



**HALK ARASINDA VARİS TEDAVİSİNDE KULLANILAN BAZI
BİTKİLER ÜZERİNDE FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR**

Tuğsen BÜYÜKYILDIRIM

**DOKTORA TEZİ
FARMAKOGNOZİ ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

MAYIS 2025

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.

Tuğsen BÜYÜKYILDIRIM

22.05.2025

HALK ARASINDA VARİS TEDAVİSİNDE KULLANILAN BAZI BİTKİLER ÜZERİNDE FARMAKOĞNOZİK ARAŞTIRMALAR

(Doktora Tezi)

Tuğsen BÜYÜKYILDIRIM

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Mayıs 2025

ÖZET

Varisli damarlar, genellikle alt ekstremitelerde bulunan bükülmüş, genişlemiş damarlardır. Ağırılık, ağrılı bir his, kaşıntı ve yanma hissi gibi semptomlara neden olur. Bu semptomlar uzun süre ayakta durma ile şiddetlenir. Kesin olarak patofizyolojisi açıklanamamış olmasına karşın, proenflamatuvar sitokin artışı ve enflamasyon, hipoksi nedeniyle ksantin dehidrojenaz-ksantin oksidaz dönüşümü, proteolitik enzimlerde artış ve ven hasarı, süperoksit ve diğer radikallerin artışı patolojisinde rol oynayan önemli faktörlerdir. Bu nedenle, bu tez kapsamında Türkiye’de halk arasında varis tedavisinde kullanılan 14 bitki taksonundan hazırlanan 17 bitki ekstresinin varisle ilişkili enzim inhibisyonlarının (hyaluronidaz, elastaz, kolajenaz, lipooksijenaz, prolilendopeptidaz ve ksantin oksidaz) ve antioksidan aktivitelerinin (nitrik oksit ve süperoksit radikal süpürücü aktivite) değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Etkili çıkan *Helichrysum plicatum* subsp. *plicatum* ekstresinden aktivite-yönlendirmeli fraksiyonlama işlemi yürütülerek etkiden sorumlu üç flavonoit izole edilmiş, izole edilen bileşikler spektroskopik yöntemler ile naringenin, apigenin ve luteolin olarak belirlenmiştir. Aktivite yönlendirmeli izolasyon çalışmasında ksantin oksidaz (XO) enzim inhibisyonu tayin yöntemi kullanılmış, saf maddeye inene kadar XO inhibisyonu artmıştır. Özellikle naringenin-apigenin ($IC_{50} = 0,269 \pm 0,009 \mu\text{g/mL}$) ve apigenin-luteolin ($IC_{50} = 0,285 \pm 0,019 \mu\text{g/mL}$) bileşiklerinin olduğu fraksiyonlar pozitif kontrol olan allopurinol ($IC_{50} = 0,250 \pm 0,006 \mu\text{g/mL}$) kadar aktif bulunmuştur. *H. plicatum* ekstresinde yapılan LC-MS/MS analizinde kinik asit (22,649 mg/g ekstre), klorojenik asit (14,573 mg/g ekstre), izokersitrin (14,371 mg/g ekstre), kosmosin (9,885 mg/g ekstre) ve astragalin (11,506 mg/g ekstre) major fenolik bileşenler olarak tespit edilmiştir. XO inhibitör aktiviteden sorumlu olan naringenin, apigenin ve luteolin bileşikleri ana ekstrede sırasıyla 1,457; 1,368 ve 2,518 mg/g ekstre oranlarında bulunmuştur. Bu tez kapsamında etkiden sorumlu bileşik olarak izole edilen naringenin, apigenin ve luteolinin varisli damarların tedavisinde etkili sonuçlar yaratacağı öngörülmektedir.

Bilim Kodu : 10103,13

Anahtar Kelimeler : Varisli damarlar, *in vitro* enzim inhibisyonu, antioksidan aktivite, *Helichrysum plicatum* subsp. *plicatum*, naringenin, apigenin, luteolin

Sayfa Adedi : 146

Danışman : Prof. Dr. Fatma Sezer ŞENOL DENİZ

PHARMACOGNOSTIC INVESTIGATIONS ON SOME TRADITIONALLY USED
PLANTS IN THE TREATMENT OF VARICOSE VEINS

(Ph.D. Thesis)

Tuğsen BÜYÜKYILDIRIM

GAZİ UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF HEALTH SCIENCES

May 2025

ABSTRACT

Varicose veins are twisted, dilated veins usually found in the lower extremities. They cause symptoms such as heaviness, a painful feeling, itching, and a burning sensation. These symptoms are exacerbated by prolonged standing. Although its exact pathophysiology has not been fully explained, several key factors contribute to its pathology. These include an increase in proinflammatory cytokines and inflammation, conversion of xanthine dehydrogenase to xanthine oxidase due to hypoxia, an increase in proteolytic enzymes, vein damage, and an increase in superoxide and other radicals. Therefore, within the scope of this thesis, it was aimed to evaluate the inhibition of varicose vein-related enzymes (hyaluronidase, elastase, collagenase, lipoxygenase, prolylendopeptidase, and xanthine oxidase) and antioxidant activities (nitric oxide and superoxide radical scavenging activity) of 17 plant extracts prepared from 14 plant taxa used in the treatment of varicose veins in Türkiye. Three flavonoids responsible for the effect were isolated from the effective *Helichrysum plicatum* subsp. *plicatum* extract by carrying out an activity-guided fractionation process, and the isolated compounds were determined as naringenin, apigenin, and luteolin by spectroscopic methods. In the activity-guided isolation study, the xanthine oxidase (XO) enzyme inhibition determination method was used, and the inhibitory activity against XO increased until it was reduced to isolated compounds. Especially, fractions containing naringenin-apigenin ($IC_{50} = 0.269 \pm 0.009 \mu\text{g/mL}$) and apigenin-luteolin ($IC_{50} = 0.285 \pm 0.019 \mu\text{g/mL}$) compounds were found to be as active as the positive control allopurinol ($IC_{50} = 0.250 \pm 0.006 \mu\text{g/mL}$). In the LC-MS/MS analysis of *H. plicatum* extract, quinic acid (22.649 mg/g extract), chlorogenic acid (14.573 mg/g extract), isoquercitrin (14.371 mg/g extract), cosmosin (9.885 mg/g extract), and astragalin (11.506 mg/g extract) were detected as major phenolic compounds. Naringenin, apigenin, and luteolin were detected at concentrations of 1.457, 1.368, and 2.518 mg/g in the main extract, respectively. It is predicted that naringenin, apigenin, and luteolin, the flavonoids isolated as the compounds responsible for the activity, will also yield effective results in the treatment of varicose veins.

Science Code : 10103,13

Key Words : Varicose veins, *in vitro* enzyme inhibition, antioxidant activity, *Helichrysum plicatum* subsp. *plicatum*, naringenin, apigenin, luteolin

Page Number : 146

Supervisor : Prof. Dr. Fatma Sezer ŞENOL DENİZ

TEŞEKKÜR

Bu çalışmayı yapabilmemde en büyük ilham kaynağı olan, bilim ve eğitim ışığını bizlere armağan eden Türkiye Cumhuriyeti'nin Kurucusu Gazi Mustafa Kemal ATATÜRK'e saygı, minnet ve şükranlarımı sunarım.

Doktora eğitimim ve tez çalışmalarım boyunca, bilgileri ve deneyimleriyle beni her zaman destekleyen, her günü sabır ve emek isteyen bu süreçte yardımlarını esirgemeyen ve yolumu aydınlatan öğrencisi olmaktan onur duyduğum danışman hocam Sayın Prof. Dr. Fatma Sezer ŞENOL DENİZ'e sonsuz teşekkür ederim.

Tez çalışmasında kullandığım bitki materyallerinin toplanması ve tayininde katkısı olan Sayın Prof. Dr. Osman TUGAY hocama; tezimin en önemli bölümlerinde bilgisinden ve tecrübelerinden yararlandığım ve aktivite yönlendirmeli izolasyon çalışmamda ve yapı tayinleri sürecinde bilgi, tecrübe ve deneyimlerini benden esirgemeyen değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Merve YÜZBAŞIOĞLU BARAN'a çok teşekkür ederim. LC-MS/MS analizlerindeki yardımları için Prof. Dr. Abdulsalam ERTAŞ'a, hücre kültürü çalışmalarındaki destekleri için Dr. Biyolog Mualla Pınar ELÇİ'ye, antioksidan aktivite tayinlerinde destekleri için Dr. Öğr. Üyesi Ece SALİHOĞLU'na teşekkür ederim. Tez izleme komitemde yer alan Prof. Dr. İlkay ERDOĞAN ORHAN, Prof. Dr. İpek SÜNTAR ve Prof. Dr. Sevgi AKAYDIN hocalarıma değerli öneri ve katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Akademik hayatımın her aşamasında olduğu gibi, doktora sürecimde de verdiğim her kararda bana inanıp destek olan, varlıklarıyla daima yanımda hissettiğim ve evlatları olmaktan onur duyduğum değerli annem ve babama; bu zorlu yolculukta yanımda durarak bana güç veren, her an yanımda olup desteğini esirgemeyen ve hiçbir zaman yalnız hissettirmeyen sevgili eşime ve sevgili abime en derin teşekkürlerimi sunarım.

Doktora tez çalışmama (TDK-2024-9222) destek veren Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne maddi desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	iv
TEŞEKKÜR	vi
ÇİZELGELERİN LİSTESİ	ix
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	xi
RESİMLER LİSTESİ.....	xiii
HARİTALAR LİSTESİ	xiv
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Kronik Venöz Yetmezlik ve Varis Hastalığı.....	3
2.2. Venöz Patofizyoloji	4
2.2.1. Kronik venöz yetmezlikle ilişki enzimler	8
2.2.2. Kronik venöz yetmezlik ve oksidatif stres ilişkisi	12
2.2.3. Kronik venöz yetmezlik ve enflamasyon ilişkisi	13
2.3. Varisli Damarlarda ve Kronik Venöz Yetmezlikte Tedavi Stratejileri.....	15
2.3.1. Varisli damarların tedavisinde kullanılan tıbbi bitkiler ve doğal bileşenler	18
2.3.2. Halk arasında varisli damarların tedavisinde kullanılan bitkiler	23
2.4. AYW'da Kullanılan <i>Helichrysum plicatum</i> DC. subsp. <i>plicatum</i> Bitkisinin Botanik Özellikleri.....	32
2.4.1. <i>Helichrysum</i> Mill. (Asteraceae)	32
2.4.2. <i>Helichrysum plicatum</i> DC. subsp. <i>plicatum</i>	33
2.5. <i>Helichrysum plicatum</i> DC. subsp. <i>plicatum</i> Üzerinde Yapılan Çalışmalar	35
2.5.1. <i>Helichrysum plicatum</i> DC. subsp. <i>plicatum</i> 'a ait fitokimyasal çalışmalar.....	35

2.5.2. <i>Helichrysum plicatum</i> DC. subsp. <i>plicatum</i> 'a ait etnobotanik çalışmalar.....	40
2.5.3. <i>Helichrysum plicatum</i> DC. subsp. <i>plicatum</i> 'a ait aktivite çalışmaları.....	41
2.6. <i>Helichrysum plicatum</i> DC. subsp. <i>plicatum</i> 'dan İzole Edilen Bileşiklere ait Genel Bilgiler	44
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	51
3.1. Gereç	51
3.2. Yöntem.....	53
3.2.1. Ekstraksiyon ve örneklerin hazırlanması	53
3.2.2. Biyolojik aktivite çalışmaları.....	54
3.2.3. Aktivite-yönlendirmeli fraksiyonlama işlemi (AYF).....	60
3.2.4. Yapı tayini çalışmaları.....	69
3.2.5. LC-MS/MS analiz çalışması	69
4. BULGULAR.....	71
4.1. Enzim İnhibisyonu Tayinlerine Ait Bulgular	71
4.2. Antioksidan Aktivite Tayinlerine Ait Bulgular	77
4.3. Hücre Kültürü Çalışmalarına Ait Bulgular	79
4.4. Fitokimyasal Çalışmalara Ait Bulgular.....	80
4.4.1. İzole edilen madde 1'in yapı tayini çalışmalarına ait bulgular	80
4.4.2. İzole edilen madde 2'in yapı tayini çalışmalarına ait bulgular	88
4.4.3. İzole edilen madde 3'ün yapı tayini çalışmalarına ait bulgular	96
4.4.4. LC-MS/MS analiz sonuçları	104
5. TARTIŞMA	107
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	117
ÖZGEÇMİŞ.....	145

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Türkiye’de halk arasında kullanılan ve tez materyali olarak seçilen bitkiler	24
Çizelge 2.2. <i>Helichrysum plicatum</i> ’un fitokimyasal içeriği.....	37
Çizelge 2.3. Flavanon yapısı.....	45
Çizelge 2.4. Flavon yapısı	45
Çizelge 3.1. Bitki taksonlarının toplanma yerleri, tarihleri, herbaryum numaraları ve familya bilgileri.....	52
Çizelge 3.2. Hazırlanan ekstrelerinin % verimleri (a/a).....	53
Çizelge 3.3. <i>Helichrsyum plicatum</i> ’dan sıvı-sıvı ekstraksiyon ile elde edilen alt ekstrelerin miktarı ve verimleri	60
Çizelge 3.4. Sephadex LH 20’den elde edilen fraksiyonlar	61
Çizelge 3.5. Silika jel kolon kromatografisinde kullanılan mobil faz sistemler.....	62
Çizelge 3.6. Silika jel kolon kromatografisinden elde edilen fraksiyonlar	62
Çizelge 3.7. VLC’de kullanılan mobil faz sistemler.....	65
Çizelge 3.8. VLC’den elde edilen fraksiyonlar, miktarları ve İTK profili.....	66
Çizelge 3.9. VLC -2’de kullanılan mobil faz sistemler.....	66
Çizelge 3.10. VLC -3’de kullanılan mobil faz sistemler.....	67
Çizelge 3.11. Elde edilen saf maddelerin miktarları ve İTK profilleri	69
Çizelge 4.1. Tez materyallerinden hazırlanan ekstrelerin enzim inhibitör aktiviteleri	72
Çizelge 4.2. Seçilen ana ekstrelerin POP inhibitör aktiviteleri	73
Çizelge 4.3. <i>Helichrsyum plicatum</i> ekstresinden hazırlanan alt ekstrelerin enzim inhibitör aktiviteleri	74
Çizelge 4.4. <i>Helichrsyum plicatum</i> EtoAC alt ekstresinden elde edilen Sephadex kolon kromatografisi fraksiyonlarının enzim inhibitör aktiviteleri	75

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.5. Sep. Fr. 50-55 fraksiyonundan elde edilen silikajel kolon kromatografisi fraksiyonlarının enzim inhibitör aktiviteleri.....	76
Çizelge 4.6. Sep. Fr. 56-80 fraksiyonundan elde edilen VLC fraksiyonlarının enzim inhibitör aktiviteleri	77
Çizelge 4.7. İzole edilen saf maddelerin enzim inhibitör aktiviteleri	77
Çizelge 4.8. Tez materyallerinden hazırlanan ekstrelerin antioksidan aktiviteleri..	78
Çizelge 4.9. Naringenin molekülüne ait ^{13}C ve ^1H NMR spektrum sonuçları	81
Çizelge 4.10. Apigenin molekülüne ait ^{13}C ve ^1H NMR spektrum sonuçları	89
Çizelge 4.11. Luteolin molekülüne ait ^{13}C ve ^1H NMR spektrum sonuçları	97
Çizelge 4.12. <i>Helichrysum plicatum</i> etanollü ekstresinde fenolik bileşiklerin LC-MS/MS ile tanımlanması ve miktarlarının belirlenmesi	105

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. CEAP sınıflandırması	3
Şekil 2.2. Bir damarın şematik gösterimi (Bencsik ve diğerleri, 2024'ten uyarlanmıştır.)	5
Şekil 2.3. Normal damar (a)/varisli damar (b) yapı ve histolojisi (Raffetto & Khalil, 2021'den uyarlanmıştır.)	7
Şekil 2.4. Doğal kaynaklı bileşiklerin venöz patofizyolojide rolleri	22
Şekil 2.5. <i>Helichrysum plicatum</i> 'da bulunan bazı biyoaktif bileşikler	39
Şekil 2.6. Temel flavonoit yapısı	45
Şekil 2.7. Naringenin, apigenin ve luteolin biyosentez yolağı	49
Şekil 3.1. Sephadex LH-20 kolon kromatografisi ile elde edilen fraksiyonlar	64
Şekil 3.2. Silikajel kolon kromatografisi ile elde edilen alt fraksiyonlar	64
Şekil 3.3. Vakumlu ters faz silika jel kolon kromatografisi-1 ve -2 ile elde edilen alt fraksiyonlar	68
Şekil 3.4. Vakumlu ters faz silika jel kolon kromatografisi-3 ile elde edilen alt fraksiyonlar	68
Şekil 4.1. Vitamin C standart eğrisi grafiğı	78
Şekil 4.2. Ekstrelerin farklı konsantrasyonlarda sitotoksik etkilerinin değerlendirilmesi	79
Şekil 4.3. Ekstrelerin sitotoksik etkilerinin farklı konsantrasyonda birbiri ile karşılaştırılması	79
Şekil 4.4. Naringenin molekülü	80
Şekil 4.5. Naringenin (madde 1) bileşiğine ait ¹ H-NMR spektrumu	82
Şekil 4.6. Naringenin (madde 1) bileşiğine ait ¹³ C-NMR spektrumu	83
Şekil 4.7. Naringenin (madde 1) bileşiğine ait COSY spektrumu	84
Şekil 4.8. Naringenin (madde 1) bileşiğine ait HMBC spektrumu	85
Şekil 4.9. Naringenin (madde 1) bileşiğine ait HMQC spektrumu	86

Şekil	Sayfa
Şekil 4.10. Naringenine ait -ESI-MS spektrumu	87
Şekil 4.11. Apigenin molekülü	88
Şekil 4.12. Apigenin (madde 2) bileşiğine ait ¹ H-NMR spektrumu	90
Şekil 4.13. Apigenin (madde 2) bileşiğine ait ¹³ C-NMR spektrumu	91
Şekil 4.14. Apigenin (madde 2) bileşiğine ait COSY spektrumu	92
Şekil 4.15. Apigenin (madde 2) bileşiğine ait HMBC spektrumu	93
Şekil 4.16. Apigenin (madde 2) bileşiğine ait HMQC spektrumu	94
Şekil 4.17. Apigenine ait -ESI-MS spektrumu	95
Şekil 4.18. Luteolin molekülü	96
Şekil 4.19. Luteolin (madde 3) bileşiğine ait ¹ H NMR spektrumu	98
Şekil 4.20. Luteolin (madde 3) bileşiğine ait ¹³ C NMR spektrumu	99
Şekil 4.21. Luteolin (madde 3) bileşiğine ait COSY spektrumu	100
Şekil 4.22. Luteolin (madde 3) bileşiğine ait HMBC spektrumu	101
Şekil 4.23. Luteolin (madde 3) bileşiğine ait HMQC spektrumu	102
Şekil 4.24. Luteoline ait -ESI-MS spektrumu	103
Şekil 4.25. <i>Helichrysum plicatum</i> etanollü ekstresi LC-MS/MS kromatogramı ...	104

RESİMLER LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 3.1. Sephadex LH 20'den elde edilen fraksiyonların sırasıyla UV 254 ve UV 366 nm'de İTK profili	61
Resim 3.2. Silika jel kolon kromatografisinden elde edilen fraksiyonların vanilin/H ₂ SO ₄ püskürtülmüş İTK profilleri	63

HARİTALAR LİSTESİ

Harita	Sayfa
Harita 2.1. <i>Helichrysum plicatum</i> 'un Türkiye'de yayılışı.....	34

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklamalar
%	Yüzde
°C	Santigrat derece
a/a	Ağırlık/ağırlık
cm	Santimetre
dk	Dakika
γ	Gama
g	Gram
Hz	Hertz
J	Etkileşim sabiti
kg	Kilogram
L	Litre
m	Metre
M	Molar
mg	Miligram
mL	Mililitre
mm	Milimetre
mM	Milimolar
nm	Nanometre
ppm	Milyonda bir birim
U	Ünite
α	Alfa
β	Beta
δ	Sigma
μg	Mikrogram
μL	Mikrolitre
μM	Mikromolar

Kısaltmalar	Açıklamalar
^{13}C NMR	Karbon nükleer manyetik rezonans
1D ve 2D NMR	Tek ve iki boyutlu nükleer manyetik rezonans
^1H NMR	Proton nükleer manyetik rezonans
ABTS	2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit
AChE	Asetilkolinesteraz
AP-1	Aktivatör protein-1
BAYF	Biyoaktivite-yönlendirmeli fraksiyonlama
BChE	Bütirilkolinesteraz
CEAP	Klinik-Etiyoloji-Anatomi-Patofizyoloji
CH_2Cl_2	Diklorometan
COSY	Korelasyon spektroskopisi
COX	Siklooksijenaz
DMSO	Dimetilsülfoksit
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
ECM	Ekstraselüler matriks elemanı
ELISA	Enzim bağlı immunosorbent deneyi
EtOAc	Etil asetat
FDA	Amerika Gıda ve İlaç Dairesi
FRAP	Ferrik indirgeyici antioksidan gücü
GAG	Glikozaminoglikan
G-CSF	Granülosit-koloni uyarıcı faktör
GM-CSF	Granülosit makrofaj koloni uyarıcı faktör
HA	Hyaluronik asit
hCAI	İnsan karbonik anhidraz I
hCAII	İnsan karbonik anhidraz II
HMBC	Heteronükleer çoklu bağ korelasyonu
HMQC	Heteronükleer çoklu kuantum korelasyonu
IC_{50}	Yarı maksimum inhibitör konsantrasyonu
ICAM-1	Hücre içi adhezyon molekülü-1
IFN- γ	İnterferon gama
IL-1 β	İnterlökin-1 β

IL-12	İnterlökin-12
IL-13	İnterlökin-13
IL-4	İnterlökin-4
IL-6	İnterlökin-6
İTK	İnce tabaka kromatografisi
KVY	Kronik venöz yetmezlik
LC-MS/MS	Sıvı Kromatografisi-Kütle Spektrometresi
LOX	Lipooksijenaz
MAPK	Mitojenle etkinleşen protein kinaz
MCP-1	Monosit-kemoatraktan protein-1
MDA	Malondialdehit
MeOH	Metanol
MIP-1α	Makrofaj inflamatuvar protein-1 alfa
MİK	Minimum inhibitör konsantrasyon
MMP	Matriks metalloproteinaz
MPFF	Mikronize saflaştırılmış flavonoid fraksiyonu
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
<i>n</i>-BuOH	<i>n</i> -bütanol
NF-κB	Nükleer faktör kappa B
NO	Nitrik oksit
NOS	Nitrik oksit sentaz
PAF	Trombosit aktivasyon faktörü
PAL	Fenilalanin amonyak liyaz
POP	Prolilendopeptidaz
ROT	Reaktif oksijen türü
TFG β1	Dönüştürücü büyüme faktörü- β 1
TIMP	Matriks metalloproteinaz doku inhibitörleri
TNF-α	Tümör nekroz faktörü alfa
UV	Ultraviyole
VCAM-1	Vasküler hücre yapışma molekülü 1
VLC	Vakumlu ters faz silika jel kolon kromatografisi
XD	Ksantin dehidrogenaz
XO	Ksantin oksidaz

1. GİRİŞ

Dünya Sağlık Örgütü'ne göre, dünya nüfusunun yaklaşık dörtte üçü, halkının sağlık bakımı için geleneksel ilaçlara (çoğunlukla tıbbi bitkiler) güvenmektedir. 19. yy.ın ortalarında tüm ilaçların %80'i bitkilerden elde edilirken, ilaç endüstrisinin gelişmesi ile sentetik ilaçlar ön plana çıkmıştır. Ancak halen birçok farmakolojik ilaç sınıfı doğal bir ürün prototipi içermektedir. Aspirin, atropin, artemisinin, kolşisin, digoksin, efedrin, morfin, fizostigmin, pilokarpin, kinin, kinidin, rezerpin, taksol, tubokurarin, vinkristin ve vinblastin gibi önemli ilaçlar tıbbi bitkilerin kaynak alındığı örnekler arasındadır [1]. Bunların yanı sıra halen tedavisi bulunamayan hastalıkların yaygınlığı nedeniyle ilaç keşif çalışmalarına ihtiyaç duyulmaktadır. Bitki bazlı ilaç keşiflerinde ise en önemli basamağı etnofarmakolojik çalışmalar oluşturmaktadır [2]. Aspirin, kodein, ipeka, pilokarpin, psödoefedrin, kinin ve skopolamin gibi ilaçlar halkın geleneksel olarak kullandıkları bitkilerin kimyasal bileşenlerinin analiz edilmesiyle keşfedilmiştir [3]. Bu nedenle, yeni ilaç araştırmalarında etnofarmakolojik verilerin değerlendirilmesi etkili sonuçların bulunması için başarı şansını yükseltmektedir.

Kronik venöz yetmezlik (KVY), dünyada oldukça yaygın, ilerleyici, morbidite oranı yüksek, ekonomik ve sağlık yüküne neden olan ciddi bir rahatsızlıktır. Hastanın sağlığını ve yaşam kalitesini bozan bu durumun nüfusun yaşlanmasıyla birlikte artacağı öngörülmektedir [4]. KVY, alt ekstremitelerin venöz sistemini etkileyen bir durumu tanımlar. Venöz hipertansiyonun neden olduğu ağrı, ödem, cilt değişiklikleri ve ülserasyonlar gibi patolojik bulgular yer alır. Varisli damarlarda ise venöz hipertansiyona ek olarak yetersiz kapakçıklar da bulunmaktadır [5]. Yetersiz kapakçıklar, damarlarda kanın durmasına ve bacaklarda ağrılı şişmeye neden olur. Ağrı, iyileşmenin azalmasına veya gecikmesine ve kanamaya neden olarak iltihaplanmaya dönüşebilir. Yüzeysel venöz yetmezliği tedavi etmek için cerrahi ligasyon, mikroflebektomi, skleroterapi ve lazer ablasyon gibi farklı teknikler kullanılmaktadır [6]. Tıbbi bitkiler ve doğal bileşikler ise sahip oldukları biyolojik aktivitelerinden dolayı KVY ve varis hastalığında konvansiyonel tedaviler arasında yer alır. Özellikle venoaktif etkiye sahip olan kumarinler, mikronize saflaştırılmış flavonoid fraksiyonu, rutin türevleri (trokserutin, okserutin), piknogenol ve saponozitler (essin) tedavide önemli yer tutmaktadır [7]. *Aesculus hippocastanum* L. [8], *Ruscus aculeatus* L.

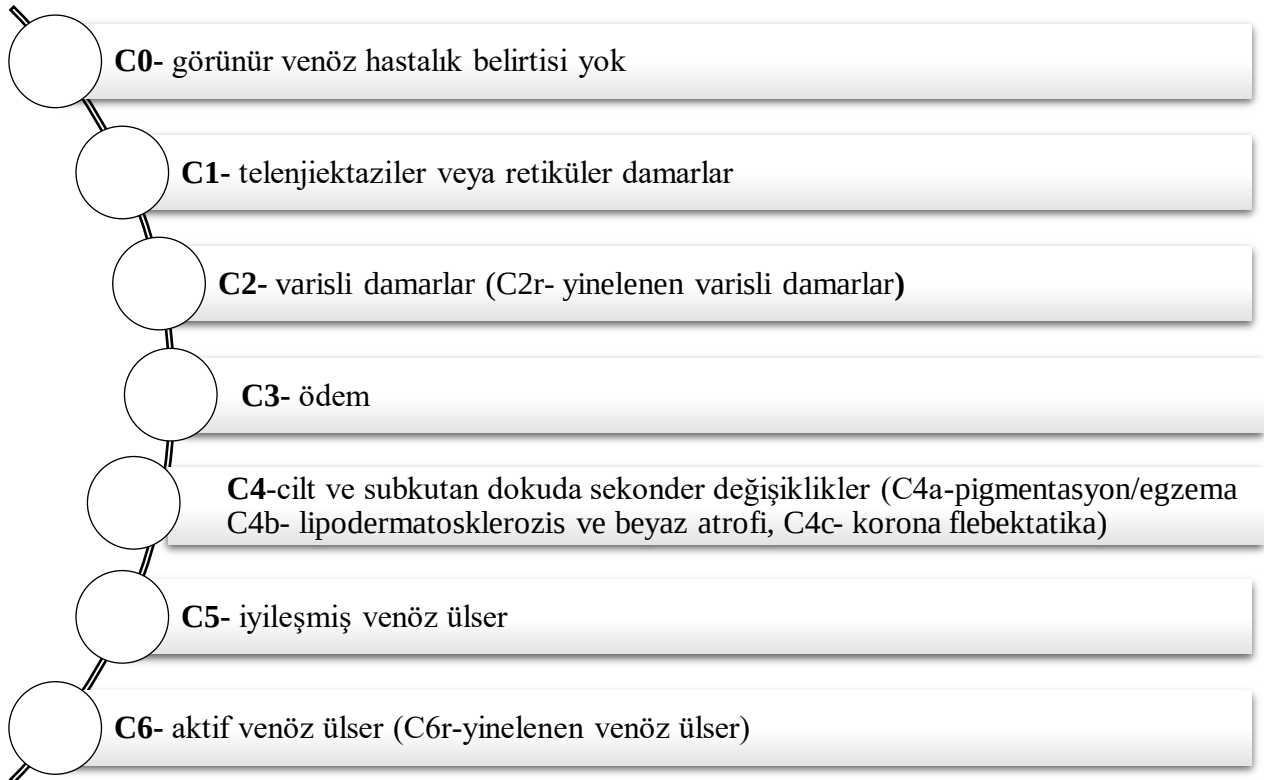
[9], *Vaccinium myrtillus* L. [10] ve *Pinus pinaster* Aiton. [11] gibi bitkiler ve bunların etkili bileşikleri ile tedavi, varis hastalığında öne çıkan doğal tedaviler arasındadır.

Literatür çalışmalarında farklı ülkelerde varis tedavisinde hem haricen hem dahilen çeşitli bitkilerin kullanıldığı bulunmuştur. Bu tez çalışmasında yer alan *Berberis vulgaris* L., *Brassica oleracea* var. *acephala* L., *Capsella bursa-pastoris* (L.) Medik., *Capsicum annuum* L., *Crataegus monogyna* Jacq. subsp. *monogyna*, *Ecbalium elaterium* (L.) A.Rich., *Helichrysum plicatum* DC. subsp. *plicatum*, *Lamium album* L., *Lythrum salicaria* L., *Plantago lanceolata* L., *Plantago major* L. subsp. *major*, *Sambucus ebulus* L., *Sesamum indicum* L., ve *Urtica dioica* L. taksonları Türkiye’de halk arasında varis tedavisinde veya semptomlarının giderilmesinde kullanılan bitkiler arasındadır. Planlanan tez çalışmasında, halk arasında kullanımı olan bu bitkilerin varise karşı etkilerinin bilimsel olarak incelenmesi, farklı mekanizmalar üzerinden etkisinin kanıtlanması, etkili bitkiler üzerinden aktivite-yönlendirmeli fraksiyonlama işlemi (AYF) yürütülerek etkiden sorumlu bileşik veya bileşik gruplarının tespit edilmesi amaçlanmıştır. Toplanan bitki materyallerinden hazırlanan ekstreler varis ile ilişkilendirilen *in vitro* ksantin oksidaz (XO), elastaz, kolajenaz, hyaluronidaz, lipooksijenaz (LOX) ve prolilendopeptidaz (POP, proliloligopeptidaz) enzim inhibisyonu yöntemleri ile değerlendirilmiştir. Ayrıca antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi için süperoksit ve nitrik oksit radikal giderici etkileri araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kronik Venöz Yetmezlik ve Varis Hastalığı

KVY, hastaların yaşam kalitesini azaltan ve sağlık hizmeti kaynaklarına maddi yük getiren, sıklıkla eksik teşhis edilen bir hastalıktır. Her yıl yaklaşık 150.000 yeni hastaya KVY teşhisi konulmakta ve bu hastaların bakımı için yaklaşık 500 milyon dolar harcanmaktadır [12]. VEIN-TERM disiplinler arası mutabakat belgesinde “uzun süreli venöz sistemin morfolojik ve işlevsel anormallikleri (herhangi bir) araştırma ve/veya bakım ihtiyacını gösteren semptomlar ve/veya işaretlerle kendini gösterir” şeklinde tanımlanmıştır [13]. Alt ekstremitelerde meydana gelen KVY bazen asemptomatik olabilmesine karşın çoğu zaman kozmetik sorunlardan ciddi semptomlara kadar geniş bir klinik spektrumla ilişkilidir [14]. Zamanla kötüleşerek, ayak bileklerinde şişmeye ve cilt hasarına, venöz bacak ülserlerine, yüzeysel venöz tromboza (yaygın olarak “tromboflebit” olarak adlandırılır) ve varisli damarlarda kanamaya yol açar [15]. Amerikan Venöz Forum’u tarafından 1994 yılında oluşturulan ve 2004 yılında revize edilen “Klinik-Etiyoloji-Anatomi-Patofizyoloji” (CEAP) kriterlerine göre [16] KVY Şekil 2.1’de sınıflandırılmıştır.



Şekil 2.1. CEAP sınıflandırması

KVY'nin küresel prevalansı erkeklerde $<1-17$ ve kadınlarda $<1-40$ arasında olmak üzere büyük farklılıklar göstermektedir. Dünya çapında ise, yetişkin popülasyonun $1-2$ 'sinde alt ekstremitte ülserasyonu görülür ve bu oran, 65 yaş hastalarının $70-90$ 'ında 3 'e yükselir [17]. Bir sistematik incelemede, epidemiyolojik çalışmalarda bildirilen KVY yaygınlığı, değişkenlik göstermekle birlikte bu değişkenlik $45,6$ ile $83,6$ aralığındadır. Ek olarak, KVY'nin belirli klinik evrelerine göre dağılım şu şekilde ayrıntılı olarak açıklanmıştır: C0: 9 , C1: 26 , C2: 19 , C3: 8 , C4: 5 , C5: 1 ve C6: $0,42$ [18].

Varisli damar, yüzeysel venöz hastalık genel başlığı altında yer alan bir tür venöz yetersizliktir. Araştırmacılar, varisi "boyuttan bağımsız olarak herhangi bir genişlemiş, uzamış veya kıvrımlı damar" olarak tanımlamaktadır. Bir başka tanımda "varisli damar, kapakçık verimliliğini kalıcı olarak kaybetmiş damar" olarak nitelendirilir [19]. Damarların genişlemesi, hasarlı veya hatalı venöz kapakçıklar nedeniyle olur. Kapakçıklardaki hasar, damarlardaki kanın durgunlaşmasına ve daha fazla varisli damar oluşmasına neden olur [6].

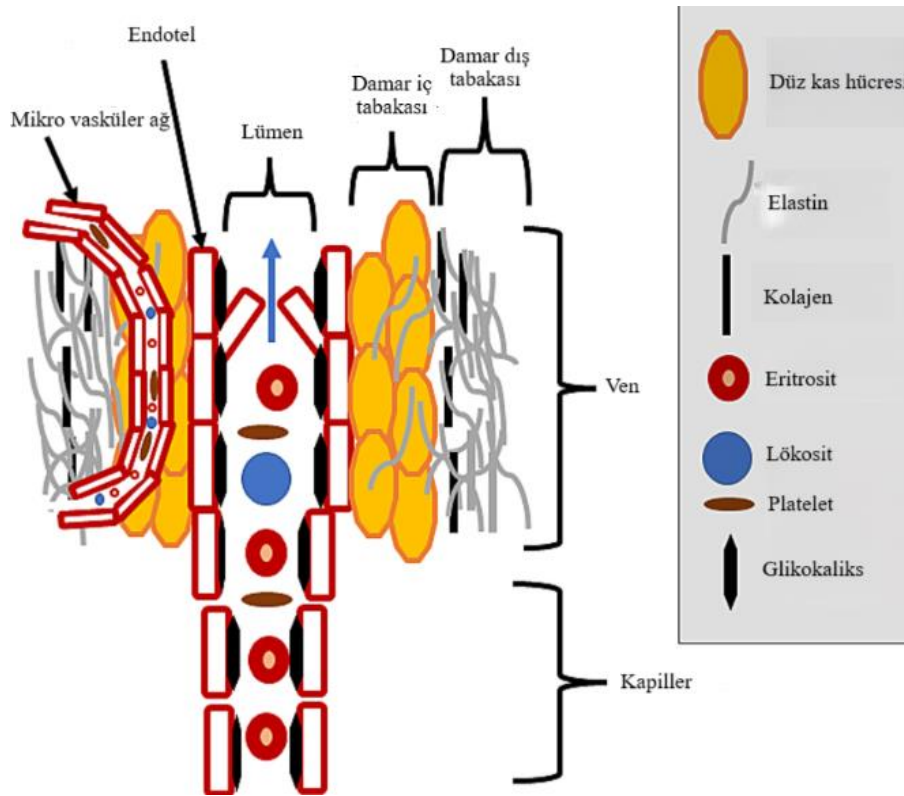
Varisli damarlar ve KVY için belirlenmiş ve potansiyel risk faktörleri arasında yaş, aile öyküsü, cinsiyet (kadınlarda daha sık görülür), gebelik, meslek, konstipasyon, düşük lif alımı, obezite, sigara içmek, oral kontraseptif kullanımı, hipertansiyon, fiziksel aktivite ve flebit/pıhtı geçmişi yer almaktadır [20]. Edinburgh Damar Çalışması ve Amerika Birleşik Devletleri'ndeki (ABD) anketler, KVY yaygınlığında yaşa bağlı artışı desteklemektedir. İleri yaşta KVY oluşumunu etkileyen faktörler, artan damar basıncı ve damar duvarı bozulmasıdır [13, 20]. Aşırı kilo (vücut kitle indeksi: $25,0-29,9 \text{ kg/m}^2$) ve obezite (vücut kitle indeksi $\geq 30 \text{ kg/m}^2$), CEAP sistemine göre sınıflandırılan ileri KVY ile önemli bir korelasyon göstermektedir. Kadın cinsiyeti, büyük örneklem boyutlarına sahip çalışmaların çoğunda KVY için bir risk faktörü olarak kabul edilmiştir. Hormonal dalgalanmalar, gebelik ve venöz yapıdaki anatomik farklılıklar gibi faktörlerin venöz hastalık insidansındaki bu cinsiyet eşitsizliğine katkıda bulunduğu öne sürülmektedir [13].

2.2. Venöz Patofizyoloji

Periferik venöz sistem, kanı depolayan bir rezervuar ve kanı kalbe geri pompalayan kanal görevi görür. Periferik venöz sistemin düzgün çalışması, bir dizi tek yönlü valf ve kas pompası içeren damarların açıklığına bağlıdır. Dik pozisyonda alt ekstremitte venöz

sistemine giren kanın merkezi dolaşıma geri dönebilmesi için yer çekimine ve diğer basınçlara karşı hareket etmesi gerekir [21-23]. Alt ekstremité damarları yüzeysel, derin ve perforatör damarlara ayrılır. Bu damarlar kraniyal akışı korur ve kanın geri kaçmasını önleyen valfler içerir [5, 23, 24]. Özetle venöz sistemdeki kanın, yerçekimine karşı kalbe geri dönmesini sağlamak için sağlam kapakçıklar ve kas pompaları görev alır.

Histolojik olarak damarlar üç katmandan oluşur (1) endotel hücrelerinden oluşan katman (*tunica intima*); (2) elastik liflerden ve vasküler düz kas hücrelerinden oluşan katman (*tunica media*); ve (3) damarın elastikiyetini ve desteğini sağlamak için bağ dokusundan oluşan dış katman (*tunica adventitia*) [24]. Ancak, venöz hastalıklar meydana geldiğinde damarın tipik yapısı değişir ve venöz duvarın kalınlığında ve yapısında belirgin değişiklikler olur [25]. Şekil 2.2.'de damarın şematik yapısı yer almaktadır.

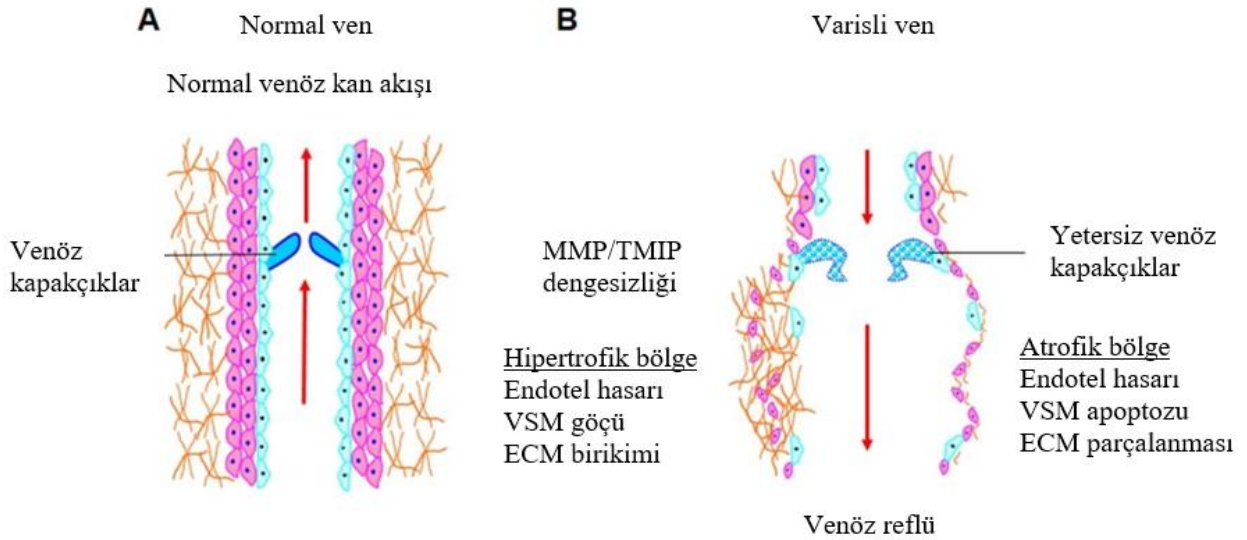


Şekil 2.2. Bir damarın şematik gösterimi (Bencsik ve diğerleri, 2024'ten uyarlanmıştır.)

KVY'nin bilinen patolojik süreçleri:

- (1) İlk belirtilerden biri venöz hipertansiyondur, yani kanın ven duvarına doğru basıncı artar. Yükselmiş basınç, venöz genişleme, kan stazı, diğer faktörler (örneğin enflamatuvar durum) venöz reflü ile kapakçık yetersizliğine neden olur.
- (2) Endotel glikokaliks hasarı, lökositlerin endotele ve kapakçıklara yapışmasını kolaylaştırır, bu da enflamasyonla birlikte endotel ve kapakçık disfonksiyonuna yol açar. Kapakçıklar enflamatuvar süreçle daha çok hasar görür.
- (3) Endotel disfonksiyonu endotelin geçirgenliğini değiştirir, benzer bir süreç kılcal damarlarda da meydana gelir ve lökositler tarafından venöz duvarların infiltrasyonu ile birlikte ödem meydana gelir, trombositlerin agregasyonu artar ve makrofajlar tarafından kırmızı kan hücreleri ayrıştır.
- (4) Venöz damar duvarının iltihabı duvar bileşiminde daha fazla değişikliklerle ilişkilidir, metalloproteinazların (MMP) aktivitesi artar ve elastinin ayrışması ve kolajen izoformlarında bir değişim olur. Ayrıca düz kas hücrelerinin çoğalması ve değişimi artar. Duvarın yeniden şekillenmesindeki dengesizlikler duvar elastikiyetinde belirgin bir azalmaya ve sertliğinde bir artışa yol açar. Mikrovasküler ağın üzerine daha yüksek basınç uygulanır, bu da oksijen tedarikini azaltır ve paradoksal hipoksinin sebeplerinden biridir.
- (5) Hipoksi, ödem ve venöz staz, kılcal yoğunluğun azalmasına ve iltihabın tetiklenmesine yol açar; bunların hepsi venöz ülserlerin gelişiminde anahtar faktörlerdir [26].

Varisli damarlar hem hipertrofik hem de atrofik bölgelere sahip olabilir (Şekil 2.3). Varisli damarların hipertrofik bölgeleri genellikle vasküler düz kas hücrelerinin anormal şekli ve yönelimini ve MMP/matriks metalloproteinaz doku inhibitörleri (TIMP) dengesizliği ile yoğun ekstraselüler matriks elemanlarının (ECM) birikimini gösterir. Varisli damarların atrofik bölgeleri ise genellikle ECM'de yoğun bir bozulma ve enflamatuvar hücrelerin doku infiltrasyonunu gösterir. Varisli damarların doku kesitlerinde fokal kalınlaşma ve parçalanmış elastin lifleri ile birlikte tunika media (düz kas, kolajen ve elastik liflerden oluşan orta tabaka) kalınlaşmasında artış görülebilir. Ayrıca kolajen liflerinde de düzensizlik vardır [27].



Şekil 2.3. Normal damar (A)/varisli damar (B) yapısı ve histolojisi (Raffetto & Khalil, 2021’den uyarlanmıştır.)

Olası fizyolojik mekanizmalara ilişkin çok sayıda teoriye rağmen, varisli damar oluşumunun kesin birincil nedeni belirsizliğini halen korumaktadır. En yaygın kabul gören teorilerden biri varisli damarların ana nedeninin primer kapak yetmezliği olduğudur. İlk olarak 1628’de Sir William Harvey tarafından ortaya atılan teoride bir bireyin çok az kapakçıkla doğduğu ve/veya kırılabilir kapakçıklara yönelik altta yatan bir genetik yatkınlığa sahip olduğu ve bu kapakçıkların ilerleyen yaşla birlikte arızalandığı veya köreldiği varsayılır [28]. Basit olan bu teori, varisli damarların neden sıklıkla yetkin kapakçıkların altında veya arasında oluştuğunu veya normalde çok güçlü olan ve geri sızıntı olmadan 200 mm Hg basınca dayanabilen bir kapağın, nasıl kendiliğinden zayıfladığını tam olarak açıklamamaktadır [29].

Damar duvarı zayıflığı teorisi ise, varisin damar duvarı bileşimindeki birincil bir kusur olduğunu ve venöz hipertansiyona yanıt olarak kontraktilitenin bozulmasına yol açtığını belirtir. Normal ve varisli damarları karşılaştıran histolojik çalışmalar da bu teoriyi desteklemektedir. Normal bir ven duvarının bileşenleri, destek görevi gören kolajen matrisi, elastik lifler ve venöz tonusu kontrol eden 3 düz kas katmanını içerir. Varisli damarlarda, kas lifi katmanları bozulur ve kolajen matrisinin belirgin proliferasyonu sonucu histolojik anormallikler meydana gelir [30]. Kas hücreleri normal yönelimlerini ve birbirlerine yakınlıklarını kaybettikçe, hem tek tek hem de birlikte etkili bir şekilde kasılma gücünü kaybeder ve kas ağrı sarkar [28, 29]. Venöz duvarda, vasküler hücreler duyarlı iyon kanalları, G proteinine bağlı reseptörler ve integrinler gibi kan akışından sorumlu farklı

mekanoreseptörlere sahiptir [31]. Vasküler düz kas hücrelerinde vasküler kasılma, sarkoplazmik retikulumdan Ca^{2+} salınımı ile başlatılır ve plazma membran kanalları aracılığıyla Ca^{2+} girişi ile sürdürülür. Venöz basıncın artması ve düz kas hücrelerinin migrasyonu gibi nedenlerle bozulmuş Ca^{2+} mobilizasyonu kontraktilitenin azalmasına neden olur. Artan proteolitik aktivite ile hücre dışı matris elemanları parçalanır ve MMP/TIMP oranında dengesizlik oluşur. Bu durum ise K^+ kanallarını aktive ederek venöz genişlemeyi tetikler, düz kas hiperpolarizasyonuna ve gevşemesine yol açar [27, 31].

2.2.1. Kronik venöz yetmezlikle ilişki enzimler

KVY patofizyolojisinde rol alan enzimlere ait genel bilgiler ve KVY/varis hastalığı ilişkisi aşağıda verilmiştir.

Hyaluronidaz

Hyaluronidaz, dermal hücre dışı matrisi oluşturan ve geçirgenliğini düzenleyen dört ana glikozaminoglikandan (GAG) biri olan hyaluronik asiti (HA) parçalayan bir enzimdir. Dermiste en yaygın GAG, HA'dır. HA, β -1-4 ve β -1-3 glikozidik bağlar yoluyla N-asetil-D-glikozamin ve D-glukuronik asit birimlerinden oluşan doğrusal bir glikozaminoglikan disakkarittir. Son derece hidrofilik olduğundan HA yüksek bir hidrasyon kapasitesine sahiptir ve bu nedenle cildin viskoelastik özelliklerine katkıda bulunur [32, 33]. Hyaluronidaz, 60 yılı aşkın süredir tedavide kullanılmaktadır. Amerika Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından hyaluronidazın onaylanan endikasyonları şu şekildedir: (1) deri altı sıvı infüzyonu (hipodermokliz), (2) ilaçların deri altı dokuda emilimini ve dağılımını hızlandırmak veya ekstrasvazasyonu yönetmek için bir adjuvan olarak, (3) idrar yolu anjiyografisinde (deri altı ürografi) kontrast maddenin emilimini teşvik etmek için yardımcı madde olarak [34]. HA eksikliği, venöz yetmezlik veya romatoid artrit gibi enflamasyona bağlı birçok patolojik süreçte görülmektedir ve kapiller duvarlardaki ekstrasvasküler matriks elemanı olduğu için hyaluronidaz inhibe etme potansiyeline sahip bileşikler, anti-enflamatuvar ajan olarak faydalı olabilir [35, 36]. HA, mekanotransdüksiyonu aracılık etme, akım kuvvetindeki (*shear stress*) duysal değişiklikler, seçici geçirgenlik, hücrelere ve proteinlere karşı elektrostatik bariyer, antikoagülasyon bariyeri, anti-enflamatuvar, anti-adhezif ve hemodinamikler tarafından indüklenen endotel yaralanmalarına karşı koyma gibi

önemli işlevlere sahip olan glikokaliksteki (vasküler endotel lümenal yüzeye uzanır) ana GAGlardandır [27]. Glikokaliksin, makromoleküllerin ve dolaşan hücrelerin kan dolaşımından damar duvarına ve çevre dokulara geçişini kısıtlayan bir bariyer oluşturması ve vasküler geçirgenlikte önemli bir rol oynaması bileşiminde yer alan HA'nın önemini arttırmaktadır. Glikokaliksin patolojik durumlar veya mekanik travma nedeniyle bozulması, endotel bariyer fonksiyonunu engelleyerek geçirgenliğin artmasına ve doku ödemeine yol açar [37]. Özellikle tromboflebitlerle komplike olan varisli damarların duvarındaki hücre dışı bölmedeki HA içeriğinin azalması, varisli damar duvarının elastikiyetinin azalmasına neden olabilir [38]. Niebes ve diğerleri yaptığı bir çalışmada, sağlıklı ve varisli serumlarda GAG metabolizma ürünleri ve enzim içerikleri karşılaştırılmıştır. Varisli dokularda hyaluronidaz, β -glukuronidaz, N-asetilglukozaminidaz ve arilsülfataz aktivitelerinde artış görülmüştür (44, 45). Bir başka çalışmada, 26 hasta üzerinde yapılan operasyonlar sırasında toplanan normal, varisli damarlar ve tromboflebit ile komplike olmuş varisli damarların GAG içerikleri değerlendirilmiştir. Varisli damar duvarında ortalama GAG içeriği ve sülfatlı GAG içeriği artarken HA miktarının azaldığı gözlenmiştir [39]. Bu nedenle hyaluronidaz enzim inhibisyonu ile HA içeriğinin varisli damarlarda arttırılması KVV'de etkili sonuçlar doğurabilmektedir.

Kolajenaz

Venöz doku yeniden yapılanmasının ana belirleyicilerinden biri MMP'lardır. MMP'lar kolajen, elastin ve ECM'nin diğer proteinlerinin dönüşümünde rol oynar [40]. Kolajenazlar, MMP-1, -8, -13 ve -18'i içerir ve kolajen-I, -II ve -III'ü parçalayarak, serbest bırakır (3/4'ünü) ve uzatır (1/4'ünü). Deney hayvanlarından ve insanlardan alınan venöz doku üzerinde yapılan çalışmalar, MMP alt tiplerinin ekspresyonunda/aktivitesinde önemli değişiklikler olduğunu göstermiştir. Çalışmalar ayrıca MMP'ların ekspresyonu/aktivitesi ile MMP/TIMP arasındaki dengesizliğin, damar duvarında ve kapaklarda varisli damarların oluşumuna yol açan patolojik değişikliklerle sonuçlanabileceğini ileri sürmektedir [41, 42]. Birçok çalışmada varisli damarlarda kolajen içeriğinin azaldığı görülmüştür [43]. Öte yandan kolajen ölçümlerinin, kontrol damarlarına kıyasla varisli damarlarda artış [44], azalma [45] ya da hiç fark olmadığı [46] durumlar da kaydedilmiştir. Bazı çalışmalar ise varisli damarlarda kontrol damarlarına kıyasla artmış kolajen-I ve azalmış kolajen III içeriği olduğunu göstermektedir [47]. Varisli damarlarda net kolajen ve elastin miktarı, KVV'nin farklı aşamalarında farklı biyolojik süreçler arasındaki dinamik etkileşimden etkilenir.

Örneğin, damar kolajen içeriğindeki artışlar, KVV'nin erken aşamalarında elastin seviyelerindeki düşüşü telafi edebilir. Tersine, damar kolajen içeriği varisli damarların sonraki aşamalarında azalabilir. Bu, varisli damarlarda kolajen seviyelerinin farklı çalışmalarda, kontrol damarlarına kıyasla azalma, hiçbir değişiklik olmaması veya artış göstermesinin bir açıklaması olabilir [37]. Bununla birlikte varisli damarlarda özellikle MMP-3 aktivitesinin arttığı ve kan damarlarının genişleyebilmesi ve elastikiyeti için çok önemli olan Tip III kolajenin translasyon sonrası proteolizine yol açtığı da gösterilmiştir [27]. Bu durum, MMP'ların varisli damarların gelişiminde ve bunların tromboflebit ve venöz ülser oluşumuyla birlikte KVV ilerlemesinde ilişkili olduğunu göstermektedir [42].

Elastaz

Elastaz enzimi, elastin gibi insan dokularında önemli molekülleri parçalayabilen akciğer, cilt, arterlerde bulunan serin proteinaz sınıfı bir enzimdir. Nötrofil elastaz, pankreatik elastaz, makrofaj elastaz ve fibroblast elastazı olmak üzere tipleri bulunmaktadır [48]. Damar duvarının elastik bileşeninin, varisli damarların oluşumu da dahil olmak üzere, venöz hastalıkların ortaya çıkmasıyla en sık ilişkilendirilen faktörler arasında olduğu belirtilmektedir. Büyük arterler ve damarlar, yapısal bütünlükleri ve işleyişlerinde önemli rol oynayan elastomerik özelliklere sahiptir. Elastik lifler vasküler tonusun korunmasında önemli bir rol oynar ve varis hastalığındaki venöz yetmezlik, elastik lif içeriğinin tükenmesi ile ilişkilendirilmiştir [49]. Endoteli dışarıdan destekleyen elastin miktarındaki değişikliklerin venöz basınca karşı direnci azaltabileceği öne sürülmektedir [50]. Varisli damar duvarlarında gözlenen elastik laminaların parçalanmasının artan elastaz aktivitesi ile ilişkili olduğu öngörülmektedir [49].

Lipoksijenaz (LOX)

LOX, hidroperoksitler üretmek için çoklu doymamış yağ asitlerinin (linoleik, linolenik ve araşidonik asit) oksidasyonunu katalize eden bir monomerik protein ailesidir. Tüm LOX formlarının substratı araşidonik asittir. LOX'lar insan vücudunda enflamatuvar reaksiyonların uyarılmasında ve prostaglandinlerin, lökotrienlerin sentezinde rol oynar. Enflamasyon, kanser, felç, kardiyovasküler ve nörodejeneratif hastalıklar gibi birçok hastalıkla bağlantılıdır [51]. Ayrıca LOX etki ürünleri, ateroskleroz ve varisli damar dahil

olmak üzere enflamasyonun aracıları olarak bilinir. Varisli damarlarda enflamasyon sürecinin tetikleyicisinin anormal venöz akış olduğu düşünülmektedir. Venöz hipertansiyon, ven duvarının gerilmesine ve venöz kapakların bozulmasına yol açar. Bunun sonucu olarak venöz akış tersine döner, düşük akım kuvveti (*shear stress*) oluşur. Azalmış *shear stress* lökositleri aktive eder. Lökosit-endotel etkileşimi, enflamatuvar kaskadın başlangıç noktasıdır. Enflamatuvar hücrelerin venöz duvara infiltrasyonu artar ve böylece lokal enflamasyonu teşvik eden bir ortam oluşturur [52]. LOX inhibitörleri, enflamasyon sürecinin baskılanması ve serbest radikallerin oluşumunu önlemesi nedeniyle varis hastalığının tedavisinde fayda sağlayabilmektedir [53].

Yüksek LOX aktivitesi peroksil radikalının ve diğer serbest radikallerin oluşumunda artışa yol açar [54]. Aşırı aktif LOX'ların hücrede önemli bir reaktif oksijen türü (ROT) kaynağı olabileceği belirtilmektedir [55]. Varisli damarların duvarı, ROT tarafından kolayca oksidasyona uğrayan doymamış yağ asitleri içeriğinden oluşur. Bu sürecin bir sonucu olarak, düz kas hücrelerinin hipertrofisi ile damar duvarı değişir. Endotel disfonksiyonu varisli damarlar dahil olmak üzere KVV oluşumuna katkıda bulunur [56].

Prolilendopeptidaz (POP)

POP ya da proliloligopeptidaz, beyin dahil tüm dokularda yer alan, küçük peptid benzeri hormonları, nöroaktif peptitleri ve çeşitli hücrelerel faktörleri sindiren, pro-anjiyogenik ve anti-fibrinojenik moleküllerin salınımı sağlayan serin peptidazdır [57, 58]. POP, prolin içeren P maddesi, arginin, vazopressin, tiroliberin ve gonadoliberin gibi biyomoleküllerin metabolizmasında rol oynar. İltihaplanma gibi birçok fizyolojik ve patolojik fonksiyona dahil olduğu gösterilmiştir. POP enzim inhibitörleri, çeşitli nörolojik bozukluklarda hafıza artırıcı olarak klinik denemelerde araştırılmaktadır. Ayrıca bazı psikotik bozukluklarla ilişkisi olduğu da belirtilmektedir [58]. Yapılan bir çalışmada, güçlü bir POP inhibitörü olan 4-fenil-bütanoil-l-prolin-2(S)-siyanopirrolidin (KYP-2047)'in venöz duvardaki histolojik anormallikleri iyileştirdiği, KVV'in enflamasyon sürecini azalttığı belirlenmiştir. Bu nedenle POP inhibitörleri KVV tedavisinde yeni terapötik hedef olarak görülmektedir [57].

Ksantin oksidaz (XO)

Molibden içeren kompleks bir flavin enzimi olan XO vücuttaki pürin metabolizmasında anahtar bir enzimdir. Hipoksantinin ksantine, ksantinin ürik aside dönüşümünde rol oynar. Ayrıca hücrelerde oksidatif hasara yol açarak diğer hastalıkların ortaya çıkmasına neden olabilen ROT üretimine neden olur [59]. Venöz duvar, ROT tarafından kolayca oksitlenebilen doymamış yağ asitlerinden oluşur. Oksidan maddeler endotel altı doku tahribatına, düz kas hücrelerinin hipertrofisine ve endotel geçirgenliğinde artışa, ardından staz ve ödeme neden olur. Tetiklenen her biyokimyasal süreç, bir döngüde başka bir alevlendirici sürecin meydana gelmesiyle sonuçlanır [60]. XO ise O_2 'ye tek değerlikli ve iki değerlikli elektron transferini katalize ederek süperoksit anyonu ve hidrojen peroksit olmak üzere iki ROT'ünü üretebilir [61]. Aktive olmuş nötrofillerin endotel hücreleriyle etkileşimi, ksantin dehidrojenazın oksidaza dönüşmesine neden olur. Yapılan immünohistokimyasal çalışmalarda varisli damarlarda XO içeriğinin arttığı saptanmıştır [62]. Bu nedenle artan XO içeriği ROT türlerinin salınmasına neden olarak, varisli damarların patolojisini daha kötüye götürmektedir. XO inhibitörleri varisli damarların tedavisinde bir seçenek olarak görülebilir.

2.2.2. Kronik venöz yetmezlik ve oksidatif stres ilişkisi

Vücutta oksidan ve antioksidan sistemler belirli bir dengede bulunmaktadır. Bu dengenin oksidan mekanizmaya doğru kayması ROT'nin aşırı üretimine neden olur [63]. Aşırı ROT üretimi, hem vücudu hem de patojenleri etkileyen oksidatif hasara yol açar. ROT, yalnızca hücrelere ve dokulara hasar vermekle kalmayıp aynı zamanda metabolizma, bağışıklık, büyüme ve farklılaşmayı kapsayan çeşitli homeostatik süreçlere aktif olarak katılarak temel mekanizmalarda ve yollarda yaygın bir rol oynar. Yapılan çalışmalar, artan ROT sonucu oluşan oksidatif stres ile kardiyovasküler hastalıklar, kanser, nörodejeneratif hastalıklar, diyabet, obezite, yaşlanma ve çeşitli kronik enflamatuvar durumları kapsayan bir dizi kronik hastalık arasındaki yakın bağlantıyı vurgulamaktadır [64].

Vasküler endotel disfonksiyon, ROT oluşumuna, antioksidan sistemin eksikliğine, oksidatif stres oluşumuna, enflamatuvar süreçlere ve proenflamatuvar sitokinlerin salınımına yol açar [65]. ROT, fizyolojik olarak vasküler duvardaki oksijenin eksik indirgenmesinden dolayı üretilir. ROT üretimi ile antioksidan savunma mekanizmaları arasındaki dengesizlik, lipid

peroksidasyonu, DNA, RNA, protein oksidasyonu ve bazı enzimlerin inaktivasyonu ile oksidatif stres yaratır [66]. KVV'de artmış lipit peroksidasyonu sonucu meydana gelen malondialdehit (MDA), ROT'nin aşırı üretimine yol açar ve bu da endoteldeki lipit membranların, proteinlerin ve diğer moleküllerin yıkımına neden olabilir. MDA'nın artan salınımı, varisli damarların gevşemesine ve venokonstriksiyon yoluyla varisli damardaki ön yükün artmasına neden olur [67]. Varisli damarlarda MDA seviyesindeki artış, süperoksit dismutaz aktivitesinde eş zamanlı bir azalma ve normal damarlara kıyasla antioksidan potansiyelde bir azalma ile korelasyon gösterir. Yüzeysel tromboflebitli varisli damarlarda normal safen venlere kıyasla daha yüksek seviyelerde tiyobarbiturik asit-reaktif maddeler (lipit peroksidasyonunun yan ürünü) görülmektedir [68].

ROT'nin aşırı üretimine neden olan diğer faktör nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH) oksidaz, nitrik oksit sentaz (NOS), XO ve miyeloperoksidaz gibi vasküler enzimatik sistemlerdir. Ayrıca vasküler hastalıklarda nitrik oksit (NO) ve NOS'ın ROT üretiminde belirgin rol aldığı gösterilmiştir [69, 70]. Yapılan bir çalışmada, venlerin distal ve proksimal segmentlerindeki süperoksit üretimi karşılaştırılmış, varisli damarlarda özellikle damarın distal segmentlerinde NADPH oksidaz ve NOS enzimlerinden kaynaklı artmış süperoksit üretimi bulunmuştur. Süperoksit anyonu ve diğer ROT hücre lipit vasküler ve venöz kapak disfonksiyonuyla sonuçlanabilen lipit disfonksiyonuna ve enflamatuvar reaksiyonların indüklenmesine yol açar. Ayrıca ROT, MMP'ları güçlü indüklemekte TIMP ekspresyonunu inhibe etmektedir [71]. MMP/TIMP dengesizliği damar duvarında ve kapaklarda varisli damarların oluşumuna yol açar.

2.2.3. Kronik venöz yetmezlik ve enflamasyon ilişkisi

Kronik enflamasyon, KVV'nin hem gelişimine hem ilerlemesine neden olan bir faktördür. Artan venöz kan basıncı, mekanik hasar ve damar yapısında stres oluşumuna neden olarak enflamatuvar yanıtın aktivasyonunu tetikler. Nötrofiller, lenfositler ve monositler gibi bağışıklık hücreleri, yapıya gelen hasarı onarmak amacıyla damar duvarına ve kapakçıga sızarlar. Bu süreç vasküler onarıma yardımcı olabilirken, aşırı enflamasyon ve uygunsuz enflamatuvar yanıt, damar yapısında oluşan hasarı kötüleştirir ve KVV'in ilerlemesine neden olur [72]. Enflamatuvar mediyatörler nötrofilleri çeker ve aktive eder, venöz duvara sızmalarına yol açar ve hücre dışı matris bileşenlerinde hasar başlatır. Buna karşılık, büyüme

faktörleri düz kas hücrelerinin göçüne, çoğalmasına ve farklılaşmasına neden olur, bu da neointima oluşumunu uyarır [73].

Varisli damarlarda, yapışma molekülleri (ICAM-1, VCAM, kemotaktik protein MCP-1, L-selektin, E-selektin), sitokinler, interlökin-1 β (IL-1 β), IL-4, IL-6, IL-8, IL-12, IL-13, protein p40, granülosit-koloni uyarıcı faktör (G-CSF), granülosit makrofaj koloni uyarıcı faktör (GM-CSF), interferon gama (IFN- γ), tümör nekroz faktörü alfa (TNF- α), makrofaj enflamatuvar protein-1 alfa (MIP-1 α), MMP'lar ve makrofaj enflamasyon proteini 1b dahil olmak üzere birçok enflamasyon molekülünün, sitokinin, kemokinlerin, vazoaktif faktörlerin, selektinlerin ve protrombotik öncüllerin varlığı gösterilmiştir [73, 74].

Enflamasyon sırasında, ekspresyonu artan CAM'lar lökositlerin kan dolaşımından iltihaplı dokulara geçişini kolaylaştırır. E ve P selektinler yüzeylerinde karbonhidrat tanıyan bir alana sahiptir ve spesifik lökosit yüzey glikanlarının bağlanmasını destekler. Nötrofillerin yapışma süreci, sitokinler, IL-8, IFN- γ ve TNF- α ile PAF (trombosit aktivasyon faktörü), aktif tamamlayıcı kompleks ve arasıdonik asit metabolitleri tarafından başlatılabilir [68].

Yapılan çalışmalarda, yaygın enflamatuvar transkripsiyon faktörü aktivatör protein-1'in (AP-1) ve nükleer faktör kappa B hücresinin (NF-kB) vasküler disfonksiyonun başlamasında ve ilerlemesinde önemli rol oynadığını gösterilmiştir. AP-1, interlökinlerin ve monosit-kemoatraktan protein-1 (MCP-1) genlerinin indüksiyonunda NF-kB ile ilişkilidir. MCP-1, lökositlerin kandan damar duvarlarına toplanmasında rol oynayan güçlü bir kemokindir ve damar yeniden şekillenmesinden sorumlu olduğu ileri sürülmektedir [75].

Artan venöz kan basıncı ve venöz kan akımının tersine dönmesi ile oluşan düşük *shear stres* NO üretimini bozar, vazoaktif ajanların salınımını ve E-selektin, proenflamatuvar sitokinler, kemokinler, protrombotik öncüllerin ekspresyonunu artırır. Bu durumda IL-6, IL-1, TNF- α , IFN- γ , IL-8, MCP-1 ve MIP-1 gibi proenflamatuvar mediyatörler ile enflamatuvar yanıt tetiklenir [52]. Yapılan çalışmalarda varisli damar bölgesinden alınan kan örneklerinde IL-6, IL-8 ve MCP-1 konsantrasyonlarının önemli ölçüde arttığı görülmektedir [76, 77]. Artan enflamatuvar mediyatörlerden IL-6, IL 8 ve MCP-1, venöz hipertansiyonun artmasına, cilt değişikliklerine, venöz ülseri neden olur ve telenjektaziler ve retiküler venler meydana gelir. Bu durum bacaklarda ağırlık ve ağrı ortaya çıkması ile sonuçlanır [78]. Normal

dokularla karşılaştırıldığında varisli dokularda daha yüksek oranda bulunan bir diğer mediyatör dönüştürücü büyüme faktörü- $\beta 1$ (TGF $\beta 1$)'dir. TGF- $\beta 1$, vasküler yeniden şekillenmede önemli bir rol oynar [79]. TGF- $\beta 1$, MMP ve TIMP düzenlenmesi yoluyla varisli damarlarda ve venöz duvar yapısı modifikasyonlarında lokal kronik enflamatuvar süreçlere katılabilir [80].

KVY ve varisli damarlar çok karmaşık ve kompleks bir patofizyolojiye sahiptir. Enflamasyon ise KVY patofizyolojisinde en önemli tetikleyicidir. Özellikle varisli damarların atrofik bölgesinde dokuya enflamatuvar hücrelerin infiltrasyonu gerçekleşir. Bu durum hastalığın tedavisini zorlaştırır ve ilerlemesine neden olur. Bu nedenle KVY ve varisli damarların tedavisinde antienflamatuvar etkiye sahip bileşikler önem arz etmektedir.

2.3. Varisli Damarlarda ve Kronik Venöz Yetmezlikte Tedavi Stratejileri

KVY tedavisi uzun bir tarihsel geçmişe sahiptir. Hipokrat, varisli damarlar ile ülserasyon arasındaki ilişkiyi ve tedavide katmanlı bandajlarla kompresyon terapisini tanımlamıştır. Celcus ve Galen gibi doktorlar, Roma döneminde varisli damarlar için, günümüzdeki flebektomiye eşdeğer olan çıkarma için künt kancalar kullanarak ameliyatlara gerçekleştirmiştir [81].

Varisli damarlar için tedavi seçenekleri konservatif tedavi ve cerrahi (girişimsel) müdahaleyi içerir. Tedavi yöntemleri varisli damarların doğasına ve altta yatan fizyolojik nedenlere göre seçilir [82]. Asemptomatik hastalar için konservatif tedavi seçenekleri kullanılırken semptomatik hastalara endovenöz lazer ablasyonu, radyofrekans ablasyonu, yetersiz büyük safen veninin yüksek ligasyonu ve sıyırma, mekanokimyasal ablasyon, siyanoakrilat embolizasyonu gibi tedaviler uygulanabilir [83].

Girişimsel tedavi yöntemi olan termal ablasyon ile lazerden veya radyo dalgalarından gelen ısı, damardaki kanı pıhtılaştırır, bunun sonucunda damar kapanır ve kan akışı işlevsel damarlara yönlendirilir, hasarlı damarlar yok edilmiş olur [84]. Endovenöz skleroterapi, endotelin iltihaplanmasına neden olan bir ajanın ultrason rehberliğinde yüzeysel damarlara enjekte edilmesini içerir ve hasarlı damarda fibroz tıkanıklığa neden olur. Hipertonik tuzlu su, sodyum tetradesil (Sotradecol) ve polidokanol gibi çeşitli maddeler kullanılır [85, 86]. 2013 Ulusal Sağlık ve Bakım Mükemmelliği Enstitüsü klinik kılavuzları, endovenöz termal

ablasyon ve skleroterapiden sonra üçüncü basamak tedavi olarak ameliyatı önermektedir [87, 88]. Ameliyat, büyük ve küçük safen veninin bağlanması ve sıyrılması işlemine dayanır. Bu işlemde damar proksimalden kesilir, bir damar sıyrıcı, sıyrıcının ucuna erişmek için diz yakınında yapılan bir kesiden distal olarak geçirilir. Sıyrıcının proksimal ucu damara sabitlenir ve daha sonra sıyrıcı distale çekilirken damar çıkarılır [89].

Girişimsel tedaviler KVV tedavisinde önemli yer tutmasına karşın enfeksiyon, arteriyel sistemde yaralanma, sinir yaralanması (örneğin safen ve/veya sural sinirler), estetik, derin ven trombozu, yara izi gibi komplikasyonların da gerçekleşme ihtimali vardır [12].

Konservatif tedavi seçenekleri arasında;

- Kompresyon (örn. bandajlar, destek çorapları, aralıklı pnömatik kompresyon cihazları),
- Etkilenen bacağın yükseltilmesi (Bacakların günde en az 3 kez 30 dakika boyunca kalbin üzerine yükseltilmesi, venöz basıncı ve ödemi azaltmaya ve tekrarlayan ülserleri önlemeye yardımcı olur),
- Yaşam tarzı değişiklikleri (uzun süreli ayakta durma ve zorlanmadan kaçınma, egzersiz, kısıtlayıcı olmayan giysiler giyme, kardiyovasküler risk faktörlerinin değiştirilmesi ve periferik ödemi azaltmaya yönelik müdahaleler),
- Kilo kontrolü,
- Flebotonikler (veno-aktifler) ya da gıda takviyeleri (çoğunlukla tek bir takviyede birden fazla bileşen bulunur) yer almaktadır [89].

Veno-aktif ilaçlar ödem koruyucu ajanlar, flebotonikler, venotonikler, vazoprotektörler, flebotropikler ve venotropikler gibi birçok terim ile tanımlanır. Ödem ve kronik venöz hastalıklarla ilişkili semptomlar üzerinde etkileri olan, bitkisel veya sentetik kökenli heterojen bir grup tıbbi ürünlerdir [90]. Flebotonik/venoaktif/venotonik/vazoaktif ilaçların farmakolojik ve klinik özelliklerini inceleyen çalışmalar olmasına rağmen etki mekanizmaları tam olarak bilinmemektedir. Bu ilaçların, venöz tonu artırmak gibi makro dolaşımın yanı sıra kılcal damarların aşırı geçirgenliğini önlemek gibi mikro dolaşım parametrelerini etkilediği bulunmuştur [91]. Venoaktif ilaçlar üzerinde yapılan bir meta-analiz çalışmasında bacak şişmesinde hafif bir azalma olduğunu ancak yaşam kalitesinde veya venöz ülser iyileşmesinde önemli ölçüde değişiklik olmadığı rapor edilmiştir [92].

Venoaktif ilaçlar arasında α -benzopironlar (kumarinler: eskuletin ve umbelliferon), γ -benzopironlar (flavonoitler: hesperitin, hesperidin, okserutin, kersetin, rutozitler, trokserutin), saponozitler veya saponozit içeren bitki ekstraları [essin, *Centella asiatica* (L.) Urb., *Aesculus hippocastanum* L., *Ruscus aculeatus* L. ekstresi), diğeri bitki ekstraları (yaban mersini ve üzüm çekirdeğı, ergotlar, *Ginkgo biloba* L.), kateşin (yeşil çay) ve sentetik ilaçlar bulunur [37]. Sentetik ilaçlar, kalsiyum dobesilat, naftazon, benzaron ve tribenozittir. Benzaron hepatite ve tribenozit yüksek oranda deri döküntüsüne neden olduğundan bu iki ilacın kullanımı tartışmalıdır [93]. Varisli damarların tedavisinde kullanılan sodyum morhuat enjeksiyonu, morina karaciğeri yağının doymuş ve doymamış yağ asitlerinin bir karışımıdır. Primer varisli damarların obliterasyonu için kullanılır [94]. Polidokanol enjeksiyonu, Polidocanol, Asclera, Aethoxysklerol ve Varithena ticari isimleri altında varisli damarları tedavi etmek için enjekte edilir, fibrozise neden olarak damarın lümenini tıkar ve varis görünümünü azaltır [95]. Sodyum tetradesil sülfat belirli damar türlerinde kan pıhtılarının ve yara dokusunun oluşumunu artırarak çalışan sklerozan bir maddedir. Bu, genişleyen damarların genişlemesini azaltmaya yardımcı olur. Sodyum tetradesil sülfat, bacadaki küçük, komplikasyonsuz varisli damarları tedavi etmek için kullanılır [94, 96].

Alfa-benzopironlar esas olarak kumarinler lenfödem tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır ancak yüksek dozlarda hepatotoksisteye neden olduğundan günümüzde kullanımları sınırlıdır. Kumarin tek başına veya rutin ile birlikte kullanıldığında, proteolizi uyatarak lenf akışını iyileştirir ve yüksek proteinli ödemi azaltır. Antikoagülan ajanlar olan dikumaroller hepatotoksik olmasına rağmen yaygın olarak kullanılmaktadır [97, 98]. *Gama*-benzopironlar yani flavonoitler, [diosmin ve onun türevi, mikronize saflaştırılmış flavonoit fraksiyonu (MPFF) ve rutozitler (okserutin, trokserutin, hidroksietil rutozit)], kardiyovasküler semptomlar ve ödem tedavisinde yaygın olarak kullanılır. Flavonoitler, eksikliğinde kapiller permeabilitenin artmasına ve kılcal kırılabilirliğe neden olduğu için “vitamin P” (geçirgenlik için) olarak tanımlanmıştır. Flavonoitlerin KVV’e karşı etkileri noradrenerjik aktiviteyi uzatarak venöz tonuyu artırma, kılcal geçirgenliği azaltma, lenfatik drenajı iyileştirme ve trombosit agregasyonunu engelleme olarak bildirilmiştir [99]. Diosmin, kan akışını artırır, kan damarı geçirgenliğini azaltır, vasküler esnekliği, venöz tonu, lenf akışını artırır, enflamatuvar mediyatörlerin inhibisyonu yoluyla mikrovasküler geçirgenliği korur ve antioksidan aktiviteye sahiptir [100-102]. Diosmin ayrıca venöz katekol-O-metiltransferazı inhibe ederek norepinefrin metabolizmasını azaltabilir ve venokonstriktif etkilerini uzatabilir [100]. Saponinler arasında farklı essin türevleri ve

Aesculus hippocastanum L. ile ruskogenin (steroidal saponozit yapısında) ve *Ruscus aculeatus* L. ekstreleri yer almaktadır [97].

2018 L'Union Internationale de Phlébologie (UIP) kılavuzu venoaktif ilaçları semptomlara, belirtilere ve yaşam kalitesine göre alt bölümlere ayırmış ve etki büyüklüğünü belirlemiştir [103]. MPFF, ağrı, ağırlık, şişlik hissi, kramplar, bacak kızarıklığı, cilt değişiklikleri, ödem ve yaşam kalitesi için şiddetle tavsiye edilir, ancak parestezi ve yanma için o kadar güçlü etkiye sahip değildir. *Ruscus* ekstresi + hesperidin metil kalkon + C Vitamini (Cyclo 3 fort[®]) ağrı, ağırlık, şişlik hissi, bacak yorgunluğu, parestezi ve ödem için şiddetle tavsiye edilir, ancak kramplar ve kaşıntı için güçlü etkiye sahip değildir. Okserutinler ağrı, ağırlık ve kramplar için şiddetle tavsiye edilir, ancak ödem için güçlü etkiye sahip değildir. *A. hippocastanum* semen ekstresi ağrı, kaşıntı ve ödem tedavisinde etkilidir [104].

Venoaktif ilaçlar KVV'e bağlı bazı semptom ve belirtileri tedavi eder ancak altta yatan venöz reflüyü tedavi edemez. Bu nedenle venotropik ilaçlara yalnızca küratif tedavi alamayan veya almak istemeyen hastalarda ihtiyaç duyulmaktadır. Kompresyon çorapları ise giyildiği süre boyunca venöz reflüyü azaltabilir, ancak bunlar çıkarıldığında reflü yeniden başlar. Varisli damarların birinci basamak tedavisinde ise modern tedavi tekniklerinden olan endovenöz termal ablasyon uluslararası olarak kabul edilmektedir [15].

2.3.1. Varisli damarların tedavisinde kullanılan tıbbi bitkiler ve doğal bileşenler

Varisli damarların tedavisinde yaygın olarak kullanılan bazı bitkilere ait bilgiler aşağıda verilmiştir.

Aesculus hippocastanum L. (At kestanesi)

A. hippocastanum tohumları essin isimli triterpenik saponin glikozitleri ve lakton glikozitlerinin karışımını, flavonoidler ve tanenleri içermektedir. Antiinflamatuvar etkisi flavonoidlerin varlığından kaynaklanırken astrenjan etkisi damar duvarlarının sıkılaşmasına yardımcı olan tanen içeriğinin bir sonucudur. Essin ödem önleyici bir etki sergiler ve venöz tonuyu artırır [105]. Essin vasküler düz kasları Ca^{2+} 'a duyarlı hale getirerek venöz gerginliği iyileştirir ve prostaglandin $F2\alpha$ üretimini artırır [106]. Prostaglandin $F2$

salınımının artması ile vazodilatör enzimler, serotonin ve histaminin etkilerini antagonize eder ve damar duvarı tonusu korunur. Artan damar gerginliğinin bir sonucu olarak damarlardaki kan akışı hızlanır ve mikrosirkülasyon iyileşir. Lökositlerin damardan geçme süresini kısaltır ve bunların aktivasyon riskini azaltır, böylece gereksiz enflamatuvar yanıtları önler [106, 107]. Essin, proteoglikan bozunmasından sorumlu olan elastaz ve hyaluronidazı inhibe ederek bağ dokusu yapısı korunur [106, 108]. Ayrıca bitki, lizozomal enzimlerin aktivitesini azalttığı için venöz duvarlarda mukopolisakkaritlerin parçalanması engellenir. Alman Komisyonu E monografında *A. hippocastanum*'un, "eksüdatif önleyici ve damar sıkılaştırıcı etkilere" sahip olduğu listelenmektedir. Komisyon E monografında Hippocastani semen standardize ekstresi, %16-20 triterpenoit glikozit (susuz essin olarak hesaplanır) içermelidir [8]. Yapılan beş klinik çalışmada, *A. hippocastanum* ekstresinin hafif ve orta düzeyde varisli hastalarda iyi sonuç verdiği, alt bacak ödemi azalttığı, bacak ağrısı, ağırlık ve kaşıntının hafiflediği gösterilmiştir [109].

Ruscus aculeatus L. (Tavşan memesi)

R. aculeatus ekstresi ruskogenin ve neuroruskogenin olmak üzere iki ana saponin içerir. *R. aculeatus*'un, mikrosirkülasyonu korumadaki rolü venöz hipertansiyonun azalmasına yol açan damar vazokonstriksiyonu, endotel hücre koruması ve antienflamatuvar etkisi gibi çeşitli mekanizmalar ile açıklanmaktadır [110, 111]. *R. aculeatus* ekstresi, histamin kaynaklı artan damar duvar geçirgenliğini engeller. Ayrıca enflamatuvar reaksiyonların erken evresini etkileyerek lökositlerin venöz duvara yapışmasını azaltır. Daha önceki çalışmalarda, antienflamatuvar özellikleri aynı zamanda hücrelerarası adhezyon molekülü-1 ekspresyonunun aktivasyonu üzerindeki etkisi ile açıklanmış ve damar duvar geçirgenliğinin azalmasına yönelik etkisi anti-elastaz aktivitesi ile açıklanmıştır [35, 112]. *Ruscus* ekstresinin en önemli etkilerinden biri damar duvarındaki α -1 ve α -2 reseptör agonizmi ve adrenerjik sinir uçlarından norepinefrin salınımı ile ilişki olan vazokonstriktif aktivitesidir. Vazokonstriktif aktivitesi endotel hücrelerde bulunan muskarinik reseptörleri agonize etmesi ve progesteron seviyelerini arttırmasıyla açıklanabilir [112]. *R. aculeatus*, sitozolik kalsiyum seviyelerini artırır. Böylece hücre içi Ca^{2+} tarafından başlatılan aktif kasılmalar ile lenfatik dolaşımın düzenlenmesi sağlanır [113].

Centella asiatica L. (Gotu Kola)

C. asiatica'nın aktif bileşenleri, asiatik asit, madekasozit ve madasiatik asit gibi asiatikozitleri içeren triterpenik saponozitlerdir. Sistematik bir derlemede *C. asiatica* ekstresinin KVVY'nin belirti ve semptomlarında önemli derecede iyileşme sağladığı rapor edilmiştir [114]. *C. asiatica*'nın birincil etkisi zayıflamış damarların güçlendirilmesidir. Hyaluronik asit ve kondroitin sülfat oluşumunu uyarabilir ve bağ dokusu üzerinde dengeleyici bir etki gösterebilir [26]. Yapılan bir klinik çalışmada, *C. asiatica* ekstresinin, venöz yetmezliğin tedavisinde etkili olduğu, ödem ve ayak şişmesini azalttığı, kılcal filtrasyon hızını ve mikro dolaşım parametrelerini iyileştirdiği bulunmuştur [115]. *C. asiatica*'nın triterpenik fraksiyonu (asiatikozit, asiatik asit ve madekassik asit karışımı) ile ilgili yapılan bir çalışma, ekstrenin ven duvarındaki fibroblastların etkisini düzenleyerek kolajen ve diğer doku proteinlerinin sentezini iyileştirdiğini ve venöz duvarın içinde ve çevresinde kolajenin yeniden şekillenmesini uyardığını rapor etmiştir [116].

Ginkgo biloba L. (Mabet ağacı)

G. biloba, kemferol, kersetin, mirisetin, apigenin, izoramnetin,, luteolin, tamariksetin, ginkgolit (GA, GB, GC, GJ, GM, GK, GL, GP, GQ), bilobalit ve proantosiyandinler içermektedir [117]. *G. biloba* ekstresi, trokserutin ve heptaminolden oluşan venotropik bir ilaç olan Ginkor Fort, hipoksik koşullara maruz kalan insan safen ven endotelinde nötrofillerin aktivasyonunu ve yapışmasını önemli ölçüde azaltmıştır [118]. Kronik venöz yetmezlikte *G. biloba* ekstresi, (Ginkgoselect® Phytosome®) ödem tedavisinde etkili olmasına karşın bacaklardaki ağırlık hissini azaltmada istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır [119].

Vitis vinifera L. (Üzüm)

V. vinifera yaprak ekstresi (AS 195) KVVY semptomlarının tedavisinde geleneksel olarak kullanılmaktadır. Yapısında kersetin-3-O- β -glukuronit, izokersitrin ve kemferol-3-O- β -glukozit içermektedir. KVVY'te alt bacak hacmi, baldır ve ayak bileği çevresi, yorgunluk, ağır bacaklar, karıncalanma hissi, ağrı, bacaklarda gerginlik hissi, kutanöz mikro dolaşım ve transkutanöz oksijen basıncında iyileşmelere neden olmaktadır [120]. *V. vinifera* ekstreleri

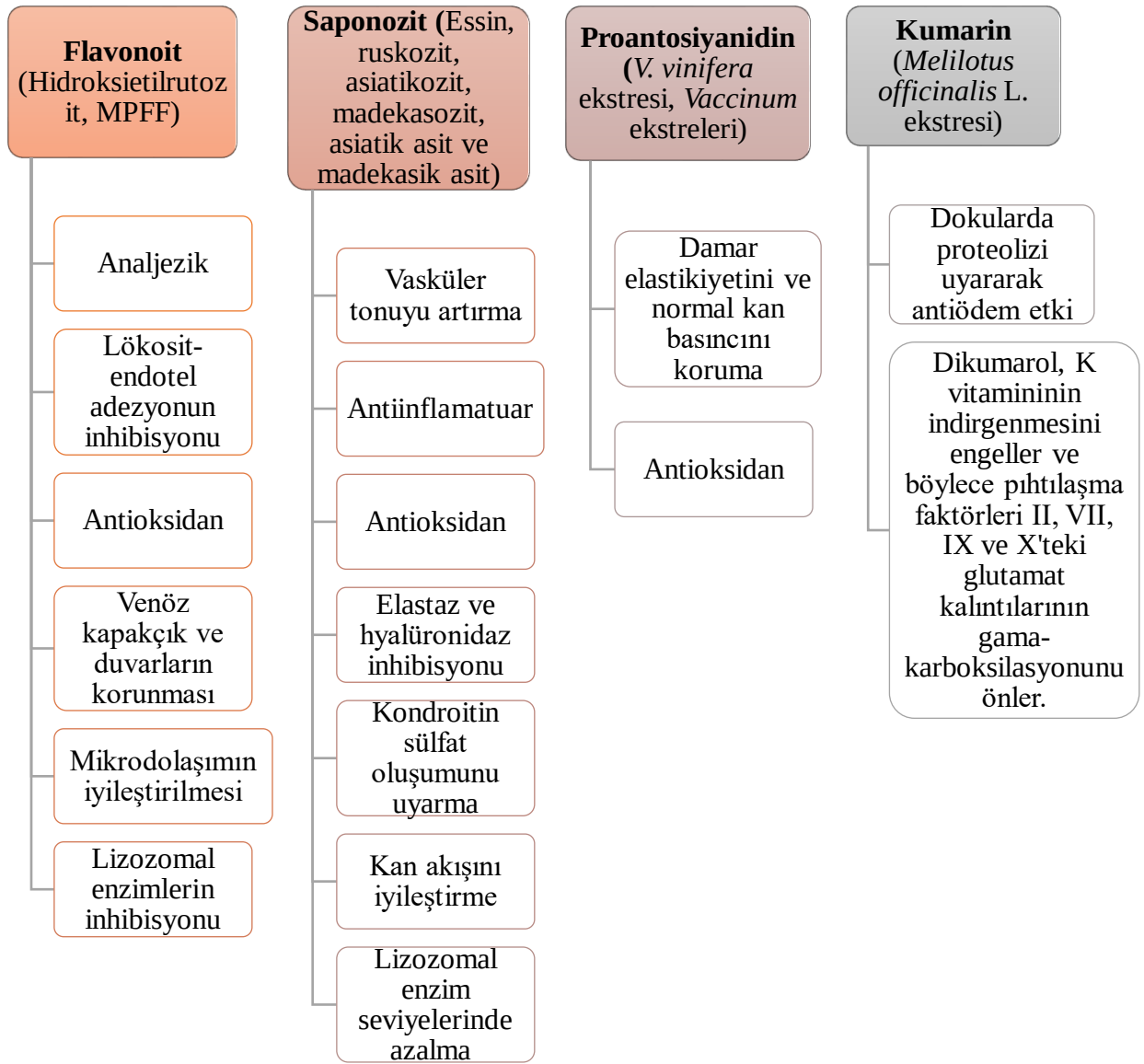
Kore'de yaygın olarak venoaktif ilaç olarak kullanılmaktadır. Yapılan bir çalışmada *V. vinifera* çekirdek ekstresinin KVV hastalarında venöz semptomları hafifletme ve yaşam kalitesini iyileştirmede MPFF kadar etkili olduğu saptanmıştır [121].

Piknogenol

Piknogenol® (Horphag Research UK), USP'ye (USP 2005) uygun olarak 70 ± 5 prosiyanidin (kateşin ve epikateşin oligomerleri) içeren *Pinus pinaster* Ait. standardize ekstresidir [122]. Piknogenolün kapiller geçirgenlikte azalmaya neden olması, antioksidan ve ödem azaltıcı aktivitesi, KVV semptomlarının iyileşmesini sağlamaktadır [11]. Yapılan bir çalışmada piknogenol ve kompresyon çorapları ile tedavi karşılaştırılmış ve piknogenol oral tedavisinin, KVV ve venöz mikroanjyopatili hastalarda mikro dolaşımın yanı sıra belirti ve semptomları iyileştirmede de etkili olduğu gösterilmiştir [122].

Mikronize saflaştırılmış flavonoit fraksiyonu (MPFF)

MPFF (Daflon®), bağırsak emilimini iyileştirmeye yardımcı olmak için 2 mm'lik parçacıklara mikronize edilmiş *Citrus aurantium* L. (turunç) elde edilen çoğunlukla hesperidin ve diosmin olmak üzere saflaştırılmış flavonoitler içerir [99]. Avrupa'da en iyi bilinen ve en yaygın şekilde reçete edilen venoaktif ilaçtır. %90 diosmin ve %10 hesperidin, linarin ve izorhoifolin gibi aktif flavonoitlerden oluşur [123]. MPFF, prostaglandinlerin ve serbest radikallerin sentezini inhibe ederek venöz ülser tedavisinde olumlu etki gösterir. Bradikinin kaynaklı mikrovasküler sızıntıyı azaltır [124]. MPFF, antienflamatuvar etkisinin yanı sıra endotel hücre aktivasyonunu ve lökosit adezyonunu azaltır, venöz tonus ve kapak yetmezliğinde iyileşmelere neden olur, reflüde azalma sağlar, kılcal direnci ve bütünlüğü artırır. Venöz tonuda iyileşmeyi noradrenerjik sinyallemeyle düzenleyerek ve norepinefrin metabolizmasını azaltarak gerçekleştirmektedir. Kılcal geçirgenliği azaltarak, kılcal direnci iyileştirerek ve lenfatik drenajı artırarak enflamasyonla ilişkili kapak hasarına karşı koruma sağlar. En iyi doz-etki oranının 1000 mg ile elde edildiği kaydedilmiştir. MPFF tedavisi tüm CEAP sınıflarındaki hastalarda klinik faydalar sağlamak ve semptomları azaltmaktadır [123, 125, 126]. Şekil 2.4'de bazı venoaktif ilaçların biyolojik aktiviteleri verilmiştir [26, 127, 128].



Şekil 2.4. Doğal kaynaklı bileşiklerin venöz patofizyolojide rolleri

Tedavide en çok kullanılan ve etkileri kanıtlanmış *A. hippocastanum*, *V. vinifera*, *R. aculeatus*, *G. biloba*, *C. asiatica* dışında venöz hastalıkların hafifletilmesine yardımcı başka bitkiler de yer almaktadır. *Withania somnifera* L. “Ashwagandha” olarak da bilinir ve dolaşımı güçlendirici ve damar koruyucu özelliğe sahiptir. *Malus pumila* Mill. meyvelerinden elde edilen çiğ rendelenmiş elma, ağrı, tahriş, ülserasyon, pigmentasyon, ödem, kramplar ve kaşıntının giderilmesine yardımcı olmaktadır. *Allium sativum* L. soğanları varisli damarların iltihabını ve semptomlarını azaltmakır. *Embllica officianalis* Gareth veya *Phyllanthus emblica* L. taze meyve perikarpları kan dolaşımını

iyileştirmeye ve iltihabı azaltmaya yardımcı olmaktadır. *Zingiber officinale* L. fibrini çözer ve damarlardaki kan dolaşımını yeniden sağlamaktadır [25].

2.3.2. Halk arasında varisli damarların tedavisinde kullanılan bitkiler

Tez kapsamında çalışılan bitki taksonları Türkiye'nin farklı bölgelerinde varisli damarların tedavisinde dahilen veya haricen kullanılan bitkilerden seçilmiştir (Çizelge 2.1). Bu bitkilerden *C. annuum*, *E. elaterium* ve *S. ebulus* doğrudan varis tedavisinde değil varis hastalığının önemli semptomlarından biri olan bacak ağrıları için kullanılmaktadır.

Çizelge 2.1. Türkiye’de halk arasında kullanılan ve tez materyali olarak seçilen bitkiler

Bitki materyali (Latince ve Türkçe adı)	Kullanılan İl/Bölge	Kullanılan Kısım	Hazırlama Şekli	Kullanım	Kaynak
<i>Berberis vulgaris</i> L./Kızılkaramuk	Kapadokya	Kurutulmuş meyve	Dekoksiyon	Oral	[129]
<i>Brassica oleraceae</i> var. <i>acephala</i> /Kara lahana	Samsun (Bafra)	Yaprak	Dekoksiyon	Haricen	[130]
<i>Capsella bursa pastoris</i> (L.) Medik./ Çobançantası	Hatay (Antakya)	Toprak üstü	Dekoksiyon	Oral	[131]
	Antalya	Yaprak	- *	-	[132]
<i>Capsicum annuum</i> L./Biber	Ankara (Çamlıdere)	Meyve	Kepekli un ile karıştırılarak kaynatılır.	-	[133]
<i>Crataegus monogyna</i> Jacq. subsp. <i>monogyna</i> /Alıç	Erzincan	Yaprak ve meyve	-	-	[134]
<i>Ecballium elaterium</i> (L.) A.Rich./Eşek hıyarı	Çanakkale (Biga)	Meyve	-	-	[135]
<i>Helichrysum plicatum</i> DC. subsp. <i>plicatum</i> /Mantuvar	Gümüşhane	Toprak üstü	-	-	[136]
<i>Lamium album</i> L./Balıcak	Adıyaman (Kâhta)	Toprak üstü	-	Haricen	[137]
<i>Lythrum salicaria</i> L./Hevhulma	-	Yaprak	Dekoksiyon	Haricen	[138]
<i>Plantago lanceolata</i> L./Damarlıca	Balıkesir	Yaprak	İnfüzyon	Haricen	[139]
<i>Plantago major</i> subsp. <i>major</i> L./Sinirotu	Balıkesir	Yaprak	İnfüzyon	Haricen	[139]
<i>Sambucus ebulus</i> L./Mürver otu	Samsun (Bafra)	Yaprak ve çiçek	-	Haricen	[130]
<i>Sesamum indicum</i> L./Susam	Mersin	Sabit yağ	-	-	[140]
<i>Urtica dioica</i> L./Isırgan	Kırklareli	Toprak üstü	Dekoksiyon	Haricen	[141]

* Belirtilmemiş.

Diğer ülkelerde yapılan etnofarmakolojik çalışmalarda, Romanya’da *Abies alba* Mill. gövde kabukları dekoksasyon halinde ve *Picea abies* (L.) H. Karst varis tedavisinde kullanılır [142]. İtalya’da *Chiliadenus glutinosus* Fourr infüzyonu şişmiş bacaklardaki ağrıyı azaltmak veya varisli damarlardan muzdarip kişilerde dolaşımı iyileştirmek için kullanılır [143]. İtalya’da Sorrentina, Campania Yarımadası’nda geleneksel tedavide *Stellaria media* (L.) Vill. (30 gr 1:1 su, günde 2 su bardağı) infüzyonu, *Senecio vulgaris* L. (tüm bitkinin 40 g’ı 1:1 su içinde) kaynatılarak harici olarak varis tedavisi için kullanılır [144]. Libya’nın Doğu Bölgesi’nde *Convolvulus arvensis* L., *Cupressus sempervirens* L., *Juniperus phoenicea* L., *Lavandula multifida* L., *Lolium rigidum* Gaudin., *Plantago major* L. varis tedavisinde halk arasında kullanılan bitkiler arasındadır [145]. İspanya’nın güneyinde yapılan etnobotanik bir çalışmada, *Agave americana* L. (yaprak), *Lithodora fruticosa* (L.) Griseb. (çiçekli bitki), *Paronychia argentea* Lam. (toprak üstü), *Digitalis obscura* L. (toprak üstü), *Urtica dioica* L. (toprak üstü), *U. urens* L. (toprak üstü), *Paronychia sufruticosa* (L.) Lam. (çiçekli bitki), *Equisetum ramosissimum* Desf. (toprak üstü) ve *Rosmarinus officinalis* L. (çiçekli bitki) türlerinin varis tedavisinde kullanıldığı kaydedilmiştir [146]. Doğu Sırbistan bölgesinde ise *Castanea sativa* Mill. varis hastalığında kullanılır [147]. Arrabida Tabiat Parkı’nda (Portekiz) yapılan etnobotanik çalışmada, *Tuberaria lignosa* Samp. kurutulmuş toprak üstü kısımlarının infüzyon halinde hazırlanarak haricen, *Aloe arborescens* Miller. taze yapraklarının doğrudan haricen varis için kullanıldığı kaydedilmiştir [148].

Tez çalışmamız kapsamında topladığımız türlere ait genel bilgiler aşağıda yer almaktadır.

Berberis vulgaris L.

B. vulgaris L. Asya ve Avrupa’da yaygın olarak yetişir. Bitkinin meyveleri geleneksel tıp ve gıda endüstrisinde katkı maddesi olarak kullanılır. Bitki çalı formunda ve 1-3 m boyundadır. *B. vulgaris*, dikenli, sarı odunlu ve ters yumurtamsı yapraklıdır. Sarkık sarı çiçekler taşır ve meyveler dikdörtgen şeklinde kırmızı renklidir [149, 150]. *B. vulgaris*’ten izole edilen başlıca bileşikler tanenler, fenolik bileşikler, triterpenler (lupeol, oleanolik asit), steroller (stigmasterol, stigmasterol glukozit) ve alkaloidlerdir (berberamin, palmatin, berberin, oksiberberin, kolumbamin, izokoridin, lambertinea ve magniflorin). Ayrıca, bu bitkiden bisbenzilizokinolinler (oksikantin), N-(p-trans-kumaril) tiramin, kannabisin G ve (±)-lioniresinol izole edilmiştir [151, 152]. Alkaloidler dışında eskuletin, askorbik asit, flavonoidler ve fenolik asitler gibi fenolik bileşikler yer almaktadır. *B. vulgaris*’in Çin

tıbbında 3000 yıldan fazla, diğer bazı ülkelerde ise 2500 yıldan fazla tıbbi kullanımı vardır. Bitkinin kardiyovasküler hastalıklar başta olmak üzere, santral sinir sistemi, immün sistem, gastrointestinal sistem ve endokrin sistemi etkileyen olumlu etkileri bulunmaktadır. Ayrıca antimikrobiyal, antienflamatuar ve antioksidan etkileri de mevcuttur [149, 153]. Yapılan çalışmalarda, *B. vulgaris*'in Türkiye ve İran'da dahilen varis için kullanıldığı bildirilmiştir [129, 151, 154].

Brassica oleracea var. *acephala* L.

B. oleracea var. *acephala*, Avrupa, Asya ve Amerika'daki nüfusun mutfak ve diyetinde yüzyıllardır önemli bir yere sahiptir. Özellikle Akdeniz bölgesinde yaygın olarak kültürü yapılırken son 10 yılda diğer ülkelerde çiftçiler arasında çok popüler hale gelmiştir [155]. Bitki baş oluşturmeyen, koyu yeşil ve kıvrık yapraklarıyla karakterize edilir. Yapılan fitokimyasal çalışmalarla, *B. oleracea* var. *acephala*'da glukosinolatlar, fenolik bileşikler ve karotenoidler bulunmuştur [156]. İndolik ve alifatik glukosinolatların oranı bitkinin farklı lokalitelerden toplanmasına göre değişiklik göstermektedir. Türkiye'den toplanan kara lahanalarda, indolik glukosinolatlar daha fazla saptanmıştır [157]. İçeriğindeki ana fenolik bileşikler ise kersetin, kemferol, siyanidin, kafeik asit, ferulik asit ve sinapinik asit olarak bulunmuştur. Bilinen en önemli biyolojik aktiviteleri arasında antioksidan ve antikanserojenik aktivite, kardiyovasküler ve gastrointestinal sistemin korunması yer almaktadır [155].

Capsella bursa-pastoris (L.) Medik.

C. bursa-pastoris, 0,5 m'ye kadar boylanabilen, basit veya dallı tüylere sahip kaba çiçekli, bir yıllık veya iki yıllık, dik, tüysüz veya tüylü bir bitkidir. Doğu Avrupa ve Küçük Asya'ya özgüdür. Kıbrıs, Avrupa, Suudi Arabistan, Türkiye, Kuzey Amerika ve Çin dahil olmak üzere dünyanın çeşitli yerlerinde yaygın olarak bulunur [158]. Flavonoidler (kersetin, kemferol, luteolin glikozitleri), polipeptitler, kolin, asetilkolin, histamin, tiramin, yağ asitleri, steroller, organik asitler, amino asitler ve sülforafan gibi çok çeşitli metabolitler içermektedir [159, 160]. *C. bursa-pastoris* geleneksel tıpta birçok amaçla yaygın olarak kullanılan bitkilerden biridir. Örneğin, meyveleri ve yaprakları İran'da böbrek taşlarını düşürmek için kullanılmıştır. Bu bitkiden Türkiye'de diüretik etkisi ve burun kanaması için

faýdalanılmıştır [161]. *C. bursa-pastoris*, antimikrobiyal, antienflamatuvar, antioksidan, antikanser, hepatoprotektif, sedatif, kardiyovasküler ve üreme sistemi üzerine etkiler gibi farmakolojik etkilere sahiptir [159]. Bunlara ek olarak kanama önleyici, antitrombin, yara iyileştirici etkilerinin yanı sıra diyabet ve ateş tedavisinde kullanıldığına dair kayıtlar bulunmaktadır [162].

Capsicum annuum L.

C. annuum günümüzde yaygın olarak yetiştirilen ve ekonomik açıdan önemli bir türdür. Baharat olarak kullanımının yanı sıra antienflamatuvar, antiartrit, analjezik, karminatif, rubefiyan, antioksidan, hipoglisemik, antifungal ve antimikrobiyal gibi pek çok tıbbi etkilere sahiptir [163]. Bu etkilerden sorumlu bileşikler arasında kapsaisin, sabit yağ, tiamin, protein ve askorbik asit gibi farklı bileşenler yer almaktadır. *C. annuum*, ana etken maddesi olan kapsaisin, sedef hastalığı ve romatoid artrit gibi enflamatuvar bozuklukların tedavisinde kullanılır. Diyabetik nöropati, postherpetik nevralji, baş ağrısı, postmastektomi sendromu, refleks sempatik distrofi, dermatit, egzama, kaşıntı, ameliyat sonrası bulantı ve kusma, mesane hiperaktivitesi, safra taşı, anoreksi, hemoroit, karaciğer tıkanıklığı, rinit ve fibromiyalji diğer kullanım alanlarına örnektir [164]. Halk hekimliğinde kanser, astım, karminatif, gazlı dispepsi, uyarıcı ve öksürük tedavisinde tavsiye edilmiştir. Düzenli tüketiminin anoreksi, hemoroit, karaciğer tıkanıklığı ve varisli damarlara faydalı olduğuna inanılmaktadır [165, 166]. Harici olarak, lokal uyarıcı, tahriş ve kızarıklık giderici olarak romatizma, bel ağrısı, nevralji ve varisli damarların tedavisinde kullanılmaktadır [166].

Crataegus monogyna Jacq. subsp. *monogyna*

Alıç, Avrupa, Afrika ve Asya'da yetişen ve genellikle 5-10 m boyunda çalı veya küçük ağaç formunda bulunur. Sonbaharın ortasında olgunlaşan küçük koyu kırmızı meyvesi jöle, reçel ve şurup hazırlama gibi farklı amaçlarla kullanılır [167]. İçerdiği biyoaktif bileşikler aromatik aminler, vitamin C, fenolik asitler, flavonoidler (hiperin, kersetin, spirein, rutin ve apigenin) ve proantosiyanidinlerdir [168]. *C. monogyna* Jacq. subsp. *monogyna* (Alıç) çiçek, çiçek tomurcuğu ve yaprakları sinirlilik, uykusuzluk, migren, bilinç bulanıklığı, hafıza kaybı gibi hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Ham ve olgun meyvelerinden hazırlanan meyve suları bazı cilt uygulamalarında, artrit ve kas ağrılarında kullanılır. Yaprakları, çiçekleri ve meyveleri koroner vazodilatör, kardiyotonik ve hipotansif ilaç olarak kullanılır.

Kalp üzerindeki etkilerinden dolayı dolaşım bozukluklarının ve varisli damarların tedavisinde faydalıdır [168, 169].

Ecballium elaterium (L.) A.Rich.

E. elaterium, yatık gövdeli, gövde ve yaprakları sert tüylerle kaplı çok yıllık otsu bir bitkidir. Çiçekleri açık sarı renkli, meyveleri oval ve olgunlaştıkça aşağı sarkık şekilde durmaktadır. Olgunlaşan meyvenin içerisinde meydana gelen basınç ile meyve sapından koparak özsuyla beraber tohumlarını dışarıya kuvvetle atmaktadır [170]. *E. elaterium*, antik çağlardan beri kuvvetli pürgatif olarak kullanılmıştır. Dioscorides, meyve suyundan çöktürölüp, toz edilip, süt ile karıştırılmış *E. elaterium*'un sinüzitte burun temizlenmesinde ve uzun süreli baş ağrılarını dindirmede kullanılabileceğini bildirmiştir [171]. Mevcut biyolojik aktiviteleri yapısındaki kukurbitasinlere (tetrasiklik triterpen) atfedilmektedir. Kökleri ve yaprakları ekbalin içermektedir. Meyveleri, protein, lipit, şeker ve mineral içerir. Meyve suyundan elde edilen ekstrede kukurbitasin B, D, E ve I bulunur [172, 173]. Filistin'de *E. elaterium* eski çağlardan beri varisli damarların tedavisinde kullanılmaktadır [174]. Bunun dışında romatizma ve hemoroitin tedavisinde de geleneksel kullanımı vardır. Literatürde antienflamatuvar, antioksidan, analjezik, antipiretik, antimikrobiyal, sitotoksik, antiproliferatif, antihepatotoksik, genotoksik, mutajenik, yara iyileştirici ve çeşitli enzim inhibitör aktiviteleri gibi birçok biyolojik aktivite çalışması yer almaktadır [175]. *E. elaterium*'un şiddetli kusma, hematüri, kardiyovasküler kollaps ve ölüme yol açabileceği bildirilmiştir [176].

Lamium album L.

L. album, özellikle Avrupa, Çin ve Japonya gibi farklı ülkelerde acil durum veya kıtlık yemeği olarak kullanılan 50-100 cm boyunda çok yıllık otsu bir bitkidir. Dişli kenarları olan karşılıklı, saplı, kalp şeklinde veya oval yaprakları vardır. 19-21 mm uzunluğunda taç yapraklara sahip çiçekleri beyaz veya krem beyazıdır. Bitkinin toprak üstü kısımları bezli ve bezsiz trikomlarla yoğun bir şekilde kaplıdır [177, 178]. *L. album* izoskutellarein, kemferol, kersetin, izokersetin ve rutozit gibi flavonoidler, iridoitler, terpenler ve fenolik asitlerce (kafeik asit, klorojenik asit, ferulik asit, gallik asit, *p*-kumarik asit, protokateşik asit, siringik asit, gentisik asit ve vanilik asit gibi) zengindir [179]. *L. album*, antiseptik, astrenjan ve

antienflamatuvar etkiye sahiptir ve menoraji, lökore, adet sorunları, rahim kanaması, vajina ve rahim ağzı iltihabının tedavisinde kullanılmaktadır. Astrenjan etkisi diyare tedavisine, hemoroitlerin ve varisli damarların hafifletilmesine yardımcı olur. Genellikle kadın hastalıklarının ilacı olarak bilinmektedir. Ayrıca antispazmodik ve mukolitik aktivitelerinden dolayı kronik bronşit ve farenjite karşı da etkilidir [180, 181]. *L. album* ekstrelerinin antiviral, antimikrobiyal, antioksidan, sitoprotektif ve antikanser aktiviteleri mevcuttur [181, 182].

Lythrum salicaria L.

L. salicaria, 0,5-1,5 m boyunda yarı tüylüden gri yoğun tüylüye kadar değişen dik, uzun, morumsu-kırmızı çiçekli, çok yıllık, sulak alanlarda yetişen otsu bitkidir. Gövdede 4 veya daha fazla yükseltilmiş çizgi bulunur, seyrek dallanmıştır. Yapraklar çoğunlukla karşılıklı veya 3'lü halkalar halinde, ovalden mızrak şeklinde-dikdörtgensi, sivri ve sapsızdır [183]. Avrasya, Kuzey Afrika, Kuzey Amerika, Asya ve Avustralya'da yayılış gösterir [184]. Tanenler açısından zengin bir bitki olan *L. salicaria* Avrupa Farmakopesinde pirogallol eşdeğeri üzerinden standardize edilmiştir. Elajitanenler, flavonoidler, alkaloidler, antosiyaninler, fenolik asitler, kumarinler ve terpenler gibi pek çok sekonder metabolit taşır [183]. *L. salicaria*, dizanteri, ishal ve diğer mide bağırsak sistemiyle ilişkili rahatsızlıklarda geleneksel olarak kullanılmaktadır. Ayrıca farklı cilt ve mukoza rahatsızlıklarının harici tedavisinde kullanımı yaygındır. *L. salicaria*'nın dekoksasyonu ve sıvı ekstresi varisli damarlar, diş eti kanamaları, hemoroit ve egzamayı tedavi etmek için haricen kullanılır. Antienflamatuvar ve antioksidan etkileri mevcuttur [138, 183].

Plantago lanceolata L.

P. lanceolata toprak üstü kısmı, yaprak sapı dahil olmak üzere 40 cm'ye kadar uzunluğa sahip alternatif bazal yapraklarla karakterize edilir. Yaprakların kanatları mızrak/mızrak-dikdörtgen şeklinde (0,5-3,5 cm genişliğinde), tam veya hafif dişlidir. Korolla 2-2,5 mm uzunluğunda, dört stamenli ve 1-2 tane elipsoid kahverengi veya parlak siyah 4 mm uzunluğunda kapsülleri vardır [185]. Kök, yaprak ve tohumundaki fitokimyasallar arasında terapötik potansiyele sahip iridoit glikozitler, polifenoller, polisakkaritler ve flavonoidler tespit edilmiştir [186]. *P. lanceolata*'nın yaprakları ve toprak üstü kısımları Türkiye'de hem gıda hem halk ilacı olarak infüzyon, dekoksasyon formunda veya taze olarak tüketilmektedir.

Gut hastalığını hafifletmek için şarap veya bal ile, artrit tedavisinde ise tuz ile birlikte kullanılır. Ayrıca üst solunum yolu, ağız, boğaz ve cilt hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır [187]. *P. lanceolata* farklı kısımlarının sitotoksik, antispazmodik, antibakteriyel, antioksidan, antienflamatuvar ve yara iyileştirici etkileri araştırılmıştır. [186].

Plantago major L. subsp. *major*

P. major dünya üzerinde yaygın olarak dağılmıştır. *P. major* kısa bir sap, geniş yapraklar, kökler, çiçekler, meyveler ve tohumlardan oluşur. Yaklaşık 15-30 cm çapında, oval şekilli, 4-9 cm genişliğinde ve 5-20 cm uzunluğunda ve nadiren 17 cm genişliğinde ve 30 cm uzunluğunda geniş yaprakları vardır. Yapraklarda yaklaşık beş ile dokuz belirgin damar vardır. Çiçekler mor stamenlerle yeşilimsi kahverengi renktedir ve küçüktür. Bitkinin hafif nahoş acı bir tada sahip küçük oval şekilli tohumları vardır [188]. Yapraklardaki belirgin damarlar nedeniyle *P. major* Türkiye'de “sinirli ot” olarak adlandırılmaktadır. *P. major* geleneksel tıpta yara, apse, akne, diyabet ve kanser tedavisinde yaygın olarak kullanılmıştır. Yapılan çalışmalarda, içeriğinde polisakkaritler, flavonoidler, fenolik bileşikler, monoterenler, triterpenler, kafeik asit türevleri saptanmış ve kalkeorizit B, homoplantaginin ve plantamajozit major bileşenleri izole edilmiştir [189, 190]. Komisyon E, *P. major*'un solunum yolu, ağız ve faringeal mukozadaki enflamatuvar değişiklikler için dahili ve cildin enflamatuvar reaksiyonları için harici kullanımını onaylanmıştır [191].

Sambucus ebulus L.

S. ebulus Avrupa, Güneybatı Asya ile Kuzeybatı Afrika'da yaygın olarak dağılmış bir türdür. Uzun, sürünen ve dallı rizomla karakterize edilen çok yıllık bir bitkidir. 1,5 m boyundadır ve karşılıklı tüylü yapraklar 15-30 cm uzunluğundadır. Saplar, çok sayıda beyaz, bazen pembe floresan çiçeklerle 15 cm çapa kadar düz veya dışbükey bir tepeye sahip bir çiçek kümesinde sonlanır. Meyve, 5-6 mm çapında, sulu, koyu mavi ile mor siyah renktedir [192]. Meyvenin rengi, siyanidin-3-O-sambubiozit, siyanidin-3-sambubiozit-5-glikozit, siyanidin-3-O-glikozit ve siyanidin-3,5-diglikozit gibi çeşitli antosiyanidinlerden kaynaklanmaktadır [193]. *S. ebulus*'ta bulunan fitokimyasal bileşikler arasında flavonoidler, steroidler, tanenler, kardiyak glikozitler, kafeik asit türevleri, ebulitinler, ebulin, siyanogenetik heterozit (sambunigrin) ve uçucu bileşenler yer almaktadır [194]. *S. ebulus*'un, antienflamatuvar,

antiromatoidal, antinosiseptif, antihemoroital, anti *Helicobacter pylori* etkileri bulunmaktadır. Ayrıca yanık, enfeksiyonlu yara, ödem, egzama, ürtiker ve soğuk alınlığı tedavisinde de etkileri bildirilmiştir. Geleneksel olarak çeşitli kısımları romatoid artrit, ateş, enfeksiyonlar, ısırıklar ve boğaz ağrısı gibi farklı rahatsızlıkları tedavi etmek için kullanılmıştır [194, 195].

Sesamum indicum L.

S. indicum (susam), dünya çapında subtropikal (Myanmar), tropikal (Tanzanya) ve ılıman bölgelerde dağılmıştır. *S. indicum*, 0,5-2 m boyunda, çok çiçekli, meyve kapsülü içinde yağlı tohumları bulunan yıllık bir bitkidir. Gövdeler mor ile açık yeşil renktedir ve dallanma 1-1,5 m yüksekliğinde açılı ve düzdür. Yaprak boyutları 3 ile 17,5 cm uzunluğunda, 1-7 cm genişliğinde ve yaprak sapı 1-5 cm uzunluğundadır [196]. *S. indicum* damarın güçlenmesine yardımcı olan kolajen içeriğini iyileştirir ve antioksidan, kan lipit düzenleyici, karaciğer ve böbrek koruyucu, iltihap giderici gibi etkileriyle insan sağlığına büyük yararları bulunmaktadır [197, 198]. Susam tohumları %55 oranında yağ, %20 oranında protein içerir. Susam proteinleri lizin, triptofan ve metiyoninden oluşmaktadır. Susam yağı linoleik ve oleik asitler açısından zengindir. Susam tohumları antioksidan etkili sesamin, sesamolin, sesaminol ve sesamolinol gibi lignan yapısındaki maddeleri içermektedir [199]. Susam lignanları, kan şekeri ve kolesterol düzeylerini azaltır, kardiyovasküler hastalıklar ve kansere karşı koruma sağlar ve menopoz sonrası semptomları hafifletir. Susam yağı, aglikonlar ve bazı monoglikozile edilmiş lignanlar içerirken, di- ve tri-glikozile edilmiş lignanların çoğu, yağ ekstraksiyonundan sonra yağsız küspede kalmaktadır [200].

Urtica dioica L.

U. dioica, Avrupa, Asya, Kuzey Afrika ve Kuzey Amerika'nın ılıman bölgelerinde nemli topraklarda yetişir. Kırmızımsı veya sarımsı gövdeleri 120 cm yüksekliğe ulaşabilir, dörtgen kesitlidir ve dallanmamıştır. Yeşil yapraklarının her iki yüzü ince trikomla kaplıdır: daha kısa basit tüyler, daha uzun sert tüylerle (batanlar) ve sistolitler ile karışıktır. Çiçek salkımlarında çok sayıda küçük yeşilimsi veya kahverengimsi çiçek taşır [201, 202]. *U. dioica*'da yaygın olarak bilinen fitokimyasal bileşikler flavonoidler, tanenler, uçucu bileşikler ve sterollerdir. *U. dioica*'da asetilkolin, histamin ve 5-hidroksitriptamin dahil olmak üzere

kas uyarıcı maddeler tanımlanmıştır. Formik asit, histamin ve serotonin *U. dioica*'nın acı veren tüylerinde ağrıyı tetikleyen maddeler olarak tanımlanmaktadır [202]. Halk hekimliğinde kullanımı çok yaygındır. Antispazmodik, diüretik, antihipertansif, hemostatik, antianemik, anti-diyabetik etkileri, baş ve mide ağrısı, galaktagog, tüberküloz, böbrek taşları, diyare, aft, hemoroit ve uyuz için kullanımı geleneksel kullanımlarına örnektir [203]. *U. dioica*'nın çeşitli kısımları, santral sinir sistemi ve kardiyovasküler sisteme karşı etkilidir ve antienflamatuvar, antiviral ve immunmodülatör aktiviteye sahiptir. Ayrıca analjezik ve lokal anestejik etkili olup eklem ağrıları, artrit, romatizma ve alerjik rinit gibi durumlarda kullanımı mevcuttur [204].

2.4. AYW'da Kullanılan *Helichrysum plicatum* DC. subsp. *plicatum* Bitkisinin Botanik Özellikleri

Çalışmamıza halk arasında varis tedavisinde kullanılan bitkiler arasında en yüksek XO ve POP enzim inhibisyonu ve antioksidan aktiviteye sahip olan *H. plicatum* subsp. *plicatum* türünden devam edilmiştir. Bitkiye ait botanik bilgiler aşağıda özetlenmiştir.

2.4.1. *Helichrysum* Mill. (Asteraceae)

Alem: Plantae

Alt alem: Tracheophyta

Sınıf: Magnoliopsida

Takım: Asterales

Familiya: Asteraceae

Cins: *Helichrysum* Mill.

Helichrysum Mill. cinsi, Asteraceae familyasında bulunur ve aromatik yapılı ve otsu bir bitkidir. Dünya çapında yaygın dağılıma sahip olmakla birlikte esas olarak Afrika'da bulunur. Yaklaşık bilinen 500 türün 245'inin bulunduğu Güney Afrika en yüksek çeşitliliğe sahiptir. *Helichrysum* çeşitliliğinin olduğu diğer bölgeler Avrupa, Güneybatı Asya, Güney Hindistan, Sri Lanka, Türkiye ve Avustralya'dır [205]. Türkiye Florası'nda 24 tür ve 30 taksonla temsil edilen bu cinsin 17'sinin endemik olduğu bildirilmiştir [206]. *Helichrysum* cinsi, parlak sarı çiçeklerinden dolayı Yunanca güneş anlamına gelen "helios" ve altın

anlamına gelen “chrysos” kelimelerinden adını alır [207]. Kurutulduğunda formlarını ve renklerini korudukları için "sonsuz" veya "ölümsüz" olarak nitelendirilirler. Bitki, deniz seviyesinden 2200 m'ye kadar olan rakımda alkali, kuru, kumlu ve fakir topraklarda doğal olarak büyüdüğü için su eksikliği olan ortamlara iyi adapte olmaktadır [208].

Yünlü, kaba yünlü veya salgılı çok yıllık, çok yıllık odunsu veya otsu bitkiler. Yapraklar basit, dümdüz, şeritsi veya ters mızraksı veya kaşıkı, almalı. Kapitulum, yalancı şemsiyenin tepesinde, tabla veya tablamsı, küremsi veya ters piramitsi veya silindirik, 3-12 mm uzunluğunda. Filariler çok sıralı, az çok düzensiz veya çok düzenli kiremitvari, beyaz, saman rengi, sarı, turuncu veya kırmızı, ince kuruzarsı. Çiçek tablası düz, çıplak. Çiçekler sarı, hepsi erselik veya kenar çiçekler dişi; taç tübü 5 loblu, üstte salgılı. Kapçık silindirik, az çok salgılı. Sorguç sarımsı, az pürüzlüden kısa sakallıya kadar [209].

Türkiye'de en yaygın ve polimorfik türler (*H. arenarium*, *H. armenium*, *H. graveolens* ve *H. plicatum*) genellikle karakteristik anaç türleri ve şişmiş kısır sürgünlerin varlığı veya yokluğu ile teşhis edilebilmektedir. Kapitulumun şekli, tanımlanması daha zor olmasına rağmen, aynı zamanda kullanışlıdır. Tamamı diskoid veya tamamı disk şeklinde kapitulumlu bitkileri içerir [210].

2.4.2. *Helichrysum plicatum* DC. subsp. *plicatum*

Bitki salgılı, yarı çıplaktan yünlü kaba yünlüye kadar. Çiçeklenme dönemi gövdeler dik veya (nadiren) sürünücü, 4-42 cm, yatay gövde dalları odunsu. Uyku tomurcuğu genellikle yok. Taban yapraklar şeritsi-ters mızraksı, 10-100 × 2-10 mm; gövde yapraklar yarı gövdeyi saran, şeritsi-ters mızraksıdan şeritsiye kadar, 15-70 × 2-20 mm. Kapitulum yarı küremsi, 4-9 mm. Filariler kütten sivriye kadar, az çok düzensiz ve gevşek kiremitvari, genellikle uzunlamasına pileli, sarı veya krem. Bütün çiçekler erselik veya kenar çiçekler dişi [210]. *H. plicatum*'un Türkiye'de yayılış gösterdiği bölgeler Harita 2.1'de verilmiştir.

A2(A) Bursa: Uludağ 2000 m, *D.* 14807!

A3 Bolu: Aladağ, 2000 m, *Khan et al.* 476!

A4 Zonguldak: Kel Tepe Karabük üzeri, 1900 m, *D.* 38917!

A5 Amasya: Amasya, 1400 m. *Borum.* 1889:561!

A6 Sivas: Yıldız Dağı, Çırçır, 1400 m, *Tobey* 2339!

A7 Trabzon: Zigana Geçiti, 2400 m, *T.Baytop* (İSTE 14278)!

A8 Erzurum: Kop Dağı Geçiti, Maden ve Aşkale arası, 2400 m, *Jenkins* 2329!

A9 Kars: Yağmurlu Dağ, Sarıkamış ve Karaorgan arası, 2200 m, *D.* 30716!

B2 Kütahya: Muratdağ, Kesik Söğüt, 1400 m, *D.* 36701!

B3 Konya: Akşehir, *Bornm.* 4675!

B4 Ankara: Elmadağ, Ankara yakınlarında, 1800 m, *Romieux* 520!

B5 Kayseri: Bakırdağ, Kısge ve Bakır Oluğu arası, 1700 m, *D.* 19506!

B6 Maraş: Göksun, Höbek Dağı, 1800 m, *D.* 20178!

B7 Erzincan: Keşiş Dağı, Cimin üzerinde, 2500 m, *D.* 31701 !

B8 Bitlis: Tatvan, *M. Zohary* 476317!

B9 Ağrı: Tahir boğazının yakasında, Eleşkirt'ten Horasan'a, 19 km. 2400 m, *D.* 47086!

B10 Ağrı: Serdarbulak, *B.Post* 2070!

C2 Antalya: Elmalı, 25 vi 1860, *Bourgeaul*

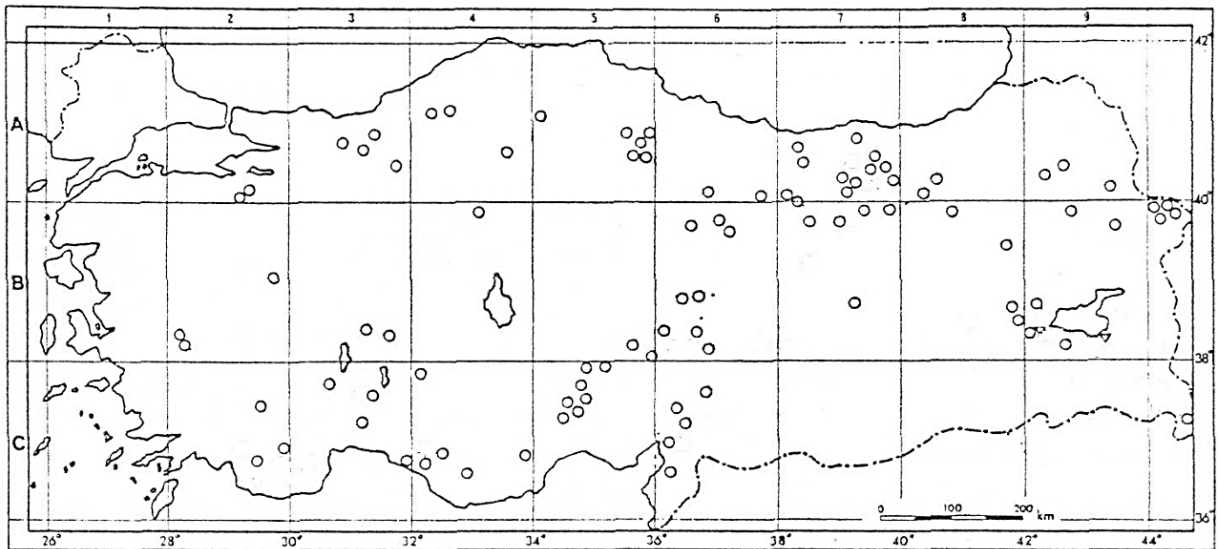
C3 Isparta: Eğridir'den Kasnak Ormanı'na, 1510 m, *Gökşin* (ISTO 9415)!

C4 Konya: Ermenek ve Balkusan arasında, *D.* 16200!

C5 Niğde: Maden, *Darrah* 234!

C6 Hatay: Dört Yol, 1700 m, *Akman* 112!

C10 Hakkari: Sat Dağı'nın Kuzeybatısı, 2850 m, *D.* 45502!



Harita 2.1. *Helichrysum plicatum*'un Türkiye'de yayılışı

2.5. *Helichrysum plicatum* DC. subsp. *plicatum* Üzerinde Yapılan Çalışmalar

H. plicatum'un taşıdığı doğal bileşenler, biyolojik aktivite çalışmaları ve Türkiye'de halk arasında kullanım amaçları aşağıda özetlenmiştir.

2.5.1. *Helichrysum plicatum* DC. subsp. *plicatum*'a ait fitokimyasal çalışmalar

Helichrysum türlerinde bulunan sekonder metabolitler, flavonoidler ve kalkanlar, fenolik asitler, terpenler ve uçucu yağlar, pironlar (homodimerik veya heterodimerik), benzofuranlar (bitalin esterleri) ve floroglusinoller olmak üzere altı yapısal sınıfa ayrılabilir [211]. *H. plicatum* türü üzerinde yapılan fitokimyasal çalışmalar ile içeriğinde flavonoid, piron, floroglusinol, terpenoid, ftalit ve fenolik asitler tespit edilmiştir. Yapılan bir çalışmada *H. plicatum* toprak üstü kısımlarının yüksek oranda klorojenik asit içerdiği (8,9 mg/g ekstre), bunu apigenin (4,4 mg/g ekstre), luteolin (2,6 mg/g ekstre) ve ferulik asitin (2,5 mg/g ekstre) takip ettiği bulunmuştur [126]. Bir başka çalışmada *H. plicatum*'un %4,83 oranında flavonoid içerdiği ve helikrizin A ve B, apigenin, naringenin, kemferol, izoastragalin ve izosalipurpozit gibi flavonoidlerce zengin içeriğe sahip olduğu bulunmuştur [212-214]. *H. plicatum* çiçeklerinin metanol (MeOH) ekstresi üzerinde yapılan araştırmalar sonucunda sekiz bilinen bileşik izole edilmiştir. Bileşiklerin kimyasal yapıları spektroskopik ve kromatografik/spektrometrik yöntemlerle β -sitosterol, apigenin, nonakozanoik asit, astragalin, β -sitosterol-3-O- β -D-glukopiranozit, helikrizin A, helikrizin B ve izosalipurpozit olarak belirlenmiştir [215]. 4 farklı popülasyondan toplanan (Antakya, 1305 m, Belen 1355 ve 1435 m, Hassa 992 m) *H. plicatum*'un toprak üstü ekstresinde kafeik asit, klorojenik asit, epikateşin, ferulik asit, hesperidin, kemferol, luteolin, *p*-kumarik asit, protokateşik asit ve vanilin saptanmıştır [216].

Helichrysum türleri aromatik bitkilerdir. Türler üzerinde yapılan pek çok uçucu yağ çalışması bulunmaktadır. Yapılan çalışmalarda, *H. plicatum* uçucu yağında monoterpenler ve seskiterpenler bulunmuştur [217, 218]. Toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağında major bileşen olarak seskiterpenler [T-kadinol (%7,9) ve β -eudesmol (%3,3)] bulunmuştur [218]. Diğer bir çalışmada, *H. plicatum* çiçeklerinden elde edilen uçucu yağda en bol bulunan monoterpenler α -pinen (%41,82), 1,8-sineol (%17,22), mirsen (%9,58), limonen (%6,76) ve β -pinen (%4,59) iken, seskiterpenler sınıfında ise β -karyofilen (%5,02), α -humulen (%1,21) ve γ -kurkumen (%1,07) daha yüksek bulunmuştur [219]. Başar ve

diğerlerinin yaptığı bir çalışmada, *H. plicatum* uçucu yağında, Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GC-MS/MS) analizinde karyofillen (%17,83) ve α -pinen (%16,69) yüksek miktarlarda tespit edilmiştir. *H. plicatum* ekstrelerinin yağ asidi içeriğinin analizinde palmitik asit metil ester, (%14,74-26,88) oleik asit metil ester, (%12,23-23,38) laurik asit metil ester, (%17,88-19,91) oktakosan (%4,55-17,00) ve stearik asit metil ester (%4,3-14,81) ana bileşenler olarak belirlenmiştir. Etanol ve etanol-su ekstrelerinin fenolik içeriğinde yüksek miktarlarda naringenin ve vanilik asit, MeOH-kloroform ekstrelerinde ise resveratrol ve klorojenik asit saptanmıştır [220]. Çizelge 2.2’de *H. plicatum*’un üzerinde yapılmış fitokimyasal çalışmalar özetlenmiştir.

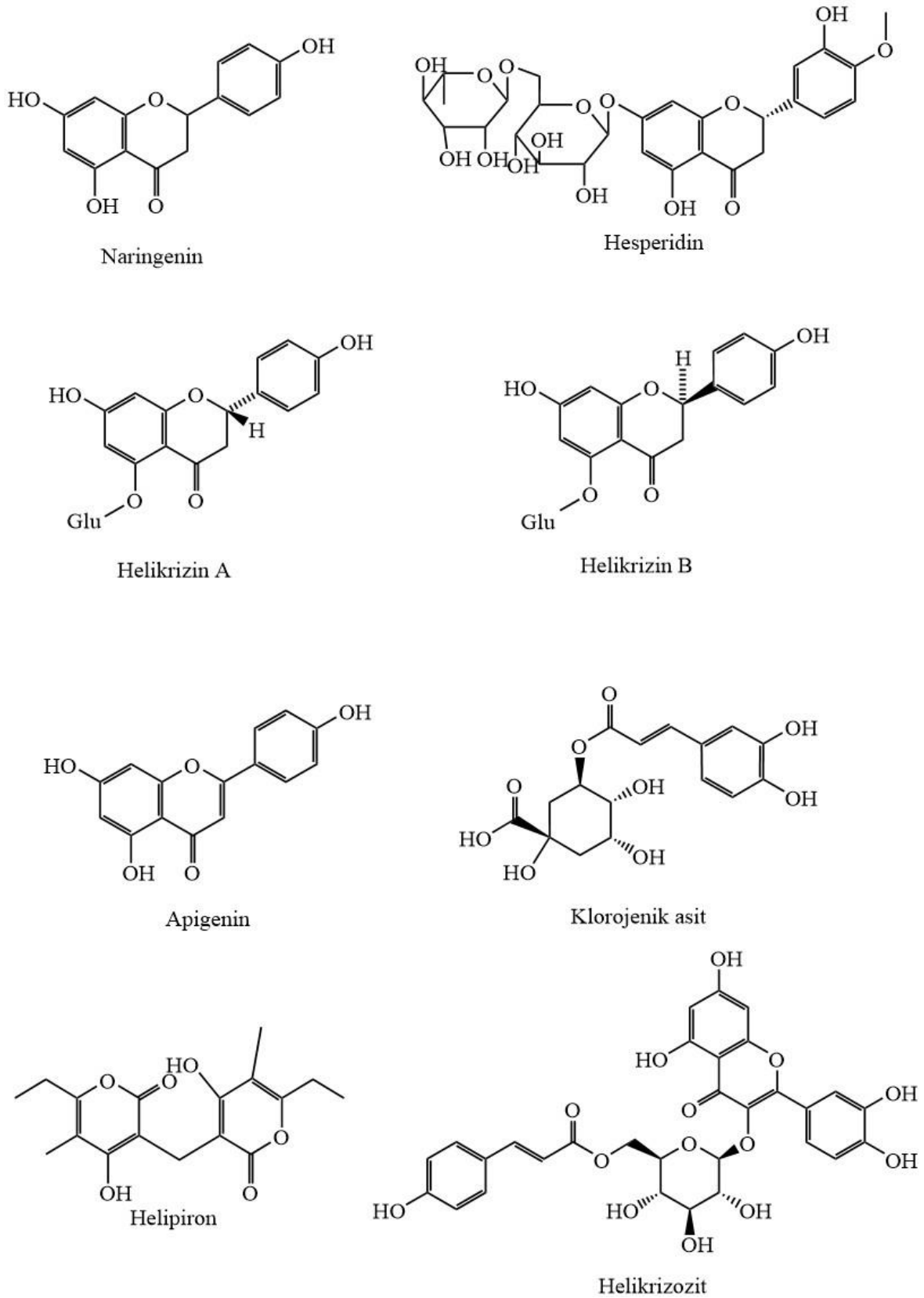
Çizelge 2.2. *Helichrsyum plicatum*'un fitokimyasal içeriği

Bitki kısmı	Ekstraksiyon metodu	Çözücü	Bileşikler	Referanslar
Toprak üstü	Soxhlet Maserasyon	MeOH	• Klorojenik asit • Dikaffeoilkinik asit • Luteolin • Luteolin-7-O-glukozit • Naringenin-O-hekzosit • İzokersitrin	[221]
Toprak üstü	Maserasyon	Etanol	• Helipiron C • Plicatipiron • Arenol • Arzanol • Apigenin glukozitleri • Naringenin glukozitleri • Kersetin glikozitleri • Kemferol-3-O-glukozit • Helikrizosit • Tilirozit • Arenariumozit V ve VI • Tomorozit A • İzosalipurpurozit	[222]
		Diklorometan	• Helipiron C • Plicatipiron • Arenol • Arzanol • 5,7,4'-trihidroksi-3,6-dimetoksi-3'-prenilflavon • 3,5,6,7,8-pentametoksiflavon • 3',4',5,6,7-pentametoksiflavon	
		Asetonitril	• Helipiron C	

Çizelge 2.2. (devam) *Helichrysum plicatum*'un fitokimyasal içeriği

			• Plicatipiron • Arenol • Arzanol • Trietoksi-dimetoksi-flavon • Jaceosidin • Krizoeriol	
Toprak üstü	Soxhlet	MeOH	• Klorojenik asit • Kafeik asit • <i>p</i>-kumarik asit • <i>p</i>-hidroksibenzoik asit • Apigenin • Apigenin-7-glikozit • Hesperidin • Luteolin • Naringenin	[223]
Çiçek	Maserayon	%80 Etanol	• Helikrizin A • Helikrizin B • Naringenin	[213]
Çiçek, Yaprak ve Kök-kabuk	Soxhlet	MeOH	• Gallik asit • Protokateşik asit • <i>P</i>-oh benzoik asit • Klorojenik asit • Vanilik asit • Kafeik asit • Sirinjik asit • <i>P</i>-kumarik asit • Benzoik asit • Rutin • <i>O</i>-kumarik asit • Kersetin	[224]

H. plicatum'da bulunan bazı fenolik bileşiklerin yapısı aşağıda verilmiştir (Şekil 2.5).



Şekil 2.5. *Helichrysum plicatum*'da bulunan bazı biyoaktif bileşikler

2.5.2. *Helichrysum plicatum* DC. subsp. *plicatum*'a ait etnobotanik çalışmalar

Dünya genelinde, *Helichrysum* cinsi en az 2000 yıldır geleneksel tıpta kullanılmaktadır. Bu bitkiler geleneksel olarak süs, tıbbi ve gıda amaçlı kullanılmıştır [211]. *H. plicatum* subsp. *plicatum* toprak üstü kısımları Erzurum'da böbrek taşları, böbrek ve mide rahatsızlıklarında (infüzyon ve kaynatma) çay olarak kullanılır [225]. Van'da *H. plicatum* toprak üstü kısımlarından hazırlanan dekoksion diyabet ve hiperkolesterolemi için sabah aç karnına bir bardak ya da günde üç kere olmak üzere içilir [226]. Gümüşhane'de tohum ve kapitulumlarından taze halde infüzyonu hazırlanıp kilo kaybı, idrar yolu rahatsızlıkları, sarılık, kısırlık ve gastroenteritin giderilmesi için kullanılır [227]. Denizli Acıpayam'da toprak üstü kısımları üriner sistem hastalıklarında kullanılmaktadır [228]. Osmaniye'de çiçekler infüzyon halinde idrar söktürücü, safra arttırıcı olarak kullanılır [229]. Erzurum'un Tekman, Hınıs, Karaçoban ve Karayazı ilçelerinde *H. plicatum* kapitulumları infüzyon halinde böbrek taşlarını düşürmede, yaprak ve kapitulumları zeytin yağı ile karıştırılarak yaralarda, dekoksion halinde haricen kan durdurmada, yaprakları kabızlıkta, kapitulumları bebeklerde sarılık hastalığında kullanılmaktadır [230]. Bayburt'ta çiçekler böbrek rahatsızlıkları, mide rahatsızlıkları, kireçlenme için çay olarak kullanılır [231]. Elazığ Sivrice'de infüzyon ya da dekoksion halinde hazırlanarak yemeklerden sonra bir çay bardağı diyabet hastalığı, kolagog ve idrar söktürücü etkisi için içilir [232]. Bingöl'de diyabet, hepatit ve böbrek taşlarını düşürmek için yemeklerden önce bir çay bardağı içilerek tüketilir [233]. Niğde Aladağlar'da toprak üstü kısımlarının infüzyonu, karın ağrısı, diyabet, böbrek taşları, ishal ve mide ağrısında kullanılır [234]. *H. plicatum* bitkisinin tamamı Gümüşhane'de astım, bronşit, idrar yolları iltihabı, egzama, prostat, sarılık, kolesterol ve varis için ayrıca idrar söktürücü, böbrek taşı düşürücü ve antibiyotik olarak kullanılmıştır [136]. Gürcistan'da yapılan çalışmada *H. plicatum*'un Türkiye'de olduğu gibi böbrek taşlarını düşürmek amacıyla kullanıldığı kaydedilmiştir [235].

Etnobotanik çalışmalar değerlendirildiğinde pek çok yörede *H. plicatum*'un böbrek taşlarını düşürmek için kullanıldığı görülmektedir. Diğer yaygın kullanımlar arasında diüretik olarak, diyabet hastalığının tedavisi ve mide rahatsızlıkları yer almaktadır.

2.5.3. *Helichrysum plicatum* DC. subsp. *plicatum*'a ait aktivite çalışmaları

H. plicatum üzerinde antioksidan, antimikrobiyal, antifungal, antienflamatuvar, antidiyabetik, antiürolitik, böcek öldürücü ve antikanser gibi çeşitli farmakolojik aktivite çalışmaları bulunmaktadır [217].

Antioksidan aktivite çalışmaları

H. plicatum'dan hazırlanan farklı polaritelerdeki ekstrelerin 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) serbest radikal süpürücü aktivitesi değerlendirildiğinde, özellikle etanol ($EC_{50} = 0,45 \pm 0,04$ mg/mL) ve diklorometan ($EC_{50} = 0,58 \pm 0,02$ mg/mL) ekstreleri yüksek antioksidan aktivite göstermiştir [222]. Başka çalışma *H. plicatum* Soxhlet ve maserasyon teknikleri ile hazırlanan MeOH ekstrelerinin DPPH ($IC_{50} = 0,11 \pm 0,009$ mg/mL; $IC_{50} = 0,115 \pm 0,008$ mg/mL, sırasıyla), 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit (ABTS) (44,26 mM troloks/mg ekstre; 46,19 mM troloks/mg ekstre) ve demir indirgeyici antioksidan gücü (FRAP) (14,46 mM Fe^{2+} /mg ekstre; 12,38 mM Fe^{2+} /mg ekstre) yönteminde dikkate değer antioksidan aktivite sergilediği gösterilmiştir [221]. Benzer çalışmada *H. plicatum* çiçek ekstrelerinin ABTS yönteminde %63,84, β -karoten yönteminde (lipit peroksidasyonunu önleme yeteneği) %45,60 inhibisyon sergilemiştir. FRAP yönteminde ise 547,95 μ mol Fe^{2+} /g demir iyonu indirgeyici antioksidan aktivite göstermiştir [236]. Gentamisin nedeni nefrotoksik sıçanlarda *H. plicatum* toprak üstü etanol ekstresi (100 mg/kg), karaciğer ve böbrek oksidan belirteci ve antioksidan enzimlerdeki artışa neden olarak gentamisin toksik etkilerini önlemiştir [237]. Yapılan DPPH radikal süpürücü aktivite çalışmalarında, *H. plicatum* çiçek etil asetat (EtOAc) ekstresi ve toprak üstü MeOH ekstresinin IC_{50} değeri 37,2 μ g/mL ve 48,0 μ g/mL olarak bulunmuştur [212, 238]. FRAP metodunun kullanıldığı başka çalışmada troloks eşdeğeri cinsinden (1000 μ M trolox/ 100 g ka) *H. plicatum* yaprakları ($336,25 \pm 0,05$), çiçekleri ($272,41 \pm 0,07$), gövde-kabukları ($200,18 \pm 0,06$) dikkate değer antioksidan aktivite göstermiştir [239]. Bazı *Helichrysum* türlerinin antioksidan aktivite çalışmasında, *H. plicatum* toprak üstü MeOH ekstresinin fosfomolibden testinde antioksidan aktivitesi $163,47 \pm 0,5$ mg askorbik asit/g ekstre, DPPH testinde ise IC_{50} değeri 23,48 μ g/mL olarak bulunmuştur [223]. Bir başka çalışmada *H. plicatum*'un çiçek, gövde ve yapraklarından hazırlanan ekstrelerin DPPH ve hidroksil radikali ($OH^{\bullet}$) inhibitör aktivitesi değerlendirilmiştir. Ekstrelerin, DPPH radikal süpürücü aktivite tayininde IC_{50} değeri 6 ile 11 mg/mL arasında bulunurken, %33-58 arasında $OH^{\bullet}$

radikali inhibitör aktivite göstermiştir. Ayrıca ekstrelerin, β -karotenin ağartılmasına karşı yüksek inhibe edici aktiviteye (120 dakika sonra başlangıç değerinin %15-49'u) sahip bulunmuştur [240]. *H. plicatum* çiçek ve gövde kısımlarından hazırlanan etanol, MeOH ve EtOAc ekstrelerinin *in vitro* DPPH yönteminde IC_{50} değerleri $234,8 \pm 6,5 \mu\text{g/mL}$ ile $917,7 \pm 8,5 \mu\text{g/mL}$ arasında çıkmıştır. En yüksek aktiviteyi çiçek etanol ekstresi göstermiştir. ABTS yönteminde ise IC_{50} değerleri $31,6 \pm 1,1 \mu\text{g/mL}$ ve $61,2 \pm 3,7 \mu\text{g/mL}$ aralığında bulunmuştur. En yüksek aktiviteyi gövde EtOAc ekstresi göstermiştir [126]. Başka bir çalışmada, *H. plicatum* kapitulumlarından hazırlanan su ve hidroalkolik ekstrelerin ABTS radikal süpürücü aktivitesi hidroalkolik ekstrede ($98,4 \pm 2,66$) su ekstresinden ($75,7 \pm 0,61$) daha yüksek bulunmuştur [241].

Antimikrobiyal aktivite çalışmaları

H. plicatum'un antimikrobiyal aktivitesi beş Gram-negatif bakteriye (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus hauseri*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella enterica* subsp. *enterica*), üç Gram-pozitif bakteriye (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Clostridium sporogenes*) ve üç fungusa (*Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Aspergillus brasiliensis*) karşı araştırılmıştır. Ekstreler $0,157\text{-}2,5 \text{ mg/mL}$ aralığında kayda değer antibakteriyel aktivite sergilerken, diklorometanlı ekstre en iyi antibakteriyel aktiviteye sahip bulunmuştur [222]. Bir başka çalışmada, *H. plicatum* MeOH ekstresinin *S. aureus*, *S. epidermidis*, Metisiline dirençli *S. aureus* ve *C. albicans*' a karşı önemli antimikrobiyal aktivite gösterdiği bulunmuştur [221]. *H. plicatum* çiçek etanol ekstresi *E. coli*'ye karşı yüksek antibakteriyel aktiviteye sahip bulunmuştur [213]. *Helichrysum* türlerinin bir başka antimikrobiyal aktivite çalışmasında, *H. plicatum* toprak üstü MeOH ekstresi, *C. albicans*'a karşı en etkili bulunmuştur [223]. Diğer çalışmada, Gram-pozitif bakteriler, [*B. subtilis* (MİK: $0,01 \text{ mg/mL}$), *Listeria monocytogenes* (MİK: $0,02 \text{ mg/mL}$), *Micrococcus flavus* (MİK: $0,015 \text{ mg/mL}$), *Micrococcus luteus* (MİK: $0,015 \text{ mg/mL}$)] *H. plicatum* çiçek ekstresine Gram-negatif bakterilerden daha duyarlı bulunmuştur [242].

Antidiyabetik aktivite çalışmaları

Yapılan bir çalışmada *H. plicatum* çiçek etanol ve su ekstrelerinin streptozotosin ile indüklenen diyabetik sıçanların kan şekeri konsantrasyonları, böbrek ve karaciğer MDA

seviyeleri üzerinde önemli inhibitör etkiye sahip olduğu bulunmuştur. Ayrıca etanol ekstresinin diyabetik sıçanlarda kan şekeri seviyelerinde, referans bileşik tolbutamitten daha uzun süren önemli bir azalmaya neden olduğu tespit edilmiştir [243]. *H. plicatum* kapıtumlarından hazırlanan %80 etanollü ekstre, hamile ve hamile olmayan diyabetik ratlarda kan şekerinin azalmasına, serum insülinin seviyelerinin artmasına ve serum trigliserit seviyelerinin azalmasına yol açmıştır [244].

Sitotoksisite çalışmaları

H. plicatum çiçek ekstrelerinin, PC3, HeLa ve K562 insan kanser hücre hatlarına karşı *in vitro* sitotoksik aktivitesinin araştırıldığı bir çalışmada, tüm ekstrelerin HeLa hücrelerine karşı orta derecede aktivite sergilediği (41,9-42,1 µg/mL), EtOAc ekstresinin ise K562 ve PC3 hücre hatlarına karşı yüksek aktivite (sırasıyla 25,9 ve 39,2 µg/mL) gösterdiği tespit edilmiştir [212].

Antienflamatuvar aktivite çalışmaları

H. plicatum toprak üstü dietil eter ekstresinin, ratlarda antienflamatuvar aktivitesi değerlendirilmiş ve 25, 50 ve 100 mg kg⁻¹ dozlarında sırasıyla %70,73, %73,15 ve %82,90 oranında enflamasyonu azalttığı bildirilmiştir [245]. Sıçanlarda karragen ile oluşturulmuş pençe ödemi deney modelinde, *H. plicatum* soxhlet (%60,82) ve maserasyon (%66,58) teknikleri ile hazırlanan MeOH ekstresinin sıçan pençe ödemi hacmini 4 saatin sonunda önemli ölçüde azalttığı ve yüksek antienflamatuvar aktivite gösterdiği bulunmuştur [221].

Enzim inhibisyonuna ait çalışmalar

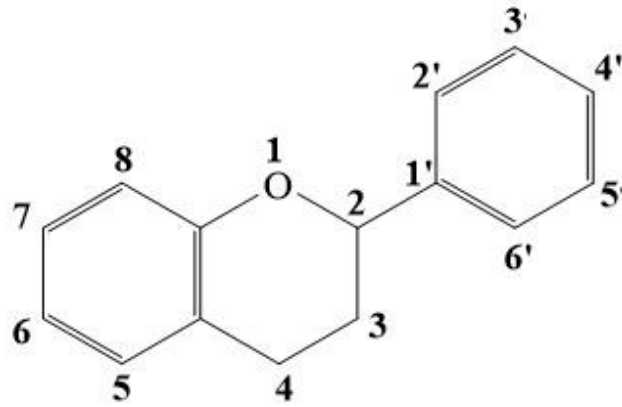
H. plicatum soxhlet (%58,51 ± 0,85) ve maserasyon (%42,10 ± 0,79) ile hazırlanan MeOH ekstreleri asetilkolinesteraza (AChE) karşı orta derecede inhibitör aktivite göstermiştir [221]. *H. plicatum* çiçek MeOH ekstresinin, *in vitro* insan karbonik anhidraz I (hCAI) ve II (hCAII), AChE, bütirilkolinesteraz (BChE) ve α-glikozidaz inhibitör aktiviteleri açısından değerlendirildiği bir çalışmada, *H. plicatum*'un IC₅₀ değerleri sırasıyla hCAI, hCAII, AChE, BChE ve α-glikozidaz için 77,87, 52,90, 115,50, 117,46 ve 81,53 mg/mL olarak bulunmuştur [215]. *H. plicatum* çiçek ve gövde kısımlarından hazırlanan etanol, MeOH, EtOAc ekstreleri üzerinde yapılan çalışmada, çiçek EtOAc ekstresi α-amilaz (197,12 ± 0,94 mmol akarboz/g

ekstre), α -glukozidaz ($22,33 \pm 0,03$ mmol akarboz/g ekstre), AChE (%17,75) ve gövde etanol ekstresi BChE'ye (%35,91) karşı en yüksek inhibitör aktiviteyi göstermiştir [126]. Yapılan başka bir çalışmada, *H. plicatum* çiçek ekstresi 3 farklı konsantrasyonda çalışılmış (100, 200 ve 500 $\mu\text{g/mL}$), en yüksek konsantrasyonda en güçlü aktivite görülmüştür (%41,15), ancak AChE inhibitör aktivitesinde konsantrasyonlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Ekstrenin en düşük konsantrasyonu, geri kalan iki konsantrasyona göre daha iyi tirozinaz inhibitör aktiviteye (%27,92) sahip bulunmuştur [236]. Başka bir çalışmada, *H. plicatum* kapitulumlarının su ve su-alkol ile hazırlanan ekstrelerinin anti- α -amilaz aktivitesi düşük bulunurken (%12,7; %5,4, sırasıyla), anti- α -glukozidaz aktivitesi hidroalkolik ekstrede ($\text{IC}_{50} = 0,8570$ mg/mL), su ekstresinden ($\text{IC}_{50} = 5,0933$ mg/mL) daha yüksek bulunmuştur [241].

2.6. *Helichrysum plicatum* DC. subsp. *plicatum*'dan İzole Edilen Bileşiklere ait Genel Bilgiler

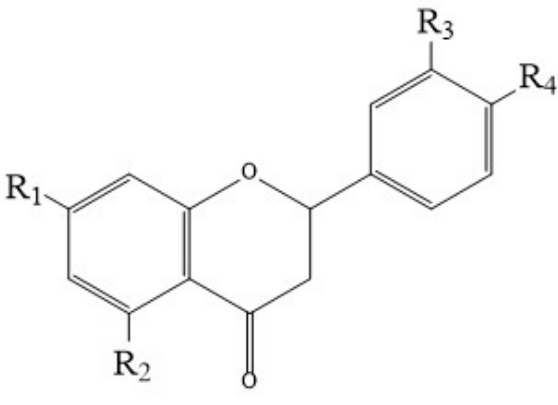
Tez kapsamında *H. plicatum* toprak üstü ekstresinden naringenin, apigenin ve luteolin izole edilmiştir. Bu bileşiklerin *H. plicatum*'un XO enzim inhibitör aktivitesinden sorumlu olduğu tespit edilmiştir. Her üç bileşikte önemli bir sekonder metabolit grubu olan flavonoid sınıfına aittir.

Flavonoidler, geniş bir sağlık geliştirici etki yelpazesine sahiptir ve çeşitli nutrasötik, farmasötik, tıbbi ve kozmetik uygulamalarda vazgeçilmez bir bileşendir [246]. Flavonoidlerin araştırması, Macar bilim adamı Albert Szent-Gyorgi'nin saf C vitamini ile limon kabuklarından henüz tanımlanmamış yardımcı faktörler arasında bir sinerjik etki olduğunu keşfetmesiyle 1936'da başlamıştır. Bu tanımlanmamış bileşiğe ilk olarak "sitrin" adını vermiş ve daha sonra "P vitamini" olarak adlandırılmıştır [247]. Bir flavonoidin temel karbon iskeleti, üç karbonlu bir köprü ile birbirine bağlanan ve üçüncü halkanın bir parçası olabilecek veya olmayabilecek bir difenil propan yapısı (C6-C3-C6) oluşturan iki aromatik halkada düzenlenmiş 15 karbona sahip flavan (Şekil 2.6) çekirdeğinden oluşur. Hidroksilasyon, metilasyon, glikolizasyon, ve izopren bağlanması gibi karbon birimlerinin kimyasal modifikasyonlarına göre flavonoidler altı ana kategoriye ayrılır: flavanonlar (Çizelge 2.3), flavonlar (Çizelge 2.4), flavonoller, kateşinler veya flavanoller, antosiyanidinler ve izoflavonlar [248].

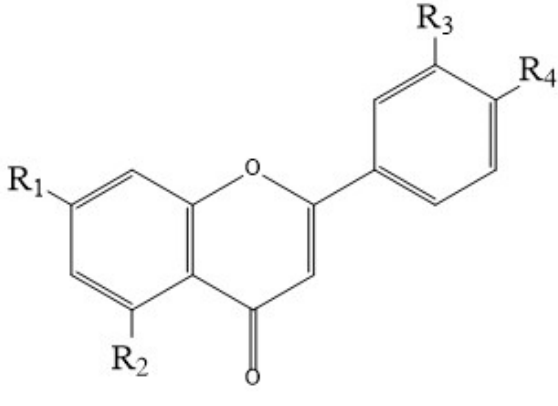


Şekil 2.6. Temel flavonoit yapısı

Çizelge 2.3. Flavanon yapısı

Naringenin	
	R₁ OH
	R₂ OH
	R₃ H
	R₄ OH

Çizelge 2.4. Flavon yapısı

Apigenin		Luteolin
	R1 OH	OH
	R2 OH	OH
	R3 H	OH
	R4 OH	OH

Hemen hemen her flavonoit grubunun en iyi tanımlanmış özelliği antioksidan olarak hareket etme kapasiteleridir. Antioksidan aktiviteleri, sağlık üzerinde iyileştirici etkiler yaratmalarındaki en temel özellik olarak değerlendirilir [249]. Flavonoitlerin, hepatoprotektif, antiviral, antikanser, antienflamatuvar, antianjiyogenik, antimalaryal, nöroprotektif, antitümör ve antiproliferatif etkileri bilimsel araştırmalarla ortaya çıkarılmıştır [250]. XO, siklooksijenaz (COX), LOX ve fosfoinozitid 3-kinaz gibi çeşitli enzimler için güçlü inhibitörler oldukları bilinmektedir [246].

Naringenin

Flavanon grubuna ait olan naringenin 1907'de Power ve Tutin tarafından keşfedilmiştir. Naringenin, etanol ve dimetilsülfoksit (DMSO) gibi organik çözücülerde çözünen, moleküler ağırlığı 272,25 g/mol olan hidrofobik bir moleküldür. Greyfurt, limon, portakal ve domates gibi meyveler naringenin birincil kaynağıdır [251, 252]. Fenilalanin'den, oksidatif olmayan deaminasyon ve daha sonra C-4'te oksidasyonla sinamik asit oluşur ve bu daha sonra *p*-kumarik aside dönüştürülürken, tirozinden *p*-kumarik asit doğrudan deaminasyonla oluşur. CoA ile aktivasyondan sonra, *p*-kumarik asit üç malonil-CoA kalıntısıyla bağlanır ve daha sonra kalkon sentaz tarafından aromatisasyona tabi tutularak kalkon oluşturulur ve bu da kalkon izomeraz tarafından izomerize edilerek naringenin oluşur [253].

Naringenin bilinen en önemli etkisi antioksidan aktivitesidir. Antioksidan aktivitesini XO, nikotinamid adenin dinükleotid fosfat oksidaz, LOX ve COX gibi pro-oksidan enzimleri inhibe ederek, metal iyonlarını şelatlayarak ve serbest radikalleri temizleyerek gösterir. Ayrıca glutatyon peroksidaz, süperoksit dismutaz ve katalaz gibi çeşitli antioksidan enzimlerin fizyolojik seviyesini artırır [254]. Antioksidan aktivitesinin yanı sıra antimikrobiyal, (metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*'a ve dirençli *Helicobacter pylori* suşlarına karşı) antikanser, (hücre çoğalmasının zamana bağlı olarak baskılar ve çoğalan hücre nükleer antijeninin aşağı düzenler), antimitojenik, antiproliferasyon, antifibrojenik, antiaterojenik, antiaterosklerotik, nöroprotektif, (Aβ kaynaklı serbest radikal aracılı nörotoksiteyi azaltır), antidiyabetik (böbrek ve bağırsakta Na⁺-glikoz yardımcı taşıyıcısını inhibe eder ve glikoz alımını azaltır), immünomodülatör, hepatoprotektif ve kardiyoprotektif (miyokard iskemi reperfüzyon hasarında kalp enfarktüsü boyutunu azaltır)

etkileri mevcuttur [254-256]. Naringenin özellikle antienflamatuvar etkisi üzerine yapılan çalışmalarda etki mekanizması aydınlatılmaya çalışılmıştır. Enflamatuvar yanıtın ana düzenleyicisi olan NF- κ B ve mitojenle etkinleşen protein kinaz (MAPK) gibi sinyal yollarını inhibe ederek sitokin üretimini engellediği ortaya konulmuştur. ICAM-1, COX-2, TNF- α ve IL-6 gibi proenflamatuvar mediyatörleri aşağı düzenleyici etkiye sahiptir [254, 257]. Ayrıca antioksidan ve antienflamatuvar etkilerinden dolayı kardiyovasküler hastalıklar ve diğer vasküler disfonksiyonlar için de hem naringenin hem de glikozit formu olan naringenin önemli etkilerinin olduğu bildirilmiştir [258].

Apigenin

Flavon sınıfına ait apigeninin moleküler formülü $C_{15}H_{10}O_5$ ve moleküler ağırlığı 270,24 g/mol'dür. Apigenin portakal ve greyfurt gibi meyvelerde; maydanoz ve soğan gibi sebzelerde; ayrıca papatya, buğday filizi ve bazı baharatlarda bol miktarda bulunur [259]. Yapısal olarak 1900 yılında aydınlatılmış, ilk olarak 1939 yılında sentezlenmiştir. Bazofillerden histamin salınımını baskılama ve bronşiyal genişlemeyi destekleme kapasitesi nedeniyle 1960'larda bilimsel olarak ilgi çekmiştir [260, 261]. Biyogenetik olarak, apigenin fenilpropanoit yolağının bir ürünüdür. Bir flavon sentaz ile naringenin apigenine oksitlenir [262].

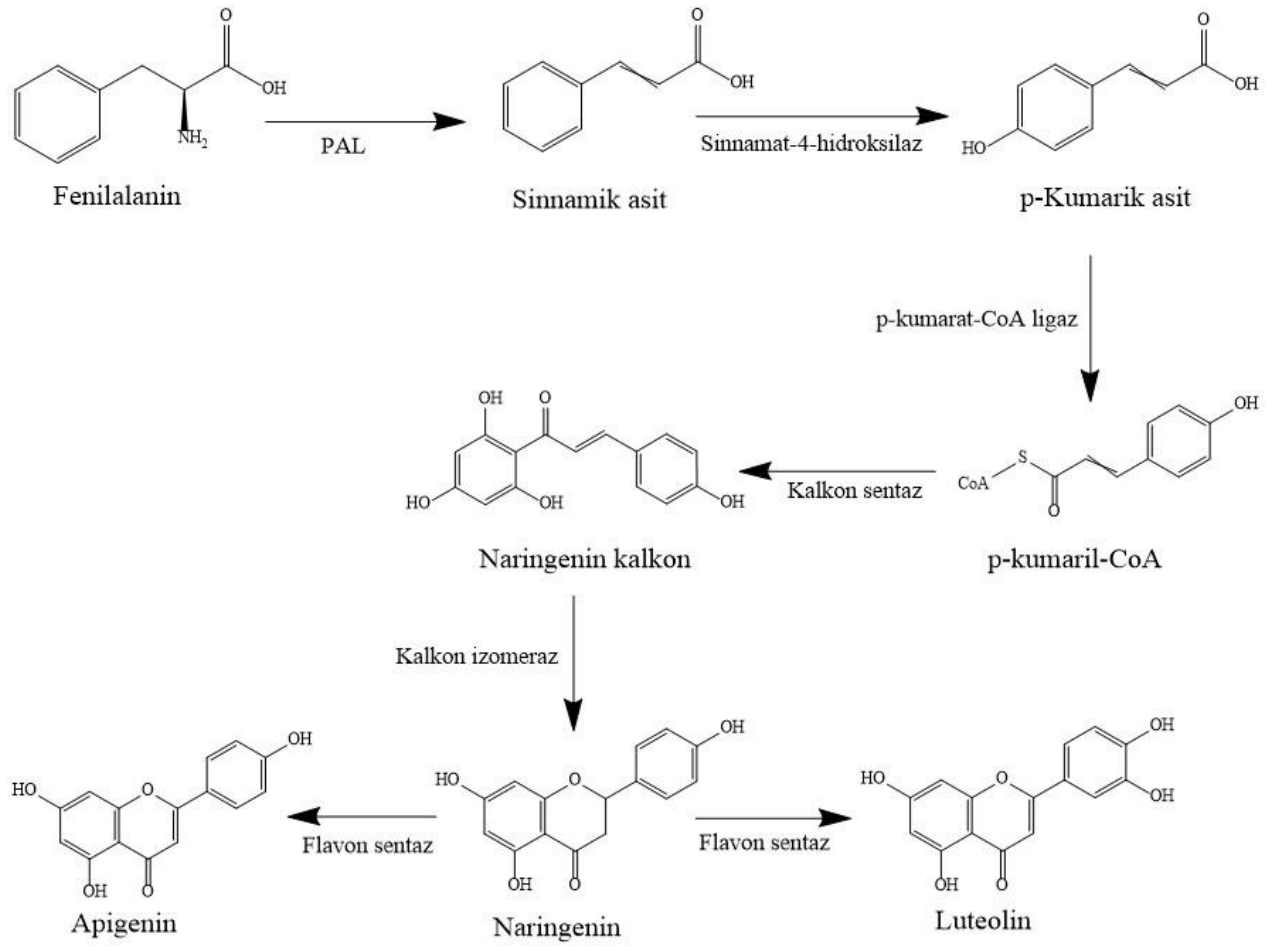
Doğal bir antioksidan olarak görev yapan apigenin, süperoksit anyon, DPPH ve hidroksil serbest radikallerini etkili bir şekilde nötralize ederek antioksidan özelliklerini ortaya koymaktadır. Apigenin'in antioksidan etkinliği, kendine özgü kimyasal yapısına atfedilir. Üç hidroksil grubuna sahip olması, metal iyonlarını şelatlamasına ve aktif serbest radikallere bağlanmasına olanak tanır [261]. Apigeninin çeşitli proenflamatuvar sitokinlerin, özellikle TNF- α , IL-1 β , IL-6 ve IL-10'un salgılanmasını önemli ölçüde azalttığı gösterilmiştir. Bu etkisi ile antienflamatuvar etkisi olduğu ve enflamasyon ilişkili hastalıklarda faydalı rol oynadığı gösterilmiştir [263]. Apigenin hayvan modelleri üzerinde anti-diyabetik, antikanser ve anti-Alzheimer etki, depresyon üzerine olumlu etkiler gösterirken, klinik çalışmalarda Alzheimer'da kognitif performansı düzelttiği, insomnia için uyku periyotlarını arttırdığı, osteoartritte analjezik etki sağladığı gösterilmiştir [262]. Yapılan bir çok çalışma ise apigeninin çeşitli kanser hücreleri üzerinde sitostatik ve sitotoksik etkilere sahip olduğu, hipertansiyon, kardiyak hipertrofi, iskemi/reperfüzyon kaynaklı kalp hasarı ve otoimmün miyokarditi önlediği, karaciğer hasarından koruduğunu, oksijen ve glikoz

yoksunluğu/reperfüzyon kaynaklı nöral hücre apoptozunu engellediğini, pankreatiti, tip 2 diyabet ve komplikasyonlarını, astımı, osteoporozu ve kolajen kaynaklı artriti iyileştirdiğini ortaya koymuştur [264]. Apigeninin kardiyovasküler hastalıklar üzerindeki çalışmaları değerlendirildiğinde, ateroskleroz, felç, miyokard enfarktüsü, diyabetik kardiyomiyopati, hipertansiyon, kardiyak hipertrofi ve anevrizma gibi hastalıklarda faydalı etkilerinin olduğu belirlenmiştir [265].

Luteolin

Luteolin flavon sınıfına ait olup moleküler ağırlığı 286,24 g/mol ve molekül formülü $C_{15}H_{10}O_6$ 'dır. Havuç, brokoli, lahanası, maydanoz, kekik, nane, fesleğen, kereviz, enginar ve elma dahil olmak üzere birçok sebze, tıbbi bitki ve meyve luteolin açısından zengindir [266]. Luteolin molekülü, naringenin ve apigenin bileşiklerinde olduğu gibi fenilpropanoit yolağından sentezlenir [267].

Luteolin üzerinde yapılan çalışmalarda genellikle antienflamatuvar etkisine odaklanılmıştır. NF- κ B, COX-2, LOX, IL-6 ve iNOS gibi maddeleri aşağı düzenleyerek antienflamatuvar etki oluşturur. Enflamatuvar süreçlere karşı etkisi sepsis, akut gut artriti, ülseratif kolit, nötrofil astım ve lupus nefrit gibi hastalıkların tedavisine katkıda bulunur. Antioksidan, antikanser, antimikrobiyal, kardiyoprotektif, antidiyabetik, nöroprotektif ve antialerjik etkileri de bildirilmiştir [266, 268]. Kardiyovasküler hastalıklarda da çok çeşitli role sahiptir. Luteolin, TGF β 1 sinyalleşmesinin düzenlenmesi ve vasküler düz kas hücresi çoğalması ve göçünün inhibisyonu ile çeşitli vasküler hastalıklarda arteriyel yeniden şekillenmede önemli bir rol oynar. Bir başka çalışmada vasküler enflamasyonlu bir fare modelinde antienflamatuvar ve vasküler koruyucu etki gösterdiği bulunmuştur [269]. Şekil 2.7'de naringenin, apigenin ve luteolinin biyosentez basamakları gösterilmiştir.



Şekil 2.7. Naringenin, apigenin ve luteolin biyosentez yolağı

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

Tez çalışmamızda Türkiye’de farklı yörelerde varis tedavisinde ya da varis hastalığının semptomları için kullanılan *Berberis vulgaris* L., *Brassica oleracea* var. *acephala* L., *Capsella bursa-pastoris* (L.) Medik., *Capsicum annuum* L., *Crataegus monogyna* Jacq. subsp. *monogyna*, *Ecbalium elaterium* (L.) A.Rich., *Helichrysum plicatum* DC. subsp. *plicatum*, *Lamium album* L., *Lythrum salicaria* L., *Plantago lanceolata* L., *Plantago major* L. subsp. *major*, *Sambucus ebulus* L., *Sesamum indicum* L., ve *Urtica dioica* L. taksonları toplanmıştır. Tez çalışmalarımızda kullanılan bitki materyallerin toplanma yerleri, tarihleri, familya bilgileri ve herbaryum numaraları Çizelge 3.1.’de verilmiştir. Toplanan materyaller Prof. Dr. Osman TUGAY tarafından teşhis edilmiş ve Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Herbaryumu’nda herbaryum örnekleri saklanmaktadır.

Çizelge 3.1. Bitki taksonlarının toplanma yerleri, tarihleri, herbaryum numaraları ve familya bilgileri

Bitki Taksonları	Familya	Toplanma Yerleri	Toplama Tarihi	Herbaryum Numaraları
<i>Berberis vulgaris</i>	Berberidaceae	C4 Konya; Bozkır, Sorkun, Keklice Yaylası, 1840 m, O.Tugay 20.811 & T.Büyükyıldırım.	11.06.2023	KNYA 30.330
<i>Brassica oleracea</i>	Brassicaceae	C4 Konya; Ilgın, İhsaniye, tarla, 1100 m, O.Tugay 21.115 & T.Büyükyıldırım.	20.08.2023	KNYA 30.341
<i>Capsella bursa-pastoris</i>	Brassicaceae	C4 Konya; Seydişehir, güney yamaçlar, 1160 m, O.Tugay 20.368 & T.Büyükyıldırım.	14.04.2023	KNYA 30.328
<i>Capsicum annuum</i>	Solanaceae	C4 Konya; Ilgın, İhsaniye, tarla, 1100 m, O.Tugay 21.114 & T.Büyükyıldırım.	20.08.2023	KNYA 30.340
<i>Crataegus monogyna</i> subsp. <i>monogyna</i>	Rosaceae	C4 Konya; Bozkır, Sorkun, Aygır mevkii, 1390 m, O.Tugay 20.806 & T.Büyükyıldırım.	11.06.2023	KNYA 30.329
<i>Ecbalium elaterium</i>	Cucurbitaceae	C4 Konya; Akören-Bozkır arası, Dutlu köyü, 1520 m, O.Tugay 20.820 & T.Büyükyıldırım.	15.06.2023	KNYA 30.332
<i>Helichrysum plicatum</i> subsp. <i>plicatum</i>	Asteraceae	C6 Osmaniye; Bahçe, doğu yamaçlar, 1800 m, O.Tugay 20.967 & T.Büyükyıldırım.	05.07.2023	KNYA 30.334
<i>Lamium album</i>	Lamiaceae	C4 Konya; Bozkır, Mavi boğaz, 1080 m, O.Tugay 21.106 & T.Büyükyıldırım.	09.08.2023	KNYA 30.339
<i>Lythrum salicaria</i>	Lythraceae	C4 Konya; Seydişehir, sulak alan kenarları, 1130 m, O.Tugay 21.054 & T.Büyükyıldırım.	07.08.2023	KNYA 30.336
<i>Plantago lanceolata</i>	Plantaginaceae	C4 Konya; Seydişehir, sulak alan kenarları, 1130 m, O.Tugay 21.055 & T.Büyükyıldırım.	07.08.2023	KNYA 30.337
<i>Plantago major</i> subsp. <i>major</i>	Plantaginaceae	C4 Konya; Seydişehir, sulak alan kenarları, 1130 m, O.Tugay 21.053 & T.Büyükyıldırım.	07.08.2023	KNYA 30.335
<i>Sambucus ebulus</i>	Viburnaceae	C4 Karaman; Ermenek, Anamur yolu, 1600 m, O.Tugay 20.828 & T.Büyükyıldırım.	16.06.2023	KNYA 30.333
<i>Sesamum indicum</i>	Pedaliaceae	C4 Konya; Seydişehir, Kızılcı, 1210 m, O.Tugay 21.060 & T.Büyükyıldırım.	07.08.2023	KNYA 30.338
<i>Urtica dioica</i>	Urticaceae	C4 Konya; Akören-Bozkır arası, Dutlu köyü, 1520 m, O.Tugay 20.819 & T.Büyükyıldırım.	15.06.2023	KNYA 30.331

3.2. Yöntem

3.2.1. Ekstraksiyon ve örneklerin hazırlanması

Çizelge 3.1.'de verilen tez materyalleri gölgede kurutulmuş ve öğütücü yardımı ile toz edilmiştir. Daha sonra örnekler tartılmış, üzerine %80 etanol ilave edilmiş ve 5 gün boyunca, oda sıcaklığında ara ara çalkalanarak maserasyona bırakılmıştır. Filtre kağıdından süzildükten sonra ekstreler, alçak basınç altında 40°C'de kuruluğa kadar yoğunlaştırılmıştır. Elde edilen ekstreler tartılarak verimleri ağırlık/ağırlık (a/a) hesaplanmış ve ön tarama deneylerinde kullanılmak üzere +4°C'de saklanmıştır (Çizelge 3.2). Biyolojik aktivite çalışmaları arasında yer alan enzim inhibisyonu ve antioksidan aktivite tayin yöntemlerini gerçekleştirmek üzere ekstreler uygun miktarda tartılmış ve stok konsantrasyonları 2 mg/mL olacak şekilde DMSO içinde çözülmüştür. Taramaya dahil edilen saf maddeler de stok konsantrasyonları 1 mg/mL olacak şekilde DMSO içinde çözülmüşlerdir.

Çizelge 3.2. Hazırlanan ekstrelerinin % verimleri (a/a)

Bitki	Kısım	% verim (a/a)
<i>Berberis vulgaris</i>	Meyve	25,58
	Çiçek	25,74
<i>Brassica oleraceae</i>	Yaprak	40,88
<i>Capsella bursa pastoris</i>	Toprak üstü	8,00
<i>Capsicum annuum</i>	Meyve	31,63
<i>Crataegus monogyna</i> subsp. <i>monogyna</i>	Meyve	20,10
	Yaprak	25,73
<i>Ecballium elaterium</i>	Meyve	15,03
<i>Helychrysum plicatum</i> subsp. <i>plicatum</i>	Toprak üstü	10,84
<i>Lamium album</i>	Toprak üstü	11,35
<i>Lythrum salicaria</i>	Yaprak	11,54
<i>Plantago lanceolata</i>	Yaprak	11,83
<i>Plantago major</i> subsp. <i>major</i>	Yaprak	14,08
<i>Sambucus ebulus</i>	Çiçek	38,06
	Yaprak	18,92
<i>Sesamum indicum</i>	Tohum	7,31
<i>Urtica dioica</i>	Toprak üstü	7,09

3.2.2. Biyolojik aktivite çalışmaları

Enzim inhibisyon tayin yöntemleri

Hyaluronidaz

Hyaluronidaz inhibisyonu Tu ve Tawata (2015) tarafından geliştirilen spektrofotometrik yöntemde minör modifikasyonlar gerçekleştirilerek ölçülmüştür [270]. Tip 1-S bovin hyaluronidaz enzimi (EC 3.2.1.35) ve 25 µL ekstre mikroyağa eklenmiş ve 10 dk inkübe edilmiştir. Karışım üzerine pH:5,35'e ayarlanmış fosfat tamponu (10 µL) eklenmiştir ve tekrar 10 dk inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda hyalüronik asit (10 µL) eklenmiş ve 45 dk inkübe edilmiştir. 100 µL asidik albümin çözeltisi ilave edilip (100 µL), 10 dk inkübasyona bırakılmıştır. Absorbans ELISA mikroyak okuyucuda (Spectramax ABS Plus microplate reader, ABD) 600 nm'de ölçülmüştür. Pozitif kontrol olarak tannik asit kullanılmıştır. Örneklerin % hyaluronidaz inhibisyonları aşağıda verilen formüle göre hesaplanmıştır. Her örnek 4 paralel olarak çalışılmış ve her örneğe hyalüronik asit eklenmeden kör yapılmıştır. Sonuçlar, 4 paralel deneyden elde edilen % inhibisyon değerlerinin ortalaması ± standart sapma şeklinde sunulmuştur.

$$\% \text{ İnhibisyon} = 100 - [(A_1 / A_2) \times 100]$$

A₁= Örnek çözeltilerinin 600 nm dalga boyundaki absorbansı

A₂= Kontrol çözeltilerinin 600 nm dalga boyundaki ortalama absorbansı

Kolajenaz

Wart ve Steinbrink tarafından geliştirilen yöntem ile kolajenaz inhibisyonu ölçülmüştür [271, 272]. *Clostridium histolyticum* kolajenazı (EC 3.4.24.3) enzim olarak kullanılırken, substrat olarak N-(3-[2-furil]akrilolil)-Leu-Gly-Pro-Ala (FALGPA) kullanılmıştır. Enzim (0,8 ünite/mL) 50 mM trisin tamponunda (10 mM CaCl₂ ve 400 mM NaCl ile pH 7,5) hazırlanmıştır. FALGPA (2 mM) tamponda çözülmüştür. Tampon (25 µL), 25 µL örnek ve enzim (25 µL) karıştırılmıştır. 15 dk bekletildikten sonra substrat (50 µL) ilave edilmiştir. 20 dk boyunca 2 dk aralıkla 340 nm'de absorbans ELISA mikroyak okuyucuda (Spectramax ABS Plus microplate reader, ABD) okutulmuştur. Pozitif kontrol olarak 1,10-fenantrolin kullanılmıştır. Örneklerin % kolajenaz inhibisyonları aşağıda verilen formüle göre

hesaplanmıştır. Her örnek 4 paralel olarak çalışılmış ve bulgular, dört paralel ölçümden elde edilen ortalama % inhibisyon $\pm$ standart sapma şeklinde ifade edilmiştir.

$$\% \text{ İnhibisyon} = 100 - [(A_1 / A_2) \times 100]$$

A₁= Örnek çözeltilerinin 340 nm dalga boyundaki absorbans değişimleri

A₂= Kontrol çözeltilerinin 340 nm dalga boyundaki ortalama absorbans değişimleri

Elastaz enzimi

Kraunsoe vd.'nin, Lee vd. tarafından modifiye edilmiş yöntemi kullanılarak test edilmiştir [273, 274]. Domuz pankreatik elastazı (Tip IV, EC 3.4.21.36) enzim olarak kullanılırken, substrat olarak *N*-Suc-(Ala)₃-*p*-nitroanilit kullanılmıştır. Substrattan salınan nitroanilin 410 nm'de ölçülmesi esasına dayanmaktadır. *N*-Suc-(Ala)₃-*p*-nitroanilit (1,015 mM) Tris-Cl (pH 8,0) tamponunda çözülmüştür. Substrat ve örnekler mikropalaklara eklenmiştir. Oda sıcaklığında 5 dk inkübe edilmiştir. Üzerine 0,5 ünite/mL enzim eklenmiştir. Ardından 25 °C'de 30 dk tekrar inkübasyona bırakılmış ve 410 nm'de ELISA mikropalak okuyucuda (Spectramax ABS Plus microplate reader, ABD) okutulmuştur. Referans olarak *N*-metoksisüksinil-Ala-Ala-Pro-Val-klorometil keton kullanılmıştır. Örneklerin % elastaz inhibisyonları aşağıda verilen formüle göre hesaplanmıştır. Her örnek dört paralel olarak analiz edilmiş ve sonuçlar, bu analizlerden elde edilen % inhibisyon değerlerinin ortalaması $\pm$ standart sapma şeklinde raporlanmıştır.

$$\% \text{ İnhibisyon} = 100 - [(A_1 / A_2) \times 100]$$

A₁= Örnek çözeltilerinin 410 nm dalga boyundaki absorbans değişimleri

A₂= Kontrol çözeltilerinin 410 nm dalga boyundaki ortalama absorbans değişimleri

Lipooksijenaz enzimi

Örneklerin LOX inhibitör aktiviteleri Chung vd. (2009) yöntemine göre ölçülmüştür [275]. Örnekler, tampon (50 mM Tris HCl tamponu, pH 7,4) ve enzim (Tip 1-B, EC.1.13.11.12) mikropalakta karıştırılıp, oda sıcaklığında 5 dk inkübe edilmiştir. Karışıma linoleik asit (12,5 mM) ilave edilmiştir. En son oda sıcaklığında 20 dk inkübasyona bırakılmıştır. FOX reajanı ile tepkime durdurulmuş, 25 °C'de 30 dk inkübasyondan sonra absorbans 560 nm'de (Spectramax ABS Plus microplate reader, ABD) okutulmuştur. Her örnek dört paralel olarak

analiz edilmiş ve sonuçlar, bu analizlerden elde edilen % inhibisyon değerlerinin ortalaması $\pm$ standart sapma şeklinde raporlanmıştır. Referans madde olarak baikalein kullanılmıştır.

$$\% \text{ İnhibisyon} = 100 - [(A_1 / A_2) \times 100]$$

A_1 = Örnek çözeltilerinin 560 nm dalga boyundaki absorbansı

A_2 = Kontrol çözeltilerinin 560 nm dalga boyundaki absorbansı

POP enzimi

POP (EC 3.4. 21.26) enzim inhibitör aktivite tayininde, Florojenik POP test kiti (Katalog numarası: 80106) kullanılmıştır (BPS Bioscience Inc., San Diego, CA, USA). Florojenik POP Test Kiti, saflaştırılmış insan rekombinant POP enziminin aktivitesini ölçmek için tasarlanmıştır. POP aktivite düzeyini analiz etmek için florometrik substratın saflaştırılmış POP ile birleştirilmesi sonucu ortaya çıkan floresan ürün floremetre (ile ölçülmüştür. Her örnek 3 paralel olarak analiz edilmiş ve sonuçlar, bu analizlerden elde edilen % inhibisyon değerlerinin ortalaması $\pm$ standart sapma şeklinde raporlanmıştır.

$$\% \text{ İnhibisyon} = 100 - [(A_1 / A_2) \times 100]$$

A_1 = Örnek çözeltilerinin 560 nm dalga boyundaki absorbansı

A_2 = Kontrol çözeltilerinin 560 nm dalga boyundaki absorbansı

XO enzimi

Enzim reaksiyonu sonucunda oluşan ürik asitin absorbansının 295 nm’de ölçülmesi esasına dayanmaktadır. pH 7,5 olan 0,1 M fosfat tamponu, örnek (10 μ L) ve enzim (20 μ L) mikropakta karıştırılmıştır. 10 dk inkübasyona bırakılmıştır. 20 μ L ksantin (0,1 mM) substrat olarak eklenmiştir [276]. Absorbans 10 dk boyunca ELISA mikropak okuyucuda (Spectramax ABS Plus microplate reader, ABD) ölçülmüştür. Referans olarak allopurinol kullanılmıştır. Örneklerin %XO inhibisyonları aşağıda verilen formüle göre hesaplanmıştır. Her örnek dört paralel olarak analiz edilmiş ve sonuçlar, bu analizlerden elde edilen % inhibisyon değerlerinin ortalaması $\pm$ standart sapma şeklinde raporlanmıştır.

$$\% \text{ İnhibisyon} = 100 - [(A_1 / A_2) \times 100]$$

A_1 = Örnek çözeltilerinin 295 nm dalga boyundaki absorbans değişimleri

A_2 = Kontrol çözeltilerinin 295 nm dalga boyundaki ortalama absorbans değişimleri

Antioksidan aktivite tayin yöntemleri

Süperoksit radikali (O_2^-) süpürücü etki tayini

Fosfat tamponu (100 mM pH 7,4) ile hazırlanan nitroblue tetrazolium (NBT) (144 μ M, 200 μ L), Fosfat tamponunda hazırlanan nikotinamid adenin dinükleotit (NADH) (677 μ M, 200 μ L) ve 200 μ L örnek karıştırılıp, vortekslenmiştir. Bu karışımdan 150 μ L alınıp üzerine fosfat tamponu ile hazırlanan ferrozin meta sülfat (PMS) (60 μ M, 50 μ L) ilave edilmiştir. Karışım oda sıcaklığında 5 dk bekletilmiştir. Karışımın absorbanı 560 nm’de köre karşı 0-6 dk boyunca okutulmuştur. Reaksiyon karışımındaki absorban azalması süperoksit radikali giderme aktivitesinin artmasının belirtisidir [277, 278]. Referans madde olarak askorbik asit kullanılmıştır.

Nitrik oksit (NO) süpürücü etki tayini

Sreejayan ve Rao’nun yöntemi ile örneklerin NO süpürücü etkileri tayin edilmiştir [279, 280]. %1’lik sülfanilamit (%5’lik fosforik asit içinde) ve %0,1’lik naftiletilediamin diklorür hazırlanmıştır. İki çözelti karıştırılarak Griess reajanı hazırlanmıştır. Örnek (60 μ L) ve sodyum nitroprussit çözeltisi (10 mM) karıştırılmış, oda sıcaklığında 150 dk inkübe edilmiştir. Ardından Griess reajanı (120 μ L) ilave edilmiş ve 10 dk bekletilip 577 nm’de ELISA mikropalak okuyucuda (Spectramax ABS Plus microplate reader, ABD) absorban okutulmuştur. Tüm örnekler için deney dört paralel olarak çalışılmış ve referans madde olarak askorbik asit kullanılmıştır.

% Süpürücü etki ise şu formüle göre hesaplanmıştır:

$$\% \text{ Süpürücü etki} = [(A_1 - A_2) / A_1] \times 100$$

A_1 = Kontrol çözeltilerinin 577 nm dalga boyundaki ortalama absorbanı

A_2 = Örnek çözeltilerinin 577 nm dalga boyundaki absorbanı

Hücre kültürü çalışmaları

HUVEC hücrelerin eldesi ve çoğaltılması

HUVEC, damar endotel hücrelerinin özelliklerini taşımaktadır. Besi ortamı, %90 Dulbecco’nun modifiye edilmiş kartal (eagle) besiyeri (DMEM) (L-glutaminli), %10 FBS

olarak hazırlanmıştır. Hücreler 37°C’de iç ortamı %5 CO₂, %95 hava karışımı ve nem içeren inkübatörde tutulmuştur. Haftada 3 kez pasaj yapılmıştır.

Hücre hattının açılması

Hücrelerin çözülmesi için 37°C’lik su banyosunda bir süre tutulmuştur. Çözünen hücreye %10 fetal sıgır serumlu (FBS) medyum (5 mL) ilave edilmiş ve 1000 rpm’de santrifüj edilmiştir. Süpernatant atıldıktan sonra DMSO’nun etkisinden kurtarmak amacıyla aynı işlem uygulanmıştır. %10 FBS içeren medyum, pellete eklenmiş ve erlenlere ekim yapılmıştır.

Hücrelerin çoğaltılması

Hücreler, 7ml %10 FBS (25 cm²’lik erlenlerde), 14 ml %10 FBS (75 cm²’lik erlenlerde) içeren DMEM medyumunu içerisinde %80-90 yoğunluğa getirilmiş ve pasajlanmıştır.

Hücrelerin pasajlanması

Erlenler içerisinde yoğunluğa gelen hücrelerden medyum uzaklaştırılmıştır. Hücrelerin üzerine küçük erlenlere 1-2 mL, büyük erlenlere 3-5 ml olacak şekilde %0,05’lik tripsin eklenmiştir. 37°C’lik etüvde bekletilmiştir. Yüzeyden ayrılan hücrelere FBS ilave edilerek tripsinin etkisi bloke edilmiştir. Hücreler 1000 rpm’de 5 dk santrifüj edilerek süpernatant uzaklaştırılmıştır. Medyumla süspande edilen hücreler erlenlere ekilmiştir. Erlenler 37°C’lik %5 CO₂’li etüve konulmuştur.

Hücrelerin dondurulması ve saklanması

Pasajlama esnasındaki basamaklardaki gibi konfluent olan hücreler tripsinle kaldırılmıştır. Santrifüj edildikten sonra elde edilen pelet, medyum eklenerek homojenize edilmiştir. Hücre sayımı ve canlılık kontrolü örnek alınmıştır. Örnek, tripan mavisi ile muamele edilerek ışık mikroskopunda incelenmiştir. Hücreler, %20 FBS ve %10 DMSO içeren dondurma medyumunu ile kriyo tüplere aktarılmıştır. Hücrelere, kademeli olarak dondurularak -80°C de saklanmıştır.

Hücre sayımı

10 µL Tripan mavisi ve hücre süspansiyonu (90 µL) karıştırılmıştır. Karışım 25°C’de bekletilmiştir. 10 µL alınarak hemositometreye yerleştirilmiştir. 10x objektif kullanılarak mikroskop yardımıyla canlı (boyayı absorbe etmemiş) ve cansız (boyayı absorbe etmiş) hücreler sayılmıştır.

Hücre kültüründe 3-[4,5-dimethylthiazole-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide; thiazolyl blue (MTT) testi ile hücre canlılığı ve proliferasyonunun değerlendirilmesi

MTT testi hücre proliferasyonu ve sitotoksitesinin kantitasyonunu belirlemek için kullanılmıştır. Hücreler tetrazolium tuzunu renkli formazanlara indirgediği için MTT testiyle sadece canlı hücreler belirlenmektedir. Canlı hücreler MTT’yi suda çözünmeyen mor formazan kristallerine dönüştürür. Mikroplağın her bir kuyucuğuna 100 µl içerisinde 1×10^4 olacak şekilde hücre ekimi gerçekleştirilmiştir. 37 °C’de 1 gün %5 CO₂ içeren etüvde inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra besiyeri içerisinde dilüe edilmiş olan ekstre dozları uygulanmıştır. Plakalar 24, 48 ve 72 saat boyunca 37°C’de %5 CO₂ içeren etüvde inkübe edilmiştir. Kontrol grubu kuyucuklarına yalnızca %10 FBS içeren hücreli DMEM besiyeri eklenirken, çözücü kontrol grubuna %1 DMSO içeren besiyeri uygulanarak, bu çözücülerin hücre canlılığı üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. Ekstreler ile 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyon süresinin ardından, MTT çözeltisi (Sigma, USA) 5 mg/mL konsantrasyonunda hazırlanarak her kuyucuğa 20 µL olacak şekilde ilave edilmiştir. Plakalar, 37°C’de %5 CO₂ içeren etüvde 3-4 saat bekletilmiştir. Kuyucuklardaki içerik çok kanallı pipetle dikkatlice uzaklaştırılmıştır. Mikroplağa 100 µL izopropanol ilave edilerek formazan kristallerinin çözünmesi sağlanmıştır. Plaka, karanlık ortamda 25°C’de 60 dk bekletildikten sonra, absorbans değerleri 570 nm dalga boyunda (Biotek Synergy HTX, USA) spektrofotometrik olarak ölçülmüştür [281, 282].

İstatistiksel analiz

Test grupları enzim inhibisyonu tayinlerinde pozitif kontrol ile, MTT tayininde ise negatif kontrol ile tek yönlü ANOVA ardından Dunnett’in çoklu karşılaştırma testi kullanılarak karşılaştırılmış ve sonuçlar istatistiksel olarak analiz edilmiştir (GraphPad Prism 8.0). $p \leq 0,05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

3.2.3. Aktivite-yönlendirmeli fraksiyonlama işlemi (AYF)

Sıvı-sıvı ekstraksiyon

Taramada XO ve POP enzimine karşı yüksek inhibisyon gösterdiği saptanan *H. plicatum* toprak üstü kısımlarından hareketle hazırlanan %80 etanol ekstresi 30 g tartılmıştır. Tartılan ekstre öncelikle % 90'lık MeOH'de tamamen çözülmüş ve *n*-hekzan ile ayırma hunisinde sıvı-sıvı ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Geriye kalan MeOH'lü fazın MeOH kısmı evaporatörde uçurulmuş ve kalan su ekstresi sırasıyla diklorometan (CH₂Cl₂), EtOAc, *n*-bütanol (*n*-BuOH) ile ayırma hunisinde fraksiyonlanmış ve ayrı ayrı toplanan organik çözücüler alçak basınç altında uçurulmuştur. Su ekstresi liyofilizatörde bekletilmiş ve tüm alt ekstreler tartılmıştır (Çizelge 3.3).

Çizelge 3.3. *Helichrsyum plicatum*'dan sıvı-sıvı ekstraksiyon ile elde edilen alt ekstrelerin miktarı ve verimleri

Alt ekstreler	Alt ekstre miktarları	% verim (a/a)
<i>n</i>-hekzan	2,05 g	%6,7
CH₂Cl₂	2,37 g	%7,9
EtOAc	8,85 g	%29,5
<i>n</i>-BuOH	3,81 g	%12,7
Su	12,71 g	%42,3

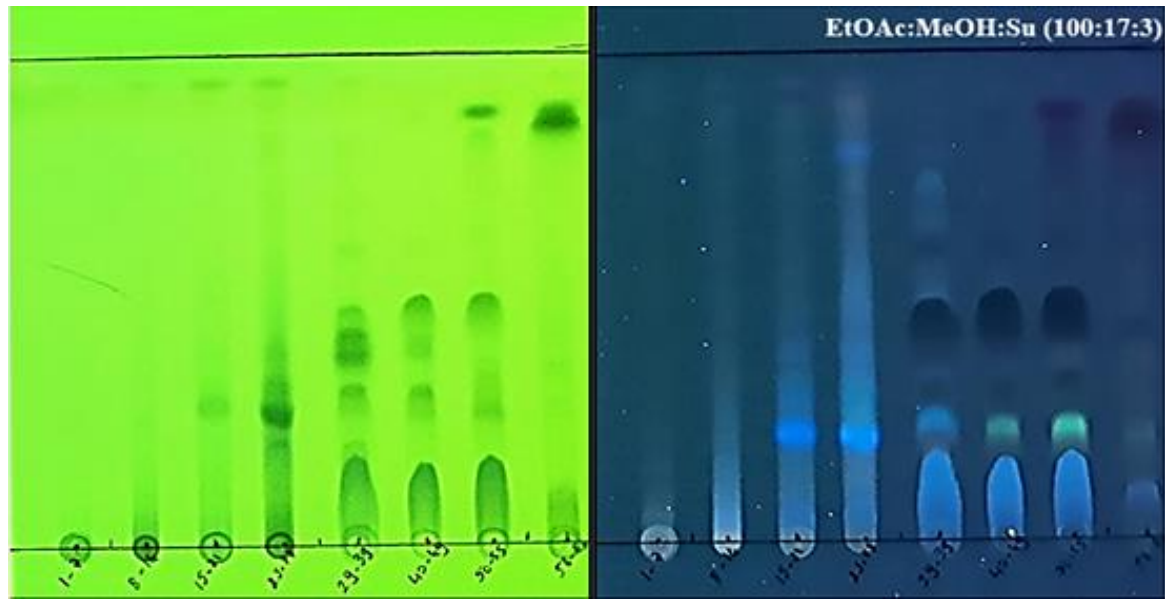
Sephadex LH-20 kolon kromatografisi-1

In vitro XO inhibitör aktivite deneylerinde elde edilen sonuçlara göre en etkili bulunan *H. plicatum* EtOAc ekstresinden aktivite yönlendirmeli izolasyon işlemi yapılmıştır. Alt ekstre, Sephadex LH-20 dolgu materyali kullanılarak moleküler eleme prensibine göre fraksiyonlanmıştır. Sephadex LH 20, MeOH'de süspande edilmiş ve şişmesi ve doygun hale gelmesi için 3 cm eninde 60 cm boyunda olan kolonda 1 gün boyunca bekletilmiştir. Mobil faz olarak MeOH kullanılmıştır. EtOAc alt ekstresi 4,9966 g tartılarak 3 mL MeOH'de çözülmüş ve cam pipet yardımıyla kolona tatbik edilmiştir. Mobil faz (1600 mL) üstten ilave edilerek fraksiyonlar toplanmıştır. Fraksiyonlar yaklaşık 20'şer mL olmak üzere 80 ayrı tüpe toplanmıştır. Toplanan her bir fraksiyon normal faz silika jel plaklar (Merck F₂₅₄ 20x20, 1.05554) ve EtOAc:MeOH:Su (100:17:3) mobil faz sistemi ile ince tabaka kromatografisine (İTK) tatbik edilmiştir. Sürüklenme sonunda plak kurutularak UV 254 ve UV 366 nm'de incelenmiştir. İTK profillerine göre benzer olan fraksiyonlar birleştirilmiş ve toplam 8

fraksiyon elde edilmiştir. Fraksiyonların miktarı ve İTK görüntüleri Çizelge 3.4 ve Resim 3.1’de yer almaktadır.

Çizelge 3.4. Sephadex LH 20’den elde edilen fraksiyonlar

Sephadex Fraksiyonları	Fraksiyon miktarı
Sep. Fr. 1-7	47,7 mg
Sep. Fr. 8-14	48,4 mg
Sep. Fr. 15-22	202,8 mg
Sep. Fr. 23-28	208,2 mg
Sep. Fr. 29-39	1903,9 mg
Sep. Fr. 40-49	1493,2 mg
Sep. Fr. 50-55	342 mg
Sep. Fr. 56-80	75 mg



Resim 3.1. Sephadex LH 20’den elde edilen fraksiyonların sırasıyla UV 254 ve UV 366 nm’de İTK profili

Silika jel kolon kromatografisi

Sephadex LH-20 kolon kromatografisinden elde edilen fraksiyonlar XO inhibitör aktivitesi yönünden değerlendirilmiş ve aktif çıkan Sep. Fr. 50-55 ($IC_{50}=9,18 \pm 0,31 \mu\text{g/mL}$) ve Sep. Fr. 56-80 ($IC_{50}=3,82 \pm 0,17 \mu\text{g/mL}$) aktivite yönlendirmeli izolasyon çalışmaları için seçilmiştir. Sep. Fr. 50-55 fraksiyonunda yürütülen izolasyon çalışması için 20 g silikajel tartılmış ve yaklaşık 100 mL başlangıç mobil fazı olan Kloroform:MeOH:Su (90:10:1) ile süspande edilmiştir. Dolgu materyali kolona yüklendikten doygun hale gelmesi için yarım

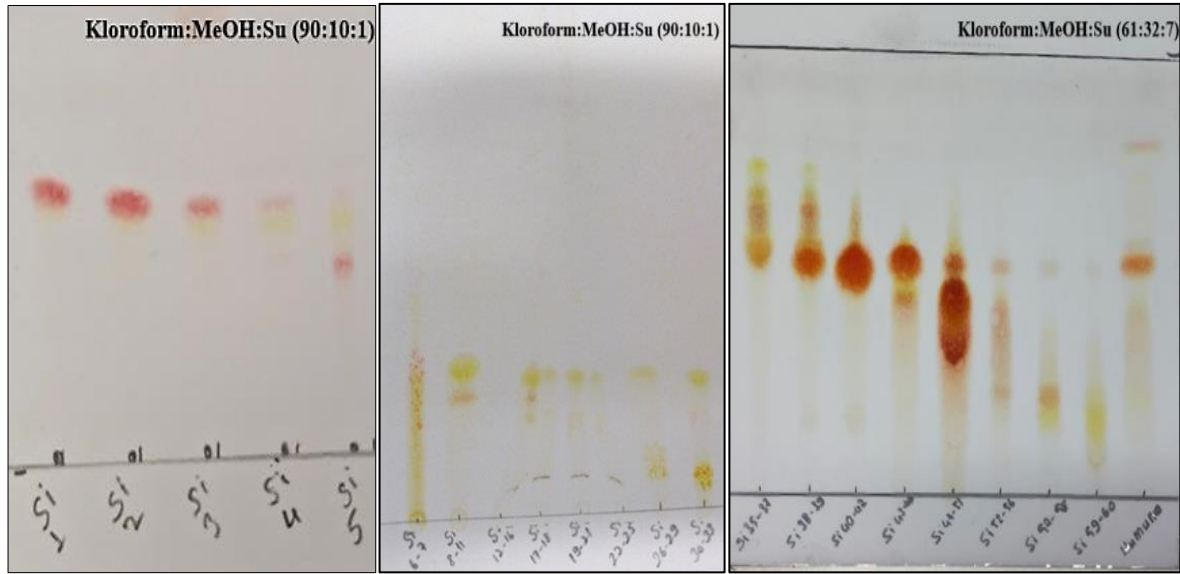
gün bekletilmiştir. Sep. Fr. 50-55 fraksiyonu kolona kuru tatbik yöntemiyle yüklenmek için 342 mg kadar tartılmış ve 2 mL EtOH'de çözülerek porselen kapsüle alınmıştır. Porselen kapsüle bir miktar silika jel eklendikten sonra su banyosu üzerinde solvan uçuna kadar karıştırılmıştır. Fraksiyon, kolona kuru tatbik tekniği ile yüklenmiştir. Kullanılan mobil faz sistemi Çizelge 3.5'de verilmiştir. Toplanan alt fraksiyonlar, silika jel İTK plaklarında Kloroform:MeOH:Su (90:10:1) ve Kloroform:MeOH:Su (61:32:7) mobil faz sistemi ile takip edilmiştir. Sürüklenme sonunda plak kurutularak UV 254 ve UV 366 nm'de incelenmiştir. Plağa vanilin/sülfirik asit (H₂SO₄) püskürtülerek 110°C'de 10 dakika ısıtılmasıyla maddeler renklendirilmiştir. İTK sisteminde benzer profillere sahip olan alt fraksiyonlar birleştirilmiş ve toplam 13 alt fraksiyon elde edilmiştir (Çizelge 3.6 ve Resim 3.2). Toplanan fraksiyonlardan 3 ve 4. tüplerde Madde 2 çökmüştür. Çöken madde alınarak İTK ile saflık kontrolü yapılmıştır ve maddenin saf olduğu bulunmuştur.

Çizelge 3.5. Silika jel kolon kromatografisinde kullanılan mobil faz sistemler

Kloroform (%)	MeOH (%)	Su (%)	Hacim (mL)
90	10	1	100
80	20	2	80
70	30	3	75
61	32	7	50
50	50	5	50

Çizelge 3.6. Silika jel kolon kromatografisinden elde edilen fraksiyonlar

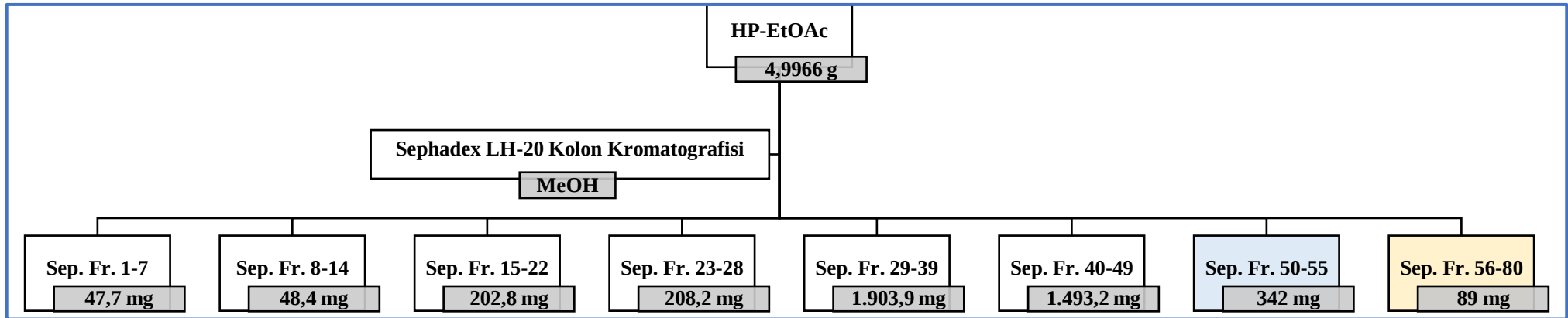
Silika jel kolon fraksiyonları	Fraksiyon miktarı
Si 1-4	4,4 mg
Si 5	1,5 mg
Si 6-7	4,8 mg
Si 8-11	2,6 mg
Si 12-25	2,7 mg
Si 26-29	1,3 mg
Si 30-33	1,4 mg
Si 35-37	0,9 mg
Si 38-42	35,1 mg
Si 43-46	74,5 mg
Si 47-51	21 mg
Si 52-58	12,8 mg
Si 59-60	83,9 mg



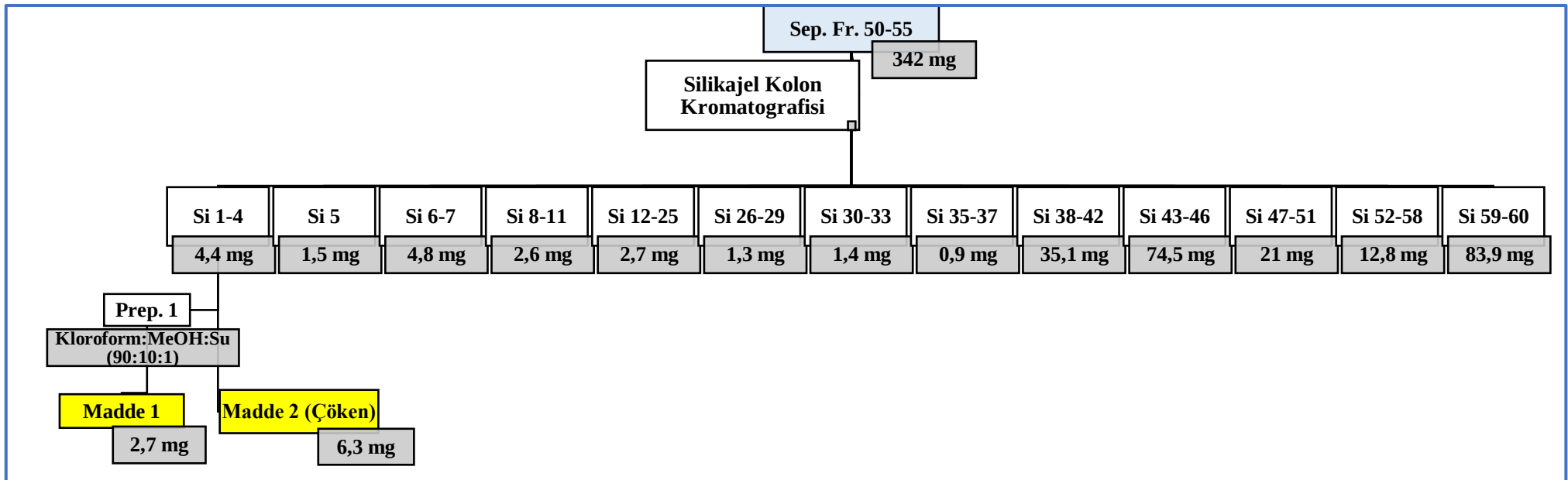
Resim 3.2. Silika jel kolon kromatografisinden elde edilen fraksiyonların vanilin/H₂SO₄ püskürtülmüş İTK profilleri

Preparatif İTK yöntemi-1

Silikal kolon kromatografisinden elde edilen Si. 1-4 fraksiyonu için preparatif İTK yöntemi uygulanmıştır. Mobil faz sistemi olarak Kloroform:MeOH:Su (90:10:1) kullanılmıştır. Si 1-4 fraksiyonu (4,4 mg) Kloroform:Etanol (1:2) karışımında çözülüp İTK plağına cam pipet yardımıyla tatbik edilmiştir. Sürüklenmenin ardından plakta UV 254 ve UV 366 nm’de belirlenen alanlar işaretlenmiş ve normal faz silika jel plaklardan kazınarak Madde 1 saf olarak elde edilmiştir. Sephadex LH-20 ve silikajel kolon kromatografisi ile yürütülen izolasyon çalışmaları Şekil 3.1 ve Şekil 3.2’de şematize edilmiştir.



Şekil 3.1. Sephadex LH-20 kolon kromatografisi ile elde edilen fraksiyonlar



Şekil 3.2. Silikajel kolon kromatografisi ile elde edilen alt fraksiyonlar

Vakumlu ters faz silika jel kolon kromatografisi (VLC)

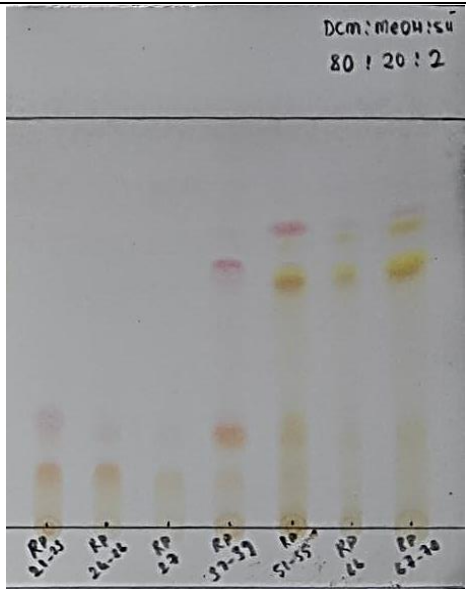
Sephadex LH-20 kolon kromatografisinden elde edilen Sep. Fr. 56-80 fraksiyonunun XO inhibitör aktivite tayininde en yüksek aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur. Bu fraksiyondan hareketle VLC ile izolasyon işlemi yapılmıştır. VLC için RP-18 dolgu materyali 8,5 g tartılmış ve 2 cm eninde 30 cm boyunda olan kolona kuru dolum yolu ile yüklenmiştir. Üzerine 45 mL Su:MeOH (5:1) karışımı eklenmiştir. Kolondan, MeOH'ü arındırmak ve dolgu materyalinin oturması amacıyla yaklaşık 250 mL su vakum yardımıyla geçirilmiştir. Sep. Fr. 56-80 (75 mg) 3 mL suda çözülüp hazırlanan kolona tatbik edilmiştir. Ayırım boyunca kullanılan mobil faz sistemi Çizelge 3.7'de verilmiştir.

Çizelge 3.7. VLC'de kullanılan mobil faz sistemler

Su (%)	MeOH (%)	Hacim (mL)
100	0	50 mL
98	2	50 mL
93	7	50 mL
80	20	30 mL
75	25	30 mL
70	30	30 mL
50	50	50 mL
25	75	30 mL
0	100	100 mL

Toplanan her bir fraksiyon RP koduyla normal faz silika jel ve Kloroform:MeOH:Su (90:10:1) mobil faz sistemi ile İTK'ya tatbik edilmiştir. Sürüklenme sonunda plak kurutularak UV 254 ve UV 366 nm'de incelenmiş, vanilin/H₂SO₄ püskürtülerek renklendirilmiştir. Toplanan fraksiyonlardan İTK sisteminde benzer profillere sahip olan alt fraksiyonlar birleştirilmiş ve toplam 4 alt fraksiyon elde edilmiştir, elde edilen fraksiyonlar İTK'da CH₂Cl₂:MeOH:Su (80:20:2) mobil faz sistemine tatbik edilmiştir (Çizelge 3.8).

Çizelge 3.8. VLC'den elde edilen fraksiyonlar, miktarları ve İTK profili

VLC fraksiyonları	Fraksiyon miktarı	
RP 21-27	2,3 mg	
RP 37-39	1,9 mg	
RP 51-55	10,9 mg	
RP 66-77	42 mg	

Elde edilen dört fraksiyon XO inhibitör aktivite tayini ile değerlendirilmiş olup RP 51-55 ($IC_{50}=2,49 \pm 2,49 \mu\text{g/mL}$) ve RP 66-77 ($IC_{50}=1,56 \pm 0,17 \mu\text{g/mL}$) fraksiyonları aktif bulunmuştur. RP 66-77 (16 mg) fraksiyonunun bir kısmı ile tekrar VLC tekniği ile ayırım yapılmıştır. Ayırım için kullanılan mobil faz sistemi Çizelge 3.9'da verilmiştir.

Çizelge 3.9. VLC-2'de kullanılan mobil faz sistemler

Su (%)	MeOH (%)	Hacim (mL)
85	15	50 mL
82	18	30 mL
79	21	20 mL
75	25	50 mL
72	28	40 mL
70	30	30 mL
68	32	30 mL
65	35	30 mL
60	40	50 mL
57	43	20 mL
55	45	65 mL
50	50	40 mL

Toplanan her bir fraksiyon RP 2 koduyla normal faz silika jel ve Kloroform:MeOH:Su (90:10:1) mobil faz sistemi kullanılarak İTK'ya tatbik edilmiştir. Sürüklenme sonunda plak kurutularak UV 254 ve UV 366 nm'de incelenmiştir. Plağa vanilin/ H_2SO_4 püskürtülerek plak renklendirilmiştir. Toplanan fraksiyonlardan İTK sisteminde benzer profillere sahip

olan alt fraksiyon birleştirilmiş ve toplam 9 alt fraksiyon elde edilmiştir. Bu fraksiyonlardan RP 2 121-134 fraksiyonu İTK’da saf madde olarak belirlenmiş ve Madde 3 (2,8 mg) olarak kodlanmıştır. İzole edilen madde 1, madde 2 ve madde 3’ün miktarını arttırmak amacıyla kalan RP 66-77 (26 mg) fraksiyonu ve RP 51-55 (10,9 mg) fraksiyonu birleştirilerek tekrar VLC tekniği ile ayırım gerçekleştirilmiştir. Kullanılan mobil faz sistemleri Çizelge 3.10’da verilmiştir.

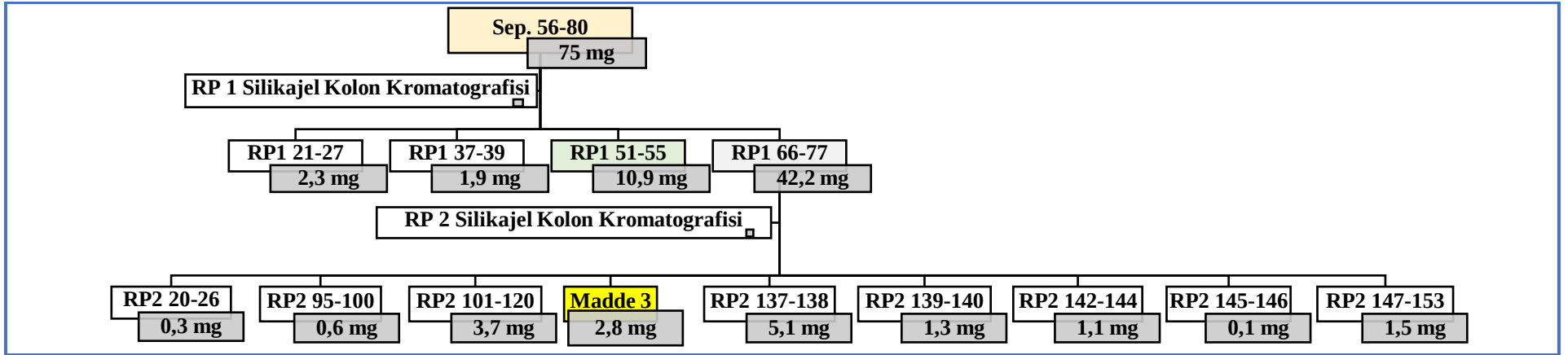
Çizelge 3.10. VLC-3’de kullanılan mobil faz sistemler

Su (%)	MeOH (%)	Hacim (mL)
70	30	50 mL
68	32	50 mL
65	35	50 mL
63	37	50 mL
60	40	50 mL
59	41	50 mL
58	42	50 mL
57	43	50 mL
56	44	50 mL
45	55	50 mL

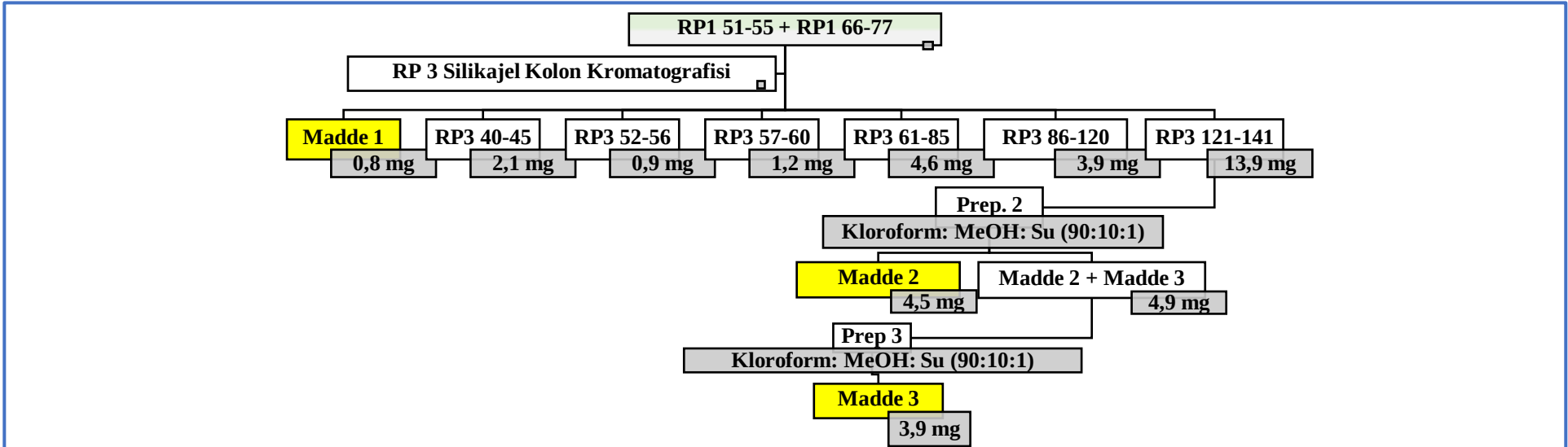
Toplanan her bir fraksiyon normal faz silika jel ve Kloroform:MeOH:Su (90:10:1) mobil faz sistemi ile İTK’ya tatbik edilmiştir. Toplanan fraksiyonlardan İTK sisteminde benzer profillere sahip olan alt fraksiyonlar birleştirilmiş ve toplam 7 alt fraksiyon elde edilmiştir. RP3-19, 20, 21, 22, 23 kodlu alt fraksiyonlar birleştirilmiş ve madde 1 (0,8 mg) saf olarak elde edilmiştir.

Preparatif İTK yöntemi-2

RP3 121-141 fraksiyonları birleştirilerek (13,9 mg) preparatif İTK yapılmıştır. Fraksiyon Kloroform:Etanol (1:2) solvan karışımında çözülmüştür. Mobil faz sistemi olarak Kloroform:MeOH:Su (90:10:1) sistemi kullanılmıştır. Sürüklenmenin ardından UV 254 nm’de işaretlenen alanlar silika jelden kazanmıştır. Madde 2 (4,5 mg) saf olarak elde edilmiştir. Madde 3 ise Madde 2 ile beraber kazanmıştır (4,9 mg). Madde 3 ve Madde 2’yi ayırmak için aynı sistemde tekrar preparatif İTK yapılmış ve Madde 3 (3,9 mg) saf olarak elde edilmiştir. Elde edilen saf maddelerin toplam miktarları ve İTK profilleri Çizelge 3.11’de verilmiştir. *H. plicatum* %80 etanollü ekstresinin EtOAc alt ekstresi üzerinde VLC ile yürütülen izolasyon çalışmaları Şekil 3.3 ve Şekil 3.4’de şematize edilmiştir.



Şekil 3.3. Vakumlu ters faz silika jel kolon kromatografisi-1 ve -2 ile elde edilen alt fraksiyonlar



Şekil 3.4. Vakumlu ters faz silika jel kolon kromatografisi-3 ile elde edilen alt fraksiyonlar

Çizelge 3.11. Elde edilen saf maddelerin miktarları ve İTK profilleri

Madde 1 (3,5 mg)	Madde 2 (10,8 mg)	Madde 3 (6,7 mg)
Kloroform:MeOH:Su (90:10:1)	Kloroform:MeOH:Su (90:10:1)	Kloroform:MeOH:Su (90:10:1)

3.2.4. Yapı tayini çalışmaları

İzole edilen saf maddelerin yapı tayinleri için tek boyutlu nükleer manyetik rezonans (1D NMR) ve iki boyutlu nükleer manyetik rezonans (2D NMR) ölçümleri, Bruker 400 MHz Avance III sistemi kullanılarak kaydedilmiştir. Proton (^1H) NMR, karbon (^{13}C) NMR, heteronükleer çoklu bağ korelasyonu (HMBC), korelasyon spektroskopisi (COSY), heteronükleer tek kuantum koheransı (HMQC) ölçümleri gerçekleştirilmiştir. İzole maddeler DMSO içerisinde çözölmüştür. Tetrametilsilan iç standart olarak uygulanmıştır. Kimyasal kayma değeri (δ) ppm, etkileşim sabiti (J) birimi Hz şeklinde belirtilmiştir.

3.2.5. LC-MS/MS analiz çalışması

H. plicatum'da bulunan fenolik bileşiklerin kantitatif değerlendirmesini gerçekleştirmek için bir tandem kütle spektrometresi ile birleştirilmiş Shimadzu-Nexera modeli ultra yüksek performanslı sıvı kromatografisi (UHPLC) kullanılmıştır. Ters fazlı UHPLC, bir otomatik örnekleyici (SIL-30AC modeli), bir kolon fırını (CTO-10ASvp modeli), ikili pompa (LC-30AD modeli) ve bir gaz giderici (DGU-20A3R modeli) ile donatılmıştır. Kromatografik

ayrım ters fazlı Agilent Poroshell 120 EC-C18 model (150 mm×2,1 mm, 2,7 µm) analitik kolonda gerçekleştirilmiştir. Kolon sıcaklığı 40°C'ye ayarlanmıştır. Elüsyon gradyanı eluent A (su + 5 mM amonyum format + %0,1 formik asit) ve eluent B'den (metanol + 5 mM amonyum format + %0,1 formik asit) oluşturulmuştur. Gradient elüsyon profili, %20-100 B (0-25 dk), %100 B (25-35 dk), %20 B (35-45 dk) olarak ayarlanmıştır. Çözücü akış hızı ve enjeksiyon hacmi sırasıyla 0,5 mL/dk ve 5 µL olarak belirlenmiştir.

Kütle spektrometrik tespiti, hem negatif (neg) hem de pozitif (poz) iyonizasyon modlarında çalışan bir elektrosprey iyonizasyon (ESI) kaynağı ile donatılmış Shimadzu LCMS-8040 model tandem kütle spektrometresi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. LC-ESI-MS/MS verileri LabSolutions yazılımı (Shimadzu) tarafından elde edilmiştir. Fitokimyasalların kantifikasyonu için çoklu reaksiyon izleme (MRM) modu kullanılmıştır. MRM metodu, belirtilen öncü fitokimyasal-parça iyon geçişlerinin taranmasına dayalı olarak fitokimyasal bileşikleri seçici bir şekilde tespit etmek ve kantifize etmek üzere optimize edilmiştir. Çarpışma enerjileri, optimum fotokimyasal parçalanma ve istenen ürün iyonlarının maksimum iletimini sağlamak için optimize edilmiştir. MS çalışma koşulları şu şekildedir: kurutma gazı akışı, 15 L/dk; sisleme gazı akışı, 3 L/dk; DL sıcaklığı, 250°C; ısı bloğu sıcaklığı, 400°C ve arayüz sıcaklığı, 350°C.

4. BULGULAR

4.1. Enzim İnhibisyonu Tayinlerine Ait Bulgular

Ana ekstrelerin enzim inhibitör aktivite sonuçları

Tez gereçlerimizi teşkil eden bitkisel materyallerden hareketle hazırlanan %80 etanollü ekstrelerin 2 mg/mL stok konsantrasyonda elastaz, kolajenaz, hyaluronidaz, XO ve LOX enzim inhibisyonlarına ait bulgular Çizelge 4.1’de verilmiştir. Taranan ekstrelerden XO inhibitör aktivitesi yüksek çıkan *H. plicatum* toprak üstü ($IC_{50}= 85,85 \pm 0,91 \mu\text{g/mL}$), hyaluronidaz inhibitör aktivitesi yüksek çıkan *L. salicaria* yaprak ($IC_{50}= 70,76 \pm 3,34 \mu\text{g/mL}$), *B. vulgaris* meyve ($IC_{50}= 114,63 \pm 5,86 \mu\text{g/mL}$) ve *B. oleraceae* yaprak ($IC_{50}= 124,85 \pm 0,64 \mu\text{g/mL}$), LOX enzim inhibitör aktivitesi yüksek çıkan *U. dioica* toprak üstü ($45,82\% \pm 2,48$) ekstreleri POP enzim inhibitör aktivitesi yönünden değerlendirilmiştir (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.1. Tez materyallerinden hazırlanan ekstrelerin enzim inhibitör aktiviteleri

Bitki materyali	Kısım	XO enzim inhibisyonu (%inhibisyon $\pm$ S.S ^a) 100 μ g/mL ^b	Elastaz enzim inhibisyonu (%inhibisyon $\pm$ S.S ^a) 133,333 μ g/mL ^b	LOX enzim inhibisyonu (%inhibisyon $\pm$ S.S ^a) 100 μ g/mL ^b	Kolajenaz enzim inhibisyonu (%inhibisyon $\pm$ S.S ^a) 133,333 μ g/mL ^b	Hyaluronidaz enzim inhibisyonu (%inhibisyon $\pm$ S.S ^a) 166,666 μ g/mL ^b
<i>Berberis vulgaris</i>	Çiçek	26,52 $\pm$ 5,35****	- ^c	-	-	59,12 $\pm$ 5,60****
	Meyve	24,13 $\pm$ 0,66****	-	-	29,16 $\pm$ 4,24****	70,10 $\pm$ 4,96**** (IC ₅₀ = 114,63 $\pm$ 5,86 μ g/mL)
<i>Brassica oleraceae</i> <i>var. acephala</i>	Yaprak	7,89 $\pm$ 1,92****	-	-	-	75,60 $\pm$ 10,68** (IC ₅₀ = 124,85 $\pm$ 0,64 μ g/mL)
<i>Capsella bursa</i> <i>pastoris</i>	Toprak üstü	16,74 $\pm$ 5,99****	-	16,07 $\pm$ 3,34****	-	42,02 $\pm$ 10,02****
<i>Lamium album</i>	Toprak üstü	13,35 $\pm$ 3,06****	-	-	-	7,74 $\pm$ 2,11****
<i>Plantago major</i>	Yaprak	28,57 $\pm$ 2,27****	-	-	-	-
<i>Urtica dioica</i>	Toprak üstü	21,16 $\pm$ 2,26****	-	45,82 $\pm$ 2,48****	-	-
<i>Capsicum annum</i>	Meyve	10,81 $\pm$ 5,60****	-	20,21 $\pm$ 1,80****	-	42,05 $\pm$ 1,54****
<i>Helychrysum</i> <i>plicatum</i>	Toprak üstü	60,15 $\pm$ 0,65**** (IC ₅₀ = 85,85 $\pm$ 0,91 μ g/mL)	-	-	2,12 $\pm$ 0,44****	47,29 $\pm$ 3,12****
<i>Sesamum indicum</i>	Tohum	17,20 $\pm$ 1,93****	-	41,07 $\pm$ 3,77****	-	39,05 $\pm$ 3,95****
<i>Crataegus monogyna</i>	Meyve	10,78 $\pm$ 4,13****	-	-	-	-
	Yaprak	31,86 $\pm$ 3,91****	-	-	-	-
<i>Sambucus ebulus</i>	Çiçek	20,80 $\pm$ 0,34****	-	-	-	41,80 $\pm$ 4,19****
	Yaprak	23,32 $\pm$ 3,74****	-	-	-	64,56 $\pm$ 4,94**** (IC ₅₀ = 139,55 $\pm$ 5,48 μ g/mL)
<i>Lythrum salicaria</i>	Yaprak	27,64 $\pm$ 2,51****	-	-	-	84,60 $\pm$ 3,76 (IC ₅₀ = 70,76 $\pm$ 3,34 μ g/mL)
<i>Ecballium elaterium</i>	Meyve	12,77 $\pm$ 1,57****	-	-	-	-
<i>Plantago lanceolata</i>	Yaprak	31,17 $\pm$ 1,71****	-	-	-	-
Referanslar (1 mg/mL)		91,58 $\pm$ 1,30 ^d (0,250 $\pm$ 0,006 μ g/mL)	99,65 $\pm$ 0,08 ^e (IC ₅₀ = 2,65 $\pm$ 0,36 μ g/mL)	60,10 $\pm$ 2,39 ^f (IC ₅₀ = 41,84 $\pm$ 1,35)	87,39 $\pm$ 2,85 ^g (IC ₅₀ = 27,95 $\pm$ 0,3 μ g/mL)	92,51 $\pm$ 3,53 ^h (IC ₅₀ = 2,31 $\pm$ 0,73 μ g/mL)

^a Standard sapma, ^b Final konsantrasyonu, ^c Etki saptanmadı, ^d Allopurinol 0,5 mg/mL, ^e N-(Metoksisüksinil)-Ala-Ala-Pro-Val-klorometil keton, ^f Baikalein ^g 1,10-Fenantrolin, ^h Tannik asit, ⁱ Doz düşüldüğünde etki kayboldu, IC₅₀ hesaplanamadı, ** $p < 0,01$, **** $p < 0,0001$, test grupları pozitif kontrol ile tek yönlü ANOVA ardından Dunnett'in çoklu karşılaştırma testi kullanılarak karşılaştırılmıştır.

Çizelge 4.2. Seçilen ana ekstrelerin POP inhibitör aktiviteleri

Bitki	Bitki kısmı	POP Enzim İnhibisyonu (% İnhibisyon $\pm$ S.S. ^a) 200 μ g/mL ^b
<i>H. plicatum</i>	Toprak Üstü	99,99 $\pm$ 0,01****
<i>B. vulgaris</i>	Meyve	95,24 $\pm$ 5,84***
<i>U. dioica</i>	Toprak Üstü	49,83 $\pm$ 2,05****
<i>L. salicaria</i>	Yaprak	34,08 $\pm$ 1,17****
<i>B. oleraceae</i>	Yaprak	48,60 $\pm$ 0,42****
Referanslar ^c	Rosmarinik asit	83,48 $\pm$ 4,24
	Gallik asit	34,16 $\pm$ 2,77
	Baikalein	70,76 $\pm$ 3,14



^a Standart sapma, ^b Final konsantrasyon, ^c 100 μ g/mL, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$, test grupları pozitif kontrol ile tek yönlü ANOVA ardından Dunnett'in çoklu karşılaştırma testi kullanılarak karşılaştırılmıştır.

AYF işlemi için XO ($IC_{50} = 85,85 \pm 0,91 \mu$ g/mL) ve POP inhibitör aktivitesi ($99,99\% \pm 0,01$) en yüksek olan *H. plicatum* ekstresi seçilmiştir. Bitkiden hareketle sıvı-sıvı ekstraksiyon tekniği ile alt ekstratlar hazırlanmıştır.

Alt ekstratlarının enzim inhibitör aktivite sonuçları

Alt ekstratların enzim inhibitör aktivitelerine (Çizelge 4.3) göre EtOAc alt ekstratı hem hyaluronidaz ($76,28 \pm 4,10\%$) hem XO ($IC_{50} = 28,06 \pm 2,70 \mu$ g/mL) enzimine karşı etkili bulunduğu için ilerleyen izolasyon çalışmaları için seçilmiştir. AYF işlemi boyunca EtOAc alt ekstratından elde edilen fraksiyonların XO inhibitör aktiveleri değerlendirilmiştir.

Çizelge 4.3. *Helichrysium plicatum* ekstresinden hazırlanan alt ekstrelerin enzim inhibitör aktiviteleri

	XO enzim inhibisyonu (%inhibisyon $\pm$ S.S) ^a 100 μ g/mL ^b	Elastaz enzim inhibisyonu (%inhibisyon $\pm$ S.S) 133,333 μ g/mL ^b	LOX enzim inhibisyonu (%inhibisyon $\pm$ S.S) 100 μ g/mL ^b	Kolajenaz enzim inhibisyonu (%inhibisyon $\pm$ S.S) 133,333 μ g/mL ^b	Hyaluronidaz enzim inhibisyonu (%inhibisyon $\pm$ S.S) 133,333 μ g/mL ^b
<i>n</i>-hekzan	35,59 $\pm$ 2,96 ^{****}	- ^c	39,87 $\pm$ 1,17 ^{****}	-	79,32 $\pm$ 3,21 ^{1**}
DCM	74,80 $\pm$ 1,63 ^{****} (IC ₅₀ = 19,29 $\pm$ 1,26 μ g/mL)	-	2,16 $\pm$ 0,61 ^{****}	11,37 $\pm$ 2,33	-
EtOAc	70,44 $\pm$ 4,32 ^{****} (IC ₅₀ = 28,06 $\pm$ 2,70 μ g/mL)	-	-	-	76,28 $\pm$ 4,10 ^{1***}
<i>n</i>-BuOH	17,10 $\pm$ 3,78 ^{****}	-	-	-	58,41 $\pm$ 6,27 ^{1****}
Su	-	-	-	-	-
Referanslar (1 mg/mL)	91,58 $\pm$ 1,30 ^d (0,250 $\pm$ 0,006 μ g/mL)	99,65 $\pm$ 0,08 ^e (IC ₅₀ = 2,65 $\pm$ 0,36 μ g/mL)	60,10 $\pm$ 2,39 ^f (IC ₅₀ = 41,84 $\pm$ 1,35)	87,39 $\pm$ 2,85 ^g (IC ₅₀ = 27,95 $\pm$ 0,37 μ g/mL)	92,51 $\pm$ 3,53 ^h (IC ₅₀ = 2,31 $\pm$ 0,73 μ g/mL)

^a Standart sapma, ^b Final konsantrasyonu, ^c Etki saptanmadı, ^d Allopurinol (0,5 mg/mL), ^e *N*-(Metoksisüksinil)-Ala-Ala-Pro-Val-klorometil keton, ^f Baikalein ^g 1,10-Fenantrolin, ^h Tannik asit, ¹ Doz düşüldüğünde etki kaybolduğu için IC₅₀ hesaplanamadı, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$, test grupları pozitif kontrol ile tek yönlü ANOVA ardından Dunnett'in çoklu karşılaştırma testi kullanılarak karşılaştırılmıştır.

Sephadex kolon kromatografisinden elde edilen fraksiyonların XO inhibitör aktiviteleri

EtOAc alt ekstresinden Sephadex kolon kromatografisi tekniği ile fraksiyonlar toplanmış ve fraksiyonlar XO inhibitör aktivitesi yönünden değerlendirilmiştir (Çizelge 4.4). En aktif çıkan Sep. Fr. 50-55 ($IC_{50}=9,18 \pm 0,31 \mu\text{g/mL}$) ve Sep. Fr. 56-80 ($IC_{50}=3,82 \pm 0,17 \mu\text{g/mL}$) fraksiyonlarından izolasyon işlemlerine devam edilmiştir.

Çizelge 4.4. *Helichrsyum plicatum* EtOAc alt ekstresinden elde edilen Sephadex kolon kromatografisi fraksiyonlarının enzim inhibitör aktiviteleri

Sephadex fraksiyonları	XO enzim inhibisyonu (% İnhibisyon $\pm$ S.S. ^a) 100 $\mu\text{g/mL}$ ^b
Sep. Fr. 1-7	$27,62 \pm 2,21$ ****
Sep. Fr. 8-14	$10,34 \pm 1,71$ ****
Sep. Fr. 15-22	$11,96 \pm 2,58$ ****
Sep. Fr. 23-28	$22,73 \pm 1,49$ ****
Sep. Fr. 29-39	$38,73 \pm 3,07$ ****
Sep. Fr. 40-49	$62,97 \pm 5,74$ **** ($IC_{50}=49,39 \pm 1,17 \mu\text{g/mL}$)
Sep. Fr. 50-55	$89,98 \pm 2,44$ ($IC_{50}=9,18 \pm 0,31 \mu\text{g/mL}$)
Sep. Fr. 56-80	$90,54 \pm 2,14$ ($IC_{50}=3,82 \pm 0,17 \mu\text{g/mL}$)
Allopurinol (0,5 mg/mL)	$91,58 \pm 1,30$ ($IC_{50}=0,250 \pm 0,006 \mu\text{g/mL}$)

^a Standart sapma, ^b Final konsantrasyon, **** $p < 0,0001$, test grupları pozitif kontrol ile tek yönlü ANOVA ardından Dunnett'in çoklu karşılaştırma testi kullanılarak karşılaştırılmıştır.

Silika jel kolon kromatografisinden elde edilen fraksiyonların XO inhibitör aktiviteleri

Sep. 50-55 fraksiyonundan silika jel kolon kromatografisi ve preparatif İTK yöntemleri ile Madde 1 ve Madde 2 izole edilmiştir. Elde edilen tüm fraksiyonların inhibitör aktiviteleri Çizelge 4.5'de verilmiştir.

Çizelge 4.5. Sep. Fr. 50-55 fraksiyonundan elde edilen Silikajel kolon kromatografisi fraksiyonlarının enzim inhibitör aktiviteleri

Silikajel kolon fraksiyonları	XO enzim inhibisyonu (% İnhibisyon $\pm$ S.S. ^a) 100 $\mu\text{g/mL}$ ^b
Si 1-4	92,67 $\pm$ 1,60 ^c (IC ₅₀ = 0,269 $\pm$ 0,009 $\mu\text{g/mL}$)
Si 5	77,95 $\pm$ 3,79 ^{d****} (IC ₅₀ = 0,421 $\pm$ 0,046 $\mu\text{g/mL}$)
Si 6-7	97,63 $\pm$ 0,13 [*] (IC ₅₀ = 1,342 $\pm$ 0,255 $\mu\text{g/mL}$)
Si 8-11	93,83 $\pm$ 3,18 ^c (IC ₅₀ = 0,285 $\pm$ 0,019 $\mu\text{g/mL}$)
Si 12-25	96,72 $\pm$ 1,22 (IC ₅₀ = 3,165 $\pm$ 0,440 $\mu\text{g/mL}$)
Si 26-29	83,93 $\pm$ 3,59 ^{e**} (IC ₅₀ = 3,978 $\pm$ 0,293 $\mu\text{g/mL}$)
Si 30-33	82,82 $\pm$ 4,17 ^{e***} (IC ₅₀ = 4,866 $\pm$ 0,205 $\mu\text{g/mL}$)
Si 35-37	93,46 $\pm$ 2,72 ^c (IC ₅₀ = 5,895 $\pm$ 0,079 $\mu\text{g/mL}$)
Si 38-42	13,86 $\pm$ 0,28 ^{****}
Si 43-46	76,02 $\pm$ 1,66 ^{****} (IC ₅₀ = 33,868 $\pm$ 3,760 $\mu\text{g/mL}$)
Si 47-51	82,83 $\pm$ 2,50 ^{***} (IC ₅₀ = 6,955 $\pm$ 0,496 $\mu\text{g/mL}$)
Si 52-58	84,64 $\pm$ 3,93 [*] (IC ₅₀ = 34,035 $\pm$ 1,558 $\mu\text{g/mL}$)
Si 59-60	76,92 $\pm$ 4,38 ^{****} (IC ₅₀ = 54,013 $\pm$ 2,826 $\mu\text{g/mL}$)
Allopurinol (0,5 mg/mL)	91,58 $\pm$ 1,30 (IC ₅₀ = 0,250 $\pm$ 0,006 $\mu\text{g/mL}$)

^a Standart sapma, ^b Final konsantrasyon, c: 25 $\mu\text{g/mL}$, d: 5 $\mu\text{g/mL}$, e: 50 $\mu\text{g/mL}$, * $p < 0,1$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$, test grupları pozitif kontrol ile tek yönlü ANOVA ardından Dunnett'in çoklu karşılaştırma testi kullanılarak karşılaştırılmıştır.

Ters faz kolon kromatografisinden elde edilen fraksiyonların XO inhibitör aktiviteleri

Sep. Fr. 56-80 fraksiyonundan ters faz kolon kromatografisi ile dört alt fraksiyon elde edilmiş, alt fraksiyonların XO inhibitör aktivitelerine (Çizelge 4.6) göre etkili çıkan RP1 51-55 (IC₅₀= 2,49 $\pm$ 2,49 $\mu\text{g/mL}$) ve RP1 66-77'den (IC₅₀= 1,56 $\pm$ 0,17 $\mu\text{g/mL}$) VLC ile izolasyon işlemine devam edilmiştir.

Çizelge 4.6. Sep. Fr. 56-80 fraksiyonundan elde edilen VLC fraksiyonlarının enzim inhibitör aktiviteleri

RP kolon fraksiyonları	XO enzim inhibisyonu (% İnhibisyon $\pm$ S.S. ^a)100 μ g/mL ^b
RP1 21-27	71,44 $\pm$ 0,43 ^{****} (IC ₅₀ =49,72 $\pm$ 0,39 μ g/mL)
RP1 37-39	72,56 $\pm$ 3,29 ^{****} (IC ₅₀ =37,02 $\pm$ 1,76 μ g/mL)
RP1 51-55	92,11 $\pm$ 2,00 (IC ₅₀ =2,49 $\pm$ 2,49 μ g/mL)
RP1 66-77	95,46 $\pm$ 0,07 [*] (IC ₅₀ =1,56 $\pm$ 0,17 μ g/mL)
Allopurinol (0,5 mg/mL)	91,58 $\pm$ 1,30 (IC ₅₀ = 0,250 $\pm$ 0,006 μ g/mL)

^a Standart sapma, ^b Final konsantrasyon, ^{*} $p < 0,1$, ^{****} $p < 0,0001$, test grupları pozitif kontrol ile tek yönlü ANOVA ardından Dunnett'in çoklu karşılaştırma testi kullanılarak karşılaştırılmıştır.

Saf maddelerin XO inhibitör aktiviteleri

VLC ve preparatif İTK ile bu alt fraksiyondan Madde 1, Madde 2 ve Madde 3 saf olarak elde edilmiştir. Elde edilen saf maddelere ait XO inhibitör aktiviteleri Çizelge 4.7'de verilmiştir.

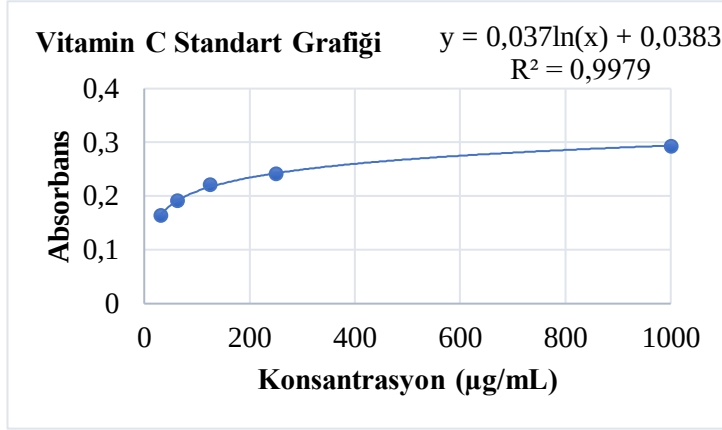
Çizelge 4.7. İzole edilen saf maddelerin enzim inhibitör aktiviteleri

İzole edilen maddeler	XO enzim inhibisyonu (% İnhibisyon $\pm$ S.S. ^a)25 μ g/mL ^b
Madde 1 (Naringenin)	61,35 $\pm$ 0,76 ^{****} (IC ₅₀ = 35,28 $\pm$ 1,39 μ g/mL)
Madde 2 (Apigenin)	62,37 $\pm$ 4,24 ^{****} (IC ₅₀ = 10,85 $\pm$ 2,22 μ g/mL)
Madde 3 (Luteolin)	73,62 $\pm$ 1,87 ^{****} (IC ₅₀ = 14,26 $\pm$ 0,72 μ g/mL)
Allopurinol (0,5 mg/mL)	91,58 $\pm$ 1,30 ^{****} (IC ₅₀ = 0,250 $\pm$ 0,006 μ g/mL)

^a Standart sapma, ^b Final konsantrasyon, ^c12,5 μ g/mL, ^{****} $p < 0,0001$, test grupları pozitif kontrol ile tek yönlü ANOVA ardından Dunnett'in çoklu karşılaştırma testi kullanılarak karşılaştırılmıştır.

4.2. Antioksidan Aktivite Tayinlerine Ait Bulgular

Tez gereçlerimizi teşkil eden bitkisel materyallerden hareketle hazırlanan %80 etanollü ekstrelerin, 2 mg/mL stok konsantrasyonda nitrik oksit ve süperoksit radikal süpürücü aktivitesi Çizelge 4.8'de verilmiştir. Nitrik oksit radikal süpürücü aktivite tayininde *H. plicatum* (IC₅₀= 152,70 $\pm$ 3,68 μ g/mL) ve *L. salicaria* (IC₅₀= 133,00 $\pm$ 6,79 μ g/mL) ana ekstreleri yüksek aktivite göstermiştir. Süperoksit radikal süpürücü aktivite tayininde deney sonuçları vitamin C standart alınarak yapılmıştır (Şekil 4.1). *L. salicaria* vitamin C eşdeğeri cinsinden en yüksek etkiye sahip bulunmuştur (274,77 vit C mg/ ekstre g).



Şekil 4.1. Vitamin C standart eğrisi grafiği

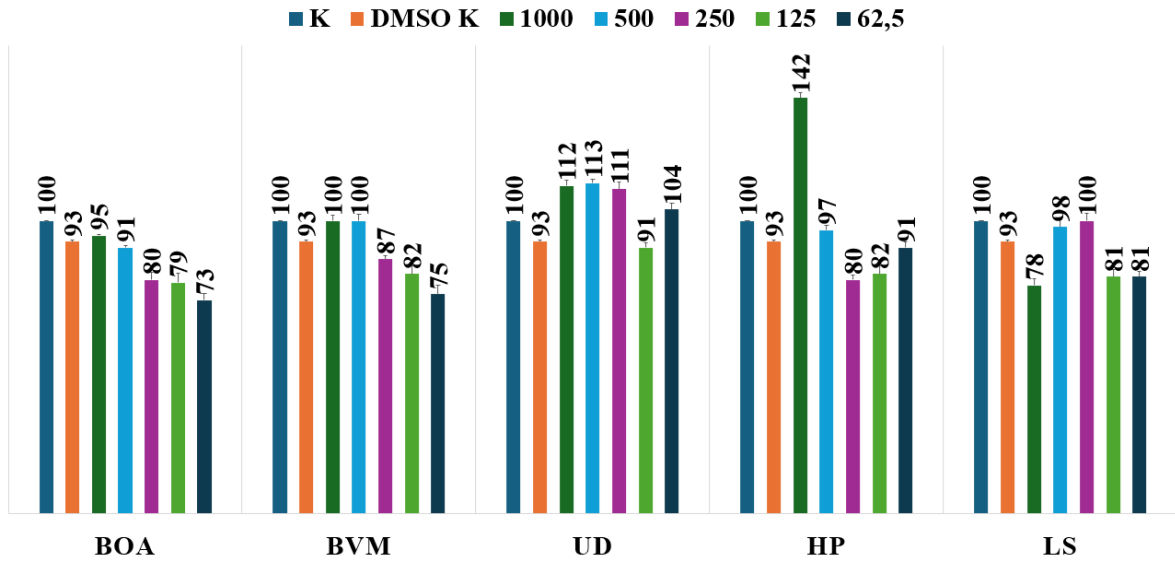
Çizelge 4.8. Tez materyallerinden hazırlanan ekstrelerin antioksidan aktiviteleri

Bitki materyali	Kısım	Nitrik oksit radikal süpürücü aktivite (%inhibisyon $\pm$ S.S ^a)	Süperoksit radikal süpürücü aktivite (Vitamin C eşdeğeri)
<i>Berberis vulgaris</i>	Çiçek	75,95 $\pm$ 0,17**** (IC ₅₀ = 225,50 $\pm$ 6,79 µg/mL)	39,76
	Meyve	67,88 $\pm$ 7,27**** (IC ₅₀ = 326,70 $\pm$ 4,10 µg/mL)	48,33
<i>Brassica oleraceae</i>	Yaprak	44,52 $\pm$ 1,04****	0,003
<i>Capsella bursa pastoris</i>	Toprak üstü	53,15 $\pm$ 3,51**** (IC ₅₀ = 433,25 $\pm$ 11,53 µg/mL)	1,3
<i>Lamium album</i>	Toprak üstü	70,72 $\pm$ 0,43**** (IC ₅₀ = 315,00 $\pm$ 5,52 µg/mL)	3,56
<i>Plantago major</i>	Yaprak	79,31 $\pm$ 0,86**** (IC ₅₀ = 208,30 $\pm$ 3,68 µg/mL)	15,80
<i>Urtica dioica</i>	Toprak üstü	47,18 $\pm$ 1,28****	1,97
<i>Capsicum annuum</i>	Meyve	36,04 $\pm$ 0,95 ****	0,19
<i>Helychrysum plicatum</i>	Toprak üstü	82,66 $\pm$ 0,36** (IC ₅₀ = 152,70 $\pm$ 3,68 µg/mL)	73,38
<i>Sesamum indicum</i>	Tohum	51,90 $\pm$ 0,00**** (IC ₅₀ = 488,73 $\pm$ 0,81 µg/mL)	0,17
<i>Crataegus monogyna</i>	Meyve	53,27 $\pm$ 4,58**** (IC ₅₀ = 499,80 $\pm$ 0,14 µg/mL)	4,54
	Yaprak	81,30 $\pm$ 0,20*** (IC ₅₀ = 165,05 $\pm$ 0,07 µg/mL)	80,09
<i>Sambucus ebulus</i>	Çiçek	74,07 $\pm$ 1,40**** (IC ₅₀ = 270,70 $\pm$ 1,98 µg/mL)	3,29
	Yaprak	72,54 $\pm$ 1,19**** (IC ₅₀ = 312,70 $\pm$ 4,68 µg/mL)	4,96
<i>Lythrum salicaria</i>	Yaprak	86,58 $\pm$ 0,55 (IC ₅₀ = 133,00 $\pm$ 6,79 µg/mL)	274,77
<i>Ecballium elaterium</i>	Meyve	59,86 $\pm$ 1,88**** (IC ₅₀ = 432,40 $\pm$ 0,57 µg/mL)	0,08
<i>Plantago lanceolata</i>	Yaprak	78,91 $\pm$ 3,39**** (IC ₅₀ = 260,40 $\pm$ 1,70 µg/mL)	6,58
Vitamin C (1 mg/mL)	-	92,72 $\pm$ 0,10 (IC ₅₀ = 25,28 $\pm$ 2,98 µg/mL)	-

^a Standard sapma, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$, test grupları pozitif kontrol ile tek yönlü ANOVA ardından Dunnett'in çoklu karşılaştırma testi kullanılarak karşılaştırılmıştır.

4.3. Hücre Kültürü Çalışmalarına Ait Bulgular

H. plicatum toprak üstü (HP), *L. salicaria* yaprak (LS), *B. vulgaris* meyve (BVM) ve *B. oleraceae* yaprak (BOA), *U. dioica* toprak üstü (UD) ekstraları MTT çalışmaları ile sitotoksik aktiviteleri yönünden değerlendirilmiştir. Şekil 4.2’de her ekstrenin kendi içindeki farklı konsantrasyonları karşılaştırılarak canlılık yüzdeleri değerlendirilmiştir. Şekil 4.3’de kontrol (K), çözücü kontrol (DMSO K) ve beş ekstrenin farklı konsantrasyonlarda HUVEC hücreleri üzerindeki hücre canlılığı verilmiştir. *H. plicatum* (1000 µg/mL) (%142) hücre canlılığını artırarak proliferatif etki göstermiştir. *B. oleraceae* ekstresi (%73) özellikle 62,5 µg/mL’de hücre canlılığını düşürmüştür.



Şekil 4.2. Ekstrelerin farklı konsantrasyonlarda sitotoksik etkilerinin değerlendirilmesi



Şekil 4.3. Ekstrelerin sitotoksik etkilerinin farklı konsantrasyonda birbiri ile karşılaştırılması, * $p < 0,1$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$, test grupları negatif kontrol ile tek yönlü ANOVA ardından Dunnett’in çoklu karşılaştırma testi kullanılarak karşılaştırılmıştır.

4.4. Fitokimyasal Çalışmalara Ait Bulgular

Aktivite yönlendirmeli izolasyon çalışmaları sonucunda, *H. plicatum* toprak üstü ekstresinden madde 1, madde 2 ve madde 3 izole edilmiştir. Bu bileşiklerin yapılarının aydınlatılması için ^1H -NMR, ^{13}C -NMR, HMBC, COSY ve HMQC spektroskopik yöntemleri ve kütle spektroskopisi kullanılmıştır.

4.4.1. İzole edilen madde 1'in yapı tayini çalışmalarına ait bulgular

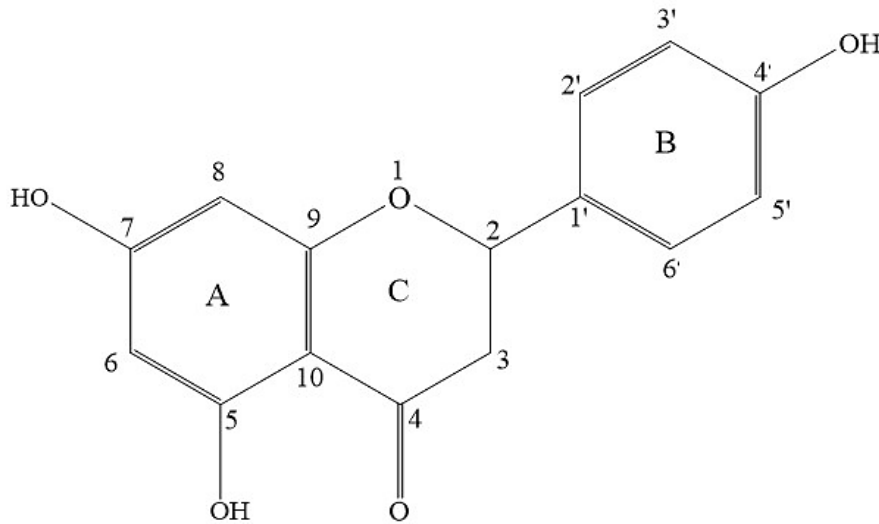
Naringenin (Madde 1)

Formül: $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_5$

Molar kütle: 272,257 g/mol

Kimyasal adı: 5,7-Dihidroksi-2-(4-hidroksifenil)kroman-4-on

Açık sarı renkli, katı toz formunda olan Madde 1 kodlu bileşik İTK analizinde vanilin/ H_2SO_4 reaktifi ile 110°C ' de kırmızı renk vermektedir. UV 366 nm'de sarı floresans gözlenmiştir (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. Naringenin molekülü

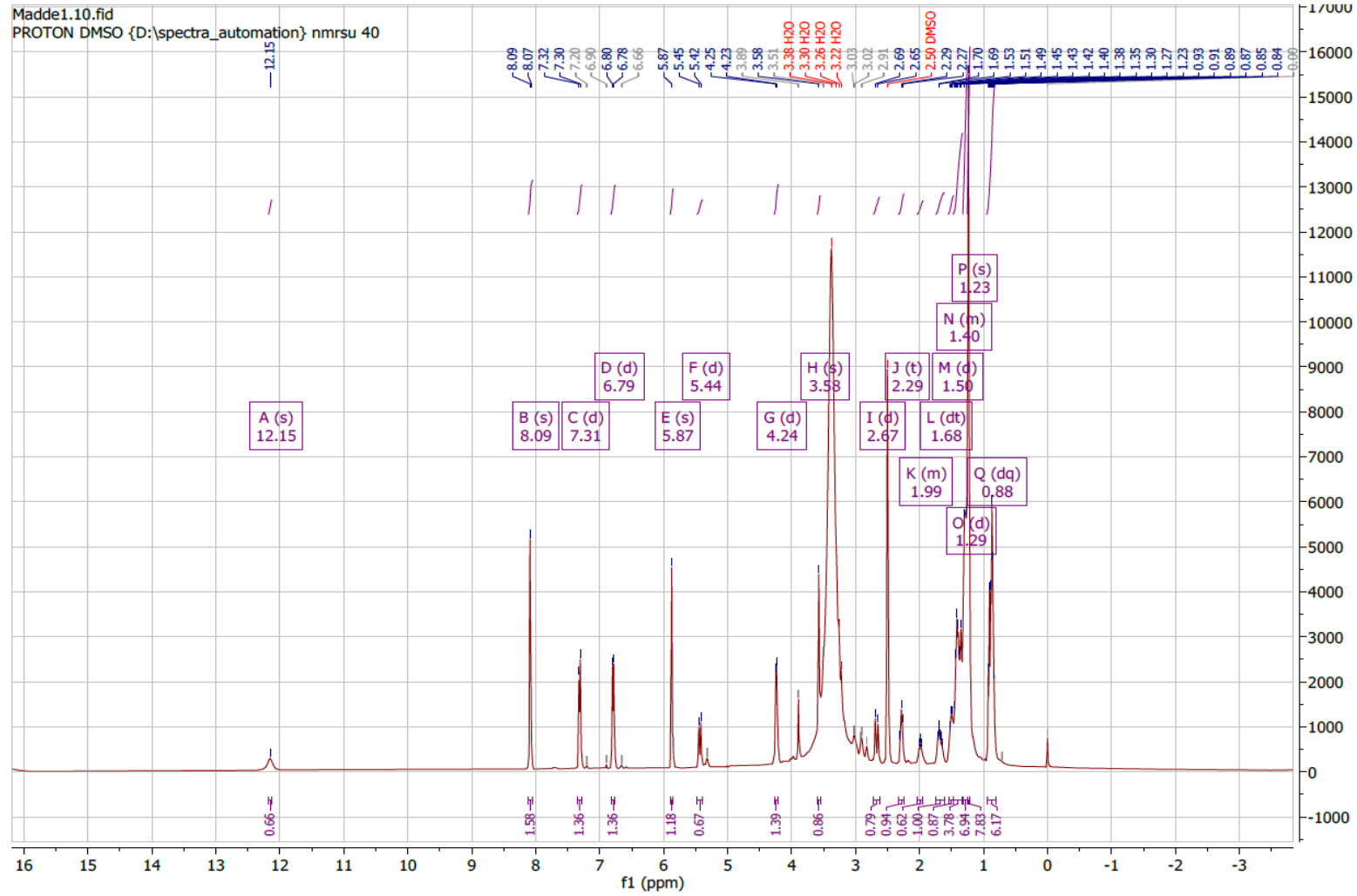
Bileşiğin ^1H NMR spektrumunda δ_{H} 12,15 (s, 1H)' de görülen sinyal çifti naringenin 5-OH ve 7-OH protonlarına işaret etmektedir. δ_{H} 7,31 (d, $J = 8,3$ Hz, 1H) ve δ_{H} 6,79 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H) B halkasında aromatik yapıda yer alan protonlara karşılık gelmektedir. δ_{H} 5,87 (s, 1H) A aromatik halkasında yer alan diğer protonlara işaret etmiştir. δ_{H} 5,44 (d, $J = 12,5$ Hz, 1H)

C-2 protonuna işaret etmektedir. δ_H 3,26 (s, 1H) ve δ_H 2,67 (d, $J = 17,0$ Hz, 1H) C-3a ve 3b protonlarına işaret etmektedir (Şekil 4.5). HMBC sonuçlarına göre bileşiğin C-4 konumundaki karbonil grubunun verdiği sinyal ile C-3’de yer alan protonların sinyalleri etkileşim göstermektedir.

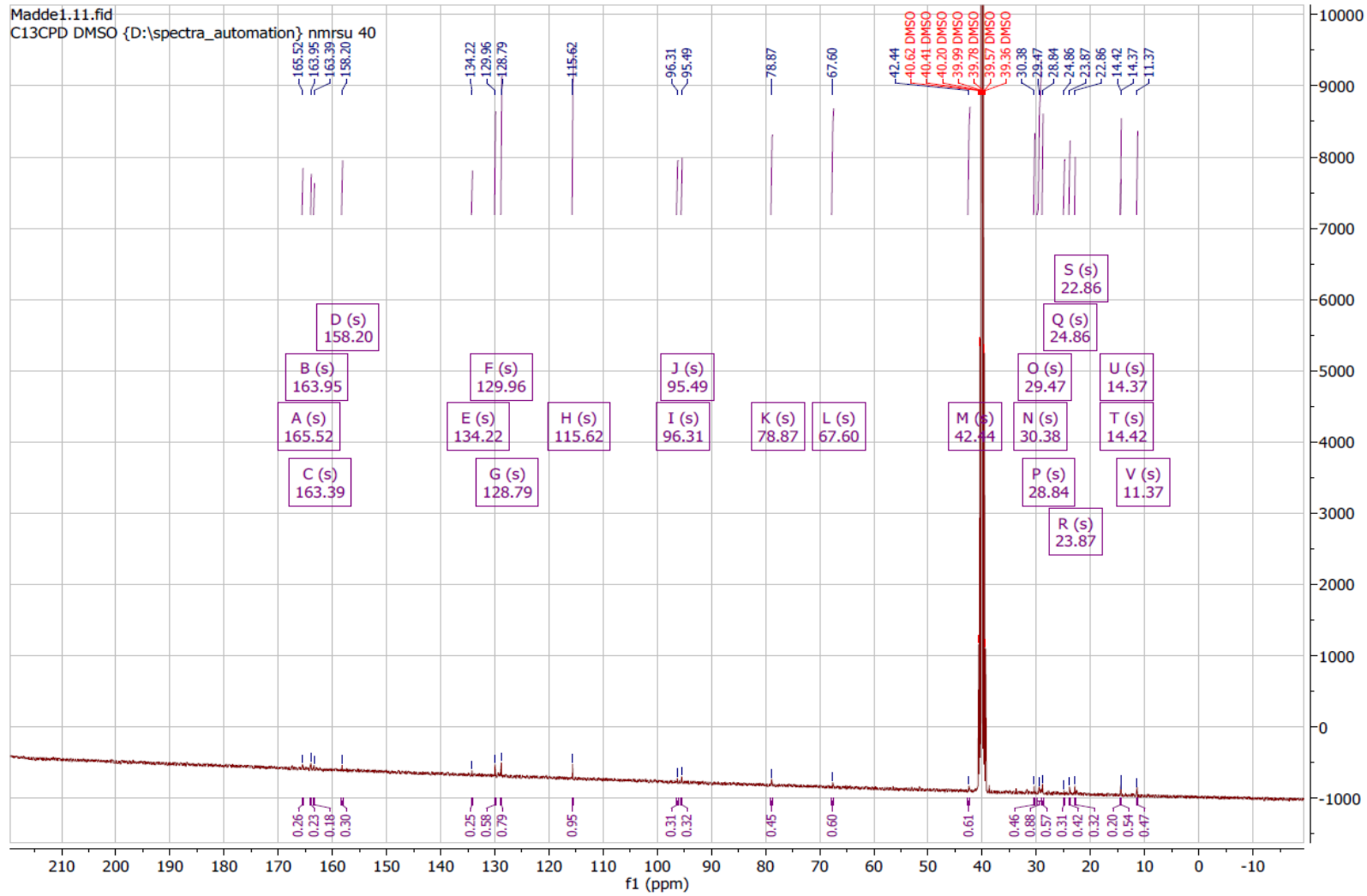
^{13}C NMR spektrumunda OH grubunun bağlı olduğu C-5, C-7 ve C-4’ karbonları δ_C 165,62, δ_C 163,93 ve δ_C 158,20 sinyallerini vermiştir. C-6 ve C-8 δ_C 95,44 ve δ_C 96,31, C-2’, C-6’, C-3’ ve C-5’ karbonları δ_C 128,79 ve δ_C 115,62 ppm’de sinyallerini vermiştir. C-2: δ_C 78,87, C-9: δ_C 163,39, C-1’: δ_C 129,96, C-3: δ_C 42,44 sinyallerini vermiştir (Çizelge 4.9 ve Şekil 4.6). HMBC’de yer alan verilere göre C-3 protonları ile uzak mesafeli etkileşim yapan δ_C 196,63 sinyali C-4’deki karbonil grubuna işaret etmektedir. Şekil 4.7, 4.8 ve 4.9’da COSY, HMBC ve HMQC spektrumları verilmiştir. Naringenin için yapılan LC-MS QTOF analizinde bileşiğin kütlesi $[M-H]^-$ 265,1499 g/mol olarak bulunmuş ve madde 1’in naringenin olduğu kütle spektrumu ve literatür verileri ile teyit edilmiştir (Şekil 4.10) [283].

Çizelge 4.9. Naringenin molekülüne ait ^{13}C ve ^1H NMR spektrum sonuçları

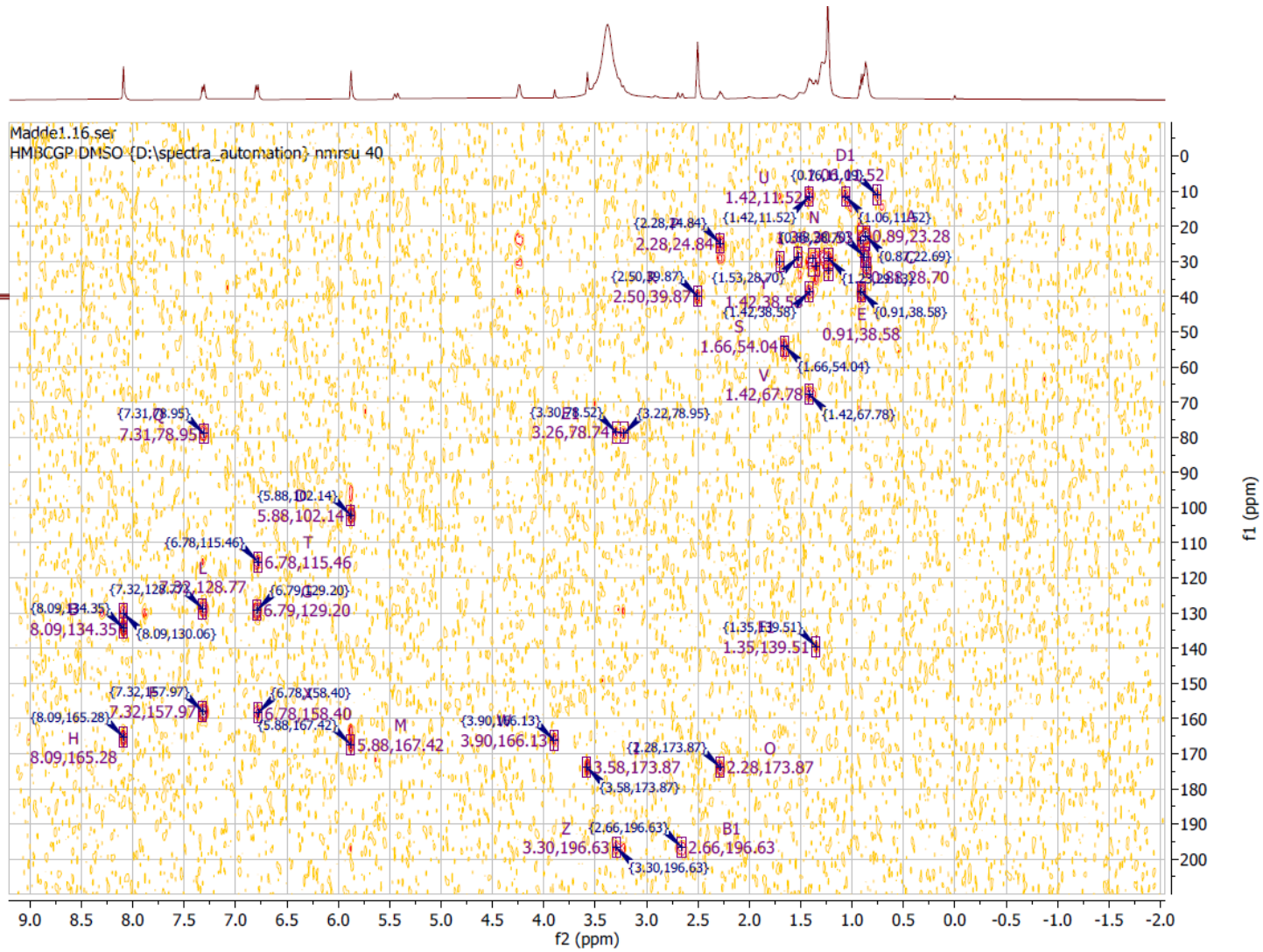
C/H	δ_C ppm	δ_H ppm	J (Hz)
C Halkası			
1	-	-	-
2	78,87 (Alifatik karbon)	5,44 (C-H protonu)	12,5 Hz
3	42,44 (Alifatik karbon)	3,26, 2,67 (C-H protonu)	17,0 Hz
4	196,63 (C=O, Karbonil grubu)	-	-
A Halkası			
5	163,95 (C-O, Aromatik karbon)	12,15 (Fenolik hidroksil, OH)	-
6	96,31 (Aromatik karbon)	5,87 (Aromatik protonlar)	-
7	165,62 (C-O, Aromatik karbon)	12,15 (Fenolik hidroksil, OH)	-
8	95,49 (Aromatik karbon)	5,87 (Aromatik protonlar)	-
9	163,39 (Aromatik karbon)	-	-
10	102,14 (Aromatik karbon)	-	-
B Halkası			
1’	129,96 (Aromatik karbon)	-	-
2’	128,79 (Aromatik karbon)	7,31 (Aromatik protonlar)	8,3 Hz
3’	115,62 (Aromatik karbon)	6,79 (Aromatik protonlar)	8,1 Hz
4’	158,20 (C-O, Aromatik karbon)	-	-
5’	115,62 (Aromatik karbon)	6,79 (Aromatik protonlar)	8,1 Hz
6’	128,79 (Aromatik karbon)	7,31 (Aromatik protonlar)	8,3 Hz



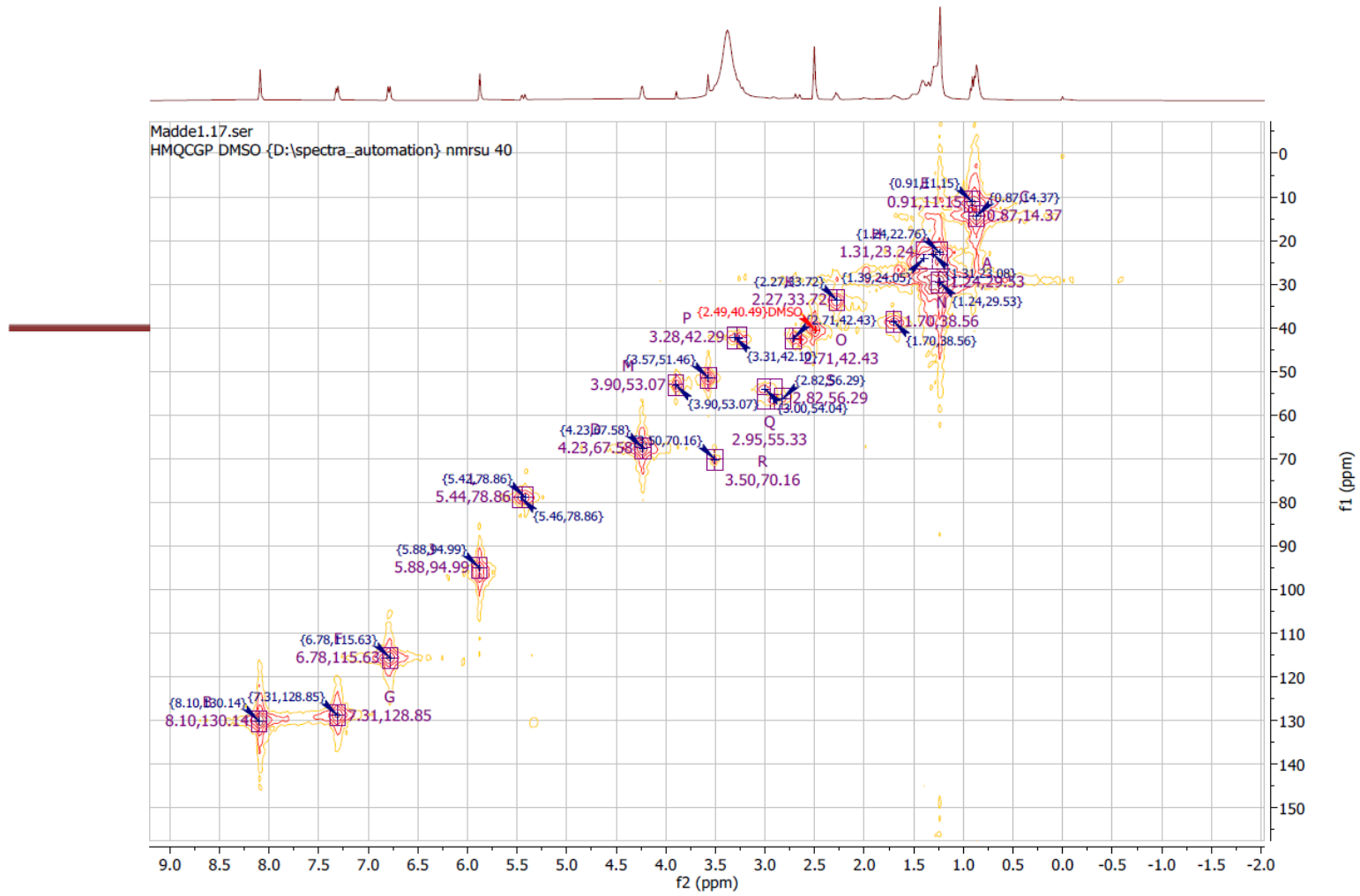
Şekil 4.5. Naringenin (Madde 1) bileşiğine ait ^1H -NMR spektrumu



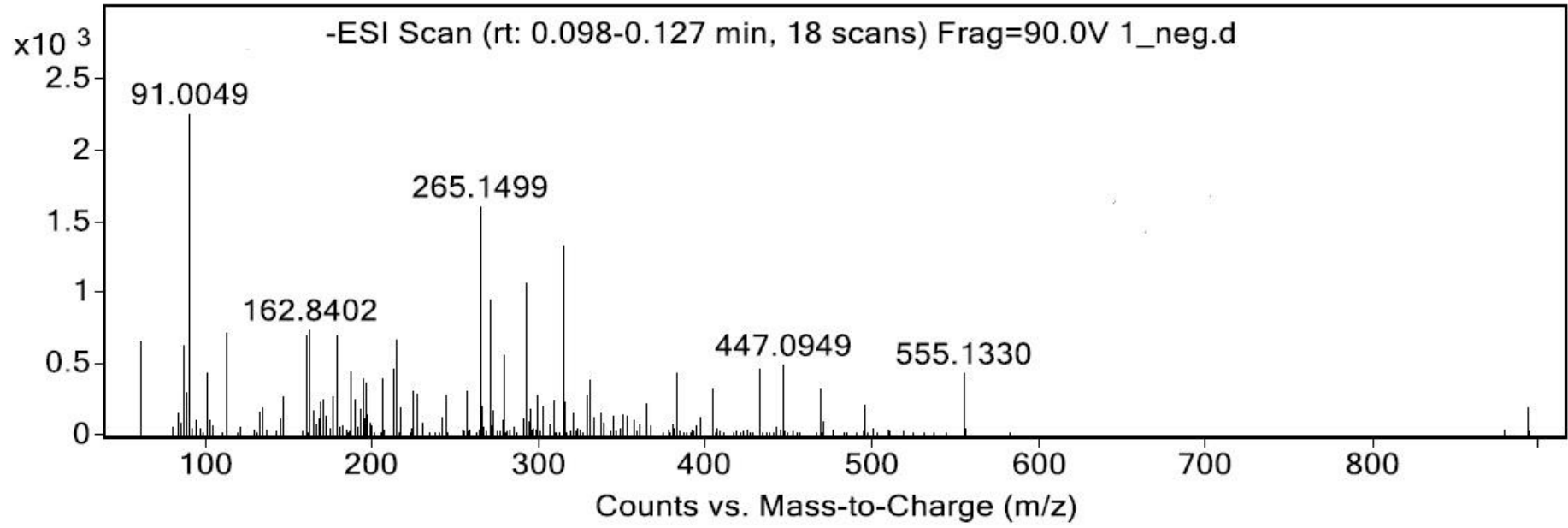
Şekil 4.6. Naringenin (Madde 1) bileşiğine ait ^{13}C -NMR spektrumu



Şekil 4.8. Naringenin (Madde 1) bileşiğine ait HMBC spektrumu



Şekil 4.9. Naringenin (Madde 1) bileşiğine ait HMQC spektrumu



Şekil 4.10. Naringenine ait -ESI-MS spektrumu

4.4.2. İzole edilen madde 2'in yapı tayini çalışmalarına ait bulgular

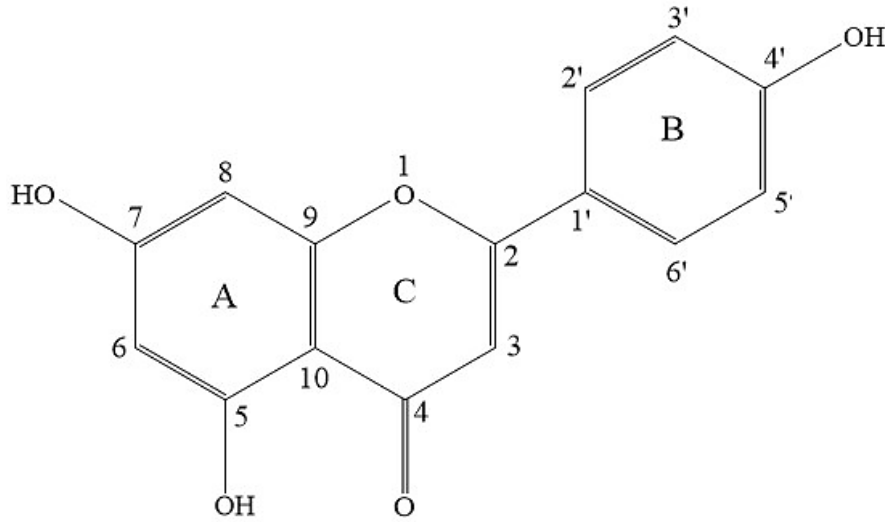
Apigenin (Madde 2)

Formül: C₁₅H₁₀O₅

Molar kütle: 270,0528 g/mol

Kimyasal adı: 5,7-dihidroksi-2-(4-hidroksifenil)-4*H*-1-benzopiran-4-on

Beyaz renkli, katı toz formunda olan Madde 2 kodlu bileşik İTK analizinde vanilin/H₂SO₄ reaktifi ile 110°C' de sarı renk vermektedir. UV366 nm'de kırmızı floresans gözlenmiştir (Şekil 4.11).



Şekil 4.11. Apigenin molekülü

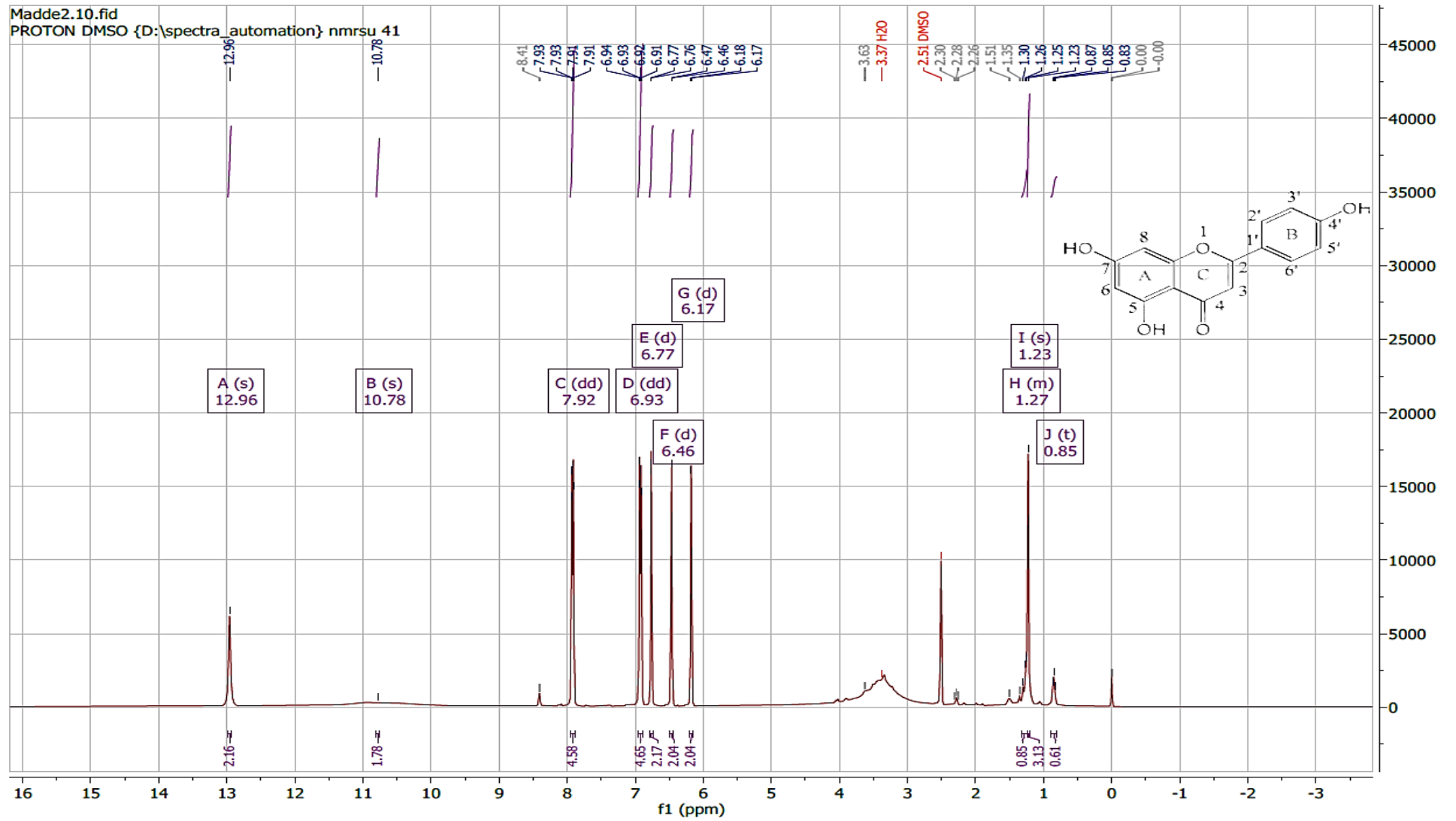
Bileşiğin ¹H NMR spektrumunda δ_H 12,96 (s, 2H) ve δ_H 10,78 (s, 2H) görülen sinyal çifti apigenin 5-OH, 7-OH ve 4'OH protonlarına işaret etmiştir. δ_H 7,92 (dd, $J = 8,7, 2,5$ Hz, 5H) ve δ_H 6,93 (dd, $J = 8,7, 2,5$ Hz, 5H) B halkasında aromatik yapıda yer alan protonlara karşılık gelmektedir. δ_H 6,77 (d, $J = 2,5$ Hz, 2H) ve δ_H 6,46 (d, $J = 2,7$ Hz, 2H) A aromatik halkasında yer alan diğer protonlara işaret etmektedir. δ_H 6,17 (d, $J = 3,1$ Hz, 2H) C-3 protonuna işaret etmektedir. Apigenin'deki aromatik halka protonları genellikle 6-8 ppm aralığında görülmüştür (Şekil 4.12).

Bileşiğin ¹³C NMR spektrumunda δ_C 182,12 sinyali C-4'deki karbonil grubuna işaret etmektedir. OH grubunun bağlı olduğu C-5, C-7 ve C-4' karbonları δ_C 165,27, δ_C 161,91 ve δ_C 161,76 sinyallerini vermiştir. C-6 ve C-8 δ_C 94,50 ve δ_C 103,22 sinyallerini, C-2', C-6',

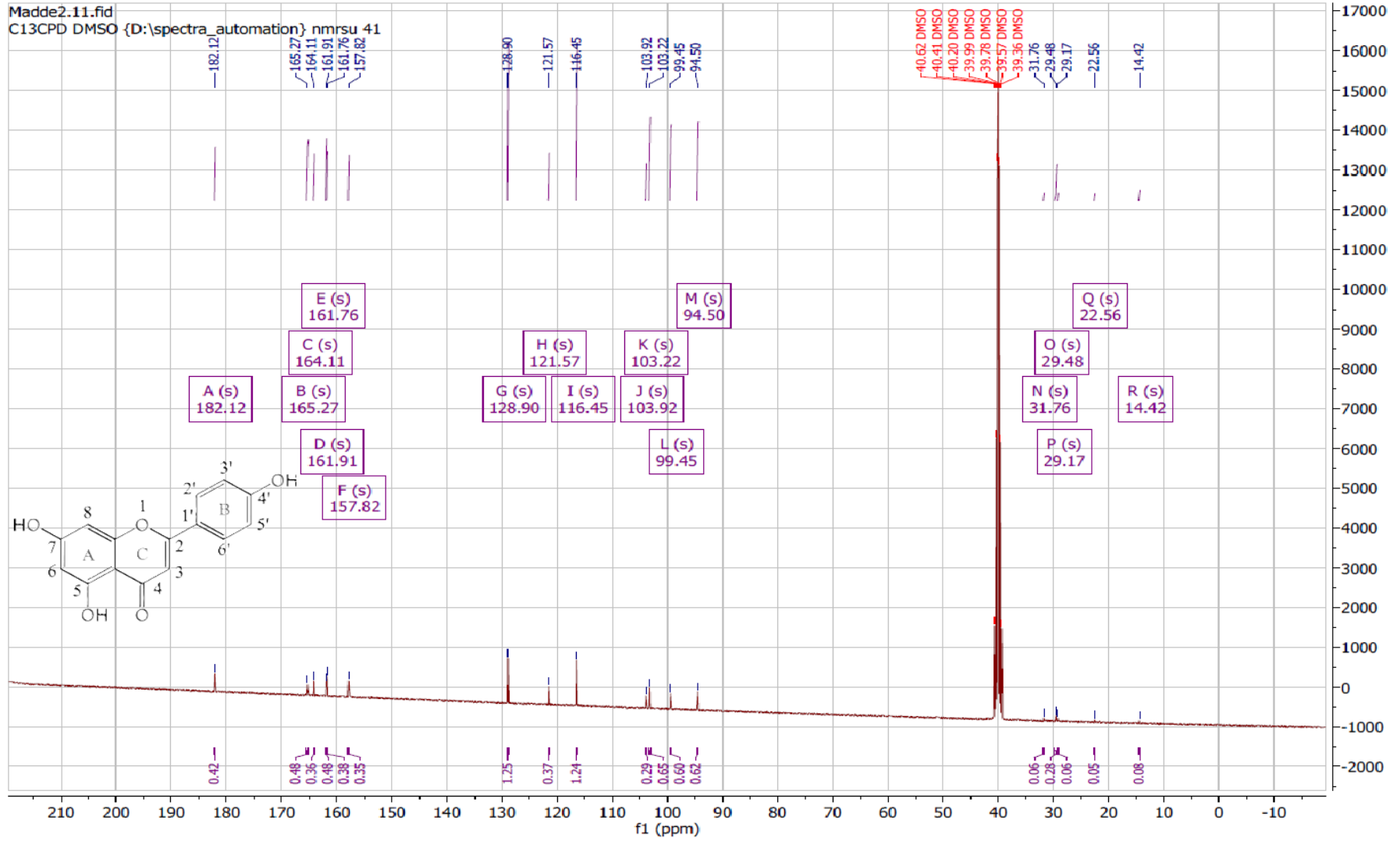
C-3' ve C-5' karbonları δ_C 128,90 ve δ_C 116,45 ppm'de sinyal vermiştir. C-2: δ_C 164,11, C-1': δ_C 121,57, C-3: 99,45, C-9: δ_C 103,92 ve C-10: ve δ_C 157,82 sinyallerini vermiştir. (Çizelge 4.10 ve Şekil 4.13). Şekil 4.14, 4.15 ve 4.16'de COSY, HMBC ve HMQC spektrumları verilmiştir. Apigenin için yapılan LC-MS QTOF analizinde bileşiğin kütlesi $[M-H]^-$ 269,0495 g/mol olarak bulunmuş ve madde 2'nin apigenin olduğu kütle spektrumu ve literatür verileri ile teyit edilmiştir (Şekil 4.17) [284].

Çizelge 4.10. Apigenin molekülüne ait ^{13}C ve ^1H NMR spektrum sonuçları

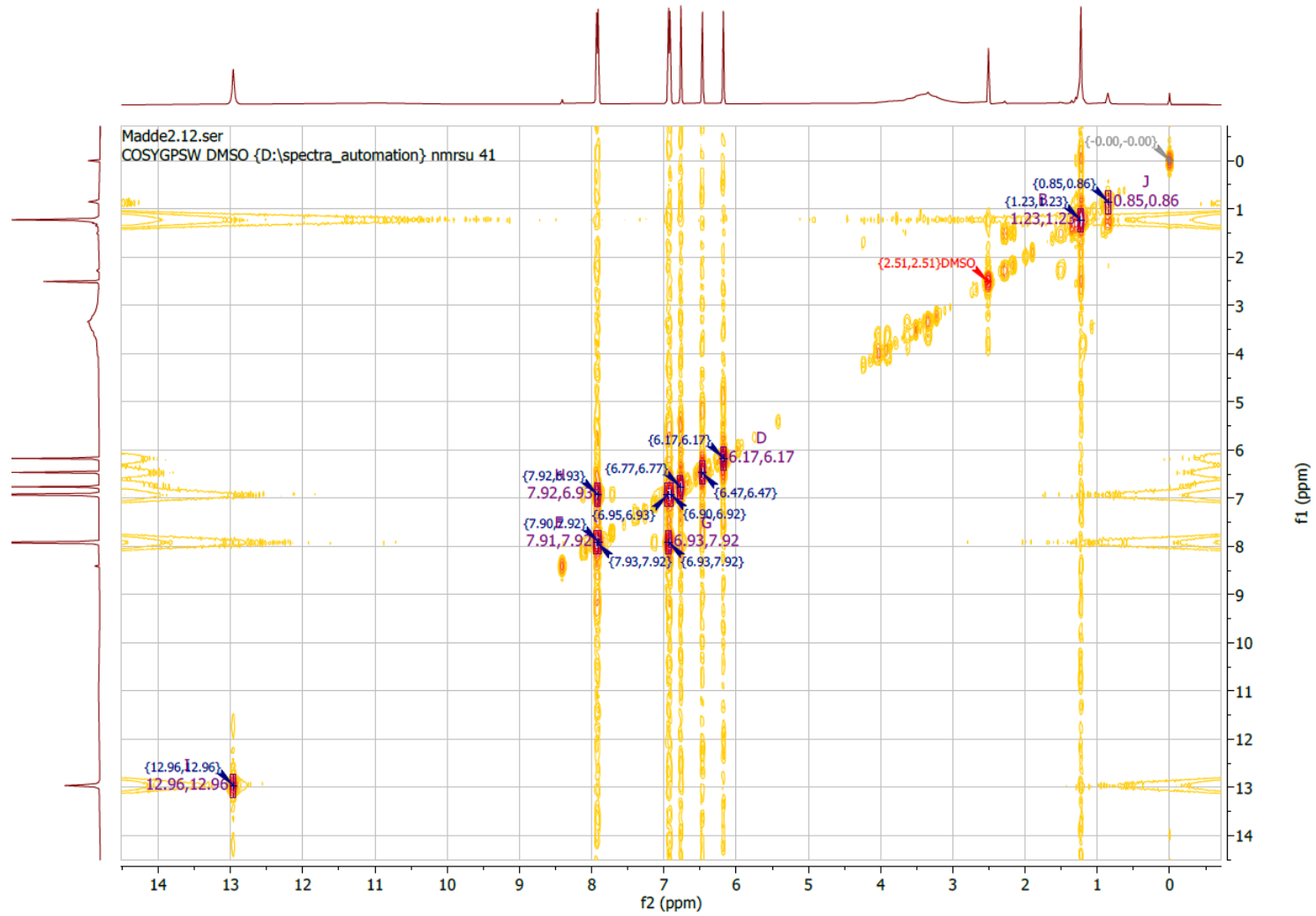
C/H	δ_C ppm	δ_H ppm	J (Hz)
C Halkası			
1	-	-	-
2	164,11 (Aromatik karbon)	-	-
3	99,45 (Aromatik karbon)	6,17 (Aromatik protonlar)	3,1 Hz
4	182,12 (C=O, Karbonil grubu)	-	-
A Halkası			
5	161,91 (C-O, Aromatik karbon)	12,96 (Fenolik hidroksil, OH)	-
6	94,50 (Aromatik karbon)	6,46 (Aromatik protonlar)	2,7 Hz
7	165,27 (C-O, Aromatik karbon)	12,96 (Fenolik hidroksil, OH)	-
8	103,22 (Aromatik karbon)	6,77 (Aromatik protonlar)	2,5 Hz
9	103,92 (Aromatik karbon)	-	-
10	157,82 (C-O, Aromatik karbon)	-	-
B Halkası			
1'	121,57 (Aromatik karbon)	-	-
2'	128,90 (Aromatik karbon)	7,92 (Aromatik protonlar)	8,7, 2,5 Hz
3'	116,45(Aromatik karbon)	6,93 (Aromatik protonlar)	8,7, 2,5 Hz
4'	161,79 (C-O, Aromatik karbon)	10,78 (Fenolik hidroksil, OH)	-
5'	116,45 (Aromatik karbon)	6,93 (Aromatik protonlar)	8,7, 2,5 Hz
6'	128,90 (Aromatik karbon)	7,92 (Aromatik protonlar)	8,7, 2,5 Hz



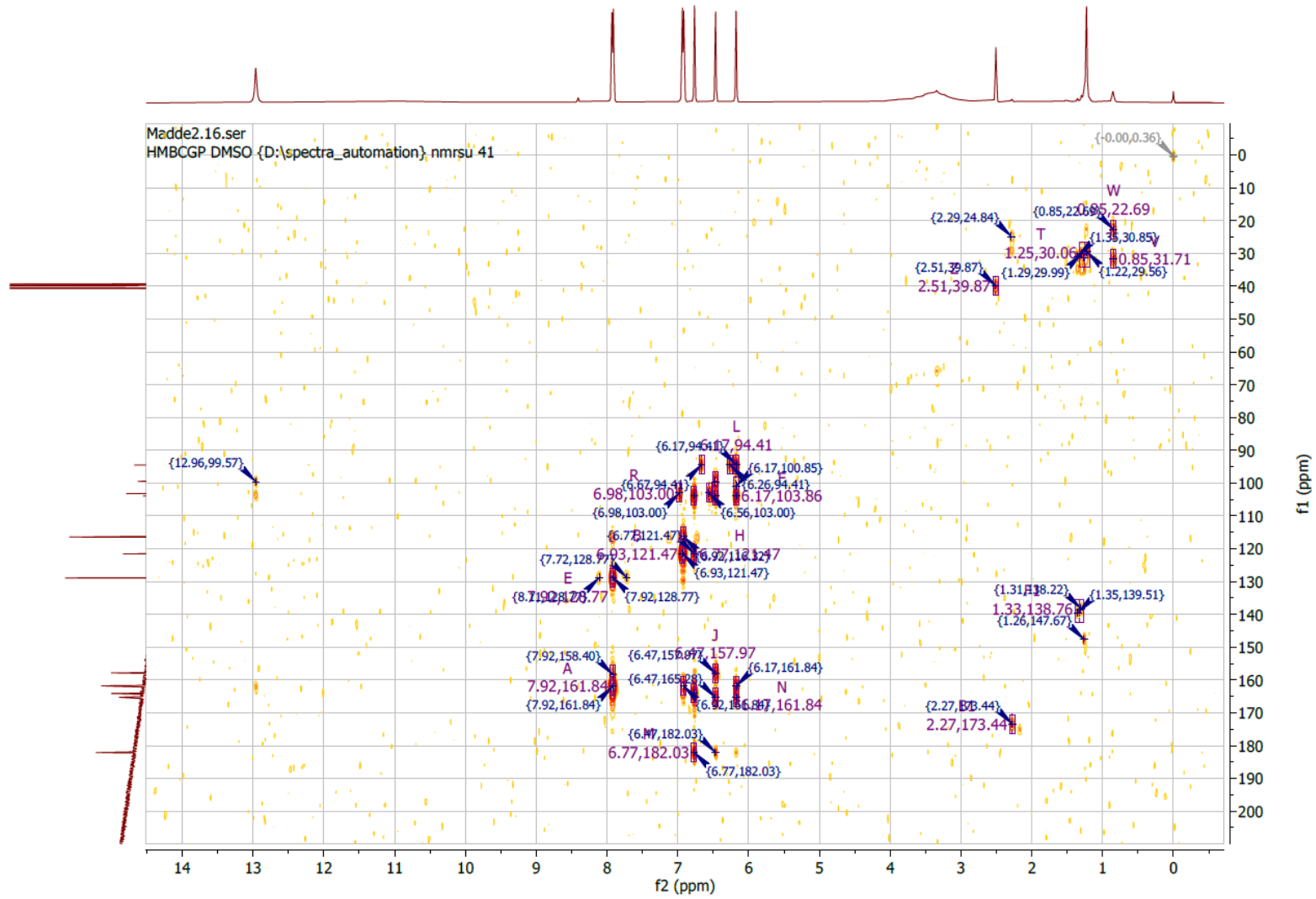
Şekil 4.12. Apigenin (Madde 2) bileşiğine ait ^1H -NMR spektrumu



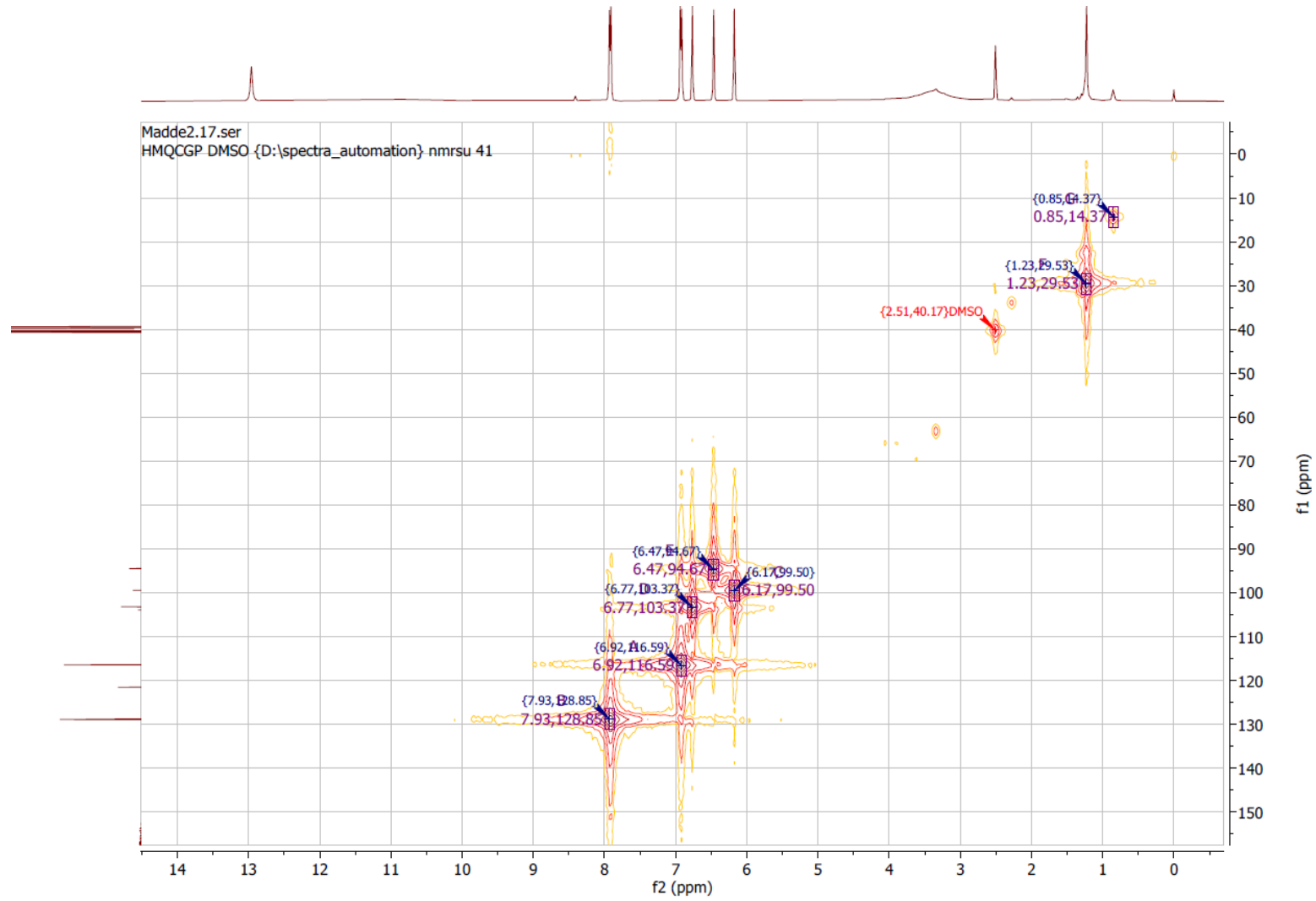
Şekil 4.13. Apigenin (Madde 2) bileşiğine ait ^{13}C -NMR spektrumu



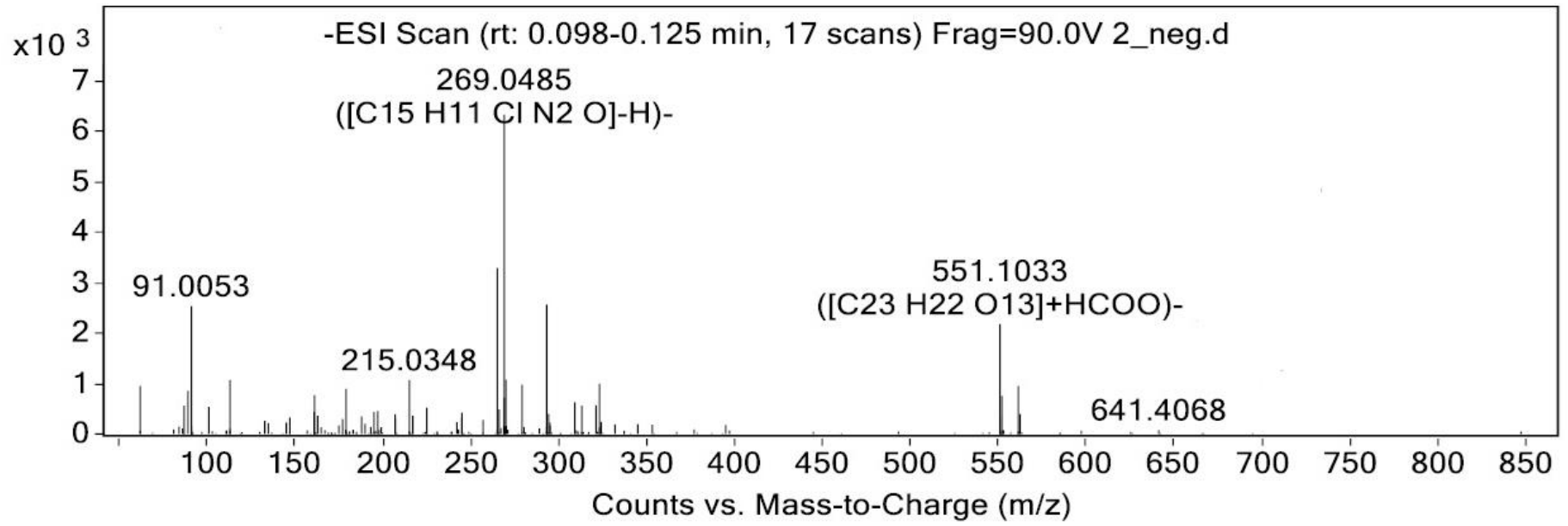
Şekil 4.14. Apigenin (Madde 2) bileşiğine ait COSY spektrumu



Şekil 4.15. Apigenin (Madde 2) bileşiğine ait HMBC spektrumu



Şekil 4.16. Apigenin (Madde 2) bileşiğine ait HMQC spektrumu



Şekil 4.17. Apigenine ait -ESI-MS spektrumu

4.4.3. İzole edilen madde 3'ün yapı tayini çalışmalarına ait bulgular

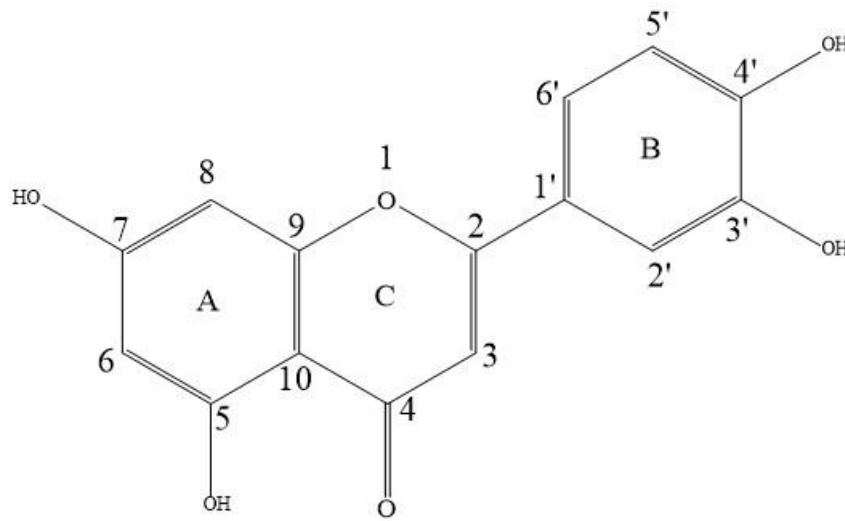
Luteolin (Madde 3)

Formül: $C_{15}H_{10}O_6$

Molar kütle: 286,24 g/mol

Kimyasal adı: 2-(3,4-Dihidroksifenil)-5,7-dihidroksi-4H-kromon-4-on

Sarı renkli, katı toz formunda olan Madde 3 kodlu bileşik İTK analizinde vanilin/ H_2SO_4 reaktifi ile $110^\circ C$ ' de koyu sarı renk vermektedir. UV366 nm'de kırmızı floresans gözlenmiştir (Şekil 4.18).



Şekil 4.18. Luteolin molekülü

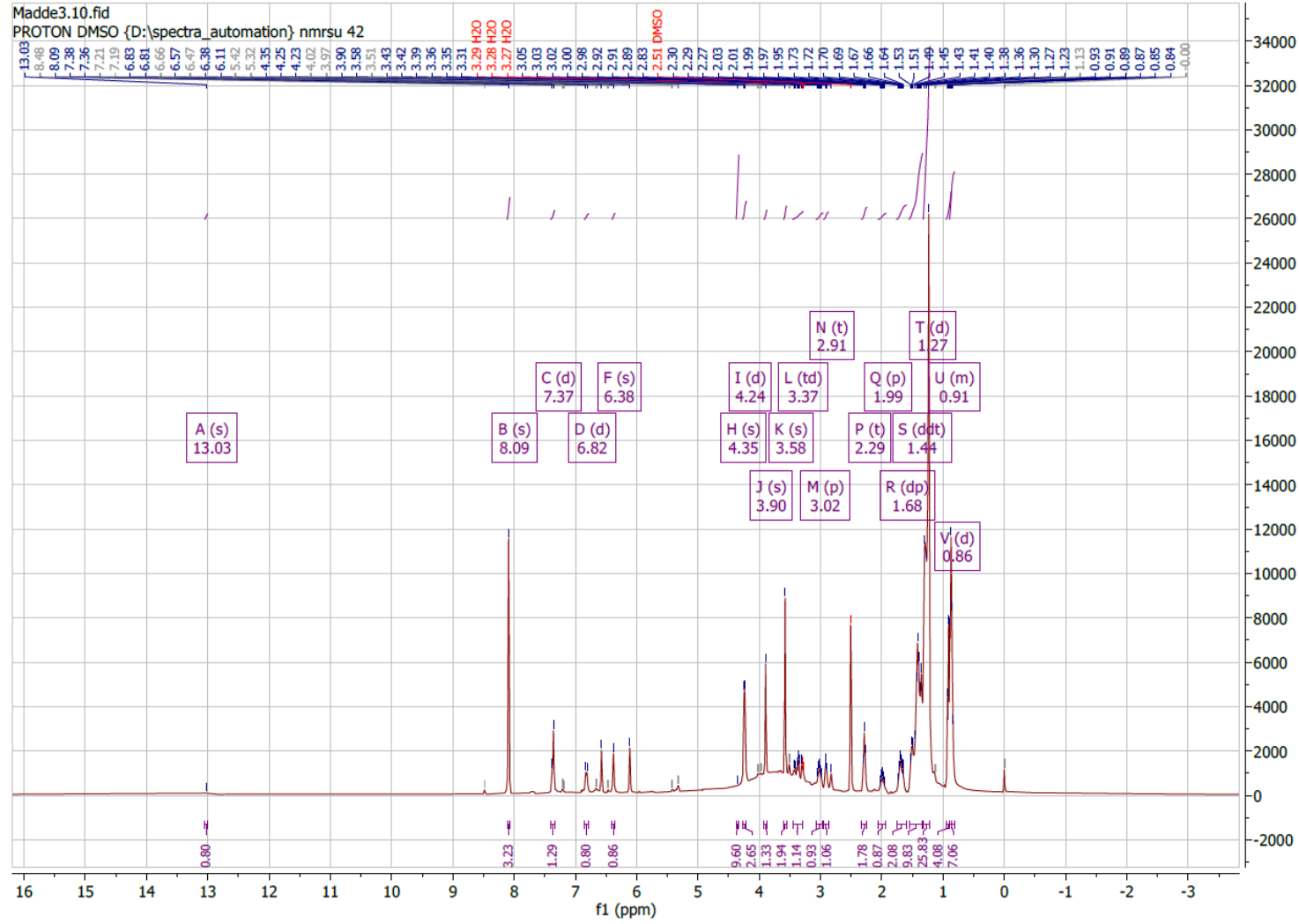
Luteolin molekülüne ait ^1H NMR spektrumunda δ_H 13,03 (s, 1H) sinyali C-5 ve C-7'deki OH grubuna, δ_H 6,82 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H) C-5' konumundaki protona işaret eder. HMBC verilerinde de görülen δ_H 6,12 ve δ_H 6,38 sinyalleri A halkasındaki, δ_H 7,37 ve δ_H 7,39 sinyalleri B halkasındaki, δ_H 6,57 sinyali C halkasındaki aromatik yapıda yer alan protonlara karşılık gelmektedir (Şekil 4.19).

Bileşiğin ^{13}C NMR spektrumunda δ_C 182,9 sinyali C-4'deki karbonil grubuna işaret etmektedir. OH grubunun bağlı olan C-5, C-7, C-3' ve C-4' karbonlarının HMBC verilerinde δ_C 166,13, δ_C 164,42, δ_C 151,96 ve 146,81 sinyallerini verdiği görülmüştür. HMBC verilerinde C-6 ve C-8, δ_C 99,82 ve δ_C 94,41, C-2', C-6' ve C-5' karbonları δ_C 113,31, 119,32 ve 116,40 ppm'de sinyal vermiştir. C-2: δ_C 165,71, C-9: δ_C 161,84, C-1': δ_C 120,61, C-3 ve C-10: δ_C 102,40 ve δ_C 103,43 sinyallerini vermiştir. (Çizelge 4.11 ve Şekil

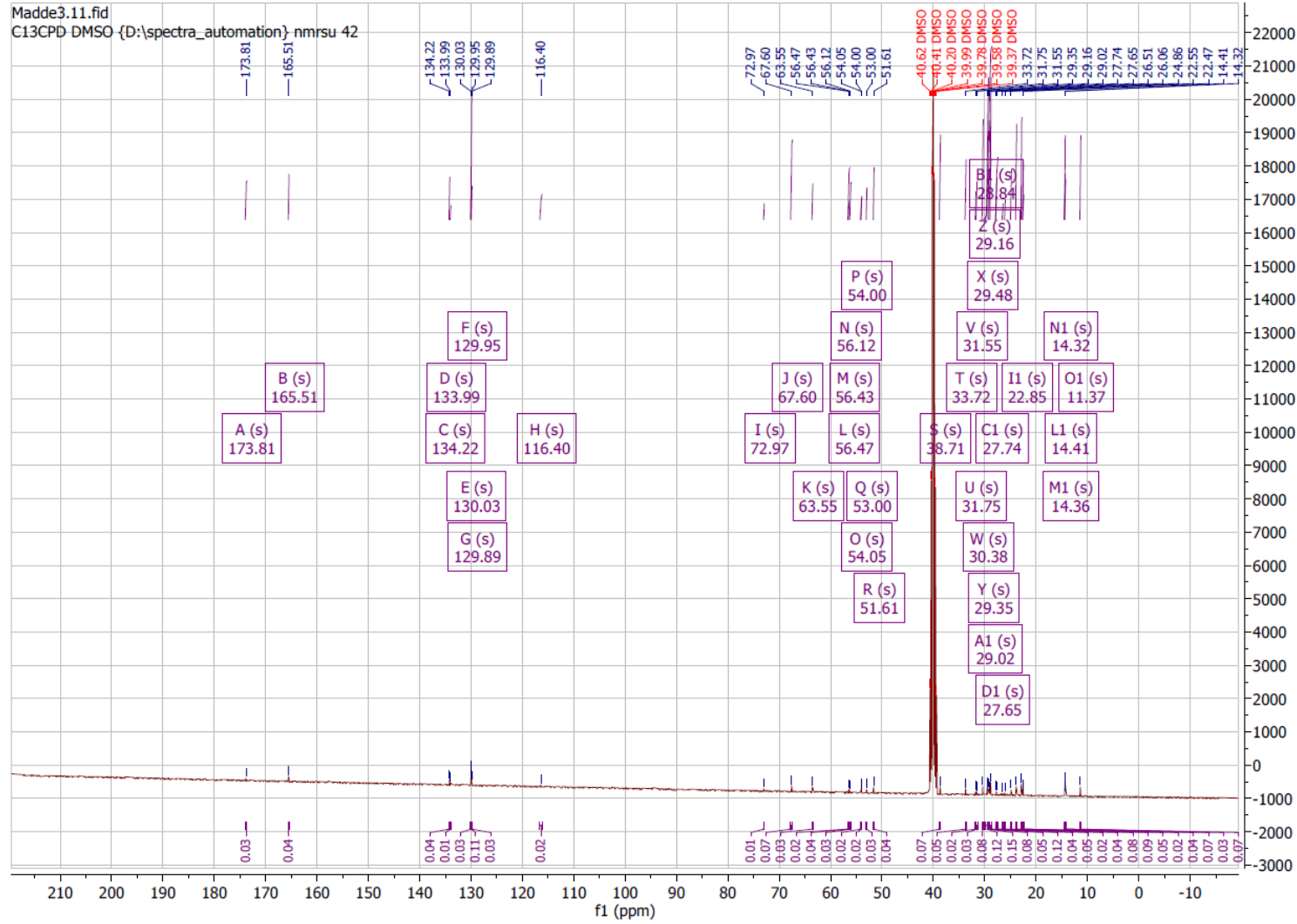
4.20). Şekil 4.21, 4.22 ve 4.23’de COSY, HMBC ve HMQC spektrumları verilmiştir. Luteolin için yapılan LC-MS QTOF analizinde bileşiğin kütlesi $[M-H]^-$ 285,04 g/mol olarak bulunmuş ve madde 3’ün luteolin olduğu kütle spektrumu ve literatür verileri ile teyit edilmiştir (Şekil 4.24) [285].

Çizelge 4.11. Luteolin molekülüne ait ^{13}C ve ^1H NMR spektrum sonuçları

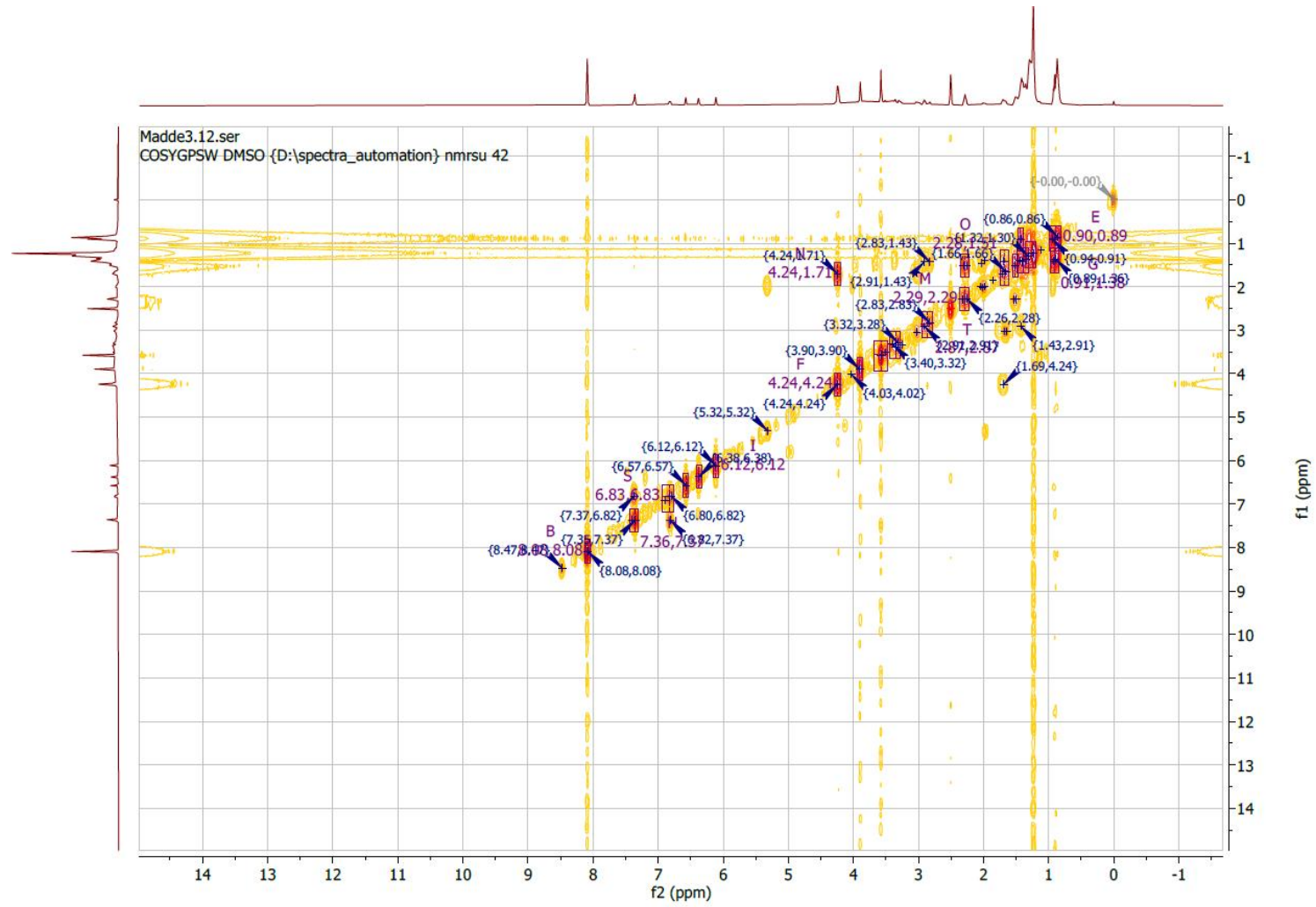
C/H	δ C ppm	δ H ppm	J (Hz)
C Halkası			
1	-	-	-
2	165,71 (Aromatik karbon)	-	-
3	102,40 (Aromatik karbon)	6,57 (Aromatik protonlar)	-
4	182,9 (C=O, Karbonil grubu)	-	-
A Halkası			
5	164,42 (C-O, Aromatik karbon)	13,03 (Fenolik hidroksil, OH)	-
6	99,82 (Aromatik karbon)	6,12 (Aromatik protonlar)	-
7	166,13 (C-O, Aromatik karbon)	13,03 (Fenolik hidroksil, OH)	-
8	94,41 (Aromatik karbon)	6,38 (Aromatik protonlar)	-
9	161,84 (Aromatik karbon)	-	-
10	103,43 (Aromatik karbon)	-	-
B Halkası			
1'	120,61 (Aromatik karbon)	-	-
2'	113,31 (Aromatik karbon)	7,37 (Aromatik protonlar)	9,0 Hz
3'	146,81 (Aromatik karbon)	-	-
4'	151,96 (C-O, Aromatik karbon)	-	-
5'	116,40 (C-O, Aromatik karbon)	6,82 (Aromatik protonlar)	8.4 Hz
6'	119,32 (Aromatik karbon)	7,39 (Aromatik protonlar)	-



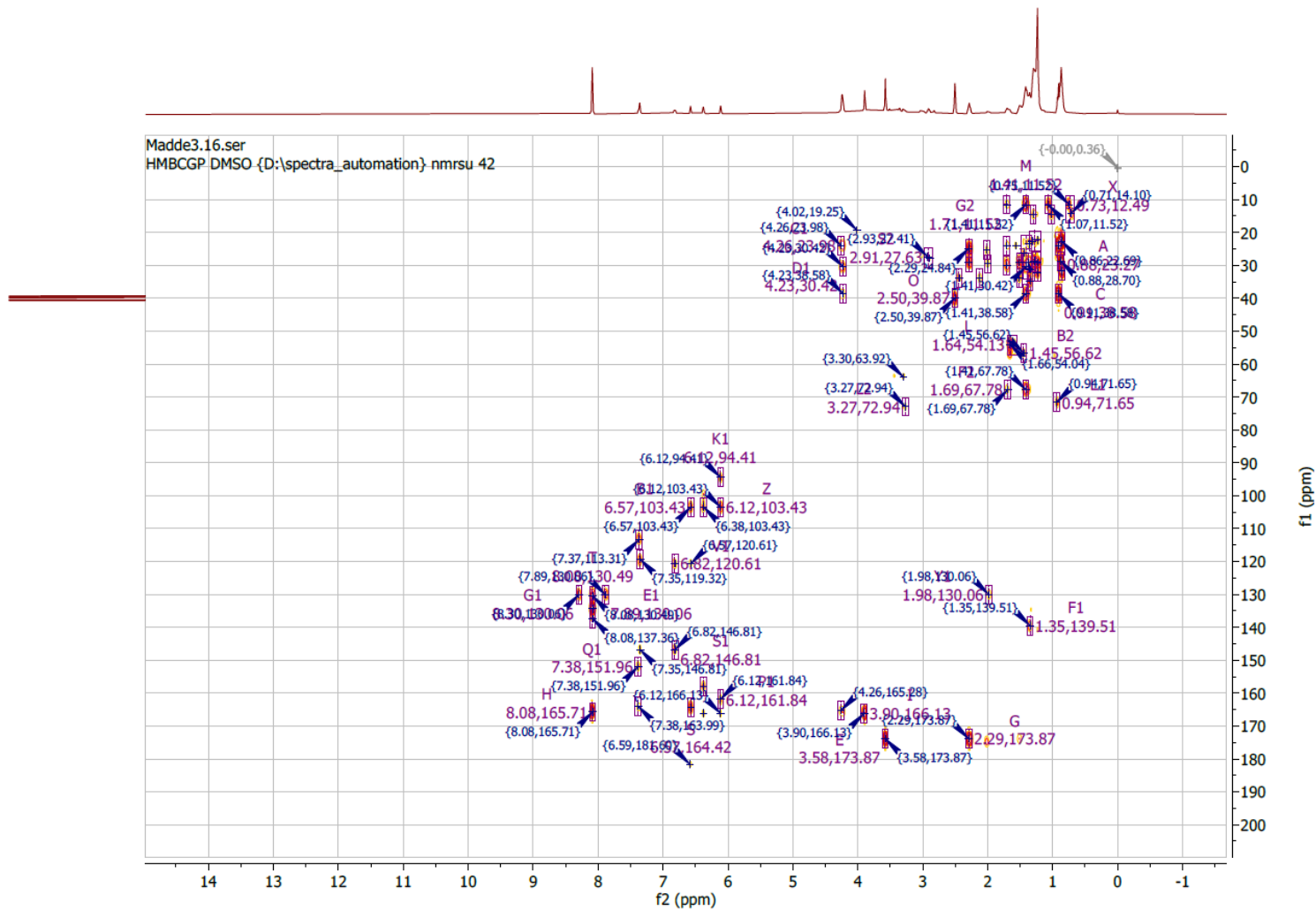
Şekil 4.19. Luteolin (Madde 3) bileşiğine ait ^1H NMR spektrumu



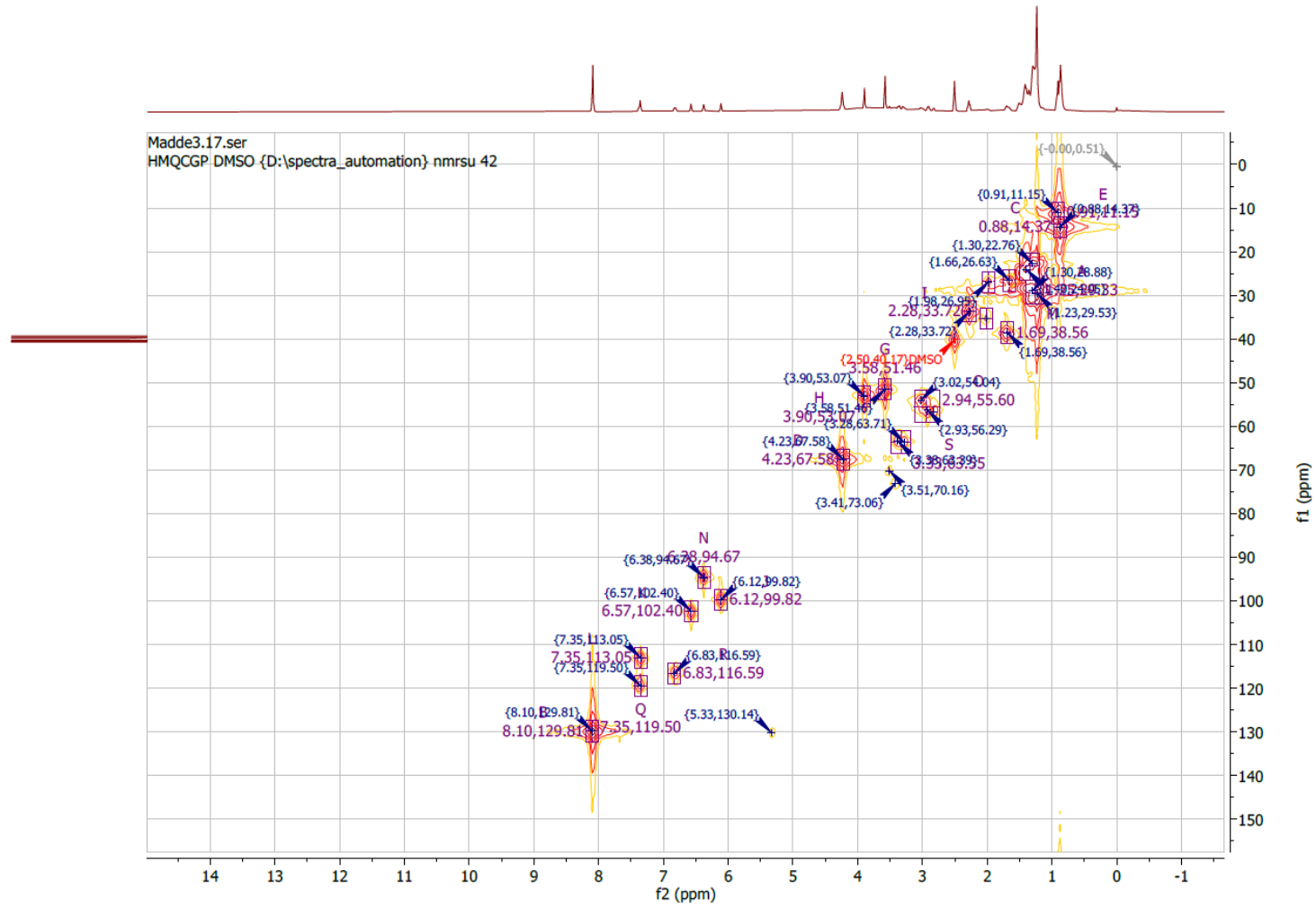
Şekil 4.20. Luteolin (Madde 3) bileşiğine ait ^{13}C NMR spektrumu



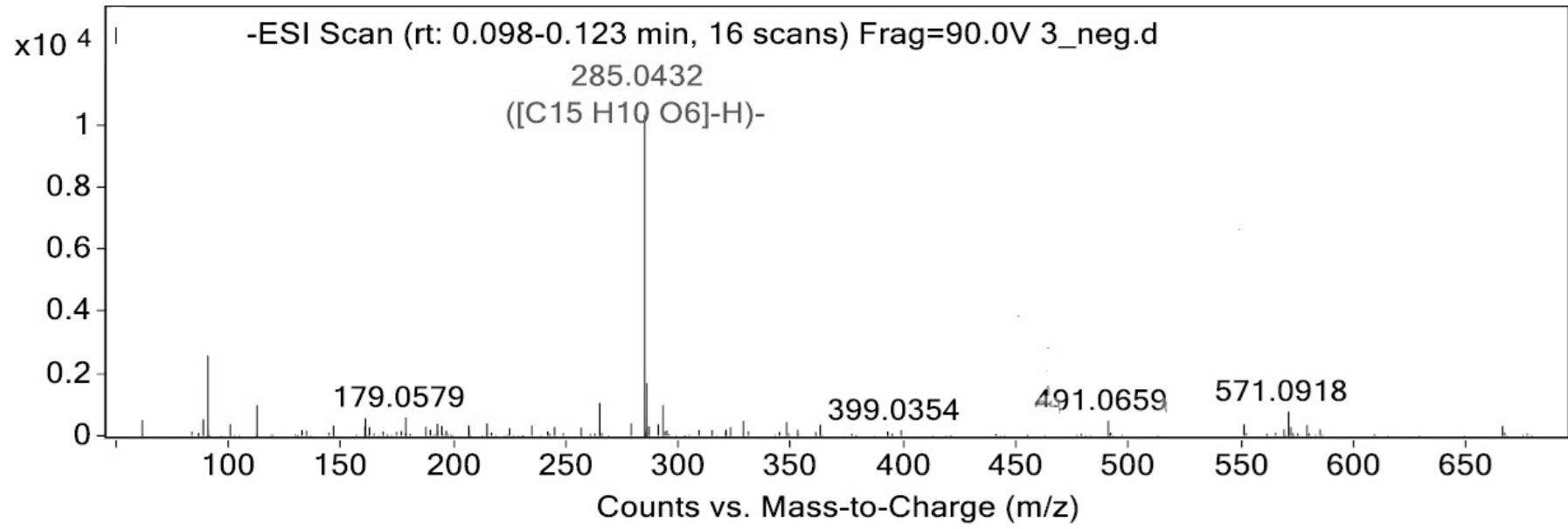
Şekil 4.21. Luteolin (Madde 3) bileşiğine ait COSY spektrumu



Şekil 4.22. Luteolin (Madde 3) bileşiğine ait HMBC spektrumu



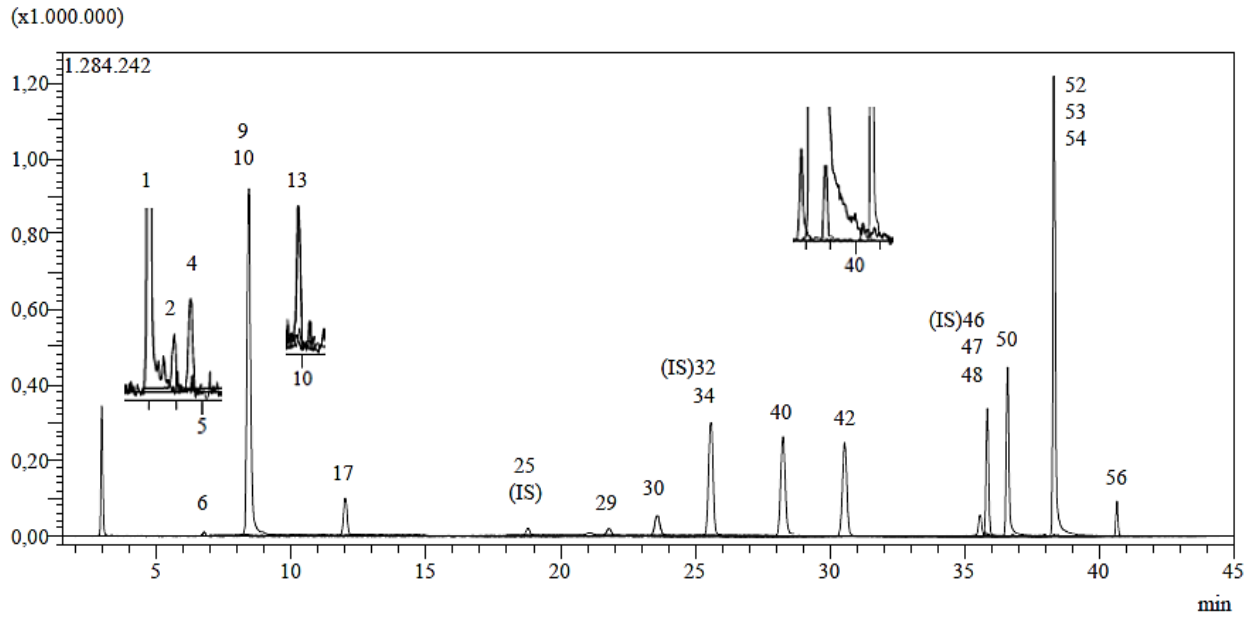
Şekil 4.23. Luteolin (Madde 3) bileşiğine ait HMQC spektrumu



Şekil 4.24. Luteoline ait -ESI-MS spektrumu

4.4.4. LC-MS/MS analiz sonuçları

H. plicatum toprak üstü etanollü ekstresinde gerçekleştirilen fitokimyasal analiz çalışmasında 53 fenolik bileşiğin analizi yapılmış ve toplam 20 fenolik bileşik saptanmıştır (Şekil 4.25 ve Çizelge 4.12). Kinik asit (22,649 mg/g ekstre), klorojenik asit (14,573 mg/g ekstre), izokersitrin (14,371 mg /g ekstre), kosmosiin (9,885 mg /g ekstre) ve astragalin (11,506 mg /g ekstre) major bileşen olarak tespit edilmiştir. *H. plicatum*'dan AYF işlemi sonucu elde edilen naringenin, apigenin ve luteolin bileşikleri sırasıyla 1,457 mg/g ekstre, 1,368 mg/g ekstre ve 2,518 mg/g ekstre oranlarında bulunmuştur. Ayrıca *H. plicatum*'da benzoik asit, fumarik asit, gallik asit, protokateşik asit, kafeik asit, protokateşik aldehit, salisilik asit, sinarozit, kersetin, kemferol, amentoflavon ve akasetin bileşikleri düşük oranlarda bulunmaktadır.



Şekil 4.25. *Helichrysum plicatum* etanollü ekstresi LC-MS/MS kromatogramı

Çizelge 4.12. *Helichrysium plicatum* etanolü ekstresinde fenolik bileşiklerin LC-MS/MS ile tanımlanması ve miktarlarının belirlenmesi

No.	Analitler	RT ^a	M.I. (m/z) ^b	İyon modu	Denklem	r ^{2c}	RSD% ^d	LOD/LOQ (µg/L) ^e	(mg analit/g ekstre)
1	Kinik asit	3,0	190,8	Neg	y=-0,0129989+2,97989x	0,996	0,69	25,7/33,3	22,649
2	Fumarik asit	3,9	115,2	Neg	y=-0,0817862+1,03467x	0,995	1,05	135,7/167,9	0,656
3	Akonitik asit	4,0	172,8	Neg	y=-0,7014530+32,9994x	0,971	2,07	16,4/31,4	-
4	Gallik asit	4,4	168,8	Neg	y=0,0547697+20,8152x	0,999	1,60	13,2/17,0	0,021
5	Epigallokateşin	6,7	304,8	Neg	y=-0,00494986+0,0483704x	0,998	1,22	237,5/265,9	-
6	Protokateşik asit	6,8	152,8	Neg	y=0,211373+12,8622x	0,957	1,43	21,9/38,6	0,236
7	Kateşin	7,4	288,8	Neg	y=-0,00370053+0,431369x	0,999	2,14	55,0/78,0	-
8	Gentisik asit	8,3	152,8	Neg	y=-0,0238983+12,1494x	0,997	1,81	18,5/28,2	-
9	Klorojenik asit	8,4	353,0	Neg	y=0,289983+36,3926x	0,995	2,15	13,1/17,6	14,573
10	Protokateşik asit aldehit	8,5	137,2	Neg	y=0,257085+25,4657x	0,996	2,08	15,4/22,2	0,069
11	Tannik asit	9,2	182,8	Neg	y=0,0126307+26,9263x	0,999	2,40	15,3/22,7	-
12	Epigallokateşin gallat	9,4	457,0	Neg	y=-0,0380744+1,61233x	0,999	1,30	61,0/86,0	-
13	1,5-dikaffeoilkinik asit	9,8	515,0	Neg	y=-0,0164044+16,6535x	0,999	2,42	5,8/9,4	0,055
14	4-OH Benzoik asit	10,5	137,2	Neg	y=-0,0240747+5,06492x	0,999	1,24	68,4/88,1	-
15	Epikateşin	11,6	289,0	Neg	y=-0,0172078+0,0833424x	0,996	1,47	139,6/161,6	-
16	Vanilik asit	11,8	166,8	Neg	y=-0,0480183+0,779564x	0,999	1,92	141,9/164,9	-
17	Kafeik asit	12,1	179,0	Neg	y=0,120319+95,4610x	0,999	1,11	7,7/9,5	0,544
18	Sirinjik asit	12,6	196,8	Neg	y=-0,0458599+0,663948x	0,998	1,18	82,3/104,5	-
19	Vanilin	13,9	153,1	Poz	y=0,00185898+20,7382x	0,996	1,10	24,5/30,4	-
20	Sirinjik aldehit	14,6	181,0	Neg	y=-0,0128684+7,90153x	0,999	2,51	19,7/28,0	-
21	Daidzin	15,2	417,1	Poz	y=9,45747+152,338x	0,996	2,25	7,0/9,5	-
22	Epikateşin gallat	15,5	441,0	Neg	y=-0,0142216+1,06768x	0,997	1,63	19,5/28,5	-
23	Piseit	17,2	391,0	Poz	y=0,00772525+25,4181x	0,999	1,94	13,8/17,8	-
24	p-Kumarik asit	17,8	163,0	Neg	y=0,0249034+18,5180x	0,999	1,92	25,9/34,9	-
25	Ferulik asit-D3-IS	18,8	196,2	Neg	-	-	-	-	-
26	Ferulik asit	18,8	192,8	Neg	y=-0,0735254+1,34476x	0,999	1,44	11,8/15,6	-
27	Sinapik asit	18,9	222,8	Neg	y=-0,0929932+0,836324x	0,999	1,45	65,2/82,3	-
28	Kumarin	20,9	146,9	Poz	y=0,0633397+136,508x	0,999	2,11	214,2/247,3	-
29	Salisilik asit	21,8	137,2	Neg	y=0,239287+153,659x	0,999	1,48	6,0/8,3	0,032
30	Sinarozit	23,7	447,0	Neg	y=0,280246+6,13360x	0,997	1,56	12,1/16,0	1,634
31	Miquelianin	24,1	477,0	Neg	y=-0,00991585+5,50334x	0,999	1,31	10,6/14,7	-
32	Rutin-D3-IS	25,5	612,2	Neg	-	-	-	-	-
33	Rutin	25,6	608,9	Neg	y=-0,0771907+2,89868x	0,999	1,38	15,7/22,7	-
34	İzokersitrin	25,6	463,0	Neg	y=-0,111120+4,10546x	0,998	2,13	8,7/13,5	14,371
35	Hesperidin	25,8	611,2	Poz	y=0,139055+13,2785x	0,999	1,84	19,0/26,0	-
36	o-Kumarik asit	26,1	162,8	Neg	y=0,00837193+11,2147x	0,999	2,11	31,8/40,4	-
37	Genistin	26,3	431,0	Neg	y=1,65808+7,57459x	0,991	2,01	14,9/21,7	-
38	Rosmarinik asit	26,6	359,0	Neg	y=-0,0117238+8,04377x	0,999	1,24	16,2/21,2	-
39	Elajik asit	27,6	301,0	Neg	y=0,00877034+0,663741x	0,999	1,57	56,9/71,0	-
40	Kosmosiin	28,2	431,0	Neg	y=-0,708662+8,62498x	0,998	1,65	6,3/9,2	9,885
41	Kersitrin	29,8	447,0	Neg	y=-0,00153274+3,20368x	0,999	2,24	4,8/6,4	-
42	Astragalin	30,4	447,0	Neg	y=0,00825333+3,51189x	0,999	2,08	6,6/8,2	11,506
43	Nikotiflorin	30,6	592,9	Neg	y=0,00499333+2,62351x	0,999	1,48	11,9/16,7	-
44	Fisetin	30,6	285,0	Neg	y=0,0365705+8,09472x	0,999	1,75	10,1/12,7	-
45	Daidzein	34,0	253,0	Neg	y=-0,0329252+6,23004x	0,999	2,18	9,8/11,6	-
46	Kersetin-D3-IS	35,6	304,0	Neg	-	-	-	-	-
47	Kersetin	35,7	301,0	Neg	y=+0,00597342+3,39417x	0,999	1,89	15,5/19,0	0,319
48	Naringenin	35,9	270,9	Neg	y=-0,00393403+14,6424x	0,999	2,34	2,6/3,9	1,457
49	Hesperetin	36,7	301,0	Neg	y=+0,0442350+6,07160x	0,999	2,47	7,1/9,1	-
50	Luteolin	36,7	284,8	Neg	y=-0,0541723+30,7422x	0,999	1,67	2,6/4,1	1,368
51	Genistein	36,9	269,0	Neg	y=-0,00507501+12,1933x	0,999	1,48	3,7/5,3	-
52	Kemferol	37,9	285,0	Neg	y=-0,00459557+3,13754x	0,999	1,49	10,2/15,4	0,091
53	Apigenin	38,2	268,8	Neg	y=0,119018+34,8730x	0,998	1,17	1,3/2,0	2,518
54	Amentoflavon	39,7	537,0	Neg	y=0,727280+33,3658x	0,992	1,35	2,8/5,1	0,003
55	Krizin	40,5	252,8	Neg	y=-0,0777300+18,8873x	0,999	1,46	1,5/2,8	-
56	Akasetin	40,7	283,0	Neg	y=-0,559818+163,062x	0,997	1,67	1,5/2,5	0,005

^aR.T.: Alıkonma zamanı, ^bMI (m/z): Standart analitlerin moleküler iyonları (m/z oranı), ^cr²: Regresyon katsayısı, ^dRSD: Bağlı standart sapma, ^eLOD/LOQ (µg/L): Tespit/miktar sınırı

5. TARTIŞMA

KVY, alt ekstremitelerde kanın geriye doğru akışıyla karakterize, yaşam kalitesini düşüren ve yaygınlığı giderek artmakta olan bir rahatsızlıktır [286]. Bacak ağrısı ve bacaklarda ağırlık hissi semptomlar arasında yer alırken, klinik belirtiler arasında varisli damarlar, ödem, cilt renginin değişmesi, lipodermatoskleroz ve şiddetli vakalarda venöz ülserasyon yer almaktadır [287]. KVY'den sorumlu kesin patofizyolojik mekanizma hala belirsizdir. Alt ekstremitenin yüzeysel, perforatör ve derin venlerindeki kapak yetersizliği, kas pompasının işlev bozukluğu, venöz obstrüksiyon, venöz kanın geri dönüşünde bozulma ve dolayısıyla venöz basınçta meydana gelen artış (venöz hipertansiyon) KVY'nin ana nedenleridir [288]. KVY'nin tedavisini girişimsel tedavi, kompresyon tedavisi ve oral farmakolojik tedavi oluşturmaktadır. Venöz fonksiyonu iyileştirmeye yönelik girişimsel tedavi seçenekleri, diğer semptomatik tedavi seçenekleri kullanılmadan önce birinci basamak yaklaşım olarak kabul edilir. Girişimsel bir yaklaşım uygulanamıyorsa veya istenmiyorsa veya semptomlar terapötik bir müdahaleden sonra devam ediyorsa, semptom bazlı tedavi seçeneklerinden kompresyon ve farmakolojik tedavi tek başına veya kombinasyon halinde kullanılabilir [289]. Farmakolojik tedaviyi oluşturan en önemli ilaç grubu venoaktif ilaçlardır. Venoaktif ilaçlar uzun yıllardır KVY tedavisinde kullanılmaktadır [290]. Venoaktif preparatların etkinliğine ilişkin kapsamlı bir incelemede, damarla ilişkili ağrı, bacak ağırlığı ve/veya şişlik hissi tedavisi için MPFF, hidroksietilrutozitler, at kestanesi ekstresi, kırmızı asma yaprağı ekstresi ve *Ruscus* ekstreleri önerilmektedir [291, 292]. Bu ilaçların temel etki biçimleri kılcal geçirgenliği azaltmaya, enflamatuvar medyatörlerin salınımını azaltmaya veya venöz tonu iyileştirmeye dayanır. Genel olarak, farklı bitkilerden elde edilen flavonoidlerin veya flavonoid açısından zengin fraksiyonların uygulanması, terapötik amaçlara ulaşmada yararlı olmuştur. Damar duvarları üzerinde yararlı etkilere sahip diğer bir sekonder metabolit grubu triterpenik saponinlerdir. Triterpenik saponinlerin etki mekanizmaları kısmen farklıdır ve damar duvarı yapısının bozulmasından sorumlu olan belirli enzimlerin inhibisyonunu içerir [26, 54]. Avrupa İlaç Ajansı (EMA), köklü kullanım (bir bitkisel ilacın aktif bileşeninin 10 yıldan uzun süredir kullanılması ve etkinliğinin ve güvenliğinin iyi bir şekilde belirlenmiş olması) ile geleneksel kullanım arasında ayrım yapmaktadır. Bu sınıflandırmaya göre, Hippocastani semen ve Vitis viniferae folium ekstreleri köklü kullanım kategorisindedir. Ginkgonis folium, Meliloti herba, Rosmarini aetheroleum, Rusci rhizoma ve Myrtilli fructus recens, KVY semptomları için geleneksel olarak kullanılabilir [26].

Venöz patofizyolojide, yükselen venöz basınç ve akım kuvvetindeki değişim, damar duvarlarında ve kapakçıklarda anormal bir biyomekanik ortam oluşturur. Biyomekanik anormallikler, endotel disfonksiyonuna neden olarak, ekstraselüler matrisi parçalayan ve buna karşılık bir lökosit infiltrasyonu ve enflamasyon kaskadını harekete geçiren enzimlerin erken salınmasına ve aktive olmasına yol açar [79].

Varisli damar patolojisinde rol oynayan enzimler arasında XO yer almaktadır. Damar katmanları ve çevre dokuları etkileyen kan durgunluğu ve hipoksi nedeniyle ATP, ksantin dehidrogenazın (XD) XO'a dönüşmesiyle hipoksantine parçalanır. Ek olarak aktive olmuş nötrofiller de endotel hücreleriyle etkileşerek, XD'ın XO'a dönüşümüne neden olur [62, 293]. XO, aşırı serbest radikal üretimine neden olarak hastalığın daha ileriye gitmesine yol açar [62]. Yapılan başka bir çalışmada elastaz enziminin XD'ın XO'a dönüşümüne katkıda bulunduğu gösterilmiştir. Elastaz inhibitörlerinin, uyarılan nötrofiller tarafından XD'ın oksidaza dönüşümünü, nötrofillerin endotel hücre monokatmanına yapışmasını engellemeden önemli ölçüde inhibe ettiği gösterilmiştir [293]. Lökosit elastazı, nötrofiller tarafından aracılık edilen damar duvarının iltihabı ve hücre dışı proteolizinden sorumlu olan majör bir proteinazdır, doku geçirgenliğini artırır ve nötrofillerin enflamasyon bölgesine göçünü kolaylaştırır [197]. Kolajenaz, hyaluronidaz ve elastaz enzimleri, proteoglikan sentezinin azaldığı durumlarda venöz yapılarda hasara neden olur [294]. Çalışmalar, varisli damarları olan hastalarda alt ekstremitelerin venöz kanında elastaz ve kolajenaz gibi MMP'ların arttığını göstermiştir. Bu nedenle MMP'daki artışın venöz yetersizliğin temel bir aracısı olarak kabul edilebileceği öne sürülmüştür [79, 295]. Artan hyaluronidaz aktivitesi ise yalnızca ECM bozunumu ve artan doku geçirgenliğinden sorumlu değildir, aynı zamanda güçlü bir enflamasyon indükleyicisi olduğu bilinen hyaluronanın ortaya çıkmasına da yol açar [296]. Hyaluronidaz, düşük moleküler ağırlıklı hyaluronik asit parçaları üretmek için vasküler endotel hücrelerinin bütünlüğünü ve geçirgenliğini korumada önemli bir rol oynayan glikokaliksi parçalar. Endotel hücrelerinde enflamasyon ve hasara neden olabilir [297]. Proenflamatuvar enzimlerden biri olan LOX ürünleri, ateroskleroz ve varisli damarlar dahil olmak üzere enflamasyonun aracıları olarak bilinir. Yüksek LOX aktivitesi ayrıca peroksil radikallerinin ve diğer serbest radikallerin oluşumunda artışa neden olur [53]. Yapılan bir çalışmada, POP enziminin inhibisyonunun venöz duvardaki anormallikleri düzelttiği ve KVV'nin enflamasyon sürecini azalttığı belirlenmiştir [57].

Bu nedenle, bu tez kapsamında seçilen bitki ekstrelerinin varisle ilişki enzimlerden XO, hyaluronidaz, elastaz, kolajenaz ve POP enzimlerine karşı inhibitör aktiviteleri değerlendirilmiştir. Sonuçlar değerlendirildiğinde POP ($99,99\% \pm 0,01$) ve XO'a ($IC_{50} = 85,85 \pm 0,91 \mu\text{g/mL}$) karşı en yüksek inhibitör aktivite gösteren *H. plicatum* ana ekstresi izolasyon çalışmaları için seçilmiştir. Tezde en yüksek aktivite gösteren tür olarak seçilen *H. plicatum*'un daha önce varis ile ilişkilendirilen enzimlerin inhisyonuna yönelik çalışması bulunmamaktadır.

Halk arasında varis tedavisi için kullanılan diğer bitkilerin aktivitesi değerlendirildiğinde, *B. vulgaris* meyve ekstresinin ($95,24\% \pm 5,84$) POP enzimine karşı yüksek inhibitör aktivite gösterdiği bulunmuştur. Bu etkinin bitkinin major bileşeni olduğu bilinen berberinden [298] kaynaklanmış olabileceği öngörülmektedir. Yapılan çalışmalarda berberinin ($IC_{50} = 142,0 \pm 21,5 \mu\text{M}$) güçlü bir POP inhibitörü olduğu doğrulanmıştır [299, 300]. LOX enzimine karşı inhibitör aktivitesi en yüksek olan *U. dioica* ($45,82\% \pm 2,48$) üzerinde yapılan çalışmalara bakıldığında, bitkinin enflamasyonu azalttığına dair birçok veri mevcuttur. *U. dioica* deney hayvanlarına oral olarak uygulandıktan sonra sıçan pençe ödemi indometazine benzer şekilde inhibe etmiştir. Bu antienflamatuvar aktivite LOX ve sitokin üretiminin inhibisyonundan kaynaklanmaktadır [204]. *S. indicum* tohumları, *U. dioica*'dan sonra LOX enzimine karşı orta derecede inhibitör aktivite ($IC_{50} = 41,07 \pm 3,77$) göstermiştir. Yapılan çalışmalar susamda bulunan lignan yapısındaki sesamolün doza bağlı şekilde ($IC_{50} = 51,84 \mu\text{M}$) kuvvetli LOX inhibitör özelliğe sahip olduğunu göstermiştir [301]. Hyaluronidaz enzimine karşı en yüksek inhibitör aktiviteyi *L. salicaria* yaprak ekstresi ($IC_{50} = 70,76 \pm 3,34 \mu\text{g/mL}$) göstermiştir. Bir çalışmada, *L. salicaria* toprak üstü kısmının, $IC_{50} = 10,1 \pm 1,2 \mu\text{g/mL}$ ile doza bağlı bir şekilde hyaluronidaz aktivitesini inhibe ettiği ve $20 \mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda $94,4 \pm 0,6\%$ inhibisyona ulaştığı gösterilmiştir [296]. Başka bir çalışmada *L. salicaria*'nın $10 \mu\text{g/mL}$ konsantrasyonunda $64,9\%$ ($IC_{50} = 8,1 \pm 0,8 \mu\text{g/mL}$) hyaluronidaz enzim inhibisyonu gösterdiği bulunmuştur [302]. Bununla birlikte, *L. salicaria*'nın NO radikal ($IC_{50} = 133,00 \pm 6,79 \mu\text{g/mL}$) ve süperoksit anyonu süpürücü ($274,77 \text{ vit C mg/g}$ ekstre) aktivite deneylerinde de ekstreler arasında en yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğu bulunmuştur. Yapılan başka bir çalışmada, farklı yöntemlerle hazırlanan *L. salicaria* yaprak ekstrelerinin NO radikal süpürücü etkilerinin $0,73 \pm 0,03 \text{ mg/mL}$ ile $1,41 \pm 0,07 \text{ mg/mL}$ IC_{50} değerleri arasında olduğu tespit edilmesine rağmen pozitif kontrol olarak kullanılan kersetine ($IC_{50} = 0,16 \pm 0,01 \text{ mg/mL}$) göre aktivitesi zayıf bulunmuştur [303]. Bu tez kapsamında yapılan NO radikal süpürücü aktivite deneyinde *L.*

salicaria'nın pozitif kontrol olarak kullanılan vitamin C'den ($IC_{50} = 25,28 \pm 2,98 \mu\text{g/mL}$) daha zayıf etki gösterdiği görülmüştür. Bu çalışmanın, daha önce yapılan çalışmalarla benzer şekilde sonuç verdiği söylenebilir.

In vitro aktivite ve izolasyon çalışmalarına *H. plicatum* %80 etanol ekstresinden devam edilerek sıvı-sıvı ekstraksiyon tekniği ile sırasıyla *n*-hekzan, CH_2Cl_2 , EtOAc, *n*- BuOH ve kalan su alt ekstrahları hazırlanmıştır. XO ($IC_{50} = 28,06 \pm 2,70 \mu\text{g/mL}$) ve hyaluronidaz ($76,28\% \pm 4,10$) enzimine karşı en aktif çıkan EtOAc alt ekstresinden AYF çalışmasına devam edilmiştir. *H. plicatum* ekstresinin XO üzerindeki inhibitör aktivitesinden dolayı AYF çalışması aşamalarında XO enzimi belirleyici olarak seçilmiştir. EtOAc alt ekstresinden hareketle Sephadex LH-20 kolon kromatografisi ile 8 fraksiyon elde edilmiş ve Sep. Fr. 50-55 ($IC_{50} = 9,18 \pm 0,31 \mu\text{g/mL}$) ve Sep. Fr. 56-80 ($IC_{50} = 3,82 \pm 0,17 \mu\text{g/mL}$) fraksiyonlarının aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Aktif çıkan iki fraksiyonun İTK profilleri değerlendirildiğinde benzer madde grupları taşıdığı görülmüş ve bu madde grupları izolasyon işleminin devamı için hedeflenmiştir. Sep. Fr. 50-55 silikajel kolon kromatografisi, Sep. Fr. 56-80 ise vakumlu ters faz silikajel kolon kromatografisi tekniği ile ayrılmıştır. İzolasyon çalışmalarında preparatif İTK yönteminden de faydalanılarak naringenin (madde 1), apigenin (madde 2) ve luteolin (madde 3) izole edilmiştir. *H. plicatum*'dan hareketle yapılan AYF işlemi boyunca saf maddeye inene kadar XO'a karşı inhibitör aktivite artış göstermiştir. Si. 1-4 fraksiyonunun İTK profilinde major olduğu görülen naringenin ve apigenin ($IC_{50} = 0,269 \pm 0,009 \mu\text{g/mL}$), Si. 8-11 fraksiyonunun İTK profilinde major olduğu görülen apigenin ve luteolin ($IC_{50} = 0,285 \pm 0,019 \mu\text{g/mL}$) birbirleriyle sinerjik etki göstererek pozitif kontrol olan allopurinol ($0,250 \pm 0,006 \mu\text{g/mL}$) kadar etkili bulunmuştur. İzole edilen naringenin ($IC_{50} = 35,28 \pm 1,39 \mu\text{g/mL}$), apigenin ($IC_{50} = 10,85 \pm 2,22 \mu\text{g/mL}$) ve luteolin ($IC_{50} = 14,26 \pm 0,72 \mu\text{g/mL}$) bileşiklerinin ayrı ayrı XO enzimine karşı inhibitör aktiviteleri değerlendirildiğinde ise etkinin azaldığı görülmüştür.

Daha önce yapılan çalışmalarda *H. plicatum*'un ileri kromatografik tekniklerle fitokimyasal içeriği aydınlatılmış olmasına rağmen üzerinde AYF çalışmaları gerçekleştirilmemiştir. İlk kez bu tez kapsamında bitkiden hareketle aktif olarak öngörülen üç bileşik izole edilmiştir. *H. plicatum* türünde yapılan fitokimyasal çalışmalarda apigenin, naringenin, luteolin, kemferol ve bunların glikozitleri, kersetin, dikaffeoilkinik asit, izokersitrin, β -sitosterol, nonakosanoik asit, astragalin, β -sitosterol-3-*O*- β -D-glukoiranozit, helikrizin A (naringenin-

5- β -D-glukozit, 2 *R*-enantiyomer), helikrizin B (naringenin-5- β -D-glukozit, 2 *R,S*-enantiyomerler), izosalipurpozit, klorojenik asit, kafeik asit, *p*-kumarik asit, hesperidin, gallik asit, sirinjik asit, benzoik asit ve kalkon türevleri gibi bileşiklerin varlığı kanıtlanmıştır [215, 221, 239, 242]. Bu tez kapsamında yapılan LC-MS/MS analiz çalışmasında *H. plicatum* toprak üstü etanollü ekstresinde kinik asit, benzoik asit, fumarik asit, gallik asit, protokateşik asit, klorojenik asit, kafeik asit, protokateşik aldehit, salisilik asit, sinarozit, izokersitrin, kosmosiin, astragalin, kersetin, naringenin, luteolin, kemferol, apigenin, amentoflavon ve akasetin bileşikleri saptanmıştır. Elde edilen sonuçlar yapılan diğer fitokimyasal çalışmalarla benzerlik göstermektedir.

İzole edilen bileşiklerden Madde 1 yapılan NMR ve MS çalışmaları sonucunda naringenin olarak tespit edilmiştir. Naringenin (IC₅₀= 35,28 $\pm$ 1,39 μ g/mL) XO enzimine karşı inhibisyonu apigenin ve luteolinden 2,5-3 kat daha düşüktür. Yapılan bir çalışmada naringenin molekülünün XO'a karşı 100 μ M final konsantrasyonunda %49 inhibisyon gösterdiği bulunmuştur [304]. Benzer şekilde başka bir çalışmada naringenin (20 μ M konsantrasyonunda) molekülü XO'a karşı orta derecede inhibisyon göstermiştir [305]. Bir başka çalışmada ise naringenin (IC₅₀= 4,57 μ mol/L) allopurinol (IC₅₀= 4,05 μ mol/L) kadar inhibitör aktivite gösterdiği bulunmuştur. Aynı çalışmada naringenin, XO'ın hidrofobik boşluğuna kenetlendiği ve XO'ın amino asit kalıntılarıyla etkileşime girebildiği moleküler modellem çalışmaları ile gösterilmiştir [306]. 35 flavonoidin XO'a karşı inhibitör aktivitesinin incelendiği başka bir çalışmada ise naringenin 0,1436 μ mol/L IC₅₀ değerine sahip bulunmuştur. Naringenin molekülünün glikolizasyonu ile oluşan naringin (IC₅₀= 0,3267 μ mol/L) XO'a karşı daha düşük inhibitör aktivite göstermektedir. Naringeninden C2 ve C3 arasındaki bağın dehidrojenasyonu ile oluşan apigeninin (IC₅₀= 0,0007 μ mol/L) ise XO inhibisyon aktivitesi daha yüksektir [307]. Naringenin XO'a karşı herhangi bir inhibitör aktivite göstermediğine dair çalışmalar da mevcuttur [251, 308].

Naringenin antioksidan ve antienflamatuvar etkisinden dolayı vasküler endotel sağlığını iyileştirir [309]. Tez kapsamında varisle ilişkili diğer enzimler üzerine naringenin bileşiği için yapılan çalışmalara bakıldığında, bir çalışmada 643,45 μ mol/L IC₅₀ değeri ile düşük LOX inhibisyon aktivitesi gösterdiği bulunmuştur [310]. Başka bir çalışmada naringenin bileşiğinin nanoformülasyonu LOX enzimi üzerinde yüksek inhibitör etki göstermiştir (%90,21 $\pm$ 3,91) [311]. Anti-elastaz aktivitesi değerlendirildiğinde %39 inhibisyon ile orta derecede etki göstermiştir [312]. Bir başka çalışmada, naringenin anti-aging aktivitesi

değerlendirilmiş, naringenin yüklü formülasyonların elastaz ve kolajenaz enzim inhibisyon değerlerinin sırasıyla $31,98 \pm 0,15$ ile $41,74 \pm 0,09$ ve $39,99 \pm 0,19$ ile $47,78 \pm 0,04$ arasında olduğu bulunmuştur. Naringenin bileşiğinin anti-elastaz ve anti-kolajenaz aktivite değerlerinin sırasıyla $43,67 \pm 0,08$ ve $33,88 \pm 0,04$ olduğu belirlenmiştir [313]. Naringenin anti-hyaluronidaz aktivitesinin ise $9,58 \pm 0,25$ olduğu tespit edilmiştir [314]. Bir başka çalışmada, hyaluronidaz ve kolajenaz enzime karşı $500 \mu\text{M}$ ve $1000 \mu\text{M}$ konsantrasyonlarında, 15-LOX enzime karşı $10 \mu\text{M}$ ve $100 \mu\text{M}$ konsantrasyonlarında herhangi bir etki göstermemiştir [315]. POP enzime karşı ise naringenin herhangi bir inhibitör aktivitesi tespit edilmemiştir [316]. *H. plicatum* ana ekstresinin POP ($99,99\% \pm 0,01$) enzimi üzerinde yüksek inhibitör aktivitesi düşünüldüğünde daha önceki çalışmalara göre naringenin bileşiğinin bu aktiviteden sorumlu olmadığı söylenebilir.

İzole edilen bileşiklerden biri olan Madde 2'nin, yapılan NMR ve MS çalışmaları sonucunda apigenin olduğu belirlenmiştir. Apigeninin ($\text{IC}_{50} = 10,85 \pm 2,22 \mu\text{g/mL}$) XO enzime karşı inhibitör aktivitesinin naringenin ve luteolinden daha yüksek olduğu bulunmuştur. Bir çalışmada, apigeninin, $3,57 \mu\text{M}$ 'lık bir IC_{50} değeri ile XO'ın güçlü bir kompetitif inhibitörü olduğu bulunmuştur [317]. Apigeninin fenolik grubu, XO'ın aktif bölgesi olan hidrofobik boşluğun yakınlarına hidrojen bağları ve elektrostatik etkileşimler yoluyla uzanır [308, 317]. C-4' konumunda bulunan OH grubuna karboksialkil grubunun bağlanmasıyla sentezlenen apigenin türevi, 3 ile 10 kat arasında XO inhibisyon aktivitesini arttırmıştır [318, 319]. Bir başka çalışmada, apigenin XO'a karşı yüksek inhibitör aktivite göstermiş, bu aktivitesi C-5 ve C-7 konumunda bulunan OH grupları ve C-2 ve C-3 arasındaki çifte bağa atfedilmiştir [251, 320].

Apigeninin, bu tez kapsamında *H. plicatum*'dan izole edilen XO enzime karşı en aktif bileşik olduğu bulunmuştur. Diğer varisle ilişkili enzimlere etkisinin değerlendirildiği çalışmalarda, LOX-1 gen ekspresyonunu 30 ve $50 \mu\text{M}$ konsantrasyonlarda inhibe ettiği bulunmuştur [321]. Anti-elastaz aktivitesinin 57% olduğu belirlenmiştir [312]. Bir başka çalışmada ise yine elastaza karşı $66,67 \mu\text{g/mL}$ konsantrasyonunda $28,33 \pm 4,45\%$ inhibisyon göstermiştir [322]. Apigeninin $250 \mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda anti-kolajenaz aktivitesinin $54,05 \pm 7,98\%$ olduğu tespit edilmiştir [323]. Bir başka çalışmada *Helichrysum graveolens* (Bieb.) Sweet'in aktivite yönlendirmeli izolasyon çalışması ile yara iyileştirici etkisi değerlendirilmiş, apigenin, aktif fraksiyondan majör aktif bileşik olarak izole edilmiştir. İzole edilen apigenin anti-hyaluronidaz ($30,29 \pm 0,39\%$), anti-elastaz ($19,43 \pm 1,19\%$) ve

anti-kolajenaz (%29,15±0,87) aktivitesi yönünden değerlendirilmiştir [324]. POP enzimine karşı herhangi bir çalışma ise kaydedilmiştir.

İzole edilen Madde 3 kodlu bileşik NMR ve MS analizlerinin sonucunda luteolin olarak bulunmuştur. Bu tez kapsamında yapılan deneylerde luteolinin XO'a karşı ($IC_{50} = 14,26 \pm 0,72 \mu\text{g/mL}$) yüksek inhibitör aktivite gösterdiği bulunmuştur. Allopurinol'den yaklaşık 20 kat daha düşük etkiye sahip olduğu bulunurken, bir başka çalışmada allopurinole kıyasla önemli bir inhibitör aktivite göstermiştir. Yapılan çalışmada %50 aktivite kaybına (IC_{50}) yol açan luteolin ve allopurinol (pozitif kontrol) konsantrasyonlarının sırasıyla ($4,79 \pm 0,02$) $\times 10^{-6}$ ve ($1,84 \pm 0,01$) $\times 10^{-6}$ mol/L olduğu bulunmuştur [325]. Bir başka çalışmada luteolinin XO'ın kompetitif inhibitörü olduğu kaydedilmiştir. Ayrıca XO'ın süperoksit oluşturma oranını orantılı olarak azalttığı da bulunmuştur [326]. *Blumea balsamifera* L. bitkisinin yapraklarından elde edilen flavonoidler arasında en yüksek XO inhibitör aktiviteye sahip olarak luteolin ($IC_{50} = 2,38 \pm 0,01 \mu\text{M}$) bulunmuştur [327]. Çeşitli flavonoidlerin XO üzerindeki etkilerinin incelendiği başka çalışmada, luteolin 0,96 μM IC_{50} değeri ile kemferol, kersetin ve izoramnetinden sonra en yüksek aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur. Aynı çalışmada XO inhibitör aktivitesi için C-5 ve C-7'deki OH gruplarının önemli olduğu ancak C-3' pozisyonunda bulunan OH grubunun aktiviteye etkisinin olmadığı raporlanmıştır [328]. Flavonoidlerin XO enzimini inhibe etme potansiyeli üzerinde yapılan yapı-aktivite çalışmasında, flavonoidlerin düzlemsel yapısını koruyan C2=C3 arası çift bağın ve C-5 ve C7'deki OH grubunun enzim ile etkileşimlere katkıda bulunduğu bulunmuştur. Aynı çalışmada C-3' pozisyonunda (B halkası) ek hidroksil grupları bulunan luteolin ve kersetin, apigenin ve kemferolden sırasıyla 1,50 ve 0,70 kat daha düşük inhibisyon göstermiştir [317]. Bu sonuç bir önceki çalışmada olduğu gibi C-3' OH grubunun aktiviteye katkı sağlamadığını doğrulamaktadır.

Luteolinin varisle ilişkili enzimlerden olan LOX'un kompetitif olmayan inhibitör aktivitesi, yapılan bir önceki çalışmada bulunmuştur [329]. Başka bir çalışmada, luteolinin 25 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda LOX enzimine karşı %91,3 inhibitör aktivite gösterdiği kaydedilmiştir [330]. LOX, hyaluronidaz ve kolajenaz enzimlerine karşı etkisine bakıldığında, bileşik 15-LOX aktivitesini $82,56 \pm 3,58$ oranında inhibe ederken, hyaluronidaz ve kolajenaza karşı inhibitör aktivite göstermemiştir [315]. Bir başka çalışmada anti-kolajenaz (%10) etkisi düşük bulunmuştur [331]. Luteolinin anti-hyaluronidaz aktivite çalışmasında, IC_{50} değeri $67,38 \pm 3,99 \mu\text{g/mL}$ olarak kaydedilmiştir

[332]. Luteolinin anti-elastaz aktivitesine yönelik yapılan pek çok çalışmada, IC_{50} değerlerinin $>300 \mu M$, $12 \mu M$, $8,06 \pm 2,73 \mu M$, $12,7 \pm 0,5 \mu M$, $6,91 \mu M$, $36,01 \pm 1,15 \mu M$ ve $7,65 \pm 0,77 \mu M$ olduğu bulunmuştur [312]. Luteolinin, POP enzimine karşı $0,17 \text{ ppm}$ ile yüksek inhibitör aktivite gösterdiği saptanmıştır [333].

Daha önce yapılan naringenin, apigenin ve luteolinin XO inhibitör aktivite çalışmalarına göre, flavonoidlerin yapı-aktivite ilişkisinde, C2 ve C3'teki çifte bağın ve C-5 ve C-7'de bulunan OH gruplarının XO'ı inhibe etmede önemli rol oynadığı kaydedilmiştir. Bu tez kapsamında, diğerler bileşiklere göre daha düşük XO aktivite gösteren naringenin, C2 ve C3'teki çifte bağının doyurulmasından kaynaklı etkinin azalmış olduğu kanıtlanmıştır. Yine önceki çalışmalarda B halkasında yer alan C-3' konumundaki OH grubunun varlığında XO'a karşı inhibitör aktivite ve afinitenin azaldığı kaydedilmiş, bu tez çalışmasında da bu yapısal durumun luteolinin, apigeninden daha düşük XO inhibitör aktivite göstermesinin nedeni olarak değerlendirilmiştir. Tez çalışmasında izole edilen maddeler, varisle ilişkili diğer enzimlere yönelik inhibisyon aktiviteleri yönünden ayrıca değerlendirilmemiştir. Ancak yapılan literatür çalışmaları değerlendirildiğinde naringenin, apigenin ve luteolin bileşiklerinin XO'a karşı gösterdiği inhibitör aktivite, diğer varisle ilişkili enzimlere gösterdiği inhibitör aktiviteden daha yüksek olarak belirlenmiştir. Bu durum, *H. plicatum* ana ekstresi ve EtOAc alt ekstresinin LOX, elastaz ve kolajenaz enzimlerine karşı XO kadar yüksek inhibitör aktivite göstermemesini açıklayabilir.

H. plicatum'un ($\%99,99 \pm 0,01$) kullanılan pozitif kontrollerden (rosmarinik asit: $\%83,48 \pm 4,24$, gallik asit: $\%34,16 \pm 2,77$, baikaloin: $\% 70,76 \pm 3,14$) bile daha yüksek inhibitör aktivite gösterdiği bir diğer enzim POP'tur. POP enzimine karşı naringenin inhibitör aktivite göstermediği, apigenin için bir veri bulunmadığı ancak luteolin ($IC_{50} = 0,17 \text{ ppm}$) için yüksek inhibitör aktiviteye sahip olduğu yapılan aktivite çalışmalarında kaydedilmiştir. *H. plicatum*'un bu yüksek aktivitesine luteolinin katkısı olabilir. Ancak daha önce yapılan yapı-aktivite çalışmaları değerlendirildiğinde, *H. plicatum* ekstresinde bulunan kinik asit ve klorojenik asitin, pirogallol grubunun varlığı nedeniyle POP inhibitör aktiviteden sorumlu olabileceği de düşünülmektedir [334]. *H. plicatum* ekstresinde bulunan major bileşenlerin anti-XO aktivite çalışmaları değerlendirildiğinde, klorojenik asitin XO enzimine karşı orta derecede inhibisyon gösterdiği bulunmuştur [335]. Diğer major bileşenlerden biri olan astragalinin ise XO'ya karşı IC_{50} değeri $49,46 \mu M$ olarak bulunmuştur [336]. Bir başka

çalışmada kosmosiin (-10,9 kcal/mol) XO'ya karşı yüksek bağlanma afinitesi göstermiştir [337].

Flavonoidlerin KVVY üzerindeki etkileri 1960'lardan beri klinik çalışmalarda incelenmektedir ve sonuçlar çeşitli sistematik incelemelerde ve meta analizlerde derlenmiştir. Son 20 yılda ise flavonoidler üzerinde çift kör, randomize, plasebo kontrollü klinik çalışmalar da bildirilmiştir [99]. KVVY'de kullanılan flavonoidler arasında hesperidin, diosmin, okseturin, β -hidroksietilrutozit, *V. vinifera*'da bulunan kersetin ve kemferol glikozitleri, piknogenolde bulunan flavonoid polimerleri (proantosiyanidinler) yer almaktadır. Bunlar KVVY'nin semptomlarının azalmasına çeşitli mekanizmalar ile katkıda bulunmaktadır. Temel olarak antioksidan ve antienflamatuar etkilerinin bulunması, lizozomal enzimleri inhibe etmeleri, mikrodolaşımı iyileştirmesi KVVY tedavisinde olumlu sonuçlar doğurur.

Bu tez kapsamında etkiden sorumlu bileşik olarak izole edilen naringenin, apigenin ve luteolin flavonoidlerinin de varisli damarların tedavisinde etkili sonuçlar yaratacağı öngörülmektedir. Yapılan çalışmalarda bileşiklerin antienflamatuar ve antioksidan aktiviteleri bildirilmiş, varis ilişkili enzimlerden XO'a karşı yüksek aktivitesi bu çalışma ile beraber pek çok çalışmada kanıtlanmıştır. Ayrıca naringenin, apigenin ve luteolin bileşiklerinin yüksek XO inhibisyon potansiyeli göstermeleri, bu bileşiklerin gut gibi hiperürisemi ile ilişkili hastalıkların tedavisinde de değerlendirilebileceği öngörülmektedir.

Tez kapsamında halk arasında varis için kullanımı bulunan *H. plicatum* bitkisinin de olası antioksidan etki mekanizmasının bir tanesi bilimsel olarak açıklanmıştır. Etki saptanan ve bu tez kapsamında sitotoksik aktivite çalışması yapılmış ekstraktların ve *H. plicatum*'dan izole edilen bileşiklerin öncelikle hücre kültüründe olmak üzere ileri çalışmaların yapılması planlanmaktadır. Özellikle *H. plicatum*'un 500 μ g/mL ve 1000 μ g/mL konsantrasyonlarında hücre proliferasyonunu anlamlı düzeyde artırarak varis modeli oluşturulmuş HUVEC hücre hattında vasküler onarımda proliferatif/koruyucu bir etki göstereceği öngörülmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Geleneksel tedavide ve yerli halkın kullanımlarından yola çıkarak keşfedilen bitkiler ve onlardan elde edilen doğal bileşikler günümüzde birçok farmakolojik ilaç sınıfının prototipidir. Bu nedenle ortaya çıkan etnofarmakoloji bilim dalı halkın geleneksel bilgilerle kullandığı ilaçların biyolojik aktivitelerini gözlemler veya deneysel olarak araştırılmaları ile ilgilenir. Böylelikle maliyeti düşük, başarı şansı daha yüksek ilaç keşif çalışmaları yapılmış olur.

Bu tez kapsamında Türkiye’de halk arasında varis tedavisinde/semptomlarının giderilmesinde kullanılan *Berberis vulgaris* L., *Brassica oleracea* var. *acephala* L., *Capsella bursa-pastoris* (L.) Medik., *Capsicum annuum* L., *Crataegus monogyna* Jacq. subsp. *monogyna*, *Ecbalium elaterium* (L.) A.Rich., *Helichrysum plicatum* DC. subsp. *plicatum*, *Lamium album* L., *Lythrum salicaria* L., *Plantago lanceolata* L., *Plantago major* L. subsp. *major*, *Sambucus ebulus* L., *Sesamum indicum* L., ve *Urtica dioica* L. taksonların varis hastalığı üzerinde etkileri ve etki mekanizmalarının aydınlatılması için çalışılmıştır.

In vitro enzim inhibisyonu aktivite tayinlerinde *H. plicatum* en yüksek aktiviteye sahip bulunduğu için aktivite yönlendirmeli izolasyon çalışmalarına bu tür üzerinden devam edilmiştir. *H. plicatum*’da naringenin, apigenin ve luteolin bileşikler aktif bileşik olarak izole etmiştir. İzole edilen bu bileşiklerin KVV hastalığında kullanılan veno-aktif ilaçların önemli bir sınıfını oluşturan flavonoid sınıfında olması flavonoidlerin bu hastalıktaki önemini desteklemektedir. Flavonoidlerin KVV’e karşı etkileri noradrenerjik aktiviteyi uzatarak venöz tonuyu arttırma, kılcal geçirgenliği azaltma, lenfatik drenajı iyileştirme, trombosit agregasyonunu engelleme, kan akışını arttırma, kan damarı geçirgenliğini azaltma, lenf akışını arttırma, enflamatuvar mediyatörlerin inhibisyonu, mikrovasküler geçirgenliği koruma ve antioksidan aktivite gibi geniş bir etki mekanizması ile açıklanır. Bu tez kapsamında naringenin, apigenin ve luteolinin XO enzimi inhibe etme potansiyellerinin yüksek olmasından dolayı KVV’de antioksidan mekanizmaya destek olarak oksidatif stresi azaltmaya katkı sağlayabileceği tespit edilmiştir. Ayrıca naringenin-apigenin (Si 1-4) ($IC_{50}= 0,269 \pm 0,009 \mu\text{g/mL}$) ve apigenin-luteolin (Si 8-11) ($IC_{50}= 0,285 \pm 0,019 \mu\text{g/mL}$) fraksiyonlarının allopurinol ($IC_{50}= 0,250 \pm 0,006 \mu\text{g/mL}$) kadar yüksek XO inhibitör aktivite göstermesi bileşiklerin sinerjik etkiye sahip olduğunu ve kombine halde kullanımlarının

daha etkili sonuçlar doğurabileceğini göstermektedir. Elde edilen sonuçlara göre öne çıkan flavonoitlerin prelinik çalışmalarının yapılması önerilmektedir. Bu çalışma, dünyada çok yaygın ve kişinin yaşam kalitesini ciddi derecede etkileyen KYY ve varisli damarların tedavisinde kullanılan venoaktif ilaçlara naringenin, apigenin ve luteolin bileşiklerinin tedavi seçeneği olarak değerlendirilmesi ve ileri çalışmaların yapılması açısından katkı sağlayacaktır.

İlerleyen çalışmalarda *in vitro* enzim inhibisyonu deneylerinde etki saptanan ekstraller ve *H. plicatum* ekstresinden AYP ile izole edilen naringenin, apigenin ve luteolin bileşiklerinin insan göbek damarı endotel hücreleri (HUVEC) hücre hattında varis modeli oluşturularak antioksidan ve antienflamatuvar etkilerinin araştırılması planlanmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Gilani, A. H. (2005). Trends in ethnopharmacology. *Journal of Ethnopharmacology*, 100(1-2), 43-49.
2. Süntar, I. (2020). Importance of ethnopharmacological studies in drug discovery: role of medicinal plants. *Phytochemistry Reviews*, 19(5), 1199-1209.
3. Cox, P. A., Balick, M. J. (1994). The ethnobotanical approach to drug discovery. *Scientific American*, 270(6), 82-87.
4. Silva, M. J., Louzada, A. C. S., da Silva, M. F. A., Portugal, M. F. C., Teivelis, M. P., Wolosker, N. (2022). Epidemiology of 869,220 varicose vein surgeries over 12 years in Brazil: trends, costs and mortality rate. *Annals of Vascular Surgery*, 82, 1-6.
5. Eberhardt, R. T., Raffetto, J. D. (2014). Chronic venous insufficiency. *Circulation*, 130(4), 333-346.
6. Gawas, M., Bains, A., Janghu, S., Kamat, P., Chawla, P. (2022). A comprehensive review on varicose veins: Preventive measures and different treatments. *Journal of the American Nutrition Association*, 41(5), 499-510.
7. Casili, G., Lanza, M., Campolo, M., Messina, S., Scuderi, S., Ardizzone, A., Filippone, A., Paterniti, I., Cuzzocrea, S., Esposito, E. (2021). Therapeutic potential of flavonoids in the treatment of chronic venous insufficiency. *Vascular Pharmacology*, 137, 106825.
8. Zampieron, E. (2017). Horse chestnut (*Aesculus hippocastanum*) for venous insufficiency. *International Journal of Traditional and Complementary Medicine Research*, 5(3), 00153.
9. Masullo, M., Pizza, C., Piacente, S. (2016). *Ruscus* genus: a rich source of bioactive steroidal saponins. *Planta Medica*, 82(18), 1513-1524.
10. Palanisamy, J. K., Ponnu, S., Mani, S., Balakrishnan, S. (2018). A critical review on traditional herbal drugs: an emerging alternative drug for varicose veins. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 7(5), 316-338.
11. Gulati, O. P. (2014). Pycnogenol® in chronic venous insufficiency and related venous disorders. *Phytotherapy Research*, 28(3), 348-362.
12. İnternet: Patel, S. K., Surowiec, S. M. (February, 2024). Venous insufficiency. *StatPearls Publishing*, Web: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK430975/> adresinden 10 Mayıs 2025' de alınmıştır.
13. Kienzl, P., Deinsberger, J., Weber, B. (2024). Chronic Venous Disease: Pathophysiological Aspects, Risk Factors, and Diagnosis. *Hämostaseologie*. 44, 277–286.
14. Youn, Y. J., Lee, J. (2019). Chronic venous insufficiency and varicose veins of the lower extremities. *The Korean Journal of Internal Medicine*, 34(2), 269.

15. Whiteley, M. S. (2022). Current best practice in the management of varicose veins. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology*, 15, 567-583.
16. Padberg Jr, F. T. (2005). CEAP classification for chronic venous disease. *Disease-a-month*, 51(2-3), 176-182.
17. Azar, J., Rao, A., Oropallo, A. (2022). Chronic venous insufficiency: a comprehensive review of management. *Journal of Wound Care*, 31(6), 510-519.
18. Salim, S., Machin, M., Patterson, B. O., Onida, S., Davies, A. H. (2021). Global epidemiology of chronic venous disease: a systematic review with pooled prevalence analysis. *Annals of Surgery*, 274(6), 971-976.
19. Ghosh, S. K., Al Mamun, A., Majumder, A. (2023). Clinical presentation of varicose veins. *Indian Journal of Surgery*, 85(Suppl 1), 7-14.
20. Beebe-Dimmer, J. L., Pfeifer, J. R., Engle, J. S., Schottenfeld, D. (2005). The epidemiology of chronic venous insufficiency and varicose veins. *Annals of Epidemiology*, 15(3), 175-184.
21. Gloviczki, P. (2017). Development and anatomy of the venous system. *Handbook of Venous and Lymphatic Disorders*, 15-26.
22. Caggiati, A., Bergan, J. J., Gloviczki, P., Jantet, G., Wendell-Smith, C. P., Partsch, H., Terminology, I. I. C. C. o. V. A. (2002). Nomenclature of the veins of the lower limbs: an international interdisciplinary consensus statement. *Journal of Vascular Surgery*, 36(2), 416-422.
23. Goldman, M. P., Fronek, A. (1989). Anatomy and pathophysiology of varicose veins. *The Journal of Dermatologic Surgery and Oncology*, 15(2), 138-146.
24. Jacobs, B. N., Andraska, E. A., Obi, A. T., Wakefield, T. W. (2017). Pathophysiology of varicose veins. *Journal of Vascular Surgery: Venous and Lymphatic Disorders*, 5(3), 460-467.
25. Mostafa, R. E., Ali, D. E., El-Shiekh, R. A., El-Alfy, A. N., Hafeez, M. S., Reda, A. M., Fayek, N. M. (2025). Therapeutic applications of natural products in the management of venous diseases: a comprehensive review. *Inflammopharmacology*, 33, 1-40.
26. Bencsik, T., Balázs, V. L., Farkas, Á., Csikós, E., Horváth, A., Ács, K., Kocsis, M., Doseděl, M., Fialová, S. B., Czige, S. (2024). Herbal drugs in chronic venous disease treatment: An update. *Fitoterapia*, 179, 106256.
27. Raffetto, J. D., Khalil, R. A. (2021). Mechanisms of lower extremity vein dysfunction in chronic venous disease and implications in management of varicose veins. *Vessel Plus*, 5, 36.
28. Raetz, J., Wilson, M., Collins, K. (2019). Varicose veins: diagnosis and treatment. *American Family Physician*, 99(11), 682-688.
29. Fan, C.-M. (2003). Epidemiology and pathophysiology of varicose veins. *Techniques in Vascular & Interventional Radiology*, 6(3), 108-110.

30. Rose, S. S., Ahmed, A. (1986). Some thoughts on the aetiology of varicose veins. *The Journal of Cardiovascular Surgery*, 27(5), 534-543.
31. Ortega, M. A., Fraile-Martínez, O., García-Montero, C., Álvarez-Mon, M. A., Chaowen, C., Ruiz-Grande, F., Pekarek, L., Monserrat, J., Asúnsolo, A., García-Honduvilla, N. (2021). Understanding chronic venous disease: a critical overview of its pathophysiology and medical management. *Journal of Clinical Medicine*, 10(15), 3239.
32. Jung, H. (2020). Hyaluronidase: An overview of its properties, applications, and side effects. *Archives of Plastic Surgery*, 47(04), 297-300.
33. Lee, A., Grummer, S. E., Kriegel, D., Marmur, E. (2010). Hyaluronidase. *Dermatologic Surgery*, 36(7), 1071-1077.
34. Buhren, B. A., Schrumph, H., Hoff, N.-P., Bölke, E., Hilton, S., Gerber, P. A. (2016). Hyaluronidase: from clinical applications to molecular and cellular mechanisms. *European Journal of Medical Research*, 21, 1-7.
35. Facino, R. M., Carini, M., Stefani, R., Aldini, G., Saibene, L. (1995). Anti-elastase and anti-hyaluronidase activities of saponins and sapogenins from *Hedera helix*, *Aesculus hippocastanum*, and *Ruscus aculeatus*: factors contributing to their efficacy in the treatment of venous insufficiency. *Archiv der Pharmazie*, 328(10), 720-724.
36. Grabowska, K., Wróbel, D., Żmudzki, P., Podolak, I. (2020). Anti-inflammatory activity of saponins from roots of *Impatiens parviflora* DC. *Natural Product Research*, 34(11), 1581-1585.
37. Diaz, J. A., Giancesini, S., Khalil, R. A. (2024). Glycocalyx disruption, endothelial dysfunction and vascular remodeling as underlying mechanisms and treatment targets of chronic venous disease. *International Angiology: a Journal of the International Union of Angiology*, 43(6), 563-590.
38. Kowalewski, R., Sobolewski, K., Malkowski, A., Gacko, M., Rutkowska, I. (2008). Glycosaminoglycan-degrading enzymes in the varicose vein wall. *International Angiology*, 27(6), 529.
39. Niebes, P. (1972). Determination of enzymes and degradation products of glycosaminoglycan metabolism in the serum of healthy and varicose subjects. *Clinica Chimica Acta*, 42(2), 399-408.
40. Kowalewski, R., Sobolewski, K., Wolanska, M., Gacko, M. (2004). Matrix metalloproteinases in the vein wall. *International Angiology*, 23(2), 164.
41. Sansilvestri-Morel, P., Fioretti, F., Rupin, A., Senni, K., Fabiani, J. N., Godeau, G., Verbeuren, T. J. (2007). Comparison of extracellular matrix in skin and saphenous veins from patients with varicose veins: does the skin reflect venous matrix changes? *Clinical Science*, 112(4), 229-239.
42. Raffetto, J. D., Khalil, R. A. (2008). Matrix metalloproteinases in venous tissue remodeling and varicose vein formation. *Current Vascular Pharmacology*, 6(3), 158-172.

43. Vvali, M., Ra, E. (2002). Changes of elastic and collagen fibers in varicose veins. *International Angiology*, 21, 337-343.
44. Gandhi, R. H., Irizarry, E., Nackman, G. B., Halpern, V. J., Mulcare, R. J., Tilson, M. D. (1993). Analysis of the connective tissue matrix and proteolytic activity of primary varicose veins. *Journal of Vascular Surgery*, 18(5), 814-820.
45. Haviarova, Z., Weismann, P., Stvrtinova, V., Benuska, J. (1999). The determination of the collagen and elastin amount in the human varicose vein by the computer morphometric method. *General Physiology and Biophysics*, 18, 30-33.
46. Kockx, M. M., Knaapen, M. W., Bortier, H. E., Cromheeke, K. M., Bouterin-Falson, O., Finet, M. (1998). Vascular remodeling in varicose veins. *Angiology*, 49(11), 871-877.
47. Sansilvestri-Morel, P., Rupin, A., Badier-Commander, C., Kern, P., Fabiani, J.-N., Verbeuren, T. J., Vanhoutte, P. M. (2001). Imbalance in the synthesis of collagen type I and collagen type III in smooth muscle cells derived from human varicose veins. *Journal of Vascular Research*, 38(6), 560-568.
48. Janoff, A. (1985). Elastase in tissue injury. *Annual Review of Medicine*, 36(1), 207-216.
49. Buján, J., Gimeno, M. J., Jiménez, J. A., Kielty, C. M., Mecham, R. P., Bellón, J. M. (2003). Expression of elastic components in healthy and varicose veins. *World Journal of Surgery*, 27, 901-905.
50. Travers, J., Brookes, C., Evans, J., Baker, D., Kent, C., Makin, G., Mayhew, T. (1996). Assessment of wall structure and composition of varicose veins with reference to collagen, elastin and smooth muscle content. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery*, 11(2), 230-237.
51. Lončarić, M., Strelec, I., Moslavac, T., Šubarić, D., Pavić, V., Molnar, M. (2021). Lipoxigenase inhibition by plant extracts. *Biomolecules*, 11(2), 152.
52. Castro-Ferreira, R., Cardoso, R., Leite-Moreira, A., Mansilha, A. (2018). The role of endothelial dysfunction and inflammation in chronic venous disease. *Annals of Vascular Surgery*, 46, 380-393.
53. Wisastra, R., Dekker, F. J. (2014). Inflammation, cancer and oxidative lipoxigenase activity are intimately linked. *Cancers*, 6(3), 1500-1521.
54. Lichota, A., Gwozdziński, L., Gwozdziński, K. (2019). Therapeutic potential of natural compounds in inflammation and chronic venous insufficiency. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 176, 68-91.
55. Czapski, G. A., Czubowicz, K., Strosznajder, R. P. (2012). Evaluation of the antioxidative properties of lipoxigenase inhibitors. *Pharmacological Reports*, 64(5), 1179-1188.
56. Horecka, A., Biernacka, J., Hordyjewska, A., Dąbrowski, W., Terlecki, P., Zubilewicz, T., Musik, I., Kurzepa, J. (2018). Antioxidative mechanism in the course of varicose veins. *Phlebology*, 33(7), 464-469.

57. Casili, G., Lanza, M., Scuderi, S. A., Messina, S., Paterniti, I., Campolo, M., Esposito, E. (2020). The inhibition of prolyl oligopeptidase as new target to counteract chronic venous insufficiency: findings in a Mouse Model. *Biomedicines*, 8(12), 604.
58. García-Horsman, J. A., Männistö, P. T., Venäläinen, J. (2007). On the role of prolyl oligopeptidase in health and disease. *Neuropeptides*, 41(1), 1-24.
59. Williams, X. M., Bossert, A. T., Devalance, E., Lewis, S. E., Gunther, M. R., Kelley, E. E. (2023). Indirect Antioxidant Effects of the Nitrite Anion: Focus on Xanthine Oxidase. *Advances in Redox Research*, 7, 100058.
60. Saribal, D., Kanber, E. M., Hocaoglu-Emre, F. S., Akyolcu, M. C. (2019). Effects of the oxidative stress and genetic changes in varicose vein patients. *Phlebology*, 34(6), 406-413.
61. Bortolotti, M., Polito, L., Battelli, M. G., Bolognesi, A. (2021). Xanthine oxidoreductase: One enzyme for multiple physiological tasks. *Redox Biology*, 41, 101882.
62. Glowinski, J., Glowinski, S. (2002). Generation of reactive oxygen metabolites by the varicose vein wall. *European journal of Vascular and Endovascular Surgery*, 23(6), 550-555.
63. Halliwell, B. (2024). Understanding mechanisms of antioxidant action in health and disease. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 25(1), 13-33.
64. Muscolo, A., Mariateresa, O., Giulio, T., Mariateresa, R. (2024). Oxidative stress: the role of antioxidant phytochemicals in the prevention and treatment of diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(6), 3264.
65. Akar, İ., İnce, İ., Aslan, C., Benli, İ., Demir, O., Altındeger, N., Dogan, A., Ceber, M. (2018). Oxidative stress and prolidase enzyme activity in the pathogenesis of primary varicose veins. *Vascular*, 26(3), 315-321.
66. Ortega, M. A., Romero, B., Asúnsolo, Á., Sola, M., Álavrez-Rocha, M. J., Sainz, F., Álavrez-Mon, M., Buján, J., García-Honduvilla, N. (2019). Patients with incompetent valves in chronic venous insufficiency show increased systematic lipit peroxidation and cellular oxidative stress markers. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019(1), 5164576.
67. Krzyściak, W., Kózka, M. (2011). Generation of reactive oxygen species by a sufficient, insufficient and varicose vein wall. *Acta Biochimica Polonica*, 58(1), 89-94.
68. Gwozdziński, L., Pieniazek, A., Gwozdziński, K. (2024). The Roles of Oxidative Stress and Red Blood Cells in the Pathology of the Varicose Vein. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(24), 13400.
69. Condezo-Hoyos, L., Rubio, M., Arribas, S. M., España-Caparrós, G., Rodríguez-Rodríguez, P., Mujica-Pacheco, E., González, M. C. (2013). A plasma oxidative stress global index in early stages of chronic venous insufficiency. *Journal of Vascular Surgery*, 57(1), 205-213.

70. Yasim, A., Kilinc, M., Aral, M., Oksuz, H., Kabalci, M., Eroglu, E., Imrek, S. (2008). Serum concentration of procoagulant, endothelial and oxidative stress markers in early primary varicose veins. *Phlebology*, 23(1), 15-20.
71. Guzik, B., Chwala, M., Matusik, P., Ludew, D., Skiba, D., Wilk, G., Mrowiecki, W., Batko, B., Cencora, A., Kapelak, B. (2011). Mechanisms of increased vascular superoxide production in human varicose veins. *Polskie Archiwum Medycyny Wewnętrznej*, 121(9), 279.
72. Mosmiller, L. T., Steele, K. N., Shrader, C. D., Petrone, A. B. (2017). Evaluation of inflammatory cell biomarkers in chronic venous insufficiency. *Phlebology*, 32(9), 634-640.
73. Gwozdziński, L., Pieniazek, A., Gwozdziński, K. (2024). Factors influencing venous remodeling in the development of varicose veins of the lower limbs. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(3), 1560.
74. Tkaczyk, J., Przywara, S., Hżeczka, J., Hżeczki, M. (2021). The influence of compression therapy on the level of inflammatory biomarkers in patients with chronic venous disease. *Acta Angiologica*, 27(1), 32-36.
75. Zolotukhin, I., Golovanova, O., Efremova, O., Golovina, V., Seliverstov, E. (2022). Monocyte chemoattractant protein 1 plasma concentration in blood from varicose veins decreases under venoactive drug treatment. *International Angiology: a Journal of the International Union of Angiology* 41(6), 457-463.
76. Tiwary, S. K., Kumar, A., Mishra, S. P., Kumar, P., Khanna, A. K. (2020). Study of association of varicose veins and inflammation by inflammatory markers. *Phlebology*, 35(9), 679-685.
77. Lattimer, C. R., Kalodiki, E., Geroulakos, G., Hoppensteadt, D., Fareed, J. (2016). Are inflammatory biomarkers increased in varicose vein blood? *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*, 22(7), 656-664.
78. Nocera, R., Eletto, D., Santoro, V., Parisi, V., Bellone, M. L., Izzo, M., Tosco, A., Dal Piaz, F., Donadio, G., De Tommasi, N. (2023). Design of an herbal preparation composed by a combination of *Ruscus aculeatus* L. and *Vitis vinifera* L. extracts, magnolol and diosmetin to address chronic venous diseases through an anti-inflammatory effect and AP-1 modulation. *Plants*, 12(5), 1051.
79. Pocock, E. S., Alsaigh, T., Mazor, R., Schmid-Schönbein, G. W. (2014). Cellular and molecular basis of Venous insufficiency. *Vascular Cell*, 6, 1-8.
80. Serralheiro, P., Cairrão, E., Maia, C. J., João, M., Almeida, C. M. C., Verde, I. (2017). Effect of TGF-beta1 on MMP/TIMP and TGF-beta1 receptors in great saphenous veins and its significance on chronic venous insufficiency. *Phlebology*, 32(5), 334-341.
81. Alsaigh, T., Fukaya, E. (2021). Varicose veins and chronic venous disease. *Cardiology Clinics*, 39(4), 567-581.
82. Singh, A., Gattani, R. (2023). A Narrative Review of Advancements in Understanding and Treating Varicose Veins. *Cureus*, 15(11).

83. Gao, R.-D., Qian, S.-Y., Wang, H.-H., Liu, Y.-S., Ren, S.-Y. (2022). Strategies and challenges in treatment of varicose veins and venous insufficiency. *World Journal of Clinical Cases*, 10(18), 5946.
84. Reichert, D. (1998). Evaluation of the long-pulse dye laser for the treatment of leg telangiectasias. *Dermatologic Surgery*, 24(7), 737-740.
85. Paravastu, S. C. V., Horne, M., Dodd, P. D. F. (2016). Endovenous ablation therapy (laser or radiofrequency) or foam sclerotherapy versus conventional surgical repair for short saphenous varicose veins. *Cochrane Database of Systematic Reviews* (11), 1-44.
86. Schwartz, L., Maxwell, H. (2011). Sclerotherapy for lower limb telangiectasias. *Cochrane Database of Systematic Reviews* (12), CD008826.
87. Nesbitt, C., Bedenis, R., Bhattacharya, V., Stansby, G. (2014). Endovenous ablation (radiofrequency and laser) and foam sclerotherapy versus open surgery for great saphenous vein varices. *Cochrane Database of Systematic Reviews* (7), 1-84.
88. Brittenden, J., Cotton, S. C., Elders, A., Ramsay, C. R., Norrie, J., Burr, J., Campbell, B., Bachoo, P., Chetter, I., Gough, M. (2014). A randomized trial comparing treatments for varicose veins. *New England Journal of Medicine*, 371(13), 1218-1227.
89. Raetz, J., Wilson, M., Collins, K. (2019). Varicose veins: diagnosis and treatment. *American Family Physician*, 99(11), 682-688.
90. Ramelet, A.-A., Kern, P., Perrin, M. (2004). Varicose veins and telangiectasias. *Lifestyle, physical therapy and prevention*, Elsevier, s. 139-48
91. Barrera-Vázquez, O. S., Escobar-Ramírez, J. L., Santiago-Mejía, J., Carrasco-Ortega, O. F., Magos-Guerrero, G. A. (2023). Discovering Potential Compounds for Venous Disease Treatment through Virtual Screening and Network Pharmacology Approach. *Molecules*, 28(24), 7937.
92. Martinez-Zapata, M. J., Cosp, X. B., Moreno, R. M., Vargas, E., Capellà, D. (2005). Phlebtonics for venous insufficiency. *Cochrane Database of Systematic Reviews* (3).
93. Ramelet, A., Boisseau, M., Allegra, C., Nicolaidis, A., Jaeger, K., Carpentier, P., Cappelli, R., Forconi, S. (2005). Veno-active drugs in the management of chronic venous disease. An international consensus statement: current medical position, prospective views and final resolution. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, 33(4), 309-319.
94. Dahikar, G. D., Giradkar, D. D., Khan, S. A., Ganjiwale, R. O. (2022). A review on remedies used in treatment of varicose veins and varicocele. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, 18(2), 244-252.
95. Jones, L., Braithwaite, B., Selwyn, D., Cooke, S., Earnshaw, J. (1996). Neovascularisation is the principal cause of varicose vein recurrence: results of a randomised trial of stripping the long saphenous vein. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery*, 12(4), 442-445.

96. Jenkinson, H. A., Wilmas, K. M., Silapunt, S. (2017). Sodium tetradecyl sulfate: a review of clinical uses. *Dermatologic Surgery*, 43(11), 1313-1320.
97. Vanscheidt, W., Rabe, E., Naser-Hijazi, B., Ramelet, A., Partsch, H., Diehm, C., Schulz-Ehrenburg, U., Spengel, F., Wirsching, M., Gotz, V. (2002). The efficacy and safety of a coumarin-/troxerutin combination (SB-LOT) in patients with chronic venous insufficiency: A double blind placebo controlled randomised study. *Vasa*, 31(3), 185-190.
98. Perrin, M., Ramelet, A.-A. (2011). Pharmacological treatment of primary chronic venous disease: rationale, results and unanswered questions. *European journal of vascular and endovascular surgery*, 41(1), 117-125.
99. Rabe, E., Guex, J., Morrison, N., Ramelet, A.-A., Schuller-Petrovic, S., Scuderi, A., Staelens, I., Pannier, F. (2013). Treatment of chronic venous disease with flavonoids: recommendations for treatment and further studies. *Phlebology*, 28(6), 308-319.
100. Araujo, D., Viana, F., Osswald, W. (1991). Diosmin therapy alters the in vitro metabolism of noradrenaline by the varicose human saphenous vein. *Pharmacological Research*, 24(3), 253-256.
101. Vanscheidt, W., Jost, V., Wolna, P., Lückner, P. W., Müller, A., Theurer, C., Patz, B., Grützner, K. I. (2002). Efficacy and safety of a Butcher's broom preparation (*Ruscus aculeatus* L. extract) compared to placebo in patients suffering from chronic venous insufficiency. *Arzneimittelforschung*, 52(04), 243-250.
102. Benke, S., Kore, P. S. (2024). Systematic Review on The Epidemiology and Clinical Manifestations of Varicose Vein Disease. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 17(6), 5-8.
103. Nicolaides, A. N., Allegra, C., Bergan, J., Bradbury, A., Cairns, M., Carpentier, P., Comerota, A., Delis, C., Eklof, B., Fassiadis, N. (2008). Management of chronic venous disorders of the lower limbs guidelines according to scientific evidence. *International Angiology*, 27(1), 1.
104. Yun, S. (2022). Practical use of venoactive drugs for chronic venous disease in Korea. *Annals of Phlebology*, 20(1), 1-5.
105. Dickson, S., Gallagher, J., McIntyre, L., Suter, A., Tan, J. (2004). An open study to assess the safety and efficacy of *Aesculus hippocastanum* tablets (Aesculaforce® 50 mg) in the treatment of chronic venous insufficiency. *Journal of Herbal Pharmacotherapy*, 4(2), 19-32.
106. Sirtori, C. R. (2001). Aescin: pharmacology, pharmacokinetics and therapeutic profile. *Pharmacological Research*, 44(3), 183-193.
107. Owczarek-Januszkiewicz, A., Kicel, A., Olszewska, M. A. (2023). *Aesculus hippocastanum* in the pharmaceutical industry and beyond—Phytochemistry, bioactivity, present application, and future perspectives. *Industrial Crops and Products*, 193, 116187.

- 108.Unal, E., Topcu, A., Yuksekdog, S., Ozkan, F. (2018). Mechanisms of Action that Contribute to Efficacy of *Aesculus hippocastanum* (Aescin, Horse Chestnut) in Hemorrhoidal Disease: Pharmacokinetics and Therapeutic Profile. *Pharmacology and Toxicology*, 6, 902-904.
- 109.Suter, A., Bommer, S., Rechner, J. (2006). Treatment of patients with venous insufficiency with fresh plant horse chestnut seed extract: a review of 5 clinical studies. *Advances in Therapy*, 23, 179-190.
- 110.Bouskela, E., Cyrino, F. Z., Marcelon, G. (1993). Effects of *Ruscus* extract on the internal diameter of arterioles and venules of the hamster cheek pouch microcirculation. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 22(2), 221-224.
- 111.Bouskela, E., Cyrino, F. Z., Marcelon, G. (1994). Possible mechanisms for the venular constriction elicited by *Ruscus* extract on hamster cheek pouch. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 24(1), 165-170.
- 112.Urbaneck, T. (2017). The clinical efficacy of *Ruscus aesculatus* extract: is there enough evidence to update the pharmacotherapy guidelines for chronic venous disease? *Phlebological Review*, 25(1), 75-80.
- 113.Woroń, J. (2022). Drugs containing extracts from *Ruscus* in chronic venal disease therapy—what's new about their effects? *Polish Journal of Surgery*, 94(1), 75-78.
- 114.Chong, N. J., Aziz, Z. (2013). A systematic review of the efficacy of *Centella asiatica* for improvement of the signs and symptoms of chronic venous insufficiency. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013.
- 115.Pal, D., Anil, A., Chanchal, M. K. (2018). *Centella Asiatica* (Brahmi): A Herbal Medicince Plant. *International Journal of Science and Research*, 7(7), 21-29.
- 116.Incandela, L., Cesarone, M., Cacchio, M., De Sanctis, M., Santavenere, C., D'Auro, M., Bucci, M., Belcaro, G. (2001). Total triterpenic fraction of *Centella asiatica* in chronic venous insufficiency and in high-perfusion microangiopathy. *Angiology*, 52(2), 9-13.
- 117.Dziwenka, M., Coppock, R. W. (2021). *Ginkgo biloba*. *Nutraceuticals*. Elsevier, s. 835-852.
- 118.Arnould, T., Michiels, C., Janssens, D., Berna, N., Remacle, J. (1998). Effect of Ginkor Fort on hypoxia-induced neutrophil adherence to human saphenous vein endothelium. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 31(3), 456-463.
- 119.D'alessandro, A., Caroli, A., D'alessandro, A., Mandolesi, D., Venosi, S., Orsini, A., Riva, A., Morazzoni, P., Balbo, A., Mandolesi, S. (2015). Use of *Ginkgo biloba* phytosome in chronic venous disease: a pilot study. *Acta Phlebologica*, 16(2), 83-92.
- 120.Azhdari, M., Zilae, M., Karandish, M., Hosseini, S. A., Mansoori, A., Zendehdel, M., Khodarahpour, S. (2020). Red vine leaf extract (AS 195) can improve some signs and symptoms of chronic venous insufficiency, a systematic review. *Phytotherapy Research*, 34(10), 2577-2585.

121. Kim, S. M., Joh, J. H., Jung, I. M., Kim, M. J., Lee, S. S., Hwang, H. P., Kang, J. M., Jung, H. J., Yang, S.-S., Min, S.-K. (2024). *Vitis Vinifera* Seed Extract Versus Micronized Purified Flavonoid Fraction for Patients with Chronic Venous Disease: A Randomized Noninferiority Trial. *Annals of Vascular Surgery*, 109, 177-186.
122. Cesarone, M., Belcaro, G., Rohdewald, P., Pellegrini, L., Ledda, A., Vinciguerra, G., Ricci, A., Ippolito, E., Fano, F., Dugall, M. (2010). Improvement of signs and symptoms of chronic venous insufficiency and microangiopathy with Pycnogenol®: a prospective, controlled study. *Phytomedicine*, 17(11), 835-839.
123. Bouskela, E., Lugli, M., Nicolaides, A. (2022). New Perspectives on Micronised Purified Flavonoid Fraction in Chronic Venous Disease: From Microvalves to Clinical Effectiveness. *Advances in Therapy*, 39(10), 4413-4422.
124. Bergan, J. J., Schmid-Schönbein, G. W., Takase, S. (2001). Therapeutic approach to chronic venous insufficiency and its complications: place of Daflon® 500 mg. *Angiology*, 52(1), 43-47.
125. Nicolaides, A. N. (2020). The benefits of micronized purified flavonoid fraction (MPFF) throughout the progression of chronic venous disease. *Advances in Therapy*, 37, 1-5.
126. Acet, T., Ozcan, K., Zengin, G. (2020). An assessment of phenolic profiles, fatty acid compositions, and biological activities of two *Helichrysum* species: *H. plicatum* and *H. chionophilum*. *Journal of Food Biochemistry*, 44(2), e13128.
127. Wadworth, A. N., Faulds, D. (1992). Hydroxyethylrutosides: a review of its pharmacology, and therapeutic efficacy in venous insufficiency and related disorders. *Drugs*, 44, 1013-1032.
128. Okley, D. (2015). Systemic phlebotropic drugs in pharmacotherapy of chronic venous insufficiency of the lower extremities. *News of Pharmacy*, 4(84), 74-77.
129. Akgül, G., Yılmaz, N., Celep, A., Celep, F., Çakılcıoğlu, U. (2016). Ethnobotanical purposes of plants sold by herbalists and folk bazaars in the center of Cappadocia (Nevşehir, Turkey). *Indian Journal of Traditional Knowledge*, 15(1), 103-108.
130. Karıcı, E., Gürbüz, İ., Akaydın, G., Günbatan, T. (2017). Folk medicines of Bafra (Samsun-Turkey). *Turkish Journal of Biochemistry*, 42(4), 381-399.
131. Güzel, Y., Güzelşemme, M., Miski, M. (2015). Ethnobotany of medicinal plants used in Antakya: a multicultural district in Hatay Province of Turkey. *Journal of Ethnopharmacology*, 174, 118-152.
132. Aksoy, A., Çelik, J., Tunay, H. (2016). Gazipaşa (Antalya) ilçe pazarında satılan ve halk tarafından kullanılan bazı bitkiler ve kullanım amaçları. *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi*, 9(2), 55-60.
133. Günbatan, T., Gürbüz, İ., Özkan, A. M. G. (2016). The current status of ethnopharmacobotanical knowledge in Çamlıdere (Ankara, Turkey). *Turkish Journal of Botany*, 40(3), 241-249.

- 134.Korkmaz, M., Karakuş, S., Selvi, S. (2016). An ethnobotanical study on medicinal plants in Erzincan, Turkey. *Indian Journal of Traditional Knowledge*, 15(2), 192-202.
- 135.Sevgi, E., Kızıllarslan-Hançer, Ç., Akkaya, M., Altundağ-Çakır, E., Büyükkılıç-Altınbaşak, B. (2022). An ethnobotanical survey of medicinal plants in Biga (Çanakkale-Turkey). *Indian Journal of Traditional Knowledge*, 21(3), 583-594.
- 136.Korkmaz, M., Karakurt, E. (2015). An ethnobotanical investigation to determine plants used as folk medicine in Kelkit Gümüşhane/Turkey district. *Biyolojik Çeşitlilik ve Koruma*, 8(3), 290-303.
- 137.Akan, H. (2015). Kahta (Adıyaman) merkezi ve Narince köyünün etnobotanik açıdan araştırılması. *Bitlis Eren Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 4(2), 219-248.
- 138.Tunalier, Z., Koşar, M., Küpeli, E., Çaliş, İ., Başer, K. H. C. (2007). Antioxidant, anti-inflammatory, anti-nociceptive activities and composition of *Lythrum salicaria* L. extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, 110(3), 539-547.
- 139.Kalankan, G., Özkan, Z. C., Akbulut, S. (2015). Medicinal and aromatic wild plants and traditional usage of them in Mount Ida (Balıkesir/Turkey). *Journal of Applied Biological Sciences*, 9(3), 25-33.
- 140.Sargin, S. A., Büyükcengiz, M. (2019). Plants used in ethnomedicinal practices in Gulnar district of Mersin, Turkey. *Journal of Herbal Medicine*, 15, 100224.
- 141.Kültür, Ş. (2007). Medicinal plants used in Kırklareli province (Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, 111(2), 341-364.
- 142.Papp, N., Purger, D., Czigle, S., Czégényi, D., Stranczinger, S., Tóth, M., Dénes, T., Kocsis, M., Takácsi-Nagy, A., Filep, R. (2022). The importance of pine species in the ethnomedicine of Transylvania (Romania). *Plants*, 11(18), 2331.
- 143.Las Heras Etayo, N., Llamas, F., Acedo, C. (2021). Ethnobotanical research and compilation of the medicinal uses in Spain and the active principles of *Chiliadenus glutinosus* (L.) Fourr. for the scientific validation of its therapeutic properties. *Plants*, 10(3), 584.
- 144.De Feo, V., Aquino, R., Menghini, A., Ramundo, E., Senatore, F. (1992). Traditional phytotherapy in the peninsula sorrentina, Campania, southern Italy. *Journal of Ethnopharmacology*, 36(2), 113-125.
- 145.El-Mokasabi, F. M. (2014). Floristic composition and traditional uses of plant species at Wadi Alkuf, Al-Jabal Al-Akhder, Libya. *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences*, 14, 685-697.
- 146.Benítez, G., González-Tejero, M., Molero-Mesa, J. (2010). Pharmaceutical ethnobotany in the western part of Granada province (southern Spain): Ethnopharmacological synthesis. *Journal of Ethnopharmacology*, 129(1), 87-105.
- 147.Janačković, P., Gavrilović, M., Savić, J., Marin, P. D., Stevanović, Z. D. (2019). Traditional knowledge on plant use from Negotin Krajina (Eastern Serbia): An ethnobotanical study. *Indian Journal of Traditional Knowledge*, 18(1), 25-33.

148. Novais, M., Santos, I., Mendes, S., Pinto-Gomes, C. (2004). Studies on pharmaceutical ethnobotany in Arrábida natural park (Portugal). *Journal of Ethnopharmacology*, 93(2-3), 183-195.
149. Imanshahidi, M., Hosseinzadeh, H. (2008). Pharmacological and therapeutic effects of *Berberis vulgaris* and its active constituent, berberine. *Phytotherapy Research*, 22(8), 999-1012.
150. Shamsa, F., Ahmadiani, A., Khosrokhavar, R. (1999). Antihistaminic and anticholinergic activity of barberry fruit (*Berberis vulgaris*) in the guinea-pig ileum. *Journal of Ethnopharmacology*, 64(2), 161-166.
151. Rahimi-Madiseh, M., Lorigoini, Z., Zamani-Gharaghoshi, H., Rafieian-Kopaei, M. (2017). *Berberis vulgaris*: specifications and traditional uses. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 20(5), 569.
152. Rad, S. Z. K., Rameshrad, M., Hosseinzadeh, H. (2017). Toxicology effects of *Berberis vulgaris* (barberry) and its active constituent, berberine: a review. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 20(5), 516.
153. Zarei, A., Changizi-Ashtiyani, S., Taheri, S., Ramezani, M. (2015). A quick overview on some aspects of endocrinological and therapeutic effects of *Berberis vulgaris* L. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 5(6), 485.
154. Imenshahidi, M., Hosseinzadeh, H. (2016). *Berberis vulgaris* and berberine: an update review. *Phytotherapy Research*, 30(11), 1745-1764.
155. Šamec, D., Urlić, B., Salopek-Sondi, B. (2019). Kale (*Brassica oleracea* var. *acephala*) as a superfood: Review of the scientific evidence behind the statement. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(15), 2411-2422.
156. Jeon, J., Kim, J. K., Kim, H., Kim, Y. J., Park, Y. J., Kim, S. J., Kim, C., Park, S. U. (2018). Transcriptome analysis and metabolic profiling of green and red kale (*Brassica oleracea* var. *acephala*) seedlings. *Food Chemistry*, 241, 7-13.
157. Sarıkamış, G., Balkaya, A., Yanmaz, R. (2008). Glucosinolates in kale genotypes from the Blacksea region of Turkey. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 22(4), 942-946.
158. Masoodi, M. H., Akbar, S., Mir, S. R., Sawhney, G. *Capsella Bursa-pastoris* (L.) Medic: An Insight into its Pharmacol-ogy, Expository Traditional Uses and Extensive Phytochemistry.
159. Al-Snafi, A. E. (2015). The chemical constituents and pharmacological effects of *Capsella bursa-pastoris*-A review. *International Journal of Pharmacology and toxicology*, 5(2), 76-81.
160. Cha, J. M., Kim, D. H., Lee, T. H., Subedi, L., Kim, S. Y., Lee, K. R. (2018). Phytochemical constituents of *Capsella bursa-pastoris* and their anti-inflammatory activity. *Natural Product Sciences*, 24(2), 132-138.

161. Ulcay, S., Şenel, G. (2020). A Study on Determination of Anatomical and Micromorphological Properties of *Capsella bursa-pastoris* (L.) Medik.(Brassicaceae) in Turkey. *Karadeniz Fen Bilimleri Dergisi*, 10(1), 27-35.
162. Grosso, C., Vinholes, J., Silva, L. R., Pinho, P. G. d., Gonçalves, R. F., Valentão, P., Jäger, A. K., Andrade, P. B. (2011). Chemical composition and biological screening of *Capsella bursa-pastoris*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 21, 635-643.
163. Pandey, S. K., Yadav, S. K., Singh, V. K. (2012). An overview on *Capsicum annuum* L. *Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 4(2), 821-828.
164. Sanati, S., Razavi, B. M., Hosseinzadeh, H. (2018). A review of the effects of *Capsicum annuum* L. and its constituent, capsaicin, in metabolic syndrome. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 21(5), 439.
165. Maji, A. K., Banerji, P. (2016). Phytochemistry and gastrointestinal benefits of the medicinal spice, *Capsicum annuum* L.(Chilli): a review. *Journal of Complementary and Integrative Medicine*, 13(2), 97-122.
166. Mandal, S. K., Rath, S. K., Logesh, R., Mishra, S. K., Devkota, H. P., Das, N. (2023). *Capsicum annuum* L. and its bioactive constituents: A critical review of a traditional culinary spice in terms of its modern pharmacological potentials with toxicological issues. *Phytotherapy Research*, 37(3), 965-1002.
167. Nabavi, S. F., Habtemariam, S., Ahmed, T., Sureda, A., Daglia, M., Sobarzo-Sánchez, E., Nabavi, S. M. (2015). Polyphenolic composition of *Crataegus monogyna* Jacq.: from chemistry to medical applications. *Nutrients*, 7(9), 7708-7728.
168. Keser, S., Celik, S., Turkoglu, S., Yilmaz, Ö., Turkoglu, I. (2014). The investigation of some bioactive compounds and antioxidant properties of hawthorn (*Crataegus monogyna* subsp. *monogyna* Jacq). *Journal of Intercultural Ethnopharmacology*, 3(2), 51.
169. Altınterim, B. (2012). Alıç Bitkisinin (*Crataegus monogyna*) Kardiyovasküler Etkileri. *KSÜ Doğa Bilimleri Dergisi* 15(3).
170. Ekici, M., Satılmış, A., Ay, Y. D., Dülger, B., Yer, H. (1998). *Ecballium elaterium* (L.) meyvelerinin sinüzite karşı kullanımı. *Ekoloji*, 27, 24-25.
171. Memişoğlu, M., Toker, G. (2002). *Ecballium elaterium* (L.) A. Rich. Bitkisinin biyolojik aktivitesi ve geleneksel kullanımı. *FABAD Journal of Pharmaceutical Sciences*, 27, 157-164.
172. Bourebaba, L., Gilbert-Lopez, B., Oukil, N., Bedjou, F. (2020). Phytochemical composition of *Ecballium elaterium* extracts with antioxidant and anti-inflammatory activities: Comparison among leaves, flowers and fruits extracts. *Arabian Journal of Chemistry*, 13(1), 3286-3300.
173. Güllü, İ. B., Necip, Ö. (2016). Tıbbi bir bitki olarak *Ecballium elaterium* (L.)’un tedavi alanlarının araştırılması. *Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 18(1), 49-57.

174. Hannon, M. Determination The Presence of Phytomelin in *Ecballium elaterium* to Approve Its Folk Uses. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4(2)-233-237.
175. Gök, H. N. (2024). *Ecballium elaterium* (L.) A. Rich *Medicinal Plants of Turkey*. CRC Press, s. 37-55.
176. Sarı Gökay, S., Tolu Kendir, Ö., Yılmaz, H. L. (2018). *Ecballium elaterium* Poisoning in Pediatric Emergency Service: A Case Report. *International Journal of Pediatrics*, 6(1), 6977-6980.
177. Sulborska, A., Konarska, A., Matysik-Woźniak, A., Dmitruk, M., Weryszko-Chmielewska, E., Skalska-Kamińska, A., Rejdak, R. (2020). Phenolic constituents of *Lamium album* L. subsp. *album* flowers: Anatomical, histochemical, and phytochemical study. *Molecules*, 25(24), 6025.
178. Pereira, O. R., Domingues, M. R., Silva, A. M., Cardoso, S. M. (2012). Phenolic constituents of *Lamium album*: Focus on isoscutellarein derivatives. *Food Research International*, 48(1), 330-335.
179. Konarska, A., Weryszko-Chmielewska, E., Matysik-Woźniak, A., Sulborska, A., Polak, B., Dmitruk, M., Piotrowska-Weryszko, K., Stefańczyk, B., Rejdak, R. (2021). Histochemical and phytochemical analysis of *Lamium album* subsp. *album* L. Corolla: Essential Oil, Triterpenes, and Iridoids. *Molecules*, 26(14), 4166.
180. Kelayeh, T. P. S., Abedinzade, M., Ghorbani, A. (2019). A review on biological effects of *Lamium album* (white dead nettle) and its components. *Journal of Herbmed Pharmacology*, 8(3), 185-193.
181. Yordanova, Z. P., Zhiponova, M. K., Iakimova, E. T., Dimitrova, M. A., Kapchina-Toteva, V. M. (2014). Revealing the reviving secret of the white dead nettle (*Lamium album* L.). *Phytochemistry Reviews*, 13, 375-389.
182. Paduch, R., Matysik, G., Wójciak-Kosior, M., Kandefer-Szerszen, M., Skalska-Kaminska, A., Nowak-Kryśka, M., Niedziela, P. (2008). *Lamium album* extracts express free radical scavenging and cytotoxic activities. *Polish Journal of Environmental Studies*, 17(4), 569-580.
183. Piwowarski, J. P., Granica, S., Kiss, A. K. (2015). *Lythrum salicaria* L.—Underestimated medicinal plant from European traditional medicine. A review. *Journal of Ethnopharmacology*, 170, 226-250.
184. Stuckey, R. L. (1980). Distributional history of *Lythrum salicaria* (purple loosestrife) in North America. *Bartonia*, 47, 3-20.
185. Pol, M., Schmidtke, K., Lewandowska, S. (2021). *Plantago lanceolata*—An overview of its agronomically and healing valuable features. *Open Agriculture*, 6(1), 479-488.
186. Abate, L., Bachheti, R. K., Tadesse, M. G., Bachheti, A. (2022). Ethnobotanical Uses, Chemical Constituents, and Application of *Plantago lanceolata* L. *Journal of Chemistry*, 2022, 1-17.

187. Bahadori, M. B., Sarikurkcu, C., Kocak, M. S., Calapoglu, M., Uren, M. C., Ceylan, O. (2020). *Plantago lanceolata* as a source of health-beneficial phytochemicals: Phenolics profile and antioxidant capacity. *Food Bioscience*, 34, 100536.
188. Adom, M. B., Taher, M., Mutalabisin, M. F., Amri, M. S., Kudos, M. B. A., Sulaiman, M. W. A. W., Sengupta, P., Susanti, D. (2017). Chemical constituents and medical benefits of *Plantago major*. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 96, 348-360.
189. Genc, Y., Dereli, F. T. G., Saracoglu, I., Akkol, E. K. (2020). The inhibitory effects of isolated constituents from *Plantago major* subsp. *major* L. on collagenase, elastase and hyaluronidase enzymes: Potential wound healer. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 28(1), 101-106.
190. Rahamooz-Haghighi, S., Bagheri, K., Danafar, H., Sharafi, A. (2021). Anti-proliferative properties, biocompatibility, and chemical composition of different extracts of *Plantago major* medicinal plant. *Iranian Biomedical Journal*, 25(2), 106.
191. Çitoğlu, G. S., Altanlar, N. (2003). Antimicrobial activity of some plants used in folk medicine. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University*, 32(3), 159-163.
192. Kaya, Y., Haji, E. K., Arvas, Y. E., Aksoy, H. M. (2019). *Sambucus ebulus* L.: Past, present and future. AIP Conference Proceedings.
193. Jiménez, P., Tejero, J., Cordoba-Diaz, D., Quinto, E. J., Garrosa, M., Gayoso, M. J., Gírbés, T. (2015). Ebulin from dwarf elder (*Sambucus ebulus* L.): a mini-review. *Toxins*, 7(3), 648-658.
194. Shokrzadeh, M., Saravi, S. S. (2010). The chemistry, pharmacology and clinical properties of *Sambucus ebulus*: A review. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(2), 095-103.
195. Jabbari, M., Daneshfard, B., Emtiazy, M., Khiveh, A., Hashempur, M. H. (2017). Biological effects and clinical applications of dwarf elder (*Sambucus ebulus* L.): A review. *Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine*, 22(4), 996-1001.
196. Mili, A., Das, S., Nandakumar, K., Lobo, R. (2021). A comprehensive review on *Sesamum indicum* L.: Botanical, ethnopharmacological, phytochemical, and pharmacological aspects. *Journal of Ethnopharmacology*, 281, 114503.
197. Onkaramurthy, M., Vishwakarma, K., Singh, P., Hegde, S., Azeemuddin, M., Rafiq, M., Babu, U. (2022). Herbal Formulations Ameliorates Chronic Venous Insufficiency, Venotonicity and Elastase Inhibition in the Management of Varicose Veins: A Preclinical Study. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 84(4), 1063-1070.
198. Wei, P., Zhao, F., Wang, Z., Wang, Q., Chai, X., Hou, G., Meng, Q. (2022). Sesame (*Sesamum indicum* L.): A comprehensive review of nutritional value, phytochemical composition, health benefits, development of food, and industrial applications. *Nutrients*, 14(19), 4079.
199. Miraj, S., Kiani, S. (2016). Bioactivity of *Sesamum indicum*: A review study. *Der Pharmacia Lettre*, 8(6), 328-334.

200. Andargie, M., Vinas, M., Rathgeb, A., Möller, E., Karlovsky, P. (2021). Lignans of sesame (*Sesamum indicum* L.): a comprehensive review. *Molecules*, 26(4), 883.
201. Grauso, L., de Falco, B., Lanzotti, V., Motti, R. (2020). Stinging nettle, *Urtica dioica* L.: Botanical, phytochemical and pharmacological overview. *Phytochemistry Reviews*, 19, 1341-1377.
202. Asgarpanah, J., Mohajerani, R. (2012). Phytochemistry and pharmacologic properties of *Urtica dioica* L. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(46), 5714-5719.
203. Sushma, A., Sharma, R. (2021). *Urtica dioica* (Stinging Nettle)–Properties, Uses and Applications. *Journal of Pharmaceutical Research International*, 33(53A), 154-159.
204. Dhouibi, R., Affes, H., Salem, M. B., Hammami, S., Sahnoun, Z., Zeghal, K. M., Ksouda, K. (2020). Screening of pharmacological uses of *Urtica dioica* and others benefits. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, 150, 67-77.
205. Akinyede, K. A., Cupido, C. N., Hughes, G. D., Oguntibeju, O. O., Ekpo, O. E. (2021). Medicinal properties and In vitro biological activities of selected *Helichrysum* species from South Africa: A review. *Plants*, 10(8), 1566.
206. Guner, A. (2012). *Türkiye Bitkileri Listesi (The List of Turkish Plants)*, İstanbul: Nemas Matbaacılık San. Tic. AŞ, 163-165.
207. Lourens, A., Viljoen, A. M., Van Heerden, F. (2008). South African *Helichrysum* species: a review of the traditional uses, biological activity and phytochemistry. *Journal of Ethnopharmacology*, 119(3), 630-652.
208. Kramberger, K., Kenig, S., Jenko Pražnikar, Z., Kočevr Glavač, N., Barlič-Maganja, D. (2021). A review and evaluation of the data supporting internal use of *Helichrysum italicum*. *Plants*, 10(8), 1738.
209. Tanker, N., Sezik, G. (1978). Researches on Species of *Helichrysum* Growing in Turkey, from the Point of view of Pharmaceutical Botany. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University*, 8(1), 19-39.
210. Davis, P. H. (1970). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Vol. 3.
211. Akaberi, M., Sahebkar, A., Azizi, N., Emami, S. A. (2019). Everlasting flowers: Phytochemistry and pharmacology of the genus *Helichrysum*. *Industrial Crops and Products*, 138, 111471.
212. Bigović, D., Šavikin, K., Janković, T., Menković, N., Zdunić, G., Stanojković, T., Djurić, Z. (2011). Antiradical and cytotoxic activity of different *Helichrysum plicatum* flower extracts. *Natural Product Communications*, 6(6), 819-822.
213. Demir, A., Mercanoglu Taban, B., Aslan, M., Yesilada, E., Aykut Aytac, S. (2009). Antimicrobial effect of *Helichrysum plicatum* subsp. *plicatum*. *Pharmaceutical Biology*, 47(4), 289-297.
214. Erdoğan, Ö., Çakiroğlu, E., Karaman, S. (2001). Antibacterial activities of *Helichrysum plicatum* subsp. *plicatum* extracts. *The Sciences*, 1(3), 176-178.

215. Aydın, T. (2020). Secondary metabolites of *Helichrysum plicatum* DC. subsp. *plicatum* flowers as strong carbonic anhydrase, cholinesterase and α -glycosidase inhibitors. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 75(5-6), 153-159.
216. Bahadırli, N. P., Timur, M., Sahin, C. B. (2024). Extraction, Distribution, and Chemical Diversity of *Helichrysum plicatum*, *H. sanguineum* and *H. stoechas* Populations from the Eastern Mediterranean Region of Türkiye. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, 61(4), 1027-1035.
217. Yılmaz, E. (2022). *Helichrysum plicatum* DC. Novel Drug Targets With Traditional Herbal Medicines: Scientific and Clinical Evidence. Springer, s. 317-335.
218. Öztürk, B., Özek, G., Özek, T., Başer, K. H. C. (2014). Chemical Diversity in Volatiles of *Helichrysum plicatum* DC. Subspecies in Turkey. *Records of Natural Products*, 8(4), 373-384.
219. Todorov, F., Ramanchev, L., Karanfilova, I. C., Trajkovska, A., Stefkov, G., Kulevanova, S., Karapandzova, M. Headspace GC/MS analysis of volatile terpenoids in native *Helichrysum plicatum* and *Helichrysum zivojinii* from Macedonian flora. *Macedonian Pharmaceutical Bulletin*, 68(1), 587-588.
220. Başar, Y., Gül, F., Karadağ, M., Alma, M. H., Demirtas, İ., Tel, A. Z. (2024). Determination of the volatile, phenolic and fatty acid contents of *Helichrysum plicatum* by chromatographic methods. *Turkish Journal of Biodiversity*, 7(2), 83-94.
221. Taşkın, T., Gezmiş, T., Çam, M. E., Taşkın, D., Çelik, B. Ö., Şenkardeş, İ., Süzgeç-Selçuk, S. (2020). The *in vitro* and *in vivo* investigation of biological activities and phenolic analysis of *Helichrysum plicatum* subsp. *plicatum*. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 56, e18345.
222. Vujić, B., Vidaković, V., Jadranin, M., Novaković, I., Trifunović, S., Tešević, V., Mandić, B. (2020). Composition, antioxidant potential, and antimicrobial activity of *Helichrysum plicatum* DC. various extracts. *Plants*, 9(3), 337.
223. Albayrak, S., Aksoy, A., Sagdic, O., Hamzaoglu, E. (2010). Compositions, antioxidant and antimicrobial activities of *Helichrysum* (Asteraceae) species collected from Turkey. *Food Chemistry*, 119(1), 114-122.
224. Kolaylı, S., Şahin, H., Ulusoy, E., Tarhan, Ö. (2010). Phenolic composition and antioxidant capacities of *Helichrysum plicatum*. *Hacettepe Journal of Biology and Chemistry*, 38(4), 269-276.
225. Taşkın, T., Gezmiş, T., Çam, M. E., Taşkın, D., Çelik, B. Ö., Şenkardeş, İ., Süzgeç-Selçuk, S. (2020). The *in vitro* and *in vivo* investigation of biological activities and phenolic analysis of *Helichrysum plicatum* subsp. *plicatum*. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 56, e18345.
226. Mükemre, M., Behçet, L., Çakılcıoğlu, U. (2015). Ethnobotanical study on medicinal plants in villages of Çatak (Van-Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, 166, 361-374.

227. Akbulut, S., Zengin, Z. (2023). Ethnobotanical survey of wild plants used in Gümüşhane province (Turkey). *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 22(2), 237-254.
228. Bulut, G., Haznedaroğlu, M. Z., Doğan, A., Koyu, H., Tuzlacı, E. (2017). An ethnobotanical study of medicinal plants in Acipayam (Denizli-Turkey). *Journal of Herbal Medicine*, 10, 64-81.
229. Salim, M., Necattin, T. (2018). A survey on wild plants with ethnobotanical use in the Bahçe and Hasanbeyli districts of Osmaniye, Turkey. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, 5(3), 028-035.
230. Karakaya, S., Polat, A., Aksakal, Ö., Sümbüllü, Y. Z., İncekara, Ü. (2019). Plants used in traditional medicine and other uses in South of Erzurum (Turkey): An ethnobotanical study. *Ethnobotany Research and Applications*, 18, 1-18.
231. Kadioğlu, S., Kadioğlu, B., Karagöz, K. (2021). Ethnobotanical properties of natural plant in Kop Pass (Bayburt/Turkey). *Biyolojik Çeşitlilik ve Koruma*, 14(2), 264-276.
232. Cakilcioglu, U., Turkoglu, I. (2010). An ethnobotanical survey of medicinal plants in Sivrice (Elazığ-Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, 132(1), 165-175.
233. Polat, R. (2019). Ethnobotanical study on medicinal plants in Bingöl (City center)(Turkey). *Journal of Herbal Medicine*, 16, 100211.
234. Özdemir, E., Alpınar, K. (2015). An ethnobotanical survey of medicinal plants in western part of central Taurus Mountains: Aladaglar (Nigde–Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, 166, 53-65.
235. Kazancı, C., Oruç, S., Mosulishvili, M. (2020). Medicinal ethnobotany of wild plants: a cross-cultural comparison around Georgia-Turkey border, the Western Lesser Caucasus. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 16, 1-20.
236. Jovanović, M., Drinić, Z., Bigović, D., Alimpić-Aradski, A., Duletić-Laušević, S., Šavikin, K. (2020). *In vitro* and *in silico* prediction of antineurodegenerative properties of *Helichrysum plicatum* flower extract. *Lekovite Sirovine*, 40(1), 45-51.
237. Yildirim, B. A., Kordali, S., Kapakin, K. A. T., Yildirim, F., Senocak, E. A., Altun, S. (2017). Effect of *Helichrysum plicatum* DC. subsp. *plicatum* ethanol extract on gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *Journal of Zhejiang University. Science. B*, 18(6), 501.
238. Tepe, B., Sokmen, M., Akpulat, H. A., Sokmen, A. (2005). *In vitro* antioxidant activities of the methanol extracts of four *Helichrysum* species from Turkey. *Food Chemistry*, 90(4), 685-689.
239. Kolaylı, S., Şahin, H., Ulusoy, E., Tarhan, Ö. (2010). Phenolic composition and antioxidant capacities of *Helichrysum plicatum*. *Hacettepe Journal of Biology and Chemistry*, 38(4), 269-276.
240. Panovska, T. K., Kulevanova, S. (2005). Antioxidant potential of *Helichrysum plicatum* DC.(Asteraceae). *Macedonian Pharmaceutical Bulletin*, 51, 29-34.

- 241.Orhan, N., Hoçbaç, S., Orhan, D. D., Asian, M., Ergun, F. (2014). Enzyme inhibitory and radical scavenging effects of some antidiabetic plants of Turkey. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 17(6), 426.
- 242.Bigović, D. J., Stević, T. R., Janković, T. R., Noveski, N. B., Radanović, D. S., Pljevljakušić, D. S., Djurić, Z. R. (2017). Antimicrobial activity of *Helichrysum plicatum* DC. *Hemijska Industrija (Chemical Industry)*, 71(4), 337-342.
- 243.Aslan, M., Orhan, D. D., Orhan, N., Sezik, E., Yesilada, E. (2007). *In vivo* antidiabetic and antioxidant potential of *Helichrysum plicatum* ssp. *plicatum* capitulums in streptozotocin-induced-diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 109(1), 54-59.
- 244.Sezik, M., Aslan, M., Orhan, D. D., Erdemoglu, E., Pekcan, M., Mungan, T., Sezik, E. (2010). Improved metabolic control and hepatic oxidative biomarkers with the periconception use of *Helichrysum plicatum* ssp. *plicatum*. *Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 30(2), 127-131.
- 245.Karaca, M., Ozbek, H., Akkan, H., Tutuncu, M., Özgökçe, F., Him, A., Bakir, B. (2009). Anti-inflammatory activities of diethyl-ether extracts of *Helichrysum plicatum* DC. and *Tanacetum balsamita* L. in rats. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, 4(6), 320-325.
- 246.Panche, A. N., Diwan, A. D., Chandra, S. R. (2016). Flavonoids: an overview. *Journal of Nutritional Science*, 5, e47.
- 247.Karak, P. (2019). Biological activities of flavonoids: An overview. *International Journal of Pharmaceutics*, 10(4), 1567-1574.
- 248.Hasnat, H., Shompa, S. A., Islam, M. M., Alam, S., Richi, F. T., Emon, N. U., Ashrafi, S., Ahmed, N. U., Chowdhury, M. N. R., Fatema, N. (2024). Flavonoids: A treasure house of prospective pharmacological potentials. *Heliyon*, 10 (6), e27533
- 249.Kumar, S., Pandey, A. K. (2013). Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *The Scientific World Journal*, 2013(1), 162750.
- 250.Ullah, A., Munir, S., Badshah, S. L., Khan, N., Ghani, L., Poulson, B. G., Emwas, A.-H., Jaremko, M. (2020). Important flavonoids and their role as a therapeutic agent. *Molecules*, 25(22), 5243.
- 251.Cos, P., Ying, L., Calomme, M., Hu, J. P., Cimanga, K., Van Poel, B., Pieters, L., Vlietinck, A. J., Berghe, D. V. (1998). Structure– activity relationship and classification of flavonoids as inhibitors of xanthine oxidase and superoxide scavengers. *Journal of Natural Products*, 61(1), 71-76.
- 252.Motallebi, M., Bhia, M., Rajani, H. F., Bhia, I., Tabarraei, H., Mohammadkhani, N., Pereira-Silva, M., Kasaii, M. S., Nouri-Majd, S., Mueller, A.-L. (2022). Naringenin: A potential flavonoid phytochemical for cancer therapy. *Life Sciences*, 305, 120752.
- 253.Salehi, B., Fokou, P. V. T., Sharifi-Rad, M., Zucca, P., Pezzani, R., Martins, N., Sharifi-Rad, J. (2019). The therapeutic potential of naringenin: a review of clinical trials. *Pharmaceutics*, 12(1), 11.

254. Joshi, R., Kulkarni, Y. A., Wairkar, S. (2018). Pharmacokinetic, pharmacodynamic and formulations aspects of Naringenin: An update. *Life Sciences*, 215, 43-56.
255. Bhia, M., Motallebi, M., Abadi, B., Zarepour, A., Pereira-Silva, M., Saremnejad, F., Santos, A. C., Zarrabi, A., Melero, A., Jafari, S. M. (2021). Naringenin nano-delivery systems and their therapeutic applications. *Pharmaceutics*, 13(2), 291.
256. Arafah, A., Rehman, M. U., Mir, T. M., Wali, A. F., Ali, R., Qamar, W., Khan, R., Ahmad, A., Aga, S. S., Alqahtani, S. (2020). Multi-therapeutic potential of naringenin (4', 5, 7-trihydroxyflavonone): experimental evidence and mechanisms. *Plants*, 9(12), 1784.
257. Zeng, W., Jin, L., Zhang, F., Zhang, C., Liang, W. (2018). Naringenin as a potential immunomodulator in therapeutics. *Pharmacological Research*, 135, 122-126.
258. Moghaddam, R. H., Samimi, Z., Moradi, S. Z., Little, P. J., Xu, S., Farzaei, M. H. (2020). Naringenin and naringin in cardiovascular disease prevention: A preclinical review. *European Journal of Pharmacology*, 887, 173535.
259. Shukla, S., Gupta, S. (2010). Apigenin: a promising molecule for cancer prevention. *Pharmaceutical Research*, 27, 962-978.
260. Li, B., Robinson, D. H., Birt, D. F. (1997). Evaluation of properties of apigenin and [³H] apigenin and analytic method development. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 86(6), 721-725.
261. Singh, A., Singh, J., Parween, G., Khator, R., Monga, V. (2024). A comprehensive review of apigenin a dietary flavonoid: biological sources, nutraceutical prospects, chemistry and pharmacological insights and health benefits. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1-37.
262. Salehi, B., Venditti, A., Sharifi-Rad, M., Kręgiel, D., Sharifi-Rad, J., Durazzo, A., Lucarini, M., Santini, A., Souto, E. B., Novellino, E. (2019). The therapeutic potential of apigenin. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(6), 1305.
263. Mushtaq, Z., Sadeer, N. B., Hussain, M., Mahwish, Alsagaby, S. A., Imran, M., Mumtaz, T., Umar, M., Tauseef, A., Al Abdulmonem, W. (2023). Therapeutical properties of apigenin: a review on the experimental evidence and basic mechanisms. *International Journal of Food Properties*, 26(1), 1914-1939.
264. Zhou, X., Wang, F., Zhou, R., Song, X., Xie, M. (2017). Apigenin: A current review on its beneficial biological activities. *Journal of Food Biochemistry*, 41(4), e12376.
265. Thomas, S. D., Jha, N. K., Jha, S. K., Sadek, B., Ojha, S. (2023). Pharmacological and molecular insight on the cardioprotective role of apigenin. *Nutrients*, 15(2), 385.
266. Huang, L., Kim, M.-Y., Cho, J. Y. (2023). Immunopharmacological activities of luteolin in chronic diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(3), 2136.
267. Muruganathan, N., Dhanapal, A. R., Baskar, V., Muthuramalingam, P., Selvaraj, D., Aara, H., Shiek Abdullah, M. Z., Sivanesan, I. (2022). Recent updates on source,

- biosynthesis, and therapeutic potential of natural flavonoid luteolin: a review. *Metabolites*, 12(11), 1145.
268. López-Lázaro, M. (2009). Distribution and biological activities of the flavonoid luteolin. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 9(1), 31-59.
 269. Zhu, M., Sun, Y., Su, Y., Guan, W., Wang, Y., Han, J., Wang, S., Yang, B., Wang, Q., Kuang, H. (2024). Luteolin: A promising multifunctional natural flavonoid for human diseases. *Phytotherapy Research*, 38(7), 3417-3443.
 270. Widowati, W., Rani, A. P., Hamzah, R. A., Arumwardana, S., Afifah, E., Kusuma, H. S. W., Rihibiha, D. D., Nufus, H., Amalia, A. (2017). Antioxidant and antiaging assays of *Hibiscus sabdariffa* extract and its compounds. *Natural Product Sciences*, 23(3), 192-200.
 271. Barrantes, E., Guinea, M. a. (2003). Inhibition of collagenase and metalloproteinases by aloins and aloe gel. *Life Sciences*, 72(7), 843-850.
 272. Van Wart, H. E., Steinbrink, D. R. (1981). A continuous spectrophotometric assay for *Clostridium histolyticum* collagenase. *Analytical Biochemistry*, 113(2), 356-365.
 273. Kraunsoe, J. A., Claridge, T. D., Lowe, G. (1996). Inhibition of human leukocyte and porcine pancreatic elastase by homologues of bovine pancreatic trypsin inhibitor. *Biochemistry*, 35(28), 9090-9096.
 274. Lee, S., Sandesh, S., Shruti, S., Seo, S. (2009). Potent antielastase and antityrosinase activities of *Astilbe chinensis*. *American Journal of Pharmacology and Toxicology*, 4(4), 127-129.
 275. Chung, L. Y., Soo, W. K., Chan, K. Y., Mustafa, M. R., Goh, S. H., Imiyabir, Z. (2009). Lipoxygenase inhibiting activity of some Malaysian plants. *Pharmaceutical Biology*, 47(12), 1142-1148.
 276. Khan, S. B., Afza, N., Malik, A., Azhar-Ul-Haq, Perveen, S., Ahmad, I., Ejaz, A., Iqbal Choudhary, M. (2006). Xanthine oxidase inhibiting flavonol glycoside from *Amberboa ramosa*. *Natural Product Research*, 20(04), 335-339.
 277. Miser-Salihoglu, E., Akaydin, G., Caliskan-Can, E., Yardim-Akaydin, S. (2013). Evaluation of antioxidant activity of various herbal folk medicines. *Journal of Nutrition & Food Sciences*, 3(9), 1-9.
 278. Duh, P.-D., Tu, Y.-Y., Yen, G.-C. (1999). Antioxidant activity of water extract of Harnng Jyur (*Chrysanthemum morifolium* Ramat). *LWT-Food Science and Technology*, 32(5), 269-277.
 279. Sreejayan, X., Rao, M. (1997). Nitric oxide scavenging by curcuminoids. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 49(1), 105-107.
 280. Deniz, F. S. S., Orhan, I. E., Duman, H. (2021). Profiling cosmeceutical effects of various herbal extracts through elastase, collagenase, tyrosinase inhibitory and antioxidant assays. *Phytochemistry Letters*, 45, 171-183.

281. Grela, E., Kozłowska, J., Grabowiecka, A. (2018). Current methodology of MTT assay in bacteria—A review. *Acta histochemica*, 120(4), 303-311.
282. Yaka, E., Çavdar, Z., Genç, K., Yener, G. G. (2006). Biochemical Markers in Cerebrospinal Fluid (CSF) and Evaluation of The Effect of CSF on PC12 Cell Line Viability in Alzheimer's Disease. *Turkish Journal of Geriatrics*, 9(1), 1-7.
283. Backheet, E. Y., Farag, S. F., Ahmed, A. S., Sayed, H. M. (2003). Flavonoids and cyanogenic glycosides from the leaves and stem bark of *Prunus persica* (L.) Batsch (Meet Ghamr) peach local cultivar in Assiut region. *Bulletin of Pharmaceutical Sciences Assiut University*, 26(1), 55-66.
284. Van Loo, P., De Bruyn, A., Buděšínský, M. (1986). Reinvestigation of the structural assignment of signals in the ¹H and ¹³C NMR spectra of the flavone apigenin. *Magnetic Resonance in Chemistry*, 24(10), 879-882.
285. Wawer, I., Zielinska, A. (2001). ¹³C CP/MAS NMR studies of flavonoids. *Magnetic Resonance in Chemistry*, 39(7), 374-380.
286. White, J. V., Ryjewski, C. (2005). Chronic venous insufficiency. *Perspectives in Vascular Surgery and Endovascular Therapy*, 17(4), 319-327.
287. Davies, A. H. (2019). The seriousness of chronic venous disease: a review of real-world evidence. *Advances in Therapy*, 36(1), 5-12.
288. Chaitidis, N., Kokkinidis, D. G., Papadopoulou, Z., Kyriazopoulou, M., Schizas, D., Bakoyiannis, C. (2022). Treatment of chronic venous disorder: A comprehensive review. *Dermatologic Therapy*, 35(2), e15238.
289. Stücker, M., Debus, E. S., Hoffmann, J., Jünger, M., Kröger, K., Mumme, A., Ramelet, A. A., Rabe, E. (2016). Consensus statement on the symptom-based treatment of chronic venous diseases. *JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft*, 14(6), 575-583.
290. Rathbun, S. W., Kirkpatrick, A. C. (2007). Treatment of chronic venous insufficiency. *Current Treatment Options in Cardiovascular Medicine*, 9(2), 115-126.
291. Głowiczki, P., Lawrence, P. F., Wasan, S. M., Meissner, M. H., Almeida, J., Brown, K. R., Bush, R. L., Di Iorio, M., Fish, J., Fukaya, E. (2024). The 2023 Society for Vascular Surgery, American Venous Forum, and American Vein and Lymphatic Society clinical practice guidelines for the management of varicose veins of the lower extremities. Part II: Endorsed by the Society of Interventional Radiology and the Society for Vascular Medicine. *Journal of Vascular Surgery: Venous and Lymphatic Disorders*, 12(1), 101670.
292. Wasan, S. (2024). Chronic Venous Insufficiency Evaluation and Medical Management. *Current Cardiology Reports*, 26(11), 1241-1247.
293. Phan, S. H., Gannon, D. E., Ward, P. A., Karmiöl, S. (1992). Mechanism of neutrophil-induced xanthine dehydrogenase to xanthine oxidase conversion in endothelial cells: evidence of a role for elastase. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, 6(3), 270-278.

- 294.Kozachok, S., Pecio, Ł., Orhan, I. E., Deniz, F. S. S., Marchyshyn, S., Oleszek, W. (2020). Reinvestigation of *Herniaria glabra* L. saponins and their biological activity. *Phytochemistry*, 169, 112162.
- 295.Kucukguven, A., A. Khalil, R. (2013). Matrix metalloproteinases as potential targets in the venous dilation associated with varicose veins. *Current Drug Targets*, 14(3), 287-324.
- 296.Piwowarski, J. P., Kiss, A. K. (2015). Contribution of C-glucosidic ellagitannins to *Lythrum salicaria* L. influence on pro-inflammatory functions of human neutrophils. *Journal of Natural Medicines*, 69, 100-110.
- 297.Li, Z., Wu, N., Wang, J., Zhang, Q. (2020). Roles of Endovascular Calyx Related Enzymes in Endothelial Dysfunction and Diabetic Vascular Complications. *Front Pharmacology*. 2020, 11.
- 298.Tabeshpour, J., Imenshahidi, M., Hosseinzadeh, H. (2017). A review of the effects of *Berberis vulgaris* and its major component, berberine, in metabolic syndrome. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 20(5), 557.
- 299.Tarrago, T., Kichik, N., Seguí, J., Giralt, E. (2007). The natural product berberine is a human prolyl oligopeptidase inhibitor. *ChemMedChem: Chemistry Enabling Drug Discovery*, 2(3), 354-359.
- 300.Cahlíková, L., Hulová, L., Hrabínová, M., Chlebek, J., Hošťálková, A., Adamcová, M., Šafratová, M., Jun, D., Opletal, L., Ločárek, M. (2015). Isoquinoline alkaloids as prolyl oligopeptidase inhibitors. *Fitoterapia*, 103, 192-196.
- 301.Yashaswini, P., Rao, A. A., Singh, S. A. (2017). Inhibition of lipooxygenase by sesamol corroborates its potential anti-inflammatory activity. *International Journal of Biological Macromolecules*, 94, 781-787.
- 302.Piwowarski, J. P., Kiss, A. K., Kozłowska-Wojciechowska, M. (2011). Anti-hyaluronidase and anti-elastase activity screening of tannin-rich plant materials used in traditional Polish medicine for external treatment of diseases with inflammatory background. *Journal of Ethnopharmacology*, 137(1), 937-941.
- 303.Jamshidi, M., Shabani, E., Hashemi, Z., Ebrahimzadeh, M. (2014). Evaluation of three methods for the extraction of antioxidants from leaf and aerial parts of *Lythrum salicaria* L.(Lythraceae). *International Food Research Journal*, 21(2), 783-788.
- 304.Iio, M., Moriyama, A., Matsumoto, Y., Takaki, N., Fukumoto, M. (1985). Inhibition of xanthine oxidase by flavonoids. *Agricultural and Biological Chemistry*, 49(7), 2173-2176.
- 305.Balázs, O., Dombi, Á., Zsidó, B. Z., Hetényi, C., Valentová, K., Vida, R. G., Poór, M. (2023). Inhibition of xanthine oxidase-catalyzed xanthine and 6-mercaptopurine oxidation by luteolin, naringenin, myricetin, ampelopsin and their conjugated metabolites. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 167, 115548.

306. Zhang, X., Liu, L., Fan, Z., Mamadalieva, N., Liu, C., Guo, X., Sun, S., Sun, H., Li, N., Wang, M. (2025). Bioactive Evaluation of Naringenin in Ameliorating Hyperuricemia-Induced Liver Injury by Inhibiting Xanthine Oxidase. *Food*, 6(1), e70032.
307. Yuan, M., Liu, Y., Xiao, A., Leng, J., Liao, L., Ma, L., Liu, L. (2019). The interaction of dietary flavonoids with xanthine oxidase in vitro: Molecular property-binding affinity relationship aspects. *RSC Advances*, 9(19), 10781-10788.
308. Lin, C.-M., Chen, C.-S., Chen, C.-T., Liang, Y.-C., Lin, J.-K. (2002). Molecular modeling of flavonoids that inhibits xanthine oxidase. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 294(1), 167-172.
309. Adetunji, J. A., Fasae, K. D., Awe, A. I., Paimo, O. K., Adegoke, A. M., Akintunde, J. K., Sekhoacha, M. P. (2023). The protective roles of citrus flavonoids, naringenin, and naringin on endothelial cell dysfunction in diseases. *Heliyon*, 9(6), e17166.
310. Zhang, Y.-Y., Thakur, K., Wei, C.-K., Wang, H., Zhang, J.-G., Wei, Z.-J. (2019). Evaluation of inhibitory activity of natural plant polyphenols on Soybean lipoxygenase by UFLC-mass spectrometry. *South African Journal of Botany*, 120, 179-185.
311. Holanda, F. H., Pereira, R. R., Marinho, V. H. S., Jimenez, D. E., Ferreira, L. M. C., Ribeiro-Costa, R. M., de Sousa, F. F. O., Ferreira, I. M. (2023). Development of nanostructured formulation from naringenin and silk fibroin and application for inhibition of lipoxygenase (LOX). *RSC Advances*, 13(33), 23063-23075.
312. Jakimiuk, K., Gesek, J., Atanasov, A. G., Tomczyk, M. (2021). Flavonoids as inhibitors of human neutrophil elastase. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 36(1), 1016-1028.
313. Şahin, D., Çağlar, E. Ş., Boran, T., Karadağ, A. E., Özhan, G., Okur, N. Ü. (2023). Development, characterization of naringenin-loaded promising microemulsion formulations, and demonstration of anti-aging efficacy by in vitro enzyme activity and gene expression. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 84, 104422.
314. Moon, S.-H., Kim, K.-T., Lee, N.-K., Han, Y.-S., Nah, S.-Y., Cho, S.-G., Park, Y.-S., Paik, H.-D. (2009). Inhibitory effects of naringenin and its novel derivatives on hyaluronidase. *Food Science and Biotechnology*, 18(1), 267-270.
315. Lee, J. H., Kim, G. H. (2010). Evaluation of antioxidant and inhibitory activities for different subclasses flavonoids on enzymes for rheumatoid arthritis. *Journal of Food Science*, 75(7), H212-H217.
316. Ali, H., Ullah, K., Siddiqui, H., Iqbal, S., Goren, N., Ayatollahi, S. A., Choudhary, M. I. (2020). Chemical constituents from *Parrotia persica*-Structural derivatization and their potential prolyl endopeptidase inhibition activity. *Bioorganic Chemistry*, 96, 103526.
317. Lin, S., Zhang, G., Liao, Y., Pan, J., Gong, D. (2015). Dietary flavonoids as xanthine oxidase inhibitors: Structure–affinity and structure–activity relationships. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(35), 7784-7794.

318. Su, Z.-R., Fan, S.-Y., Shi, W.-G., Zhong, B.-H. (2015). Discovery of xanthine oxidase inhibitors and/or α -glucosidase inhibitors by carboxyalkyl derivatization based on the flavonoid of apigenin. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 25(14), 2778-2781.
319. Xue, H., Xu, M., Gong, D., Zhang, G. (2023). Mechanism of flavonoids inhibiting xanthine oxidase and alleviating hyperuricemia from structure–activity relationship and animal experiments: A review. *Food Frontiers*, 4(4), 1643-1665.
320. Flemmig, J., Kuchta, K., Arnhold, J., Rauwald, H. (2011). *Olea europaea* leaf (Ph. Eur.) extract as well as several of its isolated phenolics inhibit the gout-related enzyme xanthine oxidase. *Phytomedicine*, 18(7), 561-566.
321. Yamagata, K., Miyashita, A., Chino, M., Matsufuji, H. (2011). Apigenin inhibits tumor necrosis factor alpha plus high glucose-induced LOX-1 expression in human endothelial cells. *Microvascular Research*, 81(1), 60-67.
322. Tjerman, L., Nyoman, I., Lister, E., Nasution, A., Girsang, E. (2019). Antioxidant and inhibition of elastase effect of scutellarein and apigenin. *American Scientific Research Journal for Engineering, Technology and Sciences*, 55, 104-110.
323. Feliciaa, E. G., Nasutionc, A. N., Liesterd, I. N. E. (2019). Potential ABTS Reducing and Anti-collagenase Activity of Scutellarein and Apigenin. *American Scientific Research Journal for Engineering, Technology, and Sciences*, 57(1), 124-130.
324. Süntar, I., Akkol, E. K., Keles, H., Yesilada, E., Sarker, S. D. (2013). Exploration of the wound healing potential of *Helichrysum graveolens* (Bieb.) Sweet: Isolation of apigenin as an active component. *Journal of Ethnopharmacology*, 149(1), 103-110.
325. Yan, J., Zhang, G., Hu, Y., Ma, Y. (2013). Effect of luteolin on xanthine oxidase: Inhibition kinetics and interaction mechanism merging with docking simulation. *Food Chemistry*, 141(4), 3766-3773.
326. Pauff, J. M., Hille, R. (2009). Inhibition studies of bovine xanthine oxidase by luteolin, silibinin, quercetin, and curcumin. *Journal of Natural Products*, 72(4), 725-731.
327. Nessa, F., Ismail, Z., Mohamed, N. (2010). Xanthine oxidase inhibitory activities of extracts and flavonoids of the leaves of *Blumea balsamifera*. *Pharmaceutical Biology*, 48(12), 1405-1412.
328. Nagao, A., Seki, M., Kobayashi, H. (1999). Inhibition of xanthine oxidase by flavonoids. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 63(10), 1787-1790.
329. Ribeiro, D., Freitas, M., Tome, S. M., Silva, A. M., Porto, G., Cabrita, E. J., Marques, M. M. B., Fernandes, E. (2014). Inhibition of LOX by flavonoids: a structure–activity relationship study. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 72, 137-145.
330. Kim, J. S., Kim, J. C., Shim, S. H., Lee, E. J., Jin, W. Y., Bae, K., Son, K. H., Kim, H. P., Kang, S. S., Chang, H. W. (2006). Chemical constituents of the root of *Dystaenia takeshimana* and their anti-inflammatory activity. *Archives of Pharmacal Research*, 29, 617-623.

- 331.Sin, B. Y., Kim, H. P. (2005). Inhibition of collagenase by naturally-occurring flavonoids. *Archives of Pharmacal Research*, 28, 1152-1155.
- 332.Jusri, R., Widodo, W. S., Widowati, W., Armansyah, A., Sormin, D. E., Fachrial, E., Lister, I. N. E. (2019). Comparison of antioxidant and anti-hyaluronidase potentials of pineapple core extract (*Ananas comosus* (L.) Merr.) and luteolin. *Majalah Kedokteran Bandung*, 51(2), 63-69.
- 333.Lee, K.-H., Kwak, J. H., Lee, K.-B., Song, K.-S. (1998). Prolyl endopeptidase inhibitors from Caryophylli Flos. *Archives of Pharmacal Research*, 21, 207-211.
- 334.Lee, S.-H., Jun, M., Choi, J.-Y., Yang, E.-J., Hur, J.-M., Bae, K., Seong, Y.-H., Huh, T.-L., Song, K.-S. (2007). Plant phenolics as prolyl endopeptidase inhibitors. *Archives of Pharmacal Research*, 30, 827-833.
- 335.Gawlik-Dziki, U., Dziki, D., Świeca, M., Nowak, R. (2017). Mechanism of action and interactions between xanthine oxidase inhibitors derived from natural sources of chlorogenic and ferulic acids. *Food Chemistry*, 225, 138-145.
- 336.Chiang, H.-C., Lo, Y.-J., Lu, F.-J. (1994). Xanthine oxidase inhibitors from the leaves of *Alsophila spinulosa* (Hook) Tryon. *Journal of Enzyme inhibition*, 8(1), 61-71.
- 337.Remya, V., GR, A., Indu, P. C., Ashi, A., Sheela, B. K. Unraveling the pharmacodynamics of decoction of *Hygrophila auriculata* (K. Schum) Heine (Kokilakshakam Kashayam), a traditional formulation in gout: Insights from *in-vitro* and *in-silico* approaches. *Available at SSRN*, 4974983. 1-46.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : BÜYÜKYILDIRIM, Tuğsen
 Uyruğu : T.C.
 Doğum tarihi ve yeri :
 Medeni hali :
 Telefon :
 e-posta :

Eğitim Derecesi	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Doktora	Gazi Üniversitesi / Farmakognozi ABD	2025
Yüksek lisans	Gazi Üniversitesi / Farmakognozi ABD	2021
Lisans	Gazi Üniversitesi / Eczacılık Fakültesi	2018
Lise	Karatay TOKİ Anadolu / Lisesi	2013

İş Deneyimi, Yıl	Çalıştığı Yer	Görev
2019-devam ediyor	Selçuk Üniversitesi	Araştırma Görevlisi
2018-2019	Dünyagöz Hastaneler Grubu	Mesul Müdür Eczacı

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar

1. Ceylan, C., Cetin, N., Menevse, E., Celik, Z. E., Akdam, N., Pasayeva, L., Tugay, O., Rama, S.T., Buyukyildirim, T., Ulukus, D. (2024). *Echinophora tournefortii* Jaub. & Spach: Evaluation of the effect on indomethacin-induced gastric ulcer in rats and phytochemical analyses by LC-HRMS. **Fitoterapia**, 177, 106072.
2. Cetin, N., Menevse, E., Ceylan, C., Celik, Z. E., Akdam, N., Rama, S. T., Buyukyildirim, T., Pasayeva, L., Tugay, O., Gumus, M. (2024). Histopathological and

- biochemical evaluation of the protective efficacy of *Prunus spinosa* L. extract in a rat model of indomethacin-induced gastric ulcer. **Iranian Journal of Basic Medical Sciences**, 27(11), 1464.
3. Büyükyıldırım, T., Bağcı, Y., Eruygur, N., & Bakır, M. R. Fatty Acid Composition, Antioxidant, and Enzyme Inhibition Activities of *Cachrys Crassiloba* (Boiss.) Meikle Fruit and Leaf Extracts. **Journal of the Turkish Chemical Society Section A: Chemistry**, 11(2), 723-730.
 4. Eruygur N., Büyükyıldırım T., Kırıcı D., Ayaz F., Bağcı Y., Doğu S. (2024). Evaluation of the *in vitro* enzyme inhibition and antioxidant activity of *Clinopodium betulifolium* (Boiss. & Balansa) Kuntze. **Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi**, 27(6), 1282-1288.
 5. Büyükyıldırım, T., Deniz, F. S. Ş. (2024). Natural treatment approaches for varicose veins: A brief review of the literature. **Trakya University Journal of Natural Sciences**, 25(1), 121-132.
 6. Eruygur, N., Buyukyildirim, T., Tetik Rama, S., Ayaz, F., Tekin, M., Tuzcu, M., Akçakavak, G., Abdullah Yilmaz, M. (2023). Phytochemical profiling and biological activity of *Achillea sintenisii* Hub.-Mor. **Chemistry&Biodiversity**, 20(6), e202201258.
 7. Ayaz, F., Eruygur, N., Doğru, T., Bağcı, Y., Doğu, S. (2022). Biological Activities of the Methanol Extracts of *Smyrniun connatum* Boiss. and Kotschy. **Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi**, 25(6), 1216-1224.
 8. Doğru, T., Ayaz, F., Eruygur, N. (2022). Coronavirus Disease (COVID-19): A Review of Antiviral Potential Herbal Medicines. **Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi**, 9(2), 245-254.
 9. Eruygur, N., Ayaz, F., Bağcı, Y., Doğu, S., Doğru, T., Kocak, M. (2021). Biological activity studies on *Klasea serratuloides* (DC) Greuter & Wagenitz subsp. *karamanica* B. Dogan & A. Duran extracts obtained with different extraction methods. **International Journal of Secondary Metabolite**, 8(4), 389-397.
 10. Buyukyildirim, T., Senol Deniz, F. S., Tugay, O., Salmas, R. E., Ulutas, O. K., Aysal, I. A., Orhan, I. E. (2025). Chromatographic Analysis and Enzyme Inhibition Potential of *Reynoutria japonica* Houtt.: Computational Docking, ADME, Pharmacokinetic, and Toxicokinetic Analyses of the Major Compounds. **Pharmaceuticals**, 18(3), 408.
 11. Bağcı, Y., Büyükyıldırım, T., Ayaz, F., Eruygur, N. (2025). Assessment of antioxidant, skin whitening and anti-Alzheimer effects of *Ferulago asparagifolia* Boiss. **Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi**, 15(1), 11-20.
 12. Buyukyildirim, T., Ocal Ozdamar, F., Baysal Furtana, G., Gok, H. N., Ozek, T., Orhan, I. E., Senol Deniz, F. S., Duman, H. (2025). Enzyme Inhibitory and Antioxidant Potential with Phytochemical Analysis of *Satureja hasturkii* H. Duman & Dirmenci: A New Record From Türkiye. **Chemistry & Biodiversity**, e202500328.



GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR..