

GENCIANA LUTEA* subsp. *SYMPHYANDRA

(MURB.) HAYEK

İRİDOİTLERİ

Uzm.Ecz. NİLGÜN ÖZTÜRK /

Anadolu Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Lisansüstü Öğretim Yönetmeliği uyarınca
Farmakognozi Anabilim Dalı'nda
DOKTORA TEZİ
olarak hazırlanmıştır

ANADOLU ÜNİVERSİTESİ
MERKEZ KÜTÜPHANESİ

Danışman: Prof.Dr. K.Hüsnü Can BAŞER

ŞUBAT 1997

Tezimin bir kopyasında
veya tamamında
fotokopi çekilmesine
izin veriyorum.



Uzm.Ecz. Nilgün ÖZTÜRK'ün DOKTORA tezi olarak hazırladığı "*Gentiana lutea* subsp. *symphyandra* (Murb.) Hayek İridoitleri" başlıklı çalışma Lisansüstü Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca jürimiz tarafından değerlendirilerek kabul edilmiştir.

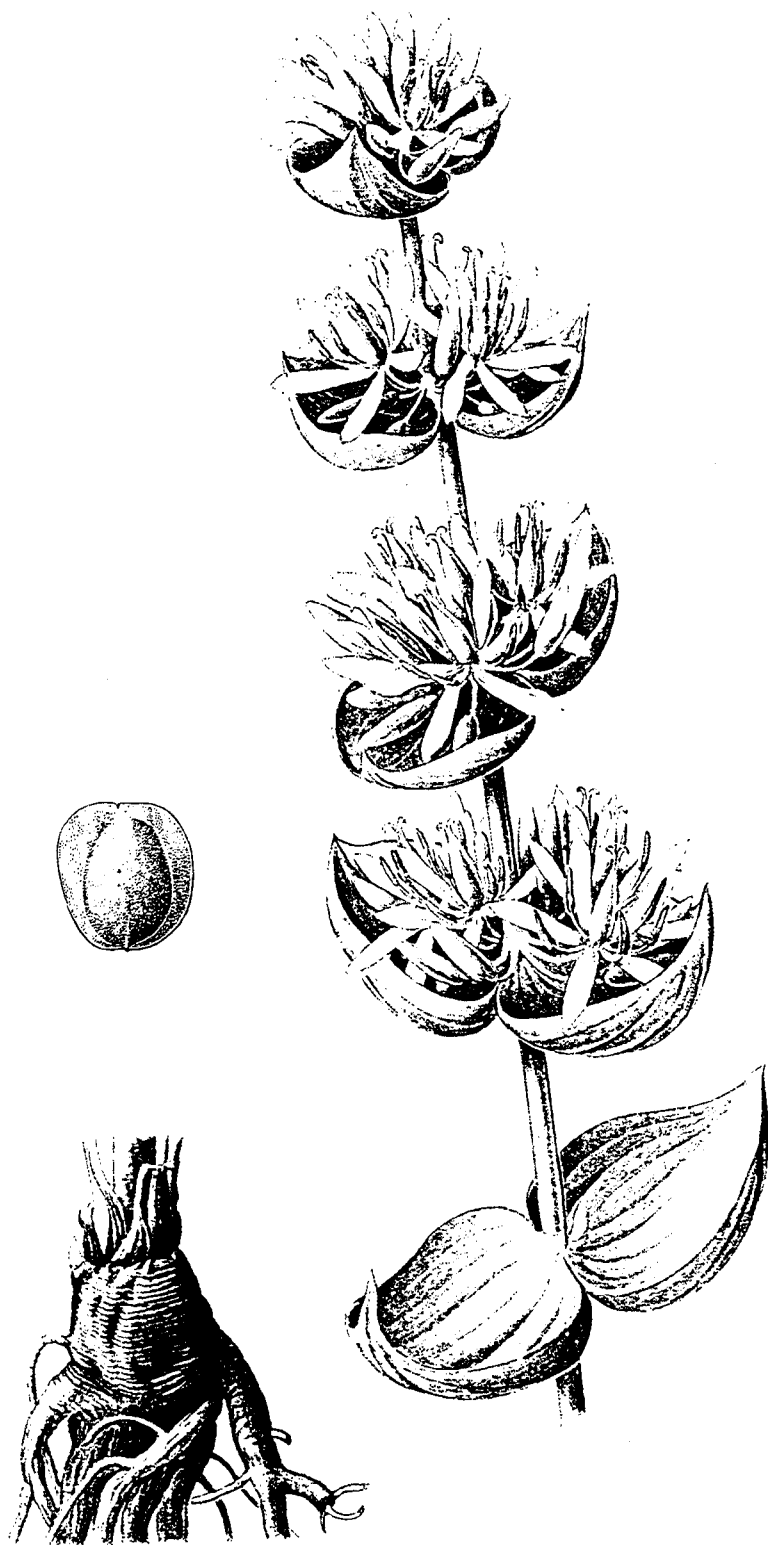
27/2/1997

Üye : Prof.Dr. K.Hüsnü Can BAŞEK

Üye: Prof.Dr. İhsan ÇALIŞ

Üye: Doç.Dr. Neşe KIRIMER

Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun 18.02.1997
gün ve ...09..... sayılı kararıyla onaylanmıştır



Kaynak: H.Lichtenstern, J.Volak, J.Stodola, Schwester Bernardines grosse Naturapotheke, Mosaik Verlag, Prag, p.150 (1983).

ÖZET

Dünyanın dört bir yanında oldukça geniş bir yayılış gösteren *Gentiana* cinsi, Bitkiler Aleminde 400'e yakın tür ile temsil edilmektedir. *Gentiana* türleri yüzyıllardır halk arasında acı maddelerinden (iridoitler) dolayı tonik, iştah açıcı, midevi, hazmı kolaylaştırıcı, karaciğer koruyucu olarak kullanılmaktadır. Cinsin ofisinal olarak kabul edilen türü *Gentiana lutea*'dır. İki alt türü vardır ve iki alt tür de ülkemizde yetişmektedir. *G. lutea* üzerinde alttür belirtmeksizin çok sayıda araştırma gerçekleştirilmiş olmasına rağmen, alttürleri üzerinde ne fitokimyasal ne de farmakolojik çalışma yapılmamıştır.

Bu çalışmada *Gentiana lutea* subsp. *symphyandra* (Murb.) Hayek köklerinin ana bileşikleri olan iridoit ve sekoiridoitlerin izolasyonu, yapı tayinleri, kantitatif analizleri gerçekleştirilmiş ve köklerden hazırlanan ekstreler ve izolasyonu yapılan bazı sekoiridoitlerin farmakolojik aktiviteleri araştırılmıştır.

Fermente edilmiş köklerden hazırlanan etanollü ekstre suda çözülerek sırası ile hekzan, etilasetat ve n-butanol ile fraksiyonlanmıştır. İridoitçe zengin n-butanol ekstresi üzerinde yapılan kromatografik çalışmalar (KK, preparatif-YBSK, OBSK) sonucunda, svertiamarin, gentiopikrozit ve sverozit olmak üzere üç bilinen sekoiridoit ile loganik asit adlı daha önce *G. lutea* için rapor edilmemiş bir iridoit izole edilmiştir. İzole edilen bu bileşiklerin yapı tayinleri spektral yöntemler kullanılarak (UV, IR, ¹H-NMR ve ¹³C-NMR) ve kaynak değerleriyle karşılaştırılarak gerçekleştirilmiştir. İzole edilen sekoiridoitlerin köklerdeki miktarları YBSK yöntemi kullanılarak tesbit edilmiştir.

Kuru ekstrenin farelerde öncelikle santral sinir sistemi üzerindeki etkileri test edilmiştir. Daha sonra bu ekstrenin fare ve sıçanlarda analjezik ve koleretik (hepatoprotektif) etkileri ve hücre kültürlerinde de yara iyileştirici aktivitesi araştırılmıştır. Ayrıca, anabileşikler olan gentiopikrozit, svertiamarin ve sverozit'in fibroblast hücre kültüründeki etkileri değerlendirilmiştir.

Sonuç olarak, etanol ile hazırlanmış kuru ekstrenin güçlü koleretik ve yara iyi edici etkileri gözlenmiştir. Ayrıca bu ekstrenin santral sinir sisteminde hafif uyarıcı ve analjezik etkileri saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Gentiana lutea* subsp. *symphyandra*, gentiopikrozit, svertiamarin, sverozit, loganik asit, spektroskopi, kromatografi, analjezik etki, hepatoprotektif etki, yara iyileştirici etki.

SUMMARY

In the plant kingdom, *Gentiana* genus is represented by approximately 400 species showing a fairly wide distribution all over the world. *Gentiana* species have been used for centuries as tonic, appetiser, stomachic, digestive and hepatoprotective due to their contents of bitter compounds (iridoids). *Gentiana lutea* is the species accepted officially. It has two subspecies and both grow in Turkey. Although many investigations have been conducted on *G. lutea* without specifying subspecies, neither phytochemical nor pharmacological investigation has been performed on subspecies so far.

The present study comprises the isolation, structure elucidation and quantitative analysis of iridoids and secoiridoids, main components of *Gentiana lutea* subsp. *symphyandra* (Murb.) Hayek roots and investigation of pharmacological activities of extracts prepared from roots and certain iridoids isolated.

Ethanol extracts prepared from fermented roots were dissolved in water and extracted successively by hexane, ethylacetate and n-butanol. As a result of chromatographic investigations (CC, preparative HPLC, MPLC) on the iridoid-rich n-butanol extract, three secoiridoids known as swertiamarine, gentiopicroside and sweroside and an iridoid named loganic acid were characterized. The later has not previously been reported from *G. lutea*. Structural elucidation of the isolated compounds was performed using spectral methods (UV, IR, $^1\text{H-NMR}$ and $^{13}\text{C-NMR}$) and comparing their spectral data with published data. Quantitative determination of secoiridoids was done using HPLC.

Effects of the crude extract on the central nervous system of mice were tested first, then, analgesic and choleric (hepatoprotective) effects of this extract on mice and rats and also its wound healing activity on cell cultures were studied. Furthermore, effects of the main compounds, gentiopicroside, swertiamarine and sweroside were investigated on fibroblast cell cultures.

In conclusion, the extract showed potent choleric and wound healing activities. It was also found to have mild central nervous system stimulant and analgesic activities.

Key Words: *Gentiana lutea* subsp. *symphyandra*, gentiopicroside, swertiamarine, sweroside, loganic acid, chromatography, spectroscopy, analgesic activity, hepatoprotective activity, wound healing activity

TEŞEKKÜR

Gerek Yüksek Lisans gerekse Doktora çalışmalarımın her aşamasında değerli bilgi ve önerileriyle çalışmalarımı yönlendiren ve Tıbbi ve Aromatik Bitki ve Şlaç Araştırma Merkezi'nin tüm olanaklarını kullanmama izin vererek yetişmemi sağlayan sayın hocam Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dekanı Prof. Dr. K. Hüsnü Can BAŞEK'e,

Çalışmalarımın her aşamasında değerli bilgi ve önerileriyle desteğini esirgemeyen ve çalışmanın yönlendirilmesine çok önemli katkılar sağlayan sayın hocam Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. İhsan ÇALGİŞ'a,

Değerli eleştiri ve önerileri ile çalışmalarımın katkıda bulunan sayın hocam Doç. Dr. Neş'e KORKMER'e,

Hacettepe Üniversitesi'ndeki çalışmalarım sırasında benden yakın ilgi ve yardımlarını esirgemeyen Farmakognozi Anabilim Dalı Öğretim üyesi ve yardımcılara,

Farmakolojik çalışmaların gerçekleştirilmesine katkılarından dolayı Yard. Doç Dr. Süleyman Aydın, Araş.Gör. Tuba Demir ve Araş.Gör. Seval Korkmaz'a,

Çalışmalarım süresince yakın ilgi ve destekleriyle daima yanımda olan başta Yard. Doç. Dr. Berrin Bozan, Araş. Gör. Müberra Koşar ve Araş. Gör. Zeynep Tunalier olmak üzere TBAM' daki tüm arkadaşlarıma,

Beni her zaman büyük sabır ve anlayışla destekleyen eşime ve aileme,

Sevgi, saygı ve teşekkürlerimi sunuyorum.

Özet	i
Summary	ii
Teşekkür	iii
Tablolar Dizini	iv
Şekiller Dizini	vi
Fotoğraflar Dizini	vii
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. KAYNAK BİLGİLERİ	3
2.1. Gentianaceae Familyası	3
2.1.1. Gentiana Cinsi	3
<i>Gentiana lutea</i> L. subsp. <i>symphyandra</i> (Murb.) Hayek	5
<i>Gentiana lutea</i> L. subsp. <i>lutea</i>	5
2.2. Ticari Droğun Hazırlanışı	6
2.3. Droğun Kayıtlı Olduğu Farmakopeler	6
2.4. Droğun Çeşitli Ülkelerde Kullanılan Preparatları	8
2.5. Droğun Gıda ve İçkilerde Kullanımı	11
2.6. Droğun Etken Maddeleri	11
2.7. İridoitler	11
2.7.1. İridoitlerin Tanımı	13
2.7.2. İridoitlerin Sınıflandırılması	15
2.7.3. İridoitlerin Biyosentezleri	20
2.7.4. İridoitlerin Alkaloid Biyosentezindeki Önemi	20
2.7.5. İridoitlerin Ekosistemdeki Fonksiyonları	23
2.7.6. <i>Gentiana</i> Türlerinden İridoitlerin Ekstraksiyon ve İzolasyonları	23
2.7.6.1. <i>Gentiana</i> Türlerinden İridoitlerin Ekstraksiyonu	23
2.7.6.2. <i>Gentiana</i> Türlerinden İridoitlerin İzolasyonları	25
2.7.7. İridoitlerin Yapı Tayinleri	29
2.7.7.1. İridoitlerin Yapı Tayininde Kullanılan Kimyasal Yöntemler	29
2.7.7.2. İridoitlerin Yapı Tayininde Kullanılan Spektroskopik Yöntemler	29
Ultraviyole Spektroskopisi	29
İnfrared Spektroskopisi	30
Nükleer Manyetik Rezonans Spektrometrisi	30
Kütle Spektrometrisi	31
2.7.8. İridoitlerin Biyolojik Aktiviteleri	31

2.7.8.1.	İridoitlerin Santral Sinir Sistemi Üzerine Etkileri	31
2.7.8.2.	İridoitlerin İmmünomodülatör Etkileri	31
2.7.8.3.	İridoitlerin Hematolojik Etkileri	32
2.7.8.4.	İridoitlerin Antilösemik Etkileri	32
2.7.8.5.	İridoitlerin Kardiyovasküler Etkileri	32
2.7.8.6.	İridoitlerin Antiinflamatuvar ve Analjezik Etkileri	32
2.7.8.7.	İridoitlerin Hepatoprotektif Etkileri	32
2.7.8.8.	İridoitlerin Gastroprotektif Etkileri	33
2.7.8.9.	İridoitlerin Laksatif ve Pürgatif Etkileri	34
2.7.8.10.	İridoitlerin Aldoz Redüktaz Üzerine Etkileri	34
2.7.8.11.	İridoitlerin Tonik Etkileri	34
2.7.8.12.	İridoitlerin Sitotoksik Etkileri	34
2.7.8.13.	İridoitlerin Antibakteriyel Etkileri	34
2.7.8.14.	İridoitlerin Antifungal Etkileri	34
2.7.8.15.	İridoitlerin Antiprotozoal Etkileri	35
2.7.8.16.	İridoitlerin Antiviral Etkileri	35
2.7.8.17.	İridoitlerin Toksisitesi	35
2.8.	<i>Gentiana</i> Türleri Üzerinde Yapılan Kimyasal Araştırmalar	35
2.9.	<i>Gentiana</i> Türlerinin Biyolojik Etkileri	89
2.9.1.	<i>Gentiana</i> Türlerinin Etnomedikal Etkileri	89
	<i>Gentiana lutea</i> (Sarı Jensiyan)	89
	<i>Gentiana olivieri</i> (Afat)	90
	<i>Gentiana kurroo</i> (Hint Jensiyanı)	90
	<i>Gentiana campestris</i>	90
	<i>Gentiana nivalis</i> (Alp Jensiyanı)	90
	<i>Gentiana panonica</i>	91
	<i>Gentiana prolacta</i>	91
	<i>Gentiana rhodantha</i>	91
	<i>Gentiana algida</i>	91
	<i>Gentiana scabra</i> (Japon Jensiyanı)	91
	<i>Gentiana amadella</i>	91
	<i>Gentiana pneumonanthe</i>	91
	<i>Gentiana asclepiadae</i>	91
	<i>Gentiana cruciata</i>	92
	<i>Gentiana quinqueflora</i>	92
	<i>Gentiana acaulis</i>	92
	<i>Gentiana macrophylla</i>	92

2.9.2.	<i>Gentiana</i> Türlerinin Farmakolojik Özellikleri	92
	<i>Gentiana lutea</i>	92
	<i>Gentiana macrophylla</i>	93
	<i>Gentiana olivieri</i>	93
	<i>Gentiana kurroo</i> (Hint Jensiyanı)	93
	<i>Gentiana panonica</i>	93
	<i>Gentiana lacte</i>	93
	<i>Gentiana scabra</i> (Japon Jensiyanı)	93
	<i>Gentiana tibetica</i>	94
	<i>Gentiana barbata</i>	94
	<i>Gentiana rhodantha</i>	94
	<i>Gentiana flavo-maculata</i>	94
	<i>Gentiana algida</i>	94
3.	GEREÇ ve YÖNTEMLER	95
3.1.	Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Bitkisel Materyal, Kimyasal Maddeler ve Aletler	95
3.1.1.	Bitkisel Materyal	95
3.1.2.	Kimyasal Maddeler	95
3.1.3.	Kullanılan Aletler	95
3.2.	Deneysel Çalışmalar	96
3.2.1.	Ekstraksiyon	96
3.2.2.	Analitik Çalışmalar	98
3.2.2.1.	Analitik İnce Tabaka Kromatografisi	98
3.2.2.2.	Kolon Kromatografisi (KK)	99
3.2.2.3.	Ters Faz-Orta Basıncılı Sıvı Kromatografisi (ters faz-OBSK)	99
3.2.2.4.	Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (YBSK)	99
3.2.2.5.	Preparatif-Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (preparatif-YBSK) ..	100
3.2.3.	Spektroskopik Çalışmalar	101
3.2.3.1.	Ultraviyole Spektroskopisi	101
3.2.3.2.	İnfrared Spektroskopisi	101
3.2.3.3.	Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi	101
3.2.4.	Biyolojik Aktivite Çalışmaları	101
3.2.4.1.	Sinir Sistemi Üzerine Etkiler	101
3.2.4.1.1.	Genel Davranış ve Gözlemsel (Hipokratik) Tarama	101
3.2.4.2.2.	Yüzme Testi	101
3.2.4.2.	Analjezik Etki	102

3.2.4.2.1.	"Tail-Clip" Yöntemi	102
3.2.4.2.2.	Kuyruk Daldırma ("Tail-Immersion") Yöntemi	102
3.2.4.3.	Hepatoprotektif Etki	102
3.2.4.3.1.	Sıçan Safra Akışı Deneyleri	102
3.2.4.3.2.	Sıçan Karaciğerinin Histolojik İncelemesi	103
3.2.4.4.	Yara İyileştirici Etki	103
4.	BULGULAR	104
4.1.	İridoitlerin İzolasyonu	104
4.1.1.	n-Butanol Ekstresi Üzerinde Yapılan Çalışmalar	104
4.1.1.1.	B2 ve B3 Fraksiyonlarından Sekoiridoitlerin İzolasyonu	104
4.1.1.2.	B6 Fraksiyonundan İridoit İzolasyonu	104
4.1.2.	Etilasetat Ekstresi Üzerinde Yapılan Çalışmalar	106
4.2.	İzole Edilen Bileşiklerin Yapı Tayini	106
4.2.1.	Svertiamarin (GL-1)	107
4.2.2.	Gentiopikrozit (GL-2)	111
4.2.3.	Sverozit (GL-3)	115
4.2.4.	Loganik Asit (GL-4).....	118
4.3.	Kantitatif Analiz Sonuçları	122
4.3.1.	YBSK ile Sekoiridoitlerin Miktar Tayinleri	122
4.4.	Biyolojik Aktivite Çalışmalarının Sonuçları	126
4.4.1.	Sinir Sistemi Üzerine Etkiler	126
4.4.1.1.	Genel Davranış ve Gözlemsel (Hipokratik) Tarama Sonuçları	126
4.4.1.2.	Yüzme Testi Sonuçları	126
4.4.2.	Analjezi Testlerinin Sonuçları	127
4.4.2.1.	"Tail-Clip" Testinin Sonuçları	128
4.4.2.2.	Kuyruk Daldırma Testi Sonuçları	129
4.4.3.	Hepatoprotektif Etki	130
4.4.3.1.	Safra Akışı Deneyi	130
4.4.3.2.	Karaciğer Dokusunda Histolojik Sonuçlar	130
4.4.4.	Yara İyileştirici Etki Sonuçları	133
5.	TARTIŞMA	143
6.	KAYNAKLAR	150
	Özgeçmiş	

2.1.	Çeşitli ülkelerde kullanılan <i>Gentiana</i> preparatları	8
2.2.	<i>Gentiana</i> türlerinin ekstraksiyonu için kullanılan yöntemler ve çözücü sistemleri	24
2.3.	<i>Gentiana</i> türlerinden iridoitlerin izolasyonu için kullanılan Kolon Kromatografisi sistemleri	26
2.4.	<i>Gentiana</i> türlerinden iridoitlerin izolasyonu için kullanılan İnce Tabaka Kromatografisi sistemleri	28
2.5.	<i>Gentiana</i> türlerinde bulunan iridoitler	36
2.6.	<i>Gentiana</i> türlerinde bulunan ksantonlar	56
2.7.	<i>Gentiana</i> türlerinde bulunan flavonoidler	69
2.8.	<i>Gentiana</i> türlerinde bulunan monoterpenik alkaloidler	81
2.9.	<i>Gentiana</i> türlerinden elde edilen diğer maddeler	84
4.1.	Svertiamarin'in $^1\text{H-NMR}$ spektral değerleri	107
4.2.	Svertiamarin'in $^{13}\text{C-NMR}$ spektral değerleri	107
4.3.	Gentiopikrozit'in $^1\text{H-NMR}$ spektral değerleri	111
4.4.	Gentiopikrozit'in $^{13}\text{C-NMR}$ spektral değerleri	111
4.5.	Sverozit'in $^1\text{H-NMR}$ spektral değerleri	115
4.6.	Loganik asit'in $^1\text{H-NMR}$ spektral değerleri	118
4.7.	Loganik asit'in $^{13}\text{C-NMR}$ spektral değerleri	118
4.8.	<i>Gentiana lutea</i> subsp. <i>symphyandra</i> kökleri ve metanol ekstresindeki sekoiridoitlerin yüzde miktarları	126
4.9.	<i>Gentiana lutea</i> subsp. <i>symphyandra</i> köklerinden hazırlanan ekstrelerin farelerde yüzme süresi üzerine etkileri	127
4.10.	<i>Gentiana lutea</i> subsp. <i>symphyandra</i> köklerinden hazırlanan ekstrelerin "Tail-Clip" reaksiyon zamanı üzerine etkileri	128
4.11.	<i>Gentiana lutea</i> subsp. <i>symphyandra</i> köklerinden hazırlanan ekstrelerin farelerde kuyruk daldırma reaksiyon zamanı üzerine etkileri	129
4.12.	<i>Gentiana lutea</i> subsp. <i>symphyandra</i> köklerinden hazırlanan ekstrelerin sıçanlarda, 3 saatlik süre içinde oluşan total safra akışı (ml) üzerine etkileri	130

4.13.	Toplam hücre sayıları esas alınarak, tavuk embriyonik fibroblastları üzerine dimetil sülfoksit, dekspantenol, <i>Gentiana lutea</i> subsp. <i>symphyandra</i> ekstresi, gentiopikrozit, sverozit ve svertiamarin'in etkileri	140
4.14.	Mitoza giden hücre yüzdeleri esas alınarak, tavuk embriyonik fibroblastları üzerine dimetil sülfoksit, dekspantenol, <i>Gentiana lutea</i> subsp. <i>symphyandra</i> ekstresi, gentiopikrozit, sverozit ve svertiamarin'in etkileri	141
4.15.	Poligonal ve fuziform hücre yüzdeleri esas alınarak, tavuk embriyonik fibroblastları üzerine dimetil sülfoksit, dekspantenol, <i>Gentiana lutea</i> subsp. <i>symphyandra</i> ekstresi, gentiopikrozit, sverozit ve svertiamarin'in etkileri	141
4.16.	Vakuollü ve yuvarlak hücre yüzdeleri esas alınarak, tavuk embriyonik fibroblastları üzerine dimetil sülfoksit, dekspantenol, <i>Gentiana lutea</i> subsp. <i>symphyandra</i> ekstresi, gentiopikrozit, sverozit ve svertiamarin'in etkileri	142
4.17.	Hücrelerdeki granül sayıları esas alınarak, tavuk embriyonik fibroblastları üzerine dimetil sülfoksit, dekspantenol, <i>Gentiana lutea</i> subsp. <i>symphyandra</i> ekstresi, gentiopikrozit, sverozit ve svertiamarin'in etkileri	142
5.1.	<i>Gentiana lutea</i> ' dan izole edilmiş iridoit ve sekoiridoitler	144

2.1.	İridoit ve sekoiridoitlerin biyosentez yolağı	21
2.2.	Loganin'den bazı indol alkaloitlerinin oluşumu	22
2.3.	<i>Gentiana</i> türlerinde bulunan iridoitlerin formülleri	43
2.4.	<i>Gentiana</i> türlerine bulunan ksantonların formülleri	63
2.5.	<i>Gentiana</i> türlerinde bulunan flavonoitlerin formülleri	74
2.6.	<i>Gentiana</i> türlerinde bulunan monoterpenik alkaloitlerin formülleri	82
3.1.	<i>Gentiana lutea</i> subsp. <i>symphyandra</i> kökleri üzerinde yapılan ekstraksiyon çalışmaları	97
4.1.	<i>Gentiana lutea</i> subsp. <i>symphyandra</i> köklerinin n-butanol ekstresi üzerinde yapılan izolasyon çalışmaları	105
4.2.	Standart svertiamarin' in Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatogramı	122
4.3.	Standart svertiamarin' in kalibrasyon eğrisi	123
4.4.	Standart gentiopikrozit' in Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatogramı ...	123
4.5.	Standart gentiopikrozit' in kalibrasyon eğrisi	124
4.6.	Standart sverozit' in Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatogramı	124
4.7.	Standart sverozit' in kalibrasyon eğrisi	125
4.8.	Metanol ekstresinin Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatogramı	123
4.9.	<i>Gentiana lutea</i> subsp. <i>symphyandra</i> köklerinden hazırlanan ekstrelerin 250 ve 500 mg/kg dozlarda fare yüzme performansı üzerine etkileri	127
4.10.	<i>Gentiana lutea</i> subsp. <i>symphyandra</i> köklerinden hazırlanan ekstrelerin 250 ve 500 mg/kg dozlarda farelerde "Tail-Clip" reaksiyon zamanı üzerine etkileri	128
4.11.	<i>Gentiana lutea</i> subsp. <i>symphyandra</i> köklerinden hazırlanan ekstrelerin 250 ve 500 mg/kg dozlarda farelerde Kuyruk daldırma reaksiyon zamanı üzerine etkileri	129
4.12.	<i>Gentiana lutea</i> subsp. <i>symphyandra</i> köklerinden hazırlanan kuru ekstrelerin sıçanlarda safra akışı üzerine etkilerinin zamansal profili.....	131

1.	Kontrol grubu sıçanlarda kordonlar tarzında dizilmiş olan hepatositler ve bunların arasında yer alan mikroskobik safra kanalcıklarından oluşan normal yapı	131
2.	CCl ₄ verilen sıçanların karaciğer dokusunda infiltratif polimorfonükleer lökositler ve hepatositlerde hidropik dejenerasyon	132
3.	Ekstre verilen sıçanların karaciğer dokusunda tüm sitoplazmayı kaplayan vakuoler dejenerasyon	132
4.	Kontrol grubu fibroblastların 24. saat sonunda Masson's trichrome tekniği ile boyanması sonucu 800 kez büyütme ile elde edilen görüntüleri	134
5.	1µg/ml DMSO uygulanan fibroblastların 24. saat sonunda Masson's trichrome tekniği ile boyanması sonucu 800 kez büyütme ile elde edilen görüntüleri	135
6.	1µg/ml Dekspantenol uygulanan hücrelerin 24. saat sonunda Masson's trichrome tekniği ile boyanması sonucu 800 kez büyütme ile elde edilen görüntüleri	135
7.	10µg/ml Dekspantenol uygulanan hücrelerin 24. saat sonunda Masson's trichrome tekniği ile boyanması sonucu 800 kez büyütme ile elde edilen görüntüleri	135
8.	5µg/ml <i>G. lutea</i> subsp. <i>symphyandra</i> ekstresi uygulanan hücrelerin 24. saat sonunda Masson's trichrome tekniği ile boyanması sonucu 800 kez büyütme ile elde edilen görüntüleri	136
9.	10µg/ml <i>G. lutea</i> subsp. <i>symphyandra</i> ekstresi uygulanan hücrelerin 24. saat sonunda Masson's trichrome tekniği ile boyanması sonucu 800 kez büyütme ile elde edilen görüntüleri	136
10.	0.4µg/ml gentiopikrozit uygulanan hücrelerin 24. saat sonunda Masson's trichrome tekniği ile boyanması sonucu 800 kez büyütme ile elde edilen görüntüleri	137
11.	2.0µg/ml gentiopikrozit uygulanan hücrelerin 24. saat sonunda Masson's trichrome tekniği ile boyanması sonucu 800 kez büyütme ile elde edilen görüntüleri	137
12.	0.4µg/ml sverozit uygulanan hücrelerin 24. saat sonunda Masson's trichrome tekniği ile boyanması sonucu 800 kez büyütme ile elde edilen görüntüleri	138
13.	2.0µg/ml sverozit uygulanan hücrelerin 24. saat sonunda Masson's trichrome tekniği ile boyanması sonucu 800 kez büyütme ile elde edilen görüntüleri	138

-
- | | | |
|-----|--|-----|
| 14. | 0.05µg/ml svertiamarin uygulanan hücrelerin 24. saat sonunda Masson's trichrome tekniği ile boyanması sonucu 800 kez büyütme ile elde edilen görüntüleri | 139 |
| 15. | 0.25µg/ml svertiamarin uygulanan hücrelerin 24. saat sonunda Masson's trichrome tekniği ile boyanması sonucu 800 kez büyütme ile elde edilen görüntüleri | 139 |



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Yüzyıllardır halk arasında çeşitli amaçlarla kullanılan ve önemli tıbbi ve ticari değeri olan bir tür olarak *Gentiana lutea* (Sarı Jensiyan) birçok araştırmaya konu olmuştur. Tüm dünyada bulunan 400 kadar *Gentiana* türü arasında ofisinal kabul edilen tek tür olan *Gentiana lutea* yaklaşık 1-1.5 m yükseklikte, sarı çiçekli, otsu ve çok yıllık bir bitkidir. Orta ve güney Avrupa ve ülkemizde dağlık bölgelerde 1500-2000 m yükseklikte yetişmektedir. Bitkinin sonbaharda toplanıp, fermente edildikten sonra açık havada kurutulan toprak altı kısımları drog olarak kullanılmakta (*Radix Gentianae*) ve birçok tonik ve dijestif amaçlı preparatın bileşimine girmektedir. Ortaçağ boyunca bir zehir antidotu olarak yaygın biçimde kullanılmıştır. 1552'de Tragus yara iyi edici özelliğinden bahsetmiştir. Bunun yanısıra halk arasında iştah açıcı, ateş düşürücü, antidepressan ve yara iyi edici amaçlarla yaygın şekilde kullanıldığı bilinmektedir. Bu özellikleri nedeniyle *G. lutea* ve alt türlerinin tüketimi hiç de azımsanmayacak boyuttadır. *G. lutea*'nın gelişimini 10 yıl gibi bir sürede tamamladığı düşünülürse, bitki ancak 4-5 yıllık bir olgunluğa eriştikten sonra kökleri drog olarak kullanılabilir (1). Bitkinin, yavaş geliştiği ve köklerinin toplanması ile yaşamı sona erdirildiği için "tehlike altındaki bitki türleri"nden biri olduğu kolaylıkla anlaşılacaktır. Nitekim Türkiye'de yetişen 2 *Gentiana* alttürünün tehlike altında olduğu bildirilmiştir (2). *G. lutea* Fransa, Almanya, İtalya gibi bazı ülkelerde kültüre alınmıştır (3,4).

Sonbaharda topraktan çıkarıldıktan sonra su ile yıkanarak temizlenen kökler hemen kurutulursa fermente olmamış drog elde edilir ve bu drog "beyaz" adını alır, buna pek fazla talep yoktur. Bir süre çuval içinde ya da yığınlar halinde bekletildikten sonra (1), önce güneşte sonra kapalı yerde yavaş yavaş kurutulan drog ise "kırmızı" adı ile bilinen fermente edilmiş drogdur. Fermentasyon sonucunda meydana gelen enzimatik reaksiyon ile drogun rengi koyulaşp, acılığı biraz azalmakta, buna karşın karakteristik bir koku kazanıp tıbbi ve ticari değeri artmaktadır (4,5).

Dünya çapında, *G. lutea* ile yapılmış onlarca çalışmaya karşı, bu çalışmaya konu olan *G. lutea* subsp. *symphyandra* üzerinde Türkiye'de yapılmış herhangi bir araştırmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle bitkinin bileşiminde yer alan ve Gentianaceae familyasına özgü iridoit bileşiklerinin araştırılması bu tezin ana amacıdır. Kaynak taramaları sırasında, *Gentiana* türlerindeki iridoit bileşiklerinden gentiopikrozit, amarogentin ve amarosverinin bitkideki yüzde miktarlarının çeşitli kantitatif çalışmalarla belirlendiği görülmüş, sverozit ve svertiamarin için ise kantitatif bir çalışmaya rastlanmamıştır. Tez kapsamında *G. lutea* subsp. *symphyandra* için gentiopikrozit ile birlikte sverozit ve svertiamarin için de kantitatif miktar tayini gerçekleştirilmiştir.

Çalışmanın diğ er bir amacı da, halk arasında çeş itli hastalıkların tedavisinde kullanılan bu dro ğ un bildirilen etkilerini bilimsel bir platforma oturtmaktadır. Bu amaçla bitkinin santral sinir sistemi üzerindeki etkileri ile analjezik, hepatoprotektif ve yara iyi edici etkileri uygun deneysel modeller kullanılarak araştır ılmış tır. Üstelik yara iyi edici etkiden sorumlu maddenin bulunması için ilave bazı deneyler de yapılmış tır.

2. KAYNAK BİLGİLERİ

Bu bölümde Gentianaceae familyasına dahil *Gentiana* cinsi ile ilgili botanik bilgiler, drog olarak kullanılan *Gentiana lutea*'nın hazırlanışı, ticari kullanımı, yurt dışında kullanılan preparatları , biyolojik aktivitesinden sorumlu bileşikleri olan iridoitler hakkında ayrıntılı bilgiler, cins üzerinde bugüne kadar yapılmış kimyasal çalışmalar ve *Gentiana* türleri üzerinde yapılmış etnomedikal ve farmakolojik deneysel çalışmalar sunulmuştur. Botanik bilgiler Türkiye ve Avrupa Floraları temel alınarak, kimyasal ve farmakolojik araştırmalar ise Chemical Abstracts (1940-1997), Medline® CD Rom, MAPA CD Rom ve bültenleri ile NAPRALERT veri tabanı taramaları kullanılarak derlenmiştir.

2.1. Gentianaceae Familyası

Tek, iki veya çok yıllık otsu bitkiler. Yapraklar tüysüz, tam, tabanda genellikle rozet şeklinde veya konnat, gövdede karşılıklı ve sapsız. Çiçekler 4-8 parçalı, aktinomorf. Kaliks derin yarılmış, korolla tüysüz, tomurcuk halinde iken eğrilmiş loblar halinde. Stamenler korolla tüpü arasında kalmış. Anterler tabanda hafif kordat, bazifiks veya nadiren versatil. Ovaryum üst durumlu, tek gözlü, 2 karpelli, plasenta çift cidarlı, çok ovüllü. Meyva 2 gözlü, septisit kapsül (6).

2.1.1. *Gentiana* Cinsi

Çok yıllık, nadiren tek yıllık otsu bitkiler. Gelişme şekilleri, bazen az çok dallanmış sürünücü kümeler halinde, bazen de etli bir depo kökten yükselen bir veya birkaç sürgün şeklinde. Çiçekler 4-5(-9)- parçalı. Kaliks az çok derince, parçalı, loblar iç zar ile kısmen birleşmiş. Korolla dar uzun bir tüp ve birden bire genişlemiş, kısa yayık bir dudaktan oluşmuş veya huni şekline kadar değişen tiplerde açık-, koyu- veya menekşe-mavi, sarı, krem nadiren beyaz renkli; genellikle esas loplarla almaşık olan daha küçük loplara var, boğazı içte tüysüz. Anterler bazifiks. Ovaryum üst durumlu, kısa stiluslu veya stilus eksik, stigma 2, kalıcı. Nektaryumlar ovaryumun tabanında. Kapsüle şeklindeki meyva elipsoidden oblonga kadar değişik şekillerde, saplı veya sapsız (6).

Pliny ve Dioscorides'e göre cinsin adı bu bitkilerin tıbbi değerini ilk keşfeden antik Dalmaçya kralı Gentius'tan (M.Ö. 180-167) türetilmiştir (7).

1. Taban yaprakları çok büyük (40 x 25 cm'ye kadar); korolla parlak sarı ve yarısından daha fazla kısma kadar parçalanmış **1. lutea**
- anterler serbest, stigma çiçekler açtıktan sonra spiral şeklinde subsp. *lutea*

- stamenler bir tüp oluşturmuş, stigma genellikle 2 loblu, çiçekler açtıktan sonra spiral şeklinde değil subsp. *symphyandra*
- 1. Taban yaprakları (15 x 3 cm'ye kadar) genellikle daha küçük; korolla beyaz, açık sarı, mavi ya da menekşe ve yarısından daha fazla kadar parçalanmış
- 2. Gövdeler genellikle 30 cm' den daha uzun, çiçekler yaprakların koltuğunda
 - 3. Yapraklar akut; çiçekler 5- parçalı; anterler birleşmiş 2. *asclepiadea*
 - 3. Yapraklar obtus; çiçekler 4- parçalı ; anterler serbest 3. *cruciata*
- 2. Gövdeler genellikle 30 cm' den daha kısa; çiçekler terminal ya da terminal ve lateral
 - 4. Tek yıllık bitkiler
 - 5. Korolla açık mavi, loblar obtus; kapsula saplı 5. *aquatica*
 - 5. Korolla parlak mavi, loblar akut; kapsula sapsız 12. *nivalis*
 - 4. Çok yıllık bitkiler
 - 6. Depo kökün uç kısmı lifli bir kılıfla kaplı; gövde dik, 10-40 cm 4. *olivieri*
 - 6. Depo kökün uç kısmı lifli bir kılıfla kaplı değil, gövdeler genellikle sürünücü veya 10 cm' den daha kısa
 - 7. Korolla açık sarı 9. *gelida*
 - 7. Korolla mavi (nadiren beyaz)
 - 8. Çiçekler 3 veya daha fazla; tepede bir baş şeklinde; gövdeler basit 7. *septemfida*
 - 8. Çiçekler genellikle tepede tek tek; gövdeler basit ya da dallanmış
 - 9. Çiçekli gövdeler 11 ya da daha fazla internodyumlu; gövdeler basit, sürünücü 8. *boissieri*
 - 9. Çiçekli gövdeler 11' den daha az internodyumlu; gövdeler genellikle tabanda çok dallanmış, küme şeklinde.
 - 10. Korollanın eklobları hemen hemen ana loblara eşit, korolla 10-parçalı; görünüşte internodyumlar hemen hemen eşit. 6. *pyrenaica*
 - 10. Ek loblar küçük, ana lobların yarısı kadar ; internodyumlar çiçeklenmeden sonra uzamış.
 - 11. En uzun rozet yapraklar gövde yapraklarından daha uzun; korolla 20-28 mm ya da daha fazla 10. *verna*

11. Rozet yapraklar hemen hemen gövde yapraklarına eşit, korolla 20 mm' den daha kısa. **11. brachyphylla**

***Gentiana lutea* L. subsp. *symphyandra* (Murb.) Hayek**

Syn: *G. symphyandra* Murb., Lunds

Halk arasında kullanılan isimleri: Jensiyan, Afat , Güşad otu, Sarıcentiyan, pancar otu (Aydoğdu-Kütahya) (8), Büyük kantaron, Centiyan, Cintiyen (Domaniç- Kütahya) (8,9), Sivrikökü (Bozdağ-Ödemiş) (8,9,10), Defneyezit kökü (Sakarya) (11), Centiyane, Centiyan, Defneyezit, Güşad otu, Kantaron-u Kebir, Sarıgentiyan, Sivri kökü, Centiye kökü (Aydın) (11).

Çok yıllık otsu bir bitki. 120 cm boyunda, gövde basit, 6-10 internodyumlu. Çiçekler üst yaprakların koltuğunda, yoğun olarak toplanmış. Yapraklar lanseolattan genişçe ovata kadar değişen şekillerde ve 40 x 25 cm'ye kadar değişen boyutlarda, damarlar 5-7 tane, belirgin, kısa saplı. Çiçekler saplı, genellikle 5 parçalı. Kaliks 10-15 mm, yaklaşık 1/3'üne kadar parçalanmış. Kaliks tüpü çok geniş değil, tepede dar. Brakteler çiçek koltuğunda gelişmiş, 4-10 mm saplı. Korolla açık sarı, 20-30 mm, loblar linear ve az çok yayık, ek loblar küçük veya eksik. Stamenler bir tüp oluşturmuş. Stigma genellikle 2 loblu, çiçek açtıktan sonra spiral şeklinde değil. Kapsüla elipsoid ve kısa saplı (6).

Çiçeklenme Zamanı : 6 ve 8. aylar arası

Yetiştirdiği yerler : Yeşillik tepelerde, 1400-1700 m

A2(A) Bursa: Uludağ

A5 Sinop: Ayancık, Zindan, Handere Dağı, 1400 m

B1 İzmir: Ödemiş, Bozdağ, 1700 m

*B2 Kütahya : Domaniç, Üçtepel, Acısu, 1700 m

*B2 Kütahya: Radar mevki, 1900 m

B3 Bilecik: Bozüyük, Kömürsu Dağı, 1600 m

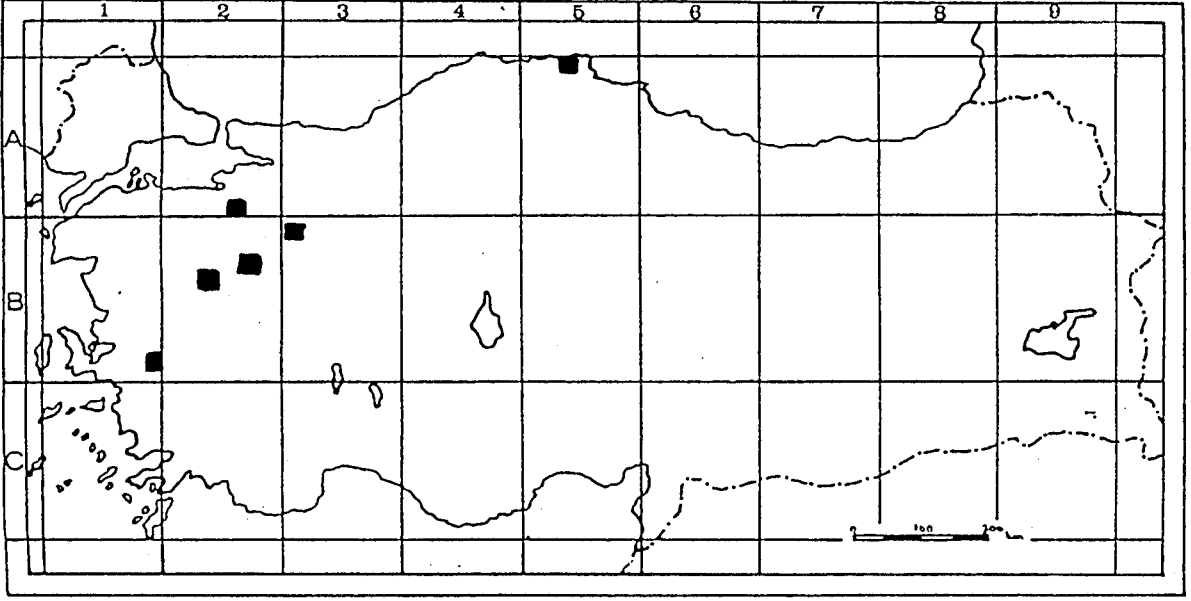
* Bu yörelerden tarafımızdan toplanmıştır, Türkiye Florası için yeni karedir.

Gentiana lutea* L. subsp. *lutea

Gentiana lutea L. subsp. *symphyandra*' dan anterlerinin serbest, bitki çiçeklendikten sonra stigmalarının spiral şeklinde olması ile ayrılır. Balkan yarımadası hariç Avrupa'da yayılmıştır (12, 13).

Yetiştığı yer

B2 İzmir: Bozdağ, Birgin'in kuzeyi, 1600 m



Gentiana lutea subsp. *symphyandra*'nın Ülkemizdeki yayılışı

2.2. Ticari Droğun Hazırlanışı

Bitki 2-5 yaşına geldiğinde kök ve rizomları toprak kazılarak çıkarılır. Topraklı kabuk kısmı dikkatlice soyulur, yığın oluşturacak şekilde üstüste konur ve üzeri toprak ile örtülür. Bu şekilde bir süre bekletildikten sonra drog önce açık havada sonrada gölgede kurutulur Bu şekilde hazırlanan drog koyu bir renk alır, acılığını kaybeder, karakteristik bir koku kazanır. Bu işlem genellikle mayıstan ekime kadar herhangi bir zamanda yapılabilir. Tıbbi olarak sonbaharda toplanmış drog tercih edilir. Ticari drog kırmızı ya da fermente olmuş gentiandır. Fermente edilmemiş beyaz gentiana İngiltere'de rağbet edilmemektedir (5).

2.3. Droğun Kayıtlı olduğu Farmakopeler

1940 ve 1948 Türk Kodekslerinde yer alan *Gentiana lutea*'dan elde edilen Radix Gentianae'nın, 1970 Türk Farmakopesine alınmadığı görülmektedir (14,15). Bunun yanında tüm dünyada drog olarak kullanılan Radix Gentianae'nın kayıtlı olduğu farmakopeler; Avrupa Farmakopesi (16) başta olmak üzere İngiliz (17-20), Fransız (21), Alman, Çekoslovak, Yunan, İtalyan (22), Japon (23-25), Macar, Yugoslav, Norveç, Portekiz,

Romanya, İsveç, Mısır, Hollanda (22), Avustralya (26) ve Afrika (27) Farmakopeleridir. Bunun yanında *Gentiana lutea*'nın dışındaki bazı *Gentiana* türleride bazı farmakopelerce offisinal kabul edilmiştir. Örneğin 1940 ve 1948 Türk Farmakopeleri *G. lutea* dışında *G. pannonica*, *G. purpurea* ve *G. punctata*'yı ofisinal kabul etmiştir (14,15). Japon Farmakopesi ise *G. lutea*'dan başka *G. scabra*'yı ofisinal kabul etmektedir (23-25).

Bazı farmakopelerde ise *Gentiana* 'nın çeşitli preparatları kayıtlıdır

	BP 73 (17)	BP 80 (18)	BP 88 (19)	BP 93 (20)	BNF 83 (28)	Aust.P 83 (26)
Powdered Gentian	-	+	+	-	-	-
Compound Gentian Infusion	+	+	+	+	-	-
Concentrated Compound Gentian Infusion	+	+	+	+	-	-
Alkaline Gentian Mixture (=Alkaline Oral Solution)	-	+	+	+	+	+

	JP 76 (23)	JP 81 (24)	JP 86 (25)
<i>Gentiana radix ulverata</i>	+	+	+
<i>Gentiana scabra radix pulverata</i> (=Japanese Gentian)	+	+	+
Pulvis Gentianae et natri bicarbonate (=Gentian and Sodyum Bicarbonat Powder)	-	-	+

Bu preparatlardan başka;

Formularium Nationale, 2nd ed. (1981)
(29)

Gentianae sirupus

İlaç ve Kozmetik Formülleri (30)

Tinctura Gentianae compositae

2.4. Droğun çeşitli ülkelerde kullanılan preparatları

(Bunlar birçok droğun birlikte kullanıldığı kombine preparatlardır (22))

Tablo 2.1. Çeşitli ülkelerde kullanılan *Gentiana* preparatları

Preparat adı	Üretildiği Ülke	Kullanımı
Abdomilon	Almanya	Tonik
Amara-Trophen-Pascoe	Almanya	Mide-barsak hastalıkları
Amaro	İsviçre	Tonik
Amaro Maffioli	İtalya	Hazımsızlık
Amaro Padil	İtalya	Mide-barsak hastalıkları
Amaro Medicinale	İtalya	Mide-barsak hastalıkları
Appetiser Mixture	İngiltere	Tonik, flatulence
Aruto-Magenpulver-Forte	Almanya	Sindirim sistemi hastalıkları
Bilarvis	İtalya	Safra yolları hastalıkları, karaciğer hastalıklarında
Caramelle alle Erbe Digestive	İtalya	sindirime yardımcı
Choldestal	Almanya	Mide-barsak hastalıkları
Climaxol	Fransa	Periferik dolaşım bozuklukları
Depurative Richelet	İspanya	detoksifikasyon
Depurativo	İtalya	Kabızlık
Digest-Eze	Avustralya	Sindirim sistemi hastalıkları
Digest Aid	Avustralya	Sindirim bozuklukları
Digestivum-Hetterich N	Almanya	Mide-barsak hastalıkları
Digestol Sanatorium	İspanya	Mide-barsak hastalıkları
Disemigon	Almanya	Romatizma ve keloid scars
Divinal-Bohnen	Almanya	Mide-barsak hastalıkları
Dr.Hotz-Kinderbad/-Vollbad	Almanya	Banyo preparatı ve cilt hastalıkları
Dr.Klinger's Bergischer Krautertee Magentee	Almanya	Mide-barsak hastalıkları
Ducase	Fransa	Tonik
Elisir Depurative Ambrosiano	Fransa	Dolaşım bozuklukları

Tablo 2.1. devam

Elixir Nr.66	Almanya	Mide-barsak hastalıkları
Elixir Grez Chlorohydropepsique	Fransa	Mide-barsak hastalıkları
Elixir Spark	Fransa	Hazımsızlık, kabızlık
Epaglutone	İtalya	Sindirim sistemi hastalıkları
Gallen Leber-Tee Stada	Almanya	çay olarak
Galexier	Almanya	Safra yolları hastalıkları
Gastralon	Almanya	Mide-barsak hastalıkları
Gastricard N	Almanya	Mide-barsak hastalıkları
Gastripan N	Almanya	Mide-barsak hastalıkları
Gastrol S	Almanya	Mide-barsak hastalıkları
Gastro-pepsin	İtalya	Hazımsızlık
Glykola Infans	İngiltere	Demir eksikliği anemisi
Hepaticum	Almanya	Karaciğer hastalıkları, Safra yolları hastalıkları ve kabızlık
Hepaticum "Mletzko"	Almanya	Karaciğer hastalıkları
Hepaticum-Divinal	Almanya	Karaciğer hastalıkları
Hepaticum-Medice N	Almanya	Mide-barsak hastalıkları, Safra yolları hastalıkları ve deri hastalıkları
Hepaton	Almanya	Karaciğer hastalıkları, Safra yolları hastalıkları
Indigestion Mixture	İngiltere	Hazımsızlık, flatulence
Infi-tract	Almanya	Mide-barsak spazmı, Safra yolları hastalıkları, sindirim hastalıkları
Kalms	İngiltere	Stres ve strains
Klosterfrau Magentonikum	Almanya	Tonik
Kneipp Flatuol	Almanya	Mide-barsak hastalıkları
Kneipp Magentrost	Almanya	Mide-barsak hastalıkları
Magen-Tee Stada	Almanya	Hazımsızlık
Majocarmin	Almanya	Mide-barsak hastalıkları
Majocarmin Mite	Almanya	Hazımsızlık ve iştahsızlık
"Mletzko" Tropfen	Almanya	Mide-barsak hastalıkları

Tablo 2.1. devam

Padma-Lax	İsviçre	Kabızlık
Palmi	Fransa	Hazımsızlık
Phonix Gastriphon	Almanya	Mide-barsak hastalıkları
Phospharome	Fransa	Tonik
Pillole Frerichs-Maldifassi Lassative	İtalya	Kabızlık
Pillole Schias	İtalya	Kabızlık
Pilules Pink	Fransa	Anemi
Plantago Komplex	Avustralya	Kabızlık
Politintura Schias	İtalya	Safra yolları hastalıkları
Presselin 214	Almanya	Mide-barsak hastalıkları
Quiet Tyme	İngiltere	belirsiz
Roflatol (Rowa-146)	Almanya	Mide-barsak hastalıkları
Schwedentrunk	Almanya	Mide-barsak hastalıkları
Schwedentrunk mit Ginseng	Almanya	Mide-barsak hastalıkları
Sciroppo Fenoglio	İtalya	Anemi
Sedovent	Almanya	Mide-barsak hastalıkları
Sinupret	Almanya	Sinüzit
Stomach Mixture	İngiltere	Hazımsızlık
Stomaform	Almanya	Mide-barsak hastalıkları
Stovalid N	Almanya	Mide-barsak hastalıkları
Tisane Gastrique "H"	İsviçre	Karminatif ve Sindirim sistemi hastalıkları
Triogene	Fransa	Tonik
Ventri-Loges	Almanya	Mide-barsak hastalıkları
Ventrimarin	Almanya	Mide-barsak hastalıkları
Ventrodigest	Almanya	Mide-barsak hastalıkları
Vitanerton N	Almanya	Sinir hastalıkları
Waterbury's Compound	Avustralya	Tonik ve öksürük kesici
Worisnofener norvenpflege Dr. Kleinschrod	Almanya	Üriner sistem hastalıkları

2.5. Drogun Gıda ve İçkilerde Kullanımı

Ticari farmasötik preparatların dışında *Gentiana* kökleri bazı içki ve yemek öncesi içilen içeceklerin hazırlanmasında da kullanılmaktadır. 18. yüzyılda *Gentiana* Şarabı'nın yemek öncesi aperitif olarak alındığı kayıtlıdır (31).

Alkollü içkilerin hazırlanması sırasında en az 2-5 yıllık çok iyi fermente edilmiş *Gentiana* kökleri kullanılması önerilmektedir, çünkü bu şekilde acılığın azaldığı, buna karşın aromanın arttığı belirtilmektedir (32).

Amerika'da *G.lutea* ve *G. acaulis*'in önceleri gıda olarak kullanımına izin verilmiş ve jöle, puding ve hamur işlerine % 0.015 oranında katılmasına müsaade edilmişken, alkollü içkilerin bileşimine girmesine daha sonra izin verilmiştir. Bu amaçla vermutun bileşimine %0.002 oranında katılmaktadır (33). Özellikle Fransa'da likör endüstrisinde [çok popüler bir aperitif bir içki olan Suze *Gentiana* köklerinden hazırlanmaktadır] kullanılmakta olup, tüketimi yılda 1000-1500 ton civarındadır (34, 35).

Ayrıca Angostura acısı [Angostura bitter] adı verilen bir karışımın hazırlanmasında kullanılmakta ve bu karışım kokteyllerin bileşiminde kullanılmaktadır (36).

Taze *Gentian* kökleri kesilir, önce su ile maserasyona sonra da fermentasyona bırakılır, distillenir. Bu şekilde elde edilen distilat, alkol ve çok az miktarda karakteristik tat ve kokuya sahip uçucu yağ içerir "Gentian Brendisi" adını alan bu alkollü içki çok rağbet görmektedir (37-40).

2.6. Droğun Etken Maddeleri

Gentiana lutea'nın toprak altı kısımları (kök ve rizomlar) drog olarak kullanılmakta olup *Radix Gentianae* olarak bilinir. Diğer tüm *Gentiana* türlerinde olduğu gibi *G. lutea*'nın da tıbbi değerinden sorumlu bileşikler acı maddeler yani iridoitlerdir. Bu konuda yapılan çalışmalar türün sekoiridoitler bakımından oldukça zengin olduğunu göstermiştir. Bu nedenle droğun ana bileşikleri olan iridoitler ve sekoiridoitler hakkında bölüm 2.7. de ayrıntılı bilgiler verilmiştir. Bitkinin terkinde iridoitler dışında ksanton, flavonlar, monoterpenik alkaloidler, ayrıca glikozitlerin parçalanması sonucu oluşan şekerler ve organik asitler bulunmaktadır.

2.7. İridoitler

Bitki kimyası araştırmalarının ilk yıllarında, izolasyonu gerçekleştirilen maddeler kristallendiriliyor fakat yapı tayinleri güçlükle yapılıyordu. Günümüzün modern kromatografik ve spektroskopik olanaklarından yoksun olan araştırmacılar, kimyasal yapıları "kağıt kimyası" adı verilen yöntemle aydınlatmaya çalışıyorlardı. Bunun için elde edilen bileşik çeşitli yöntemlerle parçalanıyor, elde edilen parçalanma ürünlerinin yapıları çeşitli

yollarla belirleniyor ve bunlar önce teorik olarak sonra da sentez yoluyla birleştirilerek molekülün yapısı açıklanıyordu. 1818 yılında Pelletier ve Caventou tarafından kristal halde elde edilen striknin'in yapısının 130 yıl süren yoğun araştırmalardan sonra ancak 1952'de Robinson tarafından kesin olarak aydınlatılmış olması bu durumun en çarpıcı örneklerinden biridir.

Özetlemeye çalıştığımız yöntem ancak dayanıklı bileşiklere uygulanabiliyordu. Dayanaksız bileşiklerin yapı tayinleri ancak 20. yüzyılın son yarısında, modern analiz metodlarının uygulamaya girmesiyle mümkün olmuştur. İridoitler bu tür maddelere örnektir. 1848 yılında Schunk *Rubia tinctorum* köklerinden elde ettiği iridoite klorojenin adını vermiş, 1851'de Rochleder aynı maddeyi aynı bitkiden izole ederek rubiklorik asit olarak isimlendirmiş, aynı yıllarda Schwarz bu bileşiğin *Asperula odorata*'da da bulunduğunu göstermiştir. Aynı bileşik 1926 yılına kadar birçok bitkiden rubiklorik asit adıyla rapor edilmiştir. 1925 yılında Herrisey bu bileşiğin *Asperula odorata*'dan tekrar izolasyonu ve kristalizasyonu gerçekleştirmiş ve asperulozit adını vermiştir. 1926'da asperulozit ile rubiklorik asitin aynı madde olduğu ispatlanmıştır ve bu arada orijinal isim olan klorojenin tamamen unutulmuştur (41).

Benzer birtakım olaylar dizisi okubin (=aokubin) ile de yaşanmıştır. İlk kez *Rhinanthus alectorolophus*, *R. crista-galli* ve *Antirrhinum majus* türlerinde bulunmuş olan bu bileşik Ludwig tarafından 1868'de rinantin olarak adlandırılmıştır. Daha sonra *Melampyrum* türlerinde de rastlananan bu kristalize glikozit 1902'de Bourquelot ve Herissey tarafından izole edilmiş ve okubin olarak adlandırılmıştır. 20 yıl sonra ise okubin ile rinantin'in aynı madde olduğu gösterilmiştir (41). Okubin ve asperulozit'in ikisi de bitkilerde seyreltik asit hidrolizi ile ilk etapta mavi ya da yeşil renk verirler daha sonra yeterince yüksek konsantrasyonda bulunuyorlarsa siyah çökelek oluşturmaları ile kolaylıkla tanınırlar. Buna rağmen, bu test tüm iridoitler için spesifik değildir. Bu nedenle asperulozit ve okubin gibi tipik renk reaksiyonu vermeyen birçok maddenin izolasyonu, tesadüfen gerçekleşmiştir. Örneğin *Strychnos nux-vomica* pulpasından loganin izolasyonunun nedeni, loganinin bitkideki indol alkaloidlerinin prekürsörü olmasıdır (42).

Warden, 1881 yılında *Thevetia peruviana*'da asit ile muamele sonucu hızla beliren mavi renk veren amorf, glikozit benzeri bir madde izole etmiştir. Renge "Tevetin mavisi" adını vermiş, renkten sorumlu maddeyi ise "psödoindikan" olarak isimlendirmiştir (43).

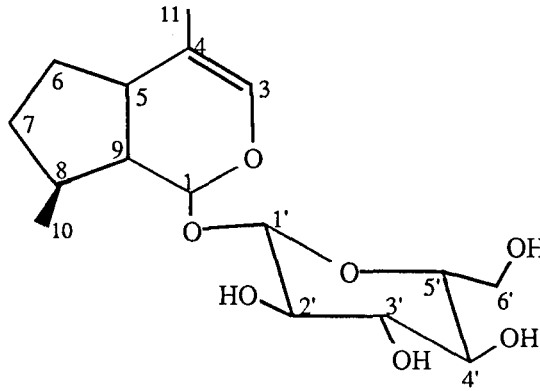
Benzer bir gözlem Molisch tarafından 1893-99 yılları arasında yapılmıştır. Molisch, o yıllarda seyreltik HCl varlığında ısıtılınca mavi renk veren, renksiz kromojenik maddelere sahip çeşitli bitkileri tanımlamış ve bu maddeleri psödoindikan olarak adlandırmıştır. Aynı koşullar altında mavi veya mavimsi yeşil renkler oluşturan her kromojenik madde için bu ifadenin kullanılmasını önermiştir. Onun psödoindikanlar hakkındaki gözlemleri bu doğal madde grubu için prensip olarak hala geçerlidir, çok kararsız olan bu maddeler hava ile

temasta renk değiştirirler, asitle hemen, alkali ve oksitleyici maddelerle kısmen dekompoze olurlar. Psödoindikanların yapıları 1958'de Halpern tarafından aydınlatılabılmıştır. Sonraki yıllarda, asit ile muamele sonucu oluşan dekompozisyon nedeniyle, bu tip maddeler "asit-labil glikozitler" ya da "asit-labil aglikonlu glikozitler" veya "okubin glikozitleri" olarak adlandırılmışlardır (44).

1963'de Briggs ve arkadaşları tarafından, *Iridomyrmex dedectus* 'dan izole edilen iridodial (bu grup maddelerin en basiti) ile ilişkili olarak **iridoit** ismi önerilmiş ve benimsenmiştir (43,45). Günümüzde kromojenik reaksiyonu veren bileşikler ile bu reaksiyonu vermeyen monoterpen yapısındaki siklopentanoit laktonlar ve bunların biyosentetik benzerleri için Briggs ve arkadaşları tarafından önerilen **iridoit** ismi kullanılmaktadır.

2.7.1. İridoitlerin Tanımı

İridoitler siklopentanopiran halkasına sahip acı lezzetli monoterpen laktonlardır. Bünyelerinde bir α -piran, bir de siklopentan olmak üzere iki siklik halka bulunmaktadır. Çoğu D-glikozun anomerik karbonundaki hidroksil grubu ile aglikonun C₁ konumundaki hidroksil grubu arasında oluşan glikozidik bağ ile karakterize olurlar. C₃ ve C₄ atomları arasında çift bağ vardır (nadiren olmayabilir), bu tipik enol-eter durumudur (46, 47).



İridoit glikozit iskeleti

İridoitler genel olarak 10 karbon atomuna sahiptir. 11. karbon varsa bu ya karbometoksi grubuna (örn., loganin) ya da bir karboksilik asit grubuna (örn., loganik asit) aittir. Nadiren karbon-metil grubu ya da karboksilik asit grubu bir hidroksi metil grubu ile veya aldehit ya da metil grubu ile (örn., lamiozit) değişmiştir. Bazende 11. karbon atomu mevcut değildir (örn., okubin, katalpol, harpagozit), nadiren piran halkası açıktır (örn., nepetariazit). Ayrıca 6. karbondaki muhtemel bir oksidasyon (örn., okubin, harpagozit) veya C₆ ve C₇'de bir çift bağ (örn., monotropein) görülebilir. Yapıya bir asit ya da alkolün girmesiyle ester iridoitler oluşmaktadır (34,49,55). Asit, oz veya aglikona ait bir hidroksil

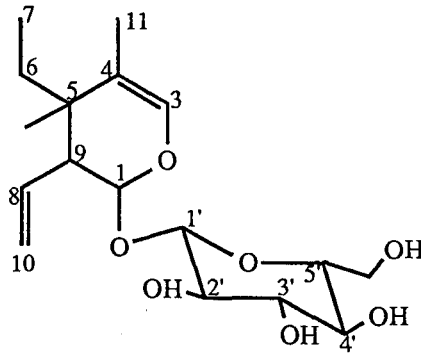
grubu üzerinden esterleşebilir. Bunun yanında bir alkol, aglikona ait bir karboksil grubu üzerinden esterleşebilir (48).

İridoitlerin çoğu doğada glikozit şeklinde bulunurlar, 1-mono glikozitleri yaygındır. Oz olarak glikoz taşırlar. Glikoz dışında arabinoz, alloz, galaktoz, ramnoz ve ksiloz taşıyanlara da rastlanmaktadır. Aglikonlar genellikle çok dayanıksız olup asitle hidrolizden sonra mavi ya da siyah renkli polimerlere dönüşürler. İridoit glikozitleri içeren herbaryum bitkilerinde kurutma sırasında meydana gelen kararına bunu kanıtlamaktadır (46-48).

Okubin ilk kez *Aucuba japonica* (Garryaceae) dan izole edilen ve Scrophulariaceae türlerinde yaygın olarak bulunan bir iridoittir. Asperulozit *Asperula odorata* 'dan isimlendirilen fakat gerçekte ilk kez kök boya bitkisi *Rubia tinctorum*'dan elde edilen bir iridoit laktondur. *Catalpa* meyvalarından elde edilen katalpol'ün, p-hidroksibenzoil esteri olan katalpozit gibi açilli türevleri de bilinmektedir. Hidroksi gruplarına sinnamil (örn., harpagozit) ve asetil (örn., didrovaltratum) gibi grupların bağlı olduğu esterlerde iridoit glikozitlerine dahildir (47). Fulvoplumierin ve plumerisin gibi iridoitlerin aglikonları dayanıklıdır. Bitkilerde ayrıca basit iridoitler olarak adlandırılan glikoz bağlı olmayan birkaç uçucu iridoit bulunmaktadır. Bunun en iyi bilinen örnekleri *Nepeta* türlerinde bulunan nepetalaktonlardır. Bu maddeler kedigillerde garip bir keyif hali oluşturur. *Nepeta* türlerindeki nepetalaktonların beslenmeyi engelleyerek etki gösteren böcek öldürücü aktivitesi vardır. Nepetalaktona benzer yapılar (örn., dolikodial) karıncaların ve kınkanathların savunma sekresyonlarında oluşurlar. Bu tür iridoitler genellikle uçucu yağ terkinde bulunan maddelerdir (34,46,47,49).

İridoitlerin siklopentan halkasının parçalanması ile oluşan maddeler sekoiridoitler olarak adlandırılırlar (örn., loganin'den türelenen bir sekoiridoit olan sekologanin). Bunlar genellikle glikozit halinde bulunurlar. Şeker bağlı olmayan sadece birkaç sekoiridoit izole edilmiştir (50,47,51).

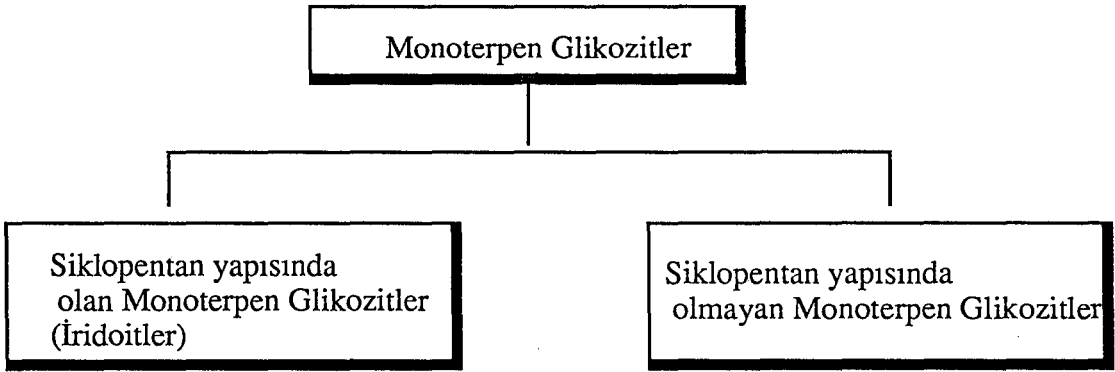
Sekoiridoitler, Gentianales, Cornales ve Dipsacales gibi takımlarda bulunurlar. Özellikle *Gentiana* cinsi sekoiridoitler bakımından çok zengindir. Bu bileşikler terpen alkaloitlerinin biyosentetik prekürsörü olarak özel bir rol oynarlar. Genel olarak sekoiridoitler, ilgili indol veya izokinolin alkaloitleriyle birlikte oluşurlar. Örneğin, sekologanin'in aldehit grubunun triptofan aminoasidi ile kondensasyonu korinantein (*Corynanthae yohimbe* bitkisinden elde edilir) adlı alkaloiti verir (bakınız Bölüm 2.7.4.).



Sekoiridoit Glikozit İskeleti

2.7.2. İridoitlerin Sınıflandırılması

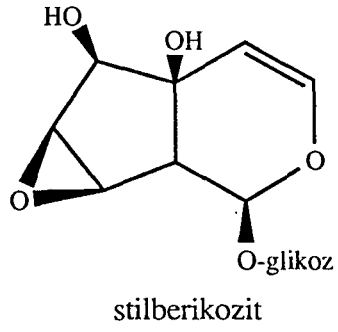
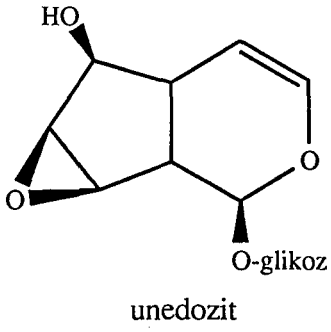
Önceleri monoterpen glikozitler olarak belirtilen iridoitler, son yıllarda siklopentan yapısında olmayan monoterpen iskeletine sahip glikozitlerin izole edilmesiyle birlikte, siklopentan yapısında olan monoterpen glikozitleri (iridoitler) ve siklopentan yapısında olmayan monoterpen glikozitleri olarak iki ana grup altında toplanmışlardır.



Bugüne kadar iridoitler için bir çok araştırmacı tarafından değişik sınıflandırmalar yapılmıştır. İridoitler, glikozitler ve glikozit yapısında olmayan iridoitler olarak basitçe sınıflandırılabilirdiği gibi karbon sayıları, C4 konumunda taşıdıkları süstitüentler, fonksiyonel grupları veya glikozidasyon tipleri dikkate alınarak çeşitli şekillerde sınıflandırılabilmektedir (32, 50, 52-55).

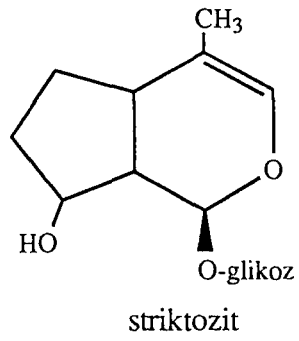
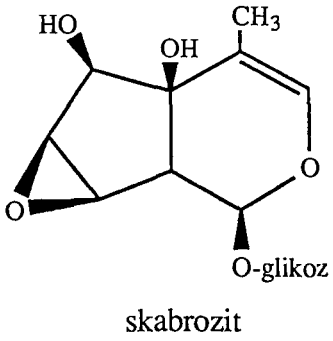
Burada karbon sayılarına göre yapılan sınıflandırma esas olarak alınmış 8 karbonlu, 9 karbonlu, 10 karbonlu iridoitler, sekoiridoitler, iridoit aglikonları, bis-iridoitler ve glikozidik yapıya sahip olmayan (non-glikozidik) iridoitler olarak gruplandırılmıştır. Bu gruplara ait örnekler aşağıda verilmiştir.

8 karbonlu iridoitler:

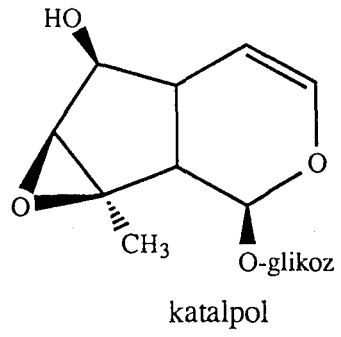
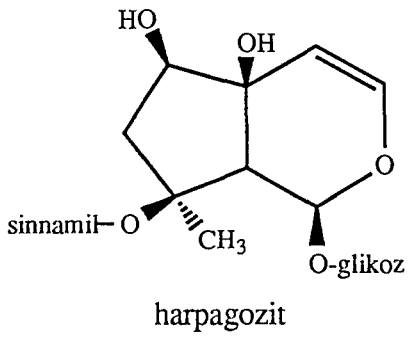


9 karbonlu iridoitler: 9. karbon C4 veya C8 konumunda olabilir.

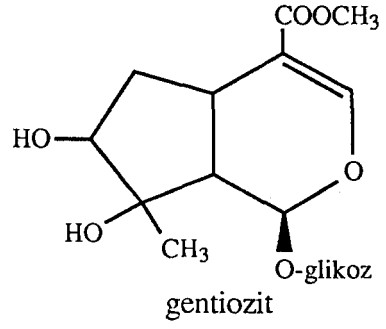
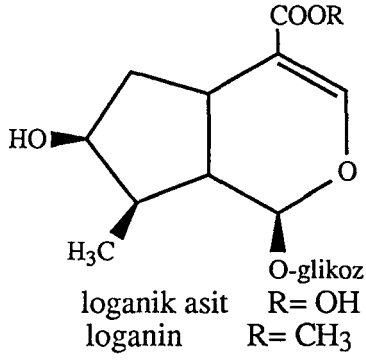
9. karbon C4 konumunda



9. karbon C8 konumunda

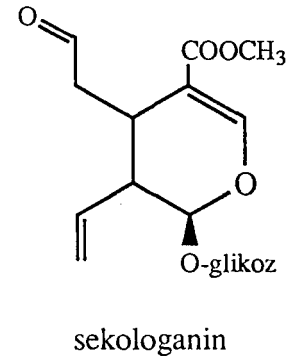
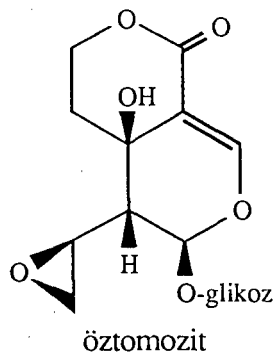
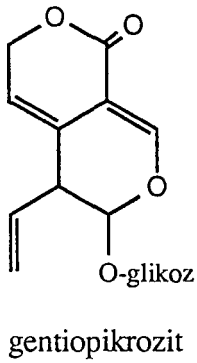


10 karbonlu iridoitler

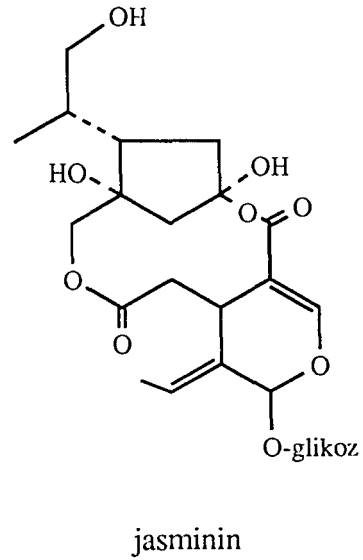
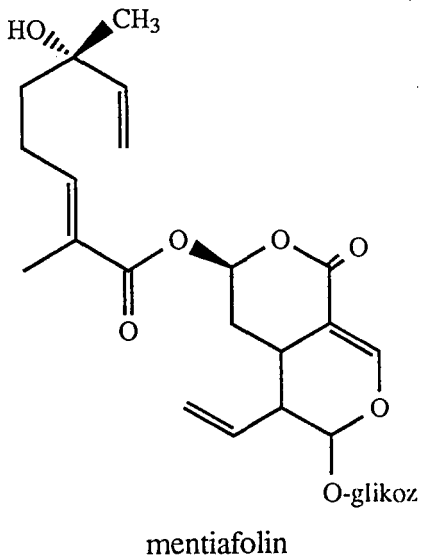


Sekoiridoitler: Sekoiridoitler taşıdıkları süstitüentler göz önüne alınarak sınıflandırılabilir (53,54).

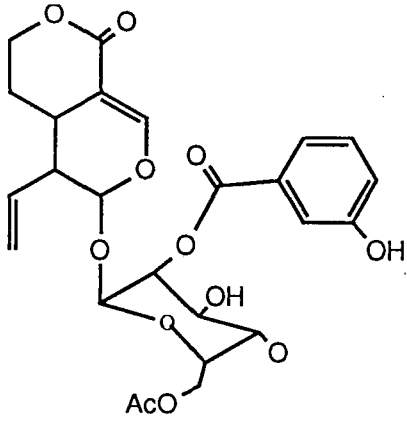
Basit sekoiridoitler:



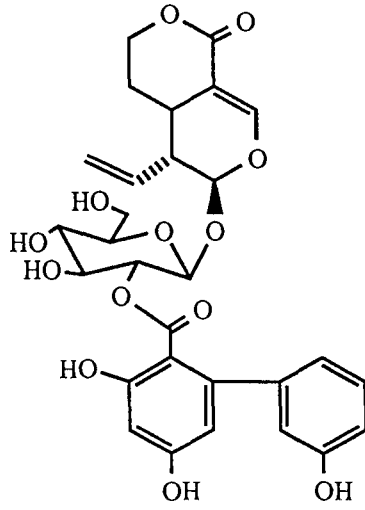
Terpen bağlı sekoiridoitler:



Fenol bağlı sekoiridoitler:

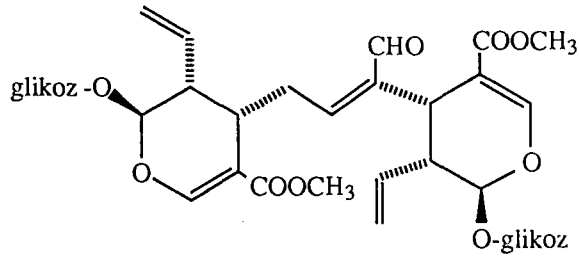


deasetilsentapikrin



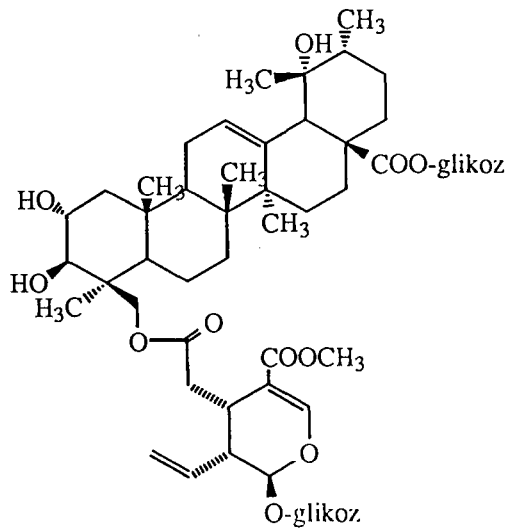
amarogentin

Bis-sekoiridoitler:



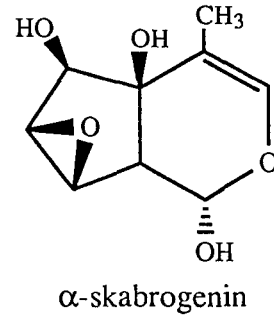
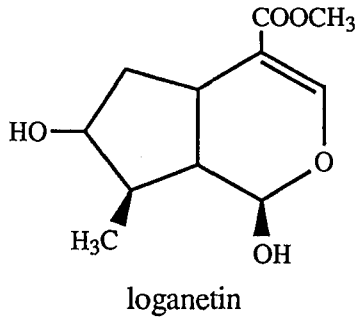
sentorozit

Diğer sekoiridoitler:

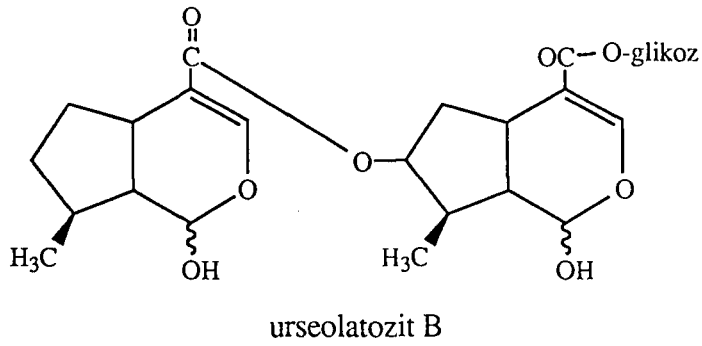


desfontainozit

İridoit aglikonları:

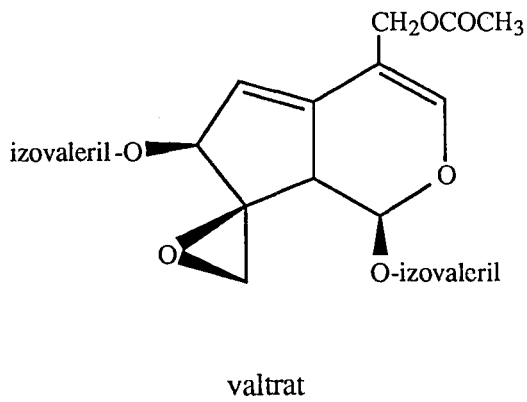


Bis-iridoitler:

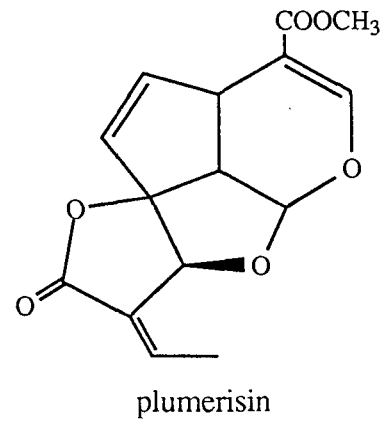


Non-glikozidik iridoitler: Bu grupta iridoitler *Valeriana* ve *Plumeria* olmak üzere 2 farklı tip yapı gösterebilirler.

Valeriana tipi



Plumeria tipi



2.7.3. İridoitlerin Biyosentezleri

1960 lı yıllarda iridoitlerin gerçek yapısı kademeli olarak açıklanmaya başlayınca monoterpen glikozitler oldukları anlaşılmıştır. Bu ilk olarak Schmid ve arkadaşları tarafından plumierit ve okubin için önerilmiştir. Ardından radyoaktif etiketli prekürsörler ile biyosentez deneyleri sonucu iridoit ve sekoiridoit glikozitlerin mevalonik asit üzerinden oluştuğu doğrulanmıştır (43).

İridoit biyosentezi 3 evrede özetlenebilir:

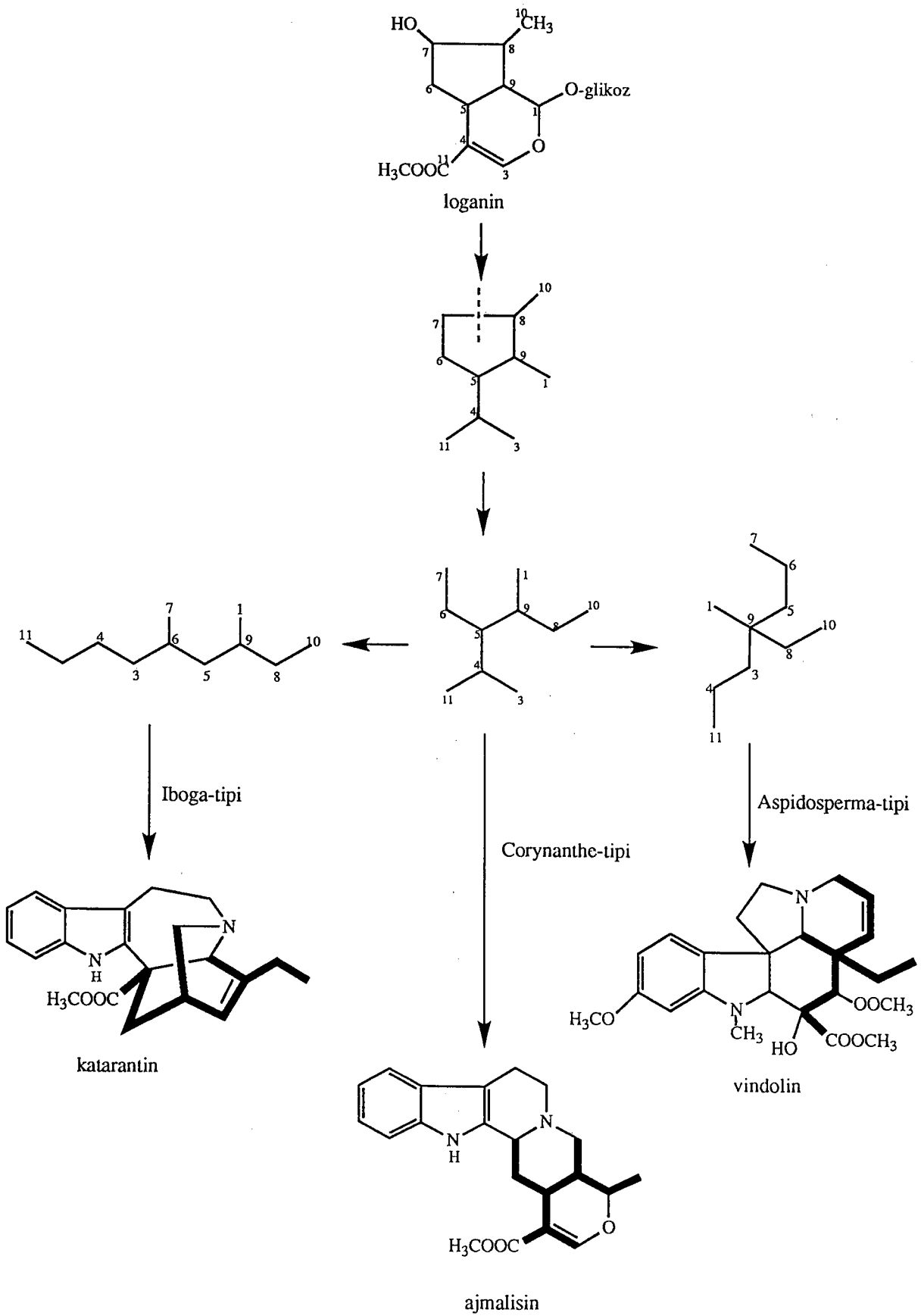
1. Mevalonik asitten 10-hidroksigeraniol (ya da stereo izomeri 10-hidroksinerol) oluşur. Mevalonik asitin fosfatlanıp bir dizi reaksiyon sonucu siklizasyona uğraması sonucu oluşan 10-hidroksigeraniol bütün iridoitlerin ortak prekürsörü durumundadır.

2. 10-hidroksigeraniolden 8-epiiridodial oluşurken, diğer yolda iridodial ve kararsız bir ürün olan iridotrialin aldehit gruplarının siklizasyonu ile altılı halka oluşur ve 7-dezoksiloganik asit meydana gelir.

3. Bundan sonraki basamakta loganik asit ve loganin oluşur. Bu ürünlerin siklopentan halkasının C7 ve C8 konumları arasından açılmasıyla sekoiridoitler (sverozit, svertiamarin ve gentiopikrozit gibi) oluşur (Şekil 2.1.) (32,34,48,43,56,57,58).

2.7.4. İridoitlerin alkaloid biyosentezindeki önemi

İridoitlerin biyosentetik özünün araştırılması sırasında loganin'in sadece iridoit ve sekoiridoitlerin oluşumunda değil, indol ve izokinolin alkaloidlerinin sentezinde de rol oynadığı ortaya çıkarılmıştır (41). 1961'de Thomas ve Wenkert tarafından çok sayıda indol alkaloidinde bulunan ve ne olduğu bilinmeyen 10 karbonlu fragmanın iridoit tipinde bir siklopentan monoterpen olduğu rapor edilmiştir. Böyle bir hipotez C7 ve C8 arasında bir parçalanmayı gerekli kılacaktır. Biyosentez çalışmaları ile bu hipotezin doğruluğu kanıtlanmıştır. Şekil 2.2. de görüldüğü gibi loganindeki siklopentan halkasının C7 ve C8 arasından parçalanması ile sekologanin oluşur. Bu 10 karbonlu fragman (sekologanin iskeleti) ajmalisin ve korinanteinde bulunmuştur. Bu fragmanın C4 ve C5 arasında parçalanması ve C3 den C6 veya C9'a reanjmanı *Iboga* tipinde katarantin ve *Aspidosperma* tipinde vindolin oluşumunu sağlar. Bazı alkaloidlerde bulunan 9 karbonlu fragman, bir karbonun kaybı (C₁₁ ya da C₃ de) ile oluşmaktadır. Bazen de vinkozit, ipekkozit ya da kardifolin'de olduğu gibi şeker bağlı olarak bulunabilirler. İndol alkaloidlerinin çoğu (özellikle yohimbin, ajmalisin/ajmalin, striknin, rezerpin, kinin/kinidin gibi farmasötik açıdan önemli maddeler) *Corynanthe* tipine aittir (43).



Şekil 2.2. Loganin'den bazı indol alkaloitlerinin oluşumu

2.7.5. İridoitlerin Ekosistemdeki Fonksiyonları

Böcek larvaları iridoitçe zengin bitkiler ile beslenerek doğal düşmanlarından pasif korunma sağlamaktadır. Böcek larvasının acı lezzetini bilen doğal düşmanlar bu larvalara dokunmamaktadır. Acı lezzeti sağlayan iridoitler bu yolla ekosistemde önemli rol oynamaktadır. Buna en güzel örnek, bazı tür kelebek larvalarının katalpol depolayarak kendilerini doğadaki yırtıcı hayvanlara yem olmaktan korumalarıdır. Larvaların bu iridoitleri yedikleri bitkilerden aldıkları anlaşılmıştır (50). Ayrıca, bazı tür karınca ve böceklerin de aynı şekilde korunma amacıyla krizomelidial ve plagodial gibi iridoitleri kendi organizmaları içinde sentezledikleri gösterilmiştir (59). Iridomirmesin'in DDT ve γ -benzenheksaklorür (lindan, gameksan)'den daha güçlü insektisit etkisi de (60) iridoitlerin özellikle ekosistemdeki böcek dengesi için önemli olduğunu düşündüren diğer bir kanıttır.

2.7.6. *Gentiana* türlerinden iridoitlerin ekstraksiyon ve izolasyonları

2.7.6.1. *Gentiana* türlerinden iridoitlerin ekstraksiyonları

İridoitler çiçek, yaprak, gövde, herba gibi bitkilerin değişik kısımlarında bulunabilirler. Bitkisel materyallerden ekstraksiyon ve izolasyonları enzimlere, asit ve alkalilere karşı dayanıksızlıkları nedeniyle güçleşmektedir. Bitkisel materyalin toplanması, kurutulması ve saklanması sırasında iridoitlerin bozulmadan kalıp kalmayacağı hakkında tartışmalar vardır. Bazı kaynaklarda, bitkisel materyalin hızlı kurutulmasının glikozitleri parçalamayacağı belirtilmektedir. Ancak bir çok iridoit taze ve kurutulmamış materyalden izole edilmiştir. İzolasyon işlemleri sırasında ana sorun bu maddelerin diğer bitki bileşiklerinden ayrılmasıdır. Ne yazık ki, iridoitler, alkaloidler gibi herhangi bir reaktif yardımıyla çöktürülemezler, çünkü yapılarında kompleks oluşturacak uygun bir gruba sahip değildirler (43,44).

Kuru bitkisel materyalden iridoitlerin ekstraksiyonu için daha çok metanol ve etanol gibi polar çözücüler kullanılmaktadır. Bakuridze ve arkadaşları iridoitlerin ekstraksiyonu için en uygun çözücünün etanol olduğunu, etanol ile bitkideki iridoitlerin % 40' ın alındığını, ekstraksiyon için en uygun sürenin köklerde 45 dakika, toprak üstü kısımlarda ise 30 dakika olduğu rapor etmişlerdir. Aynı kaynakta, ekstraksiyon için bitki:çözücü 1:15 olarak verilmiştir (61). Nadiren de olsa sulu etanol, sulu metanol, sulu aseton kullanılmaktadır. Çoğu zaman kullanılan ekstraksiyon yöntemi genellikle birkaç gün süren maserasyon, perkolasyon, su banyosu üzerinde geri çeviren soğutucu veya Soxhlet cihazında devamlı ekstraksiyon şeklinde yapılmaktadır (Tablo 2.2.). Sonra, çalışılan maddelerin dekompozisyonunu engellemek için, çözücüler düşük sıcaklıkta vakum altında yoğunlaştırılır (62).

Tablo 2.2. *Gentiana* türlerinin ekstraksiyonu için kullanılan yöntemler ve çözücü sistemleri

Ekstraksiyon yöntemi	Kullanılan kısım	Bitkisel materyal	Kullanılan çözücü	Kaynak	
maserasyon	kök	<i>G. asclepiadea</i>	n-hekzan, benzen, aseton, metanol	63-4	
		<i>G. verna</i>	kloroform	65-7	
		<i>G. campestris</i>	kloroform	68	
		<i>G. triflora</i> var. <i>japonica</i>	kloroform	69	
		<i>G. macrophylla</i>	kloroform	70	
		<i>G. punctata</i>	kloroform	71	
		<i>G. lutea</i>	kloroform	72	
	taze kök	<i>G. lutea</i>	kloroform	73	
		<i>G. punctata</i>	kloroform	74	
	herba	<i>G. septemfida</i>	kloroform	75	
		<i>G. lutea</i>	etanol	61	
		<i>G. pyrenaica</i>	hekzan,benzen, kloroform,aseton, metanol	76,77	
	-		<i>G. algida</i>	aseton (%2 su içerir)	78
		gövde, yaprak	<i>G. pyrenaica</i>	hekzan,benzen, kloroform,aseton, metanol	79
	çiçek	<i>G. pedicellata</i>	hekzan,benzen, kloroform, etilasetat, propanol, metanol	80-2	
Soxhlet Cihazı ile devamlı ekstraksiyon	taze bitki	<i>G. formosana</i>	metanol	83	
	herba	<i>G. verna</i>	aseton	84	

	yaprak	<i>G. depressa</i>	önce kloroform sonra metanol	85-7
Geri çeviren soğutucu altında kaynatmalı ekstraksiyon	taze kök	<i>G. scabra</i> var. <i>burgerii</i>	metanol	88-89
	herba	<i>G. rhodantha</i>	metanol	90-91
		<i>G. cruciata</i>	metanol	92
		<i>G. gelida</i>	metanol	83
Perkolasyon	kök	<i>G. lutea</i>	etanol:su (1:1)	93

İridoitlerin izolasyonu için, yoğunlaştırılan ekstre suda çözülür ve bir dizi sıvı-sıvı ekstraksiyon işlemine tabi tutulur. Sırasıyla benzen, dietileter, petrol eteri, kloroform, etilasetat, n-butanol bu amaçla kullanılan organik çözücülerdir. Bu süreçte lipofilik grup bağlı glikozitler dietileter, benzen veya petrol eterinde çözünürken glikozitlerin çoğu etilasetat ya da n-butanol ile ekstre edilir. Yüksek polariteye sahip bazı glikozitler sulu fazda kalır.

Bitkisel materyallerin ekstraksiyonu esnasında stabilite sorunu gözden uzak tutulmamalıdır. Zira, iridoit serisindeki özellikle glikozit tipinde maddeler kararsızdır. Bunlardan bazıları ısı, asit veya alkali ile kolaylıkla dekompoze olurlar. Hidroliz sonucunda asperulozit, monotropein ve okubin ilk önce mavimsi-yeşil bir renk ve sonunda siyah bir çökelek verir. Asetik asit, seyreltik bakır-2-sülfat (sulu) çözeltisi ve konsantre hidroklorik asitten ibaret olan Trim-Hill Reaktifi uzun süreden beri bazı iridoit glikozitlerin belirlenmesinde kullanılmaktadır. En kararsız glikozitlerden biri olan monotropein suda bile dekompoze olur. Çeşitli bitkilerde bitki dokusunun ölümü ile başlayan renk değişmesi bu tip glikozitlerin enzimatik hidrolizleri ile ortaya çıkar. En belirgin örnek monotropein içeren *Monotropastrum globosum* 'da görülür, bitkinin gümüşümsü rengi koparıldıktan birkaç dakika sonra maviye ardından hemen siyaha dönüşür. Böyle bir renk değişimi bu tip glikozitler için bir belirteç görevi görür. Bitkilerde bulunan iridoitlerin dekompozisyonu bitkisel materyalin hızla kurutulması ile büyük ölçüde önlenir (42,50).

2.7.6.2. *Gentiana* türlerinden iridoitlerin izolasyonları

Glikozitlerin kurşun asetatla saflaştırılması için uygulanan klasik metot bugün kullanılmamaktadır. Çünkü bu süreç sırasında madde kaybı çok fazladır. Genel olarak iridoitlerin kristalizasyonu fenoller, flavonlar, tanenler (bunlar iridoitler ile birlikte sulu faza geçerler) ve serbest şekerler (glikoz ve sakkaroz gibi) tarafından önlenir (43). Bu nedenlerle iridoit bakımından zengin ekstraktların fraksiyonlanarak saflaştırılması yoluna gidilir.

Safılaştırma işlemleri adsorban olarak silikajel, poliamit, nötral alümina, selüloz, aktif karbon, selit ya da Sefadeks LH-20 kullanılan kromatografik metotların kombinasyonu ile yapılmaktadır (Tablo 2.3.). Bu amaçla en çok kullanılan adsorban silikajel, çözücü sistemi ise kloroform:metanol (değişik oranlarda) karışımıdır. Alümina üzerinden kolon kromatografisi için elüsyonda su kullanılır. Aktif karbon üzerinden kromatografi de ise su:metanol ya da su:etanol kullanılarak ve çözücü sistemindeki alkol konsantrasyonu artırılarak uygulanır. Bunların yanı sıra alkollü ekstraleler selit üzerinde uygulanan kolon kromatografisi ile lipofilik veya hidrofilik fraksiyonlara ayrılabilir. İlk fraksiyon (yani lipofilik) hekzan veya hekzan:kloroform ile elüe edilir, sonraki fraksiyon (yani hidrofilik) ise metilen klorür:metanol ile ayrılır. Bütün durumlarda önce şekerler elüe edilirken iridoitler alkol miktarlarının arttığı çözücü sistemleriyle elüe edilirler (50).

Tablo 2.3. *Gentiana* türlerinden iridoitlerin izolasyonu için kullanılan Kolon Kromatografisi sistemleri

Adsorban	Kullanılan çözücü	Kaynak
Silikajel	kloroform:metanol (80:20)	65
	kloroform:metanol (93:7) → (80:20)	64
	kloroform:metanol:su (80:20:2) → (60:40:4)	75
	kloroform→kloroform:metanol (99:1)	73
	kloroform→kloroform:metanol (99:1)→(95:5)	69
	diklorometan:metanol (4:1)	83
	benzen:etilasetat (9:1)	83
	diklorometan:etilasetat (9:1)	83
	siklohekzan:diklorometan:etilasetat:metanol (4:3:2:1)	83
	siklo hekzan:kloroform(9:1)	83
	petrol eteri →petrol eteri:dimetilketon	70
Poliamit	metanol	75,94
	metanol:su:asetikasit (18:1:1)	95
	sulu metanol	96
	benzen:metanol (9:1)	80-2
Sefadeks LH 20	metanol	68, 80-2,85-7, 91

	kloroform:metanol (2:8)	79
	kloroform:metanol (1:1)	70,78
Nötral Alumina	su	74
Aktif kömür	su →su:etanol (9:1)→ (7:3)	71, 74
Selüloz	%10 asetik asit	95
	n-butanol:asetik asit:su (4:1:6)	85

İnce Tabaka Kromatografisi pratikliği ve çabukluğu açısından uygun başka kromatografik yöntemlerin seçilmesinde önemli rol oynar (Tablo 2.4.). Adsorban olarak en yaygın silikajel kullanılır. Silanlı silikajel ile yapılan ters faz İTK'nde çözücü sistemi olarak metanol:su ya da asetonitril:su karışımları sıkça kullanılır. İTK ile iridoitleri belirlemek için plak UV ışığı altında incelenmelidir. Bu yöntemle karakteristik enol-karbonil yapısı olan iridoit lekeleri belirlenebilir. Vanilin (veya anisaldehit): sülfürik asit reaktifi püskürtüp ardından 120°C de 5-10 dakika ısıtmak en sık kullanılan yöntemdir. Bu metot iridoitler için spesifik değildir. Fakat bazen iridoit sınıflarını diğerlerinden ayırmaya yarayabilir. Çünkü bazı iridoit grupları karakteristik renkler verir. Örneğin; gentiopikrozit, sverozit, sekologanin ve svertiamarin gibi sekoiridoit glikozitleri kahverengimsi mor, loganin ve loganik asit ise mor renk verirler. Asperulozit gibi glikozitler ile plağa seyreltik hidroklorik asit püskürtüldükten sonra ısıtma sonucu maviden siyaha doğru oluşan renk değişimi görülür. İnce Tabaka Kromatografisi ve kağıt kromatografisi polar glikozitlerin saptanmasında kullanılır. n-butanol:asetik asit:su (63:10:27) gibi çözücü sistemleri denenebilir ve kromatogramlar yukarıda bahsedilen reaktiflerle görünür hale getirilebilirler (50).

Analitik İnce Tabaka Kromatografisi için kullanılan çözücü sistemleri preparatif amaçla da uygulanabildikleri gibi, düşük, orta, yüksek basınçlı sıvı kromatografi sistemleri için uygun çözücü sistemlerinin belirlenmesi amacıyla da kullanılabilirler. Preparatif İTK ya da diğer kromatografik yöntemlerle ayrılmış olan iridoitlerin tam olarak saflaştırılması ve istenmeyen maddelerin uzaklaştırılması için Sefadeks LH-20 üzerinde jel filtrasyonu ya da aktif karbon üzerinden kromatografi tercih edilir (48, 50).

Aromatik veya fenolik sübstitüentler taşıyan iridoitler ve fenolik bileşikler jel kromatografisi kullanılarak da ayrılabilirler. Su:metanol karışımı ile elüsyonda aromatik olmayan maddeler aromatik maddelerden daha hızlı elüe olurlar. Poliamitte, fenolik ve fenolik olmayan maddelerin ayırımı için yine su ve metanol kullanılır. Ancak poliamitin birtakım dezavantajları vardır. Ayırımı istenen maddelerle birlikte elüe olabilen eser miktardaki kirlilikler kolaylıkla uzaklaştırılmaz ve bazı durumlarda fenolik maddeler poliamite adsorbe olabilirler.

Tablo 2.4. *Gentiana* türlerinden iridoitlerin izolasyonu için kullanılan İnce Tabaka Kromatografisi sistemleri

Adsorban	Kullanılan Çözücü	Kaynak
Silikajel	aseton:kloroform:su (8:2:0.5)	73, 97-102
	kloroform:metanol (70:30)	93
	kloroform:metanol(80:20)	69
	kloroform:metanol (9:1)	63
	kloroform:metanol (3:1)	103
	kloroform:metanol:su (80:20:2)	92
	kloroform:metanol:su (61:32:7)	92
	kloroform:etilasetat (4:1)	96
	etilasetat:metanol:su:asetikasit (13:3:3:4)	91
	etilasetat:metanol:su (100:16.5:13.5)	104,105
	etilasetat:formik asit:asetik asit:su (100:11:11:26)	104
	n-butanol:n-propanol:amonyak (8:3:5)	97
	su ile doyurulmuş etilasetat	88,89

Kolon kromatografisinin yanında yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (YBSK), orta basınçlı sıvı kromatografisi (OBSK) ve düşük basınçlı sıvı kromatografisi (DBSK) yöntemleri iridoitlerin ayırım ve saflaştırılması için sıkça kullanılırlar. Hazır kolonların (Merck ve Lobar gibi) kullanılıma girmesiyle DBSK geniş bir kullanım alanı bulmuştur. Bu amaçla ters faz silikajel (LiChroprep RP-8) kolonları su:metanol, su:izopropanol gibi çözücü sistemleriyle yaygın olarak kullanılırlar (75, 106). Ayırım gücünün yüksekliği ve işlemin daha kısa zamanda gerçekleşmesi yönünden OBSK de revaç görmektedir (75, 91, 106). Basitliği ve ekonomik olması nedeniyle Flash Kromatografisi de sıkça kullanılmaktadır (70, 78). Ancak, bu tekniğin performansı OBSK den daha düşüktür. Analitik YBSK sadece örneklerin saflığının kontrol edilmesi değil aynı zamanda saflaştırmanın ideal yöntemi olan preparatif-YBSK için analiz şartlarının belirlenmesinde önemli rol oynamaktadır (107). YBSK'da μ Bondapak C18 ve Zorbax BP-ODS gibi ters faz kolonları genellikle farklı oranlarda metanol-su, asetonitril-su gibi solvanlar ile kombinasyon biçiminde kullanılmaktadır (92, 103, 108, 109). Aromatik substitüente sahip amarogentin, harpagozit gibi az polar glikozitler ancak metanolce zengin sistemler ile elüe edilirken; asperulozit, gentiopikrozit , okubin , katalpol gibi polaritesi yüksek glikozitler az metanol içeren çözücülerle ile elüe olurlar. Monotropein, genipozidik asit, skandozit ve deasetilasperozidik

asit gibi asidik glikozitler % 0.01 formik asit içeren % 7 lik metanol ile en iyi biçimde ayrılırlar. Çözücü sistemine asit ilavesi ile kuyruklanma ve çift pik oluşumu engellenebilir, zira bu şekilde çözücünün pH sı düşürülerek asidin disosiasyonu azaltılmış olur. Enol (ya da enol-karboksi) grubuna bağlı olarak $\lambda = 210-240$ nm bölgesinde UV absorpsiyonu, bütün basınçlı sıvı kromatografisi yöntemlerinde iridoitlerin belirlenmesi için kullanılmaktadır. (85-87, 110, 111).

İridoitlerin Gaz Kromatografisi (GK) ile tayini için, glikozitlerin trimetilsilil ya da metil esterlerinin hazırlanması gerekmektedir. Bu ise oldukça zahmetli bir türevlendirme işlemi olduğu için çok fazla tercih edilmemektedir. Bu türevler için, çeşitli uzunluk ve çaplarda OV-1, OV-17, OV-210 ve OV-225 gibi kolonlar örneğin özelliklerine bağlı olarak 215-270 °C de değişen sıcaklıklarda kullanılmaktadırlar (51, 112). Nepetalakton ve iridomirmesin gibi uçucu non-glikozidik iridoitlerin saflaştırılması için preparatif-YBSK gibi, preparatif-GK de kullanılmaktadır (50).

2.7.7. İridoitlerin Yapı Tayinleri

Bitkilerden elde edilen saf maddeleri tanımlarken öncelikle maddenin sınıfını belirlemek ve daha sonra da bu sınıf içinde bulunan her bir maddenin yapısını tayin etmek gerekir. Öncelikle bu maddelerin saflıkları dikkatlice kontrol edilmelidir. Bitkisel maddelerle çalışanlar genellikle madde sınıfını renk reksiyonları, çözünürlük ve kromatografik özellikler yardımıyla önceden tahmin edebilirler. Sınıf içindeki maddelerin tanımı, yapı tayini ve bazı fizikokimyasal özelliklerin ölçülmesine de bağlıdır. Bunlar erime noktası tayini, elemental analiz, optik çevirme ve özellikle Ultraviyole Spektrofotometri, Infrared Spektrofotometri, Nükleer Manyetik Resonans Spektrometrisi ve Kütle Spektrometrisi gibi yöntemlerdir. Ayrıca özellikle asetilasyon, metilasyon, sililasyon ve kimyasal parçalanma (hidroliz) gibi kimyasal metodlarda uygulanır.

2.7.7.1. İridoitlerin Yapı Tayinlerinde Kullanılan Kimyasal Yöntemler

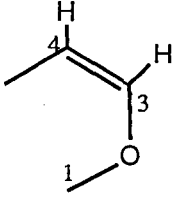
İridoitlerin yapı tayininde asetilleme, oksitleme ve metilleme reaksiyonları ile elde edilen türevlerden ya da hidroliz reaksiyonları (asit, alkali ve enzim hidrolizi) sonucu oluşan hidroliz ürünlerinden yararlanılır.

2.7.7.2. İridoitlerin Yapı Tayinlerinde Kullanılan Spektroskopik Metodlar

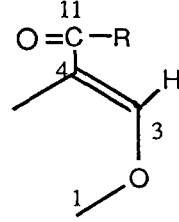
UV Spektrofotometrisi

İridoitlerde 2 ana UV kromoforu (bandı) vardır. Birincisi 190-210 nm arasında $\log \epsilon = 3-4$ olan bir absorpsiyon verir ki bu tüm iridoitlerde konjuge durumda bir enol-eter

grubunun bulunduğunu gösterir. 4 nolu karbona bağlı bir ester grubu (C₁₁ de) mevcutsa 2. ana kromofor belirginleşir ve bu da 230 civarında logε=3-4 olan bir absorpsiyon verir. Bundan 2, 3, 4 ve 11 nolu karbon atomlarının etrafındaki alkoksi akrilat sistemi sorumludur. Çoğunlukla bu iki bandı anlaşılmasız kılan sekonder kromoforlar da mevcuttur. Bunların bazıları p-hidroksi benzil grubuna aittir ve bazı maddelerde ise sinnamil grubuna bağlıdır (44, 50).



190-210 nm civarında absorpsiyon veriyor, logε=3-4
(C-11 yok)



230 nm civarında maks. absorpsiyon veriyor, logε=3-4
(C-11 de ester grubu var)

IR Spektrofotometrisi

İridoitlerin IR spektrumunda nisbeten az sayıda IR bandı diagnostik değer taşımaktadır. Spektrumların hemen hemen hepsinde karakteristik olan 1640-1660 cm⁻¹ civarındaki banttır ki bu C₃=C₄ karbonları arasında bulunan çifte bağdan ileri gelmektedir. Bunun yanında 1600 cm⁻¹ civarında görülen bant yapıdaki konjuge enol eter'den, 3200 civarında görülen bant ise yapıdaki hidroksil gruplarından kaynaklanmaktadır. Bu bantlar tüm iridoitler için karakteristiktir. Ayrıca birçok spektrumda ester-karbonil, asetat-karbonil, 8-lakton, karboksilik asit ve ketona bağlı karbonil bantlarına da rastlanabilir (44, 50).

NMR Spektroskopisi

İridoit glikozitlerinin yapı tayinine yönelik en aydınlatıcı metot NMR Spektroskopisidir. Aglikon ve şekerlerin cinsi, sayısı ve bağlanma noktalarının saptanmasında ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektrumlarından yararlanılır. ¹H-NMR spektrumu anomerik ve diğer protonların sayısı, kenetlenme sabiti değerleri ve bağ konfigürasyonları hakkında bilgi verir. ¹³C-NMR spektrumu karbon sayıları hakkında bilgi verirken ¹³C korelasyonlu spektrumları (COSY) kompleks sinyalleri açıklamaya yardım eder (44, 50).

Bu tip maddelerin NMR spektrumlarının alınmasında dötero su, uzaklaştırılması kolay ve ucuz bir çözücü olması nedeniyle tercih edilmektedir. Çoğu zaman döteryumlu metanol, nadiren ise döteryumlu piridin ve dimetilsülfoksit kullanılmaktadır. Ancak farklı madde spektrumlarını karşılaştırırken karşılaşılan düzensiz çözücü kaymaları nedeniyle çözücü olarak D₂O tavsiye edilmektedir (113). Asetatlarının spektrumları ise dötero

kloroform ile alınmalıdır. Buna karşılık D₂O da kaydedilen ¹³C-NMR spektrumu için referans madde dioksan iken, organik çözücülerde TMS dir (44).

Kütle Spektrometrisi

NMR yöntemleri ile elde edilen sonuçların doğrulanması için, genellikle kütle spektrumuna ihtiyaç vardır. Önceleri iridoitlerin spektrumları glikozdan meydana gelen fragmanlarla baskın halde olduğundan tam olarak ölçülemiyordu. Fakat günümüzde gelişen teknoloji sayesinde özellikle FAB-MS (Fast Atom Bombardment-Mass Spectrometry) Spektrometrisi kullanılarak sağlıklı kütle spektrumları elde edilebilmektedir. Bütün glikozitlerdeki ilk fragmantasyonda hidrojen transferi ile şekerini uzaklaştırıldığı tesbit edilmiş ve bunun gözlenen en büyük fragman olduğu anlaşılmıştır. Böylelikle bütün spektrumlarda ağırlığa ait M⁺ piki belirgindir. Bu noktadan sonra çeşitli fragmantasyonlar gözlenmektedir (44, 50).

2.7.8. İridoitlerin Biyolojik Aktiviteleri

2.7.8.1. İridoitlerin Santral Sinir Sistemi Üzerine Etkileri

Burada özellikle *Valeriana* türlerinden elde edilen valepotriatların sedatif-hipnotik amaçlı terapötik kullanımlarını vurgulamak yerinde olacaktır. Örneğin, *Valeriana wallichii* 'den elde edilen valtrat, hafif etkili bir sedatif olarak Almanya'da Valmane[®] ticari adıyla kullanılmaktadır (50). Ayrıca, nöronal kökenli sekonder hücre kültürlerinde yapılan çalışmalarda okubin, katalpol ve genipozit'in nöronal hücre elemanlarının yapımını artırıcı etkisi (nöritojenik etki) saptanmıştır. Bu etki muhtemelen protein kinazların aktivasyonu ve hücrelerde farklılaşmanın oluşumuyla ortaya çıkmaktadır (114).

2.7.8.2. İridoitlerin İmmünomodülatör Etkileri

Pikroliv'in farelerde immüno stimulan etkileri gözlenmiştir. Sözü edilen bu etki 10 mg/kg dozda 7 günlük tedaviden sonra görülmektedir (115).

Hindistan'da yetişen *Scrophularia koelzii* bitkisinin iridoit glikozitleri, skropoliozit-A, koelziozit, harpagozit ve 6-O-(3"-O-*p*-metoksi-sinnamil)-β-L-ramnopiranozil katalpol'de immüno stimulan etkiler görülmüştür. Bu etkiler, özellikle harpagozit'te daha yüksektir (116). *Eucommia ulmoides* gövde kabuklarından izole edilen iridoitlerin insanlarda antikompleman etkilerinin olduğu gözlenmiştir (117).

2.7.8.3. İridoitlerin Hematolojik Etkileri

Sağlıklı ve deneysel olarak anemi oluşturulmuş sıçanlarda harpagozit, asetilharpagozit ve okubin'in eritrosit yapımını arttırdığı ve bu etkinin özellikle okubinde daha belirgin olduğu bildirilmektedir (118).

2.7.8.4. İridoitlerin Antilösemik Etkileri

Allamanda cathartica bitkisinden izole edilmiş bir iridoit olan allamandin'in antilösemik etkisinin olduğu saptanmıştır (50). Ayrıca, sverozit'in metaperiodat oksidasyon ürününün etkin bir antilösemik (antineoplastik) ajan olduğu öne sürülmüştür (119).

2.7.8.5. İridoitlerin Kardiyovasküler Etkileri

Zeytin yapraklarının bileşiminde bulunan olöropein adlı iridoitin hipotansif, koroner dilatör, antiaritmik ve antispazmodik etkileri bulunmaktadır.

2.7.8.6. İridoitlerin Antienflamatuvar ve Analjezik Etkileri

Harpagophytum procumbens bitkisinin köklerinden elde edilen harpagozit'in sıçanlarda antiflojistik (antienflamatuvar), analjezik ve antispazmodik etkileri saptanmıştır (45, 50). Bileşiğin antienflamatuvar etkisi, özellikle formalin ödemi ve kroton yağı-granüloma testlerinde fenilbutazon ile karşılaştırılabilecek düzeyde bulunmuştur (120). *Lonicera implexata*'dan elde edilen loganin ve *Phlomis crinita*'den elde edilen lamiit'te de benzer biçimde antienflamatuvar etkiler gözlenmiştir (121). Diğer bir çalışmada ise loganin, loganik asit, okubin ve verbenalin'in güçlü antiinflamatuvar etkileri gözlenmiştir (122).

Antienflamatuvar aktivite bir Hindistan bitkisi olan *Picrorhiza kurroa*'dan elde edilen iridoitlerden kutkin, pikrozit-1 ve kutkozit'te de saptanmıştır (123). Bu bileşiklerden kutkin, aynı zamanda etkin bir hepatoprotektif (antihepatotoksik) bileşiktir.

2.7.8.7. İridoitlerin Hepatoprotektif Etkileri

Hepatoprotektif etkisi en çok araştırılan iridoit bileşiği *Picrorhiza kurroa*'dan elde edilen kutkin (pikroliv) dir. Farelerde *Amanita phalloides* letalitesinin kutkin ile azaldığı saptanmıştır (124). Ayrıca, sıçanlarda *Amanita* toksini ile bozulmuş olan karaciğer biyokimyasal parametrelerinin tümünü (sitokrom P450 ve glikojen hariç) 10 gün süreli bir kutkin tedavisinin (25 mg/kg) normale dönüştürdüğü gösterilmiştir (125, 126) Kutkin sıçanlarda D-galaktozamin ile oluşan hepatik tahribatı da 12 mg/kg dozda 7 günlük bir tedavi ile önlemektedir (127, 128). Kutkin'in bu etkilerinde çok büyük bir olasılıkla serbest radikal süpürücü etkinlik önemli rol oynamaktadır (129). Kutkin ayrıca, lantanyum klorür (130), tiyoasetamid (131, 132), parasetamol (133, 134), monokrotalin (135), karbontetraklorür (136) ve karbontetraklorür+alkol (137) gibi kimyasal maddeler ve *Plasmodium berghei* gibi

parazitik etkenler (127, 138, 139) ile oluşan hepatik tahribatları da önlemektedir. Sıçanlarda koleretik ve antikolestatik etkisi saptanan kutkin (140), karaciğer nükleik asid ve protein sentezini de stimüle etmektedir (141). Bu iridoit ile ilgili en çarpıcı gözlem ise, hiç kuşkusuz, hepatit B virüsünün inhibisyonudur (142).

Scrophularia koelzii'nin iridoit glikozitlerinden skropoliozit-A, koelziozit, harpagozit ve 6-O-(3"-O-p-metoksi-sinnamil)- β -L-ramnopiranozil katalpolde de kutkin gibi hepatoprotektif etkiler gözlenmiştir. Bu etkiler özellikle skropoliozit-A da yüksek oranda saptanmıştır (116). *Gardenia* türlerinden elde edilen genipozitte görülen koleretik (safra söktürücü) etkinin hepatoprotektif etki için önemli bir kanıt olduğu söylenebilir. Genipozitin sözü edilen bu etkisinde sindirim kanalında hidroliz sonucu oluşan genipinin rolü olduğu anlaşılmıştır (50, 143). Genipin'in çabuk gelişen koleretik etkisinde ise safradaki elektrolit konsantrasyonlarının azalması neden olarak ileri sürülmüştür. Benzer bir etki patrinozit ve villozit adlı iridoitlerde de görülmüştür (144, 145). Ayrıca, çeşitli iridoit türevi bileşikler kullanılarak koleretik etki ile kimyasal yapı arasındaki ilişkiler ortaya çıkarılmaya çalışılmış ve bu çalışmalar sonucunda iridoit bileşiklerinde görülen hemiasetal yapısının koleretik etkiden sorumlu olduğu anlaşılmıştır (145).

Aucuba japonica yapraklarından izole edilen okubinin de hepatoprotektif etkisi olduğu gösterilmiş (146) ve bu bileşiğin, β -amanitin ile oluşan letal hepatotoksik etkinin spesifik antidotu olduğu ileri sürülmüştür (147). Bunların dışında, bir dizi iridoit türevi ile de sıçanlarda koleretik etkiler gözlenmiştir (143). Umut verici bir hepatoprotektif bileşik olan okubin'in sıçanlarda farmakokinetik özellikleri de araştırılmıştır. Bu araştırmanın sonuçlarına göre okubinin oral yolla (100 mg/kg) kullanımında biyoyararlanımının düşük olduğu (% 19.3) görülmüştür. Mide asidine dayanıksızlık, lipofilitésinin düşük olması ve karaciğerde ilk geçiş etkisine uğraması, bu iridoitin düşük oral biyoyararlanımı için neden olarak ileri sürülmüştür. Yine aynı çalışmada okubinin plazma proteinlerine düşük bir oranda (% 9) bağlandığı, plazma yarılanma ömrünün 42.5 dakika ve dağılım hacminin ise 346.9 ml/kg olduğu saptanmıştır (148).

Gentiopikrozit farelerde kimyasal ve immünolojik yolla oluşturulan hepatik tahribatı azaltmaktadır (149). Diğer bir iridoit bileşiği olan β -iridodiol'ün de koloretik aktivitesi olduğu gösterilmiştir (150).

2.7.8.8. İridoitlerin Gastroprotektif Etkileri

Swertia japonica'dan elde edilen svertiamarin, amarogentin, amarosverin ve amaropanın gibi iridoitlerin sıçanlarda deneysel olarak oluşturulan gastrit ve mide ülserini güçlü bir biçimde önlediği kanıtlanmıştır (151).

2.7.8.9. İridoitlerin Laksatif ve Pürгатif Etkileri

Gardenia jasminoides'den izole edilmiş olan genipozit, deasetilasperulozidik asit-metil esteri ve gardenozitte sırasıyla *Daphniphyllum macropodum*, *Plumeria acutifolia*, *Aucuba japonica*, *Catalpa ovata*, *Verbena officinalis* ve *Lonicera japonica* bitkilerinden elde edilmiş olan asperulozit, plumierit, okubin, katalpol, verbenalin ve loganinde laksatif ve purgatif etkiler saptanmıştır (50, 55, 152).

2.7.8.10. İridoitler ile Aldoz Redüktaz İnhibisyonu

Monochasma savatieri'den izole edilen demetilusseanozit ve 7-O-asetil-8-epi-loganik asit ile zayıf bir aldoz redüktaz enzim inhibisyonu gözlenmiştir (153).

2.7.8.11. İridoitlerin Tonik Etkileri

Swertia japonica, *Gentiana lutea* ve *G. panonica*'dan elde edilen amarogentin, amarosverin ve amoropanin isimli acı maddelerin tonik etkileri kanıtlanmıştır (45, 50). Ayrıca, loganin ve gentiopikrozitin de tonik etkileri olduğu anlaşılmıştır (45).

2.7.8.12. İridoitlerin Sitotoksik Etkileri

Endonezya'da toplanan *Plumeria rubra*'nın kabuklarından biyolojik deney ile yönlendirilmiş fraksiyonlama ile elde edilen plumerisin, fulvoplumierin, allamisin ve allamandinin fare lenfositik lösemisi ile çeşitli insan kanser hücre tiplerinde (meme, kolon, akciğer karsinomları, fibrosarkoma ve melanoma gibi) sitotoksik etkileri saptanmıştır (154).

2.7.8.13. İridoitlerin Antibakteriyel Etkileri

Galiozit ve gardenozit adlı iridoitlerin antibakteriyel etkiye sahip olduğu saptanmıştır (155). *Buddleja* türlerinde görülen antiseptik etkilerden de iridoitlerin sorumlu olduğu ileri sürülmüştür (156). Okubinın β -glukozidaz enzimi ile hidrolizi sonucunda oluşan aglikonu antibakteriyel etki göstermektedir. Bunun dışında plumerisin, izoplumerisin, fulvoplumierin, genipik asit, genipinik asit, valepotriatlar ve oleuropeinin antibakteriyel etkisi olduğu bildirilmiştir. Bunlar arasından, plumerisin, izoplumerisin ve fulvoplumierin, *Mycobacterium tuberculosis* üzerindeki inhibitör etkileriyle de dikkat çekmektedir (45).

2.7.8.14. İridoitlerin Antifungal Etkileri

Okubin, katalpol, loganin, sverozit, svertiamarin ve gentiopikrozit'in *Penicillium expansum*'a karşı antifungal etkinliği araştırılmıştır. Bu iridoit bileşiklerinin hiçbirisi belirtilen fungusa karşı etki göstermezken, β -glukozidaz ile hidroliz sonucunda okubin, katalpol ve gentiopikrozit aglikonları belirgin antifungal etkinlik göstermişlerdir (157). *Plumeria rubra*'dan elde edilen plumerisin'in *Cladospora cucumerinum* ve *Candida*

albicans'a karşı test edildiğinde oldukça güçlü bir antifungal etkinliği olduğu saptanmıştır (45, 158). Ayrıca, izoplumerisin ve fulvoplumerin'in de antifungal etkiye sahip olduğu belirtilmektedir (45).

2.7.8.15. İridoitlerin Antiprotozoal Etkileri

Hindistan'da yetişen bir bitki olan *Nyctanthes arbortristis*'den izole edilen arbortrisozit A, B, C ve 6- β -hidroksiloganin'in *in vivo* ve *in vitro* ortamda leishmanisit etkileri olduğu gösterilmiştir (159). Pikroliv'in de hamsterlerde leishmanialara karşı yüksek derecede koruyucu etkisi saptanmıştır (115). Gentiopikrozit'in ise antimalaryal aktivitesinin bulunduğu gösterilmiştir (160).

2.7.8.16. İridoitlerin Antiviral Etkileri

Pulmeria rubra bitkisinden elde edilen fulvopulmierin'in HIV-1 reverse transkriptaz enzimi üzerinde güçlü inhibitör etkinliği bulunmuştur (161). Sözü edilen bu enzim HIV in replikasyonunda çok önemli bir yapıdır ve bu enzimin inhibitörlerinden bazıları kazanılmış bağışıklık noksanlığı sendromu (AIDS) tedavisinde kullanılmaktadır. Ayrıca, okubinin B tipi hepatit virüsünün DNA replikasyonunu inhibe ederek antiviral etkinlik gösterdiğini ortaya çıkarılmıştır (162). Okubin'in bu etkisi yukarıda belirtilen hepatoprotektif etkisi ile birlikte değerlendirildiğinde daha büyük önem taşımaktadır.

2.7.8.17. İridoitlerin Toksisiteleri

Gardenia türlerinin iridoit bileşiği olan gardenozit ile hepatotoksik etki ve diare gözlenmiştir (163). *Catalpa ovata* meyvalarından izole edilen katalpin mutajenik etkiye sahiptir (164). Bu bitkinin herbasından fraksiyonlanarak elde edilen anofinik ve fomanoksin asitler ve bunların metil esterlerinde antifungal etkiler gözlenmiştir (78).

2.8. *Gentiana* Türleri Üzerinde Yapılan Kimyasal Araştırmalar

Bu bölümde *Gentiana* cinsine ait türler üzerinde yapılan fitokimyasal araştırmalar Chemical Abstract (1940-197), Medline[®] CD Rom, MAPA CD Rom ve bültenleri ile NAPRALERT veri tabanı taramaları kullanılarak derlenmiştir. *Gentiana* türlerinden izole edilen iridoitler (Tablo 2.5), *Gentiana* türlerinden izole edilen ksantonlar (Tablo 2.6.), *Gentiana* türlerinden izole edilen flavonoidler (Tablo 2.7.), *Gentiana* türlerinden izole edilen monoterprenik alkaloidler (Tablo 2.8.), *Gentiana* türlerinden izole edilen monoterprenler, triterpenler, antosiyanlar, amino asitler, şekerler, ftalitler gibi diğer maddeler (Tablo 2.9.) olmak üzere beş tablo halinde özetlenmiştir. Verilen tablolarda bileşikler alfabetik olarak sıralanmış olup, bu bileşikleri taşıyan *Gentiana* türleri, kullanılan bitki kısımları, bitkide bulunduğu miktar ve kaynaklar belirtilmiştir.

Tablo 2.5. *Gentiana* türlerinde bulunan iridoitler

Etken madde adı	Bitkide bulunduğu kısım	Yüzdesi	Bitki adı	Kaynak
alpigenozit, 7-demetil (1)*	herba		<i>G. prenaica</i>	76
amarogentin (2)	kök	0.005-1.6	<i>G. asclepiadea</i>	165
		0.02	<i>G. atunsiensis</i>	166-168
		0.005	<i>G. burseri</i>	95
		0.02	<i>G. cephalantha</i>	167
			<i>G. cruciata</i>	165
		0.05-1.6	<i>G. lutea</i>	93,97,103,108,111,165, 169-182
			<i>G. macrophylla</i>	103
			<i>G. manshurica</i>	167,168
			<i>G. pannonica</i>	179
			<i>G. punctata</i>	165
		0.16-0.25	<i>G. purpurea</i>	111,183
			<i>G. rigescens</i>	166,168
		0.01	<i>G. scabra</i>	167,168
		0.03	<i>G. suffrutescens</i>	167
		<i>G. triflora</i>	166,168	
	kök kabuğu		<i>G. purpurea</i>	184
	tümbitki		<i>G. cruciata</i>	182
			<i>G. lutea</i>	61,182
	herba	0.02-0.03	<i>G. cephalantha</i>	167,168
			<i>G. suffrutescens</i>	167,168
kallus kültürü		<i>G. cruciata</i>	185	
amaropanın (=deoksi-amarogentin) (3)	kök	0.001-0.15	<i>G. burseri</i>	95
			<i>G. lutea</i>	108,175
		0.01-0.16	<i>G. pannonica</i>	73,179
			<i>G. punctata</i>	73
	0.05-0.11	<i>G. purpurea</i>	73,183,184	
	kök kabuğu		<i>G. purpurea</i>	111,184
amarosverin (4)	kök	0.05	<i>G. atunsiensis</i>	167
		0.02	<i>G. cephalantha</i>	167
		0.05	<i>G. lutea</i>	108,175
		0.28	<i>G. manshurica</i> var. <i>jiandeensis</i>	167
		0.02-0.21	<i>G. purpurea</i>	111,183
		0.25	<i>G. rhodantha</i>	167
			<i>G. rigescens</i>	167
			<i>G. scabra</i>	167
		0.13	<i>G. suffrutescens</i>	167
			<i>G. triflora</i>	167
	kök kabuğu		<i>G. purpurea</i>	184
	herba	0.05	<i>G. cephalantha</i>	167
0.09		<i>G. suffrutescens</i>	167	

* Formül Numarası

Tablo 2.5. devam

depressin (5)	herba		<i>G. depressa</i>	87
depressozit (6)	yaprak	0.096	<i>G. depressa</i>	85
depresterozit (7)	yaprak		<i>G. depressa</i>	86,187
3"-glikozit- depresterozit (8)	herba		<i>G. depressa</i>	87
gelidozit (9)	herba	0.0237	<i>G. gelida</i>	83
		0.023	<i>G. septemfida</i>	75
gentioflavozit (10)	taze kök		<i>G. punctata</i>	74
gentiolakton (11)	kök		<i>G. purpurea</i>	94
gentiopikrozit (12)			<i>G. farreri</i>	96
			<i>G. sina-ornata</i>	
			<i>G. "macaulayi"</i>	
			<i>G. asclepiadea</i>	182
			<i>G. cruciata</i>	182
		0.95	<i>G. kurro</i>	182
		0.27	<i>G. lutea</i>	182
			<i>G. punctata</i>	182
		0.35	<i>G. scabra</i>	182
		0.18	<i>G. sikokiana</i>	182
	0.47	<i>G. triflora</i>	56,182	
	bütün bitki	0.95	<i>G. asclepiadea</i>	182
			<i>G. cruciata</i>	185
			<i>G. kurro</i>	182
			<i>G. lutea</i>	61,182
	çiçek	0.57-1.3	<i>G. cephalantha</i>	188
			<i>G. scabra</i> var. <i>buergeri</i>	88,89,107
			<i>G. tibetica</i>	189
	doku kültürü		<i>G. tibetica</i>	190
			<i>G. cruciata</i>	185
	gövde	0.4	<i>G. cephalantha</i>	188
		0.3-1.0	<i>G. scabra</i> var. <i>buergeri</i>	88,89,107
	herba		<i>G. affinis</i>	72
		0.67	<i>G. algida</i>	72
			<i>G. atunsiensis</i>	166
			<i>G. calycosa</i>	72
			<i>G. campestris</i>	68
2.0		<i>G. cephalantha</i>	166,167,191	
		<i>G. cerastioides</i>	72	
		<i>G. cruciata</i>	92	
		<i>G. gelida</i>	83	
		<i>G. lactea</i>	106,192	
		<i>G. olivieri</i>	105,193	
0.015		<i>G. septemfida</i>	75	
		<i>G. strictiflora</i>	72	
0.28		<i>G. suffrutescens</i>	167,191	
kök		<i>G. asclepiadea</i>	63,165	
	4.2	<i>G. atunsiensis</i>	166-168,191	
	0.12	<i>G. burseri</i>	95	
	2.245- 3.22	<i>G. cephalantha</i>	166-168,188,191	

Tablo 2.5. devam

		<i>G. cruciata</i>	165	
	0.02-1.4	<i>G. dahurica</i>	194	
	0.128-8.0	<i>G. lutea</i>	93,97,103,108, 111,165,169,1711 73,177,181,195- 198	
	0.2-2.5	<i>G. macrophylla</i>	70,103,194 199-202	
	4.15	<i>G. manshurica</i>	166-168, 191,203,204	
	2.15	<i>G. manshurica</i> var. <i>jiandeensis</i>	167	
		<i>G. manshurica</i> var. <i>yanzhouensis</i>	191	
	0.103	<i>G. punctata</i>	71,165	
	3.3-10.5	<i>G. purpurea</i>	111	
	1.37	<i>G. rhodantha</i>	167	
	0.02-10.0	<i>G. rigescens</i>	88,103,167,168,20 5-207	
		<i>G. scabra</i>	166,168,191,1992 03,208,209	
	0.007-8.9	<i>G. scabra</i> var. <i>buergeri</i>	88,89,107	
	1.81	<i>G. suffrutescens</i>	167,168,191	
	3.66	<i>G. triflora</i>	168,191,210	
	9.35-12.9	<i>G. triflora</i> var. <i>japonica</i>	107	
		<i>Gentiana</i> türleri	211	
	1.58	<i>G. uchiyamana</i>	206	
	kök kabuğu	<i>G. purpurea</i>	184	
	tomurcuk	8-11.7	<i>G. scabra</i> var. <i>buergeri</i>	88,89,107
	tüm bitki		<i>G. corymbiferae</i>	212
			<i>G. punctata</i>	182,213
			<i>G. rigescens</i>	166
	0.35	<i>G. scabra</i> var. <i>buergeri</i>	88,89,107	
	0.18	<i>G. sikokiana</i>	182	
	0.47	<i>G. triflora</i>	166, 182	
		<i>G. uchiyamana</i>	214	
	yaprak		<i>G. algida</i>	215
		0.02	<i>G. burseri</i>	95
		0.69	<i>G. cephalantha</i>	188
gentiopikrozit- tetraasetat (13)	tüm bitki		<i>G. scabra</i>	216
6'-O-β-D- glikozit- gentiopikrozit(14)	kök		<i>G. asclepiadea</i>	63
gentomozit (15)	herba		<i>G. gelida</i>	83
harpagozit (16)	kök		<i>G. macrophylla</i>	202
katalpol (17)	kök		<i>G. kurro</i>	217
6'-sinnamil- katalpol (18)	kök		<i>G. kurro</i>	217

Tablo 2.5. devam

6-O-ferulil-katalpol (19)	kök		<i>G. kurro</i>	217
6-O-sinnamil-katalpol (20)	kök		<i>G. kurro</i>	217
6-O-vanillil-katalpol (21)	kök		<i>G. kurro</i>	217
kingisit (22)	tüm bitki		<i>G. rhodantha</i>	90
			<i>G. pyrenaica</i>	76
8-epikingisit (23)	herba		<i>G. purpurea</i>	76,77
	tüm bitki		<i>G. rhodantha</i>	90
6'-vanillil-8-epikingisit (24)	herba		<i>G. pyrenaica</i>	76,77
6'-vanillil-kingisit (25)	herba		<i>G. pyrenaica</i>	77
kinjiyozit A (26)	kök		<i>G. macrophylla</i>	202
loganetin (27)	herba		<i>G. verna</i>	218
loganik asit (28)	çiçek		<i>G. pedicellata</i>	219
	herba	1.4615	<i>G. lactea</i>	192
			<i>G. olivieri</i>	105,193
		0.016	<i>G. septemfida</i>	75
	kök	0.02	<i>G. scabra</i>	88
		0.021	<i>G. scabra</i> var. <i>buergeri</i>	88
	yaprak, çiçek		<i>G. pedicellata</i>	80
4'-p-kumaril-loganik asit (29)	yaprak, çiçek		<i>G. pedicellata</i>	80
	çiçek		<i>G. pedicellata</i>	219
loganin (30)	çiçek	0.11	<i>G. pedicellata</i>	81,219
	herba	0.0008	<i>G. pyrenaica</i>	82
		0.0008	<i>G. verna</i>	218
			<i>G. depressa</i>	87
2'-ferulil-loganin (31)	çiçek	0.0022	<i>G. pedicellata</i>	81,219
2'-kafeil-loganin (32)	çiçek	0.0022	<i>G. pedicellata</i>	81,219
2'-kumaril-loganin (33)	çiçek	0.005	<i>G. pedicellata</i>	81,219
4'-asetil-2'-hidroksi-benzil-loganin (34)	herba	0.0027	<i>G. verna</i>	66
4'-hidroksi-benzil-loganin (35)	herba	0.0027	<i>G. verna</i>	218
4'-kumaril-loganin (36)	çiçek, yaprak		<i>G. pedicellata</i>	80
	çiçek		<i>G. pedicellata</i>	219
6'-asetil-2'-m-hidroksi-benzil-loganin (37)	herba	0.0024	<i>G. verna</i>	66
6'-[2 (R)-metil-3-veratroiloksi-propanoil]-loganin (38)	herba	0.004	<i>G. pyrenaica</i>	82

Tablo 2.5. devam

makrofillozit A (39)	kök	0.004	<i>G. macrophylla</i>	70
makrofillozit B (40)	kök	0.007	<i>G. macrophylla</i>	70
morronizit (41)	yaprak, gövde	0.01	<i>G. pyrenaica</i>	79
	tüm bitki	0.06	<i>G. thunbergii</i>	56,182,220
4'-kumaroil -morronizit (42)	yaprak, gövde	0.004	<i>G. pyrenaica</i>	79
6'-O-(2R -metil-3-veratriloksi-propanoil)-morronizit (43)	yaprak+ gövde	0.03	<i>G. pyrenaica</i>	79
okubin (44)	kök		<i>G. kurro</i>	217
östomorzit (45)	herba		<i>G. campestris</i>	68
		0.05	<i>G. septemfida</i>	75
			<i>G. cruciata</i>	92
		0.0147	<i>G. gelida</i>	83
östozit (46)	herba		<i>G. campestris</i>	68
		0.009	<i>G. septemfida</i>	75
östomozit (47)	herba		<i>G. campestris</i>	68
		0.005	<i>G. septemfida</i>	75
			<i>G. cruciata</i>	92
		0.02	<i>G. gelida</i>	83
5-dezoksi-östomozit (48)	herba		<i>G. campestris</i>	68
rindozit (49)	kök		<i>G. macrophylla</i>	70
	taze kök		<i>G. scabra</i> var. <i>buergeri</i>	88
rodantozit A (50)	tüm bitki		<i>G. rhodantha</i>	90
rodantozit B (51)	tüm bitki		<i>G. rhodantha</i>	91
rodantozit C (52)	tüm bitki		<i>G. rhodantha</i>	91
sekologanin (53)	herba	0.001	<i>G. verna</i>	65
7-diokzolanil sekologanin (54)	herba	0.0076	<i>G. verna</i>	65
sekologanol (55)	herba	0.0055	<i>G. verna</i>	67
7-(2,5-dihidroksi-benzoil)-sekologanol (56)	herba	0.0066	<i>G. verna</i>	67
7-asetil sekologanol (57)	herba	0.005	<i>G. verna</i>	67
septemfidozit (58)	herba	0.008	<i>G. septemfida</i>	75
skabrazit (59)	kök	0.008	<i>G. scabra</i>	88
		0.0083	<i>G. scabra</i> var. <i>buergeri</i>	88, 89
sverozit (60)	-		<i>G. formosana</i>	83
			<i>G. sikokiana</i>	182
			<i>G. farreri</i>	96
			<i>G. sina--ornata</i> <i>G. "macaulayi"</i>	
	herba	0.05	<i>G. cephalantha</i>	167,191

Tablo 2.5. devam

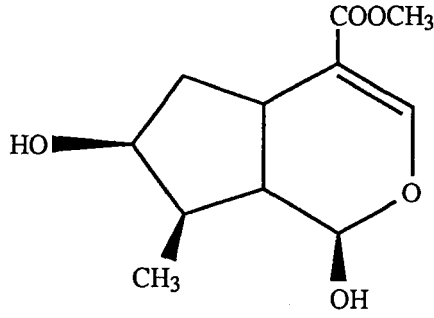
		<i>G. lactea</i>	192
		<i>G. olivieri</i>	105,193
		<i>G. scabra</i>	191
	0.01	<i>G. septemfida</i>	75
	0.02	<i>G. suffrutescens</i>	167
	0.0005	<i>G. verna</i>	65
	kök	<i>G. triflora</i>	166,167,191
	0.16	<i>G. atunsiensis</i>	166,167,191
	0.06	<i>G. cephalantha</i>	166,167,191
		<i>G. macrophylla</i>	70,200
		<i>G. manshurica</i>	203
	0.07	<i>G. manshurica</i> var. <i>jiandeensis</i>	167
		<i>G. suffrutescens</i> <i>sp. nov.</i>	166
		<i>G. cruciata</i>	92
		<i>G. lactea</i>	106,192
		<i>G. manshurica</i> var. <i>yanzhouensis</i>	191
	0.01	<i>G. rhodantha</i>	167
	0.01	<i>G. rigescens</i>	167,166,191
	0.75	<i>G. scabra</i>	167,203,221
	0.04	<i>G. suffrutescens</i>	167
	kök, herba	<i>G. scabra</i>	166
		<i>G. suffrutescens</i>	191
	tüm bitki	<i>G. punctata</i>	213
		<i>G. sikokiana</i>	182
		<i>G. rhodantha</i>	90
	yaprak	<i>G. pneumonanthe</i>	222,223
sverozit aglikon	tüm bitki	<i>G. lutea</i>	224
		<i>G. sikokiana</i>	224
3'-asetil- sverozit (61)	-	<i>G. formosana</i>	83
2'-(o-m-dihidroksibenzoil) sverozit (62)	tüm bitki	<i>G. algida</i>	78
6'-O-β-D-glikopiranozil-sverozit (63)	kök	<i>G. macrophylla</i>	70
svertiamarin (64)	-	<i>G. farreri</i> <i>G. sina--ornata</i> <i>G. "macaulayi"</i>	96
	0.004	<i>G. triflora</i>	182
	0.05	<i>G. sihikonina</i>	182
	0.012	<i>G. lutea</i>	182
	tüm bitki	0.012 <i>G. lutea</i>	182
	gövde	<i>G. triflora</i>	225
	herba	<i>G. atunsiensis</i>	166
		<i>G. campestris</i>	68
		<i>G. cephalantha</i>	166,191

Tablo 2.5. devam

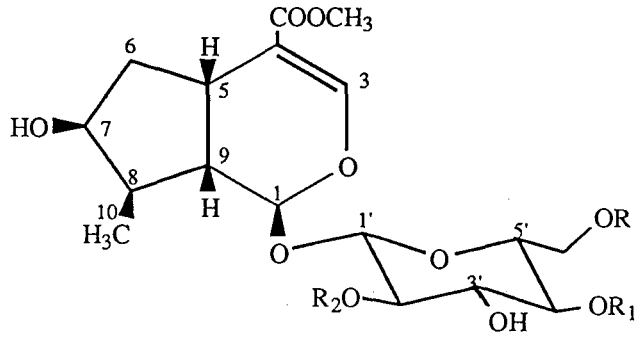
			<i>G. cruciata</i>	92
		0.0265	<i>G. gelida</i>	83
		0.125	<i>G. lactea</i>	106,192
			<i>G. olivieri</i>	105,193
		0.006	<i>G. septemfida</i>	75
			<i>G. suffrutescens</i>	167,191
	kök	0.32	<i>G. atunsiensis</i>	166,167,191
		0.09	<i>G. cephalantha</i>	166,167,191
			<i>G. lutea</i>	93,169,181
		0.15	<i>G. manshurica</i>	166,167,203
		0.11	<i>G. manshurica</i> var. <i>jiandeensis</i>	167
			<i>G. manshurica</i> var. <i>yanzhouensis</i>	191
			<i>G. rigescens</i>	167,191
		0.23	<i>G. scabra</i>	166,191
			<i>G. suffrutescens</i>	167,191,203
		0.2	<i>G. triflora</i>	166,167,191
			<i>G. uchiyamana</i>	206
	kök, herba		<i>G. suffrutescens</i> <i>sp. nov.</i>	166
			<i>G. rigescens</i>	166
	tüm bitki		<i>G. punctata</i>	213
		0.05	<i>G. sikokiana</i>	182
		0.004	<i>G. triflora</i>	182
			<i>G. rhodantha</i>	90
	yaprak	0.15	<i>G. pneumonanthe</i>	222,223
svrtiamarin- tetraasetat (65)	tüm bitki		<i>G. uchiyamana</i>	214
6'-O-β-D- glikozit- svrtiamarin (66)	herba		<i>G. alpina</i>	64
triflorozit (67)	herba		<i>G. olivieri</i>	105,193
		0.0127	<i>G. gelida</i>	83
	kök		<i>G. algida</i>	112
			<i>G. macrophylla</i>	70
		0.016	<i>G. scabra</i>	88
		0.0216	<i>G. scabra</i> var. <i>buergeri</i>	88,89
			<i>G. triflora</i> var. <i>japonica</i>	69
deglikoziltriflorozit (68)			<i>G. algida</i>	226

Şekil 2.3. *Gentiana* türlerinde bulunan iridoitlerin formülleri

1. İridoitler

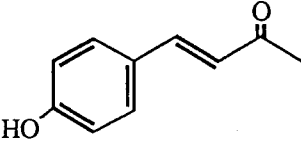
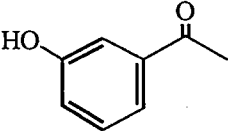
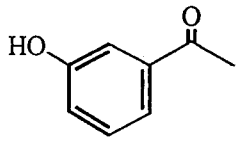
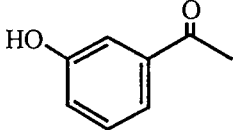


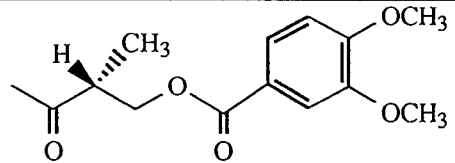
loganetin (27)

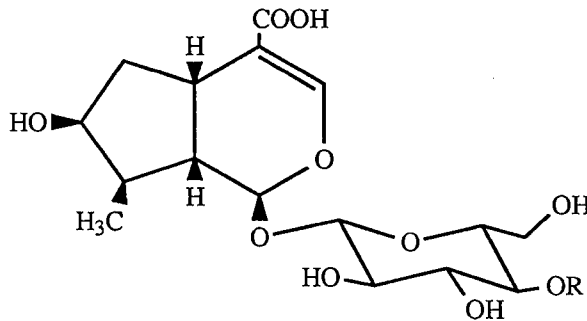


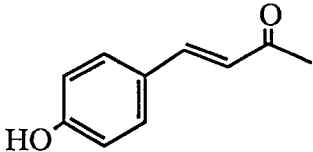
Bileşik	R	R ₁	R ₂
loganin (30)	H	H	H
2'-p-kumaril loganin (33)		H	H
2'-p-ferulil loganin (31)		H	H
2'-p-kafeil loganin (32)		H	H

Şekil 2.3. devam

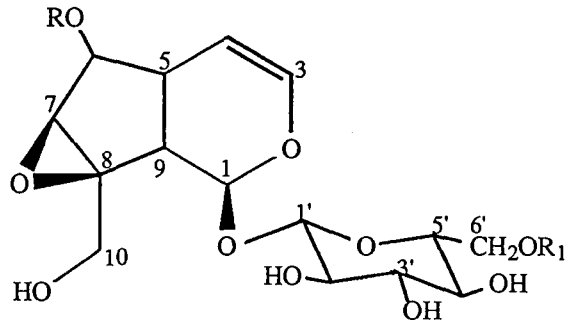
Bileşik	R	R ₁	R ₂
4'-p-kumaril loganin (36)	H		H
4'-m-hidroksi-benzil-loganin (35)	Asetil		H
4'-asetil-2'-m-hidroksi-benzil-loganin (34)		Asetil	H
6'-asetil-2'-m-hidroksi-benzil-loganin (37)		H	Asetil

Bileşik	R	R ₁	R ₂
6'-[2(R)-metil-3-veratriloksi-propanil] loganin (38)	H	H	

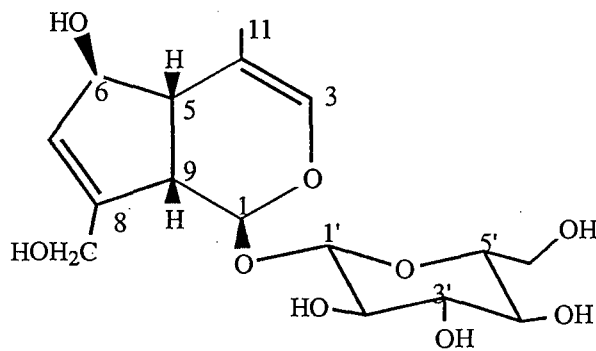


Bileşik	R
loganik asit (28)	H
4'-p-kumaril loganik asit (29)	

Şekil 2.3. devam

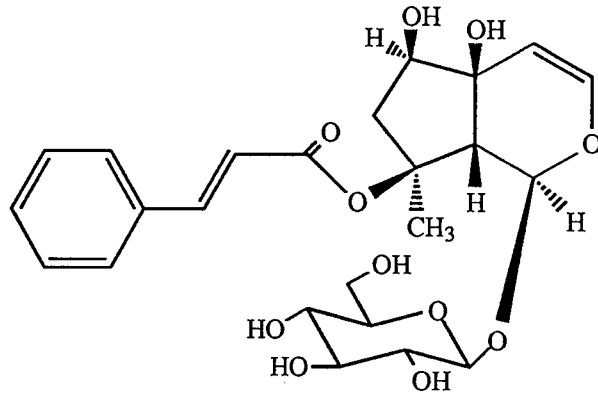


Bileşik	R	R1
katalpol (17)	H	H
6'-sinnamil-katalpol (18)	H	
6-O-sinnamil-katalpol (20)		H
6-O-ferulil-katalpol (19)		H
6-O-vanillil-katalpol (21)		H

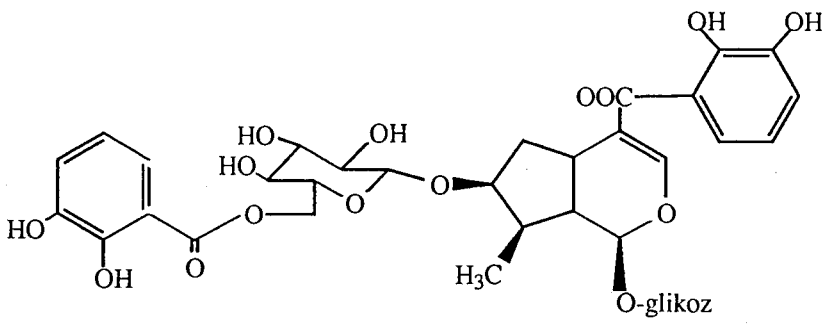


okubin (44)

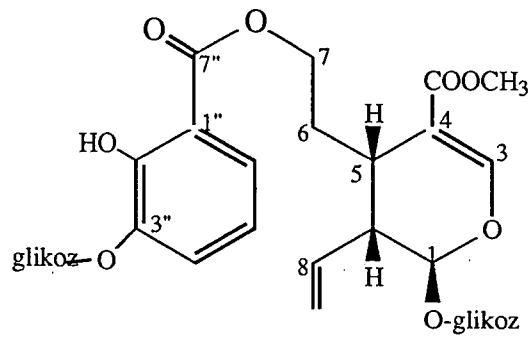
Şekil 2.3. devam



harpagozit (16)

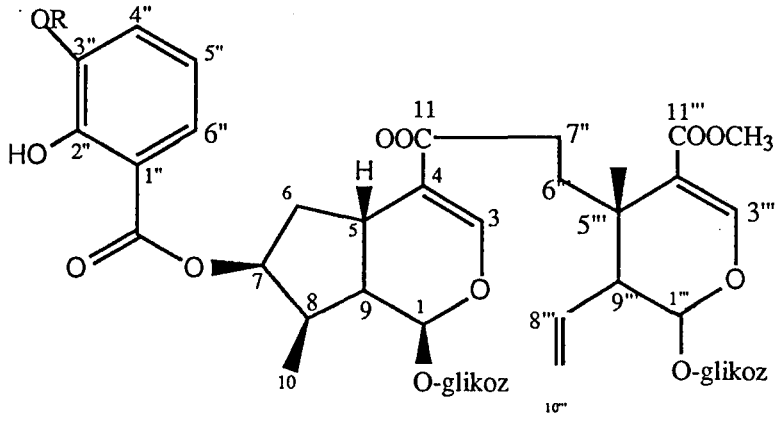


depressozit (6)



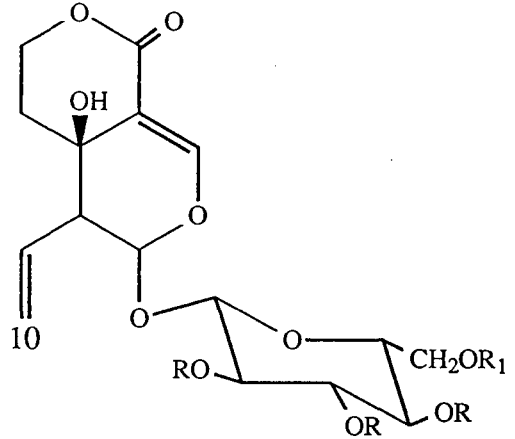
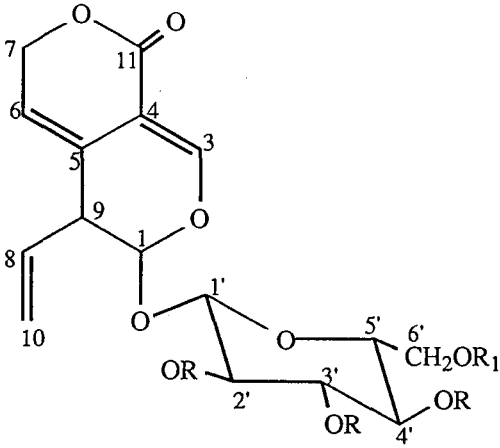
depressin (5)

Şekil 2.3. devam



Bileşik	R
depresterozit (7)	H
depresterozit-3''-glukozit (8)	glukoz

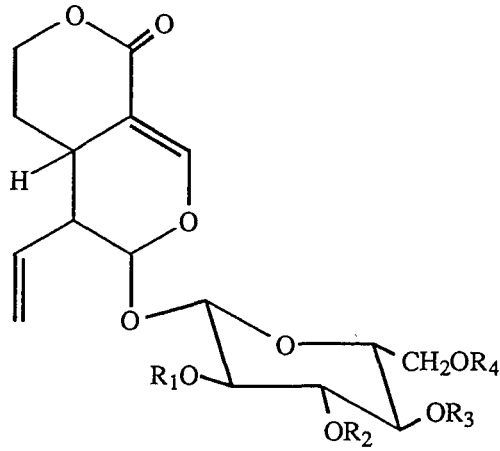
2. Sekoiridoitler:

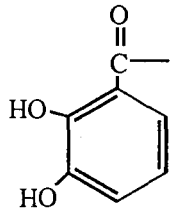


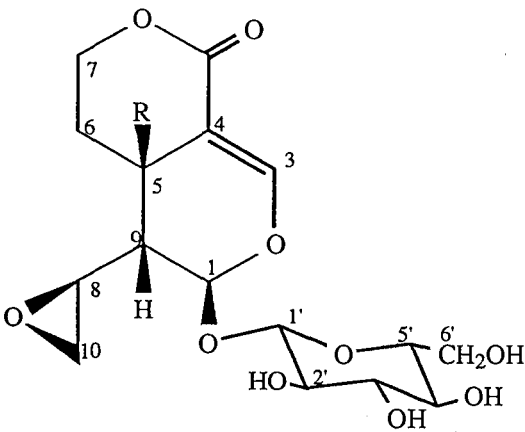
Bileşik	R	R ₁
gentiopikrozit (12)	H	H
gentiopikrozit-6'-O- glukozit (14)	H	glukoz
gentiopikrozit- tetraasetat (13)	asetil	asetil

Bileşik	R	R ₁
svertiamarin (64)	H	H
svertiamarin-6'-O- glukozit (66)	H	glukoz
svertiamarin- tetraasetat (65)	asetil	asetil

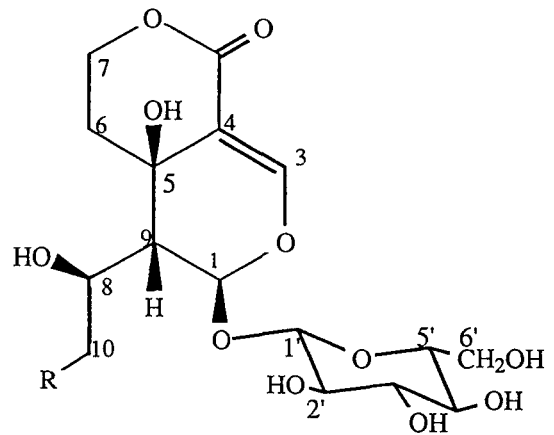
Şekil 2.3. devam



Bileşik	R	R ₂	R ₃	R ₄
sverozit (60)	H	H	H	H
sverozit-6'-O-β-D-glikopiranozil sverozit (63)	H	H	H	glikoz
3'-asetil-sverozit (61)	H	asetil	H	H
2'-(O-m-dihidroksibenzil)sverozit (62)	H		H	H

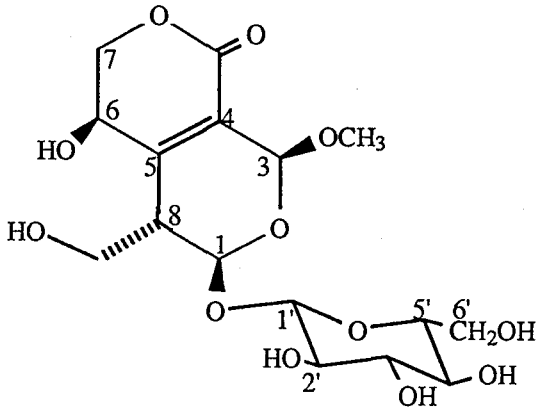


Bileşik	R
östomozit (47)	OH
5-dezoksiöstomozit (48)	H

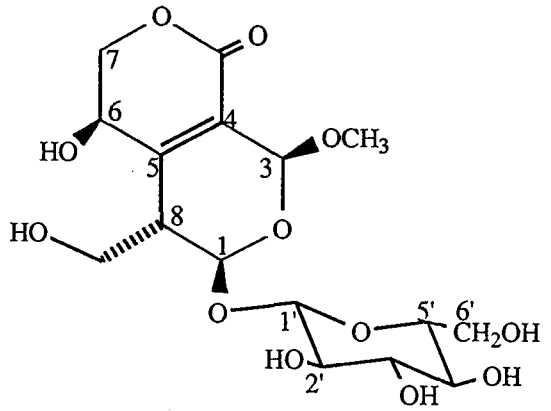


Bileşik	R
öztozit (46)	Cl
östomorzit (45)	OH

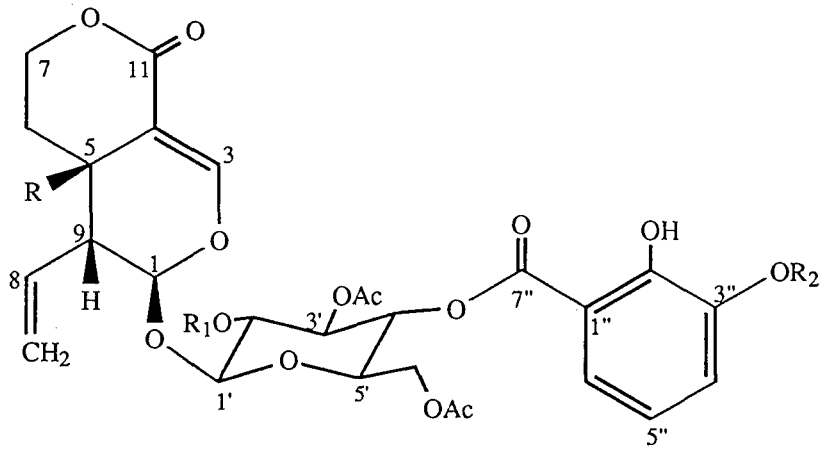
Şekil 2.3. devam



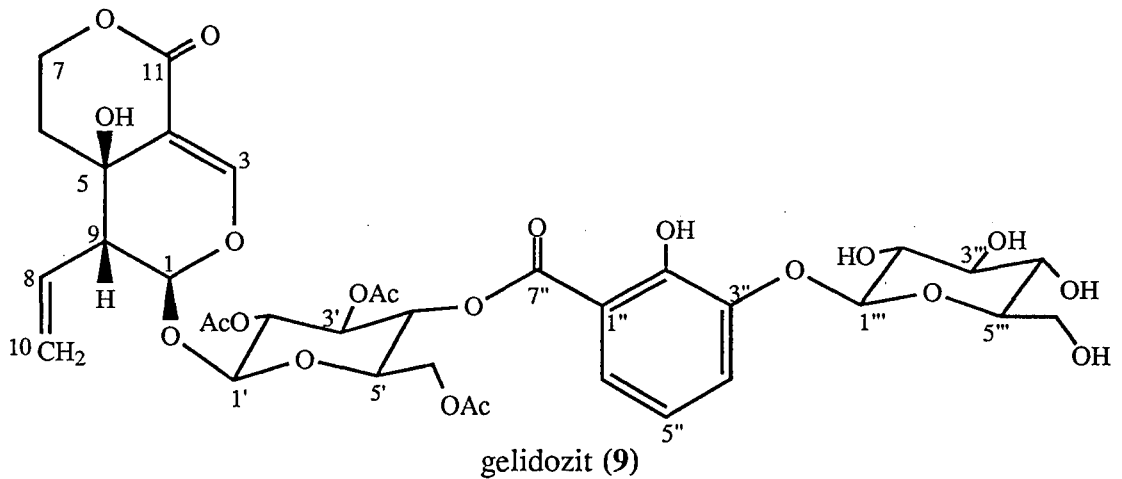
kinjiyozit A (26)



7-demetilalpigenozit (1)

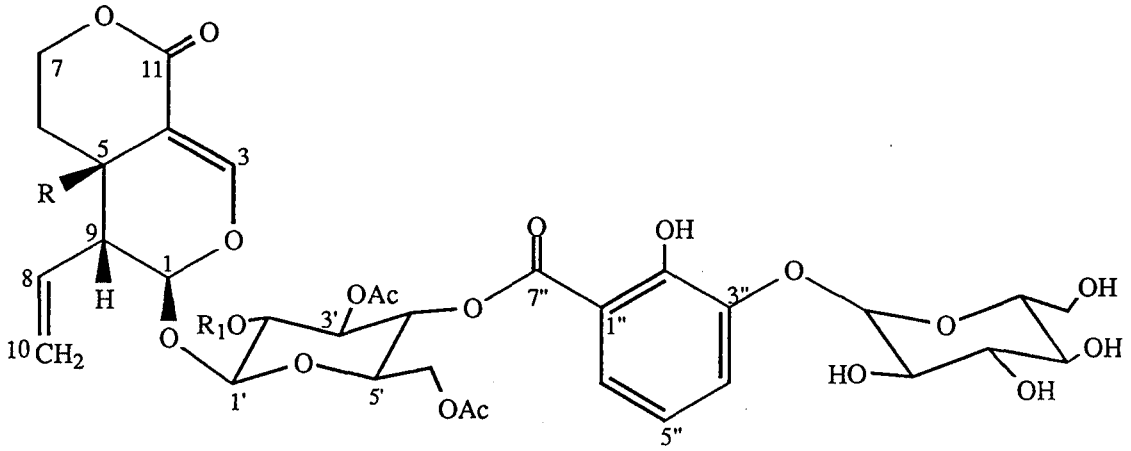


Bileşik	R	R ₁	R ₂
triflorozit (67)	H	asetil	glkoz
deglikozil triflorozit (68)	H	asetil	H

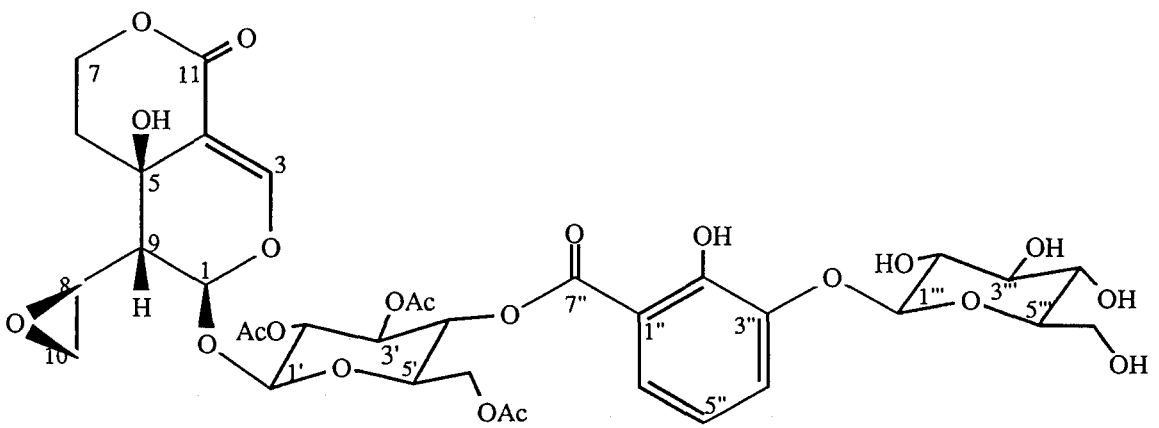


gelidozit (9)

Şekil 2.3. devam

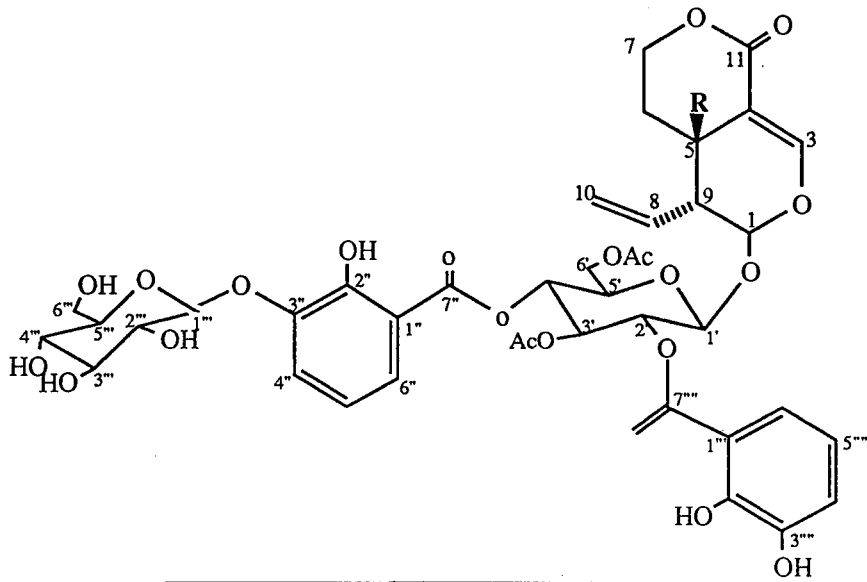


Bileşik	R	R ₁
rindozit (49)	OH	asetil
skabrazit (59)	H	

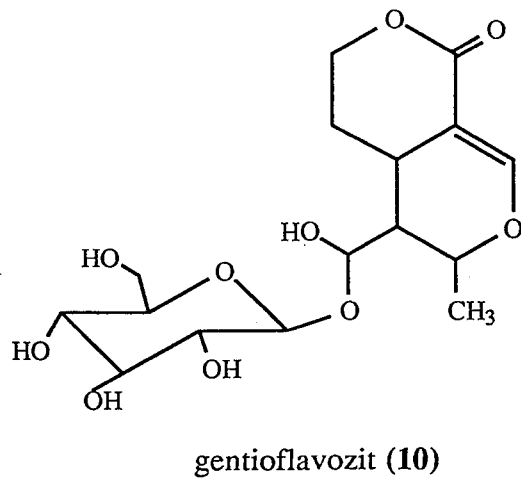
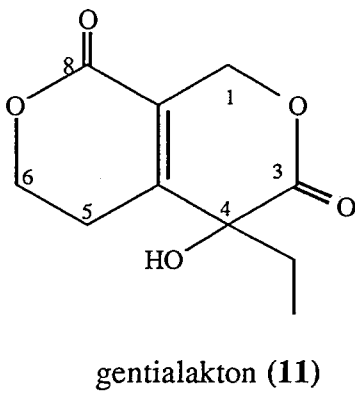
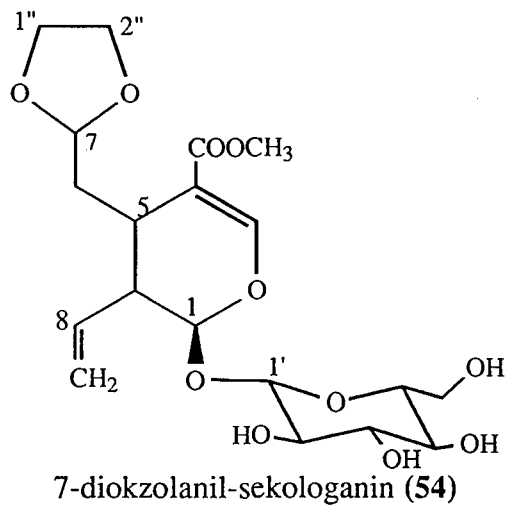
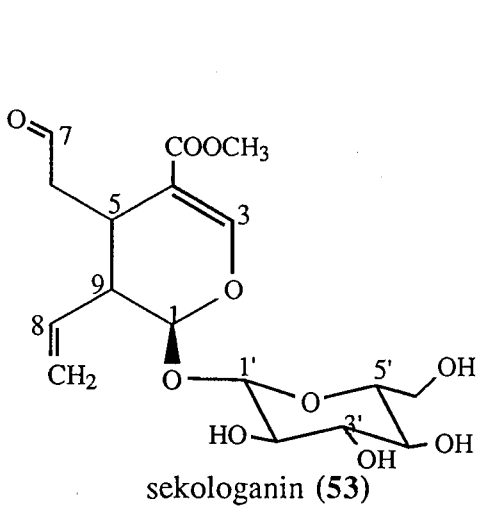


gentomozit (15)

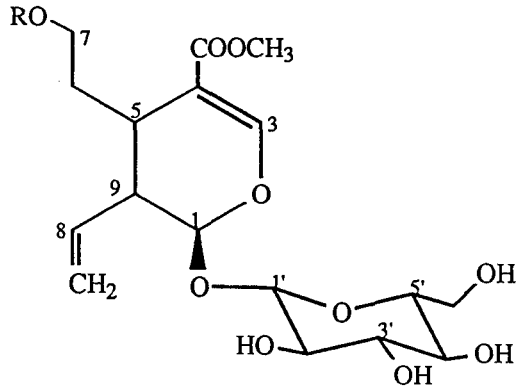
Şekil 2.3. devam



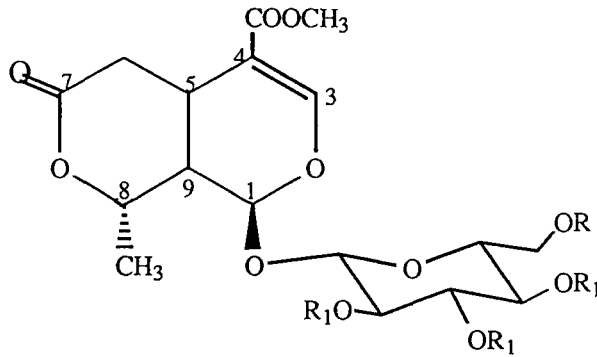
Bileşik	R
makrofillozit A (39)	H
makrofillozit B (40)	OH



Şekil 2.3. devam

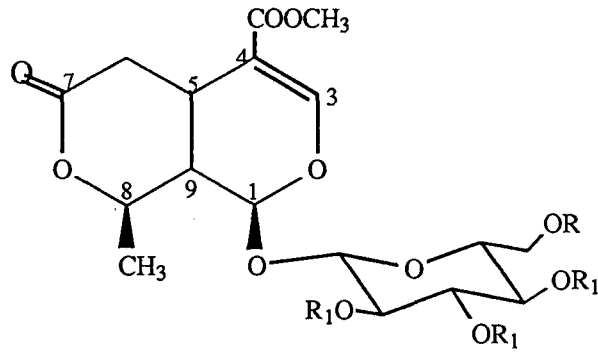


Bileşik	R
sekolganol (55)	H
7-asetil-sekolganol (57)	asetil
7-(2,5-dihidroksibenzil)-sekolganol (56)	

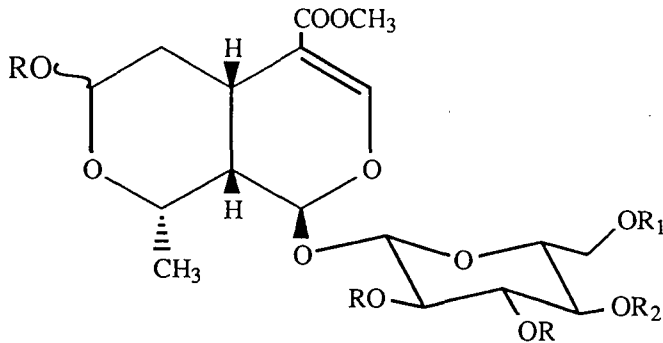


Bileşik	R	R ₁
kingisit (22)	H	H
6'-vanillil-kingisit (25)	H	

Şekil 2.3. devam

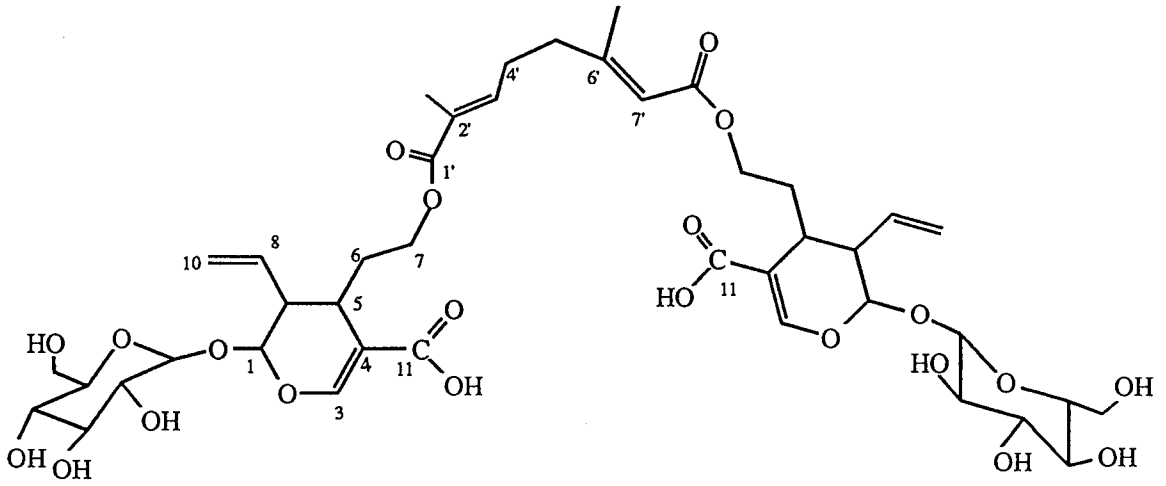


Bileşik	R	R ₁
8-epikingisit (23)	H	H
6'-vanillil-8-epikingisit (24)	H	

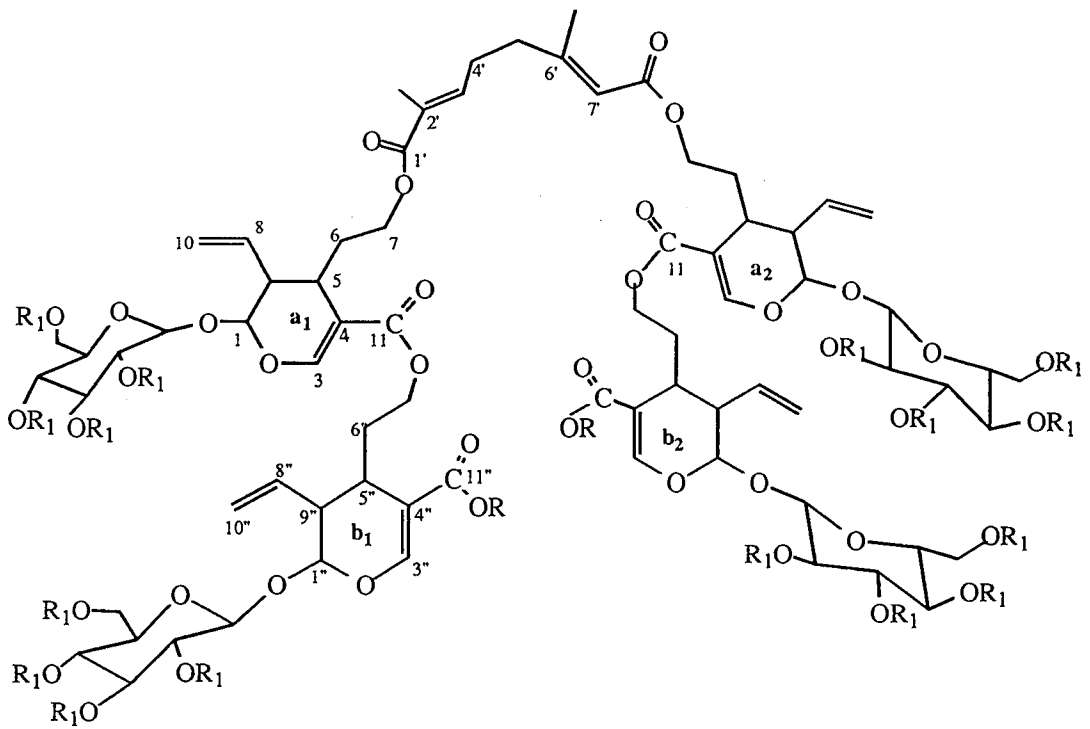


Bileşik	R	R ₁	R ₂
morronezitol (41)	H	H	H
4'-p-kumaril morronezitol (42)	H	H	
6'-[2(R)-metil-"- veratriloksi- propanil]-morronezitol (43)	H		H

Şekil 2.3. devam



rodantozit A (50)



Bileşik	R	R ₁
rodantozit B (51)	H	H
rodantozit C (52)	CH ₃	H

Tablo 2.6. *Gentiana* türlerinde bulunan ksantonlar

Etken madde adı	Bitkide bulunduğu kısım	Yüzdesi	Bitki adı	Kaynak	
bellidifolin (69) *	-		<i>G. corymbosa</i>	226	
			<i>G. dasyantha</i>	226	
	çiçek		<i>G. corymbifera</i>	211	
	herba			<i>G. cerastioides</i>	72
				<i>G. strictiflora</i>	72,214
		0.07143	<i>G. lactea</i>	191	
	kök		<i>G. bellidifolia</i>	227-230	
tüm bitki		<i>G. corymbiferae</i>	211		
izobellidifolin (70)	tüm bitki		<i>G. corymbiferae</i>	211	
	kök		<i>G. bellidifolia</i>	227-229	
	herba		<i>G. algida</i>	231	
			<i>G. karelinii</i>	232	
metilbellidifolin (71)	kök		<i>G. bellidifolia</i>	228,229	
	çiçek		<i>G. campestris</i> <i>G. ramosa</i> <i>G. bellidifolia</i>	233	
8-O-glikozit-bellidifolin (72)	-		<i>G. dasyantha</i>	234	
	çiçek		<i>G. corymbifera</i>	211	
	herba	0.1338	<i>G. lactea</i>	191,235	
			<i>G. cerastioides</i>	72	
			<i>G. strictiflora</i>	72, 214	
	tüm bitki		<i>G. corymbiferae</i>	211	
yaprak, kök		<i>G. ramosa</i>	235		
demetil-bellidifolin (73)	-		<i>G. corymbosa</i>	226	
	-		<i>G. dasyantha</i>	226	
	herba	0.0357	<i>G. strictiflora</i>	72,214	
			<i>G. lactea</i>	191	
			<i>G. cerastioides</i>	72	
	kök		<i>G. bellidifolia</i>	227,228,230,236	
8-O-β-D-glikozit-demetil-bellidifolin (74)	herba	0.009	<i>G. strictiflora</i>	72, 214	
			<i>G. cerastioides</i>	72	
			<i>G. lactea</i>	191,235	
	tüm bitki		<i>G. ramosa</i>	235	
	yaprak		<i>G. campestris</i>	237	
bellidin (75)	tüm bitki		<i>G. corymbiferae</i>	211	
	çiçek		<i>G. campestris</i> <i>G. ramosa</i> <i>G. bellidifolia</i> <i>G. germanica</i>	233	
4,7-di-O-metilbellidin (76)	kök		<i>G. bellidifolia</i>	227,236	
	çiçek		<i>G. bellidifolia</i>	233	

* Formül Numarası

Tablo 2.6. devam

dekussatin (77)	-	<i>G. brachyphylla</i>	238
	tüm bitki	<i>G. barbata</i>	239
	çiçek	<i>G. ciliata</i>	240
		<i>G. campestris</i>	233
		<i>G. ramosa</i>	233
	çiçek,yaprak herba	<i>G. orbicularis</i>	241
		<i>G. barbata</i>	242,243
		<i>G. bavarica</i>	244
		<i>G. brachyphylla</i>	244
		<i>G. favrati</i>	243,244
		<i>G. nivalis</i>	244
		<i>G. rostani</i>	244
		<i>G. schleicheri</i>	244
		<i>G. utriculosa</i>	244
		kök	<i>G. verna</i>
yaprak	<i>G. kochiana</i>	229,238	
	<i>G. bavarica</i>	245	
	<i>G. verna</i>	246	
izodekussatin (78)	yaprak	<i>G. ciliata</i>	247
1-O-β-D- primeverozit- dekussatin (79)	-	<i>G. barbata</i>	248
	herba	<i>G. verna</i>	229,235
		<i>G. bavarica</i>	249
	yaprak	<i>G. verna</i>	246
		<i>G. bavarica</i>	245
	kök	<i>G. clusii</i>	249
		<i>G. nivalis</i>	249
		<i>G. verna</i>	249
<i>G. alpina</i>		249	
1-O-glikozit- dekussatin(80)	yaprak	<i>G. ciliata</i>	247
gentiavarozit (81)	herba	<i>G. barbata</i>	243
	kök	<i>G. verna</i>	249
		<i>G. nivalis</i>	249
	yaprak	<i>G. bavarica</i>	245,249,250
		<i>G. ciliata</i>	247
		<i>G. verna</i>	246
gentiavarutinozit (82)	-	<i>G. bavarica</i>	251
		<i>G. barbata</i>	243,248
	herba	<i>G. bavarica</i>	249
gentiakaulein (83)	-	<i>G. acaulis</i>	253
	çiçek	<i>G. ciliata</i>	240
	çiçek,yaprak	<i>G. orbicularis</i>	241
	gövde	<i>G. triflora</i>	239
	herba	<i>G. brachyphylla</i>	238,244
		<i>G. barbata</i>	242
		<i>G. bavarica</i>	244
<i>G. favrati</i>		244	
	<i>G. rostani</i>	244	

Tablo 2.6. devam

			<i>G. schleicheri</i>	244
			<i>G. utriculosa</i>	244
			<i>G. verna</i>	244
			<i>G. karelinii</i>	232
	kök, yaprak		<i>G. brachyphylla</i>	238
		1.0	<i>G. kochiana</i>	229,236
	yaprak		<i>G. nivalis</i>	244
			<i>G. bavarica</i>	245
1-O- β -D-glikozit-gentiakaulein (84)	yaprak		<i>G. ciliata</i>	247
3-O- β -D-glikozit-gentiakaulein (85)	yaprak		<i>G. ciliata</i>	247
1-O-primeverozit-gentiakaulein (86)	herba		<i>G. verna</i>	235
			<i>G. bavarica</i>	249
	kök		<i>G. verna</i>	249
			<i>G. nivalis</i>	249
	yaprak		<i>G. verna</i>	246
			<i>G. bavarica</i>	245
izogentiakaulein (87)	yaprak		<i>G. ciliata</i>	247
	kök		<i>G. kochiana</i>	253
3-O- β -D-glikozit-izogentiakaulein(88)	yaprak		<i>G. ciliata</i>	247
8-O- β -D-primeverozit-izogentiakaulein (89)	yaprak		<i>G. ciliata</i>	247
gentiakaulozit (90)	çiçek		<i>G. ciliata</i>	240
			<i>G. kochiana</i>	249
	kök		<i>G. clusii</i>	249
			<i>G. alpina</i>	249
			<i>G. angustifolia</i>	249
izogentiakaulozit (91)	-		<i>G. lutea</i>	254,255
	gövde		<i>G. burserii</i>	95
			<i>G. ciliata</i>	240
	çiçek		<i>G. alpina</i>	249
			<i>G. angustifolia</i>	249
			<i>G. asclepiadea</i>	256
			<i>G. clusii</i>	249
			<i>G. kochiana</i>	229,249,253
			<i>G. lutea</i>	257
			<i>G. pannonica</i>	255
			<i>G. punctata</i>	165,255
	kök		<i>G. purpurea</i>	255
			<i>G. x marcaillhouana</i>	258
			<i>G. lutea</i>	259
		<i>G. ciliata</i>	240	
gentiakoşiyanozit (92)	yaprak		<i>G. ciliata</i>	240
			<i>G. kochiana</i>	253
	kök		<i>G. alpina</i>	249

Tablo 2.6. devam

izogentiakoşiyanozit (93)	herba		<i>G. verna</i>	235
			<i>G. bavarica</i>	249
	kök		<i>G. nivalis</i>	249
			<i>G. verna</i>	249
	yaprak		<i>G. ciliata</i>	247
			<i>G. verna</i>	246
		<i>G. bavarica</i>	245,250	
gentiozit (94)	kök		<i>G. asclepiadea</i>	71
			<i>G. lutea</i>	71,249,260,261
		0.016	<i>G. punctata</i>	71,249
			<i>G. pannonica</i>	249
			<i>G. purpurea</i>	249
	tüm bitki		<i>G. punctata</i>	212
	yaprak	0.043	<i>G. punctata</i>	262
0.0035		<i>G. x marcailhouana</i>	258	
gentisein (95)	yaprak		<i>G. ciliata</i>	240
gentisin (96)	-		<i>G. lutea</i>	236,254
	çiçek,yaprak		<i>G. lutea</i>	241
		kök		<i>G. asclepiadea</i>
			<i>G. cruciata</i>	165
			<i>G. hegetschwelerii</i>	229
			<i>G. x hibrita</i>	229
	0.02-0.001		<i>G. lutea</i>	165,177,194, 229,255,257,260 261, 263
			<i>G. punctata</i>	165,255,263
		<i>G. pannonica</i>	255,263	
		<i>G. purpurea</i>	229,255	
yaprak		<i>G. ciliata</i>	240	
izogentisin (97)	kök		<i>G. asclepiadea</i>	165,256
			<i>G. cruciata</i>	165
		0.02	<i>G. lutea</i>	165,257,264,265
			<i>G. punctata</i>	165
	yaprak		<i>G. burserii</i>	95
		0.003	<i>G. marcailhouana</i>	258
yaprak,çiçek	0.007	<i>G. lutea</i>	263	
kampestrozit (98)	yaprak		<i>G. campestris</i>	237
	herba	0.009	<i>G. strictiflora</i>	214
korimbiferin (99)	çiçek		<i>G. campestris</i>	233
			<i>G. ramosa</i>	
			<i>G. bellidifolia</i>	
	kök		<i>G. bellidifolia</i>	227,236
tüm bitki		<i>G. corymbiferae</i>	211	
yaprak		<i>G. campestris</i>	266	
korimbiferin-1-O-β-D-glikozit (100)	tüm bitki		<i>G. corymbifera</i>	211
	yaprak		<i>G. campestris</i>	266
3-metil-korimbiferin (101)	tüm bitki		<i>G. corymbifera</i>	211, 267

Tablo 2.6. devam

1, 8-dihidroksi-4,5-dimetoksi-ksanten-9-on (102)	çiçek		<i>G. campestris</i> <i>G. ramosa</i> <i>G. bellidifolia</i> <i>G. germanica</i>	233
7-hidroksi-3,8-dimetoksi-1-O-glikopiranozil-ksanton (103)	herba		<i>G. barbata</i>	243
2,7-dihidroksi-3,4-dimetoksiksanton-1-O-glikozit (104)	kök		<i>G. corymbiferae</i>	249
1,3,7-trimetoksi-ksanton (105)	kök	0.002	<i>G. lutea</i>	236,257
1,3-dihidroksi-ksanton (106)	kök		<i>G. bellidifolia</i>	230
1,5,8-trihidroksi-3,4-dimetoksiksanton (107)	herba		<i>G. algida</i>	231
1,3,8-trihidroksi-4,7-dimetoksi-ksanton (108)	kök		<i>G. bellidifolia</i>	227,236
1,7-dihidroksi-3-metoksi-8-O-glukopiranozilksanton (109)	yaprak		<i>G. verna</i>	246
1-hidroksi-3,7-dimetoksiksanton (110)	çiçek		<i>G. ciliata</i>	240
	kök	0.01	<i>G. lutea</i>	236,254,255,257,263
1-hidroksi-3-metoksiksanton (111)	kök		<i>G. bellidifolia</i>	230
1-hidroksi-3-metoksi-7-O-primeverozilksanton (112)	kök		<i>G. lutea</i>	260,261
1-hidroksi-7-metoksi-3-O-primeverozilksanton (113)	kök		<i>G. pannonica</i>	249
3,7,8-trimetoksi-1-O-glukopiranozilksanton (114)	herba		<i>G. barbata</i> <i>G. lutea</i>	243
	gövde		<i>G. triflora</i>	239
4,5-dimetoksi-3-hidroksi, 8-O-β-D-glukopiranozitikksanton (115)	yaprak		<i>G. campestris</i>	266
7-hidroksi-3-metoksi-1-O-primeverozilksanton (116)	kök	0.043	<i>G. lutea</i>	260,261

Tablo 2.6. devam

8-O-[(β -D-ksilopiranozil)-(1 \rightarrow 2)- β -D-glukopiranozil]-1,7-dihidroksi-3-metoksi-ksanton(117)	herba		<i>G. karelinii</i>	231
1,3,8-trihidroksi-7-metoksi ksanton(118)	kök		<i>G. bellidifolia</i>	230
1,5-dihidroksi-3-metoksi, 8-O-glikopiranozil-ksanton (119)	yaprak		<i>G. campestris</i>	237
1-hidroksi-3,8-dimetoksi-7-O-glikozit-ksanton(120)	kök		<i>G. barbata</i>	239
1-oksi-3,8-dimetoksi, 7-O-glukopiranozil-ksanton (121)	gövde		<i>G. triflora</i>	239
7-oksi-3,8-dimetoksi, 1-O-primeverozil-ksanton (122)	gövde		<i>G. triflora</i>	239
1,8-dihidroksi-3-metoksi-7-O-asetilrutinozit-ksanton (123)	herba		<i>G. bavarica</i>	249
1,8-dihidroksi-3-metoksi-7-O-rutinozit-ksanton (124)	herba		<i>G. bavarica</i>	249
mangiferin (125)	-		<i>G. cruciata</i>	268
	çiçek		<i>G. corymbifera</i>	211
	çiçek,yaprak		<i>G. lutea</i>	241
			<i>G. orbicularis</i>	241
	herba, kök		<i>G. nivalis</i>	244,249
	herba		<i>G. bavarica</i>	244
			<i>G. brachyphylla</i>	244
			<i>G. corymbifera</i>	267
			<i>G. karelinii</i>	232
			<i>G. lactea</i>	191
			<i>G. favrati</i>	244
		0.92	<i>G. lutea</i>	269
		0.98	<i>G. schistocalyx</i>	269
			<i>G. schleicheri</i>	244
			<i>G. utriculosa</i>	244
	kök		<i>G. verna</i>	235,244
			<i>G. rostani</i>	244
			<i>G. asclepiadea</i>	249,256
		<i>G. cruciata</i>	249	
		<i>G. favrati</i>	249	
		<i>G. pneumonanthe</i>	249	
		<i>G. punctata</i>	249	
		<i>G. purpurea</i>	249	

Tablo 2.6. devam

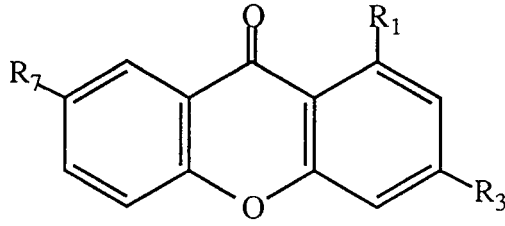
			<i>G. utriculosa</i>	249
	tüm bitki		<i>G. corymbiferae</i>	211
		0.1	<i>G. cruciata</i>	270
	yaprak		<i>G. asclepiadea</i>	271
			<i>G. campestris</i>	266
			<i>G. lutea</i>	249,262
		0.005	<i>G. x marcaillhouana</i>	258
			<i>G. verna</i>	246
	yaprak, gövde	0.2	<i>G. cruciata</i>	272
6-O-β-D-glikozit-mangiferin (126)	yaprak	0.0023	<i>G. asclepiadea</i>	273
7-O-β-D-glikozit-mangiferin (127)	yaprak	0.004	<i>G. asclepiadea</i>	273
neolanserin (128)	herba		<i>G. lactea</i>	191
sverkirin (129)	herba		<i>G. algida</i>	231
			<i>G. corymbifera</i>	211
		0.014	<i>G. lactea</i>	191
	tüm bitki		<i>G. corymbiferae</i>	211
	çiçek, yaprak		<i>G. orbicularis</i>	241
svertianin [gentiakoşyanin] (130)	çiçek		<i>G. ciliata</i>	240
	herba		<i>G. barbata</i>	242
			<i>G. bavarica</i>	244
			<i>G. brachyphylla</i>	244
			<i>G. favrati</i>	244
			<i>G. karelinii</i>	232
			<i>G. nivalis</i>	244
			<i>G. rostani</i>	244
			<i>G. verna</i>	244
	kök		<i>G. kochiana</i>	249,253
	yaprak		<i>G. verna</i>	246
			<i>G. bavarica</i>	245
1-O-β-D-glikozit-svertianin (131)	yaprak		<i>G. ciliata</i>	247
8-O-β-D-glikozit-svertianin (132)	kök		<i>G. verna</i>	249
7-O-primeverozit-svertianin (133)	yaprak		<i>G. ciliata</i>	247
norsvertianin (134)	herba		<i>G. verna</i>	244
			<i>G. bavarica</i>	244
	yaprak		<i>G. bavarica</i>	245
nor svertiaprimeverozit (135)	herba		<i>G. bavarica</i>	249
norsvertiaglikozit (136)	herba		<i>G. bavarica</i>	249

Tablo 2.6. devam

svertiaperennin (137)	çiçek		<i>G. ciliata</i>	240
	herba		<i>G. barbata</i>	242
			<i>G. karelinii</i>	232
3,4-dimetoksi-5,8-dihidroksiksanton-1-O-glikozit (138)	yaprak		<i>G. campestris</i>	266
3,4-dimetoksi-5,8-dihidroksiksanton (139)	yaprak		<i>G. campestris</i>	266

Şekil 2.4. *Gentiana* türlerinde bulunan ksantonların formülleri

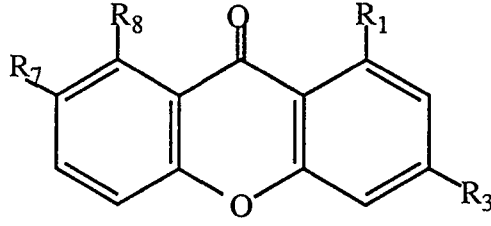
1) 1,3,7- trisübstitüe ksanton bileşikleri



Bileşik	R ₁	R ₃	R ₇
gentiozit (94)	OH	O-primveroz	OCH ₃
gentisein (95)	OH	OH	OH
gentisin (96)	OH	OCH ₃	OH
izogentisin (97)	OH	OH	OCH ₃
1-hidroksi-3-metoksiksanton-7-O- primeverozit (112)	OH	OCH ₃	O-primveroz
1-hidroksi-7-metoksiksanton-3-O- primeverozit (113)	OH	O-primveroz	OCH ₃
1-hidroksi-3,7-dimetoksiksanton (110)	OH	OCH ₃	OCH ₃
1-hidroksi-3-metoksiksanton (111)	OH	OCH ₃	H
7-hidroksi-3-metoksiksanton-1-O- primeverozit (116)	O-primveroz	OCH ₃	OH
1,3-dihidroksiksanton (106)	OH	OH	H
1,3,7-trimetoksiksanton (105)	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃

Şekil 2.4. devam

2) 1,3,7,8- tetrasübstitüe ksanton bileşikleri

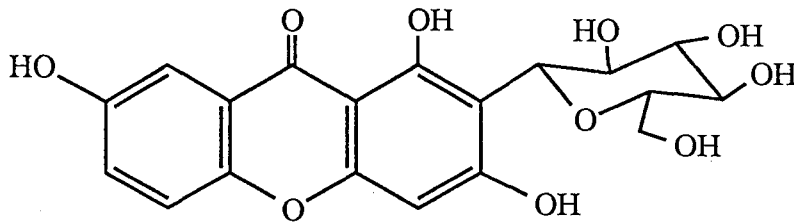


Bileşik	R ₁	R ₃	R ₇	R ₈
dekussatin (77)	OH	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃
izodekussatin (78)	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	OH
dekussatin-1-O-glikozit (80)	O-glikoz	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃
dekussatin-1-O-primeverozit (79)	O-primveroz	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃
gentiabavarozit (81)	O-primveroz	OCH ₃	OH	OCH ₃
gentiabavarutinozit (82)	OH	OCH ₃	asetil rutinozit	OH
gentiakaulein (83)	OH	OCH ₃	OH	OCH ₃
izogentiakaulein (87)	OCH ₃	OH	OCH ₃	OH
gentiakaulein-1-O-glikozit (84)	O-glikoz	OCH ₃	OH	OCH ₃
gentiakaulein-1-O-primeverozit (86)	O-primveroz	OCH ₃	OH	OCH ₃
gentiakaulein-3-O-glikozit (85)	OH	O-glikoz	OH	OCH ₃
izogentiakaulein-3-O-glikozit (88)	OCH ₃	O-glikoz	OCH ₃	OH
izogentiakaulein-8-O-primeverozit (89)	OCH ₃	OH	OCH ₃	O-glikoz
gentiakaulozit (90)	OH	OCH ₃	O-primveroz	OCH ₃
izogentiakaulozit (91)	OCH ₃	O-primveroz	OCH ₃	OH
gentiakoşianozit (92)	OH	OCH ₃	OH	O-primveroz
İzogentiakoşianozit (93)	O-primveroz	OCH ₃	OH	OH
norsvertiaglikozit (136)	O-glikoz	OH	OH	OH
svertianin (gentiakoşianin) (130)	OH	OCH ₃	OH	OH
norsvertianin (134)	OH	OH	OH	OH
norsvertiaprimeverozit (135)	O-primveroz	OH	OH	OH
svertianin-1-O-glikozit (131)	O-glikoz	OCH ₃	OH	OH
svertianin-7-O-primeverozit (133)	OH	OCH ₃	O-primveroz	OH
svertianin-8-O-glikozit (132)	OH	OCH ₃	OH	O-glikoz
svertiaperennin (137)	OH	OCH ₃	OCH ₃	OH

Şekil 2.4. devam

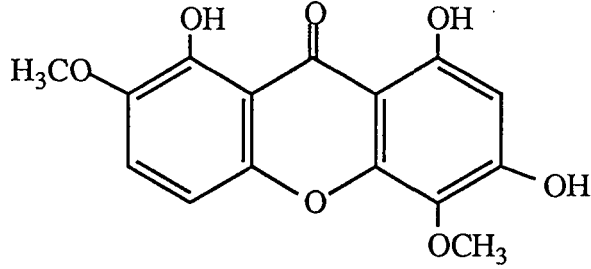
1-hidroksi-3,8-dimetoksi-7-O-glikozit-ksanton (120)	OH	OCH ₃	glikoz	OCH ₃
1-oksi-3,8-dimetoksi-7-O-glikopiranozilksanton (121)	OH	OCH ₃	glikopiranozil	OCH ₃
7-hidroksi-3,8-dimetoksi-1-O-glikopiranozilksanton (103)	glikopiranozil	OCH ₃	OH	OCH ₃
7-oksi-3,8-dimetoksi-1-O-primeverozilksanton (122)	O-primeveroz	OCH ₃	OH	OCH ₃
8-O-[(β-ksilopiranozil)-(1-2)-β-glikopiranozil]-1,7-dihidroksi-3-metoksiksanton (117)	OH	OCH ₃	OH	ksilopiranozil (1-2)-glikopiranozil
1,7-dihidroksi-3-metoksi-8-O-glikopiranozilksanton (109)	OH	OCH ₃	OH	glikopiranozil
1,8-dihidroksi-3-metoksi-7-O-rutinozitksanton (124)	OH	OCH ₃	rutinozit	OH
1,8-dihidroksi-3-metoksi-7-O-asetilrutinozitksanton (123)	OH	OCH ₃	asetilrutinozit	OH
1,3,8-trihidroksi-7-metoksiksanton (118)	OH	OH	OCH ₃	OH
3,7,8-trimetoksi-1-O-glikopiranozilksanton (114)	glikopiranozil	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃

3) 1,2,3,7-tetrasüstitüe ksanton bileşikleri



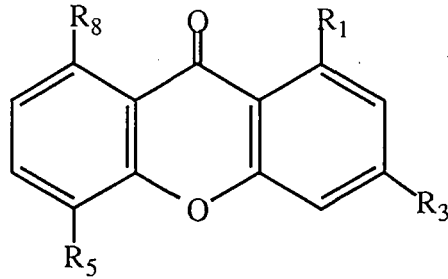
neolanserin (128)

4) 1,3,4,7,8-penta süstitüe ksanton bileşikleri



1,3,8-trihidroksi-4,7-dimetoksiksanton (108)

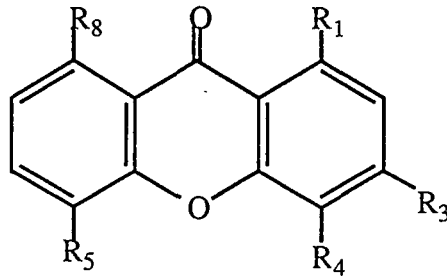
5) 1,3,5,8-tetrasüstitüe ksanton bileşikleri



Bileşik	R ₁	R ₃	R ₅	R ₈
bellidifolin (69)	OH	OCH ₃	OH	OH
bellidifolin-8-O-glikozit (72)	OH	OCH ₃	OH	O-glikoz
demetilbellidifolin (73)	OH	OH	OH	OH
demetilbellidifolin-8-O-glikozit (74)	OH	OH	OH	O-glikoz
kampestrozit (98)	OH	OH	OH	O-gli.
metilbellidifolin (sverkirin) (71)	OH	OCH ₃	OCH ₃	OH
izobellidifolin (70)	OH	OH	OCH ₃	OH
1,5-dihidroksi-3-metoksi-8-O-glikopiranozitksanton (119)	OH	OCH ₃	OH	glikopiranozit

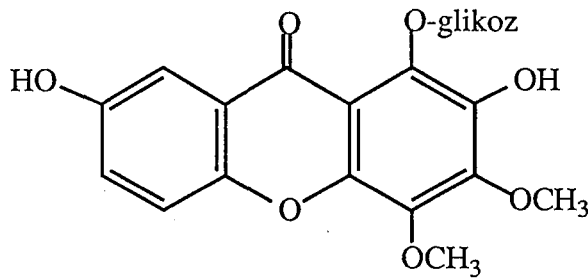
Şekil 2.4. devam

6) 1,3,4,5,8- pentasüstitüe ksanton bileşikleri



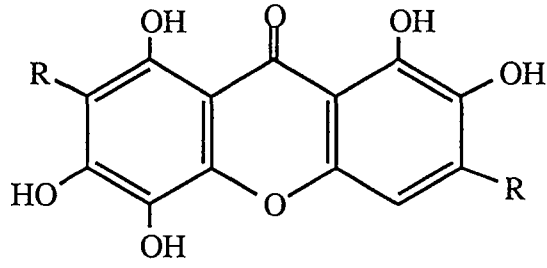
Bileşik	R ₁	R ₃	R ₄	R ₅	R ₈
korimbiferin (99)	OH	OH	OCH ₃	OCH ₃	OH
korimbiferin-1-O-glikozit (100)	O-glikoz	OH	OCH ₃	OCH ₃	OH
3-metilkorimbiferin (101)	OH	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	OH
3,4-dimetoksi-5,8- dihidroksiksanton-1-O-glikozit (138)	O-glikoz	OCH ₃	OCH ₃	OH	OH
1,5,8-trihidroksi-3,4- dimetoksi-ksanton (107)	OH	OCH ₃	OCH ₃	OH	OH
3,4-dimetoksi-5,8- dihidroksiksanton (139)	OH	OCH ₃	OCH ₃	OH	OH
3-hidroksi-4,5-dimetoksi-8-O- glikopiranozitksanton (115)	H	OH	OCH ₃	OCH ₃	glikopiranozil

7) 1,2,3,4,7- pentasüstitüe ksanton bileşikleri



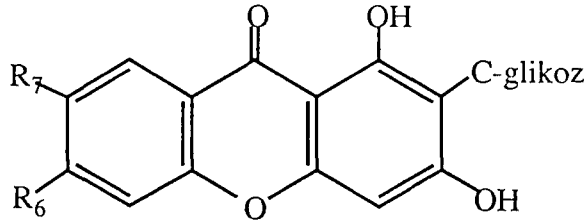
2,7-dihidroksi-3,4-dimetoksi-1-O-glikozitksanton (104)

Şekil 2.4. devam



Bileşik	R
bellidin (75)	H
4,7-di-O-metoksibellidin (76)	OCH ₃

8) *Gentiana* türlerinden izole edilen ksanton-C-glikozitleri



Bileşik	R ₆	R ₇
mangiferin (125)	OH	OH
6-O-glikozit-mangiferin (126)	O-glikoz	OH
7-O-glikozit-mangiferin (127)	OH	O-glikoz

Tablo 2.7. *Gentiana* türlerinde bulunan flavonoitler

Etken madde adı	Bitkide bulunduğu kısım	Yüzdesi	Bitki Adı	Kaynak
akasetin, 7-O- β -D-glukopiranozil-6-C- β -D-glukopiranozil-(140)*	herba		<i>G. pyrenaica</i>	274
apigenin (141)	herba		<i>G. barbata</i>	275
diosmetin (142)	kök		<i>G. barbata</i>	239
	gövde		<i>G. triflora</i>	239
İzoorientin (144) (=homoorientin)	çiçek		<i>G. makinoi</i>	276,277,278
	-		<i>G. burserii</i>	281
	-		<i>G. cruciata</i>	268
	-		<i>G. farreri</i>	96
	-		<i>G. "macaulayi"</i>	96
	-		<i>G. sina-ornata</i>	96
	çiçek,yaprak		<i>G. orbicularis</i>	241
			<i>G. lutea</i>	241,280
	herba		<i>G. affinis</i>	72
			<i>G. bavarica</i>	244
			<i>G. brachyphylla</i>	244
			<i>G. calycosa</i>	72
			<i>G. cerastioides</i>	72
			<i>G. favrati</i>	244
			<i>G. karelinii</i>	232
			<i>G. lactea</i>	235,191
			<i>G. macrophylla</i>	279
			<i>G. nivalis</i>	244
			<i>G. olivieri</i>	192,282
			<i>G. rostani</i>	244
			<i>G. schleicheri</i>	244
			<i>G. strictiflora</i>	72
			<i>G. utriculosa</i>	244
			<i>G. verna</i>	244,235
		0.0077	<i>G. lactea</i>	191
	kök		<i>G. asclepiadea</i>	256
	tüm bitki		<i>G. arisanensis</i>	283
			<i>G. formosana</i>	284
	yaprak		<i>G. acaulis</i> ssp. <i>dinarica</i>	280
			<i>G. acaulis</i> ssp. <i>kochiana</i>	280
			<i>G. asclepiadea</i>	271
			<i>G. burserii</i>	281
			<i>G. campestris</i>	237
			<i>G. ciliata</i>	247
			<i>G. depressa</i>	285
			<i>G. lutea</i>	262

* Formül Numarası

Tablo 2.7. devam

			<i>G. pannonica</i>	281
			<i>G. pneumonanthe</i>	280
			<i>G. punctata</i>	281
			<i>G. purpurea</i>	281
			<i>G. verna</i>	246,280
			<i>G. villarsii</i>	281
		0.05	<i>G. x marcailhouana</i>	258
	herba	0.15	<i>G. cruciata</i>	272
	yaprak,kök		<i>G. punctata</i>	281
			<i>G. ramosa</i>	235
2''-tr-kafeil-izoorientin (145)	herba	0.001	<i>G. cruciata</i>	272
	yaprak	0.0024	<i>G. burserii</i>	288
			<i>G. punctata</i>	289
		0.015	<i>G. x marcailhouana</i>	258
2''-p-β-D-glukozil-tr-kafeil-izoorientin (146)	yaprak		<i>G. burserii</i>	288
2''-tr-ferulil-izoorientin (147)	yaprak	0.0024	<i>G. burseri</i>	293
		0.005	<i>G. x marcailhouana</i>	258
2''-tr-kumaril-izoorientin (148)	yaprak	0.0065	<i>G. x marcailhouana</i>	258
2'',4'-di-O-β-D-glikozit-izoorientin (149)	yaprak		<i>G. asclepiadea</i>	290
2''-O-β-D- glikozit-izoorientin (150)	herba		<i>G. depressa</i>	87
			<i>G. olivieri</i>	282
	yaprak		<i>G. lutea</i>	291,286
			<i>G. punctata</i>	289
2''(p-hidroksibenzil) izoorientin (151)	yaprak		<i>G. asclepiadeae</i>	292
2''-p-β-D-glukozil-tr-kafeil-4'-O-β-D-glikozit-izoorientin (152)	yaprak		<i>G. burserii</i>	288
2''-tr-ferulil-4'-O-β-D-glikozit-izoorientin (153)	yaprak	0.0008	<i>G. burseri</i>	293
			<i>G. punctata</i>	289
2''-tr-kafeil-4'-O-β-D-glikozit-izoorientin (154)	yaprak		<i>G. punctata</i>	289
3',6''-di-O-β-D-glikozit-izoorientin (155)	yaprak	0.018	<i>G. pedicellata</i>	294

Tablo 2.7. devam

3'-O-β-D-glikozit-izoorientin (156)	-		<i>Gentiana</i> türleri	296	
	yaprak		<i>G. pedicellata</i>	218,295,297	
			<i>G. nivalis</i>	298	
4'-O-β-D- glikozit-izoorientin (157)	çiçek herba		<i>G. pedicellata</i>	218	
			<i>G. affinis</i>	72	
			<i>G. algida</i>	72	
			<i>G. calycosa</i>	72	
	0.075			<i>G. olivieri</i>	192,282
				<i>G. asclepiadea</i>	271
				<i>G. burseri</i>	281
				<i>G. lutea</i>	259
				<i>G. x marcaillhouana</i>	258
				<i>G. pannonica</i>	281
				<i>G. punctata</i>	281
				<i>G. purpurea</i>	281
				<i>G. verna</i>	287
				<i>G. villarsii</i>	281
	yaprak, gövde	0.07		<i>G. cruciata</i>	272
	-			<i>Gentiana</i> türleri	296
				<i>G. farreri</i>	96
			<i>G. sina-ornata</i>	96	
			<i>G. "macaulayi"</i>	96	
kök, yaprak			<i>G. punctata</i>	281	
4'-O-glikozit-O-[2-O-β-D-glukozil-2,4,5-trihidroksi-(E)sinnamoil]-izoorientin (158)	yaprak		<i>G. x marcaillhouana</i>	299	
4'-O-β-D-glikozit-2"-p-hidroksibenzoil-izoorientin- (159)	yaprak	0.0043	<i>G. asclepiadea</i>	292	
4'-O-glukozil-deperasetat-izoorientin (160)	herba		<i>G. olivieri</i>	282	
6"-O-β-D-glikozit-izoorientin (161)	çiçek		<i>G. pedicellata</i>	218	
	tüm bitki		<i>G. arisanensis</i>	283	
			<i>G. formosana</i>	284	
yaprak	0.0116		<i>G. pedicellata</i>	294	
6"-O-kafeat-izoorientin (162)	tüm bitki		<i>G. formosana</i>	284	
			<i>G. arisanensis</i>	283	
7-O-β-D-glukozideperasetat-izoorientin (163)	herba		<i>G. olivieri</i>	282	

Tablo 2.7. devam

7-O- β -D-glikozit-izoorientin (164)	herba		<i>G. olivieri</i>	192,282	
2"-p-hidroksibenzoil-izoorientin-4'-O- β -D-glikozit (165)	yaprak		<i>G. asclepiadea</i>	292	
2"-p-O- β -D-glukozil-tr-kafeil-izoorientin (166)	yaprak	0.0075	<i>G. x marcaillhouana</i>	258	
izopirenin (167)	herba		<i>G. pyrenaica</i>	274	
7-O- β -D-glikozit-izopirenin (168)	herba		<i>G. pyrenaica</i>	274	
izoskoparin (169)	yaprak		<i>G. ciliata</i>	247	
			<i>G. pneumonanthe</i>	300	
			<i>G. punctata</i>	289	
	herba		<i>G. depressa</i>	87	
7-O- β -D- glukozit-izoskoparin (170)	yaprak		<i>G. pneumonanthe</i>	300	
	herba		<i>G. pyrenaica</i>	274	
	yaprak, gövde		<i>G. pneumonanthe</i>	300	
izoviteksin (= sponaretin)(171)	-		<i>G. cruciata</i>	268	
	kök		<i>G. asclepiadea</i>	256	
	kök, yaprak		<i>G. punctata</i>	281	
	yaprak			<i>G. burserii</i>	281
				<i>G. acaulis ssp. kochiana</i>	280
				<i>G. acaulis ssp. dinarica</i>	280
				<i>G. ciliata</i>	247
				<i>G. lutea</i>	280
				<i>G. marcaillhouana hibrit</i>	258
				<i>G. pannonica</i>	281
				<i>G. pneumonanthe</i>	280
				<i>G. purpurea</i>	281
				<i>G. verna</i>	280
				<i>G. villarsii</i>	281
		herba			<i>G. bavarica</i>
				<i>G. brachyphylla</i>	244
				<i>G. favrati</i>	244
				<i>G. lactea</i>	235,191
				<i>G. macrophylla</i>	280
				<i>G. nivalis</i>	244
			<i>G. rostani</i>	244	
			<i>G. schleicheri</i>	244	
		<i>G. utriculosa</i>	244		
		<i>G. verna</i>	244		
4'-O- β -D-glikozit-izoviteksin (172)	kök, yaprak		<i>G. punctata</i>	281	

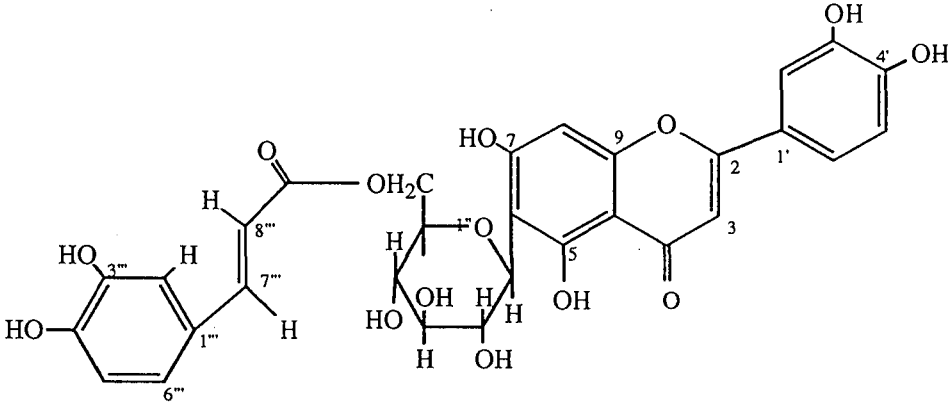
Tablo 2.7. devam

	yaprak		<i>G. burserii</i>	281
			<i>G. lutea</i>	259
			<i>G. pannonica</i>	281
			<i>G. purpurea</i>	281
		0.0025	<i>G. marcailhouana</i> <i>hibrit</i>	258
			<i>G. villarsii</i>	281
	yaprak, gövde	0.03	<i>G. cruciata</i>	272
2''-O-β-D-glikozit- izoviteksin (173)	herba		<i>G. depressa</i>	87
	yaprak		<i>G. lutea</i>	286,291
2''-tr-ferulil- izoviteksin (174)	yaprak		<i>G. punctata</i>	289
2''-tr-ferulil-4'-O-β- D- glukozit- izoviteksin (175)	yaprak		<i>G. punctata</i>	289
2'',4'-di-O-β-D- glikozit-izoviteksin (176)	yaprak		<i>G. asclepiadea</i>	290
kemferol (177)	yaprak		<i>G. lutea</i>	97
kersetin (178)	taze herba		<i>G. flavo-maculata</i>	301
	tüm bitki		<i>G. formosana</i>	283
			<i>G. brachyphylla</i>	244
			<i>G. calycosa</i>	72
			<i>G. cerastioides</i>	72
			<i>G. favrati</i>	244
			<i>G. karelinii</i>	232
			<i>G. lactea</i>	235,191
			<i>G. macrophylla</i>	279
			<i>G. nivalis</i>	244
			<i>G. olivieri</i>	192,282
			<i>G. rostani</i>	244
			<i>G. schleicheri</i>	244
			<i>G. strictiflora</i>	72
			<i>G. utriculosa</i>	244
			<i>G. verna</i>	244,235
izo-kuersitrin (179)	herba		<i>G. pyrenaica</i>	274
krizoeriol (180)	herba		<i>G. barbata</i>	275
luteolin (181)	herba		<i>G. barbata</i>	275
luteolin-7-O-β-D- glukozit (182)	yaprak		<i>G. x</i> <i>marcailhouana</i>	258
orientin (183)	tüm bitki		<i>G. algida</i>	257
2''-O-β-D-glikozit- orientin (184)	herba		<i>G. olivieri</i>	282
2''-O-β-D- glukozideperasetat- orientin (185)	herba		<i>G. olivieri</i>	282
pirenozit (186)	yaprak		<i>G. pyrenaica</i>	79
rutin (187)			<i>G. flavo-maculata</i>	301

Tablo 2.7. devam

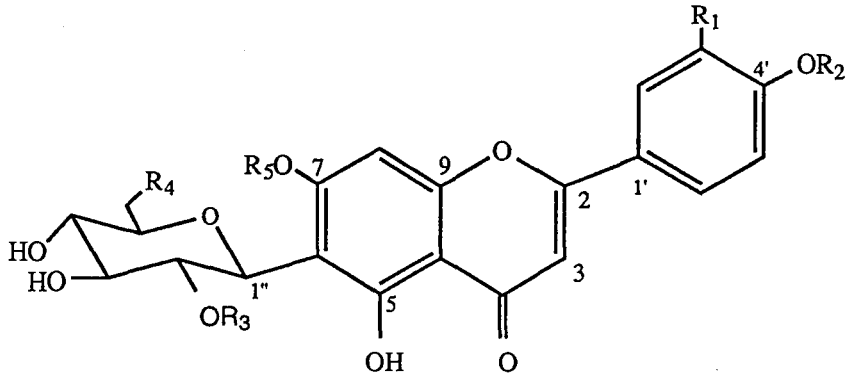
saponarin (=izoviteksin-7-O- β - D-glikozit) (188)	yaprak		<i>G. asclepiadea</i>	273
			<i>G. pneumonanthe</i>	300
	herba		<i>G. pyrenaica</i>	274
izosaponarin (189)	-		<i>G. farreri</i>	96
	yaprak		<i>G. asclepiadea</i>	271
			<i>G. burserii</i>	281
			<i>G. pannonica</i>	281
			<i>G. punctata</i>	281
			<i>G. purpurea</i>	281
		<i>G. villarsii</i>	281	
yaprak, gövde		<i>G. pneumonanthe</i>	300	
svertisin (190)	herba		<i>G. corymbiferae</i>	211
	yaprak		<i>G. campestris</i>	266
tilianin (191)	herba		<i>G. barbata</i>	275

Şekil 2.5. *Gentiana* türlerinde bulunan flavonoitlerin formülleri



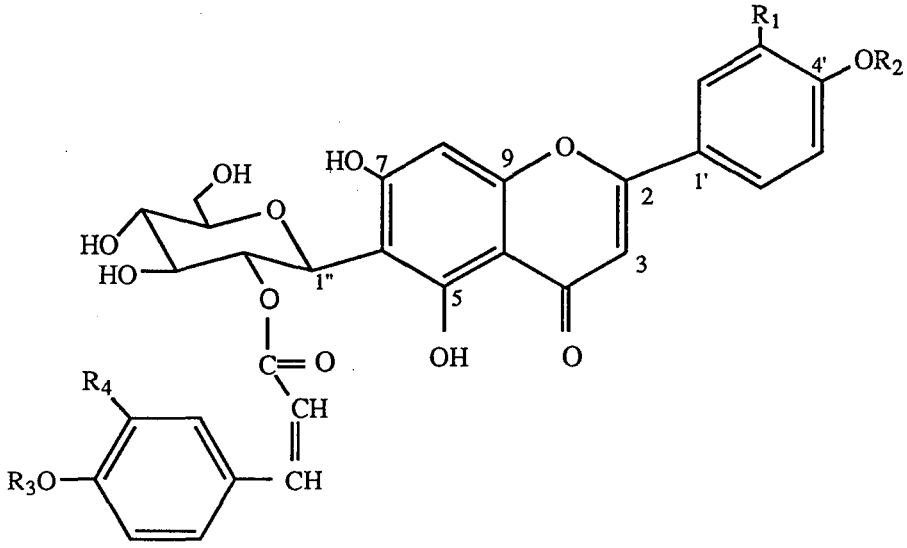
izoorientin-6''-O-kafeat (172)

Şekil 2.5. devam



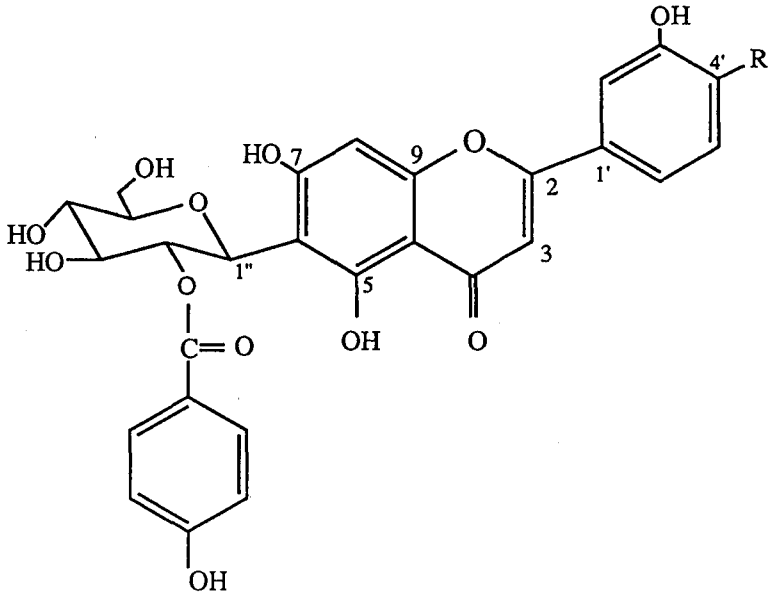
Bileşik	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
izoorientin (144)	OH	H	H	OH	H
izoorientin-3'-O-β-D-glikozit (156)	O-glikoz	H	H	OH	H
izoorientin-2''-O-β-D-glikozit (150)	OH	H	glikoz	OH	H
izoorientin-6''-O-β-D-glikozit (161)	OH	H	H	O-glikoz	H
izoorientin-2''-4'-di-O-β-D-glikozit (149)	OH	glikoz	glikoz	OH	H
izoorientin-3'-6''-di-O-β-D-glikozit (155)	O-glikoz	H	H	O-glikoz	H
izoviteksin (171)	H	H	H	OH	H
izosaponarin (190) (=izoviteksin-4'-O-β-D-glikozit)	H	glikoz	H	OH	H
izoviteksin-2''-O-β-D-glikozit (173)	H	glikoz	glikoz	OH	H
izoviteksin-2''-4'-di-O-β-D-glikozit (176)	H	glikoz	glikoz	OH	H
saponarin (189) (=izoviteksin-7-O-β-D-glikozit)	H	H	H	OH	glikoz

Şekil 2.5. devam

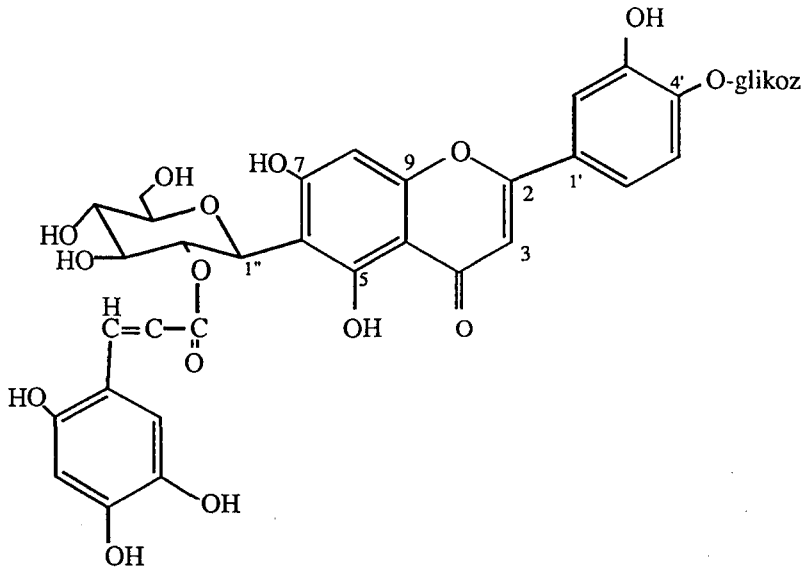


Bileşik	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
2''-tr-kafeil-izoorientin (145)	OH	H	H	OH
2''-tr-kafeil-izoorientin-4'-O-β-D-glikozit (153)	OH	glikoz	H	OH
2''-(p-O-β-D-glikozil-tr-kafeil)-izoorientin (166)	OH	H	glikoz	OH
2''-(p-O-β-D-glikozil-tr-kafeil)-izoorientin-4'-O-glikozit (152)	OH	glikoz	glikoz	OH
2''-tr-ferulil-izoorientin (147)	OH	H	H	OCH ₃
2''-tr-ferulil-izoorientin-4'-O-β-D-glikozit (153)	OH	glikoz	H	OCH ₃
2''-tr--kumaril-izoorientin (148)	OH	H	H	H
2''-tr-ferulil-izoviteksin (174)	H	H	H	OH
2''-tr-ferulil-izoviteksin-4'-O-β-D-glikozit (175)	H	glikoz	H	OCH ₃

Şekil 2.5. devam

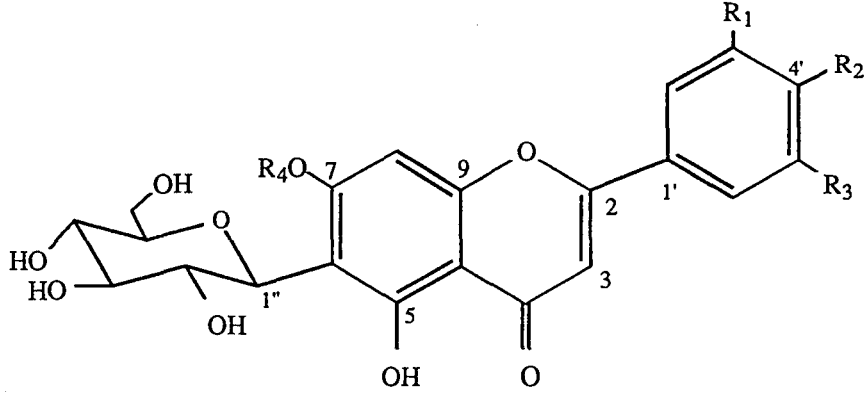


Bileşik	R
2''-(p-hidroksibenzil)-izoorientin (151)	OH
2''-(p-hidroksibenzil)-izoorientin-4'-O-β-D-glikozit (166)	O-glikoz

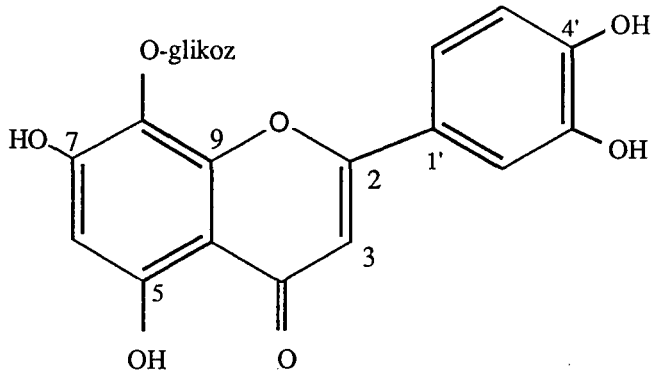


4'-O-β-D-glukozil-2''-O-[2-O-β-D-glukozil-2,4,5-trihidroksi-(E)-sinnamoil]-izoorientin (158)

Şekil 2.5. devam

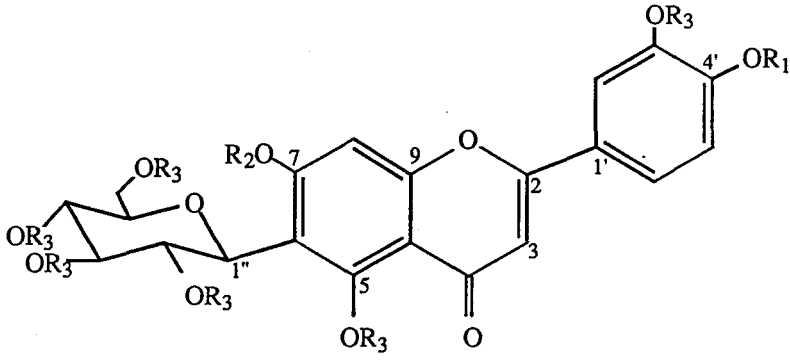


Bileşik	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
svertisin (191)	H	OH	H	CH ₃
izoskoparin (169)	OCH ₃	OH	H	H
izoskoparin-7-O-β-D-glikozit (170)	OCH ₃	OH	H	glikoz
izopirenin (167)	OCH ₃	OH	OCH ₃	glikoz
izopirenin-7-O-β-D-glikozit (168)	OCH ₃	OH	OCH ₃	glikoz
7-O-β-glikopiranozil-6-C-β-D- glikopiranozil-akasetin (140)	H	OCH ₃	H	glikoz

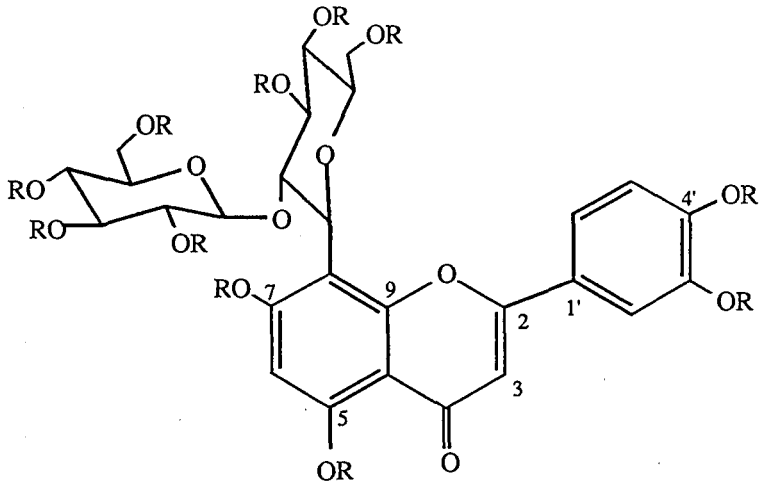


orientin (133)

Şekil 2.5. devam

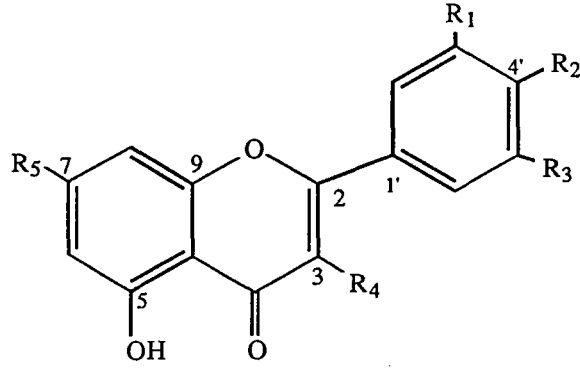


Bileşik	R ₁	R ₂	R ₃
izoorientin (144)	H	H	H
izoorientin-4'-O-β-D-glikozit (157)	glikoz	H	H
izoorientin-4'-O-β-D-glikozideperasetat (160)	glikoz (Asetil) ₄	COCH ₃	COCH ₃
izoorientin-7-O-β-D-glikozit (164)	H	glikoz	H
izoorientin-7-O-glikozitperasetat (163)	COCH ₃	glikoz (Asetil) ₄	COCH ₃



Bileşik	R
orientin-2''-O-β-D-glukozit (184)	H
orientin-2''-O-glukozitdeperasetat (185)	COCH ₃

Şekil 2.5. devam



Bileşik	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
apigenin (141)	H	OH	H	H	OH
diosmetin (142)	H	OCH ₃	OH	H	OH
luteolin (181)	H	OH	OH	H	OH
luteolin-7-O-β-D- glikozit (182)	H	OH	OH	H	glikoz
kersetin (178)	H	OH	OH	OH	OH
izokuersitrin (179)	OH	OH	H	O-glikoz	OH
kemferol (177)	H	OH	H	OH	OH
rutin (187)	H	OH	OH	O-ramnoz- glikoz	OH
krizoeriol (180)	H	OH	OCH ₃	H	OH
tilianin (192)	H	OCH ₃	H	H	O-gliko- piranozil

Tablo 2.8. *Gentiana* türlerinde bulunan monoterpenik alkaloidler

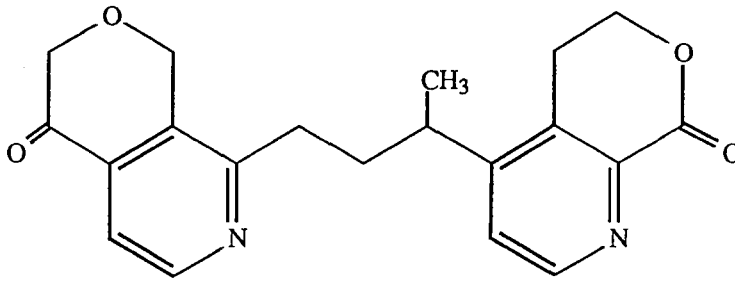
Etken madde adı	Bitkide bulunduğu kısım	Yüzde	Bitki adı	Kaynak
gentiabetin (192)*	kök		<i>G. asclepiadeae</i>	94,302
			<i>G. tibetica</i>	305
	-		<i>G. olivieri</i>	314
gentialutin (193)	herba		<i>G. lutea</i>	303
	kök		<i>G. lutea</i>	304-306
	tüm bitki		<i>G. tibetica</i>	307
izogentialutin (194)	tüm bitki		<i>G. tibetica</i>	307
	kök		<i>G. tibetica</i>	305
gentianadin (195)	herba		<i>G. olivieri</i>	308,310
			<i>G. kaufmanniana</i>	309
			<i>G. olgae</i>	309
	kök		<i>G. olgae</i>	311,312
tüm bitki		<i>G. turkestanorum</i>	308	
gentianain (196)	herba		<i>G. kaufmanniana</i>	309
			<i>G. olgae</i>	309
			<i>G. olivieri</i>	309
			<i>G. turkestanorum</i>	309
			<i>G. caucasica</i>	309
gentianal (197)	tüm bitki	0.07	<i>G. dahurica</i>	313
		0.20	<i>G. macrophylla</i>	313
	herba		<i>G. regescens</i>	206
gentianamin (198)	-		<i>G. olivieri</i>	314,315
	herba		<i>G. turkestanorum</i>	308
			<i>G. olivieri</i>	308
			<i>G. vvedenski</i>	311,312
			<i>G. tianschanica</i>	312
			<i>G. olivieri</i>	310
	kök		<i>G. olgae</i>	311
		<i>G. lutea</i>	306	
gentianidin (199)	-		<i>G. asclepiadea</i>	305
	tüm bitki		<i>G. macrophylla</i>	316
	herba		<i>G. caucasica</i> var. <i>cardescens</i>	318
		0.44	<i>G. dahurica</i>	193
		0.20-1.50 2.55	<i>G. macrophylla</i>	103,193,320
			<i>G. pedicellata</i>	317
		0.04-0.07	<i>G. punctata</i>	319
			<i>G. regescens</i>	190
	<i>G. scabra</i>	321		
gentianin (200)	-		<i>G. tibetica</i>	305
			<i>G. scabra</i> var. <i>buergeri</i>	321
			<i>G. skokiana</i>	321
			<i>G. olivieri</i>	314

* Formül Numarası

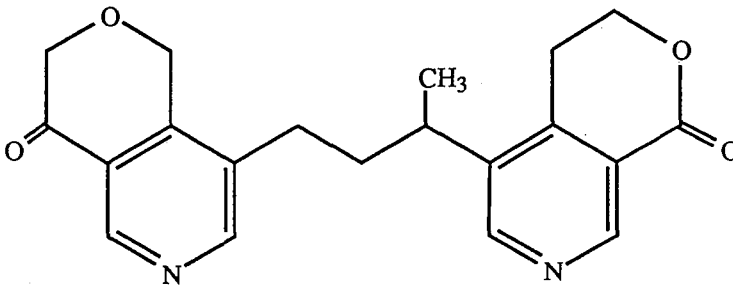
Tablo 2.8. devam

			<i>G. skokiana</i>	321
			<i>G. olivieri</i>	314
	herba		<i>G. caucasica</i>	309
		0.04-0.07	<i>G. bulgarica</i>	319
			<i>G. olivieri</i>	308,310
			<i>G. kaufmanniana</i>	309
			<i>G. olgae</i>	309
			<i>G. vvedenski</i>	312
			<i>G. tianschanica</i>	312
		kök	0.15	<i>G. axillariflora</i>
	tüm bitki	0.38-1.50	<i>G. macrophylla</i>	313
	yaprak		<i>G. algida</i> var. <i>sibirica</i>	321
gentiaflavin (201)	-		<i>G. olivieri</i>	315
	herba		<i>G. tianschanica</i>	311,312
			<i>G. scabra</i>	215
kök		<i>G. olgae</i>	311,312	
oliveramin (202)	-		<i>G. olivieri</i>	315
olivierin (203)	-		<i>G. olivieri</i>	314

Şekil 2.6. *Gentiana* türlerinde bulunan monoterpenik alkaloidlerin formülleri

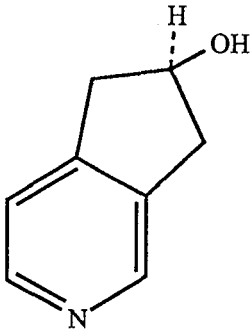


Gentiabetin (192)

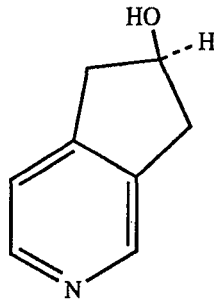


Oliveramin (203)

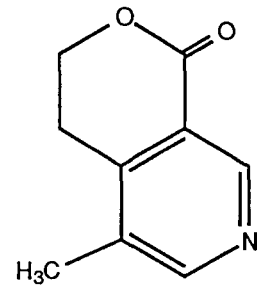
Şekil 2.6. devam



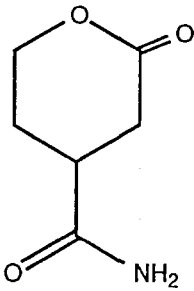
Gentialutin (193)



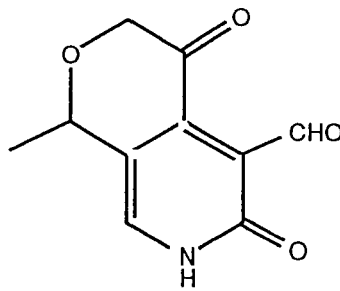
İzogentialutin (194)



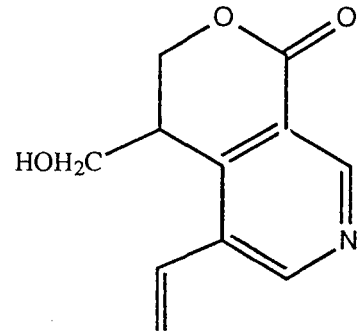
Gentianadin (195)



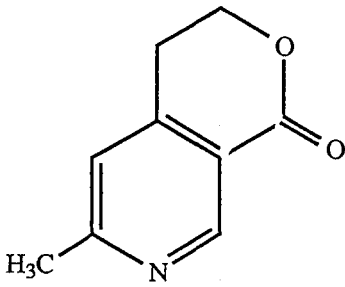
Gentianain (196)



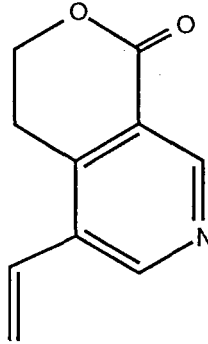
Gentianal (197)



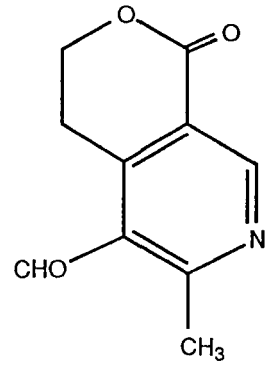
Gentianamin (198)



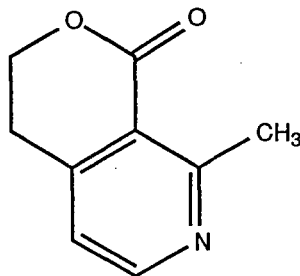
gentianidin (199)



gentianin (200)



gentioflavin (201)



oliverin (202)

Tablo 2.9. *Gentiana* türlerinden elde edilen diğer maddeler

Etken madde adı	Kullanılan kısım	Yüzde	Bitki adı	Kaynak
α -alanin	kök		<i>G. lutea</i>	97,174
α -amirin	kök		<i>G. macrophylla</i>	70
α -amirin palmitat	tüm bitki		<i>G. formosana</i>	83
β -amirin palmitat	tüm bitki		<i>G. formosana</i>	83
β -amirenot			<i>G. punctata</i>	322
amino asitler	kök		<i>G. lutea</i>	173,323
anofinik asit	tüm bitki		<i>G. algida</i>	78
D-arabinoz	kök		<i>G. lutea</i>	324
4'-0-(2R)-metil-3-veratroil-oksi-propanoil-arbutin	yaprak	0.0027	<i>G. pyrenaica</i>	325
6'-0-(2R)-metil-3-veratroil-oksi-propanoil-arbutin	yaprak	0.0027	<i>G. pyrenaica</i>	325
arjinin	kök		<i>G. lutea</i>	174
o-hidroksi-fenil-asetik asit	kök		<i>G. lutea</i>	326,327
asparajin	kök		<i>G. lutea</i>	97
aspartik asit	kök		<i>G. lutea</i>	97,174
β -gentiobioz-oktaasetat	kök		<i>G. lutea</i>	324
2-hidroksi -3- (1- β -D-glukopiranozil) oksi-benzoat	kök		<i>G. macrophylla</i>	70
2,3',4,6-tetrahidroksi benzofenon	kök	0.002	<i>G. lutea</i>	257
benzoik asit	kök	-----	<i>G. asclepiadea</i>	328
			<i>G. pannonica</i>	328
			<i>G. punctata</i>	328
			<i>G. purpurea</i>	328
m-hidroksi-benzoik asit	kök	-----	<i>G. lutea</i>	326,327
			<i>G. asclepiadea</i>	328
			<i>G. pannonica</i>	328
			<i>G. purpurea</i>	328
p-hidroksi-benzoik asit	kök		<i>G. lutea</i>	326,327
L-(+)-bomesitol	yaprak	1.6	<i>G. lutea</i>	329
γ -amino-bütirik asit	kök		<i>G. lutea</i>	97,174
daukosterol	kök		<i>G. macrophylla</i>	70
	tüm bitki		<i>G. algida</i>	78
	çiçek		<i>G. tibetica</i>	188

Tablo 2.9. devam

2-tr-4-dekadienal	kök uçucu yağı		<i>G. lutea</i>	304
dotriakontanoik asit	tüm bitki		<i>G. rhodantha</i>	330
dotriakontanoik asit etil esteri	tüm bitki		<i>G. rhodantha</i>	330
eritrosentorin	tüm bitki		<i>G. pedicellata</i>	317
fenilalanin	kök		<i>G. lutea</i>	174
fenilasetik asit	kök		<i>G. asclepiadea</i>	328
			<i>G. punctata</i>	328
			<i>G. pannonica</i>	328
			<i>G. purpurea</i>	328
o-hidroksi-fenilasetik asit	kök		<i>G. pannonica</i>	328
			<i>G. punctata</i>	328
			<i>G. asclepiadea</i>	328
			<i>G. purpurea</i>	328
ferulik asit	kök		<i>G. lutea</i>	326,327
3-(3-hidroksi-propil)-fitalat	çiçek		<i>G. pedicellata</i>	331
florit	kök	9.3 ppm	<i>G. macrophylla</i>	332
			<i>G. scabra</i>	332
fomannoksin asit	tüm bitki		<i>G. algida</i>	78
fruktoz	kök		<i>G. lutea</i>	97,173,174,175
	çiçek, yaprak		<i>G. orbicularis</i>	241
D-galaktoz	kök		<i>G. lutea</i>	324
gentianoz	kök		<i>G. asclepiadea</i>	165
			<i>G. cruciata</i>	165
			<i>G. hegetschuelerii</i>	229
			<i>G. hybrida</i> hibrit	229
			<i>G. kochiana</i>	333
			<i>G. lutea</i>	97,165,173,174,175,333
			<i>G. pannonica</i>	165
	çiçek,yaprak		<i>G. orbicularis</i>	241
	tüm bitki		<i>G. algida</i>	78
	tüm bitki		<i>G. flavo-maculata</i>	334
yaprak		<i>G. lutea</i>	195	
β-gentiobioz	kök	8.0-10.0	<i>G. lutea</i>	97,165,173,175,195,276
			<i>G. asclepiadea</i>	165
			<i>G. punctata</i>	165
			<i>G. cruciata</i>	165
		2.59	<i>G. andrewsii</i>	324
	2.33	<i>G. lutea</i>	324	
	çiçek,yaprak		<i>G. lutea</i>	241
			<i>G. orbicularis</i>	241
gentiobiozit	kök		<i>G. lutea</i>	174
gentiodelfin	petal		<i>G. makinoi</i>	276-278
bis-deaçil-gentiodelfin	petal		<i>G. makinoi</i>	277
gentiosyanin A	çiçek		<i>Gentiana</i> türleri	335
gentiosyanin B	çiçek		<i>Gentiana</i> türleri	335

Tablo 2.9. devam

gentiosiyenin C	çiçek		<i>Gentiana</i> türleri	335
gentisik asit	kök		<i>G. lutea</i>	326,327
geraniol	kök uçucu yağı		<i>G. lutea</i>	304
glisin	kök		<i>G. lutea</i>	97,174
D-glukoz	kök		<i>G. lutea</i>	97,173,174,175,324
	çiçek,yaprak		<i>G. lutea</i>	241
			<i>G. orbicularis</i>	241
glusinol	yaprak		<i>G. lutea</i>	336
glutamik asit	kök		<i>G. lutea</i>	174
glutamin	kök		<i>G. lutea</i>	174
hekzanal	kök uçucu yağı		<i>G. lutea</i>	304
hentriakontan	tüm bitki		<i>G. rhodantha</i>	330
histidin	kök		<i>G. lutea</i>	97,174
kafeik asit	kök		<i>G. lutea</i>	326
cis-kafeik asit	kök		<i>G. lutea</i>	327
tr-kafeik asit	kök		<i>G. lutea</i>	327
karvakrol	kök uçucu yağı		<i>G. lutea</i>	337
karvakrol	kök		<i>G. lutea</i> ssp. <i>symphyandra</i>	338
kuinik asit	kök		<i>G. lutea</i>	326
p-kumarik asit	kök		<i>G. lutea</i>	326,327
kurarionin	kök		<i>G. macrophylla</i>	70
kuşenol I	kök		<i>G. macrophylla</i>	70
L-bornesitol	yaprak	0.015	<i>G. marcaillhouana</i> hybrid	258
			<i>G. purpurea</i>	339
			<i>G. punctata</i>	339
			<i>G. villarsii</i>	339
leusin	kök		<i>G. lutea</i>	174
limonen	kök uçucu yağı	34.68	<i>G. lutea</i>	337
linalol	kök uçucu yağı		<i>G. lutea</i>	337,304
lizin	kök		<i>G. lutea</i>	174
loliolid	tüm bitki		<i>G. pedicellata</i>	317
lupeol			<i>G. lutea</i>	322
lupeol palmitat	tüm bitki		<i>G. formosana</i>	83
maltoz	kök		<i>G. lutea</i>	97,173,174
meso-inositol	yaprak		<i>G. lutea</i>	329
3,4-dihidro, 1H,6H,8H-nafto[1,2-c:4,5-c',d'] dipirano-1,8-dion	kök		<i>G. asclepiadea</i>	340
1 α ,2 α ,3 β ,24-tetrahidroksiolean-12-en-28-oik asit	çiçek		<i>G. tibetica</i>	188

Tablo 2.9. devam

1 α ,2 α ,3 β ,24-tetrahidroksiursa-12-20(30)-dien-28-oik asit	çiçek		<i>G. tibetica</i>	188
oleanolik asit	herba	0.1	<i>G. arisanensis</i>	341
			<i>G. schistocalyx</i>	318
	kök		<i>G. barbata</i>	238
			<i>G. macrophylla</i>	70
tüm bitki	0.008	<i>G. algida</i>	78	
ornitin	yaprak		<i>G. lutea</i>	174
pediglukozit	herba	0.003	<i>G. pyrenaica</i>	342
6'-vanillil-pediglukozit	herba	0.001	<i>G. pyrenaica</i>	342
pedirutinozot	yaprak	0.0026	<i>G. pedicellata</i>	343
pedisellanin	tüm bitki	0.017	<i>G. pedicellata</i>	317
pedisellatin	tüm bitki	0.008	<i>G. pedicellata</i>	317
pedisellozin	yaprak	0.0026	<i>G. pedicellata</i>	344
pedisellozit	yaprak	0.03	<i>G. pedicellata</i>	344
6"-O-glukozil-pedisellozit	yaprak	0.003	<i>G. pedicellata</i>	344
pirenozot	yaprak gövde	0.005	<i>G. pyrenaica</i>	79
pirokateşik asit	kök		<i>G. lutea</i>	326,327
pirokateşik asit	kök		<i>G. punctata</i>	328
pirolin	kök		<i>G. lutea</i>	97,174
pnömonantozit	yaprak	0.005	<i>G. pneumonanthe</i>	221,222
dearabinozil-pnömonantozit	yaprak	0.005	<i>G. pneumonanthe</i>	221
polisakarit	kök		<i>G. lutea</i>	345
primveroz	çiçek,yaprak		<i>G. lutea</i>	241
			<i>G. orbicularis</i>	241
pirokateşik asit	kök		<i>G. pannonica</i>	328
protokateşik asit	kök		<i>G. lutea</i>	326,327
homo-protokateşik asit	kök		<i>G. asclepiadea</i>	328
			<i>G. lutea</i>	326,327
			<i>G. pannonica</i>	328
			<i>G. punctata</i>	328
			<i>G. purpurea</i>	328
			<i>G. lutea</i>	324
serin	kök		<i>G. lutea</i>	97,174
sinapik asit	kök		<i>G. asclepiadea</i>	328
			<i>G. lutea</i>	326
			<i>G. pannonica</i>	328
			<i>G. punctata</i>	328
			<i>G. purpurea</i>	328
sinapik asit, <i>cis</i> -	kök		<i>G. lutea</i>	327
sinapik asit, <i>trans</i> -	kök		<i>G. lutea</i>	327
sinnamik asit	-	----	<i>G. asclepiadea</i>	328
	kök		<i>G. pannonica</i>	328
			<i>G. punctata</i>	328

Tablo 2.9. devam

			<i>G. purpurea</i>	328
sistein	kök		<i>G. lutea</i>	97
β -sitosterol	herba		<i>G. rigescens</i>	206
	kök		<i>G. asclepiadea</i>	256
			<i>G. macrophylla</i>	70
	tüm bitki		<i>G. rhodantha</i>	330
			<i>G. formosana</i>	83
β -D-glukozit- β -sitosterol	tüm bitki		<i>G. formosana</i>	83
3-O-gentiobiozit- β -sitosterol	kök		<i>G. macrophylla</i>	70
3-O-gentiobiozit- β -sitosterol	kök		<i>G. macrophylla</i>	70
3-O- β -D-glukozit-siyanidin	çiçek		<i>Gentiana</i> türleri	335
3-O- β -D-glukozit-5,3'-bis-O-(6-O-kafeil- β -D-glukozit)-siyanidin	çiçek		<i>Gentiana</i> türleri	335
3-O- β -D-glukozit-5-O-(6-O-kafeil- β -D-glukozit)-siyanidin	çiçek		<i>Gentiana</i> türleri	335
3-O- β -D-glukozit-5-O-(6-O-tr-p-O-kumaroil- β -D-glukozit)-siyanidin	çiçek		<i>Gentiana</i> türleri	335
skoparon	tüm bitki		<i>G. kurro</i>	346
stigmasterol	-		<i>G. kurro</i>	346
	kök		<i>G. macrophylla</i>	70
	tüm bitki	0.005	<i>G. algida</i>	78
sukroz	kök		<i>G. lutea</i>	97,173-175,195
2,5-dihidroksi-terefitalik asit	herba		<i>G. lutea</i>	347
	herba		<i>G. purpurea</i>	347
	toprak üstü		<i>G. punctata</i>	347
terefitalik asit	toprak üstü		<i>G. punctata</i>	347
			<i>G. purpurea</i>	347
			<i>G. lutea</i>	347
tirozin	kök		<i>G. lutea</i>	174
ursolik asit	çiçek		<i>G. tibetica</i>	188
	kök		<i>G. asclepiadea</i>	256
	tüm bitki		<i>G. pedicellata</i>	317
			<i>G. formosana</i>	83
uvaol	tüm bitki		<i>G. formosana</i>	83
uvaol palmitat	tüm bitki		<i>G. formosana</i>	83
valin	kök		<i>G. lutea</i>	174
vanillik asit	kök		<i>G. lutea</i>	326,327

Tablo 2.9. devam

vitamin C (=askorbik asit)	kök	0.0224	<i>G. lutea</i>	348
2-O-β-D- glukopiranozit- siringaresinol	herba		<i>G. gelida</i>	349

2.9. *Gentiana* türlerinin Biyolojik Etkileri

2.9.1. *Gentiana* türlerinin Etnomedikal Kullanımları

Bu cinste yer alan bitkiler ülkemizde ve dünyanın değişik ülkelerinde çeşitli hastalıkların tedavisi amacıyla halk arasında kullanılmaktadır. Aşağıda bu konuda kaynaklarda rastlanan bilgiler verilmiştir:

Gentiana lutea (Sarı Jensiyan)

İştah arttırıcı, hazmı kolaylaştırıcı ve antiemetik özellikleri bulunmaktadır (9, 350). Karaciğer koruyucu ve safra söktürücüdür (9,350,351). Sialogog etkisinden de söz edilmektedir (352). Kan temizleyici ve antianemik özellikleri tesbit edilmiştir (350,353, 354). Ayrıca genel amaçlı tonik olarak kullanılan bir drogtur (5,9,50,350,352,354,355). Tonik etkisi taşıdığı acı maddelerden ileri gelmektedir. Bileşiminde bulunan amarogentin bilinen en acı maddelerden birisidir (38).

Antispazmodik etkisi bulunmaktadır. Bu nedenle halk arasında mide ağrılarına karşı kullanılmaktadır (10). Yıllar önce bu bitki çeşitli zehirli ısırık, böcek sokmaları ve sivrisinek ısırmasına karşı dahilen dekoksasyon, haricen ise tentürü halinde kullanılmıştır (31,350).

Bileşiminde yer alan gentiopikrozit'in sivrisinek larvaları üzerinde letal etki gösterdiği saptanmıştır (31). Antiinflamatuvar, antipiretik, antiseptik, anthelmintik ve emenagog etkilerinin de olduğu, malarya ve histeri tedavilerinde kullanıldığı bildirilmiştir (31, 112, 353, 354). Antiherpetik, antitümoral, kan yapıcı ve yara iyileştirici etkilerinden de söz edilmektedir (9, 31). Homeopatik ilaçların terkbine girer (22). Bunun dışında ülserle karşı kullanılan preparatların bileşimine girmektedir (356).

Bahçelerde süs bitkisi olarak yetiştirilen sarı jensiyan'ın, özellikle kurutulmuş kök ve rizomları için kültürü yapılmaktadır. Kurutulmuş kök ve rizomlardan hazırlanan ekstre özellikle Avrupa ve Asya ülkelerinde iştah açıcı ve gastrik sekresyonu arttırıcı olarak kullanılır.

Halk ilacı olarak ise kansere, tümörlere, karaciğer ve dalak rahatsızlıklarına karşı ayrıca iştahsızlık, kan bozuklukları, konvulsiyonlar, köpek ve yılan ısırıkları, adet kanamalarının durması, hazımsızlık, ülser ve mide ağrıları, yüksek ateş, guatr, sarılık, sıtma, sık sık idrara çıkma, dalak iltihabı, bayılma , yaralanma, zafiyet ve ishal durumlarında olmak üzere çok geniş bir yelpaze içinde kullanılmaktadır. Ayrıca mor çiçekli jensiyanın uçukları iyileştirdiği bildirilmiştir.

G. lutea'nın Toksisitesi: Drogun kullanım dozu yetişkinler için 5 g/gündür (357). İnsanlarda istenmeyen yan etki oluşturmadığı görülmüştür. Yalnızca yüksek tansiyonlular ve hamileler tarafından kullanılmamalıdır. Bazı kaynaklar drogun gastrik ve duodenal ülserli hastalarda kullanılmaması gerektiğini bildirmektedir (358). FDA tarafından gıdalarda kullanımına izin verilmiştir (31). *Rehmannia glutinosa* ile farmasötik geçimsizlik gösterir (357).Taşıdığı gentisin ve izogentisin gibi ksantonlar nedeniyle bu bitkinin mutajenik özellikler taşıdığı ileri sürülmüştür (359). Ancak yapılan diğer bir çalışmada ise, aynı bitkinin UV mutajenite testinde antimutajenik etkileri gözlenmiştir (360).

Gentiana olivieri (Afet)

Güney-doğu ve Doğu Anadolu'da iştah açıcı, ateş düşürücü olarak kullanılmaktadır (9, 105). Ayrıca anksiyolitik ve antidiyabetik etkileri tesbit edilmiştir (11).

Gentiana kurroo (Hint Jensiyanı)

Hindistan'da "Karu" ya da "Kutki" yerel adlarıyla tanınan bu bitki Himalayalarda 1500-3300 m. yükseklikte yetişmekte olan çok yıllık otsu bir bitkidir. Hindistan'da bu bitki gastrik sekresyonu arttırmak ve hastalıkların nekahat dönemlerini tedavi etmek amacıyla , ayrıca üriner şikayetler ile yüksek ateş durumunda kullanılmaktadır. Ayrıca bitkinin sifilis ve lökodermada da etkili olduğu bildirilmiştir (361).

Gentiana campestris

İştah arttırıcı, hazmı kolaylaştırıcı ve antiemetik özellikleri bulunmaktadır. Karaciğer koruyucu ve safra söktürücüdür. Kan temizleyici olduğu söylenmektedir. Genel amaçlı bir toniktir. Antispazmodik etkisi bulunmaktadır. Yıllar önce bu bitki çeşitli zehirli ısırık ve böcek sokmalarına karşı dahilen dekoksasyon, haricen ise tentür halinde kullanılmıştır (350). İşveçte meşrubat yapımında kullanılmaktadır (7).

Gentiana nivalis (Alp Jensiyanı)

İştah arttırıcı, hazmı kolaylaştırıcı ve antiemetik özellikleri bulunmaktadır. Karaciğer koruyucu ve safra söktürücüdür. Kan temizleyici olduğu söylenmektedir. Genel amaçlı bir

toniktir. Antispazmodik etkisi bulunmaktadır. Yıllar önce bu bitki çeşitli zehirli ısırık ve böcek sokmalarına karşı dahilen dekoksasyon haricen ise tentür halinde kullanılmıştır (350).

Gentiana pannonica

Taşıdığı acı maddeler nedeniyle tonik olarak kullanılmaktadır (50).

Gentiana prolacta

Nepal'de yetişen bu bitkiden hazırlanan sulu ekstreler halk arasında öksürük tedavisi için kullanılmaktadır (362).

Gentiana rhodantha

Çin'in güney-batısında zatürre, bronşit, verem, safra kesesi ve karaciğer iltihaplarında halk ilacı olarak kullanılmaktadır (78). Bu etkilerden açillenmiş bir sekoiridoit glikozitinin sorumlu olduğu sanılmaktadır.

Gentiana algida

Çin'in kuzey-batısında zatürre tedavisi için kullanılan bir halk ilacıdır (78).

***Gentiana scabra* (Japon Jensiyanı)**

Japonya'da yetişen bu bitki Sarı Jensiyan yerine kullanılmaktadır (7).

Gentiana amadella

Avrupa'nın birçok bölgesinde bulunan bu bitki de Sarı Jensiyan yerine kullanılmaktadır (112).

Gentiana pneumonanthe

İngiltere'de nemli yerlerde yaygın olarak bulunan bu tür böcek ve yılan zehirlenmelerine karşı kullanılmıştır (7).

Gentiana asclepiadae

Bu bitkiden hazırlanan acı ekstrelerin mide salgısını arttırdığı ileri sürülmekte ve hazımsızlığa karşı yemeklerden 15-30 dakika önce kullanılması önerilmektedir (373). Kuzey Anadolu bölgesinde toprak üstü kısımları iştah açıcı ve ateş düşürücü olarak kullanılmaktadır (13).

Gentiana cruciata

Homeopatik tıpta tentür olarak boğaz iltihaplarına karşı kullanılmaktadır (7). Tıpkı *G.asclepiadae* gibi hazımsızlığa karşı kullanıldığı tesbit edilmiştir (363). Kuzey ve İç Anadolu bölgelerinde toprak üstü kısımları iştah açıcı ve ateş düşürücü olarak kullanılmaktadır (9).

Gentiana quinqueflora

Homeopatik tıpta tonik, stomaşık ve antipiretik olarak kullanılmaktadır (7).

Gentiana acaulis

Avrupa'nın çeşitli yerlerinde *G. lutea* gibi kullanılmaktadır (354).

Gentiana macrophylla

Bitki Japon halk tıbbında antihipertansif (hipotansif) olarak kullanılmaktadır (364).

2.9.2. *Gentiana* türlerinin Farmakolojik Özellikleri

Bu cinste yer alan bitkilerin deneysel çalışmalar ile çeşitli etkileri saptanmıştır. Bunlara bazı örnekler aşağıda verilmiştir:-

Gentiana lutea

İspanya'da yetişen *G. lutea* ile yapılan çalışmada, bu bitkiden hazırlanan kloroform ve metanollü ekstrelerin antibakteriyel etkisinin olmadığı saptanmıştır (365). Bu bitkiden elde edilen acı maddelerin tonik etkileri kanıtlanmıştır (50). Bu bitkiden hazırlanan infüzyonlar, İngiltere'de Aneuron[®], Effico[®] gibi kombine vitamin ve tonik preparatlarının bileşimine girmektedir (28). Dispepsi tedavisinde de kullanılan kombine preparatları bulunmaktadır (366). Hayvan deneylerinde bu bitkinin koleretik (safra söktürücü) etkisi gösterilmiştir (31, 112, 367). Ayrıca, kombine preparat halinde kullanılan *G. lutea*'nın sıçanlarda aspirin ve stres ile oluşturulan mide ülserlerini önlediği gösterilmiştir (356). Ayrıca sözkonusu bu bitkinin koyun barsaklarında sindirimi sağlayan alkalın fosfataz, enterokinaz ve lipaz gibi enzimlerin salınımını arttırdığı deneysel çalışmalarla gösterilmiştir (368). Bu bitki ile gözlenen dijestif (hazmı kolaylaştırıcı) etkilerde, salınımı artan enzimlerin rolü olduğu anlaşılmaktadır.

Bu bitki ile yapılan deneysel çalışmalarda anthelmintik (369) ve antiinflamatuvar (370, 371) etkiler kanıtlanmış ve bu etkilere kısmen de olsa bileşiminde bulunan gentianin adlı alkaloidin aracılık ettiği ileri sürülmüştür. Ancak, bu alkaloidin *G. lutea*'ya ait antimalaryal

etkide rol oynaması pek olası görülmemektedir, çünkü gentianin Plasmodium'lara karşı etkisiz bulunmuştur (372).

Gentiana macrophylla

Bu bitkide de büyük bir olasılıkla gentiopikrozit'in sorumlu olduğu düşünülen antimalarial aktivite bildirilmiştir (160). Çin'de gerçekleştirilen bir klinik çalışmada bu bitkiden hazırlanan tabletlerin sistemik *Lupus erythematosus* üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Bu çalışmada ayrıca, minimal doz prednizon ile kombinasyon halinde bu tabletlerin nefropati (böbrek yetersizliği), artralji (eklem ağrısı) ve eritem (kızarıklık ve kaşıntı) gibi *Lupus* belirtilerini tek başına uygulanan kortizon tedavisine göre daha iyi bir şekilde önlediği saptanmıştır (373). Bu bitkide yer alan gentiopikrozit'in hepatoprotektif etkisi gösterilmiştir (149).

Ayrıca, Japon halk tıbbında hipotansif olarak kullanılan bu bitkinin köklerinden hazırlanan metanolü ekstrelerin domuz böbreğindeki anjiyotensin dönüştürücü enzim etkinliğini inhibe etmediği saptanmıştır (364).

Gentiana olivieri

Bu türün toprak üstü kısımlarından hazırlanan ekstrelerde antidiyabetik, antidepresan ve antikonvülsan etkiler gözlenmiştir (105).

***Gentiana kurroo* (Hint Jensiyanı)**

Yapılan çalışmalar, Hindistan'da yetişen bu bitkinin kök ve rizomlarından hazırlanan etanollü ekstrelerde düz kas gevşetici ve mast hücrelerinden histamin salınımını azaltıcı etkiler olduğunu göstermektedir (374).

Gentiana pannonica

G. pannonica'dan elde edilen acı maddelerin tonik etkileri kanıtlanmıştır (50).

Gentiana lactea

Bu bitkiden elde edilen bir ksanton türevidir olan bellidifolin'in MAO A izoenzimini inhibe ettiği gösterilmiştir (191).

***Gentiana scabra* (Japon Jensiyanı)**

Bu bitkinin köklerinden hazırlanan metanollü ekstrelerde hepatoprotektif etkiler gözlenmiştir (375).

Gentiana tibetica

Bu bitkide bildirilen antimalarial aktiviteden büyük bir olasılıkla gentiopikrozit'in sorumlu olduğu düşünölmektedir (160).

Gentiana barbata

Bu bitkinin sıçan ve tavşanlarda gerçekleştirilen denemelerde hepatoprotektif etkileri gösterilmiş ve bu etkisinin serbest radikal süpürücü etkinlik (antioksidan etki) ile bağlantılı olduğu fikri savunulmuştur (376).

Gentiana rhodantha

Bu bitkiden izole edilen n-dotriakontanoat, n-hentriakontan ve n-dotriakontanoik asidin *Mycobacterium tuberculosis* üzerine etkili olduğu saptanmıştır (330).

Gentiana flavo-maculata

Formoza adalarında yetişen bu bitkinin ve ondan izole edilen bir triterpenik ester olan gentiatrikulin'in sıçanlarda antihepatotoksik (hepatoprotektif) etki gösterdiği tesbit edilmiştir (377).

Gentiana algida

Bu bitkinin herbasından fraksiyonlanarak elde edilen anofinik ve famanoksik asitler ve bunların metil esterlerinde antifungal etkiler gözlenmiştir (78).



3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu bölümde tez kapsamında kullanılan bitkisel materyal, kimyasal maddeler, reaktifler ve aletler, yapılan deneysel çalışmalar ve bu çalışmalarda kullanılan yöntemler hakkında bilgi verilmiştir.

3.1. Deneysel çalışmalarda kullanılan Bitkisel materyal, Kimyasal maddeler ve Aletler

3.1.1. Bitkisel materyal

20 Eylül 1993 tarihinde Kütahya, Domaniç-Üçtepeliler Acı Su Bölgesi Orman Bölge Müdürlüğü'ne ait koruma altındaki alandan (1700 m) toplanan *Gentiana lutea* ssp. *symphyandra* 'nın fermente edildikten sonra, açık havada kurutulan kökleri toz edilerek kullanıldı. Bitki örnekleri Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu'nda saklanmaktadır (ESSE 12265).

3.1.2. Kimyasal maddeler

Etanol	Teknik
Metanol	Merck, Teknik
Petrol eteri	Teknik
Etilasetat	Merck, Teknik
n-Butanol	Teknik
Silikajel G (İTK)	Merck 7731
Silikajel GF (İTK)	Merck 7730
Silikajel PF ₂₅₄ (ters-faz İTK)	Merck 7751
Silikajel 60 (KK) (63-200µ)	Merck 7734
Vanilin	Merck
Konsantre Sülfürik asit	Merck
Dekspantenol	(Roche İlaç Müstahzarları, İstanbul)
Dulbeccos Modification of Eagles Medium (DMEM)	Sigma
Fetal Calf Serum	Sigma
Tripsin	Sigma
Dimetil sülfoksit (DMSO)	Merck

Teknik çözücüler distile edildikten sonra kullanıldı.

3.1.3. Kullanılan aletler

- Paslanmaz Çelik tank (80 L kapasiteli)

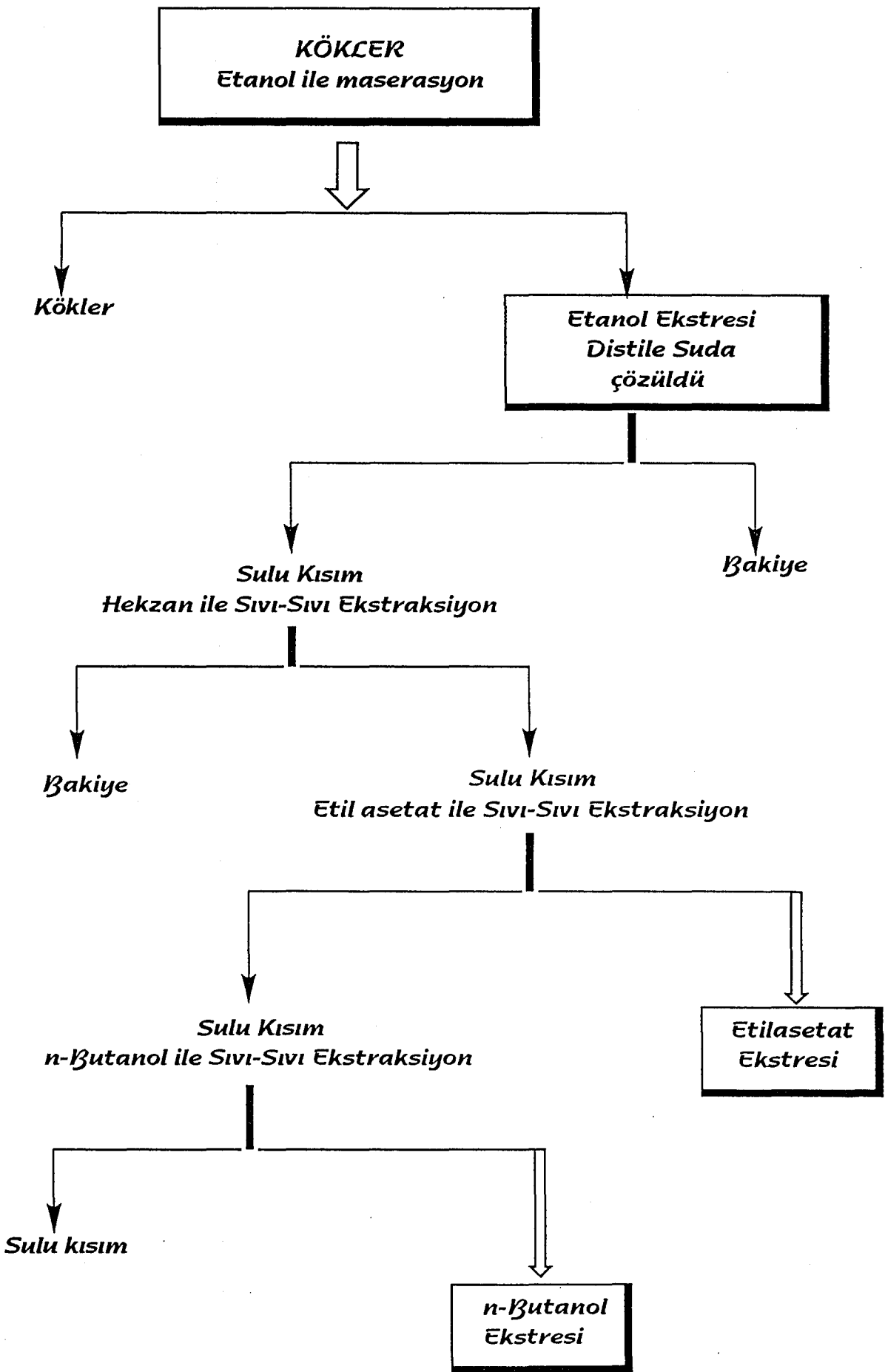
- Ayırma hunisi
- Rotavapor (Buchi RE 111)
- İTK seti (J.Bibby Ltd. Science Product)
- Cam plaklar (5x20 cm, 15x20 cm, 20x20 cm ebatlarında)
- Cam kolonlar
- Liyofilizatör (Lyovac GT2 Leybold-Heraeus)
- Orta Basıncılı Sıvı Kromatografı (Buchi 681 OBSK sistemi ve otomatik fraksiyon toplama ünitesi)
- Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografı (Shimadzu LC-6A)
- Ultraviyole Spektrofotometresi (UV) (Shimadzu UV-160 A)
- İnfrared Spektrofotometresi (IR) (Shimadzu IR-435)
- Nükleer Manyetik Rezonans Spektrometresi (NMR) (Jeol JNM-EX90A,FT) ve
- Nükleer Manyetik Rezonans Spektrometresi (Bruker DPX 400 NMR)
- CO₂ İnkübatörü (Heraeus 6000)
- Steril Kabin (Holten H V2448)
- Inverted Mikroskop (Olympus CK2)
- Mikroskop (Olympus BH-2)
- Fotoğraf Makinesi Sistemi (Olympus PM 20 + Olympus BX 50)

3.2. Deneysel Çalışma

Bu bölümde *Gentiana lutea* subsp. *symphyandra* köklerinden izole edilen maddelerin ekstraksiyon ve izolasyon yöntemleri, miktar tayinleri ve biyolojik aktivite çalışmaları hakkında bilgi verilmiştir.

3.2.1. Ekstraksiyon

Üzeri çuval örtülü olarak yığın halinde bekletilerek fermente edildikten ve açık havada kurutulduktan sonra değirmende öğütülen köklerden 10 kg tartıldı, 30 L etanol ile paslanmaz çelik kazanda 20 gün süreyle masere edildi. Bu süre içinde iki günde bir kazanın altındaki musluk açılarak ekstre alındı. Süzgeç kağıdından süzildükten sonra 40°C de rotavaporda, alçak basınç altında yoğunlaştırıldı. Rotavaporda geri kazanılan etanol, çelik kazandaki drog üzerine ilave edilerek işleme devam edildi. Ekstreler birleştirilerek kuruluğa kadar yoğunlaştırıldı (4.94 kg, verim %49.4). Elde edilen etanol ekstresinden 500 g alındı ve 500 ml distile suda çözülerek ayırma hunisine alındı. Ayırma hunisinde eşit hacimde hekzan (3x500 ml), etilasetat (3x500ml) ve n-butanol (3x500ml) ile ekstre edildi. Aynı çözücü ile elde edilen ekstreler birleştirilerek, rotavaporda 40°C de yoğunlaştırıldı ve tartımları alındı.



Şekil 3.1. *G. lutea* subsp. *symphyandra* Köklerinin Ekstraksiyon Şeması

Bu işlemler sonucu petrol eteri (5.37 g) , etilasetat (8.15 g) ve n-butanol (54.28 g) ekstreleri elde edildi. Ekstraksiyon şeması Şekil 3.1. de verilmiştir.

3.2.2. Analitik Çalışmalar

3.2.2.1. Analitik İnce Tabaka Kromatografisi

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) kullanıldı.

Normal faz için plak kaplama: adsorban karışımı iki katı miktarda su ile homojen bir karışım haline getirildikten sonra plak kaplama aleti ile cam plaklar üzerine kaplandı. Plaklar kaplandıktan sonra önce oda ısısında kurutuldu daha sonrada etüvde 100°C de 1 saat aktive edilerek kullanıldı.

Ters faz için plak kaplama: adsorban iki katı miktarda su:metanol (2:1) karışımı ile homojen bir karışım haline getirildikten sonra plak kaplama aleti ile cam plaklar üzerine kaplandı. Plaklar kaplandıktan sonra önce oda ısısında kurutuldu daha sonrada etüvde 105°C de 30 dakika aktive edilerek kullanıldı.

Yürütme işlemi, içine süzgeç kağıdı yerleştirilmiş cam kromatografi tanklarında tank, çözücü sistemi ile doyurulduktan sonra gerçekleştirildi.

Bu çalışmada sırasında kullanılan solvan sistemleri

Sistem I	kloroform:metanol:su (61:32:7)
Sistem II	kloroform:metanol:su (80:20:2)
Sistem III	etilasetat:metanol:su (100:16.5:13.5)
Sistem IV	metanol:su (30:70)
Sistem V	aseton:kloroform:su (70:30:3)

Bu çalışma sırasında kullanılan adsorbanlar

Normal faz	Silikajel G (Merck 7731)+ Silikajel GF (Merck 7730)
Ters faz	Silikajel PF ₂₅₄ silanisiert (Merck 7751)

İTK de develope edilen plaklar üzerinde oluşan lekeler önce UV lamba altında, daha sonra Vanilin/Sülfürik asit Reaktifi püskürtüldükten sonra 100-110 °C'de ısıtılarak belirlendi.

Vanilin-Sülfürik Asit Reaktifi: %1 vanilin (etanolde), %1 Sülfürik asit (etanolde)

çözeltileri 1:1 oranında karıştırılarak hazırlandı.

3.2.2.2. Kolon Kromatografisi (KK):

Preparatif amaçlarla kullanıldı. Bunun için değişik boyutlarda cam kolonlar, adsorban olarak ve silikajel 60 (63-200 μ ebatlarında) (Merck 7734) kullanıldı. Elüsyon işlemine ilk kullanılacak çözücü ile bulamaç halinde karıştırılan adsorban kolona dolduruldu. Daha sonra uygulanacak olan ekstre 1:2 oranında adsorbana iyice yedirilerek kolonun üst kısmına ilave edildi (kuru usul) ve yıkama işlemine başlandı. Toplanan fraksiyonlar uygun çözücü sistemleri ile analitik İTK'ne uygulanarak kontrol edildi.

3.2.2.3. Ters faz-Orta Basıncılı Sıvı Kromatografisi (ters faz-OBSK)

G. lutea subsp. *symphyandra* köklerinin fraksiyonlanması ile elde edilen n-butanol ekstresinden elde edilen tek iridoit bileşiğinin izolasyonu OBSK yöntemi kullanılarak yapıldı.

Ters faz-Orta Basıncılı Sıvı Kromatografisi analiz koşulları

Cihaz	Buchi 681 OBSK pompa sistemi ve otomatik fraksiyonlama ünitesi
Adsorban	Prepex C ₁₈ (40-63 μ Phenomenex, ABD)
Solvan Sistemi	Metanol : Su (5:95→15:85)
Kolon boyutları	26 x 460 mm
Dedektör	Buchi UV-visible
Çalışılan dalga boyu	254 nm
Akış hızı	10 ml/dak

Kolon önce ayırimda kullanılan solvan sisteminden yeterli miktarda geçirilerek şartlandırıldı. İşlem bitiminde ise metanol ile yıkandı.

Toplanan fraksiyonlar uygun çözücü sistemleri kullanılarak normal-faz İTK yöntemi ile kontrol edildi. Benzer maddeleri taşıyan fraksiyonlar birleştirildikten sonra rotavaporda alçak basınçta yoğunlaştırıldı ve liyofilize edildi.

3.2.2.4. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (YBSK)

G. lutea subsp. *symphyandra* köklerinin fraksiyonlanması ile elde edilen n-butanol ekstresinden elde edilen üç sekoiridoitin bitkideki miktar tayinleri YBSK yöntemi kullanılarak yapıldı.

Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi analiz koşulları

Cihaz	Shimadzu LC-6A otomatik enjektör sistemi
Adsorban	Ultracarb ODS C ₂₀ (5 µ, Phenomenex, ABD)
Kolon boyutları	4.6x150 mm
Solvan Sistemi	Metanol:su (30:70)
Dedektör	Shimadzu SPD 6AV UV-visible
Çalışılan dalga boyu	254 nm
Akış hızı	1 ml/dak
İntegratör	Shimadzu C-R4A

Örnek Hazırlanması: Yapılan ön çalışmalarda etanol ve metanol ekstraheleri arasında kalitatif ve kantitatif bir farklılık gözlenmediği için analitik çalışmalarda metanollü ekstre kullanıldı. Toz edilmiş kökler metanol ile 24 saat Soxhlet ekstraksiyonuna tabii tutuldu. Metanol fazı vakum altında kurutulduktan sonra kalan bakiye (verim %49) 100 ml metanol:su (30:70) karışımında çözülerek 10 µl YBSK analizinde kullanıldı.

Standart Çözeltilerin Hazırlanması: İzole edilerek yapıları tayin edilen maddeler standart olarak kullanıldı. Konsantrasyonları 1 mg/ml (gentiopikrozit), 0.2 mg/ml (svetiamarin) ve 0.06 mg/ml (sverozit) olan standart stok çözeltiler metanol:su (30:70) çözücü karışımı ile hazırlandı.

3.2.2.5. Preparatif Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (prep-YBSK)

G. lutea subsp. *symphyandra* köklerinin fraksiyonlanması ile elde edilen n-butanol ekstresinden sekoiridoit bileşiklerinin izolasyonu prep-YBSK yöntemi kullanılarak gerçekleştirildi.

Preparatif-Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi analiz koşulları

Cihaz	Marathon I YBSK pompası (Rigas Labs)
Adsorban	Silasorb C ₁₈
Kolon boyutları	10x250 mm
Solvan Sistemi	Metanol : Su (30:70)
Dedektör	Varian 2050 UV-visible
Çalışılan dalga boyu	254 nm
Akış hızı	2 ml/dak
İnjesiyon hacmi	100 µl

Toplanan fraksiyonlar uygun çözücü sistemleri kullanılarak normal-faz İTK yöntemi ile kontrol edildi. Benzer maddeleri taşıyan fraksiyonlar birleştirildikten sonra rotavaporda alçak basınç altında yoğunlaştırıldı ve liyofilize edildi.

3.2.3. Spektroskopik Çalışmalar

3.2.3.1. Ultraviyole Spektroskopisi (UV)

UV spektrumları Shimadzu LC-6A tipi spektrofotometrede, 200-400 nm arasındaki dalga boylarında alındı. Örneklerin spektrumları metanoldeki çözeltilerinde 1 cm'lik kuvarz küvetlerde alındı.

3.2.3.2. İnfrared Spektroskopisi (IR)

Shimadzu IR-435 Spektrofotometresi kullanıldı. Çeşitli preparatif kromatografik tekniklerle ayrılan maddelerin KBr disk yöntemi ile spektrumları alınmıştır.

3.2.3.3. Nükleer Magnetik Rezonans Spektrometrisi (NMR)

İzole edilen maddelerin $^1\text{H-NMR}$ ve $^{13}\text{C-NMR}$ spektrumları dötero metanol ile alınmıştır.

Çözücü	: CD_3OD
$^1\text{H-NMR}$: 400 MHz
$^{13}\text{C-NMR}$: 22.4 MHz

3.2.4. Biyolojik Aktivite Çalışmaları

3.2.4.1. Sinir Sistemi Üzerine Etkiler

3.2.4.1.1. Genel Davranış ve Gözlemsel (Hipokratik) Tarama

Analjezik aktivite ve yüzme testlerine alınan fareler ile hepatoprotektif etki çalışmalarında kullanılan sıçanlar sözü edilen deneylerin başlangıcına kadar geçen 1 saatlik süre içinde gözlemlendi ve deneylerin sonrasında geçen 24 saatlik süre içinde ölüm olup olmadığı gözlemlendi (378-381).

3.2.4.1.2. Yüzme Testi

Yüzme dayanıklılık testi daha önce tanımlanan yöntemlere uygun biçimde gerçekleştirildi (381-384). Buna göre, test grubundaki farelere intraperitoneal yoldan 250 ve 500 mg/kg olmak üzere iki ayrı dozda ekstreler ve kontrol grubu farelere aynı hacimlerde

serum fizyolojik verildikten 1 saat sonra içi 15 cm derinliğinde su dolu 30x15x30 boyutlarında plastik bir kap içinde yorulana kadar yüzdürüldüler. Enjeksiyon hacimleri hiçbir durumda 0.2 ml yi aşmadı. Suyun sıcaklığı 24-26°C de sabit tutuldu. Yorulma anı hayvanların yaklaşık 20 sn su altında kalmaları ile belirlendi ve yorulduğuna karar verilen hayvan derhal su içinden çıkarılarak kurulandı. Herbir hayvan için yüzme süresi not edildi ve herbir grup için ortalama yüzme zamanları hesaplandı.

3.2.4.2 Analjezik Etki

3.2.4.2.1. "Tail-Clip" Yöntemi

Bu yöntem ile analjezik aktivite tayini esas olarak daha önce D'Amour ve Smith tarafından uygulanan biçimde yapıldı (381, 384, 385). Buna göre, yeterli sayıda fare (yaklaşık 35-40 g ağırlığında) 3 deney grubu oluşturmak üzere ayrı kümeler halinde kafeslerine kondu. Deneye başlamadan yaklaşık yarım saat önce gruplardan birine 250, öbürüne 500 mg/kg dozda serum fizyolojik içinde çözülmüş bitki ekstresi intraperitoneal yoldan verildi. Kontrol grubundaki hayvanlara ise sadece serum fizyolojik uygulandı. Sürenin bitiminde fare kuyruklarının tam ortalarına bir arter kısıpacı ("Bulldog clamp") yerleştirilip aynı anda kronometreye basıldı. Farelerin, dönerek kuyruklarındaki kısıkaçtan kurtulma gayreti ve/veya kısıpacı ısırma girişimi deneyin bitiş noktası olarak kabul edildi ve kronometreye basılarak zaman durduruldu. Geçen zaman "Tail-Clip" testinin latent zamanıdır ve bu sürenin kontrollere oranla uzaması analjezinin işaretidir. Kuyrukta irreversibl tahribat oluşumunu engellemek için 10 saniyeden sonra reaksiyon alınmadığında kısıkaç açılarak alındı. Normalde fareler kısıkaca 3-4 sn içinde reaksiyon vermektedirler.

3.2.4.2.2. Kuyruk Daldırma ("Tail-Immersion") Yöntemi

Termal nitelikli ağrıların ölçümünü amaçlayan bu yöntem daha önce literatürde tanımlanan yönetime uygun biçimde gerçekleştirildi (386). Kısaca tarif edilecek olursa, "Tail-Clip" testindeki gibi gruplar oluşturularak 250 ve 500 mg/kg i.p. tek dozda ekstreler farelere verildikten yarım saat sonra hayvanların kuyruklarının yaklaşık 5 cm'lik bölümü içinde 50°C de sıcak su içeren bir behere daldırıldı. Farelerin kuyruklarını sudan çektikleri an kronometre yardımıyla saptandı ve bu test için latent zaman bütün gruplardaki herbir hayvan için tek tek belirlendi. Yine burada latent sürenin kontrol grubuna göre uzaması analjezik etkiyi göstermektedir.

3.2.4.3. Hepatoprotektif Etki

3.2.4.3.1. Sıçan Safra Akışı Deneyleri

Hepatoprotektif etkinin tayini için safra akışı yöntemi uygulanmıştır (380, 387, 388). 24 saat öncesinde (0.12 ml/kg i.p tek doz) karbon tetraklorür verilerek karaciğerlerinde tahribat oluşturulan 300-400 g ağırlığındaki sıçanlar 375 mg/kg dozda üretan ile anesteziye edildiler. Abdominal insizyondan sonra safra kanalının distal kısmı kanüle edilen sıçanlara bu kısa operasyonda yitirdikleri sıvıyı kazanmaları için intramusküler 1.5 ml serum fizyolojik verildi. Kanülasyondan sonra bir saat beklendi ve bu dengelenme süresinin hemen sonunda 500 mg/kg dozda ekstre intraduodenal olarak uygulandı. Kontrol grubu sıçanlara ise aynı yoldan sadece serum fizyolojik verildi. Bir diğer deney setinde ise sıçanların karaciğerleri tahrip edilmeden 2 gün önce 500 mg/kg i.p. bitki ekstresi verildi ve sıçanlar operasyona kadar toplam 3 gün süre ile aynı doz ekstre ile tedavi edildi. 1 saatlik sürenin sonunda hayvanların safraları 15 dakika aralıklar ile toplam 3 saat süre içinde toplanarak hacimleri saptandı. Daha sonra ise hayvanlar karotid arterleri kesilerek öldürüldü ve karaciğerleri histolojik inceleme için dikkatlice çıkarıldı.

3.2.4.3.2. Sıçan Karaciğerinin Histolojik İncelemesi

Safra akışı deneylerinden sonra alınan karaciğerler % 10 luk nötral formaldehit çözeltisinde 1 gün bekletilip fikse edildi. Ardından 3 saat çeşme suyunda yıkandı. Sonra, 70° (30 dak), 80° (30 dak), 90° (60 dak), 96° (60 dak) ve 100° (60 dak) luk etanol çözeltilerinden geçirilerek hidrate edilen karaciğer dokuları daha sonra ksilol ile şeffaflaştırıldı. Parafin-1 (15 dak), parafin-2 (30 dak) ve parafin-3 (30 dak) den geçirilip saf parafin ile dokular bloklandı. Bloklar buzdolabının buzluğunda 1 gün bekletildi. Reichert-Jung 820 markalı mikrotomdan 4 mm lik kesitler alındı ve kesitler lamalar üzerine kondu. 40°C lik su banyosunda katlantılar açıldı ve 60°C lik etüvde lamdaki parafinlerin erimesi sağlandı (389). Ardından Hemotoksilin-Eozin boyaması yapılarak dokular ışık mikroskobu altında incelendi ve gereken alanların fotoğrafları çekildi (388, 390).

3.2.4.4. Yara İyileştirici Etki

Fertilize olmuş tavuk yumurtaları etüvde 38.5°C'de rutubetli ortamda inkübe edildi. Sekizinci gün embriyo izolasyonu ve diseksiyonu yapıldı. Diseksiyonu yapılan hücreler tripsin ile 37°C'de 30 dakika bekletildi, santrifüjlendi ve petrilere ekilerek 37°C'de %5 CO₂'li ortamda inkübasyona bırakıldı. Bir gün sonra %10 FCS (fetal calf serum) ve antibiyotik solüsyonu içeren BME (basal medium) ilave edildi. Hücreler petrinin yüzeyini kapladığında tripsinlenerek yaklaşık 1x10⁶ hücre/ml olacak şekilde petrilere ekildi (391, 392). Bir gün inkübe edilen hücrelerin medyumları değiştirilerek maddeler uygulandı.

Maddeler DMSO'da çözüldüğü için DMSO 1 µg/ml, standart olarak dekspantenol 1 ve 10 µg/ml, ekstre 5,10 µg/ml, gentiopikrozit 0.4 ve 2 µg/ml, sverozit 0.4 ve 2 µg/ml ve svertiamarin 0.05 ve 0.25 µg/ml son konsantrasyonlarda uygulandı.

Test maddeleri ile 24 saat inkübe edilen fibroblastlar, 24. saat sonunda fikse edilerek Masson's trichrome tekniği ile boyandı ve sabit preparat haline getirildi (390). Hücreler mikroskopta morfolojik özellikleri esas alınarak belli mikroskobik alanlarda (A (alan) = $2.1638 \times 10^{-3} \text{ cm}^2$) sayıldı. Morfolojik özellik olarak, toplam hücre sayısı, fuziform, poligonal, vakuollü, yuvarlak ve mitozaya giden hücre yüzdeleri ve hücrelerdeki granül sayıları değerlendirildi.

DeneySEL Verilerin Analizi ve İstatistik

Biyolojik deneylerin sonuçları Student t-Testi kullanılarak değerlendirildi

4. BULGULAR

4.1. İridoitlerin İzolasyonu

4.1.1. n-Butanol Ekstresi Üzerinde Yapılan Çalışmalar

G. lutea subsp. *symphyandra* köklerinden elde edilen n-Butanol ekstresinin İTK ile kontrolünde (Sistem I, II, III) ekstrenin iridoit ve sekoiridoit bileşikler yönünden oldukça zengin olduğu tesbit edildi.

Bu bileşiklerin izolasyonu için önce bir ön ayırım yapılması gerekmiştir. Bu amaçla 20g n-butanol ekstresi adsorban olarak silikajel 60 (500g) ve kloroform:metanol:su (90:10:1) çözücü sistemi kullanılarak hazırlanan kolona (5x57 cm boyutlarında) kuru usulle tatbik edildi. Artan polaritede çözücü sistemiyle (90:10:1→60:40:4) elüe edilerek toplanan fraksiyonlar İTK ile (Sistem I, II ve III) kontrol edildi. Benzer fraksiyonlar 9 ana grup halinde birleştirildi. B1: 0.52 g, B2: 1.85 g, B3: 1.53 g, B4: 0.46 g, B5: 0.51 g, B6: 2.56 g, B7: 1.41 g, B8: 1.37 g, B9: 3.05 g.

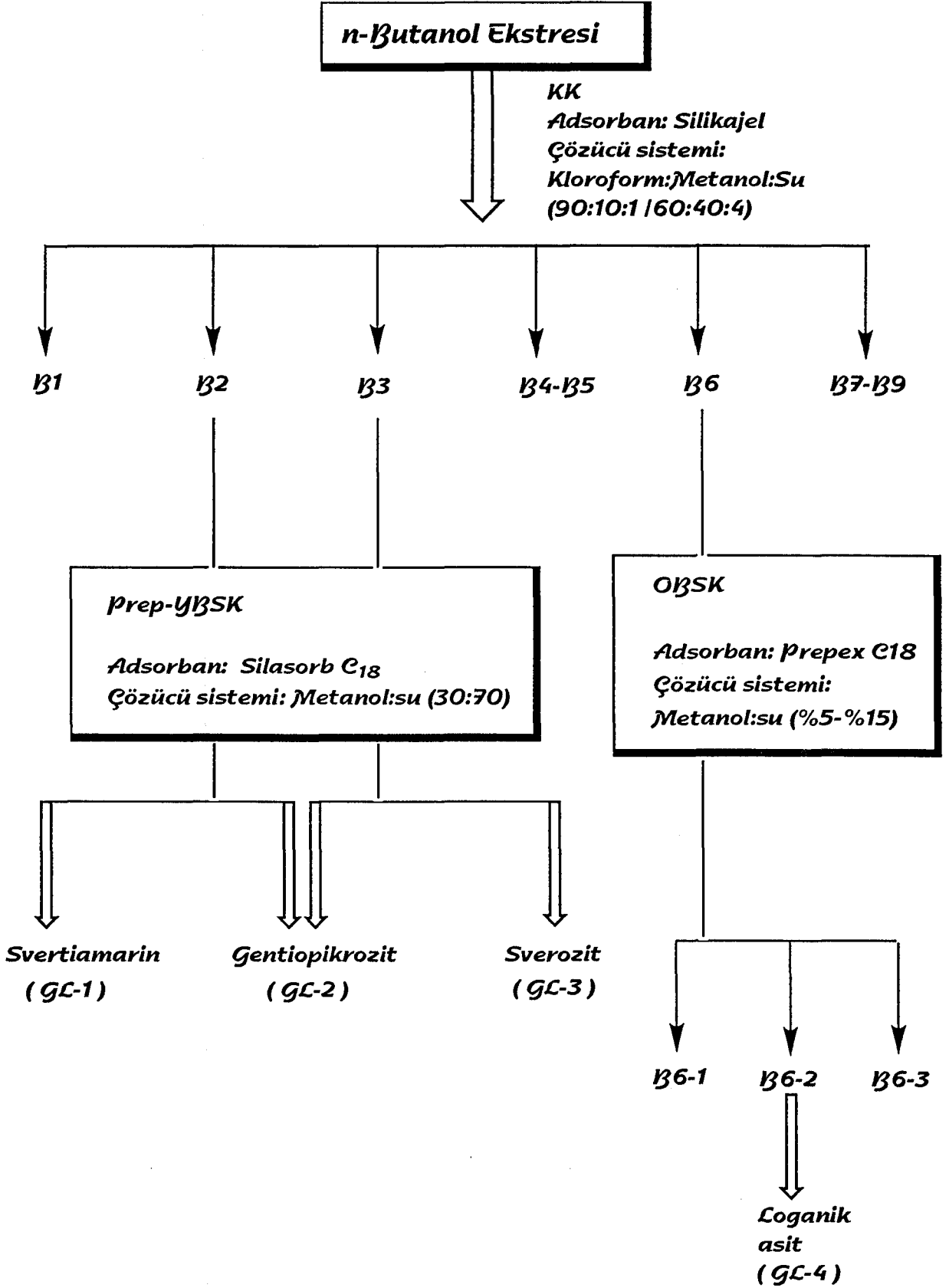
Ön ayırım amacıyla yapılan bu fraksiyonlama ile elde edilen fraksiyonlar normal faz (Sistem I, II, III) ve ters faz (Sistem IV) İTK kullanılarak kontrol edildi ve ters-faz dolgu materyalinin maddelerin ayırım ve saflaştırılmasında uygun bir adsorban olduğu tesbit edildi. Bu nedenle B2 ve B3 ün ters-faz adsorban kullanılarak prep-YBSK ile ayırımı sağlandı. B6 ise ters-faz adsorban kullanılarak OBSK yöntemi ile ayırımı sağlandı.

4.1.1.1. B2 ve B3 fraksiyonlarından sekoiridoitlerin izolasyonu

n-butanol ekstresinin ön ayırımı sonucu elde edilen B2 ve B3 fraksiyonları ayrı ayrı prep-YBSK ne tatbik edildi ve bu fraksiyonlardan GL-1, GL-2 ve GL-3 bileşikleri metanol:su (30:70) çözücü sistemiyle saf olarak elde edildi (Analiz koşulları için Bölüm 3.2.2.6. ya bakınız) .

4.1.1.2. B6 fraksiyonundan iridoit izolasyonu

GL-4 bileşiğini yoğun olarak taşıyan B6 fraksiyonu OBSK yöntemi ile ters-faz adsorban kullanılarak izole edildi (Analiz koşulları için Bölüm 3.2.2.6.). Kolona 0.5 g ekstre (fraksiyon B6) suda çözülerek tatbik edildi. Elüsyona su ile başlandı ve artan oranda metanol içeren metanol:su (5:95 → 15:85) sistemi kullanılarak devam edildi. Alınan fraksiyonlar İTK de silikajel kaplı plaklarda sistem I ve II de kontrol edildi. Benzer fraksiyonlar birleştirilerek rotavaporda alçak basınç altında yoğunlaştırıldı ve kalan sulu kısımlar liyofilize edildi. Bu şekilde GL-4 bileşiği saf olarak elde edildi.



Şekil 4.1. *Gentiana lutea* subsp. *symphyandra* köklerinin n-butanol ekstresi üzerinde yapılan izolasyon çalışmaları

4.1.2. Etilasetat Ekstresi Üzerinde Yapılan Çalışmalar

Gentiana lutea subsp. *symphyandra* köklerinin etanol ekstresinin fraksiyonlanması sırasında elde edilen etilasetat ekstresinin İTK ile incelenmesi (Sistem I, II, III) sonucunda iridoit, ksanton ve flavon yapısında bileşiklere sahip olduğu tesbit edildi. Bu ekstrede de daha önce anlatılan n-butanol ekstresinden elde edilen GL-1, GL-2 ve GL-3 bileşiklerinin buldukları görüldü. Ayrıca tesbit edilen flavonoit bileşiklerinin miktarları çok az olduğu için saf olarak izole edilemedi.

4.2. İzole Edilen Bileşiklerin Yapı Tayini

Tez çalışması sonucunda *Gentiana lutea* subsp. *symphyandra* bitkisinin köklerinden izole edilen bileşiklerin İnce Tabaka Kromografisi ile analizlerinde belirlenen Rf değerleri aşağıda verilmiştir.

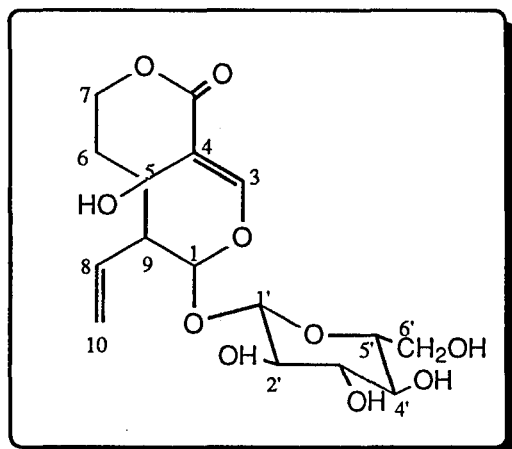
Madde Adı	Sistem I	Sistem II	Sistem V	VSA reaktifi+Δ ile verdiği renk
Svertiamarin (GL-1)	0.53	0.31	0.25	kahverengimsi mor
Gentiopikrozit (GL-2)	0.55	0.33	0.27	kahverengimsi mor
Sverozit (GL-3)	0.54	0.32	0.26	kahverengimsi mor
Loganik asit (GL-4)	0.1	0.02	0.02	pembemsi mor

Sistem I: kloroform:metanol:su (61:32:7)

Sistem II: kloroform:metanol:su (80:20:2)

Sistem V: aseton:kloroform:su (70:30:3)

4.2.1. Svertiamarin (GL-1)



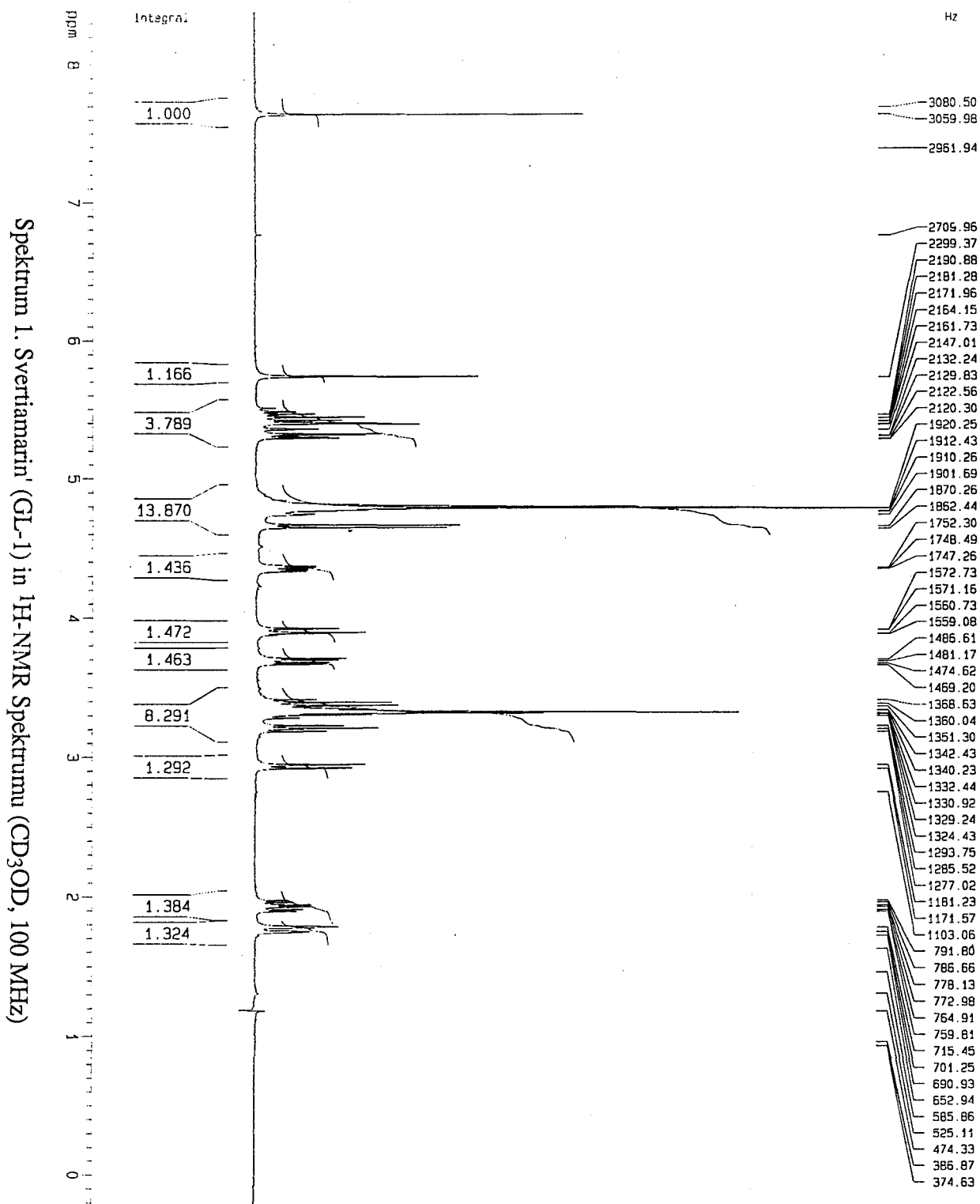
Kapalı Formülü	: C ₁₆ H ₂₂ O ₁₁
Molekül Ağırlığı	: 390.11
UV (MeOH)	: λ maks 237 nm
IR (KBr)	: ν maks 3375 cm ⁻¹ (OH) 1701 cm ⁻¹ (C=C) 1606 cm ⁻¹ (C=O)
¹ H-NMR	: Tablo 4.1., Spektrum 1
¹³ C-NMR	: Tablo 4.2., Spektrum 2

Tablo 4.1. Svertiamarin'in ¹H - NMR (CD₃OD, 400 MHz) spektral değerleri

H	δ (ppm)	J (Hz)
1	5.74	d (1.5)
3	7.64	s
5	-	
6A	1.93	ddd (13.6/13.6/5.1)
6B	1.75	brd (13.6)
7A	4.74	brdd (11.1/2.8)
7B	4.36	ddd (11.1/5.1/2.1)
8	5.45	dd (17.1/9.6)
9	2.93	dd (17.0/9.6)
10A	5.38	dd 17.1/2.3
10B	5.31	dd (9.7/2.3)
1'	4.63	d (7.8)
2'	3.21	dd (7.7/9.0)
3'	3.40t	t (9.0)
4'	3.31	t (9.4)
5'	3.35	m
6'A	3.69	dd (11.0/5.4)
6'B	3.91	dd (12.0/1.6)

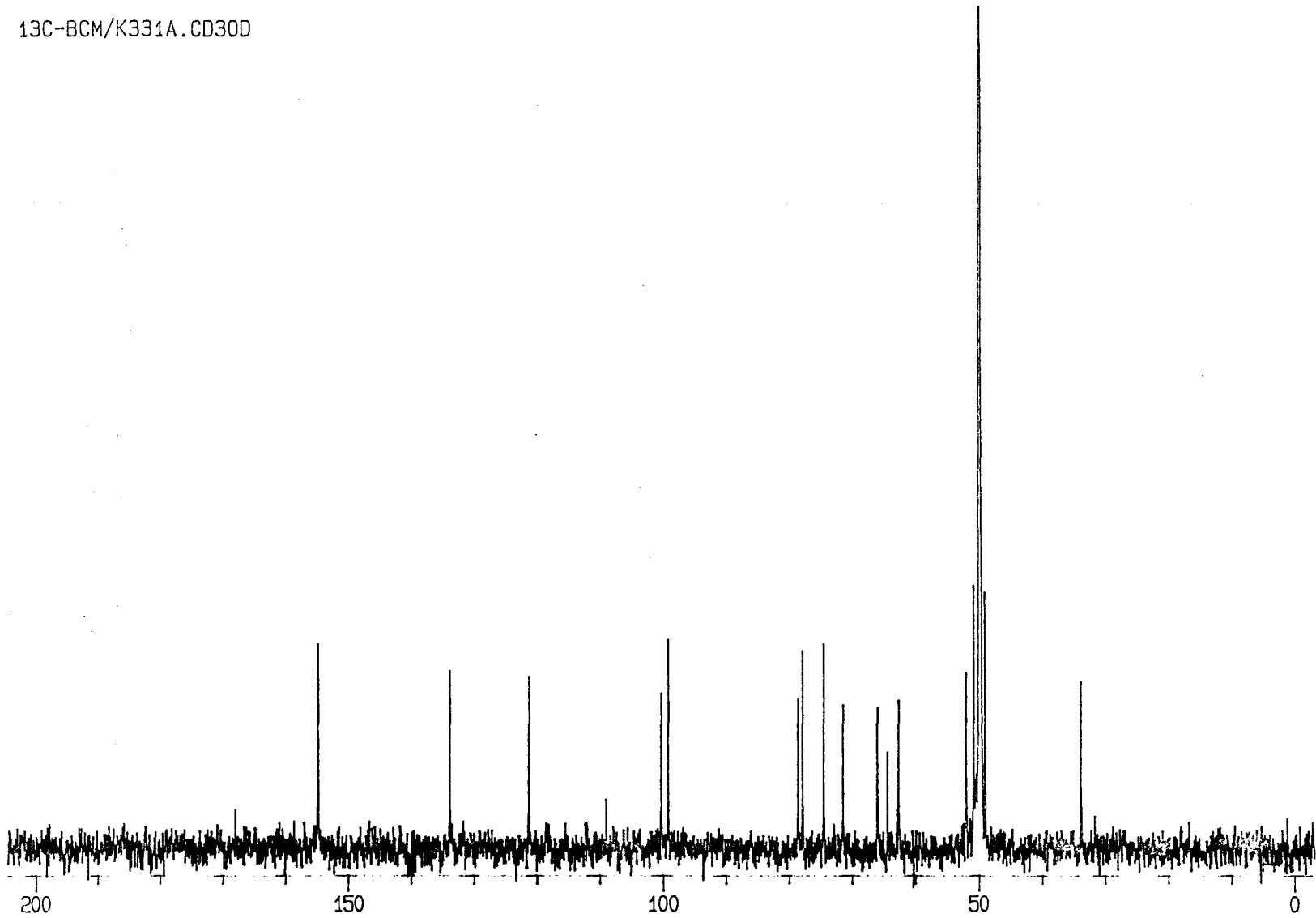
Tablo 4.2. Svertiamarin'in ¹³C-NMR (CD₃OD, 22.4 MHz) spektral değerleri

C	δ (ppm)
1	99.3
3	154.65
4	108.84
5	64.25
6	33.63
7	65.84
8	133.72
9	51.87
10	121.10
11	167.93
1'	100.13
2'	74.39
3'	77.77
4'	71.34
5'	78.46
6'	62.50



13C-BCM/K331A.CD3OD

109



Spektrum 2. Svertiamarin' (GL-1) in ^{13}C -NMR Spektrumu (CD_3OD , 22.4 MHz)

GL-1 bileşiminin metanolde alınan UV spektrumunda 237 nm de görülen absorpsiyon ve KBr tablet hazırlanarak alınan IR spektrumunda 1606 cm⁻¹ de görülen bant, yapının konjuge durumda enol-eter grubu taşıdığını gösterir ki bu sekoiridoitler için karakteristik bir özelliktir. IR spektrumunda 1701 cm⁻¹ de görülen bant ise yapıda bir çifte bağ olduğunu gösterir.

GL-1 in ¹H-NMR spektrumundan, bileşimin monoglikozidik yapıda, sverozit tipi aglikona ait sinyaller taşıyan bir sekoiridoit olduğu tesbit edilmiştir. Bileşimin, sverozit tipi aglikon taşıdığı C₈ deki 1H ve C₁₀ daki 2H olmak üzere 3 vinilik protondan anlaşılmaktadır.

¹H-NMR spektrumuna ait sinyaller (Spektrum 1, Tablo 4.1.) literatür değerleriyle karşılaştırılarak incelendiğinde 3. karbona ait protonun singlet şeklinde görülmesi C₅ de bir süstitüsyon olduğunu, 6. ve 7. karbondaki ikişer protona ait sinyallerin ddd şeklinde görülmesi, 2 CH₂ grubunu gösterir ve bu da 5. karbonda proton bulunmadığını kanıtlar. Ayrıca 9. karbona ait protonun 8. ve 1. karbonlarda bulunan birer proton nedeniyle dd şeklinde yarılması, 5. karbonda proton bulunmadığı düşüncesini kuvvetlendirmektedir.

¹³C-NMR spektrumunda (Spektrum 2, Tablo 4.2.) görülen sinyallerin kaynak bilgileriyle (64,105) karşılaştırılması sonucu 5. ve 6. karbonlara ait sinyallerin yüksek alana kayarak sırasıyla 64.25 ppm ve 33.63 ppm de görülmeleri 5. karbonda süstitüent olduğunu kanıtlamaktadır.

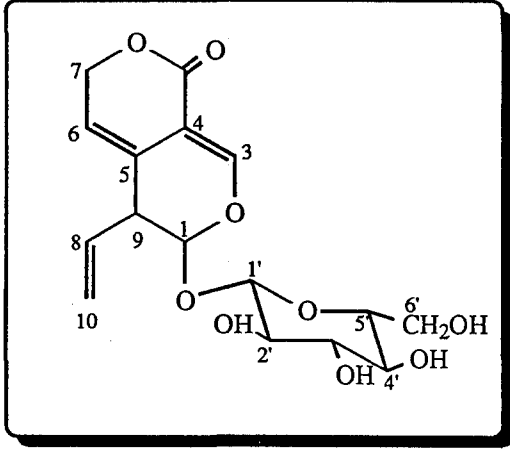
δ 4.63 de doublet (J=7.8) olarak görülen sinyal, aglikona göre β-pozisyonundaki glikoza ait anomerik protonun (C-1') sinyalidir. GL-1 bileşiminin oz kısmına ait diğer sinyallerinin ¹H-NMR ve ¹³C-NMR bulguları literatürlerdeki değerler ile uygunluk göstermektedir (64,105).

UV, IR, ¹H-NMR ve ¹³C-NMR bulguları ışığı altında, literatürlerde (53,54,64, 105) verilen değerlerle karşılaştırılarak GL-1 bileşiminin Svertiamarin olduğu anlaşılmıştır ve bu bulgu bileşimin standart madde ile İTK (Sistem I,II,III) ve analitik YBSK yöntemleri kullanılarak karşılaştırılması ile de doğrulanmıştır.

Daha önce svertiamarin izole edilen *Gentiana* türleri

G. atuntsiensis, *G. campestris*, *G. cephalantha*, *G. cruciata*, *G. farreri*, *G. gelida*, *G. lactea*, *G. lutea*, *G. "macaulayi"*, *G. manshurica*, *G. manshurica* var. *jiandeensis*, *G. manshurica* var. *yanzhouensis*, *G. olivieri*, *G. pneumonanthe*, *G. punctata*, *G. rhodantha*, *G. regescens*, *G. scabra*, *G. septemfida*, *G. sikokiana*, *G. sina-ornata*, *G. suffrutescens*, *G. suffrutescens* ssp. *nov.*, *G. triflora*, *G. uchiyamana*.

4.2.2. Gentiopikrozit (GL-2)



Kapalı Formülü : C₁₆H₂₀O₉

Molekül Ağırlığı : 356.11

UV (MeOH) : λ_{maks} 207, 252, 271 nm

IR (KBr) : ν_{maks} 3401 cm⁻¹ (OH)
1681 cm⁻¹ (C=C)
1606 cm⁻¹ (C=O)

¹H-NMR : Tablo 4.3., Spektrum 3

¹³C-NMR : Tablo 4.4., Spektrum 4

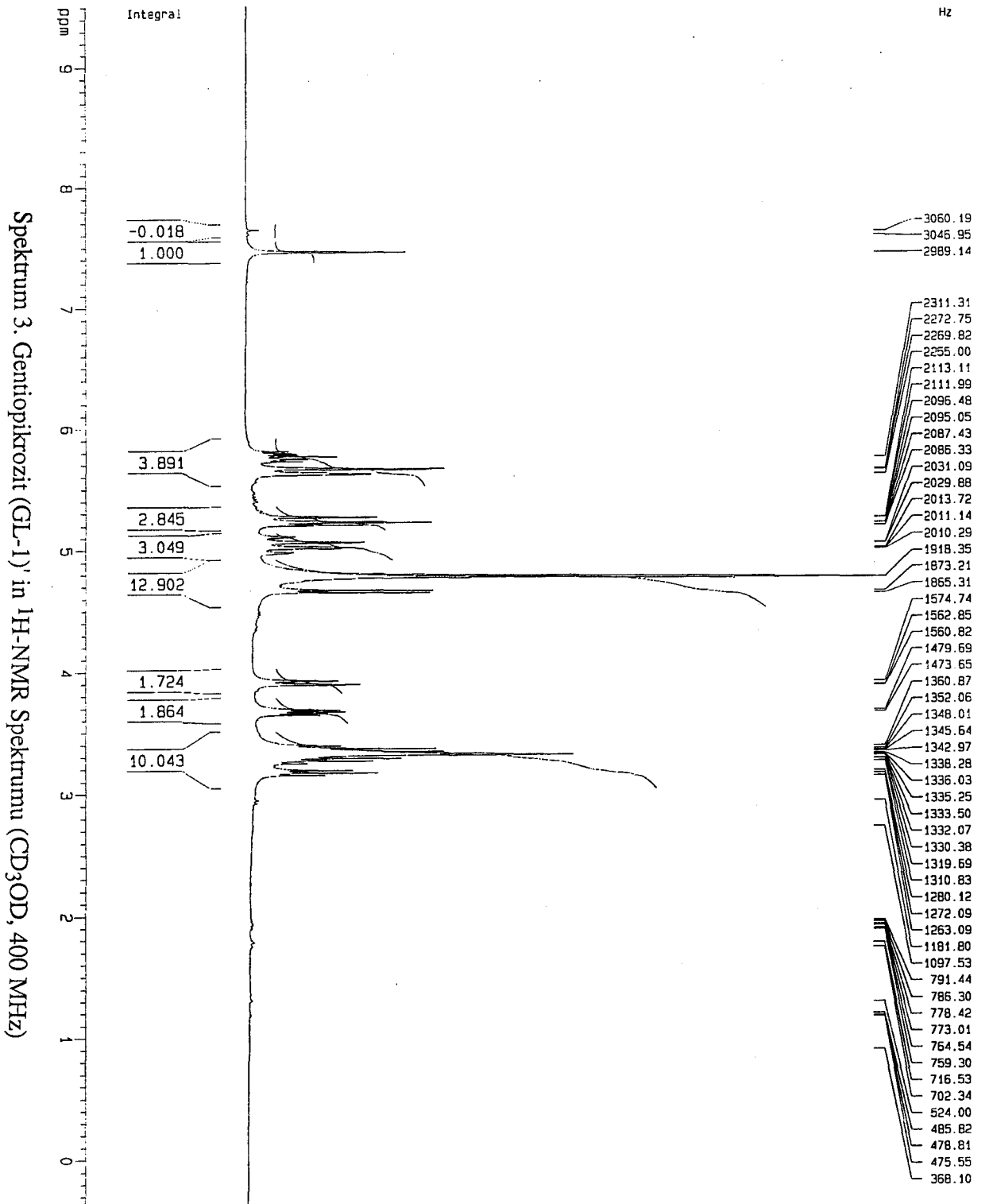
Tablo 4.3. Gentiopikrozit'in ¹H-NMR (CD₃OD, 400 MHz) spektral değerleri

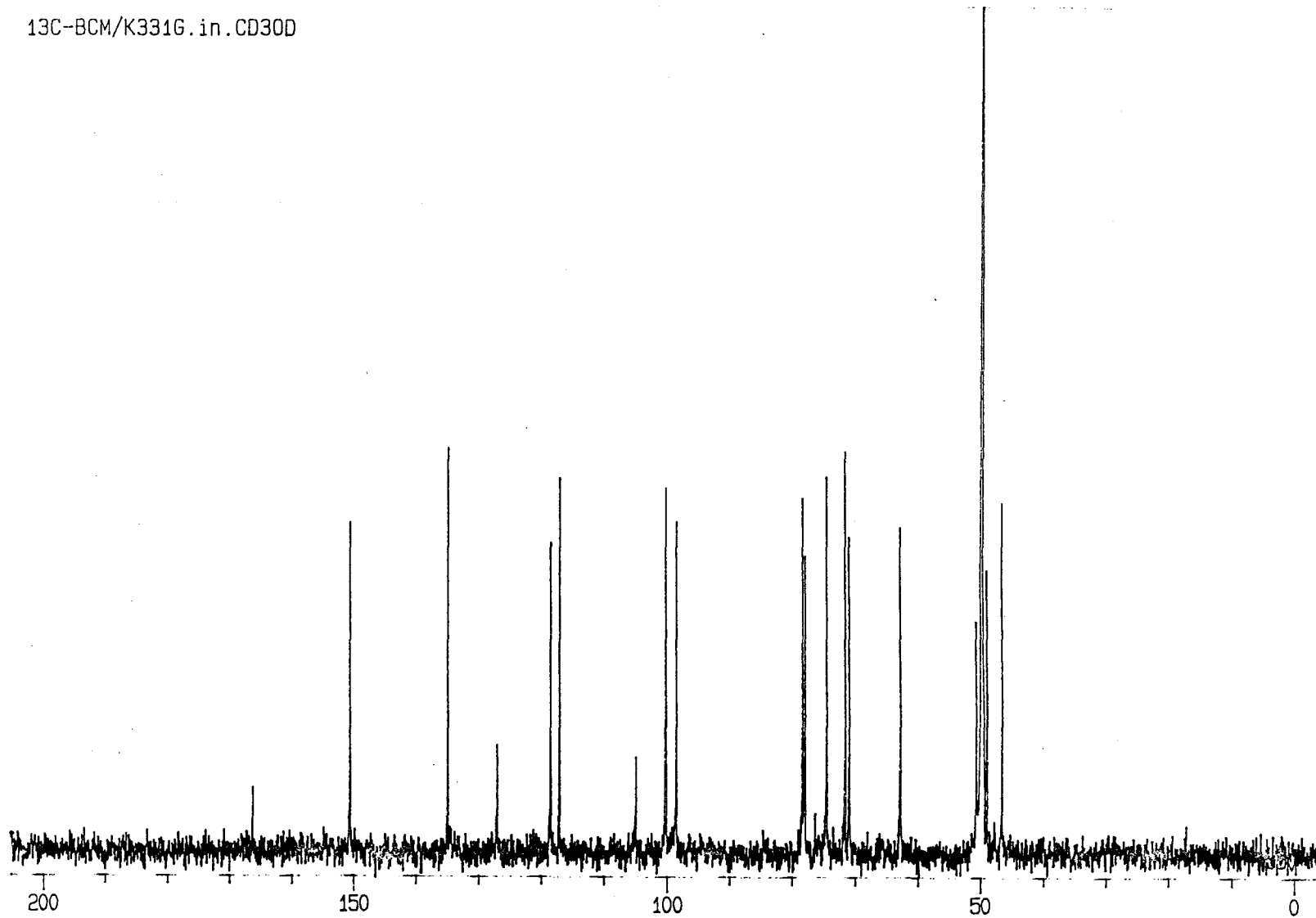
H	δ (ppm)	J (Hz)
1	5.67	d (2.92)
3	7.47	d (1.6)
5	-	
6	5.63	brs
7 _A	5.09	dd (17.7/1.2)
7 _B	5.00	dd (17.7/3.4)
8	5.77	ddd (17.2/10.3/6.9)
9	3.30-3.35*	
10 _A	5.25	dt (17.2/1.1/1.1)
10 _B	5.22	dt (10.1/1.1/1.1)
1'	4.67	d (7.9)
2'	3.17	dd (7.9/9.0)
3'	3.38	t (9.0)
4'	3.27	t (9.0)
5'	3.30-3.35*	
6' _A	3.67	dd (11.9/6.1)
6' _B	3.91	dd (11.9/2.0)

Tablo 4.4. Gentiopikrozit'in ¹³C-NMR (CD₃OD, 22.4 MHz) spektral değerleri

C	δ (ppm)
1	98.46
3	150.58
4	104.85
5	126.96
6	117.07
7	70.81
8	134.90
9	46.54
10	118.45
11	166.22
1'	100.13
2'	74.47
3'	77.89
4'	71.46
5'	78.30
6'	62.70

* Sinyaller çakıştığı için J değerleri ölçülemedi.





Spektrum 4. Gentiopikrozit (GL-2)' in ¹³C-NMR Spektrum (CD₃OD, 22.4MHz)

GL-2 bileşiği bitkide ana madde durumundadır. GL-2 bileşiğinin, 207, 252, 271 nm de verdiği UV absorpsiyonu, IR spektrumunda 1681 (C=C) ve 1606 (konjuge enol eter) cm^{-1} de verdiği bantlar ve $^1\text{H-NMR}$ ve $^{13}\text{C-NMR}$ spektrumları incelendiğinde bir sekoiridoit bileşiği olabileceği kanısına varılmıştır.

$^1\text{H-NMR}$ spektrumu incelendiđinde (Spektrum 3, Tablo 4.3.) 8. karbondaki tek proton ve 10. karbondaki iki proton nedeniyle sverozit tipi monoglikozidik sekoiridoit olduđu tesbit edilmiřtir. Bunun yanında C_6 üzerindeki protona ait sinyalin dűřük alanda (δ 5.63) gözlenmesi 5. ve 6. karbon arasında çiftte bađ olduđunu göstermektedir.

δ 4.67 de doublet ($J=7.9$) olarak görűlen sinyal, aglikona göre β -pozisyonundaki glikoza ait anomerik protonun (C_1') sinyalidir. Oz kısmına ait diđer sinyallerin $^1\text{H-NMR}$ ve $^{13}\text{C-NMR}$ bulguları literatürlerdeki deđerler ile uygunluk göstermektedir.

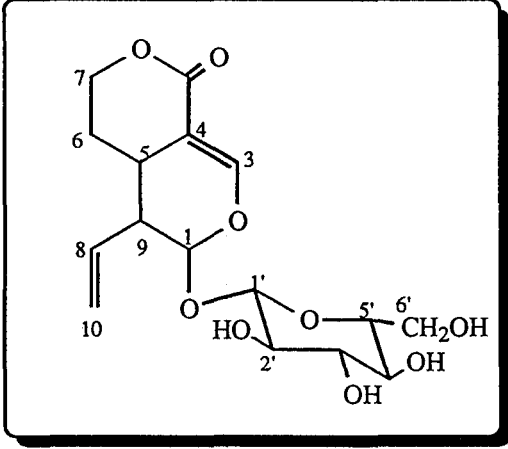
$^{13}\text{C-NMR}$ spektrumunda (Spektrum 4, Tablo 4.4.) görűlen sinyallerin literatürler (63, 105) ile karřılařtırılması sonucunda 5. ve 6. (126.96 ve 117.07 ppm) karbonlara ait sinyallerin dűřük alanda gözlenmesi 5. karbonda sübstitűsyon bulunmadıđını kanıtlamaktadır.

Tűm bu spektral bulgular, literatürlerdeki değerler ile karşılaştırıldığında GL-2 bileşiğinin Gentiopikrozit olduğu anlaşılmıştır. Bu bulgu bileşiğin standart madde ile İTK ve analitik YBSK yöntemleri kullanılarak karşılaştırılması sonucunda da doğrulanmıştır.

Daha ۆnce gentiopikrozit izole edilen *Gentiana* türleri

G. affinis, *G. algida*, *G. asclepiadea*, *G. atunsiensis*, *G. burserii*, *G. calycosa*, *G. campestris*, *G. cephalantha*, *G. cerastioides*, *G. corymbifera*, *G. cruciata*, *G. dahurica*, *G. farreri*, *G. gelida*, *G. kurro*, *G. lactea*, *G. lutea*, *G. "macaulayi"*, *G. macrophylla*, *G. manshurica*, *G. manshurica* var. *jiandeensis*, *G. olivieri*, *G. punctata*, *G. purpurea*, *G. rhodantha*, *G. regescens*, *G. scabra*, *G. scabra* var. *buergerii*, *G. septemfida*, *G. sikokiana*, *G. sina-ornata*, *G. strictiflora*, *G. suffrutescens*, *G. tibetica*, *G. triflora*, *G. triflora* var. *japonica*, *G. uchiyamana*.

4.2.3. Sverozit (GL-3)



Kapalı Formülü : C₁₆H₂₂O₉

Molekül Ağırlığı : 358.11

UV λ_{maks.}(MeOH) : λ_{maks.} 204, 232 nm

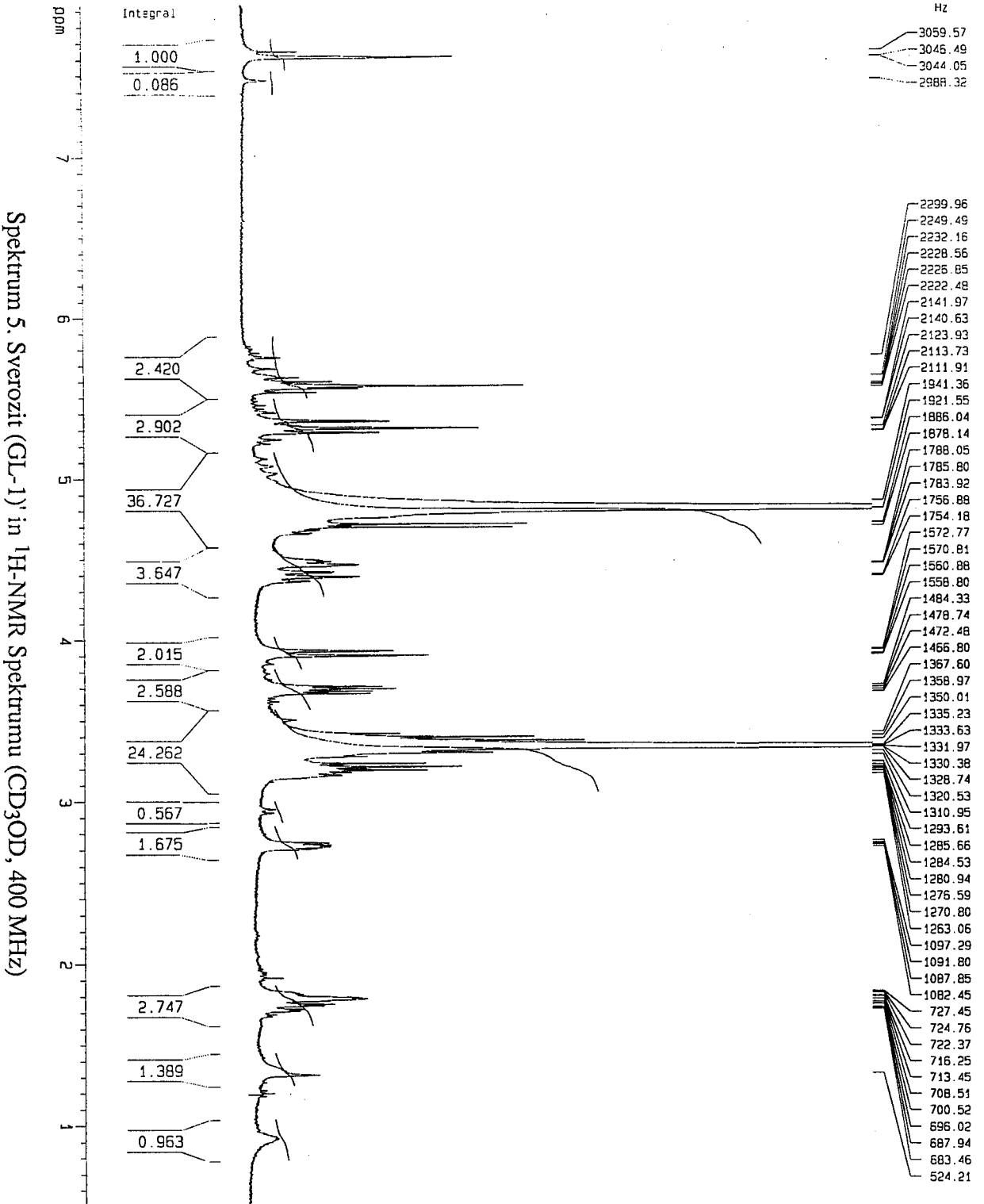
IR (KBr) : ν_{maks.} 3343 cm⁻¹ (OH)
1692 cm⁻¹ (C=C)
1615 cm⁻¹ (C=O)

¹H-NMR : Tablo 4.5., Spektrum 5

Tablo 4.5. Sverozit'in ¹H-NMR (CD₃OD, 400MHz) spektral değerleri

H	δ (ppm)	J (Hz)
1	5.57	d (1.2)
3	7.60	d (2.4)
5	3.18	m
6 _A	1.80	ddd (13.6/2.7/2.2)
6 _B	1.71	ddd (13.6/13.6/4.4)
7 _A	4.47	ddd (11.8/4.4/2.2)
7 _B	4.38	ddd (11.8/11.8/2.7)
8	5.55	dd (18.0/10.2)
9	2.72	ddd (9.3/6.9/1.2)
10 _A	5.33	dd (18/1.8)
10 _B	5.30	dd (10.2/1.8)
1'	4.70	d (7.9)
2'	3.21	dd (7.9/9.1)
3'	3.40	t (8.9)
4'	3.30	t (9.5)
5'	3.30-3.40*	
6' _A	3.38	dd (11.9/5.6)
6' _B	3.91	dd (11.9/2.02)

* Sinyaller çakıştığı için J değerleri ölçülemedi.



GL-3 bileşiği izolasyon çalışmaları sırasında yapılan İTK analizlerinde GL-2 bileşiğine çok yakın, GL-1 bileşiği ile aynı Rf de görülen bir bileşiktir. Köklerden elde edilen ham ekstre üzerinde yapılan İTK analizlerinde her üç madde de tek leke olarak tesbit edilmiştir. Fakat ham ekstreinin fraksiyonlanması ile izolasyon çalışmalarının ileriki aşamalarında yapılan kalitatif YBSK analizleri, İTK'da görülen bu tek leke altında aslında üç maddenin var olduğunu göstermiştir.

Bileşiğin 204 ve 243 nm de verdiği UV absorpsiyonu ve 1692 (C=C) ve 1615 (konjuge enol-eter) cm^{-1} de verdiği IR bantları ve $^1\text{H-NMR}$ spektrumu, bu maddenin de sverozit tipi monoglikozidik sekoiridoit olabileceğini göstermektedir.

$^1\text{H-NMR}$ spektrumu (Tablo 4.5., Spektrum 5.), svertiamarin ile karşılaştırılmış ve 2 bileşiğin yapılarının birbirine çok benzediği görülmüştür. İki yapı arasındaki fark incelendiğinde GL-3 n $^1\text{H-NMR}$ spektrumunda 5. karbona ait protonun oldukça yüksek alanda (δ 3.18 ppm) sinyal verdiği ve bu protonun C_{6A}, C_{6B}, C₉ protonları ile birlikte C₈ ve C₃ protonlarından da etkilenerek multipler halinde yarıldığı tesbit edilmiştir. Yine GL-1 den farklı olarak C₉ protonu C₅, C₈, C₁ de bulunan birer protonunda etkisiyle ddd halinde yarılmış ve δ 2.72 ppm de gözlenmiştir.

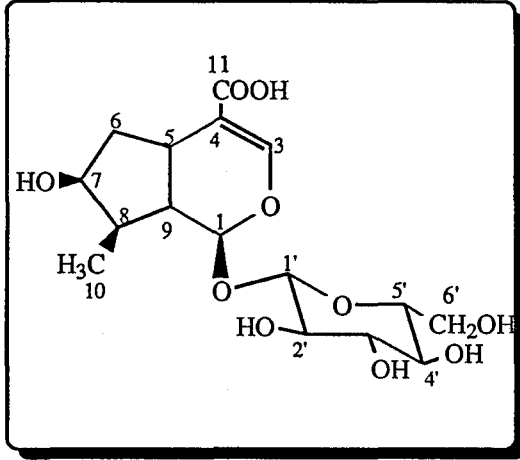
GL-3 n $^1\text{H-NMR}$ spektrumunda görüldüğü gibi 5. ve 9. karbonlara bağlı protonlar üzerindekiler dışındaki diğer protonlar svertiamarine ait $^1\text{H-NMR}$ bulguları ile benzerlik göstermektedir. Dolayısıyla GL-3 bileşiğinin 5. karbondaki proton taşıyan bir sekoiridoit olduğu anlaşılmaktadır.

Tüm bu spektral bulgular literatürlerdeki (50,53,54,105) değerler ile karşılaştırıldığında GL-3 bileşiğinin sverozit olduğu anlaşılmıştır. Bu bulgu bileşiğin standart madde ile İTK ve YBSK yöntemleri kullanılarak karşılaştırılması sonucunda doğrulanmıştır.

Daha önce sverozit izole edilen *Gentiana* türleri

G. atunsiensis, *G. cephalantha*, *G. cruciata*, *G. farreri*, *G. formosana*, *G. lactea*, *G. "macaulayi"*, *G. macrophylla*, *G. manshurica*, *G. manshurica* var. *jiandeensis*, *G. manshurica* var. *nov.*, *G. manshurica* var. *yanzhouensis*, *G. olivieri*, *G. pneumonanthe*, *G. punctata*, *G. rhodantha*, *G. rigescens*, *G. scabra*, *G. septemfida*, *G. sikokiana*, *G. sina-ornata*, *G. suffrutescens*, *G. triflora*, *G. verna*.

4.2.4. Loganik asit (GL-4)



Kapalı Formülü : C₁₆H₂₄O₁₀

Molekül Ağırlığı : 376.13

UV (MeOH) : λ maks 230, 205 (omuz) nm

IR (KBr) : λ maks 1645 cm⁻¹ (C=C)

¹H-NMR : Tablo 4.6., Spektrum 6

¹³C-NMR : Tablo 4.7., Spektrum 7

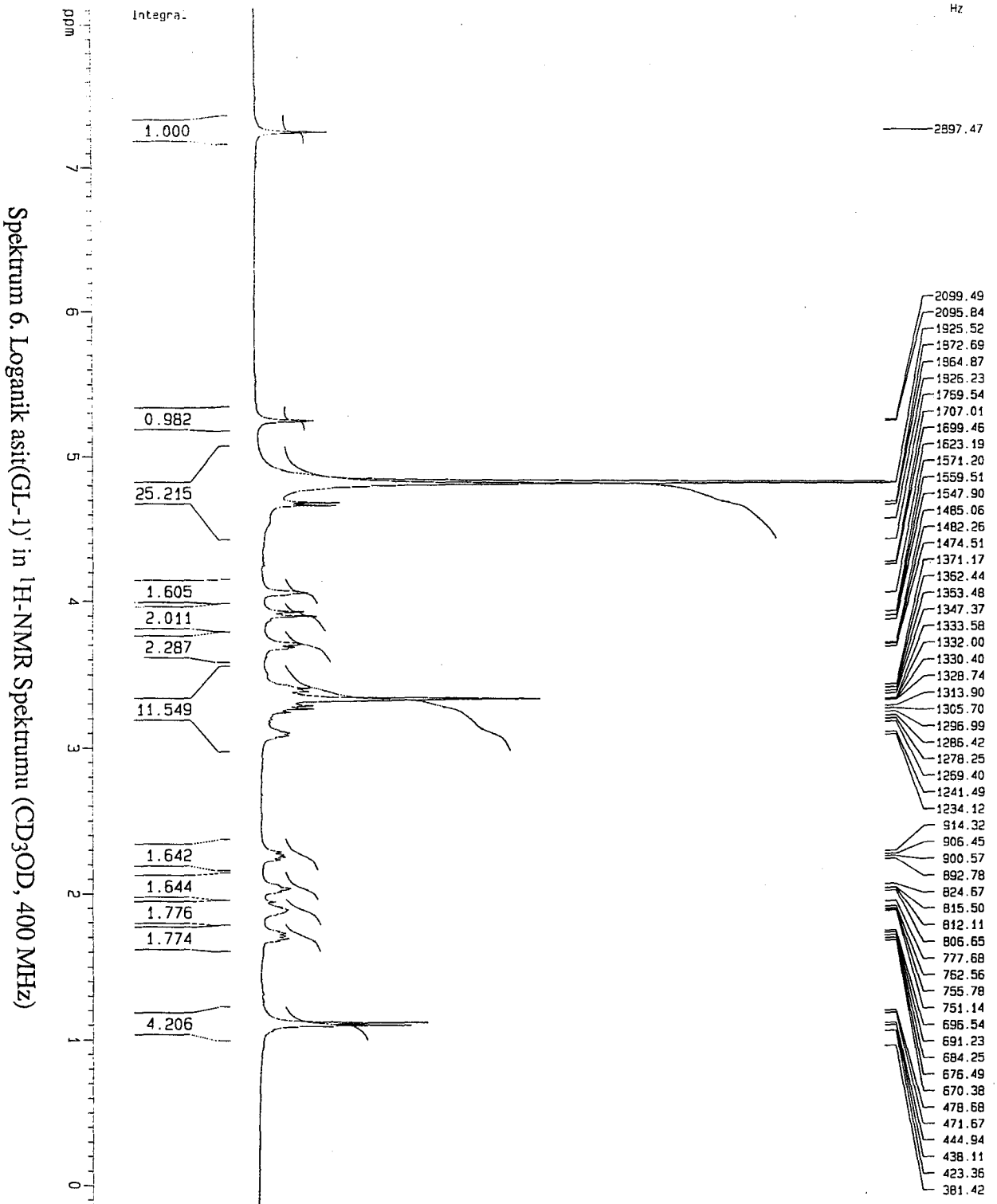
Tablo 4.6. Loganik asit'in ¹H-NMR (CD₃OD, 400MHz) spektral değerleri

Tablo 4.7. Loganik asit'in ¹³C-NMR (CD₃OD, 22.4 MHz) spektral değerleri

H	δ (ppm)	J (Hz)
1	5.24	d (3.7)
3	7.24	d (1.4)
5	3.10	m
6A	1.70	ddd (12.2/7.8/6.1)
6B	2.26	ddd (14/7.8/7.8)
7	4.05	m
8	1.88	m
9	2.03	ddd (9.2/5.5/3.7)
10	1.1	d (6.8)
1'	4.67	d (7.8)
2'	3.26	dd (7.8/8.9)
3'	3.40	t
4'	3.30-3.40*	
5'	3.30-3.40*	
6'A	3.70	dd (10.5/2.8)
6'B	3.88	dd (11.68/1.4)

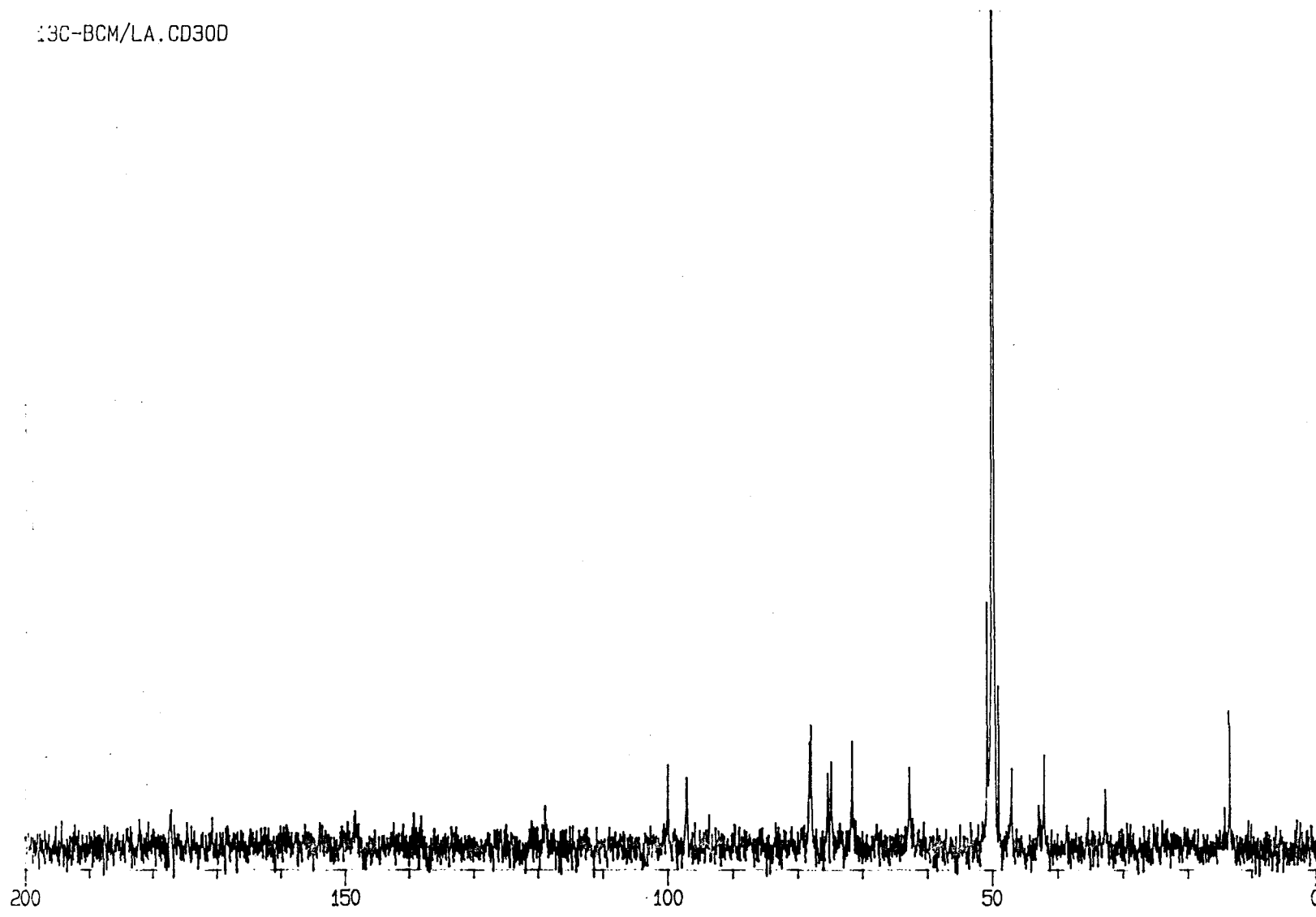
C	δ (ppm)
1	97.03
3	152.11
4	114.25
5	32.49
6	42.71
7	72.25
8	41.94
9	46.90
10	13.35
1'	99.88
2'	74.76
3'	77.89
4'	71.50
5'	78.14
6'	62.66

* Sinyaller çakıştığı için J değerleri ölçilemedi.



13C-BCM/LA.CD300

120



Spektrum 7. Loganiin asit (GL-1)' in ^{13}C -NMR Spektrumu (CD_3OD , 22.4 MHz)

GL-4 bileşiği, n-butanol ekstresinden bu çalışmada elde edilen en polar bileşiktir. UV spektrumunda verdiği 230 nm deki absorbands ve ¹H-NMR spektrumunda görülen sinyaller GL-4 bileşiğinin iridoit yapısına sahip olduğunu, IR spektrumunda 1645 cm⁻¹ görülen bant yapıda konjuge enol-eter grubunun varlığını gösterir.

GL-4 bileşiğinin ¹H-NMR spektrumunda (Spektrum 6, Tablo 4.6.) δ 7.24 te görülen sinyal C3 konumundaki protona işaret etmektedir. Bu sinyal C5 protonu tarafından yarıldığı için doublet şeklinde görülmektedir. J değerinin küçük olması bunu doğrulamaktadır. 5. karbona ait protonun sinyal 3.10 ppm de ve C6, C9 ve C3 protonlarının etkisi ile yarılmış halde multiplet olarak tesbit edilmiştir. 9. karbona ait proton ise 2.03 ppm de C1, C8 ve C5 protonları tarafından ddd şeklinde yarılmıştır. 6. karbona bulunan 2 proton önce birer kez birbirleri ile bunun yanında C5 ve C7 protonları ile yarıldığından ddd şeklinde grnrlenir. 1. karbona ait proton 5.24 ppm de C9 protonunun etkisi ile doublet olarak yarılmıştır. 8. karbona ait protonun 1.88 ppm de sinyal vermesi 8. karbonun metil grubu taşıdığını gösterir. C8 protonuna ait sinyalin multiplet şeklinde yarılmasından C7 ve C9 daki protonlara ilaveten 10 pozisyonundaki komşu metil protonları sorumludur.

Bu spektral bulguların kaynaklardaki (50,53,54,80) bilgilerle karşılaştırılması sonucunda GL-4 bileşiğinin Loganik asit olduğu anlaşılmıştır. Bu bulgu bileşiğin şahit madde ile İTK (Sistem I, II, III) ve analitik YBSK yöntemi kullanılarak karşılaştırılması sonucunda doğrulanmıştır.

Daha önce loganik asit izole edilen *Gentiana* türleri:

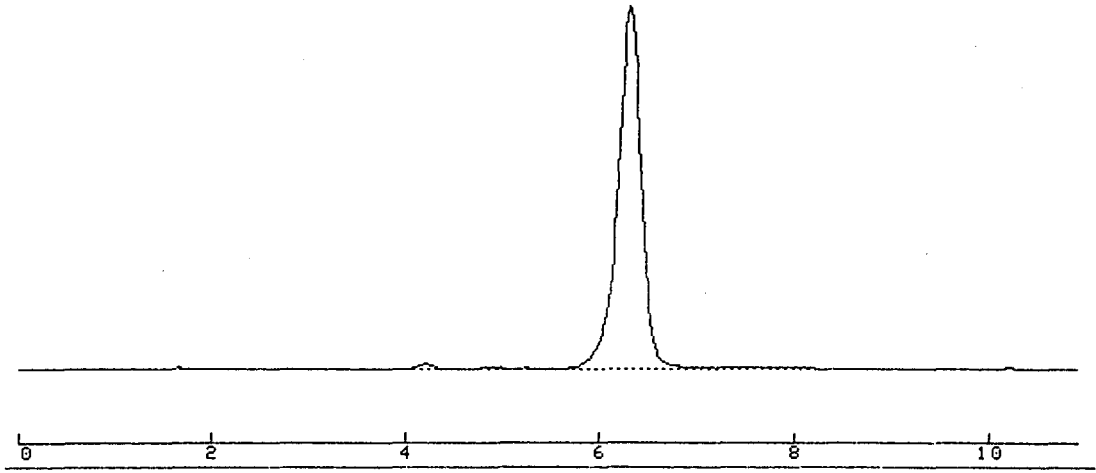
G. lactea, *G. olivieri*, *G. pedicellata*, *G. scabra* , *G. scabra* var. *buergerii*, *G. septemfida*.

4.3. Kantitatif Analiz Sonuçları

4.3.1. YBSK ile sekoiridoitlerin miktar tayinleri:

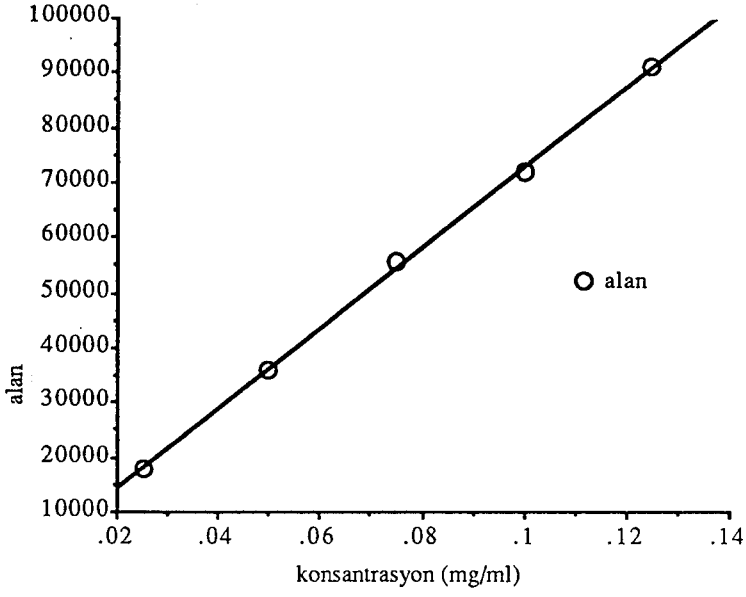
Bölüm 3.2.2.4. de verilen analiz şartlarında *G. lutea* subsp. *symphyandra* köklerindeki sekoiridoitlerin miktarları ters faz-YBSK yöntemi ile belirlendi.

0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 ml gentiopikrozit ve 0.25, 0.5, 0.75, 1.0, 1.25 ml svertiamarin ve sverozit standart stok çözeltileri alınarak 10 ml ye aynı çözücü ile seyreltildi. Her çözeltiden 10 µl lik üçer enjeksiyon yapılarak ortalama alan değerleri ölçüldü.

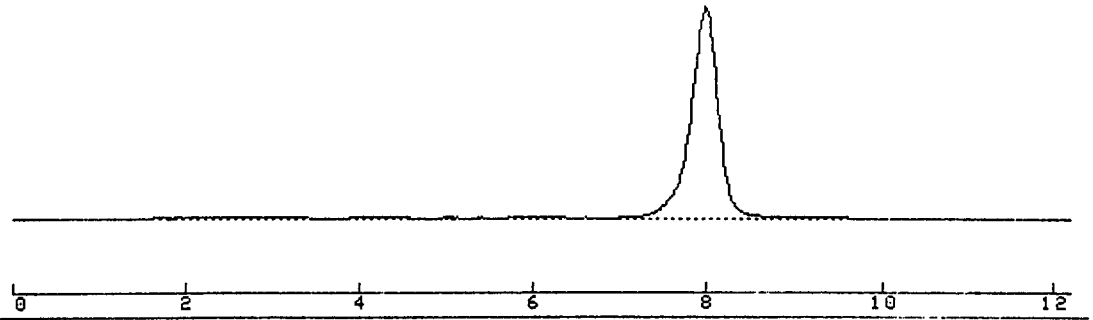


Şekil 4.2. Standart svertiamarin (GL-1)'in Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatogramı

C (mg/ml)	Alan
0.025	17624
0.050	36057
0.075	55587
0.100	71752
0.125	90924

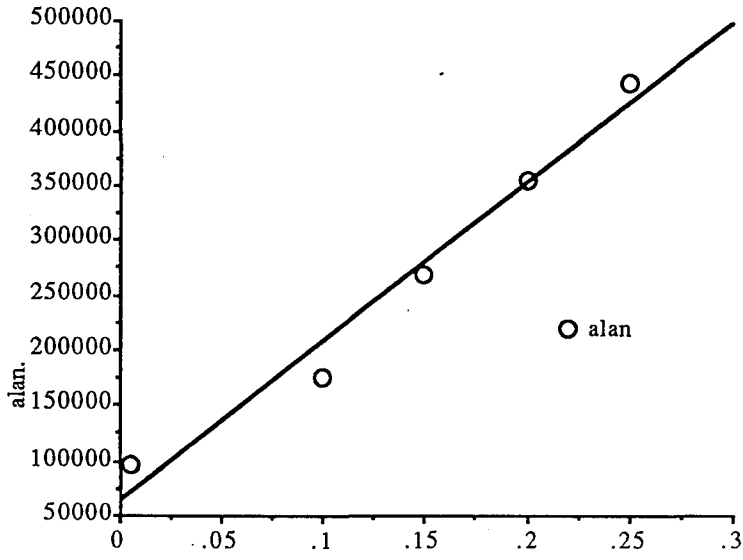


Şekil 4.3. Standart svertiamarin (GL-1)'in kalibrasyon eğrisi

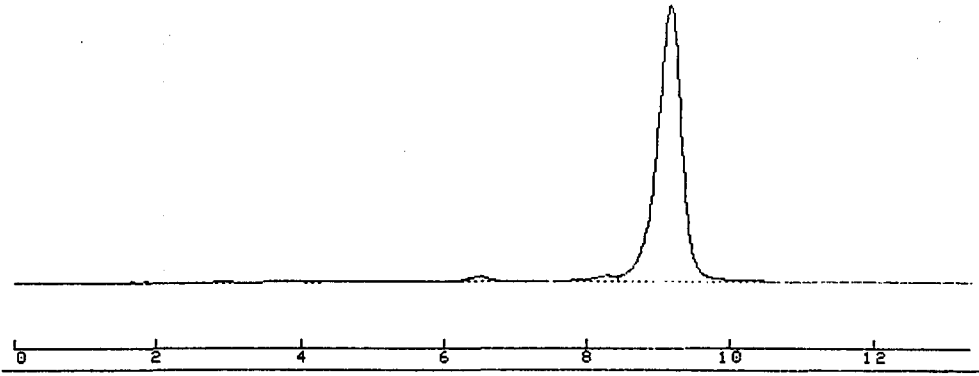


Şekil 4.4. Standart gentiopikrozit (GL-2) Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatogramı

C (mg/ml)	Alan
0.05	96149
0.10	174493
0.15	268358
0.20	355782
0.25	443147

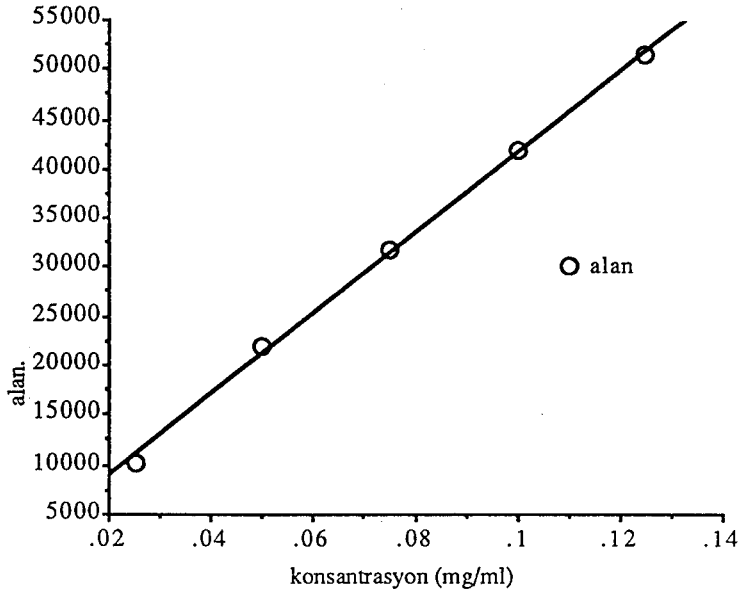


Şekil 4.5. Standart gentiopikrozit (GL-2)'in kalibrasyon eğrisi



Şekil 4.6. Standart sverozit (GL-3)'in Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatogramı

C (mg/ml)	Alan
0.025	10298
0.050	21989
0.075	31821
0.100	41765
0.125	51417

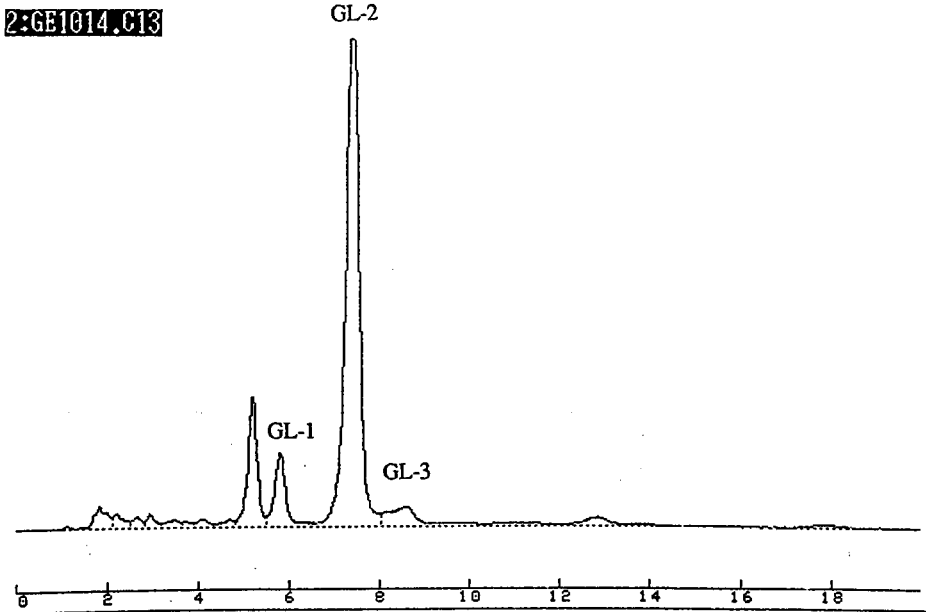


Şekil 4.7. Standart sverozit (GL-3)'in kalibrasyon eğrisi

Maddeler Ultracarb ODS-20 kolonda 25 dakika sürede ayrıldı (Şekil 4.8.). Aynı analiz şartlarında 5.88, 7.53, 8.77'nci dakikalarda gelen svertiamarin (I), gentiopikrozit (II) ve sverozit (III)'in alan değerleri konsantrasyonlarına göre korele edilerek bulunan regresyon eşitlikleri aşağıdaki gibi verilmiştir:

(I)	$y = 729180x - 299.7$	($r = 0.999$)
(II)	$y = 1750570x + 5000.3$	($r = 0.999$)
(III)	$y = 408056x + 854$	($r = 0.999$)

(y: alan değeri, x: konsantrasyon mg/ml)



Şekil 4.8. Metanol ekstresinin Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatogramı
[svertiamarin (GL-1), gentiopikrozit (GL-2), sverozit (GL-3)]

Metanol ekstresi ve köklerdeki sekoiridoit miktarları Tablo 4.8. de verilmiştir.

Tablo 4.8. *Gentiana lutea* subsp. *symphyandra* kökleri ve metanol ekstresindeki sekoiridoitlerin yüzde miktarları

Bileşik	Metanol ekstresi (%)	Kök (%)
Svertiamarin	5.27	2.58
Gentiopikrozit	20.93	10.26
Sverozit	2.55	1.25

İzole edilen bu bileşiklerin ham ekstre içerisindeki miktarları %21 gentiopikrozit, %5.27 svertiamarin ve %2.55 sverozit, kökte ise %10.26 gentiopikrozit, %2.58 svertiamarin ve %1.25 sverozit olarak bulundu.

4.4. Biyolojik Aktivite Çalışmalarının Sonuçları

4.4.1. Sinir Sistemi Üzerine Etkiler

4.4.1.1. Genel Davranış ve Gözlemsel (Hipokratik) Tarama Sonuçları

Analjezik aktivite ve yüzme testlerine alınan fareler ile hepatoprotektif etki çalışmalarında kullanılan sıçanlarda sözü edilen deneylerin başlangıcına kadar geçen bir saatlik süre içinde ve deneylerin sonrasında geçen 24 saatlik süre içinde herhangi bir ölüm vakasının olmadığı gözlemlendi. Ayrıca, ekstrenin hayvanlara verilmesini izleyen 1 saatlik dönemde de santral sinir sistemine ilişkin bir etki gözlenmedi.

4.4.1.2. Yüzme Testi Sonuçları

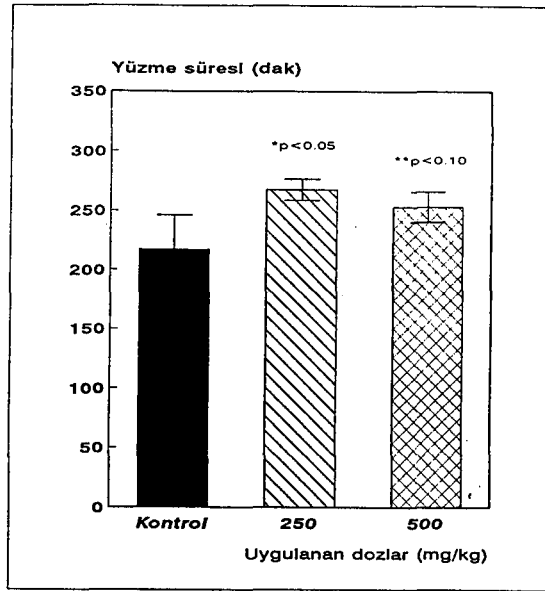
Etanol ekstresinin (250 ve 500 mg/kg intraperitoneal dozlarda) etkileri, dakika cinsinden yüzme süresinin farklılığı olarak Tablo 4.9. da gösterilmiştir. Buna göre, *G. lutea* ssp. *symphyandra*'nın köklerinden hazırlanan etanolik ekstreler farelerde zorlamalı yüzme testinde performansı arttırmaktadır, yani ekstre hayvanlarda yüzme süresini istatistiksel açıdan anlamlı biçimde (kontrolle göre $p < 0.05$ ve $p < 0.10$) uzatmaktadır (Şekil 4.9.). Bu durum, bitki ekstresinin farelerin santral sinir sisteminde uyarıcı etkisinin olduğunu düşündürmektedir. Ayrıca uygulanan farmakolojik tekniğin (zorlamalı yüzme testi) esas olarak antistres aktivite ölçümü için uyarlanmış bir yöntem (379,383) olduğu

düşünülürse, bu tür etkisinin olması da güçlü bir olasılıktır. Gözlenen etki doza-bağımlı bir etki değildir, çünkü artan ekstre dozuna karşın yüzme süresi artmamaktadır.

Tablo 4.9. *G. lutea* subsp *symphyandra* köklerinden hazırlanan ekstrelerin farelerde yüzme süresi üzerine etkileri (ortalama \pm standart hata, n: test için kullanılan hayvan sayısı)

Uygulanan Dozlar		
Kontrol	250 mg/kg <i>i.p.</i>	500 mg/kg <i>i.p.</i>
217.40 \pm 28.88 (n=5)	267.40 \pm 8.96* (n=5)	253.20 \pm 12.58** (n=5)

*p<0.05 ve **p<0.10 kontrole göre anlamlı istatistiksel farklılıklar.



Şekil 4.9 *G. lutea* subsp *symphyandra* köklerinden hazırlanan ekstrelerin 250 ve 500 mg/kg dozlarda fare yüzme performansı üzerine etkileri. Her bir histogram 5 deneyin ortalamasıdır ve düşey çizgiler ortalama değerlerin standart hatalarını temsil etmektedir.

4.4.2. Analjezi Testleri Sonuçları

Bu tez çalışmasında iki ayrı test kullanılarak *G.lutea* ssp. *symphyandra* kök ekstresinin ağrı kesici etkisinin olup olmadığı araştırılmıştır. Burada amaç farklı metotlar kullanılarak sonuçların validasyonudur.

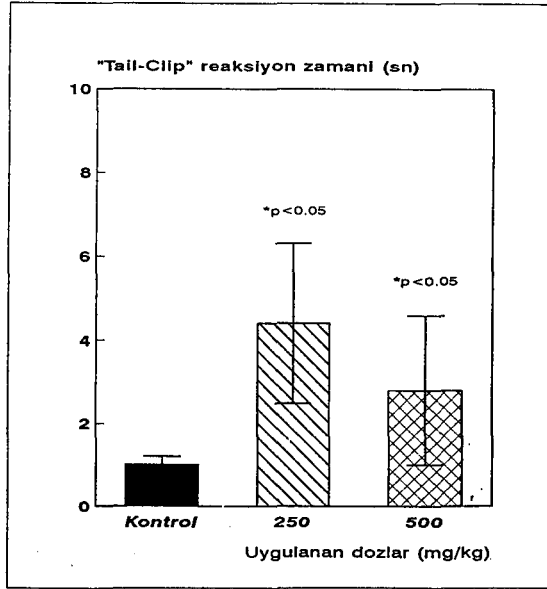
4.4.2.1. "Tail-Clip" Testinin Sonuçları

250 ve 500 mg/kg dozlarda farelere intraperitoneal yolla verilen ekstrenin saniye cinsinden "Tail-Clip" reaksiyon zamanı üzerine etkileri Tablo 4.10. da özetlenmiştir. Buna göre farelere ekstre verildiğinde reaksiyon zamanı istatistiksel açıdan anlamlı olarak (kontrole göre $p<0.05$) uzamaktadır. Bu durum, *G.lutea* ssp. *symphyandra* kök ekstresinin farelerde ağrı kesici (analjezik) etkisinin olduğunu göstermektedir (Tablo 4.10.). Ancak, ilginç olarak burada da etkinin doza bağımlı olmadığı görülmektedir (Şekil 4.10.).

Tablo 4.10. *G. lutea* subsp *symphyandra* köklerinden hazırlanan ekstrenin farelerde "Tail-Clip" reaksiyon zamanı üzerine etkileri (ortalama \pm standart hata, n: test için kullanılan hayvan sayısı)

Uygulanan Dozlar		
Kontrol	250 mg/kg <i>i.p.</i>	500 mg/kg <i>i.p.</i>
1.02 \pm 0.19 (n=5)	4.40 \pm 1.91* (n=5)	2.80 \pm 1.79* (n=5)

* $p<0.05$ kontrole göre anlamlı istatistiksel farklılıklar.



Şekil 4.10. *G. lutea* subsp *symphyandra* köklerinden hazırlanan ekstrenin 250 ve 500 mg/kg dozlarda farelerde "Tail-Clip" reaksiyon zamanı üzerine etkileri. Her bir histogram 5 deneyin ortalamasıdır ve düşey çizgiler ortalama değerlerin standart hatalarını temsil etmektedir.

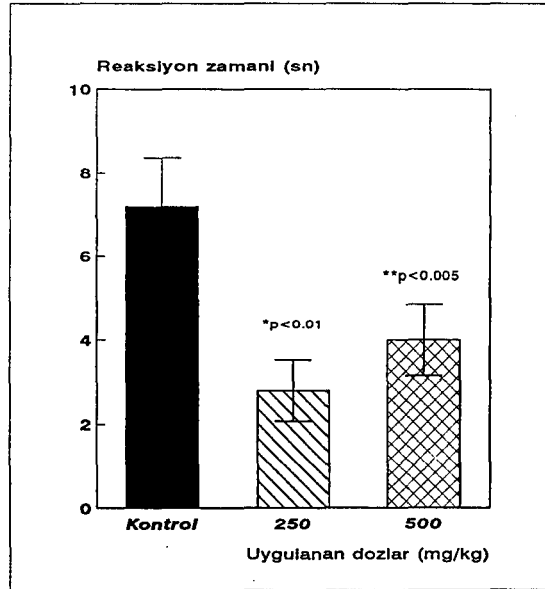
4.4.2.2. Kuyruk Daldırma (Termal) Testi Sonuçları

250 ve 500 mg/kg dozlarda intraperitoneal yolla farelere verilen ekstrenin saniye cinsinden "Kuyruk-daldırma testi" reaksiyon zamanı üzerine etkileri Tablo 4.11. de özetlenmiştir. Buna göre farelere ekstre verildiğinde reaksiyon zamanı istatistiksel açıdan anlamlı olarak (kontrole göre $p<0.01$ ve $p<0.005$) kısalmaktadır (Şekil 4.11.). Yine doza bağlı olmayan bu gözlem, sözü edilen ekstrenin aljezik (ağrı oluşturu) niteliklerinin bulunduğunu göstermektedir

Tablo 4.11. *G. lutea* subsp. *symphyandra* köklerinden hazırlanan ekstrelerin farelerde kuyruk daldırma reaksiyon zamanı üzerine etkileri (ortalama \pm standart hata, n=test için kullanılan hayvan sayısı)

Uygulanan Dozlar		
Kontrol	250 mg/kg <i>i.p.</i>	500 mg/kg <i>i.p.</i>
7.20 \pm 1.16 (n=5)	2.80 \pm 0.73* (n=5)	4.00 \pm 0.84** (n=5)

* $p<0.01$ ve ** $p<0.005$ kontrole göre anlamlı istatistiksel farklılıklar.



Şekil 4.11. *G. lutea* subsp *symphyandra* köklerinden hazırlanan ekstrelerin 250 ve 500 mg/kg dozlarda farelerde "Kuyruk daldırma" reaksiyon zamanı üzerine etkileri. Her bir histogram 5 deneyin ortalamasıdır ve düşey çizgiler ortalama değerlerin standart hatalarını temsil etmektedir.

4.4.3. Hepatoprotektif etki

4.4.3.1. Safra Akışı Deneyi Sonuçları

Sıçanlara tek dozda verilen CCl₄ ile safra akışında istatistiksel açıdan anlamlı bir azalma izlenmektedir (Tablo 4.12. ve Şekil 4.12.). Bu azalma, sözü edilen maddenin hepatotoksik etkisinden doğan karaciğer tabriyatından kaynaklanmaktadır. Karaciğeri CCl₄ verilerek tahrip edilmiş sıçanlara intraperitoneal tek doz (td-GL) olarak verilen 500 mg/kg lık etanolle hazırlanan *Gentiana lutea* ssp. *symphyandra* kuru ekstresinin gerek 3 saatlik total safra akışı (Tablo 4.12.) gerekse safra akışının zaman profili (Şekil 4.12.) değerlendirildiğinde istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde etkili olmadığı görülmektedir. Bu durum, tek dozluk uygulama ile verilen ekstrenin koleretik etkisinin olmadığını göstermektedir. Ancak intraperitoneal yolla 500 mg/kg dozda 3 gün süre ile uygulanan tedavi (çd-GL) ise safra akışını istatistiksel açıdan çok anlamlı düzeyde arttırmaktadır. Bu artış hem 3 saatlik total safra akışı (Tablo 4.12.) hem de safra akışının zaman profili (Şekil 4.12.) belirgin biçimde fark edilmektedir. Bu bulgu, 3 gün süre ile uygulanan tedavi sonucunda ekstrenin sıçanlarda koleretik etkisinin var olduğunu göstermektedir.

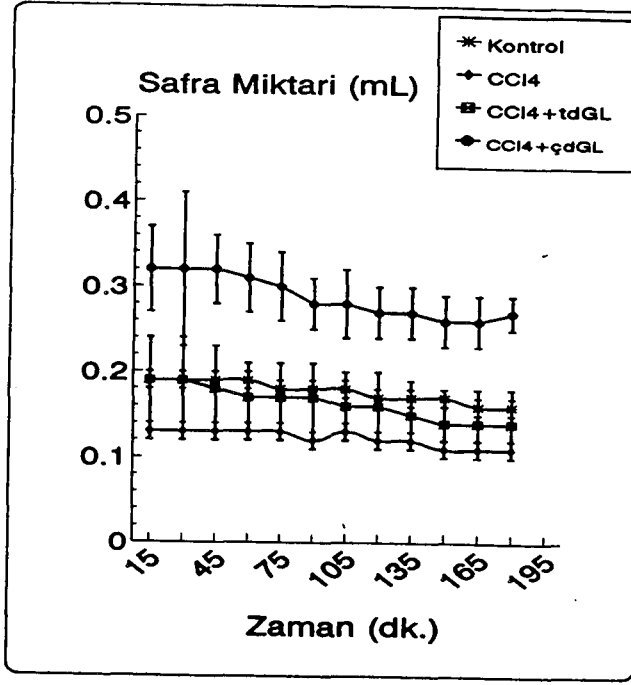
Tablo 4.12. *G. lutea* subsp *symphyandra* köklerinden hazırlanan ekstrelerin sıçanlarda 3 saatlik süre içinde oluşan total safra akışı (ml) üzerine etkileri (Ortalama \pm standart hata; n: hayvan sayısı)

Kontrol	CCl ₄	Gentian Ekstresi	
		+td-GL+CCl ₄	+çd-GL+CCl ₄
2.15 \pm 0.15 (n=5)	1.47 \pm 0.13 ^a (n=5)	1.94 \pm 0.48 ^b (n=5)	2.80 \pm 1.79 ^c (n=5)

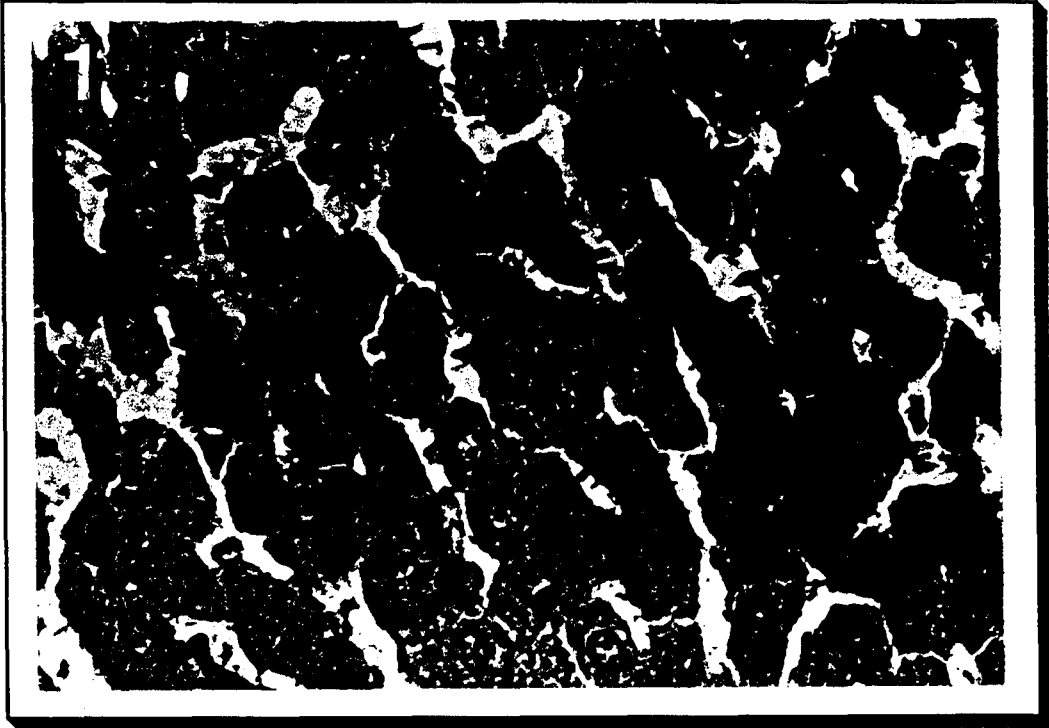
^ap<0.005 kontrole göre ve ^bp>0.10 ve ^cp<0.005 CCl₄'e göre anlamlı istatistiksel farklılıklar.

4.4.3.2. Karaciğer Dokusunda Histolojik Sonuçlar

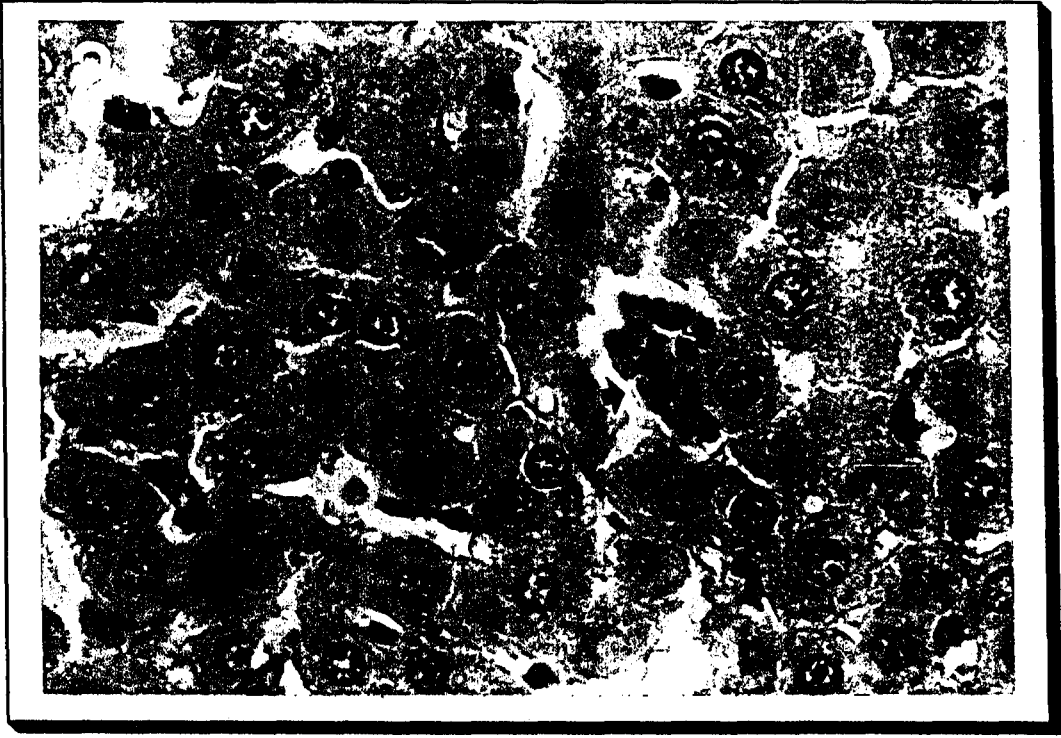
Karaciğer dokusunun sağlıklı yapısı kontrol sıçanlarından hazırlanan kesitlerde görülmektedir (Fotoğraf 1). Burada kordonlar tarzında dizilmiş hepatositler ile bunların arasından geçen mikroskobik safra kanalcıklarının oluşturduğu yapı görülmektedir. Sözü edilen bu düzenli yapı CCl₄ uygulaması sonucu bozulmakta, hidropik dejenerasyon ile infiltratif polimorfonükleer hücreler karaciğer dokusunda izlenmektedir (Fotoğraf 2). Bu değişimler gerek 3 günlük (Fotoğraf 3) gerekse bir kezlik doz uygulamasıyla verilen kuru



Şekil 4.12. *G. lutea* subsp *symphyandra* köklerinden hazırlanan kuru ekstrenin sıçanlarda safra akışı (ml) üzerine etkilerinin zamansal profili. Her bir nokta 5 ölçümün ortalamasıdır ve dikey çizgiler ortalama değerlerin standart hatalarını temsil etmektedir.



Fotoğraf 1. Kontrol grubu sıçanlarda kordonlar tarzında dizilmiş olan hepatositler ve bunların arasında yer alan mikroskopik safra kanalcıklarından oluşan normal yapı. HE Orj. büyüt. x200.



Fotoğraf 2. CCl₄ verilen sıçanların karaciğer dokusunda infiltratif polimorfonükleer lökositler (I) ve hepatositlerde hidropik dejenerasyon (I) görülmektedir. HE orj. büyütme. x200



Fotoğraf 3. Ekstre verilen sıçanların karaciğer dokusunda tüm sitoplazmayı kaplayan vakuoler dejenerasyon. HE orj. büyütme x132

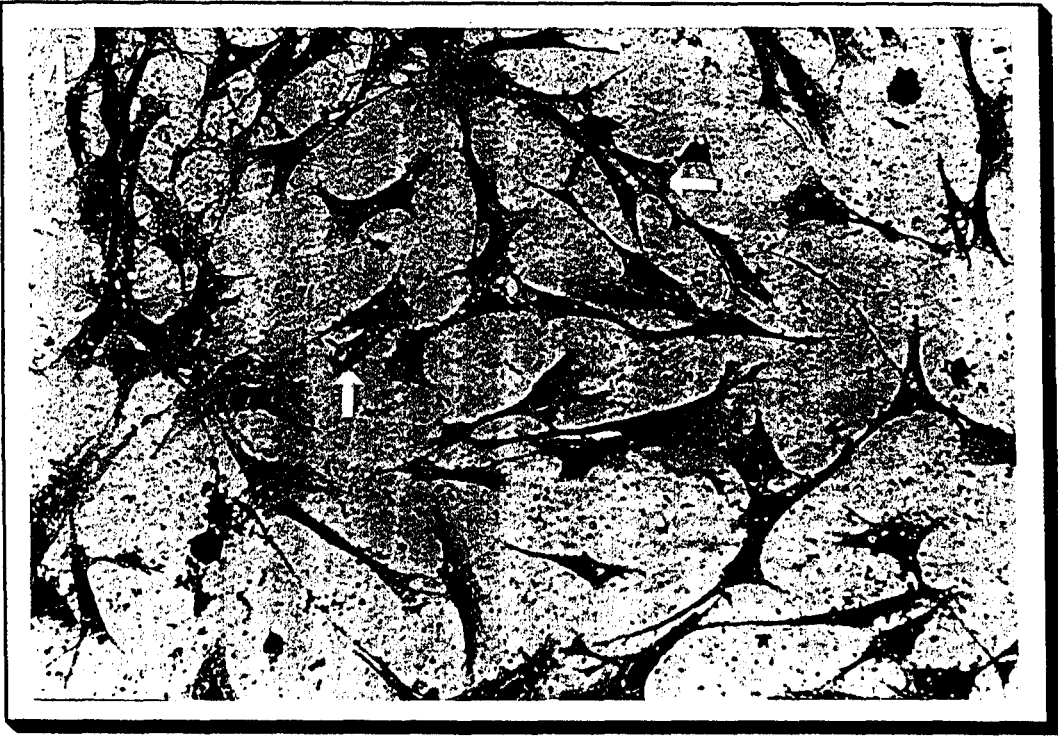
ekstre ile herhangi bir düzelme göstermemekte ve CCl₄ de olduğu gibi hepatositlerde tüm sitoplazmayı kaplayan vakuoler dejenerasyon fark edilmektedir.

4.4.4. Yara İyileştirici Etki Sonuçları

5 ve 10 µg/ml dozlarda uygulanan kuru ekstre tavuk embriyonik fibroblast hücrelerinde istatistiksel açıdan anlamlı etkiler göstermesi, ekstrenin yara iyileştirici etkilerinin olduğunu düşündürmektedir. Bu ekstre, toplam hücre sayılarını, mitozaya giden ve poligonal hücre yüzdeleri ile hücrelerdeki granül sayılarında artış gibi hücrelerde morfolojik karakter değişimlerine neden olmaktadır. Yara iyileştirici amaçlarla yaygın biçimde kullanılan dekspantenol ile karşılaştırılarak incelenen bu değişimleri şu biçimde özetlemek mümkündür. Fotoğraf 4 ve 5 de kontrol ve DMSO verilen fibroblastlar görülmektedir. *Gentiana* ekstresi tıpkı dekspantenol gibi toplam fibroblast sayılarını arttırmaktadır (Tablo 4.13.) (Fotoğraf 6-9). Bu bulguyu destekler nitelikte olmak üzere, *Gentiana* ekstresi ve dekspantenol mitozaya giden hücre yüzdesinde artışlara neden olmaktadır (Tablo 4.14) (Fotoğraf 7). Yine fibroblastların istirahat durumundan aktif duruma geçtiğini gösteren diğer bulgular fuziform hücre yüzdelerinde azalma ve poligonal hücre yüzdelerinde görülen artıştır (Tablo 4.15). Ekstre, ayrıca vakuollü ve yuvarlak hücre yüzdelerinde de istatistiksel açıdan anlamlı azalmalara neden olmakta (Tablo 4.16) ve hücrelerdeki kollajen granülü sayılarını da anlamlı biçimde arttırmaktadır (Tablo 4.17.). Yukarıda tanımlanan bu etkiler kısmen doza bağımlılık göstermektedir.

Ekstredeki etkilerin hangi maddelerden ileri geldiğini araştırmak üzere ekstrenin bileşiminde yer alan üç ana madde (gentiopikrozit, sverozit ve svertiamarin) ayrı ayrı ekstrelerdeki miktarlarına uyan konsantrasyonlarda dokularla inkübe edilerek aynı hücresel parametreler üzerine etkileri araştırıldı. Buna göre, 0.05 ve 0.25 µg/ml dozlarda medium içine katılan svertiamarin toplam hücre sayılarını (Tablo 4.13.) ve mitozaya giden hücre yüzdelerini (Tablo 4.14., Fotoğraf 14-15) istatistiksel açıdan anlamlı biçimde arttırmaktadır. Bu madde, aynı zamanda doza bağımlı biçimde fuziform hücre yüzdelerini azaltırken poligonal hücre yüzdelerini arttırmaktadır (Tablo 4.15). Ekstre ile elde edilen sonuçlara paralel biçimde svertiamarin vakuollü ve yuvarlak hücre yüzdelerini anlamlı biçimde azaltırken (Tablo 4.16), hücrelerdeki kollajen granüllerinin sayılarını da arttırmaktadır (Tablo 4.17.).

0.4 ve 2.0 µg/ml konsantrasyonlarda tavuk embriyonik fibroblastları üzerine uygulanan sverozit ise toplam hücre sayılarını (Tablo 4.13) ve mitozaya giden hücre yüzdelerini (Tablo 4.14) istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde etkilemezken, fuziform hücre yüzdelerini azaltmakta ve poligonal hücre yüzdelerini arttırmaktadır (Tablo 4.15). Vakuollü ve yuvarlak hücre yüzdeleri de uygulanan sverozit ile istatistiksel açıdan anlamlı



Fotoğraf 4. Kontrol grubu fibroblastların 24. saat sonunda Masson's trichrome tekniği ile boyanması sonucu 800 kez büyütme ile elde edilen görüntüleri. Vakuollü hücreler oklarla gösterilmiştir.



Fotoğraf 5. 1µg/ml DMSO uygulanan fibroblastların 24. saat sonunda Masson's trichrome tekniği ile boyanması sonucu 800 kez büyütme ile elde edilen görüntüleri. Vakuollü hücreler oklarla gösterilmiştir.



Fotoğraf 6. 1 μ g/ml Dekspantenol uygulanan hücrelerin 24. saat sonunda Masson's trichrome tekniği ile boyanması sonucu 800 kez büyütme ile elde edilen görüntüleri. Kollajen granülleri oklarla gösterilmiştir.



Fotoğraf 7. 10 μ g/ml Dekspantenol uygulanan hücrelerin 24. saat sonunda Masson's trichrome tekniği ile boyanması sonucu 800 kez büyütme ile elde edilen görüntüleri. Mitoza giden hücreler oklarla gösterilmiştir.



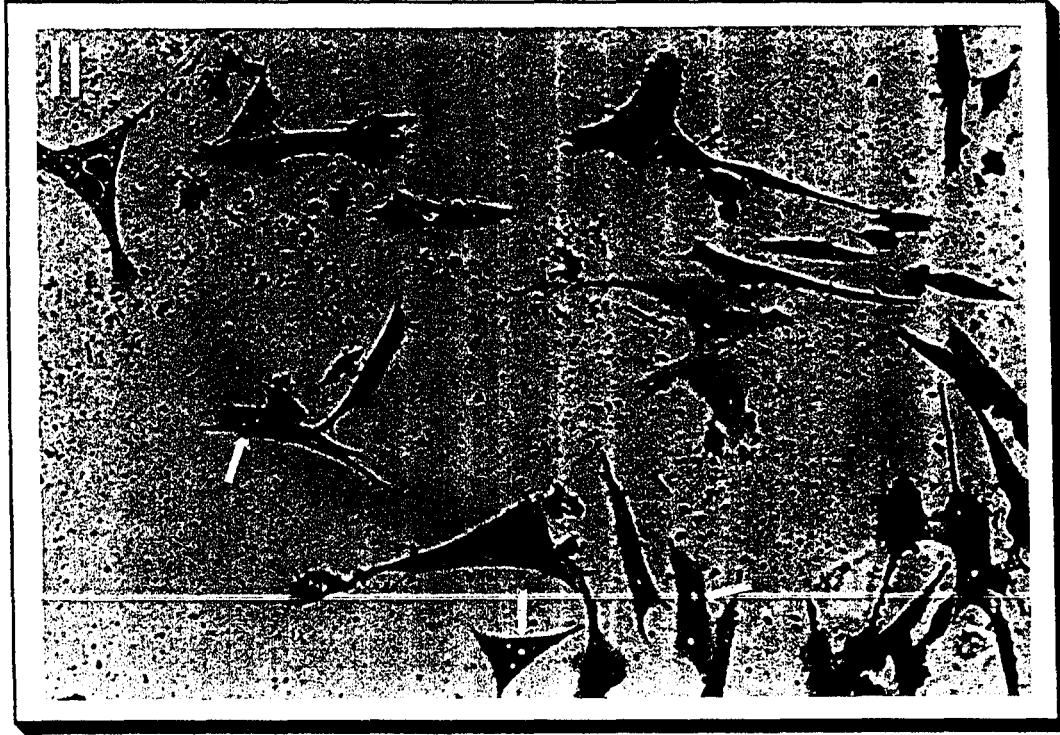
Fotoğraf 8. 5µg/ml *G. lutea* subsp.*symphyandra* ekstresi uygulanan hücrelerin 24. saat sonunda Masson's trichrome tekniği ile boyanması sonucu 800 kez büyütme ile elde edilen görüntüleri.



Fotoğraf 9. 10µg/ml *G. lutea* subsp.*symphyandra* ekstresi uygulanan hücrelerin 24. saat sonunda Masson's trichrome tekniği ile boyanması sonucu 800 kez büyütme ile elde edilen görüntüleri. Kollajen granülleri tek uçlu oklarla, mitozaya giden hücreler çift uçlu oklarla gösterilmiştir.



Fotoğraf 10. 0.4 μ g/ml Gentiopikrozit uygulanan hücrelerin 24. saat sonunda Masson's trichrome tekniği ile boyanması sonucu 800 kez büyütme ile elde edilen görüntüleri. Mitoza giden hücreler çift uçlu oklarla gösterilmiştir.



Fotoğraf 11. 2.0 μ g/ml Gentiopikrozit uygulanan hücrelerin 24. saat sonunda Masson's trichrome tekniği ile boyanması sonucu 800 kez büyütme ile elde edilen görüntüleri. Vakuollü hücreler tek uçlu oklarla gösterilmiştir.



Fotoğraf 12. 0.4 μ g/ml Sverozit uygulanan hücrelerin 24. saat sonunda Masson's trichrome tekniği ile boyanması sonucu 800 kez büyütme ile elde edilen görüntüleri. Kollajen granülleri oklarla gösterilmiştir.



Fotoğraf 13. 2.0 μ g/ml Sverozit uygulanan hücrelerin 24. saat sonunda Masson's trichrome tekniği ile boyanması sonucu 800 kez büyütme ile elde edilen görüntüleri. Kollajen granülleri oklarla gösterilmiştir.



Fotoğraf 14. 0.05 μ g/ml Svertiamarin uygulanan hücrelerin 24. saat sonunda Masson's trichrome tekniği ile boyanması sonucu 800 kez büyütme ile elde edilen görüntüleri. Mitoza giden hücreler çift uçlu oklarla gösterilmiştir.

Fotoğraf 15. 0.25 μ g/ml Svertiamarin uygulanan hücrelerin 24. saat sonunda Masson's trichrome tekniği ile boyanması sonucu 800 kez büyütme ile elde edilen görüntüleri. Mitoza giden hücreler çift uçlu oklarla gösterilmiştir.

biçimde azalma göstermektedir (Tablo 4.16). Hücrelerdeki kollajen granüllerinin sayıları da sverozit ile önemli düzeyde bir artış göstermektedir (Tablo 4.17., Fotoğraf 12-13).

0.4 µg/ml konsantrasyonda uygulanan gentiopikrozit toplam hücre sayılarını arttırırken (Tablo 4.13), bu maddenin iki dozdaki (0.4 ve 2 µg/ml) uygulamasının da mitozaya giden hücre yüzdelerinde herhangi bir değişime neden olmadığı fark edilmiştir (Tablo 4.14., Fotoğraf 10-11). Bu madde, fuziform hücre yüzdelerinde de istatistiksel açıdan önemli bir değişim oluşturmamış, ancak 0.4 µg/ml konsantrasyonda poligonal hücre yüzdelerini önemli düzeyde arttırdığı saptanmıştır (Tablo 4.15). 0.4 µg/ml konsantrasyonda verilen sözkonusu bu madde vakuollü hücre yüzdesini önemli düzeyde azaltırken, her iki konsantrasyonda da uygulanması yuvarlak hücre yüzdelerini istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde etkilememiştir (Tablo 4.16). Yine her iki konsantrasyonda gentiopikrozit ile hücrelerin granül sayılarında bir değişim gözlenmemiştir. Bu madde ile elde edilen ilginç bir gözlem ise 0.4 µg/ml konsantrasyon ile alınan sonuçların 2.0 µg/ml konsantrasyonda tamamen tersine dönmesidir (Fotoğraf 11.)

Tablo 4.13. Toplam hücre sayıları esas alınarak, tavuk embriyonik fibroblastları üzerine dimetil sülfoksit (DMSO), dekspantenol (DP), *Gentiana lutea* subsp. *symphyandra* ekstresi (GL), gentiopikrozit (GP), sverozit (SV) ve svertiamarin'in (SM) etkileri

Gruplar	Hücre sayısı ± St.Hata	Sayılan alan
Kontrol	48.80 ± 1.68	5
DMSO 1 µg/ml	34.00 ± 1.26 ^a	5
DP 1 µg/ml	63.60 ± 0.87 ^b	5
DP 10 µg/ml	73.80 ± 2.35 ^b	5
GL 5 µg/ml	58.60 ± 2.06 ^b	5
GL 10 µg/ml	67.60 ± 2.73 ^b	5
GP 0.4 µg/ml	53.20 ± 2.35 ^b	5
GP 2 µg/ml	38.40 ± 2.11 ^c	5
SV 0.4 µg/ml	40.00 ± 2.95 ^c	5
SV 2 µg/ml	34.40 ± 3.50 ^d	5
SM 0.05 µg/ml	58.40 ± 1.94 ^b	5
SM 0.25 µg/ml	63.80 ± 1.74 ^b	5

^ap<0.005 Kontrolle göre farklılık, ^bp<0.005, ^cp<0.10 ve ^dp>0.10 DMSO'ya göre farklılıklar.

Tablo 4.14 Mitoza giden hücre yüzdeleri esas alınarak, tavuk embriyonik fibroblastları üzerine dimetil sülfoksit (DMSO), dekspantenol (DP), *Gentiana lutea* subsp. *symphyandra* ekstresi (GL), gentiopikrozit (GP), sverozit (SV) ve svertiamarin'in (SM) etkileri

Gruplar	% Hücre \pm St.Hata	Sayılan alan
Kontrol	2.40 \pm 0.73	5
DMSO 1 μ g/ml	2.35 \pm 0.59 ^a	5
DP 1 μ g/ml	8.20 \pm 0.65 ^b	5
DP 10 μ g/ml	8.60 \pm 0.77 ^b	5
GL 5 μ g/ml	4.07 \pm 0.80 ^c	5
GL 10 μ g/ml	6.51 \pm 0.94 ^d	5
GP 0.4 μ g/ml	3.29 \pm 0.56 ^e	5
GP 2 μ g/ml	2.01 \pm 0.98 ^c	5
SV 0.4 μ g/ml	1.48 \pm 1.06 ^e	5
SV 2 μ g/ml	1.58 \pm 1.12 ^e	5
SM 0.05 μ g/ml	5.75 \pm 0.70 ^f	5
SM 0.25 μ g/ml	9.80 \pm 0.77 ^b	5

^ap>0.10 Kontrolle göre farklılık, ^bp<0.005, ^cp<0.10, ^dp<0.01, ^ep>0.10 ve ^fp<0.05 DMSO'ya göre farklılıklar.

Tablo 4.15 Poligonal ve fuziform hücre yüzdeleri esas alınarak, tavuk embriyonik fibroblastları üzerine dimetil sülfoksit (DMSO), dekspantenol (DP), *Gentiana lutea* subsp. *symphyandra* ekstresi (GL), gentiopikrozit (GP), sverozit (SV) ve svertiamarin'in (SM) etkileri (Her deneysel durum için sayılan alan, n=5 dir).

Gruplar	%Poligonal Hücre \pm St. Hata	%Fuziform Hücre \pm St. Hata
Kontrol	57.19 \pm 2.88	30.26 \pm 2.94
DMSO 1 μ g/ml	35.97 \pm 4.06 ^a	17.28 \pm 3.74 ^f
DP 1 μ g/ml	37.84 \pm 2.61 ^b	34.49 \pm 2.47 ^g
DP 10 μ g/ml	52.25 \pm 2.32 ^c	24.51 \pm 2.36 ^e
GL 5 μ g/ml	69.07 \pm 1.99 ^d	20.86 \pm 2.18 ^e
GL 10 μ g/ml	72.50 \pm 1.26 ^d	13.58 \pm 1.93 ^b
GP 0.4 μ g/ml	63.15 \pm 4.21 ^d	17.24 \pm 1.24 ^b
GP 2 μ g/ml	28.84 \pm 3.09 ^e	16.56 \pm 2.18 ^b
SV 0.4 μ g/ml	65.15 \pm 3.97 ^d	13.29 \pm 2.54 ^b
SV 2 μ g/ml	57.28 \pm 5.57 ^c	9.86 \pm 0.72 ^b
SM 0.05 μ g/ml	59.52 \pm 1.62 ^d	18.33 \pm 1.78 ^b
SM 0.25 μ g/ml	63.65 \pm 4.74 ^d	7.73 \pm 1.35 ^c

^ap<0.01 ve ^fp<0.05 Kontrolle göre farklılıklar, ^bp>0.10, ^cp<0.05, ^gp<0.01, ^dp>0.005 ve ^ep<0.10 DMSO'ya göre farklılıklar.

Tablo 4.16. Vakuollü ve yuvarlak hücre yüzdeleri esas alınarak, tavuk embriyonik fibroblastları üzerine dimetil sülfoksit (DMSO), dekspantenol (DP), *Gentiana lutea* subsp. *symphyandra* ekstresi (GL), gentiopikrozit (GP), sverozit (SV) ve svertiamarin'in (SM) etkileri (Her deneysel durum için sayılan alan, n=5 dir).

Gruplar	%Vakuollü Hücre±St. Hata	%Yuvarlak Hücre±St. Hata
Kontrol	4.45 ± 0.95	5.69 ± 0.97
DMSO 1 µg/ml	20.63 ± 2.89 ^a	32.93 ± 3.92 ^a
DP 1 µg/ml	5.02 ± 0.57 ^b	13.81 ± 1.96 ^c
DP 10 µg/ml	8.71 ± 0.43 ^c	7.26 ± 0.84 ^b
GL 5 µg/ml	1.64 ± 0.50 ^b	4.36 ± 1.28 ^b
GL 10 µg/ml	2.70 ± 0.56 ^b	4.51 ± 1.15 ^b
GP 0.4 µg/ml	3.19 ± 1.29 ^b	15.88 ± 3.21 ^b
GP 2 µg/ml	35.04 ± 6.88 ^d	19.72 ± 6.02 ^d
SV 0.4 µg/ml	4.92 ± 2.07 ^b	16.24 ± 2.39 ^e
SV 2 µg/ml	13.60 ± 2.22 ^d	17.77 ± 2.35 ^e
SM 0.05 µg/ml	6.18 ± 0.70 ^b	10.22 ± 1.30 ^b
SM 0.25 µg/ml	8.73 ± 1.63 ^c	10.89 ± 1.04 ^b

^ap<0.005 Kontrolle göre farklılık, ^bp>0.005, ^cp<0.01, ^dp<0.10 ve ^ep<0.05 DMSO'ya göre farklılıklar.

Tablo 4.17. Hücrelerdeki granül sayıları esas alınarak, tavuk embriyonik fibroblastları üzerine dimetil sülfoksit (DMSO), dekspantenol (DP), *Gentiana lutea* subsp. *symphyandra* ekstresi (GL), gentiopikrozit (GP), sverozit (SV) ve svertiamarin'in (SM) etkileri

Gruplar	Granül sayısı ± St.Hata	Sayılan hücre
Kontrol	0.90 ± 0.18	10
DMSO 1 µg/ml	0.50 ± 0.22 ^a	10
DP 1 µg/ml	1.50 ± 0.34 ^b	10
DP 10 µg/ml	2.20 ± 0.42 ^b	10
GL 5 µg/ml	2.30 ± 0.26 ^c	10
GL 10 µg/ml	3.40 ± 0.43 ^c	10
GP 0.4 µg/ml	1.20 ± 0.29 ^d	10
GP 2 µg/ml	1.20 ± 0.25 ^d	10
SV 0.4 µg/ml	4.20 ± 0.36 ^c	10
SV 2 µg/ml	3.30 ± 0.52 ^c	10
SM 0.05 µg/ml	1.60 ± 0.34 ^b	10
SM 0.25 µg/ml	2.20 ± 0.57 ^b	10

^ap>0.10 Kontrolle göre farklılık, ^bp<0.005, ^cp<0.10, ^dp<0.01, ^ep>0.10 ve ^fp<0.05 DMSO'ya göre farklılıklar.

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada yüzyıllardır halk arasında çok çeşitli tedavi edici amaçlarla kullanılan *Gentiana lutea* L. nın Türkiye florasına kayıtlı alt türü *Gentiana lutea* subsp. *symphyandra* (Murb.) Hayek bitkisinin kökleri iridoit ve sekoiridit bileşikleri yönünden incelenmiştir. İzole edilen sekoiridoitlerin yapıları aydınlatılmış, miktarları saptanmış ve farmakolojik etkileri test edilmiştir.

Bu çalışma kapsamında incelenen *Gentiana lutea* subsp. *symphyandra* örnekleri Türkiye Florası'nda kayıtlı olmayan iki yöre olan Kütahya-Domaniç (Üçtepeliler) ve Kütahya-Radar mevkiinden toplanmıştır. Bu türün B2 karesindeki varlığı ilk kez bu çalışma esnasında saptanmıştır.

Gentiana lutea subsp. *symphyandra* Türkiye'de yetiştiği yörelerde halk arasında çok çeşitli isimlerle bilinmektedir. Fakat bu bitki için en yaygın kullanılan isim Sarı Jensiyen veya Sarı Centiyane'dir. Zehirli olmayan bu bitkinin köklerinin sulu infüzyonları (%2-5) tonik, iştah açıcı, ateş düşürücü, sulu dekoksasyonları (%3) ise haricen yara iyi edici olarak kullanılmaktadır (9, 11). Bu nedenle tez kapsamında, çalışılan kökler polar bir çözücü ile masere edilmiş, etanollü ekstraktın suda çözünen kısmı artan polaritedeki çözücüler (hekzan, etilasetat, n-butanol) ile sıvı-sıvı ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Elde edilen etil asetat ve n-butanol ekstreleri ile yapılan İTK analizlerinde iridoitlerin ana bileşikler olduğu görülmüştür. Bu nedenle öncelikle bu bileşiklerin izolasyonu amaçlanmıştır (Yöntem-1).

Yapılan kaynak taramaları sonucunda *G. lutea* ile yapılan çalışmaların önemli bir kısmını iridoit ve sekoiridoitler ile yapılan çalışmaların oluşturduğu görülmüştür. Bu çalışmalar sırasında üç sekoiridoit ile üç ester iridoit olmak üzere altı iridoit izole edilmiştir. İzole edilen bileşikler gentiopikrozit başta olmak üzere svertiamarin ve sverozit aglikonu ile amarogentin, amaropanin ve amarosverin adlı ester iridoitleridir (Tablo 5.1.).

Günümüze kadar *Gentiana* cinsine ait türlerle yapılan çalışmalar tarandığında, *G. lutea*'nın alttürü *G. lutea* subsp. *symphyandra* 'nın rapor edildiği 2 çalışmaya rastlanmıştır. Bu çalışmalardan biri Mollov ve arkadaşları tarafından *Gentiana* türlerinin alkaloitleri üzerinde yapılan bir derleme çalışması olup birçok tür ile birlikte *G. lutea* subsp. *symphyandra* alttüründen izole edilen alkaloitlere yer verilmiştir. Ancak son yıllarda bu konuda yapılan çalışmalarda, uygulanan bazı ekstraksiyon ve izolasyon tekniklerinin, bazı sekoiridoitleri alkaloit yapısına dönüştürdüğü anlaşılmıştır (105, 317). Guo ve arkadaşları İTK ile alkaloit taşımadıkları tesbit edilen dört *Gentiana* bitkisinin köklerini NH₄OH ve CHCl₃ ile muamele ettikten sonra elde ettikleri ekstrenin İTK analizinde alkaloitlere rastlamışlar ve bu bileşiklerin gentianin ve gentianal adı verilen

alkaloitler olduklarını tesbit etmişlerdir. Araştırmacılara göre her iki bileşikte ekstraksiyonda kullanılan NH₄OH etkisi ile gentiopikrozit'ten oluşmuştur (393).

Tablo 5.1. *G. lutea*'dan izole edilmiş iridoit ve sekoiridoitler

Bileşik	Eldedildiği kısım	Kaynak
Amarogentin	kök	93,97,103,108,111,165,169-176,177-179,180-182
	tüm bitki	61,182
Amaropanın (=deoksiamarogentin)	kök	108,175
Amarosverin	kök	108,175
Gentiopikrozit	kök	93,96,97,103,108,111,165,169,170,171,173-177,181,194,195,197
	tüm bitki	61,182
Svertiamarin	kök	93,169,181
	tüm bitki	182
Sverozit	tüm bitki	182,223

Bu çalışma sırasında elde edilen ekstratlar üzerinde yapılan alkaloid teşhis reaksiyonlarına olumlu sonuç alınmamıştır.

G. lutea subsp. *symphyandra*'nın uçucu yağı ile daha önce yaptığımız çalışmada türün köklerinden su distilasyonu ile elde edilen uçucu yağın %25 oranında karvakrol içerdiği rapor edilmiştir (338).

Bu çalışmalar dışında bu alttür ile yapılan başka bir kimyasal çalışmaya rastlanmamıştır.

Tez kapsamında yapılan izolasyon çalışmaları sırasında çeşitli kromatografik ve spektroskopik yöntemlerden yararlanılarak 3 sekoiridoit (GL-1, GL-2 ve GL-3) ile bir iridoit (GL-4) izole edilmiştir.

İzolasyonu yapılan dört bileşiğin yapıları şahit maddelerle karşılaştırılarak ve UV, IR, ¹H-NMR ve ¹³C-NMR gibi spektrofotometrik ve spektroskopik yöntemler kullanılarak aydınlatılmıştır.

n-Butanol ekstresinden majör bileşik olarak izole edilen gentiopikrozit hemen hemen tüm *Gentiana* türlerinin tüm kısımlarında (kök, gövde, yaprak, çiçek) bulunabilen

bir bileşiktir. Bunun yanında svertiamarin ve sverozit ancak belli *Gentiana* türlerinde bulunmaktadır.

İzolasyon çalışmalarımız sırasında n-butanol ekstresinden izole edilen loganik asit *G. lutea* için ilk kez bu çalışmada rapor edilmiştir.

Kaynaklarda *G. lutea*'da var olduğu belirtilen amarogentin, amarosverin ve amaropanine ise çalışmalarımız sırasında rastlanmamıştır. Droğun acı tadından asıl bu bileşiklerin sorumlu olduğu bildirilmiştir (5,38). Bu maddelerin standartlarının temin edilerek *Gentiana lutea*'nın iki alt türünün ekstreleriyle yapılacak paralel bir çalışma ile karşılaştırılması bu bileşiklerin *symphyandra* alt türünde neden bulunmadığı sorusuna ışık tutacaktır.

İzolasyon çalışmalarımız sırasında *Gentiana* türlerinde bulunan iridoitler dışındaki diğer bileşikler açısından, köklerden elde edilen çeşitli polaritedeki ekstreler test edilmiştir. Bu bileşiklerin izolasyonu ve yapı tayinleri ile ilgili çalışmalar sürdürülmektedir.

Tez kapsamında köklerdeki iridoit bileşiklerinin izolasyonu yanında bu bileşiklerin köklerde hangi oranlarda bulunduğu ilişkin kantitatif çalışmalar da yapılmıştır. Bu amaçla köklerden izole edilen saf maddeler standart olarak kullanılıp köklerdeki ve ekstradaki iridoitlerin yüzde miktarları tesbit edilmiştir. Bugüne kadar yapılan çalışmalarda farklı kaynaklardan toplanan *G. lutea* köklerinde gentiopikrozit miktarı %0.1-8.0 arasında rapor edilmiş olup (93,96,103,106,108,109,111,174,177), sverozit ve svertiamarin için *G. septemfida* ile ilgili Türkiye'de yapılmış bir çalışma mevcuttur (192). Bu iki maddenin *G. lutea*'daki miktarlarına ait herhangi bir kantitatif çalışmaya rastlanmamıştır. *G. lutea* subsp. *symphyandra* köklerinden elde edilen metanollü ekstre ile yapılmış analitik YBSK çalışmaları sırasında bir maddenin ekstrede önemli oranda bulunduğu saptanmış ve standart maddeler ile karşılaştırma sonucunda bu maddenin gentiopikrozit olduğu tesbit edilmiştir. Yine YBSK analizleri sırasında gentiopikrozitten önce ve sonra gelen iki madde daha dikkat çekmiş, standart maddeler ile yapılan karşılaştırmalar sonucunda bu maddelerin svertiamarin ve sverozit olduğu anlaşılmıştır.

Gentiana türlerinin ve bu arada ofisinal tür olan *G. lutea*'nın çok çeşitli terapötik amaçlarla kullanıldığı giriş kısmında belirtilmişti. Çalışmamızda bu folklorik kullanımlardan bazılarının bilimsel bir platformda incelenebilmesi için çeşitli deneysel modeller seçilmiş ve bu deneysel modellerde *G. lutea* subsp. *symphyandra*'nın köklerinden etanolla hazırlanan ekstrelerin etkileri incelenmiştir.

Halk arasında *Gentiana* türlerinin depresyon tedavisinde kullanıldığı bildirilmektedir (10,105,191). Depresyon durumunun deneysel incelemesinde ve antidepresan ilaçların farmakolojik taramasında yaygın olarak kullanılan bir yöntem olan yüzme testi (382) kullanılarak bitki ekstresinin antidepresan etkinliğinin olup olmadığı

araştırılmıştır. Sonuçlara göre 250 ve 500 mg/kg dozlarda uygulanan *G. lutea* subsp. *symphyandra* ekstresinin farelerde yüzme süresini uzattığı saptanmıştır. Bu durum, test edilen ekstrenin çok büyük bir olasılıkla antidepresan etkisinin olmadığını göstermektedir, çünkü antidepresan ilaçların hemen hepsi farelerde yüzme performansını azaltmaktadır (381). Hayvanların yorulana kadar yüzdürüldüğü bu test aslında "zorlamalı bir yüzme testidir". Zorlamalı yüzme testleri aynı zamanda antistres (adaptojenik) etkilerin test edilmesi için oluşturulmuş farmakolojik bir tarama yöntemidir. Buna göre antistres (adaptojenik) etkili ilaçlar yüzme süresini uzatmaktadır (379,383). *Gentiana* ekstresinin de bu türden bir uzamaya yol açması, onun antistres (adaptojenik) etkilerinin olduğunu ya da santral sinir sistemini uyarıcı etkisinin olduğunu düşündürmektedir. Burada gözlenen bir başka özellik, etkinin doza bağlı olarak artış göstermemesidir. Bu, ekstre bileşiminde yer alan ve santral sinir sistemini zıt yönde etkileyen bileşiklerin varlığını akla getirmektedir.

Gentiana türlerinin gerek halk tarafından santral sinir sistemine yönelik terapötik kullanım alanları, gerekse yüzme testi sırasında görülen etkiler, *G. lutea* subsp. *symphyandra* ekstresinin santral sinir sisteminde başka etkilerinin olabileceğini, bu arada analjezik etki gösterebileceğini akla getirmektedir. Bu olasılığın test edilmesi için iki ayrı analjezik etki tayin yöntemi kullanılmıştır. Buna göre, *G. lutea* subsp. *symphyandra* 'dan hazırlanan etanolü ekstrenin "Tail-Clip" ve "kuyruk daldırma" yöntemleri kullanılarak analjezik etkileri araştırılmıştır. Bu tür bir aktivitenin niye iki ayrı test yöntemi kullanılarak araştırıldığı sorusu akla gelebilir. Bu sorunun en kısa yanıtı, tek bir test sisteminin yanıltıcı sonuçlar verebilmesi ve analjezik etkinin anlaşılması için yeterli olamamasıdır. Gerçekten de, "Tail-Clip" testinde *Gentiana* ekstresinin doza bağımlı olmayan bir biçimde latent süreyi uzattığı gözlenmiş (Tablo 4.10 ve Şekil 4.10), buna karşılık "kuyruk daldırma" yönteminde aynı dozlarda ve aynı yolla verilen ekstrenin reaksiyon için geçen süreyi doza bağımlı olmayan biçimde kısalttığı görülmüştür (Tablo 4.11 ve Şekil 4.11). Birbiriyle çelişen bu iki gözlem, *G. lutea* subsp. *symphyandra*'dan hazırlanan ekstrenin aslında önemli düzeyde analjezik etkisinin olmadığını düşündürmektedir. Ancak yine de, her iki testte alınan sonuçlar doğrultusunda, ekstrede analjezik ve aljezik etkiler gösteren bileşiklerin bir arada bulunmaları olasılığı gözardı edilmemelidir.

Gentiana türlerinin etnomedikal kullanım alanları arasında yer alan önemli diğer bir özellik de hepatoprotektif etkidir (7,9,350,351). Hepatoprotektif etki, karaciğer hastalıklarının tüm dünya genelinde artış gösterdiği ve bu hastalıkların tedavisi için iyi bir ilacın da henüz bulunamamış olması nedenleriyle son yıllarda büyük önem kazanmıştır. CCl₄ ile karaciğeri tahrip edilen sıçanlardaki safra akışının tek dozda verilen *Gentiana* ekstresi ile düzelmediği anlaşılmıştır. Buna karşın, 3 günlük tedavi sonrasında CCl₄ ün safra akışı üzerindeki olumsuz etkisinin tümüyle ortadan kalktığı, hatta safra akışının

kontrol hayvanlarındakinden bile daha iyi olduğu görülmektedir (Tablo 4.12 ve Şekil 4.12). CCl₄ ile sıçanların karaciğeri tahrip edilerek safra akışının bozulduğu göz önüne alınırsa, bu grup çalışmalarda elde edilen etkinin koleretik etkiden çok hepatoprotektif etki olduğu düşünülebilir. Ancak bu savın kanıtlanması için çok çeşitli tip deneylerin yapılmasına gereksinim vardır, çünkü karaciğer çok fonksiyonlu bir organdır. İlginç olarak bu bitki ekstresi ile uygulanan tedavilerin karaciğerde histolojik olarak gözlenen CCl₄ hasarını düzeltmediği anlaşılmıştır. Safra akışı deneylerinin çarpıcı sonuçları ile çelişen bu gözlemler de ekstrenin hepatoprotektif etki olasılığını azaltmaktadır. Bu iki grup gözlemin sonuçları birleştirildiğinde en azından bitkide yüksek bir koleretik aktivite olduğu ve karaciğer hastalığı geçiren kişilerin bu bitkiyi tedavi amaçlı etnomedikal kullanımlarında kolestazise bağlı belirtilerin hafifleyebileceği görüşü hakim olmaktadır.

Etnomedikal bilgilere göre *Gentiana* türlerinin yara iyileştirici etkileri de bulunmaktadır (9,31). Tavuk embriyonik fibroblast hücre kültürleri kullanılarak tez kapsamında yapılan çalışmalarda bu etnomedikal bilgi geniş ölçüde doğrulanmıştır. Buna göre yara iyileşiminin ikinci fazı olan bağ dokusunun oluşumu ve "remodeling" (sikatrizasyon) bu bitkiden hazırlanan ekstre tarafından etkin biçimde stimüle edilmektedir. Hücre kültürü tekniklerinin az madde ile çalışılabilme avantajı, hücrelerin boyamaya (staining) dayalı morfolojik karakterlerinin belirlediği hücresel parametrelerin yardımı ve standart yara iyileştirici bir bileşik olan dekspantenol (provitamin B5)'ün kullanımı ile *G. lutea* subsp. *symphyandra*'nın köklerinden hazırlanan ekstrenin yara iyileştirici etkisinin mekanizmasına da yaklaşım getirilmiştir. Buna göre, ekstre tıpkı dekspantenol gibi mitotik aktivite artışı ile fibroblastların proliferasyonunu yani çoğalmasını arttırmaktadır. Ayrıca, kollajen yapımını da stimüle ettiği görülmüştür. Bu iki özellik *Gentiana* türlerinin halk arasında bilinen yara iyileştirici etkisini doğrulamaktadır. Ayrıca ekstre, hücre kültüründeki vakuollü hücre ve yuvarlak hücre yüzdelerini de önemli düzeyde azaltmaktadır. Bu durum, test edilen *Gentiana* ekstresinin fibroblast hücrelerinde antitoksik ve "antiaging" (yaşlanmayı geciktirici) aktivitelerinin olduğunu ve cildin yaşlanmasını geciktirdiği düşündürmektedir.

Ekstreden ayrıştırılan üç ana madde olan gentiopikrozit, sverozit ve svertiamarin, hücre kültürü tekniğinin az madde ile çalışılabilme avantajından yararlanılarak test edilmiş ve ekstrede gözlenen etkilerden sorumlu aktif maddeler bulunmaya çalışılmıştır. Bu çalışmaların sonunda ekstre ile fibroblastlar üzerinde gözlenen çeşitli tipteki etkilerin bu üç maddenin sinerjik etkilerinden kaynaklandığı anlaşılmıştır. Buna göre, mitotik aktiviteden esas sorumlu bileşik svertiamarin olarak gözükmektedir, çünkü bu madde kültür ortamındaki toplam hücre sayılarını ve mitozaya giden hücre yüzdelerini önemli düzeyde arttırmaktadır (Tablo 4.13 ve Tablo 4.14). Kollajen yapımındaki artıştan da, esas

olarak sverozit'in sorumlu olduğu düşünülebilir, çünkü fibroblast hücre kültürlerinde en yüksek düzeyde kollajen granülü artışına bu madde neden olmaktadır (Tablo 4.17).

Hücre kültürü çalışmaları sırasında en ilginç sonuç hiç kuşkusuz gentiopikrozit ile elde edilmiştir. Buna göre, gentiopikrozit toplam hücre sayılarını arttırırken, mitozaya giden hücre yüzdeleri etkilememektedir (Tablo 4.13 ve Tablo 4.14). Bu gözlem sözkonusu bu maddenin fibroblast hücrelerinin ölümünü geciktirdiğini akla getirmektedir. Nitekim, vakuollü hücre yüzdeleri de gentiopikrozit ile önemli düzeylerde azalma göstermektedir (Tablo 4.16). Bilindiği gibi vakuoller esas olarak yaşlı ve ölüme giden hücrelerde daha fazla oranda bulunmaktadır. Bu gözlem de gentiopikrozit'in deride ve belki de vücudun başka hücrelerinde yaşlanmayı geciktirici (antiaging) aktivitesinin olduğu düşüncesini desteklemektedir.

Her üç maddenin de yara iyileşiminde önemli rol oynayan fibroblast migrasyonunu arttırdığı anlaşılmaktadır, çünkü her üç madde tıpkı ekstre ve deksantenol gibi fuziform hücre yüzdeleri önemli düzeyde azaltmakta ve poligonal hücre yüzdeleri arttırmaktadır (Tablo 4.15).

Tez kapsamında elde edilen biyolojik aktivite bulgularının tümü birarada değerlendirildiğinde önemli bir husus daha ortaya çıkmaktadır: *G. lutea* subsp. *symphyandra* bitkisinden hazırlanan ekstrenin antistres (adaptojenik) etkinliği vardır. Ekstre, farelerde yüzme süresini uzatmakta, analjezik, koleretik ve fibroblast kültürlerinde yara iyileştirici / antiaging aktiviteler göstermektedir. Bu biyolojik özelliklerin hepsi adaptojenik etki taşıyan ilaçlarda bulunması gereken niteliklerin bir bölümünü tanımlamaktadır (383,394,395). Bitkinin iştah açıcı ve tonik olarak kullanımı (9) ve *Gentiana* türlerinin hastalıkların nekahat dönemleri için tavsiye edilmesi de bu yargıyı güçlendirmektedir.

G. lutea subsp. *symphyandra* köklerinden etanolla hazırlanan ve biyolojik deneylerde test edilen ekstrenin önemli düzeyde akut toksik etkisinin bulunmadığı da Hipokratik (gözlemsel) tarama deneyleri sırasında anlaşılmıştır, çünkü enjeksiyonları izleyen yarım ve bir saatlik gözlem dönemleri ve deneylerin sonrasında ekstre enjekte edilen hayvanların (fare ve sıçanlar) hiç birinde ölüm vakası görülmemiştir.

Çalışmalarımızda incelenen etkiler ve ekstrenin düşük toksisitesi nedeniyle, bitkinin en azından bazı bileşiklerinin yeni ilaç geliştirme çabaları için değer taşıyabileceği düşüncesine varılmıştır. Ancak, ilaç geliştirme çalışmalarının hem çok emek hem de çok zaman alan "uzun-ince bir yol" olduğu düşünülürse, bu bitki ekstresi ile biyolojik etki araştırmaları açısından yapılacak daha çok şey olduğu söylenebilir. Bu yoldaki çalışmalarımız halen sürmektedir.

1988 yılında Türkiye Florasınının 10. cildi yayınlanıncaya kadar Türkiye'de *Gentiana lutea*'nın tek alt türünün (*Gentiana lutea* subsp. *symphyandra* (Murb.) Hayek)

yetiştiği biliniyordu. 1969'da yayınlanan Avrupa Florası'nda Polunin tarafından bildirilen *G. lutea* subsp. *lutea*'nın, Davis ve arkadaşları tarafından Türkiye Florasının son cildinde Batı Anadolu'da İzmir ili sınırları içindeki Bozdağ' da Birgi yöresinin kuzeyinde (B2 karesi) 1600 m civarında yetiştiği belirtilmiştir. Sadece morfolojik olarak anter ve stigmalarının farklılığı ile ayırt edilebilen bu iki alttür (bakınız Bölüm 2.1.1.) yıllardır ülkemizde *G. lutea* olarak biliniyor ve halk arasında tedavi edici amaçlarla kullanılıyordu. Bu nedenle ülkemiz florasında aynı karede bulunan bu iki alttürün çok küçük morfolojik farklılıklara sahip iki kemitip olabileceği düşüncesiyle, diğer alttüründe toplanarak bu çalışmaya paralel bir çalışma ile kimyasal bileşiminin araştırılmasında ve iki alttürün kimyasal olarak farklılıklarının tesbitinde farmakognozik olarak yarar olduğu kanısındayız.

6. KAYNAKLAR

- 1 S.Çelebioğlu, Farmakognozi, İstanbul Üniv.Yay.No.421, İstanbul, sf.410-413 (1949).
- 2 T.Ekim, M.Koyuncu, S.Erik, R.İlarşlan, Türkiye'nin Tehlike Altındaki Nadir ve Endemik Bitkileri, Türkiye Tabiatını Koruma Derneği Yay.No.18, Ankara, sf.181 (1989).
- 3 D.Fritz, A.Bezzi, R.Marocke, Cultivation of *Gentiana lutea* L.in marginal arable areas (e.g.hilly upland regions): Results of the agrimed working group (1986-88) "*G.lutea*", Proceedings of a Workshop in the CEC Programme Agriculture and Agro-Industry, Including Fisheries (AIR), 27-28 April 1993, Brussels, Belgium, Eds.G.Marshall, K.Svoboda, pp.129-139 (1993).
- 4 T.Baytop, Farmakognozi II, İstanbul Üniversitesi Yayınları No:3399, İstanbul, sf.233-234 (1986).
- 5 W.C.Evans, Trease and Evans Pharmacognosy, Baillieri Tindall, London, pp.523-525 (1989).
- 6 P.H.Davis, Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Edinburgh University Press, Edinburgh, Vol.6, p.183 (1978).
- 7 M.Grieve, A Modern Herbal, Penguin, Middlesex, UK, pp.345-351 (1982).
- 8 T. Baytop, Türkçe Bitki Adları Sözlüğü, Atatürk Kültür, Dil ve Tarih yüksek Kurumu Türk Dil Kurumu Yayınları: 578, Ankara, sf.58 (1994).
- 9 T.Baytop, Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi, İstanbul Üniversitesi Yayınları No.3255, Sanal Matbaacılık, İstanbul, sf.194 (1984).
- 10 M.Tabata, G.Honda, E.Sezik, E.Yeşilada, A Report on Traditional Medicine and Medicinal Plants in Turkey (1990,1991), Faculty of Pharmaceutical Sciences Kyoto University, Kyoto, Japan, pp.55,94 (1993).
- 11 K.H.C.Başer, G.Honda, W.Miki, Herb Drugs and Herbalists in Turkey, Studia Culturae Islamicae 27, Institute for the Study of Languages and Cultures of Asia and Africa, Tokyo, pp.29, 30, 114, 117, 214,217 (1986).
- 12 P.H.Davis, R.R.Mill, K.Tan, Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Edinburgh University Press, Edinburgh, Vol.10, p.181 (1988).
- 13 T.G.Tutin, V.H.Heywood, N.A.Burges, D.M.Moore, D.H.Valentine, S.M.Walters, D.A.Webb, Flora of Europaea, Cambridge University Press, Cambridge, Vol.3, p.60 (1972).
- 14 Türk Kodeksi, sf.285 (1940).
- 15 Türk Kodeksi, sf.285 (1948).
- 16 European Pharmacopoeia, Maissonneuve S.A.57-Sainte-Ruffine-France, Vol.1, p.295 (1980)
- 17 British Pharmacopoeia, HMSO Cambridge Univ.Press, p.217 (1973).
- 18 British Pharmacopoeia, HMSO Cambridge Univ.Press, Vol.1, p.209 (1980).
- 19 British Pharmacopoeia, HMSOCambridge Univ.Press, Vol.1, p.267 (1988).
- 20 British Pharmacopoeia, HMSO Cambridge Univ.Press, Vol.1, p.304 (1993).
- 21 Pharmacopée Française, Adrapharm, Paris, X^e edition, p.V2.1.1. (1982).
- 22 Martindale The Extra Pharmacopoeia, The Pharmaceutical Press, London, 30.ed., p.1372.2 (1993).
- 23 The Pharmacopoeia of Japan, The Society of Japanese Pharmacopoeia, Japan (English Edition), 9.ed., p.1009 (1977).
- 24 The Pharmacopoeia of Japan, The Society of Japanese Pharmacopoeia, Japan (English Edition), 10.ed., p.1048 (1982).

- 25 The Pharmacopoeia of Japan, The Society of Japanese Pharmacopoeia, Japan (English Edition), 11.ed., p.1223 (1987).
- 26 Australian Pharmaceutical Formullary and Handbook, The Pharmaceutical Society of Australia, 13.ed.p.316 (1983).
- 27 African Pharmacopoeia I, The Inter African Comittee on Medicinal Plants and African Traditional Medicine, p.126 (1985).
- 28 British National Formulary, British Medical Association and The Pharmaceutical Society of Great Britain, p.292 (1983).
- 29 Formullarium Nationale, Editio Quinta Bis, Algemene Pharmaceutische Bond, Brussel, p.262 (1981).
- 30 K.C.Güven, İlaç ve Kozmetik Formüleri, İstanbul, sf.98 (1985)
- 31 J.Duke, Handbook of Medicinal Plants, CRC Press, Boca Raton, USA, pp.207-208 (1985).
- 32 G.Samuelsson, Drugs of Natural Origin, A Textbook of Pharmacognosy, Swedish Pharmaceutical press, Stockholm, pp.133,147,153 (1992).
- 33 A.Y.Leung, S.Foster, Encyclopedia of Common Natural Ingredients used in Food, Drugs and Cosmetics, J.Wiley and Sons, New York, pp.267-269 (1996).
- 34 J.Bruneton, Pharmacognosy, Phytochemistry, Medicinal Plants, Intercept Ltd., Andover, UK, p.489 (1995).
- 35 V.H.Heywood, Flowering Plants of the World, Oxford University Press, pp.223-224 (1978).
- 36 M.Furlenmeier, Wunderwelt der Heilpflanzen, Rheingauer Verl., Eltville, Germany, p.25 (1978).
- 37 V.H. Diener, Fachlexikon ABC Arzneipflanzen und Drogen,Deutsch, p.256 (1989).
- 38 R.F.Weiss, Herbal Medicine, Beaconsfield Publishers Ltd., England, p.40 (1988)
- 39 I.D.Morton, A.J.Macleod, Food Flavours Part B.The Flavour of Beverages, Elsevier Science Publishers, Amsterdam, p.312 (1986).
- 40 F.S.Garland, The Herb and Spice Book, Frances Lincoln Publishers Ltd., Italy, pp.62,132, 153, 216, 270 (1979).
- 41 E.C.Bate-Smith, T.Swain, The asperulosides and the aucubins, Comparative Phytochemistry, Ed. T.Swain, Academic Press, London, pp.159-172 (1966).
- 42 A.R.Trim, R.Hill, The preparation and properties of aucubin, asperuloside and some related glycosides, *Biochem.J.*, **50**, 310-319 (1952).
- 43 O.Sticher, Properties, significance and preparation of iridoid glucosides, African Medicinal Plants, Proceedings of a Conference, Ed. A.Sofowora, University of Ife Press, Nigeria, pp.140-154 (1979).
- 44 O.Sticher, Iridoide, *Pharm.Acta Helv.*, **44**, 453-463 (1969).
- 46 H.Wagner, P.Wolff, New Natural Products and Plants Drugs with Pharmacological, Biological or Therapeutical Activity, Springer, Verlag, Berlin, Heidelberg, p.145 (1977).
- 45 A.D.Bakuridze, T.D.Dorgaeva, G.G.Patudin, L.I.Brutko, Iridoids in the genus *Gentiana*, *Khim.Prir.Soedin.*, **1**, 3-11 (1987).
- 47 J.B.Harborne, H.Baxter, Phytochemical Dictionary, A Handbook of Bioactive Compounds from Plants, Taylor and Francis Ltd., London, UK, pp.569-578 (1993).
- 48 İ.Çalış, F.Ergun, M.Tanker, İridoitler ve İridoit Heterozitleri, *FABAD, Farm. Bil. Derg.*, **10**, 31-47 (1985).

- 49 O.Sticher, U.Junod-Busch, Die Iridoidglucoside und ihre Isolierung, *Pharm. Acta Helv.*, **50**(5), 127-144 (1975).
- 50 H.Inouye, Iridoids, *Methods in Plant Biochemistry Vol.7, Terpenoids*, Eds.P.M.Dey, J.B.Harborne, Academic Press, London, pp.99-143 (1991).
- 51 H.Inouye, K.Uobe, M.Hirai, Y.Masada, K.Hashimoto, Studies on monoterpene glucosides and related natural products. XXXI. Gas chromatography and gas chromatography-mass spectrometry of iridoid secoiridoid glucosides, *J.Chromatog.*, **118**, 201-216 (1976).
- 52 L.J.El Naggar, J.L.Beal, Iridoids, A review, *J.Nat.Prod.*, **43**(6), 649-707 (1980).
- 53 C.A.Boros, F.R.Stermitz, Iridoids: An updated review, Part I, *J.Nat.Prod.*, **53**(5), 1055-1147 (1990).
- 54 C.A.Boros, F.R.Stermitz, Iridoids: An updated review, Part II, *J.Nat.Prod.*, **54**(5), 1173-1246 (1991).
- 55 G.Buchbauer, Iridoide und ihre pharmazeutische Bedeutung, *Österr.Apoth.Ztng.*, **28**(10), 173-178 (1974).
- 56 H.Inouye, S.Ueda, K.Inoue, Y.Takeda, Studies on monoterpene glucosides and related natural products. XXIII. Biosynthesis of the secoiridoid glucosides, gentiopicroside, morroniside, oleuropein and jasminin, *Chem.Pharm.Bull.*, **22**(3), 676-686 (1974).
- 57 C.J.Coscia, L.Botta, R.Guarnaccia, On the mechanism of iridoid and secoiridoid monoterpene biosynthesis, *Arch.Biochem.Biophys.*, **136**, 498-506 (1970).
- 58 K.H.C. Başer, The Biosynthesis of Indole Alkaloids, *Chim. Acta Tur.*, **8**(2), 133-144 (1980).
- 59 M.Veith, M.Lorenz, W.Boland, H.Simon, K.Dettner, Biosynthesis of iridoid monoterpenes in insects: Defensive secretions from larvae of leaf Beetles (Coleoptera:Chrysomelidae), *Tetrahedron*, **50**(23), 6859-6874 (1994).
- 60 M.Pavan, Insecticide activity of iridomyresin, *Mem.Soc.Entomol.Ital.*, **30**, 107-132 (1951). *CA: 48:896c (1954)*.
- 61 A.D.Bakuridze, T.D.Dargaeva, A.V.Patudin, Determination of total iridoids in *Gentiana lutea* L., *Rastit.Resur.*, **23**(3), 455-458 (1987).
- 62 O.P.Verma, S.Kumar, B.C.Joshi, Iridoid Glycosides- A Review. Part II. Isolation, Characterization and Synthesis, *Herba Pol.*, **26**, 195-200, (1980)
- 63 E.Mpondo-Mpondo, A.J.Chulia, 6'-O-b-D-glucosyl gentiopicroside: a new secoiridoid from *Gentiana asclepiadea*, *Planta Med.*, **54**(2), 185-186 (1988).
- 64 E.Mpondo-Mpondo, J.Garcia, G.Cartier, G.Pellet, 6'-O-β-D-glucosylswertiamarine: a new secoiridoid from *Gentiana alpina*, *Planta Med.*, **56**(3), 334 (1990).
- 65 E.Mpondo-Mpondo, J.Garcia, Secologanin and derivatives from *Gentiana verna*, *Planta Med.*, **56**, 125 (1990).
- 66 E.Mpondo-Mpondo, J.Garcia, Two iridoid glucosides from *Gentiana verna*, *Phytochemistry*, **29**(2), 643-644 (1990).
- 67 E.Mpondo-Mpondo, J.Garcia, New secoiridoid glucosides from *Gentiana verna*, *J.Nat.Prod.*, **52**(5), 1146-1149, (1989).
- 68 E.Mpondo-Mpondo, Secoiridoid glucosides from *Gentiana campestris*, *Phytochemistry*, **29**, 1687-1688 (1990).
- 69 H.Inouye, S.Ueda, Y.Nakamura, K.Inoue, T.Hayano, H.Matsumura, Trifloroside: A new secoiridoid glucoside from *Gentiana triflora* var. *japonica*, *Tetrahedron*, **30**, 571-577 (1974).

- 70 R.X.Tan, J.L.Wolfender, L.X.Zhang, W.G.Ma, N.Fuzatti, A.Marston, K.Hostettmann, Acyl secoiridoids and antifungal constituents from *Gentiana macrophylla*, *Phytochemistry*, **42**(5), 1305-1313 (1996).
- 71 S.Popov, A new iridoid precursor of gentiopicroside, *Phytochemistry*, **10**, 3077-3079 (1971).
- 72 M.Hostettmann-Kaldas, Xanthones, flavones and secoiridoids of american *Gentiana* species, *Phytochemistry*, **20**(3), 443-446 (1981).
- 73 H.Wagner, K.Vasirian, Deoxyamarogentin, New bitter principle from *Gentiana pannonica*, *Phytochemistry*, **13**, 615-6177 (1974).
- 74 S.S.Popov, N.L.Marekov, Gentioflavoside, a new secoiridoid found in some *Gentiana* species, *Chem.Ind.*, **23**, 655 (1971).
- 75 İ.Çalış, T.Ersöz, A.J.Chulia, P.Ruedi, Septemfidoside: A new bis-iridoid diglucoside from *G.septemfida*, *J.Nat.Prod.*, **55**, 385-388 (1992). *CA: 117:86660j* (1992).
- 76 J.Garcia, E.Mpondo-Mpondo, M.Kaouadji, Kingiside and derivative from *Gentiana pyrenaica*, *Phytochemistry*, **29**, 3353-3355, (1990). *CA: 114:98235a* (1991).
- 77 J.Garcia, S.Lavaitte, C.Gey, 8-epikingiside and its vanillate ester isolated from *Gentiana pyrenaica*, *Phytochemistry*, **28**(8), 2199-2201 (1989). *CA: 111:191488h* (1989).
- 78 R.X.Tan, J.-L.Wolfender, W.G.Ma, L.X.Zhang, K.Hostettman, Secoiridoids and antifungal aromatic acids from *Gentiana algida*, *Phytochemistry*, **41**(1), 111-116 (1996).
- 79 J.Garcia, E.Mpondo-Mpondo, G.Cartier, C.Gey, Secoiridoids and phenolic glucoside from *Gentiana pyrenaica*, *J.Nat.Prod.*, **52**(5), 996-1002, (1989). *CA: 112:175532h* (1990).
- 80 J.Garcia, A.J.Chulia, 4'-*p*-coumaroyl iridoid glucosides from *Gentiana pedicellata*, *Planta Med.*, **53**(1), 101-103 (1987).
- 81 J.Garcia, A.J.Chulia, Loganin and new iridoid glycosides in *Gentiana pedicellata*, *Planta Med.*, **52**(4), 327-329 (1986).
- 82 J.Garcia, E.Mpondo-Mpondo, Loganin and new iridoid glycoside from *Gentiana pyrenaica*, *J.Nat.Prod.*, **52**(2), 423-425 (1989).
- 83 M.I.Chung, A new acylated secoiridoid from *Gentiana formosana*, *J.Nat.Prod.*, **56**(6), 982-983 (1993).
- 84 C. Bosup, L.Y. Hwa, Secoiridoid glucosides from the root of *Gentiana uchiyamana* Nakai, *Saengyak Hakhoe Chi*, **13**(17), 1-6 (1982).
- 85 A.J.Chulia, Depressoside, nouvel iridoide isole de *Gentiana depressa*, *J.Nat.Prod.*, **48**(1), 54-58 (1985).
- 86 A.J.Chulia, Depresteroside, a mixed iridoid-secoiridoid structure from *Gentiana depressa*, *Phytochemistry*, **36**(2), 377-382 (1994).
- 87 A.J.Chulia, J.Vercauteren, A.M.Mariotte, Iridoids and flavones from *Gentiana depressa*, *Phytochemistry*, **42**(1), 139-143 (1996).
- 88 Y.Ikeshiro, I.Mase, Y.Tomita, A secoiridoid glucoside from *Gentiana scabra* var.*buergeri*, *Planta Med.*, **56**(1), 101-103 (1990).
- 89 Y.Ikeshiro, Y.Tomita, A new bitter secoiridoid glucoside from *Gentiana scabra* var.*buergeri*, *Planta Med.*, **48**(3), 169-173 (1983).
- 90 W.G.Ma, N.Fuzzati, J.L.Wolfender, K.Hostettmann, C.R.Yang, Rhodenthoside A, a new type of acylated secoiridoid glycoside from *Gentiana rhodantha*, *Helv.Chim.Acta*, **77**(6), 1660-1671 (1994).

- 91 W.G.Ma, N.Fuzzati, J.L.Wolfender, C.R.Yang, K.Hostettmann, Further acylated secoiridoid glucosides from *Gentiana rhodantha*, **Phytochemistry**, **43**(4), 805-810 (1996).
- 92 T.Ersöz, M.Coşkun, İ.Çalış, Isolation and Quantitative Determination of the bitter secoiridoid glucosides from *Gentiana cruciata* L., **J.Fac.Pharm.H.Ü.**, **10**(2), 75-82 (1990).
- 93 L.Verotta, Isolation and HPLC determination of the active principles of *Rosmarinus officinalis* and *Gentiana lutea*, **Fitoterapia**, **56**(1), 25-29 (1985).
- 94 I.H.Suhr, P.Arends, B.Jensen, Gentiolactone, a secoiridoid dilactone from *Gentiana purpurea*, **Phytochemistry**, **17**(1), 135-138 (1978).
- 95 E.Stefanou, K.Hostettmann, A.Jacot-Guillarmod, Secoiridoides et xanthones de *Gentiana burseri*, **Phytochemistry**, **15**(2), 330-331 (1976).
- 96 D.Schaufelberger, K.Hostettmann, High-performance liquid chromatographic analysis of secoiridoid and flavone glycosides in closely related *Gentiana* species, **J.Chromatog.**, **389**(2), 450-455 (1987).
- 97 P.Sancin, V.Rosetti, A.Lombard, M.Buffa, L.Lanzone, Composition of fluid extracts of *Gentiana lutea* L. roots harvested at different altitudes, **Boll.Chim.Farm.**, **124**(1), 7-12 (1985).
- 98 O.Sticher, Thevesid, ein neues iridoid-glucoside aus *Thevetia peruviana* (Pers.) K.Schum. (*Thevetia neriifolia* JUUS.), **Pharm. Acta Helv.**, **46**, 156-166 (1971).
- 99 J.Luo, Z.Lou, TLC-densitometry determination of bitter glycosides in the Chinese drug Longdan, Radix Gentianae and its quality evaluation, **Yaoxue Xuebao**, **21**(1), 40-46 (1986). CA:104:213344t:(1986).
- 100 A.M.Verney, Les amers des Gentianacees, **Riv.Ital.Eppos.**, **55**(4), 232-236 (1973).
- 101 C.J.Coscia, R.Guarnaccia, Biosynthesis of gentiopicroside, a novel monoterpene, **J.Am.Chem.Soc.**, **89**(5), 1280-1281 (1967).
- 102 H.Wagner, K.Vasirian, Zur Chromatographie der Enzianbitterstoffe, **Dtsch.Apoth.Ztg.**, **114**, 1245-1248 (1974).
- 103 Y.Takino, M.Koshioka, M.Kawaguchi, T.Miyahara, H.Tanizawa, Y.Ishii, M.Higashino, T.Hayashi, Quantitative determination of bitter components in Gentianaceous plants. Studies on the evaluation of crude drugs VIII., **Planta Med.**, **38**(4), 344-350 (1980).
- 104 H. Wagner, S. Blant, E.M. Zgainski, *Plant Drug Analysis*, Berlin, p. 136 (1984).
- 105 T.Ersöz, *Gentiana olivieri* Griseb. üzerinde farmakognozik araştırmalar, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara (1988).
- 106 D.Schaufelberger, K.Hostettmann, Analytical and Preparative Reversed-Phase Liquid Chromatography of Secoiridoids glycosides, **J. Chromatog.**, **346**, 396-400 (1985). CA: 103:192552w (1985).
- 107 T.Hayashi, T.Matsuda, K.Yoneda, Studies of crude drugs originated from Gentianaceous plants. VI. Contents of gentiopicroside in various parts of *Gentiana scabra* and accumulation of gentiopicroside in *Gentiana triflora*, **Yakugaku Zasshi**, **96**(5), 679-682 (1976).
- 108 V.Quercia, G.Battaglino, N.Pierini, L.Turchetto, Determination of bitter constituents of *Gentiana* root by HPLC, **J.Chromatog.**, **193**, 163-169 (1980).
- 109 V.Quercia, N.Pierini, G.Battaglino, V.Castagnola, G. Pettinari, Study of bitter constituents of the Gentian Root by HPLC, **Herba Hungarica**, **19**(1), 231-244 (1980).
- 110 A.Marston, K.Hostettmann, Modern separation methods, **Nat.Prod.Rep.**, **8**, 391-413 (1991).
- 111 O.Sticher, B.Meier, Quantitative bestimmung der bitterstoffe in wurzeln von *Gentiana lutea* und *Gentiana purpurea* mit HPLC, **Planta Med.**, **40**, 55-67 (1980).

- 112 D. Schaufelbeger, B.Domon, K.Hostettmann, Desorption / chemical ionization mass spectrometry of bitter glycosides from *Gentiana*, *Planta Med.*, **50**(5), 398-403 (1984).
- 113 S. Damtoft, S. R. Jensen, B.J. Nielsen, ¹³C and ¹H NMR Spectroscopy as a tool in the Configurational analysis of Iridoid Glucosides, *Phytochemistry*, **20**(12), 2717-2732 (1981).
- 114 M.Yamazaki, K.Chiba, T.Mohri, Neutritogenic effect of natural iridoid compounds on PC12h cells and its possible relation to signaling protein kinases, *Biol.Pharm.Bull.*, **19**(6), 791-795 (1996).
- 115 A.Puri, R.P.Saxena, A.Sumati, P.Y.Guru, D.K.Kulshreshtha, K.C.Saxena, B.N.Dhawan, Immunostimulant activity of picroliv, the iridoid glycoside fraction of *Picrorhiza kurroa*, and its protective action against *Leishmania donovani* infection in hamsters.*Planta Med.*, **58**(6), 528-532 (1992).
- 116 H.G.Garg, S.P.S.Bhandari, S.C.Tripathi, G.K.Patnaik, A.Puri, R.Saxena, R.P.Saxena, Antihepatotoxic and immunostimulant properties of iridoid glycosides of *Scrophularia koelzii*, *Phytother.Res.*, **8**(4), 224-228 (1994).
- 117 Y.Oshima, S.Takata, H.Hikino, T.Deyamana, G.Kinoshita, Anticomplementary activity of the constituents of *Eucommia ulmoides* bark, *J.Ethnopharmacol.*, **23**(2-3), 159-164 (1988).
- 118 V.N.Syrov, S.M.Kim, Z.A.Khushbaktova, A.N.Nabiyev, M.Maksudov, Z.Saatov, Effects of iridoids on animal red blood parameters in experimental anemia, *Khim.-Farm.Zh.*, **28**(12), 48-50 (1994).
- 119 K.Ishiguro, M.Yamaki, S.Takagi, Y.Ikeda, K.Kawakami, K.Ito, T.Nose, Studies on iridoid-related compounds. V. Antitumor activity of iridoid derivatives periodate oxidation products, *J.Pharmacobiodyn.*, **11**(2), 131-136 (1988).
- 120 O.Eichler, C.Koch, Über die antiphlogistische, analgetische und spasmolytische Wirksamkeit von Harpagosid, einem Glykosid aus der Wurzel von *Harpagophytum procumbens*, *Arzneim.Forsch.*, **20**, 107-109 (1970).
- 121 R.M.Giner, M.J.Sanz, M.L.Ferrandiz, M.C.Recio, M.C.Terecio, J.L.Rios, Topical anti-inflamaory activity of some iridoids and phenylpropanoids, *Planta Med.*, **57**, 53 (1991).
- 122 M.C.Recio, R.M.Giner, S.Manez, J.L.Rios, Structural considerations on the iridoids as anti-inflammatory agents, *Planta Med.*, **60**, 232-234 (1994).
- 123 G.B.Singh, S.Bani, S.Singh, A.Khajuria, M.L.Sharma, B.P.Gupta, S.K.Banerjee, Antiinflammatory activity of the iridoids kutkin, picroside-1 and Kutkoside from *Picrorhiza kurroa*, *Phytother.Res.*, **7**, 402-407 (1993).
- 124 G.L.Floersheim, A.Bieri, R.Koenig, A.Pletscher, Protection against *Amanita phalloides* by the iridoid glycoside mixture of *Picrorhiza kurroa* (kutkin), *Agents Actions*, **29**(3-4), 386-387 (1990).
- 125 Y.Dwivedi, R.Rastogi, N.K.Garg, B.N.Dhawan, Effects of picroliv the active principle of *Picrorhiza kurro*, on biochemical changes in rat liver poisoned by *Amanita phalloides*, *Chung. Kuo. Yao. Li. Hsueh. Pao.*, **13**(3), 197-200 (1992).
- 126 Y.Dwivedi, R.Rastogi, N.K.Garg, B.N.Dhawan, Effects of picroliv, the active principle of *Picrorhiza kurroa*, on biochemical changes in rat liver poisoned by *Amanita phalloides*, *Acta Pharmacol. Sinica*, **13**, 197-200 (1992).
- 127 R.A.Ansari, B.S.Aswal, R.Chander, B.N.Dhawan, N.K.Garg, N.K.Kapoor, D.K.Kulshreshtha, H.Mehdi, B.N.Mehrotra, G.K.Patnaik, S.K.Sharma, Hepatoprotective activity of kutkin- the iridoid glycoside mixture of *Picrorhiza kurroa*, *Ind. J. Med. Res.*, **87**, 401-404 (1988).
- 128 Y.Dwivedi, R.Rastogi, N.K.Garg, B.N.Dhawan, Picroliv and its components kutkoside and picroside I protect liver against galactosamine-induced damage in rats, *Pharmacol.Toxicol.*, **71**(5), 383-387 (1992).

- 129 R.Chander, N.K.Kapoor, B.N.Dhawan, Picroliv, picroside I and kutkoside from *Picrorhiza kurroa* are scavengers of superoxide anions, *Biochem.Pharmacol.*, **44**(1), 180-183 (1992).
- 130 Y.Dwivedi, R.Rastogi, N.K.Garg, B.N.Dhawan, Protective activity of picroliv against hepatic damage induced by lanthanum chloride in rats, *Med.Sci.Res.*, **19**, 711-713 (1991).
- 131 P.K.S.Visen, B.Shukla, G.K.Patnaik, R.Chandra, V.Singh, N.K.Kapoor, B.N.Dhawan, Hepatoprotective activity of picroliv from *Picrorhiza kurroa* against thioacetamide toxicity on rat hepatocytes, *Phytother.Res.*, **5**, 224-227 (1991).
- 132 Y.Dwivedi, R.Rastogi, S.K.Sharma, N.K.Garg, B.N.Dhawan, Picroliv affords protection against thioacetamide-induced hepatic damage in rats, *Planta Med.*, **57**, 25-28 (1991).
- 133 Y.Dwivedi, R.Rastogi, N.K.Garg, B.N.Dhawan, Prevention of paracetamol-induced hepatic damage in rats by picroliv, the standardized active fraction from *Picrorhiza kurroa*, *Phytother.Res.*, **5**, 115-119 (1991).
- 134 P.K.S.Visen, B.Shukla, S.Kaul, N.K.Kapoor, B.N.Dhawan, Hepatoprotective activity of picroliv, the active principle of *Picrorhiza kurroa*, on rat hepatocytes against paracetamol toxicity, *Drug Dev.Res.*, **22**, 209-212 (1991).
- 135 Y.Dwivedi, R.Rastogi, S.K.Sharma, N.K.Garg, B.N.Dhawan, Picroliv protects against monocrotaline-induced hepatic damage in rats, *Pharmacol.Res.*, **23**, 399-407 (1991).
- 136 Y.Dwivedi, R.Rastogi, R.Chander, S.K.Sharma, N.K.Kapoor, N.K.Garg, B.N.Dhawan, Hepatoprotective activity of picroliv against carbon tetrachloride-induced liver damage in rats, *Ind.J.Med.Res. B*, **92**, 195-200 (1990).
- 137 S.C.Tripathi, G.K.Patnaik, B.N.Dhawan, Hepatoprotective activity of picroliv against alcohol-carbon tetrachloride induced damage in rat, *Ind.J.Pharmacol.*, **23**, 143-148 (1991).
- 138 R.Chander, Y.Dwivedi, R.Rastogi, S.K.Sharma, N.K.Garg, N.K.Kapoor, B.N.Dhawan, : Evaluation of hepatoprotective activity of picroliv (from *Picrorhiza kurroa*) in *Mastomys natalensis* infected with *Plasmodium berghei*, *Ind.J.Med.Res.B*, **92**, 34-37 (1990).
- 139 R.Chander, N.K.Kapoor, B.N.Dhawan, Effect of picroliv on glutathion metabolism in liver and brain of *Mastomys natalensis* infected with *Plasmodium berghei*, *Ind.J.Exp.Biol.*, **30**, 711-714 (1992).
- 140 B.Shukla, P.K.S.Visen, G.K.Patnaik, B.N.Dhawan, Choleric effect of picroliv, the hepatoprotective principle of *Picrorhiza kurroa*, *Planta Med.*, **57**, 29-33 (1991).
- 141 V.Singh, N.K.Kapoor, B.N.Dhawan, Effect of picroliv on protein and nucleic acid synthesis, *Ind.J.Exp.Biol.*, **30**, 68-69 (1992).
- 142 R.Mehrotra, R.Rawat, D.K.Kulshreshtha, G.K.Patnaik, B.N.Dhawan, *In vitro* studies on the effect of certain natural products against hepatitis B virus. *Ind.J.Med.Res.B*, **92**, 133-138 (1990).
- 143 M.Miyagoshi, S.Amagaya, Y.Ogihara, Choleric actions of iridoid compounds, *J.Pharmacobiodyn.*, **11**(3), 186-190 (1988).
- 144 L.Jahodar, I.Leifertova, M.Lisa, Investigation of iridoid substances in *Arctostaphylos uva-ursi*, *Pharmazie*, **33**(8), 536-537 (1978).
- 145 S.Takeda, K.Yuasa, T.Endo, M.Aburaba, Pharmacological studies on iridoid compounds.II.Relationship between structures and choleric actions of iridoid compound, *J.Pharmacobiodyn.*, **3**(10), 485-492 (1980).
- 146 I.M.Chung, J.C.Ryu, Y.C.Park, H.S.Yun; K.H.Yang, Protective activities of aucubin against carbon tetrachloride-induced liver damage in mice, *Drug Chem.Toxicol.*, **6**(5), 443-453 (1983).
- 147 L.M.Chang, H.S.Yun, Y.S.Kim, J.W.Ahn, Aucubin: potential antidote for alpha-amanitin poisoning, *J.Toxicol.Clin.Toxicol.*, **22**(1), 77-85 (1984).

- 148 N.J.Suh, C.K.Shim, M.H.Lee, S.K.Kim, I.M.Chang, Pharmacokinetic study of an iridoid glucoside: aucubin, *Pharm.Res.*, **8**(8), 1059-1063 (1991).
- 149 Y.Kondo, F.Takano, H.Hojo, Suppression of chemically and immunologically induced hepatic injuries by gentiopicoside in mice, *Planta Med.*, **60**, 414-416 (1994).
- 150 Y.Mizoguchi, C.Sakagami, Y.Ichikawa, K.Kobayashi, Choleric effects of α -iridodiol on experimentally induced intrahepatic cholestasis, *Planta Med.*, **58**(5), 394-397 (1992).
- 151 Y.Shinbo, K.Nakajima, H.Ishiwatari, R.Yamazaki, H.Ito, Pharmaceuticals containing plant secoiridoids for treatment of gastritis and ulser, Jpn. Kokkai Tokkyo Koho JP 63,190,827 [88,190,827] (Cl.A61K31/70), 08 Aug 1988, Appl. 87/24,248, 03 Feb 1987; 7pp- CA: 111: 28535n (1989).
- 152 H.Inouye, Y.Takeda, K.Uobe, K.Yamauchi, N.Yabuuchi, S.S.Kuwano, Purgative activities of iridoid glucosides, *Planta Med.*, **25**, 285-288 (1974).
- 153 H.Kohda, S.Tanaka, Y.Yamaoka, S.Yahara, T.Nohara, T.Tanimoto, A.Tanaka, Studies on lens-aldose-reductase inhibitor in medicinal plants.II.Active constituents of *Monochasma savatieri* Franch.et Maxim., *Chem.Pharm.Bull.*, **37**(11), 3153-3154 (1989).
- 154 L.B.Kardono, S.Tsauri, K.Padmawinata, J.M.Pezzuto, A.D.Kinghorn, Cytotoxic constituents of the bark of *Plumeria rubra* collected in Indonesia, *J.Nat.Prod.*, **53**(6), 1447-1455 (1990).
- 155 K.Ishiguro, M.Yamaki, S.Takagi, Studies on iridoid-related compounds.II.The structure and antimicrobial activity of aglucones of galioside and gardenoside, *J.Nat.Prod.*, **46**(4), 532-536 (1983).
- 156 P.J.Houghton, Ethnopharmacology of some *Buddleja* species, *J.Ethnopharmacol.*, **11**(3), 293-308 (1984).
- 157 W.G.Van Der Sluis, J.M.Van Der Nat, R.P.Labadie, Thin-layer chromatographic bioassay of iridoid and secoiridoid glucosides with a fungitoxic aglucona moiety using B-glucosidase and the fungus *Penicillium expansum* as a test organism, *J.Chromatog.*, **259**, 522-526 (1983).
- 158 L.Rahalison, M.Hamburger, M.Monod, E.Frenk, K.Hostettmann, Antifungal tests in phytochemical investigations: Comparison of bioautographic methods using phytopathogenic and human pathogenic fungi., *Planta Med.*, **60**, 41-44 (1994)
- 159 J.S.Tandon, V.Srivastava, P.Y.Guru, Iridoids: a new class of leishmanicidal agents from *Nyctanthes arbortristis*., *J.Nat.Prod.*, **54**(4), 1102-1104 (1991).
- 160 T.Mukherjee, Antimalarial herbal drugs.A rewiev, *Fitoterapia*, **62**(3), 197-204 (1991).
- 161 G.T.Tan, J.M.Pezzuto, A.D.Kinghorn, S.H.Hughes, Evaluation of natural products as inhibitors human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) reverse transcriptase, *J.Nat.Prod.*, **54**(1), 143-145 (1991).
- 162 I.M.Chang, Iridoids for treatment of hepatitis B virus (HBV) infections, Ger Offen.DE 4,323,567 (Cl.A61K31/70), 20 Jan 1994, KR Appl.9,212,600, 15 Jul 1992. CA: 120:208577x (1994).
- 163 T.Yamano, Y.Tsujimoto, T.Noda, M.Shimizu, M.Ohmori, S.Morita, A.Yamada, Hepatotoxicity of *gardenia* yellow color in rats, *Toxicol.Lett.*, **44**(1-2), 177-182 (1988).
- 164 T.Nozaka, F.Watanabe, M.Ishino, I.Morimoto, H.Kondoh, K.Koyama, S.Natori, A mutagenic new iridoid in the water extract of *Catalpae fructus*. *Chem.Pharm.Bull.*, **37**(10), 2838-2840 (1989).
- 165 N.Menkovic, J.Ralic, K.Savin, R.Ivanic, Comparative analysis of some wild *Gentiana* species, *Farm.Glas.*, **42**(5), 127-135 (1986).
- 166 J.P.Luo, Z.C.Lou, Thin layer chromatographic identification of the secoiridoid glucosides in certain *Gentiana* species used as the chinese drug longdan, *Anal.Drug*, **5**(1), 7-10 (1985)

- 167 J.S.Zhang, Z.X.Tian, Z.C.Lou, Simultaneous determination of five bitter secoiridoid glycosides in nine chinese *Gentiana* species used as technics drug long dano by High Performance Liquid Chromatography, *Yao Hsueh Hsueh Pao*, 26(11), 864-870 (1991)
- 168 J.Luo, Z.Lou, Silica gel thin layer and polyamide sheet chromatographic identification of the secoiridoid glucosides in the Chinese traditional medicine Long Dan, *Yaowu Penxi Zashi*, 5(1), 7-10 (1985). CA: 102:172481y (1985).
- 169 Y.Hatakeyama, N.Homma, S.Henmi, H.Mitsuhashi, N.Yoshida, J.Mizutani, Cultivation of medicinal plants.cultivation and preparation of *Gentiana lutea*, *Shoyakugaku Zasshi*, 26(2) 75-83 (1972).
- 170 C.Franz, G.Franz, D.Fritz, J.Schultze, Seasonal variations in the content of bitter substances and soluble sugars in *Gentiana lutea* L., *Sci.Pharm.*, 53, 31-38 (1985).
- 171 J.Schultze, C.Franz, Sugars, bitter substances and essential oils of *Gentiana lutea* L.in dependence of ecotype, plant age and stage of development, *Herba Hung.*, 18(3), 311-315 (1979).
- 172 A.Krupinska, E.Segiet-Kujawa, L.Skrypczak, M.Llnain-Wojtaszel, Quantitative determination of amarogentin by TLC-densitometry, *Sci.Pharm.*, 59, 135-138 (1991).
- 173 A.Lombard, V.Rossetti, M.Buffa, E.Borgarello, P.Sancin, Evaluation of fluid extracts of *Gentiana lutea* L., *Acta Pharm.Jugosl.*, 31, 39-45 (1981).
- 174 V.Rossetti, A.Lombard, P.Sancin, M.Buffa, E.Borgarello, Seasonal variations in components of dried *Gentiana lutea* roots from the western alpine region, *Q.J.Crude Drug Res.*, 19, 37-46 (1981)
- 175 V.Rossetti, A.Lombard, P.Sangin, M.Buffa, A.Menghini, Composition of *Gentiana lutea* L.dried roots harvested at different altitudes, *Planta Med.Phytother.*, 18(1), 15-23 (1984).
- 176 S.Heymons, J.Hölzl, H.C.Weber, Va-Mycorrhiza in *Gentiana lutea*, the importance of cultivation and influence on constituents, *Planta Med.*, 6, 510 (1986).
- 177 P.Sancin, A.Lombard, V.Rossetti, M.Buffa, E.Borgearella, Evaluation of fluid extracts of *Gentiana lutea* L., *Acta Pharm.Jugosyl.*, 31(1), 39-45 (1981). CA: 094:188686w (1981).
- 178 Ch.Franz, D.Fritz, Experimental cultivation of *Gentiana lutea* and the components of some ecotypes, *Planta Med.*, 28(3), 289-300 (1976).
- 179 H.Wagner, K.Munzing-Vasirian, Chemical evaluation of Gentian drugs, *Dtsch.Apoth.Ztg.*, 115, 1233 (1975).
- 180 T.Hayashi, T.Yamagishi, Quantitative determination of amarogentin in *Gentianae Radix* by High Performance Liquid Chromatography. *Hokkaidoritsu Eisei Kenkyushoho* 36, 83-84 (1986). CA: 106:162650w (1986).
- 181 J.Bricout, Identification et dosage des constituants amers des racines de *Gentiana lutea* L., *Phytochemistry*, 13, 2819-2823 (1974).
- 182 H.Inouye, Y.Nakamura, Studies on monoterpene glucosides and related natural products. XVI. Occurrence of secoiridoid glucosides in gentianaceous plants, Especially on the genera *Gentiana* and *Swertia.*, *Yakugaku Zasshi*, 91, 755-759 (1971).
- 183 O.Sticher, B.Meier, Qualitative und quantitative analyse der secoiridoidglykoside von Radix *Gentianae* mit HPLC, *Planta Med.*, 32, 53 (1977).
- 184 S.Nyiredy, C.A.J.Erdermeier, K.Dallenbach-Toelke, K.Nyiredy-Mikita, O.Sticher, Preparative on-line OPLC a new separation technique for natural products, *J.Nat.Prod.*, 49(5), 885-891 (1986).
- 185 M.Wesolowska, M.Skrzypczak, L.R.Dudzinska, *In vitro* cultures of *Gentiana* species plants, *Acta Pol.Pharm.*, 42(1), 79-83 (1985). CA: 103:120032d (1985).

- 186 A.J.Chulia, J.Vercauteren, M.Kaouadji, Depresteroside, a mixed iridoid-secoiridoid structure from *Gentiana depressa*, *Phytochemistry*, **36**(2), 377-382 (1994).
- 187 Z.Yang, Y.Zang, Z.Yang, C.Yang., Determination of contents of gentiopicroside in various parts of *G.cephantha* Fr., *Baiqiu'en Yike Daxue Xuebao*, **11**(5), 488-491 (1985). *CA: 105: 168964c* (1986).
- 188 Y.-J.Zhang, C.-R.Yang, Two triterpenoids from *Gentiana tibetica*, *Phytochemistry*, **36**(4), 997-999 (1994).
- 189 E.Skrzypczak-Pietraszek, L.Skrzypczak, M.Wesolowska, *Gentiana tibetica* King from tissue culture, *Sci.Pharm.*, **61**, 287-296 (1993).
- 190 J.Luo, Z.Lou, H.Yao, TLC-densitometry determination of bitter glycosides in the chinese drug longdan, *Radix Gentianae*, and its quality evaluation, *Hsueh Pao*, **21**(1), 40-46 (1986).
- 191 D.Schaufelberger, K.Hostettmann, Chemistry and pharmacology of *Gentiana lactea*, *Planta Med.*, **54**(3), 219-221 (1988).
- 192 T.Ersöz, İ.Çalış, J.Garcia, A.J.Chulia, Constituents of *Gentiana olivieri*, *Fitoterapia*, **62**(2), 184-185 (1991)
- 193 T.Hayashi, M.Higashino, Studies on crude drugs originated from Gentianaceous plants.III.The bitter principle of the Chinese crude drug Qinjiao and its content , *Yakugaku Zasshi*, **96**(3), 356-361 (1976).
- 194 F.Korte, Über glykosidische Pflanzeninhaltsstoffe. VI.Mitteil. Die Bitterstoffe der Gentianacen. *Chem.Ber.*, **87**(9), 1357-1363 (1954).
- 195 M.Bridel, Variation in the composition of *Gentian* root during a year's growth, *J.Pharm.Chim.*, **3**, 294-305 (1911). *CA: 5:3494-5* (1911).
- 196 M.Vanhaelen, R.Vanhaelen-Fastre, Quantitative determination of biologically active constituents in medicinal plant crude extracts by TLC-densitometry, *J.Chromatog.*, **281**, 263-271 (1983).
- 197 F.Keller, Gentiopicroside is located in the vacuoles of root protoplasts of *Gentiana lutea*, *J.Plant Physiol*, **122**(5), 473-476 (1986).
- 198 T.Hayashi, M.Kubo, Antiinflammatory Secoiridoids, *Jpn Kokai Tokkyo Koho* 79 26,323 (Cl.A61K31/70), 27 Feb 1979, *Appl. 77/89,951*, 26 Jul 1977: 7 pp- (1979). *CA: 91:9485y* (1979)
- 199 Y.Wang, Z.Lou, TLC identification of Chinese traditional drug "Qinjiu", roots of *G.macrophylla* and allied spices, *Yaowu Fenxi Zazhi*, **8**(6), 348-349 (1988). *CA: 110:160443a* (1989).
- 200 Y.Kondo, K.Yoshida, Constituents of roots of *G.macrophylla*, *Shoyakugaku Zasshi*, **47**(3), 942-943 (1993). *CA: 120:294090n* (1994).
- 201 Y.Liu, X.Li, Y.Liu, C.Yang, Iridoid Glycosides from *G.macrophylla*, *Yunnan Zhiwu Yanjiu*, **16**(1), 85-89 (1994). *CA: 121: 175127r* (1994).
- 202 J.Lou, Z.Lou, Separation and identification of gentiopicroside, swertiamarin and sweroside in the traditional drug longdan *R.Gentianae*, *Zhongcaoyao*, **17**(4), 145-149 (1986) *CA: 105: 85019x* (1986).
- 203 Z.G.Zhang, Gentiopicroside productuon from roots cultures of *Gentiana manshurica*, *Acta Pharm.Sinica*, **19**(1), 66-70 (1993).
- 204 T.Hayashi, Studies on crude drugs originated from Gentianaceous plants.I.Determination of gentiopicroside, the bitter principle of *Gentiana Radix* and *Gentiana scabrae Radix*, *Yakugaku Zasshi*, **96**(3), 356-361 (1976).
- 205 B.S.Chung, Y.H.Lee, Secoiridoids Glucosides from the root *Gentiana uchiyamana* Nakai, *Korean J.Pharmacog.*, **13**, 1-6 (1982).

- 206 N.Sun, C.Xia, Chemical constituents in *G.regescens*, *Zhongyao Tongbao* 9(1), 33-34 (1984). CA: 100:171576e (1984)
- 207 T. Hayashi, M. Higashino, Studies on crude drugs originated from Gentianaceous Plants. IV. Discrimination on *Swertia Herba* from some other bitter crude drugs, *Yakugaku Zasshi*, 96, 366-369 (1976).
- 208 L.Yunru, X.Yang, A.Shao, Comparison of gentiopicroside contents in the root and its preparation of *Gentiana scabra* collected in different seasons of different years of cultivation., *Zhongyao Tongbao*, 11(5), 298-300 (1986). CA: 105:39405x (1986).
- 209 Q.Song, K.Gao, K.Fu, Isolation and identification of gentiopicroside from the roots *G.triflora* Pall., *Zhangyao Tongbao*, 12(12), 740-741 (1987). CA: 108:156320p (1987).
- 210 T.Hayashi, C.Kosiro, Studies on crude drugs from *Gentiana scabra*, V. Determination of *Gentianae Radix* and *Swertiae Herba* dispensed in bitter peptic preparations I.J.P.VIII and stability of bitter principle *Yakuzaigaku*, 36, 95-100 (1976).
- 211 M.Massias, J.Carbonnier, D.Molho, Xanthonones and C-glucosylflavones from *Gentiana corymbifera*, *Phytochemistry*, 20(7), 1577-1578 (1981).
- 212 T.Do, S.Popov, N.Marekov, A.Trifonov, Iridoids from Gentianaceae plants growing Bulgaria, *Planta Med.*, 53(6), 580 (1987).
- 213 B.S.Chung, Y.H.Kim, H.K.Lee, J.W.Kim, J.C.Kim, Y.H.Lee, W.K.Yoo, Studies on the iridoid glucosides. Proceedings of Fifth Asian Symposium on Medicinal Plants and Spices, 20-24 August 1984, Seoul, Korea, Eds. B.H.Han, D.S.Han, Y.N.Han, W.S.Woo, vol.5, pp.385-396 (1984).
- 214 K.Hostettmann, M.Hostettmann, O.Sticher, Preparative scale separation of xanthonones and iridoid glycosides by Droplet Counter-Current Chromatography, *Helv.Chim.Acta*, 62(7), 2079-2085 (1979).
- 215 I.S.Yang, W.Wang, M.Huang, Z.Li, Chemical constituents of Long-Dan (*Gentiana scabra*). *Chung Ts'ao Yao* 12, 7-8 (1981).
- 216 T.Sarg, O.Salama, M.El-Domity, M.Bishr, S.S.Mansour, E.Weight, Iridoid glycosides from *G.kurroo* Royle, Alexandria *J.Pharm.Sci.*, 5(1), 82-86 (1991). CA: 115: 228366c (1991).
- 217 E.Mpondo-Mpondo, J.Garcia, Iridoids from *Gentiana verna*, *Phytochemistry*, 28(9), 2503-2504 (1989).
- 218 A.J.Chulia, J.Garcia, E.M.Mpondo, A.M.Mariotte, New glucosides in *Gentiana pedicellata* Wall., *Bull.Liaison-Groupe Polyphenols*, 13, 50-55 (1986). CA: 108:52773x (1988).
- 219 Y.Takeda, H.Inouye, Studies on monoterpene glycosides and related natural products. XXX. The fate of the C-8 proton of 7-deoxyloganic acid in the biosynthesis of secoiridoid glycosides, *Chem.Pharm.Bull.*, 24, 79-84 (1976).
- 220 H.Inouye, S.Ueda, Y.Yoshio, Monoterpene glycosides and related natural products. XIII. Incorporation of [10-¹⁴C]-sweroside in to gentiopicroside and the alkaloids in *Vinca* and *Cincona* plants, *Chem. Pharm. Bull.*, 19(3), 587-594 (1971). CA:75:1362t(1971).
- 221 E.Mpondo-Mpondo, J.Garcia, A.J.Chulia, A.M.Mariotte, A new C₁₃ glycoside from *Gentiana pneumonanthe*, *Planta Med.*, 55, 492 (1990).
- 222 A.J.Chulia, E.Mpondo-Mpondo, R.Nardin, Pneumonanthiside. The first 3-oxo- α -indol glycoside from *Gentiana pneumonanthe*, *J.Nat.Prod.*, 59(7), 2596-2561 (1987).
- 223 J.Tsumura, Choloretic Sweroside Aglycone, Patent-Japan Kokai Tokkyo Koho-81 92,212:4pp- (1981). Jpn. Kokkai Tokkyo Koho 81 92,212(CI.A61K31/365), 25 Jul 1981, Appl. 79/169,334, 27 Dec 1979; 4pp. CA: 95:192375g (1981).

- 224 H.Inouye, S.Ueda, Y.Nakamura, Zur biosynthese der bitteren glucoside der Gentianazeen, des gentiopicrosids, des swertiamarins und des swerosids, *Tetrahedron Lett.*, **33**, 3221-3226 (1967).
- 225 D.Schaufelberger, B.Domon, K.Hostettmann, Desorbition/Chemical Ionization Mass Spectrometry of bitter glycosides from *Gentiana*, *Planta Med.*, **50**(5), 398-403 (1984).
- 226 M.C.Recio, I.Slacanin, M.Hostettmann, A.Marston, K.Hostettmann, Phytochemical investigation of species of the genera *Gentiana* and *Halenia* from South America, *Bull.Liaison-Groupe Polyphenols*, **15**, 215-218 (1990). *CA: 115:155036h* (1991).
- 227 K.R.Markham, Gentian pigments-III, Penta-oxygenated xanthenes from *Gentiana bellidifolia*, *Tetrahedron*, **21**, 3687-3695 (1965).
- 228 K.R.Markham, Gentian pigments-II, Penta-oxygenated xanthenes from *Gentiana bellidifolia*, *Tetrahedron*, **21**, 1449-1452 (1965).
- 229 P.Rivaille, D.Raulais, Xanthenes and other constituents of *Gentiana* and *Swertia*. Presence of a new triterpene in *Gentiana verna.*, *C.R.Acad.Sci.*, 269D, 1121-1124 (1969).
- 230 K.R.Markham, Gentian Pigments I. Xanthenes from *Gentiana bellidifolia*, *Tetrahedron*, **20**, 991-997 (1964).
- 231 A.V.Butayarov, E.Kh.Batirov, M.M.Tadzhibaev, V.M.Malikov, Xanthenes from *Gentiana algida* and *Gentiana karelinii*, *Khim.Prir.Soedin.*, **3**, 469-470 (1993).
- 232 A.V.Butayarov, E.Kh.Batirov, M.M.Tadzhibaev, E.E.Ibragimov, V.M.Malikov, Xanthenes from *Gentiana algida* and *Gentiana karelinii*, *Khim.Prir.Soedin.*, **6**, 901-902 (1993).
- 233 J.Carbonier, M.Massias, D.Molko, Taxonomic importance of the substitution scheme of xanthenes in *Gentiana* L., *Bull.Mus.Natl.Hist.Nat.Sci.Phys.Chim.*, **13**, 23-40 (1977). *CA: 89:160098d* (1978).
- 234 J.L.Wolfender, Liquid chromatographic-thermospray mass spectrometric analysis of crude plant extracts containing phenolic and terpene glycosides, *J.Chromatog.*, **647**, 183-190 (1993).
- 235 K.Hostettmann, On-Line HPLC. UV-visible spectroscopy of phenolic compounds in plant extracts using post-column derivatization, *J.Chromatog.*, **283**, 137-147 (1984).
- 236 I.Carpenter, Xanthenes in higher plants: Biogenetic proposals and a chemotaxonomic survey, *Phytochemistry*, **8**, 2013-2026 (1969).
- 237 M.Kaldas, Phytochemistry of the genus *Gentiana*.IX.Flavonic and xanthonic compounds in *Gentiana campestris* leaves.I., *Helv.Chim.Acta*, **57**(8), 2557-2561 (1974).
- 238 K.Hostettmann, A.Jacot-Guillarmod, Application de la chromatographie liquide sous haute pression et de la spectrographie de mass a l'identification de xanthenes, *J.Chromatog.*, **124**, 381-387 (1976).
- 239 O.Pureb, Ya.Zhamyansan, Kh.Oyuun, Xanthenes and flavonoids of *Gentiana barbata* . *Khim.Prir.Soedin.*, **2**, 284-285 (1991).
- 240 M.Massias, J.Carbonnier, D.Molho, Xanthenes trisubstituees en 1-3-7 de *Gentiana ciliata* L.Separation chromatographique de deux isomeres: gentisin et isogentisine, *Bull.Mus.Natl.Hist.Nat.*, **3**, 45-51 (1976).
- 241 M.Massias, J.Carbonnier, D.Molho, Chemotaxonomy of gentianopsis: Xanthenes, C-glycosylflavonoids and carbohydrates, *Biochem.Syst.Ecol.*, **10**, 319-327 (1982).
- 242 G.G.Nikolaeva, V.I.Glyzin, D.A.Fesenko, A.V.Patudin, Xanthone compounds of *G.barbata*, *Khim.Prir.Soedin.*, **2**, 255 (1980).
- 243 G.G.Nikolaeva, V.I.Glyzin, A.V.Patudin, D.A.Fesenko, *Gentiana barbata* xanthoglycosides.II., *Khim.Prir.Soedin.*, **3**, 392-393 (1981).

- 244 K.Yamauchi, Biological and chemical assay of geniposide, a new laxative in the fruit of *Gardenia.*, *Planta Med.*, **25**, 219-225 (1974).
- 245 K.Hostettmann, R.Tabacci, A.Jacot-Guillarmod, Contribution a la phytochimie du genre *Gentiana*. VI.Etude des xanthonnes dans les feuilles de *Gentiana bavarica* L., *Helv.Chim.Acta*, **57**(2), 294-301 (1974).
- 246 K.Hostettmann, A.Jacot-Guillarmod, Phytochemistry of *Gentiana.* VII.Flavonic and xanthonic compounds in *G.verna* leaves.I., *Helv.Chim.Acta*, **57**(4), 1155-1158 (1974).
- 247 M.Goetz, F.Maniliho, A.Jacot-Guillarmod, Study of the flavonic and xanthonic compounds in the leaves of *Gentiana ciliata* L., *Helv.Chim.Acta*, **61**(5), 1549-1554 (1978).
- 248 G.G.Nikolaeva, V.I.Glyzin, A.V.Patudin, D.A.Fesenko, Xanthone compounds of *Gentiana barbata*, *Khim.Prir.Soedin.*, **6**, 841-842 (1980).
- 249 K.Hostettmann, H.Wagner, Xanthone Glycosides, *Phytochemistry*, **16** : 821-829 (1977).
- 250 K.Hostettmann, R.Tabacci, A.Jacot-Guillarmod, Etudes des xanthonnes dans les feuilles de *Gentiana bavarica* L.Communication preliminaire, *Chimia*, **27**, 215 (1973).
- 251 K.Hostettmann, A.Jacot-Guillarmod, V.M.Chari, Contribution to the phytochemistry of genus *Gentiana*. XVIII.Structure of gentiabavarutinoside, a new acylated xanthone glycoside from *Gentiana bavarica* L., *Helv.Chim.Acta*, **59**(7), 2592-2595 (1976).CA: 86: 2373y (1977).
- 252 V.Plouvier, J.Massicot, P.Rivaille, On gentiacaulein, a new tetra-substituted xanthone, aglycone of gentiacauloside of *Gentiana acaulis* L., *C.R.Acad.Sci.D*, **264**(9), 1219-1222 (1964).
- 253 M.Guyot, J.Massicot, P.Rivaille, Nouvelles xanthonnes extraites de *Gentiana kochiana* Perr.et Song., *C.R.Acad.Sc.Paris G*, **267**, 423-425 (1968).
- 254 A.M.Verney, P.Ozenda, A.M.Debelmas, Stability of xanthonnes in the rhizomes of *Gentiana lutea* during different stages of vegetation and different altitudes, *Bull.Trav.Soc.Pharm.Lyon*, **16**(1), 3-15 (1971). CA: 077:85683n (1972).
- 255 A.M.Verney, A.M.Debelmas, Xanthonnes of *Gentiana lutea*, *G.purpurea*, *G.punctata* and *G.pannonica.*, *Ann.Pharm.Fr.*, **31**(6), 415-420 (1973). CA: 080:68378m (1974).
- 256 G.M.Kitanov, D.T.Van, Iv.Asenov, Chemical composition of the roots of *Gentiana asclepiadea*, *Khim.Prir.Soedin.*, **3**, 425-427 (1991).
- 257 J.E.Atkinson, P.Gupta, L.J.Ronald, Phenolic constituents of *Gentiana lutea*, *Tetrahedron*, **25**(7), 1507-1511 (1969).
- 258 M.D.Luong, Contribution to the phytochemistry of genus *Gentiana*. XXV. Study on the flavonic and xanthonic compounds in leaves of *Gentiana xmarcailhouana* Ry.New flavonic cinnamoyl-C, glucosides, *Helv.Chim.Acta*, **63**(1), 244-249 (1980).
- 259 K.Hostettmann, G.Belmann, R.Tabacchi, A.Jacot-Guillarmod, Contribution a la phytochimie du genre *Gentiana* III.Etude des composes flavoniques dans les feuilles de *Gentiana lutea* L., *Helv.Chim.Acta*, **56**(8), 3050-3054 (1973).
- 260 G.G.Nikolaeva, V.I.Glyzin, M.S.Mladentseva, V.I.Scheicenکو, A.V.Patudin, Xanthonnes from *Gentiana lutea*, *Khim.Prir.Soedin.*, **1**, 107-108 (1983).
- 261 T.Hayashi, T.Yamagishi, Two xanthone glycosides from *Gentiana lutea*, *Phytochemistry*, **27**(11), 3696-3699 (1988).
- 262 G.Bellmann, A.Jacot-Guillarmod, Phytochemistry of the genus *Gentiana* I.Flavone and xanthone compounds in *G.lutea* leaves, *Helv.Chim.Acta*, **56**(1), 284-294 (1973).
- 263 A.M.Verney, A.M.Debelmas, Sur diverses xanthonnes de *Gentiana lutea* L., *Gentiana purpurea* L., *Gentiana punctata* L., *Gentiana pannonica* Scop., *Ann.Pharm.Fr.*, **31**, 415-420 (1973).

- 264 J.R.Lewis, P.Gupta, Biogenesis of xanthenes in *Gentiana lutea*, *J.Chem.Soc.*, **4**, 629-631 (1971). *CA: 74:108218u* (1971).
- 265 I.Morimoto, T.Nozaka, F.Watanabe, M.Ishino, Y.Hirose, T.Okitsu, Mutagenic activities of gentisin and isogentisin from *Gentianae* Radix (Gentianaceae), *Mutat.Res.*, **116** (2): 103-117 (1983)
- 266 M.Kaldas, Phytochemistry of the genus *Gentiana*.XIII.Flavone and xanthone compounds in the leaves of *Gentiana campestris* L., *Helv.Chim.Acta*, **58**(7), 2188-2192 (1975).
- 267 M.Massias, J.Carbonnier, D.Molho, Xanthenes and C-glycosylflavones from *Gentiana corymbifera*, *Phytochemistry*, **20**(7), 1577-1578 (1981).
- 268 K.M.Valant-Vetschera, *Gentiana cruciata* L.: *In vitro* kultur und akkumulation von flavonoiden und xanthenes, *Sci.Pharm.*, **54**, 281 (1986).
- 269 T.A.Volhonskaya, Content of mangiferin in species of of the family *Gentianaceae*, *Rastit. Resur.*, **2**, 233-236 (1986).
- 270 O.Denisova, V.Glyzin, A.Patudin, B.Gavrilenko, Determination of the level of xanthone glycoside mangiferin in some plants of *Iris*, *Gentiana*, and *Hedysarum* genera, *Khim.Farm.Zh.*, **14**(2), 76-77 (1980). *CA: 92:177422q* (1980).
- 271 M.Goetz, A new C-glycosylflavone from *Gentiana asclepiadea*, *Phytochemistry*, **15**(12), 2014 (1976).
- 272 M.Goetz, K.Hostettmann, A.Jacot-Guillarmod, C-glucosides flavoniques et xanthoniques de *Gentiana cruciata*, *Phytochemistry*, **15**(12), 2015 (1976).
- 273 M.Goetz, M., A.Jacot-Guillarmod, Contribution a la phytochimie du genre *Gentiana*. XXII. Identification de nouveaux O-glucosides de la magniferine dans *Gentiana asclepiadea* L., *Helv.Chim.Acta*, **60**(6), 2104-2106 (1977).
- 274 A.Marston, K.Hostettmann, A.Jacot-Guillarmod, Contribution a la phytochimie du genre *Gentiana* XIX; Identification de nouveaux C-glucosides flavoniques dans *Gentiana pyrenaica* L., *Helv.Chim.Acta*, **60**(6), 2099-2103 (1977).
- 275 G.G.Nikolaeva, V.I.Glyzin, D.A.Fesenko, A.V.Patudin, Flavonoids of *Gentiana barbata*, *Khim.Prir.Soedin.*, **6**, 859 (1979)
- 276 T.Goto, T.Kondo, H.Tamura, H.Imagawa, A.Iino, K.Takeda, Structure of gentiodelphin, an acylated anthocyanin isolated from *Gentiana makinoi*, that is stable in dilute aqueous solution, *Tetrahedron Lett.*, **23**(36), 3695-3698 (1982).
- 277 K.Yoshida, T.Kondo, T.Goto, Intramolecular stacking conformation of gentiodelphin a diacylated anthocyanin from *Gentiana makinoi*, *Tetrahedron*, **48**(21), 4313-4326 (1992).
- 278 T.Goto, T.Kondo, H.Tamura, H.Imagawa, S.Takase, Structures of acylated anthocyanin(blue-colored flower pigments) and commelinin, a sky-blue pigment from *Commelina*. Proc.25th Symp.On The Chem.Of Nat.Prod.Tokyo (1982) **25**, pp.375-382 (1982)
- 279 L.A.Tikhanova, N.F.Komissarenko, T.P.Berezouskaya, Flavone C-glycosides from *Gentiana macrophylla*, *Khim.Prir.Soedin.*, **2**, 287-288 (1989).
- 280 P.Lebreton, M.P.Dangy-Caye, Contribution Biochimique a l'etude taxinomique des Gentianacees, *Plant. Med. Phytother.*, **7**(2), 87-94 (1973).
- 281 K.Hostettmann, L.M.Duc, M.Goetz, A.Jacot-Guillarmod, Identification de C-glucosides flavoniques dans le genre *Gentiana* (Section Coelanthé), *Phytochemistry*, **14**, 499-500 (1975).
- 282 T.Ersöz, İ.Çalış, C-glycosylflavones from *Gentiana olivieri*, *H.Ü.J.Fac.Pharm.*, **11**(1), 29-36 (1991)

- 283 S.H.Kuo, M-H.Yen, M.I.Chung, C-N.Lin, A flavone C-glycoside and an aromatic glucoside from *Gentiana* species, *Phytochemistry*, **41**(1), 309-312 (1996).
- 284 I.K.Nikitina, T.V.Bukreeva, Flavonoids of *Gentiana* species, *Tr. Leningrad, Khim. Farm. Inst.* **21**, 162-6 (1967). *CA:69:74505q:(1969)*
- 285 A.J.Chulia, A.M.Debelmas, Contribution to the phytochemistry of the *Gentiana* genus.Study of flavonoids from Nepal *Gentiana*, *Planta Med.Phytother.*, **11**(2), 112-118 (1977).
- 286 F.Burret, Contribution to the study of the genus *Gentiana*: 2"-O-glucosides of isoorientine and isovitexine in *Gentiana lutea*, *Planta Med.*, **36**, 178-193 (1979).
- 287 K.Hostettmann, A.Jacot-Guillarmod, Contribution a la phytochimie du genre *Gentiana*.X Etude des composés flavoniques et xanthoniques dans les feuilles de *Gentiana verna* L., *Helv.Chim.Acta*, **58**(1), 130-132 (1973).
- 288 A.Jacot-Guillarmod, L.M.Duc, K.Hostettmann, Contribution a la phytochimie du genre *Gentiana*.XI: Identification de nouveaux dérivés de l'isoorietine extraits des feuilles de *Gentiana burserii* Lapeyr., *Helv.Chim.Acta*, **58**(5), 1477-1481 (1976)
- 289 M.D.Luong, A.Jacot-Guillarmod, Contribution a la phytochimie du genre *Gentiana* XXI. Les cinnamoyl-C-glycosylflavones et leurs O-glucosides dans *Gentiana punctata* L., *Helv.Chim.Acta*, **60**(6), 2099-2103 (1977).
- 290 M.Goetz, A.Jacot-Guillarmod, Contribution a la phytochimie du genre *Gentiana*, XX.Identification de nouveaux di-O-glucosides de C-glucosyl flavones dans *Gentiana asclepiadea* L., *Helv.Chim.Acta*, **60**(4), 1322-1325 (1977).
- 291 F.Burret, A.J.Chulia, A.M.Debelmas, Contribution a la phytochimie du genre *Gentiana*.2"-O-glucosides de glucosides d'isoorientine et d'isovitexine in *Gentiana lutea* L, *Planta Med.Phytother.*, **36**, 178-193 (1979).
- 292 M.Goetz, A.Jacot-Guillarmod, Contribution a la phytochimie de genre *Gentiana*. XXIV. Nouveaux C-glycosides flavoniques dans les feuilles de *Gentiana asclepiadea*, *Helv.Chim.Acta*, **61**(4), 1373-1375, (1978)
- 293 M.D.Luong, K.Hostettmann, A.J.Guillarmod, Contribution a la phytochimie du genre *Gentiana*. XIV. Identification de nouveaux dérivés de l'isoorietine extraits des feuilles de *Gentiana burserii* Lapeyr., *Helv.Chim.Acta*, **59**(4), 1294-1296 (1976).
- 294 A.J.Chulia, A.M.Mariotte, Nouvelles C-glucosylflavones chez *Gentiana pedicellata*, *J.Nat.Prod.*, **48**(3), 480-483 (1985).
- 295 A.J.Chulia, K.Hostettmann, M.L.Bouillant, A.M.Mariotte, Contribution to the study of the genus *Gentiana*.a 3'-o-glucoside of isoorientine in *Gentiana pedicellata*, *Planta Med.*, **34**, 442-444 (1978)
- 296 H.Becker, G.Wilking, K.Hostettmann, Separation of isomeric glycoflavones by High-Pressure Liquid Chromatography, *J.Chromatog.*, **136**, 174-175 (1977).
- 297 A.J.Chulia, K.Hostettmann, M.-L.Bouillant, A.-M. Mariotte, Contribution a l'étude du genre *Gentiana*. Un 3'-O-glucoside d'isoorientine chez *Gentiana pedicellata*, *Planta Med.Phytother.*, **34**, 442-444 (1978).
- 298 K.Hostettmann, A.Jacot-Guillarmod, Contribution a la phytochimie du genre *Gentiana* V.Identification d'un nouveau O-glucoside de C-glucoside flavonique dans les feuilles de *Gentiana nivalis* L., *Helv.Chim.Acta*, **57**(1), 204-207 (1974)
- 299 L.M.Duc, J.Saebly, P.Fombasso, A.Jacot-Guillarmod, Phytochemistry of genus *Gentiana*.XXVI.Identification of a new di-O-glucosyl cinnamoyl-C-glucosyl in the leaves of *Gentiana x marcaillhouana*, *Helv.Chim.Acta*, **64**(8), 2741-2745 (1981).
- 300 F.Burret, A.J.Chulia, A.M.Debelmas, K.Hostettmann, Presence of isoscoparine, isoscaparine-7-O-glucoside and saponarine in *Gentiana pneumonanthe* L., *Planta Med.*, **34**, 176-179 (1978).

- 301 C-N.Lin, C-H.Chang, M.Arisawa, M.Shimizu, N.Morita, A Xanthone Glycoside from *Tripterospermum taiwanense* and Rutin from *Gentiana flavo-maculata*, *Phytochemistry*, **21**(4), 948-949 (1982).
- 302 F.Rulko, K.Nadler, Alkaloids of Gentianaceae. VI.Alkaloids of *Gentiana asclepiadea*, *Diss.Pharm.Pharmacol.*, **22**, 329-332 (1970). *CA*: 74:83898f (1971).
- 303 J.J.Willaman, H.L.Li, An alkaloid-bearing plants and their contained alkaloids, 1957-1968, *J.Nat.Prod.*, **33**, 1-286 (1970).
- 304 I.Arberas, M.J.Leiton, J.B.Dominguez, J.M.Bueno, A.Arino, E.de Diego, G.Renobales, M.de Renobales, The volatile flavor of fresh *Gentiana lutea* L.roots, *Dev.Food.Sci.*, **37A**, 207-234 (1995).
- 305 F.Rulko, Isolation and study of the structure of alkaloids from Gentianaceae plants, *Pr.Nauk.Akad.Med.Wroclaw*, **8**, 3 (1976). *CA*: 86:103037x (1976).
- 306 J.Ciezlak, J.Kuduk, F.Rulko, Alkaloids of *Gentiana lutea*, *Acta Polon.Pharm.*, **21**(3), 265-273 (1964). *CA*: 62:13507d (1965).
- 307 F.Rulko, K.Witkiewicz, Gentianaceae Alkaloids. Part IX: The Structure of Gentialutine and Isogentialutine, *Pol.J.Pharmacol.Pharm.*, **26**, 561-566 (1974).
- 308 A.Samatov, S.T.Akramov, Y.Yunusov, Alkaloids of *Gentiana*. Structure of Gentianadine and Gentianamine, *Khim.Prir.Soedin.*, **3**(2), 182-187 (1967).
- 309 T.U.Rakhmatullaev, S.T.Akmarov, Y.Yunusov, *Gentiana* alkaloids, *Khim.Prir.Soedin.*, **5**(1), 32-36 (1969).
- 310 T.U.Rakhmatullaev, S.T.Akramov, S.Y.Yunusov, Alkaloids of *Gentiana olivieri*, *Khim.Prir.Soedin.*, **5**(6), 608 (1969).
- 311 T.U.Rakhmatullaev, Alkaloids from *Gentiana olgae*, *Gentiana vvedenskyi*, *Gentiana tianshanica* and *Swertia connata*, *Khim.Prir.Soedin.*, **7**(1), 128 (1971).
- 312 T.U.Rakhmatullaev, Alkaloids of *Gentiana olgae*, *Gentiana vvedenski*, *Gentiana tianshanica* and *Swertia connata*, *Khim.Prir.Soedin.*, **1**, 128 (1971).
- 313 J.Zhong, J.Jin, Studies on TLC-scanning determination of alkaloids in the Chinese Drug Qinjiao (*Gentiana macrophylla*), *Yao Hsueh Hsueh Pao*, **23**, 601-605 (1988).
- 314 T.U.Rakhmatullaev, S.Y.Yunusov, Alkaloids of *Gentiana olivieri*, *Khim.Prir.Soedin.*, **3**, 350-353 (1972).
- 315 T.U.Rakhmatullaev, S.Y.Yunusov, Alkaloids of *Gentiana olivieri*, *Khim.Prir.Soedin.*, **1**, 64-67 (1973).
- 316 X.T.Liang, D.Q.Yu, F.Fu, Investigation of the chemical constituents of *Gentiana macrophylla*:The structure and synthesis of gentianidine, *Chung-Kuo K'O Hsueh*, **14**, 869 (1965). *CA*: 47:99139 (1965).
- 317 S.Ghosal, A.A.K.Singh, K.Biswas, New 6-aryl-2-pyrones from *Gentiana pedicellata*, *Planta Med.***49**, 240-243 (1983).
- 318 L.T.Topuriya, Components of *Gentiana caucasica* and *Gentiana schistocalyx*, *Khim.Prir.Soedin.*, **3**, 413 (1978)
- 319 N.M.Mollov, N.Marekov, S.Popov, B.Kuzmanov, Alkaloids of some *Gentiana* species, *Compt.Rend.Acad.Bulgare Sci.*, **18**, 947-949 (1965). *CA*: 65: 10084h (1965).
- 320 C.Y.Sung, H.C.Chi, K.T.Liu, The pharmacology of gentianine.I.antiphlogistic effect and action of pituitary-adrenal function of the rat, *Sheng Li Hsueh Pao*, **22**, 201-205 (1958).
- 321 S.Shibata, M.Fujita, H.Igeta, Detection and isolation of an alkaloid gentianine from Japanese Gentianaceous plants, *J.Pharm.Soc.Japan*, **77**, 116-118 (1957).

- 322 L.Benarroche, A.M.Verney, G.Defaye, A.M.Debelmas, Etude comparee des fractions steroïdiques et triterpeniques de quelques Gentianacees, *Plant.Med.Phytother.*, **7**, 15-19 (1974).
- 323 O.Sticher, B.Meier, Identification of bitter principles in Radix Gentianae by means of HPLC, *Pharm.Acta Helv.*, **53**, 40 (1978).
- 324 N.Badenhuizen, R.J.Bose, S.Kirkwood, B.A.Lewis, F.Smith, Isolation of gentiobiose from gentian root, *J.Org.Chem.*, **29**(7), 2079-2080 (1964).
- 325 J.Garcia, E.Mpondo-Mpondo, M.Kaouadjii, A.M.Mariotte, Arbutin derivatives in *Gentiana pyrenaica*, *J.Nat.Prod.*, **52**(4), 858-860 (1989).
- 326 L.Swiatek, E.Dombrowicz, R.Zadernowski, Phenolic acid content of *Gentiana lutea* L.roots, *Herba Pol.*, **34**, 15-19 (1988).
- 327 L.Swiatek, E.Dombrowicz, Phenolic acids in bitter drugs.Part I.Examination of Absinth Herb and Gentian Root, *Farm. Pol.*, **40**(12), 729-732 (1984). CA: 103:34884b (1984).
- 328 E.Dombrowicz, L.Swiatek, Phenolic acids in bitter drugs. Part II. Examination medicinal *Gentiana* species, *Farm.Pol.*, **43**, 39-42 (1987). CA: 109:197746u (1987).
- 329 G.Belmann, A.Jacot-Guillarmod, Contribution a la phytochimie du genre *Gentiana* II. Etude des cyclitols dans les feuilles de *Gentiana lutea* L.*Helv.Chim.Acta*, **56**(2), 773-775 (1973).
- 330 Y.Liu, P.Liu, R.Wang, G.Mei, Antituberculous constituents of *Gentiana rhodantha*, *Chung Yao T'ung Pao*, **10**, 561-562 (1985) CA: 104:145516y (1985).
- 331 J.Garcia, E.Mpondo-Mpondo, A.J.Chulia, A.M.Mariotte, 3-(3-hydroxypropyl)-phtalide from *Gentiana pedicellata*, *Planta Med.*, **55**(4), 405 (1990).
- 332 T.Sakai, K.Kobashi, M.Tsunezuka, M.Hattori, T.Namba, Studies on dental caries prevention by traditional chinese medicines (Part VI).On the fluoride contents in crude drugs. *Shoyakugaku Zasshi*, **39**, 165-169 (1985).
- 333 G.Franz, H.Z.Meier, Distribution and physiology of the trisaccharide gentianose, *Pflanzenphysiol.*, **66**, 433-439 (1971). CA: 77:2780t (1972).
- 334 C.Lin, M.Chung, K.Gan, Antihepatotoxic Constituents Of Formosan Gentianaceous Plants, *Asian J. Pharm., Suppl.6*, 141-143 (1986).
- 335 K. Hosokawa, E.Fukushi, J.Kawabata, C.Fujii, T.Ito, S.Yamamura, Three acylated cyanidin glucosides in pink flowers of *Gentiana*, *Phytochemistry*, **40**(3), 941-944 (1995)
- 336 H.Hopf, O.Z.Kandler, O- β -D-glucopyranosyl-(1-1)-myo-inositol(glucinol) in higher plants. *Pflanzenphysiol.*, **100**, 189-195 (1980).
- 337 F.Chialva, C.Frattini, A.Martelli, Unusal essential oils with aromatic properties. III.Volatile components of gentian roots, *Z.Lebens.Unters.Forsch.*, **182**, 212-214 (1986).
- 338 N.Öztürk, M.Kürkçüoğlu, T.Özek, K.H.C.Başer, *Gentiana lutea* subsp.*symphyandra* Murb (Hayek) nin uçucu bileşikleri, Poster Bildiri, Uluslararası katılımlı X.Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, 20-23 Mayıs,1993, İzmir, Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova, sf.92 (1993)
- 339 K.Hostettmann, A.Jacot-Guillarmod, Identification du L-(+)-Bornesitol dans le genre *Gentiana*, *Phytochem.Rep.*, **13**, 1625-1626 (1974).
- 340 G.M.Kitanov, S.L.Spassev, A naphthodipyranodione from *Gentiana asclepiadea*, *Phytochemistry*, **31** (3), 1067-8 (1992)

- 341 C.Chang, H.Yen, Studies on The constituents of Formosan Gentianaceous plants. Part II. Constituents of *Tripterospermum taiwanense* and *Gentiana ariasnensis*, *Taiwan Yao Hsueh Tsa Chih*, 27, 38-39 (1975)
- 342 J.Garcia, E.Mpondo-Mpondo, A.J.Chulia, M.Kaouadji, G.Cartier, Two phthalide glucosides from *Gentiana pyrenaica*, *Phytochemistry*, 28(6), 1759-1760 (1989).
- 343 A.J.Chulia, J.Garcia, A.M.Mariotte, New phthalide glycosides from *Gentiana pedicellata*, *J.Nat.Prod.*, 49(3), 514-516 (1986).
- 344 A.J.Chulia, M.Kaouadji, A.M.Mariotte, Pedicelloside, nouveau phthalide isole de *Gentiana pedicellata* Wall., *Tetrahedron Lett.*, 25(4), 5039-5040 (1984)
- 345 F.S.Gonez-Carcedo, A fructosan isolated from *Gentian* root., *Farmacognosia* 16, 143-182 (1956)
- 349 İ.Çalış, (+)-Siringarezinol O-β-D-glukopiranozolit: *Gentiana gelida*' dan elde edilen bir lignan heteroziti, Uluslararası katılımlı X.Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, 20-23 Mayıs 1993, İzmir, Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova, İzmir, sf.61 (1993).
- 346 P.Desai, A.K.Ganguly, T.Govindachari, B.S.Joshi, V.N.Kamat, A.H.Manmade, P.A.Mohamed, S.K.Nagle, R.H.Nayak, A.K.Saksena, S.S.Sathe, N.Viswanathan, Chemical investigation of some indian plants.Part II., *Indian J.Chem.*, 4, 457-459 (1966).
- 347 M.Hatjimanoli, J.Favre-Bonvin, M.Kaouadji, A.M.Mariotte, Monohydroxy- and 2,5-dihydroxy terephthalic acids, two unusual phenolics isolated from *Centaureum erythraea* and identified in other Gentianaceae members, *J.Nat.Prod.*, 51(5), 977-980 (1988). *CA: 110:21071d (1989)*.
- 348 F.Giral, M.D.Aguilar, Vitamin C content of medicinal drugs. II.Barks roots and rhizomes, *Ciencia*, 12, 283-285 (1953). *CA: 48:4177c (1954)*.
- 350 D.Conway, The Magic of Herbs, Mayflower, Herts, Canada, p.110 (1975).
- 351 A.J.Vlietinck, J.Totte, Plantes Medicinales, Ministere de l'Agriculture Jardin Botanique, Meise, Belgium, pp.6,34,36 (1985).
- 352 British Herbal Pharmacopoeia, Part 1, British Herbal Medicine Association, West Yorks, U.K., pp.98-99 (1976).
- 353 J.A.Holtom, W.H.Hylton, The Complete Guide to Herbs, Rodale Press, Aylesbury, U.K., pp.48,401-402 (1979).
- 354 B.A. Della Beffa, Manuale di Fitoterapia, Inverni Della Beffa, Milano, Italy, pp.231-233 (1985).
- 355 V.E.Tyler, The Honest Herbal: A Sensible Guide to the Use of Herbs and Related Remedies, Pharmaceutical Products Press, New York, pp.45,146,340 (1993).
- 356 S.Tanaka, T.Furukawa, K.Adachi, M.Ishimoto, Protective effect of various peptic agents on acute gastric mucosal lesions induced by aspirin or water-immersion stress and aspirin absorption, *Iryo*, 42(7), 591-595 (1988). *CA: 109: 222244r (1988)*.
- 357 J.D.Keys, Chinese Herbs: Their Botany, Chemistry, and Pharmacodynamics, Charles E. Tuttle Co., Tokyo, 250-251 (1976).
- 358 D.Bown, Encyclopedia of Herbs and their Uses, Herb Society of America, Dorling Kindersley, New York, 287-288 (1995).
- 359 I.Morimoto, T.Nozaka, F.Watanabe, M.Ishino, Y.Hirose, T.Okitsu, Mutagenic activities of gentisin and isogentisin from *Gentianae* radix (Gentianaceae), *Mutat.Res.*, 116(2), 103-117 (1983). *CA: 98:119621s (1983)*.
- 360 A.Ohtsuka, N.Tatsuo, K.Nakayama, R.Namiuchi, S.Saiguso, T.Sotani, H.Nishioka, Screening of antimutagenic activities in herbal extracts. I. Suppression of UV mutagenesis, *Sci.Eng.Rev.Doshisha Univ.*, 26(4), 258-266 (1986). *CA: 105: 93663i (1986)*.

- 361 N.Sharma, K.P.S.Chandel, A.Paul, *In vitro* propagation of *Gentiana kurroo*: An indigenous threatened plant of medicinal importance, **Plant Cell Tissue Organ Cult.**, **34**(3), 307-309 (1993).
- 362 N.K.Bhattarai, Traditional phytotherapy among the Sherpas of Helambu, Central Nepal, **J.Ethnopharmacol.**, **27**(1), 45-54 (1989).
- 363 V.A.Aladashvili, Effect of some bitter substances on secretion of gastric juice, **Terapevt.Arkh.**, **24**(5), 58-63 (1952). *CA: 47: 1847b (1953)*.
- 364 J.I.Inokuchi, H.Okabe, T.Yamauchi, A.Nagamatsu, Inhibitors of angiotensin converting enzyme in crude drugs. I., **Chem.Pharm.Bull.**, **32**(9), 3615-3619 (1984).
- 365 M.C.Recio, J.L.Rios, A.Villar, Antimicrobial activity of selected plants employed in the Spanish Mediterranean Area. Part II., **Phytother.Res.**, **3**(3), 77-80 (1989).
- 366 K.Kato, Y.Kazuo, Stable oral solutions containing enzymes and herbal medicines, *Jpn. Kokkai Tokkyo Koho JP 05,194,262 [93,194,262] (Cl.A61K37/54)*, 03 Aug 1993, *JP Appl. 91/224,810*, 08 Aug 1991; 12pp- (1993). *CA: 119: 234063a (1993)*.
- 367 K.Böhm, Choleric action of some medicinal plants, **Arzeim.Forsch.**, **9**, 376-378 (1959). *CA: 53: 1917d (1959)*.
- 368 B.N.Nazakov, The effect of plant bitters on the secretion of enzymes in the small intestine of sheep, **Materialy 8-oi [Vos'moi] Nauchn. Konf. po Farmakol. Moscow Sb. 1963**, 63-65 (1963). *CA: 60: 16389 (1964)*.
- 369 A.I.Taraeva, Anthelmintic effect and toxicity of the alkaloid gentianine, **Med. Parazitol. Parazitar. Bolezni**, **27**, 432-434 (1958). *CA: 55: 15733h (1961)*.
- 370 C.-Y.Sung, H.-C.Chi, K.-T.Liu, Pharmacology of gentianine. I. Anti-inflammatory effect and action of pituitary-adrenal function of the rat, **Sheng Li Hsueh Pao**, **22**, 201-205 (1958). *CA: 53: 13415g (1959)*.
- 371 H.C.Chi, K.-T.Liu, C.-Y.Sung, Pharmacology of gentianine. I. Antiphlogistic effect of gentianine and its comparison with some clinically effective drugs, **Sheng Li Hsueh Pao**, **23**, 151-157 (1959).
- 372 E.Steinegger, Th. Weibel, Biological studies of gentianine, **Pharm. Acta Helv.**, **26**, 333-342 (1951). *CA: 46: 2681h (1952)*.
- 373 Z.Z.Yuan, J.C.Feng, Observation on the treatment of systemic lupus erythematosus with a *Gentiana macrophylla* complex tablet and a minimal dose of prednisone, **Chung.Hsi.I.Chieh.Ho.Tsa.Chih.**, **9**(3), 133-134, 156-157 (1989).
- 374 M.Sarg, M.El-Domiaty, O.M.Salama, M.M.Bishr, A.R.El-Gindy, Pharmacognostical study of the rhizomes and roots of *Gentiana kurroo* Royle, **J.Pharm.Sci.**, **6**(4), 49-72 (1991). *CA: 115:110555h (1991)*.
- 375 N.Kumazawa, S.Ohta, S.H.Tu, A.Kamogawa, M.Shinoda, Protective effects of various methanol extracts of crude drugs on experimental hepatic injury induced by by α -naphthylisothiocyanate in rats, **Yakugaku Zasshi**, **111**(3), 199-204 (1991).
- 376 S.M.Nikolaev, Experimental antioxidant pharmacotherapy of liver injuries, **Farmakol. Toksikol.**, **46**(1), 79-81 (1983).
- 377 C.N.Lin, M.I.Chung, K.H.Gan, Constituents of Formosan Gentianaceous plants. Part X. A new antihepatotoxic triterpene ester from *Gentiana flavo-maculata*, **Tai-wan Yao-Hsueh. Tsa. Chih.**, **39**(3), 182-186 (1987). *CA: 109:122446q (1988)*.
- 378 M.H.Malone, Pharmacological Approaches to Natural Products Screening and Evaluation, *New Natural Products and Plant Drugs with Pharmacological, Biological or Therapeutical Activity*, Eds. H.Wagner, P.Wolff, Springer Verlag, Berlin, pp.23-53 (1977).

- 379 S.Aydın, Y.Öztürk, K.H.C.Başer, N.Kırimer, N.Kurtar-Öztürk, Effects of *Alcea pallida* L.(A.) and *Tilia argentea* Desf. ex DC Infusions on Swimming Performance in Mice. **Phytother. Res.**, 6, 219-220 (1992).
- 380 Y.Öztürk, S.Aydın, K.H.C.Başer, N.Kırimer, N.Kurtar-Öztürk, Hepatoprotective Activity of *Hypericum perforatum* L. Alcoholic Extracts in Rodents. **Phytother. Res.**, 6, 44-46 (1992).
- 381 Y.Öztürk, S.Aydın, R.Beis, K.H.C.Başer, H.Berberoğlu, Effects of *Hypericum perforatum* L. and *Hypericum calycinum* L. Extracts on the Central Nervous System in Mice. **Phytomedicine**, 3, 139-146 (1996).
- 382 R.Porsolt, A.Bertin, M.Jalfre, Behavioural despair in mice, **Arch. Int. Pharmacodyn.Ther.**, 229, 327-335 (1977).
- 383 K.P.Bhargava, N.Singh, Antistress activity of *Ocimum sanctum* Linn., **Ind.J.Med.Res.**, 73, 443-451 (1981).
- 384 S.Aydın, Y.Öztürk, R.Beis, K.H.C.Başer, Investigation of *Origanum onites*, *Sideritis congesta* and *Satureja cuneifolia* essential oils for analgesic activity, **Phytother. Res.**, 10, 342-344 (1996).
- 385 F.E.D'Amour, D.L.Smith, A method for determining loss of pain sensation, **J. Pharmacol. Exp. Ther.** 72, 74-79 (1957).
- 386 R.N.Almeida, C.A.Hiruma, J.M.Barbosa-Filho, Analgesic effect of rotundifolone in rodents, **Fitoterapia**, 67(4), 334-338 (1996).
- 387 C.D.Klaasen, Biliary flow after microsomal enzyme induction, **J.Pharmacol.Exp.Ther.**, 168, 218-221 (1969).
- 388 T.Herekman-Demir, *Hypericum perforatum* fraksiyonlarının hepatoprotektif etkisinin araştırılması, Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir (1996).
- 389 E.B.Prophet, B.Mills, J.B.Arrington, L.H.Sobin, Laboratory Methods in Histotechnology, Armed Forces Institute of Pathology, Washington DC, pp.25-45 (1992).
- 390 J.D.Bancroft, A.Stevens, I.M.S.Dawson, Theory and Practice of Histological Techniques, Churchill-Livingstone, Edinburgh, London, New York (1977).
- 391 R.I.Freshney, Culture of Animal Cells; A Manual of Basique Tecnique, Wiley-Liss, New York, 1994.
- 392 S.Korkmaz, Fibroblast hücre kültürlerinde yara iyileştirici etkinin araştırılması, Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir (1996).
- 393 Y.Guo, Y.Lu, Studies on the transformation of gentiopicroside to gentianal, **Yaowu Fenxi Zazhi**, 3, 268 (1983). *CA: 100:197840m (1984)*.
- 394 S.K.Bhattacharya, R.K.Goel, R.Kaur, S.Ghosal, Anti-stress activity of sitoinosides VII and VIII, new acylsterylglucosides from *Withania somnifera*. **Phytother.Res.**, 1, 32-37 (1987).
- 395 I.I.Brckhman, Man and Biologically Active Substances: The Effect of Drugs, Diet and Pollution on Health, Pergamon, New York, pp.1-71 (1980).