



**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DOKTORA
TEZİ**

**DENEYSEL İNTRA-ABDOMİNAL ADEZYON MODELİNDE
ETKİLİ OLABİLECEK TIBBİ BİTKİLER ÜZERİNDE
FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR**

GİZEM DEYNEZ

FARMAKOGNOZİ ANABİLİM DALI

MAYIS 2024



**DENEYSEL İNTRA-ABDOMİNAL ADEZYON MODELİNDE ETKİLİ
OLABİLECEK TIBBİ BİTKİLER ÜZERİNDE FARMAKOGNOZİK
ARAŞTIRMALAR**

Gizem DEYNEZ

**DOKTORA TEZİ
FARMAKOGNOZİ ANA BİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

MAYIS 2024

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Gizem DEYNEZ

23/05/2024

DENEYSEL İNTRA-ABDOMİNAL ADEZYON MODELİNDE ETKİLİ OLABİLECEK TIBBİ BİTKİLER ÜZERİNDE FARMAKOĞNOZİK ARAŞTIRMALAR

(Doktora Tezi)

Gizem DEYNEZ

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Mayıs 2024

ÖZET

Cerrahi prosedürler sonrasında meydana gelen abdominal adezyonlar önemli komplikasyonlara neden olmaktadır. Bu komplikasyonlar; ince bağırsak obstrüksiyonu, fistül gelişimi, kronik abdominopelvik ağrı, dispareni, infertilite, üretral obstrüksiyon, postoperatif kanamalara neden olmakta ve re-operatif cerrahi operasyon gerektirebilmektedir. Bu sebeple adezyon oluşumunun önlenmesi ve tedavi seçeneklerinin geliştirilmesi, bilimsel araştırmaların konusunu oluşturmaktadır. Tedavi seçenekleri arasında; enflamatuvar yanıtı azaltan, pıhtılaşmayı engelleyen, fibrinolizi aktive eden ve kolajen sentezini inhibe eden ajanlar kullanılmaktadır. Çalışmamızda *Asphodeline lutea* (L.) Rchb. (Asphodelaceae), *Rheum ribes* L. (Polygonaceae), *Rubia tinctorum* L. (Rubiaceae) ve *Rumex nepalensis* Spreng. (Polygonaceae) bitki köklerinden hazırlanan ekstrelerin fibrinolitik aktiviteleri *in vitro* fibrin plak yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir. En yüksek etki gösteren *R. nepalensis* bitkisinin metanollü ekstresi üzerinden aktivite-yönlendirmeli fraksiyonlama çalışmaları doğrultusunda iki bileşik izole edilmiştir. Bileşiklerin yapıları, spektroskopik yöntemler kullanılarak sinnamtanen B1 ve epikateşin gallat olarak belirlenmiştir. Bitkinin metanollü ekstresinin ve en yüksek aktivite gösteren alt ekstresi, fraksiyonu, alt fraksiyonu ve bileşiğinin biyolojik etkisi, Wistar albino ırkı dışı sıçanlarda oluşturulan cerrahi intra-abdominal adezyon modelinde değerlendirilmiştir. Deney sonunda deney hayvanlarından alınan dokular üzerinde histopatolojik ve immunohistokimyasal analizler yapılmış ve oksidasyon parametrelerinin ortaya konulması amacıyla toplam antioksidan ve toplam oksidan seviyeleri belirlenerek oksidatif stres indeksi hesaplanmıştır. Deney sonuçları, *R. nepalensis* bitkisinin ve izole edilen sekonder metaboliti sinnamtanen B1'in fibrinolitik etki göstererek intra-abdominal adezyonları önlediğini ve etkiyi enflamatuvar reaksiyonları inhibe ederek gösterdiğini ortaya koymuştur.

Bilim Kodu : 1017

Anahtar Kelimeler : *Rumex nepalensis*, fibrinolitik aktivite, fibrin plak yöntemi, adezyon, *in vitro*, *in vivo*, sinnamtanen B1, epikateşin gallat

Sayfa adedi : 158

Danışman : Prof. Dr. İpek SÜNTAR

PHARMACOGNOSIC EVALUATION OF MEDICINAL PLANTS THAT CAN BE
EFFECTIVE AGAINST SURGICALLY-INDUCED INTRA-ABDOMINAL ADHESION
MODEL

(Ph. D. Thesis)

Gizem DEYNEZ

GAZİ UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF HEALTH SCIENCES

May 2024

ABSTRACT

Abdominal adhesions occurring after surgical procedures cause significant complications. These complications cause small bowel obstruction, fistula development, chronic abdominopelvic pain, dyspareunia, infertility, urethral obstruction, postoperative bleeding and may require re-operative surgery. For this reason, preventing adhesion formation and developing treatment options are the subject of scientific research. Treatment options include the agents that reduce the inflammatory response, prevent coagulation, activate fibrinolysis and inhibit collagen synthesis. In the present study, fibrinolytic activities of the extracts prepared from the roots of *Asphodeline lutea* (L.) Rchb. (Asphodelaceae), *Rheum ribes* L. (Polygonaceae), *Rubia tinctorum* L. (Rubiaceae) and *Rumex nepalensis* Spreng. (Polygonaceae) were evaluated using the *in vitro* fibrin plate method. Two compounds were isolated through activity-guided fractionation studies on the methanol extract of the most effective *R. nepalensis*. The structures of the compounds were determined as cinnamtannin B1 and epicatechin gallate using spectroscopic methods. The activity of the methanol extract of the plant and its highest active sub-extract, fraction, sub-fraction and compound were evaluated in the surgical intra-abdominal adhesion model induced in female Wistar albino rats. At the end of the experiment, the tissues taken from the experimental animals were examined histopathologically and immunohistochemically, and in order to reveal the oxidation parameters, the total antioxidant and total oxidant levels were determined and the oxidative stress index was calculated. Experimental results revealed that *R. nepalensis* and its isolated secondary metabolite, cinnamtannin B1, prevent intra-abdominal adhesions by displaying fibrinolytic effect *via* inhibiting inflammatory reactions.

Science Code : 1017

Key words : *Rumex nepalensis*, fibrinolytic activity, fibrin plate method, adhesion, *in vitro*, *in vivo*, cinnamtannin B1, epicatechin gallate

Page Number : 158

Supervisor : Prof. Dr. İpek SÜNTAR

TEŞEKKÜR

Varlığı, liderliği, mücadelecisi ruhu ve ileri görüşlüğü sayesinde bu çalışmayı yapabilmemde en büyük emeği ve katkısı olan Türkiye Cumhuriyeti'nin Kurucu Lideri Gazi Mustafa Kemal ATATÜRK'e sonsuz minnet, şükran, sevgi ve saygılarımı sunuyorum.

Tez çalışmam boyunca her zaman yol gösterici, engin bilgi ve deneyimlerini aktaran ve bilimin ışığında rehberlik yapan tez danışmanım Sayın Prof. Dr. İpek SÜNTAR'a sonsuz teşekkür ediyorum.

Tez çalışmasında kullandığım bitki materyallerinin toplanması ve tayininde katkısı olan Sayın Prof. Dr. Osman TUGAY hocama; çalıştığım bileşiklerin izolasyonu ve yapı tayinleri sürecinde bilgi, tecrübe ve deneyimlerinden her zaman yararlandığım Hacettepe Üniversitesi'nden Sayın Prof. Dr. Ayşe KURUÜZÜM UZ, Dr. Öğr. Üyesi Vahap Murat KUTLUAY ile Prof. Dr. Emirhan NEMUTLU hocalarıma; *in vivo* deneylerde katkı ve desteklerini esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Mürşide Ayşe DEMİREL hocama; biyokimyasal çalışmalarda katkısı ve emeğini her zaman gördüğüm Sayın Dr. Öğr. Üyesi Ece SALİHOĞLU hocama; histopatolojik ve immunohistokimyasal çalışmaların yürütülmesinde emekleri için Sayın Doç. Dr. Saadet Özen AKARCA DİZAKAR hocama şükranlarımı sunuyorum.

Tez çalışmam ve deneylerim boyunca Farmakognozi Ana Bilim Dalı'nın deney laboratuvarları, kaynakları ve tüm olanaklarını kullanma imkânı sağlayan Ana Bilim Dalı Başkanı ile tüm öğretim üye ve yardımcılara çok teşekkür ederim.

Bilimin yolunda ilerlemem konusunda her daim destek olan canım annem Sevim DEYNEZ'e, canım babam Behçet DEYNEZ'e ve biricik kardeşlerim Sevinç FİDANAY ve Umut DEYNEZ'e bu zorlu süreçte emek ve sabır göstererek hep benimle oldukları için sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Destegini her zaman hissettiğim, moral motivasyonu daima yanımda olan Deniz Ufuk Uras GARİP'e çok teşekkür ederim.

Tez çalışmamın gerçekleşmesinde maddi destek sağlayan Türkiye Sağlık Enstitüleri Başkanlığı'na (TÜSEB Proje no: 21202) teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	ix
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xi
RESİMLERİN LİSTESİ	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xv
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Botanik Bilgiler	3
2.1.1. Polygonaceae familyası	3
2.1.2. <i>Rumex</i> cinsi	4
2.1.3. <i>Rumex nepalensis</i> Spreng.....	6
2.2. <i>Rumex</i> Türleri Üzerinde Yapılan Çalışmalar	9
2.2.1. Halk arasında kullanılışı	9
2.2.2. Fitokimyasal çalışmalar	20
2.2.3. Aktivite çalışmaları	23
2.3. Abdominal Adezyon	32
2.3.1. Abdominal adezyonun oluşum mekanizması.....	32
2.3.2. Adezyon modelinde tedavi yaklaşımları.....	35
2.3.3. Bitkilerin ve doğal bileşiklerin adezyonu engellenmesindeki rolü.....	39
2.3.4. Adezyon ölçüm yöntemleri.....	43
3. GEREÇ VE YÖNTEM	47
3.1. Gereç	47

3.1.1. Bitki materyalleri	47
3.1.2. Çalışmada kullanılan malzemeler ve cihazlar.....	48
3.2. Yöntem.....	50
3.2.1. Fitokimyasal çalışmalar	50
3.2.2. Yapı tayini çalışmaları	64
3.2.3. Aktivite çalışmaları	64
4. BULGULAR	73
4.1. Fitokimyasal çalışmalara ait bulgular	73
4.1.1. İzole edilen bileşiklerin yapı tayinlerine ait bulgular.....	73
4.2. Aktivite Çalışmalarına Ait Bulgular	97
4.2.1. Fibrin plak yöntemi ile <i>in vitro</i> fibrinolitik aktivite bulguları	97
4.2.2. <i>In vivo</i> biyolojik aktivite bulguları.....	104
4.2.3. Histopatolojik ve immunohistokimyasal bulgular	107
5. TARTIŞMA.....	115
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	127
KAYNAKLAR	129
EKLER	149
EK-1. Etik Kurul	150
ÖZGEÇMİŞ	152

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. <i>Rumex nepalensis</i> 'in ülkemizdeki yayılışı	8
Çizelge 2.2. <i>Rumex</i> türlerinin geleneksel tıp ve halk arasında kullanılışı	12
Çizelge 2.3. <i>Rumex nepalensis</i> bitkisinden izole edilen tanen türevi bileşikler	23
Çizelge 2.4. <i>Rumex nepalensis</i> bitkisi üzerinde gerçekleştirilen aktivite çalışmaları.....	30
Çizelge 2.5. Klinikte adezyona karşı kullanılan ve bariyer etkisi gösteren doğal ürünler	37
Çizelge 2.6. <i>In vivo</i> deney modellerinde adezyon önleyici etki gösteren bitkiler	40
Çizelge 2.7. Anti-adezif etki gösteren doğal kaynaklı ürünler ve bileşikler.....	42
Çizelge 3.1. Çalışılan bitki örneklerinin toplandığı yer, tarih, teşhis eden araştırmacı ve herbaryum numarası bilgileri.....	47
Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan sarf malzemeler ve kimyasal maddeler.....	49
Çizelge 3.3. Çalışmada kullanılan cihazların isim ve marka bilgileri	50
Çizelge 3.4. Bitkilerin miktarları, elde edilen ekstraların ağırlıkları ve yüzde verimleri	51
Çizelge 3.5. Alt ekstraların miktarları, yüzde verimleri ve İTK profili.....	52
Çizelge 3.6. VLC sisteminde kullanılan mobil faz bileşimleri.....	56
Çizelge 3.7. VLC1'den elde edilen alt fraksiyonlar	57
Çizelge 3.8. Silika jel-1 kolonda kullanılan mobil faz sistemler.....	59
Çizelge 3.9. Silika jel-2 kolonda kullanılan mobil faz sistemleri.....	62
Çizelge 3.10. Deney grupları	66
Çizelge 3.11. Test numunelerinin hayvanlara uygulanışları.....	67
Çizelge 3.12. Adezyon skortlama sistemi.....	68
Çizelge 4.1. Sinnamtanen B1 (RN2) bileşiğinin spektroskopik verileri ve önemli HMBC etkileşimleri.	76
Çizelge 4.2. Epikateşin gallat (RN3) bileşiğinin spektroskopik verileri.	90
Çizelge 4.3. Plazminin eritme alanları.....	98

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.4. Bitki ekstralarının eritme alanları.....	99
Çizelge 4.5. <i>R. nepalensis</i> ekstresinin alt ekstraların eritme alanları.....	101
Çizelge 4.6. Sulu alt ekstreten elde edilen fraksiyonların eritme alanları	102
Çizelge 4.7. Alt fraksiyonların eritme alanları.....	103
Çizelge 4.8. İzole edilen bileşiklerin eritme alanları	104
Çizelge 4.9. İntra-abdominal adezyon modelinde gruplara göre adezyon skorları	105
Çizelge 4.10. Uterus immunopozitif alan yüzdeleri	111
Çizelge 4.11. Ovaryum immunopozitif alan yüzdeleri	113
Çizelge 4.12. Oksidatif stres indeksi değerleri	114

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. <i>R. nepalensis</i> 'in "Flora of Turkey and the East Aegean Islands" ve incelenen herbarium kayıtlarına göre yayılışı	9
Şekil 2.2. <i>Rumex nepalensis</i> bitkisinden izole edilen tanen türevi bileşikler	22
Şekil 2.3. Adezyon oluşumu mekanizması	33
Şekil 2.4. Adezyonda tedavi yaklaşımı	35
Şekil 2.5. <i>In vivo</i> adezyon modeli sonrası ölçülen parametreler	45
Şekil 3.1. Çalışma materyallerinin toplandığı lokaliteler	47
Şekil 3.2. Aktivite yönlendirmeli fraksiyonlama ve izolasyon çalışmaları metodoloji şeması	51
Şekil 3.3. <i>R. nepalensis</i> kök ekstresinden alt ekstrahelerin hazırlanış şeması	53
Şekil 3.4. <i>R. nepalensis</i> metanollü ekstresinin sulu alt ekstresi üzerinden yürütülen izolasyon çalışmaları	60
Şekil 3.5. <i>R. nepalensis</i> 'in sulu alt ekstresi üzerinde yapılan miktar arttırma çalışmaları	63
Şekil 4.1. Sinnamtanen B1 (RN2) bileşiğine ait ¹ H-NMR spektrumu (CD ₃ OD, 400 MHz)	78
Şekil 4.2. Sinnamtanen B1 (RN2) bileşiğine ait ¹ H-NMR spektrumu (CD ₃ OD, 400 MHz)	79
Şekil 4.3. Sinnamtanen B1 (RN2) bileşiğine ait ¹ H-NMR spektrumu (CD ₃ OD, 400 MHz)	80
Şekil 4.4. Sinnamtanen B1 (RN2) bileşiğine ait ¹³ C-NMR spektrumu (CD ₃ OD, 100 MHz)	81
Şekil 4.5. Sinnamtanen B1 (RN2) bileşiğine ait ¹³ C-NMR spektrumu (CD ₃ OD, 100 MHz)	82
Şekil 4.6. Sinnamtanen B1 (RN2) bileşiğine ait ¹³ C-NMR spektrumu (CD ₃ OD, 100 MHz)	83
Şekil 4.7. Sinnamtanen B1 (RN2) bileşiğine ait COSY spektrumu	84
Şekil 4.8. Sinnamtanen B1 (RN2) bileşiğine ait HSQC spektrumu	85
Şekil 4.9. Sinnamtanen B1 (RN2) bileşiğine ait HMBC spektrumu	86

Şekil	Sayfa
Şekil 4.10. Sinnamtanen B1 (RN2) bileşiğine ait HR-ESI MS spektrumu	87
Şekil 4.11. Epikateşin gallat (RN3) bileşiğine ait ¹ H-NMR spektrumu (CD ₃ OD, 400 MHz).....	91
Şekil 4.12. Epikateşin gallat (RN3) bileşiğine ait ¹³ C-NMR spektrumu (CD ₃ OD, 100 MHz).....	92
Şekil 4.13. Epikateşin gallat (RN3) bileşiğine ait COSY spektrumu	93
Şekil 4.14. Epikateşin gallat (RN3) bileşiğine ait HSQC spektrumu	94
Şekil 4.15. Epikateşin gallat (RN3) bileşiğine ait HMBC spektrumu	95
Şekil 4.16. Epikateşin gallat (RN3) bileşiğine ait HR-ESI MS spektrumu	96
Şekil 4.17. Plazminin eritme alanları polinom grafiği (ünite bazlı)	98

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 2.1. <i>Rumex nepalensis</i> Spreng.	7
Resim 3.1. Bitki materyali	48
Resim 3.2. Alt ekstrelerin hazırlanışı.....	53
Resim 3.3. Sephadex LH-20 kolon kromatografisi-1 sonucu toplanan fraksiyonların İTK görünümleri	55
Resim 3.4. Vakumlu ters faz silika jel kolon kromatografisi sonucu toplanan fraksiyonların İTK görünümleri.....	56
Resim 3.5. Sephadex LH-20 kolon kromatografisi-2 sonucu toplanan fraksiyonların İTK görünümleri	57
Resim 3.6. Preparatif İTK yöntemiyle alınan maddelerin İTK görünümleri.....	58
Resim 3.7. Silika jel kolon kromatografisi sonucu toplanan fraksiyonların İTK görünümleri.....	59
Resim 3.8. Fibrin plak yöntemi.....	65
Resim 3.9. Sıçanlarda abdominal adezyon modelinin oluşturulması	67
Resim 4.1. Plazmin fibrin plak eritme alanları	97
Resim 4.2. Ekstrelerin fibrin plak eritme alanları.....	100
Resim 4.3. Alt ekstrelerin fibrin plak eritme alanları	101
Resim 4.4. Fraksiyonların fibrin plak eritme alanları	102
Resim 4.5. Alt fraksiyonların fibrin plak eritme alanları.....	103
Resim 4.6. İzole edilen bileşiklerin fibrin plak eritme alanları.....	104
Resim 4.7. İntra-abdominal adezyon modeli	106
Resim 4.8. Deney gruplarına ait uterus kesitleri (HE, X50).....	107
Resim 4.9. Deney gruplarına ait ovaryum kesitleri (HE, X50)	108
Resim 4.10. Deney gruplarına ait uterus kesitlerinde fibrotik alanlar (MT, X400).....	108

Resim	Sayfa
Resim 4.11. Deney gruplarına ait uterus kesitlerinde TNF- α immunoreaktivitesi (DAB, Mayer's hematoksilen, X400).....	109
Resim 4.12. Deney gruplarına ait uterus kesitlerinde IL-6 immunoreaktivitesi (DAB, Mayer's hematoksilen, X400).....	110
Resim 4.13. Deney gruplarına ait uterus kesitlerinde IL-8 immunoreaktivitesi (DAB, Mayer's hematoksilen, X400).....	110
Resim 4.14. Deney gruplarına ait ovaryum kesitlerinde fibrotik alanlar (MT, X400)...	111
Resim 4.15. Deney gruplarına ait ovaryum kesitlerinde TNF- α immunoreaktivitesi (DAB, Mayer's hematoksilen, X400).....	112
Resim 4.16. Deney gruplarına ait ovaryum kesitlerinde IL-6 immunoreaktivitesi (DAB, Mayer's hematoksilen, X400).....	112
Resim 4.17. Deney gruplarına ait ovaryum kesitlerinde IL-8 immunoreaktivitesi (DAB, Mayer's hematoksilen, X400).....	113

KISALTMA VE SİMGELER

Tez çalışmasında kullanılan kısaltma ve simgeler açıklamaları ile aşağıda yer almaktadır.

Kısaltmalar	Açıklamalar
¹ D ve ² D NMR	Tek ve iki boyutlu nükleer manyetik rezonans
ABTS	2,2'-Azino-bis(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit)
ANK	Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Herbaryumu
COSY	Korelasyon spektroskopisi
COX	Siklooksijenaz
DAB	Diaminobenzedin
DKM	Diklorometan
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
ECM	Ekstraselüler matriks
EGF	Epidermal büyüme faktörü
ELISA	Enzim bağlı immunosorbent deneyi
EtOAc	Etil asetat
FDA	Amerika Gıda ve İlaç Dairesi
FGF	Fibroblast büyüme faktörü
FR	Fraksiyon
G.Ü.ET	Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu
GAZI	Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Herbaryumu
HMBC	Heteronükleer çoklu bağ korelasyonu
HPTLC	Yüksek performanslı ince tabaka kromatografisi
HR-MS	Yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresi
HSQC	Heteronükleer tekli kuantum uyumu
HUB	Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Herbaryumu
IC ₅₀	%50 inhibisyon gösteren konsantrasyon
IGF	İnsülin benzeri büyüme faktörü
IL	İnterlökin
IR	İnfrared spektroskopisi
<i>i.p.</i>	İntraperitoneal
İTK	İnce tabaka kromatografisi

MeOH	Metanol
MP	Orta basınçlı sıvı kromatografisi
MMP	Matriks metalloproteinaz
NSAİİ	Nonsteroidal anti-enflamatuvar ilaçlar
OSI	Oksidatif stres indeksi
PAA	Postoperatif abdominal adezyon
PAI	Plazminojen aktivatör inhibitörü
PBS	Fosfat tampon çözeltisi
Prep. İTK	Preparatif ince tabaka kromatografisi
RP	Ters faz
rt-PA	Rekombinant doku plazminojen aktivatörü
TAS	Toplam antioksidan seviyesi
TNF	Tümör nekroz faktörü
TIMP	Metalloproteinaz doku inhibitörleri
TOS	Toplam oksidan seviyesi
tPA	Doku plazminojen aktivatör
UV	Ultraviyole
VEGF	Vasküler endotelyal büyüme faktörü
VLC	Vakumlu sıvı kromatografisi

Simgeler	Açıklamalar
%	Yüzde
°C	Santigrat derece
dk	Dakika
g	Gram
Hz	Hertz
<i>J</i>	Etkileşim sabiti
L	Litre
mg	Miligram
mL	Mililitre
mm	Milimetre
nm	Nanometre
ppm	Milyonda bir birim
U	Ünite
α	Alfa
β	Beta
γ	Gama
δ	Sigma
μL	Mikrolitre
μM	Mikromolar

1. GİRİŞ

İlaç keşfi ve geliştirilmesi, ilaç adayı moleküllerin sentezlenmesi veya doğal kaynaklı bileşiklerin araştırılması yoluyla gerçekleştirilir. Ülkemiz zengin florasıyla doğal kaynaklar konusunda önemli bir yere sahiptir. Bitki sekonder metabolitlerinin hem ilaç adayı olabilme hem de sentez yoluyla elde edilebilecek biyoaktif bileşikler için moleküler model oluşturabilme potansiyellerinin bulunması, ülkemizde yetişen tıbbi bitkilerin araştırılmasını önemli kılmaktadır.

Ülkelerin sağlık sistemlerine mali yük oluşturan önemli sorunlardan biri olan intra-abdominal adezyon, cerrahi işlem, travma, yanıklar, vücutta yabancı cisimler, doku iskemisi ve enfeksiyon gibi faktörler nedeniyle iç organların veya peritonun hasarlanması sonucunda meydana gelir. Karın içi yapışıklıkların en yaygın sebebi, öncesinde geçirilmiş abdominal operasyonlardır. Kolorektal, gastrointestinal, jinekolojik, apandisit ve sezeryan bu operasyonlar arasında yer almaktadır (Awonuga, Fletcher, Saed ve Diamond, 2011; Sikirica ve diğerleri, 2011). İntra-abdominal cerrahi sonrası gelişen adezyon hayatı tehdit eden komplikasyonlara neden olabilmekte, bazı durumlarda re-operatif cerrahi işlem gerektirebilmektedir. Adezyonun tanısız görüntüleme ile net olarak teşhis edilemediği, kesin tedavi yönteminin henüz bulunmadığı, ayrıca tedavi seçeneklerinin semptomlar ortaya çıktıktan sonra ele alındığı anlaşılmaktadır. Bu nedenle, adezyonun tedavisinden ziyade önlenmesi ve gerekli tıbbi müdahalenin cerrahi girişim sırasında yapılması ön planda tutulmalıdır. Adezyonun önlenmesi için alınan tüm tedbirlere rağmen istenilen etkinin tam olarak sağlanamaması, bu konuda daha fazla bilimsel araştırmanın yürütülmesi gerekliliğine işaret etmektedir. Adezyon oluşumunun patofizyolojisi; enflamasyon, oksidasyon, koagülasyon, fibrinoliz, hücre proliferasyonu gibi birçok karmaşık süreci içerdiğinden, bu problemin çok faktörlü bir süreç olduğu göz önünde bulundurulduğunda, tıbbi bitkilerin farklı yapıdaki sekonder metabolitleri içermeleri dolayısıyla biyoaktivitelerini farklı mekanizmalar üzerinden gösterebilmeleri, mevcut sorunun çözümüne önemli bir katkı sağlayabilir.

Sağlığın korunmasında ve hastalıkların tedavisinde önemli bir yeri olan tıbbi bitkiler üzerinde yapılan fitokimyasal ve biyoaktivite çalışmalarının son yıllarda artış gösterdiği görülmektedir. Yapılan çalışmalarda tespit edildiği üzere, özellikle flavonoid, tanen ve

antrakınon yapısındaki bileşiklerin antikoagülan, trombolitik ve fibrinolitik etkilerine bağlı olarak ve aynı zamanda bu bileşiklerin antioksidan ve anti-enflamatuvar etkileri de göz önünde bulundurularak, intra-abdominal adezyon süreçlerinde koruyucu ve tedavi edici etki potansiyellerinin olabileceği öngörülmüştür. Bu doğrultuda, intra-abdominal adezyona karşı çözüm üretilmesi amacıyla, çalışmamızda, içerdiği bileşikler açısından adezyonun önlenmesinde olumlu etki gösterebilecek ve aktiviteleri daha önceki çalışmalarda araştırılmış bitkilerle benzer taksonomik sınıfta yer alan *Asphodeline lutea* Rchb. (Asphodelaceae), *Rheum ribes* L. (Polygonaceae), *Rubia tinctorum* L. (Rubiaceae) ve *Rumex nepalensis* Spreng. (Polygonaceae) bitkilerinin köklerinden hazırlanan metanollü ekstraktların etkilerinin *in vitro* (fibrin plak yöntemi) ve *in vivo* (sıçanlarda deneysel intra-abdominal adezyon modeli) yöntemlerle değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Fibrinolitik etkileri *in vitro* yöntemlerle karşılaştırmalı olarak değerlendirilen bu bitki türleri arasından en etkili bulunan tür üzerinde aktivite yönlendirmeli fraksiyonlama çalışmaları yapılarak, etkiden sorumlu bileşiklerin belirlenmesi, yapılarının tayin edilmesi ve *in vivo* deney modelinde prelinik etkilerinin araştırılması hedeflenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

Çalışmamızda, *Asphodeline lutea* (L.) Rchb., *Rheum ribes* L., *Rubia tinctorum* L. ve *Rumex nepalensis* Spreng. bitkilerinin biyolojik aktivitelerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bu bitkiler halk arasında, sarı çiriş (*Asphodeline lutea*), ılgın (*Rheum ribes*), kökboyası (*Rubia tinctorum*) ve dibikızıl (*Rumex nepalensis*) olarak isimlendirilmektedir (Güner, Aslan, Ekim, Vural ve Babaç, 2012). Bu bitkiler arasında en yüksek aktivite gösteren türün *Rumex nepalensis* Spreng. olduğu belirlendiğinden, “Genel Bilgiler” bölümünde bu türe ait botanik bilgiler sunulmuştur.

2.1. Botanik Bilgiler

2.1.1. Polygonaceae familyası

Karabuğdaygiller veya Madımgiller olarak bilinen Polygonaceae familyası dünya genelinde özellikle Kuzey Yarımküre’de yayılış göstermekte ve yaklaşık 50 cins ve 1200 türden oluşmaktadır (Freeman ve Reveal, 2005; Sanchez ve Kron, 2008). Türkiye’de 6 cins ve 108 takson ile temsil edilen tek ya da çok yıllık bitkilerdir (Keskin ve Severoğlu, 2023; Özer ve diğerleri, 1999). Ülkemizdeki türler arasında *Emex*, *Fagopyrum*, *Fallopia*, *Koenigia*, *Oxyria*, *Persicaria*, *Polygonum*, *Pteropyrum*, *Reynoutria*, *Rheum* ve *Rumex* yer almaktadır (Keskin ve Severoğlu, 2023).

Ot, çalı ya da küçük ağaç formunda, tek veya iki evcikli bitkilerdir. Gövdesi dik, kıvrımlı ve ince yapılıdır, genellikle boğumlu veya dikenlidir. Yapraklar basit, alternan dizilişli, nadiren karşılıklı veya çevrel dizilişli, saplı veya sapsızdır. Çiçek durumu terminal veya aksiller, spika, rasemoz, panikula veya kapitattır. Küçük, aktinomorf çiçeklere sahiptir. Periant 3-6 parçalı; parçalar tabanda birleşik, genellikle meyvede genişlemiştir. Stamenler genellikle 6-9 adet, nadiren daha fazla; filamentler serbest veya tabanda birleşik; anterler 2 gözlü, gözler uzunlamasına açılmaktadır. Ovaryum üst durumlu ve 1 gözlü; stilus 2 veya 3, nadiren 4 adet, serbest veya tabanda birleşiktir. Üçgen, bikonveks veya bikonkav şeklindeki aken tipi meyve, düz veya kavisli embriyo ve çok endosperma içeren tohum taşımaktadır (Anjen ve diğerleri, 2003).

2.1.2. *Rumex* cinsi

Bir veya çok yıllık otsu bitkilerdir. Yapraklar alternan, okrea tübüler. Çiçekler tek eşeyli veya hermafrodit, çevresel dizilişli (glomerül); pedisel eklemli. Periant segmentleri iki halkada ve üçlü; iç halkadakiler genellikle genişlemiş ve meyvede yumrucuklar oluşturur. Stamenler 6 adet; stilus 3 adet, uzun. Fındıksı meyve üçgen şeklindedir (Cullen, 1966).

Rumex cinsine ait “Flora of Turkey and the East Aegean Islands” isimli kaynakta yer alan 23 tür için teşhis anahtarı aşağıda yer almaktadır.

1. Çiçekler tek eşeyli; yapraklar hastat veya sagitat
 2. Meyvede iç periant segmentleri büyümez, meyveden biraz daha büyük veya değil
 - 1. acetosella**
 2. Meyvede büyüyen iç periant segmentleri, meyveden daha büyük
 3. Meyvelerde dış periant segmentleri yumrucuksuz iç segmentlerin üzerine basıktır; yapraklar pandurat
 - 2. scutatus**
 3. Dış periant segmentleri meyvede geri kıvrılmış; iç segmentler küçük, yumrucuklar geriye doğru yönlendirilmiş; yapraklar pandurat değil
 4. Köklerin en azından bir kısmı yumrulu
 - 3. tuberosus**
 4. Kökler yumrulu değil
 - 4. tmoleus**
 1. Çiçekler hermafrodit; yapraklar hastat veya sagitat değil
 5. Meyvede tüm iç periant segmentleri yumrucuksuz
 6. Alt yapraklar geniş yapraklardan 2 kat daha uzundur, uç kısımları oldukça yuvarlak; yaprağın orta kısmında ana damarla dar açı oluşturan ikincil damarlar yer alır
 - 5. alpinus**
 6. Alt yapraklar geniş olanlardan çok daha uzun, kademeli olarak uç kısımlarına doğru sivri; yaprağın orta kısmındaki ikincil damarlar $\pm$ aynı damarla dik açı oluşturur
 - 6. gracilescens**
 5. Meyvede iç periant segmentlerinden en az biri yumrucuklu
 7. Meyvede iç periant segmentleri düz veya dentikulat (dişler nadiren 1 mm'ye kadar)
 8. Meyvede iç periant segmentleri 10 mm'den geniş
 9. Meyve pediselleri ince, periant segmentlerinden daha uzun, alt yarıda eklemli
 - 11. ponticus**
 9. Meyve pediselleri kalın, periant segmentlerinden daha kısa, yaklaşık ortada eklemli

12. angustifolius

8. İç periant segmentleri meyvede 10 mm genişliğe kadar

10. Pediseller kalın, sert, yaklaşık periant segmentleri kadar uzun, ortasına yakın eklemli

19. pulcher

10. Pediseller ince, esnek, periant segmentlerinden daha uzun, alt yarıda eklemli

11. İç periant segmentleri meyvede ungulat, yumrucuk neredeyse segment kadar geniş; glomerül uzak

12. İç periant segmentlerinin tümü yumrucuklu; pediseller periant segmentlerinden biraz daha uzun

14. conglomerate

12. İç periant segmentlerinden yalnızca biri yumrucuklu; pediseller belirgin şekilde periant segmentlerinden daha uzun

15. sanguineus

11. İç periant segmentleri genişçe kordat-orbikular veya meyvede kordat- triangular, yumrucuk segmentten çok daha dardır; glomerüller genellikle üst üste biner

13. Sucul; taban yapraklar genellikle en az 50 cm; meyvede iç periant segmentleri triangular, yumrucukların boyu enlerinden 2-4 kat daha uzun

16. hydrolapathum

13. Karasal; taban yapraklar çok daha küçük; iç periant segmentleri $\pm$ meyve kadar geniş, yumrucukların boyu enlerinden 2 kat daha uzun

14. Taban yaprakların boyu enlerinden 3 kat daha uzundur; yaprak sapı üst yüzde oluklu

13. crispus

14. Taban yapraklarının boyu enlerinin 3 katından daha kısa; yaprak sapı üst yüzde düz

15. Yaprığın orta kısmında ana damarla 45-60° açı yapan ikincil damarlar yer alır

16. Yumrucuklar iğ şeklinde, boyları enlerinden yaklaşık 2 kat daha uzun

9. caucasicus

16. Yumrucuklar oval veya elips, boyları yaklaşık olarak enleri kadar

8. patientia

15. Yaprığın orta kısmında ana damarla 60-90° açı yapan ikincil damarlar yer alır

17. İç periant segmentleri 6-8 x 6-7 mm, düzensiz dentikulat, tümü yumrucuklu

10. cristatus

17. İç periant segmentleri 5x6 mm, belirsiz şekilde sinuat-dentikulat, yalnızca bir yumrucuklu **7. olympicus**

7. Meyvede iç periant segmentleri belirgin şekilde dentat, genellikle dişler en az 1 mm (nadiren segmentler yalnızca tabanda dentat)

18. Çok yıllık

19. İç periant segmentlerinin dişleri içe doğru helisel olarak kıvrılmış

21. nepalensis

19. İç periant segmentlerinin dişleri düz veya hafif kavisli

20. Pediseller kalın, aşağıya doğru sert bir şekilde kavisli, yaklaşık olarak meyvedeki periant segmentleri kadar uzunlukta, ortaya yakın bir yerde eklemlenmiş

21. İç periant segmentleri 2,5-4,5 mm genişliğinde, tümüyle dişli **19. pulcher**

21. İç periant segmentleri 2 mm genişliğinde, yalnızca alt kısımda dişli

20. amarus

20. Pediseller ince, esnek, sarkık, yaklaşık olarak orta kısmın altında eklemlenen periant segmentlerinden 2 kat daha uzun

22. Periantın hemen altında pediseller aniden şişmiş; iç periant segmentleri geniş kordat **17. chalepensis**

22. Pediseller yavaş yavaş yukarıya doğru şişmiş; iç periant segmentleri dar üçgen şeklinde **19. obtusifolius subsp. subalpinus**

18. Bir yıllık

23. Glomeruli çok çiçekli; pediseller filiform

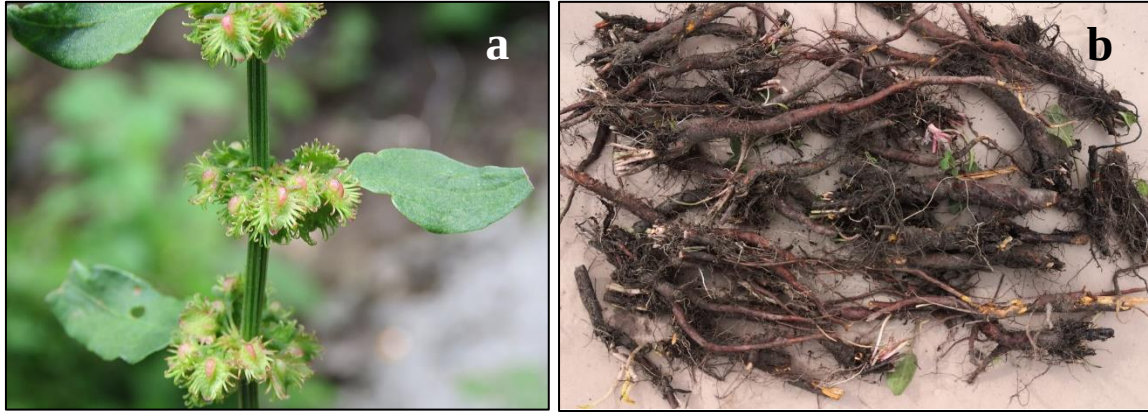
22. dentatus subsp. halacsyi

23. Glomeruli 1-2 çiçekli; pediseller genellikle şişkin

23. bucephalophorus

2.1.3. *Rumex nepalensis* Spreng.

Çok yıllık. Alt yapraklar oblong-ovat, boyu eninden 1 1/2-3 kat daha uzun, undulat-dentikulat, tabanda kordat. Çiçek durumunun glomerülleri en azından yukarıda bitişiktir. Çiçek sapları ince, esnek, iç periant segmentlerinden daha uzun, alt yarıda eklemlenmiş. İç periant segmentleri $\pm$ oblong-ovat, derin dentat, dişlerin tepe kısımları helisel olarak içe kıvrık, en az bir segmentte belirgin iç şeklinde bir yumrucuk var. *Fl.* 5-8. *Yamaçlar, maki, ormanlar, 1100-2000 m* (Resim 2.1).



Resim 2.1. *Rumex nepalensis* Spreng.

a) Toprak üstü (<https://commons.wikimedia.org>) b) Kök (Fotoğraf: Gizem Deynez)

Sinonimleri: *Rumex camptodon* Rech.f.; *Rumex bequaertii* var. *quarrei* (De Wild.) Robyns; *Rumex quarrei* De Wild.; *Rumex bequaertii* De Wild.; *Rumex esquirolii* H.Lév.; *Rumex ramulosus* Meisn.; *Rumex nepalensis* var. *nepalensis* (<https://wfoplantlist.org>).

Çiçeklenme: Nisan-Mayıs

Meyve: Haziran-Temmuz

Habitat: Yüksek rakımlarda, nemli ve kuru yamaçlarda, gölgede

Yükseklik: 900-4000 m

Genel yayılış: Afganistan, Butan, Çin, Endonezya, Güney Afrika, Güneybatı Asya, Hindistan, Japonya, Myanmar, Nepal, Nijerya, Pakistan, Tacikistan, Türkiye, Vietnam

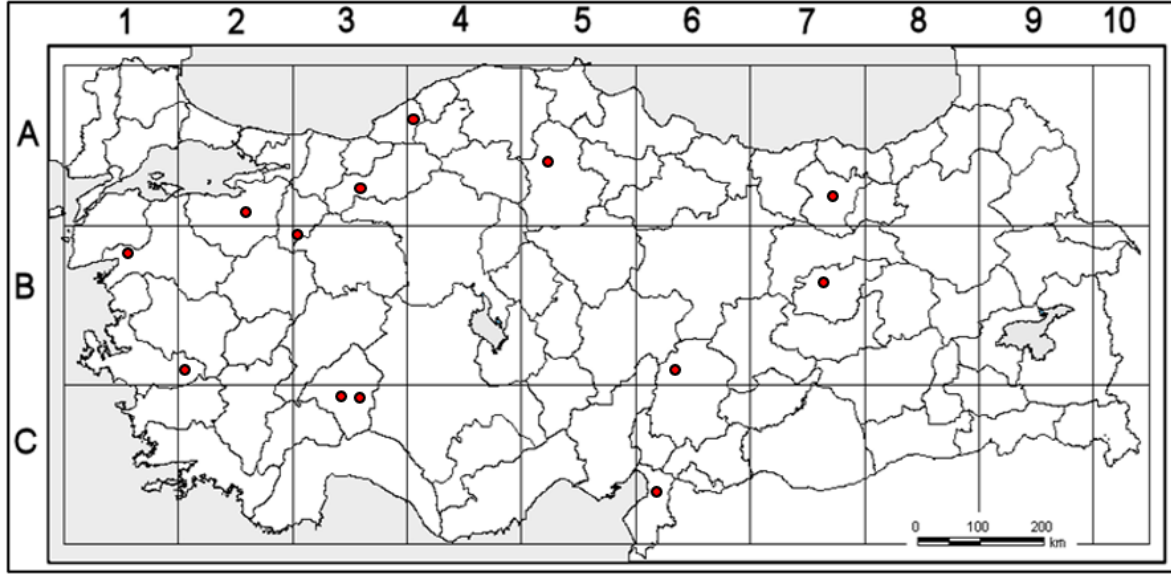
Türkiye’deki yayılışı: Amasya, Balıkesir, Bilecik, Bolu, Bursa, Giresun, Gümüşhane, Hatay, Isparta, İzmir, Kahramanmaraş, Kastamonu, Kocaeli, Konya, Tunceli, Zonguldak (Vashistha ve diğerleri, 2009; Manandhar, 2002; Keskin ve Severoğlu, 2023; Shaikh, Shriram, Srivastav, Barve ve Kumar, 2018).

Rumex nepalensis’in Türkiye’deki yayılışı, bitkinin “Flora of Turkey and the East Aegean Islands” da yer alan kayıtları ile herbaryum örnekleri incelenerek Çizelge 2.1 ve Şekil 2.1’de belirtilmiştir.

Çizelge 2.1. *Rumex nepalensis*'in ülkemizdeki yayılışı

Kare	Toplandığı Tarih ve Lokasyon	Kayıt Bilgileri	Herbaryum No	Kaynak
A2	Bursa, Uludağ	Aucher 2579	-	Cullen, 1966
A3	Bolu, Mudurnu'dan Abant Gölü'ne 1100 m	-	D. 37119	Cullen, 1966
A3	Bolu, Bolu-Aladağ arası <i>Abies</i> Ormanı, 1600 m, 14.08.1983	M.Vural	2686 (GAZI)!	-
A3	Bolu, Abant Gölü çevresi, <i>Pinus sylvestris</i> ormanı, 1220 m, 23.07.1978	A.Güner	04768 (HUB)!	-
A4	Zonguldak, Kel Tepe 1600 m		D. 38867	Cullen, 1966
A4	Kastamonu, Ankara'nın 206 km kuzeyinde Kastamonu yolu üzerinde, 1400 m, 24.07.1989	R.M.Nesbitt & D.J.Samuel.	2728 (GAZI)!	-
A5	Çorum, İskilip, Koçcağz Köyü, Ayı Deresi mevkii <i>Abies</i> ormanı, 1400 m, 17.07.1976	M.Kılınç	04770 (HUB)! 6930 (HUB)!	-
A7	Gümüşhane, Tempede	Sint. 1894	7429	Cullen, 1966
B1	Balıkesir, İda (Kaz Dağları)	Sint. 1883	706	Cullen, 1966
B2	İzmir, Bozdağ	Bal. 352	-	Cullen, 1966
B3	Bilecik, İnönü'ye 8 km, 1030 m	Hub.-Mor. 14399	-	Cullen, 1966
B6	Kahramanmaraş, Göksun, Fındık Köyü, Kandil Dağı, Kuzey yamaç, Orman içi ve açıklıkları, 1600-1800 m, 27.07.1981	B.Yıldız 3071	04767 (HUB)!	-
B7	Tunceli, Ovacığın Güneyi, 1750 m	-	D. 31545	Cullen, 1966
B7	Tunceli, Ovacığın Güneyi, 1750 m, 22.07.1957	Davis&Hedge	31545 (ANK)!	-
C3	Isparta, Dedegöl dağı, Milli park civarı çam ormanı altı, nemli yerler, 1500-1800 m, 19.07.1995	H.Özçelik	7162 (GAZI)!	-
C3	Isparta, Eğridir, Yukarı Gökdere, Kasnak Ormanı, Kalkerli Arazi, Karışık Orman. 1700 m, 11.07.1974	H.Peşmen-A.Güner,1820	04769 (HUB)!	-
C6	Hatay, Amanos	Haradj	289	Cullen, 1966

ANK: Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Herbaryumu; GAZI: Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Herbaryumu; HUB: Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Herbaryumu; (!): Tarafımızdan incelenmiş herbaryum örnekleri



Şekil 2.1. *R. nepalensis*'in “Flora of Turkey and the East Aegean Islands” ve incelenen herbaryum kayıtlarına göre yayılışı

2.2. *Rumex* Türleri Üzerinde Yapılan Çalışmalar

2.2.1. Halk arasında kullanılışı

Rumex türlerinin dünyada ve ülkemizde çayır ve mera alanlarında geniş yayılış göstermesi ve halk arasında tanınan türler olması dolayısıyla hem ilaç hem de gıda olarak kullanıldığına dair kayıtlar mevcuttur. Bu bitkilerin geleneksel tıp ve halk arasındaki kullanılışları, Çizelge 2.2'de gösterilmektedir. *R. nepalensis*, Himalayalar boyunca Güney Asya'da Butan'dan Hindistan bölgesindeki Keşmir'e kadar yayılış gösteren, Türkiye, Java Adası ve Güney Afrika'da yetişen çok yıllık bir bitkidir (Farooq, Pandith Saggo ve Lattoo, 2013).

Kore Gıda ve İlaç İdaresi tarafından *R. acetosa* temel gıda maddesi olarak bildirilmiş, deri hastalıklarında ve müshil olarak halk hekimliğinde kullanılmıştır (Lee ve diğerleri, 2005). *R. acetosa*'nın toprak üstü, yaprak ve köklerinin gıda olarak tüketildiği belirtilmiştir (Dogan ve diğerleri, 2015; Nedelcheva, 2013; Pardo-de-Santayana ve diğerleri, 2007; Ali-Shtayeh ve diğerleri, 2008; Łuczaj ve Szymański, 2007). *R. acetosella* L.'nin çiğnenmiş taze yapraklarının mide rahatsızlıklarına iyi geldiği ve gıda olarak kullanıldığı bildirilmiştir (Łuczaj ve Szymański, 2007; Moerman, 2003). *R. abyssinicus* Jacq. bitkisinin rizomları tereyağına sarı renk vermesi amacıyla kullanılmaktadır (Mekonnen, Urga ve Engidawork, 2010). Kenya ve Kuzey Amerika'da *R. abyssinicus* ve *R. hymenosepalus* Torr.'un yumrulu

kökleri boya olarak (sarı renk) kullanılmaktadır (Munavu, Mudamba ve Ogur, 1984; Moerman, 2003). Kuzey Amerika Kızılderilileri tarafından *R. hymenosepalus*'un tohumları gıda olarak tüketilmektedir (Moerman, 2003). *R. hymenosepalus* kökleri yaralarda, cilt tahrişine, öksürüğe ve diyareye karşı kullanılmakta; astrenjan ve kan temizleyici etkilerinden yararlanılmaktadır (Rivero-Cruz ve diğerleri, 2005; Tyler, 1993; Moerman, 2003).

Alplerde, eski çağlarda *R. alpinus* L. yaprakları gıda olarak tüketilmiş (Dreon ve Paoletti, 2009; Štastná, Klimeš ve Klimešová, 2010) ve antianemik ve afrodisyak etkileri için kullanılmıştır (Abbet ve diğerleri, 2014). *R. patientia* L.'nin toprak üstü kısımları gıda olarak tüketilmektedir (Nedelcheva, 2013; Pieroni ve Quave, 2014). *R. patientia*'nın kökleri Türkiye'de geleneksel tedavide, egzamaya, konstipasyona, diyareye karşı ve kan temizleyici, tonik olarak ve apse olgunlaşması amacıyla kullanımı bulunmaktadır. Bu bileşiklerin toksik içeriği olmadığı ve halk ilacı olarak kullanımının güvenilir olduğu bildirilmiştir. *R. alpinus*, *R. conglomeratus*, *R. crispus*, *R. obtusifolius*, *R. pulcher* türlerinin kökleri de aynı amaçla kullanılmaktadır (Baytop, 1999). *R. crispus* L.'nin yaprak ve tohumları gıda olarak (Łuczaj ve Szymański, 2007; Pareek ve Kumar, 2014); kökleri şişlik ve yaralarda (Moerman, 2003) tohumu diyare ve yara tedavisinde kullanılmıştır (Péntek ve Szabó, 1985).

R. nepalensis, Malam Jabba bölgesinde, C vitamini içeriği yüksek olduğundan skorbit tedavisinde kullanılmaktadır (Kala, Farooquee ve Dhar, 2004). Geleneksel Hint Tıbbında bitkinin yapraklarından hazırlanan ekstresi yara iyileştirici olarak; infüzyonu kolik ve ülser tedavisinde (Kumar, Joseph, George, Kaur ve Bharti, 2011); Nepal'de bitkinin kökleri dövülerek hayvanlarda ishal ve dizanteri tedavisinde; yaprak tozu tereyağı ile karıştırılarak uyuz tedavisinde haricen kullanılmaktadır (Manandhar, 1995). Sulu ekstresinin vücut ağrısını azaltmada kullanımı bulunmaktadır (Shrestha ve Joshi, 1993). Yaprak ekstresi kanama durdurucu ve antiseptik etkiye sahiptir ve *Acacia nilotica* (L.) P.J.H.Hurter & Mabb. yapraklarının alerjik etkisine karşı kullanılmaktadır (Ahmed, Erum, Khan, Nawaz ve Wahid, 2004). *R. nepalensis* gıda olarak da tüketilmektedir (Misra, Maikhuri, Kala, Rao ve Saxena, 2008). Geleneksel Hint Tıbbında yaygın kullanımı olan *R. nepalensis*'in yaprakları kolik ülser ve frengiye karşı kullanılmakta ve antiseptik etki göstermektedir (Kirtikar ve Basu, 1987); kökleri pürgatif amaçla *Rheum* türlerine alternatif olarak kullanılmaktadır (Manandhar, 2002). Geleneksel Çin Tıbbında, kanamaya ve enflamasyona karşı, ağrı kesici olarak, konstipasyon ve mantar enfeksiyonlarında tedavi edici amaçla yararlanılmaktadır

(Zhang, Zhao, Wang, Cheng ve Tang, 2008). Yapraklarından hazırlanan infüzyon, karın ağrısı ve dismenorede kullanılmakta, yapraklar pişirilerek sebze olarak tüketilmektedir (Sharma, Mishra, Singh, Seth ve Babu, 2008). Etiyopya'da 51 tıbbi bitki ile yapılan bir çalışmada en yüksek geçerlilik düzeyi değerine sahip 3 bitkiden biri olan *R. nepalensis*'in mide bağırsak şikayetlerinde kullanımı olduğu ve bu alanda yapılacak çalışmalarda bu bitkilere öncelik verilmesi gerektiği bildirilmiştir (Giday, Asfaw ve Woldu, 2009).

Halk arasında *Rumex* sp. hem gıda olarak hem tedavi amacıyla kullanılmaktadır (Vasas, Orbán-Gyapai ve Hohmann, 2015). *Rumex* sp. köklerinin laksatif etkisi sebebiyle eski çağlarda tıp alanında kullanımı bulunmaktadır. Hintliler tarafından *R. acetosa*, *R. acetosella*, *R. crispus*, *R. dentatus*, *R. hastatus*, *R. maritimus*, *R. nepalensis*, *R. scutatus* ve *R. vesicarius* bitkilerinin astrenjan etkisinden faydalandığı bildirilmiştir (Khare, 2007).

Çizelge 2.2. *Rumex* türlerinin geleneksel tıp ve halk arasında kullanılışı

Tür ismi	Yerel isim	Kısım	Kullanım amacı	Kullanım şekli	Bulunduğu bölge	Kaynak
<i>R. abyssinicus</i>	-	Kök	Mide rahatsızlığına karşı	-	Doğu Afrika	Munavu, Mudamba ve Ogur (1984)
	-	-	Analjezik, antihipertansif, idrar söktürücü ve antikanser amaçla	-	Etiyopya, Kamerun	Mekonnen, Urga ve Engidawork, 2010; Tamokou ve diğerleri, 2013
<i>R. acetosa</i>	Sorrel, common sorrel, garden sorrel, narrow-leaved dock, spinach dock	-	Boğaz ağrısı, deri hastalıkları, sarılık ve siğile karşı, hafif laksatif olarak	-	Kore, İngiltere ve İrlanda	Lee ve diğerleri (2005); Allen ve Hatfield (2004)
	-	Kök	Antipiretik, cilt kaşıntısı, dizanteri, gonore, tenesmus, uyuz, ülser ve böbrek hastalıklarına karşı	-	İngiltere ve İrlanda	Committee on Chinese Medicine and Pharmacy (2009); Allen ve Hatfield (2004)
	-	Yaprak	Antipiretik, antidiyareik ve antihelmentik olarak, iştah açıcı ve kan temizleyici	-	Macaristan ve Romanya	Dénes, Papp, Babai, Czucz ve Molnár (2013); Butura, 1979; Péntek ve Szabó (1985)
	Sour dock, red sorrel	Yaprak	Apseye karşı	-	Güney Afrika	Watt ve Breyer-Brandwijk (1932)
	Réti/mezei sóska	Yaprak	İshal, siğil, morluğa karşı	Dekoksiyon	Kuzey Amerika (Hintliler), İngiltere, İrlanda	Moerman, 2003; Allen ve Hatfield (2004)

Çizelge 2.2. (devam) *Rumex* türlerinin geleneksel tıp ve halk arasında kullanılışı

<i>R. acetosella</i>	Kuzukulağı	Yaprak	Analjezik, diüretik	-	Türkiye	Cakilcioglu ve Türkoglu (2010)
	Field sorrel, red sorrel, sour dock, juhsóska	Yaprak	Siğil, morluğa karşı	Buharda pişirilen yaprak lapası	Kuzey Amerika (Hintliler) ve Romanya	Moerman, 2003; Butura, 1979
	-	Yaprak	Midevi	Çiğnenmiş taze yapraklar	Kuzey Amerika (Hintliler)	Moerman, 2003
	-	Toprak üstü kısım, tohum	Antidiyareik	-	Macaristan	Erdei, 2011
	-	Toprak üstü kısım	Ateş, sarılığa karşı	Dekoksiyon, Günde 2-3 kez semptom ortadan kalkana kadar 1 haftadan 1 aya	İran	Amiri, Joharchi ve Yazdi, 2014
	-	Tohum	Diyare ve dizanteriye karşı	-	Macaristan	Giovannini ve Szathmary, 1961
<i>R. alpinus</i>	Alpine dock, Monk's rhubarb	Kök	Konstipasyona karşı	-	Macaristan	Rácz, Rácz-Kotilla ve Szabó (1992)
	-	-	Mide rahatsızlığına karşı	-	Bulgaristan ve Ukrayna	Šťastná, Klimeš ve Klimešová, 2010
	-	-	Konstipasyon, diyare, egzemaya karşı	-	Türkiye	Baytop, 1999; Ozturk ve Ozturk, 2007
<i>R. aquaticus</i>	Western dock	-	Enfeksiyon, ishal, ödem, sarılık, kabızlık, ateşe karşı	-	Uzak Doğu	Jang, Han, Jeong ve Sohn (2012)
<i>R. bequaertii</i>	-	Kök	Mide rahatsızlığı, kansere karşı	-	Doğu Afrika ve Kamerun	Munavu, Mudamba ve Ogur (1984); Tamokou ve diğerleri, 2013
<i>R. caucasicus</i>	-	-	Konstipasyon, diyare, egzemaya karşı	-	Türkiye	Baytop, 1999; Ozturk ve Ozturk, 2007

Çizelge 2.2. (devam) *Rumex* türlerinin geleneksel tıp ve halk arasında kullanılışı

<i>R. chinensis</i> (<i>R. trisetifer</i> Stokes)	Chinese dock	Kök, yaprak	Konstipasyon, kontüzyon, enflamasyon, akne, egzama, prurigo, kafa derisi uyuzu, vulvitise karşı	Günde 1-3 g toz veya kaynatma (kabızlık); harici kullanımda taze kök veya yaprakları sirke veya alkolde maserasyon	Vietnam	Medicinal Plants in Vietnam (1990)
<i>R. confertus</i>	Asiatic dock	Tohum	Diyareye karşı	300 mL suda 3 g, saatte 50 mL tüketilir	Macaristan	Rácz, Rácz-Kotilla ve Szabó (1992)
<i>R. crispus</i>	Curled dock, sour dock, narrow dock, yellow dock, curled dock, sour dock, fodros lórom	Kök	Müşhil ve kan temizleyici etki, cilt hastalıkları, sarılık, mide-bağırsak sistemi rahatsızlıkları, morluklar, yanıklar, şişlikler, zührevi hastalıklar, yaralar, döküntüler, bel soğukluğuna karşı	-	Macaristan, İngiltere ve İrlanda, Türkiye, Kızılderili kabileleri (Paiutes, Shoshones, Zuni, Navajos)	Haraszi, 1985; Allen ve Hatfield (2004); Baskan, Daut-Özdemir, Günaydin ve Erim (2007); Shiwani, Singh ve Wang (2012); Steiner, 1986; Moerman, 2003
	-	Kök	Yara iyileştirici olarak	-	Kuzey Amerika (Hintliler)	Moerman, 2003
	-	-	Pürgatif, astrenjan etki ve antraksa karşı	-	Güney Afrika	Watt ve Breyer-Brandwijk (1932)
	-	-	Dizanteriye karşı	İnfüzyon	Kuzey Amerika (Kızılderililer, örneğin Çerokiler)	Moerman, 2003
	-	Yaprak	Antipiretik, ekspektoran, antitussif, göz enfeksiyonları, vermisit, konstipasyon, baş dönmesine karşı	-	Tayvan	Committee on Chinese Medicine and Pharmacy and Lin, 2003
	-	Meyve	Dizanteriye karşı	-	-	Shiwani, Singh ve Wang (2012)
	-	Tohum	Diyare, yaraya karşı	-	Romanya	Péntek ve Szabó (1985)
	-	-	Tonik etki, cilt hastalıkları, romatizma, öksürük, konstipasyona karşı	-	Pakistan	Ahmed, Erum, Khan, Nawaz ve Wahid, 2004

Çizelge 2.2. (devam) *Rumex* türlerinin geleneksel tıp ve halk arasında kullanılışı

<i>R. dentatus</i>	Toothed dock	Kök	Bakteriyel, mantar enfeksiyonlar (dizanteri, enterit, akariyaz), egzama, diyare, konstipasyona karşı	-	Çin	Zhang ve diğerleri, 2012; Zhu ve diğerleri, 2010
	-	-	Astrenjan (cilt hastalıkları) etkili	-	Hindistan	Khare, 2007
	-	Yaprak, kök, gövde	Apse, çiçek hastalığı, karın ağrısı, öksürük, pnömoniye karşı	-	Pakistan	Munir ve diğerleri, 2016
<i>R. ecklonianus</i>	Smaller dock	Kök	Purgatif etki, infertilite, yara ve morluklara karşı	-	Güney Afrika (Sutos, Xosas, Zulus)	Watt ve Breyer-Brandwijk (1932)
<i>R. hastatus</i>	-	Kök, bütün bitki	Laksatif, tonik ve diüretik etki, romatizma, cilt hastalıkları, basur, akciğer kanaması, öksürük, baş ağrısı, ateş, AIDS'e karşı	-	Çin	Zhang ve diğerleri (2009); Sahreen, Khan ve Khan (2014)
	-	-	Astrenjan etki	-	Hindistan	Khare, 2007
<i>R. hydrolapathum</i>	Water dock	Kök	Astrenjan, kan temizleyici etki ve iskorbite karşı	-	İngiltere, İrlanda	Allen ve Hatfield (2004)
<i>R. hymenosepalus</i>	Canaigre, Canaigre dock	Yaprak	Ateş, mide-bağırsak rahatsızlıkları, soğuk algınlığına karşı	-	Latin Amerika, Meksika	Rivero-Cruz ve diğerleri (2005); Moerman, 2003
	-	Kök	Kan temizleyici, yaralar, cilt tahrişi, astrenjan etki, diyare ve öksürüğe karşı	-	-	Rivero-Cruz ve diğerleri (2005); Tyler, 1993; Moerman, 2003
<i>R. japonicus</i>	-	-	Konstipasyon, sarılık, rahim kanaması, kanamaya karşı	-	Çin	Zee, Kim, Kwon ve Lee (1998)
<i>R. madarensis</i>	-	-	Diüretik, kan temizleyici etki ve deri hastalıklarına karşı	-	-	Tavares ve diğerleri (2010)

Çizelge 2.2. (devam) *Rumex* türlerinin geleneksel tıp ve halk arasında kullanılışı

<i>R. maritimus</i>	-	Yaprak	Yanığa karşı	-	-	Rouf, Islam ve Rahman (2003)
	-	-	Purgatif etki	-	Hindistan	Khare, 2007
	-	Tohum	Tonik, afrodizyak, sırt ve bel bölgesi için analjezik etki	-	Hindistan	Rouf, Islam ve Rahman (2003); Khare, (2007)
	-	Kök	Purgatif etki	-	Hindistan	Khare, (2007)
<i>R. nepalensis</i>	-	Kök	Hemostatik tedavi, tinea'ya karşı	-	Etiyopya, Çin	Li, (1998); Mei ve diğerleri, (2009)
	-	Kök	Purgatif etki	-	Güney Afrika, Hindistan	Watt ve Breyer-Brandwijk (1932); Khare, (2007)
	-	Yaprak	Kolik, ülser, cilt bozukluğuna karşı	İnfüzyon	Hindistan, Afganistan, Kuzey Hindistan	Khare, (2007); Gairola, Sharma ve Bedi (2014)
	-	Yaprak	Şistozomiyaz'a karşı	Güçlü dekoksiyon/ günde 3 defa 1 çorba kaşığı	Güney Afrika	Watt ve Breyer-Brandwijk (1932)
	Shalkhay	Yaprak	Diüretik etki, tahrişlere karşı yatıştırıcı	-	Malam Jabba	Iqbal ve Hamayun (2004)
	Shalkhay	Kök	Astrenjan etki	Yaprakların ovuşturulmasıyla	Malam Jabba	Iqbal ve Hamayun (2004)
	Girshu	Kök	Karın ağrısına karşı	-	Etiyopya	Giday, Asfaw ve Woldu (2009)
	Albar	Yaprak	Antialerjik etki	Yaprakları dövülür, bölgeye sürülür	Batı Himalaya (Bhangalis)	Uniyal, Singh, Jamwal ve Lal (2006)
	Chuomsa, Shomang, Nabchalli	Çiçek	Romatizmaya karşı	Çiçek kısmı toz edilir, günde 1 defa yarım kaşık alınır	Batı Himalaya	Singh ve Lal (2008)

Çizelge 2.2. (devam) *Rumex* türlerinin geleneksel tıp ve halk arasında kullanılışı

<i>R. nepalensis</i>	Ubbal	Yaprak	Yara iyi edici etki	Yaprak, genç sürgünlerin parçalanmasıyla elde edilen öz suyu	Hindistan (Dzongu vadisindeki Lepcha kabilesi)	Pradhan ve Badola (2008)
	Ubbal	Yaprak	Saç dökülmesi önleyici etki	Kökün ezilmesiyle elde edilen öz suyu	Hindistan (Dzongu vadisindeki Lepcha kabilesi)	Pradhan ve Badola (2008)
	Obabal	Kök	Eklem ağrısı ve şişliğe karşı	Suda kaynatılan kökler haricen uygulanır	-	Khan ve Khatoon (2008)
	Kukur jihba	Yaprak	Diş eti kanamalarına karşı	Gargara olarak kullanılır	Kuzey Bengal	Biswas ve Das (2012)
	Tullet	Yaprak	Hemoroide karşı	Yaprak toz edilir ve anüse uygulanır	Etiyopya	Mesfin, Seta ve Assefa (2014)
			Hipertansiyona karşı	Kaynatılan taze yaprakları içilir	Etiyopya	Mesfin, Seta ve Assefa (2014)
			Amipli dizanteriye karşı	Kök ve yaprak toz edilip balla karıştırılarak tüketilir	Etiyopya	Mesfin, Seta ve Assefa (2014)
<i>R. nervosus</i>	-	-	Göz antiseptiği ve akne, diyabet, yara, egzama, tifüs, kuduza karşı	-	-	Getie ve diğerleri (2003)
<i>R. obtusifolius</i>	Broad-leaved dock, Bitter dock, bluntleaf dock, butter dock	Toprak üstü kısım	Konstipasyona karşı	-	Macaristan	Haraszti, 1985
	-	-	Astrenjan, laksatif, tonik etki, ısırgan otu panzehiri olarak ve yara, kabarcık, yanık, kanser, tümöre karşı	-	İrlanda	Harshaw, Nahar, Vadla, Saif-E-Naser ve Sarker (2010)
	-	Kök	Kan temizleyici etki, deri döküntüsü, sarılığa karşı	İnfüzyon	Kuzey Amerika, İngiltere ve İrlanda	Moerman, 2003; Allen ve Hatfield (2004)
	-	Tohum	Öksürük, soğuk algınlığı, bronşite karşı	-	İngiltere, İrlanda	Allen ve Hatfield (2004)

Çizelge 2.2. (devam) *Rumex* türlerinin geleneksel tıp ve halk arasında kullanılışı

<i>R. patientia</i>	lôrom	Kök	Konstipasyon, dizanteriye karşı	-	Macaristan, Afganistan, Kuzey Hindistan, Kuzey Amerika (Hint kabileleri)	Haraszti, 1985; Szalai, 1991; Gairola, Sharma ve Bedi (2014); Moerman, 2003
	-	Kök	Cilt problemlerine karşı	İnfüzyon	Kuzey Amerika (Hint kabileleri, örneğin Cherokee)	Moerman, 2003
	-	Yaprak	Yaraya karşı	-	Macaristan	Szalai, 1991; Dénes, Papp, Babai, Czucz ve Molnár (2013)
	-	Yaprak	Anemiye karşı	İnfüzyon	Sırbistan	Zlatković, Bogosavljević, Radivojević ve Pavlović (2014)
	-	Yaprak	Sırt ağrısı, ateş, solunum rahatsızlıkları, romatizma, deri hastalıkları, boğaz ağrısına karşı	-	Afganistan, Kuzey Hindistan, Kuzey Amerika (Hint kabileleri, örneğin Cherokee)	Gairola, Sharma ve Bedi (2014); Moerman, 2003
	-	Sürgün	Sırt ağrısı, ateş, romatizma, deri hastalıklarına karşı	-	Afganistan, Kuzey Hindistan	Gairola, Sharma ve Bedi (2014)
<i>R. scutatus</i>	French sorrel, leaf-shield sorrel	-	Antipiretik etki	-	Türkiye	Cakilcioglu ve Türkoglu (2010)
	-	Bitki, yaprak	Soğutucu, astrenjan (dizanteri durumunda), antiskorbüt etki	Özsuyu	Hindistan	Khare, 2007
<i>R. stenophyllus</i>	Keskenylevelü lôrom	Tohum	Öksürüğe karşı	-	Romanya	Péntek ve Szabó (1985)
<i>R. steudelii</i>	-	Kök	Antifertilite, rektal prolapsus, hemoroid, yaralar, egzama, şişlik, cüzzam, abdominal kolik, tinea nigra'ya karşı	-	Etiyopya	Solomon, Largesse, Mekbeb, Eyasu ve Asfaw (2010)

Çizelge 2.2. (devam) *Rumex* türlerinin geleneksel tıp ve halk arasında kullanılışı

<i>R. tuberosus</i>	-	Yaprak	Antihipertansif ve yara iyi edici etki, konstipasyona karşı	İnfüzyon, taze yapraklar	Türkiye	Polat, Selvi, Cakilcioglu ve Acar (2012); Cakilcioglu ve Türkoglu (2010)
<i>R. usambarensis</i>	-	Kök	Mide rahatsızlıklarına karşı	-	Doğu Afrika	Munavu, Mudamba ve Ogur (1984)
<i>R. verticillatus</i>	Swamp dock, water dock	-	Sarıliğa karşı	-	Kuzey Amerika	Lewis ve Elvin-Lewis (2003)
<i>R. vesicarius</i>	Bladder dock	-	Tonik ve analjezik etki, karaciğer hastalıkları, konstipasyon, zayıf sindirim, dalak bozuklukları, şişkinlik, astım, bronşit, hazımsızlık, kusma, basur, alkolizme karşı		Mısır, Hindistan	El-Hawary, Sokkar, Ali ve Yehia (2011)
	-	-	Akrep sokmalarına karşı panzehir	-	Suudi Arabistan	Khan, Ganaie, Siddiqui, Alam ve Ansari (2014)
	-	Tohum	Dizanteriye karşı	-	Hindistan	Khare, 2007
<i>R. woodii</i>	-	-	Diyareye karşı	-	Güney Afrika	Watt ve Breyer-Brandwijk (1932)

2.2.2. Fitokimyasal çalışmalar

Fitokimyasal çalışmalarda, *Rumex* türlerinin, flavonoidler, tanenler, antrakinonlar, stilbenoidler, terpenoidler ve steroidler gibi önemli sekonder metabolitler içerdiği bildirilmiştir (Bicker, Petereit ve Hensel, 2009; Demirezer, Kuruüzüm-Uz, Bergere, Schiewe ve Zeeck, 2001a; Demirezer, Kuruüzüm, Bergere, Schiewe ve Zeeck ve diğerleri, 2001b; El-Hawary, Sokkar, Ali ve Yehia, 2011; Gescher, Hensel, Hafezi, Derksen ve Kühn, 2011; Gonfa, Beshah, Tadesse, Bachheti ve Bachheti, 2021; Jang, Kim, Kim ve Kim, 2005; Liang ve diğerleri, 2010; Mei ve diğerleri, 2009; Wegiera, Smolarz, Wianowska ve Dawidowicz, 2007). Türkiye’de yetişen bazı *Rumex* türlerinin kökleri üzerinde yapılan çalışmalarda kateşik tanen ve antrasen türevi bileşiklerin sırasıyla %6-12 ve %0,2-1,7 oranlarında bulunduğu bildirilmiştir (Baytop, 1999).

R. nepalensis bitkisi üzerinde yapılan izolasyon çalışmaları incelendiğinde, antrakinon yapılı bileşiklerin farklı yapılar ve yüksek oranda bulunduğu görülmüştür. *R. nepalensis* diklorometan (DKM)/metanol (MeOH) (1:1) kök ekstresinden antrakinon yapıda emodin, emodik asit, emodin-6-*O*- β -D-glukozit, emodin diantron, 1,3,6-trihidroksi-8-metil-antrakinon, fiskiyon, krizofanol, krizofanein ve sitreorezin bileşikleri izole edilmiştir (Nguengang ve diğerleri, 2023). *R. nepalensis* kökünün MeOH ekstresinden emodin, emodin-8-*O*- β -D-glukopiranozit, fiskiyon, krizofanol, krizofanol-8-*O*- β -D-glukopiranozit (Gautam, Srivastava ve Jachak, 2011); etil asetat (EtOAc) ekstresinden emodin, emodin-8-*O*- β -D-glukopiranozit, fiskiyon, krizofanol ve endokrosin bileşiklerinin izole edildiği rapor edilmiştir (Gautam, Karkhile, Bhutani ve Jachak, 2010). Bitkinin naftalen iskeleti taşıyan nepodin ile nepodin-8-*O*- β -D-glukopiranozit bileşiklerini içerdiği bildirilmiştir (Gautam, Karkhile, Bhutani ve Jachak, 2010; Gautam, Srivastava ve Jachak, 2011).

R. nepalensis EtOAc fraksiyonundan rumeksnepozit A (nepodin-8-*O*- β -D-(6'-*O*-trans-krotonoil)glukopiranozit) ile rumeksnepozit B (torakrizon-8-*O*- β -D-(6'-*O*-asetil)glukopiranozit); naftalen glikozitlerinden torakrizon, torakrizon-8-*O*- β -D-glukopiranozit, nepodin-8-*O*- β -D-glukopiranozit; antrakinon yapılı bileşiklerden emodin, fiskiyon, krizofanol-8-*O*- β -D-glukopiranozit, emodin-8-*O*- β -D-glukopiranozit, emodin-8-*O*- β -D-(6'-*O*-asetil)glukopiranozit, krizofanol, krizofanol-8-*O*- β -D-(6'-*O*-asetil)glukopiranozit, sitreorozein ve polifenol yapılı resveratrol bileşiği izole edilmiş (Liang

ve diğerleri, 2010). *R. nepalensis* *n*-Butanol (BuOH) kök ekstresinden rumeksozit, liyoniresinol-3 α -O- β -D glukopiranozit, orientalozit, aloezin, orsinol glukoziti içerdiği rapor edilmiştir. Ayrıca nepalenzit A ve B isimli antrakınon bileşiği izole edilmiş ve yapıları aydınlatılmıştır (Mei ve diğerleri, 2009).

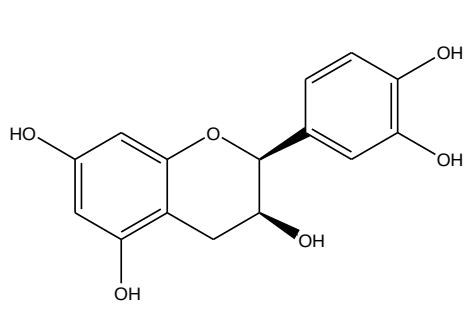
R. nepalensis'in EtOAc ve BuOH fraksiyonlarından kersetin-3-O- β -D-glukuronit, 3-O-metil-epikateşin, β -sitosterol-3-O- β -D-glukozit bileşikleri izole edilmiştir (Sharma, Jandrotia, Singh, Sharma ve Kumar, 2018).

Li ve diğerleri (2024) çalışmasında *R. nepalensis* var. *remotiflorus*'un %60 sulu aseton ekstresinden (-)-epikateşin-3-O-kurvulinat, malaferin C, (-)-epikateşin-3-(3-O-metil)-gallat, (-)-epikateşin gallat, (-)-epigallokateşin gallat, (-)-epikateşin, rumozit A, krizofanol biantron, rumejapozit E, rumejapozit F, rumejapozit G, rumejapozit H, krizaloin A, krizaloin B, 1- β -D-glukozit-6'-[(2E)-3-(4-hidroksi-3-metoksifenil)-2-propenoat]-3-hidroksi-5-metilfenil, heloniyoit A, resveratrol-4-C-glukozit, 5-asetonil-7-hidroksi-2-hidroksimetil-kromon, aloezin, emodin, krizofanol ve fiskiyon izole etmiştir. *R. nepalensis* var. *remotiflorus* bitkisinin bu bileşikleri içerdiği ilk defa literatüre geçmiştir.

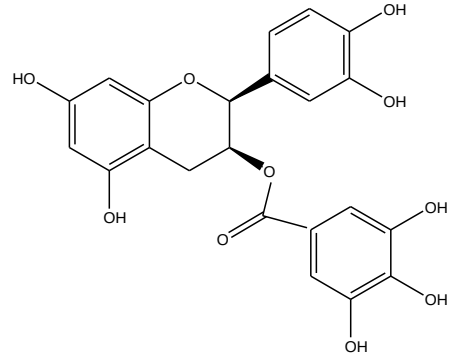
R. nepalensis'in yapraklarından hazırlanan sulu ve MeOH'lü ekstratlarında LC-MS/MS analizi ile kinik asit (15,61 mg/g), mikuelianin (2,06 mg/g), kersitrin (1,97 mg/g) ve protokatekuik asit (0,217 mg/g) majör fenolik bileşikler olarak bulunmuştur. Ayrıca kemferol, *p*-kumarik asit, kersetin, rutin, gallik asit, hesperidin, luteolin, salisilik asit, naringenin ve apigenin içerdiği bildirilmiştir (Bursal ve diğerleri, 2021).

Rumex nepalensis köklerinden elde edilen uçucu yağ, monoterpenoitler ve oksijenli türevleri bakımından zengindir. Hemellitol (%10,80), 1,1,3-trimetil-sikloheksan (%9,17), *n*-nonan (%7,05), linalol oksit (%3,87), 4-metil-oktan (%3,58), 14-oksi- α -murolen (%3,56), α -humulen (%3,53), kusinol (%3,21), 2,6-di-terter-bütil-fenol (%3,09), tridesen (%2,94), e-karyofillen (%2,83), α -kopaen (%2,36), d-kadinen (%2,32), etil-sikloheksan (%2,18) ve 3,5-dimetilheptan (%2,09) izole edilen bileşiklerdir (Kumar ve Sing, 2020).

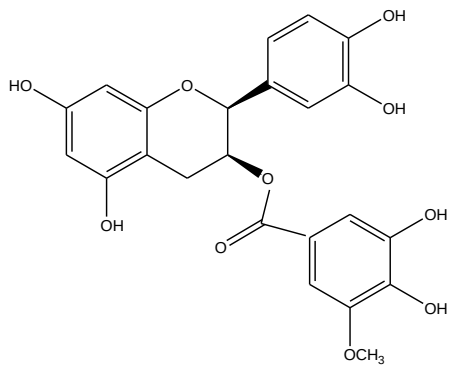
Rumex nepalensis bitkisinin kök veya toprak üstü kısımlarından farklı solvanlarla hazırlanan ekstratlerden izole edilen tanen türevi bileşikler Şekil 2.2. ve Çizelge 2.3'de detaylandırılmıştır.



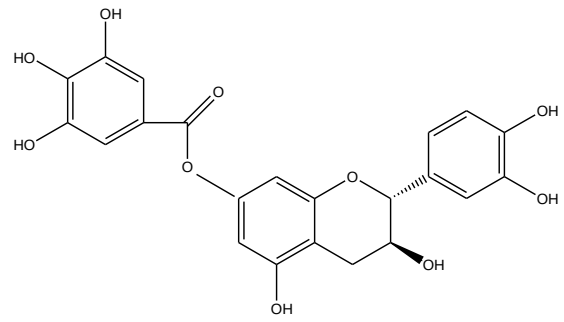
(1)



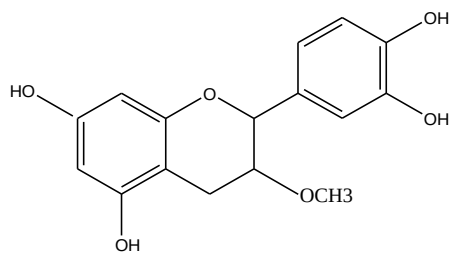
(2)



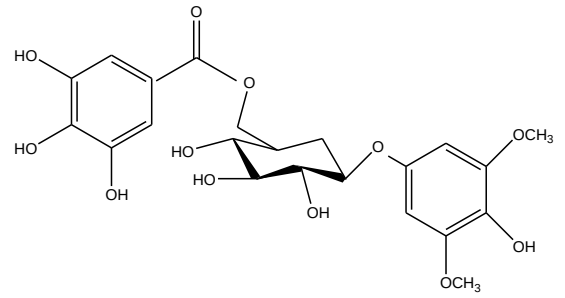
(3)



(4)



(5)



(6)

Şekil 2.2. *Rumex nepalensis* bitkisinden izole edilen tanen türevi bileşikler

Çizelge 2.3. *Rumex nepalensis* bitkisinden izole edilen tanen türevi bileşikler

Bileşik no	Bileşik ismi	Kullanılan kısım	Ekstre	Kaynak
(1)	(-)-Epikateşin	Kök	<i>n</i> -BuOH	Mei ve diğerleri (2009)
(2)	(-)-Epikateşin-3- <i>O</i> -gallat	Kök	<i>n</i> -BuOH	Mei ve diğerleri (2009)
(3)	Epikateşin-3-(3"- <i>O</i> -metil) gallate	Kök	DKM/MeOH (1:1)	Nguengang ve diğerleri (2023)
(4)	Kateşin-7- <i>O</i> -gallat	Kök	DKM/MeOH (1:1)	Nguengang ve diğerleri (2023)
(5)	3- <i>O</i> -metil-epikateşin	Toprak üstü, kök	MeOH:H ₂ O (80:20)	Sharma, Jandrotia, Singh, Sharma ve Kumar (2018)
(6)	(3,5-Dimetoksi-4-hidroksifenol)-1- <i>O</i> -β-D-(6- <i>O</i> -galloil) glikoz	Kök	<i>n</i> -BuOH	Mei ve diğerleri (2009)

2.2.3. Aktivite çalışmaları

R. nepalensis üzerinde yapılan çalışmalarda, bitkinin farklı kısımlarından farklı polaritedeki çözücülerle hazırlanan ekstratlar ile ekstratların içerdiği sekonder metabolitlerin, antibakteriyel, antifungal, analjezik, anti-enflamatuvar, antioksidan, antidiyabetik, abortif, anti-ülser, antidiyareik, enzim inhibitör ve sitotoksik aktiviteleri değerlendirilmiştir. *Rumex* türleri üzerinde yürütülen aktivite çalışmaları Çizelge 2.4’de özetlenmiştir.

Antibakteriyel aktivite

R. nepalensis köklerinden elde edilen DKM:MeOH (1:1) ekstresi, *Salmonella typhi* CPC, *Salmonella enterica* NR13555, *Staphylococcus aureus* ATCC43300, *S. aureus* ATCC25923, *Pseudomonas aeruginosa* HM801 ve *Klebsiella pneumoniae* NR41388 suşlarına karşı antibakteriyel aktivite göstermiştir (MİK = 62,5-31,25 µg/mL). *R. nepalensis* *n*-hekzan, EtOAc ve *n*-BuOH alt ekstratları arasında en yüksek antibakteriyel aktivitenin EtOAc alt ekstresi tarafından sağlandığı belirlenmiştir (MİK = 31,2–3,9 µg/mL). EtOAc alt ekstresinden izole edilen emodin en yüksek antibakteriyel aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (MİK = 15,7-1,9 µg/mL). Emodinin sentetik türevleri olan 1,6,8-trihidroksi-3-

metil-2,4,5,7-tetranitro antrakinon ile 5-amino-1,6,8-trihidroksi-3-metil-2,4,7-trinitro antrakinon bileşiklerinin, *S. enterica* ve *K. pneumoniae*'ye karşı emodinden daha yüksek antibakteriyel aktivite gösterdiği bildirilmiştir (sırasıyla MİK = 125 µg/mL ve 15,6 µg/mL) (Nguengang ve diğerleri, 2023).

Antibakteriyel aktivite çalışmasında, *R. nepalensis* yaprak ekstresinin oluşturduğu inhibisyon zonunun, *Escherichia coli* suşuna karşı $10,3 \pm 0,6$; *Staphylococcus aureus* suşuna karşı $12,0 \pm 3,5$; *Salmonella strain* (*S. typhimerium*) suşuna karşı $20,7 \pm 5,5$ mm olduğu kaydedilmiştir (Tura, Eshete ve Tucho, 2017).

Antifungal aktivite

R. nepalensis ve *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. bitkilerinin antifungal (*Alternaria solani*) aktiviteleri değerlendirilmiştir. *R. nepalensis* toprak üstü (RnA), *R. nepalensis* kök (RnR) ve *H. suaveolens* toprak üstü kısımlarının (HS) sulu ekstraktları üzerinde *in vitro* ve *in vivo* deneyler yapılmıştır. *In vitro* deneylerde tüm ekstraktlar orta ve yüksek seviyede antifungal aktivite göstermiştir. Kontrol grubunda mantarın ortalama çap büyümesinin en yüksek değer olan 90,50 mm olarak ölçüldüğü bildirilmiştir. Mantarın neden olduğu çap büyümesini azaltmada en etkili ekstrenin RnA ekstresi olduğu rapor edilmiştir. Ekstreler %20, %40 ve %60 (a/h) konsantrasyonda uygulanmış, RnA test patojenine karşı sırasıyla %27,25; %55,58 ve %85,18; RnR sırasıyla %20,62; %43,56 ve %69,17 ve HS sırasıyla %12,47; %21,52 ve %36,18 oranlarında inhibisyon göstermiştir. *In vivo* deneylerde, RnA ve RnR'nin hastalığın yayılmasını azaltmada etkili olduğu, özellikle RnA'nın hastalığı azaltma yüzdesinin yüksek olduğu (%71,43) tespit edilmiştir (Pokhrel ve Choden, 2022).

Analjezik aktivite

R. nepalensis'in EtOH'lü kök ekstresi ratlara oral yoldan verilerek analjezik aktivitesi hot plate yöntemi ile ölçülmüştür. Başlangıç reaksiyon zamanı $3,50 \pm 1,1$ saniye olarak ölçülürken, ekstrenin 200 mg/kg dozda uygulanması ile 30. dakikada $6,26 \pm 1,72$ ($p<0,05$), 60. dakikada $9,58 \pm 0,85$ ($p<0,01$), 120. dakikada $11,19 \pm 0,65$ ($p<0,01$), 180. dakikada $10,89 \pm 0,63$ ($p<0,01$) saniye olduğu ölçülmüştür. *R. nepalensis* ekstresinin güçlü analjezik aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir (Khatri, Baruwat Chhetri, Poudel ve Jamarkattel, 2018).

Anti-enflamatuvar aktivite

12-*O*-Tetradekanoilforbol-13-asetat ile akut enflamasyon oluşturulan fare kulak ödemi deney modelinde *R. nepalensis* köklerinden hazırlanan kloroform ve EtOAc ekstralarının anti-enflamatuvar aktiviteleri değerlendirilmiş ve ekstraların güçlü siklooksijenaz (COX)-1 ve COX-2 inhibitör aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir. EtOAc ekstresinden izole edilen emodin bileşiğinin COX-2 enzimine karşı güçlü inhibisyon oluşturduğu ve nepodin bileşiğinin COX-1'e seçicilik gösterdiği rapor edilmiştir. Emodin, endokrosin ve nepodin bileşiklerinin COX-1'e karşı sırasıyla, 38,56 μ M, 40,02 μ M, 27,43 μ M ve COX-2'ye karşı sırasıyla 23,10 μ M, 25,76 μ M ve 32,28 μ M IC₅₀ değerleriyle topikal anti-enflamatuvar aktivite gösterdikleri belirlenmiştir (Gautam, Karkhile, Bhutani ve Jachak, 2010).

Antioksidan aktivite

R. nepalensis köklerinden buhar distilasyonu yöntemiyle uçucu yağ elde edilmiştir. Distilat NaCl ile doyurulmuş ve hekzan ile ekstre edilmiştir. Uçucu yağ ve standartların (askorbik asit ve α -tokoferol) farklı konsantrasyonlarda 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikal süpürücü etkileri incelenmiştir. Konsantrasyona karşı yüzde inhibisyon eğrisi ile sonuçlar elde edilmiştir. 600 mg/mL konsantrasyonundaki uçucu yağ %83,10 oranında DPPH radikal süpürücü aktivite göstermiştir (askorbik asit %96,37 ve α -tokoferol %100,0). Uçucu yağın IC₅₀ değerlerinin DPPH radikal süpürücü aktivite deneyinde 234,57 μ g/mL; H₂O₂ radikal süpürücü aktivite deneyinde 294,17 μ g/mL olduğu tespit edilmiştir. *R. nepalensis*'in güçlü antioksidan aktivitesinin flavonoit ve fenolik yapıları bileşiklerinden kaynaklanmış olabileceği bildirilmiştir (Kumar ve Singh, 2020).

R. nepalensis'in köklerinden hazırlanan kloroform ve EtOAc ekstraları ile izole edilen naftalen türevi nepodin ve nepodin-8-*O*- β -D-glukopiranozit bileşiklerinin radikal süpürücü aktiviteleri değerlendirilmiştir. Her iki bileşiğin de önemli derecede DPPH ve 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit) (ABTS) radikal süpürücü aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Nepodin troluks ve askorbik asitten daha güçlü radikal süpürücü aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir (nepodin DPPH IC₅₀ = 11,67 μ M; troluks DPPH IC₅₀ = 15,72 μ M; askorbik asit DPPH IC₅₀ = 22,44 μ M). *R. nepalensis*'in kloroform (DPPH IC₅₀ = 8,51 μ g/mL) ve EtOAc ekstralarının (DPPH IC₅₀ = 7,86 μ g/mL) güçlü radikal süpürücü

aktivitelerinin, taşıdıkları yüksek miktardaki fenolik yapıli bileşiklerden ve nepodinden kaynaklı olabileceği düşünölmüşür (Gautam, Karkhile, Bhutani ve Jachak, 2010).

Antidiyabetik aktivite

R. nepalensis köklerinden elde edilen %70 EtOH ekstresi üzerinde *in vitro* α -amilaz enzim inhibisyon deneyi yapılmışür. Standart olan 1000 $\mu\text{g/mL}$ akarboz %80,75 $\pm$ 0,02 değeriinde (IC₅₀ = 130,57 $\mu\text{g/mL}$), 1000 $\mu\text{g/mL}$ bitki ekstresi %56,92 $\pm$ 1,16 değeriinde (IC₅₀ = 912,22 $\mu\text{g/L}$) α -amilaz inhibitör aktivitesi göstermişür. Sağlıklı ratlarda akut hipoglisemik aktivite deneyinde ratlara oral yoldan *R. nepalensis* EtOH kök ekstresi verilerek, ekstrenin kan şekeri seviyesine etkisi farklı zaman aralıklarında ölçölmüşür. Başlangıç kan şekeri (0 dakika) ile 30, 60 ve 120. dakikalardaki kan şekeri düzeyleri kıyaslanmışür. 200 mg/kg ekstrenin uygulanması ile kan şekeri başlangıç değeriinin 95,8 $\pm$ 4,54 mg/dL olduğu tespit edilmiş; 30, 60 ve 120. dakikalarda sırasıyla 104 $\pm$ 6,32 mg/dL, 85,6 $\pm$ 6,3 mg/dL ve 83,6 $\pm$ 7,16 mg/dL olarak ölçölmüşür. 50 mg/kg metformin uygulamasıyla 30, 60 ve 120. dakikalardaki ölçüm değeriilerinin sırasıyla 80,4 $\pm$ 5,68 mg/dL, 72,4 $\pm$ 2,96 mg/dL ve 67,4 $\pm$ 2,7 mg/dL olduğu bulunmuşür. Glukoz-nedenli hiperglisemik ratlarda akut hipoglisemik etki değeriendirildiğinde; 50 mg/kg ekstre uygulanan grupta kan şekeri ölçüm sonuçları 30. dakikada 126,5 $\pm$ 3,11 mg/dL; 60. dakikada 111,75 $\pm$ 5,37 mg/dL; 120. dakikada 105,75 $\pm$ 2,75 mg/dL olarak hesaplanmışür. Ekstrenin anlamlı derecede α -amilaz inhibisyon aktivitesi ile hipoglisemik etki gösterdiği bildirilmişür (Khatrı, Baruwali Chhetrı, Poudel ve Jamarkattel, 2018).

R. nepalensis var. *remotiflorus*'un %60 sulu aseton kök ekstresinden izole edilen bileşiklerden; poligorumin A, rumepalen A, rumepalen B, (-)-epikateşin-3-*O*-kurvulinat, malaferin C, (-)-epikateşin-3-(3-*O*-metil)-gallat bileşiklerinin 1,61 $\pm$ 0,17 ile 32,41 $\pm$ 0,87 μM aralığında değışen IC₅₀ değeriileri ile α -glukozidaz inhibisyon aktivitesi gösterdikleri bildirilmişür. Flavan türevleri olan poligorumin A, (-)-epikateşin-3-*O*-kurvulinat ve (-)-epikateşin-3-(3-*O*-metil)-gallat bileşiklerinin IC₅₀ değeriileri sırasıyla 6,02 $\pm$ 0,07; 5,61 $\pm$ 0,10 ve 1,61 $\pm$ 0,17 μM olarak hesaplanmış ve bu bileşikler, pozitif kontrol olan akarboz (228,77 $\pm$ 0,38 μM) ve kersetinden (7,82 $\pm$ 0,21 μM) daha yüksek aktivite sergilemişür (Li ve diğerleri, 2024).

Abortif aktivite

R. nepalensis yapraklarından hazırlanan %80'lik EtOH ekstresi, ratlarda gebeliğin 10. gününden 12. gününe kadar oral yolla 300 ve 600 mg/kg dozlarda uygulanmıştır. Ratlardan 13. gün laparotomi yöntemi ile rahim ve yumurtalıklar çıkarılmış; canlı, canlı olmayan alanlar ve korpus luteum sayılmıştır. Korpus luteum sayısı ortalaması kontrole ($12 \pm 2,1$) kıyasla 300 mg/kg ekstre uygulanan grupta $4,33 \pm 3,92$ ($p<0,007$) ve 600 mg/kg ekstre uygulanan grupta $1,83 \pm 4,99$ ($p<0,002$) olarak kaydedilmiştir. 300 mg/kg ekstre uygulanan gebe ratların %80'inde ve 600 mg/kg ekstre uygulanan sıçanların %100'ünde abortif etkisi kaydedilmiştir. Ratlarda canlı fetüslerin ortalama sayısı kontrol grubuna kıyasla ($11 \pm 2,34$) 300 mg/kg doz için $1,5 \pm 4,17$ ($p<0,003$) ve 600 mg/kg doz için $1,25 \pm 2,23$ ($p<0,004$) olarak hesaplanmıştır. Halkın geleneksel kullanımını destekleyen bu çalışma, *R. nepalensis*'in abortif etki gösterdiğini ortaya koymuştur (Dabe, Kefale ve Dadi, 2020).

Anti-ülser aktivite

R. nepalensis köklerinden hazırlanan %80'lik MeOH ekstresinin, ratlarda asetik asit-nedenli ülser modeli üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. Ekstrenin 200 ve 400 mg/kg dozlarda 15 gün uygulanması ile ülserli bölgede sırasıyla %53,22 ve %54,59 oranlarında anlamlı ölçüde ($p<0,01$) iyileşme tespit edilmiştir. Hipotermik kısıtlama stresi ile oluşturulan ülser modelinde, 200 mg/kg/gün ve 400 mg/kg/gün dozlarının ülser indeksini sırasıyla $10,24 \pm 2,05$ ($p<0,01$) ve $9,52 \pm 1,91$ ($p<0,01$); ülser skorunu sırasıyla $12,92 \pm 2,61$ ($p<0,001$) ve $8,50 \pm 1,82$ ($p<0,001$) olmak üzere anlamlı ölçüde azalttığı saptanmıştır. *R. nepalensis* kökünün MeOH ekstresinin EtOAc alt ekstresi ($5,92 \pm 1,89$; $p<0,001$) ülser indeksini kontrol grubuna ($91,17 \pm 1,94$) kıyasla anlamlı ölçüde azaltmıştır. Bu çalışma bitkinin halk arasında kullanımını desteklemiştir (Zewdu ve Aragaw, 2020).

Antidiyareik aktivite

R. nepalensis köklerinden hazırlanan %80'lik MeOH ekstresinin, hint yağı-nedenli diyare modelinde, hayvanlarda diyare başlama süresini uzattığı ve toplam feçes miktarını 100, 200 ve 400 mg/kg dozlarda anlamlı ölçüde azalttığı tespit edilmiştir. Negatif kontrol ($5,4 \pm 0,30$) ile kıyaslandığında; yaş feçes ağırlıklarının, ekstrenin 100, 200 ve 400 mg/kg dozlarda uygulandığı gruplarda sırasıyla $4,4 \pm 0,18$ ($p<0,05$); $4,2 \pm 0,17$ ($p<0,01$); $3,8 \pm 0,10$

($p<0,001$) olduğu ve loperamid (3 mg/kg) uygulanan grupta $2,7 \pm 0,32$ ($p<0,001$) olduğu saptanmıştır. Toplam feçes ağırlığı, negatif kontrol grubu ($5,8 \pm 0,30$) ile kıyaslandığında; 100, 200 ve 400 mg/kg doz gruplarında sırasıyla $4,3 \pm 0,36$; $3,4 \pm 0,20$; $3,1 \pm 0,08$ iken loperamid (3 mg/kg) için $2,3 \pm 0,12$ olarak hesaplanmıştır. Ayrıca ekstrenin 200 ve 400 mg/kg dozlarda bağırsak içeriğinin hacmi ve ağırlığını anlamlı derece azalttığı ortaya konulmuştur. *R. nepalensis* kök ekstresinin mide-bağırsak hareketliliği ile sıvı sekresyonu üzerindeki engelleyici etkisi nedeniyle antidiyareik aktiviteye sahip olabileceği bildirilmiştir (Andargie, Sisay, Molla ve Adela, 2022).

Enzim inhibitör aktivite

R. nepalensis köklerinden hazırlanan EtOAc ekstresinden izole edilen nepodin ve krizofanol moleküllerinin COX inhibitör potansiyeli değerlendirilmiştir. Yapı aktivite ilişkisi açısından bu doğal bileşiklerden yola çıkılarak sentezlenen 9 krizofanol ve 18 nepodin türevi arasında 4 nepodin ve 4 krizofanol sentetik bileşiğin doğal bileşiklere göre daha iyi derecede COX-2 inhibisyonu gösterdiği bildirilmiştir. 30 μM konsantrasyonda *in vitro* COX uyarımına bağlı prostaglandin sentezinin artışı deneyinde tüm nepodin ve krizofanol türevi sentetik bileşiklerde, COX-1 ve COX-2 inhibitör potansiyeli değerlendirilmiştir. 4 nepodin ve 3 krizofanol türevi bileşiğinin COX-1 ve COX-2 inhibisyonu gösterdiği rapor edilmiştir. En yüksek COX-2 inhibisyonu gösteren 1-(8-(benziloksi)-1-hidroksi-3-metilnaftalen-2-il)etanon bileşiği, ($\text{IC}_{50}=11,21 \mu\text{M}$) ile en yüksek COX-2 seçiciliğine sahip 1-(8-(2-Bromobenziloksi)-1-hidroksi-3-metilnaftalen-2-il)etanon bileşiği ($\text{SI}=2,01$) olduğu bildirilmiştir (Grover, Kumar, Singh, Bairwa ve Sobhia, 2014).

R. nepalensis'in EtOAc ekstresinden HPTLC analizi ile krizofanol ve fiskiyon bileşiklerinin miktarı belirlenmiş ve pankreatik lipaz inhibitör aktiviteleriyle pozitif korelasyon elde edilmiştir. Krizofanol ve fiskiyon için sırasıyla Pearson's $r=0,801$ ve $r=0,755$ olarak hesaplanmıştır. *R. nepalensis*'ten izole edilen iki antrakınon bileşiğinin ekstredeki miktarlarının pankreatik lipaz inhibisyon aktiviteleri ile orantılı olduğu ortaya konulmuştur. Ayrıca *R. nepalensis*'in EtOAc ekstresinin %69,226 oranında pankreatik lipaz inhibitör aktivite gösterdiği saptanmıştır (George, Sengupta ve Paul, 2020).

Sitotoksik aktivite

R. nepalensis'in sekonder metabolitlerinden olan poligonumnolit ve krizofanol biatron bileşiklerinin sitotoksik etkileri değerlendirilmiştir. Krizofanol biatronun pozitif kontrol sisplatine göre HL-6 hücre hattına karşı $3,81 \pm 0,17 \mu\text{M}$ IC_{50} değeri ile güçlü sitotoksik aktivite sergilediği bildirilmiştir. Anılan bileşik A-549, MDA-MB-231 ve SMMC-7721 hücre hatlarına karşı orta derecede sitotoksik aktivite göstermiştir (IC_{50} değerleri sırasıyla 16,57; 27,02 ve 35,15 μM) (Li ve diğerleri, 2024).

Çizelge 2.4. *Rumex nepalensis* bitkisi üzerinde gerçekleştirilen aktivite çalışmaları

Aktivite	Kullanılan kısım	Ekstre/Bileşik	Sonuç	Kaynaklar
Antibakteriyel	Kök	EtOAc alt ekstre	MİK = 3,9-31,2 µg/mL	Nguengang ve diğerleri, (2023)
		Emodin	MİK = 1,9-15,7 µg/mL	
	Yaprak	Aseton ekstresi	<i>Escherichia coli</i> suşuna karşı 10,3 ± 0,6 <i>Staphylococcus aureus</i> suşuna karşı 12,0 ± 3,5 <i>Salmonella strain</i> şusuna karşı 20,7 ± 5,5 mm	Tura, Eshete ve Tucho, 2017
Antifungal	Toprak üstü	Sulu ekstre	%85,18 inhibisyon	Pokhrel ve Choden, (2022)
	Kök		%69,17 inhibisyon	
Analjezik	Kök	%70 EtOH	200 mg/kg ekstre 30. dakika 6,26 ± 1,72 (p<0,05) 60. dakika 9,58 ± 0,85 (p<0,01) 120. dakika 11,19 ± 0,65 (p<0,01) 180. dakika 10,89 ± 0,63 saniye (p<0,01)	Khatri, Baruwat Chhetri, Poudel ve Jamarkattel, (2018)
Anti-enflamatuvar	Kök	Emodin	COX-1 IC ₅₀ = 38,56 µM COX-2 IC ₅₀ = 23,10 µM	Gautam, Karkhile, Bhutani ve Jachak, (2010)
		Endokrosin	COX-1 IC ₅₀ = 40,02 µM COX-2 IC ₅₀ = 25,76 µM	
		Nepodin	COX-1 IC ₅₀ = 27,43 µM COX-2 IC ₅₀ = 32,28 µM	
Antioksidan	Kök	Uçucu yağ	%83,10 inhibisyon IC ₅₀ = 234,57 µg/mL (DPPH) IC ₅₀ = 294,17 µg/mL (H ₂ O ₂)	Kumar ve Singh, (2020)
		EtOAc ekstresi	IC ₅₀ = 7,86 µg/mL (DPPH)	Gautam, Karkhile, Bhutani ve Jachak, (2010)
		Kloroform ekstresi	IC ₅₀ = 8,51 µg/mL (DPPH)	
		Nepodin	IC ₅₀ = 11,67 µM (DPPH)	
Antidiyabetik	Kök	%70 EtOH	1000 µg/mL akarboz IC ₅₀ = 130,57 µg/mL 1000 µg/mL ekstre IC ₅₀ = 912,22 µg/mL (α-amilaz inhibisyonu)	Khatri, Baruwat Chhetri, Poudel ve Jamarkattel, (2018)
	Kök	%60 sulu aseton	polygorumin A IC ₅₀ = 6,02 ± 0,07 µM (-)-epikateşin-3-O-kurvulinat IC ₅₀ = 5,61 ± 0,10 µM (-)-epikateşin-3-(3-O-metil)-gallat IC ₅₀ = 1,61 ± 0,17 µM	Li ve diğerleri, 2024

Çizelge 2.4. (devam) *Rumex nepalensis* bitkisi üzerinde gerçekleştirilen aktivite çalışmaları

Abortif	Yaprak	%80 EtOH	%80 (300 mg/kg) abortif etki	Dabe, Kefale ve Dadi, (2020)
			%100 (600 mg/kg) abortif etki	
Anti-ülser	Kök	%80 MeOH ekstresi	200 mg/kg $12,92 \pm 2,61$ ülser skoru ($p<0,001$) 400 mg/kg $8,50 \pm 1,82$ ülser skoru ($p<0,001$)	Zewdu ve Aragaw, (2020)
Antidiyareik	Kök	%80 MeOH ekstresi	100 mg/kg %29,7 (defekasyon inhibisyonu) 200 mg/kg %40,6 (defekasyon inhibisyonu) 400 mg/ kg %50,7 (defekasyon inhibisyonu)	Andargie, Sisay, Molla ve Adela, (2022)
Enzim inhibisyonu (COX)	Kök	Nepodin türevi sentetik bileşikler	1-(8-(Benziloksi)-1-hidroksi-3-metilnaftalen-2-il) etanon ($IC_{50} = 11,21 \mu M$) 1-(8-(2-Bromobenziloksi)-1-hidroksi-3-metilnaftalen-2-il) etanon ($SI = 2,01$)	Grover, Kumar, Singh, Bairwa ve Sobhia, (2014)
Enzim inhibisyonu (pankreatik lipaz inhibisyon)	Bitki	EtOAc ekstresi	%69,226 (PL inhibisyon)	George, Sengupta ve Paul, (2020)
Sitotoksik	Kök	%60 sulu aseton	Krizofanol biatron $IC_{50} = 3,81 \pm 0,17 \mu M$	Li ve diğerleri, (2024)

ABTS: 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit; DPPH: 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil; IC_{50} : %50 İnhibisyon gösteren konsantrasyon; MİK: Minimal inhibisyon konsantrasyonu; SI:Seçicilik İndeksi; PL: Pankreatik lipaz

2.3. Abdominal Adezyon

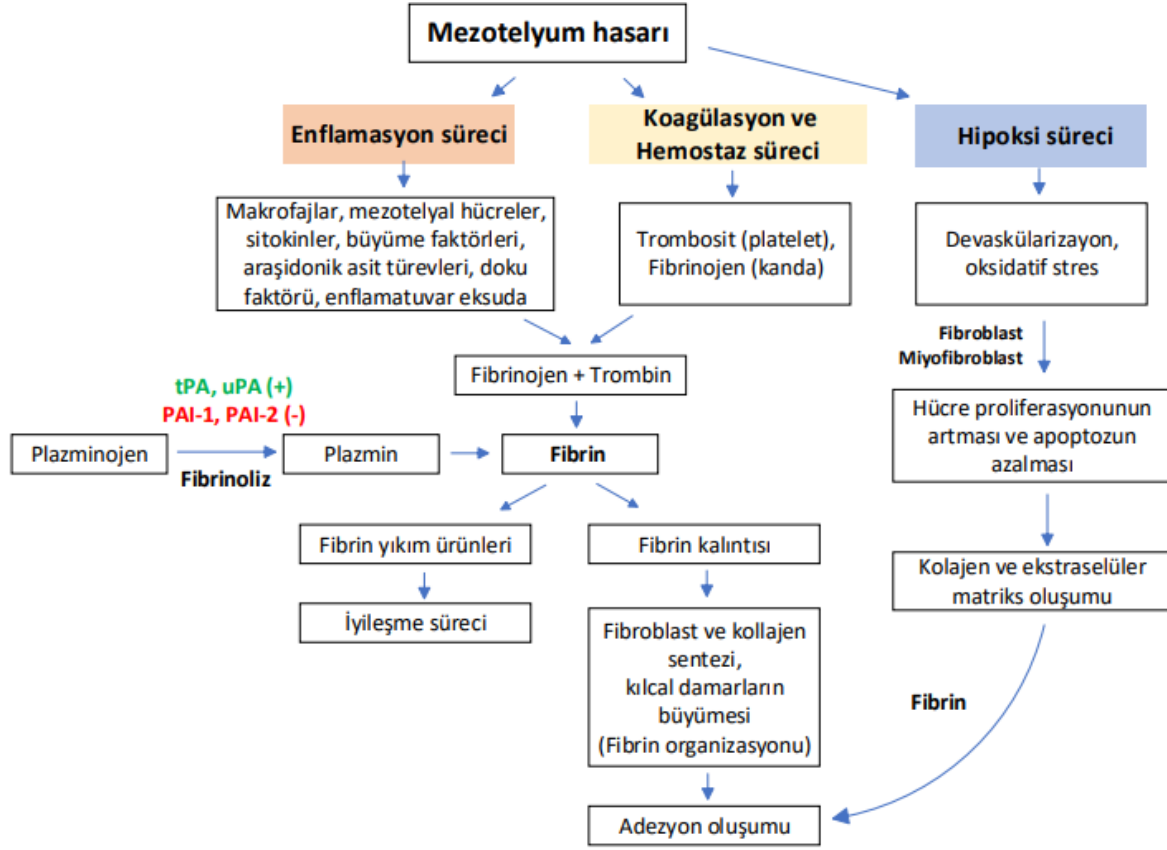
2.3.1. Abdominal adezyonun oluşum mekanizması

İntraperitoneal adezyon; cerrahi operasyon, travma, yanık, yabancı cisim, doku iskemisi, enfeksiyon ve endometriozis gibi durumların sonucunda sağlam peritonun hasarlanması ile gelişmekte, fibrinolitik etkinin bozulması nedeniyle fibrin birikimi sonucunda oluşmaktadır (Monk, Berman ve Montz, 1994; Yanık, F., 1996; Holmdahl, Falkenberg, Ivarsson ve Risberg, 1997). Operasyon sonrası gelişen adezyon, vücudun dış uyaranlara karşı kendini koruma reaksiyonu ile başlamakla birlikte, ilerleyen aşamada ciddi komplikasyonlara yol açabilen patolojik bir durum olarak değerlendirilmektedir (Heydrick ve diğerleri, 2007; Ellis ve diğerleri, 1999; Saini, Bains, Hadke ve Koner, 2020).

Adezyonun oluşum mekanizması hala net bir şekilde aydınlatılamamıştır ancak mekanizmasına ilişkin bazı basamaklar belirlenmiştir. Bunlar arasında, enflamasyon, oksidasyon, fibrinoliz, koagülasyon, hücre proliferasyonu ve apoptoz basamakları yer almaktadır (Şekil 2.3). Peritoneal bölgedeki hasar, bir dizi biyokimyasal sürecin tetiklenmesine yol açmakta ve çok miktarda mediyatörün salındığı pıhtılaşma kaskatını aktive etmektedir. Periton yüzeyinin hassas olması, travmaya yatkınlığı ve 5-8 gün içindeki remezotelizasyon oranı adezyon oluşumunu etkileyen temel etmenlerdendir. Adezyon patofizyolojisinde; mezotel hücreleri, makrofajlar, nötrofiller, lökositler ve fibrin anahtar role sahiptir. Cerrahi travmadan sonra sayısı artan makrofajlar, periton bölgesinde etkinliğini artırmakta ve interlökin (IL)-1 ve IL-6, tümör nekroz faktörü (TNF), lökotrien B4, prostaglandin (PG) E2, COX ve lipoksijenaz (LOX) metabolitleri, plazminojen aktivatörü, plazminojen aktivatör inhibitörü (PAI), kolajenaz, elastaz gibi sitokin ve enzimlerin üretimini arttırmaktadır (DiZerega, 1992; Rodgers ve DiZerega, 1993; DiZerega, 1997).

Hasarlı bölgedeki mezotel hücreleri, farklı mediyatörlerin salımına neden olarak, serozal enflamatuvar yanıtın başlamasında, fibrozis ve iyileşme sürecinde önemli rol oynamaktadır. Bu süreçte, transforme edici büyüme faktörü (TGF)- β , epidermal büyüme faktörü (EGF), vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), insülin benzeri büyüme faktörü (IGF), fibroblast büyüme faktörü (FGF), sitokinler, kemokinler, koagülasyon kaskadı ürünleri, prostaglandinler ve prostasiklinler, reaktif nitrojen ve oksijen türleri, antioksidan enzimler

ve ECM proteinleri yer almaktadır (Genevieve ve Weigel, 2006; Mutsaers, Whitaker ve Papadimitriou, 2002).



Şekil 2.3. Adezyon oluşumu mekanizması

Histopatolojik olarak adezyon oluşumu, fibrin birikimi ve epitelizasyona göre deriden ayrı olarak değerlendirilmektedir. Peritonu kaplayan mezotelyal tabaka, ECM, lenfatik ve kılcal damarlardan meydana gelmektedir. Yaralanma sonrasında damar geçirgenliğinin artması ile enflamatuvar yanıt başlar. Enflamasyon, hücrelerin hasarlı bölgeye göçüne, enflamatuvar mediyatörlerin salınmasına ve ECM proteinlerinin artmasına neden olmaktadır.

Bölgenin yaralanmasıyla birlikte hücreler yapılar ile pıhtılaşma ve doku faktörleri enflamatuvar yanıtı aktive eder. Birkaç saatte hasarlı bölgede fibrin birikimi ve fibrinöz eksüdasyon oluşur. 24 saat içinde fagositler toplanır ve 3. günde fibroblastlar kolajen lifleri oluşturmaya başlar (Cheong ve diğerleri, 2001; Holmdahl ve Ivarsson, 1999). Makrofajların aktivasyonu ile mezotel hücreler hasarlı bölgeye toplanır ve çoğalan bu hücreler genellikle yaralanmadan 5-7 gün sonra yeniden epitelizasyon sağlanır. Peritonun yaralanması mezotelyumun ve endotelin aktivasyonuna neden olarak periton boşluğuna TNF- α ve IL-6

gibi enflamatuvar sitokinlerinin lokal salınmasına, devamında da nötrofillerin, makrofajların ve eozinofillerin toplanmasına ve peritonda fibrinöz bir eksudanın birikimine yol açmaktadır. Fibrin matriks, fibronektin ve bir dizi aminoasitin etkileşimi ile fibrin polimerlerinden oluşur (DiZerega, 1997; Liakakos, Thomakos, Fine, Dervenis ve Young, 2001; Heydrick ve diğerleri, 2007). Fibrinöz eksüda iyileşmeyi hızlandırmaya yardımcı olur, ancak patolojik durumda komşu dokularla bağlantı kurar ve hemen ardından periton sıvısındaki enflamasyon hücreleri hasarlı bölgeye ulaşır (DiZerega ve Rodgers, 1992). Fibrinolitik aktiviteye sahip doku plazminojen aktivatör (tPA) fibrin matriksi parçalayabilmektedir ancak cerrahi işlemler fibrinolitik aktiviteyi önemli ölçüde baskılamaktadır (Heydrick ve diğerleri, 2007; Liakakos, Thomakos, Fine, Dervenis ve Young, 2001; DiZerega, 1997).

Damar yaralanması durumunda endotel hücre yapısı bozulur ve von Willebrand faktörü ile doku faktörleri salınır. Von Willebrand faktörü trombositlere bağlanır, trombositlerin birikmesiyle trombosit tıkaçının oluşmasına neden olur. Trombosit yapışması ile endotel hücre aktive olur ve kolajen, fibronektin, laminin, trombin, tromboksan A2, adenozin difosfat gibi bileşenler birçok reaksiyonu başlatır. Fibrinojen köprüleri sayesinde aktif trombositler birbirine bağlanır ve trombosit tıkaçı oluşur. Buna birincil hemostaz veya trombosit pıhtılaşması denir (Mutsaers, 2004; Hoffman ve diğerleri, 2013; Ersöz, 1997). Trombosit tıkaçı hasarı kapatan ilk aşama olup geçicidir ve stabil değildir. İkincil hemostaz, pıhtılaşma faktörlerini içeren ve tıkaçı stabilize eden pıhtılaşma kaskadı olarak adlandırılır. Pıhtılaşma kaskadının aktivasyonunu takiben fibrinojenin fibrine dönüşümünü uyaran trombin oluşumu gerçekleşir ve periton boşluğunda fibrin aktif hale gelir. Fibrin yapısını ve trombosit tıkaçını çözmek için yapılan son hemostazda fibrinoliz aktive edilir (Shaz, Hillyer ve Reyes Gil, 2019; Cheong ve diğerleri, 2001).

Peritonda biriken fibrin bantları, normal fizyolojik şartlarda fibrinolitik sistemin aktivasyonu ile parçalanmaktadır. Ancak fibrinoliz ve koagülasyon basamakları arasındaki dengesizlik nedeniyle fibrin matriksi, fibrokolajen adı verilen daha büyük yapılara dönüşür. Bu süreçte fibroblastlar ECM'yi oluşturur ve birikimine sebep olur (Cheong ve diğerleri, 2001). Fibrin birikimi ile bitişik yüzeyler birbirine bağlanır ve adezyon oluşur. Fibroblastların farklılaşması, uyarılması, proliferasyonu ve plazminojen aktivatörlerinin salımı makrofajlar tarafından düzenlenir. Makrofajlar, doku hasarının iyileşmesinde anahtar rol oynamaktadır. Ar'Rajab ve diğerleri (1995), peritoneal makrofajların indüksiyonunun postoperatif

abdominal adezyon (PAA) derecesini önemli ölçüde azalttığını göstermiştir. Peritoneal tabakadaki bitişik yüzeyler arasındaki fibrin bağı, fibrinolitik ajanların aktivitesi ile parçalanabilir (DiZerega ve Rodgers, 1992).

Adezyon oluşumunun önlenmesinde hassas ve doğru cerrahi müdahale temel faktördür ancak cerrahi yaklaşım modelleri bu amaç için yeterli olmadığından adezyon oluşumunu önleyebilmek için farklı adjuvan tedavi yöntemleri kullanılmaktadır (Yanık, 1996). Özellikle son yıllarda, adezyonun önlenmesi ve tedavisi ile ilgili yapılan çalışma sayısı oldukça fazladır ancak kesin tanı, tedavi ve korunma yöntemleri yeterli değildir.

2.3.2. Adezyon modelinde tedavi yaklaşımları

İntra-abdominal adezyonların önlenmesi ile ilgili çok sayıda prelinik ve klinik çalışma yapılmış ve adezyonun preventif tedavi ile önlenmesi öncelik verilen hususlardan biri olmuştur. Klinikte PAA'nın önlenmesinde temel olarak; uygun cerrahi teknik, ilaç tedavisi ve bariyer metotları uygulanmaktadır. Cerrahi operasyon sonrası farmakolojik ajanlar ve mekanik bariyerler adezyonun önlenmesi amacıyla kullanılmaktadır (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. Adezyonda tedavi yaklaşımı

Adezyon; enflamasyon, oksidasyon, fibrinoliz, anjiyogenez, hücre migrasyonu, koagülasyon süreçlerini içerdiğinden (Braun ve Diamond, 2014; Holmdahl ve Ivarsson, 1999; Hu ve diğerleri, 2021; Rout, Saed ve Diamond, 2002), adezyon oluşumuna karşı etkili bir tedavi yaklaşımı elde etmek amacıyla çok yönlü etki mekanizmalarına sahip ajanların araştırılmasına ihtiyaç duyulmaktadır (Arung, Meurisse ve Detry, 2011; Coelho Junior ve diğerleri, 2015; Liakakos, Thomakos, Fine, Dervenis ve Young, 2001).

Uygun cerrahi teknik

Laparoskopik cerrahide travma alanı ve kanama daha az olduğu için yabancı maddeye bağlı adezyon oluşumu, abdominal ve pelvik açık cerrahi işlemlere göre daha az görülmektedir. Minimal invaziv işlem, dokularda nemli ortamın devam etmesine olanak sağladığı için, işlem sırasında iç organların zarar görmesini engellemektedir (Goldberg, Sheets ve Habal, 1980; Kavic ve Kavic, 2002; Luijendijk ve diğerleri, 1996). Yabancı madde, doku yaralanması, periton içi kan birikimi, periton dikişi gibi uygun olmayan cerrahi işlemler adezyon oluşumuna yol açarken, minimal invaziv cerrahi ile adezyonun oluşum oranı azaltılabilir (Liakakos, Thomakos, Fine, Dervenis ve Young, 2001).

Bariyer yöntemleri

Sıvı veya katı bariyerler, periton yüzeylerini ayrı tutarak ve yüzeyler arasında fiziksel veya kimyasal etkiyle bariyer görevi görerek adezyon dokusu oluşumunu önlemektedir (Kocaay, Çelik, Eker, Çetinkaya ve Genç, 2015). Bariyer oluşturan ajanlar, periton boşluğunda uzun süre kalabildiği için klinikte sıklıkla kullanılmaktadır (DiZerega, 2000; Kocaay, Çelik, Eker, Çetinkaya ve Genç, 2015). Kimyasal bariyer yöntemlerinin anti-enflamatuvar ve antifibrotik aktiviteler gösterdiği yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (İbrahim, Kamel ve Soliman, 2022; Zhao ve diğerleri, 2022). Laktatlı ringer çözeltisi, sodyum klorür ve PBS gibi çözeltiler, tedaviye yardımcı ajanlar olarak tercih edilmektedir (DiZerega, 2000). ADEPT® kısa ismi ile bilinen %4'lük ikodekstrin solüsyonu, laparoskopik cerrahide adezyon önleyici madde olarak uygulanmak üzere FDA ve Avrupa tarafından onaylanmıştır (Brown ve diğerleri, 2007).

Toksik olmayan, biyolojik olarak parçalanabilen, stabil ve FDA onaylı bir ürün olan hyaluronik asit-karboksimetilselüloz (CMC) kombinasyonu olan Seprafilm®, en az 3 gün

süreyle hasarlı alanda etkisini göstermektedir (Zeng, Yu, You ve Zhang, 2007). Polilaktik asit filmin (SurgiWrap®) ratlarda operasyon sonrası adezyon ve enflamasyonu önemli ölçüde azalttığı rapor edilmiştir (Ersoy, Ozturk, Yazgan, Ozdogan ve Gundogdu, 2008). Polivinil alkol ve karboksimetillenmiş selülozdan oluşan yüksek viskoziteli bir jelin jinekolojik ve abdominal operasyonlarda bariyer görevi görerek tedavide etkili olduğu tespit edilmiştir (Lang ve diğerleri, 2007). Yapılan prelinik çalışmalarda, polivinil alkol jelin, dekstran yapısındaki bir hidrojelin (Lydex®) ve hidrojel filminin (SprayGel®) cerrahi sonrası adezyon oluşumunu azalttığı (Dunn, Lyman, Edelman adn Campbell, 2001; Hyon, Hyon and Matsumura, 2022; Lang ve diğerleri, 2007); düşük viskoziteye ve düşük molekül ağırlığına sahip hyaluronik asitin ve jelatin süngerinin fiziksel bariyer özelliği ve anti-enflamatuvar etki göstererek adezyon oluşumunu azaltmada etkili olduğu bildirmiştir (İbrahim, Kamel ve Soliman, 2022; Rodgers, Johns, Girgis, Campeau ve DiZerega, 1997). Oksitlenmiş rejenere selülozun (Interceed®), operasyon sonrası ovaryum adezyonunu önlemede etkili olduğu (Franklin, 1995) ortaya konulmuştur.

Çizelge 2.5. Klinikte adezyona karşı kullanılan ve bariyer etkisi gösteren doğal ürünler

Doğal kaynaklı bileşikler	Etki Mekanizması	Uygulama yolu/ Farmasötik Formu	Deney Modeli	Kaynak
Hyaluronik asit (Hyalobarrier®)	Fiziksel bariyer	<i>i.p./Jel</i>	Klinik	Huang ve diğerleri, (2020); Luo ve diğerleri, (2024)
Hyaluronik asit/CMC (Seprafilm®, Guardix-sol®)	Fiziksel bariyer	<i>i.p./Jel</i>	Klinik	Ha ve diğerleri, (2016)
Jelatin (Gelita-Spon®Standard)	Fiziksel bariyer Anti-enflamatuvar	<i>i.p./Yama</i>	<i>In vivo</i> (rat)	İbrahim, Kamel ve Soliman, (2022)
Kitozan-Dekstran	Hemostatik	<i>i.p./Jel</i>	<i>In vivo</i> (rat)	Lauder, Garcea, Strickland ve Maddern, (2011)
Aljinat	Fiziksel bariyer	<i>i.p./Jel</i>	<i>In vivo</i> (rat)	Hol ve diğerleri, 2019
Dekstran (Lydex®)	Hemostatik	<i>i.p./Jel</i>	<i>In vivo</i> (tavşan)	Hyon Hyon and Matsumura, 2022
Kitin (SuproGel®)	Anti-fibrosiz	Laminektomi bölgeye/Jel	<i>In vivo</i> (tavşan)	Keskin ve Esen, 2010
Kolajen matrix (DuraGen plus®)	Anti-fibrosiz	Laminektomi bölgeye/Yama	<i>In vivo</i> (tavşan)	Keskin ve Esen, 2010

Aljinat, hyaluronik asit gibi polisakkarit ve jelatin bazlı doğal kaynaklı polimerlerin, biyolojik olarak parçalanabilir, biyouyumlu, non-toksik özelliklerinin yanı sıra ekonomik, kolay ulaşılabilir ve güvenilir olmaları dolayısıyla sentetik polimerlere göre daha üstün nitelikte olduğu bildirilmiştir (Kulkarni, Butte ve Rathod, 2012). Çizelge 2.5'te belirtilen doğal yapıları polimerler *i.p.* bölgeye jel ya da yama formunda uygulanabilmektedir ve adezyona karşı etkili bariyerler olarak klinikte sıkça kullanılmaktadır (Park, Baek, Kang ve Lee, 2020; Saif, Shami, Anwar and Asif, 2019; Jiang ve Roby, 2000).

Farmakolojik ajanlar

Cerrahi operasyon, doku hasarına, doku hipoksisine, indüklenen oksidatif strese, devaskularizasyona ve bunların sonucunda transkripsiyon faktörlerinin salımına sebep olmaktadır. Bu açıdan bakıldığında, farmakolojik tedavide, fibrinolitik ajanlar, kalsiyum kanal blokerleri, antioksidanlar, antikoagülanlar, kortikosteroidler, nonsteroidal anti-enflamatuvar ilaçlar (NSAİİ), antibiyotikler, antihistaminikler, progesteron/östrojen ve vitaminler kullanılmaktadır (Risberg, 1997; Liakakos, Thomakos, Fine, Dervenis ve Young, 2001).

Etil pirüvat, metilen mavisi, borik asit, mitokinon, budezonid, metilprednizolon, sodyum hidrosülfid, tranilast gibi maddelerin antioksidan ve anti-enflamatuvar etkilerine bağlı olarak adezyonu önlemede etkili olduğu bildirilmiştir (Urkan ve Güven, 2021; Artis ve diğerleri, 2016; Avşar ve diğerleri, 2001; Xia, Zhu ve Xu, 2017; Heydrick ve diğerleri, 2007; Hu ve diğerleri, 2022; Cooper ve diğerleri, 2007; Yeo ve diğerleri, 2007).

Bir fibroz biyobelirteç olan TGF- β fibrotik süreçler ile ECM oluşum mekanizmasında yer almaktadır (Hinz, 2015; Rahimi ve diğerleri, 2017). Ayrıca fibrotik dokuda kolajen üretimini arttırdığı görülmüştür (Lijnen ve Petrov, 2002). Lisinopril molekülünün TGF- β 1 ekspresyonunu baskıladığı ve abdominal adezyonu azaltmada aktif bir ajan olduğu bildirilmiştir (Bulbulla ve diğerleri, 2005).

Adezyonun bir anjiyogenez biyobelirteci olan VEGF ile ilişkili olduğu ve VEGF'nin inhibisyonu ile adezyon oluşumunun azaldığı gösterilmiştir (Rahimi ve diğerleri, 2017). Selekoksisib, sunitinib ve bevasizumab gibi antianjiyogenik etkili ilaçlar, adezyon tedavisinde

kullanılmaktadır (Acun ve diğ erleri, 2018; Greene ve diğ erleri, 2005; Kim ve diğ erleri, 2008).

Antikoag ulan ajanların peritoneal adezyon oluşumunu engellediği literatürde bildirilmiştir. Hayvan modelinde yapışıklıkları önlemek amacıyla intraperitoneal (*i.p.*) olarak verilen düşük molekül ağırlıklı heparinin subkütan ve *i.p.* heparin uygulamasına göre daha etkili olduğu rapor edilmiştir (Türkçapar ve diğ erleri, 1995).

Streptokinaz, t-PA ve fosfatidilkolinin adezyonun derecesini düşürdüğü bildirilmiştir (Irkorucu, Ferahk şe, Memiş, Ekinci ve Akın, 2009; Hosseini, Akhavan, Menshaei ve Feizi, 2018). Fibrinolitik aktiviteye sahip rekombinant doku plazminojen aktivatörünün (rt-PA) laparotomi sonrası adezyon oluşumunu ve yeniden gelişimini azaltabildiği, böylece fibrinolitik sürece katkı sağladığı belirlenmiştir (Hellebrekers, Trimbos-Kemper, Trimbos, Emeis ve Kooistra, 2000). Bir plazminojen aktivatörü olan enoksaparin sodyum ve rekombinant insan plazminojen aktivatörü olan alteplaz, trombolitik ajanlardan daha avantajlıdır. Plazminojen aktivatörlerinin özellikle fibrin üzerinde etki göstermesi ve immün sistemde reaksiyona neden olmaması, daha az yan etki göstermesine neden olur (Hellebrekers, Trimbos-Kemper, Trimbos, Emeis ve Kooistra, 2000). Tranilastın 21 günlük tavşan adezyon modelinde anti-fibrotik aktivite göstererek adezyonun azaltılmasında etkili olduğu g r lm ştir (Cooper ve diğ erleri, 2007).

E vitaminin *i.p.* yolla uygulaması, fiziksel bariyer etkisine ek olarak enflamasyon, neovaskülarizasyon ve fibrozis basamaklarında iyileştirici etki oluşurmaktadır (Yetkin ve diğ erleri, 2009; Sudirman ve diğ erleri, 2022). Kolekalsiferol n (vitamin D3) *i.p.* uygulamasının enflamasyon ve fibrozisi önleyerek abdominal adezyonda etkili olduğu rapor edilmiştir (Sahbaz ve diğ erleri, 2015b).

2.3.3. Bitkilerin ve doğal bileşiklerin adezyonun engellenmesindeki rolü

Son yıllarda yapılan prelinik çalışmalarda bitki ekstrelerinin farklı birçok biyolojik aktivite göstermek suretiyle adezyonu önleyici etkilerinin olabileceği öne sürülmüş ve yapılan çalışmalar bu hipotezi doğrulamıştır (Parsaei, Karimi, Asadi ve Rafieian-Kopaei, 2013; Rajaei ve diğ erleri, 2014; Karimi ve diğ erleri, 2016a; Süntar, Demirel, Ceribasi, Ergin ve Gökbulut, 2021).  alışmalara dair bulgular bitki ekstrelerinin PAA'nın iyileşme sürecini

destekleyebilecek çeşitli farmakolojik aktivitelere sahip olduğunu göstermiştir. *In vivo* deney modellerinde PAA oluşumunu engelleyen bitki ekstraktları, sekonder metabolitler ve doğal kaynaklı ürünlerin; fibrinolitik, antiplatelet, anti-enflamatuvar, antioksidan ve anti-angiyojenik aktiviteler göstererek adezyona karşı etkili olduğu Çizelge 2.6 ve 2.7’de yapılan çalışmalarda gösterilmiştir.

Çizelge 2.6. *In vivo* deney modellerinde adezyon önleyici etki gösteren bitkiler

Familiya	Bitki ismi	Bitki kısmı	Doz, Süre, Uygulama Yolu	Ekstre tipi	Kaynak
Asteraceae	<i>Matricaria chamomilla</i> L.	Çiçek	100,200 ve 400 mg/kg, 14 gün, <i>i.p.</i>	-	Rajaei ve diğerleri, 2014
Asteraceae	<i>Silybum marianum</i> (L.) Gaertn.	Tohum	%1, %5 (a/h), 14 gün, <i>i.p.</i>	%70 EtOH	Karimi, Parsaei, Shafiei-Alavijeh, Rafieian-Kopaei ve Asadi, 2016(b)
Burseraceae	<i>Boswellia sacra</i> Flück	Reçine	40 µg/mL, 7 gün, <i>i.p.</i>	<i>n</i> -Hekzan	Jamshidi-adegania ve diğerleri, 2022
Cucurbitaceae	<i>Ecballium elaterium</i> (L.) A. Rich	Meyve	2,5 mg/kg, 15 gün, <i>i.p.</i>	%80 EtOH	Okur ve diğerleri, 2014
Iridaceae	<i>Crocus sativus</i> L.	Stigma	100 mg/kg, 10 gün, oral	Hidro-alkolik	Arjmand ve diğerleri, 2021
Iridaceae	<i>Crocus sativus</i> L.	-	100, 200 ve 400 µg/ml, 7 gün, <i>i.p.</i> lavaj	%70 EtOH	Rahmanian-Devin ve diğerleri, 2021
Lamiaceae	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	Toprak üstü	%1, %2 ve %4 (a/h), 7 gün/ <i>i.p.</i> lavaj	%70 EtOH	Roohbakhsh ve diğerleri, 2020
Malvaceae	<i>Malva sylvestris</i> L.	Çiçek	0.2 g/kg, 15 gün, <i>i.p.</i> lavaj	%50 EtOH	Jomezadeh ve diğerleri, 2019
Orchidaceae	<i>Bletilla striata</i> Rchb.f.	-	%15 (a/h), 7 gün, <i>i.p.</i>	Distile su	Liu ve diğerleri, 2019
Portulacaceae	<i>Portulaca oleracea</i> L.	Toprak üstü	100 ve 300 mg/kg, 7 gün, oral	%70 EtOH	Jaafari ve diğerleri, 2021
Punicaceae	<i>Punica granatum</i> L.	Kabuk	%1, 2 ve 4 (a/h), 7 gün, <i>i.p.</i> lavaj	%70 EtOH	Ghadiri ve diğerleri, 2021
Punicaceae	<i>Punica granatum</i> L.	Çiçek	100, 200 ve 400 mg/kg, 14 gün, oral	EtOH/ H ₂ O	Mahmoudieh ve diğerleri, 2020
Rosaceae	<i>Rosa damascena</i> Mill.	Çiçek	%1 ve %5 (a/h), 14 gün, <i>i.p.</i>	%70 EtOH	Karimi ve diğerleri, 2016a
Theaceae	<i>Camellia sinensis</i> (L.) Kuntze	-	%4 (a/h), 14 gün, <i>i.p.</i> lavaj	%70 EtOH	Parsaei, Karimi, Asadi ve Rafieian-Kopaei, 2013

Aloe barbadensis Mill. bitkisinden elde edilen *Aloe vera* jelin, viskoz yapısına bağlı olarak bariyer etkisi gösterdiği ve adezyon dokusunu azalttığı bildirilmiştir (Aysan, Bektaş ve Ersoz, 2010). *Crocus sativus* L. ekstresinin, glutatyon ve anti-enflamatuvar sitokinlerin (IL-10) seviyesini yükselttiği ve fibrinolitik aktivitenin göstergesi olan tPA/PAI oranını artırdığı; oksidatif stresi, enflamatuvar sitokinleri, fibrozis ve anjiyogenez göstergelerini azalttığı rapor edilmiştir (Rahmanian-Devin ve diğerleri, 2021). *Matricaria chamomilla* L. ekstresi uygulanan ratlarda enflamasyon, vaskülarizasyon ve fibroz doku oluşumunun azaldığı belirlenmiş ve bu fizyolojik olayların iyileşme sürecine katkı sunduğu bildirilmiştir (Rajaei ve diğerleri, 2014). *Portulaca oleracea* L. bitkisinin dahilen kullanıldığında, anjiyogenezi, oksidasyonu, fibrozisi ve enflamatuvar belirteçleri inhibe ettiği ortaya konulmuştur (Elkhayat, Ibrahim ve Aziz, 2008; Jaafari ve diğerleri, 2021). *Rumex crispus* L. ekstresinin enflamasyon belirteçlerini azalttığı ve bu etkinin antrakinon yapısındaki bileşiklerden kaynaklanmış olabileceği bildirilmiştir (Süntar, Demirel, Ceribasi, Ergin ve Gökbulut, 2021). *Camellia sinensis* (L.) Kuntze'nin etanollü ekstresinin Wistar albino ratların karın boşluğuna uygulanmasıyla, adezyon skor değerinin anlamlı olarak düştüğü; ekstrenin antioksidan ve anti-enflamatuvar aktivitesinden dolayı kolajen üretimi ve birikimini önleyici etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir (Parsaei, Karimi, Asadi ve Rafieian-Kopaei, 2013).

Sekonder metabolitler ile doğal kaynaklı ürünlerin abdominal adezyonu farklı etki mekanizmaları üzerinden önlediği çalışmalar Çizelge 2.7'de sunulmuştur. Geleneksel Çin Tıbbında kullanımı olan Danhong, *Salvia miltiorrhiza* Bunge kökü ile *Carthamus tinctorius* L. çiçeklerinin ekstre edilmesiyle elde edilmektedir. Danhong, bitkisel kaynaklı yağlar, bal, propolis gibi doğal kaynaklı ürünlerin de adezyon önleyici aktivite gösterdiği rapor edilmiştir. İran'da yapılan bir çalışmada bal ve propolis anjiyogenez ve enflamasyonu baskılayarak, büyüme faktörlerinin seviyesini azaltarak ve antioksidan etki göstererek adezyonu önlediği rapor edilmiştir (Askari ve diğerleri, 2018; Rahimi ve diğerleri, 2017). Brezilya yeşil propolisinin peritoneal kavitede anti-enflamatuvar etki gösterdiği bildirilmiştir (Lima ve diğerleri, 2014). *Nigella sativa* L. yağının fibrozis, anjiyogenez ve enflamasyon süreçlerine etki ederek iyileşme sağladığı tespit edilmiştir (Sahbaz, Ersan ve Aydın, 2014).

Çizelge 2.7. Anti-adeziv etki gösteren doğal kaynaklı ürünler ve bileşikler

Doğal Ürünler	Doz, Süre, Uygulama Yolu	Kaynak
Bal	%5 ve %10 (a/h), 7 gün, <i>i.p.</i> lavaj (rat)	Rahimi ve diğerleri, 2017
Brezilya yeşil propolisi	500 mg/kg, 4 gün, oral (rat)	Lima ve diğerleri, 2014
Danhong	1, 2 ve 4 mL/kg, 7 gün, <i>i.v.</i> kuyruk veninden (rat)	Wu ve diğerleri, 2019
Propolis	50, 100 ve 200 mg/kg, 14 gün, oral (rat)	Askari ve diğerleri, 2018
<i>Nigella sativa</i> L. yağı	1 mL, 8 gün, <i>i.p.</i> (rat)	Sahbaz, Ersan ve Aydın, 2014
Doğal Bileşikler	Doz, Süre, Uygulama Yolu	Kaynak
Berberin	0,75 ve 1,5 mg/mL, 14 gün, <i>i.p.</i> lavaj (rat)	Zhang ve diğerleri, 2014
Breviskapin	10, 20 ve 40 mg/kg, 10 gün, <i>i.p.</i> (rat)	Zhang, Song, Li, Zhang ve Zeng, 2016
Bromelin	10 mg/kg, 10 gün, <i>i.p.</i> (rat)	Sahbaz ve diğerleri, 2015a
Krosin	100 mg/kg, 10 gün, oral (rat)	Arjmand ve diğerleri, 2021
Kurkumin	10 mg/kg, 15 gün, <i>i.p.</i> (rat)	Türkoğlu ve diğerleri, 2015
Emodin	20, 40 ve 80 mg/kg, 7 gün, oral (rat)	Wei ve diğerleri, 2017
Fukoidan	4,3, 8,3 ve 17,2 mg/gün, 7 gün, <i>i.p.</i> (rat)	Charboneau, Delaney ve Beilman, 2018
Gallik asit	50, 100 ve 150 mg/kg, 7 gün, oral (rat)	Wei ve diğerleri, 2018
Ghrelin	0,16 mg/kg, 20 gün, <i>i.p.</i> (fare)	Bianchi ve diğerleri, 2016
Honokiol	1 mg/kg, 14 gün, <i>i.p.</i> (rat)	Agacayak ve diğerleri, 2015
Ligustrazin	30 ve 60 mg/kg, 10 gün, <i>i.p.</i> (rat)	Zhang ve diğerleri, 2015
Paeoniflorin	10, 20 ve 40 mg/kg, 7 gün, oral (rat)	Gao ve diğerleri, 2017
Polisakkaritler	%0,25 (a/h), 7 gün, <i>i.p.</i> (rat)	Bae, Ahn, Yim, Jang ve Jin, 2005
Resveratrol	10, 20 ve 40 mg/kg, 8 gün, <i>i.v.</i> (rat)	Wei ve diğerleri, 2016
Rosmarinik asit	50 ve 70 mg/kg, 14 gün, <i>i.p.</i> lavaj (rat)	Kakanezhadi ve diğerleri, 2022
Salvionat	12, 24 ve 48 mg/kg, 8 gün, <i>i.p.</i> (rat)	Sui ve diğerleri, 2007
Silimarin	50 mg/kg, 15 gün, <i>i.p.</i> (rat)	Javanmardi, Golmohammadi ve Mazaheri-khamene, 2017
Tanşınon IIA	2,5 ve 10 mg/kg, 7 gün, <i>i.p.</i> (rat)	Wang ve diğerleri, 2014

Erigeron breviscapus (Vaniot) Hand.-Mazz.'ın flavonoit yapısındaki bileşiği olan breviskapin, adezyon dokusunda antifibroz ve anti-enflamatuvar etkiler göstermiştir. Breviskapin sıçan kanındaki IL düzeylerini ve periton sıvısındaki TGF- β 1 düzeylerini azaltmıştır (Zhang, Song, Li, Zhang ve Zeng, 2016). Resveratrol, fibrin birikimi ve pro-enflamatuvar sitokinlerin serum düzeylerini önemli ölçüde azaltmıştır (Wei ve diğerleri, 2016). *Castanea sativa* Mill., *Quercus robur* L. ve *C. sinensis* gibi bitkilerden elde edilen gallik asitin sıçan periton dokusunda fibrozis ve enflamasyonu azalttığı rapor edilmiştir (Choubey, Varughese, Kumar ve Beniwal, 2015; Wei ve diğerleri, 2018). Kakanezhadi ve diğerleri (2022) rosmarinik asitin pro-enflamatuvar sitokinleri, fibroblast üretimini ve angiogenezi bloke ettiğini bildirmiştir. Çin'de yapılan bir çalışmada nepalenzit A, fiskiyon, emodin ve krizofanolun 10 μ M konsantrasyonda kolajen IV ile fibronektin üretimini önemli ölçüde azalttığı, ECM üretimini inhibe ettiği görülmüştür (Yang ve diğerleri, 2013). *Phyllanthus urinaria* L. bitkisinin toprak üstü MeOH ekstresinden izole edilen korilajinin rat plazmasında t-PA aktivitesini arttırdığı, PAI-1 aktivitesini ($IC_{50} = 16,7 \mu M$) önemli ölçüde azalttığı bildirilmiştir (Shen, Dong, Peng ve Liu, 2003).

2.3.4. Adezyon ölçüm yöntemleri

Adezyon patofizyolojisinde yer alan süreçlerdeki parametrelerin ölçümü için birçok *in vitro* teknik kullanılmaktadır. *In vitro* analiz yöntemlerinden, trombin zamanı (TT), protrombin zamanı (PT), parsiyel tromboplastin zamanı (PTT), aktive parsiyel tromboplastin zamanı (aPTT) optik agregasyon ve pıhtı lizis testleri, koagülasyon kaskadı ile ilgili süreçler hakkında bilgi vermektedir. Fibrin plak yöntemi (Astrup ve Mullertz, 1952) ve öglobulin pıhtı lizis zamanı (ECLT) ölçümü ise (Kowarzyk ve Buluk, 1950) fibrinolitik basamaklarla ilişkilidir.

ECLT, PT, PTT, aPTT, TT, optik agregasyon ve pıhtı lizis testleri kan plazmasının kullanımını gerektiren deneylerdir. ECLT, serbest PAI-1 miktarını ve fibrinolitik aktivitenin varlığını gösterir. Kan örneklerinden öglobulin fraksiyonunun elde edilmesi için deney tüplerinde bir seri işlemler yapılmaktadır. Trombin eklenmesiyle pıhtı oluşumu başlatılır, öglobulin pıhtı erime zamanının belirlenmesi esasına göre ölçüm yapılarak, tPA ve PAI ilişkisi araştırılır (Ilich, Bokarev ve Key, 2017; Urano ve diğerleri, 1990).

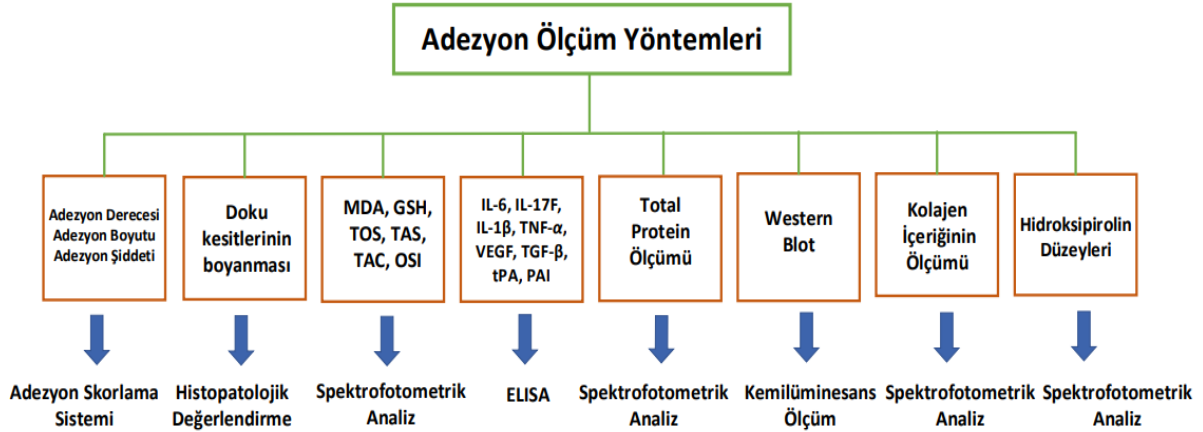
PT, PTT, aPTT ve TT testleri antikoagülan aktivitenin belirlenmesinde kullanılmaktadır. PTT ile aPTT koagülasyon kaskadı intrinsik yolağını (Hoffman ve diğerleri; 2005, Liu ve diğerleri, 2018), PT testi ise koagülasyon kaskadı ekstrinsik yolağını (Liu ve diğerleri, 2018) ölçmek için kullanılır. TT ölçümü ile fibrinojeni fibrine dönüştürme kapasitesi değerlendirilir (Yang ve diğerleri, 2022).

Optik agregasyon, türbidimetrik olarak trombosit agregasyonunu göstermekte ve trombositten fakir plazma (PPP) ile yapılmaktadır. Adenozin difosfat, araşidonik asit, kolajen, trombin gibi çeşitli agregat maddeler ile PPP karıştırılır. Lumi-agregasyon ile agregasyon ve agregatsız numunenin ölçümü yapılmakta ve bu değerlerin karşılaştırılması ile ışık geçirgenliğindeki değişim yüzde olarak belirlenir (Seo, Ngoc, Lee, Kim ve Jung, 2012; Jung ve diğerleri, 2002).

Pıhtı lizis testinde plazma örnekleri steril bir mikrosantrifüj tüpüne transfer edilir. İnkübasyon süresinden sonra pıhtı oluşması durumunda, pıhtı ağırlığı hesaplanır. Numunenin, pıhtının bulunduğu tüplere eklenmesi ve 37°C'de 90 dakika süreyle inkübe edilmesinin ardından pıhtı çözünmesiyle tüpler yeniden tartılarak ağırlık farkı hesaplanır. Pıhtı çözünme yüzdesi, pıhtı erimesinden önce ve sonrasındaki tartımın farkı ile belirlenir (Prasad ve diğerleri, 2006).

Fibrin plak yöntemi ise, temel olarak agaroz, fibrin ve trombin içeren tabaka ile kaplanmış petri kaplarına numunenin ve plazmin referansının uygulanması ve inkübasyon süresinin sonunda, numune ve standardın oluşturdukları erime alanlarının karşılaştırılması esasına dayanmaktadır (Nguyen ve diğerleri, 2021).

Adezyonun değerlendirilmesinde, *in vivo* adezyon modelinin deney hayvanlarında oluşturulması ve sonrasında oluşan adezyonun skorlanması; adezyon dokusunda, periton sıvısında ve kanda adezyon oluşumu ile doğrudan veya dolaylı olarak ilişkili bulunan parametrelerin ölçülmesi yaklaşımları, kliniğe daha yakın bulguların elde edilmesi açısından *in vitro* yöntemlere kıyasla tercih edilmektedir (Şekil 2.5).



Şekil 2.5. *In vivo* adezyon modeli sonrası ölçülen parametreler

In vivo adezyonun indüksiyonunda, deney hayvanı olarak genellikle sıçan, tavşan ve domuz kullanılmaktadır. Deneyin cerrahi olarak oluşturulması amacıyla kolon, çekum ve uterus ve bu organların komşuluğundaki periton duvarında yüzeysel ya da iskemik hasarlar oluşturulmakta ve 7-14 gün boyunca adezyonun oluşumu için beklenmektedir. Yapılan *in vivo* deneylerde referans standart olarak hyaluronik asit, karboksimetil selülozun sulu çözeltisi ve bariyer yöntemlerinin tercih edildiği tespit edilmiştir (Hyon, Hyon ve Matsumura, 2022; Ruiz-Esparza ve diğerleri, 2021; Sirovy ve diğerleri, 2023).

In vivo adezyon ölçüm yöntemleri arasında en sık kullanılan adezyon skorlama sistemi ile adezyonun derecesi, hasarlı alanda yapışmanın boyutu ve şiddeti makroskobik olarak değerlendirilmektedir (Leach, Burns, Dawe, Smith Barbour ve Diamond, 1998). Adezyon skorlama sisteminde deney süresinin sonlanması ile ötanaziyi takiben karın boşluğu açılan deney hayvanlarında; adezyon şekillenmiş dokular, kornu uteri, ovaryum, periton, çekum gibi doku örnekleri, periton sıvısı ile kan örneklerinin incelenmesi ile tedavi grubuna yönelik analiz ve değerlendirmeler yapılabilmektedir.

Histopatolojik skor derecesinin belirlenmesi için (fibroz ve enflamasyon skorları), alınan doku kesitleri ışık mikroskopunda incelenmekte ve mikroskopik düzeyde adezyon skorları belirlenmektedir. Kolajen birikimi ve enflamasyon süreçlerini değerlendirmek amacıyla kesitlere Hematoksilen-Eozin ve Masson Trikrom ile boyama işlemi yapılmaktadır (Srivaya ve diğerleri, 2018; O'connor ve Valle, 1982; Giusto ve diğerleri, 2017; Okur ve diğerleri, 2014).

Adezyonun değerlendirilmesinde, *in vivo* deneylerden elde edilen deney gruplarına ait serum ve doku örnekleri ile periton sıvısında oksidatif süreçlerin değerlendirilmesi amacıyla, oksidan/antioksidan seviyeleri ölçölmekte (Agacayak ve diğerleri, 2015; Erel, 2005); enflamasyon süreçlerinin değerlendirilmesi amacıyla ise enflamatuvar sitokinlerin (IL-6, IL-10, IL-1 β ve TNF- α); anjiyogenez biyobelirteçlerinin (VEGF) ve fibrozis belirteçlerinin (TGF- β) düzeyleri belirlenmektedir (Rahimi ve diğerleri, 2019; Ghadiri ve diğerleri, 2021; Rahmanian-Devin ve diğerleri, 2021; Roohbakhsh ve diğerleri, 2020; Jaafari ve diğerleri, 2021).

Toplam protein konsantrasyonu için Bradford yöntemi (Bradford, 1976; Jaafari ve diğerleri, 2021); proteinlerin belirlenmesinde kemilüminesans esasına dayanan Western blot yöntemi (Liu ve diğerleri, 2019; Guo ve diğerleir, 2007; Wu ve diğerleri, 2019); kolajen (Shan ve diğerleri, 2009; Marotta ve Martino, 1985; Tullberg-Reinert ve Jundt, 1999; Zhang ve diğerleri, 2014) ve hidroksiprolin düzeylerinin ölçümü için spektrofotometrik analiz yöntemlerinden yararlanılmaktadır (Okur ve diğerleri, 2014).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Bitki materyalleri

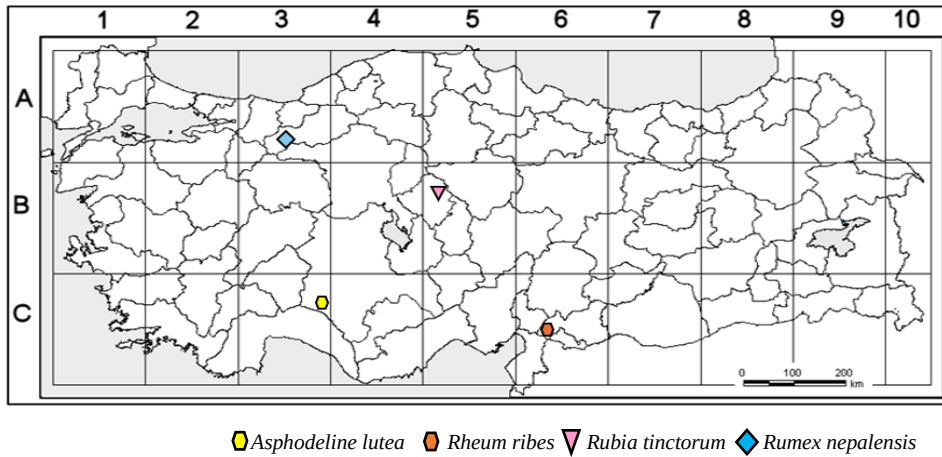
Çalışmamızda *Rheum ribes* L. (Polygonaceae), *Rubia tinctorum* L. (Rubiaceae), *Rumex nepalensis* Spreng. (Polygonaceae) ve *Asphodeline lutea* Rchb. (Asphodelaceae) bitki materyalleri olarak seçilmiştir. Bitkilerin kökleri ülkemizde doğal olarak yetiştiği bilinen lokasyonlardan toplanmıştır (Çizelge 3.1 ve Şekil 3.1) ve eş örnekleri Selçuk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu'nda saklanmaktadır. Bitki örneklerinin tür tayinleri, Selçuk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Botanik Ana Bilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Osman TUGAY tarafından yapılmıştır. Bitkilere ait fotoğraflar Resim 3.1'de sunulmuştur.

Çizelge 3.1. Çalışılan bitki örneklerinin toplandığı yer, tarih, teşhis eden araştırmacı ve herbaryum numarası bilgileri

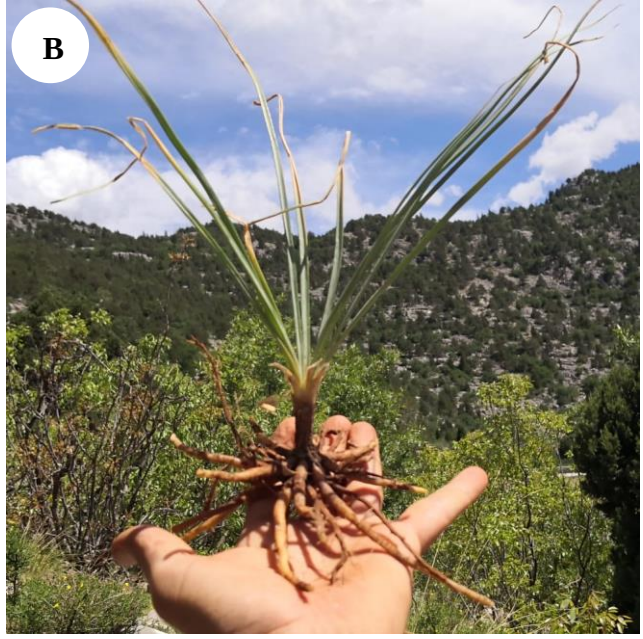
Bitki isimleri	Toplama tarihi	Toplandığı lokasyon	Araştırmacı numarası	Herbaryum numarası
<i>Asphodeline lutea</i> (L.)Rchb.	16.05.2021	Seydişehir, Toroslar, Konya	O.Tugay* 18.291.	KNYA 30195
<i>Rheum ribes</i> L.	28.08.2022	Islahiye, Amanos Dağı, Gaziantep	G.Deynez 1.	KNYA 30192
<i>Rubia tinctorum</i> L.	19.06.2021	Çiçek Dağı, Kırşehir	O.Tugay* 18.405.	KNYA 30193
<i>Rumex nepalensis</i> Spreng.	17.10.2021	Abant Kuzey yamaçlar, Bolu	O.Tugay* 19.152 & G.Deynez 2.	KNYA 30194

KNYA: Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Herbaryumu

* Selçuk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Botanik Ana Bilim Dalı Öğretim Üyesi



Şekil 3.1. Çalışma materyallerinin toplandığı lokaliteler



A: *Rumex nepalensis* Spreng.; B: *Asphodeline lutea* (L.) Rchb.; C: *Rheum ribes* L.; D: *Rubia tinctorum* L

Resim 3.1. Bitki materyali (Fotoğraf: Prof. Dr. Osman Tugay ve Gizem Deynez)

3.1.2. Çalışmada kullanılan malzemeler ve cihazlar

Fitokimyasal analiz ve aktivite deneylerinde, çalışma boyunca kullanılan kimyasal maddeler ve sarf malzemeler Çizelge 3.2’de; cihazlar Çizelge 3.3’te belirtilmiştir.

Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan sarf malzemeler ve kimyasal maddeler

Sarf Malzeme/Kimyasal Madde Kodu	Tedarikçi Firma	Sarf Malzeme/Kimyasal Madde
S7907-500G	Sigma	Sodyum tamponu için Na_2HPO_4
9690531000	İsolab	Sodyum tamponu için $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
AGA103	Bioshop	Agaroz
F8630	Sigma	Fibrinogen from bovine plasma
T4648	Sigma	Thrombin from bovine plasma
P1867	Sigma	Plasmin from human plasma
RM648.00	Medilife	Hyalobarrier® gel
V07337.901	Kimyalab	Parafin
12648286	Thermo	Sitrat buffer, Ph:6.0 10x solüsyon
P4417-100TAB	Sigma	PBS tablet
9230122500.	İsolab	Formaldehit solüsyonu
TK.060161.05001	ITK	Formaldehit %10 (Tamp. PH :6,9-7,1) (min.%1 Methanol)
L11090.090x10	Unbrand	10 cm çapında Cam Petri Kabı 50 adet/PK
8870040100.	Fırtamed	Numune Kabı, Plastik, PP
C974002	Superior	Lam Renkli, Unimark, Traşlı, Beyaz 50ad/pk
E481033	Tarsons	Lam Saklama Kutusu, 100 Lamlik, PS
C911060	Superior	Lamel No:1, 24x24 mm, 100'lük
ER 08-636-0	Erma	Mikrotom Bıçağı (50'lik ambalajda)
400.ZA.CB6100.0100	Zag	Masson Trichrome (aniline blue) Boyama kiti
TK.090270.02500	ITK	Ksilen (İzomerleri Karışımı) Extra pure
06522-100ML	Sigma	DPX Kapama mediumu
34002	Thermo	DAB Kromojen Substrate
TA-125-HP	Thermo	Hydrogen Peroxide Block
TP-125-HL	Thermo	Polyvalent (Rabbit-Mouse) HRP Kit
M109844.1000	Merck	Eosin Alcoholic
1092531000	Merck	Haematoxylin Harris Non Pap
C981041	Superior	Pozitif şarjlı lam
E-AB-22159	Elabsci.	TNF- α Polyclonal Antibody
E-AB-65802	Elabsci.	IL-6 Polyclonal Antibody
E-AB-22204	Elabsci.	IL-8 Polyclonal Antibody

Çizelge 3.3. Çalışmada kullanılan cihazların isim ve marka bilgileri

Cihaz isimleri	Cihaz markası
NMR Spektrometresi	Bruker 400 MHz Avance III sistemi
Etüv	Nüve EN 400
Öğütme makinesi	Brader
Rotavapor	Heidolph VV2000 rotary evaporator
Rotavapor	Buchi Heating Bath B-100
Tartı	Kern PLJ 720
Ultrasonik banyo	Isolab
UV Lambası	Camag
Vorteks cihazı	Firlabo, V3000F

3.2. Yöntem

3.2.1. Fitokimyasal çalışmalar

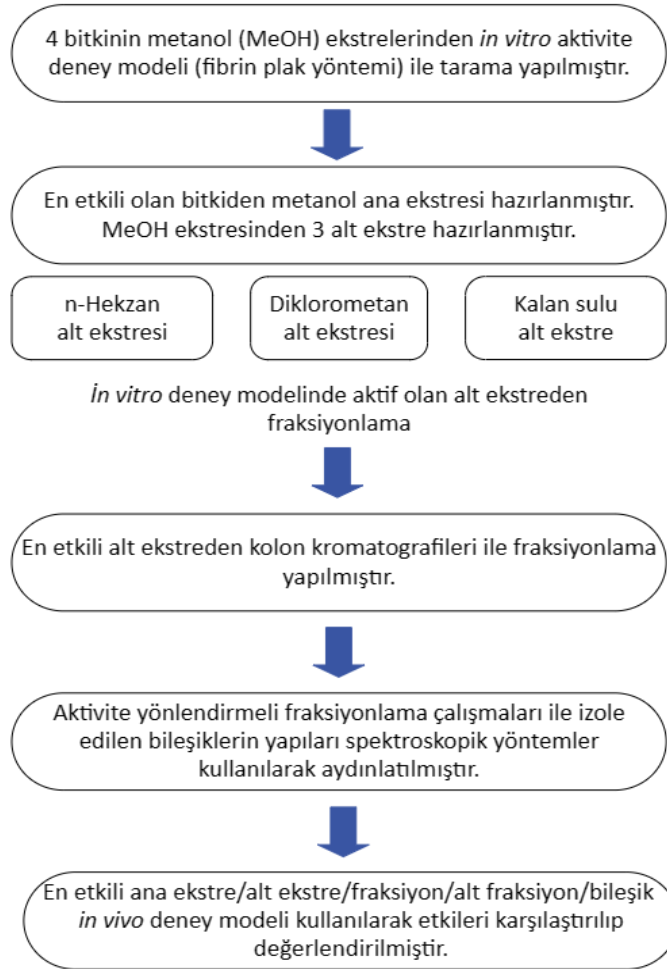
Ekstraksiyon

Bitkilerin kök kısımları ayrılmış, küçük parçalara bölünerek oda sıcaklığında, gölgede ve havalandırması olan kurutma odasında kurutulmuş ve materyal 1 yıl boyunca kuru ve serin ortamda bekletilmiştir. Bitkisel materyaller ekstraksiyon çalışmaları için değirmende öğütülmüş ve Çizelge 3.4'te belirtilen miktarlarda tartılmıştır. Üzerlerine 500'er mL MeOH ilave edilerek, oda sıcaklığında 72 saat boyunca maserasyona bırakılmıştır. Filtre kağıdı kullanılarak yapılan süzme işleminden sonra, ekstreler balona alınarak rotavaporda alçak basınç altında 40°C'de kuruluğa kadar yoğunlaştırılmıştır. Kalan bitki köklerinin üzerlerine taze çözücü (MeOH) eklenerek maserasyona bırakılmıştır. Bu işleme 4 kere devam edilmiştir. Tüm ekstreler rotavaporda alçak basınç altında yoğunlaştırılmıştır. Tartılan bitki köklerinin miktarı ve elde edilen ekstre ağırlıkları ve verimleri Çizelge 3.4'te sunulmuştur.

Çizelge 3.4. Bitkilerin miktarları, elde edilen ekstrelerin ağırlıkları ve yüzde verimleri

Bitkin İsimleri	Kuru kök ağırlığı (g)	Ekstre ağırlığı (g)	Verim (%)
<i>Asphodeline lutea</i> (L.) Rchb.	63,704	28,720	45,084
<i>Rheum ribes</i> L.	100,771	29,327	29,103
<i>Rubia tinctorum</i> L.	53,788	16,988	31,583
<i>Rumex nepalensis</i> Spreng.	100,775	25,539	25,343

Çalışmamız, *in vitro* yöntemler kullanılarak fibrinolitik etkisi değerlendirilen ekstrelerden en etkili olanı üzerinde aktivite-yönlendirmeli fraksiyonlama çalışmalarının yapılarak etkili bileşiklerin belirlenmesi yönünde kurgulandığından (Şekil 3.2), alt ekstre hazırlama, fraksiyonlama ve izolasyon çalışmaları *R. nepalensis* bitkisi üzerinden yürütülmüştür.

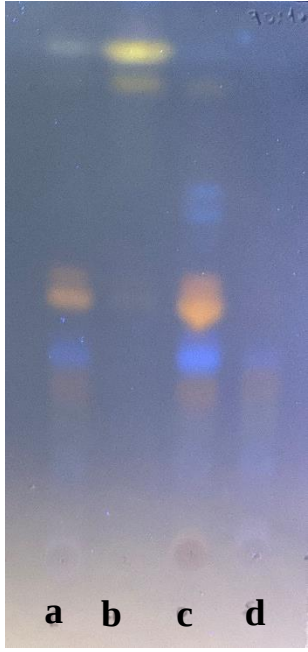


Şekil 3.2. Aktivite-yönlendirmeli fraksiyonlama ve izolasyon çalışmaları metodoloji şeması

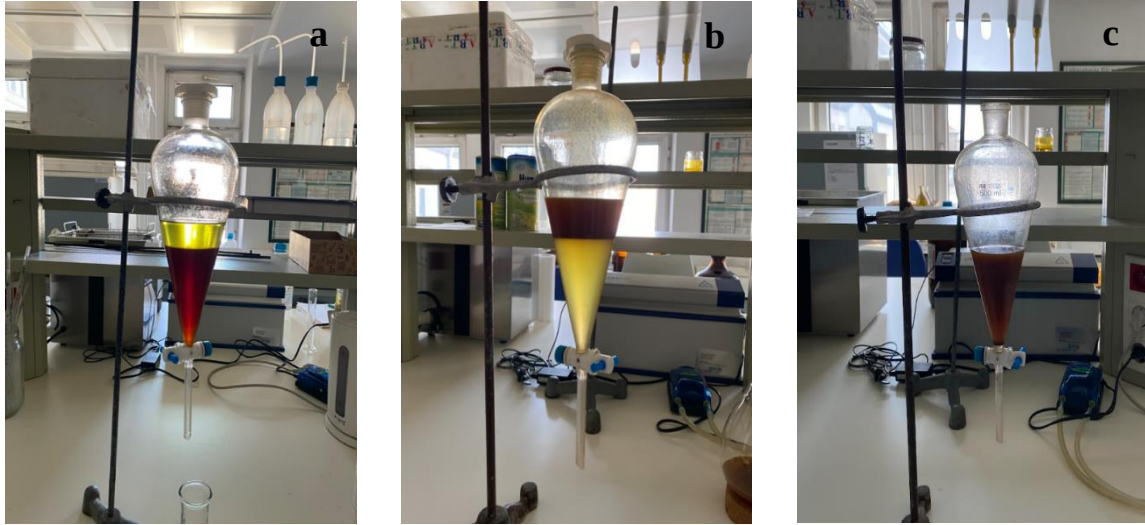
Alt ekstrelerin hazırlanması

In vitro fibrinolitik aktivite deneylerinde, ekstreler arasında en yüksek etki gösteren *R. nepalensis*'ten ileri çalışmaların yürütülebilmesi amacıyla, bitkinin köklerinden hazırlanan MeOH ekstresinden sıvı-sıvı partitasyon yapmak üzere, ekstreten 5,120 g tartılarak 100 mL metanolde çözülmüş ve 100 mL *n*-hekzan ile ayırma hunisinde 20 defa ekstre edilmiştir. Kalan metanollü ekstre rotavaporda kuruluğa kadar yoğunlaştırılmıştır. Bakiye 100 mL suda çözülerek DKM ile ayırma hunisinde 30 defa partitasyon yapılmıştır. Birleştirilen *n*-hekzan ve DKM alt ekstreleri ile kalan su fazı rotavaporda 40°C'de, alçak basınç altında kuruluğa kadar yoğunlaştırılmıştır (Şekil 3.3). Elde edilen alt ekstrelerin hazırlanışlarına ait görseller Resim 3.2'de; alt ekstrelerin miktarları, yüzde verimleri ve İTK profili Çizelge 3.5'te sunulmuştur.

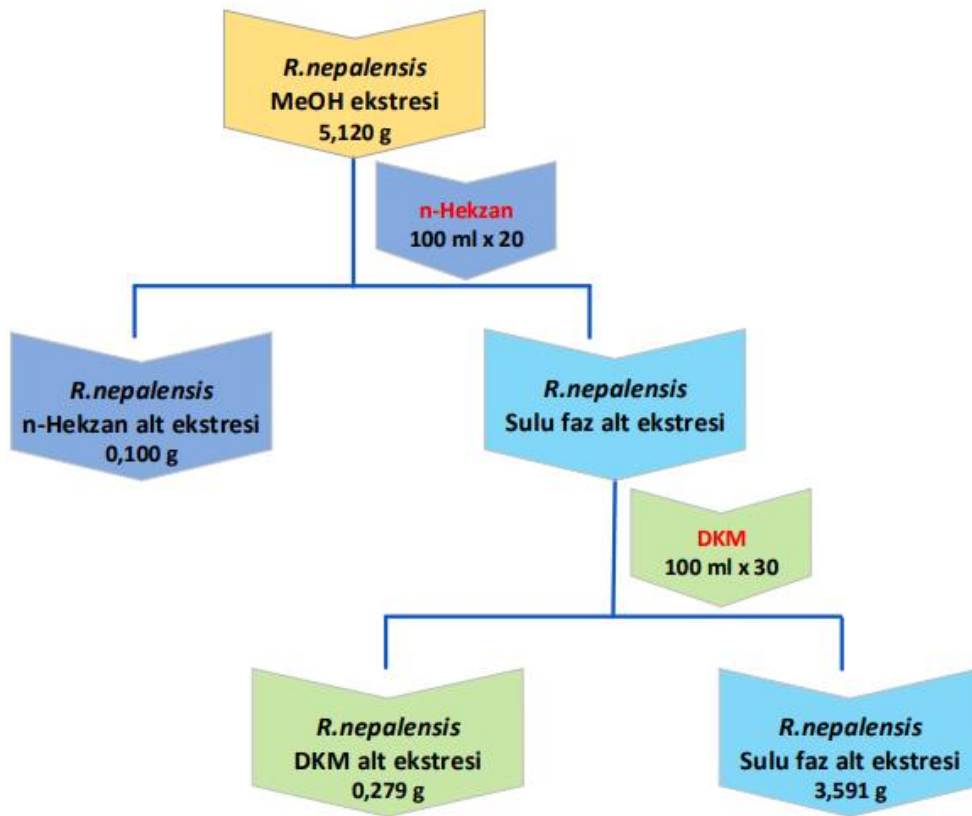
Çizelge 3.5. Alt ekstrelerin miktarları, yüzde verimleri ve İTK profili

Alt ekstre tipi	Alt ekstre ağırlığı (g)	Verim (%)	* 
<i>n</i> -Hekzan	0,100	1,953	
DKM	0,279	5,450	
Kalan sulu faz	3,591	70,137	

*Sıvı-sıvı partitasyon ile hazırlanan alt ekstrelerin kloroform:MeOH (90:10) mobil faz sisteminde yürütüldükten sonra UV 366 nm'de **a)** Ana ekstre **b)** *n*-Hekzan **c)** DKM **d)** Kalan sulu faz İTK görünimleri



Resim 3.2. Alt ekstrelerin hazırlanışı; **a)** *n*-Hekzan ile ekstraksiyon **b)** DKM ile ekstraksiyon **c)** Kalan sulu faz



DKM: Diklorometan alt ekstresi

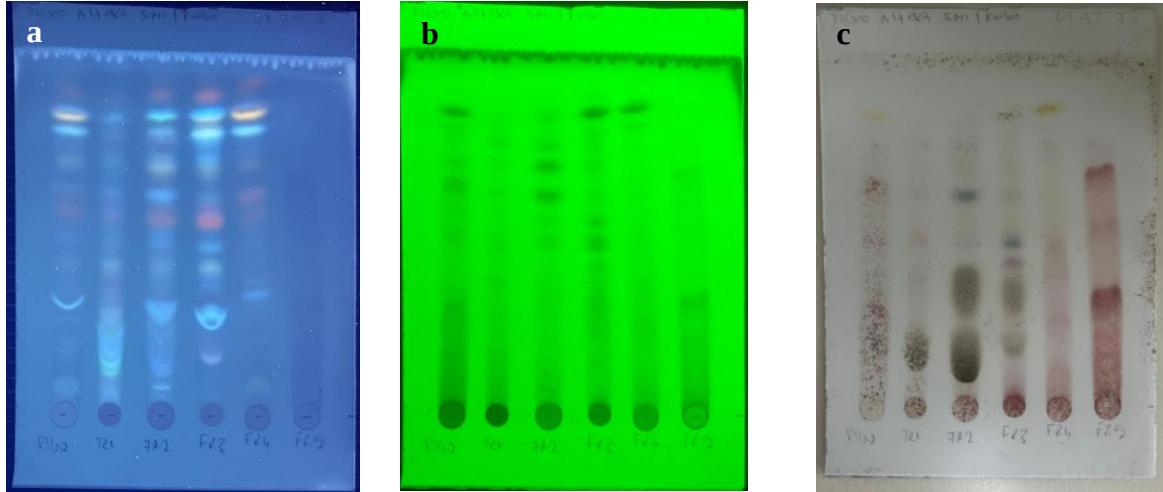
Şekil 3.3. *R. nepalensis* kök ekstresinden alt ekstrelerin hazırlanış şeması

Kromatografik yöntemler

Sephadex LH-20 kolon kromatografisi-1

In vitro fibrinolitik aktivite deneylerinde elde edilen sonuçlara göre en etkili bulunan *kalan sulu ekstre* üzerinden fraksiyonlama çalışmalarına devam edilmiştir. Sulu alt ekstrenin fraksiyonlandırılması amacıyla moleküler eleme prensibine dayanan Sephadex LH 20 sabit fazı kullanılarak açık kolon kromatografisi yöntemi uygulanmıştır. Bu amaçla, 130 g Sephadex LH 20 tartılmış, MeOH’de süspande edilmiş ve şişmesi ve doymuş hale gelmesi için kolon hazırlanmadan önce bir gün boyunca bekletilmiştir. 3 cm eninde ve 70 cm boyundaki cam kolonun alt kısmına pamuk yerleştirilmiş ve süspansiyon halindeki dolgu materyali kolona aktarılmıştır. Kolonun üst kısımdan MeOH ilave edilerek dolgu materyalinin oturması ve kolonun şartlandırılması sağlanmıştır. Mobil faz olarak MeOH kullanılmıştır. Sulu alt ekstreden 3,261 g tartılarak 5 mL MeOH’de çözölmüş ve kolona tatbik edilmiştir. Yüzeyin bozulmaması amacıyla sabit faz üzerine pamuk yerleştirilmiştir. Mobil faz üstten ilave edilerek fraksiyonlama işlemleri tamamlanmıştır. Fraksiyonlar yaklaşık 50 mL olacak şekilde 27 fraksiyon olarak toplanmıştır. Toplanan fraksiyonların, normal faz silika jel (Merck F 254 20 x 20, 1.05554) kullanılarak ince tabaka kromatografisi (İTK) ile kontrolü yapılmış ve bu fraksiyonlar madde gruplarının karakterine (molekül büyüklüğü/ağırlığı) göre 5 fraksiyonda birleştirilmiş [FR1 (0,288 g); FR2 (0,959 g); FR3 (0,239 g); FR4 (0,225 g); FR5 (0,511 g)] ve yoğunlaştırılmıştır.

İnce tabaka kromatografisi çalışması normal faz (Kieselgel 60 F₂₅₄, 0.2 mm, Merck, 5554) silika jel kaplı hazır alüminyum plaklar ile yürütölmüştür. Plağın 1 cm yukarısı başlangıç noktası olarak belirlenmiş ve yaklaşık 0,7 cm aralıklarla ince cam kapiler yardımıyla nokta tatbik yapılmıştır. Oda sıcaklığında kromatografi tankına alınan plaklar, kloroform:MeOH:su (61:32:7) hareketli faz sistemiyle süröklenmiştir. Süröklenme sonrasında plak kurutularak floresan veren maddeler UV₂₅₄ ve UV₃₆₆ nm’de görölmüştür. Plağa vanilin/sölfirik asit (H₂SO₄) pöskörtölerek 110°C’de 1 dakika ısıtılmasıyla plak renklendirilmiştir. İlgili ekstrelerin İTK profilleri Resim 3.3’te sunulmuştur.



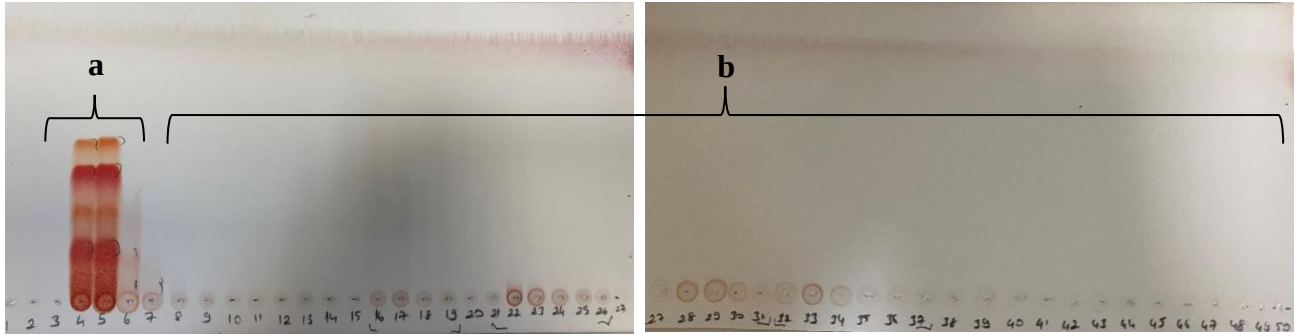
Resim 3.3. Sephadex LH-20 kolon kromatografisi-1 sonucu toplanan fraksiyonların, kloroform:MeOH:su (61:32:7) mobil faz sistemlerinde yürütüldükten sonra **a)** UV 366 nm **b)** UV 254 nm dalga boylarındaki ve **c)** Vanilin/H₂SO₄ reaktifi püskürtüldükten sonraki İTK görünümleri

Vakumlu ters faz silika jel kolon kromatografisi (VLC)

In vitro fibrinolitik aktivite deneylerinde en etkili bulunan fraksiyon olan FR5 fraksiyonunun (0,474 g) alt fraksiyonlara ayrılması amacıyla, ters faz silika jel sabit fazı kullanılarak kolon kromatografisi yöntemi uygulanmıştır. Bu amaçla, 60 g RP-18 (LiChroprep, 40-63 µm, Merck 113900) tartılmış ve alt kısmına pamuk yerleştirilmiş olan 2 cm eninde ve 35 cm boyundaki cam kolona aktarılmıştır. Üst kısımdan %100 su ilave edilerek dolgu materyalinin oturması ve kolonun şartlanması sağlanmıştır. FR5, 3 mL suda çözülerek hazırlanan kolona tatbik edilmiştir. Kullanılan mobil faz sistemleri Çizelge 3.6'da gösterilmiştir. Alt fraksiyonların hacimleri 10 mL olacak şekilde alttan vakum yardımıyla toplanmış ve toplam 59 alt fraksiyon elde edilmiştir. Fraksiyonlar İTK profillerinde (Resim 3.4) gözlemlenen benzer madde gruplarına (polarite farklarına) göre VLC1 (0,365 g) ve VLC2 (0,030 g) olmak üzere 2 alt fraksiyonda birleştirilmiş ve yoğunlaştırılmıştır.

Çizelge 3.6. VLC sisteminde kullanılan mobil faz bileşimleri

Su (%)	MeOH (%)	Hacim (mL)
100	0	50
90	10	50
80	20	50
70	30	50
60	40	50
40	60	50
30	70	50
20	80	50
0	100	50



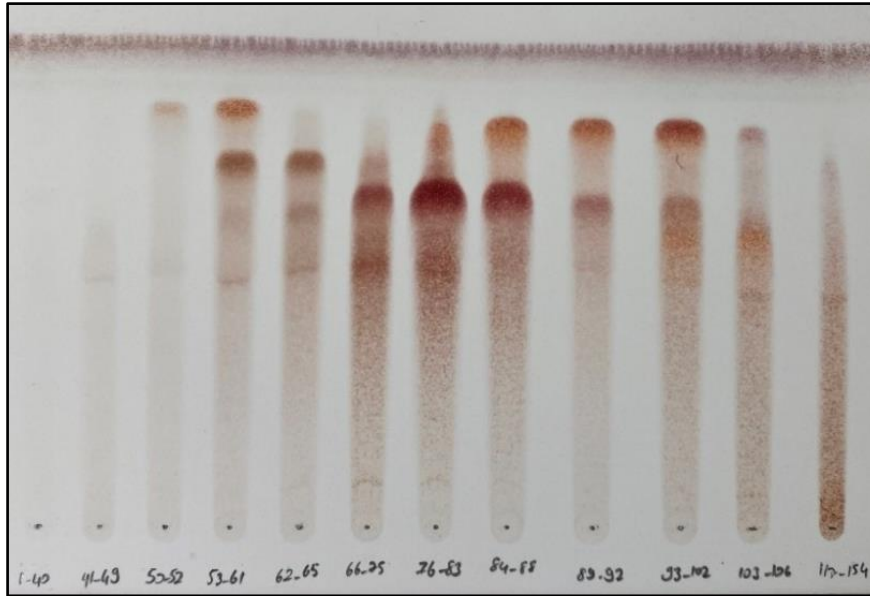
Resim 3.4. Vakumlu ters faz silika jel kolon kromatografisi sonucu toplanan fraksiyonların, kloroform:MeOH:su (61:32:7) mobil faz sistemlerinde yürütüldükten sonra Vanilin/H₂SO₄ reaktifi püskürtüldükten sonraki İTK görünümüleri
a) VLC1 b) VLC2

Sephadex LH-20 kolon kromatografisi-2

İkinci defa Sephadex LH-20 kolon kromatografisi kullanarak fraksiyonlama işlemi yapmak üzere, *in vitro* fibrinolitik aktivite deneylerinde aktif olduğu tespit edilen VLC1 (0,290 g) tartılarak 5 mL MeOH çözülmüş ve *Sephadex LH-20 kolon kromatografisi-1* bölümünde anlatılan koşullar aynı olmak üzere kolona tatbik edilmiştir. Mobil faz üstten ilave edilerek fraksiyonlama işlemleri tamamlanmıştır. Fraksiyonlar yaklaşık 20 mL olacak şekilde toplam 154 fraksiyon toplanmıştır. Toplanan fraksiyonların, İTK ile kontrolü yapılmış ve bu fraksiyonlar madde gruplarına göre 12 fraksiyonda birleştirilmiş ve yoğunlaştırılmıştır (Çizelge 3.7). Toplanan fraksiyonların İTK profilleri Resim 3.5'te sunulmuştur.

Çizelge 3.7. VLC1'den elde edilen alt fraksiyonlar

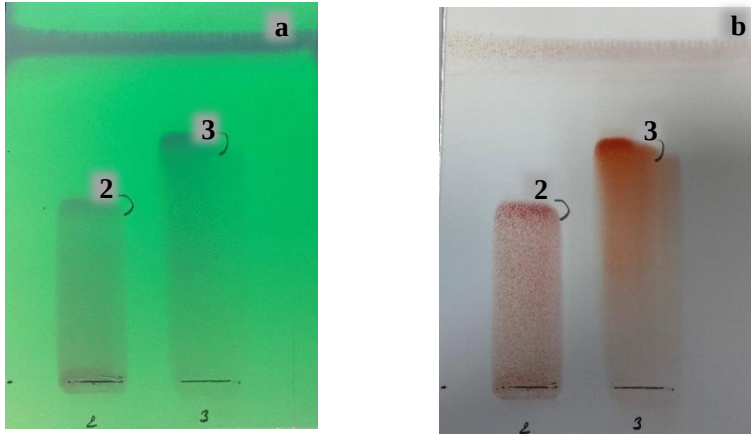
Fraksiyon numarası	Fraksiyon kodu	Fraksiyon ağırlığı (g)
1-40	FRa	0,006
41-49	FRb	0,005
50-52	FRc	0,002
53-61	FRd	0,008
62-65	FRe	0,007
66-75	FRf	0,025
76-83	FRg	0,047
84-88	FRh	0,031
89-92	FRi	0,025
93-102	FRj	0,046
103-116	FRk	0,035
117-154	FRl	0,046



Resim 3.5. Sephadex LH-20 kolon kromatografisi-2 sonucu toplanan fraksiyonların, kloroform:MeOH:su (65:35:10) mobil faz sisteminde yürütülmesinin ardından vanilin/H₂SO₄ reaktifi püskürtüldükten sonraki İTK görüntüleri

Preparatif İTK yöntemi

FRh fraksiyonu için preparatif İTK yöntemi uygulanmıştır. Mobil faz sistemi olarak kloroform:MeOH:su (65:35:10) kullanılmıştır. Sürüklenmenin ardından plakta UV366 nm'de yapılan inceleme ile işaretlenen üç alan (RN1, RN2 ve RN3), plaktan kazıyarak alınmıştır. Bu kısımların, normal faz silika jel plak (Merck 1.05554, F 254, 20 x 20) kullanılarak İTK ile kontrolü yapılmış ve Resim 3.6'da İTK profilleri sunulan RN2 (11,3 mg) ve RN3 (5,1 mg) bileşikler saf olarak elde edilmiştir.



Resim 3.6. Preparatif İTK yöntemiyle alınan maddelerin, kloroform:MeOH:su (65:35:10) mobil faz sistemlerinde yürütüldükten sonra **a)** UV 254 nm dalga boylarındaki ve **b)** Vanilin/H₂SO₄ reaktifi püskürtüldükten sonraki İTK görüntüleri
2) RN2 (11,3 mg) 3) RN3 (5,1 mg)

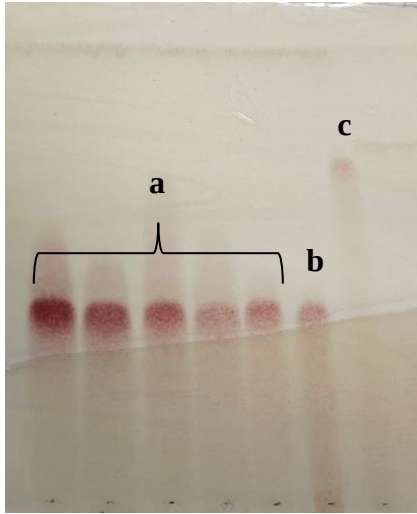
Silika jel kolon kromatografisi

Preparatif İTK yöntemi ile izole edilen RN2 bileşiğinin FRg fraksiyonunda da bulunduğu, R_f hesabı ile belirlenmiş ve bu bileşiğin miktarını arttırmak üzere, FRg fraksiyonunun silika jel kolona uygulanmasına karar verilmiştir. Bu amaçla, 6 g Silika jel (Kieselgel 60, 0,063-0,2 mm, Merck 7734), su (2 mL) ile muamele edilmiştir. FRg fraksiyonu, kloroform:MeOH (90:10) mobil faz sistemi kullanılan 2 cm eninde ve 70 cm boyundaki kolona kuru tatbik usulü ile uygulanmıştır. Kullanılan mobil faz sistemleri Çizelge 3.8'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.8. Silika jel-1 kolonda kullanılan mobil faz sistemler

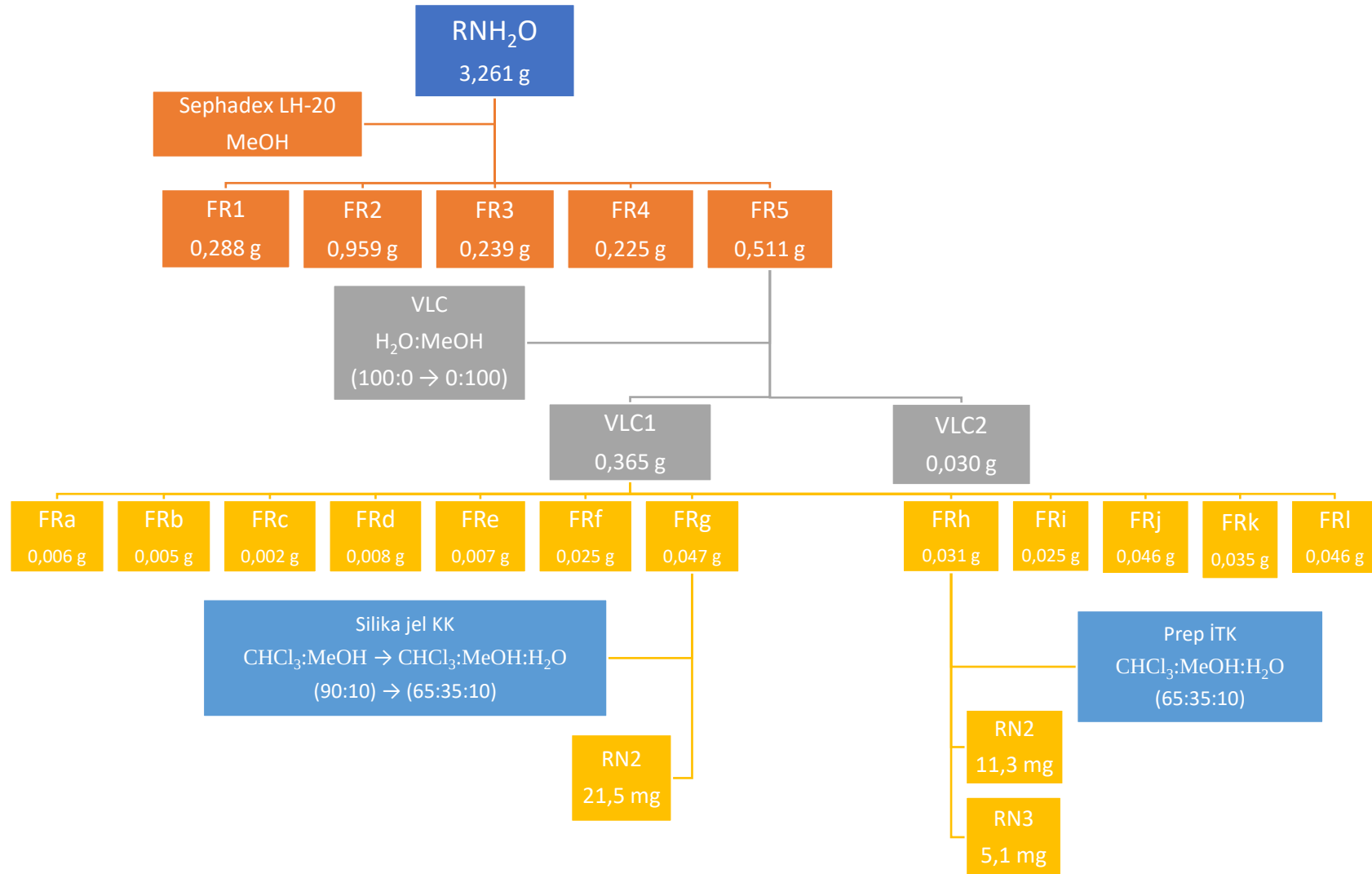
Kloroform (%)	MeOH (%)	Su (%)	Hacim (mL)
90	10	-	100
85	15	-	100
80	20	2	100
75	25	2,5	100
70	30	3	100
65	35	15	100

Her biri 20 mL olacak şekilde 57 fraksiyon toplanmıştır. Toplanan fraksiyonların, normal faz silika jel kullanılarak İTK ile kontrolü yapılmış ve bu fraksiyonlar madde gruplarının benzer karakterine (polarite farkı) göre 5 fraksiyonda birleştirilmiş ve yoğunlaştırılmıştır. Fraksiyonlar İTK profilleri Resim 3.7’de sunulmuştur. Bu fraksiyonlardan 24-29 numaralı fraksiyondan RN2 bileşiği saf halde (21,5 mg) alınmıştır.



Resim 3.7. Silika jel kolon kromatografisi sonucu toplanan fraksiyonların kloroform:MeOH:su (65:35:10) mobil faz sistemlerinde yürütüldükten sonra **a) RN2** (silika jel kolon kromatografisinden elde edilen) **b) RN2** (preparatif İTK ile elde edilen) **c) RN3** (preparatif İTK ile elde edilen) Vanilin/H₂SO₄ reaktifi püskürtüldükten sonraki İTK görünüşleri

Elde edilen RN2 ve RN3 kodlu maddelerin yapılarının analizi için spektral (1D ve 2D NMR, HR-MS) yöntemler kullanılmıştır. *R. nepalensis* metanollü ekstresinin *sulu* alt ekstresi üzerinden yürütülen izolasyon çalışmaları Şekil 3.4’de gösterilmiştir.



Şekil 3.4. *R. nepalensis* metanollü ekstresinin *sulu* alt ekstresi üzerinden yürütülen izolasyon çalışmaları

Miktar arttırma çalışmaları

Aktif alt fraksiyondan izole edilen iki bileşiğin (RN2 ve RN3) miktar arttırma çalışmaları doğrultusunda *R. nepalensis* ana MeOH ekstresi üzerinden tekrar fraksiyonlama ve izolasyon çalışmaları yapılmıştır. Miktar arttırma çalışmalarında kullanılan ayırma teknikleri, başlangıç aşamasında aktivite yönlendirmeli fraksiyonlama çalışmasında yapılan prosedüre uyum sağlayacak şekilde uygulanmıştır:

R. nepalensis MeOH ekstresi (16,758 g) MeOH'de çözülmüş ve *n*-hekzan ile ayırma hunisinde sıvı sıvı ekstraksiyon metoduyla ekstre edilmiştir. Bakiye daha sonra suda çözülmüş ve DKM ile partitasyon yapılmıştır. Birleştirilen *n*-hekzan ve DKM alt ekstreleri ile kalan su fazı yoğunlaştırılarak sırasıyla 0,226 g *n*-hekzan; 0,350 g DKM ve 13,058 g sulu alt ekstreler elde edilmiştir. Sulu alt ekstre (12,443 g) Sephadex LH-20 kolon kromatografisi ile 31 fraksiyona ayrılmış ve İTK profillerine göre 7 fraksiyonda birleştirilmiştir [2FR1 (0,112 g); 2FR2 (1,991 g); 2FR3 (3,893 g); 2FR4 (0,182 g); 2FR5 (0,249 g) 2FR6 (0,450 g); 2FR7 (4,247 g)]. 2FR7'den 4,247 g tartılarak ikinci kez Sephadex LH-20 kolon kromatografisi yöntemiyle 117 alt fraksiyona ayrılmış ve İTK profillerine göre 10 fraksiyonda birleştirilmiştir.

Miktar arttırma amacıyla yapılmış olan fraksiyonlama işleminde RN2 ve RN3 bileşikleri hedeflenerek ayırma tekniklerinden en uygun olanları aşağıdaki şekilde uygulanmak suretiyle çalışmalara devam edilmiştir:

85 g Silika jel (Kieselgel 60, 0,063-0,2 mm, Merck 7734) tartılarak, suda süspande edilmiş dolgu materyali kolona aktarılmış ve üst kısmına pamuk yerleştirilmiştir. Silika, cam kolona (4 x 100 cm) uygulanmadan önce su (2 mL) ile muamele edilerek madde miktarı kaybının azaltılması amaçlanmıştır. İkinci Sephadex LH-20 kolondan alınan 2FR7 alt fraksiyonunun 5. alt fraksiyonundan (2FR7₅) 0,287 g tartılarak silika ile karıştırılmış ve kuru usulle kolona tatbik edilmiştir. Kolona DKM:MeOH:su (80:20:2) mobil faz sistemi ilave edilerek dolgu materyalinin oturması ve kolonun şartlandırılması sağlanmıştır. Kullanılan mobil faz sistemleri Çizelge 3.9'da gösterilmiştir.

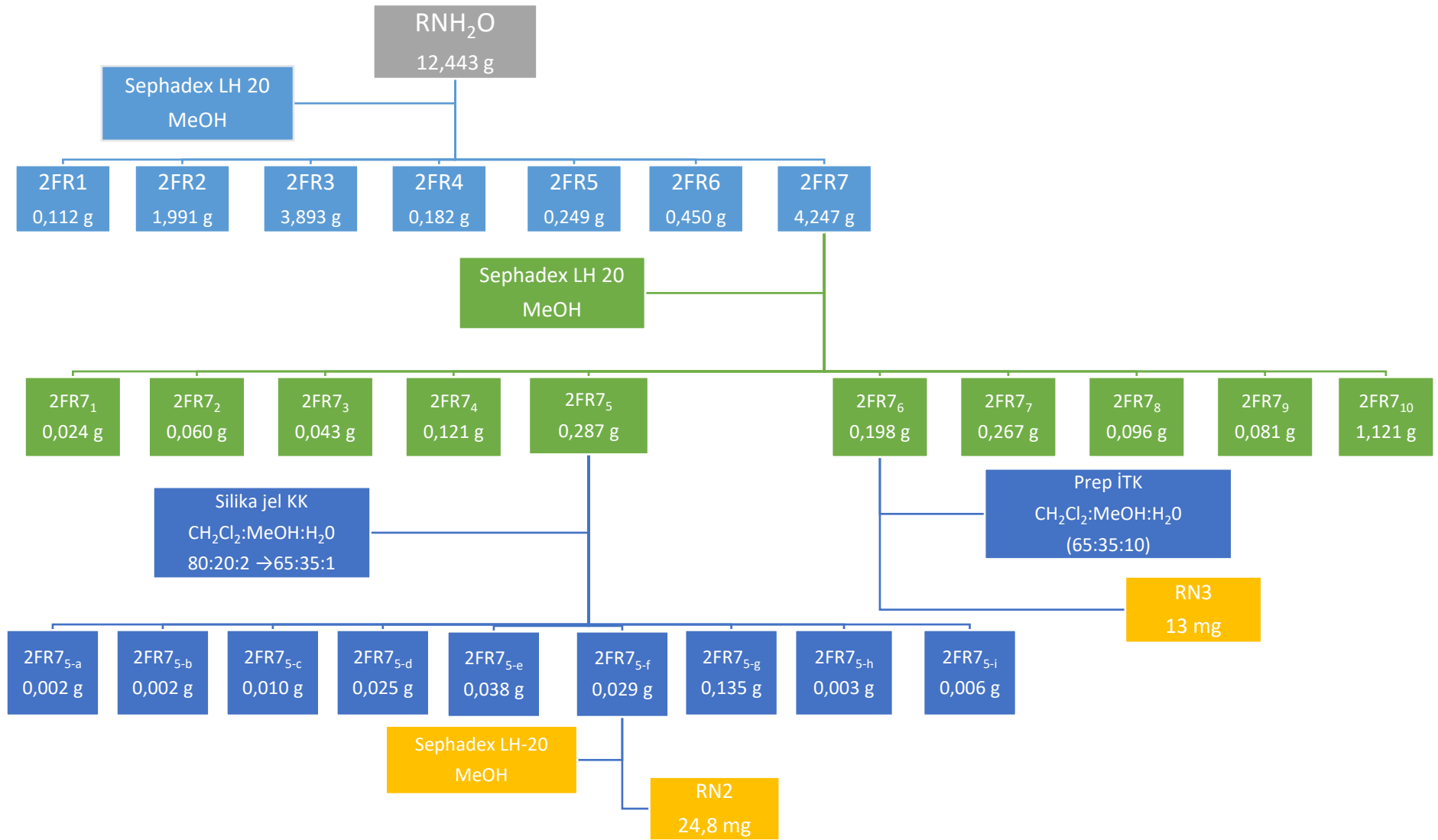
Çizelge 3.9. Silika jel-2 kolonda kullanılan mobil faz sistemleri

DKM (%)	MeOH (%)	Su (%)	Hacim (mL)
80	20	2	102 (x3)
75	25	2,5	102,5 (x3)
70	30	3	103 (x3)
65	35	5	105 (x2)
65	35	10	110 (x2)

Alt fraksiyonlar yaklaşık 20 mL olacak şekilde 52 fraksiyon olarak toplanmıştır. Toplanan fraksiyonlar İTK profillerine göre 9 (2FR7_{5-a} - 2FR7_{5-i}) fraksiyonda birleştirilmiş ve yoğunlaştırılmıştır [2FR7_{5-a} (0,002 g); 2FR7_{5-b} (0,002 g); 2FR7_{5-c} (0,010 g); 2FR7_{5-d} (0,025 g); 2FR7_{5-e} (0,038 g); 2FR7_{5-f} (0,029 g); 2FR7_{5-g} (0,135 g); FR7b_{5-h} (0,003 g); FR7b_{5-i} (0,006 g)]. 2FR7_{5-f} alt fraksiyonunun (28,1 g) saflaştırılması amacıyla Sephadex LH-20 kolon kromatografisi yöntemi kullanılmış; yaklaşık 10 mL olacak şekilde toplanan 31 adet fraksiyondan 30-31 numaralı fraksiyonlar yoğunlaştırılarak RN2 bileşiği (24,8 mg) saf olarak elde edilmiştir.

2FR7₆ fraksiyonundan RN3 bileşiğinin izolasyonu amacıyla, preparatif İTK yöntemi uygulanmıştır. Mobil faz sistemi olarak kloroform:MeOH:su (65:35:10) kullanılmıştır. Plaktan kazınarak alınan kısımlar birleştirilmiş ve yoğunlaştırılmış ve 13 mg RN3 bileşiği elde edilmiştir.

R. nepalensis metanollü ekstresinin *sulu* alt ekstresi üzerinden yürütülen izolasyon çalışmaları Şekil 3.5’de gösterilmiştir.



Şekil 3.5. *R. nepalensis* 'in sulu alt ekstresi üzerinde yapılan miktar artırma çalışmaları

3.2.2. Yapı tayini çalışmaları

İzolasyonu yapılan bileşiklerin ^1H , ^{13}C , HMBC, COSY VE HSQC NMR ölçümleri, Bruker 400 MHz Avance III sistemi kullanılarak kaydedilmiştir. Bileşikler 600 μL MeOD-d4 içerisinde bileşikler çözölmüştür. Tetrametilsilan iç standart olarak uygulanmıştır. Kimyasal kayma değeri (δ) ppm, etkileşim sabiti (J) birimi Hz şeklinde belirtilmiştir.

3.2.3. Aktivite çalışmaları

In vitro fibrin plak yöntemi

Fibrinolitik aktivite, fibrin plak yöntemi kullanılarak belirlenmiştir (Nguyen ve diğerleri, 2021). Fibrin pıhtı tabakası oluşturmak için 50 mM pH 7.8 Tris HCl, %1 agaroz, %1 sığır fibrinojeni ve 100 U trombin kullanılmıştır.

50 mM pH 7.8 Tris-HCL tamponu: 0,788 g Tris-HCl, 100 mL distile suda çözölmüş; pH ayarı 1M NaOH ile yapılmıştır.

%1 Agaroz: 73 mg agaroz, 7,3 mL 50 mM pH 7,8 Tris-HCl tamponunda, mikrodalga yardımıyla çözölmüştür.

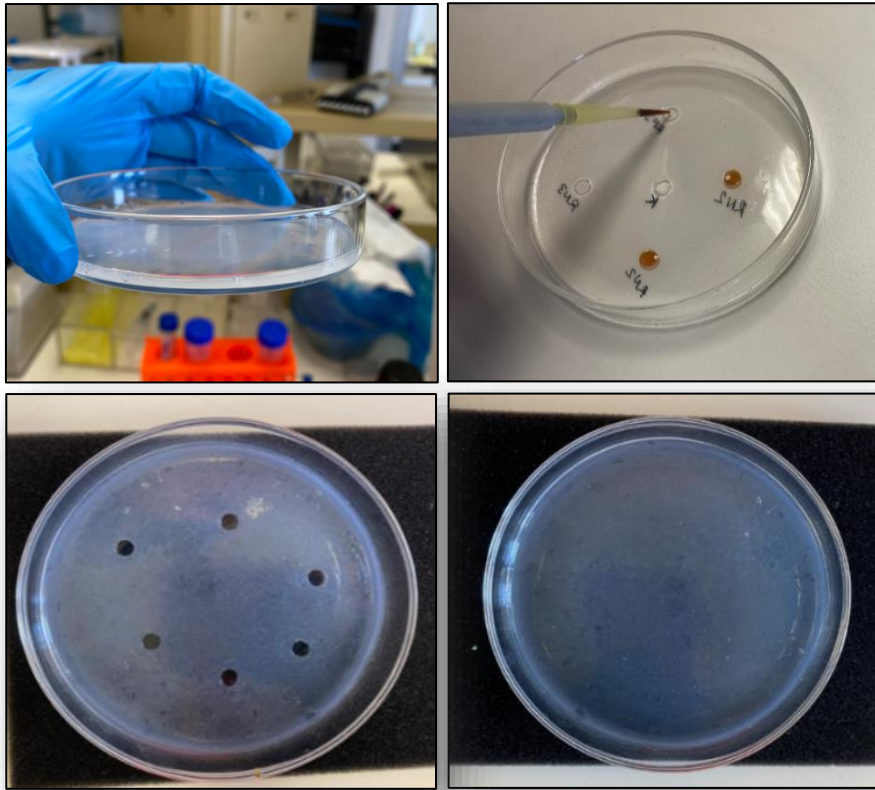
%1 Sığır fibrinojeni: 25 mg sığır fibrinojeni, 2,5 mL 50mM pH 7,8 Tris-HCl tamponunda çözölmüştür.

100 U Sığır trombini: 10 mg sığır trombini, 10 mL distile suda çözölmüş ve 200 μL olarak porsiyonlanarak -20 °C de kullanılmak üzere saklanmıştır.

Plazmin: Stok çözelti üreticinin yönergesine göre (0,3 U/mL) veya (0,15 mg/mL) 250 μL distile suda çözölmüştür. Stok konsantrasyondan (1,2 U/mL) seyreltmeler (0,6 U/mL; 0,3 U/mL; 0,15 U/mL; 0,075 U/mL) yapılmıştır.

Fibrin plağın hazırlanması: 50mM pH 7.8 Tris-HCL tamponu içerisinde çözölmüş, 7,3 mL %1 agaroz karışımına, agaroz tam katılaşmadan 2,5 mL %1 sığır fibrinojeni ve 200 μL trombin (100 U) eklenmiş ve zaman kaybetmeden 10 cm çapındaki petri kabına, hava

kabarcığı olmaması için ortadan başlayarak dökülmüştür. Petri kabını dairesel hareket ettirerek, karışımın eşit dağılması sağlanmıştır. Petri kapının kapağı hava alacak şekilde kapatılmış ve 37°C’de 1 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda, elde edilen fibrin pıhtı tabakasına 4 mm çapında en az 6 kuyucuk açılmıştır (Resim 3.8). Bitki ekstraları (125-250-500 mg/mL) alt ekstralar (500 mg/mL), fraksiyonlar (500 mg/mL), alt fraksiyonlar (500 mg/mL) ve bileşikler (100 mg/mL) %50 sulu etanol çözeltisinde çözülerek hazırlanmıştır. Petri kabında açılan kuyucuklara 20 µL hacminde, bitki ekstraları, pozitif kontrol (plazmin enzimi) ve negatif kontrol (plazmin için su; ekstralar, fraksiyonlar ve bileşikler için %50 etanol-su) eklenmiştir. Petrinin kapağı hava alacak şekilde yarım kapatılmış ve 37 °C’de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda petri kabındaki eritme zonlarının en ve boy yarıçapları (r_1/r_2 : yarıçap) ölçülmüştür. Daire alanı formülü ($\pi \times r_1 \times r_2$) ile hesaplanan eritme alanlarının ortalaması alınarak eritme alanı değeri (mm^2) bulunmuştur. Plazminin erittiği alan değerlerinin konsantrasyona karşı grafiği çizilmiş, grafikten elde edilen denklem kullanılarak, ekstraların plazmin eşdeğeri hesaplanmıştır.



Resim 3.8. Fibrin plak yöntemi

In vivo deneysel intra-abdominal adezyon modeli

In vivo deneylerin tüm aşamaları, Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Deney Hayvanları Bakım ve Araştırma Ünitesinde yapılmıştır. Deneyler, Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından G.Ü.ET-22.015 kod numarası ile alınan onay doğrultusunda gerçekleştirilmiştir. Çalışmamızda, 200-250 g ağırlığında, 48 adet Wistar albino ırkı dişi sıçanlar kullanılmıştır. Hayvanlar 12 saat gece/gündüz periyodunda, 21-24°C’de, uygun kafeslerde barındırılmış ve sıçanlara standart sıçan yemi ve musluk suyu *ad libitum* olarak verilmiştir. Abdominal adezyon modelini oluşturmak için yapılacak cerrahi işlemler için çalışmaya dahil edilen tüm hayvanlar, bir haftalık adaptasyon sürecinin ardından her grupta 6 sıçan olacak şekilde gruplandırılmıştır (Çizelge 3.10).

Çizelge 3.10. Deney grupları

Deney Grubu	Uygulama
Sham grubu*	Serum fizyolojik
Kontrol grubu	Serum fizyolojik
Ana ekstre grubu	<i>In vitro</i> deney modelinde en etkili bulunan ekstre (100 mg/kg)
Alt ekstre grubu	<i>In vitro</i> deney modelinde en etkili bulunan alt ekstre (doz-verim hesabı)
Fraksiyon grubu	<i>In vitro</i> deney modelinde en etkili bulunan fraksiyon (doz-verim hesabı)
Alt fraksiyon grubu	<i>In vitro</i> deney modelinde en etkili bulunan alt fraksiyon (doz-verim hesabı)
Bileşik grubu	<i>In vitro</i> deney modelinde en etkili bulunan bileşik (10 mg/kg)
Referans grubu	Hyalobarrier® jel

* Sham grubu dışındaki bütün hayvanlarda abdominal adezyon modeli oluşturulmuştur.

Sıçan abdominal adezyon modelinin oluşturulması

Cerrahi işlem öncesi sıçanlar ksilazin (8 mg/kg/i.p.) ve ketamin (75 mg/kg/i.p.) ile genel anesteziye alınmıştır. Genel anesteziye alınan sıçanlar sırt üstü pozisyonda yatırılarak, abdomen tüyleri traş edildikten sonra bölgenin povidon iyot ile dezenfeksiyonu sağlanmıştır. Daha sonra *linea alba* üzerinden yaklaşık 3 cm olacak şekilde kutan, subkutan ve kas tabakaları ayrılarak peritoneal kaviteye ulaşılarak her iki kornu uteri dışarıya alınmıştır. Abdominal adezyon modelinin oluşturulması amacıyla her bir kornu uterilerin daha az vaskülarize bölgelerinden no:15 skalpel yardımıyla peteşiyal kanamalar oluşturularak dokunun travmatize olması sağlanmış, yine aynı şekilde no:15 skalpel ile

kornu uterilerin karşılığı olan abdominal duvarda da travmatik bölgeler oluşturulmuştur (Resim 3.9) (Yılmaz ve diğerleri, 2013).



Resim 3.9. Sıçanlarda abdominal adezyon modelinin oluşturulması

Çizelge 3.11. Test numunelerinin hayvanlara uygulanışları

Grup	Uygulanan numnune	Doz/Uygulanan miktar/Uygulama yolu
Sham	Serum fizyolojik	2 mL (<i>i.p.</i>)
Kontrol	Serum fizyolojik	2 mL (<i>i.p.</i> lavaj)
Ana ekstre	<i>R. nepalensis</i> kök ekstresi	100 mg/kg (<i>i.p.</i> lavaj)
Alt ekstre	Sulu alt ekstre	70,136 mg/kg (<i>i.p.</i> lavaj)
Fraksiyon	FR5	10,976 mg/kg (<i>i.p.</i> lavaj)
Alt fraksiyon	VLC1	8,4492 mg/kg (<i>i.p.</i> lavaj)
Bileşik	RN2	10 mg/kg (<i>i.p.</i> lavaj)
Referans	Hyalobarrier® jel	1 mL (<i>i.p.</i> lavaj)

Sham grubuna adezyon modeli oluşturulmadan serum fizyolojik *i.p.* yolla verilmiştir. Kontrol grubuna ise adezyon modeli oluşturulup serum fizyolojik *i.p.* yoldan uygulanmıştır. Referans madde grubundaki sıçanlarda adezyon modeli oluşturulup 1 mL Hyalobarrier® jel uygulanmıştır (Allègre ve diğerleri, 2018). Deney gruplarına, test numuneleri deney modelinin oluşturulduğu anda abdomen kapatılmadan hemen önce 2 mL hacimde tek seferde periton içi uygulanmıştır. Ana ekstre deney hayvanlarına 100 mg/kg dozda uygulanmış, alt ekstre, fraksiyon ve alt fraksiyon için doz verim hesabı yapılmıştır (Çizelge 3.11). İzole edilen bileşiğin uygulama dozu literatür bilgileri ışığında 10 mg/kg olarak belirlenmiştir (Sahbaz ve diğerleri, 2015b; Türkoğlu ve diğerleri, 2015; Wang ve diğerleri, 2014; Zhang,

Song, Li, Zhang ve Zeng, 2016). Tüm cerrahi işlemler sonrası kas ve deri, usulüne uygun olarak 3/0 sütür materyali ile dikilerek, insizyon bölgesinin yara bakımı günlük olarak povidon iyot ile yapılmıştır. Adezyon modeli oluşturulduktan 14 gün sonra deneye dahil edilen tüm sıçanlar genel anestezi altında eksanguinasyon yöntemiyle sakrifiye edilmiştir.

Adezyon skorlaması

Abdomenleri tekrar açılan sıçanlarda Leach, Burns, Dawe, Smith Barbour ve Diamond (1998)'nın yöntemine göre adezyon skorları belirlenmiştir. Bu skorlama Çizelge 3.12'de belirtildiği şekilde yapılmıştır:

Çizelge 3.12. Adezyon skorlama sistemi

Derece	Kornu uterilerdeki defekte göre	Makroskobik bakıda adezyonun şiddeti	Adezyonun derecesine göre
0	Adezyon yok	Adezyon yok	Adezyon yok
1	%1-25 adezyon alanı	İnce avasküler	Hafif dokunma ile ayrılan adezyon
2	%26-50 adezyon alanı	Vasküler ya da opak	Orta şiddette çekme ile ayrılan adezyon
3	%51-75 adezyon alanı	Yapışık bağlantılar	Diseksiyona gerekli olan adezyon
4	%76-100 adezyon alanı	-	-

Histopatolojik analiz

Ötanaziye takiben karın boşluğu açılan sıçanlarda, adezyon şekillenmiş dokular, kornu uteri ve ovaryumlardan alınan doku örnekleri ışık mikroskobunda incelenmiştir. Mikroskobik inceleme ile kornu uteri üzerindeki yangısal değişimler ve fibrozisin şiddeti değerlendirilmiş, ovaryumlarda meydana gelen stromal ve parankimal değişimler de kaydedilmiştir (Celepli ve diğerleri, 2011).

Hematoksilen&Eosin (H&E) boyama protokolü

Rutin histolojik işlemlerden geçirilerek parafin bloklardan elde edilen 4 µm kalınlığındaki kesitler, deparafinizasyon işleminin ardından rehidratasyon işlemi için azalan etil alkol serilerinde (%100, %90, %80, %70 ve %50) 10'ar dakika tutulmuştur. Kesitler havada kurutma işlemi tamamlandıktan sonra 10 dakika akan musluk suyu ile yıkanıp alkolden uzaklaştırılmıştır. Yıkama işleminin ardından 10 dakika Harris hematoksisen boya solüsyonunda tutulan kesitler daha sonra akan musluk suyu altında 10 dakika, glasiyel asetik asit ile alkol karışımı olan solüsyona 2-3 kez batırılıp çıkarılarak akan musluk suyu altında tekrar 10 dakika yıkanmıştır. Daha sonra 10 dakika Eosin boya solüsyonunda bekletilerek, tekrar 10 dakika akan musluk suyu ile yıkamanın ardından dehidratasyon işlemi için sırasıyla %50, %70, %80, %90 ve %100'lük artan etil alkol serilerinden hızlıca geçirilmiştir. 45 dakika ksilolde bekletilen lamalar entellan ile kapatılmıştır. Hazırlanan kesitlerden elde edilen görüntüler ZEISS Axioscope 5 bilgisayar destekli ışık mikroskopunda değerlendirilmiştir.

Masson's Trichrome boyama protokolü

Deney gruplarında adezyon şekillenen alanlardaki fibrotik değişimleri incelemek amacıyla 4 µm kalınlığındaki kesitlere Masson's Trichrome boyama kiti uygulanmıştır. Boyama sonrasında kapama mediumu ile kapatılan kesitler ZEISS Axioscope 5 bilgisayar destekli ışık mikroskopunda incelenerek, Image J programı ile kesitlerdeki mavi kolajen lif alan yüzdesi değerlendirilerek fibrotik alan hesaplanmıştır (Saribas, Ozogul, Tiryaki, Alpaslan Pinarli ve Hamdemir Kilic, 2020).

İmmunohistokimyasal analiz

Bu çalışmada streptavidin-biotin-peroksidaz metodu ile ticari bir kit kullanılarak üretici firma prosedürüne göre; kornu uteri adezyonu ve adezyon sonrası karın boşluğuna deney numuneleri uygulanan sıçanlarda adezyon şekillenen bölgedeki yangısal değişimleri değerlendirmek amacıyla TNF- α , IL-6 ve IL-8 salınımları immunohistokimyasal olarak karşılaştırılmıştır. İmmunohistokimyasal boyama için parafin bloklardan polilizinli lamlara 4 µm kalınlığında kesitler alınmıştır. Kesitler, deparafinizasyon işleminin ardından azalan alkol serilerinden (%100, %96, %90, %80 ve %70) geçirilmiştir. Dehidrate edilen dokular

alkolden uzaklaştırılmak için 2 kez 5'er dakika distile sudan geçirilerek, daha sonra dokulara sitrat tamponu (pH 6,0) ile retrieval işlemi uygulanmıştır. Dokular sitrattan arındırılmak için 2 kez 5'er dakika distile sudan geçirilmiştir. Dokuların çevresi doku sınırlama kalemi ile çevrilerek nemli ortam olmasına dikkat edilen immunohistokimya barına dizilmiştir. Dokular 3 kez 3'er dakika fosfat tampon çözeltisi (PBS, pH 7,4) ile yıkanmıştır. Daha sonra, 15 dakika %3'lük hidrojen ile etkin bırakılmıştır. İşlem sonrasında PBS ile lamlar yıkanarak ve yıkanan lamlara 5 dakika UltraV block uygulanarak, özgün olmayan bağlanmaların engellenmesi sağlanmıştır. Bu işleminden sonra dokular yıkanmadan primer antikör aşamasına geçilmiştir. Kesitler 1:100 dilüsyonda TNF- α (E-AB-40015, Elabscience) IL-6 (E-AB-40073, Elabscience) ve IL-8 (E-AB-22204, Elabscience) primer antikörlerine etkin bırakılarak inkübe edilmiştir. Primer antikörden sonra lamlar 3 kez 3'er dakika PBS ile yıkanmıştır. Yıkamanın ardından 10 dakika biotinli sekonder antikör uygulanmıştır. Tekrar PBS ile yıkandıktan sonra dokular 10 dakika streptavidin peroksidaz enzim kompleksine etkin bırakılmıştır. İşlem sonrasında dokular yine 3 kez 3'er dakika PBS ile yıkanmıştır. Diaminobenzedin içeren (DAB) substratı içeren kromojen DAB eklenerek ve bekletilerek, gözle görülebilir immün tepkimenin ortaya çıkması sağlanmıştır. Zemin boyası olarak Mayer'in hematoksilin'i kullanılmıştır. DAB ile boyanan lamlar azalan alkol serilerinden geçirilmiştir. Kesitler ksilolde bekletildikten sonra entellan ile kapatılarak ZEISS Axioscope 5 bilgisayar destekli görüntüleme sisteminde görüntülenmiştir. TNF- α , IL-6 ve IL-8 immunopozitiflik, her gruba ait $\times 400$ büyütme ile elde edilen görüntülerde, rastgele seçilen altı alanda ImageJ analizi ile yüzde olarak hesaplanmıştır.

Toplam antioksidan seviyesi (TAS) ve toplam oksidan seviyesi (TOS)

Adezyon oluşumunda meydana gelen enflamasyon, oksidatif strese neden olmakta ve bu durum iyileşme sürecini olumsuz yönde etkilemektedir. Bu nedenle tedavi edilen dokulardaki oksidatif stres indeksi önemli bir parametredir. Bu amaçla, doku TAS ve TOS düzeyleri ticari kitler kullanılarak (Relassay, Türkiye) değerlendirilmiştir. TAS düzeyi için doku antioksidanlarının ABTS radikal katyonu üzerindeki süpürücü etkileri değerlendirilmiştir. TOS düzeyinde ise, numunelerde bulunan doku oksidanlarının ferroz iyon-O-dianizidin'i ferrik iyonla okside etme kapasiteleri ölçülmüştür. Bu parametreler kullanılarak oksidatif stres indeksi (OSI) hesaplanmıştır (Erel, 2005).

İstatistiksel analiz

Graphpad Prism 8.0 kullanılarak istatistiksel analizler yapılmıştır. Değerler ortalama $\pm$ standart hata (SEM) olarak hesaplanmıştır. Tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile gruplar arasındaki farklılıklar belirlenmiştir. $P<0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Fitokimyasal Çalışmalara Ait Bulgular

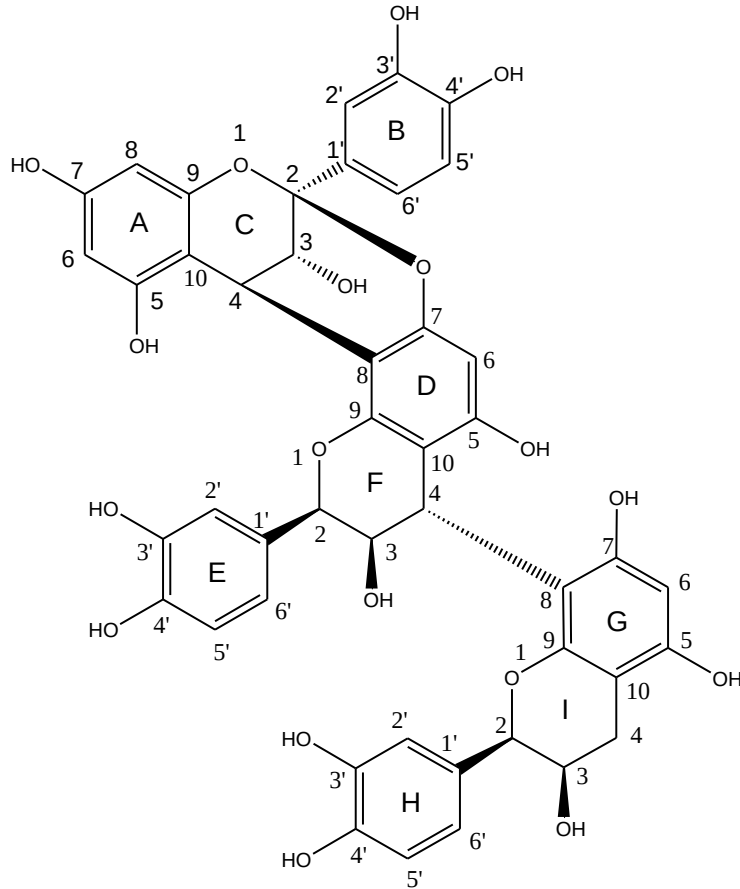
Aktivite yönlendirmeli fraksiyonlama ve izolasyon çalışmaları doğrultusunda, *R. nepalensis* bitkisinin kök kısımlarından RN2 ve RN3 kodlu iki bileşik izole edilmiş ve bu bileşiklerin yapı tayinleri spektroskopik yöntemler (^1H -NMR, ^{13}C -NMR, HMBC, COSY VE HSQC) kullanılarak aydınlatılmıştır. Spektroskopik veriler ışında, RN2 bileşiğinin “sinnamtanen B1” ve RN3 bileşiğinin “epikateşin gallat” olduğu tayin edilmiştir.

4.1.1. İzole edilen bileşiklerin yapı tayinlerine ait bulgular

RN2 Bileşiği (Sinnamtanen B1)

$\text{C}_{45}\text{H}_{36}\text{O}_{18}$

MA:864



Açık sarı, katı formulu RN2 kodlu bileşiğin İTK analizinde, UV₂₅₄ nm’de mor renk gözlenmiştir. Vanilin/H₂SO₄ reaktifi ile 110°C’de 2 dakika ısıtıldığında pembe-kırmızı renk vermesi bileşiğin kondanse tanen yapısında olabileceğini göstermiştir.

Bileşiğin ESI-kütle spektrumunda (Şekil 4.10) m/z 863,1794’de gözlenen [M-H]⁻ iyon piki, ¹³C NMR spektrumunda (Şekil 4.4, Şekil 4.5, Şekil 4.6) gözlenen 45 karbon sinyali ile birlikte değerlendirildiğinde, bileşiğin C₄₅H₃₆O₁₈ kapalı formülüne sahip olduğu belirlenmiştir.

Bileşiğin ¹H-NMR spektrumunda (Şekil 4.1, Şekil 4.2, Şekil 4.3, Çizelge 4.1) δ_H 3,3 (d, $J=3,4$ Hz) ve 4,17 (d, $J=3,4$ Hz)’de görülen AB sistemindeki sinyal çifti, Ünite I’in C-3 ve C-4 protonlarına işaret etmiştir. Ünite II’deki piran halkasına (F halkası) ait proton sinyalleri δ_H 5,72 (s, F2), 4,14 (s, F3), 4,58 (s, F4); ünite III’teki piran halkasına (I halkası) ait proton sinyalleri δ_H 4,41 (s, I2), 3,88 (gs, I3), 2,85 (I4) bu ünitelerin kateşin halka yapısına ait olabileceğine işaret etmektedir.

COSY spektrumunda aynı spin sisteminde yer alan protonların olduğu belirlenmiştir. Aromatik halkalarda (A, E, H halkaları) proton sinyalleri görülmüştür. Ayrıca flavan halka sistemini işaret eden 3 farklı spin sistemi belirlenmiştir. COSY spektrumunda Ünite I’de C halkasının H-3 ve H-4 protonlarının δ_H 3,3 (d, $J=3,4$ Hz) ve 4,17 (d, $J=3,4$ Hz) birbiriyle etkileşim gösterdiği görülmüştür. Ünite II’de F halkasının H-2 (δ_H 5,72), H-3 (δ_H 4,14) ve H4 (δ_H 4,58) protonlarının birbirlerine komşu olduğu belirlenmiştir. Benzer şekilde Ünite III’de I halkasında H-2 (δ_H 4,41), H-3 (δ_H 3,88) ve H-4 (δ_H 2,85) protonlarının aynı spin sisteminde olduğu tespit edilmiştir. COSY spektrumunda ayrıca ünite I’de A halkasının meta konumundaki H-6 ve H-8 protonlarının [δ_H 5,98 (d, $J=2,1$ Hz) ve 6,03 (d, $J=2,1$ Hz)] birbiriyle etkileşim gösterdiği görülmüştür. COSY spektrumunda ünite I’de B halkasının meta konumundaki H-5’ ve H-6’ protonlarının [δ_H 6,84 (d, $J=8,4$ Hz) ve 6,86 (d, $J=8,4$ Hz)] birbiriyle etkileşim gösterdiği saptanmıştır (Şekil 4.7).

Bileşiğin ¹³C NMR spekturumunda; hem flavan yapısına ait olabileceği muhtemel C-3 ve C-4 konumundaki karbon sinyallerine ait üç farklı değer, hem de aromatik halkadaki karbon sinyallerinde üç farklı halka sistemine ait olabilecek değerlerin görülmesi COSY spektrumunda gözlenen 3 farklı spin sistemi ile birlikte değerlendirildiğinde, bileşikte üçlü halka sistemi (trimerik yapı) olabileceği düşünülmüştür. ¹H-NMR spektrumunda ünite I’de piran halkasının (C halkası) 2. konumunda proton olmadığı anlaşılmıştır.

Bu yapıda ünite I'in C-4 protonu (δ_H 4,17) ile C-2 karbonu (δ_C 98,55) arasında gözlenen etkileşim ve C-4 protonu (δ_H 4,17) ile D-7 (δ_C 149,7) D-8 (δ_C 105,02) ve D-9 (δ_C 150,41) konumunda yer alan karbonlar arasında gözlenen etkileşimler HMBC spektrumu ile doğrulanmıştır.

Prosiyanidin halka sistemi; çoğunlukla bir flavan ünitesinin 4 nolu karbon atomu, diğer ünitenin 6 veya 8 numaralı karbon atomuna bağlanmaktadır. İkinci bir bağlanma olduğunda, genellikle ünite I'in 2 nolu karbon atomundan ünite II'deki 5 veya 7 nolu karbona bağlı OH grubu üzerinden bağlanmaktadır. Bu yapı A-tipi prosiyanidin olarak adlandırılmaktadır (Ito, Ohmori ve Suzuki, 2014).

Bu bulgular bileşiğin A-tipi prosiyanidin yapısı olabileceğini düşündürmüştür. C halkasında H-3 protonu (δ_H 3,3) ile A halkasında C-10 konumunda yer alan karbon sinyali (δ_C 103,55) arasında gözlenen etkileşim HMBC spektrumu ile doğrulanmıştır. Ünite II'deki piran halkasına ait (F halkası) F-4 konumunda yer alan proton (δ_H 4,58) ile ünite III'teki G-8 konumundaki karbon sinyali (δ_C 107,45) arasında gözlenen etkileşim HMBC spektrumu ile doğrulanmıştır (Şekil 4.9).

Tüm veriler incelendiğinde, ünite I'deki C-4 konumundaki proton ile ünite II'nin D-7, D-8 ve D-9 konumundaki karbona bağlantısı olduğu, ünite II yapısının F-4 konumundaki proton ile G-7, G-8 ve G-9 konumundaki karbonlarla bağlantılı olabileceği belirlenmiştir.

HSQC spektrumunda, ünite I piran halkasında (C halkası) δ_H 3,3 (C-3) ve δ_H 4,17 (C-4)'de sinyal veren protonların sırasıyla δ_C 65,79 ve 27,47 ppm'de sinyal veren karbonlara bağlı bulunduğu belirlenmiştir. Ünite II'de F halkasında F-2, F-3 ve F-4 numaralı δ_H 5,72, 4,14 ve 4,58'de sinyal veren protonların sırasıyla δ_C 77,48, 71,18 ve 36,88'de sinyal veren karbonlara bağlı bulunduğu görülmüştür. Ünite III'te I halkasında I-2, I-3 ve I-4 numaralı δ_H 4,41, 3,88 ve 2,85'de sinyal veren protonların sırasıyla δ_C 78,9, 66,14 ve 28,46'da sinyal veren karbonlara bağlı olduğu saptanmıştır. Bu veriler bileşiğin epikateşin halka yapısında olduğunu doğrulamaktadır (Şekil 4.8).

Tüm bilgilerin bir arada değerlendirilmesi ve literatür verileriyle karşılaştırılması sonucunda bileşiğin yapısı epikateşin-(2b→O→7,4b→8)-epikateşin-(4b→8)-epikateşin (sinnamtanen B-1) olarak belirlenmiştir (Kamiya, Watanabe, Endang, Umar ve Satake, 2001; Özgünseven, 2021).

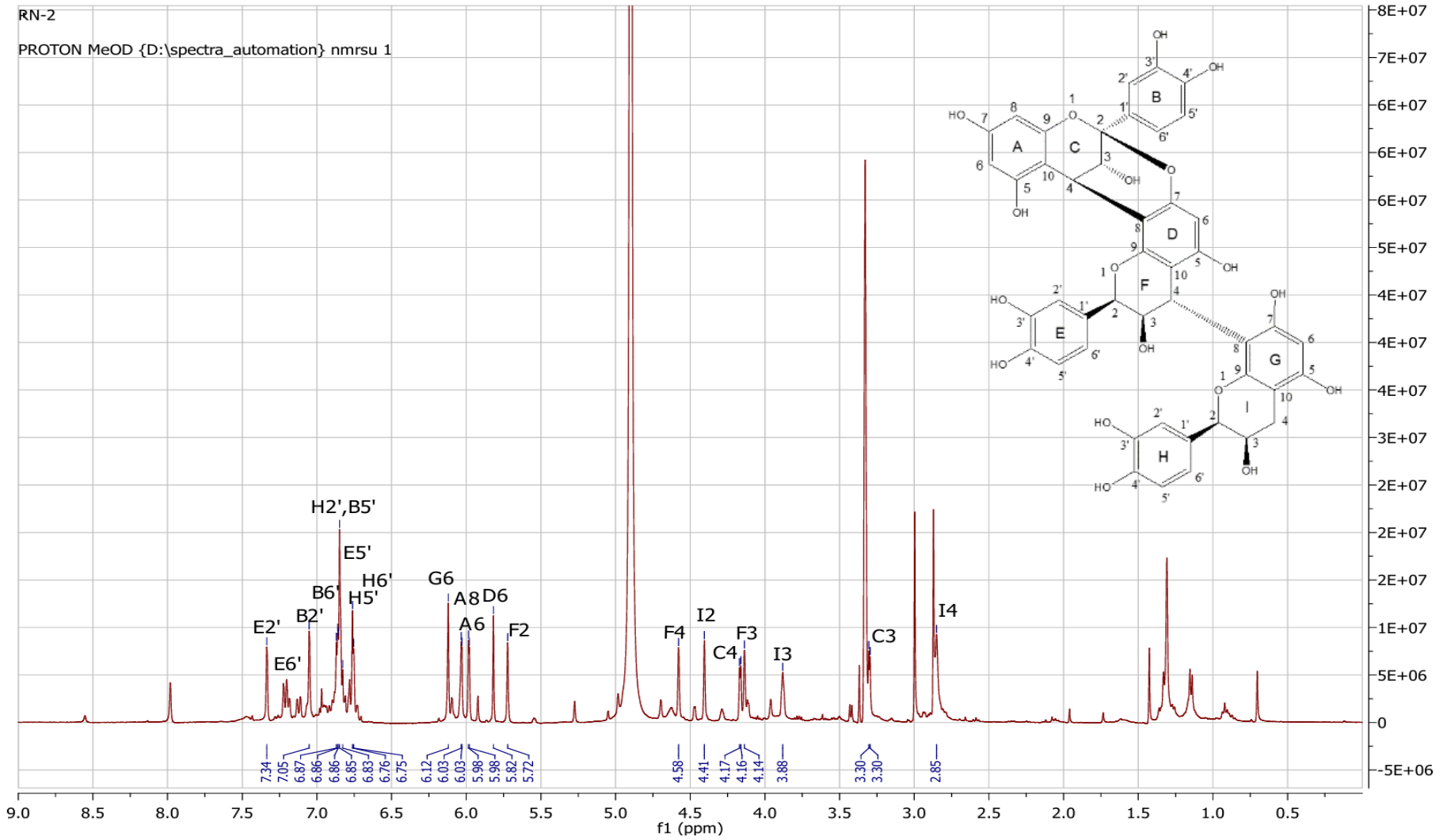
Çizelge 4.1. Sinnamtanen B1 (RN2) bileşiğinin spektroskopik verileri ve önemli HMBC etkileşimleri

C/H Atom		δ_c ppm	δ_H ppm	J (Hz)	HMBC (H→C)
Ünite I					
C Halkası					
2	C	98,55	-		
3	CH	65,79	3,3	d (3,4)	A10
4	CH	27,47	4,17	d (3,4)	C2, D7, D8, D9
A Halkası					
5	C	155,38	-		
6	CH	96,89	5,98	d (2,1)	A5, A7, A8, A10
7	C	156,45	-		
8	CH	95,15	6,03	d (2,1)	A6, A7, A10
9	C	152,77	-		
10	C	103,55	-		
B Halkası					
1'	C	132,44	-		
2'	CH	114,34	7,05	gs	A2, B3', B4', B6'
3'	C	144,08	-		
4'	C	145,21	-		
5'	CH	114,73	6,84	d (8,4)	B3'
6'	CH	118,47	6,86	d (8,4)	B4'
Ünite II					
F Halkası					
2	CH	77,48	5,72	gs	E1', E2', E6'
3	CH	71,18	4,14	s	F2, F4, D10
4	CH	36,88	4,58	s	F2, F3, D10, G7, G8, G9
D Halkası					
5	C	154,38	-		
6	CH	94,66	5,82	s	D5, D7, D8
7	C	149,7	-		
8	C	105,02	-		
9	C	150,41	-		
10	C	105,34	-		

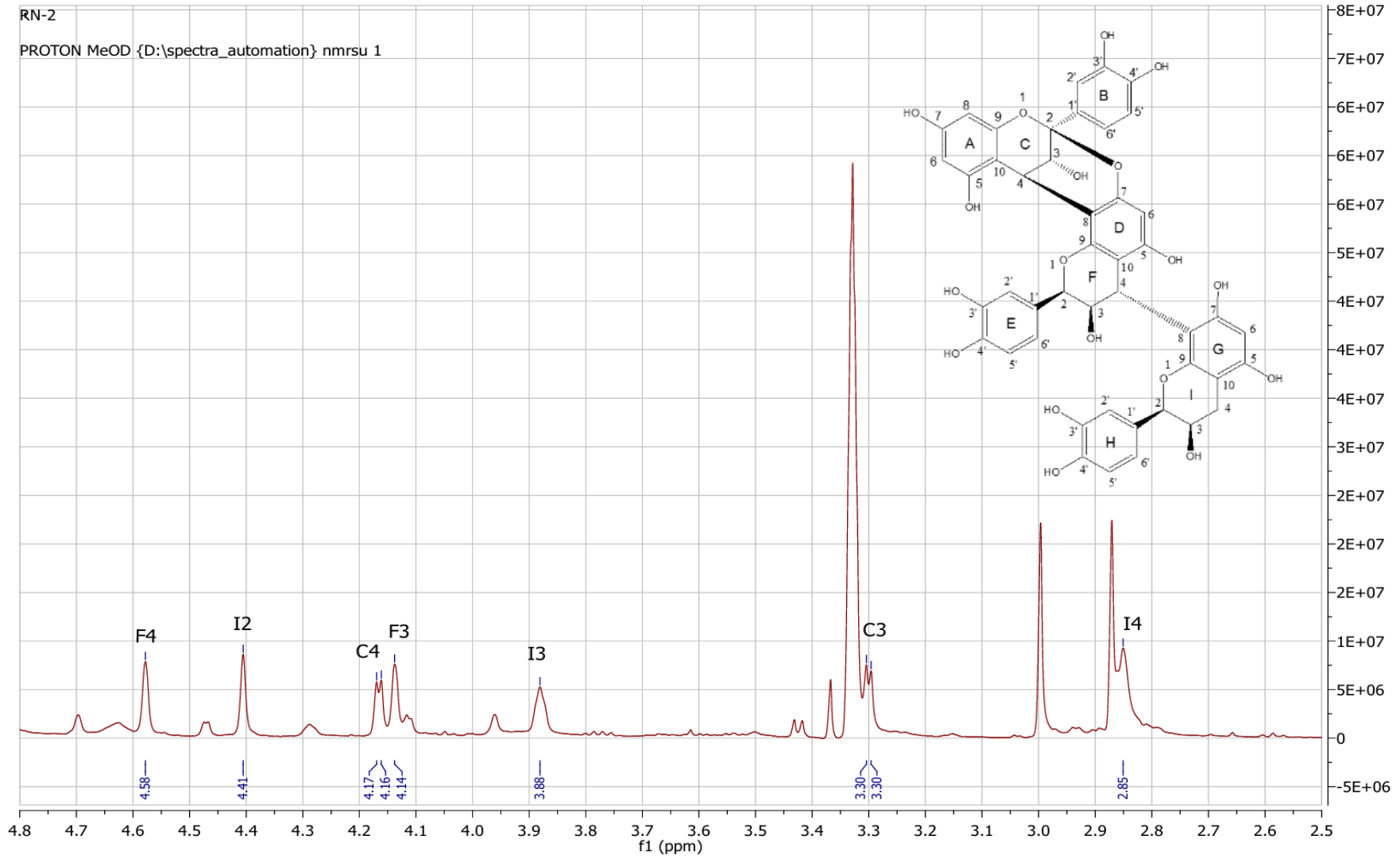
Çizelge 4.1. (devam) Sinnamtanen B1 (RN2) bileşiğinin spektroskopik verileri ve önemli HMBC etkileşimleri

E Halkası					
1'	C	130,39	-		
2'	CH	115,33	7,34	gs	E3', E4', E6', F2
3'	C	144,5	-		
4'	C	144,89	-		
5'	CH	114,35	6,83	*	E1', E3', E4', E6'
6'	CH	119,96	7,21	d (8,2)	E2', E4', F2
Ünite III					
I Halkası					
2	CH	78,9	4,41	s	H1', H2', H6', I3
3	CH	66,14	3,88	gs	-
4	CH ₂	28,46	2,85	*	G9, G10, I2, I3
G Halkası					
5	C	154,65	-		
6	CH	95,05	6,12	s	G7, G8, G10
7	C	154,18	-		
8	C	107,45	-		
9	C	154,42	-		
10	C	98,64	-		
H Halkası					
1'	C	131,78	-		
2'	CH	114,08	6,84	*	H1', H3', H4', H6'
3'	C	143,94	-		
4'	C	144,36	-		
5'	CH	114,6	6,76	*	H1', H3'
6'	CH	118,03	6,75	*	H1', H2', H5'

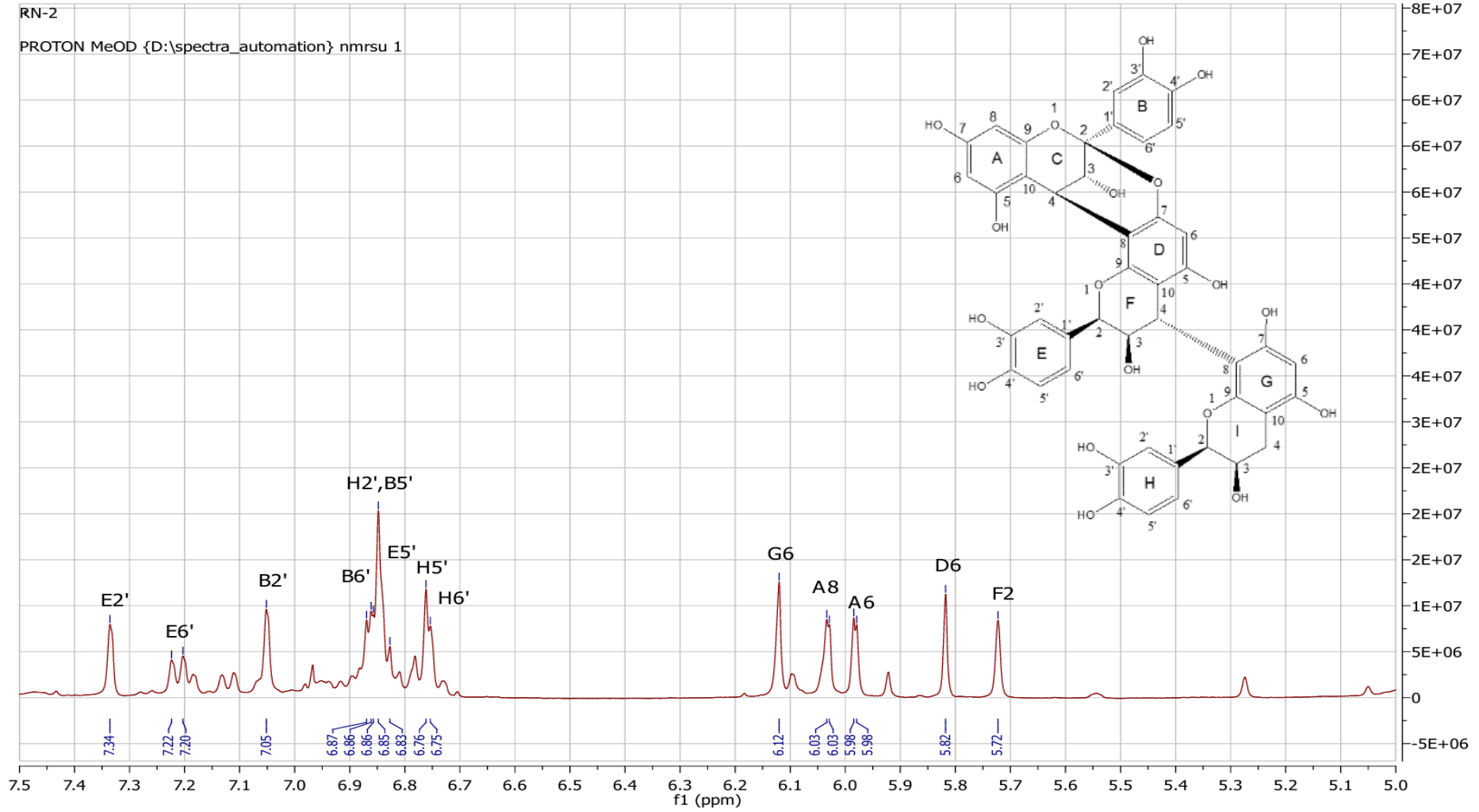
*Girişim nedeniyle çözülememiştir



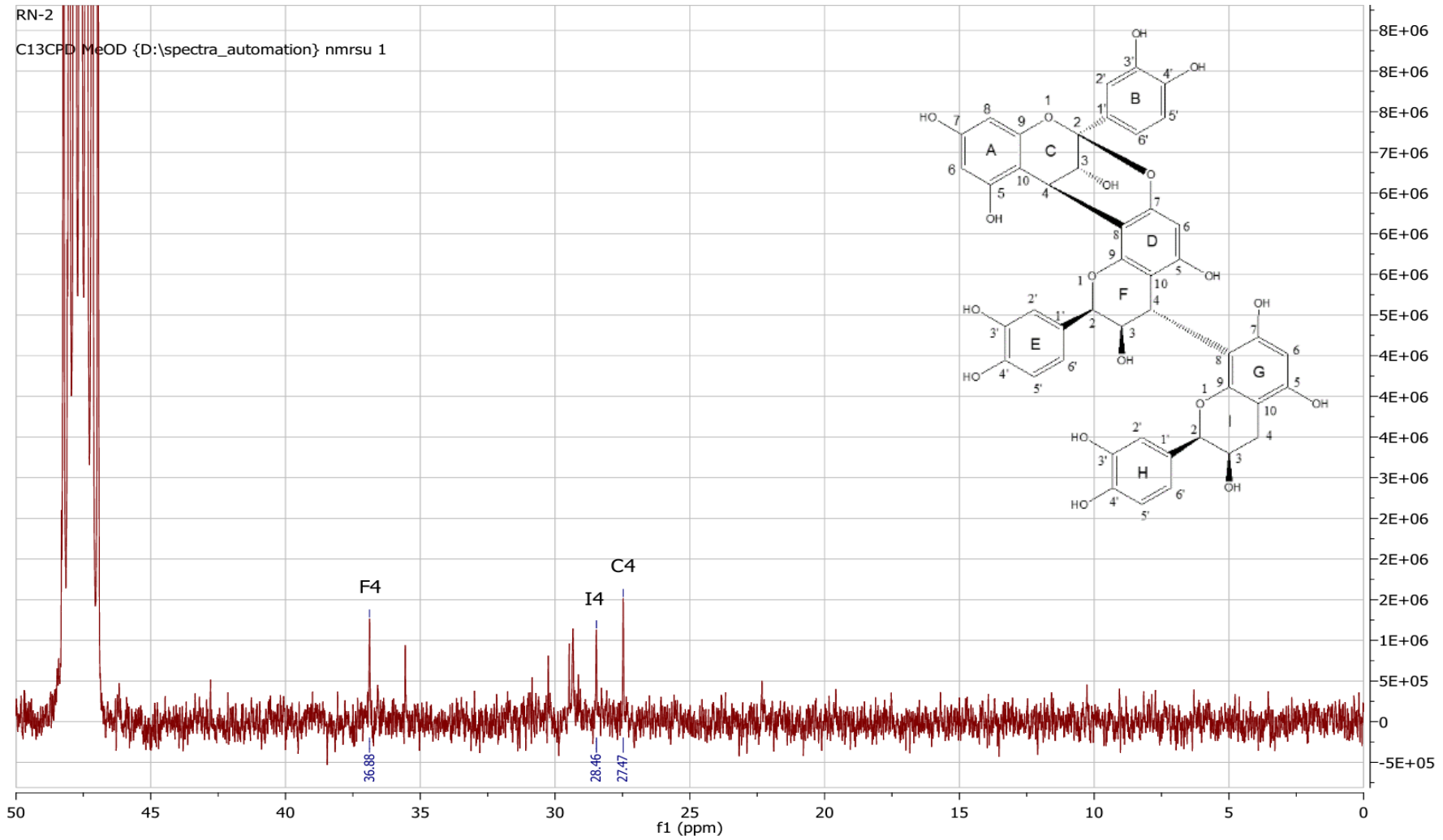
Şekil 4.1. Sinnamtanen B1 (RN2) bileşiğine ait ^1H -NMR spektrumu (CD $_3$ OD, 400 MHz)



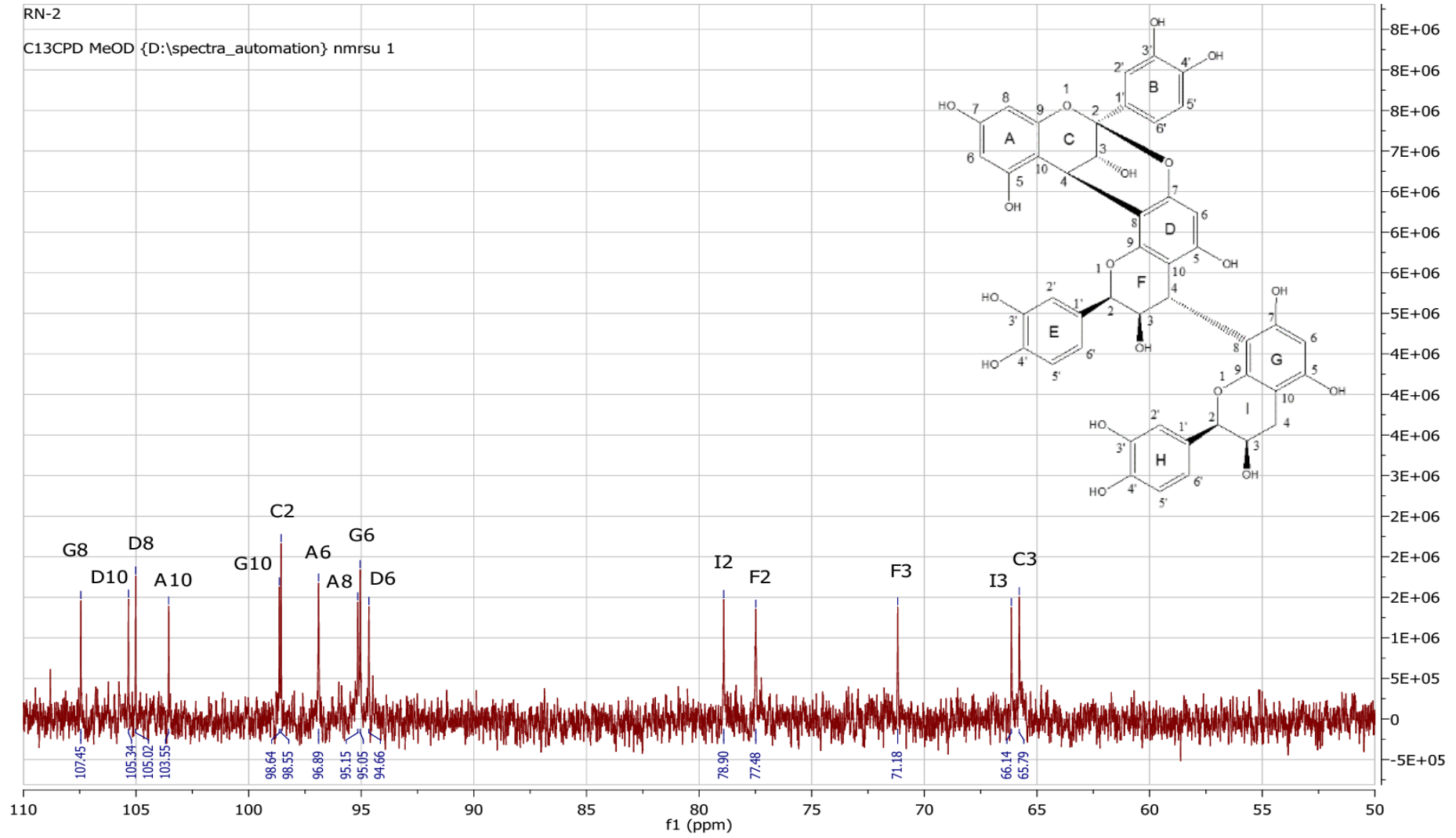
Şekil 4.2. Sinnamtanen B1 (RN2) bileşiğine ait ^1H -NMR spektrumu (CD_3OD , 400 MHz)



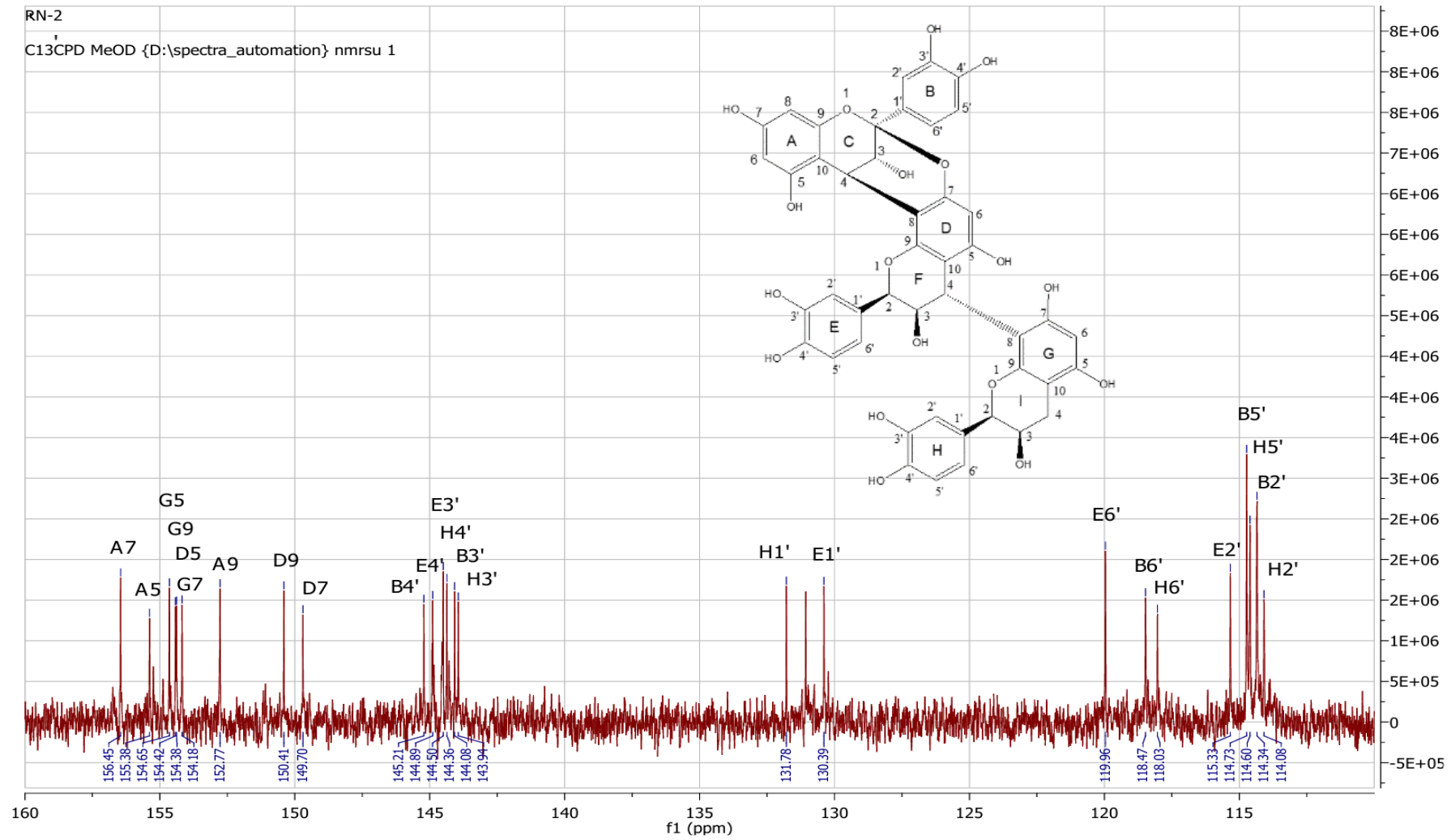
Şekil 4.3. Sinnamtanen B1 (RN2) bileşiğine ait ^1H -NMR spektrumu (CD₃OD, 400 MHz)



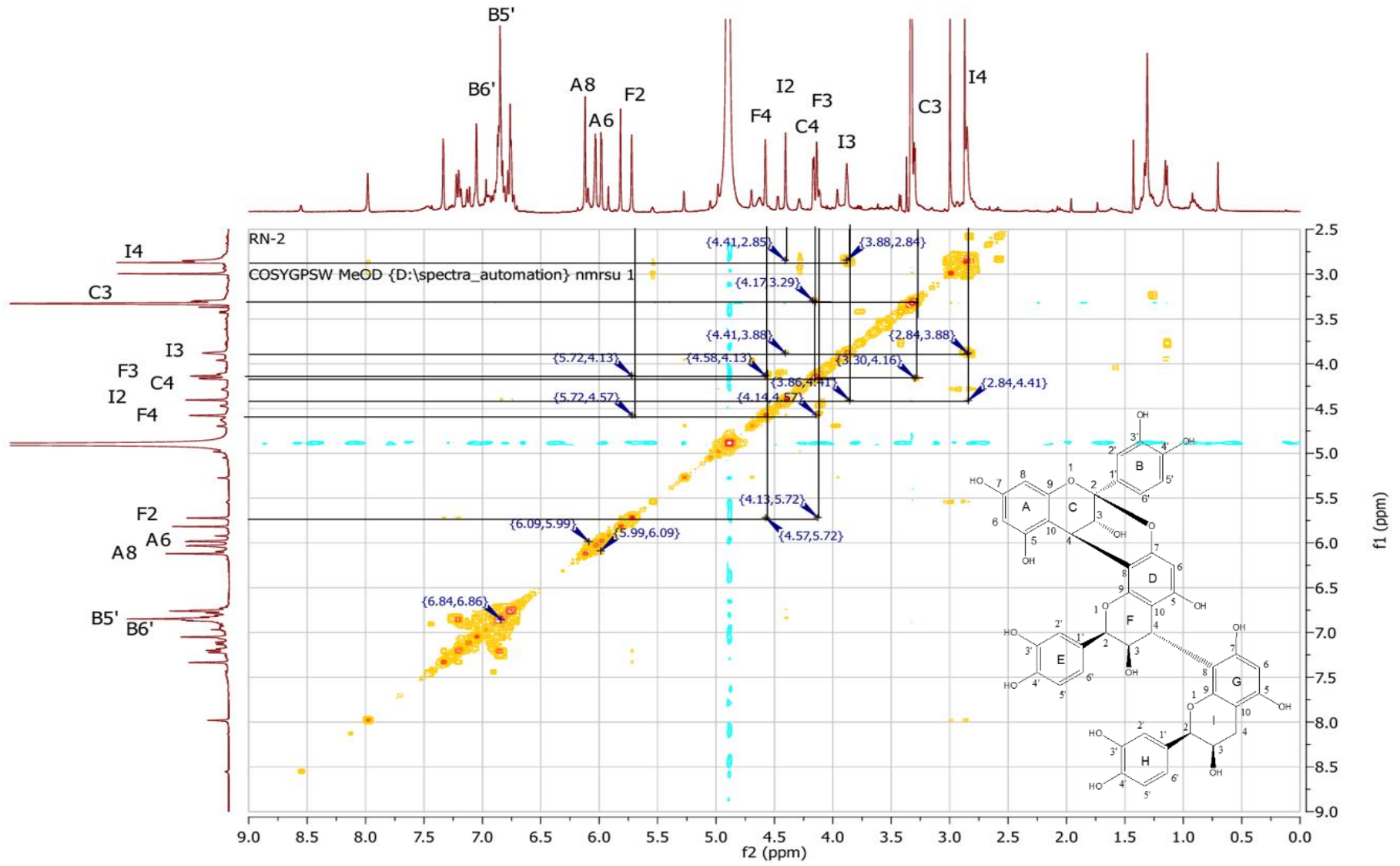
Şekil 4.4. Sinnamtanen B1 (RN2) bileşiğine ait ^{13}C -NMR spektrumu (CD_3OD , 100 MHz)



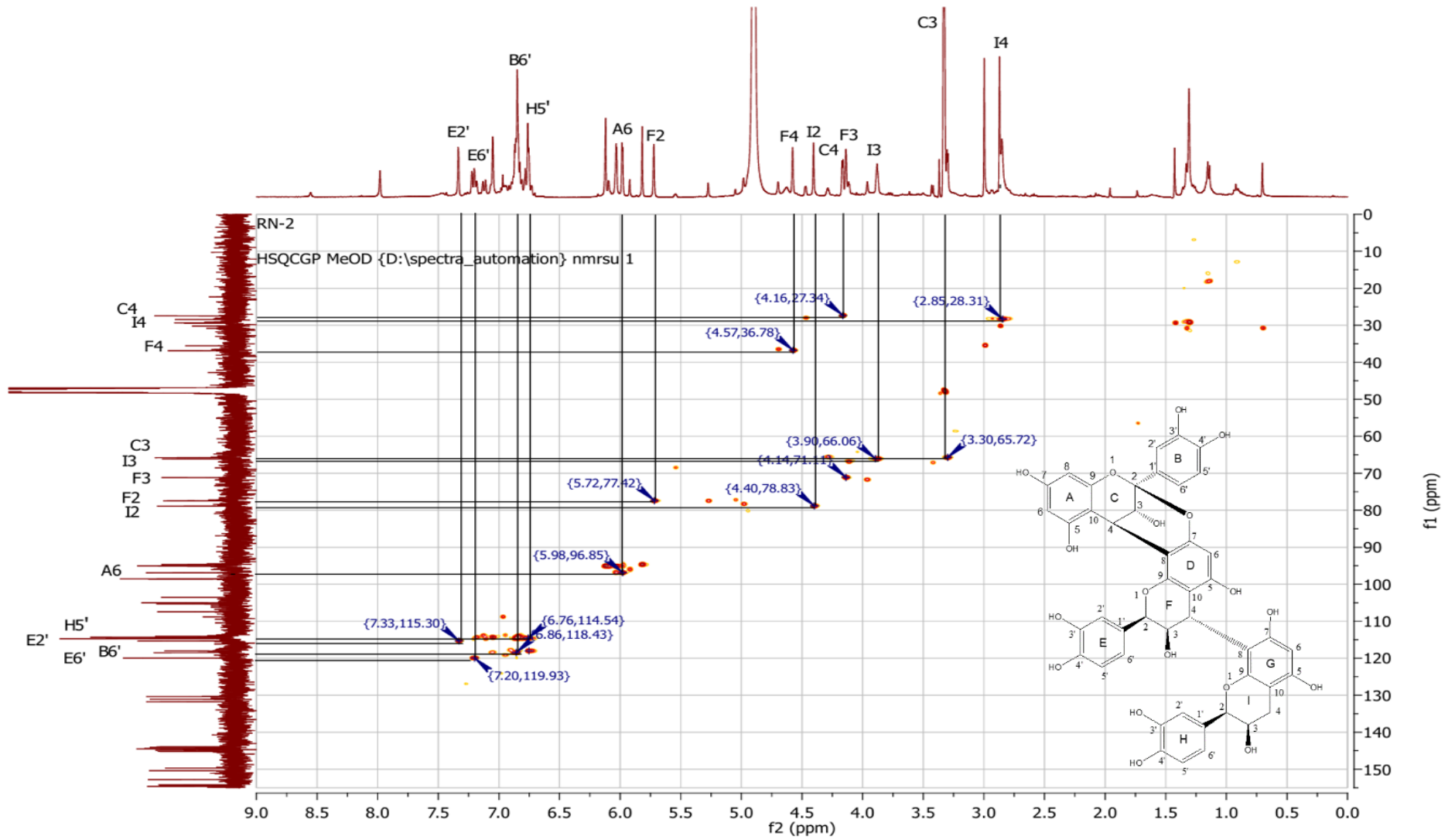
Şekil 4.5. Sinnamtanen B1 (RN2) bileşiğine ait ^{13}C -NMR spektrumu (CD₃OD, 100 MHz)



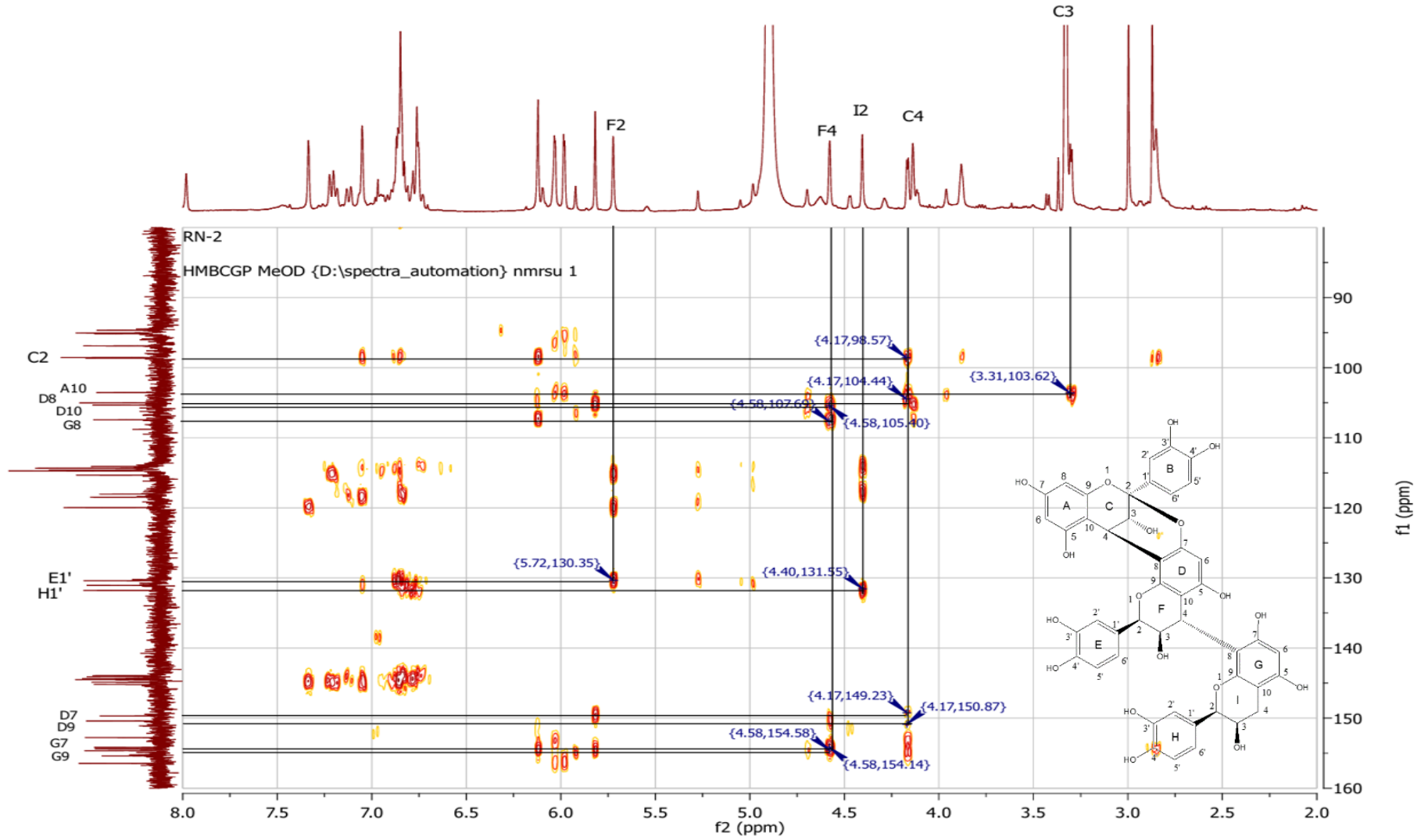
Şekil 4.6. Sinnamtanen B1 (RN2) bileşiğine ait ^{13}C -NMR spektrumu (CD_3OD , 100 MHz)



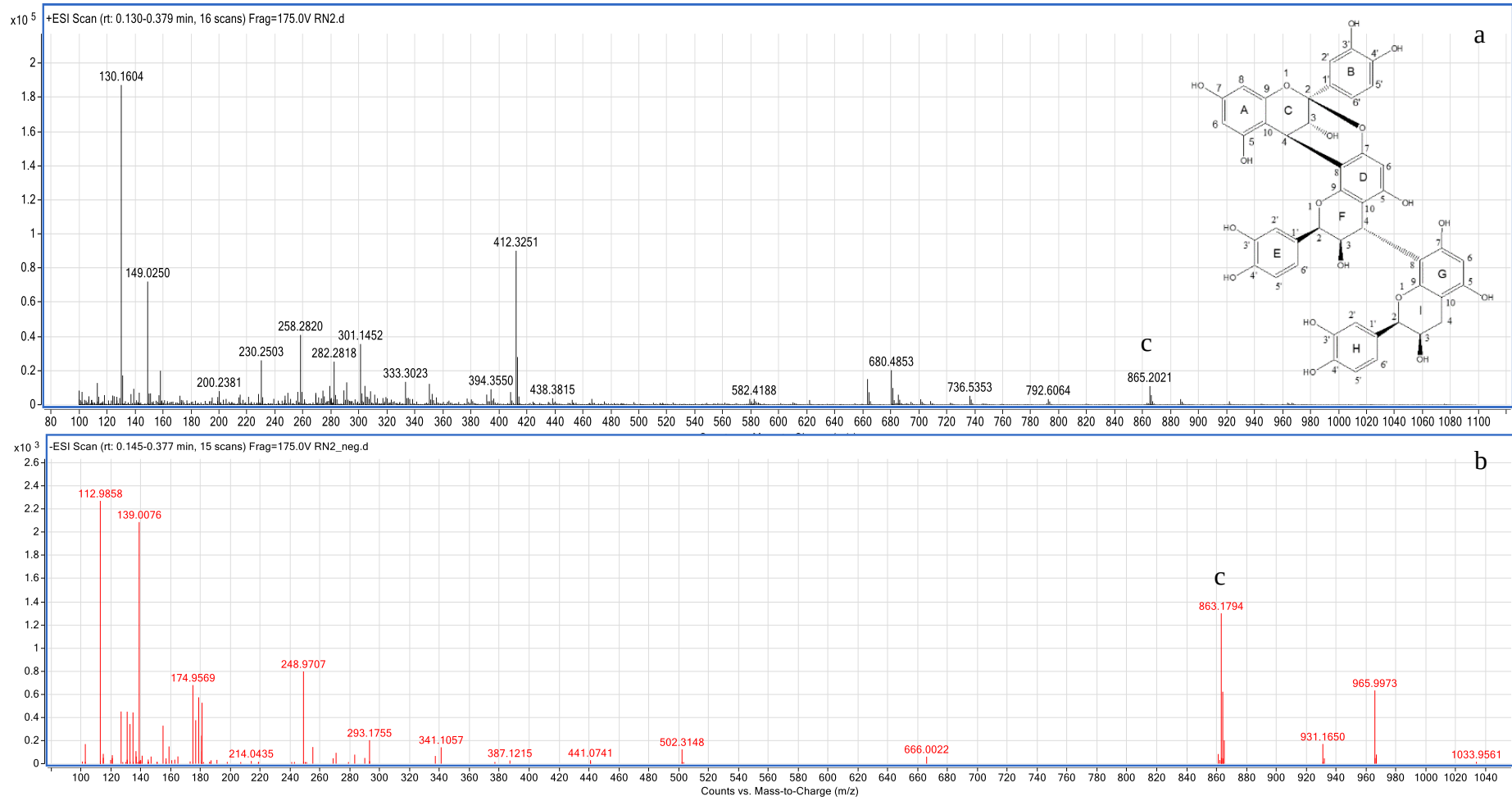
Şekil 4.7. Sinnamtanen B1 (RN2) bileşiğine ait COSY spektrumu



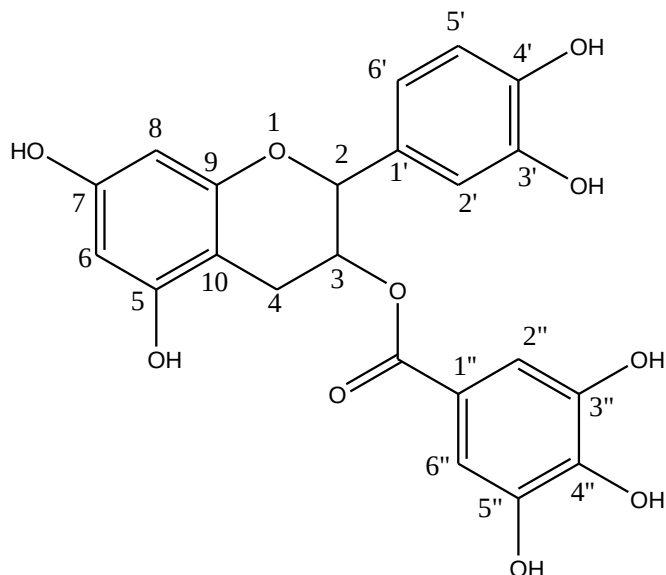
Şekil 4.8. Sinnamtanen B1 (RN2) bileşiğine ait HSQC spektrumu



Şekil 4.9. Sinnamtanen B1 (RN2) bileşiğine ait HMBC spektrumu



Şekil 4.10. Sinnamtanen B1 (RN2) bileşiğine ait HR-ESI-MS spektrumu a) +ESI kütle spektrumu b) -ESI kütle spektrumu c) Moleküler iyon piki

RN3 Bileşiği (Epikateşin-3-gallat)**C₂₂H₁₈O₁₀****MA:442**

Kahverengimsi, katı formlu RN3 kodlu bileşiğin İTK analizinde, UV₂₅₄ nm’de mor renk gözlenmiştir. Vanilin/H₂SO₄ reaktifi ile 110°C’de 2 dakika ısıtıldığında pembe-kırmızı renk vermesi bileşiğin kondanse tanen yapısında olabileceğini göstermiştir.

Bileşiğin ¹³C NMR spektrumunda δ_C 25,46, 68,57 ve 77,23’te 3 adet alifatik karbon, δ_C 94,48-155,88 arasında 18 adet aromatik karbon ve 1 adet karbonil (δ_C 166,20) olmak üzere toplamda 22 karbona ait sinyal değeri, ESI⁻ kütle spektrumunda *m/z* 441,0825’de gözlenen [M-H]⁻ iyon piki ile birlikte değerlendirilmiş ve bileşiğin C₂₂H₁₈O₁₀ kapalı formülüne sahip olduğu saptanmıştır (Şekil 4.16).

Bileşiğin ¹H-NMR spektrumu incelendiğinde (Şekil 4.11), δ_H 6,09 (1H, d, *J* = 2,3 Hz) ve δ_H 5,98 (1H, d, *J* = 2,3 Hz) ppm değeriindeki sinyal çiftinin 5,7-disübstitüe A halkasına özgü olduğu tespit edilmiştir. Bu sinyal değeri H-6 ve H-8 konumundaki protonlara aittir. Aromatik halkada bulunan protonların δ_H 6,95 (1H, d, *J* = 2,0 Hz), δ_H 6,71 (1H, d, *J* = 8,2) ve δ_H 6,81 ppm’de görülen sinyalleri sırasıyla H-2’, H-5’ ve H-6’ protonlarına ait olduğu görülmüştür. Piran halkası H-2, H-3, H-4a ve H-4b konumundaki protonları sırasıyla δ_H 5,04 (1H, s), 5,54 (1H, m), 2,84 (1H, dd *J* = 17,3/2,4 Hz), 2,99 (1H, dd, *J* = 17,3/4,7 Hz) değeriinde sinyaller ölçülmüştür.

Bileşiğin ^1H NMR spektrumunda gözlenen δ_{H} 2,84 ve 2,99 sinyalleri ve bu sinyallere ait ^{13}C NMR spektrumunda (Şekil 4.12) gözlenen karbon (δ_{C} 25,46) değerinden de doğrulanarak, CH_2 (C-4) grubu olarak belirlenmiştir. Yüksek alanda başka proton (H) sinyali gözlenmemesi diğer sinyallerin heteroatom komşuluğundaki protonlara ya da doymamış bir karbon atomuna bağlı olduğunu düşündürmektedir.

C-2 protonunun (δ_{H} 5,04) C-1' (δ_{C} 130,06), C-2' (δ_{C} 113,70), C-6' (δ_{C} 117,94) karbonları ile etkileşimde olduğu HMBC spektrumu ile doğrulanmıştır. δ_{H} 5,04 proton (H-2) sinyalinin HMBC spektrumunda gözlenen karbon atomları (C-1', 2', 6') ile etkileşimde olduğu görülmüştür. Aromatik halkada yer alan δ_{H} 6,95 (C-2') protonunun δ_{C} 77,23 (C-2) ile olan etkileşimi aromatik halkanın bağlantı noktasını doğrulamaktadır.

H-4a (δ_{H} 2,84) ve H-4b (δ_{H} 2,99) protonlarının 10 numaralı karbon atomu (δ_{C} 97,97) ile; H-8 protonunun (δ_{H} 5,93) C-7 konumundaki karbon atomu ile (δ_{C} 156,49); H-5' protonunun (δ_{H} 6,71) C-1' (δ_{C} 130,06) ve C-4' (δ_{C} 144,54) konumundaki karbonlarla etkileşimde olduğu belirlenmiştir. Gallik asit grubu H-2'' (δ_{H} 6,97) ve H-6'' (δ_{H} 6,97) protonları ile karbonil grubunun (δ_{C} 166,20) etkileşimi HMBC spektrumu ile doğrulanmıştır (Şekil 4.15).

COSY spektrumu ile aynı spin sistemindeki protonlar belirlenmiştir. Aromatik protonların korelasyonu dışında C-2 (δ_{H} 5,04), C-3 (δ_{H} 5,54), C-4a (δ_{H} 2,84) ve C-4b (δ_{H} 2,99) protonlarının aynı spin sisteminde yer aldığı görülmektedir (Şekil 4.13). Bu protonlara ait C-2 (δ_{C} 77,23), C-3 (δ_{C} 68,57) ve C-4 (δ_{C} 25,46) karbon sinyalleri birlikte değerlendirilerek yapının kateşin çekirdeği olabileceği belirlenmiştir (Şekil 4.14).

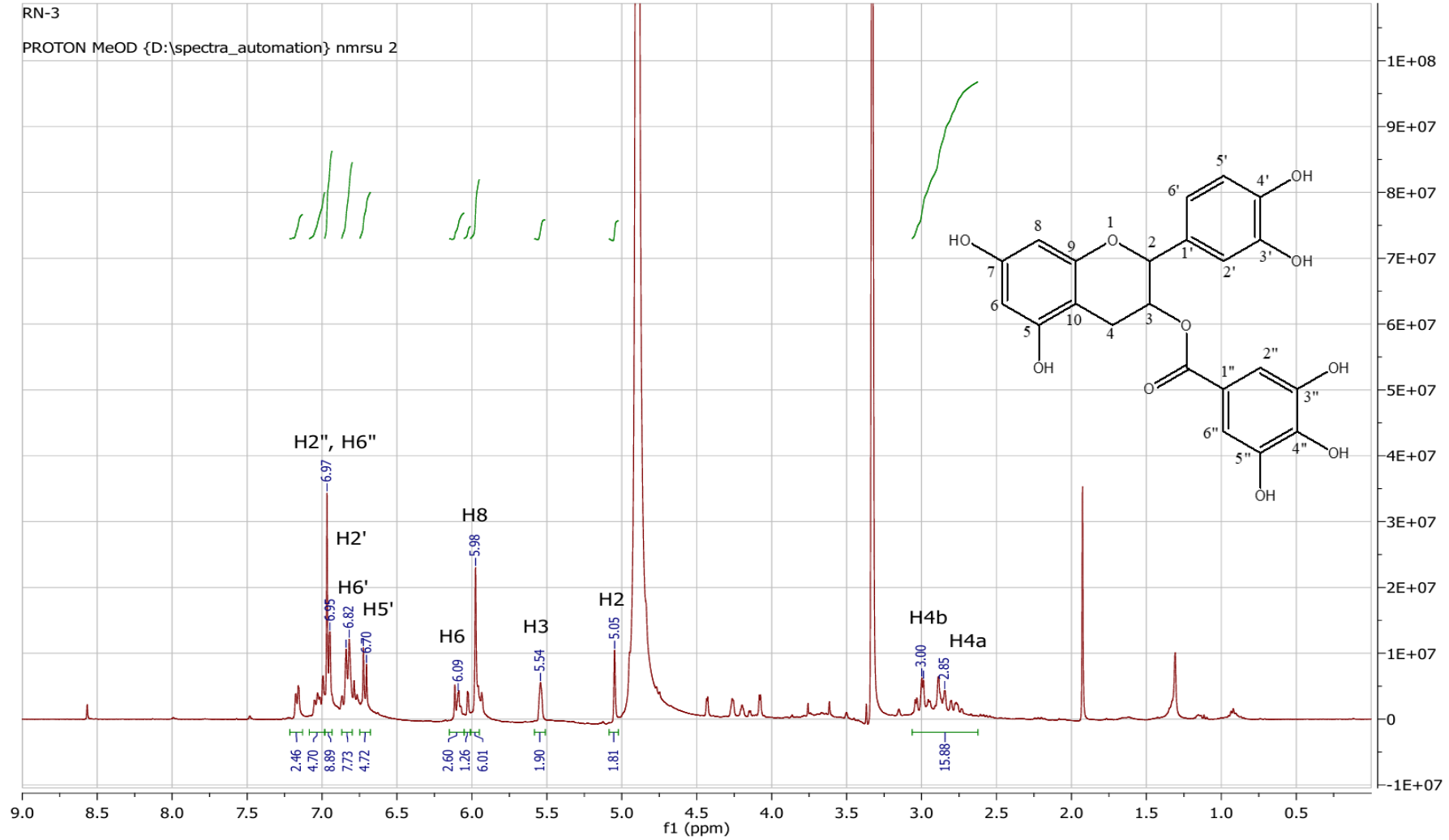
Gallik asit grubu yapıya C-3 konumundan bağlanmıştır. 3 numaralı konumdaki δ_{H} 5,54 değerinin düşük alana kayması da gallik asit grubunun konumunun bu noktadan bağlı olduğunu düşündürmektedir. δ_{H} 6,97'de gözlenen proton sinyalleri gallik asit grubunda H-2'' ve H-6'' protonlarına aittir.

Özetle, HMBC spektrumundaki korelasyonlardan yararlanılarak yapıdaki farklı ünitelerin bağlantı noktaları ve HSQC spektrumundan da protonların üzerinde bulunduğu karbonların belirlenmesi sayesinde kateşin çekirdeği (flavan-3-ol) olduğu doğrulanmıştır. NMR spektrumu verilerinin literatürde kayıtlı değerlerle uyum göstermesi sonucunda bileşiğin yapısı epikateşin olarak aydınlatılmıştır. Sonuç olarak, eldeki bulgular (Çizelge 4.2) değerlendirilip literatürdeki veriler (Davis, Cai, Davies ve Lewis, 1996) ile de karşılaştırıldığında elde edilen bileşiğin epikateşin gallat olduğu bulunmuştur.

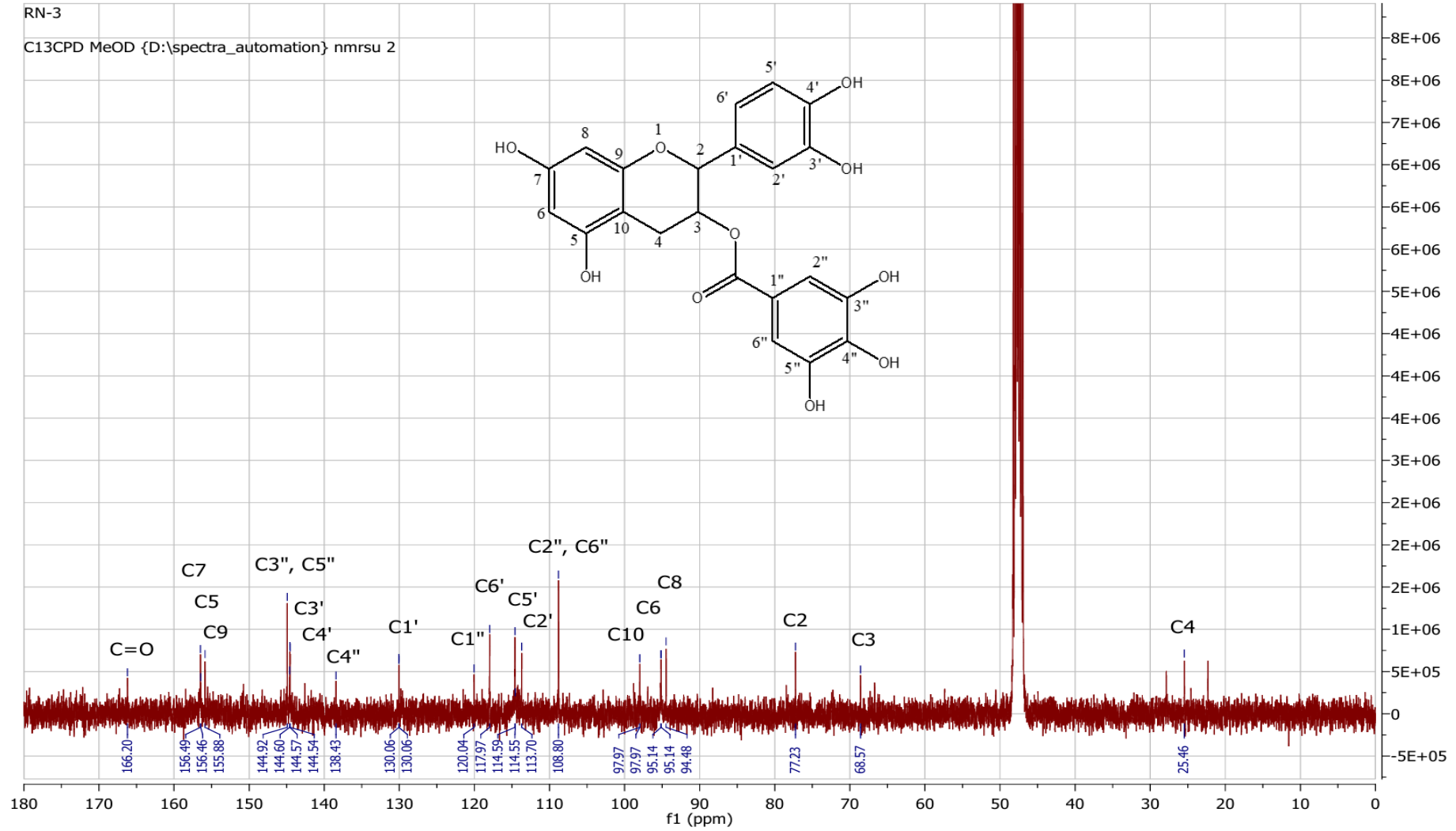
Çizelge 4.2. Epikateşin gallat (RN3) bileşiğinin spektroskopik verileri

C/H Atom		δ_c ppm	δ_H ppm	J (Hz)	HMBC (H→C)
2	CH	77,23	5,04	s	3, 1', 2', 6'
3	CH	68,57	5,54	m	
4	CH ₂	25,46	2,84	dd (17,3/2,4)	10
			2,99	dd (17,3/4,7)	
5	C	156,46	-		
6	CH	95,14	6,09	d (2,3)	
7	C	156,49	-		
8	CH	94,48	5,98	d (2,3)	7, 10
9	C	155,88	-		
10	C	97,97	-		
1'	C	130,06	-		
2'	CH	113,70	6,95	d (2,0)	2
3'	C	144,57	-		
4'	C	144,54	-		
5'	C	114,56	6,71	d (8,2)	1',4'
6'	CH	117,94	6,81	*	
R (Gallik asit)					
1"	C	120,04	-		
2"	CH	108,8	6,97	s	CO
3"	C	144,92	-		
4"	C	138,43	-		
5"	C	144,92	-		
6"	CH	108,80	6,97	s	CO
CO	CO	166,20	-		

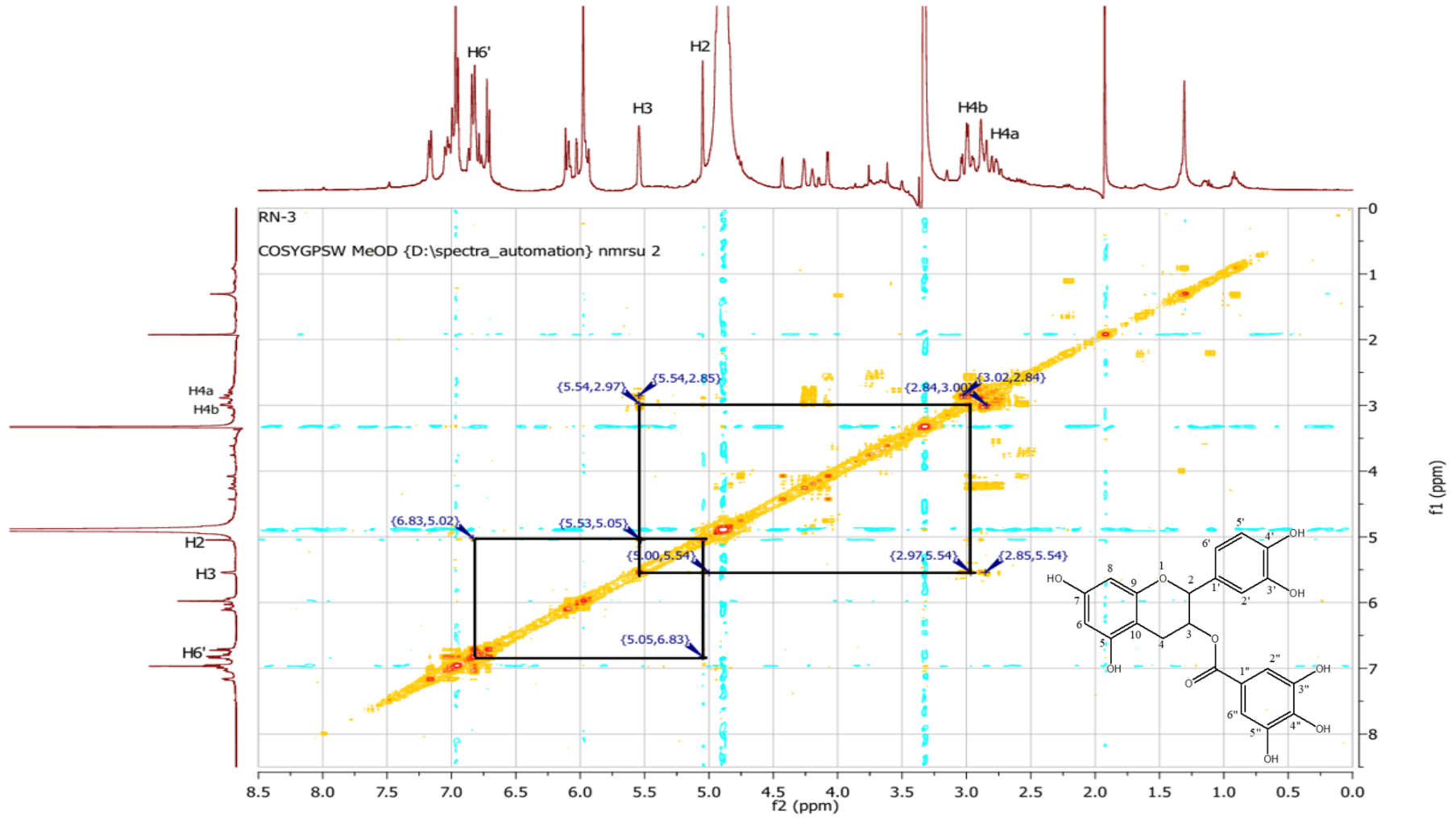
*Girişim nedeniyle çözülememiştir



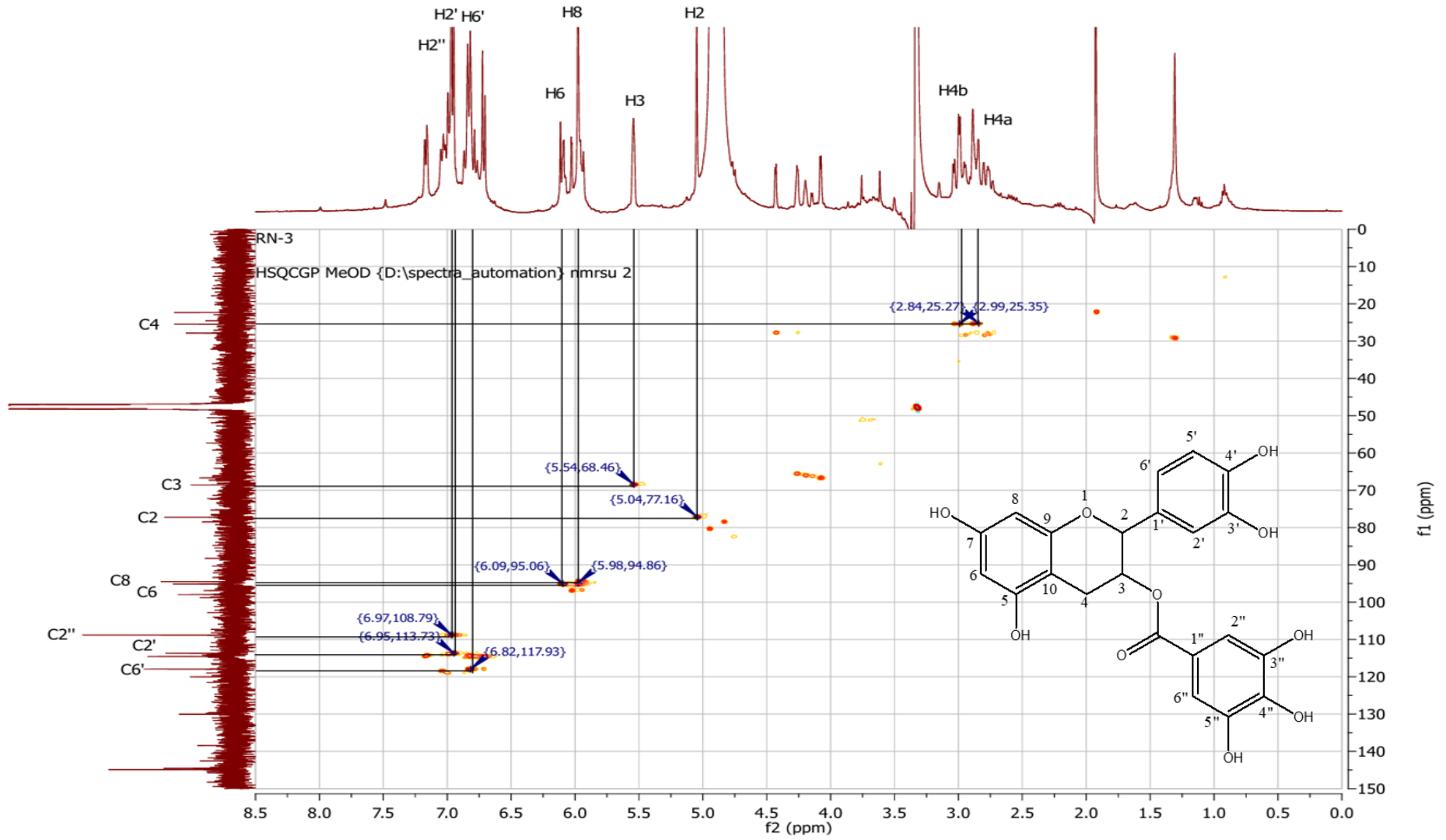
Şekil 4.11. Epikateşin gallat (RN3) bileşiğine ait ^1H -NMR spektrumu (CD_3OD , 400 MHz)



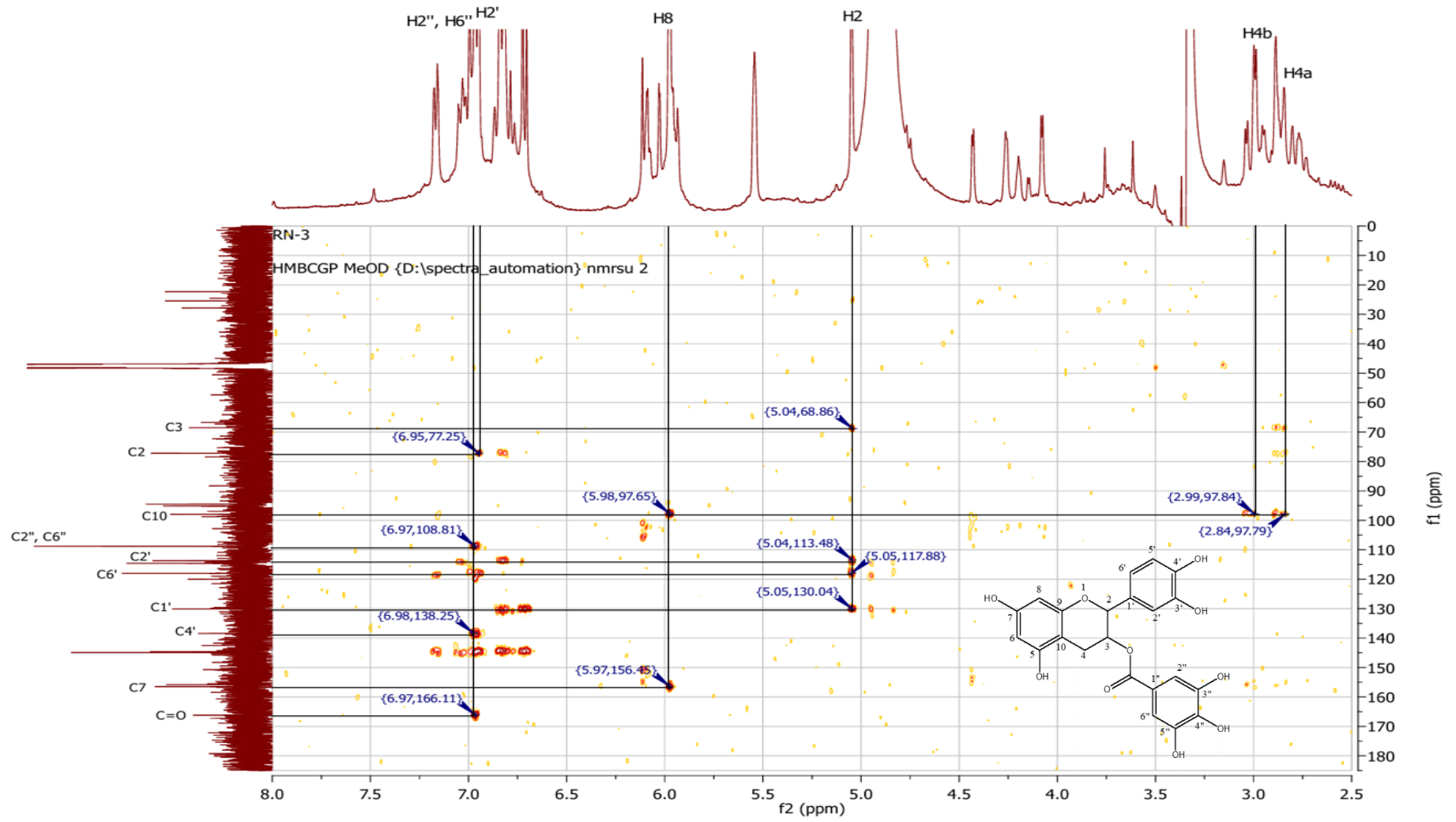
Şekil 4.12. Epikateşin gallat (RN3) bileşiğine ait ¹³C-NMR spektrumu (CD₃OD, 100 MHz)



Şekil 4.13. Epikateşin gallat (RN3) bileşiğine ait COSY spektrumu

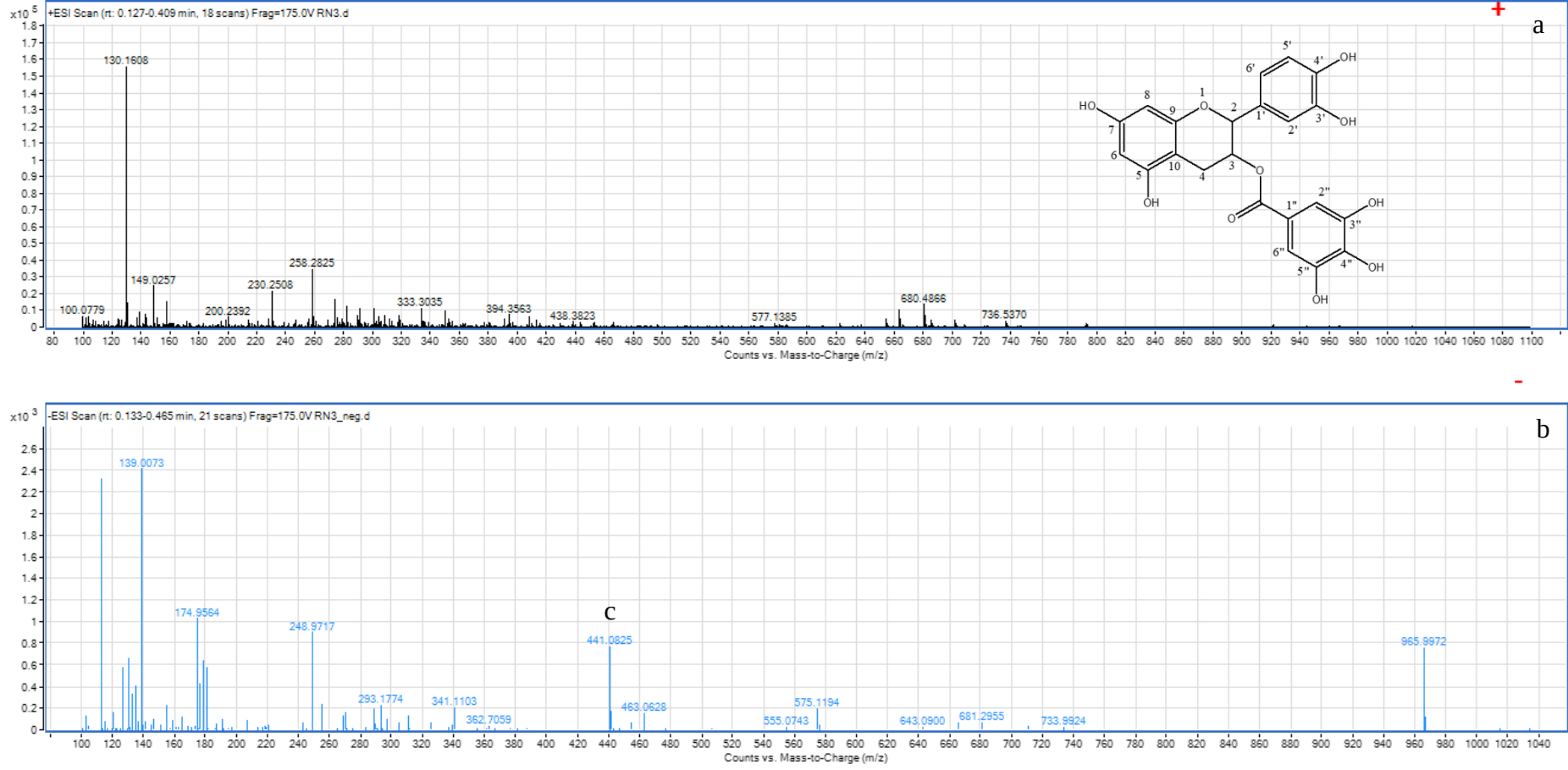


Şekil 4.14. Epikateşin gallat (RN3) bileşiğine ait HSQC spektrumu



Şekil 4.15. Epikateşin gallat (RN3) bileşiğine ait HMBC spektrumu

RN3



Şekil 4.16. Epikateşin gallat (RN3) bileşiğine ait HR-ESI-MS spektrumu a) +ESI kütle spektrumu b) -ESI kütle spektrumu c) Moleküler iyon piki

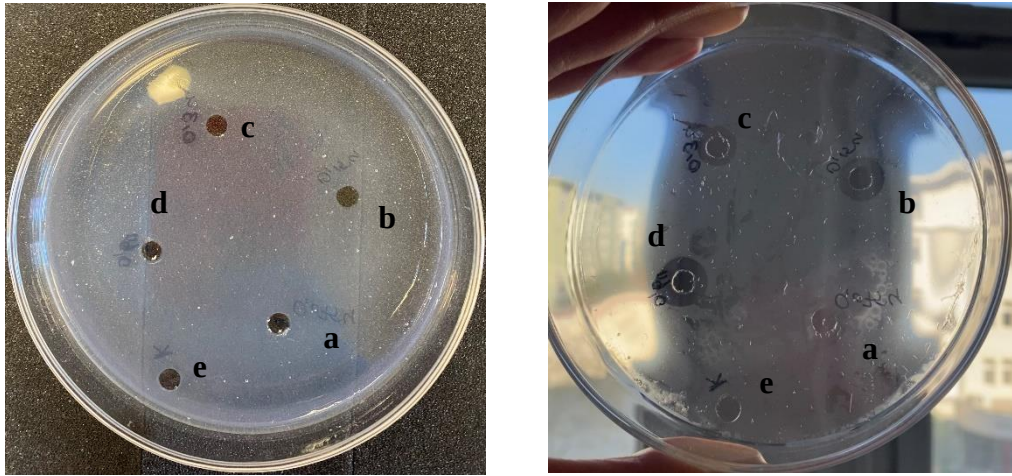
4.2. Aktivite Çalışmalarına Ait Bulgular

4.2.1. Fibrin plak yöntemi ile *in vitro* fibrinolitik aktivite bulguları

Petri kabının tabanını kaplayan fibrin tabakaya plazmin uygulanarak eritme alanları ölçülmüştür. Plazmin standardı; 4 ayrı konsantrasyonda, 2 tekrarlı olacak şekilde çalışılmıştır. İnkübasyon süresi sonrasında, plazminin eritme zonlarının en ve boy çapları ölçülmüş ve “ $\pi \times r_1 \times r_2$ ” formülü kullanılarak, her bir ünite için alan hesaplaması yapılmıştır. Ortalama yarıçap, 2 tekrarlı ölçülen toplamda 4 adet en ve boy yarıçapların (r_1/r_2) ortalaması alınarak; ortalama eritme alanı, her bir ünite için ölçülen 2 adet eritme alanının ortalaması alınarak (mm^2) hesaplanmıştır (Çizelge 4.3). Ölçüm sonucunda x eksen (plazmin ünitesi) ve y eksen (eritme alanı) polinom grafiği çıkarılmış ($y = 219,74x^2 - 14,717x + 86,841$; $R^2 = 0,9994$) ve numunelerin plazmin standardına kıyasla aktivite ölçümleri elde edilen grafik kullanılarak yapılmıştır (Şekil 4.17).

Plazminin fibrinolitik aktivite ölçüm sonuçları

Cam petri kabında açılan 4 mm çapındaki oyuklara plazmin ve kontrol örneği olarak distile su 20 μL mikropipet ucu kullanılarak damlatılmış ve 37°C’de 24 saat etüvde inkübasyona bırakılmıştır. Deney numunelerinin eritme alanlarının hesaplanması amacıyla iki dikey çap ölçülmüştür. *In vitro* deneylere ait görseller Resim 4.1’de sunulmuştur.

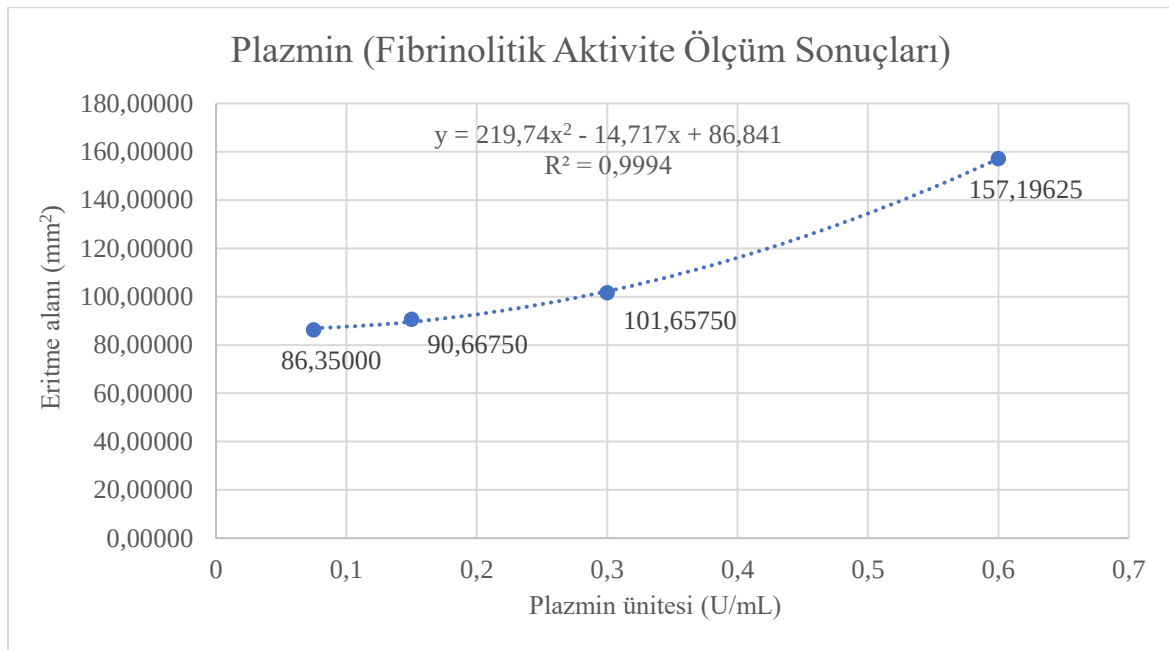


Resim 4.1. Plazmin fibrin plak eritme alanları **a)** 0,075 U/mL Plazmin **b)** 0,15 U/mL Plazmin **c)** 0,3 U/mL Plazmin **d)** 0,6 U/mL Plazmin **e)** Kontrol (distile su)

Çizelge 4.3. Plazminin eritme alanları

Plazmin (ünite/mL)	Ortalama yarıçap (r) değeri (mm)	Ortalama alan* (mm ²)
0,075	5,250	86,35000
	5,250	
0,15	5,500	90,66750
	5,250	
0,3	5,500	101,65750
	5,875	
0,6	6,500	157,19625
	7,625	
Kontrol (distile su)	0	-

* $y = 219,74x^2 - 14,717x + 86,841$ ikinci dereceden bir bilinmeyenli denklemde sabit değer 86,841 olduğundan alanı 86,841 mm² değerinden düşük olanların ünite karşılığı hesaplanamamaktadır.



Şekil 4.17. Plazminin eritme alanları polinom grafiği (U/mL bazlı)

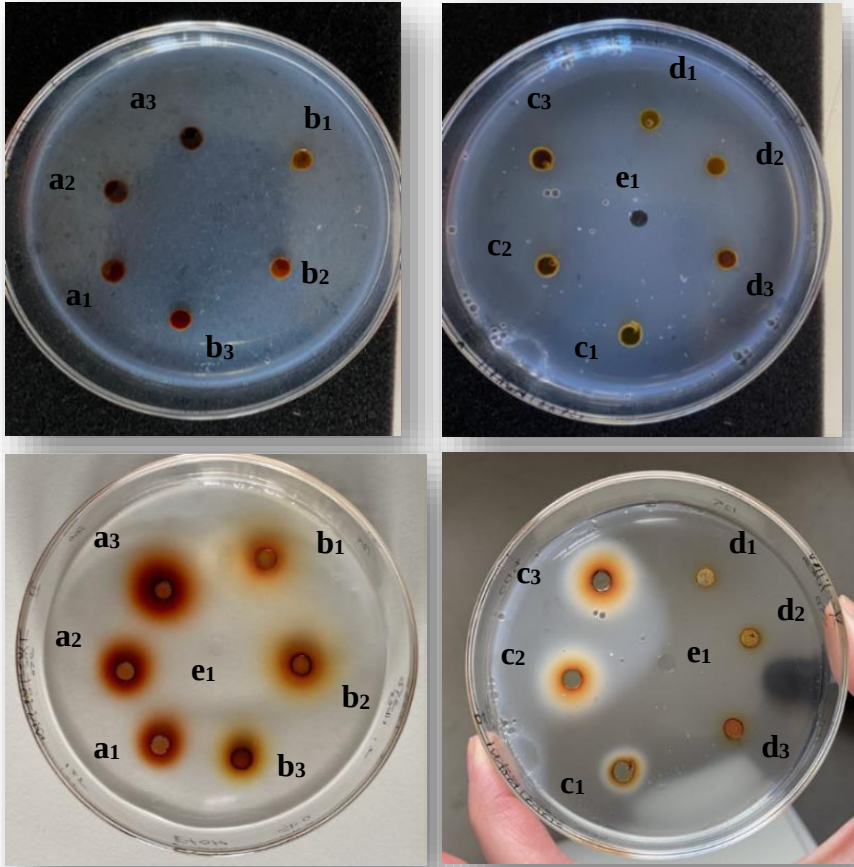
Ekstrelerin fibrinolitik aktivite ölçüm sonuçları

%50 sulu etanol içerisinde çözülmüş olan ekstreler ile kontrol örneği olan %50 sulu etanol çözeltisi, cam petri kaplarında açılan 4'er mm çapındaki oyuklara 20 µL mikropipet ucu kullanılarak uygulanmıştır. Her bir örnek kendi içinde 3 farklı konsantrasyonda hazırlanarak, 2 tekrarlı olacak şekilde çalışılmıştır. Örnekler 37°C'de 24 saat etüvde inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresinin sonunda, ekstrelerin eritme zonlarının en ve boy çapları ölçülmüş ve “ $\pi \times r_1 \times r_2$ ” formülü kullanılarak, her bir ekstre için alan hesaplaması yapılmıştır. Bitki ekstrelerinin eritme alanları Çizelge 4.4'de sunulmuştur. Şekil 4.17'de verilen grafiğe göre bitki ekstrelerinin eritme alanlarına karşılık gelen plazmin eşdeğeri hesaplanmış ve aktivite çalışmalarına, en yüksek fibrinolitik etki gösteren bitki türünün *R. nepalensis* olduğu belirlendiğinden, ileri çalışmalara bu bitki üzerinden devam edilmesine karar verilmiştir (Resim 4.2).

Çizelge 4.4. Bitki ekstrelerinin eritme alanları

Bitki	Konsantrasyon (mg/mL)	Ortalama yarıçap (r) değeri (mm)	Ortalama alan* (mm ²)	Plazmin eşdeğeri (U/mL)
<i>Asphodeline lutea</i>	125	0	-	-
	250	0	-	-
	500	0	-	-
<i>Rheum ribes</i>	125	3,000	28,26000	-
	250	5,000	78,50000	-
	500	5,000	78,50000	-
<i>Rubia tinctorum</i>	125	3,000	28,26000	-
	250	5,000	78,50000	-
	500	7,500	176,62500	0,6736
<i>Rumex nepalensis</i>	125	5,000	78,50000	-
	250	7,500	176,62500	0,6736
	500	12,500	490,62500	1,3895
Kontrol	%50 Etanol-Su	0	-	-

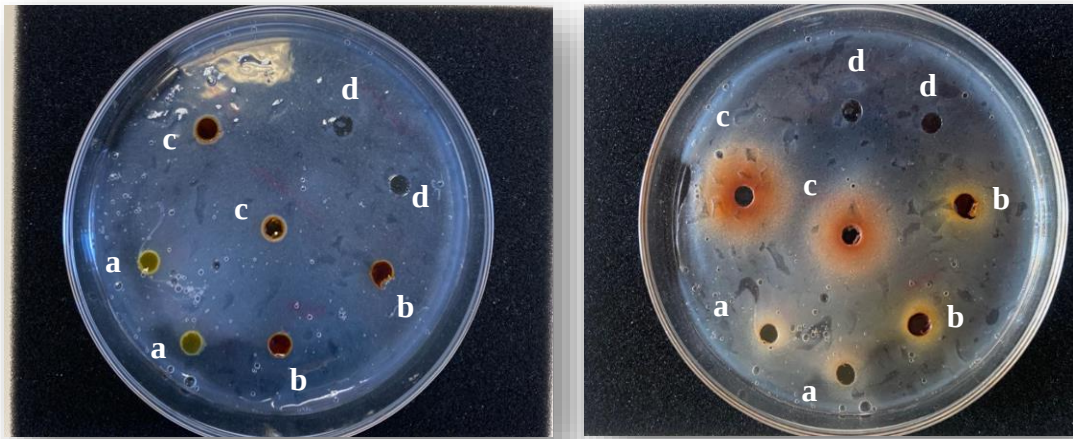
* $y = 219,74x^2 - 14,717x + 86,841$ ikinci dereceden bir bilinmeyenli denklemden sabit değer 86,841 olduğundan alanı 86,841 mm² değerinden düşük olanların ünite karşılığı hesaplanamamaktadır.



Resim 4.2. Ekstrelerin fibrin plak eritme alanları **a1)** *Rubia tinctorum* 125 mg/mL; **a2)** *Rubia tinctorum* 250 mg/mL; **a3)** *Rubia tinctorum* 500 mg/mL; **b1)** *Rheum ribes* 125 mg/mL; **b2)** *Rheum ribes* 250 mg/mL; **b3)** *Rheum ribes* 500 mg/mL; **c1)** *Rumex nepalensis* 125 mg/mL; **c2)** *Rumex nepalensis* 250 mg/mL; **c3)** *Rumex nepalensis* 500 mg/mL; **d1)** *Asphodeline lutea* 125 mg/mL; **d2)** *Asphodeline lutea* 250 mg/mL; **d3)** *Asphodeline lutea* 500 mg/mL; **e1)** %50 Etanol-su

R. nepalensis alt ekstrelerinin fibrinolitik aktivite ölçüm sonuçları

%50 Sulu etanol çözeltisi içerisinde 500 mg/mL konsantrasyonda hazırlanmış olan *R. nepalensis* alt ekstreleri (*n*-hekzan, DKM ve sulu alt ekstre) ile kontrol örneği olan %50 sulu etanol çözeltisi, 20 µL mikropipet ucu kullanılarak cam petri kabında açılan 4'er mm çapındaki oyuklara uygulanmıştır. 37°C'de 24 saat etüvde inkübasyona bırakılmıştır. Eritme alanı hesabı için iki dikey çap ölçülmüştür. Alt ekstrelerin eritme alanları Çizelge 4.5'te gösterilmiştir.



Resim 4.3. Alt ekstratların fibrin plak eritme alanları; *R. nepalensis* a) *n*-Hekzan alt ekstratı; b) DKM alt ekstratı; c) Sulu alt ekstrat; d) %50 Etanol-su

Çizelge 4.5. *R. nepalensis* ekstratının alt ekstratların eritme alanları

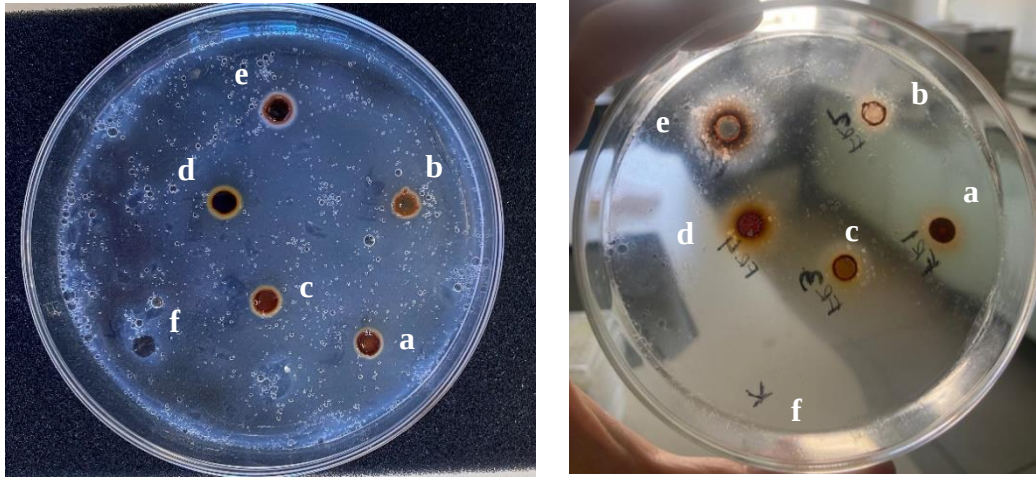
Alt ekstrat (500 mg/mL)	Ortalama yarıçap (r) değeri (mm)	Ortalama alan* (mm ²)	Plazmin eşdeğeri (U/mL)
<i>n</i> -Hekzan alt ekstratı	2,750	23,94250	-
DKM alt ekstratı	5,000	78,50000	-
Sulu alt ekstrat	12,500	490,62500	1,3895
Kontrol	0	-	-

* $y = 219,74x^2 - 14,717x + 86,841$ ikinci dereceden bir bilinmeyenli denklemde sabit değer 86,841 olduğundan alanı 86,841 mm² değerinden düşük olanların ünite karşılığı hesaplanamamaktadır.

En yüksek fibrinolitik aktivite gösteren sulu alt ekstrat, kromatografik yöntemler kullanılarak fraksiyonlarına ayrılmıştır.

R. nepalensis'in sulu alt ekstratından elde edilen fraksiyonların fibrinolitik aktivite ölçüm sonuçları

%50 sulu etanol çözeltisi içerisinde 500 mg/mL konsantrasyonda hazırlanmış olan *R. nepalensis* fraksiyonları (FR1-FR5) ile kontrol örneği olan %50 sulu etanol çözeltisi, 20 µL mikropipet ucu kullanılarak cam petri kabında açılan 4'er mm çapındaki oyuklara uygulanmıştır. 37°C'de 24 saat etüde inkübasyona bırakılmıştır. Eritme alanı hesabı için iki dikey çap ölçülmüştür. Fraksiyonların eritme alanları Resim 4.4 ve Çizelge 4.6'da sunulmuştur.



Resim 4.4. Fraksiyonların fibrin plak eritme alanları **a)** FR1; **b)** FR2; **c)** FR3; **d)** FR4; **e)** FR5; **f)** %50 Etanol-su

Çizelge 4.6. Sulu alt ekstreden elde edilen fraksiyonların eritme alanları

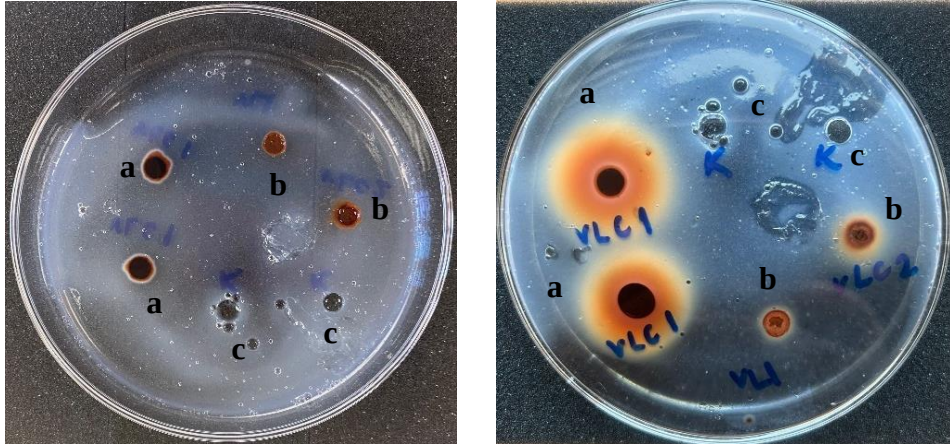
<i>R. nepalensis</i> fraksiyonları (500 mg/mL)	Ortalama yarıçap (r) değeri (mm)	Ortalama alan* (mm ²)	Plazmin eşdeğeri (U/mL)
FR1	3,000	28,26000	-
FR2	3,500	38,46500	-
FR3	4,500	63,58500	-
FR4	5,000	78,50000	-
FR5	12,750	510,64250	1,4226
Kontrol	0	-	-

* $y = 219,74x^2 - 14,717x + 86,841$ ikinci dereceden bir bilinmeyenli denklemde sabit değer 86,841 olduğundan alanı 86,841 mm² değerinden düşük olanların ünite karşılığı hesaplanamamaktadır.

Alt fraksiyonlama çalışmalarına, fraksiyonlar arasında en yüksek fibrinolitik aktivite gösteren FR5 üzerinden devam edilmiştir.

R. nepalensis FR5 alt fraksiyonlarının fibrinolitik aktivite ölçüm sonuçları

%50 sulu etanol çözeltisi içerisinde 500 mg/mL konsantrasyonda hazırlanmış olan *R. nepalensis* alt fraksiyonları (VLC1 ve VLC2) ile kontrol örneği olan %50 sulu etanol çözeltisi, 20 µL mikropipet ucu kullanılarak cam petri kabında açılan 4'er mm çapındaki oyuklara uygulanmıştır. 37°C'de 24 saat etüvde inkübasyona bırakılmıştır. Eritme alanı hesabı için iki dikey çap ölçülmüştür. Alt fraksiyonların eritme alanları Resim 4.5 ve Çizelge 4.7'de sunulmuştur.



Resim 4.5. Alt fraksiyonların fibrin plak eritme alanları
a) VLC1; b) VLC2; c) %50 Etanol-su

Çizelge 4.7. Alt fraksiyonların eritme alanları

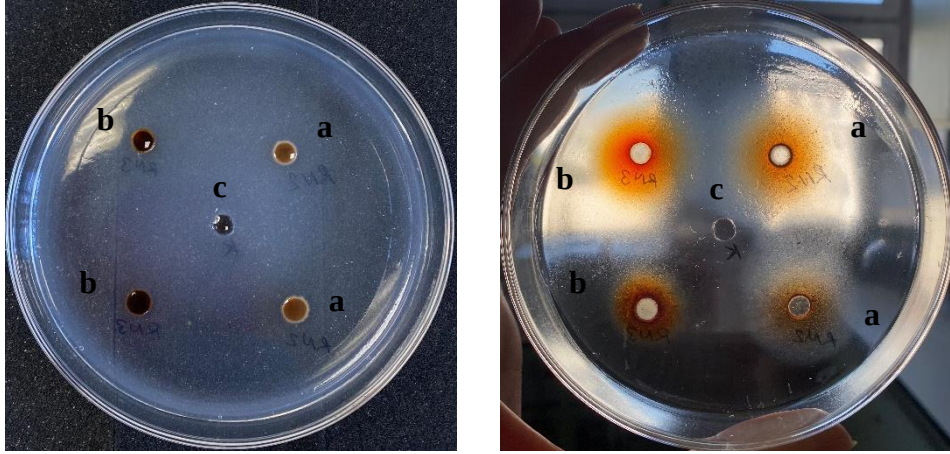
Alt fraksiyonlar (500 mg/mL)	Ortalama yarıçap (r) değeri (mm)	Ortalama alan* (mm ²)	Plazmin eşdeğeri (U/mL)
VLC1	15,500	755,17000	1,7778
VLC2	5,500	94,98500	0,2289
Kontrol	0	-	-

* $y = 219,74x^2 - 14,717x + 86,841$ ikinci dereceden bir bilinmeyenli denklemde sabit değer 86,841 olduğundan alanı 86,841 mm² değerinden düşük olanların ünite karşılığı hesaplanamamaktadır.

İzolasyon çalışmaları, alt fraksiyonlar arasında en yüksek fibrinolitik aktivite gösteren VLC1 üzerinden devam etmiştir.

İzole edilen RN2 ve RN3 bileşiklerinin fibrinolitik aktivite ölçüm sonuçları

%50 sulu etanol çözeltisi içerisinde 100 mg/mL konsantrasyonda hazırlanmış olan *R. nepalensis*'ten izole edilen bileşikler (RN2 ve RN3) ile kontrol örneği olan %50 sulu etanol çözeltisi, 20 µL mikropipet ucu kullanılarak cam petri kabında açılan 4'er mm çapındaki oyuklara uygulanmıştır. 37°C'de 24 saat etüvde inkübasyona bırakılmıştır. Eritme alanı hesabı için iki dikey çap ölçülmüştür. Alt fraksiyonların eritme alanları Resim 4.6 ve Çizelge 4.8'de sunulmuştur.



Resim 4.6. İzole edilen bileşiklerin fibrin plak eritme alanları
a) RN2; b) RN3; c) %50 Etanol-su

Çizelge 4.8. İzole edilen bileşiklerin eritme alanları

Bileşikler (100 mg/mL)	Ortalama yarıçap (r) değeri (mm)	Ortalama alan* (mm ²)	Plazmin eşdeğeri (U/mL)
RN2	17,125	928,65500	1,9911
RN3	11,875	460,01000	1,3371
Kontrol	0	-	-

* $y = 219,74x^2 - 14,717x + 86,841$ ikinci dereceden bir bilinmeyenli denklemde sabit değer 86,841 olduğundan alanı 86,841 mm² değerinden düşük olanların ünite karşılığı hesaplanamamaktadır.

İzole edilen bileşiklerin fibrinolitik etkilerinin *in vitro* yöntem ile karşılaştırılması sonucunda, *R. nepalensis*'in en etkili alt fraksiyonunun biyoaktif bileşiği olan RN2 kodlu bileşiğin, RN3 kodlu bileşiğe kıyasla daha yüksek etki gösterdiği tespit edilmiştir. Bu doğrultuda, *in vivo* çalışmalarda intra-abdominal adezyon modelinde etkisinin değerlendirilmesi amacıyla seçilen bileşik RN2 kodlu bileşik olmuştur.

4.2.2. *In vivo* biyolojik aktivite bulguları

Adezyon skorları

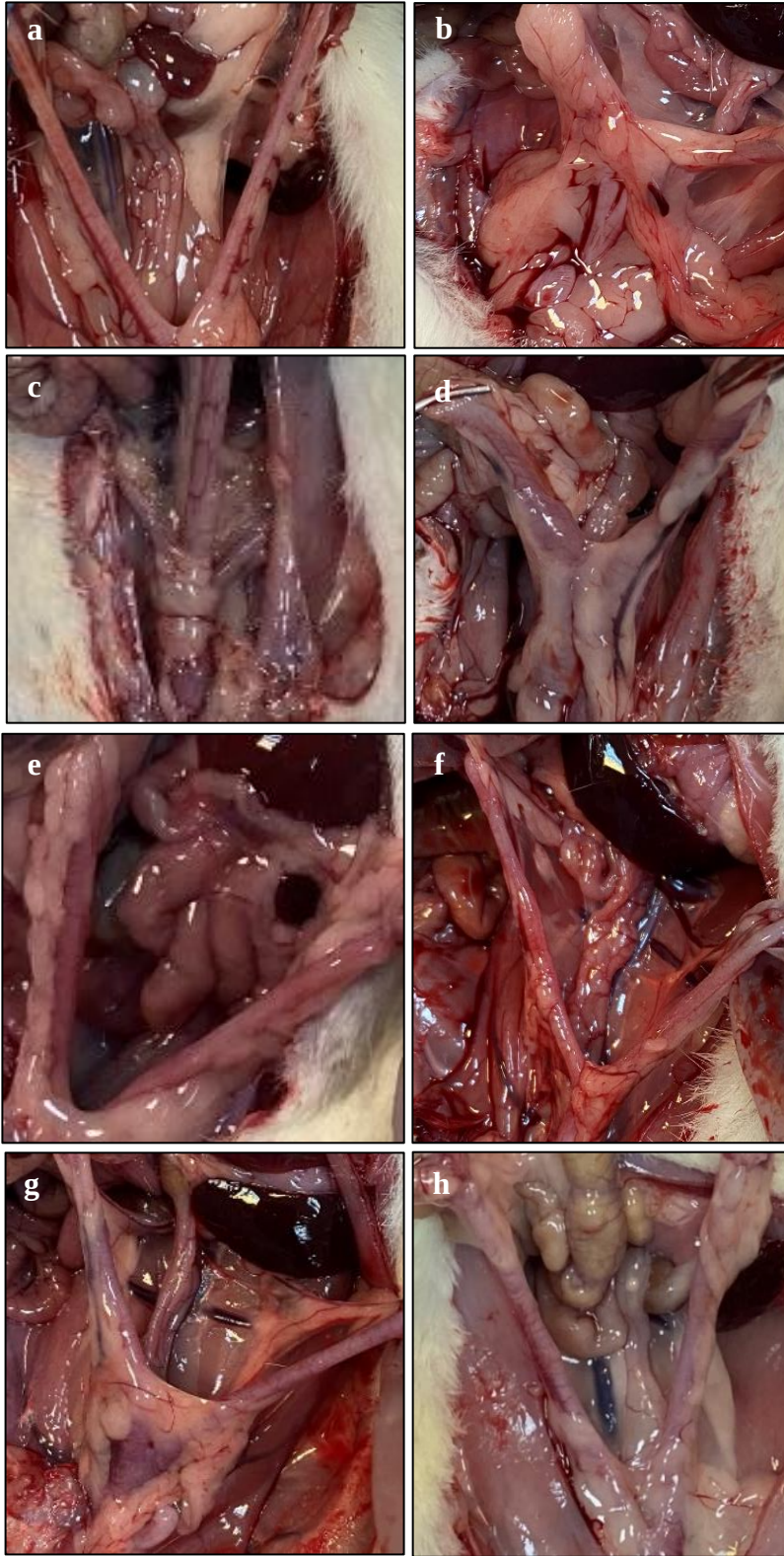
In vitro fibrinolitik aktivite deneylerinde en yüksek aktivite gösteren ekstre (*R. nepalensis* kök ekstresi), alt ekstre (sulu alt ekstre), fraksiyon (FR5), alt fraksiyon (VLC1) ve bileşiğin (RN2) adezyon oluşumu üzerindeki etkileri, ratlarda oluşturulan deneysel intra-abdominal adezyon modeli ile değerlendirilmiştir (Resim 4.7). Deney hayvanlarında gelişen adezyon, oluşan hasara, şiddete ve dereceye göre makroskobik olarak skorlanmış ve adezyon skor

sonuçları Çizelge 4.9’da sunulmuştur. Skorlamalar birlikte değerlendirildiğinde, tedavi gruplarından sulu alt ekstre dışındaki diğer grupların, kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede etkili olduğu ($p<0,0001$) tespit edilmiştir.

Çizelge 4.9. İntra-abdominal adezyon modelinde gruplara göre adezyon skorları

Gruplar	Skor 1	Skor 2	Skor 3
Sham	0,00±0,00****	0,00±0,00****	0,00±0,00****
Kontrol	4,00±0,00	3,00±0,00	3,00 ±0,00
Ana ekstre	1,00±0,00****	1,00±0,00****	1,00±0,00****
Sulu alt ekstre	3,20±0,40	2,50±0,22	2,50±0,22
FR5	1,50±0,22****	1,00±0,00****	0,50±0,22****
VLC1	1,30±0,49****	0,67±0,21****	0,83±0,31****
RN2	2,00±0,26****	1,70±0,33****	1,50±0,22****
Referans	1,60±0,24****	1,60±0,24****	1,40±0,25****

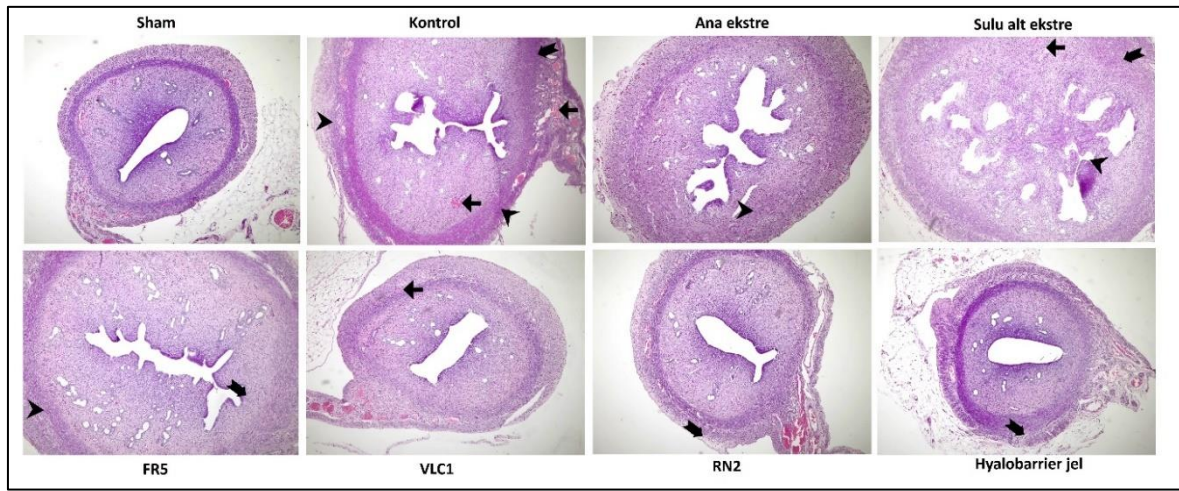
*Skor 1: Kornu uterilerdeki defekte göre adezyonun değerlendirilmesi; Skor 2: Makroskopik bakıda adezyonun şiddeti; Skor 3: Adezyonun derecesine göre; ****: $p<0,0001$ (sonuçlar kontrol grubuna göre kıyaslanmıştır)*



Resim 4.7. İntra-abdominal adezyon modeli **a)** Sham grubu **b)** Kontrol grubu **c)** Ana ekstre grubu **d)** Sulu alt ekstre grubu **e)** FR5 grubu **f)** VLC1 grubu **g)** RN2 grubu **h)** Referans grubu

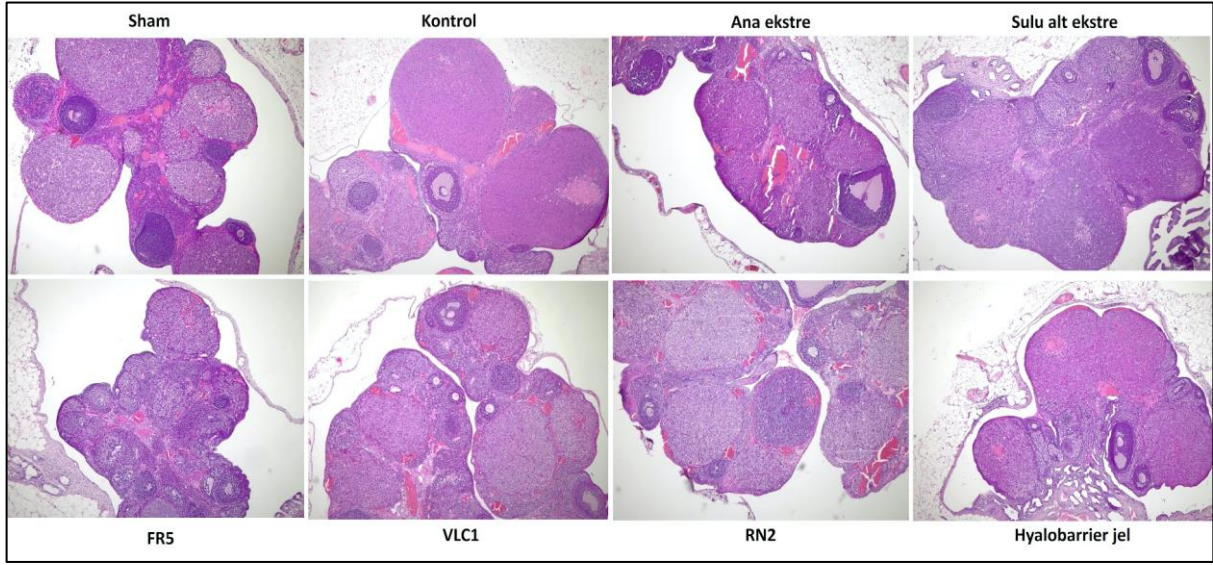
4.2.3. Histopatolojik ve immunohistokimyasal bulgular

Deney gruplarına ait uterus doku kesitlerinin histopatolojik değerlendirmesinde, sham grubuna ait uterus ve ovaryum dokularına ait kesitlerde normal histomorfolojik görünüm izlenmiştir. Kontrol grubuna ait uterus kesitlerinde enflamasyon, konjesyon ve yağ hücre infiltrasyonu görülmüştür. Tedavi gruplarında bazı alanlarda bu değişimlerin sürerken aynı şekilde histopatolojik değişikliklerin kısmen azaldığı, özellikle VLC1 ve RN2 gruplarında iyileşmenin belirgin olduğu dikkati çekmiştir (Resim 4.8).



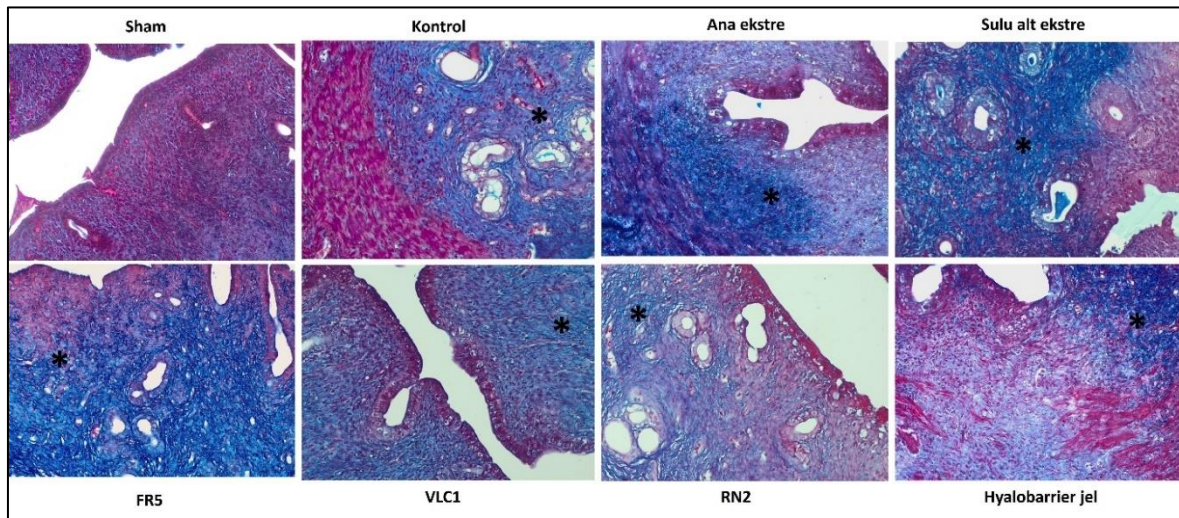
Resim 4.8. Deney gruplarına ait uterus kesitlerinde enflamasyon (◀), konjesyon (↔) ve fibrozis (↑) izlenmektedir (HE, X50)

Ovaryum dokusunda deney grupları arasında stroma ve parankimada belirgin değişimler izlenmemiştir (Resim 4.9). Dokular fibrozis ve pro-enflamatuvar sitokinler açısından değerlendirildiğinde, uterusda ovaryuma göre histopatolojik değişimlerin daha belirgin olduğu, tedavi gruplarında genel olarak anti-enflamatuvar etkinin izlendiği ve özellikle VLC1 ve RN2 gruplarında adezyon formasyonunda kısmen de olsa terapötik etkinin varlığı dikkati çekmiştir.



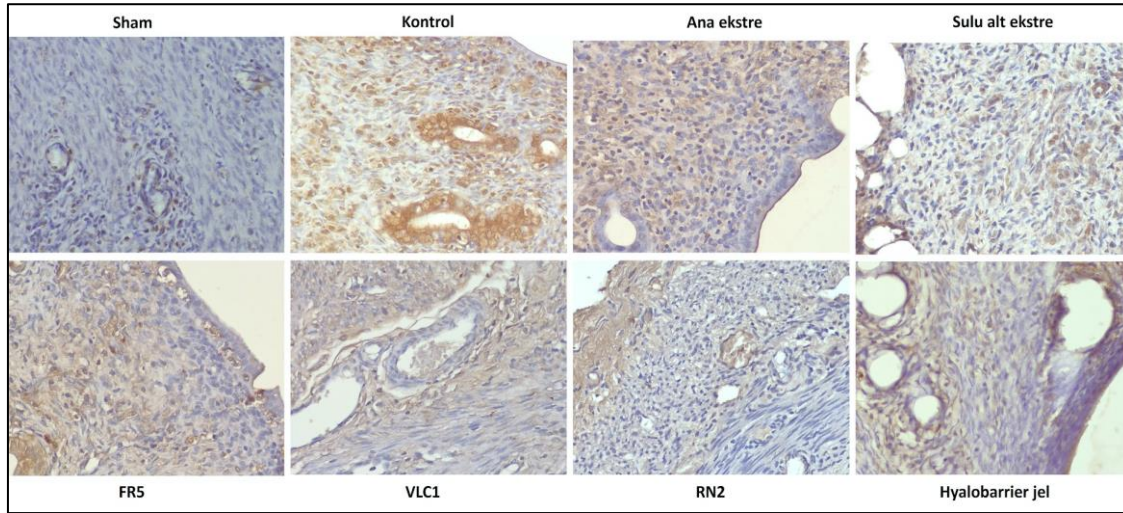
Resim 4.9. Deney gruplarına ait ovaryum kesitleri (HE, X50)

Deney gruplarına ait uterus doku kesitlerinde fibrotik alan yüzdesi değerlendirildiğinde; Sham grubu fibrotik alan yüzdesinin kontrol, referans, ana ekstre, sulu alt ekstre, FR5, VLC1 ve RN2 gruplarına göre istatistiksel açıdan anlamlı olarak düşük olduğu belirlenmiştir (sırasıyla; $p<0,001$; $p=0,006$; $p<0,001$; $p<0,001$; $p<0,001$; $p<0,001$). Kontrol grubunda ise fibrotik alan yüzdesi referans grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p<0,001$). VLC1 ve RN2 gruplarına ait fibrotik alan yüzdelерinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük olduğu tespit edilmiştir (sırasıyla, $p=0,026$ ve $p=0,001$) Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlılık izlenmemiştir (Resim 4.10).



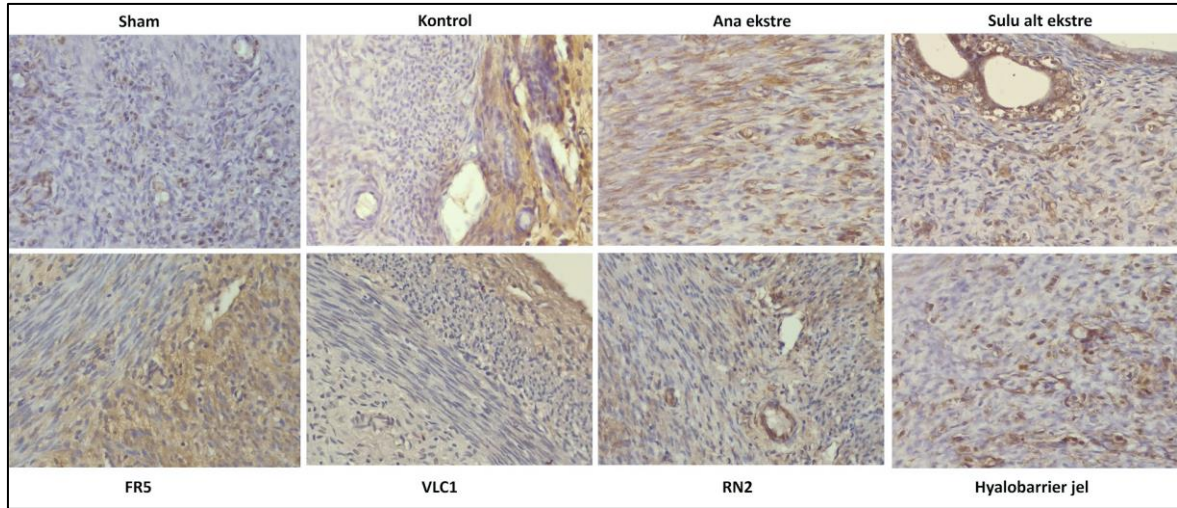
Resim 4.10. Deney gruplarına ait uterus kesitlerinde fibrotik alanlar (*) görülmektedir (MT, X400)

Deney gruplarına ait uterus dokusunda TNF- α , IL-6 ve IL-8 immunopozitif alan yüzdeleri istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, Sham grubuna ait TNF- α immunopozitif alan yüzdesinin diğer deney gruplarına göre anlamlı derecede düşük olduğu bulunmuştur ($p<0,001$). RN2 grubuna ait TNF- α immunoreaktivitesinin kontrol, ekstre ve alt ekstre grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azalışı dikkati çekmiştir (sırasıyla; $p=0,021$; $p=0,045$; $p=0,041$) (Resim 4.11).



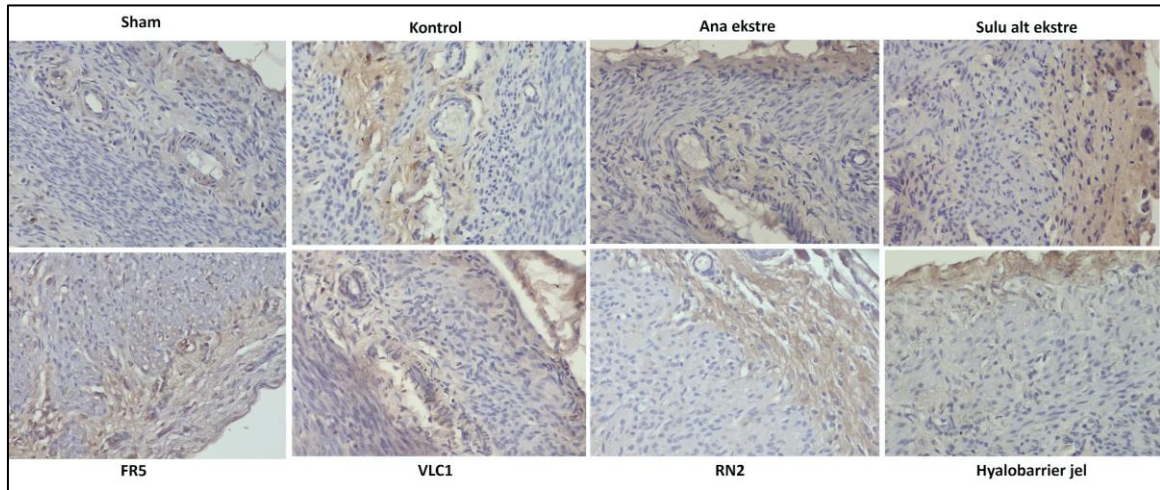
Resim 4.11. Deney gruplarına ait uterus kesitlerinde TNF- α immunoreaktivitesi (DAB, Mayer's hematoxilen, X400)

Deney gruplarına ait uterus dokusunda IL-6 immunopozitif alan yüzdeleri istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, Sham grubunda IL-6 immunopozitif alan yüzdesinin, diğer deney gruplarına göre anlamlı derecede düşük olduğu izlenmiştir (sırasıyla; $p=0,02$; $p<0,001$; $p<0,001$; $p<0,001$; $p<0,001$; $p<0,001$; $p<0,001$). Kontrol, sulu alt ekstre ve fraksiyon (FR5) gruplarına ait IL-6 immunopozitif alan yüzdelерinin referans gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede artış gösterdiği tespit edilmiştir (sırasıyla; $p<0,001$; $p=0,001$ ve $p=0,019$). Diğer taraftan, ana ekstre ve alt fraksiyon (VLC1) gruplarına ait IL-6 immunopozitif alan yüzdelерinin, Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük olduğu belirlenmiştir (sırasıyla; $p=0,024$ ve $p=0,005$) (Resim 4.12).



Resim 4.12. Deney gruplarına ait uterus kesitlerinde IL-6 immunoreaktivitesi (DAB, Mayer's hematoksilen, X400)

Deney grupları arasında IL-8 immunopozitif alan yüzdesi istatistiksel olarak değerlendirildiğinde gruplar arası anlamlılık izlenmemiştir. Tedavi grupları arasında en düşük immunoreaktivite yüzdesi RN2 grubunda izlenirken, aynı şekilde Kontrol grubuna ait IL-8 immunoreaktivite azalışı istatistiksel olarak anlamlı olmasa da dikkati çekmiştir (Resim 4.13).



Resim 4.13. Deney gruplarına ait uterus kesitlerinde IL-8 immunoreaktivitesi (DAB, Mayer's hematoksilen, X400)

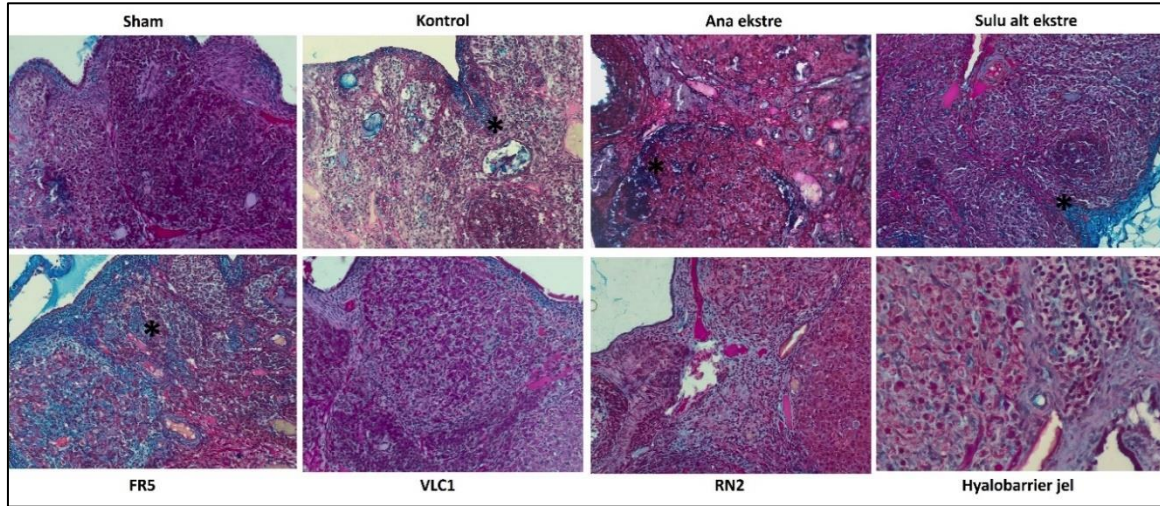
Uterus immunopozitif alan yüzde değerleri Çizelge 4.10'da sunulmuştur.

Çizelge 4.10. Uterus immunopozitif alan yüzdeleri

Gruplar	Fibrotik alan yüzdesi	TNF- α immunopozitif alan yüzdesi (%)	IL-6 immunopozitif alan yüzdesi (%)	IL-8 immunopozitif alan yüzdesi (%)
Sham	16,90 $\pm$ 0,60	0,40 $\pm$ 0,10	1,41 $\pm$ 0,25	0,26 $\pm$ 0,05
Kontrol	42,35 $\pm$ 2,61	21,36 $\pm$ 1,10	20,54 $\pm$ 1,13	14,63 $\pm$ 0,89
Ana ekstre	33,23 $\pm$ 1,90	20,14 $\pm$ 0,72	14,98 $\pm$ 0,79*	13,43 $\pm$ 0,63
Sulu alt ekstre	32,77 $\pm$ 2,18	19,95 $\pm$ 0,71	17,57 $\pm$ 0,70	13,44 $\pm$ 0,56
FR5	30,03 $\pm$ 0,79	19,96 $\pm$ 0,86	16,81 $\pm$ 0,94	14,07 $\pm$ 0,70
VLC1	29,69 $\pm$ 1,46	19,10 $\pm$ 0,69	14,14 $\pm$ 0,76**	14,28 $\pm$ 0,66
RN2	27,34 $\pm$ 1,68	16,30 $\pm$ 0,68*	15,59 $\pm$ 0,64	12,80 $\pm$ 0,66
Referans	25,38 $\pm$ 1,47***	17,55 $\pm$ 0,49	12,35 $\pm$ 0,62***	12,06 $\pm$ 0,53

*: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$ (sonuçlar kontrol grubuna göre kıyaslanmıştır)

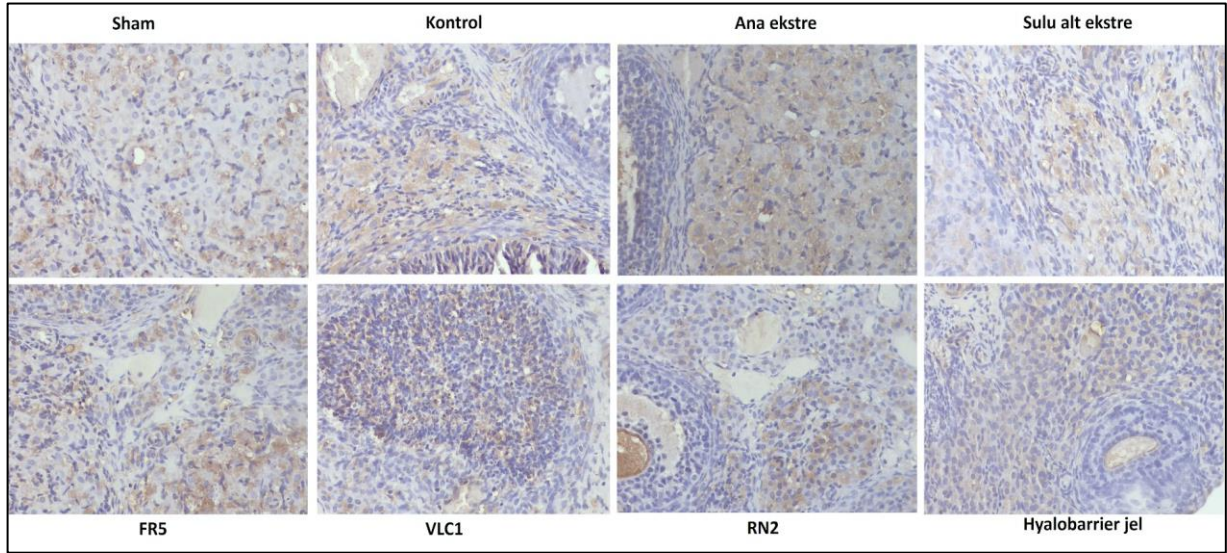
Deney gruplarına ait ovaryum doku kesitlerinde fibrotik alan yüzdesi istatistiksel olarak karşılaştırıldığında, sham grubu fibrotik alan yüzdesi ortalama değeri diğer gruplara göre düşük bulunmuştur. Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlılık dikkati çekmemiştir (Resim 4.14).



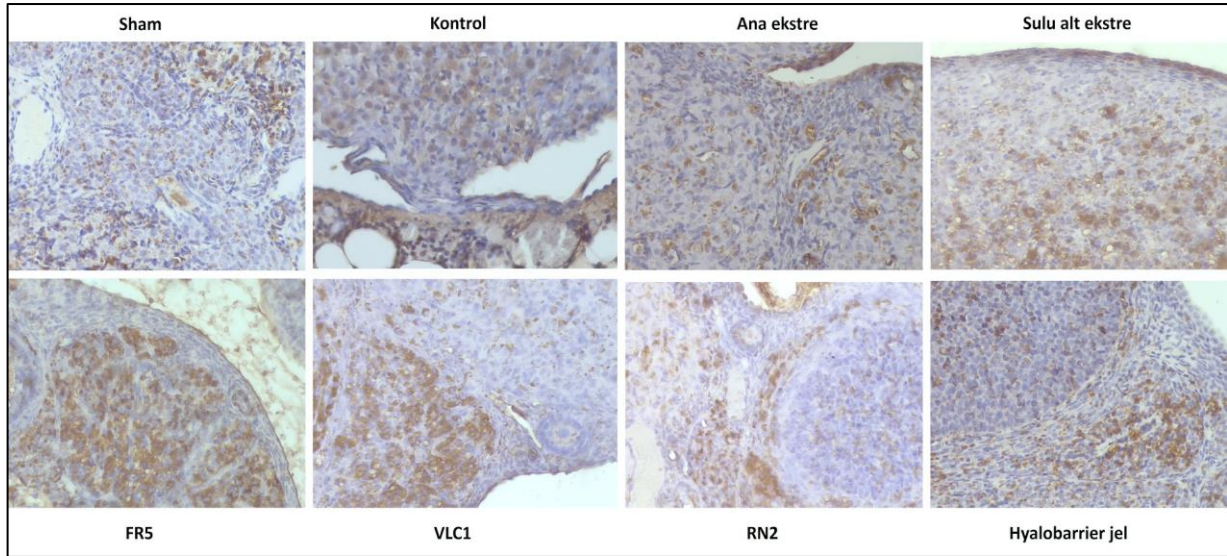
Resim 4.14. Deney gruplarına ait ovaryum kesitlerinde fibrotik alanlar (*) izlenmektedir (MT, X400)

Ovaryum dokusuna ait kesitler immunohistokimyasal analizler sonrası değerlendirildiğinde, TNF- α , IL-6 ve IL-8 immunopozitif alan yüzdeleri, sham gruplarına ait örneklerde diğer gruplara göre düşük bulunmuştur (Resim 4.15, Resim 4.16, Resim 4.17). Ancak bu düşüş

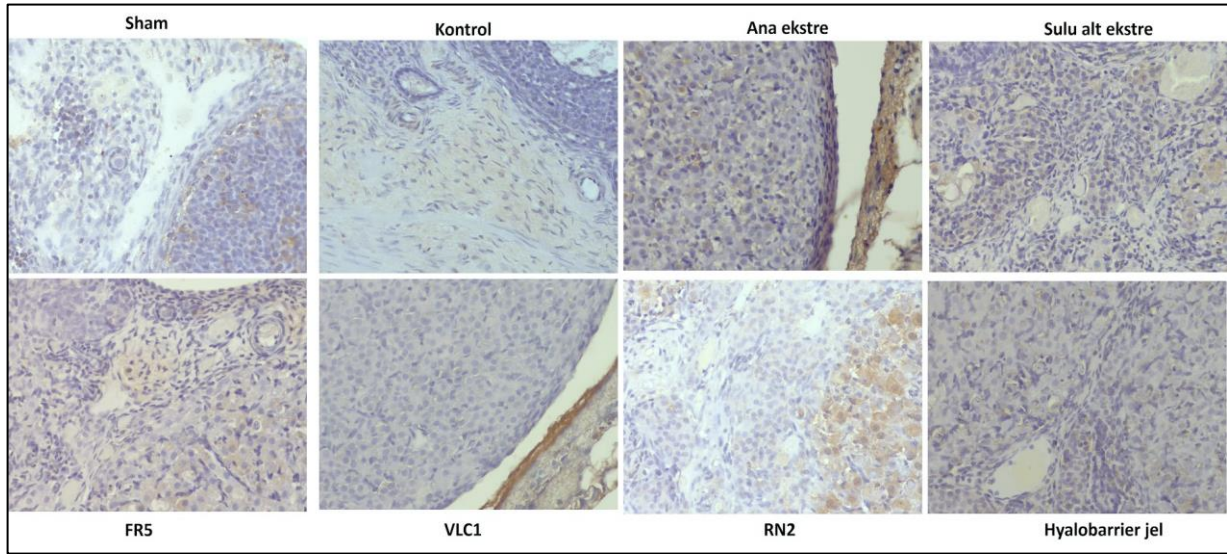
IL-8’de istatistiksel olarak anlamlılık göstermemiştir. TNF- α immunoreaktivitesinde, RN2 grubuna ait kesitlerde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azalış izlenmiştir ($p=0,029$). IL-6 immunopozitif alan yüzdesinde ise FR5 grubunda, kontrol grubuna göre anlamlı düşüş gözlenmiştir ($p=0,050$). Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlılık dikkati çekmemiştir.



Resim 4.15. Deney gruplarına ait ovaryum kesitlerinde TNF- α immunoreaktivitesi (DAB, Mayer's hematoksilen, X400)



Resim 4.16. Deney gruplarına ait ovaryum kesitlerinde IL-6 immunoreaktivitesi (DAB, Mayer's hematoksilen, X400)



Resim 4.17. Deney gruplarına ait ovaryum kesitlerinde IL-8 immunoreaktivitesi (DAB, Mayer's hematoxilen, X400)

Ovaryum immunopozitif alan yüzde değerleri Çizelge 4.11'de sunulmuştur.

Çizelge 4.11. Ovaryum immunopozitif alan yüzdeleri

Gruplar	Fibrotik alan yüzdesi	TNF- α immunopozitif alan yüzdesi (%)	IL-6 immunopozitif alan yüzdesi (%)	IL-8 immunopozitif alan yüzdesi (%)
Sham	1,55 $\pm$ 0,16	1,58 $\pm$ 0,19	4,16 $\pm$ 0,68	1,93 $\pm$ 0,29
Kontrol	2,85 $\pm$ 0,34	9,43 $\pm$ 0,62	16,17 $\pm$ 0,69	1,74 $\pm$ 0,22
Ana ekstre	2,83 $\pm$ 0,40	7,18 $\pm$ 0,80	13,76 $\pm$ 0,67	2,39 $\pm$ 0,30
Sulu alt ekstre	3,10 $\pm$ 0,44	7,94 $\pm$ 0,56	13,70 $\pm$ 0,66	1,99 $\pm$ 0,22
FR5	2,90 $\pm$ 0,34	6,72 $\pm$ 0,44	12,78 $\pm$ 0,67*	2,26 $\pm$ 0,25
VLC1	3,04 $\pm$ 0,33	8,43 $\pm$ 0,53	13,81 $\pm$ 0,70	2,38 $\pm$ 0,33
RN2	3,10 $\pm$ 0,42	6,13 $\pm$ 0,39*	13,08 $\pm$ 0,60	2,68 $\pm$ 0,41
Referans	2,50 $\pm$ 0,41	7,84 $\pm$ 0,89	14,20 $\pm$ 0,73	1,97 $\pm$ 0,20

*: $p < 0,05$ (sonuçlar kontrol grubuna göre kıyaslanmıştır)

Toplam antioksidan seviye ve toplam oksidan seviye tayini

İntra-abdominal adezyon modelinde belirlenen etkilerin antioksidan aktivite ile ilişki olup olmadığının değerlendirilmesi amacıyla dokuların TAS ve TOS düzeylerine bakılmış ve OSI değerleri hesaplanmıştır. Sonuçlar Çizelge 4.12’de sunulmuştur. Değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Çizelge 4.12. Oksidatif stres indeksi değerleri

Gruplar	*OSI
Sham	0,300 ± 0,030
Kontrol	0,420 ± 0,029
Ana ekstre	0,480 ± 0,062
Sulu alt ekstre	0,460 ± 0,055
FR5	0,420 ± 0,031
VLC1	0,480 ± 0,043
RN2	0,430 ± 0,066
Referans	0,430 ± 0,034

* OSI: Oksidatif Stres İndeksi

5. TARTIŞMA

Batın cerrahisi en yaygın yapılan ameliyatlar arasındadır. Bu ameliyatlar, yemek borusu, mide, karaciğer, pankreas ve böbrek gibi çeşitli organ ve yapıları içermektedir. Cerrahi işlemler sonrasında periton içinde meydana gelen adezyon, önemli sorunlardan biri olarak kabul edilmektedir. PAA'ya bağlı birtakım komplikasyonların gelişmesi de sıklıkla yaşanan problemler arasındadır. Karın içi adezyonlar genellikle asemptomatik olmakla birlikte, ince bağırsak obstrüksiyonu, fistül gelişimi, kronik abdominopelvik ağrı, infertilite, üretral obstrüksiyon ve postoperatif kanamaya neden olabilir. Yapılan araştırmalarda, daha önce ameliyat geçirmiş hastaların %33'ünün, adezyona bağlı komplikasyonlar nedeniyle tekrar tedaviye ihtiyaç duyduğu, ayrıca bazı olgularda gelişen komplikasyonların mortaliteye neden olduğu gösterilmiştir (Kocaay, Çelik, Eker, Çetinkaya ve Genç, 2015; Menzies, 1993). Tüm bunlara bağlı olarak adezyonun tedavi maliyetleri artmakta ve ülkelerin sağlık sistemlerinde maddi kayıplara sebebiyet vermektedir. Dolayısıyla, adezyon oluşumunun önlenmesi ve ilerlemesi konularında özellikle son yıllarda birçok bilimsel çalışma yürütülmektedir. Yeni ajanların keşfi ve geliştirilmesine yönelik *in vitro* ve *in vivo* çalışmalar önem kazanmaktadır.

Klinik uygulamada, PAA oluşumunu önlemek ve gelişen adezyonu tedavi etmek amacıyla uygulanan çeşitli tedavi yöntemleri mevcuttur. Ancak adezyon oluşumuna dahil olan süreçlerin komplike olması, tedavi yöntemlerinin zamanında ve doğru şekilde uygulanmasını gerektirmektedir. Adezyonun patofizyolojisinde hücre proliferasyonu, apoptoz, inflamasyon, oksidasyon, koagülasyon ve fibrinoliz yer aldığından (Hu ve diğerleri, 2021), tüm bu süreçlere bağlı olarak, tedavi yaklaşımları arasında enflamatuvar yanıtın azaltılması, fibrinolizin aktive edilmesi, koagülasyonun engellenmesi ve kolajen sentezinin inhibisyonu yer almaktadır (Kocaay, Çelik, Eker, Çetinkaya ve Genç, 2015). Yapılan çok sayıdaki araştırmaya rağmen, intra-abdominal adezyonunun oluşumunun engellenmesine ve tedavisine yönelik kullanımı kolay olan ve yan etki potansiyeli taşımayan ajanların ya da terapötik yöntemlerin arayışı günümüzde de devam etmektedir.

Son yıllarda, PAA'nın iyileşme süreçlerinde etkili olabileceği ön görülen tıbbi bitkiler üzerinde birçok çalışmanın yapıldığı görülmektedir (Parsaei, Karimi, Asadi ve Rafieian-Kopaei, 2013; Rajaei ve diğerleri, 2014; Karimi ve diğerleri, 2016a; Süntar, Demirel,

Ceribasi, Ergin ve Gökbulut, 2021). Bu çalışmalarda, bitki ekstrelerinin (*Matricaria chamomilla*, *Silybum marianum*, *Crocus sativus*, *Portulaca oleracea*, *Rumex crispus*, *Camellia sinensis*, *Rosmarinus officinalis*, *Malva sylvestris*, *Boswellia sacra*, *Ecballium elaterium*, *Bletilla striata*, *Punica granatum*, *Rosa damascena*, vb.) (Arjmand ve diğerleri, 2021; Ghadiri ve diğerleri, 2021; Jaafari ve diğerleri, 2021; Jamshidi-adeqania ve diğerleri, 2022; Jomezadeh ve diğerleri, 2019; Karimi ve diğerleri, 2016a; Karimi, Parsaei, Shafiei-Alavijeh, Rafieian-Kopaei ve Asadi, 2016b; Liu ve diğerleri, 2019; Mahmoudieh ve diğerleri, 2020; Okur ve diğerleri, 2014; Parsaei, Karimi, Asadi ve Rafieian-Kopaei, 2013; Rahmanian-Devin ve diğerleri, 2021; Rajaei ve diğerleri, 2014; Roohbakhsh ve diğerleri, 2020; Süntar, Demirel, Ceribasi, Ergin ve Gökbulut, 2021) ve doğal bileşiklerin (berberin, breviskapin, bromelain, krosin, kurkumin, emodin, fukoidan, gallik asit, ghrelin, honokiol, ligustrazin, paeniflorin, resveratrol, rosmarinik asit, salvionat, silimarin, vb.) *in vivo* deney modellerinde etkileri değerlendirilmiş ve adezyon oluşumunu engelleyici aktiviteleri ortaya konulmuştur (Agacayak ve diğerleri, 2015; Arjmand ve diğerleri, 2021; Bianchi ve diğerleri, 2016; Charboneau, Delaney ve Beilman, 2018; Gao ve diğerleri, 2017; Javanmardi, Golmohammadi ve Mazaheri-khamene, 2017; Kakanezhadi ve diğerleri, 2022; Sui ve diğerleri, 2007; Sahbaz ve diğerleri, 2015a; Türkoğlu ve diğerleri, 2015; Wang ve diğerleri, 2014; Wei ve diğerleri, 2016; Wei ve diğerleri, 2017; Zhang ve diğerleri, 2014; Zhang ve diğerleri, 2015; Zhang, Song, Li, Zhang ve Zeng, 2016; Wei ve diğerleri, 2018). Bu çalışmalardan, söz konusu tıbbi bitkilerin ve sekonder metabolitlerin fibrinolitik, antiplatelet, anti-enflamatuvar, antioksidan ve anti-anjiyogenik aktiviteler göstererek adezyonun önlenmesi ve tedavisinde etkili olduğu anlaşılmaktadır.

Adezyon oluşumu, post-operatif dönemde, uygun şekilde oluşması beklenen fibrin yapısı yerine, düşük fibrinolitik etkiye bağlı olarak, kalıcı doku bantlarının meydana gelmesi ile seyretmektedir. Bu bağlamda, fibrinolitik, trombolitik ve antikoagülan etki potansiyeli gösteren ajanlar intra-peritoneal adezyonu önlemede önemli rol oynamaktadır. Bu bilgiler ışığında, bu aktiviteleri gösteren doğal bileşiklerin, PAA oluşumunun önlenmesinde ve tedavisinde potansiyel olabilecekleri düşünülmektedir. Patofizyolojik süreçler dikkate alındığında, *Arnebia euchroma* (Royle) I.M.Johnst., *Syzygium cumini* (L.) Skeels, *Allium cepa* L., *Allium sativum* L. ve *Ginkgo biloba* L., *Morinda citrifolia* L., *Dimocarpus longan* Lour., *Angelica acutiloba* (Siebold & Zucc.) Kitag., *Cydonia oblonga* Mill., *Glycine max* (L.) Merr., *Panax japonicus* (T.Nees) C.A.Mey., *Sterculia foetida* L., *Thymus atlanticus* (Ball) Pau bitkilerinin trombin ve fibrin oluşum ve degradasyon basamaklarını regüle

etmeleri dolayısıyla (Ablat, Ablimit, Abudoukadier, Kadeer ve Yang, 2023; Alam ve diğerleri, 2021; Fukuda ve diğerleri, 2009; Jung ve diğerleri, 2002; Khouya ve diğerleri, 2020; Matsuda ve diğerleri, 1989; Murata ve diğerleri, 2014; Naderi ve diğerleri, 2005; Nguyen ve diğerleri, 2021; Rehman ve diğerleri, 2019; Suzuki ve diğerleri, 2003; Zhou ve diğerleri, 2014) PAA'ya karşı olumlu etki oluşturabilecekleri öngörülebilir. Benzer şekilde antiplatelet, antikoagülan, trombolitik, hemostatik, anti-enflamatuvar ve fibrinolitik aktivitelere sahip bitki kaynaklı biyoaktif bileşenler, trombin ve fibrin oluşum/yıkım mekanizmasını etkilemektedir. Yapılan çalışmalarda, doğal bileşiklerin serin proteaz enzim aktivitesinin fibrinolitik sistemde önemli olduğu rapor edilmiştir. Bufadienolitler, siyanidin, epigallokateşin gallat, elajik asit, eskulin, hiperisin, hiperozit, mirisetin, rutin, kersetin, silibin, salisin, sennozit A, sennozit B gibi bileşiklerin trombin, elastaz, ürokinaz, tripsin ve plazmini regüle ettiği ortaya konulmuştur. Bu bulgular bu bileşiklerin fibrinolitik sistemde rol oynayabileceğini göstermektedir (Bijak ve diğerleri, 2014; Jedinák, Maliar, Grancai ve Nagy, 2006; Kolodziejczyk-Czepas ve diğerleri, 2017; Mozzicafreddo, Cuccioloni, Eleuteri, Fioretti ve Angeletti, 2006; Mozzicafreddo ve diğerleri, 2008; Sartor ve diğerleri, 2002; Viskupicova, Danihelova, Majekova, Liptaj ve Sturdik, 2011).

Daha önce yapılan prelinik çalışmalarda, *Rheum rhaponticum* L. ve *Rheum rhabarbarum* L. bitkilerinin antikoagülan ve profibrinolitik etkileri; *Rubia cordifolia* L.'nin antitrombotik, fibrinolitik ve anti-enflamatuvar etkileri; *Rumex acetosa* L.'nin antiplatelet etkisi ve *Asphodeline damascena* subsp. *rugosa* Tuzlacı, *A. tenuior* subsp. *tenuiflora* (K.Koch) Tuzlacı ve *A. cilicica* Tuzlacı türlerinin anti-enflamatuvar ve antioksidan etkileri ortaya konulmuştur (Chen ve diğerleri, 2018; Zengin ve diğerleri, 2019; Jeong ve diğerleri, 2020; Wang ve diğerleri, 2020; Jeon ve diğerleri, 2022; Liudvytska ve diğerleri, 2023). Bununla beraber, flavonoit, antrakinon ve tanen yapısına sahip birçok bileşiğin söz konusu aktiviteleri gösterdiği bildirilmiştir (Wei ve diğerleri, 2017; Wei ve diğerleri, 2018; Rivkind, Marshood, Durst ve Becker, 1983; Javanmardi, Golmohammadi ve Mazaheri-khamene, 2017; Zhang, Song, Li, Zhang ve Zeng, 2016; Jedinák, Maliar, Grancai ve Nagy, 2006; Mozzicafreddo, Cuccioloni, Eleuteri, Fioretti ve Angeletti, 2006; Mozzicafreddo ve diğerleri, 2008). Bu doğrultuda, çalışmamızda, anılan bitkilerle benzer taksonomik sınıfta yer alan ve içerdiği bileşikler (flavonoit, antrakinon ve tanenler) bakımından adezyonun önlenmesinde olumlu etki göstereceği hipotez edilen *Asphodeline lutea* Rchb. (Asphodelaceae), *Rheum ribes* L. (Polygonaceae), *Rubia tinctorum* L. (Rubiaceae) ve *Rumex nepalensis* Spreng. (Polygonaceae) bitkilerinin aktivitelerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Bu amaçla öncelikle, *A. lutea*, *R. ribes*, *R. tinctorum* ve *R. nepalensis* bitkileri, ülkemizde doğal olarak yetiştikleri lokasyonlardan toplanmıştır. Tür tayinleri yapılarak, eş örnekleri Selçuk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu'na kayıt ettirilmiştir. Kurutma ve toz etme işlemlerinin ardından bitki köklerinden ana MeOH ekstreleri hazırlanmıştır. Fibrin plak yöntemi ile ekstrelerin fibrinolitik aktiviteleri değerlendirilmiştir. *A. lutea*, *R. ribes*, *R. tinctorum* ve *R. nepalensis* MeOH ekstreleri arasında, en güçlü fibrinolitik aktiviteyi *R. nepalensis* göstermiştir. *R. tinctorum* köklerinin MeOH ekstresi 500 mg/mL konsantrasyonda *R. nepalensis*'e yaklaşan bir eritme alanı oluşturmuş ancak, *R. nepalensis* ekstresi doz bağımlı olarak en yüksek etkiyi sergilemiştir. *R. ribes* ekstresinin de fibrin tabakayı eritici etkisinin bulunduğu belirlenirken, *A. lutea* ekstresinin eritme alanı oluşturmadığı kaydedilmiştir. Elde edilen bulgular doğrultusunda, çalışmamızda seçmiş olduğumuz bitki türlerinin sekonder metabolitleri genel gruplar açısından (flavonoidler, antrakinonlar, tanenler, vb.) benzerlik gösterse de, bu bitkilerin söz konusu yapıların farklı türevlerini, farklı miktarlarda içeriyor olmaları etki dereceleri üzerinde farklılık oluşturmuştur. Bu doğrultuda, çalışmamız, en yüksek etkiyi gösteren *R. nepalensis* türünün köklerinden hazırlanan MeOH ekstresiden sıvı-sıvı partiyon tekniği ile *n*-hekzan, DKM ve sulu alt ekstrelerin hazırlanması yönünde devam etmiştir. Yapılan İTK analizleri sonucunda, her üç alt ekstrede farklı polaritede bileşiklerin bulunduğu görülmüştür. Alt ekstrelerin *in vitro* fibrinolitik aktiviteleri değerlendirildiğinde, *n*-hekzan ve DKM alt ekstrelerinin oluşturduğu eritme alanlarına kıyasla, sulu alt ekstrenin uygulandığı bölgenin daha büyük bir yayılma alanına sahip olduğu belirlenmiştir. Dolayısıyla etkili alt ekstrenin sulu alt ekstre olduğu ve ekstredeki görece polar bileşiklerin aktiviteden sorumlu olabileceği düşünülmüştür. *In vitro* deneylerde en etkili olduğu tespit edilen sulu alt ekstre, aktivite yönlendirmeli fraksiyonlama çalışmaları doğrultusunda, Sephadex LH-20 kolon kromatografisi ve VLC sistemleri kullanılarak fraksiyonlara ve alt fraksiyonlara ayrılmıştır. Ayırma tekniklerinde kullanılan sabit fazlardan Sephadex LH-20 ile ekstredeki bileşiklerin molekül ağırlıklarına; ters faz silika jel ile polarite farkına bağlı olarak ayırmanın sağlanması amaçlanmıştır. VLC yöntemi ile ayırmanın beklendiği şekilde sağlanamadığı, fraksiyondaki bileşiklerin ilk elüsyonda bir arada geldiği İTK profillerinden anlaşılmıştır. Fraksiyonlar arasında FR5'in; alt fraksiyonlar arasında ise VLC1'in fibrin eritme alanları bakımından en yüksek etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. En etkili alt fraksiyondan (VLC1) etkili bileşiklerin izolasyonu için tekrarlayan kolon kromatografisi yöntemleri kullanılmış; izolasyon çalışmalarında preparatif İTK yöntemi ve silika jel kolon kromatografisi yöntemlerinden yararlanılmıştır. İzole edilen RN2 ve RN3 kodlu bileşiklerin yapılarının

analizi için spektroskopik (1D ve 2D NMR, HR-MS) yöntemler kullanılmıştır. Elde edilen bulguların literatür verileriyle de (Kamiya, Watanabe, Endang, Umar ve Satake, 2001; Özgünseven, 2021) doğrulanması sonucunda *R. nepalensis* bitki köklerinden elde edilen RN2 ve RN3 kodlu bileşiklerin yapıları sırasıyla sinnamtanen B1 ve epikateşin gallat olarak tayin edilmiştir. Daha önce *Rumex* türleri üzerinde yapılmış olan çalışmalarda, sinnamtanen B1 bileşiği *R. acetosa*'dan izole edilmiş ve bu bileşiğin *R. crispus* türünde de bulunduğu enstrümental analiz teknikleri ile tespit edilmiştir (Bicker, Petereit ve Hensel, 2009; Idris, Wintola ve Afolayan, 2022). Çalışmamızda izole edilen sinnamtanen B1 bileşiği *R. nepalensis* türünden ilk defa izole edilmiştir.

İzole edilen bileşiklerin *in vitro* fibrinolitik aktiviteleri değerlendirilmiş ve sinnamtanen B1 bileşiğinin en yüksek fibrinolitik etki gösterdiği tespit edilmiştir. Bununla beraber, epikateşin gallat bileşiğinin de fibrin eritme alanı oluşturduğu kaydedilmiştir. *In vitro*-aktivite-yönlendirmeli fraksiyonlama ve izolasyon çalışmalarından sonra, her basamakta en yüksek fibrinolitik etki gösteren örnekler seçilerek (bitkinin MeOH ekstresi ve en yüksek aktivite gösteren alt ekstresi, fraksiyonu, alt fraksiyonu ve bileşiği) intra-abdominal adezyon oluşumuna karşı etkilerinin karşılaştırmalı değerlendirilmesi amacıyla, sıçanlarda *in vivo* deneysel intra-abdominal adezyon modeli oluşturulmuştur. Sham, kontrol ve referans grupları ile beraber tedavi grupları oluşturularak *in vitro* deneylerde etkili bulunan numunelerin *in vivo* etkileri kıyaslanmıştır. Deney sonunda, ekstrelerin, fraksiyonların ve bileşiğin aktivitesi, makroskopik bakı, histopatolojik, immunohistokimyasal ve biyokimyasal parametreler göz önünde bulundurularak değerlendirilmiştir.

İntra-abdominal adezyon modelinin oluşturulabilmesi amacıyla, genel anesteziye alınan sıçanlarda, *linea alba* üzerinden peritoneal kaviteye ulaşarak her iki kornu uterusinin daha az vaskülarize bölgelerinde ve kornu uteruslerin karşılığı olan abdominal duvarda skalpel yardımıyla peteşiyal kanamalar oluşturularak dokunun travmatize edilmesi sağlanmıştır (Yılmaz ve diğerleri, 2013). Sham grubuna adezyon modeli oluşturulmadan; kontrol grubuna ise adezyon modeli oluşturularak, test numunelerin çözeltisi olan serum fizyolojik *i.p.* yolla verilmiştir. Referans grubundaki sıçanlarda adezyon modeli oluşturularak, peritoneal kaviteye Hyalobarrier® jel (1 mL); deney gruplarına ise test numuneleri (2 mL, serum fizyolojik içinde) abdomen kapatılmadan hemen önce uygulanmıştır (Allègre ve diğerleri, 2018). Ana MeOH ekstresi 100 mg/kg dozda olmak üzere; elde edilen alt ekstre, fraksiyon ve alt fraksiyon, ekstredeki bulunma yüzdeleri oranında, doz-verim hesabı

yapılarak sırasıyla 70,136; 10,976 ve 8,449 mg/kg dozlarda deney hayvanlarına uygulanmıştır. İzole edilen RN2 kodlu sinnamtanen B1 bileşiği hayvanlara; daha önceki intra-abdominal adezyon modelinin kullanıldığı *in vivo* çalışmalarda, doğal bileşiklerin sıçanlara uygulandığı doz olan 10 mg/kg dozda uygulanmıştır (Sahbaz ve diğerleri, 2015b; Türkoğlu ve diğerleri, 2015; Wang ve diğerleri, 2014; Zhang, Song, Li, Zhang ve Zeng, 2016).

Adezyon modeli oluşturulduktan 14 gün sonra sıçanların genel anestezi altında abdomenleri tekrar açılmış ve adezyon skorları (defekte, şiddete ve derecesine göre) belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, adezyon skorlarında, sulu alt ekstre dışındaki tüm gruplarda, kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede azalma tespit edilmiştir. Skor 1 için en iyi etkiyi ana ekstre gösterirken, skor 2 ve skor 3 için en iyi etki VLC1 tarafından sağlanmıştır. Bununla birlikte, uygulanan fraksiyon (FR5) ve sinnamtanen B1 bileşiğinin referans olarak kullanılan Hyalobarrier jel® ile yakın sonuçlar gösterdiği kaydedilmiştir. *In vitro* fibrin plak yöntemi ile fibrinolitik etkileri en yüksek bulunan *R. nepalensis* köklerinden hazırlanan ekstre, fraksiyon, alt fraksiyon ve bileşiğin *in vivo* deneylerdeki adezyon skorlama sonuçlarında, kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bulunduğu ve bu sonuçların *in vitro* bulgularla büyük ölçüde uyum gösterdiği belirlenmiştir.

Yapılan histopatolojik ve immunohistokimyasal analizlerde, VLC1 ve RN2 gruplarına ait fibrotik alan yüzdelerinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük olduğu tespit edilmiştir. Deney gruplarına ait uterus dokularında TNF- α , IL-6 ve IL-8 immunopozitif alan yüzdeleri değerlendirildiğinde, RN2 grubuna ait TNF- α immunoreaktivitesinin kontrol, ekstre ve alt ekstre grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azalışı dikkati çekmiş; ana ekstre ve VLC1 gruplarına ait IL-6 immunopozitif alan yüzdelerinin, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük olduğu belirlenmiş; tedavi grupları arasında en düşük IL-8 immunoreaktivite yüzdesi RN2 grubunda izlenmiştir. Deney gruplarına ait ovaryum kesitlerindeki fibrotik alan yüzdeleri karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir. Ovaryum dokusuna ait kesitler immunohistokimyasal analizler sonrası değerlendirildiğinde, TNF- α immunoreaktivitesinde, RN2 grubuna ait kesitlerde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azalış izlenmiştir. IL-6 immunopozitif alan yüzdesinde ise FR5 grubunda, kontrol grubuna göre anlamlı düşüş gözlenmiştir. Sonuç olarak, histopatolojik ve immunohistokimyasal analiz bulgularına göre, özellikle VLC1 ve RN2 gruplarında

iyileşmenin belirgin olduğu tespit edilmiş ve elde edilen bu sonucun makroskobik analiz bulgularımızla tutarlı olduğu sonucuna varılmıştır.

İntra-abdominal adezyon modelinde belirlenen etkilerin antioksidan aktivite ile ilişki olup olmadığının değerlendirilmesi amacıyla yapılan TAS ve TOS analizlerinde OSI değerleri hesaplanmış ancak elde edilen değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir.

Çalışmamızda bitki materyalleri olarak seçtiğimiz *A. lutea*, *R. ribes*, *R. tinctorum* ve *R. nepalensis* bitkileri üzerinde yapılmış çok sayıda aktivite çalışması bulunmaktadır. *A. lutea* kök ekstresinin *in vitro* ve *in vivo* hepatoprotektif ve antioksidan (Lazarova ve diğerleri, 2016), toprak üstü kısmının MeOH ekstresinin antioksidan, antibakteriyel ve kanser hücre hattına karşı antiproliferatif aktivite gösterdiği (Atrooz ve diğerleri, 2018); *R. ribes*'in köklerinin MeOH ekstresinin adipozit hücrelerde anti-enflamatuvar etkili olduğu (Kaya, Tokgöz, Unal ve Altan, 2023); *R. tinctorum*'un BuOH ekstresinin *in vitro* ve *ex vivo* antiagregan aktivitesinin bulunduğu (Marhoumea ve diğerleri, 2019); *R. nepalensis* köklerinin EtOAc ekstresinin COX-1, COX-2 inhibisyonu yaparak anti-enflamatuvar aktivite gösterdiği (Gautam, Karkhile, Bhutani ve Jachak, 2010) tespit edilmiştir. Çalışmalardan elde edilen aktivitelerin, bitki ekstraktlarında bulunan antrakinon ve fenolik yapıdaki bileşiklerden kaynaklandığı bildirilmiştir.

Çalışma materyali olarak belirlediğimiz bitkiler, antrakinon ve tanen yapıdaki bileşikler bakımından zengindir. Daha önce yapılmış prelinik çalışmalarda antrakinonların adezyon önleyici etki gösterdiği rapor edilmiştir. Emodin doğal kaynaklı bir antrakinon türevi bileşiktir. Enflamasyon, kolajen birikimi ve oksidatif stres üzerindeki aktivitesi nedeniyle emodin postoperatif adezyon oluşumunu azaltabileceği öne sürülmüştür (Wei ve diğerleri, 2017). Adenozin difosfat-nedenli trombosit agregasyonu çalışmasında, Rhei rhizoma'dan (ravent) elde edilen emodin ve rein asetilsalisik asitten 5 kat fazla, aloe-emodin, krizofanol ve fiskiyonun asetilsalisik asit kadar antiplatelet aktive gösterdiği bildirilmiştir (Tan, Zhang, Li ve Zhang, 2018). Aloe-emodin bileşiğinin *in vitro* anti-enflamatuvar etkiye sahip olduğu rapor edilmiştir (Park, Kwon ve Sung, 2009). Krizofanol, TNF- α , IL-6 üretimini ve COX-2 ekspresyonunu inhibe ederek (Kim ve diğerleri, 2010) enflamatuvar hastalıkları önlemektedir (Xie ve diğerleri, 2019). *Rheum* türlerinden izole edilen krizofanol-8-O-glukozitin, kolajen ve trombin kaynaklı trombosit agregasyonunu inhibe edici etkiye sahip

olduğu bulunmuştur (Seo, Ngoc, Lee, Kim ve Jung, 2012). Bir başka çalışmada, *R. nepalensis*'ten izole edilen krizofanol, emodin ve fiskiyon bileşiklerinin 10 µM konsantrasyonda fibronektin ve kolajen IV üretimini azalttığı bildirilmiştir (Yang ve diğerleri, 2013). Diğer taraftan, tanen grubu bileşikler taşıyan bitki ekstreleri üzerinde yapılan çalışmalarda, prosiyanidin ve elajitanen içeriği yüksek *Potentilla erecta* (L.) Raeusch rizom ekstresinin t-PA aktivitesinde artışa neden olduğu (Marcinczyk ve diğerleri, 2021); *Phyllanthus urinaria* L. bitkisinin toprak üstü MeOH ekstresinden izole edilen elajitanen yapısındaki korilajin bileşiğinin rat plazmasında t-PA aktivitesini arttırdığı, PAI-1 aktivitesini anlamlı derecede azalttığı gösterilmiştir (Shen, Dong, Peng ve Liu, 2003). Kateşin türevleri bakımından zengin *Camellia sinensis* EtOH ekstresinin Wistar albino ratların karın boşluğuna uygulandığında adezyonu engellediği rapor edilmiştir (Parsaei, Karimi, Asadi ve Rafieian-Kopaei, 2013). Özetle, antrakınon ve tanen türevi bileşiklerin ve bu bileşikler taşıyan bitkilerin enflamasyona, kolajen birikimine ve oksidatif strese karşı olumlu etkileri bulunmaktadır.

Lenfositler veya monositler tarafından üretilen pro-enflamatuvar sitokinlerin (TNF- α , IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-8, IFN- γ) enflamasyonda önemli olduğu bilinmektedir (González ve diğerleri, 2011). Dolayısıyla çalışmamızda, anılan pro-enflamatuvar sitokinlerin immunohistokimyasal analizleri yapılmıştır. Uterus dokusunda TNF- α , IL-6 ve IL-8 immunopozitif alan yüzdeleri değerlendirildiğinde, tedavi gruplarında genel olarak anti-enflamatuvar etkinin izlenmesiyle birlikte, alt fraksiyon grubu VLC1 ile bu alt fraksiyondan izole edilen sinnamtanen B1'in enflamatuvar sitokinleri istatistiksel olarak anlamlı derecede azalttığı tespit edilmiştir. Daha önce yapılan *in vivo* ve *in vitro* çalışmalar, polifenollerin, makrofajlar aracılığıyla sitokinler üzerine etki ederek birçok enflamatuvar yanıt regülasyonunu sağladığını göstermiştir (Comalada ve diğerleri, 2006). Çeşitli fenolik bileşiklerin, lipopolisakkarit ile aktive edilmiş fare primer makrofajlarında, insan mast hücreleri, astrositleri, sinoviyal hücreleri ve periferel kan mononükleer hücrelerinde pro-enflamatuvar sitokinlerin ve kemokinlerin ekspresyonunu inhibe edebilme özelliği gösterdiği belirlenmiştir (Blonska, Czuba ve Krol, 2003; Lyu ve Park, 2005; Min ve diğerleri, 2007; Sharma ve diğerleri, 2007; Drummond ve diğerleri, 2013). Bununla birlikte, polifenolik bileşiklerin immunomodülatör etkilerinden dolayı IL-6 ve TNF- α üretimini azaltarak anti-enflamatuvar aktivite gösterdiği rapor edilmiştir (Schindler ve diğerleri, 1990, Lamy, Akla, Ouanouki, Lord-Dufour and Béliveau, 2012). Bu çalışmada da, *R. nepalensis*

kök ekstresinin polifenolik bileşik içeriğine bağlı olarak TNF- α , IL-6 ve IL-8 düzeylerini kontrol grubuna kıyasla düşürerek anti-enflamatuvar etki gösterdiği saptanmıştır.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda, kateşinlerin sistemik enflamasyon durumlarında, güçlü anti-enflamatuvar etki gösterdiği rapor edilmiştir (Kim ve Heo, 2022). Ratlarda karbontetraklorürün neden olduğu hepatik fibroz deney modelinde *C. sinensis*'ten elde edilen epikateşin gallat ve epigallokateşin gallatın IL-17, TGF- β , TNF- α 'yı baskıladığı, oksidatif stresi inhibe ederek karaciğer histopatolojisinde iyileşme gösterdiği ve antifibrotik tedavide kullanılabileceği bildirilmiştir (Wang ve diğerleri, 2019). Bununla birlikte, özellikle sinnamtanen B1 bileşiği ile ilgili olarak yapılan bir başka çalışmada, *Cinnamomum validinerve* bitkisinin ana bileşeni olan sinnamtanen B1'in *i.p.* uygulanmasının enfeksiyon bölgelerinde immün hücre infiltrasyonunu ve pro-enflamatuvar sitokinlerden TNF- α ve IL-6'yı azalttığı belirlenmiştir (Yang ve diğerleri, 2020). Elde ettiğimiz bulgular, yapılan önceki çalışmalar ile paralellik göstermektedir.

Sinnamtanen B1 bileşiği üzerinde yapılmış olan aktivite çalışmaları incelendiğinde, bileşiğin antioksidan ve antikanser etkileri ortaya konulmuştur. HepG2 ve Siha hücre hatlarına karşı güçlü antiproliferatif etkiye sahip olduğu ve antikanser etki mekanizmasının hücre döngüsünün durdurulması ve apoptoz indüksiyonu ile gerçekleştiği açıklanmıştır. Tümöral hücre hattında seçici bir pro-apoptotik etkinin aracılık ettiği ve normal hücrelerde anti-apoptotik aktivite ile seçicilik gerektiren terapötik stratejiler için temel olabileceği öne sürülmüştür (Lopez, Jardin, Salido ve Rosado, 2008; Wen ve diğerleri, 2015). Bir başka çalışmada, sinnamtanen B1'in *in vivo* mezenkimal kök hücre göçünü uyararak yara iyileştirici etki gösterdiği tespit edilmiştir (Fujita ve diğerleri, 2015).

Peritoneal kavitede, tPA, TGF- β 1, TNF- α , IL-6, matriks metaloproteazlar (MMP), VEGF, COX ve oksidatif stres faktörlerinin adezyon oluşumunun mekanizmasında yer alan kaskadlarda önemli rol oynadığı bildirilmiştir (Braun ve Diamond, 2014). MMP'ler, ECM'nin yapısının şekillenmesinde rol oynayan, normal iyileşme sürecine katkı veren, adezyon dokusu ve peritonda bulunan proteolitik enzimlerdir. TGF- β 1'in MMP aktivitesini uyarıcı etkisi bulunmaktadır. TGF- β 1 ile peritoneal fibroblastlar muamale edildiğinde, MMP-2 ve MMP-9 mRNA'da artış tespit edilmiştir (Cheong ve diğerleri, 2001). MMP'ler, ECM'de bulunan proteinleri degrade etmektedir ve proteolitik aktiviteleri metalloproteinaz doku inhibitörleri (TIMP) tarafından regüle edilmektedir. Hipoksi durumunda, TIMP

salımının artması ile ECM oluşumu ve şekillenmesinin devamlılığına ve doku fibrozunun artmasına neden olmaktadır (Alpay, Saed ve Diamond, 2006; Saed ve Diamond, 2004). Kateşinlerin MMP-2 aktivitesini regüle ederek ECM oluşumunu düzenlediği ve fibroz dokunun kontrolsüzce birikimini önleyerek yara iyileşme sürecine katkı sağladığı ortaya konulmuştur (Sartor ve diğerleri, 2002; Wang ve diğerleri, 2019). Çalışmamızda izole edilen sinnamtanen B1 ve epikateşin gallat bileşiklerinin MMP regülasyonu yoluyla da fibrin doku birikimini inhibe etmiş olabileceği düşünülmüştür.

Ayrıca sinnamtanen B1'in, trombositlerde endojen ROS üretimini, Ca^{2+} mobilizasyonunu ve ardından agregasyonunu inhibe ederek antitrombotik etki gösterdiği belirlenmiştir (Lopez, Jardin, Salido ve Rosado, 2008). Çalışmamızda sinnamtanen B1 bileşiğinin *in vitro* ve *in vivo* yöntemlerle belirlenen fibrinolitik ve adezyonu önleyici etki sonuçları, daha önce yapılmış olan çalışmaların sonuçları ile uyum göstermektedir.

Oksidatif stres, enflamatuvar nedenli hastalıklar başta olmak üzere kanser, diyabet, ateroskleroz, kardiyovasküler ve nörolojik hastalıkların patogenezinin sorumludur (Özcan, Erdal, Çakırca ve Yönden, 2015). Antioksidan-oksidan dengenin bozulmasıyla meydana gelen oksidatif stres, hücresel ve moleküler düzeyde doku hasarına yol açmaktadır (Tabakoğlu ve Durgut, 2013). OSI değeri, oksidatif stres derecesinin belirleyici bir parametresidir. Bu bağlamda, çalışmamızda dokulardaki OSI değerinin ölçülmesi amaçlanmıştır. Ancak elde ettiğimiz bulgulara göre, tedavi grubu OSI değerleri birbirine çok yakın olup, kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir fark bulunmadığından, *R. nepalensis* ekstre ve fraksiyonları ile biyoaktif bileşiğinin, intra-abdominal adezyon modelinde oksidatif stres yolağı üzerinden değil, enflamatuvar yolak üzerinden etki göstermiş olduğu kanısına varılmıştır.

Abdominal cerrahi sonrasında, fibrin birikimine bağlı gelişen adezyon oluşumu, deri yaralanmalarında gözlenen ve düzgün seyretmeyen yara iyileşme prosesine benzerlik göstermektedir. Histopatolojik olarak da doku iyileşme mekanizması; hemostaz, enflamasyon, rejenerasyon gibi ortak basamakları içermektedir. Çalışmamızda ortaya konulan, *R. nepalensis* bitkisinin intra-abdominal adezyonu önleyici etkisi, bu bitkinin etnobotanik kayıtlarda, yara iyileştirici amaçla kullanılıyor olmasını (Pradhan ve Badola, 2008; Kumar, Joseph, George, Kaur ve Bharti, 2011) desteklemiştir.

Çalışmamızda, *R. nepalensis* ekstreleri, fraksiyonları ve bileşiklerinin fibrinolitik aktivite ve intra-abdominal adezyon deney modellerinde etkili olduğu belirlenmiştir. Özellikle *in vivo* deneylerde, hem epikateşin gallat hem de sinnamtanen B1 bileşiklerini içeren VLC1 alt fraksiyonunun biyoaktivitesinin öne çıktığı görülmüş ve bu etkinin, iki bileşiğin sinerjik etki oluşturmaya bağlı olabileceği düşünülmüştür. Fibrin plak deneyinde, epikateşin gallatın da fibrinolitik etki göstermesi bu yorumumuzu desteklemektedir. Bu *in vitro* deneyde; *R. nepalensis* ana ekstresi ile sulu alt ekstresinin fibrinolitik etkilerinin aynı değerde olması (1,3895 U/mL plazmin eşdeğeri), sulu alt ekstrede bulunan bileşiklerin etkiden sorumlu olduğunu göstermiştir. İzole edilen bileşiklerin fibrinolitik etkilerinin *in vitro* yöntem ile karşılaştırılması sonucunda, sinnamtanen B1 bileşiğinin (1,9911 U/mL plazmin eşdeğeri), epikateşin gallat bileşiğine (1,3371 U/mL plazmin eşdeğeri) kıyasla daha yüksek etki gösterdiği tespit edilmiştir.

Fitokimyasal çalışmalar incelendiğinde; *R. nepalensis* *n*-BuOH kök ekstresinden epikateşin-3-gallat bileşiğinin daha önce yapılan bir çalışmada izole edildiği görülmüştür (Mei ve diğerleri, 2009). Sinnamtanen B1 bileşiği, *R. nepalensis*'ten ilk defa çalışmamızda izole edilmiştir. Epikateşin gallat ve sinnamtanen B1'in intra-abdominal adezyon modelinde etkili olduğu ve sinnamtanen B1'in fibrinolitik aktivite gösterdiği ilk defa çalışmamızda belirlenerek literatüre kazandırılmıştır. Bu iki bileşiğin sırasıyla, monomerik ve trimerik flavan-3-ol halka yapısına sahip olması, bu çekirdek yapının aktiviteden sorumlu olabileceği ve bu yapıyı taşıyan bileşiklerin etki potansiyelinin yüksek olabileceğini düşündürmüştür.

Sonuç olarak, çalışmamızda en yüksek fibrinolitik aktivite gösteren *R. nepalensis* MeOH ekstresinden, Sephadex LH-kolon kromatografisi, ters faz VLC ve preparatif İTK yöntemleri ile elde edilen fraksiyonlar ve izole edilen bileşiğin sıçanlarda *in vivo* cerrahi intra-abdominal adezyon modeli üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Bu ekstre, alt ekstre, fraksiyon, alt fraksiyon, bileşiğin aktiviteleri kıyaslanmıştır. Sinnamtanen B1'in intra-abdominal adezyon oluşumunu önleyici etki gösterdiği belirlenmiştir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda, *Rheum ribes* L. (Polygonaceae), *Rubia tinctorum* L. (Rubiaceae), *Rumex nepalensis* Spreng. (Polygonaceae) ve *Asphodeline lutea* (L.) Rchb. (Asphodelaceae) bitkilerinin köklerinden hazırlanan ekstrelerin fibrinolitik ve adezyon önleyici aktiviteleri *in vitro* ve *in vivo* yöntemler kullanılarak değerlendirilmiştir.

In vitro deney modeli olarak seçilen ve fibrinolitik aktivitenin ölçümü esasına dayanan fibrin plak yöntemi ile *in vivo* intra-abdominal adezyon modelinin ilişkilendirilmesinin mümkün olabileceği ilk defa çalışmamızda ortaya konulmuştur. *In vivo* çalışmalarda 3R ilkesi gereği, mümkün olan her durumda, canlı hayvan yerine bilimsel açıdan geçerli başka alternatif bir yöntem ya da deneme stratejisinin uygulaması, proje hedeflerinden ödün vermeden kullanılacak hayvan sayısının olabildiğince azaltılması gerektiği göz önünde bulundurulduğunda, intra-abdominal adezyona karşı etkili olabilecek tıbbi bitkilerin etkilerinin araştırıldığı bilimsel çalışmalarda, tüm test numuneleri arasında etkili olanların *in vivo* deney modeli kullanılarak belirlenmesinden ziyade, *in vitro* fibrinolitik aktivite yönlendirmeli fraksiyonlama ve izolasyon tekniğinin kullanılarak etkisiz bulunanların elenmesi ve etki potansiyeli yüksek olanların *in vivo* deneyler için seçilmesi önerilmektedir.

Çalışmamızda, fibrinolitik aktivite yönünden en etkili tür olan *R. nepalensis* üzerinde aktivite yönlendirmeli fraksiyonlama ve izolasyon çalışmaları doğrultusunda sinnamtanen B1 ve epikateşin gallat bileşikler izole edilmiş, sinnamtanen B1'in intra-abdominal adezyon modelinde etkili olduğu belirlenmiştir. Çalışma sonuçlarımıza göre, *R. nepalensis*'in biyoaktif bileşikler olan sinnamtanen B1 ve epikateşin gallatın ana ekstredeki miktarlarının tayin edilmesi, bu bitkinin standardizasyon parametrelerinin belirlenmesi açısından katkı sağlayacaktır.

Diğer taraftan, adezyonun önlenmesi ve tedavisi için tanen yapısındaki bileşiklerin ve bu bileşikler yüksek miktarda içeren bitkilerin araştırılması, özellikle fibrinolitik etki potansiyellerinin üzerinde durulması ve bu aktivitenin farklı tedavi yöntemlerinde kullanımının düşünülmesi rasyonel olacaktır. Elde edilen sonuçlara göre öne çıkan sinnamtanen B1 bileşiğinin klinikte kullanımının sağlanabilmesi amacıyla, farklı dozlarının, farklı formülasyonlarının ve farklı uygulama yollarının prelinik olarak araştırılması,

toksisite profilinin belirlenmesi ve biyoyararlanım çalışmalarının planlanması önerilmektedir. Çalışmamız, günümüzde halen devam eden ve dünyada en sık ölüm sebebi olan kalp ve damar hastalıkları gibi koagülasyon ve fibrinoliz yollarını içeren diğer patolojik durumlara karşı çözüm üretilmesine yönelik potansiyel olabilecek doğal bileşiklerin ortaya konulması açısından da yol gösterici olacaktır.

KAYNAKLAR

- Abbet, C., Mayor, R., Roguet, D., Spichiger, R., Hamburger, M., and Potterat, O. (2014). Ethnobotanical survey on wild alpine food plants in Lower and Central Valais (Switzerland). *Journal of Ethnopharmacology*, 151, 624-634.
- Ablat, N., Ablimit, M., Abudoukadier, A., Kadeer, B., and Yang, L. (2021). Investigating the hemostatic effect of medicinal plant *Arnebia euchroma* (Royle) I.M. Johnst extract in a mouse model. *Journal of Ethnopharmacology*, 278, 114306.
- Acun, G., Ozdemir, H., Sunamak, O., Ozdemir, Z.U., Baskan, E., Yazı, M., Savas, B., and Berberoglu, U. (2018). The effect of single-dose intraperitoneal bevacizumab on peritoneal adhesion formation. *Revista de Investigación Clínica*, 70, 279-284.
- Agacayak, E., Tunc, S.Y., Icen, M.S., Alabalik, U., Findik, F.M., Yuksel, H., Gul, T. (2015). Honokiol decreases intra-abdominal adhesion formation in a rat model. *Gynecologic and Obstetric Investigation*, 79, 160-167.
- Ahmed, S.S., Erum, S., Khan, S.M., Nawaz, M., and Wahid, A. (2014). Exploring the medicinal plants wealth: a traditional medico-botanical knowledge of local communities in Changa Manga Forest, Pakistan. *Middle-East Journal of Scientific Research*. 20(12), 1772-1779.
- Alam, N., Banu, N., Aziz, A.I., Barua, N., Ruman, U., Jahan, I., Chy, F.J., Denath, S., Paul, A., Chy, N.U., Sayeed, M.A., Emran, T.B., and Gandara, J.S. (2021). Chemical profiling, pharmacological insights and *in silico* studies of methanol seed extract of *Sterculia foetida*. *Plants*, 10(6), 1135.
- Ali-Shtayeh, M.S., Jamous, R.M., Al-Shafie, J.H., Elgharabah, W.A., Kherfan, F.A., Qarariah, K.H., Khdaif, I.S., Soos, I.M., Musleh, A.A., Isa, B.A., Herzallah, H.M., Khlaif, R.B., Aiash, S.M., Swaiti, G.M., Abuzahra, M.A., Haj-Ali, M.M., Saifi, N.A., Azem, H.K., and Nasrallah, H.A. (2008). Traditional knowledge of wild edible plants used in Palestine (Northern West Bank): a comparative study. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 4, 1-13.
- Allègre, L., Le Teuff, I., Leprince, S., Warembourg, S., Taillades, H., Garric, X., Letouzey, V., and Huberlant, S. (2018). A new bioabsorbable polymer film to prevent peritoneal adhesions validated in a post-surgical animal model. *PloS One*, 13(11), e0202285.
- Allen, D.E., and Hatfield, G. (2004). *Medicinal plants in folk tradition: an ethnobotany of Britain and Ireland*. Timber Press, Portland, Cambridge.
- Alpay, Z., Saed, G.M., and Diamond, M.P. (2006). Female infertility and free radicals: potential role in adhesions and endometriosis. *The Journal of the Society for Gynecologic Investigation*, 13, 391-398.
- Amiri, M.S., Joharchi, M.R., and Yazdi, M.E.T. (2014). Ethno-medicinal plants used to cure jaundice by traditional healers of Mashhad, Iran. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 13(1), 157-162.

- Andargie, Y., Sisay, W., Molla, M., and Adela, M. (2022). Evaluation of *in vivo* antidiarrheal activity of hydro-methanolic extract of the root of *Rumex nepalensis* in Swiss albino mice. *Metabolism Open*, 15, 100197.
- Anjen, L., Bojian, B., Grabovskaya-Borodina, A.E., Hong, S., McNeil, J., Mosyakin, S.L., Ohba, H. and Park, C. (2003). Polygonaceae. *Flora of China*, 5, 277-350.
- Ar'Rajab, A., Dawidson, I., Sentementes, J., Sikes, P., Harris, R., and Mileski, W. (1995). Enhancement of peritoneal macrophages reduces postoperative peritoneal adhesion formation. *Journal of Surgical Research*, 58(3), 307-312.
- Arjmand, M.H., Hashemzahi, M., Soleimani, A., Asgharzadeh, F., Avan, A., Mehraban, S., Fakhræi, M., Ferns, G.A., Ryzhikov, M., Gharib, M., Salari, R., Hoseinian, S.H.S., Parizadeh, M.R., Khazaei, M., and Hassanian, S.M. (2021). Therapeutic potential of active components of saffron in post-surgical adhesion band formation. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 11(4), 328-335.
- Artis, T., Artis, S., Arslan, E., Mutlu, F., Akay, A., and Deniz, K. (2016). Preventive effect of ethyl pyruvate on postoperative adhesion formation following abdominal surgery. *Journal of Investigative Surgery*, 29, 260-265.
- Arung, W., Meurisse, M., and Detry, O. (2011). Pathophysiology and prevention of postoperative peritoneal adhesions. *World Journal of Gastroenterol*, 17(41), 4545-4553.
- Askari, V.R., Rahimi, V.B., Zamani, P., Fereydouni, N., Rahmanian-Devin, P., Sahebkar, A.H., and Rakhshandeh, H. (2018). Evaluation of the effects of Iranian propolis on the severity of post operational-induced peritoneal adhesion in rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 99, 346-353.
- Astrup, T., and Mullertz, S. (1952). The fibrin plate method for estimating fibrinolytic activity. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 40(2), 346-351.
- Atrooz, O.M., Wietrzyk, J., Filip-Psurska, B., Al-Rawashdeh, I., Soub, M., and Abukhalil, M.H. (2018). Antiproliferative, antioxidant, and antibacterial activities of crude plant extracts of *Asphodeline lutea* L and *Peganum harmala* L.. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 7(11), 148-167.
- Awonuga, A.O., Fletcher, N.M., Saed, G.M., and Diamond, M.P. (2011). Postoperative adhesion development following cesarean and open intra-abdominal gynecological operations. *Reproductive Sciences*, 18(12), 1166-1185.
- Avşar, F.M., Şahin, M., Aksoy, F., Avşari, F., Aköz, M., Hengirmen, M., and Bilici, S. (2001). Effects of diphenhydramine HCl and methylprednisolone in the prevention of abdominal adhesions. *The American Journal of Surgery*, 181(6), 512-515.
- Aysan, E., Bektaş, H., and Ersoz, F. (2010). A new approach to postoperative peritoneal adhesions: prevention of peritoneal trauma by aloe vera gel. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 149(2), 195-198.

- Bae, J.S., Ahn, S.J., Yim, H., Jang, K.H., and Jin, H.K. (2005). Prevention of intraperitoneal adhesions and abscesses by Polysaccharides isolated from *Phellinus* spp in a rat peritonitis model. *Annals of Surgery*, 241(3), 534-540.
- Baskan, S., Daut-Özdemir, A., Günaydin, K., and Erim, F.B. (2007). Analysis of anthraquinones in *Rumex crispus* by micellar electrokinetic chromatography. *Talanta*, 71(2), 747-750.
- Baytop, T. (1999). Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi. İstanbul, Nobel Tıp Kitapevleri, 268-374.
- Bianchi, E., Boekelheide, K., Sigman, M., Lamb, D.J., Hall, S.J., and Hwang, K. (2016). Ghrelin inhibits post-operative adhesions via blockage of the TGF- β signaling pathway. *Plos One*, 11(4), 0153968.
- Bicker, J., Petereit, F., and Hensel, A. (2009). Proanthocyanidins and a phloroglucinol derivative from *Rumex acetosa* L. *Fitoterapia*, 80(8), 483-495.
- Bijak, M., Ziewiecki, R., Saluk, J., Ponczek, M., Pawlaczyk, I., Krotkiewski, H., Wachowicz, B., and Nowak, P. (2014). Thrombin inhibitory activity of some polyphenolic compounds. *Medicinal Chemistry Research*, 23(5), 2324-2337.
- Biswas, K., and Das, A.P. (2012). Plants used for dental and oral health care in northern part of West Bengal, India. In: Maiti, GG, Mukherjee, SK (Eds.), International Seminar on Multidisciplinary Approaches in Angiosperm Systematics. University of Kalyani, Kalyani, 648-651.
- Blonska, M., Czuba, Z. P., and Krol, W. (2003). Effect of flavone derivatives on interleukin-1 β (IL-1 β) mRNA expression and IL-1 β protein synthesis in stimulated raw 264.7 macrophages. *Scandinavian Journal of Immunology*, 57(2), 162-166.
- Bradford, M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1-2), 248-254.
- Braun, K.M. and Diamond, M.P. (2014). The biology of adhesion formation in the peritoneal cavity. *Seminars in Pediatric Surgery*, 23(6), 336-343.
- Brown, C.B., Luciano, A.A., Martin, D., Peers, E., Scrimgeour, A., and diZerega, G.S. (2007). Adept (icodextrin 4% solution) reduces adhesions after laparoscopic surgery for adhesiolysis: a double-blind, randomized, controlled study. *Fertility and Sterility*, 88(5), 1413-1426.
- Bulbuler, N., Ihani, Y.S., Kirkil, C., Cetiner, M., Gogebakan, Ö., and Ilhan, N. (2005). Can angiotensin converting enzyme inhibitors prevent postoperative adhesions?. *Journal of Surgical Research*, 125(1), 94-97.
- Bursal, E., Yılmaz, M.A., Aras, A., Türkan, F., Yıldırım, Ü., Kılıç, Ö., and Dey, A. (2021). Determination of phenolic content, biological activity, and enzyme inhibitory properties with molecular docking studies of *Rumex nepalensis*, an endemic medicinal plant, *Journal of Food and Nutrition Research*, 9(3), 114-123.

- Butura, V. (1979). *Romanian ethnobotany encyclopedia [in Romanian]*. The Scientific and Encyclopedic Publishing, Bucharest, Romania.
- Cakilcioglu, U., and Türkoglu, I. (2010). An ethnobotanical survey of medicinal plants in Sivrice (Elazig-Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, 132(1), 165-175.
- Celepli, S., Kısmet, K., Kaptanoğlu, B., Erel, S., Özer, S., Celepli, P., Kaygusuz, G., Devrim, E., Gencay, O., Sorkun, K., Durak, I., and Akkuş, M.A. (2011). The effect of oral honey and pollen on postoperative intra-abdominal adhesions. *Turkish Journal of Gastroenterol*, 22(1), 65-72.
- Charboneau, A.J., Delaney, J.P., and Beilman, G. (2018). Fucoidans inhibit the formation of post-operative abdominal adhesions in a rat model. *Plos One*, 13(11), 1-13.
- Chen, Y., Chen, P.D., Bao, B.H., Shan, M.Q., Zhang, K.C., Cheng, F.F., Cao, Y.D., Zhang, L., and Ding, A.W. (2018). Anti-thrombotic and pro-angiogenic effects of *Rubia cordifolia* extract in zebrafish. *Journal of Ethnopharmacology*, 219, 152-160.
- Cheong, Y.C., Laird, S.M., Li, T.C., Shelton, J.B., Ledger, W.L., and Cooke, I.D. (2001). Peritoneal healing and adhesion formation/reformation. *Human Reproduction Update*;7(6), 556-566.
- Choubey, S., Varughese, L.R., Kumar, V., and Beniwal, V. (2015). Medicinal importance of gallic acid and its ester derivatives: a patent review. *Pharmaceutical Patent Analyst*, 4(4), 305-315.
- Coelho Junior, E.R., Costa, L.O., Alencar, A.V., Barbosa, A.P., Pinto, F.C., and Aguiar, J.L. (2015). Prevention of peritoneal adhesion using a bacterial cellulose hydrogel, in experimental study. *Acta Cirúrgica Brasileira*, 30(3), 194-198.
- Comalada, M., Ballester, I., Bailon, E., Sierra, S., Xaus, J., Gálvez, J., de Medina, F.S., and Zarzuelo, A. (2006). Inhibition of proinflammatory markers in primary bone marrow-derived mouse macrophages by naturally occurring flavonoids: analysis of the structure-activity relationship. *Biochemical Pharmacology*, 72(8), 1010-1021.
- Committee on Chinese Medicine and Pharmacy. (2003). Compendium of medicinal plants used by the indigenous people of Taiwan. In: Lin, I.-hsin (Ed.), Compendium of medicinal plants used by the indigenous people of Taiwan. Hanasty Printing Co.
- Committee on Chinese Medicine and Pharmacy. (2009). The Illustration of Common Medicinal Plants in Taiwan vol. I. Tah-Jinn Printing Co., Taipei.
- Cooper, K., Young, J., Wadsworth, S., Cui, H., DiZerega, G.S., and Rodgers, K.E. (2007). Reduction of post-surgical adhesion formation with tranilast. *Journal of Surgical Research*, 141(2), 153-161.
- Cullen J., (1966). *Rumex L.* In P.H. Davis (Ed.), *Flora of Turkey and The East Aegean Islands*. Vol. 2. Edinburg: Edinburgh University Press, pp. 281.

- Dabe, N.E., Kefale, A.T., and Dadi, T.L. (2020). Evaluation of abortifacient effect of *rumex nepalensis* spreng among pregnant Swiss albino rats: laboratory-based study. *Journal of Experimental Pharmacology*, 12, 255-265.
- Davis, A.L., Cai, Y., Davies, A.P., and Lewis, J.R. (1996). ¹H and ¹³C NMR assignments of some green tea polyphenols. *Magnetic Resonance in Chemistry*, 34, 887-890.
- Demirezer, L.Ö., Kuruüzüm, A., Bergere, I., Schiewe, H.J., and Zeeck, A. (2001a). Five naphthalene glycosides from the roots of *Rumex patientia*. *Phytochemistry*, 56(4), 399-402.
- Demirezer, L.Ö., Kuruüzüm-Uz, A., Bergere, I., Schiewe, H.J., and Zeeck, A. (2001b). The structures of antioxidant and cytotoxic agents from natural source: anthraquinones and tannins from roots of *Rumex patientia*. *Phytochemistry*, 58(8), 1213-1217.
- Dénes, A., Papp, N., Babai, D., Czúcz, B., and Molnár, Z. (2013). Edible wild plants and their use based on ethnographic and ethnobotanical researches among Hungarian in the Carpathian Basin. Dunántúli.
- DiZerega GS. (2000). *Use of adhesion prevention barriers in pelvic reconstructive and gynecologic surgery*. In: DiZerega GS (eds). *Peritoneal surgery*. 1st ed. New York: Springer-Verlag, 379-399.
- DiZerega, G.S. (1992). *The peritoneum: Postsurgical repair and adhesion formation*. In Rock JA, Murphy AA, Jones HW (eds): *Female Reproductive Surgery*. Baltimore, Williams & Wilkins, 2-18.
- DiZerega, G.S. (1997). Biochemical events in peritoneal tissue repair. *The European Journal of Surgery*, (577), 10-16.
- DiZerega, G.S., and Rodgers, K.E. (1992). *The peritoneum*. Springer-Verlag New York: E-Publishing Inc, 1-25.
- Dogan, Y., Nedelcheva, A., Łuczaj, Ł., Drăgulescu, C., Stefkov, G., Ferrier, J., Maglajlic, A., Papp, N., Hajdari, A., Mustafa, B., Dajlić-Stevanović, Z., and Pieroni, A. (2015). Of the importance of a leaf: the ethnobotany of sarma in Turkey and the Balkans. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 11(26), 1-15.
- Dreon, A.L. and Paoletti, M.G. (2009). The wild food (plants and insects) in Western Friuli local knowledge (Friuli-Venezia Giulia, North Eastern Italy). *Contributions to The Natural History*, 12, 461-488.
- Drummond, E. M., Harbourne, N., Marete, E., Martyn, D., Jacquier, J. C., O'Riordan, D., and Gibney, E.R. (2013). Inhibition of proinflammatory biomarkers in THP1 macrophages by polyphenols derived from chamomile, meadowsweet and willow bark. *Phytotherapy Research*, 27(4), 588-594.
- Dunn, R., Lyman, M.D., Edelman, P.G., and Campbell, P.K. (2001). Evaluation of the SprayGel™ adhesion barrier in the rat cecum abrasion and rabbit uterine horn adhesion models. *Fertility and Sterility*, 75(2), 411-416.

- El-Hawary, S.A., Sokkar, N.M., Ali, Z.Y., and Yehia, M.M. (2011). A profile of bioactive compounds of *Rumex vesicarius* L. *Journal of Food Science*, 76(8), 1195-1202.
- Elkhatay, E.S., Ibrahim, S.R.M., and Aziz, M.A. (2008). Portulene, a new diterpene from *Portulaca oleracea* L. *Journal of Asian Natural Products Research*, 10(11-12), 1039-1043.
- Ellis, H., Moran, B.J., Thompson, J.N., Parker, M.C., Wilson, M.S., McGuire, A., Lower, A.M., Hawthorn, R.J., Brien, F.O', Buchan, S., and Crowe, A.M. (1999). Adhesion-related hospital readmissions after abdominal and pelvic surgery: a retrospective cohort study. *Lancet*, 353(9163), 1476-1480.
- Erdei, A. (2011). Elődeink öröksége: békési és székelyföldi települések etnobotanikai értékelése. MSc dissertation, Pécs.
- Erel, O. (2005). A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clinical Biochemistry*, 38(12), 1103-1111.
- Ersoy, E., Ozturk, V., Yazgan, A., Ozdogan, M., and Gundogdu, H. (2008). Effect of polylactic acid film barrier on intra-abdominal adhesion formation. *Journal of Surgical Research*, 147(1), 148-152.
- Ersöz, G. (1997). Trombosit Aktivasyonu. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası*, 50(3), 163-172.
- Farooq, U., Pandith, S.A., Saggoo, M.I., and Lattoo, S.K. (2013). Altitudinal variability in anthraquinone constituents from novel cytotypes of *Rumex nepalensis* Spreng. a high value medicinal herb of North Western Himalayas. *Industrial Crops and Products*, 50, 112-117.
- Franklin, R.R. (1995). Ovarian Adhesion Study Group. Reduction of ovarian adhesions by the use of Interceed. *Obstetrics & Gynecology*, 86(3), 335-340.
- Freeman, C.C., and. Reveal, J.L. (2005). *Polygonaceae*. Vol. 5. *Flora of North America*, Oxford University Press, 216-221.
- Fujita, K., Kuge, K., Ozawa, N., Sahara, S., Zaiki, K., Nakaoji, K., Hamada, K., Takenaka, Y., Tanahashi, T., Tamai, K., Kaneda, Y., and Maeda, A. (2015). Cinnamtannin B-1 promotes migration of mesenchymal stem cells and accelerates wound healing in mice. *Plos One*, 10(12), e0144166.
- Fukuda, K., Murata, K., Itoh, K., Taniguchi, M., Shibano, M., Baba, K., Shiratori, M., Tani, T., and Matsuda, H. (2009). Fibrinolytic activity of ligustilide and pharmaceutical comparison of *Angelica acutiloba* roots before and after processing in hot water. *Journal of Traditional Medicines*, 26, 210-218.
- Gairola, S., Sharma, J., and Bedi, Y.S. (2014). A cross-cultural analysis of Jammu, Kashmir and Ladakh (India) medicinal plant use. *Journal of Ethnopharmacology*, 155(2), 925-986.

- Gao, Q., Wei, G., Wu, Y., Yao, N., Zhou, C., Wang, K., Wang, K., Sun, X., and Li, X. (2017). Paeoniflorin prevents postoperative peritoneal adhesion formation in an experimental rat model. *Oncotarget*, 8(55), 93899-93911.
- Gautam, R., Karkhile, K., Bhutani, K., and Jachak, S. (2010). Anti-inflammatory, cyclooxygenase (COX)-2, COX-1 inhibitory, and free radical scavenging effects of *Rumex nepalensis*. *Planta Medica*, 76(14), 1564-1569.
- Gautam, R., Srivastava, A., and Jachak, S.M. (2011). Simultaneous determination of naphthalene and anthraquinone derivatives in *Rumex nepalensis* Spreng. roots by HPLC: comparison of different extraction methods and validation. *Phytochemical Analysis*, 22(2), 95-188.
- Genevieve, M.B. and Weigel, R.J. (2006). Formation and prevention of postoperative abdominal adhesions. *Journal of Surgical Research*, 132(1), 3-12.
- George, G., Sengupta, P., and Paul, A.T. (2020). Optimisation of an extraction conditions for *Rumex nepalensis* anthraquinones and its correlation with pancreatic lipase inhibitory activity. *Journal of Food Composition and Analysis*. 92, 103575.
- Gescher, K., Hensel, A., Hafezi, W., Derksen, A., and Kühn, J. (2011). Oligomeric proanthocyanidins from *Rumex acetosa* L. inhibit the attachment of herpes simplex virus type-1. *Antiviral Research*, 89(1), 9-18.
- Getie, M., Gebre-Mariam, T., Rietz, R., Höhne, C., Huschka, C., Schmidtke, M., Abate, A., and Neubert, R.H.H. (2003). Evaluation of the anti-microbial and anti-inflammatory activities of the medicinal plants *Dodonaea viscosa*, *Rumex nervosus* and *Rumex abyssinicus*. *Fitoterapia*, 74(1-2), 139-143.
- Ghadiri, M., Rahimi, V.B., Moradi, E., Hasanpour, M., Clark, C.C.T., Iranshahi, M., Rakhshandeh, H., and Askari, V.R. (2021). Standardised pomegranate peel extract lavage prevents postoperative peritoneal adhesion by regulating TGF- β and VEGF levels. *Inflammopharmacology*, 29(3), 855-868.
- Giday, M., Asfaw, Z., and Woldu, Z. (2009). Medicinal plants of the meinit ethnic group of ethiopia: an ethnobotanical study. *Journal of Ethnopharmacology*. 124(3), 513-521.
- Giovannini, R., and Szathmáry, G. (1961). *Gyógynövényeink*, second ed. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest.
- Giusto, G., Vercelli, C., Iussich, S., Audisio, A., Morello, E., Odore, R., and Gandini, M. (2017). A pectin-honey hydrogel prevents postoperative intraperitoneal adhesions in a rat model. *BMC Veterinary Research*, 13(1), 55.
- Goldberg, E.P., Sheets, J.W., and Habal, M.B. (1980). Peritoneal adhesions. Prevention with the use of hydrophilic polymer coatings. *Archives of Surgery*, 115(6), 776-780.
- Gonfa, Y.H., Beshah, F., Tadesse, M.G., Bachheti, A., and Bachheti, R.K. (2021). Phytochemical investigation and potential pharmacologically active compounds of *Rumex nepalensis*: an appraisal. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 10(18), 2-11.

- González, R., Ballester, I., López-Posadas, R., Suárez, M. D., Zarzuelo, A., Martinez-Augustin, and de Medina, F.S. (2011). Effects of flavonoids and other polyphenols on inflammation. *Critical Reviews in Food Science And Nutrition*, 51(4), 331-362.
- Greene, A.K., Alwayn, I.P.J., Nose, V., Flynn, E., Sampson, D., Zurakowski, D., Folkman, J., and Puder, M. (2005). Prevention of intra-abdominal adhesions using the antiangiogenic COX-2 inhibitor Celecoxib. *Annals of Surgery*, 242(1), 140-146.
- Grover, J., Kumar, V., Singh, V., Bairwa, K., and Sobhia, M.E. (2014). Synthesis, biological evaluation, molecular docking and theoretical evaluation of ADMET properties of nepodin and chrysophanol derivatives as potential cyclooxygenase (COX-1, COX-2) inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 80, 47-56.
- Guo, H., Leung, J.C.K., Lam, M.F., Chan, L.Y.Y., Tsang, A.W.L., Lan, H.Y., and Lai, K.R. (2007). Smad7 transgene attenuates peritoneal fibrosis in uremic rats treated with peritoneal dialysis. *Journal of the American Society of Nephrology*, 18(10), 2689-2703.
- Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M., and Babaç, M.T. (2012). *Türkiye bitkileri listesi: (darmarlı bitkiler)*, 1. Baskı, İstanbul, Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi Yayınları Flora Dizini, Editor: Adil Güner.
- Ha, U.S., Koh, J.S., Cho, K.J., Yoon, B., Lee, K.W., Hong, S.H., and Lee, J.Y. (2016). Hyaluronic acid-carboxymethylcellulose reduced postoperative bowel adhesions following laparoscopic urologic pelvic surgery: a prospective, randomized, controlled, single-blind study. *BMC Urology*, 16(28), 2-6.
- Haraszti, E. (1985). *Mérgező növények, Növényi mérgezések*, Mezőgazdasági Kiadó, Budapest.
- Harshaw, D., Nahar, L., Vadla, B., Saif-E-Naser, G.M., and Sarker, S.D. (2010). Bioactivity of *Rumex obtusifolius* (Polygonaceae). *Archives of Biological Sciences*, Belgrad. 62(2), 387-392.
- Hellebrekers, B.W., Trimbos-Kemper, T.C., Trimbos, J.B., Emeis, J.J., and Kooistra, T. (2000). Use of fibrinolytic agents in the prevention of postoperative adhesion formation. *Fertility and Sterility*, 74(2), 203-212.
- Heydrick, S.J., Reed, K.L., Cohen, P.A., Aarons, C.B., Gower, A.C., Becker, J.M., and Stucchi, A.F. (2007). Intraperitoneal administration of methylene blue attenuates oxidative stress, increases peritoneal fibrinolysis, and inhibits intraabdominal adhesion formation. *Journal of Surgical Research*, 143(2), 311-319.
- Hinz, B. (2015). The extracellular matrix and transforming growth factor- β 1: Tale of a strained relationship. *Matrix Biology*, 47, 54-65.
- Hoffman, R., Benz, E.J., Shattil, S.J., Furie, B., Cohen, H.J., Silberstein, L.E. and McGlave, P. (2005). *Hematology: Basic principles and practice*, 4th Edition, Philadelphia: Elsevier.

- Hoffman, R., Benz, E.J., Silberstein, L.E., Heslop, H., Weitz, J., and Anastasi, J. (2013). *Hematology: Basic Principles and Practice*. Elsevier Health Sciences.
- Hol, J.C., Strik, C., Chaturvedi, A.A., Lomme, R., Goor, H., Stommel, M., and ten Broek, R. (2019). The efficacy of an ultrapure alginate gel in reducing adhesion formation in a rat model of blood contamination. *Journal of Surgical Research*, 241, 271-276.
- Holmdahl, L., and Ivarsson, M.L. (1999). The role of cytokines, coagulation, and fibrinolysis in peritoneal tissue repair. *European Journal of Surgery*, 165(11), 1012-1019.
- Holmdahl, L., Falkenberg, M., Ivarsson, M., and Risberg, B. (1997). Plasminogen activators and inhibitors in peritoneal tissue. *Acta Pathologica, Microbiologica, Et Immunologica Scandinavica*. 105(1), 25-30.
- Hosseini, A., Akhavan, S., Menshaei, M., and Feizi, A. (2018). Effects of streptokinase and normal saline on the incidence of intra-abdominal adhesion 1 week and 1 month after laparotomy in rats. *Advanced Biomedical Research*, 7(16), 1-5.
- Hu, Q., Lu, X., Li, G., Kang, X., Chen, K., Wang, M., Liu, S., and Guan, W. (2022). Mitoquinone treatment for the prevention of surgical adhesions *via* regulation of the NRF2/HO-1 signaling pathway in mice. *Surgery*, 171(2), 428-436.
- Hu, Q., Xia, X., Kang, X., Song, P., Liu, Z., Wang, M., Lu, X., Guan, W., and Liu, S. (2021). A review of physiological and cellular mechanisms underlying fibrotic postoperative adhesion. *International Journal of Biological Sciences*, 17(1), 298-306.
- Huang, C.Y., Chang, W.H., Cheng, M., Huang, H.Y., Horng, H.C., Chen, Y.J., Lee, W.L., and Wang, P.H. (2020). Crosslinked hyaluronic acid gels for the prevention of intrauterine adhesions after a hysteroscopic myomectomy in women with submucosal myomas: a prospective, randomized, controlled trial, *Life (Basel, Switzerland)*, 10(5),67.
- Hyon, W., Hyon, S.H., and Matsumura, K. (2022). Evaluation of the optimal dose for maximizing the anti-adhesion performance of a self-degradable dextran-based material. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, 4(5), 100255.
- Idris, O.A., Wintola, O.A., and Afolayan, A.J. (2022). Anthelmintic potency of *Rumex crispus* L. extracts against *Caenorhabditis elegans* and non-targeted identification of the bioactive compounds. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(1), 541-549.
- Ibrahim, A., Kamel, W.H., and Soliman, M. (2022). Efficacy of gelatin sponge in the prevention of post-surgical intra-abdominal adhesion in a rat model. *Research in Veterinary Science*, 152, 26-33.
- Ilich, A., Bokarev, I., and Key, N.S. (2017). Global assays of fibrinolysis. *International Journal of Laboratory Hematology*, 39(5), 441-447.
- Iqbal, I., and Hamayun, M. (2004). Studies on the traditional uses of plants of Malam Jabba Valley, District Swat, Pakistan.

Irkorucu, O., Ferahköşe, Z., Memiş, L., Ekinçi, Ö., and Akın, M. (2009). Reduction of postsurgical adhesions in a rat model: a comparative study. *Clinics*, 64(2), 143-148.

İnternet: <https://wfoplantlist.org/taxon/wfo-0000403958-2023-12?page=1> adresinden 14 Mayıs 2024 tarihinde alınmıştır.

İnternet: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Rumex_nepalensis_-_Nepal_Dock_on_way_from_Gangria_to_Govindghat_at_Valley_of_Flowers_National_Park_-_during_LGFC_-_VOF_2019_%286%29.jpg adresinden 14 Mayıs 2024 tarihinde alınmıştır.

Jaafari, A., Rahimi, V.B., Vahdati-Mashhadian, N., Yahyazadeh, R., Ebrahimzadeh-Bideskan, A., Hasanpour, M., Iranshahi, M., Ehtiati, S., Rajabi, H., Mahdinezhad, M., Rakhshandeh, H., and Askari, V.R. (2021). Evaluation of the therapeutic effects of the hydroethanolic extract of *Portulaca oleracea* on surgical-induced peritoneal adhesion. *Mediators of Inflammation*, 8437753.

Jamshidi-adevani, F., Vakilian, S., Al-kind, J., Rehman, N.U., Alkalbani, L., Al-Broumi, M., Al-Wahaibi, N., Shalaby, A., Al-Sabahi, J., Al-Harrasi, A., and Al-Hasmi, S. (2022). Prevention of post-surgical adhesion bands by local administration of frankincense n-hexane extract. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 12(4), 367-374.

Jang, D.S., Kim, J.M., Kim, J.H., and Kim, J.S. (2005). 24-nor-ursane type triterpenoids from the stems of *Rumex japonicus*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 53(12), 1594-1596.

Jang, H.S., Han, J.H., Jeong, J.Y., and Sohn, U.D. (2012). Protective effect of ECQ on rat reflux esophagitis model *The Korean Journal Of Physiology & Pharmacology*, 16(6), 455-462.

Javanmardi, S., Golmohammadi, S., and Mazaheri-khamene, R. (2017). Evaluation of silymarin effects on post-operative peritoneal adhesion in rats. *The Journal of Urmia University of Medical Sciences*, 28, 55-62.

Jedinák, A., Maliar, T., Grancai, D., and Nagy, M. (2006). Inhibition activities of natural products on serine proteases. *Phytotherapy Research*, 20(3), 214-217.

Jeon, B.R., Irfan, M., Lee, S.E., Lee, J.H., and Rhee, M.H. (2022). *Rumex acetosella* inhibits platelet function via impaired MAPK and phosphoinositide 3-kinase signaling. *Chinese Journal of Integrative Medicine*, 28(9), 802-808.

Jeong, D., Irfan, M., Lee, D.H., Hong, S.B., Oh, J.W., and Rhee, H. (2020). *Rumex acetosa* modulates platelet function and inhibits thrombus formation in rats. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 20(1), 98.

Jiang, Y., and Roby, M.S. (2000). Chitosan/aljinate anti-adhesion barrier. United States Patent. US006150581A.

- Jomezadeh, V., Sheibani, S., Tavassoli, A., Karimani, A., Zirak, M.R., Mohammadpour, A.H., Khakzad, M.R., Afshar, M., and Tavassoli, F. (2019). Effect of *Malva sylvestris* extract on postoperative peritoneal adhesion in rats. *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products*, 14(3), 12069.
- Jung, Y.S., Kim, M.H., Lee, S.H., Baik, E.J., Park, S.W., and Moon, C.H. (2002). Antithrombotic effect of onion in streptozotocin-induced diabetic rat. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 66(4), 453-458.
- Kakanezhadi, A., Rezaei, M., Raisi, A., Dezfoulan, O., Davoodi, F., and Ahmadvand, H. (2022). Rosmarinic acid prevents post-operative abdominal adhesions in a rat model. *Scientific Reports*, 12(1), 18593.
- Kala, C.P., Farooquee, N., and Dhar, U. (2004). Prioritization of medicinal plants on the basis of available knowledge, existing practices and use value status in Uttaranchal, India. *Biodiversity and Conservation*, 13(2), 453-469.
- Kamiya, K., Watanabe, C., Endang, H., Umar, M., and Satake, T. (2001). Studies on the constituents of bark of *Parameria laevigata* Moldenke. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 49(5), 551-557.
- Karimi, M., Asadi, S.Y., Parsaei, P., Rafieian-Kopaei, M., Ghaheri, H., and Ezzati, S. (2016a). The effect of ethanol extract of rose (*Rosa damascena*) on intra-abdominal adhesions after laparotomy in rats. *Wounds*, 28(5), 167-174.
- Karimi, M., Parsaei, P., Shafiei-Alavijeh, S., Rafieian-Kopaei, M., and Asadi, S.Y. (2016b). Effect of silymarin alcoholic extract on surgery-induced intraperitoneal adhesion in rats. *Surgical Practice*, 20(1), 27-33.
- Kavic, S.M. and Kavic, S.M. (2002). Adhesions and Adhesiolysis: The role of laparoscopy. *Journal of The Society of Laparoscopic & Robotic Surgeons*, 6(2), 99-109.
- Kaya, H., Tokgöz, H.B., Unal, R., and Altan, F. (2023). The effects of the *Rheum ribes* plant extract on inflammation, extracellular matrix remodeling, and obesity suggest a therapeutic potential. *Molecular Biology Reports*, 50(6), 5223-5232.
- Keskin, F., and Esen, H. (2010). Comparison of the effects of an adhesion barrier and chitin on experimental epidural fibrosis. *Turkish Neurosurgery*, 20(4), 457-463.
- Keskin, M., and Severoğlu, Z. (2023). Distribution of Polygonaceae family in Türkiye. *International Journal of Agriculture Forestry and Life Sciences*, 7(1), 1-5.
- Khan, S.W., and Khatoon, S. (2008). Ethnobotanical studies on some useful herbs of Haramosh and Bugrote Valleys in Gilgit, Northern Areas of Pakistan. *Pakistan Journal of Botany*, 40(1), 43-58.
- Khan, T.H., Ganaie, M.A., Siddiqui, N.A., Alam, A., and Ansari, M.N. (2014). Antioxidant potential of *Rumex vesicarius* L.: *in vitro* approach. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 4(7), 538-544.

- Khare, C.P. (2007). *Indian Medicinal Plants*. An illustrated Dictionary. Springer-Verlag, New York.
- Khatri, D., Baruwat Chhetri, S.B., Poudel, P., and Jamarkattel, N. (2018). Hypoglycemic and analgesic activity of root extract of *Rumex nepalensis*. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 7(4), 730-743.
- Khouya, T., Ramchoun, M., Amrani, S., Harnafi, H., Rouis, M., Couchie, D., Simmet, T., and Alem, C. (2020). Antiinflammatory and anticoagulant effects of polyphenol-rich extracts from *Thymus atlanticus*: An *in vitro* and *in vivo* study. *Journal of Ethnopharmacology*, 252, 112475.
- Kim, J. M., and Heo, H. J. (2022). The roles of catechins in regulation of systemic inflammation. *Food Science and Biotechnology*, 31(8), 957-970.
- Kim, S., Kim, M., Lee, B., Park, D., Hong, S., and Um, J. (2010). Anti-inflammatory activity of chrysophanol through the suppression of NF-kappaB/caspase-1 activation *in vitro* and *in vivo*. *Molecules*, 15(9), 6436-6451.
- Kim, S., Lee, S., Greene, A.K., Arsenault, D.A., Le, H., Meisel, J., Novak, K., Flynn, E., Heymach, J.V., and Puder, M. (2008). Inhibition of intra-abdominal adhesion formation with the angiogenesis inhibitor Sunitinib. *Journal of Surgical Research*, 149(1), 115-119.
- Kirtikar, K.R., and Basu, B.D. (1987). *Indian Medicinal Plants*, Vol. 3. International Book Distributors, India, 2113-2114.
- Kocaay, A.F., Çelik, S.U., Eker, T., Çetinkaya, Ö.A., and Genç, V. (2015). İntraperitoneal adezyonlar: patogenezi, klinik önemi ve önleme stratejileri, *Şişli Hamidiye Etfal Eğitim Araştırma Hastanesi Tıp Bülteni*, 49(4), 231-237.
- Kolodziejczyk-Czepas, J., Sieradzka, M., MoniuszkoSzajwaj, B., Pecio, Ł., Ponczek, M.B., Nowak, P., and Stochmal, A. (2017). Bufadienolides from *Kalanchoe daigremontiana* as thrombin inhibitors-*in vitro* and *in silico* study. *International Journal of Biological Macromolecules*, 99, 141-150.
- Kowarzyk, H., and Buluk, K. (1950). Progress of the studies on blood coagulation. *Postepy Higieny i Medycyny Doswiadczalnej*, 2(1), 76.
- Kulkarni, V., Butte, K., and Rathod, S. (2012). Natural polymers- a comprehensive review. *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, 3(4), 1597-1613.
- Kumar, S., and Sing, P.K. (2020). Phytochemical investigation and antioxidant characterization of essential oil from roots of *Rumex nepalensis* Spreng high altitude of North Indi. *Materials Today: Proceedings*, 26(5), 3442-3448.
- Kumar, S., Joseph, L., George, M., Kaur, L., and Bharti, V. (2011). Skeletal muscle relaxant activity of methanolic extract of *Rumex nepalensis* in albino rats. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 3(3), 725-728.

- Lamy, S., Akla, N., Ouanouki, A., Lord-Dufour, S., and Béliveau, R. (2012). Diet-derived polyphenols inhibit angiogenesis by modulating the interleukin-6/STAT3 pathway. *Experimental Cell Research*, 318(13), 1586-1596.
- Lang, R.A., Grüntzig, P.M., Weisgerber, C., Weis, C., Odermatt, E.K., and Kirschner, M.H. (2007). Polyvinyl alcohol gel prevents abdominal adhesion formation in a rabbit model. *Fertility and Sterility*, 88, 1180-1186.
- Lauder, C.I.W., Garcea, G., Strickland, A., and Maddern, G.J. (2011). Use of a modified chitosan-dextran gel to prevent peritoneal adhesions in a rat model. *The Journal of Surgical Research*, 171(2), 877-882.
- Lazarova, I., Simeonova, R., Vitcheva, V., Kondeva-Burdina, M., Gevrenova, R., Zheleva-Dimitrova, D., Zengin, G., and Danchev, N. (2016). Hepatoprotective and antioxidant potential of *Asphodeline lutea* (L.) Rchb. roots extract in experimental models *in vitro/in vivo*. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 83, 70-78.
- Leach, R., Burns, J., Dawe, E., Smith Barbour, M. and Diamond, M. (1998). Reduction of postsurgical adhesion formation in the rabbit uterine horn model with use of hyaluronate/carboxymethylcellulose gel. *Fertility and Sterility*, 69(3), 415-418.
- Lee, N.J., Choi, J.H., Koo, B.S., Ryu, S.Y., Han, Y.H., Lee, S.I., and Lee, D.U. (2005). Antimutagenicity and cytotoxicity of the constituents from the aerial parts of *Rumex acetosa*. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 28(11), 2158-2161.
- Lewis, W.H., and Elvin-Lewis, P.F. (2003). *Medical Botany. Plants Affecting Human Health*. Wiley, New Jersey.
- Li, A.R. (1998). *Flora of China*, Vol. 76. Beijing: Science Press, 147-166.
- Li, J.J., Wang, X.X., Li, Y.M., Li, N., Zhu, H.T., Eshbakova, K.A., and Zhang, Y.J. (2024). Phenolic constituents with potent α -glucosidase inhibitory and cytotoxic activities from *Rumex nepalensis* var. *remotiflorus*. *Phytochemistry*, 114122.
- Liakakos, T., Thomakos, N., Fine, P.M., Dervenis, C., and Young, R.L. (2001). Peritoneal adhesions: etiology, pathophysiology, and clinical significance. *Digestive Surgery*, 18(4), 260-273.
- Lian, Y., Xia, X., Zhao, H., and Zhu, Y. (2017). The potential of chrysophanol in protecting against high fat-induced cardiac injury through Nrf2-regulated anti-inflammation, antioxidant and anti-fibrosis in Nrf2 knockout mice. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 93, 1175-1189.
- Liang, H., Dai, H., Fu, H., Dong, X., Adebayo, A., Zhang, L., and Cheng, Y. (2010). Bioactive compounds from *Rumex* plants. *Phytochemistry Letters*, 3, 181-184.
- Lijnen, P., and Petrov, V. (2002). Transforming growth factor-beta 1-induced collagen production in cultures of cardiac fibroblasts is the result of the appearance of myofibroblasts. *Methods & Findings in Experimental & Clinical Pharmacology*, 24(6), 333-344.

- Lima, L., Andrade, S., Campos, P., Barcelos, L., Soriani, F., Moura, S., and Ferreira, M. (2014). Brazilian green propolis modulates inflammation, angiogenesis and fibrogenesis in intraperitoneal implant in mice. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 14, 3-9.
- Liu, B., Zhang, Q., Wu, X., Fu, Y., Wang, H., Guan, Y., Yang, S., Liu, Y., Cao, W., and Wang, J. (2019). Effect of *Bletilla striata* on the prevention of postoperative peritoneal adhesions in abrasion induced rat model. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2019(5), 9148754.
- Liu, J., Xu, D., Xia, N., Hou, K., Chen, S., Wang, Y., and Li, Y. (2018). Anticoagulant activities of indobufen, an antiplatelet drug. *Molecules*, 23(6), 1452.
- Liudvytska, O., Ponczek, M.B., Krzyżanowska-Kowalczyk, J., Kowalczyk, M., Balcerczyk, A., and Kolodziejczyk-Czepas, J. (2023). Effects of *Rheum rhaponticum* and *Rheum rhubarbarum* extracts on haemostatic activity of blood plasma components and endothelial cells in vitro. *Journal of Ethnopharmacology*, 315, 116562.
- López, J.J., Jardín, I., Salido, G.M. and Rosado, J.A. (2008). Cinnamtannin B-1 as an antioxidant and platelet aggregation inhibitor. *Life Sciences*, 82(19-20), 977-982.
- Łuczaj, L., and Szymański, W.M. (2007). Wild vascular plants gathered for consumption in the Polish countryside: a review. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 3, 1-22.
- Luijendijk, R.W., de Lange, D.C., Wauters, C.C., Hop, W.C., Duron, J.J., Pailler, J.L., Camprodon, B.R., Holmdahl, L., van Geldrop, H.J., and Jeekel, J. (1996). Foreign material is postoperative adhesions. *Annals of Surgery*, 223(3), 242-248.
- Luo, Y., Sun, Y., Huang, B., Chen, J., Xu, B., and Li, H. (2024). Effects and safety of hyaluronic acid gel on intrauterine adhesion and fertility after intrauterine surgery: a systematic review and meta-analysis with trial sequential analysis of randomized controlled trials. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 1-15.
- Lyu, S. Y., and Park, W. B. (2005). Production of cytokine and NO by RAW 264.7 macrophages and PBMC *in vitro* incubation with flavonoids. *Archives of Pharmacal Research*, 28(5), 573-581.
- Mahmoudieh, M., Keleidari, B., Esfahani, F.N., Zolfaghari, B., Melali, H., Jazi, A.H.D., Mehdinezhad, N., and Mokhtari, M. (2020). The effect of *Punica granatum* L. flower extract on post-surgical peritoneal adhesions in a rat model. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 246, 113-116.
- Manandhar, N.P. (1995). A survey of medicinal plants of jajarkot district, Nepal. *Journal of Ethnopharmacology*, 48(1); 1-6.
- Manandhar, N.P. (2002). *Plants and People of Nepal*. Timber Press, Oregon, ISBN 0-8192-527-6.

- Marcinczyk, N., Gołaszewska, A., Gromotowicz-Poplawska, A., Misztal, T., Strawa, J., Tomczyk, M., Kasacka, I., and Chabielska, E. (2021). Multidirectional effects of tormentil extract on hemostasis in experimental diabetes. *Frontiers in Pharmacology*, 12, 682987.
- Marhoumea, F.Z., Laaradia, M.A., Zaid, Y., Laadraoui, J., Oufquir, S., Aboufatima, R., Chait, A., and Bagri, A. (2019). Anti-aggregant effect of butanolic extract of *Rubia tinctorum* L on platelets *in vitro* and *ex vivo*. *Journal of Ethnopharmacology*, 241(2), 111971.
- Marotta, M., and Martino, G. (1985). Sensitive spectrophotometric method for the quantitative estimation of collagen. *Analytical Biochemistry*, 150(1), 86-90.
- Matsuda, H., Samukawa, K., Fukuda, S., Shiimoto, H., Chun-ning, T., and Kubo, M. (1989). Studies of *Panax japonicus* fibrinolysis. *Planta Medica*, 55(1), 18-21.
- Medicinal Plants in Vietnam. (1990). WHO Regional Publications Western Pacific Series No. 3. WHO, Manila.
- Mei, R., Liang, H., Wang, J., Zeng, L., Lu, Q., and Cheng, Y. (2009). New seco-anthraquinone glucosides from *Rumex nepalensis*. *Planta Medica*, 75(10), 1162-1164.
- Mekonnen, T., Urga, K. and Engidawork, E. (2010). Evaluation of the diuretic and analgesic activities of the rhizomes of *Rumex abyssinicus* Jacq in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 127(2), 433-439.
- Menzies D. (1993). Postoperative adhesions: their treatment and relevance in clinical practice. *Annals of The Royal College of Surgeons of England*, 75(3), 147-153.
- Mesfin, F., Seta, T., and Assefa, A. (2014). An ethnobotanical study of medicinal plants in Amaro Woreda, Ethiopia. *Ethnobotany Research & Applications*, 12, 341-354.
- Min, Y. D., Choi, C. H., Bark, H., Son, H. Y., Park, H. H., Lee, S., Park, J.W., Park, E.K., Shin, H.I. and Kim, S.H. (2007). Quercetin inhibits expression of inflammatory cytokines through attenuation of NF- κ B and p38 MAPK in HMC-1 human mast cell line. *Inflammation Research*, 56(5), 210-215.
- Misra, S., Maikhuri, R.K., Kala, C.P., Rao, K.S., and Saxena, K.G. (2008). Wild leafy vegetables: a study of their subsistence dietetic support to the inhabitants of Nanda Devi Biosphere Reserve, India. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 4(15), 1-9.
- Moerman, D. (2003). *Native American Ethnobotany*.
- Monk, B.J., Berman, M.L., and Montz, F.J. (1994). Adhesions after extensive gynecologic surgery. Clinical significance, etiology, and prevention. *American Journal of Obstetrics & Gynecology*, 170(5), 1396-1403.

- Mozzicafreddo, M., Cuccioloni, M., Bonfili, L., Eleuteri, A.M., Fioretti, E., and Angeletti, M. (2008). Antiplasmin activity of natural occurring polyphenols. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1784(7-8), 995-1001.
- Mozzicafreddo, M., Cuccioloni, M., Eleuteri, A.M., Fioretti, E., and Angeletti, M. (2006). Flavonoids inhibit the amidolytic activity of human thrombin. *Biochimie*, 88(9), 1297-1306.
- Munavu, R.M., Mudamba, L.O., and Ogur, J.A. (1984). Isolation and characterization of the major anthraquinone pigments from *Rumex abyssinica*. *Planta Medica*, 50(1), 111.
- Munir, M.A., Ahmad, M., Ali, M.I., Mahmood, Z., Afzal, M., Sharif, M.N., and Aslam, M. (2016). Correlation and regression analysis of morphological traits in *Rumex dentatus*, *Bulletin of Biological and Allied Sciences Research*, 1(2), 1-5.
- Murata, K., Abe, Y., Futamura-Masuda, M., Uwaya, A., Isami, F., Deng, S., and Matsuda, H. (2014). Effect of *Morinda citrifolia* fruit extract and its iridoid glycosides on blood fluidity. *Journal of Natural Medicines*, 68(3), 498-504.
- Mutsaers, S. E., Whitaker, D., and Papadimitriou, J. M. (2002). Stimulation of mesothelial cell proliferation by exudate macrophages enhances serosal wound healing in a murine model. *American Journal of Pathology*, 160(2), 681-692.
- Mutsaers, S.E. (2004). The mesothelial cell. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 36(1), 9-16.
- Naderi, G.A., Asgary, S., Jafarian, A., Askari, N., Behagh, A., and Aghdam, R.H. (2005). Fibrinolytic effects of *Ginkgo biloba* extract. *Experimental and Clinical Cardiology*, 10(2), 85-87.
- Nedelcheva, A. (2013). An ethnobotanical study of wild edible plants in Bulgaria. *Eurasian Journal of Biosciences*, 7, 77-94.
- Nguengang, R.T., Tchegnitegni, B.T., Terence Ateba, Tabekoueng, G.B., Awantu, A.F., Kezetas Bankeu, J.J., Chouna, J.R., Nkenfou, C.N., Sewald, N. and Lenta, B.N. (2023). Antibacterial constituents of *Rumex nepalensis* spreng and its emodin derivatives. *Natural Product Research*, 37(23), 3935-3946.
- Nguyen, T.M.H., Nguyen, T.T.O., Le, N.T., Spyridovich, E.V., Nguyen, V.H., and Chau, V.M. (2021). Preliminary observation on the fibrinolytic activity of *Dimocarpus longan* seed. *Chemistry of Natural Compounds*, 57(5), 945-948.
- O'connor, W.N., and Valle, S. (1982). A combination Verhoeffs elastic and Masson's trichrome stain for routine histology. *Stain Technology*, 57(4), 207-210.
- Okur, M.H., Aydogdu B., Arslan, M.S., Alabalik, U., Arslan S., Kara, I., Canpolat, F., Şahin, A., and Otcu, S. (2014). Intra-peritoneal administration of *Ecballium elaterium* diminishes postoperative adhesions. *Acta Cirúrgica Brasileira*, 29(10), 639-643.

- Ozturk, S. and Ozturk, A. (2007). Antibacterial activity of aqueous and methanol extracts of *Rumex alpinus* and *Rumex caucasicus*. *Pharmaceutical Biology*, 45(2), 83-87.
- Özcan, O., Erdal, H., Çakırca, G., and Yönden, Z. (2015). Oksidatif stres ve hücre içi lipit, protein ve DNA yapıları üzerine etkileri. *Journal of Clinical and Experimental Investigations*, 6(3), 331-336.
- Özgünseven, A. (2021). *Potentilla speciosa* willd. var. *speciosa* willd. ve Sekonder Metabolitlerinin A-Glukozidaz ve Tirosinaz İnhibitör Etkilerinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 109-113.
- Pardo-de-Santayana, M., Tardío, J., Blanco, E., Carvalho, A.M., Lastra, J.J., San Miguel, E., and Morales, R. (2007). Tradition knowledge of wild edible plants used in the northwest of the Iberian Peninsula (Spain and Portugal): a comparative study. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 3(27), 1-11.
- Pareek, A., and Kumar, A. (2014). *Rumex crispus* L. – a plant of traditional value. *Drug Discovery*, 9, 20-23.
- Park, H., Baek, S., Kang, H., and Lee, D. (2020). Biomaterials to Prevent Post-Operative Adhesion. *Materials*, 13(14), 2-26.
- Park, M., Kwon, H., and Sung, M. (2009). Evaluation of aloin and aloe-emodin as anti-inflammatory agents in aloe by using murine macrophages. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 73(4), 828-832.
- Parsaei, P., Karimi, M., Asadi, S.Y., and Rafieian-Kopaei, M. (2013). Bioactive components and preventive effect of green tea (*Camellia sinensis*) extract on post-laparotomy intra-abdominal adhesion in rats. *International Journal of Surgery*, 11(9), 811-815.
- Péntek, J. and Szabó, A. (1985). *Ember és növényvilág. Kriterion Kiadó, Bukarest.*
- Pieroni, A., and Quave, C.L. (2014). *Wild food and medicinal plants used in the mountainous Albanian North, Northeast, and East: a comprehension, ethnobotany and biocultural diversities in the Balkans*. Springer, New York, 183-194.
- Pokhrel, B., and Choden, D. (2022). Antifungal efficacy of *Hyptis suaveolens* and *Rumex nepalensis* extracts against *Alternaria solani*: An approach for bio-pesticides. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 43(6), 102439.
- Polat, R., Selvi, S., Cakilcioglu, U., Acar, M. (2012). Investigation of ethnobotanical aspect of wild plants sold in Bingöl (Turkey) local markets. *Biological Diversity and Conservation*, 5(3), 155-161.
- Pradhan, B.K. and Badola, H.K. (2008). Ethnomedicinal plant use by Lepcha tribe of Dzongu valley, bordering Khangchendzonga Biosphere Reserve, in North Sikkim, India. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 4(22), 1-18.

- Prasad, S., Kashyap, R.S., Deopujari, J.Y., Purohit, H.J., Taori, G.M., and Dagainawala, H.F. (2006). Development of an *in vitro* model to study clot lysis activity of thrombolytic drugs. *Thrombosis Journal*, 4(14), 1-4.
- Rácz, G., Rácz-Kotilla, E., Szabó, L.G. (1992). *Gyógynövényismeret. A fitoterápia alapjai*, Sanitas, Budapest.
- Rahimi, V.B., Rakhshandeh, H., Raucci, F., Buono, B., Shirazinia, R., Kermani, A.S., Maione, F., Mascolo, N., and Askari, V.R. (2019). Antiinflammatory and anti-oxidant activity of *Portulaca oleracea* extract on LPS-induced rat lung injury. *Molecules*, 24(1), 139.
- Rahimi, V.B., Shirazinia, R., Fereydouni, N., Zamani, P., Darroudi, S., Sahebkar, A.H., and Askari, V.R. (2017). Comparison of honey and dextrose solution on post-operative peritoneal adhesion in rat model. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 92, 849-855.
- Rahmanian-Devin, P., Rakhshandeh, H., Rahimi, V.B., Sanei-Far, Z., Hasanpour, M., Memarzia, A., Iranshahi, M., and Askari, V.R. (2021). Intraperitoneal lavage with *Crocus sativus* prevents postoperative-induced peritoneal adhesion in a rat model: evidence from animal and cellular studies. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 5945101.
- Rajaei, M., Najafian, A., Fallahi, S., Asadi, I., Salimi, M., Shahrzad, M., Eftekhaari, T., and Golpaygani, K. (2014). Fibrinolytic effects of *Matricaria chamomilla* in preventing peritoneal adhesions. *Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences*, 3(5), 40-45.
- Rehman, A.A., Riaz, A., Asghar, M.A., Raza, M.L., Ahmed, S., and Khan, K. (2019). In vivo assessment of anticoagulant and antiplatelet effects of *Syzygium cumini* leaves extract in rabbits. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 19(1), 236.
- Risberg, B. (1997). Adhesions: preventive strategies. *The European journal of surgery. Supplement.*, 577, 32-39.
- Rivero-Cruz, I., Acevedo, L., Gurerrero, J.A., Martinez, S., Bye, R., Pereda-Miranda, R., Franzblau, S., Timmermann, B.N., and Mata, R. (2005). Antimycobacterial agents from selected Mexican medicinal plants. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 57(9), 1117-1126.
- Rivkind, A.I., Marshood, M., Durst, A.L., and Becker, Y. (1983). Cianidanol ([+]-Cyanidanol-3) prevents the development of abdominal adhesions in rats. *Archives of Surgery*, 118(12), 1431-1433.
- Rodgers, K.E., and DiZerega, G.S. (1993). Function of peritoneal exudate cells after abdominal surgery. *Journal of Investigative Surgery*, 6(1), 9-23.
- Rodgers, K.E., Johns, D.B., Girgis, W., Campeau, J., and DiZerega, G.S. (1997). Reduction of adhesion formation with hyaluronic acid after peritoneal surgery in rabbits. *Fertility and Sterility*, 67(3), 553-558.

- Roohbakhsh, Y., Rahimi, V.B., Silakhori, S., Rajabi, H., Rahmanian-Devin, P., Samzadeh-Kermani, A., Rakhshandeh, H., Hasanpour, M., Iranshahi, M., Mousavi, S.H., and Askari, V.R. (2020). Evaluation of the effects of peritoneal lavage with *Rosmarinus officinalis* extract against the prevention of postsurgical-induced peritoneal adhesion. *Planta Medica*, 86(6), 405-414.
- Rouf, A.S.S., Islam, M.S., and Rahman, M.T. (2003). Evaluation of antidiarrhoeal activity *Rumex maritimus* root. *Journal of Ethnopharmacology*, 84(2-3), 307-310.
- Rout, U.K., Saed, G.M., and Diamond, M.P. (2002). Transforming growth factor- β 1 modulates expression of adhesion and cytoskeletal proteins in human peritoneal fibroblasts. *Fertility and Sterility*, 78(1), 154-161.
- Ruiz-Esparza, G.U., Wang, X., Zhang, X., Jimenez-Vazquez, S., Diaz-Gomez, L., Lavoie, A.M., Afewerki, S., Fuentes-Baldemar, A.A., Parra-Saldivar, R., Jiang, N., Annabi, N., Saleh, B., Yetisen, A.K., Sheikhi, A., Jozefak, T.H., Shin, S.R., Dong, N., and Khademhosseini, A. (2021). Nanoengineered shear-thinning hydrogel barrier for preventing postoperative abdominal adhesions. *Nano-Micro Letters*, 13(1), 2-16.
- Saed, G.M., and Diamond, M.P. (2004). Molecular characterization of postoperative adhesions: the adhesion phenotype. *The Journal of the American Association of Gynecologic Laparoscopists*, 11(3), 307-314.
- Sahbaz, A., Aynioglu, O., Isik, H., Ozmen, U., Cengil, O., Dogan Gun, B., and Gungorduk, K. (2015a). Bromelain: a natural proteolytic for intra-abdominal adhesion prevention. *International Journal of Surgery*, 14, 7-11.
- Sahbaz, A., Aynioglu, O., Isik, H., Gulle, K., Akpolat Ferah, M., and Cicekler Sahbaz, H. (2015b). Cholecalciferol (vitamin D3) prevents postoperative adhesion formation by inactivating the nuclear factor kappa B pathway: a randomized experimental study. *Journal of Surgical Research*, 198(1), 252-259.
- Sahbaz, A., Ersan, F., and Aydin, S. (2014). Effect of *Nigella sativa* oil on postoperative peritoneal adhesion formation. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*, 40(2), 532-537.
- Sahreen, S., Khan, M.R., Khan, R.A. (2014). Comprehensive assessment of phenolics and antiradical potential of *Rumex hastatus* D. Don. roots. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 14(47), 1-11.
- Saif, A., Shami, N., Anwar, S., and Asif, S. (2019). Role of hyaluronic acid barrier gel in adhesion prevention. *Pakistan Journal of Medical & Health Sciences*, 13(1), 13-16.
- Saini, R., Bains, L., Hadke, S., and Koner, C. (2020). Evaluation of oxidative stress response in endoscopic and Lichtenstein hernia repair: A randomized control study. *International Journal of Abdominal Wall and Hernia Surgery*, 3(4), 148-154.
- Sanchez, A., and Kron, K.A. (2008). Phylogenetics of Polygonaceae with an emphasis on the evolution of Eriogonoideae. *Systematic Botany*, 33(1), 87-96.

- Saribas, G.S., Ozogul, C., Tiryaki, M., Alpaslan Pinarli, F., and Hamdemir Kilic, S. (2020). Effects of uterus derived mesenchymal stem cells and their exosomes on asherman's syndrome. *Acta Histochemica*, 122(1), 15146.
- Sartor, L., Pezzato, E., Dell'Aica, I., Caniato, R., Biggin, S., and Garbisa, S. (2002). Inhibition of matrix-proteases by polyphenols: Chemical insights for anti-inflammatory and anti-invasion drug design. *Biochemical Pharmacology*, 64(2), 229-237.
- Schindler, R., Mancilla, J., Endres, S., Ghorbani, R., Clark, S. C., and Dinarello, C. A. (1990). Correlations and interactions in the production of interleukin-6 (IL-6), IL-1, and tumor necrosis factor (TNF) in human blood mononuclear cells: IL-6 suppresses IL-1 and TNF. *Blood*, 75(1), 40-47.
- Seo, E., Ngoc, T., Lee, S., Kim, Y., and Jung, Y. (2012). Chrysophanol-8-O-glucoside, an anthraquinone derivative in rhubarb, has antiplatelet and anticoagulant activities. *Journal of Pharmacological Sciences*, 118(2), 245-254.
- Shaikh, S., Shriram, V., Srivastav, A., Barve, P., and Kumar, P. (2018). A critical review on Nepal Dock (*Rumex nepalensis*): A tropical herb with immense medicinal importance. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 11(7), 405-414.
- Shan, H., Zhang, Y., Lu, Y., Zhang, Y., Pan, Z., Cai, B., Wang, N., Li, X., Feng, T., Hong, Y., and Yang, B. (2009). Downregulation of miR-133 and miR-590 contributes to nicotine-induced atrial remodelling in canines. *Cardiovascular Research*, 83(3), 465-472.
- Sharma, R., Jandrotia, R., Singh, B., Sharma, U., and Kumar, D. (2018). Comprehensive metabolomics study of traditionally important *Rumex* species found in Western Himalayan region. *Natural Product Communications*, 13(2), 189-194.
- Sharma, R.S., Mishra, V., Singh, R., Seth, N., and Babu, C.R. (2008). Antifungal activity of some Himalayan medicinal plants and cultivated ornamental species. *Fitoterapia*, 79(7-8), 589-591.
- Sharma, V., Mishra, M., Ghosh, S., Tewari, R., Basu, A., Seth, P., and Sen, E. (2007). Modulation of interleukin-1 β mediated inflammatory response in human astrocytes by flavonoids: implications in neuroprotection. *Brain Research Bulletin*, 73(1-3), 55-63.
- Shaz, B.T., Hillyer, C.D., and Reyes Gil, M. (2019). *Transfusion Medicine and Hemostasis: Clinical and Laboratory Aspects*. 3rd Edition, Elsevier Science.
- Shen, Z.Q., Dong, Z.J., Peng, H., and Liu, J.K. (2003). Modulation of PAI-1 and tPA activity and thrombolytic effects of corilagin. *Planta Medica*, 69(12), 1109-1112.
- Shiwani, S., Singh, N.K., and Wang, M.H. (2012). Carbohydrase inhibition and anti-cancerous and free radical scavenging properties along with DNA and protein protection ability of methanolic root extracts of *Rumex crispus*. *Nutrition Research and Practice*. 6(5), 389-395.

- Shrestha, I., and Joshi, N. (1993). Medicinal plants of the Lele village of Lalitpur district, Nepal. *Pharmaceutical Biology*, 31(2), 130-134.
- Sikirica, V., Bapat, B., Candrilli, S.D., Davis, K.L., Wilson, M., and Johns, A. (2011). The inpatient burden of abdominal and gynecological adhesiolysis in the US. *BMC Surgery*, 11(13), 1-9.
- Singh, K.N., and Lal, B. (2008). Ethnomedicines used against four common ailments by the tribal communities of Lahaul-Spiti in western Himalaya. *Journal of Ethnopharmacology*, 115(1), 147-159.
- Sirovy, M., Krupova, M., Hyspler, R., Ticha, A., Kolackova, M., Andrys, C., Radochova, V., Astapenko, D., Odlozilova, S., Kotek, J., Zajak, J., and Paral, J. (2023). Lipid emulsions prevent postoperative abdominal adhesions. *Asian Journal of Surgery*, 46(1), 465-471.
- Solomon, T., Largesse, Z., Mekbebe, A., Eyasu, M., and Asfaw, D. (2010). Effect of *Rumex steudelii* methanolic root extract on ovarian folliculogenesis and uterine histology in female albino rats. *African Health Sciences*, 10(4), 353-361.
- Sravva, T., Rao, G.V., Kumari, M.G., Sagar, Y.V., Sivaranjani, Y., and Sudheerkanth, K. (2018). Evaluation of biosafe alternatives as xylene substitutes in hematoxylin and eosin staining procedure: a comparative pilot study. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*, 22(1), 148.
- Šťastná, P., Klimeš, L., and Klimešová, J. (2010). Biological flora of Central Europe: *Rumex alpinus* L. *Perspectives in Plant Ecology Evolution and Systematic*, 12(1), 67-79.
- Steiner, R.P. (1986). *Folk medicine. The art and the science*. American Chemical Society, Washington.
- Sudirman, T., Hatta, M., Prihantono, P., Bukhari, A., Tedjasaputra, T.B., and Lie, H. (2022). Vitamin E administration as preventive measures for peritoneal/intra abdominal adhesions: A systematic review and meta-analysis. *Annals of Medicine and Surgery*, 80, 104225.
- Sui, X., Zhang, Q., Qiu, H., Zhou, J., Gu, X., Lu, Z., Li, C., Jin, L., and Wang, G. (2007). Mechanism of salvianolate in preventing postoperative intestinal adhesion in rats. *Journal of Chinese Integrative Medicine*, 5(5), 521-525.
- Suzuki, Y., Kondo, K., Ichise, H., Tsukamoto, Y., Urano, T., and Umemura, K. (2003). Dietary supplementation with fermented soybeans suppresses intestinal thickening. *Nutrition*, 19(3), 261-264.
- Süntar, I., Demirel, M.A., Ceribasi, A.O., Ergin, I., and Gökbulut, A. (2021). Preventive effect of *Rumex crispus* L. on surgically induced intra-abdominal adhesion model in rats. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, 29(1), 101-115.
- Szalai, M. (1991). Halimbai füveskönyv, Mezőgazdasági Kiadó, Debrecen.

- Tabakoğlu, E., and Durgut, R. (2013). Veteriner hekimlikte oksidatif stres ve bazı önemli hastalıklarda oksidatif stresin etkileri, *AVKAE Dergisi*, 3(1), 69-75.
- Tamokou, J.D., Chouna, J.R., Fischer-Fodor, E., Chereches, G., Barbos, O., Damian, G., Benedec, D., Duma, M., Efouet, A.P.N., Wabo, H.K., Kulate, J.R., Mot, A., and Silaghi-Dumitrescu, R. (2013). Anticancer and antimicrobial activities of some antioxidant-rich Cameroonian medicinal plants. *Plos One*, 8(2), e55880.
- Tan, P., Zhang, H.Z., Li, Y. and Zhang, D.K. (2018). Preliminary study on antiplatelet aggregation of 10 anthraquinones in Rhei Radix et Rhizoma based on bioassay. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 49(4), 859-865.
- Tavares, L., Carrilho, D., Tyagi, M., Barata, D., Serra, A.T., Duarte, C.M.M., Duarte, R.O., Feliciano, R.P., Bronze, M.R., Chicau, P., Espirito-Santo, M.D., Ferreira, R.B., and dos Santos, C.N. (2010). Antioxidant capacity of Macaronesian traditional medicinal plants. *Molecules*, 15(4), 2576-2592.
- Tullberg-Reinert, H., and Jundt, G. (1999). In situ measurement of collagen synthesis by human bone cells with a sirius red-based colorimetric microassay: effects of transforming growth factor beta2 and ascorbic acid 2-phosphate. *Histochemistry and Cell Biology*, 112(4), 271-276.
- Tura, G.T, Eshete, W.B., and Tucho, G.T. (2017). Antibacterial efficacy of local plants and their contribution to public health in rural Ethiopia. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*, 6(76).
- Türkçapar, AG., Özarslan, C., Erdem, E., Bumin, C., Erverdi, N., and Kutlay, J. (1995). The effectiveness of low molecular weight heparin on adhesion formation in experimental rat model. *International Journal of Surgery*, 80(1), 92-94.
- Türkoğlu, A., Gül, M., Yuksel, H.K., Alabalik, U., Ülger, B.V., Uslukaya, O., and Avci, Y. (2015). Effect of intraperitoneal curcumin instillation on postoperative peritoneal adhesions. *Medical Principles and Practice*, 24(2), 153-158.
- Tyler, V.E. (1993). *The honest herbal: a sensible guide to the use of herbs and related remedies*. Third edition, Pharmaceutical Products Press, New York.
- Uniyal, S., Singh, K.N., Jamwal, P., and Lal, B. (2006). Traditional use of medicinal plants among the tribal communities of Chhota Bhangal, Western Himalaya. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 2(14), 1-8.
- Urano, T., Sakakibara, K., Rydzewski, A., Urano, S., Takada, Y., and Takada, A. (1990). Relationships between euglobulin clot lysis time and the plasma levels of tissue plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor 1. *Thrombosis and Haemostasis*, 63(1), 82-86.
- Urkan, M., and Güven, H.E. (2021). Boric acid is as effective as hyaluronic acid-based agent in preventing intra-abdominal adhesions in a rat model. *Ulus Travma Acil Cerrahi Dergisi*, 27(3), 284-289.

- Vasas, A., Orbán-Gyapai, O., and Hohmann, J. (2015). The genus *Rumex*: review of traditional uses, phytochemistry and pharmacology. *Journal of Ethnopharmacology*, 175, 198-228.
- Vashistha, R.K., Rawat, N., Chaturvedi, A.K., Nautiyal, B.P., Pratti, P. and Nautiyal, M.C. (2009). An exploration on the phenology of different growth forms of an alpine expanse of North-West Himalaya, India. *New York Science Journal*, 2(6), 29-41.
- Viskupicova, J., Danihelova, M., Majekova, M., Liptaj, T., and Sturdik, E. (2011). Polyphenol fatty acid esters as serine protease inhibitors: A quantum-chemical QSAR analysis. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 27(6), 800-809.
- Wang, C., Li, X., Meng, X., Zhou, J., Qin, F., and Hou, L. (2014). Prevention of experimental postoperative peritoneal adhesions through the intraperitoneal administration of tanshinone IIA. *Planta Medica*, 80(12), 969-973.
- Wang, K., Gao, L., Zhang, Q., Zhang, Y., Yao, W., Zhang, M., Tang, Y., Ding, A. and Zhang, L. (2020). Revealing the mechanisms and the material basis of *Rubia cordifolia* L. on abnormal uterine bleeding with uniting simultaneous determination of four components and systematic pharmacology approach-experimental validation. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 189(1), 113475.
- Wang, L., Yang, G., Yuan, L., Yang, Y., Zhao, H., Ho, C.T., and Li, S. (2019). Green tea catechins effectively altered hepatic fibrogenesis in rats by inhibiting ERK and Smad1/2 phosphorylation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(19), 5437-5445.
- Watt, J.M., and Breyer-Brandwijk, M.G. (1932). *The medicinal and poisonous plants of Southern Africa*. Livingston, Edinburgh.
- Wegiera, M., Smolarz, H.D., Wianowska, D., and Dawidowicz, A.L. (2007). Anthracene derivatives in some species of *Rumex* L. genus. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 76(2), 103-108.
- Wei, G., Chen, X., Wang, G., Fan, L., Wang, G., and Li, X. (2016). Effect of resveratrol on the prevention of intra-abdominal adhesion formation in a rat model. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 39(1), 33-46.
- Wei, G., Wu, Y., Gao, Q., Shen, C., Chen, Z., Wang, K., Yu, J., Li, X., and Sun, X. (2018). Gallic acid attenuates postoperative intraabdominal adhesion by inhibiting inflammatory reaction in a rat model. *Medical Science Monitor*, 24, 827-838.
- Wei, G., Wu, Y., Gao, Q., Zhou, C., Wang, K., Shen, C., Wang, G., Wang, K., Sun, X., and Li X. (2017). Effect of emodin on preventing postoperative intra-abdominal adhesion formation. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1740317, 1-12.
- Wen, L., You, L., Yang, X., Yang, J., Chen, F., Jiang, Y., and Yang, B. (2015). Identification of phenolics in litchi and evaluation of anticancer cell proliferation activity and intracellular antioxidant activity, *Free Radical Biology and Medicine*, 84, 171-184.

- Wu, Y., Wei, G., Yu, J., Chen, Z., Xu, Z., Shen, R., Liang, T., Zheng, L., Wang, K., Sun, X., and Li, X. (2019). Danhong injection alleviates postoperative intra-abdominal adhesion in a rat model. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 4591384.
- Xia, Y., Zhu, Y.Z., and Xu, C. (2017). Hydrogen sulfide prevents postoperative adhesion in a rat uterine horn model. *Taiwanese Journal of Obstetrics & Gynecology*, 56(1), 46-50.
- Xie, L., Tang, H., Song, J., Long, J., Zhang, L., and Li, X. (2019). Chrysophanol: a review of its pharmacology, toxicity and pharmacokinetics. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 71(10), 1475-1487.
- Yang, C.L., Wu, H.C., Hwang, T.L., Lin, C.H., Cheng, Y.H., Wang, C.C., Kan, H.L., Kuo, Y.H., Chen, I.S., Chang, H.S., and Lin, Y.C. (2020). Anti-inflammatory and antibacterial activity constituents from the stem of *Cinnamomum validinerve*. *Molecules*, 25(15), 3382.
- Yang, Y., Yan, Y.M., Wei, W., Luo, J., Zhang, L.S., Zhou, X.J., Wang, P.C., Yang, Y.X., and Cheng, Y.X. (2013). Anthraquinone derivatives from *Rumex* plants and endophytic *Aspergillus fumigatus* and their effects on diabetic nephropathy. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 23(13), 3905-3909.
- Yang, L., Xie, G.L., Ma, J.L., Huang, X.O., Gu, Y., Huang, L., Chen, H.Y., and Ouyang, X.L. (2022). Phytochemical constituents of *Camellia osmantha* fruit cores with antithrombotic activity. *Food Science&Nutrition*, 10(5), 1510-1519.
- Yanık, F. (1996). Adezyon oluşumu ve önlenmesi. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Dergisi*, 13(3), 245-257.
- Yeo, Y., Adil, M., Bellas, E., Astashkina, A., Chaudhary, N., and Kohane, D.S. (2007). Prevention of peritoneal adhesions with an in situ cross-linkable hyaluronan hydrogel delivering budesonide. *Journal of Controlled Release*, 120(3), 178-185.
- Yetkin, G., Uludag, M., Citgez, B., Karakoc, S., Polat, N. and Kabukcuoglu, F. (2009). Prevention of peritoneal adhesions by intraperitoneal administration of vitamin E and human amniotic membrane. *International Journal of Surgery*, 7(6), 561-565.
- Yılmaz, S.S., Hızlı, D., Yılmaz, E., Eryılmaz, O.G., Hızlı, F., and Haltaş, H. (2013). Effect of vitamin D on postoperative adhesion formation in a rat uterine horn adhesion model. *Journal of Reproductive Medicine*, 58 (11-12), 511-516.
- Zee, O.P., Kim, D.K., Kwon, H.C., and Lee, K.R. (1998). A new epoxynaphthoquinol from *Rumex japonicus*. *Archives of Pharmacal Research*, 21(4), 485-486.
- Zeng, Q., Yu, Z., You, J., and Zhang, Q. (2007). Efficacy and safety of Seprafilm for preventing postoperative abdominal adhesion: systematic review and meta-analysis. *World Journal of Surgery*, 31(11), 2125-2131.
- Zengin, G., Locatelli, M., Ferrante, C., Menghini, L., Orlando, G., Brunetti, L., Recinella, L., Chiavaroli, A., Leone, S., Leporini, L., Aumeeruddy, M.Z., and Mahomoodally,

- M.F. (2019). New pharmacological targets of three *Asphodeline* species using *in vitro* and *ex vivo* models of inflammation and oxidative stress. *International Journal of Environmental Health Research*, 29(5), 520-530.
- Zewdu, W.S., and Aragaw, T.J. (2020). Evaluation of the anti-ulcer activity of hydromethanolic crude extract and solvent fractions of the root of *Rumex nepalensis* in rats. *Journal of Experimental Pharmacology*, 12, 325-337.
- Zhang, G.Q., Zhao, H.P., Wang, Z.Y., Cheng, J.R., and Tang, X.M. (2008). Recent advances in the study of chemical constituents and bioactivity of *Rumex* L. *World Science Technology (Modern Trading in China Medicine)*, 10, 86-93.
- Zhang, L.S., Li, Z., Mei, R.Q., Liu, G.M., Long, C.L., Wang, Y.H., and Cheng, Y.X. (2009). Hastatusides A and B: two new phenolic glucosides from *Rumex hastatus*. *Helvetica Chimica Acta*, 92(4), 774-778.
- Zhang, H., Guo, Z., Wu, N., Xu, W., Han, L., Li, N., and Han, Y. (2012). Two novel naphthalene glucosides and an anthraquinone isolated from *Rumex dentatus* and their antiproliferation activities in four cell lines. *Molecules*, 17(1), 843-850.
- Zhang, Y., Li, X., Zhang, Q., Li, J., Ju, J., Du, N., Liu, X., Chen, X., Cheng, F., Yang, L., Xu, C., Bilal, M.U., Wei, Y., Lu, Y., and Yang, B. (2014). Berberine hydrochloride prevents postsurgery intestinal adhesion and inflammation in rats. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 349(3), 417-426.
- Zhang, H., Song, Y., Li, Z., Zhang, T., Zeng, L., Li, W., and Bian, Y. (2015). Evaluation of ligustrazine on the prevention of experimentally induced abdominal adhesions in rats. *International Journal of Surgery*, 21, 115-121.
- Zhang, H., Song, Y., Li, Z., Zhang, T., and Zeng, L. (2016). Evaluation of breviscapine on prevention of experimentally induced abdominal adhesions in rats. *The American Journal of Surgery*, 211(6), 1143-1152.
- Zhou, W., Abdurahman, A., Umar, A., Iskander, G., Abdusalam, E., Berké, B., Bégaud, B., and Moore, N. (2014). Effects of *Cydonia oblonga* Miller extracts on blood hemostasis, coagulation and fibrinolysis in mice, and experimental thrombosis in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 154(1), 163-169.
- Zhu, J.J., Zhang, C.F., Zhang, M., Bligh, S.W.A., Yang, L., Wang, Z.M., and Wang, Z.T. (2010). Separation and identification of three epimeric pairs of new C-glucosyl anthrones from *Rumex dentatus* by on-line high performance liquid chromatography-circular dichroism analysis. *Journal of Chromatography A*, 1217(33), 5384-5388.
- Zlatković, B.K., Bogosavljević, S.S., Radivojević, A.R., Pavlović, M.A. (2014). Traditional use of the native medicinal plant resource of Mt. Rtanj (Eastern Serbia): ethnobotanical evaluation and comparison. *Journal of Ethnopharmacology*, 151(1), 704-713.

EKLER

EK-1. Etik Kurul

Evrak Tarih ve Sayısı: 21.01.2022-E.269444



T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı

Sayı : E-66332047-604.01.02-269444
 Konu : Değerlendirme ve Onay

21.01.2022

Sayın Prof. Dr. İpek SÜNTAR
Farmakognozi Anabilim Dalı Başkanlığı - Öğretim Üyesi

Araştırmacı grubu İpek SÜNTAR, Gizem DEYNEZ, Mürşide Ayşe DEMİREL, Ayşe KURUÜZÜM UZ, Saadet Özen AKARCA DİZAKAR'dan oluşan, G.Ü.ET-22.015 kod numaralı ve *"Deneyisel İntraAbdominal Adezyon Modelinde Etkili Olabilecek Tıbbi Bitkiler Üzerinde Farmakognozîk Araştırmalar"* başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-22.015 and entitled *"Pharmacognosic Evaluation of Medicinal Plants That Can Be Effective Against Surgically-Induced Intra-abdominal Adhesion Model"* is in compliance with Gazi University Animal Experiments Local Ethics Committee regulations.

With my best regards.

Hayvan Türü : Rat Wistar Albino
 Hayvan Sayısı :48

Prof. Dr. Abdulkadir BEDİRLİ
Kurul Başkanı

Ek:1 Liste

EK-1. (devam) Etik Kurul

Evrak Tarih ve Sayısı: 21.01.2022 E.262444

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU TOPLANTI KATILIM
LİSTESİ

TOPLANTI TARİHİ : 14/01/2022		TOPLANTI SAYISI : 01	
ADI-SOYADI		İMZA	
Prof.Dr.Abdulkadir BEDİRLİ (Başkan)			
Doç.Dr.Mürşide Ayşe DEMİREL (Başkan Yrd.)			
Prof.Dr.Suna ÖMEROĞLU			
Prof.Dr.Tuncay PEKER			
Prof.Dr.Fatma AKAR			
Prof.Dr.Emin Ümit BAĞRIACIK			
Prof.Dr.Mecit Orhan ULUDAĞ			
Prof.Dr.İpek SÜNTAR			
Prof.Dr.Neşet Volkan ASAR			
Doç.Dr.Emre BARIŞ			
Öğr.Gör.Dr.Şeyda DİKER			
Öğr.Gör.Dr.Burcu EKİM			
Vet.Hek.Burcu AVCI			
Osman İÇ			

Bu belge,güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : DEYNEZ, Gizem
Uyruğu : T.C.

Eğitim Derecesi	Okul/Program	Mezuniyet yılı
Doktora	Gazi Üniversitesi / Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakognozi Ana Bilim Dalı	
Lisans	Hacettepe Üniversitesi / Eczacılık Fakültesi	
Lise	Dolapoğlu Anadolu Lisesi	

İş Deneyimi, Yıl	Çalıştığı Yer	Görev
2016-2020	S.S. Bursa Eczacılar Üretim Temin ve Dağıtım Kooperatifi	Mesul Müdür
2020-Devam ediyor	Sağlık Bakanlığı Kamu Hastaneleri Genel Müdürlüğü	Eczacı

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar

Deynez, G., Miser Salihoğlu, E. & Süntar, İ. (2023). The role of anticoagulant, thrombolytic, and fibrinolytic activities in the prevention of peritoneal adhesion. *Trakya University Journal of Natural Sciences*, 24(2), 101-116. DOI: 10.23902/trkjnat.1309119.

Projeler

Süntar, İ., Kuruüzüm-Uz, A., Tugay, O., Demirel, M.A., Akarca- Dizakar, S.Ö., Salihoğlu, E., Deynez, G. Deneysel İntra-Abdominal Adezyon Modelinde Etkili Olabilecek Tıbbi Bitkiler Üzerinde Farmakognozic Araştırmalar, T.C. Türkiye Sağlık Enstitüleri Başkanlığı, TÜSEB Acil Araştırma ve Geliştirme Projelerini Destekleme Programı A Grubu Acil Ar-Ge Proje Çağrısı, Proje No: 21202, (2022-2023).

Hobiler

Piyano, Voleybol, Yüzme



GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR..

