

## Epimedium pubigerum Morr. et Dec. Bitkisinin Kök ve Rizomları Üzerinde Kimyasal Araştırmalar

Recherches Chimiques sur les Parties Souterraines de  
L'Epimedium pubigerum Morr. et Dec.

Turhan BAYTOP ve Bayhan CUBUKÇU\*

### G İ R İ Ş

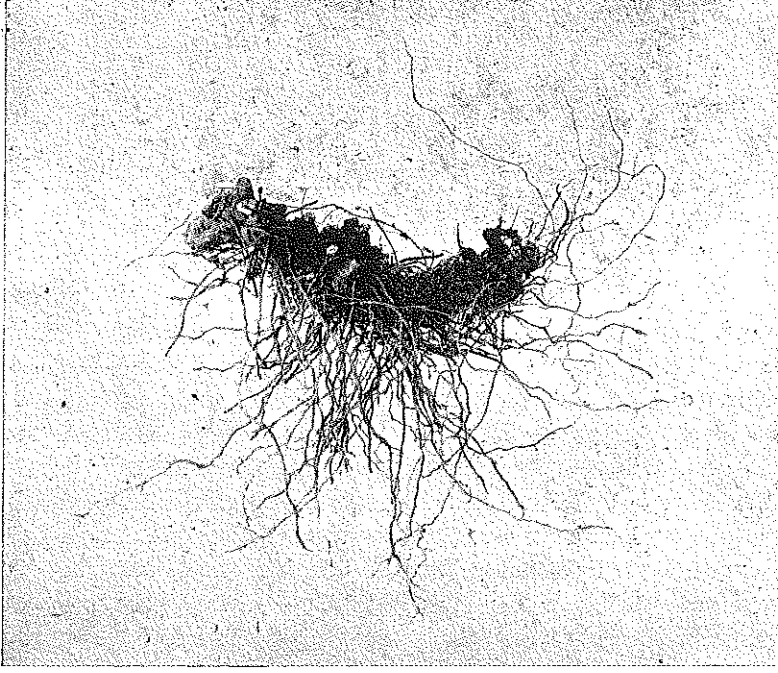
Dünya üzerinde 14 kadar *Epimedium* türünün bulunduğu bilinmektedir. Bunlar Güney Avrupa, Asya (Çin, Japonya) ve Kuzey Amerika'ya yayılmışlardır (11). Avrupa'da bulunan 2 tür (*E. alpinum* L. ve *E. pubigerum* Morr. et Dec.) morfolojik olarak çok yakın olup küçük farklar ile birbirlerinden ayrılabilir (3,8). *E. pubigerum* Anadolu'nun kuzey bölgesi (Karadeniz bölgesi) ormanları altında bol olarak bulunmaktadır. Bu çalışmada bu türün kök ve rizomları üzerinde yapılan bazı kimyasal araştırmaların neticeleri verilmiştir. Bu tür üzerinde henüz farmakolojik bir araştırma yoktur. Yalnız Avrupa'da yayılmış olan diğer tür (*E. alpinum* L., ün yapraklarının terletici bir tesire sahip oldukları eski literatürde kayıtlıdır (5,7).

*Epimedium pubigerum* Morr. et Decaisne (*Berberidaceae*): 30-50 cm yüksekliğinde çok senelik otsu bir bitki. Toprak altı kısmı 1 cm kadar çapında, boğumlu, yatay bir rizomdan ibaret. Rizomun etrafında 1 mm kadar çapında kökler vardır (Şekil: 1). Gövde dik, silindir biçiminde, seyrek tüylü ve tek yapraklı. Yapraklar biternat, yaprakçıklar kalb biçiminde, sivri uçlu, 2-5 cm uzunluğunda, kenarları dişli, dişlerin uçları ince bir diken ile nihayet bulur. Yaprak sapı tüysüz fakat yaprakçık saplarının birleştikleri yerlerde demet şeklinde tüyler bulunur (*E. alpinum* türünden ayırıcı fark). Çiçekler Mart - Mayıs aylarında açar. Çiçek örtüsü 4 sepal ve 4 petalden yapılmış. Petaller soluk kırmızı renkli (*E. alpinum* türünden fark). Nektaryum sarı renkli ve petale hemen hemen eşit boyda. Çiçek sapı tüysüz. Meyva silindir biçiminde, 2 yarık ile açılır.

Yayıışı: Bütün Karadeniz bölgesi. İstanbul civarında bilhassa yukarı Boğaziçi'nin orman ve korularına (13) (Belgrat ormanı, Büyükdere..

[\*] Farmakognozi Kürsüsü, Eczacılık Fakültesi, Üniversite, İstanbul.

Beykoz, Alemdağı) yayılmıştır. Trakya (8), Sapanca (3), Akyazı doğusundaki ormanlar (4), Zonguldak, Kilimli (2), Trabzon ve Batı Kafkasya (3) bölgesinde de bulunduğu bilinmektedir.



Sekil 1. *E. pubigerum* bitkisinin toprak altı kısımları (tabii büyüklükte).

#### MATERYEL VE METOD

Üzerinde çalışılan materyel bitkinin toprak altı kısmı (kök ve rizomları) olup İstanbul civarında (Belgrat ormanı) toplanmış ve laboratuvar hararetinde kurutulmuştur.

Tüketim esnasında muhtelif fraksiyonların kontrolü ve elde edilen maddelerin teşhisi için kâğıt kromatografisi ve kâğıt elektroforezi usullerinden istifade edildi. Kâğıt kromatografisinde Rf değerleri lekelerin üst uçlarından ölçülmek suretiyle yapıldı. Kâğıt elektroforezinde, yatay kuvetli Shandon (tip 2540) elektroforez âleti kullanıldı. Lekeler kâğıdın tam orta hattı üzerine birbirlerinden 1,5 sm ara ile konup, neticeler dekstrin'e göre ve anoda doğru olan uçlarından ölçülerek mm cinsinden verildi. Her iki metotta da Schl. Schüll 2043a kromatografi kâğıdı kulla-

mıldı. Tentürler, 5 g numune, 5 ml kaynar etanol içinde geri çeviren soğutucu altında yarım saat tüketilip ve sıcakken süzildükten sonra, 1 ml tentür, 1 g numuneye tekabül edecek şekilde teksif edilerek hazırlandı.

#### ŞAHSİ TECRÜBELER

##### Ön Denemeler

Laboratuvar hararetinde kurumuş numunelerde su miktarı % 9.5 g ve 105°C lık kurutulmuş numunede kül miktarı % 5 g.

Ön denemeler bir taraftan % 2 lik infüsyonun muhtelif reaktifler ile kontrolü diğer taraftan tentürün kâğıt kromatografisi ve kâğıt elektroforezi ile incelenmesi ile yapıldı.

##### Infüsyon, % 2

Sarı turuncu renkli UV ışığı altında mavi bir floresans gösterir, saponin taşımadığından çalkalama ile sabit bir köpük vermez.

Bir damla seyreltik ferri klorür çözeltisi ile koyu yeşil, hidroklorik asitli etanol ve Mg karşısında flavonların mevcudiyetini gösteren, pembe turuncu bir renk hasil eder.

Stiasny reaktifi ile pembe renkli bol bir çökelek verir, süzüntü sodyum asetat ile doyurulduktan sonra ferri klorür ile muamelede mavi renk görülmez, şu halde numunede kateşik tanenlerin mevcudiyetine mukabil gallik tanenler yoktur.

% 1 jelatin çözeltisi ile çöktürülmüş infüsyon, Stiasny reaktifi ile muamelede bir çökelek vermez. Buna göre nümune kateşik tanenler yanında kateşin ihtiva etmez.

Hidroklorik asitle asitlendirilmiş infüsyon, Mayer reaktifi ile beyaz, Bouchardat ve Dragendorff reaktifleri ile alkaloitlerin mevcudiyetini gösteren esmer bir çökelek verir.

Infüsyonun taşıdığı serbest şekerleri tâyin etmek üzere kâğıt kromatografisinden istifade ettik. Burada infüsyon onda birine teksif edilerek kullanıldı. Etil asetat: piridin: su (7: 2: 1) solvan sistemi, Schl. Schüll 2043a kromatografi kâğıdı ve inen metot tatbik edilerek, 24 saatlik bir developman sonunda anilin ftalat ile muamele edilen kromatogram 100°C de birkaç dakika tutuldu. Görünen 3 şeker lekesi tekabül ettikleri şahitlere göre galaktoz, glikoz ve fruktoz olarak tesbit edildi.

Tentür (1 ml=1 g numune)

Kâğıt kromatografisi: n-butanolasetik asit: su (4: 1: 5) solvan sistemi, Schl. Schüll 2043a kromatografi kâğıdı ve yükselen metot ile 15 saatlik bir developman sonunda aşağıdaki lekeler görüldü:

Rf 0.50: Uzun dalga boylu UV ışığı altında mavi fluoresans veren ve tâdil edilmiş Dragendorff reaktifi ile (6), turuncu renk alan bir alkaloit lekesi.

Rf 0.85, 0.70, 0.58, 0.45: Normal ışıktaki kirli sarı, UV ışığı altında esmer, % 5 lik alkollü potas ve alüminyum klorürün alkoldeki % 2 lik çözeltisi ile sarı ve UV ışığı altında parlak sarı, ferrik klorür çözeltisi ile gri-yeşil renk alan flavon lekeleri (Şekil: 2).

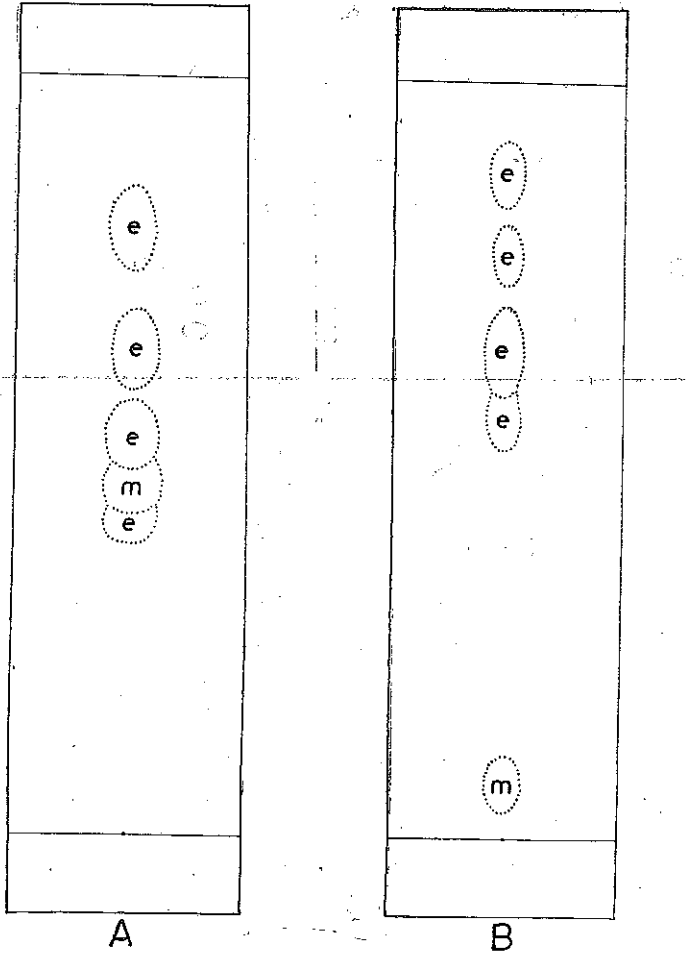
Bazı *Epimedium* türlerinden (9, 15, 16, 17) daha önce magnoflorine isimli bir alkaloitin tecrit edilmiş bulunması, aynı maddenin *E. pubigerum*'da da bulunabileceğini düşündürdü. Bu alkaloit *Magnolia grandiflora* L. dal kabuklarında da mevcut olduğundan (18), bundan hazırlanan bir tentür ve saf magnoflorine iodür [\*] etanoldeki çözeltisi şahit olarak kullanılarak, *E. pubigerum* tentürü ile yukardaki şartlarda kromatografi ile incelendiğinde, her üçü de Rf 0.50 de UV ışığı altında mavi fluoresans gösteren ve tâdil edilmiş Dragendorff reaktifi ile turuncu renk alan bir alkaloit lekesi gösterdiler.

Yakın zamanlarda yapılan bir çalışmada (11), bu alkalotinin *M. acuminata* L. de mevcudiyeti kâğıt kromatografisi ile teşhis edilmiş olduğundan biz de aynı solvan sistemini, etil asetat: piridin: su (750: 310: 165) ve revelatörü (tâdil edilmiş Pauly reaktifi) (1) kullanarak, tentürde magnoflorine'i tesbit ettik (Şekil: 2).

Şahit saf magnoflorine iodür çözeltisi ve *M. grandiflora* tentürü kullanılarak, inen metot ile 7 saatlik developman müddeti sonunda her üçü de Rf 0.11 de UV ışığı altında mavi fluoresans veren ve Pauly reaktifi ile sarı-turuncu renk alan bir leke verdiler.

Kâğıt elektroforezi: N formik asit çözeltisi ve 2 saat müddetle 400 V gerilim kullanılarak yapıldı. Tâdil edilmiş Dragendorff reaktifi ile muamele edilen elektroforegram 35 mm ve 62 mm de 2 alkaloit lekesi verdi. Bunlardan birincisi revelasyondan önce UV ışığı altında mavi fluoresans gösterip magnoflorine iodür ile aynı yerdedir. Bu tecrübeye göre nümunedeki magnoflorine'den başka ikinci bir alkaloit daha bulunmaktadır (Şekil: 3).

[\*] Bize saf magnoflorine iodür numunesi göndermiş bulunan Kyoto (Japonya) Üniversitesi öğretim üyelerinden Prof. Dr. M. Tomita'ya burada tekrar teşekkür ederiz.



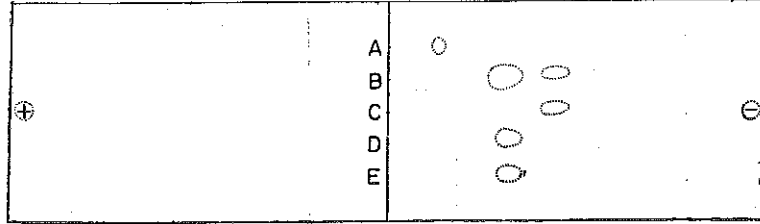
Şekil 2. *E. pubigerum* tentürünün kâğıt kromatogramı. A — Yükselen metot B — İnen metot. UV ışığı altında tetkikte, m=mavi fluoresans, e=esmer renk.

#### ALKALOİTLERİN DOZAJI, TÜKETİMİ VE TECRİDİ

##### Alkaloitlerin Dozajı

Stas-Otto usulü kullanılarak yapılan dozajda % 0.02 g toplam alkaloit bulundu. Alkaloit bakiyesi kâğıt kromatografisi ile analizde magnoflorine'e tekabül eden lekeyi vermediği gibi, eter-kloroform karışımı ile tüketilmiş bulunan numuneden hazırlanan bir tentürün kâğıt kromatog-

rafisinde magnoflorine'e tekabül eden lekeyi göstermesi, nümunedeki mevcut alkaloidlerin eter-kloroform karışımı ile tamamıyla tüketilemediğini açıklamaktadır. Bu sebepten, bu metod ile tam bir alkaloid dozağı yapmak mümkün değildir.



Şekil 3. *E. pubigerum* alkaloidlerinin Dragendorff reaktifi ile muamele edilmiş elektroforegramı. A — dekstrin, B — *E. pubigerum* tentürü, C — tersiyer alkaloid, D — kvaterner alkaloid, E — şahit saf magnoflorine iodür.

#### Alkaloidlerin Tüketimi ve Tecridi

Nümede mevcut alkaloidlerin tamamını tüketebilmek gayesiyle, *Magnolia* alkaloidlerinin tüketim ve tecridi için verilen bir metodu tatbik ettik (18):

Hülâsa sıcakta 0.01 N hidroklorik asit ile alındı süzöldü, bu asitli gözelti sırasıyla eter ve etil asetat ile tüketildikten sonra amonyak gözeltisi ile kalevilendirildi ve kloroform ile tüketildi. Eter ve etil asetat fraksiyonlarına alkaloid geçmemesine mukabil kloroform fraksiyonu alkaloid ihtiva eder ve vakum distilasyonu ile teksif edildiğinde beyaz bir madde çökerek ayrılır (0.05 g). Alkaloid reaksiyonu veren bu maddenin bir tersiyer alkaloid olması lâzımdır (18).

Bu alkaloid, gerek organik solvanlardaki erirliğinin çok az olması ve gerekse erime noktası bakımından, magnoflorine'e tekabül eden tersiyer alkaloid corytuberine'e (e. d. 240°) benzemektedir. Elimizde az madde olduğu için bu alkaloidin incelenmesi daha sonraya bırakıldı. Şimdilik sadece kâğıt kromatografisi ve kâğıt elektroforezi ile tetkik edildi. Ve UV ışık altında fluoresans göstermeyen ve tadil edilmiş Dragendorff reaktifi ile turuncu renk alan tek bir alkaloid lekesi verdi. Rf değerleri, n-butanol-asetik asit: su (4: 1: 5) solvan sistemi, yükselen metod ile Rf 0.45; etil asetat: piridin: su (750: 310: 165), inen metod ile Rf 0.15 olarak bulundu. Kâğıt elektroforezinde N formik asit gözeltisi ve 2 saat müddetle 400 V gerilim kullanılarak tentürdeki 62 mm de bulunan lekeye tekabül eden tek bir alkaloid lekesi verdi. Böylece tentürde mevcudiyetini gördüğümüz nümunedeki iki alkaloidten birini tecrit etmiş olduk.

Kloroform ile tüketmeden sonra ana çözeltinin, kâğıt kromatografisi ile tetkiki, magnoflorine'e tekabül eden ve UV ışık altında mavi fluoresans veren alkaloidi ayırabilmek için çözelti teksif edildi ve % 1 asetik asit ihtiva edecek şekilde asitlendirildi ve potasyum iodyürün sudaki doymuş çözeltisinden ilâve edildi (14). Fakat ana çözeltide diğer maddeler de mevcut olduğundan temiz bir bileşik elde edilemedi.

Bu alkaloidi ayırabilmek gayesiyle şu şekilde hareket edildi 250 g nümune Soxhlet cihazında metanol ile tüketildi. Metanollü hülâsa 1.9 cm çapında 35 cm yüksekliğinde Zeolite Mas cinsi, iyon değiştirici sentetik reçine ihtiva eden bir sütundan geçirildi. Böylece mevcut alkaloid sütunda tutulmuş oldu ve bu alkaloidi sütundan % 7 hidroklorik asit ihtiva eden etanol geçirmek suretiyle aldık. Bu asitli etanol çözeltisi, kâğıt elektroforezi ile tetkikte, Dragendorff reaktifi ile 62 mm de hafif, 35 mm de ise koyu turuncu renkte meydana çıkan iki alkaloid lekesi verdi .

Asit reaksiyondaki bu etanollü çözelti sodyum bikarbonat ile nötralize edilip küçük bir hacme teksif edildikten sonra % 1 asetik asit ihtiva edecek şekilde asitlendirildi ve potasyum iodyürün sudaki doymuş çözeltisinden ilâve edildi. Husule gelen çökelti etanolde çözülüp eter içinde çöktürülerek temizlendi.

İodyür halinde ayrılan amorf maddenin, kâğıt kromatografisi ve kâğıt elektroforezi ile analizi yapıldı. n-butanol: asetik asit: su (4: 1: 5) solvan sistemi, yükselen metod ile Rf 0.50 de; etil asetat: piridin: su (750: 310: 165) solvan sistemi ve inen metod ile Rf 0.11 de UV ışık altında mavi fluoresans veren ve tâdil edilmiş Dragendorff reaktifi ile turuncu, tadil edilmiş Pauly reaktifi ile sarı-turuncu, Gibbs reaktifi ile mavi renk alan (18), ve bütün bu özellikleri ile şahit olarak kullanılan saf magnoflorine iodyüre tamamiyle benzeyen tek alkaloid lekesi verdi. Ayrıca kâğıt elektroforezinde de şahit magnoflorine iodyür ile aynı yerde (35 mm) tek bir leke verdi.

#### NETİCE VE MÜNAKAŞA

Bu çalışmada, ön denemelerde mevcudiyetini gösterdiğimiz, magnoflorine isimli bir kvaterner alkaloidin iodyürünü brüt halde elde ettik. Fakat kullandığımız iyon değiştiricide alkaloid fazla tutulduğundan verim çok düşük oldu. Elde edilen maddenin kâğıt kromatografisi ve kâğıt elektroforezi ile şahit saf magnoflorine iodyür kullanarak kontrolü yapıldı. Şahit ile aynı Rf de ve muhtelif reaktifler ile de aynı renkleri verdiği görüldü.

Diğer taraftan e. d. 235° C olan bir tersiyer alkaloid tecrit edildi. Bu alkaloidin tentürde kâğıt kromatografisi ile teşhis edilememesini nümunedeki çok az miktarda bulunmasından ve magnoflorine'e çok yakın bir leke vermesinden ileri geldiğini düşünüyoruz. Nitekim tentürün kâğıt elektroforezi 62 mm de Dragendorff reaktifi ile hafif turuncu renk alan bir leke veriyordu. Ayrıca nümunedeki Stas-Otto metodu ile yapılan alkaloid dozağı % 0.02 g gibi düşük bir netice vermişti ki bu metod ile yalnız eter-kloroformda eriyen alkaloidlerin dozağı yapılabildiği için magnoflorine bu neticeye dahil değildi.

Magnoflorine'in d-tubocurarine'e benziyen bir tesir göstermesi ve tansiyon düşürücü olması (10), bu bitkinin farmakolojik olarak da araştırılmasının ilgi çekici olacağını düşündürmektedir.

#### Ö Z E T

*Epimedium pubigerum* Morr. et Dec. (*Berberidaceae*) bitkisi Anadolu'nun kuzey ormanları altlarında bol miktarda yetişmektedir. Bu türün toprak altı kısımlarında kateşik tanen, flavon türevleri, alkaloidler ve serbest şekerler tesbit edilmiştir. Serbest şekerler kâğıt kromatografisi ile galaktoz, glikoz ve fruktoz olarak teşhis edildi ve verdikleri lekelerin birbirlerine göre olan renk koyuluğu mukayese edilerek glikozun diğerlerinden daha fazla miktarda olduğu görüldü.

Alkaloidler üzerinde yapılan araştırmalar sonunda biri kvaterner, diğeri tersiyer olmak üzere iki alkaloid tecrit edildi.

Alkaloidlerden birincisi, erime noktası (iodür, 248° C) olup gerek kâğıt kromatografisi ve gerek kâğıt elektroforezinde saf magnoflorine iodür ile aynı özellikleri göstermektedir.

İkinci alkaloid, erime noktası (235° C) ve organik solvanlardaki çok az olan çözünürlüğü sebebiyle magnoflorine'in bulunduğu aporphine grubu alkaloidlerden corytuberine'e benzemektedir. Elimizde şimdilik az madde olduğu için bu alkaloidin incelenmesi daha sonraya bırakıldı.

#### R É S U M É

*L'Epimedium pubigerum* Morr. et Dec. est une berbéridacée très répandue dans les forêts de l'Anatolie Septentrionale.

Des essais préliminaires ont permis de révéler la présence de tanins catéchiques, de dérivés flavoniques, d'alkaloïdes et de sucres libres dans les parties souterraines de la plante.



Les sucres libres ont été identifiés par chromatographie sur papier. Ce sont le glucose, le fructose et le galactose. L'intensité de la coloration de la tache du glucose laisse prévoir la quantité prépondérante de cet ose.

Nous avons dirigé nos recherches surtout sur les alcaloïdes. Deux alcaloïdes, un quaternaire et un ternaire, ont été isolés. Le premier, par ses constantes physiques (Rf et point de fusion -iodure- 248°C) et par ses réactions de coloration, est identique à la magnoflorine. Le second, dont le point de fusion est de 235°C et qui est peu soluble dans les solvants organiques, se rapproche de la corytubérine qui comme la magnoflorine, est un alcaloïde du groupe d'apomorphine. L'étude de ce dernier alcaloïde sera l'objet d'un prochain travail.

#### L I T E R A T Ü R

- 1 — Ames, B. N., Mitchell, H. K., *J. Amer. chem. Soc.*, **74**, 252 (1952).
- 2 — Birand, H., Türkiye bitkileri, **81**, *Ank. Üniv. Fen. Fak. Yay.* No: 58, Ankara (1952).
- 3 — Boissier, E., *Flora orientalis*, vol. **1**, 101, Geneva (1867).
- 4 — Czecczot, H., A Contribution to the Knowledge of the Flora and Vegetation of Turkey, **140**, Berlin (1938-39).
- 5 — Dragendorff, G., *Die Heilpflanzen*, **233**, Stuttgart (1898).
- 6 — Faugeras, G., Thèse Doct. État (Pharm.), Paris (1956).
- 7 — Fournier, P., *Le livre des plantes médicinales et vénéneuses de France*, vol. **2**, 112, Lechevalier, Paris (1948).
- 8 — Hayek, A., *Prodromus Florae peninsulæ Balcanicæ*, vol. **1**, 295, Berlin (1927).
- 9 — Hegnauer, R., *Chemotaxonomie der Pflanzen*, vol. **3**, 243, Birkhäuser Verlag, Basel (1964).
- 10 — Inoue, K., *Nippon Yakurigaku Zasshi*, **53**, 797 (1957). - Ref. *C.A.*, **52**, 18870b (1958).
- 11 — Kapadia, G.J., Baldwin, H.H., Shah, N.J., *J. Pharm. Pharmacol.*, **16**, 283 (1964).
- 12 — Lemée, A., *Dictionnaire descriptif et synonymique des genres de plantes panérogames*, vol. **2**, 887, Lechevalier, Paris (1930).
- 13 — Post, A., Post, B.V.D., Boğaziçi ve dolayları florası, **13**, *İst. Üniv. Fen Fak. Yay.* No: 7, İstanbul (1945).
- 14 — Tomita, M., Kugo, T., *J. Pharm. Soc. Japan*, **76**, 599 (1956). - Ref. *C.A.* **50**, 13372b (1956).
- 15 — Tomita, M., Ishii, H., *ibid.*, **77**, 114 (1957). - Ref. *C.A.*, **51**, 8766d (1957).
- 16 — Tomita, M., Ishii, H., *Yakugaku Zasshi*, **77**, 212 (1957). - Ref. *C.A.*, **51**, 8366i (1957).
- 17 — Tomita, M., Ishii, H., *ibid.*, **77**, 319 (1957). - Ref. *C.A.*, **51**, 12433i (1957).
- 18 — Tomita, M., Nakano, T., *Planta Med.*, **5**, 33 (1957).

(Redaksiyona verildiği tarih : 25 Şubat 1965)