

137998-3

# TÜRKİYE' DE YETİŞEN *Berberis L.* TÜRLERİNİN ALKALOİTLERİ

Uzm. Ecz. MÜBERRA KOŞAR

Anadolu Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Lisansüstü Yönetmeliği Uyarınca

Farmakognozi Anabilim Dalında

DOKTORA TEZİ

olarak hazırlanmıştır.

Danışman: Prof. Dr. K. Hüsnü Can BAŞER

Ocak 1999

Tezimin bir kısmında yardımlarından yararlanılmasına ve fotokopi çekilmesine izin veriyorum.

Müberra KOŞAR

Müberra KOŞAR' ın DOKTORA tezi olarak hazırladığı “ Türkiye’ de Yetişen Berberis L. Türlerinin Alkaloidleri ” başlıklı bu çalışma jürimizce Lisansüstü Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

13.01.1999

Üye : Prof.Dr.K.Hüsnü Can BAŞER

Üye : Prof.Dr.Afife MAT

Üye : Prof.Dr.Bilge ŞENER

Üye : Prof.Dr.Neşe KIRIMER

Üye : Yrd.Doç.Dr.Ayla ERTAN

---

Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu' nun 30.12.1998 gün ve 39/1 sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Enstitü Müdürü  
Prof.Dr. Muzaffer TUNÇEL

---

*bu günlere gelmemde en büyük payı olan*

*anne ve baba'ma,*

## ÖZET

Bu çalışmada ülkemiz florasında kayıtlı olan dört *Berberis* L. (Berberidaceae) türü: *B. crataegina*, *B. vulgaris*, *B. cretica* ve *B. integerrima* bütün bitki olarak toplandı. Çalışmalar kök, gövde ve dallar üzerinde ayrı ayrı yapıldı.

Çalışmamızın ilk bölümünde berbamin, aromolin, oksiakantin, palmatin, berberin, jatrorhizin, kolumbamin ve magnoflorin olmak üzere toplam sekiz alkaloid izole edildi. Bu alkaloidlerin yapıları spektral yöntemler kullanılarak tayin edildikten sonra bu maddeler miktar tayini çalışmalarında standart madde olarak kullanıldı.

Çalışmamızın ikinci bölümünde, toplanan dört türün kök, gövde ve dallarında izole edilen bu sekiz alkaloidin miktarları belirlendi. Miktar tayini çalışmalarında iyon çifti-YBSK yöntemi kullanıldı. Analiz sonuçları Fotodiyot Düzeni Dedektörü (Photodiode Array Dedector, DAD) ile alındı.

Hem izolasyon hem de miktar tayini çalışmalarında etanol ile hazırlanmış alkaloid ekstraları kullanıldı. Bu ekstralar standart alkaloid fraksiyonlama prosedürü ile polaritelerine göre farklı gruplara ayrıldı. Bu şekilde Eter ekstresi, Kloroform ekstresi ve Katerner ekstre olmak üzere üç ana ekstre ve bunların ara fazlarından alınan iki ekstre olmak üzere toplam beş grup ekstre alındı. Bu ekstralar ayrı ayrı analiz edildi.

Çalışmalarımız sonucunda alkaloid içeriği bakımından *B. vulgaris* ve *B. cretica* diğer iki türden daha zengin olarak bulundu.

Bu tez çalışması ile ülkemiz florasında kayıtlı olan dört *Berberis* türü, içermiş oldukları ana alkaloidleri bakımından incelendi. Sonuçta türlerin köklerinin alkaloid içeriği bakımından daha zengin oldukları ve alkaloid profillerinin birbirlerine çok yakın olduğu belirlendi.

Ayrıca, izole edilerek yapısı belirlenen berberin alkaloidinin *in vitro* olarak antikanser etkisi incelendi.

**Anahtar Kelimeler:** *Berberis*, Berberidaceae, izokinolin, protoberberin, aporfin, bisbenzilizokinolin, Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (YBSK).

## TEŞEKKÜR

Doktora çalışmam sırasında büyük ilgi ve destek göstererek konuyu yönlendiren, ilgi, anlayış ve desteğini esirgemeyen ve çalışmalarımın Anadolu Üniversitesi Tıbbi ve Aromatik Bitki ve İlaç Araştırma Merkezi (TBAM)'nde yürütülmesine imkan sağlayan danışmanım Eczacılık Fakültesi Dekanı ve Merkez Müdürü Prof.Dr. K. Hüsnü Can Başer'e,

Deneysel çalışmalarımın ilk aşamalarında Özbekistan Doğal Maddeler Kimyası Enstitüsü'nde araştırma imkanı sağlayan merhum Prof. Dr. Kh.N. Aripov'a ve buradaki çalışmalarımda bana yardımcı olan M.V. Teletshenetskaya ve I. Khamidov'a,

Değerli eleştiri ve önerileri ile çalışmalarına katkıda bulunan sayın hocam Prof. Dr. Neş'e Kırimer'e,

Rusça tercümelerimde bana yardımcı olan Ecz. Tekn. Müheddet Vatansever'e,

Bitkilerimin toplanması sırasında yardımlarını esirgemeyen Uludağ Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi Prof. Dr. Hulusi Malyer başta olmak üzere, Araş. Gör. Ayhan Altıntaş ve Araş. Gör. Fatih Demirci'ye,

Maddelerimin NMR ve FT-IR spektrumlarının alınmasında bana yardımcı olan Yard. Doç. Dr. Temel Özek'e,

Alkaloitlerimin hücre kültürü çalışmalarını yapan Araş. Gör. Seval Korkmaz'a,

Çalışmalarım sırasında değerli öneri ve eleştirileri ile her zaman yanımda olan çalışma arkadaşlarım Yard. Doç. Dr. Berrin Bozan ve Araş. Gör. Zeynep Tunalıer'e ve Tıbbi ve Aromatik Bitki ve İlaç Araştırma Merkezi'ndeki diğer tüm arkadaşlarıma,

Bu süre içerisinde göstermiş oldukları sonsuz sabır, anlayış ve destekten dolayı çok değerli anne ve babama,

sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Özet.....	i
Abstract.....	ii
Teşekkür.....	iii
Tablolar Dizini.....	iv
Şekiller Dizini.....	v
Tezde Kullanılan Kısaltmalar.....	vii
Tezde Adı Geçen Alkaloitlerin İngilizce İsimleri .....	viii
<b>1. GİRİŞ ve AMAÇ.....</b>	<b>1</b>
<b>2. KAYNAK TARAMASI.....</b>	<b>3</b>
2.1. Berberidaceae Familyası.....	3
2.1.1. <i>Berberis</i> L. cinsi.....	3
<i>Berberis vulgaris</i> L. ....	4
<i>Berberis crataegina</i> DC. ....	4
<i>Berberis integerrima</i> Bunge.....	5
<i>Berberis cretica</i> L. ....	6
2.2. <i>Berberis</i> Türlerinin Kayıtlı Olduğu Farmakopeler.....	7
2.3. <i>Berberis</i> Türlerinin Çeşitli Ülkelerde Kullanılan Preparatları.....	7
2.4. <i>Berberis</i> Türlerinin Etkin Maddeleri.....	7
2.5. Alkaloitler.....	9
2.5.1. İzokinolin Alkaloitlerinin Tanımı.....	10
2.5.2. İzokinolin Alkaloitlerinin Ekstraksiyonu.....	10
2.5.3. İzokinolin Alkaloitlerinin İzolasyonu ve Yapı Tayinleri.....	11

**3. GEREÇ ve YÖNTEMLER**

3.1. Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Bitkisel Materyal, Kimyasal Maddeler ve Aletler.....	76
3.1.1. Bitkisel Materyal.....	76
3.1.2. Kimyasal Maddeler.....	77
3.1.3. Kimyasal Reaktifler.....	78
3.1.4. Kullanılan Aletler.....	78
3.2. Deneysel Çalışma.....	79
3.2.1. Alkaloitlerin Ekstraksiyonu.....	79
3.2.1.1. İzolasyon Çalışmalarında Kullanılan Alkaloit Ekstraksiyonu.....	79
3.2.1.2. Miktar Tayini Çalışmalarında Kullanılan Alkaloit Ekstraksiyonu.....	80
3.2.2. Analitik Çalışmalar.....	84
3.2.2.1. Analitik İnce Tabaka Kromatografisi (İTK) .....	84
3.2.2.2. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (YBSK).....	85
3.2.3. Preparatif çalışmalar.....	87
3.2.3.1. Kolon Kromatografisi (KK) .....	87
3.2.3.2. Preparatif Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (Prep-YBSK).....	87
3.2.4. Spektroskopik Çalışmalar.....	88
3.2.4.1. Ultraviyole Spektrofotometresi (UV).....	88
3.2.4.2. Infrared Spektrofotometresi (IR).....	88
3.2.4.3. Nükleer Manyetik Rezonans Spektrometresi (NMR).....	88
3.2.5. Berberin Alkaloitinin Antikanser Etkisinin Araştırılması.....	88

<b>4. BULGULAR</b> .....	90
4.1. Alkaloitlerin Ekstraksiyonu.....	90
4.2. Alkaloitlerin İzolasyonu.....	91
4.2.1. Eterde Çözünen Alkaloitlerin İzolasyonu.....	91
4.2.2. Kloroformda Çözünen Alkaloitlerin İzolasyonu.....	93
4.2.3. Katerner Alkaloitlerin İzolasyonu.....	97
4.3. Alkaloitlerin Yapı Tayinileri.....	102
Berbamin (R1).....	105
Oksiakantin (R2) .....	107
Aromolin (R3) .....	109
Palmatin (R4) .....	111
Berberin (R5) .....	113
Jatrorhizin (R6) .....	115
Kolumbamin (R7) .....	117
Magnoflorin (R8) .....	119
4.4. Kantitatif Analiz Sonuçları.....	121
4.4.1. YBSK İle İzokinolin Alkaloitlerinin Miktar Tayinleri.....	121
4.5. Berberin Alkaloitinin Antikanser Etki Sonuçları.....	130
<b>5. SONUÇ VE TARTIŞMA</b> .....	131
<b>KAYNAKLAR</b> .....	137
Özgeçmiş	

**TABLolar DİZİNİ****Sayfa**

2.1.	Çeşitli ülkelerde kullanılan <i>Berberis</i> preparatları .....	8
2.2.	<i>Berberis</i> türlerinde bulunan basit izokinolin alkaloitleri .....	17
2.3.	<i>Berberis</i> türlerinde bulunan benzilizokinolin alkaloitleri .....	21
2.4.	<i>Berberis</i> türlerinde çok sık rastlanan bulunan protoberberin alkaloitleri ...	25
2.5.	<i>Berberis</i> türlerinde bulunan diğer protoberberin alkaloitleri .....	31
2.6.	<i>Berberis</i> türlerinde bulunan aporfin ve proaporfin alkaloitleri .....	35
2.7.	<i>Berberis</i> türlerinde bulunan indanobenzazepin alkaloitleri .....	39
2.8.	<i>Berberis</i> türlerinde bulunan koridinmetin alkaloitleri .....	40
2.9.	<i>Berberis</i> türlerinde bulunan kuettamin alkaloitleri .....	41
2.10.	<i>Berberis</i> türlerinde bulunan kularin alkaloitleri .....	42
2.11.	<i>Berberis</i> türlerinde bulunan pavin alkaloitleri .....	43
2.12.	<i>Berberis</i> türlerinde çok sık rastlanan bisbenzilizokinolin alkaloitleri .....	47
2.13.	<i>Berberis</i> türlerinde bulunan diğer bisbenzilizokinolin alkaloitleri .....	52
2.14.	<i>Berberis</i> türlerinde bulunan aporfin-benzilizokinolin alkaloitleri .....	55
2.15.	<i>Berberis</i> türlerinde bulunan proaporfin-benzilizokinolin alkaloitleri .....	57
2.16.	<i>Berberis</i> türlerinde bulunan sekobisbenzilizokinolin alkaloitleri .....	60
3.1.	Bu çalışmada kullanılan <i>Berberis</i> türlerinin toplanma yöreleri .....	76
3.2.	Kullanılan İTK çözücü sistemleri .....	84
3.3.	YBSK analizlerinde kullanılan ekstre konsantrasyonları .....	86
3.4.	YBSK analizlerinde kullanılan standart madde konsantrasyonları .....	86
4.1.	<i>Berberis</i> türlerinden elde edilen alkaloit ekstralarının verimleri .....	90
4.2.	Standart maddelerin kalibrasyon denklemleri ve korelasyon katsayıları ....	121
4.3.	<i>Berberis</i> türlerinden hazırlanan ekstralarda bulunan başlıca alkaloitlerin yüzde miktarları .....	123
4.4.	<i>Berberis</i> türlerinde bulunan başlıca alkaloitlerin yüzde miktarları .....	128

**SEKİLLER DİZİNİ****Sayfa**

2.1.	<i>Berberis</i> türlerinin Türkiye'deki dağılımı .....	6
2.2.	İzokinolin yapısı .....	10
2.3.	Protoberberin alkaloidlerinin biyosentezi .....	13
2.4.	Basit izokinolin alkaloidlerinin genel yapısı .....	15
2.5.	Basit izokinolin alkaloidlerinin formülleri .....	16
2.6.	Benzilizokinolin alkaloidlerinin genel yapısı .....	17
2.7.	Benzilizokinolin alkaloidlerinin formülleri .....	18
2.8.	Protoberberin alkaloidlerinin genel yapısı .....	20
2.9.	Protoberberin alkaloidlerinin formülleri .....	22
2.10.	Aporfin ve proaporfin alkaloidlerinin genel yapısı .....	33
2.11.	Aporfin ve proaporfin alkaloidlerinin formülleri .....	33
2.12.	İndanobenzazepin alkaloidlerinin formülleri .....	38
2.13.	Koridinmetin alkaloidlerinin formülleri .....	39
2.14.	Kuettamin alkaloidlerinin formülleri .....	41
2.15.	Kularin alkaloidlerinin formülleri .....	42
2.16.	Pavin alkaloidlerinin genel yapısı .....	42
2.17.	Pavin alkaloidlerinin formülleri .....	43
2.18.	Bisbenzilizokinolin alkaloidlerinin genel yapısı .....	43
2.19.	Bisbenzilizokinolin alkaloidlerinin formülleri .....	44
2.20.	Aporfin-benzilizokinolin alkaloidlerinin genel yapısı .....	54
2.21.	Aporfin-benzilizokinolin alkaloidlerinin formülleri .....	54
2.22.	Proaporfin-benzilizokinolin alkaloidlerinin genel yapısı .....	56
2.23.	Proaporfin-benzilizokinolin alkaloidlerinin formülleri .....	56
2.24.	Sekobisbenzilizokinolin alkaloidlerinin genel yapısı .....	58
2.25.	Sekobisbenzilizokinolin alkaloidlerinin formülleri .....	58

3.1.	İzolasyon çalışmalarında kullanılan ekstraksiyon yöntemi .....	82
3.2.	Miktar tayini çalışmalarında kullanılan ekstraksiyon yöntemi .....	83
4.1.	Eterde çözünen alkaloidlerin saflaştırılması .....	94
4.2.	Kloroformda çözünen alkaloidlerin saflaştırılması (1) .....	98
4.3.	Kloroformda çözünen alkaloidlerin saflaştırılması (2) .....	99
4.4.	Katerner alkaloidlerin saflaştırılması .....	101
4.5.	Berbamin'in NMR, IR, UV spektrumları .....	106
4.6.	Oksiakantin'in NMR, IR, UV spektrumları.....	108
4.7.	Aromolin'in NMR, IR, UV spektrumları.....	110
4.8.	Palmatin'in NMR, IR, UV spektrumları.....	112
4.9.	Berberin'in NMR, IR, UV spektrumları.....	114
4.10.	Jatrorhizin'in NMR, IR, UV spektrumları.....	116
4.11.	Kolumbamin'in 1H-NMR spektrumu .....	118
4.12.	Magnoflorin'in NMR, IR, UV spektrumları.....	120
4.13.	220 nm de değerlendirilen standart alkaloidlerin kalibrasyon eğrileri .....	122
4.14.	345 nm de değerlendirilen standart alkaloidlerin kalibrasyon eğrileri .....	122
4.15.	I. Ekstrenin 220 ve 345 nm'lerdeki YBSK kromatogramı .....	125
4.16.	II. Ekstrenin 220 ve 345 nm'lerdeki YBSK kromatogramı .....	125
4.17.	III. Ekstrenin 220 ve 345 nm'lerdeki YBSK kromatogramı .....	126
4.18.	IV. Ekstrenin 220 ve 345 nm'lerdeki YBSK kromatogramı .....	126
4.19.	V. Ekstrenin 220 ve 345 nm'lerdeki YBSK kromatogramı .....	127
4.20.	220 nm'de değerlendirilen standart alkaloid karışımının YBSK kromatogramı .....	127
4.21.	345 nm'de değerlendirilen standart alkaloid karışımının YBSK kromatogramı.....	128
4.22.	<i>Berberis</i> türlerindeki alkaloidlerin yüzde miktarları .....	129

## Tezde Kullanılan Kısaltmalar

ABİ	: Aporfin-benzilizokinolin
CH <sub>3</sub> COOH	: Asetik asit
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	: Alüminyum oksit
BBİ	: Bisbenzilozokinolin
C <sub>6</sub> H <sub>6</sub>	: Benzen
CHCl <sub>3</sub>	: Kloroform
D	: Dal
DAD	: Fotodiyot Düzeni Dedektörü (Photodiode Array Dedector)
ESSE	: Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu
EtOH	: Etanol
FT-IR	: Fourier Transform Infrared Spektrofotometresi
G	: Gövde
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	: Sülfürik asit
H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	: Fosforik asit
HCl	: Hidroklorik asit
HClO <sub>4</sub>	: Perklorik asit
i.g.	: intragastrik
i.p.	: intraperitoneal
IR	: Infrared Spektroskopisi
İTK	: İnce Tabaka Kromatografisi
K	: Kök
KK	: Kolon Kromatografisi
M	: Molarite
CH <sub>3</sub> CN	: Asetonitril
CH <sub>3</sub> OH	: Metanol
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	: Sodyum sülfat
NaClO <sub>4</sub>	: Sodyum perklorat
NaNO <sub>3</sub>	: Sodyum nitrat
NH <sub>4</sub> OH	: Amonyum hidroksit
NMR	: Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi
p.o.	: ağız yoluyla
PABİ	: Proaporfin-benzilizokinolin
PB	: Protoberberin
s.c.	: subkutan
SBİ	: Sekobisbenzilozokinolin
SiO <sub>2</sub>	: Silikajel
UV	: Ultraviyole spektrofotometresi
YBSK	: Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi
DMEM	: Dulbecco's Modification Eagle's Medium
DMSO	: Dimetil sülfoksit
DMP	: Dekzametazon fosfat

Not: Tez içerisinde yer alan tüm resimler *Berberis crataegina*' ya aittir

## Tezde Adı Geçen Alkaloitlerin İngilizce İsimleri

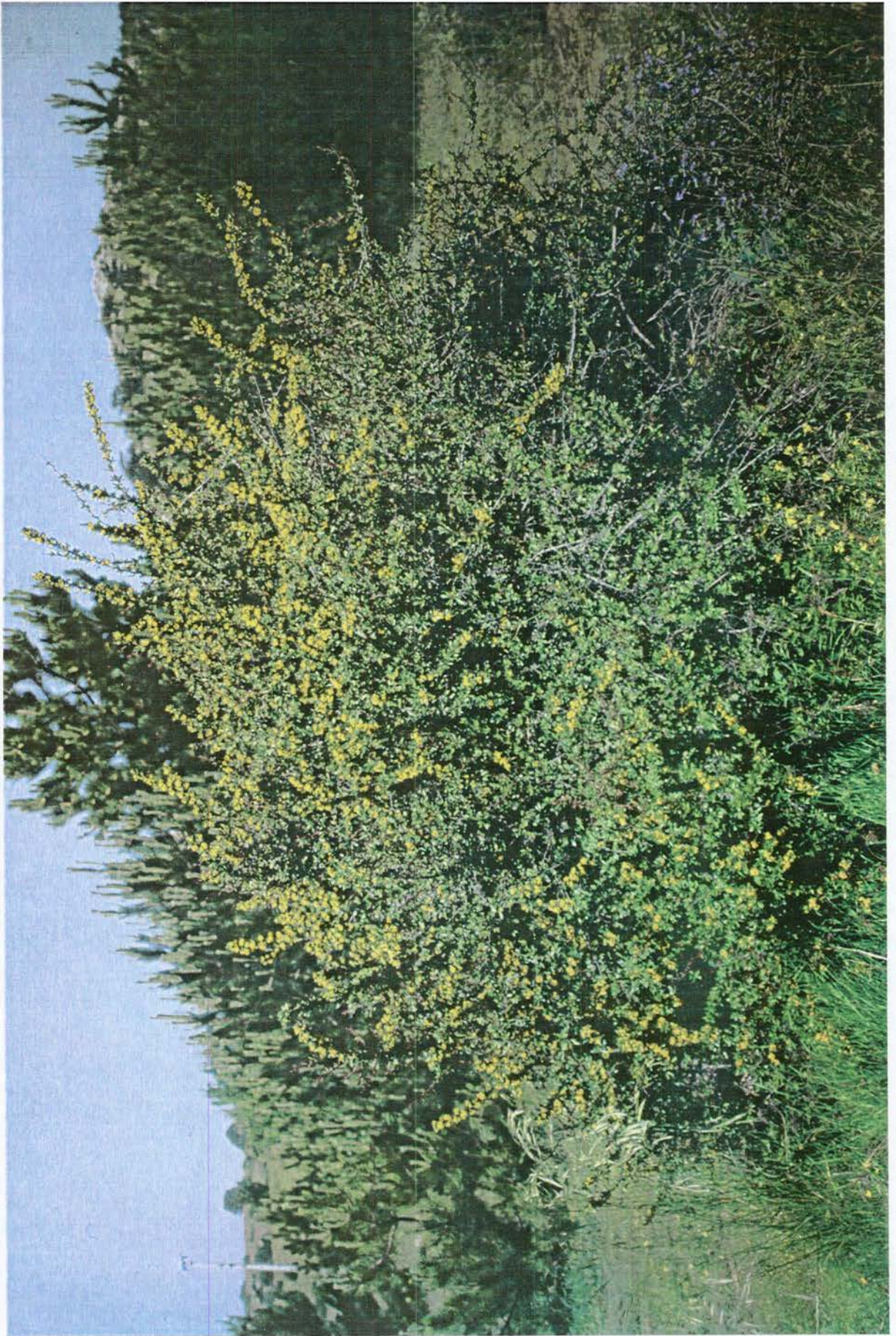
acanthine, oxy-	calafatimine
aconcaguine	calafatine
amurenine	calafatine, 2- $\alpha$ -N-oxy-
andesine	calafatine, 2- $\beta$ -N-oxy-
argemonine	chenabine
argemonine, nor-	chenabinol
armepavine	chenabinol methyl ether
armepavine, N- methyl-	chilenine
aromoline	chilenine, 13-deoxy-
aromoline, homo-	chilenine, O-methyl- pre-
baluchistanamine	chilenine, pre-
baluchistine	chillenamine
bargustanine	chiloenamaine
belarine	chiloenine
berbamine	chitraline
berbamine, 2'-N-methyl-	chitraline, O-methyl-
berbamine, 2'- $\beta$ -N-oxy-	coclaurine, N-methyl-
berbamunine	columbamine
berbamunine, 2'-nor-	coptisine
berberastine	corybulbine, dehydro-
berberilaurine	corydaline
berberine	corydalmine, 13-methyl dehydro-
berberine, 13-methoxy-oxo-	corydine
berberine, 8-oxo-	corydine, iso-
berberine, dihydro-	corydine, N-O-
berberine, epi-	corydine, N-O-iso-
berberine, N-methyl dihydro-	corydine, O-methyl-iso, N-oxyde-
berberrubine	corydinmethine
berberrubine, 8-oxo-	corypalline
berbervirine	corypalline, O-methyl-
berbithine	corypalline, $\beta$ -N-methyl-
berbivaldine	coyhaiquine
berbivaldine, epi-	coyhaiquinine
bernumidine	curacautine
bernumine	cyclanoline
bernumisine	espinidine
berpine	espinine
boldine, iso-	gandharamine

gilgitine  
glausine  
glaziovine  
glaziovine, apo-  
heliamine  
hydrastinine, noroxy-  
ilicifoline  
intebrimine  
intebrine  
intebrinine  
jatrorrhizine  
jhelumine  
kalashine  
karachine  
karakoramine  
khyberine  
lamberthine hydroxyde  
lauberine  
laudanosine  
lennoxamine  
linaresine  
linaresine, dihydro-  
magallenesine  
magnoflorine  
natalamine  
natalinine  
nuevamine  
obaberine  
obamegine  
oblongamine  
oblongine  
osornine  
osornine, O-methyl-  
pakistanamine  
pakistanine  
pakistanine, 2'-nor-  
pakistanine, O-methyl  
pallidine, O-methyl-  
palmanine

palmatine  
palmatine hydroxyde, dihydro-  
palmatine, 8-oxo-  
palmatine, dihydro-  
palmatine, N-oxyde, dihydro-  
palmatrubine  
papaverine  
patagonine  
pictonamine  
polyberbine  
polycarpine  
porveniramine  
pronuciferine  
pseudopalmanine  
pseudopalmatine  
punjabine  
puntarenine  
quettamine  
quettamine, dihydroseco-  
quettamine, seco-  
reticuline  
rugosinon, dihydro-  
rugosinone  
rupancamine  
santiagonamine  
saulatine  
scoulerine  
sindamine  
sinoacutine  
taxilamine  
taxilamine, dihydro-  
temukonine  
terahydroberberrubine  
terahydrojatrorrhizine  
terandrine, 2'-N-methyliso-  
tetrahydroberberine  
tetrahydrocolumbamine  
tetrahydropalmatine  
tetrandrine

tetrandrine, iso-  
thalcamine  
thalicberine, 7-O-demethyl-  
thalicberine, iso-  
thalicberine, O-methyl-  
thalicberine, O-methyl-iso-  
thalicmidine  
thalicmidine, N-O-  
thalictricavine  
thalifendine

thalifoline  
thالرروسine  
turcomanine  
turkberine  
valachine  
valdiberine  
valdiberine, epi-  
valdivianine  
valdivianine, epi-  
waziristanine



## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

*Berberis* türleri dünyada yaygın olarak yetişen bitkilerdendir. Bu cins adını Afrika’ da bulunan Berberistan adlı bölgeden almıştır. Doğal olarak yetişen türlerin yanı sıra dünyada pek çok kültür türü de vardır. Amerika’ da 150 ve Rusya’ da 43 kadar türün kültür olarak yetiştirildiği bilinmektedir. *Berberis* türleri en çok Orta Asya’ da yetişmektedir. Bitkiler kışa ve kuraklığa dayanıklıdır ve toprağın özelliğinden etkilenmezler (1, 2).

*Berberis* türlerinin tıpta kullanımları çok eski yıllardan beri bilinmektedir. *Berberis* meyvaları kan temizleyici olarak uzun yıllardan bu yana kullanılmaktadır. Asur Banipal de benzer amaçla *Berberis* meyvalarını kullanmıştır. Abu Ali İbn-i Sina bu bitkinin meyva, yaprak ve köklerini karaciğer, mide-barsak ve safra kesesi hastalıklarında kullanılan ilaçların yapımında kullanmıştır. Bazı kaynaklara göre de *B. vulgaris*’ in değişik organlarının ve berberin alkaloidinin kötü huylu yeni tümör oluşumlarında (mide, karaciğer ve boğaz kanseri) etkili olduğu söylenmektedir. Orta Asya’ da ise dalları, kökleri ve kök kabukları kemik kırılmalarında, çıkık, burkulma, yara ve yanık tedavisinde kullanılmaktadır (1-10).

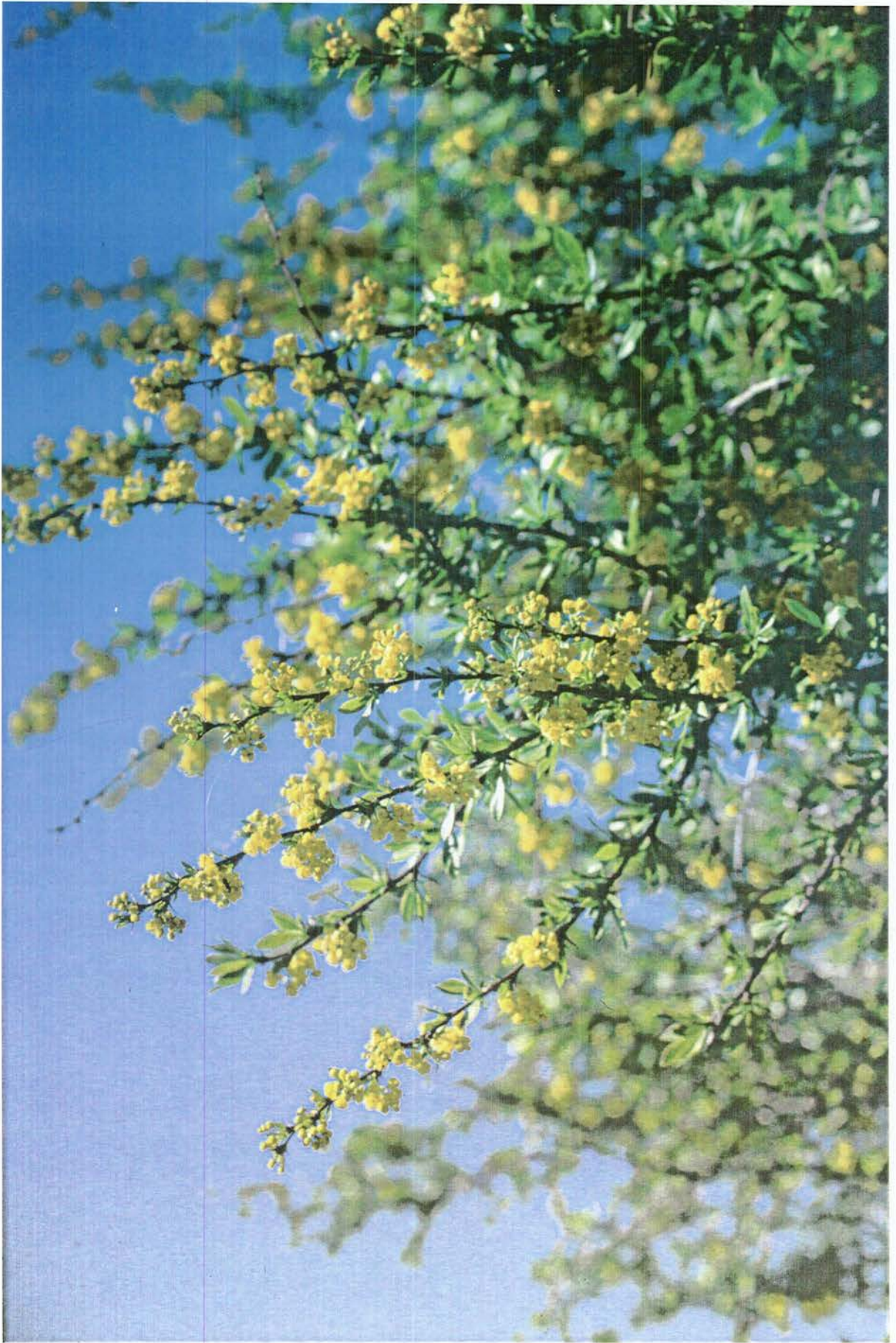
*Berberis* cinsi 450 kadar türe sahiptir (3). Türkiye’ de ise dört türü vardır. Bunlar *B. crataegina*, *B. vulgaris*, *B. cretica* ve *B. integerrima*’ dır (11). Bu türler halk arasında yetiştiği yörelerde iştah açıcı, ateş düşürücü ve kuvvet verici olarak ayrıca meyvaları çeşitli yemeklere tat vermek amacıyla kullanılır. İran’ da kurutulmuş *Berberis* meyvaları “Zereşk” adıyla zerdeli pilavın terkibine girmektedir. Kökleri ise taşıdığı sarı renkten dolayı kumaş boyamakta kullanılmaktadır. Fakat elde edilen sarı renk zamanla esmerleştiği için pek tercih edilmemektedir. Bu nedenle daha çok çadır ve çuval gibi kaba materyallerin boyanmasında kullanılır (5).

Türkiye’ de yetişen bu türler yörelerinde “ karamuk, amberparis, diken üzümü, kadın tuzluğu” gibi adlarla anılmaktadır. Bu türlerden *B. vulgaris* yurt içinde aktarlar aracılığı ile “amberbaris veya amberparis” ticari adıyla satılmaktadır. *B. crataegina* meyvaları (diken üzümü) ve *B. vulgaris* kökleri (karamuk) Türkiye’ de iç ve dış ticareti yapılan çiçekli bitkiler sınıfına dahildir (12).

Tüm *Berberis* türleri alkaloid bakımından zengindir. Bu türlerin alkaloidleri ilk olarak 1837 yılında Buhner ve Gerberger tarafından araştırılmaya başlanmıştır. İlk olarak *B. vulgaris* köklerinden ilk izole edilen alkaloid berberindir. Berberin tıpta ilk kullanılan alkaloidlerden birisidir. Üretimine ise 20. yy. başlarında Almanya' da başlanmıştır (1, 2). *Berberis* türlerinin taşıdıkları alkaloidler izokinolin yapısındadırlar. Bu güne kadar *Berberis*' lerden 13 farklı grup izokinolin alkaloidi izole edilmiştir. *Berberis* türlerinin taşıdıkları alkaloid fraksiyonunun büyük bir bölümünü protoberberinler oluşturur.

*Berberis* türlerinin alkaloidleri ile ilgili pek çok çalışma vardır. Ülkemizde ise bu tip çalışmalar çok değildir. Bu nedenle ülkemizde yetişen tüm türlerin karşılaştırmalı olarak çalışılması gerektiği düşünülerek bu araştırmaya başlanmıştır.

Bu tez çalışmaları kapsamında Türkiye' de yetişen dört *Berberis* türü olan *B. vulgaris*, *B. crataegina*, *B. cretica* ve *B. integerrima* değişik yörelerden toplanarak kök, gövde ve dalları ayrıldı. Bu bitki bölümleri alkaloidleri bakımından ayrı ayrı incelendi. İzole edilen alkaloidlerin dört türün değişik organlarında miktarları Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (YBSK) ile belirlendi. Ayrıca izole edilerek yapısı belirlenen ve literatürlerde antikanser etkisinin olduğu kayıtlı olan berberin alkaloidinin, ilk olarak *in vitro* ortamda antikanser etkisi incelendi.



## 2. KAYNAK TARAMASI

Bu bölümde *Berberis* cinsi ile ilgili botanik ve kimyasal çalışmalar ile halk arasındaki kullanımları ve farmakolojik araştırmalar özetlenmektedir. Botanik bilgiler Türkiye Florası (11) temel alınarak, diğer bölümler ise Chemical Abstracts, Medline, MAPA, Analytical Abstracts ve NAPRALERT (Natural Products Alert) veri bankaları taranarak ulaşılan verilerden derlenmiştir.

### 2.1. Berberidaceae Familyası

Değişen yapraklı, çok yıllık bitkiler veya çalılardır. Çiçekler salkım şeklindedir. Ovaryum 1-4 gözlü ve meyva üzümçük şeklindedir.

#### 2.1.1. *Berberis* L. Cinsi

Kısa sürgünlerde basit yapraklı, uzun sürgünlerde ise eksende dikenleri bulunan çalıdır. Çiçekler sarı, salkım şeklinde ve stamenler 6 tanedir. Meyvalar üzümçük şeklindedir.

Halen yurdumuzda 4 *Berberis* türünün bulunduğu bilinmektedir (Şekil 2.1). Bu türler arasındaki ayırıcı özellikler anahtar şeklinde özetlenmiştir.

1. Genç çiçekli sürgünlerin kabukları soluk sarımsı veya yeşilimsi; yaşlı odunsu kabuklar siyah lentisilli, genellikle mat **1. *vulgaris***
1. Genç çiçekli sürgünlerin kabukları parlak portakal-kahve veya koyu bordo-kahve; yaşlı odunsu kabuklar siyah lentisiller yok, genellikle çok veya az parlak
2. Dikenler olgun yapraklardan daha kısa ve çiçekler 6-18'li salkım
3. Genç çiçekli gövdeler koyu bordo-kahve, olgunlaşmış meyvalar siyah, yaprakların boyu eninin 3 katı kadar uzunlukta **2. *crataegina***

*B. chinensis* Poiret. var. *paphlagonica* (Schn.) Ahrendt in J. Linn. Soc. Lond. 57: 174 (1961)

Ic. : Schneider, IU. Handb. Laubh. 1: 304 (1904).

2 m ye kadar yükselebilen çalılardır. Dikenler genellikle yapraklardan daha kısadır. Genç çiçekli dalların kabukları koyu bordo-kahve, çoğu zaman parlak, nadiren derin oluklu ve siyah lentisilsiz. Yapraklar dar ovat, genellikle boyu eninin 3 katıdır, kenarlar kaba dişli ve düzdür. Çiçek durumu yoğun, 1-3cm, 6-15 çiçeklidir. Meyvalar olgunlukta siyah, ham iken kırmızıdır.

Çiçeklenme Zamanı : 5-6 . aylar

Yetiştirme Ortamı : Taşlık bölgeler ve su kanalları, 800-1500m

Yayılışı : A3 Ankara: Nallıhan Mudurnu arası 800 m, A4 Kastamonu: Kastamonu'nun güneyi 900 m, B2 Kütahya: Murat Dağı Gediz üstleri 1900 m, B3 Konya: Akşehir 1100 m, B4 Ankara: Hisar Dağı, B5 Yozgat: Akdağmadeni, B5 Kayseri: 1050 m, 53 Malatya: Hekimhan'ın kuzeyi 1100 m, 65 Erzincan: Selepur'un doğusu 1300 m, C2 Antalya: Elmalı, C3 Antalya: Kozlu deresi Gebiz yakınları 1100-1200 m, C4 Konya: Bozkır Vadin, C7 Urfa: Ceylanpınar Viranşehir yakınları 340 m.

*B. integerrima* Bunge, Linnaea 18: 149 (1844).

Sin : *B. densiflora* Boiss. & Buhse, Aufz. Transk. Pers. t.32 (1860).

Genç çiçekli filizlerin kabukları turuncu-kahve veya parlak bordo olan çalılardır. Lentisiller genellikle belirsiz, gövde derin olmayan oluklu, bazen dar çizgili, genellikle parlaktır. Yapraklar sert, geniş eliptik veya ovat, düz ya da derin dişli, üst yüzeyi stomalı. Salkım 6-18 çiçekli, yoğun ya da uzun silindirik şekilli ve 6 cm ye kadardır. Meyvalar kırmızıdır.

Yayılışı : A4 Kastamonu: Kastamonu'nun kuzeyi 800m, A7 Gümüşhane: 1000 m.

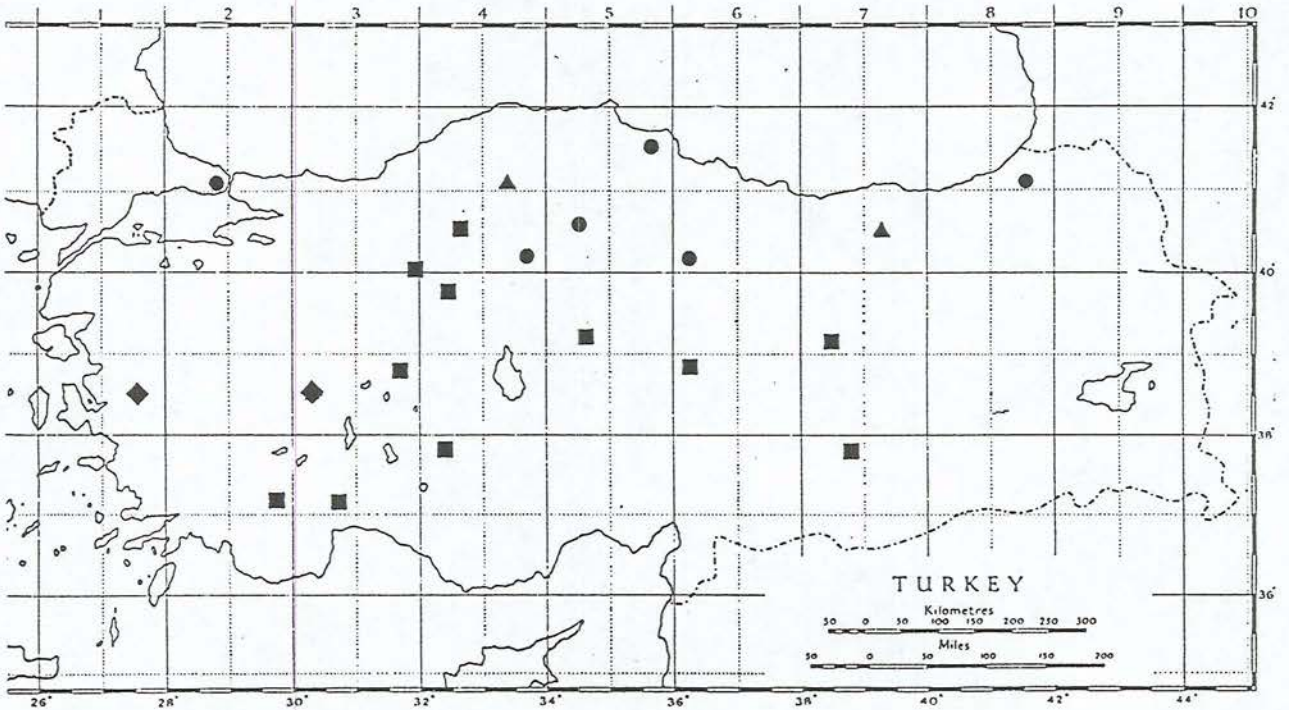
*B. cretica* L., Sp. Pl. 351 (1753).

Genellikle 1 m nin altında yuvarlakça çalılardır. Gövde koyu bordo, dikenler genellikle yapraklardan ve çiçek salkımlarından uzun. Yapraklar ovat, 1-1.5 cm uzunlukta ve 1 cm ye kadar genişliktedir. Salkım 4-10 çiçekli ve kısadır. Meyvalar olgunlukta siyahtır.

Çiçeklenme Zamanı : 6. ay

Yetiştirme Ortamı : Kalkerli topraklar, 1000-1700m.

Yayılışı : B1 İzmir: Manisa dağı 900-1200 m, C3 Isparta: Davros dağı.



Şekil 2.1. *Berberis* türlerinin Türkiye' deki dağılımları

( ■ : *B. crataegina*, ● : *B. vulgaris*, ◆ : *B. cretica*, ▲ : *B. integerrima*)

## 2.2. Berberis Türlerinin Kayıtlı Olduğu Farmakopeler

*Berberis* türleri drog olarak çoğu farmakopede yer almaz. British Herbal Pharmacopoeia' da *Berberis* kabukları ve *Berberis aquifolium*'un rizom ve kökleri kayıtlıdır (13). Ayrıca Hamdard Pharmacopoeia of Eastern Medicine' de ise *B. vulgaris* ve *B. aristata*'nın pek çok preparatı kayıtlıdır (14).

Drogdan elde edilen ve tıpta kullanılan berberin adlı alkaloid ise Hint (15) ve Japon (16) Farmakopeleri ile Martindale' de (17) yer almaktadır.

## 2.3. Berberis Türlerinin Çeşitli Ülkelerde Kullanılan Preparatları

*Berberis* türlerinin kök, kabuk, yaprak ve meyvalarının ve berberin ile palmatin alkaloidlerinin terkiplerine girdiği ve çeşitli ülkelerde üretilen preparatlar Tablo 2.1' de verilmektedir.

## 2.4. Berberis Türlerinin Etken Maddeleri

*Berberis* türlerinin çeşitli organları drog olarak kullanılmaktadır. Kullanılan bu drogların ve *Berberis* türlerinin tıbbi değerinden sorumlu olan ana bileşikler alkaloidlerdir. Bu konuda yapılan çalışmalarda *Berberis* türlerinin taşıdıkları alkaloidlerin izokinolin türevi alkaloidler olduğu gösterilmiştir. *Berberis*'lerde izokinolin alkaloidlerinin 13 farklı grubuna dahil alkaloidler vardır (3, 18). Bu alkaloid gruplarına ait ayrıntılı bilgiler Bölüm 2.6.1' de verilmektedir.

*Berberis* türlerinde alkaloidlerin yanı sıra meyva, yaprak ve çiçeklerde askorbik asit (19, 20), klorojenik asit (20-23), malik asit, ursolik asit,  $\beta$ -karoten (20), kafeik asit (21-23), meratin, kersetin, (21), rutin (21-23), 2,5-bis-(2'-metoksi-5'-metilfenil) furan (24), siringaresinol (25), eskuletin, hiperosit (22), sianin, pelargonin (26), pendulin (27) ve alkanlar (28-30) gibi maddeler de vardır.

**Tablo 2.1.** Çeşitli ülkelerde kullanılan *Berberis* preparatları

Müstahzar	Üretildiği Ülke	Kullanım Amacı
Berberil*	Almanya	Göz hastalıkları
Berberis Complex	Avustralya	Karaciğer hastalıkları
Catarrh Cream (meyvalar)	İngiltere	Burun hastalıkları
Choldestal	Almanya	Sindirim sistemi hastalıkları
Enzym-Hepaduran	Almanya	Sindirim sistemi hastalıkları
Hepata	Almanya	Safra kesesi hastalıkları
Herbal Diuretic Complex	Avustralya	İdrar söktürücü
Kalkurenal	Almanya	Böbrek hastalıkları
Lithiabyl	Fransa	Sindirim sistemi hastalıkları
Mediflor Tisane Hepatique	Fransa	Karaciğer hastalıkları
Tisane Contre les Troubles Biliaires et Hepatiques	İsviçre	Safra kesesi hastalıkları
Wörishofener Leber- und Gallensteinmittel Dr. Kleinschrod	Almanya	Safra kesesi hastalıkları
Berberis-Tonikum	Almanya	Homoeopathic
Pastilles Jessel*	Fransa	Raşitizm, kansızlık, beslenme bozuklukları, mide zayıflıklarında
Sedacollyre*	Fransa	Göz hastalıkları
Kollyr*	İtalya	Göz hastalıkları
Murine*	Avustralya	Göz hastalıkları
Herbinol	Hindistan	Antiseptik
Leucosol-H	Hindistan	Lökore tedavisi
Resottanadilepa	Hindistan	Deri hastalıkları
Teeburb	Hindistan	Antienflamatuar (veteriner hekimlik)
Palmatin alkaloidi	Rusya	Göz preparatları

\* : berberin alkaloidini içeren preparatlar

## 2.5. Alkaloitler

Alkaloit kelimesi ilk olarak 1819' da eczacı W. Meissner tarafından "bitkisel alkaliler" diye bilinen bir grup doğal madde için kullanılmıştır. Alkaloit tanımı, molekül içerisinde bir veya birden daha fazla (heterosiklik) azot atomu taşıyan doğal kaynaklı organik bazları kapsamaktadır. Çoğu alkaloit farmakolojik aktiviteye sahiptir ve klinikte kullanım açısından ekonomik önemleri vardır. Genellikle bitkisel kaynaklıdır. Alkaloitlerin çoğu aminoasitlerden az bir kısmı da terpenlerden veya azot bileşiklerinden türerler (31-33).

Alkaloitler yüksek bitkilerin %10-15' inde ve bazı funguslarda (*Claviceps*, *Penicillium*) ve genellikle bitkilerin tüm organlarında bulunurlar. Bitkilerin köklerinde, sekonder metabolitler olarak aktif dokular tarafından sentezlenir, gövde ve diğer dokulara taşınırlar. Çoğu bitkilerin (*Berberis*, *Cinchona* v.b.) kök ve gövde parenkimalarında alkaloit birikimi fazladır (31).

Alkaloitler genellikle tersiyer aminler halinde bulunurlar. Organik çözücülerde çözünür fakat yüksek pH' larda sulu çözücülerde çözünmezler. Düşük pH' larda alkaloitler proton alarak suda çözünür hale gelirler. Katerner aminler ise hem düşük hem de yüksek pH' larda suda çözünürler. Sulu asit varlığında alkaloit reaktifleri ile (Mayer reaktifi, Dragendorf reaktifi) çökerler (3, 31, 33).

Alkaloitler bitkilerden ya seyreltik asitlerle (%2' lik  $H_2SO_4$  gibi), ya %70' lik alkol ile ya da bazik ortamda kloroform gibi organik çözücüler ile ekstre edilirler. Daha sonra değişik pH' larda birbiri ile karışmayan ve farklı polaritelerdeki çözücüler ile sıvı-sıvı ekstraksiyonu yapılarak fraksiyonlarına ayrılırlar. Bu fraksiyonlardan alkaloitler, kolon kromatografisi, preparatif ince tabaka kromatografisi, flaş kromatografisi, orta basınçlı sıvı kromatografisi, preparatif yüksek basınçlı sıvı kromatografisi gibi izolasyon yöntemleri kullanılarak saflaştırılır. İzole edilen alkaloitlerin yapıları UV spektrofotometresi, IR spektrofotometresi, NMR spektroskopisi, Kütle spektrometresi gibi spektral yöntemler kullanılarak tayin edilir (3, 31-33).

edilemeyen polar alkaloidler kalır. Bunlar asitli ortamda Mayer reaktifi ile çöktürülüp, iyon değiştiriciler kullanılarak elde edilirler (3, 31-34).

### 2.5.3. İzokinolin Alkaloidlerinin İzolasyonu ve Yapı Tayinleri

Bölüm 2.5.2' de fraksiyonlara ayrılan alkaloid karışımları daha sonra kolon kromatografisi kullanılarak ayrılırlar. Kolon Kromatografisinde alkaloid tiplerine göre adsorban olarak silikajel veya alüminyum oksit kullanılır. Çözücü olarak da yine alkaloid tiplerine göre hekzan, eter, kloroform, petrol eteri, etilasetat, benzen, metanol gibi çözücüler apolardan başlanarak ve giderek polarite arttırılarak kullanılır. Bu adsorban ve çözücü seçimi ayrılacak numune üzerinde önceden yapılan analitik İTK çalışmaları ile belirlenir. Kolon Kromatografisinden alınan fraksiyonlar ya preparatif İTK ile ya preparatif YBSK ile ya da kristallendirilerek saflaştırılırlar. Saflaştırılan izokinolin alkaloidleri UV, IR, NMR ve MS spektral teknikleri kullanılarak yapıları tayin edilir. Ayrıca X-ışınları yöntemi ile yapı hakkında daha detaylı bilgi edinilir (3, 31-33).

### 2.5.4. İzokinolin Alkaloidlerinin Biyosentezi

İzokinolin alkaloidleri fenilalanin veya tirozinden türeler. Biyosentezler ile ilgili çalışmalar çoğunlukla *Papaver* türlerinde ve morfin alkaloidi üzerinde yapılmıştır. *Berberis*' lerde ise bu grupta yer alan protoberberin alkaloidleri üzerinde yapılmış biyosentetik çalışmalar çoğunluktadır.

Protoberberin alkaloidleri iki molekül tirozin' den türeler. Bir molekül tirozin, DOPA üzerinden dopamin'e dönüşür. Bu sırada oluşan diğer bir bileşik de 3,4-dihidroksifenilpiruvik asit' tir. Piruvik asiti takiben kondensasyon sonucu norlaudanosolin meydana gelir. Bu da laudanosin'in ve retikulin' in transformasyonu ile gerçekleşir. Retikulin ise skoulerin, koreksimin, stilopinin, koridalin ve berberin'in prekürsörü olarak bilinir (36).

Protoberberin oluşumundaki ilk aşama berberin köprüsünün oluşumudur. Bu da berberin köprü enzimi ile gerçekleşir. Sonraki aşama C-9' daki metilasyondur. Bu da metiltransferaz enzimi ile (S)-tetrahidrokolumbamin oluşumu şeklinde olur. *Berberis*' lerde (S)-tetrahidrokolumbamin ve sonra bunun oksitlenmesini sağlayan enzim (S)-

tetrahidroprotoberberin oksidaz' dır. Son olarak berberin sentaz enzimi ile metilen dioksi köprüsü meydana gelir (37-40). Protoberberin alkaloitlerinin biyosentezi Şekil 2.3' de verilmektedir.

#### 2.5.5. İzokinolin Alkaloitlerinin Hücre Kültürü Metodu ile Üretimi

Bitkiler gelişimleri sırasında pek çok madde sentezlerler. Hemen bütün bitkilerde ortak bulunan maddelerin yanı sıra her bitkiye özel karakteristik maddeler de vardır. Bitkilerin fizyolojik özellikleri ve önemleri bu metabolitlerden dolayıdır. Bu maddelere "Sekonder Metabolitler" denir. Bu metabolitlerce zengin türler yetiştirmek için çeşitli ıslah programları uygulanır.

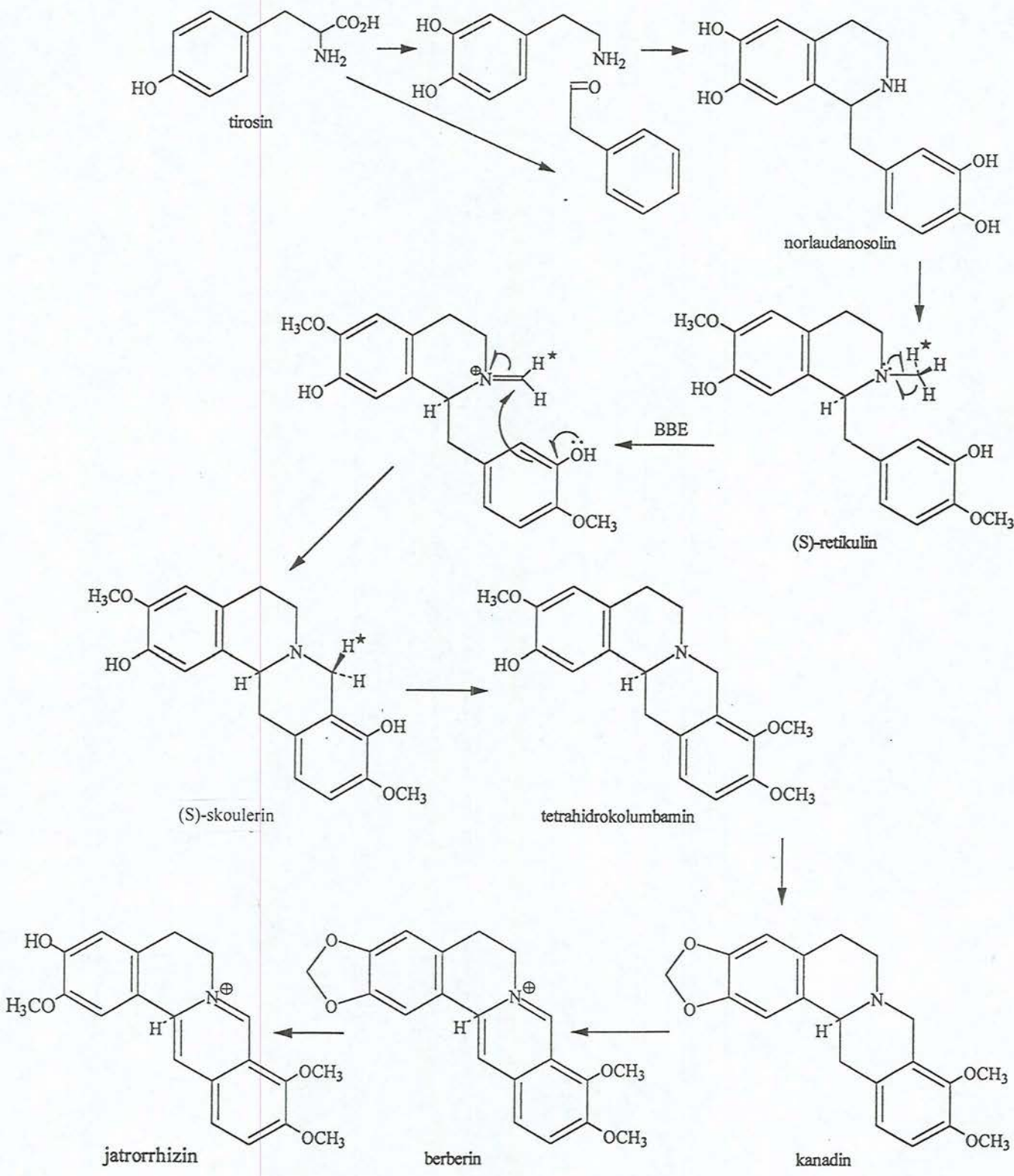
1960' lı yıllarda metabolitlerin endüstride de bitkilerden izole edilebilmelerine alternatif olarak *in vitro* şartlarda hücre kültürü ile üretimleri fikri doğmuştur. Bu görüşe, bitki hücrelerinin mikroorganizmalar gibi sıvı bir gıda ortamında süspansiyon kültürü şeklinde gelişebilme özelliği neden olmuştur.

Bitkinin arazide yetiştirilmesine dayanan geleneksel yöntemlere karşı hücre kültürü yoluyla metabolit üretmenin şu avantajları vardır:

- istenen bileşikler kontrollü şartlarda elde edilebilir,
- kültüre alınmış hücreler hastalık ve zararlılardan temizlenebilir,
- özel bir metabolitin üretimini arttırmak amacıyla yönelik olarak ilgili bitkinin hücreleri çoğaltılabilir ve bu kontrol altında tutulabilir.

Hücre kültürünün ticari anlamda kullanılabilmesi için bir metabolitin *in vitro* üretiminin, bitkiden doğrudan elde edilen miktarı ile karşılaştırılabilecek durumda olması gerekmektedir. Endüstriyel üretimde öncelikle verimli hücrelerin seçilmesi gerekir. Bu, üretilecek metabolitin bitkide daha fazla bulunduğu bitki bölümü dikkate alınarak yapılır. Daha sonra ise uygun bir kültür ortamı seçilir.

Bu yöntemle sekonder metabolit üretimi başarı ile gerçekleştirilen türler arasında *Berberis* türleri gelmektedir (34, 41).



Şekil 2.3. Protoberberin alkaloitlerinin biyosentezi (36)

Ticari ve farmasötik kullanımının olması nedeniyle berberin üretimi oldukça önemlidir. Berberin doku kültürü metoduyla *Berberis*, *Coptis* ve *Thalictrum* türlerinden elde edilmiştir (42). *Coptis japonica* hücre seri' leri ile yapılan bir çalışmada bu yöntemle beş kez daha verimli hücreler elde edildiği belirtilmektedir. Ayrıca bu çalışmada ortama giberellik asit ilavesi ile berberin üretiminin arttığı kayıtlıdır. Ortama  $10^{-7}$ M konsantrasyonda giberellik asit ilave edildiğinde berberin miktarı %1.5' den %5' e ve berberin üretiminin de 0.22 g/L/gün' den 0.6 g/L/gün' e çıktığı gösterilmiştir (43).

Yapılan diğer bir çalışmada ise *Berberis wilsoniae*' den 3.0 g/L verimle jatrorrhizin, *Coptis japonica*' dan 1.4 g/L verimle de berberin üretildiği belirtilmiştir (44).

33 *Berberis* türünü temsil eden 34 *Berberis* hücre seri' sinde izokinolin alkaloidleri kallus kültür yöntemi ile elde edilmişlerdir. Bu çalışmada alkaloid miktarları Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi yöntemi ile belirlenmiştir. Tüm bitkilerde jatrorrhizin ana bileşen olarak bulunmuştur. İki *B. stoloniferae* serisi bisbenzilizokinolin alkaloidleri bakımından çok zengin olarak bulunmuştur. *B. stoloniferae* V29 kültüründen berbamunin, aromolin, berbamin, izotetrandrin ve jatrorrhizin' in yanı sıra yeni bir alkaloid olan 2-norberbamunin de izole edilmiştir. Bu çalışmada % kuru ağırlık üzerinden belirlenen alkaloid miktarları şöyledir: aromolin %0.0084-0.28, 2-norberbamunin %0.024-1.1, berbamunin %0.0084-0.94, oksiakantin %0.032-0.58, berbamine %0.0036-0.80, izotetrandrin %0.011-0.19, jatrorrhizin %0.0032-3.0, palmatin %0.002-0.052, berberin %0.0002-0.16 (45).

Diğer bir çalışmada *B. julianae* hücre kültürlerinden jatrorrhizin izole edilmiştir. Burada yaprak kallus kültürlerinde 4-6 haftalık bir işlem sonucunda sıvı ortam 120 rpm' de çalkalandığında turuncu jatrorrhizin kristalleri elde edilir (46).

*Thalictrum minus* hücre süspansiyon kültürlerinden protoberberin alkaloidleri üretilmektedir. *T. minus* süspansiyon kültürü %90 oranında protoberberini ortama salgılamaktadır. Bu alkaloidlerin %75-83' ü berberin, %7-12' si palmatindir. Hücre kültüründeki total alkaloid miktarı ise 160 mg/L' dir. Ortama klorür iyonu ilavesinde bu oran 500 mg/L' ye çıkmıştır (47).

Başka bir çalışmada ise *B. wilsoniae* süspansiyon hücre kültürlerinden (S)-tetrahidroprotoberberin oksidaz enziminin izole edildiği belirtilmiştir (48).

## 2.6. *Berberis* Türleri Üzerinde Yapılan Kimyasal Araştırmalar

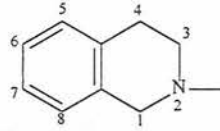
*Berberis* türleri üzerinde yapılan kimyasal çalışmalar izolasyon çalışmaları ve miktar tayini çalışmaları olmak üzere iki bölümde incelenebilir.

### 2.6.1. *Berberis* Türleri Üzerinde Yapılmış İzolasyon Çalışmaları

*Berberis* türleri ile yapılan izolasyon çalışmalarında yaklaşık 136 *Berberis* türünden 178 alkaloid izole edilmiştir. İzole edilen bu alkaloidler izokinolin türevi alkaloidlerdir. *Berberis* türlerinin taşıdığı izokinolin alkaloidleri 13 alt gruba ayrılır. Bu alt gruplar hakkındaki ayrıntılı bilgiler Bölüm 2.6.1.1-2.6.1.13' de verilmektedir.

#### 2.6.1.1. Basit İzokinolin Alkaloidleri

Tetrahidroizokinolin çekirdeğinden türeler (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. Basit izokinolin alkaloidlerinin genel yapısı

*Berberis* türlerinden bu güne kadar izole edilmiş ve yapıları tayin edilmiş olan basit izokinolin alkaloidleri Tablo 2.2' de ve bu alkaloidlerin yapıları Şekil 2.5' de verilmektedir.

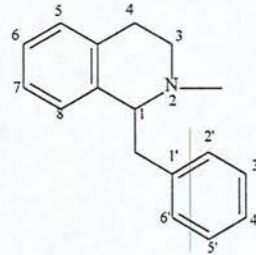
**Tablo 2.2.** *Berberis* türlerinde bulunan basit izokinolin alkaloidleri

Tür	bernumidin (3)	bernumin (2)	bernumisin (4)	hefamin (5)	hidrastinin,nor-oksi- (1)	intebrimin (8)	intebriin (6)	intebriinin (7)	koripallin (2)	koripallin,O-metil- (3)	talifolin (4)	turkberin (12)
<i>actinacantha</i>				240*								
<i>boliviana</i>					82						82	
<i>brandisiana</i>											83	
<i>integerrima</i>				202		202	201	202				
<i>nummularia</i>	140, 241	208	140, 241									
<i>sibirica</i>					153							
<i>turcomannica</i>									158, 242			158
<i>valdiviana</i>									164	164	164	

\* kaynak numarası

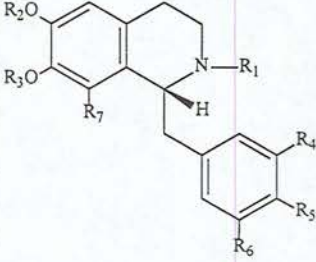
### 2.6.1.2. Benzilizokinolin alkaloidleri

Benzilizokinolinler iki molekül tirozinden meydana gelirler (Şekil 2.6).

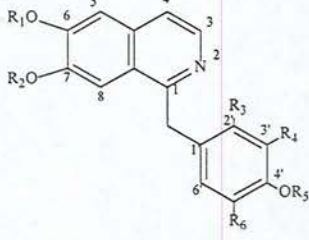


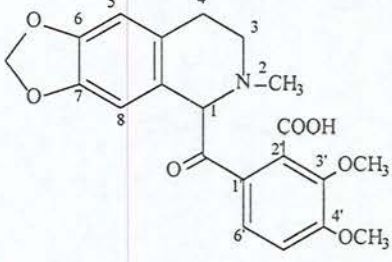
**Şekil 2.6.** Benzilizokinolin alkaloidlerinin genel yapısı

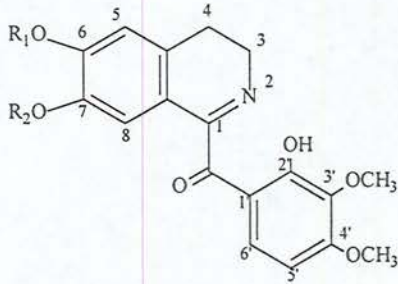
*Berberis* türlerinden bu güne kadar izole edilmiş ve yapıları belirlenmiş benzilizokinolin alkaloidlerine ait kimyasal çalışmalar Tablo 2.3' de ve bu alkaloidlerin yapıları Şekil 2.7' de verilmektedir.

	No	Adı	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>	R <sub>7</sub>
	13	laudanozin	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-OCH <sub>3</sub>	-OCH <sub>3</sub>	-H	-H
	14	retikulin	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-H	-H	-OCH <sub>3</sub>	-OH	-H
	15	oblongin	-(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	-H	-CH <sub>3</sub>	-H	-OH	-H	-OH
	16	armepavin	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-H	-OH	-H	-H
	17	koklaurin, N-metil-	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-H	-H	-OH	-H	-H
	18	armepavin, N-metil-	-(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-H	-OH	-H	-H

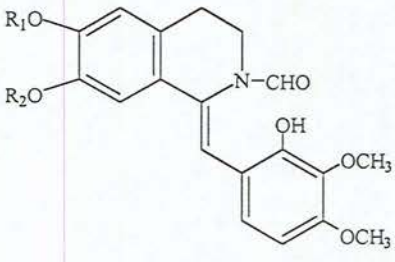
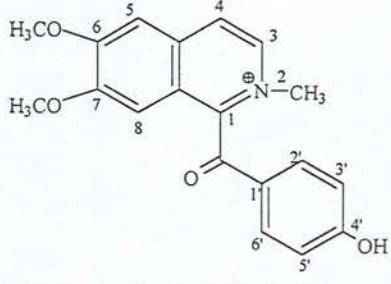
  

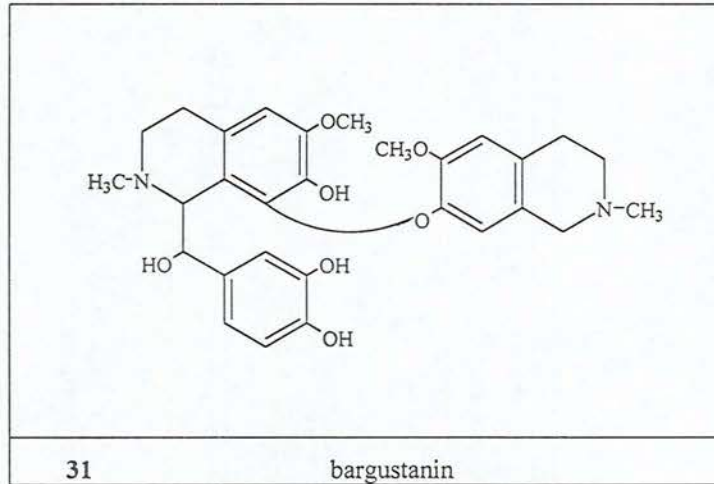
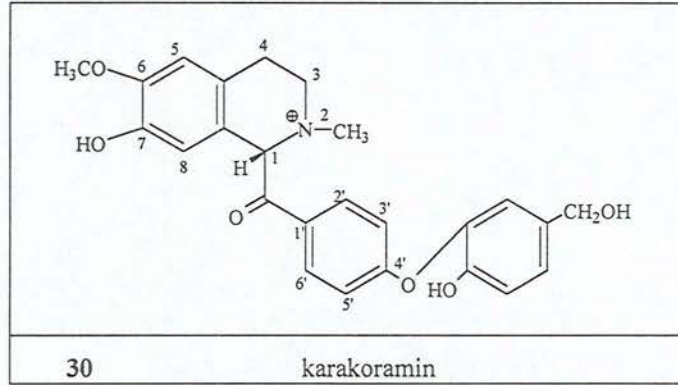
	Adı	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>	
	19	berbitin	-CH <sub>2</sub> -	-OH	-OCH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-H	
	20	papaverin	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-H	-H	-CH <sub>3</sub>	-OCH <sub>3</sub>
	21	turkomanin	-CH <sub>3</sub>	-H	-H	-OH	-H	-H

	No	Adı	R <sub>1</sub>		R <sub>2</sub>			
			22	berbervirin				
			23	taksilamin	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>		
			24	rugosinon	-CH <sub>2</sub> -			

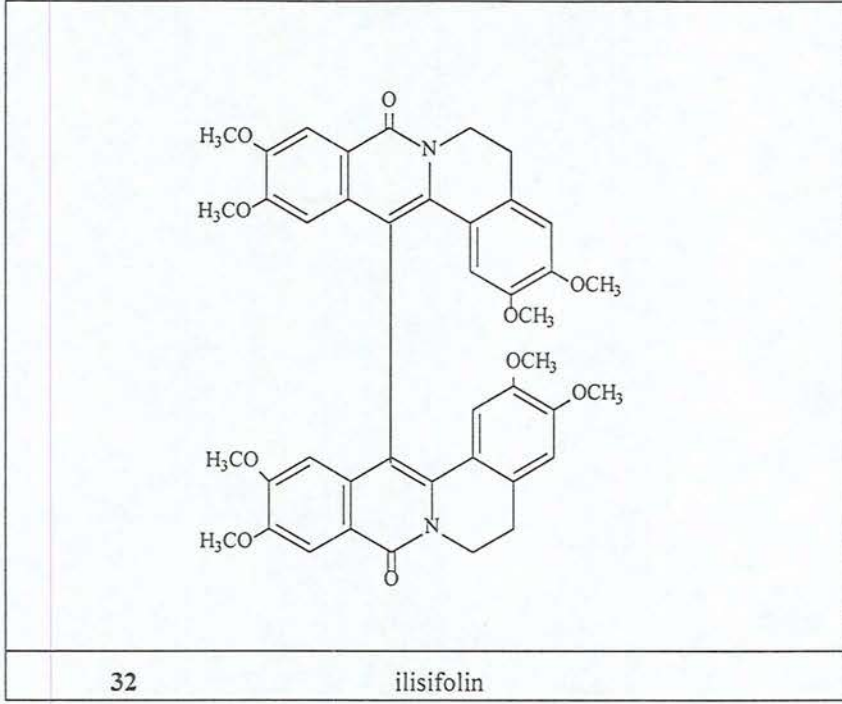
	No	Adı	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
	25	rugosinon, dihidro-	-CH <sub>2</sub> -	
	26	taksilamin, dihidro-	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>

Şekil 2.7. *Berberis* türlerinde bulunan benzilzokinolin alkaloitlerinin formülleri

					
No	Adı	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	29	gandaramin
27	poliberbin	-CH <sub>2</sub> -			
28	polikarpin	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>		



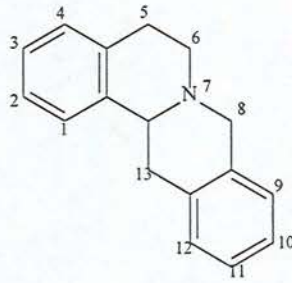
Şekil 2.7 (devam). *Berberis* türlerinde bulunan benzilizokinolin alkaloitlerinin formülleri



Şekil 2.7 (devam). *Berberis* türlerinde bulunan benzilzokinolin alkaloitlerinin formülleri

### 2.6.1.3. Protoberberin Alkaloitleri

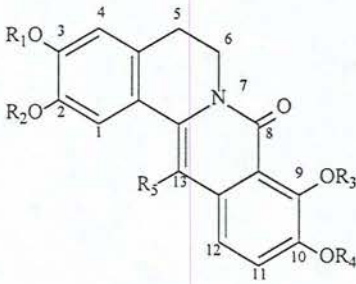
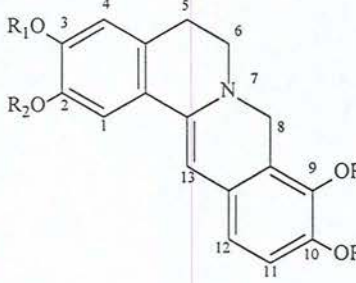
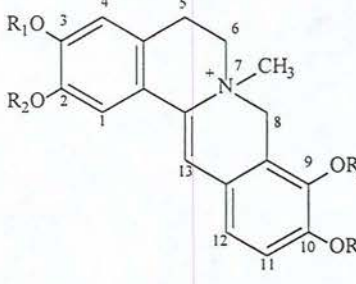
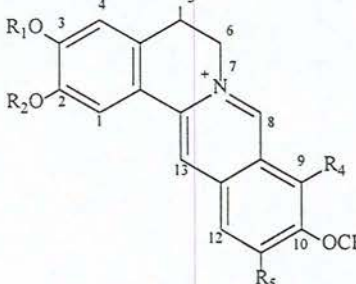
Protoberberinler dörtlü halka sisteminden oluşurlar. Bunların oluşumu sırasında benzilzokinolin yapısında berberin köprüsü meydana gelir (Şekil 2.8). C halkasındaki dehidrojenasyon ile halka aromatik olabilir. Bu grupta katerner alkaloitler çoğunluktadır.



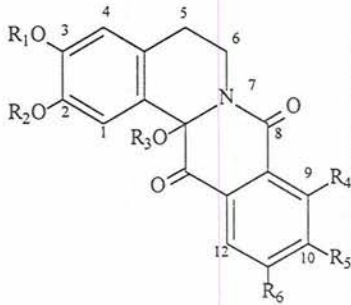
Şekil 2.8 : Protoberberin alkaloitlerinin genel yapısı

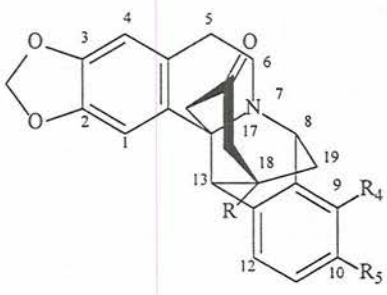
Protoberberinler bitki dünyasında oldukça yaygındır. *Berberis*' lerde ise bu alkaloitler ekstrelerin ana bileşikleridir. Bitkilerde bu alkaloitler tuzları (dihidro-, tetrahidro- ve 8-okso türevleri) şeklinde bulunurlar.

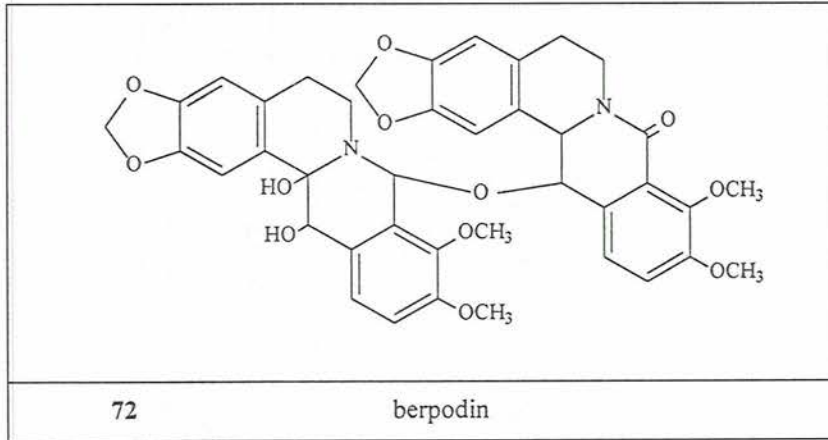


	No	Adı	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>
	55	berberin, 13-metoksiokso-	-CH <sub>2</sub> -		-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-OCH <sub>3</sub>
	56	berberrubin,8-okso-	-CH <sub>2</sub> -		-H	-CH <sub>3</sub>	-H
	57	berberin,8-okso- (berlambin)	-CH <sub>2</sub> -		-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-H
	58	palmatin, 8-okso-	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-H
		Adı	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	
	59	berberin,dihidro- (lambertin)	-CH <sub>2</sub> -		-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	
	60	lambertin hidroksit	-CH <sub>2</sub> -		-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	N <sup>+</sup> OH <sup>-</sup> (7=13α)
	61	palmatin, dihidro	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	
	62	palmatin N-oksit, dihidro-	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-N-O <sup>-</sup>
	63	palmatin hidroksit, dihidro-	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	N <sup>+</sup> OH <sup>-</sup> (7=13α)
		Adı	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	
64	berberin, N-metil dihidro-	-CH <sub>2</sub> -		-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>		
		Adı	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>
	65	psödopalmatin	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-H	-H	-CH <sub>3</sub>
	66	berberastin	-CH <sub>2</sub> -		-OH	-OCH <sub>3</sub>	-H

Şekil 2.9 (devam). *Berberis* türlerinde bulunan protoberberin alkaloidleri

	No	Adı	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>	
	67	preçilenin	-CH <sub>2</sub> -	-OH	-OCH <sub>3</sub>	-OCH <sub>3</sub>	-H		
	68	preçilenin, metil	-CH <sub>2</sub> -	-CH <sub>3</sub>	-OCH <sub>3</sub>	-OCH <sub>3</sub>	-H		
	69	pseudopalmanin	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-H	-H	-OCH <sub>3</sub>	-OCH <sub>3</sub>	

	No	Adı	R	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	
	70	karaçin	-CH <sub>3</sub>	-OCH <sub>3</sub>	-OCH <sub>3</sub>	
	71	valaçin	-H	-OCH <sub>3</sub>	-OCH <sub>3</sub>	



Şekil 2.9 (devam). *Berberis* türlerinde bulunan protoberberin alkaloitleri

Tür	berberin (33)	palmatin (34)	kolumbamin (35)	jatrorhizin (36)	berberin, 8-oksi (57)	berberrubin (37)
<i>buxifolia</i>	55, 84-87				84	
<i>canadensis</i>	81	45, 81	81	45, 81		
<i>candidula</i>	51	51		45, 51		
<i>cerasina</i>		45		45		
<i>chitria</i>	55, 71, 88-90	88, 91		88		
<i>circumserrata</i>	62	62		45, 62		
<i>concinna</i>	49	49				
<i>congestiflora</i>	92					
<i>coriaria</i>	27, 99					
<i>crataegina</i>	66, 94-97	45, 66, 94-96	96	45, 66, 94-96		
<i>cretica</i>	66, 94-95, 98	66, 94-95, 98	98	66, 94-95, 98	98	98
<i>croaria</i>	99					
<i>croatica</i>	100					
<i>darwinii</i>	52, 101-103			102	54	53-54
<i>dasystachya</i>	51, 62	51, 62	51	51, 62		
<i>diaphana</i>	62	62		62		
<i>dictyoneura</i>	56, 62	56		56, 62		
<i>dictyophylla</i>	45			45		
<i>dielsiana</i>	104	104				
<i>dubia</i>	62	62		62		
<i>empetrifolia</i>	105-106				105-106	
<i>ferdinandi-coburgii</i>	62	62		62		
<i>floribunda</i>	52, 55-66	55, 107	55, 107	55, 107		

Tür	berberin (33)	palmatin (34)	kolumbamin (35)	jatrorhizin (36)	berberin, 8-oksi (57)	berberrubin (37)
<i>kawakami</i>	52, 55, 66			52, 55, 66		
<i>koetineana</i>	45	45		45		
<i>koreana</i>	66, 129-130	66, 129	131	131		
<i>kumaonensis</i>	71					
<i>lamberti</i>	52, 66, 132	52, 55, 66, 107,132	52, 55, 66,107,132	55, 66,107,132	52, 66, 132	
<i>laurina</i>	52, 55, 65, 133,135 82	82				
<i>laxiflora</i>	45	45		45		
<i>lycium</i>	52, 64-66, 71, 77, 84, 136-139	52, 66, 119, 136-138			136	
<i>mingetsensis</i>	52, 55, 66			52, 66	52	
<i>morrisonensis</i>	55, 66	55		55, 66	52	
<i>mucrifolia</i>				45		
<i>nepalensis</i>	52, 71			52		
<i>nervosa</i>	52, 55					
<i>nummularia</i>	116, 140	140	140	45		
<i>nutabilis</i>	45	45		45		
<i>oblonga</i>	36, 117-118, 141	63, 117, 143	141, 143	143		
<i>ottawensis</i>	63	63				
<i>papillifera</i>				45		
<i>paravirescens</i>	45	45		45		
<i>parvifolia</i>	145	145	145	145		
<i>paucidentata</i>	82					
<i>petiolaris</i>	52, 66, 146	52, 66, 146				

Tür	berberin (33)	palmatin (34)	kolumbamin (35)	jatrorhizin (36)	berberin, 8-oksi (57)	berberrubin (37)
<i>poiretii</i>	51, 62, 147-148	51, 62, 147	51	51, 62, 147-148		
<i>polyantha</i>	62	62		62		
<i>polymorpha</i>	149		149	149		149
<i>prattii</i>	62	62		62		
<i>pruinosa</i>	51, 150	51	51	51		
<i>pseudothunbergii</i>	56	56		56		
<i>pseudumbellata</i>	152	152				
<i>regeliana</i>	63	63				
<i>repens</i>	151					
<i>sargentiana</i>	62	62		62		
<i>serrata</i>	45, 52, 55	52	52	45, 52		52
<i>sibirica</i>	153	153	153		153	153
<i>silva-taroucana</i>	55, 62	55, 62		62		
<i>soulieana</i>	62	62		62		
<i>stenophylla</i>				45		
<i>stolonifera</i>	81	81	39, 81	81		
<i>swaseyi</i>	52, 55					
<i>taliensis</i>		45		45		
<i>thunbergii</i>	52, 55, 64-66, 107, 154-155	64-65, 155	55, 64-65, 107	52, 55, 64-66, 107, 155	52, 55, 65-66, 107, 155	
<i>thunbergii</i> var. <i>maximoviczii</i>	52	52	52	52	52	
<i>trifoliata</i>	52, 55					
<i>tschnoskyana</i>	52	52		52, 55, 66	52, 66	

Tür	berberin (33)	palmatin (34)	kolumbamin (35)	jatrorhizin (36)	berberin, 8-oksi (57)	berberrubin (37)
<i>turcomanica</i>	45, 156-160*	45, 158	156-158	45, 158		
<i>umbellata</i>	52, 77, 115, 161,	161				161
<i>virescens</i>	52, 162	52, 162				52
<i>valdiviana</i>	163			164	164	53-54
<i>vernae</i>	45, 62	62,45		45, 62		
<i>verruculosa</i>	55, 89					
<i>virescens</i>	52, 162		52			
<i>virgetorum</i>	62, 165	62		62, 165		
<i>vulgaris</i>	52, 55, 63-66, 71, 77, 89, 94-95, 104, 107, 162, 166-178, 181-183	52, 55, 63-66, 94, 95 104, 162, 166, 169 178-179, 182	52, 55, 64-66, 107, 166, 168, 178, 182	52, 55, 64-66, 94-9 107, 166, 168-169, 173, 178, 182	184	52, 55, 65, 107,166, 182
<i>wallichiana</i>	52, 77					
<i>wilsoniae</i>	45, 185			45, 185		
<i>wilsoniae</i> var. <i>subcaulialate</i>	81	81	81	81		
<i>zabeliana</i>	186				187	

\* Kaynak numarası

Tablo 2.5. *Berberis* türlerinde bulunan diğer protoberberin alkaloidleri

Tür	<i>actinacantha</i>	<i>amurensis</i>	<i>amurensis</i>	<i>var. japonica</i>	<i>aristata</i>	<i>asiatica</i>	<i>baluchistanica</i>	<i>barandana</i>	<i>chitria</i>	<i>congestiflora</i>	<i>cretica</i>	<i>darwinii</i>	<i>floribunda</i>	<i>heteropoda</i>	<i>horrida</i>
valaçin (71)															
talifendin (39)										92		102			
skoulerin (52)															
siklanolin (53)															92
palmatrubin (41)							188								
palmatin, tetrahidro- (47)						66		55					66		
palmatin, pseudo- (65)		58												112	
palmatin, dihidro N-oksit (62)									191						
palmatin, dihidro- (61)									189 190						
palmatin, 8-oksi- (58)	54														
palmatin hidroksit, dihidro- (63)									90						
palmanin, pseudo- (69)											54				
lambertin hidroksit (60)									90						
lambertin (59)															
koridalmin, dehidro 13-metil- (43)							188								
koridalin, dehidro- (44)				52 69											
koridalin (46)							66						66		
koribulbin, dehidro- (42)							188								
koptisin (40)															
kolumbamin, tetrahidro- (51)													66		
karaçin (70)				69											
koripalmin, β-N-metil- (54)															
kanadin (48)	50*									98					
jatrorhizin, tetrahidro- (50)													66		
çilenin, pre O-metil- (68)												54			
çilenin, pre- (67)											101				
berpodin (72)														110	
berberrubin, tetrahidro- (49)															
berrubin, 8-oksi- (56)														112	
berberin, hidroksi-			66												
berberin, epi- (38)				52 69									66		
berberin, dihidro N-metil (64)														112	
berberin, 13-metoksi-8-oksi- (55)											54				

\* Kaynak numarası

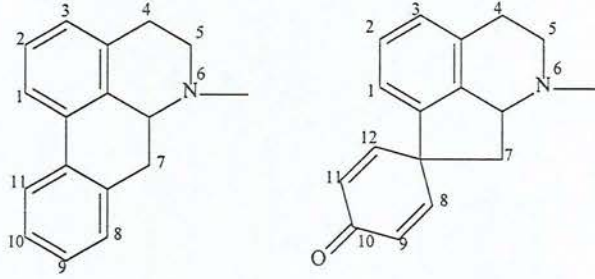
Tür	<i>iltensis</i>	<i>julianae</i>	<i>lamberti</i>	<i>laurina</i>	<i>ottawensis</i>	<i>poiretii</i>	<i>polymorpha</i>	<i>sibirica</i>	<i>thunbergii</i>	<i>turcomanica</i>	<i>valdiviana</i>	<i>vulgaris</i>
valaçin (71)											194	
talifendin (39)							149					
skoulerin (52)											164	
siklanolin (53)							149					
palmatrubin (41)												
palmatin, tetrahidro- (47)				133								
palmatin, pseudo- (65)												
palmatin, dihidro N-oksit (62)												
palmatin, dihidro- (61)												
palmatin, 8-oksi- (58)												
palmatin hidroksit, dihidro- (63)												
palmanin, pseudo- (69)												
lambertin hidroksit (60)												
lambertin (59)			52 66 132						65			184
koridalmin, dehidro 13-metil- (43)												
koridalin, dehidro- (44)												
koridalin (46)												
koribulbin, dehidro- (42)												
koptisin (40)						192						
kolumbamin, tetrahidro- (51)												
karaçin (70)											194	
koripalmin, $\beta$ -N-metil- (54)	14*											
kanadin (48)												
jatrorhizin, tetrahidro- (50)		125										
çilenin, pre O-metil- (68)												
çilenin, pre- (67)												
berpodin (72)												
berberrubin,tetrahidro- (49)											164	
berrubin, 8-oksi- (56)								153				
berberin, hidroksi-					63							
berberin, epi- (38)									158			
berberin,dihidro N-metil (64)												
berberin, 13-metoksi-8-oksi- (55)												

\* Kaynak numarası

#### 2.6.1.4. Aporfin ve Proaporfin Alkaloitleri

Benzilizokinolinlerin fenil halkasının kapanması sonucu meydana gelirler (Şekil 2.10). Bu gruptaki alkaloiitlere bitkiler aleminde yaygın olarak rastlanmaktadır.

*Berberis*'lerden izole edilmiş aporfin alkaloiitleri aporfinler ve proaporfinler olmak üzere iki tiptir. *Berberis*'lerdeki en önemli aporfin alkaloidi magnoflorindir.





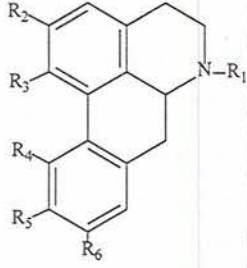
Şekil 2.10. Aporfin ve Proaporfin alkaloiitlerinin genel yapısı

*Berberis* türlerinden bu güne kadar izole edilmiş ve yapıları belirlenmiş aporfin alkaloiitleri Tablo 2.6' de ve bu alkaloiitlerin yapıları Şekil 2.11' da verilmektedir.

No	Adı	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	No	Adı	R	
73	pronusiferin	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	75	coyhaikuin	-CH <sub>2</sub> OH	
74	glaziovin	-H	-H	76	coyhaikuinin	-CHO	

Şekil 2.11. *Berberis* türlerinde bulunan aporfin ve proaporfin alkaloiitlerinin formülleri

No	Adı	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>
77	amurenin	-(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	-OCH <sub>3</sub>	-OCH <sub>3</sub>	-H	-OH	-H
78	apoglaziovin	-CH <sub>3</sub>	-OCH <sub>3</sub>	-OH	-H	-OH	-H
79	glausin (N-metiltalikmidin)	-CH <sub>3</sub>	-OCH <sub>3</sub>	-OCH <sub>3</sub>	-H	-OCH <sub>3</sub>	-OCH <sub>3</sub>
80	boldin, izo (N-metillaureliptin)	-CH <sub>3</sub>	-OCH <sub>3</sub>	-OH	-H	-OCH <sub>3</sub>	-OH
81	talikmidin (taliporfin, O-metil izoboldin)	-CH <sub>3</sub>	-OCH <sub>3</sub>	-OH	-H	-OCH <sub>3</sub>	-OCH <sub>3</sub>
82	magnoflorin (taliktrin)	-(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	-OCH <sub>3</sub>	-OH	-OH	-OCH <sub>3</sub>	-H
83	koridin	-CH <sub>3</sub>	-OCH <sub>3</sub>	-OH	-OCH <sub>3</sub>	-OCH <sub>3</sub>	-H
84	koridin, izo	-CH <sub>3</sub>	-OCH <sub>3</sub>	-OCH <sub>3</sub>	-OH	-OCH <sub>3</sub>	-H
85	talikmidin, N-O- (N-O-taliporfin)	-CH <sub>3</sub> N-O	-OCH <sub>3</sub>	-OH	-H	-OCH <sub>3</sub>	-OCH <sub>3</sub>
86	koridin, N-O-	-CH <sub>3</sub> N-O	-OCH <sub>3</sub>	-OH	-OCH <sub>3</sub>	-OCH <sub>3</sub>	-H
87	koridin, N-O-izo	-CH <sub>3</sub> N-O	-OCH <sub>3</sub>	-OCH <sub>3</sub>	-OH	-OCH <sub>3</sub>	-H
88	koridin, O-metil izo, N-oksit	-CH <sub>3</sub> N-O	-OCH <sub>3</sub>	-OCH <sub>3</sub>	-OCH <sub>3</sub>	-OCH <sub>3</sub>	-H
89	natalinin	-CH <sub>3</sub>	-OCH <sub>3</sub>	-OH	-H	-OH	
90	natalamin	-CH <sub>3</sub>	-OCH <sub>3</sub>	-OH	-H	-OH	



Şekil 2.11 (devam). Aporfin ve proaporfin alkaloitlerinin formülleri

Tür	<i>darwinii</i>	<i>empetrifolia</i>	<i>floribunda</i>	<i>fortunei</i>	<i>heterobotrys</i>	<i>heteropoda</i>	<i>iliensis</i>	<i>integerrima</i>	<i>japonica</i>	<i>julianae</i>	<i>kawakami</i>	<i>koreana</i>	<i>lycium</i>
talikmidin N-oksit (85)								255					
talikmidin (81)					109	112 111		116,11 201					
nusiferin, pro (73)													
natalinin (89)		227 258											
natalamin (90)		232 232											
magnoflorin (82)	244 102			52		112 111	114	116 117	52	121-12 125	52,66 129		
koridin N-oksit, O-metil- (88)													
koridin N-oksit (56)						112							
koridin, N-metil-													
koridin, N-oksit, izo (87)								255					
koridin, izo- (84)					109			118 202					
koridin (83)			55										
glaziovin,apo (78)													84
glaziovin (74)													84
glausin (79)						112 111		201,20 116,11		125			
coyhaikuinin (76)		227 260											
coyhaikuin (75)		59,227, 258											
boldin, izo- (80)								202 255					
amurenin (77)													

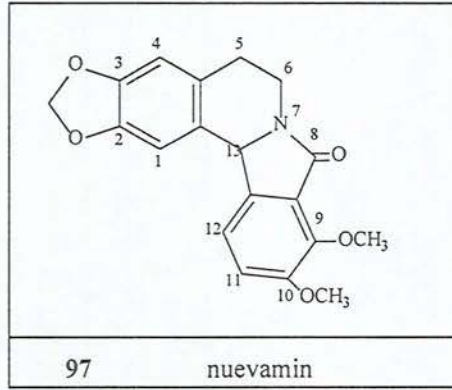
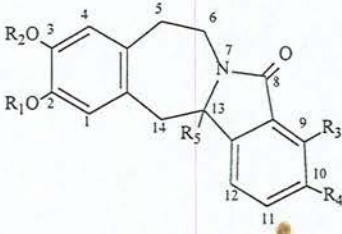
Tür	<i>mingestensis</i>	<i>morriзонensis</i>	<i>nummularia</i>	<i>oblonga</i>	<i>polymorpha</i>	<i>sibirica</i>	<i>thunbergii</i>	<i>tschonoskyana</i>	<i>turcomannica</i>	<i>valdiviana</i>	<i>vulgaris</i>	<i>wilsoniae</i>
talikmidin N-oksit (85)												
talikmidin (81)			116 118 140,20	118					159 160		173	
nusiferin, pro (91)												
natalinin (144)										164		
natalamin (90)										164		
magnoflorin (82)	52*	66	116 140	117 141-14 244	149		52,65, 66	52,66	158		52, 66 94, 95 169 17	185,24
koridin N-oksit, O-metil- (88)												
koridin N-oksit (56)												
koridin, N-metil-									160	164		
koridin, N-oksit, izo (142)												
koridin, izo- (84)			118	118					159 160		173	
koridin (83)									158			
glaziovın,apo (78)												
glaziovın (92)			116 140 208									
glausin (79)				142					158-16			
coyhaikuının (76)												
coyhaikuın (75)												
boldin, izo- (80)									156	164		
amurenin (77)												

\* Kaynak numarası

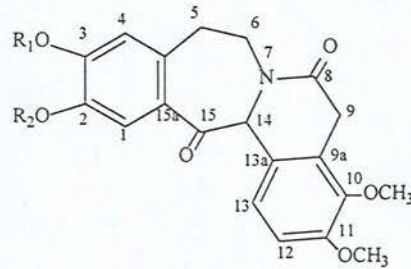
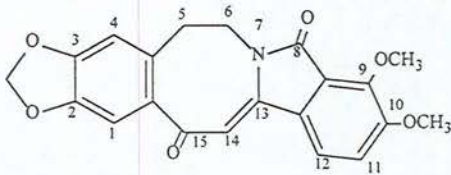
### 2.6.1.5. İndanobenzazepinler ve Benzeri Alkaloitler

*Berberis* türlerinden izole edilerek yapıları belirlenmiş indanobenzazepin alkaloitleri Tablo 2.7' de ve bu alkaloitlerin yapıları Şekil 2.12' de verilmiştir.

No	Adı	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	14. konum
							= O
91	çilenine	-CH <sub>2</sub>		-OCH <sub>3</sub>	-OCH <sub>3</sub>	-OH	= O
92	çillenamine	-CH <sub>2</sub>		-OCH <sub>3</sub>	-OCH <sub>3</sub>	-H	8.konum da (=O) yok
93	palmanin	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-OCH <sub>3</sub>	-OCH <sub>3</sub>	-OH	= O
94	çilenine, 13-deoksi-	-CH <sub>2</sub>		-OCH <sub>3</sub>	-OCH <sub>3</sub>	-H	= O
95	lennoksamin	-CH <sub>2</sub>		-OCH <sub>3</sub>	-OCH <sub>3</sub>	-H	
96	piktonamin	-CH <sub>2</sub>		-OCH <sub>3</sub>	-OCH <sub>3</sub>	-H	-OCH <sub>3</sub> 14 = 13



98	magallenesin	No	Adı	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>			
						99	puntarenin	-CH <sub>2</sub>
						100	saulatin	-CH <sub>3</sub> -CH <sub>3</sub>



Şekil 2.12. İndanobenzazepin alkaloitlerinin formülleri

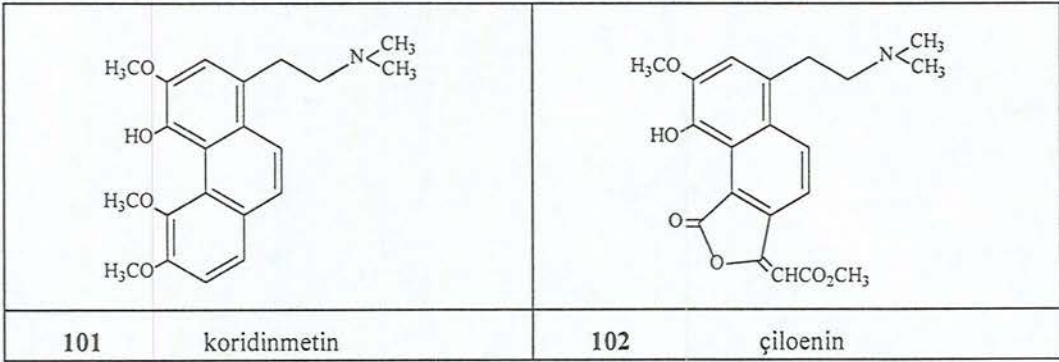
Tablo 2.7. *Berberis* türlerinde bulunan indanobenzazepin alkaloidleri

Tür	çilenamin (92)	çilenin (91)	çilenin,13deoksi (94)	çiloenamine	lennoxamin (95)	magallenesin (98)	nuevamin (97)	palmanin (93)	piktonamin (96)	puntarenin (99)	saulatin (100)
<i>actinacantha</i>		54*	54	50, 244, 245				54		248	249
<i>buxifolia</i>	84, 97	84		244 245							
<i>darwinii</i>	54	54,10		244, 247	54,10 250	101	101, 250		54	101	
<i>empetrifolia</i>		105								251	
<i>valdiviana</i>										164	

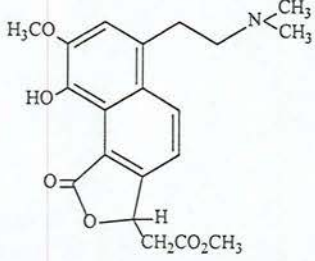
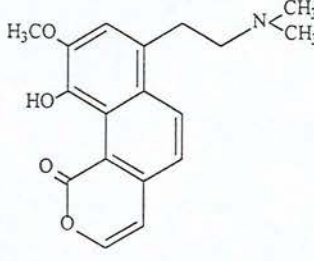
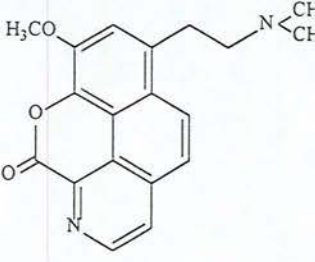
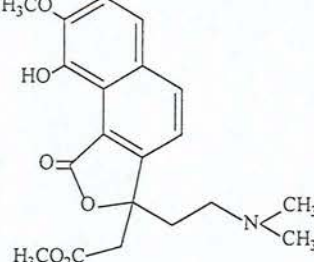
\* Kaynak numarası

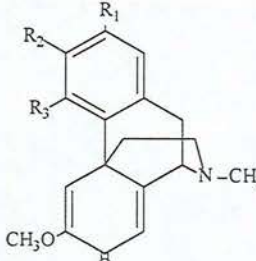
### 2.6.1.6. Koridinmetin Alkaloidleri

*Berberis* türlerinden bu güne kadar izole edilip yapıları tayin edilmiş koridinmetin alkaloidleri Tablo 2.8' da ve bu alkaloidlerin yapıları Şekil 2.13' da verilmektedir.



Şekil 2.13. Koridinmetin alkaloidlerinin formülleri

	
103 çiloenamin	104 andezin
	
105 santiagonamin	106 akonkaguin

				
No	Adı	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
107	pallidin, O-metil-	-OCH <sub>3</sub>	-OCH <sub>3</sub>	-H
108	sinoakutin	-H	-OCH <sub>3</sub>	-OH

Şekil 2.13 (devam). Koridinmetin alkaloitlerinin formülleri

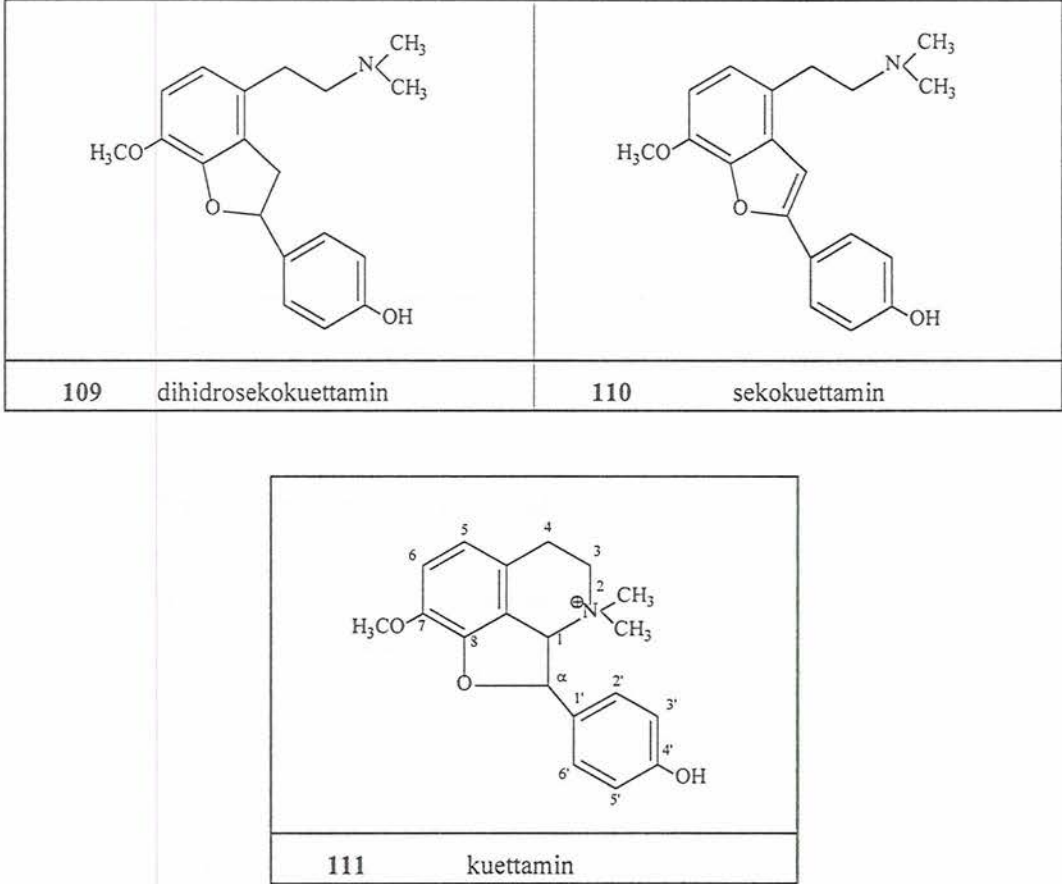
Tablo 2.8. *Berberis* türlerinde bulunan koridinmetin alkaloitleri

Tür	akonkoguın (106)	andezin (104)	çiloenin (102)	koridinmetin (101)	pallidin, Ometil (107)	satiagonamin (105)	sinoakutin (108)
<i>actinacantha</i>	243, 244	244*	50, 244, 245		50		
<i>buxifolia</i>					84		84
<i>cretica</i>				98			
<i>darwinii</i>		244, 246				244, 247	
<i>ilicifolia</i>							113

\* Kaynak numarası

### 2.6.1.7. Kuettamin alkaloidler

*Berberis* türlerinden bu güne kadar izole edilerek yapıları belirlenmiş kuettamin alkaloidleri Tablo 2.9' de ve bu alkaloidlerin yapıları Şekil 2.14' de verilmiştir.



Şekil 2.14. Kuettamin alkaloidlerinin formülleri

Tablo 2.9. *Berberis* türlerinde bulunan kuettamin alkaloidleri

Tür	Kuettamin (111)	Kuettamin,dihidro seko (109)	Kuettamin,seko (110)
<i>baluchistanica</i>	237-239*	237- 239	237-239

\* Kaynak numarası

	No	Adı	R
	114	norargemonin	H
	115	argemonin	CH <sub>3</sub>

Şekil 2.17. Pavin grubu alkaloitlerin formülleri

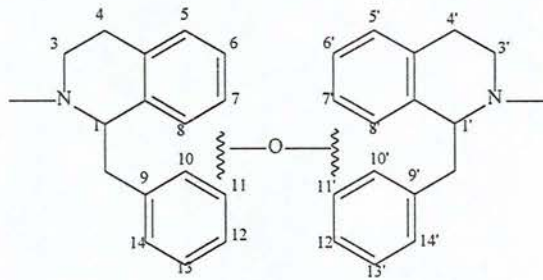
Tablo 2.11. *Berberis* türlerinde bulunan pavin grubu alkaloitler

Tür	argemonin (115)	argemonin,nor (114)
<i>buxifolia</i>	25,84*	25,84
<i>actinacantha</i>		50

\* Kaynak numarası

#### 2.6.1.10. Bisbenzilizokinolin Alkaloitleri (BBİ)

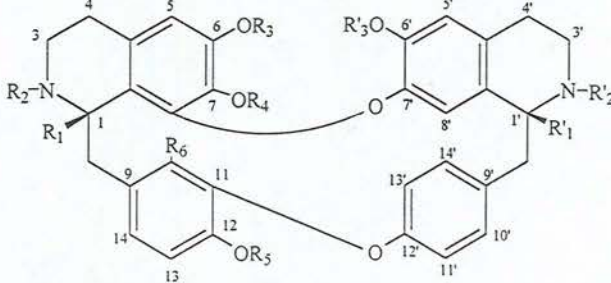
Dimerik izokinolin alkaloitleri içerisinde sayıca en fazla alkaloite sahip olan gruptur. BBİ alkaloitlerinin yapısında iki benzilizokinolin yapısı vardır. Bunlar birbirlerine 1, 2 veya 3 eter bağı ile bağlanmışlardır (Şekil 2.18). Bazen de benzil grupları arasında karbonkarbon bağı vardır. *Berberis*' lerde 1 veya 2 eter bağı BBİ alkaloitleri bulunmuştur (134).



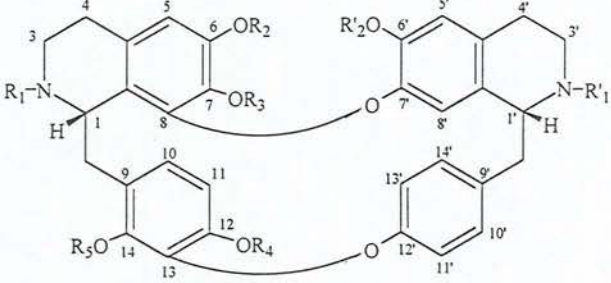
Şekil 2.18. Bisbenzilizokinolin alkaloitlerinin genel yapısı

*Berberis* türlerinden bu güne kadar izole edilmiş ve yapıları tayin edilmiş BBİ alkaloitleri Tablo 2.12 ve 2.13' de ve bu alkaloitlerin formülleri ise Şekil 2.19'de verilmektedir.



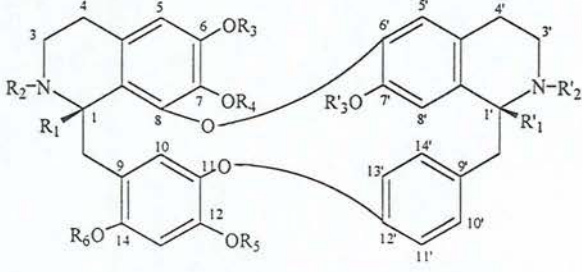


No	Adı	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>	R' <sub>1</sub>	R' <sub>2</sub>	R' <sub>3</sub>
127	berbamin	-H	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-H	-H	-H	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>
128	berbamin, 2'-β-N-oksi-	-H	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-H	-H	-H	-CH <sub>3</sub> , β-N-oksi	-CH <sub>3</sub>
129	berbamin, 2'-N-metil-	-H	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-H	-H	-H	-(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	-CH <sub>3</sub>
130	tetrandrin	-H	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-H	-H	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>
131	tetrandrin, izo	-H	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-H	-H	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>
132	tetrandrin, 2'-N-metilizo-	-H	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-H	-H	-(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	-CH <sub>3</sub>
133	obamegin (stefolin)	-H	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-H	-H	-H	-H	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>
134	talrugosin (taligin, izofankinolin)	-H	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-H	-CH <sub>3</sub>	-H	-H	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>
135	kalafatimin	-H	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-OCH <sub>3</sub>	-H	-N=1'	-CH <sub>3</sub>

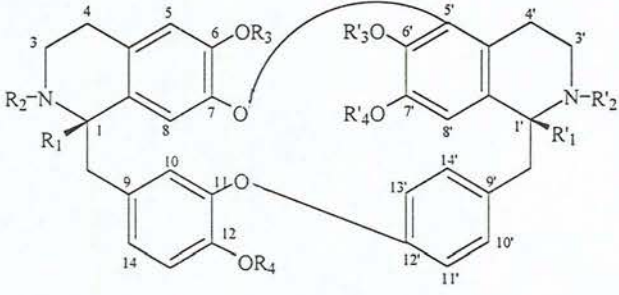


No	Adı	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	R' <sub>1</sub>	R' <sub>2</sub>
136	kalafatin	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>
137	kalafatin, 2-α-N-oksi-	-CH <sub>3</sub> , α-N-oksi	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>
138	kalafatin, 2-β-N-oksi-	-CH <sub>3</sub> , β-N-oksi	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>

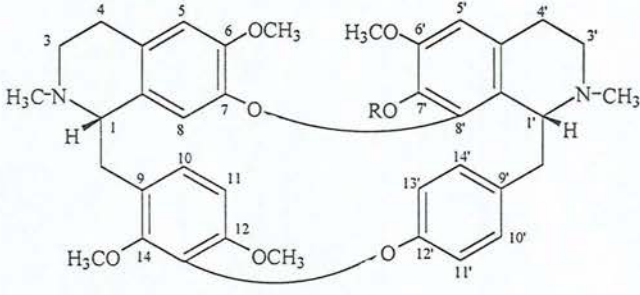
Şekil 2.19 (devam). *Berberis* türlerinde bulunan bisbenzilzocinolin alkaloitlerinin formülleri



No	Adı	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	R' <sub>1</sub>	R' <sub>2</sub>	R' <sub>3</sub>
139	talikberin, O-metil-izo-	-H	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-H	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>
140	talikberin, izo-	-H	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-H	-H	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>
141	talikberin, O-metil-	-H	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-H	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>
142	talikberin, 7-O-demetil-	-H	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-H	-H	-H	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>
143	belarin	-H	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-H	-CH <sub>3</sub>	-H	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>

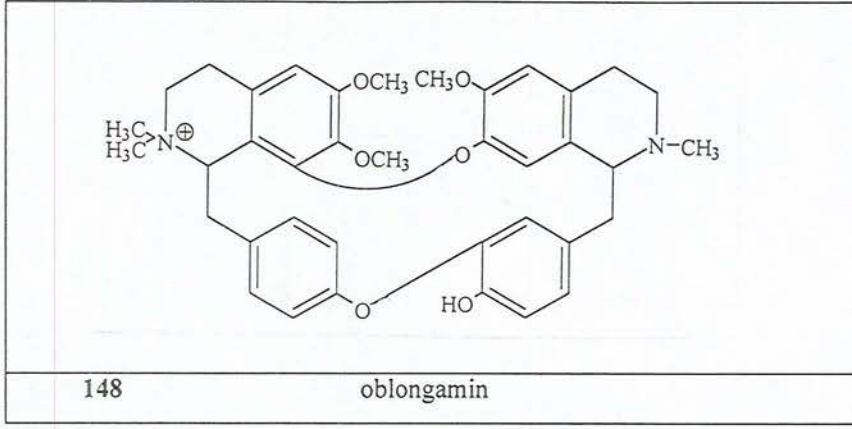


No	Adı	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R' <sub>1</sub>	R' <sub>2</sub>	R' <sub>3</sub>	R' <sub>4</sub>
144	lauberin	-H	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-H	-CH <sub>3</sub>	-H	-CH <sub>3</sub>
145	berberilaurin	-H	-CH <sub>3</sub>	-H	-CH <sub>3</sub>	-H	-CH <sub>3</sub>	-H	-CH <sub>3</sub>



No	Adı	R
146	osornin	-H
147	osornin, Ometil	-CH <sub>3</sub>

Şekil 2.19 (devam). *Berberis* türlerinde bulunan bisbenzilzocinolin alkaloitlerinin formülleri



Şekil 2.19 (devam). *Berberis* türlerinde bulunan bisbenzilzokinolin alkaloitlerinin formülleri

Tablo 2.12. *Berberis* türlerinde çok sık rastlanan bisbenzilzokinolin alkaloitleri

Tür	akantin, oksi- (121)	aromolin (123)	berbamin (137)	berbamunin (116)	obaberin (122)	tetrandrin, izo- (131)
<i>aemulans</i>						51*
<i>aemulans</i>	51		51			
<i>aggregata</i>			56			45
<i>amurensis</i>	58		62, 65, 195	55, 58, 65,66		62
<i>amurensis</i> var. <i>japonica</i>			52, 66	52		
<i>angulosa</i>		45	45	45		
<i>aquifolium</i>	52		52			
<i>aristata</i>	52, 69	69	52, 69			
<i>asiatica</i>	52, 66, 78		52, 6566,78			
<i>atrocarpa</i>			195			
<i>baluchistanica</i>	66			52	66	
<i>beaniana</i>	45		45	45		45
<i>boliviana</i>	82	82	82	82	82	82

\* Kaynak numarası

Tür	akantin, oksi- (121)	aromolin (123)	berbamin (137)	berbaminin (116)	obaberin (122)	tetrandrin, izo- (131)
<i>brachypoda</i>			62, 195			62
<i>brandisiana</i>			83			83
<i>bumeliaefolia</i>	82	82	82			
<i>buxifolia</i>						
<i>canadensis</i>	45	45	45	45		45
<i>candidula</i>						45
<i>candidula</i>		45	51			
<i>cerasina</i>	45		45			45
<i>chilensis</i>			196,197			
<i>chitria</i>	88					
<i>circumserrata</i>			62, 195			
<i>coriaria</i>	27		27			
<i>crataegina</i>	96		96			
<i>cretica</i>	98	98	98	98	98	98
<i>dasystachya</i>			51, 62, 195			
<i>diaphana</i>			62, 195, 198			
<i>dictyoneura</i>			56, 62, 195			62
<i>dictyophylla</i>			195	45		
<i>dielsiana</i>	104		104			
<i>dubia</i>			62, 195			62
<i>empetrifolia</i>						105106
<i>fendleri</i>	199				199	
<i>ferdinandi-coburgii</i>			62, 195			62
<i>floribunda</i>	66		66			
<i>fortunei</i>	52		52			
<i>francesci-ferdinandi</i>			56, 62, 66, 195			
<i>gagnepainii</i>			195			
<i>giraldii</i>				45		45
<i>glauca</i>			200			

Tür	akantin, oksi- (121)	aromolin (123)	berbamin (137)	berbamunin (116)	obaberin (122)	tetrandrin, izo- (131)
<i>guinpelii</i>	52		52			
<i>gyalaica</i>			62, 195			62
<i>hakodate</i>			52			
<i>hakodate</i>	52					
<i>hauniensis</i>	52		52			
<i>hemsleyana</i>			195			
<i>henryana</i>			62, 195			
<i>heterobotrys</i>	109		109			
<i>heteropoda</i>	52, 110-112	112	52, 195	45, 110-112		110
<i>iliensis</i>			66, 195	114	114	
<i>integerrima</i>	116, 201,202			117, 203	203	
<i>jaeschkeana</i>			119			
<i>jamesiana</i>			62, 195			
<i>japonica</i>			52			52
<i>johannis</i>			195			
<i>julianae</i>	121,122		45, 62, 121,122,195	45		45, 62
<i>kansuensis</i>			62, 195			
<i>kawakamii</i>			66, 195			66
<i>koetineana</i>				45		45
<i>koreana</i>	66		66		131	131
<i>lambertii</i>	52, 66, 132		52, 66, 132			
<i>laurina</i>		82			133,134	
<i>laxiflora</i>	45	45	195	45		
<i>lycium</i>	84, 204	84	52, 66, 84 119, 137,139 196, 204-20	84, 207		84

Tür	alkantin, oksi- (121)	aromolin (123)	berbamin (137)	berbamunin (116)	obaberin (122)	tetrandrin, izo- (131)
<i>mingetsensis</i>			66			66
<i>morrisonensis</i>			66			66
<i>nummularia</i>	45, 116, 140 208	45, 140	195	45, 140		140, 208
<i>nutabilis</i>	45	45	195	45		
<i>oblonga</i>	141-143		141, 143	117		
<i>orthobotrys</i>	196, 209	196, 209	196, 209			
<i>papillifera</i>				45		
<i>paucidentata</i>	82		82		82	82
<i>petiolaris</i>			52, 66, 146			
<i>poiretii</i>			51, 62 147-148 195-196 210			51, 196
<i>polyantha</i>			62, 195			
<i>prattii</i>			62, 195			
<i>pruinosa</i>	51		195			51
<i>pseudothunbergii</i>			56			
<i>pseudumbellata</i>	152				152	
<i>regeliana</i>			63			
<i>sargentiana</i>			62, 195, 211			
<i>serrata</i>	52		52	45		
<i>sibirica</i>	153		153			
<i>silvataroucana</i>			62, 195			
<i>soulieana</i>			62, 195, 198			
<i>stenophylla</i>			45			
<i>swaseyi</i>			52			
<i>taliensis</i>	45	45		45		45
<i>thunbergii</i>	65-66		65-66, 155 196			55, 66, 155 196

Tür	akantin, oksi- (121)	aromolin (123)	berbamin (137)	berbamunin (116)	obaberin (122)	tetrandrin, izo- (131)
<i>thunbergii</i> var. <i>maximowiczii</i>	52*		52			
<i>triacanthophora</i>			195			
<i>tschonoskyana</i>	66				52, 66	
<i>turcomannica</i>	45, 156-160	45, 159	45	45, 158		45
<i>valdiviana</i>					164	164
<i>vernae</i>			62, 195			
<i>virescens</i>	52, 162		52, 162, 195			
<i>virgetorum</i>			62, 195			62
<i>vulgaris</i>	52, 65-66, 6 162, 168, 169 170, 173, 175 179, 182, 184 196, 212		52, 65, 66 104, 119 162, 168-170 173, 179, 182, 184, 196, 213	173, 184		55, 66
<i>wazaristanica</i>		214 215				
<i>wilsoniae</i>	45		185, 195	45		185
<i>zabeliana</i>			187			

\* Kaynak numarası

Tablo 2.13. *Berberis* türlerinde bulunan diğer bisbenzilozokinolin alkaloidleri

Tür	<i>actinacantha</i>	<i>baluchistanica</i>	<i>beaniana</i>	<i>boliviana</i>	<i>brandisiana</i>	<i>bumeliaefolia</i>	<i>buxifolia</i>	<i>chilensis</i>	<i>cretica</i>	<i>fendleri</i>	<i>giraldii</i>	<i>glauca</i>	<i>horrida</i>	<i>integerrima</i>
tetrandrin (130)				82		82								
temukonin (120)														
talrugosin (134)				82					98	199				
talikberin, O-metil (141)														
talikberin, izo-O-metil- (139)								196				200		
talikberin, 7-O-demetil- (142)								196	217			200		
talikberin, izo- (140)								196	217			200		
osornin, O-metil- (147)						97								
osornin (146)	50					84	97							
oblongamin (148)														117
obamegin (133)				82					98	199				
lauberin (144)														
kalafatin-2 $\beta$ -N-oksit (138)						218								
kalafatin -2 $\alpha$ -N-oksit (137)						218								
kalafatin (136)	50*					84,85	87,97	196					92	
kalafatimin (135)						85	196							
espinin (118)														
espinidin (119)														
berberilaurin (145)														
berbamunin, 2-nor- (117)			45								45			
berbamin, 2'-N-metil- (129)														
berbamin, 2'- $\beta$ -N-oksit- (128)					83									
belarin (143)														
balukhistin (125)		188 196 216												
aromolin, homo (124)				82										
akantin, hidroksi-														117 118

\* Kaynak numarası



No	Adı	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R' <sub>1</sub>	R' <sub>2</sub>	R' <sub>3</sub>
156	kiberin	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-H	-H	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-H
157	kalaşın	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-H	-H	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>

Şekil 2.21 (devam). AporfinBenzilizokinolin dimerlerinin formülleri

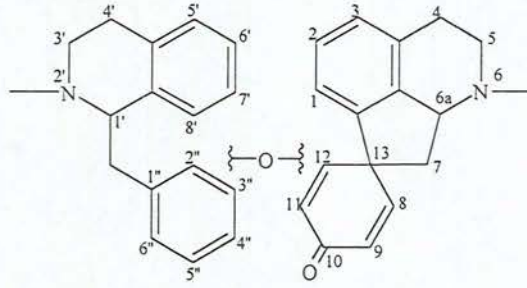
Tablo 2.14. *Berberis* türlerinde bulunan aporfin-benzilizokinolin dimerleri

Tür	çitralin (152)	çitralin, O-metil- (153)	kalaşın (157)	kiberin (156)	pakistanin (149)	pakistanin, O-metil- (150)	pakistanin, 2'-nor- (151)	porveniramin (155)	vazaristanin (154) (wazaristanine)
<i>actinacantha</i>					50*				
<i>baluchistanica</i>					52, 66, 227, 229				
<i>calliobotrys</i>	227, 230		227, 230	227, 230	230	230			
<i>darwinii</i>		227, 236							
<i>empetrifolia</i>	227,231				105,106 232,263	231		227,231	
<i>ilicifolia</i>	113				113				
<i>lycium</i>	84			84					
<i>orthobotrys</i>	209, 227 234		209, 227 235		209, 234 235	209, 234			
<i>sibirica</i>					153				
<i>valdiviana</i>	227, 231	236			231		227,236	164	
<i>wazaristanica</i>					214, 215				214, 215
<i>zabeliana</i>	227, 230								

\* Kaynak numarası

### 2.6.1.12. Proaporfin-Benzilizokinolin (PABİ) Dimerleri

PABİ alkaloidleri BBİ alkaloid tipi olan (+)-berbamunin veya yapısı buna yakın olan alkaloidlerin molekül içerisinde oluşan oksitlenme sonucu meydana gelmektedirler. Mineral oksitler ilave edildiğinde dienolfenol gruplaşması olmakta ve ABİ alkaloidlerine dönüştürler. Bu dönüşümle yapıları hakkında bilgi sahibi olunmaktadır. Proaporfin ve benzilizokinolin yapısının eter bağları ile bağlanmaları sonucunda meydana gelirler (Şekil 2.22).



Şekil 2.22. Proaporfin-Benzilizokinolin alkaloidlerinin genel yapısı

*Berberis*'lerden bu güne kadar elde edilmiş ve yapıları belirlenmiş PABİ dimerleri Tablo 2.15' de ve bu alkaloidlerin yapıları Şekil 2.23' de verilmiştir.

No	Adı	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R' <sub>1</sub>	R' <sub>2</sub>	R' <sub>3</sub>
158	valdiberin, epi-	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-H	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-H
159	berbivaldin, epi-	-CH <sub>3</sub>	-H	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-H
160	valdivianin, epi-	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-H

Şekil 2.23. Proaporfin-Benzilizokinolin dimerlerinin formülleri

No	Adı	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R' <sub>1</sub>	R' <sub>2</sub>	R' <sub>3</sub>
161	pakistanamin	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>
162	berbivaldin	-CH <sub>3</sub>	-H	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-H
163	valdiberin	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-H	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-H
164	patagonin	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-H	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>
165	rupankamin	-CH <sub>3</sub>	-H	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>
166	valdivianin	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-H

Şekil 2.23 (devam). Proaporfin-Benzilzokinolin dimerlerinin formülleri

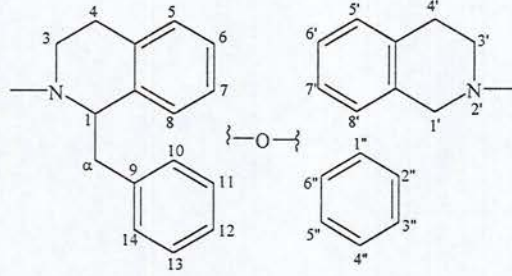
Tablo 2.15. *Berberis* türlerinde bulunan Proaporfin-Benzilzokinolin dimerleri

Tür	berbivaldin (162)	berbivaldin, epi- (159)	pakistanamine (161)	patagonin (164)	rupankamin (165)	valdiberin (163)	valdiberin, epi- (158)	valdivianin (166)	valdivianin, epi- (160)
<i>actinacantha</i>	227,228*	227,228	227,228	227,228	227,228	50		50	
<i>baluchistanica</i>			52, 66, 227, 229						
<i>boliviana</i>				82					
<i>calliobotrys</i>			230						
<i>congestiflora</i>			92	92					
<i>empetrifolia</i>				227, 231,232				227, 231,232	
<i>hakeoides</i>			227, 233	227, 233		227, 233		227, 233	
<i>julianae</i>			124						
<i>orthobotrys</i>			234,235 209						
<i>valdiviana</i>	227, 231		231	227, 231	164	227, 231	227, 231	227, 231	227, 236

\* Kaynak numarası

### 2.6.1.13. Sekobisbenzilizokinolin (SBİ) Alkaloitleri

Bu grup alkaloitlerin ilk örneği 1974 yılında *B. baluchistanica*' dan izole edilen balukhistanamindir. Bu grup alkaloitlere BBİ alkaloitlerinin oksitlenme ürünleri olarak bakılmaktadır. Bazen de karakoramın alkaloit yapısının basit izokinolin alkaloitleri ile kondenzasyonu sonucu oluşmaktadırlar. Halka grupları birbirlerine iki veya üç eter bağı ile bağlıdırlar (Şekil 2.24).



Şekil 2.24. Sekobisbenzilizokinolin alkaloitlerinin genel yapısı

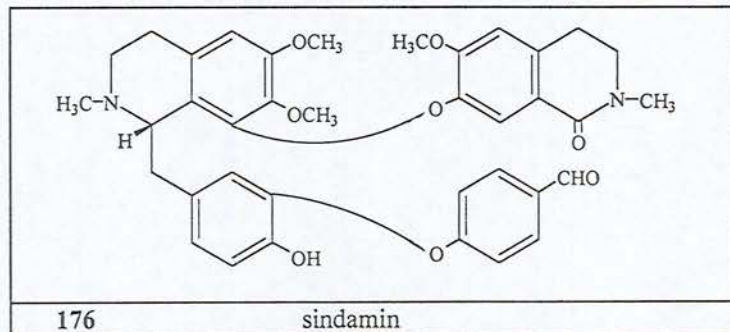
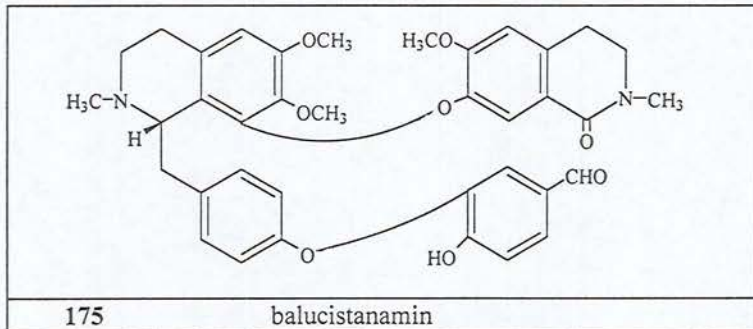
*Berberis* türlerinden bu güne kadar izole edilerek yapıları belirlenmiş SBİ alkaloitleri Tablo 2.16' de ve bu alkaloitlerin formülleri ise Şekil 2.25' de verilmektedir.

No	Adı	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R' <sub>1</sub>	R' <sub>2</sub>	R' <sub>3</sub>	R' <sub>4</sub>	R' <sub>5</sub>
167	jelumün	-H	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-H	-H	-CHO
168	çenabin	-H	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-H	-CHO
169	çenabinol	-H	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>2</sub> OH
170	çenabinol metil eter	-H	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-H	-CH <sub>2</sub> OMe

Şekil 2.25. Sekobisbenzilizokinolin alkaloitlerinin formülleri

No	Adı	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>	R' <sub>1</sub>	R' <sub>2</sub>	R' <sub>3</sub>
171	kurakautin	-H	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CHO
172	talkamin	-H	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>

No	Adı	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R' <sub>1</sub>	R' <sub>2</sub>	R' <sub>3</sub>
173	punjabin	-H	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-H	-CHO
174	gilgitin	-H	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-H	-CO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>



Şekil 2.25 (devam). Sekobisbenzilizokinolin alkaloitlerinin formülleri

**Tablo 2.16.** *Berberis* türlerinde bulunan sekobisbenzilozokinolin alkaloidleri

Tür	baluchistanamin (175) (baluchistanamine)	çenabin (168) (chenabine)	çenabinol (169) (chenabinole)	çenabinol metil eter (170)	gilgigin (174)	jelumün (167)	kurakautine (171)	puñjabin (173)	sindamin (176)	talkamin (172)
<i>baluchistanica</i>	66*,188, 224,226									
<i>brandisiana</i>			225	225						
<i>buxifolia</i>							97			97
<i>lycium</i>	84, 204, 226	84, 207			84, 204	84, 207		84, 204, 226	84, 204	

\* Kaynak numarası

### 2.6.2. *Berberis* Türleri Üzerinde Yapılmış Miktar Tayini Çalışmaları

Türkiye’ de yapılan bir çalışmada *B. crataegina*, *B. cretica* ve *B. vulgaris*’ in toprak altı kısımları kullanılmıştır. Burada berberin İTK ile ayrılıp, bu leke metanol ile elüe edilerek 350 nm de spektrofotometrede miktar tayini yapılmıştır. Berberin miktarları *B. crataegina*’ da %0.36, *B. cretica*’ da %0.54 ve *B. vulgaris*’ te %0.77 olarak bulunmuştur. Ayrıca bitkilerin içermiş oldukları toplam alkaloid miktarları da sırasıyla %1.08, %1.28 ve %1.27 olarak belirtilmiştir (94).

*Berberis* türleri ile yapılan bir İTK çalışmasında C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>:MeOH (90:10) sisteminde berberin ayrılmış ve spektrofotometrik çalışma sonucunda miktarlar belirlenmiştir. Bu çalışmada farklı yüksekliklerden toplanmış bitkilerin berberin miktarları belirlenmiş ancak yöntem hakkında fazla ayrıntı verilmemiştir. *B. lycium*, *B. asiatica*, *B. chitria*, *B. napalensis*, *B. kumaonensis*, *B. vulgaris*, *B. aristata* ve *B. jaeschkeana* türlerinin değerlendirildiği bir çalışmada, köklerde %5-19, gövdede %0.1-0.7 ve yapraklarda %0.1-0.8 berberin bulunmuştur. En yüksek berberin miktarının ise *B. lycium*’ da bulunduğu bildirilmiştir (71).

BuOH:AcOH:H<sub>2</sub>O (7:1:2) ve dietilamin:sikloheksan (1:9) sistemlerinde çift yönlü yürütme işleminden sonra kısa dalga boyunda UV lamba altında incelenmiş olan ve *B. asiatica*' da %2.45-2.55 oranında berberin bulunduğu belirtilmiştir. Bunun yanı sıra palmatin, jatrorhizin ve magnoflorin de teşhis edilmiştir (79).

*Berberis juliana* ile yapılan diğer bir çalışmada ise kök, gövde ve tohumlarda berberin miktarları sırasıyla %5.3, %1.1, %0.02 ve jatrorhizin miktarları da %0.79, %0.64, %0.007 olarak bulunmuştur. Bu çalışmada da İTK yöntemi kullanılmıştır (126). Yine spektrofotometrik bir çalışma sonucunda *B. croatica* kök kabuğunda %2.6 berberin bulunduğu kayıtlıdır (100).

İTK ile yapılan iki farklı çalışmada da alkaloid miktarları toprak altı ve toprak üstü kısımlarında belirtilmiştir. İlk çalışmada *B. dielsiana* ve *B. vulgaris* karşılaştırılmıştır. Toprak üstü kısımlarında sırasıyla berbamin+oksiakantin %2.4-1.7, berberin+palmatin %2.7-2.7, fenolik bazlar %0.4-1.1, toplam alkaloid miktarları ise %5.5-5.5 olarak bulunmuştur. Toprak altı kısımlarında ise sırasıyla berbamin+oksiakantin %3.2-4.8, berberin+palmatin %3.9-5.0, fenolik bazlar %0.8-2.9, toplam alkaloid miktarları ise %7.9-12.6 olarak kayıtlıdır (104, 182).

Aynı metod ile yapılan ikinci çalışmada da *B. virescens* ve *B. vulgaris* karşılaştırılmıştır. Toprak üstü kısımlarında sırasıyla berbamin+oksiakantin %3.71-1.66, berberin+palmatin %3.05-2.68, fenolik bazlar %0.67-1.09, toplam alkaloid miktarları ise %7.43-5.43 olarak bulunmuştur. Toprak altı kısımlarında ise sırasıyla berbamin+oksiakantin %5.26-4.75, berberin+palmatin %5.93-5.0, fenolik bazlar %1.43-2.87, toplam alkaloid miktarları ise %12.62-12.62 olarak kayıtlıdır (162).

Japonya' da yapılan bir çalışmada ise *B. amurensis* var. *japonica*' nın kökleri ve gövde+dallarındaki berberin miktarlarının sırasıyla %0.34, %0.24; palmatin miktarlarının ise sırasıyla %0.69, %0.51 olduğu belirtilmiştir (67).

Bir hücre kültürü çalışmasında elde edilen alkaloid ekstraları Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi yöntemi kullanılarak C<sub>18</sub> kolonda %0.01 h/h H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>:MeCN gradient sisteminde ayrılmış (282 nm) ve miktarları belirlenmiştir (45).

## 2.7. *Berberis* Türleri ile Türkiye’de Yapılmış Çalışmalar

*Berberis* türleri ile ülkemizde yapılmış çalışmalar çok azdır.

*B. crataegina* ve *B. cretica* türleri polifenolik bileşikleri bakımından incelenmiş ve bu türler hem kimyasal olarak polifenolik bileşikleri bakımından hem de morfolojik olarak karşılaştırılmıştır. Meyvalar ve yapraklar ile yapılan bu çalışmada yapraklardan iki fenolik asit (kafeik ve klorojenik asit), üç flavonoid (rutin, kersetin ve yapısı belirlenmemiş bir C-glikoziti), meyvalardan ise dört antosiyanin (delfinidin 3-glikozit, petunidin 3-glikozit, peonidin 3-glikozit) elde edilmiştir (23, 267).

Diğer bir çalışmada ise *B. cretica* bitkisinden yeni bir fenantren alkaloidi olan koridinmetin, ayrıca berberin, palmatin ve jatrorhizin izole edilmiştir (98).

Spektrofotometrik olarak berberin ve total alkaloid miktarının belirlendiği çalışmada *B. crataegina*, *B. cretica* ve *B. vulgaris* ’in toprak altı kısımları ile çalışılmıştır. Bitkilerdeki berberin miktarları % 0.36-0.77 ve total alkaloid miktarları ise % 1.08-1.27 arasında bulunmuştur (94).

*B. crataegina* ile yapılan bir yüksek lisans tezinde de köklerde berberin, palmatin, jatrorhizin ve magnoflorin varlığı İTK ile saptanmıştır. Daha sonra berberin izole edilerek bu alkaloidin miktarı spektrofotometrik ölçümler sonucunda % 2.24 olarak bulunmuştur. Bu çalışmada ayrıca sulu ekstre, alkaloid fraksiyonu ve berberin’in antifungal ve antibakteriyel etkileri ve hipoglisemik aktiviteleri incelenmiştir (268).

YBSK ile yapılan bir çalışmada ise *B. crataegina* yapraklarındaki askorbik asit miktarı % 0.0025 olarak bulunmuştur (19).

## 2.8. *Berberis* Türlerinin Biyolojik Etkileri

### 2.8.1. *Berberis* Türlerinin Etnomedikal Kullanımları

*Berberis* cinsine dahil olan türler hem ülkemizde hem de dünyanın pek çok ülkesinde uzun yıllardan beri halk arasında çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Bu bitkilerin etnomedikal kullanımlarına ait literatürlerde rastlanan bilgiler aşağıda verilmektedir.

### **Berberis vulgaris (Amberparis kökü)**

Ülkemizde kök ve kök kabuklarından hazırlanan % 2'lik infüzyon günde 2-3 bardak içildiğinde iştah açıcı, ateş düşürücü ve kuvvet verici olarak kullanılmaktadır (5). İzmir yöresinde karaciğer ve safra kesesi hastalıklarında kullanılır (269). Kabukları entiemetik, kolagog ve tonik etkilere sahiptir. Ayrıca *Leishmania donovani* 'ye karşı toksiktir. Böbrek taşlarında, sarılık, Malarya ve kolesistit tedavisinde de kullanıldığı kayıtlıdır (10, 13).

Karaciğer ve safra kesesi hastalıklarında da kullanılmaktadır. Kurutulmuş köklerden hazırlanan tentür intestinal kanaldaki enflamasyonlarda, eklem romatizmasında, siyatikte ve böbrek iltihaplarında kullanıldığı kayıtlıdır (6). Meyvelerinden hazırlanan şurup ve dekoksasyon ise nezle ve öksürük tedavisinde kullanılmaktadır (6, 7).

Köklerin damar daraltıcı, safra söktürücü etkilerinin yanında infüzyon ve dekoksasyon halinde yüksek dozlarda müshil etkisi de vardır (79).

Kök kabukları "Berberis" diye bilinen ofisinal droğu verir. Ayrıca meyve, yaprak ve gövde kabukları da kullanılmaktadır. Meyvelerin tat verici olarak çorbalarda, yaprakların ise akne tedavisinde kullanıldığı kayıtlıdır. Hintliler kök ve kabukları ülser tedavisinde ve mide ekşimelerinde ayrıca romatizmada kullanmaktadırlar. Köklerden hazırlanan dekoksasyon öksürükte, böbrek ve karaciğer hastalıklarında ayrıca kesik ve berelerin yıkanmasında kullanmaktadırlar. Yüksek dozlarda uygulandığında toksik etki olarak sulu diare ve karın ağrısına neden olmaktadır (4).

Bitki artrit, bronşit, diare, gut, romatizma, lumbago, hepatit, sarılık, tüberküloz, tifüs ve ülser tedavisinde de tavsiye edilmektedir. Ruslar ise bitkiyi hemoraji, metoraji, safra kesesi hastalıkları ve hipertansiyonda kullanmaktadırlar. Kök kabuklarından hazırlanan tentür artrit, safra kesesi ve böbrek hastalıkları, lumbago, nevrojji, göz hastalıkları, romatizma ve tümör tedavisinde kullanılan homeopatik ilaçların terkiğine girer (9, 10).

Bileşiminde yer alan berberin ise bakteri ve protozoalar için geniş spektrumlu bir antibiyotiktir. Berberin sülfat B1, RB ve PS13 tümör sistemlerine etkilidir. Oksiakantin ise KB tümörlerinde aktiftir. Berberinin intrakutan enjeksiyonlarında lokal anestezi ve hiperpigmentasyon meydana gelebilir (9).

British Herbal Pharmacopoea' da (13) Bu türün safra söktürücü ve antiemetik etkileri kayıtlıdır. Hazırlanan tentür ise akut böbrek ağrılarında kullanılmaktadır (3).

1957 yılında Sovyetler Birliği Sağlık Bakanlığı *B. vulgaris* yapraklarından hazırlanan dekoksasyonun kullanımına izin vermiştir. "Kolelitin" adındaki başka bir preparat karaciğer hastalıklarının tedavisinde, safra kesesi taşlarını düşürücü olarak, kolesistit ve sarılık tedavisinde kullanılmaktadır. Bu preparatın terkininde de *B. vulgaris* kök ve kabuk ekstraları vardır. 1962 yılında da berberin sülfat kolagog olarak kullanıma sunulmuştur (1, 2).

#### ***Berberis crataegina*** (Karamuk, Diken üzümü)

Türkiye'nin ihraç ürünlerinden olan meyveleri idrar arttırıcı, balgam söktürücü olarak infüzyon halinde kullanılır. Sivas yöresinde taze ve kuru meyvelerden hazırlanan hoşaf, şurup veya Garaş (kara aş) ismi verilen tatlı gıda olarak, yapraklar ise pilav yapımında kullanılır (5).

Konya' da köklerden hazırlanan dekoksasyon dahilen olarak hemoroitte, hayvanlarda idrar yolları ağrılarında ve dokumacılıkta sarı yün boyamada kullanılır. Ayrıca kök kabukları kaynatılıp göze damlatıldığında kaşıntı ve kızarıklıkları geçirmektedir. Karadeniz bölgesinde ise kökler kaynatılır, ekstre 1 gece soğutulur ve oral olarak günde 3 kez alınarak anal fistüllere karşı kullanılır. Büyükbaş hayvanlarda ise köklerden hazırlanan dekoksasyon antelmantik etkilidir. Ayrıca hayvanlarda sarılık tedavisinde de kullanılmaktadır (269).

#### ***Berberis asiatica*** (Hindistan berberisi, Chutro)

Hindistan' da kök kabuklarından hazırlanan ve "Rusat" adı verilen ve bol miktarda berberin içeren koyu kahve rengi ekstre astrenjan olarak kullanılır (8).

Nepal’ de 500 g doğranmış gövde kabukları 5 L su ile suyun yarısı uzaklaşana kadar kaynatılır. Filtre edildikten sonra tekrar viskoz bir hal alana dek kaynatılır. Bu ürüne “khoto” denir. Bu ürünün 3 g’ı oral olarak 24 gün süre ile günde 3’ er kez sıcak su ile ateş düşürücü olarak kullanılır. Ayrıca bu ürün su ile pasta yapılarak göz kapağı irritasyonlarında uygulandığında kızarıklıkları geçirmektedir (270).

Yine Nepal’ de, halk arasında, 20 g gövde kabuğu 600 mL su ile 200 mL kalana dek kaynatılır. Bu dekoksion bal ile birlikte günde 2 kez olmak üzere 2 veya daha çok hafta uygulandığında spermatorre’ ye iyi geldiği belirtilmiştir (271). Himalayalarda kök ve rizomlar diare ve göz hastalıklarında kullanılmaktadır (10).

#### ***Berberis aristata*** (Darlahad, Rasaut)

Bu tür Nepal’ de göz hastalıklarında kullanılan *Berberis* olarak bilinir. Acı toniktir. Ayrıca kurutulmuş gövdesi diaforetik ve antiperiyodik olarak kullanılır (8). Tereyağı ve şapla veya Opium ve limon suyu ile karıştırılıp göz hastalıklarında ve göz iltihaplarında haricen göz kapağına uygulanır. Konjonktivitte ise süt ile karıştırılarak verilmektedir (272). Tohum, kök, kabuk ve meyveleri tonik, astrenjan, ateş düşürücü, laksatif etkilidir ve karaciğer hastalıkları ile menorajide kullanılmaktadır (3). Himalayalarda kök kabukları diare ve göz hastalıklarında tavsiye edilmektedir (10). Kuru kök ve kabuklar Pakistan’da ise sarılık ve deri hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır (273).

#### ***Berberis amurensis***

Bu tür Uzak Doğu’ da yetişmektedir. Meyve, yaprak ve kökleri halk arasında hipertoni ve karaciğer hastalıklarında kullanılmaktadır. Yapraklardan hazırlanan tentür ise metrorhaji de etkili olduğu kayıtlıdır (59). Çin’ de ise bitkinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan dekoksion kansere karşı kullanılır (274).

#### ***Berberis aquifolium***

Bitki entiemetik ve laksatif etkilidir. Nezle, gastrit ve ekzema tedavisinde ya dekoksion halinde ya da % 25’ lik alkolle 1:1 oranında hazırlanmış ekstreden 12 mL dozda alınır (13).

Yüksek miktarda berberin ve oksiakantin taşıyan köklerden hazırlanmış ekstre psoriasis ve frengi tedavisinde ve tonik olarak kullanılır (8).

British Herbal Pharmacopoea' da (13) bu türün nezle tedavisinde kullanıldığı ve hafif laksatif olduğu kayıtlıdır (3). Bitkinin kökleri Amerika' da sıcak ekstre şeklinde kansere karşı kullanılmaktadır (275).

#### ***Berberis chitria*** (Chotra, Chetai)

Hindistan' da kökler lokal olarak göz enfeksiyonlarında, epilepside ve yaraların tedavisinde kullanılmaktadır (90, 191). Kurutulmuş kabuklar ise Nepal' de göz hastalıklarında ve peptik ülserde kullanılır (276, 277).

#### ***Berberis sibirica***

Sibiryaya, Orta Asya, Kazakistan, Çin ve Moğolistan'da yetişmektedir. Kökler halk arasında sarılık, tüberküloz ve nezle tedavisinde, gastrointestinal hastalıklarda ve hemostatik ajan olarak kullanılmaktadır. Yaprakların ise metrorhaji tedavisinde kullanıldığı kayıtlıdır (153, 153).

#### ***Berberis lycium***

Pakistan' da doğal olarak yetişen bir türdür. Köklerinden hazırlanmış ve konsantre edilmiş yarı akıcı sulu ekstre "Rasaut" adını alır. Bu ekstre tonik ve ateş düşürücü olarak ve ayrıca gastrit ve duodenal ülser tedavisinde kullanılır. Kurutulmuş kök tozları süt ile alındığında romatizma ve kas hastalıklarında etkilidir (137).

#### ***Berberis valdiviana***

Şili' de halk arasında soğuk algınlığı, mide ve karaciğer hastalıklarında kullanılır (164).

#### ***Berberis virgetorum***

Bu tür Çin' de dizanteri, diyare ve hepatitte ayrıca ağız mukoza iltihaplarında ve tiroit bezi enfeksiyonlarında kullanılır (165).

### *Berberis soulieana* ve *Berberis wilsonae*

Antibakteriyel ve antifungal etkileri vardır. İçerdikleri palmatin antifungal aktiviteye sahiptir. Berbamin ise hipotansif bir alkaloiddir (32).

### *Berberis integerrima* ve *Berberis nummularia*

Halk arasında bu türlerin kök, dal, yaprak ve meyveleri kalp-damar hastalıkları, midebarsak hastalıkları ve psikolojik rahatsızlıklarda kullanılırlar. Ayrıca romatizma ve kırıklarda da kullanıldıkları kayıtlıdır. Kök ile dal kabukları ve yapraklardan hazırlanan dekoksionun hemostatik etkisi vardır. Meyveler ise kandaki pıhtılaşmayı azaltır (116). Doğal olarak yetişen bütün *Berberis* türleri yörelerinde benzer amaçlarla kullanılmaktadır. *Berberis* kökleri dokumacılıkta sarı boyamada kullanılmasına rağmen rengin güneşte açılması nedeni ile tercih edilmemektedir.

## 2.8.2. *Berberis* Türlerinin Farmakolojik Özellikleri

### Dolaşım Sistemi Üzerine Yapılmış Çalışmalar:

*B. integerrima*'nın yapraklarından hazırlanmış total alkaloid fraksiyonu hipotansif ve periferik adrenolitik etki göstermiştir (203). Çin' de yapılan bir çalışmada *B. poiretti* köklerinin aktif bileşenleri belirlenmiştir. Berberin, berbamin, palmatin ve jatrorrhizin denenmiştir. Bu çalışmada berbamin' in, kalsiyum kanal blokörü ( $IC_{50} = 3.10^{-6}$  M) olarak en aktif bileşen olduğu bulunmuştur. Ayrıca berbaminin antiaritmik etkisinden de söz edilmektedir (147, 278). *B. lycium*' dan seyreltik asetik asit ile hazırlanmış (pH 6.5) alkaloid çözeltisinin farmakolojik aktivitelerine bakılmıştır. 5 ve 10 mg/kg dozlarda *i.v.* olarak köpeklere enjekte edildiğinde kan basıncında hızlı bir düşme gözlenmiştir. İzole tavşan kalbinde depresan aktivite göstermiştir. Bu etki alkaloid uygulanmasından hemen sonra başlamış ve *i.v.* olarak ardışık uygulamada taşiflaksi gelişmiştir (206).

Pakistan' da ise *B. lycium*' dan izole edilen berbaminin hipotansif aktivitesi incelenmiştir. Kediler ve izole organlar üzerinde yapılan bu çalışmada berbaminin anlamlı düzeyde hipotansif aktivite gösterdiği kayıtlıdır (279). Çin' de yapılan bir çalışmada *in*

*vitro* ve *in vivo* olarak berberinin ventriküler kaslarda depolarizasyon süresi üzerine etkisi incelenmiştir. Berberin bu süreyi kısaltarak antiaritmik aktiviteye neden olmaktadır (280).

Diğer bir çalışmada *B. chilensis*' ten izole edilmiş 7-O-demetilizotalikberin adlı bisbenzilozokinolin alkaloidinin kurbağa kalbindeki pacemaker hücreleri üzerine olan etkisi araştırılmıştır.  $1.10^{-4}$  M dozda uygulandığında geçiş hücrelerinin aksiyon potansiyellerini bloke etmiştir. Bu etkinin verapamil ile benzer olduğu belirtilmiştir (281). Aynı alkaloidin kardiodepresör etkisi de diğer bir çalışmada kayıtlıdır. İzole domuz atriumunda negatif inotropizm ve kronotropizm ( $IC_{50} = 1,5. 10^{-4}$  ve  $1,8. 10^{-4}$  M, sırasıyla) göstermiştir. Burada alınan sonuçlar terapötik kullanım için bir ışık tutmaktadır (282). Diğer bir çalışmada O-metilizotalikberinin hipotansif etkileri gösterilmiştir. Bu alkaloid kimyasal yapı olarak doğal orjinli kalsiyum antagonistlerine (berbamin, tetrandrin, 7-O-demetiizotalikberin, vb.) benzerlik göstermektedir. Alkaloid 1, 2.5, 5, 7.5 ve 10 mg/kg dozlarda sıçan femoral veninden uygulanmıştır. Arterial basınçta uygulanan dozlara göre sırasıyla % 5.8, % 10.1, % 35.6, % 67.9 ve % 60.5 oranında düşme gözlenmiştir. Hipotansif aktivite 5 mg/kg *i.v.* uygulamada 5 saniye içinde başlamış ve 120 saniye sonunda bitmiştir (283).

#### **Karaciğer ve Safra Kesesi Üzerine Yapılmış Çalışmalar:**

*Berberis* türleri halk arasında karaciğer ve safra kesesi hastalıklarında kullanılmaktadır. Buna yönelik yapılan farmakolojik çalışmalarda da karaciğer koruyucu etkileri bulunmuştur. Bu konuda literatürlerde rastlanan çalışmalar aşağıda verilmiştir.

Parasetamol ve  $CCl_4$  ile tahrip edilmiş karaciğerlere *B. aristata* meyvelerinden hazırlanmış metanol ekstresi uygulanmıştır. Parasetamol 1 g/kg dozda % 100 ölüme neden olurken 500 mg/kg dozda ekstre ile hayvanlara uygulandığında ölümlerde % 10 azalma gözlenmiştir. Bu çalışma ile *B. aristata* meyve ekstresinin hepatoprotektif etkisi gösterilmiştir (284). Yapılan diğer benzer bir çalışmada ise *B. aristata*'nın yapraklarından hazırlanmış metanol ekstresi asetaminofen ile oluşturulmuş hasarlı sıçan karaciğerlerine uygulandığında hepatoselüler membran üzerinde bir onarıcı etkinin olduğu ve böylece karaciğer koruyucu etkinin ortaya çıktığı gösterilmiştir (227).

Hindistan' da yoksulluk nedeniyle yaşam şartlarının düşüklüğünden çok çeşitli akut hepatit vakaları gözlenmektedir. Bu konuda yapılan bir çalışmada *B. aristata*'nın hepatite karşı olan etkileri gösterilmiştir (264).

### Antimikrobiyal ve Antibakteriyal Çalışmalar:

Bu konudaki çalışmalar ya direkt bitki ekstraları ile ya da bu bitkilerden izole edilmiş alkaloidler ile yapılmıştır.

*B. asiatica*' dan hazırlanmış ekstrenin *Staphylococcus pneumoniae*' da etkili olduğu kayıtlıdır (285). *B. aristata*' nın ise bakteriyal diare ve kolera kemoterapisinde kloramfenikol yerine kullanıldığı belirtilmektedir (65). Hindistan' da *B. aristata* antiseptik bir krem olan Herbinol' ün bileşimine girmektedir (286). *B. chitria*' nın kurutulmuş köklerinden hazırlanan benzen, etanol ve su ekstraları 500 kg/disk konsantrasyonlarda disk difüzyon yöntemi ile test edilmiştir. *Staphylococcus aureus*, *Bacillus proteus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella aerogenes*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Salmonella typhi* ile yapılan çalışmada benzen ekstresinde hiç bir etki gözlenmezken etanol ekstresinde ortalama 14-20 mm, su ekstresinde 10-13 mm' lik bir inhibisyon zonu oluşmuştur. Bu sonuçlara göre su ve etanol ekstralarının göz enfeksiyonlarında veya konjonktivitte kullanılabileceği gösterilmiştir (287). Hindistan' da yapılan bir çalışmada *B. chitria* köklerinden hazırlanan alkol ve su ekstraları *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus proteus*, *Salmonella typhi* ve *Pseudomonas pyocyanae* üzerinde denenmiş ve alkol ekstresinin daha etkin bir antimikrobiyal ajan olduğu belirtilmiştir (288).

Diğer bir çalışmada berberin ve *B. vulgaris*' den hazırlanmış tentürün antimikrobiyal etkileri incelenmiştir. *Candida* türlerinde 20-25 mm' lik bir inhibisyon zonu gözlenirken diğer mikroorganizmalarda bu zon küçülmektedir. Bununla beraber *Staphylococcus aureus*, *Sarcina lutea*, *Bacillus cereus* ve *Klebsiella pneumoniae* üzerinde de etkili olduğu gözlenmiştir. Berberis tentürü *Sarcina flava*, *Serratia* sp. ve *Providentia stuardii* (%12.5) üzerinde yüksek hassasiyet göstermiştir. *Candida tropicalis*, *Proteus morgani* ve *Escherichia coli* ise %25' lik Berberis tentürü dilüsyonunda ürememişlerdir. *Candida albicans*, *C. krusei*, *Sarcina flava*, *Providentia stuardii*, *Proteus morgani* ve *Escherichia coli* ise berberin klorürün % 25' lik seyreltik çözeltisinde ürememişlerdir. *Bacillus subtilis* ve *Staphylococcus aureus* türleri üzerinde stok çözeltiler dahi etkili değildir. Bu çalışmada Berberis tentürünün berberinden daha etkili olduğu gösterilmiştir (183).

Berberin alkaloidleri pek çok fungus ve protozoa üzerine etkilidir. Antibakteriyal aktivite konusunda ilk sistematik araştırma berberin klorür, iyodür ve palmatin iyodür ile *Vibrio*, *Eberthella*, *Salmonella* ve *Escherichia* türleri üzerine yapılmıştır. Berberin klorürün pH 5-9 arasında antibakteriyal aktivitesi olduğu saptanmıştır (65). Kloramfenikol referans maddesine göre berberin klorür en yüksek aktiviteyi *Staphylococcus epidermitis*, *Neisseria meningitidis*, *Escherichia coli* üzerinde, oksiakantin klorür ve kolumbamin klorür ise *Bacillus subtilis* ve *Colpidium colpoda* üzerinde göstermiştir (289). *Berberis* türlerinde bulunan ana alkaloidlerin en düşük inhibisyon konsantrasyonları ( $\mu\text{g/ml}$ ) aşağıda verilmiştir:

Organizmalar	berberin (65, 290)	jatrorrhizin (290)	izotetrandrin (290)	berbamin (290)	oksiakantin (290)	magnoflorin (290)
<i>Bacillus pumilus</i>	25					
<i>Bacillus subtilis</i>	23	>100				
<i>Bacillus anthracis</i>			500	500	125	
<i>Staphylococcus aureus</i>	6.250	>100	125250	250500	500	>100
<i>Staphylococcus epidermidis</i>			125	125	125	
<i>Streptococcus pyogenes</i>	12.5					
<i>Escherichia coli</i>	50>100	>100	1000	1000	1000	>100
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	25		500	500	500	
<i>Shigella boydii</i>	12.5					
<i>Vibrio cholerae</i>	2550					
<i>Bacillus cereus</i>	50					
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	6.2					
<i>Pseudomonas pyocyanea</i>	>100					
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	>100					
<i>Salmonella paratyphi</i>	>100					
<i>Salmonella schottmuelleri</i>	>100					
<i>Salmonella typhimurium</i>	>100					
<i>Salmonella typhi</i>	>100					
<i>Staphylococcus albus</i>	50					
<i>Vibrio cholerae</i>	50					
<i>Xanthomonas citri</i>	3.1					
<i>Xanthomonas malvacearum</i>	6.2					
<i>Xanthomonas campestris</i>	12.5					
<i>Erwinia carotovora</i>	100					
<i>Pseudomonas mangiferae</i>	>100					
<i>Pseudomonas solanacearum</i>	>100					
<i>Candida utilis</i>	12.5					
<i>Candida albicans</i>	12.5					
<i>Candida tropicalis</i>	3.1					
<i>Sporotrichum schenkii</i>	6.2					

Bu alkaloidler için denenmemiştir.

## Gastrointestinal Sistem Üzerine Yapılmış Çalışmalar:

Kediler üzerinde yapılan bir çalışmada *B. vulgaris* kabuklarının gastrointestinal hastalıklar üzerinde etkili olduğu belirtilmektedir (291). Bitkisel ürünlerle ilgili bir çalışmada *Eimeria tenella*' ya karşı *B. asiatica*' nin antiparaziter aktivite gösterdiği belirtilmektedir (292). Rusya' da ise *B. heterobotrys* preparatlarının antelmantik aktivitesi çalışılarak terapötik olarak kullanılabilceği savunulmuştur (293).

*B. aristata*' nin *Entamoeba histolytica*' ya karşı antiamebik aktivitesi etanol ekstresi kullanılarak *in vivo* ve *in vitro* olarak çalışılmıştır. Bu çalışmada DNaz, RNaz, aldolaz, alkalen fosfotaz, asit fosfotaz,  $\alpha$ -amilaz ve proteaz enzimlerini inhibe ettiği gözlenmiştir (294). *B. aristata*' nin hemoroit tedavisinde de kullanılabilceği kayıtlıdır (295). Bu konu üzerinde yapılan diğeri bir çalışmada ise berberin sıçanlara 100 mg/kg dozda 10 gün süre ile uygulandığında intestinal amebiyaziste % 80 iyileşme gözlenmiştir. 1-10  $\mu$ g/ml dozlarda izole domuz ileumunda spazmojenik cevabı arttırırken, 20-100  $\mu$ g/ml dozlarda spazmolitik etki göstermiştir. Hem domuz ileumunda hem de kurbağa rektum kasında asetilkolinin cevabını bloke etmiştir (296).

Hindistan' da ve Çin' de modern tıpta berberin diare tedavisinde kullanılmaktadır. *B. aristata*' dan elde edilen berberinin tavşan barsak modelinde *Vibrio cholerae* ve *Escherichia coli* tarafından enterotoksin sekresyonuna karşı olan inhibisyonu çalışılmıştır. Berberin bu enterotoksinlerin sekresyonunu %70 oranında inhibe etmiştir (297, 298).

Çin' de yapılan bir çalışmada, berberinin antidiyareik ve antiinflamatuvar aktivitesi incelenmiştir. Berberin sülfat 40 ve 80 mg/kg (*i.g.*) dozda Hint yağı veya *Cassia angustifolia* yapraklarının farelerde meydana getirdiği müshil etkisini yok etmiştir. Farelerde % 0.7 asetik asit verilerek arttırılmış vasküler permeabilityyi berberin 60 mg/kg (*i.g.*) dozda anlamlı ölçüde inhibe etmiştir. Sıçanlarda ise 100  $\mu$ g/0.1 ml *i.c.* histamin verilerek arttırılmış olan vasküler geçirgenliği berberin 20 ve 50 mg/kg (*s.c.*) dozda inhibe etmiştir (299).

Berberinin tavşan ileumunda gevşetici etki göstermiştir (300).

## Üreme Organları Üzerine Yapılmış Çalışmalar:

Berberin alkaloidlerinin uterus uyarıcı etkisinin olabileceği gösterilmiştir. Berberin taşıyan bitkiler halk arasında antifertilite amacıyla kullanılmaktadır. *B. aristata*'nın su dekoksyonu halk arasında abortif olarak kullanılmaktadır. Tersiyer ve katerner berberin tip alkaloidler izole fare uterusunda kasılmalara yol açmıştır. Katerner grup alkaloidler uterusu kasılma yaparken izole fare barsağında zayıf spazmolitik aktivite göstermiştir. Buna karşılık tetrahidro türevleri güçlü papaverin benzeri etki göstermiştir. Bunların uterus üzerindeki kontraktif etkileri ise geçicidir. Uterusta maksimum kasılmayı gerçekleştiren en düşük alkaloid konsantrasyonları aşağıda verilmiştir (65):

Alkaloidler	Konsantrasyon (g/ml)
berberin klorür	$2 \cdot 10^{-5}$
palmatin klorür	$5 \cdot 10^{-5}$
jatrorrhizin klorür	$7,5 \cdot 10^{-5}$
dehidrokoridalin klorür	$7,5 \cdot 10^{-5}$
dihidroberberin klorür	$2 \cdot 10^{-5}$
dihidropalmatin klorür	$5 \cdot 10^{-5}$
canadin	$5 \cdot 10^{-6}$
tetrahidropalmatin	$7,5 \cdot 10^{-6}$
tetrahidrojatrohhizin	$2,5-5 \cdot 10^{-5}$

*B. amurensis*'den hazırlanan dekoksyon izole kedi uterusunda kas tonusunu arttırmıştır. *B. vulgaris*'in yapraklarından ve dal kabuklarından hazırlanmış aseton ekstresi *in vivo* olarak yapılan bir çalışmada domuz, kedi ve tavşan uteruslarında kasılmalara neden olmuştur. Ayrıca *B. tschonoskyana*'nın total tersiyer alkaloid fraksiyonu ve berberin tip alkaloidlerin uterus üzerinde antikonvülsan etkisinin olduğu da belirtilmektedir (67).

Hindistan' da yapılan bir çalışmada *B. pseudambalata*'nın oksitosik (doğumu kolaylaştırıcı) etki gösterdiği saptanmıştır (301).

Hindistan' da *B. aristata* Leucosol-H adlı kompleks bir ilacın terkibine girmekte ve lökore tedavisinde kullanılmaktadır (302).

### Enzimler ve Reseptörler Üzerine Yapılmış Çalışmalar:

Japonya’ da yapılan bir çalışmada berberin tip alkaloidlerin elastaz üzerine etkileri incelenmiştir. Bu alkaloidlerin elastaz üzerine inhibitör etkisi vardır. Berberin klorür her iki enzimde de elastolitik aktiviteyi inhibe etmektedir. Fakat tetrahydroberberin böyle bir etki göstermemiştir. Katerner azot atomu taşıyan alkaloidlerin ise bu inhibisyonda önemli rolü vardır (303).

Berberin ve palmatin böcekler ve omurgalı canlılar üzerine toksik etkilidir ve bakteri, fungus ve virüslerin çoğalmasını inhibe eder. Bu çalışmada asetilkolin esterase, butirilkolin esterase, kolinasetil transferase,  $\alpha_1$  ve  $\alpha_2$ -adrenerjik, nikotinerjik, muskarinerjik ve serotonin<sub>2</sub> reseptörlerinin etkilendiği gösterilmiştir. Berberin ve palmatin  $\alpha_2$  -reseptörler üzerine çok aktiftir ( $IC_{50}$  476 ve 956 nM, sırasıyla). Ayrıca berberin DNA sentezini inhibe eder, DNA eklemesi yapar ve transkriptazı geri çevirir (304).

Diğer bir çalışmada dana albumini ile berberinin birbiri ile etkileşmesi incelenmiştir. *B. aristata*’ dan elde edilen berberin saf dana serum albumini ile bağlanmıştır. Protein molekülünde 32 bölgeden bağlanma olur. Bağlanmamış berberin jel filtrasyon ile ayrılır. Bu bağlı kısım *in vitro* olarak tripsin ve kemotripsini %32-61 (sırasıyla) oranlarında inhibe etmiştir (71).

Berberinin izole organlarda antagonistik aktivitesi değerlendirilmiştir.  $\alpha$ -adrenoseptör alt tipleri ayrı ayrı incelenmiştir.  $\alpha_1$ -adrenoseptör sıçan ve tavşan aortalarında,  $\alpha_2$ -adrenoseptör ise domuz ileum preparatlarında incelenmiştir. Önce postsinaptik  $\alpha_1$ -adrenoseptör sonra presinaptik  $\alpha_2$ -adrenoseptör etkilenmiştir. Berberin  $\alpha$ -adrenoseptör alt tipleri üzerinde spesifik bir etki göstermemiştir. Sadece  $\alpha_1$  tipi için hafif bir etki vardır. Ayrıca, sıçan aortasında  $\alpha_1$ -adrenoseptörlerin farklılaşmasına neden olmuştur (221).

### Sitotoksik Çalışmalar:

*Berberis* türlerinden izole edilen berbamin sıçan ve köpekler üzerinde lökojenik etkiler göstermiştir. Berbaminin kanser kemoterapi ve radyoterapisinde kullanılabileceği savunulmuştur. 405 klinik hasta üzerinde yapılan deneylerde berbamin verildiğinde lökosit sayısında düşme gözlenmiştir (195).

Berberin KB ve Ehrlich tümör hücreleri üzerinde sitotoksik etki göstermektedir (65). Özellikle karaciğer ve beyin tümörleri üzerine etkili olduğu kayıtlıdır. Bu konudaki çalışmalar insan beyin tümör hücreleri üzerinde yapılmıştır (305-309).

Palmatin de KB tümör hücreleri üzerinde sitotoksik aktiviteye sahiptir (310).

#### **Antimalaryal Aktivite Üzerine Yapılmış Çalışmalar:**

Protoberberin alkaloidlerinden berberin, palmatin, jatrorrhizin ve diğer berberin türevlerinin antimalaryal aktiviteleri çalışılmıştır. *Plasmodium falciparum* üzerinde *in vitro*, *Plasmodium berghei* üzerinde ise *in vivo* olarak uygulanmıştır. Uygulanan bu bileşiklerin kinin benzeri etki gösterdiği tespit edilmiştir (311, 312).

#### **Deri Üzerine Yapılmış Çalışmalar:**

Berberinin *Leishmania donovani* üzerine etkisi vardır. Enfekte olmuş hayvanlara berberin verildiğinde kan profillerinde hızlı bir düzelmeye gözlenmiştir. Bu çalışmada berberinin *L. donovani*'nin DNA'sı üzerinde etkili olduğu gösterilmiştir (313).

Diğer bir çalışmada bazı bisbenzilozokinolin alkaloidlerinin BALB/c farelerde American *Leishmania* türleri üzerine etkileri incelenmiştir. Glucantime adlı ilaç referans olarak kullanılmıştır (200 mg/kg/gün). Alkaloidler ise 14 gün süre ile 100 mg/kg/gün dozda uygulanmıştır. Berbamin etkili olmazken, izotetrandrin referanstan daha etkili olmuştur (314).

*B. aristata*, Hindistan'da deri hastalıklarında kullanılan Resottanadilepa adlı ilacın terkibine girmektedir (315).

#### **Antienflamatuvar, Antipiretik ve Analjezik Aktivite Çalışmaları:**

Yapılan bir çalışmada berberin ve berberin ile indometasin, siklofosamid veya 6merkaptopurin kombinasyonlarının farelerdeki meydana getirilmiş artrit ve hipersensitiviteye olan etkileri çalışılmıştır. Bu çalışmanın sonucunda klinik uygulamalarda berberinin ilave edilebileceği savunulmuştur (316).

Hindistan'da yapılan bir çalışmada *B. aristata*'nın haricen ve oral uygulamalarda antiromatizmal aktivitesi gözlenmiştir (317).

*B. vulgaris*'in homeopatik kullanımı da vardır (318).

Pakistan’ da kullanılan tıbbi bitkiler üzerinde antipiretik çalışmalar yapılmıştır. *B. lycium* ile yapılan çalışmada antipiretik etki gözlenmemiştir (319).

*B. vulgaris* köklerindeki ana maddeler olan berberin ve oksiakantin izole edilerek bunların antienflamatuar aktiviteleri incelenmiştir. Yapılan testler sonucunda oksiakantin berberinden daha az aktif olduğu bulunmuştur (320). Bisbenzilizokinolin alkaloitleri ile yapılan bir çalışmada histamin salınımının inhibisyonu üzerinde durulmuştur. Bu çalışmada *Berberis*’ lerde bulunan aromolin, tetrandrin, obaberin, berbamin ve oksiakantin *in vitro* olarak test edilmiştir (321).

Hindistan’ da *B. aristata* veteriner hekimlikte kullanılan Teeburb adlı antienflamatuar ilacın terkibine girmektedir (322, 323).

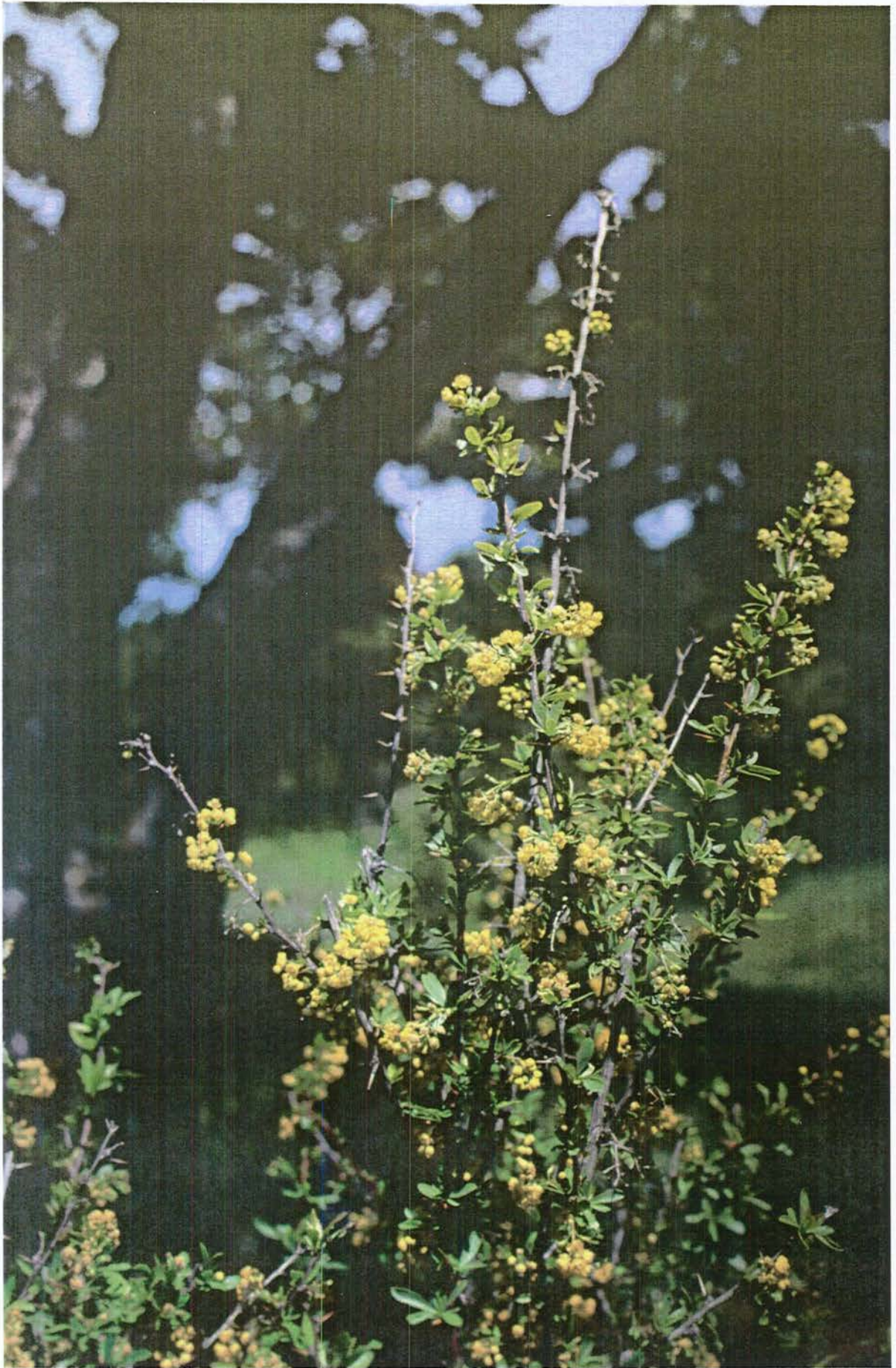
### Diğer Çalışmalar

*B. chitria* köklerinden izole edilen palmitin hidroksit oral olarak 60 gün süreyle her gün 30 mg/kg dozda köpeklere uygulanmıştır. Primer ve sekonder spermatozoid oranında %60-68 azalma gözlenmiştir (91). *B. poiretii*’ nin stomatitis tedavisinde kullanılmaktadır (324). Rusya’ da palmitin pilokarpin ile beraber göz damlalarının terkibine girmektedir (325).

### Toksisite Çalışmaları

*Berberis* türlerinde bulunan bazı önemli alkaloitlerin toksisiteleri aşağıda verilmektedir.

Alkaloitler	LD <sub>50</sub>	Uygulama	Denek	Kaynak
berbamin	75 mg/kg	<i>i.p.</i>	fare	290
berberin	27.5 mg/kg			
	23 mg/kg			
	329 mg/kg	<i>p.o.</i>		
izokoridin	10.9 mg/kg	<i>i.p.</i>	sıçan	
izotetrandrin	160 mg/kg		fare	
	2700 mg/kg		sıçan	
	6400 mg/kg	<i>p.o.</i>		
jatrorhizin	0.2 mg/ml	<i>oral</i> (içme suyu ile)	<i>Artemia salina</i>	
oksiakantin	50 mg/kg	<i>i.p.</i>	fare	



### 3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu bölümde, çalışmalarda kullanılan bitkisel materyal, kimyasal maddeler, reaktifler ve aletler açıklanmakta, yapılan deneysel çalışmalar ve bu çalışmalarda kullanılan yöntemler hakkında bilgi verilmektedir. Çalışmalar TBAM (Tıbbi ve Aromatik Bitki ve İlaç Araştırma Merkezi)' in Bitki Kimyası, Kalite Kontrol, Pilot Tesis ve Doku Kültürü Laboratuvar imkanları kullanılarak yapılmıştır.

#### 3.1. Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Bitkisel Materyal, Kimyasal Maddeler ve Aletler

##### 3.1.1. Bitkisel Materyal

Türkiye Florasında kayıtlı olan dört *Berberis* türü farklı yörelerden toplandı. Bu türlerin kök, gövde ve dalları ayrı ayrı çalışıldı. Bitki örnekleri Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbariyumu' nda (ESSE) saklanmaktadır. Bu bitkilerin toplanma yöreleri ve ESSE numaraları Tablo 3.1' de verilmektedir.

**Tablo 3.1 :** Bu çalışmada kullanılan *Berberis* türlerinin toplanma yöreleri

Bitkiler	Toplanma yöreleri	ESSE
<i>B. crataegina</i>	Eskişehir, Sarıcakaya, İslık deresi ve Hamam deresi arası, Sırçalı yaylası, 760 m, 28.5.1994	11003
<i>B. vulgaris</i>	Kastamonu, Araç- Kastamonu 11. Km, Yüzbaşıoğlu değirmeni, 800 m, 16.6.1994	11756
<i>B. cretica</i>	Manisa, Spil dağı, Atalan yaylası, Orman tesisleri yanı, 1200 m, 9.6.1994	11754
<i>B. integerrima</i>	Trabzon, Araklı, Bayburt yolu, Boğalı deresi, 1500 m, 10.6.1995	12518

### 3.1.2. Kimyasal Maddeler

Etanol	Teknik*
Kloroform	Merck ve Teknik
Dietileter	Merck ve Teknik
Benzen	Merck
Sülfürik asit	Merck
Hidroklorik asit	Merck
Susuz sodyum sülfat	Merck
Amonyum hidroksit	Merck
Metanol	Merck ve Teknik
Bizmut subnitrat	Merck
Glasiyel asetik asit	Merck
Potasyum iyodür	Merck
Civa (II) klorür	Merck
Aseton	Merck ve Teknik
Asetonitril	Merck
Sodyum perklorat	Merck
Perklorik asit	Merck
Sikloheksan	Merck
Silikajel G (İTK)	Merck
Silikajel GF (İTK)	Merck
Silikajel (Kolon kromatografisi)	Merck
Alumina G (İTK)	Merck
Alumina GF (İTK)	Merck
DMSO	Merck

DMSO	Merck
DMEM	Sigma
EDTA	Sigma

Teknik çözücüler distile edilip saflaştırıldıktan sonra kullanıldı.

### 3.1.3. Kimyasal Reaktifler

Dragendorf Reaktifi : Alkaloit varlığında turuncu renk verir. Metilen dioksi grubu taşıyan alkaloitler amonyak ihtiva eden çözücü sistemlerinde develope edildikten sonra plak tam kurutulmadan Dragendorf reaktifi püskürtüldüğünde mor renk verir. İTK sonuçlarının tespiti için kullanıldı.

Hazırlanışı : 1.7 g Bizmut subnitrat 80 mL suda çözüldü ve 20 mL glasiyel asetik asit ile 100 mL %50 potasyum iyodür çözeltisi ilave edildi . Bu çözelti stok olarak kullanıldı.

Kullanılan çözelti : Stok çözeltiden 10 mL alındı, 20 mL glasiyel asetik asit ve 70 mL su ilave edildi.

Mayer Reaktifi : 50 g potasyum iyodür ve 13.5 g civa (II) klorür 500 mL suda tamamen çözülüp 1 L ye tamamlandı.

Mayer reaktifi asitli alkaloit çözeltilerinde alkaloitleri çöktürmek amacıyla kullanıldı. Alkaloitlerle süt rengi çökelti meydana getirdi. Bu çökelti reaktifin fazlasında çözüldüğünden ve tekrar çöktürülemediğinden dikkatle ilave edildi.

### 3.1.4. Kullanılan Aletler

- Paslanmaz çelik kazan (50 L)
- Cam kolonlar (Çeşitli boylarda)

- İTK Seti (J. Bibby Ltd. Science Product)
- Cam plaklar (5x20, 15x20 boyutlarında)
- Rotavapor (Buchi RE 111)
- Ayırma hunisi
- Ultraviyole Spektrofotometresi (UV) (Shimadzu 160A)
- Infrared Spektrofotometresi (IR) (Shimadzu IR-435)
- Fourier Transform-Infrared Spektrofotometresi (Perkin Elmer 2000 FT-IR)
- Nükleer Manyetik Rezonans Spektrometresi (NMR) (BC567A Tesla ve Jeol JNM-EX90A, FT)
- Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (YBSK) Cihazı (Hewlett-Packard 1100 serisi)
- Preparatif Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (Prep-YBSK) Cihazı
- İnkübatör

## 3.2. Deneysel Çalışma

Bu bölümde *Berberis* türlerinden alkaloidlerin ekstraksiyon işlemleri ve bu alkaloidlerin ayırımları amacıyla yapılan analitik çalışmalar hakkında bilgi verilmektedir.

### 3.2.1. Alkaloidlerin Ekstraksiyonu

#### 3.2.1.1. İzolasyon Çalışmalarında Kullanılan Ekstraksiyon Yöntemi

İzolasyon çalışmalarımızda elimizde bol bulunan *B. crataegina* bitkisi kullanıldı. Alkaloid miktarının yüksek olduğu kök kabukları sıyırıldıktan sonra toz edilip kullanıldı.

900 g kaba toz edilmiş kök kabukları %96'lık Etanol ile çelik kazanda maserasyon yöntemi ile ekstre edildi. Elde edilen ekstre 40°C' nin altında rotavaporda yoğunlaştırıldı. Geride kalan koyu renkli bakiye (311.86 g) %10'luk HCl ile (1400 mL) çözüldü. Bu sırada sarı renkli bir çökelti oluştu. Bu çökelti vakumda süzülerek ayrıldı (A).

Kalan asit fazı ayırma hunisine alındı ve %25'lik amonyum hidroksit ilavesi ile bazikleştirildi (pH 8-10). Eter ile ekstre edildi (4x1000 mL). Eterli ekstrere birleştirildi, su ile yıkandı, susuz sodyum sülfat üzerinden kurutuldu. Çözücünün alçak basınçta uçurulması ile kalan bakiye *Eterde Çözünen Alkaloitler* fraksiyonunu verdi (6.65 g) (B).

Kalan bazik sulu faz kloroform ile ekstre edildi (4x1000 mL). Birleştirilen kloroformlu fazlar su ile yıkanıp susuz sodyum sülfat üzerinden kurutuldu. Çözücünün alçak basınçta uçurulması ile elde edilen bakiye *Kloroformda Çözünen Alkaloitler* fraksiyonunu verdi (27.63 g) (C).

Katerner alkaloitleri içeren bazik sulu faz %10'luk HCl ile asitlendirildi (pH 2). Alkaloitler Mayer Reaktifini ile çöktürüldü. Bir gece buzdolabında bekletilen çökelti ertesi gün süzgeç kağıdından süzüldü. Toplanan sarımsı renkli çökelti aseton: metanol: su (6:2:1) karışımında çözüldü ve Amberlite IRA 400 (Cl<sup>-</sup>) iyon değiştirici reçine sütunundan (200 g) geçirildi. Klorür şekline sokulan kuaterner alkaloitleri taşıyan çözelti rotavaporda yoğunlaştırıldı ve böylece *Katerner Alkaloit Klorürleri* elde edilmiş oldu (119.95 g) (D) (Şekil 3.1).

### 3.2.1.2. Miktar Tayini Çalışmalarında Kullanılan Ekstraksiyon Yöntemi

Bu çalışmada Türkiye Florası'na kayıtlı ve farklı bölgelerden toplanan dört *Berberis* türünün kök, gövde ve dalları çalışıldı.

Tüm droglar 3.2.1.1' deki yöntemle, aşağıda açıklandığı şekilde 10 g materyal ile tekrarlandı.

10 g drog alındı ve 150 mL % 96'lık etanol ile çalkalayıcıda masere edildi. Her gün taze çözücü konularak ekstraksiyona 4 gün devam edildi. Birleştirilen etanol fazları 40°C' nin altında rotavaporda kurutuldu ve koyu renkli bir ekstre elde edildi. Bu ekstre 50 mL %10'luk HCl ile çözüldü. Bu sırada sarı renkli bir çökelti meydana geldi. Çökelti vakum altında süzüldü. Elde edilen çökelti metanol ile çözümlenerek süzüldü ve yoğunlaştırıldı (I).

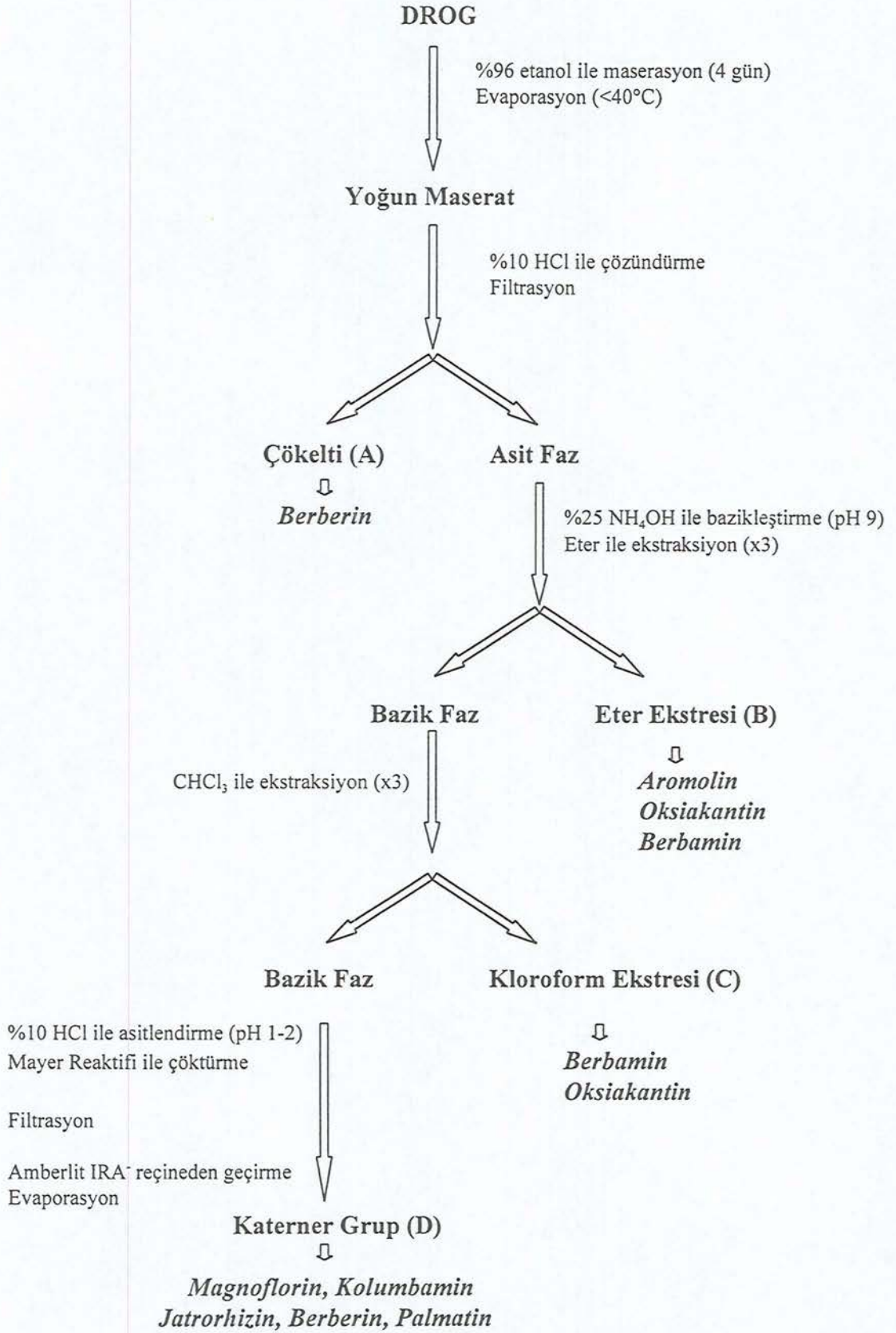
Asitli faz ayırma hunisine alınarak %25'lik amonyum hidroksit ile bazikleştirildi (pH 8-10). Eter ile ekstre edildi (4x40 mL). Eter fazları birleştirilip su ile yıkandı ve susuz

sodyum sülfat üzerinden kurutulularak çözücü alçak basınçta yoğunlaştırıldı. Kalan bakiye *Eterde Çözünen Alkaloitler* fraksiyonunu verdi (II).

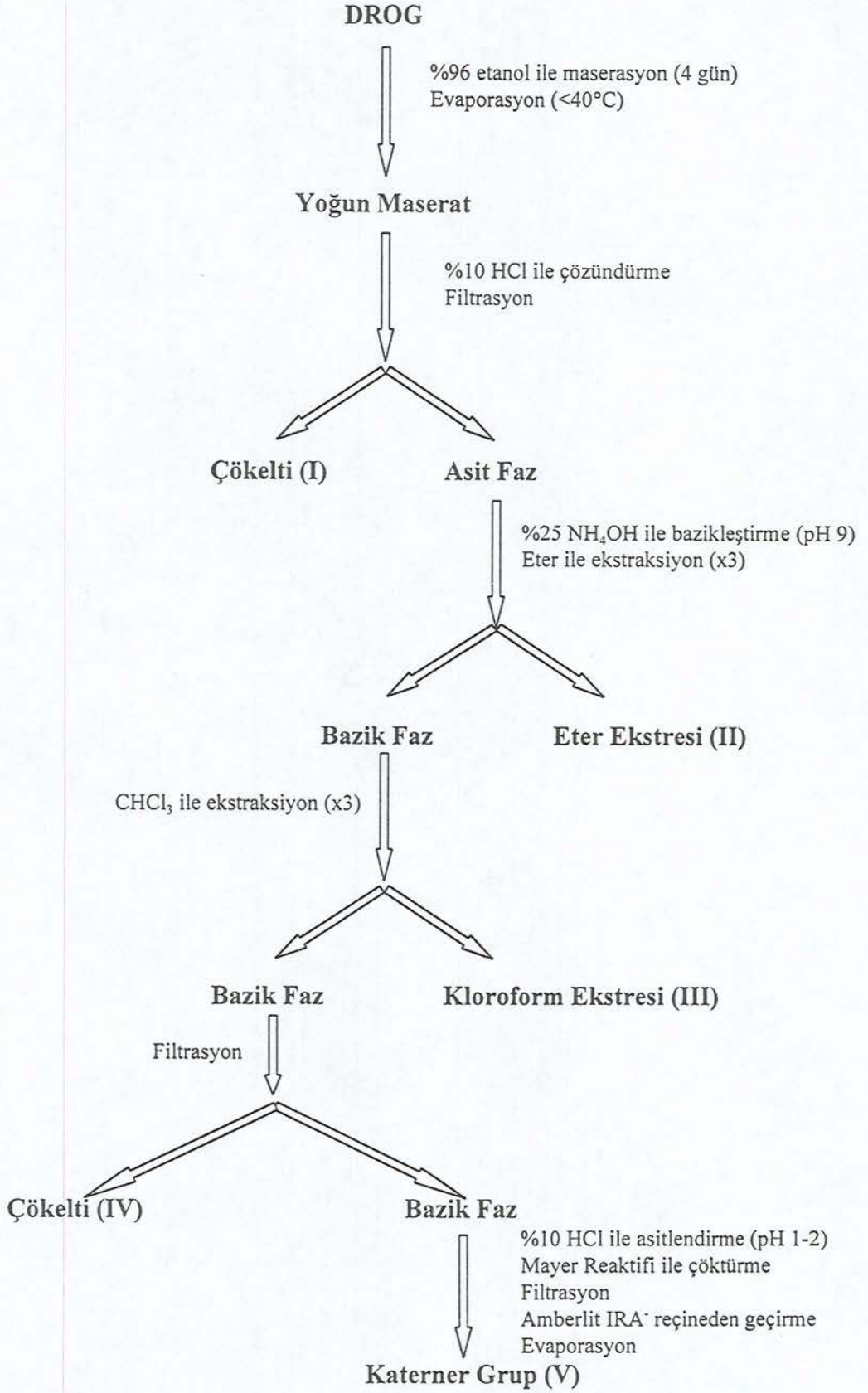
Kalan bazik sulu faz kloroform ile ekstre edildi (4x40 mL). Birleştirilen kloroformlu fazlar su ile yıkanıp, susuz sodyum sülfat üzerinden kurutuldu ve çözücünün alçak basınçta yoğunlaştırılmasıyla elde edilen bakiye *Kloroformda Çözünen Alkaloitler* fraksiyonunu verdi (III).

Kalan bazik sulu faz vakumda cam filtreden (0.45 µm por çaplı) süzüldü. Elde edilen çökelti metanolde çözülüp süzüldü ve rotavaporda yoğunlaştırıldı (IV).

Bazik sulu faz %10'luk HCl ile asitlendirildi (pH 2). Alkaloitler Mayer Reaktifi ile çöktürüldü. Bir gece buzdolabında bekletilen çökelti ertesi gün süzgeç kağıdından süzüldü. Toplanan sarımsı çökelti aseton: metanol: su (6:2:1) karışımında çözüldü ve Amberlite IRA 400 (Cl<sup>-</sup>) iyon değiştirici reçine sütunundan geçirildi. Klorür şeklindeki katerner alkaloitleri taşıyan çözelti rotavaporda yoğunlaştırıldı ve böylece *Katerner Alkaloit Klorürleri* elde edilmiş oldu (V) (Şekil 3.2).



Şekil 3.1. İzolasyon çalışmalarında kullanılan ekstraksiyon yöntemi



Şekil 3.2. Miktar tayini çalışmalarında kullanılan ekstraksiyon yöntemi

### 3.2.2. Analitik Çalışmalar

#### 3.2.2.1. Analitik İnce Tabaka Kromatografisi (İTK)

Rutin kontroller için 0.25 mm kalınlıkta adsorban ile kaplanmış 5x20 ve 15x20 cm ebatlarında cam plaklar kullanıldı. Adsorban olarak Silikajel G (Merck 7731)+ Silikajel GF (Merck 7730) (1:1) ve Aluminyum oksit G (Merck 1090) ve Alumina GF (Merck 1092) kullanıldı.

Adsorban karışımı iki katı kadar distile su ile homojen bir karışım haline getirildikten sonra plak kaplama aleti ile cam plaklar üzerine kaplandı. Plaklar kaplandıktan sonra önce oda sıcaklığında kurutuldu daha sonra etüvde 100°C de 1 saat aktive edilerek kullanıldı.

Bu çalışmalar sırasında kullanılan İTK çözücü sistemleri Tablo 3.2' de verilmektedir.

**Tablo 3.2 : Kullanılan İTK çözücü sistemleri**

Sistem	Çözücü	Adsorban
Sistem 1	Benzen : CH <sub>3</sub> OH (90 : 10)	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>
Sistem 2	Benzen : CH <sub>3</sub> OH (80 : 20)	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>
Sistem 3	CHCl <sub>3</sub> : CH <sub>3</sub> OH (99 : 1)	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>
Sistem 4	CHCl <sub>3</sub> : CH <sub>3</sub> OH (80 : 20)	SiO <sub>2</sub>
Sistem 5	CHCl <sub>3</sub> : CH <sub>3</sub> OH : NH <sub>4</sub> OH (90 : 10 : 0.5)	SiO <sub>2</sub>
Sistem 6	CHCl <sub>3</sub> : CH <sub>3</sub> OH : NH <sub>4</sub> OH (80 : 20 : 2)	SiO <sub>2</sub>
Sistem 7	CHCl <sub>3</sub> : CH <sub>3</sub> OH : NH <sub>4</sub> OH (70 : 20 : 2)	SiO <sub>2</sub>
Sistem 8	CHCl <sub>3</sub> : CH <sub>3</sub> OH : NH <sub>4</sub> OH (28 : 14 : 2)	SiO <sub>2</sub>
Sistem 9	CHCl <sub>3</sub> : Benzen : CH <sub>2</sub> OH : NH <sub>4</sub> OH (7 : 2 : 1 : 3 dam.)	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>
Sistem 10	Sikloheksan : CHCl <sub>3</sub> : CH <sub>3</sub> COOH (35 : 55 : 10)	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>

İTK da developpe edilen plaklar üzerinde oluşan lekeler önce UV lamba altında, daha sonra Dragendorf reaktifi püskürtüldükten sonra belirlendi.

### 3.2.2.2. Analitik Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (YBSK)

*Berberis* türlerinin kök, gövde ve dallarından elde edilen ekstrelerde izole edilen alkaloidlerin miktar tayinleri YBSK yöntemi kullanılarak yapıldı.

Kromatografik Şartlar: Miktar tayini çalışmalarımızda Hewlett-Packard 1100 sıvı kromatografisi sistemi kullanıldı. YBSK analizleri Ultracarb ODS-C<sub>20</sub> (5µ partikül çapı, 15 cm uzunluk, 4.6 mm iç çap, Phenomenex, U.S.A.) kolonda 1 mL/dak akım hızında oda sıcaklığında gerçekleştirildi. Dedektör olarak Hewlett-Packard Fotodiyot Düzeni Dedektörü (Photodiode Array Dedector, DAD) (205, 220, 254, 280, 345 nm) kullanıldı. Çalışmalarımızda A) 0.2 M NaClO<sub>4</sub>: %70'lik HClO<sub>4</sub> (1000: 0.2), B) MeOH çözücü sistemi 30 dakikalık gradient akış ile uygulandı. Gradient akış şeması aşağıda verilmektedir.

<u>Zaman (dak)</u>	<u>Konsantrasyon (B. %)</u>
0	32
10	32
13	35
15	45
20	45
30	50

Örnek Hazırlanması: Bölüm 3.2.1.2' daki ekstraksiyon yöntemine göre dört *Berberis* türünün kök, gövde ve dallarından aynı şartlarda alkaloid ekstreleri hazırlandı. Bu ekstrelerden, çözücü olarak 50:50 oranında A:B karışımı kullanılarak farklı konsantrasyonlarda çözeltiler (Tablo 3.3) hazırlandı. Bu çözeltilerden 5 µl' si YBSK analizlerinde kullanıldı.

**Tablo 3.3.** YBSK analizlerinde kullanılan ekstre konsantrasyonları

Ekstreler*	Konsantrasyon aralıkları (mg/mL)
I	1.13 - 4.24
II	0.72 - 2.32
III	0.45 - 1.07
IV	0.43 - 1.16
V	1.72 - 3.08

\* açıklamaları sayfa 80-81' de verilmiştir.

Standart Çözeltilerin Hazırlanması: Miktar tayini çalışmalarında, Bölüm 4.2' de anlatıldığı şekilde izole edilerek yapıları tayin edilen maddeler standart olarak kullanıldı. Standart maddelerden belli konsantrasyonlarda stok çözeltiler hazırlandı. Bu stok çözeltilerden farklı konsantrasyon aralıklarında 5' er seyreltme yapıldı. Bu çözeltiler kullanılarak her bir standarta ait kalibrasyon eğrileri hazırlandı. Bu standart eğriler kullanılarak numunelerdeki alkaloit miktarları belirlendi. Kullanılan standart madde konsantrasyonları Tablo 3.4' de verilmektedir.

**Tablo 3.4.** YBSK analizlerinde kullanılan standart madde konsantrasyonları

Alkaloitler	Konsantrasyon aralıkları (mg/mL)
Berberin	0.0042 - 0.084
Palmatin	0.0054 - 0.540
Jatrorrhizin	0.0560 - 0.560
Kolumbamin	0.0043 - 0.430
Berbamin	0.0172 - 1.72
Oksiakantin	0.0158 - 1.580
Aromolin	0.0069 - 0.690
Magnoflorin	0.0043 - 0.430

### 3.2.3. Preparatif Çalışmalar

#### 3.2.3.1. Kolon Kromatografisi (KK)

Preparatif çalışmalarda Kolon Kromatografisinden yararlanıldı. Bunun için değişik boyutlarda cam kolonlar ve adsorban olarak da Silikajel 60 (63-200 $\mu$ , Merck 7734) ile Alüminyum oksit (63-200  $\mu$ , Merck 1077) kullanıldı. Elüsyon işlemlerinde ilk kullanılacak çözücü ile bulamaç haline getirilen adsorban kolona dolduruldu. Daha sonra kullanılacak ekstre 1:2 oranında adsorbana iyice yedirilerek kolonun üst kısmına ilave edildi ve yıkama işlemine başlandı. Toplanan fraksiyonlar rotavaporda yoğunlaştırıldıktan sonra uygun çözücü sistemleri ile analitik İTK' ne uygulanarak kontrol edildi. Benzer fraksiyonlar birleştirildi.

#### 3.2.3.2. Preparatif Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (prep-YBSK)

Alkaloid ekstralarının fraksiyonlanması sırasında son aşamadaki saflaştırma işlemlerinde kullanıldı. Bu şekilde elde edilen saf alkaloidler spektral ölçümlerde ve miktar tayini çalışmalarında kullanıldı.

Kromatografik şartlar: Preparatif YBSK çalışmalarımızda Shimadzu LC-5A sıvı kromatografisi pompası kullanıldı. prep-YBSK analizleri Econo-Prep C<sub>18</sub> (5 $\mu$  partikül çapı, 25 cm uzunluk, 10 mm iç çap, Phenomenex, U.S.A.) kolonda 4 mL/dak akım hızında oda sıcaklığında gerçekleştirildi. Dedektör olarak Varian 2050 UV-VIS dedektör (berbamin ve oksiakantin için 220 nm; kolumbamin ve jatrorrhizin için 345 nm) kullanıldı. Çalışmalarımızda A) 0.2 M NaClO<sub>4</sub>: %70'lik HClO<sub>4</sub> (1000: 0.2), B) MeOH A:B (40:60) çözücü sistemi kullanıldı. Ekstreler 100  $\mu$ l enjekte edildi.

Toplanan fraksiyonlar %25 lik NH<sub>4</sub>OH ile bazikleştirildi ve kloroform ile ekstre edildi. Kloroformlu fazlar alçak basınçta rotavaporda yoğunlaştırıldı. Bu şekilde elde edilen maddeler analitik YBSK ile kontrol edildi.

### 3.2.4. Spektroskopik Çalışmalar

#### 3.2.4.1. Ultraviyole Spektrofotometresi (UV)

İzole edilen maddelerin UV spektrumları Shimadzu UV160A marka spektrofotometrede metanolde çözülerek alındı.

#### 3.2.4.2. Infrared Spektrofotometresi (IR)

Çeşitli preparatif kromatografik tekniklerle ayrılan maddelerin KBr disk yöntemi ile spektrumları, Shimadzu IR-435 Spektrofotometresi ve Perkin Elmer Spectrum 2000 FT-IR Spektrofotometresi kullanılarak 4000-600  $\text{cm}^{-1}$  aralığında alındı.

#### 3.2.4.3. Nükleer Magnetik Rezonans Spektroskopisi (NMR)

İzole edilen maddelerin  $^1\text{H}$ -NMR ve  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumları JEOR 90 MHz lik FT-NMR spektrometresinde ve çözünürlüklerine göre dötero kloroform, dötero metanol ve dimetil sülfoksit (DMSO) ile alınmıştır.

### 3.2.5. Berberin' in Antikanser Etkisinin Araştırılması

Bu çalışmalar Anadolu Üniversitesi Tıbbi ve Aromatik Bitki ve İlaç Araştırma Merkezi (TBAM) nin Hücre Kültürü Laboratuvarında yaptırılmıştır.

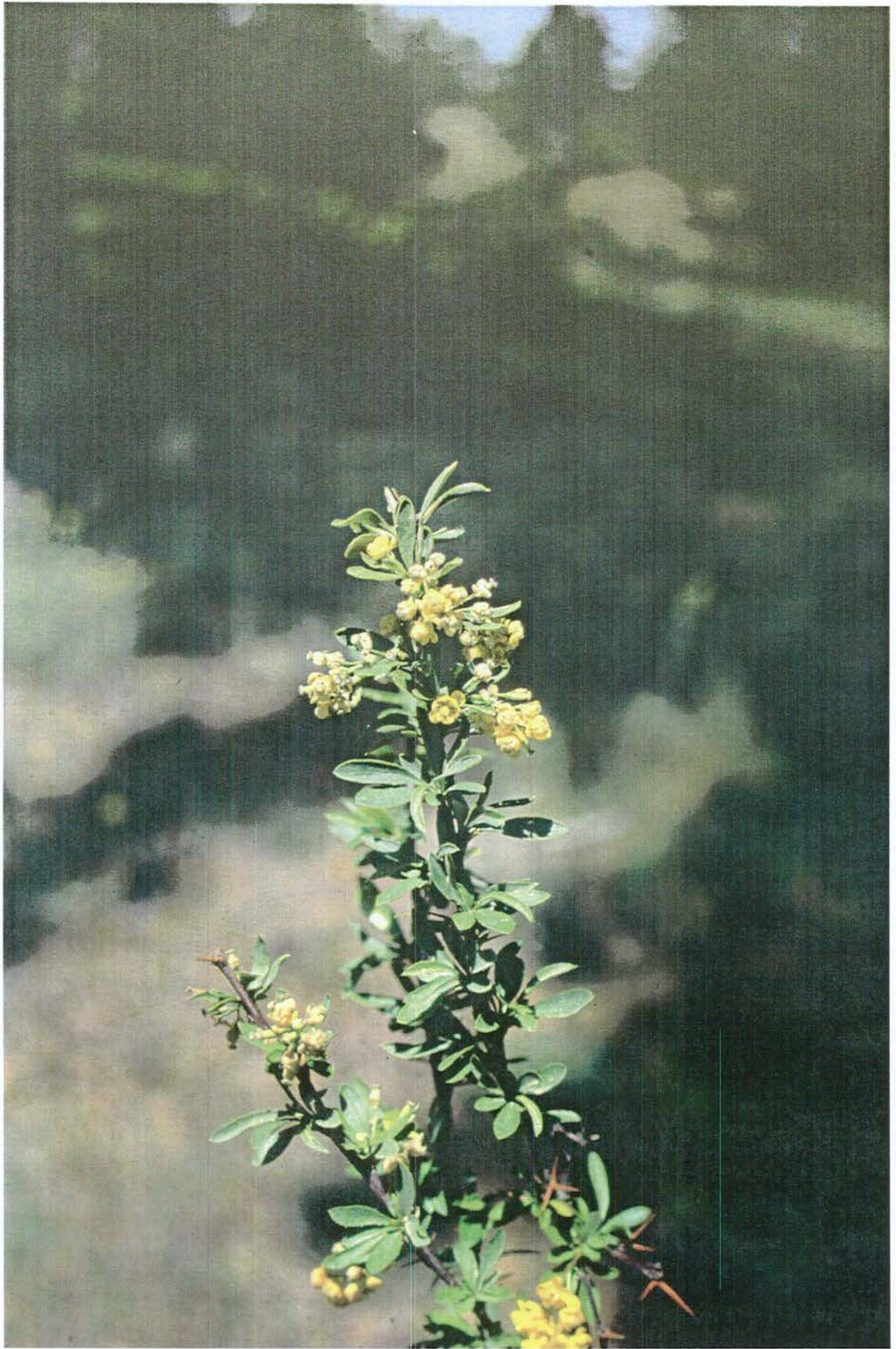
Literatür araştırmalarımızdan yola çıkarak C6 glioma hücreleri ile çalışıldı. Ayrıca antitümör etkisini araştırmak üzere CO25 ve N-RAS onkojeni taşıyan myoblast hücreleri kullanıldı. Ayrıca toksik dozun belirlenmesi ve glioma hücrelerinde görülen sitotoksik etki ile vücutta yaygın olarak bulunan fibroblastlarda görülen etkiler arasında bağlantı veya selektivite olup olmadığını test etmek için de NIH 3T3/F29 fibroblast hücreleri kullanıldı.

C6 glioma hücrelerine olan etkiler incelenirken berberin 1:1 oranında DMSO: DMEM' de çözüldü. Çalışmada boş kontrol, DMSO ve vinkristin sülfat (VCR) kontrol olarak kullanıldı. Kültür vasatı olarak %10 FCS (Biological Industries) içeren DMEM-F12 (Dulbecco's Modification Eagle's Medium with F-12 nutrient, Sigma) kullanıldı ve

hücreler 37°C' de %5 CO<sub>2</sub> içeren rutubetli ortamda inkübe edildi. Hücreler tripsin-EDTA'nın PSA (Pack's Saline A) içindeki solüsyonu ile pasajlandı. 35 mm çaplı herbir ekstraselüler matriks kaplı polistiren petriye (Corning) 5x10<sup>3</sup> hücre olacak şekilde ekildi. Maddeler uygulandı ve 24 saat sonunda hücreler tripsinlenerek Thoma Lame ile üçer kez sayıldı ve ortalamaları alındı. Deney beş kez tekrarlanarak sonuçlar Fisher's Student t testi ile değerlendirildi (326).

CO25 N-RAS onkojeni taşıyan myoblast hücrelerinde olan etkiler incelenirken de berberin'in C6 hücrelerinde denenen dozları (0.1-1-10 µg/mL) uygulandı. Berberin'in uygulanan her dozu için ayrıca Dekzametazon fosfat (DMP)'ın 1 µg/mL dozu ile kombinasyonları kullanıldı ve denenen dozlarda dekzametazon fosfatın tümörojenik etkisinin berberin tarafından önlenmesi araştırıldı. Kültür vasatı olarak %10 FCS içeren DMEM kullanıldı ve deneyler %5 CO<sub>2</sub> içeren rutubetli ortamda 37°C' de yapıldı. 6 cm çaplı herbir petriye 5x10<sup>3</sup> hücre koyuldu. Kültür vasatları ve maddeler her gün değiştirilerek deney yürütüldü. 5. gün sonunda DMP'nin tümörojenik etkisi gözlemlendi. Etkilerin daha iyi gözlenebilmesi için 7. Gün PBS (Phosphate Buffer Saline) ile yıkanan hücreler alınarak fotoğrafları çekildi.

NIH 3T3/F29 fibroblast hücre kültürlerindeki etkisi ise, çok kuyucuklu plakada 100 µg/mL'den başlayan ve ½ oranında seyreltmeler yapılarak berberin'in 0.78-100 µg/mL dozlarında incelendi. Çalışmada myoblast hücrelerdeki kültür vasatı ve inkübasyon şartları kullanıldı. Plakanın her bir kuyucuğuna 1x10<sup>4</sup> hücre olacak şekilde ekim yapılarak maddeler ilave edildi. Sadece kültür vasatının olduğu boş kontrol, DMSO' nun 7.8 nL/mL- 1 µl/mL arası dozları kontrol ve vinkristin sülfatın 0.075-1 mg/mL dozları standart olarak kullanıldı. 24 saatin sonunda alınan sonuçlar değerlendirildi.



## 4. BULGULAR

### 4.1. Alkaloitlerin Ekstraksiyonu

Bölüm 3.2.1.2' de belirtilen şekilde dört *Berberis* türünün kök, gövde ve dalları ayrı ayrı ekstre edildi. Bu ekstrelerin kuru materyal üzerinden hesaplanmış % verimleri Tablo 4.1' de verilmiştir.

**Tablo 4.1.** *Berberis* türlerinden elde edilen alkaloit ekstrelerinin verimleri (bitki üzerinden % miktar)

Türler	Bölüm	I*	II	III	IV	V
<i>B. crataegina</i>	kök	0.7	0.7	0.4	1.9	12.1
	gövde	1.1	0.7	0.6	1.5	10.8
	dal	1.5	0.4	0.2	0.2	8.2
<i>B. vulgaris</i>	kök	1.1	0.8	0.3	2.2	14.1
	gövde	1.1	0.5	0.4	1.1	21.3
	dal	0.7	0.3	0.3	0.7	8.0
<i>B. cretica</i>	kök	1.4	1.0	0.6	3.7	22.8
	gövde	0.8	0.6	0.6	0	12.5
	dal	1.9	0.1	0.2	0	14.6
<i>B. integerrima</i>	kök	1.0	1.2	0.3	1.3	8.8
	gövde	1.6	0.6	0.6	0.4	10.7
	dal	1.9	0.5	0.4	0.7	10.2

\* I: çökelti, II: eterde çözünen alkaloitler, III: kloroformda çözünen alkaloitler, IV: ara çökelti, V: katerner alkaloitler (sayfa 80-81)

## 4.2. Alkaloitlerin İzolasyonu

### 4.2.1. Eterde Çözünen Alkaloitlerin Ayrılması

40x3 cm boyutlarındaki musluklu cam kolon kloroformla süspansiyon haline getirilmiş 90 g  $Al_2O_3$  ile dolduruldu. 3 g ekstre (B) kloroformda çözülüp bir miktar  $Al_2O_3$  ile karıştırıldı. Kurutulduktan sonra kolonun tepesine yerleştirildi ve kloroform ile elüsyona başlandı. Çözücü sisteminin polaritesi metanol ilavesi ile artırıldı. 100 mL' lik fraksiyonlar toplandı. Toplanan fraksiyonlar yoğunlaştırıldıktan sonra İTK ile incelendi ve benzer fraksiyonlar birleştirildi.

Fraksiyonlar	Kodu	Çözücü Sistemi
1	B-1	$CHCl_3$
2	B-2	$CHCl_3$ : $CH_3OH$ (99: 1)
3-4	B-3	$CHCl_3$ : $CH_3OH$ (99: 1)
5-8	B-4	$CHCl_3$ : $CH_3OH$ (99: 1)
9-11	B-5	$CHCl_3$ : $CH_3OH$ (99: 1)
13-16	B-6	$CHCl_3$ : $CH_3OH$ (95: 5)

**B-3:** Bu fraksiyon (1.93 g) tekrar kolon kromatografisine uygulandı. 60 g  $Al_2O_3$  ile kloroform ile elüsyona başlanarak kolon kromatografisi yapıldı. 100 mL' lik fraksiyonlar alındı. Toplanan fraksiyonlar yoğunlaştırıldıktan sonra İTK ile kontrol edildi ve benzer fraksiyonlar birleştirildi.

Fraksiyonlar	Kodu	Çözücü Sistemi
1-8	B-3-1	$CHCl_3$
9-11	B-3-2	$CHCl_3$ : $CH_3OH$ (100:0.5)
12-14	B-3-3	$CHCl_3$ : $CH_3OH$ (100:0.5)
15-25	B-3-4	$CHCl_3$ : $CH_3OH$ (100:0.5)

26-30	B-3-5	CHCl <sub>3</sub> : CH <sub>3</sub> OH (100:0.5)
31-32	B-3-6	CHCl <sub>3</sub> : CH <sub>3</sub> OH (100:1.5)
33	B-3-7	CHCl <sub>3</sub> :MeOH (100:1.5)
34-35	B-3-8	CHCl <sub>3</sub> :MeOH (100:2)
36-37	B-3-9	CHCl <sub>3</sub> :MeOH (100:2)

**B-3-6** (0.33 g) ve **B-3-7** (0.45 g) no'lu fraksiyonların yapılan İTK analizi (Sistem 1, 2, 3, 5, 10) sonucunda tek leke verdi. Fakat YBSK analizi sonucunda iki pikin varlığı gözlemlendi. Bu nedenle bu fraksiyonlar Bölüm 3.2.3.2' de verilen şartlara göre preparatif YBSK ile saflaştırıldı. Buradan *berbamin* (**R1**) ve *oksiakantin* (**R2**) izole edildi. Bu izole edilen maddelerin standart maddeler ile karşılaştırılmaları İTK ve YBSK ile yapıldı. Saf olduğu belirlenen bu maddelerin NMR, UV ölçümleri alındı. Bu sonuçlar Bölüm 4.3.3.1-4.3.3.2' de verilmektedir.

**B-4:** Bu fraksiyon (0.78 g) tekrar kolon kromatografisine uygulandı. 23 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> adsorban olarak kullanılarak kloroform ile elüsyona başlandı. Metanol ilavesi ile çözücü sisteminin polaritesi arttırıldı.

Fraksiyonlar	Kodu	Çözücü Sistemi
1-2	B-4-1	CHCl <sub>3</sub>
3	B-4-2	CHCl <sub>3</sub> : CH <sub>3</sub> OH (100:0.5)
4-10	B-4-3	CHCl <sub>3</sub> : CH <sub>3</sub> OH (100:1)
11-16	B-4-4	CHCl <sub>3</sub> : CH <sub>3</sub> OH (100:1)

**B-4-4** nolu fraksiyonun İTK uygulamasında (Sistem 1, 3, 5, 10) çok az bir kirlilik taşıdığı gözlemlendi. Bu fraksiyonlar etanol ile hafifçe ısıtılarak çözülmek istendi ve bu sırada beyaz bir çökelti meydana geldi. Bu çökelti vakumda süzülerek ayrıldı (40 mg). Bunun

yapılan spektral ölçümler ve standart maddeler ile karşılaştırılması sonucunda *aromolin* (R3) olduğuna karar verildi.

Eter ekstresinin saflaştırılması Şekil 4.1' de verilmektedir.

#### 4.2.2. Kloroformda Çözünen Alkaloidlerin Ayrılması

1) 17.22 g kloroform ekstresi (C) 100 mL %10'luk H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ile çözüldü. Bu sırada sarı renkli bir çökelti meydana geldi. Bu süzülerek ayrıldı (C-1). Bu maddenin yapılan İTK incelemesi sonucunda ana madde olarak berberin içerdiği gözlemlendi. Çökelti ayrıldıktan sonra kalan asitli çözeltinin üzerine çökme tamamlanuncaya kadar doymuş Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ilave edildi. Karışım filtre edilerek çökelti (C-2) ve süzüntü (C-3) olmak üzere ikiye ayrıldı.

*C-2' nin incelenmesi:* Çökelti suda çözüldü ve NH<sub>4</sub>OH ile bazikleştirildikten sonra eter ile (3 kez) ekstre edildi. Birleştirilen eter fazları rotavaporda yoğunlaştırıldı. Kalan bakiyenin (C-2-1, 1.63 g) yapılan İTK incelenmesi sonucunda ana madde olarak oksiakantin içerdiği gözlemlendi.

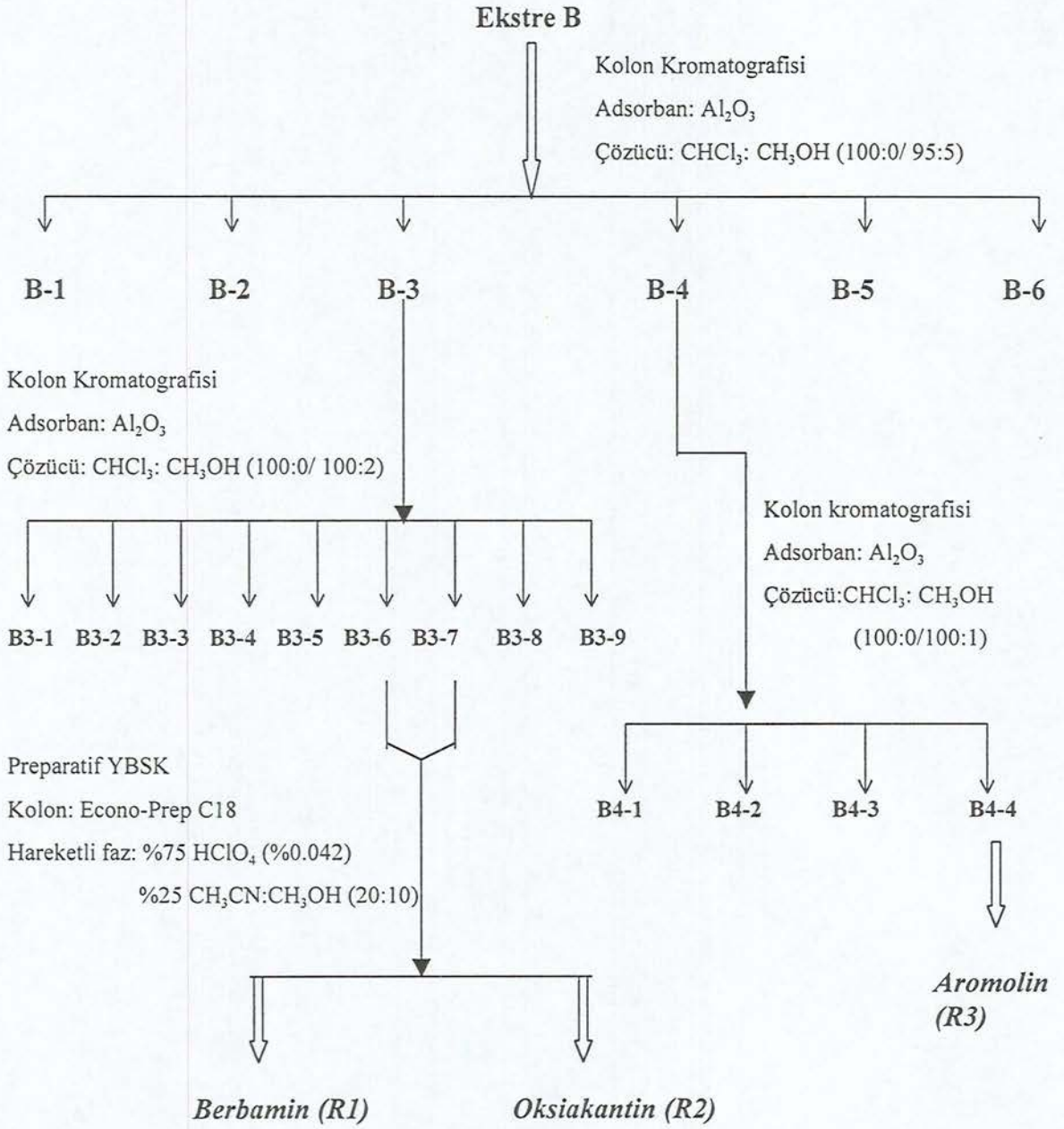
Kalan bazik kısım kloroform ile (3 kez) ekstre edildi. Birleştirilen kloroformlu fazlar rotavaporda yoğunlaştırıldı. Elde edilen bakiyenin (C-2-2, 1.24 g) yapılan İTK uygulaması sonucunda ana madde olarak oksiakantin içerdiği ve bunun yanında az miktarda berberin taşıdığı gözlemlendi.

Kalan bazik kısmın alkaloid taşımadığı belirlendiği için incelenmedi.

*C-3' ün incelenmesi:* Sulu süzüntü NH<sub>4</sub>OH ile bazikleştirildikten sonra eter ile (3 kez) ekstre edildi. Birleştirilen eter fazları rotavaporda yoğunlaştırıldı. Bakiyenin (C-3-1, 1.59 g) İTK incelenmesi sonucunda ana leke olarak berbamin içerdiği gözlemlendi.

Bazik kısım kloroform ile (3 kez) ekstre edildi. Birleştirilen kloroform fazları rotavaporda yoğunlaştırıldı. Bakiyenin (C-3-2, 1.45 g) İTK incelenmesi sonucunda ana madde olarak berbamin içerdiği gözlemlendi.

Bazik kısım alkaloid taşımadığı için incelenmedi.



**Şekil 4.1.** Eterde çözünen alkaloidlerin saflaştırılması

**C-2-1 ayrımı:** Ana madde olarak oksiakantin içeren 1.63 g ekstre, adsorban olarak 50 g  $Al_2O_3$  kullanılan kolona uygulandı. Elüsyona kloroform ile başlandı ve çözücü polaritesi metanol ilavesi ile artırıldı. 50 mL lik fraksiyonlar toplandı.

Fraksiyonlar	Kodu	Çözücü Sistemi
1	C-2-1-1	$CHCl_3$
2-7	C-2-1-2	$CHCl_3$
8-13	C-2-1-3	$CHCl_3$
14-25	C-2-1-4	$CHCl_3$
26-40	C-2-1-5	$CHCl_3$
41-43	C-2-1-6	$CHCl_3$
44-45	C-2-1-7	$CHCl_3: CH_3OH (100:1)$
46-49	C-2-1-8	$CHCl_3: CH_3OH (100:2)$
50-53	C-2-1-9	$CHCl_3: CH_3OH (100:3)$
54-55	C-2-1-10	$CHCl_3: CH_3OH (100:3)$
56-58	C-2-1-11	$CHCl_3: CH_3OH: NH_4OH$ (80:20:2)
59-61	C-2-1-12	$CHCl_3: CH_3OH: NH_4OH$ (80:20:2)

C-2-1-3 nolu fraksiyon ana madde olarak oksiakantin içermektedir.

C-2-1-5 ve C-2-1-6 nolu fraksiyonların ise oksiakantin ve aromolin karışımı içerdikleri İTK da standartlarla karşılaştırılmaları sonucunda belirlenmiştir.

C-2-1-7 ve C-2-1-8 nolu fraksiyonlar çok sayıda minör bileşik içerdiği için incelenmedi.

Kloroform ekstresinin bu grup saflaştırılma işlemleri Şekil 4.2' de verilmektedir.

2) 7.8 g kloroform ekstresi (C')50 mL %10 luk H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ile çözüldü. Bu sırada sarı renkli bir çökelti oluştu. Bu süzülerek ayrıldı (C'-1, 2.84 g). Bu çökelti berberin taşımaktadır.

Asitli süzüntü üzerine çökme tamamlanana kadar doymuş Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> çözeltisi ilave edildi. Oluşan çökelti filtre edildi (C'-2, 2.83 g). Bu çökelti oksiakantin ve aromolin içermektedir.

Asitli süzüntü üzerine çökme tamamlanana kadar doymuş NaNO<sub>3</sub> çözeltisi ilave edildi. Oluşan çökelti filtre edilerek ayrıldı (C'-3, 0.93 g).

C'-3 nolu çökelti 30 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> ile hazırlanmış kolona uygulandı. Elüsyona kloroform ile başlanıp çözücünün polaritesi metanol ilavesi ile arttırıldı.

Fraksiyonlar	Kodu	Çözücü Sistemi
1-2	C'-3-1	CHCl <sub>3</sub>
3-5	C'-3-2	CHCl <sub>3</sub>
6-14	C'-3-3	CHCl <sub>3</sub> : CH <sub>3</sub> OH (100:1)
15-19	C'-3-4	CHCl <sub>3</sub> : CH <sub>3</sub> OH (100:2)
21-25	C'-3-5	CHCl <sub>3</sub> : CH <sub>3</sub> OH (100:2)
26-30	C'-3-6	CHCl <sub>3</sub> : CH <sub>3</sub> OH (100:2)

C'-3-1 nolu fraksiyonların benzen:metanol (8:2) sisteminde alumina plakta yapılan İTK uygulamasında standart madde ile karşılaştırılması sonucunda ana madde olarak berbamin içerdiği gözlenmiştir.

C'-3-2 nolu fraksiyonlarda ise aromolin ve berbamin karışımının olduğu İTK ile belirlenmiştir.

Diğer fraksiyonlar miktarları az ve çok sayıda alkaloid içerdikleri için incelenmemiştir.

Kloroform ekstresi üzerinde yapılan bu grup işlemler Şekil 4.3' de özetlenmektedir.

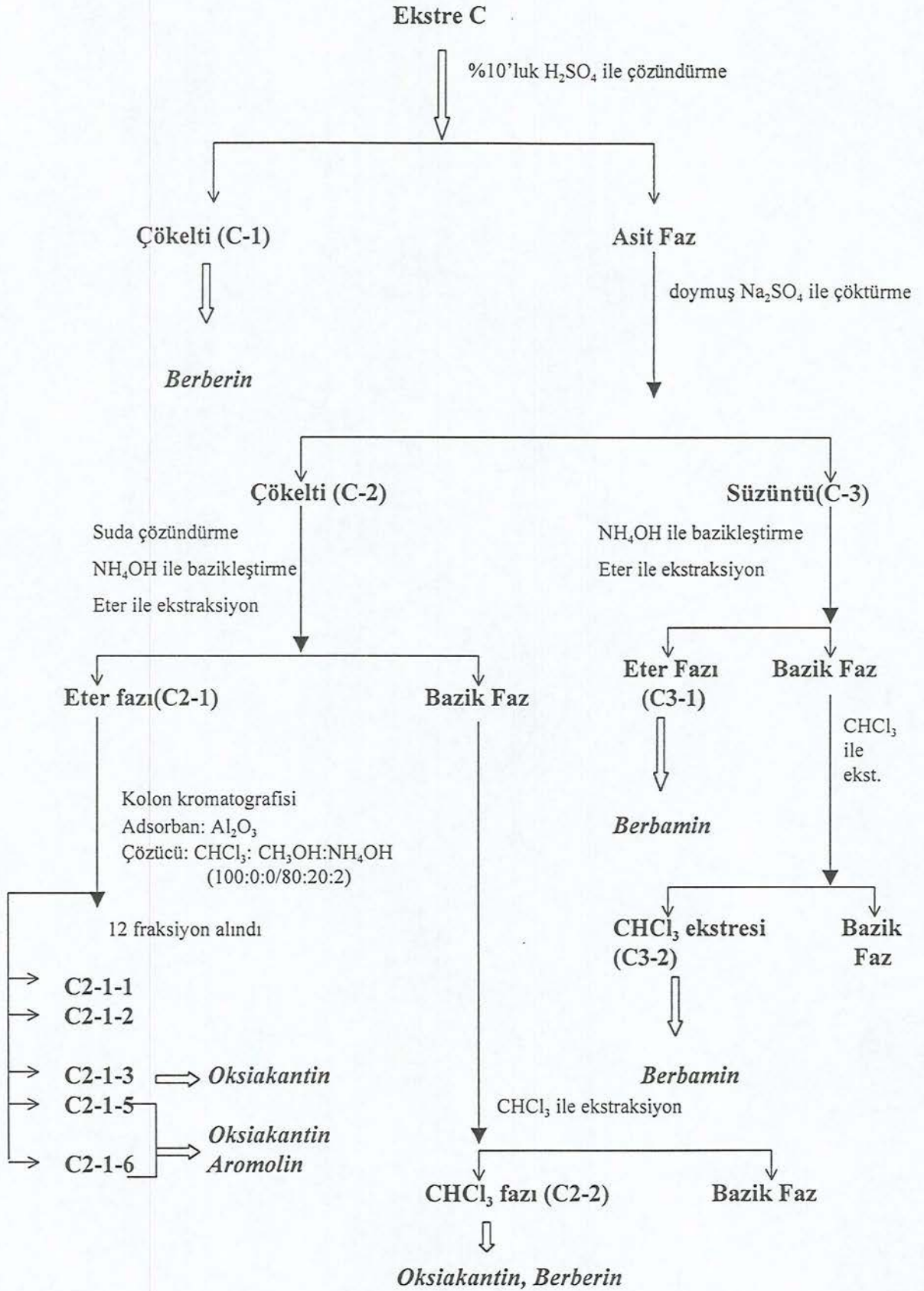
Kloroformda Çözünen Alkaloitler üzerinde yapılan bu işlemler sonucunda elde edilen maddeler şunlardır:

Berberin sülfat (8.87 g), oksiakantin sülfat (8.83 g), oksiakantin baz (1.94 g), berbamin (3.39 g, kirli), berbamin ve oksiakantin karışımı (2.56 g). Buradan elde edilen maddeler safsızlıklar içermektedir. Oksiakantin ve berbamin spektral ölçümlerinin alınması ve miktar tayinlerinde kullanılabilmesi için önce Bölüm 3.2.3.2' de verilen şartlar kullanılarak preparatif YBSK ile saflaştırıldı.

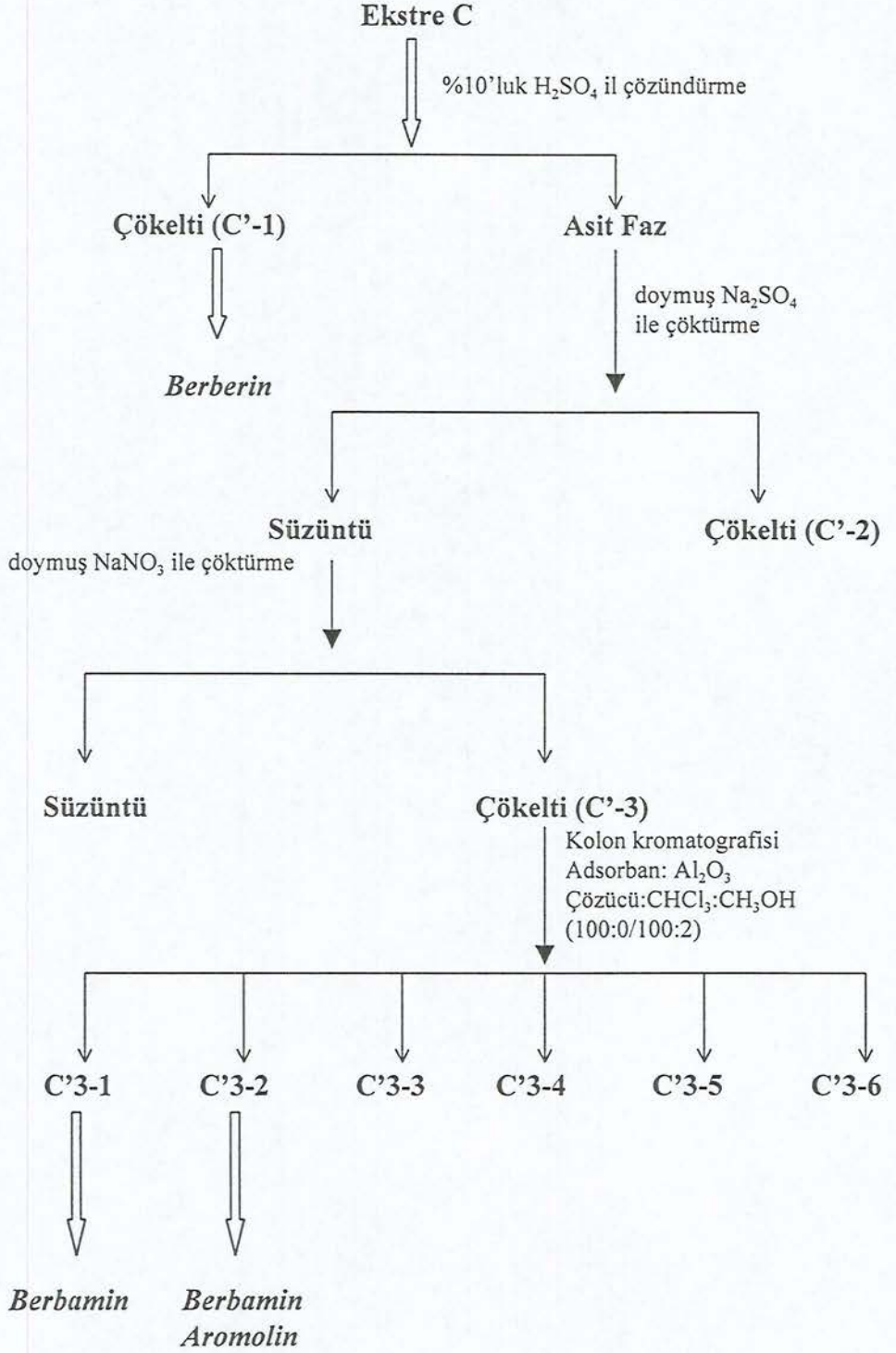
#### 4.2.3. Katerner Alkaloitlerin İzolasyonu

150 x 3.8 cm ebadındaki musluklu cam kolon kloroform ile süspansiyon hale getirilmiş 160 g silikajel ile dolduruldu. 5 g ekstre (D) kloroformda çözülüp bir miktar silikajel ile karıştırıldı. Kurutulduktan sonra kolonun tepesine yerleştirildi ve kloroform ile elüsyona başlandı. Çözücü sisteminin polaritesi metanol ilavesi ile arttırıldı. 150 mL lik fraksiyonlar toplandı. Yoğunlaştırıldıktan sonra İTK ile incelendi ve benzer fraksiyonlar birleştirildi.

Fraksiyonlar	Kodu	Çözücü Sistemi
1-4	D-1	CHCl <sub>3</sub>
5	D-2	CHCl <sub>3</sub> : CH <sub>3</sub> OH (99:1)
6-7	D-3	CHCl <sub>3</sub> : CH <sub>3</sub> OH (99:1)
8-9	D-4	CHCl <sub>3</sub> : CH <sub>3</sub> OH (99:1)
10-24	D-5	CHCl <sub>3</sub> : CH <sub>3</sub> OH (99:1)
25-31	D-6	CHCl <sub>3</sub> : CH <sub>3</sub> OH (97:3)
41-78	D-7	CHCl <sub>3</sub> : CH <sub>3</sub> OH (97:3)
87-105	D-8	CHCl <sub>3</sub> : CH <sub>3</sub> OH (95:5)
124-126	D-9	CHCl <sub>3</sub> : CH <sub>3</sub> OH (95:5)
127-132	D-10	CHCl <sub>3</sub> : CH <sub>3</sub> OH (95:5)
133-136	D-11	CHCl <sub>3</sub> : CH <sub>3</sub> OH (95:5)
164-172	D-12	CHCl <sub>3</sub> : CH <sub>3</sub> OH (80:20)
184-210	D-13	CHCl <sub>3</sub> : CH <sub>3</sub> OH:NH <sub>4</sub> OH (80:20:2)



Şekil 4.2. Kloroformda çözünen alkaloitlerin izolasyonu (1)



**Şekil 4.3.** Kloroformda çözünen alkaloitlerin izolasyonu (2)

**D-1:** Bu fraksiyonların alkaloit içermediği gözlemlendi.

**D-2:** Bu fraksiyon çok az alkaloit içerdiği için incelenmedi.

**D-3:** Bu fraksiyon (0.03 g) çok az ve çok sayıda minör bileşik içerdiği için incelenmedi.

**D-4:** Bu fraksiyonların alkaloit taşımadığı gözlemlendi.

**D-6:** Bu fraksiyonların yoğunlaştırılması sırasında oluşan beyaz kristaller alındı. Bu kristaller  $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{NH}_4\text{OH}$  (28:14:2) sisteminde developpe edildi. Fakat Dragendorff reaktifi ile turuncu renk vermediği için alkaloit olmadığına karar verildi.

**D-7:** Bu fraksiyonlar (0.09 g) etanol ile ısıtılarak çözüldü ve filtre edilerek silikajelinden temizlendi. Etanol fazı kristallendirilmeye bırakıldı. Oluşan kristaller alındı (0.03 g). Standart *palmatin* (R4) ile İTK da (Sistem 8) incelendi. Saf olduğu anlaşılan bu kristallerin alınan UV ve NMR ölçümleri sonucunda bu palmatin olduğuna karar verildi. Sonuçlar Bölüm 4.3' de verilmektedir.

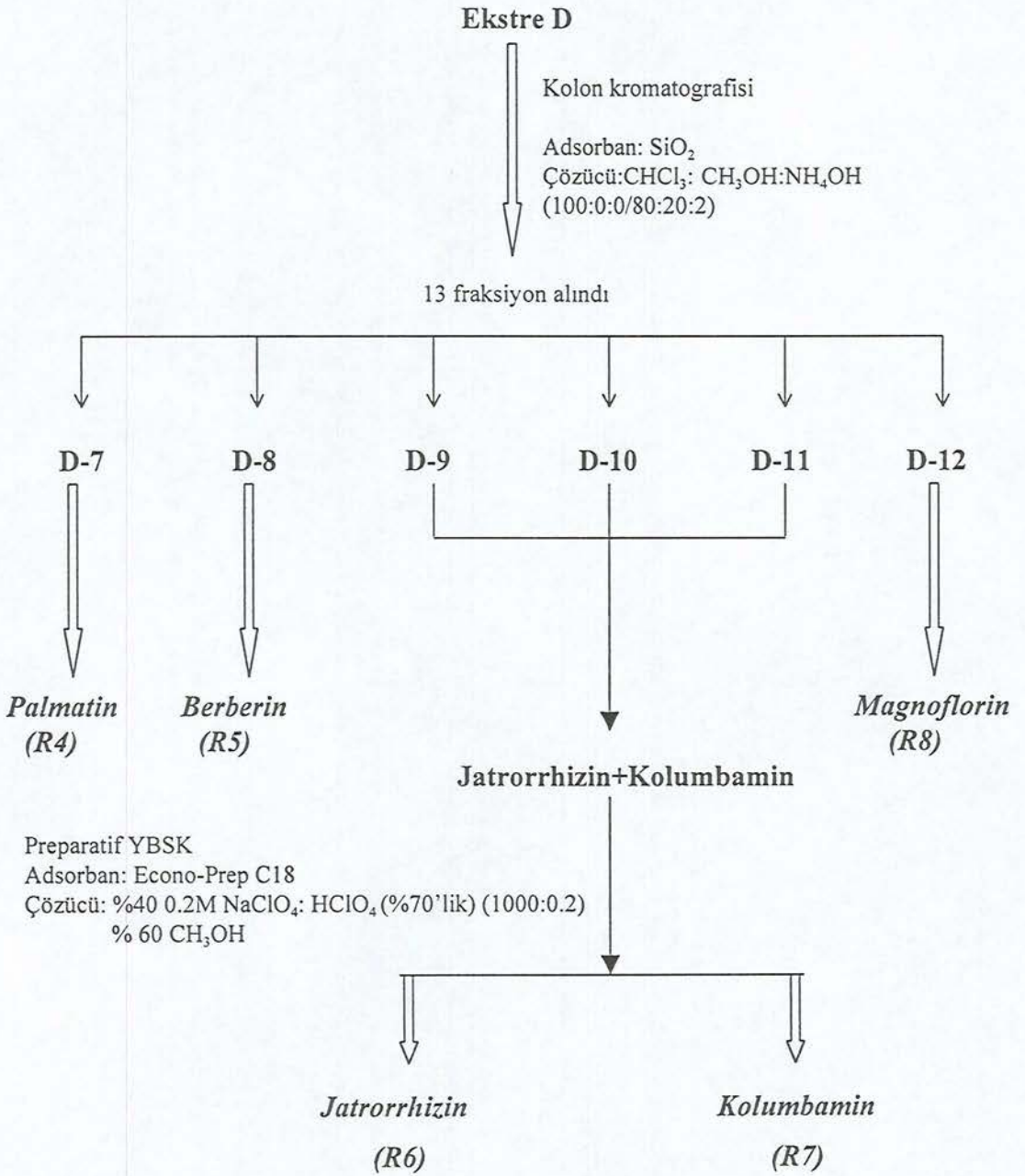
**D-8:** Bu fraksiyonlar (0.19 g) etanol ile ısıtılarak çözüldü ve filtre edilerek silikajelinden temizlendi. Etanol fazı kristallendirilmeye bırakıldı. Oluşan kristaller alındı (0.08 g). Standart *berberin* (R5) ile İTK da (Sistem 8) incelendi. İTK incelemeleri sırasında plak üzerinde Dragendorff reaktifi ile mor renk verdiği gözlemlendi. Saf olduğu anlaşılan bu kristallerin alınan UV ve NMR ölçümleri ve standart maddelerle karşılaştırılması sonucunda bu maddenin berberin olduğuna karar verildi. Sonuçlar Bölüm 4.3' de verilmektedir.

**D-9, D-10, D-11:** Bu fraksiyonlarda (0.1 g, 0.24 g, 0.05 g) yine aynı şekilde etanol ile temizlenip kristallendirildi. Bu üç fraksiyonunda  $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{NH}_4\text{OH}$  (70:20:2) çözücü sisteminde ve silikajel plakta yapılan İTK uygulaması sonucunda birbirine çok yakın biri büyük diğeri küçük iki leke verdiği gözlemlendi. Bu nedenle bu iki madde Bölüm 4.3' de belirtilen şartlarda preparatif YBSK ile ayrıldı. Alınan fraksiyonlar analitik İTK ile (Sistem 8) ve analitik YBSK ile standartlar ile karşılaştırıldı. Bu maddelerin alınan UV ve NMR sonucunda *jatrorrhizin* (R6) ve *kolumbamin* (R7) olduğuna karar verildi.

**D-12:** Bu fraksiyon da etanol ile temizlenip kristallendirildi. Oluşan kirli gri renkli kristaller İTK da (Sistem 8) standartlar ile karşılaştırıldı. Bu incelemeler ve alınan UV ve

NMR ölçümleri sonucunda kirli gri renkli kristallerin bir aporfin alkaloidi olan *magnoflorin* (R8) olduğuna karar verildi.

D-13: Bu fraksiyonlar miktarlarının çok az olması ve çok sayıda alkaloid içermeleri nedeniyle incelenmedi (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. Katerner alkaloidlerin izolasyonu

### 4.3. Alkaloitlerin Yapı Tayinleri

*Berberis crataegina* köklerinden hazırlanan üç alkaloit fraksiyonundan izole edilen 8 alkaloitin yapıları Bölüm 3.2.4' deki spektroskopik yöntemler kullanılarak tayin edildi. Üç farklı grup izokinolin alkaloiti izole edildi. Bunlar protoberberin, bisbenzilizokinolin ve aporfin gruplarıdır. Bu gruplara dahil olan alkaloitlerin yapı tayinlerinde önemli olan bazı veriler aşağıda verilmiştir. Bu verilerin ışığında, spektroskopik yöntemlerden alınan sonuçların kaynak verileri ve standart maddeler ile karşılaştırması sonucu elde edilen sonuçlar bu bölümde verilmektedir.

İzole edilen alkaloitler:	<u>Formül No</u>	<u>Kod</u>	<u>Sayfa No</u>
<u><i>Bisbenzilizokinolinler:</i></u>			
Berbamin	127	R1	105
Oksiakantin	121	R2	107
Aromolin	123	R3	109
<u><i>Protoberberinler:</i></u>			
Palmatin	34	R4	111
Berberin	33	R5	113
Jatrorhizin	36	R6	115
Kolumbamin	35	R7	117
<u><i>Aporfinler:</i></u>			
Magnoflorin	82	R8	119

*Bisbenzilizokinolinler:* İzole edilen ve bu grupta yer alan alkaloitlerden ikisi oksiakantin (oksiakantin ve aromolin), diğeri ise berbamin (berbamin) alt grubuna dahildir.

BBİ alkaloitleri UV spektrumlarında ~ 283 nm (log  $\epsilon$  3.7) de maksimum ve ~ 260 nm (log  $\epsilon$  3.7) minimum verirler. En güçlü absorpsiyonları ise 225 nm civarındadır. BBİ alkaloitlerinin UV spektrumları arasında çok az farklılıklar vardır.

$^1\text{H-NMR}$  spektrumlarında iki adet N-metil grubu yaklaşık  $\delta$  2.55 ppm de gözlenir. Bu iki N-metil grubu arasında en fazla 0.15 ppm lik bir kayma olur. Bazen ise üst üste gelirler. 10. Konumdaki proton aynı yöndeki konfigürasyonlarda  $\delta$  5.40-5.65 ppm ters yöndeki konfigürasyonlarda ise  $\delta$  = 6.55-6.75 arasında ya yaygın tek pik (bs) ya da çift pik ( $j$  : 1.5 Hz) olarak gözlenir. 6-metoksil grubu  $\delta$  3.35-3.65 ppm, 7'-metoksil grubu  $\delta$  2.95-3.25 ppm arasında pik verir. Aromatik protonlar ise  $\delta$  7.40 ppm civarında birbirlerinden en fazla 1 ppm lik bir farkla gözlenirler.

Bisbenzilozokinolin alkaloitlerinin  $^{13}\text{C-NMR}$  spektrumlarında metoksil ve N-Me gruplarına ait karbon sinyalleri 20-65 ppm aralığında, birbirlerinden çok az farklılıklarla bir yığın halinde gözlenir. İkinci bir yığın ise daha düşük sahada 105-155 ppm aralığında gelir. Bu aralıktaki karbonlar ise aromatik halkaya ait karbonlardır.

*Protoberberinler:* İzole edilen dört alkaloit katerner protoberberin yapısındadır. Protoberberin tuzlarının UV spektrumunda karakteristik olarak üç maksimum absorpsiyon piki vardır. ~ 440, 345, 260 nm lerde maksimum ve ~ 380, 300, 250 nm lerde minimum pik verirler.

Protoberberinlerde 2. ve 3. ya da 9. ve 10. konumlar arasında metilen dioksi grubu olabilir. Metilen dioksi grubu 2-3 arasında ise  $^1\text{H-NMR}$  spektrumlarında 6.10 ppm civarında tek pik olarak gözlenir. Metilen dioksi grubu 9-10 arasında olduğunda protonlar aşağı sahaya kayarak 6.44 ppm civarında gözlenir. 9 ve 10 nolu konumlardaki metoksi protonları tek pik halinde ~ 4.18 ve 4.30 ppm civarında gözlenir. Daha yukarı sahadaki (~ 3.88 ppm) metoksi protonları ise 2 veya 3. konumdaki metoksilleri gösterir. 11. ve 12. konumlardaki aromatik protonlar ~ 7.90-8.15 ppm arasında çiftin çifti olarak gözlenir. 1 ve 4. konumlardaki aromatik protonlar ise iki tek pik halinde ~ 6.9-8.05 ppm aralığında sinyal verirler. 8 nolu konumdaki aromatik proton ise daha düşük sahaya kayar ve ~ 9.5 ppm civarında , 13 nolu aromatik proton da ~ 8.5 ppm lerde tek pik olarak gözlenir.

Protoberberinlerin  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumlarında metil, metoksi ve metilen gruplarına ait karbon atomları 55-65 ppm aralığında sinyal verirler. Aromatik halka karbonları ise daha düşük sahaya kayarak 110-155 ppm aralığında gözlenirler.

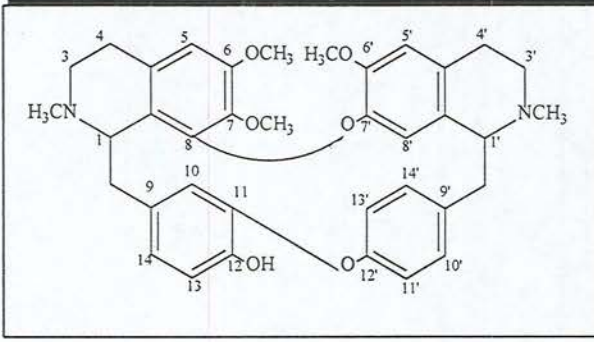
Aporfinler: İzole edilerek yapısı tayin edilen magnoflorin *Berberis* türlerinden izole edilen en önemli aporfin alkaloididir.

Aporfin alkaloidlerinin UV spektrumlarında 10 ve 11. konumlarda metil süstitüenti olduğunda 270-280 nm ( $\log \sim \epsilon$  4.3) lerede tek bir absorbands piki verirler. En yüksek absorbands verdikleri nokta ise 220 nm dir. 310 ve 320 nm ler arasında ise çok küçük bir pik verirler.

Aporfin alkaloidlerinin  $^1\text{H}$ -NMR spektrumlarında 3.63-3.42 ppm lerede 1. konumdaki metoksi grubu pik verir. 2, 9 ve 10 nolu konumlardaki metoksiller ise 3.72-3.89 ppm aralığında gözlenir. 11 deki metoksil ise bu iki grubun arasında  $\sim$  3.72-3.65 ppm lerede gelir. Aromatik protonlardan 11. konumda bulunan 7.57-8.05 ppm aralığında, 3,8 ve 9. konumlarda bulunanlar ise daha yukarı sahaya kayarak 6.38-7.00 ppm civarında sinyal verirler.

Bu alkaloidlerin  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumunda 1, 2, 10 ve 11 deki metoksillerin karbonları 55.5-62.5 ppm arasında gözlenirken, azota bağlı metil grupları ise 43.2-44 ve 53.5-54.8 ppm lerede sinyal verirler. 4 ve 5. konumlardaki metilen karbonları yukarı sahada ( $\sim$  23.4-30.4 ppm) , 6 ve 7. konumlardaki karbonlar ise aşağı sahaya kayarak  $\sim$  61.5-69.7 ppm lerede gözlenir. Aromatik halka karbonları ise 100-150 ppm aralığında sinyal verirler.

## BERBAMİN (R1)



<i>Formülü</i>	: C <sub>37</sub> H <sub>40</sub> O <sub>6</sub> N <sub>2</sub>
<i>Molekül ağırlığı</i>	: 608
<i>R<sub>f</sub> değeri</i>	: 0.48 (Sistem 10)
<i>UV (λ max)</i>	: 209, 282 nm
<i>IR (ν, KBr)</i>	: 2934, 1587, 1509, 1449, 1353, 1269, 1115, 1068, 1015, 832, 753 cm <sup>-1</sup>

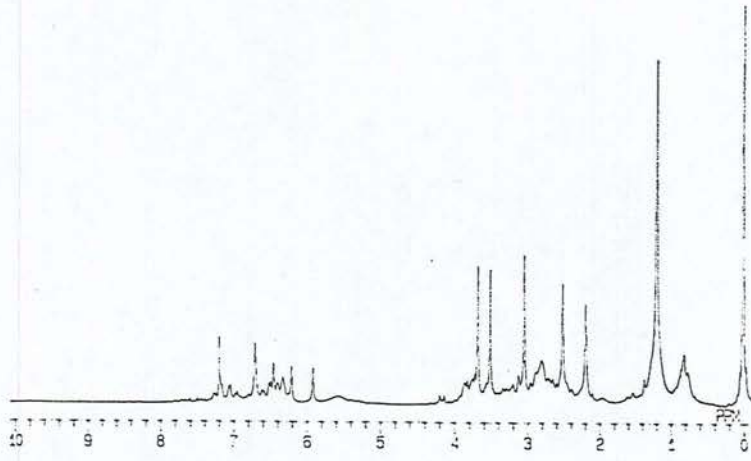
*NMR (CDCl<sub>3</sub>):* <sup>1</sup>H-NMR ve  
<sup>13</sup>C-NMR değerleri aşağıdadır.

### <sup>1</sup>H-NMR (δ, ppm, 90 MHz)

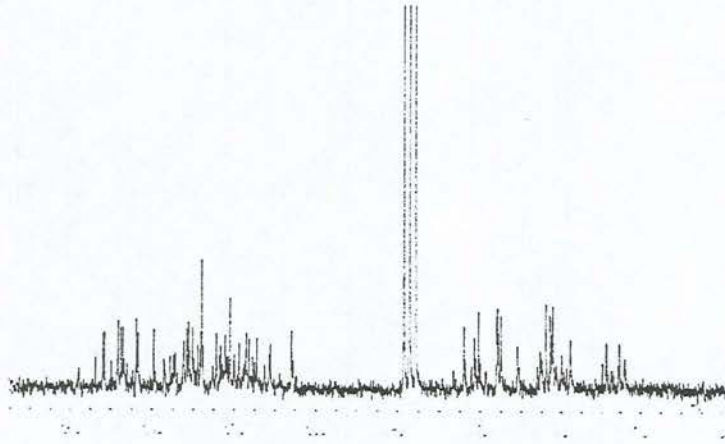
2.19	(s, 2-NMe)
2.51	(s, 2'-NMe)
3.04	(s, 7-OMe)
3.51	(s, 6'-OMe)
3.67	(s, 6-OMe)
5.91-7.19	(m, Ar-H)

### <sup>13</sup>C-NMR (δ, ppm, 22.4 MHz)

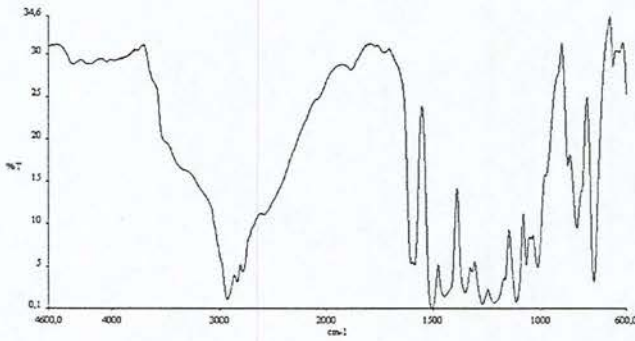
24.2	(4'-C)	122.0	(13'-C)
25.2	(4-C)	124.2	(14-C)
37.6	(α-C)	126.1	(8a'-C)
38.1	(α'-C)	127.8	(4a'-C)
4.23	(N'-Me)	128.8	(4a-C)
42.7	(N-Me)	130.0	(10'-C)
43.7	(3-C)	132.2	(14'-C)
44.8	(3'-C)	134.6	(9-C)
55.7	(OMe)	134.8	(9'-C)
55.9	(OMe)	137.1	(7-C)
60.4	(7-OMe)	143.3	(7'-C)
61.4	(1-C)	143.7	(11-C)
63.9	(1'-C)	147.0	(12-C)
105.8	(5-C)	147.6	(8-C)
110.9	(5'-C)	148.1	(6'-C)
114.3	(13-C)	151.6	(6-C)
116.2	(10-C)	152.0	(12'-C)
118.7	(8'-C)		
120.8	(8a-C)		
121.8	(11'-C)		



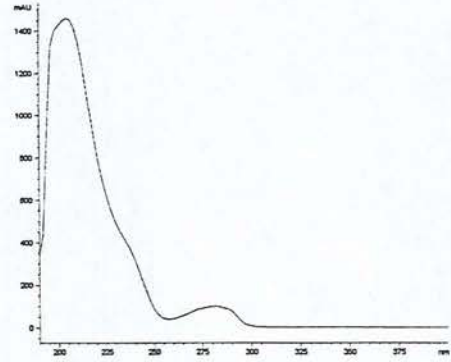
$^1\text{H-NMR}$  spektrumu



$^{13}\text{C-NMR}$  spektrumu



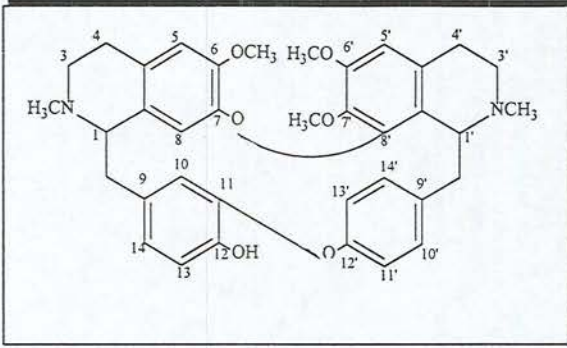
IR spektrumu



UV spektrumu

Şekil 4.5. Berberin'in NMR, IR ve UV spektrumları

## OKSİAKANTİN (R2)



<b>Formülü</b>	: C <sub>37</sub> H <sub>40</sub> O <sub>6</sub> N <sub>2</sub>
<b>Molekül ağırlığı</b>	: 608
<b>R<sub>f</sub> değeri</b>	: 0.48 (Sistem 10)
<b>UV (λ max)</b>	: 209, 282 nm
<b>IR (ν, KBr)</b>	: 2950, 1510, 1402, 1210, 1188, 996, 830, 752 cm <sup>-1</sup>

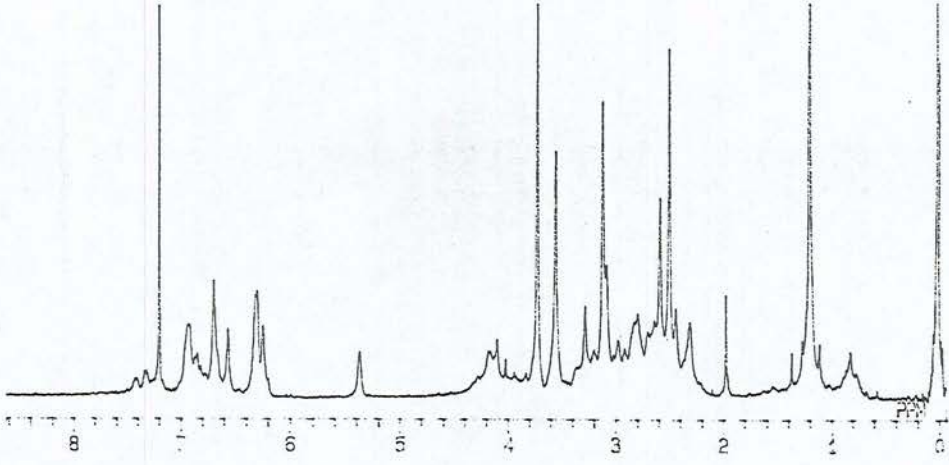
**NMR (CDCl<sub>3</sub>)** : <sup>1</sup>H-NMR ve  
<sup>13</sup>C-NMR değerleri aşağıdadır.

### <sup>1</sup>H-NMR (δ, ppm, 90 MHz)

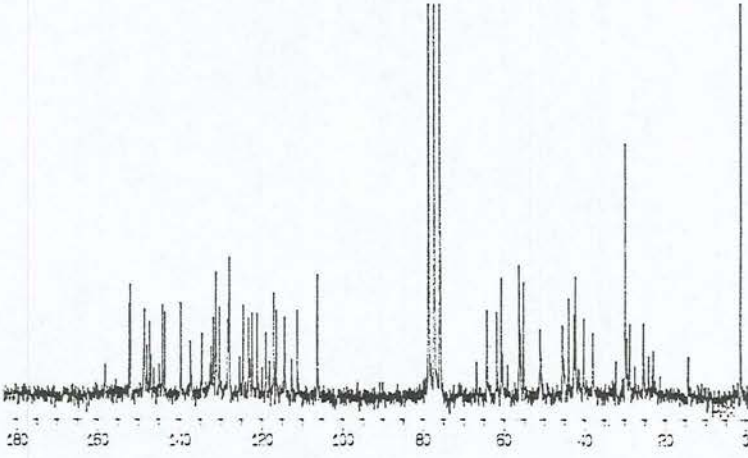
2.49	(s, 2-NMe)
2.58	(s, 2'-NMe)
3.11	(s, 7'-OMe)
3.54	(s, 6-OMe)
3.71	(s, 6'-OMe)
5.36-7.19	(m, Ar-H)

### <sup>13</sup>C-NMR (δ, ppm, 22.4 MHz)

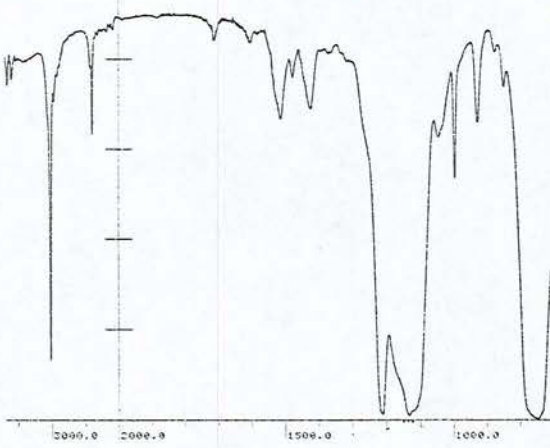
25.08 (4'-C)	125.21 (14-C)
28.5 (4-C)	127.69 (4a-C)
37.66 (α-C)	130.06 (10'-C)
39.9 (α'-C)	130.99 (9'-C)
41.98 (2xNMe)	131.57 (14'-C)
43.65 (3-C)	134.34 (7'-C)
45.2 (3'-C)	137.14 (9-C)
54.89 (OMe)	139.46 (8'-C)
55.99 (2xOMe)	143.82 (11-C)
61.49 (1'-C)	143.25 (7-C)
63.93 (1-C)	146.67 (12-C)
105.91 (5'-C)	146.99 (6'-C)
110.96 (5-C)	148.22 (6-C)
114.14 (13-C)	151.68 (12'-C)
116.17 (10-C)	
116.83 (8-C)	
122.07 (11'-C)	
120.86 (13'-C)	
122.08 (8a'-C)	
122.97 (4a'-C)	
124.32 (8a-C)	



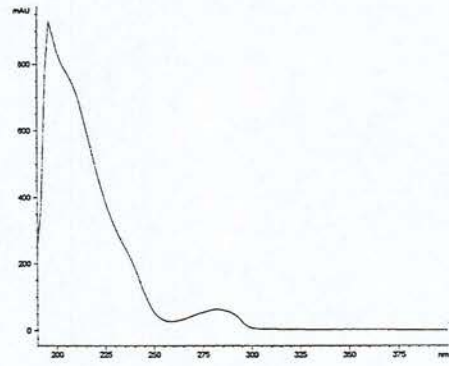
$^1\text{H-NMR}$  spektrumu



$^{13}\text{C-NMR}$  spektrumu



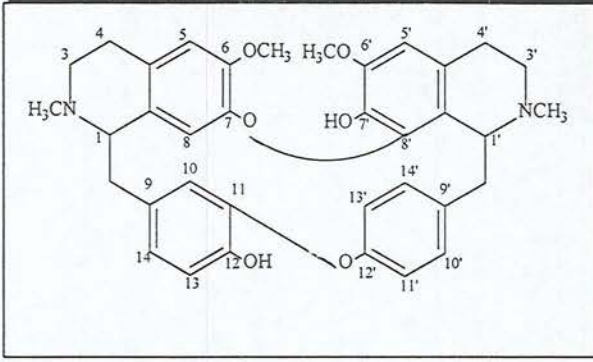
IR spektrumu



UV spektrumu

Şekil 4.6. Oksiakantin'in NMR, IR ve UV spektrumları

## AROMOLİN (R3)



<b>Formülü</b>	: C <sub>36</sub> H <sub>38</sub> O <sub>6</sub> N <sub>2</sub>
<b>Molekül ağırlığı</b>	: 594
<b>R<sub>f</sub> değeri</b>	: 0.62 (Sistem 10)
<b>UV (λ max)</b>	: 210, 282 nm
<b>IR (ν, KBr)</b>	: 2941, 1581, 1512, 1438, 1272, 1194, 1048, 1015, 917, 838, 757 cm <sup>-1</sup>

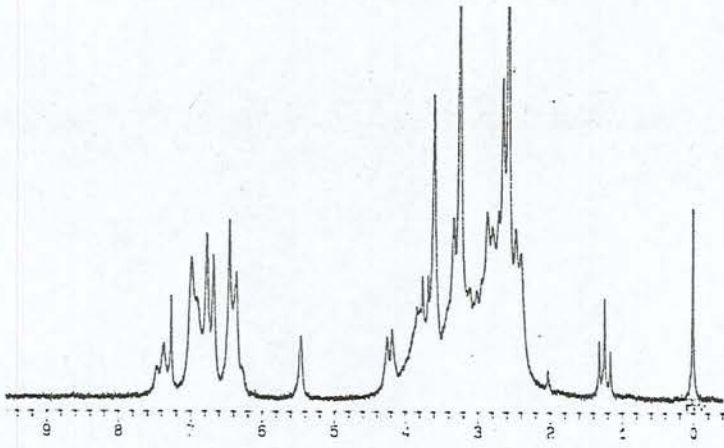
NMR (CDCl<sub>3</sub>) : <sup>1</sup>H-NMR ve  
<sup>13</sup>C-NMR değerleri aşağıdadır.

### <sup>1</sup>H-NMR (δ, ppm, 90 MHz)

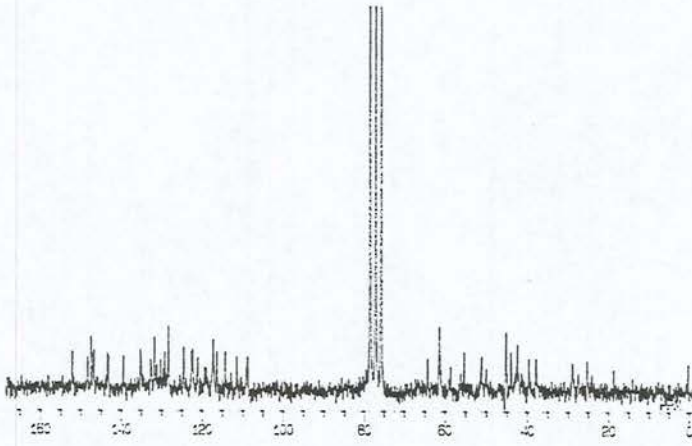
2.56	(s, 2-NMe)
2.63	(s, 2'-NMe)
3.23	(s, 6-OMe)
3.58	(s, 6'-OMe)
5.45	(s, 10-H)
6.35-7.36	(m, Ar-H)

### <sup>13</sup>C-NMR (δ, ppm, 22.4 MHz)

25.1	(4'-C)	124.5	(14-C)
28.7	(4-C)	128.1	(4a-C)
37.6	(α-C)	129.0	(10'-C)
39.3	(α'-C)	130.0	(9'-C)
42.1	(2xNMe)	131.0	(14'-C)
43.7	(3-C)	132.5	(7'-C)
45.0	(3'-C)	135.0	(9-C)
55.1	(OMe)	139.3	(8'-C)
58.4	(2xOMe)	143.1	(11-C)
61.2	(1'-C)	143.3	(7-C)
64.1	(1-C)	146.0	(12-C)
108.6	(5'-C)	146.7	(6'-C)
111.3	(5-C)	148.2	(6-C)
114.1	(13-C)	152.1	(12'-C)
116.1	(10-C)		
117.1	(8-C)		
119.2	(11'-C)		
120.9	(13'-C)		
122.2	(8a'-C)		
122.5	(4a'-C)		
124.4	(8a-C)		



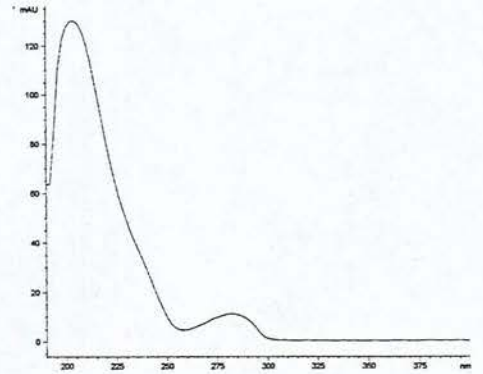
$^1\text{H-NMR}$  spektrumu



$^{13}\text{C-NMR}$  spektrumu



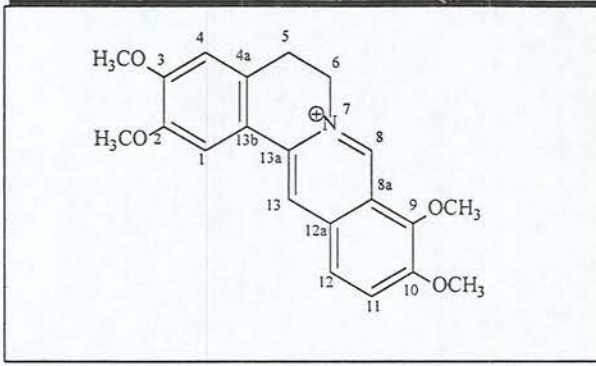
IR spektrumu



UV spektrumu

Şekil 4.7. Aromolin'in NMR, IR ve UV spektrumları

## PALMATİN (R4)

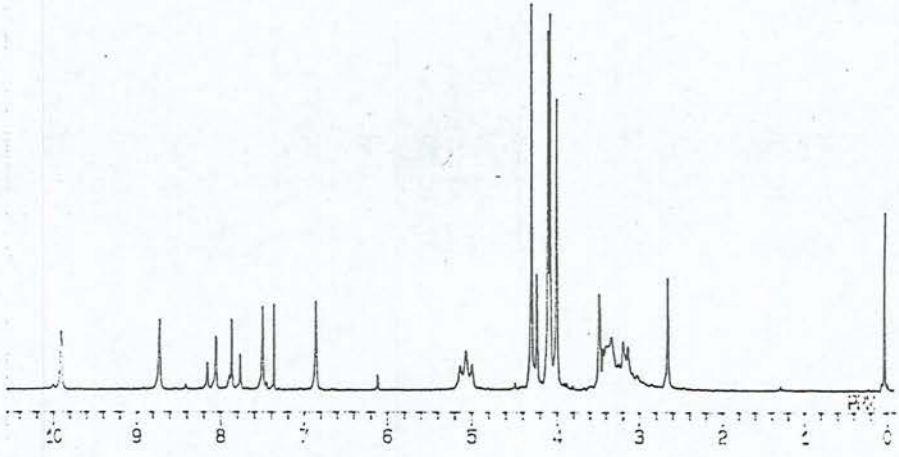


<i>Formülü</i>	: C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub> N <sup>+</sup>
<i>Molekül ağırlığı</i>	: 352
<i>R<sub>f</sub> değeri</i>	: 0.73 (Sistem 8)
<i>UV (λ, max)</i>	: 205, 223, 266, 347 nm
<i>IR (ν, KBr)</i>	: 1604, 1566, 1507, 1454, 1361, 1274, 1237, 1139, 1107, 1033, 968 cm <sup>-1</sup>

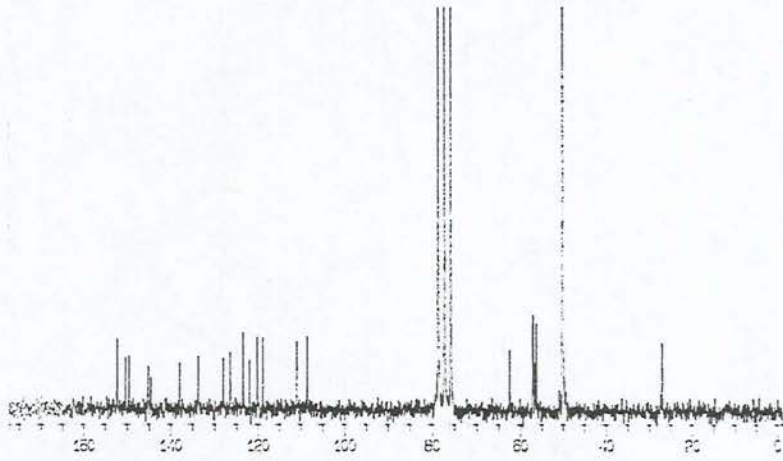
*NMR (CDCl<sub>3</sub>+CD<sub>3</sub>OD):* 1H-NMR  
ve 13C-NMR değerleri aşağıdadır.

<sup>1</sup> H-NMR (δ, ppm, 90 MHz)	
3.98	(s, 2-OMe)
4.06	(s, 3-OMe)
4.08	(s, 9-OMe)
4.28	(s, 10-OMe)
5.05	(t, j: 6.26 Hz 6-H)
6.84	(s, 4-H)
7.48	(s, 1-H)
7.80	(d, j: 9.01, 12-H)
8.07	(d, j: 9.01, 11-H)
8.71	(s, 13-H)
9.92	(s, 8-H)

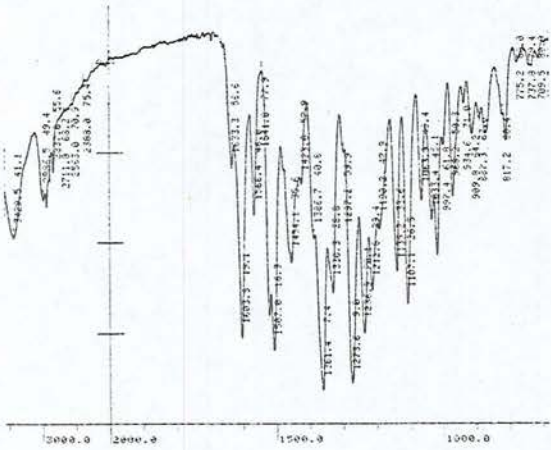
<sup>13</sup> C-NMR (δ, ppm, 22.4 MHz)	
26.83	(C-5)
56.07	(1-OMe)
56.39	(C-6)
56.84	(2-OMe)
57.05	(3-OMe)
62.30	(9-OMe)
108.36	(C-1)
110.72	(C-4)
118.62	(C-8a)
119.88	(C-13)
121.75	(C-13b)
123.18	(C-11)
126.23	(C-12)
127.91	(C-12a)
133.56	(C-4a)
137.80	(C-13a)
144.39	(C-10)
145.00	(C-8)
149.36	(C-2)
150.18	(C-3)
152.09	(C-9)



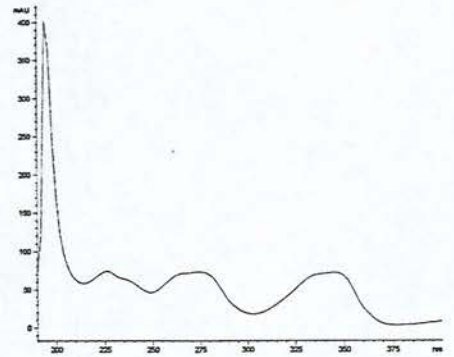
$^1\text{H-NMR}$  spektrumu



$^{13}\text{C-NMR}$  spektrumu



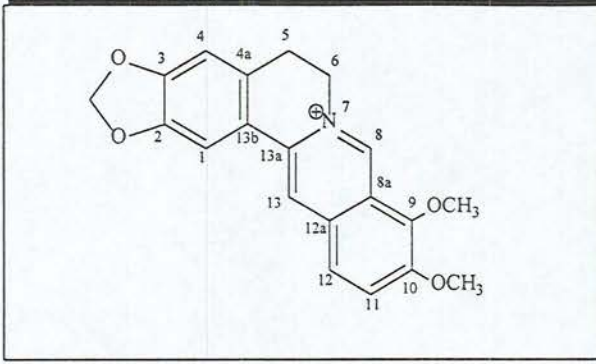
IR spektrumu



UV spektrumu

Şekil 4.8. Palmatin'in NMR, IR ve UV spektrumları

## BERBERİN (R5)



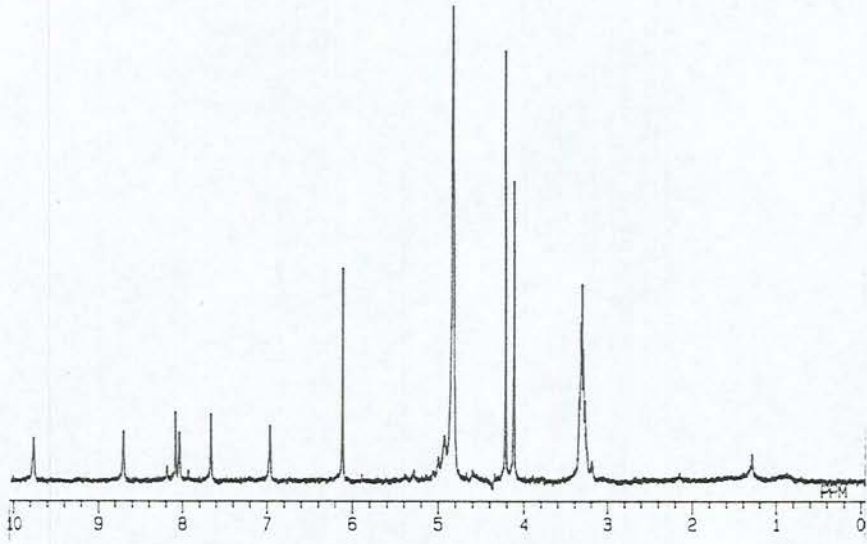
<i>Formülü</i>	: C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> O <sub>4</sub> N <sup>+</sup>
<i>Molekül ağırlığı</i>	: 336
<i>Rf değeri</i>	: 0.65 (Sistem 8)
<i>UV (λ max)</i>	: 204, 225, 266, 347 nm
<i>IR (ν, KBr)</i>	: 1602, 1567, 1503, 1478 1387, 1360, 1274, 1250, 1140, 1099, 1036, 971, 934, 911, 886, 819 cm <sup>-1</sup>

\* Sarı renkli kristaldir ve suda çözüldüğünde suyun rengini sarıya boyar.

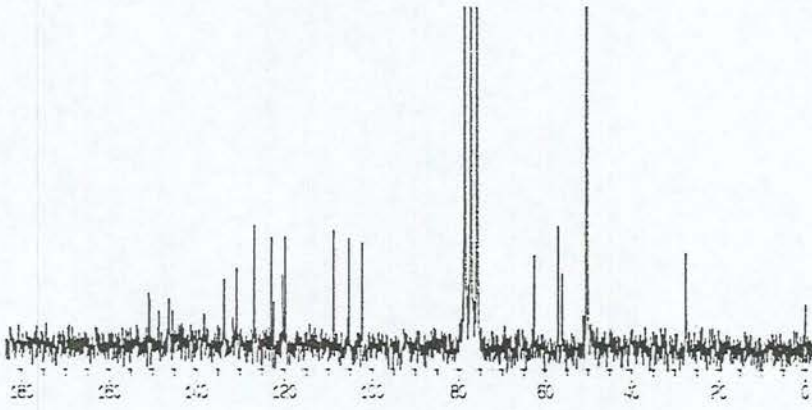
*NMR (CDCl<sub>3</sub>+CD<sub>3</sub>OD) : <sup>1</sup>H-NMR ve <sup>13</sup>C-NMR spektrumları aşağıdadır.*

<sup>1</sup> H-NMR (δ, ppm, 90 MHz)	
4.10	(s, 10-OMe)
4.20	(s, 9-OMe)
6.10	(s, -OCH <sub>2</sub> O-)
6.96	(s, 4-H)
7.66	(s, 1-H)
8.05	(d, 12-H)
8.70	(s, 13-H)
9.76	(s, 8-H)

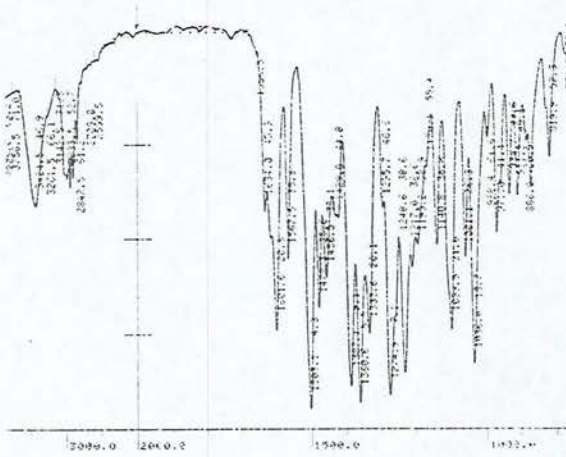
<sup>13</sup> C-NMR (δ, ppm, 22.4 MHz)	
27.36	(C-5)
55.99	(C-6)
57.00	(OMe)
62.46	(OMe)
102.08	(2,3-OCH <sub>2</sub> O)
105.06	(C-1)
108.60	(C-4)
119.59	(C-13)
120.12	(C-13b)
122.16	(C-8a)
122.69	(C-12)
126.60	(C-11)
130.55	(C-4a)
133.44	(C-12a)
138.04	(C-13a)
145.29	(C-9)
146.10	(C-8)
148.42	(C-2)
150.54	(C-3)
150.70	(C-10)



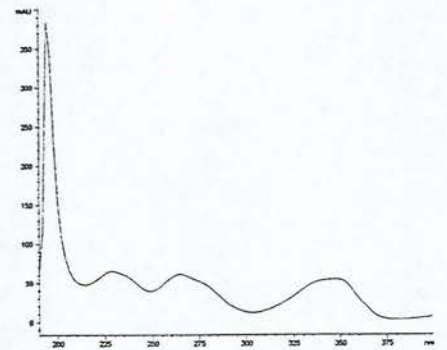
$^1\text{H-NMR}$  spektrumu



$^{13}\text{C-NMR}$  spektrumu



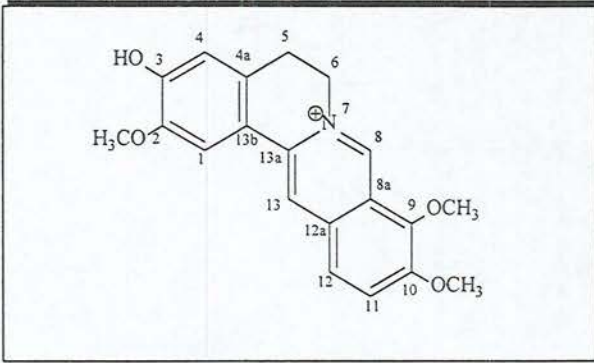
IR spektrumu



UV spektrumu

Şekil 4.9. Berberin'in NMR, IR ve UV spektrumları

## JATRORHİZİN (R6)

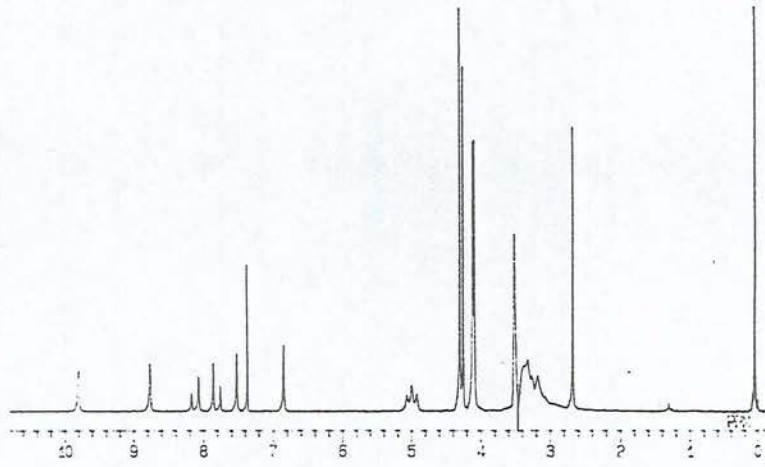


<b>Formülü</b>	: C <sub>20</sub> H <sub>20</sub> O <sub>4</sub> N <sup>+</sup>
<b>Molekül ağırlığı</b>	: 338
<b>R<sub>f</sub> değeri</b>	: 0.45 (Sistem 7)
<b>UV (λ, max)</b>	: 206, 225, 266, 347 nm
<b>IR (ν, KBr)</b>	: 1602, 1529, 1509, 1360, 1274, 1239, 1142, 1107, 1066, 1020, 973, 812 cm <sup>-1</sup>

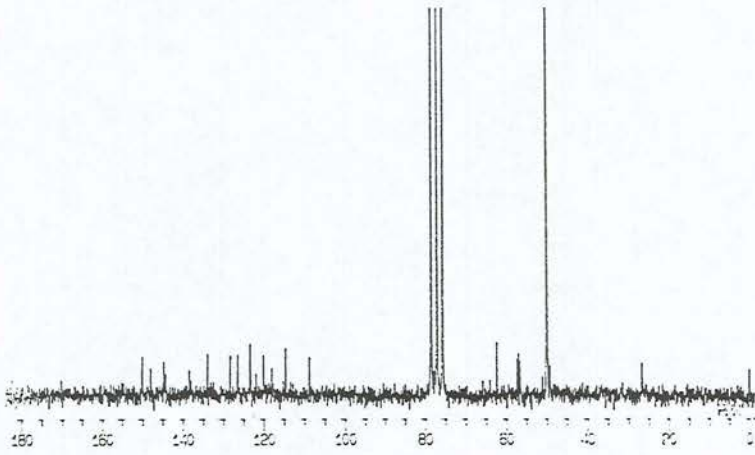
**NMR (CDCl<sub>3</sub>+CD<sub>3</sub>OD) : <sup>1</sup>H-NMR ve <sup>13</sup>C-NMR değerleri aşağıdadır.**

<b><sup>1</sup>H-NMR (δ, ppm, 90 MHz)</b>	
4.08	(s, 2-OMe)
4.24	(s, 3-OMe)
4.29	(s, 10-OMe)
4.98	(t, j: 8.9, 6-H)
6.83	(s, 4-H)
7.51	(s, 1-H)
7.80	(d, j: 9.12, 12-H)
8.11	(d, j: 9.12, 11-H)
8.76	(s, 13-H)
9.79	(s, 8-H)

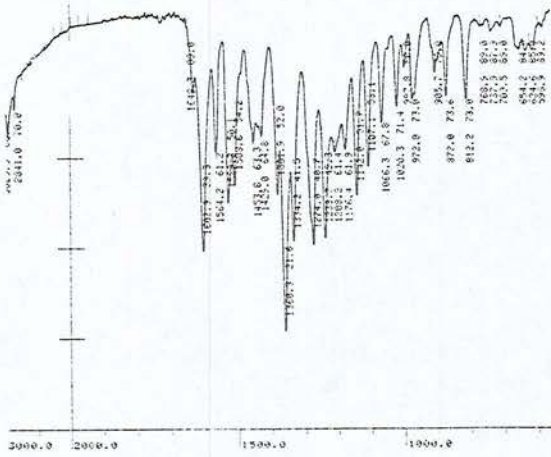
<b><sup>13</sup>C-NMR (δ, ppm, 22.4 MHz)</b>	
26.63	(C-5)
56.52	(2-OMe)
56.84	(C-6)
57.17	(10-OMe)
62.26	(9-OMe)
108.64	(C-4)
114.46	(C-1)
117.84	(C-1a)
119.88	(C-13)
121.53	(C-8a)
123.18	(C-12)
126.27	(C-11)
128.15	(C-4a)
133.77	(C-12a)
138.24	(C-14)
143.56	(C-9)
144.56	(C-8)
147.85	(C-2)
149.89	(C-10)
150.01	(C-3)



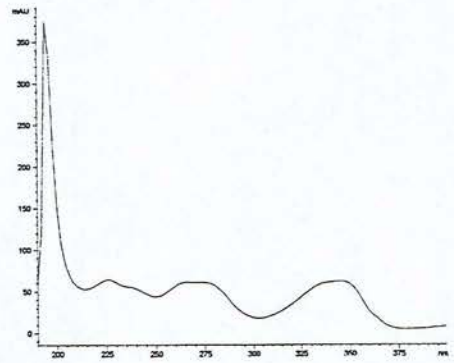
$^1\text{H-NMR}$  spektrumu



$^{13}\text{C-NMR}$  spektrumu



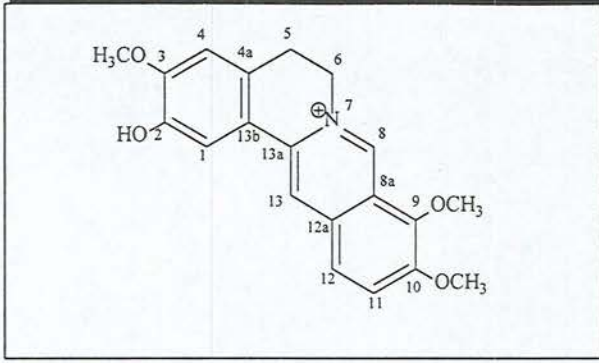
IR spektrumu



UV spektrumu

Şekil 4.10. Jatrorhizin'in NMR, IR ve UV spektrumları

## KOLUMBAMİN (R7)

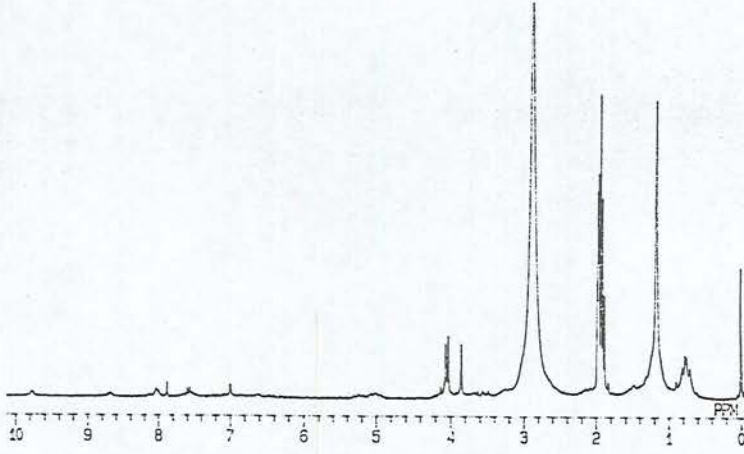


<i>Formülü</i>	: C <sub>20</sub> H <sub>20</sub> O <sub>4</sub> N <sup>+</sup>
<i>Molekül ağırlığı</i>	: 338
<i>Rf değeri</i>	: 0.5 (Sistem 7)
<i>UV (λ, max)</i>	: 206, 225, 266, 347 nm
<i>IR (ν, KBr)</i>	: 1735, 1606, 1512, 1458, 1362, 1281, 1089, 1021, 971, 804 cm <sup>-1</sup>

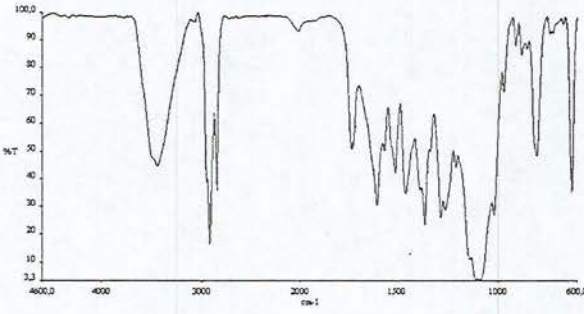
*NMR (CDCl<sub>3</sub>+CD<sub>3</sub>OD):* <sup>1</sup>H-NMR değerleri aşağıdadır.

### <sup>1</sup>H-NMR (δ, ppm, 90 MHz)

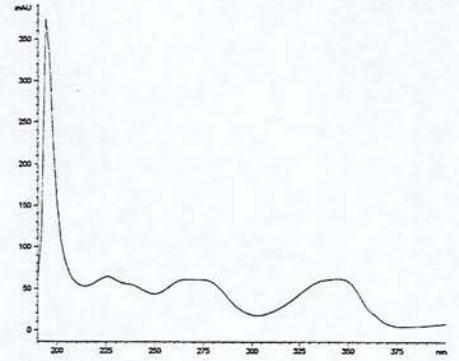
3.84	(s, 3-OMe)
4.02	(s, 10-OMe)
4.05	(s, 9-OMe)
7.00	(s, 1-H)
7.60	(d, 12-H)
8.08	(d, 11-H)
9.89	(s, 8-H)



<sup>1</sup>H-NMR spektrumu



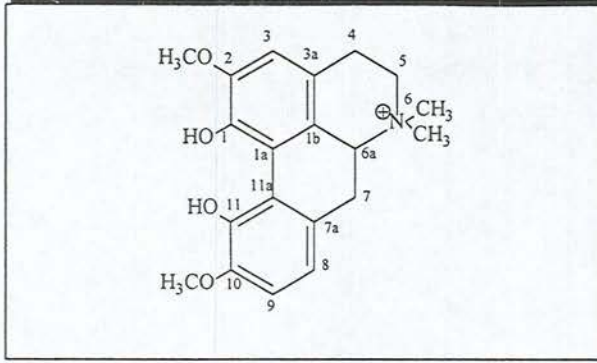
IR spektrumu



UV spektrumu

Şekil 4.11. Kolumbamin'in NMR, IR ve UV spektrumları

## MAGNOFLORİN (R8)



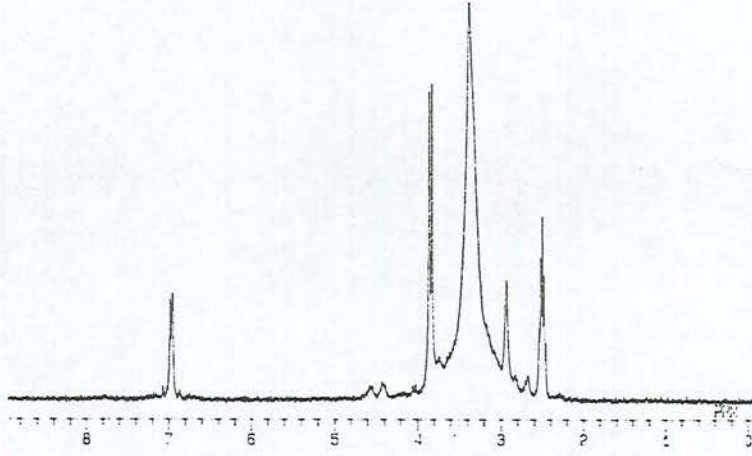
<b>Formülü</b>	: C <sub>20</sub> H <sub>24</sub> O <sub>4</sub> N <sup>+</sup>
<b>Molekül ağırlığı</b>	: 342
<b>R<sub>f</sub> değeri</b>	: 0.32 (Sistem 8)
<b>UV (λ, max)</b>	: 205, 222, 280 nm
<b>IR (ν, KBr)</b>	: 1614, 1459, 1437, 1242, 1118, 1043, 831 cm <sup>-1</sup>

**NMR (DMSO)** : <sup>1</sup>H-NMR ve <sup>13</sup>C-NMR değerleri aşağıdadır.

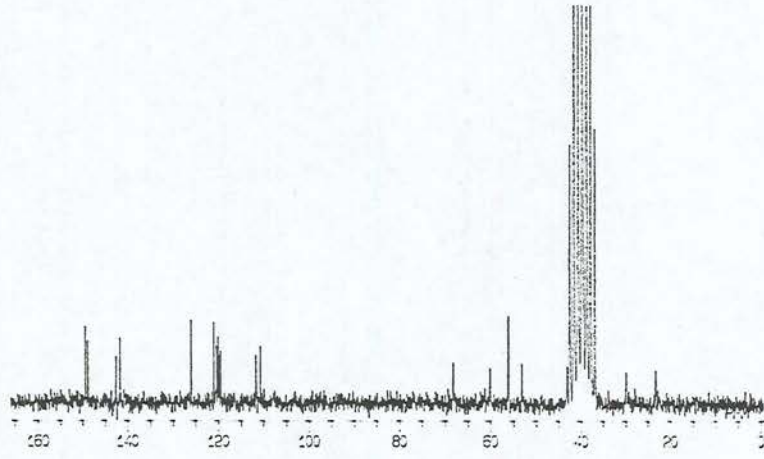
<sup>1</sup> H-NMR (δ, ppm, 90 MHz)	
2.92	(s, 6-N-Me)
3.41	(s, 6-N-Me)
3.80	(s, 10-OMe)
3.84	(s, 2-OMe)
6.93	(s, 3-H)
6.97	(s, 8,9-H)

### <sup>13</sup>C-NMR (δ, ppm, 22.4 MHz)

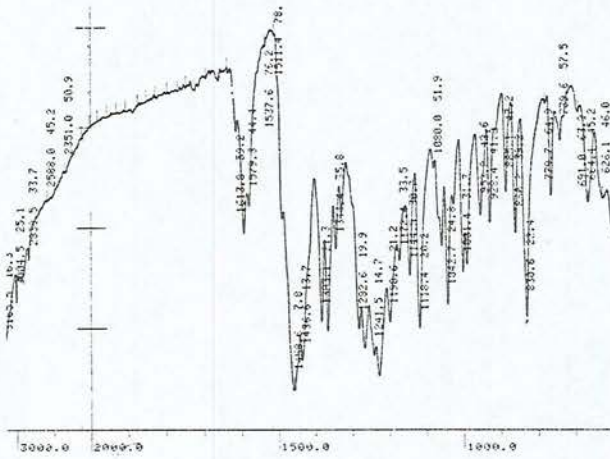
23.05	(C-4)
29.69	(C-7)
42.88	(N-Me)
52.98	(N-Me)
55.87	(OMe)
56.03	(OMe)
59.90	(C-5)
68.00	(C-6a)
110.44	(C-3)
111.41	(C-9)
119.27	(C-1b)
119.59	(C-1a)
119.84	(C-11a)
120.21	(C-3a)
120.82	(C-8)
125.79	(C-7a)
141.59	(C-1)
142.44	(C-11)
148.67	(C-10)
149.24	(C-2)



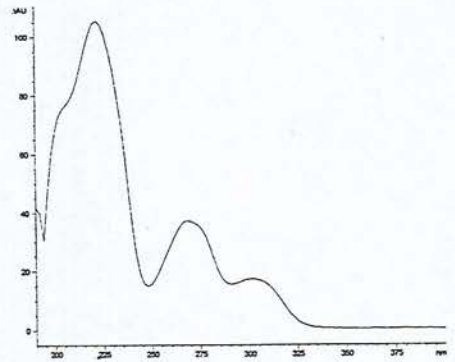
$^1\text{H-NMR}$  spektrumu



$^{13}\text{C-NMR}$  spektrumu



IR spektrumu



UV spektrumu

Şekil 4.12. Magnoflorin'in NMR, IR ve UV spektrumları

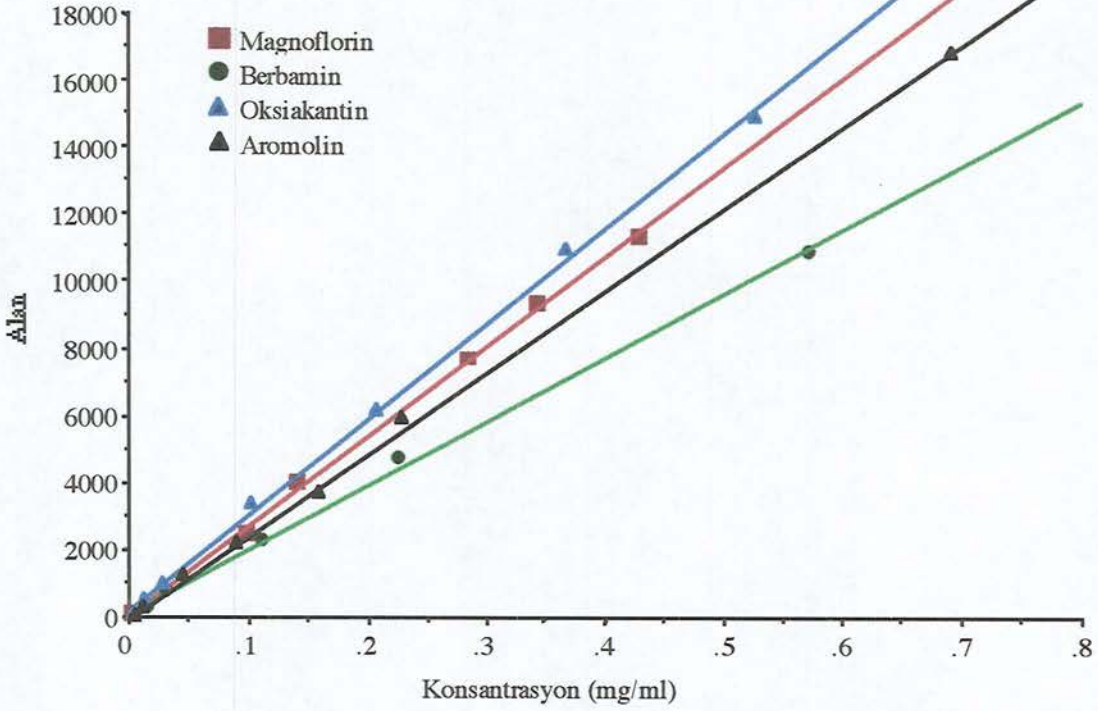
#### 4.4. Kantitatif Analiz Sonuçları

##### 4.4.1. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (YBSK) ile İzokinolin Alkaloitlerinin Miktar Tayini

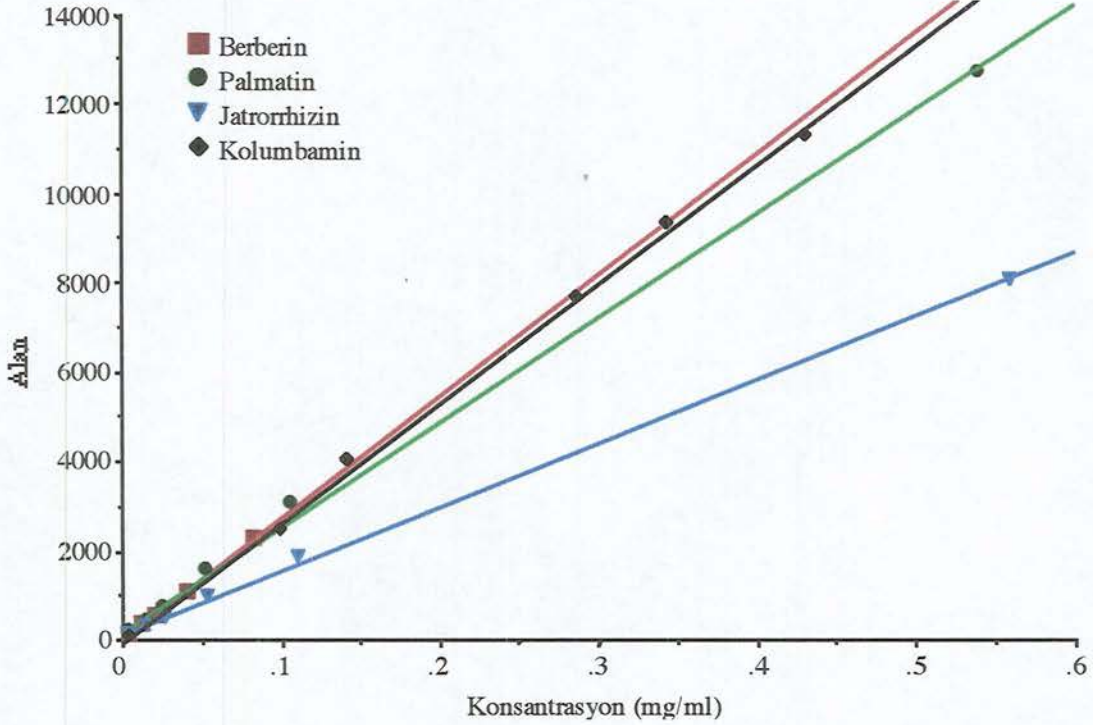
Bölüm 3.2.1.2' de belirtilen ekstraksiyon yöntemi kullanılarak dört *Berberis* türünün kök, gövde ve dallarından alkaloit ekstraktları hazırlandı. Bu ekstraktlarda, daha önce izole edilen alkaloitlerin miktarları belirlendi. YBSK analizlerinde Bölüm 3.2.2.2' de verilen şartlar kullanıldı. DAD ile 190-450 nm aralığında ve 5 farklı UV filtre ile alınan spektrumlarla pik saflıkları kontrol edilerek ve maddelerin UV spektrumları karşılaştırılarak sonuçlar berbamin, oksiakantin, aromolin ve magnoflorin için 220 nm ve berberin, palmatin, jatrorrhizin ve kolumbamin için 345 nm de alındı. Tablo 3.4' de verilen konsantrasyonlarda hazırlanan standart alkaloit çözeltileri kullanılarak kalibrasyon eğrileri hazırlandı. Bu amaçla her çözeltilerden üçer enjeksiyon yapılarak alınan pik alan değerlerinin ortalamaları kullanıldı. Standart çözeltilerin farklı konsantrasyonlarına karşı okunan bu alan değerleri grafiğe geçirilip (Şekil 4.13, 4.14) kalibrasyon denklemleri ve korelasyon katsayıları belirlendi. Bu denklem ve katsayılar Tablo 4.2' de verilmektedir.

**Tablo 4.2.** Standart maddelerin kalibrasyon denklemleri ve korelasyon katsayıları

Alkaloitler	Kalibrasyon denklemleri	Korelasyon katsayıları
Berberin	$y = 27429.025 x - 19.975$	$r = 0.999$
Palmatin	$y = 23539.405 x + 172.387$	$r = 0.999$
Jatrorrhizin	$y = 14371.214 x + 94.574$	$r = 0.999$
Kolumbamin	$y = 26865.323 x - 23.129$	$r = 0.999$
Berbamin	$y = 19186.902 x + 49.913$	$r = 0.999$
Oksiakantin	$y = 28513.004 x + 167.621$	$r = 0.999$
Aromolin	$y = 35839.383 x - 976.297$	$r = 0.989$
Magnoflorin	$y = 26865.323 x - 23.129$	$r = 0.999$



Şekil 4.13. 220 nm de değerlendirilen standart alkaloidlerin kalibrasyon eğrileri



Şekil 4.14. 345 nm de değerlendirilen standart alkaloidlerin kalibrasyon eğrileri

Daha sonra çalışılan dört *Berberis* türünün kök, gövde ve dallarından Bölüm 3.2.1.2' de verilen yönteme göre hazırlanan ekstrelerden, Tablo 3.3' de verilen konsantrasyon aralıklarında çözeltiler hazırlandı. Bu 5 farklı ekstrede 8 alkaloidin miktarlarına bakıldı. Alkaloid ekstreleri Ultracarb C<sub>20</sub> kolonda oda sıcaklığında ve A) 0.2 M NaClO<sub>4</sub>: %70'lik HClO<sub>4</sub> (1000: 0.2), B) MeOH çözücü sistemi kullanılarak 30 dakikalık gradient akış ile ayrıldı. Bu ayrılan sekiz alkaloidin miktarları Tablo 4.2' deki kalibrasyon denklemleri kullanılarak hesaplandı. Her bir numune çözeltisinden üçer enjeksiyon yapılarak ortalama değerler kullanıldı. Standart alkaloidlere ve analizi yapılan beş alkaloid ekstresine ait örnek kromatogramlar Şekil 4.15-4.21' de, YBSK analizleri sonucunda alınan sonuçlar ise Tablo 4.3' de verilmektedir.

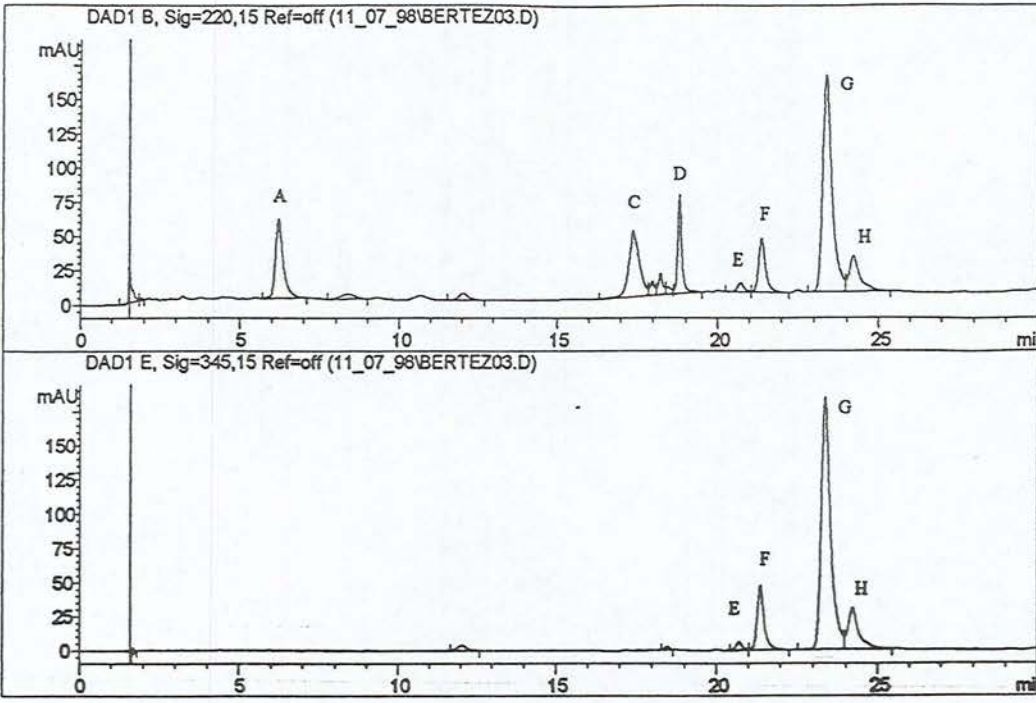
**Tablo 4.3.** *Berberis* türlerinden hazırlanan ekstrelerde bulunan başlıca alkaloidlerin miktarları (%)

Alkaloidler	*	<i>B.cretica</i>			<i>B.vulgaris</i>			<i>B.crataegina</i>			<i>B.integerrima</i>		
		K	G	D	K	G	D	K	G	D	K	G	D
berberin	I	2.55	1.48	1.86	5.21	0.97	1.26	0.30	2.11	1.83	3.69	2.59	1.38
	II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	III	4.52	15.64	3.51	8.83	4.93	4.36	18.25	5.72	6.17	3.24	3.19	7.31
	IV	2.99	0	0	3.33	2.09	1.53	0.31	6.49	0.58	4.94	3.75	0.52
	V	0.70	0.53	0.30	0.56	0.41	0.26	0.64	0.33	0.31	0.85	1.34	0.58
palmatin	I	0.95	0.23	0	1.14	0	0	0	0.09	0.01	0.44	0.18	0.002
	II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	III	22.09	35.13	3.91	27.23	2.15	3.46	27.49	22.98	7.56	10.63	4.94	0
	IV	3.01	0	0	0.85	0	0	0	2.87	0	1.53	2.22	0
	V	1.10	0.03	0	0.44	0.02	0	0.45	0	0	1.05	0.32	0
jatrorrhizin	I	2.61	0.28	1.11	1.80	0	0.12	0	0.14	0.24	0.91	0.72	0.23
	II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	III	0.42	0	0	0.16	0	0	0.36	0	0	0	0	0
	IV	4.83	0	0	0	0	0	0	0	0	0.43	0	0
	V	3.53	1.00	0.88	2.46	0.40	0.59	2.06	0.75	0.54	4.26	2.13	0.52

kolumbamin	I	0.20	0.02	0.30	0.53	0	0	0	0	0	0.21	0.13	0.02
	II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	III	0.22	0	0	0.39	0	0	0	0.22	0	0	0	0
	IV	0.78	0	0	0	0	0	0	0	0	0.04	0	0
	V	0.48	0.12	0.05	0.57	0.08	0.13	0.77	0.11	0.05	0.95	0.60	0.06
berbamin	I	1.04	0.97	0.12	1.51	0.32	0.68	0	0.26	0.28	1.03	1.11	0.35
	II	21.72	24.15	11.75	45.88	33.22	44.52	33.43	21.95	4.03	36.73	71.99	25.34
	III	6.68	2.12	0.76	3.77	9.36	2.00	2.92	1.96	1.24	4.96	12.59	0.53
	IV	4.87	0	0	0	0.26	0	0	0	0	0	0	0
	V	7.31	7.22	12.01	14.92	10.22	0	3.77	0	0	0	0	0
oksiakantin	I	0.86	1.62	0.68	1.52	0.16	0.38	0	0.95	0.49	1.55	1.18	0.11
	II	19.66	30.62	13.53	37.39	29.56	22.67	48.76	30.38	4.44	49.86	77.58	23.59
	III	3.37	1.32	0	1.60	6.79	0.24	5.19	2.67	0.79	8.30	16.17	0
	IV	4.14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	V	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
aromolin	I	0.59	0.56	0.18	0.29	0.26	0.25	0.16	0.29	0.23	0.34	0.43	0.20
	II	15.23	14.94	2.96	6.43	6.97	12.96	7.72	3.27	0.75	10.46	31.70	12.46
	III	4.53	1.59	0.91	0	2.58	0	0	0	0	1.27	5.11	0
	IV	1.36	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	V	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
magnoflorin	I	2.15	2.09	8.79	1.72	0.99	1.28	0.08	0.94	3.19	1.70	3.45	3.21
	II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	III	0	0	1.22	0	0	0	0	0	0	0	0	0.81
	IV	1.00	0	0	0	1.22	0.39	0	0.77	1.25	0.75	0.87	0.93
	V	5.18	7.73	12.32	6.50	8.61	7.25	3.49	4.91	6.25	16.93	20.13	13.31

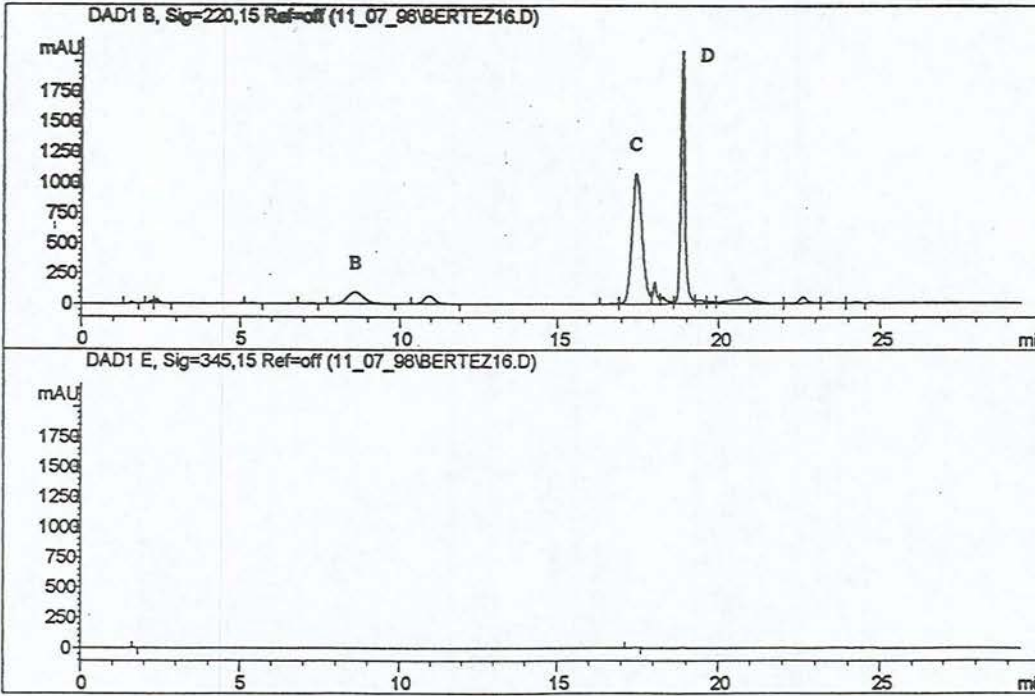
\* :Ekstreler (Bölüm 3.2.1.2.), K: kök, G: gövde, D: dal

*Berberis* türlerinin çeşitli organlarından elde edilen 5 farklı ekstreden alınan bu sonuçlar toplanarak *Berberis* türlerinin incelenen organlarındaki 8 alkaloidin toplam miktarları Tablo 4.4' de ve Şekil 4.22' de verilmektedir.



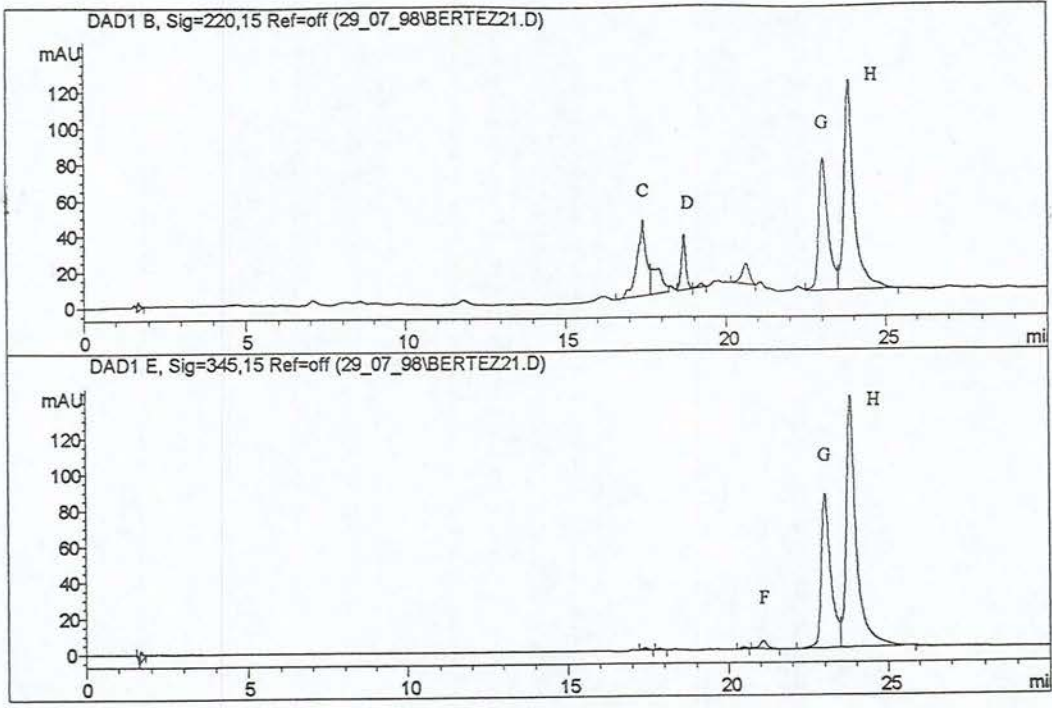
Şekil 4.15 : I. Ekstrenin 220 ve 345 nm' lerdeki YBSK kromatogramı

(A: magnoflorin, C: oksiakantin, D: berbamin, E: kolumbamin, F: jatrorhizin, G: berberin, H: palmatin)

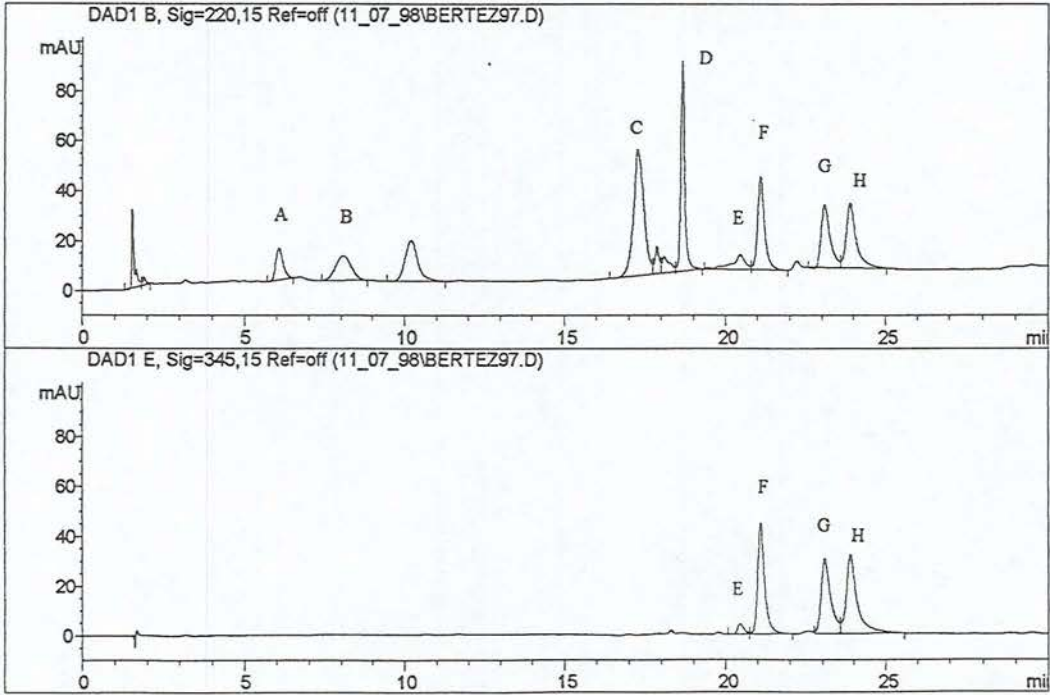


Şekil 4.16 : II. Ekstrenin 220 ve 345 nm' lerdeki YBSK kromatogramı

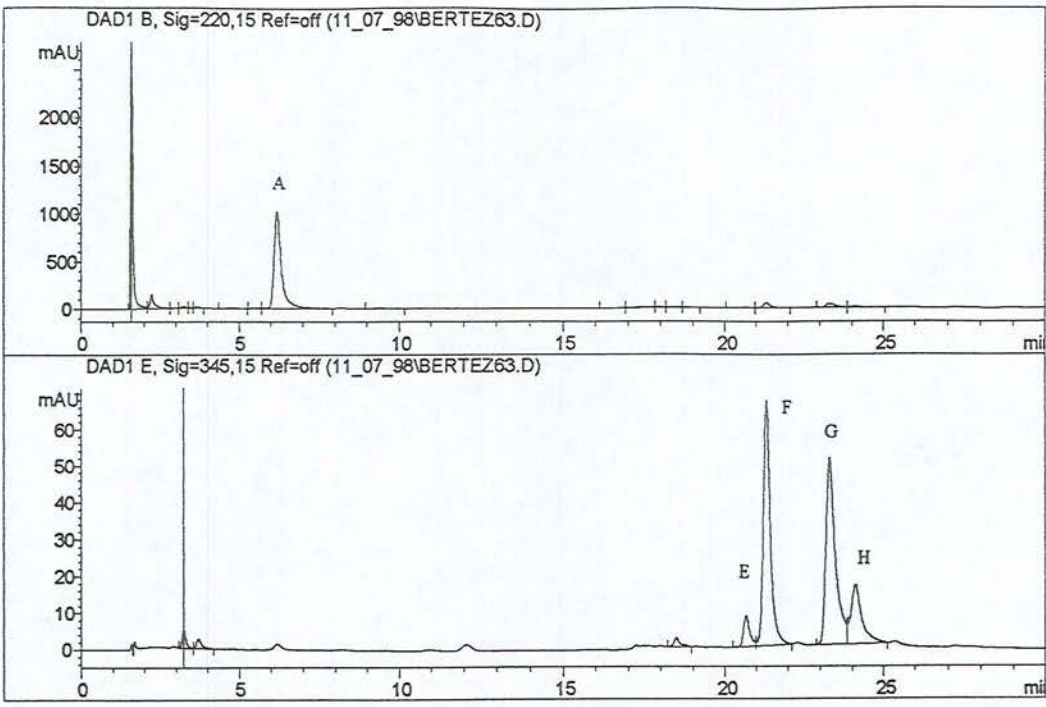
(B: aromolin, C: oksiakantin, D: berbamin)



Şekil 4.17 : III. Ekstrenin 220 ve 345 nm' lerdeki YBSK kromatogramı  
(C: oksiakantin, D: berbamin, F: jatrorhizin, G: berberin, H: palmatin)

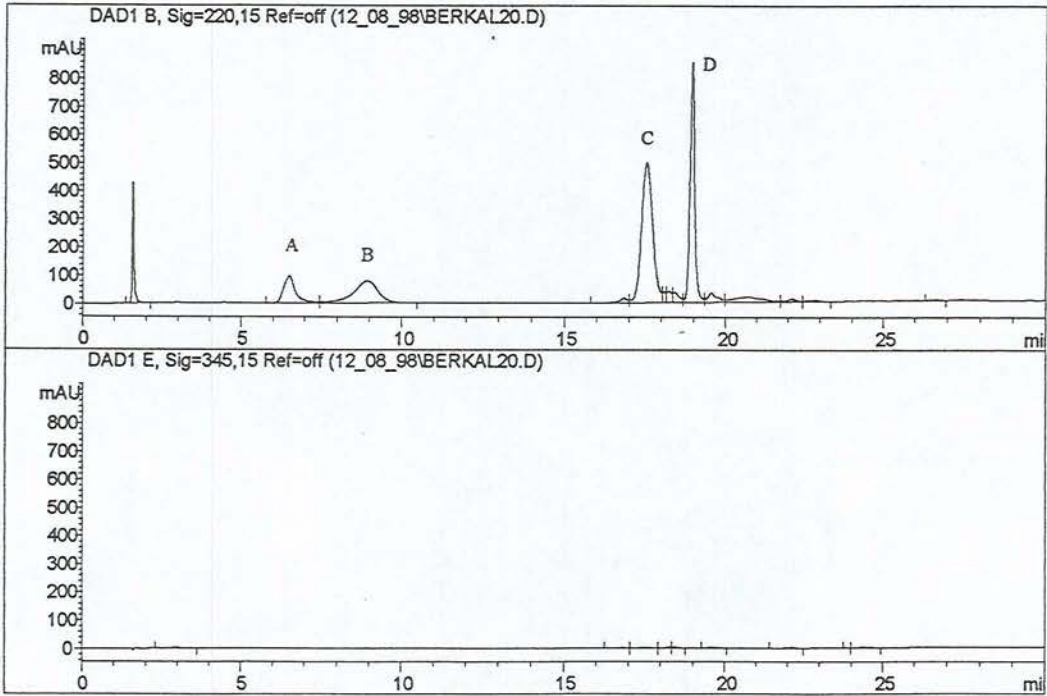


Şekil 4.18 : IV. Ekstrenin 220 ve 345 nm' lerdeki YBSK kromatogramı  
(A: magnoflorin, B: aromolin, C: oksiakantin, D: berbamin, E: kolumbamin, F: jatrorhizin, G: berberin, H: palmatin)



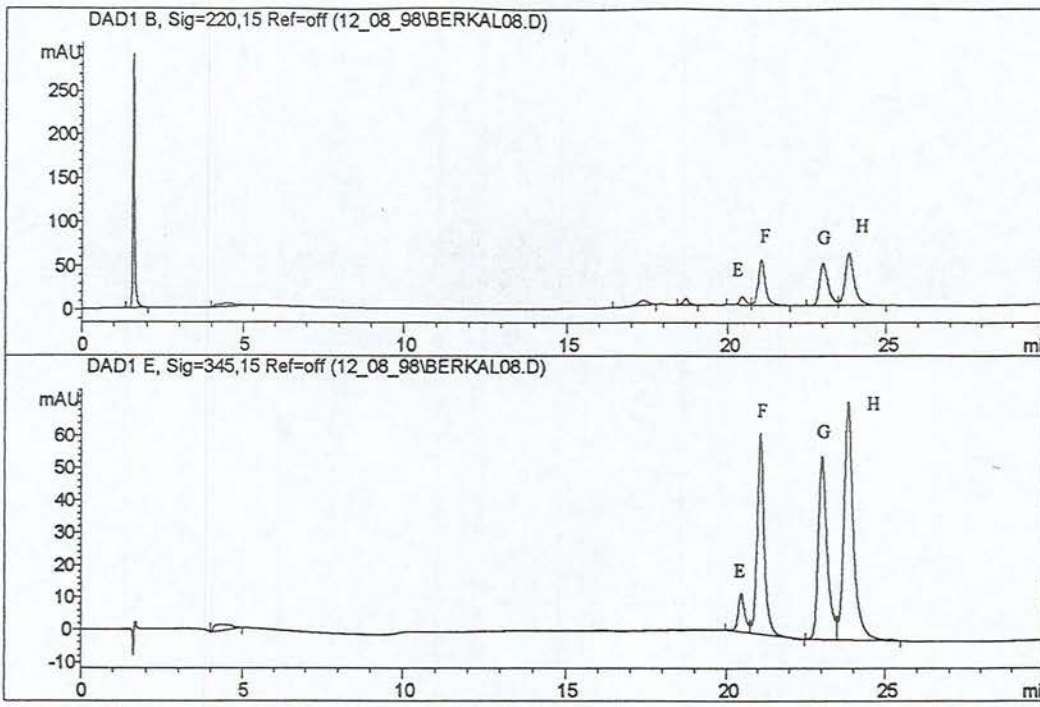
Şekil 4.19 : V. Ekstrenin 220 ve 345 nm' lerdeki YBSK kromatogramı

(A: magnoflorin, E: kolumbamin, F: jatrorhizin, G: berberin, H: palmatin)



Şekil 4.20 : 220 nm' de değerlendirilen standart alkaloit karışımının YBSK kromatogramı

(A: magnoflorin, B: aromolin, C: oksiakantin, D: berbamin)

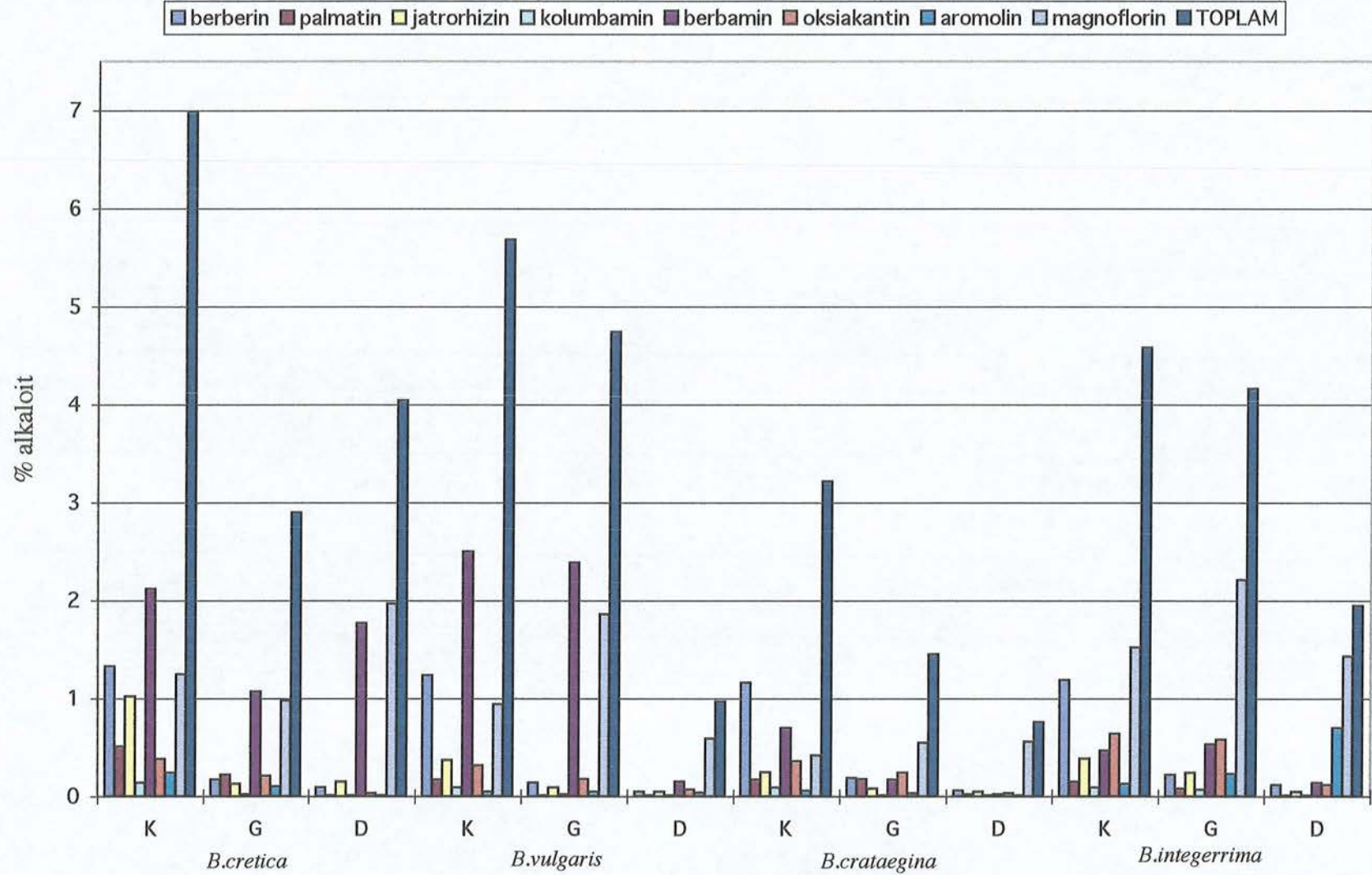


Şekil 4.21 : 345 nm' de değerlendirilen standart alkaloit karışımının YBSK kromatogramı  
(E: kolumbamin, F: jatrorhizin, G: berberin, H: palmatin)

Tablo 4.4 : *Berberis* türlerinde bulunan önemli alkaloitlerin % miktarları

Alkaloitler	<i>B.cretica</i>			<i>B.vulgaris</i>			<i>B.crataegina</i>			<i>B.integerrima</i>		
	K	G	D	K	G	D	K	G	D	K	G	D
berberin	1.33	0.17	0.09	1.24	0.14	0.05	1.16	0.19	0.06	1.19	0.22	0.12
palmatin	0.51	0.22	0.01	0.17	0.01	0.01	0.17	0.18	0.02	0.15	0.08	0.01
jatrorhizin	1.02	0.13	0.15	0.37	0.09	0.05	0.25	0.08	0.05	0.39	0.24	0.05
kolumbamin	0.14	0.02	0.01	0.09	0.02	0.01	0.09	0.013	0.01	0.09	0.07	0.01
berbamin	2.12	1.07	1.77	2.50	2.39	0.15	0.70	0.17	0.02	0.47	0.53	0.14
oksiakantin	0.38	0.21	0.03	0.32	0.18	0.07	0.36	0.24	0.03	0.64	0.58	0.12
aromolin	0.24	0.10	0.01	0.05	0.05	0.04	0.06	0.03	0.01	0.13	0.23	0.07
magnoflorin	1.25	0.98	1.97	0.94	1.86	0.59	0.42	0.55	0.56	1.52	2.21	1.43
TOPLAM	6.99	2.90	4.04	5.68	4.74	0.97	3.21	1.45	0.76	4.58	4.16	1.95

K: kök, G: gövde, D: dal



Şekil 4.22. *Berberis* türlerinde bulunan alkaloit miktarları (%) (K: Kök, G: Gövde, D: Dal)

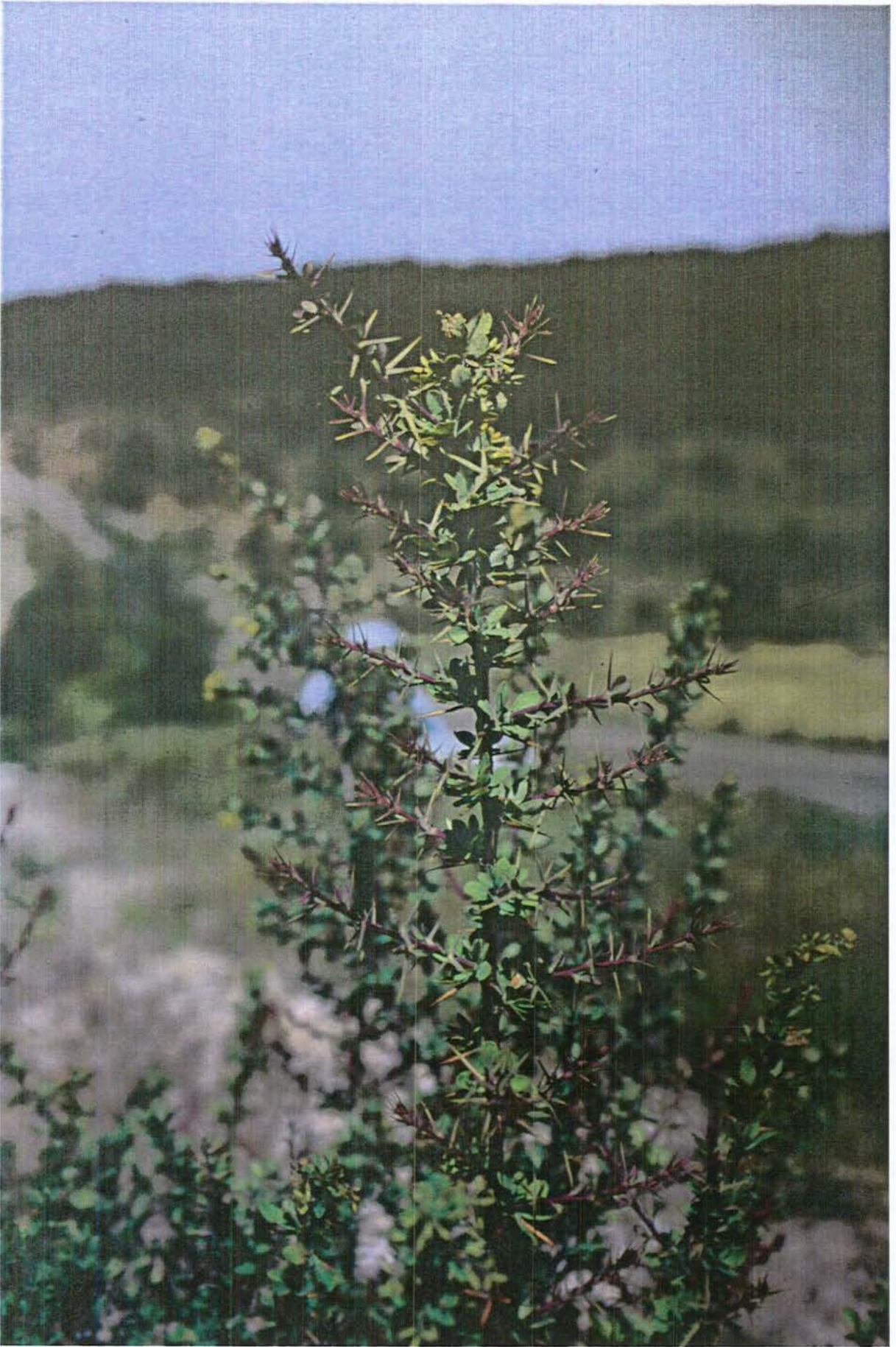
#### 4.5. Berberin Alkaloitinin Antikanser Etki Sonuçları

Bölüm 3.5' de verilen şartlarda yapılan çalışmalarda aşağıdaki sonuçlar alınmıştır:

C6 glioma hücre kültürlerindeki etkisi: 0.1 µg/mL dozda uygulanan berberin DMSO' ya karşı hücre sayılarında bir değişiklik oluşturmazken, kontrole karşı hücre sayılarında  $p<0.01$  anlamlılıkta bir azalma gözlenmektedir. 1 µg/mL dozda uygulanması hücre sayılarında  $p<0.01$  anlamlılıkta, 10 µg/mL dozda uygulanması ise  $p<0.005$  anlamlılıkta bir azalmaya sebep olmuştur. 10 mg/mL dozda berberinin C6 glioma hücre sayıları üzerine olan etkisi yaklaşık olarak vinkristin sülfatın 0.5 µg/mL dozda uygulanması ile oluşan azalmaya yakındır. Bu çalışma ayrıca Colony Forming Efficiency assay (CFE) uygulanarak yapılmalıdır (313).

CO25 N-RAS onkojen taşıyan myoblast hücre kültürlerindeki etkisi: berberin 0.1 µg/mL dozda, DMP'in oluşturduğu tümorojenik etkiyi engelleyemedi. Ancak 1 ve 10 µg/mL dozlarda DMP'in etkisini engelledi.

NIH 3T3/F29 fibroblast hücre kültürlerindeki etkisi: 24 saat sonunda alınan sonuçlarda berberinin 100 mg/mL dozda az bir toksisitesi olduğu, bunun altındaki dozlarda ise toksisitenin olmadığı gözlemlendi ve bu sonuçlar Masson's Trichroma tekniği ile boyama sonucu alınan morfolojik değerlendirmeler ile desteklendi (327, 328).



## 5. SONUÇ VE TARTIŞMA

*Berberis L.* (Berberidaceae) türleri çok uzun zamandan bu yana çeşitli tedavi edici özelliklerinden dolayı yaygın olarak kullanılmaktadır. Gerek bitkisel drog gerekse içerdikleri alkaloidler farmasötik preparatların terkiplerine girmektedir (17). *Berberis* türleri bu yaygın kullanılışlarına paralel olarak tüm dünyada oldukça yaygın yetişen bitkilerdendir. Bu cinsin Türkiye florasında da dört türü kayıtlıdır. Bunlar *B. crataegina*, *B. vulgaris*, *B. cretica* ve *B. integerrima*'dır (11). Bu türler yetiştiği yörelerde "Amberparis, Diken üzümü, Karamuk, Sarı odun ve Sarı ağaç" gibi adlarla bilinmekte, aktarlarda satılmakta ve genellikle infüzyon ve dekoksasyon halinde ya da tentür olarak tonik, midevi, karaciğer ve safra kesesi hastalıklarında kullanılmaktadırlar (5,7).

Bu çalışma kapsamında ülkemizde yetişen dört tür farklı yörelerden toplanarak kök, gövde ve dalları alkaloidleri bakımından incelendi. Bu tez çalışması izolasyon ve miktar tayini olmak üzere üç bölümden oluşmaktadır. İzolasyon çalışmalarımız sonucunda dört protoberberin, üç bisbenzilozokinolin ve bir aporfin alkaloidi olmak üzere toplam sekiz izokinolin alkaloidi izole edilip yapıları belirlendi. Daha sonra bu alkaloidlerin çalışılan dört *Berberis* türünün kök, gövde ve dallarındaki miktarları belirlendi. Ayrıca bu çalışmada antikanser aktivite çalışmaları da başlatıldı. İlk olarak kaynak taramaları sırasında edinilen bilgiler doğrultusunda berberinin antikanser aktivitesi çalışıldı.

Çalışmamızın ilk bölümünü oluşturan izolasyon çalışmalarımızda kolay ve bol miktarda topladığımız *B. crataegina* referans bitki olarak seçildi. Bu bitkinin kökleri kurutulup toz edildi. Buradaki amacımız alkaloidlerin izolasyonu olduğu için drog, genel alkaloid ekstraksiyon yöntemlerinden olan alkolle ekstraksiyon yöntemi ile ekstre edildi. Bunun için drog %96'lık etanol ile masere edildi. Etanol uzaklaştırıldıktan sonra kalan bakiye seyreltik asit çözeltisi ile çözüldü. Ortam amonyum hidroksit çözeltisi ile bazikleştirilip önce eter ve sonra kloroform ile ekstre edildi. Daha sonra bazik çözeltide kalan polar alkaloidler çözelti asitlendirildikten sonra Mayer reaktifi ile çöktürüldü. Bu çöken alkaloidler iyon değiştirici reçineden geçirilerek katerner alkaloid tuzları halinde elde edildi. Daha sonra bu üç alkaloid fraksiyonu Kolon Kromatografisi ve preparatif Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi yöntemleri kullanılarak saflaştırıldı.

Ekstraksiyon çalışmalarımız sonucunda köklerden elde edilen toplam ekstre miktarının gövde ve dallardan daha fazla olduğu bulundu. Bölüm 3.2.1.2' de belirtilen

yönteme göre yapılan ekstraksiyonlarda V nolu ekstre yani katerner grupları içeren ekstrenin miktarının (%8.0-22.8) diğer ekstre miktarlarına (%0.1-3.7) göre daha fazla olduğu gözlemlendi. Toplam alkaloidler bakımından ise en zengin türün *B. cretica* olduğu belirlendi. Daha sonra ise *B. vulgaris* gelmektedir.

Eter ekstresi alumina kolonda kloroform-metanol çözücü sistemi ile saflaştırıldı. Bu fraksiyondan üç ana alkaloid izole edildi. Buradan alınan alkaloidlerin UV, IR, <sup>1</sup>H-NMR ve <sup>13</sup>C-NMR spektrumları alındı. UV spektrumlarında 283 nm'de maksimum gözlenmesi ve en yüksek absorpsiyonları 225 nm'de vermeleri bize bu alkaloidlerin bisbenzilzokinolin grubu olabileceğini düşündürdü. <sup>1</sup>H-NMR spektrumlarında 2.55 ppm civarında birbirine çok yakın iki metil bize iki azot atomuna bağlı iki metil varlığını ve <sup>13</sup>C-NMR spektrumunda ise karbon atomlarının sayısı bize bu alkaloidlerin dimer olabileceğini gösterdi. Bu alınan spektral değerlerin literatür bilgileri ile karşılaştırılmaları sonucu ve İTK ve YBSK analizlerinde standartlarla karşılaştırılmaları sonucunda izole edilen maddelerin berbamin, oksiakantin ve aromolin olduğu saptandı.

Kloroform ve katerner ekstre silikajel kolonda ve kloroform-metanol çözücü sistemi ile ayrıldı. Kloroform ekstresi hem apolar hem de polar alkaloidleri karışım halinde içermektedir. Bu nedenle kloroform ekstresinden berberin, berbamin, oksiakantin ve aromolin ayrıldı.

Katerner ekstre ise polar kuarterner alkaloid tuzlarını içermektedir. Bu ekstrede bulunan alkaloidler katerner azot atomu taşırlar. Bu ekstrenin ayırımı sonucunda beş ana alkaloid izole edildi. Alınan spektral ölçümler sonucunda dört alkaloidin benzer yapılar gösterdiği bulundu. UV spektrumunda karakteristik olarak ~ 440, 345, 260 nm lerede üç maksimum pik ve ~ 380, 300, 250 nm lerede de minimum pik vermeleri bize bu alkaloidlerin protoberberin türevi olduklarını düşündürdü. <sup>1</sup>H-NMR spektrumlarında 7.90-8.15 ppm civarında gözlenen çiftin çifti pik, 3.88 ppm ve 4.18-4.30 ppm lerede gözlenen ve metoksi gruplarına ait tek pikler ve aromatik protonlara ait tek pikler karakteristik olarak yapının protoberberin olduğunu gösterdi. Bu görüşümüzün doğrulanmasında <sup>13</sup>C-NMR spektrumundan alınan karbon sayıları da yardımcı oldu. Bütün bu bulunan spektral değerler literatür verileri ile karşılaştırılarak izole edilen alkaloidlerin berberin, palmatin, kolumbamin ve jatrorhizin olduğu bulundu. Bu maddeler standartlarla İTK ve YBSK ile karşılaştırılarak kontrol edildi.

Aynı ekstreden alınan bir başka madde kirli beyaz bir alkaloidti. Bu alkaloid İTK incelemeleri sonucunda UV lamba altında mavi floresans verdi. Bu renk bize bu alkaloidin magnoflorin olabileceğini gösterdi. Bu alkaloidin spektral ölçümleri alındı. UV spektrumunda 270-280 nm lerde tek bir pik verdi. En yüksek absorbans değeri ise 220 nm de alındı. Bu da bize yapının aporfin olabileceğini düşündürdü. <sup>1</sup>H-NMR spektrumunda 3.5 ppm civarında ve 2.7 ppm civarında metoksillere ait sinyaller vermesi, <sup>13</sup>C-NMR spektrumundan alınan karbon sayıları bu görüşümüzü kuvvetlendirdi. Bu spektral değerlerin literatür verileri ile karşılaştırılmaları sonucunda ve standartlarla yapılan İTK ve YBSK karşılaştırmaları sonucunda izole edilen alkaloidin magnoflorin olduğu bulundu.

Çalışmamızın ikinci bölümünde ülkemizde yetişen *B. crataegina*, *B. cretica*, *B. vulgaris* ve *B. integerrima*'nın kök, gövde ve dallarında izole edilen alkaloidlerin miktarları belirlendi. Miktar tayini çalışmaları ters faz iyon çifti Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (YBSK) yöntemi kullanılarak yapıldı. Bu amaçla kurutulan kök, gövde ve dallar aynı şartlarda ekstre edildi. Üç ana ekstre ve iki ara faz olmak üzere toplam beş alkaloid fraksiyonu alındı. Ekstraksiyon yöntemi Bölüm 3.2.1.2' de verilmektedir. Aynı şartlarda hazırlanan ekstrelerden Tablo 3.3' de belirtilen konsantrasyon aralıklarında hazırlanan çözeltilerden 5' er µl YBSK analizlerinde kullanıldı. Alkaloidler ODS-C<sub>20</sub> kolonda NaClO<sub>4</sub>:HClO<sub>4</sub> ve MeOH gradient sisteminde 30 dakika içerisinde tam olarak ayrıldı (Bölüm 4.4.1). Miktar tayini çalışmalarımızda değerlendirmeler 220 ve 345 nm olmak üzere iki farklı dalga boyunda yapıldı. Çünkü numunelerimiz farklı gruplara ait izokinolin alkaloidlerini taşımaktadır. Bu nedenle her grubun vermiş olduğu maksimum absorbans noktası da farklıdır. Miktarlarını belirlediğimiz alkaloidlerden berbamin, oksiakantin, aromolin ve magnoflorin 220 nm de, berberin, palmatin, kolumbamin ve jatrorhizin ise 345 nm de değerlendirildi. Analizler sonucunda alınan pik alan değerleri kullanılarak miktarlar belirlendi. Standart madde olarak izole edilerek yapıları tayin edilen alkaloidler kullanıldı. Bu alkaloidlerden Tablo 3.4' de belirtilen konsantrasyon aralıklarında hazırlanan çözeltilerle hesaplanan ve Tablo 4.2' de gösterilen kalibrasyon denklemleri kullanılarak ekstrelerdeki yüzde alkaloid miktarları belirlendi (Tablo 4.3). Tüm ekstrelerdeki sonuçlar toplanarak bitkideki toplam alkaloid miktarları kök, gövde ve dallar olmak üzere hesaplandı. Bu sonuçlar Tablo 4.4 ve Şekil 4.22' de verilmektedir. Bu analizler sonucu her ekstreden alınan örnek kromatogramlar Şekil 4.15-4.21' de verilmektedir.

Miktar tayini çalışmaları sonucunda izole edilerek yapıları tayin edilen sekiz alkaloidin tüm ekstrelerde ana alkaloidler olduğu gözlemlendi. Çalışılan bitkiler bu alkaloidler bakımından değerlendirildiğinde bunların toplamının *B. cretica* köklerinde % 6.99, *B. vulgaris* köklerinde % 5.68, *B. integerrima* köklerinde % 4.58 ve *B. crataegina* köklerinde % 3.21 olduğu bulundu. Bütün türlerin gövde ve dallarında ise bu oranların düştüğü gözlemlendi. Çalışılan dört türde de berberin miktarları birbirine çok yakın bulundu. Köklerde % 1.16-1.33, gövdelerde % 0.14-0.22 ve dallarda % 0.05-0.12. Fakat türler arasında berbamin ve magnoflorin miktarları açısından oldukça belirgin farklılıklar bulunmaktadır. *B. cretica* ve *B. vulgaris*' de berbamin miktarı yüksek iken (% 1.07-2.12 ve % 0.15-2.5), *B. integerrima*' da magnoflorin miktarı artmıştır (%1.43-2.21). *B. crataegina*' da ise köklerde berberin (% 1.16), gövde ve dallarda magnoflorin (% 0.55 ve 0.56) miktarları yüksek bulundu.

*Berberis* türleri ile ilgili bu güne kadar yapılmış olan kimyasal çalışmaların büyük bir çoğunluğunu izolasyon çalışmaları oluşturmaktadır. *Berberis*' lerle yapılmış miktar tayini çalışmaları ise oldukça azdır. Yapılan çalışmalar ise genellikle spektrofotometrik ölçümlere dayanmaktadır. Bu nedenle miktar tayini çalışmalarımız sonucunda bulunan değerleri literatür verileri ile karşılaştırmak pek mümkün değildir. Ayrıca yapılan kaynak taramaları sonucunda gözlenen değerler oldukça farklılık göstermektedir. Bu konudaki bazı literatür verileri aşağıda verilmektedir:

<i>B. cretica</i>	berberin	: % 0.00012-0.54 (94, 98)
	palmatin	: % 0.00162 (98)
	kolumbamin	: % 0.00004 (98)
	jatrorhizin	: % 0.00076 (98)
	magnoflorin	: % 0.00009 (98)
<i>B. integerrima</i>	oksiakantin	: % 0.0257 (201)
<i>B. vulgaris</i>	berberin	: % 0.16-8.0 (71, 167, 168, 170, 171, 174, 180, 181)
	berbamin	: % 0.59 (168)
	oksiakantin	: % 1.0 (168)
	kolumbamin	: % 0.29 (168)

jatrorhizin : % 0.36 (168)

*B. crataegina* berberin : %0.36 (94)

Yapılan kaynak taramaları sonucunda ülkemizde *Berberis* türleri ile ilgili yapılmış çok az çalışmaya rastlanmıştır. Bu çalışmalardan çok azı alkaloitlerle ilgilidir. Türkiye’ de yetişen türlerden *B. crataegina*, *B. vulgaris* ve *B. cretica* daha önceden çalışılmasına rağmen *B. integerrima* ilk kez bu çalışmada ele alınmıştır. Daha önceden çalışılan üç türde berberin miktarının % 0.36-0.77 ve total alkaloit miktarının ise % 1.08-1.27 olduğu kayıtlıdır (94). Başka bir çalışmada ise yine ülkemizde yetişen *B. crataegina* kök ekstralarında yapılan spektrofotometrik ölçümler sonucunda berberin miktarının %2.24 olduğu belirtilmektedir (268). Fakat yapılan bu ve benzer spektrofotometrik çalışmaların sonuçları ile bizim yaptığımız YBSK çalışmasının sonuçlarını karşılaştırmak mümkün değildir. Çünkü, ekstralar içerisinde aynı alkaloit grubuna dahil olan ve bu nedenle aynı UV spektrumları veren pek çok alkaloit vardır. Sonuçta bulunan değerler o gruba ait alkaloitlerin toplam değeri olacaktır. Bu nedenle YBSK daha güvenilir sonuçlar vermektedir.

Yapılan kimyasal incelemeler sonucunda bulunan alkaloit yüzdeleri bize, bu tip alkaloitler için ülkemizde yetişen dört *Berberis* türünün kaynak olamayacağını göstermiştir. Çünkü bugün dünyada berberin ve tıbbi bakımdan önemli olan protoberberin alkaloitleri, gerek izolasyon gerekse doku kültürü metodu ile *Coptis* rizomlarından elde edilmektedir. *Coptis* türleri hem çok yaygın olarak yetişmekte hem de alkaloit verimi olarak diğer cinslerden daha önce gelmektedir.

Berberinin antikanser etkisinin bulunduğu rapor edildiğinden, bu çalışmada elde edilen berberin alkaloitinin antikanser etkisine Anadolu Üniversitesi Tıbbi ve Aromatik Bitki ve İlaç Araştırma Merkezi (TBAM) Hücre Kültürü Laboratuvarında bakıldı. Yapılan *in vitro* test sonucunda berberinin C6 gliomalar üzerine apoptotik etkisi bulundu. Bu şekilde, daha önce yapılmış olan çalışmalar ile uyumlu sonuçlar alınmış oldu (313, 314). Berberinin C6 gliomalar üzerinde 10 µg/mL’de göstermiş olduğu sitotoksik (apoptotik) etki fibroblastlar üzerinde 100 µg/mL doz uygulaması ile dahi oluşmamıştır. Bu nedenle bir seçicilikten söz edilebilir. Daha önce yapılmış olan bir çalışmada kullanılan yüksek doz (100-200 µg/mL) berberin ile toksisitenin gözlenmemesi bu bulgularımızı

desteklemektedir (312). Aynı çalışmada berberinin hücre siklusunu G2/M fazında durdurduğunun gösterilmesi CO25 hücreleri ile yapılan çalışmada berberinin DMP'in tümorojenik etkisini engellemesi ile ilgili bulgularımızı da desteklemektedir. Sonuç olarak berberin, 10 µg/mL dozda *in vitro* olarak glioma hücreleri üzerine sitotoksik etkilidir ve aynı dozda vücutta en yaygın biçimde bulunan fibroblastlar (bağ dokusu hücreleri) üzerine sitotoksik etkisinin gözlenmemesi nedeni ile seçici bir antitümör ajan olabileceği söylenebilir. Bu konudaki çalışmalarımız daha ayrıntılı olarak devam etmektedir.

Ülkemizde *Berberis* türleri ile ilgili böyle kapsamlı bir çalışma ilk olarak yapılmıştır. Türkiye Florası' na kayıtlı dört tür kimyasal olarak aynı şartlarda ilk kez bu çalışma ile değerlendirilmiştir. Uygulanan miktar tayini çalışması ülkemizde ilktir. Dört bitkinin değişik organlarında yapılan İTK ve YBSK incelemeleri sonucunda izole edilen sekiz alkaloidin tüm türlerde başlıca alkaloidler olduğu bulunmuştur. Bundan sonraki çalışmalarımız minör alkaloidler üzerinde devam edecektir. Ayrıca izole edilen ve edilecek olan alkaloidlerin başlatılan aktivite çalışmaları da genişletilerek sürdürülecektir.

## KAYNAKLAR

1. A.Karimov, *Berberis* Alkaloitleri, Alkaloid Taşıyan Bitkilerin Araştırılması, ICPS, Taşkent, s. 206-220, 1993.
2. A.Karimov, Alkaloids of *Berberis*-A Review, **Khim. Prir. Soedin**, (4), 481-506 (1993).
3. W.C.Evans, Trease and Evans' Pharmacognosy, 14<sup>th</sup> edition, WB Saunders Company, London, 1996.
4. J.A. Holtom and W.H.Hylton Eds., The Complete Guide to Herbs, Aylesbury, s. 328-329, 1979.
5. T.Baytop, Türkiye' de Bitkiler ile Tedavi, İstanbul Üniversitesi Yayınları No: 3255, İstanbul, s. 163-164, 1984.
6. P.Schauenberg and F. Paris, Guide to Medicinal Plants, Lutterworth Press, London, s. 26, 1977.
7. T.Baytop, Türkiye' nin Tıbbi ve Zehirli Bitkileri, İstanbul Üniversitesi Yayınları No: 1039, İstanbul, s. 142-143, 1963
8. M.Grieve, A Modern Herbal, Penguin Books, New York, s. 82-85, 396, 1931.
9. J.A.Duke, Handbook of Medicinal Herbs, CRC Press, Washington, s. 78, 1986.
10. D.Bown, Encyclopedia of Herbs and Their Uses, A Dorling Kindersley Book, USA, s. 248, 1995.
11. J.Cullen, M.J.E.Coode, *Berberis* in: Ed. P.H.Davis, Flora of Turkey and East Aegean Islands, Edinburgh Univ. Press, Edinburgh, Vol. 1, s. 208-210, 1965.
12. N.Özhatay, M.Koyuncu, S.Atay ve A.Byfield, Türkiye' nin Doğal Tıbbi Bitkilerinin Ticareti Hakkında Bir Çalışma, Doğal Hayatı Koruma Derneği, İstanbul, s. 15, 20, 33, 42, 1997.
13. British Herbal Pharmacopoeia, British Herbal Medicine Assoc., Great Britain, s. 32-33, 1996.
14. H.M.Said Ed., Hamdard Pharmacopoeia of Eastern Medicine, Hamdard, Karachi, 1970.
15. Pharmacopoeia of India, 3<sup>rd</sup> edition, Vol. 1, Ministry of Health and Family Welfare, Delhi, 1985
16. The Pharmacopoeia of Japan, 11<sup>th</sup> edition, The Society of Japanese Pharmacopoeia, Japan, s. 341-343, 1986.
17. J.E.F.Reynolds Ed., Martindale the Extra Pharmacopoeia, 31<sup>st</sup> edition, Royal Pharmaceutical Society, London, 1996.
18. K.Peach and M.V.Tracey, Modern Methods of Plant Analysis, Vol. IV, Springer-Verlag, Heidelberg, s. 382-390, 1955.
19. N.Özkal and İ.Erturk, High Pressure Liquid Chromatographic Determination of Ascorbic Acid in the Leaves of *Berberis crataegina* DC., Abstr 3<sup>rd</sup> Intern. Symp. Pharm. Sci., Ankara Univ, 15-18 June 1993, Ankara, Turkey , Abstr-P32, 1993.

20. D.K.Shapiro, L.V.Anikhimovskaya, T.I.Narizhnaya, V.Vereskovskii, Chemical Characterization of Fruit from Several Species of *Berberis* L. Introduced into the USSR, **Rast Resur**, 19(1) 84-89 (1983).
21. R.Sivakumar, A.G.R.Nair, Polyphenolic Constituents of the Flowers of *Berberis aristata*, **J. Indian Chem. Soc.**, 68(9) 531-532 (1991).
22. V.V.Vereskovskii, D.K.Shapiro, Flavonoids, Phenolic Acids, and Hydroxycoumarins from the Fruit of Various Species of the Genus *Berberis*, **Chem. Nat. Comp.** 22(4) 482-483 (1987).
23. B.Çubukcu, T.Dortunç, Study of the Polyphenolic Compounds of *Berberis crataegina* DC. and *B. cretica* L., **Doğa**, Seri C 6, 11-14 (1982).
24. M.Masood, K.P.Tiwari, 2,5-Bis(2'-methoxy- 5'-methylphenyl)-furan a Rare Type of Compound from *Berberis umbellata*, **Phytochemistry**, 20, 295-296 (1981).
25. V.Fajardo, A.Urzua, R.Torres, B.K.Cassels, Secondary Metabolites of *Berberis buxifolia*, **Rev. Latinoam. Quim.**, 10(3) 131-4 (1979). C.A: 092: 18803y (1980)
26. V.V.Vereskovskii, D.K.Shapiro, Chromatographic Investigation of the Anthocyanin Pigments of the Fruit of Some Species of Barberry, **Chem. Nat. Comp.** 21(4) 536-537 (1985).
27. P.Majumder, S.Saha, 1,4-Bis(2'-Hydroxy-5'-Methylphenyl)-Butan-1,4-Dione, A Biogenetically Rare Type of Phenolic of *Berberis coriaria*, **Phytochemistry** 17, 1439-1440 (1978).
28. K.P.Tiwari, C.M.Misra, A Convenient Method for the Synthesis of Canadine, **Vijnana Parishad Anusandhan Patrika**, 32(4) 35-7 (1989). C.A: 114: 143767p (1991)
29. M.J.Mueller, M.H.Zenk, the Biosynthesis of the Cularine Alkaloids, **Liebigs Ann. Chem.**, (5) 557-63 (1993). C.A: 119: 266560b (1993)
30. M.Houga, F.Yoshizaki, T.Ando, Estimate of Berberine Content in *Coptis* Rhizome by Utilizing Inhibitory Activity of Berberine on Mouse Plasma Alkaline Phosphatase, **Nat. Med.**, 48(2) 165-7 (1994). C.A: 122: 17292g (1995)
31. J.D.Phillipson, Alkaloids, **The Pharmaceutical Journal**, 102-109, 1983.
32. J.Bruneton, Pharmacognosy, Phytochemistry, Medicinal Plants, Lavoisier Publ., England, s. 625-642, 739-747, 1995.
33. J.E.Robbers, M.K.Speedie, V.E.Tyler, Pharmacognosy and Pharmacobiotechnology, Williams and Wilkins, USA, s. 144-161, 1996.
34. G.Samuelsson, Drugs of Natural Origin, Swedish Pharmaceutical Press, Sweden, s. 26-35, 232-267, 1992.
35. Dictionary of Natural Products, Chapman and Hall, London, 1994.
36. T.Kametani, M.Ihara, T.Honda, Recent Chemical Progress in Berberine Alkaloids, **Heterocycles**, 4(3), (1976).

37. M.Reuffer, Biosynthetic Studies of Protoberberine and Related Alkaloids Using Plant Cell Cultures, *In: Atta-ur-Rahman and Philip W. Le Quesne Eds., Perspective in Natural Products Chemistry*, H.E.J. Research Inst. of Chem. Karachi, Pakistan, 1988.
38. C.W.W.Beecher, W.J.Kelleher, The Incorporation of Berberine into Jatrorrhizine, *Tetrahedron Lett.*, 24(5) 469-472 (1983).
39. R.Stadler, T.M.Kutchan, M.H.Zenk, (S)-norcoclaurine is the Central Intermediate in Benzylisoquinoline Alkaloid Biosynthesis, **Phytochemistry**, 28(4) 1083-1086 (1989).
40. R.B.Herbert, The Biosynthesis of Plant Alkaloids and Nitrogenous Microbial Metabolites, **Nat. Prod. Rep.**, 14(4) 359-372, 1997.
41. N.Gönülşen, Doku Kültürü Nedir?, T.C. Tarım Orman ve Köy İşleri Bakanlığı, Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Yayın No:78, 1987.
42. M.Tabata, Transport and Secretion of Natural Products in Plant Cell Cultures, **Planta Med. (Supp.)**, 57(7) S21-S26 (1991).
43. Y.Fujita, Industrial Production of Shikonin and Berberine, Ciba Foundation Symposium 137, Wiley, Chichester, s. 228-238, 1988.
44. W.Kreis, E.Reinhard, The Production of Secondary Metabolites by Plant Cells Cultivated in Bioreactors, **Planta Med.**, 55, 409-415 (1989).
45. B.K.Cassels, E.Breitmaier, M.H.Zenk, Bisbenzylisoquinoline Alkaloids in *Berberis* Cell Cultures, **Phytochemistry**, 26(4) 1005-8 (1987).
46. S.Hou, X.Li, Y.Wu, T.Shong, L.Chen, H.Li, The Isolation and Identification of Jatrorrhizine from Cell Cultures of *Berberis julianae* Schneid, **Acta Botanica Sinica**, 30(1) 62-65 (1988).
47. V.Urmantseva, O.Gaevskaya, Yu.Popov, S.Yakimov, A.Miroshnikov, Protoberberine Alkaloids in *Thalictrum minus* L. Cell Suspension Culture, 44<sup>th</sup> Annual Congress on Medicinal Plant Research, Sept 3-7, 1996, Book of Abstract, Prague, 1996.
48. M.Amann, N.Nagakura, M.H.Zenk, Purification and Properties of (S)-Tetrahydroprotoberberine Oxidase from Suspension-Cultured Cells of *Berberis wilsoniae*, **Eur. J. Biochem.**, 175 (1) 17-25 (1988).
49. K.P.Tiwari, M.Masood, Alkaloidal Constituents of *Berberis concina* and *Berberis acanthifolium*, **Proc. Nat. Acad. Sci. India, Ser. A**, 47, 93, (1977).
50. H.Y.Lan, the Isolation of Isoquinoline Alkaloids and the Synthesis of Indenobenzazepine, **Diss. Abstr. Int. B**, 4557, 2160 (1985).
51. G.H.Lu, J.M.Chen, P.G.Xiao, Determination of Alkaloids in the Roots of *Berberis* Genus Plants By HPLC with Varied Wavelength, **Yao Hsueh Hsueh Pao**, 30 (4) 280-285 (1995).
52. K.Drost, M.Szauffer, Z.Kowalewski, Alkaloidy Rodzaju *Berberis* L. I Ich Działanie Farmacologiczne, **Referaty**, 301-307 (1968).
53. M.Shamma, M.Rahimizadeh, The Identity of Chileninone with Berberrubine. the Problem of True Natural Products vs Artifacts of Isolation, **J. Nat. Prod.**, 49(3) 398-405 (1986).

54. E.Valencia, I.Weiss, S.Firdous, A.J.Freyer, M.Shamma, A.Urzua, V.Fajardo, The Isoindolobenzazepine Alkaloids, **Tetrahedron**, 40(20) 3957-62 (1984).
55. J.J.Willaman, H.L.Li, Alkaloid-bearing Plants and Their Contained Alkaloids, 1957-1968, **Lloydia**, 33S, 1-286 (1970).
56. Z.G.Ma, Q.Wang, M.P.Liu, Pharmacognostic Studies on the Bark of Genus *Berberis* from Gansu Province, China, **Chung Ts'ao Yao**, 23(10) 539-541 (1992).
57. M.Rueffer, M.H.Zenk, Columbamine, the Central Intermediate in the Late Stages of Protoberberine Biosynthesis, **Tetrahedron Lett.**, 27(8) 923-4 (1986).
58. M.M.Yusupov, A.Karimov, R.Shakirov, P.G.Gorovoi, M.F.Faskhutdinov, M.G.Levkovich, N.D.Abdullaev, *Berberis* alkaloids. XXVI. Alkaloids of *Berberis amurensis*, **Khim. Prir. Soedin.**, (3) 401-404 (1993).
59. H.Tang, Z.L.Ma, Extraction of Berberine by Liquid Surfactant Membrane from Liquor of Amur Barberry (*Berberis amurensis*), **Chin. Trad. Herbal Drugs**, 20, 67-68 (1989).
60. H.Dong, Effects of Storage Time on the Berberine Content in *Berberis amurensis* Rupr., **Chung Yao Tung Pao**, 12(9) 19-20 (1987).
61. H.Dong, Effect of Storage Time on Content of Berberine In *Berberis amurensis* Rupr., **Chung Yao T'ung Pao**, 12(9) 531-532 (1987)
62. G.S.Liu, B.Z.Chen, W.Z.Song, P.G.Xiao, Comprehensive Application of *Berberis poiratii*- Therapeutical Value of Berbamine and its Content in 22 species of *Berberis*, **Chih. Wu Hsueh Pao**, 20(3) 255-259 (1978).
63. Kh.Yu.Yusufbekov, Kh.Sh.Khusainova, Yu,D.Sadykov, O.A.Aknazarov, T.V.Poryadina, Alkaloids of the Fruits of Some *Berberis* L. Species Introduced in the Pamir Botanical Garden, **Dokl. Akad. Nauk Tadzh. USSR**, 28(12) 712-15 (1985). C.A: 105: 3564j (1986)
64. Y.Kondo, Organic and Biological Aspects of Berberine Alkaloids, **Heterocycles**, 4(1) 197-219 (1976).
65. J.J.Willaman, B.G.Schubert, Alkaloid Bearing Plants and Their Contained Alkaloids, USDA, Tech. Bull. 1234, Supt. Documents, Govt. Printing office, Washington DC, 1961.
66. M.Ikram, A Review on the Chemical and Pharmacological Aspects of Genus *Berberis*, **Planta Med.**, 28 (4) 353-358 (1975).
67. T.Yamagishi, M.Mori, Y.Kinoshita, S.Honma, Studies on the Exploitation of Crude Drugs Produced in Hokkaido. II. The Existence of Berberine Alkaloids in *Berberis amurensis* Rupr. var. *japonica* (Regel) Rehd., **Hokkaidoritsu Eisei Kenkyusho Ho**, 26, 102-104 (1976). C.A: 086: 52694z (1977)
68. P.Lukic, R.Nikolic, M.Gorunovic, Comparative Pharmacognostic Study of *Berberis* (Barberry) *vulgaris* and *Berberis aquifolium*, **Acta Pharm. Jugosl.**, 22, 19-24 (1972). C.A: 76:158252n (1972)
69. Atta-ur-Rahman, A.A.Ansari, Alkaloids of *Berberis aristata*- Isolation of Aromoline and Oxyberberine, **J. Chem. Soc. Pak.**, 5(4) 283-4 (1983).

70. N.N.Rahman, H.A.B.M. Anwar, M.D.Ilyas, Interaction of Berberine with Bovine Serum Albumin, **J. Bangladesh Academy**, 13(2) 197-202 (1989).
71. P.Chandra, A.N.Purohit, Berberine Contents and Alkaloid Profile of *Berberis* Species from Different Altitudes, **Biochem. Syst. Ecol.**, 8(4) 379-80 (1980).
72. N.K.Dutta, P.H.Marker, N.R.Rao, Berberine in Toxin Induced Experimental Cholera, **Brit. J. Pharmacol.**, 44, 153 (1972).
73. D.C.Sharda, Berberine in the Treatment of Diarrhoea in Infancy and Childhood, **J. Indian Med. Ass.**, 54, 22-24 (1970).
74. R.V.Gaitonde, U.V.Bhat, TLC-Spectrophotometric Determination of Alkaloid Berberine from Marketed Tablet Formulation of *Berberis aristata* DC., **Adli Tip Derg.**, 4 (1/2) 11-13 (1988). C.A: 110: 45000f(1988)
75. M.Sabir, M.H.Akhter, N.K.Bhide, Further Studies on Pharmacology of Berberine, **Indian J. Physiol. Pharmacol.**, 22, 9 (1978).
76. G.Blasko, M.Shamma, A.A.Ansari, Atta-Ur-Rahman, Taxilamine, A Pseudobenzylisoquinoline Alkaloid, **Heterocycles**, 19(2) 257-9 (1982).
77. G.K.Munshi, S.K.Das, TLC and UV Spectrophotometric Studies on Some Indian *Berberis*, **Indian Drugs Pharm. Ind.**, 14 (2) 17-18 (1979).
78. D.S.Bhakuni, A.Shoeb, S.P.Popli, Studies in Medicinal Plants: Part I- Chemical Constituents of *Berberis asiatica* Roxb., **Indian J. Chem.**, 6 (2) 123 (1968).
79. M.Mizuno, T.Tanaka, T.Namba, S.Takanashi, A Botanical Origin and Berberine Content of Indo-Ohbaku (*Berberis asiatica*), **Shoyakugaku Zasshi**, 39 (1) 71-75 (1985).
80. N.Chasquibol, S.G.Oviedo, *Berberis berbeyana* Schneid, A Source of Berberine, **Bol. Sci. Quim. Peru**, 53 (4) 225-227 (1987). C.A: 109: 146294g (1988)
81. H.Hinz, M.H.Zenk, Production of Protoberberine Alkaloids by Cell Suspension Cultures of *Berberis* Species, **Naturwissenschaften**, 68 (12) 620-1 (1981). C.A: 096:31665g (1982)
82. J.F.Weber, E.M.Le Ray, J.Bruneton, A.Fournet, Alkaloidal Content of Four *Berberis* Species. Structure of Berberilaurine, A New Bisbenzyltetrahydroisoquinoline, **J. Nat. Prod.**, 52 (1), 81-4 (1989).
83. S.F.Hussain, M.T.Siddiqui, L.Khan, A.J.Freyer, H.Guinaudeau, M.Shamma, Berbamine 2'- $\beta$ -N-Oxide, a New Bisbenzylisoquinoline from *Berberis brandisiana*, **J. Nat. Prod.**, 49(3) 538-9 (1986).
84. J.E.Leet, Alkaloids of the Berberidaceae, **Diss. Abstr. Int. B**, 44(5) 1458-9 (1983).
85. V.Fajardo, M.Garrido, B.K.Cassels, Calafatimine, a New Imino Bisbenzylisoquinoline Alkaloid, **Heterocycles** 15, 1137-113 (1981)
86. S.Wu, Determination of Berberine Content In *Berberis kansuensis* Scheneid, **Huaxue Shijie**, 28(1) 25-27, 1987. C.A: 106:143853y (1987)
87. V.Fajardo, A.Urzua, B.K.Cassels, Calafatine, an Unusual Bisbenzylisoquinoline Alkaloid, **Heterocycles**, 15(2) 1137-9 (1981).

88. F.A.Hussaini, A.Shoeb, Isoquinoline Derived Alkaloids from *Berberis chitria*, **Phytochemistry**, 24(3) 633 (1985).
89. S.A.E.Hakim, V.Mijovic, J.Walker, Distribution of Certain Poppy-Fumaria Alkaloids and A Possible Link with the Incidence of Glaucoma, **Nature** (London) 189, 198-201 (1961).
90. M.P.Dobhal, V.K.Goel, B.C.Joshi, Chemical Investigation of *Berberis chitria* Ham. Isolation and Characterization of Some Isoquinoline Alkaloids, **Pharmazie**, 4(9) 659-60 (1988).
91. R.S.Gupta, V.P.Dixit, Testicular Cell Population Dynamics Following Palmitine Hydroxide Treatment in Male Dogs, **J.Ethnopharmacol.**, 25(2) 151-157 (1989).
92. R.Torres, L.Villarroel, A.Urzua, V.Fajardo, Constituents of *Berberis congestiflora* and *Berberis horrida*, **Fitoterapia**, 63(4) 376 (1992).
93. H.Guinaudeau, M.Leboeuf, A.Cave, Aphorphanoid Alkaloids, III, **J. Nat. Prod.**, 46(6) 761-835, 1983.
94. B.Çubukçu, *Berberis* Türlerinde Berberin'in Spektrofotometrik Miktar Tayini, **İst. Ecz. Fak. Mec.**, 11, 82-88 (1975).
95. B.Çubukçu, Les Alcaloides Quaternaires De *Berberis crataegina* DC. Et De *B. cretica* L., **Plantes Méd. Phytothér.**, II(4) 272-280 (1968).
96. M.Koşar, M.V.Telezhenetskaya, I.Khamidov, K.H.C.Başer, Alkaloids of *Berberis crataegina*, **Khim. Prir. Soedin.**, (1) 106-107 (1996).
97. J.E.Leet, V.Fajardo, A.J.Freyer, M.Shamma, Some Dimeric Benzylisoquinoline Alkaloids with an Unusual Oxygenation Pattern, **J. Nat. Prod.**, 46(6) 908-12 (1983).
98. S.A.Ross, T.Gözler, A.J.Freyer, M.Shamma, B.Çubukcu, Corydinemethine: A New Phenanthrene Alkaloid from *Berberis cretica*, **J. Nat. Prod.**, 49(1) 159-62 (1986).
99. K.P.Tiwari, M.Masood, Chemical Constituents of *Berberis coriaria* Royle, **J. Indian Chem. Soc.**, 56, 310-311 (1979).
100. J.Petricic, Z.Kalodera, I.Sugar, *Berberis croatica*: Isolation of Berberine from Root Cortex, Determination of Contents Relative to Dried Material, **Farm. Glas.**, 46, 219-222 (1990).
101. E.Valencia, V.Fajardo, A.J.Freyer, M.Shamma, Magallenesine: An Isoindolobenzazocine Alkaloid, **Tetrahedron Lett.**, 26(8) 993-996, (1985).
102. A.Urzua, R.Torres, L.Villarroel, V.Fajardo, Secondary Metabolites of *Berberis darwinii*, **Rev. Latinoam. Quim.**, 15(1) 27-9 (1984). C.A: 101: 51751g (1984)
103. B.T.Cromwell, Experiments on the Origin and Function of Berberine in *Berberis darwinii*, **Biochem. J.**, 27, 860 (1933).
104. P.Petcu, Contributions on the Phytochemistry of *Berberis dielsiana*, **Planta Med.**, 16(4) 421-425 (1968).
105. V.Fajardo, V.Elango, B.K.Cassel, M.Shamma, Chilenine: An Isoindolobenzazepine Alkaloid, **Tetrahedron Lett.**, 23(1) 39-42 (1982).

106. V.Fajardo, A.Leon, M.C.Loncharic, V.Elango, M.Shamma, B.K.Cassels, Alkaloids Present in *Berberis empetrifolia*, **Bol. Sci. Chil Quim.**, 27(2) 159-161 (1982) C.A: 096: 214302f (1982)
107. M.P.Cava, T.A.Reed, J.L.Beal, An Efficient Separation of the Common Alkaloids of the Berberine Group: the Isolation and Characterization of Columbamine, **Lloydia**, 28(1) 73-83 (1965).
108. A.G.Gonzalez, J.L.Breton, R.A.Nieto, Alkaloids from *Berberis glauca*, **An. Quim., Ser. C**, 80(2) 187-9 (1984). C.A: 102: 75715v (1985)
109. A.Karimov, M.F.Faskhutdinov, N.D.Abdullaev, M.G.Levkovich, E.G.Mil'grom, Ya.V.Rashkes, R.Shakirov, *Berberis* Alkaloids. XXXII. Berberal, A New Alkaloid from *Berberis heterobotrys*, **Khim. Prir. Soedin.**, (6) 869-873 (1993).
110. A.Karimov, N.D.Abdullaev, R.Shakirov, *Berberis* Alkaloids. XVI. Structure of Berpodine, **Khim. Prir. Soedin.**, (2) 264-267 (1993).
111. A.Karimov, A.B.Butavarov, M.M.Yusudov, R.T.Mirzamatov, R.S.Shakirov, *Berberis* Alkaloids. XIII. An Investigation of the Alkaloids of *Berberis heteropoda*, **Chem. Nat. Comp.**, 28(5) 523-524 (1993).
112. M.M.Yusupov, A.Karimov, M.G.Levkovich, N.D.Abdullaev, R.Shakirov, *Berberis* Alkaloids. XVII. Alkaloids of *Berberis heteropoda*, **Khim. Prir. Soedin.**, (1) 53-59 (1993).
113. V.Fajardo, C.Carcamo, B.Moreno, Ilicifoline: New Berberine Dimer Alkaloid from *Berberis ilicifolia*, **Heterocycles**, 43(5) 949-952 (1996). C.A: 125: 5517h (1996)
114. A.Karimov, R.Shakirov, *Berberis* Alkaloids. XX. Alkaloids of *Berberis iliensis*, **Khim. Prir. Soedin.**, (1) 83-84 (1993).
115. J.C.Gupta, B.S.Kahali, General Pharmacology of Umbellatine, A New Alkaloid Isolated from *Berberis umbellata* and *Berberis insignis* and its Use in the Treatment of Oriental Sore, **Indian J. Med. Res.**, 32, 53 (1944).
116. A.Karimov, S.Meliboev, V.Olimov, R.Shakirov, *Berberis* Alkaloids. XXX. Dynamics of Alkaloid Accumulation in *Berberis integerrima* and *B. nummularia*, **Khim. Prir. Soedin.**, (3) 472-473 (1993).
117. A.Karimov, M.V.Telezhenetskaya, K.L.Lutfullin, S.Yu.Yunusov, *Berberis* Alkaloids. the New Alkaloid Oblongamine, **Khim. Prir. Soedin.**, (1) 80-83 (1977).
118. A.Karimov, M.V.Telezhenetskaya, K.L.Lutfullin, S.Yu.Yunusov, Alkaloids of Three *Berberis* Species, **Khim. Prir. Soedin.**, (4) 558-559 (1976).
119. M.Hardon-Ur-Rashid, M.N.Malik, Composition of Alkaloids in Some *Berberis* Species, **Pak. J. For.**, 22(1) 43-47 (1972).
120. P.K.Hsiao, Y.S. Feng, K.C.Hsia, S.C.Ling, S.C.Feng, Y.H.Chen, Search for Biologically Active Substances in Chinese Medicinal Plants. New Sources of Five Medicinal Alkaloids, **Chih Wu Hsueh Pao**, 15, 64-70 (1973).
121. B. Brazdovicova, D.Kostalova, J.Tomko, Alkaloids of *Berberis julianae*, **Abstr. Proc. Conf. Med. Pl.** (Marienbad) 1975, 11 (1975).

122. D.Kostalova, B.Brazdovicova, J.Tomko, Alkaloids from *Berberis julianae* Schneid., **Chem. Zvesti**, 30(2) 226-8 (1976). C.A: 086: 185942a (1977)
123. B.Brazdovicova, D.Kostalova, A.Zubakova, Phytochemical Investigation of the Species *Berberis julianae*, **Cesk Farm.** 26, 131 (1977).
124. D.Kostalova, B.Brazdovicova, J.Tomko, Pakistanamine, the Main Alkaloid from Seeds of *Berberis julianae* Schneid., **Chem. Zvesti**, 32(5) 706-709 (1978). C.A: 091: 20853n (1979)
125. B.Brazdovicova, D.Kostalova, J.Slavik, J.Tomko, Alkaloids of *Berberis julianae*, **Chem.Zvesti**, 29(2) 265-268 (1975). C.A: 083: 40223v (1975)
126. B.Brazdovicova, D.Kostalova, A.Zubakova, Phytochemical Study of the *Berberis julianae* Schneid Speies, **Cesk. Farm.**, 26(4) 131-132 (1977). C.A: 087: 81269r (1977)
127. M.Vincurova, B.Brazdovicova, D.Kostalova, Effect of Berberine Chloride and Jatrorrhizine Iodide on the Growth of *Mycobacteria in vitro*, **Farm. Obz.**, 46, 543-548 (1977). C.A: 89:209705r (1977)
128. H.Y.Cai, J.K.Weil, X.G.Yu, Conditions for Berberine Extraction from *Berberis kansuensis* Schneid by Using Orthogonal Experimental Design, **Zhongguo Yaoxue Zasshi**, 28(1) 36-37 (1993). C.A: 118: 219598q (1993)
129. D.Kostalova, B.Brazdovicova, Y.J.Hwang, Alkaloids from the Above Ground Parts of *Berberis koreana* Palib, **Farm. Obz.**, 51(4) 213-216 (1982).
130. S.J.Yoo, K.B.Lee, J.H.Kwak, Studies on the Seasonal Variation of Berberine Contents in *Berberis koreana*, **Korean J. Pharmacog.**, 17(2) 123-128 (1986).
131. V.Hrochova, D.Kostalova, Alkaloids of the Underground Part of *Berberis koreana* Palib, **Cesk. Farm.**, 41(2) 37-9 (1992). C.A: 117: 66666n (1992)
132. R.Chatterjee, A. Banerjee, Plant Alkaloids. Part V. *Berberis lambertii*, **Jour. Indian Chem. Soc.**, 30(10) 705-707 (1953).
133. M.R.Falco, DeJ.X. Vries, De A.G.Brevetto, Z. Maccio, S. Rebuffo, I.R.C. Bick, Two New Alkaloids from *Berberis laurina* Billb., **Tetrahedron Lett.**, 16, 1953-1959 (1968).
134. H.Guinaudeau, A.J.Freyer, M.Shamma, Spectral Characteristics of the Bisbenzylisoquinoline Alkaloids, **Nat. Prod. Rep.**, 477-488 (1986).
135. C.Stellfeld, *Berberis* Laurine as A Substitute for *Hydrastis canadensis*, **Trib. Farm.**, 2, 142 (1934).
136. G.A.Miana, Tertiary Dihydroprotoberberine Alkaloids of *Berberis lycium*, **Phytochemistry**, 12(7) 1822-3 (1973).
137. M.Ikram, M.Ehsanul, S.A.Warsi, Alkaloids of *Berberis lycium* Royle-I, **Pak. J. Sci. Ind. Res.**, 9(4) 343-346 (1966).
138. S.M.A.Zaidi, A.Hanan, Pharmacological Studies on Berbericine: An Alkaloid of *Berberis lycium*, **Pak. J. Med. Res.**, 6, 50 (1967).
139. M.N.Ali, A.A.Khan, Pharmacognostic Studies of *Berberis lycium* and its Importance as a Source of Raw Material for the Manufacture of Berberine in Pakistan, **Pak. J. For.**, 28, 25 (1978). C.A: 90:43706k (1978)

140. A. Karimov, R.Shakirov, Berberis Alkaloids. XXV. Structures of Bernumidine and Bernumicine, **Chem. Nat. Comp.** 29(3) 335-337 (1993).
141. A.Karimov, K.L.Lutfullin, Berberis Alkaloids. 2'-N-Methylisotetrandrine from *Berberis oblonga*, **Khim. Prir. Soedin.**, (2) 249-51 (1986).
142. A.Karimov, R.S.Shakirov, Berberis Alkaloids.XIV. Dynamics of the Accumulation of Alkaloids in *Berberis oblonga*, **Chem. Nat. Comp.**, 28(5) 524-525 (1993).
143. A.Karimov, M.V.Telezhenetskaya, K.L.Lutfullin, S.Yu.Yunusov, Alkaloids of *Echium vulgare* and *Berberis oblonga*, **Khim. Prir. Soedin**, (3) 433-434 (1975).
144. T.R.Govindachari, Protoberberine Alkaloids, **J. Indian Chem. Soc.**, 57, 353-358 (1980).
145. M.Tamas, E.Fagarasan, M.Bojita, C.Deliu, Methods for the Analyses of Protoberberine Alkaloids *in vitro* Cells Cultures of *Berberis parvifolia* Sprague, **Clujul Med.**, 66(2) 200-6 (1993). C.A: 122: 248460b (1995)
146. G.A.Miana, M.Ikram, the Alkaloids of *Berberis petiolaris* Wall., **Pak. J. Sci. Ind. Res.**, 13(1-2) 49-51 (1970).
147. J.Pan, F.Yin, C.Shen, C.Lu, G.Han, Active Constituents of the Root of *Berberis poiretti.*, **Tianran Chanwu Yanjiu Yu Kaifa**, 1(2) 23-6 (1989). C.A: 116: 15770p (1992)
148. G.H.Zhou, C.L.Liu, Extraction of Berbamine and Jatrorrhizine from the Waste Liquid in Processing of Berberine., **Chung. Ts'ao Yao**, 11, 490-492 (1980).
149. M.Urzua, A.Alejandro, S.S.Espinoza, Alkaloids of *Berberis polymorpha*, **Rev. Latinoam. Quim.**, 19(3-4) 109-10 (1988).
150. Q.Li, J.Y.Yang, A.Cao, M.Zhao, Callus Culture of *Berberis pruinosa* and Berberine Content in Callus, **Yunnan Zhiwu Yanjiu**, 17(3) 325-330 (1995).
151. T.M.Seery, N.B.Raymond, A Contribution to the Pharmacology of Berberine, **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, 69, 64-67 (1940).
152. N.Pant, H.S.Garg, D.S.Bhakuni, Chemical Constituents of *Berberis pseudambalata*, **Fitoterapia**, 57(6) 427-8 (1986).
153. A.Karimov, M.G.Levkovich, N.D.Abdullaev, R.Shakirov, *Berberis* Alkaloids. XXIX. Alkaloids of *Berberis sibirica*, **Khim. Prir. Soedin.**, (3) 424-428 (1993).
154. Y.Mawashima, Studies on the Extraction of Plant Constituents. V. Extraction of Berberine from *Berberis thunbergii*, **Yakugaku-Zasshi**, 89(10) 1386-1391 (1969).
155. B.Brazdovicova, D.Kostalova, J.Tomko, H.Y.Jin, Isolation and Identification of Alkaloids from Fruits of *Berberis thunbergii* DC., **Chem.Zvesti**, 34(2) 259-62 (1980). C.A: 093: 91881x (1980)
156. I.Khamidov, A.Karimov, M.V.Telezhenetskaya, B.Tashkhodzhaev, *Berberis* Alkaloids. XXXV. *Berberis turcomanica*, **Khim. Prir. Soedin.**, (1) 107-109 (1996).

158. A.Karimov, M.G.Levkovich, N.D.Abdullaev, R.Shakirov, *Berberis* Alkaloids. XXIII. Structure of Turkberine, **Khim. Prir. Soedin.**, (1) 77-81 (1993).
159. I.Khamidov, M.Faskhutdinov, M.V.Telezhenetskaya, A.Karimov, M.G.Levkovich, N.D.Abdullaev, R.Shakirov, *Berberis* Alkaloids. XXXIV. Turkomanine, A New Alkaloid from *Berberis turkomanica*, **Khim. Prir. Soedin.**, (1) 74-76 (1996).
160. I.Khamidov, S.Aripova, M.V.Telezhenetskaya, M.F.Faskhutdinov, A.Karimov, I.Dzhepberov, *Berberis* Alkaloids XXXVI. Turcomanidine - A New Alkaloid from *Berberis turkomanica*, **Chem. Nat. Comp.** 32(6) 873-875 (1996).
161. J.Siwon, R.Verpoorte, G.F.A.Van Essen, A. Baerheim Svendsen, Studies on Indonesian Medicinal Plants III: the Alkaloids of *Coccoloba fenestratum*, **Planta Med.**, 38, 24-32 (1980).
162. P.Petcu, Phytochemische Untersuchungen an *Berberis virescens* Hook., **Pharmazie**, 21(1) 54-56 (1966).
163. S.Firdous, A.J.Freyer, M.Shamma, A.Urzua, ( $\pm$ )-Linaresine and ( $\pm$ )-Dihydrolinaresine. the Natural Conversion of Protoberberinium Salts Into Cularine Alkaloids, **J. Am. Chem. Soc.**, 106(20) 6099-6101 (1984).
164. A.Urzua, R.Torres, Constituents of *Berberis valdiviana*, **Fitoterapia**, 64, 378 (1993).
165. C.Liu, C.W.W.Beecher, A Benzylisoquinoline Alkaloid from *Berberis virgetorum*, **J. Nat. Prod.**, 58(7) 1100-1102 (1995).
166. E.Spath, N.Polgar, Quaternary Bases of *Berberis vulgaris*, **Monatsh. Chem.**, 52, 117-128 (1929). C.A: 23:4707 2 (1929)
167. Z.I.Gasanova, N.M.Ismailov, S.M.Aslanov, T.G.Gadzhieva, Isolation of Berberine and Dynamics of Accumulation of Alkaloids in Densely Flowering Barberry, **Deposited Doc. Viniti**, 9, 4018-84 (1984).
168. C.C.Velluda, T.Goina, I.Ticsa, P.Petcu, S.Pop, W.Csutak, Effect of *Berberis vulgaris* Extract, and of Berberine, Berbamine and Oxyacanthine on Liver and Bile Function, **Lucrarile Prezantate Conf. Natl. Farm. Bucharest 1958**, 351-(1958).
169. J. Slavik, L.Slavikova, Quaternary Isoquinoline Alkaloids and Some Diterpenoid Alkaloids in Plants of the Czech Republic, **Collect Czech Chem Commun**, 60(6) 1034-1041 (1995).
170. T.Goina, P.Petcu, M.Pitea, Extraction of an Alkaloid from *Berberis vulgaris*, **Rom.** 63,426 (Cl. A61k35/ 78), 30 Jan 1978, **Appl.** 77,672, 14 Feb 1974; 2pp.
171. Z.Supek, D.Tomic, Pharmacological and Chemical Investigations of Barberry (*Berberis vulgaris*), **Lijec Vjesn.**, 68, 16 (1946).
172. A.I.Tse'ko, E.Y.Ladygina, Use of Thin Layer Chromatography for Spectrophotometric Determination of Berberines in Plant Raw Material, **Farmatsiya (Moscow)**, 23(5) 27 (1974).
173. I.Khamidov, M.V.Telezhenetskaya, A.Karimov, R.Shakirov, *Berberis* Alkaloids. XXXIII. Alkaloids of *Berberis vulgaris*, **Khim. Prir. Soedin.**, (3) 503-504 (1995).

174. K.Drost-Karbowska, Z.Kowalewski, M.Szauffer, Determination of Protoberberine Alkaloid Complex in Various Organs of *Berberis vulgaris*, **Acta Pol. Pharm.**, 31(5) 683-687 (1974). C.A: 082: 121750w (1975)
175. N.Ivanovska, S.Philipov, Study on the Anti-Inflammatory Action of *Berberis vulgaris* Root Extract, Alkaloid Fractions and Pure Alkaloids, **Int J Immunopharmacol** 18(10) 553-561 (1996).
176. K.Drost-Karbowska, Z.Kowalewski, M. Szauffer, Search for An Economical Method for Isolation of Berberine from the Quarternary Ammonium Base System Occurring in *Berberis vulgaris*, **Ann. Pharm. (Poznan)**, 12, 113 (1977). C.A: 087: 157071t (1977)
177. T.Goina, P.Petcu, M.Pitea, Composition for Treating Hepatobiliar Ailments, Patent-Rom-66,691, 2 (1979).
178. E.Domagalina, A.Smajkiewicz, Isolation of Magnoflorine and Columbamine from *Berberis vulgaris*, **Acta. Pol. Pharm.**, 28, 81-87 (1971).
179. M.Pitea, P.Petcu, T.Goina, N.Preda, Thin-Layer Chromatographic Studies of Alkaloids from *Berberis vulgaris*, **Planta Med.**, 21, 177-181 (1972).
180. E.R.Schulz, Berberine in the Common Barberry (*Berberis vulgaris*), **J. Amer. Pharm. Ass.**, 15, 33-39 (1926). C.A: 20:3212 4 (1926)
181. A.I.Tses'ko, E.I.Ladygina, Quantitative Determination of Berberine in *Berberis vulgaris* L., **Farmatsia**, 20(2) 28-30 (1971). C.A: 075:9907g (1971)
182. P.Petcu, T.Goina, New Methods for Extraction of Alkaloids from *Berberis vulgaris*, **Planta Med.**, 18(4) 372-375 (1970).
183. S.Pepeljnjak, J.Petricic, The Antimicrobial Effect of Berberine and Tinctura Berberidis, **Pharmazie**, 47(4) 307-308 (1992).
184. M.M.Yusupov, A.Karimov, K.L.Lutfullin, Alkaloids of *Berberis vulgaris*. XII, **Chem Nat Comp** 26(1) 105-106 (1990).
185. V.Hrochova, D.Kostalova, Alkaloids of *Berberis wilsoniae* Hemsl. Et Wils., **Cesk. Farm.**, 34(10) 412-14 (1985).
186. M.Ikram, F.Khan, Chemical Investigation of *Berberis zebelliana*, **Pak. J. Sci. Ind. Res.**, 21(3-4) 121 (1978).
187. M.Ikram, F.Khan, Chemical Investigation of *Berberis zebelliana*, **Planta Med.**, 32(3) 212-213 (1977).
188. J.E.Foy, New Alkaloids of *Berberis baluchistanica* Ahrent and A Controlled Oxidation of Bisbenzylisoquinolines, **Diss. Abstr. Int. B**, 38(2) 686-687 (1977).
189. V.I.Dixit, Contraceptive-Like Properties of Certain Plant Materials in Male Presbytis Monkeys, **Contraceptive Delivery Systems**, 3(3) 300 (1982).
190. V.P.Dixit, Contraceptive-Like Properties of Certain Plant Materials in Male Presbytis Monkeys, **Arch. Androl.**, 9(1) 28 (1982).
191. A.K.Chauhan, M.P.Dobhal, Characterization of a New Alkaloidal from the Roots of *Berberis chitria*. Part 2, **Pharmazie**, 44(7) 510 (1989).

192. Anon, Correlation Between Phylogeny, Chemical Constituents and Pharmaceutical Aspects of Plants and Their Constituents in Drug Research, **Chih Wu Hsueh Pao**, 19, 257-262 (1977).
194. S.Firdous, A.J.Freyer, M.Shamma, Atta-Ur-Rahman, A.Urzua, Bridged Protoberberine Alkaloids, **J. Chem. Soc., Chem. Commun.**, (20) 1371-3 (1984).
195. C.X.Liu, P.G.Xiao, G.S.Liu, Studies on Plant Resources, Pharmacology and Clinical Treatment with Berbamine, **Phytotherapy Res.**, 5, 228-230 (1991).
196. P.L.Schiff, Bisbenzylisoquinoline Alkaloids, **J. Nat. Prod.**, 46(1) 1-43 (1983).
197. R.Torres, F.Delle Monache, G.B.Mariri-Bettolo, Biogenetic Relationships Between Lignans and Alkaloids in *Berberis* Genus. Lignans and Berbamine from *Berberis chilensis*, **Planta Med.**, 37, 32-36 (1979).
198. G.S.Liu, B.Z.Chen, Determination of Berbamine Content in *Berberis* Species, **Yao Hsueh T'ung Pao**, 16(2) 7-8 (1981). C.A: 95:138691u (1981)
199. D.R.Schroeder, Isolation and Biomimetic Synthesis of Bishordeninyl Terpene Alkaloids from *Zanthoxylum procerum*, **Diss. Abstr. Int. B**, 47(2) 636 (1986)
200. B.Moreno-Murillo, C.M.De Morgensztern, Z.J.E.Luque, M.V.Fajardo, Bisbenzylisoquinoline Alkaloids Isolated from a Native Species *Berberis glauca* and Evaluation of its Antifeeding Activity, **Rev. Colomb. Quim.**, 24(1) 25-37 (1995). C.A: 123: 310302c (1995)
201. A.Karimov, B.Tashkhodzhaev, Ya.V.Rashkes, M.K.Makhmudov, E.G.Mil'grom, *Berberis* Alkaloids. XXI. Intebrine, A New Alkaloid from *Berberis integerrima*, **Khim. Prir. Soedin.**, (1) 65-70 (1993).
202. A.Karimov, V.I.Vinogradova, R.Shakirov, *Berberis* Alkaloids. XXII. Intebrinine and Intebrimine, New Alkaloids from *Berberis integerrima*, **Khim. Prir. Soedin.**, (1) 70-73 (1993).
203. F.S.Sadritdinov, Pharmacological Properties of Alkaloids from a *Berberis integerrima* Bunge Plant, **Med. Zh. Uzb.**, (2) 54-55 (1980). C.A: 092: 174599s (1980)
204. J.E.Leet, S.F.Hussain, R.D.Minard, M.Shamma, Sindamine, Punjabine and Gilgitine: Three New Secobisbenzylisoquinoline Alkaloids, **Heterocycles**, 19(12) 2355-60 (1982).
205. I.Khan, A.Qayum, Z.Qureshi, Study on the Hypotensive Action of Berbamine, an Alkaloid Isolated from *Berberis lycium*, **Life-Sci.**, 8(17) 993-1001 (1969).
206. A.Qayum, Some Pharmacological Actions of an Alkaloid Isolated from *Berberis lycium*, **Pak. J. Sci. Ind. Res.**, 10, 34-38 (1967).
207. J.E.Leet, V.Elango, S.F.Hussain, M.Shamma, Chenabine and Jhelumine: Secobisbenzylisoquinolines or Simple Isoquinoline-Benzylisoquinoline Dimers, **Heterocycles**, 20(3) 425-9 (1983).
208. A.Karimov, M.G.Levkovich, N.D.Abdullaev, R.Shakirov, *Berberis* Alkaloids. XXIV. Structure of Bernumine, **Khim. Prir. Soedin.**, (3) 394-397 (1993).
209. S.F.Hussain, L.Khan, K.K.Sadozal, M.Shamma, New Alkaloids from *Berberis orthobotrys*, **J. Nat. Prod.**, 44(3) 274-8 (1981).

210. Z.D.Zhou, C.H.Han, P.Wang, A Study on the Hypotensive Action and Mechanism of Berbamine Hydrochloride, *Yao Hsueh T'ung Pao*, 15, 248-250 (1980).
211. J.Liu, Extraction of Berbamine with Water, *Zhongguo Yaouxue Zashi*, 27(5) 290-291 (1992). C.A: 117: 198329q (1992)
212. D.S.Bhakuni, Biosynthesis, Aberrant Biosynthesis and Biogenetic Type Synthesis of Some Alkaloids of Indian Medicinal Plants, Proc. Fifth Asian Sym. on Med. Plants and Spices Seoul Korea August 20-24 1984, B.H.Han, D.S.Han, Y.N.Han, W.S.Woo, Eds. 5, 509-518, 1984.
213. P.Manolov, N.Nikolov, M.Markov, M.Toneva, Experimental Studies on *Berberis vulgaris*, *Eksp. Med. Morfol.*, 24(2) 41-5 (1985). C.A: 103: 189503a (1985)
214. Atta-Ur-Rahman, H.Ahmad, An Aporphine-Benzylisoquinoline Alkaloid from *Berberis waziristanica*, *Phytochemistry*, 31(5) 1835-1836 (1992).
215. K.W.Bentley,  $\beta$ -Phenylethylamines and the Isoquinoline Alkaloids, *Nat. Prod. Rep.*, 555-576 (1994).
216. G.A.Miana, J.E.Foy, R.D.Minard, M.Shamma, Baluchistine, A New Bisbenzylisoquinoline Alkaloid, *Experientia*, 35, 1137-1138 (1979).
217. R.Torres, F.Delle Monache, G.B.Marini-Bettolo, Bis(Benzylisoquinoline) Alkaloids from *Berberis chilensis* Gillies Ex Hook., *Gazz. Chim. Ital.*, 109(10-11) 567-9 (1979).
218. J.E.Leet, A.J.Freyer, R.D.Minard, M.Shamma, V.Fajardo, Stereochemistry of Bisbenzylisoquinoline N-Oxides. Calafatine 2 $\alpha$ -N-Oxide and Calafatine 2 $\beta$ -N-Oxide, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I*, (4) 651-2 (1984).
219. M.R.Falco, J.X. de Vries, Z.Maccio, I.R.C.Bick, Belarine, A New Bisbenzylisoquinoline Alkaloid, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 18, 1056-1057 (1971).
220. M.R.Falco, J.X. de Vries, Z.Maccio, I.R.C.Bick, Alkaloids of *Berberis laurina* Billb. II. Two New Phenolic Biscoclaurine Alkaloids, *Experientia*, 25(12) 1236-1237 (1969).
221. E.Ölmez, M.İlhan, Evaluation of the  $\alpha$ -Adrenoceptor Antagonistic Action of Berberine in Isolated Organs, *Arzneim.-Forsch.*, 42(9) 1095-7 (1992).
222. A.Karimov, M.V.Telezhenetskaya, K.L.Lutfullin, S.Yu.Yunusov, *Berberis* Alkaloitleri. *Berberis oblonga'* daki 2'-N-metilberbamin, *Khim. Prir. Soedin*, (2) 227-231 (1978).
223. H.Guinaudeau, B.K.Cassels, M.Shamma, The Use of Nuclear Magnetic Resonance Nuclear Overhauser Enhancements In the Structural Elucidation of Bisbenzylisoquinoline Alkaloids, *Heterocycles*, 19(6) 1009-1012 (1982).
224. M.Shamma, J.E.Foy, G.A.Miana, Baluchistanamine. Novel Type Dimeric Isoquinoline Alkaloid, *J. Am. Chem. Soc.*, 96(25) 7809-7811 (1974).
225. S.F.Hussain, M.T.Siddiqui, M.Shamma, Berbidine: A Simple Isoquinoline-Isoquinolone Dimer, *J. Nat. Prod.*, 52(2) 317-19 (1989).

226. B.D.Krane, M.Shamma, The Isoquinoline Alkaloids, **J. Nat. Prod.**, 45(4) 377-384 (1982).
227. H.Guinaudeau, M.Leboeuf, A.Cavé, Dimeric Aporphinoid Alkaloids III (Review), **J. Nat. Prod.**, 51(6) 1025-1053 (1988).
228. I.Weiss, A.J.Freyer, M.Shamma, A.Urzua, the Stereochemistry at C-13 for the Proaporphine Alkaloids, **Heterocycles**, 22(10) 2231-5 (1984).
229. M.Shamma, J.L.Moniot, S.Y.Yao, G.A.Miana, M.Ikram, Pakistanine and Pakistanamine; Two New Dimeric Isoquinoline Alkaloids, **J.Amer. Chem. Soc.**, 95(17) 5742-7 (1973).
230. S.F.Hussain, M.T.Siddiqui, M.Shamma, Khyberine and the Biogenesis of Dimeric Aporphine-Benzylisoquinoline Alkaloids, **Tetrahedron Lett.**, 21(48) 4573-6 (1980).
231. H.Guinaudeau, V.Elango, M.Shamma, V.Fajardo, Importance of Steric Factors in the Conversion of Proaporphines Into Aporphines. Stereochemistry of the Dienone-Phenol and Dienone-Benzene Rearrangements, **J. Chem. Soc. Chem. Commun.**, 1122, 1125 (1982).
232. S.F.Hussain, V.Fajardo, M.Shamma, (-)-Natalamine, an Aporphinoid Alkaloid from *Berberis empetrifolia*, **J. Nat. Prod.**, 52(3) 644-5 (1989).
233. A.Urzua, R.Torres, B.K.Cassels, V.Fajardo, Proaporphine-1-Benzyltetrahydroisoquinolines in *Berberis hakeoides* Twigs, **Rev Latinoamer Quim**, 16(2/3) 66-68 (1985).
234. S.F.Hussain, L.Khan, M.Shamma, Chitraline and 1-O-methylpakistanine, two Aporphine- Benzylisoquinoline Alkaloids, **Heterocycles**, 15(1) 191-4 (1981).
235. S.F.Hussain, M.Shamma, Kalashine, A Novel Type Aporphine-Benzylisoquinoline Alkaloid, **Tetrahedron Lett.**, 21(35) 3315-18 (1980).
236. S.Firdous, E.Valencia, M.Shamma, A.Urzua, V.Fajardo, Three New Dimeric Aporphinoids from *Berberis* Species, **J. Nat. Prod.**, 48(4) 664-6 (1985).
237. B.Gözler, M.Shamma, Cularine, Cancentrine and Quettamine Alkaloids, **J. Nat. Prod.**, 47(5) 353-374 (1984).
238. M.H.Abu Zarga, New Aspects of Isoquinoline Alkaloid Chemistry, **Diss. Abstr. Inter. B**, 42(10) 4060 (1982).
239. M.H.A.Zarga, G.A.Miana, M.Shamma, the Quettamines: A New Class of Isoquinoline Alkaloids, **Tetrahedron Lett.**, 22(6) 541-4 (1981).
240. M.Rahimizadeh, Isolation and Structural Elucidation of the First Known C-Homoprotoberberine, **J. Sci. Islamic Repub. Iran**, 7(3) 172-176 (1996). C.A: 125: 323013a (1996)
241. A.Karimov, R.Shakirov, Berberis Alkaloids: XXV. Structure of Bernumidine and Bernumicine, **Khim. Prir. Soedin.**, (3) 397-401 (1993).
242. I.I.Khamidov, S.F.Aripova, M.V.Telezhenetskaya, A.K.Karimov, *Berberis* Alkaloids. XXXVIII. Turcamine - A New Isoquinoline Alkaloid from *Berberis turcomanica*, **Chem. Nat. Comp.** 32(6) 880-881 (1996)

243. I.Weiss, A.J.Freyer, M.Shamma, A.Urzua, Aconcaguine: An Isoquinoline-Derived Alkaloid from *Berberis actinacantha*, **J. Chem. Soc., Chem. Commun.**, (1) 3-4 (1985).
244. H.Guinaudeau, M.Leboeuf, A.Cavé, Aporphinoid Alkaloid IV, **J. Nat. Prod.**, 51(3) 389-474 (1988).
245. M.Shamma, H.Y.Lan, A.J.Freyer, J.E.Leet, A.Urzua, V.Fajardo, Chiloenamine and Chiloenine: Two Unusual Isoquinoline Derived Alkaloids. A New Insight into the Catabolism of Aporphines, **J. Chem. Soc., Chem. Commun.**, (15) 799-800 (1983).
246. I.Weiss, E.Valencia, A.J.Freyer, M.Shamma, V.Fajardo, Andesine: An Alkaloidal Naphtalenopyrone, **Heterocycles**, 23(2) 301-3 (1985).
247. E.Valencia, A.Ratra, A.J.Freyer, M.Shamma, Santiagonamine: A New Aporphinoid Alkaloid Incorporating A Phenantridine Skeleton, **Tetrahedron Lett.**, 25(30) 3163-3166 (1984).
248. S.Sepulveda-Boza, E.Friedrichs, H.Puff, U.E.Breitmaier, An Iso-Homoprotoberberin-Alkaloid from the Roots of *Berberis actinacantha*, **Planta Med.** 49(1) 32-35 (1983).
249. M.Rahimizadeh, Dehydropuntarenine and Dehydrosaulatine: Two New Isoquinoline Alkaloids from Roots of *Berberis actinacantha*, **J. Sci., Islamic Repub. Iran**, 1(5) 364-6 (1990). C.A: 116: 231903 b (1992)
250. E.Valencia, A.J.Freyer, M.Shamma, V.Fajardo, ( $\pm$ )-Nuevamine, An Isoindoloisoquinoline Alkaloid, and ( $\pm$ )-Lennoxamine, an Isoindolobenzazepine, **Tetrahedron Lett.**, 25(6) 599-602 (1984).
251. V.Fajardo, V.Elango, S.Chattopadhyay, L.M.Jackman, M.Shamma, Puntarenine: An Unusual Isoquinoline Alkaloid, **Tetrahedron Lett.**, 24(2) 155-158 (1983).
252. M.Rahimizadeh, Two New Pseudobenzylisoquinoline Alkaloids: Berbithine and Dihydrtoxilamine, **Planta Med.**, (4) 339 (1986).
253. E.Valencia, I.Weiss, M.Shamma, A.Urzua, V.Fajardo, Dihydrorugosinone, A Pseudobenzylisoquinoline Alkaloid from *Berberis darwinii* and *Berberis actinacantha*, **J. Nat. Prod.**, 47(6) 1050-1051 (1984).
254. M.H.A.Zarga, G.A.Miana, M.Shamma, Gandharamine; A New Benzylisoquinoline Alkaloid from *Berberis baluchistanica*, **Heterocycles**, 18, 63-65 (1982).
255. A.Karimov, M.V.Telezhenetskaya, K.L.Lutfullin, S.Yu.Yunusov, Alkaloids from *Berberis integerrima*, **Khim. Prir. Soedin.**, (3) 419 (1978).
256. A.Karimov, N.D.Abdullaev, M.V.Telezhenetskaya, K.L.Lutfullin, S.Yu.Yunusov, Oblongine, A New Quaternary Alkaloid from *Berberis oblonga*, **Khim. Prir. Soedin.**, (1) 117-118 (1976).
257. A.Karimov, M.M.Yusupov, R.Shakirov, *Berberis* Alkaloids. XV. Structure of Bargustanine, **Khim. Prir. Soedin.**, (1) 44-47 (1993).

258. V.Fajardo, F.Podesta, M.Shamma, S.F.Hussain, Natalinine A New Oxidized Dimeric Isoquinoline Alkaloid, *Rev. Latinoam. Quim.*, 16(2-3) 59-61 (1985). C.A: 104: 145471e (1986)
259. V.Fajardo, H.Guinaudeau, V.Elango, M.Shamma, Coyhaiquine: An Oxidized Proaporphine-Benzylisoquinoline Alkaloid. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1350-1352 (1982).
260. V.Fajardo, F.Podesta, M.Garrido, A.Urzua, Coyhaiquinine: An Oxidized Proaporphine-Benzylisoquinoline Alkaloid, *Bol. Soc. Chil. Quim.*, 30(2) 51-3 (1985). C.A: 104: 145455c (1986)
261. O.N.Tolkachev, E.P.Nakova, R.P.Evstigneeva, Bis(Benzylisoquinoline) Alkaloids, *Khim. Prir. Soedin.*, (4) 451-484 (1977).
262. K.P.Guha, B.Mukherjee, R.Mukherjee, Bisbenzylisoquinoline Alkaloids- A Review, *Lloydia*, 42(1) 1-84 (1979).
263. V.Fajardo, C.Prats, M.Garrido, Secondary Metabolites of *Berberis empetrifolia*, *Contrib. Cient. Technol.*, 11, 61-65 (1981)
264. D.S.Singh, S.S.Gupta, S.A.Ansari, R.H.Singh, Comparative Study of Ayurvedic Drugs *Picrorrhiza kurroa* (Kutki) and *Berberis aristata* (Daru Haridra) In Acute Viral Hepatitis at Varanasi (India), *J. Research and Education in Indian Medicine*, 10(4) 1-4 (1991).
265. Y.N.Nuraliev, Some Antelmintic Properties of Preparations of Barberry (*Berberis heterobotrys* Wolf.), *Med. Parazitol. Parazit Bolezni*, 37, 111-112 (1968).
266. A.Fournet, A.Barrios, V.Munoz, R.Hocquemiller, A.Cavé, Effect of Bisbenzylisoquinoline Alkaloids on American *Leishmania* Sp. In Balb/C Mice, *Phytoter. Res.*, 7, 281-284 (1993).
267. T.Dortunç, *Berberis crataegina* DC. ve *Berberis cretica* L. Polifenolik Bileşikleri Üzerinde Araştırmalar, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi Kürsüsü, İstanbul, 1979.
268. İ.Ertürk, *Berberis crataegina* DC. (Karamuk) Üzerinde Araştırmalar, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 1994.
269. K.H.C.Başer, G.Honda and W.Miki, Herb Drugs and Herbalists in Turkey, *Studia Culturae Islamica* 27, Tokyo, 1986.
270. N.K.Bhattarai, Folk Herbal Remedies of Sindhupalchok District, Central Nepal, *Fitoterapia*, LXIII(2) 145-155 (1992).
271. N.K.Bhattarai, Medical Ethnobotany in the Rapti Zone, Nepal, *Fitoterapia*, LXIV(6) 483-493 (1993).
272. A.Shiva, First Aid Remedies: Their Sources and Method of Uses, *MFP News-A Quarterly News Letter of the Centre of Minor Forest Products*, VIII(2) 14-15 (1998).
273. Atta-Ur-Rahman, Some Approaches to the Study of Indigenous Medicinal Plants, *Bull. Islamic Med.*, 2, 562-568 (1982).
274. J.A.Duke, E.S. Ayensu, Medicinal Plants of China, Reference Publications, Inc. Algonac, Michigan, 52-361, 1985.

275. Anon, Lilly's Handbook of Pharmacy and Therapeutics 5<sup>th</sup> Rev, Eli Lilly and Co., Indianapolis, 1898.
276. N.P.Manandhar, Ethnobotany of Jumla District, Nepal, **Int. J. Crude Drug Res.**, 24(2) 81-89 (1986).
277. N.P.Manandhar, An Ethnobotanical Survey of Herbal Drugs of Kaski District, Nepal, **Fitoterapia**, 65(1) 7-13 (1994).
278. L.P.Naidovich, E.A.Trutneva, O.N.Tolkachev, V.D.Vasileva, The Chemical Composition of Soviet Species of the Family Berberidaceae the Interrelationship of Chemical Structure and Pharmacological Activity, **Farmatsiya (Moskow)**, 25(4) 33-38, 1976.
279. R.B.Herbert, the Biosynthesis of Plant Alkaloids and Nitrogenous Microbial Metabolites, **Nat. Prod. Rep.**, 14(4) 359-372 (1997).
280. Y.X.Wang, X.J.Yao, Y.H.Tan, Effects of Berberine on Delayed Afterdepolarizations in Ventricular Muscles *in vitro* and *in vivo*, **J. Cardiovascular Pharmacology**, 23, 716-722 (1994).
281. M.A.Morales, L.R.Gallardo, J.L.Martinez, R.S.Puebla, D.A.Hernandez, Effects of 7-O-Demethylisothalicerine, a Bisbenzylisoquinoline Alkaloid of *Berberis chilensis*, on Electrical Activity of Frog Cardiac Pacemaker Cells, **Gen. Pharmacol.**, 20(5) 621-625 (1989).
282. M.A.Morales, E.Gonzales, R.Torres, J.L.Martinez, Cardiodepressor Effects of 7-O-demethylisothalicerine, Bisbenzylisoquinoline Alkaloid Isolated from *Berberis chilensis*, **Arch. Med. Res.**, 24(2) 177-181 (1993).
283. J.L.Martinez, R.Torres, M.A.Morales, Hypotensive Effect of O-methylisothalicerine, A Bisbenzylisoquinoline Alkaloid Isolated from *Berberis chilensis* on Normotensive Rats, **Phytother. Res.**, 11, 246-248 (1997).
284. A.H.Gilani, K.H.Janbaz, Preventive and Curative Effects of *Berberis aristata* Fruit Extract on Paracetamol- and CCl<sub>4</sub>- Induced Hepatotoxicity, **Phytother. Res.**, 9, 489-494 (1995).
285. K.Hashmi, A.Hafiz, *In vivo* Antibacterial Activity of *Berberis asiatica*, **J. Pak. Med. Assoc. (JPMA)**, 36(1) 5-7 (1986).
286. K.K.Pandya, V.D.Mody, S.Mangalan, D.K.Champaveri, R.B.Patel, Antimicrobial Efficacy of Herbinol: A Herbal Antiseptic Cream, **Ind. Drugs**, 27(3) 157-160 (1989).
287. M.P.Dobhal, Y.C.Joshi, *In vitro* Antimicrobial Efficacy of *Berberis chitria*, **Fitoterapia**, LXIII(1) 69-70 (1992).
288. M.P.Dobhal, G.S.Negi, B.C.Joshi, Chemical Investigation and Biological Activity of *Berberis chitria* 'Ham', **Himalayan Chem. Pharm. Bull.**, 5, 41-6 (1988). C.A: 110: 54463m (1989)
289. E.Andronescu, P.Petcu, T.Goina, A.Radu, Antibiotic Activity of the Extract and the Alkaloid Isolate from *Berberis vulgaris*, **Clujul Med.**, 46(3) 627-631 (1973). C.A: 081: 100062n (1974).
290. M.L.Lampert, C.Andenmatten, W.Schaffner, *Mahonia acuifolium* (Pursh) Nutt., **Zeitschrift Für Phytotherapie**, 19, 107-118 (1998).

291. J.R. August, Gastrointestinal Disorders of the Cat, *Vet. Clin. North. Am. Small. Anim. Pract.*, 13(3) 585-597 (1983).
292. S.Mandal, N.K.Sasmal, Histopathological Study on the Anticoccidial Efficacy of a Herbal Product-1hp-250c Against *E.tenella* Infection in Broiler Chicks, *Indian J. Indigenous Medicines*, 8(1) 9-19 (1991).
293. I.N.Nuraliev, on Some Antihelminthic Properties of Preparation of Barberry (*Berberis heterobotrys*) Wolf, *Med. Parazitol. Mosk.*, 37(1) 111-112 (1968).
294. Y.R.Sohni, P.Kaimal, R.M.Bhatt, The Antiamoebic Effect of a Crude Drug Formulation of Herbal Extracts Against *Entamoeba histolytica* *in vitro* and *in vivo*, *J. Ethnopharmacol.*, 45(1) 43-52 (1995).
295. T.Mukherjee, Herbal Drugs for Piles (Haemorrhoids): Literature Appraisal, *Ind. Drugs*, 26(12) 670-673 (1989).
296. R.P.Rastogi Ed., Compendium of Indian Medicinal Plants Volume 2 1970-1979, New Delhi, 97-99, 1991.
297. R.B.Sack, J.L.Froehlich, Berberine Inhibits Intestinal Secretory Response of *Vibrio cholerae* and *Escherichia coli* Enterotoxins, *Infect. Immun.*, 35(2) 471-475 (1982).
298. U.Khin-Maung, W.Nwe-Nwe, Effect of Berberine on Enterotoxin-Induced Intestinal Fluid Accumulation in Rats, *J. Diarrhoeal. Dis. Res.*, 10(4) 201-204 (1992).
299. M.F.Zhang, Y.Q.Shen, Antidiarrheal and Anti-Inflammatory Effects of Berberine, *Chung Kuo Yao Li Hsueh Pao*, 10(2) 174-176 (1989).
300. L.Li, F.Zhuang, D.Zhao, X.Li, Relaxation Effects of Berberine on the Isolated Rabbit Ileum, *Xi'an Yike Daxue Xuebao*, 15(3) 264-6 (1994). C.A: 122: 23642n (1995)
301. N.Pant, H.S.Garg, D.S.Bhakuni, Chemical Constituents of *Berberis pseudambalata*, *Fitoterapia*, 57(6) 427-428 (1987).
302. G.Mukherjee, S.Banerjee, A Clinical Study with a Herbal Preparation in Cases of Leucorrhoea, *Calcutta Medical J.*, 86(11-12) 133-138 (1989).
303. T.Tanaka, K.Metori, S.Mineo, M.Hirotsu, T.Furuya, S.Kobayashi, Inhibitory Effects of Berberine-Type Alkaloids on Elastase, *Planta Med.*, 59(3) 200-2 (1993).
304. T.Schmeller, B.Latz-Brüning, M.Wink, Biochemical Activities of Berberine, Palmatine and Sanguinarine Mediating Chemical Defence Against Microorganisms and Herbivores, *Phytochemistry*, 44(2) 257-266 (1997).
305. Y.Kumazawa, A.Itagaki, M.Fukumoto, H.Fujisawa, C.Nishimuro, K.Nomoto, Activation of Peritoneal Macrophages by Berberine-Type Alkaloids in Terms of Induction of Cytostatic Activity, *Int. J. Immunopharmacol.*, 6(6) 587-92 (1984). C.A: 102: 55803u (1985)
306. I.Wen Yang, C.Chung Chou, B.Yat Ming Yung, Dose-Dependent Effects of Berberine on Cell Cycle Pause and Apoptosis in Balb/C 3T3 Cells, *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 354(2) 102-108 (1996). C.A: 125: 265925m (1996)

307. R.X.Zhang, D.V.Dougherty, M.L.Rosenblum, Laboratory Studies of Berberine Used Alone and in Combination with 1,3 Bis-2-Chloroethyl-1-Nitrosourea to Treat Malignant Brain Tumors, **Chinese Med. J.** (English Edition), 103(8) 658-665 (1990).
308. W.S.Chang, Y.H.Chang, F.I.Lu, H.C.Chiang, Inhibitory Effects of Phenolics on Xanthine Oxidase, **Anticancer Research**, 14(2a) 501-506 (1994).
309. N.Miura, M.Yamamoto, T.Ueki, T.Kitani, K.Fukuda, Y.Komatsu, Inhibition of Thymocyte Apoptosis by Berberine, **Biochemical Pharmacology**, 53(9) 1315-1322 (1997).
310. Y.C.Wu, T.Yamagishi, K.H.Lee, Cytotoxic Isoquinoline Alkaloids from *Xanthorhiza simplicissima*, **Kao Hsiung I. Hsueh Ko. Hsueh Tsa Chih.**, 5(7) 409-11 (1989).
311. J.L.Vennerstrom, D.L.Klayman, Protoberberin Alkaloids as Antimalarials, **J. Med. Chem.**, 31(6) 1084-7 (1988).
312. N.Silikas, D.L.C. McCall, D.Sharpley, W.M.Watkins, R.D.Waigh, J.Barber, The Antimalarial Activity of Berberine and Some Synthetic Analogs, **Pharm. Sci.**, 2(1) 55-58 (1996). C.A: 125: 211805d (1996)
313. A.K.Ghosh, F.K.Bhattacharyya, D.K.Ghosh, *Leishmania donovani*: Amastigote Inhibition and Mode of Action of Berberine, **Exp. Parasitol.**, 60(3) 404-413 (1985).
314. P.L.Schiff, Bisbenzylisoquinoline Alkaloids, **J.Nat.Prod.**, 60, 934-953 (1997).
315. P.K.S.Nair, S.S.Nair, K.C.B.Amma, D.R.N.Nair, N.G.K.Pillai, Effect of Resottamadilepa, A Herbomineral Formulation in the Treatment of Dermatophytoses, **J. Research in Ayurveda and Siddha**, 10(1-2) 50-55 (1989).
316. I.Khan, A.Qayum, Z.Qureshi, Study of the Hypotensive Action of Berbamine, an Alkaloid Isolated from *Berberis lycium*, **Life Sci.**, 8(1) 993- 1001 (1969).
317. P.K.Sharma, Herbal Remedies for Treating Rheumatic Pains in Jammu and Kashmir, **Ind. J. For.**, 14(3) 206-210 (1991).
318. M.Stusler, Drug Test on Healthy Humans: History and Development of Present-Day Test Methods in Homeopathy, **Dtsch. Apoth. Ztg.**, 126, 575-578 (1986).
319. S.G.Khattak, S.N.Gilani, M.Ikram, Antipyretic Studies on Some Indigenous Pakistani Medicinal Plants, **J. Ethnopharmacol.**, 14(1) 45-51 (1985).
320. N.Ivanovska, S.Philipov, Study on the Anti-Inflammatory Action of *Berberis vulgaris* Root Extract, Alkaloid Fractions and Pure Alkaloids, **Int. J. Immunopharmacology**, 18(10) 553-561 (1997).
321. K.Nakamura, S.Tsuchiya, Y.Sugimoto, Y.Sugimura, Y.Yamada, Histamin Release Inhibition of Bisbenzylisoquinoline Alkaloids, **Planta Med.**, 58(6) 505-508 (1992).
322. S.K.Misra, Inflammation and Antiinflammatory Ingredients of Teeburb., **Ind. J. Indigenous Medicines**, 7(2) 1-4 (1991).
323. R.K.Sharma, D.N.Srivastava, Phytochemical Study of Teeburb and its Ingredients, **Ind. J. Indigenous Medicines**, 7(2) 5-8 (1991).

324. J.W.Xu, Treatment of Stomatitis with *Berberis poiretii* Compositus, **Chung Yao Tung Pao**, 10(10) 44 (1985).
325. K.T.Liu, Y.C.Chu, H.P.Lei, Anaphylactoid Reaction of the Rat to Palmatine, **Yao Hsueh Hsueh Pao**, 12(11) 761-3 (1965).
326. A.Goldstein, Biostatistics, An Introductory Text, Macmillan, New York, 1964.
327. S.Korkmaz, Fibroblast Hücre Kültürlerinde Yara İyileştirici Etkinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, 1996.
328. J.D.Bancroft, A.Stevens, Theory and Practice of Histological Techniques, Churchill Livingstone, London, 1977.