümünü engellemektedir. (239-241).

Alzheimer hastalığının semptomatik tedavisinde kullanılan kolinesteraz inhibitörleri (takrin, donepezil, rivastigmin, galantamin) her iki enzime karşı

inhibisyon göstermektedirler (246). Bu inhibitörlerden olan galantamin adlı alkaloid, Amaryllidaceae alkaloidleri arasında yer almakla beraber, hafiften orta şiddete kadar olan Alzheimer hastalığının tedavisinde kullanılmaktadır (248).

Literatürde, hastalığın semptomatik tedavisine yönelik farklı çalışmalar da mevcuttur. Antienflamatuvar ilaç kullanımının hastalık riskini azalttığı gözlemlenmiştir (249). Bu amaçla demans tedavisinde indometasin kullanılmış olup belirgin yan etkileri nedeni ile kullanımı azalmıştır (250). Ayrıca antioksidan ilaçların amiloid proteinin toksisitesini azalttığı belirtilmiş olup, vitamin E'nin hastalığın ilerlemesini azalttığı bildirilmiştir (236, 251). Ayrıca östrojenin kolinasetiltransferaz enziminin aktivitesini artırarak, Alzheimer hastalığında koruyucu etkisinin olduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur (252, 253).

In vitro uygulanan Ellman yöntemi, asetilkolinesteraz enzimini inhibe edici aktivitenin belirlenmesinde kullanılan, en yaygın yöntemlerden birisi olup kolorimetrik esasa dayanır (254). Gerek İ.T.K. yöntemi ve gerekse mikropilaka deneyi ile antikolinesteraz aktivitenin saptanması deneylerinin esasını oluşturan bu yöntem (255, 256) *Galanthus* türleri de dahil olmak üzere Amaryllidaceae familyasının çeşitli bitkileri üzerinde uygulanmıştır (Tablo 3).

Galanthus türleri ve Amaryllidaceae familyasının diğer türleri üzerinde, Ellman yöntemi dışında farklı yöntemlerden yararlanılarak, antikolinesteraz aktivitenin tespit edilmesi literatürde mevcuttur (137, 257, 258).

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

Bitki Adı	Alkaloit Adı	Ekstre (Çalışılan Kısım)	Yöntem	Literatür No
<i>Ammocharis coranica</i> (Ker-Gawl.)	Likorin	Etanol (Soğan) Butanol (Soğan) Etil asetat (Soğan)	Ellman	259
<i>Amaryllis belladonna</i> L.	-	Metanol (Soğan) Toluen (Soğan)	Ellman	256
<i>Boophane disticha</i> (L.f.)	6-hidroksikrinamin	-	Ellman	260
<i>Chlidanthus fragrans</i> Herbert	-	Metanol (Soğan) Toluen (Soğan)	Ellman	256
<i>Crinum bulbispermum</i> (Burm.f.)	-	Etil asetat (Soğan)	Ellman	261
<i>Crinum bulbispermum</i> (Burm.f.)	-	Alkaloit (Soğan)	Ellman	262
<i>Crinum bulbispermum</i> (Burm. f.)	Krinamin 6-Hidroksi krinamin 8 α -Etoksi prekriwellin N-Demetil-8 α -etoksipretazettin N-Demetil-8 β -etoksipretazettin 3-O-Asetil hamayin	-	Ellman	11, 263
<i>Crinum glaucum</i> A. Chev.	Hamayin Krinamin Likorin	Metanol (Soğan)	Modifiye Ellman	264
<i>Crinum jagus</i> (Thomps.)	Hamentamin			
<i>Crinum macowanii</i> Baker	Hamayin Likorin			
<i>Crinum moorei</i> Hook.	Çerilin Epibufanisin Epivittatin Krinin Krinamidin 1-O-asetillikorin	-	Ellman	11, 263

Tablo 3. Kolinesteraz İnhibitör Aktiviteye Sahip Amaryllidaceae Türleri ve Alkaloitleri

Bitki Adı	Alkaloit Adı	Ekstre (Çalışılan Kısım)	Yöntem	Literatür No
<i>Crinum powelli</i> Baker	-	Alkol (Soğan)	Fast Blue B Testi	257
<i>Crinum powelli</i> Baker	-	Metanol (Soğan) Toluen (Soğan)	Ellman	256
<i>Crinum zeylanicum</i> (L)	-	Alkaloit (Soğan)	Ellman	262
<i>Calostemma purpureum</i> R.Br.	Likorin Galantin	-	Ellman	265
<i>Cyrtanthus contractus</i> N.E.Br.	Narsiprimin	-	Ellman	266
<i>Cyrtanthus falcatus</i> R. A. Dyer	Tazettin	-	Ellman	11, 263
<i>Eucharis amazonica</i> Linden	-	Metanol (Soğan) Toluen (Soğan)	Ellman	256
<i>Euchoris grandiflora</i> Planch.	Sanguinin	-	Ellman	255
<i>Galanthus elwesii</i> Hook.	İnkartin	Alkaloit (Total)	Ellman	267
<i>Galanthus elwesii</i> Hook	-	Alkaloit (Yaprak)	Ellman	268
<i>Galanthus elwesii</i> Hook.	-	Kloroform-metanol (Soğan) Alkaloit (Soğan)	Ellman	269
<i>Galanthus gracilis</i> Celak	-	Alkaloit (Toprak üstü, Toprak altı)	Ellman	270
<i>Galanthus ikariae</i> L.	-	Kloroform-metanol (Soğan) Alkaloit (Soğan)	Ellman	269
<i>Galanthus ikariae</i> L.	2-Demetoksimontanin 3-Epihidroksibulbispermin Krinin Likorin Tazettin	Alkaloit (Soğan)	Ellman	269
<i>Galanthus nivalis</i> L.	-	Alkaloit (Yaprak)	Ellman	268
<i>Galanthus nivalis</i> L.	-	Alkol (Soğan)	Fast Blue B Testi	257
<i>Galanthus reginae-olgae</i> Orph. subsp. <i>vernalis</i> Kamari	-	Metanol, n-Hekzan, Diklorometan, Etil asetat (Toprak üstü, Toprak altı)	Ellman	271

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

Bitki Adı	Alkaloit Adı	Ekstre (Çalışılan Kısım)	Yöntem	Literatür No
<i>Galanthus rizehensis</i> Stern	-	Alkaloit (Toprak üstü, Toprak altı)	Ellman	272
<i>Galanthus xvalentinei</i> nothosubsp. <i>subplicatus</i>	-	Alkaloit (Toprak üstü, Toprak altı)	Ellman	273
<i>Galanthus woronowii</i> Losinsk.	Galantin	-	Ellman	218
	Narvadin			
	O-metillökotamin			
	Stenbergin			
	Sanguinin			
	1-O-asetil-9-O-metilpsödolikorin			
	2-O-(30-hidroksibutenoil)lycorine			
	Likorin			
	Salsolin			
<i>Habranthus robustus</i> Herb.	-	Metanol (Soğan)	Ellman	256
<i>Habranthus jamesonii</i> (Baker)	-	Kloroform (Total)	Ellman	274
<i>Hippeastrelia</i>	-	Metanol (Soğan) Toluen (Soğan)	Ellman	276
<i>Hippeastrum</i> sp.	Montanin Hipeastrin Pretazettin	-	Modifiye Ellman	275
<i>Hippeastrum papilio</i> (Ravenna) Van Scheepen,	11 β -hidroksigalantamin	-	Ellman	276
<i>Hippeastrum puniceum</i> (Lam.)	-	Alkaloit (Soğan)	Ellman	262
<i>Hymenocallis festalis</i> Worsley	-	Metanol (Soğan) Toluen (Soğan)	Ellman	256
<i>Hymenocallis</i> “Sulphur Queen	-	Metanol (Soğan)		
<i>Hymenocallis caribaea</i> (L.)	-	Alkaloit (Soğan)	Ellman	262

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

Bitki Adı	Alkaloit Adı	Ekstre (Çalışılan Kısım)	Yöntem	Literatür No
<i>Ismene festalis</i> Worsley	-	Alkol (Soğan)	Fast Blue B Testi	257
<i>Leucojum aestivum</i> L.	-	Alkaloit (Yaprak, Soğan)	Ellman	268
<i>Leucojum aestivum</i> L.	-	Kloroform-metanol (Soğan) Alkaloit (Soğan)	Ellman	269
<i>Leucojum vernum</i> L.	-	Alkol (Soğan)	Fast Blue B Testi	257
<i>Lycoris radiata</i> Delay Paralysis	Hemantidin 1,2-Di-O-asetillikorin 1-O-asetillikorin Memantin	-	Biyokimyasal Dedeksiyon	277
<i>Narcissus assoanus</i> Dufour	-	Alkol (Soğan)	Ellman	255
<i>Narcissus</i> “Avalanche”	-	Metanol (Soğan) Toluen (Soğan)	Ellman	256
<i>Narcissus baeticus</i> Fdez. Casas	-	Alkol (Soğan)	Ellman	255
<i>Narcissus bujei</i> Fdez. Casas				
<i>Narcissus cantabricus</i> DC				
<i>Narcissus</i> “Carlton”	-	Metanol (Soğan)	Ellman, Akış-Biyokimyasal Dedeksiyon, On-line HPLC-UV-Biyokimyasal Dedeksiyon, On-line HPLC-UV-MS-Biyokimyasal Dedeksiyon	137
<i>Narcissus confusus</i> Pugsley	-	Alkol (Soğan)	Ellman	255
<i>Narcissus</i> cv “Bridal Crown”	-	Alkol (Soğan)	HPLC-MS Sürekli Akış Yöntemi	278
<i>Narcissus dubius</i> Gouan	-	Alkol (Soğan)	Ellman	255
<i>Narcissus eugeniae</i> Fdez. Casas				
<i>Narcissus fernandesii</i> Pedro				
<i>Narcissus</i> “Grand Soleil d’Or”	-	Metanol (Soğan)	Ellman	256
<i>Narcissus jacetanus</i> Fdez. Casas	-	Alkol (Soğan)	Ellman	255
<i>Narcissus jonquilla</i> L.	Dihidrogalantamin	Metanol (Total)	Modifiye “Fast Blue B” testi	145

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

Bitki Adı	Alkaloit Adı	Ekstre (Çalışılan Kısım)	Yöntem	Literatür No
<i>Narcissus legionensis</i> Pugsley	-	Alkol (Soğan)	Ellman	255
<i>Narcissus leonensis</i> Pugsley				
<i>Narcissus moschatus</i> L.				
<i>Narcissus muñozii-garmendiae</i> Fdez. Casas				
<i>Narcissus panizzianus</i> Parl.				
<i>Narcissus perez-chiscanoi</i> Fdez. Casas				
<i>Narcissus poeticus</i> L.				
<i>Narcissus pseudonarcissus</i> L.	-	Alkol (Soğan)	Fast Blue B Testi	257
<i>Narcissus</i> “Sir Winston Churchill”	Ungiminorin	Etanol (Soğan)	Ellman	279
<i>Narcissus tazetta</i> subsp. <i>tazetta</i> (L.)	-	Kloroform-metanol (Soğan) Alkaloit (Soğan)	Ellman	269
	3-Epihidrosibulbispermin	Alkaloit (Soğan)		
	Hemantamin	Alkaloit (Soğan)		
	N-Norgalantamin	Alkaloit (Soğan)		
<i>Narcissus tortuosus</i> Haworth	-	Alkol (Soğan)	Ellman	255
<i>Narcissus varieties</i>	-	Alkaloit (Yaprak) Alkaloit (Soğan)	Ellman	280
<i>Nerine bowdenii</i> W. Wats	-	Alkol (Soğan)	Fast Blue B Testi	257
<i>Nerine bowdenii</i> W. Wats	-	Metanol (Soğan) Toluen (Soğan)	Ellman	256
<i>Nerine bowdenii</i> W. Wats	Ambellin	Toluen (Soğan)	Ellman	281
	Bufanisin			
	Filifolin			
	11-O-asetilambellin			
	Undulatin			
<i>Pancratium canariense</i> Ker Gawler	-	Metanol (Soğan, Yaprak, Meyve) Alkaloit (Total)	Ellman	282

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

Bitki Adı	Alkaloit Adı	Ekstre (Çalışılan Kısım)	Yöntem	Literatür No
<i>Pancratium maritimum</i> L.	-	Alkaloit (Soğan)	Ellman	268
	-	Kloroform-metanol (Soğan) Alkaloit (Soğan)	Ellman	269
<i>Phycella herbertiana</i> LINDL	-	Kloroform (Total)	Ellman	274
<i>Rhodophila bifida</i> (Herb.) Traub	-	Metanol (Soğan) Toluen (Soğan)	Ellman	256
<i>Rhodophiala mendocina</i> (PHIL.)	-	Kloroform (Total)	Ellman	274
<i>Scadoxus puniceus</i> (L.) Friis & I. Nordal.	-	Etil asetat (Soğan)	Ellman	261
<i>Sprekelia formosissima</i> L.	-	Metanol (Soğan)		256
<i>Sternbergia colchiciflora</i> W. Et K.	-	Alkaloit (Total)	Ellman	268
<i>Sternbergia candida</i> Mathew Et T. Baytop	-	Etil asetat (Soğan) Metanol (Soğan) Su (Soğan)	Ellman	283
<i>Sternbergia clusiana</i> (Ker Gawl.) Ker Gawl. ex Spreng				
<i>Sternbergia fisheriana</i> (Herbert) Rupr.				
<i>Sternbergia lutea</i> subsp. <i>lutea</i>				
<i>Sternbergia lutea</i> subsp. <i>sicula</i>	-	Metanol (Soğan) Toluen (Soğan)	Ellman	256
<i>Zephyranthes candida</i> (Lindl.) Herb.				
<i>Zephyranthes concolor</i> (Lindl.)	Klidantin	-	Ellman	284
	Galantamin N-oksit			
	Galvesin			
<i>Zephyranthes concolor</i> Lindl.	-	Alkaloit (Total)	Ellman	268
<i>Zephyranthes carinata</i> Herbert	-	Alkaloit (Soğan)	Ellman	262

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

Bitki Adı	Alkaloit Adı	Çalışılan Kısım	Yöntem	Literatür
<i>Zephyranthes robusta</i> Baker#	3-Epimakronin Hipeastidin Likoramin Galantin Hemantamin Tazettin Vitatin Likorin 11-Hidroksivitatin Hemantidin Hamayin 8-O-Demetilmaritidin Huperzin Eserin	-	Ellman	285
<i>Zephyranthes robusta</i> Baker	8-O-Demethylmaritidine Undulatine	-	Ellman	286
<i>Zephyranthes filifolia</i> (HERB.)	-	Kloroform (Total)	Ellman	274
*	Assoanin	-	Ellman	255
*	Çerilin	-	Ellman	11
*	2-O-asetillikorin 1,2-Di-O-asetillikorin	**	Ellman	11, 263
*	Epinorgalantamin Galantamin 11-Hidroksi galantamin Oksoassoanin Psödolikorin	-	Ellman	255

#Hem asetilkolinesteraz hem de butirilkolinesteraz aktivitesi çalışılan Amaryllidaceae türleri ve alkaloitleri

*Amaryllidaceae familyasına ait çeşitli türlerinden izole edildikleri rapor edilmiştir.

**İlgili literatürlerde likorinden asetilasyonla elde edildiği bildirilmiştir.

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

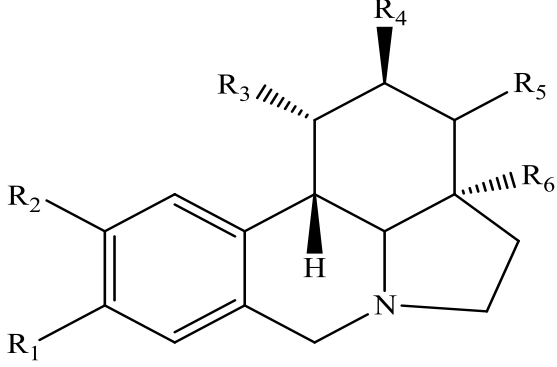
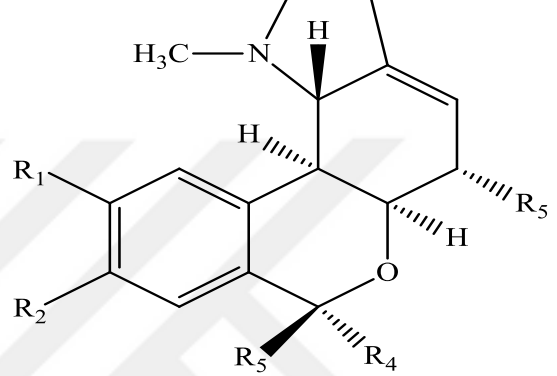
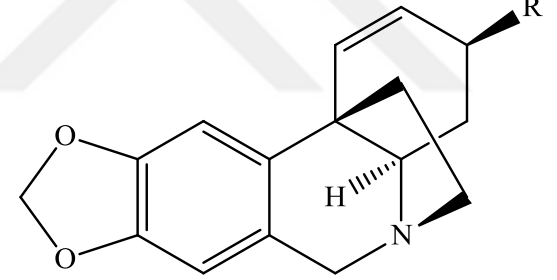
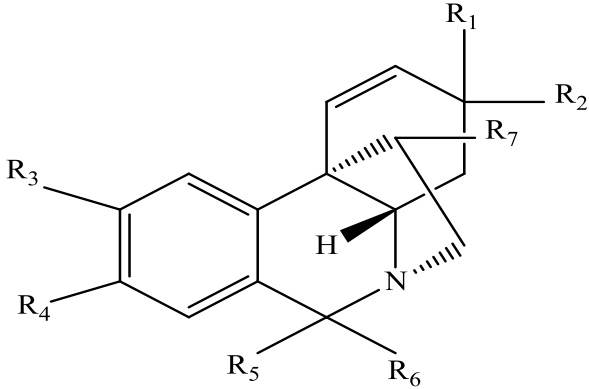
1.3.2. Antikolinesteraz Aktivite Rehberliğinde İzolasyon ve Yapı Aydınlatma Çalışmaları

Dünyada seksen beş genus ve yaklaşık bin yüz türle temsil edilen Amaryllidaceae familyasının, ülkemizde sekiz genusu ve bu genuslara dahil yaklaşık otuz türü bulunmaktadır. (76-78). Biyojenezleri ve biyolojik aktiviteleri açısından dikkat çeken Amaryllidaceae alkaloitleri, biyojenetik olarak norbelladinin fenolik bağlarla çeşitli şekillerde bağlanması sonucu oluşurlar (287). Bu alkaloitler ile ilgili ikincil kaynak değeri taşıyan yayınlar mevcuttur. "The Alkaloids, Chemistry and Biology" adı altında yayınlanmakta olan bir seri kitabın 2. (288), 6. (289), 11. (290), 15. (291), 30. (292), 51. (293), 63. (294) ve 68. (295) ciltlerinde, Amaryllidaceae alkaloitleriyle ilgili derlemeler bulunmaktadır. Bu derlemelerden 2010 yılında yayınlanmış olan 68. ciltte (295), *Pancratium* türlerinden elde edilen alkaloitlerle ilgili yayında Amaryllidaceae alkaloitleri sekiz ana başlık altında toplanmıştır.

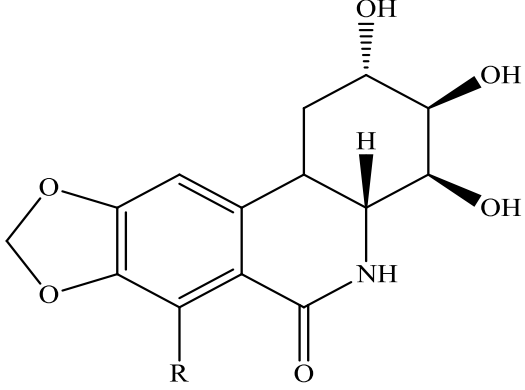
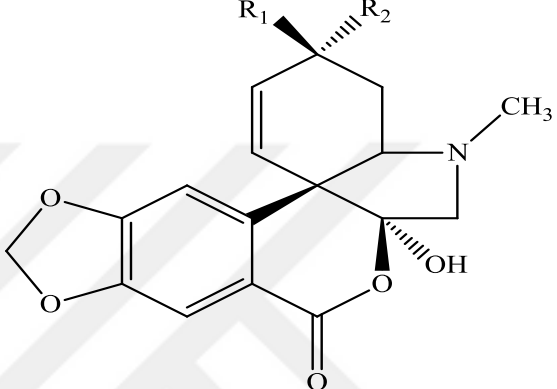
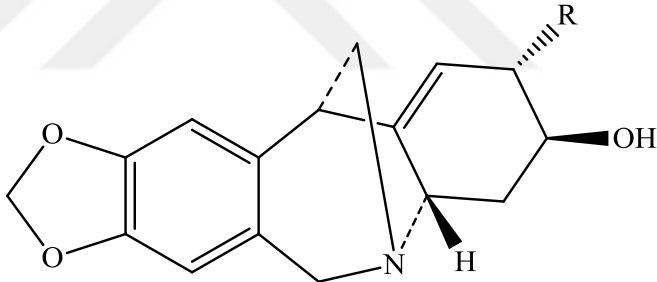
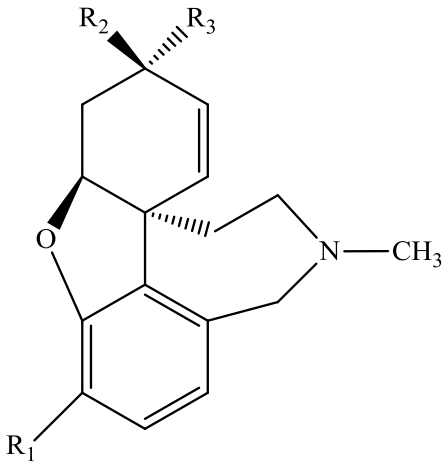
- 1) Likorin tip alkaloitler
- 2) Homolikorin tip alkaloitler
- 3) Krinin tip alkaloitler
- 4) Hemantamin tip alkaloitler
- 5) Narsiklasin tip alkaloitler
- 6) Tazettin tip alkaloitler
- 7) Montanin tip alkaloitler
- 8) Galantamin tip alkaloitler

Daha sonra, Plikamin ve grasilin olarak adlandırılan iki alt grup Amaryllidaceae alkaloitlerine dahil edilmiştir. Bu alt gruplara ait çeşitli alkaloitler, *Galanthus* türlerinden (11, 109, 110, 296) ve plikamin alt grubuna dahil plikamin alkaloidi *Crytanthus* türünden izole edilmiştir (297). Söz konusu on alt gruba ait temel halka yapıları ve *Galanthus* türlerinde bulunan örnekleri Tablo 4'de verilmiştir.

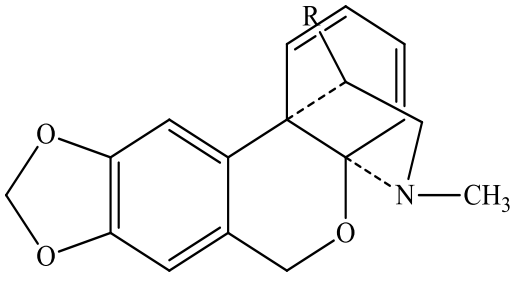
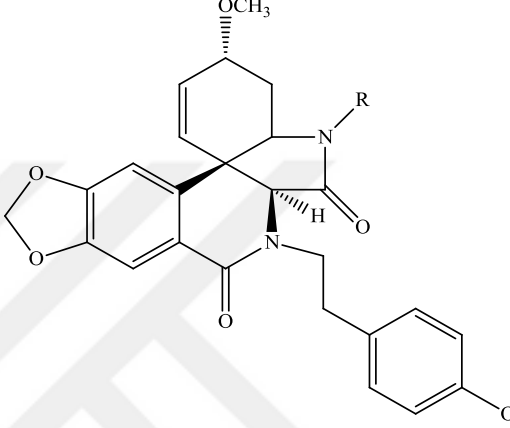
İkincil kaynak değeri taşıyan derlemeler serisi, on üç ciltlik "The Alkaloids Specialist Periodical Reports" ile başlayıp, 1984 yılından bu yana ise "Natural Product Reports" ismiyle devam eden seride yayınlanmaktadır. (298-301, 302-308, 309-320). Amaryllidaceae alkaloitlerinin biyojenezlerini ve farmakolojik aktivitelerini konu alan yine derleme türünde çalışmalar da mevcuttur (287, 321-326).

1. Likorin Tip (4,5-Etanofenantridin) Örnek: Likorin $R_1=R_2=OCH_2O$ $R_3=R_4=OH$ $R_5=R_6=Çifte bağ$	
2. Homolikorin Tip (2-Benzopirano[3,4]indol) Örnek: Hippeastrin $R_1=R_2=H$ $R_3=R_4=O$ $R_5=OH$	
3. Krinin Tip (β-5,10b-Etanofenantridin) Örnek: Krinin $R=OH$	
4. Hemantamin Tip (α-5,10b-Etanofenantridin) Örnek: Hemantamin $R_1=OCH_3$ $R_2=R_5=R_6=H$ $R_3+R_4=CH_2$ $R_7=OH$	

Tablo 4. Amaryllidaceae Alkaloitlerinin 10 Ana Alt Grubu

5. Narsiklasin Tip (Fenantridon) Örnek: Narsiklasin R= OH	
6. Tazettin Tip (2- Benzopirano[3,4c]indol) Örnek: Tazettin R₁= OCH₃ R₂= H	
7. Montanin Tip (Methanomorfantridin) Örnek: Montanin R= OCH₃	
8. Galantamin Tip (Dibenzofuran) Örnek: Galantamin R₁= OMe R₂= H R₃= OH	

Tablo 4' ün Devamı. Amaryllidaceae Alkaloitlerinin 10 Ana Alt Grubu

9. Grasilin Tip (10b,4a-etanoiminodibenzo [3,4d]piran)(2benzopirano [3,4d]indol) Örnek: Grasilin R= H	
10. Plikamin Tip 5-(4-hidroksifenetil-[1,3-dioksolo[4,5-g]indolo[3,3a-c]izokinolin-6,12-dion Örnek: Plikamin R= CH₃	

Tablo 4' ün Devamı. Amaryllidaceae Alkaloitlerinin 10 Ana Alt Grubu

1940 yılında Areshkina tarafından yapılan, *G. woronowii* üzerinde total alkaloit miktar tayini çalışması *Galanthus* türleri üzerine yapılmış ilk araştırmadır. Bu çalışmada, bitkinin toprak altında % 1.03, toprak üstünde ise % 0.60 oranında alkaloit olduğu saptanmıştır. Bunun dışında incelenen örnekte yüksek oranda şeker, nişasta ve hemiselüloz bulunduğu da belirtilmektedir **(118)**.

1947 yılında Proskurnina ve Areshkina tarafından yapılan *G. woronowii*' nin soğanlarından elde edilen drog üzerinde gerçekleştirilen çalışma, *Galanthus* genusu üzerinde yapılan ilk izolasyon çalışmasıdır **(327)**. Bu çalışmada galantin ve galantidin isimli iki yeni alkaloit izole edilmiştir. Bu alkaloitlerden galantidin, bugün likorin adıyla bilinmektedir **(328)**.

Galanthus türlerinde bulunan alkaloitlerle ilgili çalışmaların yer aldığı "The Alkaloids Chemistry and Biology" adlı seri halinde yayınlanan kitapta bulunan

derleme türü yazılar incelenip, bir tablo halinde (Tablo 5) sunulmuştur. Ancak bu tablonun hazırlanması esnasında bazı hususlar saptanmıştır.

1) Wildman'ın 1960 yılında yayınlanan derlemesinde *G. woronowii* doğru şekilde yazılmış, ancak otör adı olarak Losinsk kullanılmıştır. Ayrıca yine Wildman'ın 1968 yılında Fuganti'nin 1975 yılında yayınladığı derlemelerde ise *G. woronovii* Losinsk. olarak belirtilmiştir **(289-291)**. Ancak bu tür "Flora USSR" da *G. woronowii* A. Los. adıyla yer almaktadır **(329)**. Wildman'ın 1968 yılında yaptığı derlemesinde, makalenin aslını görmediği, sadece makale özetinden yararlandığı anlaşılmaktadır. Bu özette bitki adı doğru olarak yazılmış, ancak otör adı ise belirtilmemiştir. O halde Wildman, otör ismini eklemiş, ayrıca bitkinin isminde bir harf hatası yapmıştır. Bu araştırmada söz konusu tür, *G. woronowii* A. Los. olarak yer almaktadır.

2) Wildman'ın 1960 yılında yayınlanan derlemesinde **(289)**, *G. nivalis* L. türünde bulunduğu belirtilen nivalin adlı alkaloit, galantaminin sinonimidir.

3) Wildman'ın 1968 yılında yayınlanan derlemesinde **(290)**, *G. nivalis* var. *gracilis* L. isimli bir *Galanthus* türüne yer verilmiştir. Bu isim makale özetinde olduğu gibi alınmıştır.

4) Aynı derlemede **(364)**, *G. nivalis* L. bitkisinde bulunduğu belirtilen hemantidin alkaloidi yanlış olarak yazılmış, primer literatür **(330)** incelendiğinde doğrusunun hemantamin olması gerektiği saptanmıştır.

5) Yine Wildman'ın 1968 yılında yayınladığı derlemede **(290)** *G. woronowii* bitkisinde galantamin, galantin ve tazettin adlı alkaloitlerin bulunduklarını belirtilmiştir. Ancak kaynak olarak gösterilen literatür tarafımızdan incelenmiş ve araştırmada sadece galantin ve tazettin adlı alkaloitlerin belirtildiği görülmüştür **(331)**. Buna karşılık likorin ve galantaminin, aynı araştırmacının daha önce 1952 yılında Proskurnina ile birlikte yaptıkları bir yayında **(217)** konu edildiği görülmektedir. Wildman'ın konu ettiği yayın **(331)**, esasen 1952'deki araştırmanın devamı niteliğinde olup, Wildman'ın bu iki yayının sonuçlarını, daha sonraki yayında birleştirdiği görülmektedir.

6) "Flora URSS" de *Galanthus caucasicus* (Baker) Grossh. olarak belirtilen türle ilgili 1975 yılında Fuganti bir derleme yayınlamıştır. Bu derlemede *G. caucasicus* Baker türünden bahsedilmekte **(291)**, ancak yazarın referans gösterdiği üç makale özetinde de otör adı yer almamaktadır. Ayrıca yazar bu bitki için *G. nivalis* h.

şeklinde bir sinonimden bahsetmektedir. Bu bilginin kaynağı ise tespit edilememiştir. "Flora URSS" de bu bitki için sinonim olarak *G. nivalis* var. *caucasicus* Baker adı bildirilmektedir.

7) Aynı derlemede (291) *G. krasnovii* Khokhr. adlı bir türe de yer verilmiştir. "Flora of Turkey and the East Aegean Islands" adlı kaynakta bu bitki için *G. krasnovii* A. Khokhr. adı kullanılmıştır (76). Yine bu derlemede (291), yazarın primer kaynağa (225) dayanarak *G. krasnovii* Khokhr. türünde likorin varlığının saptandığını rapor ettiği görülmektedir. Bu primer kaynağa ulaşamamakla birlikte bu kaynağın "Chemical Abstracts" da yer alan özetinde likorin adı hiç geçmemekte, buna karşın galantaminden bahsedilmektedir.

8) Martin tarafından 1987 yılında yapılan derlemede, *Galanthus* türlerindeki galantamin varlığı, bazı Amaryllidaceae türlerinde galantamin içeriğiyle ilgili olarak yapılmış çeşitli çalışmalardan yararlanılarak rapor edilmiştir (292). Derlemeyi yapan yazarın incelediği primer kaynaklarda (194, 205-207) *G. woronowii*, *G. nivalis*, *G. nivalis* subsp. *angustifolius*, *G. elwesii* ve *G. nivalis* var. *gracilis* adlı bitki isimlerine rastlanırken, derlemede galantamin kaynağı olarak *G. woronowii*, *G. nivalis* (*angustifolius*), *G. elwesii*, *G. nivalis* var. *gracilis* türlerine yer verilmektedir.

9) Hoshino tarafından 1998 yılında yapılan derlemede (293), *Galanthus elwesii*'de bulunan alkaloidlerden 9-O-demetilgalwesin, hatalı olarak "9-Odemethylgalwesie" şeklinde yazılmıştır.

Bitki Adı	Alkaloit Adı	Literatür No
<i>G. caucasicus</i> Baker (<i>G. nivalis</i> h.)	Baz E. D. 2140 Demetilhomolikorin Galantamin Galantin Galantusin Likorin Tazettin	291
<i>G. elwesii</i> Hook. f. (<i>G. elwesii</i>)	N-Demetilgalantamin 9-O-Demetilgalwasin 9-ODemetilhomolikorin Elwesin Fleksinin Galantamin Galantin Galasin Galwesin Hemantidin 16-Hidroksi-9-O Demetilgalwesin 16-Hidroksigalwesin 16-Hidroksivittatin Lökotamin Likorin 5-Metoksi-9-O-Demetilhomolikorin Narwedin Sanguinin Tazettin	293 293 293 289 289 289, 290, 292, 293 293 293 293 293 289 293 293 293 293 289, 290, 293 293 293 293 289,290
<i>G. krasnovii</i> Khokhr.	Likorin Kriwellin Galantamin Hemantamin Hippeastrin Likorin Magnarsin Masosin Nartazin Narwedin Nivalidin Nivalin Tazettin	291 290 290, 291 290 290, 291 289-291 290 290 290 290, 291 291 289 289-291
<i>G. nivalis</i> (<i>angustifolius</i>)	Galantamin	292

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

Bitki Adı	Alkaloit Adı	Literatür No
<i>G. nivalis</i> var. <i>gracilis</i> L. (<i>G. nivalis</i> var. <i>gracilis</i>)	Galantamin	290, 292
<i>G. woronowii</i> Losinsk (<i>G. woronowii</i>) (<i>G. woronowii</i> Losinsk.)	Total Alkaloit Galantamidin Galantamin Galantidin Galantin Likorin Tazettin	288 289 289-292 291 289-291 289 290

Not: Bitki isimleri literatürde belirtildiği şekli ile aynen alınmıştır

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

Alkaloit içeriği araştırılmış *Galanthus* türleri ve bu türlerden izole edilen alkaloitleri gösteren bir tablo "Dictionary of Alkaloids" adlı kitap kaynaktan (332) yararlanılarak, hazırlanmıştır (Tablo 6). Bu kaynakta *G. woronowii* bitkisine ait bilgiler, iki farklı ve hatalı olan isim altında yer almaktadır. Ancak ilgili tablodaki isimler kaynaktaki yazılışlarına sadık kalınarak aynen yazılmıştır.

Bu konuda bir başka tablo da (Tablo 7), "Chemical Abstracts" taramaları sonucunda elde edilen özetler ve bunlardan hareketle ulaşılabilen primer kaynaklara dayanılarak hazırlanmıştır. Bu tabloda izolasyon, yapı aydınlatma ve gaz kromatografisi-kütle spektrometresiyle incelenen *Galanthus* türleri, bu türlerden elde edilen alkaloitler ve bu alkaloitlerin dahil olduğu alt gruplar yer almaktadır. Bu derlemede yer alan bitkiler tür seviyesinde ele alınmışlardır. Aynı tür adı altında, bu türlere ait alt türlerle, bunların sinonimlerine de yer verilmiştir. Tablo 7'de adı geçen *Galanthus* türlerinin alt tür ve sinonimleri başka bir tabloda verilmiştir (Tablo 8).

<i>G. elwesii</i>	Elwesin Galasin 5-Metoksi-9-O-demetilhomolikorin, Galwesine, 9-O-Demethylgalwesine, 16-Hidroksigalwesin 16-Hidroksi-9-O-demetilgalwesin İnkartin
<i>G. gracilis</i>	Digrasin Grasilamin Grasilin 3-Epi-3,4-dihidro-3-hidroksigrasilin 3,4-Dihidro-3-hidroksigrasilin O-Demetillmakronin Isotazettinol,
<i>G. woronowii</i>	Galantamidin Galantamin; (-)-form Galantin
<i>G. nivalis</i>	Narwedın 11-O-(3-Hidroksibutenoil)-hamayın 3-O-(2EButenol)-11-O-(3-hidroksibutenol)-hamayın 3,11-Bis-O-(3-hydroxybutanoyl)-hamayın 3,3',11-Tris-O-(3-hidroksibutenol)-hamayın 2-O-(3-Asetoksibutenol)likorin Magnarsin Masonin Kriwellin Nartazin
<i>G. plicatus ssp. byzantinus</i>	Galantindol 11-Asetoksigrasilin 11-Hidroksivittatin N-Formilismin Plikamin Plikan O-Demetil-3-epimakronin Sekoplikamin 3-O-(3-Hidroksibutenol)tazettinol,
<i>G. caucasicus</i>	Alkaloid A-300 Galantusin
<i>G. nivalis var gracilis</i>	Nivalidin

Not: Bitki isimleri literatürde belirtildiği şekli ile aynen alınmıştır

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

Alkaloit Grubu	Alkaloit Adı	Bitki Adı	Literatür No
Krinin	A-1	<i>G. nivalis</i> L.	333
	A-2	<i>G. nivalis</i> L.	333
	A-3	<i>G. nivalis</i> L.	333
	A-4	<i>G. nivalis</i> L.	333
	Bufanisin	<i>G. elwesii</i> Hook.	192, 268
	Dihidrovittatin	<i>G. elwesii</i> Hook.	187, 334
	Elwesin (Dihidrokrinidin)	<i>G. elwesii</i> Hook.	223
	3-Epihidroksibulbispermin	<i>G. ikariae</i> L.	269
	Fleksinin	<i>G. elwesii</i> Hook.	223
	G5	<i>G. elwesii</i> Hook.	192
	G6	<i>G. elwesii</i> Hook.	192
	G7	<i>G. elwesii</i> Hook.	192
	Hamayin	<i>G. nivalis</i> L. <i>G. elwesii</i> Hook. <i>G. xvalentinei</i> nothosubsp. <i>subplicatus</i>	333, 335 336 273
	3-O-(2''-butenoil)-11-O- (3'-hidroksibutanoil) hamayin	<i>G. nivalis</i> L. <i>G. xvalentinei</i> nothosubsp. <i>subplicatus</i>	333,3 35 273
	3-O-(2'' -bütenoil)-11-O-3'-hidroksibutanoil) hamayin izomer	<i>G. nivalis</i> L.	333
	3,11-O-(3',3''-dihidroksibutanoil) hamayin	<i>G. nivalis</i> L. <i>G. xvalentinei</i> nothosubsp. <i>subplicatus</i>	333, 335, 336 273
	3,11-3''-O-(3',3'',3'''-trihidroksibutanoil) hamayin	<i>G. nivalis</i> L.	335,336
	3,3',-O-(3',3''-dihidroksibutanoil) hamayin	<i>G. nivalis</i> L.	336
	11,3',-O-(3',3''-dihidroksibutanoil) hamayin	<i>G. nivalis</i> L.	336
	11-O-(3'-hidroksibutanoil) hamayin	<i>G. nivalis</i> L. <i>G. elwesii</i> Hook. <i>G. xvalentinei</i> nothosubsp. <i>subplicatus</i>	268, 333, 335, 336 268, 336 273

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

Alkaloit Grubu	Alkaloit Adı	Bitki Adı	Literatür No
Krinin	Hemantamin	<i>G. elwesii</i> Hook. <i>G. nivalis</i> L. <i>G. trojanus</i> A. P. Davis & N. Özhatay <i>G. xvalentinei</i> nothosubsp. subplicatus	192, 268, 333, 337 330 338 273
	6-Hidroksihemantamin	<i>G. elwesii</i> Hook.	268
	Hemantidin	<i>G. elwesii</i> Hook.	187, 334
	Krinin	<i>G. elwesii</i> Hook. <i>G. ikariae</i> L.	192, 337 269
	8-O-Demetilmaritidin	<i>G. trojanus</i> A. P. Davis & N. Özhatay <i>G. rizehensis</i> Stern	338 272
	9-O-Demetilmaritidin	<i>G. gracilis</i> Celak.	270
	Krinin	<i>G. reginae-olgae</i> Orph. subsp. <i>vernalis</i> Kamari	192, 271
	Maritidin	<i>G. elwesii</i> Hook.	192, 268
	Vittatin	<i>G. trojanus</i> A. P. Davis & N. Özhatay <i>G. elwesii</i> Hook. <i>G. gracilis</i> Celak. <i>G. rizehensis</i> Stern <i>G. xvalentinei</i> nothosubsp. subplicatus	339 268, 333 270 229 273
	11-Hidroksivittatin	<i>G. elwesii</i> Hook. <i>G. plicatus</i> Bieb. <i>G. trojanus</i> A. P. Davis & N. Özhatay <i>G. nivalis</i> L. <i>G. rizehensis</i> Stern	341 110 339 268 229
	11-Hidroksivittatin N-oksit	<i>G. trojanus</i> A. P. Davis & N. Özhatay	338
Galantamin	Galantamin (Nivalin)	<i>G. caucasicus</i> (Baker) Grossh. <i>G. elwesii</i> Hook.	139, 227, 342 192, 197, 220, 223, 268, 337, 341, 334

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

Alkaloit Grubu	Alkaloit Adı	Bitki Adı	Literatür No
Galantamin	Galantamin (Nivalin)	<i>G. ikariae</i> Baker <i>G. krasnovii</i> A. Khokr. <i>G. latifolius</i> Rupr. <i>G. nivalis</i> L. <i>G. reginae-olgae</i> Orph. subsp. <i>vernalis</i> Kamari <i>G. woronowii</i> Losinsk. <i>G. gracilis</i> Celak. <i>G. rizehensis</i> Stern <i>G. xvalentinei</i> nothosubsp. <i>Subplicatus</i>	187, 269, 334 139, 225, 343 139 48, 125, 194, 222, 228, 330, 344 271 139, 143, 345, 346 270 272 273
	N-Demetilgalantamin(Norgalantamin)	<i>G. elwesii</i> Hook	192, 341
	N-Formilgalantamin	<i>G. elwesii</i> Hook.	192
	N-Formilnorgalantamin	<i>G. elwesii</i> Hook.	268
	Epinorgalantamin	<i>G. elwesii</i> Hook.	268
	Likoramin	<i>G. elwesii</i> Hook. <i>G. nivalis</i> L.	268 347
	Nor-likoramin (N-Demetillikoramin)	<i>G. elwesii</i> Hook.	192, 268
	Lökotamin	<i>G. elwesii</i> Hook.	341
	O-Metillökotamin	<i>G. elwesii</i> Hook. <i>G. woronowii</i> Losinsk.	192, 268, 341 218
	Narwedin	<i>G. elwesii</i> Hook. <i>G. nivalis</i> <i>G. woronowii</i> Losinsk..	192, 268, 341 330 218
	Nivalidin (6-O-Metilapogalantamin)	<i>G. nivalis</i> L.	125, 205, 344, 348
	Sanguinin	<i>G. elwesii</i> Hook. <i>G. woronowii</i> Losinsk.	341 218
Grasilin	11-Asetoksigrasilin	<i>G. gracilis</i> Celak.	296
	Digrasin	<i>G. gracilis</i> Celak.	296
	3,4-Dihidro-3-hidroksigrasilin	<i>G. gracilis</i> Celak.	296
	3-Epi-3,4-dihidro-3-hidroksigrasilin	<i>G. gracilis</i> Celak.	111

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

Alkaloit Grubu	Alkaloit Adı	Bitki Adı	Literatür No
Plikamin	Plikamin	<i>G. plicatus</i> Bieb.	110
	Plikan	<i>G. plicatus</i> Bieb.	111
	Sekoplikamin	<i>G. plicatus</i> Bieb.	110
Likorenin	G1	<i>G. elwesii</i> Hook.	192
	G2	<i>G. elwesii</i> Hook.	192
	G3	<i>G. elwesii</i> Hook.	192
	G4	<i>G. elwesii</i> Hook.	192
	Galantusin	<i>G. woronowii</i> Losinsk. <i>G. caucasicus</i> (Baker) Grossh.	139 139
	Galasin	<i>G. elwesii</i> Hook.	341
	Galwesin	<i>G. elwesii</i> Hook.	192, 268, 333, 341
	Demetilgalwesin	<i>G. elwesii</i> Hook.	268
	8-O-demetilgalwesin	<i>G. elwesii</i> Hook.	333
	9-O-Demetilgalwesin	<i>G. elwesii</i> Hook.	268, 341
	Demetilhomolikorin	<i>G. caucasicus</i> (Baker) Grossh. <i>G. woronowii</i> Losinsk.	139, 342 139
	8-O-Demetilhomolikorin*	<i>G. elwesii</i> Hook.	333, 349
	9-O-Demetilhomolikorin*	<i>G. elwesii</i> Hook.	341, 350
	Hippeastrin	<i>G. elwesii</i> Hook. <i>G. nivalis</i> L.	268, 333, 349 228, 330, 344
	Homolikorin	<i>G. elwesii</i> Hook. <i>G. xvalentinei</i> nothosubsp. <i>subplicatus</i>	333 273
	16-Hidroksi-9-O-demetilgalwesin	<i>G. elwesii</i> Hook.	341
	16-Hidroksigalwesin	<i>G. elwesii</i> Hook.	341
	Likorenan	<i>G. reginae-olgae</i> Orph. subsp. <i>vernalis</i> Kamari	271
	Masonin	<i>G. nivalis</i> L. <i>G. elwesii</i> Hook.	330 333
	2-Metoksi-8-O-demetilhomolikorin*	<i>G. elwesii</i> Hook.	333
	5-Metoksi-9-O-demetilhomolikorin*	<i>G. elwesii</i> Hook.	341
	8-O-Demetilhomolikorin	<i>G. gracilis</i> Celak.	270

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

Alkaloit Grubu	Alkaloit Adı	Bitki Adı	Literatür No
Likorenin	2-Metoksihomolikorin	<i>G. elwesii</i> Hook.	333
	Neronin	<i>G. reginae-olgae</i> Orph. subsp. <i>vernalis</i> Kamari	271
	Dihidrolikorin	<i>G. trojanus</i> A. P. Davis & N. Özhatay	338
	Anhidrolikorin	<i>G. nivalis</i> L. <i>G. elwesii</i> Hook. <i>G. rizehensis</i> Stern	333 333 272
	Galantin	<i>G. caucasicus</i> (Baker) Grossh. <i>G. elwesii</i> Hook. <i>G. ikariae</i> Baker <i>G. woronowii</i> Losinsk. <i>G. rizehensis</i> Stern	139, 227, 342, 352 333, 341 187, 334 139, 217, 327, 346 272
Likorin	A-5	<i>G. nivalis</i> L.	333
	İnkartin	<i>G. elwesii</i> Hook. <i>G. nivalis</i> <i>G. rizehensis</i> Stern <i>G. xvalentinei</i> nothosubsp. <i>subplicatus</i>	268, 333, 336, 349 268, 333 229 273
	İnkartin N-oksit	<i>G. rizehensis</i> Stern	229
	Hippamin	<i>G. rizehensis</i> Stern	272
	Karanin	<i>G. nivalis</i>	333
	O-Asetilkaranin	<i>G. rizehensis</i> Stern	272
	Likorin (Galantidin)	<i>G. caucasicus</i> (Baker) Grossh. <i>G. elwesii</i> Hook. <i>G. ikariae</i> Baker <i>G. nivalis</i> L. <i>G. trojanus</i> A. P. Davis & N. Özhatay <i>G. woronowii</i> Losinsk. <i>G. krasnowii</i> A. Khokr.	139, 227, 342, 352 187, 220, 223, 268, 333, 334, 336, 341 187, 269, 334 48, 219, 222, 228, 268, 330, 333, 335, 336, 344, 345 339 139, 217, 221, 327, 346 139

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

Alkaloit Grubu	Alkaloit Adı	Bitki Adı	Literatür No
Likorin	Likorin (Galantidin)	<i>G. latifolius</i> Rupr.	139
		<i>G. rizehensis</i> Stern	229, 272
		<i>G. xvalentinei</i> nothosubsp. <i>subplicatus</i>	273
	Likorin <i>N</i> -oksit	<i>G. rizehensis</i> Stern	229
	2- <i>O</i> -(3'-Asetoksibutanoil) likorin	<i>G. nivalis</i> L.	333, 335
		<i>G. elwesii</i> Hook.	336
	2''- <i>O</i> -(3'-Hidroksibutanoil)likorin	<i>G. nivalis</i> L.	333
	2- <i>O</i> -(3'-Hidroksibutanoil)likorin	<i>G. elwesii</i> Hook.	336
		<i>G. woronowii</i> Losinsk.	218
	2''- <i>O</i> -(3'-Hidroksibutanoil)likorin izomer	<i>G. nivalis</i> L.	333
	11,12-Didehidroanhidrolikorin	<i>G. rizehensis</i> Stern	272
	Ungeremin	<i>G. nivalis</i> L.	335
	Pluvin	<i>G. gracilis</i> Celak.	270
	1-Asetilpulvin	<i>G. rizehensis</i> Stern	272
	Assoanin	<i>G. gracilis</i> Celak.	270
Narsiklasin	Oksoassoanin	<i>G. gracilis</i> Celak.	270
		<i>G. rizehensis</i> Stern	272
	Stenbergin	<i>G. gracilis</i> Celak.	270
		<i>G. rizehensis</i> Stern	272
		<i>G. woronowii</i> Losinsk.	218
	8- <i>O</i> -Demetilvaskonin	<i>G. nivalis</i> L.	336
	1- <i>O</i> -Asetildihidrometilpsödolikorin <i>N</i> -oksit	<i>G. trojanus</i> A. P. Davis & N. Özhatay	338
	1- <i>O</i> -Asetil- <i>O</i> -metilpsödolikorin	<i>G. woronowii</i> Losinsk.	218
	Arolikorisidin	<i>G. trojanus</i> A. P. Davis & N. Özhatay	338
	Likorisidin (Margetin)	<i>G. elwesii</i> Hook.	351
		<i>G. nivalis</i> L.	
	Narsiklasin	<i>G. elwesii</i> Hook.	351
		<i>G. nivalis</i> L.	
	Narsidin	<i>G. trojanus</i> A. P. Davis & N. Özhatay	338

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

Amaryllidaceae Alkaloitleri

Alkaloit Grubu	Alkaloit Adı	Bitki Adı	Literatür No
Fenantridin	5,6-Dihidrobikolorin	<i>G. xvalentinei</i> nothosubsp. <i>subplicatus</i>	273
	<i>N</i> -Formilismin	<i>G. plicatus</i> Bieb.	111
	İsmin	<i>G. plicatus</i> Bieb. <i>G. nivalis</i> L. <i>G. elwesii</i> Hook. <i>G. gracilis</i> Celak. <i>G. rizehensis</i> Stern <i>G. xvalentinei</i> nothosubsp. <i>subplicatus</i>	353 268, 333, 335, 336 347 270 272 273
	Trisferidin	<i>G. plicatus</i> Bieb. <i>G. plicatus</i> Bieb. <i>G. elwesii</i> Hook. <i>G. rizehensis</i> Stern <i>G. nivalis</i> L. <i>G. gracilis</i> Celak. <i>G. xvalentinei</i> nothosubsp. <i>subplicatus</i>	354 355 192, 268, 333 272 268, 333 270 273
Tazettin	Kriwellin	<i>G. nivalis</i> L.	330
	Makronin	<i>G. nivalis</i> L. <i>G. xvalentinei</i> nothosubsp. <i>subplicatus</i>	333 273
	Epimakronin	<i>G. rizehensis</i> Stern <i>G. xvalentinei</i> nothosubsp. <i>subplicatus</i>	272 273
	3- <i>O</i> -Demetilmakronin	<i>G. gracilis</i> Celak.	270
	3-Epimakronin	<i>G. plicatus</i> Bieb. <i>G. nivalis</i> L.	353, 356 268, 333, 336
	3- <i>O</i> -Demetil-3-epimakronin	<i>G. plicatus</i> Bieb.	354
	Tazettin	<i>G. caucasicus</i> (Baker) Grossh. <i>G. elwesii</i> Hook. <i>G. ikariae</i> Baker <i>G. nivalis</i> L.	139, 242, 352 187, 192, 220, 223, 268, 334 269 48, 182, 219, 222, 228, 268, 333, 335, 336, 344

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

Alkaloit Grubu	Alkaloit Adı	Bitki Adı	Literatür No
Tazettin	Tazettin	<i>G. reginae-olgae</i> Orph. subsp. <i>vernalis</i> Kamari <i>G. woronowii</i> Losinsk. <i>G. krasnowii</i> A. Khokr. <i>G. latifolius</i> Rupr. <i>G. plicatus</i> Bieb. <i>G. gracilis</i> Celak. <i>G. rizehensis</i> Stern <i>G. xvalentinei</i> nothosubsp. <i>subplicatus</i>	271 139, 331 139 139 356 270 272 273
	6-Deoksitazettin	<i>G. nivalis</i> L.	333
	6-O-Metilpretazettin	<i>G. gracilis</i> Celak.	270
	11-Deoksitazettin	<i>G. gracilis</i> Celak. <i>G. rizehensis</i> Stern	270 272
	3-O-(3-Hidroksibütiril) tazettinol	<i>G. plicatus</i> Bieb	111
Montanin	2-Demetoksimontanin	<i>G. ikariae</i> Baker	269
Diğer Alkaloitler	1-Asetil- β -karbolin	<i>G. rizehensis</i> Stern	272
	8-O-Metilnorbelladin	<i>G. trojanus</i> A. P. Davis & N. Özhatay <i>G. rizehensis</i> Stern	338 229, 272
	Bulbokapnin	<i>G. trojanus</i> A. P. Davis & N. Özhatay	339
	3-Epihidroksibulbispermin	<i>G. ikariae</i> Baker	269
	(E)-N-feruloiltiramin	<i>G. elwesii</i> Hook.	341
	Galantindol	<i>G. plicatus</i> Bieb. <i>G. gracilis</i> Celak. <i>G. xvalentinei</i> nothosubsp. <i>subplicatus</i>	340 270 273
	Galantusin	<i>G. caucasicus</i> (Baker) Grossh.	342, 357, 358
	Grasilamin	<i>G. gracilis</i> Celak.	109

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

Alkaloit Grubu	Alkaloit Adı	Bitki Adı	Literatür No
Diğer Alkaloitler	Hordenin	<i>G. elwesii</i> Hook. <i>G. plicatus</i> Bieb. <i>G. nivalis</i> L. <i>G. rizehensis</i> Stern	268, 333, 341, 349 340 333 272
	Hordenin-türevi alkaloit	<i>G. elwesii</i> Hook.	268
	Kapnoidin	<i>G. trojanus</i> A. P. Davis & N. Özhatay	339
	N-Metiltiramin	<i>G. elwesii</i> Hook.	333
	Tiramin	<i>G. trojanus</i> A. P. Davis & N. Özhatay	338

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

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

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

Ayrıca, Tablo 8’de *Galanthus ikariae* Baker adı altında incelenen *Galanthus ikariae* subsp. *latifolius* Stern, "Flora of Turkey and the East Aegean Islands" adlı kaynakta *Galanthus platyphyllus* Traub & Moldenke bitkisinin sinonimi olarak gösterilmektedir (76).

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

Çeşitli *Galanthus* türlerinden izole edilmiş, R_f değerleri, fiziksel veya spektral özellikleri belirlendiği halde yapıları tam olarak aydınlatılamamış bazı alkaloidlerin rapor edildiği araştırmalar da mevcuttur. (48, 185-187, 217, 221, 224, 225, 227, 228, 330, 334, 345, 346, 352). Ayrıca izole edildikleri çalışmalarda yapıları belirlenememiş ancak daha sonra yapıları aydınlatılmış alkaloidlere dair çalışmalar da bulunmaktadır (359-361).

Galanthus türleri, alkaloidlerinin yanısıra karbonhidratları **(362-364)**, flavonoidleri **(190, 365, 366)**, yağ asitleri **(367)**, pigmentleri **(368)** ve fenolik asitleri **(188-191)** yönünden de araştırılmışlardır.

Galanthus türleri üzerinde 1980 yılından itibaren çeşitli doku kültürü çalışmaları yapılmıştır **(150, 369-372)**. Ayrıca 1987 yılından itibaren *Galanthus* türlerinin lektinleri üzerine çok sayıda araştırmanın mevcut olması da bu konunun önemini ortaya koymaktadır **(373-383)**.



II. BÖLÜM

1.GEREÇ VE YÖNTEMLER

1.1 Botanik Araştırmalar

1.1.1 Materyal

Mikroskobik çalışmalarda kullanılmak üzere *Galanthus fosteri* bitkisi örnekleri, 28.03.2012 tarihinde çiçekli halde iken, 01.04.2013 tarihinde ise meyveli iken, Amasya ili, Ziyaret beldesi Adatepe mevkisinden toplanmıştır. Bitkinin doğadaki görünüşüne ait bir fotoğrafa, bitki hakkında fikir vermesi amacıyla Resim 1’de yer verilmiştir.

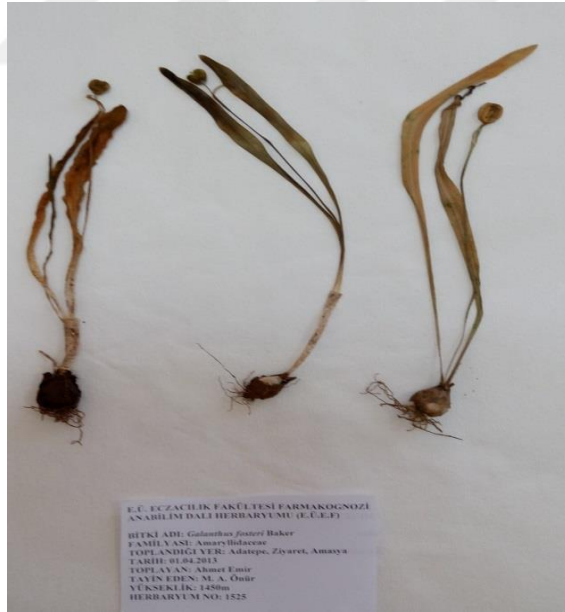


Resim 1. *Galanthus fosteri* Bitkisinin Doğadaki Görünüşü

Prof. Dr. M. Ali ÖNÜR tarafından tayin edilen bitkiye ait herbaryum örnekleri Ege Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi Anabilim Dalı Herbaryumunda 1516 ve 1525 numaraları altında saklı tutulmaktadır. Herbaryum örneğine ait fotoğraflar Resim 2 ve Resim 3’de görülmektedir.



Resim 2. *Galanthus fosteri* Baker Bitkisinin Çiçekli Herbaryum Örneği



Resim 3. *Galanthus fosteri* Baker Bitkisinin Meyveli Herbaryum Örneği

Toplamış olduğumuz bitkinin çeşitli fertlerinden, çiçekli ve meyveli dönemde ayrı ayrı olmak üzere, bitkinin soğanıyla birlikte tüm organlarını içeren örnekler 70°lik etanol kullanılarak alkol materyali hazırlanmış ve anatomik çalışmalarda kullanılmak üzere saklanmıştır.

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

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

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

1.1.2 Deneyler

Mikroskobik çalışmalar için, safsızlıklarından temizlenen ve kurutulmuş bitki örnekleri, tunc havanda mekanik olarak orta incelikte toz haline getirilmiştir.

Anatomik çalışmalarda, daha önce bahsedilen alkol materyalinden yararlanılmıştır. Alkol materyalinde bulunan bitkinin kök, soğan, çiçek durumu sapı, yaprak, çiçek, ile meyva ve tohumlarına ait çeşitli örneklerden kesitler alınmıştır. Bu kesitler Sartur (384) ve Kloralhidrat reaktifleri (385) içinde hazırlanan mikroskobik inceleme preparatları halinde, SOIF marka araştırma mikroskobunda, anatomik yapılar açısından karşılaştırmalı olarak incelenmiştir.

Bu incelemeler sırasında, bitkilerin kök, soğan, çiçek durumu sapı, yaprak, çiçek ile meyva ve tohumlarına ait sabit ve karakteristik özellikler Celestron marka dijital mikroskop görüntüleyicisi kullanılarak saptanmıştır.

1.2 Kalite Kontrol ve Miktar Tayini Araştırmaları

1.2.1 Materyal

Galanthus fosteri bitkisi, kalite kontrol çalışmalarında kullanılmak üzere 28.03.2012 tarihinde bitki iekli halde iken, 01.04.2012 tarihinde ise bitki meyveli halde iken, Amasya ili, Ziyaret beldesi, Adatepe mevkisinden toplanmıştır. Bitkiye ait herbaryum rnekleri Ege Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi Anabilim Dalı Herbaryumunda 1516 ve 1525 numaraları altında saklanmaktadır.

Taze bitkinin toprak üstü ve toprak altı kısımları gözle görülebilen bütün yabancı maddelerinden ayıklanarak temizlendikten sonra, orta incelikte parçalar olacak şekilde doğranıp, gölgede, oda sıcaklığında kurutularak Herba Galanthi ve Bulbus Galanthi rnekleri hazırlanmıştır. Bitkinin iekli ve meyveli dönemlerinde toplanıp kurutulmuş örneklerden, iekli haldeki bitkiden hazırlanan Herba Galanthi örneklerine T, aynı dönemdeki Bulbus Galanthi örneklerine TA, meyveli haldeki bitkiden hazırlanan Herba Galanthi rneklerine MT, aynı dönemdeki Bulbus Galanthi rneklerine MTA kodları verilmiştir.

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

Araştırmalar sırasında ince tabaka kromatografisi (İ.T.K.), yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ve kolinesteraz inhibitör aktivite tayini ile yaptığımız çalışmalarda kullandığımız galantamin ve likorin referans bileşikleri Anabilim Dalımızda eşitli *Galanthus* türleri üzerinde daha önce yapılmış olan fitokimyasal araştırmalarda (341, 386) saf halde elde edilmiş olup, yapıları modern spektral yöntemlerle (NMR, UV, IR ve MS) aydınlatılmıştır. Söz konusu bileşiklerin spektral bulguları Anabilim Dalımızda bulunmaktadır.

1.2.2 Yöntemler

1.2.2.1 Kurutmada Kayıp Miktar Tayini

Deney şartlarında önceden sabit ağırlığa getirilen cam tartım kabında tam olarak tartılan drog, 100-105 °C'lik etüvde yaklaşık 1 saat süre ile tutulur. Etüvden çıkartıldıktan sonra, desikatörde soğutularak tartılır. Isıtma, soğutma ve tartma işlemlerine son iki tartım arasında 0.5 mg'dan fazla fark olmayacak şekilde, sabit vezne gelinceye kadar devam edilir. Droğun kurutmada kayıp miktarı yüzde olarak hesaplanır (116, 117).

1.2.2.2 Total Kül Miktar Tayini

1 g civarında drog, deney şartlarında önceden 600°C lik fırında tutularak sabit ağırlığa getirilen bir porselen kröze içerisine tam olarak tartılır. Drog içeren kröze, önce 105 °C lik etüvde bir saat süreyle tutulur. Heraeus marka 600 ± 25°C'lik yakma fırınına konulur ve drog 1 saat süreyle yakılır. Bu süre sonunda desikatöre alınıp, soğutulur ve tartılır. Yakma, soğutma ve tartma işlemlerine, külü içeren krözenin ağırlığı sabit vezne gelinceye kadar devam edilir. Droğun içerdiği kül miktarı yüzde olarak hesaplanır (116, 117).

1.2.2.3 Hidroklorik Asitte Çözünmeyen Kül Miktar Tayini

Deney şartlarında önceden sabit ağırlığa getirilmiş olan porselen kröze içerisine drog tam olarak tartılır. Drog içeren kröze, önce 105 °C'lik etüvde bir saat süreyle tutulur. Sonra sıcaklığı 600 ± 25°C olan fırına konur ve drog yaklaşık bir saat süreyle yakılır. Bu süre sonunda kröze desikatöre alınıp soğutulur ve tartılır. Yakma, soğutma ve tartma işlemlerine, külü içeren krözenin ağırlığı sabit vezne gelinceye kadar devam edilir. Krözelere belirli miktarda distile su ve hidroklorik asit konulur. Saat camı ile kapatılarak kaynatılır. Soğuduktan sonra kül bırakmayan süzgeç kağıdından (589¹ Black ribbon ashless) süzülerek, nötr olana kadar sıcak distile su ile yıkanır. Üzerinde kalan bakiye ile birlikte süzgeç kağıdı tekrar krözenin içerisine konur ve son iki tartım arasındaki fark 0.5 mg'dan fazla olmayacak şekilde sabit vezne gelinceye kadar yakma işlemine devam edilir. Droğun içerdiği hidroklorik asitte çözünmeyen kül miktarı yüzde olarak hesaplanır (116, 117).

1.2.2.4 Sülfat Külü Miktar Tayini

1 g civarında drog, deney şartlarında önceden sabit ağırlığa getirilen bir porselen kröze içerisine tam olarak tartılır. Üzerine belirli miktarda %10'luk sulu sülfürik asit çözeltisinden damla damla konulur, plak ısıtıcıda ısıtılır. Bu işlemlerden sonra drog içeren kröze, Heraeus marka $600 \pm 25^{\circ}\text{C}$ yakma fırınına konulur ve yaklaşık 1 saat süreyle yakılır. Desikatörde soğutulur. Daha sonra üzerine %10'luk sülfürik asit ve bunu takiben % 15.8'lik amonyum karbonat çözeltisi ilave edilir ve aynı işlemler tekrar edilir. Yakma, soğutma ve tartma işlemlerine, sülfat külü içeren krözenin ağırlığı sabit vezne gelinceye kadar devam edilir. Daha sonra droğun yüzde sülfat külü miktarı hesaplanır (116, 117).

1.2.2.5 Total Alkaloit Miktar Tayini

100-105°C lik etüvde sabit vezne getirilen drog örnekleri tam olarak tartılır. Bir perkolatörde 24 saat % 96'luk etanol ile masere edilir. Daha sonra drog yine % 96'luk etanol ile genel alkaloit belirteçleri olan Dragendorff ve Mayer reaktifleri (116, 387) ile reaksiyon vermeyinceye kadar ekstre edilir. Etanollü ekstre alçak basınç altında kuruluğa kadar distillenip, bakiye porsiyonlar halinde % 1'lik hidroklorik asit çözeltisi içerisinde çözündürülüp, süzülür. Bu işleme, asitli süzüntü Dragendorff ve Mayer reaktifleri ile reaksiyon vermeyinceye kadar devam edilir. Birleştirilmiş asitli çözeltiler küçük porsiyonlar halinde petrol eteri (40-60°C) ile ön ekstraksiyona tabi tutulur. Asitli çözelti % 26'luk amonyum hidroksit ile kalevilendirilir (pH 9-11) ve ardından kloroform ile tüketilir. Ekstraksiyondan sonra kloroformlu fazdan bir miktar alınır. Susuz sodyum sülfat ile suyundan kurtarılıp, süzülür. Kloroform alçak basınç altında distillenir. % 1'lik hidroklorik asit çözeltisi içinde çözündürülen bakiyede, Mayer ve Dragendoff reaktifleri ile alkaloit varlığı kontrol edilir. Alkaloit kalmamış ise ekstraksiyon işlemleri sonlandırılır. Birleştirilen kloroformlu kısımlar, susuz sodyum sülfat ile suyundan kurtarılır. Alçak basınç altında kuruluğa kadar distillenir. Bu şekilde total alkaloit ekstresi elde edilmiş olur.

Elde edilen total alkaloit ekstreleri, üzerine belirli miktarda ayarlı sülfürik asit çözeltisi ilave edilip, sıcak su banyosunda ara sıra çalkalanarak çözündürülür. Üzerine birkaç damla metil kırmızısı karışım reaktif çözeltisinden (116) ilave edilir. Asidin fazlası, yine ayarlı sodyum hidroksit çözeltisi ile titre edilir. Reaktifin rengi

kırmızı-viyolede yeşile döndüğü an işleme son verilir. Daha sonra gerekli hesaplama yapılarak, total alkaloit miktarı tayin edilir (116, 388).

1.2.2.6 Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi ile Alkaloitlerin Miktar Tayini

1.2.2.6.1 Ekstrelerin Hazırlanışı

200 mg civarında tam olarak tartılan drog, deney tüpüne konulur. 5ml % 2'lik hidroklorik asit çözeltisi ile 5 saat, 40°C de ultrasonik banyoda maserasyona bırakılır. Bu işlemi takiben 1 ml derişik amonyak çözeltisi ve 4 ml distile su konulur. 5000 rpm de 10 dk santrifüj edilir. Üstte kalan sıvı faz başka bir deney tüpüne aktarılır. Distile su ile 10 ml'ye tamamlanır. Bundan 3 ml alınır, Extrelut-N (Merck) kolonuna yüklenerek 10 dk bekletilir. Daha sonra sonra Extrelut-N (Merck) içerisinde kloroform geçirmek suretiyle elüsyon yapılır. Kloroformlu çözelti vakum altında kuruluğa kadar distillenir.

Bu şekilde hazırlanan ekstreler 1 ml % 0.1 TFA (Trifloroasetik asit) çözeltisinde çözündükten sonra, Sem Concept Syringe 0.45 µm, 13 mm (Teflon) filtreden süzülür (212).

1.2.2.6.2 Standart Alkaloide Ait Ölçü Eğrisinin Hazırlanması

Standart maddeler % 0.1 TFA (Trifloroasetik asit) çözeltisinde çözülür. Standart alkaloit çözeltisinden seyreltmek suretiyle farklı konsantrasyonlarda çözeltiler hazırlanır. Çözeltiler Sem Concept Syringe 0.45 µm, 13 mm (Teflon) filtreden süzülür. Bu çözeltilerin her birinden uygun miktarlar Hamilton enjektör ile uygulanarak, belirli dalga boyunda o alkaloide ait sinyalin alan değeri ölçülür. Uygulanan miktarlara karşı okunan alan değerlerini gösteren bir ölçü eğrisi hazırlanır (212).

1.2.2.6.3 Deneyin Yapılışı

Miktar tayini için hazırlanan alkaloit ekstrelerinin uygulamaları da Hamilton enjektör yardımıyla yapılır. Standart alkaloitlere ait ölçü eğrisi hazırlamada kullanılan şartlara göre yapılan uygulamalar sonucunda, okunan alan değerlerine karşılık gelen miktarlar, eğriden yararlanarak hesaplanır. Bu miktar tayini sonuçları, kuru drog üzerinden % miktar olarak hesaplanır (212).

1.2.3 Deneyler

1.2.3.1 Kurutmada Kayıp 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 ısıtıldıktan sonra desikatöre alınıp, 30 dakika soğutulup, tartıldı. Isıtma, soğutma ve tartma işlemlerine son iki tartım arasında 0.5 mg'dan fazla fark olmayacak şekilde sabit vezne gelinceye kadar devam edildi. Buradan droğun içerdiği yüzde kurutmada kayıp miktarı hesaplandı.

1.2.3.2 Total Kül Miktar Tayini

Deney şartlarında önceden 600°C lik fırında tutularak sabit ağırlığa getirilen bir porselen kröze içerisinde 1 g civarında drog tam olarak tartıldı. Drog içeren kröze, önce 1 saat süreyle 105°C lik etüvde tutuldu, daha sonra Heraeus marka yakma fırınında $600 \pm 25^\circ\text{C}$ de 1 saat süreyle yakıldı. Desikatöre alındıktan sonra 30 dakika soğutulup, tartıldı. 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.

1.2.3.3 Hidroklorik Asitte Çözünmeyen Kül Miktar Tayini

1 g civarında drog, deney şartlarında önceden sabit ağırlığa getirilmiş olan porselen kröze içerisine tam olarak tartıldı. Drog içeren kröze, önce bir saat süre ile 105°C lik etüvde tutuldu; daha sonra sıcaklığı $600 \pm 25^\circ\text{C}$ olan Heraeus marka yakma fırınına koyulup, yaklaşık bir saat süreyle yakıldı. Bu süre sonunda kröze desikatöre alınıp 30 dakika soğutuldu ve tartıldı. Yakma, soğutma ve tartma işlemlerine, külü içeren krözenin ağırlığı sabit vezne gelinceye kadar devam edildi. Krözelere 15 ml distile su ve 10 ml derişik hidroklorik asit koyuldu. Krözenin ağzı saat camı ile kapatılarak 10 dk plak ısıtıcı üzerinde kaynatıldı. Soğuduktan sonra kül bırakmayan süzgeç kağıdından (589¹ Black ribbon ashless) süzöldü, süzöntü nötr olana kadar sıcak distile su ile yıkandı. Süzgeç kağıdı tekrardan krözenin içine konuldu ve tablalı ısıtıcıda ısıtılıp yakma fırınının içine konuldu. Sabit vezne gelene kadar yakma işlemine devam edildi. Buradan droğun % olarak hidroklorik asitte çözünmeyen kül miktarı tayin edildi.

1.2.3.4 Sülfat Külü Miktar Tayini

Drog, deney şartlarında önceden sabit ağırlığa getirilen bir porselen kröze içerisine tam olarak tartıldı. Üzerine 2 ml %10'luk sulu sülfürik asit çözeltisinden damla damla koyduktan sonra önce su banyosunda, ardından buhar çıkışı tamamlanıncaya kadar tablalı ısıtıcıda ısıtıldı ve son olarak Heraeus marka $600 \pm 25^{\circ}\text{C}$ yakma fırınına konulup, 1 saat süreyle yakıldı. Desikatörde 30 dk soğutulduktan sonra birkaç damla %10'luk sülfürik asit ilavesiyle yukarıda bahsedilen şekilde tekrar ısıtıldı ve yakıldı. Desikatörde 30 dk soğutulduktan sonra % 15.8'lik amonyum karbonat çözeltisinden birkaç damla damlatılarak aynı şekilde ısıtılıp yakıldı. Desikatörde soğuduktan sonra tartıldı. Yakma işlemine bir saatlik sürelerle, drog içeren krözenin ağırlığı sabit vezne gelinceye kadar devam edildi. Buradan drogun içerdiği sülfat külü miktarı bulundu. Bu değer daha sonra yüzde olarak hesaplandı.

1.2.3.5 Total Alkaloit Miktar Tayini

1.2.3.5.1 Total Alkaloit Ekstresinin Hazırlanışı

100-105 °C'lik etüvde sabit vezne getirilen ÇTÜ, ÇTA, MTÜ, MTA kodlu drog örneklerinden 3 g civarında tam olarak tartıldı. Bir perkolatörde 24 saat 100 ml % 96'luk etanol ile masere edildi. Daha sonra drog yaklaşık toplam 300 ml % 96'luk etanol ile tüketme sıvısı Dragendorff ve Mayer reaktifleri (**116, 387**) ile reaksiyon vermeyinceye kadar ekstre edildi. Etanollü ekstre alçak basınç altında kuruluğa kadar distillenip, bakiye 50 ml'lik porsiyonlar halinde % 1'lik hidroklorik asit çözeltisi içerisinde 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 200 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 % 26'luk amonyum hidroksit ile (pH 9-10) kalevilendirildi. Daha sonra, kloroform ile (6x100 ml) tüketildi. Sonuncu ekstraksiyondan sonra kloroformlu fazdan bir miktar alındı. Susuz sodyum sülfat (Merck 6643) ile suyundan kurtarılıp, süzüldü. Kloroform alçak basınç altında distillendi. Bakiye bir miktar % 1'lik hidroklorik asit çözeltisi ile çözülüp, Mayer ve Dragendoff reaktifleri ile alkaloit varlığı kontrol edildi. Birleştirilen kloroformlu kısımlar, susuz sodyum sülfat (Merck

6643) ile suyundan kurtarıldı. Alçak basınç altında kuruluğa kadar distillendi. Bu şekilde total alkaloit ekstresi elde edilmiş oldu.

1.2.3.5.2 Total Alkaloit Miktar Tayini Uygulaması

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. Sonra üzerine 3 damla metil kırmızısı karışım reaktif çözeltisi **(116)** ilave edildi. Asidin fazlası 0.02 N ayarlı sodyum hidroksit çözeltisi ile geri titre edildi. Titrasyona, endikatörün rengi kırmızı viyoledeye yeşile dönünceye kadar devam edildi.

1.2.3.5.3 Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması ve Uygulanması

1.2.3.5.3.1 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) 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 yardımı ile 200 ml yine 1000 ml'lik bir balon jojeye alındı ve kaynatılıp, soğutulmuş distile su ile 1000 ml'ye tamamlandı. Böylece 0.02 N sülfürik asit çözeltisi hazırlanmış oldu.

0.02 N sülfürik asidin ayarlanması için 100-105°C sıcaklıktaki etüvde kuruluğa kadar ısıtılıp, sabit vevne getirilen, susuz sodyum karbonattan (Merck) 30 mg tam tartım alındı ve 30 ml kaynatılmış soğutulmuş distile suda çözüldü. Üzerine 0.1 ml metil oranj reaktif çözeltisi **(116)** ilave edilip, ayarlı 0.02 N sülfürik asit çözeltisi ile titre edildi. Ekivalans noktasına ulaşan çözelti dikkatle ısıtılarak karbondioksit ortamdan uzaklaştırıldı. Sonra kırmızı-sarı renk tekrar ortaya çıkıncaya kadar titrasyona devam edildi.

1ml 0.02 N sülfürik asit çözeltisi 1.0598 mg susuz sodyum karbonata eşdeğer olup, faktör = Teorik sarfiyat/Pratik sarfiyat formülünden yararlanılarak hesaplandı **(388)**.

1.2.3.5.3.2 0.02 N Sodyum Hidroksit Çözeltisinin Hazırlanması ve Ayarlanması

4.2 g civarında sodyum hidroksit (Riedel-de Haen) tam olarak tartıldı. Birkaç ml kaynatılmış soğutulmuş distile su ile 1000 ml lik balon joje içinde süratle yıkanarak karbonatından kurtarıldıktan sonra kaynatılmış soğutulmuş distile su ile 1000 ml'ye tamamlandı.

Hazırlanmış olan 0.1 N sodyum hidroksit çözeltisinden büret ile ölçülerek 200 ml, 1000 ml'lik balonjojeye alındı ve kaynatılmış soğutulmuş distile su ile 1000 ml ye tamamlandı.

0.02 N sodyum hidroksit çözeltisinin ayarlanması için, daha önce hazırlanan ayarlı 0.02 N sülfürik asit çözeltisinden 25 ml büret ile ölçülerek bir erlenmayere alındı. Üzerine 3 damla metil kırmızısı karışım reaktif çözeltisi damlatıldı. Oluşan kırmızı-viyole renk, yeşile dönünceye kadar 0.02 N sodyum hidroksit çözeltisi ile titre edildi. Çözeltinin faktörü;

$25 \times f_{\text{sülfirik asit}} = f_{\text{sodyum hidroksit}} \times t$ formülünden yararlanarak hesaplandı **(388)**.

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

1.2.3.6 Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (HPLC) ile Alkaloitlerin Miktar Tayini

1.2.3.6.1 Likörin Miktar Tayini

1.2.3.6.1.1 Alkaloit Ekstresinin Hazırlanışı

200 mg civarında tam olarak tartılan drog, deney tüpüne konuldu. 5 ml % 2'lik hidroklorik asit çözeltisi ile 5 saat, 40°C de ultrasonik banyoda maserasyona bırakıldı. Bu işlemten sonra 1 ml derişik amonyak çözeltisi ve 4 ml distile su konuldu. 5000 rpm de 10 dk santrifüje tabi tutuldu. Üstte kalan sıvı faz başka bir deney tüpüne aktarıldı. Distile su ile 10 ml'ye tamamlandı. Bundan 3 ml alınarak Extrelut-N (Merck) kolonuna yüklenerek 10 dk bekletildi. 10. dakikadan sonra Extrelut-N içerisinde kloroform geçirmek (3×15 ml) suretiyle elüe edildi. Kloroformlu çözelti vakumda kuruluğa kadar distillendi.

1.2.3.6.1.2 Örnek Çözeltilerin Hazırlanışı

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

1.2.3.6.1.3 Standart Likorin Çözeltilisinin Hazırlanışı

2 mg saf likorin örneği, bir balon jode 5 ml % 0.1 TFA (Trifloroasetik asit)'li suda çözüldürüldü. Çözelti Sem Concept Syringe 13mm, 0.45 µ filtreden süzüldü.

1.2.3.6.1.4 Standart Likorine Ait Ölçü Eğrisinin Hazırlanması

Standart likorin çözeltilisinden 20µg/ml, 10µg/ml, 5µg/ml, 2.5µg/ml, 1.25µg/ml, olmak üzere beş dilüsyon hazırlandı. Her birinden 3'er defa 20 µl uygulanarak, alan değerleri ölçüldü. Alınan sonuçlar doğrultusunda, uygulanan miktara karşı okunan alanı gösteren bir ölçü eğrisi hazırlandı.

1.2.3.6.1.5 Standart Galantamin Çözeltilisinin Hazırlanışı

2 mg saf galantamin örneği, bir balon jode 5 ml % 0.1 TFA (Trifloroasetik asit)'li suda çözüldürüldü. Çözelti Sem Concept Syringe 13 mm, 0.45 µ filtreden süzüldü.

1.2.3.6.1.6 Standart Galantamine Ait Ölçü Eğrisinin Hazırlanması

Standart galantamin çözeltilisinden 40µg/ml, 20µg/ml, 10µg/ml, 5µg/ml, 2.5µg/ml, olmak üzere beş dilüsyon hazırlandı. Her birinden 3'er defa 20 µl uygulanarak, alan değerleri ölçüldü. Alınan sonuçlar doğrultusunda, uygulanan miktara karşı okunan alan şeklinde, galantamine ait ölçü eğrisi hazırlandı.

1.2.3.6.1.7 Deneyin Yapılışı

Miktar tayini için eksternal standart yöntemi kullanıldı. Hazırlanan çözeltilerden 20 µl lik uygulamalar Hamilton enjektör yardımıyla yapıldı. Okunan alan değerine karşılık gelen miktarlar eğriden yararlanılarak hesaplandı. Likorin ve galantamin miktar tayini sonuçları kuru drog üzerinden % miktar olarak tespit edildi.

Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC) analiz şartları:

Cihaz: Hewlett Packard 1100

Kolon: Hichrom C18 (250mm × 4.6mm ID)

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

Akış Hızı: 1 ml/dk

Dedektör: DAD Agilent Technologies 1200

Dalga Boyu: 290 nm

Kolon Sıcaklığı: 25° C

1.3. Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometrisi (GC-MS) Yöntemiyle Droğun İçerdiği Alkaloidlerin Tespiti

1.3.1. Gereç

Galanthus fosteri bitkisi örnekleri, 28.03.2012 tarihinde çiçekli halde iken, 01.04.2013 tarihinde ise meyveli iken, Amasya ili, Ziyaret beldesi, Adatepe mevkisinden toplanarak gaz kromatografisi-kütle spektroskopisi (GC-MS) çalışmalarında kullanılmıştır. Bitkiye ait herbaryum örnekleri Ege Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi Anabilim Dalı Herbaryumunda 1516 ve 1525 numaraları altında saklanmaktadır.

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

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

1.3.2. Yöntem

Alkaloid ekstresinin hazırlanışı ve kullanılan yöntem için literatür araştırması yapılmış (268), bitkiye ait en uygun sonuçları elde etmek için bazı modifikasyonların yapılması uygun görülmüştür.

1.3.2.1. Alkaloit Ekstresinin Hazırlanışı

Toz drog örneğinden 500 mg tartılıp, üzerine metanol eklenerek 30 dk süreyle ultrasonik banyoda bekletilir. Bu işlemin ardından metanollü çözelti süzülerek alınır, kalan bakiye üzerine tekrar metanol eklemek suretiyle aynı işlem iki kez daha tekrarlanır. Ele geçen metanollü çözeltiler alçak basınç altında uçurularak, kalan bakiye % 2'lik sülfürik asit çözeltisi ile çözündürülüp, süzülür. Aynı işlem iki kez daha tekrarlanıp asitli kısımlar birleştirilir. Asitli çözelti dietil eterle sıvı-sıvı ekstraksiyona tabi tutulur. Eterli kısım uzaklaştırıldıktan sonra asitli çözelti üzerine derişik amonyak çözeltisi ilave edilerek pH 9-10 olacak şekilde bazikleştirilir. Kalevi çözelti kloroformla üç kez ekstre edilerek kloroformlu kısımlar birleştirilir, susuz sodyum sülfatla içermesi muhtemel suyundan kurtarılır ve kloroformlu çözelti alçak basınç altında distillenir. Böylece alkaloit ekstresi elde edilmiş olur.

1.3.2.2. Uygulamanın Yapılışı

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

1.3.3. Deney

1.3.3.1. Alkaloit Ekstresinin Hazırlanışı

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

1.3.3.2. Deneyin Yapılışı

ÇTÜ, ÇTA, MTÜ ve MTA kodlu örneklerden yukarıda tarif edildiği şekilde elde edilen total alkaloid ekstraktları 5 mg/250 µl konsantrasyonda olacak şekilde metanolde çözülerek gaz kromatografisi-kütle spektrometresine uygulanmıştır. Alkaloidlerin teşhisi NIST MS Search 2.0 veritabanı (National Institute of Standardization and Technology, Gaithersburg, MD, USA), literatür bilgileri ve daha önce saf olarak elde edilip yapısı aydınlatılan maddelere ait kütle spektrumlarında yer alan karakteristik parçalanmalar göz önünde bulundurularak gerçekleştirilmiştir.

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

Mod: EI (70 eV)

Kolon: A TR-5 MS column (30m x 0.25mm x 0.25µm)

Kolon Sıcaklık Programı: 80°C 1dk, 80-250°C arası 10°C/dk artış, 250°C 2 dk sabit, 250°C-300°C arası 10°C/dk artış ve 300°C 10 dk sabit

Enjektör Sıcaklığı: 250°C

Taşıyıcı Gaz: Helyum

Akış Hızı: 0.8 ml /dk

1.4. Biyolojik Aktivite Rehberliğinde İzolasyon ve Yapı Aydınlatma Çalışmaları

1.4.1. Materyal

Galanthus fosteri bitkisi 28.03.2012 tarihinde çiçekli halde iken, 01.04.2013 tarihinde ise meyveli iken, Amasya ili, Ziyaret beldesi Adatepe mevkisinden izolasyon çalışmalarında kullanılmak üzere toplanmıştır.

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

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

1.4.2. Yöntemler

1.4.2.1. Alkaloit Ekstraksiyonu

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

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

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

İ.T.K. yönteminden, sütun kromatografisi çalışmaları sırasında elde edilen fraksiyonların benzer olanlarının birleştirilmesi, preparatif ince tabaka ve vakum uygulamalı preparatif sütun kromatografileri için uygun çözücü sistemlerinin geliştirilmesi ve izole edilen bileşiklerin saflıklarının kontrolü için yararlanılmıştır.

Oda sıcaklığında gerçekleştirilen İ.T.K. çalışmalarında 20x20 cm boyutlarında, 0.25 mm kalınlığında silikajel 60 F₂₅₄ (Merck 5715) ile kaplanmış hazır cam kromatografi plakları kullanılmıştır. Örnekler kromatografi plaklarına deneysel olarak saptanmış uygun konsantrasyonlardaki çözeltileri halinde uygulanmış ve plaklar deneysel olarak saptanmış çözücü sistemlerinde (Tablo 9) yükseltilmişlerdir.

No	Çözücü Sistemi
I	n-Hekzan-Benzen-Kloroform-Metanol-Asetonitril (6:10:2:1:1)
II	n-Hekzan-Benzen-Kloroform-Metanol-Asetonitril (1:4:3:1:1)
III	Benzen-Kloroform-Metanol (7:2:1 Amonyak buharıyla doyuruldu)
IV	n-Hekzan-Kloroform-Metanol (5:14:1 ; Amonyak buharıyla doyuruldu)
V	n-Hekzan-Kloroform-Metanol-Amonyum Hidroksit (%26) (4:5:1:1 damla)
VI	n-Hekzan-Kloroform-Metanol-Amonyum Hidroksit (%26) (2:6.5:1.5:1 damla)
VII	Kloroform-Metanol (19-1; Amonyak buharıyla doyuruldu)
VIII	n-Hekzan-Kloroform-Metanol-Amonyum Hidroksit (%26) (12:7:1:2 damla)
IX	n-Hekzan-Kloroform-Metanol-Amonyum Hidroksit (%26) (3:6:1:1 damla)
X	n-Hekzan-Benzen-Kloroform-Metanol (2:5:2:1 Amonyak buharıyla doyuruldu)
XI	Benzen-Etil asetat-Metanol-Asetonitril (12:6:1:1 Amonyak buharıyla doyuruldu)
XII	n-Hekzan-Kloroform-Metanol-Amonyum Hidroksit (%26) (7:12:1:2 damla)
XIII	n-Hekzan-Kloroform-Metanol-Amonyum Hidroksit (%26) (1:8:1:1 damla)
XIV	Benzen-Kloroform-Metanol-Asetonitril (14:4:1:1)
XV	n-Hekzan-Kloroform-Metanol-Asetonitril-Amonyum Hidroksit (%26) (10:8:1:1:2 damla)
XVI	n-Hekzan-Kloroform-Metanol-Asetonitril-Amonyum Hidroksit (%26) (3:5:1:1:1 damla)
XVII	Kloroform-Metanol (8:2)
XVIII	Benzen-Kloroform-Metanol-Asetonitril (6:2:1:1)
XIX	Kloroform-Metanol-Asetonitril-Amonyum Hidroksit (%26) (17:2:1:4 damla)
XX	Benzen-Etil asetat-Asetonitril-Metanol-Amonyum Hidroksit (%26) (6:4:8:1:1)

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

1.4.2.3. Alkaloidlerin Saflaştırılmaları

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

1.4.2.3.1. Sütun Kromatografisi

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

No	Çözücü sistemi
XXI	Kloroform
XXII	Kloroform: Metanol (98:1)
XXIII	Kloroform: Metanol (98:2)
XXIV	Kloroform: Metanol (95:5)
XXV	Kloroform: Metanol (92.5:7.5)
XXVI	Kloroform: Metanol (90:10)
XXVII	Kloroform: Metanol (85:15)
XVIII	Kloroform: Metanol (80:20)
XXVIII	Kloroform: Metanol (70:30) + %1 NH ₄ OH

Tablo 10. Ana Fraksiyonların Elde Edilmesinde Kullanılan Çözücü Sistemleri

1.4.2.3.2. Preparatif İnce Tabaka Kromatografisi

Preparatif ince tabaka kromatografisinde, 0.25 mm adsorban tabakası kalınlığında, 20x20 cm boyutlarında silika jel 60 F₂₅₄ (Merck 5715) ile kaplanmış ve

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

1.4.2.4. Saf Halde Elde Edilen Bileşiklerin Tanımlanması

Kromatografik olarak saf halde elde edilen bileşiklerin yapılarının aydınlatılmasında çeşitli spektroskopik yöntemlerden [UV, IR, 1D NMR (¹H, ¹³C), 2D NMR (COSY, NOESY, HMBC, HSQC), LC-ESIMS, HR-ESIMS, CD] faydalanılmıştır. Ayrıca bileşiklerin spesifik optik çevirmeleri de ([α]_D) ölçülmüştür. Verilerin değerlendirilmesinde mevcut literatür bilgilerinden de yararlanılmıştır. Elde edilen saf maddelerin yapılarının aydınlatılması için yararlanılan analitik yöntemlerde kullanılan cihazlara ait teknik bilgiler aşağıda yer almaktadır.

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

UV Spektrumları: Bileşiklerin UV spektrumları 1 cm'lik kuvarz küvetlerde metanoldeki % 0.01'lik çözeltilerinde, Thermo Evolution Array marka UV-visible spektrometresi kullanılarak alınmıştır.

IR Spektrumları: Bileşiklerin IR spektrumları, metanolde 0.5 mg/ml konsantrasyonda olacak şekilde, potasyum klorür disk kullanılarak Perkin Elmer Spectrum 100 FT-IR spektrometresinde alınmıştır.

NMR Spektrumları: Bileşiklere ait ¹H ve ¹³C NMR ve 2D NMR spektrumları (¹H, ¹H COSY, NOESY, HSQC, HMBC) MERCURYplus-AS 400 model NMR spektrometresinde CDCl₃ veya CD₃OD çözücüleri içerisinde alınmıştır.

Kütle spektrumları: ESI kütle spektrumları LC-MS-MS Thermo Scientific TSQ Quantum Access max spektrometresinde, HR-ESIMS kütle spektrumları Thermo Scientific Orbitrap Elite spektrometresinde alınmıştır.

CD Spektrumları: Bileşiklerin CD spektrumları 1 mg/ml konsantrasyonda metanol içerisinde Jasco-J-810 spektrofotometresinde alınmıştır.

1.4.2.5. Biyolojik Aktivite Tayini

Asetilkolinesteraz ve butirilkolinesteraz inhibitör aktivitelerin tayini, elde edilen ana fraksiyonlar üzerinde ve elde edilen saf maddeler üzerinde mikrolaka deneyi (226, 256, 263) kullanılarak tayin edilmiştir. *In vitro* Ellman yöntemi her iki denemenin esasını oluşturmaktadır (254). Mikrolaka deneyinde enzimin, substratla (asetiltiyokolin ve butiriltiyokolin) etkileşmesi sonucunda oluşan tiyokolin, Ellman reaktifi olarak bilinen 5,5'-ditiyobis-(2-nitrobenzoik asit) (DTNB) ile tepkimeye girerek 2-nitrobenzoat-5-merkaptotiyokolin ve sarı renkli 5-tiyo-2-nitrobenzoat oluşturmaktadır.

1.4.2.5.1. Mikrolaka Deneyi ile Antikolinesteraz İnhibitör Aktivite Tayini

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

1.4.3. Deneyler

1.4.3.1. Total Alkaloit Ekstresinin Hazırlanması

Uygun incelikte toz haline getirilmiş 6 kg materyal, oda sıcaklığında % 96'lık etanol ile perkolasyona tabi tutularak tüketme sıvısı Dragendorff ve Mayer alkaloit belirteçleriyle reaksiyon vermeyinceye kadar toplam 140 litre etanol kullanılarak devam edildi. Ele geçen etanollü kısımlar alçak basınç altında kuruluğa kadar distillendi ve böylece total alkol ekstresi hazırlandı. Bakiye önce % 2'lik hidroklorik asit çözeltisiyle sıcak su banyosunda (40-50⁰C) çözündürüldü. Daha sonra soğutma

işlemi uygulayarak reçine v.b. asitte çözünmeyen kısımlar katılaştırılıp süzgeç kağıdından süzülerek uzaklaştırıldı. Bu işleme asitli sulu çözelti Dragendorff ve Mayer alkaloit belirteçleriyle reaksiyon vermeyinceye kadar devam edildi. Bu şekilde elde edilen asitli sulu kısımlar birleştirilip, % 26'lık amonyum hidroksit çözeltisiyle pH 9-10 olacak şekilde kalevilendirildi. Ele geçen bu sulu alkali çözelti kloroformla yine Dragendorff ve Mayer alkaloit belirteçleriyle reaksiyon vermeyinceye kadar ekstraksiyona tabi tutuldu. Kloroformlu kısımlar birleştirilip, susuz sodyum sülfatla suyundan kurtarılıp süzüldü. Kloroform alçak basınç altında kuruluğa kadar distillendi. Bakiye desikatörde sabit vazne gelinceye kadar bekletilip, tartıldı. 12.280 g ağırlığında % 0.221 verimle total alkaloit ekstresi elde edildi.

1.4.3.2. Total Alkaloit Ekstresi Üzerinde Fraksiyonlandırma Çalışmaları

Silika jel 60 (70-230 Mesh) (Merck)'den 420 g tartıldı ve 1200 ml XXI No'lu çözücü sistemiyle süspansiyon haline getirildikten sonra 6.5 cm çaplı cam sütuna yüklendi. 12.280 g total alkaloit ekstresi kloroform-metanol (8:2) karışımında çözülüp, 25 g silika jel 60 (70-230 Mesh) (Merck)'e adsorbe edildi. Karışım oda sıcaklığında ara sıra karıştırılarak çözücüsü uzaklaştırıldı. Geriye kalan bakiye desikatörde kurutuldu. Bu şekilde hazırlanan ekstre-adsorban karışımı daha önceden silika jel yüklenerek hazırlanan sütuna ilave edildi. XXI No'lu çözücü sistemiyle gündüz dakikada 120 damla, gece ise 15-20 damla akış hızında oda sıcaklığında, her fraksiyon 500 ml olacak şekilde elüsyon gerçekleştirildi. Alkaloit lekelerinin İ.T.K.'da görülen nitelik ve miktarlarına göre elüsyon çözeltisinin polaritesi belirli oranlarda metanol eklenerek (%1, % 2, % 5, % 7.5, %10, % 15, % 20, % 30 + % 1 NH_4OH) kademeli olarak artırıldı. Elde edilen her fraksiyon üzerinde uygun çözücü sistemleriyle İ.T.K yapıldı. Kromatogramlar UV lambası altında 254 ve 366 nm dalga boyundaki UV ışık altında incelendi. Ayrıca Dragendorff alkaloit belirteci püskürtülerek alkaloidal özellikli bileşiklerin saptanmasına çalışıldı. Aynı R_f değerinde lekelerle sahip olan ve alkaloit içerikleri bakımından yakın özellik gösteren fraksiyonlar birleştirildi, alçak basınç altında çözücüsünden kurtarıldı, sabit ağırlığa gelinceye kadar desikatörde bekletildi ve tartıldı. Bu şekilde elde edilen ana fraksiyonlara verilen kodlar, elüsyon için kullanılan çözücü sistemleri ve ana fraksiyonların ağırlıkları Tablo 11'de gösterilmiştir.

Fr. No	Ana Fr. Kodu	Çözücü Sistemi	Miktar (g)
1-11	A	XXI	0.9670
12	B	XXI	0.3868
13-17	C	XXI	0.8499
18	D	XXI	0.0788
19-25	E	XXI	0.2514
26-29	F	XXI	0.0568
30-33	G	XXII	0.6586
34	H	XXII	0.0083
35-39	I	XXII	0.6268
40-43	J	XXII	0.2840
44-47	K	XXII	0.1270
48-52	L	XXIII	0.1073
53-55	M	XXIII	0.1425
56	N	XXIII	0.0673
57-66	O	XXIII-XXIV	1.1712
67	P	XXIV	0.5216
68-72	R	XXIV	1.6344
73-79	S	XXIV-XXV	0.6842
80-85	T	XXV	0.6613
86-98	U	XXV-XXVI	0.4565
98-122	V	XVIII-XXVIII	0.6009

Tablo 11. Total Alkaloit Ekstresinin Ana Fraksiyonları Hakkında Deneysel Veriler

1.3.4.4. Biyolojik Olarak Aktif Olan Fraksiyonların Çalışılması

1.3.4.4.1. B Kodlu Ana Fraksiyon Üzerinde Çalışmalar

Dragendorff belirteciyle alkaloit yapıda bileşik içerdiği tespit edilen, biyolojik olarak aktif B kodlu ana fraksiyon, muhtelif kirliliklerini temizlemek ve mevcut alkaloitlerini izole etmek amacıyla öncelikle preparatif sütun kromatografisine tabi tutuldu. Çözücü sistemi olarak, B kodlu ana fraksiyonu en iyi ayırdığı İ.T.K. ile

saptanmış olan I No'lu çözücü sistemi kullanıldı. 40 g silika jel H (Type 60) (5-40 µm) (Merck) I No'lu çözücü karışımıyla (180 ml) süspansiyon haline getirilip, 3.5 cm çapında, vakum uygulanabilen cam kromatografi sütununa dolduruldu. 0.3868 g ağırlığındaki fraksiyon yeterli miktarda kloroform-metanol (8:2) çözücü karışımında çözündürülüp 1 g silika jel 60 (70-230 Mesh) adsorbana emdirildi. Ekstre-adsorban karışımı oda sıcaklığında ara sıra karıştırılarak çözücüsünden kurtarıldı, ardından desikatörde bekletilerek sabit ağırlığa gelmesi sağlandı. Sabit vezne gelen ekstre-adsorban karışımı sütuna yüklenerek I No'lu çözücü sistemiyle elüsyona başlandı. 800-900 mbar vakum altında, dakikada 40-50 damla olacak şekilde elüsyon yapıldı. 20 ml'lik fraksiyonlar alındı. İ.T.K. kontrollerinden elde edilen sonuçlara göre 14. fraksiyondan sonra II No'lu çözücü sistemiyle elüsyona devam edildikçe, toplam yirmi bir fraksiyon alınarak elüsyona son verildi. Alınan fraksiyonların farklı çözücü sistemleriyle yapılan İ.T.K. denemeleri sonucunda elde edilen plaklar, UV ışık altında incelendi ve Dragendorff belirteci püskürtüldü. Aynı R_f değerine sahip ve benzer alkaloid lekeleri veren fraksiyonlar birleştirildi. Çözücü alçak basınç altında distillendi. Elde edilen ara fraksiyonlar desikatörde sabit ağırlığa gelene kadar bekletildikten sonra tartıldı.

B kodlu ana fraksiyonun preparatif sütun kromatografisi yöntemiyle fraksiyonlandırılması sonucunda elde edilen ve alkaloid içerdiği saptanan 8-10 No'lu ara fraksiyon (63 mg) mevcut kirliliklerini temizlemek ve alkaloidi izole etmek amacıyla 20x20 cm boyutlarında, 0.5 mm kalınlığında iki adet silika gel 60 F₂₅₄ (Merck) ile kaplanmış preparatif İ.T.K. plağına uygulandı. Plaklar III No'lu çözücü sisteminde bir kez developpe edildi. UV ışık altında incelenerek ve plağın kenarına çok ince bir kısmına Dragendorff alkaloid belirteci püskürtülerek yeri saptanan, 0.41 R_f değerine sahip bant plaktan kazındı. Kloroform-metanol (8:2) çözücü karışımıyla elüe edildi. İ.T.K. ile kontrollerinde saf olduğu saptanan madde elde edildi. Elde edilen madde desikatörde bekletilip sabit ağırlığa gelmesinin ardından tartıldı. 40 mg ağırlığındaki bu bileşiğe GF-1 kodu verildi.

Dragendorff alkaloid belirteci alkaloid varlığı saptanan 11-13 No'lu ara fraksiyon (86 mg) mevcut kirliliklerini temizlemek ve alkaloidi izole etmek amacıyla 20x20 cm boyutlarında, 0.5 mm kalınlığında dört adet silika gel 60 F₂₅₄ (Merck) ile kaplanmış preparatif İ.T.K. plağına uygulandı. Plaklar IV No'lu çözücü sisteminde bir kez developpe edildi. UV ışık altında incelenerek ve plağın kenarına çok ince bir

kısmına Dragendorff alkaloit belirteci püskürtülerek yeri saptanan, 0.57 R_f değerine sahip bant plaktan kazındı. Kloroform-metanol (8:2) çözücü karışımıyla elüe edildi. İ.T.K ile kontrollerinde saf olduğu saptandı. Elde edilen madde desikatörde bekletilip sabit ağırlığa gelmesinin ardından tartıldı. 10 mg ağırlığındaki bu bileşiğe GF-2 kodu verildi.

1.3.4.4.2. E Kodlu Ana Fraksiyon Üzerinde Çalışmalar

Antikolinesteraz aktivite gösteren ve Dragendorff belirteciyle alkaloit yapıda bileşik içerdiği tespit edilen E kodlu ana fraksiyon, muhtelif kirliliklerini temizlemek ve mevcut alkaloidini izole etmek amacıyla öncelikle preparatif sütun kromatografisine tabi tutuldu. İ.T.K. ile yapılan ön çalışmalar sonucunda E kodlu fraksiyonda en iyi ayrımı sağlayan V No'lu çözücü sistemi kullanıldı. 40 g silika jel H (Type 60) (5-40 μ m) (Merck) V No'lu çözücü karışımıyla (180 ml) süspansiyon haline getirilip 3.5 cm çapında, vakum uygulanabilen cam kromatografi sütununa dolduruldu. 0.2514 g ağırlığındaki fraksiyon yeterli miktarda kloroform-metanol (8:2) çözücü karışımında çözündürülüp, 1 g silika jel 60 (70-230 Mesh) adsorbana emdirildi. Ekstre-adsorban karışımı oda sıcaklığında ara sıra karıştırılarak çözücünün uçması sağlandı. Desikatörde bekletilerek sabit ağırlığa gelmesi sağlanarak ve sütuna ilave edildi. V No'lu çözücü sistemiyle elüsyona başlandı. 800-900 mbar vakum altında, dakikada 40-50 damla olacak şekilde elüsyon yapıldı. 20 ml'lik fraksiyonlar alındı. İ.T.K. kontrollerinden elde edilen sonuçlara göre 14. fraksiyondan sonra VI No'lu çözücü sistemiyle elüsyona devam edildi. Toplam on dokuz fraksiyon alınarak elüsyona son verildi. Alınan fraksiyonların farklı çözücü sistemleriyle yapılan İ.T.K. çalışmaları sonucu elde edilen plaklar UV ışık altında incelendi ve Dragendorff belirteci püskürtüldü. Aynı R_f değerine sahip ve benzer alkaloit lekesi veren fraksiyonlar birleştirildi. Çözücü alçak basınç altında distillendi. Elde edilen ara fraksiyonlar desikatörde sabit ağırlığa gelene kadar bekletildikten sonra tartıldı.

Fraksiyonlandırma sonucunda elde edilen ve alkaloit içerdiği saptanan 7-9 No'lu ara fraksiyon (56 mg) mevcut kirliliklerinden temizlemek ve alkaloidi izole etmek amacıyla 20x20 cm boyutlarında, 0.5 mm kalınlığında iki adet silika gel 60 F₂₅₄ (Merck) ile kaplanmış hazır kromatografi plağına uygulandı. Plaklar VII No'lu çözücü sisteminde bir kez developpe edildi. UV ışık altında incelenerek ve plağın kenarına çok ince bir kısmına Dragendorff alkaloit belirteci püskürtülerek yeri

saptanan, 0.53 R_f değerine sahip bant plaktan kazındı. Kloroform-metanol (8:2) çözücü karışımıyla elüe edildi. Elde edilen bileşiğin İ.T.K. kontrolleriyle saf olduğu belirlendi. Desikatörde bekletilip sabit ağırlığa gelmesinin ardından tartıldı. 13 mg ağırlığındaki bu bileşiğe GF-3 kodu verildi.

1.3.4.4.3. K-L Kodlu Ana Fraksiyonlar Üzerinde Çalışmalar

K ve L kodlu ana fraksiyonların uygun çözücü sistemleri kullanılarak elde edilmiş İ.T.K. plakları, UV ışık altında incelenerek ve Dragendorff alkaloit belirteci püskürtülerek alkaloidal lekeler saptandı. Saptanan bu lekelerin benzer özellik göstermesi ayrıca söz konusu fraksiyonların biyolojik olarak aktif olmaları nedeniyle daha ileri saflaştırma işlemleri için bu fraksiyonların birleştirilmelerine karar verildi. Bu iki ana fraksiyonun, birleştirilmesiyle oluşturulan 0.411 g ağırlığındaki K-L kodlu fraksiyon, vakum uygulamak suretiyle preparatif sütun kromatografisine tabi tutuldu. İ.T.K. ile yapılan ön çalışmalar sonucunda K-L kodlu fraksiyonda en iyi ayrımı sağlayan VIII No'lu çözücü sistemi kullanıldı. 40 g silika jel H (Type 60) (5-40 µm) (Merck) söz konusu çözücü karışımıyla (180 ml) süspansiyon haline getirilip 3.5 cm çapında, vakum uygulanabilen cam kromatografi sütununa dolduruldu. Yeterli miktardaki kloroform-metanol (8:2) çözücü karışımında çözündürülmüş 0.411 g ağırlığındaki fraksiyon 1 g silika jel 60 (70-230 Mesh) adsorbana emdirildi. Çözücünün oda sıcaklığında uçması sağlandıktan sonra ekstre-adsorban karışımı desikatörde bekletilerek sabit ağırlığa gelmesi sağlandı ve sütuna ilave edildi. VIII No'lu çözücü sistemiyle elüsyona başlandı. 800-900 mbar vakum altında, dakikada 40-50 damla olacak şekilde elüsyon yapıldı. 20 ml'lik fraksiyonlar alındı. İ.T.K. kontrollerinden elde edilen sonuçlara göre 20. fraksiyondan sonra IX No'lu çözücü sistemiyle elüsyona devam edildi. Toplam otuz iki fraksiyon alınarak elüsyona son verildi. Alınan fraksiyonlar üzerinde İ.T.K. ile çeşitli denemeler yapılarak benzer fraksiyonlar birleştirildi. Çözücü alçak basınç altında distillendi. Elde edilen ara fraksiyonlar desikatörde sabit ağırlığa gelene kadar bekletildikten sonra tartıldı.

K-L kodlu ana fraksiyonların preparatif sütun kromatografisi yöntemiyle fraksiyonlandırılması sonucunda elde edilen ve alkaloit içerdiği saptanan 6-9 No'lu ara fraksiyon (51 mg) mevcut kirliliklerini temizlemek ve alkaloidi izole etmek amacıyla 20x20 cm boyutlarında, 0.5 mm kalınlığında iki adet silika gel 60 F₂₅₄ (Merck) ile kaplanmış hazır kromatografi plağına uygulandı. Plaklar X No'lu

çözücü sisteminde bir kez develope edildi. UV ışık altında incelenerek ve plağın kenarına çok ince bir kısmına Dragendorff alkaloit belirteci püskürtülerek yeri saptanan, 0.49 R_f değerine sahip bant plaktan kazındı. Kloroform-metanol (8:2) çözücü karışımıyla elüe edildi. Elde edilen amorf madde desikatörde bekletilip sabit ağırlığa gelmesinin ardından tartıldı. 11.9 mg ağırlığındaki bu bileşiğe GF-4 kodu verildi.

1.3.4.4. M Kodlu Ana Fraksiyon Üzerinde Çalışmalar

Alkaloit yapıda bileşik içerdiği Dragendorff belirteciyle tespit edilen, biyolojik olarak aktif M kodlu ana fraksiyon, muhtelif kirliliklerini temizlemek ve mevcut alkaloidini izole etmek amacıyla öncelikle preparatif sütun kromatografisine tabi tutuldu. Çözücü sistemi olarak en iyi ayrımı sağlayan XII No'lu sistem kullanıldı. 40 g silika jel H (Type 60) (5-40 μ m) (Merck) XII No'lu çözücü karışımıyla (180 ml) süspansiyon haline getirilip 3.5 cm çapında, vakum uygulanabilen cam kromatografi sütununa dolduruldu. Kloroform-metanol (8:2) çözücü karışımında çözündürülmüş 0.1473 g ağırlığındaki fraksiyon 1 g silika jel 60 (70-230 Mesh) adsorbana emdirildi. Ekstre-adsorban karışımı oda sıcaklığında ara sıra karıştırılarak çözücüsünden kurtarıldı, ardından desikatörde bekletilerek sabit ağırlığa gelmesi sağlandı ve sütuna ilave edildi. XII No'lu çözücü sistemiyle elüsyona başlandı. 800-900 mbar vakum altında, dakikada 40-50 damla olacak şekilde elüsyon yapıldı. 20 ml'lik fraksiyonlar alındı. İ.T.K. kontrollerinden elde edilen sonuçlara göre 8. fraksiyondan sonra XIII No'lu çözücü sistemiyle elüsyona devam edildi. Toplam on bir fraksiyon alınarak elüsyona son verildi. Alınan fraksiyonlar üzerinde İ.T.K. ile çeşitli denemeler yapılarak benzer fraksiyonlar birleştirildi. Çözücü alçak basınç altında distillendi. Elde edilen ara fraksiyonlar desikatörde sabit ağırlığa gelene kadar bekletildikten sonra tartıldı.

Alkaloit içerdiği saptanan 9 No'lu ara fraksiyon (14.7 mg) mevcut kirliliklerinden temizlemek ve alkaloidi izole etmek amacıyla 20x20 cm boyutlarında, 0.5 mm kalınlığında bir adet silika gel 60 F₂₅₄ (Merck) ile kaplanmış hazır kromatografi plağına uygulandı. Plak XIV No'lu çözücü sisteminde bir kez develope edildi. UV ışık altında incelenerek ve plağın kenarına çok ince bir kısmına Dragendorff alkaloit belirteci püskürtülerek yeri saptanan, 0.29 R_f değerine sahip bant plaktan kazındı. Kloroform-metanol (8:2) çözücü karışımıyla elüe edildi. İ.T.K.

ile saf olduğu belirlenen madde desikatörde bekletilip, sabit ağırlığa gelmesinin ardından tartıldı. 4 mg ağırlığındaki bu bileşiğe GF-5 kodu verildi.

1.3.4.4.5. O Kodlu Ana Fraksiyon Üzerinde Çalışmalar

Biyolojik olarak aktif olan ve Dragendorff belirteciyle alkaloit yapıda bileşik içerdiği tespit edilen, O kodlu ana fraksiyon, muhtelif kirliliklerini temizlemek ve mevcut alkaloidini izole etmek amacıyla öncelikle preparatif sütun kromatografisine tabi tutuldu. İ.T.K. ile yapılan çalışmalarda, XVI No'lu çözücü sisteminin en iyi ayrımı sağladığı belirlendi. 40 g silika jel H (Type 60) (5-40 µm) (Merck) XVI No'lu çözücü karışımıyla (180 ml) süspansiyon haline getirilip 3.5 cm çapında, vakum uygulanabilen cam kromatografi sütununa dolduruldu. Kloroform-metanol (8:2) çözücü karışımında çözündürülmüş 1.1712 g ağırlığındaki fraksiyon 2.5 g silika jel 60 (70-230 Mesh) adsorbana emdirildi. Ekstre-adsorban karışımı oda sıcaklığında ara sıra karıştırılarak çözücüsünden kurtarıldı, ardından desikatörde bekletilerek sabit ağırlığa gelmesi sağlandı ve sütuna ilave edildi. XVI No'lu çözücü sistemiyle elüsyona başlandı. 800-900 mbar vakum altında, dakikada 40-50 damla olacak şekilde elüsyon yapıldı. 20 ml'lik fraksiyonlar alındı. İ.T.K. kontrollerinden elde edilen sonuçlara göre 25. fraksiyondan sonra XVII No'lu çözücü sistemiyle elüsyona devam edildi. Toplam 41 fraksiyon alınarak elüsyona son verildi. Alınan fraksiyonlar üzerinde İ.T.K. ile çeşitli denemeler yapıldı. Dragendorff belirteci püskürtülerek alkaloit içeren fraksiyonlar tespit edildi. Benzer fraksiyonlar birleştirilerek çözücü alçak basınç altında distillendi. Elde edilen ara fraksiyonlar desikatörde sabit ağırlığa gelene kadar bekletildikten sonra tartıldı.

O kodlu ana fraksiyondan elde edilen ve alkaloit içerdiği saptanan 8-10 No'lu ara fraksiyon (103 mg) mevcut kirliliklerini temizlemek ve alkaloidi izole etmek amacıyla 20x20 cm boyutlarında, 0.5 mm kalınlığında dört adet silika gel 60 F₂₅₄ (Merck) ile kaplanmış hazır kromatografi plağına uygulandı. Plaklar III No'lu çözücü sisteminde bir kez developpe edildi. UV ışık altında incelenerek ve plağın kenarına çok ince bir kısmına Dragendorff alkaloit belirteci püskürtülerek yeri saptanan, 0.55 R_f değerine sahip bant plaktan kazındı. Kloroform-metanol (8:2) çözücü karışımıyla elüe edildi. İ.T.K. ile saf olduğu belirlenen bileşik, desikatörde bekletilip sabit ağırlığa gelmesinin ardından tartıldı. 7 mg ağırlığındaki bu bileşiğe GF-6 kodu verildi.

Dragendorff alkaloit belirteciyle alkaloid varlığı saptanan 21-25 No'lu ara fraksiyon (42 mg) mevcut kirliliklerini temizlemek ve alkaloidi izole etmek amacıyla 20x20 cm boyutlarında, 0.5 mm kalınlığında iki adet silika gel 60 F₂₅₄ (Merck) ile kaplanmış hazır kromatografi plağına uygulandı. Plaklar IV No'lu çözücü sisteminde bir kez developpe edildi. UV ışık altında incelenerek ve plağın kenarına çok ince bir kısmına Dragendorff alkaloit belirteci püskürtülerek yeri saptanan, 0.39 R_f değerine sahip bant plaktan kazındı. Kloroform-metanol (8:2) çözücü karışımıyla elüe edildi. Elde edilen 4 mg ağırlığındaki bileşik, İ.T.K. kontrollerinde saf olduğu belirlendi ve GF-7 kodu verildi.

Ana bileşen olarak alkaloit yapısında bir madde içerdiği saptanan 0.410 g ağırlığındaki 26-39 No'lu ara fraksiyonun İ.T.K. ile kontrolü sonucu çeşitli kirlilikler içerdiği görüldüğü için bu ara fraksiyonun tekrar preparatif sütun kromatografisine tabi tutulmasına karar verildi. İ.T.K. ile yapılan ön çalışmalarda XIV No'lu çözücü sisteminin uygun olduğu belirlendi. Bu amaçla 40 g silika jel H (Type 60) (5-40 µm) (Merck) XIV No'lu çözücü karışımıyla (170 ml) süspansiyon haline getirilip 3.5 cm çapında, vakum uygulanabilen cam kromatografi sütununa dolduruldu. Söz konusu ara fraksiyon kloroform-metanol (8:2) çözücü karışımıyla çözündürülüp, 1 g silika jel 60 (70-230 Mesh) adsorbana ilave edildi. Ekstre-adsorban karışımını oda sıcaklığında karıştırmak suretiyle çözücünün uçması sağlandı ve desikatörde sabit vazne ulaşınca kadar bekletildi. Karışım vakum uygulanabilecek şekilde tasarlanmış cam kromatografi sütununa eklendi. XIV No'lu çözücü sistemiyle elüsyona başlandı. 800-900 mbar vakum altında, dakikada 40-50 damla olacak şekilde akış sağlanarak 25 ml'lik fraksiyonlar toplandı. Toplam 29 fraksiyon alınarak elüsyon tamamlandı. Çeşitli İ.T.K. denemeleri yapılarak elde edilen kromatogramlar UV ışık altında incelendi ve Dragendorff alkaloit belirteciyle kontrol edildi. Benzer özellik gösteren fraksiyonlar birleştirildi. Çözücü alçak basınç altında distillendi. Elde edilen ara fraksiyonlar desikatörde bekletilerek sabit ağırlığa getirildikten sonra tartıldı.

Alkaloit içerdiği saptanan 41 mg ağırlığındaki 12-15 No'lu ara fraksiyon muhtelif kirliliklerinden kurtarılmak üzere 20x20 cm boyutunda, 0.5 mm kalınlığında silika gel 60 F₂₅₄ (Merck) ile kaplanmış iki tane hazır kromatografi plaklarına uygulandı. Plaklar VII No'lu çözücü sisteminde bir kez developpe edildi. UV ışık altında incelenerek ve daha sonra plağın kenarına çok ince bir kısmına Dragendorff

belirteci püskürtülerek yeri saptanan, 0.45 R_f değerine sahip bant kazındı. Kloroform-metanol (8:2) çözücü karışımıyla elüe edildi. İ.T.K. kontrolleriyle saf olduğu saptanan 13 mg ağırlığındaki bileşiğe GF-8 kodu verildi.

1.3.4.4.6. T-U Kodlu Ana Fraksiyonlar Üzerinde Çalışmalar

T ve U kodlu ana fraksiyonlar üzerinde İ.T.K. ile yapılan ön çalışmalar sonucunda, bu iki fraksiyonun benzer özellik gösteren alkaloitler içerdikleri saptanmıştır. Biyolojik olarak aktif olan bu iki ana fraksiyonun daha ileri saflaştırma işlemleri için birleştirilmelerine karar verildi. İki ana sütun fraksiyonunun birleştirilmesiyle oluşturulan 1.1178 g ağırlığındaki T-U kodlu fraksiyon, vakum uygulamak suretiyle preparatif sütun kromatografisine tabi tutuldu. Çözücü sistemi olarak, çeşitli denemeler sonucunda en uygun çözücü sistemi olduğuna karar verilen XIX No'lu çözücü sistemi kullanıldı. 40 g silika jel H (Type 60) (5-40 μ m) (Merck) söz konusu çözücü karışımıyla (170 ml) süspansiyon haline getirilip 3.5 cm çapında, vakum uygulanabilen cam kromatografi sütununa dolduruldu. Uygun miktardaki kloroform-metanol (8:2) çözücü karışımında çözündürülmüş 1.1178 g ağırlığındaki fraksiyon 2.5 g silika jel 60 (70-230 Mesh) adsorbana emdirildi. Çözücünün oda sıcaklığında uçması sağlandıktan ve bakiyenin desikatörde sabit ağırlığa gelinceye kadar tutulmasının ardından madde-adsorban karışımı sütuna ilave edildi. VIII No'lu çözücü sistemiyle elüsyona başlandı. 800-900 mbar vakum altında, dakikada 40-50 damla olacak şekilde elüsyon yapıldı. 30 ml'lik fraksiyonlar alındı. Toplam 34 fraksiyon alınarak elüsyona son verildi. İ.T.K. çalışmalarıyla elde edilen plakların UV ışık altında incelendi ve Dragendorff belirteci püskürtüldü. Benzer özellik gösteren fraksiyonlar birleştirilerek çözücü alçak basınç altında distillendi. Elde edilen ara fraksiyonlar desikatörde sabit ağırlığa gelene kadar bekletildikten sonra tartıldı.

Ana bileşen olarak alkaloit yapısında bir madde içerdiği saptanan 0.380 g ağırlığındaki 12-14 No'lu ara fraksiyonun İ.T.K. ile kontrolü sonucu çeşitli kirlilikler içerdiği görüldüğü için bu ara fraksiyonun tekrar preparatif sütun kromatografisine tabi tutulmasına karar verildi. Bu amaçla 40 g silika jel H (Type 60) (5-40 μ m) (Merck) XX No'lu çözücü karışımıyla (170 ml) süspansiyon haline getirilip 3.5 cm çapında, vakum uygulanabilen cam kromatografi sütununa dolduruldu. Söz konusu ara fraksiyon kloroform-metanol (8:2) çözücü karışımıyla çözündürülüp, 1 g silika

jel 60 (70-230 Mesh) adsorbana ilave edildi. Ekstre adsorban karışımı önce oda sıcaklığında ara sıra karıştırmak suretiyle çözücüsü uzaklaştırıldıktan sonra, desikatörde sabit vazne ulaşınca kadar bekletildi. Karışım vakum uygulanabilecek şekilde tasarlanmış cam kromatografi sütununa eklendi. XX No'lu çözücü sistemiyle elüsyona başlandı. 800-900 mbar vakum altında, dakikada 40-50 damla olacak şekilde akış sağlanarak 25 ml'lik fraksiyonlar toplandı. Toplam 21 fraksiyon alınarak elüsyon tamamlandı. Çeşitli İ.T.K denemeleri yapılarak elde edilen kromatogramlar UV ışık altında incelendi ve Dragendorff alkaloid belirteciyle kontrol edildi. Benzer özellik gösteren fraksiyonlar birleştirildi. Çözücü alçak basınç altında distillendi. Elde edilen ara fraksiyonlar desikatörde bekletilerek sabit ağırlığa getirildikten sonra tartıldı. Alkaloid içerdiği saptanan 96 mg ağırlığındaki 11-15 No'lu ara fraksiyon muhtelif kirliliklerinden kurtarılmak üzere 20x20 cm boyutunda, 0.5 mm kalınlığında silika gel 60 F₂₅₄ (Merck) ile kaplanmış dört tane hazır kromatografi plaklarına uygulandı. Plaklar XXI No'lu çözücü sisteminde bir kez developpe edildi. UV ışık altında incelenerek ve daha sonra plağın kenarına çok ince bir kısmına Dragendorff belirteci püskürtülerek yeri saptanan, 0.36 ve 0.59 R_f değerlerine sahip bantlar kazındı. Kloroform-metanol (8:2) çözücü karışımıyla elüe edildi. İ.T.K. kontrolleriyle saf olduğu saptanan ve amorf halde edilen 10 mg ağırlığındaki bileşiğe GF-9, 6 mg ağırlığındaki diğer bileşiğe GF-10 kodu verildi.

1.4.3.5. Mikroplaka Deneyi ile Saf Maddelerin Antikolinesteraz Aktivitelerinin Tayini

Saf halde elde edilen bileşiklerin asetilkolinesteraz ve butirilkolinesteraz enzimini inhibe edici etkileri, Ellman yönteminden yararlanarak tayin edildi. Bileşiklerin metanol içinde 0.006-600 µg/ml konsantrasyon aralığında çözeltileri hazırlandı. Standart olarak ise galantaminin 0.003-300 µg/ml konsantrasyon aralığındaki çözeltileri kullanıldı.

Standart ve örnek çözeltileri 96 kuyucuklu mikroplakaya uygulandı. Çözeltilerin absorbansları 405 nm dalga boyunda mikroplaka okuyucu yardımıyla ölçüldü. Sonuçta, bileşiklerin IC₅₀ değerleri GraphPad Prism V3.0 (GraphPad Software, San Diego, CA) programı kullanılarak hesaplandı.

III. BÖLÜM

1. BOTANİK ARAŞTIRMALARIN BULGULARI

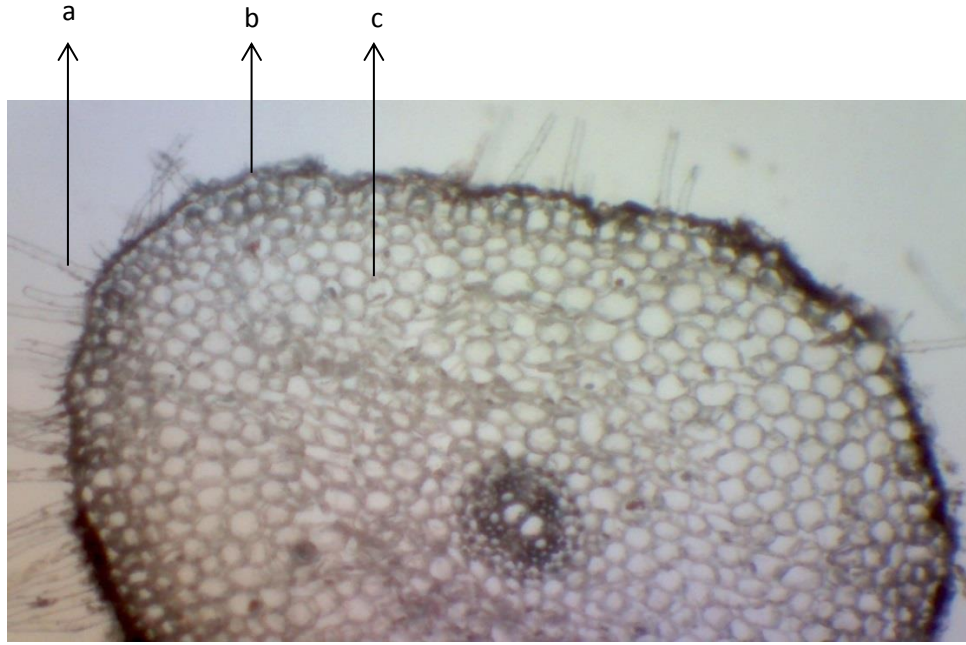
1.1. Anatomik Bulgular

1.1.1. Köke Ait İnceleme Ve Bulgular

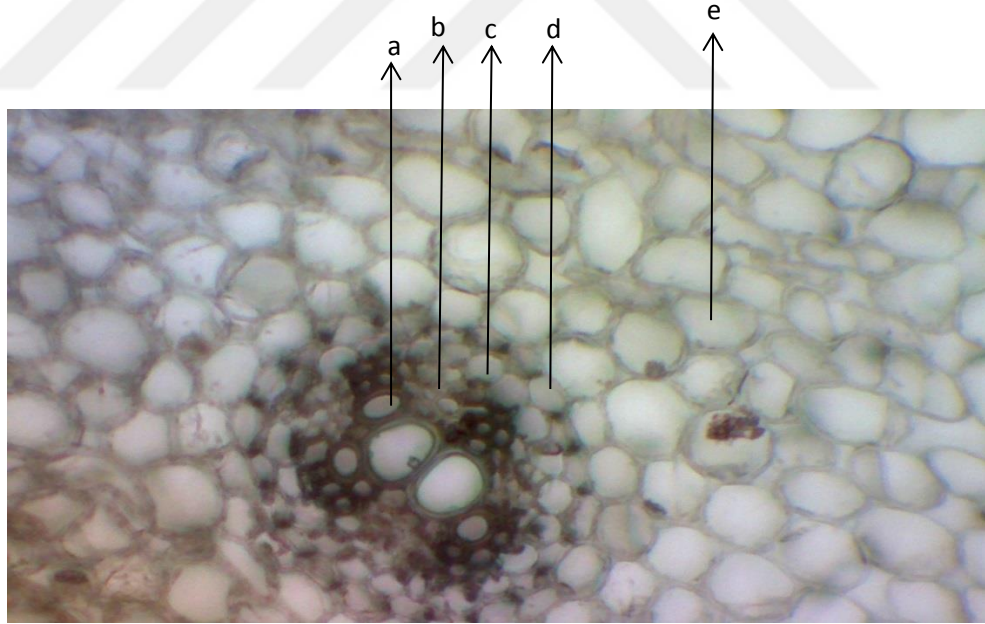
Kök enine kesitinde dıştan içe doğru; emici tüy, epidermis, korteks parankiması, endodermis, periskl, ksilem ve floemden ibarettir (Resim 4).

Kök epidermisi ve bunun altındaki kabuk parankiması hücrelerinin çeperleri süberinleşerek ekzodermisi oluşturmaktadır. Ekzodermis kökün soğana yakın kısımlarında 2 sıralıdır. Ekzodermisin iç kısımlarındaki korteks parankima hücreleri, ince çeperli, hücre arası boşluklar belirgin, büyük poligonal hücrelerden oluşmaktadır.

Endodermis hücreleri ince çeperli ve bu hücrelerdeki kaspari şeridi belirgin olarak görülmektedir. Endodermisin iç kısmında periskl hücreleri ve bunun iç kısmında floem, protoksilem ve metaksilemden oluşan tetraark iletim demetleri bulunmaktadır (Resim 5).



Resim 4. Kök Enine Kesitinin Genel Görünüşü (Kloralhidrat Reaktif);
a-Emici Tüy, b-Epidermis, c-Korteks Parankiması



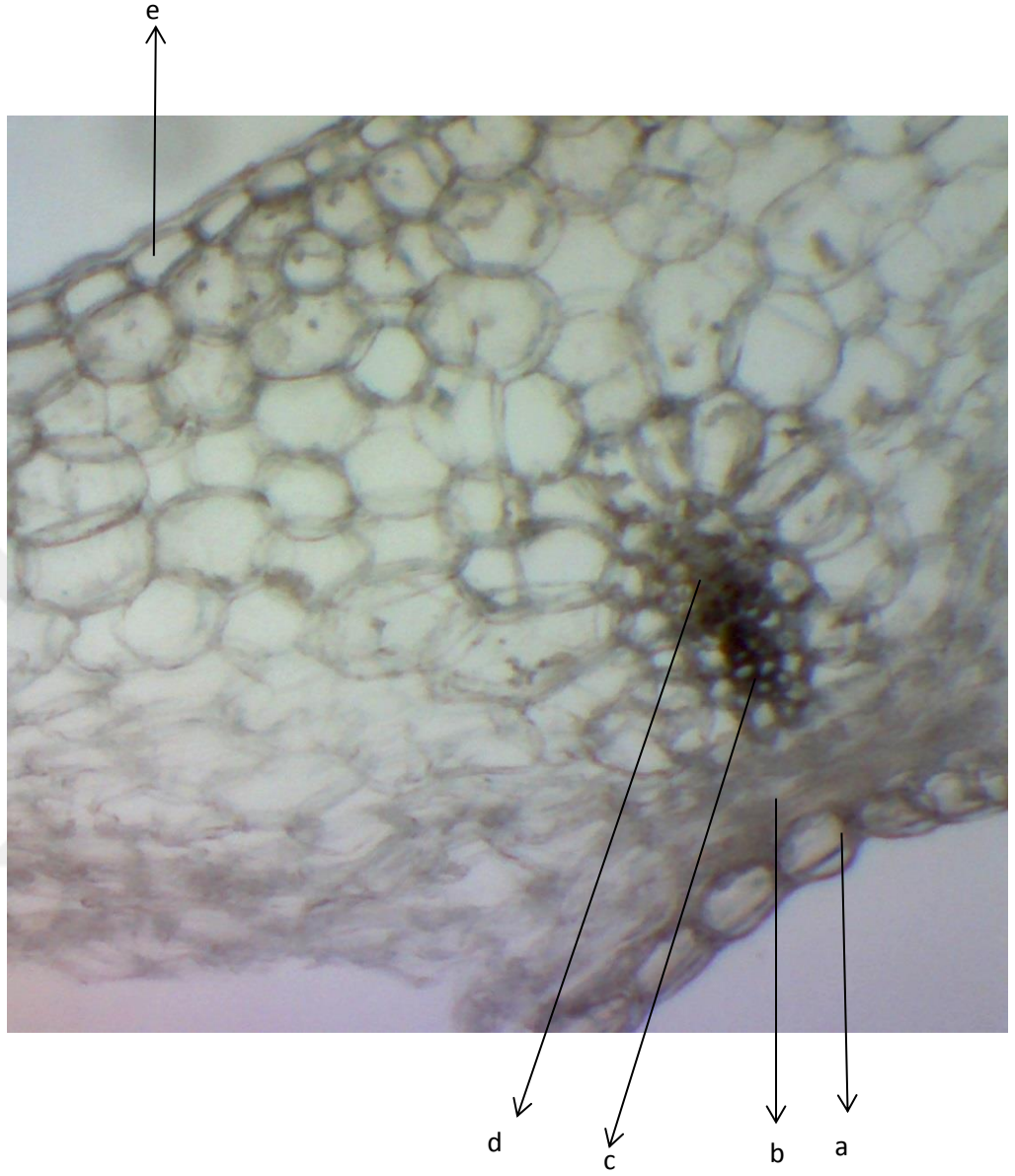
Resim 5. Kök Enine Kesiti (Kloralhidrat Reaktif);
a-Ksilem, b-Floem, c-Periskl, d-Endodermis, e- Korteks Parankiması

1.1.2. Soğana Ait İnceleme ve Bulgular

Soğan yapraklarının anatomisi yaprağın anatomik yapısına benzemektedir. Dış epidermisin dorsal çeperi kalın, ventral çeperi biraz ince ve lateral çeperinin daha ince olduğu görülmektedir. İç epidermisin ise dış epidermise göre çeperler biraz daha incedir.

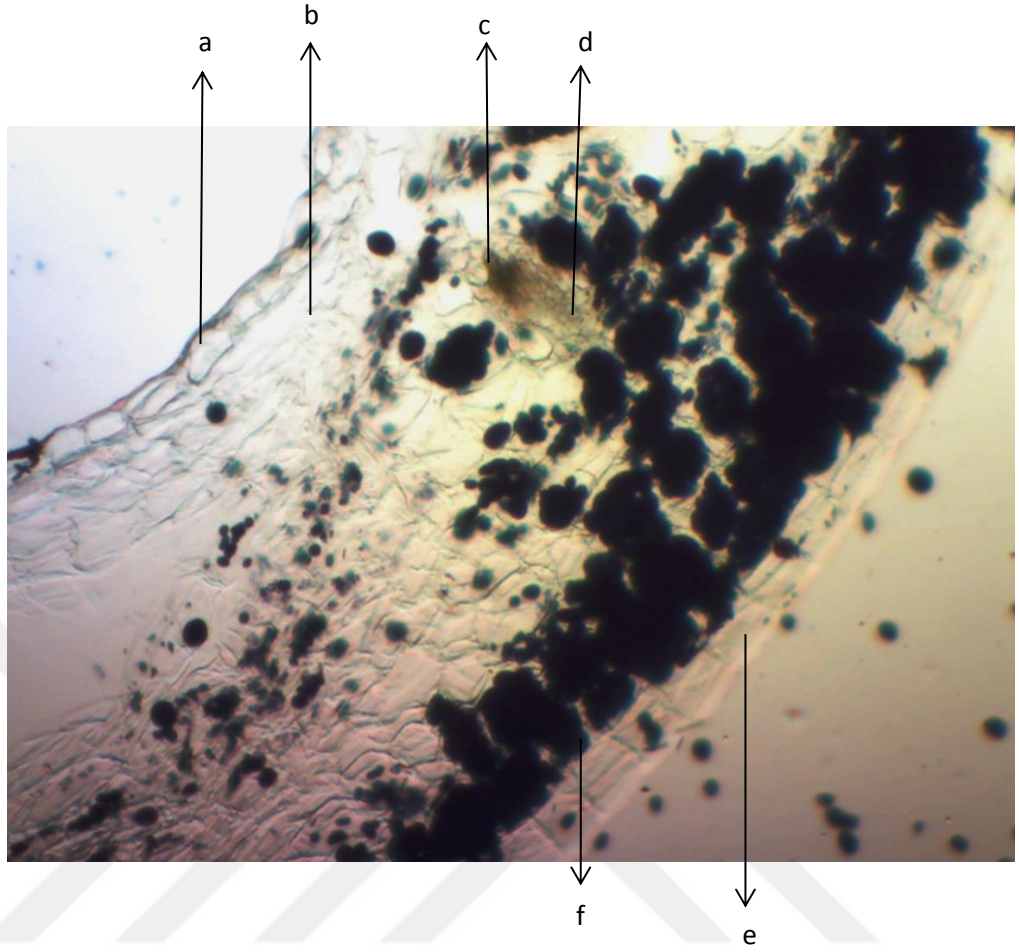
Soğana ait dış, orta ve iç yapraktan alınan enine kesitler karşılaştırıldığında nişasta, soğanın dış yaprağında az, iç yaprağında bol olarak bulunmaktadır. Nişastalar genellikle basit, az miktarda ikili ve üçlü bileşik olup, hiliumları ekzantrik, yıldız veya çatlak şeklindedir (Resim 8).

İki epidermis arasında kalan mezofil hücreleri, dış epidermisten iç epidermise doğru hücreler büyürken, çeperleri incelmektedir. Soğan dış yapraklarında iç epidermisiin iç kısmında yer alan mezofil hücreleri ezilmiş ve sıkışmış olarak görülmektedir. Dış epidermisin iç kısmında, birinci ve ikinci sıradaki parenkima hücrelerinin arasında bulunan küçük hücrelerde ve iletim demetini çevreleyen bazı parenkimatik hücrelerde rafit kristalleri bulunmaktadır (Resim 6).



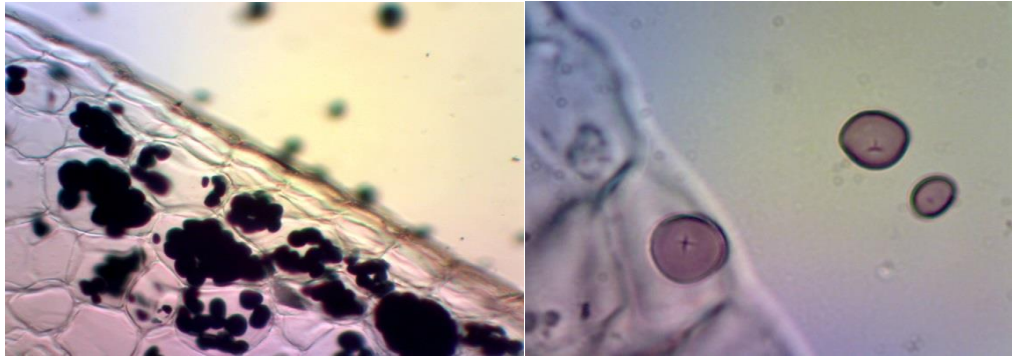
Resim 6. Soğan Dış Yaprak Enine Kesiti (Kloralhidrat Reaktif);

a-İç Epidermis, b-Sıkışmış Mezofil Hücreleri, c-Ksilem, d-Floem, e-Dış Epidermis



Resim 7. Soğan Dış Yaprak Enine Kesiti (Sartur Reaktifi);

a-İç Epidermis, b-Sıkışmış Mezofil Hücreleri, c-Ksilem, d-Floem, e-Dış Epidermis, f-Niştastalar



Resim 8. Soğan Dış Yaprığında Niştastalar (Sartur Reaktifi)

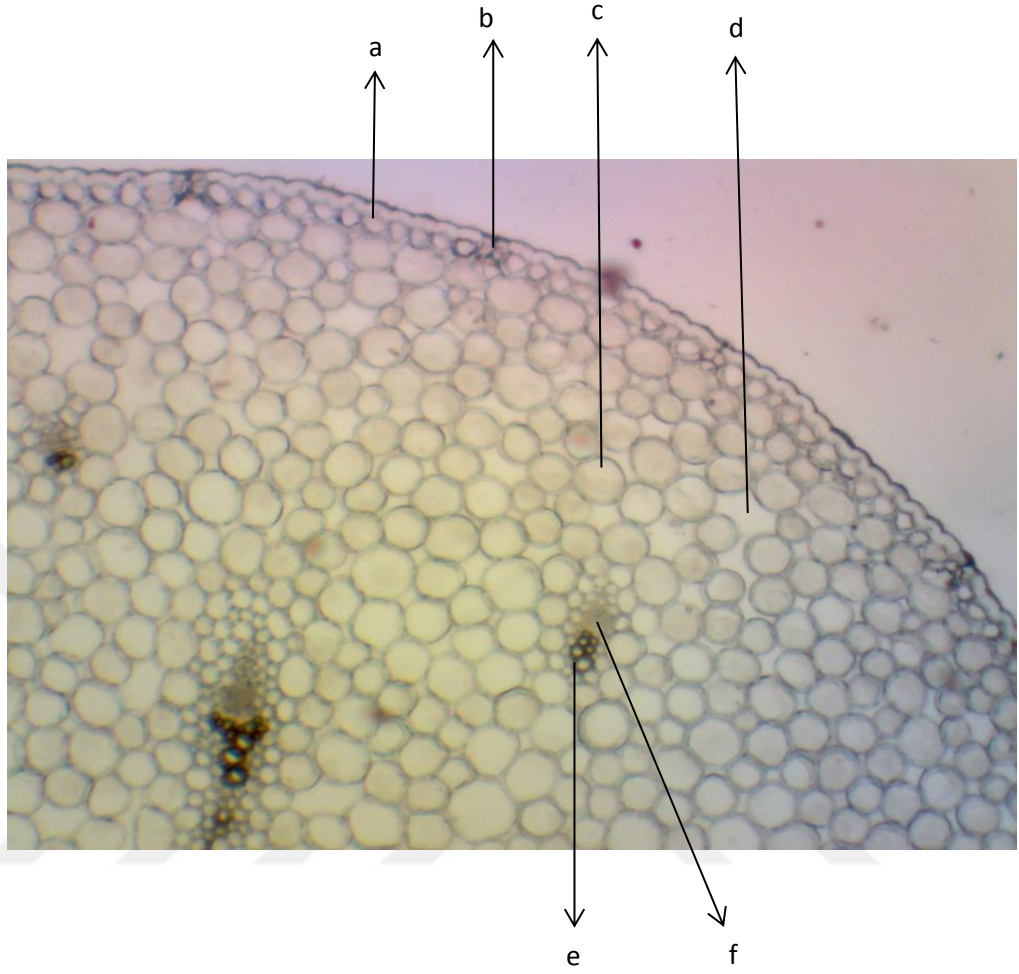
1.1.3. Çiçek Durumu Sapına (Skapus) Ait İnceleme ve Bulgular

Çiçek durumu sapını anatomik olarak incelemek amacıyla dip, orta ve uç kısımlardan enine ve yüzeysel kesitler alınmıştır. Enine kesitlere bakıldığında, skapusun tam yuvarlak değil, hafif ovalimsi olduğu görülmektedir. Dip kısımlardan alınan enine kesitlerde, skapusun her iki yanında belirginleşen çıkıntının içinde 2-4 adet hücrenin çeperleri kalınlaşarak kollenkimayı oluşturduğu gözlenmiştir. Epidermis hücrelerinin kutikulası skapus boyunca çizgili ve incedir. Yapraktaki gibi epidermis dorsal çeper kalın, ventral çeper ince, lateral çeper ventralden daha incedir (Resim 9).

Stomalar genellikle mezofitik veya çok hafif kserofitik özelliktedir. Alınan yüzeysel kesitler yaprakla karşılaştırıldığında daha az oranda stoma içerdiği belirlenmiştir. Kutikulası boyuna çizgicikli olan epidermis hücrelerinin dikdörtgenimsi, uzun hücreler şeklinde ve dört komşu hücreye sahip stomaların kutuplarında hafif bir kalınlaşmanın bulunduğu gözlenmiştir.

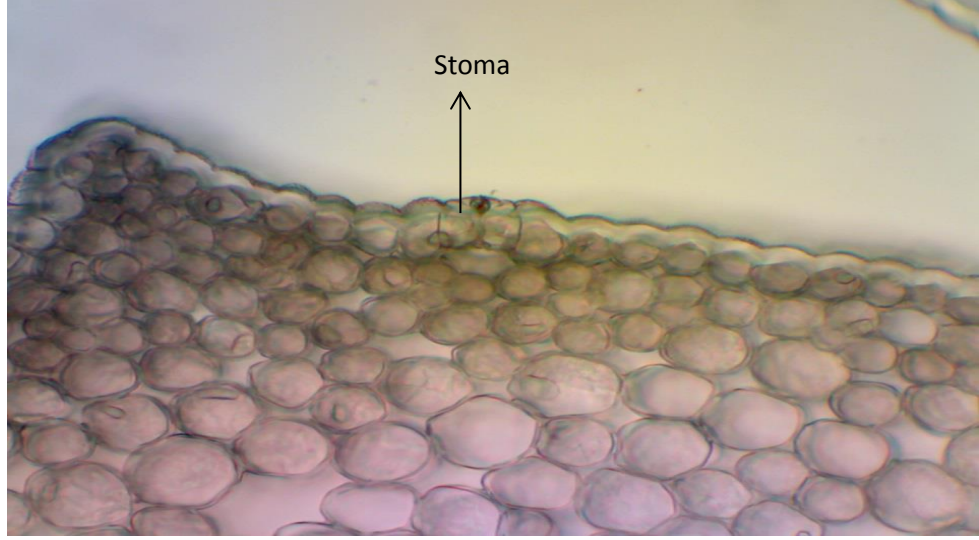
Epidermisin iç kısmında kloroplast içeren mezofil hücreleri dıştan merkeze doğru büyümekte ve çeperleri incelmektedir. Bu mezofil hücreleri arasında bulunan hücre arası boşluklar dıştan merkeze doğru artmaktadır. Orta ve dip kısımlarından alınan enine kesitlerde, uç kısımlara oranla intersellüler boşlukların daha fazla olduğu saptanmıştır (Resim 9).

Epidermisin iç kısmında yer alan birinci ve ikinci sıradaki mezofil hücreleri arasında rafit içeren küçük hücreler bulunmaktadır. Koleteral iletim demetleri skapusun kalınlığına göre 7-11 arasında değişmektedir.

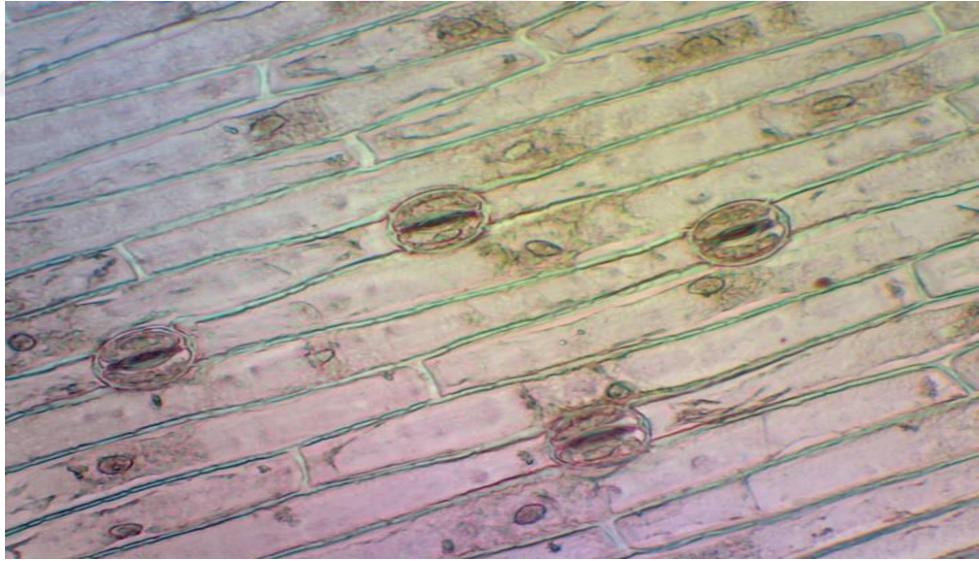


Resim 9. Çiçek Durumu Sapı Enine Kesitinin Genel Görünüşü;

a-Epidermis, b-Stoma, c-Mezofil Hücreleri, d-İntersellüler Boşluk, e-Ksilem, f-Floem



Resim 10. Çiçek Durum Sapı Enine Kesitinde Stoma



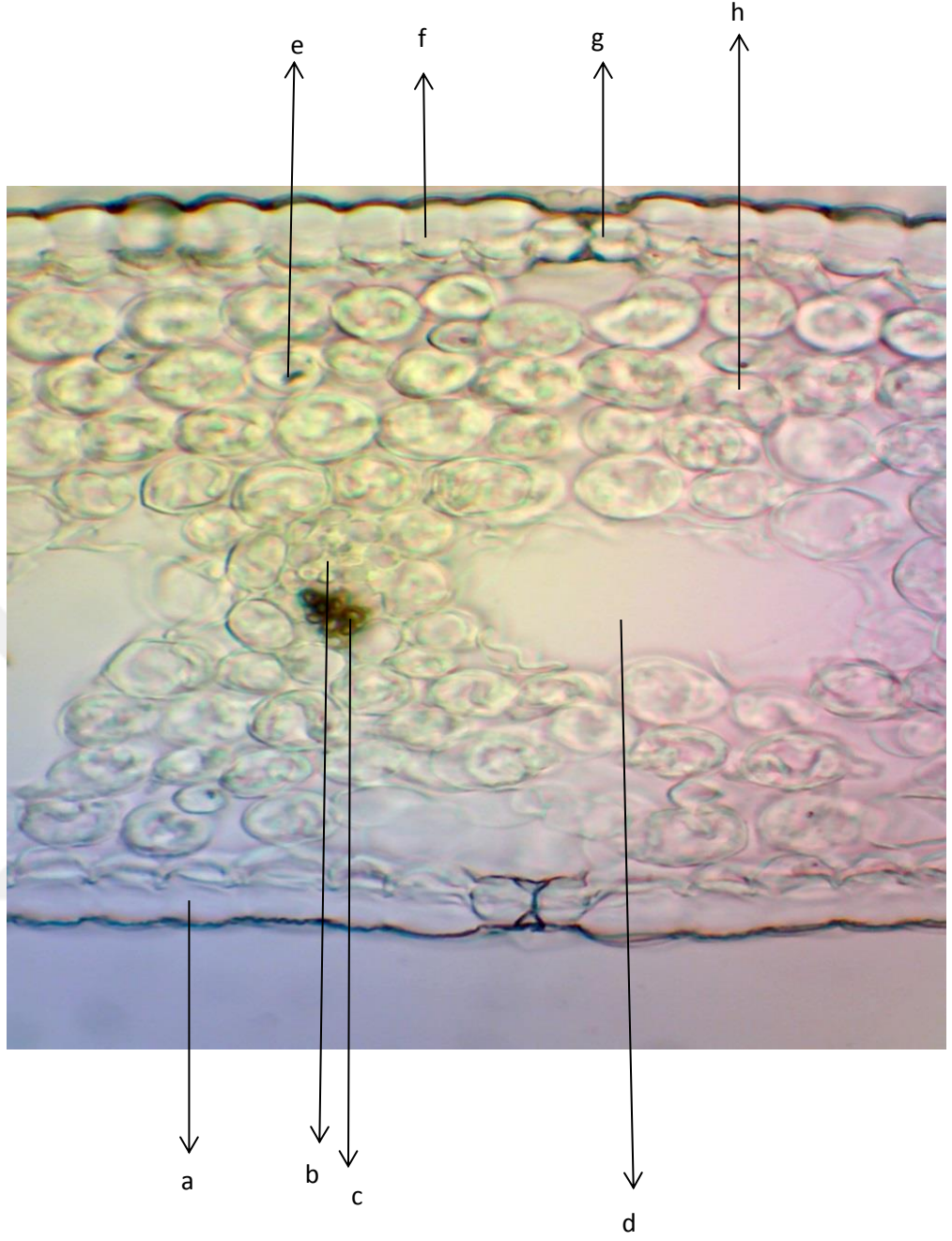
Resim 11. Çiçek Durum Sapı Yüzeyel Kesiti

1.1.4. Yaprğa Ait İnceleme ve Bulgular

Yapraktan alınan enine kesitte yaprağın monofasiyel olup epidermisi ince kutikula ile örtölü olduğu görölmüştür. Hem üst ve hem de alt epidermis hücreleri dikdörtgenimsi ve dış yüzeye doğru hafif kubbemsi şeklindedir. Üst epidermisenin dorsal çeperi kalın, ventral çeperi ince, lateral çeperi ise ventral çepere göre daha incedir. Alt epidermis hücreleri de üst epidermis gibidir. Çeper kalınlaşması üst epidermise göre biraz daha incedir. Anomositik tipteki stomaların ekseni yaprak boyuna paralel olup stomaların kutuplarında stoma çeperlerinin biraz daha kalın olduğu görölmektedir. Her iki epidermiste de genellikle mezofitik tip az miktarda kserofitik tip stomalar bulunmaktadır. Alt epidermiste stomalar üst epidermise göre daha fazladır.

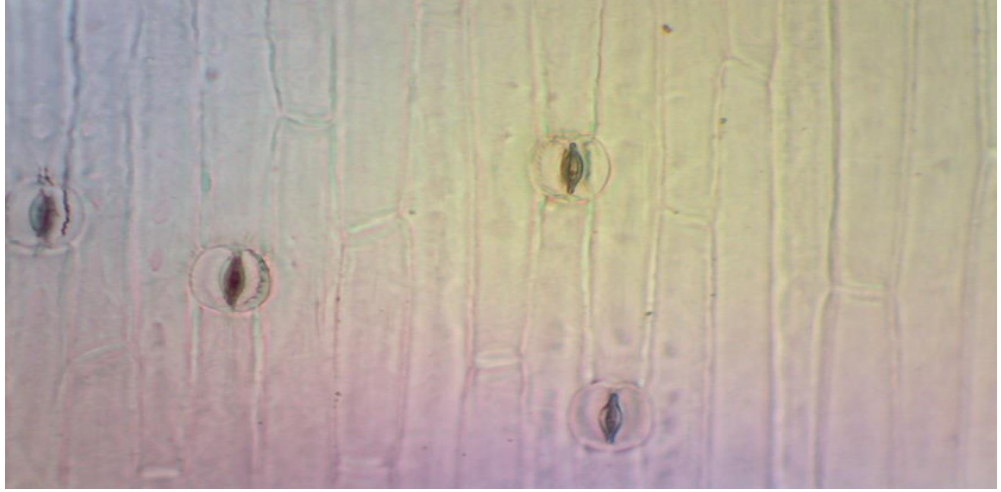
Üst epidermisenin iç kısmında birinci sıradaki palizatik mezofil hücreleri hafif yana doğru geniş olup bazen yuvarlak şekilli hücrelerden oluşmaktadır. Bu sıranın iç kısmındakilerde hücre arası boşluklar belirgin olup, yuvarlak ve ince çeperli hücrelerden oluşmaktadır. İki iletim demeti arasında yer alan bazı hücreler parçalanarak, yana doğru geniş dikdörtgenimsi şekilli hava kanalını oluşturmaktadır. Mezofil hücreleri arasında yer alan, birinci sıra ile ikinci sıra arasında bulunan bazı hücrelerde ve iletim demeti etrafında yer alan mezofil hücrelerinde rafit kristalleri bulunmaktadır (Resim 12).

Yaprak yüzeysel kesitinde alt ve üst epidermis hücreleri ince, uzun, dikdörtgenimsi şekilde olup çeperler ince ve kutikulası çizgilidir. Stoma hücreleri ise anomositik tiptedir (Resim 13-14).

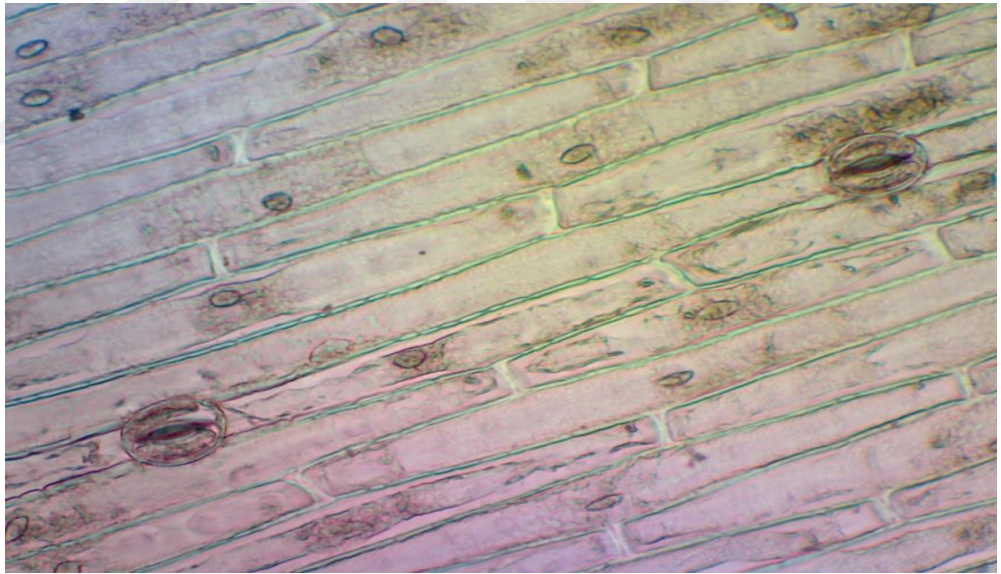


Resim 12. Yaprak Enine Kesiti;

a-Üst Epidermis, b-Floem, c-Ksilem, d-Hava Kanalı, e-Rafit İçeren Hücre, f-Alt epidermis, g-Stoma, h-Mezofil Hücresi



Resim 13. Alt Epidermis Yüzeyel Kesiti



Resim 14. Üst Epidermis Yüzeyel Kesiti

1.1.5. Spataya Ait İnceleme ve Bulgular

Yaprak anatomik yapısına benzerlik gösteren spata, dış epidermis, mezofil, iç epidermis ve iletim demetlerinden oluşmaktadır. Yaprğa göre sayıca az olan stomalar hafif kserofitik olup, dış epidermis çizgili kütikula ile kaplıdır. Dış epidermisin iç kısmında bulunan parankimatik hücreler sıkışık ve yanlara doğru uzamış halde bulunurken, iç epidermisin iç kısmındaki hücreler yuvarlak, daha büyük ve çeperleri daha incedir. Bu ince çeperli hücrelerin parçalanarak iletim demetleri arasında hava kanallarını oluşturdukları görülmektedir. Dış epidermiste dış yüzeye doğru hücreler dikdörtgenimsi olup hafif kubbemsi çıkıntı yapmaktadır (Resim 16).

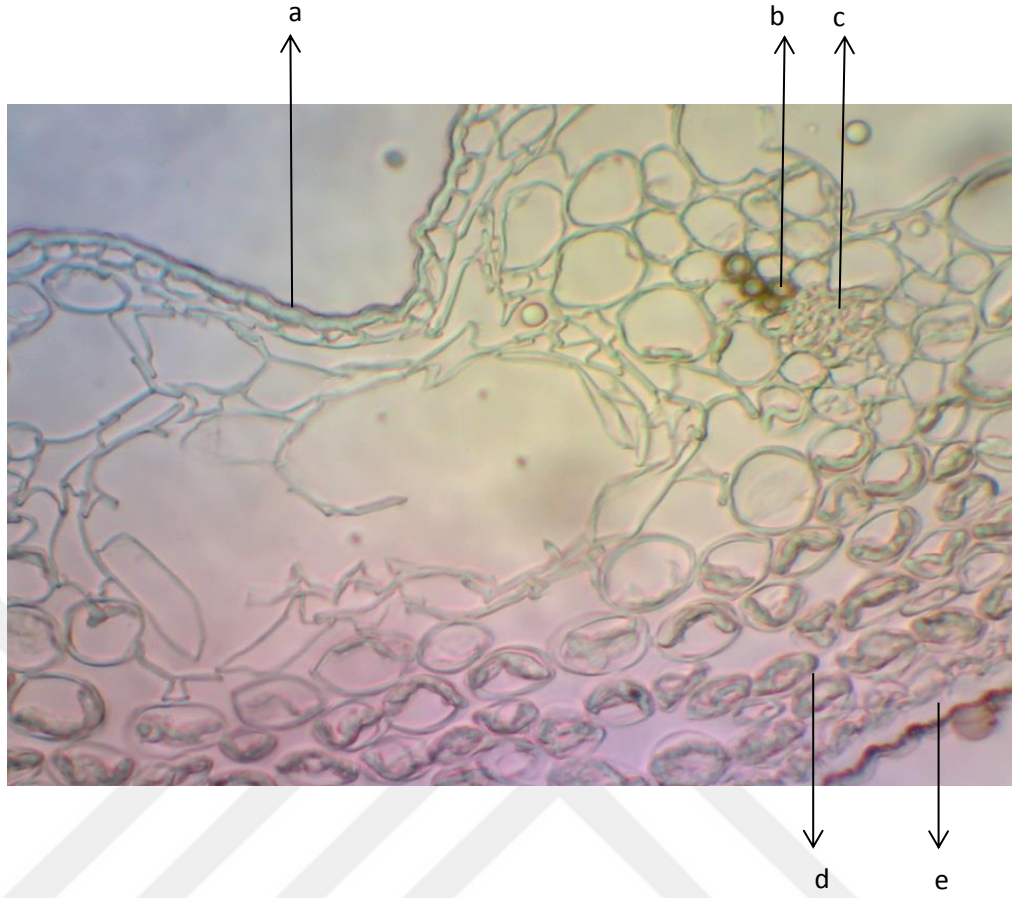
Spatanın ortasından yanlara doğru mezofil hücrelerinin sayısında azalma görülürken, bazı yerlerde iç epidermisin iç kısmında yer alan ince çeperli mezofil hücreleri sıkışarak spatayı inceltmektedir. İki spatanın birleşme yerlerine yakın yerlerde mezofil hücreleri bulunmamakta, iç epidermis hücrelerinin dorsal ve ventral çeperleri inceli bir birine yapışık duruma gelmekte ve kalınlaşmış lateral çeper ise boncuk dizisi gibi bir görünüm almaktadır (Resim 15).



Resim 15. Spata Enine Kesitinin Genel Görünüşü;

a-Dış (Abaksial) Epidermis, b-İç (Adaksial) Epidermis, c-Spatanın Birleşme

Yeri



Resim 16. Spata Enine Kesiti;

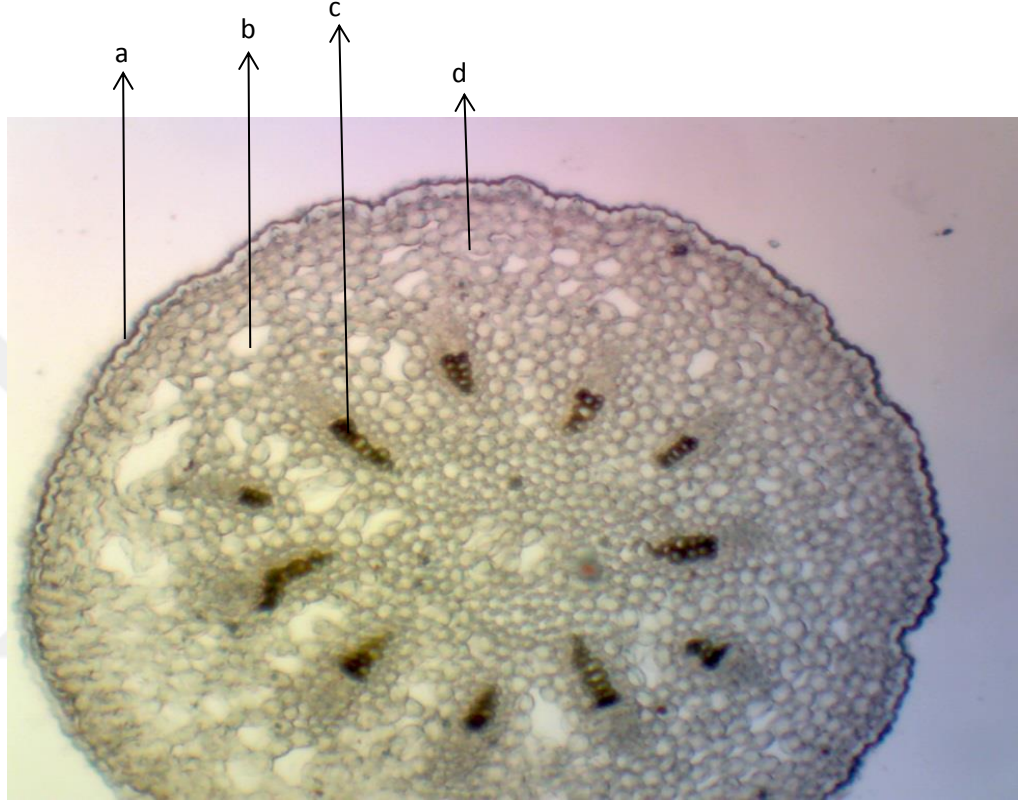
a-İç Epidermis, b-Ksilem, c-Floem, d-Mezofil Hücresi, e-Dış epidermis

1.1.6. Çiçeğe Ait İncele ve Bulgular

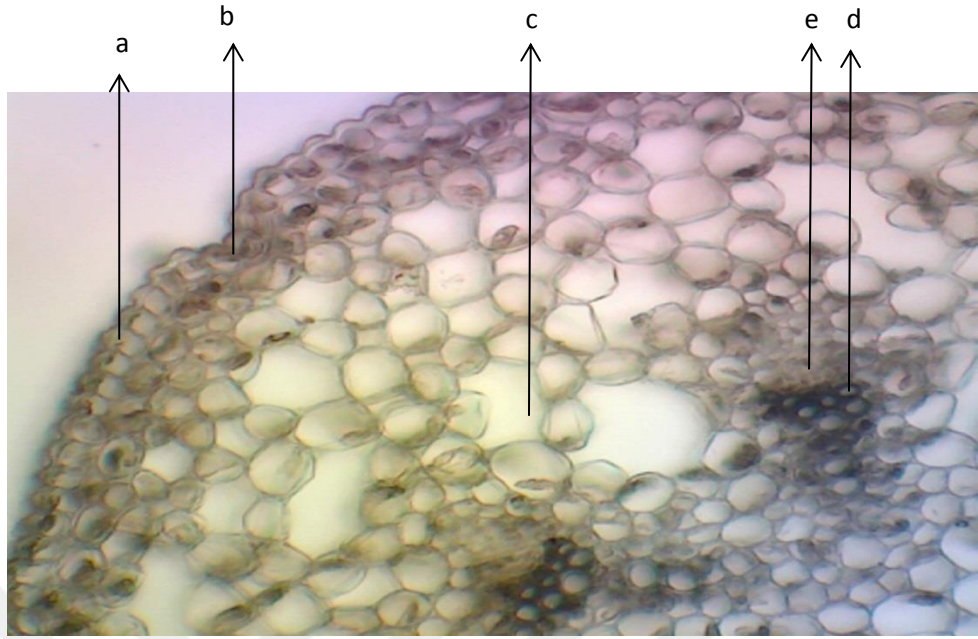
1.1.6.1. Çiçek Sapı

Çiçek sapı tıpkı skapus gibi daire veya oval şekilde olup, hafif girinti ve çıkıntılara sahiptir. Dıştan merkeze doğru epidermis, mezofil hücreleri ve iletim demetlerinden oluşmaktadır. Mezofil hücreleri içerisindeki kloroplast miktarı dıştan içe doğru azalmakta, hücreler ise büyümektedir. Epidermis ile iletim demetleri arasında kalan bölgedeki mezofil hücreleri arasındaki hücre arası boşluklar çok fazla genişleyerek yer yer hava kanallarını oluşturmaktadır. Parenkimatik doku içerisinde radyal dizilişli, koleteral, kapalı iletim demetleri bulunmaktadır (Resim 17-18).

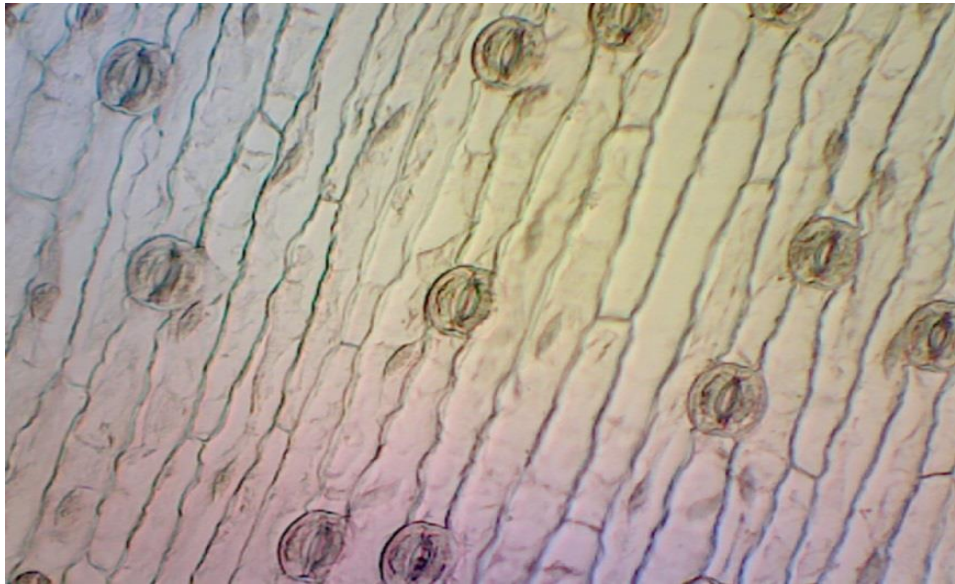
Yaprakta olduğu gibi mezofil hücreleri birinci ve ikinci sıra arasında bulunan kloroplastsız hücrelerde rafit kristallerine rastlanmaktadır.



Resim 17.   ek Sapı Enine Kesiti'nin Genel G r n   ;
a-Epidermis, b-Hava Kanalı, c-İletim Demeti, d-Parankima H creti



Resim 18. Çiçek Sapı Enine Kesiti;
a-Epidermis, b-Stoma, c-Hava Kanalı, d-Ksilem, e-Floem

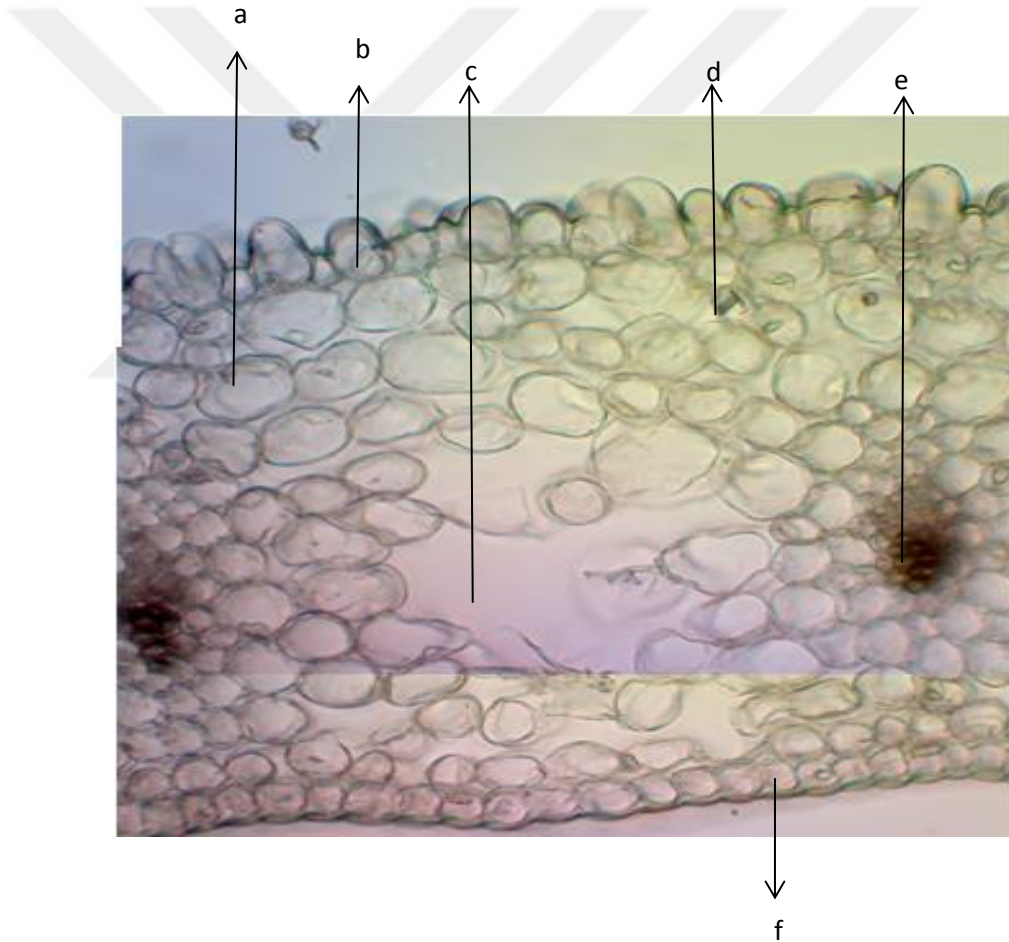


Resim 19. Çiçek Sapı Yüzeyel Kesitinde Stomalar

1.1.6.2. Dış tepal

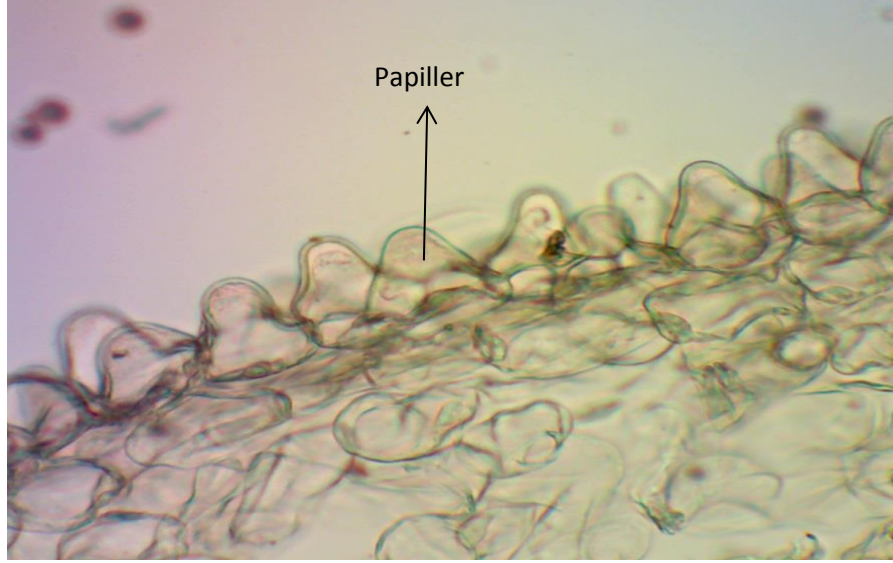
Genel olarak yaprak anotomik yapısına benzemektedir. Dış epidermis hücreleri papilli, kutikulası ince, papil boyuna paralel çizgili, dikdörtgenimsi ve çeperleri incedir. İç epidermis hücrelerinin dorsal çeperi biraz daha kalın olup, kutikula hafif çizgilidir. İki epidermis arasında yer alan mezofil hücreleri ince çeperli ve iletim demetleri arasındaki hava kanalları bulunmaktadır (Resim 20-21).

İletim demetini çevreleyen parankimatik hücrelerin çeperleri ince ve bu parankimatik hücrelerin epidermise yakın olan bazı hücrelerinin içerisinde rafit kristalleri görülmektedir (Resim 20).



Resim 20.Dış Tepalin Enine Kesiti;

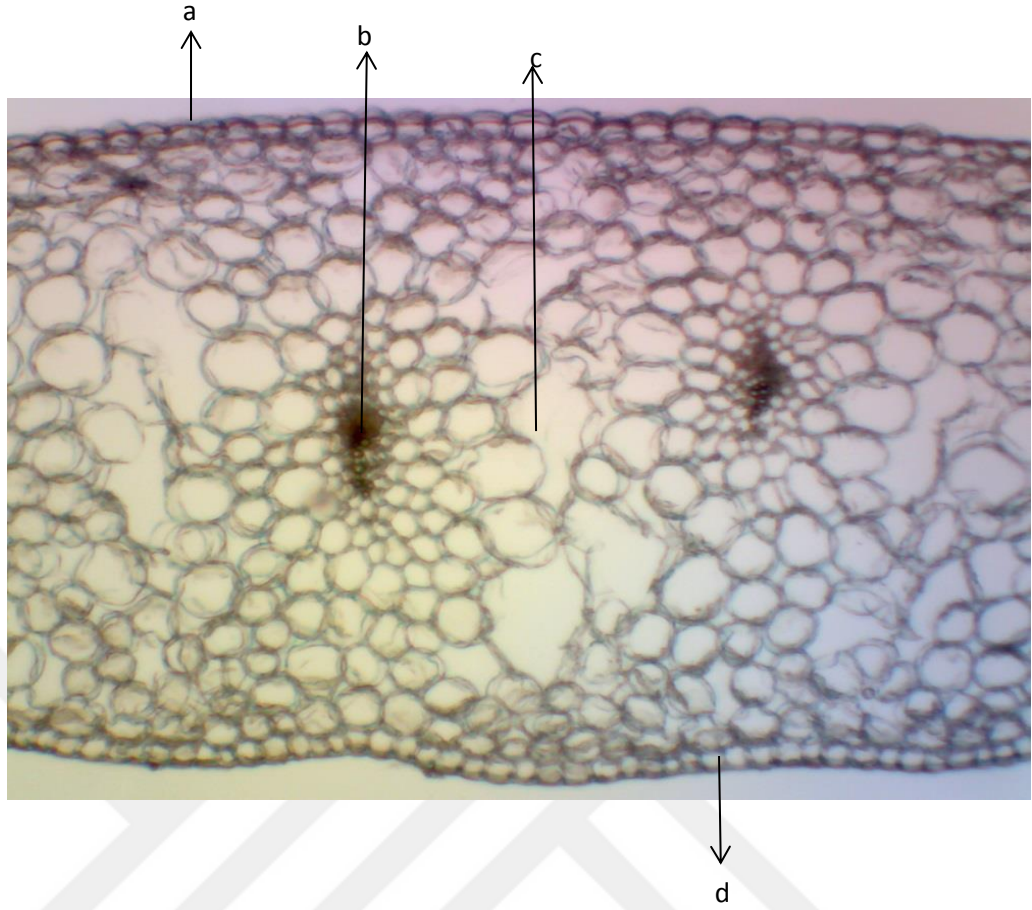
a-Mezofil Hücresi, b-Dış Epidermis, c-Hava Kanalı, d-Rafit Kristalleri, e-İletim Demeti, f-İç Epidermis



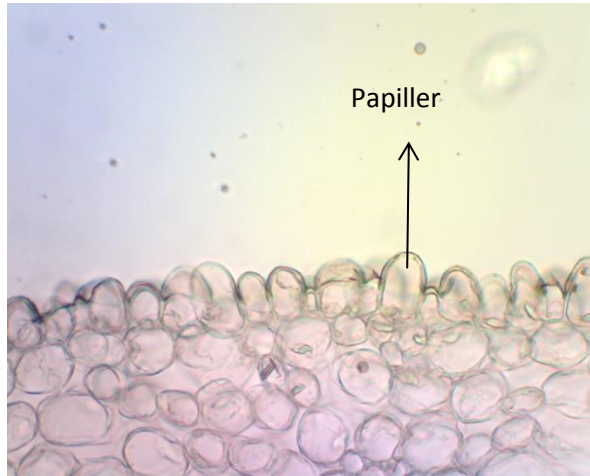
Resim 21. Dış Tepalin Dış Epidermisinde Papiller

1.1.6.3. İç Tepal

İç tepal, dış tepalde olduğu gibi yaprak anatomisine benzemektedir. İç epidermis hücreleri ince, yanlara doğru uzamış ve noktacıklı kutikula ile örtülüdür. İç tepalin orta ve uç kısımlarında, dış epidermis hücreleri kuvvetli papilli ve ince çeperlidir. Kutikula papiller boyunca çizgilidir (Resim 23). Epidermisin iç kısmında yer alan parankima hücreleri arasında hücre arası boşluklar belirgindir. İki iletim demeti arasında hava kanalı bulunmaktadır. Yine iç ve dış epidermisin birinci ve ikinci sıra hücreleri arasında bulunan bazı hücrelerde rafit kristalleri bulunmaktadır. Mezofildeki koleteral iletim demetleri belirgin şekilde görülmektedir (Resim22).



Resim 22. İç Tepalin Enine Kesiti (Dip Kısım);
a-Dış Epidermis, b-İletim Demeti, c-Hava Kanalı, d-İç Epidermis



Resim 23. İç Tepalin Dış Epidermisinde Papiller

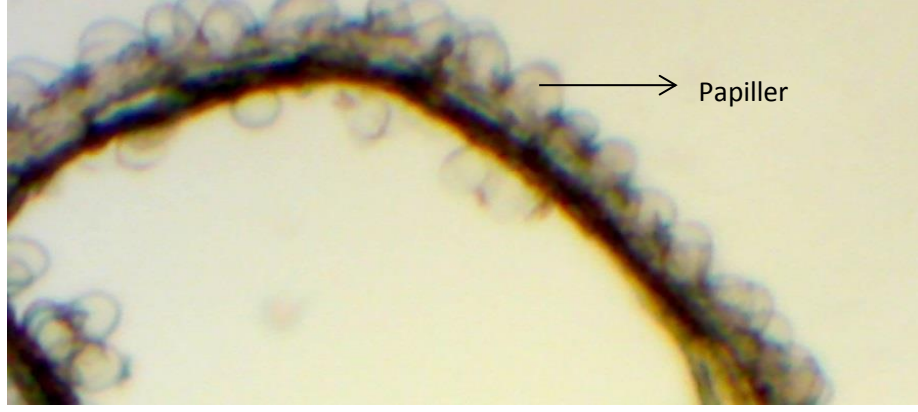
1.1.7. Antere Ait İnceleme ve Bulgular

Bol miktarda polen görülen anter enine kesitinde epidermisin dış yüzeye doğru kuvvetli papilli olduğu gözlenmiştir. Papillerin üzerindeki kutikula ince ve boyuna çizgilidir. Polen keselerini çevreleyen endotesyum hücrelerinin çeperleri odunlaşmıştır. Bu hücrelerin konnektif doku veya mezofil hücrelerine temas eden çeperleri incedir. Anter epidermisi ile endotesyum hücreleri arasında yer alan parankima hücrelerinin çeperleri ince ve bu hücrelerin sayısı konnektif dokudan yanlara doğru gidildikçe azalmaktadır (Resim 24).



Resim 24. Anter Enine Kesitinin Genel Görünüşü

a-Papiller, b-Polen Kesesi

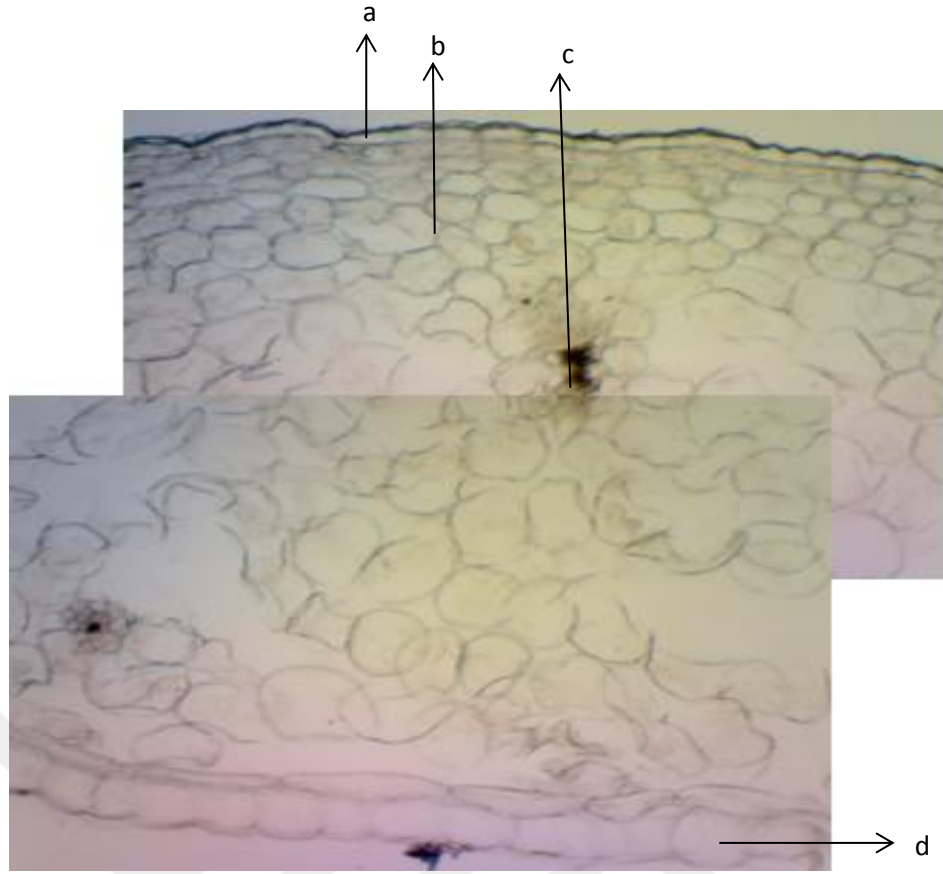


Resim 25. Anterde Papiller

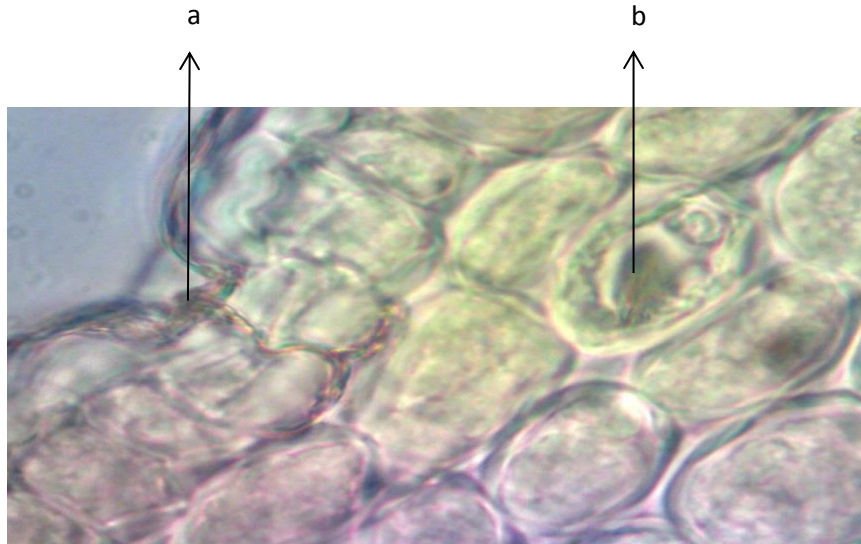
1.1.8. Meyvaya Ait İnceleme ve Bulgular

Meyva enine kesitlerinde ekzokarp hücrelerinin dış yüzeyinde ince bir kutikula bulunmaktadır. Dorsal çeper kalın, ventral ve lateral çeper incedir. Ekzokarp hücrelerinin altındaki sıkışık halde bulunan, bol kloroplast içeren mezokarp hücrelerinin çeperleri kalın, ancak endokarpa doğru incelmektedir. Ekzokarptan endokarpa doğru; ekzokarpın iç kısmındaki mezokarp hücreleri önce yanlara doğru uzamış, sonra yuvarlak, daha sonra ovalimsi şekil almakta ve hücre arası boşluklar artmaktadır. Bu boşlukların artmasına rağmen belirgin hava kanallarına rastlanmamıştır. Eksokarpın iç kısmındaki birinci ve ikinci sıra mezokarp hücrelerinin arasında, kloroplast içermeyen hücrelerde rafit kristalleri bulunmaktadır. Stomalar hafif kserofitiktir (Resim 26-27)

Ekzokarp yüzeyel olarak incelendiğinde, eksokarp hücreleri beşgen veya altıgenimsi ve hücre çeperleri kalın, stoma çevresinde stoma eksenine dikey kutikula çizgileri görülmektedir. Stoma komşu hücreleri dört veya beş olup anomasitik tip stomadır (Resim 28).



Resim 26. Meyve Enine Kesitinin Genel Görünüşü;
a-Ekzokarp, b-Mezokarp, c-İletim Demeti, d-Endokarp



Resim 27. Meyve Enine Kesiti;
a-Stoma, b-Rafit Kristalleri

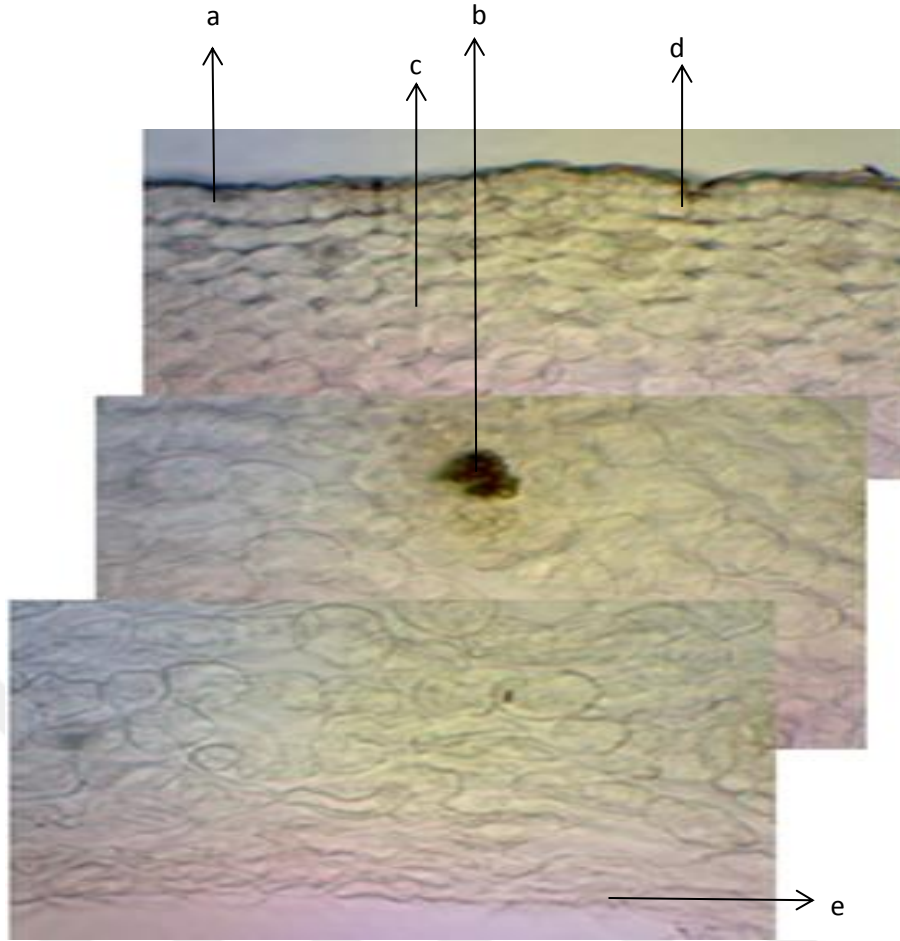


Resim 28. Meyve Yüzeyel Kesitte Stomalar

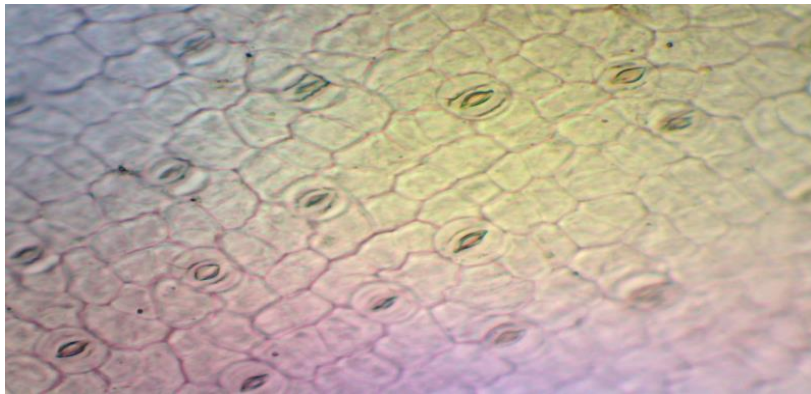
1.1.9. Ovaryuma Ait İnceleme ve Bulgular

Ovaryuma ait enine kesitlerde ekzokarpta çok ince bir kütikula görülmüştür. Ekzokarp hücreleri dikdörtgenimsi olup, dorsal çeperi endokarp hücrelerinin dorsal çeperinden daha kalındır. Mezokarp hücreleri ekzokarptan endokarpa doğru büyümekte ve hücre arası boşluklar artmaktadır. Stomalar hafif kserofitik olup, ekzokarpın iç kısmında yer alan birinci ve ikinci sıra mezokarp hücreleri arasındaki küçük yuvarlak hücrelerin içinde rafit kristalleri bulunmaktadır.

Ekzokarp yüzeyel olarak incelendiğinde beşgen veya altıgenimsi hücrelerden oluşmuştur. Stomalar dört veya beş komşu hücreli anomasitik tiptedir.



Resim 29. Ovaryum Enine Kesitinin Genel Görünüşü;
a-Ekzokarp, b- İletim Demeti c-Mezokarp, d-Stoma, e-Endokarp

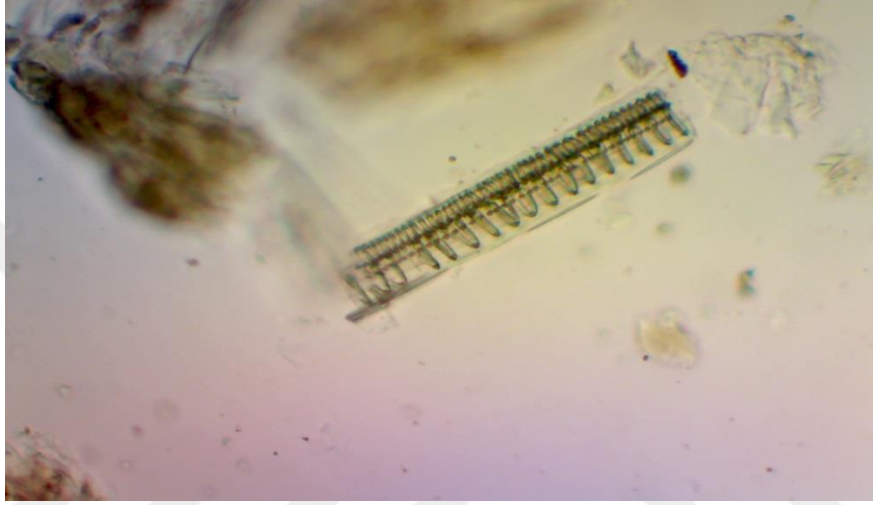


Resim 30. Ovaryum Yüzeyel Kesitte Stomalar

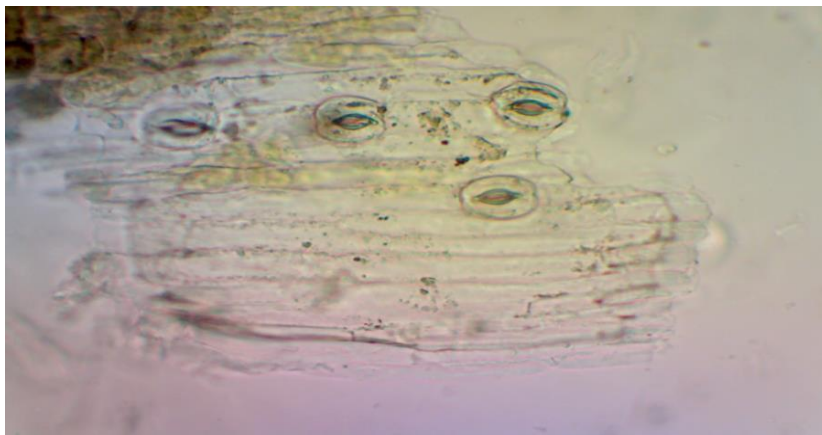
1.2. Mikroskopik Bulgular

1.2.1. ÇTÜ Kodlu Droğun Mikroskopik Olarak İncelenmesi

ÇTÜ kodlu toz droğun mikroskopik olarak incelenmesinde yaprağa ait stomalı ve stomasız epidermis hücrelerine, çiçeğe ait papilli anter epidermisine, iletim demetlerine, rafit kristallerine ve oval şekilde, düz ekzin zarı bulunan polenlere rastlanmaktadır.



Resim 31. İletim Demeti Parçası



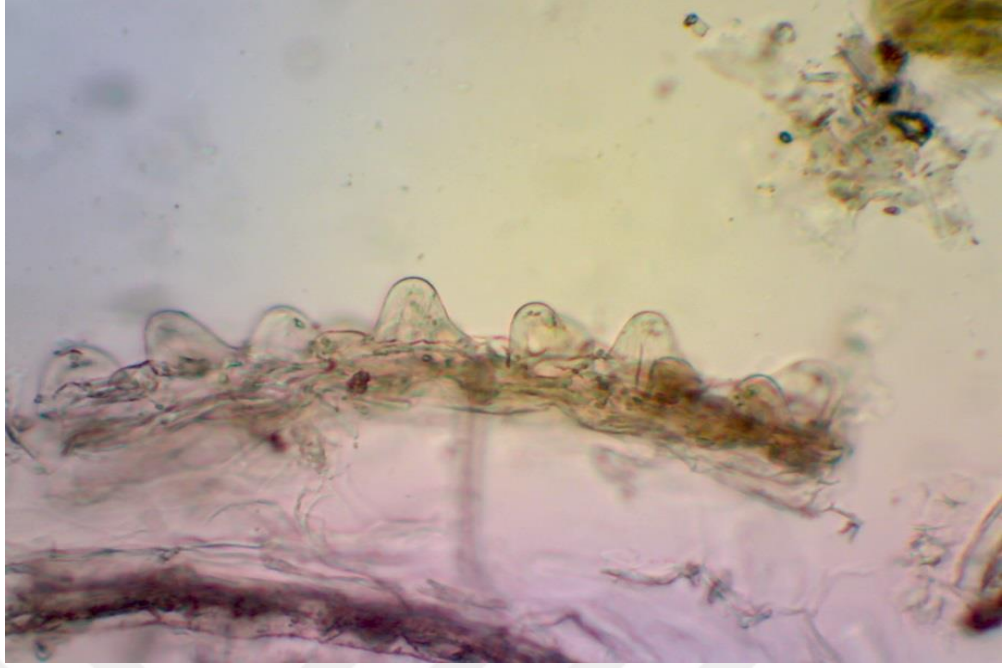
Resim 32. Stomalı Epidermis Parçası



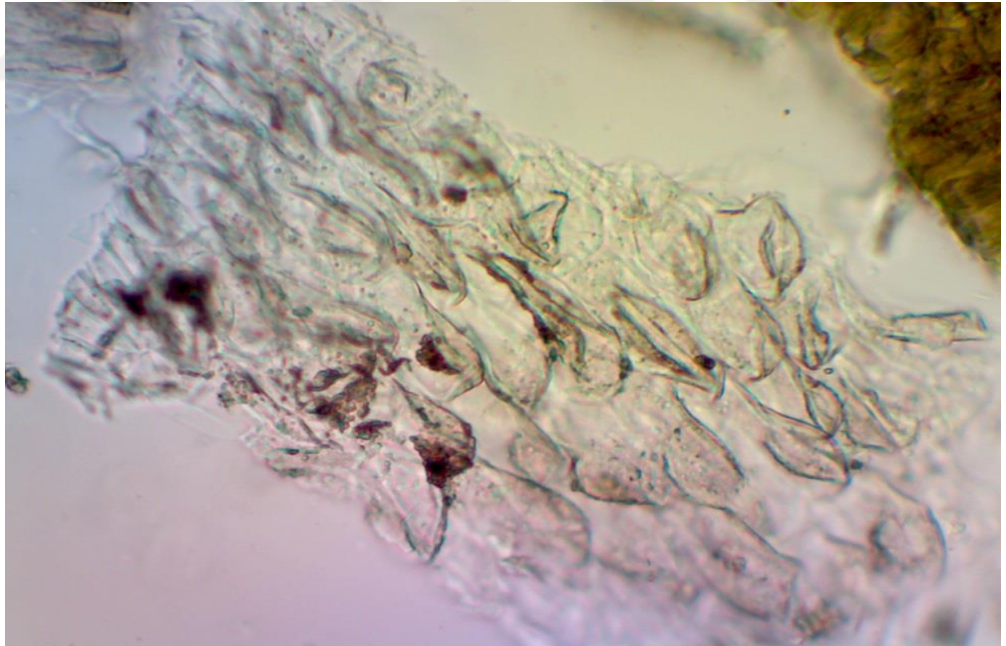
Resim 33. Mezofil Hücreleri



Resim 34. Polen Hücreleri



Resim 35. Papilli Anter Epidermisi Parçası (Enine Görünüş)



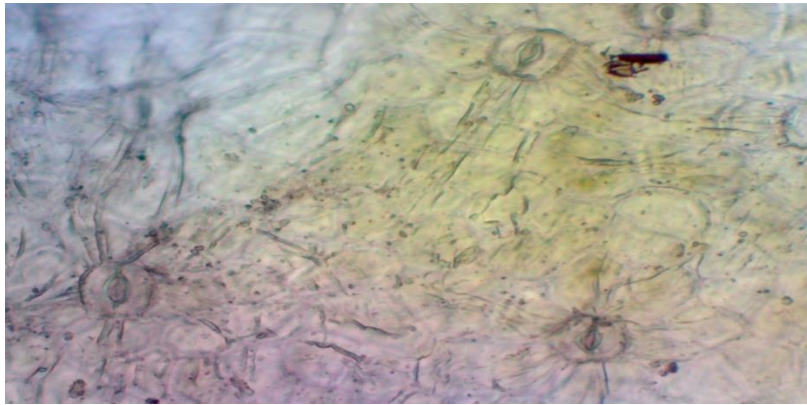
Resim 36. Papilli Anter Epidermis Parçası (Üstten Görünüş)



Resim 37. Rafit Kristalleri

1.2.2. MTÜ Kodlu Droğun Mikroskopik Olarak İncelenmesi

MTÜ kodlu toz droğun mikroskopik olarak incelenmesinde; stomaların daha bol olduğu alt epidermise, üst epidermise, iletim demetlerine, mezofildeki rafit kristallerine, meyveye ait ekzokarp ve mezokarp hücrelerine rastlanmıştır.



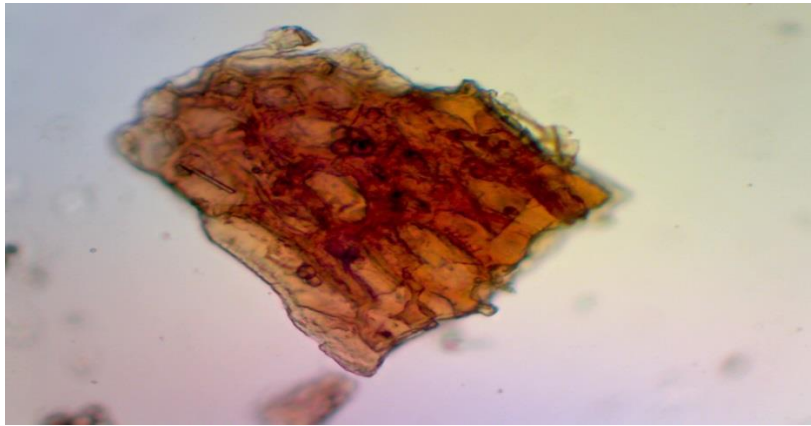
Resim 38. Ekzokarpta Stoma



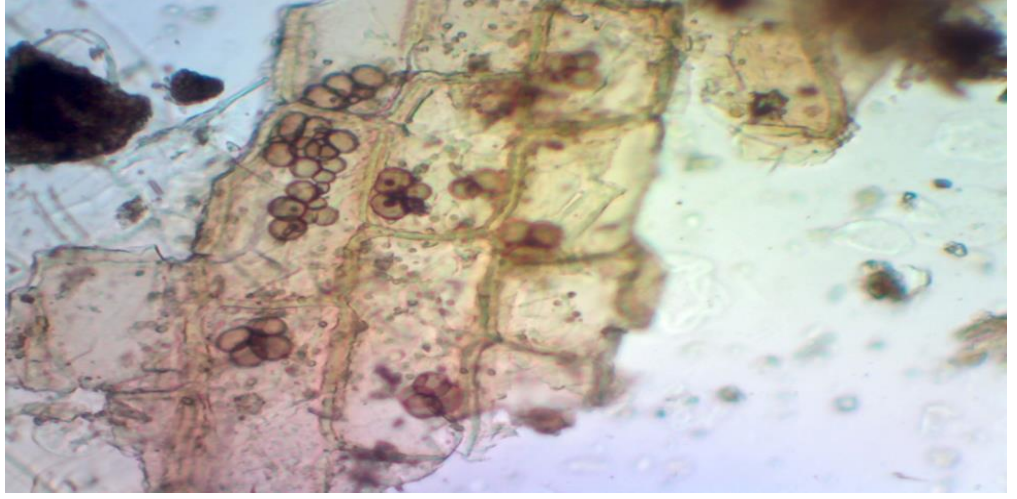
Resim 39. Mezokarpta Rafit İçeren Parenkimatik Hücreler

1.2.3. ÇTA ve MTA Kodlu Droğun Mikroskopik Olarak İncelenmesi

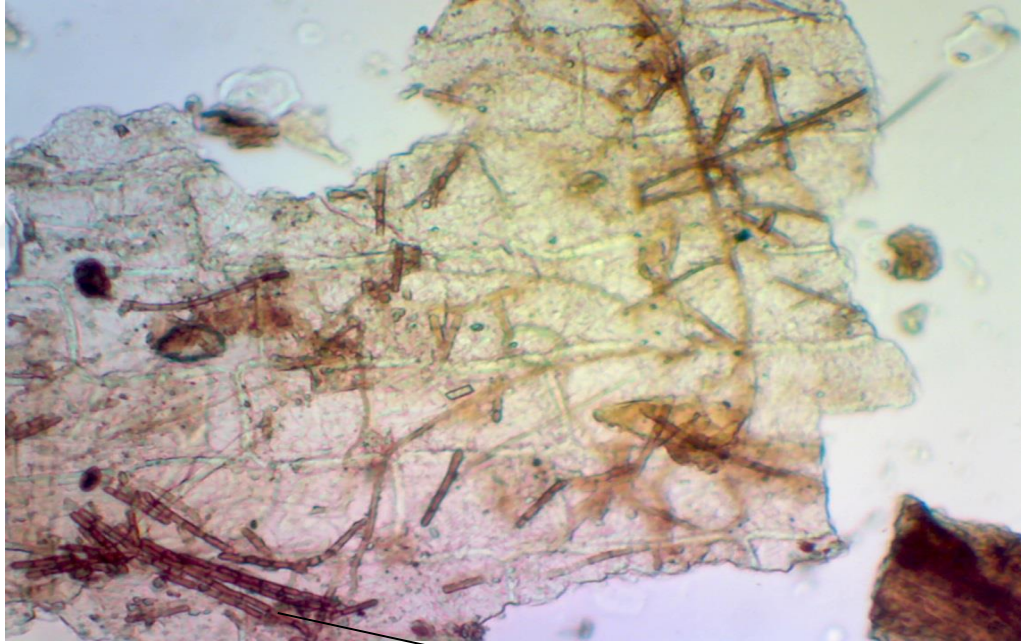
Çiçekli ve meyveli toprak altı toz droğlarının incelenmesi sonucunda herhangi bir farklılık gözlemlenmemiştir.. Her iki toz droğun incelenmesi sonucu bol nişasta içeren soğan yapraklarına ait parenkimatik doku parçalarına, çeşitli süberinleşmiş doku parçalarına, rafit kristallerine, iletim demetlerine, emici tüylere (Resim 51-54), rastlanmıştır (Resim 55). Kurumuş soğan dış yaprakları üzerinde gelişmiş mantar hifleri de tespit edilmiştir.



Resim 40. Süberinleşmiş Doku Parçaları

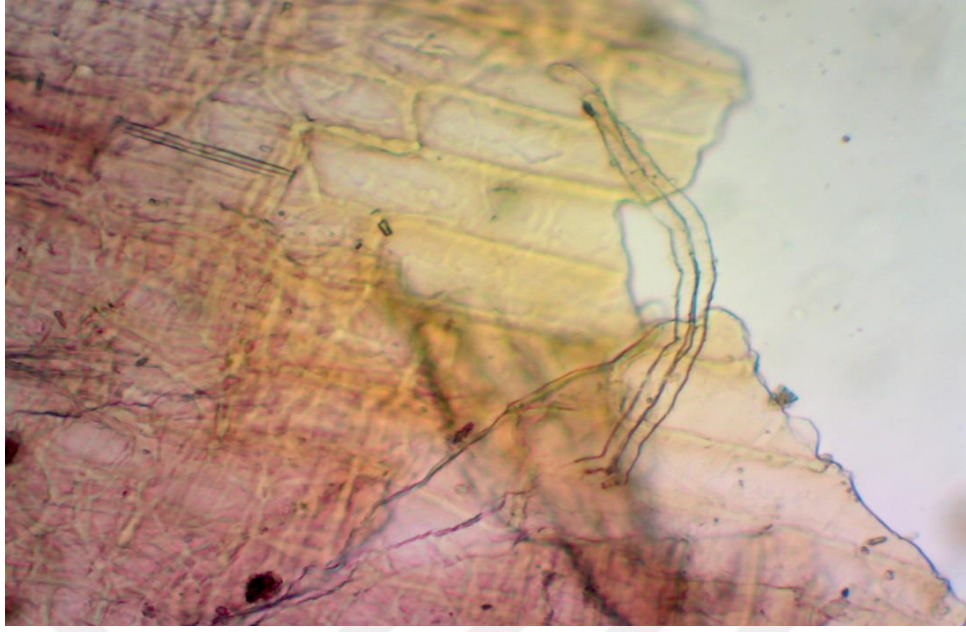


Resim 41. Soğan Yaprak Epidermisi ve Nişastalar

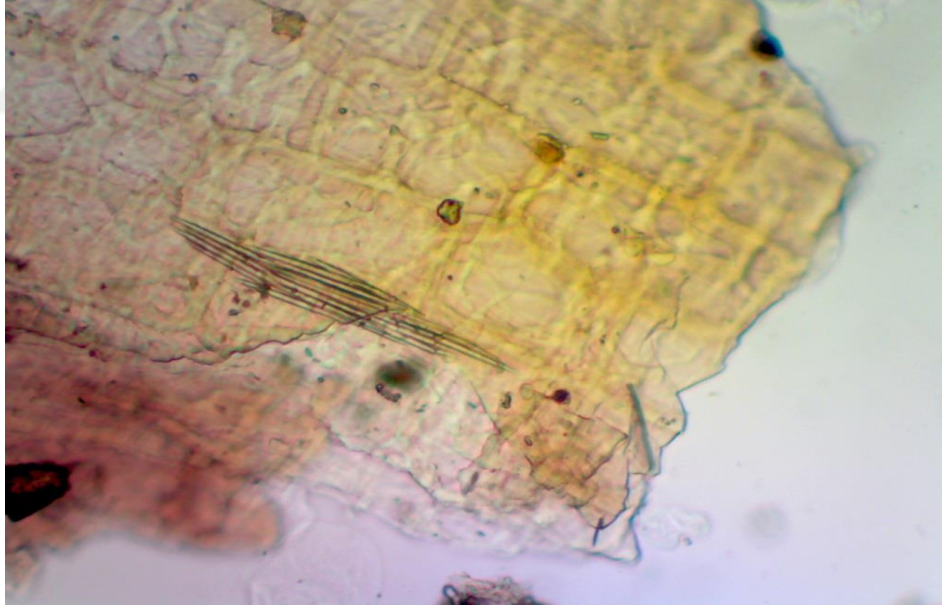


Resim 42. Soğan Yapağında Mantar Hifleri

a: Mantar Hifleri



Resim 43. Emici Tüy



Resim 44. Rafit Demetleri

2. KALİTE KONTROL VE MİKTAR TAYİNİ ÇALIŞMALARINA AİT BULGULAR

2.1. Kurutmada Kayıp Miktar Tayini

Avrupa Farmakopesi ve Avrupa Farmakopesi Adaptasyonu Türk Farmakopesi'nde (116, 117) verilen yöntem kullanılarak ÇTÜ, ÇTA, MTÜ, MTA kodlu örneklerden ayrı ayrı olmak üzere 3 paralel deneme yapılmıştır. Bu denemeler sonucunda elde edilen sonuçlar aşağıda yer almaktadır.

Drog	Drog Miktarı (g)	% Kurutmada Kayıp Miktarı
ÇTÜ	1.006	7.9224
ÇTÜ	1.011	7.9030
ÇTÜ	1.007	7.7800
Ortalama % Kurutmada Kayıp Miktarı: 7.8683		
ÇTA	1.022	7.9952
ÇTA	1.002	8.2235
ÇTA	1.002	8.3034
Ortalama % Kurutmada Kayıp Miktarı: 8.1740		
MTÜ	1.003	8.1555
MTÜ	1.002	8.1736
MTÜ	1.003	8.2552
Ortalama % Kurutmada Kayıp Miktarı: 8.1947		
MTA	1.004	7.7589
MTA	1.005	7.6417
MTA	1.004	7.6693
Ortalama % Kurutmada Kayıp Miktarı: 7.6899		

Tablo 12. *G. fosteri* Bitkisinden Hazırlanan Örnekler Üzerinde Yapılan Kurutmada Kayıp Miktar Tayini Sonuçları

2.2. Total Kül Miktar Tayini

Avrupa Farmakopesinde ve Avrupa Farmakopesi Adaptasyonu Türk Farmakopesi'nde (116, 117) verilen yöntem kullanılarak ÇTÜ, ÇTA, MTÜ, MTA kodlu örneklerden ayrı ayrı olmak üzere 3 paralel deneme yapılmıştır. Bu denemeler sonucunda elde edilen sonuçlar aşağıda yer almaktadır.

Drog	Drog Miktarı (g)	% Total Kül Miktarı
ÇTÜ	1.003	9.2
ÇTÜ	1.005	9.3422
ÇTÜ	1.006	9.3936
Ortalama % Total Kül Miktarı: 9.3119		
ÇTA	1.009	15.3419
ÇTA	1.008	15.85
ÇTA	1.012	16.1462
Ortalama % Total Kül Miktarı: 15.7713		
MTÜ	1.005	10.9011
MTÜ	1.009	10.118
MTÜ	1.006	10.3578
Ortalama % Total Kül Miktarı: 10.4589		
MTA	1.007	14.0715
MTA	1.006	14.2942
MTA	1.008	14.2063
Ortalama % Total Kül Miktarı: 14.1906		

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

2.3. Hidroklorik Asitte Çözünmeyen Kül Miktar Tayini

Avrupa Farmakopesinde ve Avrupa Farmakopesi Adaptasyonu Türk Farmakopesi'nden yararlanılarak (116, 117) ÇTÜ, ÇTA, MTÜ, MTA kodlu örnekler üzerinde ayrı ayrı olmak üzere üç paralel deney yapıldı. Bu deneylerden elde edilen sonuçlar aşağıda yer almaktadır.

Drog	Drog Miktarı (g)	% Hidroklorik Asitte Çözünmeyen Kül Miktarı
ÇTÜ	1.003	2.2432
ÇTÜ	1.003	2.3330
ÇTÜ	1.006	2.4055
Ortalama % Hidroklorik Asitte Çözünmeyen Kül Miktarı: 2.3272		
ÇTA	1.009	4.1427
ÇTA	1.008	4.2758
ÇTA	1.012	4.1509
Ortalama % Hidroklorik Asitte Çözünmeyen Kül Miktarı: 4.1898		
MTÜ	1.005	2.8756
MTÜ	1.009	2.9236
MTÜ	1.006	2.7932
Ortalama % Hidroklorik Asitte Çözünmeyen Kül Miktarı: 2.8641		
MTA	1.007	5.1042
MTA	1.006	4.9502
MTA	1.008	5.1686
Ortalama % Hidroklorik Asitte Çözünmeyen Kül Miktarı: 5.0743		

Tablo 14. *G. fosteri* Bitkisinden Hazırlanan Örnekler Üzerinde Yapılan Hidroklorik Asitte Çözünmeyen Kül Miktar Tayini Sonuçları

2.4. Sülfat Külü Miktar Tayini

Avrupa Farmakopesinde ve Avrupa Farmakopesi Adaptasyonu Türk Farmakopesi'nde (116, 117) verilen yöntem kullanılarak ÇTÜ, ÇTA, MTÜ, MTA kodlu örneklerden ayrı ayrı olmak üzere 3 paralel deneme yapılmış ve bu denemeler sonucunda elde edilen sonuçlar aşağıda verilmiştir.

Drog	Drog Miktarı (g)	% Sülfat Külü Miktarı
ÇTÜ	1.002	11.6966
ÇTÜ	1.009	11.8731
ÇTÜ	1.011	11.9189
Ortalama % Sülfat Külü Miktarı: 11.8295		
ÇTA	1.004	17.0418
ÇTA	1.007	16.9016
ÇTA	1.004	17.3207
Ortalama % Sülfat Külü Miktarı: 17.0880		
MTÜ	1.005	12.3681
MTÜ	1.008	12.7083
MTÜ	1.010	12.4356
Ortalama % Sülfat Külü Miktarı: 12.5040		
MTA	1.005	17.0248
MTA	1.008	17.1031
MTA	1.005	17.3233
Ortalama % Sülfat Külü Miktarı: 17.1504		

Tablo 15. *G. fosteri* Bitkisinden Hazırlanan Örnekler Üzerinde Yapılan Sülfat Külü Miktar Tayini Sonuçları

2.5. Total Alkaloit Miktar Tayinine Ait Bulgular

Daha önce çalışma grubumuz tarafından Avrupa Farmakopesi'nde (116) yer alan drog monografilerinden yararlanarak geliştirilmiş yöntem kullanılmıştır.

Yapılan çalışmalarda ÇTÜ, ÇTA, MTÜ, MTA kodlu örneklerden ayrı ayrı olmak üzere 5 paralel deneme yapıldı. Sonuçlar kuru drog ve galantamin üzerinden yüzde olarak hesaplanmak suretiyle verilmiştir.

Drog Miktarı (g)			% Total Alkaloit	
3.000			0.0431	
3.009			0.0429	
3.012			0.0431	
3.006			0.0430	
3.031			0.0426	
N	Ort.	St.Sapma	Min.	Max.
5	0.04294	0.0002	0.0426	0.0431

Tablo 16. ÇTÜ Örneğine Ait Total Alkaloit Miktar Tayini Sonuçları

Drog Miktarı (g)			% Total Alkaloit	
3.011			0.1511	
3.023			0.1504	
3.008			0.1512	
3.012			0.1510	
3.005			0.1514	
N	Ort.	St.Sapma	Min.	Max.
5	0.1510	0.0003	0.1510	0.1514

Tablo 17. ÇTA Örneğine Ait Total Alkaloit Miktar Tayini Sonuçları

Drog Miktarı (g)		% Total Alkaloit		
3.015		0.0674		
3.022		0.0672		
3.029		0.0671		
3.035		0.0670		
3.025		0.0672		
N	Ort.	St.Sapma	Min.	Max.
5	0.06718	0.0001	0.0670	0.0674

Tablo 18. MTÜ Örneğine Ait Total Alkaloit Miktar Tayini Sonuçları

Drog Miktarı (g)		% Total Alkaloit		
3.024		0.2042		
3.004		0.2056		
3.015		0.2049		
3.009		0.2053		
3.026		0.2042		
N	Ort.	St.Sapma	Min.	Max.
5	0.20484	0.006	0.2042	0.2056

Tablo 19. MTA Örneğine Ait Total Alkaloit Miktar Tayini Sonuçları

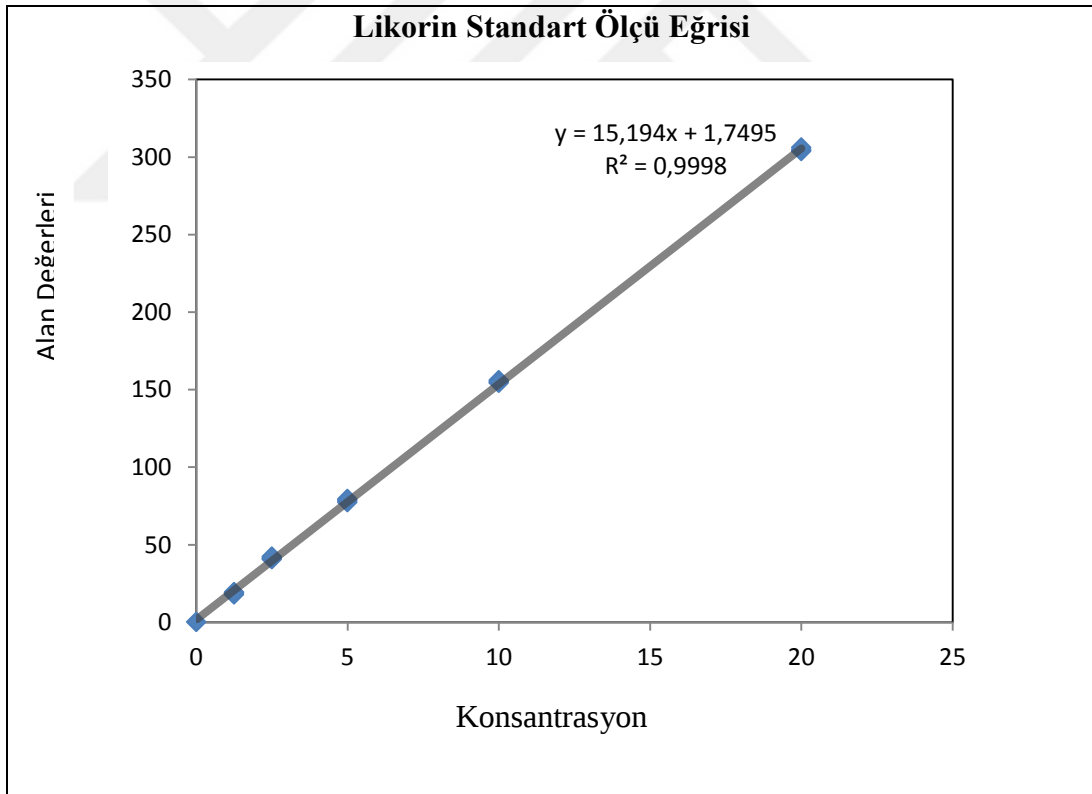
2.6. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi ile Likorin ve Galantamin Miktar Tayini

2.6.1. Likorin Ölçü Eğrisinin Hazırlanması

Likorin miktar tayininde gerekli olan ölçü eğrisinin hazırlanması için uygulanan likorin konsantrasyonları ve okunan alan değerleri tablo 31 de, likorin konsantrasyon ve alan değerleri dikkate alarak hazırlanan regresyon denklemi şekil 1’de görülmektedir.

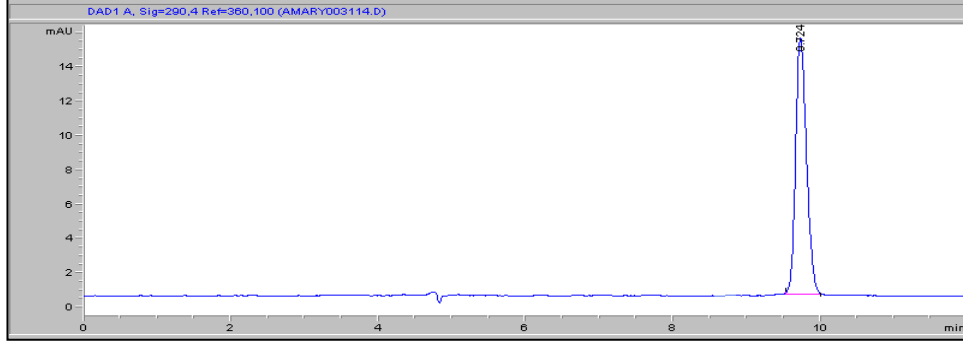
Konsanrtasyon (µg/ml)	Okunan Alan Değerleri
1.25	18.6997
2.5	41.3143
5	78.2933
10	155.0537
20	304.7277

Tablo 20. Uygulanan Likorin Konsantrasyonuna Karşı Okunan Alan Değerleri

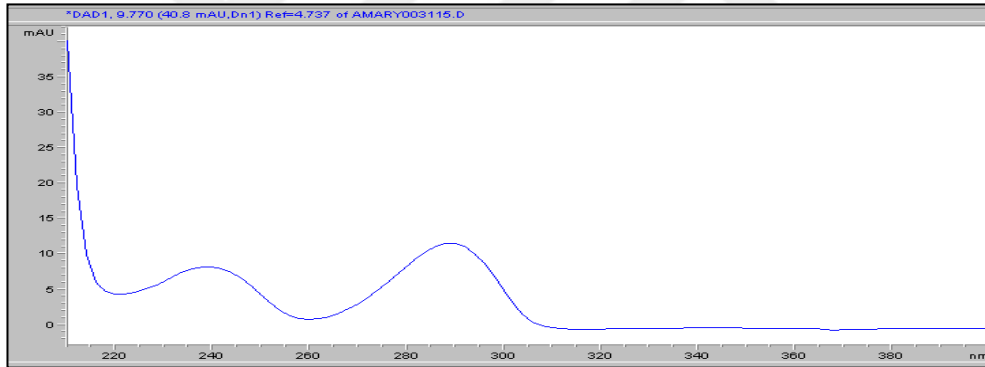


Şekil 1. Likorin Standart Ölçü Eğrisi ve Regresyon Denklemi

Standart olarak kullanılan likorine ait HPLC kromatogramı ve UV spektrumu şekil 2 ve şekil 3 de yer almaktadır.



Şekil 2. Standart Likorine Ait HPLC Kromatogramı $R_t=9.724$



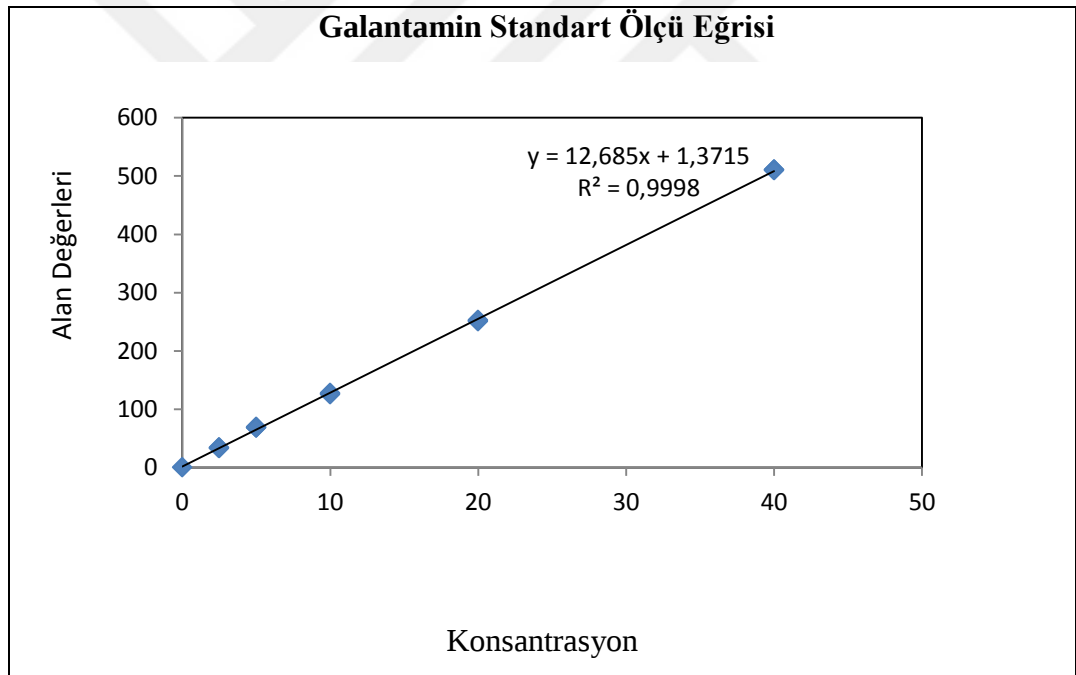
Şekil 3. Standart Olarak Kullanılan Likorine Ait UV Spektrumu

2.6.2. Galantamin Ölçü Eğrisinin Hazırlanması

Galantamin ölçü eğrisi hazırlanması için uygulanan galantamin konsantrasyonları ve okunan alan değerleri tablo 32 de ve galantamin konsantrasyon ve alan değerleri dikkate alınarak hazırlanan regresyon denklemi şekil 4 de görülmektedir.

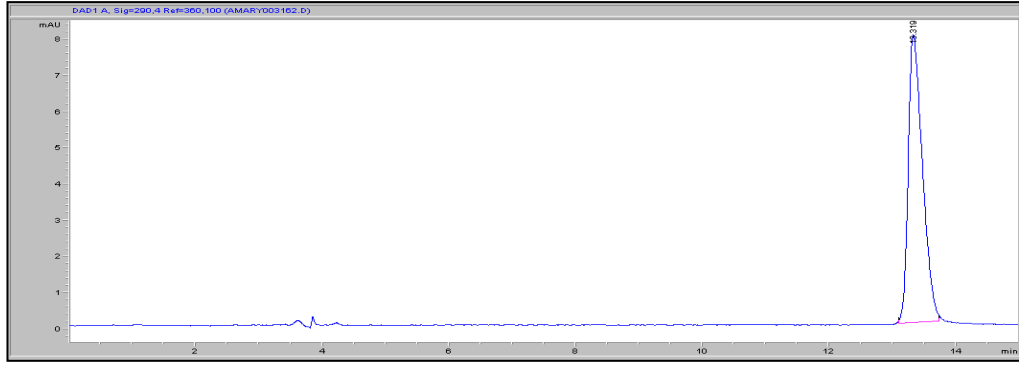
Konsantrasyon (µg/ml)	Okunan Alan Değerleri
2.5	33.5851
5	68.4190
10	126.2761
20	251.6072
40	510.4857

Tablo 21. Uygulanan Galantamin Konsantrasyonuna Karşı Okunan Alan Değerleri

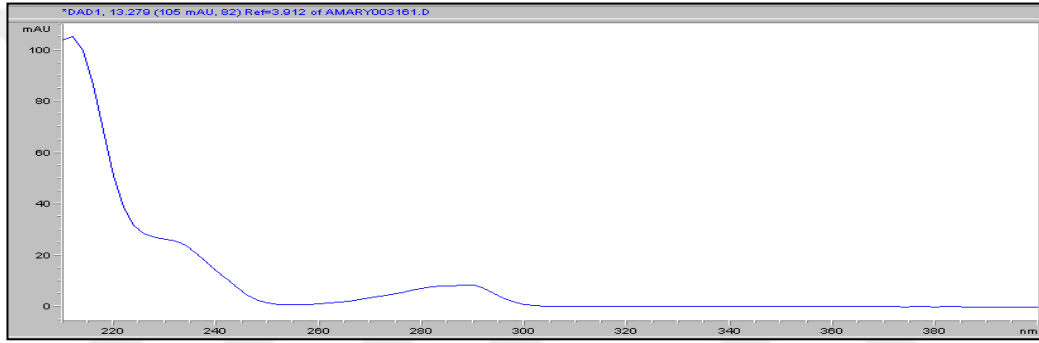


Şekil 4. Galantamin Standart Ölçü Eğrisi ve Regresyon Denklemi

Standart olarak kullanılan galantamine ait HPLC kromatogramı ve UV spektrumu şekil 5 ve şekil 6 da yer almaktadır.

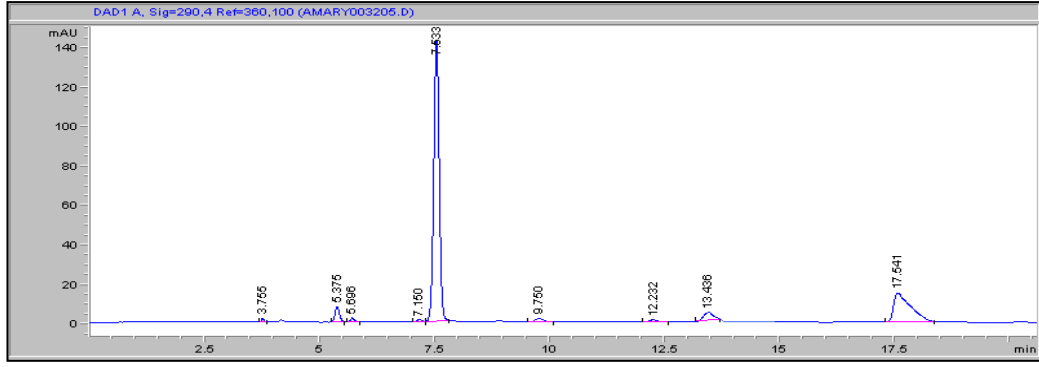


Şekil 5. Standart Galantamine Ait HPLC Kromatogramı $R_t=13.619$

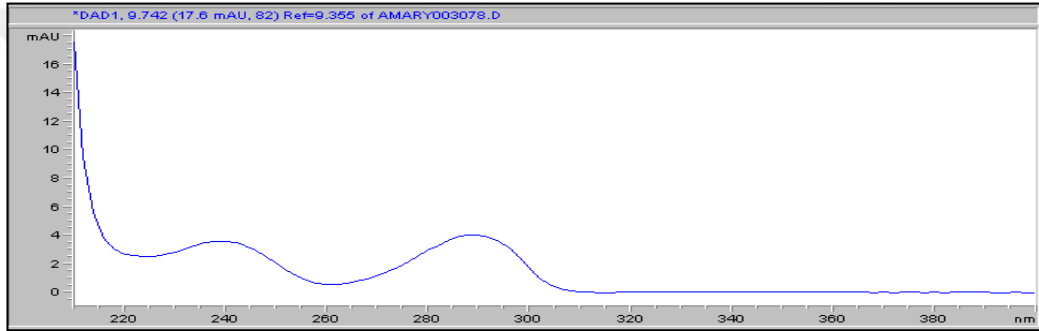


Şekil 6. Standart Olarak Kullanılan Galantamine Ait UV Spektrumu

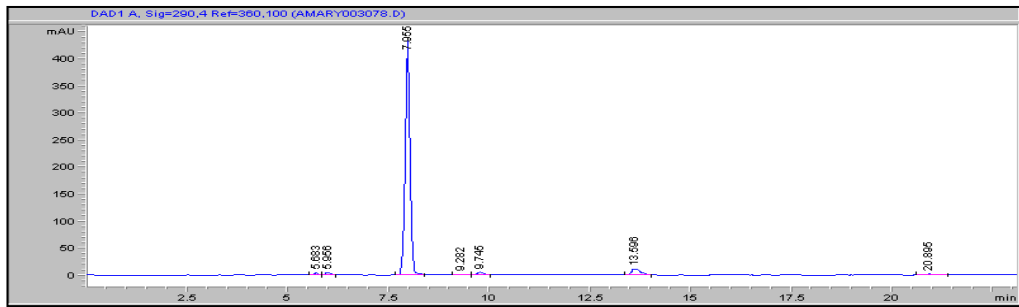
HPLC ile miktar tayini çalışmalarında dedektör olarak DAD (Diode Array Detector) kullanılmıştır. Standart likorin ve galantamin ile ekstrede teşhis edilen likorin ve galantaminin UV spektrumları karşılaştırıldığında, 1000 üzerinden 999 uyum tespit edilmiştir. ÇTA kodlu örnekte likorin, MTÜ kodlu örnekte ise galantamin varlığı tespit edilmiştir. ÇTÜ ve MTA kodlu örneklerde her iki alkaloid de bulunmamaktadır. Ekstrelerin HPLC kromatogramları ve UV spektrumları şekil (7-12) de görülmektedir.



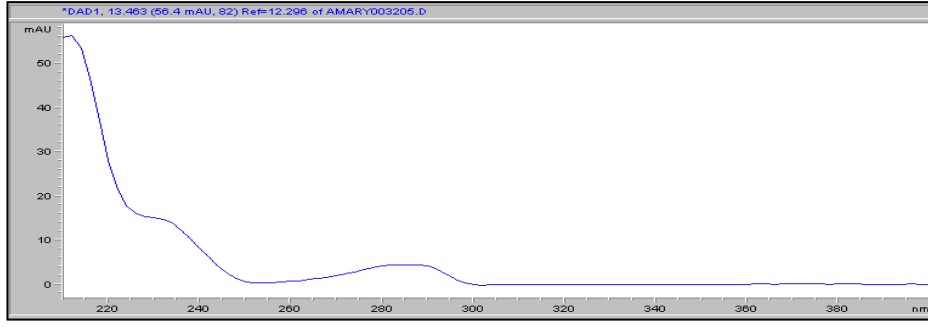
Şekil 7. ÇTA Ekstresine Ait HPLC Kromatogramı (Likorin $R_t=9.750$)



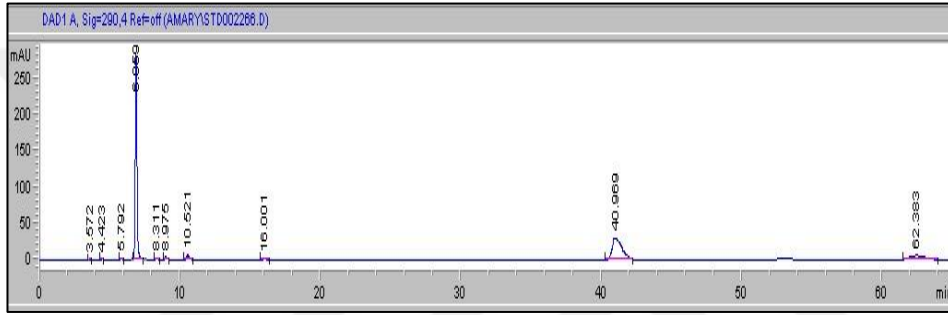
Şekil 8. ÇTA Ekstresine Ait Likorin Pikinin UV Spektrumu



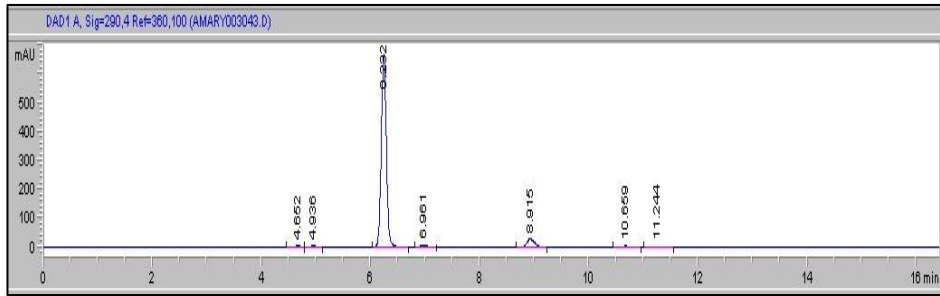
Şekil 9. MTÜ Ekstresine Ait HPLC Kromatogramı (Galantamin $R_t=13.596$)



Şekil 10. MTÜ Ekstresine Ait Galantamin Pikinin UV spektrumu



Şekil 11. ÇTÜ Ekstresine Ait HPLC Kromatogramı



Şekil 12. MTA Ekstresine Ait HPLC Kromatogramı

2.6.3. Ekstrelelere Ait Likorin ve Galantamin Miktar Tayini Sonuçları

Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) ile kuru drog üzerinden ve daha önce belirtilen yöntemle hesaplanmış likorin ve galantamin miktar tayini sonuçları tablolarda verilmiştir (Tablo 22-25).

Drog	Drog Miktarı (mg)	Uygulanan Miktar (µl)	Okunan Alan Değerleri	% Likorin Miktarı
ÇTA	200	20	41.5830	0.00437
		20	42.8572	0.00409
		20	40.1934	0.00421
ÇTA	200	20	46.2713	0.00488
		20	45.8354	0.00483
		20	43.2367	0.00455
ÇTA	200	20	45.8465	0.00483
		20	44.6423	0.00470
		20	42.8462	0.00451

Tablo 22. ÇTA Kodlu Örnekte HPLC Yöntemiyle Likorin Miktar Tayini Sonuçları

N	Ort.	St. Sapma	Min	Max
9	0.00455	0.000285	0.00409	0.00488

Tablo 23. ÇTA Kodlu Örnekte HPLC Yöntemiyle Likorin Miktar Tayini Sonuçlarının İstatiksel Olarak Değerlendirilmesi

Drog	Drog Miktarı (mg)	Uygulanan Miktar (µl)	Okunan Alan Değerleri	% Galantamin Miktarı
MTÜ	200	20	84.3548	0.00906
		20	85.4659	0.00918
		20	83.9785	0.00902
MTÜ	200	20	79.7943	0.00856
		20	80.4746	0.00864
		20	78.4563	0.00841
MTÜ	200	20	81.4634	0.00874
		20	82.4756	0.00885
		20	82.8462	0.00889

Tablo 24. MTÜ Kodlu Örnekte HPLC Yöntemiyle Galantamin Miktar Tayini Sonuçları

N	Ort.	St. Sapma	Min	Max
9	0.00882	0.000252	0.00841	0.00918

Tablo 25. MTÜ Kodlu Örnekte HPLC Yöntemiyle Galantamin Miktar Tayini Sonuçlarının İstatiksel Olarak Değerlendirilmesi

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

Yapılan deneyler sonucu elde edilen bulgular aşağıda verilmiştir (Tablo 26-29).

Alkaloitin Adı	R.Z. (dk)	M ⁺ m/z (%)	Karakteristik iyonlar m/z (%)	Yüzde Miktarı	Literatür
Hordenin	11.2	165(1)	121(2), 107(4), 91(3), 77(7), 58(100)	1.86	333, 347 389, 390
İsmin	20.13	257(28)	238(100), 211(6), 196(11), 168(8)	0.16	270, 272 273, 333
5,6-dihidro bikolorin	21.05	239(45)	238(100), 180(15), 129(65), 113(18), 112(25), 111(27), 71(37)	0.09	270, 273
Krinin	21.40	271(100)	270(35), 254(5), 228(37), 214(10), 199(26), 185(31), 150(51), 122(54)	0.13	391, 392
Galantamin	21.64	287(80)	286(100), 270(14), 244(39), 230(19), 216(38)	0.21	393-396
O,N-dimetil norbelladin	23.22	303(8)	180(31), 137(100), 122(6), 107(7), 77(7)	1.48	S
Assoanin	23.56	267(53)	266(100), 250(31), 222(16), 207(36), 193(18), 180(22)	0.05	270, 272 273
Galantin	24.56	317(12)	316(10), 298(7), 284(9), 268(14), 266(10), 244(13), 243(85), 242(100)	0.36	262, 272 397
İnkartin	25.10	333(30)	332(78), 259(72), 258(100), 244(18)	24.88	272, 273
GF-8	25.8	331(100)	272(54), 271(86), 254(51), 242(58), 226(74), 181(66), 115(47)	64.51	S
GF-3	26.28	373(42)	254(38), 242(48), 229(69), 227(66), 226(98), 211(90), 181(100)	5.25	S
Galvesin	26.78	361(12)	207(43), 155(88), 140(100), 112(20), 96(16), 73(20)	0.21	192, 347
GF-2	29.52	347(39)	273(100), 258(68), 207(42), 73(16)	0.32	S

Tablo 26. ÇTÜ Örneğinin GC-MS Yöntemiyle Analizi Sonucu Elde Edilen Bulgular
S: İzolasyon çalışmasında elde edilmiş olup, GC-MS yöntemiyle ilk kez analiz edilmiştir.

Alkaloitin Adı	R.Z. (dk)	M ⁺ m/z (%)	Karakteristik iyonlar m/z (%)	Yüzde Miktarı	Literatür
Hordenin	11.18	165(1)	121(2), 107(4), 91(2), 77(7), 58(100)	7.40	333, 347 389, 390
İsmin	20.12	257(27)	238(100), 207(24), 196(12), 180(12), 83(15)	0.22	270, 272 273, 333
Trisferidin	20.6	223(100)	222(38), 167(11), 138(27), 111(19), 69(21)	0.35	270, 272 273
Krinin	21.39	271(100)	270(45), 228(38), 227(25), 199 (25), 150(47), 122(49), 79(36)	0.27	391, 392
Galantamin	21.64	287(81)	286(100), 270(13), 244(34), 230(17), 216(39)	0.94	393-396
Demetil maritidin	22.84	273(77)	202(29), 201(100), 189(67), 175(27), 115(24)	9.07	270, 273
O,N-dimetil norbelladin	23.18	303	180(30), 137(100), 122(6), 94(6), 77(6)	2.37	S
11,12didehidro anhidrolikorin	24.03	249(56)	248(100), 207(19), 191(16) 190(27), 95(23),	0.67	270, 272 273
Galantin	24.56	317(12)	316(10), 298(7), 284(9), 268(14), 266(10), 244(13), 243(85), 242(100)	3.08	262, 272 397
11-hidroksi vittatin	24.89	287(8)	258(100), 242(14), 211(16), 186(20), 181(21), 153(10), 115(16)	8.37	272, 294 390
İnkartin	25.01	333(30)	332(78), 259(72), 258(100), 244(18)	40.03	272, 273
Likorin	25.28	287(19)	268(17), 250(14), 228(11), 227(65), 226(100), 147(12)	5.39	270, 272 273
9-O-metil psödolikorin	25.36	303(22)	302(16), 284(15), 243(68), 242(100), 227(13), 207(27)	1.34	280, 397
GF-8	25.68	331(100)	272(57), 271(82), 254(50), 242(62), 226(91), 181(89), 115(50)	12.57	S
GF-2	29.46	347(39)	273(100), 258(61), 207(92), 73(42)	1.54	S

Tablo 27. ÇTA Örneğinin GC-MS Yöntemiyle Analizi Sonucu Elde Edilen Bulgular
S: İzolasyon çalışmasında elde edilmiş olup, GC-MS yöntemiyle ilk kez analiz edilmiştir.

Alkaloitin Adı	R.Z. (dk)	M ⁺ m/z (%)	Karakteristik iyonlar m/z (%)	Yüzde Miktarı	Literatür
Hordenin	11.19	165(1)	121(2), 107(4), 91(3), 77(8), 58(100)	6.08	333, 347 389, 390
İsmin	20.13	257(29)	238(100), 196(10), 180(9), 168(9), 83(10)	0.09	270, 272 273, 333
Trisferidin	20.6	223(100)	222(38), 167(11), 138(26), 111(13), 69(11)	0.08	270, 272 273
5,6-dihidro bikolorin	21.03	239(36)	238(100), 180(16), 129(50), 113(16), 112(20), 111(17), 71(70)	0.16	270, 273
Krinin	21.39	271(100)	270(33), 228(36), 227(29), 199 (25), 150(52), 122(47), 79(39)	0.16	391, 392
Galantamin	21.6	287(77)	286(100), 270(14), 244(40), 230(16), 216(37)	3.18	393-396
O,N-dimetil norbelladin	23.21	303(8)	180(29), 137(100), 122(6), 94(5), 77(6)	1.04	S
Galantin	24.56	317(13)	316(11), 284(10), 268(15), 266(10), 244(15), 243(89), 242(100)	0.33	262, 272 397
11-hidroksi vittatin	24.9	287(9)	258(100), 242(12), 211(16), 186(22), 181(22), 153(9), 115(17)	2.38	272, 294 390,
İnkartin	25.05	333(31)	332(77), 259(72), 258(100), 244(18)	22.21	272, 273
GF-8	25.81	331(100)	272(59), 271(89), 270(47), 254(53), 242(65), 229(41), 227(64), 226(90), 212(65), 181(77)	62.79	S
GF-3	26.23	373(39)	242(50), 229(70), 227(71), 226(98), 211(93), 181(100)	3.22	S
GF-2	29.48	347(41)	273(100), 258(65), 207(55), 73(25)	0.43	S

Tablo 28. MTÜ Örneğinin GC-MS Yöntemiyle Analizi Sonucu Elde Edilen Bulgular
S: İzolasyon çalışmasında elde edilmiş olup, GC-MS yöntemiyle ilk kez analiz edilmiştir.

Alkaloitin Adı	R.Z. (dk)	M ⁺ m/z (%)	Karakteristik iyonlar m/z (%)	Yüzde Miktarı	Literatür
Hordenin	11.17	165(1)	121(1), 107(4), 91(2), 77(7), 58(100)	5.85	333, 347 389, 390
M 255	16.91	255(22)	240(42), 181(100), 153(37), 152(47), 97(27), 73(51)	0.10	262, 397
İsmin	20.11	257(24)	238(100), 196(11), 180(9), 168(9), 83(6)	1.35	270, 272 273, 333
Trisferidin	20.6	223(100)	222(40), 167(11), 138(27), 111(22), 69(9)	1.18	270, 272 273
5,6-dihidro bikolorin	21.02	239(39)	238(100), 180(15), 129(47), 113(10), 112(18), 111(17), 71(32)	1.51	270, 273
Galantamin	21.6	287(78)	286(100), 244(30), 230(15), 216(39), 174(39)	0.33	393-396
Galantindol	22.74	281(100)	262(23), 207(26), 191(30), 149(20), 97(21), 73(26)	0.33	270, 273
Demetil maritidin	22.83	273(81)	202(29), 201(100), 189(71), 175(28), 115(27)	2.62	270, 273
Anhidro likorin	22.98	251(41)	250(100), 224(17), 192 (16), 191(14), 96(11)	1.24	272, 397
O,N-dimetil norbelladin	23.20	303(9)	180(29), 137(100), 122(6), 94(5), 77(7)	1.36	S
Assoanin	23.56	267(52)	266(100), 250(31), 222(14), 207(14), 193(12), 180(15)	0.72	270, 272 273
11,12-didehidro anhidrolikorin	24.05	249(57)	248(100), 207(10), 191(16) 190(30), 95(23),	0.96	270, 272 273
Galantin	24.55	317(15)	316(11), 284(10), 268(16), 266(10), 244(16), 243(92), 242(100)	1.08	262, 272 397
11-hidroksi vittatin	24.89	287(9)	258(100), 242(12), 211(15), 186(20), 181(20), 153(10), 115(17)	13.51	272, 294 390,
İnkartin	25.03	333(30)	332(77), 259(72), 258(100), 244(18)	32.70	272, 273
Likorin	25.29	287(19)	268(17), 250(14), 228(11), 227(67), 226(100), 147(12)	0.97	270, 272 273
9-O-metil psödolikorin	25.38	303(18)	302(16), 284(16), 243(72), 242(100), 240(11), 227(21), 226(30), 207(34)	0.99	280, 397
GF-8	25.67	331(100)	272(59), 271(86), 270(50), 254(54), 242(66), 229(42), 227(68), 226(99), 212(71), 181(83)	9.12	S
GF-2	29.47	347(40)	273(100), 258(66), 207(40), 73(16)	2.70	S

Tablo 29. MTA Örneğinin GC-MS Yöntemiyle Analizi Sonucu Elde Edilen Bulgular
S: İzolasyon çalışmasında elde edilmiş olup, GC-MS yöntemiyle ilk kez analiz edilmiştir.

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

4.1. Antikolinesteraz Aktivite Tayinine Ait Bulgular

Galanthus fosteri bitkisinin total alkaloid ekstresinden elde edilen fraksiyonlar üzerinde Ellman yöntemiyle antikolinesteraz aktivite deneyi uygulanmıştır. Yapılan deneyler sonucu elde edilen bulgular aşağıda verilmiştir (Tablo 30-31).

Fraksiyon Kodu	Konsantrasyon (µg/ml)	AChE İnhibisyonu (%)	BuChE İnhibisyonu (%)
A	600	100	100
	60	58.45	15.65
	6	13.2	1.58
B	600	100	98.02
	60	57.99	11.86
	6	7.1	1.84
C	600	100	95.2
	60	62.34	13.73
	6	3.78	2.13
D	600	100	77.03
	60	74.43	19.36
	6	28.69	15.1
E	600	98.09	94.1
	60	68.39	27.43
	6	10.08	1.97
F	600	96.67	76.27
	60	69.03	72.65
	6	22.47	15.2
G	600	100	80.62
	60	72.6	62.08
	6	24.9	19.69
H	600	82,36	81.82
	60	20.74	22.71
	6	0	8.36
I	600	100	89.31
	60	17.71	21.57
	6	0.726	1.91
J	600	99.72	95.28
	60	67.03	28.5
	6	20.66	5.88

Tablo 30. *Galanthus fosteri* Total Alkaloid Ekstresinin, A-J Fraksiyonlarının Antikolinesteraz Aktiviteleri

Fraksiyon Kodu	Konsantrasyon (µg/ml)	AChE İnhibisyonu (%)	BuChE İnhibisyonu (%)
K-L	600	100	100
	60	95.79	73.45
	6	72.67	28.45
M	600	100	99.77
	60	92.16	87.16
	6	58.64	48.16
N	600	99.1	98.93
	60	91.75	86.04
	6	54.58	51.07
O	600	98.81	100
	60	77.14	69.25
	6	26.9	25.04
P-R	600	98.88	99.75
	60	80.52	68.93
	6	36.7	23.59
S	600	100	82.39
	60	85.8	81.99
	6	48.63	36.42
T-U	600	98.29	92.59
	60	71.37	48.75
	6	26.92	3.82
V	600	100	98.82
	60	92.65	75.46
	6	82.76	22.94

Tablo 31. *Galanthus fosteri* Total Alkaloit Ekstresinin, K-V Fraksiyonlarının Antikolinesteraz Aktiviteleri

4.2. İzolasyonla Elde Edilen Bileşiklere Ait Bulgular

4.2.1. GF-1 Bileşiğinin Spektral Bulguları

$[\alpha]_D -28^\circ$ (MeOH; c 1)

ESI Kütle (Spektrum 1)

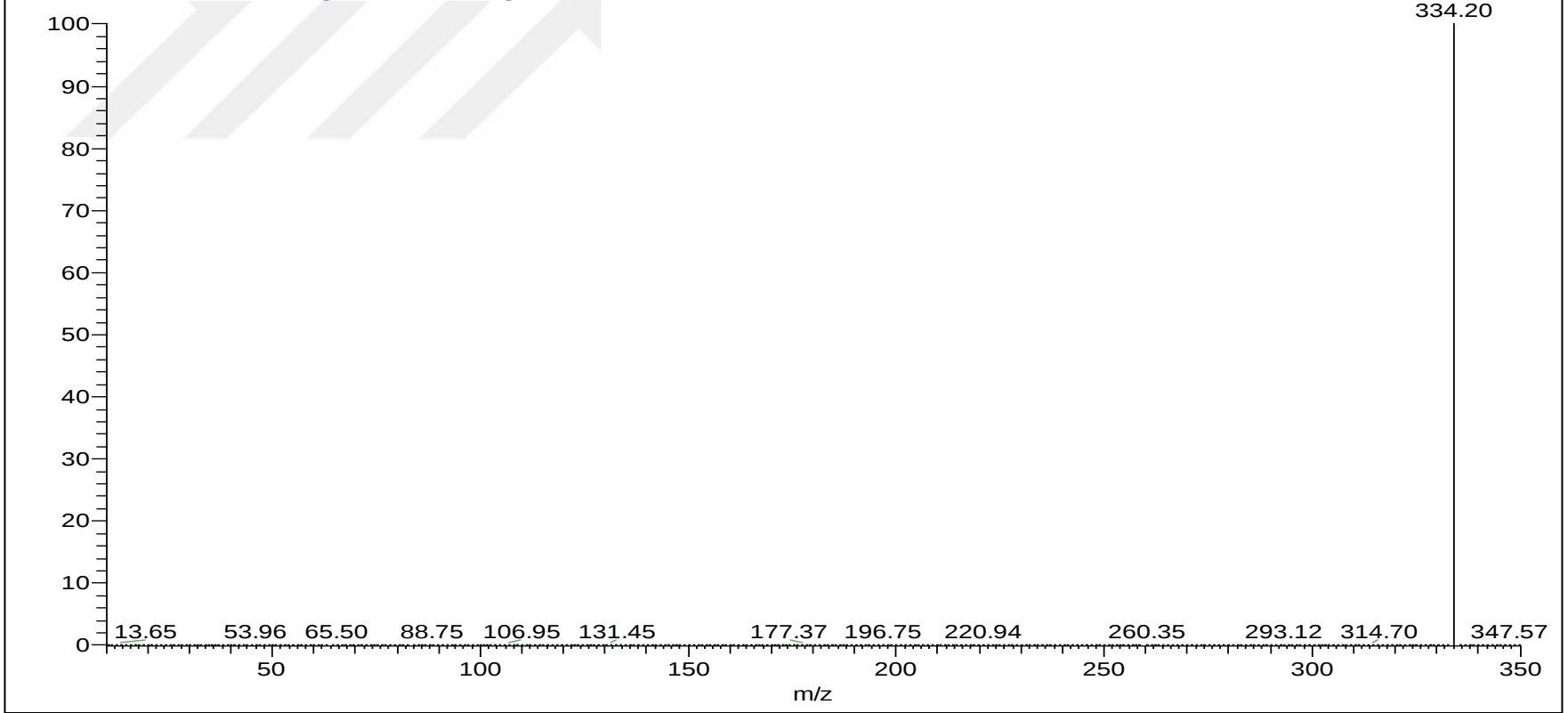
m/z: 334.20 $[M+H]^+$

1H NMR (Spektrum 2)

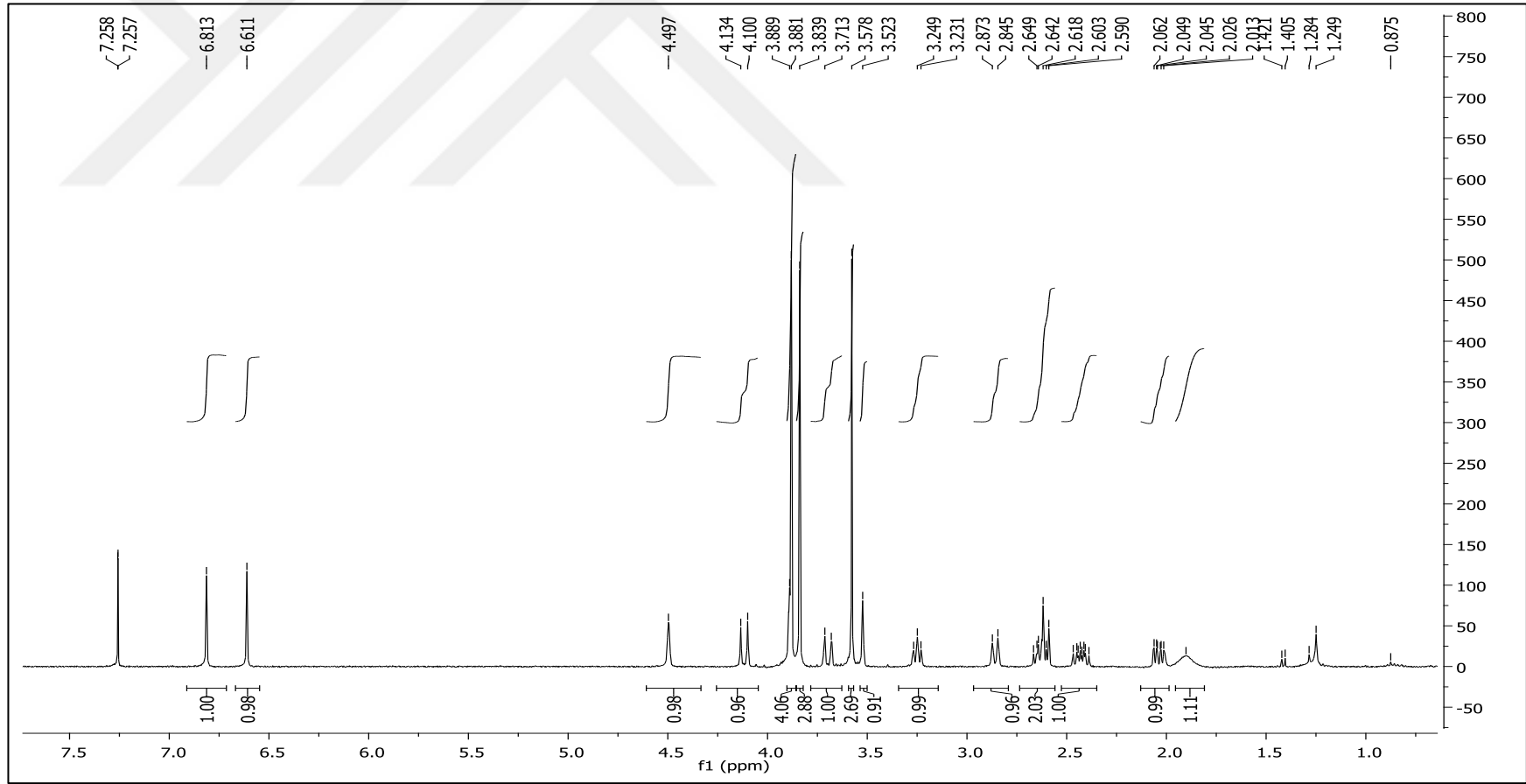
(400 MHz, $CDCl_3$) δ ppm 6.81 (1H, s, H-10), 6.61 (1H, s, H-7), 4.50 (1H, *brs*, H-1), 4.12 (1H, d, $J = 13.6$ Hz, H-6a), 3.89 (1H, Ar-OMe sinyali altında kalmış, H-2), 3.88 (3H, s, 9-OMe), 3.83 (3H, s, 8-OMe), 3.70 (1H, d, $J = 13.6$ Hz, H-6b), 3.58 (3H, s, 2-OMe), 3.52 (1H, *brs*, H-3), 3.25 (1H, td, $J = 8.0, 1.6$ Hz, H-12a), 2.86 (1H, d, $J = 11.2$ Hz, H-10b), 2.65 (1H, m, H-12b), 2.61 (1H, d, $J = 11.2$ Hz, H-4a), 2.43 (1H, m, H-11a), 2.04 (1H, ddd, $J = 14.6, 6.6$ Hz, H-11b) ppm.

Genişletilmiş 1H NMR (Spektrum 3,4)

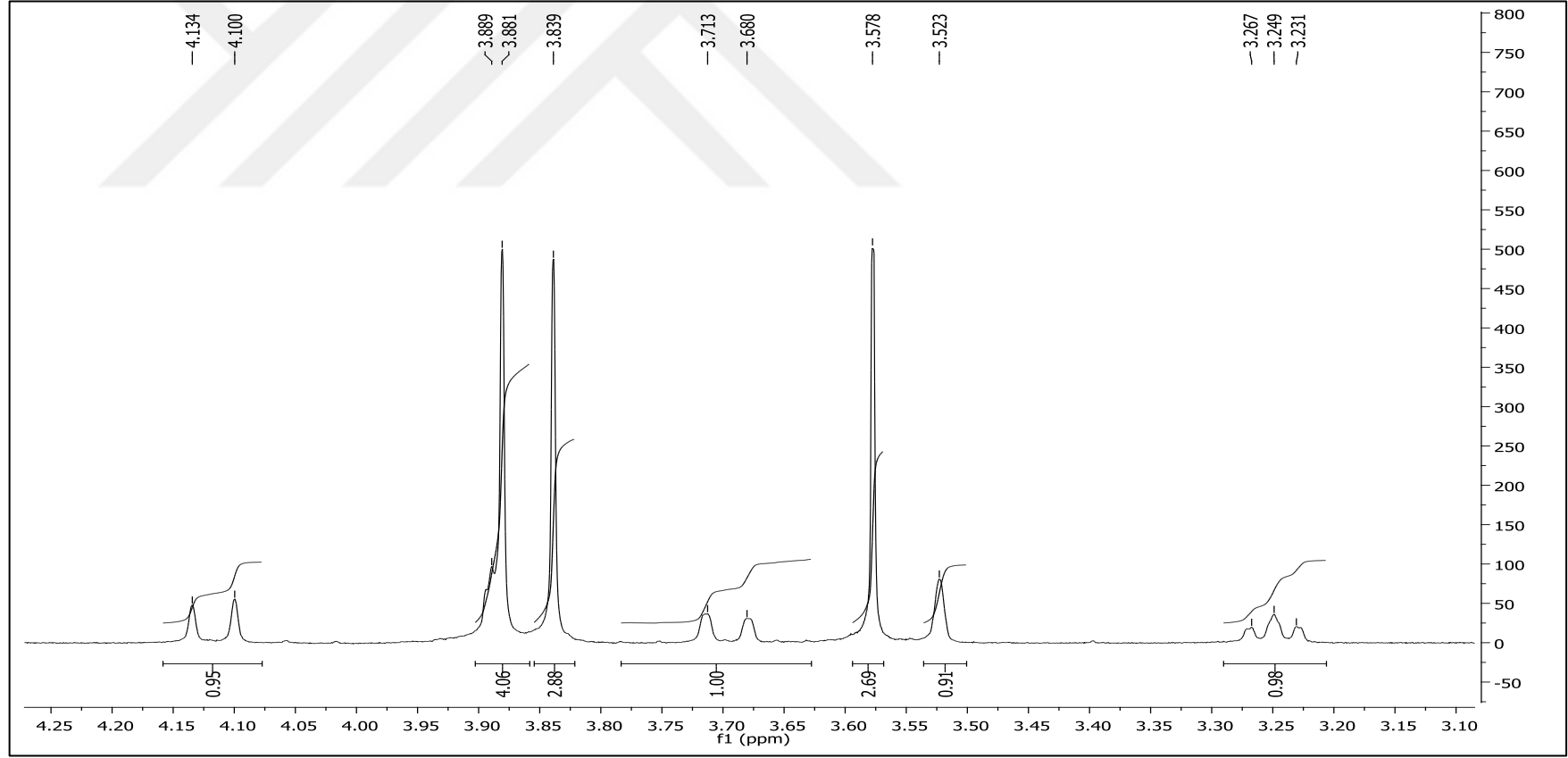
Incarnine_productt #67 RT: 0.26 AV: 1 NL: 2.20E5
T: + c ESI Full ms2 334.000 [10.000-350.000]



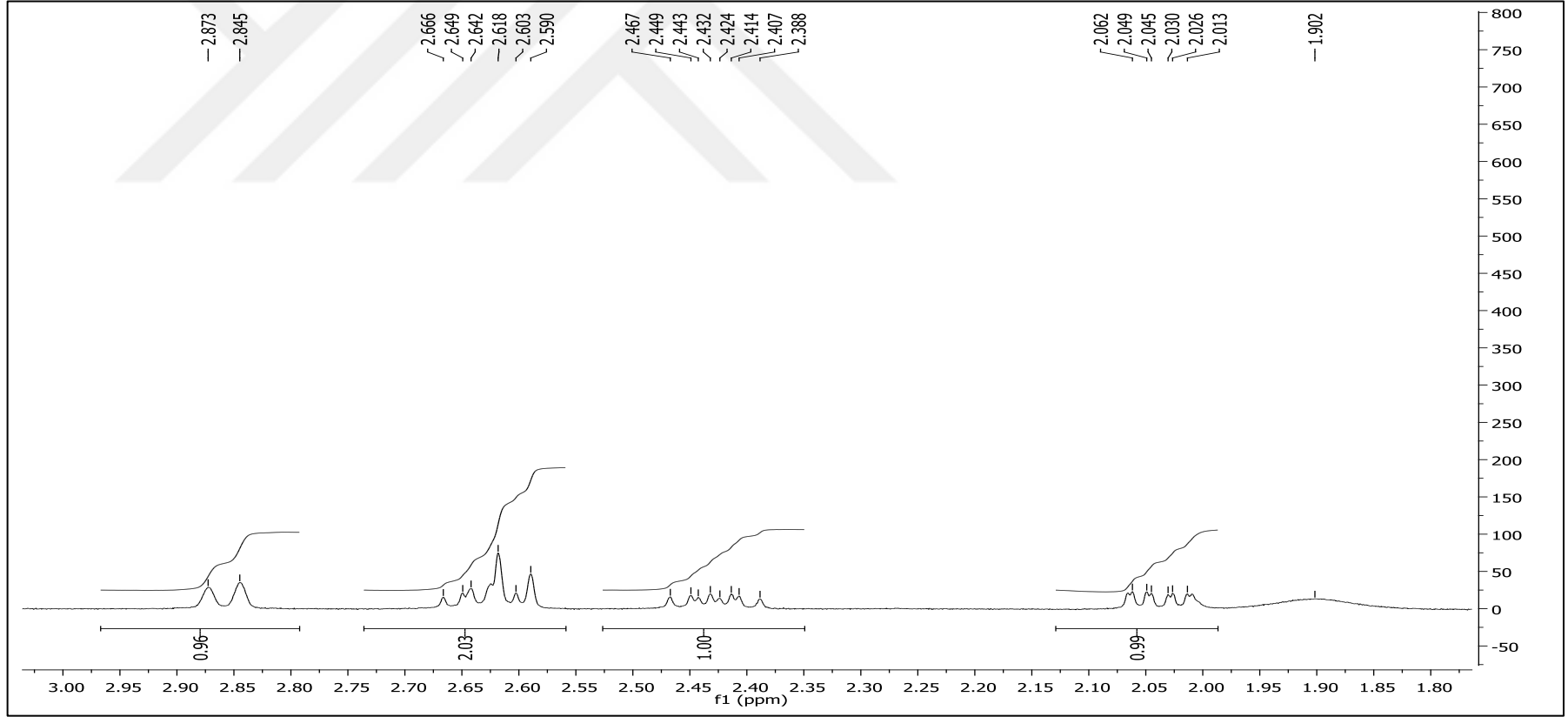
Spektrum 1. GF-1 Kodlu Bileşğin ESI Kütle Spektrumu



Spektrum 2. GF-1 Kodlu Bileşigin ^1H NMR Spektrumu



Spektrum 3. GF-1 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR Spektrumu



Spektrum 4. GF-1 Kodlu Bileşiğin Genişletilmiş ^1H NMR Spektrumu

4.2.2. GF-2 Bileşığının Spektral Bulguları

$[\alpha]_D -65^\circ$ (MeOH; c 1)

UV (Spektrum 5)

λ_{maks} (MeOH) (log ϵ) 233 (3.69) , 265 (3.59), 294 (2.91), 304 (2.91) nm

IR (Spektrum 6)

ν_{maks} (MeOH) 3398, 2918, 1641, 1603, 1511, 1465, 1438, 1277, 1215, 1098, 768, 596 cm^{-1}

HR-ESI Kütle (Spektrum 7)

m/z: 348.1460 $[\text{M} + \text{H}]^+$ (Teorik Değer: 348.1442)

^1H NMR (Spektrum 8)

(400 MHz, CDCl_3) δ 7.6 (1H, s, H-10), 6.81 (1H, s, H-7), 4.51 (1H, *brs*, H-1), 4.03 (1H, m, , H-12a), 3.95 (3H, s, 8-OMe), 3.93 (3H, s, 9-OMe), 3.92 (1H, Ar-OMe sinyali altında kalmış, H-2), 3.89 (1H, Ar-OMe sinyali altında kalmış, H-4a), 3.78 (1H, m, H-12b), 3.58 (3H, s, 2-OMe), 3.53 (1H, *brs*, H-3) 2.99 (1H, d, $J = 13.6$ Hz, H-10b) 2.53 (1H, m, H-11), 2.35 (1H, m, H-11) ppm.

Genişletilmiş ^1H NMR (Spektrum 9, 10)

^{13}C NMR (Spektrum 11)

(100 MHz, CDCl_3) δ 162.9 (C-6), 152 (C-9), 148.1 (C-8), 131.3 (C-10), 124.3 (C-6a), 111.4 (C-10), 105.7 (C-7), 77.7 (C-2), 66.4 (C-4), 65.9 (C-1), 59.1 (2-OMe), 59.1 (C-3), 55.8 (8-OMe), 55.8 (9-OMe), 55.8 (C-4a), 42.3 (C-12), 40.1 (C-10b), 28.3 (C-11) ppm.

HSQC (Spektrum 12) (Tablo 32)

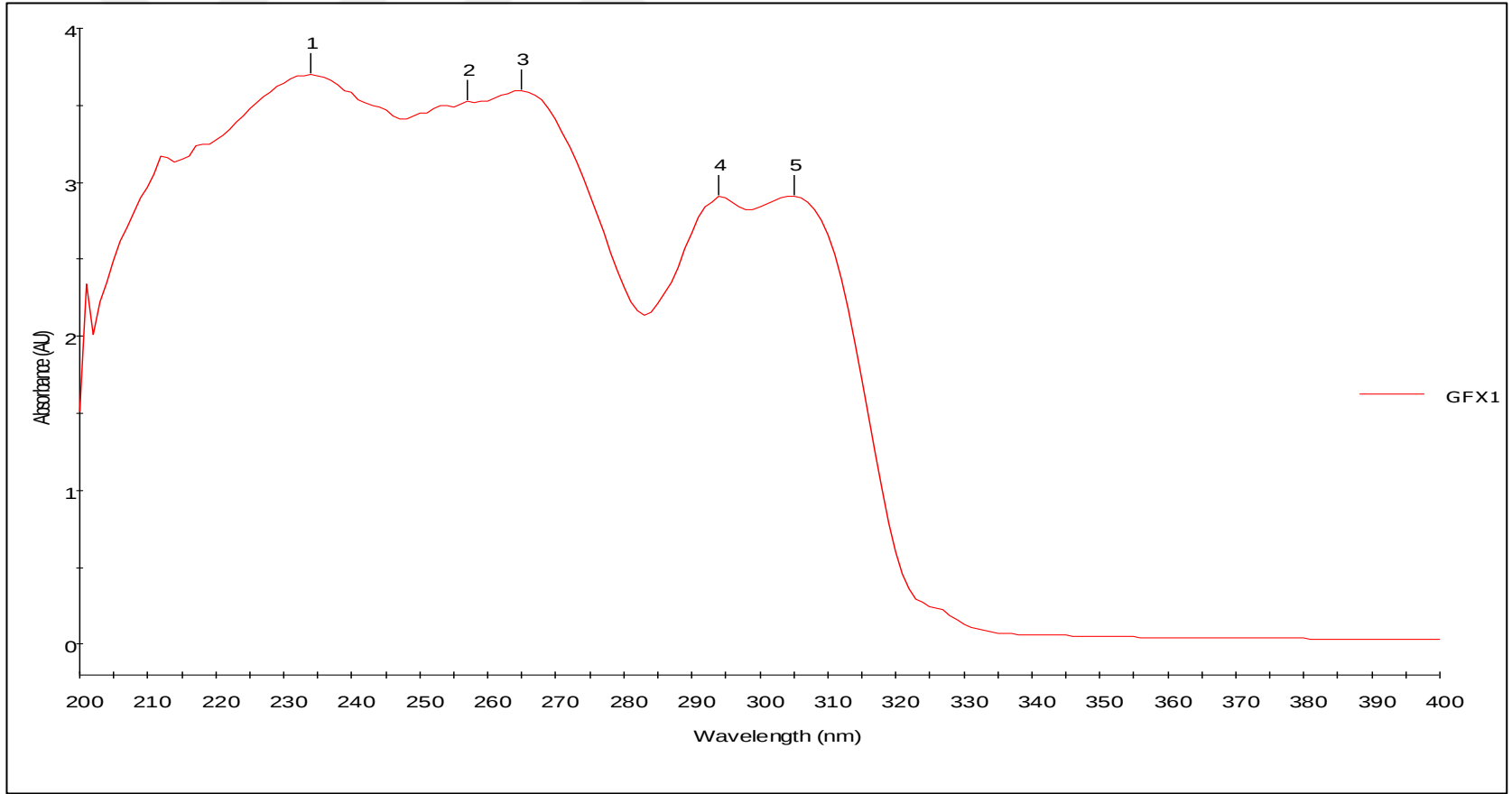
^1H , ^1H COSY (Spektrum 13) (Tablo 32)

NOESY (Spektrum 14) (Tablo 32)

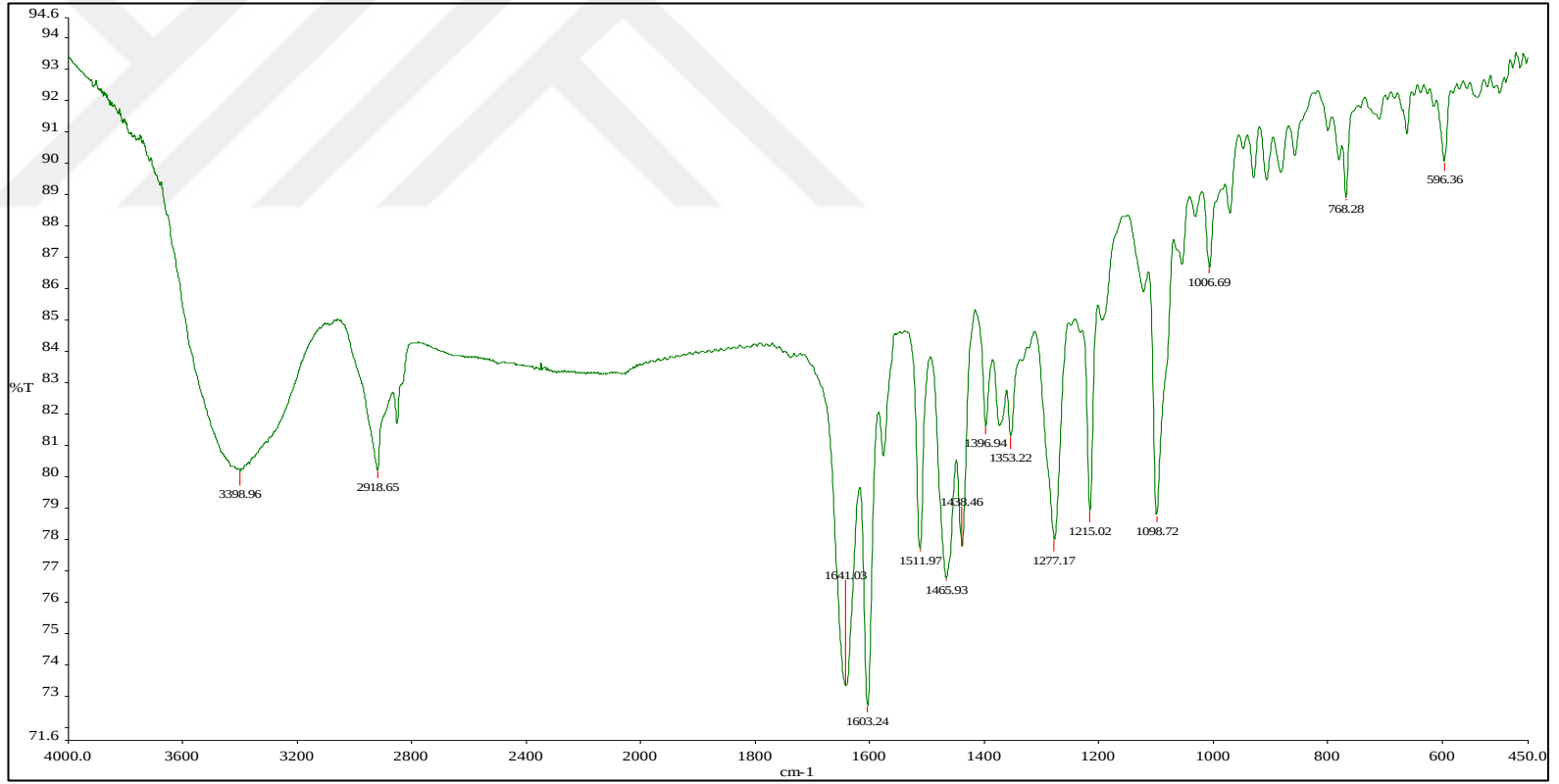
HMBC (Spektrum 15) (Tablo 32)

H	H(δ)	¹³ C (δ)/HSQC	HMBC	¹ H, ¹ H COSY	NOESY
1	4.51	65.9	C-2, C-3, C-4a	H-2, H-3, H-4a, H-10b	H-2, H-10, H-10b, 2-OMe
2	3.92	77.4	C-1, 2-OMe, C-3	H-1, H-3, H-10b	H-1, H-3, H-10b 2-OMe
3	3.53	59.1	C-1, C-2, C-4a, C-11	H-1, H-2	H-2, H-11 β , 2-OMe
4	-	66.4	-	-	-
4a	3.89	55.8	C-1, C-3, C-10b, C-12	H-1, H-10b	-
6	-	162.9	-	-	-
6a	-	124.3	-	-	-
7	7.6	105.7	C-6, C-6a, C-8, C-9, C-10a	8-OMe	8-OMe
8	-	148.1	-	-	-
9	-	152	-	-	-
10	6.81	111.3	C-6a, C-8, C-9, C-10a, C-10b	H-10b	H-1, H-10b, 9-OMe
10a	-	131.3	-	-	-
10b	2.99	40.1	C-4a, C-10, C-10a	H-1, H-2, H-4a, H-10	H-1, H-10
11 β	2.53	28.3	C-3, C-4	H-12 α , H-12 β , H-11 β	H-3, H-12 β , H-11 α
11 α	2.35	28.3	C-3, C-4	H-12 α , H-12 β , H-11 α	H-12 α , H-11 β
12 α	3.78	42.3	C-4a, C-6	H-11 β , H-11 β , H-12 β	H-11 α , H-12 β
12 β	4.03	42.3	C-4a, C-6	H-11 α , H-11 β , H-12 α	H-11 β , H-12 α
8-OMe	3.93	55.8	C-8	H-7	H-7
9-OMe	3.95	55.8	C-9	H-10	H-10
2-OMe	3.58	59.1	C-2	-	H-1, H-2, H-3

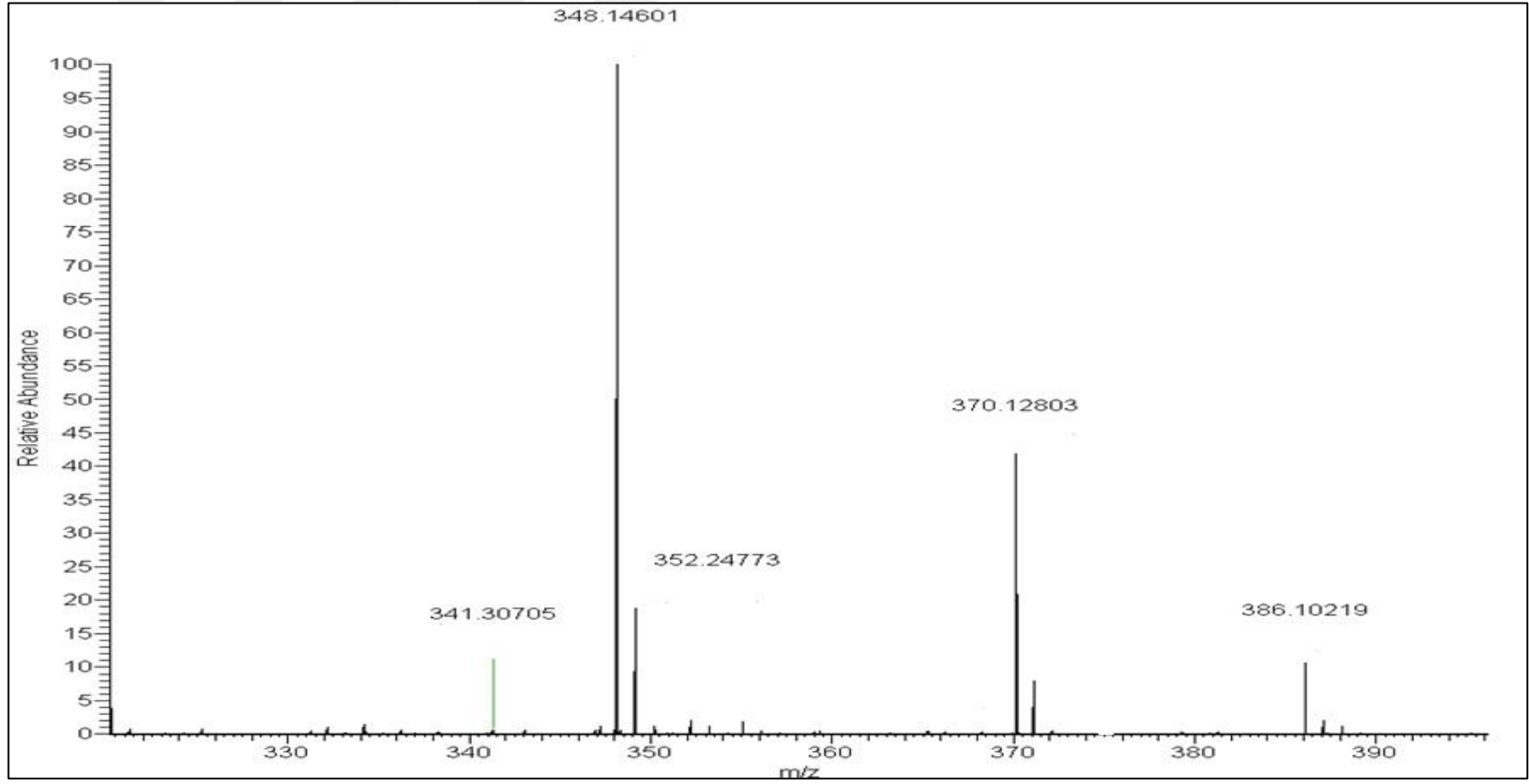
Tablo 32. GF-2 Bileşığının 1D ve 2D NMR Spektral Bulguları



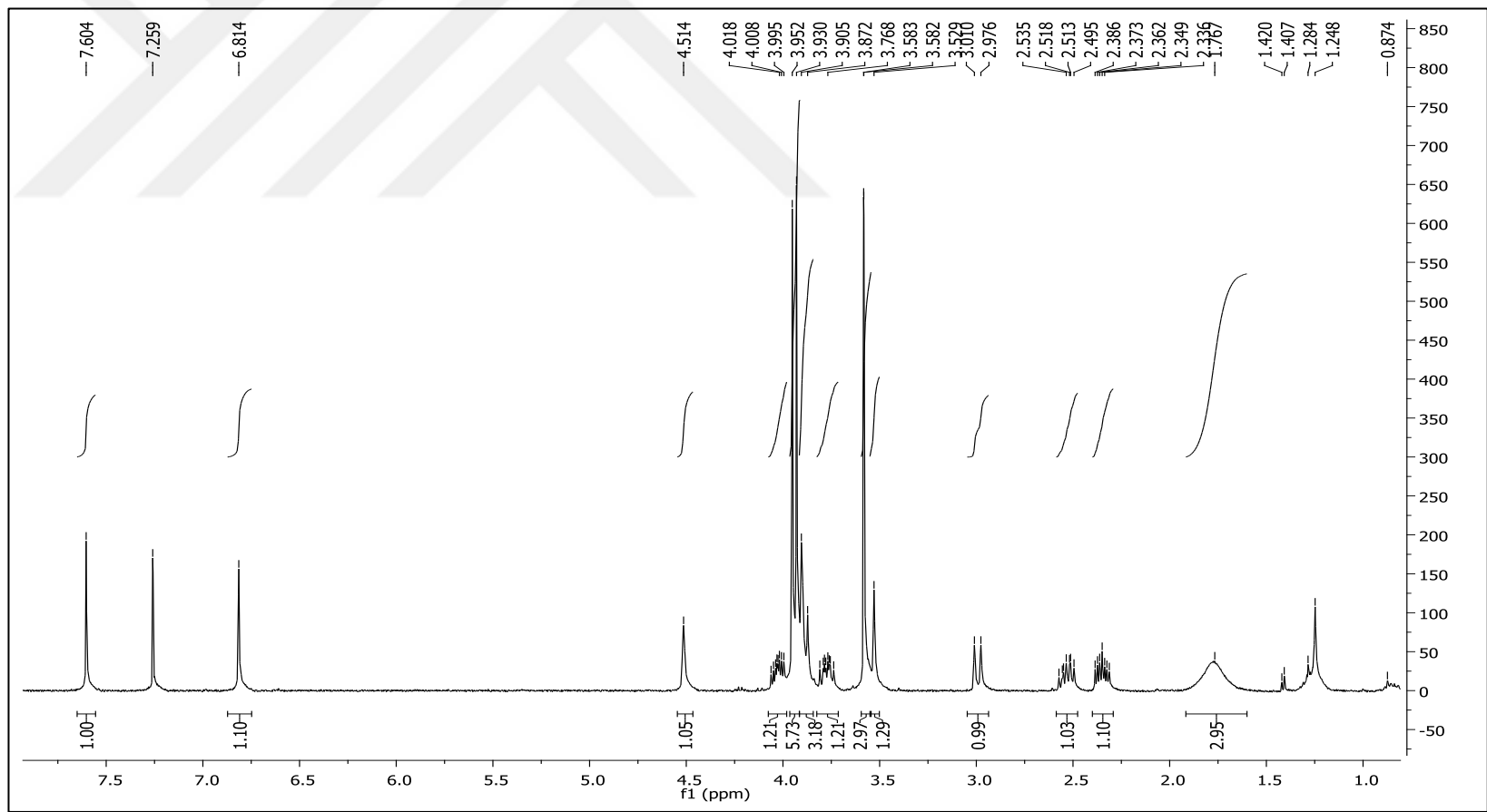
Spektrum 5. GF-2 Kodlu Bileşğin UV Spektrumu



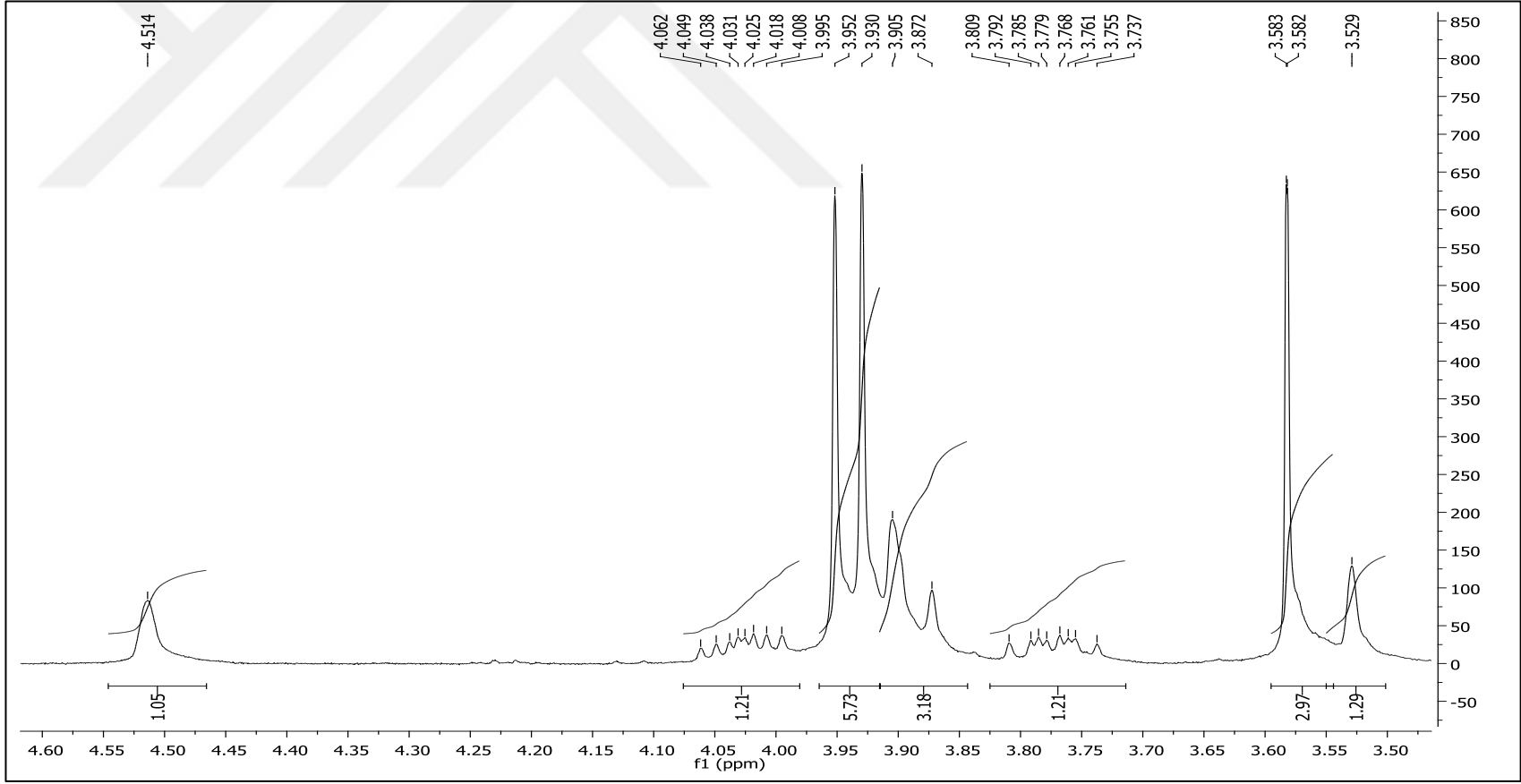
Spektrum 6. GF-2 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu



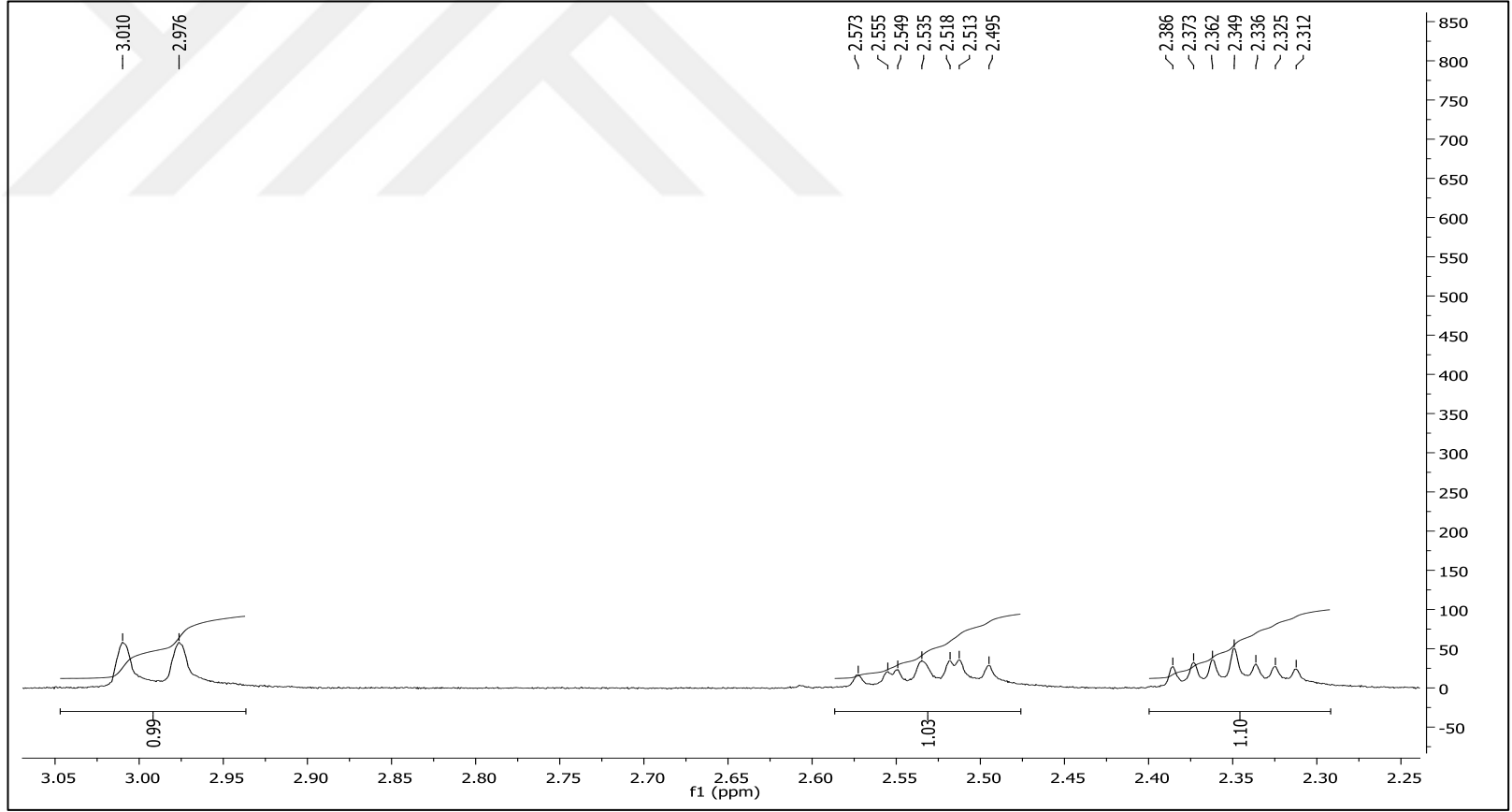
Spektrum 7. GF-2 Kodlu Bileşğin HR-ESI Kütle Spektrumu



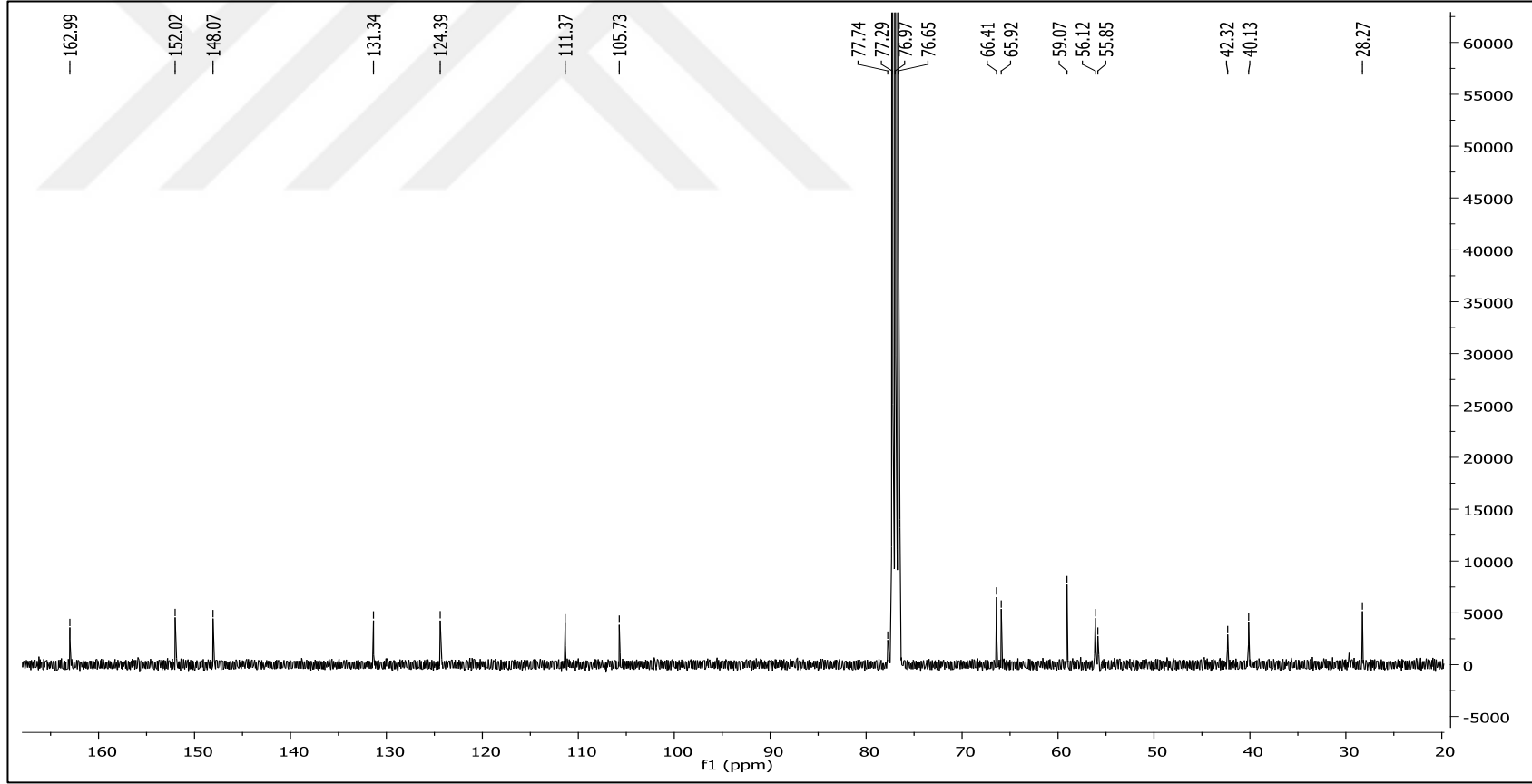
Spektrum 8. GF-2 Kodlu Bileşigin ^1H NMR Spektrumu



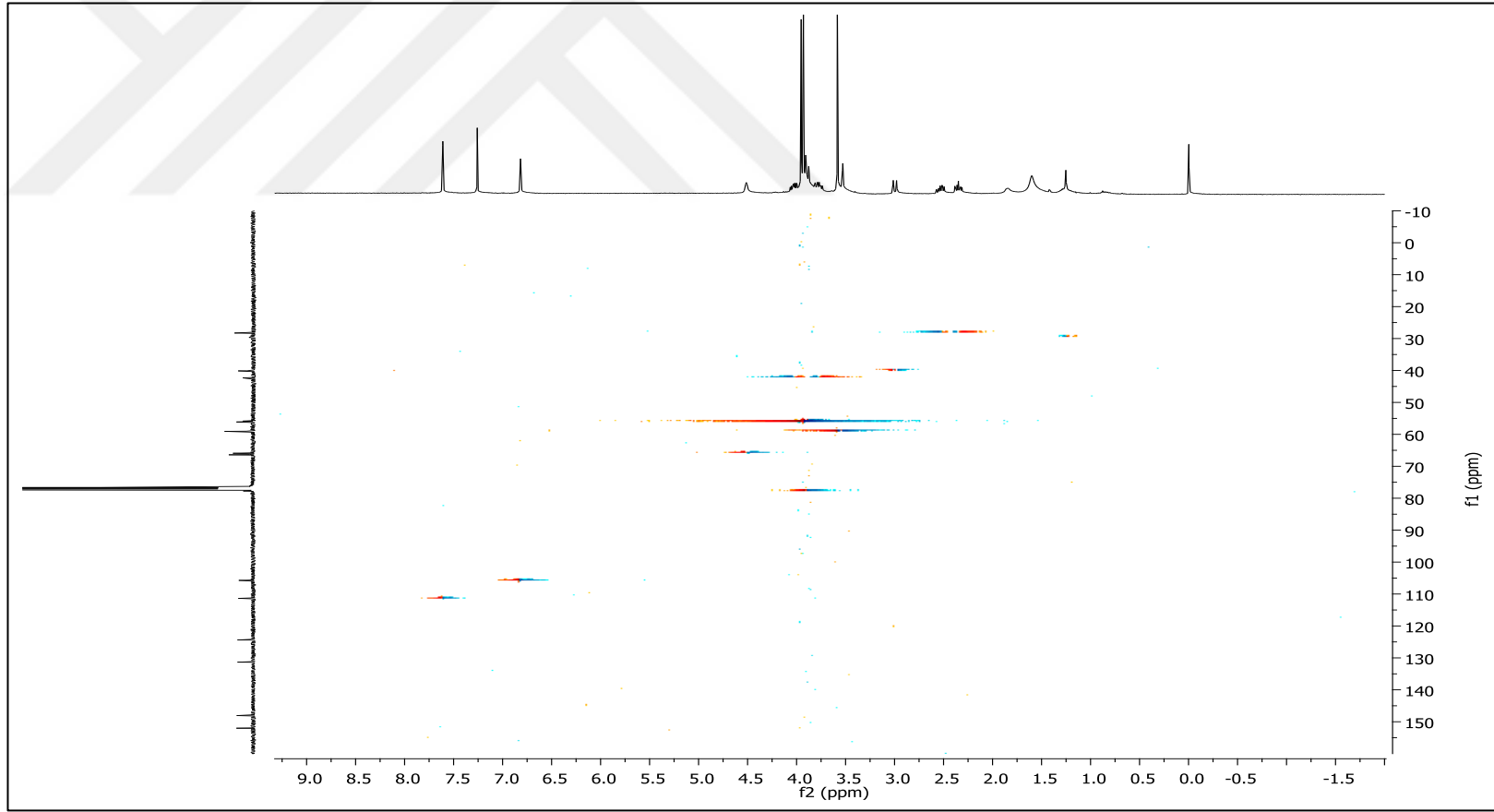
Spektrum 9. GF-2 Kodlu Bileşiğın Genişletilmiş ^1H NMR Spektrumu



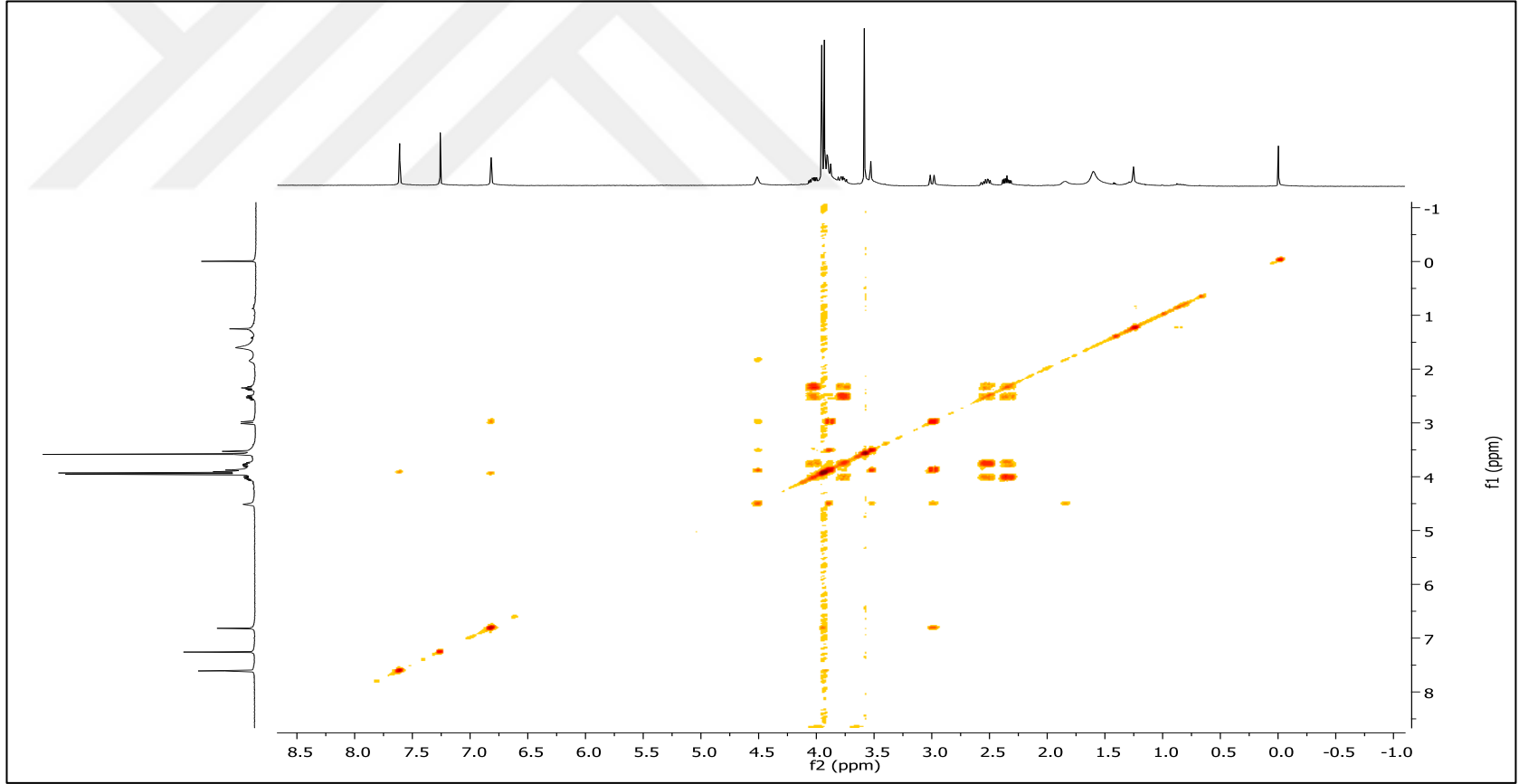
Spektrum 10. GF-2 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR Spektrumu



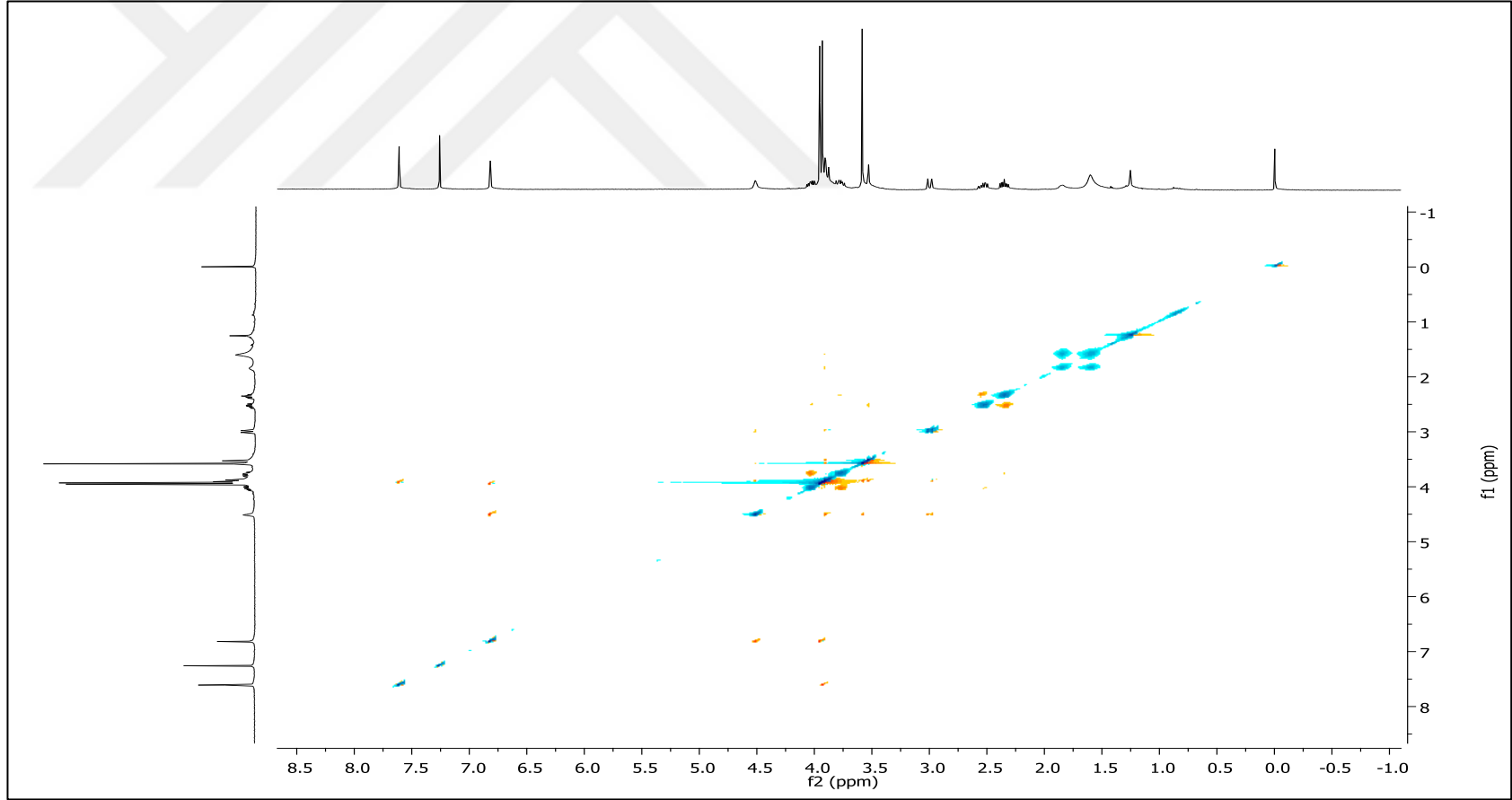
Spektrum 11. GF-2 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR Spektrumu



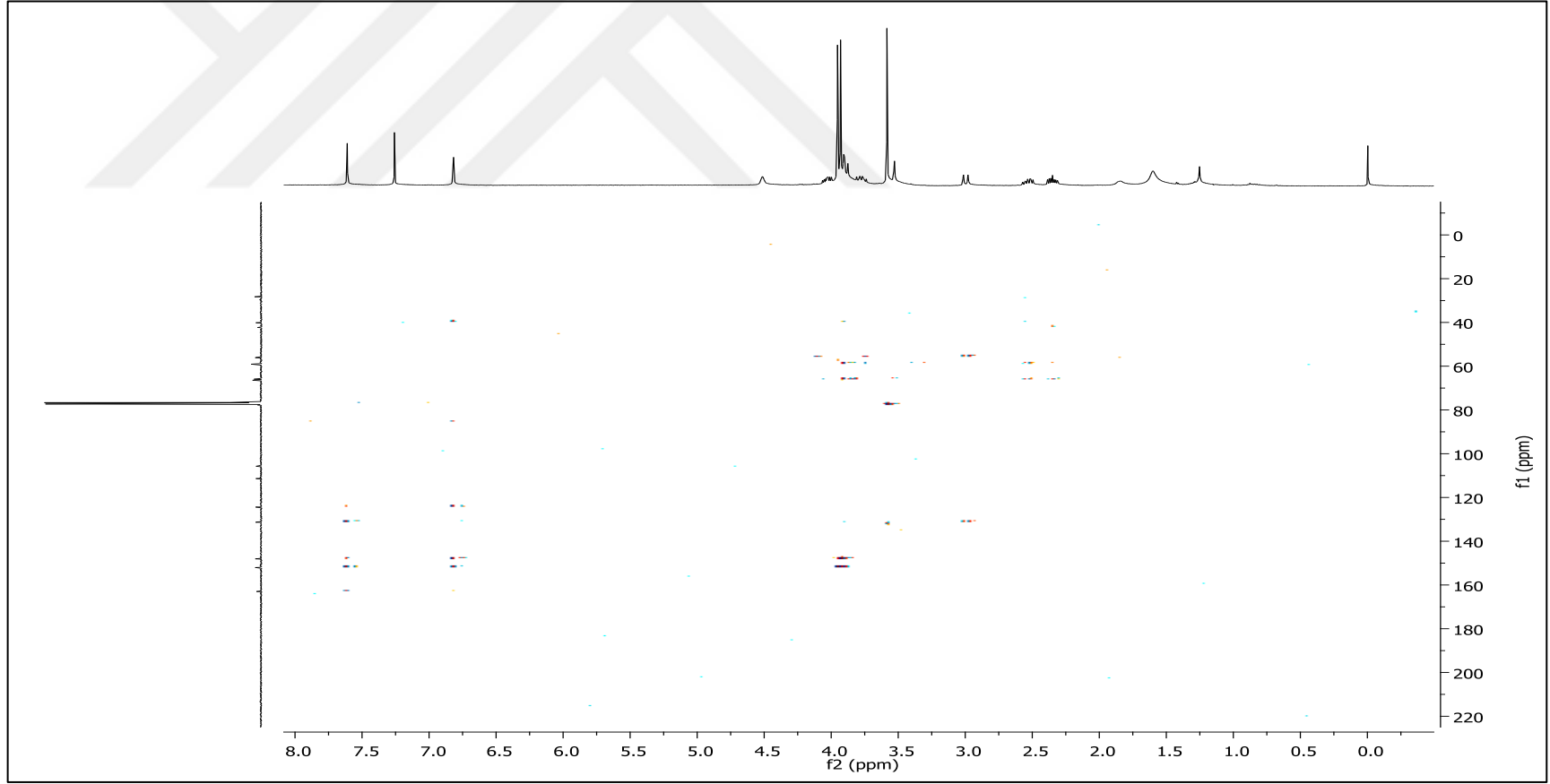
Spektrum 12. GF-2 Kodlu Bileşğin HSQC Spektrumu



Spektrum 13. GF-2 Kodlu Bileşğin ^1H , ^1H COSY Spektrumu



Spektrum 14. GF-2 Kodlu Bileşğin NOESY Spektrumu



Spektrum 15. GF-2 Kodlu Bileşiğın HMBC Spektrumu

4.2.3. GF-3 Bileşiminin Spektrel Bulguları

$[\alpha]_D -61^\circ$ (MeOH; c 1)

UV (Spektrum 16)

λ_{maks} (MeOH) (log ϵ) 212 (3.51), 228 (3.45), 241 (3.48), 275 (3.03) nm

IR (Spektrum 17)

ν_{maks} (MeOH) 3423, 1735, 1637, 1511, 1445, 1375, 1242, 1096, 1037, 947, 845, 779 cm^{-1}

HR-ESI Kütle (spektrum 18)

m/z: 374.1596 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (Teorik Değer: 374.1598)

CD (Spektrum 19)

MeOH, $[\theta]_\lambda$: $[\theta]_{\min 258} -3755$, $[\theta]_{\max 286} +18315$

^1H NMR (Spektrum 20)

(400 MHz, CD_3OD) δ 6.98 (1H, s, H-10), 6.52 (1H, s, H-7), 6.46 (1H, d, $J = 10$ Hz, H-1), 6.08 (1H, dd, $J = 10, 5.2$ Hz, H-2), 5.37 (1H, td, $J = 4.9, 1.2$, Hz, H-3), 4.99 (1H, dd, $J = 7, 3.6$ Hz, H-11), 4.39 (1H, d, $J = 16.4$ Hz, H-6 β), 3.84 (3H, s, 8-OMe), 3.76 (1H, d, $J = 16.4$ Hz, H-6 α), 3.45-3.36 (2H, m, H-4a, H-12 $endo$), 3.32 (1H, H-12 exo), 2.15 (1H, td, $J = 14, 4.4$ Hz, H-4 α), 1.99 (3H, s, OCOCH_3), 1.98 (3H, s, OCOCH_3), 1.9 (1H, dd, $J = 14, 4.4$ Hz, H-4 β) ppm.

Genişletilmiş ^1H NMR (Spektrum 21, 22)

^{13}C NMR (Spektrum 23)

(100 MHz, CDCl_3) δ 170.5 (3- OCOCH_3), 169.9 (3- OCOCH_3), 145.9 (C-8), 144.6 (C-9), 133.5 (C-10a), 129.3 (C-1), 127.5 (C-2), 124.3 (C-6a), 109.8 (C-10), 108.9 (C-7), 80.3 (C-11), 66.4 (C-3), 63 (C-4a), 60.9 (C-6), 60.6 (C-12), 55.9 (8-OMe), 48.6 (C-10b), 29.4 (C-4), 21.19 (3- OCOCH_3), 21.17 (11- OCOCH_3) ppm.

HSQC (Spektrum 24) (Tablo 33)

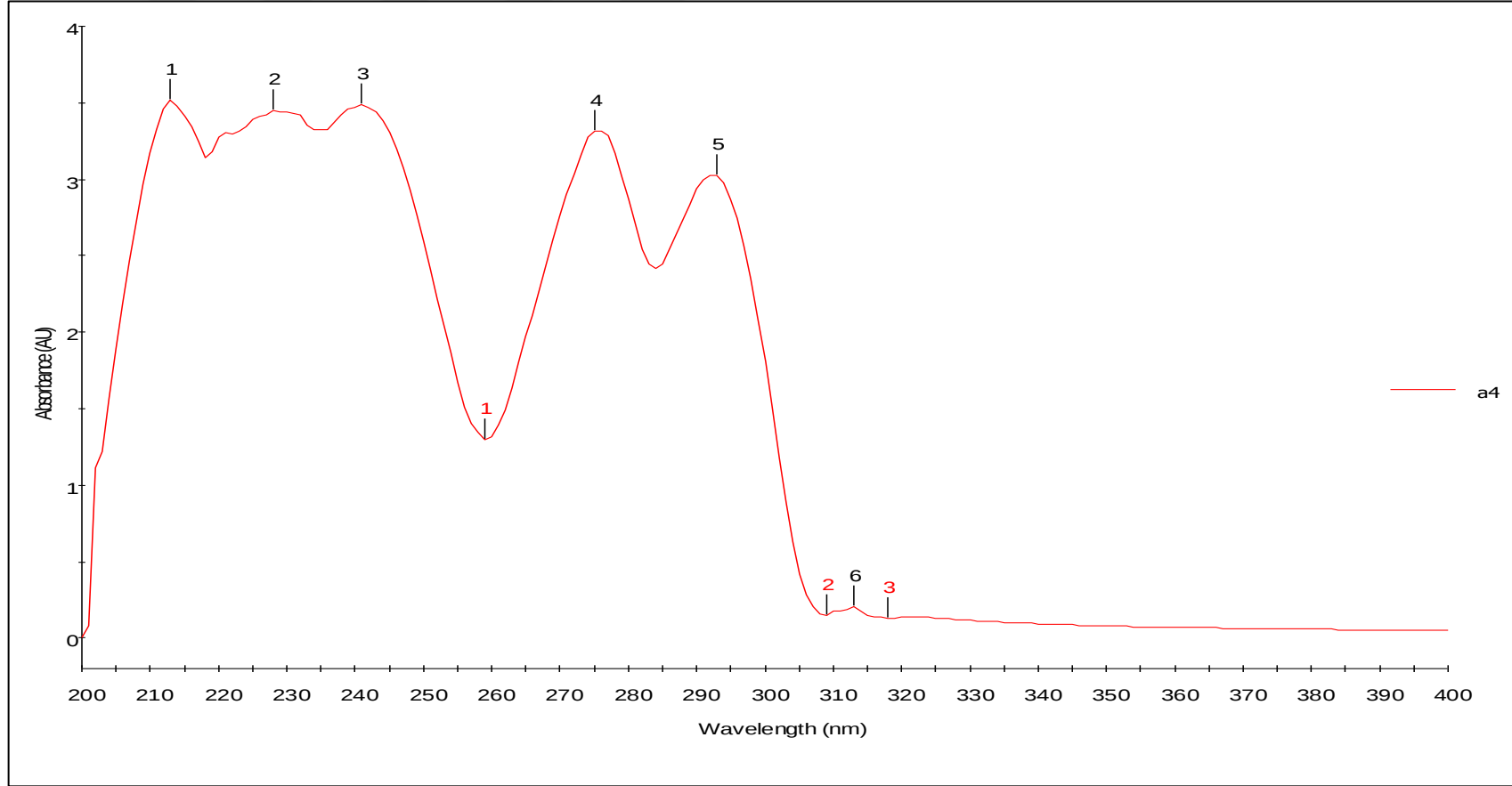
^1H , $^1\text{H}\text{COSY}$ (Spektrum 25) (Tablo 33)

NOESY (Spektrum 26) (Tablo 33)

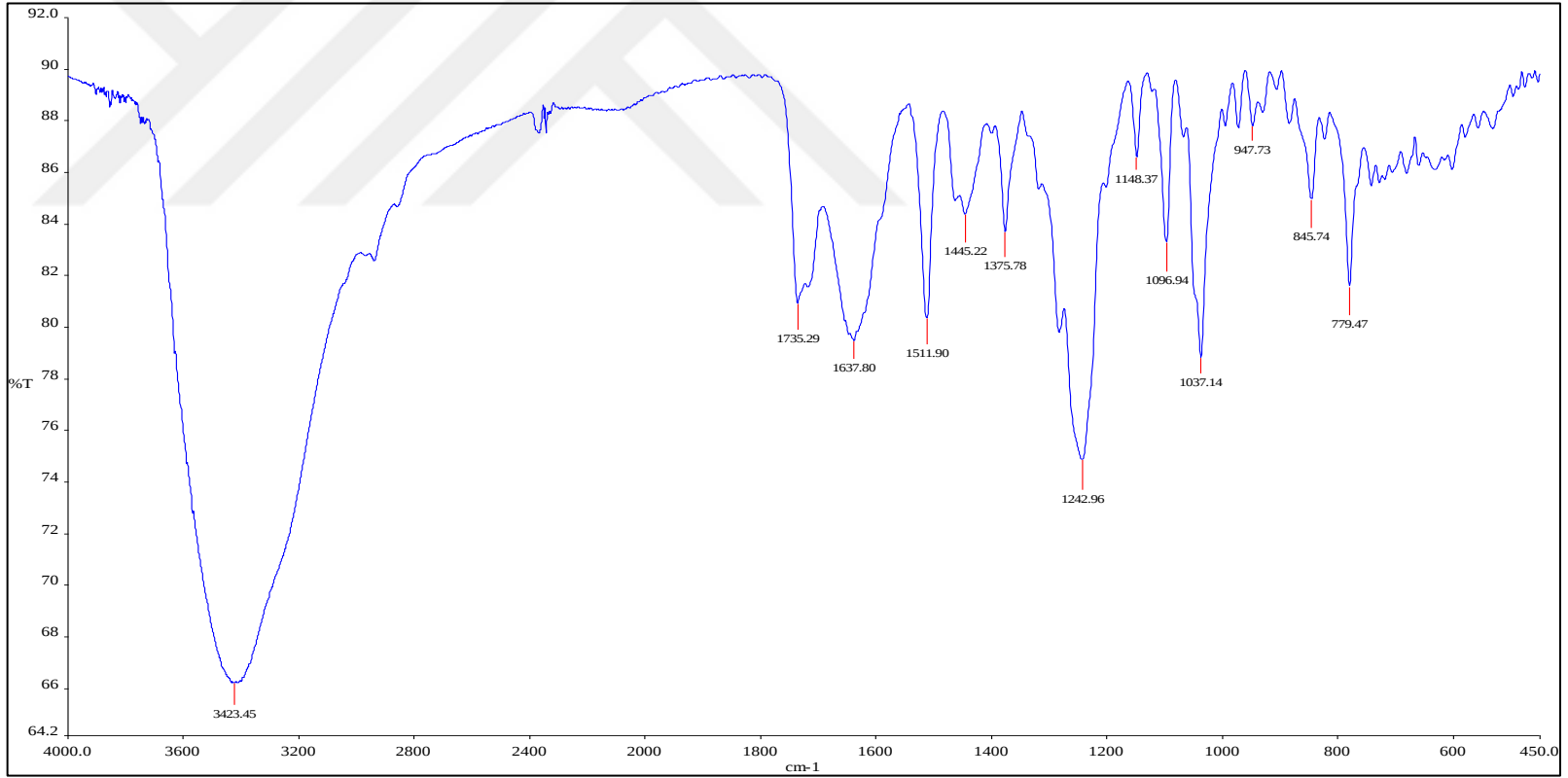
HMBC (Spektrum 27) (Tablo 33)

H	H(δ)	^{13}C (δ)/HSQC	HMBC	^1H , ^1H COSY	NOESY
1	6.46	129.7	C-3, C-2, C-4a, C-10a, C-10b	H-2	H-2, H-10, H-11
2	6.08	127.5	C-1, C-4, C-3	H-1, H-3	H-1, H-3
3	5.37	66.4	C-1, C-2, 3-OCOCH ₃	H-2, H-4 α , H-4 β	H-2, H-4 α , H-4 β
4 β	1.9	29.4	C-2, C-3, C-4a, C-10b	H-4 α , H-4a	H-3, H-4a, H-4 α
4 α	2.15	29.4	C-10b, C-4a, 3-OCOCH ₃	H-3, H-4 β , H-4a	H-3, H-4 β , H-12 $_{ekso}$
4a	3.45-3.36	63	C-4, C-10a, C-10b, C-11, C-12	H-4 α , H-4 β , H-11 $_{endo}$, H-12 $_{ekso}$	H-4 β , H-6 β
6 α	3.76	60.9	C-4a, C-6a, C-10a, C-7, C-12	H-6 α , H-7	H-6 β , H-7, H-12 $_{endo}$
6 β	4.39	60.9	C-7, C-6a, C-10a, C-12	H-6 β , H-7	H-4a, H-6 α , H-7
6a	-	124.3	-	-	-
7	6.52	108.9	C-6, C-6a, C-8, C-9, C-10a	H-6 α , H-6 β	8-OMe, H-6 α , H-6 β
8	-	145.9	-	-	-
9	-	144.6	-	-	-
10	6.98	109.8	C-6a, C-8, C-9, C-10b	-	H-1, H-11
10a	-	133.5	-	-	-
10b	-	48.6	-	-	-
11 $_{endo}$	4.99	80.26	C-4a, C-10a, 11-OCOCH ₃	H-4a, H-12 α	H-1, H-10
12 $_{endo}$	3.45-3.36	60.6	C-6, C-11, C-4a	H-4 β	H-6 α , H-12 $_{ekso}$
12 $_{ekso}$	3.32	60.6	C-6, C-11, C-4a	H-4 α , H-11	H-4 α , H-12 $_{endo}$
8-OMe	3.84	55.9	C-8	-	H-7
3-OCOCH ₃	1.9	21.19	C-3	-	-
11-OCOCH ₃	1.91	21.17	C-11	-	-

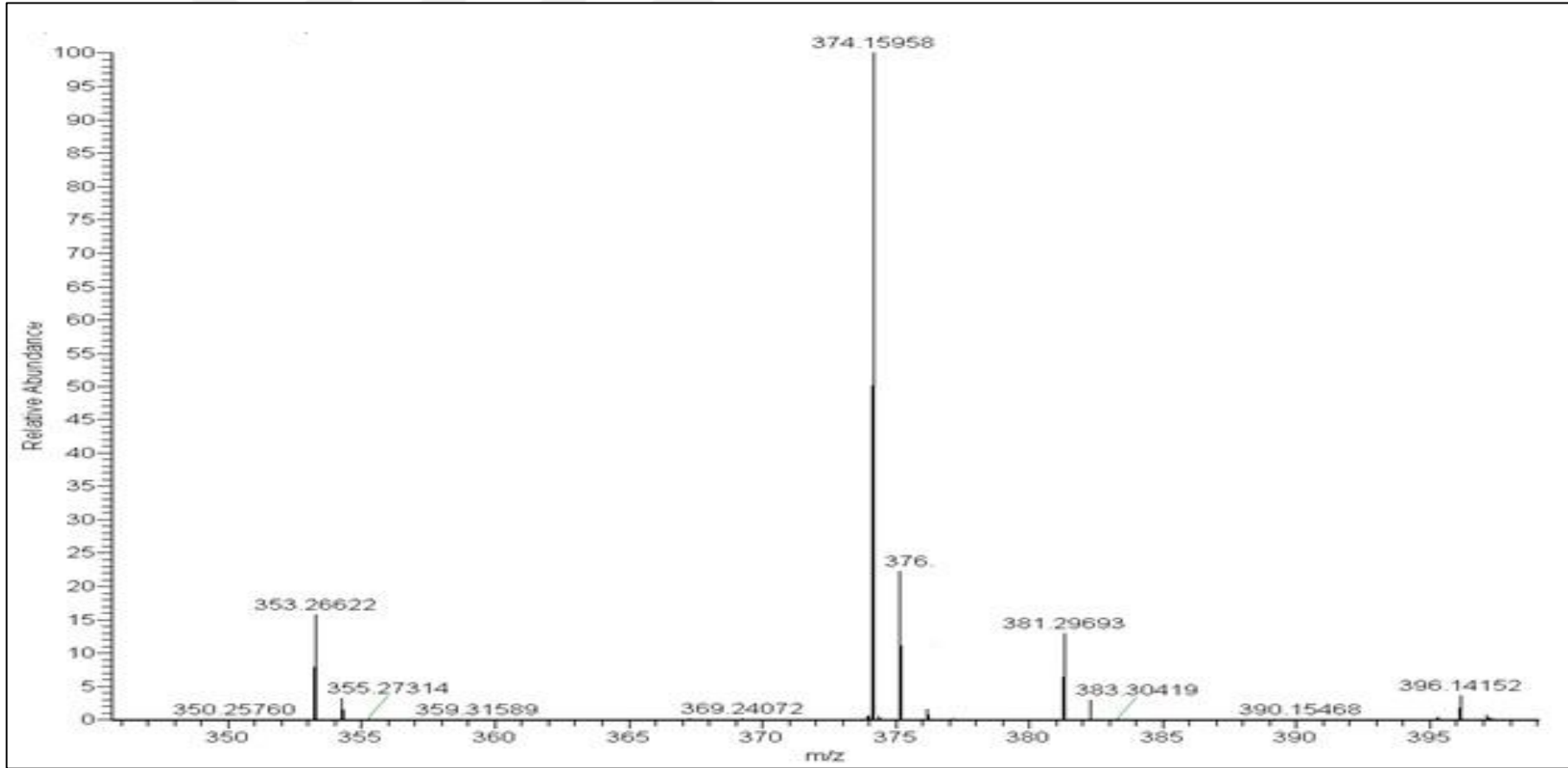
Tablo 33. GF-3 Kodlu Bileşiğin 1D ve 2D NMR Spektral Bulguları



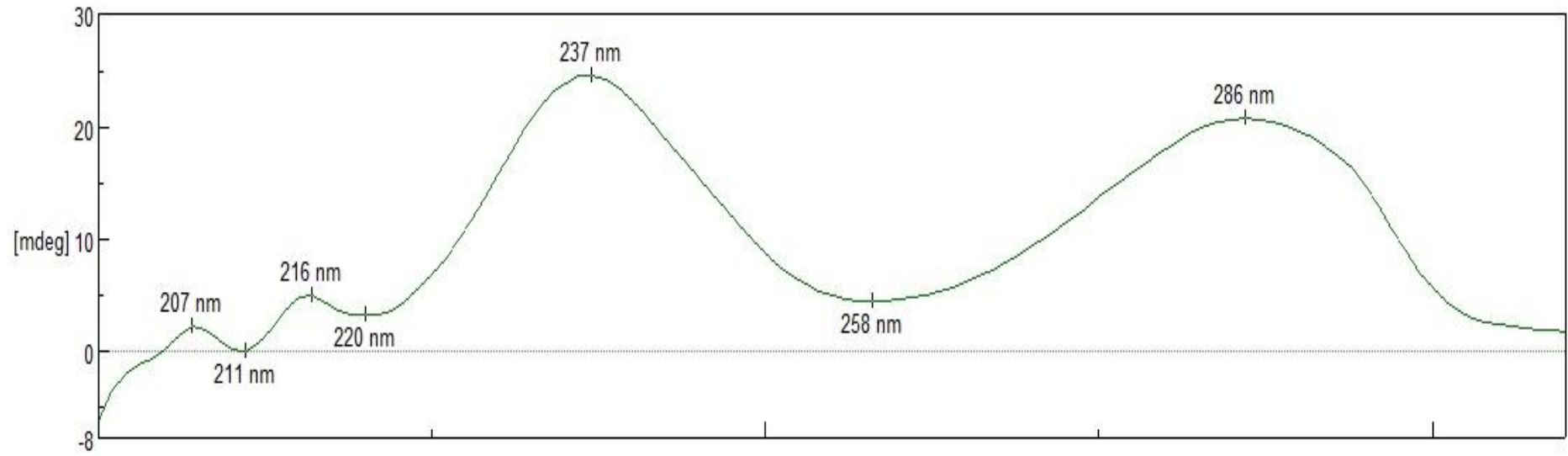
Spektrum 16. GF-3 Kodlu Bileşğin UV Spektrumu



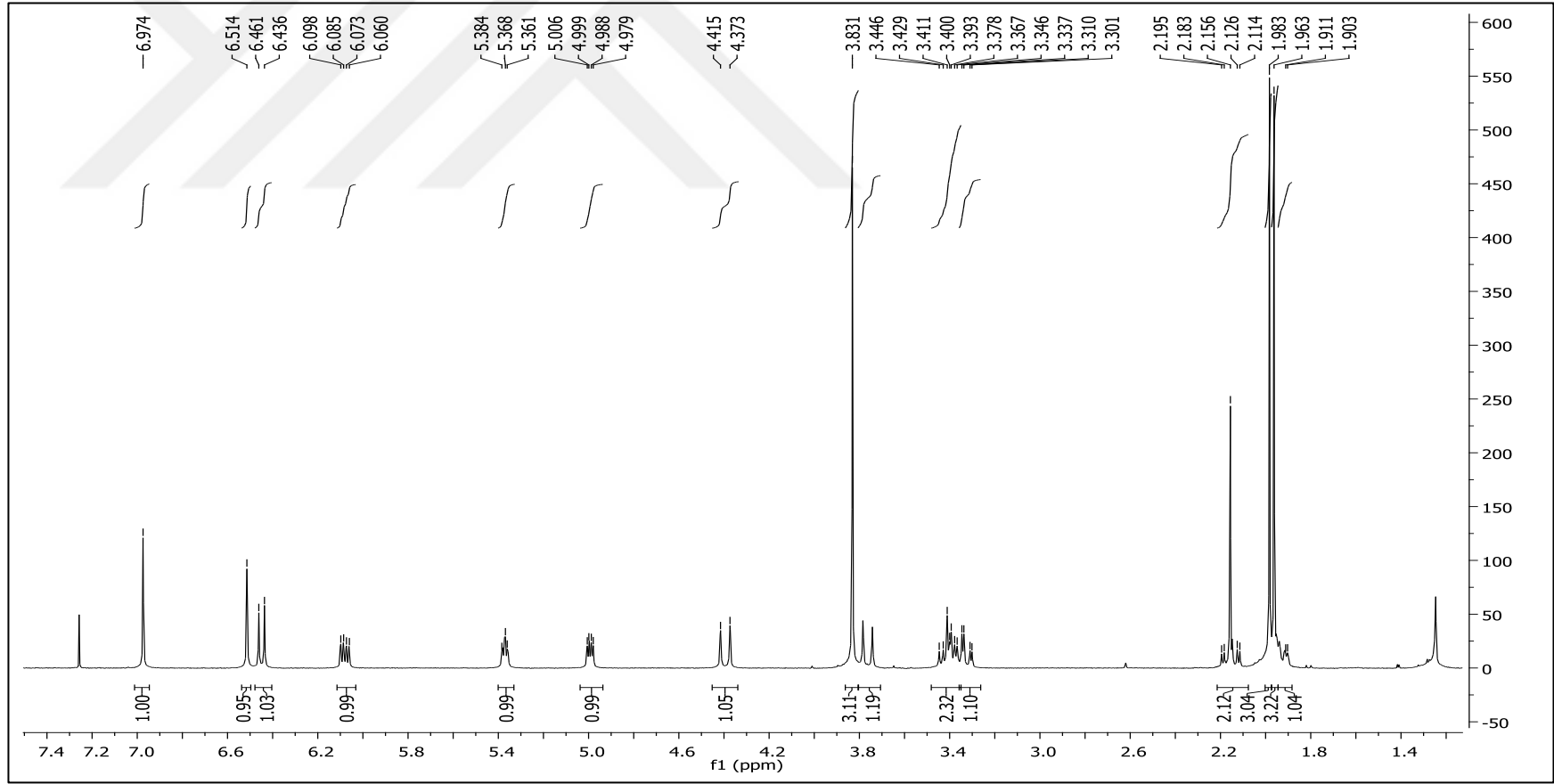
Spektrum 17. GF-3 Kodlu Bileşin IR Spektrumu



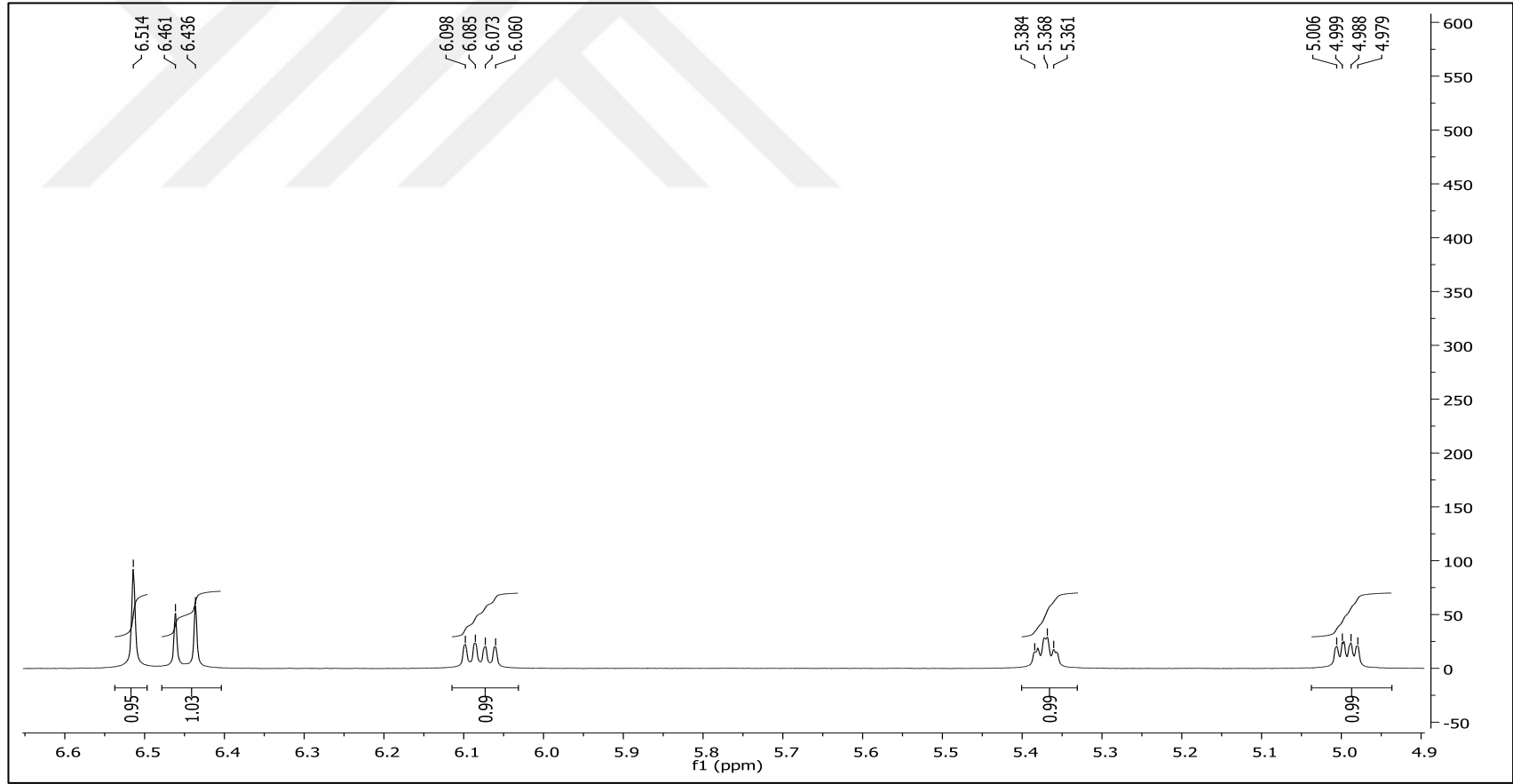
Spektrum 18. GF-3 Kodlu Bileşiğin HR-ESI Kütle Spektrumu



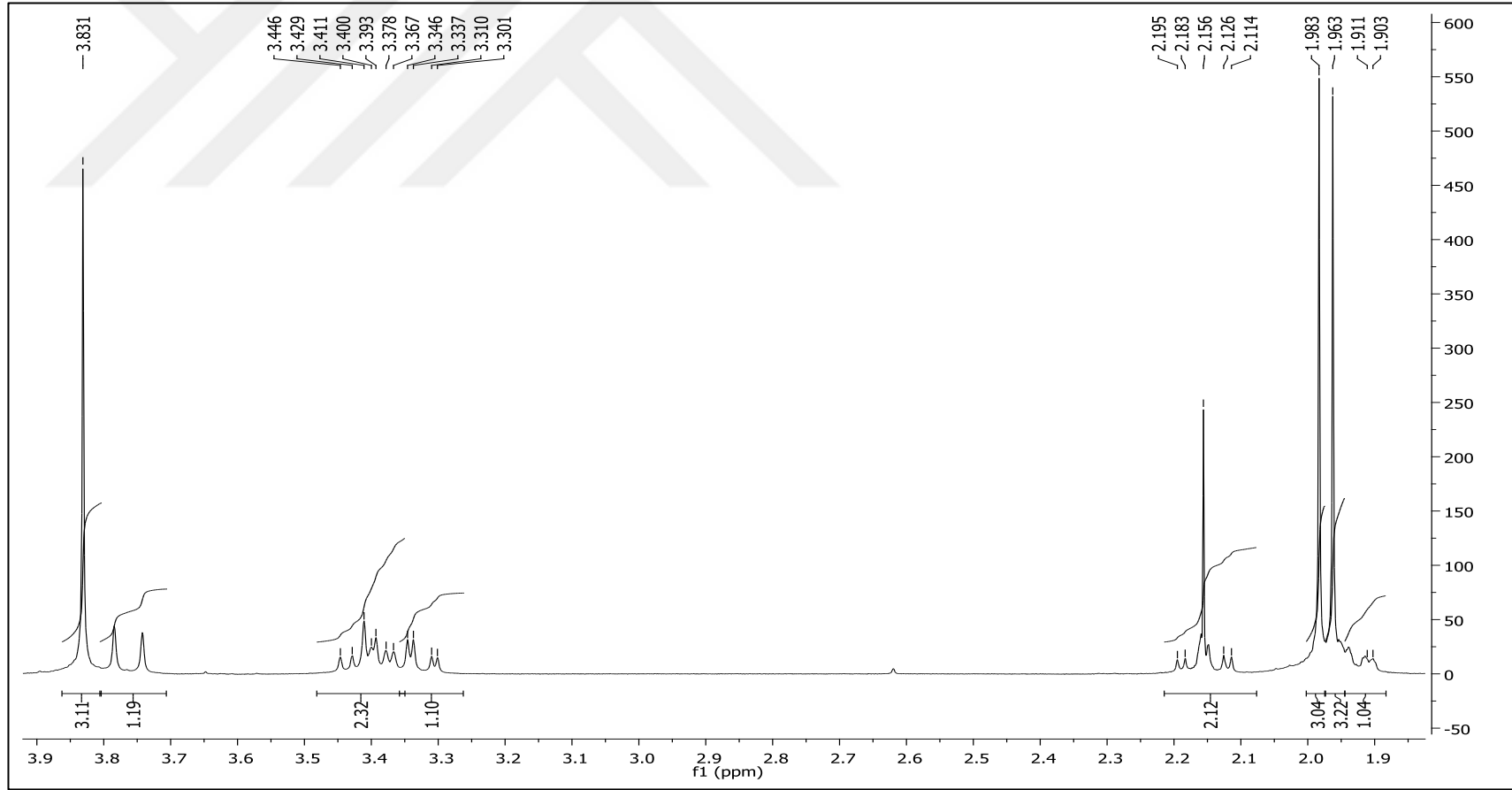
Spektrum 19. GF-3 Kodlu Bileşigin CD Spektrumu



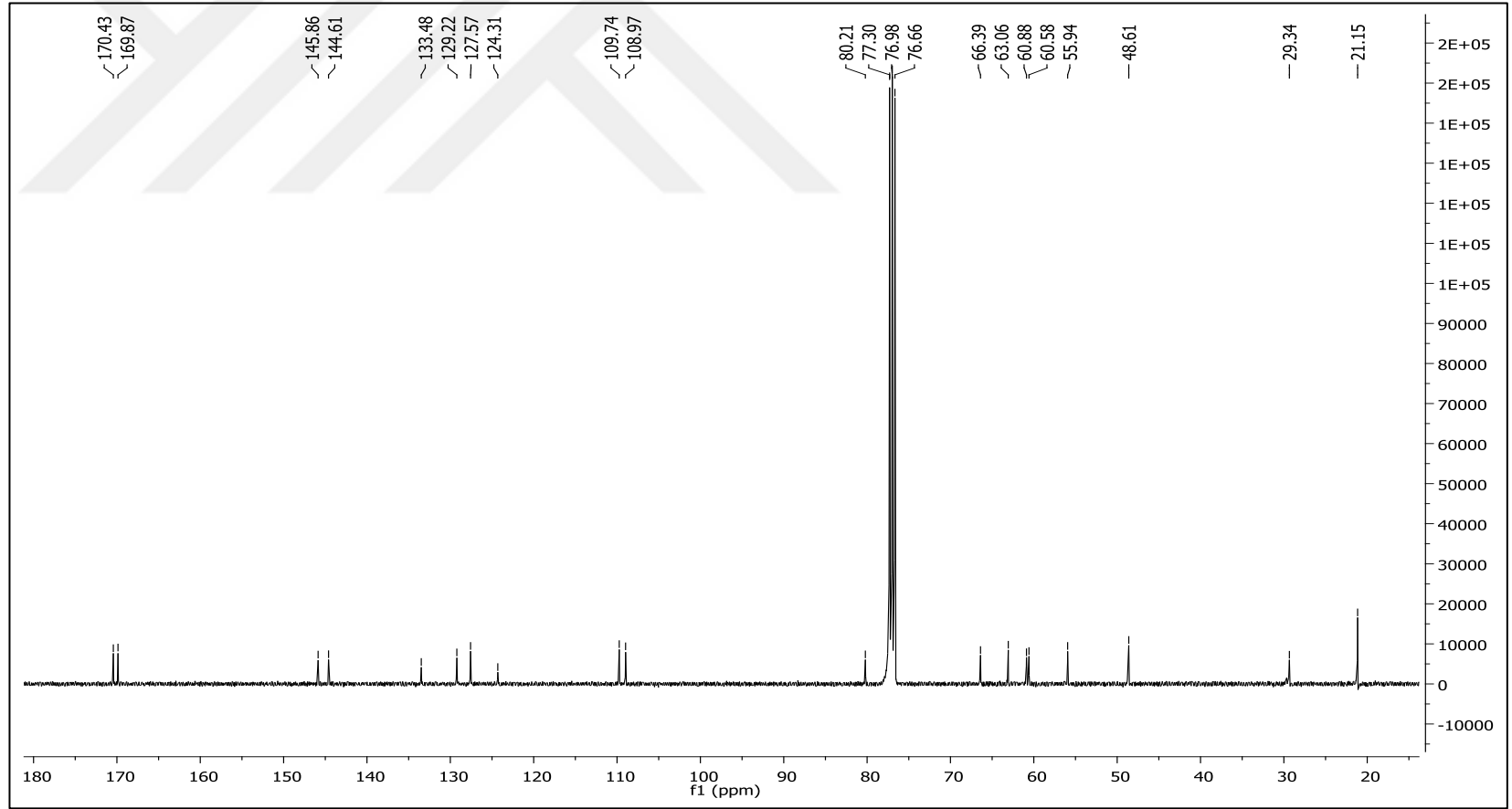
Spektrum 20. GF-3 Kodlu Bileşğin ^1H NMR Spektrumu



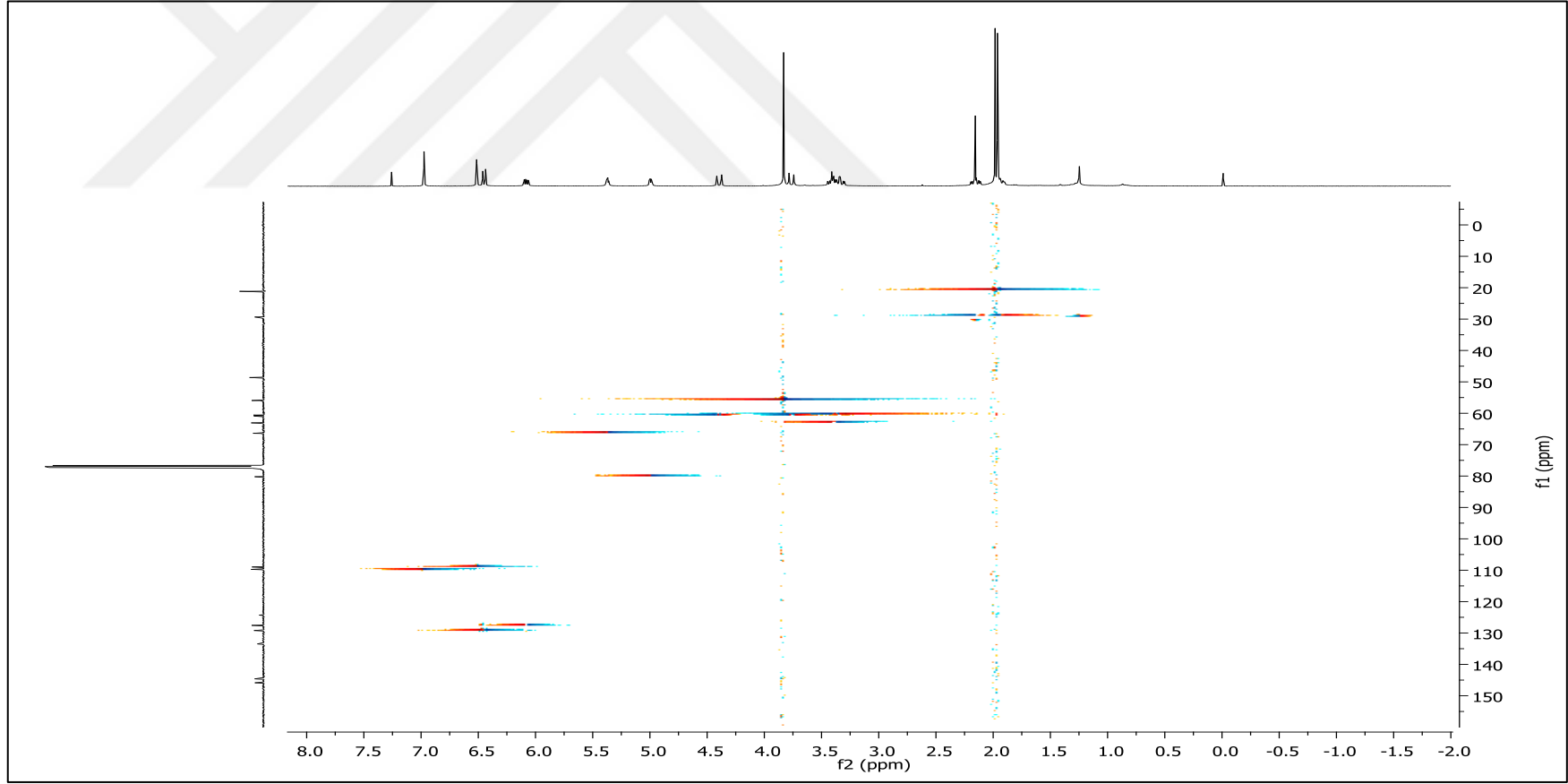
Spektrum 21. GF-3 Kodlu Bileşiğin Genişletilmiş ^1H NMR Spektrumu



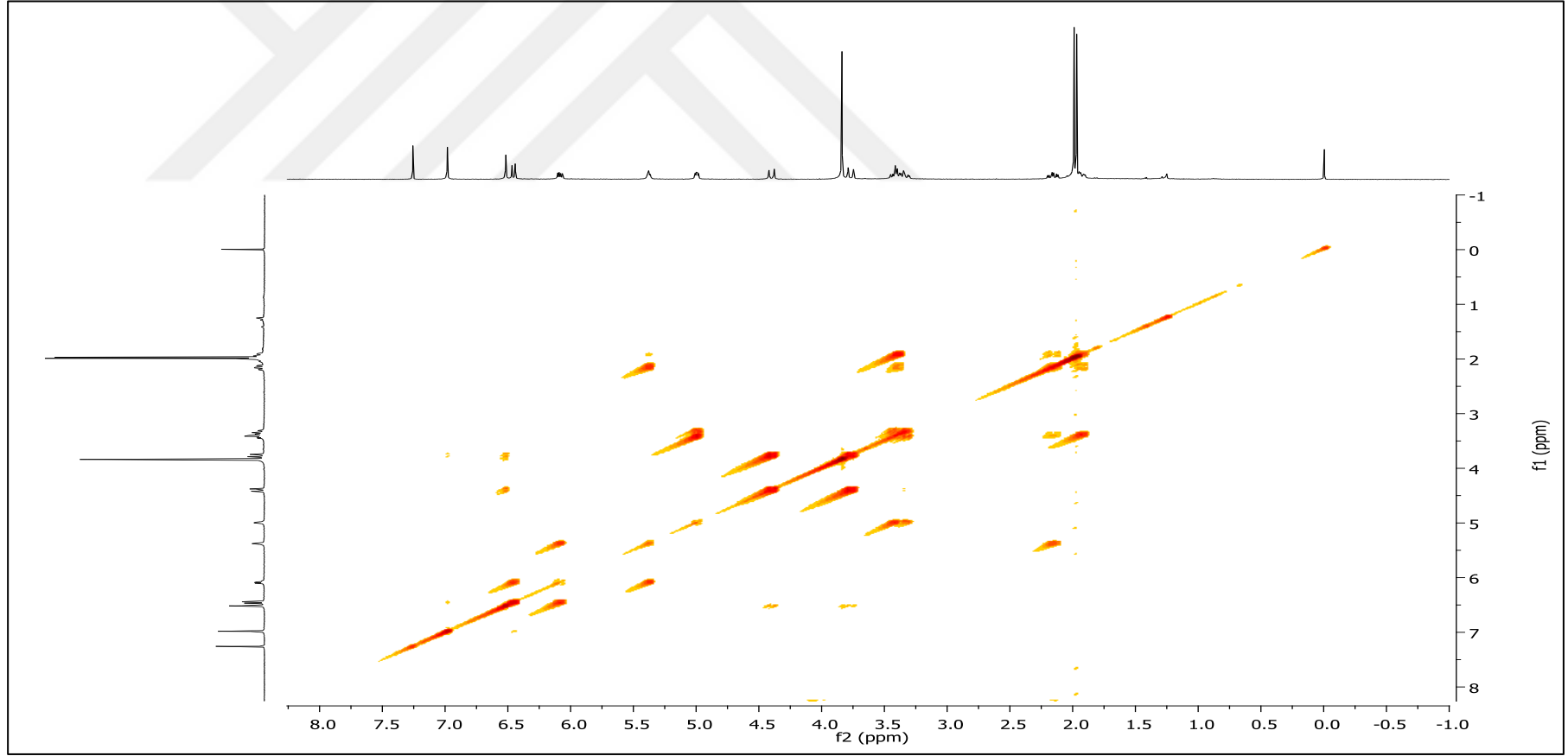
Spektrum 22. GF-3 Kodlu Bileşiğin Geniştirilmiş ^1H NMR Spektrumu



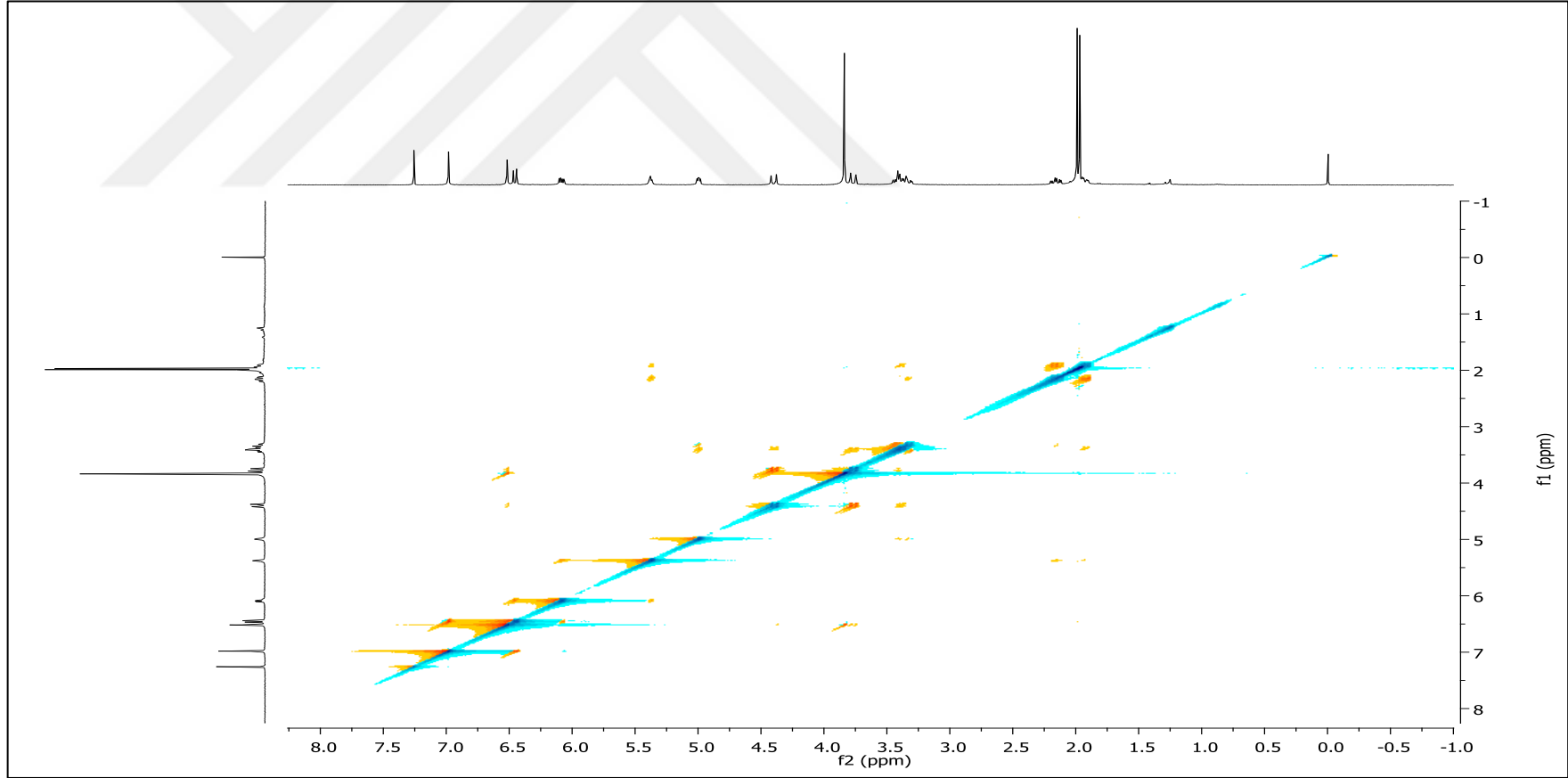
Spektrum 23. GF-3 Kodlu Bileşiğin ¹³C NMR Spektrumu



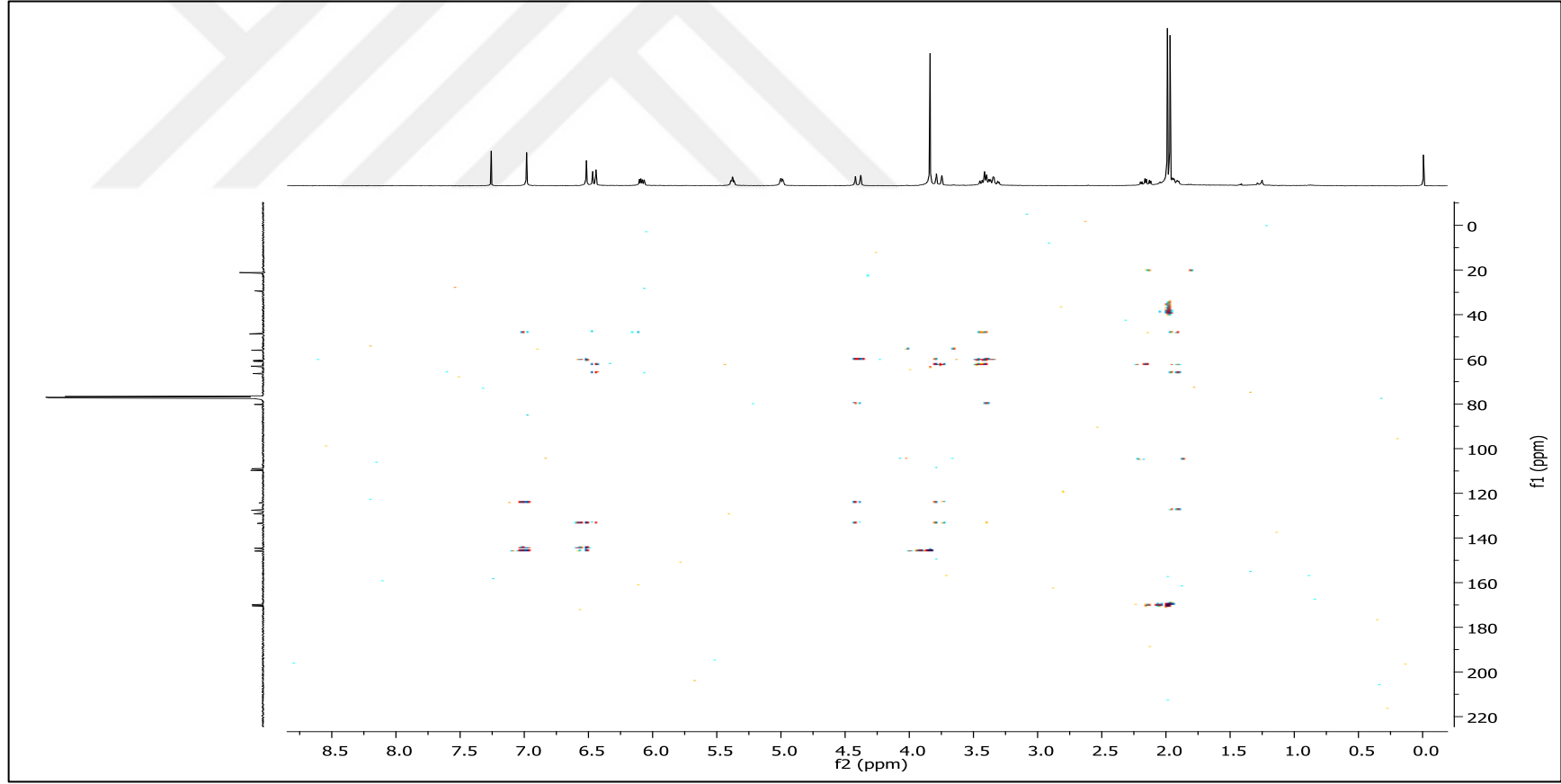
Spektrum 24. GF-3 Kodlu Bileşğin HSQC Spektrumu



Spektrum 25. GF-3 Kodlu Bileşğin ^1H , ^1H COSY Spektrumu



Spektrum 26. GF-3 Kodlu Bileşğin NOESY Spektrumu



Spektrum 27. GF-3 Kodlu Bileşğin HMBC Spektrumu

4.2.4.GF-4 Bileşığının Spektral Bulguları

$[\alpha]_D -98^\circ$ (MeOH; c 1.00)

ESI Kütle (Spektrum 28)

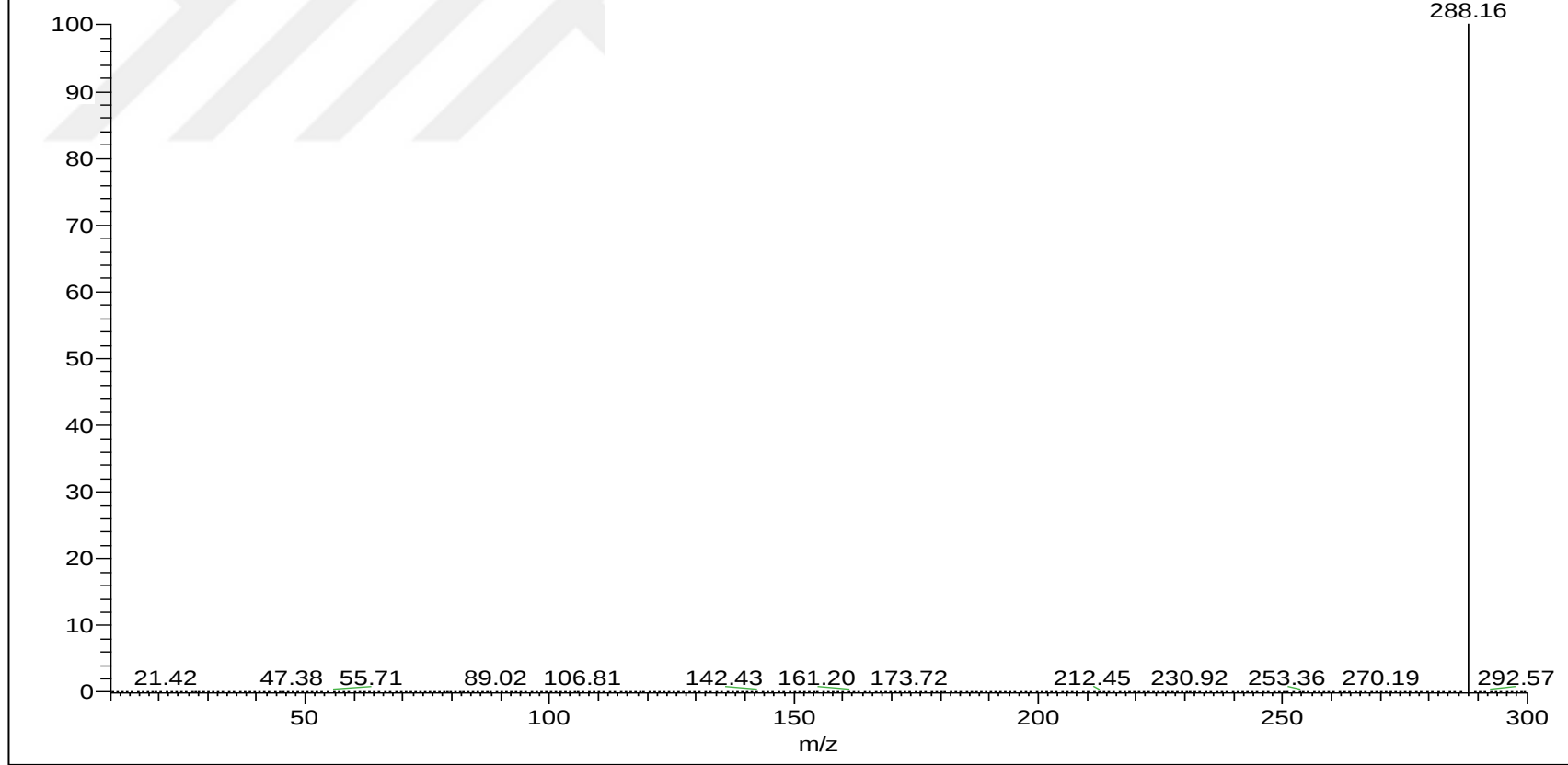
m/z: 288.16 $[M+H]^+$

1H NMR (Spektrum 29)

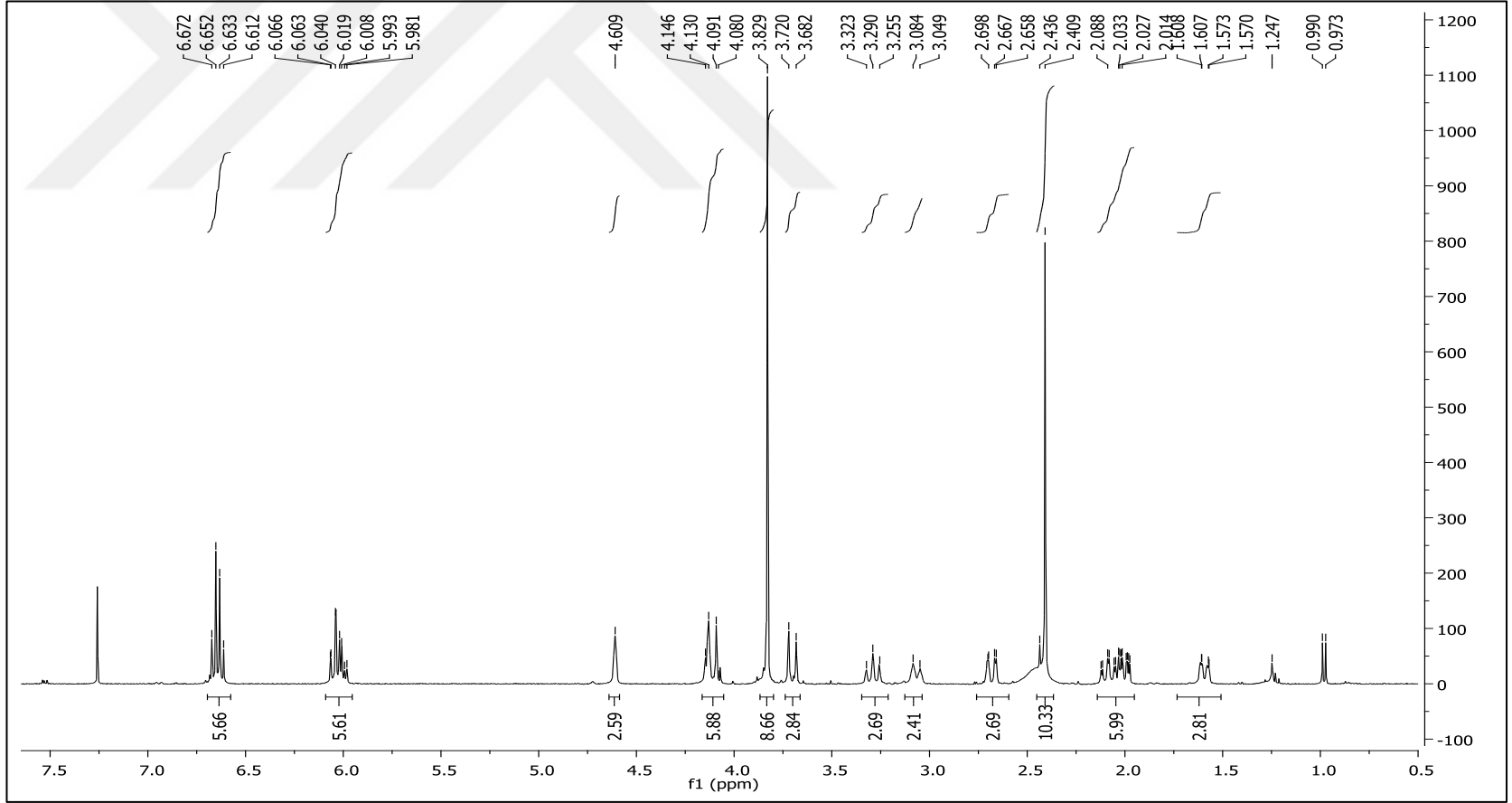
(400 MHz, $CDCl_3$) δ ppm 6.66 (1H, d, $J = 8$ Hz, H-8), 6.62 (1H, d, $J = 8$ Hz, H-7), 6.05 (1H, dd, $J = 10.4, 1.2$ Hz, H-4a), 6.00 (1H, dd, $J = 10.4, 4.8$ Hz, H-4), 4.61 (1H, *brs*, H-1), 4.14 (1H, m, H-3), 4.11 (1H, dd, $J = 15.6, 6.4$ Hz, H-6a), 3.84 (3H, s, 9-OMe), 3.70 (1H, d, $J = 15.2$ Hz, H-6b), 3.29 (1H, dt, $J = 13.6, 1.2$ Hz, H-12a), 3.07 (1H, dt-benzeri, $J = 14.4$ Hz, H-12b) 2.68 (1H, m, H-2a), 2.42 (3H, s, *N*-Me), 2.08 (1H, dt, $J = 13.4, 3.2$ Hz H-11a), 2.00 (1H, m, H-2b), 1.59 (1H, dd, $J = 13.4, 2.8$ Hz, H-11b) ppm.

Genişletilmiş 1H NMR Spektrumu (Spektrum 30, 31)

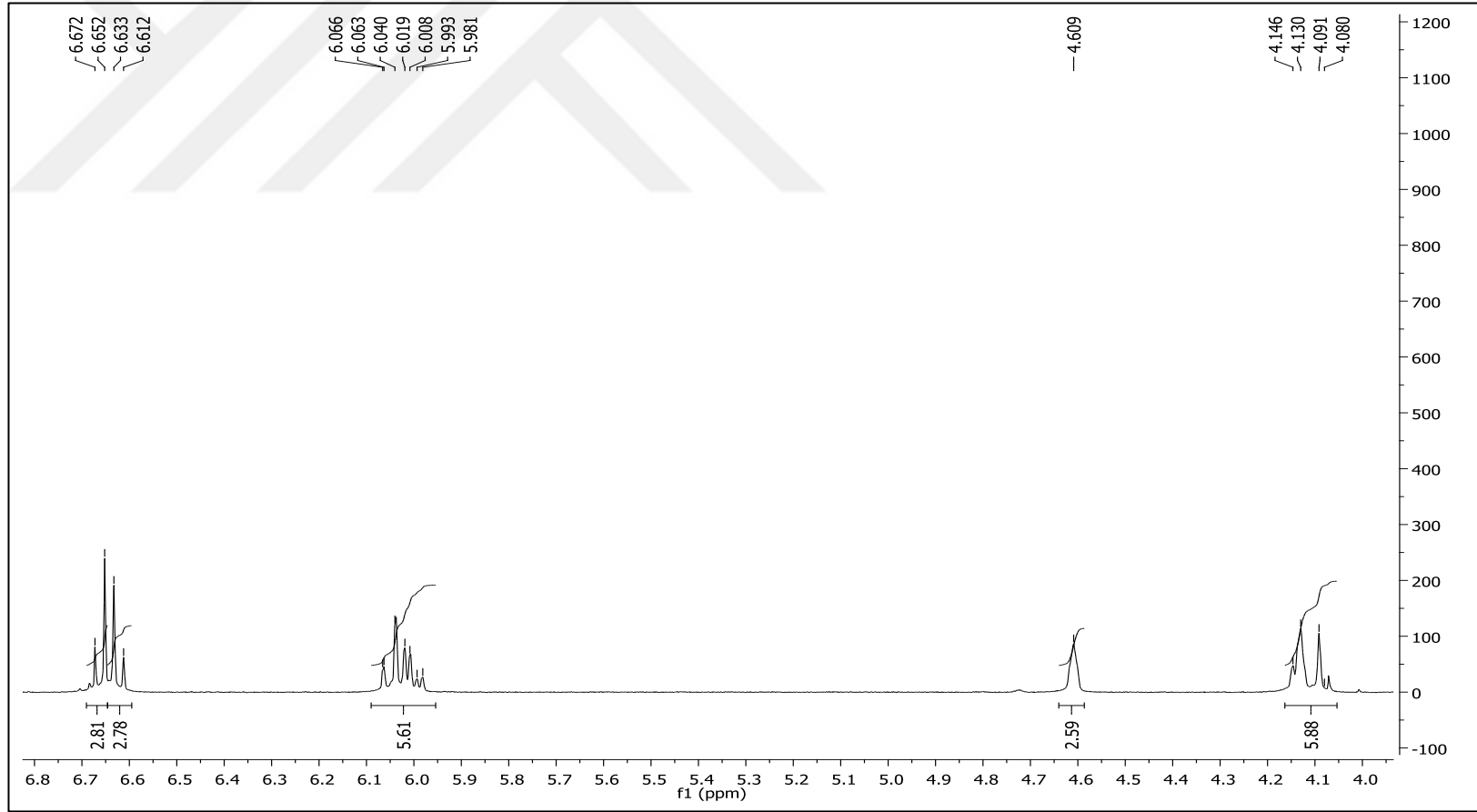
Galantamine_product-qb #1 RT: 0.26 AV: 1 NL: 2.78E4
T: + c ESI Full ms2 288.00 [10.00-300.00]



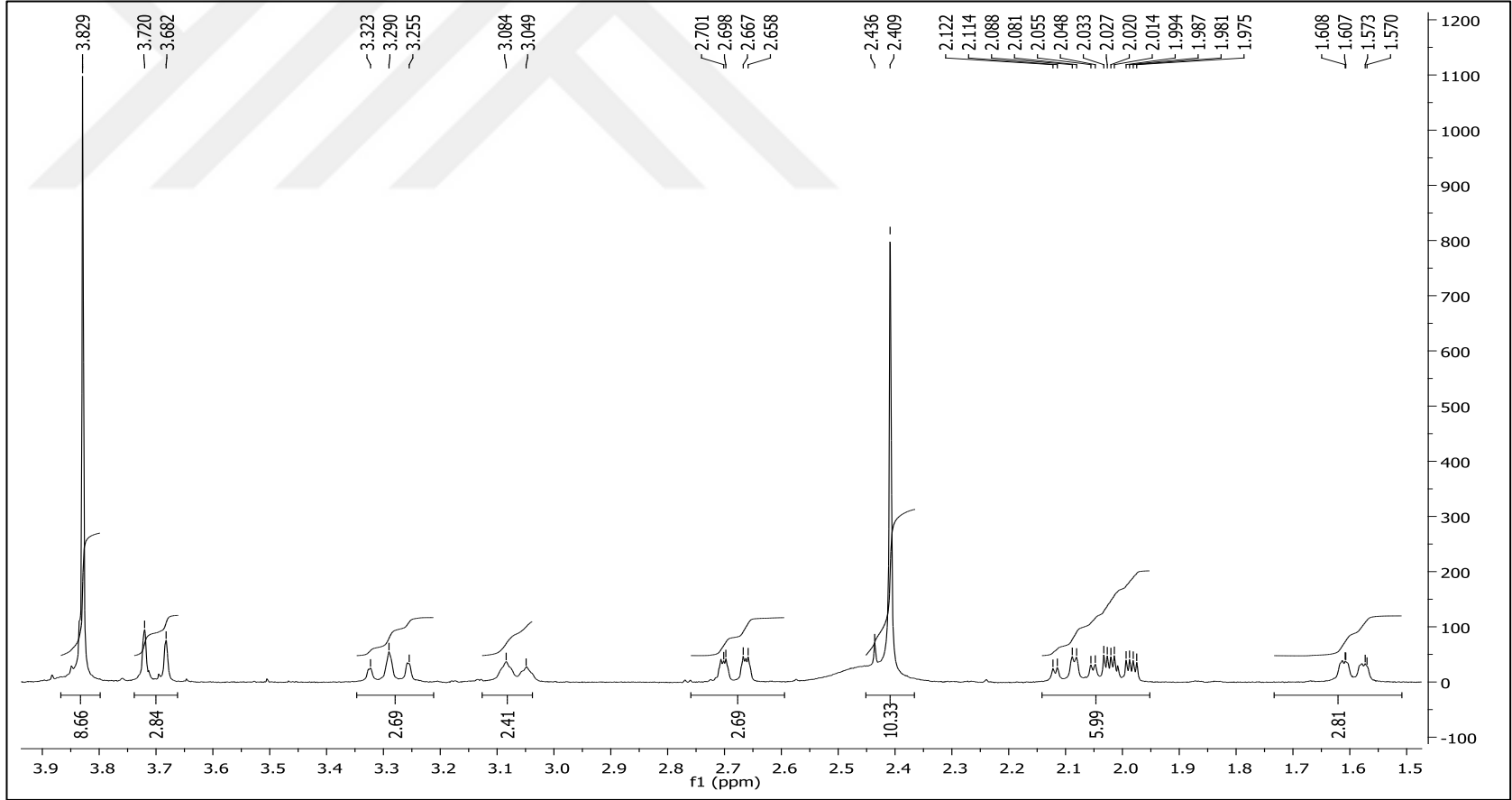
Spektrum 28. GF-4 Kodlu Bileşğin ESI Kütle Spektrumu



Spektrum 29. GF-4 Kodlu Bileşiğin ^1H NMR Spektrumu



Spektrum 30. GF-4 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR Spektrumu



Spektrum 31. GF-4 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR Spektrumu

4.2.5. GF-5 Bileşığının Spektral Bulguları

$[\alpha]_D -25^\circ$ (MeOH; c 1.00)

ESI Kütle (Spektrum 32)

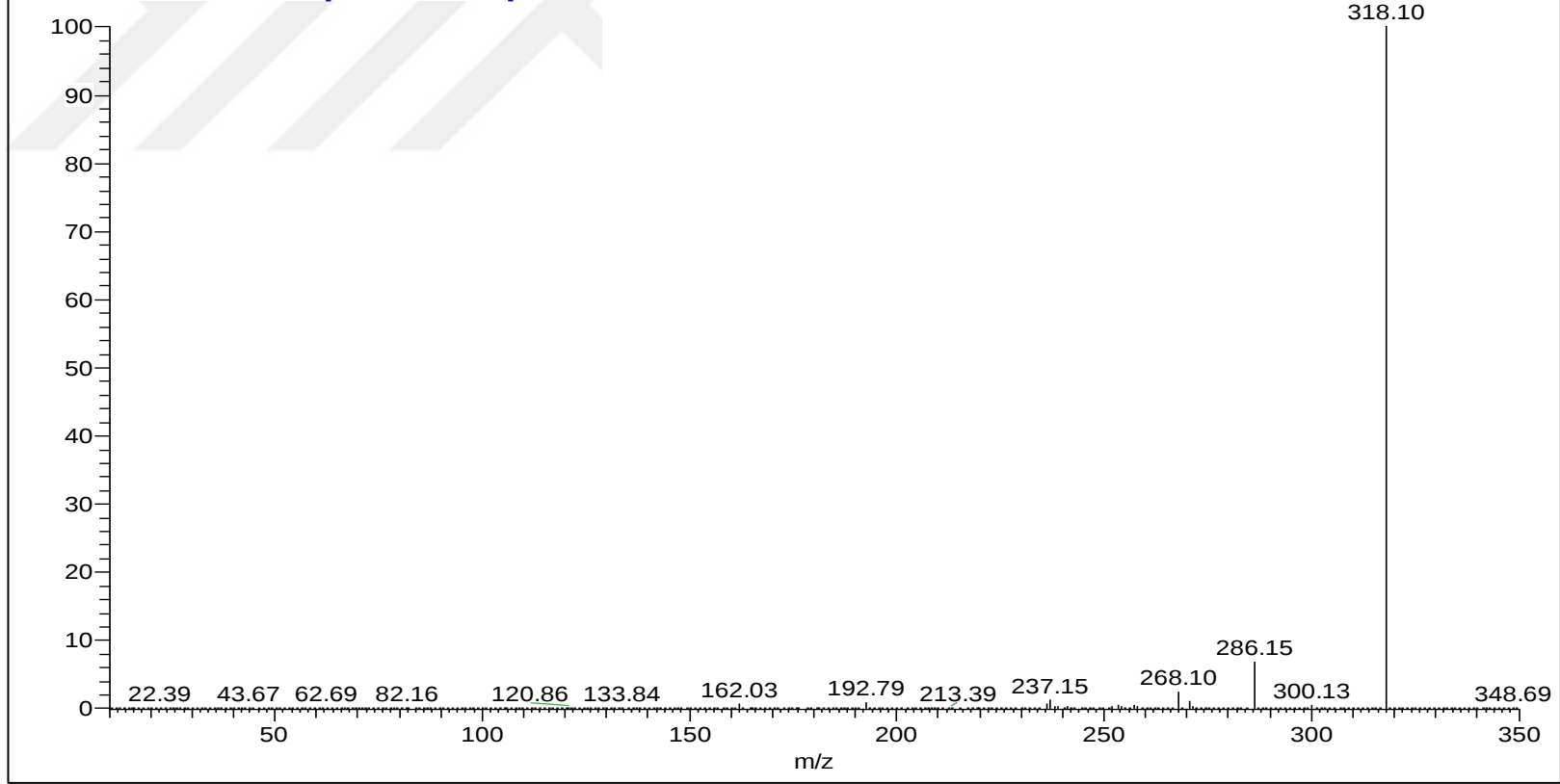
m/z: 318.10 $[M+H]^+$

1H NMR (Spektrum 33)

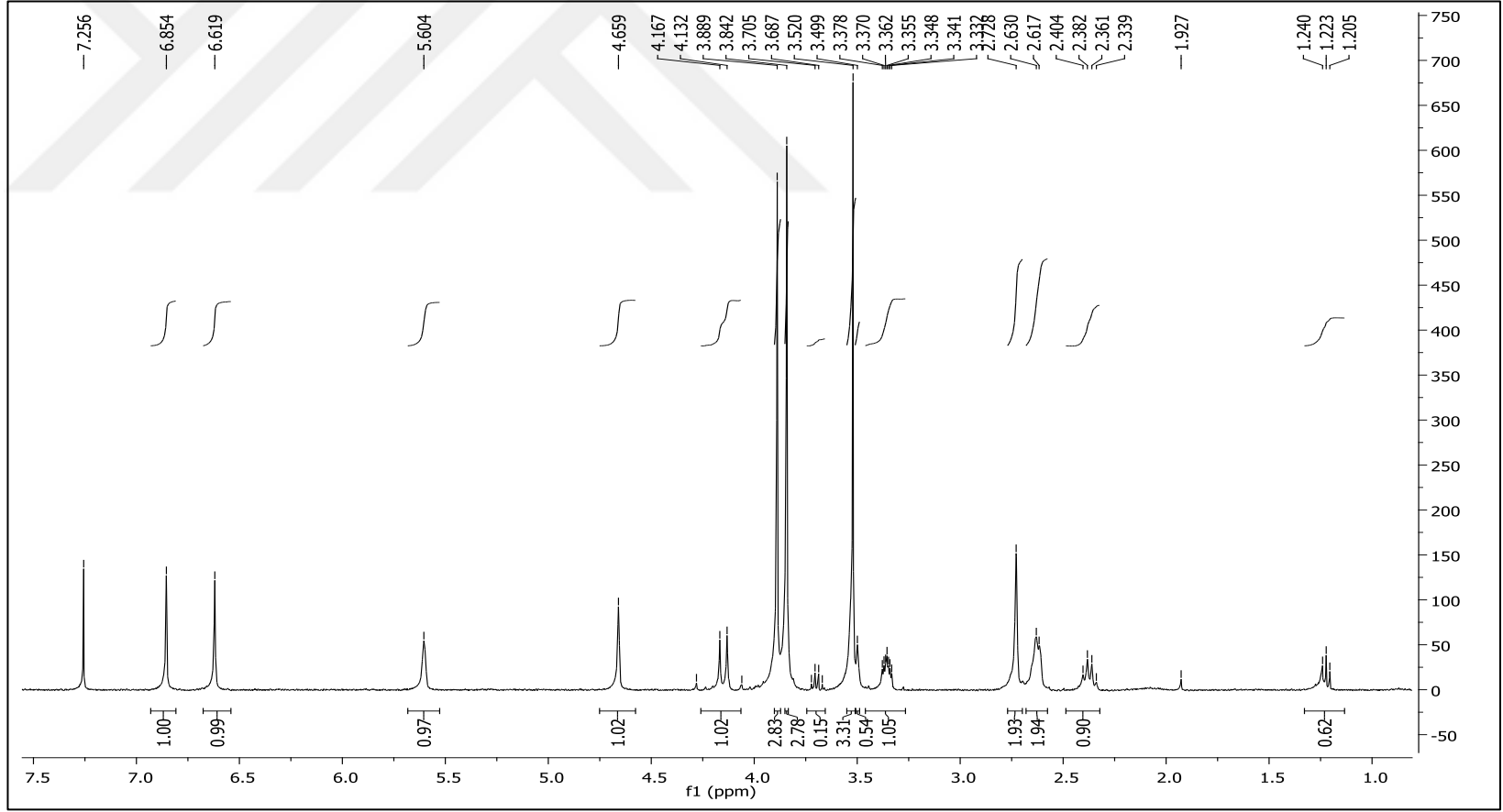
(400 MHz, $CDCl_3$) δ ppm 6.85 (1H, s, H-10), 6.62 (1H, s, H-7), 5.60 (1H, *brs*, H-3), 4.66 (1H, *brs*, H-1), 4.15 (1H, d, $J = 14$ Hz, H-6a), 3.89 (3H, s, 9-OMe), 3.84 (3H, s, 8-OMe), 3.84 (1H, Ar-OMe sinyali altında kalmış, H-2), 3.51 (3H, s, 2-OMe), 3.51 (1H, Al-OMe sinyali altında kalmış, H-6b), 3.36 (1H, m, H-12a), 2.73 (2H, m, H-4a, H-10b), 2.62 (2H, m, H-11), 2.37 (1H, dd, $J = 17.2, 4.8$ Hz, H-12b) ppm.

Genişletilmiş 1H NMR (Spektrum 34)

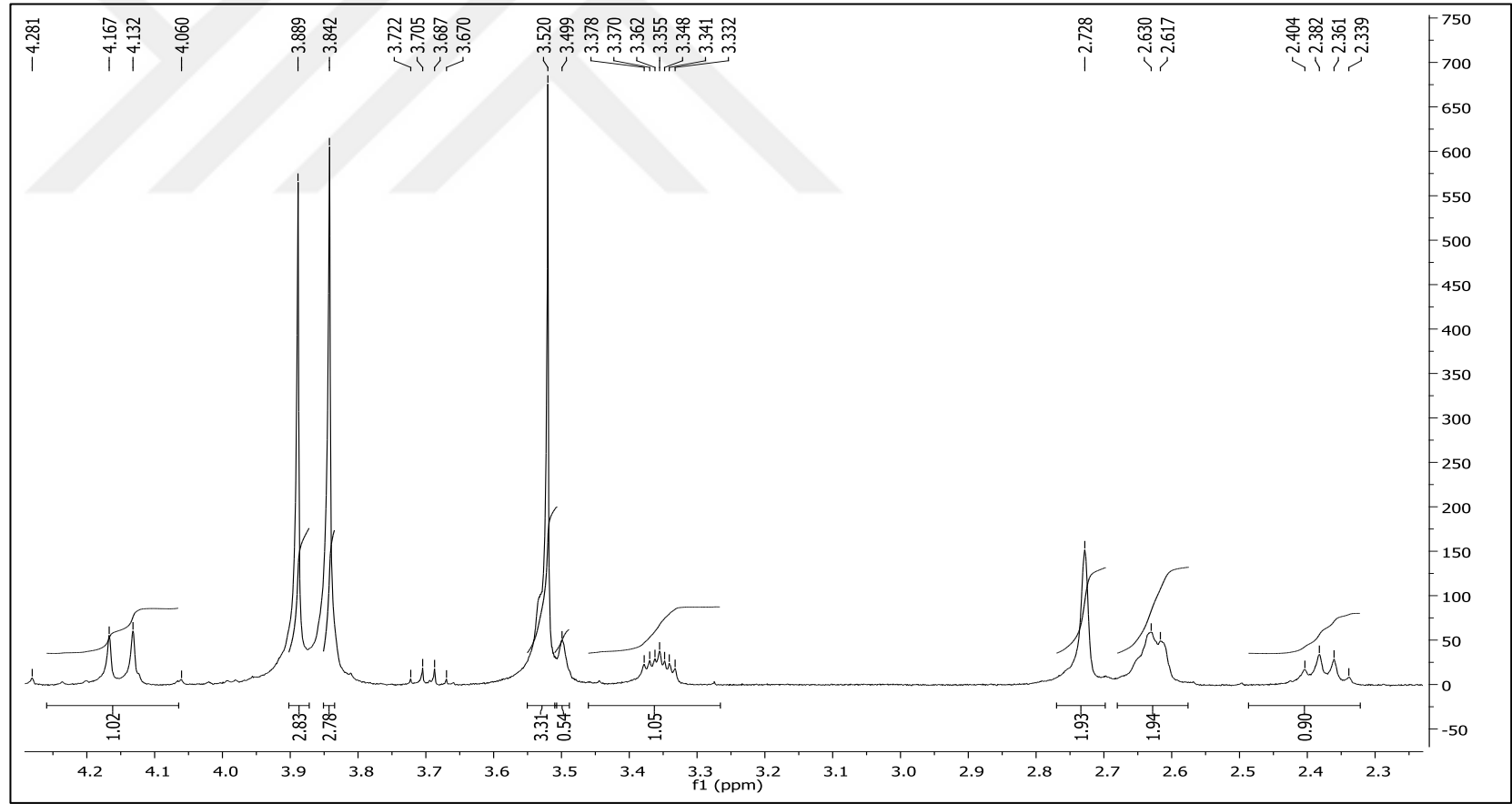
Galantine product #109 RT: 0.97 AV: 1 NL: 5.08E7
T: + c ESI Full ms2 317.910 [10.000-350.000]



Spektrum 32. GF-5 Kodlu Bileşğin ESI Kütle Spektrumu



Spektrum 33.GF-5 Kodlu Bileşiğın ^1H NMR Spektrumu



Spektrum 34. GF-5 Kodlu Bileşiğin Genişletilmiş ^1H NMR Spektrumu

4.2.6. GF-6 Bileşığının Spektral Bulguları

$[\alpha]_D -25^\circ$ (MeOH; c 1.00)

ESI Kütle (Spektrum 35)

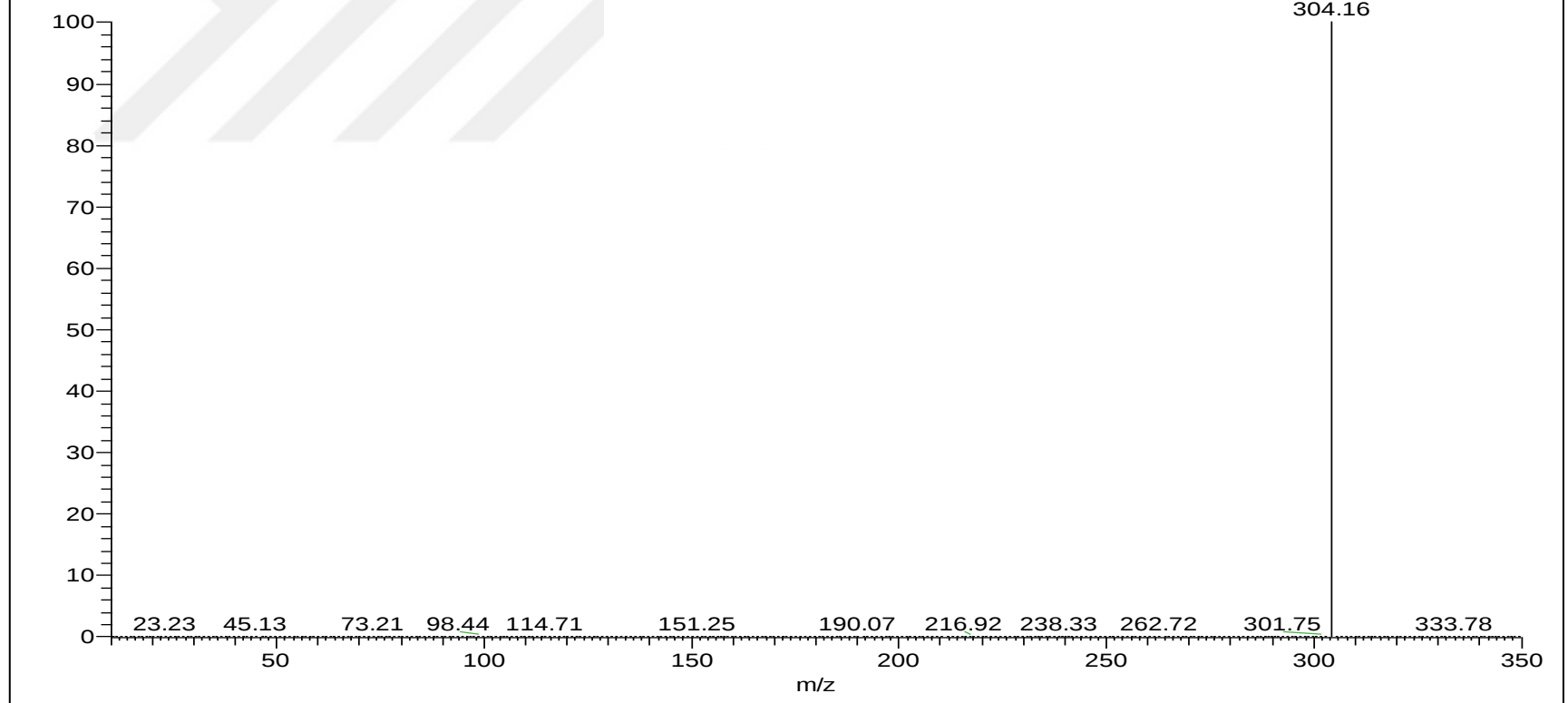
m/z: 304.16 $[M+H]^+$

1H NMR (Spektrum 36)

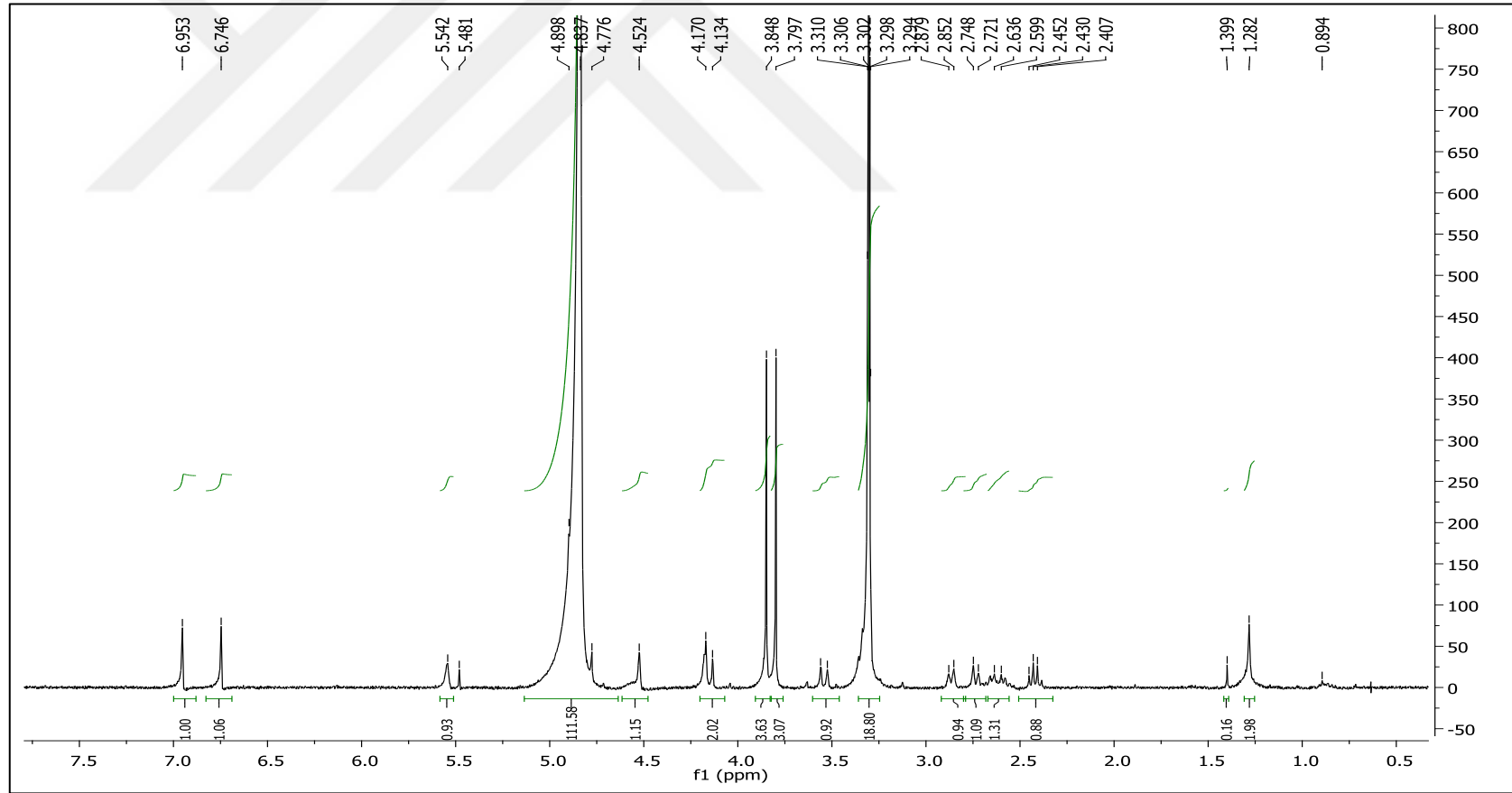
(400 MHz, CD_3OD) δ ppm 6.95 (1H, s, H-10), 6.75 (1H, s, H-7), 5.54 (1H, *brs*, H-3), 4.52 (1H, *brs*, H-1), 4.18 (1H, m, H-2), 4.15 (1H, d, $J = 14.4$ Hz, H-6a), 3.85 (3H, s, 9-OMe), 3.80 (3H, s, 8-OMe), 3.54 (1H, d, $J = 14.4$ Hz, H-6b), 3.32 (1H, m, H-12a), 2.87 (1H, d, $J = 10.8$ Hz, H-4a), 2.73 (1H, d, $J = 10.8$ Hz, H-10b), 2.62 (2H, m, H-11), 2.43 (1H, m, H-12b) ppm.

Genişletilmiş 1H NMR (Spektrum 37, 38)

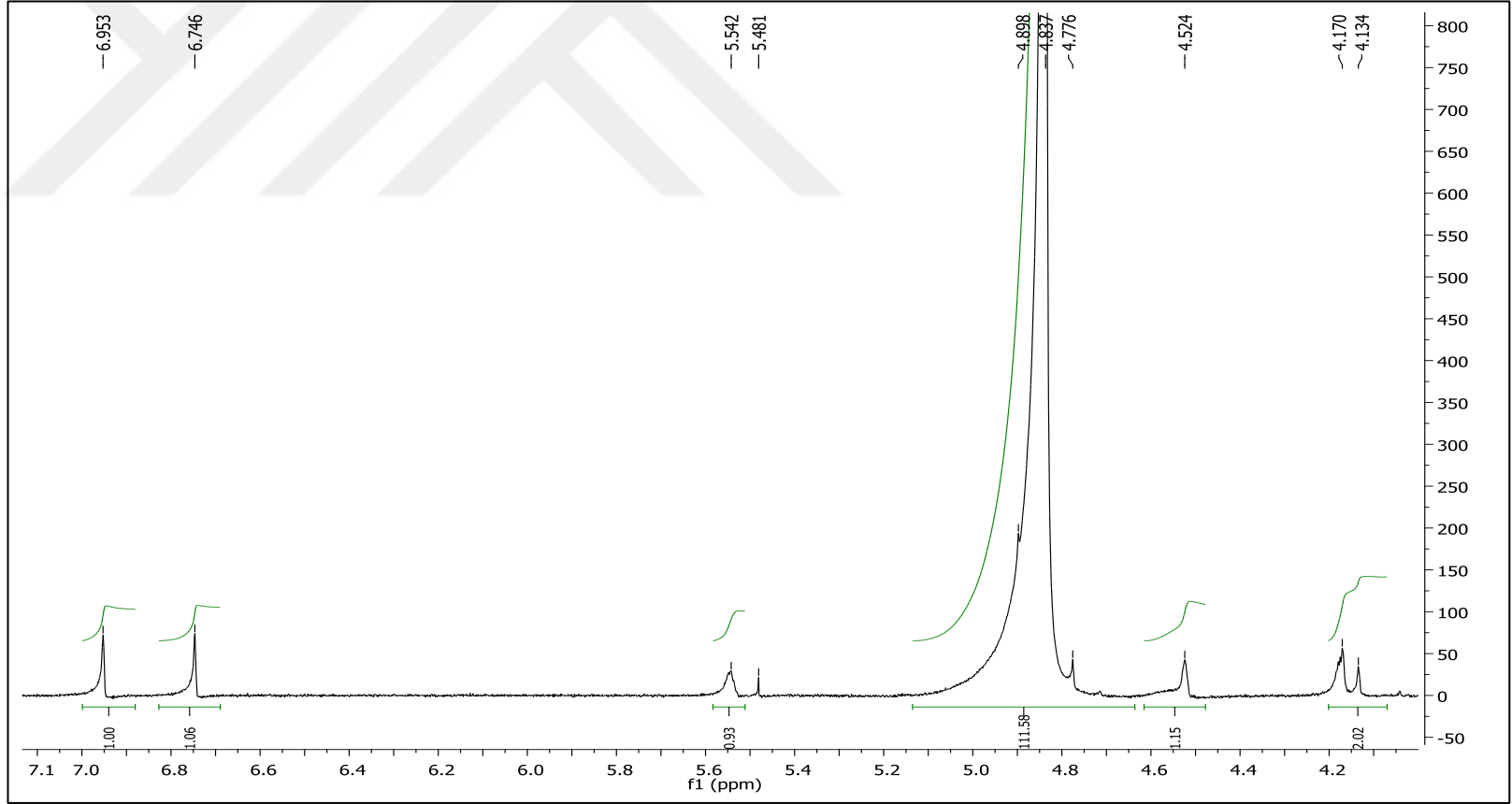
pLicorine product #62 RT: 0.24 AV: 1 NL: 8.55E4
T: + c ESI Full ms2 304.000 [10.000-350.000]



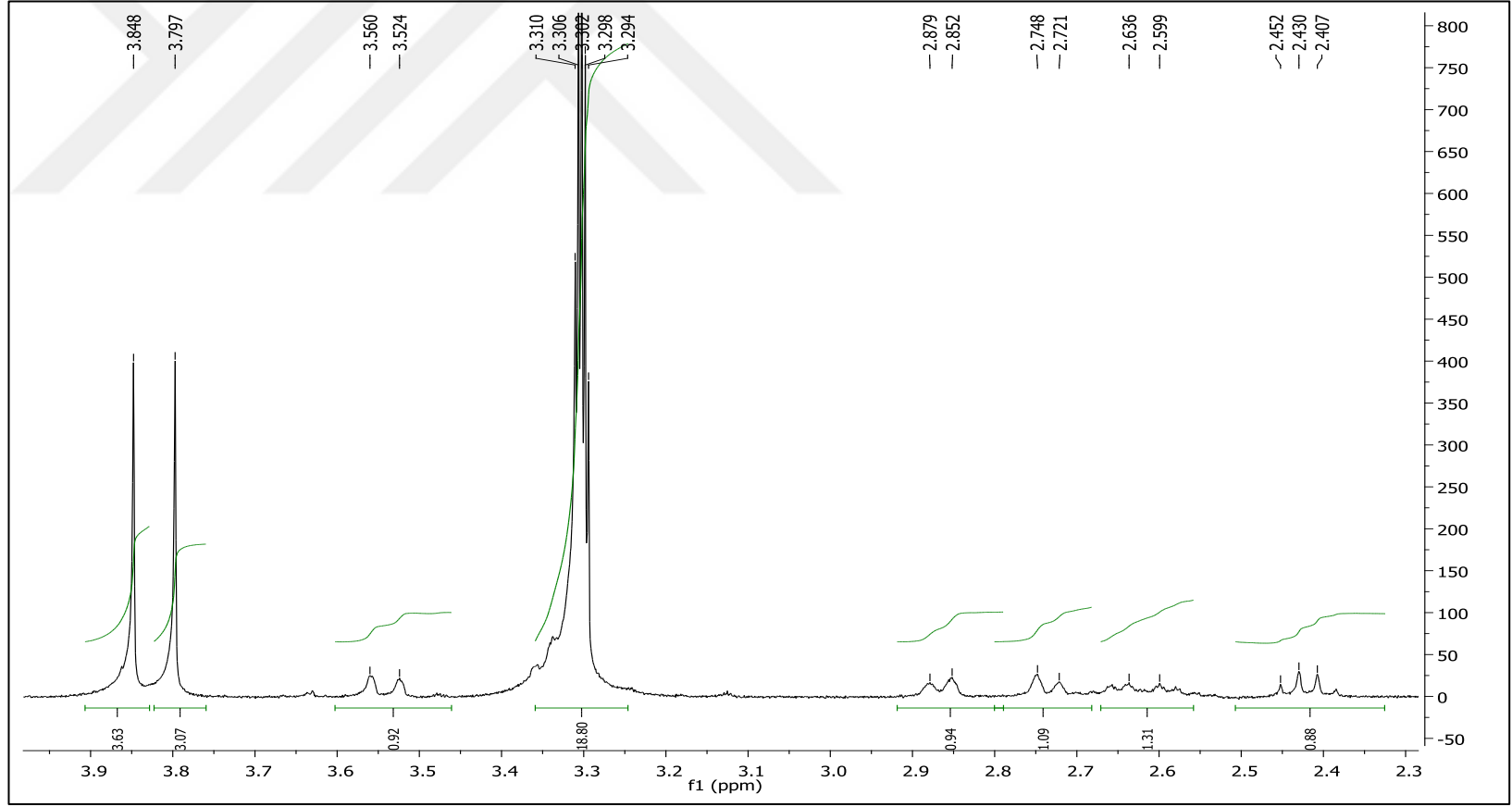
Spektrum 35. GF-6 Kodlu Bileşğin ESI Kütle Spektrumu



Spektrum 36. GF-6 Kodlu Bileşğin ^1H NMR Spektrumu



Spektrum 37. GF-6 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR Spektrumu



Spektrum 38. GF-6 Kodlu Bileşiğin Genişletilmiş ^1H NMR Spektrumu

4.2.7. GF-7 Bileşığının Spektral Bulguları

ESI Kütle (Spektrum 39)

m/z: 288.10 [M+H]⁺

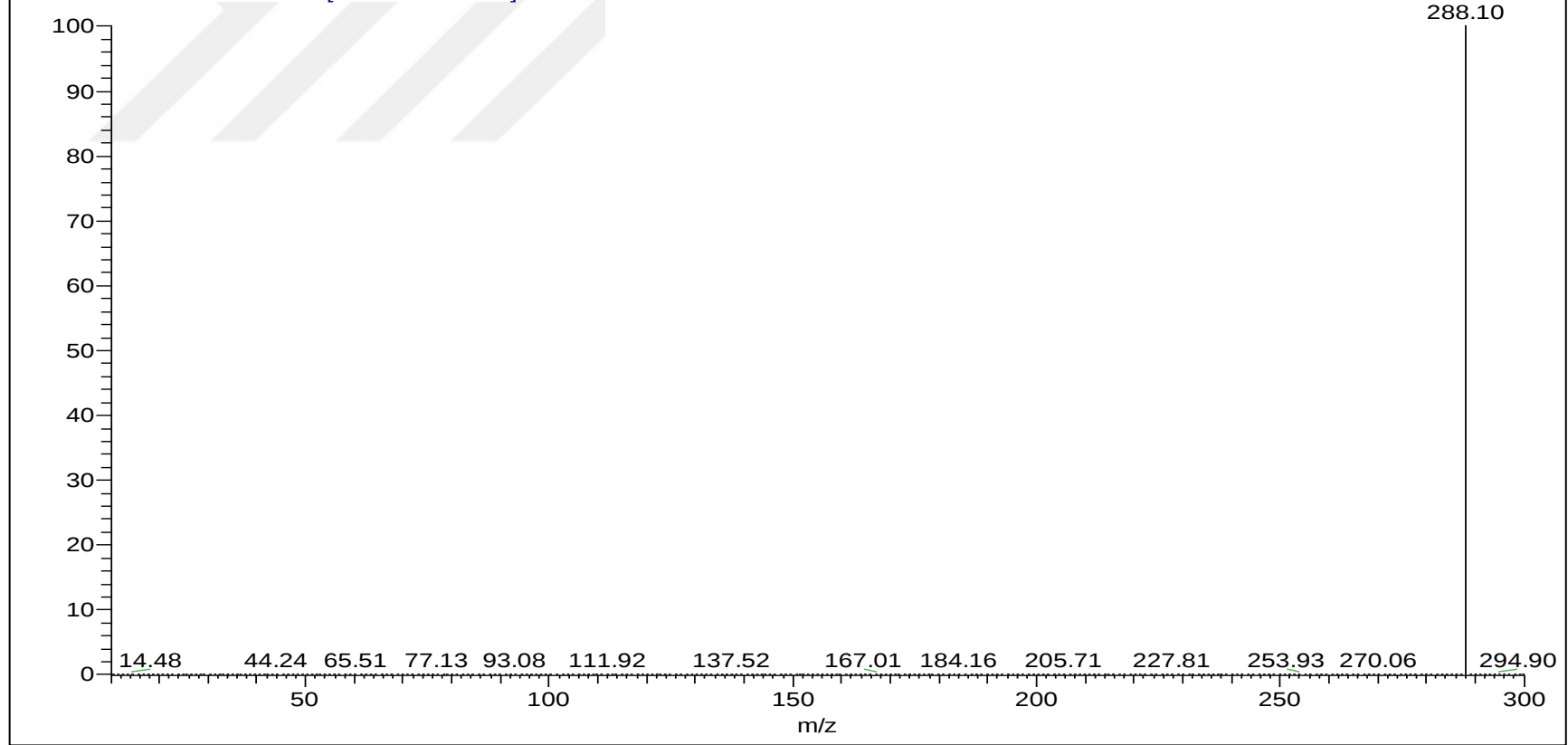
¹H NMR (Spektrum 40)

(400 MHz, CD₃OD) δ 7.06 (2H, dd, J = 8.0, 2.0 Hz, H-2 ve H-6), 7.01 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-5'), 6.95 (1H, d, J = 2 Hz, H-2'), 6.93 (1H, dd, J = 8.0, 2.4 Hz, H-6'), 6.75 (2H, dd, J = 7.2, 2.0 Hz, H-3 ve H-5), 4.23 (2H, *brs*, H- β'), 3.88 (3H, s, 4'-OMe), 3.26 (2H, m, H- α), 2.97 (2H, t, J = 8.8, 8.2 Hz, H- β), 2.81 (3H, s, *N*-Me) ppm.

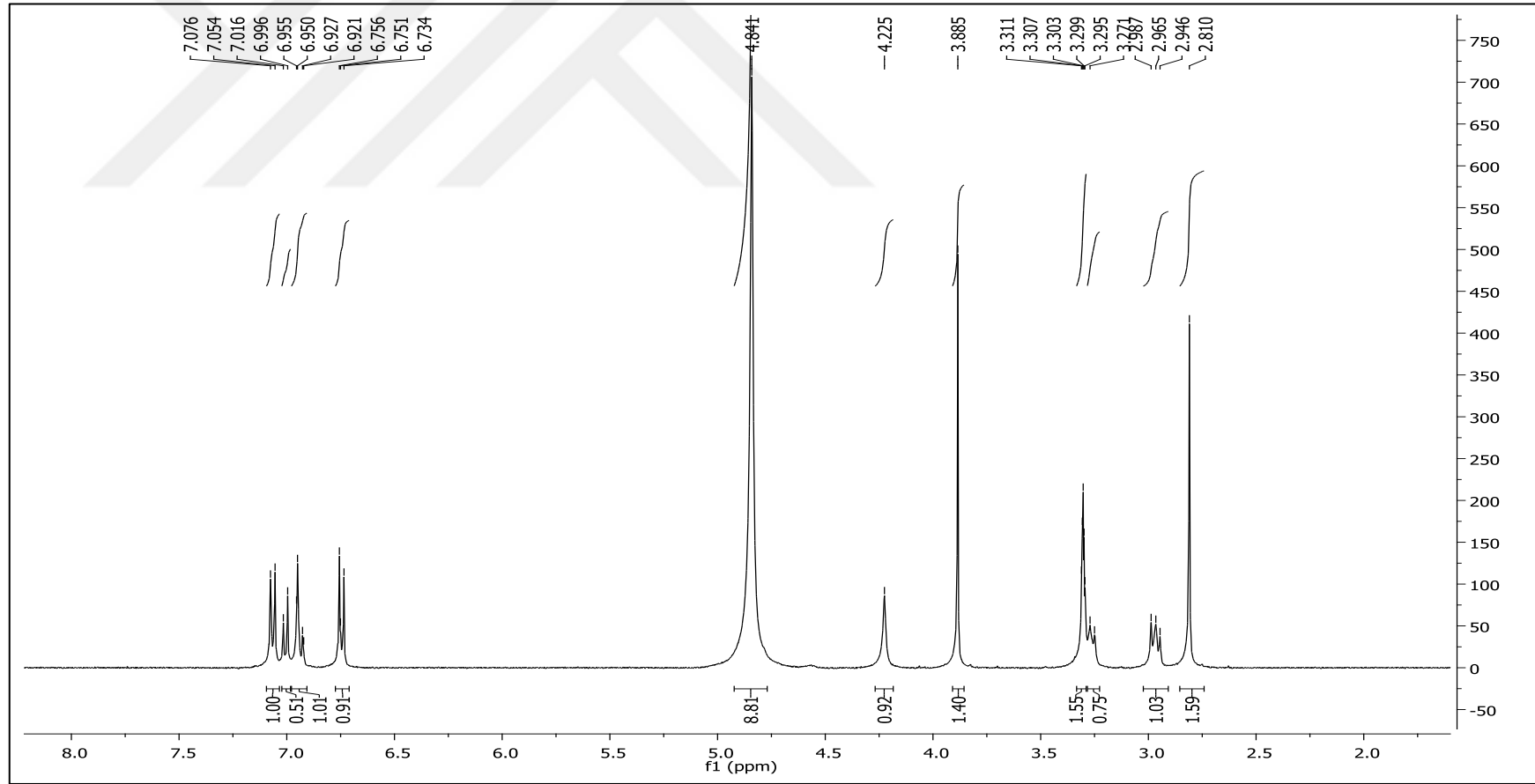
Genişletilmiş ¹H NMR (Spektrum 41, 42)



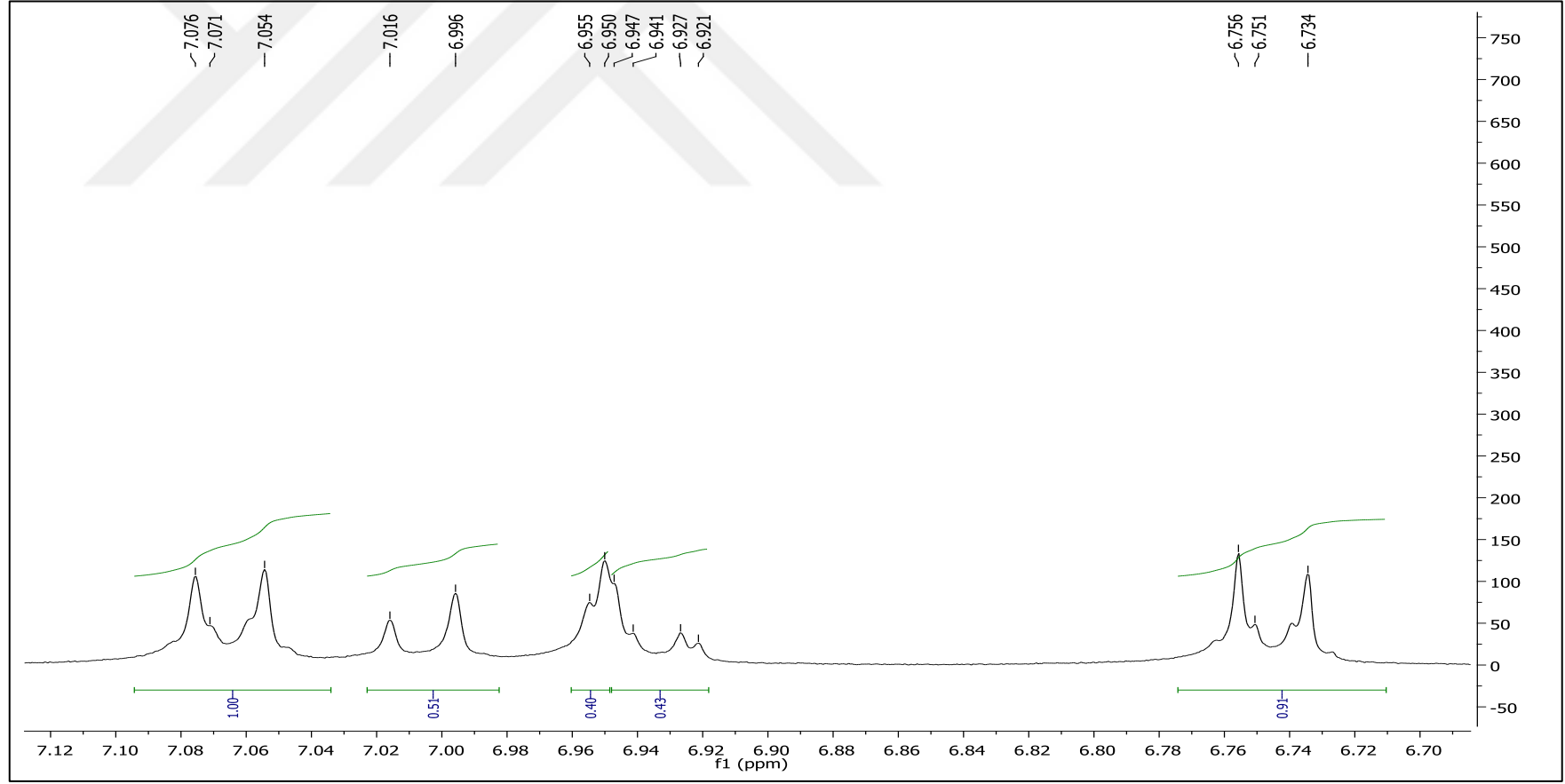
Norbelladine_product #60 RT: 0.23 AV: 1 NL: 7.36E4
T: + c ESI Full ms2 288.000 [10.000-300.000]



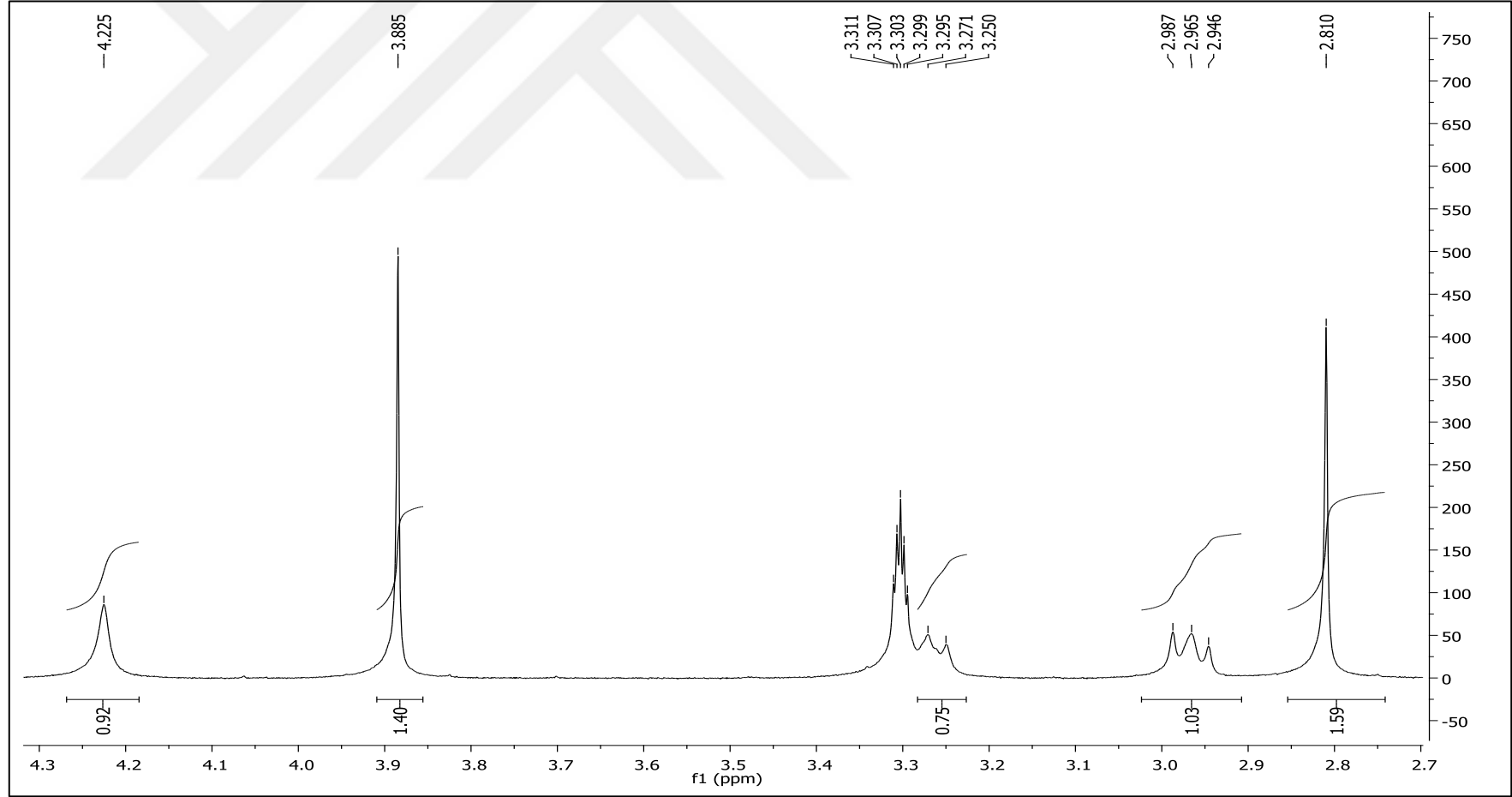
Spektrum 39. GF-7 Kodlu Bileşğin ESI Kütle Spektrumu



Spektrum 40. GF-7 Kodlu Bileşğin ^1H NMR Spektrumu



Spektrum 41. GF-7 Kodlu Bileşiğin Geniştirilmiş ^1H NMR Spektrumu



Spektrum 42. GF-7 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR Spektrumu

4.2.8. GF-8 Bileşığının Spektral Bulguları

$[\alpha]_D^{+5^\circ}$ (MeOH; c 1)

UV (Spektrum 43)

λ_{maks} (MeOH) (log ϵ) 216 (3.17), 228 (3.43), 240 (3.58), 273 (3.24) nm

IR (Spektrum 44)

ν_{maks} (MeOH) 2927, 1733, 1510, 1445, 1372, 1283, 1150, 1096, 1047, 951, 862, 777 cm^{-1}

HR-ESI Kütle (Spektrum 45)

m/z: 332.1511 $[\text{M} + \text{H}]^+$ (Teorik Değer: 332.1493)

CD (Spektrum 46)

MeOH, $[\theta]_\lambda$: $[\theta]_{\text{min } 258} -3343$, $[\theta]_{\text{max } 286} +13740$

^1H NMR (Spektrum 47)

(400 MHz, CD_3OD) δ 6.88 (1H, s, H-10), 6.64 (1H, s, H-7), 6.31 (1H, d, $J = 10$ Hz, H-1), 6.09 (1H, dd, $J = 10, 5$ Hz, H-2), 4.93 (1H, dd, 7.6, 3.6, 3.2 Hz, H-11), 4.33 (1H, d, $J = 16.8$ Hz, H-6 β), 4.28 (1H, td, $J = 4.8, 4.6, 1.2$ Hz, H-3), 3.80 (1H, 1H, Ar-OMe sinyali altında kalmış, H-6 α) 3.80 (3H, s, 8-OMe), 3.45-3.40 (2H, m, H-12 $_{\text{endo}}$, H-4 α), 3.25 (1H, m, H-12 $_{\text{ekso}}$), 2.09 (1H, td, $J = 13.2, 4.4$ Hz, H-4 α), 1.96 (3H, s, OCOCH_3), 1.86 (1H, dd, $J = 13.2, 4.4$ Hz, H- 4 β) ppm.

Genişletilmiş ^1H NMR (Spektrum 48, 49)

^{13}C NMR (Spektrum 50)

(100 MHz, CD_3OD) δ 170.5 (11- OCOCH_3) 146.9 (C-9), 145.2 (C-8), 131.2 (C-2), 125.9 (C-1), 123.2 (C-6 α), 109.84 (C-10), 109.79 (C-7), 80.2 (C-11), 62.9 (C-3), 62.4 (C-4 α), 59.3 (C-12), 55 (8-OMe), 48.6 (C-10 β), 31.7 (C-4), 19.7 (11- OCOCH_3) ppm.

HSQC (Spektrum 51) (Tablo 34)

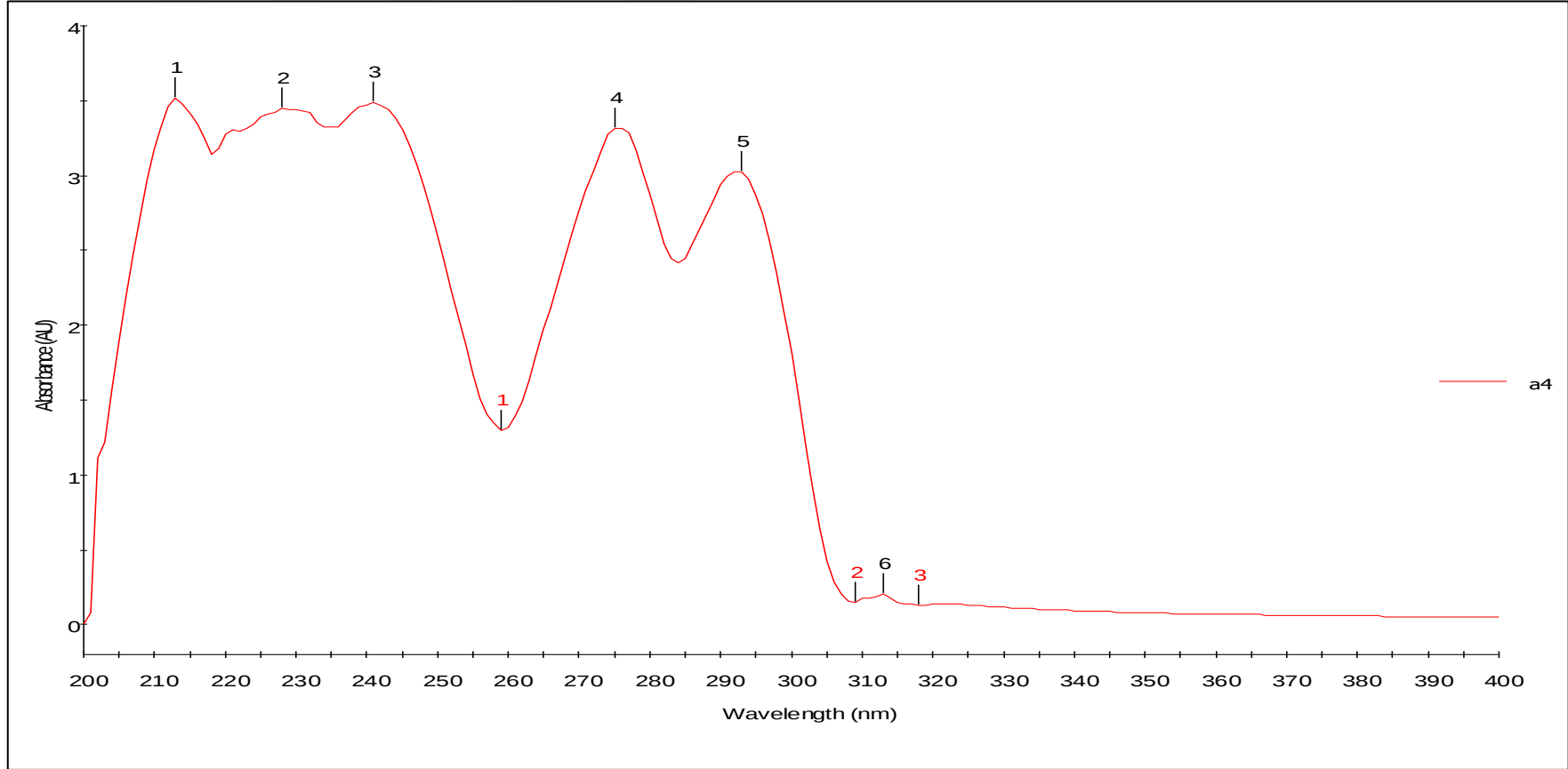
^1H , ^1H COSY (Spektrum 52) (Tablo 34)

NOESY (Spektrum 53) (Tablo 34)

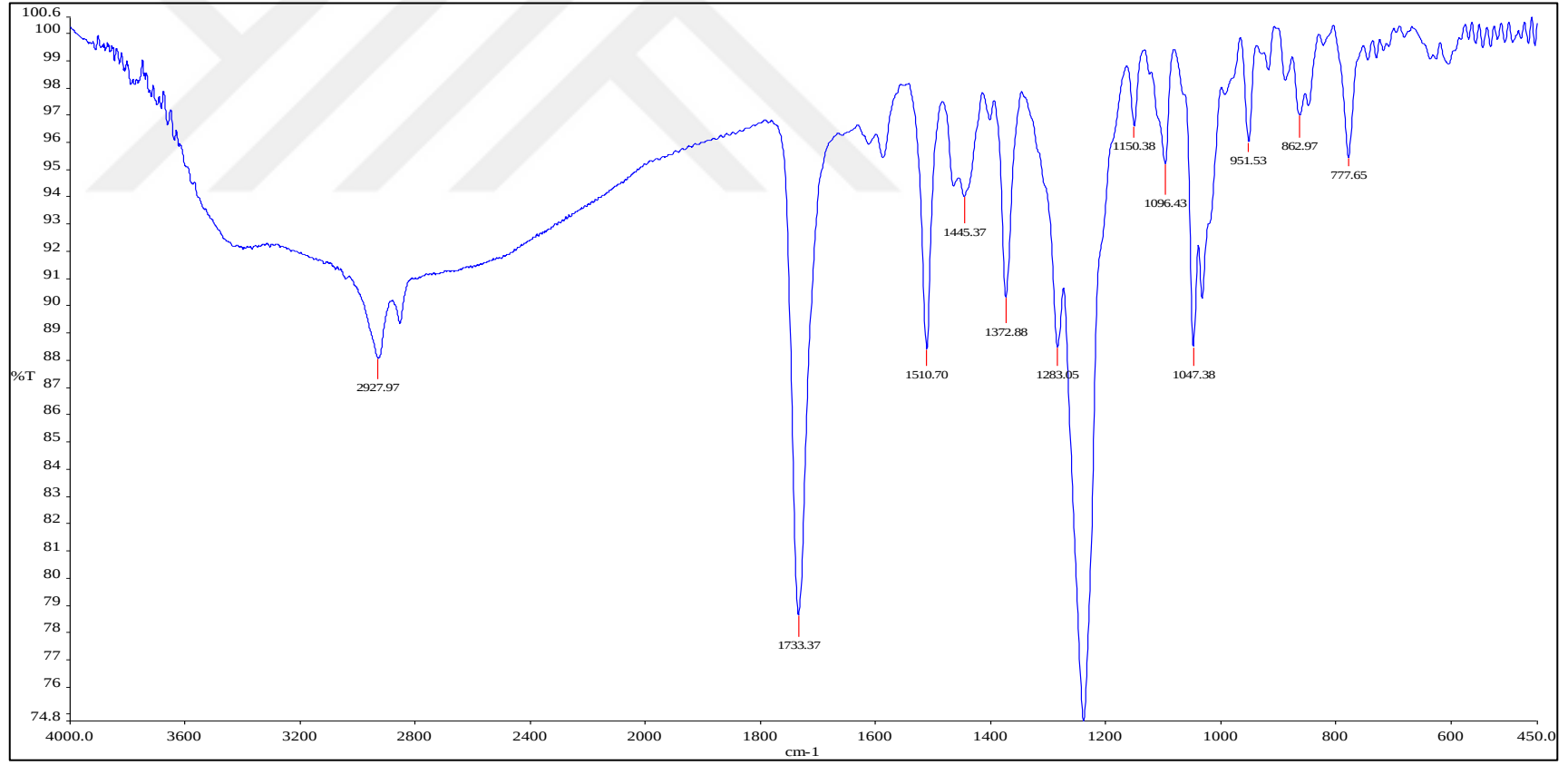
HMBC (Spektrum 54) (Tablo 34)

H	H (δ)	$^{13}\text{C}(\delta)$ /HSQC	HMBC	^1H , ^1H COSY	NOESY
1	6.31	125.8	C-2, C-3, C-4a, C-10a, C-10b	H-2, H-3, H-4a, H-10	H-2, H-10, H-11 <i>endo</i>
2	6.09	131.2	C-1, C-3, C-4	H-1, H-3, H-4 α , H-4 β	H-1, H-3
3	4.28	62.9	C-1, C-2, C-4,	H-1, H-2, H-4 α , H-4 β	H-2, H-4 α , H-4 β
4 β	1.86	31.7	C-2, C-4a, C-10b	H-2, H-3	H-3, H-4 α , H-4a
4 α	2.09	31.7	C-3, C-10b	H-2, H-3	H-3, H-4 β , H-12 <i>ekso</i>
4a	3.42	62.4	C-1, C-4, C-6 C-10a, C-10b, C-11	H-1, H-4 β , H-12 β	H-4 β , H-6 β
6 α	3.80	60.04	C-4a, C-6a, C-7, C-8, C-10a	H-7, H-6 β	H-6 β , H-7, H-12 <i>endo</i>
6 β	4.33	60.04	C-6a, C-7, C-8, C-10a, C-12	H-7, H-6 α	H-6 α , H-4a, H-7
6a	-	123.3	-	-	-
7	6.64	109.79	C-6, C-6a, C-9, C-10a	H-6 α , H-6 β , 8-OMe	H-6 α , H-6 β , 8-OMe
8	-	145.2	-	-	-
9	-	146.9	-	-	-
10	6.88	109.84	C-6a, C-8, C-9, C-10a, C-10b	H-1, H-7	H-1, H-11
10a	-	133.2	-	-	-
10b	-	48.6	-	-	-
11 <i>endo</i>	4.93	80.2	C-4a, C-10a, 11-OCOCH ₃ , C-12	H-4a, H-12 β	H-1, H-10
12 <i>ekso</i>	3.25	59.3	C-6,	H-6 β , H-11	H-4 α , H-12 <i>endo</i>
12 <i>endo</i>	3.45	59.3	C-4a, C-10b, C-11	H-4a, H-11	H-6 α , H-12 <i>ekso</i>
8-OMe	3.80	55.04	C-7, C-9	H-7	H-7
11-OCOCH ₃	1.96	19.72			

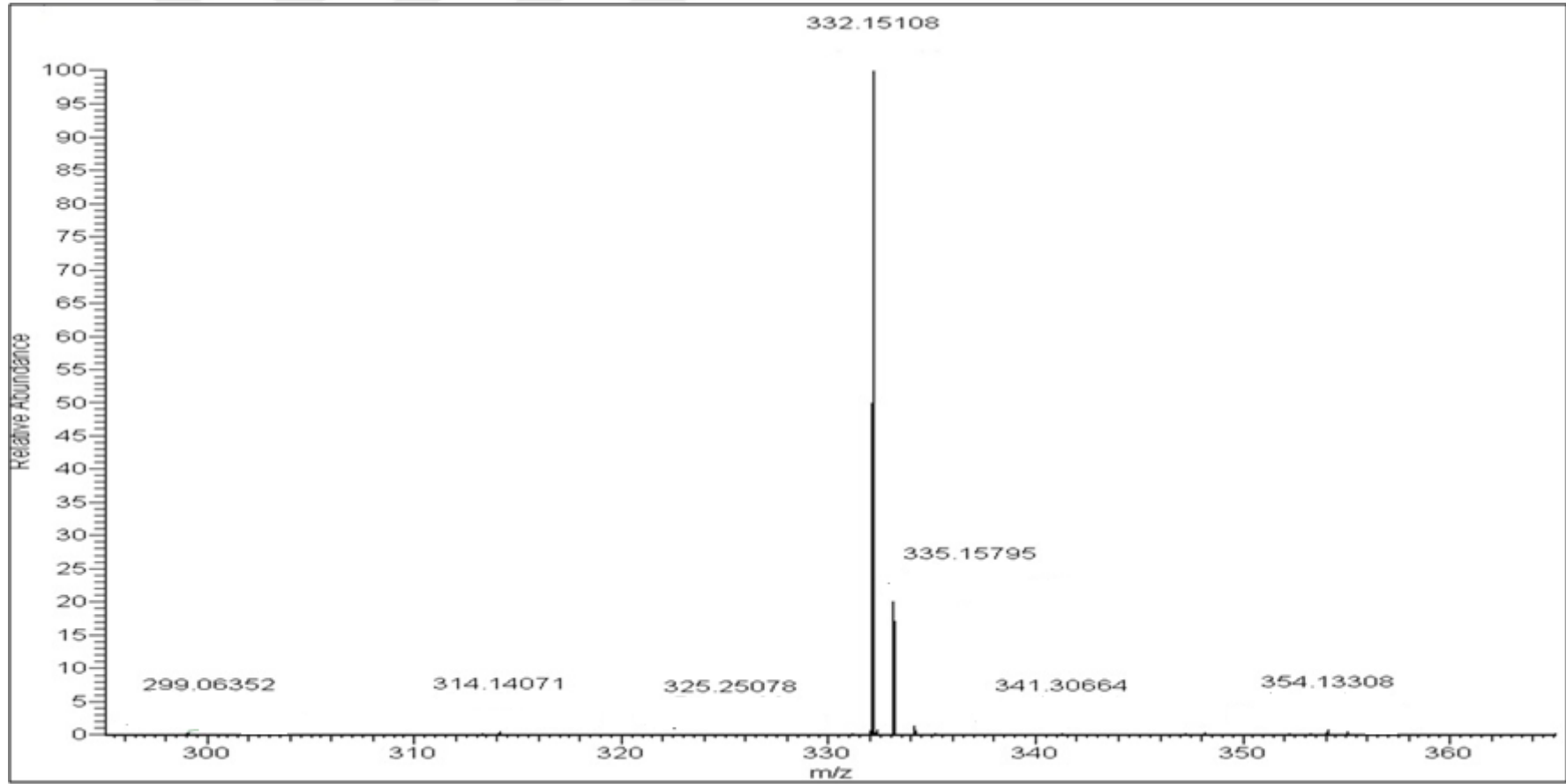
Tablo 34. GF-8 Kodlu Bileşiğin 1D ve 2D NMR Spektral Bulguları



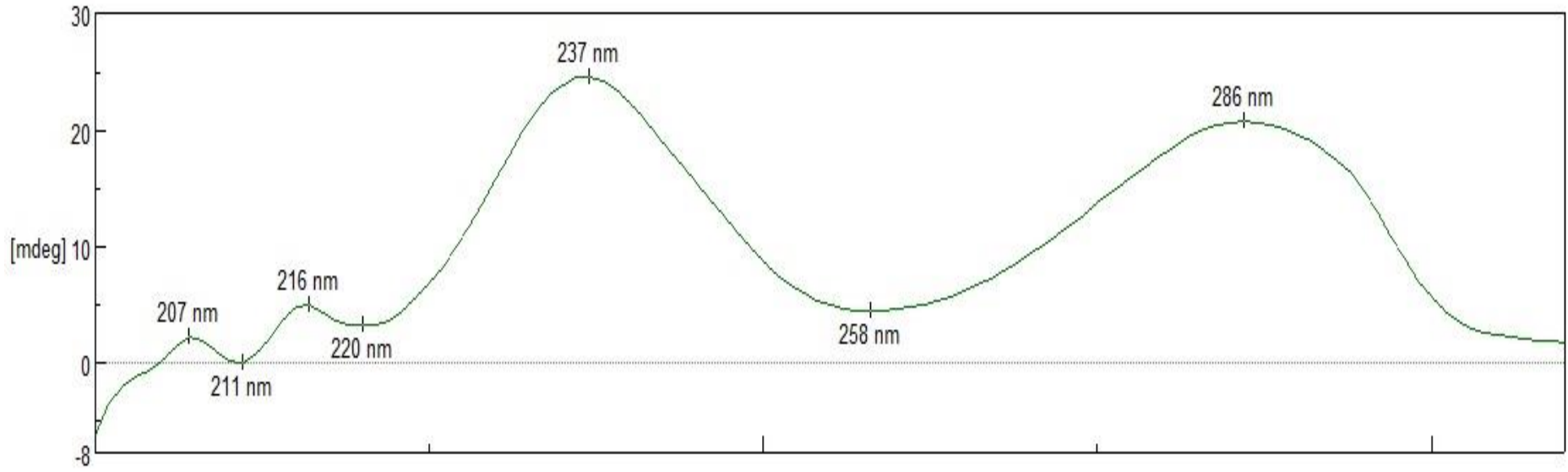
Spektrum 43. GF-8 Kodlu Bileşğin UV Spektrumu



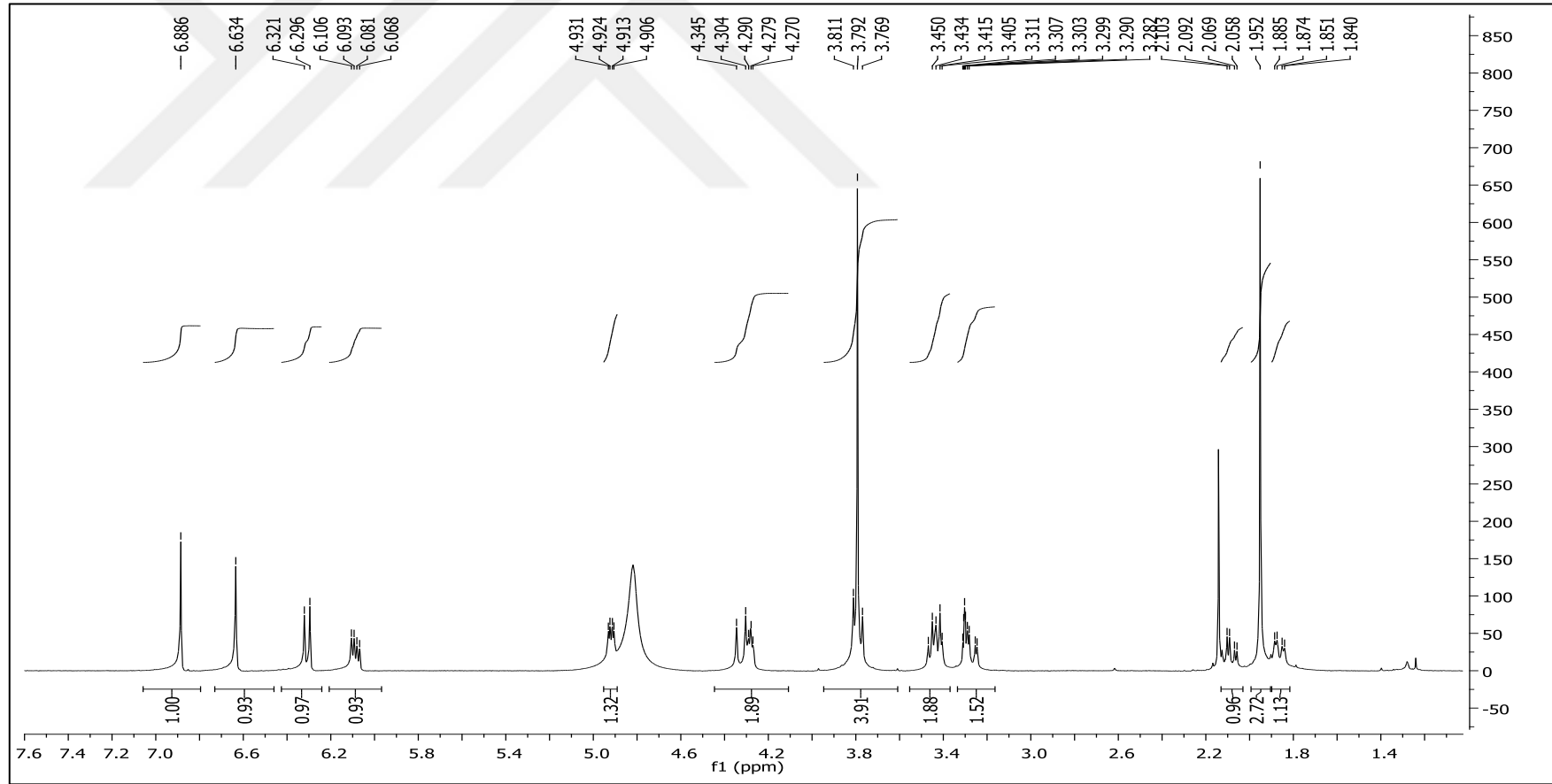
Spektrum 44. GF-8 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu



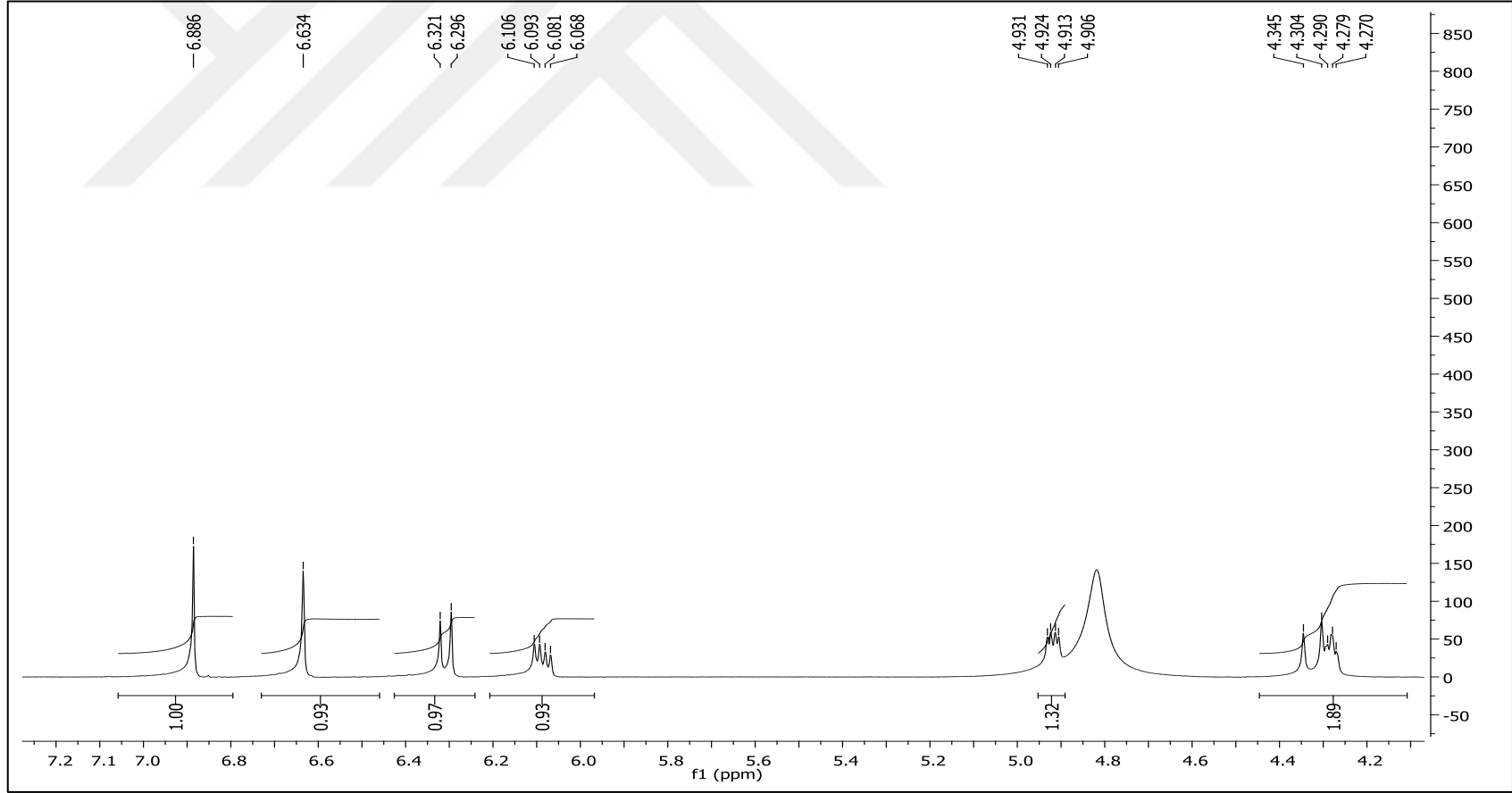
Spektrum 45. GF-8 Kodlu Bileşğin HR-ESI Kütle Spektrumu



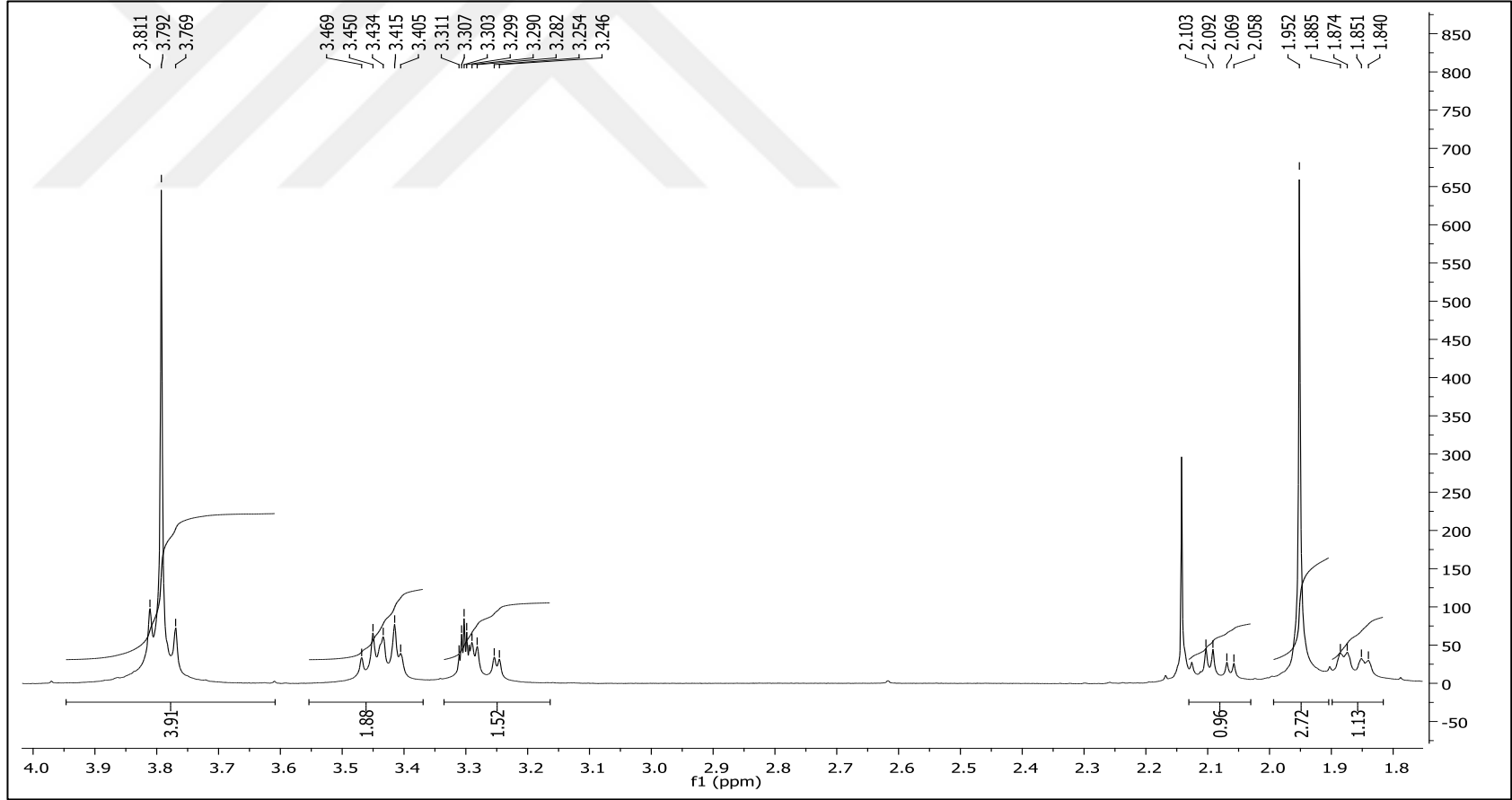
Spektrum 46. GF-8 Kodlu Bileşimin CD Spektrumu



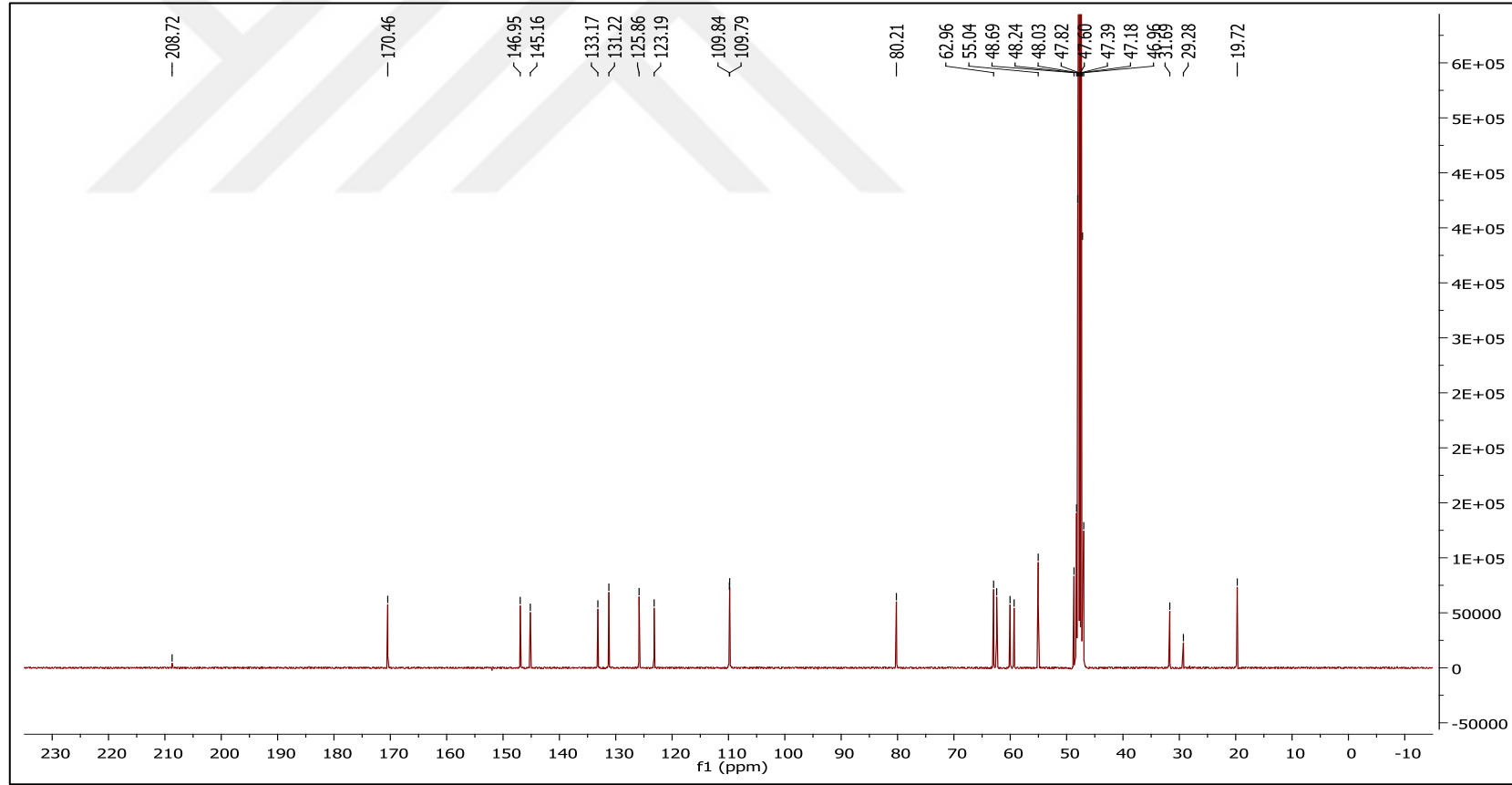
Spektrum 47. GF-8 Kodlu Bileşğin ^1H NMR Spektrumu



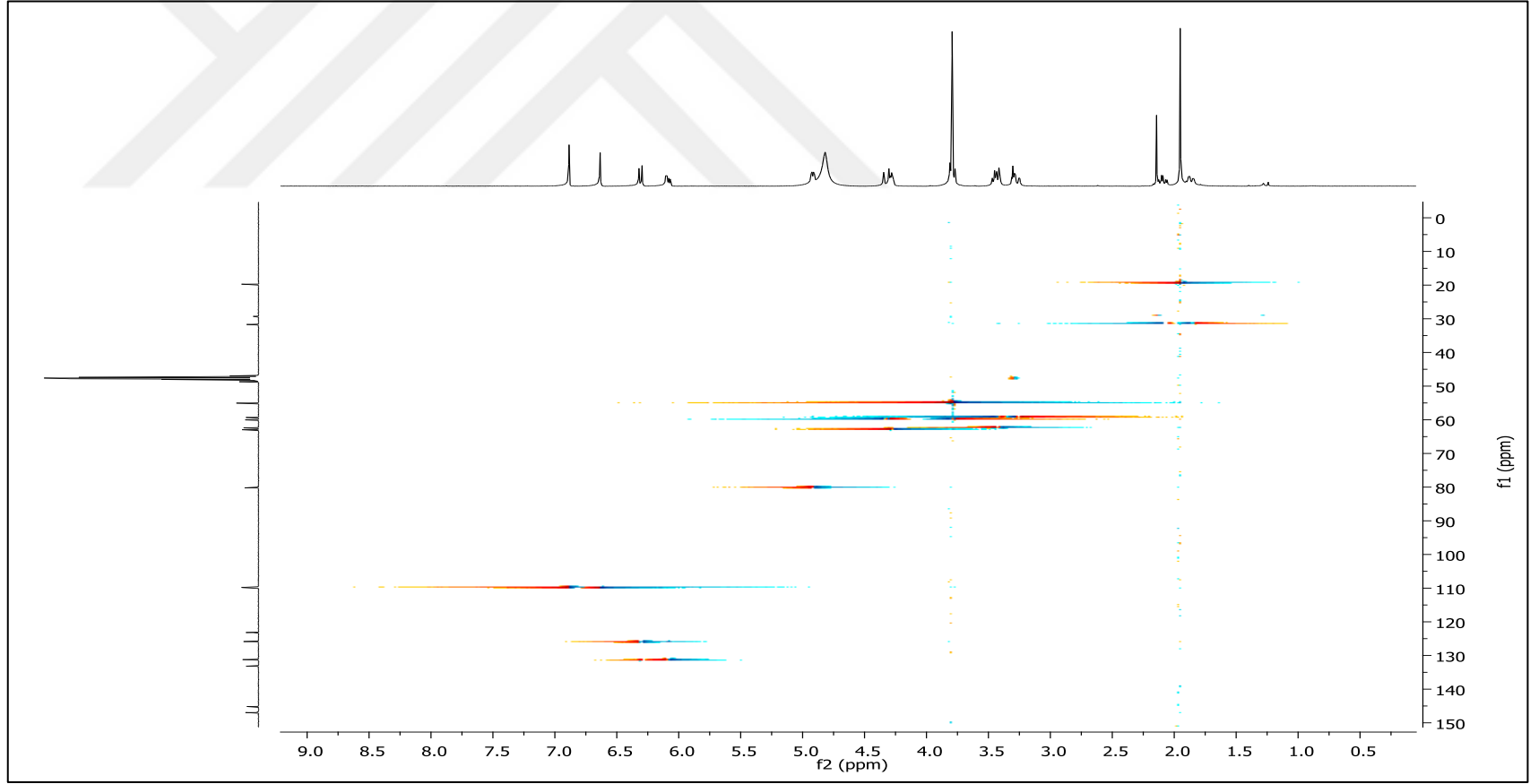
Spektrum 48. GF-8 Kodlu Bileşigin Genişletilmiş ^1H NMR Spektrumu



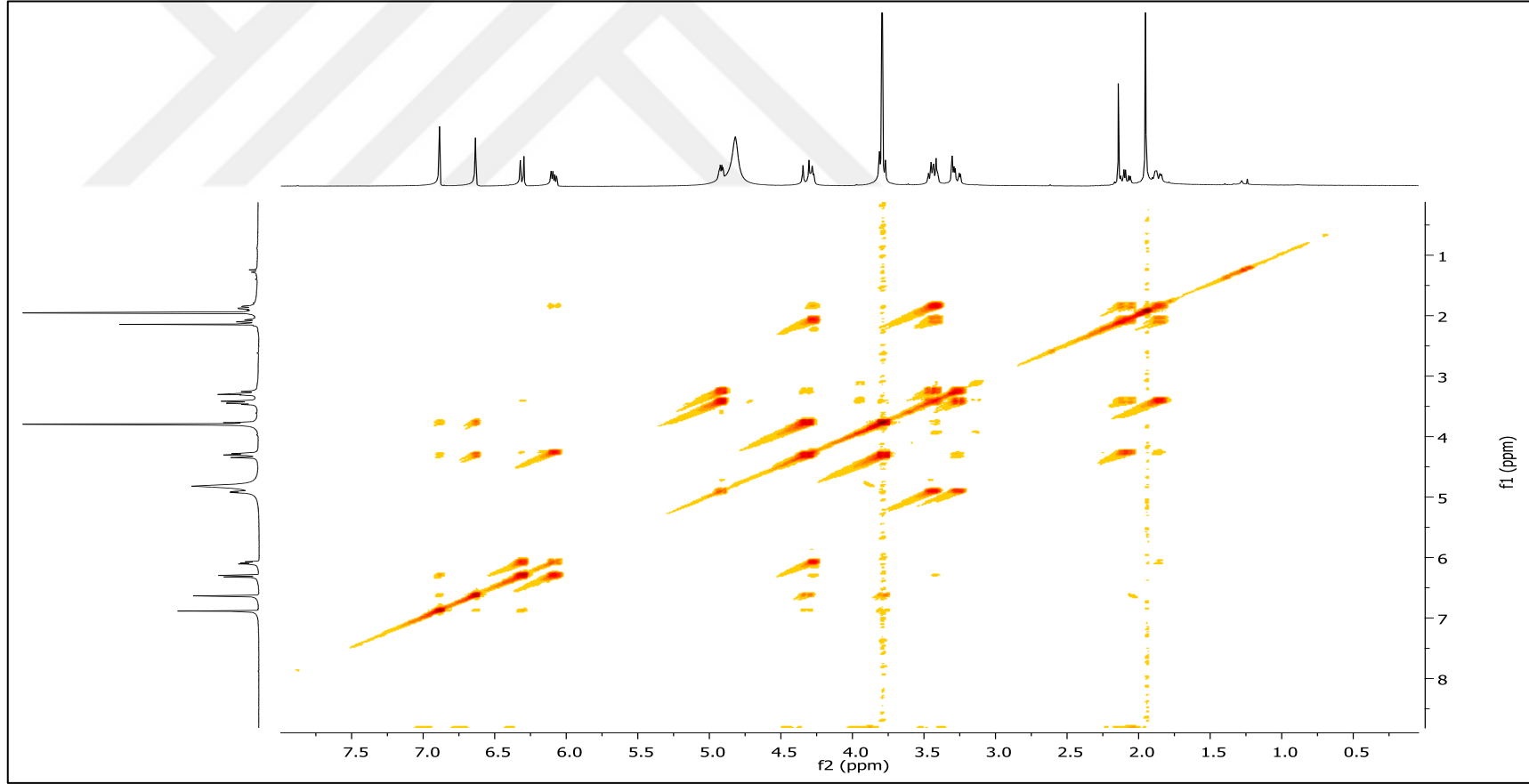
Spektrum 49. GF-8 Kodlu Bileşigin Genişletilmiş ^1H NMR Spektrumu



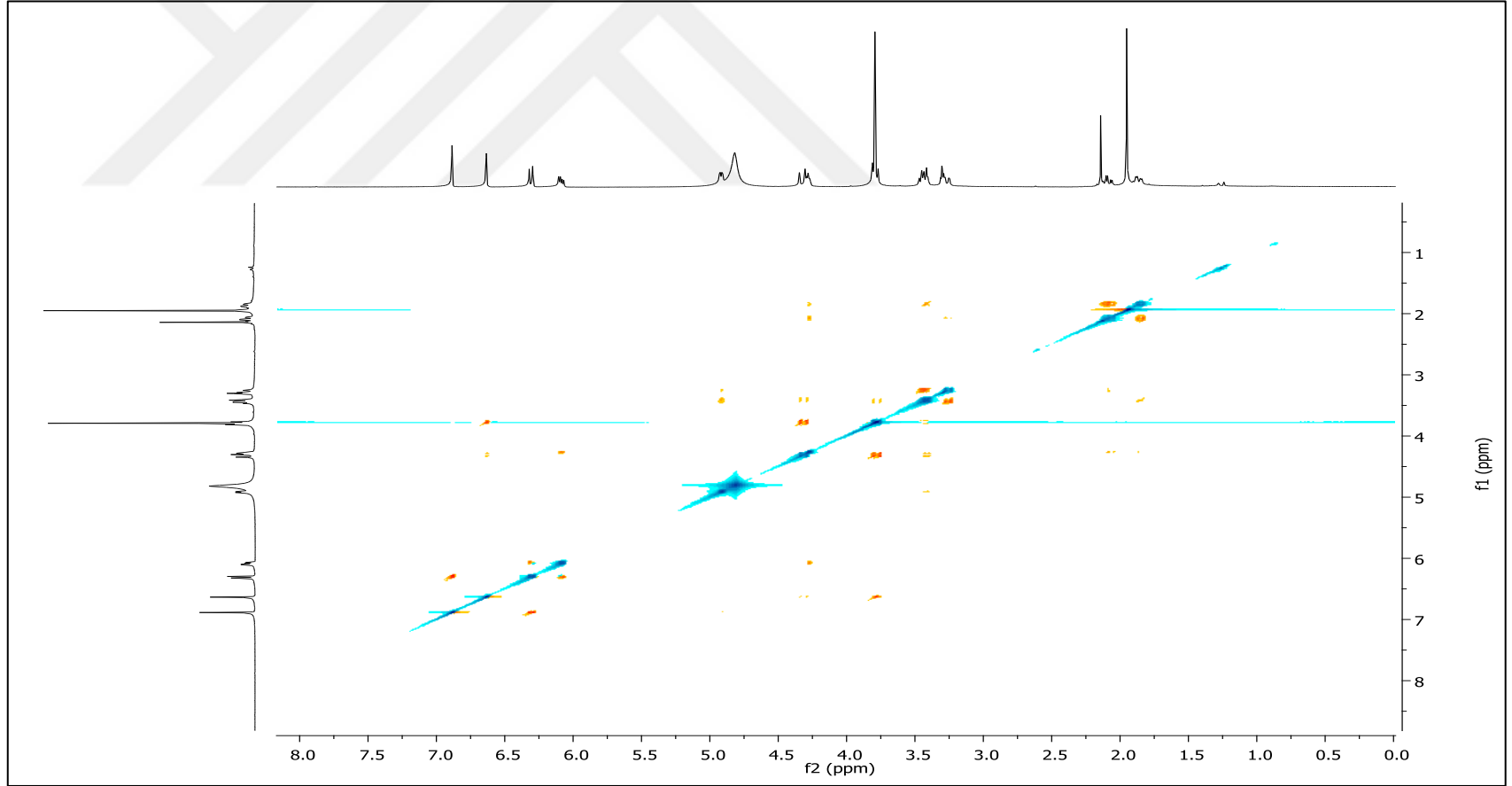
Spektrum 50. GF-8 Kodlu Bileşigin ^{13}C NMR Spektrumu



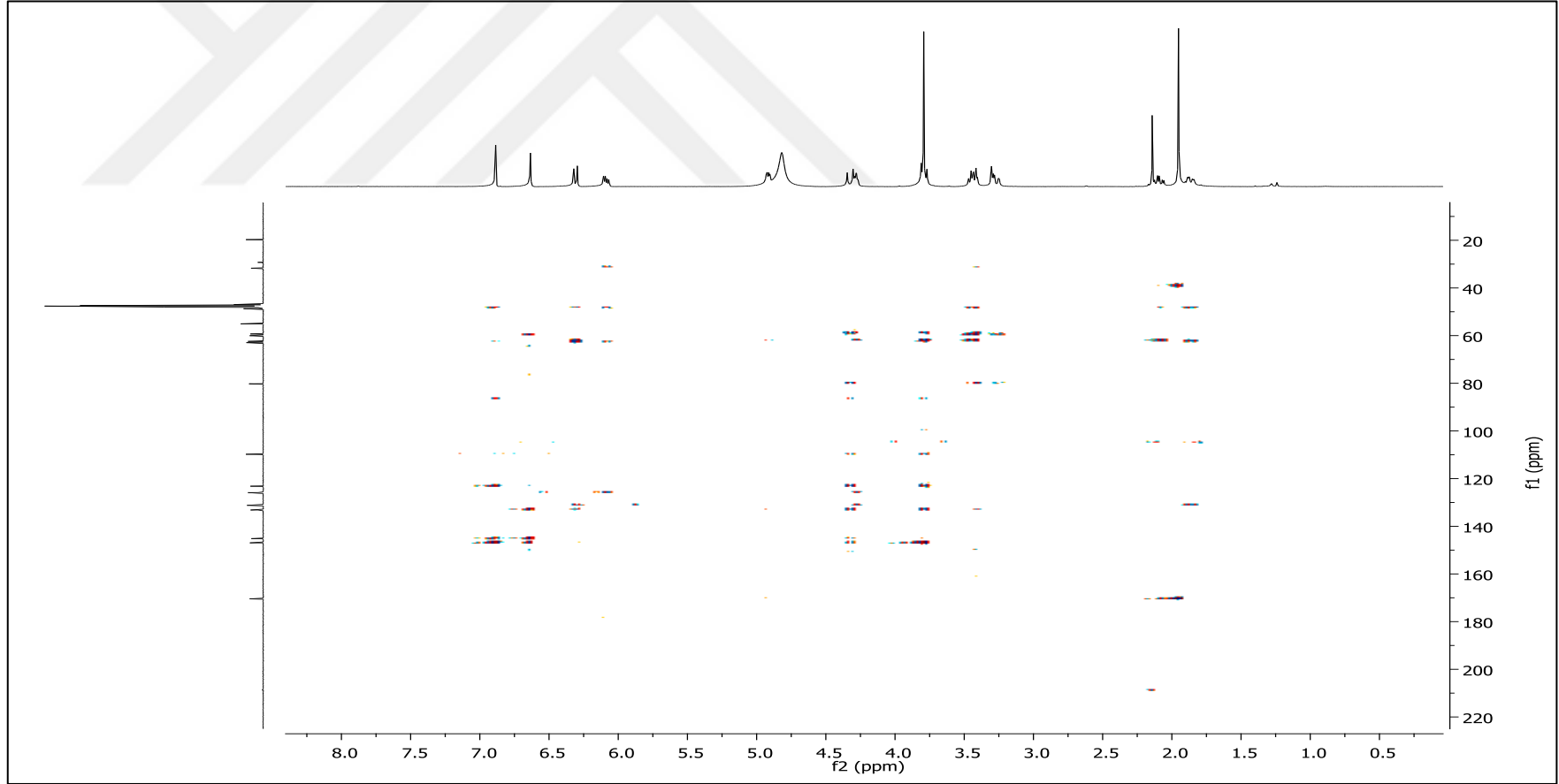
Spektrum 51. GF-8 Kodlu Bileşğin HSQC Spektrumu



Spektrum 52. GF-8 Kodlu Bileşğin ^1H , ^1H COSY Spektrumu



Spektrum 53. GF-8 Kodlu Bileşiğın NOESY Spektrumu



Spektrum 54. GF-8 Kodlu Bileşin HMBC Spektrumu

4.2.9. GF-9 Bileşığının Spektral Bulguları

ESI Kütle (Spektrum 55)

m/z: 166.20 [M+H]⁺

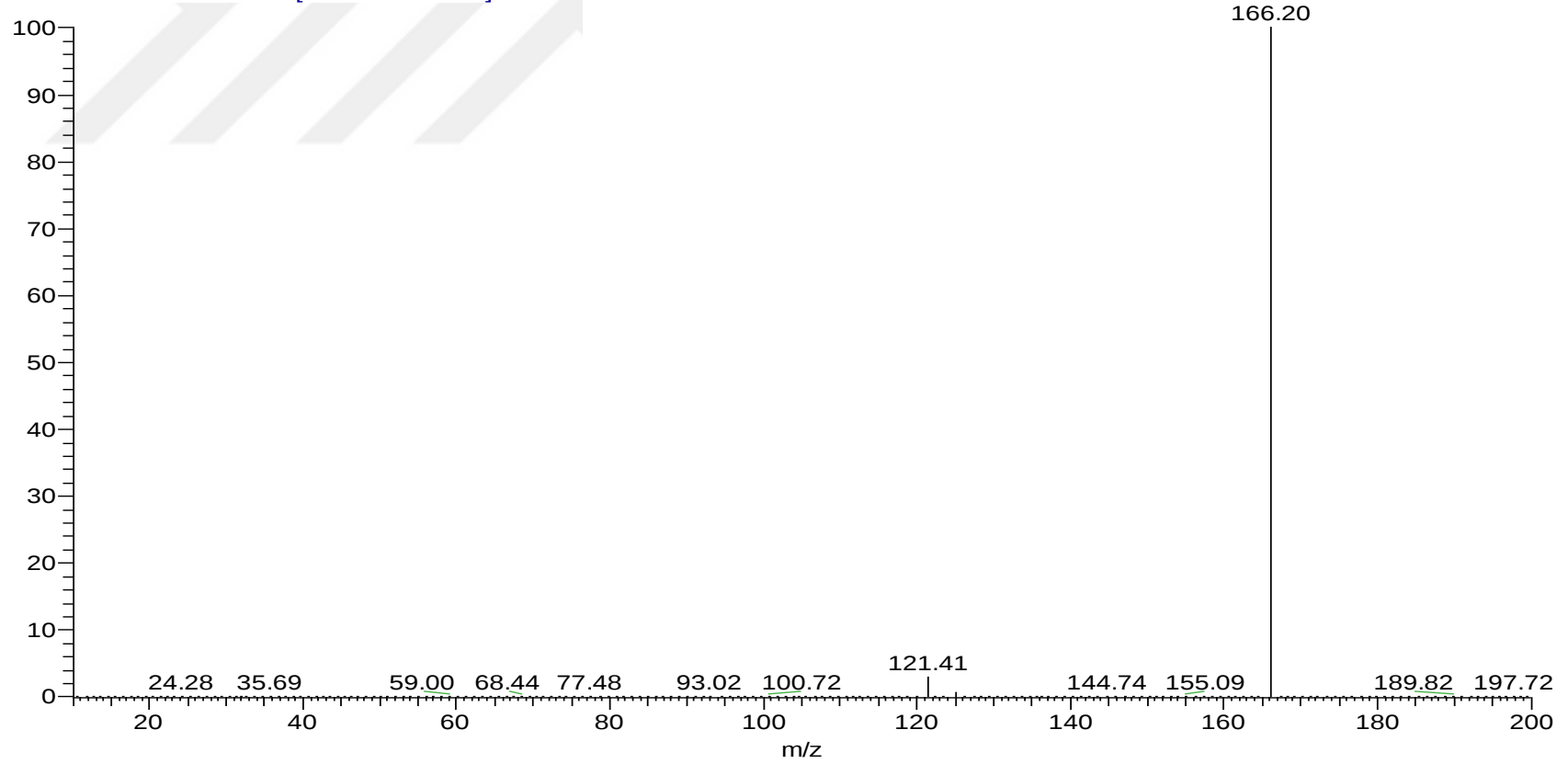
¹H NMR (Spektrum 56)

(400 MHz, CD₃CD) δ ppm 7 (2H, dd, *J* = 6.4, 1.6 Hz, H-2 ve H-6), 6.69 (2H, dd, *J* = 6.8, 2.4 Hz, H-3 ve H-5), 2.67 (2H, m, H-2'), 2.49 (2H, m, H-1'), 2.28 (6H, s, N(CH₃)₂) ppm.

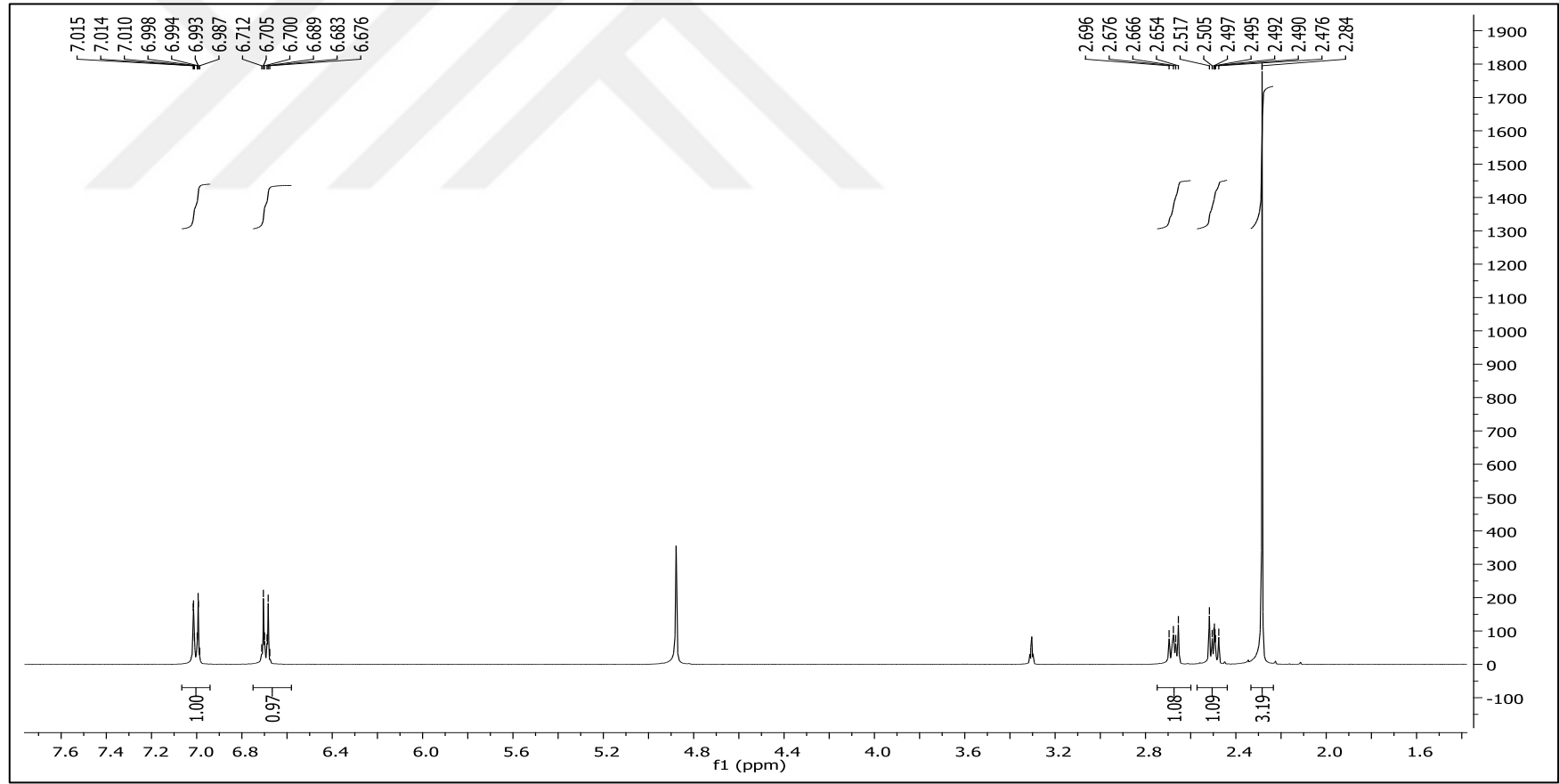
Genişletilmiş ¹H NMR (Spektrum 57, 58)



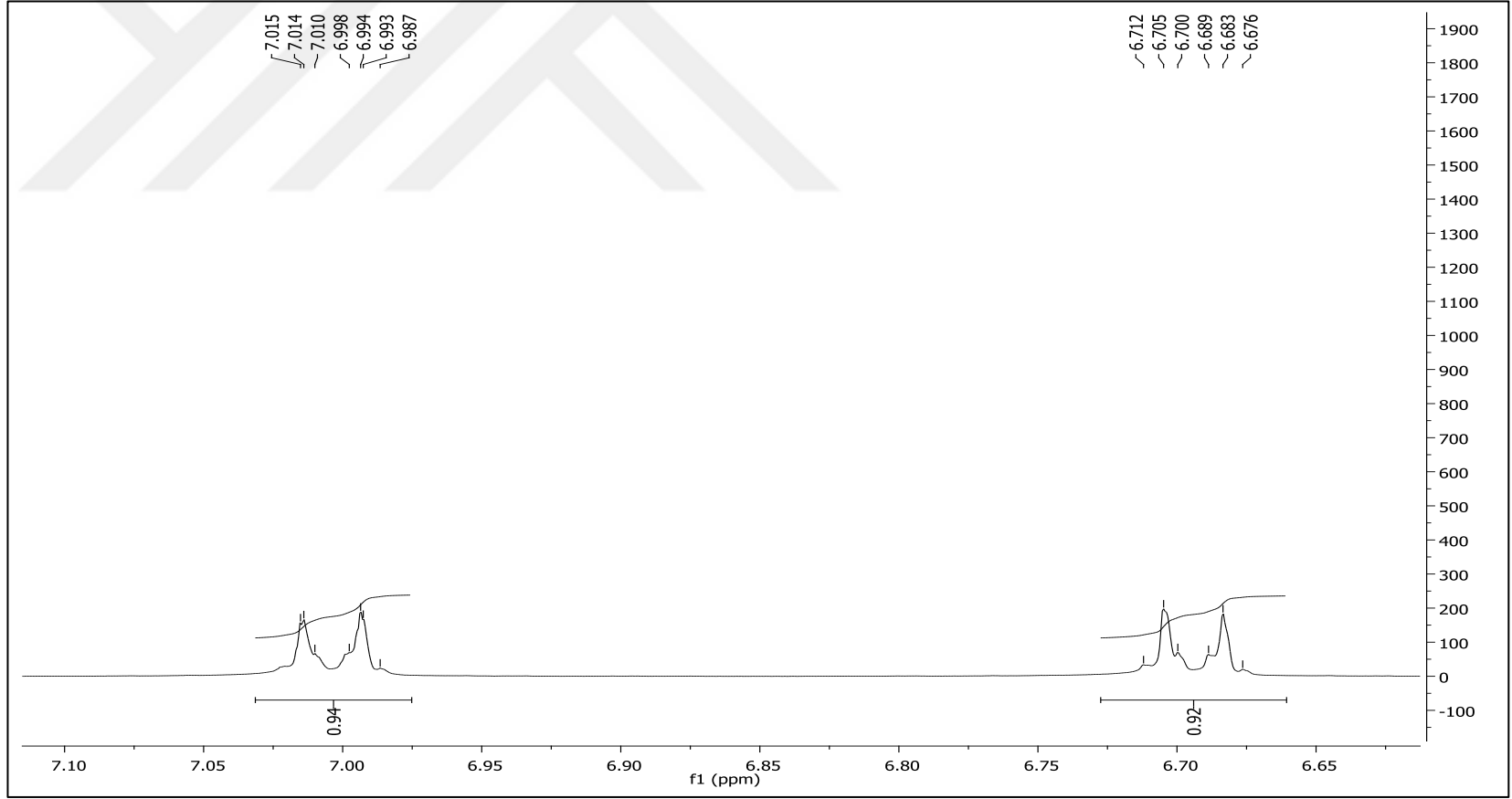
Hordenine_product #64 RT: 0.24 AV: 1 NL: 1.51E5
T: + c ESI Full ms2 166.000 [10.000-200.000]



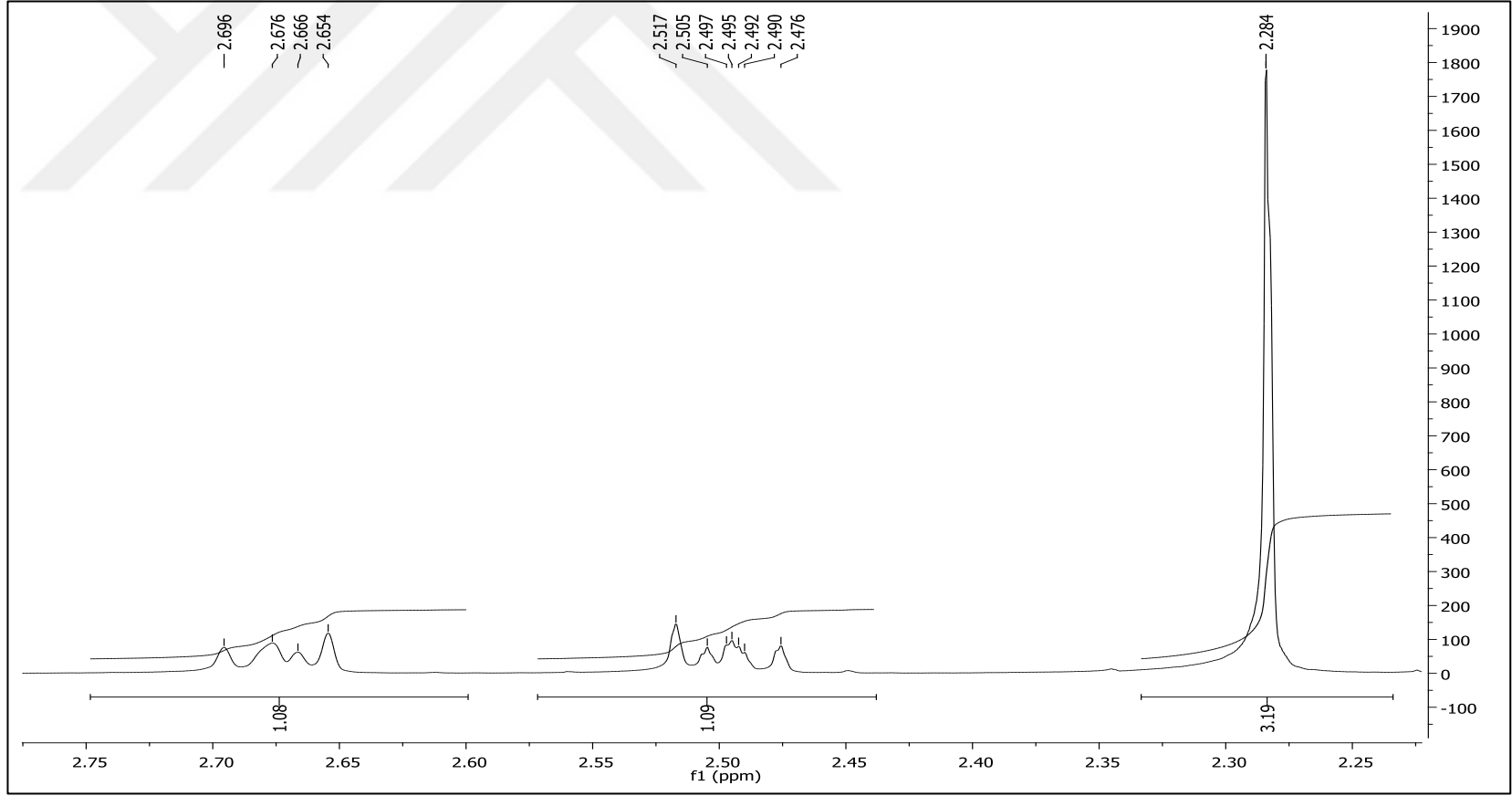
Spektrum 55. GF-9 Kodlu Bileşğin ESI Kütle Spektrumu



Spektrum 56. GF-9 Kodlu Bileşğin ^1H NMR Spektrumu



Spektrum 57. GF-9 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR Spektrumu



Spektrum 58. GF-9 Kodlu Bileşiğin Geniştirilmiş ^1H NMR Spektrumu

4.2.10. GF-10 Bileşığının Spektral Bulguları

$[\alpha]_D +24^\circ$ (MeOH; c 1)

ESI Kütle (Spektrum 59)

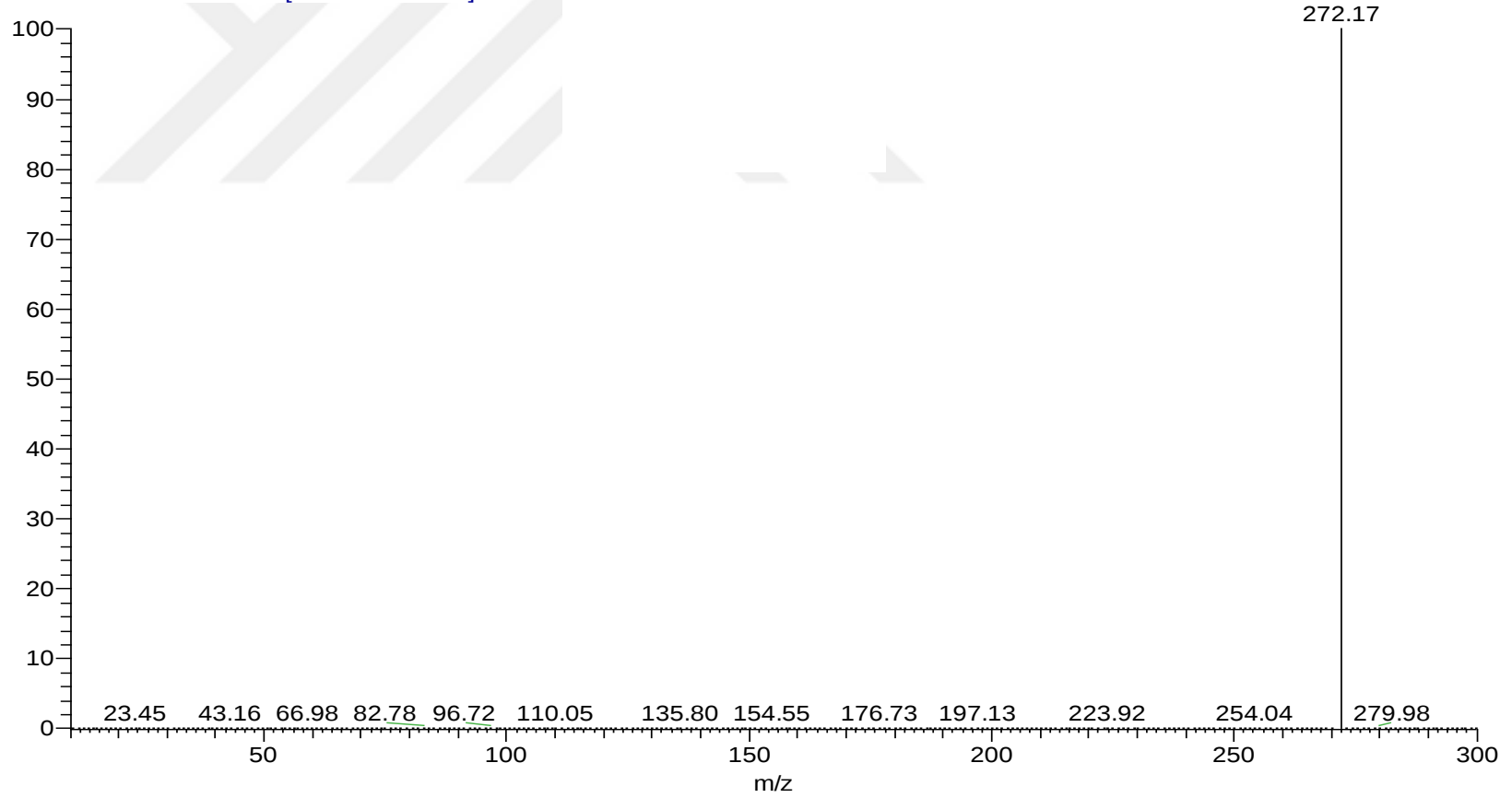
m/z: 272.17 $[M+H]^+$

1H NMR (Spektrum 60)

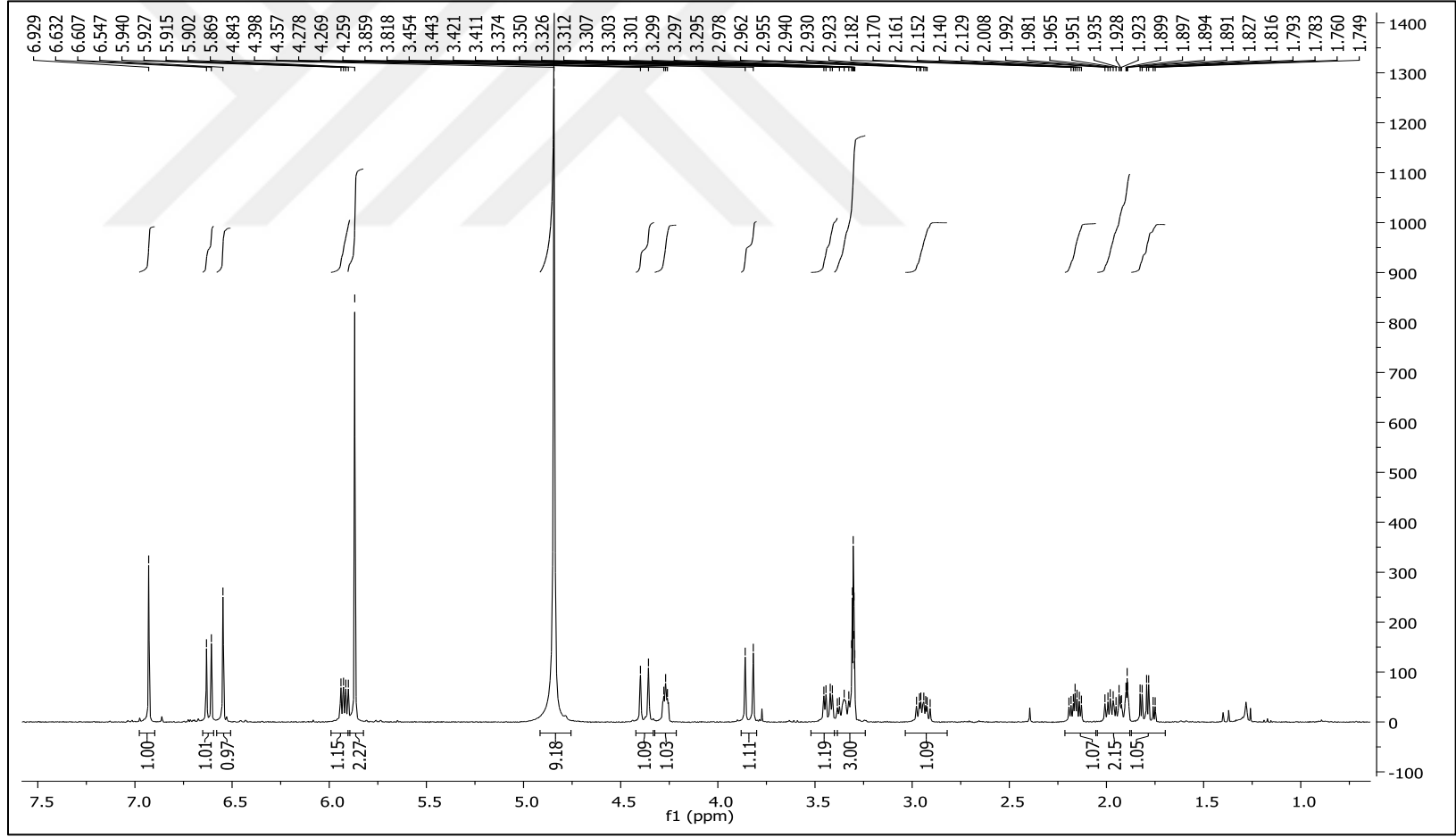
(400 MHz, CD_3OD) δ 6.93 (1H, s, H-10), 6.62 (1H, d, $J = 10$ Hz, H-1), 6.55 (1H, s, H-7), 5.92 (1H, ddd, $J = 10, 5.2, 0.8$ Hz, H-2), 5.87 (2H, 2d, OCH_2O), 4.38 (1H, d, $J = 16.4$ Hz, H-6a), 4.27 (1H, m, H-3), 3.84 (1H, d, $J = 16.4$ Hz, H-6b), 3.43 (1H, dd, $J = 13.4, 4$ Hz, H-12a), 3.34 (1H, m, H-4a), 2.94 (1H, ddd, $J = 13, 6.4$ Hz, H-12b), 2.15 (1H, m, H-11a), 1.98 (1H, m, H-4a), 1.91 (1H, m, H-11b), 1.80 (1H, ddd, $J = 13.4, 4$ Hz, H-4b) ppm.

Genişletilmiş 1H NMR (Spektrum 61, 62)

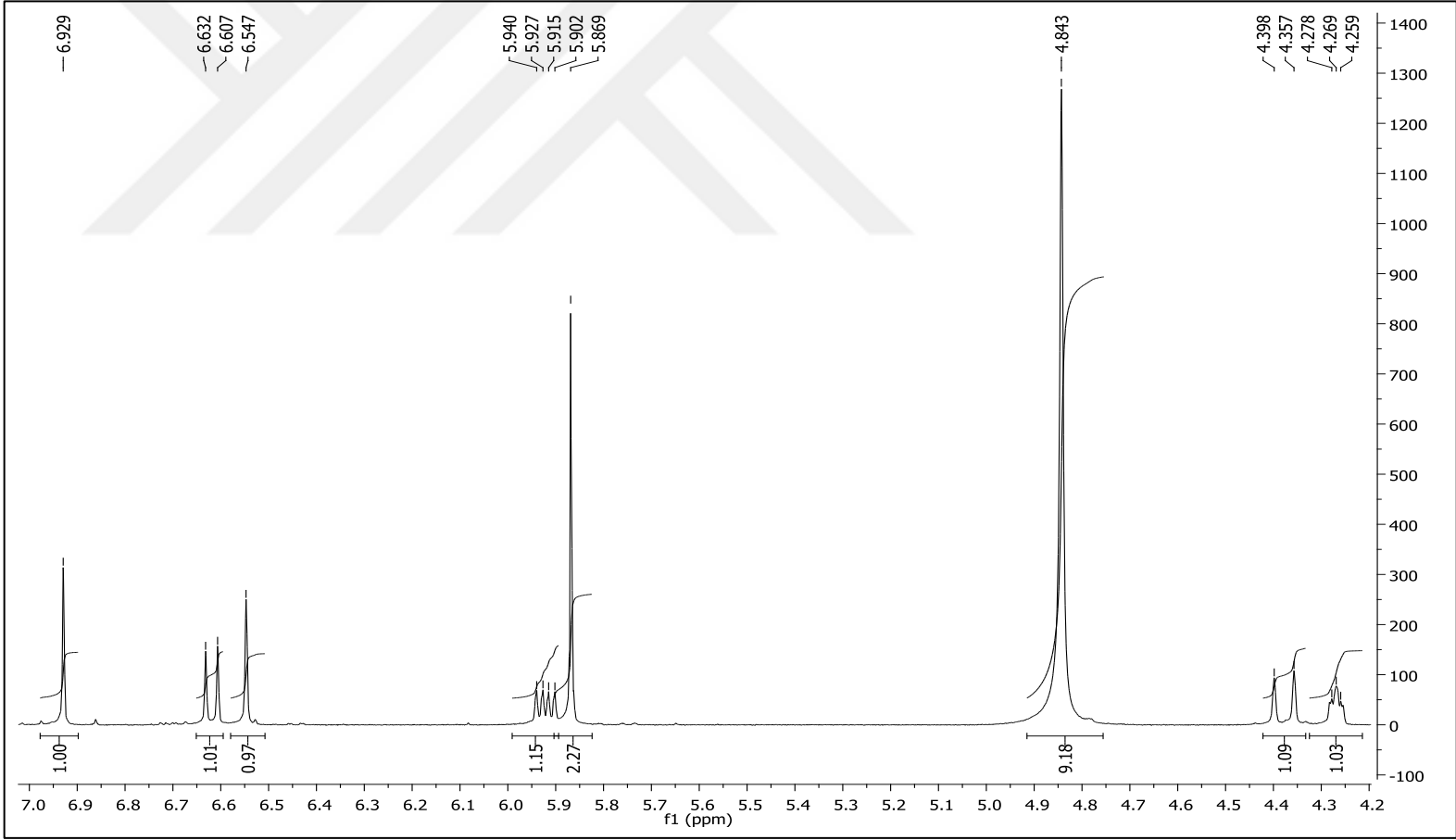
Vittatine_product #59 RT: 0.22 AV: 1 NL: 1.80E6
T: + c ESI Full ms2 272.000 [10.000-300.000]



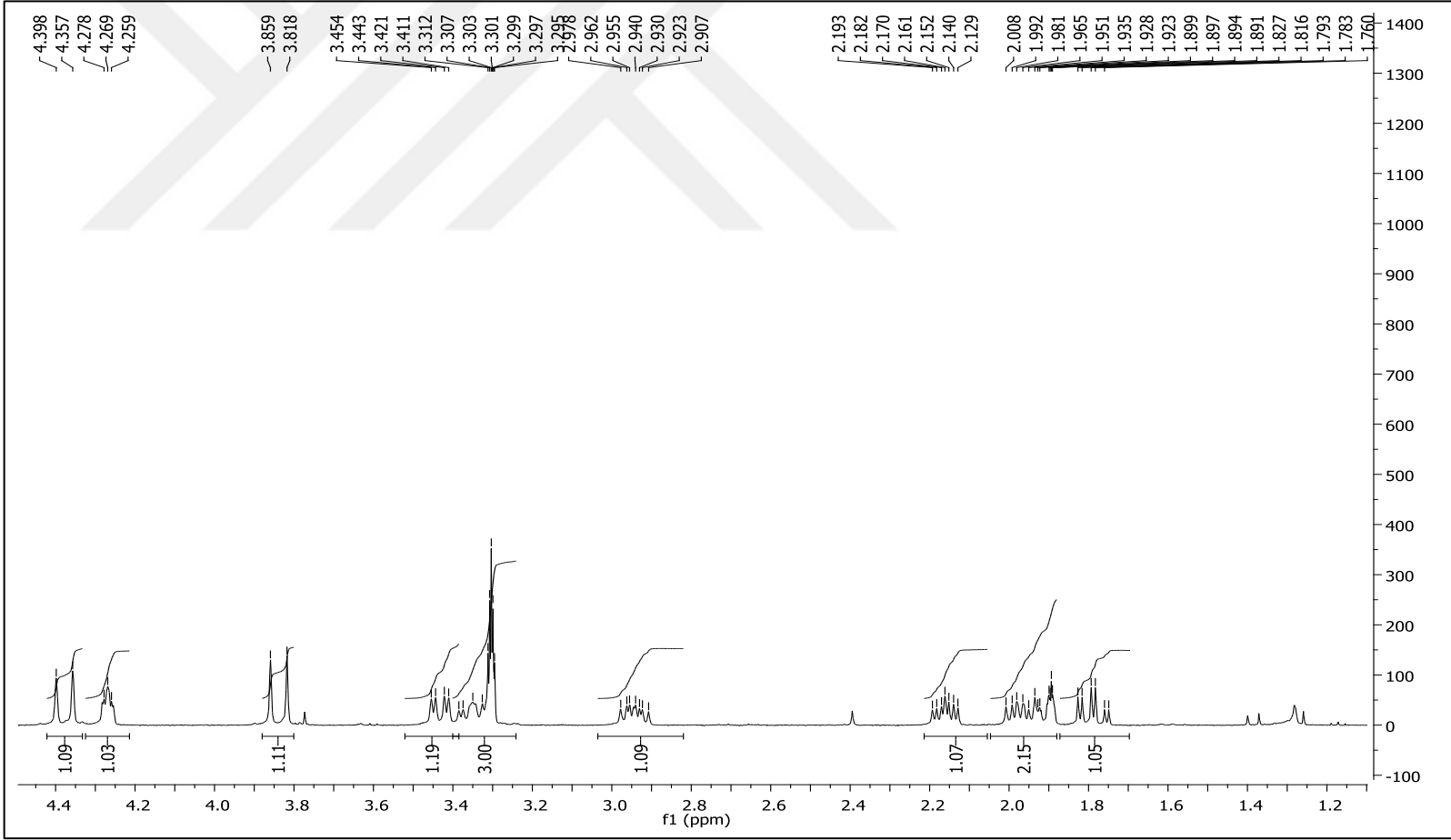
Spektrum 59. GF-10 Kodlu Bileşğin ESI Kütle Spektrumu



Spektrum 60. GF-10 Kodlu Bileşğin ^1H NMR Spektrumu



Spektrum 61. GF-10 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR Spektrumu



Spektrum 62. GF-10 Kodlu Bileşğin Genişletilmiş ^1H NMR Spektrumu

IV. BÖLÜM

TARTIŞMA

1.BOTANİK ARAŞTIRMALAR

Galanthus fosteri Baker bitkisinin tayininde yardımcı olabilecek anatomik özelliklerin saptanması amacıyla, Amasya ili, Ziyaret beldesi, Adatepe mevkisinden 28.03.2012 tarihinde çiçeği halde iken, 01.04.2013 tarihinde ise meyveli halde iken toplanarak alkol materyali hazırlanmıştır. Bu materyalden yararlanılarak kök, çiçek durumu sapı, yaprak, meyve, ovaryum, tohum ve çiçeğe ait anatomik karakterler belirlenmiştir. Ayrıca ileride Herba ve Bulbus Galanthi droglarına ait bir monografinin hazırlanmasına yardımcı olmak amacıyla, bu droglara ait toz drog örnekleri de anatomik olarak incelenmiştir.

Yaprak üzerinde yaptığımız anatomik incelemeler sonucunda, yaprağın monofasiyel olup epidermisi ince kutikula ile örtülü olduğu görülmüştür. Üst epidermisin dorsal çeperi kalın, ventral çeperi ince, lateral çeperi ise ventral çepere göre daha incedir. Farklı kısımlarından aldığımız kesitlerde dorsal çeperin, uç kısmından, dip kısmına doğru giderek incelendiği görülmüştür. Anomositik tipteki stomaların ekseni yaprak boyuna paralel olup stomanın kutuplarında, stoma çeperlerinin biraz daha kalınlaşmış olduğu görülmektedir. Alt epidermisteki stomaların sayısı üst epidermise göre daha fazla olup, her iki epidermiste de genellikle mezofitik tip stomalar bulunmaktadır. Üst epidermisin iç kısmında birinci sıradaki palizatik mezofil hücreleri hafif yana doğru geniş olup bazen yuvarlak şekilli hücrelerden oluşmaktadır. Bu sıranın iç kısmındakilerde hücre arası boşluklar belirgin olup, yuvarlak ve ince çeperli hücrelerden oluşmaktadır. İki iletim demeti arasında yer alan bazı hücreler parçalanarak, yanlara doğru geniş ve dikdörtgenimsi hava kanalını oluşturmaktadır. *Galanthus* genusunun sistematik olarak değerlendirilmesinde hava kanallarının kritik bir öneme sahip olmadığı literatürde belirtilmiş olup, bitkiden hazırlanılan enine kesitler incelendiğinde, yaprağın daha geniş olarak bulunduğu orta kısımlarda belirgin ve geniş iken uç ve dip kısımlarda daralıp, yer yer kaybolduğu tespit edilmiştir. Bu bulguların literatür ile uyum gösterdiği saptanmıştır (81, 85, 398).

Köke ait enine kesit incelendiğinde, kök epidermisi ve bunun altındaki kabuk parankiması hücrelerinin çeperleri süberinleşerek ekzodermisi oluşturduğu gözlenmiştir. Ekzodermisin iç kısımlarındaki korteks parankima hücreleri, ince çeperli, hücre arası boşluklar belirgin, büyük poligonal hücrelerden oluşmaktadır. Endodermis hücreleri ince çeperli ve bu hücrelerdeki kaspari şeridi belirgin olarak görülmektedir. Bu durum literatür ile uyumluluk göstermektedir (398).

Anatomik özelliklerini incelemek amacıyla çiçek durumu sapınının dip, orta ve uç kısımlardan enine ve yüzeysel kesitler alınmıştır. Enine kesitlere bakıldığında, skapusun tam yuvarlak değil, hafif ovalimsi olduğu görülmektedir. Epidermis hücrelerinin kutikulası skapus boyunca çizgili ve incedir. Yapraktaki gibi dorsal çeper kalın, ventral çeper ince, lateral çeper ventralden daha ince, stomalar genellikle higrofitik veya çok hafif mezofitik özelliktedir. Alınan yüzeysel kesitler yaprakla karşılaştırıldığında daha az oranda stoma içerdiği belirlenmiştir. Orta ve dip kısımlarından alınan enine kesitlerde, uç kısımlara oranla intersellüler boşlukların daha fazla olduğu saptanmıştır. Dip kısımlardan alınan kesitlerde ise skapusun her iki yanında belirginleşen çıkıntının içinde 2-4 adet hücrenin çeperleri kalınlaşarak kollenkimayı oluşturduğu gözlenmiştir. Bu bulguların literatür ile uyumluluk göstermektedir (398).

Meyva enine kesitlerinde ekzokarp hücrelerinin dış yüzeyinde ince bir kutikula bulunmaktadır. Ekzokarp hücrelerinin altındaki sıkışık halde bulunan, bol kloroplast içeren mezokarp hücre çeperlerinin kalın oluşu ancak endokarpa doğru incelendiği gözlenmiştir. Ekzokarptan endokarpa doğru; ekzokarpın iç kısmındaki mezokarp hücreleri önce yanlara doğru uzamış, sonra yuvarlak, daha sonra ovalimsi şekil almakta ve hücre arası boşluklar artmaktadır. Bu boşlukların artmasına rağmen yapraktaki gibi belirgin hava kanallarına rastlanmamıştır. Ekzokarp yüzeysel olarak incelendiğinde eksokarp hücreleri beşgen veya altıgenimsi ve hücre çeperleri kalındır. Stoma çevresinde stoma eksenine dikey kutikula çizgileri görülmektedir. Stoma komşu hücreleri dört veya beş olup anomasitik tip stomadır (398).

İncelediğimiz bir kaynakta çiçek anatomisinin sistematik bir değer taşımadığı bildirilmiştir (3).

2. KALİTE KONTROL VE MİKTAR TAYİNİ ARAŞTIRMALARI

Tezimizin konusunu oluşturan *Galanthus fosteri* bitkisine ait Herba ve Bulbus Galanthi drogları, Amasya ili, Ziyaret beldesi, Adatepe mevkisinden çiçekli ve meyveli dönem olmak üzere farklı zamanlarda toplanıp, hazırlanmıştır.

Kalite kontrol deneyleri için, Avrupa Farmakopesi (116) ve Avrupa Farmakopesi Adaptasyonu Türk Farmakopesi'nde yer alan bazı ana yöntemler esas alınmıştır (117). Bu amaçla farmakopede yer alan, gravimetrik esaslı kurutmada kayıp, total kül, hidroklorik asitte çözünmeyen kül ve sülfat külü miktar tayinlerine ait temel yöntemler uygulanmıştır.

Drog örneklerinde total alkaloit miktarı, Avrupa Farmakopesi'nde (116) farklı drog monografilerinde yer alan yöntemlerden yararlanılarak geliştirilmiş olup, titrimetrik esaslı bir yöntem ile tayin edilmiştir.

Ayrıca fizyolojik ve farmakolojik etkileri nedeniyle, droğun önemli alkaloitlerinden olan galantamin ve likorin'in miktar tayini de yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemi ile yapılmıştır.

2.1 Kurutmada Kayıp, Total Kül, Hidroklorik Asitte Çözünmeyen Kül ve Sülfat Külü Miktar Tayini

Galanthus fosteri bitkisinden hazırlanan droglar üzerinde gerçekleştirilen kurutmada kayıp miktar tayini denemelerinde, ortalama değer olarak bitkinin çiçekli dönemde toplanmış toprak üstü kısımlarından hazırlanmış ÇTÜ kodlu örnek için % 7.8683, toprak altı kısımlarından hazırlanmış ÇTA kodlu örnek için % 8.1740, meyveli dönemde toplanmış toprak üstü kısımlarından hazırlanmış MTÜ kodlu örnek için % 8.1947, toprak altı kısımlarından hazırlanmış MTA kodlu örnek için % 7.6899 kurutmada kayıp tespit edilmiştir.

Total kül miktar tayini deneyleri sonucunda ÇTÜ kodlu örnek için % 9.3119, ÇTA kodlu örnek için % 15.7713, MTÜ kodlu örnek için % 10.4589, MTA kodlu örnek için % 14.1906 total kül oranı tespit edilmiştir.

Sülfat külü miktar tayini deneylerinin total kül miktar tayinine göre daha sabit sonuçlar verebileceği düşüncesiyle yaptığımız çalışmalarda sonucunda, ÇTÜ kodlu

örnek için % 11.8295, ÇTA kodlu örnek için % 17.0880, MTÜ kodlu örnek için % 12.5040, MTA kodlu örnek için % 17.1504 oranında sülfat külü saptanmıştır.

Hidroklorik asitte çözünmeyen kül miktar tayini deneyleri sonucunda ÇTÜ kodlu örneğin % 2.3272, ÇTA kodlu örneğin % 4.1898, MTÜ kodlu örneğin % 2.8641, MTA kodlu örneğin ise % 5.0743 hidroklorik asitte çözünmeyen kül oranına sahip olduğu bulunmuştur.

Elde edilen nem, total kül, sülfat külü, hidroklorik asitte çözünmeyen kül miktar tayini sonuçları daha önce diğer *Galanthus* türleri üzerinde yapılmış benzer çalışmaların sonuçları ile karşılaştırmalı olarak incelenmiş olup bir tablo halinde verilmiştir (Tablo 35). Elde edilen değerler literatürle uyum içerisindedir (12, 87-90, 213, 399).

Tür İsmi	Bitkinin Çalışılan Kısım	Nem Miktar Tayini (%)	Total Kül Miktar Tayini (%)	Sülfat Külü Miktar Tayini (%)	Hidroklorik Asitte Çözünmeyen Kül Miktar Tayini (%)
<i>G. elwesii</i> Hook. (Akdağ, İzmir) (399)	Çiçekli T. Altı	9.3650	13.879	18.7900	-
	Çiçekli T. Üstü	9.1030	8.9567	12.0700	
	Meyveli T. Altı	8.9460	4.6597	6.6900	
	Meyveli T. Üstü	7.6650	9.5097	13.9800	
<i>G. elwesii</i> Hook. (Yamanlar Dağı, İzmir) (90)	Çiçekli T. Altı	6.8137	15.4747	18.3037	-
	Çiçekli T. Üstü	8.0705	7.8083	10.4837	
	Meyveli T. Altı	8.1712	14.3170	17.4070	
	Meyveli T. Üstü	7.3590	10.5776	15.8523	

Tablo 35. Bazı *Galanthus* Türleri Üzerinde Daha Önce Yapılmış Olan Kalite Kontrol Çalışmalarına ait Karşılaştırmalı Sonuçlar

Tür İsmi	Bitkinin Çalışılan Kısmı	Nem Miktar Tayini (%)	Total Kül Miktar Tayini (%)	Sülfat Külü Miktar Tayini (%)	Hidroklorik Asitte Çözünmeyen Kül Miktar Tayini (%)
<i>G. gracilis</i> Çelak (12)	Çiçekli T. Altı Çiçekli T. Üstü Meyveli T. Altı Meyveli T. Üstü	6.2378 7.5716 6.5500 7.0395	12.6875 9.1022 16.1456 17.7910	15.2755 12.4192 18.0327 19.4993	-
<i>G. trojanus</i> A.P. Davis and N. Özhatay (89)	Çiçekli T. Altı Çiçekli T. Üstü Meyveli T. Altı Meyveli T. Üstü	9.4380 8.8130 9.5930 9.6670	16.1510 8.8550 9.9430 8.6030	20.3020 11.6450 12.5980 12.2000	-
<i>G. plicatus</i> subsp. <i>byzantinus</i> (Baker) D. A. Webb (213)	Çiçekli T. Altı Çiçekli T. Üstü Meyveli T. Altı Meyveli T. Üstü	7.9186 8.3750 9.3902 9.1367	14.0214 13.6235 9.1173 10.2371	19.8838 17.6097 11.2920 13.3700	-
<i>G. rizehensis</i> Stern (88)	Çiçekli T. Altı Çiçekli T. Üstü Meyveli T. Altı Meyveli T. Üstü	6.1929 7.3121 7.5064 7.3757	16.0719 9.1591 11.5192 9.3724	19.4108 12.9621 14.6252 13.6986	7.2429 3.1275 5.6034 3.9014
<i>G. woronowii</i> Losinsk Derepazarı, Trabzon 2009 (87)	Çiçekli T. Altı Çiçekli T. Üstü	9.2633 9.3433	8.8566 14.46	13.5666 17.93	3.5647 1.1020
<i>G. woronowii</i> Losinsk Derepazarı, Trabzon 2006 (87)	Çiçekli T. altı Çiçekli T. üstü	7.9013 7.9155	10.1666 13.92	12.7333 17.4433	5.1290 4.5810
<i>G. woronowii</i> Losinsk Çaykara, Trabzon 2006 (87)	Çiçekli T. altı Çiçekli T. üstü	8.4716 8.4633	6.95 14.9466	9.7433 11.19	1.7220 2.3033
<i>G. fosteri</i> Baker*	Çiçekli T. Altı Çiçekli T. Üstü Meyveli T. Altı Meyveli T. Üstü	7.8683 8.1740 8.1947 7.6899	9.3119 15.7713 10.4589 14.1906	11.8295 17.0880 12.5040 17.1504	2.3272 4.1898 2.8641 5.0743

* Bu araştırmada elde edilen sonuçlar

Tablo 35'in devamı. Bazı *Galanthus* Türleri Üzerinde Daha Önce Yapılmış Olan Kalite Kontrol Çalışmalarına Ait Karşılaştırmalı Sonuçlar

2.1 Total Alkaloit Miktar Tayini

Total alkaloit miktar tayini için Avrupa Farmakopesinden yararlanılmıştır (116). Bu yöntem daha önce Anabilim Dalımızda farklı *Galanthus* türleri üzerinde yapılan çalışmalarda kullanılmıştır (12, 87-90, 127, 160, 209, 213, 399).

Total alkaloit içeriği, kuru drog ve likorinin molekül ağırlığı üzerinden hesaplanmıştır. ÇTÜ kodlu örnek için % 0.0429, ÇTA kodlu örnek için % 0.1510, MTÜ kodlu örnek için % 0.0672, MTA kodlu örnek için %0.20484, oranlarında total alkaloit miktarı belirlenmiştir. İncelenen örnekler arasında en yüksek total alkaloit miktarına sahip olanın, MTA kodlu örnek olduğu saptanmıştır.

2.2. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisiyle (HPLC) Likorin Miktar Tayini ve Galantamin Teşhisi

Göstermiş oldukları fizyolojik ve farmakolojik etkileri nedeniyle Amaryllidaceae alkaloitleri arasında önemli bir yere sahip olan likorin ve galantaminin bitkideki miktarlarının tayin edilmesi kalite kontrol çalışmaları açısından önem taşımaktadır. Söz konusu iki alkaloidin miktar tayinleri yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemiyle araştırılmıştır.

Yapılan çalışmada kuru drog üzerinden hesaplanmak suretiyle ÇTA kodlu örnekte % 0.00455 oranında likorin, MTÜ kodlu örnekte %0.00882 oranında galantamin miktarı tayin edilmiştir. ÇTA kodlu örnekte galantamin, MTÜ kodlu örnekte likorin, ÇTÜ ve MTA kodlu örneklerde ise her iki alkaloidin varlıkları saptanmamıştır.

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

Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi, Amaryllidaceae alkaloitlerinin belirlenmesinde kullanılan hızlı ve güvenilir bir yöntemdir (192, 394, 400). *Galanthus fosteri* bitkisinden hazırlanan droglar üzerinde yapılan GC-MS analizleri sonucunda elde edilen bulgular, NIST MS Search 2.0 veritabanı (National Institute of Standardization and Technology, Gaithersburg, MD, USA), literatür bilgileri ve daha önce saf olarak elde edilip yapısı aydınlatılan maddelere ait kütle spektrumlarında yer alan karakteristik

parçalanmalar göz önünde bulundurularak değerlendirilmiştir. Bitkininin alkaloid içeriği GC-MS yöntemiyle ilk kez tarafımızdan bu çalışmada rapor edilmektedir.

GC-MS analizleri sonucunda, ÇTÜ kodlu örnekte 13 adet (Hordenin, ismin, 5,6-dihidrobikolorin, krinin, galantamin, *O,N*-dimetilnorbelladin, assoanin, galantin, inkartin, GF-8, GF-3, galvesin, GF-2) ÇTA kodlu örnekte 15 adet (Hordenin, ismin, trisferidin, krinin, galantamin, demetilmaritidin, *O,N*-dimetilnorbelladine, 11,12-didehidroanhidrolikorin, galantin, 11-hidroksivittatin, inkartin, likorin, 9-*O*-demetilpsödolikorin, GF-8, GF-2), MTA kodlu örnekte 19 adet (Hordenin, M 255, ismin, trisferidin, 5,6-dihidrobikolorin, galantamin, galantindol, demetilmaritidin, anhidrolikorin, *O,N*-dimetilnorbelladin, assoanin, 11,12-didehidroanhidrolikorin, galantin, 11-hidroksivittatin, inkartin, likorin, 9-*O*-metilpsödolikorin, GF-8, GF-2), MTÜ kodlu örnekte 13 adet (Hordenin, ismin, trisferidin, 5,6-dihidrobikolorin, krinin, galantamin, *O,N*-dimetilnorbelladin, galantin, 11-hidroksivittatin, inkartin, GF-8, GF-3, GF-2) olmak üzere toplam yirmi üç adet alkaloid saptanmıştır (Tablo 26-29).

Bu alkaloidler Amaryllidaceae alkaloidlerinin çeşitli alt gruplarına ait olup, en çok likorin tip alkaloidlere rastlanmıştır. Ayrıca incelenen örneklerde krinin/hemantamin, fenantridin ve galantamin tip alkaloidler de tespit edilmiştir. Bunların dışında tüm örneklerde tespit edilen hordenin adlı bileşik, hem Amaryllidaceae familyasının bazı türlerinde, hem de başka familyalara ait türlerde (268, 401) gözlenmiştir.

Genel olarak bitkiden hazırlanan örneklerden toprak altı kısımların, toprak üstü kısımlara oranla daha fazla sayıda alkaloid içerdiği görülmektedir. Meyveli dönemde toplanan bitkiden elde edilen örneklerde ise çiçekli döneme göre daha fazla sayıda alkaloid tespit edilmiştir.

4. BİYOLOJİK AKTİVİTE REHBERLİĞİNDE İZOLASYON VE YAPI AYDINLATMA ÇALIŞMALARI

4.1. GF-1 [(-)-İnkartin]

B kodlu ana fraksiyonun preparatif sütun kromatografisine tabi tutulmasının ardından, preparatif İ. T. K. Yöntemiyle elde edilen 40 mg ağırlığında optikçe aktif ($[\alpha]_D^{28}$), amorf bileşiğe GF-1 kodu verilmiştir.

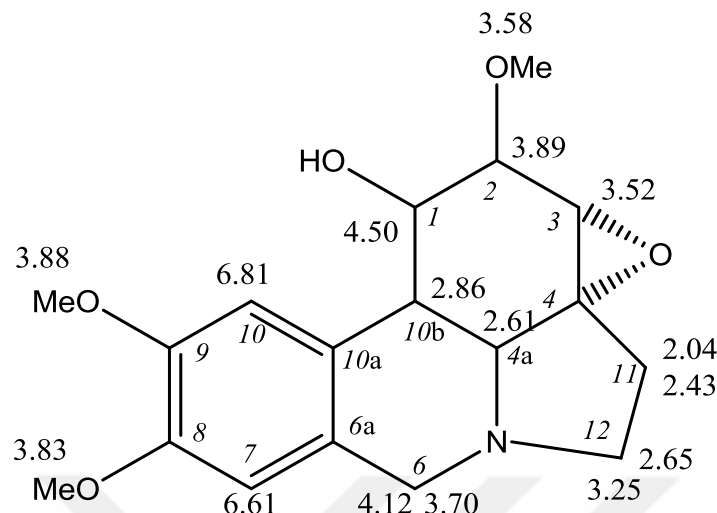
Bileşiğin ^1H NMR spektrumu, 400 MHz NMR spektrometresinde, dötoro kloroform içinde alınmıştır. Spektrumda toplam yirmi iki protona ait sinyal görülmektedir.

Aromatik sahada, δ 6.81 ve 6.61' deki singlet şeklindeki proton sinyalleri, para konumunda iki hidrojeni bulunan bir aromatik halkanın varlığını düşündürmektedir. Bu iki hidrojen sinyali dışında aromatik sahada başka sinyal gözlenmemiştir.

Alifatik alanda ise δ 4.50, 3.89, 3.52'de izlenen sinyallere ait protonların kimyasal kayma değerlerinin spektrumun nispeten aşağı alanda görülmesi oksijenli bir heteroatoma komşu olabileceklerine işaret etmektedir. δ 3.70 ve 4.12'de birbirleriyle bölünen (J 13.6 Hz) iki adet protona ait sinyallerin nispeten aşağı alanda izlenmesi, bu sinyallerin azot gibi bir heteroatoma komşu benzilik metilen protonlarına ait olabileceklerini düşündürmektedir. Buna ilaveten, δ 3.25, 2.65, 2.43 ve 2.04'de dört protona ait sinyaller görülmektedir. δ 2.86 ve 2.61'deki proton sinyallerinin, birbirleriyle bölünen (J 11.2 Hz) *trans* visinal protonlara ait olabileceği düşünülmektedir. Spektrumda δ 3.88 ve 3.83'de üç proton değerinde singlet şeklinde izlenen sinyallerin aromatik O-Metil gruplarına, δ 3.58'de yine singlet şeklinde görülen üç proton değerindeki sinyalin alifatik O-Metil grubuna ait olduğu belirtilebilir. Spektrumda N-metil grubuna ait sinyal gözlenmemiştir.

^1H NMR spektrumundan elde edilen bu bulgular molekülün Amaryllidaceae alkaloitlerinin likorin alt grubundan olabileceğine işaret etmektedir. Ancak spektrumda, likorin tip bileşiklerde karakteristik olarak gözlenen olefinik protona ait sinyal bulunmamakta, bunun yerine oksijen gibi bir heteroatoma komşu olmasından dolayı kimyasal kayma değeri nispeten aşağı alana kaymış bir alifatik proton (δ 3.52) bulunmaktadır.

Bileşiğe ait ESI kütle spektrumu m/z 334'de $[\text{M}+\text{H}]^+$ izlenmiştir. Elde edilen spektral bulgular ve literatür verileri birlikte değerlendirildiğinde, GF-1 kodlu bileşiğin likorin alt grubundan inkartin adlı alkaloit olduğu saptanmıştır. Bileşiğe ait proton kimyasal kayma değerleri literatürle de uyumlu olup (**349**, **402**) aşağıda açık kimyasal yapısı verilen bileşik üzerinde gösterilmiştir.



İnkartin daha önce Amaryllidaceae familyasında *Lycoris incarnata* (402), *Galanthus elwesii* (336, 341, 349) ve *G. rizehensis* (229) bitkilerinden izole edilmiş olup, gaz kromatografisi-kütle spektrometresi yöntemiyle *G. elwesii* (347), *G. nivalis* (347), *Leucojum aestivum* (268) ve *Pancratium canariense* (400) türlerinde varlığı tespit edilmiştir. *G. fosteri* bitkisinde bulunuşu ise ilk kez bu araştırmada rapor edilmektedir.

GF-1 kodlu bileşik üzerinde butirilkolinesteraz inhibitör aktivite tayini *in vitro* Ellman esasına dayalı mikropilaka deneyiyle yapılmış olup, pozitif kontrol olarak galantamin (IC_{50} 0.15 μ M) kullanılmış ve IC_{50} değeri 153.1 μ M olarak hesaplanmıştır. Anti-asetilkolinesteraz aktivite tayini ise daha önce aynı yöntemle, çalışma grubumuz tarafından yapılmış ve IC_{50} değeri 427.93 μ M bulunmuştur (88).

4.2. GF-2 [(-)-Oksoinkartin]

B kodlu ana fraksiyonun preparatif sütun kromatografisine tabi tutulmasının ardından, preparatif İ. T. K. yöntemiyle elde edilen, optikçe aktif olan ($[\alpha]_D -65^\circ$), 12 mg ağırlığında amorf haldeki bileşiğe GF-2 kodu verilmiştir.

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

Aromatik sahada, δ 7.60 ve 6.81'deki singlet şeklindeki proton sinyalleri, para konumunda iki hidrojeni bulunan bir aromatik halkanın varlığını düşündürmektedir. Bu iki hidrojen sinyali dışında aromatik sahada başka sinyal gözlenmemiştir.

Alifatik alanda ise δ 4.51, 3.92, 3.53'de izlenen sinyallere ait protonların kimyasal kayma değerlerinin spektrumun nispeten aşağı alanda görülmesi oksijenli bir heteroatoma komşu olabileceklerine düşündürmektedir. Bileşiğin IR spektrumu incelendiğinde de 3398 cm^{-1} 'de yer alan, O-H gerilmelerinden kaynaklanan karakteristik absorpsiyonlar bileşikte hidroksil fonksiyonunun varlığına işaret etmektedir. δ 2.99 ve 3.89'deki proton sinyallerinin, birbirleriyle bölünen (J 13.6 Hz) *trans* visinal protonlara ait olabileceği düşünülmektedir. δ 3.95 ve 3.93'de üç proton değerinde singlet şeklinde izlenen sinyallerin aromatik O-Metil gruplarına, δ 3.58'de üç proton değerindeki singlet şeklindeki sinyalin ise alifatik O-Metil grubuna ait olduğu belirtilebilir. Bunlara ilaveten δ 4.03, 3.78, 2.53 ve 2.35'de multipler şeklinde, birer proton değerinde sinyaller izlenmiştir. Spektrumda N-metil grubuna ait sinyal gözlenmemiştir.

Elde edilen ^1H NMR bulguları, GF-2 kodlu bileşiğin daha önce yapısını aydınlattığımız Amaryllidaceae alkaloitlerinin likorin alt grubundan inkartin (GF-1) ile oldukça benzer olduğuna işaret etmektedir. ^1H NMR spektrumunda, inkartinle GF-2 kodlu bileşik arasında gözlenen en önemli fark ise, benzilik metilen grubuna ait sinyaller gözlenmemiştir. Ayrıca H-4a (δ 3.87), H-7 (δ 7.6), ve H-12 (δ 4.03, 3.78) protonlarının kimyasal kayma değerleri inkartine göre daha aşağı alanda izlenmiştir (0.78-1.2 ppm).

Bileşiğin ^{13}C NMR spektrumunda toplam on sekiz adet karbona ait sinyaller görülmektedir. Hidrojenlerin üzerlerinde yer aldıkları karbonların eşleştirilmesi HSQC deneyinden yararlanılarak yapılmıştır (Tablo 32).

^{13}C NMR spektrumunda δ 162.9'de izlenen sinyal ve kimyasal kayma değeri muhtemelen bir laktam karbonilinin varlığına işaret etmektedir. Ayrıca IR spektrumunda 1641 cm^{-1} absorpsiyon görülmesi de bu düşüncüyü doğrulamaktadır.

δ 152 ve 148.1'de rezonans yapan karbonların kimyasal kayma değerleri aromatik metoksil gruplarına α -konumda olan katerner karbonlar için uygundur. Birbirlerine göre para konumunda yer alan iki singlet protonun üzerinde yer aldığı karbonlar da δ 111.4 (C-7) ve 105.7 (C-10)'de izlenmiştir. Bunların dışında, ^{13}C NMR spektrumunda 5 adet metin (δ 77.7, 65.9, 59.1, 55.8 ve 40.1) ve 2 adet metilen (δ 42.3 ve 28.3) karbonuna ait

sinyaller yer almaktadır. HSQC deneyinde, birbirleriyle *trans*-visinal konumda olan H-4a ve H-10b'nin sırasıyla δ 55.8 ve 40.1'de rezonans yapan karbonlar üzerinde yer aldığı saptanmıştır. Bileşiğe ait HR-ESI kütle spektrumu incelendiğinde (m/z 348.1460 $[M + H]^+$) kapalı formülün $C_{18}H_{21}O_6N$ olduğu tespit edilmiştir. Bileşiğin yapısını kesin olarak aydınlatabilmek için, HSQC tekniğine ilaveten diğer 2D NMR tekniklerinden (1H , 1H COSY, HMBC ve NOESY) yararlanılmıştır.

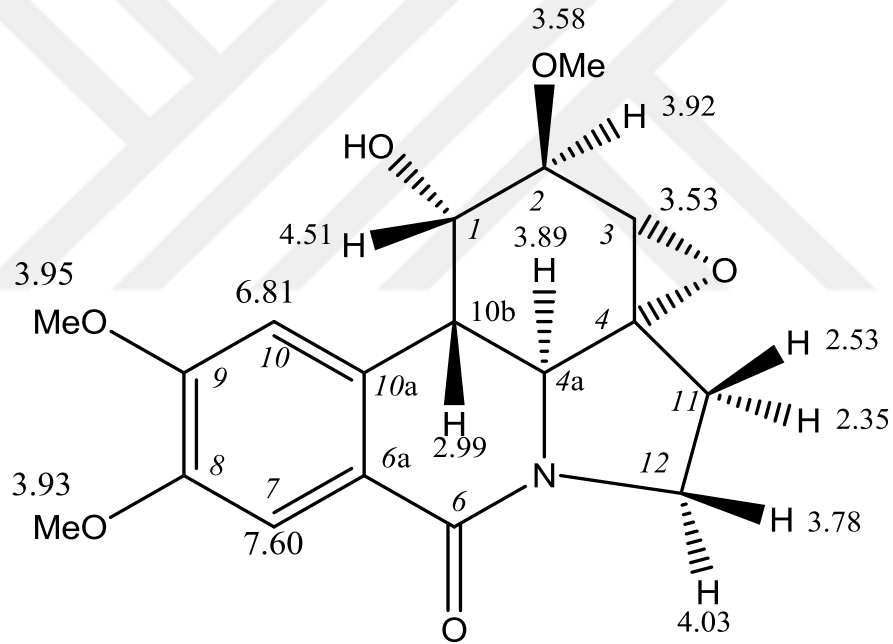
HMBC deneyinde δ 6.81 (H10)'de izlenen proton, $^3J_{CH}$ aracılığıyla δ 148.1 (C-8), 124.4 C-(6a) ve 40.1 (C-10b) karbonlarıyla, $^2J_{CH}$ aracılığıyla ise δ 152 (C-9) ve 131.3 (C-10a) karbonlarıyla etkileşmektedir. δ 7.60'de (C-7) izlenen proton ise δ 162.9 (C-6), 152 (C-9) ve 131.3 (C-10a) karbonlarıyla 3 bağ aracılığıyla, δ 148.1 (C-8) ve 124.4 (C-6a) karbonlarıyla 2 bağ aracılığıyla korelasyon göstermektedir. δ 3.95 ve 3.93'deki aromatik metoksil grupları sırasıyla C-9 (δ 152) ve C-8 (δ 148.1) ile $^3J_{CH}$ aracılığıyla etkileşmektedir. Bu şekilde 1D ve 2D NMR bulgularından yararlanılarak likorin ana halka yapısında bulunan A ve B halkalarında yer alan proton ve karbon kimyasal kayma değerleri yerleştirilmiştir.

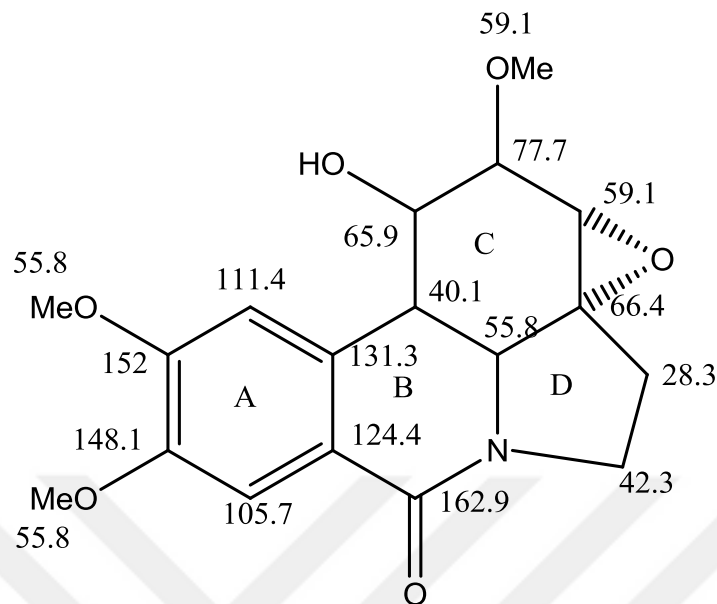
1H , 1H COSY deneyinde görülen korelasyonlar (Tablo 38) δ 4.51 (H-1), 3.92 (H-2), 3.53 (H-3), 3.89 (H-4a) ve 2.99 (H-10b) protonlarının, bileşiğin C halkasındaki dizilişlerini doğrulamaktadır. HMBC deneyinde δ 4.51 (H-1)'deki protonun δ 55.80 (C-4a)'deki karbonla, δ 3.92 (H-2)'deki protonun ise δ 40.1 (C-10b)'deki karbonla 3 bağ aracılığıyla etkileşmeleri, B ve C halkalarının kaynaştıklarını ortaya koymaktadır. 1H , 1H COSY deneyinde, δ 4.03, 3.78, 2.53 ve 2.35'deki protonların birbirleriyle etkileşmeleri, likorin çekirdeğinin D halkasındaki iki metilen grubunun varlığını doğrular niteliktedir. HSQC deneyinde, δ 28.3 karbonu üzerinde yer aldıkları saptanan δ 2.53, 2.35 (H-11) protonları δ 55.8 (C-4a)'deki karbonla ve δ 42.3 (C-12) karbonu üzerinde yer aldıkları saptanan δ 4.03, 3.78 (H-12) protonları ise δ 162.9 (C-6)'deki karbonla $^3J_{CH}$ korelasyonu göstermektedir. Bu verilerin değerlendirilmesiyle D halkasının proton ve karbon kimyasal kayma değerleri yerleştirilmiştir.

NOESY spektrumundan elde edilen bulguların moleküler model üzerinde değerlendirilmesiyle, H-10 (δ 6.81) protonunun, H-1 (δ 4.51) ile etkileşmesi, H-1'in β yönlendiğine işaret etmektedir. H-1 (δ 4.51) ile etkileşen, δ 2.99 (H-10b)'deki proton ve δ 3.58'deki alifatik metoksil grubu da β yönlenebilir. δ 3.53 (H-3)'deki protonun

H-11 (δ 2.53) ile etkileşmesi bu protonların β oriyantasyonunda olduklarına işaret etmektedir. Ayrıca δ 2.53 (H-11 β)’deki protonun, δ 4.03 (H-12)’deki protonla korelasyonu, bu protonun da β yönlendiğini ortaya koymaktadır. δ 3.93’deki aromatik metoksil grubu H-7 (δ 7.60) ile ve δ 3.95’deki aromatik metoksil ise H-10 (δ 6.81) ile etkileştiğinden sırasıyla 8 ve 9 numaralı katerner karbonlara bağlı olduklarını kanıtlanmıştır.

Elde edilen bütün bulgular ışığında GF-2 kodlu bileşiğin doğa için yeni bir bileşik olan, oksoinkartin olduğu tespit edilmiştir. Bileşiğe ait proton ve karbon kimyasal kayma değerleri aşağıda açık kimyasal formül üzerinde gösterilmiştir.





Bileşğin asetilkolinesteraz ve butirilkolinesteraz inhibitör aktivite tayini *in vitro* Ellman esasına dayalı mikrolaka deneyiyle yapılmıştır. Pozitif kontrol olarak galantaminin (IC_{50} 0.15 μ M) kullanıldığı deneylerde aktivite gözlenmemiştir.

4.3. GF-3 [(-)-3,11-O-diasetil-9-O-demetilmaritidin]

D kodlu ana fraksiyon üzerinde yapılan preparatif sütun kromatografisi sonucunda elde edilen 7-9 No'lu fraksiyon, preparatif ince tabaka kromatografisi yöntemiyle saflaştırılıp, 13 mg ağırlığında, optikçe aktif olan ($[\alpha]_D$ -61°) GF-3 kodlu bileşik izole edilmiştir.

Bileşğin 1H NMR spektrumu, 400 MHz spektrometresinde, dötoro kloroform içinde alınmış olup spektrumda toplam yirmi iki protona ait sinyal görülmektedir.

Bileşiğe ait 1H NMR spektrumu incelendiğinde, aromatik sahada, δ 6.98 ve 6.52'de singlet şeklinde izlenen aromatik protonlara ait sinyaller, *para* konumunda bulunan iki protonun varlığına işaret etmektedir. Ayrıca etkileşme katsayıları 10 Hz olan iki olefinik protona (δ 6.46 ve 6.08) ait sinyaller izlenmektedir.

Alifatik alanda ise, δ 5.37 ve 4.99'de görülen sinyallerin kimyasal kayma değerlerinin nispeten aşağı alanda olması bu protonların oksijen gibi bir heteroatoma komşu olabileceklerini düşündürmektedir. Ayrıca δ 1.99 ve 1.98'de üçer proton

değerinde singlet şeklinde, metil gruplarına ait sinyaller gözlenmiştir. Bu durumda molekülde iki adet asetil grubunun varlığından bahsetmek mümkündür. Etkileşme katsayıları 16.4 Hz olan δ 4.39 ve 3.76'deki protonlar benzilik metilen gruplarına ait olup, bir heteroatoma komşu olduklarından dolayı aşağı alana kaydıklarını söylemek mümkündür. Ayrıca δ 2.15 ve 1.90'de izlenen sinyallerin de (J 14) ayrı bir geminal çift oluşturdukları düşünülmektedir. Bunlara ilaveten, δ 3.36-3.45 civarında multiplet olarak izlenen iki proton değerinde, δ 3.32'de bir proton değerinde, δ 3.84'de ise aromatik metoksil grubuna ait olduğunu düşündüğümüz üç proton değerinde sinyaller görülmektedir. ^1H NMR spektrumunda *N*-metil grubuna ait sinyal mevcut değildir.

^1H NMR spektrumundan elde edilen bu ön bulgularla literatür verileri birlikte değerlendirildiğinde, GF-3 kodlu bileşiğin hemantamin/krinin, likorin veya montanin tip çekirdeğe sahip bir Amaryllidaceae alkaloidi olabileceği düşünülmüştür. Ancak molekülde, trans etkileşim gösteren visinal protonların bulunmaması ve iki olefinik hidrojenin bulunmasından dolayı hemantamin/krinin çekirdeğine sahip olma olasılığının daha yüksek olduğu söylenebilir.

Bileşiğin ^{13}C NMR spektrumunda ise toplam yirmi adet karbona ait sinyaller bulunmaktadır. δ 169.9 ve 170.5'de rezonans yapan karbonların kimyasal kayma değerleri karbonil grupları için, δ 55.9'deki ise metoksil grubu için uygundur. Ayrıca IR spektrumunda 1735 cm^{-1} de gözlenen absorpsiyon molekülde karbonil gruplarının varlığını doğrulamaktadır. δ 144.6 ve 145.9'de rezonans yapan karbonların kimyasal kayma değerleri oksijenli fonksiyonel gruplara α -konumda olan katerner karbonlar için uygundur. Çift boyutlu NMR tekniklerinden biri olan HSQC deneyinde $^1J_{\text{CH}}$ korelasyonlarının değerlendirilmesiyle, hidrojenlerin üzerlerinde yer aldıkları karbonların eşleştirilmesi mümkün olmuştur. Birbirlerine göre *para* konumunda yer alan singlet şeklinde izlenen protonların üzerlerinde yer aldığı karbonlar δ 109.8 (C-10) ve 108.9 (C-7)'de rezonans göstermişlerdir. δ 129.3 (C-1) ve 127.5 (C-2)'de izlenen sinyaller molekülde olefinik bağın olduğunu doğrulamaktadır. Bunların dışında, ^{13}C NMR spektrumunda, 3 adet metin (δ 80.3, 66.4 ve 63), 3 adet metilen (δ 60.9, 60.6 ve 29.4) ve 1 adet (δ 48.6) katerner karbona ait sinyaller yer almaktadır. Son olarak δ 21.19 ve 21.17'de 2 adet metil karbonuna ait sinyaller görülmektedir.

HR-ESI kütle spektrumu incelendiğinde, (m/z 374.1595 $[M+H]^+$) bileşiğe ait kapalı formülün $C_{20}H_{23}O_6N$ olduğu tespit edilmiştir. Bileşiğin yapısını kesin olarak belirleyebilmek için, HSQC deneyine ilaveten diğer 2D NMR tekniklerinden (1H , 1H , COSY, HMBC ve NOESY) yararlanılmıştır.

HMBC deneyinde δ 6.98 (H-10)'de izlenen proton, $^3J_{CH}$ aracılığıyla δ 145.9 (C-8), 124.3 (C-6a) ve 48.6 (C-10b) karbonlarıyla, $^2J_{CH}$ aracılığıyla ise δ 144.6 (C-9) ve 133.5 (C-10a) karbonlarıyla etkileşmektedir. δ 6.52 (H-7)'de izlenen proton, δ 144.6 (C-9), 133.5 (C-10a) ve 60.9 (C-6) karbonlarıyla 3 bağ aracılığıyla, δ 145.9 (C-8) ve 124.3 (C-6a) karbonlarıyla 2 bağ aracılığıyla korelasyon göstermektedir. H-6 (δ 4.39)'daki protonla δ 63 (C-4a)'de rezonans yapan karbon, 3 bağ aracılığı ile korelasyon göstermektedir. Buna ilaveten H-6 (δ 3.76)'daki protonla ise yine 3 bağ aracılığıyla δ 60.6 (C-12) karbonuyla etkileşmektedir. Bunların dışında δ 4.99 (H-11)'de izlenen proton 2 bağ aracılığı ile C-12 (δ 60.6), 3 bağ aracılığıyla C-4a (63) karbonlarıyla etkileşmektedir. Böylece 1D ve 2D NMR bulgularından yararlanılarak muhtemel bir krinin/hemantamin çekirdeğinde yer alan A, B ve D halkalarında bulunan proton ve karbon kimyasal kayma değerleri yerleştirilmiştir.

HMBC deneyinde δ 6.46 (H-1)'de izlenen proton, $^3J_{CH}$ aracılığıyla δ 133.5 (C-10a) ve 66.4 (C-3) karbonlarıyla, $^2J_{CH}$ aracılığıyla ise δ 48.6 (C-10b) karbonuyla etkileşmektedir. δ 6.08 (H-2)'de izlenen proton, δ 48.6 (C-10b) ve 29.4 (C-4) karbonlarıyla 3 bağ aracılığıyla, δ 66.4 (C-3) karbonuyla 2 bağ aracılığıyla korelasyon göstermektedir. Ayrıca δ 1.90 (H-4)'de izlenen proton, $^3J_{CH}$ aracılığıyla δ 127.5 (C-2) ve 48.6 (C-10b) karbonlarıyla, $^2J_{CH}$ aracılığıyla ise δ 66.4 (C-3) karbonuyla etkileşmektedir. Son olarak HMBC deneyinde, δ 5.37 (H-3) ve δ 4.99 (H-11)'de izlenen protonlar 3 bağ aracılığıyla sırasıyla, δ 170.5 ve δ 169.9'de rezonans gösteren karbonlarla etkileşmektedir.

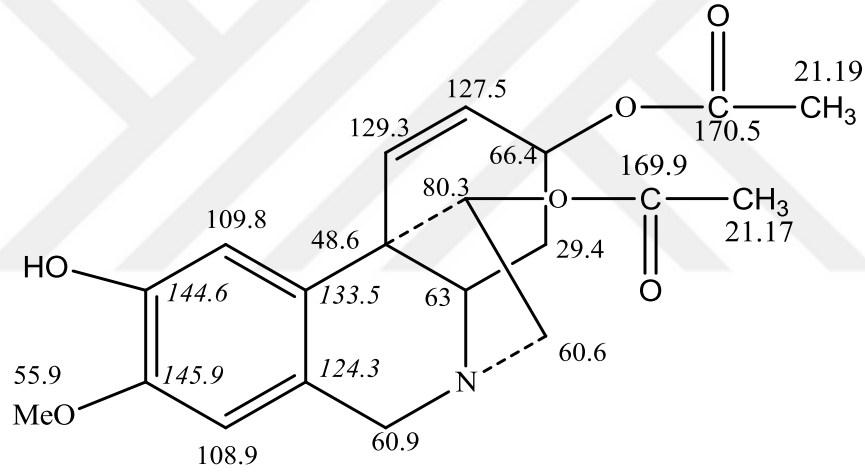
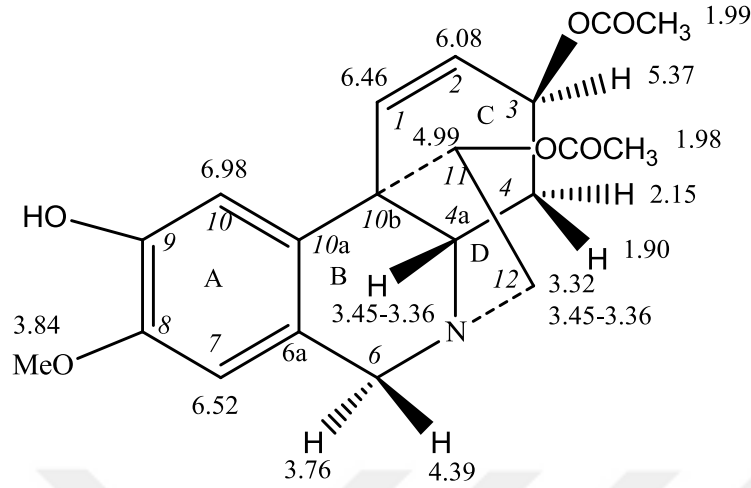
Böylece 1D ve 2D NMR bulgularından yararlanılarak bileşikte bulunan proton ve karbon kimyasal kayma değerleri yerleştirilmiştir. 1H , 1H COSY deneyinde görülen korelasyonlar (Tablo 33) bileşikteki C ve D halkalarındaki protonların dizilişlerini doğrulamaktadır. Bütün bu bulguların ışığında GF-3 kodlu bileşiğin 3 ve 11 konumlarında asetil grubu taşıyan krinin veya hemantamin tip bir Amaryllidaceae alkaloidi olabileceğini söylemek mümkündür.

Krinin/Hemantamin tip alkaloidlerin mutlak konfigürasyonlarının CD (Circular Dichroism) yöntemiyle saptanabildiği bilinmektedir. GF-3 kodlu bileşiğin CD spektrumu alındığında 258 nm’de minimum, 286 nm’de ise maksimum izlenmekte olup, α -konumda 5, 10b-etano köprüsü taşıyan hemantamin tip alkaloidlerin CD spektrumlarıyla benzer olduğu tespit edilmiştir (403).

Bileşiğin konfigürasyonel niteliklerinin belirlenebilmesi için NOESY deneyinden yararlanılmıştır. δ 4.39 (H-6) ve δ 1.90 (H-4)’deki protonların H-4a (δ 3.36-3.45) ile etkileşmesi, bu protonların β oryantasyonda olduklarına işaret etmektedir. Böylece 6 ve 4 numaralı konumlarda yer alan δ 3.76 (H-6), δ 2.15 (H-4) protonlarının α olarak yönlendikleri ortaya çıkmaktadır. H-3 (δ 5.37)’ün H-4a (δ 2.09) protonu ile belirgin olarak etkileşmesi, H-4a ile korelasyon göstermemesi, H-3 protonunun α oryantasyona sahip olabileceğine işaret etmektedir. Ayrıca bileşiğe ait ^1H NMR spektrumunda H-3 (δ 5.37) protonunun H-1 (δ 6.46) ile etkileşmemesi ve H-2 (δ 6.08) ile ~5 Hz değerinde etkileşme katsayısına sahip olması bulgumuzu destekler niteliktedir (Tablo 33) (404).

NOESY spektrumunda, δ 4.99 (H-11)’deki protonun H-1 (δ 6.46) ve H-10 (δ 6.98) ile etkileşmesi H-11’in endo, H-12 (δ 3.32)’nin ise H-4a (δ 2.15) ile etkileşmesi H-12 (δ 3.32)’nin ekso konumda olduğunu düşündürmektedir. Son olarak δ 3.84’deki aromatik metoksil grubu H-7 (δ 6.52) ile etkileştiğinden 8 numaralı katerner karbona (δ 145.9) bağlı olduğu kanıtlanmıştır.

Elde edilen bütün bulgular ve literatür verileri değerlendirildiğinde 3,11-O-diasetil-9-O-demetilmaritidin olarak isimlendirilen GF-3 kodlu bileşiğin doğa için yeni bir bileşik olduğu tespit edilmiştir. Bileşiğe ait proton ve karbon kimyasal kayma değerleri aşağıda açık kimyasal formül üzerinde gösterilmiştir.



Bileşiğin antikolinesteraz aktivite tayini *in vitro* Ellman esasına dayalı mikroplaka deneyiyle yapılmıştır. Pozitif kontrol olarak galantaminin (IC_{50} 0.15 μ M) kullanıldığı anti-asetilkolinesteraz aktivite tayininde GF-3 kodlu bileşiğe ait IC_{50} değeri 67.4 μ M olarak hesaplanmış olup, bileşiğin bütirilkolinesteraz enzimini inhibe edici etkisi gözlenmemiştir.

4.4. GF-4 [(-)-Galantamin]

K-L kodlu ana fraksiyonun preparatif sütun kromatografisine tabi tutulmasının ardından, 6-9 nolu ara fraksiyondan preparatif İ.T.K. yöntemiyle elde edilen 11.9 mg ağırlığındaki ve optikçe aktif olan ($[\alpha]_D$ -98) bileşiğe GF-4 kodu verilmiştir.

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

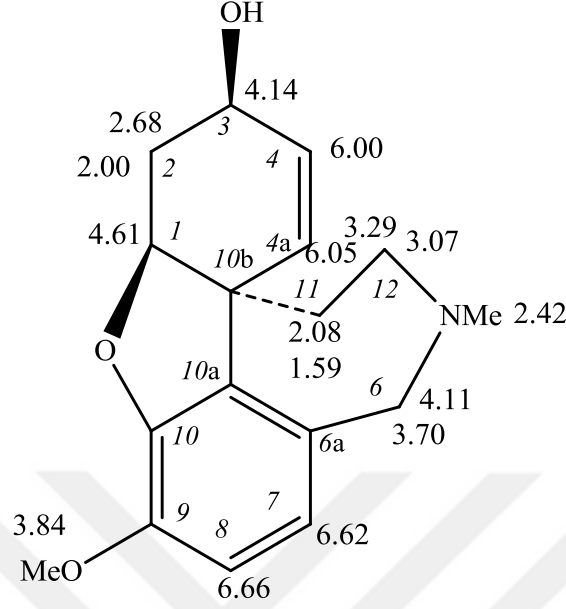
Aromatik sahada δ 6.66 ve 6.62'de gözlenen, dublet (J 8 Hz) şeklindeki iki proton sinyalinin bulunması bize *orto* konumunda iki proton taşıyan 1,2,3,4-tetrasüstitüe bir aromatik halkanın varlığını düşündürmektedir. Ayrıca δ 6.05 ve 6.00'de izlenen sinyaller, yapıda olefinik protonların varlığına işaret etmektedir.

Alifatik alanda ise toplam on altı protona ait sinyal izlenmiştir. δ 4.61 ve 4.14'de görülen sinyallerin kimyasal kayma değerlerinin nispeten aşağı alanda görülmesi oksijenli bir heteroatoma komşu olabileceklerine işaret etmektedir. δ 4.11 ve 3.7'de bulunan ve etkileşme katsayıları 15.2 Hz olan benzilik metilen grubu protonlarına ait sinyaller görülmektedir. Ayrıca δ 3.29 ve 3.07'deki sinyaller de ayrı bir geminal çift oluşturmaktadır. Bu geminal çiftlerin kimyasal kayma değerlerinin nispeten aşağı alanda görülmesi azot gibi bir heteroatoma komşu olabileceklerine işaret etmektedir. Bunların dışında δ 2.68 ve 2.00'de (J 15.7 Hz), δ 2.08 ve 1.59'de (J 13.4) izlenen proton sinyalleri iki ayrı geminal çift oluşturmaktadır.

δ 3.84 ve δ 2.42'de izlenen üç proton değerindeki sinyaller sırasıyla aromatik metoksil ve *N*-metil gruplarının varlığına işaret etmektedir.

^1H NMR spektrumunda, aromatik sahada *orto* konumunda iki protona ait sinyallerin bulunması, ayrıca alifatik alanda *N*-metil grubuna ait sinyalin görülmesi sonucunda bileşiğin galantamin tip çekirdeğe sahip bir Amaryllidaceae alkaloidi olabileceği düşünülmüştür.

Bileşiğe ait ESI kütle spektrumu m/z 288'de $[\text{M}+\text{H}]^+$ gözlenmiştir. Elde edilen spektral bulgular ve literatür verileri birlikte değerlendirildiğinde GF-4 kodlu bileşiğin Amaryllidaceae alkaloitlerinden, galantamin adlı alkaloit olduğu tespit edilmiştir. Bileşiğe ait proton kimyasal kayma değerleri literatürle de uyumlu olup (**294, 405, 406**) aşağıda açık kimyasal yapısı verilen bileşik üzerinde gösterilmiştir.



Galantamin daha önce Amaryllidaceae familyasından *Narcissus tazetta* (407, 408), *N. obesus* (409), *N. pseudonarcissus* (406), *Leucojum aestivum* (408), *Crinum giganteum* (408), *Pancratium maritimum* (408), *Sternbergia colchiciflora* (408), *Zephyranthes robusta* (285), *Cyrtanthus contractus* (266), *Galanthus caucasicus* (139), *G. elwesii* (337, 341), *G. ikariae* (187), *G. krasnovii* (139), *G. latifolius* (139), *G. nivalis* (228), *G. woronowii* (218), bitkilerinden izole edilmiş olup, *G. gracilis* (270), *G. rizehensis* (272) ve *G. xvalentinei* (273) türlerinde gaz kromatografisi-kütle spektrometresi ile varlığı tespit edilmiştir. *Galanthus* türleri üzerinde araştırma grubumuz tarafından yürütülen fitokimyasal çalışmalar kapsamında, Güneydoğu Anadolu bölgesinden toplanan *G. fosteri* bitkisinden izole edilmiştir (410).

Galantamin analjezik (9), antiviral (12), sitotoksik (13, 14), antimikrobiyal ve antioksidan (15) gibi değişik aktivitelere sahip olup, asetilkolinesteraz inhisiyonu (17, 18, 19) etkisi nedeniyle Alzheimer Hastalığı'nda kullanılmaktadır. Daha önce farklı bir çalışmada rapor edilen (285) butirilkinesteraz inhibisyon tayini bu çalışmada tekrarlanmış olup, IC₅₀ değeri 0.711 µM olarak hesaplanmıştır.

4.5. GF-5 [(-)-Galantin]

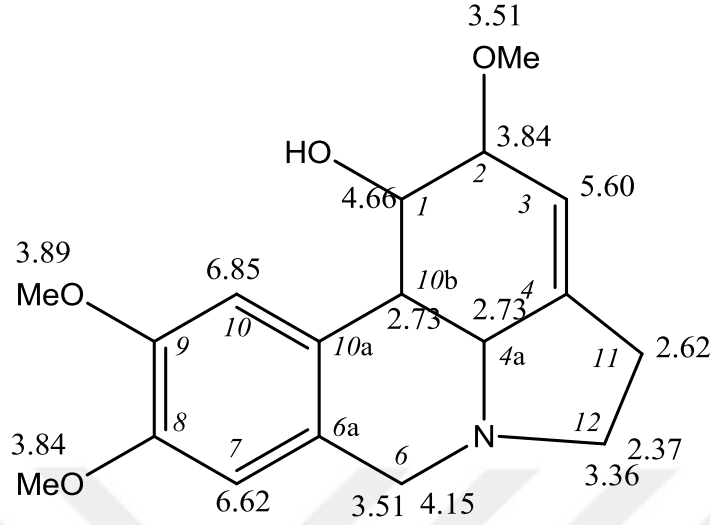
M kodlu ana fraksiyon üzerinde yapılan preparatif sütun çalışmasıyla elde edilen 6-9 No'lu fraksiyon daha sonra preparatif ince tabaka kromatografisi yöntemiyle saflaştırılıp, 10 mg ağırlığında ve optikçe aktif olan ($[\alpha]_D -65^\circ$) GF-5 kodlu bileşik izole edilmiştir.

Bileşiğin ^1H NMR spektrumu, 400 MHz spektrometresinde, dötoro kloroform içinde alınmış olup spektrumda toplam yirmi iki protona ait sinyal görülmektedir.

Aromatik sahada, δ 6.85 ve 6.62'de singlet şeklinde izlenen birer proton değerindeki sinyaller, aromatik halkada, birbirlerine para konumunda bulunan iki hidrojenin varlığına işaret etmektedir. Buna ilaveten δ 5.60'de bir proton değerindeki ve nispeten aşağı alanda gözlenen geniş singlet sinyali, bileşikte olefinik proton bulunabileceğini düşündürmektedir.

Alifatik sahada ise, δ 4.15 ve 3.51'de (J 14.0 Hz) bulunan ve geminal çift oluşturdıkları düşünülen sinyallerin aşağı alanda çıkmaları, bu protonların azot gibi bir heteroatoma komşu olduklarına işaret etmektedir. δ 4.66 ve 3.84 gibi nispeten aşağı alanda rezonans gösteren protonların ise oksijen gibi bir heteroatoma komşu oldukları düşünülmektedir. δ 3.89 ve 3.84'de üçer proton değerinde iki adet aromatik *O*-metil grubuna, δ 3.51'de üç proton değerinde alifatik *O*-metil grubuna ait olabileceğini düşündüğümüz sinyaller gözlenmiştir. Bu protonların dışında alifatik alanda, δ 2.62 ve 2.73'de ikişer proton değerinde ve multipler şeklinde sinyaller, δ 3.36 ve 2.37'de ise birer proton değerinde multipler olarak izlenen sinyaller gözlenmektedir. Spektrumda *N*-metil grubuna ait sinyal görülmemiştir.

Bileşiğe ait ESI kütle spektrumu m/z 318'de $[\text{M}+\text{H}]^+$ izlenmiştir. Elde edilen spektral bulgular ve literatür verileri birlikte değerlendirildiğinde, GF-5 kodlu bileşiğin Amaryllidaceae alkaloidlerinden likorin alt grubuna ait galantin adlı alkaloid olduğu saptanmıştır. Bileşiğe ait proton kimyasal kayma değerleri literatürle de uyumlu olup (294, 341) aşağıda açık kimyasal yapısı verilen bileşik üzerinde gösterilmiştir.



Galantin daha önce Amaryllidaceae familyasında *Narcissus serotinus* (411), *N. panizzianus* (412), *Zephyranthes robusta* (285), *Lycoris sanguinea* (413), *Galanthus elwesii* (341), *G. ikariae* (334), *G. caucasicus* (408), *G. woronowii* (218, 408) bitkilerinden izole edilmiş olup, gaz kromatografisi-kütle spektrometresi yöntemiyle *G. rizehensis* (272), türünde varlığı tespit edilmiştir. *G. fosteri* bitkisinde bulunuşu ise ilk kez bu araştırmada rapor edilmektedir.

GF-5 kodlu bileşik üzerinde butirilkolinesteraz inhibitör aktivite tayini *in vitro* Ellman esasına dayalı mikropilaka deneyiyle yapılmıştır. Pozitif kontrol olarak galantaminin (IC_{50} 0.15 μ M) kullanıldığı deneyde galantine ait IC_{50} değeri 12.02 μ M olarak hesaplanmıştır. Asetilkolinesteraz inhibitör aktivite tayini ise daha önce aynı yöntemle çalışma grubumuz tarafından yapılmıştır (272). Galantine ait antikolinesteraz aktivite deneyleri literatürde mevcuttur (272, 285).

4.6. GF-6 [(-)-9-O-Metilpsödolikorin]

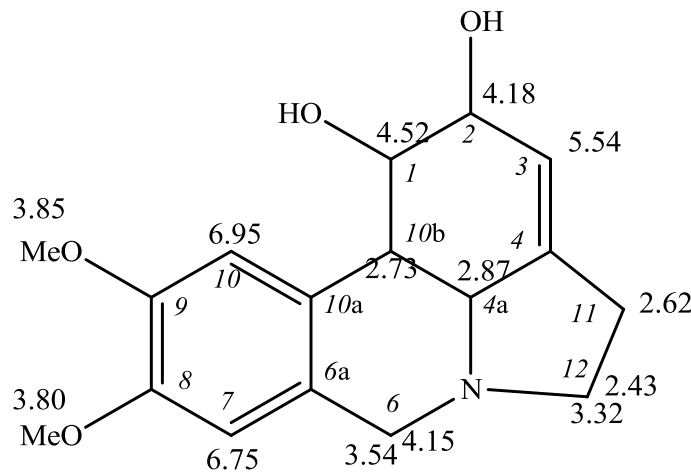
O kodlu ana fraksiyon üzerinde yapılan preparatif sütun çalışmasıyla elde edilen 21-25 No'lu fraksiyon daha sonra preparatif ince tabaka kromatografisi yöntemiyle saflaştırılarak elde edilen 4 mg ağırlığında ve optikçe aktif olan ($[\alpha]_D -25^\circ$) bileşiğe GF-6 kodu verilmiştir.

Bileşiğin ^1H NMR spektrumu, 400 MHz spektrometresinde, dötoro metanol içinde alınmış olup, spektrumda toplam on dokuz protona ait sinyal görülmektedir.

Aromatik sahada, δ 6.95 ve 6.75'de singlet şeklindeki birer protonluk sinyaller, aromatik halkada ve birbirlerine *para* konumunda bulunan iki hidrojenin varlığına işaret etmektedir. Buna ilaveten, spektrumda aşağı alanda δ 5.54'de izlenen geniş singlet sinyali bileşikte olefinik protonun varlığını düşündürmektedir.

Alifatik sahada ise, δ 4.52 ve 4.18'de gözlenen sinyaller, oksijen gibi bir heteroatoma komşu protonların olabileceğine işaret etmektedir. Ayrıca δ 2.87 ve 2.73'deki proton sinyallerinin, birbirleriyle bölünen (J 10.8 Hz) *trans* visinal protonlara ait olabileceği düşünülmektedir. δ 4.15 ve 3.54'de (J 14.4 Hz) izlenen ve metilen protonlarına ait oldukları düşünülen sinyallerin, nispeten aşağı alanda çıkmaları, bu protonların azot gibi bir heteroatoma komşu olduklarına işaret etmektedir. Bunların dışında, δ 3.32 ve 2.43'de iki adet birer proton değerinde multiplet şeklinde izlenen sinyaller, δ 2.62'de ise iki proton değerinde multiplet şeklindeki sinyal bulunmaktadır. Son olarak alifatik alanda, δ 3.85 ve 3.80'de aromatik *O*-metil gruplarına ait sinyaller mevcuttur. Spektrumda *N*-metil grubuna ait sinyal görülmemiştir.

Bileşiğe ait ESI kütle spektrumu m/z 304'de $[\text{M}+\text{H}]^+$ izlenmiştir. Elde edilen spektral bulgular ve literatür verileri birlikte değerlendirildiğinde GF-6 kodlu bileşiğin, Amaryllidaceae alkaloitlerinden, likorin alt grubuna ait 9-*O*-metilpsödolikorin adlı alkaloit olduğu saptanmıştır. Bileşiğe ait proton kimyasal kayma değerleri literatürle de uyumlu olup **(294)** aşağıda açık kimyasal yapısı verilen bileşik üzerinde gösterilmiştir.



9-O-Metilpsödolikorin Amaryllidaceae familyasında *Narcissus* (294) cinsinden rapor edilmiştir. Daha önce herhangi bir *Galanthus* türünde varlığı saptanmamış olup, ilk kez tarafımızdan rapor edilmektedir.

GF-6 kodlu bileşik üzerinde ilk kez tarafımızdan yapılan antikolinesteraz aktivite tayini, pozitif kontrol olarak galantaminin (IC_{50} 0.15 μ M) kullanıldığı *in vitro* Ellman esasına dayalı mikroparka deneyiyle yapılmıştır. Anti-asetilkolinesteraz ve anti-bütirikolinesteraz aktivite tayini deneylerinde, bileşiğe ait IC_{50} değerleri sırasıyla 2.84 μ M ve 1.50 μ M olarak hesaplanmıştır.

4.7. GF-7 (O,N-Dimetilnorbelladin)

O kodlu ana fraksiyon üzerinde yapılan preparatif sütun çalışmasıyla elde edilen 21-25 No'lu fraksiyon daha sonra preparatif ince tabaka kromatografisi yöntemiyle saflaştırılıp, 4 mg ağırlığında GF-7 kodlu bileşik elde edilmiştir.

Bileşiğin 1H NMR spektrumu, 400 MHz spektrometresinde, dötoro metanol içinde alınmış olup, spektrumda toplam on dokuz protona ait sinyal görülmektedir.

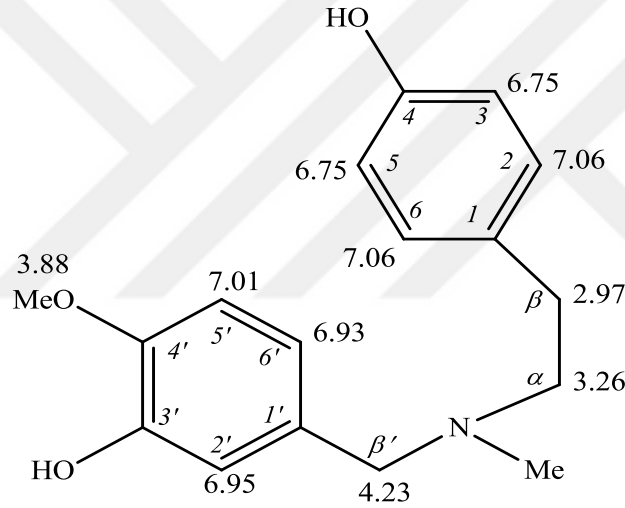
Bileşiğe ait 1H NMR spektrumu incelendiğinde, aromatik sahada yedi adet proton bulunmaktadır. Bu protonlara ait sinyallerden; δ 7.06'de iki proton değerinde, dublet (J 8.8 Hz) şeklinde ve δ 6.75'de yine iki proton değerinde, dublet (J 8.8 Hz) şeklinde gözlenen sinyaller yapıda 1,4-disüstitüe benzen halkasının varlığına işaret etmektedir.

Bunlara ilaveten, aromatik sahada δ 7.01'de dublet (J 8 Hz), δ 6.95'de dublet (J 2 Hz), δ 6.93'de ise dublet-dublet (J 8.0, 2.4 J Hz) şeklinde birer proton değerinde sinyaller izlenmiştir. Bu proton sinyallerinin bölünmeleri ve etkileşme katsayıları göz önüne alındığında, bu protonların yapıda bir ABX sistemini oluşturdıkları tespit edilmiştir. ABX sisteminin bulunduğu yapıda, protonların bağlı olduğu aromatik halkanın 1, 3, 4- trisüstitüe benzen halkası olmasını gerektirmektedir.

Alifatik sahada ise 3 adet iki proton değerinde sinyaller yapıda metilen gruplarının varlığına işaret etmektedir. Söz konusu metilen gruplarına ait sinyaller; δ 4.23'de geniş singlet, δ 3.26'de multipler ve δ 2.97'de triplet (J 8.8, 8.2 Hz) şeklinde gözlenmiştir. δ 4.23 ve δ 3.26'de gözlenen protonlara ait sinyallerin kimyasal kayma değerlerinin nispeten aşağı alanda olması, bu protonların azot gibi bir heteroatoma komşu olabileceklerine işaret etmektedir.

Ayrıca bileşiğe ait ^1H NMR spektrumunda singlet olarak izlenen üç proton değerinde (δ 3.88) aromatik metoksil grubuna ait olduğunu düşündüğümüz bir sinyal bulunmaktadır. δ 2.81'de görülen üç proton değerindeki singlet şeklindeki sinyal, *N*-metil grubunun varlığını düşündürmektedir.

Bileşiğe ait ESI kütle spektrumu m/z 288'de $[\text{M}+\text{H}]^+$ izlenmiştir. Elde edilen spektral bulgular ve literatür verileri birlikte değerlendirildiğinde GF-7 kodlu bileşiğin *O,N*-dimetilnorbelladin olduğu tespit edilmiştir. Bileşiğe ait proton kimyasal kayma değerleri literatürle de uyumlu olup **(414)** aşağıda açık kimyasal yapısı verilen bileşik üzerinde gösterilmiştir.



O,N-dimetilnorbelladin daha önce Amaryllidaceae familyasında *Pancratium maritimum* L. **(414)** bitkisinde varlığı tespit edilmiştir. *Galanthus* genusunda ise varlığı ilk kez bu çalışmada rapor edilmiştir.

GF-7 kodlu bileşik üzerinde antikolinesteraz aktivite tayini ilk kez tarafımızdan *in vitro* Ellman esasına dayalı mikrolaka deneyiyle bu çalışmada yapılmıştır. Pozitif kontrol olarak galantaminin (IC_{50} 0.15 μM) kullanıldığı anti-asetilkolinesteraz ve anti-butirilkolinesteraz deneylerinde, bileşiğe ait IC_{50} değerleri sırasıyla 51.83 μM ve 1.51 μM olarak hesaplanmıştır.

4.8. GF-8 [(+)-11-O-asetil-9-O-demetilmaritidin]

O kodlu ana fraksiyon üzerinde yapılan preparatif sütun kromatografisi sonucunda elde edilen 26-39 No'lu fraksiyon, tekrar preparatif sütun kromatografisine tabi tutuldu. Buradan elde edilen 12-15 No'lu fraksiyon preparatif ince tabaka kromatografisi yöntemiyle saflaştırılıp, 13 mg ağırlığında, optikçe aktif olan ($[\alpha]_D +5^\circ$) GF-8 kodlu bileşik elde edilmiştir.

Bileşiğin ^1H NMR spektrumu, 400 MHz spektrometresinde, dötoro kloroform içinde alınmış olup spektrumda toplam on dokuz protona ait sinyal izlenmektedir.

Bileşiğe ait ^1H NMR spektrumu incelendiğinde, aromatik sahada, δ 6.88 ve 6.64'de singlet şeklinde izlenen sinyaller para konumunda bulunan iki protonun varlığına, δ 6.31 ve 6.09'de izlenen ve etkileşme katsayıları 10.4 Hz olan sinyaller ise iki olefinik protonun varlığına işaret etmektedir.

Alifatik alanda ise, δ 4.93'de görülen sinyalin kimyasal kayma değerinin nispeten aşağı alanda olması bu protonun oksijen gibi bir heteroatoma komşu olabileceğine işaret etmektedir. Ayrıca δ 1.96'de üç proton değerinde singlet şeklinde, metil grubuna ait olduğunu düşündüğümüz sinyal gözlenmiştir. Bu durumda molekülde bir adet asetil grubunun varlığından bahsetmek mümkündür. Buna ilaveten oksijen gibi bir heteroatoma komşu olabilecek, kimyasal kayma değeri aşağı alanda bulunan, (δ 4.28) protona ait sinyal mevcuttur. Etkileşme katsayıları 16.8 Hz olan, δ 4.33 ve 3.80'de izlenen sinyaller benzilik metilen gruplarına ait olup, azot gibi bir heteroatoma komşu olduklarından dolayı aşağı alana kaydıklarını söylemek mümkündür. Ayrıca δ 2.09 ve 1.86'de izlenen sinyallerin de (J 13.2) ayrı bir geminal çift oluşturdukları düşünülmektedir. Bunlara ilaveten, δ 3.40-3.45 aralığında iki proton, δ 3.25'de bir proton değerinde, δ 3.80'de ise aromatik metoksil grubuna ait olduğunu düşündüğümüz üç proton değerinde sinyal görülmektedir. ^1H NMR spektrumunda *N*-metil grubuna ait sinyal mevcut değildir.

^{13}C NMR spektrumunda ise toplam on sekiz adet karbona ait sinyaller bulunmaktadır. δ 170.5'de rezonans gösteren karbonun kimyasal kayma değeri karbonil grubu için, δ 55'deki ise metoksil grubu için uygundur. Ayrıca IR spektrumunda 1733 cm^{-1} de gözlenen absorpsiyon molekülde karbonil grubunun varlığını doğrulamaktadır. Çift dimensiyonlu NMR tekniklerinden biri olan HSQC deneyinde $^1J_{CH}$

korelasyonlarının değerlendirilmesiyle, hidrojenler ile üzerlerinde yer aldıkları karbonların eşleştirilmesi mümkün olmuştur. Birbirlerine göre *para* konumunda yer alan singlet şeklinde izlenen protonların üzerlerinde yer aldığı karbonlar δ 109.79 (C-7) ve 109.84 (C-10)'de rezonans göstermişlerdir. δ 125.8 (C-1) ve 131.2 (C-2)'de izlenen sinyaller molekülde olefinik bağın olduğunu doğrulamaktadır. Bunların dışında, ^{13}C NMR spektrumunda, 3 adet metin (δ 80.2, 63 ve 62.4), 3 adet metilen (δ 60, 59.3 ve 31.7) ve 1 adet katerner (δ 48.6) karbonlara ait sinyaller yer almaktadır. Son olarak metil karbonuna ait (δ 19.7) sinyal görülmektedir.

Bileşiğe ait HR-ESI kütle spektrumu incelendiğinde (m/z 332.1511 $[\text{M}+\text{H}]^+$) kapalı formülün $\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{NO}_5$ olduğu tespit edilmiştir.

1D NMR ve HSQC deneylerinden elde edilen bu bulgular, bileşiğin hemantamin tip bir alkaloid olan GF-3 kodlu ((-)-3,11-O-diasetil-9-O-demetilmaritidin) bileşik ile oldukça benzer olduğunu ortaya koymuştur. Ancak 3,11-O-diasetil-9-O-demetilmaritidinin, 1D NMR spektrumlarında C-3 ve C-11 konumlarında 2 asetil grubuna ait sinyaller (Tablo 33) izlenirken, GF-8 kodlu bileşikte ise tek asetil grubuna ait sinyaller (Tablo 34) gözlenmiştir.

Bileşiğin yapısını kesin olarak belirleyebilmek için, HSQC deneyine ilaveten diğer 2D NMR tekniklerinden (^1H , ^1H COSY, HMBC ve NOESY) yararlanılmıştır.

HMBC deneyinde δ 6.88 (H-10)'de izlenen proton, $^3J_{\text{CH}}$ aracılığıyla δ 145.2 (C-8), 123.2 (C-6a) ve 48.6 (C-10b) karbonlarıyla, $^2J_{\text{CH}}$ aracılığıyla ise δ 146.9 (C-9), 133.2 (C-10a) karbonlarıyla etkileşmektedir. δ 6.64 (H-7)'de izlenen proton, δ 146.9 (C-9), 133.2 (C-10a) ve 60 (C-6) karbonlarıyla 3 bağ aracılığıyla, δ 145.2 (C-8), ve 123.2 (C-6a) karbonlarıyla 2 bağ aracılığıyla korelasyon göstermektedir. H-6 (δ 3.80)'daki proton, δ 109.8 (C-7), 62.4 (C-4a), 59.3 (C-12), 133.2 (C-10a)'de rezonans gösteren karbonlarla 3 bağ aracılığı ile, δ 123.2 (C-6a)'de rezonans yapan karbonla 2 bağ aracılığıyla korelasyon göstermektedir. Buna ilaveten H-4a (δ 3.40-3.45)'daki proton ise yine 3 bağ aracılığıyla 59.3 (C-12) karbonuyla etkileşmektedir. Krinin/hemantamin tip bir Amaryllidaceae alkaloidi olduğunu düşündüğümüz bileşiğin 1D ve 2D NMR bulgularından yararlanılarak A, B ve D halkalarında bulunan proton ve karbon kimyasal kayma değerleri yerleştirilmiştir.

HMBC deneyinde δ 6.31 (H-1)'de izlenen proton, $^3J_{CH}$ aracılığıyla δ 133.2 (C-10a) ve 62.9 (C-3) karbonlarıyla, $^2J_{CH}$ aracılığıyla ise δ 48.6 (C-10b) ve 131.2 (C-2) karbonlarıyla etkileşmektedir. δ 6.09 (H-2)'de izlenen proton, δ 48.6 (C-10b) ve 31.7 (C-4) karbonlarıyla 3 bağ aracılığıyla, δ 62.9 (C-3) ve 125.9 (C-1) karbonuyla 2 bağ aracılığıyla korelasyon göstermektedir. Ayrıca δ 1.86 (H-4)'de izlenen proton, $^3J_{CH}$ aracılığıyla δ 131.2 (C-2) ve 48.6 (C-10b) karbonlarıyla, $^2J_{CH}$ aracılığıyla ise δ 62.9 (C-3) ve 62.4 (C-4a) karbonlarıyla etkileşmektedir. Son olarak HMBC deneyinde, δ 4.93 (H-11)'de izlenen proton ise δ 170.5'de rezonans gösteren karbonla etkileşmektedir. Bu durumda asetil grubunun C-11'de yer aldığı tespit edilmiştir.

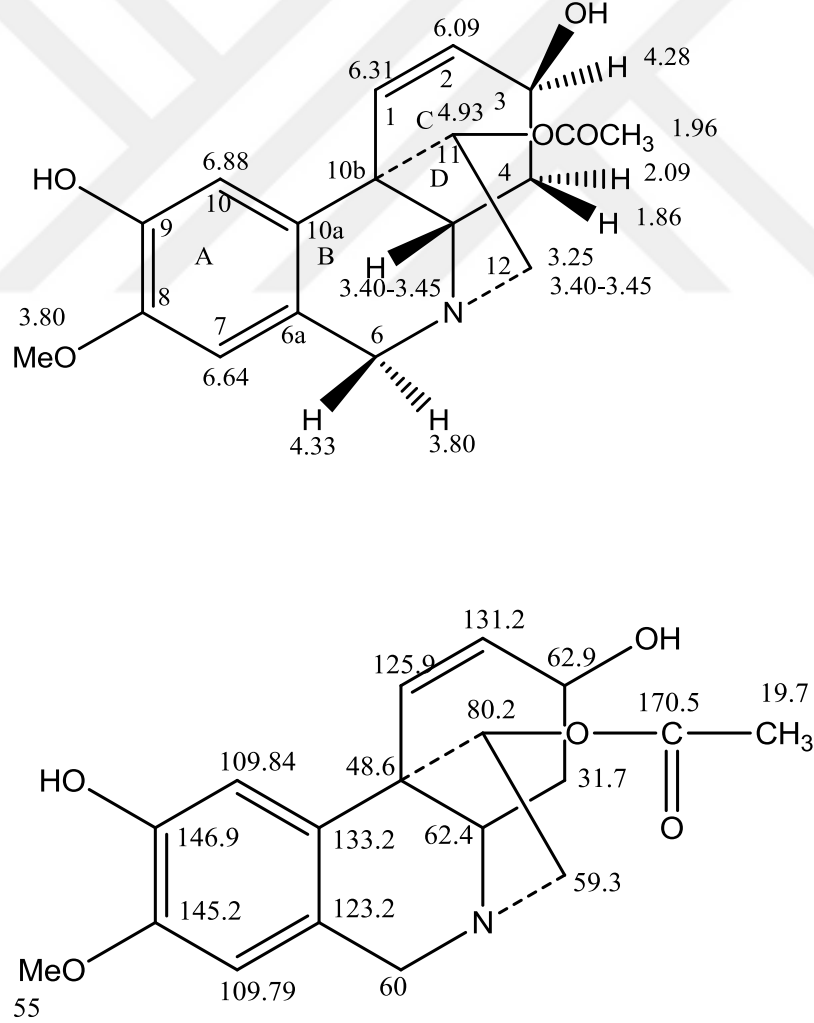
Böylece 1D ve 2D NMR bulgularından yararlanılarak bileşikte bulunan proton ve karbon kimyasal kayma değerleri yerleştirilmiştir. 1H , 1H COSY deneyinden elde edilen bulgular (Tablo 34) molekülün C ve D halkalarına ait protonların dizilişlerini doğrulamaktadır.

GF-8 kodlu bileşiğin mutlak konfigürasyonunu belirlemek amacıyla, CD (Circular Dichroism) spektrumu alınmış olup, 258 nm'de minimum, 286 nm'de ise maksimum izlenmiştir. Bu durumda bileşiğe ait CD spektrumunun α -konumda 5, 10b-etano köprüsü taşıyan hemantamin tip alkaloidlerin CD spektrumlarıyla benzer olduğu tespit edilmiştir **(403)**.

NOESY spektrumundan elde edilen bulguların moleküler model üzerinde değerlendirilmesiyle, δ 4.33 (H-6) ve δ 1.86 (H-4)'deki protonların H-4a (δ 3.40-3.45) ile etkileşmesi, bu protonların da β oryantasyonda olduklarını düşündürmektedir. Bu durum, δ 3.80 (H-6) ve δ 2.09 (H-4)'de izlenen protonların α olarak yönlendiklerine işaret etmektedir. H-3 (δ 4.28)'ün H-4a (δ 3.40-3.45) protonu ile etkileşmemesi ve H-4a (δ 2.09) ile belirgin olarak korelasyon göstermesi H-3 protonunun α oryantasyona sahip olabileceğine düşündürmektedir. Bunun dışında bileşiğe ait 1H NMR spektrumunda H-3 (δ 4.28) protonunun H-1 (δ 6.31) ile etkileşmemesi ve H-2 (δ 6.09) ile ~5 Hz değerinde etkileşme katsayısına sahip olması da H-3'ün α olarak yönlendiğine işaret etmektedir. Tablo (34) **(404)**. Bu grup alkaloidlerde 3 konumunun konfigürasyonunun saptanması için önemli bir kriter optik çevirmenin sayısal değeridir. Epi-türevler olarak tanımlanan 3 α - süstitüent taşıyan türevlerde optik çevirmenin sayısal değeri yaklaşık 100° fazladır **(415)**. Bileşiğe ait $[\alpha]_D$ değerinin +4 çıkması bulgumuzu destekler niteliktedir.

Bunlara ilaveten, δ 4.93 (H-11)'deki protonun H-1 (δ 6.31) ve H-10 (δ 6.88) ile etkileşmesi H-11 (δ 4.93)'in endo, H-12 (δ 3.25)'nin ise H-4 α (δ 2.09) ile etkileşmesi H-12 (δ 3.25)'nin ekso konumda olduğunu düşündürmektedir. Son olarak δ 3.80'deki aromatik metoksil grubu H-7 (δ 6.64) ile etkileştiğinden 8 numaralı katerner karbona (δ 145.2) bağlı olduğu kanıtlanmıştır.

Elde edilen bütün bulgular ve literatür verileri değerlendirildiğinde (+)-11-O-asetil-9-O-demetilmaritidin olarak isimlendirilen GF-8 kodlu bileşiğin doğa için yeni bir bileşik olduğu tespit edilmiştir. Bileşiğe ait proton ve karbon kimyasal kayma değerleri aşağıda açık kimyasal formül üzerinde gösterilmiştir.



Bileşiğin antikolinesteraz aktivite tayini *in vitro* Ellman esasına dayalı mikrolaka deneyiyle yapılmıştır. Pozitif kontrol olarak galantaminin (IC_{50} 0.15 μ M) kullanıldığı anti-asetilkolinesteraz ve anti-bütirilkolinesteraz aktivite tayini çalışmalarında, GF-8 kodlu bileşiğe ait IC_{50} değerleri sırasıyla 6.04 μ M ve 7.43 μ M olarak hesaplanmıştır.

4.9. GF-9 (Hordenin)

T-U kodlu ana fraksiyon üzerinde yapılan preparatif sütun çalışmasıyla elde edilen 12-14 No'lu fraksiyon, tekrardan preparatif sütun kromatografisine tabi tutulmuştur. Daha sonra preparatif ince tabaka kromatografisi yöntemiyle saflaştırılarak elde edilen 10 mg ağırlığında bileşiğe GF-9 kodu verilmiştir.

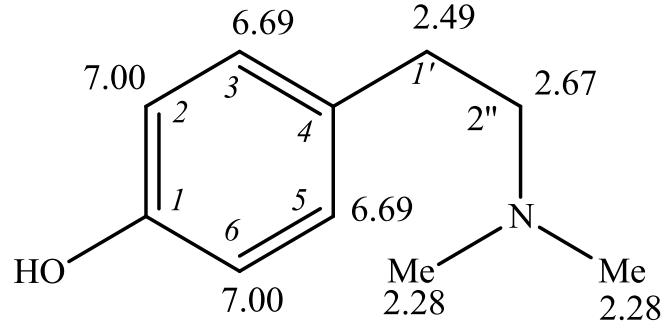
Bileşiğin 1H NMR spektrumu, 400 MHz spektrometresinde, dötoro metanol içinde alınmış olup, spektrumda toplam on dört protona ait sinyal görülmektedir.

Bileşiğe ait 1H NMR spektrumu incelendiğinde, aromatik sahada dört adet proton bulunmaktadır. δ 7.00'de ve δ 6.69'de ikiyeşer hidrojen değerinde, dublet (J 8.8 Hz) olarak izlenen sinyallerin varlığı dikkat çekmektedir. Bu sinyallerin varlığı yapıda paradisüstitüe benzen halkasının olabileceğini düşündürmektedir.

Alifatik sahada ise iki adet ikiyeşer proton değerinde, birbirlerine komşu iki metilen grubuna ait olabilecek sinyaller izlenmektedir. Bu sinyallerden bir tanesi δ 2.49'de multipler şeklinde gözlenirken, δ 2.67'de multipler şeklindeki sinyalin, kimyasal kayma değeri göz önüne alındığında bu protonun azot gibi bir heteroatoma komşu olabileceğini düşündürmektedir.

Ayrıca bileşiğe ait 1H NMR spektrumunda, alifatik alanda (δ 2.28) görülen altı proton değerindeki singlet şeklindeki sinyal ise, *N*-dimetil grubunun varlığına işaret etmektedir.

Bileşiğe ait ESI kütle spektrumu m/z 166'de $[M+H]^+$ izlenmiştir. Elde edilen spektral bulgular ve literatür verileri birlikte değerlendirildiğinde GF-9 kodlu bileşiğin hordenin olduğu tespit edilmiştir. Bileşiğe ait proton kimyasal kayma değerleri literatürle de uyumlu olup **(341)** aşağıda açık kimyasal yapısı verilen bileşik üzerinde gösterilmiştir.



Hordenin daha önce Cactaceae (416) başta olmak üzere, Fabaceae (417), Ranunculaceae (418), Rutaceae (419), Chenopodiaceae (420) ve Asclepiadeceae (421) familyalarına ait genoslarda rapor edilmiştir. Amaryllidaceae familyasında ise *Pancratium maritimum* (414), *Galanthus elwesii* (341) ve *G. plicatus*'dan (340) izole edilmiş olup, gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi yöntemiyle *P. maritimum* (422), *G. rizehensis* (272) ve *G. nivalis* (347) türlerinde varlığı tespit edilmiştir. Ayrıca *Galanthus* türleri üzerinde araştırma grubumuz tarafından yürütülen fitokimyasal çalışmalar kapsamında, Güneydoğu Anadolu bölgesinden toplanan *G. fosteri* bitkisinden de izole edilmiştir.

GF-9 kodlu bileşiğin antikolinesteraz aktivite tayini *in vitro* Ellman esasına dayalı mikropilaka deneyiyle yapılmış olup, pozitif kontrol olarak galantamin (IC_{50} 0.15 μ M) kullanılmıştır. Asetilkolinesteraz ve butirilkolinesteraz inhibisyon aktivitesi deneylerinde bileşiğe ait IC_{50} değerleri sırasıyla 6.04 μ M ve 7.43 μ M olarak hesaplanmıştır. Literatürde hordenine ait antikolinesteraz aktivite ile ilgili yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır.

4.10. GF-10 [(+)-Vittatin]

T-U kodlu ana fraksiyon üzerinde yapılan preparatif sütun kromatografisi sonucunda elde edilen 12-14 No'lu fraksiyon tekrardan preparatif sütun kromatografisine tabi tutulmuştur. Elde edilen alt fraksiyonlar arasından 15 No'lu fraksiyon üzerinde preparatif İ.T.K. yöntemi kullanılarak saflaştırma yapılmış, 6 mg ağırlığında bileşik elde edilmiştir. Optikçe aktif olan ($[\alpha]_D +24^\circ$) bu bileşiğe GF-10 kodu verilmiştir.

Bileşiğin ^1H NMR spektrumu, 400 MHz spektrometresinde, dötoro metanol içinde alınmış olup, spektrumda toplam on altı protona ait sinyaller görülmektedir.

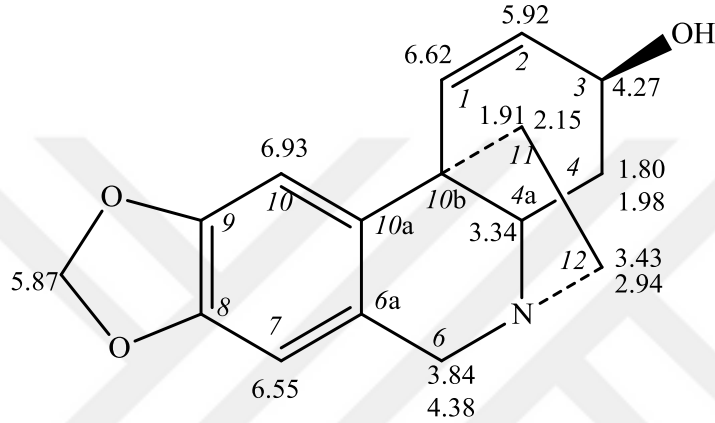
Bileşiğe ait ^1H NMR spektrumu incelendiğinde, δ 6.93 ve 6.55'de iki singlet şeklinde izlenen aromatik protonlara ait sinyaller, para konumunda bulunan iki protonun varlığına işaret etmektedir. Ayrıca spektrumda etkileşme katsayıları 10 Hz olan iki olefinik protona (δ 6.62 ve 5.92) ait sinyaller izlenmektedir. Bunların dışında δ 5.87'de görülen iki proton değerinde, singlet şeklindeki sinyal metilendioksi grubunun varlığına işaret etmektedir.

Alifatik alanda, etkileşme katsayıları 13.4 Hz olan δ 3.43 ve 2.94'de bulunan protonların geminal çift oluşturdıkları düşünülmektedir. Ayrıca δ 4.38 ve 3.84'de izlenen dublet şeklindeki sinyallerin (J 16.4 Hz) kimyasal kayma değerlerinin nispeten aşağı alanda olması, azot gibi bir heteroatoma komşu olabilecek benzilik metilen gruplarına ait olduklarına işaret etmektedir. Buna ilaveten, δ 4.27'de görülen sinyalin kimyasal kayma değerinin, nispeten spektrumun aşağı alanında izlenmesi, bu protonun da bir heteroatoma komşu olabileceğine işaret etmektedir. Bunların dışında, alifatik alanda, δ 3.34, 2.15, 1.98, 1.91 ve 1.80'de birer proton değerinde sinyaller görülmektedir. Spektrumda metoksil ve *N*-metil gruplarına ait sinyaller mevcut değildir.

^1H NMR spektrumundan elde edilen bu bilgiler ışığında, bileşiğin krinin/hemantamin, likorin veya montanın tip çekirdeğe sahip bir Amaryllidaceae alkaloidi olabileceği düşünülmüştür. Ancak molekülde, *trans* etkileşim gösteren visinal protonların bulunmaması, iki olefinik hidrojenin bulunmasından dolayı krinin/hemantamin çekirdeğine sahip olma olasılığının yüksek olduğu söylenebilir.

Literatür verileriyle karşılaştırıldığında elde edilen bulguların 3 konumunda bir hidroksil süstitüsüyonu bulunan krinin/hemantamin halkası için uygun olduğu saptanmıştır (**323**, **423**). Bu grup alkaloitlerde, 3 konumunun konfigürasyonunun saptanması için önemli bir kriter, optik çevirmenin sayısal değeridir. GF-12 kodlu bileşiğimizin metanol içerisinde ölçülen optik çevirme derecesinin $+24^\circ$ olarak saptanması, C-3 konumundaki hidroksil grubunun konfigürasyonunun β olduğuna işaret etmektedir. Zira (+)-krinin serisinde, 3β -hidroksil taşıyan türevlerin oldukça küçük pozitif rotasyon değerleri verdiği, buna karşılık 3α -hidroksil taşıyan türevlerde yaklaşık 100° 'lik bir optik çevirme farkına neden olduğu tespit edilmiştir (**415**).

Bileşiğe ait ESI kütle spektrumu m/z 272’de $[M+H]^+$ izlenmiştir. Elde edilen spektral bulgular ve literatür verileri birlikte değerlendirildiğinde GF-10 kodlu bileşiğin hemantamin tip Amaryllidaceae alkaloitlerinden vittatin olduğu saptanmıştır. Bileşiğe ait proton kimyasal kayma değerleri literatürle de uyumlu olup, aşağıda açık kimyasal yapısı verilen bileşik üzerinde gösterilmiştir. (323, 414, 423-429).



Vittatin alkaloidi daha önce Amaryllidaceae familyasında *Galanthus trojanus* (339), *G. elwesii* (341) *G. rizehensis* (218) türlerinde ve *Hippeastrum* (193, 294, 423, 424, 430-432), *Narcissus* (394, 433), *Pancratium* (268, 400, 414, 425, 434, 435), *Sternbergia* (268, 390, 429), *Nerine* (425), *Hymenocallis* (427, 436), *Zephyranthes* (437), *Crinum* (438), *Rodophiala* (439) ve *Lycoris* (428) türlerinden rapor edilmiştir. *G. fosteri* bitkisinde varlığı ise ilk kez bu çalışmada bulunmuştur.

GF-10 kodlu bileşik üzerinde butirilkolinesteraz inhibitör aktivite tayini *in vitro* Ellman esasına dayalı mikrolaka deneyiyle yapılmıştır. Pozitif kontrol olarak galantaminin (IC_{50} 0.15 μ M) kullanıldığı deneyde vittatine ait IC_{50} değeri 10.59 μ M olarak hesaplanmıştır. Anti-asetilkolinesteraz aktivite tayini ise daha önce aynı yöntemle çalışma grubumuz tarafından yapılmış olup aktif olduğu gözlenmemiştir (229). Vittatine ait antikolinesteraz aktivite deneyleri literatürde mevcuttur (229, 285).

V. BÖLÜM

SONUÇ VE ÖNERİLER

Araştırmamızın ilk aşamasında, Türkiye’de yabani olarak yetişen *Galanthus fosteri* Baker bitkisinin tayinine yardımcı olmak, Herba ve Bulbus Galanthi droglarına ait ilerde hazırlanabilecek monografilerin yazılmasına kaynak oluşturabilmek amacıyla çiçek durumu sapı, kök, yaprak, çiçek, meyve ve soğana ait anatomik karakterler belirlenmiş, toz drog örnekleri üzerinde de mikroskopik incelemeler yapılmıştır.

Çalışmamızın ikinci aşamasında, Avrupa Farmakopesi’nde yer alan yöntemler esas alınarak, toplanan bitkisel materyalden hazırlanan ÇTÜ, ÇTA, MTÜ, MTA kodlu örnekler üzerinde kalite kontrol deneyleri (kurutmada kayıp, total kül, sülfat külü ve hidroklorik asitte çözünmeyen kül) yapılmıştır. Elde edilen bulgulardan, *G. fosteri* bitkisinin kaynak olarak seçildiği Herba ve Bulbus Galanthi drogları için, ilerde hazırlanabilecek monografilerde yer alabilecek kalite kontrol deneylerine ait sınır değerlerin saptanmasında yararlanılabilir.

Herba ve Bulbus Galanthi droglarının kalite özelliklerinin saptanmasında yararlanılabilecek bir diğer deney olan total alkaloit miktar tayini için, tarafımızdan uygulanan titrimetrik esaslı yöntem kullanılabilir. Buna ilaveten, Yakın İnfrared Spektroskopi (NIRS) gibi yöntemlerin de araştırılıp, uygulanabilirliği değerlendirilmelidir (440).

ÇTÜ, ÇTA, MTÜ, MTA kodlu örnekler üzerinde, yüksek basınçlı sıvı kromatografisi kullanılarak gerçekleştirilen deneyler sonucunda, önemli farmakolojik aktivitelere sahip olmaları nedeniyle, galantamin ve likorin alkaloitlerinin miktarları tayin edilmiştir. Galantaminin elde edilmesi için meyveli dönemde toplanmış bitkinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan Herba Galanthi (MTÜ), likorin eldesi için ise çiçekli dönemde toplanmış bitkinin toprak altı kısımlarından hazırlanan Bulbus Galanthi droglarından (ÇTA) yararlanılması uygun olacaktır. ÇTÜ ve MTA kodlu örneklerde ise galantamin ve likorinin kantitatif olarak hesaplanabilecek düzeyde bulunmadığı ve dolayısıyla bu örneklerin söz konusu alkaloitlerin kaynağı olarak kullanılamayacağı belirtilebilir.

Gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC-MS) yöntemi, karışım halinde bileşenleri içeren ekstrelerin içeriklerinin araştırılmasında kullanılan hızlı ve güvenilir bir yöntem olup, son yıllarda alkaloidlerin analizinde yaygın olarak kullanılmaktadır **(192, 394, 400)**. Araştırmamızda *G. fosteri* bitkisinden hazırlanan çiçekli ve meyveli dönemde toplanan örneklerden hazırlanan Herba ve Bulbus Galanthi droglarının, GC-MS yöntemiyle alkaloid içeriklerinin tayini ilk kez tarafımızdan gerçekleştirilmiştir. Bu çalışma sonucunda toplam yirmi üç adet alkaloid saptanmış olup, alkaloid içeriği açısından en zengin droğun meyveli dönemde toplanmış bitkiden hazırlanan Bulbus Galanthi droğu (MTA) olduğu tespit edilmiştir.

Biyolojik aktivite eşliğinde gerçekleştirilen izolasyon ve yapı aydınlatma çalışmalarında, *G. fosteri* bitkisinden hazırlanan total alkaloid ekstresi fraksiyonlandırıldıktan sonra her bir fraksiyonun antikolinesteraz aktivitesi, standart olarak galantaminin kullanıldığı *in vitro* Ellman esasına dayalı mikropilaka deneyiyle belirlenmiştir. Aktif fraksiyonlar üzerinde gerçekleştirilen izolasyon çalışmaları sonucunda on adet bileşik elde edilmiş ve yapıları modern spektroskopik yöntemler (UV, IR, MS, NMR) kullanılarak aydınlatılmıştır. Bu bileşiklerden, farklı familyalara ait genoslarda rapor edilen hordenin ve anti-asetilkolinesteraz aktivitesinden dolayı Alzheimer Hastalığı'nın tedavisinde kullanılan (-)-galantamin, daha önce araştırma grubumuz tarafından *Galanthus* türleri üzerinde yürütülen fitokimyasal çalışmalar kapsamında, Güneydoğu Anadolu bölgesinden toplanan *G. fosteri* örneğinden izole edilmiştir **(410)**. Ancak Amaryllidaceae alkaloidlerinin hemantamin alt grubuna ait olan (+)- vittatin, likorin alt grubundan olan (-)-galantin ve (-)-inkartin alkaloidlerinin *G. fosteri* bitkisinde bulunuşları ise ilk kez tarafımızdan bu araştırmada rapor edilmektedir.

Bunların dışında araştırmamızda elde edilen *O,N*-dimetilnorbelladin Amaryllidaceae alkaloidlerinin biyosentez yollarında önemli bir rol oynayan bileşiktir. *O,N*-dimetilnorbelladin ile izole ettiğimiz likorin alt grubuna dahil olan olan (-)-9-*O*-metilpsödolikorin adlı alkaloid ise daha önce Amaryllidaceae familyasının bazı üyelerinden elde edilmiştir. Ancak bu iki alkaloidin *Galanthus* genusunda bulunuşları ilk kez bu araştırmada tespit edilmiştir.

Bu bileşikler dışında izole ettiğimiz, Amaryllidaceae alkaloitlerinin likorin alt sınıfından (-)-oksoinkartin, hemantamin alt sınıfından (-)-3,11-*O*-diasetil-9-*O*-demetilmaritidin ile (+)-11-*O*-asetil-9-*O*-demetilmaritidin doğa için yeni bileşiklerdir.

Elde edilen bulgular, araştırmamıza konu olan *G. fosteri* bitkisinin, farklı iskelet yapılarına sahip Amaryllidaceae alkaloidlerine ve dolayısıyla zengin kimyasal içeriğe sahip olduğunu ortaya koymuştur.

İzolasyon ve yapı aydınlatma işlemlerinin tamamlanmasının ardından elde edilen saf bileşikler üzerinde *in vitro* Ellman esasına dayalı mikropilaka yöntemiyle asetilkolinesteraz ve butirilkolinesteraz enzimlerini inhibe edici etkileri, standart olarak galantamin kullanılarak gerçekleştirilmiş ve aktif bulunan bileşiklerin IC₅₀ değerleri hesaplanmıştır.

(-)-Galantin, (-)-inkartin, hordenin, (-)-3,11-*O*-diasetil-9-*O*-demetilmaritidin ve (+)-11-*O*-asetil-9-*O*-demetilmaritidin bileşiklerinin anti-asetilkolinesteraz aktiviteleri daha fazla iken, (+)-vittatin, *O,N*-dimetilnorbelladin ve (-)-9-*O*-metilpsödolikorin bileşiklerinin ise anti-butirilkolinesteraz aktivitelerinin daha yüksek olduğu gözlenmiştir.

İnkartin ve vittatin alkaloitlerinin anti-asetilkolinesteraz aktiviteleri daha önce çalışma grubumuz tarafından (88) saptandığı için benzer sonuçlar elde edilebileceği düşüncesiyle tekrarlanmamıştır. Ancak izole edilen diğer bileşiklerin anti-asetilkolinesteraz ve ayrıca tüm bileşiklerin anti-butirilkolinesteraz aktiviteleri çalışılmıştır. Elde edilen sonuçları ve daha önceki çalışmaların bulguları değerlendirildiğinde, inkartin alkaloidinin anti-asetilkolinesteraz ve anti-butirilkolinesteraz aktiviteleri mevcut iken, doğa için yeni bileşik olan oksoinkartinin aktivite göstermediği saptanmıştır. Bu bulguyu destekleyici olarak, literatürde okso fonksiyonu taşıyan oksoassoanin bileşiğinin assoanin bileşiğine göre benzer şekilde düşük aktivite göstermesi ileride bu konuda daha detaylı çalışmaların yapılmasını düşündürmektedir (11).

VI. BÖLÜM

YARARLANILAN KAYNAKLAR

1. Acartürk R. Şifalı bitkiler, flora ve sağlığımız. Ankara: Orman Genel Müdürlüğü Mensupları Yardımlaşma Vakfı; 2001.
2. Baytop T. Türkiye’de bitkilerle tedavi. İstanbul: Sanal Matbaacılık; 1999.
3. Davis AP. The Genus *Galanthus*. Oregon: Timber Press Inc., 1999; p. 15-170.
4. Zeybek N, Sauer E. Türkiye Kardelenleri (*Galanthus* L.) I. İzmir: Ege Üniversitesi Basımevi; 1995.
5. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı. Doğal çiçek soğanlarının 2015 yılı ihracat listesi hakkında tebliğ (No: 2014/56). Resmî Gazete 4.12.2014; 29195.
6. Wu L, Bao J. Anti-tumor and anti-viral activities of *Galanthus nivalis* agglutinin (GNA)-related lectins. Glycoconj J 2013;30:269–279.
7. Xu H, Li C, He X, Niu K, Peng H, Li W, et. al. Molecular modeling, docking and dynamics simulationsof GNA-related lectins for potential prevention of influenza virus (H1N1). Journal of Molecular Modeling 2012;18:27–37.
8. Li C, Meng L, Liu B, Bao J. *Galanthus nivalis* Agglutinin (GNA)-Related lectins: Traditional proteins, burgeoning drugs? Current Chemical Biology 2009;3(3):323-333(11).
9. Harvey AL. The pharmacology of galanthamine and its analogues. Pharmacology & Therapeutics 1995;68 (1):113-128.
10. Boissier JR, Combes G, Pagny J. La galanthamine, puissant cholinergique naturel. Annales Pharmaceutiques Françaises 1960;18:888-900.
11. Elgorashi EE, Malan SF, Stafford GI, Staden Van J. Quantitative structure-activity relationship studies on acetylcholinesterase enzyme inhibitory effects of Amaryllidaceae alkaloids. South African Journal of Botany 2006;72:224-231.
12. Fillik A. İzmir, Kemalpaşa, Nif dağında yetişen *Galanthus gracilis* Çelak. üzerinde bazı farmakognozik çalışmalar. Yüksek lisans tezi. İzmir: Ege Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2002.

13. Weniger B, Italiano L, Beck JP, Bastida J, Bergoñón S, Codina C. Cytotoxic activity of Amaryllidaceae alkaloids. *Planta Medica* 1995;61:77-79.
14. Triana-Vidal LE, Carvajal-Varona SM. Protective effect of galantamine against oxidative damage using human lymphocytes: A novel *in vitro* model. *Archives of Medical Research* 2013;44(2):85–92.
15. Rao VK, Rao AJ, Reddy SS, Raju CN, Rao PV, Ghosh SK. Synthesis, spectral characterization and biological evaluation of phosphorylated derivatives of galanthamine. *European Journal of Medicinal Chemistry* 45 2010; 203–209.
16. Yanagida T, Takeuchi H, Kitamura Y, Takata K, Minamino H, Shibaike T, et. al. Synergistic effect of galantamine on nicotine-induced neuroprotection in hemiparkinsonian rat model. *Neuroscience Research* 2008;62: 254–261.
17. Feldman HH., Pirttila T, Dartigues JF, Everitt B, Van Baelen B, Brashear HR, et. al. Analyses of mortality risk in patients with dementia treated with galantamine. *Acta Neurologica Scandinavica* 2009;119:22-31.
18. Lilienfeld S. Galantamine-a novel cholinergic drug with a unique dual mode of action for the treatment of patients with Alzheimer's Disease. *CNS Drug Reviews* 2002;8(2):159-176.
19. Sweeney JE, Höhmann CF, Moran TH, Coyle JT. A Long-acting cholinesterase inhibitor reverses spatial memory deficits in mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 1988;31:141-147.
20. Shu YZ. Recent natural products based drug development: A pharmaceutical industry perspective. *Journal of Naturel Products* 1998;61:1053-1071.
21. Maelicke A, Edson X, Albuquerque B. Allosteric modulation of nicotinic acetylcholine receptors as a treatment strategy for Alzheimer's Disease. *European Journal of Pharmacology* 2000;393:165-170.
22. Schrattenholz A, Pereira EF, Roth U, Weber KH, Albuquerque EX, Maelicke A. Agonist responses of neuronal nicotinic acetylcholine receptors are potentiated by a novel class of allosterically acting ligands. *Molecular Pharmacology* 1996;49(1):1-6.
23. Schilstrom B, Ivanov VB, Wiker C, Svensson TH. Galantamine enhances dopaminergic neurotransmission *in vivo* via allosteric potentiation of nicotinic acetylcholine receptors. *Neuropsychopharmacology* 2007;32:43-53.

24. Arias E, Alés E, Gabilan NH, Cano-Abad MF, Villarroya M, García AG, et. al. Galantamine prevents apoptosis induced by β -amyloid and thapsigargin: involvement of nicotinic acetylcholine receptors. *Neuropharmacology* 2004;46:103-114.
25. Ezoulin JM, Ombetta JE, Dutertre-Catella H, Warnet JM, Massicot F. Antioxidative properties of galantamine on neuronal damage induced by hydrogen peroxide in SK-N-SH cells. *NeuroToxicology* 2008;29(2):270-277.
26. Iliev AI, Traykov VB, Mantchev GT, Stoykov I, Prodanov D. A post-ischaemic single administration of galanthamine, a cholinesterase inhibitor, improves learning ability in rats. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 2000;52:1151-1156.
27. Ji X, Li C, Luc Y, Chena Y, Guoa L. Post-ischemic continuous administration of galantamine attenuates cognitive deficits and hippocampal neurons loss after transient. *Neuroscience Letters* 2007;416: 92-95.
28. Lorrio S, Negrado P, Roda JM, García AG, López MG. Effects of memantine and galantamine given separately or in association, on memory and hippocampal neuronal loss after transient global cerebral ischemia in gerbils. *Brain Research* 2007a;1254:128-137.
29. Lorrio S, Sobrado M, Arias E, Roda JM, García AG, López MG. Galantamine postischemia provides neuroprotection and memory recovery against transient global cerebral ischemia in gerbils. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutic* 2007b;322:591-599.
30. Matharu B, Gibson G, Parsons R, Huckerby TN, Moore SA, Cooper LJ, et. al. Galanthamine inhibits β -amyloid aggregation and cytotoxicity. *Journal of the Neurological Sciences* 2009;280:49-58.
31. Melo JB, Sousa C, Garçao P, Oliveira CR, Agostinho P. Galantamine protects against oxidative stress induced by amyloid-beta peptide in cortical neurons. *European Journal of Neuroscience* 2009;29:455-464.
32. Conley R, Boggs D, Kelly D, McMahon R, Dickinson D, Feldman S, et. al. The effects of galantamine on psychopathology in chronic stable schizophrenia. *Clinical Neuropharmacology* 2009;32(2):69-74.
33. Tanker M, Çitoğlu G, Gümüşel B, Şener B. Alkaloids of *Sternbergia clusiana* and their analgesic effects. *International Journal of Pharmacognosy* 1996;34(3):194-197.

34. Çitoğlu GS, Acıkara BÖ, Yılmaz BS, Özbek H. Evaluation of analgesic, anti-inflammatory and hepatoprotective effects of lycorine from *Sternbergia fisheriana* (Herbert) Rupr. *Fitoterapia* 2012;83:81–87.
35. Abdalla S, Abu Zarga M, Sabri S. Alkaloids of *Sternbergia clusiani* and effects lycorine on guinea-pig isolated pulmonary artery and heart. *Fitoterapia* 1993;64(6):513-518.
36. Sharaf A, Fahmy IR, Ahmed ZF, Rizk AM. A pharmacological study of *Pancratium sickenberi* Asch. Et Sfth. *Planta Medica* 1960;322-327.
37. Hohmann J, Forgo P, Molnar J, Wolfard K, Molnar A, Thalhammer T, Mathe I. Antiproliferative Amaryllidaceae alkaloids isolated from the bulbs of *Sprekelia formosissima* and *Hymenocallis x festalis*. *Planta Medica* 2002;68(5):454-457.
38. Schmeda-Hirschmann G, Astudillo L, Bastida J, Viladomat F, Codina C. DNA binding activity of Amaryllidaceae alkaloids. *Boletín de la Sociedad Chilena de Química* 2000;45: 515-518.
39. Deng L, Dai P, Ciro A, Smee DF, Djaballah H, Shuman S. Identification of novel antipoxviral agents: Mitoxantrone inhibits vaccinia virus replication by blocking virion assembly. *The Journal of Virology* 2007;81(24):13392-13402
40. Hwang C, Chu JJ, Yang PL, Chen W, Yates MV. Rapid identification of inhibitors that interfere with poliovirus replication using a cell-based assay. *Antiviral Research* 2008;77:232-236.
41. Zou G, Puig-Basagoiti F, Zhang B, Qing M, Chen L, Pankiewicz KW, et. al. A single-amino acid substitution in west nile virus 2K peptide between NS4A and NS4B confers resistance to lycorine, a flavivirus inhibitor. *Virology* 2009;384: 242-252.
42. He J, Qi W, Wang L, Tian J, Jiao P, Liu G, et. al. Amaryllidaceae alkaloids inhibit nuclear-to-cytoplasmic export of ribonucleoprotein (RNP) complex of highly pathogenic avian influenza virus H5N1. *Influenza Journal* 2012;7(6): 922–931.
43. Çitoğlu G, Tanker M, Gümüşel B. Antiinflammatory effects of lycorine and haemanthidine. *Phytotherapy Research* 1988;12: 205-206
44. Cedrón JC, Gutiérrez D, Flores N, Ravelo AG, Estévez-Braun A. Synthesis and antiplasmodial activity of lycorine derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 2010;18:4694–4701.

45. Dyk SV, Griffiths S, Zyl RLV, Malan SF. The importance of including toxicity assays when screening plant extracts for antimalaryarial activity. *African Journal of Biotechnology* 2009;8:5595-5601.
46. Shen J, Ruan Y, Ren W, Ma B, Wang X, Zheng C. Lycorine: A potential broad-spectrum agent against crop pathogenic fungi. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 2014;24(3):354–358.
47. Ilavenil S, Kaleeswaran B, Ravikumar S. Protective effects of lycorine against carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in Swiss albino mice. *Fundamental and Clinical Pharmacology* 2012;26:393–401.
48. Leifertova I, Brazdova V. Alkaloids of *Galanthus nivalis* grown in Slovakian provinces. *Ceskoslovenska Farmacie* 1967;16 (7):352-354. *Chemical Abstract* 1968;68:6133w.
49. Li L, Dai H, Ye M, Wang S, Xiao X, Zheng J, Chen H, et. al. Lycorine induces cell-cycle arrest in the G0/G1 phase in K562 cells via HDAC inhibition. *Cancer Cell International* 2012;12:49.
50. Wang P, Yuan H, Zhang X, Li Y, Shang L, Yin Z. Novel lycorine derivatives as anticancer agents: synthesis and *in vitro* biological evaluation. *Molecules* 2014;19:2469-2480.
51. McNulty J, Nair JJ, Bastida J, Pandey S, Griffin C. Structure-activity studies on the lycorine pharmacophore: A potent inducer of apoptosis in human leukemia cells. *Phytochemistry* 2009;70(7):913-919.
52. Liu XS, Jiang J, Jiao XY, Wub YE, Lin JH, Cai YM. Lycorine induces apoptosis and down-regulation of Mcl-1 in human leukemia cells. *Cancer Letters* 2009;274:16-24.
53. Evidente A, Kireev AS, Jenkins AR, Romero AE, Steelant WFA, Van Slambrouck S, et. al. Biological evaluation of structurally diverse Amaryllidaceae alkaloids and their synthetic derivatives. Discovery of novel leads for anticancer drug design. *Planta Medica* 2009;75(5):501-507.
54. Giordani RB, Weizenmann M, Rosemberg DB, De Carli GA, Bogo MR, Zuanazzi JAS, et. al. *Trichomonas vaginalis* nucleoside triphosphate

diphosphohydrolase and ecto-5'-nucleotidase activities are inhibited by lycorine and candimine. *Parasitology International* 2010;59:226–231.

55. Giordani RB, Vieira PB, Weizenmann M, Rosemberg DB, Souza AP, Bonorino C, et. al. Lycorine induces cell death in the amitochondriate parasite, *Trichomonas vaginalis*, via an alternative non-apoptotic death pathway. *Phytochemistry* 2011;72:645–650.

56. Giordani RB, Junior COR, de Andrade JP, Bastida J, Zuanazzi JAS, Tasca T, et. al. Lycorine derivatives against *Trichomonas vaginalis*. *Chemical Biology & Drug Design* 2012;80:129–133.

57. Sarikaya BB, Zencir S, Somer NU, Kaya GI, Onur MA, Jaume Bastida J, et. al. The effects of arolycoricidine and narciprimine on tumor cell killing and topoisomerase activity. *Records of Natural Products* 2012;6:4:381-385.

58. Nair JJ, Rarova L, Strnad M, Bastida J, van Staden J. Apoptosis-inducing effects of distichamine and narciprimine, rare alkaloids of the plant family Amaryllidaceae. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 2012;22:6195–6199.

59. Luchetti G, Johnston R, Mathieu V, Florence Lefranc F, Kathryn Hayden K, Andolfi A, et. al. Bulbispermine: A crinine-type Amaryllidaceae alkaloid exhibiting cytostatic activity toward apoptosis-resistant glioma cells. *ChemMedChem* 2012;7:815 – 822.

60. Havelek R, Seifrtova M, Kralovec K, Bruckova L, Cahlikova L, Dalecka M, et. al. The effect of Amaryllidaceae alkaloids haemanthamine and haemanthidine on cell cycle progression and apoptosis in p53-negative human leukemic Jurkat cells. *Phytomedicine* 2014;21:479–490.

61. Ceriotti G. Narciclasine: An antimitotic substance from *Narcissus* bulbs. *Nature* 1967;213:595-596.

62. Ingrassia L, Lefranc F, Dewelle J, Pottier L, Mathieu V, Spiegl-Kreinecker S, et. al. Structure-activity relationship analysis of novel derivatives of narciclasine (An Amaryllidaceae isocarbostryl derivative) as potential anticancer agents. *Journal of Medicinal Chemistry* 2009;52(4):1100-1114.

63. Matveenkov M, Banwell MG, Joffeb M, Wanb S, Fantinob E. Biological evaluation of ent-narciclasine, ent-lycoricidine, and certain enantiomerically-related congeners. *Chemistry & Biodiversity* 2009;6(5):685-692.
64. McLachlan A, Kekre N, McNulty J, Pandey S. Pancratistatin: A natural anti-cancer compound that targets mitochondria specifically in cancer cells to induce apoptosis. *Apoptosis* 2005;10:619-630.
65. McNulty J, Nair JJ, Codina C, Bastida J, Pandey S, Gerasimoff J, Griffin C. Selective apoptosis-inducing activity of crinum-type Amaryllidaceae alkaloids. *Phytochemistry* 2007;68 (7):1068-1074.
66. Piozzi F, Fuganti C, Mondelli R, Ceriotti G. Narciclasine and narciprimine. *Tetrahedron* 1968;24:1119-1131.
67. Zhang W, Shen Y, Shi Q, Zhang C, Su J, Li H, et. al. Natural alkaloids containing lycorenan-7 one, narciprimine and arolycoricidine with antitumor effect. *Faming Zhuanli Gongkai Shuomingshu* 2008;9.
68. Zupko I, Rethy B, Hohmann J, Molnar J, Ocsovszki I, Falkay G. Antitumor activity of alkaloids derived from Amaryllidaceae species, *in vivo*, 2009;23(1):41-48.
69. Antoun MD, Mendoza NT, Rios YR, Proctor GR, Wickramaratne DBM, Pezzuto JM, et. al. Cytotoxicity of *Hymenocallis expansa* alkaloids. *Journal of Natural Products* 1993;56(8):1423-1425.
70. Kaya GI, Sarikaya B, Onur MA, Somer NU, Viladomat F, Codina C, et. al. Antiprotozoal alkaloids from *Galanthus trojanus*. *Phytochemistry Letters* 2011;4:301–305.
71. Osorio EJ, Berkov S, Brun R, Codina C, Viladomat F, Cabezas F, et. al. *In vitro* antiprotozoal activity of alkaloids from *Phaedranassa dubia* (Amaryllidaceae). *Phytochemistry Letters* 2010;3:161–163.
72. Park JB. Synthesis and characterization of norbelladine, a precursor of Amaryllidaceae alkaloid, as an anti-inflammatory/anti-COX compound. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 2014;24:5381–5384.
73. Cedrón JC, Gutiérrez D, Flores N, Ravelo AG, Estévez-Braun A. Synthesis and antimalarial activity of new haemanthamine-type derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 2012;20:5464–5472.

74. Şener B, Orhan İ, Satayavivad J. Antimalarial activity screening of some alkaloids and the plant extracts from Amaryllidaceae. *Phytotherapy Research* 2003;17(10):1220-1223.
75. Baytop T, Mathew B. The bulbous plants of Turkey. London: B.T. Batsford Ltd., 1984; p. 21-23.
76. Brickell CD. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. In: Davis PH, editör. Vol 8, *Galanthus* L. Edinburgh: Edinburgh University Press, 1984; p. 365-371
77. Willis JC. Amaryllidaceae. In: Shaw AHK, editor. A dictionary of the flowering plants & ferns, 8th Ed. Cambridge: Cambridge University Press, 1988; p. 49-50.
78. Brickell CD. Vol 10, *Galanthus* L. In: Davis PH, Mill RR, Tan K, editors. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Edinburgh: Edinburgh University Press, 1984; p. 226-227
79. Davis AP. *Galanthus* L. In: Güner A, Özhatay N, Ekim T, Başer KHC, editors. Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Vol 11. Edinburgh: Edinburgh University Press, 2000; p. 265-270
80. Davis AP, Özhatay N. *Galanthus trojanus*: A new species of *Galanthus* (Amaryllidaceae) from North-Western Turkey. *Botanical Journal of the Linnean Society* 2001;137:409-412
81. Davis AP, Barnett JR. The leaf anatomy of the genus *Galanthus* L. (Amaryllidaceae J. St.- Hil.). *Botanical Journal of the Linnean Society* 1997;123:333-352.
82. Davis AP. The Genus *Galanthus*, Oregon: Timber Press Inc., 1999;130-133.
83. Bishop M, Davis A, Grimshaw J. Snowdrops. Cheltenham, UK: Griffin Press Publishing Ltd.; 2006.
84. Dönmez EO, Işık S. Pollen morphplogy of Turkish Amaryllidaceae, Ixioliriaceae and Iridaceae. *Grana* 2008;47:15-38.
85. Şahin NF. Morphological anatomical and physiological studies on *Galanthus ikariae* Baker and *G. rizehensis* Stern (Amaryllidaceae) grown around NE Turkey. *Pakistan Journal of Botany* 1998;30(1):117-131.

86. Özdemir C, Alçitepe E. Morphological and anatomical study on *Galanthus gracilis* (Amaryllidaceae). Biomedical and Life Sciences 2010;4 : 151-157
87. Emir A. *Galanthus woronowii* Losinsk. bitkisinin kalite kontrol açısından değerlendirilmesi. Yüksek lisans tezi. İzmir: Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2010.
88. Sarıkaya BB. *Galanthus rizehensis* Stern bitkisinin farmakognozik yönden değerlendirilmesi. Doktora tezi. İzmir: Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2010.
89. Kaya Gİ. Çanakkale kaynaklı *Galanthus nivalis* L. subsp. *cilicicus* (Baker) Gottlieb-Tannenhain örneği üzerinde farmakognozik araştırmalar. Doktora tezi. İzmir: Ege Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2003.
90. Çelik Sarıer D. (2002). İzmir, Yamanlar, Karagöl çevresinde yetişen *Galanthus elwesii* Hook. üzerinde bazı farmakognozik çalışmalar. Yüksek lisans tezi. İzmir: Ege Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2002.
91. Ekici N, Dane F. Calcium oxalate crystals in vegetative and floral organs of *Galanthus* sp. (Amaryllidaceae). Asian Journal of Plant Sciences 2007;6(3):508-512.
92. Aschan G, Pfanz H. Why snowdrop (*Galanthus nivalis* L.) tepals have green marks?. Flora 2006;201:623-632.
93. Papanicolaou K, Zacharof E. Cytological notes and taxonomic comments on four *Galanthus* L. taxa from Greece. Israel Journal of Botany 1983;32:22-32.
94. Tan K, Biel B, Siljak-Yakovlev S. *Galanthus samothracicus* (Amaryllidaceae) from the island of Samothraki, northeastern Greece. Phytologia Balcanica 2014;20(1):65-70.
95. Davis AP, Byfield A, Özhatay N, Taylor K. *Galanthus xvalentinei* nothosubsp. *subplicatus* (Amaryllidaceae): A new galanthus hybrid from North-Western Turkey. Kew Bulletin 2001;56:639-647.
96. Petersena G, Seberga O, Davis JI. Phylogeny of the Liliales (Monocotyledons) with special emphasis on data partition congruence and RNA editing. Cladistics 2013;29:274–295.

97. Bakış Y, Otu HH, Taşçı N, Meydan C, Bilgin N, Yüzbaşıoğlu İS, et. al. Testing robustness of relative complexity measure method constructing robust phylogenetic trees for *Galanthus* L. Using the relative complexity measure. BMC Bioinformatics 2013;14:20.
98. Lledo Ma D, Davis AP, Crespo MB, Chase MW, Fay MF. Phylogenetic analysis of *Leucojum* and *Galanthus* (Amaryllidaceae) based on plastid MatK and nuclear ribosomal spacer (ITS) DNA sequences and morphology. Plant Systematics and Evaluation 2004;246(3-4):223-243.
99. Meerow AW, Fay MF, Guy CL, Li Q, Zaman FQ, Chase MW. Systematics of Amaryllidaceae based on cladistic analysis of plastid RBCL and TRNL-F sequence data. American Journal of Botany 1999;86(9):1325-1345.
100. Deng CL, Jian Z, Longdou L, Wujun G, Shufen L, Qiong W. Study on germplasmic resources of *Lycoris longituba* using RAPD and ISSR. Analele Științifice ale Universității, Alexandru Ioan Cuza, Secțiunea Genetică și Biologie Moleculară, TOM VII, 2006a; 111-120
101. Deng CL, Zhou J, Gao WJ, Sun FC, Qin RY, Lu LD. Assessment of genetic diversity of *Lycoris longituba* (Amaryllidaceae) detected by RAPD. Journal of Genetics 2006b;85(3):205-207.
102. Roh MS, Kurita S, Zhao XY, Suh JK. Identification and classification of the genus *Lycoris* using molecular markers. Korean Society for Horticultural Sciences 2002;43(2):120-132.
103. Shi S, Qiu Y, Wu L, Fu C. Interspecific relationships of *Lycoris* (Amaryllidaceae) inferred from inter-simple sequence repeat data. Scientia Horticulturae 2006;110:285-291.
104. Zonneveld BJM, Grimshaw JM, Davis AP. The Systematic value of nuclear DNA content in *Galanthus*. Plant Systematics and Evolution 2003;241:89-102.
105. Çelen Z. The molecular phylogenetic analysis of selected *Galanthus* species from Northwest Turkey. Master thesis. İstanbul: Molecular Biology and Genetics, Boğaziçi University; 2005.
106. Friesen N. DNA taxonomy of the genus *Galanthus*, species identification and illegal trade. Organisms Diversity and Evolution 5, Electronic Supplement 2005;13: 26.

107. Taşçı N. The genetic diversity of the *Galanthus* species in Turkey. Master thesis. İstanbul: Molecular Biology and Genetics, Boğaziçi University; 2008.
108. Altan F, Uzan I, Sarıkaya B, Kaya GI, Ünver-Somer N, Onur MA, et. al. Phylogenetic analysis of *Galanthus* spp. by AFLP markers distributed in Turkey. Plant & Animal Genomes XVIII Conference, San Diego, CA 2010;p:693.
109. Ünver N. New skeletons and new concepts in Amaryllidaceae alkaloids. Phytochemistry Reviews 2007;6:125-135.
110. Ünver N, Gözler T, Walch N, Gözler B, Hesse M. Two novel dinitrogenous alkaloids from *Galanthus plicatus* subsp. *byzantinus* (Amaryllidaceae). Phytochemistry 1999a;50:1255-1261.
111. Ünver N, Noyan S, Gözler B, Gözler T, Werner C, Hesse M. Four new Amaryllidaceae alkaloids from *Galanthus gracilis* and *Galanthus plicatus* subsp. *byzantinus*. Heterocycles 2001;55(4):641-652.
112. Abou-Donio AH, Giulio A, Evidente A, Gaber M, Habib AA, Lanzetta R, et. al. Narciclasine-4-O- β -D-Glucopyranoside, a glucosyloxy amidic phenanthridone derivative from *Pancratium maritimum*. Phytochemistry 199;30(10):3445-3448
113. Berkov S, Pavlov A, Ilieva M, Burrus M, Popov S, Stanilova M. GC-MS of alkaloids in *Leucojum aestivum* plants and their *in vitro* cultures. Phytochemical Analysis 2005b;16:98-103
114. Cao R, Peng W, Wang Z, Xu A. Beta-carboline alkaloids: Biochemical and pharmacological functions. Current Medical Chemistry 2007;14(4):479-500
115. Çitoğlu GS, Yılmaz BS, Bahadır Ö. Quantitative analysis of lycorine in *Sternbergia* species growing in Turkey. Chemistry of Natural Compounds 2008;44(6):826-828.
116. European Pharmacopoeia, Sixth Edition (2007). p: 1261-1266.
117. Avrupa Farmakopesi Adaptasyonu Türk Farmakopesi 2004;S:117-265.
118. Areshkina LY. (1940). Alkaloids from snowdrop, Sovet. Subtropiki 1940;59:11-12. Khim referat zhur 1941;5:4. Chemical abstract 1943;37:64056.
119. Jagtap UB, Lekhak MM, Fulzele DP, Yadav SR, Bapat VA. Analysis of selected *Crinum* species for galanthamine alkaloid: an anti-Alzheimer drug. Current Science 2014;107:12.

120. Subramaniam S, Sundarasekar J, Sahgal G, Murugaiyah V. Comparative analysis of lycorine in wild plant and callus culture samples of *Hymenocallis littoralis* by HPLC-UV method. The Scientific World Journal 2014;408306.
121. Katoch D, Kumar S, Kumar N, Singh B. Simultaneous quantification of Amaryllidaceae alkaloids from *Zephyranthes grandiflora* by UPLC–DAD/ESI-MS/MS. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 2012;7:187-192.
122. Wang Y, Zhu G, Li X, Hao Z. Simultaneous determination of galanthamine and lycorine in *Lycoris radiata* by a capillary electrophoresis with an electrochemiluminescence method. Journal of Separation Science 2014;37:3007–3012.
123. Amico A, Stefanizzi L. Cytochemical localization of lycorine in plants of *Sternbergia lutea* Ker Gawl, Quart. Journal of Crude Drug Research 1978;16(2):65-70.
124. Bastos JK, Xu L, Nanayakkara NPD, Burandt CL, Moraes-Cerdeira RM, McChesney JDA. Rapid quantitative method for the analysis of galanthamine and other Amaryllidaceae alkaloids by capillary column gas chromatography. Journal of Natural Products 1996;59:638-640
125. Bubeva-Ivanova L. Amaryllidaceae alkaloids, VI Über die Wirkung einiger Mineralsäuren auf Galanthamine. Chemische Berichte 1962a;95:1348-1353
126. Bubeva-Ivanova L, Ivanov V. Amaryllidaceae alkaloids. V *Leucojum aestivum*. Tr. Nauchnoizsled. Inst. Farm. 1962;3: 89-92, Chemical Abstract 1964;61: 8128 g.
127. Çiçek D. (2010). *Sternbergia sicula* Tineo ex Guss. bitkisinin kalite kontrol açısından değerlendirilmesi. Yüksek lisans tezi. İzmir: Ege Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2010.
128. De Laurentis N, Armenise D, Rosato A, Leone L, Milillo MA. Alkaloids extracted from *Pancretium maritimum*. Rivista Italiana EPPOS 2007;43:3-9
129. El-Din AS, Korany M, Abou-Donia A, Sabry NN. Spectrophotometric and fluorimetric determination of lycorine in Amaryllidaceae species. Acta Pharmaceutica Jugoslavia 1983;33(2):143-147.
130. Elgorashi EE, Drewes SE, Van Staden J. Organ-to-organ and seasonal variation in alkaloids from *Crinum macowanii*, Fitoterapia 2002;73:490-495.

131. Evidente A, Iasiello I, Randazzo G. Rapid quantitative analysis of lycorine by reserve-phase high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography* 1983b;281:362-366.
132. Fan H, Luan W, Li G. Determination of alkaloids in *Lycoris radiata* with microwave-assisted extraction coupled with high performance liquid chromatography. *Fenxi Ceshi Xuebao* 2006;25 (3):27-30.
133. Georgieva L, Berkov S, Kondakova V, Bastida J, Viladomat F, Atanassov A, et. al. Alkaloid variability in *Leucojum aestivum* from wild populations. *Journal of Biosciences* 2007;62 (9/10):627-635.
134. Gitsba DK, Maisuradze NI, Margvelashvili NN, Gorbunova GM, Cherkasov OA. (1982). Galanthamine content of *Leucojum aestivum* populations growing in the abkhaz ASSR. *Khimiko Farmatsevticheskii Zhurnal* 1982;16(2):19-196. *Chemical Abstract* 1982;96:159335s.
135. Gorinova NI, Atanassov AL, Stojanov DV. Characteristics of natural growing areas for *Leucojum aestivum* L. in Bulgaria based on chemical composition of plants. *Journal of Plant Nutrition* 1995;18(8):1705-1710.
136. Gotti R, Fiori J, Bartolini M, Cavrini V. Analysis of Amaryllidaceae alkaloids from *Narcissus* by GC-MS and capillary electrophoresis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2006;42:17-24.
137. Ingkaninan K, De Best CM, Van Der Heijden R, Hofte AJP, Karabatak B, Irth H, et. al. Highperformance liquid chromatography with on-line coupled UV, mass spectrometric and biochemical detection for identification of acetylcholinesterase inhibitors from natural products. *Journal of Chromatography A* 2000;872:61-73.
138. Kintsurashvili L. Alkaloids of *Narcissus tazetta* L. introduced in Georgia. *Sakartvelos Mecnierebata Akademiis Macne, Kimiis Seria* 2006;32(3-4): 454-456.
139. Kintsurashvili L, Vachnadze V. Plants of the Amaryllidaceae family grown and introduced in Georgia: A source of galanthamine. *Pharmaceutical Chemistry Journal* (Translated from *Khimiko-Farmatsevticheskii Zhurnal*) 2007;41(9):38-40.
140. Könükol S, Şener B. High-pressure liquid chromatographic analysis of some Amaryllidaceae alkaloids from *Pancreatium maritimum* L. *Journal of Faculty of Pharmacy of Gazi University* 1992;9(2):89-95.

141. Li X, Xiong Y, Jiang L, Zhu H, Wen Z. Extraction of galanthamine and lycorine from *Lycoris* herb. with one step method. *Huagong Jinzhan* 2008;27(6):904-907.
142. Lopez S, Bastida J, Viladomat F, Codina C. Galanthamine pattern in *Narcissus confusus* plants. *Planta Medica* 2003;69 (12):1166-1168.
143. Makhkamova AU, Safonova EV. Method for quantitative determination of lycorine in leaves of *Ungernia sewerzowi*. *Khimiya Prirodnikh Soedinenii* 1994;4:571-572.
144. Moreas-Cerdeira RM, Bastos JK, Burandt CL, Nanayakkara NP, Mikell J, McChesney JD. Alkaloid content of different bulb parts of *Narcissus* cv. ice follies. *Planta Medica* 1997;63(1):92-93.
145. Mroczek T. Highly efficient, selective and sensitive molecular screening of acetylcholinesterase inhibitors of natural origin by solid-phase extraction-liquid chromatography/electrospray ionisation-octopole-orthogonal acceleration time-of-flight-mass spectrometry and novel thin-layer chromatography-based bioautography. *Journal of Chromatography A* 2009a;1216:25519-2528.
146. Mustafa NR, Rhee IK, Verpoorte R. Rapid method for determination of galanthamine in Amaryllidaceae plants using HPLC. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies* 2003;26 (19): 3217-3223.
147. Ptak A, El Tahchy A, Dupire F, Boisbrun M, Henry M, Chapleur Y, Mos M, Laurain-Mattar D. LCMS and GCMS for the screening of alkaloids in natural and *in vitro* extracts of *Leucojum aestivum*. *Journal of Natural Products* 2009;72:142-147
148. Qian D, He H, Yang Z, Lu J, Yang J. Extraction and HPLC determination of galanthamine and lycoramine in *Lycoris radiata*. *Yauwu Fenxi Zazhi* 2009;29(1):104-106.
149. 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* 1997;25(5):156-158.
150. 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 Reports 1999;18(7-8):646-651.

151. Stefanov I. Development changes in wild and introduced population of *Leucojum aestivum* L. Farmatsiya (Sofia) 1991;41(2):18-23. Chemical Abstract 1991;115: 275741f.

152. Stefanov Z. 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 1977;27(4):4-10. Chemical Abstract 1978;89:102941n.

153. Stefanov Z, Savchev P, Mitkov I. Qualitative and quantitative studies of the alkaloid composition of wildy growing and introduced *Leucojum aestivum* L. populations. I. dynamics of galanthamine accumulation in the aboveground parts and bulbs of plants and localization in some organs of aboveground parts. Farmatsiya (Sofia) 1974;24(6):16-19. Chemical Abstract 1975;83:4997s.

154. Takagi S, Katagi T, Takebayashi K. Gas liquid chromatography of alkaloids. II. quantitative analysis of alkaloids of *Lycoris radiata* Herb. Chemical & Pharmaceutical Bulletin 1968;16(6):1121-1123.

155. Tanahashi T, Poulev A, Zenk MH. Radioimmunoassay for the quantitative determination of galanthamine. Planta Medica 1990;56(1):77-81.

156. Tokhtabaeva GM. Chromatophotocolorimetric technique for determination of galanthamine and its metobolites in *Narcissus*. Khimiko Farmatsevticheskii Zhurnal 1987;21(6):703-705.

157. Volodina AD, Dobronravova EK, Shakirov TT. Polarographic determination of galanthamine in *Ungernia victoris*. Chemistry of Natural Compounds 1970;6:459-461.

158. Wang X, Huang M, Han Z, Zhou J. GC-MS analysis of chemical components from the bulbs of *Lycoris aurea*. Zhongcaoyao 2007;38(2):188-217.

159. Wurst F, Prey T, Puchinger L, Bancher E. Eine neue methode zur quantitativen bestimmung von galanthamine in drogenextrakten von *Leucojum aestivum*. Journal of Chromatography 1980;188:452-456.

160. Yalabık B. *Leucojum aestivum* L., üzerinde kalite kontrol çalışmaları. Yüksek lisans tezi. İzmir: Ege Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 1977.
161. Ren L, Zhao H, Chen Z. Study on pharmacokinetic and tissue distribution of lycorine in mice plasma and tissues by liquid chromatography–mass spectrometry. *Talanta* 2014;119:401-406.
162. Liua X, Hongb Y, Hec Q, Huangc K. Rapid and sensitive HPLC–MS/MS method for quantitative determination of lycorine from the plasma of rats. *Journal of Chromatography B* 2015;974:96-100.
163. Xiang Q, Chen Y, Chen Z. Sensitive and simultaneous determination of active components in *Lycoris radiata* and rat plasma by HPLC with fluorescence detection. *Analytical Methods* 2014;6:8979-8985.
164. Culzoni MJ, Aucelio RQ, Escandar GM. High-performance liquid chromatography with fast-scanning fluorescence detection and multivariate curve resolution for the efficient determination of galantamine and its main metabolites in serum. *Analytica Chimica Acta* 2012;740:27- 35.
165. Park YS, Kim S, Kim S, Kim Y, Lee M, Yang S, et. al. Quantification of galantamine in human plasma by validated liquid chromatography–tandem mass spectrometry using glimepride as an internal standard: application to bioavailability studies in 32 healthy Korean subjects. *Journal of Chromatographic Science* 2012;50:803–809.
166. Claessens HA, Van Thiel M, Westra P, Soetherboek AM. High performance liquid chromatographic determination of galanthamine. A long-acting acetylcholinesterase drug in serum, urine and bile. *Journal of Chromatography* 1983;275(2):345-353
167. Hsieh Y, Yang Y, Lin P, Chen S. Simultaneous determination of galantamine, rivastigmine and NAP 226-90 in plasma by MEKC and its application in Alzheimer's Disease. *Electrophoresis* 2009;30:644-653.
168. Kolusheva A, Vulkova A. Spectrofotometric examination of galanthamine, lycorine and nivalidine. *Farmatsiya (Sofia)* 1966;16(5):45-49. *Chemical Abstract* 1967;66:68973n.

169. Konstantinova EI, Boichinov K. Nonaqueous titration of alkaloids in drugs. *Farmatsiya (Sofia)* 1963;13(4):30-37. Chemical Abstract 1964;61:11003c.
170. Kuznetsov VI, Volkova NS, Morozova VA. Extraction and photometric determination of galanthamine. *Farmatsiya (Moscow)* 1969;18(1):39-40. Chemical Abstract 1969;71:33488j.
171. Maláková J, Nobilis M, Svoboda Z, Lída M, Holčápek M, Kvěťina J, et. al. High-performance liquid chromatographic method with UV photodiode-array, fluorescence and mass spectrometric detection for simultaneous determination of galanthamine and its phase I metabolites in biological samples. *Journal of Chromatography B* 2007;853:265-274.
172. Nirogi RVS, Kandikere V, Mudigonda K, Maurya S. Quantitative determination of galantamine in human plasma by sensitive liquid chromatography-tandem mass spectrometry using loratadine as an internal standard. *Journal of Chromatographic Science* 2007;45(2):97-103.
173. Si T, Sun L, Zhang H, Shu L. Determination of galanthamine in plasma by high-performance liquid chromatography with fluorescent detection. *Zhongguo Linchuang Yaolixue Zazhi* 2002;18(1):66-69.
174. Song H, Li Z, Shi J, Fan G, Liu T, Ji Y. Studies on HPLC determination of galanthamine in human plasma with UV detection and its pharmacokinetics. *Zhongguo Yaoxue Zazhi* 2003;38(5):366-368.
175. Tencheva J, Yamboliev I, Zhivkova Z. Reversed-phase liquid chromatography for the determination of galanthamine and its metabolites in human plasma and urine. *Journal of Chromatography* 1987;42(2):396-400.
176. Verhaeghe T, Diels L, Vries R, Meulder M, Jong J. Development and validation of a liquid chromatographic-tandem mass spectrometric method for the determination of galantamine in human heparinised plasma. *Journal of Chromatography B* 2003;789:337-346.
177. Volodina AD, Dobronravova EK, Shakirov TT. Spectrofotometric determination of lycorine in plant raw material and a preparation. *Chemistry of Natural Compounds* 1972;161:743-745.

178. Volodina AD, Dobronravova EK, Shakirov TT. Quantitative determination of lycorine in dihydrolycorine. *Chemistry of Natural Compounds* 1973;4:536.
179. Yamboliev I, Mikhailova D. Extraction spectrofluorometry method for quantitative determination of galanthamine in biological material. *Farmatsiya (Sofia)* 1985;35(2):7-11. *Chemical Abstract* 1985;103:153137v.
180. Zhang J, Wang M, Shen Y, Ma G, Hong S. Studies on alkaloids of Amaryllidaceae. XII. identification of Amaryllidaceae alkaloids by TLC and determination of galanthamine by HPLC. *Yaowu Fenxi Zazhi* 1999;19(6):399-403. *Chemical Abstract* 2000;132:227526.
181. Zhang Y, Liu M, Wen A, Yang L, Li W, Yuan J, et. al. LCMS/MS determination of galanthamine in human plasma. *Yaowu Fenxi Zazhi* 2007;27(7):973-976.
182. Clemo GR, Felton DGI. Tazettine from snowdrop leaves. *Chemical and Industry* 1952;807-808.
183. Komizerko EI. Alkaloid content of plants of the *Galanthus* genus. *Byul. Gl. Botan. Sada* 1963;51:102-106. *Chemical Abstract* 1964;61:11003c.
184. Mroczek T, Mazurek J. Pressurized liquid extraction and anticholinesterase activity-based thin-layer chromatography with bioautography of Amaryllidaceae alkaloids. *Analytica Chimica Acta* 2009b;633:188-196.
185. Vulkova A. Identification and Determination of the Alkaloids of *Galanthus nivalis* var. *gracilis* and *Leucojum aestivum*, *Farmaciya*, 1961a;11(2):17-22. *Abstr. Bulgar. Sci. Lit., Biol. Med.* 1961;(3):493. *Chemical Abstract* 1963;58: 5984f.
186. Vulkova A. Proof and Determination of the Alkaloids in *Galanthus nivalis* and *Leucojum aestivum*. *Farmatsiya* 1961b;2:17-22. *Chemical Abstract* 1961; 55: 21479d.
187. Zeybek U. Über die alkaloide verschiedener *Galanthus*-Arten. *Doktora tezi. Viyana: Viyana Üniversitesi, Farmakognozi Enstitüsü*; 1983.
188. Demirbaş A, Tüzen M, Özdemir M. (1999). Supercritical fluid extraction of phenolic acids in snowdrop. *Energy, Education, Science and Technology* 1999;2(2): 47-52. *Chemical Abstract* 2000;134:83619.

189. Nikolova M, Gevrenova R. Determination of phenolic acids in Amaryllidaceae species by high performance liquid chromatography. *Pharmaceutical Biology* 2005;43(3):289-291.
190. Tsakadze DM, Abdusamatov A, Samsoniya S. Phenolic compounds from *Galanthus caucasicus*. *Bulletin of the Georgia Academy of Science* 2000;158(3):433-434.
191. Tüzen M, Özdemir M. Chromatographic determination of phenolic acids in the snowdrop by HPLC. *Turkish Journal of Chemistry* 2003;27:49-54.
192. Berkov S, Sidjimova B, Evstatieva L, Popov S. Intraspecific variability in the alkaloid metabolism of *Galanthus elwesii*. *Phytochemistry* 2004;65 (5): 579-586.
193. El-Moghazi AM, Ali AA. (1976). Microchemical identification of Amaryllidaceae alkaloids. Part I. crinidine, vittatine, crinamine, powelline, hippacine, lycorine and B II. *Planta Medica* 1976;30(4):369-374.
194. Gorbunova GM, Patudin AV, Gorbunov VD. Galanthamine from some species of the family Amaryllidaceae. *Chemistry and Natural Compounds* 1978;14: 361-362.
195. Ichimura Y, Nishimoto K. Fluorimetric determination of galanthamine. *Bunseki Kagaku* 1962;11:1024-1027. *Chemical Abstract* 1962;57:16748d.
196. Mikhno VV. Extraction and (colorimetric) determination of galanthamine. *Farmatsevt Zhurnal (Kiev)* 1965;20(3):44-46. *Chemical Abstract* 1966;64:5428c.
197. Sidjimova B, Berkov S, Popov S, Evstatieva L. Galanthamine distribution in Bulgarian *Galanthus* spp. *Pharmazie* 2003;58:935-936.
198. Asoeva EZ, Murav'eva DA, Molodozhnikov MM, Rabinovich IM. Preparation of galanthamine, USSR 1966;186-493(Cl. C 07c). *Tovaryne Znaki* 1965;43(19):35. *Chemical Abstract* 1967;66:79581j.
199. Chimiko-Pharmazevtitschen Z. Galanthamine hydrobromide extraction. *Brit. (Cl. C 07g)* 1963;942:200. *Chemical Abstract* 1964;60:6707e
200. Paskov DS, Ivanova ZC. Galanthamine hydrobromide Chimiko-Pharmazevtischen Zavod 1967;481:003 (Cl.A 61 k). *Bulg. Appl.* 1959;2pp. *Chemical Abstract* 1968;68:6178m.

201. Schumann A, Berkov S, Claus D, Gerth A, Bastida J, Codina C. Production of galanthamine by *Leucojum aestivum* shoots grown in different bioreactor systems. *Appl Biochem Biotechnol* 2012;167:1907-1920.
202. Ivanov I, Georgiev V, Georgiev M, Ilieva M, Pavlov A. Galanthamine and related alkaloids production by *Leucojum aestivum* L. shoot culture using a temporary immersion technology. *Appl Biochem Biotechnol* 2011;163:268–277.
203. Georgiev V, Ivanov I, Berkov S, Ilieva M, Georgiev M, Gocheva T, et. al. Galanthamine production by *Leucojum aestivum* L. shoot culture in a modified bubble column bioreactor with internal sections. *Engineering in Life Sciences* 2012;5:534–543.
204. Selezhinski GV. Snowdrops, *Khim. Zhizn* 1977;50-52. Chemical Abstract 1977;86:152586j.
205. Cherkasov OA. Plant sources of galanthamine. *Pharmaceutical Chemistry Journal* 1978; 810-813
206. Kovtun L, Patudin AV, Gorbunova GM, Gorbunov VD, Stikhin VA, Gogitidze SD, et. al. Search for galanthamine in *Galanthus* L. and *Leucojum* L. Plants in Transcaucasia, *Farmatsevt Zhurnal (Kiev)* 1978;6:59-62. Chemical Abstract 1979;90:200291r.
207. Cherkasov OA, Stikhin VA, Savchuk VM. Content of galanthamine in Some Amaryllidaceae Species of the Flora of the Ukrainian SSR. *Rastit Resur* 1984;20(4):566-568. Chemical Abstract 1985;102:21280 f
208. Muhtar F, Şener B. Türkiye’den ihraç edilen bazı Amaryllidaceae familyası bitkilerinin likorin yönünden değerlendirilmesi. In: Coşkun M, editor. XI. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı Bildiri Kitabı. Ankara: Ankara Üniversitesi Basımevi, 1997; s. 384-388.
209. Kaya Gİ, Gözler T. Quantitative evaluation of the specimens of *Galanthus elwesii*. *Journal of Faculty of Pharmacy of Gazi University* 2003;20(2):71-78.
210. Kaya GI, Polat DC, Sarıkaya B, Onur MA, Somer NU. Quantitative determination of lycorine and galanthamine in *Galanthus trojanus* and *G. cilicicus* by HPLC-DAD. *Natural Product Communications* 2014;9(8):1157-1158.

211. Kaya GI, Polat DC, Emir A, Sarıkaya BB, Onür MA, Somer NU. Quantitative determination of galanthamine and lycorine in *Galanthus elwesii* by HPLC-DAD. Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences 2014;11(1):107-112.
212. Emir A, Polat DC, Kaya GI, Sarıkaya B, Onür MA, Somer NU. Simultaneous determination of lycorine and galanthamine in *Galanthus woronowii* by HPLC-DAD. Acta Chromatographica 2013;25(4):755-764.
213. Akbulut İ. Bolu, Abant Gölü çevresinde yetişen *Galanthus plicatus* Bieb. subsp. *byzantinus* (Baker) D. A. Webb üzerinde bazı farmakognozik çalışmalar, yüksek lisans tezi. Bornova, İzmir: Ege Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2004.
214. Kaya Gİ, Fillik A, Hışıl Y, Ünver N. High pressure liquid chromatographic analysis of lycorine in four *Galanthus* species growing in Turkey. Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences 2004;1(2):105-114.
215. Somer NU, Polat DC, Emir A, Onür MA, Kaya GI. Quantitative analysis of lycorine in endemic *Galanthus xvalentinei* nothosubsp. *subplicatus* by HPLC-DAD. Acta Chromatographica 2013;25(2):331-338.
216. Emir A, Somer NU, Kaya GI, Sarıkaya B, Onür MA. Quality control evaluation and acetylcholinesterase inhibitory activity of *Galanthus woronowii* Losinsk. Marmara Pharmaceutical Journal 2011;15:48-51.
217. Proskurnina NF, Yakovleva AP. The Alkaloids of *Galanthus woronowi*. II. isolation of a new alkaloid. Journal of General Chemistry of the U.S.S.R. 1952;22:1941-1944.
218. Sarıkaya BB, Kaya GI, Onur MA, Bastida J, Somer NU. Phytochemical investigation of *Galanthus woronowii*. Biochemical Systematics and Ecology 2013;51:276-279.
219. Boit HG. Über die alkaloiden der zwiebeln von *Galanthus nivalis* (III. Mitteil. über Amaryllidaceen alkaloiden). Chemische Berichte 1954;87:724-725
220. Boit HG, Ehmke H. Alkaloiden von *Sprekelia formosissima*, *Galanthus elwesii*, *Zephyranthes candida* und *Crinum powelli* (VIII. Mitteil. Über Amaryllidaceen alkaloiden). Chemische Berichte 1955;88(10):1590-1594

221. Proskurnina NF, Yakovleva AP. Alkaloids of *Galanthus woronovi*. V. isolation of galanthamine. Journal of General Chemistry of the U.S.S.R. 1956;26:179-180.
222. Briggs CK, Highet PF, Highet RJ, Wildman WC. (1956). Alkaloids of the Amaryllidaceae. VII. Alkaloids containing the hemiacetal or lactone group. Journal of the American Chemical Society 1956;78:2899-2094.
223. Boit HG, Döpke W. Alkaloide aus *Haemanthus*-, *Zephyranthes*-, *Galanthus*- und *Crinum*-arten. Die Naturwissenschaften 1961;48 (10):406-407
224. Bubeva-Ivanova L, Ivanov V. Alkaloid content in *Galanthus nivalis* var. *gracilis* L. Tr. Nauchnoizsled. Inst. Farm. 1961;3:70-75. Chemical Abstract 1964;61:14465h.
225. Asoeva E. Z., Vergeichik E. N. (1967). Separation and quantitative determination of alkaloid in *Galanthus krasnovii*. Nauchnye Doklady Vysshei Shkoly Biologicheskii Nauki 1967;7:98-101, Chem. Abstr. (1967), 67:94035y.
226. Lopez S, Bastida J, Viladomat F, Codina C. Acetylcholinesterase inhibitory activity of some Amaryllidaceae alkaloids and *Narcissus* extracts. Life Sciences 2002;71:2521-2529.
227. Tsakadze DM, Kiparenko TN, Tsitsishvili NS, Abdusamatov A, Yunusov SY. (1969c). Demethylhomolycorine from the Plant *Galanthus caucasicus*, Soobshcheniya Akademii Nauk Gruzii, SSR, 1969;56 (2): 305-307, Chem. Abstr. (1970), 72: 107840n.
228. Kalashnikov ID. Alkaloids of *Galanthus nivalis*. Chemistry of Natural Compounds 1970a;6:390.
229. Sarikaya BB, Kaya GI, Onur MA, Viladomat F, Codina C, Bastida J, Somer NU. Alkaloids from *Galanthus rizehensis*. Phytochemistry Letters 2012;5:367–370.
230. 2013 Alzheimer's disease facts and figures. Alzheimer's & Dementia 9 2013;9:208–245.
231. Hu S, Wang R, Cui W, Zhang Z, Mak S, Xu, et. al. Inhibiting β -amyloid-associated Alzheimer's pathogenesis *in vitro* and *in vivo* by a multifunctional dimeric bis(12)-hupyrindone derived from its natural analogue. Journal of Molecular Neuroscience 2015;55:1014–1021.

232. Reitz C, Mayeux R. Alzheimer disease: Epidemiology, diagnostic criteria, risk factors and biomarkers. *Biochemical Pharmacology* 2014;88:640–651.
233. Riviere C, Delaunay JC, Immel F, Cullin C, Monti JP. The polyphenol piceid destabilizes preformed amyloid fibrils and oligomers *in vitro*: Hypothesis on possible molecular mechanisms. *Neurochemical Research* 2009;34:1120-1128.
234. Selkoe DJ. Developing preventive therapies for chronic diseases: Lessons learned from Alzheimer's Disease. *Nutrition Reviews* 2007;65(64):239-243.
235. Farlow MR, Evans RM. Pharmacological treatment of cognition in Alzheimers dementia. *Neurology* 1988;51(1):36-44.
236. Cankurtaran M, Arıoğlu S. Alzheimer hastalığı ve demans tedavisinde yenilikler. *Türkiye Tıp Dergisi* 2002;9(3):128-136.
237. Darvesh S, Grantham L, Hopkins DA. Distribution of butyrylcholinesterase in the human amygdala and hippocampal formation. *The Journal of Comparative Neurology* 1998; 393:374–390.
238. Mesulam M, Guillozet A, Shaw P, Levey A, Duysen EG, Lockridge O. Acetylcholinesterase knockouts establish central cholinergic pathways and can use butyrylcholinesterase to hydrolyze acetylcholine. *Neuroscience* 2002;110(4):627-639.
239. Şahin HA. Asetilkolin, kolinesterazlar ve alzheimer hastalığı. *Demans Dergisi* 2002;2:69-73.
240. Guillozet AL, Smiley JF, Mash DC, Mesulam M. Butyrylcholinesterase in the life cycle of amyloid plaques. *Annals of Neurology* 1997;42:909-918.
241. Mesulam M, Geula C. Butyrylcholinesterase reactivity differentiates the amyloid plaques of aging from those of dementia. *Annals of Neurology* 1994;36:722-727.
242. Wright CI, Geula C, Mesulam M. Neuroghal cholinesterases in the normal brain and in Alzheimer's Disease: relationship to plaques, tangles, and patterns of selective vulnerability. *Annals of Neurology* 1993;34:373-384.
243. Greig NG, Utsuki T, Yu Q, Zhu X, Holloway HW, Perry TA, et. al. A new therapeutic target in alzheimer's disease treatment: attention to butyrylcholinesterase. *Current Medical Research and Opinion* 2001;17(3):159-165.

244. Xie W, Stribley JA, Chatonnet A, Wilder PJ, Rizzino A, McComb RD, et. al. Postnatal developmental delay and supersensitivity to organophosphate in gene-targeted mice lacking acetylcholinesterase. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 2000; 293:896–902.
245. Perry EK, Tomlinson BE, Blessed G, Bergmann K, Gibson PH, Perry RH. Correlation of cholinergic abnormalities with senile plaques and mental test scores in senile dementia. *British Medical Journal* 1978;2:1457-1459.
246. Nordberg A, Svensson A. Cholinesterase inhibitors in the treatment of Alzheimer's Disease a comparison of tolerability and pharmacology. *Drug Safety* 1998;19(6):465-480.
247. Wright CI, Geula C, Mesulam M. Protease inhibitors and indoleamines selectively inhibit cholinesterases in the histopathologic structures of Alzheimer disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 1993;90:683-686.
248. Heinrich M, Teoh HL. (2004). Galanthamine from snowdrop-the development of a modern drug against Alzheimer's Disease from local caucasian knowledge, *J. Ethnopharm* 2004;92:147-162.
249. Stewart WF, Kawas C, Corrada M, Metter EJ. Risk of Alzheimer's disease and duration of NSAID use. *Neurology* 1997;48:626-632.
250. McGeer PL, Schulzer M, McGeer EG. Arthritis and anti-inflammatory agents as possible protective factors for Alzheimer's disease: A review of 17 epidemiologic studies. *Neurology* 1996;47:425-432.
251. Doody RS, Stevens J, Beck C, Dubinsky RM, Kaye JA, Gwyther L, et. al. Practice parameter: management of dementia (an evidence-based review). *Neurology* 2001;56:1154-1166.
252. Brenner DE, Kukull WA, Stergachis A, Belle G, Bowen JD, McCormick WC, et. al. Postmenopausal estrogen replacement therapy and the risk of Alzheimer's Disease: A population-based case-control study. *American Journal of Epidemiology* 1994;140(3):262-267.
253. Henderson VW. The epidemiology of estrogen replacement therapy and Alzheimer's Disease. *Neurology* 1997;48:27S.

254. Ellman L, Courtney KD, Andres V, Featherstone RM. New and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology* 1961;7: 88-95.
256. Rhee IK, Van de Meent M, Ingkaninan K, Verpoorte R. Screening for acetylcholinesterase inhibitors from Amaryllidaceae using silica gel thin-layer chromatography in combination with bioactivity staining. *Journal of Chromatography A* 2001;915:217-223.
257. Marston A, Kissling J, Hostettmann K. A rapid TLC bioautographic method for the detection of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibitors in plants. *Phytochemical Analysis* 2002;13:51-54.
258. Rhee IK, Appels N, Luijendijk T, Irth H, Verpoorte R. Determining acetylcholinesterase inhibitory activity in plant extracts using a fluorimetric flow assay. *Phytochemical Analysis* 2003a;14(3):145-149.
259. Elisha IL, Elgorashi EE, Hussein AA, Duncan G, Eloff JN. Acetylcholinesterase inhibitory effects of the bulb of *Ammocharis coranica* (Amaryllidaceae) and its active constituent lycorine. *South African Journal of Botany* 2013;85:44-47.
260. Adewusi EA, Fouche G, Steenkamp V. Cytotoxicity and acetylcholinesterase inhibitory activity of an isolated crinine alkaloid from *Boophane disticha* (Amaryllidaceae). *Journal of Ethnopharmacology* 2012;143:572-578.
261. Adewusi EA, Steenkamp V. *In vitro* screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plants from southern Africa. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* 2011;829-835.
262. Cortes N, Alvarez R, Osorio EH, Alzate F, Berkov S, Osorio E. Alkaloid metabolite profiles by GC/MS and acetylcholinesterase inhibitory activities with binding-mode predictions of five Amaryllidaceae plants. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2015;102:222-228.
263. Elgorashi EE, Stafford GI, Van Staden J. Acetylcholinesterase enzyme inhibitory effects of Amaryllidaceae alkaloids. *Planta Medica* 2004;70(3):260-262.

264. Houghton PJ, Agbedahunsi JM, Adegbulugbe A. Choline esterase inhibitory properties of alkaloids from two Nigerian *Crinum* species. *Phytochemistry* 2004;65:2893-2896.
265. Jensen BS, Christensen SB, Jäger AK, Rønsted N. Amaryllidaceae alkaloids from the Australasian tribe *Calostemmateae* with acetylcholinesterase inhibitory activity. *Biochemical Systematics and Ecology* 2011;39:153–155.
266. Nair JJ, Aremu AO, van Staden J. Isolation of narciprimine from *Cyrtanthus contractus* (Amaryllidaceae) and evaluation of its acetylcholinesterase inhibitory activity. *Journal of Ethnopharmacology* 2011;137:1102– 1106.
268. Berkov S, Bastida J, Nikolova M, Viladomat F, Codina C. Rapid TLC/GC-MS identification of acetylcholinesterase inhibitors in alkaloid extracts. *Phytochemical Analysis* 2008a;19(5):411-419
269. Orhan I, Sener B. Bioactivity-directed fractionation of alkaloids from some Amaryllidaceae plants and their anticholinesterase activity. *Chemistry of Natural Compounds* 2003;39(4):383-386.
270. Sarikaya BB, Kaya GI, Onur MA, Bastida J, Berkov S, Somer NU. GC/MS Analysis of Amaryllidaceae Alkaloids in *Galanthus gracilis*. *Chemistry of Natural Compounds* 2014;50(3):573-575.
271. Conforti F, Loizzo MR, Marrelli M, Menichini F, Statti GA, Uzunov D, et. al. Quantitative determination of Amaryllidaceae alkaloids from *Galanthus reginae-olgae* subsp. *vernalis* and *in vitro* activities relevant for neurodegenerative diseases. *Pharmaceutical Biology* 2010;48(1):2-9
272. Sarikaya BB, Somer NU, Kaya GI, Onur MA, Bastida J, Berkov S. GC-MS investigation and acetylcholinesterase inhibitory activity of *Galanthus rizehensis*. *Z. Naturforsch* 2013;68c:118-124.
273. Sarikayaa BB, Berkov S, Bastida J, Kaya GI, Onur MA, Somer NU. GC-MS investigation of Amaryllidaceae alkaloids in *Galanthus xvalentinei* nothosubsp. *subplicatus*. *Natural Product Communications* 2013;8(3);327-328.
274. Ortiz JE, Berkov S, Pigni NB, Theoduloz C, Roitman G, Tapia A, et. al. Wild Argentinian Amaryllidaceae, a new renewable source of the acetylcholinesterase inhibitor galanthamine and other alkaloids. *Molecules* 2012;17:13473-13482.

275. Pagliosa LB, Monteiro SC, Silva KB, deAndrade JP, Dutilh J, Bastida J, et. al. Effect of isoquinoline alkaloids from two *Hippeastrum* species on *in vitro* acetylcholinesterase activity. *Hytomedicine* 2010;17: 698–701.
276. Andrade JP, Berkov S, Viladomat F, Codina C, Zuanazzi JAS, Bastida J. Alkaloids from *Hippeastrum papilio*. *Molecules* 2011;16:7097-7104.
277. Xin L, Yamujala R, Wang Y, Wang H, Wu W, Lawton MA, et. al. Acetylcholineesterase-inhibiting alkaloids from *Lycoris radiata* Delay Paralysis of amyloid beta-expressing transgenic *C. Elegans* Cl4176. *Plos One* 2013;8(5):e63874.
278. Fe Jong C, Derks RJE, Bruyneel B, Niessen W, Irth H. High-performance liquid chromatography-mass spectrometry-based acetylcholinesterase assay for the screening of inhibitors in natural extracts. *Journal of Chromatography A* 2006;1112:303-310.
279. Ingkaninan K, Hazekamp A, Best de CM, Irth H, Tjaden UR, Heijden Van der R. The application of HPLC with on-line coupled UV/MS biochemical
280. Torras-Claveria L, Berkov S, Codina C, Viladomat F, Bastida J. Daffodils as potential crops of galanthamine. Assessment of more than 100 ornamental varieties for their alkaloid content and acetylcholinesterase inhibitory activity. *Industrial Crops and Products* 2013;43:237– 244.
281. Van Rijn RM, Rhee In K, Verporte R. Isolation of acetylcholinesterase inhibitory from *Nerine bowdenii*. *Natural Product Research* 2010;24(3):222-225.
282. Torras-Claveri L, Berkov S, Jáuregui O, Caujapé J, Viladomat F, Codina C, et. al. Metabolic profiling of bioactive *Pancratium canariense* extracts by GC-MS. *Phytochemical Analysis* 2010;21:80-88.
283. Orhan IE, Yilmaz BS, Altun ML, Saltan G, Şener B. Anti-acetylcholinesterase and antioxidant appraisal of the bulb extracts of five *Sternbergia* species. *Records of Natural Products* 2011;5(3):193-201.
284. Reyes-Chilpa R, Berkov S, Hernández-Ortega S, Jankowski CK, Arseneau S, Clotet-Codina I, et. al. Acetylcholinesterase-inhibiting alkaloids from *Zephyranthes concolor*. *Molecules* 2011;16:9520-9533.

285. Kulhankova A, Cahlikova L, Novak Z, Macakova K, Kunes J, Opletala L. Alkaloids from *Zephyranthes robusta* Baker and their acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase-inhibitory activity. *Chemistry & Biodiversity* 2013;10:1120-1127.
286. Cahlikova L, Perez DI, Stepánková S, Chlebek J, Šafratova M, Hostalkova A, et. al. *In vitro* inhibitory effects of 8-O-demethylmaritidine and undulatine on acetylcholinesterase and their predicted penetration across the blood–brain barrier. *Journal of Natural Products* 2015;78:1189–1192.
287. Cordell GA. Introduction to alkaloids. New York: J. Wiley & Sons, Inc., 1981; p. 533-553
288. Cook JW, Loudon JD. The alkaloids chemistry and pharmacology. In: Manske RHF, Holmes HL, editors. Vol. 2, Alkaloids of the Amaryllidaceae. New York: Academic Press Inc., 1952; p. 331-352.
289. Wildman WC. (1960). Alkaloids of the Amaryllidaceae. In: Manske RHF, editor. The alkaloids chemistry and physiology, Vol. 6. New York: Academic Press Inc., 1960; p. 289-413.
290. Wildman WC. The amaryllidaceae alkaloids. In: Manske RHF, Holmes HL, editors. The alkaloids chemistry and pharmacology, Vol. 11. New York: Academic Press Inc., 1968; p. 307-405.
291. Fuganti C. The Amaryllidaceae alkaloids. In: Manske RHF, Holmes HL, editors. The Alkaloids Chemistry and Pharmacology, Vol. 15. New York: Academic Press Inc., 1975; p. 83-164.
292. Martin S. F. The Amaryllidaceae alkaloids. In: Brossi AR, editor. The alkaloids chemistry and pharmacology, Vol. 30. New York: Academic Press Inc., 1987; p. 251-376.
293. Hoshino O. The Alkaloids Chemistry and Pharmacology Vol. 51. In: Cordell GA, editor. New York: Academic Press Inc., 1998; p. 323-424.
294. Bastida J, Lavilla R, Viladomat F. Chemical and biological aspects of *Narcissus* alkaloids. In: Cordell GA, editor. The Alkaloids, Chemistry and Biology Vol. 63. New York: Academic Press Inc., 2006; p. 87-179.

295. Cedron JC, Arco-Aguilar MD, Braun AE, Ravelo AG. Chemistry and biology of *Pancratium* alkaloids. In: Cordell GA, editor. The Alkaloids, Chemistry and Biology Vol. 68. New York: Academic Press Inc., 2010; p. 1-37.
296. Noyan S, Rentsch GH, Önür MA, Gözler T, Gözler B, Hesse M. The Gracilines: A novel subgroup of the Amaryllidaceae alkaloids. *Heterocycles* 1998;48(9):1777-1791.
297. Brine ND, Campbell WE, Bastida J, Herrera MR, Viladomat F, Codina C, et. al. (2002). A dinitrogenous alkaloid from *Cyrtanthus obliquus*. *Phytochemistry* 2002;61(4):443-447
298. Grundon MF. Amaryllidaceae alkaloids. *Natural Product Reports* 1984;1:247-250.
299. Grundon MF. Amaryllidaceae alkaloids. *Natural Product Reports* 1985;2:249-251.
300. Grundon MF. Amaryllidaceae alkaloids. *Natural Product Reports* 1987; 4:89-94.
301. Grundon MF. Amaryllidaceae alkaloids. *Natural Product Reports* 1989;6:79-84.
302. Jin Z. Amaryllidaceae and Sceletium alkaloids. *Natural Product Reports* 2003;20:606-614.
303. Jin Z. Amaryllidaceae and Sceletium alkaloids. *Natural Product Reports* 2005;22:111-126.
304. Jin Z. Amaryllidaceae and Sceletium alkaloids. *Natural Product Reports* 2007;24: 886-905.
305. Jin Z. Amaryllidaceae and Sceletium alkaloids. *Natural Product Reports* 2009;26:363-381.
306. Jin Z. Amaryllidaceae and Sceletium alkaloids. *Natural Product Reports* 2011;26:1126-1142.
307. Jin Z. Amaryllidaceae and Sceletium alkaloids. *Natural Product Reports* 2013;26:849-868.
308. Jin Z, Li Z, Huang R. Muscarine, imidazole, oxazole, thiazole, Amaryllidaceae and Sceletium alkaloids. *Natural Product Reports* 2002;19:454-476

309. Lewis JR. Amaryllidaceae alkaloids. *Natural Product Reports* 1990;7:549-556
310. Lewis JR. Amaryllidaceae and Sceleretium alkaloids. *Natural Product Reports* 1992;9:183-191.
311. Lewis JR. Amaryllidaceae and Sceleretium alkaloids. *Natural Product Reports* 1993;10:291-299.
312. Lewis JR. Amaryllidaceae and Sceleretium alkaloids. *Natural Product Reports* 1994;11:329-332.
313. Lewis JR. Amaryllidaceae and Sceleretium alkaloids. *Natural Product Reports* 1995;12:339-345.
314. Lewis JR. Amaryllidaceae and Sceleretium alkaloids. *Natural Product Reports* 1996;13:171-176.
315. Lewis JR. Amaryllidaceae alkaloids. *Natural Product Reports* 1997;14:303-308.
316. Lewis JR. Amaryllidaceae and Sceleretium alkaloids. *Natural Product Reports* 1998;15:107-110.
317. Lewis JR. Amaryllidaceae, muscarine, imidazole, oxazole, thiazole and peptide alkaloids and other Miscellaneous alkaloids. *Natural Product Reports* 2000;17:57-84
318. Lewis JR. Amaryllidaceae, Sceleretium, imidazole, oxazole, thiazole, peptide and Miscellaneous alkaloids. *Natural Product Reports* 2001;18:95-128.
319. Lewis JR. Amaryllidaceae, Sceleretium, imidazole, oxazole, thiazole, peptide and Miscellaneous alkaloids. *Natural Product Reports* 2002;19:223-258.
320. Lewis JR. Miscellaneous alkaloids: Amaryllidaceae, Sceleretium, muscarine, imidazole, oxazole, peptide and other Miscellaneous alkaloids *Natural Product Reports* 1999;16:389-416.
321. Blasko G, Cordell GA. Recent developments in the chemistry of plant derived anticancer agents, in economic and medicinal plant research. In: Wagner H, Hikuno H, Farnsworth NR, editors. Vol. 2. London Academic Press Inc., 1988; p. 147-149.

322. Dalton DR. Biosynthesis of 1-phenetyltetrahydroisoquinoline and other C6-C2 + C6-C1 alkaloids derived from tyrosine. In: Gassmann PG, editor. Studies in Organic Chemistry Vol 7. New-York: Marcel Dekker, 1979; p. 197-215. Detection for isolation of an acetylcholinesterase inhibitor from *Narcissus* "Sir Winston Churchill". Journal of Natural Products 2000;63:803-806.
323. Ghosal S, Saini KS, Razdan S. Crinum alkaloids: Their chemistry and biology. Phytochemistry 1985;24(10):2141-2156.
324. Osorio O, Robledo SM, Bastida J. Alkaloids with antiprotozoal activity. In: Cordell GA, editor. The Alkaloids, Vol: 66. Amsterdam: Elsevier, 2008; p. 113.
325. Polt R. Amaryllidaceae alkaloids with antitumor activity, organic syntheses, 1996;3:109-148.
326. Suffness M, Cordell GA. Antitumor alkaloids. In the Brossi AR, editor. Alkaloids Chemistry and Pharmacology, Vol. 25. New York: Academic Press Inc., 1985; p. 198-212.
327. Proskurnina NF, Areshkina LY. On the Alkaloids of *Galanthus woronovi*. Journal of General Chemistry of the U.S.S.R. 1947;17:1216-1219.
328. Southon IW, Buckingham J. editors. Dictionary of Alkaloids. New York: Indexes, Chapman and Hall Ltd.; 1989;p:504.
329. Komarov VL. Flora URSS, Vol. 4. Leningrad: Academiae Scientiarum URSS, 1935; p. 476-480.
330. Boit HG, Döpke W. Alkaloide aus *Hippeastrum aulicum* var. *robustum*. Die Naturwissenschaften 1960;47(5):109.
331. Yakovleva AP. The Alkaloids of *Galanthus woronowii*. VII. isolation of tazettine. Journal of the General Chemistry 1963;33(5):1691-1693.
332. Buckingham J, Baggaley KH, Roberts AD, Szabó LF, editors. Dictionary of alkaloids. 2nd ed. New York: CRS Press; 2010.
333. Berkov S, Bastida J, Sidjimova B, Viladomat F, Codina C. Phytochemical differentiation of *Galanthus nivalis* and *Galanthus elwesii* (Amaryllidaceae): A case study. Biochemical Systematics and Ecology 2008b;36:638-645

334. Zeybek U, Jurenitsch J, Kubelka W, Jentzsch K. HPLC bestimmung des alkaloidgehaltes in verschiedenen *Galanthus*-Arten. *Scientia Pharmaceutica* 1982;50(4):282-284.
335. Berkov S, Codina C, Viladomat F, Bastida J. (2007a). Alkaloids from *Galanthus nivalis*. *Phytochemistry* 2007a;68:1791-1798.
336. Berkov S, Cuadrado M, Osorio E, Viladomat F, Codina C, Bastida J. Three new alkaloids from *Galanthus nivalis* and *Galanthus elwesii*. *Planta Medica* 2009b;75(12):1351-1355
337. Berkov S, Evstatieva L, Sidjimova B, Popov S. Isolation and identification of alkaloids from Bulgarian *Galanthus elwesii*. *Biokhimiya, Biofizika, Molekulyarnaya Biologiya i Genetika, Microbiologiya i Fiziologiya* 2005a;96 (2): 89-94.
338. Kaya GI, Sarıkaya B, Onur MA, Somer NU, Viladomat F, Codina C, Bastida J, Lauinger IL, Kaiser M, Tasdemir D. Antiprotozoal alkaloids from *Galanthus trojanus*. *Phytochemistry Letters* 2011;4:301-305.
339. Kaya GI, Ünver N, Gözler B, Bastida J. (-)-Capnoidine and (+)-bulbocapnine from an Amaryllidaceae species, *Galanthus nivalis* subsp. *cilicicus*. *Biochemical Systematics and Ecology* 2004;32(11):1059-1062.
340. Ünver N, Kaya GI, Werner C, Verpoorte R, Gözler B. Galanthindole: A new indole alkaloid from *Galanthus plicatus* ssp. *byzantinus*. *Planta Medica* 2003;69(9):869-871.
341. Latvala A, Önür MA, Gözler T, Linden A, Kivçak B, Hesse M. Alkaloids of *Galanthus elwesii*. *Phytochemistry* 1995a;39(5):1229-1240
342. Tsakadze DM, Samsoniya SA, Ziaev R, Abdusamatov A. Alkaloid and phenolic compounds of *Galanthus caucasicus*, *Magnolia obovata*, *Cocculus laurifolius* and *Veratrum lobelianum* grown in Georgia. *Molecular Diversity* 2005;9:41-44.
343. Asoeva EZ, Murav'eva DA, Molodozhnikov MM, Rabinovich IM. *Galanthus krasnovii*-A source for obtaining galanthamine. *Farmatsiya (Moscow)* 1968;17(5): 47-49. *Chemical Abstract* 1969;70:14355b
344. Kalashnikov ID. Separation of alkaloids from *Galanthus nivalis*. *Farmatsevt Zhurnal (Kiev)* 1970;25(3):40-44. *Chemical Abstract* (1970);73:91195p.

345. Kalashnikov I. D. (1969). Study of common snowdrop bulb alkaloids by thin-layer chromatography. Issled. Obl. Lek. Sredstv 1969;228-231. Ref. Zh. Biol. Khim 1970;Abstract No. 14F1106. Chemical Abstract 1971;74:136420x.
346. Tsitsishvili NS, Kiparenko TN, Tsitsishvili GI, Tsakadze DM. Additional study of *Galanthus woronowii* for content of alkaloids. Tr. Tbilis. Univ. 1971;137:171-174. Ref. Zh. Biol. Khim 1971;18F907. Chemical Abstract 1972;77:16541c.
347. Berkov S, Bastida J, Sidjimov B, Viladomat F, Codina C. Alkaloid Diversity in *Galanthus elwesii* and *Galanthus nivalis*. Chemistry & Biodiversity 2011;8:115-130.
348. Bubeva-Ivanova L. Farmatsiya (Sofia) 1957;8(2):23-26. Bubeva-Ivanova L. Amaryllidaceenalkaloide, VI über die wirkung einiger mineralsäuren auf galanthamine. Chemische Berichte 1962;95:1348-1353.
349. Berkov S, Reyes-Chilpa R, Codina C, Viladomat F, Bastida J. Revised NMR data for incartine: An alkaloid from *Galanthus elwesii*. Molecules 2007b;12:1430-1435.
350. Latvala A, Önür MA, Gözler T, Linden A, Kivçak B, Hesse M. Nitrogen inversion in 9-O-demethylhomolycorine. Tetrahedron Asymetry 1995b;6(2):361-365
351. Piozzi F, Marino ML, Fuganti C, Di Martino A. Occurrence of non basic metabolites in Amaryllidaceae. Phytochemistry 1969;8(9):1745-1748.
352. Tsakadze DM, Kiparenko TN, Tsitsishvili NS. Alkaloids of *Galanthus caucasicus*. Soobshcheniya Akademii Nauk Gruzii, SSR 1969b;55(3):573-575. Chemical Abstract 1970;72:35723b.
353. Akineri G, Güneş HS. *Galanthus plicatus* ssp. *byzantinus* as a new source for some amaryllidaceae alkaloids. Journal of Faculty of Pharmacy of Gazi University 1998;15(2):99-106.
354. Ünver N, Noyan S, Gözler T, Önür MA, Gözler B, Hesse M. Three new tazettine-type alkaloids from *Galanthus gracilis* and *Galanthus plicatus* subsp. *byzantinus*. Planta Medica 1999b;65:347-350.
355. Vdovin AD, Kadyron A, Yagudaev MR, Allayarov B, Nistryan AK. Structure of trisphaeridine. Chemistry of Natural Compounds 1981;17(3):279-280.
356. Linden A, Akineri G, Noyan S, Gözler T, Hesse M. Amaryllidaceae alkaloids: (+)-Tazettine, (+)-3-O-demethylcristalline and (+)-3-epimacronine at 173 K. Acta Crystallographica Section C 1998;54:1653-1659.

357. Tsakadze DM, Abdusamatov A, Razakov R, Yunusov SY. The structure of galanthusine. *Chemistry of Natural Compounds* 1970;6:791-792.
358. Yunusov SY, Kiparenko TN, Razakov R, Abdusamatov A, Tsakadze DM. Galanthusine, an alkaloid from snowdrop, *Galanthus caucasicus*. *Soobshcheniya Akademii Nauk Gruzii, SSR*. 1972;65(2):333-336. *Chemical Abstract* 1972;77: 45496x.
359. Kobayashi S, Shighu T, Uyeo S. Structure of galanthamine and lycoramine. *Chemical and Industry* 1956;177-178.
360. Proskurnina NF. Alkaloids of *Galanthus woronovi*. Structure of galanthine. *Doklady Akademii Nauk S.S.S.R* 1953;90:565-567. *Chemical Abstract* 1955;49:12500c.
361. Proskurnina NF, Yakovleva AP. The Alkaloids of *Galanthus woronowi* III. The structure of galanthamine. *Journal of General Chemistry of the U.S.S.R.* 1955;25:999-1002.
362. Barbakadze V, Mulkijanyan K, Merlani M, Gogilashvili L, Amiranashvili L. Structure of glucofructan from bulbs of *Galanthus platyphyllus* Traub et Moldenke (Amaryllidaceae). *Bulletin of the Georgian National Academy of Sciences* 2007;175 (2):86-88
363. Hammer H. The trisaccharide fraction of some plants belonging to the Amaryllidaceae. *Acta Chemica Scandinavica* 1968;22(1):197-199. *Chemical Abstract* 1968;68:84923t.
364. Parkin J. The carbohydrates of the folige leaf of the snowdrop (*Galanthus nivalis* L.), and their bearing on the first sugar of photosynthesis. *Biochemical Journal* 1912;6: 1-47. *Chemical Abstract* 6:19174.
365. Hoerhammer L, Wagner H, Beck K. Isolation of new flavanol oligosaccharides from the blossoms of *Leucojum vernum* and *Galanthus nivalis*. *Zeithschrift für Naturforsch B* 1967;22(8):896. *Chemical Abstract* 1968;69:3112y.
366. Tsakadze DM, Kiparenko TN, Abdusamatov A. Rutin and hyperoside from *Galanthus caucasicus*. *Chemistry of Natural Compounds* 1977;13:105.
367. Kuiper PJC, Stuiver B. Cylopropane fatty acids in relation to earliness in spring and drought tolerance in plants. *Plant Physiology* 1972;49(3):307-309. *Chemical Abstract* 1972;76:110396k.

368. Tammes T. New chromogen, producing a blue pigment, in *Galanthus nivalis* and several other species of the same genus. Rec. Trav. 1919, Botan. Néerland 1918;15:1-16, Physiol. Abstracts 4:189, Chemical Abstract 1920;14:1563.
369. Bach A, Pawlowska B. Phenolic compounds level in *Galanthus elwesii* cultures as a response to *in vitro* stress. Acta Physiologiae Plantarum 2007;29(1):34-35.
370. Girmen M, Zimmer K. *In vitro*-kultur von *Galanthus elwesii*. I. Sterilisation, Regeneration, Phytohormone. Gartenbauwissenschaft 1988;53(1):26-29.
371. Moskov I, Savova I, Boshnyakova P, Staneva K, Stoeva A, Atanasov A. In vitro induction of organogenesis and callus in some bulb plants. I. Hyacinth (*Hyacinthus orientalis* L.), snowdrop (*Galanthus nivalis* L.) and tulip (*Tulipa schrenkii* L.). Fiziol. Rast. (Sofia), 1980;6(1):67-75. Chemical Abstract 1980;93:144564e.
372. Staikidou I., Selby C., Hanks G. Stimulation of *in vitro* bulblet growth in *Galanthus* species with sucrose and activated charcoal. Acta Horticulturae (Proceedings of the Vth International Symposium on In vitro Culture and Horticultural Breeding, 2004, Volume 1), 2006;421-426.
373. Balzarini J, Van Laethem K, Hatse S, Froeyen M, Van Damme E, Bolmstedt A, et. al. Marked depletion of glycosylation sites in HIV-1 gp120 under selection pressure by the mannose-specific plant lectins of *Hippeastrum* hybrid and *Galanthus nivalis*. Molecular Pharmacology 2005;67(5):1556-1565
374. Down RE, Ford L, Woodhouse SD, Davison GM, Majerus MEN, Gatehouse JA, et. al. Tritrophic interactions between transgenic potato expressing snowdrop lectin (GNA), an aphid pest (peach-potato aphid; *myzus persicae* (Sulz.) and a beneficial predator (2-spot ladybird; *adalia bipunctata* L.). Transgenic Research 2003;12: 229-241.
375. Fouquaert E, Smith DF, Peumans WJ, Proost P, Balzarni J, Savvides SN. Related lectins from snowdrop and maize differ in their carbohydrate-binding specificity. Biochemical and Biophysical Research Communications 2009;380:260-265.
376. McCafferty HRK, Moore PH, Zhu YJ. Papaya Transformed with the *Galanthus nivalis* GNA gene produces a biologically active lectin with a spider mite control activity. Plant Science 2008;175 (3):385-393.

377. Ripoll C, Favery B, Lecomte P, Van Damme E, Peumans W, Abad P, Jauanin L. Evaluation of the ability of lectin from snowdrop (*Galanthus nivalis*) to protect plants against root-knot nematodes. *Plant Science* 2003;164:517-523.
378. Romeis J, Babendreier D, Wackers FL. Consumption of snowdrop lectin (*Galanthus nivalis* Agglutinin) causes direct effects on adult parasitic wasps. *Oecologia* 2003;134(4):528-36.
379. Trebicki P, Harding RM, Powell KS. Anti-metabolic effects of *Galanthus nivalis* agglutinin and wheat germ agglutinin on nymphal stages of the common brown leafhopper using a novel artificial diet system. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 2009;131(1):99-105.
380. Tullis RH, Duffin RP, Handlet HH, Sodhi P, Menon J, Joyce JA, et. al. Reduction of hepatitis C virus using lectin affinity plasmapheresis in dialysis patients. *Blood Purification* 2009;27(1):64-69.
381. Van Damme EJM, Allen AK, Peumans WJ. Related mannose-specific lectins from different species of the family Amaryllidaceae. *Physiologia Plantarum* 2007;73(1):52-57.
382. Van Damme EJM, Lannoo N, Peumans WJ. Plant lectins. *Advances in Botanical Research* 2008;48:107-209.
383. Yunhe L, Jorg R. Impact of snowdrop lectin (*Galanthus nivalis* agglutinin; GNA) on adults of the green lacewing, *Chrysoperia carnea*. *Journal of Insect Physiology* 2009;55(2):135-142.
384. Çelebioğlu S, Baytop T. Bitkisel tozların tetkiki için yeni bir reaktif. *Farmakognozi Enstitüsü Yayınları* 1949;No. 10, *Farmakolog* 19:301, Baytop A. Bitkisel drogların anatomik yapısı. İstanbul: Baha Matbaası, 1972; s. 26-27
385. Baytop A. Bitkisel Drogların Anatomik Yapısı. İstanbul: Baha Matbaası; 1972
386. Ünver-Somer N, Kaya Gİ, Sarıkaya B. Önür MA. (2007). *Galanthus woronowii* Losinsk. üzerinde fitokimyasal araştırmalar. Kuşadası: XVII. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı; 2007.
387. *Deutsches Arzneibuch* 1997;10.

388. Ergenç N, Gürsoy A, Ateş Ö. İlaçların tanınması ve kantitatif tayini. 4. Baskı, İstanbul Üniversitesi yayınları 1989;No: 3566, Eczacılık Fakültesi No: 35, İstanbul, s:803.
389. Shawky E, Abou-Donia AH, Darwisha FA, Toaima SM, Takla SS, Pigni NB, et. al. HPTLC and GC/MS study of Amaryllidaceae alkaloids of two *Narcissus* species. Chemistry & Biodiversity 2015;12:1184-1199.
390. Berkov S, Bastida J, Tsvetkova R, Viladomat F. Alkaloids from *Sternbergia colchiciflora*. Zeitschrift für Naturforschung 2009a;64c:311-316
391. Berkov S, Pavlov A, Ilieva M, Burrus M, Popov S, Stanilova M. CGC-MS of Alkaloids in *Leucojum aestivum* plants and their *in vitro* cultures. Phytochemical Analysis 2005;16:98–103.
392. Berkov S, Romani S, Herrera M, Viladomat F, Codina C, Momekov G, et. al. Antiproliferative alkaloids from *Crinum zeylanicum*. Phytotherapy Research 2011; 25:1686–1692.
393. Berkov S, Bastida J, Viladomat F, Codina C. Analysis of galanthamine-type alkaloids by capillary gas chromatography-mass spectrometry in plants. Phytochemical Analysis 2008c;19: 285-293
394. Kreh M, Matusch R, Witte L. Capillary gas chromatography-mass spectrometry of Amaryllidaceae alkaloids. Phytochemistry 1995;38:773-776.
395. Georgieva L, Berkov S, Kondakova V, Bastida J, Viladomat F, Atanassov A, et. al. Alkaloid variability in *Leucojum aestivum* from wild populations. Z. Naturforsch 2007; 62c:627-635.
396. Berkov S, Bastida J, Viladomat F, Codina C. Analysis of galanthamine-type alkaloids by capillary gas chromatography-mass spectrometry in plants. Phytochemical Analysis 2008;19:285–293.
397. Cortes N, Posada-Duque RA, Alvarez R, Alzate F, Berkov S, Cardona-Gómez GP, et. al. Neuroprotective activity and acetylcholinesterase inhibition of five Amaryllidaceae species: A comparative study. Life Sciences 2015;122:42–50.
398. Şahin NF. Trabzon yöresi *Galanthus* L. (=Kardelen) türlerinin morfolojik ve palinolojik yönden incelenmesi. Doktora tezi. Trabzon: Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü; 1995.

399. Duman İ. *Galanthus elwesii* Hook. üzerinde kalite kontrol çalışmaları. Yüksek lisans tezi. İzmir: Ege Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 1997.
400. Torras-Claveria L, Berkov S, Jáuregui O, Caujapé J, Vilodamat F, Codina C, et. al. Metabolic profiling of bioactive *Pancratium canariense* extracts by GC-MS. *Phytochemical Analysis* 2010;21:80-88.
401. Pellati F, Benvenuti S. Chromatographic and electrophoretic methods for the analysis of phenethylamine alkaloids in *Citrus aurantium*. *Journal of Chromatography A* 2007;1161:74-88.
402. Kihara M, Xu L, Konishi K, Kida K, Nagao Y, Kobayashi S, Shingu T. Isolation and structure elucidation of a novel alkaloid, incartine, a supposed biosynthetic intermediate, from flowers of *Lycoris incarnata*. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* 1994;42: 289-292.
403. Wagner J, Pham HL, Döpke W. (1996). Alkaloids from *Hippeastrum equestre* Herb.-5. Circular dichroism studies. *Tetrahedron* 1996;52(19):6591-6600.
404. LabranĀ J, Choya G, Solans X, Font-Bardia M, de la Fuente G, Viladomat F, et. al. Alkaloids from *Narcissus bujei* (Amaryllidaceae). *Phytochemistry* 1999;50:183-188.
405. Latvala A. Strukturaufklärung der Amaryllidaceen-alkaloide aus *Galanthus elwesii* Hooker fil. Doktora tezi. Zürich: Zürich Üniversitesi, Felsefe Fakültesi II; 1994.
406. Lubbe A, Pomahačová B, Choi YH, Verpoorte R. Analysis of metabolic variation and galanthamine content in *Narcissus* bulbs by ¹H NMR. *Phytochemical Analysis* 2010;21:66–72.
407. Abdallah OM. Narcisine, an alkaloid from *Narcissus tazetta*. *Phytochemistry* 1993;34(5):1441-1448.
408. Kintsurashvili L, Vachnadze V. Plants of the amaryllidaceae family grown and introduced in georgia: A source of galanthamine. *Pharmaceutical Chemistry Journal* 2007;41(9):38-40.
409. Viladomat F, Bastida J, Codina C. *Narcissus* alkaloids, XVII'. obesine, a novel alkaloid from *Narcissus obesus*. *Journal of Natural Products* 1992;55(6):804-806.
410. Somer NU, Sarikaya B, Kaya I, Onur M, Bastida J. Phytochemical studies on *Galanthus fosteri* Baker. *Planta Medica* 2010; 76(12):1285.

411. Pigni NB, Ríos-Ruiz S, Martínez-Francés V, Nair JJ, Viladomat F, Codina C, et. al. Alkaloids from *Narcissus serotinus*. Journal of Natural Products 2012;75:1643–1647.
412. Bastida J, Codina C, Viladomat F. *Narcissus* alkaloids, XIII. complete assignment of the NMR spectra of papyramine and 6-epi-papyramin by two-dimensional NMR spectroscopy. Journal of Natural Products 1990;53(6):1456-1462.
413. Abdallah OM. Minor alkaloids from *Lycoris sanguinea*. Phytochemistry 1995;39(2):477-478.
414. Tato P, Castedo L, Riguera R. New alkaloids from *Pancreatum maritimum*. Heterocycles 1988;27: 2833-2838.
415. Ali AA, Ramadan MA, Frahm AW. Alkaloidal constituents of *Crinum bulbispermum* III: Bulbispermimine, a new alkaloid of *Crinum bulbispermum*. Planta Medica 1984;67:424-427.
416. Starha R, Chybidziurová A, Lacný Z. Constituent of *Turbinicarpus alonsoi* glass&arias (Cactaceae). Chemica 1999;38.
417. Clement BA, Goff CM, Forbes TDA. Toxic amines and alkaloids from *Acacia rigidula*. Phytochemistry 1998;38(4):1377-1380.
418. Gao L, Wei X, Yanga L. A new diterpenoid alkaloid from a Tibetan medicinal herb *Aconitum naviculare* Stapf. Journal of Chemical Research 2004;307-308.
419. Ahsan M, Armstrong JA, Gray AI, Waterman PG. Terpenoids, alkaloids and coumarins from *Boronia inornata* and *Boronia gracilipes*. Phytochemistry 1995;38(5):1275-1278.
420. El-Shazly AM, Dora G, Wink M. Alkaloids of *Haloxylon salicornicum* (Moq.) Bunge ex Boiss. (Chenopodiaceae). Pharmazie 2005;60:949–952.
421. Shabana M, Gonaid M, Salama MM, Abdel-Sattar E. Phenylalkylamine alkaloids from *Stapelia hirsuta* L. Natural Product Research 2006; 20(8):710–714.
422. Berkov S, Pavlov A, Georgiev V, Weber D, Bley T, Viladomat F, et. al. Changes in apolar metabolites during in vitro organogenesis of *Pancreatum maritimum*. Plant Physiology and Biochemistry 2010;48:827-835.
423. Mügge C, Schablinski B, Obst K, Döpke W. Alkaloids from *Hippeastrum* hybrids. Pharmazie 1994;49:444-447.

424. Boit HG. Alkaloide von *Chlidanthus fragrans*, *Vallota purpurea*, *Nerine undulata* und *Hippeastrum vittatum*. Chemische Berichte 1956;89:1129-1134.
425. Boit HG, Ehmke H. Alkaloide von *Nerine corusco*, *N. flexuosa*, *Pancratium illyricum*, *Lycoris aurea* und *L. Incartana*. Chemische Berichte 1957;89:369-373.
426. Frahm AW, Ali AA, Ramadan MA. ¹³C nuclear magnetic resonance spectra of Amaryllidaceae alkaloids. Magnetic Resonance in Chemistry 1985;23 (10):804-808.
427. Kihara M, Koike T, Imakura Y, Kida K, Shingu T, Kobayashi S. Alkaloidal constituents of *Hymenocallis rotata* HERB. (Amaryllidaceae). Chemical & Pharmaceutical Bulletin 1987;35(3):1070-1075.
428. Kihara M, Konishi K, Xu L, Kobayashi S. Alkaloidal constituents of the flowers of *Lycoris radiata* HERB. (Amaryllidaceae). Chemical & Pharmaceutical Bulletin 1991;39:1849-1853.
429. Pabuççuoğlu V, Richomme P, Gözler T, Kivçak B, Freyer AJ, Shamma M. Four new crinine-type alkaloids from *Sternbergia* species. Journal of Natural Products 1989;52(4):785-791.
430. Bastida J, Codina C, Porras CL, Paiz L. Alkaloids from *Hippeastrum solandriifolium*. Planta Medica 1996;62:74-75.
431. Quirion JC, Husson HP, Weniger B, Jimenez F, Zanoni TA. (-)-3-O acetylnarcissidine, a new alkaloid from *Hippeastrum puniceum*. Journal of Natural Products 1991;54(4):1112-1114.
432. Silva AFS, De Andrade JP, Machado KRB, Rocha AB, Apel MA, Sobral MEG, et. al. Screening for cytotoxic activity of extracts and isolated alkaloids from bulbs of *Hippeastrum vittatum*. Phytomedicine 2008;15(10):882-885.
433. Bastida J, Contreras JL, Codina C, Wright CW, Phillipson JD. Alkaloids from *Narcissus cantabricus*. Phytochemistry 1995;40 (5):1549-1551.
434. Ahmed ZF, Rızk AM, Hamouda FM. Phytochemical studies on Egyptian *Pancratium* species. Lloydia 1964;27(2):115-134.
435. Sandberg F, Michel KH. Phytochemische studien über die alkaloide von *Pancratium maritimum*. Lloydia 1963;26(2):78-90.
436. Lin LZ, Hu SF, Chai HB, Pengsuparp T, Pezzuto JM, Cordell GA, et. al. lycorine alkaloids from *Hymenocallis littoralis*. Phytochemistry 1995;40(4):1295-1298.

437. Herera MR, Machocho AK, Brun R, Vilodomat F, Codina C, Bastida J. Crinane and lycorane type alkaloids from *Zephranthes citrina*. *Planta Medica* 2001;67:113-128.
438. Blasko G, Elango V, Şener B, Freyer AJ, Shamna M. Secophthalideisoquinolines. *The Journal of Organic Chemistry* 1982;47: 880-885.
439. Wildman WC, Brown CL. Mass Spectra of 5, 11b-methanomorphanthridine alkaloids. The structure of pancracine. *Journal of the Natural Chemical Society* 1968;90:6439-6446.
440. Chan C, Chu C, Mok DK, Chau F. Analysis of berberine and total alkaloid content in *Cortex Phellodendri* by near infrared spectroscopy (NIRS) compared with high-performance liquid chromatography coupled with ultra-visible spectrometric detection. *Analytica Chimica Acta* 2007;592:121–131.

ÖZGEÇMİŞ

1982 Yılında Osmaniye’de doğdum. İlk öğrenimimi Antalya’nın Serik ilçesinde Tekeli İlköğretim okulunda, orta öğrenimimi ve lise öğrenimimi Serik Anadolu Lisesi’nde tamamladım. 2002 yılında Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi’ne girdim. 2007 yılında mezun oldum ve aynı yıl E.Ü. Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı’nda yüksek lisans öğrenimime başladım, 2008 yılında Farmakognozi Anabilim Dalı’na araştırma görevlisi olarak atandım. Aynı anabilim dalında 2011 yılında doktora öğrenimime başladım. Halen Farmakognozi Anabilim Dalı’nda çalışmaya devam etmekteyim. Evliyim.