T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
HAMİDİYE SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

CERATOCEPHALA FALCATA (L.) PERS. BİTKİSİNİN ANTİOKSİDAN VE ANTİENFLAMATUVAR AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI VE FENOLİK BİLEŞİKLERİNİN ANALİZİ

MERVE SOY

TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. MAHFUZ ELMASTAŞ

FARMAKOGNOZİ ANA BİLİM DALI
FARMAKOGNOZİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

YÜKSEK LİSANS TEZİ
ARALIK/2023

İTHAF

“Çalışmamı iyi niyetiyle çalışan tüm insanlara ithaf ediyorum.”

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans sürecim boyunca teorik ve laboratuvar bilgimi artırmamı sağlayan ve her konuda desteğine şahit olduğum kıymetli danışman hocam Prof. Dr. Mahfuz Elmastaş'a sonsuz teşekkürlerimi arz ederim. Tezimde çalıştığım bitkiyi tedarik etmemi kolaylaştıran ve bitkinin tür tespitini gerçekleştiren Prof. Dr. Ahmet İlçim'e teşekkürlerimi sunarım. Engin laboratuvar tecrübelerini sakınmadan benimle paylaşan Dr. Duygu Mısırlı'ya teşekkürümü borç bilirim.

Bilgi ve ilmimi artırmam yönündeki desteklerini bildiğim sevgili annem Meryem Soy başta olmak üzere babam Mahmut Soy'a ve tüm aileme şükranlarımı iletirim. Yoldaşım olarak bildiğim, her konuda maddi ve manevi destekçim canım arkadaşım Ar. Gör. Zeyneb Nur Kızılkaya'ya gönülden minnettarım. Bu yolda desteklerini hissettiğim, dertlerimi paylaşmaktan çekinmeyen sevgili arkadaşlarım Sümeyra Korkmaz ve Hüsna Zülfikar'a teşekkür ederim. Akademi ve sporu hayatımda dengede tutmaya çalışırken spor hayatımda bu yöndeki destek ve yardımlarından dolayı değerli okçuluk antrenörüm Ferhat Bilen'e ayrıca teşekkür ederim.

Yüksek lisans sürecim, TÜBİTAK Bilim İnsanı Destek Programları Başkanlığı (BİDEB) 2210/A-Yurt İçi Lisansüstü Burs Programı kapsamında desteklenmiştir. Bana sağladıkları burs ile maddi olarak rahat hissedip çalışmalarıma odaklanmamı sağlayan tüm TUBİTAK-BİDEB ekibine teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca 2023/081 Proje No ile bu araştırmanın gerçekleşmesine maddi katkı sağlayan Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) birimine teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

İTHAF iv
TEŞEKKÜR v
İÇİNDEKİLER vi
TABLOLAR LİSTESİ viii
ŞEKİLLER LİSTESİ ix
SİMGELER VE KISALTMALAR x
ÖZET xii
ABSTRACT xiv
1. GİRİŞ VE AMAÇ 1
2. GENEL BİLGİLER 2
2.1. RANUNCULACEAE BİTKİ FAMİLYASI 2
2.1.1. *Ceratocephala falcata* 3
2.2. ZEHİRLİ BİTKİLER 5
2.3. İNFLAMASYON 7
2.4. HASTALIKLARDA ANTİOKSİDAN VE ANTİENFLAMATUVAR ETKİ 11
2.5. ROMATİZMAL HASTALIKLAR 14
2.5.1. Romatoid Artrit 15
2.6. ROMATİZMAL HASTALIKLARDA TEDAVİ VE KULLANILAN İLAÇLAR 16
2.7. ROMATİZMAL HASTALIKLARIN TEDAVİSİNDE ETKİLİ BİTKİLER 19
3. GEREÇ VE YÖNTEM 23
3.1. BİTKİ MATERYALİ 23
3.2. KULLANILAN CİHAZLAR VE KİMYASAL MALZEMELER 23
3.3. EKSTRAKSİYON 23
3.4. ANTİOKSİDAN AKTİVİTE ÇALIŞMALARI 24
3.4.1. 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl Radikali Giderme Aktivitesi 24
3.4.2. 2,2′-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) Radikali Giderme Aktivitesi 25
3.4.3. Bakır (II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite Aktivitesi 25
3.4.4. Demir (III) İyonu İndirgeyici Gücü Antioksidan Aktivitesi 26
3.5. FENOLİK BİLEŞİKLERİN KROMATOGRAFİK KANTİTATİF ANALİZLERİ 26
3.6. ANTİENFLAMATUVAR AKTİVİTE ÇALIŞMALARI 27
3.6.1. Siklooksijenaz (COX) Enzim İnhibisyon Analizi 27
3.7. İSTATİSTİKSEL ANALİZ 28
4. BULGULAR 29

4.1. EKSTRAKSİYON VERİMLERİ 29
4.2. ANTİOKSİDAN AKTİVİTE BULGULARI 29
4.2.1. 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl Radikali Giderme Aktivite Bulguları 29
4.2.2. 2,2′-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) Radikali Giderme Aktivite Bulguları 30
4.2.3. Bakır (II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite Aktivitesi Bulguları 32
4.2.4. Demir (III) İyonu İndirgeyici Gücü Antioksidan Aktivitesi Bulguları 33
4.3. FENOLİK BİLEŞİKLERİN KROMATOGRAFİK KANTİTATİF ANALİZ BULGULARI 34
4.4. ANTİENFLAMATUVAR ENZİM AKTİVİTE BULGULARI 35
4.4.1. Siklooksigenaz (COX) Enzim İnhibisyonu Bulguları 35
5. TARTIŞMA 38
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER 46
KAYNAKLAR 48
EKLER 56

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 4. 1: *Ceratocephala falcata* bitkisinden elde edilen ekstrelerin ekstraksiyon verimleri 29

Tablo 4. 2: Trolox bileşiğinin ve ekstrelerin $DPPH^{\bullet}$ radikali giderme aktivite bulguları ... 30

Tablo 4. 3: Trolox bileşiğinin ve ekstrelerin $ABTS^{\bullet+}$ radikali giderme aktivite bulguları.. 31

Tablo 4. 4: Trolox bileşiğinin ve ekstrelerin Cu^{2+} iyonu indirgeme kapasite bulguları..... 32

Tablo 4. 5: Trolox bileşiğinin ve ekstrelerin Fe^{3+} iyonu indirgeme kapasite bulguları 34

Tablo 4. 6: Bitki ekstrelerinin fenolik bileşik içerikleri..... 35

Tablo 4. 7: Standart ve bitki ekstrelerinin COX-1 ve COX-2 enzimleri üzerinde inhibisyon etkileri 37

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2. 1: Afyon ili Karacaören kasabası civarında doğal olarak yayılış gösteren *Ceratocephala falcata* bitkisi 3

Şekil 2. 2: Ranunculin bileşiği ve glikozit bağının parçalanmasıyla oluşan protoanemonin bileşiğinin kimyasal yapısı 6

Şekil 2. 3: COX (siklooksijenaz) ve 5-LOX (5-lipoksijenaz) enzimlerinin aktifleştirdiği yolaklar 9

Şekil 2. 4: Fenol ve fenolik bileşiklerden örneklerin kimyasal yapıları; A: Fenol, B: Hidroksibenzoik asit, C: Hidroksisinnamik asit, D: Flavonol 11

Şekil 4. 1: Trolox bileşiğinin $DPPH^{\bullet}$ radikal giderme aktivitesinin kalibrasyon grafiği 30

Şekil 4. 2: Trolox bileşiğinin $ABTS^{\bullet+}$ radikal giderme aktivitesinin kalibrasyon grafiği ... 31

Şekil 4. 3: Trolox bileşiğinin Cu^{2+}-Ne varlığında kalibrasyon grafiği 32

Şekil 4. 4: Fe^{2+} kalibrasyon grafiği 33

SİMGELER VE KISALTMALAR

C. falcata **:** *Ceratocephala falcata*

TNF-α **:** Tümör nekroz faktörü-alfa

IL-1 **:** İnterlökin-1

IL-6 **:** İnterlökin-6

NF-κB **:** Nükleer faktör kappa B

COX-1 **:** Siklooksijenaz-1

COX-2 **:** Siklooksijenaz-2

5-LOX **:** 5-lipoksijenaz

NSAID **:** Nonsteroid Antienflamatuvar İlaçlar

iNOS **:** Nitrik oksit sentaz

NOX **:** NADPH Oksidaz

NADPH **:** Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat

ApoE **:** Apolipoprotein E geni

IL-1β **:** İnterlökin-1β

RA **:** Romatoid Artrit

WHO **:** Dünya Sağlık Örgütü

FDA **:** Food and Drug Administration

GETAT **:** Geleneksel Tamamlayıcı Alternatif Tıp

IFN-γ **:** Interferon-gamma

HPLC **:** Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi

DPPH **:** 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil

ABTS **:** 2,2-azinobis(3-etilbenzothiazollin-6-sulfonik asit)

CUPRAC **:** Bakır (II) İndirgeme Antioksidan Kapasitesi

FRAP **:** Demir (III) İndirgeme Antioksidan Kapasitesi

TPTZ **:** 2,4,6-tripyridyl-s-triazine

IC_{50} **:** Yarı İnhibisyon Konsantrasyonu

TEAC **:** Troloks Eşiti Antioksidan Kapasite

HPLC-DAD **:** Yüksek Basınç Sıvı Kromatografisi-Fotodiyot Dedektörü

LC-MS **:** Sıvı Kromatografisi-Kütle Spektrometrisi

GC-MS **:** Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometrisi

TLR/MyD88: Toll-Like Receptor/Myeloid Differentiation Primary Response 88

THP-1 **:** Akut Monocytic Lösemi Hücre Hattı İsmi

RAW264.7 **:** Fare Makrofaj Hücre Hattı İsmi

TPA **:** 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate

Sarp A **:** Sarkofitol A

CERATOCEPHALA FALCATA (L.) PERS. BİTKİSİNİN ANTİOKSİDAN VE ANTİENFLAMATUVAR AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI VE FENOLİK BİLEŞİKLERİNİN ANALİZİ

ÖZET

Amaç: Halk arasında romatizmal hastalıkların tedavisinde kullanılan fakat kullanım amacını destekleyen bilimsel araştırmalara rastlanmayan Ranunculaceae familyasından *Ceratocephala falcata* (L.) Pers. bitkisinin antioksidan ve antienflamatuvar aktivitelerinin bilimsel çalışmalarla değerlendirilmesidir.

Gereç ve Yöntem: Bitkinin toprak üstü kısmından dekoksiyon, sulu etanol (%80), etil asetat ve hekzan ile ekstreler elde edildi. Ekstrelerin antioksidan aktiviteleri, $DPPH^{\bullet}$ ve $ABTS^{\bullet+}$ radikalleri giderme aktiviteleri, CUPRAC ve FRAP indirgeme gücü aktivite analizleri ile değerlendirildi. Antienflamatuvar aktivite için COX-1 ve COX-2 enzim inhibisyon etkinlikleri analiz edilerek karşılaştırıldı. Kromatografik kantitatif analizi ile bitki ekstrelerinin fenolik bileşik içeriği tespit edilerek antioksidan aktiviteleri arasında ilişki kuruldu. İstatiksel analiz yapılarak deney bulguları arasındaki istatiksel anlamlılık değerlendirildi.

Bulgular: En yüksek $DPPH^{\bullet}$ ve $ABTS^{\bullet+}$ radikali giderme aktiviteleri sulu etanol (%80) ekstresinde tespit edildi. Sulu etanol (%80) ekstresinin $DPPH^{\bullet}$ ve $ABTS^{\bullet+}$ radikali giderme aktiviteleri IC_{50} olarak sırasıyla 116,75±3,99 µg/mL ve 54,37±7,83 µg/mL tespit edildi. En yüksek CUPRAC indirgeme kapasitesi 0,743±0,055 mmol TEAC/g ekstre ile sulu etanol (%80) ekstresinde bulundu. En yüksek FRAP indirgeme kapasitesi gösteren 0,396±0,005 mmol Fe^{2+}/g ekstre ile dekoksiyon ekstresi oldu. Fenolik bileşik analizinde klorojenik asit bileşiği hem sulu etanol hem de dekokosiyon ekstrelerinde yüksek oranda bulundu. 20 µg/mL konsantrasyonda en yüksek COX enzim inhibisyonu gösterenin hekzan ekstresi olduğu tespit edildi. Hekzan ekstresi %86,25±4,17 COX-1 inhibisyonu ve %88,19±4,22 COX-2 inhibisyonu gösterdi.

Sonuç: Bitkinin sulu etanol (%80) ekstresi ve dekoksiyon ekstresinin yüksek bir antioksidan aktiviteye sahip olduğu gözlemlendi. En yüksek miktarda tespit edilen fenolik bileşik klorojenik asit oldu. Bitkinin hekzan ekstresinin ise yüksek antienflamatuvar aktivite gösterdiği tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: *Ceratocephala falcata*, Romatizmal Hastalık, Antioksidan Kapasite, Antienflamatuvar, Fenolik Bileşik

INVESTIGATION OF ANTIOXIDANT AND ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITIES OF CERATOCEPHALA FALCATA (L.) PERS. AND ANALYSIS OF PHENOLIC COMPOUNDS

ABSTRACT

Aim: *Ceratocephala falcata* (L.) Pers from the Ranunculaceae family, is popularly used in the treatment of rheumatic diseases, but there is no scientific research supporting its intended use. Therefore, the aim of the study is to evaluate the antioxidant and anti-inflammatory activities of the plant through scientific studies.

Materials and Methods: Decoction, aqueous ethanol (80%), ethyl acetate, and hexane extracts were obtained from the aerial part of the plant. Antioxidant activities of the extracts were evaluated by $DPPH^{\bullet}$ and $ABTS^{\bullet+}$ radical scavenging activities, CUPRAC and FRAP reducing power activity analyses. For the anti-inflammatory activity analysis, COX-1 and COX-2 enzyme inhibition assays were applied. Relationship between the phenolic compound content of the extracts and their antioxidant activities was established through chromatographic quantitative analysis. Statistical analysis was performed to assess the statistical significance among the experimental findings.

Results: The highest $DPPH^{\bullet}$ and $ABTS^{\bullet+}$ radical scavenging activities were detected in aqueous ethanol (80%) extract. $DPPH^{\bullet}$ and $ABTS^{\bullet+}$ radical scavenging activities of the aqueous ethanol (80%) extract were determined as IC_{50} values of 116.75±3.99 µg/mL and 54.37±7.83 µg/mL, respectively. The highest CUPRAC reducing capacity was found in aqueous ethanol (80%) extract with 0.743±0.055 mmol TEAC/g extract. The decoction extract showed the highest FRAP reduction capacity with 0.396±0.005 mmol Fe^{2+}/g extract. In phenolic compound analysis, chlorogenic acid compound was found in high amounts in both aqueous ethanol and decoction extracts. The hexane extract exhibited the highest COX enzyme inhibition at a concentration of 20 µg/mL. The hexane extract showed 86.25±4.17% COX-1 inhibition and 88.19±4.22% COX-2 inhibition.

Conclusion: It was observed that the aqueous ethanol (80%) extract of the plant exhibits a high antioxidant activity, followed by the decoction extract. The phenolic compound detected in the highest amount was chlorogenic acid. It was determined that the hexane extract of the plant showed a high anti-inflammatory activity.

Key Words: *Ceratocephala falcata*, Rheumatic Disease, Antioxidant Capacity, Anti-inflammatory, Phenolic Compound

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kanser, obezite, tip 2 diyabet gibi birçok hastalıkla birlikte romatizmal hastalıkların da tedavisi günümüzde hâlâ araştırılmaya devam etmektedir. Bu hastalıkların sebepleri incelendiğinde oksidatif stres ve inflamasyon hastalığı tetikleyen temel etkenler olarak ortaya çıkmaktadır. Romatizmal hastalıkların tedavisi için antienflamatuvar etkisi sebebiyle kullanılan ilaçların çoğu gastrointestinal bozukluk, ağrı, yorgunluk gibi birçok yan etkilere sebep olmaktadır (1,2). Bu sebeple hastaların çoğu ilaç tedavisinin yanında bitkisel ilaç tedavi yöntemlerine başvurmaktadır (3). Tedavilerin tam yanıt vermemesi ve ilaçların yan etkilerinden dolayı yeni ilaç tedavilerine yönelmek için inflamasyon giderici olarak bilinen bitkilerin araştırılması önem arz etmektedir.

Halk arasında ödem ve romatizmal hastalıklarda *Ceratocephala falcata* bitkisinin taze halinin haricen kullanılmasının yanı sıra bazı kaynaklarda bitkinin dekoksiyon şeklinde elde edilen ekstrenin oral yolla alındığı da yer almaktadır (4). Geleneksel olarak bu şekilde kullanımı olan bitkiyle ilgili kullanım amacını destekleyen bilimsel araştırmalara rastlanmamıştır. Bu nedenle bu çalışmada bitkinin halk arasındaki kullanımını bilimsel bir perspektifle değerlendirmek için bitki ekstrelerine *in vitro* antioksidan ve antienflamatuvar analiz testleri uygulandı. Ayrıca fenolik bileşiklerinin kromatografik kantitatif analizi yapılarak bitkinin fenolik bileşik içeriğiyle antioksidan aktivitesi arasında ilişki kuruldu.

Bu çalışma hem halk tıbbına hem de modern tıbba destek vermektedir. Çalışmada elde edilen bulgular bu bitki üzerine ileri araştırmalara yol açabilir ve bitki etken maddesi izolasyonu gibi çalışmalarla yeni ilaç formülasyonu araştırmalarına katkı sağlayabilir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. RANUNCULACEAE BİTKİ FAMİLYASI

Düğünçiçeğigiller familyası, Latincesi Ranunculaceae olarak bilinen dünya üzerindeki yaklaşık 428 bitki familyasından biridir. Ranunculaceae, çiçekli bitkiler sınıfına ait olup iki çenekli ve ayrı taç yapraklara sahip bir familyadır. Genellikle saplı ve almaşık yaprakları olan otsu bitkilerdir. Daima erdişi olan çiçekler tek veya toplu halde bulunup çıplak ya da çanağa benzer bir bürüm şeklinde bulunur. Meyveleri kuru veya etli, tatları ise buruktur. Çoğunluğu zehirli olup bir kısmı süs bitkisi olarak da yetiştirilmektedir. Ranunculaceae familyasına ait bazı bitkiler arasında Düğünçiçeği (Ranunculus L.), Haseki küpesi (*Agoilegia vulgaris* L.), Hezeran (*Delphinium* L.), Akasma (*Clematis* L.), Şam Çörekotu (*Nigella damascena* L.), Basur otu (*Ranunculus ficaria* L.), Şakayık (Paeonia) sayılabilir. Bu bitkiler arasında Düğünçiçeği (Ranunculus) cinsinin Türkiye'de seksen kadar türü bulunur. Düğünçiçeği bitkileri zehirli bitkiler olup bir ya da çok yıllık otsu bitkilerdir. Çoğunun kökleri yumruludur. Bazısı su bitkisidir. Çiçekleri sarı ya da beyaz renklidir (5).

Ranunculaceae familyasına ait türler halk arasındaki farklı kullanımları ile birçok hastalığın tedavisinde yer almıştır. Familyaya ait bir tür olan *Ranunculus acris* L., Amerika'nın batı eyaletlerinde, Kuzeydoğu Amerika ve Avrupa'da doğal olarak yayılış gösterir. Mayıs-Haziran aylarında çiçeklenmektedir. Bozulmuş topraklarda ve nemli yerlerde dağılım gösterir. Bu türün lapa haline getirilmiş kökleri apse ve çıbanlarda kullanılır, bir Kızılderili kabilesi olan İrokua halkı tarafından göğüs ağrıları ve soğuk algınlığında vücuda direkt sürülerek kullanılmıştır. Öğütülmüş yaprak veya çiçeklerinden yayılan kokusu inhalasyon ile baş ağrısına karşı kullanılırken, yaprakları aynı zamanda boğaz ağrılarında gargara şeklinde kullanılmıştır. Bitki Avrupa'da tentürdiyot haline getirilip düşük dozlarda omurga bölgesindeki sinir hastalığı olarak bilinen nevralji belirtilerini hafifletmek için kullanılmıştır. Yaprakları 1794'ten beri ünlü bir kanser ilacında yer almıştır. Familyaya ait başka bir tür olan *Ranunculus uncinatus* D. Don ex G. Don, Amerika'nın neredeyse tüm batı eyaletlerinde doğal olarak yayılış göstermektedir. Nisan-Ağustos ayları arasında

çiçeklenir. Nemli ve gölge bölgelerde dağılım gösterir. Thompson Kızılderilileri tarafından kas ağrılarına karşı banyoda kullanılırdı. Buharı romatizmal ağrıları dindirmek için kullanılmıştır (6).

2.1.1. *Ceratocephala falcata*

Ceratocephala falcata bitkisi Ranunculaceae familyasına ait olup yel otu (7) ya da düğün otu (8) olarak bilinmektedir. Dünya üzerinde; Avrupa'nın ve Rusya'nın güney ve merkez bölgelerinde, Kıbrıs'ta, Afrika'nın kuzeybatısında, Asya'nın güneybatısında doğal dağılım göstermektedir. Türkiye'de; Çanakkale, İstanbul Silivri, Amasya, Gümüşhane, Artvin, Ankara, Kayseri, Konya, Kahramanmaraş, Gaziantep, İzmir gibi ülkenin farklı bölgelerinde doğal olarak yayılış göstermektedir (9). Bitkinin vejetatif dönemi Nisan-Mayıs aylarıdır (10).

Morfolojik özelliklerine bakıldığında genellikle gövdesizdir. Skaplıdır ve skaplar 10 cm'dir. Skaplar genç iken basık tüylüdür. Akenler 7-10 mm gaga kuvvetli bir şekilde yukarı kıvrıktır (9).



Şekil 2. 1: Afyon ili Karacaören kasabası civarında doğal olarak yayılış gösteren *Ceratocephala falcata* bitkisi

Şimşek ve arkadaşları (2004) (4) tarafından *Ceratocephala falcata* bitkisinin halk arasında kullanımına dair bilgilerin de ortaya konulduğu etnobotanik bir anket çalışması gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada Ankara'nın yerleşim yerleri ve anayollarından uzak, kalabalık olmayan 25 köyünden 400 kişi ile sözlü olarak anket

yapılmıştır. Katılımcılara yemek ya da halk ilacı olarak hangi yabani bitkileri ne şekilde kullandıkları sorulmuştur. Sonrasında bu bitkilerin yerleri gösterilmesi istenmiştir. Bitkiler fotoğraflanarak kurutulduktan sonra Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumuna gönderilmiştir. Bitkilerin tür teşhisleri yazarlar tarafından yapılmıştır. Yapılan bu çalışmaya göre, *Ceratocephala falcata* bitkisinin Sekli köyünde ödeme ve romatizma ağrılarına karşı dekoksiyon çay olarak kullanıldığı bildirilmiştir. Kırbaşı köyünde romatizma ağrılarında tedavi yöntemi olarak kullanılan bitki, dövüldükten sonra eklemdeki şişliklerin üzerine konularak uygulanmıştır. Bu iki uygulamada da tüm bitki kullanılmıştır.

Ceratocephala falcata bitkisinin halk arasında cilde haricen kullanımı mevcut olsa da cilde uzun süre teması sonucu tahriş edici ağır etkileri görülmüş ve bazı klinik vakalar olgu sunumlarında yer almıştır. Gönül ve Çakmak'ın (2013) (11) olgu sunumunda Ankara'da yaşayan 58 yaşında bir kadının bahçesindeki bir bitkiyi tazesiyle eklem ağrılarına karşı sağ dizine sararak 10 saat boyunca bekletmesi ve ardından açtığında dizinde sarı-yeşil renkli sıvı dolu kabarcıkların oluştuğu yer alır. Metin ve arkadaşlarının (2005) (12) olgu sunumunda 3 ayrı vaka yer almaktadır. Bu çalışmada, Hakkari'deki 69 yaşında bir adamın taze bitkiyi eklem ağrısı için sol dizine 2 buçuk saat bekletecek şekilde sarması, Van'daki 33 yaşındaki bir kadının taze bitki lapasını ayak bileğindeki ağrıları için bu bölgeye 1 buçuk saat boyunca örtülü kalmak üzere sürmesi ve Ağrı'daki 18 yaşındaki bir genç kızın kronik ayak bileği ağrısına karşı taze bitki lapasını bölgeye 1 saat boyunca sararak bekletmesi yer almaktadır. Üç ayrı vakada da bitkinin sarıldığı bölgelerde deride kabuklaşmış lezyonların oluştuğu yanıklar meydana gelmiştir.

Familyanın sadece *C. falcata* türünde değil, başka türlerinde de olgu vakalarına rastlanmıştır. Akbulut ve arkadaşlarının (2011) çalışmasında (13), 48 yaşında bir adamın sağ baş parmağına eklem ağrısını önlemek için bir bitkinin lapasını 1 saat boyunca sarıp bekletmesi sonucu ağrı ve kabarcıkların oluştuğu ve açık yara şikayetiyle hastaneye geldiği yer almaktadır. Bitkinin ise *Ranunculus arvensis* L. türü olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışma ayrıca Ranunculaceae familyasındaki farklı bitki türlerinin kullanımına ait 25 farklı olgu sunumunu bir araya getirmiştir.

Ranunculaceae familyasına ait bitkilerle uzun temas sonucunda oluşan yanık şikayetleri sadece Türkiye'de ait bir durum değildir. Mo ve arkadaşlarının (2019)

çalışmasında (14), 49 yaşında Kore'de bir kadının kene ısırması sebebiyle oluşan kaşıntıyı gidermek için ayağına *Clematis terniflora* DC. bitkisinin ezilmiş yapraklarını 4 saat boyunca topikal olarak uyguladığı, uygulama sonunda ayağında kabarcıklı yanık oluştuğu yer almaktadır. Yaptığımız literatür çalışmasında yer alan olgu sunumlarında bitkilerin eklem ağrılarına karşı bölgeye sürülerek kullanıldığı görülmüştür, halk arasında kullanım şekillerinden biri olan dekoksiyon çay olarak kullanımıyla başvurulan klinik vakalara rastlanmamıştır.

2.2. ZEHİRLİ BİTKİLER

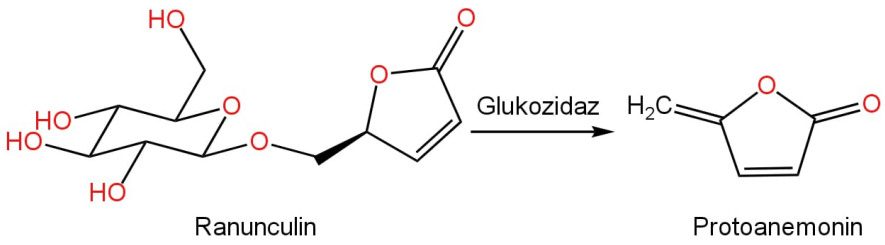
Ranunculaceae familyasının çoğu türü içerdiği toksik bileşikler sebebiyle zehirli olarak bilinmektedir. Bu bitkiler doğrudan dahilen ya da haricen alınmamalıdır. Bu familyaya ait türlerin sıvısıyla temasında hassas ciltlerde kabarmalara sebep olmaktadır. Bitkinin uçucu toksik bileşeninin kurutma ya da kaynatma ile uzaklaştırıldığı bilinmektedir (6).

Zehirli bitki, insan ya da hayvan herhangi bir canlı metabolizmasına doğrudan veya dolaylı olarak müdahale edici bileşikler içeren bitkiler olarak tanımlanabilir. Zehirli bitkilerin çok küçük bir grubu az bir miktarın ağızdan alınmasıyla ciddi zehirlenmelere yol açarken, bir grubu bazı özel durumlarda ciddi olmayan zehirlenmelere sebep olmaktadır. Bir diğer grubu ise zehirli olarak tanımlansa da ortaya konulabilmiş toksik maddesi tespit edilmemiştir. Bitkinin zehirli olması içerdiği aktif bileşenler sebebiyle olduğundan bileşenlerdeki değişiklikler bitkinin zehirliliğini etkilemektedir. Çevresel koşulların değişimi, bitkinin olgunlaşma aşamaları, bitkinin farklı organları veya mevsimler bitkinin zehirliliğinde kalitatif ve kantitatif değişimlere yol açar. Meyvelerin genel olarak olgunlaşma sürecinde toksik içeriğinin azalması, karayemiş ya da porsuk ağacı bitkilerinin tohumlarında zehirli bileşenler içerip meyve posasında içermemesi bu değişimlere örnek olarak verilebilir. Genel olarak bir bitkinin zehirli etkisi, bitkiyle temas ederek ya da bitkinin zehirli bileşenlerinin vücutta aktivite gösterebilecek ve böylece vücudun bu zehrin etkisini gideremeyip savunmasının yetersiz kalacağı miktarda bulunmasıyla görülür (15).

Zehirli bitkilere kısa ya da uzun temas sonucu zararlı etkileri görülmektedir ve bu etkiler mekanik ve kimyasal irritasyon, fototoksik ve alerjen dermatiti şeklinde farklı yollarla gerçekleşir. Mekanik irritasyon ile Rosaceae (Gülgiller) familyasındaki gibi bitkiler diken ya da diken tarzı yapılarıyla dış yüzeyde hafif yaralanmaya, derin

yaralarda ise inflamasyona sebep olur. Fototoksik özelliğiyle UV ışınlarına karşı cildi hassaslaştıran bileşenlere sahip ve fotodermatite yol açan bitkiler arasında ise Apiaceae ve Rutaceae familyasında furano kumarin içeren bitkiler sayılabilir. Alerjik temas dermatiti ile bitkinin içerdiği bazı maddeler deriye temas sonucu, vücut proteinleriyle reaksiyona girer ve vücutta alerjen olarak aktiflik gösterir. Asteraceae ve Lauraceae familyalarındaki seskiterpen laktonları içeren bitkiler alerjen bitkiler arasında sayılabilir. Zehirli bitkiler arasında sayılan Ranunculaceae familyasındaki bitkilerin içeriğindeki kimyasal bileşikler sebebiyle cilt yaralanmalarına sebep olduğu bilinmektedir. Bitkiler protoanemonin içeriği sebebiyle inflamasyona yol açan cilt yaralanmalarına sebep olmaktadır (15).

Özellikle *Ranunculus* cinsinde yer alan protoanemonin bileşiği cildin tahrişine sebep olup cinsin toksisitesinden sorumludur. Protoanemonin, 4-hidroksi-2,4-pentadienoik asidin laktonudur. Ranunculin bileşiğinin glikozit bağının parçalanmasıyla oluşur. Çok hızlı bir şekilde dimerizasyon ile anemonine dönüşür. Burbach tarafından yapılmış çalışmalar protoanemonin bileşiğinin sülfür (SH) gruplarına bağlandığını göstermiştir. Deride kükürt atomu içeren yegane aminoasitler olan metiyonin ve sistein proteinlerini bulunduran enzimler bulunur. Protoanemonin bileşiğinin üst deri üzerindeki toksik etkisi derideki SH grubu içeren bu enzimleri deaktive etmesinden kaynaklandığı tahmin edilmektedir (15).



Şekil 2. 2: Ranunculin bileşiği ve glikozit bağının parçalanmasıyla oluşan protoanemonin bileşiğinin kimyasal yapısı

Zehirli bitkilerden elde edilen aktif maddelerin yapılan çalışmalarda antikanser, antiromatizmal, iltihap giderici, öksürük kesici gibi farmakolojik etkileri tespit edilmiştir. Zehirli bitkilerin bazı aktif bileşikleri günümüzde ilaç etken maddesi olarak

kullanılmaktadır. Porsuk ağacı olarak bilinen *Taxus baccata* L. bitkisinin özellikle yapraklarında bulunan Taxin alkaloidi sebebiyle zehirli etkisi bilinir. Erdemoğlu ve Şener (1999) (16) yapmış olduğu çalışmada; Taxus cinsinin bir diğer türü *Taxus brevifolia* Nutt.'nın kabuklarından taksan tipi diterpenoit yapısında kuvvetli bir antikanser bileşik olan Taksol bileşenini izole etmiştir. Taksol aktif maddesi günümüzde halen antikanser tedavisinde kullanılmaktadır (17). İçeriğindeki eskulin bileşeni sebebiyle zehirli etkisiyle bilinen *Aesculus hippocastanum* L. (at kestanesi) essin maddesini içermektedir. Matsuda ve arkadaşları (1997) (18) at kestanesinden izole ettiği essin bileşenlerinden oluşan karışımın kuvvetli bir antienflamatuvar etkisi olduğunu rapor etmiştir. Günümüzde ilaç içeriklerinde bulunmaktadır. İltihap giderici ve ağrı kesici olarak kullanılan Prepagel jel ürününün etken maddesi essin bileşiğidir (19).

Ranunculaceae familyası bitkilerinde ise farklı yapıda toksik bileşenler olan kinolin alkaloidleri yaygın olarak bulunur. Bu alkaloidlerin birçok farmakolojik etkileri rapor edilmiştir. Bu familyaya ait *Thalictrum* alkaloidlerinin tansiyon düşürücü ve anti-kanser aktiviteleri yer almıştır (15). Halk arasında kuvvetli iltihap ve ödem giderici olarak bilinmesine rağmen bu familyaya ait bitkilerinin farklı yöntemlerle antienflamatuvar aktivite çalışmaları ve etken madde izolasyonu çalışmaları çok az sayıda çalışmada yer almıştır.

2.3. İNFLAMASYON

İnflamasyon, inflamatuvar uyaranların zararlı etkenlerine karşı konakçının koruyucu yönde geliştirdiği savunma yanıtıdır. Travma, enfeksiyon, zehirlenme veya otoimmün hasar gibi çeşitli faktörler inflamasyon sebebi olabilir. Kızarıklık, ağrı, şişlik ve ateş gibi belirtiler klasik inflamasyon semptomları arasında sayılabilir. Konakçı, zararlı etkenlere karşı savunma yanıtıyla birlikte, zararlı uyaranları ortadan kaldırılmasının yanı sıra hasarlı dokunun iyileşmesini de sağlar. Günümüzde, birçok sayıda uyaran tarafından başlatılan ve çeşitli düzenleyici mekanizmalar tarafından düzenlenen farklı çeşitte inflamasyonlar tanımlanmıştır. Bu kapsamlı doğası sebebiyle inflamasyonun insan fizyolojisi ve patolojisinde çok yönlü etkisi olduğuna inanılmaktadır. Çözümünün başarısız olduğu durumlarda akut inflamasyon kronik bir aşamaya dönüşür ve kronik inflamasyon zemininde gelişen hastalıklar arasında ise; ateroskleroz (damar sertliği), obezite, tip 2 diyabet, astım, enflamatuvar bağırsak hastalıkları, nörodejeneratif hastalıklar, romatoid artrit gibi romatizmal rahatsızlıklar ve

kanser gibi birçok ciddi hastalık sayılabilir (20). Kronik inflamasyonun; kanser, kronik böbrek hastalıkları, tip 2 diyabet, obezite ve romatoid artrit gibi birçok hastalıkla olan ilişkisi çalışmalarca öne sürülmüş ve bu ilişkiye dayanan tedavi yöntemleri ortaya konulmaya çalışılmıştır (21–26).

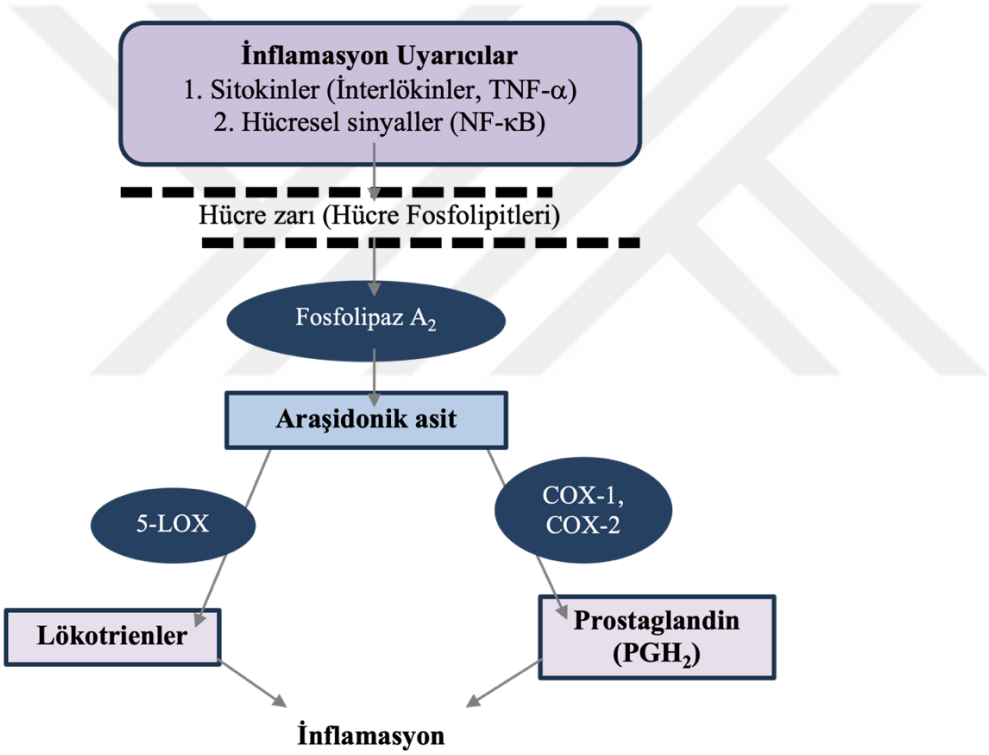
İnflamasyon süreci için 3 ana unsurdan bahsedilir: hemodinamik değişiklikler olarak tanımlanan vücuttaki su-elektrolit dengesinin bozulması, lökositlerin eksüdasyon ile kan damarı dışına sızması ve kimyasal mediatörlerle oluşan hormonsal değişiklikler. Enflamatuvar uyaranlar sitokinlerin gen ekspresyonunu uyarır ve bu sitokin proteinleri vücudun enflamatuvar yanıtını başlatır. Tümör nekroz faktörü-alfa (TNF-α) enflamatuvar yanıtının başlamasını sağlayan temel sitokinlerden biridir. Görevi ise, interlökinler (IL-1 ve IL-6) gibi diğer sitokinleri uyarmaktır. Makrofaj, fibroblast ve epitel hücrelerinin bu sitokinler ile uyarılması, araşidonik asit metabolizması yoluyla prostaglandin üretimine yol açar (27).

Enflamatuvar uyaranlar ve makrofaj gibi inflamasyon ile ilgili hücreler nükleer faktör kappa B (NF-κB) sinyal yolunu aktive ederek de inflamasyona yol açabilir. NF-κB aktivasyonu nitrik oksit sentezinin transkripsiyonunu indükleyerek nitrik oksit üretimine yol açar. Nitrik oksit, enflamatuvar rahatsızlıkların patojenisine katkıda bulunan pro-enflamatuvar bir bileşiktir. Bu tür pro-enflamatuvar mediatörlerin aşırı üretilmesi inflamasyona sebep olur (27).

İnflamasyon sürecinde vücutta sentezi artan prostaglandin; ağrı, ateş, kızarıklık, şişme ve fonksiyon kaybı gibi semptomların açığa çıkmasına yol açar (28). Prostaglandin, hücre zarındaki fosfolipitlerden fosfolipaz A_2 enzimiyle ayrılan 20 karbonlu doymamış yağ asidi araşidonik asidin siklooksijenaz (COX) enzimlerinin aktifleştiği ortamda dönüşmesiyle oluşur (29). İnflamasyonun klasik belirtilerine yol açan bir diğer yolak ise araşidonik asidin 5-lipoksijenaz (5-LOX) enzimiyle lökotrienlere dönüştüğü yolaktır. COX-1, COX-2 ve 5-LOX inflamasyon sürecinde yer alan en temel enzimlerdir.

COX enzimlerinin keşfi 1970'li yıllara dayanır. Aspirinin etki mekanizmasının John Vane tarafından açığa kavuşmasıyla, bu tür antienflamatuvar ilaçların araşidonik asidi prostaglandine çeviren enzimleri inhibe ettiği hipotezi ortaya konulmuş oldu (30). Araşidonik asitten türetilen pro-enflamatuvar lipit habercileri prostaglandinler ise, 1930'lu yıllarda Goldblatt ve von Euler tarafından semen, prostat ve seminal vesiküllerinden ilk kez ekstrakte edilmiş ve bu lipit bileşenlerinin kan basıncını

düşürdüğü ve düz kas kasılmasına neden olduğu ortaya konulmuştu. COX enzimleri (COX-1 ve COX-2) siklooksijenasyon reaksiyonunu kataliz ederek araşidonik asidi prostaglandine çevirmenin yanı sıra peroksidaz reaksiyonunu da kataliz ederek prostaglandin G_2'nin prostaglandin H_2'ye indirgenmesini sağlar. Prostaglandin H_2, prostanoid olarak adlandırılan birçok prostaglandin izomerlerinin sentezlenmesinde öncü bir bileşiktir. Sentezlenen bu izomerler arasında prostaglandin D_2, prostaglandin E_2, prostaglandin $F_{2\alpha}$ ve prostasilin (prostaglandin I_2) ve tromboksan A_2 sayılabilir. Her bir izomer farklı fizyolojik etkilere sebep olup; inflamasyon, immün sistem ve kan akışının düzenlenmesinde önemli rol oynarlar (31).



Şekil 2. 3: COX (siklooksijenaz) ve 5-LOX (5-lipoksijenaz) enzimlerinin aktifleştirdiği yolaklar

Prostanoidlerin üretilmesinde etkili COX enzimleri COX-1 ve COX-2 olarak iki ayrı gen tarafından kodlanan izomerlere sahiptir. Aminoasit dizilimleri biraz farklı olsa da aktif bölgelerindeki aminoasit homolojisi %90'a yakındır (32). Aktif bölgelerindeki hidrofobik kanalın COX-2 enziminde daha büyük bir bağlanma cebine sahip olması substrat seçiciliğini sağlamaktadır. Bu farklılık, COX-1 ve COX-2 enzimlerinin

siklooksijenaz aktivitesini inhibe eden nonsteroid antienflamatuvar ilaçların (NSAID), enzimleri değişen derecelerde inhibe etmesini sağlar. Küçük boyuttaki NSAID'ler COX-1 ve COX-2 enziminin aktif bölgesine bağlanırken, daha geniş boyuttaki COX-2 inhibitörleri sadece COX-2 enziminin aktif bölgesine bağlanır (30).

COX-1 seçici inhibitör ilaçlara örnek olarak aspirin, ibuprofen, indometazin, diklofenak ve fenoprofen verilebilir. Bu inhibitörlerin temel olarak COX-1 enzimini inhibe ederek prostaglandin sentezini baskıladığı çalışmalarca ortaya konulmuştur (33). NSAID'lerin antienflamatuvar ve analjezik etkileri ise büyük ölçüde COX-2'yi inhibe etme yeteneklerinin bir fonksiyonudur. Bu durumda ideal bir NSAID'nin, terapötik dozajlarda çok az veya hiç COX-1 inhibisyonu olmadan COX-2 inhibisyonu sağlayan bir yapıda ilaç olması gerekir (30). COX-2 seçiciliğinde olmayan NSAID'lerin COX-1 enzimlerini de inhibe etmesi, COX-1'den türetilen prostanoidlerin sağladığı birçok fizyolojik fonksiyonu engeller. Bu durum; dispepsi, gastroduodenal ülserler, kanama, tuz ve su tutulumu ve ardından gelen ödem, baş ağrıları, kıkırdak onarımında gecikme ve astım atakları gibi birçok yan etkilerle ilişkilendirilir (30). Klinik kullanım için COX-2 inhibitörlerden selekoksib ve rofekoksib gibi koksib ilaçlar örnek verilebilir (33).

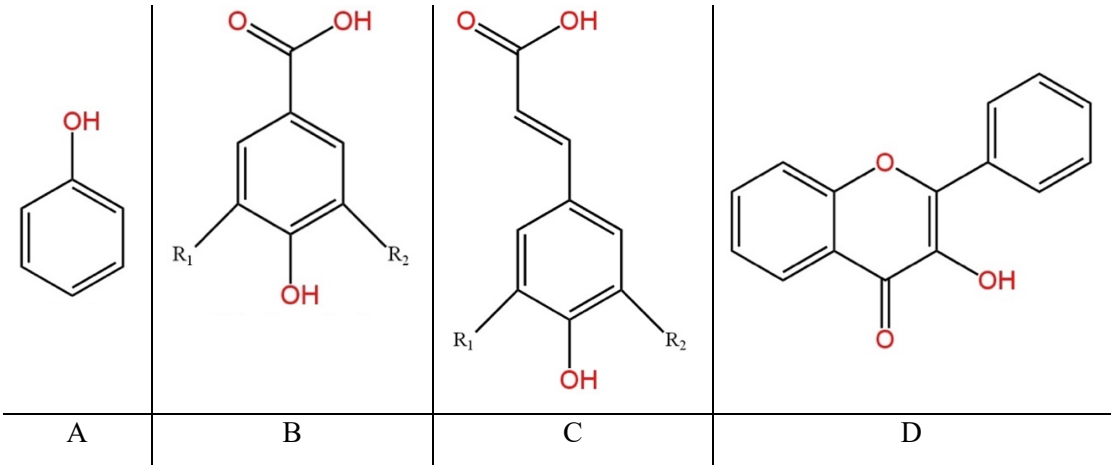
Vücutta en çok üretilen prostaglandinlerden biri Prostaglandin E_2'dir ve birçok biyolojik aktivitede yer alır. Kan basıncı, immün sistem, gastrointestinal sistem ve kadınlarda üreme sistemi gibi çeşitli biyolojik fonksiyonu düzenleyen önemli bir mediatördür. Özellikle inflamasyonda ana üründür çünkü kızarıklık, şişme ve ağrı gibi inflamasyon belirtilerine yol açan tüm süreçlerde yer alır (34). Vücutta fazla üretildiğinde prostanoid ve COX-2 enzimi literatürde birçok farklı hastalık ile ilişkilendirilmiş ve dengeli üretiminin vücut sağlığı üzerindeki olumlu etkileri rapor edilmiştir (35). Mide kanseri üzerine derlenen bir çalışmada, COX-2/Prostaglandin E_2 yolunun enflamatuvar mikro ortamı oluşturmasıyla tümör oluşumunda rol oynadığı ileri sürülmüştür. Hastalığın tedavisinde tümör hücre kökü ve gastrik tümör oluşumunda etkili olan TLR/MyD88 sinyali ile COX-2/Prostaglandin E_2 yolunun hedeflenmesi hem gastrik tümör hücre kökünü hem enflamatuvar ortamı yok ederek mide kanserine karşı etkili bir tedavi yöntemi olabileceğini ifade etmiştir (36). Başka bir çalışmada ise COX-2 enziminden üretilen Prostaglandin E_2 böbrek hemodinamikleri ve sodyum dengesinin düzenlenmesi gibi böbreğin çeşitli fizyolojik süreçlerinde yer aldığını ortaya koymuştur. COX-2 ve Prostaglandin E_2'nin ayrıca obstrüktif nefropati ve akut böbrek hasarı gibi patofizyolojik

durumlarda da rol oynadığını ortaya koyarak COX-2 ve Prostaglandin E_2'nin dengesinin böbrek fonksiyonundaki önemini ortaya çıkarmıştır (37). Başka bir çalışma, inflamasyonda önemli etkenler olan COX-2/Prostaglandin E_2'nin kolon kanseri başlangıcı ve ilerlemesini tetikleyen önemli unsur olduğunu ortaya koymuştur (38). Prostaglandin E_2 dengesinin kolon kanseri riskini azaltmayı sağlayacağı ifade edilmiştir.

2.4. HASTALIKLARDA ANTİOKSİDAN VE ANTİENFLAMATUVAR ETKİ

Bitkilerde sekonder metabolit olarak adlandırılan biyoaktif bileşikler bitkinin temel fonksiyonlarında görev almasa da insan ve hayvanlar üzerindeki toksik ve farmakolojik etkisiyle bilinmektedir. Biyoaktif bileşikler ekstraksiyon türüne göre polar bileşikler (fenolik asitler, flavonoidler, organik asitler, şekerler, vb.) ve apolar bileşikler (karotenoidler, alkaloidler, terpenoidler, yağ asitleri, steroidler, vb.) olarak sınıflandırılırlar (39).

Fenolik bileşikler, yapısal olarak 6 karbonlu en az bir tane aromatik halka içeren ve bir veya birden fazla hidroksil grubu içeren moleküllerdir. Yapısal olarak en az bir fenol grubu içerir. Bu bileşikler; fenolik asitler, flavonoidler, tanenler, kumarinler, lignanlar ve stilbenler olarak alt kategorilere ayrılır. Fenolik asitlerin hidroksisinnamik asit ve hidroksibenzoik asit olarak iki türevi bulunur. Flavonoidlerin ise antosiyanidinler, flavonoller, flavonlar, flavanonlar, kateşinler (flavanoller) ve izoflavonoidler olarak birçok türevleri bulunur (40).



Şekil 2. 4: Fenol ve fenolik bileşiklerden örneklerin kimyasal yapıları; A: Fenol, B: Hidroksibenzoik asit, C: Hidroksisinnamik asit, D: Flavonol

Fenolik bileşikler ile antioksidan aktivite arasındaki ilişki bu bileşiklerin bitkilerdeki antioksidan kapasitesini sağlayan temel unsur olduğunu savunur. Antioksidan kapasitesi oksitlenebilecek bir kimyasalın oksidasyonunu önleme veya geciktirme yeteneğidir. Fenolik yapıdaki antioksidan bileşikler ise özellikle serbest radikallerin oksidasyonunu önlemesi veya geciktirmesi ile bilinmektedir. Atom, molekül ya da iyon halinde bulunabilen serbest radikallerin yapılarında çiftleşmemiş elektron bulunur ve bu durum oldukça kararsız bir yapıya sahip olup diğer moleküllerle kimyasal reaksiyona girmesinde aktif rol oynar. Temel olarak oksijen, sülfür ve nitrojen elementlerinden meydana gelen serbest radikallerden reaktif oksijen türleri canlının metabolik reaksiyonlarında ana yan ürün olarak ortaya çıkmaktadır.

Reaktif oksijen türleri normalde vücutta sınırlı miktarda üretilir ve hücre homeostazisinin, sinyal iletimi, gen ekspresyonu ve reseptörlerin aktive olması gibi metabolik fonksiyonlarının düzenlenmesinde rol oynayan önemli bileşiklerdir (41). Bu serbest radikallerin ortaya çıkma sebepleri endojen kaynaklı olabilip hücresel reaksiyonlarda, enzim ya da hormonlar tarafından üretilebilir. Aynı zamanda eksojen kaynaklı olabilip UV ışınları, X-rays, gamma ve mikrodalga ışınları, alerjene maruz kalma, çevresel kirlilik, ilaç kullanımı, alkol ve sigara kullanımı ile de ortaya çıkabilir (42). Sağlıklı bir vücutta oluşan fazla serbest radikaller glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, glutatyon transferaz ve katalaz gibi antioksidan enzim sistemler ya da enzimatik olmayan sistemler yoluyla inaktif ve zararsız bileşiklere dönüştürülür (39). Serbest radikaller ve antioksidan moleküller arasında denge olmadığında ise vücutta oksidatif stres olarak adlandırılan durum açığa çıkar. İnaktif olamayan serbest radikaller hücrelerdeki membran lipit, karbonhidrat, protein ve nükleik asit mekanizmalarına müdahale ederek lipit peroksidasyonu, peptit bağlarında kopma, aminoasit yan zincirinde mutasyon, enzim inaktivasyonu gibi durumlara yol açabilir (43). Hücresel reaksiyon mekanizmalarına müdahalesi sonucu kanser, kalp ve damar hastalıkları, nörolojik rahatsızlıklar, diyabet, artritizm gibi birçok hastalık açığa çıkmaktadır.

Oksidatif stres ve inflamasyon birçok hastalığın patojenik yolunda birbiriyle ilişkilendirilir. Vücutta; beslenme, radyasyon, hava ya da su kirliliği, stres gibi çeşitli sebeplerden dolayı üretilen serbest radikaller antioksidan enzimlerinin ve antioksidan moleküllerinin yeterli olmadığı zamanda hücre ve doku bozulmalarına sebep olur. Hücre ve doku metabolizmalarındaki bozulmalar inflamasyon sürecini başlatır. İnterlökin-6

birikimi dejeneratif hastalıklara (kanser, osteoporoz, diyabet, Alzheimer, hipertansiyon, artritizm, vb.) yol açar (39).

İnflamasyon süreci iki aşamalıdır: akut ve kronik inflamasyon. Kısa süreli olan akut inflamasyon, bağışıklık sisteminin aktivasyonu aracılığıyla gerçekleşir ve genellikle faydalıdır. Ancak, inflamasyon daha uzun sürerse vücudu kansere kadar çeşitli kronik hastalıklara açık hale getirecek kronik inflamasyona dönüşür. İnflamasyon sırasında, hasar gören bölgeye enflamatuvar mast hücreleri ve lökositler yayılır, bu da bölgede oksijen alımının artmasına ve böylece reaktif oksijen türleri üretiminin artmasına (oksidatif stres) yol açar (44). Ayrıca enflamatuvar hücreler, sitokinler gibi çeşitli mediatörleri üretir, bu da daha fazla enflamatuvar hücreye ve daha fazla reaktif tür üretilmesine neden olabilir. Başlangıçta bu reaktifler DNA gen mutasyonuna sebep olarak DNA hasarı oluşturabilir. Sonraki aşamalarda enflamatuvar hücrelerin ürettiği mediatörler, hücresel stres yanıtlarını ileten sinyal iletimcilerine etki ederek siklooksijenaz-2 (COX-2) ve indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) indüksiyonuna, tümör nekroz faktörü (TNF) ve interlökinler (IL-1, IL-6) gibi enflamatuvar sitokinlerin ve kemokinlerin anormal ekspresyonuna ve oksidatif stres kaynaklı inflamasyona yol açtığı bildirilmiştir (45).

Devam eden enflamatuvar oksidatif ortam, sağlıklı komşu epitel ve stromal hücrelere de zarar verebilir ve uzun vadede kanser oluşumuna yol açabilir (46). Hayvan modelleriyle yapılan çalışmalar tümör oluşumunun, steroidler ve retinoidler ve belirli antioksidanların kullanımıyla engellenebileceğini göstererek oksidatif stresin giderilmesinin tümör oluşumunun engellenmesi üzerindeki etkisini ortaya koymuştur (47). Başka bir çalışmada, bir tür tümör promotoru olan 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA) ile maruz bırakılan farelerin derisinde topikal olarak uygulanan Sarkofitol A (Sarp A) bileşiğinin DNA oksidasyonunu bastırdığı gösterilmiştir. Böylece Sarp A'nın tümör promosyonunu bastırmadaki etkinliğinin, oksidan oluşumu ve DNA baz oksidasyonu üzerindeki inhibe edici etkilerine dayanabileceğini ortaya koymuştur (48).

Kardiyovasküler hastalığın patofizyolojisinde reaktif oksijen türlerini üreten NOX enzimlerinin önemli bir rol oynadığına dair sağlam kanıtlar bulunmaktadır (49). NOX enzim ailesine ait NADPH oksidazları transmembran proteinleridir ve NADPH'den moleküler oksijene elektron transferi sırasında süperoksitin oluşumuna yol açar. NOX enzimleri tarafından salınan reaktif oksijen türleri, biyolojik olarak makrofajlardaki ve

nötrofillerdeki patojen mikroorganizmaların imhasını sağlar. Fakat kontrolsüz üretimi hücrelere zarar verir ve enflamatuvar sinyal moleküllerini artırarak ya da sinyal yollarını aktive ederek inflamasyona sebep olabilir. Bir NADPH oksidaz izoformu olan NOX2 enzimi ve kontrolsüz süperoksit üretiminin birbiriyle ilişkili olduğu ve aterogenezde önemli bir rol oynadığı Judkins ve arkadaşları tarafından yürütülen bir çalışmada kanıtlanmıştır (50). Bu çalışma ile, NOX2 ekspresyonunun, ApoE-/- farelerinin makrofajlarında aterosklerotik lezyonların ortaya çıkmasından önce arttığını ve bu değişikliklerle paralel şekilde süperoksit üretiminin artmış olduğu bulunmuştur.

Obezite hastalığı ile inflamasyon arasında da yakın bir ilişki kurulmaktadır. Özellikle visseral yağ dokusundaki artış vücutta çeşitli hücreler tarafından üretilen IL-1β ve IL-6 sitokinlerini arttırır ve hepatositler üzerinde etkili IL-6'nın, inflamasyon göstergesi olan C-reaktif proteini gibi birçok plazma proteininin hepatositler tarafından sentezine neden olur (51). Bu durum neden obezitenin bir inflamasyon durumu olduğunu açıklamaktadır. Obezite genelde tip 2 diyabet ile ilişkilidir ve tip 2 diyabet vücudun ürettiği insülinin yetersiz hale gelmesi durumudur. Obezite durumunda serbest yağ asitlerinde artış gözlenmesi; TNF-α ve IL-6, IL-8 interlökinlerindeki artışlar insülin salınımında değişiklikleri uyarır ve bu durum diyabet gelişimiyle sonuçlanır (52).

2.5. ROMATİZMAL HASTALIKLAR

Oksidatif stres ve inflamasyon ile ilişkilendirilen bir diğer hastalık ise romatizmal rahatsızlıklardır. Romatizma oldukça genel bir terim olup kemiklerin, kas ve eklemlerin çevresindeki ağrı veya acıyı ifade etmek için kullanılır. Romatizma nedenleri arasında genetik faktörler, yaş, çevresel faktörler, eklem ve dokuların yıpranması, yaralanmalar ve stres sayılabilir (53).

Romatizmal hastalıklar enflamatuvar ve enflamatuvar olmayan hastalıklar olarak iki gruba ayrılır. Enflamatuvar olmayan romatizmalarda en önemli şikayet eklem ve çevresindeki ağrılar ya da bu ağrıların vücudun farklı bölgelerinde hissedilmesidir. Bu hastalıklar arasında; yumuşak doku ya da kas romatizmaları (fibromyalji, tendinit, bel ve boyun ağrıları), osteoartroz (eklem kireçlenmesi), osteoporoz (kemik erimesi) ve darbe gibi mekanik nedenler sonucu oluşan travmalar sayılabilir. Enflamatuvar romatizmalarda ise eklem bölgelerinde ağrıların yanı sıra eklemin şişmesi, kızarması, sıcak olması ve hareketlerini tam olarak yerine getirememesi görülür. Bu hastalıklar arasında; romatoid

artrit (iltihaplı eklem romatizması), psöriatik artrit (sedef romatizması), ankilozan spondilit, ailesel akdeniz ateşi, gut ve Behçet hastalığı sayılabilir (53,54).

Romatizmal hastalıklar, yaygın olması sebebiyle toplum sağlığı açısından önem arz etmekte ve klinik alanda çalışmalarına giderek artan bir seyirde devam edilmektedir. Kronik rahatsızlıklar içinde romatizmal hastalıkların sıklık oranı %39, bu rahatsızlıklara bağlı uzun dönemde fonksiyon kaybı oranı %47 ve hastalıkta reçeteli ilaç kullanımı oranı %24 olup kronik rahatsızlıkların sıralamasında ikinci olarak gelmektedir (54).

2.5.1. Romatoid Artrit

Romatoid Artrit (RA) eklemlerde kronik inflamasyonla karakterize edilen el, bilek, ayak, ayak bileği, diz, omuz ve dirsek eklemleri gibi tüm vücut sistemini etkileyebilen otoimmün bir hastalıktır (55). Halk arasında iltihaplı romatizma olarak bilinmektedir. Hastalığa bağlı klinik şikayetler ve bulguların temel nedeni inflamasyondur. Romatoid artrit, kronik ağrı ve yorgunluğun yanında eklemlerde şekil bozukluğu ve hareket kaybı nedeniyle, bireylerin yürüyüş gibi günlük yaşam aktivitelerini olumsuz yönde etkileyecek fonksiyonel kayıplara hatta sakatlıklara sebep olabilmektedir (56). Aynı zamanda hastalar bunun olumsuz etkilerini aile ve iş hayatında, sosyal çevresinde görmekte ve bu da psikolojik rahatsızlıklara yol açabilmektedir (57). Son yıllarda RA üzerine çalışılan alanlardan biri de anksiyete ve depresyon olup depresyon prevalansı RA'li hastalarda %5-42 olarak bildirilmiştir (58).

Romatoid Artrit hastalığı, kadınlarda erkeklere oranla daha fazla görülmekte olup her yaşta açığa çıkabilmektedir (59). Dünya Sağlık Örgütü (WHO), 2019 yılında dünya üzerinde RA hastalığı teşhisi konulan 18 milyon insan olduğunu bildirmiştir (60). Hastaların %70'inin kadın olduğu, %55'inin ise 55 yaşından büyük olduğu bildirilmiştir (60).

Araştırma ve klinik uygulamalarda romatoid artrit durumunda hastalık aktivitesini değerlendirmede, hastalık seyrinde inflamasyonla artan akut faz reaktanlarından C-reaktif proteininin üretimi ve eritrositinin sedimantasyon hızı önemli rol oynar. Bu biyobelirteçler hastalık sonuçlarıyla güçlü bir ilişki gösterirler. Hastalığın başlangıcında birçok hastada C-reaktif protein ve eritrosit sedimantasyon hızı normal olabileceğinden hastalığın doğru bir şekilde teşhis edilmesi için hastanın izlenmesi ve daha kapsamlı değerlendirilmesi gerekir. Bu da diğer biyobelirteçleri değerlendirmenin gerekliliğini

ortaya koyar. Bunlar arasında; interlökinler (IL)-1β, IL-6, IL-8, tümör nekroz faktörü (TNF)-α, nükleer faktör (NF)-κB ligand reseptörü gibi inflamasyon sürecini etkileyen moleküller sayılır (61). Yapılan araştırma ve çalışmalar, C-reaktif protein seviyesinin hastalık aktivitesini değerlendirmede etkili olduğuna dair bulgular sunmuştur; TNF-α'nın, IL-6 ve diğer antienflamatuvar moleküller üzerindeki düzenleyici etkisini göstererek bu sitokinin romatoid artrit patogenezindeki rolünü ortaya koymuştur ve TNF-α'nın nötralizasyonunun hastalığın tedavisindeki olumlu etkilerini göstermiştir (62).

Yeni ilaç tedavileri üzerinde yapılan araştırmalar da bu moleküller üzerinde çalışılarak yürütülmektedir. Tümör nekroz faktörü (TNF)-α önemli bir biyobelirteç olup (TNF)-α engelleyici ajanlar romatoid artrit tedavisinde etkili bir yöntem olarak kabul edilir. Klinik bir çalışmada romatoid artrit hastalarına bir (TNF)-α engelleyici ajanı olan infliksimab tedavisi uygulanarak tedavi öncesi ve sonrasında bazı biyobelirteçlerin plazma seviyeleri incelenmiştir. İltihaplanma için eritrosit sedimantasyon hızı, C-reaktif protein, TNF-α, interlökin (IL-6) gibi plazma seviyeleri; pıhtılaşma için Prothrombin Fragment 1 + 2 ve D-dimer plazma seviyelerine bakılarak infliksimab tedavisinin romatoid artrit hastalarında iltihap ve pıhtılaşma biyobelirteçlerini azalttığı görülmüş ve tedavinin etkinliği ortaya konulmuştur (63).

Romatoid artrit tedavisi üzerine araştırmalar yapan birçok farklı güncel çalışma enflamatuvar mediatörler ile romatizmal hastalık arasındaki yakın ilişkiye dayanarak kan plazmasındaki C-reaktif protein, interlökin (IL)-1β, IL-6 ve tümör nekroz faktörü (TNF)-α konsantrasyonlarını değerlendirerek çalışmalar yapmaktadır (64,65).

2.6. ROMATİZMAL HASTALIKLARDA TEDAVİ VE KULLANILAN İLAÇLAR

Romatizmal hastalıklarda hastalığın seyrini değiştiren tedavi sayısı oldukça sınırlıdır. Bu tedavi yöntemleri de daha çok ağrı semptomlarını azaltmaya ve yaşam kalitesini yükseltmeye yöneliktir. Bir kas romatizması olan fibromiyalji için son yıllarda sadece gabapentin, FDA (Food and Drug Administration) tarafından onay almıştır (54). Sinir dokusunun hasarına bağlı sıcaklık, zonklama, yakıcı hissi şeklinde tanımlanan ağrı (nöropatik ağrı) tedavisinde kullanılır. Fibromiyalji için aynı zamanda nöropatik ve eklem bölgelerindeki kronik ağrıların kontrolüne ve hastanın anksiyete bozukluğu belirtilerinin kontrolüne yönelik pregabalin ve duloksetin kullanılmaktadır (66).

Eklem kireçlenmesi olarak bilinen osteoartroz tedavisinde semptomatik ağrı ve işlev kısıtlılığı için glukozamin sülfat yaygın olarak kullanılmaktadır (54). Topikal olarak ise kapsaisin krem, lidokain ve diklofenak jel gibi ilaçlar doğrudan eklemlerin üzerine uygulanarak kullanılmaktadır (67). Kapsaisin krem, acı kırmızı biberden elde edilen cilde uygulanarak kullanılan bir preparattır. Romatoid artrit, fibromiyalji, diyabetik nöropati ve kronik non-spesifik ağrı gibi durumların tedavisinde de kullanılmaktadır (68). Diklofenak jel topikal olarak uygulanan non-steroidal antienflamatuvar bir preparat olup çeşitli kaza ve yaralanmalarının neden olduğu ağrı durumlarında, yumuşak doku iltihaplanmalarında, bölgesel romatizma hastalıklarında da kullanılır.

Osteoporoz tedavisinde kırık riskini düşüren kalsitonin ve bifosfonatlar etkili bir yöntem olarak kullanılmaktadır (54). Alendronatlar, bifosfonat olarak isimlendirilen hormon olmayan bir ilaç olup kadınlarda menopoz sonrası görülen kemik kaybını önleyerek tekrar yapılanmasına sağlar; erkeklerde kırıkların önlenmesi için osteoporoz tedavisinde kullanılır.

Romatoid Artrit hastalığının tedavisinde ise kortikosteroidler inflamasyon semptomlarını gidermede kullanılır. Hidroksiklorokin, metotreksat ve sülfasalazin gibi ilaçlar ağrı dindirmek ve şişlik gidermek için kullanılır (69). Kullanılan bu ilaç ve kremlerin çoğunun baş ağrısı, gastrointestinal bozukluklar, yorgunluk, deri rahatsızlıkları gibi yaygın yan etkileri bulunmaktadır (1,2).

Son yıllarda ise romatizmal hastalıklar için non-steroid anti-inflamatuvar ilaçlar yeni tedavi ajanları olarak araştırılmaktadır. Özellikle COX-2 inhibitörleri ve tümor nekrozis faktör-alpha (TNF-α) inhibitörleri önemli bir araştırma alanı oluşturmuştur. Bunlara örnek olarak özellikle Romatoid Artrit hastalığında kullanılan adalimumab, etanersept ve rituksimab sayılabilir (69). Adalimumab ve etanersept, deri altına enjeksiyon yoluyla uygulanır ve enflamatuvar hastalıklarda yüksek düzeylerde bulunan özel bir protein olan tümör nekroz faktörüne (TNF-α) bağlanarak etkisini gösterir. Romatoid Artrit için kullanılan COX-2 inhibitörlerinden selekoksib örnek verilebilir. Tedavide kullanılmakta olan COX-2 inhibitör ilaçlarının etkinliği ve güvenirliği üzerinde halen araştırmalar devam etmektedir (70). Klinik çalışmalarda Romatoid Artrit hastalarının kalp damar sağlığı üzerinde selekoksibin olumsuz yönde etkisine rastlanmamıştır (71,72). Selekoksib Romatoid Artrit hastalığı için ruhsat alan ilk ilaçtır fakat yan etkileri üzerine çalışmalar halen devam etmektedir.

Kullanılan çoğu non-steroid antienflamatuvar ilaçların (NSAID'lerin) da birçok yan etkilerinin olduğu bilinmektedir. Wolfe ve arkadaşları (1999) tarafından bir vakada ilaçların iç kanamaya sebep olduğu sunularak ciddi yan etkilerinin olabileceği rapor edilmiştir (73). Romatizmal hastalıkların tedavilerinde kullanılan bu ilaçların güvenirliği, tedaviye yanıt verip vermemesi ve insan sağlığı üzerindeki olumsuz etkileri klinik çalışmalarla test edilmektedir ve literatürde bu noktada birçok çalışma bulunmaktadır. Scott ve arkadaşları (2000) tarafından 812 osteoartrit hastasıyla yapılan plasebo kontrollü bir çalışmada NSAID olarak kullanılan tiaprofenik asit ve indometazin ilaçları ile plasebonun 5 yıl kadar uzun dönemdeki semptomatik yanıtları araştırılıp karşılaştırılmıştır. Çalışma sonucunda NSAID'lerin ilk 4 haftada ağrıyı önemli ölçüde azalttığı gözlenmiştir. Fakat tiaprofenik asitle birkaç yıllık tedavi gördükten sonra plaseboya geçildiğinde ağrı derecelerinin 2 hafta boyunca arttığı gözlemlenmiştir. Çalışmanın sonuçları, NSAID kullanımının osteoartrit hastalığında uzun vadeli bir yanıt göstermediğini ve tedaviye rağmen hastaların birçoğunda ağrı ve sakatlığın devam ettiğini ortaya koymuştur (74).

Bavry ve arkadaşları (2014) klinik çalışmasında, düzenli NSAID kullanımı sonrası menopoz sonrası kadınlardaki kardiyovasküler toksisitesini araştırmıştır. Bu çalışmada COX-1 ve COX-2 seçiciliğinde olan ilaçların kardiyovasküler toksisiteleri karşılaştırılmıştır. 53,142 düzenli hastanın olduğu bu çalışmada COX-1 üzerinde daha çok inhibisyon aktivitesi gösteren ibuprofen, COX-2 üzerinde daha çok inhibisyon aktivitesi gösteren selekoksib ve naproksen ilaç olarak kullanılmıştır. Çalışmanın sonucu COX-2 seçiciliğinde olan ve inhibisyon aktivitesi COX-1'e göre fazla olan ilaçların kardiyovasküler toksisite riskini artırdığını göstermiştir (75).

Arias ve arkadaşlarının (2018) sunduğu bir meta-analiz çalışmasında 28 farklı klinik çalışmalarının verileri değerlendirilerek COX-2 inhibitörleri olan koksib kullanımıyla gastrointestinal risk ilişkilendirilmiştir. Bu çalışmaya göre koksibler gastrointestinal riskinde önemli bir artışa yol açmıştır. İlaçlara göre yapılan analize göre ise, en yüksek gastrointestinal riskini etorikoksibin ve sonrasında rofekoksib ve selekoksibin sunduğu gösterilmiştir (76).

2.7. ROMATİZMAL HASTALIKLARIN TEDAVİSİNDE ETKİLİ BİTKİLER

Geleneksel Tamamlayıcı Alternatif Tıp (GETAT) kesin tedavisi olmayan ya da ilaç tedavilerinin ağır yan etkilerinin görüldüğü hastalıklarda çoğu zaman başvurulan bir yöntemdir. Bir sistematik derleme makalede tüm ülkelerde en sık kullanılan GETAT yöntemlerinin bitkisel tedavi, kayropraktik, masaj ve homeopati olduğu ifade edilir (77). Romatoloji hastalarının büyük çoğunluğunun ilaç tedavisiyle birlikte GETAT yöntemlerine başvurduğu görülmektedir (3). Homeopati, hidroterapi, kaplıca tedavisi, yoga, meditasyon gibi yöntemlerin dışında birçok bitki türü tedavilerde kullanılmıştır. Bu tür hastalıkların bulunamamış tedavi yöntemleri ve kullanılan ilaçların yan etkileri de hastaların çoğunluğunu bu tedavilere yöneltmektedir. Dünya Sağlık Örgütü'nce (WHO) romatizmal hastalıkların tedavisi için önerilen bitkiler ve kullanılan droglar farklı familyalardan olup Aynaoğlu Hakverdi ve Önder (2022) tarafından ortaya sunulan derlemede bir araya getirilmiştir. Topikal uygulama ile derideki reseptörleri uyararak ağrı kesici olarak kullanılan biber (*Capsicum annuum* L.) bitkisi, *Sinapis alba* L. bitkisi tohumu; oral ve inhaler kullanımları mevcut olan aromatik droglardan *Arnica montana* L. bitkisi çiçeği, *Eucalyptus globulus* L. uçucu yağı romatizmal hastalıklarda kullanılan bazı bitkiler arasında sayılabilir (78). Yapılan bilimsel bir çalışmada *Capsicum annuum* bitkisinin farklı olgunlaşma derecesine bağlı olarak sarı, yeşil ve kırmızı renkli türünün antioksidan ve anti-enflamatuvar özellikleri incelenmiştir. Çalışmada bitkinin yeşil hali LOX inhibisyonunu %46.12 oranında göstererek hem inflamasyon giderici hem de antioksidan deneylerindeki yüzdelik oranlarıyla oksit giderici olarak diğerlerine göre çok daha yüksek kapasitede olduğu gösterilmiştir (79).

Romatizmal hastalıklarda kullanılan bitkiler arasında; prostaglandin, lökotrien gibi inflamasyonda rol oynayan doku hormonlarının yolaklarını engelleyerek ağrıyı azaltmayı sağlayan ak günlük (*Boswellia serrata* L.) bitkisi zamkı, yaban yasemini (*Solanum dulcamara* L.) bitkisi sapları sayılabilir (78). Literatüre bakıldığında *Solanum dulcamara* L. üzerine *in vivo* ya da *in vitro* çok çalışma yapılmadığına rastlanmıştır. *Boswellia serrata* L. bitkisi üzerine yapılan bir derlemede *in vitro* deneylerle elde edilen veriler tartışılmıştır. Tartışma sonucunda bitki ekstresinin, NF-κB ve çeşitli sitokinlerin etki mekanizmasını etkileyen bir inhibitör olabileceği öne sürülmüştür (80). Bununla birlikte bazı klinik çalışmalarda *Boswellia serrata* ekstreleriyle yapılan tedavi olumlu

sonuçlar göstermiştir. Randomize plasebo kontrollü klinik bir çalışmada omuz kas yırtığı olan hastalara ameliyattan önce 2 ay boyunca plasebo ya da içeriğinde *Boswellia serrata* ekstresi ile yüksek dozda metilsülfonilmetan olan Tendisulfur adıyla bir besin takviyesi verilerek bu bitki ekstresini içeren besin takviyesinin analjezik etkisi değerlendirilmiştir. Sonuçlar ağrı şiddetlerine ve omuz testlerine göre değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda bu besin takviyesinin kısa ve kısmen orta vadeli ağrıyı hafiflettiğine dair veriler sunmuştur (81). Fakat ilk 4 hafta sonrasında ağrının değişmediği gözlemlenmiştir. Bu durumda bu bitki ekstresinin kronik enflamatuvar hastalık tedavisine etkisi literatürde açıklık oluşturmaktadır.

Enflamatuvar romatizmal hastalıklardan Romatoid artritli hastalarda kullanılan bitkisel ilaçlar yok denecek kadar azdır. Fakat birçok bitki ile ilgili olumlu çalışmalar literatürde yer almakta ve araştırılmalarına devam edilmektedir. Ağrı kesici için kullanılan sarımsak, zencefil, çuha çiçeği-güneş damlası gibi bitkiler eklem ağrılarını ve inflamasyonu gidermeyi sağlar. Kedi pençesi (*Uncaria tomentosa*) bitkisinin ağrı azaltıcı etkisi, Sarı asma (*Tripterygium wilfordii*) bitkisinin antienflamatuvar etkisi bulgular arasında yer almaktadır (82). Allen-Hall ve arkadaşları (2007) *Uncaria tomentosa* bitkisi üzerine yaptıkları bir çalışmada lösemi hastalarından alınan THP-1 hücreleri kullanılmış; bitkinin TNF-α ve interlökin 1 beta (IL-1β) gibi enflamatuvar sitokinleri inhibe ederek NF-κB sinyal yolunu etkilediği bildirilmiştir (83). Goncalves ve arkadaşlarının (2005) yaptığı bir çalışmada ise *Uncaria tomentosa* dekoksiyon ekstresinin süperoksit anyonları ve hidroksil radikallerini giderici kapasiteleri incelenmiştir. Süperoksit anyonu radikali giderme kapasitesi, nitroblue tetrazolium bileşiğinin süperoksit anyonu tarafından indirgenmesinin ekstre tarafından inhibisyonu ile değerlendirilmiştir. Hidroksil radikalleri ile etkileşimini test etmek için ise, radikallerin deney ortamındaki deoksiribozu parçalama yeteneklerinin ekstre tarafından inhibisyonu ile test edilmiştir. Çalışmadaki radikal giderici bu tip testlerdeki yüksek inhibisyon etkisi ve lipit membran oksidasyonunu önleme kapasitesi ile *Uncaria tomentosa* bitkisinin yüksek antioksidan özelliğine işaret edilmiştir (84).

Geleneksel ilaç tedavilerinde romatizmal rahatsızlık için Karahindiba kökü (*Taraxacum officinale*) ile suyun birebir karışımının içilerek tüketilmesi mevcuttur. Bu bitki kökü ayrıca şişliklere karşı ve ağrı kesici olarak kullanılan çay tariflerinin içeriğinde de bulunmaktadır (85). Bu bitki üzerine Hu ve Kitts (2005) tarafından yapılan bir

çalışmada, bitki ekstresinin kimyasal ve biyolojik modellerde reaktif oksijen ve reaktif azot türlerini bastırmasıyla ve RAW264.7 canlı hücrelerinde peroksil radikalinin neden olduğu hücre içi oksidasyonu önemli ölçüde inhibe etmesiyle yüksek bir antioksidan aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir ve bu serbest radikal giderici kapasitesinin bitkinin fenolik içeriğiyle ilgili olduğu öne sürülmüştür (86). Lee ve arkadaşlarının (2013) yaptığı bir çalışmada ise Kore Karahindiba *Taraxacum coreanum* bitkisinin toprak üstü kısımlarının anti-enflamatuvar özellikleri incelenmiş; bitki ekstresinin fare karın zarı makrofaj hücrelerindeki lipopolisakkarit ile uyarılan prostaglandin E_2 üretimi ve COX-2 proteini ekspresyonu üzerinde inhibe etkisi gösterdiği ortaya konulmuştur (87). Aynı zamanda *Taraxacum officinale* bitkisinden elde edilmiş temel bileşiklerinden biri olan taraksasterol bileşiğinin anti-enflamatuvar etkisi birçok çalışmada incelenmiştir. Wang ve arkadaşları (2017), hayvan modelleri üzerinde dimetilbenzen ile indüklenen fare kulak ödemi ve karragenan ile indüklenen sıçan pençe ödemi üzerinde taraksasterol bileşiğinin anti-enflamatuvar etkisini çalışmış ve taraksasterol tedavisinin, ödem gelişiminin her aşamasında ödemleri önemli ölçüde inhibe ettiğini gözlemlemiştir (88).

Ranunculaceae familyasına ait bitki türlerinin halk arasında çeşitli enflamatuvar bozuklukların ve oksidatif stresle ilgili hastalıkların (ateş, gut, romatizma vb.) tedavisinde kullanıldığına dair çok sayıda rapor bulunmaktadır. Literatürde ise, bu bitkilerin antienflamatuvar ve antioksidan özellikleri daha önce sadece sınırlı sayıda çalışmada incelenmiştir. Ayrıca, biyolojik aktivitelerinden sorumlu olabilecek bileşenler tam olarak tanımlanmamıştır.

Ranunculaceae familyasına ait sınırlı çalışmalardan biri olan bir çalışmada Malik ve arkadaşları (2017) 25 bitki türü üzerinde çalışmış ve bitkilerin etanol ekstrelerinin *in vitro* antienflamatuvar ve antioksidan aktivitelerini incelemiştir. Bu çalışmada, 25 bitki türünden Ranunculaceae familyasına ait bitkilerden *Helleborus purpurascens* Waldst. & Kit. bitki türünün COX enzimleri ve 5-LOX enzim inhibisyon aktivitesinin ve *Thalictrum minus* L. bitki türünün COX-2 ve 5-LOX inhibisyon aktivitesinin diğer türlere göre daha yüksek olduğu ve bu bitkilerin iyi bir antioksidan aktivite gösterdiği rapor edilmiştir (89).

Li ve arkadaşlarının (2003) yaptığı çalışmada ise farklı bitki türlerinin COX-1 ve COX-2 inhibisyon aktiviteleri karşılaştırılmış, Ranunculaceae familyasına ait *Clematis chinensis* Osbeck sapları ekstrelerinin enzim inhibisyonunun sadece yüksek

konsantrasyonlarda etkin olduğu ve detaylı çalışmalara ihtiyaç duyduğu belirtilmiştir (90).

Cuéllar ve arkadaşları (2001) yaptıkları *in vivo* deneylerle 5 farklı familyadan %50 etanol ile hazırladıkları bitkilerin antienflamatuvar aktivitelerini değerlendirmiştir. Bu çalışmada, araşidonik asidin uygulandığı farelerde Ranunculaceae familyasına ait *Coptis chinensis* Franch. bitki ekstresinin çoğu bitkiye göre ödem inhibisyonunda daha aktif olduğu gösterilmiştir (91).

Erdemoğlu ve arkadaşları (2003) 7 farklı bitki türüyle yaptıkları çalışmada, Ranunculaceae familyasına ait *Helleborus orientalis* Lam. bitki türünün kök ve bitki kısımlarının su ve etanol ekstreleriyle çalışılmış; karragenan bileşiği kullanılarak farelerin arka pençelerinde oluşturulan ödem için uygulanan bu bitki köklerinin etanol ekstresinin antienflamatuvar etkisinin diğer bitki ekstrelerine göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir (92).

Ranunculaceae familyasına ait bitkilerden bazı bileşikler izole edilmiş ve *in vivo* çalışmalarla anti-enflamatuvar ödem giderme etkisi incelenmiştir. *Nigella damascena* ve *Nigella arvensis* bitkilerinin tohumlarında bulunan damassenin bileşiği ile yapılan bir çalışmada formaldehit ve dekstran ile indüklenen sıçan pençesi ödemlerinde damasseninin etkili olduğu hatta bu alkoloidin etkisinin fenilbutazondan daha üstün olduğu gözlemlenmiştir (93).

Aconitum baicalense bitkisinden elde edilen alkaloidlerin karregenan ile indüklenen akut inflamasyon üzerindeki etkisinin test edildiği bir çalışmada ise napellina ve hipakonitin alkaloidlerinin inflamasyon sürecinin başlangıç evresinde iyi bir etki gösterirken, sonraki evrelerde 12-epinapelline N-oksit ve mesakonitin alkaloidlerinin inflamasyon giderici bir etki gösterdiği gözlemlenmiştir (94). *Cimicifuga racemosa* bitkisi ekstresi ile yapılan *in vitro* bir çalışmada ise, ekstrenin insan tam kanında lipopolisakkarit ile uyarılan IL-6, TNF-α ve IFN-γ üretimini inhibe ettiği gösterilmiştir. Ayrıca bitkiden izole edilen bileşiklerin farklı konsantrasyonlardaki inhibisyon etkileri değerlendirilmiş, bitkideki izoferulik asit bileşiğinin bu uyaranları inhibe eden en aktif bileşen olduğu tespit edilip bitkinin antienflamatuvar etkisinden sorumlu olan bileşeni olduğu rapor edilmiştir (95).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. BİTKİ MATERYALİ

Ceratocephala falcata bitki materyali Afyon şehrinin Sandıklı ilçesi Karacaören kasabası civarında 2023 yılının Mayıs ayında toplanmış ve kurutulmuştur. Tür tespiti Mustafa Kemal Üniversitesi Fen-edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü öğretim üyelerinden Prof. Dr. Ahmet İlçim tarafından yapılmıştır. Üniversitenin Herbaryumuna kaydedilmiştir.

3.2. KULLANILAN CİHAZLAR VE KİMYASAL MALZEMELER

Kullanılan cihazlar; rotary evaporatör (Heidolph, Almanya), orbital çalkalayıcı (Onilab, ABD), liyofilizatör (HyperCOOL, Kore), pH metre (Hanna, ABD), mikroplaka okuyucu (BioTek Synergy NEO2, ABD), HPLC (Shimadzu, Japonya).

Kullanılan kimyasallar; etanol, hekzan ve etil asetat, HCl (Sigma-Aldrich, Almanya), $DPPH^{\bullet}$ (Sigma- Aldrich, Almanya), Trolox (Sigma-Aldrich, Almanya), Bakır (II) klorür çözeltisi (Sigma-Aldrich, Almanya), Neokuproin (2,9-dimetil-1,10-fenantrolin) (Sigma-Aldrich, Almanya), Amonyum asetat (ISOLAB, Almanya), 2,4,6-Tripyridyl-S-triazine (Sigma-Aldrich, Almanya), $FeSO_4$ (Sigma-Aldrich, Almanya), $FeCl_3$ (Sigma-Aldrich, Almanya), Sodyum asetat çözeltisi (ISOLAB, Almanya), $ABTS^{\bullet}$ (Sigma-Aldrich, Almanya), Potasyum persülfat (ISOLAB, Almanya), Potasyum fosfat dibazik (Sigma-Aldrich, Almanya), COX Colorimetric Inhibitor Screening Assay Kit testi (Cayman Chemical, ABD), Salisilik asit (ISOLAB, Almanya), Klorojenik asit (Sigma-Aldrich, Almanya).

3.3. EKSTRAKSİYON

10 g bitki üzerine 200 mL distile su ilave edildikten sonra 30 dakika kaynatılarak dekoksiyon yöntemiyle bir bitki ekstresi hazırlandı. Sulu etanol (%80) karışımı, etil asetat ve hekzan ekstreleri için 10 g öğütülmüş bitki materyali çözücüleri 200 mL olacak şekilde üzerlerine ilave edilip ağzı kapatılarak oda sıcaklığında üç saat manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı. Sonra çözücü kısmı başka bir kaba alındı ve posa üzerine tekrar aynı miktarda çözücüler ilave edilerek bu işlem karışım renksiz oluncaya kadar devam edildi (5 kez

tekrarlandı) (EK-1). Çözücüler rotary evaporatör ile düşük basınç altında uzaklaştırıldı. Sulu etanol (%80) ekstresindeki kalan su ve dekoksiyon yöntemiyle hazırlanan ekstredeki su liyofilizatörde uzaklaştırıldı. Böylece 4 farklı ekstre elde edildi. Ekstre verimleri hesaplandıktan sonra ekstreler antioksidan ve biyolojik aktivite analizlerinde kullanılmak üzere +4°C'de saklandı.

3.4. ANTİOKSİDAN AKTİVİTE ÇALIŞMALARI

3.4.1. 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH•) Radikali Giderme Aktivitesi

1,1-diphenyl-2 picrylhydrazil (DPPH) radikal giderme aktivitesinin mantığı mor renkli DPPH• radikalinin ortamda bulunan antioksidan maddeler tarafından indirgenmesi sonucu sarı renkli DPPH molekülüne dönüşmesiyle absorbans değerlerinin azalmasına dayanır (96). DPPH çözeltisi 0,1mM olacak şekilde etanol çözücüsünde hazırlandı. Bulguları karşılaştırmak için 6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit (Trolox) standardı 6 farklı konsantrasyonda hazırlandı. Mikroplaka kuyucuklarına 10µL'lik ekstrelerin farklı konsantrasyonları ve standart çözeltisi eklendikten sonra 190µL DPPH çözeltisinden eklendi. Karışım çalkalandıktan sonra 30 dakika boyunca oda sıcaklığında ve karanlıkta inkübe edildi. DPPH çözeltisinin mor renginin sarı renge dönüşmesi DPPH• radikalinin giderildiğinin göstergesidir. Bu karışımların ve pozitif kontrolün (DPPH) negatif kontrole (etanol) karşı absorbansları 517 nm'de mikroplaka okuyucu kullanılarak ölçüldü (EK-2). Ekstrelerin ve standardın DPPH• radikalleri giderici kapasiteleri aşağıda belirtilen denklem ile hesaplandı. Grafik eğrisi denkleminden IC_{50} değerleri hesaplanarak %50 radikal gidermeyi (inhibisyon) sağlayan konsantrasyonları belirlendi.

$$\text{DPPH}^{\bullet}\text{ Radikali giderme aktivitesi: } \left(\frac{A0-A1}{A0}\right) \times 100$$

A0: Kontrol (DPPH•) absorbansı; A1: Standardın (Trolox) veya ekstrelerin absorbansı

3.4.2. 2,2′-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) ($ABTS^{\bullet+}$) Radikali Giderme Aktivitesi

2,2'-Azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) ($ABTS^{\bullet+}$) radikali giderme aktivitesi, ortamda oluşturulan yeşil renkli $ABTS^{\bullet+}$ radikal katyonunun antioksidan maddeler tarafından indirgenmesi sonucu oluşan renksiz ABTS moleküllerinin absorbans değerlerini düşürmesi mantığına dayanmaktadır (97) $ABTS^{\bullet+}$ radikali, 7mM ABTS çözeltisinin 2,45mM potasyum persülfat çözeltisi içinde ortalama 12-16 saat inkübe edildikten sonra ortaya çıkmaktadır. Bu radikal oldukça kararlıdır ve koyu yeşil bir renk verir. Bu çözelti su ile seyreltilerek 734 nm'deki absorbansı ~0.7 olacak şekilde ayarlandı. Bulguları karşılaştırmak için Trolox standardı farklı konsantrasyonlarda hazırlandı. Troloks standardı ve ekstrelerin farklı konsantrasyonlarından alınan 10µL'lik örnekler, mikroplaka kuyucuklarına eklendikten sonra $ABTS^{\bullet+}$ çözeltisinden 190µL ilave edildi ve 30 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi. Numunelerin ABTS çözelti ile karıştırıldığında oluşan renk açılması $ABTS^{\bullet+}$ radikali gidermesinin göstergesidir. Örneklerin absorbansları 734 nm'de mikroplaka okuyucu kullanılarak ölçüldü ve $ABTS^{\bullet+}$ radikalleri giderici kapasiteleri aşağıda belirtilen denklem ile hesaplandı. Grafik eğrisi denklemleri kullanılarak $ABTS^{\bullet+}$ radikalinin %50'sini inhibe eden konsantrasyonlar (IC_{50} değerleri) hesaplandı.

$$\text{ABTS}^{\bullet+}\text{ Radikali giderme aktivitesi: } \left(\frac{A0-A1}{A0}\right) \times 100$$

A0: Kontrol ($ABTS^{\bullet+}$) absorbansı; A1: Standardın (Trolox) ve ekstrelerin absorbansı

3.4.3. Bakır (II) (Cu^{2+}) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite Aktivitesi (CUPRAC)

Bakır (II) iyonu indirgeme esaslı antioksidan kapasite aktivitesi, ortamda bulunan Cu^{2+} iyonlarının Neokuproin ile oluşturduğu mavi kompleks yapılı bileşiğin antioksidan varlığında indirgenmesi sonucu sarı renkli bir komplekse dönüşmesi mantığına dayanır (98). Deney için; 7,5 mM'lık Neokuproin (2,9-dimetil-1,10-fenantrolin) çözeltisi etanol ile, 10 mM'lık Bakır (II) klorür çözeltisi ve pH'sı 7.0 olan 1M amonyum asetat tamponu su ile hazırlandı. Pozitif kontrol için farklı konsantrasyonlarda Trolox standardı

hazırlandı. Kuyucukların içerisine bakır (II) çözeltisi, neokuproin çözeltisi ve amonyum asetat tamponundan sırasıyla 50'şer µL eklendi. 37°C'de 15 dakika inkübe edildi. Üzerine farklı konsantrasyonlarda ekstre ve standart çözeltileri 100'er µL olarak ilave edildi. 37°C'de karanlıkta bekletildi. Aktivite sonucu turuncu renkte bir komplex oluşmaktadır. İnkübasyon sonunda içinde örnek bulunmayan referans çözeltiye karşı 450 nm'de absorbans değerleri ölçüldü. Standart olarak kullanılan Trolox'un farklı konsantrasyonları kullanılarak elde edilen kalibrasyon grafik denklemi kullanılarak bitki ekstrelerinin indirgeme gücü kapasiteleri gram ekstre başına mmol troloks eşdeğeri (mmol TEAC/g ekstre) olarak hesaplandı.

3.4.4. Demir (III) (Fe^{3+}) İyonu İndirgeyici Gücü Antioksidan Aktivitesi (FRAP)

Demir (III)'ün indirgenme kapasitesi tayini Fe (III)'ün, 2,4,6-tripiridil-S-triazin (TPTZ) ile reaksiyonu sonucu oluşan turuncu-açık kahverengi renkli [Fe (III)-TPTZ] kompleksinin antioksidanların etkisiyle koyu mavi-mor renkli Fe(II)-TPTZ kompleksine indirgenmesiyle absorbans değerlerinin artması mantığına dayanır (99). FRAP reaktifi; 40mM HCl içinde hazırlanmış 10mM 2,4,6-Tripyridyl-S-triazine çözeltisi ile suda hazırlanmış 20mM'lık $FeCl_3$ çözeltisinden 1'er mL alınıp, 300mM'lık asetat tamponundan (pH 3.6) 10 mL alınıp karıştırılarak hazırlandı ve 37°C'de ısıtıldı. Pozitif kontrol olarak farklı konsantrasyonlarda demir sülfat ($FeSO_4$) çözeltileri hazırlandı. Her bir ekstrenin farklı konsantrasyonları ve standartlar kuyucuklara 10'ar µL eklendikten sonra üzerine 300µL taze hazırlanmış FRAP reaktifi eklendi. Reaksiyon karışımları 37°C'de 4 dakika süreyle inkübe edildi. 593 nm'de absorbans değerleri okundu. Standart olarak kullanılan demir sülfatın farklı konsantrasyonları kullanılarak elde edilen kalibrasyon grafik denklemi kullanılarak bitki ekstrelerinin indirgeme gücü gram ekstre başına mmol $FeSO_4$ eşdeğeri (mmol $FeSO_4$/g ekstre) olarak hesaplandı.

3.5. FENOLİK BİLEŞİKLERİN KROMATOGRAFİK KANTİTATİF ANALİZLERİ

Bitki ekstrelerinde bulunan fenolik bileşiklerin kantitatif analizi için Shimadzu Nexera-i LC-2040C 3D Plus marka HPLC cihazı kullanıldı. Dedektör olarak fotodiyot detektörü (PDA) kullanıldı. Yöntemde kolon olarak Fenilheksil 3 µm, 4,6 mm x 150 mm (GL Sciences InterSustain, Japonya) C6 ters faz kolonu kullanıldı. Mobil faz olarak

asetonitril (Mobil faz B) ve su (%0,1 formik asit) (Mobil faz A) kullanıldı. Analiz sırasında kolon sıcaklığı 30°C, mobil faz akış hızı dakikada 1mL olacak şekilde ayarlandı. Pompa programı Tablo 3.1.'de verilmiştir.

Tablo 3. 1: Fenolik bileşik analizinde kullanılan pompa programı

Dakika	Mobil Faz B (%)	Mobil Faz A (%)
0.01	5	95
7	9,5	90,5
20	17	83
35	40	60
40	0	100
40.01	Bitiş	

Her ekstre ve standart için 1 mg/mL stok çözeltiler hazırlandı. Standart bileşiklerden farklı konsantrasyonlarda çözeltiler hazırlanarak kalibrasyon grafikleri çizildi ve ekstrelerin içeriğindeki fenolik bileşik miktarları kantitatif olarak belirlendi. Standart olarak 15 farklı fenolik bileşik kullanıldı; 4-Hidroksibenzoik asit, rutin, kuersetin, gallik asit, klorojenik asit, kafeik asit, ferulik asit, kikorik asit, p-kumarik asit, sinnamik asit, vanilik asit, apigenin 7-glikozit, salisilik asit, epikateşin ve naringenin kullanıldı. Her bir fenolik maksimum absorbansına göre değerlendirildi.

3.6. ANTİENFLAMATUVAR AKTİVİTE ÇALIŞMALARI

3.6.1. Siklooksijenaz (COX) Enzim İnhibisyon Analizi

Analiz, COX Colorimetric Inhibitor Screening Assay Kit testinin belirtilmiş prosedürüne göre yapıldı (Cayman Chemical Company, *Item*: 760119). COX-1 ve COX-2 enzimlerinin substratı olarak araşidonik asit kullanıldı. Kontrol grubunda inhibitör olarak salisilik asit ve klorojenik asit kullanıldı. Aşağıdaki denklem kullanılarak sonuçlar %inhibisyon şeklinde verilmiştir.

$$\%\text{İnhibisyon: } \left(\frac{A0-A1}{A0}\right) \text{ x } 100$$

A_0: Sadece enzimin olduğu absorbansı; A_1: İnhibitör veya ekstrelerin varlığında absorbansı

3.7. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Dört farklı bitki ekstraksiyonu ve kontrol gruplarıyla 3 tekrarlı olacak şekilde gerçekleştirilen DPPH, ABTS, CUPRAC, FRAP ve COX enzim deney verilerinin aritmetik ortalaması ve standart sapmaları Excel'de hesaplandı. İstatistiksel analiz için çift yönlü ANOVA yapıldı. HPLC verilerindeki fenolik içeriklerin istatistiksel analizi için ise tek yönlü ANOVA analizi yapıldı. Analizler için GraphPad Prism 5.0 uygulaması kullanıldı. *p* değerinin 0,01'den küçük olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. EKSTRAKSİYON VERİMLERİ

Çalışmada analiz edilen *Ceratocephala falcata* bitkisinden farklı polaritedeki çözücüler ile ekstreler elde edildi. Bu ekstrelerin hazırlanmasında halk arasında kullanılan şekli su ile dekoksiyon ve bu yöntemle karşılaştırmak üzere 3 farklı ekstraksiyon tercih edilmiştir. Elde edilen ham ekstrelerin ekstraksiyon verimleri Tablo 4.1'de verilmiştir.

Tablo 4. 1: *Ceratocephala falcata* bitkisinden elde edilen ekstrelerin ekstraksiyon verimleri

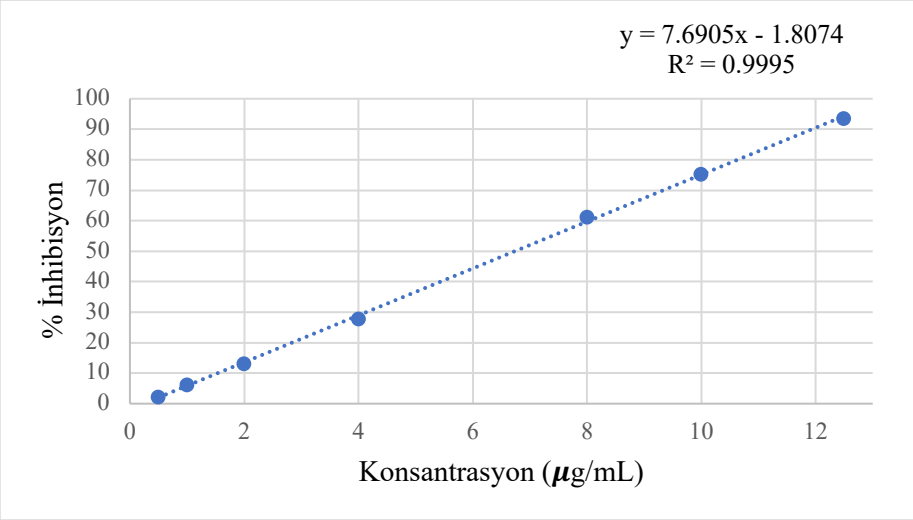
Ekstraksiyon	**% Verim**
Sulu etanol (%80) ile Maserasyon	23,1
Etil asetat ile Maserasyon	5,5
Hekzan ile Maserasyon	3,5
Su ile Dekoksiyon	19,6

4.2. ANTİOKSİDAN AKTİVİTE BULGULARI

4.2.1. 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH•) Radikali Giderme Aktivite Bulguları

Konsantrasyon aralığı 10 ile 250 µg/mL olarak hazırlanan Trolox bileşiğinin DPPH• radikal giderme aktivitesinin yüzde inhibisyon grafiği kullanılarak IC_{50} değeri hesaplandı (Şekil 4.1). Bitkinin her bir ekstresinin farklı konsantrasyonlarda DPPH• radikali giderme aktiviteleri analiz edilip IC_{50} değerleri hesaplandı (EK 3-6). Sonuçlar Trolox bileşiği ile karşılaştırıldı. Sonuçlar Tablo 4.2'de verilmiştir. Trolox standardının IC_{50} değeri 6,74±0,43 µg/mL olarak hesaplanırken; sulu etanol (%80) ekstresi için 116,75±3,99 µg/mL, etil asetat ekstresi için 1090,51±164,77 µg/mL, hekzan ekstresi için 750,19±138,87 µg/mL ve dekoksiyon ile hazırlanmış su ekstresi için 118,46±1,14 µg/mL olarak hesaplanmıştır. Değerler karşılaştırıldığında bitki ekstrelerinin DPPH• radikali

giderme aktivitelerinin Trolox bileşiğine göre düşük olduğu görülmüştür. Bunun yanı sıra sulu etanol (%80) ekstresinin ve dekoksiyon ile hazırlanmış su ekstresinin etil asetat ve hekzan ekstrelerine göre oldukça yüksek DPPH$^{\bullet}$ radikali giderme aktivitesi gösterdiği görülmüştür. Ekstreler arasında en düşük aktiviteyi etil asetat ekstresi gösterirken, en yüksek aktiviteyi sulu etanol (%80) ekstresi göstermiştir.



Şekil 4. 1: Trolox bileşiğinin DPPH$^{\bullet}$ radikal giderme aktivitesinin kalibrasyon grafiği

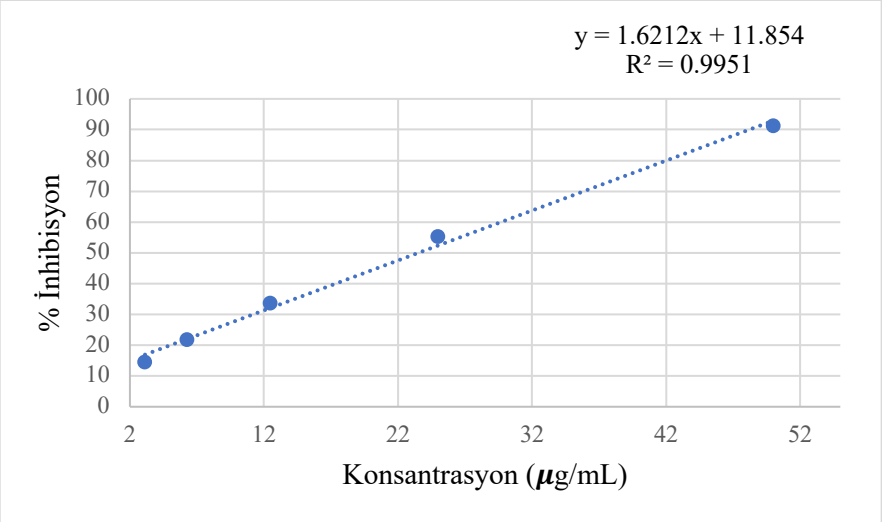
Tablo 4. 2: Trolox bileşiğinin ve ekstrelerin DPPH$^{\bullet}$ radikali giderme aktivite bulguları

Ekstraksiyon	**IC_{50} (µg/mL)**
Sulu etanol (%80) ile Maserasyon	116,75±3,99
Etil asetat ile Maserasyon	1090,51±164,77
Hekzan ile Maserasyon	750,19±138,87
Su ile Dekoksiyon	118,46±1,14
Standart (Trolox)	6,74±0,43

4.2.2. 2,2′-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) ($ABTS^{\bullet+}$) Radikali Giderme Aktivite Bulguları

Konsantrasyon aralığı 1 mg/mL ile 62,5 µg/mL olarak hazırlanan Trolox bileşiğinin $ABTS^{\bullet+}$ radikal giderme aktivitesinin yüzde inhibisyon grafiği kullanılarak IC_{50} değeri hesaplandı (Şekil 4.2). Bitkinin her bir ekstresinin farklı konsantrasyonlarda

ABTS$^{\bullet+}$ radikali giderme aktiviteleri analiz edilip IC_{50} değerleri hesaplandı (EK 7-10). Sonuçlar Trolox bileşiği ile karşılaştırıldı. Sonuçlar Tablo 4.3'te verilmiştir. Trolox standardının IC_{50} değeri 23,51±1,19 µg/mL olarak hesaplanırken; sulu etanol (%80) ekstresi için 54,37±7,83 µg/mL, etil asetat ekstresi için 413,72±42,58 µg/mL, hekzan ekstresi için 153,19±21,11 µg/mL ve dekoksiyon ile hazırlanmış su ekstresi için 64,24±7,91 µg/mL olarak hesaplanmıştır. Değerler karşılaştırıldığında sulu etanol (%80) ve dekoksiyon ile hazırlanmış su ekstrelerinin ABTS$^{\bullet+}$ radikali giderme aktivitelerinin Trolox bileşiğine yakın olduğu görülmüştür. Etil asetat ve hekzan ekstrelerinin ise standart ve diğer bitki ekstrelerine göre oldukça düşük ABTS$^{\bullet+}$ radikali giderme aktivitesi gösterdiği görülmüştür. Ekstreler arasında en düşük aktiviteyi etil asetat ekstresi gösterirken, en yüksek aktiviteyi sulu etanol (%80) ekstresi göstermiştir.



Şekil 4. 2: Trolox bileşiğinin ABTS$^{\bullet+}$ radikal giderme aktivitesinin kalibrasyon grafiği

Tablo 4. 3: Trolox bileşiğinin ve ekstrelerin ABTS$^{\bullet+}$ radikali giderme aktivite bulguları

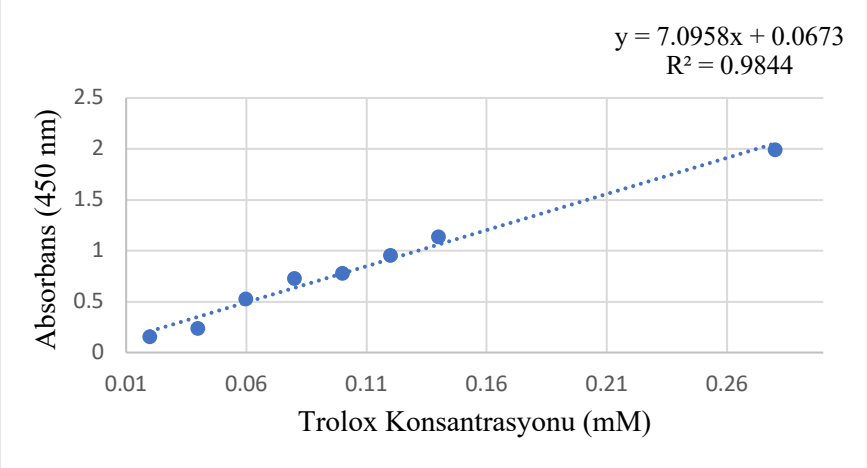
Ekstraksiyon	**IC_{50} (µg/mL)**
Sulu etanol (%80) ile Maserasyon	54,37±7,83
Etil asetat ile Maserasyon	413,72±42,58
Hekzan ile Maserasyon	153,19±21,11
Su ile Dekoksiyon	64,24±7,91
Standart (Trolox)	23,51±1,19

4.2.3. Bakır (II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite Aktivitesi (CUPRAC) Bulguları

Bakır (II) iyonu indirgeme kapasitesini ölçen bu deneyde hesaplamalarda kullanılan Trolox bileşiğinin 0,05-0,7mM aralığında farklı konsantrasyonlarda çözeltileri hazırlanmış ve kalibrasyon eğrisi grafiği çizilmiştir (Şekil 4.3). Bu eğriye göre hesaplanan sonuçlar mmol TEAC/g ekstre olarak verilmiştir.

Bitkinin sulu etanol (%80) ekstresinin Bakır (II) iyonu indirgeme kapasitesi 0,743±0,055 mmol TEAC/g ekstre olarak hesaplanırken, etil asetat ekstresinin 0,368±0,013 mmol TEAC/g ekstre olarak hesaplanmıştır. Dekoksiyon ile hazırlanan su ekstresi için 0,542±0,018 mmol TEAC/g ekstre olarak hesaplanırken, hekzan ekstresi aktivite göstermemiştir.

En yüksek aktiviteyi etanol ekstresi gösterirken hemen ardından dekoksiyon ile hazırlanan su ekstresi göstermiştir. Etil asetat ekstresi üçüncü sırada gelirken hekzan ekstresi bir aktivite göstermemiştir. Veriler Tablo 4.4'te verilmiştir.



Şekil 4. 3: Trolox bileşiğinin Cu^{2+}-Ne varlığında kalibrasyon grafiği

Tablo 4. 4: Trolox bileşiğinin ve ekstrelerin Cu^{2+} iyonu indirgeme kapasite bulguları

Ekstraksiyon	**mmol TEAC/g ekstre**
Sulu etanol (%80) ile Maserasyon	0,743±0,055
Etil asetat ile Maserasyon	0,368±0,013

Tablo 4.4 (devam)

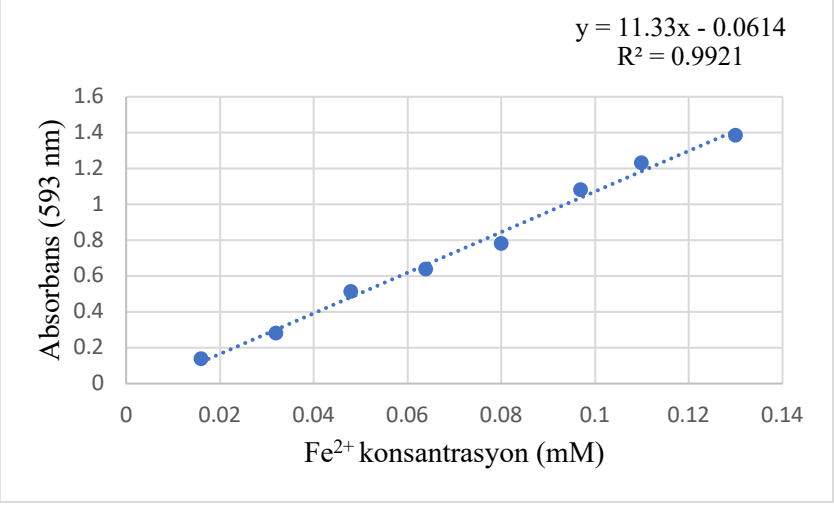
Hekzan ile Maserasyon	Aktivite hesaplanamadı
Su ile Dekoksiyon	0,542±0,018

4.2.4. Demir (III) İyonu İndirgeyici Gücü Antioksidan Aktivitesi (FRAP) Bulguları

Demir (III) iyonu indirgeme kapasitesini ölçen bu deneyde hesaplamalarda kullanılan $FeSO_4$ bileşiğinin 0,5-4 mM aralığında farklı konsantrasyonlarda çözeltileri hazırlanmış ve kalibrasyon eğrisi grafiği çizilmiştir (Şekil 4.4). Bu eğriye göre hesaplanan sonuçlar mmol Fe^{2+}/g ekstre olarak verilmiştir.

Bitkinin sulu etanol (%80) ekstresinin Demir (III) iyonu indirgeme kapasitesi 0,343±0,011 mmol Fe^{2+}/g ekstre ekstre olarak hesaplanırken, etil asetat ekstresinin 0,138±0,067 mmol Fe^{2+}/g ekstre olarak hesaplanmıştır. Dekoksiyon ile hazırlanan su ekstresi için 0,396±0,005 mmol Fe^{2+}/g ekstre olarak hesaplanırken, hekzan ekstresi için 0,065±0,004 mmol Fe^{2+}/g ekstre olarak hesaplanmıştır.

En yüksek aktiviteyi dekoksiyon ile hazırlanan su ekstresi gösterirken hemen ardından sulu etanol (%80) ekstresi göstermiştir. Etil asetat ekstresi üçüncü sırada gelirken hekzan ekstresi oldukça düşük bir aktivite göstermiştir. Veriler Tablo 4.5'te verilmiştir.



Şekil 4. 4: Fe^{2+} kalibrasyon grafiği

Tablo 4. 5: Trolox bileşiğinin ve ekstrelerin Fe^{3+} iyonu indirgeme kapasite bulguları

Ekstraksiyon	**mmol Fe^{2+}/g ekstre**
Sulu etanol (%80) ile Maserasyon	0,343±0,011
Etil asetat ile Maserasyon	0,138±0,067
Hekzan ile Maserasyon	0,065±0,004
Su ile Dekoksiyon	0,396±0,005

4.3. FENOLİK BİLEŞİKLERİN KROMATOGRAFİK KANTİTATİF ANALİZ BULGULARI

Bitki ekstreleri 15 farklı fenolik bileşik için çalışılmış metotta cihaza 1 mg/mL olarak hazırlanarak verildi. Standart fenolik bileşiklerin farklı konsantrasyonlarda kalibrasyon grafiği çizilerek her bir bileşiğin ekstrelerdeki miktarları mg/g ekstre olarak hesaplanmıştır ve sonuçlar Tablo 4.6'da verilmiştir. Kromatogram görüntüleri EK 11-12'de verilmiştir.

Doğal antioksidan kaynağı olan bitkilerin sekonder metabolit olarak içerdikleri fenolik bileşikler antioksidan aktivitesi en yüksek bileşiklerdir. Bu bileşikler vücutta çeşitli sebeplerle oluşan serbest radikallerin reaksiyonları önler, oksijeni ve metalleri bağlayarak oksidasyonun yol açtığı zararlar engeller.

Sonuçlar değerlendirildiğinde, antioksidan aktivitelerinde aktivite göstermeyen hekzan ekstresinin HPLC metodunda standartlar arasında bulunan fenolik bileşiklerinin hiçbirini içermediği gözlemlenmiştir. Hekzan ekstresi gibi çok düşük aktiviteye sahip etil asetat ekstresinde ise sadece 0,194 mg/g ekstre klorojenik asit ve 0,065 mg/g ekstre kuersetin bileşikleri tespit edilmiştir; bu oranlar diğer iki ekstrede bulunan bu bileşiklerin oranlarına kıyasla düşüktür.

Antioksidan aktiviteleri oldukça yüksek gözlemlenen sulu etanol (%80) ekstresinde 1,116 mg/g ekstre rutin, 0,766 mg/g ekstre 4-Hidroksibenzoik asit, 0,460 mg/g ekstre ferulik asit, 0,408 mg/g ekstre klorojenik asit, 0,327 mg/g ekstre kafeik asit, 0,092 mg/g ekstre kikorik asit, 0,080 mg/g ekstre kuersetin tespit edilmiştir. Antioksidan aktivitesi yüksek olan diğer bir ekstre olan dekoksiyon ile hazırlanan su ekstresinde ise 1,438 mg/g ekstre 4-Hidroksibenzoik asit, 0,782 mg/g ekstre klorojenik asit, 0,099 mg/g ekstre ferulik asit, 0,054 mg/g ekstre gallik asit, 0,047 mg/g ekstre kafeik asit tespit

edilmiştir. Bu bulgularla bitki ekstrelerine antioksidan aktiviteyi veren bileşiklerin standart olarak kullanılan 15 farklı fenolik bileşik arasındaki 8 bileşik olduğu tespit edilmiştir (Tablo 4.6). Bu bileşikler arasından su ve etanol ekstrelerine geçenler 4-Hidroksibenzoik asit, klorojenik asit, kafeik asit, ferulik asit; yalnızca su ekstresine geçenler gallik asit; yalnızca etanol ekstresine geçenler rutin, kuersetin ve kikorik asit bileşikleri olduğu görülmüştür.

Tablo 4. 6: Bitki ekstrelerinin fenolik bileşik içerikleri

Standartlar (Fenolik Bileşikler)	**Fenolik Bileşik Grubu**	**Sulu etanol (%80) Ekstresi**	**Etil Asetat Ekstresi**	**Dekoksiyon Ekstresi**
		mg/g ekstre		
4-Hidroksibenzoik Asit	Hidroksibenzoik asit	0,766	-	1,438
Rutin	Flavonol	1,116	-	-
Kuersetin	Flavonol	0,080	0,065	-
Gallik Asit	Hidroksibenzoik asit	-	-	0,054
Klorojenik Asit	Hidroksisinnamik asit	0,408	0,194	0,782
Kafeik Asit	Hidroksisinnamik asit	0,327	-	0,047
Ferulik Asit	Hidroksisinnamik asit	0,460	-	0,099
Kikorik Asit	Hidroksisinnamik asit	0,092	-	-

4.4. ANTİENFLAMATUVAR ENZİM AKTİVİTE BULGULARI

4.4.1. Siklooksigenaz (COX) Enzim İnhibisyonu Bulguları

Antioksidan kapasitesi analizlerinin yanı sıra, *Ceratocephala falcata* bitkisinin halk arasında inflamasyon giderici olarak kullanılmasından ötürü bitkiden elde edilen 4 farklı ekstrenin COX enzim inhibisyonu da çalışıldı. Çalışmada COX-1 ve COX-2 enzim inhibisyonları analiz edildi. Deneyde salisilik asit ve klorojenik asit standart olarak kullanılıp kuyucuklarda son konsantrasyonları 20 ve 50 µg/mL olacak şekilde hazırlandı. Her bir ekstre aynı şekilde kuyucuklardaki son konsantrasyonları 20 ve 50 µg/mL olacak şekilde stok çözeltilerden seyreltilerek hazırlandı. 590nm dalga boyunda absorbans

değerleri ölçüldü. Sonuçlar % inhibisyon olarak hesaplandı ve % inhibisyon değerleri Tablo 4.7'de verildi.

4.4.1.1. COX-1 bulguları: Hazırlanan standartlardan biri olan salisilik asit konsantrasyonu 20 µg/mL iken COX-1 enzimi üzerinde %81,55±6,80 inhibisyon sağlarken, 50 µg/mL iken %88,03±10,29 inhibisyon göstermiştir. İkinci bir standart olarak kullanılan klorojenik asit konsantrasyonu 20 µg/mL iken COX-1 enzimi üzerinde %70,87±4,85 inhibisyon sağlarken, 50 µg/mL iken %76,05±15,72 inhibisyon göstermiştir (Tablo 4.7).

Sulu etanol (%80) ekstresi 20 µg/mL konsantrasyonu ile COX-1 enzimi üzerinde %45,83±0,83 inhibisyon gösterirken, 50 µg/mL konsantrasyonu ile enzim üzerinde %72,50±2,08 inhibisyon göstermiştir (Tablo 4.7).

Etil asetat ekstresi 20 µg/mL konsantrasyonu ile COX-1 enzimi üzerinde %43,75±1,25 inhibisyon gösterirken, 50 µg/mL konsantrasyonu ile enzim üzerinde %63,33±12,50 inhibisyon göstermiştir (Tablo 4.7).

Hekzan ekstresi 20 µg/mL konsantrasyonu ile COX-1 enzimi üzerinde %86,25±4,17 inhibisyon gösterirken, 50 µg/mL konsantrasyonu ile enzim üzerinde %92,23±4,85 inhibisyon göstermiştir (Tablo 4.7).

Dekoksiyon ekstresi 20 µg/mL konsantrasyonu ile COX-1 enzimi üzerinde %32,50±1,67 inhibisyon gösterirken, 50 µg/mL konsantrasyonu ile enzim üzerinde %41,25±1,25 inhibisyon göstermiştir (Tablo 4.7).

4.4.1.2. COX-2 bulguları: Hazırlanan standartlardan biri olan salisilik asit konsantrasyonu 20 µg/mL iken COX-2 enzimi üzerinde %57,28±9,26 inhibisyon sağlarken, 50 µg/mL iken %60,19±12,62 inhibisyon göstermiştir. İkinci bir standart olarak kullanılan klorojenik asit konsantrasyonu 20 µg/mL iken COX-2 enzimi üzerinde %28,64±11,17 inhibisyon sağlarken, 50 µg/mL iken %36,89±20,06 inhibisyon göstermiştir (Tablo 4.7).

Sulu etanol (%80) ekstresi 20 µg/mL konsantrasyonu ile COX-2 enzimi üzerinde %37,55±2,95 inhibisyon gösterirken, 50 µg/mL konsantrasyonu ile enzim üzerinde %64,08±21,29 inhibisyon göstermiştir (Tablo 4.7).

Etil asetat ekstresi 20 µg/mL konsantrasyonu ile COX-2 enzimi üzerinde %59,28±2,32 inhibisyon gösterirken, 50 µg/mL konsantrasyonu ile enzim üzerinde %63,29±23,21 inhibisyon göstermiştir (Tablo 4.7).

Hekzan ekstresi 20 µg/mL konsantrasyonu ile COX-2 enzimi üzerinde %88,19±4,22 inhibisyon gösterirken, 50 µg/mL konsantrasyonu ile enzim üzerinde %90,78±2,43 inhibisyon göstermiştir (Tablo 4.7).

Dekoksiyon ekstresi 20 µg/mL konsantrasyonu ile COX-2 enzimi üzerinde %28,06±6,12 inhibisyon gösterirken, 50 µg/mL konsantrasyonu ile enzim üzerinde %63,29±4,22 inhibisyon göstermiştir (Tablo 4.7).

Tablo 4. 7: Standart ve bitki ekstrelerinin COX-1 ve COX-2 enzimleri üzerinde inhibisyon etkileri

		COX-1	**COX-2**
	Konsantrasyon (µg/mL)	**%İnhibisyon**	**%İnhibisyon**
Salisilik Asit	20	81,55±6,80	57,28±9,26
	50	88,03±10,29	60,19±12,62
Klorojenik Asit	20	70,87±4,85	28,64±11,17
	50	76,05±15,72	36,89±20,06
Sulu etanol (%80) Eks.	20	45,83±0,83	37,55±2,95
	50	72,50±2,08	64,08±21,29
Etil asetat Eks.	20	43,75±1,25	59,28±2,32
	50	63,33±12,50	63,29±23,21
Hekzan Eks.	20	86,25±4,17	88,19±4,22
	50	92,23±4,85	90,78±2,43
Dekoksiyon Eks.	20	32,50±1,67	28,06±6,12
	50	41,25±1,25	63,29±4,22

5. TARTIŞMA

Ceratocephala falcata bitkisi dünya üzerinde ve Türkiye'nin farklı bölgelerinde halk arasında inflamasyon giderici olarak kullanılan bir bitkidir. Özellikle romatizmal ağrılar için eklem bölgelerine lapa halinde sürülerek ya da dekoksiyon yoluyla su ile kaynatılmış olarak içilerek tedavisi beklenir (4). Yapılan bu çalışmada bitki ekstresinin antioksidan aktivitelerine bakılarak oksidatif stres giderici ve inflamasyon önleyici etkinliğine bakılmıştır. Dört farklı antioksidan aktivite analizi gerçekleştirilerek bitki ekstrelerinin antioksidan aktiviteleri belirlenmiştir. Bununla birlikte, bitki ekstresinin inflamasyona yön veren COX (COX-1 ve COX-2) enzimleri üzerindeki inhibisyon etkisi araştırılmıştır. Böylece bitki ekstresinin doğrudan inflamasyon giderici etkisi olup olmadığı araştırılmıştır. Antioksidan ve antienflamatuvar etkileriyle bilinen fenolik bileşiklerden 15 bileşiğin standart olarak kullanıldığı HPLC-PDA metoduyla bu fenolik bileşiklerin ekstrelerdeki miktarı tespit edilip birbirleriyle kıyaslanmıştır. Tespit edilen bu fenolik bileşiklerin antioksidan ve antienflamatuvar özellikleri arasında ilişki kurulmuştur.

Elde edilen antioksidan aktivite sonuçlarına göre DPPH$^{\bullet}$ radikali giderme aktivitesi en yüksek olan ekstre, 116,75±3,99 µg/mL IC_{50} değeriyle sulu etanol (%80) ekstresidir. Bu değere en yakın olan ve diğer ekstrelere göre yüksek bir aktiviteye sahip olan 118,46±1,14 µg/mL IC_{50} değeriyle su ekstresidir. 750,19±138,87 µg/mL IC_{50} değeriyle hekzan ekstresi ile 1090,51±164,77 µg/mL IC_{50} değeriyle etil asetat ekstresinin DPPH$^{\bullet}$ radikali giderme aktivitesinin oldukça düşük olduğu gözlemlenmiştir (Tablo 4.2).

Ranunculaceae familyasına ait Horozgülü (*Adonis paryadrica*) bitkisiyle yapılan bir çalışmada (100) %90 etanol ekstraksiyonu yapılan bitkinin çeşitli antioksidan analizleri yapılarak biyoaktivite çalışmaları yapılmıştır. Bu çalışmada bitkinin DPPH$^{\bullet}$ radikali giderme aktivitesinde IC_{50} değeri 173 µg/mL olarak hesaplanmıştır. Aynı familyadan Çörekotu (*Nigella sativa*) tohumlarıyla yapılan çalışmada (101) ise su/metanol ekstresinin DPPH$^{\bullet}$ radikali giderme aktivitesinin IC_{50} değeri 1331,53 µg/mL olarak hesaplanmıştır. Literatürde bulunan bu çalışmalardan *Adonis paryadrica* bitkisinin sulu etanol ve *Nigella sativa* bitkisinin sulu metanol ekstreleri, çalışmamızdaki *C. falcata* bitkisinin sulu etanol ve su ekstreleriyle

karşılaştırıldığında çalışmamızdaki ekstrelerin oldukça yüksek antioksidan aktivite gösterdiği bulunmuştur. Aynı familyadan Bahar sarmaşığı (*Clematis cirrhosa* L.) yağı ile yapılan çalışmada (102) ise IC_{50} değeri 5,10 mg/mL olarak hesaplanmıştır. Çalışmamızdaki *C. falcata* bitkisinin hekzan ekstresi ile karşılaştırıldığında çalışmamızdaki bitkinin yüksek antioksidan aktivite gösterdiği bulunmuştur. Kağıthane çiçeği (*Ranunculus constantinopolitanus*) ile yapılan bir çalışmada (103) ise hekzan ekstresinin IC_{50} değeri 169 µg/mL, etil asetat ekstresinin 671 µg/mL ve su ekstresinin 328 µg/mL olarak hesaplanmıştır. Literatürde bulunan bu değerlerle karşılaştırıldığında çalışmamızdaki *C. falcata* bitkisinin su ekstresinin *Ranunculus constantinopolitanus* bitkisinin su ekstresine göre oldukça iyi antioksidan aktivite gösterdiği fakat hekzan ve etil asetat ekstrelerinin *Ranunculus constantinopolitanus* bitkisinin hekzan ve etil asetat ekstrelerine göre oldukça düşük aktivite gösterdiği bulunmuştur.

$ABTS^{\bullet+}$ radikali giderme aktivitesine göre en yüksek aktivite gösteren ekstre, 54,37±7,83 µg/mL IC_{50} değeriyle sulu etanol %80 ekstresidir. Bu değere çok yakın ve diğer ekstrelere göre yüksek bir aktivite gösteren 64,24±7,91 µg/mL IC_{50} değeriyle su ekstresidir. Hekzan ekstresi ise bu ekstrelerin altında olsa da düşük bir aktivite gösterdiği 153,19±21,11 µg/mL IC_{50} değerine sahip olmuştur. Aralarında oldukça düşük aktiviteye sahip etil asetat ekstresinin IC_{50} değeri 413,72±42,58 µg/mL olarak hesaplanmıştır. Bu analizde standart olarak kullanılan Trolox'un IC_{50} değeri 23,51±1,19 µg/mL olarak bulunmuştur (Tablo 4.3). Çalışmamızde elde edilen bulgular incelendiğinde, tüm ekstrelerin $ABTS^{\bullet+}$ radikali giderme aktivitelerinin Troloks'tan daha düşük aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Ancak, sulu etanol (%80) ve su ekstreleri standardan daha düşük olsa da yakın bir aktivite göstermiştir. İstatistiksel analiz olarak her bir bitkinin ve kontrol gruplarının DPPH ve ABTS aktivite verileri çift yönlü ANOVA testi ile birbiriyle kıyaslandı ve iki grubun arasında istatistiksel anlamlılık bulundu ($\rho < 0.001$).

Adonis paryadrica bitkisinin %90 etanol ekstresi ile yapılan çalışmada (100) $ABTS^{\bullet+}$ radikali giderme aktivitesinin IC_{50} değeri 413 µg/mL olarak hesaplanmıştır. *Ranunculus constantinopolitanus* ile yapılan çalışmada (103) ise hekzan ekstresinin IC_{50} değeri 422 µg/mL, etil asetat ekstresinin 352 µg/mL ve su ekstresinin 144 µg/mL olarak hesaplanmıştır. *Nigella sativa* L. tohumlarının etanol ekstresiyle yapılan başka

bir çalışmada (104) ise IC_{50} değeri 14,02 mg/mL olarak bulunmuştur. Literatürde bulunan bu değerlerle karşılaştırıldığında çalışmamızda *C. falcata* bitkisinin sulu etanol (%80) ve su ekstrelerinin diğer bitki türlerinin su ve etanol ekstrelerinin değerlerine göre oldukça yüksek antioksidan aktivite gösterdiği bulunmuştur. *Ranunculus constantinopolitanus* bitkisinin hekzan ve etil asetat ekstreleriyle karşılaştırıldığında, çalışmamızdaki *C. falcata* bitkisinin hekzan ve etil asetat ekstrelerinin düşük bir antioksidan aktivite gösterdiği bulunmuştur. Akasma (*Clematis gouriana*) bitkisi yapraklarıyla yapılan bir çalışmada (105) ise sulu aseton ekstresinin IC_{50} değeri 25,35 µg/mL, sulu etanol ekstresinin 31,16 µg/mL ve sulu metanol ekstresinin 32,46 µg/mL olarak hesaplanmıştır. Bu çalışma, çalışmamızdaki bitkiden daha yüksek antioksidan aktivite gösteren aynı familyadaki farklı tür ve cinste bitkilerin var olduğu ya da ekstraksiyonda kullanılan çözücülerin bitki bileşenlerini almada daha etkin olduğu şeklinde yorumlanabilir.

Sonuçların gram ekstre başına trolox eşdeğeri (mmol TEAC/g ekstre) olarak hesaplandığı Cu^{2+} iyonu indirgeme kapasitesinde sulu etanol (%80) ekstresi 0,743±0,055 mmol TEAC/g ekstre değeri ile en yüksek aktiviteyi gösterirken, su ekstresi 0,542±0,018 mmol TEAC/g ekstre değeri ile ona yakın bir aktivite göstermiştir. 0,368±0,013 mmol TEAC/g ekstre değeri ile etil asetat ekstresi aralarındaki en düşük aktiviteyi gösterirken hekzan ekstresi hiç aktivite göstermemiştir.

Aynı familyadaki bitkilerle yapılan çalışmalarla karşılaştırmak için yaptığımız literatür taramamızda *Clematis cirrhosa* L. yağı ile yapılan çalışmada (102) CUPRAC analizi ile gerçekleştirilen bakır indirgeme kapasitesi 119,71 mg TEAC/g ekstre olarak hesaplanmıştır. Aynı familyadan *Consolida* cinsindeki farklı türlerin metanol ekstreleriyle yapılan bir çalışmada (106) ise Yağlımahmuz (*Consolida glandulosa*) bitkisi için 53,28 mg TE/g ekstre**,** *Consolida hellospontica* için 54,03 mg TE/g ekstre, Topal mahmuz (*Consolida raveyi*) için 124,56 mg TE/g ekstre, Horozkuyruğu (*Consolida regalis*) için 111,36 mg TE/g ekstre, *Consolida staminosa* için 85,24 mg TE/g ekstre olarak hesaplanmıştır. Literatürde bulunan çalışmalarda bulgular Trolox eşdeğerinde hesaplansa da farklı birimlerle ifade edildiği için birimler birbirine çevrildikten sonra sonuçlar arasında kıyaslama yapılmıştır. Bu hesaplamalar sonucu *Clematis cirrhosa* bitkisi için 0,479 mmol TEAC/g ekstre olarak hesaplanmış ve

çalışmamızda kullanılan *C. falcata* bitkisinin aktivite göstermeyen hekzan ekstresine göre oldukça yüksek bakır indirgeme kapasitesine sahip olduğu görülmüştür. Diğer çalışmadaki *Consolida glandulosa* bitkisi için 0,213 mmol TEAC/g ekstre, *Consolida hellospontica* için 0,216 mmol TEAC/g ekstre, *Consolida raveyi* için 0,498 mmol TEAC/g ekstre, *Consolida regalis* için 0,445 mmol TEAC/g ekstre, *Consolida staminosa* için 0,341 mmol TEAC/g ekstre olarak hesaplanmıştır. Çalışmamızda kullanılan bitkinin sulu etanol (%80) ve su ekstreleriyle karşılaştırıldığında diğer çalışmalardaki bitki ekstrelerine göre daha yüksek bakır indirgeme kapasitesine sahip olduğu görülmüştür.

Sonuçların gram ekstre başına Fe^{2+} eşdeğeri (mmol Fe^{2+}/g ekstre) olarak hesaplandığı Fe^{3+} iyonu indirgeme kapasitesi deneyi sonuçlarına göre su ekstresi 0,396±0,005 mmol Fe^{2+}/g ekstre değeri ile en yüksek aktiviteyi gösterirken, sulu etanol (%80) ekstresi 0,343±0,011 mmol Fe^{2+}/g ekstre değeriyle ona çok yakın bir aktivite göstermiştir. Etil asetat ekstresi 0,138±0,067 mmol Fe^{2+}/g ekstre değeri ile diğer ekstrelere göre daha düşük bir aktivite gösterirken, 0,065±0,004 mmol Fe^{2+}/g ekstre değeriyle hekzan ekstresi neredeyse hiç aktivite göstermeyecek kadar düşüktür. İstatistiksel analiz olarak her bir bitkinin CUPRAC ve FRAP aktivite verileri çift yönlü ANOVA testi ile birbiriyle kıyaslandı ve iki grubun arasında istatistiksel anlamlılık bulundu ($\rho < 0,001$).

Aynı familyadaki bitkilerle yapılan çalışmalarla karşılaştırıldığında *Trollius chinensis* bitkisinin sulu metanol ekstresi (107) için Fe^{3+} iyonu indirgeme kapasitesi 1,796 mmol Fe^{2+}/g ekstre olarak hesaplanmıştır. Çalışmamızdaki sulu etanol (%80) ve su ekstrelerine göre yüksek demir indirgeme kapasitesine sahip olduğu görülmüştür. *Nigella sativa* bitkisiyle yapılan başka bir çalışmada (108) metanol ekstresi için 11,321 mmol Fe^{2+}/g kuru bitki, etanol ekstresi için 13,199 mmol Fe^{2+}/g kuru bitki ve hekzan ekstresi için 10,525 mmol Fe^{2+}/g kuru bitki olarak hesaplanmıştır. Çalışmada verimlilikleri verilen ekstrelerin Fe^{3+} iyonu indirgeme kapasiteleri mmol Fe^{2+}/g ekstre olarak hesaplanarak kıyaslama yapılmıştır. Bu duruma göre *Nigella sativa* bitkisinin metanol ekstresi için 0,535 mmol Fe^{2+}/g ekstre, etanol ekstresi için 0,328 mmol Fe^{2+}/g ekstre ve hekzan ekstresi için 0,319 mmol Fe^{2+}/g ekstre olarak hesaplanmıştır. Bu bitkinin hekzan ekstresi çalışmamızdaki *C. falcata* bitkisinin hekzan ekstresine göre oldukça yüksek bir demir indirgeme kapasitesi

göstermiştir. Bitkinin etanol ekstresinin ise çalışmamızda kullanılan bitkinin sulu etanol (%80) ve su ekstrelerine göre düşük demir indirgeme kapasitesine sahip olduğu görülmüştür. Fakat sulu metanol ekstresi çok daha yüksek demir indirgeme kapasitesi göstermiştir. Bu da ekstraksiyonda kullanılan sulu metanol çözücüsünün bitki bileşenlerini almada çok daha etkin bir çözücü olduğu şeklinde yorumlanabilir.

Antioksidan aktivite bulgularına genel olarak bakıldığında sulu etanol (%80) ve su ekstresinin indirgeme kapasitesine sahip olan bileşikleri içerdiği görülmektedir. Etil asetat ve hekzan ekstrelerinde antioksidan aktiviteye sahip bileşiklerin bitkideki miktarı düşük olduğu söylenebilir.

İnflamasyon sürecinde rol oynayan COX enzimleri üzerindeki inhibisyon etkisine bakıldığında hem COX-1 hem de COX-2 enzimi üzerinde inhibisyon etkisi en fazla olan ekstre hekzan ekstresi olmuştur. Hekzan ekstresinin konsantrasyonu 20 µg/mL iken COX-1 enzimi üzerinde %86,25±4,17 inhibisyon gösterirken, COX-2 enzimi üzerinde %88,19±4,22 inhibisyon göstermiştir. Bu değerler kontrol olarak kullanılan yüksek inhibisyon etkisi gösteren salisilik asitten yüksektir. Etil asetat ekstresi ise 20 µg/mL konsantrasyon değerinde COX-1 enzimi üzerinde %43,75±1,25 inhibisyon gösterirken, COX-2 enzimi üzerinde %59,28±2,32 inhibisyon göstermiştir. Sulu etanol (%80) ekstresi, konsantrasyonu 20 µg/mL iken COX-1 enzimi üzerinde %45,83±0,83 inhibisyon gösterirken, COX-2 enzimi üzerinde %37,55±2,95 inhibisyon göstermiştir. Su ekstresi ise konsantrasyon değeri 20 µg/mL iken COX-1 enzimi üzerinde %32,50±1,67 inhibisyon gösterirken, COX-2 enzimi üzerinde %28,06±6,12 inhibisyon göstererek ekstreler arasında en düşük inhibisyon etkisine sahip olmuştur. Fakat sulu ekstrenin 50 µg/mL olarak yüksek konsantrasyon ile yapılan çalışmada COX-1 enzimi üzerinde %41,25±1,25 inhibisyon gösterirken, COX-2 enzimi üzerinde %63,29±4,22 inhibisyon göstermiştir. Bu inhibisyon değerleri, etil asetat ve sulu etanol (%80) ekstrelerinin 50 µg/mL konsantrasyonlarındaki özellikle COX-2 enzimi inhibisyon değerlerine oldukça yakındır. Bu konsantrasyonda etil asetat ekstresi COX-1 enzimi üzerinde %63,33±12,50 inhibisyon gösterirken, COX-2 enzimi üzerinde %63,29±23,21 inhibisyon göstermiştir. Sulu etanol (%80) ekstresi ise COX-1 enzimi üzerinde %72,50±2,08 inhibisyon gösterirken, COX-2 enzimi üzerinde %64,08±21,29 inhibisyon göstermiştir.

COX enzim inhibisyon analizinde kontrol olarak kuvvetli bir antienflamatuvar olan salisilik asit kullanıldı. COX-1 enzimi üzerinde konsantrasyon değeri 20 µg/mL iken %81,55±6,80 inhibisyon sağlarken, COX-2 enzimi üzerinde %57,28±9,26 inhibisyon göstermiştir. Bu durum salisilik asidin COX-1 enzimi üzerinde gösterdiği inhibisyon etkisini COX-2 enzimi üzerinde göstermediğini gösterir.

COX enzim inhibisyon etkinliği için kontrol olarak salisilik asidin haricinde klorojenik asit de kullanıldı. Bunun sebebi bitki ekstrelerinde HPLC-PDA çalışmasında yüksek oranda tespit edilen fenolik bileşiklerden biri olan klorojenik asitten kaynaklanıp kaynaklanmadığı üzerinde yorum yapabilmektir. Klorojenik asidin COX-1 enzimi üzerinde konsantrasyon değeri 20 µg/mL iken %70,87±4,85 inhibisyon sağlarken, COX-2 enzimi üzerinde %28,64±11,17 inhibisyon göstermiştir. COX-1 enzimi üzerinde konsantrasyon değeri 50 µg/mL iken %76,05±15,72 inhibisyon göstermiştir. İstatistiksel analiz olarak her bir bitkinin ve kontrol gruplarının COX-1 ve COX-2 deneylerinin verileri çift yönlü ANOVA testi ile birbiriyle kıyaslandı ve iki grubun arasında istatistiksel anlamlılık bulundu ($\rho <$ 0,001).

Aynı familyadan bitkilerle yapılan çalışmalardan birisinde (109) *Clematis chinensis* bitkisinin etanol ekstresi 34 µg/mL konsantrasyonda COX-1 enzimi üzerinde %24 inhibisyon etkisi göstermiştir. Çalışmamızda kullanılan bitkinin sulu etanol (%80) ve su ekstrelerinin 20 µg/mL konsantrasyonundaki inhibisyon değerleri karşısında düşük bir etki göstermiştir. *Nigella* cinsindeki farklı bitkilerin hekzan ekstraksiyonu ile yapılan bir çalışmada (110) 100 µg/mL konsantrasyonda *N. arvensis* bitkisi COX-1 enzimi üzerinde %80 inhibisyon, COX-2 enzimi üzerinde %80'in üzerinde inhibisyon göstermiştir. *N. damascena* bitkisi COX-1 enzimi üzerinde %80 inhibisyon, COX-2 enzimi üzerinde %70'in üstünde inhibisyon göstermiştir. *N. hispanica* bitkisi COX-1 enzimi üzerinde %90'a yakın inhibisyon, COX-2 enzimi üzerinde %80 inhibisyon göstermiştir. *N. nigellastraum* bitkisi COX-1 enzimi üzerinde %50 inhibisyon, COX-2 enzimi üzerinde %20'ye yakın inhibisyon göstermiştir. *N. orientalis* bitkisi COX-1 enzimi üzerinde %90 inhibisyon, COX-2 enzimi üzerinde %90'a yakın inhibisyon göstermiştir. *N. sativa* bitkisi COX-1 enzimi üzerinde %100 inhibisyon, COX-2 enzimi üzerinde %80'e yakın inhibisyon göstermiştir. Çalışmamızda kullanılan bitkinin hekzan ekstresinin 50 µg/mL

konsantrasyondaki inhibisyon değerlerine bakıldığında *N. orientalis* ve *N. sativa* bitkisinin inhibisyon değerlerine yakın olup diğer bitki türlerinin inhibisyon etkilerinden yüksek olduğu görülmüştür. *C. falcata* bitkisi 50 µg/mL konsantrasyonda COX-1 enzimi üzerinde %92,23 inhibisyon, COX-2 enzimi üzerinde %90,78 inhibisyon göstermiştir. *N. orientalis* ve *N. sativa* bitki türlerinin çalışmamızdaki bitkiden daha yüksek inhibisyon göstermesi yüksek konsantrasyonda olmasından dolayı olabilir. Bu noktada kesin bir kıyas yapılamamaktadır. *Aquilegia pubiflora* bitkisinin etanol ekstresi ile yapılan çalışmada (111) ise COX-1 enzimi üzerinde %38,5 inhibisyon, COX-2 enzimi üzerinde %32,4 inhibisyon göstermiştir. Çalışmada ekstrenin konsantrasyonu verilmediği için doğru bir kıyas yapmak mümkün olmamıştır.

HPLC-PDA ile yapılan kantitatif sonuçlarına göre sulu etanol (%80) ekstresinde yüksek miktarda bulunan fenolik bileşikler; 1,116 mg/g ekstre rutin, 0,766 mg/g ekstre 4-Hidroksibenzoik asit, 0,46 mg/g ekstre ferulik asit, 0,408 mg/g ekstre klorojenik asittir. Dekoksiyon ekstresinde yüksek miktarda bulunan fenolik bileşikler ise; 1,438 mg/g ekstre 4-Hidroksibenzoik asit, 0,782 mg/g ekstre klorojenik asittir. Bu durum sulu etanol (%80) ve dekoksiyon ekstrelerine yüksek antioksidan özelliği kazandıran fenolik bileşiklerin rutin, 4-Hidroksibenzoik asit ve klorojenik asit olduğu şeklinde yorumlanabilir. Sulu etanol (%80) ekstresinin rutin gibi polar ve apolar yapıya sahip fenolik bileşikleri su ekstresinden daha fazla içermesi etanol ekstresinin antioksidan kapasitesinde artışa sebep olmuştur. Antioksidan aktivite bulgularına göre düşük aktivite gösteren, bazı analizlerde hiç aktivite göstermeyen hekzan ekstresinin HPLC-PDA sonuçlarında hiçbir fenolik bileşik tespit edilememiştir. Bu iki bulgu birbirini desteklemektedir. Antioksidan aktivite çoğunlukla düşük de olsa aktivite gösteren etil asetat ekstresinde ise en yüksek miktarda 0,194 mg/g ekstre klorojenik asit tespit edilmiştir. Bu durumda antioksidan kapasitesini bu fenolik bileşikten aldığı yorumu yapılabilir. İstatistiksel analiz olarak her bir bitkinin fenolik içeriği verileri tek yönlü ANOVA testi ile birbiriyle kıyaslandı ve gruplar arasında istatistiksel anlamlılık bulundu ($\rho < 0,001$).

Literatürde aynı familyadan bitkilerle yapılan HPLC çalışmaları değerlendirildiğinde, *Eranthis*, *Aquilegia*, *Actaea*, *Nigella* gibi farklı cinslerinde yapılan çalışmalarda; klorojenik asit, kafeik asit, kuarsetin, ferulik asit gibi

fitokimyasallar tespit edilmiştir (111–115). Bu çalışmalara bakıldığında bitki ekstreleri içerisinde antimikrobiyal, antioksidan, antienflamatuvar ve antikanser etkisi ile bilinen kaempferol ve orientin flavonoidleri tespit edilmiştir. Bu kimyasalların standartları olmadığı için kendi çalışmamızda tespiti yapılamamıştır.

Çalışmamızda kullanılan bitkide tespit edilen fenolik asitlerden klorojenik asit, kinik asit ile kafeik asit, p-kumarik asit ve ferulik asit gibi bazı trans-sinnamik asitler arasında oluşan bir ester ailesidir. Klorojenik asit üzerine yapılan çalışmalar bu fenolik bileşiğin antioksidan ve antienflamatuvar etkilerini göstermiştir (116–123). Kafeik asit ve ferulik asit ile yapılan çalışmalar da bu bileşiklerin güçlü bir antioksidan ve antienflamatuvar bileşik olduğunu göstermiştir (118,120–127). Fenolik asitlerden biri olan 4-Hidroksibenzoik asit ile ilgili çalışmalar da yukarıda bahsedilmiş fenolik bileşiklerle aynı doğrultuda sonuçlar göstermiştir (128,129). HPLC-PDA analizinde özellikle bu fenolik bileşiklerin standart olarak kullanılmasının sebebi de antioksidan ve antienflamatuvar etkilerinin olmasıdır. Bu bileşiklerin antioksidan ve antienflamatuvar etkilerini bitki ekstrelerinde de göstermesi ekstre içinde bulunan diğer bileşenlerin antagonist bir etkisinin bulunmadığı yorumu yapılabilir.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Çalışmamızda dekoksiyon ekstresinin sulu etanol (%80) ekstresinden sonra en yüksek antioksidan kapasiteye sahip ekstre olduğu görülmüştür. Bu bulgular halk arasında bitkinin ödem durumunda dekoksiyon çay şeklinde olarak kullanılması durumunu bilimsel olarak destekleyebilir. Ancak bitki ile ilgili herhangi bir toksiste çalışması yapılmamış olması, bunun bu şekilde kullanımının güvenli ve doğru bir kullanım şekli olmadığı kanaatindeyiz. Bu bitki ile ilgili ileri preklinik ve klinik çalışmaların yapılması önerilmektedir.

COX enzim inhibisyon etkilerine bakıldığında hekzan ekstresinin kontrol olarak kullanılan salisilik asitten daha yüksek bir etki gösterdiği görülmüştür. Salisilik asit fenolik bir asit olan benzoik asit türevidir, dolayısıyla nonsteroid yapıda bir antienflamatuvar olduğu söylenebilir. Hekzan ekstresinin antienflamatuvar etki gösteren bileşenleri içerdiği değerlendirilmiştir. Ancak bunu söyleyebilmek için bu bitkinin hekzan ekstresinin içerdiği apolar (terpenoik) bileşiklerin kalitatif ve kantitatif olarak belirlenmesi önerilmektedir.

Hekzan çözücüsü steroid yapıda bileşenleri izole etmek için ekstraksiyonda kullanılan yaygın bir çözücüdür (130–133). Bu noktada çalışmamızda kullanılan bitkinin hekzan ekstresinde yüksek antienflamatuvar etkiye sebep olan steroid yapıda bileşiklerin izolasyonu düşünülebilir. Ancak antienflamatuvar etkiye sahip bileşenler sadece steroid yapıda olanlarla sınırlandırılamaz. Steroid yapıda olmayan fakat antienflamatuvar etkiye sahip bileşenlerinin tespiti için ise yağ asidi profillerine bakılarak GC-MS ve LC-MS analizleri yapılabilir.

Standart olarak kullanılan 15 fenolik bileşik dışında sulu etanol (%80) ve dekoksiyon ekstrelerinin HPLC kromatogramlarında tespit edilemeyen yüksek sinyaller görülmüştür. Bu durum, tespit edilemeyen bu bileşiklerin İnce Tabaka Kromatografisi ve Kolon Kromatografisi gibi yöntemlerle ayrıştırılıp, LC-MS analizleri ile tespiti gibi yeni çalışmalara yön verilebilir.

Bitkinin familyasındaki diğer türlerinin taze halleriyle temas halinde ciltte tahrişe ve iltihaplanmaya yol açması içeriğindeki protoanemonin bileşiği ile ilişkilendirilir ve bitkinin dekoksiyon yöntemiyle su ile kaynatıldığında bileşiğin

kimyasal yapısının değişmesinden dolayı zararlı etkisini göstermediği bildirilmiştir (6). Bu durum yeni çalışmalara yön verebilir ve bu bitki türünün taze ve kuru halinden elde edilen ekstrelerindeki protoanemonin oranları kromatografik yöntemler uygulanarak belirlenebilir.

Bu çalışmada Ranunculaceae familyasına ait farklı bitki türlerinin TNF-α, interlökinler gibi inflamasyon sürecinde görev alan proteinler üzerindeki etkisini inceleyerek bitkilerin antienflamatuvar etkilerini raporlayan çalışmalara yer verilmiştir. Çalışmamızda kullanılan *Ceratocephala falcata* bitkisiyle bu yönde yeni çalışmalar yapılabilir ve bitkinin antienflamatuvar etkisini destekleyici veriler ortaya konulabilir.

Romatizmal hastalıkların kesin tedavisinin bulunamaması ve tedavide kullanılan ilaçların yan etkilere neden olması bitkiler üzerine yapılan araştırılmaları önemli kılmaktadır. Bu araştırmalar, bitkilerin içerdikleri etken maddelerin saflaştırılarak farklı mekanizmalar üzerinde antienflamatuvar etkileri anlamaya yönelik olmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Tsang-A-Sjoe, M. W., & Bultink, I. E. (2015). Systemic lupus erythematosus: review of synthetic drugs. *Expert opinion on pharmacotherapy*, *16*(18), 2793–2806. https://doi.org/10.1517/14656566.2015.1101448
2. Kahlenberg, J. M., & Fox, D. A. (2011). Advances in the medical treatment of rheumatoid arthritis. *Hand clinics*, *27*(1), 11–20. https://doi.org/10.1016/j.hcl.2010.09.002
3. Kanadlı, K, A., Olgun, N., Sazak, Y., Pekdiker, M., & Kimyon, G. (2022). Romatoloji hastalarında geleneksel-tamamlayıcı tıp uygulamaları ile ilaç kullanımı arasındaki ilişkinin incelenmesi: Kontrollü kesitsel çalışma. *Ulusal Romatoloji Dergisi*, 14(1), 283–4.
4. Şimşek, I., Aytekin, F., Yesilada, E., & Yıldırımlı, Ş. (2004). An Ethnobotanical Survey of the Beypazari, Ayas, and Güdül District Towns of Ankara Province (Turkey). *Economic Botany*, 58, 705-720.
5. Tırman, F. (1987). *Tabii Çiçekler Morfolojisi ve Yapma Çiçekçilikte Kullanılan Kalıplar*. Konya: Selçuk Üniversitesi Eğitim Fakültesi Kız Sanat Eğitim Yüksekokulu Yayınları.
6. Foster, S., & Hobbs, C. (2002). *Field Guide to Western Medicinal Plants and Herbs*. Boston: Houghton Mifflin Company.
7. Bizim bitkiler. "Bizim bitkiler". Erişim: 3 Nisan 2023, https://www.bizimbitkiler.org.tr/
8. Tuzlacı, E. (2016). *Türkiye Bitkileri Geleneksel İlaç Rehberi*. İstanbul: İstanbul Tıp Kitabevleri.
9. Davis, P.H. (Ed.) (1965). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, Vol.1. Edinburgh: Edinburgh University Press.
10. Plantnet. "Plantnet". Erişim: 3 Nisan 2023, https://identify.plantnet.org/tr/
11. Gönül, M., & Cakmak, S. K. (2014). A case of phytodermatitis due to the Ceratocephalus falcatus. *Cutaneous and ocular toxicology*, *33*(1), 74–75. https://doi.org/10.3109/15569527.2013.788009
12. Metin, A., Calka, O., Akdeniz, N., & Behçet, L. (2005). Phytodermatitis from Ceratocephalus falcatus. *Contact dermatitis*, *52*(6), 314–316. https://doi.org/10.1111/j.0105-1873.2005.00587.x
13. Akbulut, S., Semur, H., Kose, O., Ozhasenekler, A., Celiktas, M., Basbug, M., & Yagmur, Y. (2011). Phytocontact dermatitis due to Ranunculus arvensis mimicking burn injury: report of three cases and literature review. *International journal of emergency medicine*, 4, 7. https://doi.org/10.1186/1865-1380-4-7
14. Mo, Y, W, Lee, D, Shin, H, & Jung, G. (2019). Deep Second Degree Chemical Burn due to Topical Application of Clematis terniflora: A Case Report. *Journal of Wound Management and Research*, 15, 39-42.
15. Frohne, D, & Pfänder, H, J. (2005). *Poisonous Plants: A Handbook for Pharmacists, Doctors, Toxicologists, Biologists and Veterinarians*. 2nd ed. Cambridge: Timber Press.
16. Fırıncıahmetoğlu, E. (2010). Porsuk (*Taxus Baccata* L.) Ağacının Yapraklarındaki Uçucu Yağ Bileşenleri Üzerine Araştırma. Yüksek Lisans Tezi.
17. Kingston, D., G., I. (2000). Recent Advances in the Chemistry of Taxol. *Journal of Natural Products*, 63(5), 726-34.
18. Matsuda, H., Li, Y., Murakami, T., Ninomiya, K., Yamahara, J., & Yoshikawa, M. (1997). Effects of escins Ia, Ib, IIa, and IIb from horse chestnut, the seeds of Aesculus hippocastanum L., on acute inflammation in animals. *Biological & pharmaceutical bulletin*, 20(10), 1092–1095. https://doi.org/10.1248/bpb.20.1092
19. İlaç prospektüsü. "İlaç prospektüsü". Erişim 12.06.2023, https://pdf.ilacprospektusu.com/3893-prepagel-jel-kt.pdf
20. Ahmed, A.U. (2011). An overview of inflammation: mechanism and consequences. *Front. Biol.* 6, 274–281. https://doi.org/10.1007/s11515-011-1123-9
21. Zhang, Q., Dehaini, D., Zhang, Y., Zhou, J., Chen, X., Zhang, L., Fang, R. H., Gao, W., & Zhang, L. (2018). Neutrophil membrane-coated nanoparticles inhibit synovial inflammation and alleviate joint damage in inflammatory arthritis. *Nature nanotechnology*, 13(12), 1182–1190. https://doi.org/10.1038/s41565-018-0254-4
22. Guagnano, M. T., D'Angelo, C., Caniglia, D., Di Giovanni, P., Celletti, E., Sabatini, E., Speranza, L., Bucci, M., Cipollone, F., & Paganelli, R. (2021). Improvement of Inflammation and Pain after Three Months' Exclusion Diet in Rheumatoid Arthritis Patients. *Nutrients*, 13(10), 3535. https://doi.org/10.3390/nu13103535
23. Watson, E. L., Baker, L. A., Wilkinson, T. J., Gould, D. W., Xenophontos, S., Graham-Brown, M., Major, R. W., Ashford, R. U., Viana, J. L., & Smith, A. C. (2022). Inflammation and physical dysfunction: responses to moderate intensity exercise in chronic kidney disease. *Nephrology, dialysis, transplantation: official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*, 37(5), 860–868. https://doi.org/10.1093/ndt/gfab333

24. Guo, W., Song, Y., Sun, Y., Du, H., Cai, Y., You, Q., Fu, H., & Shao, L. (2022). Systemic immune-inflammation index is associated with diabetic kidney disease in Type 2 diabetes mellitus patients: Evidence from NHANES 2011-2018. *Frontiers in endocrinology*, *13*, 1071465. https://doi.org/10.3389/fendo.2022.1071465
25. Bou Malhab, L. J., & Abdel-Rahman, W. M. (2022). Obesity and Inflammation: Colorectal Cancer Engines. *Current molecular pharmacology*, 15(4), 620–646. https://doi.org/10.2174/1874467214666210906122054
26. Tobias, D. K., Akinkuolie, A. O., Chandler, P. D., Lawler, P. R., Manson, J. E., Buring, J. E., Ridker, P. M., Wang, L., Lee, I. M., & Mora, S. (2018). Markers of Inflammation and Incident Breast Cancer Risk in the Women's Health Study. *American journal of epidemiology*, *187*(4), 705–716. https://doi.org/10.1093/aje/kwx250
27. Bagdas, D., Gul, Z., Meade, J. A., Cam, B., Cinkilic, N., & Gurun, M. S. (2020). Pharmacologic Overview of Chlorogenic Acid and its Metabolites in Chronic Pain and Inflammation. *Current neuropharmacology*, *18*(3), 216–228. https://doi.org/10.2174/1570159X17666191021111809
28. Champe, P, C, Harvey, R, A, & Ferrier, D, R. (2007). *Lippincott's Illustrated Reviews Serisinden: Biyokimya*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri.
29. Gönüllü, Ü, Yener, G, & Üner, M. (2003). Spesifik COX-2 inhibitörü selekoksib. *Anadolu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 4(2), 155–64.
30. Adelizzi R. A. (1999). COX-1 and COX-2 in health and disease. *The Journal of the American Osteopathic Association*, 99(11_suppl), S7–S12. https://doi.org/10.7556/jaoa.1999.99.11.S7
31. Simmons, D. L., Botting, R. M., & Hla, T. (2004). Cyclooxygenase isozymes: the biology of prostaglandin synthesis and inhibition. *Pharmacological reviews*, 56(3), 387–437. https://doi.org/10.1124/pr.56.3.3
32. Kurumbail, R. G., Stevens, A. M., Gierse, J. K., McDonald, J. J., Stegeman, R. A., Pak, J. Y., Gildehaus, D., Miyashiro, J. M., Penning, T. D., Seibert, K., Isakson, P. C., & Stallings, W. C. (1996). Structural basis for selective inhibition of cyclooxygenase-2 by anti-inflammatory agents. *Nature*, 384(6610), 644–648. https://doi.org/10.1038/384644a0
33. Warner, T. D., Giuliano, F., Vojnovic, I., Bukasa, A., Mitchell, J. A., & Vane, J. R. (1999). Nonsteroid drug selectivities for cyclo-oxygenase-1 rather than cyclo-oxygenase-2 are associated with human gastrointestinal toxicity: a full in vitro analysis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 96(13), 7563–7568. https://doi.org/10.1073/pnas.96.13.7563
34. Ricciotti, E., & FitzGerald, G. A. (2011). Prostaglandins and inflammation. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 31(5), 986–1000. https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.110.207449
35. Giuliano, F., & Warner, T. D. (2002). Origins of prostaglandin E2: involvements of cyclooxygenase (COX)-1 and COX-2 in human and rat systems. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 303(3), 1001–1006. https://doi.org/10.1124/jpet.102.041244
36. Echizen, K., Hirose, O., Maeda, Y., & Oshima, M. (2016). Inflammation in gastric cancer: Interplay of the COX-2/prostaglandin E2 and Toll-like receptor/MyD88 pathways. *Cancer science*, 107(4), 391–397. https://doi.org/10.1111/cas.12901
37. Nørregaard, R., Kwon, T. H., & Frøkiær, J. (2015). Physiology and pathophysiology of cyclooxygenase-2 and prostaglandin E2 in the kidney. *Kidney research and clinical practice*, 34(4), 194–200. https://doi.org/10.1016/j.krcp.2015.10.004
38. Edwards, B. K., Ward, E., Kohler, B. A., Eheman, C., Zauber, A. G., Anderson, R. N., Jemal, A., Schymura, M. J., Lansdorp-Vogelaar, I., Seeff, L. C., van Ballegooijen, M., Goede, S. L., & Ries, L. A. (2010). Annual report to the nation on the status of cancer, 1975-2006, featuring colorectal cancer trends and impact of interventions (risk factors, screening, and treatment) to reduce future rates. *Cancer*, 116(3), 544–573. https://doi.org/10.1002/cncr.24760
39. Adelakun, O., E., Bolarinwa, I., F., & Adejuyitan, J., A. (2019). *Bioactive Compounds of Medicinal Plants Properties and Potential for Human Health*. US: Apple Academic Press. Editors: Goyal, M., R., & Ayeleso, A., O.
40. Ren-You, G., Chak-Lun, C., Qiong-Qiong, Y., Hua-Bin L., Dan Z., & Ying-Ying, G. (2019). *Sprouted Grains Bioactive compounds and beneficial functions of sprouted grains*. US: AACC International Press. Editors: Hao, F., Boris, N., & Jonathan, W., D.
41. Kumar, S., & Pandey, A., K. (2015). Free Radicals: Health Implications and their Mitigation by Herbals. *British Journal of Medicine and Medical Research*, 7(6), 438-457. 10.9734/BJMMR/2015/16284.
42. Karabulut, H., & Gülay, M., Ş. (2016). *Serbest Radikaller Free Radicals*. Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 4(1), 50–9. http://edergi.mehmetakif.edu.tr/index.php/sabed/index
43. Hussain, T., Tan, B., Yin, Y., Blachier, F., Tossou, M. C., & Rahu, N. (2016). Oxidative Stress and Inflammation: What Polyphenols Can Do for Us?. *Oxidative medicine and cellular longevity*, *2016*, 7432797. https://doi.org/10.1155/2016/7432797

44. Reuter, S., Gupta, S. C., Chaturvedi, M. M., & Aggarwal, B. B. (2010). Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked?. *Free radical biology & medicine*, 49(11), 1603–1616. https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2010.09.006
45. Hussain, S. P., & Harris, C. C. (2007). Inflammation and cancer: an ancient link with novel potentials. *International journal of cancer*, 121(11), 2373–2380. https://doi.org/10.1002/ijc.23173
46. Federico, A., Morgillo, F., Tuccillo, C., Ciardiello, F., & Loguercio, C. (2007). Chronic inflammation and oxidative stress in human carcinogenesis. *International journal of cancer*, 121(11), 2381–2386. https://doi.org/10.1002/ijc.23192
47. Rosin, M. P., Saad el Din Zaki, S., Ward, A. J., & Anwar, W. A. (1994). Involvement of inflammatory reactions and elevated cell proliferation in the development of bladder cancer in schistosomiasis patients. *Mutation research*, 305(2), 283–292. https://doi.org/10.1016/0027-5107(94)90248-8
48. Wei, H., & Frenkel, K. (1992). Suppression of tumor promoter-induced oxidative events and DNA damage in vivo by sarcophytol A: a possible mechanism of antipromotion. *Cancer research*, 52(8), 2298–2303.
49. Cave, A. C., Brewer, A. C., Narayanapanicker, A., Ray, R., Grieve, D. J., Walker, S., & Shah, A. M. (2006). NADPH oxidases in cardiovascular health and disease. *Antioxidants & redox signaling*, 8(5-6), 691–728. https://doi.org/10.1089/ars.2006.8.691
50. Judkins, C. P., Diep, H., Broughton, B. R., Mast, A. E., Hooker, E. U., Miller, A. A., Selemidis, S., Dusting, G. J., Sobey, C. G., & Drummond, G. R. (2010). Direct evidence of a role for Nox2 in superoxide production, reduced nitric oxide bioavailability, and early atherosclerotic plaque formation in ApoE-/- mice. *American journal of physiology. Heart and circulatory physiology*, 298(1), H24–H32. https://doi.org/10.1152/ajpheart.00799.2009
51. Stienstra, R., Tack, C. J., Kanneganti, T. D., Joosten, L. A., & Netea, M. G. (2012). The inflammasome puts obesity in the danger zone. *Cell metabolism*, 15(1), 10–18. https://doi.org/10.1016/j.cmet.2011.10.011
52. Monteiro, R., & Azevedo, I. (2010). Chronic inflammation in obesity and the metabolic syndrome. *Mediators of inflammation*, *2010*, 289645. https://doi.org/10.1155/2010/289645
53. TRASD. *Artrit ve Romatizma Nedir?*. İstanbul: Türkiye Romatizma Araştırma ve Savaş Derneği (İnternette) Erişim 10.12.2023, https://www.trasd.org.tr/hastalik/romatizma-nedir
54. Direskeneli, H. (2008). Romatizmal Hastalıklarda Klinik İlaç Araştırmaları. *İyi Klinik Uygulamalar Dergisi*, 19, 31–5.
55. Long, H., Liu, Q., Yin, H., Wang, K., Diao, N., Zhang, Y., Lin, J., & Guo, A. (2022). Prevalence Trends of Site-Specific Osteoarthritis From 1990 to 2019: Findings From the Global Burden of Disease Study 2019. *Arthritis & rheumatology (Hoboken, N.J.)*, 74(7), 1172–1183. https://doi.org/10.1002/art.42089
56. Bakan, G., Azak, A., Sipahioğlu, Ü., Ö., Karasu, U., & Taşçı, M. (2022) Romatoid Artritte Yorgunluk ve Sosyal Desteğin Fonksiyonel Kapasite Üzerine Etkisi. *Gümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi Araştırma Makalesi*, 11(2), 635-43
57. Altan, L., Bingöl, Ü., Sağırkaya, Z., Sarandöl, A., & Yurtkuran, M. (2004). Romatoid Artritli Hastalarda Anksiyete ve Depresyon. *Romatizma*, 19(1), 7–13.
58. Söderlin, M. K., Hakala, M., & Nieminen, P. (2000). Anxiety and depression in a community-based rheumatoid arthritis population. *Scandinavian journal of rheumatology*, 29(3), 177–183. https://doi.org/10.1080/030097400750002067
59. Gür, Kabul, E., & Başakcı, Çalık, B. (2022). Romatoid Artrit'te Yürüyüş Bozuklukları ve Değerlendirilmesi: Geleneksel Derleme. *International Anatolia Academic Online Journal*, 8(3), 107–18.
60. GBD 2019 Diseases and Injuries Collaborators (2020). Global burden of 369 diseases and injuries in 204 countries and territories, 1990-2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet (London, England)*, *396*(10258), 1204–1222. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30925-9
61. Aletaha, D., & Smolen, J. S. (2006). The definition and measurement of disease modification in inflammatory rheumatic diseases. *Rheumatic diseases clinics of North America*, 32(1), 9–vii. https://doi.org/10.1016/j.rdc.2005.09.005
62. Charles, P., Elliott, M. J., Davis, D., Potter, A., Kalden, J. R., Antoni, C., Breedveld, F. C., Smolen, J. S., Eberl, G., deWoody, K., Feldmann, M., & Maini, R. N. (1999). Regulation of cytokines, cytokine inhibitors, and acute-phase proteins following anti-TNF-alpha therapy in rheumatoid arthritis. *Journal of immunology (Baltimore, Md.: 1950)*, 163(3), 1521–1528.
63. Ingegnoli, F., Fantini, F., Favalli, E. G., Soldi, A., Griffini, S., Galbiati, V., Meroni, P. L., & Cugno, M. (2008). Inflammatory and prothrombotic biomarkers in patients with rheumatoid arthritis: effects of tumor necrosis factor-alpha blockade. *Journal of autoimmunity*, 31(2), 175–179. https://doi.org/10.1016/j.jaut.2008.07.002
64. Bartlett, D. B., Willis, L. H., Slentz, C. A., Hoselton, A., Kelly, L., Huebner, J. L., Kraus, V. B., Moss, J., Muehlbauer, M. J., Spielmann, G., Kraus, W. E., Lord, J. M., & Huffman, K. M. (2018). Ten weeks of

high-intensity interval walk training is associated with reduced disease activity and improved innate immune function in older adults with rheumatoid arthritis: a pilot study. *Arthritis research & therapy*, 20(1), 127. https://doi.org/10.1186/s13075-018-1624-x

65. Vadell, A. K. E., Bärebring, L., Hulander, E., Gjertsson, I., Lindqvist, H. M., & Winkvist, A. (2020). Anti-inflammatory Diet in Rheumatoid Arthritis (ADIRA)-a randomized, controlled crossover trial indicating effects on disease activity. *The American journal of clinical nutrition*, 111(6), 1203–1213. https://doi.org/10.1093/ajcn/nqaa019
66. Çelebi, E., Ataoğlu, S., Ataoğlu, B., B, Ankaralı, H., Özşahin, M., Pasin, Ö. (2016). Fibromiyaljili Hastalarda Kişilik Özelliklerine Göre Pregabalin ve Duloksetin Tedavilerinin Etkinliğinin Karşılaştırılması. *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi*, 18(2), 47–53.
67. Erkin, Y. (2018) Nöropatik ağrıda medikal tedavi. *Türk Algoloji (Ağrı) Derneği'nin Yayın Organı*, 30(S-1), 11-12.
68. Çiçek, H., Yılmaz, N., Celik, A., Ceylan, N., & Geyikli, M., İ. (2005). Kapsaisinin (Kırmızı Biber) İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri. *Anadolu Tıp Dergisi*, 7, 31-37.
69. Demirel, A., & Kirnap, M. (2010). Romatoid Artrit Tedavisinde Geleneksel ve Güncel Yaklaşımlar. *Journal of Health Sciences*, 19(1), 74-84
70. Özçelik, Ö. (2013). Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Romatoid Artrit Tedavisinde Rituksimab veya Abataceptin Etkinliği ve Güvenirliliği Retrospektif Çalışma. Uzmanlık Tezi.
71. Obeid, S., Libby, P., Husni, E., Wang, Q., Wisniewski, L. M., Davey, D. A., Wolski, K. E., Xia, F., Bao, W., Walker, C., Ruschitzka, F., Nissen, S. E., & Lüscher, T. F. (2022). Cardiorenal risk of celecoxib compared with naproxen or ibuprofen in arthritis patients: insights from the PRECISION trial. *European heart journal. Cardiovascular pharmacotherapy*, 8(6), 611–621. https://doi.org/10.1093/ehjcvp/pvac015
72. Nissen, S. E., Yeomans, N. D., Solomon, D. H., Lüscher, T. F., Libby, P., Husni, M. E., Graham, D. Y., Borer, J. S., Wisniewski, L. M., Wolski, K. E., Wang, Q., Menon, V., Ruschitzka, F., Gaffney, M., Beckerman, B., Berger, M. F., Bao, W., Lincoff, A. M., & PRECISION Trial Investigators (2016). Cardiovascular Safety of Celecoxib, Naproxen, or Ibuprofen for Arthritis. *The New England journal of medicine*, 375(26), 2519–2529. https://doi.org/10.1056/NEJMoa1611593
73. Wolfe, M. M., Lichtenstein, D. R., & Singh, G. (1999). Gastrointestinal toxicity of nonsteroidal antiinflammatory drugs. *The New England journal of medicine*, 340(24), 1888–1899. https://doi.org/10.1056/NEJM199906173402407
74. Scott, D. L., Berry, H., Capell, H., Coppock, J., Daymond, T., Doyle, D. V., Fernandes, L., Hazleman, B., Hunter, J., Huskisson, E. C., Jawad, A., Jubb, R., Kennedy, T., McGill, P., Nichol, F., Palit, J., Webley, M., Woolf, A., & Wotjulewski, J. (2000). The long-term effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs in osteoarthritis of the knee: a randomized placebo-controlled trial. *Rheumatology (Oxford, England)*, 39(10), 1095–1101. https://doi.org/10.1093/rheumatology/39.10.1095
75. Bavry, A. A., Thomas, F., Allison, M., Johnson, K. C., Howard, B. V., Hlatky, M., Manson, J. E., & Limacher, M. C. (2014). Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and cardiovascular outcomes in women: results from the women's health initiative. *Circulation. Cardiovascular quality and outcomes*, 7(4), 603–610. https://doi.org/10.1161/CIRCOUTCOMES.113.000800
76. Martín Arias, L. H., Martín González, A., Sanz Fadrique, R., & Salgueiro Vázquez, E. (2019). Gastrointestinal safety of coxibs: systematic review and meta-analysis of observational studies on selective inhibitors of cyclo-oxygenase 2. *Fundamental & clinical pharmacology*, 33(2), 134–147. https://doi.org/10.1111/fcp.12430
77. Frass, M., Strassl, R. P., Friehs, H., Müllner, M., Kundi, M., & Kaye, A. D. (2012). Use and acceptance of complementary and alternative medicine among the general population and medical personnel: a systematic review. *Ochsner journal*, 12(1), 45–56.
78. Aynaoğlu, Hakverdi, Ö., & Önder, A. (2022). Kas-İskelet Sistemi Rahatsızlıklarında Kullanılan Bitkisel Droglar. *Bütünleyici ve Anadolu Tıbbı Dergisi*, 3(2), 31–50.
79. Khabade, V., K, Lakshmeesh, N, B, & Roy, S. (2012). Comparative study on antioxidant and anti-inflammatory properties of three colored varieties of *Capsicum annuum*. *International Journal of Fundamental & Applied Sciences*, 1(3), 51–4.
80. Ammon, H., P., T. (2010). Modulation of the immune system by *Boswellia serrata* extracts and boswellic acids. Phytomedicine, 17(11), 862–7.
81. Merolla, G., Dellabiancia, F., Ingardia, A., Paladini, P., & Porcellini, G. (2015). Co-analgesic therapy for arthroscopic supraspinatus tendon repair pain using a dietary supplement containing Boswellia serrata and Curcuma longa: a prospective randomized placebo-controlled study. *Musculoskeletal surgery*, 99 Suppl 1, S43–S52. https://doi.org/10.1007/s12306-015-0364-1
82. Zeybek, A., U. (2022). *Rasyonel Fitoterapi Romatizmal Hastalıklar ve Fitoterapi*. Ankara: Dünya Tıp Kitabevi.

83. Allen-Hall, L., Cano, P., Arnason, J. T., Rojas, R., Lock, O., & Lafrenie, R. M. (2007). Treatment of THP-1 cells with *Uncaria tomentosa* extracts differentially regulates the expression if IL-1beta and TNF-alpha. *Journal of ethnopharmacology*, 109(2), 312–317. https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.07.039
84. Gonçalves, C., Dinis, T., & Batista, M. T. (2005). Antioxidant properties of proanthocyanidins of *Uncaria tomentosa* bark decoction: a mechanism for anti-inflammatory activity. *Phytochemistry*, 66(1), 89–98. https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2004.10.025
85. Zeynalov, Y. (2008). *İlaç Bitkiler*. İstanbul: Aden Yayınevi
86. Hu, C., & Kitts, D. D. (2005). Dandelion (*Taraxacum officinale*) flower extract suppresses both reactive oxygen species and nitric oxide and prevents lipid oxidation in vitro. *Phytomedicine: international journal of phytotherapy and phytopharmacology*, 12(8), 588–597. https://doi.org/10.1016/j.phymed.2003.12.012
87. Lee, M. H., Kang, H., Lee, K., Yang, G., Ham, I., Bu, Y., Kim, H., & Choi, H. Y. (2013). The aerial part of *Taraxacum coreanum* extract has an anti-inflammatory effect on peritoneal macrophages in vitro and increases survival in a mouse model of septic shock. *Journal of ethnopharmacology*, 146(1), 1–8. https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.12.009
88. Wang, Y., Li, G. H., Liu, X. Y., Xu, L., Wang, S. S., & Zhang, X. M. (2016). *In Vivo* Anti-Inflammatory Effects of Taraxasterol Against Animal Models. *African journal of traditional, complementary, and alternative medicines: AJTCAM*, 14(1), 43–51. https://doi.org/10.21010/ajtcam.v14i1.6
89. Malik, J., Tauchen, J., Landa, P., Kutil, Z., Marsik, P., & Kloucek, P. (2017). In vitro antiinflammatory and antioxidant potential of root extracts from Ranunculaceae species. *South African Journal of Botany*, 109, 128–37.
90. Li, R. W., David Lin, G., Myers, S. P., & Leach, D. N. (2003). Anti-inflammatory activity of Chinese medicinal vine plants. *Journal of ethnopharmacology*, 85(1), 61–67. https://doi.org/10.1016/s0378-8741(02)00339-2
91. Cuéllar, M. J., Giner, R. M., Recio, M. C., Máñez, S., & Ríos, J. L. (2001). Topical anti-inflammatory activity of some Asian medicinal plants used in dermatological disorders. *Fitoterapia*, 72(3), 221–229. https://doi.org/10.1016/s0367-326x(00)00305-1
92. Erdemoglu, N., Küpeli, E., & Yeşilada, E. (2003). Anti-inflammatory and antinociceptive activity assessment of plants used as remedy in Turkish folk medicine. *Journal of ethnopharmacology*, 89(1), 123–129. https://doi.org/10.1016/s0378-8741(03)00282-4
93. Bekemeier, H., Leuschner, G., & Schmollack, W. (1967). Antipyretische, antioedematöse und analgetische Wirkung von Damascenin im Vergleich mit Acetylsalicylsäure und Phenylbutazon [Antipyretic, antiedematous and analgetic effects of damascenin in comparison with acetylsalicylic acid and phenylbutazone]. *Archives internationales de pharmacodynamie et de therapie*, 168(1), 199–211.
94. Nesterova, Y. V., Povetieva, T. N., Suslov, N. I., Zyuz'kov, G. N., Aksinenko, S. G., Pushkarskii, S. V., & Krapivin, A. V. (2014). Anti-inflammatory activity of diterpene alkaloids from *Aconitum baikalense*. *Bulletin of experimental biology and medicine*, 156(5), 665–668. https://doi.org/10.1007/s10517-014-2421-4
95. Schmid, D., Woehs, F., Svoboda, M., Thalhammer, T., Chiba, P., & Moeslinger, T. (2009). Aqueous extracts of Cimicifuga racemosa and phenolcarboxylic constituents inhibit production of proinflammatory cytokines in LPS-stimulated human whole blood. *Canadian journal of physiology and pharmacology*, 87(11), 963–972. https://doi.org/10.1139/y09-091
96. Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25-30.
97. Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology & medicine*, 26(9-10), 1231–1237. https://doi.org/10.1016/s0891-5849(98)00315-3
98. Ribeiro, J. P., Magalhães, L. M., Reis, S., Lima, J. L., & Segundo, M. A. (2011). High-throughput total cupric ion reducing antioxidant capacity of biological samples determined using flow injection analysis and microplate-based methods. *Analytical sciences: the international journal of the Japan Society for Analytical Chemistry*, 27(5), 483. https://doi.org/10.2116/analsci.27.483
99. Benzie, I. F., & Strain, J. J. (1999). Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *Methods in enzymology*, 299, 15–27. https://doi.org/10.1016/s0076-6879(99)99005-5
100. Üçüncü, O., Baltacı, C., Akar, Z., Düzgün, A., O., Cüce, M., & Kandemir, A. (2020). Biological activities and phytochemical screening of ethanol extracts from *adonis paryadrica* (Ranunculaceae). *Farmacia*, 68(6), 1062–8.

101. Ouattar, H., Zouirech, O., Kara, M., Assouguem, A., Almutairi, S. M., Al-Hemaid, F. M., Rasheed, R. A., Ullah, R., Abbasi, A. M., Aouane, M., & Mikou, K. (2022). In Vitro Study of the Phytochemical Composition and Antioxidant, Immunostimulant, and Hemolytic Activities of *Nigella sativa* (Ranunculaceae) and *Lepidium sativum* Seeds. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 27(18), 5946. https://doi.org/10.3390/molecules27185946
102. Ferchichi, L., Chohra, D., Mellouk, K., Alsheikh, S., M., Çakmak Y., S., & Zengin, G. (2021). Chemical Composition and Antioxidant Activity of Essential Oil from the Aerial Parts of *Clematis Cirrhosa* L. (Ranunculaceae) Growing in Algeria. *Annals of the Romanian Society for Cell Biology*, 25(7), 1314–1324. https://annalsofrscb.ro/index.php/journal/article/view/10434
103. Say, D., Tastan, P., & Fafal, T. Fatty Acid Composition and Antioxidant Activity of Ranunculus constantinopolitanus. *Chemistry of Natural Compounds*, 58(3), 527–30.
104. Goga, A., & Hasić, S. (2012). Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of Extracts of *Nigella sativa* L. *Bulletin of the Chemists and Technologists of Bosnia and Herzegovina*, 39, 15–9.
105. Rana, S., Rawat, K., Mahendru, M., Padwad, Y., Pakade, Y. B., Lal, B., & Bhushan, S. (2015). Screening of bioconstituents and in vitro cytotoxicity of Clematis gouriana leaves. *Natural product research*, 29(23), 2242–2246. https://doi.org/10.1080/14786419.2014.1000891
106. Rocchetti, G., Zengin, G., Cakmak, Y., S., Mahomoodally, M., F., Kaya, M., F., & Alsheikh, S., M. (2020). A UHPLC-QTOF-MS screening provides new insights into the phytochemical composition and biological properties of six Consolida species from Turkey. *Industrial Crops and Products*, 15, 158.
107. Hu, X., F., Ding, Z., B., Chen, Y., Luo, J., F., He, J., M., & Yin, T., P. (2019). Comparative study on the antioxidant activities of ten common flower teas from China. *Open Chemistry*, 17, 841-848.
108. Alrashidi, M., Derawi, D., Salimon, J., & Yusoff, M., F. (2022). The effects of different extraction solvents on the yield and antioxidant properties of *Nigella sativa* oil from Saudi Arabia. *Journal of Taibah University for Science*, 16(1), 330–6.
109. Li, R. W., David Lin, G., Myers, S. P., & Leach, D. N. (2003). Anti-inflammatory activity of Chinese medicinal vine plants. *Journal of ethnopharmacology*, 85(1), 61–67. https://doi.org/10.1016/s0378-8741(02)00339-2
110. Landa, P., Marsik, P., Havlik, J., Kloucek, P., Vanek, T., & Kokoska, L. (2009). Evaluation of antimicrobial and anti-inflammatory activities of seed extracts from six Nigella species. *Journal of medicinal food*, 12(2), 408–415. https://doi.org/10.1089/jmf.2007.0600
111. Jan, H., Usman, H., Shah, M., Zaman, G., Mushtaq, S., Drouet, S., Hano, C., & Abbasi, B. H. (2021). Phytochemical analysis and versatile in vitro evaluation of antimicrobial, cytotoxic and enzyme inhibition potential of different extracts of traditionally used Aquilegia pubiflora Wall. Ex Royle. *BMC complementary medicine and therapies*, 21(1), 165. https://doi.org/10.1186/s12906-021-03333-y
112. Toma, C., C, Olah, N., K, Vlase, L., Mogoşan, C., & Mocan, A. (2015). Comparative studies on polyphenolic composition, antioxidant and diuretic effects of *nigella sativa* L. (black cumin) and *nigella damascena* L. (Lady-in-a-Mist) seeds. *Molecules*, 20(6), 9560–74.
113. Nuntanakorn, P., Jiang, B., Yang, H., Cervantes-Cervantes, M., Kronenberg, F., & Kennelly, E. J. (2007). Analysis of polyphenolic compounds and radical scavenging activity of four American Actaea species. *Phytochemical analysis: PCA*, 18(3), 219–228. https://doi.org/10.1002/pca.975
114. Kostikova, V., A, Erst, A., S., Kuznetsov, A., A., & Gureyeva, I., I. Levels of phenolic compounds in leaves of *Eranthis sibirica*, *E. stellata*, and *E. tanhoensis* (Ranunculaceae). *Ukrainian Journal of Ecology*, 10, 232-237.
115. Erst, A. S., Sukhorukov, A. P., Mitrenina, E. Y., Skaptsov, M. V., Kostikova, V. A., Chernisheva, O. A., Troshkina, V., Kushunina, M., Krivenko, D. A., Ikeda, H., Xiang, K., & Wang, W. (2020). An integrative taxonomic approach reveals a new species of *Eranthis* (Ranunculaceae) in North Asia. *PhytoKeys*, 140, 75–100. https://doi.org/10.3897/phytokeys.140.49048
116. Bagdas, D., Etoz, B. C., Gul, Z., Ziyanok, S., Inan, S., Turacozen, O., Gul, N. Y., Topal, A., Cinkilic, N., Tas, S., Ozyigit, M. O., & Gurun, M. S. (2015). In vivo systemic chlorogenic acid therapy under diabetic conditions: Wound healing effects and cytotoxicity/genotoxicity profile. *Food and chemical toxicology: an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, 81, 54–61. https://doi.org/10.1016/j.fct.2015.04.001
117. Fernandes e Silva, P., Fernandes e Silva, E., Rico, T., M., & Lemões J., S. (2020). A possible anti-inflammatory capacity of chlorogenic acid. *International Conference Series on Multidisciplinary Sciences*, 6, 1-3. https://sciforum.net/manuscripts/6941/manuscript.pdf
118. Sato, Y., Itagaki, S., Kurokawa, T., Ogura, J., Kobayashi, M., Hirano, T., Sugawara, M., & Iseki, K. (2011). In vitro and in vivo antioxidant properties of chlorogenic acid and caffeic acid. *International journal of pharmaceutics*, 403(1-2), 136–138. https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2010.09.035

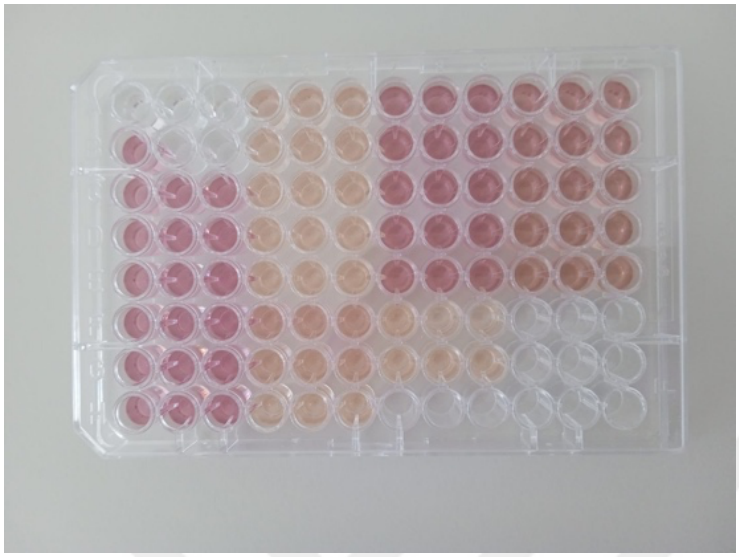
119. dos Santos, M. D., Almeida, M. C., Lopes, N. P., & de Souza, G. E. (2006). Evaluation of the anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activities of the natural polyphenol chlorogenic acid. *Biological & pharmaceutical bulletin*, 29(11), 2236–2240. https://doi.org/10.1248/bpb.29.2236
120. Ozaki Y. (1992). Antiinflammatory effect of tetramethylpyrazine and ferulic acid. *Chemical & pharmaceutical bulletin*, *40*(4), 954–956. https://doi.org/10.1248/cpb.40.954
121. Kikuzaki, H., Hisamoto, M., Hirose, K., Akiyama, K., & Taniguchi, H. (2002). Antioxidant properties of ferulic acid and its related compounds. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(7), 2161–2168. https://doi.org/10.1021/jf011348w
122. Itagaki, S., Kurokawa, T., Nakata, C., Saito, Y., Oikawa, S., Kobayashi, M., Hirano, T., & Iseki, K. (2009). In vitro and in vivo antioxidant properties of ferulic acid: A comparative study with other natural oxidation inhibitors. *Food Chemistry*, 114, 466-471.
123. Cheng, C. Y., Ho, T. Y., Lee, E. J., Su, S. Y., Tang, N. Y., & Hsieh, C. L. (2008). Ferulic acid reduces cerebral infarct through its antioxidative and anti-inflammatory effects following transient focal cerebral ischemia in rats. *The American journal of Chinese medicine*, 36(6), 1105–1119. https://doi.org/10.1142/S0192415X08006570
124. Kim, C. K., Yu, J., Le, D., Han, S., Yu, S., & Lee, M. (2023). Anti-inflammatory activity of caffeic acid derivatives from Ilex rotunda. *International immunopharmacology*, 115, 109610. https://doi.org/10.1016/j.intimp.2022.109610
125. Choi H., G., Tran, P., T., Lee, J., H., Min, B., S., & Kim, J., A. (2017). Anti-inflammatory activity of caffeic acid derivatives isolated from the roots of *Salvia miltiorrhiza* Bunge. *Archives of Pharmacal Research*, 41, 64-70.
126. Zielińska, D., Zieliński, H., Laparra-Llopis, J. M., Szawara-Nowak, D., Honke, J., & Giménez-Bastida, J. A. (2021). Caffeic Acid Modulates Processes Associated with Intestinal Inflammation. *Nutrients*, 13(2), 554. https://doi.org/10.3390/nu13020554
127. Gülçin I. (2006). Antioxidant activity of caffeic acid (3,4-dihydroxycinnamic acid). *Toxicology*, 217(2-3), 213–220. https://doi.org/10.1016/j.tox.2005.09.011
128. Winter, A. N., Brenner, M. C., Punessen, N., Snodgrass, M., Byars, C., Arora, Y., & Linseman, D. A. (2017). Comparison of the Neuroprotective and Anti-Inflammatory Effects of the Anthocyanin Metabolites, Protocatechuic Acid and 4-Hydroxybenzoic Acid. *Oxidative medicine and cellular longevity*, *2017*, 6297080. https://doi.org/10.1155/2017/6297080
129. Velika, B., & Kron, I. (2012). Antioxidant properties of benzoic acid derivatives against Superoxide radical. *Free Radicals and Antioxidants*, 2(4), 62–7.
130. Sekar, D., Manasa, P., & Biotech, G. (2014). Studies on Phytochemicals and Steroid Isolation from N-Hexane Extract of *Anisochilus carnosus*. *International Journal of Advanced Biotechnology and Research*, 5(3), 337–45.
131. Laver, M., L., Hai-Loong, F., H. (1971). The n-Hexane-soluble Components of *Pseudotsuga Menziesiz* Bark. *Phytochemistry*, 10, 3292–4.
132. Garba, A., Rahman, S., Akther, P., Islam, F., Rahman, M., & Yaakob, Z. (2013). Isolation of steroids from n-hexane extract of the leaves of *Saurauia roxburghii*. *International Food Research Journal*, 20, 2939-43
133. Latief, M., Amanda, H., Utami, A., Muhaimin, M., & Nurhayati. (2019). Isolation of active compounds from the leaf extract of patah kemudi (*Abroma augusta* L.) and its anti-inflammatory activity. *Journal of Physics: Conference Series*, 1282(1):012064. DOI:10.1088/1742-6596/1282/1/012064

EKLER

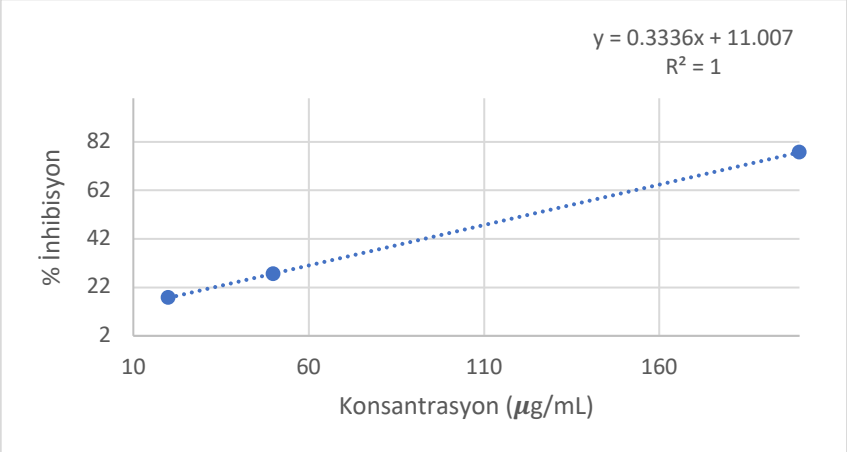
EK-1.Bitki Ekstraksiyonları



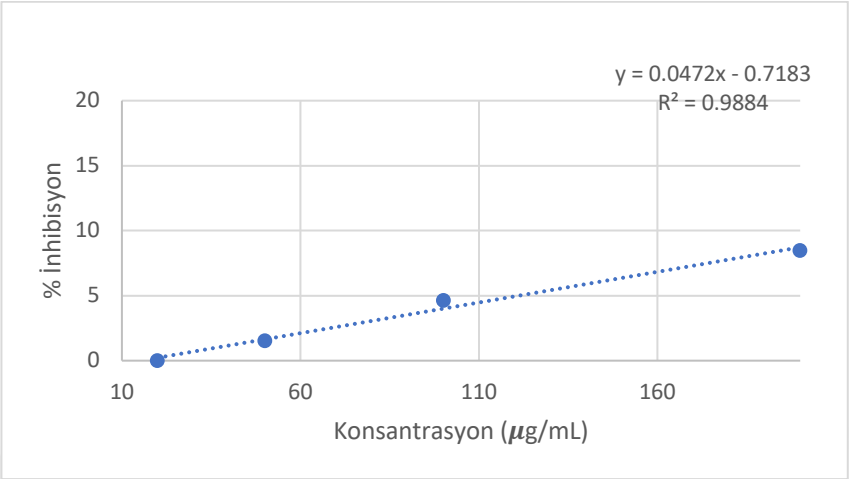
EK-2.DPPH deneyi



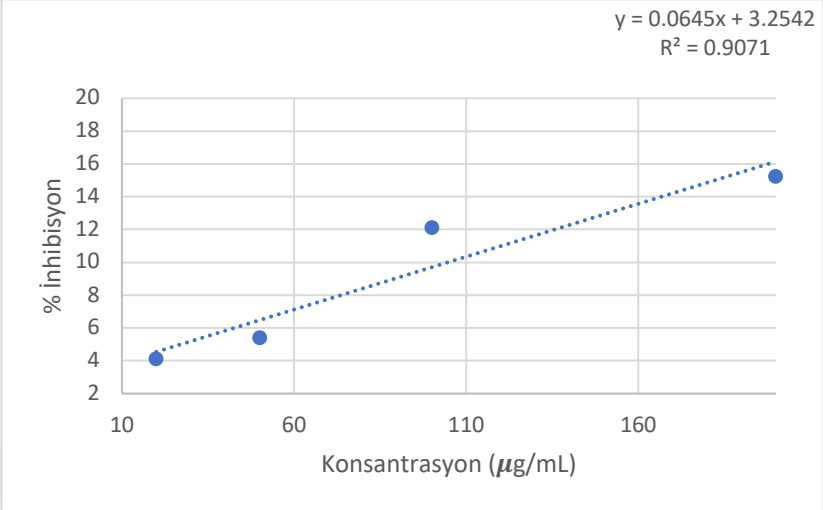
EK-3.Sulu Etanol (%80) Ekstresinin DPPH Radikali Giderme Aktivitesi



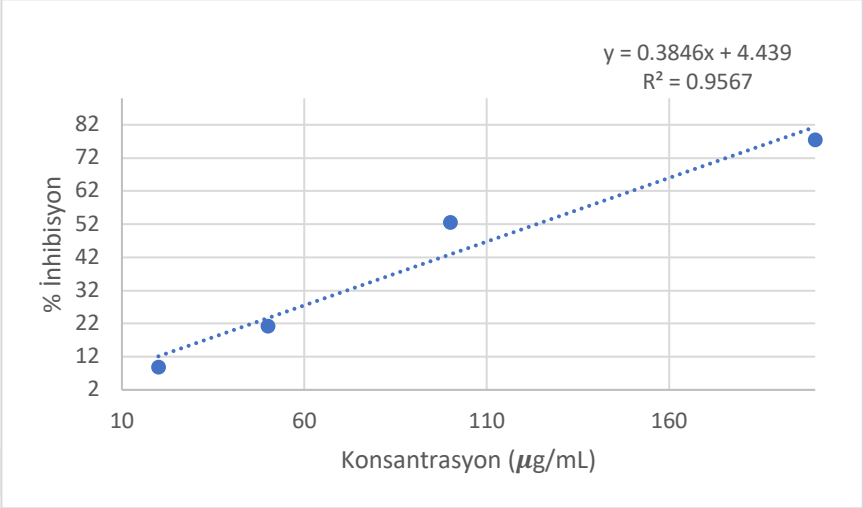
EK-4.Etil Asetat Ekstresinin DPPH Radikali Giderme Aktivitesi



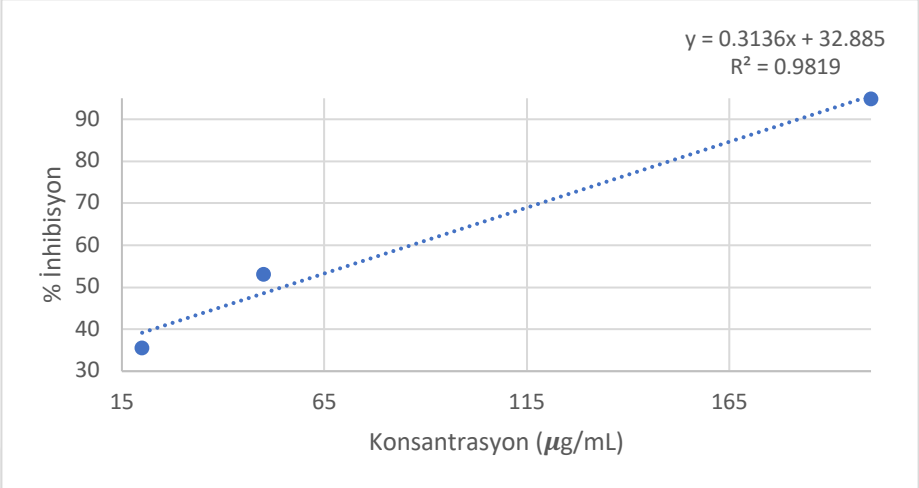
EK-5.Hekzan Ekstresinin DPPH Radikali Giderme Aktivitesi



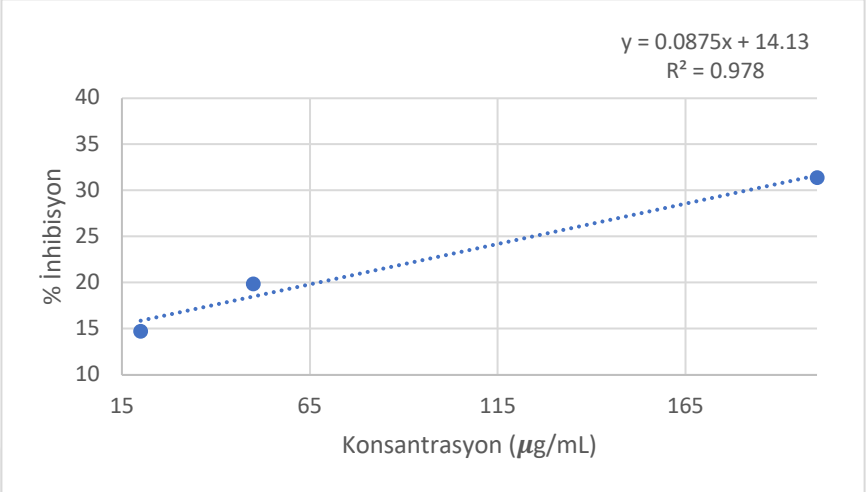
EK-6.Dekoksiyon Ekstresinin DPPH Radikali Giderme Aktivitesi



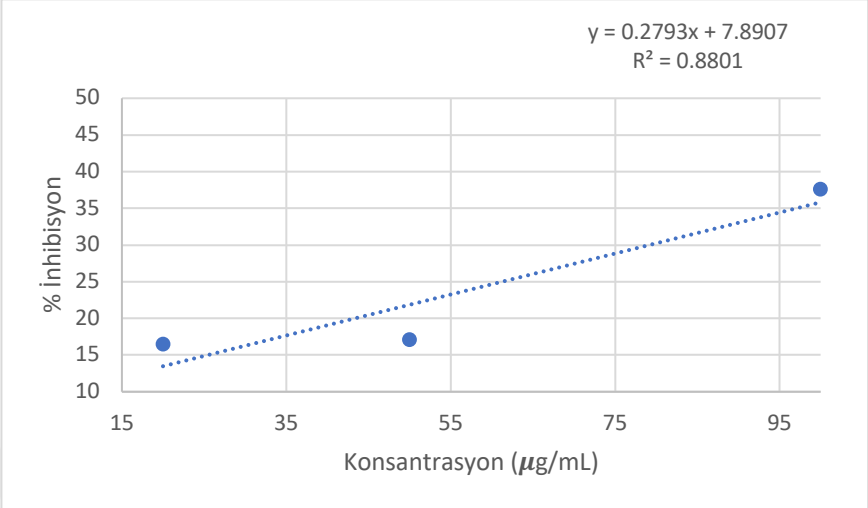
EK-7.Sulu Etanol (%80) Ekstresinin ABTS Radikali Giderme Aktivitesi



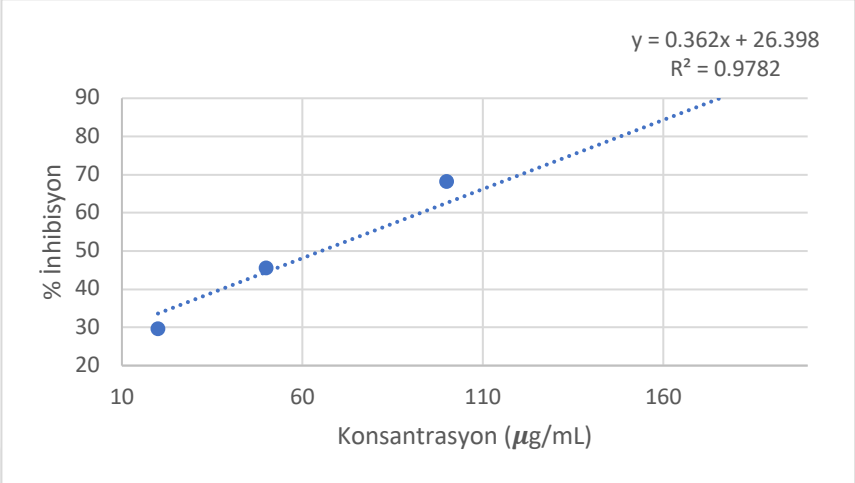
EK-8.Etil Asetat Ekstresinin ABTS Radikali Giderme Aktivitesi



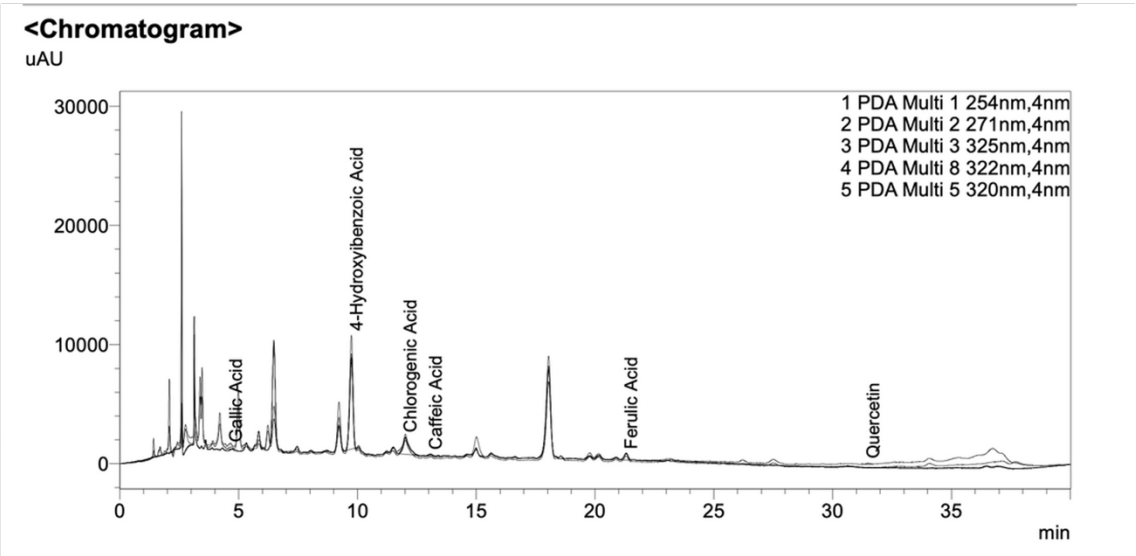
EK-9.Hekzan Ekstresinin ABTS Radikali Giderme Aktivitesi



EK-10.Dekoksiyon Ekstresinin ABTS Radikali Giderme Aktivitesi



EK-11.Dekoksiyon Ekstresinin Kromatogramı



EK-12.Sulu Etanol (%80) Ekstresinin Kromatogramı

