

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOĞNOZİ ANABİLİM DALI

**TÜRKİYE'DE HALK ARASINDA
YARA İYİLEŞTİRİCİ AMAÇLA KULLANILAN BAZI BİTKİLERİN
AKTİVİTELERİ ÜZERİNDE ARAŞTIRMALAR**

DOKTORA TEZİ

Uzm. Ecz. İpek SÜNTAR

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Turhan BAYKAL
Doç. Dr. Esra KÜPELİ AKKOL

ANKARA
Ekim 2011

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOĞNOZİ ANABİLİM DALI

**TÜRKİYE'DE HALK ARASINDA
YARA İYİLEŞTİRİCİ AMAÇLA KULLANILAN BAZI BİTKİLERİN
AKTİVİTELERİ ÜZERİNDE ARAŞTIRMALAR**

DOKTORA TEZİ

Uzm. Ecz. İpek SÜNTAR

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Turhan BAYKAL
Doç. Dr. Esra KÜPELİ AKKOL

Bu tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 02/2010-15 proje numarası ile desteklenmiştir.

ANKARA
Ekim 2011

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Farmakognozi Ana Bilim Dalı Doktora Programı
çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından
Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi : 24/10/2011



İmza
Prof. Dr. Turhan BAYKAL
Gazi Üniversitesi
Jüri Başkanı



İmza
Prof. Dr. Bolkan ŞİMŞEK
Gazi Üniversitesi



İmza
Prof. Dr. Erdem YEŞİLADA
Yeditepe Üniversitesi



İmza
Prof. Dr. Payfun ERSÖZ
Hacettepe Üniversitesi



İmza
Doç. Dr. Mustafa ASLAN
Gazi Üniversitesi

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	i
İçindekiler	ii
Resimler	vi
Şekiller	vii
Tablolar	x
Semboller, Kısaltmalar	xvi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. BOTANİK BÖLÜM	4
2.1.1. Thymelaeaceae Familyası	4
2.1.1.1. <i>Daphne</i> L. Cinsinin Özellikleri	4
2.1.1.2. <i>Daphne oleoides</i> Schreber Bitkisinin Botanik Özellikleri	5
2.1.1.3. <i>Daphne oleoides</i> subsp. <i>oleoides</i>	6
2.1.1.4. <i>Daphne oleoides</i> subsp. <i>kurdica</i>	7
2.1.1.5. <i>Daphne</i> Türlerine Verilen İsimler	11
2.2. KİMYASAL BÖLÜM	12
2.2.1. <i>Daphne</i> Türleri Üzerinde Yapılan Fitokimyasal Çalışmalar	13
2.2.1.1. Fenilpropanoitler	13
2.2.1.1. Terpenler	29
2.3. KULLANILIŞ ve BİYOLOJİK AKTİVİTE	34
2.3.1. <i>Daphne</i> Türlerinin Halk arasında ve Geleneksel Tedavi Sistemlerinde Kullanılışı	35
2.3.2. <i>Daphne</i> Türleri Üzerinde Yapılan Biyolojik Aktivite Çalışmaları	37
2.3.2.1. Analjezik ve Anti-enflamatuvar Etki	37
2.3.2.2. Antioksidan Etki	39
2.3.2.3. Antikanserojenik Etki	39
2.3.2.4. Antimikrobiyal Etki	41
2.3.2.5. Antiülserojenik Etki	42

2.3.2.6. Abortif Etki	42
2.3.2.7. Hipokolesterolemik Etki	42
2.3.2.8. Diğer Etkiler	42
2.3.2.9. Toksisite	43
2.4. YARA İYİLEŞMESİ İLE İLGİLİ GENEL BİLGİLER	45
2.4.1. Yara İyileşmesi	45
2.4.2. Yara iyileşmesinin tipleri	46
2.4.2.1. Birincil (primer) yara iyileşmesi	46
2.4.2.2. İkincil (sekonder) yara iyileşmesi	47
2.4.3. Yara Tipleri	48
2.4.3.1. Akut yaralar	48
2.4.3.1.1. Açık yaralar	48
2.4.3.1.2. Kapalı yaralar	49
2.4.3.2. Kronik yaralar	49
2.4.4. Yara İyileşmesinin Ölçülmesi	49
2.4.4.1. <i>In vitro</i> Çalışmalar	49
2.4.4.2. <i>In vivo</i> Çalışmalar	50
2.4.4.2.1. Histopatolojik İncelemeler	51
2.4.4.2.2. Biyokimyasal Parametrelerin Ölçülmesi	51
3. GEREÇ ve YÖNTEM	52
3.1.GEREÇ	52
3.1.1. Kullanılan Bitkiler	52
3.1.2. Kullanılan Madde ve Solvanlar	53
3.2. YÖNTEM	54
3.2.1. KİMYASAL ÇALIŞMALAR	54
3.2.1.1. Ekstraksiyon ve Fraksiyonlama	54
3.2.1.1.1. Ekstraksiyon-1	54
3.2.1.1.1.1. Metanollü Ekstrelerinin Hazırlanması	54
3.2.1.1.2. Ekstraksiyon-2	55
3.2.1.1.2.1. MeOH Ekstresinin BAYF Yöntemine Göre Fraksiyonlanması	55

3.2.1.1.3. Ekstre ve Alt Ekstrelerin Total Fenol Miktarları Açısından Değerlendirilmesi	59
3.2.1.1.4. Aktif Alt Ekstrelerin Kromatografik Yöntemler ile Ayırımı	59
3.2.1.1.4.1. <i>D. oleoides</i> subsp. <i>kurdica</i> (DOK) ve <i>D. oleoides</i> subsp. <i>oleoides</i> (DOO) EtOAc alt ekstrelerinin silika jel kolon kromatografisi ile ayırımı	60
3.2.1.1.4.2. DOK-EtOAc Fr. (22-39) ve DOO-EtOAc Fr. (19-27) Fraksiyonlarından Ters Faz-Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (RP-HPLC) Tekniği Kullanılarak Aktif Bileşiklerin İzolasyonu	62
3.2.2. BİYOLOJİK AKTİVİTE ÇALIŞMALARI	65
3.2.2.1. Deney Protokolü	65
3.2.2.2. Deney Hayvanları	65
3.2.2.3. Test Numunelerinin Hazırlanması	65
3.2.2.4. Referans Madde	65
3.2.2.5. Biyolojik Aktivite Deneyleri	66
3.2.2.5.1. <i>In vivo</i> Aktivite deneyleri	66
3.2.2.5.1.1. Yara Oluşturma Deney Modelleri	66
3.2.2.5.1.1.1.Çizgisel İnsizyon Yara Modeli	66
3.2.2.5.1.1.2.Dairesel Eksizyon Yara Modeli	67
3.2.2.5.1.1.3.Histopatolojik İncelemeler	68
3.2.2.5.1.1.4.Kolajen Bağ Dokunun Saptanması (Hidroksiprolin Tayini)	68
3.2.2.5.1.2. Antienflamatuvar Aktivite Tayini	69
3.2.2.5.2. <i>In vitro</i> Aktivite deneyleri	71
3.2.2.5.2.1. Antioksidan Aktivite Tayini	71
3.2.2.5.2.2. Hyaluronidaz, Kolajenaz ve Elastaz Enzim İnhibisyonunun ölçülmesi	72
3.2.2.5.2.2.1.Hyaluronidaz Enzim İnhibisyonunun Ölçülmesi	72
3.2.2.5.2.2.2. Kolajenaz Enzim İnhibisyonunun Ölçülmesi	73
3.2.2.5.2.2.3. Elastaz Enzim İnhibisyonunun Ölçülmesi	73
3.2.2.6. İstatistiksel Değerlendirmeler	74

4. BULGULAR	75
4.1. KİMYASAL DENEY BULGULARI	76
4.1.1. Total Fenol Miktar Tayini	76
4.1.2. Yapı Tayini	77
4.1.2.1. DOK-1 (Dafnetin) Bileşiğinin Yapı Tayini	77
4.1.2.2. DOK-2 (Demetildafnoretin-7-O-glukozit) Bileşiğinin Yapı Tayini	86
4.1.2.3. DOK-3 (Luteolin-7-O-glukozit) Bileşiğinin Yapı Tayini	95
4.1.2.4. DOO-1 (Triumbellin) Bileşiğinin Yapı Tayini	99
4.1.2.5. DOO-2 (Kersetin-3-O-glukozit) Bileşiğinin Yapı Tayini	108
4.2. BİYOLOJİK AKTİVİTE DENEY BULGULARI	120
4.2.1. Yara Oluşturma Deney Modelleri	120
4.2.1.1. Çizgisel İnsizyon Yara Modeli	120
4.2.1.2. Dairesel Eksizyon Yara Modeli	125
4.2.1.3. Histopatolojik İnceleme Sonuçları	133
4.2.1.4. Dokulardaki Hidroksiprolin Miktarının Hesaplanması	148
4.2.1.5. Kapiller Permeabilite Artışına Dayanan Ödemin Ölçülmesi (Whittle Yöntemi)	153
4.2.1.6. Antioksidan Aktivite Sonuçları	159
4.2.1.7. Hyaluronidaz Enzim İnhibisyonu Sonuçları	160
4.2.1.8. Kolajenaz Enzim İnhibisyonu Sonuçları	162
4.2.1.9. Elastaz Enzim İnhibisyonu Sonuçları	164
5. TARTIŞMA	166
6. SONUÇ	177
7. ÖZET	178
8. SUMMARY	179
9. KAYNAKLAR	180
10. EKLER	205
11. ÖZGEÇMİŞ	208

Resimler

Resim 1: <i>Daphne oleoides</i> subsp. <i>oleoides</i>	6
Resim 2: <i>Daphne oleoides</i> subsp. <i>kurdica</i>	7
Resim 3: Türkiye’de halk arasında yara iyileştirici amaçla kullanılan bazı bitkilerden hazırlanan ekstreler ile tedavi edilen yara dokularının histopatoloji sonuçları	135
Resim 4: <i>D. oleoides</i> subsp. <i>kurdica</i> (DOK) toprak üstü kısımlarının %85 metanollü ekstresinden elde edilen alt ekstreler ile tedavi edilen yara dokularının histopatoloji sonuçları	137
Resim 5: DOK-EtOAc alt ekstresinden silika jel kolon kromatografisi ile elde edilen fraksiyonlar ile tedavi edilen yara dokularının histopatoloji sonuçları	139
Resim 6: DOK-Fr. (22-39)’dan izole edilen bileşikler ile tedavi edilen yara dokularının histopatoloji sonuçları	141
Resim 7: <i>D. oleoides</i> subsp. <i>oleoides</i> (DOO) toprak üstü kısımlarının %85 metanollü ekstresinden elde edilen alt ekstreler ile tedavi edilen yara dokularının histopatoloji sonuçları	143
Resim 8: DOO-EtOAc alt ekstresinden silika jel kolon kromatografisi ile elde edilen fraksiyonlar ile tedavi edilen yara dokularının histopatoloji sonuçları	145
Resim 9: DOO-Fr. (19-27)’den izole edilen bileşikler ile tedavi edilen yara dokularının histopatoloji sonuçları	147

Şekiller

Şekil 1: <i>D. oleoides</i> 'in Türkiye'deki yayılışı	11
Şekil 2: <i>Daphne oleoides</i> subsp. <i>kurdica</i> (DOK)-MeOH Ekstresinin BAYF Yöntemine Göre Fraksiyonlanması	57
Şekil 3: <i>Daphne oleoides</i> subsp. <i>oleoides</i> (DOO)-MeOH Ekstresinin BAYF Yöntemine Göre Fraksiyonlanması	58
Şekil 4: DOK-EtOAc alt ekstresinden silika jel kolon ve ters faz yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ile elde edilen fraksiyonlar/bileşikler	63
Şekil 5: DOO-EtOAc alt ekstresinden silika jel kolon ve ters faz yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ile elde edilen fraksiyonlar/bileşikler	64
Şekil 6: DOK-1 (Dafnetin) Bileşiğinin ¹ H-NMR (400 MHz, MeOD) Spektrumu	80
Şekil 7: DOK-1 (Dafnetin) Bileşiğinin ¹³ C-NMR (100 MHz, MeOD) Spektrumu	81
Şekil 8: DOK-1 (Dafnetin) Bileşiğinin ¹³ C-NMR DEPT 45 (100 MHz, MeOD) Spektrumu	82
Şekil 9: DOK-1 (Dafnetin) Bileşiğinin HOMO-COSY ¹ H-NMR (400 MHz, MeOD) Spektrumu	83
Şekil 10: DOK-1 (Dafnetin) Bileşiğinin FTMS Spektrumu	84
Şekil 11: DOK-1 (Dafnetin) Bileşiğinin FTMS Spektrumu	85
Şekil 12: DOK-2 (Demetildafnoretin-7-O-glukozit) Bileşiğinin ¹ H-NMR (400 MHz, MeOD) Spektrumu	89
Şekil 13: DOK-2 (Demetildafnoretin-7-O-glukozit) Bileşiğinin ¹ H-NMR (400 MHz, MeOD) Spektrumu	90
Şekil 14: DOK-2 (Demetildafnoretin-7-O-glukozit) Bileşiğinin ¹³ C-NMR (100 MHz, MeOD) Spektrumu	91
Şekil 15: DOK-2 (Demetildafnoretin-7-O-glukozit) Bileşiğinin HOMO-COSY ¹ H-NMR (400 MHz, MeOD) Spektrumu	92

Şekil 16: DOK-2 (Demetildafnoretin-7-O-glukozit) Bileşiğinin FTMS Spektrumu	93
Şekil 17: DOK-2 (Demetildafnoretin-7-O-glukozit) Bileşiğinin FTMS Spektrumu	94
Şekil 18: DOK-3 (Luteolin-7-O-glukozit) Bileşiğinin ¹ H-NMR (400 MHz, CD ₃ OD) Spektrumu	97
Şekil 19: DOK-3 (Luteolin-7-O-glukozit) Bileşiğinin ES MS Spektrumu	98
Şekil 20: DOO-1 (Triumbellin) Bileşiğinin ¹ H-NMR (400 MHz, MeOD) Spektrumu	102
Şekil 21: DOO-1 (Triumbellin) Bileşiğinin ¹ H-NMR (400 MHz, MeOD) Spektrumu	103
Şekil 22: DOO-1 (Triumbellin) Bileşiğinin ¹³ C-NMR (100 MHz, MeOD) Spektrumu	104
Şekil 23: DOO-1 (Triumbellin) Bileşiğinin HOMO-COSY ¹ H-NMR (400 MHz, MeOD) Spektrumu	105
Şekil 24: DOO-1 (Triumbellin) Bileşiğinin FTMS Spektrumu	106
Şekil 25: DOO-1 (Triumbellin) Bileşiğinin FTMS Spektrumu	107
Şekil 26: DOO-2 (Kersetin-3-O-glukozit) Bileşiğinin ¹ H-NMR (400 MHz, MeOD) Spektrumu	111
Şekil 27: DOO-2 (Kersetin-3-O-glukozit) Bileşiğinin ¹ H-NMR (400 MHz, MeOD) Spektrumu	112
Şekil 28: DOO-2 (Kersetin-3-O-glukozit) Bileşiğinin ¹³ C-NMR (100 MHz, MeOD) Spektrumu	113
Şekil 29: DOO-2 (Kersetin-3-O-glukozit) Bileşiğinin HOMO-COSY ¹ H-NMR (400 MHz, MeOD) Spektrumu	114
Şekil 30: DOO-2 (Kersetin-3-O-glukozit) Bileşiğinin FTMS Spektrumu	115
Şekil 31: DOO-2 (Kersetin-3-O-glukozit) Bileşiğinin FTMS Spektrumu	116
Şekil 32: DOO-2 (Kersetin-3-O-glukozit) Bileşiğinin FTMS Spektrumu	117
Şekil 33: DOO-2 (Kersetin-3-O-glukozit) Bileşiğinin FTMS Spektrumu	118
Şekil 34: DOO-2 (Kersetin-3-O-glukozit) Bileşiğinin FTMS Spektrumu	119

Şekil 35: DOK-Fr. (22-39)'dan izole edilen bileşiklerin insizyon yara modeli üzerindeki etkileri	122
Şekil 36: DOO-Fr. (19-27)'den izole edilen bileşiklerin insizyon yara modeli üzerindeki etkileri	124
Şekil 37: DOK-Fr. (22-39)'dan izole edilen bileşiklerin eksizyon yara modeli üzerindeki etkileri	129
Şekil 38: DOO-Fr. (19-27)'den izole edilen bileşiklerin eksizyon yara modeli üzerindeki etkileri	132
Şekil 39: DOK-Fr. (22-39)'dan izole edilen bileşiklerin merhemleri ile tedavi edilen dokulardaki hidroksiprolin ölçüm sonuçları	150
Şekil 40: DOO-Fr. (19-27)'den izole edilen bileşiklerin merhemleri ile tedavi edilen dokulardaki hidroksiprolin ölçüm sonuçları	152
Şekil 41: DOK-Fr. (22-39)'dan izole edilen bileşiklerin Whittle yöntemi üzerindeki etkileri	156
Şekil 42: DOO-Fr. (19-27)'den izole edilen bileşiklerin Whittle yöntemi üzerindeki etkileri	158
Şekil 43: DOK-Fr. (22-39)'dan izole edilen bileşiklerin hyaluronidaz enzim inhibisyonu üzerindeki etkileri (100µg/ml)	160
Şekil 44: DOO-Fr. (19-27)'den izole edilen bileşiklerin hyaluronidaz enzim inhibisyonu üzerindeki etkileri (100µg/ml)	161
Şekil 45: DOK- Fr. (22-39)'dan izole edilen bileşiklerin kolajenaz enzim inhibisyonu üzerindeki etkileri (100µg/ml)	162
Şekil 46: DOO-Fr. (19-27)'den izole edilen bileşiklerin kolajenaz enzim inhibisyonu üzerindeki etkileri; (100µg/ml)	163
Şekil 47: DOK-Fr. (22-39)'dan izole edilen bileşiklerin elastaz enzim inhibisyonu üzerindeki etkileri; (100µg/ml)	164
Şekil 48: DOO-Fr. (19-27)'den izole edilen bileşiklerin elastaz enzim inhibisyonu üzerindeki etkileri; (100µg/ml)	165

Tablolar

Tablo 1: Kaynak verilere göre <i>D. oleoides</i> 'in Türkiye'deki yayılışı	8
Tablo 2: <i>Daphne</i> türlerinden izole edilen basit fenoller	13
Tablo 3: <i>Daphne</i> türlerinden izole edilen basit fenoller	14
Tablo 4: <i>Daphne</i> türlerinden izole edilen flavonoitler	14
Tablo 5: <i>Daphne</i> türlerinden izole edilen flavonoitler	15
Tablo 6: <i>Daphne</i> türlerinden izole edilen flavonoitler	15
Tablo 7: <i>Daphne</i> türlerinden izole edilen flavonoitler	16
Tablo 8: <i>Daphne</i> türlerinden izole edilen flavanlar	16
Tablo 9: <i>Daphne</i> türlerinden izole edilen flavanlar	18
Tablo 10: <i>Daphne</i> türlerinden izole edilen flavanlar	19
Tablo 11: <i>Daphne</i> türlerinden izole edilen flavanoller	20
Tablo 12: <i>Daphne</i> türlerinden izole edilen kumarinler	20
Tablo 13: <i>Daphne</i> türlerinden izole edilen bis-kumarinler	21
Tablo 14: <i>Daphne</i> türlerinden izole edilen bis-kumarinler	22
Tablo 15: <i>Daphne</i> türlerinden izole edilen bis-kumarinler	22
Tablo 16: <i>Daphne</i> türlerinden izole edilen bis-kumarinler	23
Tablo 17: <i>Daphne</i> türlerinden izole edilen bis- ve tri-kumarinler	23
Tablo 18: <i>Daphne</i> türlerinden izole edilen lignanlar	24
Tablo 19: <i>Daphne</i> türlerinden izole edilen lignanlar	24
Tablo 20: <i>Daphne</i> türlerinden izole edilen lignanlar	25
Tablo 21: <i>Daphne</i> türlerinden izole edilen lignanlar	25
Tablo 22: <i>Daphne</i> türlerinden izole edilen lignanlar	26
Tablo 23: <i>Daphne</i> türlerinden izole edilen lignanlar	28
Tablo 24: <i>Daphne</i> türlerinden izole edilen seskiterpenler	29
Tablo 25: <i>Daphne</i> türlerinden izole edilen seskiterpenler	29
Tablo 26: <i>Daphne</i> türlerinden izole edilen diterpenler	30
Tablo 27: <i>Daphne</i> türlerinden izole edilen diterpenler	30
Tablo 28: <i>Daphne</i> türlerinden izole edilen diterpenler	31
Tablo 29: <i>Daphne</i> türlerinden izole edilen triterpenler	31

Tablo 30: <i>Daphne</i> türlerinden izole edilen triterpenler	32
Tablo 31: <i>Daphne</i> türlerinden izole edilen triterpenler	32
Tablo 32: <i>Daphne</i> türlerinden izole edilen steroidler	33
Tablo 33: Çalışma materyalleri ve kayıt bilgileri	52
Tablo 34: Deneyleerde kullanılan madde ve solvanlar	53
Tablo 35: Elde edilen ekstrelerin miktarları ve verimleri	55
Tablo 36: <i>D. oleoides</i> subsp. <i>kurdica</i> (DOK) ve <i>D. oleoides</i> subsp. <i>oleoides</i> (DOO) ekstre ve alt ekstrelerinin total fenol miktarları	76
Tablo 37: DOK-1 (Dafnetin) Bileşğinin ¹ H-NMR (400 MHz, MeOD) ve ¹³ C-NMR (100 MHz, MeOD) Verileri	79
Tablo 38: DOK-2 (Demetildafnoretin-7-O-glukozit) Bileşğinin ¹ H-NMR (400 MHz, MeOD) ve ¹³ C-NMR (100 MHz, MeOD) Verileri	88
Tablo 39: DOK-3 (Luteolin-7-O-glukozit) Bileşğinin ¹ H-NMR (400 MHz, CD3OD) ve ¹³ C-NMR (100 MHz, CD3OD) Verileri	96
Tablo 40: DOO-1 (Triumbellin) Bileşğinin ¹ H-NMR (400 MHz, MeOD) ve ¹³ C-NMR (100 MHz, MeOD) Verileri	101
Tablo 41: DOO-2 (Kersetin-3-O-glukozit) Bileşğinin ¹ H-NMR (400 MHz, MeOD) ve ¹³ C-NMR (100 MHz, MeOD) Verileri	110
Tablo 42: Türkiye’de halk arasında yara iyileştirici amaçla kullanılan bazı bitkilerin insizyon yara modeli üzerindeki etkileri	120
Tablo 43: <i>D. oleoides</i> subsp. <i>kurdica</i> (DOK) toprak üstü kısımlarının %85 metanollü ekstresinden elde edilen alt ekstrelerin insizyon yara modeli üzerindeki etkileri	121
Tablo 44: DOK-EtOAc fraksiyonundan silika jel kolon kromatografisi ile elde edilen fraksiyonların insizyon yara modeli üzerindeki etkileri	121
Tablo 45: DOK-Fr. (22-39)’dan izole edilen bileşiklerin insizyon yara modeli üzerindeki etkileri	122

Tablo 46: <i>D. oleoides</i> subsp. <i>oleoides</i> (DOO) toprak üstü kısımlarının %85 metanollü ekstresinden elde edilen alt ekstrelerin insizyon yara modeli üzerindeki etkileri	123
Tablo 47: DOO-EtOAc alt ekstresinden silika jel kolon kromatografisi ile elde edilen fraksiyonların insizyon yara modeli üzerindeki etkileri	123
Tablo 48: DOO-Fr. (19-27)'den izole edilen bileşiklerin insizyon yara modeli üzerindeki etkileri	124
Tablo 49: Türkiye'de halk arasında yara iyileştirici amaçla kullanılan bazı bitkilerin eksizyon yara modeli üzerindeki etkileri	126
Tablo 50: <i>D. oleoides</i> subsp. <i>kurdica</i> (DOK) toprak üstü kısımlarının %85 metanollü ekstresinden elde edilen alt ekstrelerin eksizyon yara modeli üzerindeki etkileri	127
Tablo 51: DOK-EtOAc alt ekstresinden silika jel kolon kromatografisi ile elde edilen fraksiyonların eksizyon yara modeli üzerindeki etkileri	128
Tablo 52: DOK-Fr. (22-39)'dan izole edilen bileşiklerin eksizyon yara modeli üzerindeki etkileri	129
Tablo 53: <i>D. oleoides</i> subsp. <i>oleoides</i> (DOO) toprak üstü kısımlarının %85 metanollü ekstresinden elde edilen alt ekstrelerin eksizyon yara modeli üzerindeki etkileri	130
Tablo 54: DOO-EtOAc alt ekstresinden silika jel kolon kromatografisi ile elde edilen fraksiyonların eksizyon yara modeli üzerindeki etkileri	131
Tablo 55: DOO-Fr. (19-27)'den izole edilen bileşiklerin eksizyon yara modeli üzerindeki etkileri	132
Tablo 56: Türkiye'de halk arasında yara iyileştirici amaçla kullanılan bazı bitkilerin ekstreleri ile tedavi edilen yara dokularının histopatoloji sonuçları	134

Tablo 57: <i>D. oleoides</i> subsp. <i>kurdica</i> (DOK) toprak üstü kısımlarının %85 metanollü ekstresinden elde edilen alt ekstreler ile tedavi edilen yara dokularının histopatoloji sonuçları	136
Tablo 58: DOK-EtOAc alt ekstresinden silika jel kolon kromatografisi ile elde edilen fraksiyonlar ile tedavi edilen yara dokularının histopatoloji sonuçları	138
Tablo 59: DOK-Fr. (22-39)'dan izole edilen bileşikler ile tedavi edilen yara dokularının histopatoloji sonuçları	140
Tablo 60: <i>D. oleoides</i> subsp. <i>oleoides</i> (DOO) toprak üstü kısımlarının %85 metanollü ekstresinden elde edilen alt ekstreler ile tedavi edilen yara dokularının histopatoloji sonuçları	142
Tablo 61: DOO-EtOAc alt ekstresinden silika jel kolon kromatografisi ile elde edilen fraksiyonlar ile tedavi edilen yara dokularının histopatoloji sonuçları	144
Tablo 62: DOO-Fr. (19-27)'den izole edilen bileşikler ile tedavi edilen yara dokularının histopatoloji sonuçları	146
Tablo 63: Türkiye'de halk arasında yara iyileştirici amaçla kullanılan bazı bitkilerden hazırlanan %85 metanollü ekstre merhemleri ile tedavi edilen dokulardaki hidroksiprolin ölçüm sonuçları	148
Tablo 64: <i>D. oleoides</i> subsp. <i>kurdica</i> (DOK) toprak üstü kısımlarının %85 metanollü ekstresinden elde edilen alt ekstrelerin merhemleri ile tedavi edilen dokulardaki hidroksiprolin ölçüm sonuçları	149
Tablo 65: DOK-EtOAc alt ekstresinden silika jel kolon kromatografisi ile elde edilen fraksiyonların merhemleri ile tedavi edilen dokulardaki hidroksiprolin ölçüm sonuçları	149
Tablo 66: DOK-Fr. (22-39)'dan izole edilen bileşiklerin merhemleri ile tedavi edilen dokulardaki hidroksiprolin ölçüm sonuçları	150
Tablo 67: <i>D. oleoides</i> subsp. <i>oleoides</i> (DOO) toprak üstü kısımlarının %85 metanollü ekstresinden elde edilen alt ekstrelerin	

merhemleri ile tedavi edilen dokulardaki hidroksiprolin ölçüm sonuçları	151
Tablo 68: DOO-EtOAc alt ekstresinden silika jel kolon kromatografisi ile elde edilen fraksiyonların merhemleri ile tedavi edilen dokulardaki hidroksiprolin ölçüm sonuçları	151
Tablo 69: DOO-Fr. (19-27)'den izole edilen bileşiklerin merhemleri ile tedavi edilen dokulardaki hidroksiprolin ölçüm sonuçları	152
Tablo 70: Türkiye'de halk arasında yara iyileştirici amaçla kullanılan bazı bitkilerden hazırlanan %85 metanollü ekstrelerin Whittle yöntemi üzerindeki etkileri	154
Tablo 71: <i>D. oleoides</i> subsp. <i>kurdica</i> (DOK) toprak üstü kısımlarının %85 metanollü ekstresinden elde edilen alt ekstrelerin Whittle yöntemi üzerindeki etkileri	155
Tablo 72: DOK-EtOAc alt ekstresinden silika jel kolon kromatografisi ile elde edilen fraksiyonların Whittle yöntemi üzerindeki etkileri	155
Tablo 73: DOK-Fr. (22-39)'dan izole edilen bileşiklerin Whittle yöntemi üzerindeki etkileri	156
Tablo 74: <i>D. oleoides</i> subsp. <i>oleoides</i> (DOO) toprak üstü kısımlarının %85 metanollü ekstresinden elde edilen alt ekstrelerin Whittle yöntemi üzerindeki etkileri	157
Tablo 75: DOO-EtOAc alt ekstresinden silika jel kolon kromatografisi ile elde edilen fraksiyonların Whittle yöntemi üzerindeki etkileri	157
Tablo 76: DOO-Fr. (19-27)'den izole edilen bileşiklerin Whittle yöntemi üzerindeki etkileri	158
Tablo 77: <i>D. oleoides</i> subsp. <i>kurdica</i> ve <i>D. oleoides</i> subsp. <i>oleoides</i> bitkilerinden elde edilen ekstre, alt ekstre, fraksiyon ve bileşiklerin antioksidan aktivite deneyindeki IC50 değerleri	159
Tablo 78: DOK-Fr. (22-39)'dan izole edilen bileşiklerin hyaluronidaz enzim inhibisyonu üzerindeki etkileri	160

Tablo 79: DOO-Fr. (19-27)'den izole edilen bileşiklerin hyaluronidaz enzim inhibisyonu üzerindeki etkileri	161
Tablo 80: DOK- Fr. (22-39)'dan izole edilen bileşiklerin kolajenaz enzim inhibisyonu üzerindeki etkileri	162
Tablo 81: DOO-Fr. (19-27)'den izole edilen bileşiklerin kolajenaz enzim inhibisyonu üzerindeki etkileri	163
Tablo 82: DOK-Fr. (22-39)'dan izole edilen bileşiklerin elastaz enzim inhibisyonu üzerindeki etkileri	164
Tablo 83: DOO-Fr. (19-27)'den izole edilen bileşiklerin elastaz enzim inhibisyonu üzerindeki etkileri	165

Semboller, Kısaltmalar

¹ H-NMR:	(Proton Nuclear Magnetic Resonance) Proton Nükleer Manyetik Rezonans
¹³ C-NMR:	(Carbon Nuclear Magnetic Resonance) Karbon Nükleer Manyetik Rezonans
AEF:	Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbariumu
BAYF:	Biyolojik Aktivite ile Yönlendirilen Fraksiyonlama
<i>n</i> -BuOH:	<i>n</i> -Butanol
CDCl ₃ :	Dötero kloroform
ChC:	(<i>Clostridium histolyticum</i> collagenase enzim) <i>Clostridium histolyticum</i> kolajenaz enzimi
CMC:	(Carboxymethyl cellulose) Karboksimetil selüloz
COSY:	(Correlation Spectroscopy) Korelasyon Spektroskopisi
COX:	(Cyclooxygenase) Siklooksijenaz
DEPT:	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
DMSO:	Dimetil sülfoksit
DOK:	<i>Daphne oleoides</i> subsp. <i>kurdica</i>
DOO:	<i>Daphne oleoides</i> subsp. <i>oleoides</i>
DPPH:	2,2 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
ESMS:	(Electrospray Mass Spectroscopy) Elektrosprey Kütle Spektroskopisi
EtOAc:	Etil asetat
FALGPA:	(N-[3-(2-Furyl)acryloyl]-Leu-Gly-Pro-Ala) N-[3-(2-furil) akrilolil]-Leu-Gly-Pro-Ala
Fr.:	Fraksiyon
FTMS:	(Fourier Transform Mass Spectroscopy) Fourier Transform Kütle Spektroskopisi
GAZI:	Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Herbariumu
GUE:	Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbariumu
HE:	Hematoksilen-Eozin

HNE:	(Human Neutrophil Elastase Enzym) İnsan Nötrofil Elastaz Enzimi
HUB:	Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Herbariumu
HUEF:	Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbariumu
IL:	İnterlökin
IC ₅₀ :	(The Half Maximal Inhibitory Concentration) %50 İnhibisyon Sağlayan Konsantrasyon
iNOS:	(Inducible Nitric Oxide) İndüklenebilir Nitrik Oksit
İTK:	İnce Tabaka Kromatografisi
LDL:	(Low Density Lipoprotein) Düşük Dansiteli Lipoprotein
LO:	(Lipoxygenase) Lipoksijenaz
MAAPVN:	(N-Methoxysuccinyl-Ala-Ala-Pro-Val 4-nitroanilide) N-(metoksisüksinil)-Ala-Ala-Pro-Val 4-nitroanilit
MeOD:	Dötero metanol
MeOH:	Metanol
NO:	(Nitric Oxide) Nitrik Oksit
O.S.H.:	Ortalama Standart Hata
PDGF:	(Platelet-Derived Growth Factor) Trombosit-Kaynaklı Büyüme Faktörü
PG:	Prostaglandin
R-H ₂ O:	Kalan su fazı
RP-HPLC:	(Reverse Phase-High Performance Liquid Chromatography) Ters Faz-Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi
TNF:	(Tumor Necrosis Factor) Tümör Nekroz Faktör
TPA:	(12-O-Tetradecanoylphorbol 13-acetate) 12-O-tetradekanoilforbol-13-asetat
VG:	Van Gieson

1. GİRİŞ

Günümüzde sağlığın korunması ve tedavi amacıyla doğal kaynaklara ve bilhassa bitkisel ilaçlara giderek artan bir ilgi duyulmaktadır. Sentetik ilaçların olası riskleri nedeni ile daha etkin ve daha düşük yan etkiye sahip, insan vücudu tarafından daha kolay metabolize edilebilen ilaç moleküllerinin elde edilmesi önemli beklentiler arasında yer almaktadır. Bu beklentiler doğrultusunda günümüzde halk arasında hastalıkların tedavisinde kullanılan bitkilerin ve bunların ilaç olarak hazırlanma ve uygulanma yöntemlerinin saptanmasına, söz konusu etkilerinin bilimsel olarak kanıtlanması ile etkiden sorumlu bileşenlerinin tespitine yönelik araştırmalar önem kazanmıştır.

Halk ilaçları ile ilgili bilgi birikimi bilimsel olarak iyi değerlendirildiğinde ilgili ülkeler için önemli sayılabilecek ekonomik yararlar sağladığı bilinmektedir. Türkiye’de halk arasında, yara ve yanık tedavisinde kullanılan bitkisel ve hayvansal materyallerden hazırlanmış zengin bir halk ilacı kaydı mevcuttur. Etnobotanik çalışmalarda, *Cichorium intybus* L. bitkisinin külleştirilmiş toprak üstü kısımlarından tereyağı ile¹; yapraklarından ise tereyağı, *Anchusa* türlerinin kökleri ve çam reçinesi ile hazırlanan merhem²; *Cistus creticus* L. toprak üstü kısımları³ ve *Helichrysum graveolens* (Bieb.) Sweet çiçeklerinin ezilmesi ile elde edilen tozun⁴; *Daphne oleoides* L. yaprak ve toprak üstü kısımlarından⁵ ve *Viscum album* L. subsp. *album* yapraklarından hazırlanan lapanın⁶ yara iyileştirici amaçla sıklıkla kullanıldığı tespit edilmiştir.

Ancak bahsi geçen bitkilerin söz konusu etkilerinin bilimsel olarak değerlendirilmesi ve etkili bileşiklerin bulunmasına yönelik herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu alanda yapılacak olan etnofarmakolojik çalışmalar, bu bitkilerin halk arasındaki kullanım amacının doğrulanması, yara iyileştirici etkiye sahip yeni ilaç moleküllerinin tespit edilmesi ve

yapılarının aydınlatılmasının yanı sıra etki şeklinin açıklanması suretiyle halk ilacı bilgilerinin bilimsel olarak değerlendirilmesini sağlayacaktır.

Herhangi bir maddenin fiziksel bir hasar yaratmasıyla deri veya mukoza bütünlüğünün bozulması yara olarak isimlendirilir. Günümüzde yaraların mümkün olduğu kadar herhangi bir sekel ya da iz bırakmadan, düşük maliyet ile hızla iyileşmesini, özellikle yaşam kalitesini olumsuz etkileyen diyabetik ayak yaraları gibi güç kronik sorunların etkin bir şekilde tedavisini sağlayabilecek maddelere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu amaçla gerek sentetik kaynaklı moleküller gerekse de biyolojik kaynaklı doğal ürünlerden yararlanmak üzere kapsamlı bilimsel araştırmalar yürütülmektedir.

Bu çalışmada, Türkiye’de halk arasında yara iyileştirici olarak kullanılan bitkiler arasından 5 cins, 6 takson olmak üzere toplam 6 bitki materyali (*Cichorium intybus*, *Cistus creticus*, *Daphne oleoides* subsp. *kurdica*, *Daphne oleoides* subsp. *oleoides*, *Helichrysum graveolens* ve *Viscum album* subsp. *album*) seçilmiş ve bu materyallerden hazırlanan ham ekstreler üzerinde *in vivo* deney modelleri ile yürütülen ön çalışmalarda etkisinin yüksek olduğu tespit edilen *Daphne oleoides* subsp. *kurdica* ve *Daphne oleoides* subsp. *oleoides* materyalleri daha ileri çalışma kapsamına alınmıştır. Seçilen bitkiler üzerinde biyolojik aktivite yönlendirmeli ayırma teknikleri kullanılarak alt ekstreler, fraksiyonlar ve etkiden sorumlu bileşikler elde edilerek yapılarının spektroskopik yöntemler ile tanımlanması ve *in vitro* ve *in vivo* teknikler kullanılarak etki şeklinin aydınlatılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

Bu bölüm üç kısımdan oluşmaktadır;

İlk kısımda *Daphne oleoides* türü ve bu türün ait olduğu familya ve cinse ait genel botanik özelliklerin yanı sıra bitkilerin karakteristik özellikleri ve yayılışları ile ilgili bilgiler verilmektedir.

İkinci kısımda *Daphne* türleri üzerinde yapılan kimyasal ve biyolojik aktivite tarama çalışmaları derlenmiştir.

Üçüncü kısımda yara iyileşmesi ile ilgili bilgiler sunulmuştur.

2.1. BOTANİK BÖLÜM

2.1.1. Thymelaeaceae Familyası

Tek yıllık veya yarı çalimsı ya da sert kabuklu çalılar. Yapraklar basit, düzgün kenarlı, stipulasız. Çiçekler çift veya tek eşeyli, alt durumlu. Periant aktinomorf, tüpsü ya da dar testi şeklinde. Petaller 4 loblu. Stamenler 8, iki serili, perianta yapışık. Ovaryum tek gözlü. Meyve olgunlaşınca açılmayan tipte, tek tohumlu, kuru veya etli⁷.

2.1.1.1. *Daphne* L. Cinsinin Özellikleri

Çalı formunda. Yapraklar almaşık, nadiren karşılıklı dizili, dökülücü veya her dem yeşil. Çiçekler çift eşeyli, alt durumlu. Brakteli veya braktesiz. Periant tüpsü, düşücü ya da yarı kalıcı. Boyuncuk çok kısa ve terminal, başcık küremsi ya da basık. Meyve tek tohumlu, üzüksü nadiren hafifçe sert kabuklu.

Daphne cinsi "Flora of Turkey and The East Eagean Islands" da 7 türü ile kayıtlıdır. Bu türlerin ayırımı için verilen "Tayin Anahtarı" şu şekildedir⁷:

1. Çiçekli dallarda yapraklar yok, düşücü **1. mezereum**
1. Çiçekli dallarda yapraklar var
 2. Çiçek durumu eksensel, saplı
 3. Çiçekler çift (nadiren 3-4), yeşilimsi-sarı; meyveler siyah **2. pontica**
 3. Çiçekler küme halinde, pembe; meyveler kırmızı **3. glomerata**
 2. Çiçek durumu terminal, eksensel ise sapsız
 4. Yapraklar genellikle sık veya seyrek basık tüylü, çiçekler sapsız
 5. Brakte 4-6(-8) mm; çiçekler pembe **4. sericea**
 5. Brakte yok veya çok küçük, 2x1 mm; çiçekler beyaz veya krem-beyaz **5. oleoides**

4. Yapraklar tüysüz; çiçekler saplı

6.Gövdenin yapraklı kısımları gri kısa tüylü; yapraklar 2.5-5 mm genişliğinde **6. gnidioides**

6.Gövdenin yapraklı kısımları kızıl-kahverengi, tüysüz; yapraklar 5-9 mm genişliğinde **7. mucronata**

2.1.1.2. *Daphne oleoides* Schreber Bitkisinin Botanik Özellikleri

15-60 cm boylarında dik duruşlu, yoğun dallı çalılar, Genç sürgünler kızıl-kahverengi, sık veya seyrek tüylü, yaşlı dallar tüysüz, gövde gri. Yapraklar sapsız ya da çok kısa saplı 1-2 mm, derimsi, ters yumurtamsı, ters mızraksı veya eliptik, 10-25(-30) x (3-)4-6(-9) mm, sivri-, küt uçlu veya mukrolu, mavimsi yeşil, kenarları kalınlaşmış; genç yapraklar sık veya seyrek beyaz tüylü. Çiçekler sapsız, hoş kokulu, uçlarda 3-6'lı kümeler halinde. Brakte yok veya çok küçük, üçgenimsi-yumurtamsı, 2 x 1 mm, akut. Periant 10-16 mm, beyaz veya kremi, loblar sivri uçlu. Ovaryum tüylü. Meyve ovoid, 4-6 mm, turuncu-kırmızı.

Bu tür tüylenme durumu, yaprak ve çiçek boyutları bakımından oldukça değişkenlik gösteren bir türdür.

Ülkemizde *Daphne oleoides*'in iki alt türü yetişmektedir. Bu alt türlerin ayırımı için verilen "Tayin Anahtarı" şu şekildedir⁷:

1. Periant lobları dar üçgensel ya da mızraksı, (3-)4-8 x 0.5-1.5 mm

subsp. oleoides

1. Periant lobları yumurtamsı ya da üçgensel-yumurtamsı, (2-)3-5 x 1.5-3.5 mm

subsp. kurdica

2.1.1.3. *Daphne oleoides* subsp. *oleoides*



Resim 1: *Daphne oleoides* subsp. *oleoides*

Çiçeklenme: 5-8. aylar

Habitat: Kireç taşlı yamaçlar ve hareketli taşlı alanlar, meşe ve Karaçam ormanları, geven ve kardikenli stepleri, ırmak ve yol kenarları.

Yükseklik: 1050-3200 m

Türkiye'deki yayılışı: Marmara bölgesi, Karadeniz bölgesi, İç Anadolu bölgesi, Akdeniz bölgesi

Genel yayılışı: Güney Avrupa, Kuzeybatı Afrika, Lübnan

***Daphne oleoides* subsp. *oleoides*' in Sinonimleri**

D. buxifolia Vahl, Symb. 1:29 (1790)

D. alpina Sm. in Sibth & Sm., Prodr. Fl. Graec. 1:261 (1809) non L. (1753)

D. glandulosa Bertol., Amoen. Ital. 356 (1819)

D. jasminea Griseb., Spic. 2:321 (1846) non Sm. (1809)

D. oleoides Schreber var. *brachyloba* Meissner in DC., Prodr. 14:534 (1857)

D. oleoides Schreber var. *glandulosa* (Bertol.) Keissler f. *puberula* (Jaub. & Spach) Keissler in Bot. Jahrb. 25:49 (1898). Ic: Sibth. & Sm., Fl. Graeca 4: t. 357 (1824); Brickell & Mathew, *Daphne*, p. 14, t. (1976)

2.1.1.4. *Daphne oleoides* subsp. *kurdica* (Bornm.) Bornm.



Resim 2: *Daphne oleoides* subsp. *kurdica*

Çiçeklenme: 6-9. aylar

Habitat: Volkanik kayalar, kireç taşlı yamaçlar, yaylalar, meralar ve yol kenarları.

Yükseklik: 760-3000 m

Türkiye'deki yayılışı: Marmara bölgesi, Karadeniz bölgesi, İç Anadolu bölgesi, Doğu Anadolu Bölgesi, Akdeniz bölgesi

Genel yayılışı: Güney Kafkasya ve Batı İran

***Daphne oleoides* subsp. *kurdica*' nın Sinonimleri**

D. buxifolia Ledeb., Fl. Ross. 3:458 (1850) p.p. non Vahl (1970)

D. oleoides sensu Ledeb., op. cit. 549 (1850) non Schreber (1766)

D. oleoides Schreber var. *kurdica* Bornm. in Beith. Bot. Centr. 24:89 (1909)

D. oleoides Schreber var. *brachyloba sensu* Sosn. in Fl. Cauc. Crit. 3(9):265 (1910), non Meissner (1857)

D. kurdica Bornm. (Bornm.) op. cit. 33:195 (1915)

D. transcaucasica Pobed. in Not. Syst. (Leningrad) 12:136 (1949)

Tablo 1: Kaynak verilere göre *D. oleoides*'in Türkiye'deki yayılışı

Kare	Toplandığı yer	Kayıt bilgileri	Herbarium no	Kaynak no
A2	Bursa, Uludağ, 2200m	Rech. 15371a&b	-	7
A3	Bolu, Aladağlar, Kartalkaya Tepesi, 2100m	D. 37414	-	7
A4	Kastamonu, Ilgaz Dağı, Kastamonu'nun 35km güneyi, 1770m	Edmonson 605	-	7
A4	Kastamonu, İhsangazi, Kızıleller Köyü doğusu, 1700-2050m	Z. Aytaç	3462 (GAZI)!	-
A4	Ankara, İdris Dağı, Adilahmet Köyü üstü, 1700m	M. Koyuncu	16401 (AEF)!	-
A4	Ankara, Kızılcahamam, Işıkdığı, 1500m	M. Koyuncu F. Demircioğlu S. Başaran Ü. Kol F. İlisulu	5666 (AEF)!	-
A5	Amasya, Akdağ, 2000m	A. Koçak M. Vural	4401 (GAZI)!	-
A6	Sivas, Yıldız Dağı, 2000m	Sorger 69-58-104	-	7
A7	Gümüşhane, Kale'ye 10km kala, 1500m	It. Leyd. 1959:1696	-	7
A7	Gümüşhane-Bayburt yolu, 1650m	Apold et al.	-	7
A8	Erzurum, Oltu, 1350-1450m	Ş. Yıldırımli	14700 (HUB)!	-
A8	Erzurum, İspir, 1800m	Barclay 706	-	7
A9	Kars, Kağızman, Denizgözü Köyü, 1500m	O. Güneş B. Yıldız	14699 (HUB)!	-
B1	Balıkesir, Kaz Dağı	Sint 1883:458	-	7
B1	Balıkesir, Edremit, Kozdağ	A. Pamukçuoğlu Ş. Yıldırımli	14729 (HUB)!	-
B2	Kütahya, Murat Dağı, Gediz'in üstü, 1600m	D. 36734	-	7
B3	Isparta, Barla Dağı, 2250m	Khan ve ark., 372	-	7
B3	Isparta, Şarkikaraağaç, orman evleri park girişi 1100-1250m	B. Mutlu	14711 (HUB)!	-
B3	Isparta, Şarkikaraağaç, Kızıldağ Milli Parkı, 1700m	H. Altınözlü	2340 (HUB)!	-
B3	Isparta, Balıktaş Tepe- Sülekkır Tepe arası, 1630m	H. Altınözlü	2798 (HUB)!	-
B3	Afyon, Şuhut, Başören Köyü, Çakmaktepe geçidi, yol kenarları, 1901m	A. Sezgin N. Ezer	04128 (HUEF)!	-
B3	Afyon, Çay-Yalvaç dağ yolu, korunmuş orman, 1390m	Z. Aytaç	6385 (GAZI)!	-
B4	Konya, Kadınhanı, Ladik, 1080m	A. Huber-Morath	14246 (HUB)!	-
B4	Konya, Ladik'ten 3km sonra, bodur meşe ormanı	H. Birand	137 (AEF)!	-
B5	Niğde, Hasan Dağı, Taşpınar'ın aşağısı, 1900m	D. 19012	-	7
B5	Kayseri, Erciyes Dağı, 1500-3000m	Penther Zederbauer	-	7
B5	Yahyalı, Aladağ, Çinko maden yatağı civarı, 2500-2600m	N. Demirkuş H. Sümbül	14714 (HUB)!	-
B6	Sivas, Gürün-Sivas arası, 1400m	Stn&Hend. 5742	-	7
B6	Sivas, Gökpınar arası, 1600m	Sorger 71-46-76	-	7
B6	Sivas-Malatya arası, kayalıklarda, 1620m	H. Birand K. Karamanoğlu	125 (AEF)!	-

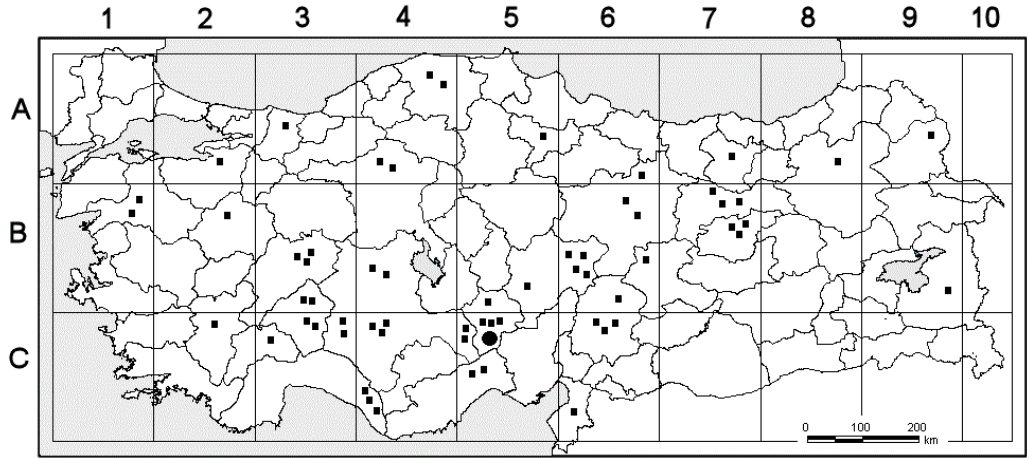
Tablo 1 (devam): Kaynak verilere göre *D. oleoides*'in Türkiye'deki yayılışı

Kare	Toplandığı yer	Kayıt bilgileri	Herbarium no	Kaynak no
B6	Malatya, Doğanşehir, Dedeyazı Köyü, Keşiş Dağı, kalker tabanlı alpin step, 1800-2200m	H. Peşmen Ş. Yıldırım	14728 (HUB)!	-
B6	Kayseri, Binboğa Dağı, Sarız, Yalak, 1500-1700m	Z. Aytaç H. Duman	14710 (HUB)!	-
B6	Kayseri, Pınarbaşı, Kaynar, Hınzır Dağının güneyi, yamaçlar, 1900m	Ş. Yıldırım N. Çelik	23336 (AEF)!	-
B6	Kayseri, Pınarbaşı, Kaynar, Hınzır Dağı, 1750m	N. Çelik	1061 (AEF)!	-
B6	Kayseri, Akkışla, Ortaköy üzeri, Hınzır Dağı, <i>Quercus</i> ormanı üstü, yamaçlar, 1850m	Ş. Yıldırım N. Çelik	1143 (AEF)!	-
B6	Kayseri, Binboğa Dağı, Sarız, Yalak, step, 1500-1700m	H. Duman Z. Aytaç	4354 (GAZI)!	-
B6	Kayseri, Binboğa Dağı, Sarız, Yalak, Tekke kayası, step, 1600-2000m	H. Duman Z. Aytaç	5132 (GAZI)!	-
B6	Kayseri, Akkışla, Ganişeyh üzeri, Hınzır Dağı, 2000m	Ş. Yıldırım N. Çelik	14719 (HUB)!	-
B6	Kayseri, Pınarbaşı, Malak üzeri, Hınzır Dağı, Çifte Tepe, 1900m	Ş. Yıldırım N. Çelik	14720 (HUB)!	-
B6	Kahramanmaraş, Göksun, Ericek, Berit Dağı, Arapçukuru mevkii, 2200-2600m	Z. Aytaç H. Duman	14701 (HUB)!	-
B7	Erzincan, Sipikör Dağı	Sint. 1889:1271	-	7
B7	Erzincan, Spikör Dağı, 1676m	Balls 1269A	-	7
B7	Erzincan, Kemah, Maksutuşağı Köyü üstü, Munzur Dağları, 1300-1700m	Ş. Yıldırım	14727 (HUB)!	-
B7	Erzincan, Kemaliye, Sarıçiçek, Subatan step, 1885m	M.U. Özbek	2068 (GAZI)!	-
B7	Erzincan, Tepecik Köyü, Munzur Dağları, 2100m	M. Koyuncu	3968 (AEF)!	-
B7	Tunceli, Ovacık, Karagöl Vadisi, kaya ve taşlı alanlar, 1350m	Ş. Yıldırım	14724 (HUB)!	-
B7	Tunceli, Ovacık, Karagöl Vadisi, 2000m	Ş. Yıldırım	14704 (HUB)!	-
B7	Tunceli, Ovacık, Dilap Yaylası, 2250-2500m	Ş. Yıldırım	14706 (HUB)!	-
B8	Erzurum, Palandöken Dağı, 2900m	Ehrendorfer et al. 787-114-18a	-	7
B9	Bitlis, Reşadiye'ye 4km kala, 1800m	D. 46071	-	7
B9	Van-Bahçesaray, 2600m, kayalık yamaçlar	A. Güner H. Karaca	14702 (HUB)!	-
C2	Denizli, Babadağ, 1650-2350m	D. 249	-	7
C3	Burdur, Antalya'ya 20km kala, 1300m	Dudley (D.35672)	-	7
C3	Konya, Beyşehir, Kurucuova, 1300m	H. Altınözlü	3097 (HUB)!	-
C3	Konya-Beyşehir arası, 1500m	K. Karamanoğlu K. Baykal G. Sezik M. Koyuncu	1603 (AEF)!	-
C3	Konya, -Beyşehir yolu, Beyşehir'e 58km kala	A. Çubukçu E. Yeşilada A. Başaran H. Koçak	78001 (HUEF)!	-
C3	Isparta, Eğirdir, Yaka köyü, Çamova mevkii üstü, 1600-1980m	H. Peşmen A. Güner	14715 (HUB)!	-

Tablo 1 (devam): Kaynak verilere göre *D. oleoides*'in Türkiye'deki yayılışı

Kare	Toplandığı yer	Kayıt bilgileri	Herbaryum no	Kaynak no
C3	Isparta, Şarkikaraağaç, Pınargözü, 1600-1700m	H. Peşmen A. Güner	14698 (HUB)!	-
C4	Antalya-Konya, 1370m	Spitzenberger 13	-	7
C4	Antalya, Alanya, Çamlıca Köyü, Tanruda Mahallesi, Çiğdem Dağı, 1920m	A.A. Dönmez B. Mutlu T. Ağar	13453 (HUB)!	-
C4	Antalya, Gazipaşa, Çobanlar Köyü yaylası, 1800-2000m	H. Sümbül Ş. Yıldırım	14723 (HUB)!	-
C4	Konya, Taşkent, dere boyunca, Kulakbendi-Ditren, Aktaş, Ekşielma Yaylası mevki	Ş. Yıldırım	14707 (HUB)!	-
C4	Konya, Ermenek, Belpınarı mevki, 1880m	A.M.Özkan G. Yılmaz	23635 (AEF)!	-
C4	Konya, Ermenek, Gülnar yolu, Zeyve Vadisi, Yalındal Köyü	A.M.Özkan G. Yılmaz	23636 (AEF)!	-
C4	Konya, Seydişehir, Madenli Köyü, Yalıncağ Tepe, 1720m	B. Şarer M. Vural	3421 (GAZI)!	-
C5	Niğde, Aladağlar, 2440-3200m	Wood&Gibson 216	-	7
C5	Niğde, Aladağlar, 2850m	Findlay 230	-	7
C5	Niğde, Çukurbağ mevki, Aladağlar, 1950m	Z. Aytaç N. Adıgüzel	7204 (GAZI)!	-
C5	Niğde, Ulukışla, Çiftehane, Horozköy, Kızıltepe, Geven çukuru çevresi, taşlık ve kayalık, 2500-2750m	Ş. Yıldırım	14725 (HUB)!	-
C5	Konya, Ereğli, Aydos Dağı	S. Erik	14693 (HUB)!	-
C5	Konya, Ereğli, Aydos Dağı, Delimahmutlu-Çalıklar arası, 1500m	S. Erik H. Peşmen	14716 (HUB)!	-
C5	Konya, Ereğli, Aydos Dağı, kayalık, 2300m	S. Erik	14722 (HUB)!	-
C5	İçel, Gözne, Ayvagediği Köyü aşağısı, 1100m	Ş. Yıldırım	14726 (HUB)!	-
C5	İçel, Tirtar Köyü üstü, 2200m	M.K. Sakar	98032 (HUEF)!	-
C6	Maraş, Ağca Dağı, 1700m	Sorger 73-15-76	-	7
C6	Hatay, Nur Dağı, Yarpuz'un 16km güney batısı, 2120m	Buttler&Erben 178844	-	7
C6	Kahramanmaraş, Engizek Dağı, Höyüktepe sırtları, <i>Astragalus stebi</i> ve taşlık alanlar, 1900-2000m	H. Duman	2260 (GAZI)!	-
C6	Kahramanmaraş, Engizek Dağı, Körsulak-Küçükyeşil arası, taşlık alanlar, 2300-2400m	H. Duman	4253 (GAZI)!	-
C6	Kahramanmaraş, Çardak, Berit Dağı, batı yamaç, 2000-2500m	B. Yıldız H. Peşmen	14697 (HUB)!	-
C6	Amanos, <i>Pinus nigra</i> ormanı, 1500-1680m	A. Huber-Morath K. Karamanoğlu	10901 (AEF)!	-

AEF: Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu; GAZI: Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Herbaryumu; HUB: Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Herbaryumu; HUEF: Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu; (!): Tarafımızdan incelenen herbaryum örneklerini göstermektedir.



Şekil 1: *D. oleoides*'in Türkiye'deki yayılışı

■ : Bitkilerin “Flora of Turkey and The East Aegean Islands” ve incelenen herbaryum kayıtlarındaki toplama yerleri

●: Çalışma materyallerimizin toplama yeri

2.1.1.5. *Daphne* Türlerine Verilen İsimler

Türkçe: Yırcık³, ezenteri⁵, çoban süpürgesi⁶, tasma⁸, sırımağu, sırımbağı, kurtbağı, mezeryon, dafne, tavşan elması, dulaptal otu, develik, havaza, kirkat, göğce, gökçe, yaygıç, yaygıç gökçesi, yazkış gökçek, tavuk çiçeği⁹ havadana, mezeriyon, yabancı taflan¹⁰.

Diğer diller: Daphne, Dwarf Bay, Camolea, Spurge Flax, Spurge Laurel, Spurge Olive, Wild Pepper¹¹, Zu Shi Ma¹²; Ruixanggen, Ai Tuotuo, Yuan Hua¹³; Jin yao dai, Mao-Rui-Xiang¹⁴.

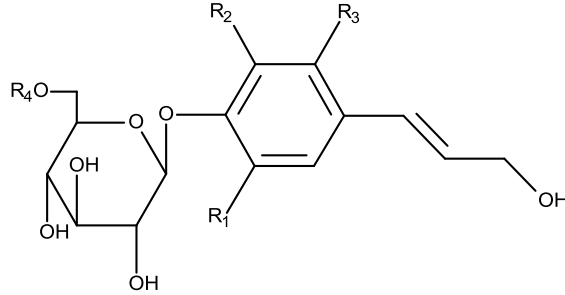
2.2. KİMYASAL BÖLÜM

Bu bölümde *Daphne* türlerinin kimyasal bileşimi üzerinde yapılan çalışmalar, kimyasal gruplarına göre sınıflandırılarak incelenmiştir.

2.2.1. *Daphne* Türleri Üzerinde Yapılan Fitokimyasal Çalışmalar

Yapılan çalışmalar *Daphne* türlerinin başlıca basit fenoller, flavonoidler, kumarinler, lignanlar ve terpenik bileşikler bakımından zengin olduğunu göstermiştir. *Daphne* türleri üzerinde yapılan fitokimyasal çalışmalar madde gruplarına göre sınıflandırılarak tablolar halinde sunulmuştur (Tablo 2-32).

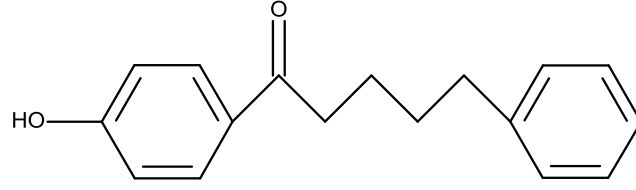
2.2.1.1. Fenilpropanoitler



Tablo 2: *Daphne* türlerinden izole edilen basit fenoller

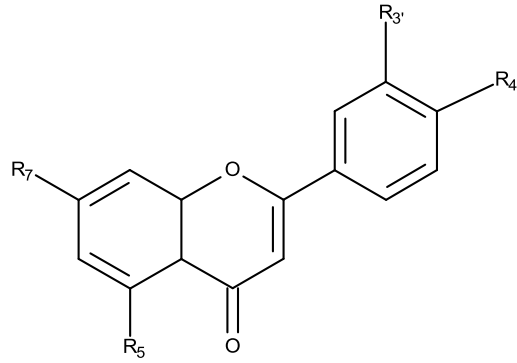
Bileşik	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	Tür adı	Kaynak
Dafnenozit	H	H	OMe	H		
Koniferin	H	OMe	H	H	<i>oleoides</i>	15
Koniferinozit	H	OMe	H	Glu		
Siringin	OMe	OMe	H	H	<i>arisanensis</i> <i>oleoides</i>	16 15
Siringinozit	OMe	OMe	H	Glu	<i>arisanensis</i> <i>oleoides</i>	16 15

Glu: β -Glukoz



Tablo 3: *Daphne* türlerinden izole edilen basit fenoller

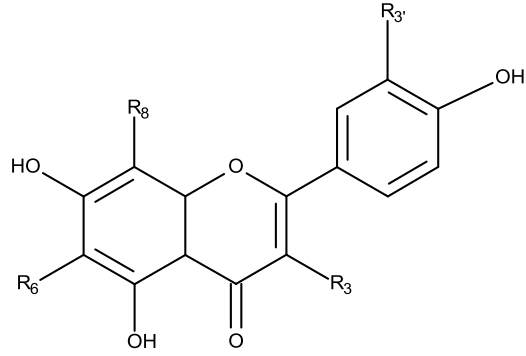
Bileşik	Tür adı	Kaynak
Dafnolon	<i>giraldii</i>	17
	<i>odora</i>	18



Tablo 4: *Daphne* türlerinden izole edilen flavonoidler

Bileşik	R ₅	R ₇	R _{3'}	R _{4'}	Tür adı	Kaynak
Apigenin	OH	OH	H	OH	<i>genkwa</i>	19
					<i>gnidioides</i>	20
					<i>gnidium</i>	21
					<i>odora</i>	22
					<i>sericea</i>	23
Apigenin 7-glukozit	OH	OGlu	H	OH	<i>gnidioides</i>	20
					<i>gnidium</i>	21
					<i>sericea</i>	23
Genkvanin	OH	OMe	H	OH	<i>bholua</i>	24
					<i>genkwa</i>	25
					<i>gnidium</i>	21
Glukogenkvanin	OGlu	OMe	H	OH	<i>giraldii</i>	26
Luteolin	OH	OH	OH	OH	<i>bholua</i>	24
					<i>genkwa</i>	27
					<i>odora</i>	28
Luteolin 4'-glukozit	OH	OH	OH	OGlu	<i>gnidioides</i>	20
Luteolin 7-glukozit	OH	OGlu	OH	OH	<i>gnidioides</i>	20
					<i>oleoides</i>	29
Luteolin-7-metil eter	OH	OMe	OH	OH	<i>sericea</i>	23
Luteolin-7-metil eter-5-β-D-glukozit	OGlu	OMe	OH	OH	<i>giraldii</i>	30
					<i>sericea</i>	23
Luteolin-3',7-dimetil eter-5-β-D-glukozit	OGlu	OMe	OMe	OH	<i>sericea</i>	23
Yuankanin	OGlu-Ksil	OMe	H	OH	<i>genkwa</i>	31
					<i>giraldii</i>	26
					<i>gnidium</i>	32

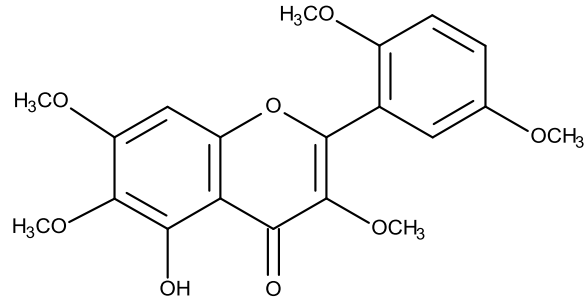
Glu: β-Glukoz, Ksil: Ksiloz



Tablo 5: *Daphne* türlerinden izole edilen flavonoidler

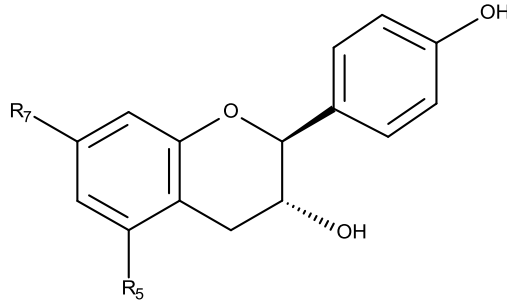
Bileşik	R ₃	R ₆	R ₈	R _{3'}	Tür adı	Kaynak
Kersetin 3-glukozit	Oglu	H	H	OH	<i>gnidioides</i>	20
İzoorientin	H	Glu	H	OH	<i>gnidium</i>	33
İzoviteksin	H	Oglu	H	H	<i>gnidioides</i> <i>sericea</i>	20 23
Orientin	H	H	Glu	OH	<i>gnidium</i>	33
Visenin 2	H	Glu	Glu	H	<i>gnidioides</i>	20

Glu: β-Glukoz



Tablo 6: *Daphne* türlerinden izole edilen flavonoidler

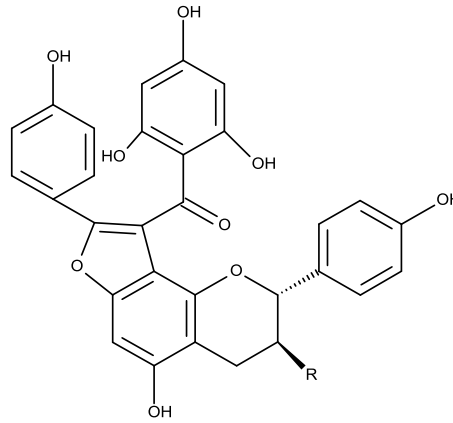
Bileşik	Tür adı	Kaynak
Grantioidin	<i>oleoides</i>	13



Tablo 7: *Daphne* türlerinden izole edilen flavonoidler

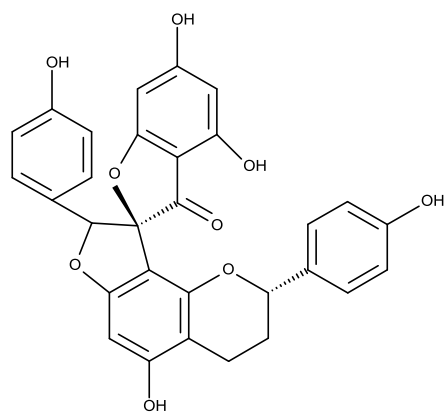
Bileşik	R ₅	R ₇	Tür adı	Kaynak
Afzelesin	OH	OH	<i>giraldii</i>	34
5-O-metilafzelesin	OMe	OH		
5-metoksi-7-β-D-glukopiranozil(-)-afzelesin	OMe	OGlu	<i>giraldii</i>	30

Glu: β-Gluko

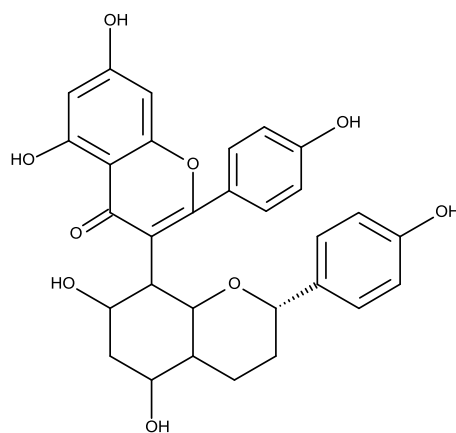


Tablo 8: *Daphne* türlerinden izole edilen flavanlar

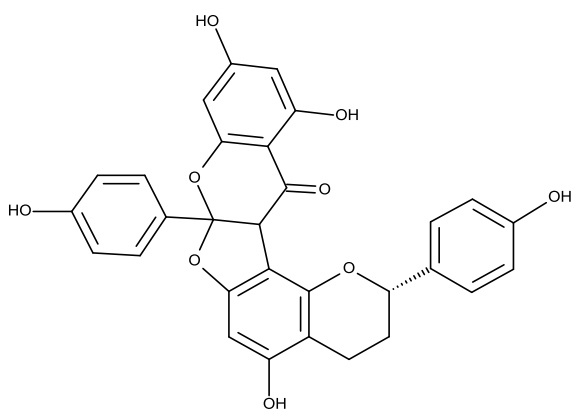
Bileşik	R	Tür adı	Kaynak
Dafnodorin A	H	<i>acutiloba</i>	35
		<i>giraldii</i>	26
		<i>odora</i>	22
Dafnodorin B	OH	<i>genkwa</i>	36
		<i>giraldii</i>	26
		<i>odora</i>	22



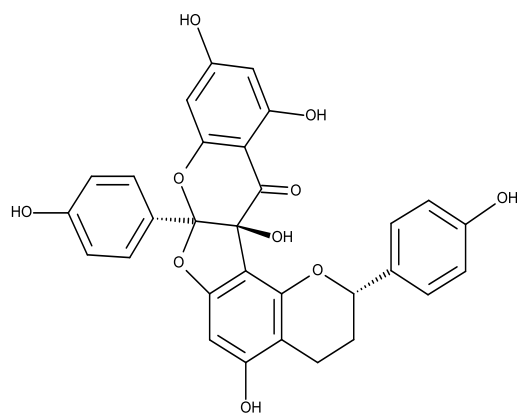
1



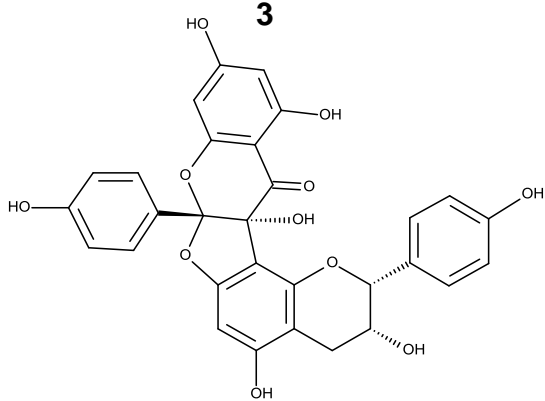
2



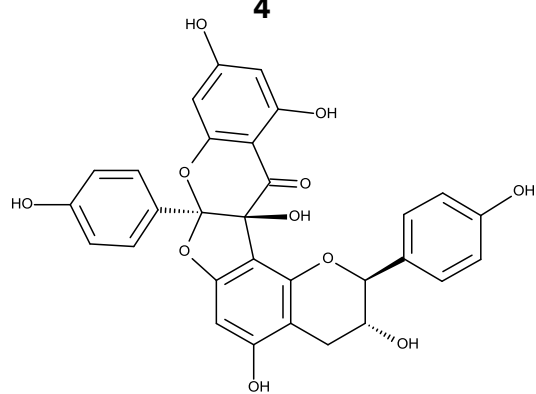
3



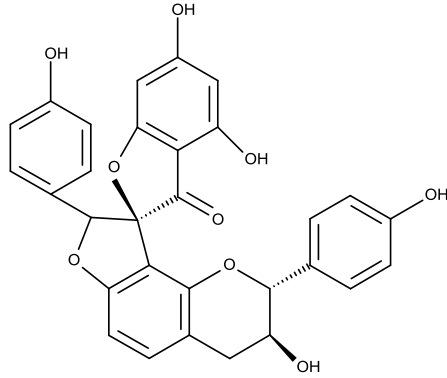
4



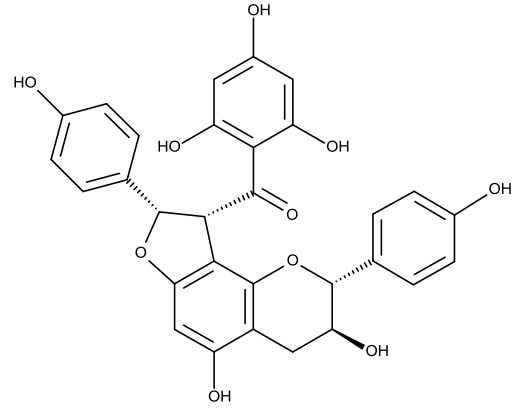
5



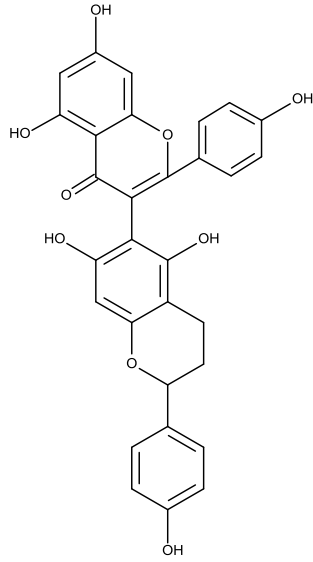
6



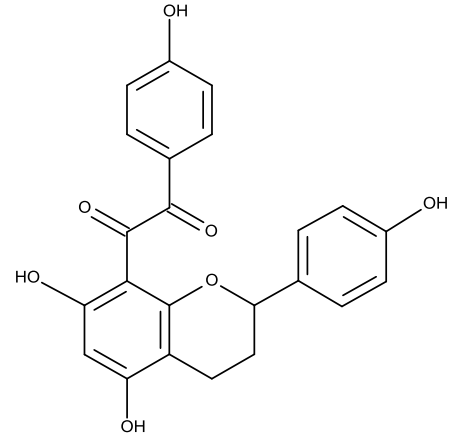
7



8



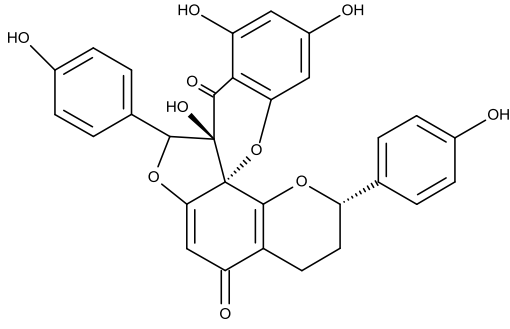
9



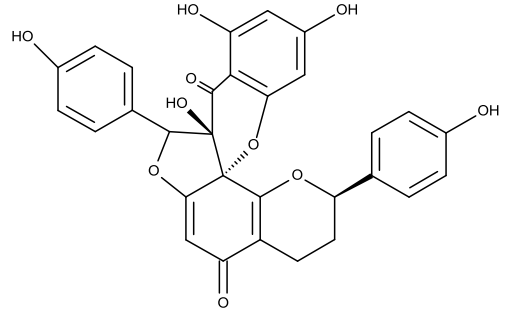
10

Tablo 9: *Daphne* türlerinden izole edilen flavanlar

Bileşik	Tür adı	Kaynak
Dafnodorin C (1)		22
Dafnodorin D (2)		37
Dafnodorin E-F (3-4)	<i>odora</i>	38
Dafnodorin G-I (5-7)		39
Dafnodorin J-L (8-10)		40



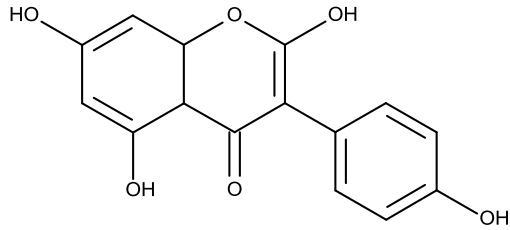
1



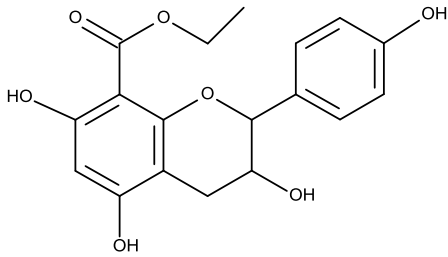
2

Tablo 10: *Daphne* türlerinden izole edilen flavanlar

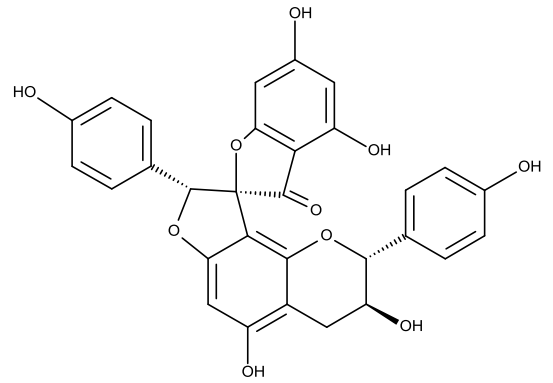
Bileşik	Tür adı	Kaynak
Dafnodorin M (1)	<i>acutiloba</i>	35
Dafnodorin N (2)		



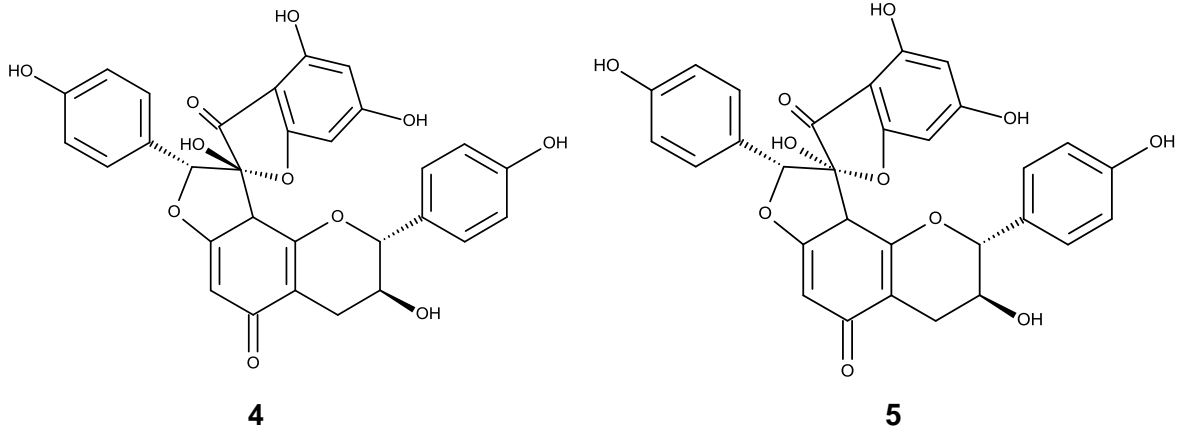
1



2

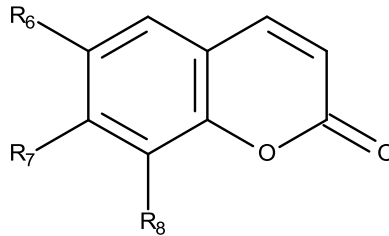


3



Tablo 11: *Daphne* türlerinden izole edilen flavanoller

Bileşik	Tür adı	Kaynak
2,5,7,4'-tetrahidroksiizoflavanol (1)	<i>gnidium</i>	33
5, 7, 4'-trihidroksi-8-etoksikarbonil flavanol (2)	<i>genkwa</i>	41
Genkvanol A (3)		42
Genkvanol B (4)	<i>genkwa</i>	43
Genkvanol C (5)		44



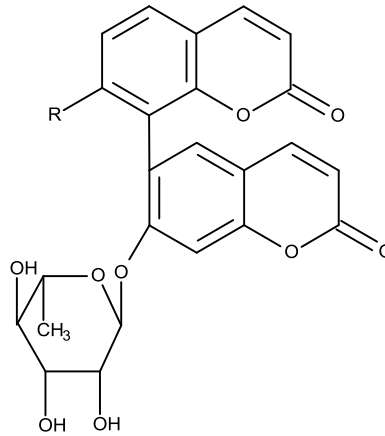
Tablo 12: *Daphne* türlerinden izole edilen kumarinler

Bileşik	R ₆	R ₇	R ₈	Tür adı	Kaynak
Dafnetin	H	OH	OH	<i>alboviana</i>	45
				<i>alpina</i>	45
				<i>cannabina</i>	46
				<i>cneorum</i>	45
				<i>gnidioides</i>	20
				<i>gnidium</i>	45
				<i>koreana</i>	47
				<i>laureola</i>	45
				<i>mezereum</i>	48
				<i>odora</i>	49
				<i>oleoides</i>	50
				<i>pontica</i>	51
				<i>pseudosericea</i>	45
<i>sophia</i>	45				
<i>tangutica</i>	52				

Tablo 12 (devam): *Daphne* türlerinden izole edilen kumarinler

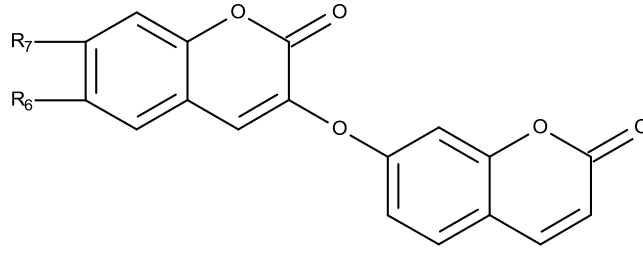
Bileşik	R ₆	R ₇	R ₈	Tür adı	Kaynak
Dafnetin-8-O-β-D-glukopiranozit	H	OH	OGlu	<i>acuminata</i>	53
				<i>arisanensis</i>	16
				<i>gnidioides</i>	20
				<i>oleoides</i>	13
Dafnin	H	OGlu	OH	<i>acuminata</i>	54
				<i>alboviana</i>	45
				<i>alpina</i>	45
				<i>cannabina</i>	46
				<i>cneorum</i>	45
				<i>glomerata</i>	45
				<i>gnidioides</i>	20
				<i>gnidium</i>	45
				<i>julia</i>	45
				<i>kiusiana</i>	45
				<i>oleoides</i>	55
				<i>pontica</i>	51
				<i>pseudosericea</i>	45
<i>sophia</i>	45				
Dafnezit	H	OGlu	OGlu	<i>arisanensis</i>	16
				<i>giraldii</i>	26
				<i>oleoides</i>	55
8-O-β-D-glukopiranozil-(1-6)-β-D-glukopiranozit	H	OH	OGlu-Glu	<i>giraldii</i>	12
Asetil umbelliferon	H	OAc	H	<i>gnidioides</i>	20
Eskulin	OGlu	OH	H		
Umbelliferon	H	OH	H	<i>alboviana</i>	45
				<i>alpina</i>	45
				<i>cneorum</i>	45
				<i>glomerata</i>	45
				<i>mezereum</i>	48
				<i>mucronata</i>	56
				<i>oleoides</i>	57
				<i>odora</i>	28
				<i>pseudosericea</i>	45
				<i>ea</i>	45
<i>sophia</i>	45				

Glu:β-Glukoz



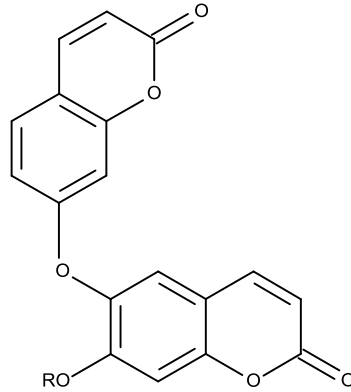
Tablo 13: *Daphne* türlerinden izole edilen bis-kumarinler

Bileşik	R	Tür adı	Kaynak
Dafvazirin	OH	<i>oleoides</i>	58
Metoksidadafvazirin	OMe		



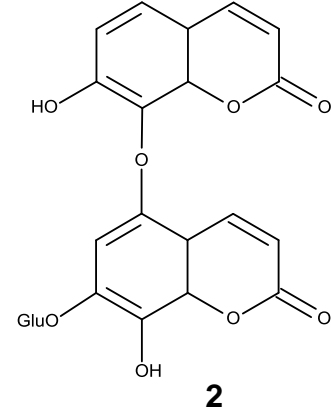
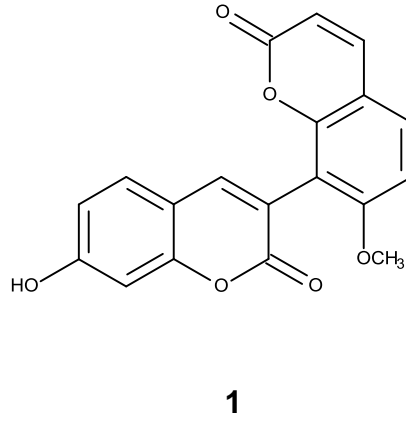
Tablo 14: *Daphne* türlerinden izole edilen bis-kumarinler

Bileşik	R ₆	R ₇	Tür adı	Kaynak
Dafnoretin	OMe	OH	<i>cannabina</i>	46
			<i>giraldii</i>	26
			<i>glomerata</i>	45
			<i>gnidioides</i>	20
			<i>mezereum</i>	48
			<i>mucronata</i>	56
			<i>tangutica</i>	59
Dafnorin	OMe	OGlu	<i>mezereum</i>	48
Demetildafnoretin	OH	OH	<i>gnidioides</i>	20
Demetildafnoretin-7-O-glukozit	OH	OGlu	<i>oleoides</i>	60
Glu:β-Glukoz				



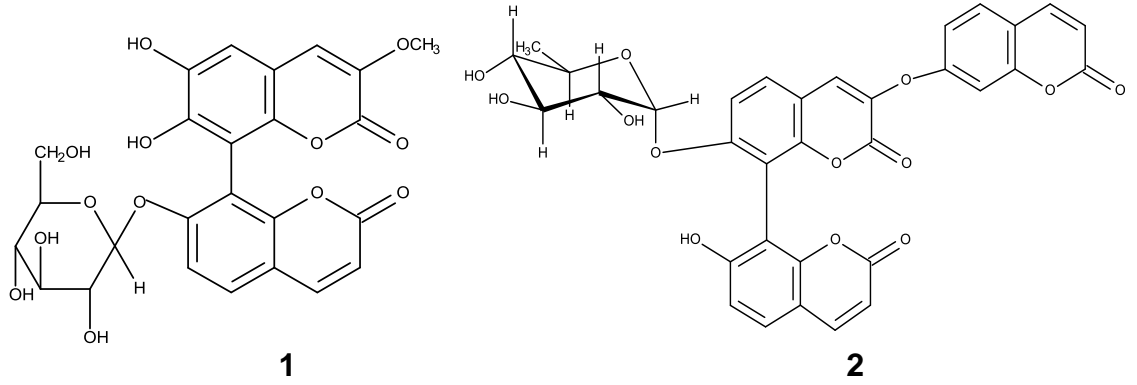
Tablo 15: *Daphne* türlerinden izole edilen bis-kumarinler

Bileşik	R	Tür adı	Kaynak
Dafnogitin	H	<i>giraldii</i>	34
Lasiosefalin	Me		



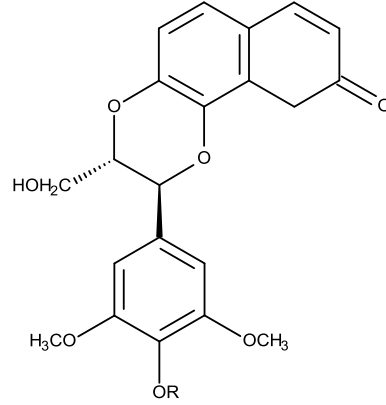
Tablo 16: *Daphne* türlerinden izole edilen bis-kumarinler

Bileşik	Tür adı	Kaynak
Dafnogirin (1)	<i>giraldii</i>	34
Dafnolin (2)		17



Tablo 17: *Daphne* türlerinden izole edilen bis- ve tri-kumarinler

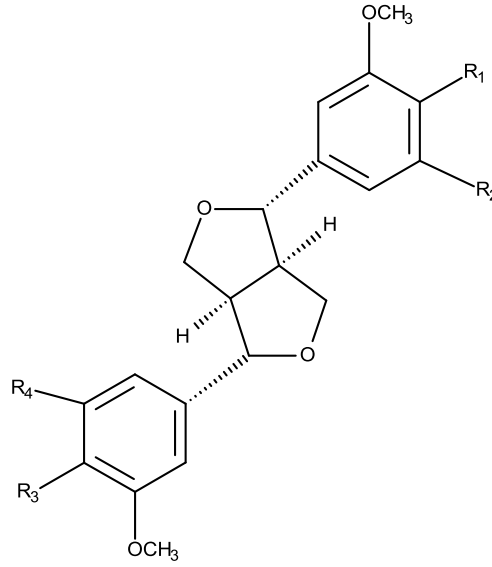
Bileşik	Tür adı	Kaynak
Glusamanin (1)	<i>oleoides</i>	61
Triumbellin (2)	<i>mezereum</i>	48



Tablo 18: *Daphne* türlerinden izole edilen lignanlar

Bileşik	R	Tür adı	Kaynak
Dafnetisin	H	<i>oleoides</i> <i>mezereum</i> <i>tangutica</i>	62 48 63
Dafnetisin-4''-O- α -D-glukopiranozit	Glu	<i>oleoides</i>	62

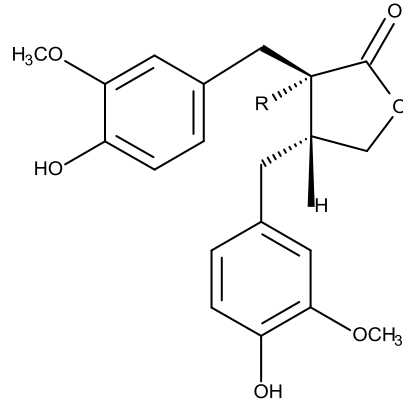
Glu: α -Glukoz



Tablo 19: *Daphne* türlerinden izole edilen lignanlar

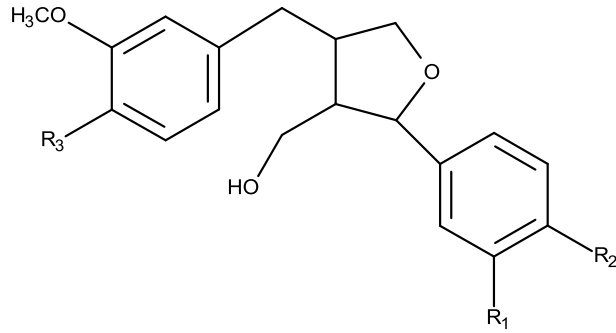
Bileşik	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	Tür adı	Kaynak
(1 <i>R</i> ,2 <i>S</i> ,5 <i>R</i> ,6 <i>S</i>)-2,6-bis(3-etil-4-hidroksi-5-metoksifenil)-3,7-dioksabisiklo[3.3.0]oktan	OH	Et	OH	Et	<i>oleoides</i>	64
Medioresinol	OH	H	OH	OMe		
Pinioresinol	OH	H	OH	H	<i>odora</i>	65
Pinioresinol-4'-O- β -D-glukopiranozit	OH	H	OGlu	H	<i>giraldii</i>	66
Pinioresinol-di-O-glukozit	OGlu	H	OH	H	<i>pseudo-mezereum</i>	67
Siringaresinol	OH	OMe	OH	OMe	<i>giraldii</i> <i>mezereum</i> <i>tangutica</i>	26 48 59
Siringaresinol-4'-O- β -D-glukopiranozit	OH	OMe	OGlu	OMe	<i>tangutica</i>	68
Siringaresinol-4,4'-O-bis- β -D-glukopiranozit	OGlu	OMe	OGlu	OMe	<i>giraldii</i>	17

Glu: β -Glukoz



Tablo 20: *Daphne* türlerinden izole edilen lignanlar

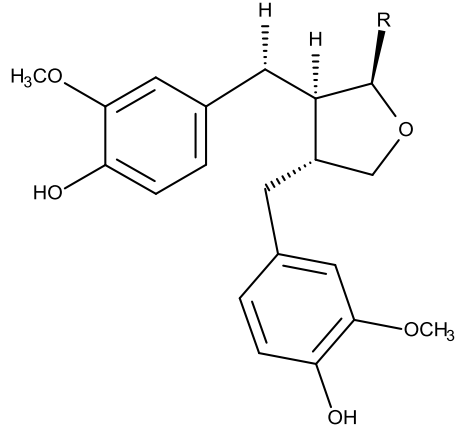
Bileşik	R	Tür adı	Kaynak
Matairesinol	H	<i>odora</i> <i>oleoides</i>	65 57
Vikstromol	OH	<i>odora</i>	65



Tablo 21: *Daphne* türlerinden izole edilen lignanlar

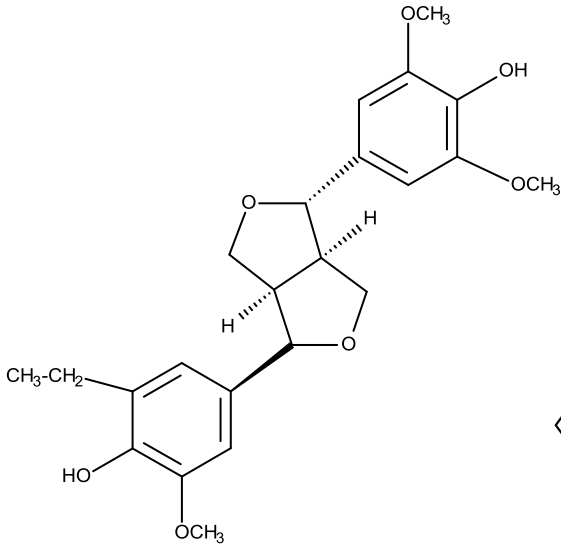
Bileşik	R ₁	R ₂	R ₃	Tür adı	Kaynak
4-(β-D-Glukopiranozil)-9'-hidroksi-3,3',4'-trimetoksi-7,9-epoksilignan	OMe	OMe	Oglu		64
Dafneligin	OMe	OMe	OH	<i>oleoides</i>	69
Taksiresinol	OH	OH	OH		
Larisiresinol	OH	OMe	OH	<i>mezereum</i> <i>oleoides</i>	48 69
Larisiresinol-4-O-β-D-glukopiranozit	OH	OMe	Oglu	<i>giraldii</i>	66

Glu:β-Glukoz

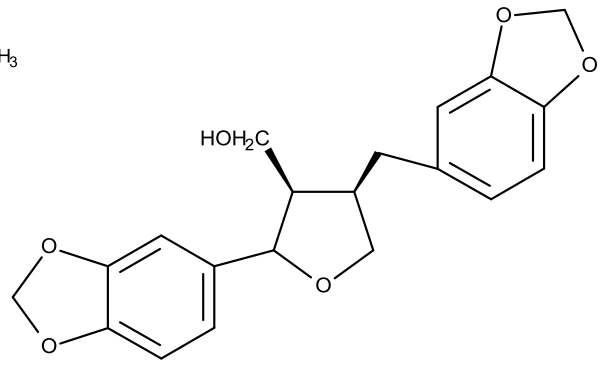


Tablo 22: *Daphne* türlerinden izole edilen lignanlar

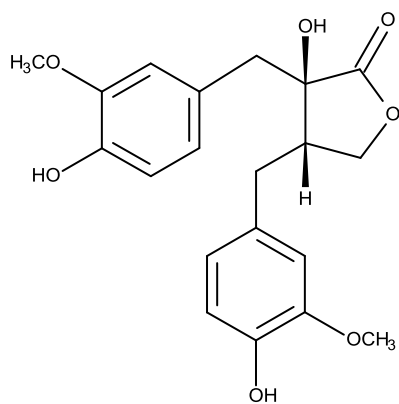
Bileşik	R	Tür adı	Kaynak
9-Butoksi-4,4'-dihidroksi-3,3'-dimetoksi-9,9'-epoksilignan	OBu	<i>feddei</i>	70
9-Etoksi-4,4'-dihidroksi-3,3'-dimetoksi-9,9'-epoksilignan	OEt		



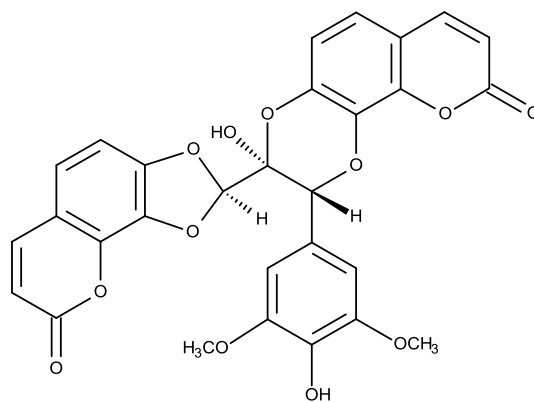
1



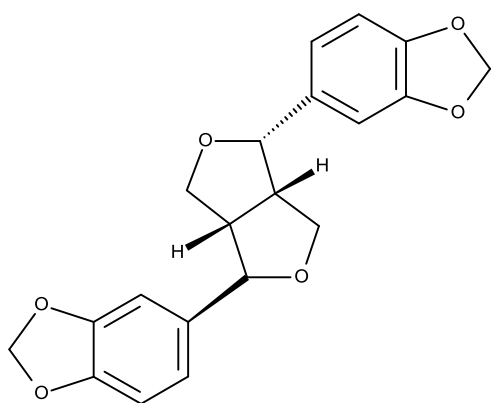
2



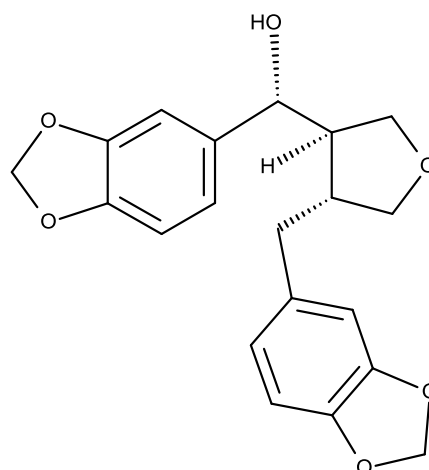
3



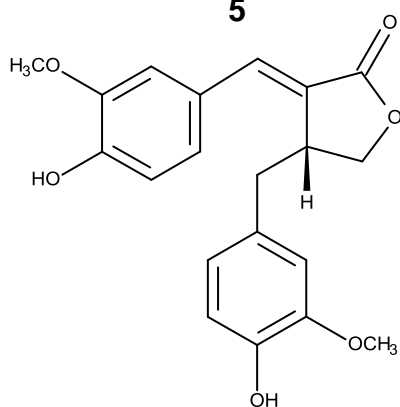
4



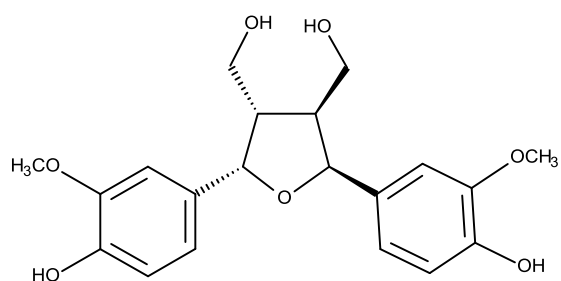
5



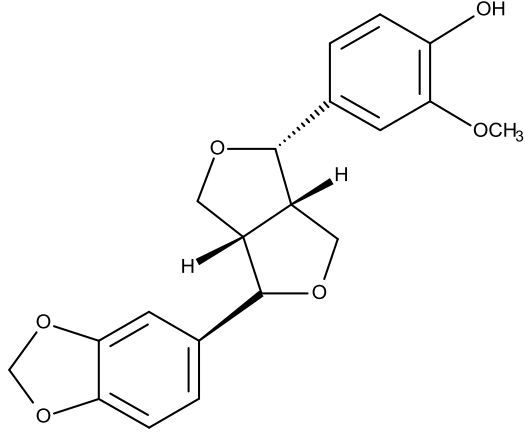
6



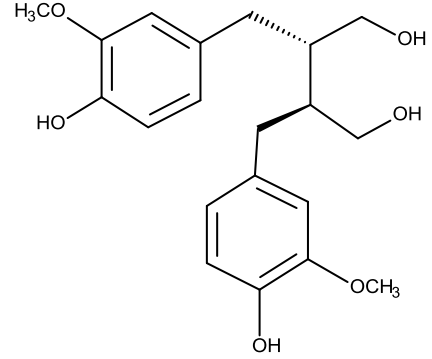
7



8



9

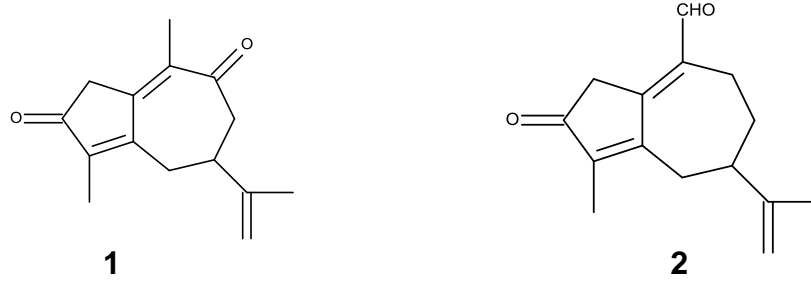


10

Tablo 23: *Daphne* türlerinden izole edilen lignanlar

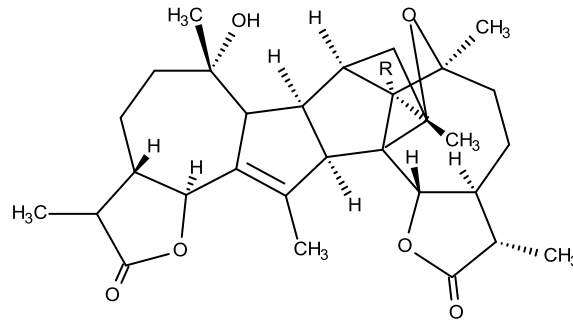
Bileşik	Tür adı	Kaynak
(1 <i>R</i> ,2 <i>S</i> ,5 <i>R</i> ,6 <i>R</i>)-6-(3-etil-4-hidroksi-5-metoksifenil)-2-(4-hidroksi-3,5-dimetoksifenil)-3,7-dioksabisiklo[3.3.0]oktan (1)	<i>oleoides</i>	64
Dihidrosesamin (2)	<i>mezereum</i>	48
	<i>tangutica</i>	71
Epinortrakelogenin (3)	<i>holosericea</i>	72
Feddeitisin (4)	<i>feddei</i>	73
Genkdafin (5)	<i>genkwa</i>	74
Izokubebin (6)	<i>feddei</i>	70
İzosalisifolin (7)	<i>giraldii</i>	34
Ödesmin (8)	<i>oleoides</i>	50
(-)-Piperitol (9)	<i>tangutica</i>	68
(+)-Sekoizolarisiresinol (10)	<i>odora</i>	75

2.2.1.2. Terpenler



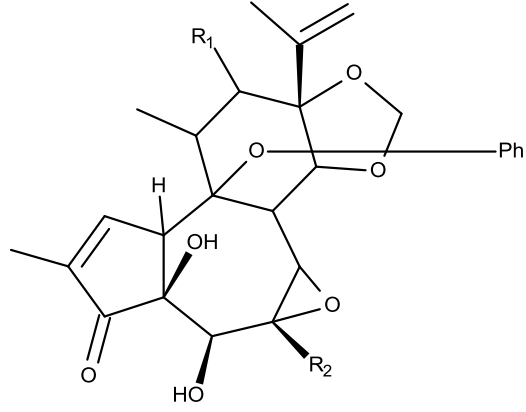
Tablo 24: *Daphne* türlerinden izole edilen seskiterpenler

Bileşik	Tür adı	Kaynak
Oleodafnal (1)	<i>oleoides</i>	57
Oleodafnon (2)	<i>bholua</i>	24
	<i>oleoides</i>	57



Tablo 25: *Daphne* türlerinden izole edilen seskiterpenler

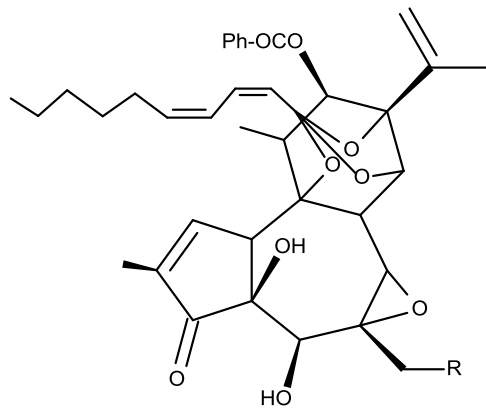
Bileşik	R	Tür adı	Kaynak
Anabsintin	H	<i>oleoides</i>	76
Seemarin	OH		



Tablo 26: *Daphne* türlerinden izole edilen diterpenler

Bileşik	R ₁	R ₂	Tür adı	Kaynak
Dafnetoksin	H	CH ₂ OH	<i>gnidium</i> <i>laureola</i> <i>mezereum</i>	77
Genkvadafnin	OCO-Ph	CH ₂ OH	<i>genkwa</i> <i>oleoides</i>	78 57
Genkvadafnin-20-palmitat	OCO-Ph	CH ₂ -OCO-(CH ₂) ₁₄ -CH ₃	<i>oleoides</i>	57
Mezerein	OH	CH ₂ OH	<i>mezereum</i>	79

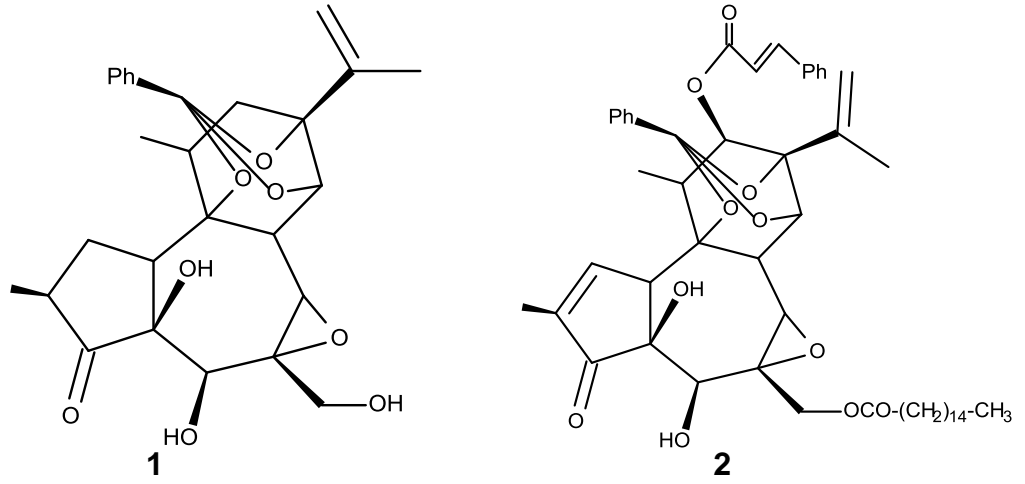
Ph: Fenil



Tablo 27: *Daphne* türlerinden izole edilen diterpenler

Bileşik	R	Tür adı	Kaynak
Gnidilatidin	OH	<i>oleoides</i>	57
Gnidilatidin -20-palmitat	OCO-(CH ₂) ₁₄ -CH ₃		

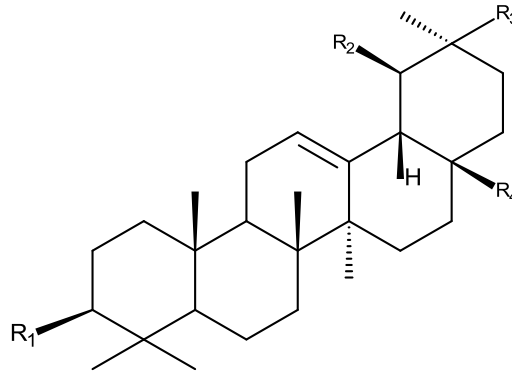
Ph: Fenil



Tablo 28: *Daphne* türlerinden izole edilen diterpenler

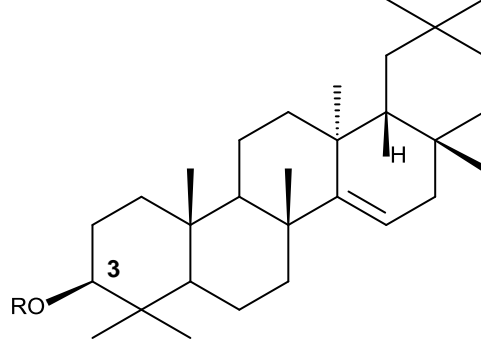
Bileşik	Tür adı	Kaynak
1,2-Dihidrodafnetoksin (1)	<i>oleoides</i>	57
Gnidisin-20-palmitat (2)		

Ph: Fenil



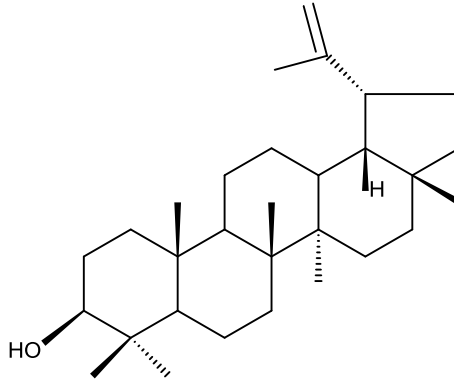
Tablo 29: *Daphne* türlerinden izole edilen triterpenler

Bileşik	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	Tür adı	Kaynak
α-Amirin	OH	CH ₃	H	CH ₃	<i>oleoides</i>	80
β-Amirin	OH	H	CH ₃	CH ₃	<i>gnidioides</i>	20
					<i>oleoides</i>	55
β-Amirin asetat	OAc	H	CH ₃	CH ₃	<i>oleoides</i>	55
Oleanolik asit	OH	H	CH ₃	COOH		



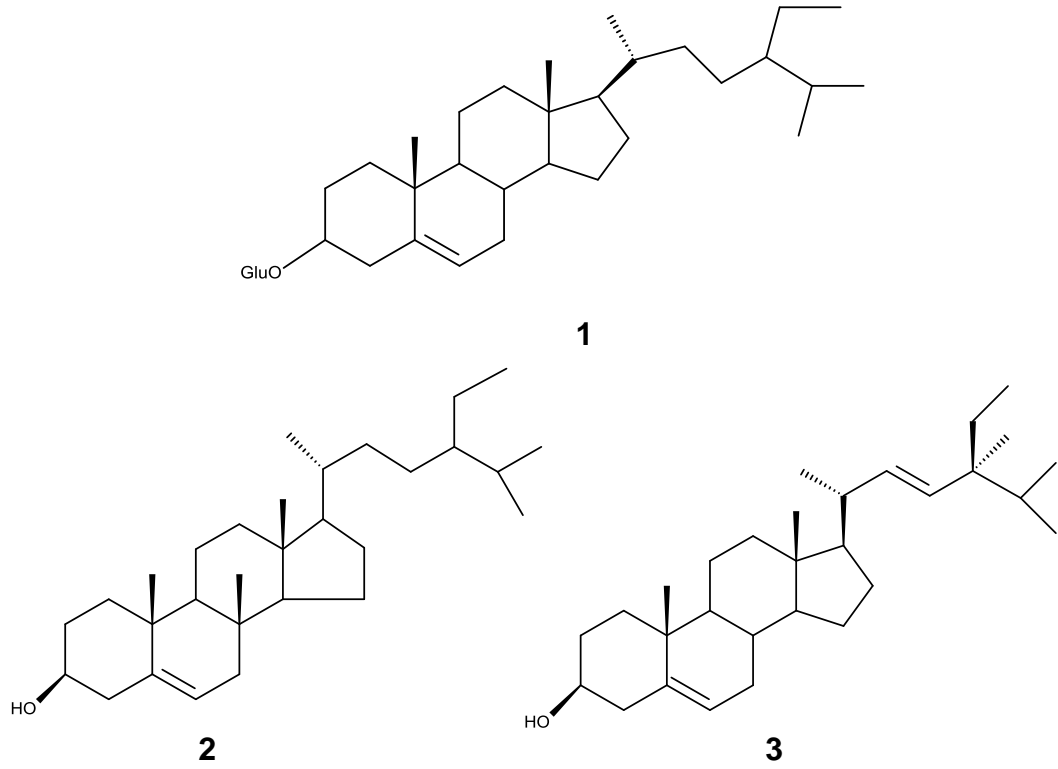
Tablo 30: *Daphne* türlerinden izole edilen triterpenler

Bileşik	R	Tür adı	Kaynak
Tarakserol	H		
Tarakserol asetat	OAc	<i>cannabina</i>	81
Tarakseron	3=keto form		



Tablo 31: *Daphne* türlerinden izole edilen triterpenler

Bileşik	Tür adı	Kaynak
Lupeol	<i>oleoides</i>	80



Tablo 32: *Daphne* türlerinden izole edilen steroidler

Bileşik	Tür adı	Kaynak
β-Daukosterol (1)	<i>giraldii</i>	26
	<i>acuminata</i>	53
	<i>bholua</i>	24
	<i>cannabina</i>	46
	<i>genkwa</i>	25
	<i>giraldii</i>	82
β-Sitosterol (2)	<i>gnidioides</i>	20
	<i>mucronata</i>	56
	<i>oleoides</i>	80
	<i>pontica</i>	83
	<i>tangutica</i>	84
Stigmasterol (3)	<i>oleoides</i>	55

2.3. KULLANILIŞ ve BİYOLOJİK AKTİVİTE

Bu kısımda *Daphne* türlerinin halk arasında tedavi amacıyla kullanılışı ve bu türler üzerinde yapılan biyolojik aktivite çalışmaları derlenmiştir.

2.3.1. *Daphne* Türlerinin Halk arasında ve Geleneksel Tedavi Sistemlerinde Kullanılışı

Türkiye’de *Daphne glomerata*, *D. gnidioides*, *D. mezereum*, *D. mucronata*, *D. oleoides*, *D. pontica* ve *D. sericea* olmak üzere 7 *Daphne* türü yetişmektedir⁷. *Daphne* türlerinin kullanılışı ile ilgili yayınlanan genel kaynaklarda, Orta ve Batı Karadeniz’de *D. oleoides* kökleri toz edilip şekerle karıştırılarak sıtma tedavisinde kullanıldığı kayıtlıdır⁶. Batı Anadolu’da *D. gnidioides* yaprakları ile *Origanum onites* toprak üstü kısımlarından birlikte pişirilerek elde edilen lapaya zeytin yağı ilave edilmekte ve karın bölgesine 2-6 saat haricen uygulanarak karın ağrılarını gidermede kullanılmaktadır³. Kuzey-Batı Anadolu’da *D. pontica* gövde kabukları karın kısmına uygulanarak kuruyuncaya kadar bekletilmek suretiyle ishali durdurmak için kullanılmaktadır⁸. Akdeniz Bölgesinde *D. oleoides* yaprak ve toprak üstü kısımlarından arpa unu veya tereyağı ile pişirilerek elde edilen lapa haricen romatizma ağrılarını gidermede ve yara iyileştirici amaçla kullanılmaktadır⁵. İç Anadolu’da, *D. oleoides*’in taze dallarının, ağır yük taşımaktan topal olmuş hayvanların tedavisinde kullanılmakta olduğuna dair kayıtlar bulunmaktadır. Güneş doğmadan önce bu bitkiden alınan bir dalın, hasta hayvanın göğüs derisinde açılan bir deliğe sokulduğu, bir müddet sonra dal sokulan delikten sarı renkli bir sıvının akmaya başladığı ve genellikle de hayvanın iyi olduğu literatürlerde kayıtlıdır. Bu etkinin kabuklarda bulunan tahriş edici bir reçineden ileri geldiği düşünülmektedir¹⁰. Ayrıca Anadolu’da *D. mezereum*’un idrar artırıcı, terletici ve müshil etkilere sahip olduğu bilinmektedir¹⁰.

Daphne türlerinin dünyada geniş bir yayılış alanı göstermesi nedeniyle dünyada farklı bölgelerdeki, geleneksel ve halk tababetlerinde de yaygın olarak kullanıldığı görülmektedir. Bu kullanılışlar yukarıda bahsedilen ülkemizdeki kullanılışlara benzer veya farklı olabilmektedir.

Avrupa, Kuzey Amerika ve Batı Asya'da *D. mezereum*'un tohumlarının ülser ve romatizma tedavisinde, pürгатif ve abortif amaçlarla, kabuklarının ise yılan ve diğer zehirli hayvanların sokmalarına karşı kullanıldığı kayıtlıdır⁸⁵. Homeopatik tedavide bitkinin etanollü ekstresinin dilüsyonları uçuk, egzama, alerji gibi çeşitli deri hastalıklarının ve nevrалjinin tedavisinde kullanılmaktadır¹³. Physicians' Desk Reference for Herbal Medicines'ta da kayıtlı olan *D. mezereum*'un çiçeklenme döneminden önce toplanmış kabuklarının cildi canlandırıcı ve halusinojenik olarak kullanıldığı bildirilmektedir¹¹.

Pakistan'da halk arasında *D. oleoides* yapraklarından hazırlanan infüzyon belsoğukluğuna karşı, abseler üzerine uygulanmak suretiyle anti-enflamatuvar ve anti-infektif olarak; kökleri ise pürгатif amaçla kullanılmaktadır⁶⁹.

Çin halk tıbbında *D. giraldii* yaprakları ağrı ve romatizma tedavisinde¹²; *D. odora* kökleri karın ağrısına, yara, ezik ve zehirli yılan sokmalarına karşı; çiçekleri ise boğaz, diş ağrısı ve nevrалjiye karşı¹³; koagülasyon bozukluklarının ve düşmelerden meydana gelen ezik ve incinmelerin tedavisinde⁸⁶; *D. tangutica* kökleri romatizma ve diş ağrısının tedavisinde ve abortif amaçlarla kullanılmaktadır¹³. *D. acutiloba*'nın salgı bezi adenomlarında, yara ve eziklerde; *D. cannabina*'nın pürгатif amaçla; *D. genkwa* tomurcuklarının ise diüretik, pürгатif, antitussif, ekspektoran ve antikanser olarak Çin tıbbında kullanıldığı belirtilmektedir^{35,87}.

Tüm bu farmakolojik etkilerin yanında, *D. bholua*'nın odunsu kısımlarının taşıdığı selüloz kâğıt üretiminde kullanılmakta; *D. mezereum*'dan kırmızı ve yeşil renkli boya elde edilmektedir^{14,88,89}.

2.3.2. *Daphne* Türleri Üzerinde Yapılan Biyolojik Aktivite Çalışmaları

2.3.2.1. Analjezik ve Anti-enflamatuvar Etki

Lee ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, *D. genkwa* çiçek ve tomurcuklarından izole edilen (-)-apotosimon'un RAW264.7 hücrelerindeki siklooksijenaz (COX)-2 enzimi inhibisyonu ve nitrik oksit sentaz indüksiyonu etkisi araştırılmıştır. Çalışmada, (-)-apotosimon'un tümör nekroz faktör- α (TNF- α), interlökin-4 (IL-4) ve interlökin-13 (IL-13) üretimini baskıladığı tespit edilmiştir. Pro-enflamatuvar sitokinlerin salımını engellemesine bağlı olarak *D. genkwa*'nın anti-enflamatuvar amaçla kullanılabileceği belirtilmiştir⁹⁰.

D. genkwa'nın çiçek ve tomurcuklarından izole edilen apigenol, luteolol, genkvanin ve 7-metil luteolol'ün ksantin oksidaz enzimi üzerinde inhibitör etki göstererek ürik asit birikimini engellediği ve gut hastalığına karşı kullanılabileceği belirtilmiştir⁹¹. Aynı bitkinin metanollü ekstresi üzerinde yapılan bir başka çalışmada ise, ekstrenin indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) enzimini inhibe ettiği saptanmıştır⁹².

Yeşilada ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, *D. oleoides* subsp. *oleoides* etil asetat ekstresinin biyolojik aktivite yönlendirmeli fraksiyonlama çalışmaları ile *in vitro* anti-enflamatuvar aktivitesini değerlendirmek üzere ekstre, fraksiyon ve izole edilen bileşiklerin IL-1 α , IL-1 β ve TNF- α biyosentezi üzerindeki inhibitör etkileri araştırılmıştır. Çalışmada, diterpenoid yapısında genkvadafnin, 1,2-dehidrodafnetoksinin ve kumarin türevi dafnetinin anlamı derecede anti-enflamatuvar etki gösterdiği tespit edilmiştir. Diterpenoid yapısındaki gnidilatin, gnidilatin-20 palmitat, genkvadafnin-20-palmitat ve gnidisin-20-palmitat ile lignan yapısında olan ödemsin, vikstromol ve matairezol'ün orta derecede anti-enflamatuvar etki göstererek aktiviteyi arttırmaya yardımcı bileşikler olabileceği belirtilmiştir⁵⁰.

Küpeli ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, *D. pontica* L. kök, gövde, çiçek ve yapraklarından hazırlanan *n*-hekzan, dietileter, etil asetat ve metanol ekstralarının *in vivo* anti-enflamatuvar aktivitelerini araştırmak üzere karragen-nedenli arka ayak ödemi, Prostaglandin (PGE₂)-nedenli arka ayak ödemi ve 12-O-tetradekanoilforbol-13-asetat (TPA)-nedenli fare kulak ödemi deney modelleri; antinosiseptif aktivite tayini için *p*-benzokinon-nedenli kıvrınma testi uygulanmıştır. Köklerden hazırlanan etil asetat ekstresi, karragen-nedenli arka ayak ödemi modelinde %22.7 ile %32.0 arasında; PGE₂-nedenli arka ayak ödeminde ise %3.2 ile %27.3 arasında anti-enflamatuvar etki göstermiştir. Aynı şekilde TPA-nedenli kulak ödemi %47.8 oranında inhibe ettiği tespit edilmiştir. Diğer taraftan, gövdeden hazırlanan etil asetat ekstresinin karragen-, PGE₂-nedenli arka ayak ödemi ve TPA-nedenli kulak ödemi modellerinde sırasıyla %19.5–29.9; %5.3–23.9; %36.6 oranlarında anti-enflamatuvar etki gösterdiği belirlenmiştir. Ancak hiçbir ekstrede antinosiseptif etkiye rastlanmamıştır⁹³.

D. retusa gövdesinden hazırlanan %75'lik etanollü ekstrenin 400 ve 800 mg/kg dozlarda ksilen-nedenli kulak ödemi oluşturulmuş fareler ve karragen-nedenli arka ayak ödemi oluşturulmuş sıçanlar üzerinde anti-enflamatuvar aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Aynı çalışmada asetik asit nedenli kıvrınma ve hot plate testleri ile ekstrenin analjezik etki gösterdiği saptanmıştır⁹⁴.

Harizi ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, *D. gnidium* yapraklarından hazırlanan etil asetat ekstresinin fare makrofaj ve lenfosit hücreleri üzerindeki etkisi *in vitro* olarak değerlendirilmiştir. Ekstrenin doz bağımlı olarak lipopolisakkarit-nedenli IL-1 β , TNF- α , PGE₂ ve iNOS-II yolaklı nitrik oksit (NO) üretimini azaltarak makrofaj pro-enflamatuvar fonksiyonunu inhibe ettiği tespit edilmiştir⁹⁵.

Sakuma ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada *D. odora*'dan izole edilen dafnodorin A ve C'nin tavşan plateletlerinde, 12-lipoksijenaz (LO) ve siklooksijenaz (COX) enzimlerini inhibe ederek anti-enflamatuvar etki gösterdiği tespit edilmiştir⁹⁶.

Craker ve Simon tarafından yapılan bir çalışmada, *Daphne* türlerinden izole edilen ve tromboanjitis obliterans, anjina pectoris ve romatizma tedavilerinde kullanılan kumarin yapısındaki dafnetolün *in vivo* deneylerde, analjezik, anti-enflamatuvar ve sedatif etkilerinin olduğu belirtilmiştir⁴⁷.

2.3.2.2. Antioksidan Etki

D. gnidium gövdesinden ve yapraklarından hazırlanan metanollü ekstratlar ile bu ekstratlerden izole edilen kumarin yapısında olan dafnetin, dafnin, asetilumbelliferon ve dafnoretin'in; flavonoit yapısında olan apigenin, luteolin, kersetin, orientin, izoorientin, luteolin-7-O-glukozit, apigenin-7-O-glukozit ve genkvanin bileşikleriyle α - tokoferol'ün *in vitro* antioksidan aktiviteleri değerlendirilmiş ve izole edilen bileşiklerden luteolin, dafnetin ve α - tokoferol'ün ana ekstratlerden daha aktif olduğu saptanmıştır. Çalışmada, yaprak ekstresinin gövde ekstresinden, gövde ekstresinin ise dafnoretinden daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği tespit edilmiştir⁹⁷.

Yapılan başka bir çalışmada, *D. odora*'dan izole edilen ana biyoaktif bileşenlerden biri olan dafnetinin antioksidan etkisi tespit edilmiştir⁹⁸.

2.3.2.3. Antikanserojenik Etki

Ullah tarafından yapılan bir çalışmada, *D. mezereum*'un yapısındaki diterpen esterlerin insan lenfositleri ve granülositleri üzerinde uyarıcı etki gösterdiği ve diterpen ester yapısında olan mezereinin

farelerde P-388 ve L-1210 lösemi hücrelerine karşı 50 µg dozda sitotoksik etki gösterdiği tespit edilmiştir¹³.

D. genkwa bitkisinin çiçekli tomurcuklarında bulunan genkvadafnin ve yuanuasin isimli dafnan diterpen esterlerinin promiyelositik HL-60 hücreleri üzerindeki apoptotik aktiviteleri değerlendirildiğinde her iki bileşiğin de potent apoptotik etkileri saptanmış ve bu bileşiklerin etkili antitümör bileşikler olabileceği rapor edilmiştir⁹⁹. *D. genkwa*'dan izole elden dafnan tipi diterpen yapısındaki bileşiklerinden genkvaninlerin (genkvanin A-L) HMEC endotel hücrelerinin proliferasyonunu inhibe ettiği ve tümör hücreleri üzerinde sitotoksik etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir¹⁰⁰. Yapılan bir mekanizma aydınlatma çalışmasında *D. genkwa*'nın diterpen ester yapısındaki bileşiklerinin DNA topoizomeraz-I inhibisyonu yaparak antitümör etki gösterdikleri ve yapıdaki orto-ester grubunun DNA topoizomeraz-I inhibisyonu için gerekli bir grup olduğu tespit edilmiştir¹⁰¹. Aynı bitki üzerinde yapılan başka bir çalışmada kök ekstresinden elde edilen total flavonoidlerin akciğer kanseri oluşturulmuş farelerde tümör gelişimini ve metastazı önleyici etkileri değerlendirilmiştir. Total flavonoidlerin periferik lenfositleri tümör nedeni azalmaya karşı koruduğu, lenfosit proliferasyonunu arttırdığı, tümör gelişimi ve metastazını inhibe ettiği tespit edilmiştir. HPLC analizleri dafnodorin B'nin total flavonoidler içerisindeki ana bileşen olduğunu ve antitümör etkinin bu bileşikten kaynaklanıyor olabileceğini göstermiştir¹⁰².

Ren ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, *D. tangutica*'nın yapısında bulunan kumarinolignan yapısında olan dafnetisin adlı bileşiğin Walker-256 karsino-sarkoma hücrelerine karşı *in vitro* sitotoksik etki gösterdiği tespit edilmiştir¹⁰³.

Yazdanparast ve Sadeghi *D. mucronata* üzerinde yaptıkları bir çalışmada, bitkiden izole edilen diterpen ester yapısındaki gnidilatimonoin bileşiğinin insan kanser hücrelerinden K562, CCRF-CEM,

HL-60, MOLT-lösemi hücreleri, LNCaP-FGC-10 prostat kanser hücreleri ile fare balb/c fibrosarkoma WEHI-164 hücreleri üzerinde pürin biyosentez yolağını etkileyerek anlamlı derecede antiproliferatif etki gösterdiğini saptamışlardır¹⁰⁴.

Dagang ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, *D. feddei*'den elde edilen diterpenlerin immunostimulan ve antineoplastik etkilerinin olduğu; *D. pontica* bitkisinden hazırlanan çeşitli polaritedeki ekstraktların sitotoksik etki gösterdiği tespit edilmiştir¹⁰⁵.

2.3.2.4. Antimikrobiyal Etki

D. gnidium gövdesinden hazırlanan metanollü ekstrenin Gram (+) ve Gram (-) bakterilere karşı antibakteriyel aktiviteleri değerlendirildiğinde, ekstrenin *Bacillus lentus* ve *Escherichia coli*'ye karşı antibakteriyel etkisi tespit edilmiştir. Ekstreden izole edilen, kumarin türevi bileşiklerden dafnetin, dafnin, asetilumbelliferon ve dafnoretin ile flavonoid türevi bileşiklerden luteolin, orientin, izoorientin, apigenin-7-O-glukozit, genkvanin ile 2,5,7,4'-tetrahidroksiizoflavanol'ün bakteri ve mantar türlerine karşı etkisi değerlendirildiğinde en etkili bileşiklerin dafnetin, genkvanin ve 2,5,7,4'-tetrahidroksiizoflavanol olduğu belirlenmiştir³³.

Ullah tarafından yapılan bir çalışmada, *D. gnidioides*'ten izole edilen flavonoidlerin *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, ve *Klebsiella pneumoniae* suşlarına karşı hafif antibakteriyel etkisinin bulunduğu tespit edilmiştir¹³.

D. odora köklerinin benzenli ekstresinden izole edilen odorasin isimli bir bileşiğin *Asphelenchoides besseyi*'e karşı nematoid etki gösterdiği saptanmıştır^{20, 106}. Aynı bitkinin kabuk ve köklerinden izole edilen dafnodorin A, B ve C isimli spirobiflavonoidlerin antifungal ve insektisit etkileri de araştırılmış ve dafnodorin A ve C' nin, *Pyricularia*

oryzae'ye karşı güçlü antifungal; dafnodorin B'nin ise *Spodoptera litura*, *Callosobruchus chinensis* ve *Tetranychus urtica*'ya karşı zayıf insektisit etki gösterdiği, dafnodorin A ve C'nin insektisidal etkisinin dafnodorin B'ye göre daha zayıf olduğu bulunmuştur¹⁰⁷.

2.3.2.5. Antiülserojenik Etki

D. odora'dan izole edilen dafnodorinlerin doz bağımlı olarak H⁺/K⁺ ATPaz'ı inhibe ederek gastrik asit sekresyonunu ve stresin oluşturduğu, indükleyici gastrik lezyonları azalttığı ve antiülser etki gösterdiği saptanmıştır¹⁰⁸.

2.3.2.6. Abortif Etki

Çin'de halk arasında abortif amaçla kullanılan *D. genkwa*'nın köklerinden elde edilen diterpen yapısında olan yuanhuasin ve yuanhuadin bileşiklerinin maymunlarda abortif etki gösterdiği saptanmıştır²⁰.

Klinik çalışmalarda, 70-80 µg yuanhuasin ve 60 µg yuanhuadinin intraamniyotik enjeksiyonları halinde abortif olarak kullanıldığı belirlenmiştir⁴⁷.

2.3.2.7. Hipokolesterolemik Etki

Zhang ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, *D. giraldii* bitkisinden izole edilen dafnetoksin ve gniditrin'in düşük dansiteli lipoprotein (LDL) reseptörleri üzerinde aktive edici etki göstererek plazma LDL-kolesterol seviyelerini düşürdüğü belirlenmiştir¹⁰⁹.

2.3.2.8. Diğer Etkiler

Niwa ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, *Daphne* türlerinden izole edilen dafnozitin tavşan ve sıçanlarda platelet

agregasyonunu inhibe ettiği, kanın pıhtılaşma süresini uzattığı belirlenmiştir¹⁶.

Yapılan klinik çalışmalarda *D. giraldii* den izole edilen siringin'in, hemostatik etkiye sahip olduğu saptanmıştır⁴⁷.

2.3.2.9. Toksikite

Daphne türleri çok eski zamanlardan beri zehirli bitkiler olarak bilinmektedir. Dâhilen kullanımının tehlikeli olmasına karşın *D. mezereum* Anadolu'da halk arasında müshil ve çocuk düşürücü olarak kullanılmış olduğu kayıtlıdır¹¹⁰. Birkaç gram kabuk ve birkaç tane meyvenin insan, köpek ve atlarda öldürücü olduğu kaynaklarda belirtilmiştir⁷⁷. Bitkinin olgun meyvelerini frenk üzümü sanarak yemeleri nedeniyle zehirlenme en çok çocuklarda görülmekte ve 10-12 adet meyvenin çocuklarda öldürücü olabileceği belirtilmektedir¹¹¹. Sadece birkaç meyvenin yenmesi ile ağızda yanma, bulantı, karın ağrısı, kusma ve ishal oluşmakta fazla miktarda meyvenin yenmesi durumunda ise dermansızlık, titreme, solgunluk, pupillada genişleme, kusma, ishal, sindirim sistemi mukus membranında su toplanması ve döküntüler görülmektedir. Konvülsiyonlar, istem dışı kas kasılması, uyku basması gibi belirtiler birkaç gün sürmektedir¹¹².

Özellikle *D. laureola* meyvelerini yiyen atların başka birşey yiyemedikleri, karın ağrısı, sendeleyerek yürüme, zor nefes alma gibi belirtiler gösterdikleri ve devamında vücut ısısının yükselmesi ile ölümün meydana geldiği ifade edilmiştir. Ölümden hemen önceki incelemelerde, gastrointestinal bölgenin iltihaplandığı, şiştiği ve kanlanmanın meydana geldiği yapılan araştırmalarda tespit edilmiştir⁹⁸.

Zirvi tarafından yapılan bir çalışmada, *D. acuminata*'nın yapısındaki dafnetol-8-glukozitin kardiyotoksik etkiye neden olduğu bildirilmiştir⁵³.

D. mezereum üzerinde yapılan çalışmalarda, nemli kabuklarının cilde konması ile rezorbsiyon sonucu, toksik belirtiler görülmüş, kabarcıklar, isilik, kızarıklık ve çıbanlı bir iltihaplanma olduğu belirlenmiştir¹⁴. İçerdiği toksik diterpenler nedeniyle *D. mezereum*'un cilde doğrudan teması ile ciltte kızarıklığa, uzun süreli maruziyeti ile nekroza; dahilen alındığında mukoza tabakasında hasara, baş ağrısı, baş dönmesi, karın ağrısı, kusma, ishal, spazm, taşikardi ve dolaşım yetersizliği nedeniyle ölüme kadar giden ciddi sorunlara sebep olduğu literatürde kayıtlıdır¹¹¹.

Daphne türlerinin taşıdığı tahriş edici reçineden dolayı dahilen veya haricen çok düşük dozlarda kullanılması gerekmektedir^{11, 77}. Doz aşımı ile zehirlenmelerin görüldüğü vakalarda ipeka şurubu gibi bir emetik kullanımı, laksatif ve bol sıvı alınması, kortikosteroid veya intravenöz kalsiyum glukonat uygulanması önerilmektedir¹¹².

2.4. YARA İYİLEŞMESİ İLE İLGİLİ GENEL BİLGİLER

2.4.1. Yara İyileşmesi

Fiziksel, kimyasal, termal radyasyon ve cerrahi nedenlere bağlı veya kendiliğinden gelişen doku bütünlüğünün bozulması yara olarak isimlendirilir¹³. Hücre ve dokular zedelendiğinde yaralanmış dokunun bütünlüğünün yeniden oluşturulması için temel olarak üç fazda gelişen biyolojik bir süreç başlar. Bu fazlar, karışık ve çeşitli dokularla organize etkileşim oluşturan erken dönem cevabı, epitel yenilenmesi ve cilt altı dokuların onarımı şeklinde gelişen enflamasyon, hücre sayısında artışın meydana geldiği proliferasyon ve iyileşen dokunun sağlamlaşma süreci olan yeni oluşum (remodeling) fazlarıdır¹⁴.

Travma sonucu derinin epidermal, dermal ve damarsal elemanlarının bütünlüğü bozulur. Bütünlüğü bozulan kan damarları ve dermisten açığa çıkan kolajen, trombosit agregasyonu için ortam oluşturarak pıhtılaşma mekanizmalarını aktive eder. Vazokonstrüksiyon ile hemostaz sağlanır ve oluşan pıhtı ile bakteriyel kontaminasyon ve sıvı kaybının oluşması engellenir. Yara bölgesine pekçok madde salınır ve bu salınım sonucu sekonder vazodilatasyon, kapiller permeabilite artışı, lökositlerin bölgeye çekilmesi ve aktivasyonu meydana gelir. Nötrofiller, akut enflamasyonu başlatmak üzere yara bölgesine gelen ilk lökositlerdir. Bu hücreler, bakterisidal ve fagositik özellikleri sayesinde, yara alanındaki bakteriyel kontaminasyonu ve enfeksiyon oluşumunu engelleyen immünolojik bir rol oynarlar. Ayrıca elastaz ve kolajenaz enzimleri gibi proteazların salımına neden olarak hasarlı ekstraselüler matriks elemanlarının ve ölü dokuların ortadan kaldırılmasına yardımcı olurlar. Monositlerin yara alanına gelmesiyle nötrofil infiltrasyonu yavaş yavaş azalmaya başlar. Yara yerine gelen monositler aktive olarak makrofajlara dönüşürler. Makrofajlar yara iyileşmesinde hücresel ve biyokimyasal olayları etkileyen birçok sitokin ve büyüme faktörünün salımını aktive

eder^{115,116}. İyileşmenin değişik basamaklarında sitokinler, büyüme faktörleri ve matriks proteinleri değişen oranda görev alırlar. Yara bölgesindeki sitokinler ve büyüme faktörleri, birçok hücreyi etkileyerek, bunları proliferasyon, migrasyon ve hücre komponentlerinin sentezine yönlendirir^{115,117}. Proliferasyon fazında yeni oluşan granülasyon dokusu yara alanını kaplar ve doku tamiri gerçekleşmeye başlar. Granülasyon dokusunda hemen her zaman bulunan makrofajlara ek olarak uygun kemotaktik stimulus varlığında nötrofiller, eozinofiller, mast hücreleri ve lenfositler de görülür¹¹⁸. Yaradaki makrofaj sayısı azalmaya başladığında, fibroblastlar, endotelial hücreler ve keratinositler artar ve büyüme faktörlerinin sentezi gerçekleşir. Bu büyüme faktörleri, ekstraselüler matriks sentezini ve granülasyon dokusunun güçlenmesi için gerekli olan damar oluşumunu (anjiogenez) stimüle eder^{115,119,120}. Anjiogenez iyileşmekte olan yaraya oksijen ve besin maddelerinin taşınması yönünden hayati öneme sahiptir. Fibroblastlar, iyileşmiş yarada yırtılma direncini sağlayan ve onarılmış dokunun primer yapısal komponenti olan kolajen sentezinden sorumludur. TGF- β , fibroblastlardan kolajen yapımını aktive etmekle beraber kolajenin yıkımını da engeller. Doku tamirinin son fazı olan yeni oluşum fazı sırasında kolajen sentezinde azalma olmasına rağmen, yaranın yırtılma kuvvetinde bir artış söz konusudur. Yeni oluşum fazı yaralanma öncesi doku bütünlüğü sağlanıncaya dek sürebilir^{115,121}.

2.4.2. Yara iyileşmesinin tipleri

2.4.2.1. Birincil (primer) yara iyileşmesi

Temiz bir insizyonda ve yara kenarları cerrahi dikişle birleştirildiğinde görülen iyileşme, yara iyileşmesinin en az karmaşık örneğidir ve primer yara iyileşmesi olarak isimlendirilir. İnsizyon tipi yaralarda az sayıda epitel ve bağ doku hücresi yıkılır. İnsizyon alanı dardır ve hemen fibrin ve kan hücreleri içeren pıhtı ile dolar. Yüzeydeki pıhtının dehidrate olması ile yarayı örten ve dış çevreden izole eden kabuk meydana gelir. Akut yangı hızla başlar, ödem oluşur. İnsizyon kenarları

nötrofiller ve monositlerce infiltre edilir. Her iki yara kenarındaki epidermis saatler içinde kalınlaşır, kesi yerleri boyunca insizyon aralığının derinliğine doğru ilerler ve orta hatta birleşerek devamlı fakat ince bir tabaka oluşturur^{118,122}.

Yara kenarları cerrahi dikişle birleştirildiğinde suture reaksiyonu görülür.

Suture Reaksiyonu:

Suture materyali uzamış ve kompleks bir reaksiyona sebep olur. İlk 3 gün içinde epidermis ve deri eklerinin epitel suture boyunca ilerleyen bir epitel tüpü oluşturur. Bir ya da iki gün içinde mononükleer hücreler dermisteki tüpü çevreler. Tüpün oluşmadığı alt kısımlarda suture, granülasyon dokusu ve kolajen ile çevrelenir. Sutureların yaklaşık onuncu günde alınması ile epitelyal tüp dermis içinde izole olarak kalır ve güçlü bir yabancı cisim reaksiyonu uyandırır. Bir hafta içinde tamamen absorbe edilir. Suturen yüzeyde bıraktığı defekt rejenerasyon ile iyileşir¹¹⁸.

2.4.2.2. İkincil (sekonder) yara iyileşmesi

Enflamatuvar ülserasyon, abse oluşumu, geniş doku defekti olan yüzey yaralanmalarında, yüksek miktarda hücre ve doku kaybının olduğu durumlarda iyileşme süreci daha karmaşıktır. Yaralanan organda parenkimal hücrelerdeki kayıplar rejenerasyon ile iyileşmiyorsa, sekonder iyileşme görülür. Oluşan doku defekti alanları erken dönemde aşırı granülasyon dokusu, geç dönemde ise skar dokusu ile doldurularak iyileşme oluşur. İyileşme sürecindeki temel olaylar birincil yara iyileşmesinde gelişenle benzer olmakla beraber aradaki farklar enflamasyon reaksiyonunun daha şiddetli, granülasyon dokusunun daha fazla miktarda oluşu ve yara kontraksiyonudur. Yara kontraksiyonu, fibroblastların miyofibroblastlara dönüşmesiyle meydana gelir. Yara alanı

küçülür. Gelişen skar dokusu başlangıçta pembedir. Damarsal yapıların azalması ile giderek solar^{118,122}.

2.4.3. Yara Tipleri

2.4.3.1. Akut yaralar

Akut yaralar geçici bir etkenin neden olduğu ve genellikle kısa sürede iyileşen yaralardır. Bu yaraların iyileşmesini engelleyen faktörler az sayıdadır. Akut yara tipleri açık ve kapalı yaralar olmak üzere ikiye ayrılır¹¹⁶.

2.4.3.1.1. Açık yaralar

Eksizyon ve İnsizyon: Eksizyon, deri parçasını kesip çıkarmak; insizyon ise bir hat üzerine kesik atmak sureti ile oluşturulmuş yaralardır.

Laserasyon: Bir dokunun keskin olmayan bir cisimle aşırı gerilmesi sonucu yırtılmasıdır. İnsizyon yarasının tersine yara kenarları genellikle düzensizdir.

Abrasyon: Kazıma ya da ovalama sonucu yüzey epitel hücrelerinin dökülmesi ile meydana gelen yaradır.

Dil Yaralar: İğne, çivi gibi objelerin batmasıyla oluşan yaralardır.

Delinme Yaraları: İnce ve uzun bir cisimle oluşmuşsa penetran, cisim kendisine çıkış yeri bulmuşsa perforan yaralar olarak adlandırılır.

Ateşli Silah Yaraları: Bir ateşli silahtan çıkan objenin oluşturduğu yaralardır.

2.4.3.1.2. Kapalı yaralar

Kontüzyon: Künt uçlu bir cisimle ezilme veya sıkışma sonucu damarlarda zedelenme ve kanın ekstrevasyonu ile karakterize bir durumdur.

Hematom: Deri altı dokularda damarlarda gelişen hasar sonucunda deri altında kan birikimidir.

Ezilme: Dokulara ya çok büyük miktarda bir gücün kısa sürede, ya da daha az bir gücün uzun sürede uygulandığı durumlarda oluşur.

2.4.3.2. Kronik yaralar

Kronik yaralar, sürekli bir etkenin neden olduğu iyileşmeyen veya yavaş iyileşen (üç aydan daha uzun sürede) yaralardır. İyileşmeyi engelleyen birçok sistemik ve lokal faktör söz konusudur. Kronik yaralarda sıklıkla enflamatuvar fazda uzama olur. Akut yaralarda anabolik ve katabolik fazlar denge halindeyken kronik yaralarda bu denge kaybolmuştur ve katabolizma ön plandadır. Kronik yaraların büyük bir kısmı ya tamamen iyileşmez veya iyileşme süreci yıllarca devam eder. Bu durum hastalarda ciddi bir emosyonel ve fiziksel stres oluşturması yanında hastaya ve bağlı olduğu sağlık güvence sistemine yük oluşturur. Kronik yaralar etiyojik nedenlere göre; bası yaraları, vasküler yaralar, metabolik yaralar (diyabetik ülserler), enfektif yaralar, enflamatuvar yaralar, malignite yaraları, hematolojik yaralar, yanık, donma ve radyasyon yaraları olarak sınıflandırılırlar^{116,123,124}.

2.4.4. Yara İyileşmesinin Ölçülmesi

2.4.4.1. *In vitro* Çalışmalar

Hücre kültürü tabanlı yapılan *in vitro* çalışmalarda fibroblast, keratinosit ve endotel hücreler yara iyileşme sürecinin tespitindeki ana

hedeflerdir. Proliferasyon sürecindeki belirli biyomoleküller ELISA kiti ile tespit edilir^{125,126}.

Yara iyileştirici etkisi değerlendirilecek olan test numunelerinin iyileşme sürecinde önemli rolü olan hyaluronik asit, kolajen ve elastin gibi yapıların enzimatik yıkımına neden olan hyaluronidaz, kolajenaz ve elastaz enzimleri üzerindeki inhibitör etkilerinin değerlendirilmesi önemli parametrelerdir^{127,128}.

2.4.4.2. *In vivo* Çalışmalar

Yara iyileştirici etkinin belirlenmesi amacıyla fare, sıçan ve kobay gibi küçük boyutta memeli hayvanlar tercih edilir. Hayvanlar üzerinde mekanik veya termal travma yoluyla spesifik yaralar oluşturulur¹²⁹.

Cilt yüzeyinde belirli bir alanda oluşturulan insizyon, eksizyon veya yanık yara modellerinde belirli aralıklarla fotoğraflanan yara alanları AutoCAD gibi alan ölçmeye yarayan bilgisayar programları kullanılarak ölçülür¹²⁶. Yara alanları yaranın şablonunun transparan kopya kağıdına çıkarılması ve ardından 1 mm² lik grafik kağıdı üzerine konularak karelerin sayılması yöntemi ile de ölçülmektedir¹²⁹. Ölçülen alanlardan hareketle yara kontraksiyonu hesaplanır. Alanda meydana gelen küçülme yara iyileşmesinin görsel ifadesidir.

Yara gerilim kuvvetinin ölçülmesi, insizyon tipi yara oluşturulmuş deney hayvanları üzerinde yapılan deneyleri kapsamaktadır. Hayvanların sırt kısımlarında steril cerrahi bistüri ile kesi yarası oluşturulduktan sonra yara kenarları cerrahi dikişle birleştirilir. Test numunelerinin yara gerilim kuvveti üzerindeki etkisi, belirlenen bir süre sonra dikişlerin alınması ve yara alanlarının çıkarılarak tensiometre adı verilen yara kuvvetini ölçen cihazlarla ölçülür. İyileşen dokudaki yırtılma

kuvvetinin yüksek olması yaranın sağlamliğının göstergesidir. Bu da dokudaki kolajen oluşumu hakkında bilgi verir¹³⁰.

2.4.4.2.1. Histopatolojik İncelemeler

Çıkarılan yara bölgeleri, %10'luk formaldehit içinde saklanır. İnceleme yapılacak bölgeden ince kesiler alınır. Hematoksilen-eozin, Periodic Acid Schiff (PAS) ve Giemsa/Wright gibi boyalar kullanılarak boyanır ve mikroskop altında incelenir. Elde edilen görüntüler değerlendirilerek yaranın iyileşme süreci hakkında bilgi edinilir^{126,131,132}.

Epitelizasyon, fibroblast artışı ve damar oluşumunun mikroskopla değerlendirilebildiği bir başka deney modeli de korioallantoik zar üzerinde oluşturulan yara alanının iyileşme sürecinin incelenmesidir. Yara iyileşmesinin hemen hemen bütün evrelerinin takip edilebildiği bir deney modeli olması açısından oldukça nemlidir¹³³.

2.4.4.2.2. Biyokimyasal Parametrelerin llmesi

Yara iyileşme sürecinin belirli günlerinde yapılan biyokimyasal analizlerde kullanılan parametreler DNA, protein içeriği, heksozamin, glikozaminoglikan ve total kolajen lmleridir^{130,134,135}.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. GEREÇ

3.1.1. Kullanılan Bitkiler

Etnobotanik kayıtlarda halk arasında yara iyileştirici amaçlarla kullanıldığı tespit edilen *Cichorium intybus* L., *Cistus creticus* L., *Daphne oleoides* Schreber subsp. *kurdica* (Bornm.) Bornm., *Daphne oleoides* Schreber subsp. *oleoides*, *Helichrysum graveolens* (Bieb.) Sweet ve *Viscum album* L. subsp. *album* bitkilerinin toplandığı yerler, toplanma tarihleri, teşhislerini yapan araştırmacılar ve herbaryum kayıtları ile ilgili bilgiler tablo halinde sunulmuştur (Tablo 33).

Tablo 33: Çalışma materyalleri ve kayıt bilgileri

Bitki adı	Familiya	Toplandığı yer	Toplanma tarihi	Teşhis eden	Herbaryum No
<i>Cichorium intybus</i> L.	Asteraceae	Konya-Altınekin-Borukkuyu	27.06.2009	Prof.Dr. Hayri DUMAN*	GUE 2973
<i>Cistus creticus</i> L.	Cistaceae	Alanya-Mahmutlar	22.05.2009	Prof.Dr. Mecit VURAL*	GUE 2974
<i>Daphne oleoides</i> Schreber subsp. <i>kurdica</i> (Bornm.) Bornm.	Thymelaeaceae	Bolkar Dağları-Meydan Yaylası	09.07.2009	Prof.Dr. Hayri DUMAN*	GUE 2975
<i>Daphne oleoides</i> Schreber subsp. <i>oleoides</i>	Thymelaeaceae	Bolkar Dağları-Meydan Yaylası	09.07.2009	Prof.Dr. Hayri DUMAN*	GUE 2976
<i>Helichrysum graveolens</i> (Bieb.) Sweet	Asteraceae	Uludağ- 1. Oteller Bölgesi	19.07.2009	Prof.Dr. Hayri DUMAN*	GUE 2977
<i>Viscum album</i> L. subsp. <i>album</i>	Loranthaceae	İlgaz Dağı	10.06.2009	Prof.Dr. Hayri DUMAN*	GUE 2978

*: Gazi Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi

3.1.2. Kullanılan Madde ve Solvanlar

Kimyasal ve biyolojik aktivite deneylerinde kullanılan madde ve solvanlar ve bunların temin edildiği firmalar aşağıdaki tabloda verilmiştir.

Tablo 34: Deneylerde kullanılan madde ve solvanlar

Madde/Solvan	Temin edildiği firma	Madde/Solvan	Temin edildiği firma
Anisaldehit	Sigma-Aldrich 123-11-5	L(-) hidroksiprolin	Sigma-Aldrich 51-35-4
Asetik asit	Merck 117950	Luteolin-7-O-glukozit	Sigma-Aldrich 5373-11-5
Cerrahi ipek iplik	Huayin Medical Instruments	Madecassol®	Bayer 00001199
<i>Clostridium histolyticum</i> kolajenaz enzimi	Sigma-Aldrich ChC-EC.3.4.23.3	Metanol	Merck 67-56-1
Dafnetin	Sigma-Aldrich, 486-35-1	n-Butanol	Merck Art. 988
Diklorometan	Merck 75-09-2	n-Hekzan	Merck Art. 4368
DMSO	Merck 67-68-5	N-Asetilglukozamin	Sigma-Aldrich 7512-17-6
DPPH	Sigma-Aldrich 1898-66-4	N-[3-(2-furil) akrilolil]-Leu-Gly-Pro-Ala (FALGPA)	Sigma-Aldrich 78832-65-2
Epigallokateşin gallat	Sigma-Aldrich 989-51-5	N-(metoksisüksinil)-Ala-Ala-Pro-Val 4-nitroanilit (MAAPVN)	Sigma-Aldrich 70967-90-7
Etanol	Tekel	p-Dimetilaminobenzaldehit	Sigma-Aldrich 100-10-7
Etil asetat	Merck Art. 864	p-Nitroanilin	Sigma-Aldrich 100-01-6
Evans Blue	Sigma, E-2129	Potasyum hidroksit	Sigma-Aldrich 1310-58-3
Folin Ciocalteu Fenol	Sigma-Aldrich F9252	1,2 Propilen glikol	Meck 57-55-6
Formik asit	Merck 1002531000	Sephadex-LH 20	Sigma-Aldrich 095K1220
Gallik asit	Sigma-Aldrich 149-91-7	Siğır hyaluronidazı	Sigma-Aldrich 37326-33-3
Glikol stearat	Gattefosse 083909	Sıvı parafin	Sigma-Aldrich 8012-95-1
Hyaluronik asit	Sigma-Aldrich 9067-32-7	Silicagel 70-230 mesh, 60A°	Sigma-Aldrich 28.862-4
İndometasin	Sigma-Aldrich 53-86-1	Silicagel G (İTK)	Merck
İnsan nötrofil elastaz enzimi (HNE)	Sigma-Aldrich 9004-06-2	Sodyum borat	Sigma-Aldrich 1303-96-4
Kalay-2-klorür	Sigma-Aldrich 7772-99-8	Sodyum hidroksit	Merck 1310-73-2
Kalsiyum klorür	Sigma-Aldrich 1043-52-4	Sodyum hyaluronat	Sigma-Aldrich B1557
Karboksimetil selüloz	Merck 9004-32-4	Sodyum karbonat	Merck 497-19-8
Kersetin 3-O-glukozit	Sigma-Aldrich, 482-35-9	Sodyum klorür	Merck 7647-14-5
Ketasol	Richter Pharma	Sülfürik asit	Merck 109074
Kieselgel 60 F ₂₅₄ 0.2mm	Merck; Art.5735	Tannik asit	Sigma-Aldrich 1401-55-4
Kloramin T	Sigma-Aldrich 7080-50-4	Triumbellin	Guidechem, 131559-53-01
Kloroform	Lab Scan	Vanilin	Sigma-Aldrich 121-33-5

3.2.YÖNTEM

3.2.1. KİMYASAL ÇALIŞMALAR

3.2.1.1. Ekstraksiyon ve Fraksiyonlama

Çalışma materyalleri üzerinde kimyasal ve biyolojik çalışmaların yürütülebilmesi amacıyla toplanan bitki kısımları aşamalı olarak ekstraksiyona tabi tutulmuş, ilk aşamada %85'lik metanol ile ekstre edilerek *in vivo* ön-aktivite testleri uygulanmıştır (**Ekstraksiyon-1**).

İkinci aşamada, yüksek miktarda bitki kısımları %85'lik metanol ile ekstre edilmiş ve metanollü ekstratlar "Biyolojik Aktivite ile Yönlendirilen Fraksiyonlama (BAYF)" yöntemine göre, etkili alt ekstre, fraksiyon ve bileşik/lerin tespiti amacıyla, çeşitli çözücüler ile ardı ardına ekstre edilerek fraksiyonlandırılmıştır (**Ekstraksiyon-2**). Bu kademedeki her bir çözücü ekstraksiyonunda, ekstraksiyonun tamamlanıp tamamlanmadığı ince tabaka kromatografisi (İTK) ile kontrol edilmiştir [Solvan sistemi: CHCl₃: MeOH (80:20)].

3.2.1.1.1. Ekstraksiyon-1

3.2.1.1.1.1. Metanollü Ekstrelerin Hazırlanması

Kurutulduktan sonra toz edilen bitki kısımlarından 50 gram tartılarak 2 litre %85 metanol ile oda ısısında yarım saat manyetik karıştırıcıda 2 gün arayla 5 defa ekstre edildi. Bu yöntem ön denemelerde kullanılan tüm bitkiler için ayrı ayrı uygulandı. Süzülükten sonra alınan ekstratlar kendi aralarında birleştirilerek alçak basınç altında, rotavaporda 40°C sıcaklıkta yoğunlaştırıldı ve vakumlu desikatörde alçak basınç altında kurutuldu ve "**%85 MeOH ekstresi**" elde edildi. Elde edilen ekstratların miktarları ve verimleri Tablo 35' te sunulmuştur.

Tablo 35: Elde edilen ekstrelerin miktarları ve verimleri

Bitki Adı	Kullanılan Kısım	Verim (%)
<i>Cichorium intybus</i>	Toprak üstü	16.28
	Yaprak	14.97
	Kök	23.71
<i>Cistus creticus</i>	Toprak üstü	25.44
<i>Daphne oleoides</i> subsp. <i>kurdica</i>	Toprak üstü	25.37
<i>Daphne oleoides</i> subsp. <i>oleoides</i>	Toprak üstü	19.12
<i>Helichrysum graveolens</i>	Çiçek	27.79
<i>Viscum album</i> subsp. <i>album</i>	Yaprak	21.25

3.2.1.1.2. Ekstraksiyon-2

3.2.1.1.2.1. MeOH Ekstresinin BAYF Yöntemine Göre Fraksiyonlanması

D. oleoides subsp. *kurdica* (DOK) ve *D. oleoides* subsp. *oleoides* (DOO) bitkilerinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan %85'lik MeOH'lü ekstrelerin aktif çıkması nedeniyle çalışmaların bu kısımlar üzerinden yürütülmesine karar verilmiştir. Bu amaçla, 1000'er g DOK ve DOO bitkilerinin kurutulmuş kısımları 8 L %85 metanol ile 2'şer gün arayla 5 defa ekstre edildi. Metanollü ekstreler alçak basınç altında, rotavaporda 40°C sıcaklıkta yoğunlaştırılarak koyu kahverengi renkte metanol (MeOH) ekstreleri elde edildi (**DOK-MeOH** 182.29 g, %20.63 verim; **DOO-MeOH** 92.64 g, %18.53 verim).

Elde edilen yoğun ekstreler üzerinde aynı miktarda ve aynı sırada aşağıdaki işlemler uygulandı.

Elde edilen metanollü ekstre üzerine 400 ml %85 metanol konularak çözünmesi sağlandı ve BAYF tekniğine göre çözücü-çözücü ekstraksiyonu ile fraksiyonlandı.

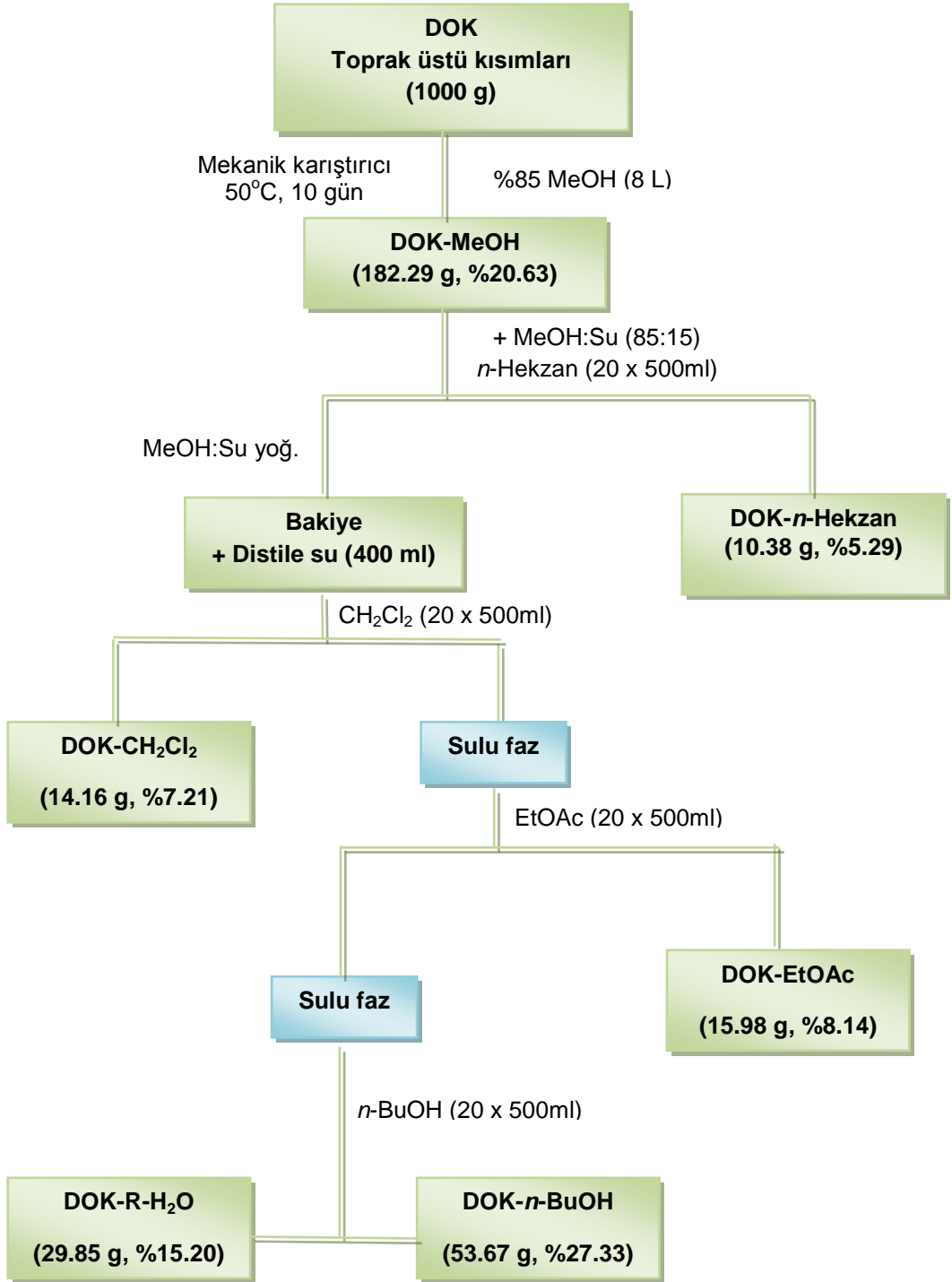
%85 Metanolde çözünen ekstre 500'er ml *n*-hekzan ile 20 defa ekstre edildi. *n*-Hekzanlı fazlar birleştirilip alçak basınç altında 40°C sıcaklıkta rotavaporda yoğunlaştırıldı. "***n*-Hekzan alt ekstresi**" elde edildi (**DOK *n*-Hekzan** 10.38 g, %5.29 verim; **DOO-*n*-Hekzan** 3.47 g,%4.20 verim).

n-Hekzan ile fraksiyonlama sonrası kalan ekstre rotavaporda kuruluğa kadar yoğunlaştırıldı. Üzerine 400 ml distile su eklenerek ayırma hunisinde 500'er ml diklorometan ile 20 defa ekstre edildi. Diklorometanlı fazlar birleştirilip alçak basınç altında, 40°C sıcaklıkta yoğunlaştırıldı. "***CH₂Cl₂* alt ekstresi**" elde edildi (**DOK-*CH₂Cl₂*** 14.16 g, %7.21 verim; **DOO-*CH₂Cl₂*** 9.96 g, %12.08 verim).

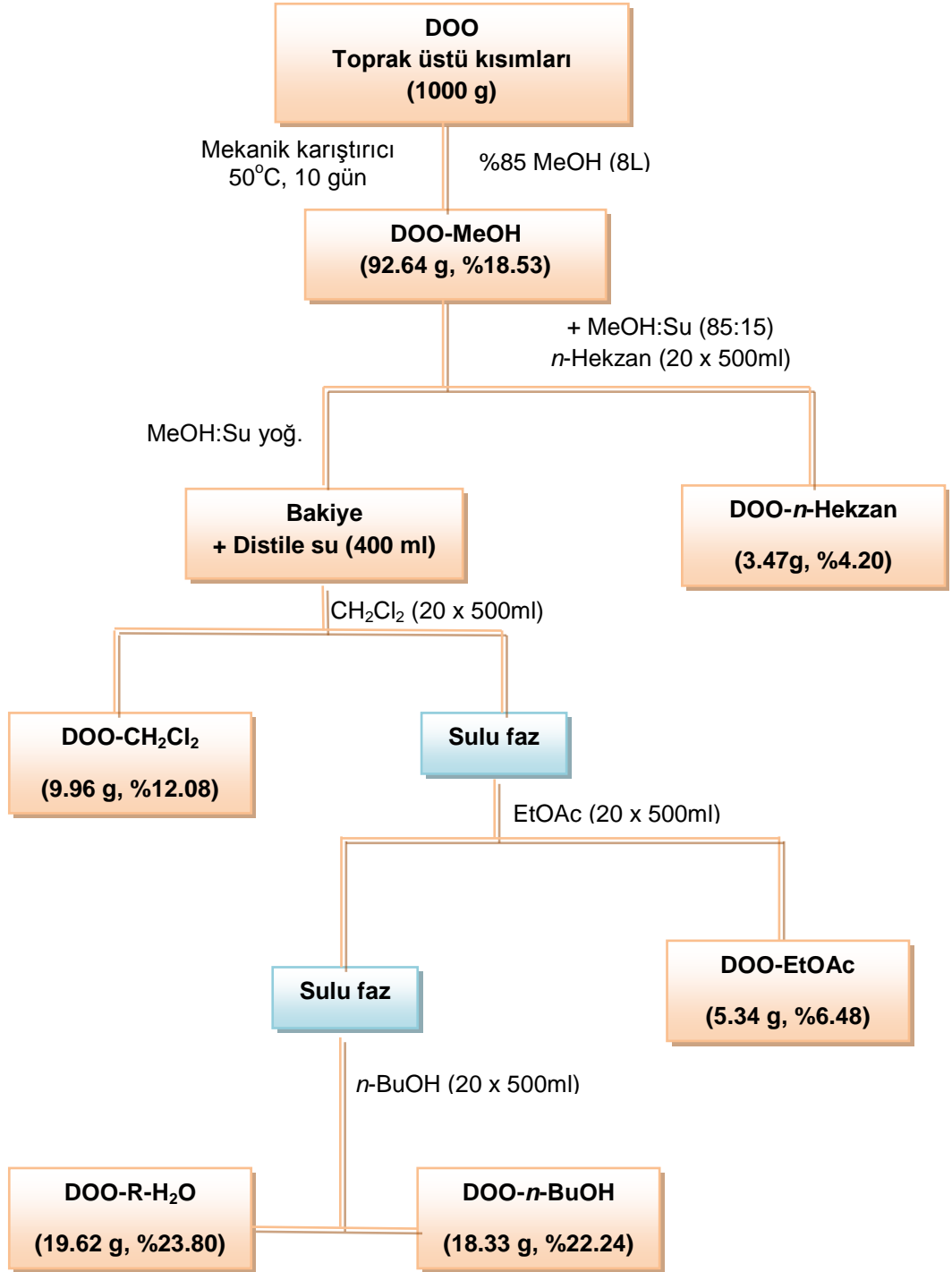
Diklorometanla ekstraksiyon sonrası kalan sulu faz ayırma hunisinde 500'er ml etil asetat ile 20 defa ekstre edildi. Etil asetatlı fazlar birleştirilip alçak basınç altında, 40°C sıcaklıkta yoğunlaştırıldı. "***EtOAc* alt ekstresi**" elde edildi (**DOK-*EtOAc*** 15.98 g, %8.14 verim; **DOO-*EtOAc*** 5.34 g, %6.48 verim).

Etil asetat ile ekstraksiyon sonrası kalan sulu faz ayırma hunisinde 500'er ml su ile doyurulmuş *n*-Butanol ile 20 defa ekstre edildi. *n*-Butanollü fazlar birleştirilip alçak basınç altında, 40°C sıcaklıkta yoğunlaştırıldı. "***n*-BuOH alt ekstresi**" elde edildi (**DOK-*n*-BuOH** 53.67 g, %27.33 verim; **DOO- *n*-BuOH** 18.33 g, %22.24 verim).

n-BuOH ile ekstraksiyon sonrası kalan sulu faz alçak basınç altında, 40°C sıcaklıkta yoğunlaştırıldı, liyofilizatörde kurutuldu. "***R-H₂O* alt ekstresi**" elde edildi (**DOK-*R-H₂O*** 29.85 g, %15.20 verim; **DOO-*R-H₂O*** 19.62 g, %23.80 verim).



Şekil 2: *Daphne oleoides* subsp. *kurdica* (DOK)-MeOH Ekstresinin BAYF Yöntemine Göre Fraksiyonlanması



Şekil 3: *Daphne oleoides* subsp. *oleoides* (DOO)-MeOH Ekstresinin BAYF Yöntemine Göre Fraksiyonlanması

3.2.1.1.3. Ekstre ve Alt Ekstrelerin Total Fenol Miktarları Açısından Değerlendirilmesi

Fenolik bileşikler, antioksidan etki mekanizması ile lipit peroksidasyonunu inhibe etmektedir. Bu da hücre hasarını engelleyerek kolajen fibrillerin dayanıklılığını arttırmakta ve yara iyileşmesine katkı sağlamaktadır. Test edilen bitkilerin fenolik bileşikler bakımından zengin olması yara iyileştirici etkileri hakkında bilgi verici olabilir^{136,137}. Bu amaçla Spanos ve Wrolstad tarafından geliştirilen yöntem, bazı değişiklikler ile uygulanmıştır¹³⁸.

0.5 g gallik asit 100 ml %10 etanol içinde çözülerek hazırlanan stok çözeltisinden bir seri dilüsyon çözeltileri (0.05 mg/ml; 0.1 mg/ml; 0.15 mg/ml; 0.25 mg/ml ve 0.5 mg/ml) hazırlandı. Test numunelerinden 10'ar mg tartılarak distile suyla 10 ml'ye tamamlandıktan sonra; hem stok çözelti dilüsyonlarından hem de numunelerden 100'er µl alınarak tüplere konuldu ve her tüpün içerisine 900 µl distile su; 5 ml Folin Ciocalteu fenol çözeltisi (1:10) ve 4 mL Na₂CO₃ çözeltisi (75 g/l) eklenerek karanlık yerde, oda sıcaklığında 2 saat bekletildi. U.V. spektrofotometresinde 765 nm'de öncelikle stok çözelti dilüsyonlarının absorbansları ölçülerek bir kalibrasyon grafiği oluşturuldu. Daha sonra numunelerin absorbans değerlerinden total fenol miktarları hesaplandı.

3.2.1.1.4. Aktif Alt Ekstrelerin Kromatografik Yöntemler ile Ayırımı

Çalışmalarımızda normal faz, silika jel kaplı alüminyum tabaka hazır plaklar kullanılmıştır.

Plak Özellikleri: Kieselgel 60 F₂₅₄ 0.2 mm; Merck; Art.5735

Solvan Sistemleri:

1. Kloroform:Metanol (90:10)
2. Kloroform:Metanol (80:20)

3. Kloroform: Metanol (70:30)
4. Kloroform:Metanol:Su (61:32:7)
5. Diklorometan
6. Diklorometan:Metanol (99:1)
7. Diklorometan:Metanol (98:2)
8. Diklorometan:Metanol (97:3)
9. Etil asetat:Formik asit:Asetik asit:Su (100:11:11:27)
10. *n*-Hekzan:Etilasetat (90:10)
11. *n*-Hekzan:Etilasetat (80:20)
12. *n*-Hekzan:Etilasetat (70:30)

Revelatörler: %5 H₂SO₄ Reaktifi (t°C)

Vanilin-H₂SO₄ Reaktifi (t°C)

Anisaldehit-H₂SO₄ Reaktifi (t°C)

%5 KOH Reaktifi

Plaklar UV lambası altında 254 ve 366 nm dalga boylarında incelenmiştir.

3.2.1.1.4.1. *D. oleoides* subsp. *kurdica* (DOK) ve *D. oleoides* subsp. *oleoides* (DOO) EtOAc alt ekstralarının silika jel kolon kromatografisi ile ayırımı

DOK ve DOO metanollü ekstralarının çeşitli çözücülerle fraksiyonlanması sonucunda elde edilen ekstralar ile yapılan aktivite çalışmaları neticesinde EtOAc alt ekstralarının yara iyileşmesini önemli ölçüde hızlandırdığı tespit edilmiştir. Bu amaçla daha ileri çalışmaların EtOAc alt ekstraları üzerinde yapılması planlanmıştır. Bu alt ekstraların fraksiyonlarını elde etmek üzere kolon kromatografisi yöntemlerinden yararlanılmıştır. Silika jel kolonda yapılan fraksiyonlama ve ayırım çalışmaları ile fraksiyonlar elde edilmiştir. Kullanılan kolon sisteminin özellikleri aşağıdaki gibidir.

Kullanılan kolon sistemi

Kolon Boyutları : 4 x 20 cm

Adsorban : Silica gel 70-230 mesh, 60A^o

Solvan Sistemi :CHCl₃; CHCl₃:MeOH(95:5); CHCl₃:MeOH(90:10)

Akış Hızı :1.5-2 ml/dk

Materyal :2 g EtOAc alt ekstresi

Toplanan Fraksiyon Miktarı: 50 ml

Kolonun hazırlanması

25 g silika jel yeterli miktarda kloroform ile karıştırılarak süspansiyon haline getirildi ve cam kolona hava boşluğu kalmayacak şekilde kolon kenarlarından yavaşça vurularak dolduruldu. Kolondaki adsorbanın iyice yerleşmesi için kolon ağzı kapatılarak 12 saat bekletildi.

2 g numune 1 g silika jel ile homojen bir şekilde karıştırıldı ve her bir deney numunesi ayrı ayrı kolona tatbik edildi. Elde edilen fraksiyonlar üzerinde biyolojik aktivite ve fitokimyasal çalışmaların yapılabilmesi için yeterli miktar elde edilene kadar aynı işlem birkaç kez daha tekrarlandı. Kolondan alınan fraksiyonlar İTK ile kontrol edildi. İTK analizleri sonucunda aynı madde gruplarını içerdiği tespit edilen fraksiyonlar birleştirildi. Her iki alt türden de 4'er fraksiyon elde edildi. Elde edilen fraksiyonlar ve kuru ağırlıkları Şekil 4 ve 5'te sunulmuştur.

3.2.1.1.4.2. DOK-EtOAc Fr. (22-39) ve DOO-EtOAc Fr. (19-27) Fraksiyonlarından Ters Faz-Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (RP-HPLC) Tekniği Kullanılarak Aktif Bileşiklerin İzolasyonu

DOK-EtOAc Fr. (22-39) ve DOO-EtOAc Fr. (19-27)'nin biyolojik aktivite deneylerinden en yüksek aktiviteyi göstermesi nedeniyle bu fraksiyonlardan Ters Faz-Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi tekniği kullanılarak ayırma işlemlerinin sürdürülmesine karar verilmiştir. Analizdeki kromatografik şartlar aşağıda sunulmuştur.

Kromatografik Şartlar

Cihaz: Dionex Ultimate 3000 HPLC, PN: 5722.0025

HPLC Kolon: Phenomenex, Luna 5µ C18, 150 x 10 mm

Enjektör: TITANhp-Rheodyne enjektör

Pompa: Ultimate 3000 HPLC pompa

Mobil Faz: MeOH:H₂O (30→100:70→0)

Akış hızı: 2 ml/dk

Dedektör: Ultimate 3000 DAD

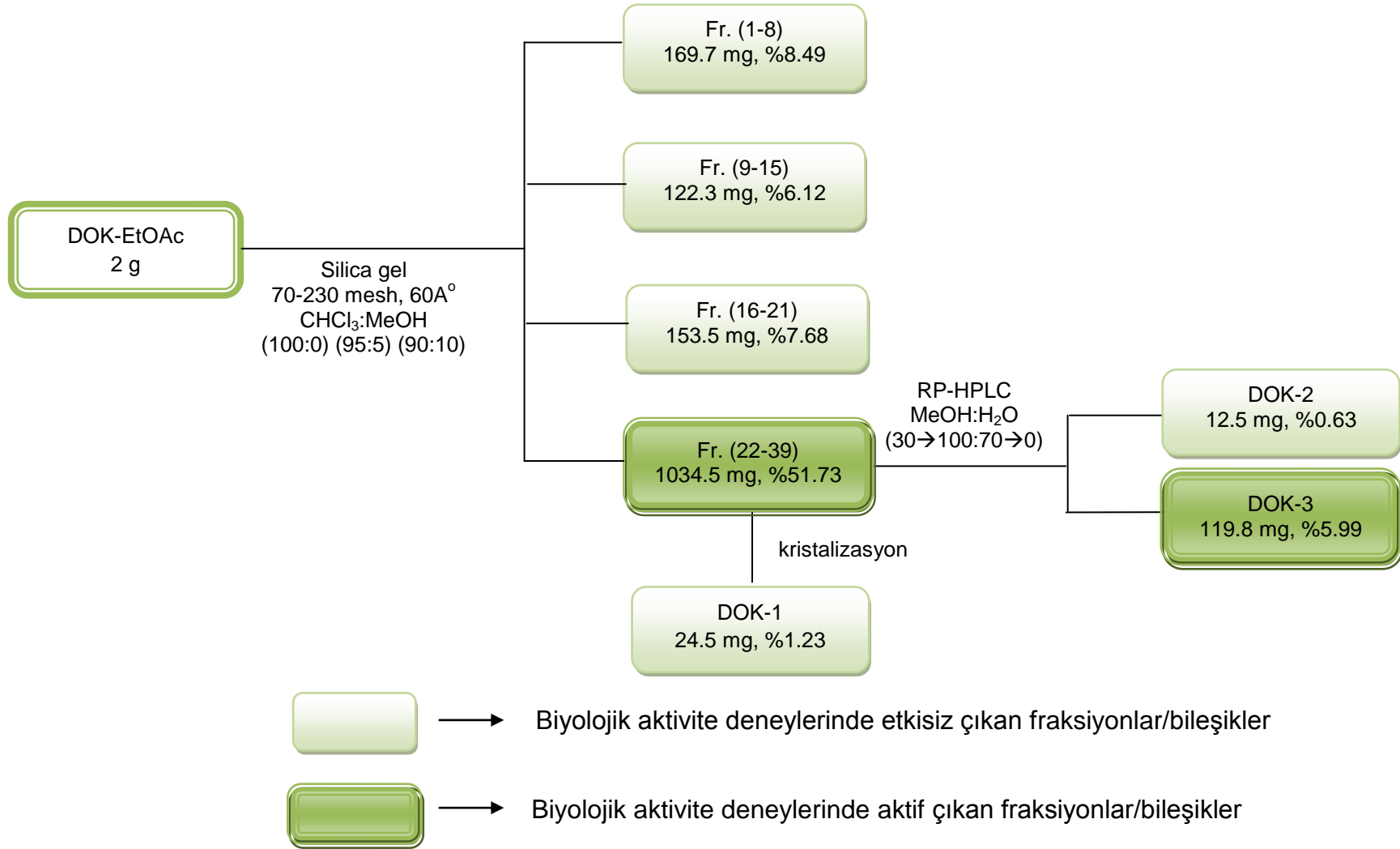
Dalga boyu: 220 nm, 254 nm, 280 nm, 331 nm

Madde konsantrasyonu: 50 mg/ml

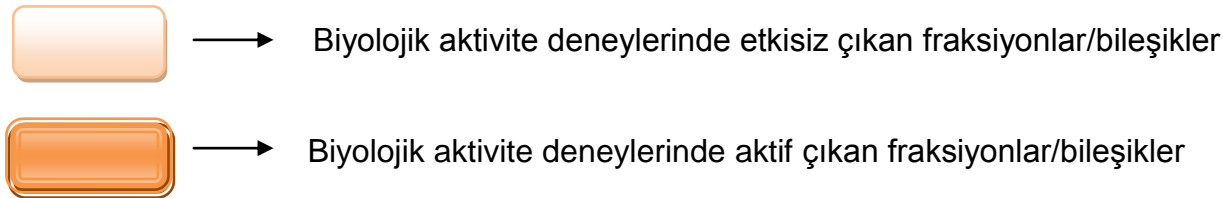
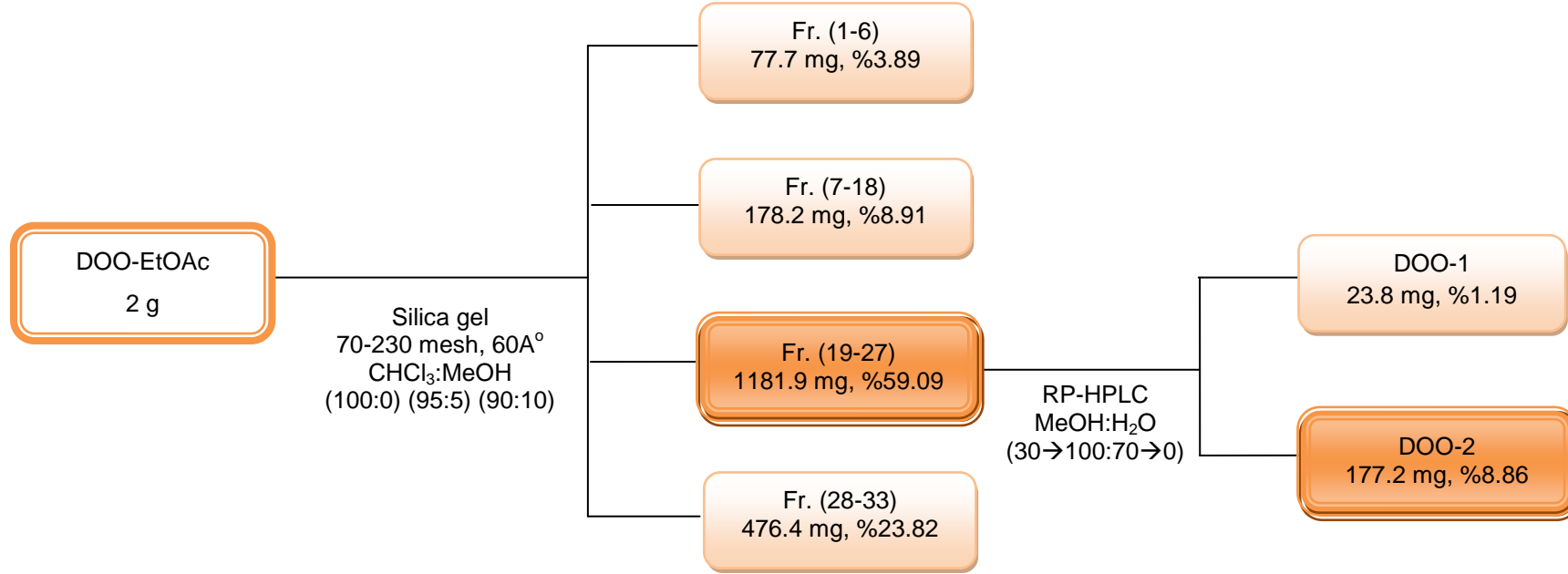
Enjeksiyon hacmi: 200 µl

Analiz süresi: 50 dk

DOK-EtOAc Fr. (22-39) ve DOO-EtOAc Fr. (19-27) fraksiyonları metanol içerisinde çözülerek 200 µl kolona enjekte edildi. Alt fraksiyonlar fraksiyon kollektörü kullanılarak toplandı. Çözücü alçak basınç altında rotavaporda 40°C'yi aşmayan sıcaklıkta yoğunlaştırıldı. Elde edilen bileşikler ve kuru ağırlıkları Şekil 4 ve 5'te sunulmuştur.



Şekil 4: DOK-EtOAc alt ekstresinden silika jel kolon ve ters faz yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ile elde edilen fraksiyonlar/bileşikler



Şekil 5: DOO-EtOAc alt ekstresinden silika jel kolon ve ters faz yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ile elde edilen fraksiyonlar/bileşikler

3.2.2. BİYOLOJİK AKTİVİTE ÇALIŞMALARI

3.2.2.1. Deney Protokolü

3.2.2.2. Deney Hayvanları

Deneylerde Gazi Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarı'ndan temin edilen 160-180 g ağırlığında erkek Sprague&Dawley sıçanlar ve 25-30 g ağırlığında erkek Swiss Albino fareler kullanıldı. Hayvanların ortama adapte olabilmesi için deneye başlamadan önce laboratuvar şartlarında en az üç gün beklendi. Bu bekleme süresince hayvanlar standart pellet yem ve su ile beslendiler, 12 saat aydınlık 12 saat karanlık uygulaması yapılan laboratuvar da oda sıcaklığında barındırıldılar. Deneylerde her grupta altı hayvan kullanıldı.

3.2.2.3. Test Numunelerinin Hazırlanması

Test numunelerinden hazırlanan merhemler; %1 oranında ekstre/fraksiyon içerecek şekilde Madecassol® pomat' in bazı olan glükol stearat: 1,2 propilen glükol: sıvı parafin (3:6:1) kullanılarak hazırlandı. Etkili bulunan alt ekstrelerde doz bağımlı etkinin araştırılması amacıyla, %1, 3 ve 5'lik oranlarda merhemler hazırlandı. Yapılan aktivite deneylerinde etkinin doz bağımlı olmadığı tespit edilmesi nedeniyle alt ekstre, fraksiyon ve izole edilen bileşikler sadece %1'lik formülasyonlar halinde kullanıldı.

Anti-enflamatuvar aktivite deney modelinde, test numuneleri %0.5'lik sodyum karboksimetil selüloz (CMC) çözeltisi içerisinde, gerekli durumlarda ultrasonik banyo yardımıyla süspanse edildi ve deney hayvanlarına özel mide gavajı vasıtasıyla oral yolla uygulandı. Kontrol grubu hayvanlarına ise sadece test numunelerinin hazırlanmasında kullanılan %0.5'lik CMC verildi.

3.2.2.4. Referans Madde

Yara iyileştirici aktivite deneylerinde sonuçların karşılaştırılması amacıyla, standart yara iyileştirici madde olarak; referans

madde grubundaki her deney hayvanının yarası üzerine haricen 500'er mg Madecassol® pomat uygulandı.

Anti-enflamatuvar etkinin değerlendirilmesinde referans madde olarak %0.5'lik CMC içinde hazırlanmış 10 mg/kg indometasin; antioksidan etkinin değerlendirilmesinde referans madde olarak kersetinin metanolde hazırlanan bir seri dilüsyon çözeltisi kullanıldı. Hyaluronidaz enzim inhibisyonu deneyinde 100 µg/ml konsantrasyonda tannik asit; Kolajenaz ve elastaz enzim inhibisyonu deneylerinde 100 µg/ml konsantrasyonda epigallokateşin gallat referans madde olarak kullanıldı.

3.2.2.5. Biyolojik Aktivite Deneyleri

3.2.2.5.1. *In vivo* Aktivite deneyleri

3.2.2.5.1.1. Yara Oluşturma Modelleri

3.2.2.5.1.1.1.Çizgisel İnsizyon Yara Modeli

Çizgisel insizyon yara modelinde deney süresince uygulanan merhemlerin kolajen yapımı ve yara gerilimini arttırıcı etkisi, Lodhi ve ark. ile Suguna ve ark.'nın yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir^{139,140}.

Sıçanlara zayıf eter anestezisi altında intraperitoneal yolla 0.15 cc Ketazol® enjeksiyonu ile genel anestezi yapıldı. Sırt kısımlarının orta hattından 2 cm uzaklıkta bistüri ile iki adet 5 cm'lik çizgisel insizyon yarası oluşturuldu. Cerrahi ipek iplikle eşit aralıklarla 3 adet dikiş atıldı. 9 gün boyunca günde bir defa 500'er mg ekstre/fraksiyon içeren merhem formülasyonları haricen yaralara uygulandı. 9. gün sonunda dikişler alındı. 10. gün hayvanlar eter anestezisi ile öldürüldü. Yara oluşturulan bölgeler yara kenarlarının 2'şer cm uzağından cerrahi makasla kesildi. Yaralardan biri histopatolojik incelemeler için ayrıldı. Diğer yaranın tensiometre ile gerilim kuvveti ölçüldü¹⁴¹.

Çizgisel insizyon yara modelinde yüzde gerilme kuvveti hesaplanırken aşağıdaki formül kullanılmıştır.

$$\% \text{ Gerilme kuvveti} : \frac{(T-BM)}{BM} \times 100$$

BM: Baz merhem uygulanan grubun gerilme kuvveti ortalaması

T: Test numunesi uygulanan grubun gerilme kuvveti ortalaması

3.2.2.5.1.1.2.Dairesel Eksizyon Yara Modeli

Dairesel eksizyon yara modelinde gün aşırı ölçülen yara alanlarındaki küçülmenin tespiti için Sadaf ve ark. tarafından geliştirilen yöntem bazı değişiklikler yapılarak farelerde uygulanmıştır¹⁴².

Farelere zayıf eter anestezisi altında intraperitoneal yolla 0.01 cc Ketazol® enjeksiyonu ile genel anestezi yapıldı. Biopsi punch ile 5 mm çapında dairesel eksizyon yarası oluşturuldu ve 12 gün boyunca 500'er mg ekstre/fraksiyon içeren merhem formülasyonları haricen yaralara uygulandı. Yara alanlarının her gün dijital fotoğraf makinesi ile resimleri çekildi ve AutoCAD programı kullanılarak yara alanlarındaki küçülme hesaplandı¹⁴³.

Dairesel eksizyon yara modelinde, yara alanlarındaki küçülmelerin değerlendirildiği yüzde kontraksiyon oranları hesaplanırken aşağıdaki formül kullanılmıştır.

$$\% \text{ Kontraksiyon} : \frac{(BM-T)}{BM} \times 100$$

BM : Baz merhem uygulanan grubun yara alanı ortalaması

T : Test numunesi uygulanan grubun yara alanı ortalaması

3.2.2.5.1.1.3. Histopatolojik İncelemeler

Histopatolojik incelemeler için derinin tüm katmanlarını içeren uygun büyüklükteki örnekler %10'luk tamponlu formaldehitte tespit edilerek rutin doku takibine alındı ve parafinde bloklandı. Parafin bloklardan alınan 5 µm kalınlığındaki kesitler lama transfer edilerek hematoksilin-eozin (HE) ve Van Gieson (VG) boya ile boyandı. Işık mikroskobu (Olympus CX41 bağlı Kameram® Dijital Image Analiz Sistemi) altında incelenen dokularda epidermal ve dermal re-modelleme hafif (+), orta (++) ve şiddetli (+++) olmak üzere derecelendirildi. Epidermis re-epitelizasyon veya ülser; dermis ise fibroblast proliferasyonu, mononükleer ve/veya polimorfonükleer hücreler, neovaskülarizasyon ve kolajen birikimi yönünden incelendikten sonra epidermal ve/veya dermal re-modelleme evrelendirildi. Van Gieson boyanmış kesitlerde kolajen birikimi ortaya kondu. Tüm bu incelemelerin ardından tüm gruplarda yara iyileşmesi ile ilgili bulgular birleştirildi ve iyileşme aşamalarından enflamasyon, proliferasyon ve re-modelleme yönünden evrelemeye gidildi^{144,145}.

3.2.2.5.1.1.4. Kolajen Bağ Dokunun Saptanması

Hidroksiprolin Tayini

Ekstraselüler matriks elemanlarından biri olan kolajen hücrelere destekleyici bir iskelet oluşturan ve yara iyileşmesinde rol oynayan ana yapısal bir proteindir. Dokulardaki kolajen miktarı kolajenin yapısında bulunan hidroksiprolinin ölçümü ile belirlenir. Hidroksiprolin miktarının fazla olması dokuda kolajenin fazla olduğunu gösterir¹³². Bu amaçla Woessner tarafından geliştirilen yöntem çeşitli modifikasyonlar yapılarak çalışılmıştır^{146,147}.

Hidroksiprolin standartının ölçümü için 5 mg hidroksiprolin 50 ml 0.001 N HCl'de çözülerek hazırlanan stok çözeltisinden bir seri dilüsyon çözeltileri (0.5 µg/ml; 1 µg/ml; 1.5 µg/ml; 2 µg/ml ve 2.5 µg/ml) hazırlandı. Her çözeltiden 2 ml tüplere alındı.

Diğer taraftan ölçümü yapılacak dokular tartıldı, ağız kapaklı pyrex tüplere konuldu. Üzerine 5 ml 6 N HCl ilave edildi. 130°C'de 3 saat hidroliz edildi. İndikatör olarak birkaç damla %0.02'lik metil kırmızısı eklendi. Çözeltinin rengi sarıya dönene kadar pH 6-7 arasında olana kadar 2.5 N NaOH eklendi.

Hem standart hem de test çözeltilerinden 2 ml alındı. 1ml taze hazırlanmış Kloramin T eklendi. 20 dk oda ısısında bekletildi. 1 ml perklorik asit eklendi. 1 ml taze hazırlanmış 0.2 g/ml *p*-dimetilaminobenzaldehit çözeltisi eklendi. Tabakalanma kayboluncaya kadar çalkalandı. 60°C su banyosunda 20 dk bekletildi. 5 dk musluk suyunda soğutuldu. Çözeltilerin absorbanı 557 nm'de ölçüldü¹⁴⁷.

3.2.2.5.1.2. Antienflamatuvar Aktivite Tayini

Asetik Asit-Nedenli Kapiller Permeabilite Artışının İnhibisyonu (Whittle Yöntemi)

Asetik asit, kapiller damarların proteinlere olan permeabilitesinin artışına neden olarak plazmanın kapillerlerden vücut boşluklarına eksudasyonuna yol açar. Bu durumda antienflamatuvar amaçla kullanılan test numunesinin eksudasyonu inhibe etmesi istenen bir durumdur. Whittle'in deney hayvanlarında uygulanmak üzere geliştirdiği modelde, asetik asit ile oluşturulan eksudasyonun tespit edilmesi amacıyla proteine bağlanma yeteneğine sahip Pontamine Sky Blue veya Evans Blue gibi boyar maddelerden yararlanılmaktadır. Toplanan abdominal eksudadan ekstre edilen boyar maddenin renk yoğunluğu spektrofotometrik yöntemle ölçülerek test numunesinin sağladığı inhibisyon antienflamatuvar aktivite olarak değerlendirilmektedir¹⁴⁸.

Yara iyileşmesinin erken yanıtlarından biri de akut iltihabi süreçtir. İltihabi yanıt, sınırlı doku zedelenmesinin de eşlik etmesi nedeniyle bu süreç çok kontrollü ve dengeli bir biçimde gelişir. Fagositöz

sonucu lizozomal enzimlerin ekstraselüler boşluğa sızması, lipit membranların erimesine neden olur. Bu sırada oluşan araşidonik asit metabolitleri doğrudan endotel zedelenmesi ile doku hasarı oluşturur. Bu nedenle yara iyileşmesinde akut iltihabın seyri ve bu sürecin kontrollü bir şekilde devam ettiğinin gözlenebilmesi amacı ile çalışma materyallerinin anti-enflamatuvar aktiviteleri asetik asit-nedenli kapiller permeabilite artışının inhibisyonuna dayanan Whittle metodu kullanılarak değerlendirildi¹⁴⁸.

Farelere test numuneleri ve referans olarak kullanılan indometasin uygulandıktan 30 dakika sonra her farenin marjinal kuyruk venasına %4'lük Evans Blue çözeltisinden 0.1 ml enjekte edildi. 10 dakika sonra %0.5'lik asetik asit çözeltisinden 0.4 ml intraperitoneal yolla uygulandı. Hayvanlar 20 dakika sonra servikal dislokasyonla öldürüldü. Periton açıldı ve içeriği, distile su ile yıkanarak içinde 0.1 N NaOH bulunan 10 ml'lik balon jöjelere aktarıldı ve distile su ile 10 ml' ye tamamlandı. Boyanın absorbansı 590 nm'de Beckman Due Spektrofotometre kullanılarak ölçüldü.

Boyar madde olarak kullanılan Evans Blue'nun değişik konsantrasyonlarda (2.5 µg/ml, 5 µg/ml, 10 µg/ml, 15 µg/ml, 20 µg/ml, 25 µg/ml) bir seri çözeltisi hazırlanarak Lambert-Beer kanunu esası ile 590 nm'de absorbansları ölçüldü ve bir kalibrasyon eğrisi oluşturuldu.

Eksudadan ekstre edilen boyar maddenin absorbansı ölçüldü ve aşağıdaki formül kullanılarak iltihaplanmanın inhibisyonu hesaplandı:

$$\% \text{ İnhibisyon} = \frac{(A_a - A_b)}{A_a} \times 100$$

A_a : Kontrol grubundaki boyar maddenin absorbansı

A_b : Test numunesi uygulanan gruptaki boyar maddenin absorbansı

3.2.2.5.2. *In vitro* Aktivite deneyleri

3.2.2.5.2.1. Antioksidan Aktivite Tayini

2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) üzerinden serbest radikal süpürücü etki tayini

Yara iyileşmesinde antioksidan etkinin önemi oldukça büyüktür. Antioksidan etki sağlayan bileşikler lipit peroksidasyonunu inhibe ederek hücre hasarını önlemekte ve kolajen fibrillerin dayanıklılığını arttırmaktadır. Test edilen bitkilerin antioksidan etki bakımından değerlendirilmesi yara iyileştirici etkileri hakkında bilgi vermesi açısından önemlidir^{136,137}. Bu nedenle çalışmamızda, antioksidan aktivitenin değerlendirilmesi amacıyla DPPH üzerinden serbest radikal süpürücü etki tayinine dayanan yöntem kullanılmıştır¹⁴⁹.

Test numuneleri metanolde çözüldükten sonra 80 µg/ml konsantrasyonda metanolde hazırlanmış olan DPPH çözeltisi ile karıştırıldı. 30 dakika inkübasyonun ardından DPPH çözeltisinin rengi 517 nm'de spektrofotometre kullanılarak ölçüldü.

Antioksidan aktivite sonuçları DPPH inhibisyonunun yüzdesi olarak aşağıdaki denkleme göre hesaplandı.

$$\% \text{ İnhibisyon} = \frac{(A_a - A_b)}{A_a} \times 100$$

A_a : Kontrol grubunun absorbans değeri

A_b : Test numunesinin absorbans değeri

3.2.2.5.2.2. Hyaluronidaz, Kolajenaz ve Elastaz Enzim İnhibisyonunun Ölçülmesi

Ekstraselüler matriks; kolajen, elastin ve fibronektin gibi proteinlerden oluşur. Özellikle kolajen hücrelere destekleyici bir iskelet oluşturan ana yapısal bir proteindir. Elastin doku için gerekli esnekliği, hyaluronik asit ise suyun tutulmasına neden olarak yapıların devamlılığını sağlar. Hyaluronidaz, kolajenaz ve elastaz, ekstraselüler matriks proteinlerinin enzimatik yıkımına neden olan metalloproteinaz enzimlerdir. Normal fizyolojik koşullarda bu endojen inhibitörler dokuların sağlıklı yapısını korumaktadırlar. Ancak dengenin metalloproteinazlardan yana bozulması bağ doku makromoleküllerinin kontrolsüzce yıkımına, dolayısıyla yara iyileşmesinde gecikmeye, akciğerlerde ve kardiyovasküler sistemde rahatsızlıklara neden olmaktadır. Bu enzimler, TGF- β , PDGF, fibronektin, α -1 antiproteaz ve α -2 makroglobin'in yıkımına da neden olarak kronik yaraların patofizyolojisinde önemli rol oynamaktadırlar^{127,128}. Yapılan çalışmalarda iyileşmeyen kronik yaralardaki metalloproteazların miktarının fazla olduğu tespit edilmiştir. Bu enzimlerin minimal seviyede tutulmasının düzgün yara iyileşmesi için gerekli olabileceği düşünülmektedir¹⁵⁰.

3.2.2.5.2.2.1. Hyaluronidaz Enzim İnhibisyonunun Ölçülmesi

Çalışmamızda anti-hyaluronidaz aktivitenin belirlenmesi amacıyla Lee ve Choi (1999) ve Shasrabudhe ve Deodhar (2010) tarafından geliştirilen sodyum hyaluronattan salınan *N*-asetilglukozamin miktarının belirlenmesi ile ölçülmesine dayalı yöntem uygulanmıştır^{128,151}.

50 μ l sıgır hyaluronidazı (7900 ünite/ml) 0.1 M asetat tamponunda çözüldü (pH 3.6). Bu çözelti iki farklı konsantrasyonda %5 DMSO içinde çözünmüş 50 μ l test numunesi çözeltisi ile karıştırıldı. Kontrol grubu için 50 μ l %5 DMSO kullanıldı. 37°C' de 20 dakika

inkübasyonun ardından karışıma 50 µl kalsiyum klorür (12.5 mM) ilave edildi ve tekrar 37°C' de 20 dakika inkübasyona bırakıldı. 250 µl sodyum hyaluronat (1.2 mg/ml) eklendi ve 37°C' de 40 dakika inkübe edildi. Karışıma 50 µl 0.4 M NaOH ve 100 µl 0.2 M sodyum borat ilavesinden sonra 3 dk kaynayan su banyosunda bekletildi. Soğuduktan sonra 1.5 ml *p*-dimetilaminobenzaldehit çözeltisi eklendi ve 37°C'de 20 dakika inkübasyona bırakıldı. Çözeltinin absorbansı Beckmann Due Spektrofotometre kullanılarak 585 nm'de ölçüldü.

3.2.2.5.2.2.2. Kolajenaz Enzim İnhibisyonunun Ölçülmesi

Clostridium histolyticum kolajenaz enzimi (ChC) 0.8 ünite/ml olacak şekilde 50 mM tris tamponu (10 mM CaCl₂ ve 400 mM NaCl ile) içinde çözüldü. Substrat N-[3-(2-furil) akrilolil]-Leu-Gly-Pro-Ala (FALGPA) aynı tampon içinde 2 mM olacak şekilde hazırlandı. 25 µL tampon, 25 µL test numunesi ve 25 µL enzim her kuyucuya eklendi. 15 dakika inkübasyona bırakıldı. 50 µL substrat eklendi. Absorbans 340 nm'de ölçüldü¹⁵². Her bir örnek için üç tekrar yapıldı.

Kolajenaz enzim inhibisyonu aşağıdaki formüle göre hesaplandı:

$$\% \text{ İnhibisyon} = \frac{(A_a - A_b)}{A_a} \times 100$$

A_a : Kontrol grubunun absorbans değeri

A_b : Test numunesinin absorbans değeri

3.2.2.5.2.2.3. Elastaz Enzim İnhibisyonunun Ölçülmesi

Test numuneleri ve insan nötrofil elastaz enzimi (HNE) (17 mU/ml) 0.1M tris-HCl tamponu (pH 7.5) ile 25°C'de 5 dakika inkübasyona bırakıldı. Karışıma HNE'nin substratı N-(metoksisüksinil)-ala-ala-pro-val 4-nitroanilit (MAAPVN) (500 IM) eklendi ve 37°C'de 1 saat inkübasyona

birakıldı. Daha sonra karışıma 1 mg/ml soya tripsin inhibitörü eklendi. *p*-Nitroanilin oluşumuna bağlı olarak 405 nm’de absorpsiyon ölçüldü¹⁵³.

Elastaz enzim inhibisyonu aşağıdaki formüle göre hesaplandı:

$$\% \text{Inhibisyon} = \frac{(A_a - A_b)}{A_a} \times 100$$

A_a : Kontrol grubunun absorbans değeri

A_b : Test numunesinin absorbans değeri

3.2.2.6. İstatistiksel Değerlendirmeler

Deney sonuçları değerlendirilirken tek yönlü “ANOVA” testini içeren “Instat” (Windows) istatistik programı ve aktif çıkan ekstre ve fraksiyonlarda ayrıca Students-Newman-Keuls posthoc testi kullanıldı.

Kontrol ve referans grubu ile karşılaştırılan deney sonuçlarındaki istatistiksel belirginlik aşağıdaki şekillerle ifade edildi:

* : $p < 0,05$; ** : $p < 0,01$; *** : $p < 0,001$

4. BULGULAR

Bu bölüm “Kimyasal Deney Bulguları”, “Biyolojik Aktivite Deney Bulguları” ve “Histopatolojik Deney Bulguları” olmak üzere üç ana başlık altında toplanmıştır. Sonuçların daha açık bir şekilde değerlendirilmesi amacıyla bulgular tablo, grafik ve fotoğraflar halinde sunulmuştur.

4.1. KİMYASAL DENEY BULGULARI

4.1.1. Total Fenol Miktar Tayini

D. oleoides subsp. *kurdica* (DOK) ve *D. oleoides* subsp. *oleoides* (DOO) ekstre ve alt ekstreleri üzerinde yapılan total fenol miktar tayini sonuçları aşağıda tablo halinde sunulmuştur (Tablo 36).

Tablo 36: *D. oleoides* subsp. *kurdica* (DOK) ve *D. oleoides* subsp. *oleoides* (DOO) ekstre ve alt ekstrelerinin total fenol miktarları

Ekstre ve Alt Ekstreler	Total Fenol Miktarları (mg GA/g \pm O.S.H.)
DOK-MeOH	117.43 \pm 1.25
DOK- <i>n</i> -Hekzan	7.42 \pm 1.13
DOK-CH ₂ Cl ₂	191.00 \pm 1.36
DOK-EtOAc	221.00 \pm 1.01
DOK- <i>n</i> -BuOH	101.71 \pm 1.28
DOK-R-H ₂ O	42.6 \pm 1.53
DOO-MeOH	119.57 \pm 0.98
DOO- <i>n</i> -Hekzan	4.57 \pm 1.22
DOO-CH ₂ Cl ₂	88.86 \pm 0.92
DOO-EtOAc	169.57 \pm 1.03
DOO- <i>n</i> -BuOH	114.57 \pm 1.19
DOO-R-H ₂ O	123.86 \pm 1.42

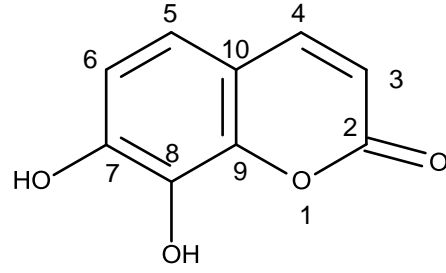
O.S.H.= Ortalama Standart Hata

4.1.2. Yapı Tayini

Biyolojik aktivite deneylerinde aktif olduğu tespit edilen fraksiyonlardan çeşitli kromatografik yöntemler kullanılarak etkiden sorumlu olduğu düşünülen bileşiklerin izolasyonu yapılmıştır. İzole edilen bileşiklerin yapısı spektroskopik yöntemler kullanılarak aydınlatılmıştır.

4.1.2.1. DOK-1 (Dafnetin) Bileşiğinin Yapı Tayini

DOK-1 kodlu bileşik fraksiyondan beyaz renkte, iğne şeklinde kristaller halinde ayrıldı.



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, MeOD): Şekil 6

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, MeOD): Şekil 7

$^{13}\text{C-NMR}$ DEPT 45 (100 MHz, MeOD): Şekil 8

HOMO-COSY $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, MeOD): Şekil 9

FTMS: Şekil 10, 11

$^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ ve FTMS verileri birlikte değerlendirildiğinde molekül formülü $\text{C}_9\text{H}_6\text{O}_4$ olarak belirlendi.

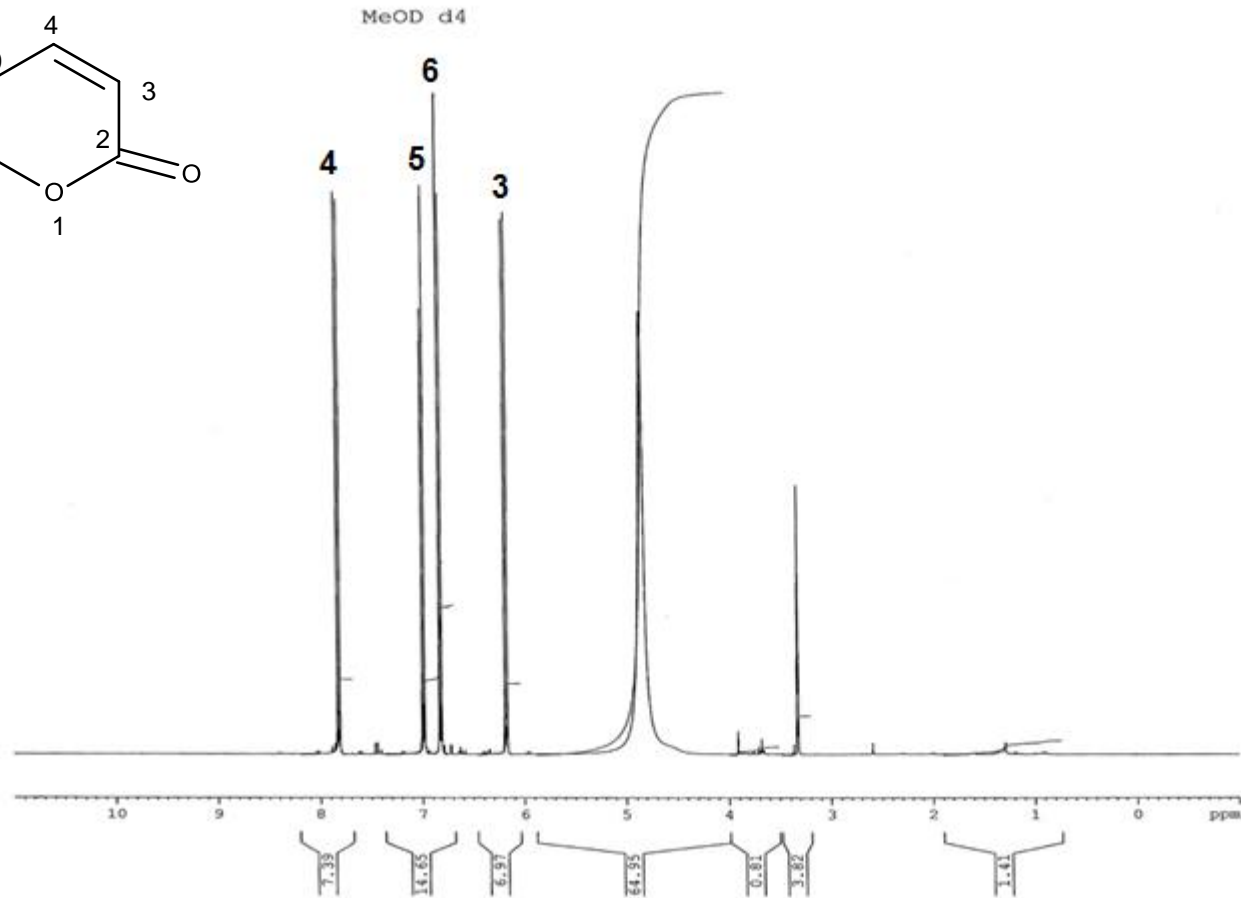
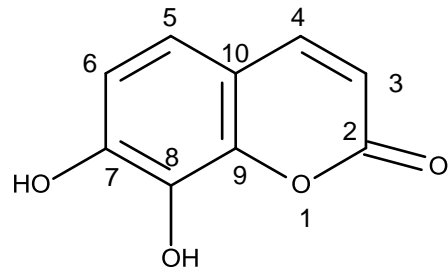
Beyaz toz görünümünde olan DOK-1 bileşiğinin UV₃₆₆'da sarı-kahverengi leke verdiği gözlemlendi. % 5'lik KOH reaktifi püskürtüldükten sonra tekrar UV₃₆₆'da incelenen İTK plağında bileşiğin bu defa mavi-yeşil floresans verdiği tespit edildi. Bu bulguların yanı sıra, ¹H-NMR spektrumunda aromatik sahada bir proton şiddetinde ve dublet olarak sırasıyla görülen δ 6.12; 6.78; 7.13 ve 7.78 sinyalleri birlikte değerlendirildiğinde bileşiğin basit kumarin yapısında olduğu düşünüldü. COSY spektrumunda δ 6.12 (d, J: 9.6 Hz); ve 7.78 (d, J: 9.6 Hz)'de görülen sinyaller ve δ 7.13 (d, J: 8.8 Hz) ve 6.78 (d, J: 8.8 Hz)'de görülen sinyaller arasında etkileşim görüldüğünden etkileşen protonların birbirine komşu olduğu ve etkileşme sabiti (J) değerlerinden buldukları konuma göre orto pozisyonunda buldukları anlaşıldı. Dolayısıyla, 6.12 ve 7.78 ppm'de görülen sinyallerin 3. ve 4. konumlardaki; 7.13 ve 6.78 ppm'de görülen sinyallerin ise 5. ve 6. konumdaki protonların sinyalleri olduğu kanısına varıldı.

¹³C-NMR spektrumunda bileşiğin 9 karbonlu olduğu tespit edildi. 112.2, 120.2 ve 113.8 ppm'de görülen karbon sinyallerin sırasıyla 3., 5. ve 6. konumlardaki karbonlara; 146.7 ppm'deki sinyalin ise uzaysal konumunun 2. konumdaki karbonile yakınlığı nedeniyle 4. pozisyondaki karbona ait olduğu sonucuna varıldı. DEPT 45 spektrumunda görülen sinyallerin 3., 4., 5. ve 6. konumlardaki proton taşıyan karbonlara işaret ettiği tespit edildi.

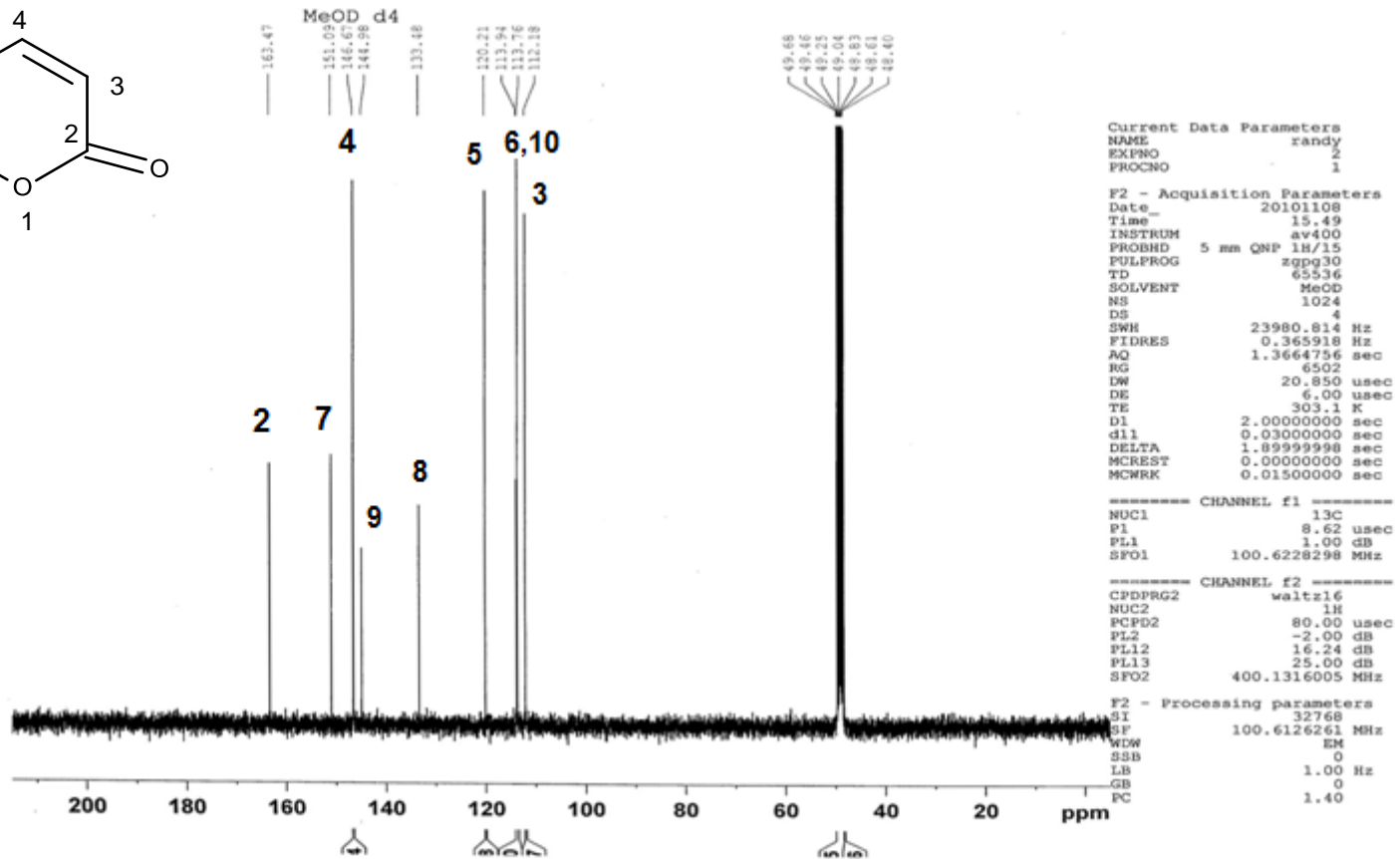
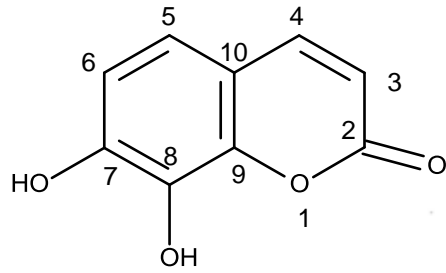
Kütle spektrumunda molekül ağırlığının 178 olduğu belirlenen "DOK-1" bileşiğinin tüm spektroskopik analiz sonuçları beraber değerlendirildiğinde bileşiğin basit kumarin yapısında "dafnetin" olduğu tespit edildi. Elde edilen veriler Tablo 37'de sunulmuştur. Bu veriler literatürde kayıtlı olan bilgilerle uyum göstermektedir¹⁵⁴.

Tablo 37: DOK-1 (Dafnetin) Bileşiminin ¹H-NMR (400 MHz, MeOD) ve ¹³C-NMR (100 MHz, MeOD) Verileri

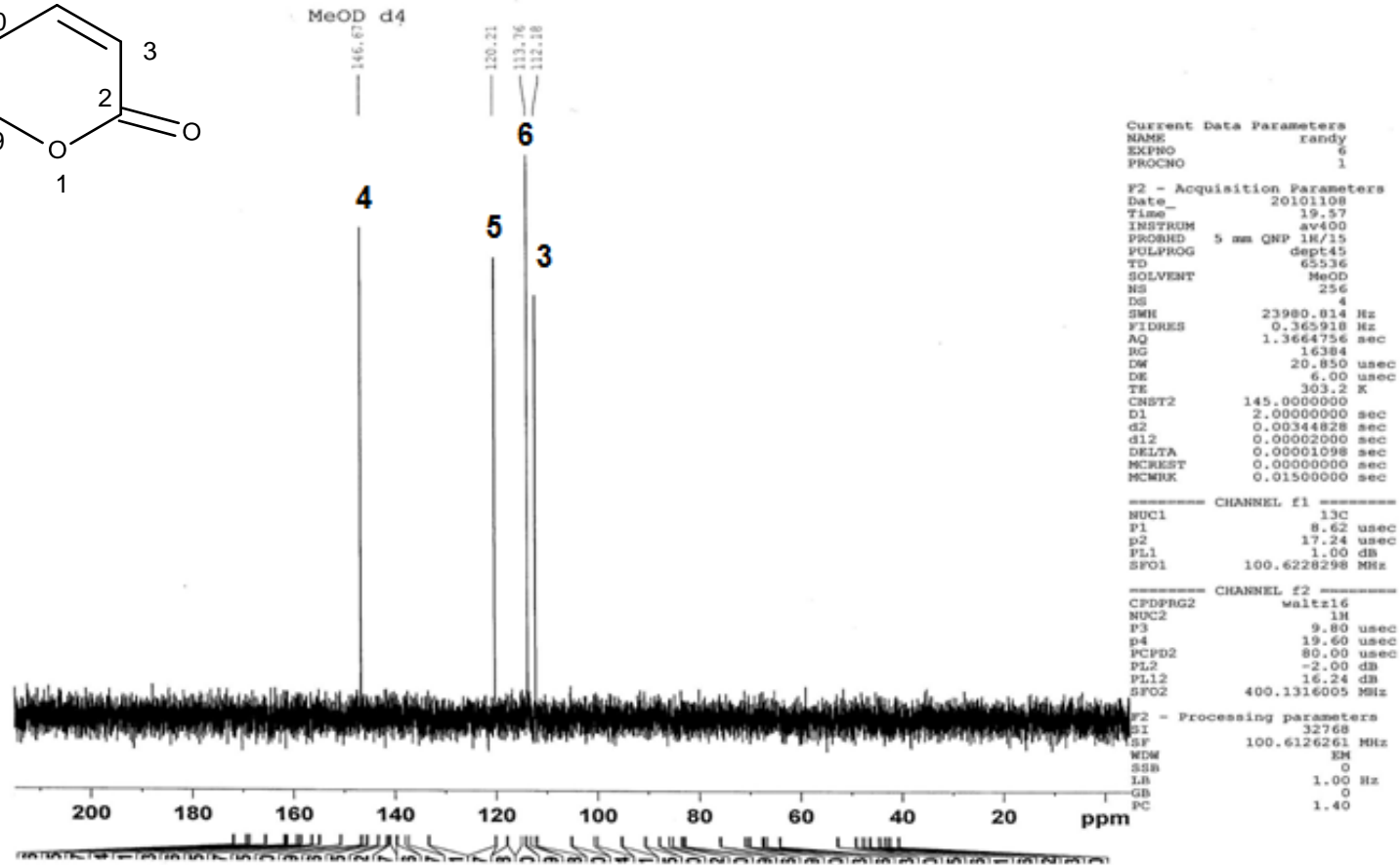
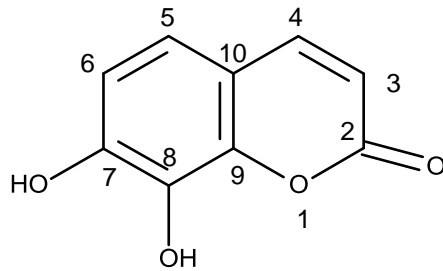
Konum	δ_H , ppm (J, Hz)	δ_C , ppm
2	-	163.5
3	6.12 d (9.6)	112.2
4	7.78 d (9.6)	146.7
5	7.13 d (8.8)	120.2
6	6.78 d (8.8)	113.8
7	-	151.1
8	-	133.5
9	-	144.9
10	-	113.9



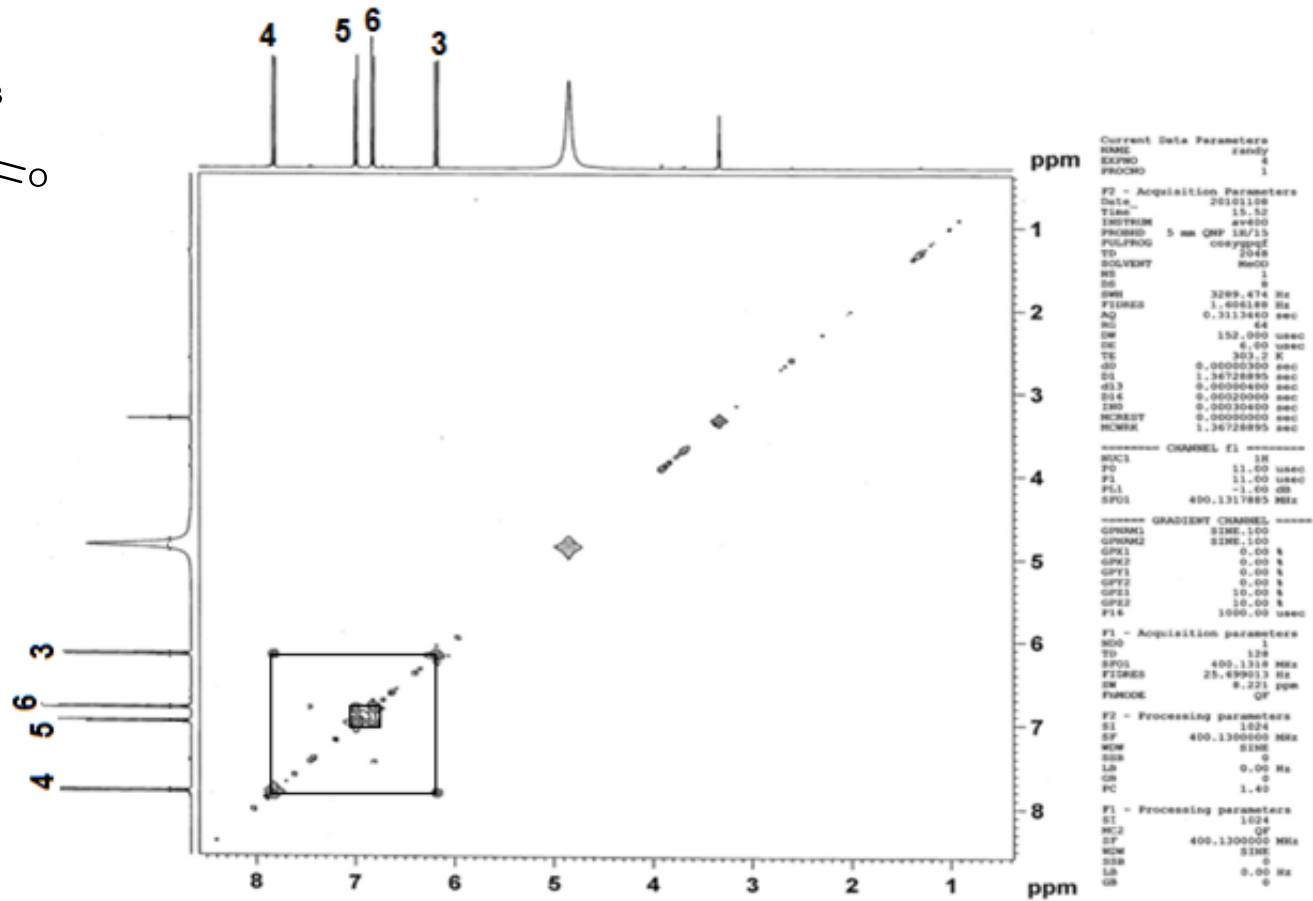
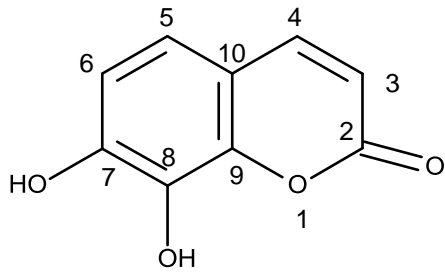
Şekil 6: DOK-1 (Dafnetin) Bileşiğinin ¹H-NMR (400 MHz, MeOD) Spektrumu



Şekil 7: DOK-1 (Dafnetin) Bileşiminin ^{13}C -NMR (100 MHz, MeOD) Spektrumu



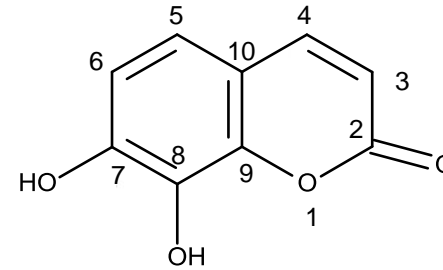
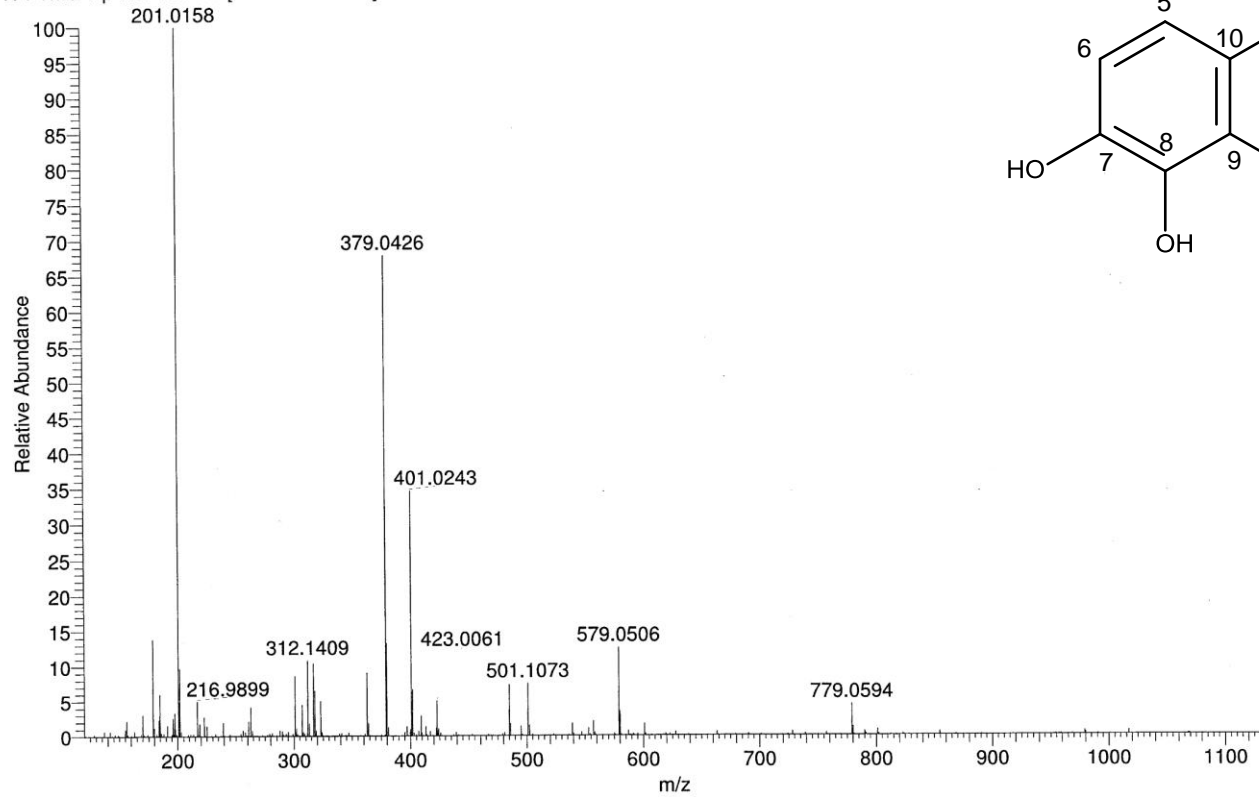
Şekil 8: DOK-1 (Dafnetin) Bileşiğinin ^{13}C -NMR DEPT 45 (100 MHz, MeOD) Spektrumu



Şekil 9: DOK-1 (Dafnetin) Bileşiminin HOMO-COSY ¹H-NMR (400 MHz, MeOD) Spektrumu

MW=178?
(MeOH)/MeOH + NH4OAc
WOLSA065-OE-HNESP #22-31 RT: 0.94-1.19 AV: 10 SM: 7G NL: 2.16E7
T: FTMS + p NSI Full ms [120.00-2000.00]

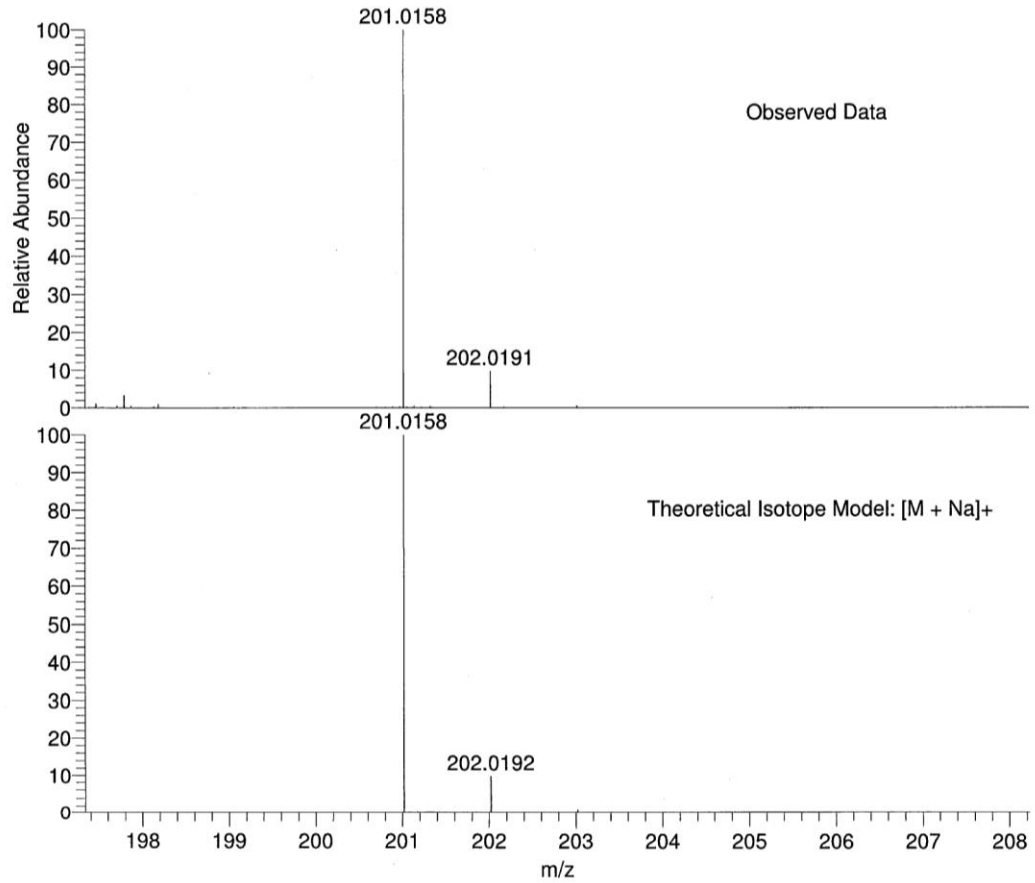
EPSRC National Centre Swansea Prof S Sarker
LTQ Orbitrap XL 26/01/2011 11:34:25



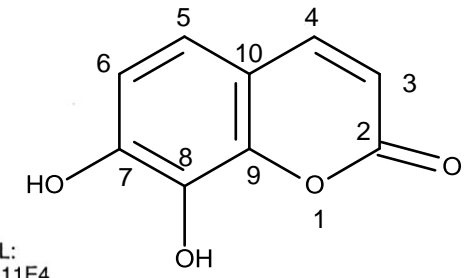
Şekil 10: DOK-1 (Dafnetin) Bileşiğinin FTMS Spektrumu

MW=178?
(MeOH)/MeOH + NH4OAc

EPSRC National Centre Swansea Prof S Sarker
LTQ Orbitrap XL 26/01/2011 11:34:25



NL:
2.16E7
WOLSAR065-OE-HNESP#22-
31 RT: 0.94-1.19 AV: 10 T:
FTMS + p NSI Full ms
[120.00-2000.00]

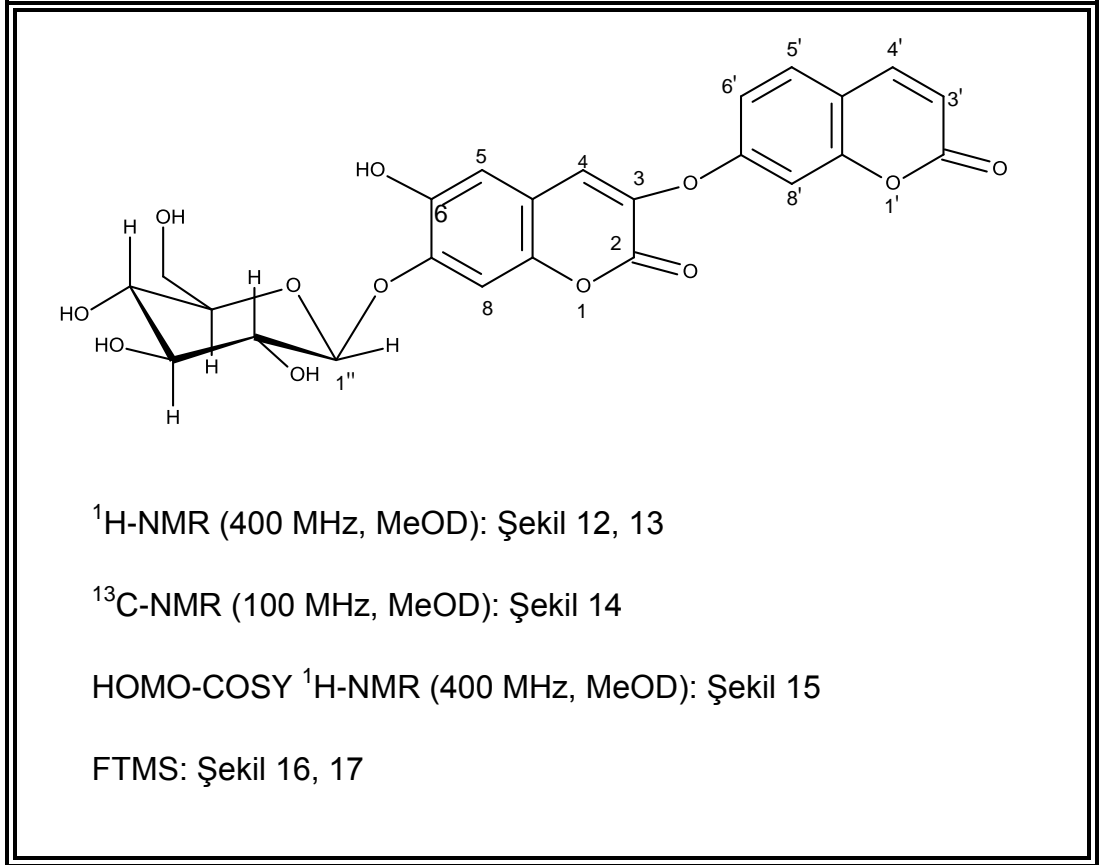


NL:
2.11E4
C₉H₆O₄Na:
C₉H₆O₄Na₁
p (gss, s /p:40) Chrg 1
R: 100000 Res .Pwr . @FWHM

Şekil 11: DOK-1 (Dafnetin) Bileşiğinin FTMS Spektrumu

4.1.2.2. DOK-2 (Demetildafnoretin-7-O-glukozit) Bileşiminin Yapı Tayini

Aktivitesi belirlenen fraksiyondan RP-HPLC yöntemi ile sarı renkli DOK-2 kodlu bileşik izole edildi.



¹H-NMR, ¹³C-NMR ve FTMS verileri birlikte değerlendirildiğinde molekül formülü C₂₄H₂₀O₁₂ olarak belirlendi.

Sarı toz görünümünde olan DOK-2 bileşiminin UV₃₆₆'da parlak mavi floresans verdiği gözlemlendi. ¹H-NMR spektrumunda δ 6.36 (d, J=9.6 Hz) ve 7.95 (d, J=9.6 Hz)'te görülen kumarin iskeletinin tipik 3' ve 4' konumlarındaki dublet sinyalleri⁶⁰ yapının kumarin olabileceğini düşündürdü. Aromatik sahada δ 6.36 ve 7.95 aralığında, DOK-1 bileşiminde görülen sinyal değerlerine çok yakın olduğu ve üst üste

çakıştığı tespit edilen singlet ve dublet sinyallerin görülmesi nedeni ile bileşiğin dikumarin yapısında olabileceği düşünüldü. δ 7.70 ve 7.45'te görülen singlet sinyaller, sırasıyla 4. ve 5. konuma ait sinyaller olup kumarinin 3. ve 6. konumlarının hidrojen taşımadığını gösterdi. HOMO-COSY spektrumunda etkileşen 6.36 ppm ile 7.95 ppm'deki sinyallerin 3' ve 4'; 7.15 ppm ile 7.65 ppm'deki etkileşen sinyallerin ise 5' ve 6' pozisyonlarındaki protonlara ait olduğu tespit edildi. $^1\text{H-NMR}$ spektrumunda δ 5.10 (d, $J=7.7$ Hz)'da görülen anomerik proton rezonansı DOK-2'nin glikozidik bir yapıya sahip olduğunu açıkladı. Etkileşme sabiti (J) değeri yanında şeker sinyaline ait karbon rezonansları ve literatür verileri, glikozit yapısının β -glukoz olduğunu gösterdi. HOMO-COSY spektrumunda 3.30 ile 3.80 ppm aralığındaki glukoz protonlarının kendi içinde etkileştikleri tespit edildi.

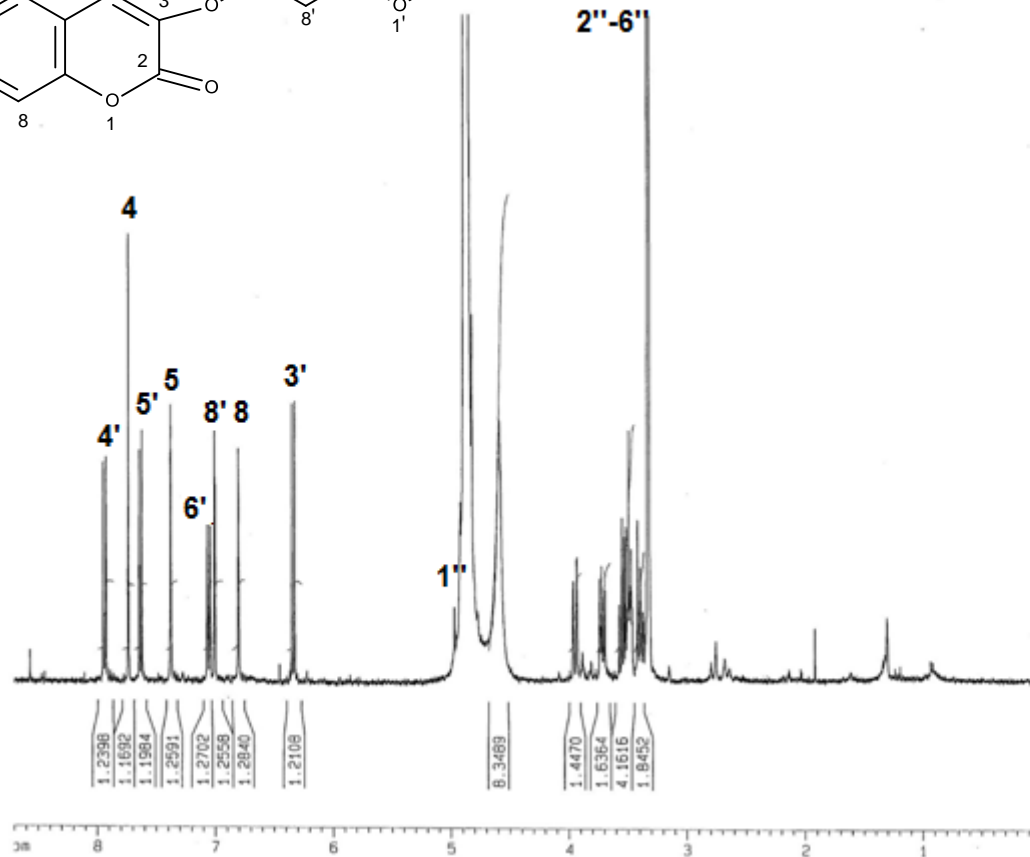
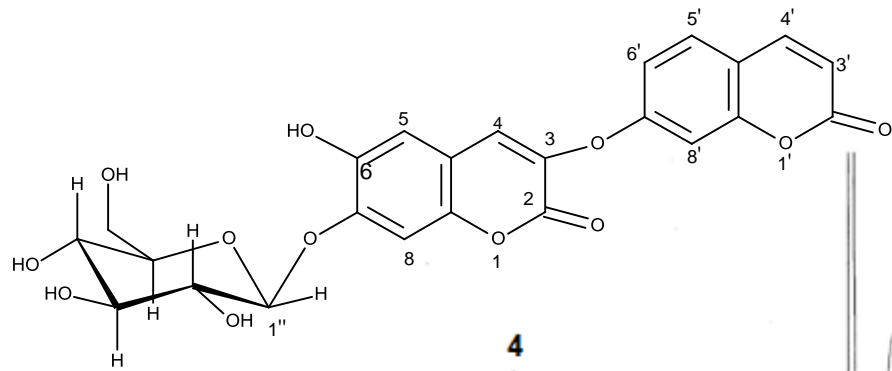
$^{13}\text{C-NMR}$ spektrumunda bileşiğin 24 karbonlu olduğu belirlendi. δ 160.2 ve 160.4'de görülen sinyaller α , β doymamış lakton karbonilinin karbonlarına ait karakteristik pikleri gösterdiğinden⁶⁰ dimer kumarin yapısını doğrulamaktadır.

FTMS verileri ile bileşiğin molekül ağırlığının 500 olduğu belirlendi.

Tüm spektroskopik analiz sonuçları beraber değerlendirildiğinde "DOK-2" bileşiğinin dikumarin yapısında "Demetildafnoretin-7-O-glukozit" olduğu tespit edildi. *D. oleoides*'ten daha önce Demetildafnoretin-7-O-glukozit bileşiği izole edilmiştir. Literatür bilgileri DOK-2 bileşiğinden elde edilen spektroskopik veriler ile karşılaştırıldığında uyum göstermektedir⁶⁰ (Tablo 38).

Tablo 38: DOK-2 (Demetildafnoretin-7-O-glukozit) Bileşğinin ¹H-NMR (400 MHz, MeOD) ve ¹³C-NMR (100 MHz) Verileri

Konum	δ_H , ppm (J, Hz)	δ_C , ppm
2	-	160.2
3	-	136.1
4	7.70 s	130.9
5	7.45 s	111.6
6	-	145.4
7	-	149.7
8	6.90 s	104.8
9	-	151.3
10	-	112.6
2'	-	160.4
3'	6.36 (9.6)	116.2
4'	7.95 d (9.6)	144.7
5'	7.65 d (8.8)	130.5
6'	7.15 dd (8.8; 2.5)	114.9
7'	-	158.7
8'	7.05 d (2.5)	104.6
9'	-	155.8
10'	-	112.6
1''	5.10 d (7.7)	103.2
2''	3.30-3.80 m	74.8
3''		77.6
4''		71.1
5''		78.5
6''		61.1



```

Current Data Parameters
NAME      randy
EXPNO    18
PROCNO   1

F2 - Acquisition Parameters
Date_    20110111
Time     10.02
INSTRUM  av400
PROBHD   5 mm QNP 1H/15
PULPROG  zg30
TD       65536
SOLVENT  MeOD
NS       64
DS       2
SMH      8278.146 Hz
FIDRES   0.126314 Hz
AQ       3.9584243 sec
RG       406.4
DM       60.400 usec
DE       6.00 usec
TE       298.2 K
D1       1.00000000 sec
MCREST   0.00000000 sec
MCWAK    0.01500000 sec

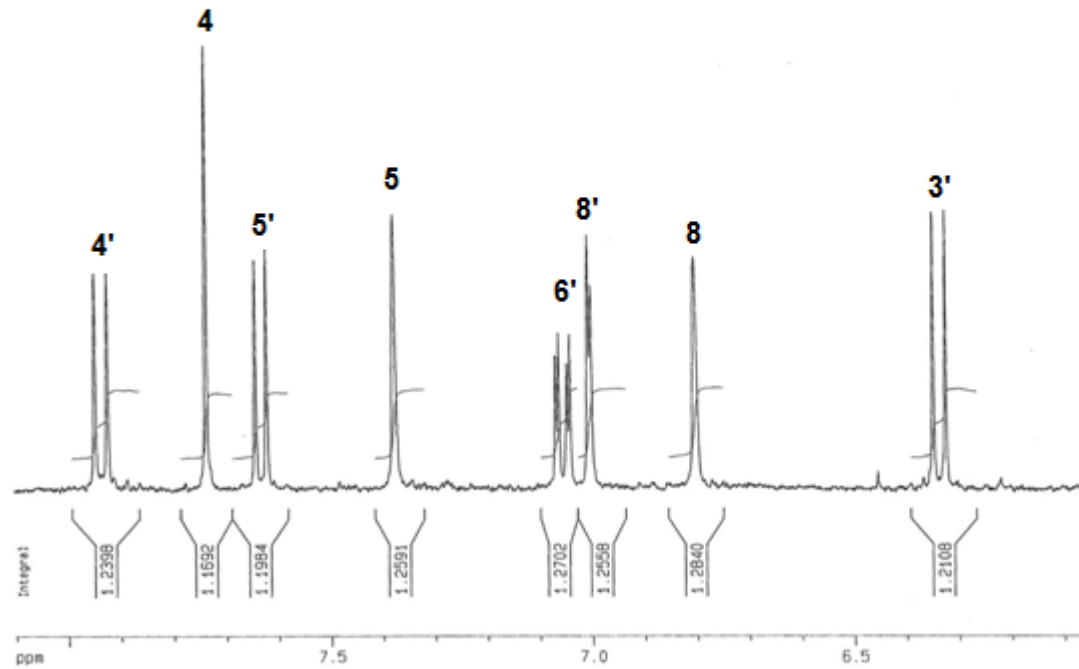
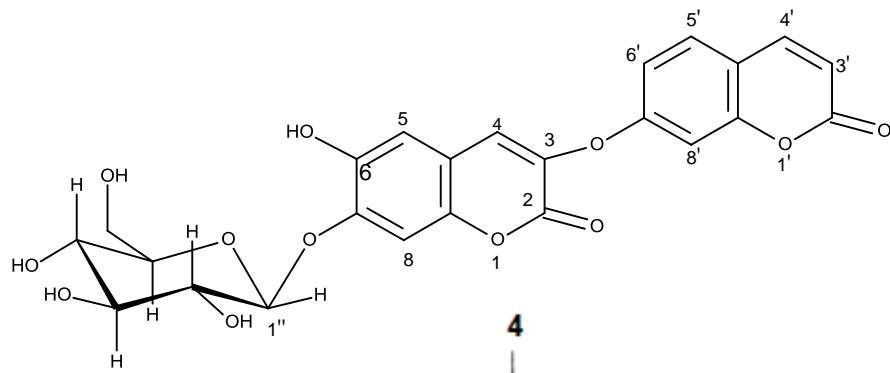
***** CHANNEL f1 *****
NUC1     1H
P1       11.00 usec
PL1      -1.00 dB
SFO1     400.1324710 MHz

F2 - Processing parameters
SI       32768
SF       400.1300000 MHz
WDW      EM
SSB      0
LB       0.30 Hz
GB       0
PC       1.00

1D NMR plot parameters
CX       20.00 cm
CY       0.00 cm
F1P      8.796 ppm
F1       3519.55 Hz
F2P      0.007 ppm
F2       2.81 Hz
PPMCH    0.43945 ppm/cm
HZCM     175.83699 Hz/cm

```

Şekil 12: DOK-2 (Demetildafnoretin-7-O-glukozit) Bileşiminin ¹H-NMR (400 MHz, MeOD) Spektrumu



```

Current Data Parameters
NAME          randy
EXPNO         18
PROCNO        1

F2 - Acquisition Parameters
Date_         20110111
Time          10.02
INSTRUM       av400
PROBHD        5 mm QNP 1H/15
PULPROG       zg30
TD            65536
SOLVENT       MeOD
NS            64
DS            2
SHEI          8278.146 Hz
FIDRES        0.126314 Hz
AQ            3.9584243 sec
RG            406.4
DM            60.400 usec
DE            6.00 usec
TE            298.2 K
D1            1.0000000 sec
MCREST        0.0000000 sec
MCWK         0.0150000 sec

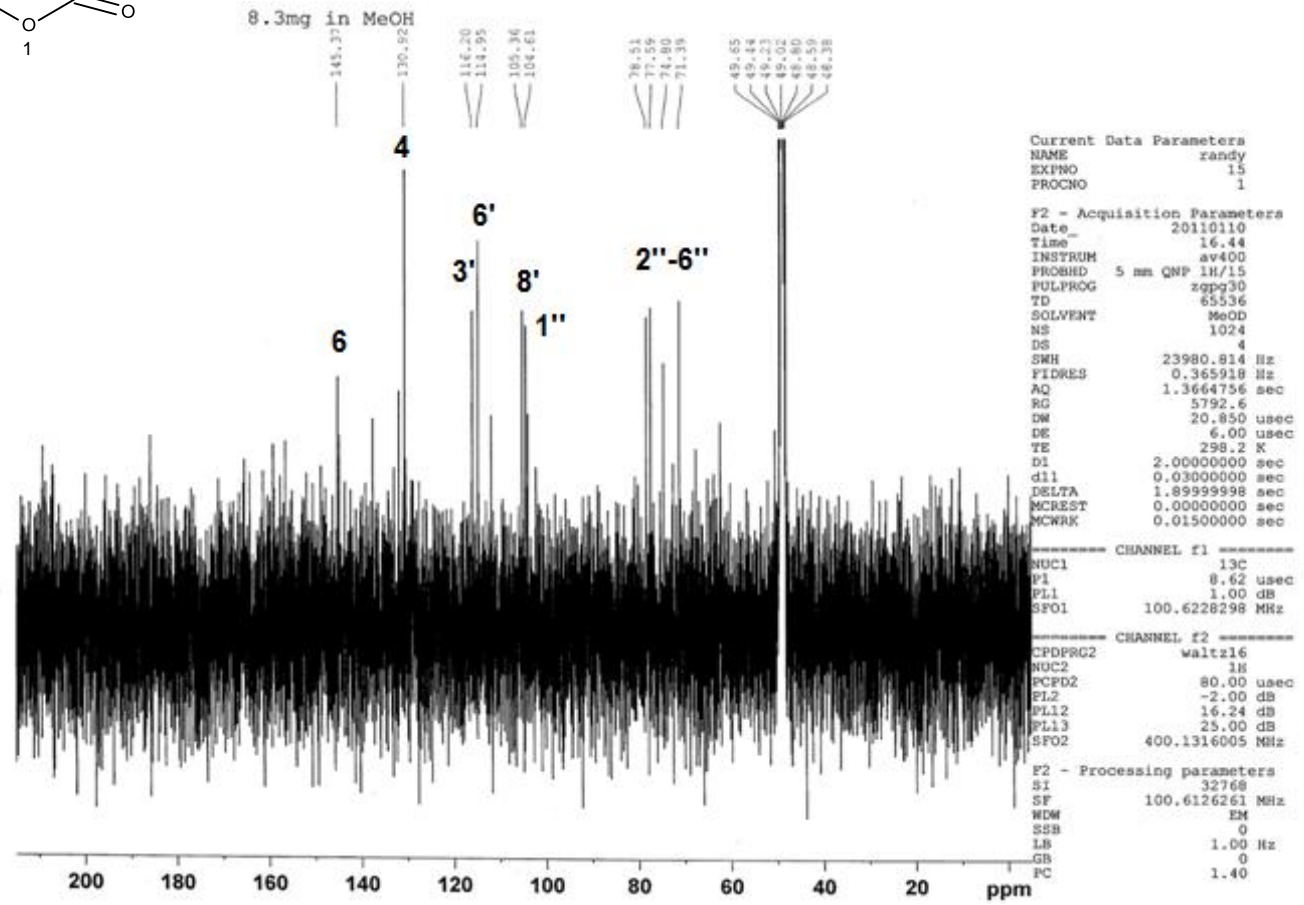
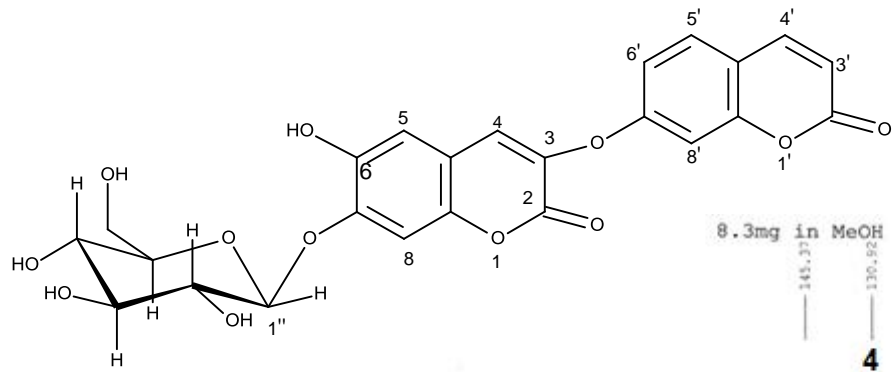
***** CHANNEL f1 *****
NUC1          1H
P1            11.00 usec
PL1           -1.00 dB
SF01          400.1324710 MHz

F2 - Processing parameters
S1            32768
SF            400.1300000 MHz
WDW           EM
SSB           0
LB            0.30 Hz
GB            0
PC            1.00

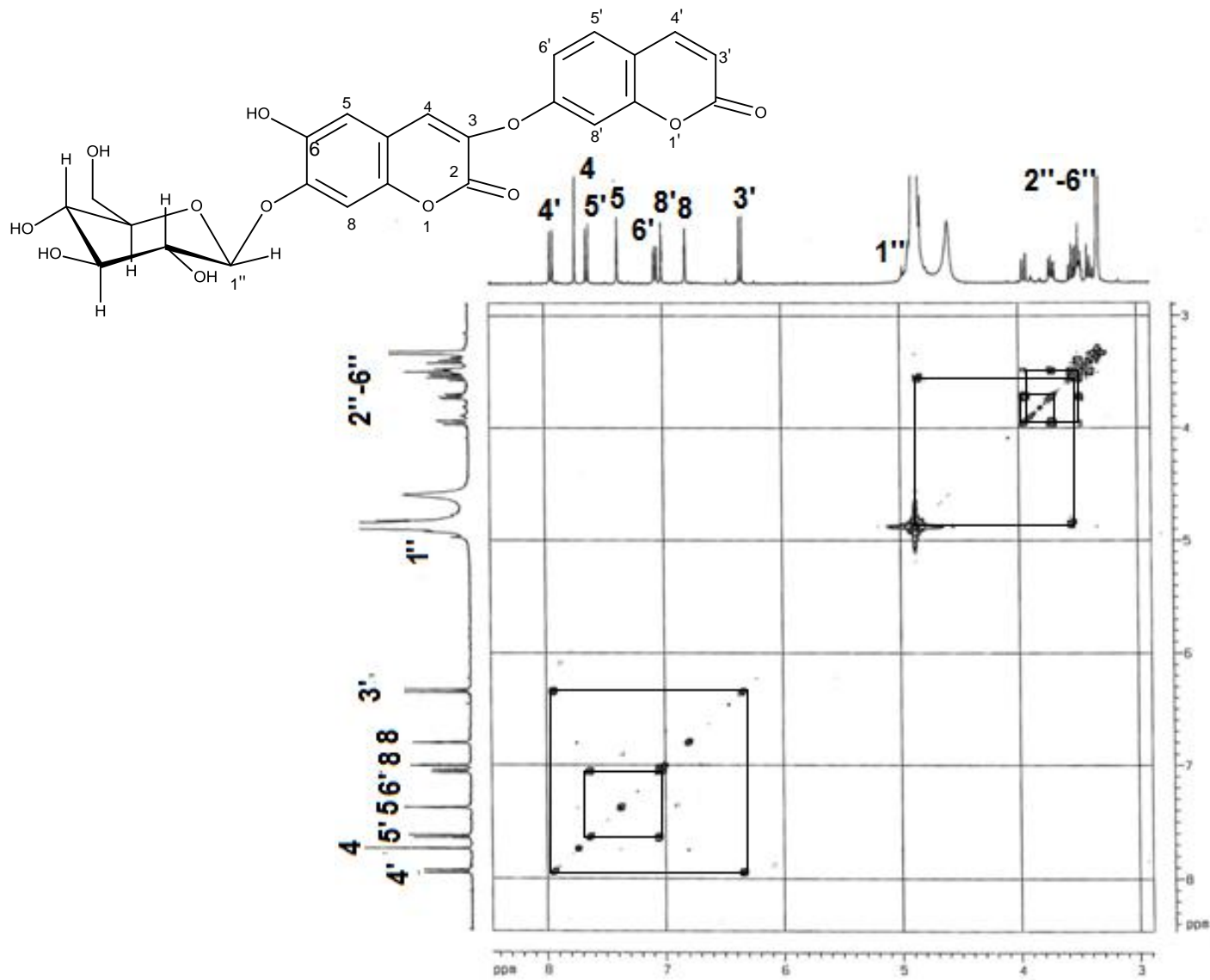
1D NMR plot parameters
CX            20.00 cm
CY            0.00 cm
F1P           8.103 ppm
F1            3242.41 Hz
F2P           6.049 ppm
F2            2420.57 Hz
FPMCH         0.10270 ppm/cm
HZCM          41.09234 Hz/cm

```

Şekil 13: DOK-2 (Demetildafnoretin-7-O-glukozit) Bileşiminin ¹H-NMR (400 MHz, MeOD) Spektrumu



Şekil 14: DOK-2 (Demetildafnoretin-7-O-glukozit) Bileşiğinin ¹³C-NMR (100 MHz, MeOD) Spektrumu

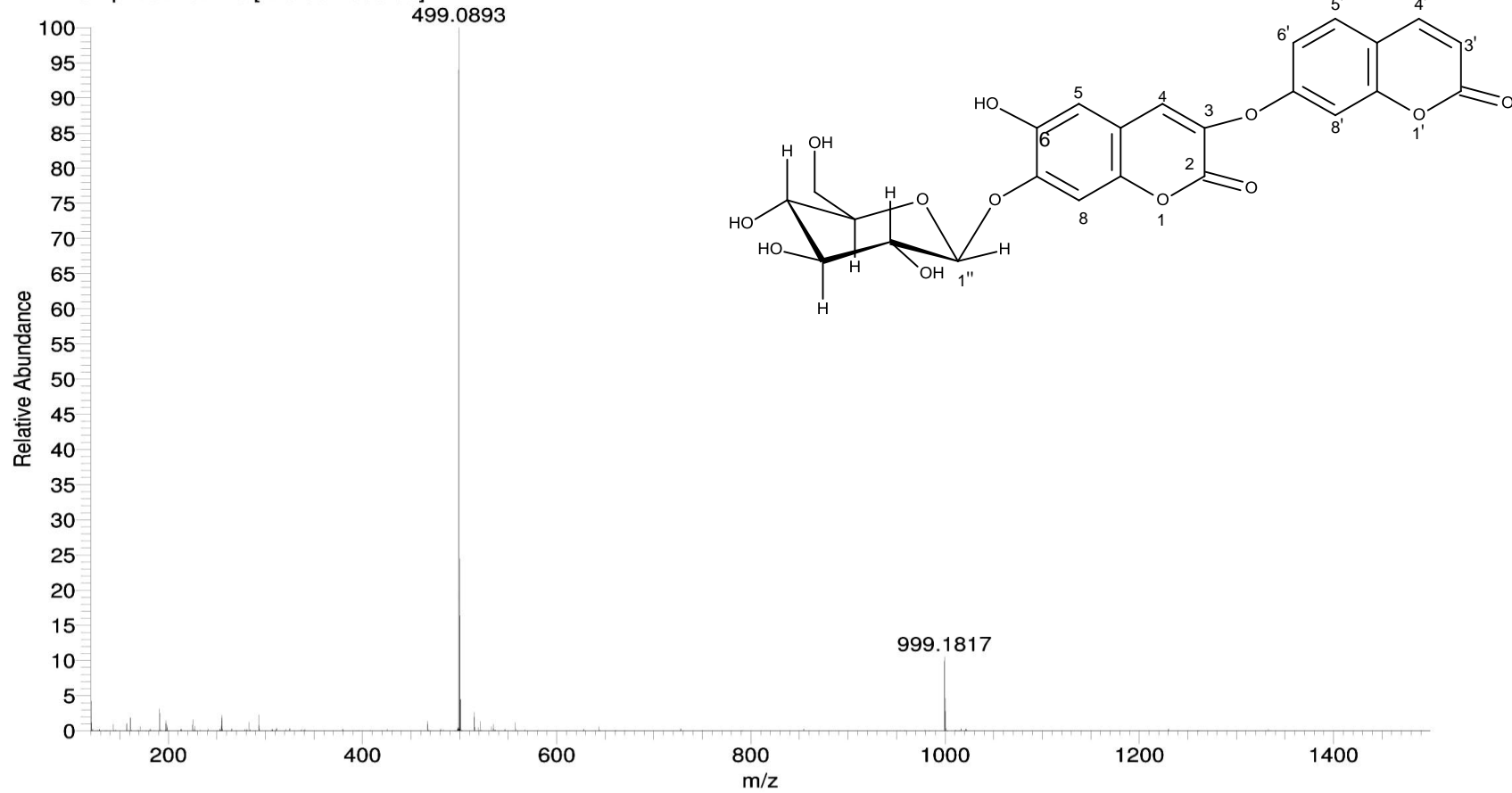


Current Data Parameters	
NAME	150113
EXPNO	2
PROCNO	1
F2 - Acquisition Parameters	
DATE_	20111113
TIME	01.40
INSTRUM	z9000
PROBHD	5 mm BBO 1H/13
PULPROG	zgpg30
TD	65536
SF	400.146300
WDW	EM
SSB	0
LB	0.300000
GB	0
PC	1.000000
RG	320.000000
RT	0.999999
DELTA	0.000000
DELTA2	0.000000
DELTA3	0.000000
DELTA4	0.000000
DELTA5	0.000000
DELTA6	0.000000
DELTA7	0.000000
DELTA8	0.000000
DELTA9	0.000000
DELTA10	0.000000
DELTA11	0.000000
DELTA12	0.000000
DELTA13	0.000000
DELTA14	0.000000
DELTA15	0.000000
DELTA16	0.000000
DELTA17	0.000000
DELTA18	0.000000
DELTA19	0.000000
DELTA20	0.000000
DELTA21	0.000000
DELTA22	0.000000
DELTA23	0.000000
DELTA24	0.000000
DELTA25	0.000000
DELTA26	0.000000
DELTA27	0.000000
DELTA28	0.000000
DELTA29	0.000000
DELTA30	0.000000
DELTA31	0.000000
DELTA32	0.000000
DELTA33	0.000000
DELTA34	0.000000
DELTA35	0.000000
DELTA36	0.000000
DELTA37	0.000000
DELTA38	0.000000
DELTA39	0.000000
DELTA40	0.000000
DELTA41	0.000000
DELTA42	0.000000
DELTA43	0.000000
DELTA44	0.000000
DELTA45	0.000000
DELTA46	0.000000
DELTA47	0.000000
DELTA48	0.000000
DELTA49	0.000000
DELTA50	0.000000
DELTA51	0.000000
DELTA52	0.000000
DELTA53	0.000000
DELTA54	0.000000
DELTA55	0.000000
DELTA56	0.000000
DELTA57	0.000000
DELTA58	0.000000
DELTA59	0.000000
DELTA60	0.000000
DELTA61	0.000000
DELTA62	0.000000
DELTA63	0.000000
DELTA64	0.000000
DELTA65	0.000000
DELTA66	0.000000
DELTA67	0.000000
DELTA68	0.000000
DELTA69	0.000000
DELTA70	0.000000
DELTA71	0.000000
DELTA72	0.000000
DELTA73	0.000000
DELTA74	0.000000
DELTA75	0.000000
DELTA76	0.000000
DELTA77	0.000000
DELTA78	0.000000
DELTA79	0.000000
DELTA80	0.000000
DELTA81	0.000000
DELTA82	0.000000
DELTA83	0.000000
DELTA84	0.000000
DELTA85	0.000000
DELTA86	0.000000
DELTA87	0.000000
DELTA88	0.000000
DELTA89	0.000000
DELTA90	0.000000
DELTA91	0.000000
DELTA92	0.000000
DELTA93	0.000000
DELTA94	0.000000
DELTA95	0.000000
DELTA96	0.000000
DELTA97	0.000000
DELTA98	0.000000
DELTA99	0.000000
DELTA100	0.000000

Şekil 15: DOK-2 (Demetildafnoretin-7-O-glukozit) Bileşiminin HOMO-COSY ¹H-NMR (400 MHz, MeOD) Spektrumu

MW=500?
(MeOH)/MeOH
WOLSAR068-OE-HNESN #1-5 RT: 0.20-0.54 AV: 5 SM: 7G NL: 3.09E6
T: FTMS - p NSI Full ms [120.00-2000.00]

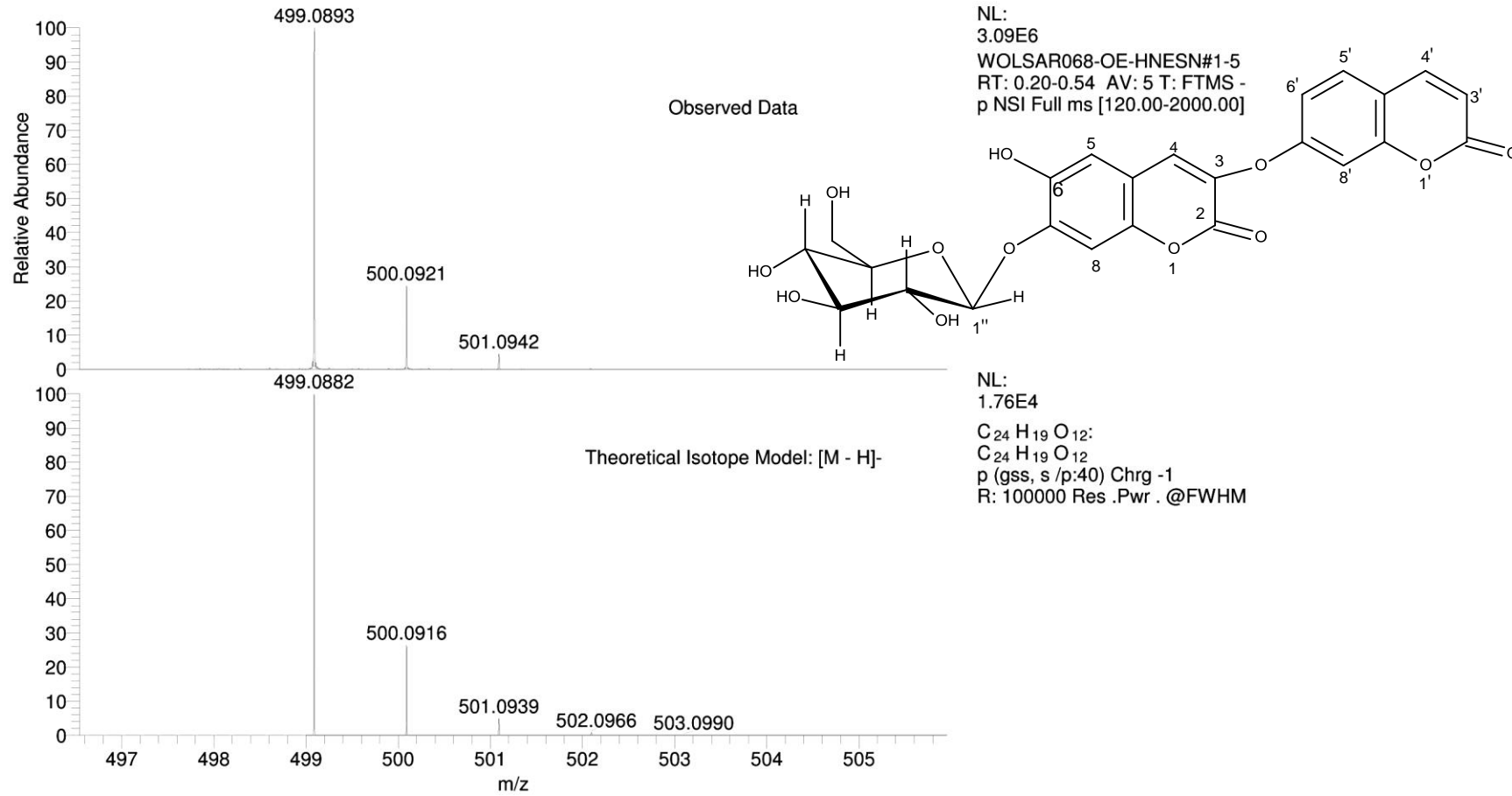
EPSRC National Centre Swansea Prof S Sarker
LTQ Orbitrap XL 23/03/2011 09:27:09



Şekil 16: DOK-2 (Demetildafnoretin-7-O-glukozit) Bileşiminin FTMS Spektrumu

MW=500?
(MeOH)/MeOH

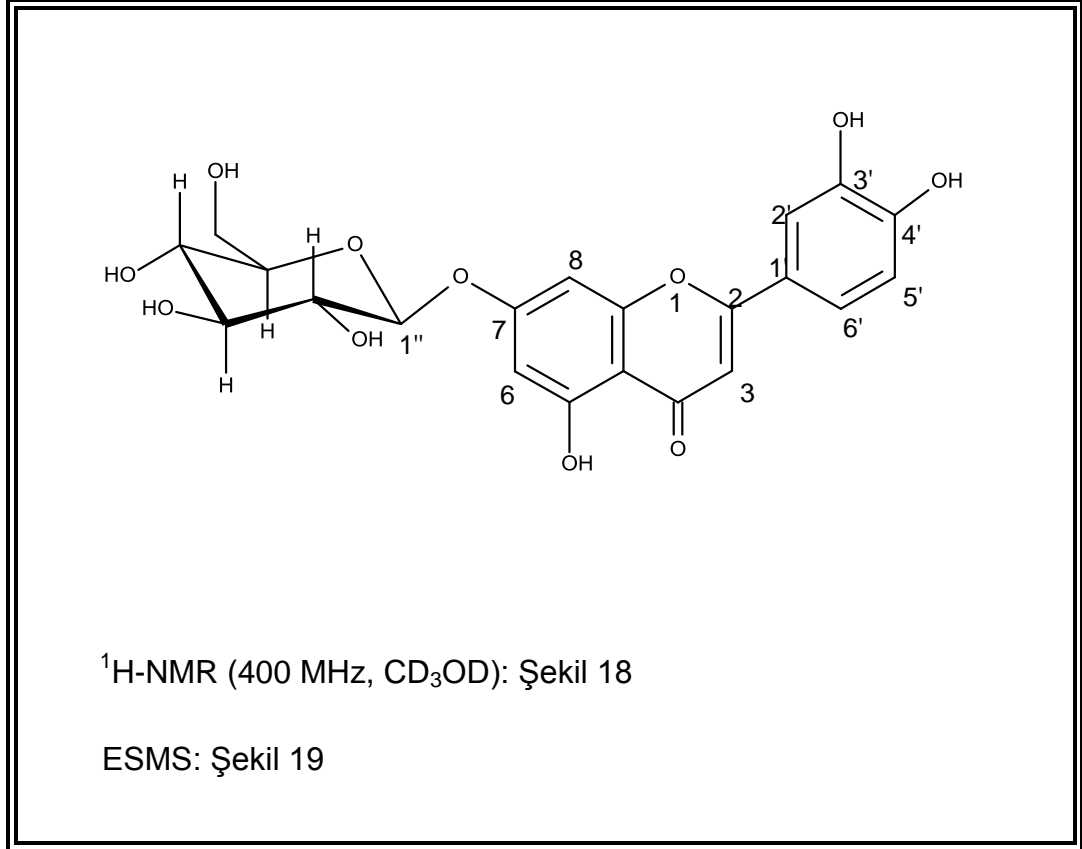
EPSRC National Centre Swansea Prof S Sarker
LTQ Orbitrap XL 23/03/2011 09:27:09



Şekil 17: DOK-2 (Demetildafnoretin-7-O-glukozit) Bileşğinin FTMS Spektrumu

4.1.2.3. DOK-3 (Luteolin-7-O-glukozit) Bileşiminin Yapı Tayini

Sarı renkli DOK-3 kodlu bileşik RP-HPLC yöntemi ile izole edildi.



İTK plağında açık sarı, vanilin-H₂SO₄ reaktifi ile sarı-turuncu renk elde edildi.

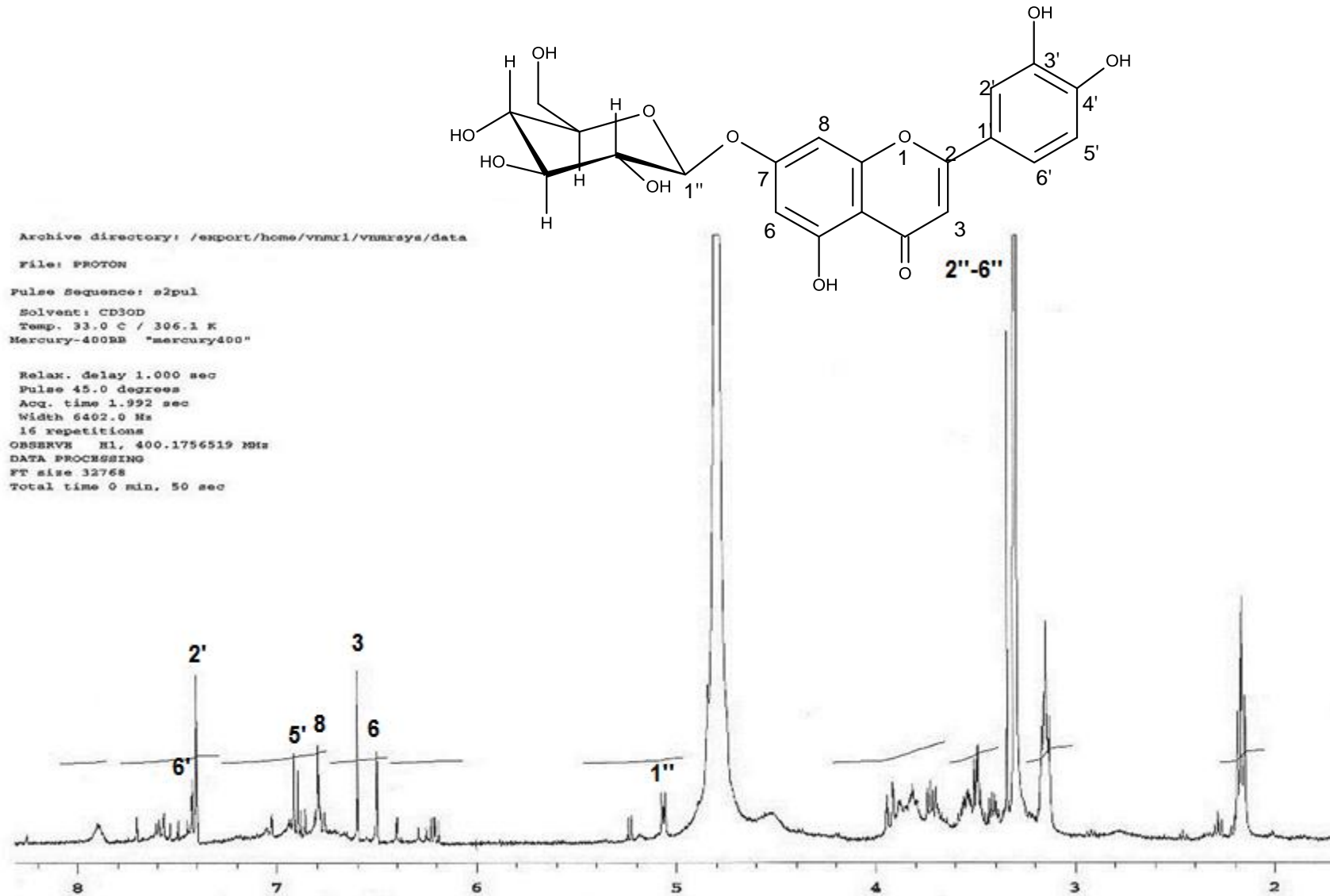
¹H-NMR spektrumunda δ 7.40'da (d, J=1.8 Hz); 7.41'de (d, J=8.0 Hz) ve 6.90'da (d, J=8.0 Hz) görülen sinyallerin 2', 5' ve 6' konumlarındaki aromatik protonlara ait olduğu düşünüldü. Bu protonlar 3' ve 4' konumlarından disübstitüe benzen halkasına işaret etmektedir. δ 5.12'de (d, J=7.8 Hz) görülen sinyal bir glukoz fonksiyonunun anomerik protonuna aittir. 3.20-3.90 ppm aralığında multiyet görünen pikler glukozu ait diğer protonlar için karakteristiktir. Etkileşme sabiti (J) değeri ve literatür verileri, glikozit yapısının β -glukoz olduğunu gösterdi¹⁵⁵.

Kütle spektrumunda izole edilen bileşimin moleküler iyon pikinin 449'da çıktığı görüldü.

Tüm spektroskopik analiz sonuçları beraber değerlendirildiğinde "DOK-3" bileşiminin flavonoit yapısında "Luteolin-7-O-glukozit" olduğu tespit edildi (Tablo 39). Elde edilen veriler literatürde kayıtlı olan bilgilerle uyum göstermektedir¹⁵⁵.

Tablo 39: DOK-3 (Luteolin-7-O-glukozit) Bileşiminin ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) Verileri

Konum	δ_H , ppm (J, Hz)
2	-
3	6.60 s
4	-
5	-
6	6.46 d (1.8)
7	-
8	6.80 d (1.8)
9	-
10	-
1'	-
2'	7.40 d (1.8)
3'	-
4'	-
5'	6.90 d (8.0)
6'	7.41 dd (8.0; 1.8)
1''	5.12 d (7.8)
2''	3.20-3.90 m
3''	
4''	
5''	
6''	

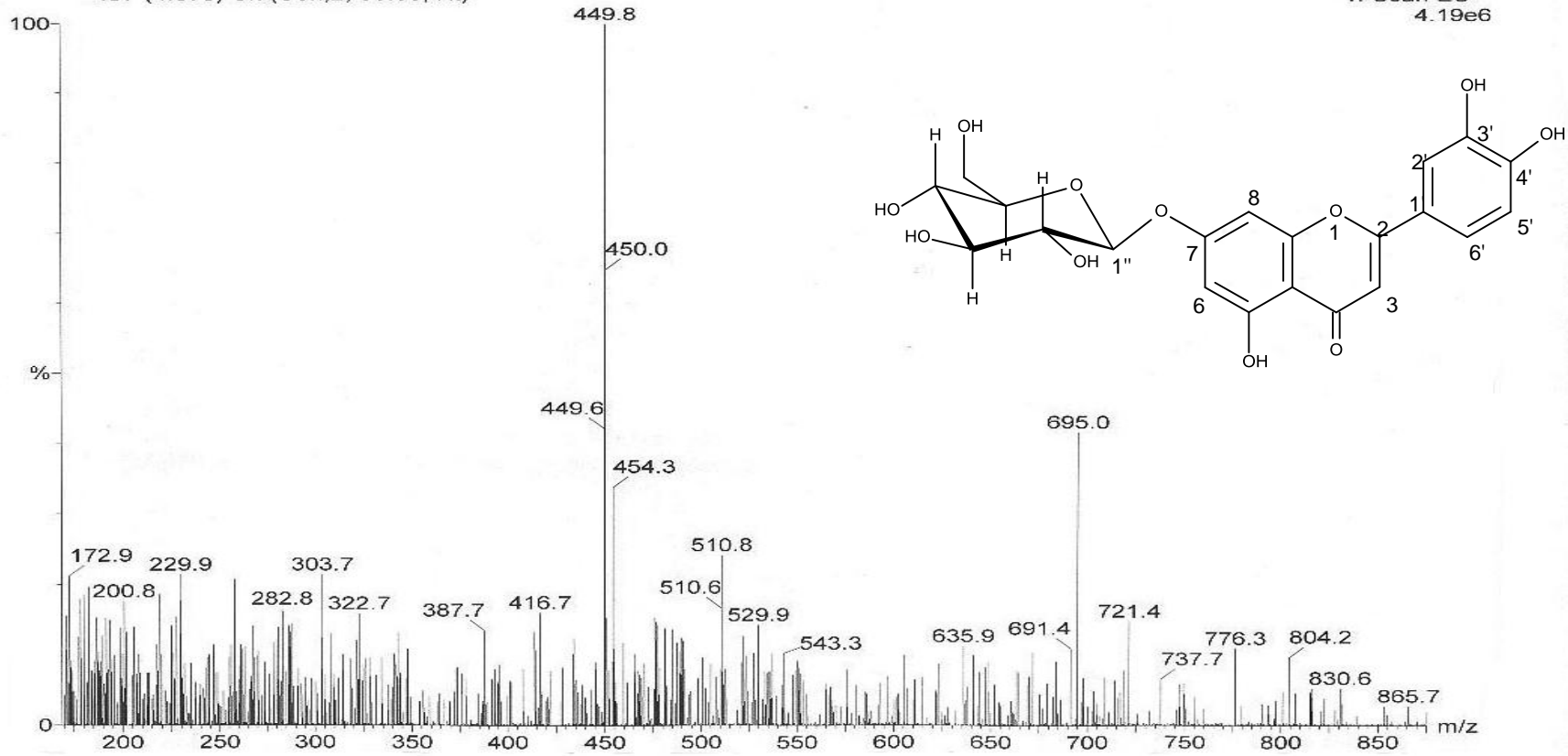


Şekil 18: DOK-3 (Luteolin-7-O-glukozit) Bileşiğinin ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) Spektrumu

Default file

457 (4.578) Cn (Cen,2, 80.00, Ht)

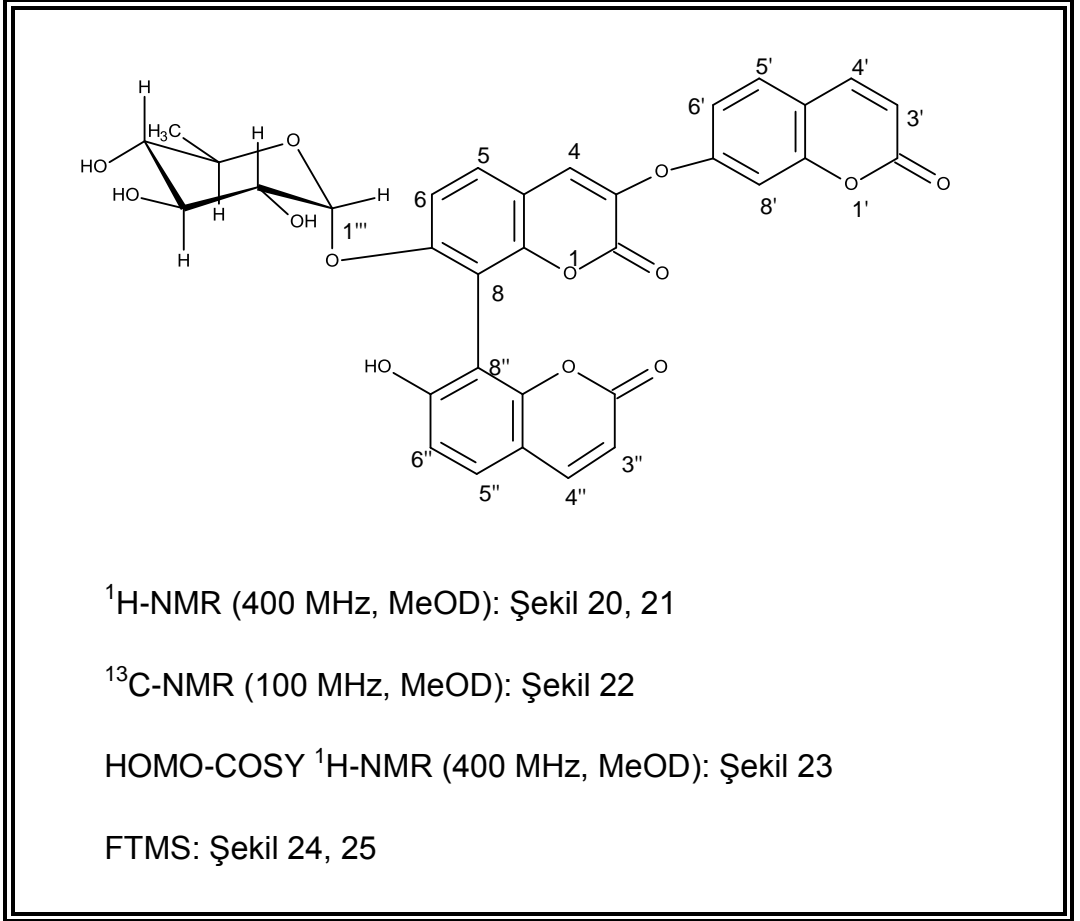
1: Scan ES+
4.19e6



Şekil 19: DOK-3 (Luteolin-7-O-glukozit) Bileşiğinin ESMS Spektrumu

4.1.2.4. DOO-1 (Triumbellin) Bileşğinin Yapı Tayini

Sarımsı-beyaz renkte DOO-1 kodlu bileşik RP-HPLC yöntemi ile izole edildi.



¹H-NMR, ¹³C-NMR ve FTMS verileri birlikte değerlendirildiğinde molekül formülü C₃₃H₂₄O₁₃ olarak belirlendi.

Sarımsı-beyaz toz görünümünde olan DOO-1 bileşğinin UV₃₆₆'da mavi fluoresans verdiği gözlemlendi. DOK-2 bileşğinin spektrumlarında görülen sinyallere oldukça benzer sinyaller DOO-1 bileşği için de tespit edildi. ¹H-NMR spektrumunda sırasıyla görülen δ 6.05-8.05 arasındaki yoğun sinyaller yapının trikumarin olabileceğini düşündürdü. 6.30 ile 8.05 ppm'de görülen dublet sinyallerin 3' ve 4'

konumlarındaki protonlara işaret ettiği, 7.70 ve 7.05 ppm'de gözlenen dublet sinyallerin ise 5' ve 6' pozisyonlardaki protonları gösterdiği tespit edildi. Yine benzer şekilde 6.30 ve 7.95 ppm'de görülen dublet sinyallerin 3" ve 4"; 7.60 ve 7.05 ppm'de gözlenen dublet sinyaller ise 5" ve 6" pozisyonlardaki protonlara ait olduğu belirlendi. HOMO-COSY spektrumunda 6.30 ile 8.05; 7.70 ile 7.05; 6.30 ile 7.95 ve 7.60 ile 7.05 ppm'de gözlenen sinyallerin birbirleri ile etkileştiği, dolayısıyla söz konusu protonların birbirlerine komşu olduğu görüldü. 7.05 ppm'de görülen singlet sinyalin ise 8' konumundaki protona ait olduğu tespit edildi.

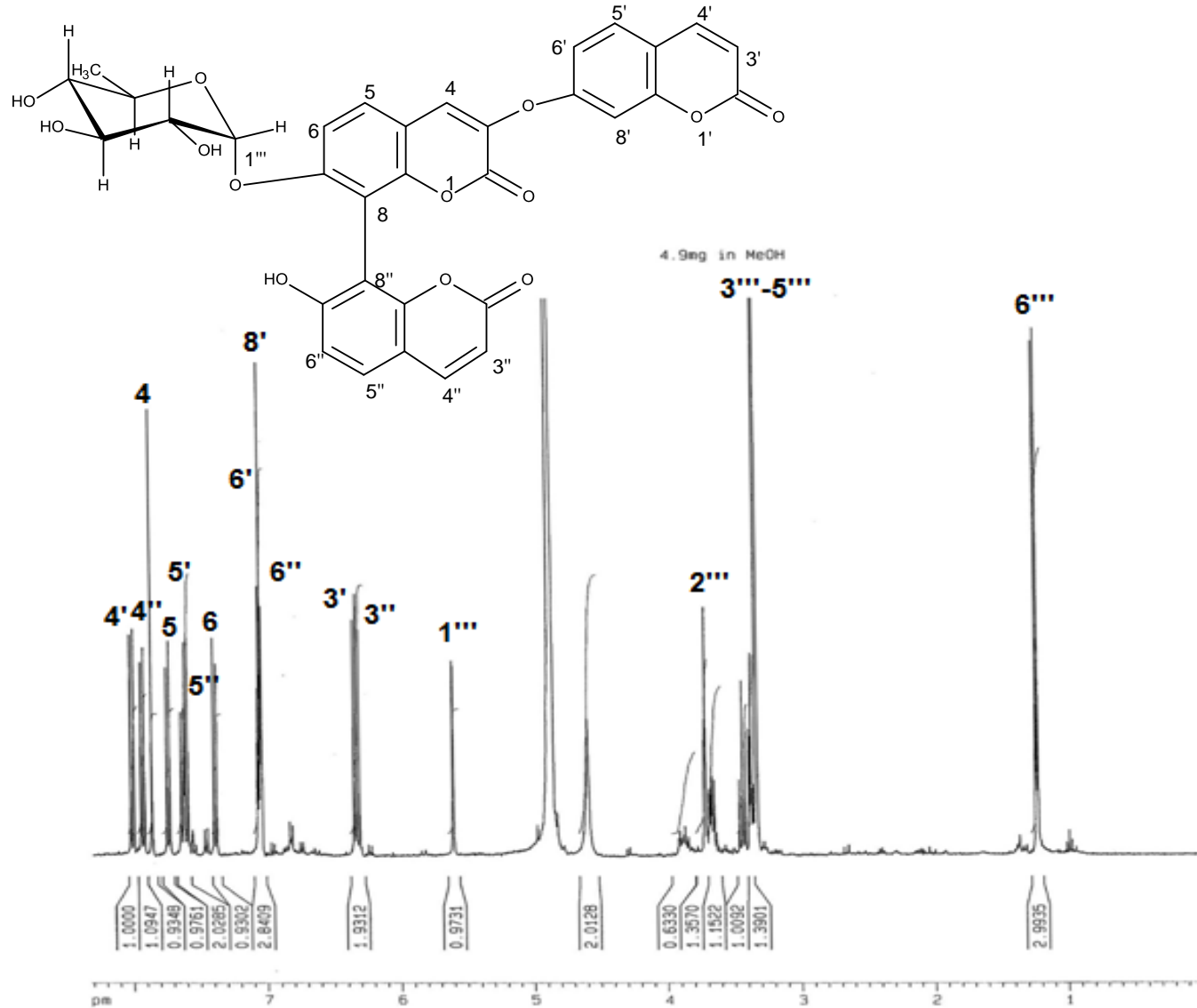
5.56 ppm'de (d, J=1.8 Hz) görülen dublet sinyalin ramnozun anomerik protonuna; 1.20 ppm'de (d, J=3.0 Hz) görülen üç proton şiddetindeki dublet sinyalin ise ramnozun 6" konumundaki metil protonlarına ait olduğu belirlendi.

¹³C-NMR spektrumunda bileşiğin 33 karbonlu olduğu tespit edildi. 162.9, 163.3 ve 161.5 ppm'de görülen sinyallerin üç kumarin çekirdeğinin 2. konumundaki oksijen bağlı karbonlara ait olabileceği kanısına varıldı. 161.5 ppm'de görülen ikinci sinyal ramnoz bağlı 7. karbona ait olduğu belirlendi. Ramnozun 1. konumdaki karbon atomunun sinyali 99.8 ppm'de gözlenirken, 18.0 ppm'deki sinyalin ramnozun 6. konumdaki karbon atomuna ait olduğu anlaşıldı.

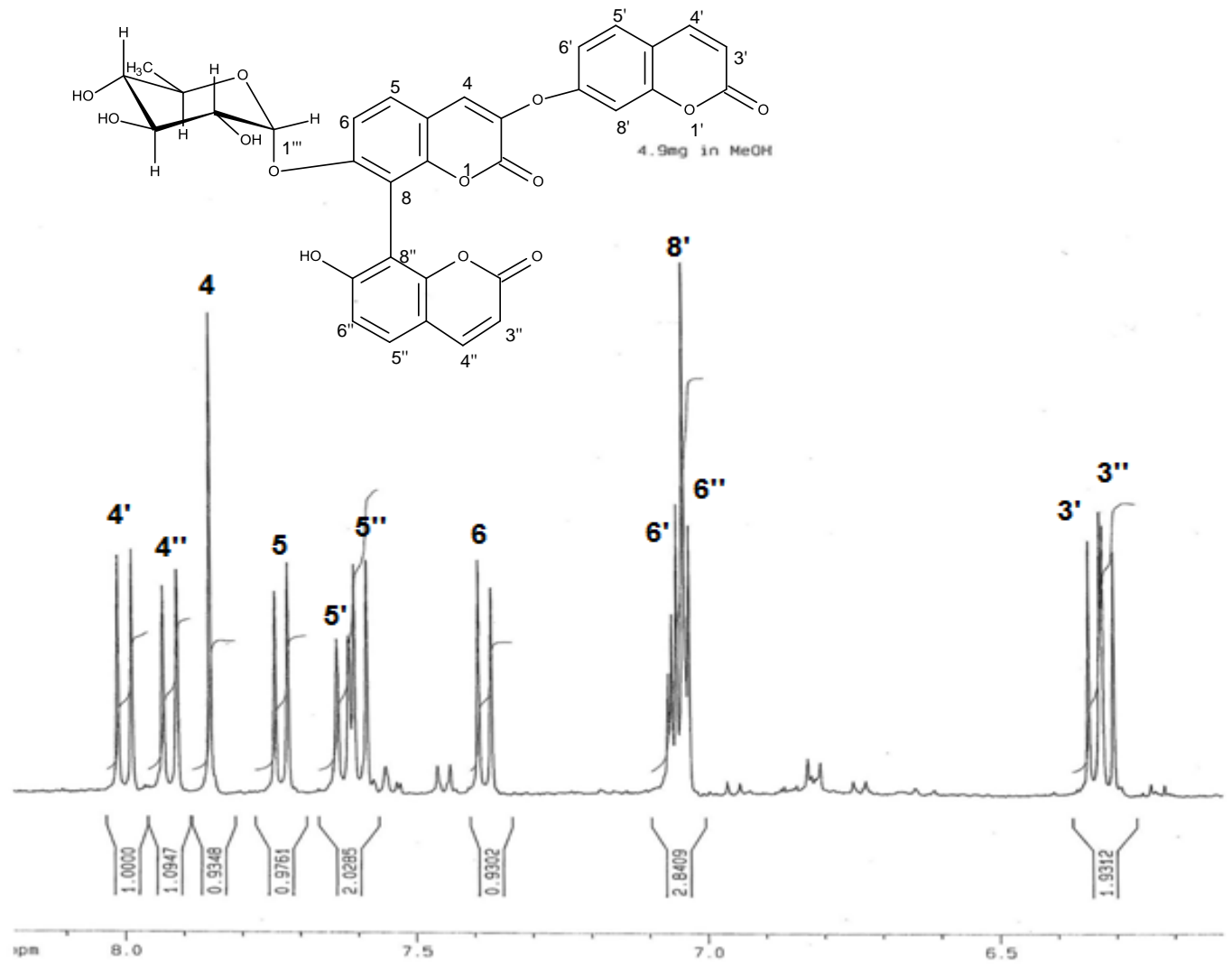
FTMS spektrumunda elde edilen veriler ile bileşiğin molekül ağırlığının 628 olduğu tespit edildi. Tüm veriler beraber değerlendirildiğinde "DOO-1" bileşiğinin trikumarin yapısında "triumbellin" olduğu tespit edildi. Triumbellin bileşiği daha önce Kreher ve ark. tarafından *D. mezereum*'dan izole edilmiştir. Bulgular literatürde kayıtlı olan bilgilerle uyum göstermektedir⁴⁸ (Tablo 40).

Tablo 40: DOO-1 (Triumbellin) Bileşiminin ¹H-NMR (400 MHz, MeOD) ve ¹³C-NMR (100 MHz, MeOD) Verileri

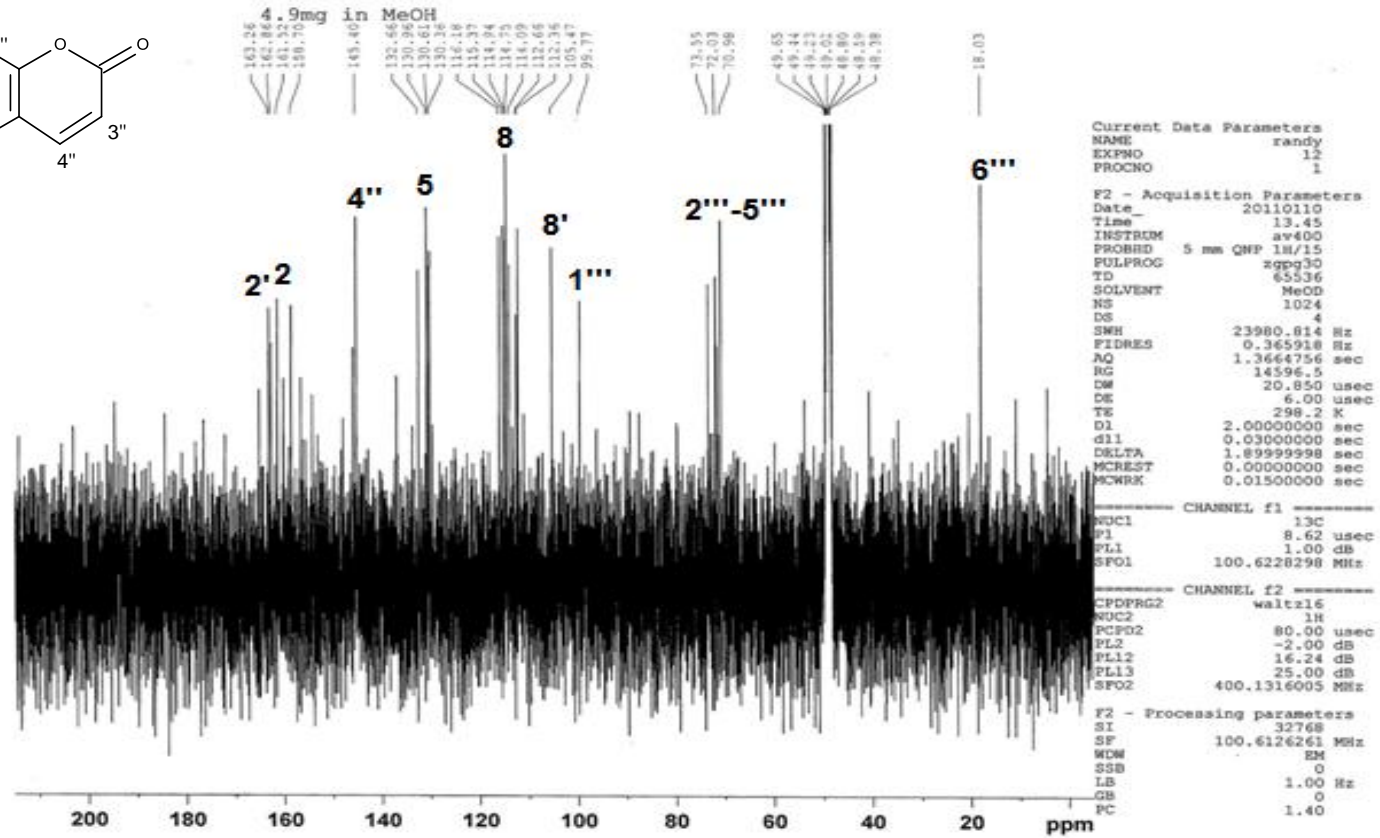
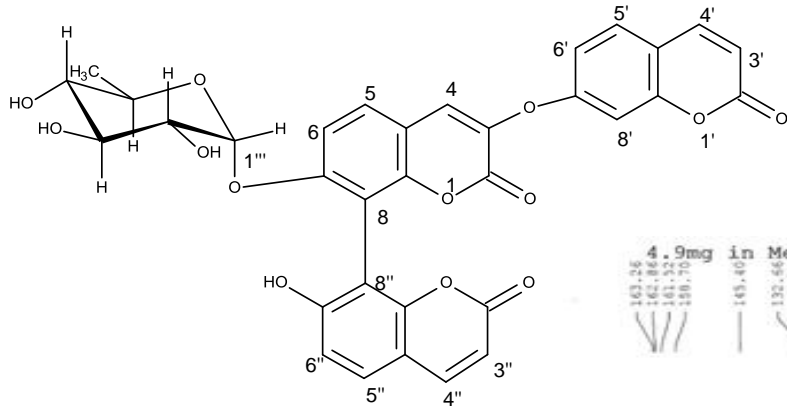
Konum	δ_H , ppm (J, Hz)	δ_C , ppm
2	-	162.9
3	-	137.8
4	7.85 s	131.0
5	7.70 d (8.8)	130.6
6	7.35 d (8.8)	112.7
7	-	161.5
8	-	114.8
9	-	151.9
10	-	111.5
1'	-	-
2'	-	163.3
3'	6.30 d (9.5)	115.3
4'	8.05 d (9.5)	144.7
5'	7.70 d (9.2)	132.6
6'	7.05 d (9.2)	114.9
7'	-	158.7
8'	7.05 s	105.5
9'	-	156.8
10'	-	116.2
1''	-	-
2''	-	161.5
3''	6.30 d (9.5)	112.4
4''	7.95 d (9.5)	145.4
5''	7.60 d (8.6)	130.4
6''	7.05 d (8.6)	112.8
7''	-	158.1
8''	-	107.3
9''	-	154.9
10''	-	114.1
1'''	5.56 d (1.8)	99.8
2'''	3.53 m	72.0
3'''	3.35 m	71.0
4'''		73.6
5'''		71.0
6'''	1.20 d (3.0)	18.0



Şekil 20: DOO-1 (Triumbellin) Bileşiğinin ¹H-NMR (400 MHz, MeOD) Spektrumu



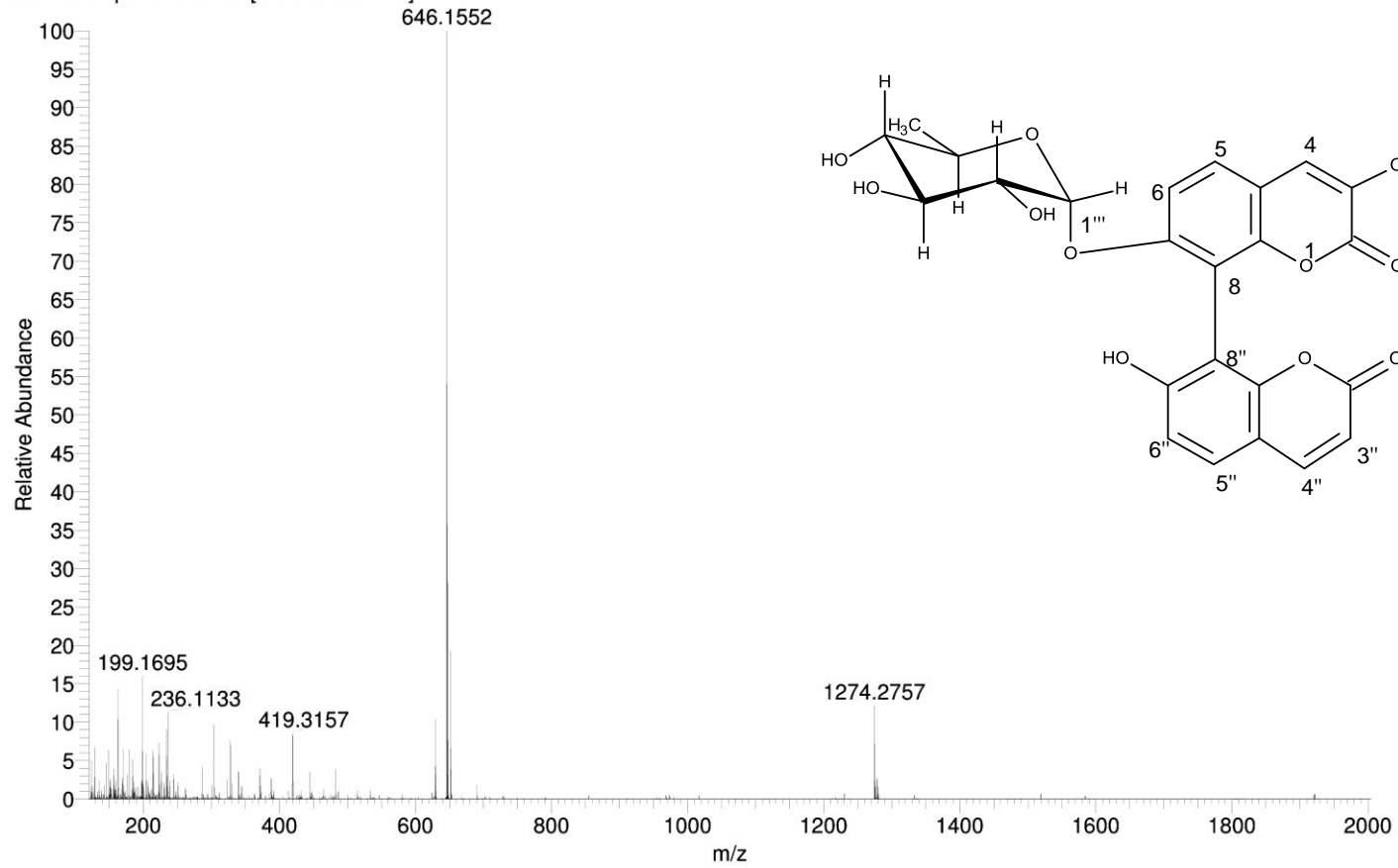
Şekil 21: DOO-1 (Triumbellin) Bileşiğinin ¹H-NMR (400 MHz, MeOD) Spektrumu



Şekil 22: DOO-1 (Triumbellin) Bileşiğinin ¹³C-NMR (100 MHz, MeOD) Spektrumu

MW=?
(MeOH)/MeOH + NH4OAc
WOLSAR070-OE-HNESP #10-12 RT: 0.99-1.17 AV: 3 SM: 7G NL: 1.52E6
T: FTMS + p NSI Full ms [120.00-2000.00]

EPSRC National Centre Swansea Prof S Sarker
LTQ Orbitrap XL 25/03/2011 12:31:26

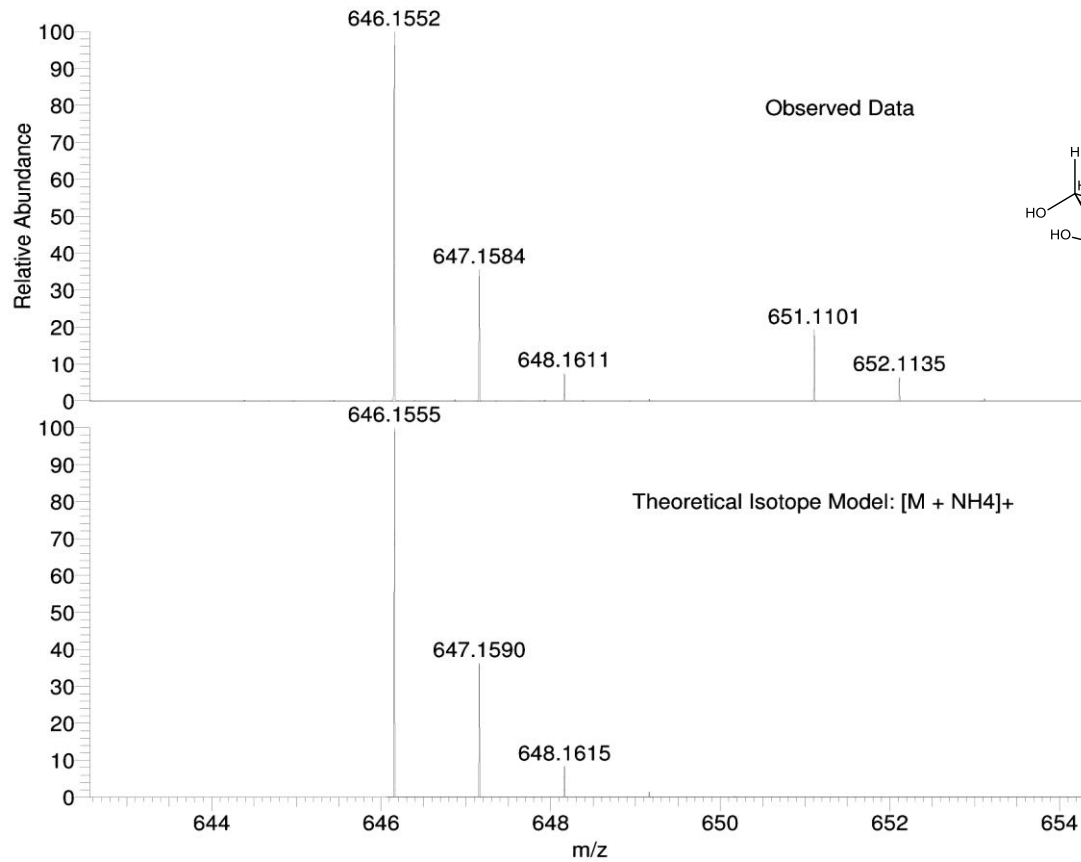


Şekil 24: DOO-1 (Triumbellin) Bileşiğinin FTMS Spektrumu

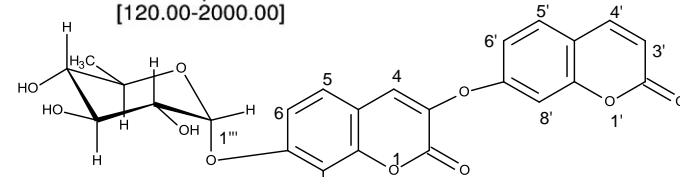
MW=?
(MeOH)/MeOH + NH4OAc

EPSRC National Centre Swansea
LTQ Orbitrap XL

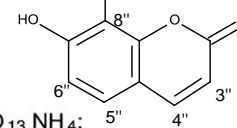
Prof S Sarker
25/03/2011 12:31:26



NL:
1.52E6
WOLSAR070-OE-HNESP#10-
12 RT: 0.99-1.17 AV: 3 T:
FTMS + p NSI Full ms
[120.00-2000.00]



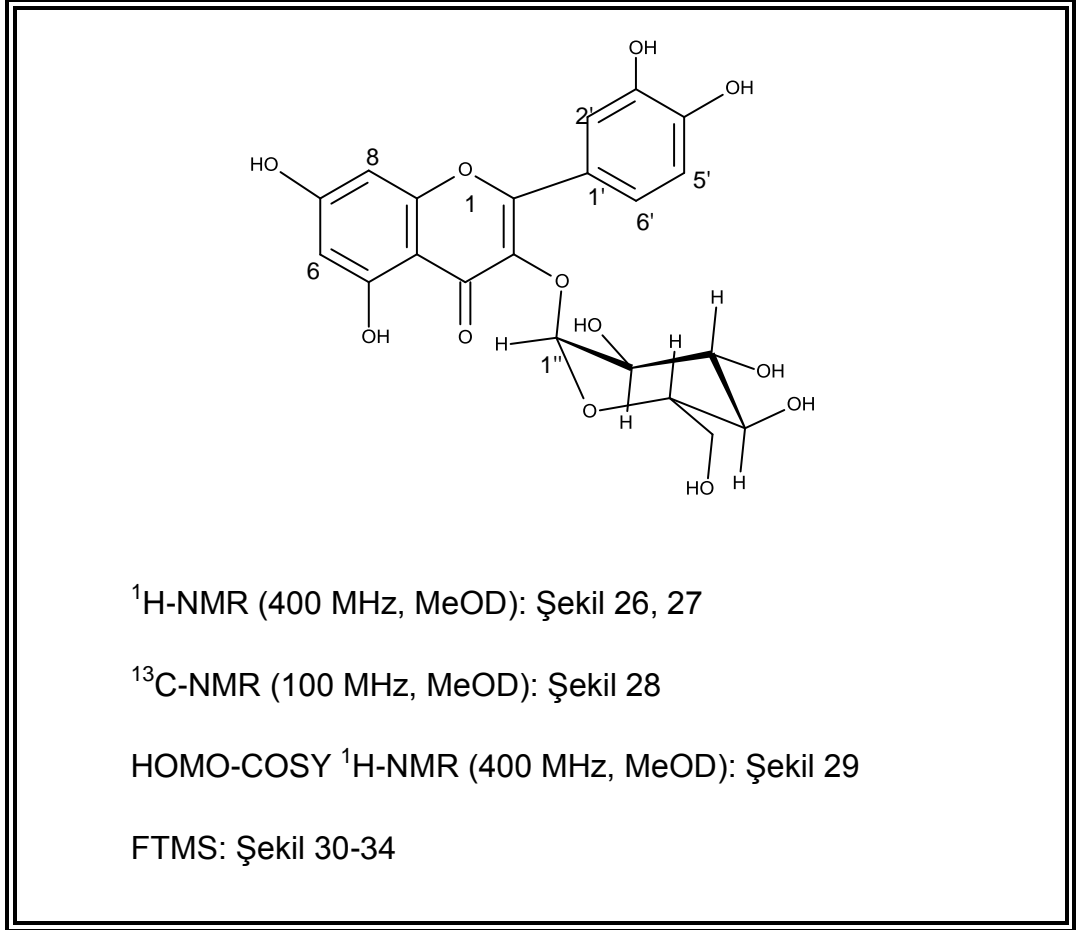
NL:
1.58E4
C₃₃ H₂₄ O₁₃ NH₄: 5'' 4''
C₃₃ H₂₈ O₁₃ N₁
p (gss, s /p:40) Chrg 1
R: 100000 Res .Pwr . @FWHM



Şekil 25: DOO-1 (Triumbellin) Bileşiğinin FTMS Spektrumu

4.1.2.5. DOO-2 (Kersetin-3-O-glukozit) Bileşğinin Yapı Tayini

Sarı renkli DOO-2 kodlu bileşik RP-HPLC yöntemi ile izole edildi.



¹H-NMR, ¹³C-NMR ve FTMS verileri birlikte değerlendirildiğinde molekül formülü C₂₁H₂₀O₁₂ olarak belirlendi.

İTK plağında açık sarı, UV₃₆₆'da sarı-turuncu renk elde edildiği için izole edilen bileşğinin flavonoit yapısında bir bileşik olabileceği düşünöldü.

¹H-NMR spektrumunda δ 6.20, 6.40, 7.70, 6.90 ve 7.57'de görülen sinyallerin flavonoit çekirdeğinin sırasıyla 6, 8, 2', 5' ve 6' konumlarındaki protonlara ait olduğu kanısına varıldı. HOMO-COSY spektrumunda 6.90 ve 7.57 ppm'de etkileştiği görülen sinyallerin birbirlerine komşu olmaları dolayısıyla 5' ve 6' konumlarındaki protonlara ait olduğu sonucuna varıldı. δ 5.10'da (d, J=7.7 Hz) görülen sinyalin glukozun anomeric protonuna; 3.20-3.90 ppm aralığında multiplet görünen sinyallerin ise glukozun diğer protonlarına ait olduğu belirlendi. Etkileşme sabiti (J) değeri ve literatür verileri, glikozit yapısının β -glukoz olduğunu gösterdi. HOMO-COSY spektrumunda da glukoz protonlarının birbirleri ile etkileştiği görülmektedir.

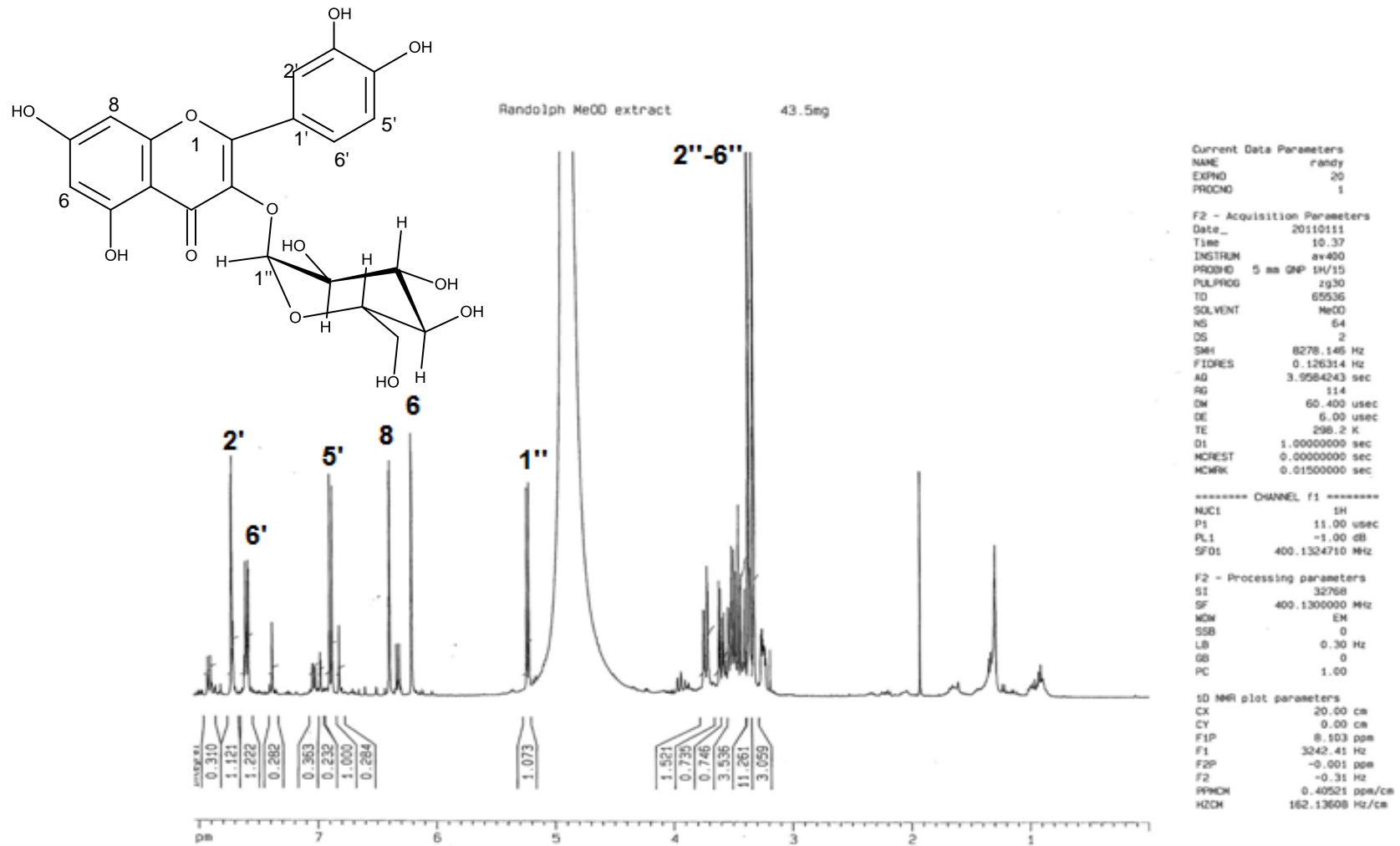
¹³C-NMR spektrumunda bileşiğin 21 karbonlu olduğu belirlendi. 179.4 ppm'de görülen sinyalin 3. konumdaki oksijen bağlı karbon; 163.0 ve 166.7 ppm'de görülen sinyallerin ise 5. ve 7. konumlardaki hidroksillerin bağlı olduğu karbonlar olabileceği düşünüldü. Yine benzer şekilde 3' ve 4' konumlarındaki hidroksiller nedeni ile bu karbonların sinyalleri 145.9 ve 149.9 ppm'de gözlemlendi. 100.2 ppm'de görülen sinyalin glukozun 1 numaralı karbon atomuna ait olduğu sonucuna varıldı. 62.5 ppm ile 75.7 ppm arasında görülen diğer sinyallerin glukozun 2-6. karbonlarına ait olduğu belirlendi.

FTMS spektrumunda elde edilen veriler ile bileşiğin molekül ağırlığının 464 olduğu tespit edildi.

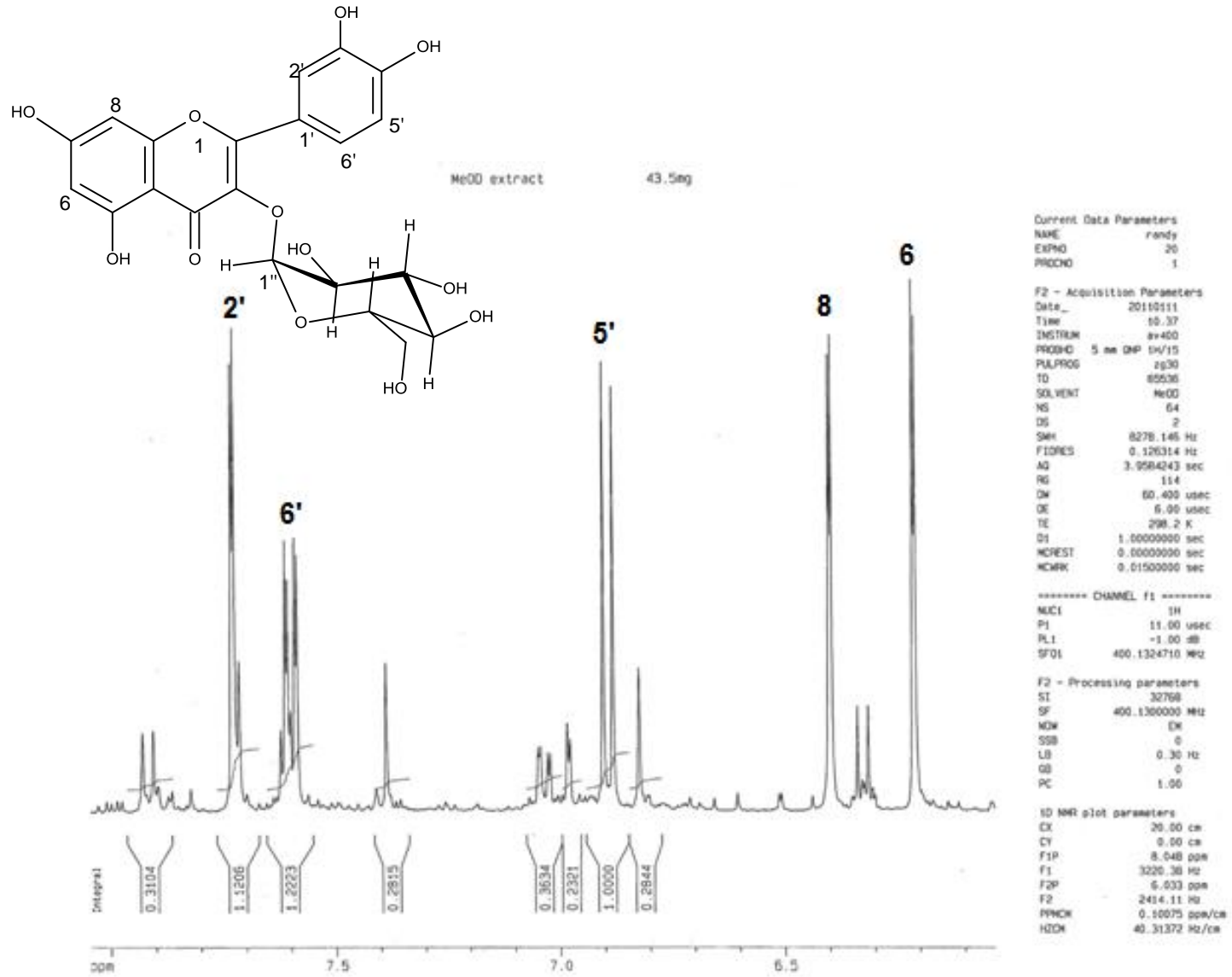
Tüm spektroskopik analiz sonuçları beraber değerlendirildiğinde "DOO-2" bileşiğinin flavonoit yapısında "kersetin-3-O-glukozit" olduğu belirlendi. Elde edilen veriler Tablo 41'de sunulmuştur. Bu veriler literatürde kayıtlı olan bilgilerle uyum göstermektedir¹⁵⁶.

Tablo 41: DOO-2 (Kersetin-3-O-glukozit) Bileşiminin ¹H-NMR (400 MHz, MeOD) ve ¹³C-NMR (100 MHz, MeOD) Verileri

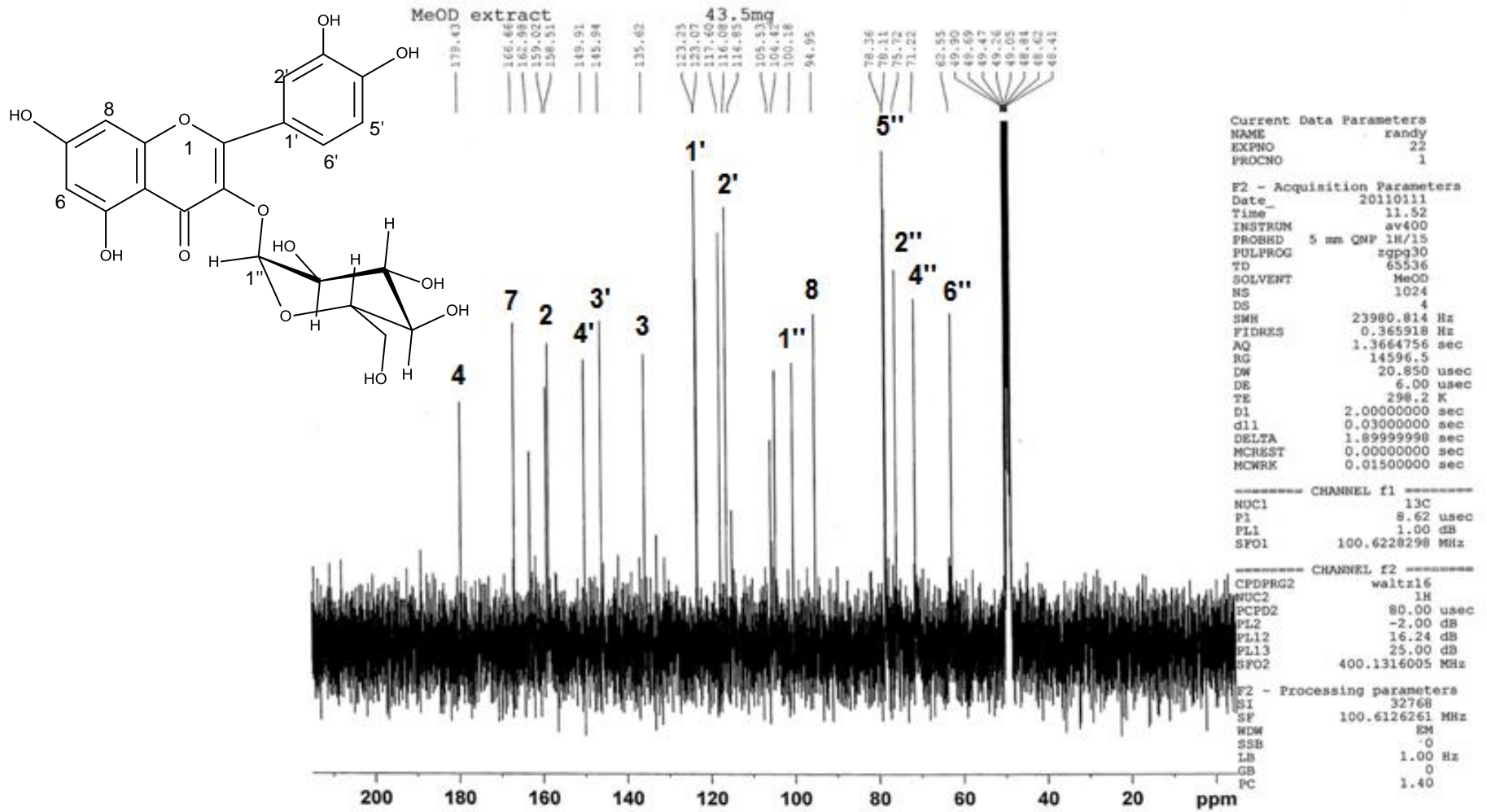
Konum	$\bar{\delta}_H$, ppm (J, Hz)	$\bar{\delta}_C$, ppm
2	-	158.5
3	-	135.6
4	-	179.4
5	-	163.0
6	6.20 d (2.0)	104.4
7	-	166.7
8	6.40 d (2.0)	95.0
9	-	159.0
10	-	105.5
1'	-	123.3
2'	7.70 d (2.0)	116.1
3'	-	145.9
4'	-	149.9
5'	6.90 d (8.0)	117.6
6'	7.57 dd (7.5; 2.0)	123.1
1''	5.10 d (7.7)	100.2
2''	3.30-3.80 m	75.7
3''		78.1
4''		71.2
5''		78.3
6''		62.5



Şekil 26: DOO-2 (Kersetin-3-O-glukozit) Bileşiminin ¹H-NMR (400 MHz, MeOD) Spektrumu



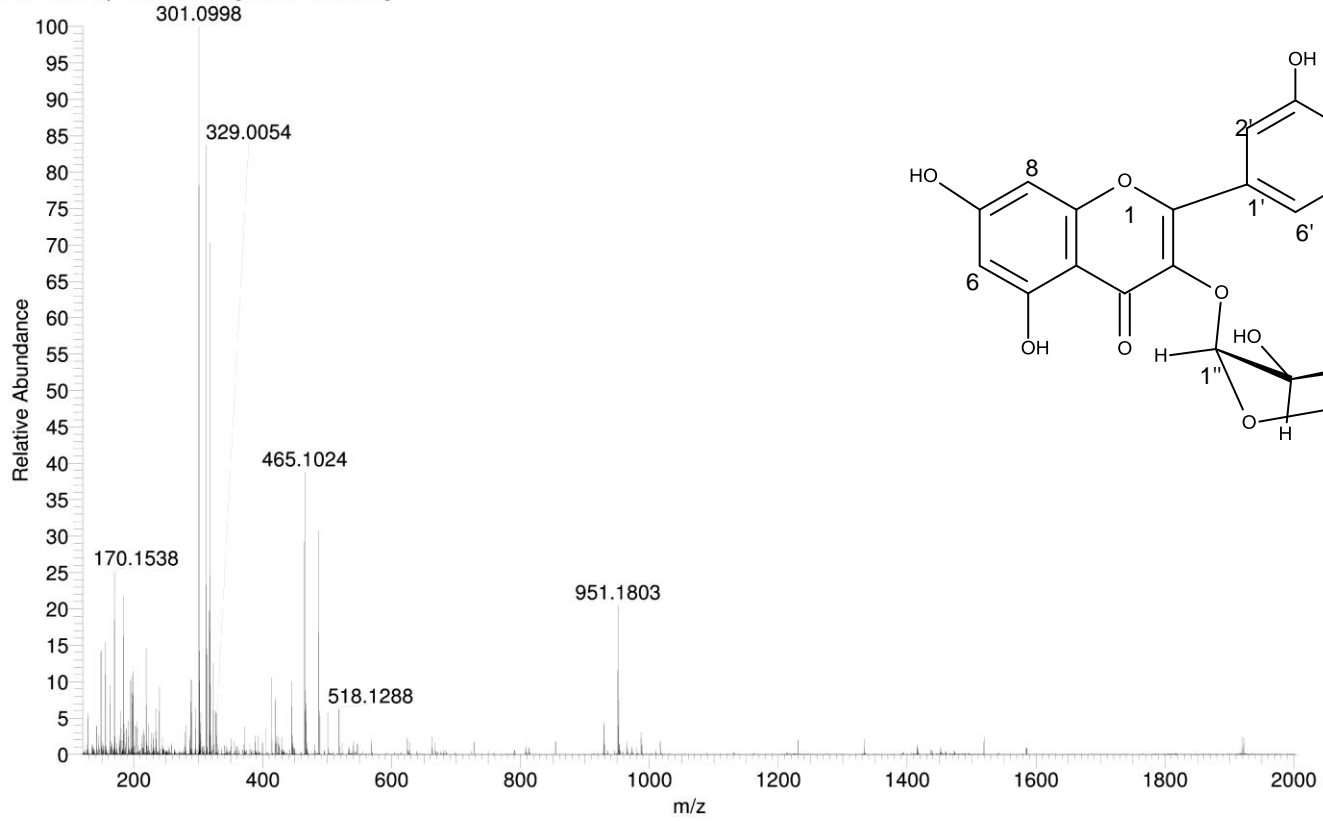
Şekil 27: DOO-2 (Kersetin-3-O-glukozit) Bileşiğinin $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, MeOD) Spektrumu



Şekil 28: DOO-2 (Kersetin-3-O-glukozit) Bileşiğinin ^{13}C -NMR (100 MHz, MeOD) Spektrumu

MW=464?
(MeOH)/MeOH + NH4OAc
WOLSAR066-OE-HNESP #16-31 RT: 0.82-1.20 AV: 15 SM: 7G NL: 1.23E6
T: FTMS + p NSI Full ms [120.00-2000.00]

EPSRC National Centre Swansea Prof S Sarker
LTQ Orbitrap XL 26/01/2011 11:37:30



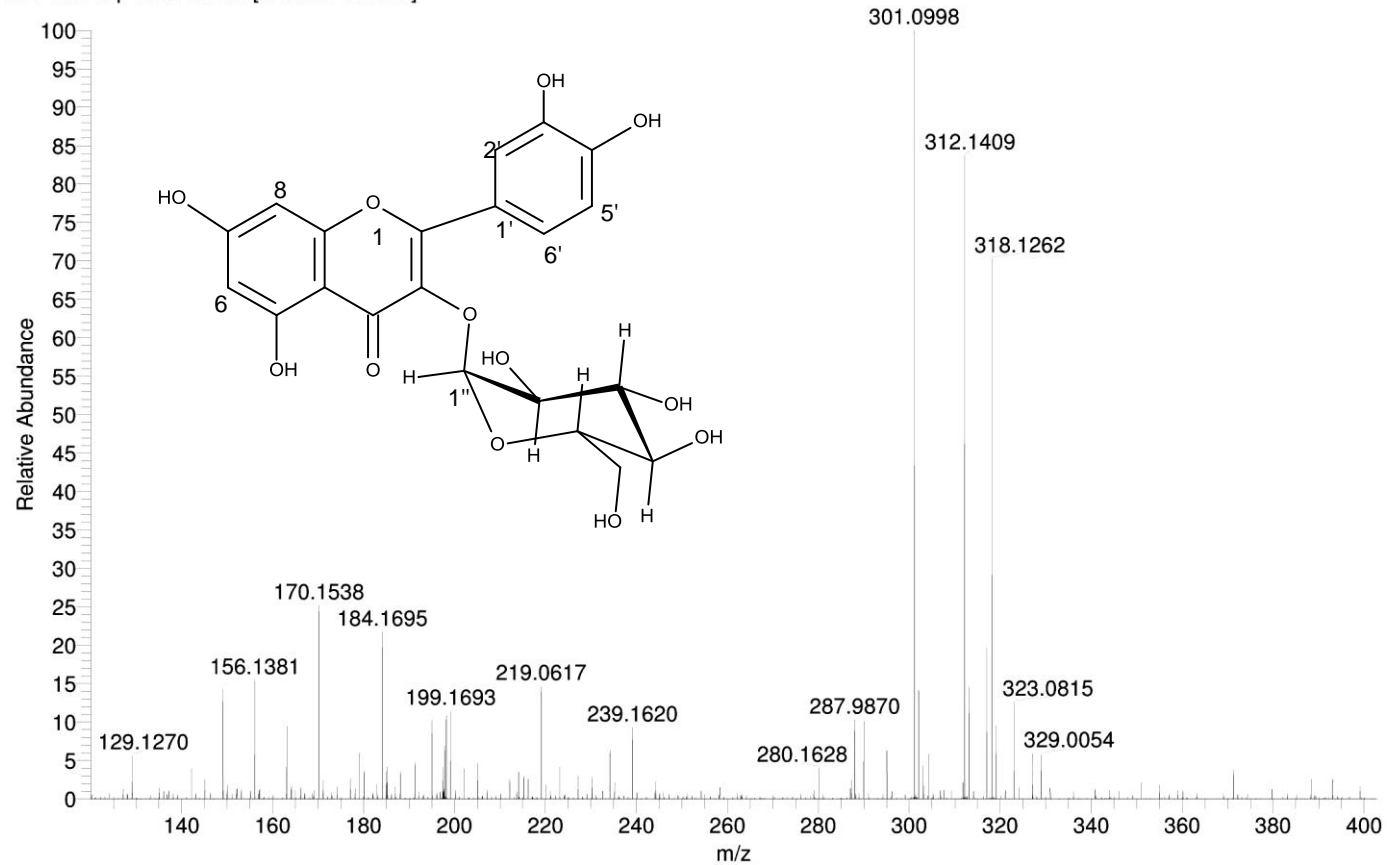
Şekil 30: DOO-2 (Kersetin-3-O-glukozit) Bileşiminin FTMS Spektrumu

MW=464?
(MeOH)/MeOH + NH4OAc

EPSRC National Centre Swansea
LTQ Orbitrap XL

Prof S Sarker
26/01/2011 11:37:30

WOLSAR066-OE-HNESP #17-31 RT: 0.82-1.20 AV: 15 SM: 7G NL: 1.23E6
T: FTMS + p NSI Full ms [120.00-2000.00]

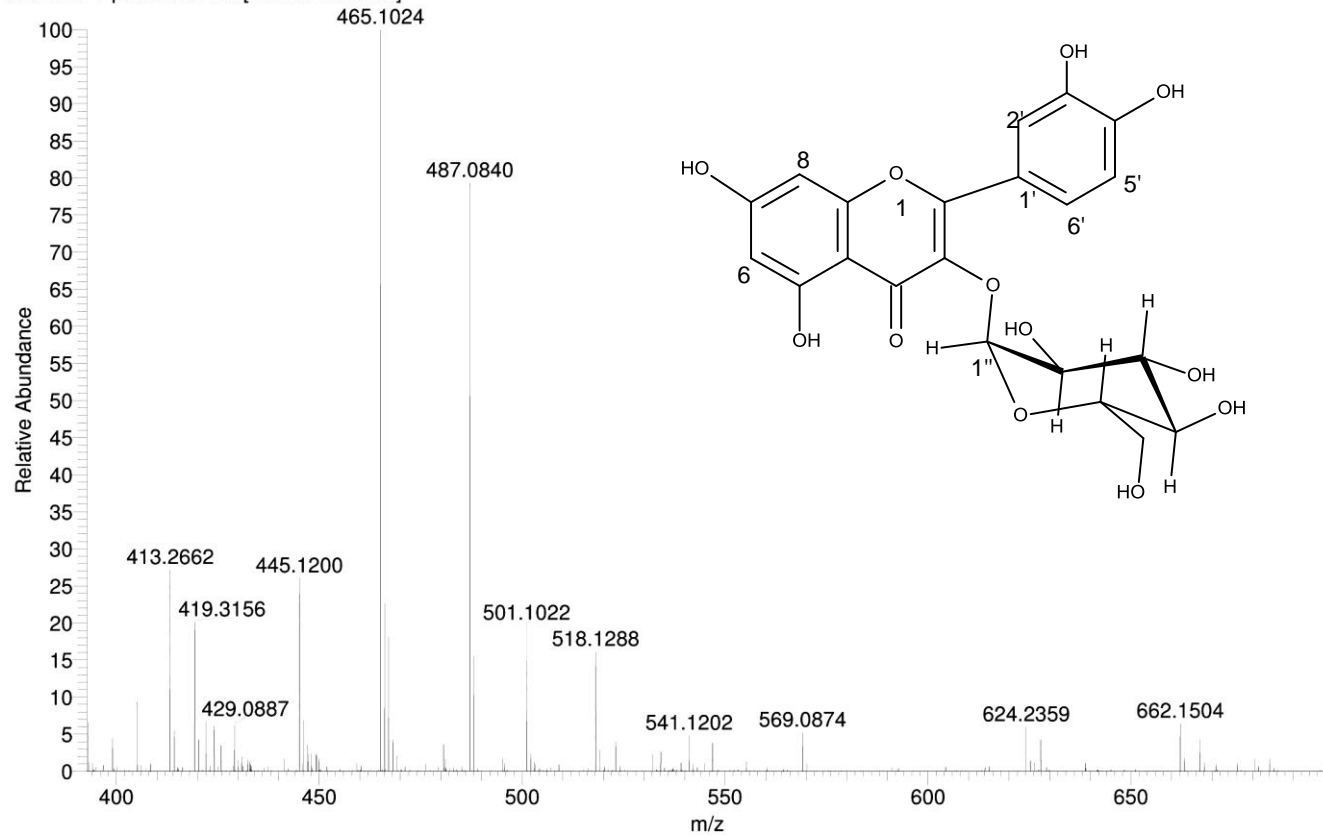


Şekil 31: DOO-2 (Kersetin-3-O-glukozit) Bileşiğinin FTMS Spektrumu

MW=464?
(MeOH)/MeOH + NH4OAc

EPSRC National Centre Swansea Prof S Sarker
LTQ Orbitrap XL 26/01/2011 11:37:30

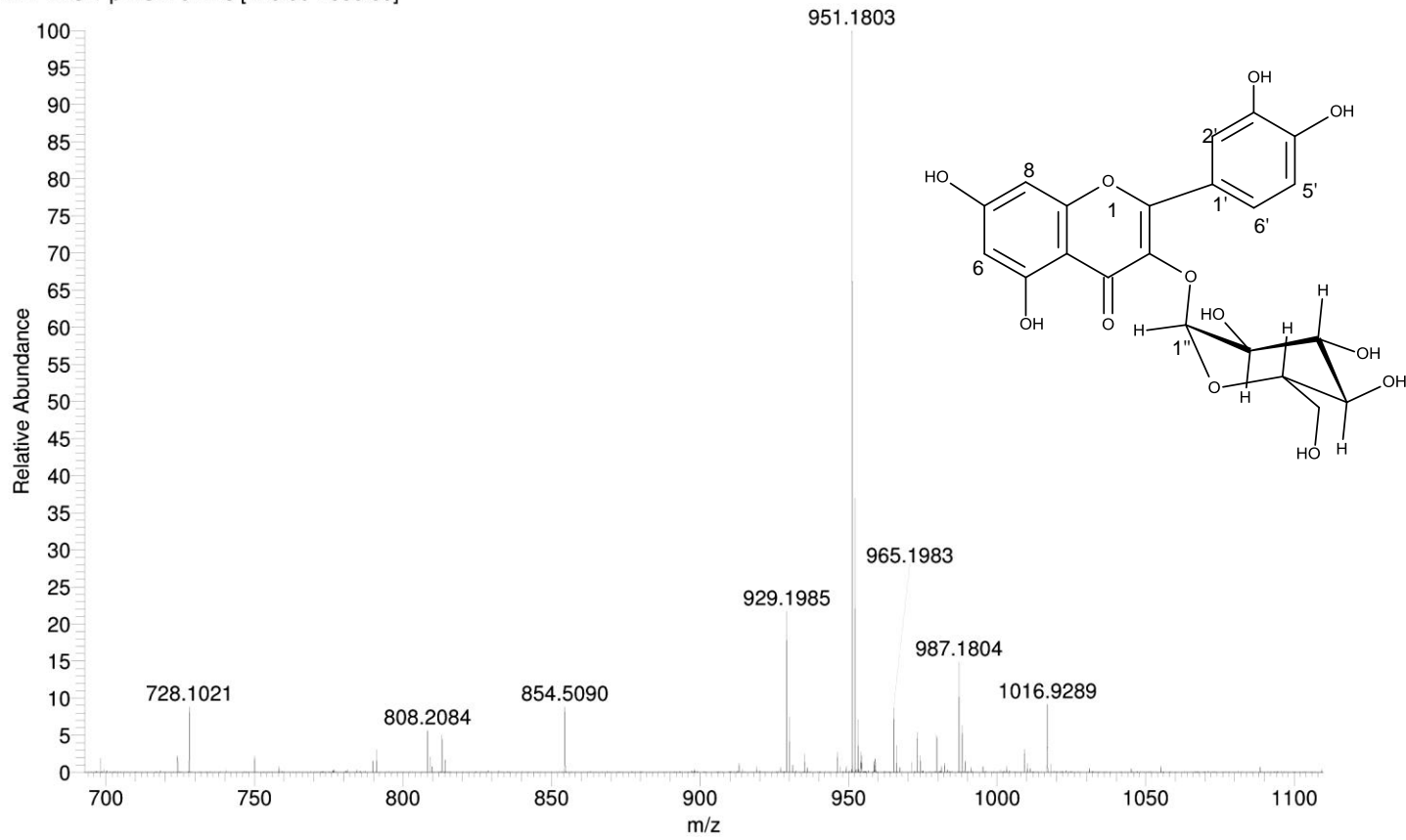
WOLSAR066-OE-HNESP #17-31 RT: 0.82-1.20 AV: 15 SM: 7G NL: 4.75E5
T: FTMS + p NSI Full ms [120.00-2000.00]



Şekil 32: DOO-2 (Kersetin-3-O-glukozit) Bileşiğinin FTMS Spektrumu

MW=464?
(MeOH)/MeOH + NH₄OAc
WOLSAR066-OE-HNESP #17-31 RT: 0.82-1.20 AV: 15 SM: 7G NL: 2.51E5
T: FTMS + p NSI Full ms [120.00-2000.00]

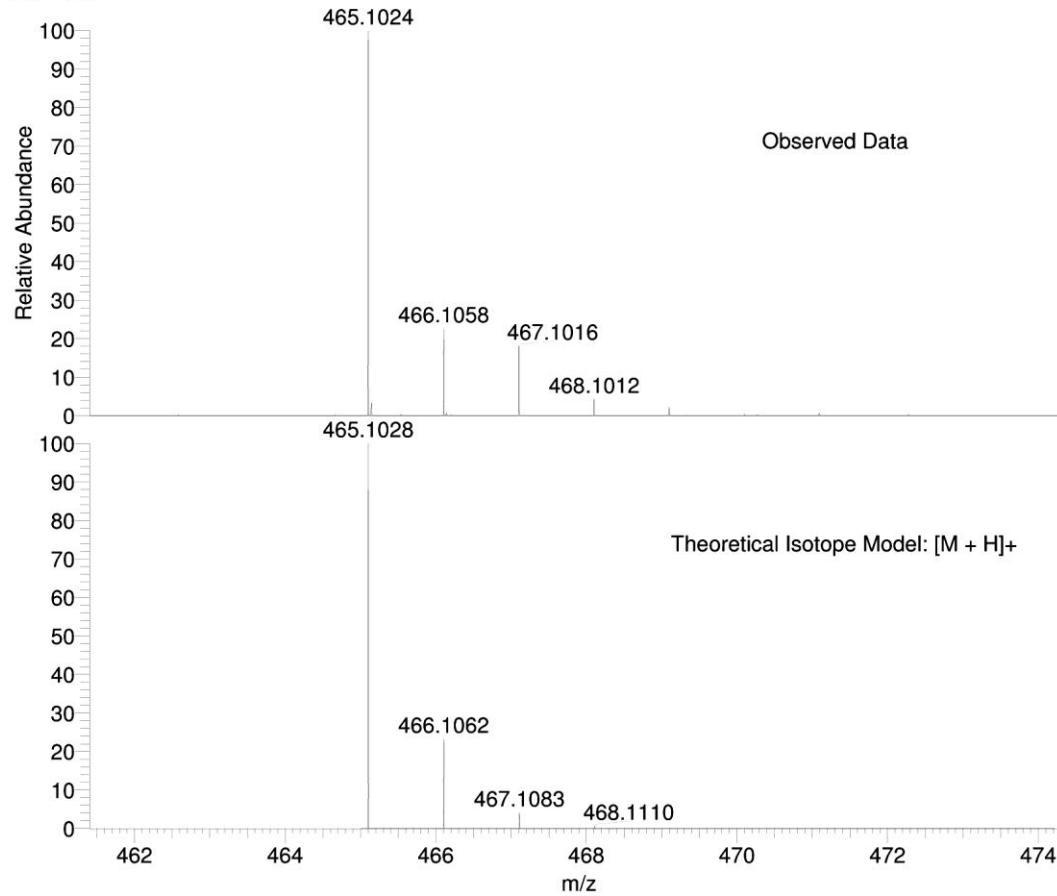
EPSRC National Centre Swansea Prof S Sarker
LTQ Orbitrap XL 26/01/2011 11:37:30



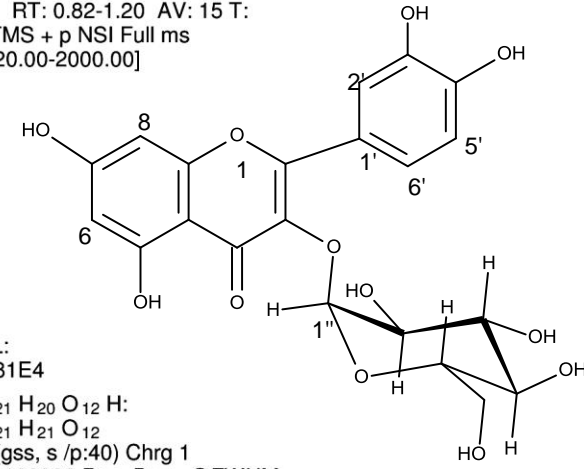
Şekil 33: DOO-2 (Kersetin-3-O-glukozit) Bileşiğinin FTMS Spektrumu

MW=464?
(MeOH)/MeOH + NH4OAc
SM: 7G

EPSRC National Centre Swansea Prof S Sarker
LTQ Orbitrap XL 26/01/2011 11:37:30



NL:
4.75E5
WOLSAR066-OE-HNESP#16-
31 RT: 0.82-1.20 AV: 15 T:
FTMS + p NSI Full ms
[120.00-2000.00]



Şekil 34: DOO-2 (Kerstin-3-O-glukozit) Bileşğinin FTMS Spektrumu

4.2. BİYOLOJİK AKTİVİTE DENEY BULGULARI

Türkiye’de halk arasında yara iyileştirici amaçla kullanılan bazı bitkilerden hazırlanan ekstrelerin ve daha ileri çalışmaların yürütülmesi amacı ile seçilen *D. oleoides* subsp. *kurdica* ve *D. oleoides* subsp. *oleoides* bitkilerinden elde edilen alt ekstre, fraksiyonlar ve izole edilen bileşiklerin yara iyileştirici, anti-enflamatuvar ve antioksidan etkileri, sonuçların daha kolay gözlenebilmesi bakımından tablo ve grafikler halinde sunulmuştur.

4.2.1. Yara Oluşturma Deney Modelleri

4.2.1.1. Çizgisel İnsizyon Yara Modeli

Türkiye’de halk arasında yara iyileştirici amaçla kullanılan bazı bitkilerden hazırlanan ekstrelerin ve daha ileri çalışmaların yürütülmesi amacı ile seçilen *D. oleoides* subsp. *kurdica* ve *D. oleoides* subsp. *oleoides* bitkilerinden elde edilen alt ekstreler, fraksiyonlar ve izole edilen bileşiklerin insizyon yara modeli üzerindeki etkileri aşağıdaki tablo ve grafiklerde sunulmuştur (Tablo 42-48; Şekil 35, 36).

Tablo 42: Türkiye’de halk arasında yara iyileştirici amaçla kullanılan bazı bitkilerin insizyon yara modeli üzerindeki etkileri

Materyal	Kullanılan kısım	Doz (%)	Yara gerilme kuvveti \pm O.S.H.	(%Yara gerilimi)
Baz Merhem			15.21 \pm 1.66	7.04
Negatif Kontrol			14.21 \pm 1.53	-
<i>Cichorium intybus</i>	Toprak üstü	1	18.66 \pm 1.11	22.68
	Yaprak	1	19.68 \pm 1.25	29.39
	Kök	1	22.56 \pm 0.95	48.32***
<i>Cistus creticus</i>	Toprak üstü	1	16.96 \pm 1.52	11.51
<i>Daphne oleoides</i> subsp. <i>kurdica</i>	Toprak üstü	1	21.23 \pm 1.29	39.58**
<i>Daphne oleoides</i> subsp. <i>oleoides</i>	Toprak üstü	1	20.41 \pm 1.94	34.19*
<i>Helichrysum graveolens</i>	Çiçek	1	19.79 \pm 1.47	30.11*
<i>Viscum album</i> subsp. <i>album</i>	Yaprak	1	18.04 \pm 1.82	18.61
Madecassol®			23.96 \pm 1.03	57.53***

* : p < 0.05; ** : p < 0.01; *** : p < 0.001; O.S.H: Ortalama Standart Hata

Yüzde yara gerilimi: Baz merhem sonuçları negatif kontrol grubuyla; Ekstre ve referans merhem grupları baz merhem grubuyla karşılaştırılarak değerlendirildi.

Tablo 43: *D. oleoides* subsp. *kurdica* (DOK) toprak üstü kısımlarının %85 metanollü ekstresinden elde edilen alt ekstrelerin insizyon yara modeli üzerindeki etkileri

Materyal	Doz (%)	Yara gerilme kuvveti \pm O.S.H.	(%Yara gerilimi)
Baz Merhem		14.26 \pm 2.01	7.87
Negatif Kontrol		13.22 \pm 2.47	-
DOK- <i>n</i> -Hekzan	1	15.63 \pm 2.20	9.61
DOK-CH ₂ Cl ₂	1	15.80 \pm 1.49	10.79
DOK-EtOAc	1	19.44 \pm 1.63	36.33**
	3	19.69 \pm 1.18	38.08**
	5	19.31 \pm 1.26	35.41**
DOK- <i>n</i> -BuOH	1	18.78 \pm 1.38	31.69*
DOK-R-H ₂ O	1	16.04 \pm 1.89	12.48
Madecassol [®]	1	21.40 \pm 1.15	50.07***

* : p < 0.05; ** : p < 0.01; *** : p < 0.001; O.S.H: Ortalama Standart Hata
Yüzde yara gerilimi: Baz merhem sonuçları negatif kontrol grubuyla; Ekstre ve referans merhem grupları baz merhem grubuyla karşılaştırılarak değerlendirildi.

Tablo 44: DOK-EtOAc alt ekstresinden silika jel kolon kromatografisi ile elde edilen fraksiyonların insizyon yara modeli üzerindeki etkileri

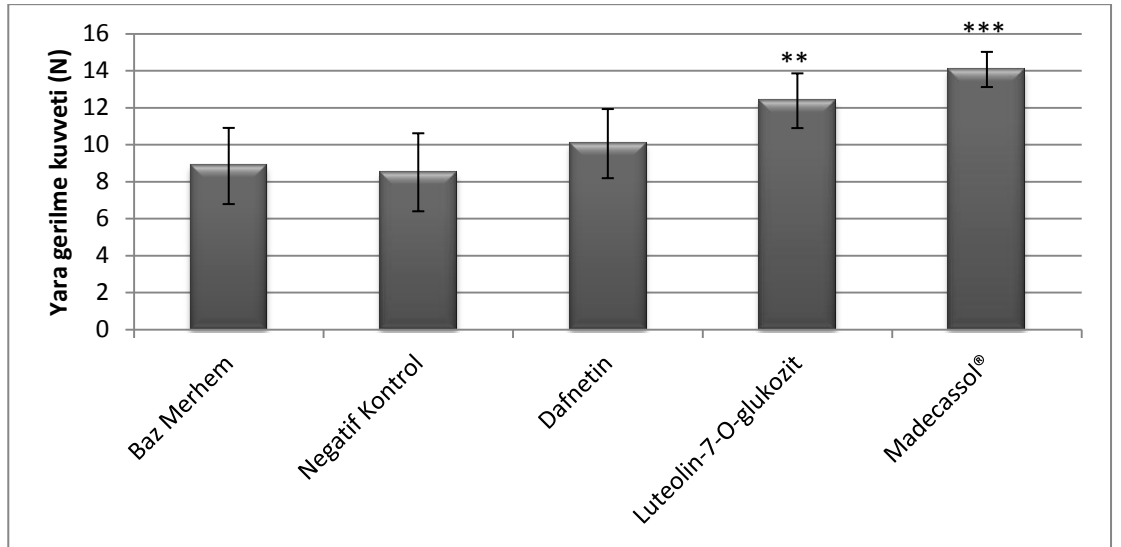
Materyal	Doz (%)	Yara gerilme kuvveti \pm O.S.H.	(%Yara gerilimi)
Baz Merhem		10.21 \pm 1.86	3.76
Negatif Kontrol		9.84 \pm 1.72	-
DOK-Fr. (1-8)	1	10.94 \pm 1.65	7.15
DOK-Fr. (9-15)	1	10.07 \pm 1.92	-
DOK-Fr. (16-21)	1	11.19 \pm 2.19	9.59
DOK-Fr. (22-39)	1	13.81 \pm 1.50	35.26**
Madecassol [®]		15.74 \pm 1.21	54.16***

* : p < 0.05; ** : p < 0.01; *** : p < 0.001; O.S.H: Ortalama Standart Hata
Yüzde yara gerilimi: Baz merhem sonuçları negatif kontrol grubuyla; Ekstre ve referans merhem grupları baz merhem grubuyla karşılaştırılarak değerlendirildi.

Tablo 45: DOK-Fr. (22-39)'dan izole edilen bileşiklerin insizyon yara modeli üzerindeki etkileri

Materyal	Doz (%)	Yara gerilme kuvveti \pm O.S.H.	(%Yara gerilimi)
Baz Merhem		8.85 \pm 2.06	3.99
Negatif Kontrol		8.51 \pm 2.11	-
Dafnetin	1	10.06 \pm 1.87	13.67
Luteolin-7-O-glukozit	1	12.38 \pm 1.48	39.89**
Madecassol®		14.07 \pm 0.95	58.98***

* : p < 0.05; ** : p < 0.01; *** : p < 0.001; O.S.H: Ortalama Standart Hata
Yüzde yara gerilimi: Baz merhem sonuçları negatif kontrol grubuyla; Ekstre ve referans merhem grupları baz merhem grubuyla karşılaştırılarak değerlendirildi.



Şekil 35: DOK-Fr. (22-39)'dan izole edilen bileşiklerin insizyon yara modeli üzerindeki etkileri (* : p < 0.05; ** : p < 0.01; *** : p < 0.001)

Tablo 46: *D. oleoides* subsp. *oleoides* (DOO) toprak üstü kısımlarının %85 metanollü ekstresinden elde edilen alt ekstrelerin insizyon yara modeli üzerindeki etkileri

Materyal	Doz (%)	Yara gerilme kuvveti \pm O.S.H.	(%Yara gerilimi)
Baz Merhem		13.10 \pm 1.98	9.72
Negatif Kontrol		11.94 \pm 1.59	-
DOO- <i>n</i> -Hekzan	1	14.92 \pm 2.13	13.89
DOO-CH ₂ Cl ₂	1	15.39 \pm 1.53	17.48
DOO-EtOAc	1	17.15 \pm 1.84	30.92*
	3	17.72 \pm 1.56	35.27*
	5	17.48 \pm 1.49	33.44*
DOO- <i>n</i> -BuOH	1	16.69 \pm 1.75	27.40*
DOO-R-H ₂ O	1	15.20 \pm 2.18	16.03
Madecassol®	1	20.80 \pm 1.61	58.78***

* : p < 0.05; ** : p < 0.01; *** : p < 0.001; O.S.H: Ortalama Standart Hata
Yüzde yara gerilimi: Baz merhem sonuçları negatif kontrol grubuyla; Ekstre ve referans merhem grupları baz merhem grubuyla karşılaştırılarak değerlendirildi.

Tablo 47: DOO-EtOAc alt ekstresinden silika jel kolon kromatografisi ile elde edilen fraksiyonların insizyon yara modeli üzerindeki etkileri

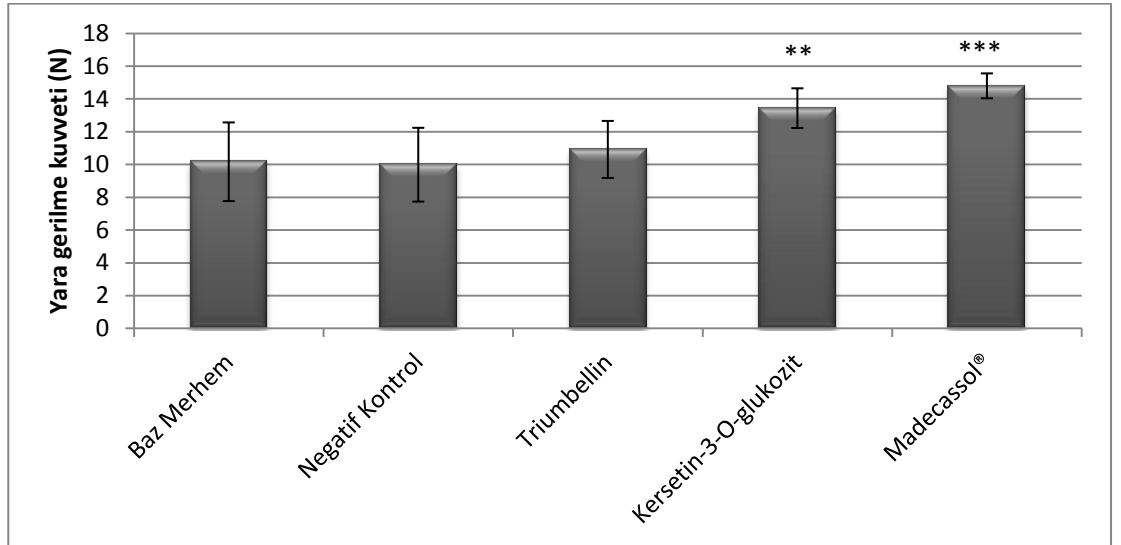
Materyal	Doz (%)	Yara gerilme kuvveti \pm O.S.H.	(%Yara gerilimi)
Baz Merhem		12.28 \pm 2.19	2.59
Negatif Kontrol		11.97 \pm 2.30	-
DOO-Fr. (1-6)	1	12.74 \pm 2.17	3.75
DOO-Fr. (7-18)	1	14.14 \pm 1.79	15.15
DOO-Fr. (19-27)	1	15.90 \pm 1.58	29.48**
DOO-Fr. (28-33)	1	13.71 \pm 1.83	11.64
Madecassol®		17.66 \pm 1.42	43.81***

* : p < 0.05; ** : p < 0.01; *** : p < 0.001; O.S.H: Ortalama Standart Hata
Yüzde yara gerilimi: Baz merhem sonuçları negatif kontrol grubuyla; Ekstre ve referans merhem grupları baz merhem grubuyla karşılaştırılarak değerlendirildi.

Tablo 48: DOO-Fr. (19-27)'den izole edilen bileşiklerin insizyon yara modeli üzerindeki etkileri

Materyal	Doz (%)	Yara gerilme kuvveti ± O.S.H.	(%Yara gerilimi)
Baz Merhem		10.16 ± 2.40	1.80
Negatif Kontrol		9.98 ± 2.25	-
Triumbellin	1	10.91 ± 1.74	7.38
Kersetin-3-O-glukozit	1	13.43 ± 1.21	32.19**
Madecassol®		14.79 ± 0.76	45.57***

* : p < 0.05; ** : p < 0.01; *** : p < 0.001; O.S.H: Ortalama Standart Hata
Yüzde yara gerilimi: Baz merhem sonuçları negatif kontrol grubuyla; Ekstre ve referans merhem grupları baz merhem grubuyla karşılaştırılarak değerlendirildi.



Şekil 36: DOO-Fr. (19-27)'den izole edilen bileşiklerin insizyon yara modeli üzerindeki etkileri (* : p < 0.05; ** : p < 0.01; *** : p < 0.001)

4.2.1.2.Dairesel Eksizyon Yara Modeli

Türkiye’de halk arasında yara iyileştirici amaçla kullanılan bazı bitkilerden hazırlanan ekstrelerin ve daha ileri çalışmaların yürütülmesi amacı ile seçilen *D. oleoides* subsp. *kurdica* ve *D. oleoides* subsp. *oleoides* bitkilerinden elde edilen alt ekstreler, fraksiyonlar ve izole edilen bileşiklerin eksizyon yara modeli üzerindeki etkileri aşağıdaki tablo ve grafiklerde sunulmuştur (Tablo 49-55; Şekil 37, 38).

Tablo 49: Türkiye’de halk arasında yara iyileştirici amaçla kullanılan bazı bitkilerin eksizyon yara modeli üzerindeki etkileri

Materyal	Kullanılan kısım	Doz (%)	Yara alanı (mm ²) O.S.H. (%Kontraksiyon)						
			0. gün	2. gün	4. gün	6. gün	8. gün	10. gün	12. gün
Baz Merhem			20.14±2.63	18.35±1.56 (2.60)	16.15±2.43 (4.78)	14.58±2.30 (8.36)	9.74±1.91 (6.70)	4.50±1.22 (10.89)	2.79±0.06 (9.71)
Negatif Kontrol			21.45±3.61	18.84±3.08	16.96±2.19	15.91±1.64	10.44±1.41	5.05±0.56	3.09±0.37
<i>Cichorium intybus</i>	Toprak üstü	1	20.59±2.54	16.93±2.86 (7.74)	14.77±2.61 (8.54)	13.31±2.46 (8.71)	8.58±1.29 (11.91)	4.02±0.76 (10.67)	2.01±0.48 (27.96)
	Yaprak	1	20.46±3.21	17.59±3.18 (4.14)	15.29±2.49 (5.33)	13.77±2.20 (5.56)	8.48±1.37 (12.94)	3.98±0.65 (11.56)	1.94±0.55 (30.47)
	Kök	1	21.42±3.10	16.71±2.79 (8.94)	13.59±2.96 (15.85)	11.58±1.60 (20.58)	4.91±1.71 (49.59)*	1.42±0.96 (68.44)**	0.37±0.22 (86.74)***
<i>Cistus creticus</i>	Toprak üstü	1	20.12±2.09	17.55±2.89 (4.36)	14.46±2.26 (10.46)	13.27±1.37 (8.98)	7.92±1.64 (18.69)	3.63±0.23 (19.33)	2.29±0.02 (17.92)
<i>Daphne oleoides</i> subsp. <i>kurdica</i>	Toprak üstü	1	21.26±2.33	16.91±2.48 (7.85)	14.75±1.27 (8.67)	11.93±2.06 (18.18)	6.88±1.65 (29.36)	2.21±0.14 (50.89)**	0.50±0.03 (82.08)***
<i>Daphne oleoides</i> subsp. <i>oleoides</i>	Toprak üstü	1	19.96±2.18	16.77±2.96 (8.61)	14.50±2.14 (10.22)	11.72±1.23 (19.62)	7.61±1.83 (21.87)	2.02±0.54 (55.11)**	0.81±0.09 (70.97)***
<i>Helichrysum graveolens</i>	Çiçek	1	19.58±2.10	17.49±2.64 (4.69)	14.14±2.11 (12.45)	11.35±1.27 (22.15)	6.55±1.13 (32.75)*	2.33±0.80 (48.22)*	0.96±0.12 (65.59)**
<i>Viscum album</i> subsp. <i>album</i>	Yaprak	1	19.64±2.45	17.38±3.17 (5.29)	15.46±2.09 (4.27)	12.96±1.89 (12.99)	8.71±1.51 (10.57)	3.97±0.13 (11.78)	2.35±0.05 (15.77)
Madecassol®			20.37±2.60	15.89±2.25 (13.41)	12.94±1.64 (19.88)	8.76±1.81 (39.92)*	3.75±0.18 (61.49)**	1.05±0.03 (76.67)***	0.00±0.00 (100.00)***

* : p < 0.05; ** : p < 0.01; *** : p < 0.001; O.S.H: Ortalama Standart Hata

Yüzde kontraksiyon: Baz merhem sonuçları negatif kontrol grubuyla; Ekstre ve referans merhem grupları baz merhem grubuyla karşılaştırılarak değerlendirildi.

Tablo 50: *D. oleoides* subsp. *kurdica* (DOK) toprak üstü kısımlarının %85 metanollü ekstresinden elde edilen alt ekstrelerin eksizyon yara modeli üzerindeki etkileri

Materyal	Doz (%)	Yara alanı (mm ²) O.S.H. (%Kontraksiyon)						
		0. gün	2. gün	4. gün	6. gün	8. gün	10. gün	12. gün
Baz Merhem		19.19±2.01	17.03±2.16 (5.18)	14.94±2.27 (7.15)	13.05±1.86 (2.90)	6.37±1.20 (11.40)	4.59±1.67 -	2.66±0.47 (10.74)
Negatif Kontrol		19.50±2.25	17.96±2.03	16.09±1.96	13.44±1.51	7.19±1.09	4.36±1.73	2.98±0.62
DOK- <i>n</i> -Hekzan	1	20.14±1.89	15.72±1.53 (7.69)	15.03±2.33 -	12.29±1.68 (5.82)	6.15±1.59 (3.45)	4.11±0.99 (10.46)	2.17±0.88 (18.42)
DOK-CH ₂ Cl ₂	1	20.01±1.57	15.30±1.19 (10.16)	13.51±1.59 (9.57)	13.47±1.31 -	5.86±1.15 (8.01)	3.76±0.36 (18.08)	2.19±0.32 (17.67)
DOK-EtOAc	1	19.49±1.88	14.67±1.72 (13.86)	12.37±1.11 (17.20)	9.97±1.10 (23.60)	5.04±0.47 (20.88)	2.97±0.60 (35.29)**	1.07±0.09 (59.77)**
	3	19.56±1.29	14.38±1.94 (15.56)	12.98±1.13 (13.12)	10.22±1.66 (21.69)	5.37±1.10 (15.69)	3.19±0.88 (30.50)*	1.18±0.19 (55.64)**
	5	20.03±1.46	15.57±1.68 (8.57)	13.59±1.57 (9.04)	11.59±1.29 (11.19)	4.79±1.15 (24.80)	3.42±1.53 (25.49)	1.34±0.11 (49.62)**
DOK- <i>n</i> -BuOH	1	19.22±1.16	13.96±1.14 (18.03)	13.08±1.54 (12.45)	10.28±1.44 (21.23)	5.13±1.04 (19.47)	3.17±0.23 (30.94)*	1.27±0.14 (52.26)**
DOK-R-H ₂ O	1	19.25±1.08	15.20±1.97 (10.75)	14.31±1.16 (4.22)	12.07±1.24 (7.51)	5.64±1.27 (11.46)	4.16±0.78 (9.36)	2.14±0.47 (19.55)
Madecassol®	1	19.40±1.19	14.57±1.05 (14.45)	11.09±1.67 (25.77)	5.50±1.03 (57.85)**	1.30±0.35 (79.59)**	0.65±0.08 (85.84)***	0.00±0.00 (100.00)***

* : p < 0.05; ** : p < 0.01; *** : p < 0.001; O.S.H: Ortalama Standart Hata

Yüzde kontraksiyon: Baz merhem sonuçları negatif kontrol grubuyla; Alt ekstre ve referans merhem grupları baz merhem grubuyla karşılaştırılarak değerlendirildi.

Tablo 51: DOK-EtOAc alt ekstresinden silika jel kolon kromatografisi ile elde edilen fraksiyonların eksizyon yara modeli üzerindeki etkileri

Materyal	Doz (%)	Yara alanı (mm ²) O.S.H. (%Kontraksiyon)						
		0. gün	2. gün	4. gün	6. gün	8. gün	10. gün	12. gün
Baz Merhem		19.25±2.04	17.23±1.85 (4.49)	16.04±1.31 (1.29)	13.48±1.23 (7.32)	7.54±1.04 (8.94)	4.31±0.49 (10.02)	3.28±0.56 (6.02)
Negatif Kontrol		19.62±2.27	18.04±1.44	16.25±1.37	13.67±1.13	8.28±1.15	4.79±1.10	3.49±0.56
DOK-Fr. (1-8)	1	19.43±2.43	17.12±1.35 (0.64)	15.11±1.26 (6.23)	13.15±1.04 (2.45)	7.24±1.18 (3.98)	3.82±0.54 (11.37)	2.99±0.28 (8.84)
DOK-Fr. (9-15)	1	19.61±2.07	15.85±1.32 (8.01)	13.64±1.21 (14.96)	11.19±1.34 (16.99)	6.07±0.85 (19.49)	3.58±0.19 (16.94)	2.85±0.12 (13.11)
DOK-Fr. (16-21)	1	19.57±2.19	16.36±1.78 (5.05)	14.28±1.16 (10.97)	12.98±1.18 (7.42)	6.89±1.60 (13.26)	3.50±0.81 (18.79)	2.43±0.56 (25.91)
DOK-Fr. (22-39)	1	19.89±2.16	16.88±1.73 (2.03)	13.87±1.45 (13.53)	10.54±1.40 (21.81)	6.48±1.17 (14.06)	2.62±0.23 (39.21)*	1.71±0.24 (47.87)**
Madecassol®		19.39±2.11	15.28±1.51 (11.32)	12.16±1.08 (24.19)	8.24±0.78 (38.87)*	3.18±0.14 (57.82)**	1.22±0.11 (71.69)**	0.00±0.00 (100.00)***

* : p < 0.05; ** : p < 0.01; *** : p < 0.001; O.S.H: Ortalama Standart Hata

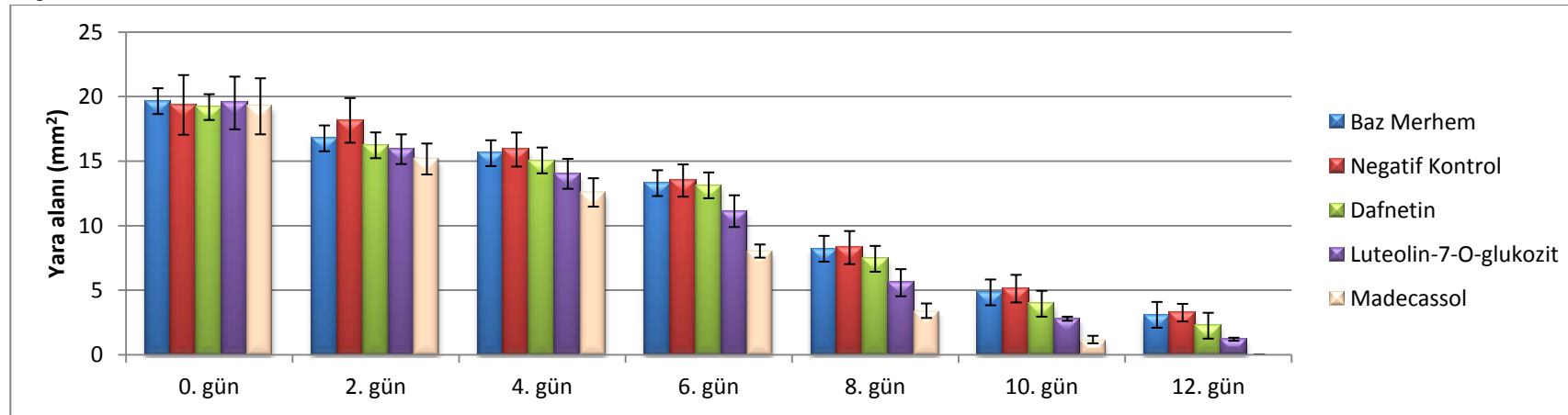
Yüzde kontraksiyon: Baz merhem sonuçları negatif kontrol grubuyla; Fraksiyon ve referans merhem grupları baz merhem grubuyla karşılaştırılarak değerlendirildi.

Tablo 52: DOK-Fr. (22-39)'dan izole edilen bileşiklerin eksizyon yara modeli üzerindeki etkileri

Materyal	Doz (%)	Yara alanı (mm ²) O.S.H. (%Kontraksiyon)						
		0. gün	2. gün	4. gün	6. gün	8. gün	10. gün	12. gün
Baz Merhem		19.64±2.10	16.76±1.82 (7.66)	15.61±1.24 (1.76)	13.29±1.44 (7.41)	8.21±1.16 (1.08)	4.83±0.87 (5.66)	3.09±0.62 (5.21)
Negatif Kontrol		19.35±2.31	18.15±1.73	15.89±1.32	13.49±1.25	8.30±1.28	5.12±1.07	3.26±0.68
Dafnetin	1	19.18±2.13	16.22±1.25 (3.22)	15.05±1.14 (6.41)	13.12±1.21 (1.28)	7.43±1.36 (9.50)	3.95±0.79 (18.22)	2.25±0.36 (27.18)
Luteolin-7-O-glukozit	1	19.50±2.04	15.92±1.15 (5.01)	14.01±1.16 (6.41)	11.12±1.23 (16.33)	5.58±1.05 (32.03)*	2.79±0.16 (42.24)*	1.20±0.12 (61.17)**
Madecassol®		19.24±2.17	15.16±1.20 (9.55)	12.57±1.10 (19.47)	8.03±0.51 (39.58)*	3.41±0.56 (58.47)**	1.18±0.29 (75.57)**	0.00±0.00 (100.00)***

* : p < 0.05; ** : p < 0.01; *** : p < 0.001; O.S.H: Ortalama Standart Hata

Yüzde kontraksiyon: Baz merhem sonuçları negatif kontrol grubuyla; Bileşik ve referans merhem grupları baz merhem grubuyla karşılaştırılarak değerlendirildi.



Şekil 37: DOK-Fr. (22-39)'dan izole edilen bileşiklerin eksizyon yara modeli üzerindeki etkileri

Tablo 53: *D. oleoides* subsp. *oleoides* (DOO) toprak üstü kısımlarının %85 metanollü ekstresinden elde edilen alt ekstrelerin eksizyon yara modeli üzerindeki etkileri

Materyal	Doz (%)	Yara alanı (mm ²) O.S.H. (%Kontraksiyon)						
		0. gün	2. gün	4. gün	6. gün	8. gün	10. gün	12. gün
Baz Merhem		20.02±2.51	17.59±2.50 (3.51)	14.93±2.09 (2.03)	12.98±1.74 (9.67)	8.33±1.61 (6.09)	5.83±1.14 (7.31)	3.26±0.29 (8.43)
Negatif Kontrol		19.98±2.11	18.23±2.15	15.24±2.04	14.37±1.51	8.87±1.10	6.29±1.84	3.56±0.67
DOO- <i>n</i> -Hekzan	1	19.51±1.96	16.65±1.94 (5.34)	14.05±2.17 (5.89)	12.54±1.22 (3.39)	8.35±1.50 -	5.35±1.04 (8.23)	2.76±0.66 (15.34)
DOO-CH ₂ Cl ₂	1	19.16±1.76	16.15±1.81 (8.19)	13.33±1.95 (10.72)	12.68±1.78 (2.31)	7.97±1.39 (4.32)	5.29±0.96 (9.26)	2.83±0.52 (13.19)
DOO-EtOAc	1	19.85 ± 1.85	16.09±1.69 (8.53)	13.22±1.48 (11.45)	10.57±1.67 (18.57)	6.84±1.40 (17.89)	3.58±0.82 (38.59)*	1.39±0.09 (57.36)**
	3	19.29 ± 1.72	16.63±1.84 (5.46)	13.79±1.76 (7.64)	10.95±1.39 (15.64)	5.88±0.73 (29.41)*	3.42±0.51 (41.34)**	1.64 ±0.11 (49.69)*
	5	19.44±1.93	15.51±1.53 (11.82)	12.02±2.13 (19.49)	10.53±1.18 (18.88)	6.14±0.95 (26.29)	3.76±0.73 (35.51)*	1.57±0.03 (51.84)**
DOO- <i>n</i> -BuOH	1	20.10±2.13	14.93±1.99 (15.12)	12.29±1.72 (17.68)	10.58±1.37 (18.49)	6.59±1.17 (20.89)	3.55±0.19 (39.11)**	1.70±0.25 (47.85)**
DOO-R-H ₂ O	1	19.98±1.41	15.87±2.04 (9.78)	13.65±1.29 (8.57)	11.52±1.55 (11.25)	7.47±1.43 (10.32)	5.04±0.62 (13.55)	2.88±0.83 (11.66)
Madecassol®	1	20.23±2.25	14.18±1.86 (19.39)	11.88±1.46 (20.43)	7.59±1.03 (41.53)*	2.04±0.26 (75.51)**	1.09±0.11 (81.30)***	0.00±0.00 (100.00)***

* : p < 0.05; ** : p < 0.01; *** : p < 0.001; O.S.H: Ortalama Standart Hata

Yüzde kontraksiyon: Baz merhem sonuçları negatif kontrol grubuyla; Alt ekstre ve referans merhem grupları baz merhem grubuyla karşılaştırılarak değerlendirildi.

Tablo 54: DOO-EtOAc alt ekstresinden silika jel kolon kromatografisi ile elde edilen fraksiyonların eksizyon yara modeli üzerindeki etkileri

Materyal	Doz (%)	Yara alanı (mm ²) O.S.H. (%Kontraksiyon)						
		0. gün	2. gün	4. gün	6. gün	8. gün	10. gün	12. gün
Baz Merhem		19.14±2.30	18.15±1.80 (0.77)	16.08±1.70 (8.43)	13.44±1.72 (2.82)	8.42±1.39 (3.66)	4.36±0.20 (13.15)	3.14±0.51 (8.99)
Negatif Kontrol		19.39±2.12	18.29±1.69	17.56±1.48	13.83±1.31	8.74±1.18	5.02±0.56	3.45±0.81
DOO-Fr. (1-6)	1	19.42±2.18	17.13±1.26 (5.62)	15.17±1.31 (5.66)	12.38±1.43 (7.89)	7.36±1.28 (12.59)	3.92±0.62 (10.09)	2.96±0.56 (5.73)
DOO-Fr. (7-18)	1	19.57±2.22	16.85±1.31 (7.16)	15.10±1.05 (6.09)	11.89±1.23 (11.53)	6.94±0.26 (17.58)	4.02±0.41 (7.79)	2.83±0.34 (9.87)
DOO-Fr. (19-27)	1	19.09±2.07	18.02±1.34 (0.72)	14.26±1.14 (11.32)	11.45±1.90 (14.81)	5.67±1.15 (32.66)*	2.63±0.48 (39.68)*	1.78±0.22 (43.31)**
DOO-Fr. (28-33)	1	19.51±1.89	17.21±1.18 (5.18)	15.34±1.06 (4.60)	12.31±1.08 (8.41)	6.86±0.67 (18.53)	3.96±0.29 (9.17)	2.82±0.70 (10.19)
Madecassol®		19.35±1.96	16.43±1.36 (9.48)	13.24±1.39 (17.66)	9.15±0.58 (31.92)*	4.48±0.42 (46.79)**	1.56±0.12 (64.22)**	0.00±0.00 (100.00)***

* : p < 0.05; ** : p < 0.01; *** : p < 0.001; O.S.H: Ortalama Standart Hata

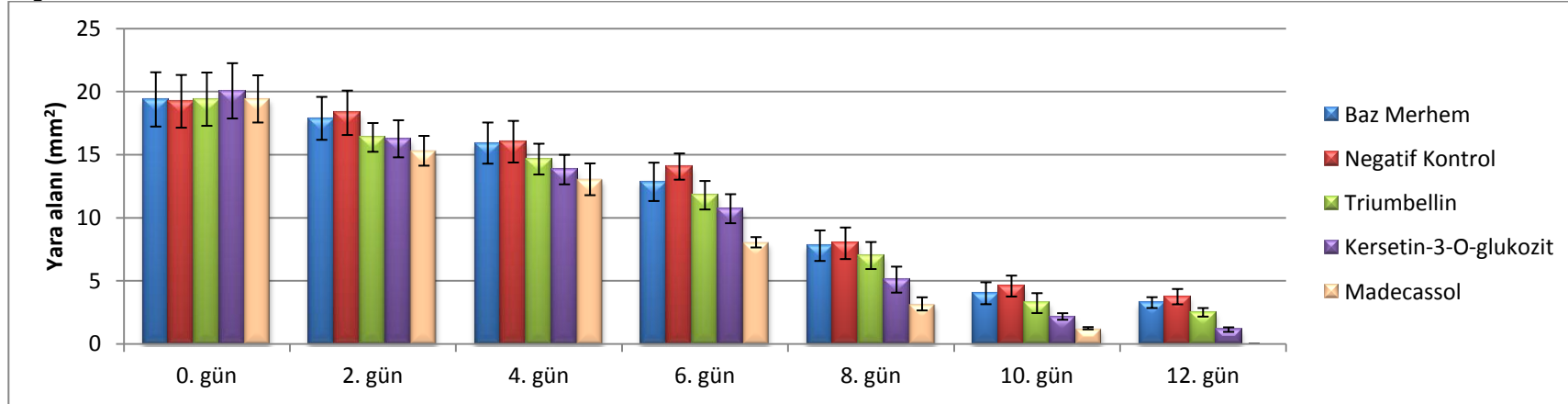
Yüzde kontraksiyon: Baz merhem sonuçları negatif kontrol grubuyla; Fraksiyon ve referans merhem grupları baz merhem grubuyla karşılaştırılarak değerlendirildi.

Tablo 55: DOO-Fr. (19-27)'den izole edilen bileşiklerin eksizyon yara modeli üzerindeki etkileri

Materyal	Doz (%)	Yara alanı (mm ²) O.S.H. (%Kontraksiyon)						
		0. gün	2. gün	4. gün	6. gün	8. gün	10. gün	12. gün
Baz Merhem		19.38±2.15	17.88±1.70 (2.40)	15.92±1.63 (0.69)	12.85±1.52 (8.61)	7.79±1.21 (2.38)	4.02±0.87 (12.42)	3.28±0.43 (12.53)
Negatif Kontrol		19.23±2.09	18.32±1.76	16.03±1.65	14.06±1.04	7.98±1.25	4.59±0.83	3.75±0.61
Triumbellin	1	19.40±2.11	16.37±1.14 (8.45)	14.65±1.22 (7.98)	11.79±1.13 (8.25)	7.01±1.07 (10.01)	3.24±0.79 (19.40)	2.51±0.34 (23.48)
Kersetin-3-O-glukozit	1	20.06±2.19	16.26±1.47 (9.06)	13.82±1.17 (13.19)	10.72±1.15 (16.58)	5.10±1.03 (34.53)*	2.18±0.26 (45.77)*	1.14±0.18 (65.29)***
Madecassol®		19.42±1.87	15.31±1.18 (14.37)	13.05±1.26 (18.03)	8.06±0.41 (37.28)*	3.18±0.52 (59.18)**	1.25±0.09 (68.91)**	0.00±0.00 (100.00)***

* : p < 0.05; ** : p < 0.01; *** : p < 0.001; O.S.H: Ortalama Standart Hata

Yüzde kontraksiyon: Baz merhem sonuçları negatif kontrol grubuyla; Bileşik ve referans merhem grupları baz merhem grubuyla karşılaştırılarak değerlendirildi.



Şekil 38: DOO-Fr. (19-27)'den izole edilen bileşiklerin eksizyon yara modeli üzerindeki etkileri

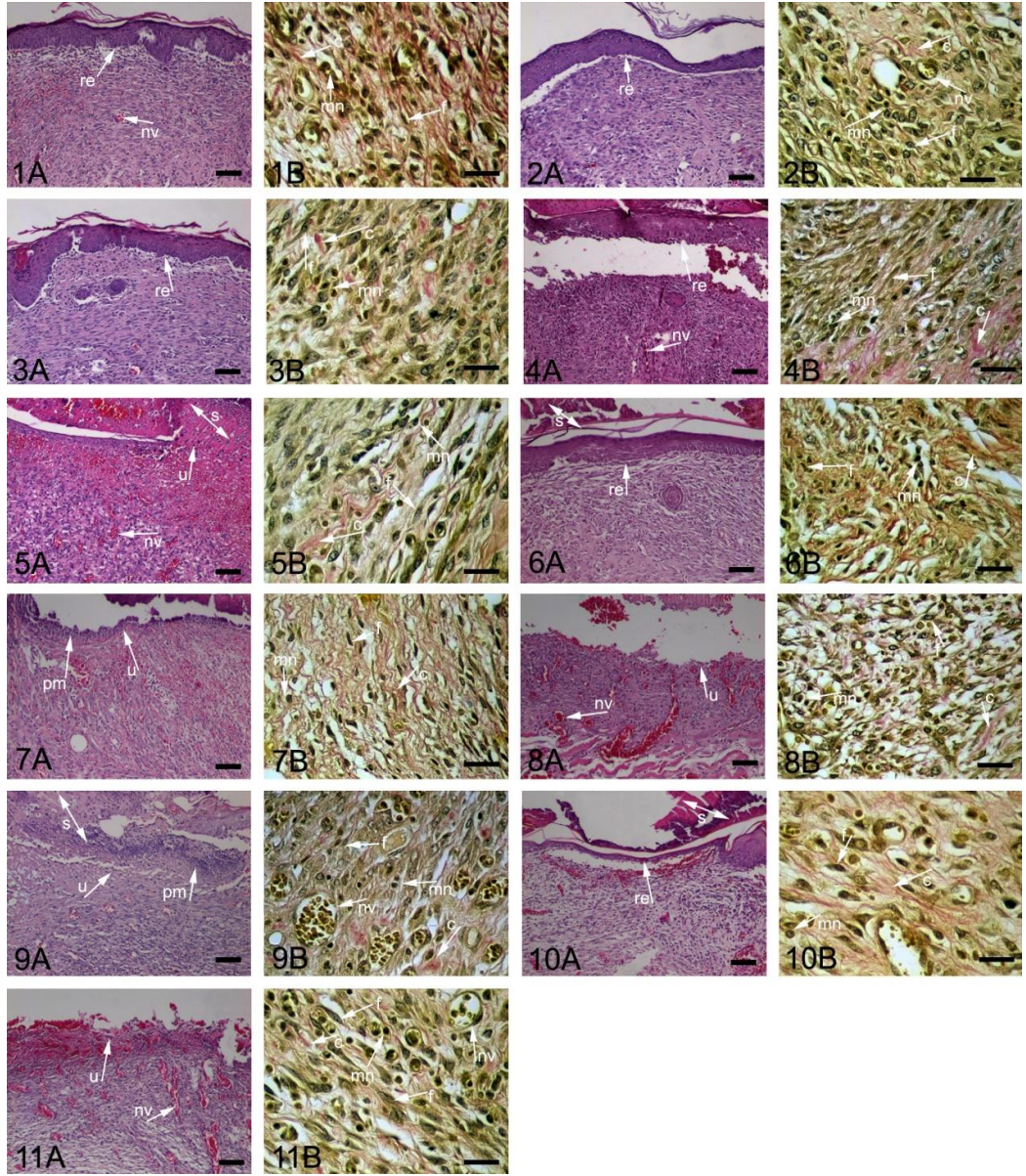
4.2.1.3. Histopatolojik İnceleme Sonuçları

Türkiye’de halk arasında yara iyileştirici amaçla kullanılan bazı bitkilerden hazırlanan ekstrelerin ve daha ileri çalışmaların yürütülmesi amacı ile seçilen *D. oleoides* subsp. *kurdica* ve *D. oleoides* subsp. *oleoides* bitkilerinden elde edilen alt ekstreler, fraksiyonlar ve izole edilen bileşikler ile tedavi edilen dokular üzerinde yapılan histopatolojik incelemeler aşağıdaki tablo ve resimlerde sunulmuştur (Tablo 56-62; Resim 3-9).

Tablo 56: Türkiye’de halk arasında yara iyileştirici amaçla kullanılan bazı bitkilerin ekstreleri ile tedavi edilen yara dokularının histopatoloji sonuçları

Gruplar	Kullanılan kısım	Yara İyileşme Süreci								İyileşme fazları		
		S	U	RE	FP	CD	MN	PM	NV	EF	PF	RF
Baz Merhem		+++	+++	-	++	+	++	++	++	++	++	-
Negatif Kontrol		+++	+++	-	-/+	+	+	++	-/+	-/+	-/+	-
<i>Cichorium intybus</i>	Toprak üstü	++/+++	++	-	++/+++	++	++	++	++	++	++	-
	Yaprak	++/+++	-/+	+	++/+++	++	++	++	++	++	++	-/+
	Kök	+ /+++	-	+ /++	++	+ /+++	+ /+++	+	+	+ /+++	+ /+++	+ /+++
<i>Cistus creticus</i>	Toprak üstü	+++	++/+++	-	++	++	++	++	++	++/+++	++	-
<i>Daphne oleoides</i> subsp. <i>kurdica</i>	Toprak üstü	++	-	+	++	++	+ /+++	+	++	+	++	+ /+++
<i>Daphne oleoides</i> subsp. <i>oleoides</i>	Toprak üstü	++	-	+ /+++	++	++	++	+	+ /+++	+	++	+
<i>Helichrysum graveolens</i>	Çiçek	++	-	+	++/+++	++	++	+	++/+++	+	++	+
<i>Viscum album</i> subsp. <i>album</i>	Yaprak	+++	++/+++	-	++/+++	+	++	++	++	++/+++	++	-
Madecassol®		+	-	++/+++	++	++	+ /+++	- /+	+ /+++	+	+ /+++	++

HE ve VG ile boyanan dokular hafif (+), orta (++) , şiddetli (+++) olmak üzere derecelendirildi. S: Yara kabuğu, U: Ülser, RE: Re-epitelizasyon, FP: Fibroblast proliferasyonu, CD: Kolajen Depolanması, MN: Mononükleer hücreler, PM: Polimorfonükleer hücreler, NV: Neovaskülerizasyon, EF: Enflamasyon fazı, PF: Proliferasyon fazı, RF: Re-modeling fazı.



Resim 3: Türkiye’de halk arasında yara iyileştirici amaçla kullanılan bazı bitkilerden hazırlanan ekstreler ile tedavi edilen yara dokularının histopatoloji sonuçları

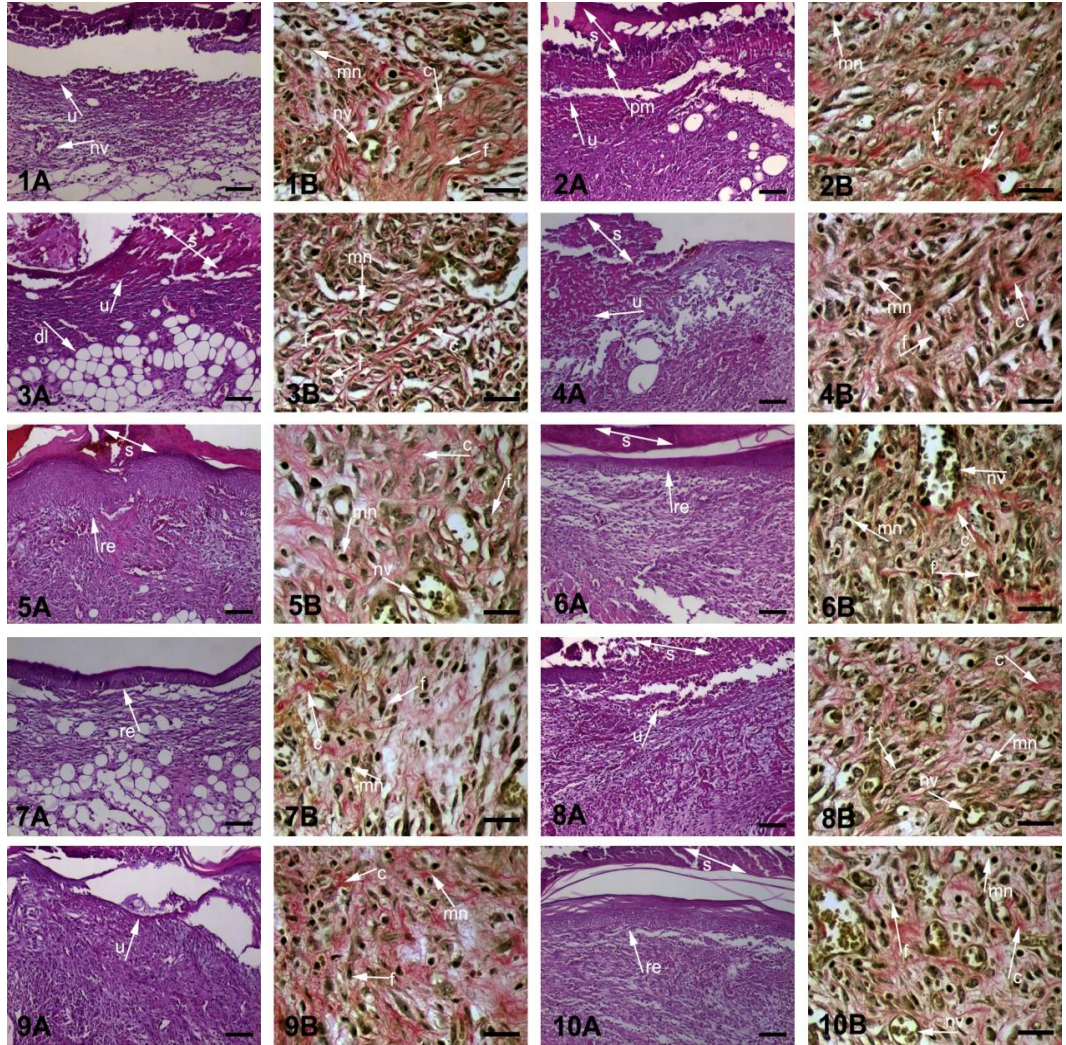
1. Baz Merhem, 2. Negatif Kontrol, 3. *C. intybus* toprak üstü, 4. *C. intybus* yaprak, 5. *C. intybus* kök, 6. *C. creticus*, 7. *D. oleoides* subsp. *kurdica*, 8. *D. oleoides* subsp. *oleoides*, 9. *H. graveolens*, 10. *V. album* subsp. *album*, 11. Madecassol; A: Hematoksilin-eozin ile boyanmış epidermis ve dermis; B: Van Gieson ile boyanmış dermis. A kodlu resimlerin orijinal büyütmesi x 100 olup büyütme çubuğu 120 µm, B kodlu resimlerin orijinal büyütmesi x 400 olup büyütme çubuğu 40 µm. Bilgiler her gruptaki 6’şar hayvanın ortalamasını yansıtabilecek şekildedir.

c: Kolajen, dl: Dermal lipoid materyal birikimi, f: Fibroblast, mn: Mononükleer hücreler, nv: Neovaskülerizasyon, pm: Polimorfonükleer hücreler, re: Re-epitelizasyon, s: Yara Kabuğu, u: Ülser

Tablo 57: *D. oleoides* subsp. *kurdica* (DOK) toprak üstü kısımlarının %85 metanollü ekstresinden elde edilen alt ekstreler ile tedavi edilen yara dokularının histopatoloji sonuçları

Gruplar	Doz (%)	Yara İyileşme Süreci								İyileşme fazları		
		S	U	RE	FP	CD	MN	PM	NV	EF	PF	RF
Baz Merhem		++/+++	++/+++	-	++/+++	+	++	+++	++	++/+++	++	-
Negatif Kontrol		+++	+++	-	++/+++	+	++	++/+++	++	++/+++	++	-
DOK- <i>n</i> -Hekzan	1	+++	++/+++	-/+	++/+++	+	++	++/+++	++	++/+++	++	-/+
DOK-CH ₂ Cl ₂	1	++	++	-/+	++/+++	++	++	++	++/+++	++/+++	++/+++	-/+
DOK-EtOAc	1	++/+++	-/+	+ /++	++/+++	+++	++/+++	++	++	++	++/+++	+ /++
	3	++	-	+ /++	++/+++	++/+++	++	+ /++	++	++/+++	++/+++	+ /++
	5	++/+++	+ /++	+	++/+++	++	++	++	++	++	++	+
DOK- <i>n</i> -BuOH	1	++/+++	+ /++	-/+	++	+ /++	+ /++	++	++	++/+++	++	-/+
DOK-R-H ₂ O	1	++/+++	++	-/+	++/+++	++	++	++	++	++/+++	++/+++	-/+
Madecassol®		++	-	++/+++	++	+++	++	+ /++	++	++	++	++

HE ve VG ile boyanan dokular hafif (+), orta (++) , şiddetli (+++) olmak üzere derecelendirildi. S: Yara kabuğu, U: Ülser, RE: Re-epitelizasyon, FP: Fibroblast proliferasyonu, CD: Kolajen Depolanması, MN: Mononükleer hücreler, PM: Polimorfonükleer hücreler, NV: Neovaskülerizasyon, EF: Enflamasyon fazı, PF: Proliferasyon fazı, RF: Re-modeling fazı.



Resim 4: *D. oleoides* subsp. *kurdica* (DOK) toprak üstü kısımlarının %85 metanollü ekstresinden elde edilen alt ekstreler ile tedavi edilen yara dokularının histopatoloji sonuçları

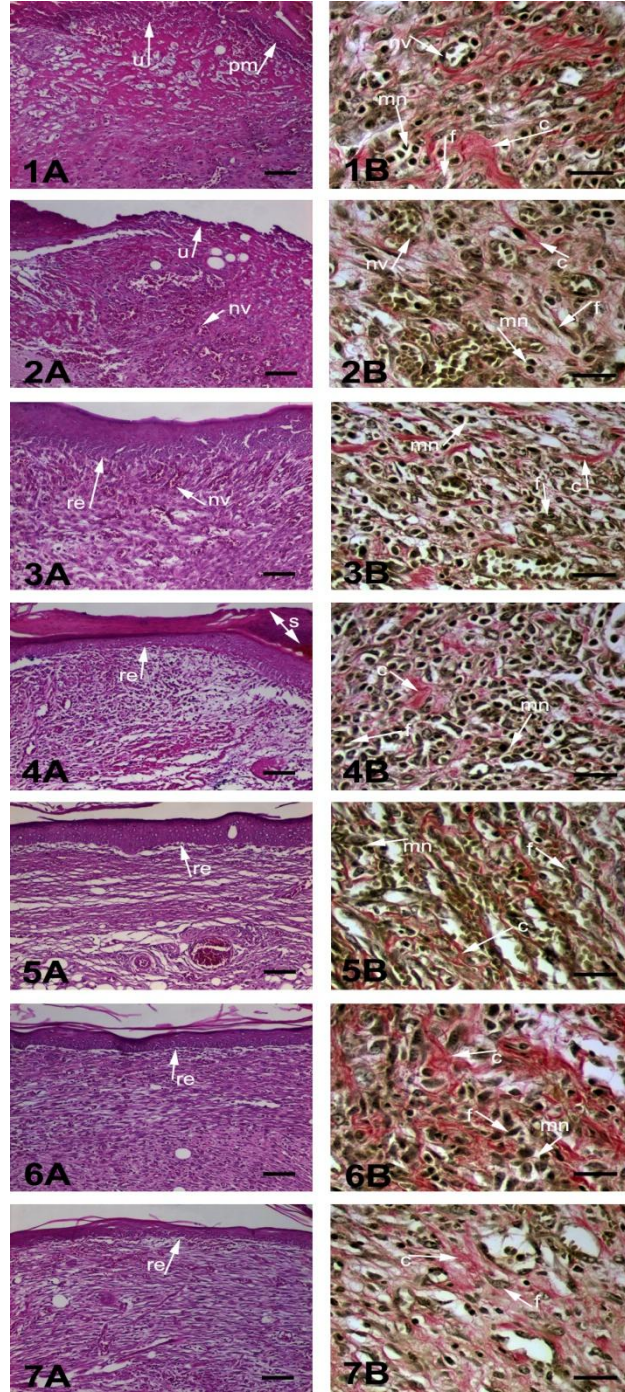
1. Baz Merhem, 2. Negatif Kontrol, 3. DOK-*n*-Hekzan, 4. DOK-CH₂Cl₂, 5. DOK-EtOAc (%1), 6. DOK-EtOAc (%3), 7. DOK-EtOAc (%5), 8. DOK-*n*-BuOH, 9. DOK-R-H₂O, 10. Madecassol; A: Hematoksilen-eozin ile boyanmış epidermis ve dermis; B: Van Gieson ile boyanmış dermis. A kodlu resimlerin orijinal büyütmesi x 100 olup büyütme çubuğu 120 µm, B kodlu resimlerin orijinal büyütmesi x 400 olup büyütme çubuğu 40 µm. Bilgiler her gruptaki 6'şar hayvanın ortalamasını yansıtmaktadır.

c: Kolajen, dl: Dermal lipoit materyal birikimi, f: Fibroblast, mn: Mononükleer hücreler, nv: Neovaskülerizasyon, pm: Polimorfonükleer hücreler, re: Re-epitelizasyon, s: Yara Kabuğu, u: Ülser

Tablo 58: DOK-EtOAc alt ekstresinden silika jel kolon kromatografisi ile elde edilen fraksiyonlar ile tedavi edilen yara dokularının histopatoloji sonuçları

Gruplar	Yara İyileşme Süreci								İyileşme fazları		
	S	U	RE	FP	CD	MN	PM	NV	EF	PF	RF
Baz Merhem	++/+++	++/+++	-/+	++	+	++	++	++	++/+++	++	-/+
Negatif Kontrol	+++	++/+++	-	++/+++	+	++	++/+++	++	++/+++	++	-
DOK-Fr. (1-8)	++/+++	+	+/>++	++/+++	++	++/+++	+/>++	++/+++	++	++/+++	+/>++
DOK-Fr. (9-15)	++	+	+/>++	++/+++	++	++	+/>++	++	++	++	+/>++
DOK-Fr. (16-21)	++	-/>+	++	++	++	++	+/>++	+/>++	+/>++	++	+/>++
DOK-Fr. (22-39)	+/>++	-	++	++/+++	++/+++	++	+	+/>++	+/>++	++	++
Madecassol [®]	+/>++	-	++/+++	++	+++	+/>++	+	+/>++	+/>++	++	++

HE ve VG ile boyanan dokular hafif (+), orta (++) , şiddetli (++) olmak üzere derecelendirildi. S: Yara kabuğu, U: Ülser, RE: Re-epitelizasyon, FP: Fibroblast proliferasyonu, CD: Kolajen Depolanması, MN: Mononükleer hücreler, PM: Polimorfonükleer hücreler, NV: Neovaskülerizasyon, EF: Enflamasyon fazı, PF: Proliferasyon fazı, RF: Re-modeling fazı.



Resim 5: DOK-EtOAc alt ekstresinden silika jel kolon kromatografisi ile elde edilen fraksiyonlar ile tedavi edilen yara dokularının histopatoloji sonuçları

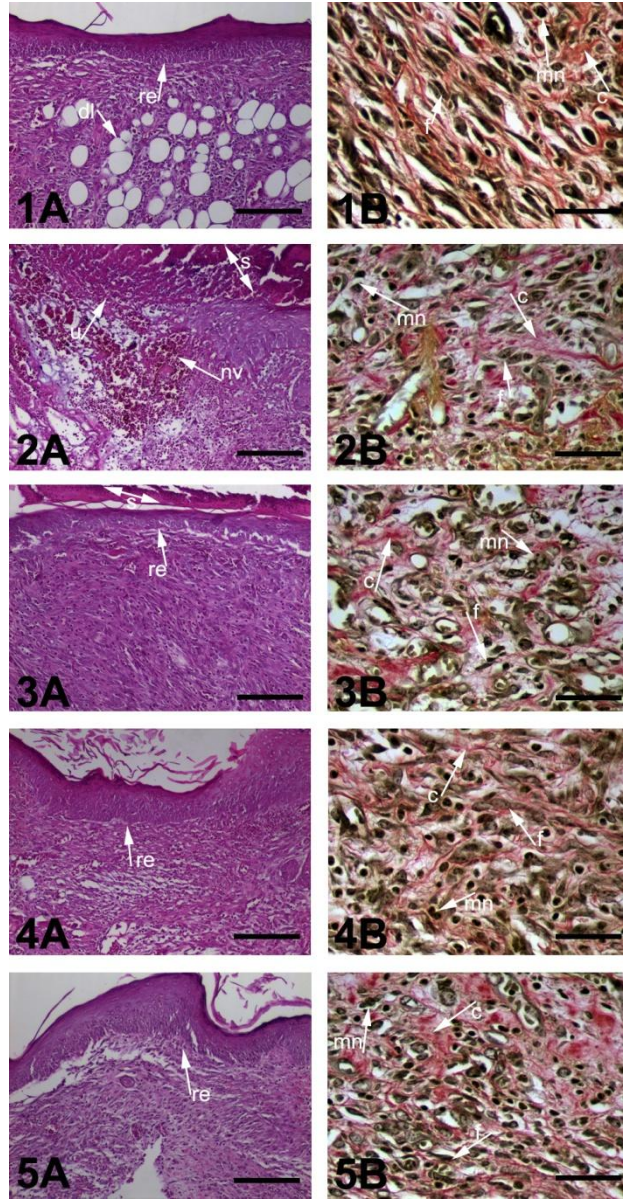
1. Baz Merhem, 2. Negatif Kontrol, 3. DOK-Fr. (1-8), 4. DOK-Fr. (9-15), 5. DOK-Fr. (16-21), 6. DOK-Fr. (22-39), 7. Madecassol; A: Hematoksilen-eozin ile boyanmış epidermis ve dermis; B: Van Gieson ile boyanmış dermis. A kodlu resimlerin orijinal büyütmesi x 100 olup büyütme barı 120 µm, B kodlu resimlerin orijinal büyütmesi x 400 olup büyütme barı 40 µm. Bilgiler her gruptaki 6'şar hayvanın ortalamasını yansıtmak şekildedir.

c: Kolajen, dl: Dermal lipoit materyal birikimi, f: Fibroblast, mn: Mononükleer hücreler, nv: Neovaskülerizasyon, pm: Polimorfonükleer hücreler, re: Re-epitelizasyon, s: Yara Kabuğu, u: Ülser

Tablo 59: DOK-Fr. (22-39)'dan izole edilen bileşikler ile tedavi edilen yara dokularının histopatoloji sonuçları

Gruplar	Yara İyileşme Süreci								İyileşme fazları		
	S	U	RE	FP	CD	MN	PM	NV	EF	PF	RF
Baz Merhem	++	+	+/++	++/+++	++	++	+/++	++	++	++/+++	+/++
Negatif Kontrol	+++	+++	-	+++	+	++/+++	+++	+++	+++	+++	-
Dafnetin	++/+++	+	+/++	++/+++	++	++	++	++	++	++/+++	+/++
Luteolin-7-O-glukozit	++	-/+	++	++/+++	++/+++	++	+/++	++	++	++/+++	++
Madecassol®	+	-	++/+++	++	++	++	-/+	+/++	+/++	++	++

HE ve VG ile boyanan dokular hafif (+), orta (++) , şiddetli (+++) olmak üzere derecelendirildi. S: Yara kabuğu, U: Ülser, RE: Re-epitelizasyon, FP: Fibroblast proliferasyonu, CD: Kolajen Depolanması, MN: Mononükleer hücreler, PM: Polimorfonükleer hücreler, NV: Neovaskülerizasyon, EF: Enflamasyon fazı, PF: Proliferasyon fazı, RF: Re-modeling fazı.



Resim 6: DOK-Fr. (22-39)'dan izole edilen bileşikler ile tedavi edilen yara dokularının histopatoloji sonuçları

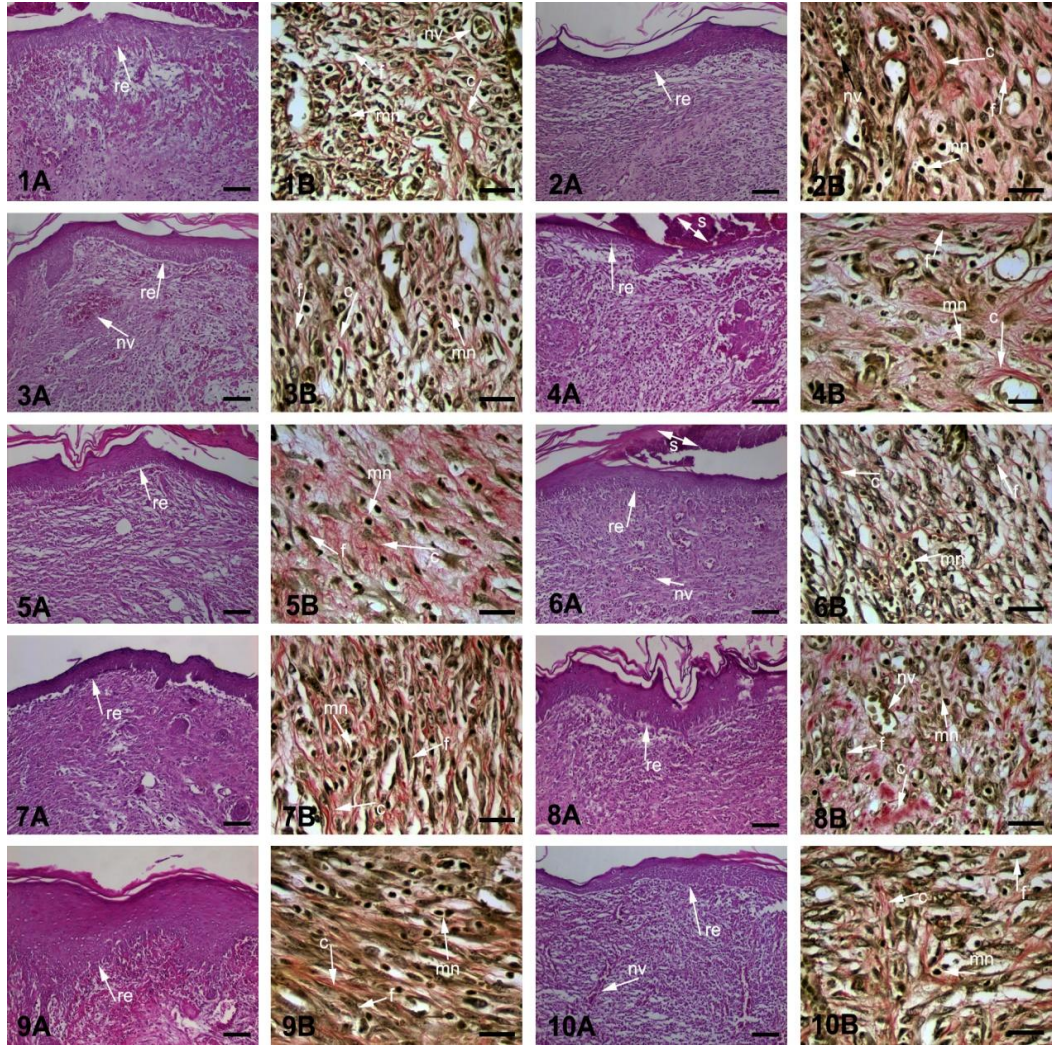
1. Baz Merhem, 2. Negatif Kontrol, 3. Dafnetin, 4. Luteolin-7-O-glukozit, 5. Madecassol; A: Hematoksilen-eozin ile boyanmış epidermis ve dermis; B: Van Gieson ile boyanmış dermis. A kodlu resimlerin orijinal büyütmesi x 100 olup büyütme barı 120 μ m, B kodlu resimlerin orijinal büyütmesi x 400 olup büyütme barı 40 μ m. Bilgiler her gruptaki 6'şar hayvanın ortalamasını yansıtmaktadır.

c: Kolajen, dl: Dermal lipoit materyal birikimi, f: Fibroblast, mn: Mononükleer hücreler, nv: Neovaskülerizasyon, pm: Polimorfonükleer hücreler, re: Re-epitelizasyon, s: Yara Kabuğu, u: Ülser

Tablo 60: *D. oleoides* subsp. *oleoides* (DOO) toprak üstü kısımlarının %85 metanollü ekstresinden elde edilen alt ekstreler ile tedavi edilen yara dokularının histopatoloji sonuçları

Gruplar	Doz (%)	Yara İyileşme Süreci								İyileşme fazları		
		S	U	RE	FP	CD	MN	PM	NV	EF	PF	RF
Baz Merhem		++	+	+ / +++	+++ / +++	+	+++ / +++	+++ / +++	++	++	+++ / +++	+ / ++
Negatif Kontrol		+ / +++	+	+ / +++	+++ / +++	+	++	++	++	++	+++ / +++	+
DOO- <i>n</i> -Hekzan	1	+ / +++	-	++	+++ / +++	+	+++ / +++	++	+++ / +++	++	+++ / +++	+ / ++
DOO-CH ₂ Cl ₂	1	++	-	++	+++ / +++	++	++	+ / ++	+ / ++	+ / ++	+++ / +++	++
DOO-EtOAc	1	++	-	++	++	++	++	+	+ / ++	+ / ++	+++ / +++	++
	3	++	-	++	++	+++	++	+	+ / ++	+ / ++	++	++
	5	+ / +++	-	++	+++ / +++	++	++	+	+ / ++	+	+++ / +++	++
DOO- <i>n</i> -BuOH	1	+++ / +++	-	++	+++ / +++	+++ / +++	++	+ / ++	++	++	+++ / +++	++
DOO-R-H ₂ O	1	++	- / +	++	++	++	+ / ++	+	+ / ++	++	+++ / +++	++
Madecassol [®]		+	-	+++ / +++	++	+++	+ / ++	- / +	+ / ++	+	++	+++ / +++

HE ve VG ile boyanan dokular hafif (+), orta (++) , şiddetli (+++) olmak üzere derecelendirildi. S: Yara kabuğu, U: Ülser, RE: Re-epitelizasyon, FP: Fibroblast proliferasyonu, CD: Kolajen Depolanması, MN: Mononükleer hücreler, PM: Polimorfonükleer hücreler, NV: Neovaskülerizasyon, EF: Enflamasyon fazı, PF: Proliferasyon fazı, RF: Re-modeling fazı.



Resim 7: *D. oleoides* subsp. *oleoides* (DOO) toprak üstü kısımlarının %85 metanollü ekstresinden elde edilen alt ekstreler ile tedavi edilen yara dokularının histopatoloji sonuçları

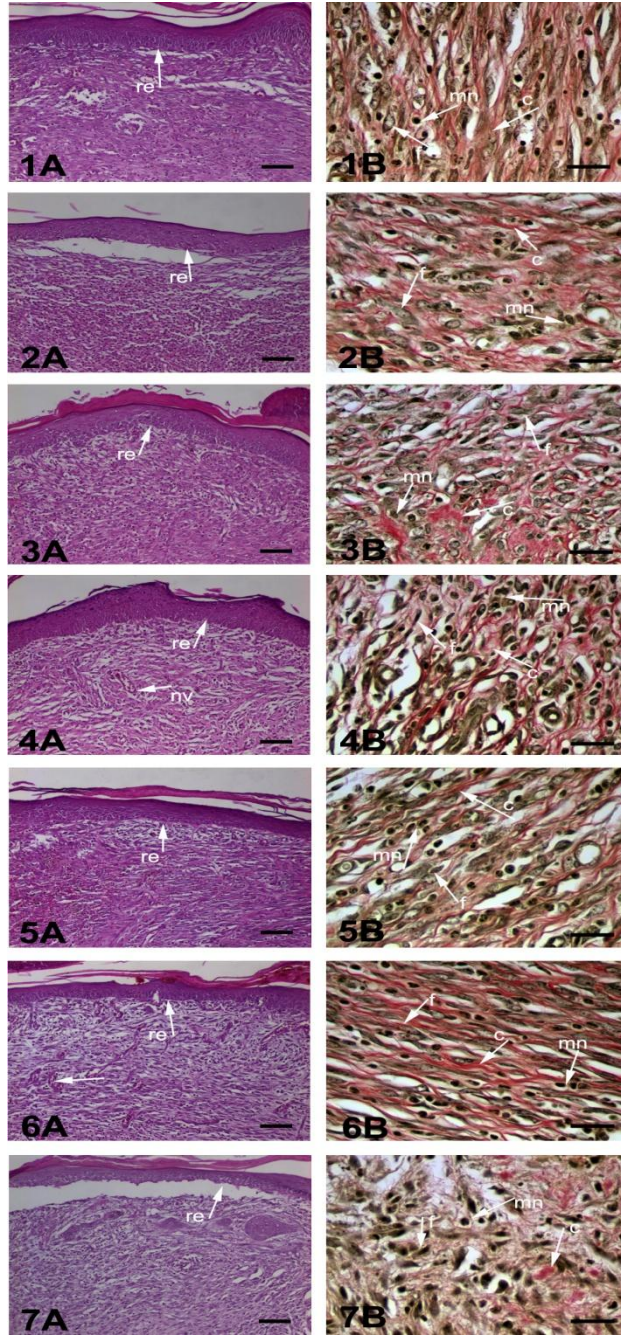
1. Baz Merhem, 2. Negatif Kontrol, 3. DOO-*n*-Hekzan, 4. DOO-CH₂Cl₂, 5. DOO-EtOAc (%1), 6. DOO-EtOAc (%3), 7. DOO-EtOAc (%5), 8. DOO-*n*-BuOH, 9. DOO-R-H₂O, 10. Madecassol; A: Hematoksilen-eozin ile boyanmış epidermis ve dermis; B: Van Gieson ile boyanmış dermis. A kodlu resimlerin orijinal büyütmesi x 100 olup büyütme çubuğu 120 µm, B kodlu resimlerin orijinal büyütmesi x 400 olup büyütme çubuğu 40 µm. Bilgiler her gruptaki 6'şar hayvanın ortalamasını yansıtmaktadır.

c: Kolajen, dl: Dermal lipoit materyal birikimi, f: Fibroblast, mn: Mononükleer hücreler, nv: Neovaskülerizasyon, pm: Polimorfonükleer hücreler, re: Re-epitelizasyon, s: Yara Kabuğu, u: Ülser

Tablo 61: DOO-EtOAc alt ekstresinden silika jel kolon kromatografisi ile elde edilen fraksiyonlar ile tedavi edilen yara dokularının histopatoloji sonuçları

Gruplar	Yara İyileşme Süreci								İyileşme fazları		
	S	U	RE	FP	CD	MN	PM	NV	EF	PF	RF
Baz Merhem	++	-	++	++/+++	+	+/++	+/++	+/++	+/++	++	+/++
Negatif Kontrol	++/+++	+	+/++	++/+++	+	++/+++	++	++	++	++/+++	+/++
DOO-Fr. (1-6)	++	-	++	++/+++	++	++	++	++	+/++	++	++
DOO-Fr. (7-18)	++	-	++	++/+++	++	++	+/++	++	+/++	++	++
DOO-Fr. (19-27)	+	-	++	++/+++	++/+++	++	+/++	+/++	+/++	++/+++	++
DOO-Fr. (28-33)	+	-	++	++/+++	++	++	+	+/++	+	++/+++	++
Madecassol®	+/++	-	++	++	+++	+/++	+	+/++	+	++	++

HE ve VG ile boyanan dokular hafif (+), orta (++) , şiddetli (+++) olmak üzere derecelendirildi. S: Yara kabuğu, U: Ülser, RE: Re-epitelizasyon, FP: Fibroblast proliferasyonu, CD: Kolajen Depolanması, MN: Mononükleer hücreler, PM: Polimorfonükleer hücreler, NV: Neovaskülerizasyon, EF: Enflamasyon fazı, PF: Proliferasyon fazı, RF: Re-modeling fazı.



Resim 8: DOO-EtOAc alt ekstrelerinden silika jel kolon kromatografisi ile elde edilen fraksiyonlar ile tedavi edilen yara dokularının histopatoloji sonuçları

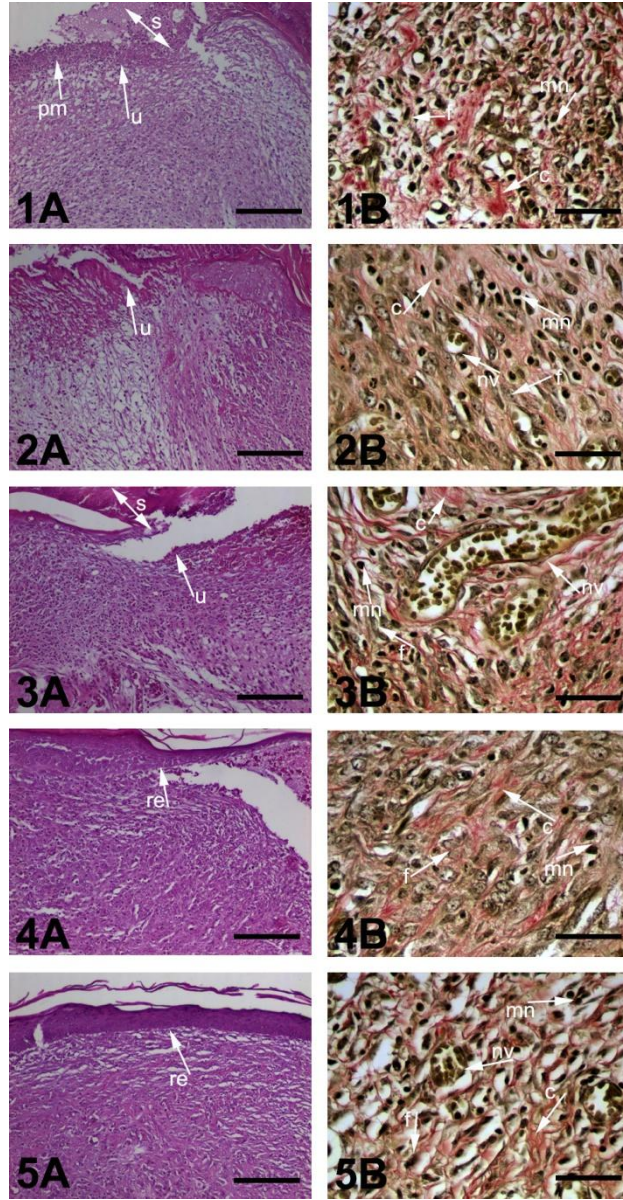
1. Baz Merhem, 2. Negatif Kontrol, 3. DOO-Fr. (1-6), 4. DOO-Fr. (7-18), 5. DOO-Fr. (19-27), 6. DOO-Fr. (28-33), 7. Madecassol; A: Hematoksilen-eozin ile boyanmış epidermis ve dermis; B: Van Gieson ile boyanmış dermis. A kodlu resimlerin orijinal büyütmesi x 100 olup büyütme çubuğu 120 µm, B kodlu resimlerin orijinal büyütmesi x 400 olup büyütme çubuğu 40 µm. Bilgiler her gruptaki 6'şar hayvanın ortalamasını yansıtmaya çalışılmaktadır.

c: Kolajen, dl: Dermal lipoit materyal birikimi, f: Fibroblast, mn: Mononükleer hücreler, nv: Neovaskülerizasyon, pm: Polimorfonükleer hücreler, re: Re-epitelizasyon, s: Yara Kabuğu, u: Ülser

Tablo 62: DOO-Fr. (19-27)'den izole edilen bileşikler ile tedavi edilen yara dokularının histopatoloji sonuçları

Gruplar	Yara İyileşme Süreci								İyileşme fazları		
	S	U	RE	FP	CD	MN	PM	NV	EF	PF	RF
Baz Merhem	++/+++	+ /++	-/+	++/+++	+ /++	++	++	++/+++	++	++	-/+
Negatif Kontrol	+++	++	-/+	++/+++	+ /++	++/+++	++/+++	++/+++	++/+++	++/+++	-/+
Triumbellin	++/+++	+ /++	-/+	++/+++	++	++	++	++	++	++	-/+
Kersetin-3-O-glukozit	++/+++	+	+	++/+++	+++	++/+++	++	++	++	++/+++	+
Madecassol®	+ /++	-	++	++	+++	+ /++	+	+ /++	+ /++	++	++

*HE ve VG ile boyanan dokular hafif (+), orta (++) , şiddetli (+++) olmak üzere derecelendirildi. S: Yara kabuğu, U: Ülser, RE: Re-epitelizasyon, FP: Fibroblast proliferasyonu, CD: Kolajen Depolanması, MN: Mononükleer hücreler, PM: Polimorfonükleer hücreler, NV: Neovaskülerizasyon, EF: Enflamasyon fazı, PF: Proliferasyon fazı, RF: Re-modeling fazı.



Resim 9: DOO-Fr. (19-27)'den izole edilen bileşikler ile tedavi edilen yara dokularının histopatoloji sonuçları

1. Baz Merhem, 2. Negatif Kontrol, 3. Triumbellin, 4. Kersetin-3-O-glukozit, 5. Madecassol; A: Hematoksilen-eozin ile boyanmış epidermis ve dermis; B: Van Gieson ile boyanmış dermis. A kodlu resimlerin orijinal büyütmesi x 100 olup büyütme barı 120 μ m, B kodlu resimlerin orijinal büyütmesi x 400 olup büyütme barı 40 μ m. Bilgiler her gruptaki 6'şar hayvanın ortalamasını yansıtmaktadır.

c: Kolajen, dl: Dermal lipoit materyal birikimi, f: Fibroblast, mn: Mononükleer hücreler, nv: Neovaskülerizasyon, pm: Polimorfonükleer hücreler, re: Re-epitelizasyon, s: Yara Kabuğu, u: Ülser

4.2.1.4. Dokulardaki Hidroksiprolin Miktarının Hesaplanması

Türkiye’de halk arasında yara iyileştirici amaçla kullanılan bazı bitkilerden hazırlanan ekstreler ve daha ileri çalışmaların yürütülmesi amacı ile seçilen DOK ve DOO bitkilerinden elde edilen alt ekstreler, fraksiyonlar ve izole edilen bileşikler ile tedavi edilen dokulardaki hidroksiprolin miktarı aşağıdaki tablo ve grafiklerde sunulmuştur (Tablo 63-69; Şekil 39, 40).

Tablo 63: Türkiye’de halk arasında yara iyileştirici amaçla kullanılan bazı bitkilerden hazırlanan %85 metanollü ekstre merhemleri ile tedavi edilen dokulardaki hidroksiprolin ölçüm sonuçları

Materyal	Kullanılan kısım	Hidroksiprolin ($\mu\text{g}/\text{mg}$) \pm O.S.H.
Baz Merhem		10.23 \pm 2.03
Negatif Kontrol		6.84 \pm 1.76
<i>Cichorium intybus</i>	Toprak üstü	20.40 \pm 1.89
	Yaprak	17.54 \pm 1.90
	Kök	27.92 \pm 1.27**
<i>Cistus creticus</i>	Toprak üstü	17.84 \pm 2.48
<i>Daphne oleoides</i> ssp. <i>kurdica</i>	Toprak üstü	31.31 \pm 1.36***
<i>Daphne oleoides</i> ssp. <i>oleoides</i>	Toprak üstü	26.75 \pm 1.24**
<i>Helichrysum graveolens</i>	Çiçek	23.51 \pm 1.41*
<i>Viscum album</i> subsp. <i>album</i>	Yaprak	12.34 \pm 1.87
Madecassol®		42.17 \pm 1.09***

* : p < 0,05; ** : p < 0,01; *** : p < 0,001; O.S.H.: Ortalama Standart Hata

Tablo 64: *D. oleoides* subsp. *kurdica* (DOK) toprak üstü kısımlarının %85 metanollü ekstresinden elde edilen alt ekstrelerin merhemleri ile tedavi edilen dokulardaki hidroksiprolin ölçüm sonuçları

Materyal	Hidroksiprolin ($\mu\text{g}/\text{mg}$) \pm O.S.H.
Baz Merhem	9.15 \pm 1.64
Negatif Kontrol	7.72 \pm 1.10
DOK- <i>n</i> -Hekzan	19.83 \pm 1.74
DOK-CH ₂ Cl ₂	22.70 \pm 2.20
DOK-EtOAc	32.77 \pm 0.86***
DOK- <i>n</i> -Butanol	21.12 \pm 1.96
DOK-R-H ₂ O	10.37 \pm 1.29
Madecassol®	40.14 \pm 0.63***

* : p < 0,05; ** : p < 0,01; *** : p < 0,001; O.S.H.: Ortalama Standart Hata

Tablo 65: DOK-EtOAc alt ekstresinden silika jel kolon kromatografisi ile elde edilen fraksiyonların merhemleri ile tedavi edilen dokulardaki hidroksiprolin ölçüm sonuçları

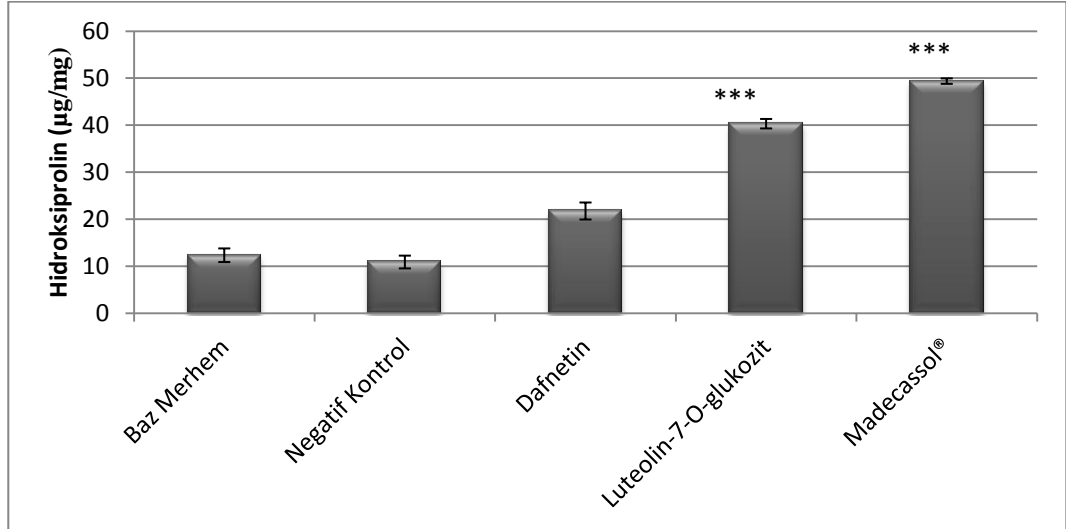
Materyal	Hidroksiprolin ($\mu\text{g}/\text{mg}$) \pm O.S.H.
Baz Merhem	8.27 \pm 1.73
Negatif Kontrol	5.49 \pm 1.80
Fr. (1-8)	11.13 \pm 2.62
Fr. (9-15)	16.36 \pm 1.22
Fr. (16-21)	13.15 \pm 1.77
Fr. (22-39)	25.12 \pm 0.89**
Madecassol®	44.18 \pm 0.76***

* : p < 0,05; ** : p < 0,01; *** : p < 0,001; O.S.H.: Ortalama Standart Hata

Tablo 66: DOK-Fr. (22-39)'dan izole edilen bileşiklerin merhemleri ile tedavi edilen dokulardaki hidroksiprolin ölçüm sonuçları

Materyal	Hidroksiprolin ($\mu\text{g}/\text{mg}$) \pm O.S.H.
Baz Merhem	12.35 \pm 1.45
Negatif Kontrol	10.91 \pm 1.36
Dafnetin	21.76 \pm 1.81
Luteolin-7-O-glukozit	40.33 \pm 1.01^{***}
Madecassol [®]	49.39 \pm 0.58^{***}

* : p < 0,05; ** : p < 0,01; *** : p < 0,001; O.S.H.: Ortalama Standart Hata



Şekil 39: DOK-Fr. (22-39)'dan izole edilen bileşiklerin merhemleri ile tedavi edilen dokulardaki hidroksiprolin ölçüm sonuçları (* : p < 0.05; ** : p < 0.01; *** : p < 0.001)

Tablo 67: *D. oleoides* subsp. *oleoides* (DOO) toprak üstü kısımlarının %85 metanollü ekstresinden elde edilen alt ekstrelerin merhemleri ile tedavi edilen dokulardaki hidroksiprolin ölçüm sonuçları

Materyal	Hidroksiprolin ($\mu\text{g}/\text{mg}$) \pm O.S.H.
Baz Merhem	10.43 \pm 1.84
Negatif Kontrol	9.32 \pm 1.37
DOO- <i>n</i> -Hekzan	17.96 \pm 1.40
DOO-CH ₂ Cl ₂	9.21 \pm 1.06
DOO-EtOAc	29.13 \pm 0.85**
DOO- <i>n</i> -Butanol	15.69 \pm 1.43
DOO-R-H ₂ O	12.62 \pm 1.95
Madecassol®	45.24 \pm 0.48***

* : p < 0,05; ** : p < 0,01; *** : p < 0,001; O.S.H.: Ortalama Standart Hata

Tablo 68: DOO-EtOAc alt ekstresinden silika jel kolon kromatografisi ile elde edilen fraksiyonların merhemleri ile tedavi edilen dokulardaki hidroksiprolin ölçüm sonuçları

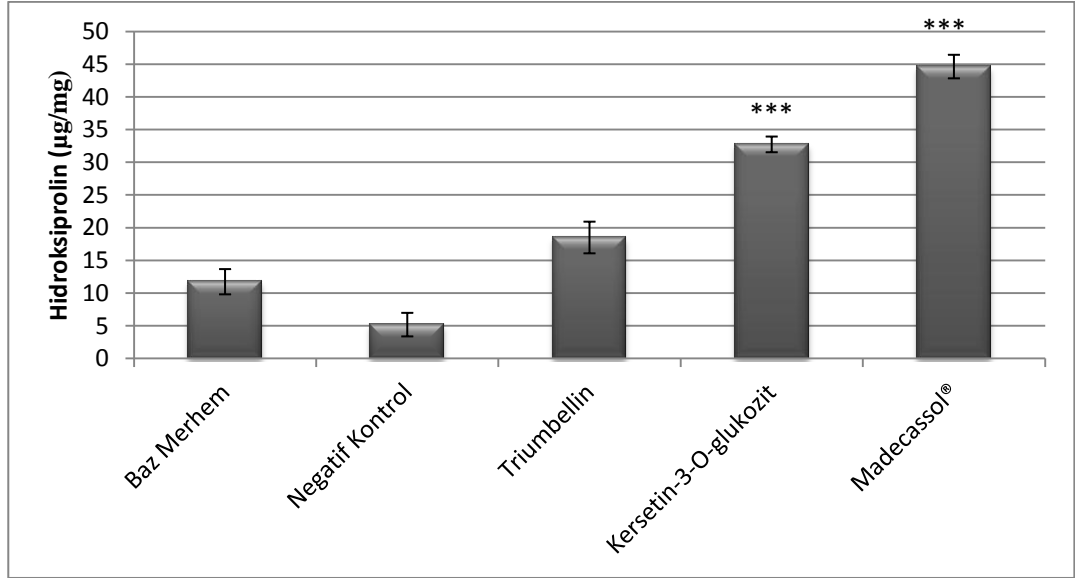
Materyal	Hidroksiprolin ($\mu\text{g}/\text{mg}$) \pm O.S.H.
Baz Merhem	8.42 \pm 2.25
Negatif Kontrol	13.85 \pm 1.86
DOO-Fr. (1-6)	15.16 \pm 2.01
DOO-Fr. (7-18)	12.76 \pm 1.96
DOO-Fr. (19-27)	21.13 \pm 1.10**
DOO-Fr. (28-33)	10.69 \pm 2.17
Madecassol®	48.23 \pm 0.94***

* : p < 0,05; ** : p < 0,01; *** : p < 0,001; O.S.H.: Ortalama Standart Hata

Tablo 69: DOO-Fr. (19-27)'den izole edilen bileşiklerin merhemleri ile tedavi edilen dokulardaki hidroksiprolin ölçüm sonuçları

Materyal	Hidroksiprolin ($\mu\text{g}/\text{mg}$) \pm O.S.H.
Baz Merhem	11.74 \pm 1.93
Negatif Kontrol	5.18 \pm 1.80
Triumbellin	18.50 \pm 2.42
Kersetin-3-O-glukozit	32.73 \pm 1.20^{***}
Madecassol [®]	44.63 \pm 1.08^{***}

* : p < 0,05; ** : p < 0,01; *** : p < 0,001; O.S.H.: Ortalama Standart Hata



Şekil 40: DOO-Fr. (19-27)'den izole edilen bileşiklerin merhemleri ile tedavi edilen dokulardaki hidroksiprolin ölçüm sonuçları (* : p < 0.05; ** : p < 0.01; *** : p < 0.001)

4.2.1.5. Kapiller Permeabilite Artışına Dayanan Ödemin Ölçülmesi (Whittle Yöntemi)

Türkiye’de halk arasında yara iyileştirici amaçla kullanılan bazı bitkilerden hazırlanan ekstreler ve daha ileri çalışmaların yürütülmesi amacı ile seçilen DOK ve DOO bitkilerinden elde edilen alt ekstreler, fraksiyonlar ve izole edilen bileşiklerin Whittle yöntemi üzerindeki doza bağlı aktiviteleri aşağıda tablo ve grafiklerde gösterilmiştir (Tablo 70-76; Şekil 41, 42).

Tablo 70: Türkiye’de halk arasında yara iyileştirici amaçla kullanılan bazı bitkilerden hazırlanan %85 metanollü ekstrelerin Whittle yöntemi üzerindeki etkileri

Materyal	Kullanılan kısım	Doz (mg/kg)	Evans blue konsantrasyonu ($\mu\text{g/ml}$) \pm O.S.H	Inhibisyon (%)
Kontrol	-		10.03 \pm 0.79	
<i>Cichorium intybus</i>	Toprak üstü	50	10.23 \pm 0.77	-
		100	8.51 \pm 0.83	15.15
		200	8.15 \pm 0.97	18.74
		400	8.31 \pm 0.93	17.15
	Yaprak	50	8.43 \pm 0.79	15.95
		100	8.31 \pm 0.58	17.15
		200	9.11 \pm 0.45	9.17
		400	8.95 \pm 0.94	10.77
	Kök	50	8.81 \pm 0.55	12.16
		100	7.71 \pm 0.37	23.13
		200	7.23 \pm 0.20	27.92*
		400	8.73 \pm 0.62	12.96
<i>Cistus creticus</i>	Toprak üstü	50	10.11 \pm 0.82	-
		100	8.56 \pm 0.67	14.66
		200	8.11 \pm 0.44	19.14
		400	9.36 \pm 0.58	6.68
<i>Daphne oleoides</i> subsp. <i>kurdica</i>	Toprak üstü	50	9.36 \pm 0.58	6.68
		100	7.55 \pm 0.38	24.73*
		200	6.09 \pm 0.89	39.28**
		400	8.14 \pm 0.43	18.84
<i>Daphne oleoides</i> subsp. <i>oleoides</i>	Toprak üstü	50	9.04 \pm 0.91	9.87
		100	8.87 \pm 0.59	11.57
		200	7.67 \pm 0.22	23.53*
		400	8.87 \pm 0.69	11.57
<i>Helichrysum graveolens</i>	Çiçek	50	8.75 \pm 0.71	12.76
		100	7.89 \pm 0.56	21.64
		200	6.31 \pm 0.34	37.09***
		400	8.28 \pm 0.46	17.45
<i>Viscum album</i> subsp. <i>album</i>	Yaprak	50	10.19 \pm 0.91	-
		100	7.44 \pm 0.88	25.82*
		200	6.98 \pm 0.51	30.41**
		400	9.15 \pm 0.61	8.77
Indometasin		10	5.63 \pm 0.16	43.87***

* : p < 0,05; ** : p < 0,01; *** : p < 0,001; O.S.H.: Ortalama Standart Hata

Tablo 71: *D. oleoides* subsp. *kurdica* (DOK) toprak üstü kısımlarının %85 metanollü ekstresinden elde edilen alt ekstrelerin Whittle yöntemi üzerindeki etkileri

Materyal	Doz (mg/kg)	Evans blue konsantrasyonu (µg/ml) ± O.S.H.	İnhibisyon (%)
Kontrol		11.28 ± 0.59	
DOK- <i>n</i> -Hekzan	100	11.35 ± 0.85	-
	200	10.75 ± 0.76	4.69
DOK-CH ₂ Cl ₂	100	11.12 ± 0.73	1.42
	200	10.91 ± 0.74	3.28
DOK-EtOAc	100	9.20 ± 0.91	18.44
	200	7.88 ± 0.31	30.14**
DOK- <i>n</i> -BuOH	100	9.55 ± 0.68	15.34
	200	8.65 ± 0.46	23.32*
DOK-R-H ₂ O	100	10.85 ± 0.64	3.81
	200	10.13 ± 0.59	10.19
Indometasin	10.0	6.65 ± 0.39	41.05***

* : p < 0,05; ** : p < 0,01; *** : p < 0,001; O.S.H.: Ortalama Standart Hata

Tablo 72: DOK-EtOAc alt ekstresinden silika jel kolon kromatografisi ile elde edilen fraksiyonların Whittle yöntemi üzerindeki etkileri

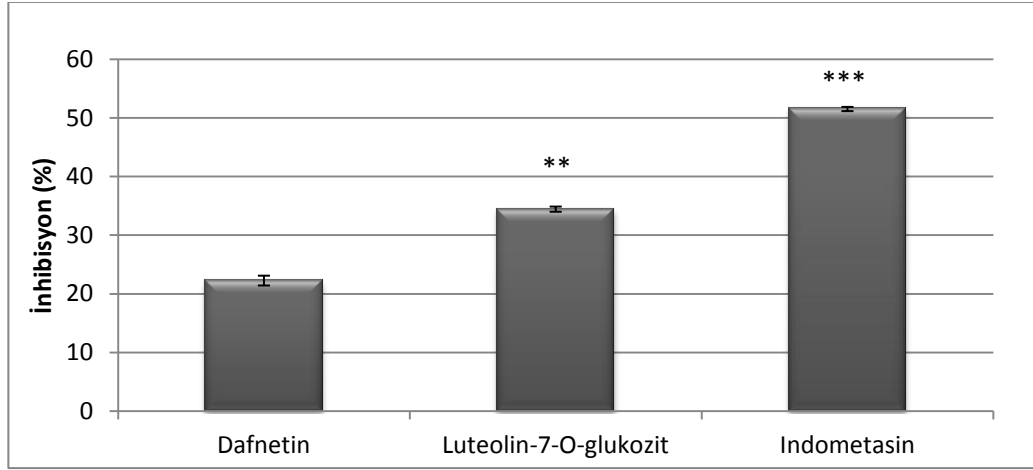
Materyal	Doz (mg/kg)	Evans blue konsantrasyonu (µg/ml) ± O.S.H.	İnhibisyon (%)
Kontrol		9.96 ± 0.81	
DOK-Fr. (1-8)	200	8.59 ± 0.79	13.76
DOK-Fr. (9-15)	200	11.07 ± 0.96	-
DOK-Fr. (16-21)	200	9.10 ± 0.88	8.63
DOK-Fr. (22-39)	200	6.74 ± 0.62	32.33**
Indometasin	10.0	4.44 ± 0.43	55.42***

* : p < 0,05; ** : p < 0,01; *** : p < 0,001; O.S.H.: Ortalama Standart Hata

Tablo 73: DOK-Fr. (22-39)'dan izole edilen bileşiklerin Whittle yöntemi üzerindeki etkileri

Materyal	Doz (mg/kg)	Evans blue konsantrasyonu ($\mu\text{g/ml}$) \pm O.S.H.	İnhibisyon (%)
Kontrol		10.43 \pm 0.72	
Dafnetin	200	8.11 \pm 0.84	22.24
Luteolin-7-O-glukozit	200	6.84 \pm 0.44	34.42**
Indometasin	10.0	5.06 \pm 0.36	51.50***

* : $p < 0,05$; ** : $p < 0,01$; *** : $p < 0,001$; O.S.H.: Ortalama Standart Hata



Şekil 41: DOK-Fr. (22-39)'dan izole edilen bileşiklerin Whittle yöntemi üzerindeki etkileri (* : $p < 0.05$; ** : $p < 0.01$; *** : $p < 0.001$)

Tablo 74: *D. oleoides* subsp. *oleoides* (DOO) toprak üstü kısımlarının %85 metanollü ekstresinden elde edilen alt ekstrelerin Whittle yöntemi üzerindeki etkileri

Materyal	Doz (mg/kg)	Evans blue konsantrasyonu (µg/ml) ± O.S.H.	İnhibisyon (%)
Kontrol		10.24 ± 0.38	
DOO- <i>n</i> -Hekzan	100	10.31 ± 0.77	-
	200	9.65 ± 0.85	5.76
DOO-CH ₂ Cl ₂	100	10.89 ± 0.69	-
	200	9.18 ± 0.42	10.35
DOO-EtOAc	100	8.46 ± 0.91	17.38
	200	7.46 ± 0.15	27.15**
DOO- <i>n</i> -BuOH	100	8.58 ± 0.71	16.21
	200	7.95 ± 0.25	22.36
DOO-R-H ₂ O	100	10.94 ± 0.89	-
	200	8.69 ± 0.57	15.14
Indometasin	10.0	5.65 ± 0.28	44.82***

* : p < 0.05; ** : p < 0,01; *** : p < 0,001; O.S.H.: Ortalama Standart Hata

Tablo 75: DOO-EtOAc alt ekstresinden silika jel kolon kromatografisi ile elde edilen fraksiyonların Whittle yöntemi üzerindeki etkileri

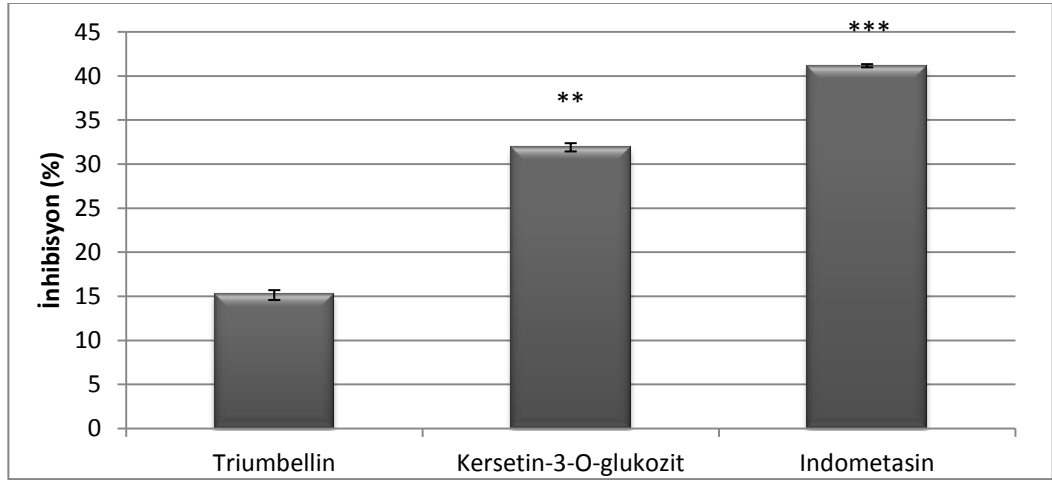
Materyal	Doz (mg/kg)	Evans blue konsantrasyonu (µg/ml) ± O.S.H.	İnhibisyon (%)
Kontrol		11.77 ± 0.98	
DOO-Fr. (1-6)	200	10.91 ± 0.79	7.31
DOO-Fr. (7-18)	200	9.50 ± 0.84	19.29
DOO-Fr. (19-27)	200	7.85 ± 0.57	33.31**
DOO-Fr. (28-33)	200	11.95 ± 0.91	-
Indometasin	10.0	6.17 ± 0.23	47.58***

* : p < 0.05; ** : p < 0.01; *** : p < 0.001; O.S.H: Ortalama Standart Hata

Tablo 76: DOO-Fr. (19-27)'den izole edilen bileşiklerin Whittle yöntemi üzerindeki etkileri

Materyal	Doz (mg/kg)	Evans blue konsantrasyonu ($\mu\text{g/ml}$) \pm O.S.H.	İnhibisyon (%)
Kontrol		10.91 \pm 0.63	
Triumbellin	200	9.26 \pm 0.56	15.12
Kersetin-3-O-glukozit	200	7.43 \pm 0.47	31.89**
Indometasin	10.0	6.42 \pm 0.18	41.15***

* : p < 0.05; ** : p < 0.01; *** : p < 0.001; O.S.H: Ortalama Standart Hata



Şekil 42: DOO-Fr. (19-27)'den izole edilen bileşiklerin Whittle yöntemi üzerindeki etkileri (* : p < 0.05; ** : p < 0.01; *** : p < 0.001)

4.2.1.6. Antioksidan Aktivite Sonuçları

D. oleoides subsp. *kurdica* ve *D. oleoides* subsp. *oleoides* bitkilerinden elde edilen ekstre, alt ekstre, fraksiyon ve bileşiklerin DPPH radikal süpürücü etkileri aşağıdaki tabloda sunulmuştur (Tablo 77).

Tablo 77: *D. oleoides* subsp. *kurdica* (DOK) ve *D. oleoides* subsp. *oleoides* (DOO) bitkilerinden elde edilen ekstre, alt ekstre, fraksiyon ve bileşiklerin antioksidan aktivite deneyindeki IC₅₀ değerleri

Materyal	IC ₅₀ (µg/ml)
DOK-MeOH	95.98
DOK- <i>n</i> -Hekzan	103.81
DOK-CH ₂ Cl ₂	10.61
DOK-EtOAc	26.70
DOK-BuOH	627.36
DOK-R-H ₂ O	1560.84
DOK-Fr. (1-8)	43.51
DOK-Fr. (9-15)	37.28
DOK-Fr. (16-21)	67.73
DOK-Fr. (22-39)	29.35
Dafnetin	27.12
Luteolin-7- <i>O</i> -glukozit	18.21
DOO-MeOH	230.62
DOO- <i>n</i> -Hekzan	183.41
DOO-CH ₂ Cl ₂	131.30
DOO-EtOAc	89.53
DOO-BuOH	371.77
DOO-R-H ₂ O	924.00
DOO-Fr. (1-6)	57.65
DOO-Fr. (7-18)	68.54
DOO-Fr. (19-27)	43.92
DOO-Fr. (28-33)	51.17
Triumbellin	26.33
Kersetin-3- <i>O</i> -glukozit	20.15
Referans (Kersetin)	2.14

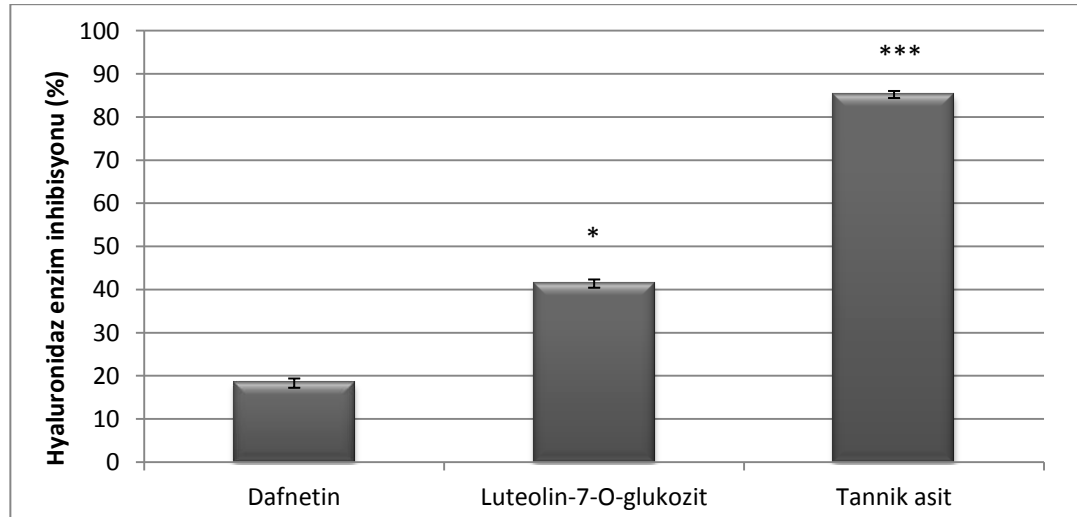
4.2.1.7. Hyaluronidaz Enzim İnhibisyonu Sonuçları

D. oleoides subsp. *kurdica* ve *D. oleoides* subsp. *oleoides* bitkilerinden izole edilen bileşiklerin hyaluronidaz enzim inhibisyonu üzerindeki etkileri aşağıdaki tablolarda sunulmuştur (Tablo 78-79; Şekil 43, 44).

Tablo 78: DOK-Fr. (22-39)'dan izole edilen bileşiklerin hyaluronidaz enzim inhibisyonu üzerindeki etkileri

Materyal	Konsantrasyon (µg/ml)	% İnhibisyon (Ortalama ± O.S.H.)
Dafnetin	50	8.29±1.13
	100	18.34±1.08
Luteolin-7-O-glukozit	50	29.10 ± 1.27
	100	41.41 ± 0.96*
Tannik asit	100	85.24 ± 0.82***

* : p < 0,05; ** : p < 0,01; *** : p < 0,001; O.S.H.: Ortalama Standart Hata

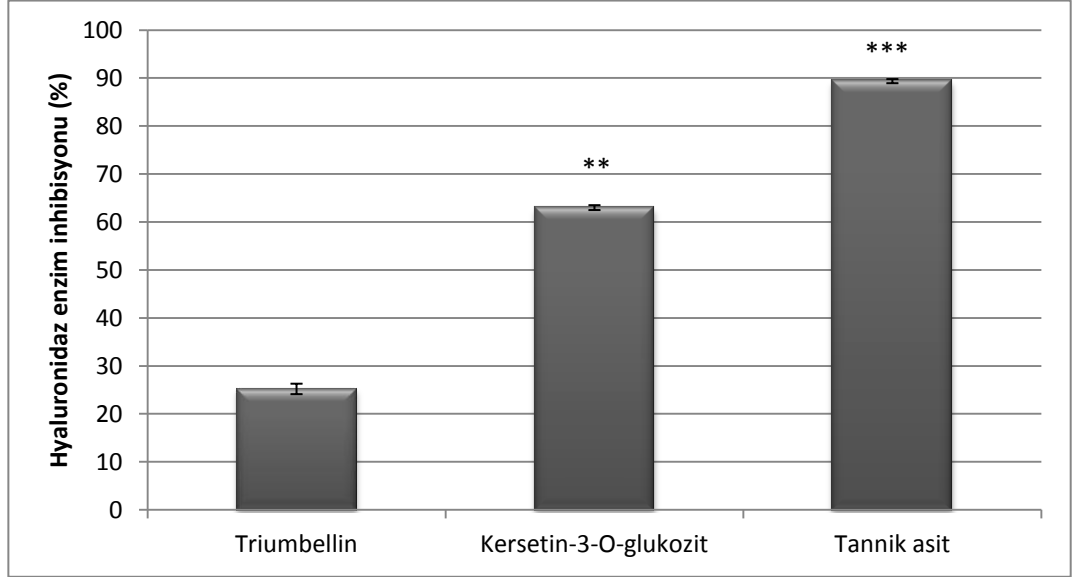


Şekil 43: DOK-Fr. (22-39)'dan izole edilen bileşiklerin hyaluronidaz enzim inhibisyonu üzerindeki etkileri (100µg/ml) (* : p < 0.05; ** : p < 0.01; *** : p < 0.001)

Tablo 79: DOO-Fr. (19-27)'den izole edilen bileşiklerin hyaluronidaz enzim inhibisyonu üzerindeki etkileri

Materyal	Konsantrasyon ($\mu\text{g/ml}$)	% Inhibisyon (Ortalama \pm O.S.H.)
Triumbellin	50	20.01 \pm 1.16
	100	25.23 \pm 1.09
Kersetin-3-O-glukozit	50	38.16 \pm 0.76*
	100	63.02 \pm 0.51**
Tannik asit	100	89.38 \pm 0.43***

* : $p < 0.05$; ** : $p < 0.01$; *** : $p < 0.001$; O.S.H: Ortalama Standart Hata



Şekil 44: DOO-Fr. (19-27)'den izole edilen bileşiklerin hyaluronidaz enzim inhibisyonu üzerindeki etkileri (100 $\mu\text{g/ml}$) (* : $p < 0.05$; ** : $p < 0.01$; *** : $p < 0.001$)

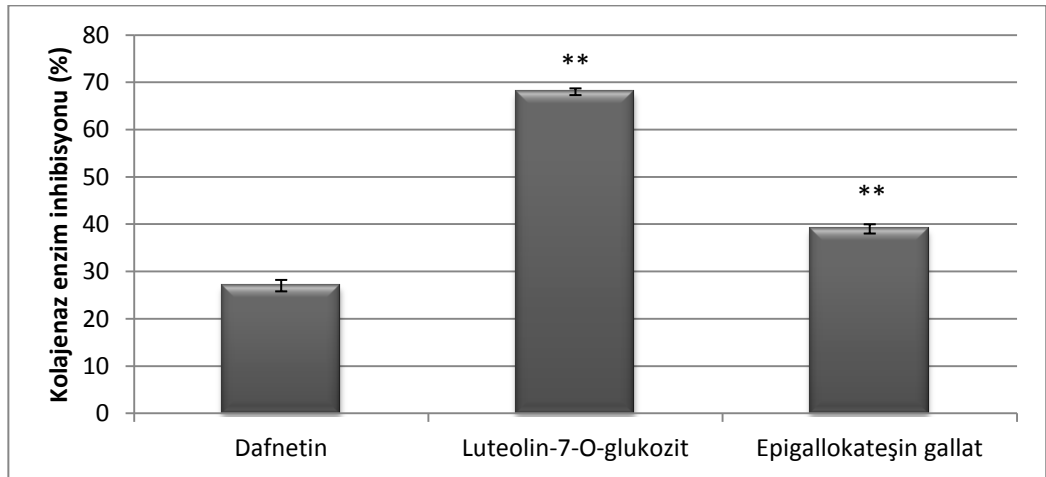
4.2.1.8. Kolajenaz Enzim İnhibisyonu Sonuçları

D. oleoides subsp. *kurdica* ve *D. oleoides* subsp. *oleoides* bitkilerinden izole edilen bileşiklerin kolajenaz enzim inhibisyonu üzerindeki etkileri aşağıdaki tablo ve grafiklerde sunulmuştur (Tablo 80, 81; Şekil 45, 46).

Tablo 80: DOK- Fr. (22-39)'dan izole edilen bileşiklerin kolajenaz enzim inhibisyonu üzerindeki etkileri

Materyal	Konsantrasyon (µg/ml)	% İnhibisyon (Ortalama ± O.S.H.)
Dafnetin	50	14.25 ± 1.18
	100	27.15 ± 1.21
Luteolin-7-O-glukozit	50	28.63 ± 1.04
	100	68.12 ± 0.71**
Epigallokateşin gallat	100	39.08 ± 0.98**

* : p < 0.05; ** : p < 0.01; *** : p < 0.001; O.S.H: Ortalama Standart Hata

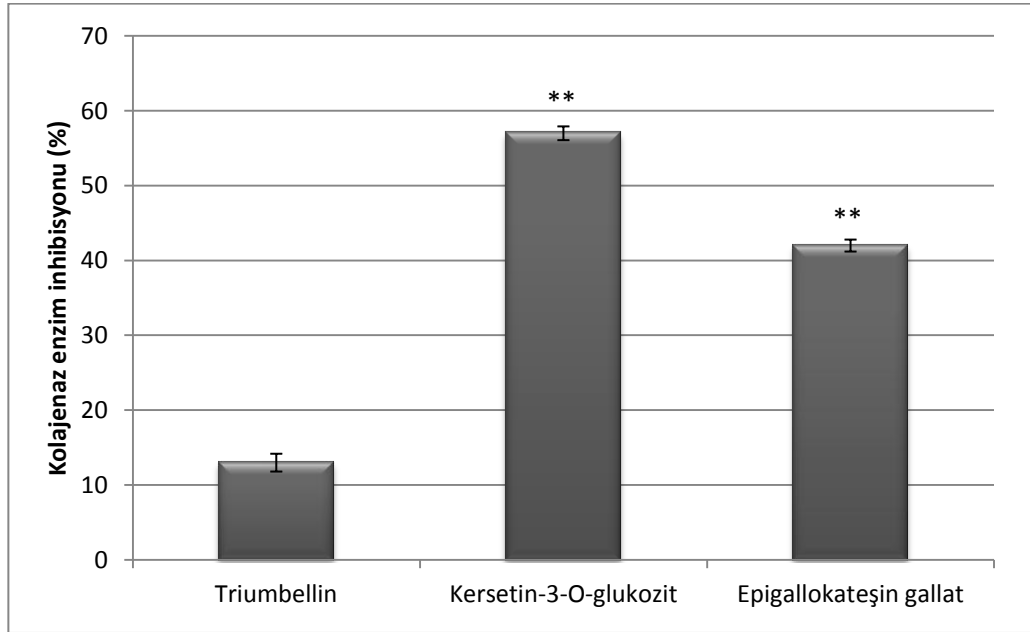


Şekil 45: DOK- Fr. (22-39)'dan izole edilen bileşiklerin kolajenaz enzim inhibisyonu üzerindeki etkileri (100µg/ml) (* : p < 0.05; ** : p < 0.01; *** : p < 0.001)

Tablo 81: DOO-Fr. (19-27)'den izole edilen bileşiklerin kolajenaz enzim inhibisyonu üzerindeki etkileri

Materyal	Konsantrasyon ($\mu\text{g/ml}$)	% Inhibisyon (Ortalama \pm O.S.H.)
Triumbellin	50	10.29 \pm 1.84
	100	13.24 \pm 1.19
Kersetin-3-O-glukozit	50	33.53 \pm 0.96*
	100	57.10 \pm 0.92**
Epigallokateşin gallat	100	42.07 \pm 0.80**

* : $p < 0.05$; ** : $p < 0.01$; *** : $p < 0.001$; O.S.H: Ortalama Standart Hata



Şekil 46: DOO-Fr. (19-27)'den izole edilen bileşiklerin kolajenaz enzim inhibisyonu üzerindeki etkileri; (100 $\mu\text{g/ml}$) (* : $p < 0.05$; ** : $p < 0.01$; *** : $p < 0.001$)

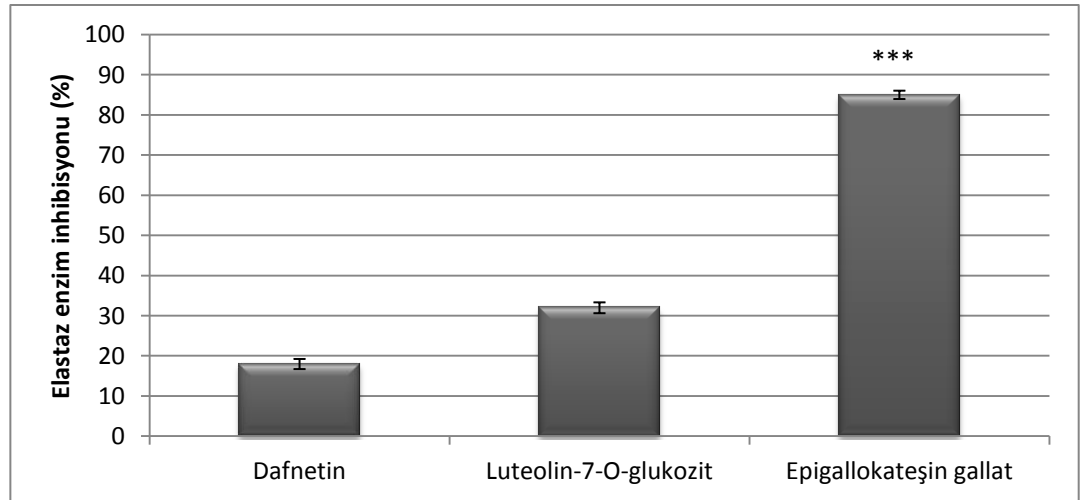
4.2.1.9. Elastaz Enzim İnhibisyonu Sonuçları

D. oleoides subsp. *kurdica* ve *D. oleoides* subsp. *oleoides* bitkilerinden izole edilen bileşiklerin elastaz enzim inhibisyonu üzerindeki etkileri aşağıdaki tablo ve grafiklerde sunulmuştur (Tablo 82, 83; Şekil 47, 48).

Tablo 82: DOK-Fr. (22-39)'dan izole edilen bileşiklerin elastaz enzim inhibisyonu üzerindeki etkileri

Materyal	Konsantrasyon (µg/ml)	% İnhibisyon (Ortalama ± O.S.H.)
Dafnetin	50	15.23 ± 1.16
	100	18.10 ± 1.26
Luteolin-7-O-glukozit	50	20.24 ± 1.43
	100	32.11 ± 1.35
Epigallokateşin gallat	100	85.05 ± 1.04***

* : p < 0.05; ** : p < 0.01; *** : p < 0.001; O.S.H: Ortalama Standart Hata

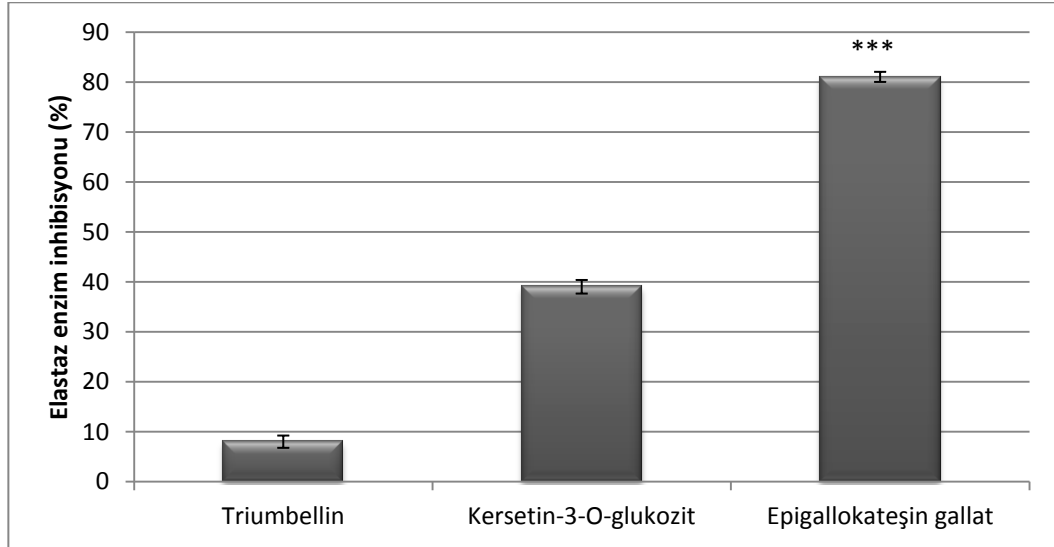


Şekil 47: DOK-Fr. (22-39)'dan izole edilen bileşiklerin elastaz enzim inhibisyonu üzerindeki etkileri; (100µg/ml) (* : p < 0.05; ** : p < 0.01; *** : p < 0.001)

Tablo 83: DOO-Fr. (19-27)'den izole edilen bileşiklerin elastaz enzim inhibisyonu üzerindeki etkileri

Materyal	Konsantrasyon ($\mu\text{g/ml}$)	% Inhibisyon (Ortalama \pm O.S.H.)
Triumbellin	50	6.13 \pm 1.19
	100	8.11 \pm 1.23
Kersetin-3-O-glukozit	50	18.43 \pm 1.21
	100	39.08 \pm 1.36
Epigallokateşin gallat	100	81.01 \pm 1.01***

* : $p < 0.05$; ** : $p < 0.01$; *** : $p < 0.001$; O.S.H: Ortalama Standart Hata



Şekil 48: DOO-Fr. (19-27)'den izole edilen bileşiklerin elastaz enzim inhibisyonu üzerindeki etkileri; (100 $\mu\text{g/ml}$) (* : $p < 0.05$; ** : $p < 0.01$; *** : $p < 0.001$)

5. TARTIŞMA

Fiziksel, kimyasal, termal radyasyon ve cerrahi nedenlere bağlı veya kendiliğinden gelişen doku bütünlüğünün bozulması yara olarak tanımlanır. Yaraların mümkün olduğu kadar herhangi bir sekel ya da iz bırakmadan, düşük maliyet ile hızla iyileşmesini, özellikle yaşam kalitesini olumsuz etkileyen diyabetik ayak yaraları gibi güç kronik sorunların etkin bir şekilde tedavisini sağlayabilecek maddelere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu amaçla gerek sentetik kaynaklı moleküller gerekse de biyolojik kaynaklı doğal ürünlerden yararlanmak üzere kapsamlı bilimsel araştırmalar yürütölmektedir.

Anadolu halk kültüründe, yara ve yanık tedavisinde yararlanılan bitkisel ve hayvansal materyaller kullanılarak hazırlanmış zengin bir bilgi birikimi bulunmaktadır. Türkiye’de birçok bitkinin halk arasında yara iyileştirici amaçla yaygın olarak kullanıldığı yapılan etnobotanik çalışmalarda tespit edilmiştir¹⁻⁶. Asteraceae, Boraginaceae, Euphorbiaceae, Fabaceae, Hypericaceae, Liliaceae, Malvaceae, Pinaceae, Ranunculaceae gibi pek çok familyaya ait bazı türler yara iyileştirici amaçla halk ilacı olarak kullanılmaktadır^{1-6,157-159}.

Çalışmamızda halk arasında yara iyileştirici amaçla sıklıkla kullanıldığı tespit edilen bitkilerden *Cichorium intybus*, *Cistus creticus*, *Daphne oleoides* subsp. *kurdica*, *Daphne oleoides* subsp. *oleoides*, *Helichrysum graveolens* ve *Viscum album* subsp. *album* bitkilerinin ön denemelerde aktiviteleri değerlendirilmiştir. *C. intybus*, *D.oleoides* subsp. *kurdica*, *D. oleoides* subsp. *oleoides*, *H. graveolens* bitkilerinden hazırlanan %85’lik metanollü ekstrelerin ön denemelerde anlamlı derecede etkili olduğu belirlenmiştir (Tablo 42, 49, 56, 43, 70). Bundan sonraki aşamada, çalışmalarımız yara iyileştirici aktivitesi yüksek bulunan *D. oleoides* subsp. *kurdica* ve *D. oleoides* subsp. *oleoides* bitkileri üzerinde “Biyolojik Aktivite ile Yönlendirilen Fraksiyonlama ve İzolasyon

teknikleri (BAYF) ” uygulanarak yürütülmüştür. Etkili fraksiyonlardaki bileşiklerin kimyasal yapılarının aydınlatılması amacıyla spektroskopik yöntemlerden yararlanılmıştır.

Çalışmamızda ön denemelerde kullanılmak üzere hazırlanan tüm ekstreler ve *D. oleoides* subsp. *kurdica* (DOK) ile *D. oleoides* subsp. *oleoides* (DOO) bitkilerinin ekstrelerinden elde edilen alt ekstreler %1 konsantrasyonda olacak şekilde glikol sterarat: 1,2 propilen glikol: sıvı parafin (3:6:1) içinde hazırlanmış ve hayvanların sırt kısmında oluşturulan yaralara uygulanmıştır. Her iki alt türden de yara iyileştirici aktivitesinin yüksek olduğu belirlenen etil asetat alt ekstrelerinin doz bağımlı etkisinin tespit edilebilmesi amacıyla bu alt ekstrelerin %1’lik merhemlerinin yanında, %3’lük ve %5’lik merhemleri de aynı deneylerde uygulanmış ve etkinin doz bağımlı olmadığı saptanmıştır. Bundan sonraki çalışmalarımız elde edilen fraksiyonların ve bileşiklerin yara iyileştirici aktivite modellerinde %1’lik merhemler halinde uygulanmasıyla devam etmiştir.

Yara iyileştirici aktivitenin değerlendirilmesi amacıyla iki farklı *in vivo* aktivite yöntemi kullanılmıştır. Dairesel eksizyon yara modelinde deney hayvanlarının sırt kısımlarında oluşturulan yaralar üzerine 12 gün boyunca uygulanan test numunelerinin epitel oluşumu üzerindeki etkileri yara alanlarının küçülme oranları hesaplanarak tespit edilmiştir. Epitel oluşumunda proliferatif etki göstererek yara iyileşmesine katkıda bulunan materyallerin yara altı dokularında da düzgün iyileşme süreci gösterip göstermediğinin belirlenmesi, kolajen oluşumu ve sağlamlığı hakkında bilgi vermesi nedeniyle sıçanlarda çizgisel insizyon yara modeli çalışılmıştır. Bu deneyde, hayvanların sırt kısımlarında oluşturulan çizgisel insizyon yaralarının 10 gün boyunca test numuneleri ile tedavisinin ardından gerilme şiddetine karşı sağlamlık dereceleri ölçülmüştür. DOK ve DOO bitkilerinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanollü ekstrelerin dairesel eksizyon yara modelinde sırasıyla %82.08 ve %70.97 oranlarında kontraksiyon sağladığı, çizgisel insizyon yara modelinde ise sırasıyla

%39.58 ve %34.19 oranlarında yara kuvvetini arttırdığı tespit edilmiştir (Tablo 42, 49).

Yaranın hızlı bir şekilde iyileşmesi için gerekli olan önemli ekstraselüler matriks proteinlerinden biri kolajendir. Çalışmamızda yara alanındaki kolajen miktarının tespit edilmesi için kolajeni oluşturan aminoasitlerden olan hidroksprolinin dokudaki miktarı ölçülmüştür. Hazırlanan merhemler ile tedavi edilen dokuların hidroksprolin düzeylerine bakıldığında, DOK ve DOO bitkilerinin metanollü ekstrelerinden hazırlanan merhemlerin dokulardaki hidroksprolin düzeyini anlamlı derecede arttırdığı belirlenmiştir (Tablo 63).

Yara iyileşmesinin erken döneminde görülen akut iltihabi yanıtın uzun süre devam etmesi sonucu oluşan araşidonik asit metabolitleri endotel zedelenmesi ile doku hasarı oluşumuna neden olabilmektedir. Bu nedenle ekstrelerin yara iyileşmesinin ilk evresindeki enflamatuvar yanıt üzerindeki etkileri, akut anti-enflamatuvar aktivite değerlendirme yöntemi olan asetik asit-nedenli kapiller permeabilite artışının inhibisyonuna dayanan Whittle Yöntemi kullanılarak araştırılmıştır. Her iki ekstrenin de Whittle Yöntemi üzerinde 200 mg/kg dozda %39.28 ve %23.53 inhibisyon değerleri ile anti-enflamatuvar etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir (Tablo 70).

Antioksidan etkili bileşikler lipit peroksidasyonunu inhibe etmek suretiyle hücre hasarını önleyerek yara iyileşmesine katkı sağlamaktadır^{136,137}. Çalışmamızda antioksidan aktivitenin değerlendirilmesi amacıyla DPPH üzerinden serbest radikal süpürücü etki tayinine dayanan yöntem kullanılmıştır¹⁴⁹. Bu deneyde, DOK metanollü ekstresinin IC₅₀ değerinin 95.98 µg/ml; DOO metanollü ekstresinin ise IC₅₀ değerinin 230.62 µg/ml olduğu tespit edilmiştir (Tablo 77).

Her iki alt türün metanol ekstralarının aktif çıkması nedeniyle, bu ekstralar BAYF çalışmaları kapsamında önce “sıvı-sıvı ekstraksiyonu” tekniği ile artan polaritede çözücüler ile ekstr edilerek fraksiyonlandırılmıştır. DOK ve DOO etil asetat alt ekstralarından hazırlanan %1’lik merhem formülasyonlarının insizyon yara modelinde sırasıyla %36.33 ve %30.92 (Tablo 43, 46); eksizyon yara modelinde ise %59.77 ve %57.36 (Tablo 50, 53) oranlarında etki gösterdiği tespit edilmiştir. Etil asetat alt ekstraları kullanılarak hazırlanan merhemler ile tedavi edilen dokuların hidroksiprolin düzeyleri DOK-EtOAc Fr. için 32.77 µg/mg; DOO-EtOAc Fr. için 29.13 µg/mg olarak belirlenmiştir (Tablo 64, 67). Her iki alt ekstranın de anti-enflamatuvar aktivite tayin yönteminde 200 mg/kg dozda sırasıyla %30.14 ve %27.15 inhibisyon ile oldukça etkili olduğu saptanmıştır (Tablo 71, 74). Antioksidan aktivite deneyinde DOK-EtOAc alt ekstrasının IC₅₀ değeri; 26.70 µg/ml; DOO-EtOAc alt ekstrasının IC₅₀ değeri 89.53 µg/ml olarak tespit edilmiştir (Tablo 77).

Biyolojik aktivite sonuçları, metanollü ekstralardan elde edilen etil asetat alt ekstralarının çizgisel insizyon ve anti-enflamatuvar aktivite deneyleri ile hidroksiprolin düzeyindeki etkilerinin hemen hemen aynı kaldığını, dairesel eksizyon yara modelinde aktivitelerin bir miktar azaldığını göstermiştir. Alt ekstraların antioksidan etkilerinin ise arttığı belirlenmiştir. Etkiden sorumlu bileşiklerin tespiti amacıyla aktif çıkan etil asetat alt ekstraları silika jel kolon kromatografisi ile fraksiyonlanmış ve biyolojik aktivite deneylerinde DOK-Fr.(22-39) ile DOO-Fr.(19-27) fraksiyonları etkili bulunmuştur. Bu iki fraksiyon çizgisel insizyon yara modelinde sırasıyla %35.26 ve %29.48 (Tablo 44, 47); dairesel eksizyon yara modelinde sırasıyla %47.87 ve %43.31 oranlarında iyileşme sağlayarak (Tablo 51, 54); anti-enflamatuvar aktivite deneyinde sırasıyla %32.33 ve %33.31 (Tablo 72, 75) oranlarında inhibisyon yaparak etkili bulunmuştur. Fraksiyonlardan elde edilen merhemler ile tedavi edilen dokulardaki hidroksiprolin düzeyleri ise 25.12 ve 21.13 µg/mg olarak tespit

edilmiştir (Tablo 65, 68). İkinci fraksiyonlama işlemi ile DOK'un antioksidan etkisi bir miktar düşerken, DOO'nun antioksidan etkisi biraz yükselmiştir (Tablo 77). Antioksidan etkinin dışında elde edilen fraksiyonların biyolojik aktivite sonuçları etil asetat alt ekstralarının deneysel sonuçlarına paralellik göstermiştir.

Etkiden sorumlu bileşik/lerin izolasyonu amacıyla Ters faz-yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (RP-HPLC) tekniği kullanılmıştır. Etkili fraksiyonlardan DOK-Fr.(22-39) fraksiyonundan "**Dafnetin, Demetildafnoretin-7-O-glukozit ve Luteolin-7-O-glukozit**"; DOO-Fr.(19-27) fraksiyonundan "**Triumbellin ve Kersetin-3-O-glukozit**" izole edilmiştir. Yapılan literatür taramalarında kumarin yapısında olan dafnetin ve dafnoretin-7-O-glukozit ile flavonoit yapısında olan luteolin-7-O-glukozit bileşiklerinin *Daphne oleoides*'ten^{13,50,60}; triumbellin bileşiğinin *D. mezereum*'dan⁴⁸; kersetin-3-O-glukozit bileşiğinin ise *D. gnidioides*'ten²⁰ daha önce izole edildiği tespit edilmiştir. Bu çalışmada triumbellin ve kersetin-3-O-glukozit bileşikleri *D. oleoides* türünden ilk defa izole edilmiştir.

Demetildafnoretin-7-O-glukozit bileşiğinin DOK-Fr.(22-39) fraksiyonunda oldukça düşük miktarda bulunması nedeniyle DOK-Fr.(22-39) ve DOO-Fr.(19-27) fraksiyonlarında daha yüksek miktarda bulunan dafnetin, luteolin-7-O-glukozit, triumbellin ve kersetin-3-O-glukozit bileşiklerinin etkiden sorumlu bileşikler olabileceği düşünülmüştür. Fraksiyonlarda miktarlarının daha fazla olduğu tespit edilen bu bileşiklerin biyolojik aktivitelerinin değerlendirilmesi amacıyla ticari firmalardan temini sağlanmış ve *in vivo* biyolojik aktivitelerinin yanında *in vitro* enzim deneyleri yapılarak etkiden sorumlu olduğu düşünülen bileşiklerin etki mekanizmaları aydınlatılmaya çalışılmıştır.

Çizgisel insizyon yara modelinde luteolin-7-O-glukozit ile kersetin-3-O-glukozitin yara gerilme kuvvetini sırasıyla %39.89 ve %32.19

oranında arttırdığı (Tablo 45, 48); dairesel eksizyon yara modelinde ise aynı bileşiklerin yara alanlarında sırasıyla %61.17 ve %65.29 oranlarında küçülmeyi sağladığı tespit edilmiştir (Tablo 52, 55). Luteolin-7-O-glukozit ve kersetin-3-O-glukozit ile tedavi edilen dokulardaki hidroksiprolin düzeylerinin sırasıyla 40.33 µg/mg ve 32.73 µg/mg olduğu belirlenmiştir (Tablo 66, 69). Enflamasyonun yüzde inhibisyon değeri luteolin-7-O-glukozit için %34.42; kersetin-3-O-glukozit için %31.89 olarak ölçülmüştür (Tablo 73, 76). Bileşiklerin DPPH radikal süpürücü etkilerinin tayini amacıyla hesaplanan IC₅₀ değerleri ise sırasıyla 18.21 ve 20.15 µg/ml olarak belirlenmiştir (Tablo 77).

Çalışmamızda yapılan histopatolojik analizler, yara iyileştirici aktivitenin hücrel ve yapısal düzeyde değerlendirilmesine katkı sağlamıştır. Hematoksilen-eozin ile boyanmış deri kesitleri ışık mikroskobu altında incelenmiştir (Tablo 56-62 ve Resim 3-9). Tüm histopatolojik bulgular birlikte değerlendirildiğinde, negatif kontrol grubunun enflamasyon fazında kaldığı belirlenmiştir. Epitelizasyonun kenarlardan ortaya doğru gelişmeye başladığı fakat halâ oldukça geniş bir ülser bölgesinin olduğu tespit edilmiştir. Bu bölgelerin üzerinde yara alanı ile temas halinde olan yara kabuğunun varlığı dikkati çekmiştir. Yara alanında fibroblastların artışı gözlenirken, dermiste hücre içi ve hücreler arası parçalanmalar fark edilmiştir. Van Gieson boya uygulanan kesitlerde ise yara bölgesindeki kolajen liflerin henüz demetler halini almadığı görülmüştür.

İyileşmenin orta derecede görüldüğü çalışma gruplarında re-epitelizasyonun kısmen tamamlandığı gözlenmiştir. Dermal bölgelerde makrofajlar ve fibroblastların ağırlıkta olduğu hücrel yapılar tespit edilmiştir. Kontrol gruplarına oranla daha az sayıda mononükleer hücreler gözlenirken, neovaskülarizasyonun belirgin olduğu görülmüştür. Van Gieson boya uygulanan kesitlerde ise kolajen sentezinin arttığı ve kolajen liflerin demet oluşturmaya başladıkları dikkati çekmiştir.

Epidermal ve dermal re-modelizasyon bakımından en iyi gruplar olan DOK-EtOAc, DOK-Fr. (22-39), luteolin-7-O-glukozit ile DOO-EtOAc, DOO-Fr. (19-27), kersetin-3-O-glukozit ve referans gruplarında re-epitelizasyonun tam olarak tamamlandığı ve dermal bütünlüğün büyük çoğunlukla sağlandığı belirlenmiştir. Yara alanındaki fibroblast miktarında ve kolajen sentezinde artış tespit edilmiştir. Elde edilen histopatolojik bulgular çizgisel insizyon ve dairesel eksizyon deney modellerinde elde edilen bulgular ile paralellik göstermiştir.

Hyaluronidaz, kolajenaz ve elastaz enzimleri yara iyileşmesinde önemi olan hyaluronik asit, kolajen ve elastinin enzimatik yıkımına neden olan metalloproteinaz enzimlerdir. Bu enzimlerin minimal seviyede tutulması yara iyileşmesinin düzgün olması bakımından son derece önemlidir¹⁵⁰. Yara iyileştirici aktiviteye sahip fraksiyonlardan izole edilen bileşiklerin *in vitro* hyaluronidaz, kolajenaz ve elastaz enzim inhibitör etkileri, yara iyileştirici aktivite mekanizmasını aydınlatmak amacıyla değerlendirilmiştir. Bileşiklerin hyaluronidaz enzim inhibisyonu üzerindeki etkileri 100 µg/ml dozda luteolin-7-O-glukozit için %41.41; kersetin-3-O-glukozit için %63.02 (Tablo 78, 79; Şekil 43, 44); kolajenaz enzimi üzerindeki inhibitör etkileri sırasıyla %68.22 ve %63.10 (Tablo 80, 81; Şekil 45, 46) olarak belirlenmiştir. Ancak bileşiklerin elastaz enzimi üzerinde anlamlı derecede inhibitör etkiye sahip olmadıkları tespit edilmiştir (Tablo 82, 83; Şekil 47, 48).

Yara iyileşme süreci birbirini takip eden bir zincirden oluşmaktadır. Zedelenmeye karşı gelişen vasküler ve hücrel yanıt akut iltihabi süreçtir. Bu, yara iyileşmesinin erken cevabı olan enflamasyon fazını oluşturur. Bu ilk faz hemostaz ile başlar. Hemostaz, bütünlüğü bozulan kan damarları ve dermisten açığa çıkan kolajenin, trombosit agregasyonunun aktive olduğu pıhtılaşma mekanizmasıdır ve yara alanının bakteriyel kontaminasyona karşı korunması ve iyileşmesi için gerekli olan sıvı kaybının engellenmesi açısından oldukça önemlidir¹⁶⁰.

İyileşme sürecinde enflamasyon cevabı nötrofil ve lökositlerin yara alanına toplanması ile devam eder. Enflamasyon dış ve iç etkenlere karşı damarsal bağ dokunun kompleks reaksiyonudur. Bir yandan zararlı etkeni ortadan kaldırırken bir yandan da onarımı sağlayan bir süreç başlatılmaya çalışılır^{123,160}. Ancak uzamış bir enflamasyon süreci yara iyileşmesi için istenmeyen bir durumdur. Çünkü, enflamasyon tam olarak engellenemezse hücre nekrozu görülür ve bu da hasar oluşmuş stabil ve labil hücreli dokularda bakteriyel abseyle sonuçlanır¹⁶⁰. Bu nedenle yara iyileşmesinde enflamasyon sürecinin kısa sürmesi istenir. İyileşme sürecinin ilk fazında anti-enflamatuvar etki göstererek bu sürenin kısalmasını sağlayan maddeler yara iyileşmesine yardımcı olabilir. Çalışmamızda DOK ve DOO bitkilerinin ekstre, alt ekstre ve fraksiyonları ile bu bitkilerden izole edilen flavonoidlerin anlamlı derecede anti-enflamatuvar etki gösterdikleri ve yara sonuçlarını destekledikleri tespit edilmiştir.

Doku hasarına neden olan başlıca etkenlerden bir tanesi de serbest radikaller ve oksidatif reaksiyon ürünleridir. Yara alanında üretilen yüksek miktardaki serbest radikaller yara iyileşme sürecinde bağ doku hasarı oluşumuna neden olmaktadır. Oksidatif hasarı ortadan kaldırmak amacıyla çeşitli antioksidanlar kullanılmaktadır¹³⁵. Ekstre ve alt ekstrelerin fenolik bileşikler bakımından zengin olması antioksidan aktivite ile ilişkilidir. Bu nedenle çalışmamızda DOK ve DOO bitkilerinden hazırlanan ekstre ve alt ekstreler üzerinde total fenol miktar tayini yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar, DOK-EtOAc ve DOO-EtOAc alt ekstrelerinin total fenol miktarlarının diğer ekstrelerden daha fazla olduğu (sırasıyla 221.00 ve 169.57 mg GA/g) tespit edilmiştir (Tablo 36).

Ekstraselüler matriks elemanlarının sentez, depolanma ve yapısal değişikliği ile taslağın oluşturulması, granülasyon dokusundan skar oluşumu ile devam eder. Ekstraselüler matriksin üç temel bileşeni, yapının sağlamlığını sağlayan fibröz yapısal proteinler, kaydırıcı sulu jeller ve

hücreleri birbirine bağlayan glukoproteinlerdir. Ekstraselüler matriks elemanlarının parçalanması fibroblast, makrofaj, nötrofil ve bazı epitel hücreleri tarafından sentezlenen metalloproteinaz enzimleri tarafından sağlanır. Bu enzimlerin sentez ve sekresyonları büyüme faktörleri, sitokinler, fagositoz ve fiziksel stresle kontrol edilmektedir¹⁶⁰. Zedelenme alanında ve doku hasarı onarımında ekstraselüler matriks taslağının oluşumu için metalloproteinazlar görev yaparlar. Metalloproteinazlar zedelenme alanında artıkların uzaklaştırılmasını ve hasar görmemiş bağ dokudaki kolajenleri parçalayarak yaranın kapatılması için gereken bağ dokunun yapımını sağlamaktadır. Ancak dokuda ileri derecede tahrip edici güçlerinden dolayı etkileri oldukça kontrollüdür. Yara alanında kontrolsüzce etkin olmaları durumunda yeni oluşturulmaya çalışılan bağ dokunun metalloproteinazlar tarafından yıkılması nedeniyle işleri bittiğinde hızlı bir şekilde inhibe edilmeleri gerekir¹⁶⁰. Kronik yaraların iyileşme sürecini engelleyen önemli faktörlerden biri metalloproteinaz enzimlerinden kolajenaz enziminin aktivitesinin kontrolsüzce devam etmesidir¹⁶¹⁻¹⁶². Bu gibi durumlarda yaraların hızlı bir şekilde iyileşmesini sağlamak üzere kolajenaz enzim inhibisyonu etkisine sahip maddelerden yararlanılabilir. Çalışmamızda luteolin-7-O-glukozit ve kersetin-3-O-glukozit bileşiklerinin kolajenaz enzimi üzerinde inhibitör etkileri ile yara iyileşmesine destek olduğu tespit edilmiştir. İyileşen dokularda kolajen miktarındaki artışın bir göstergesi olan hidroksiprolin tayini sonuçları da luteolin-7-O-glukozit ve kersetin-3-O-glukozit bileşiklerinin yara alanlarında kolajen miktarını arttırarak yara iyileştirici etkiye sahip olduklarını göstermiştir. İki deney sonucunun birbirini desteklemesi bileşiklerin kolajenaz enzimini inhibe ederek ortamdaki kolajen miktarını arttırdığını ve artan kolajen miktarının da insizyon yara modelinde yara geriliminde artışa neden olarak iyileşen yaranın sağlığına katkıda bulunmuş olabileceği fikrini ortaya koymuştur.

Çeşitli bitkilerden izole edilen flavonoidlerin aktiviteleri üzerinde yapılan çalışmalarda luteolin ve glikozitlerinin antioksidan¹⁶³⁻¹⁶⁷; antibakteriyel¹⁶⁸⁻¹⁷⁵, antiviral¹⁷⁶⁻¹⁸⁰, antifungal^{181,182}, antiplazmodial¹⁸³ ve antikanser¹⁸⁴⁻¹⁸⁸ etkilerinin bulunduğu tespit edilmiştir. Yapı aktivite çalışmalarında bu bileşiklerin NF-Kappa B, COX-2, LOX ve iNOS inhibisyonu yaparak¹⁸⁹⁻¹⁹² anti-enflamatuvar etki gösterdikleri de belirlenmiştir¹⁹³⁻²⁰². Kersetin ve glikozitlerinin de benzer şekilde antioksidan²⁰³, anti-enflamatuvar²⁰⁴⁻²⁰⁶ ve antikanser etkileri²⁰⁷⁻²¹² yapılan çalışmalarla tespit edilmiştir. Araştırma grubumuz tarafından yapılan bir çalışmada *Sambucus ebulus* yapraklarından hazırlanan metanollü ekstrenin yara iyileştirici etkisi biyolojik aktivite yönlendirmeli fraksiyonlama ve izolasyon tekniği kullanılarak değerlendirilmiş ve etkili bulunan fraksiyonda kersetin-3-O-glukozit bileşiğinin ana bileşik olduğu tespit edilmiştir²¹³. Song ve ark. ile Saragusti ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, kersetin ve glikozitlerinin metalloproteinaz enzimleri üzerinde inhibitör etkiye sahip oldukları belirlenmiştir²¹⁴⁻²¹⁵. Çalışmamızda elde edilen bulgular daha önce yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar ile paralellik göstermektedir.

Daphne türleri üzerinde yapılan aktivite çalışmalarında *D. oleoides* subsp. *oleoides*, *D. genkwa*, *D. pontica*, *D. retusa*, *D. gnidium* ve *D. odora* türlerinin anti-enflamatuvar etkiye sahip oldukları tespit edilmiştir^{47,50,90-96}. Yeşilada ve ark., *D. oleoides* subsp. *oleoides* etil asetat ekstresinden anti-enflamatuvar aktivite yönlendirmeli fraksiyonlama çalışmaları ile dafnetin bileşiğini izole etmişler ve bileşiğin IL-1 α , IL-1 β ve TNF- α biyosentezi üzerindeki anlamlı derecede inhibitör etkiye sahip olduğunu tespit etmişlerdir⁵⁰. TNF- α ve IL-1'in fibroblastlardan metalloproteinaz enzimlerinin üretimini indüklediği bilinmektedir. Çalışmamızda, dafnetin bileşiğinin TNF- α , IL-1 α ve IL-1 β biyosentezi üzerinde inhibitör etki göstererek hem anti-enflamatuvar hem de metalloproteinaz inhibisyonu etkisiyle yara iyileşmesine katkıda bulunması

beklenmiştir. Ancak, çalışmamızda elde edilen sonuçlar, metanol ekstralarının fraksiyonlama işlemleri ile yara iyileştirici etkilerinin bir miktar azaldığını fakat en son saflaştırma basamağında etki derecelerinin yükselerek flavonoidler üzerinde toplandığını göstermiştir. Fraksiyonlarda bulunan kumarinlerin kanın pıhtılaşmasını geciktirmek suretiyle yara iyileşmesinin ilk fazında gerçekleşen hemostaz evresinde yavaşlama meydana getirerek yara iyileştirici etkiyi düşürmüş olabileceği düşünülmüştür.

Deiana ve ark tarafından yapılan bir çalışmada, *D. gnidium* gövde ve yapraklarından izole edilen luteolin, dafnetin ve α -tokoferol ile *D. odora*'dan izole edilen dafnetinin yüksek antioksidan aktivite gösterdiği tespit edilmiştir⁹⁷. Çalışmamızda elde ettiğimiz deneysel sonuçlar dafnetin bileşiğinin 27.12 $\mu\text{g/ml}$ IC_{50} değeriyle antioksidan etki gösterdiğini doğrulamaktadır (Tablo 77). Yine etkili fraksiyonlardan izole ettiğimiz ve antioksidan aktivitelerinin yüksek olduğu belirlenen flavonoid yapısındaki luteolin-7-O-glukozit ve kersetin-3-O-glukozit bileşiklerinin antioksidan etkileri ile yara iyileştirici etkiye katkı sağladıkları düşünülmüştür.

Enfeksiyona bağlı olarak yara bölgesinde artan bakteriler yara iyileşmesini geciktiren bir başka nedendir. *Daphne* türleri üzerinde yapılan çalışmalar *D. gnidium*, *D. gnidioides* ve *D. odora* türlerinden izole edilen kumarin ve flavonoid yapısındaki bileşiklerin antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir^{13,20,33,106,107}. *D. oleoides*'ten izole edilen kumarin ve flavonoid yapıdaki bileşiklerin de antimikrobiyal etki göstererek yara iyileşmesini desteklediği de düşünülmektedir.

6.SONUÇ

Türkiye’de halk arasında yara iyileştirici amaçla kullanıldığı tespit edilen bitkiler üzerinde yapılan yara iyileştirici aktivite tarama çalışmalarında, *Daphne oleoides* subsp. *kurdica* (DOK) ve *Daphne oleoides* subsp. *oleoides* (DOO) bitkileri araştırma materyalleri olarak seçilmiştir. *Daphne* türleri üzerinde yapılan pek çok biyolojik aktivite çalışması olmasına rağmen bu türlerin yara iyileştirici etkilerinin değerlendirildiği herhangi bir çalışma bulunmamaktadır.

Çalışmamızda DOK ve DOO bitkilerinin toprak üstü kısımlarından izole edilen flavonoit yapısındaki bileşiklerden sırasıyla **Luteolin-7-O-glukozit** ve **Kersetin-3-O-glukozit**’in bulunduğu fraksiyonların yara iyileştirici, anti-enflamatuvar ve antioksidan etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir. Bu iki bileşik üzerinde yapılan *in vitro* enzim inhibisyonu deneylerinde her iki bileşiğin de hyaluronidaz ve kolajenaz enzimi inhibisyonu yaparak yara iyileştirici etki gösterdiği belirlenmiştir. Bu bileşiklerin anti-enflamatuvar ve antioksidan etkileri ile de yara iyileşme sürecine katkıda bulunduğu tespit edilmiştir.

Yapılan bu çalışma ile ülkemizde geniş yayılış gösteren ve yara iyileştirici amaçla halk ilacı olarak kullanılan DOK ve DOO bitkilerinin kullanımının doğruluğu bilimsel platformda kanıtlanmıştır. Flavonoit yapısındaki bileşiklerin yara iyileştirici etkiden sorumlu olduğu tespit edilmiştir.

7.ÖZET

Türkiye’de Halk Arasında Yara İyileştirici Amaçla Kullanılan Bazı Bitkilerin Aktiviteleri Üzerinde Araştırmalar

Türkiye’de yapılan etnobotanik çalışmalarda birçok bitkinin halk arasında yara iyileştirici amaçla yaygın olarak kullanıldığı kayıtlıdır. Çalışmamızda halk arasında yara iyileştirici amaçla sıklıkla kullanıldığı tespit edilen bitkilerden *Cichorium intybus*, *Cistus creticus*, *Daphne oleoides* subsp. *kurdica*, *Daphne oleoides* subsp. *oleoides*, *Helichrysum graveolens* ve *Viscum album* subsp. *album* bitkilerinin yapılan ön denemelerle aktiviteleri değerlendirilmiş ve *C. intybus*, *D.oleoides* subsp. *kurdica*, *D. oleoides* subsp. *oleoides*, *H. graveolens* bitkilerinden hazırlanan %85’lik metanollü ekstrelerin anlamlı derecede etkili olduğu saptanmıştır. Çalışmalarımız yara iyileştirici aktivitesi yüksek bulunan *D. oleoides* subsp. *kurdica* ve *D. oleoides* subsp. *oleoides* bitkileri üzerinde “Biyolojik Aktivite ile Yönlendirilen Fraksiyonlama ve İzolasyon teknikleri (BAYF)” kullanılarak yürütülmüştür. *In vivo* yara iyileştirici ve anti-enflamatuvar aktivite deneylerinde aktivitesi yüksek çıkan *D. oleoides* subsp. *kurdica* ve *D. oleoides* subsp. *oleoides* metanollü ekstrelerinden elde edilen etil asetat alt ekstrelerinin silika jel kolon kromatografisi yöntemiyle ayırımı sağlanmış, elde edilen fraksiyonların etkileri aynı deney modelleri kullanılarak değerlendirilmiştir. Aktif olduğu tespit edilen fraksiyonlardan RP-HPLC tekniği kullanılarak Dafnetin, Demetildafnoretin-7-O-glukozit, Luteolin-7-O-glukozit, Triumbellin ve Kersetin-3-O-glukozit bileşikleri izole edilmiştir. *In vivo* yara iyileştirici ve anti-enflamatuvar aktivite deneylerinde etkili olduğu tespit edilen Luteolin-7-O-glukozit ve Kersetin-3-O-glukozit bileşiklerinin etki mekanizmasını aydınlatmak üzere yapılan *in vitro* deneylerde her iki bileşiğin de hyaluronidaz ve kolajenaz enzimlerini inhibe ederek yara iyileşmesine katkıda bulunduğu tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: *Daphne*, Enflamasyon, Flavonoit, Kumarin, Yara.

8.SUMMARY

Researches on the Activities of Some Plants Used for Wound Healing in Turkish Folk Medicine

In the ethnobotanical studies, several plants were reported to be used for wound healing in Turkish folk medicine. Among the frequently used-plants for wound healing in folk medicine *Cichorium intybus*, *Cistus creticus*, *Daphne oleoides* subsp. *kurdica*, *Daphne oleoides* subsp. *oleoides*, *Helichrysum graveolens* and *Viscum album* subsp. *album* were selected as the plant materials of this study. *Cichorium intybus*, *Daphne oleoides* subsp. *kurdica*, *Daphne oleoides* subsp. *oleoides* and *Helichrysum graveolens* were found to be significantly active in the pre-screening tests. Our researches proceeded by using "Biological Activity Guided Fractionation and Isolation Assays" on *D. oleoides* subsp. *kurdica* ve *D. oleoides* subsp. *oleoides* of which both have high wound healing activity. Ethyl acetate subextracts prepared from the methanolic extracts of *D. oleoides* subsp. *kurdica* and *D. oleoides* subsp. *oleoides* were shown to possess the highest wound healing and anti-inflammatory activities in the *in vivo* assays. Therefore, the ethyl acetate fractions were subjected to silicagel column chromatography to give subfractions which were also applied on the same experimental models in order to be tested biologically. From the active subfractions Daphnetin, Demethyldaphnoretin-7-O-glucoside, Luteolin-7-O-glucoside, Triumbellin and Quercetin-3-O-glucoside were isolated by using RP-HPLC method. The flavonoid type compounds, Luteolin-7-O-glucoside and Quercetin-3-O-glucoside, which were found to be active in *in vivo* models, were also tested in *in vitro* enzymatic assays in order to elucidate the mechanism of action. Both compounds were found to possess hyaluronidase and collagenase enzyme inhibitory activities which could contribute the wound healing effect.

Keywords: *Daphne*, Inflammation, Flavonoid, Coumarin, Wound.

9. KAYNAKLAR

1. Sezik E, Tabata M, Yeşilada E, Honda G, Goto K, Ikeshiro Y. Traditional medicine in Turkey I. Folk medicine in Northeast Anatolia. J Ethnopharmacol 1991; 35: 191-6.
2. Sezik E, Yeşilada E, Honda G, Takaishi Y, Takeda Y, Tanaka T. Traditional medicine in Turkey X. Folk medicine in Central Anatolia. J Ethnopharmacol 2001; 75: 95-115.
3. Honda G, Yeşilada E, Tabata M, Sezik E, Fujita T, Takeda Y, et al. Traditional medicine in Turkey VI. Folk medicine in West Anatolia: Afyon, Kütahya, Denizli, Muğla, Aydın provinces. 1996; 53: 75-87.
4. Aslan M, Orhan DD, Orhan N, Sezik E, Yeşilada E. A study of antidiabetic and Antioxidant Effects of *Helichrysum graveolens* capitulums in streptozotocin-induced diabetic rats. J Med Food 2007; 10 (2): 396-400.
5. Yeşilada E, Honda G, Sezik E, Tabata M, Fujita T, Tanaka T, et al. Traditional medicine in Turkey. V. Folk medicine in the inner Taurus Mountains. J Ethnopharmacol 1995; 46: 133-52.
6. Fujita T, Sezik E, Tabata M, Yeşilada E, Honda G, Takeda Y, et al. Traditional medicine in Turkey VII. Folk Medicine in Middle and West Black Sea Regions. Econ Bot 1995; 49(4): 406-22.
7. Tan K. *Daphne*. In: Davis PH editor. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Vol. 7. Edinburgh: The University Press; 1982.
8. Yeşilada E, Sezik E, Honda G, Takaishi Y, Takeda Y, Tanaka T. Traditional medicine in Turkey IX. Folk medicine in North-west Anatolia. J Ethnopharmacol 1999; 64: 195-210.

9. Baytop T. Türkçe Bitki Adları Sözlüğü. 3. baskı. Ankara: Türk Dil Kurumu; 2007.
10. Baytop T. Türkiye’de bitkiler ile tedavi (Geçmişte ve Bugün). İstanbul: İstanbul Üniversitesi Yayınları; 1999.
11. Fleming T. PDR for Herbal Medicines. 3rd edition. Montvale: Medical Economics Company; 2000.
12. Su J, Wu ZJ, Liu RH, Shen YH, Zhang C, Li HL, et al. A new coumarin glycoside from *Daphne giraldii*. Chinese Chem Lett 2007; 18: 835-6.
13. Ullah N. Phytochemical investigation of *Daphne oleoides*. Doktora. Karachi: University of Karachi; 1999.
14. Tosun A. Chemical constituents and biological activities of *Daphne L.* species. J Fac Pharm, Ankara 2006; 35 (1):43-68.
15. Ullah N, Ahmad S, Malik A. Phenylpropanoid Glycosides from *Daphne oleoides*. Chem Pharm Bull 1999; 47(1) 114-5.
16. Niwa M, Sugino H, Takashima S, Sakai T, Wu YC, Wu TS, et al. A new coumarin glucoside from *Daphne arisanensis*. Chem Pharm Bull 1991; 39(9): 2422-4.
17. Sun WX, Zhang Q, Jiang JQ. Chemical constituents of *Daphne giraldii* Nitsche. J Integr Plant Biol 2006; 48(12): 1498-1501.
18. Kogiso S, Hosozawa S, Wada K, Munakata K. Daphneolone in roots of *Daphne odora*. Phytochemistry 1974; 13(10): 2332-4.
19. Park BY, Min BS, Oh SR, Kim JH, Bae KH, Lee HK. Isolation of flavonoids, a biscoumarin and an amide from the flower buds of

Daphne genkwa and the evaluation of their anti-complement activity. *Phytother Res* 2006; 20(7): 610-3.

20. Ulubelen A, Terem B, Tuzlaci E. Coumarins and flavonoids from *Daphne gnidioides*. *J Nat Prod* 1986; 49(4): 692-4.
21. Cabrera E, Garcia-Granados A. Phytochemistry of Thymelaeaceae. III. Flavonoids and coumarins from *Daphne gnidium* L. leaves. *An Quim* 1981; 77(1): 31-4.
22. Baba K, Takeuchi K, Hamasaki F, Kozawa M. Chemical studies on the constituents of the Thymelaeaceous plants. I. Structure of two new flavans from *Daphne odora* Thunb. *Chem Pharm Bull* 1986; 34: 595-602.
23. Ulubelen A, Bucker R, Mabry, TJ. Flavone 5-O-glucosides from *Daphne sericea*. *Phytochemistry* 1982; 21(3): 801-3.
24. Chen H, Zhang W, Su J, Chen Y, Shen Y. Chemical Constituents from the Aerial Parts of *Daphne bholua*. *Nat Prod Res Dev* 2009; 21(5): 733-6.
25. Nakao M, Tseng KF. On the composition of *Daphne genkwa* (I.) *Yakuga Zasshi* 1932; 52: 83-88.
26. Zhang Q, Ye N, Su WX, Zhang KM, Jiang JQ. Phytochemical investigation of *Daphne giraldii* Nitsche (Thymelaeaceae). *Biochem Syst Ecol* 2008; 36: 63-7.
27. Wang CF, Li RR, Huang LL, Zhong LQ, Yuan ST. Studies on chemical constituents of *Daphne genkwa*. *Zhong Yao Cai* 2009; 32(4): 508-11.

28. Kurihara T, Kikuchi M. Constituents of flowers. II. Components of the flower of *Daphne odora*. Ann Rept Tohoku Coll Pharm 1973; 20; 35-44.
29. Kapoor SK, Kohli JM, Zaman A. Chemical investigation of *Daphne oleoides*. Indian J Appl Chem 1969; 32: 105-6.
30. Su J, Wu Z, Shen Y, Liua R, Zhang C, Lia H, Zhang W. Flavonoids from *Daphne giraldii* Nitsche. Nat Prod Res 2008; 22(15): 1355-8.
31. Ji CR, Liu YD, Feng WS, Jiang MT, Zhao TZ. "Flavonoids in the Yuanhua Leaf (*Daphne genkwa*)" Chin Trad Herb Drugs 1986; 17: 487-9.
32. Ragot J, Tubery P, Carreras-Jansou M, Lattes A, Symonds P. Isolation of 5-Primeverosil Genkwanin from *Daphne gnidium* Roots. Fitoterapia 1988; 59(4); 336-7.
33. Cottiglia F, Loy G, Garau D, Floris C, Casu M, Pompei R, et al. Antimicrobial evaluation of coumarins and flavonoids from the stems of *Daphne gnidium* L. Phytomedicine 2001; 8(4): 302-5.
34. Liao SG, Zhang BL, Wu Y, Yue J. New phenolic components from *Daphne giraldii*. Helv Chim Acta 2005; 88: 2873-8.
35. Taniguchi M, Fujiwara A, Baba K, Wan NH. Two biflavonoids from *Daphne acutiloba*. Phytochemistry 1998; 49(3): 863-7.
36. Ma TB, Liu SZ, Xu GY. Studies on the chemical constituents of *Daphne genkwa*. Chin Trad Herb Drugs. 1994; 25(1): 7-9.
37. Baba K, Takeuchi K, Kozawa M. Chemical studies on the constituents of the Thymelaeaceous plants. V. Structure of a new biflavonoid,

- daphnodorin D from the root of *Daphne odora* Thunb. *Yakuga Zasshi* 1987; 107 (11): 863-8.
38. Baba K, Yoshikawa M, Taniguchi M, Kozawa M. Biflavonoids from *Daphne odora*. *Phytochemistry* 1995; 38: 1021-6.
 39. Taniguchi M, Baba K. Three biflavonoids from *Daphne odora*. *Phytochemistry* 1996; 42: 1447-53.
 40. Taniguchi M, Fujiwara A, Baba K. Three flavonoids from *Daphne odora*. *Phytochemistry* 1997; 45(1): 183-8.
 41. Zhang WD, Shi QR, Shen YH, Chen HS. A new flavanol from *Daphne genkwa*. *Fitoterapia* 2007; 78: 596-7.
 42. Baba K, Takeuchi K, Tabata Y, Taniguchi M, Kozawa M. Chemical studies on the constituents of the thymelaeaceous plants. IV. Structure of a new spiro biflavonoid, genkwanol A, from the root of *Daphne genkwa* Sieb. et Zucc. *Yakuga Zasshi* 1987; 107(7): 525-9.
 43. Baba K, Taniguchi M, Kozawa M. A spirobiflavonoid genkwanol B from *Daphne genkwa*. *Phytochemistry* 1993; 31(3): 913-6.
 44. Baba K, Taniguchi M, Kozawa M. A third spirobiflavonoid genkwanol C from *Daphne genkwa*. *Phytochemistry* 1993; 33(4): 975-80.
 45. Murray RD, Mendez J, Brown SA. The natural coumarins, occurrence, Chemistry and biochemistry. John Wiley and Sons LTD. New York, 1982.
 46. Majumder PL, Sengupta GC. Chemical Investigation of *Daphne cannabina* Wall. *J Indian Chem Soc* 1968; 45: 1058-60.

47. Craker LE, Simon JE. Herbs, Species and Medicinal Plants: Recent Advances in Botany. Horticulture and Pharmacology. Vol. 2. Canada: Oryx Press; 1987.
48. Kreher B, Neszmelyi A, Wagner H. Triumbellin, a tricoumarin rhamnopyranoside from *Daphne mezereum*. Phytochemistry 1990; 29(11): 3633-7.
49. Ueno K, Saito N. Daphnetin, isolated from *Daphne odora*. Acta Cryst 1976; B32: 946-8.
50. Yeşilada E, Taninaka H, Takaishi Y, Honda G, Sezik E, Momota H, et al. *In vitro* inhibitory effects of *Daphne oleoides* subsp. *oleoides* on inflammatory cytokines and activity-guided isolation of active constituents. Cytokine 2001; 13(6): 359-64.
51. Ergenç N. The Daphnin and Daphnetin of *Daphne pontica* L. İstanbul Ecz Fak Mec 1968; 4: 72-6.
52. Chen J, Liu X, Shi YP. Determination of daphnetin in *Daphne tangutica* and its medicinal preparation by liquid chromatography. Anal Chim Acta 2004; 523: 29-33.
53. Zirvi KA. Isolation of Daphnetin-8-β-Glucoside from *Daphne acuminata*. Planta Med 1977; 31: 119-22.
54. Jevers K, Zirvi KA. The coumarin glycosides of *Daphne acuminata*: Use of ¹³C-NMR Spectroscopy for their identification. Planta Med 1978; 33: 403-6.
55. Ullah N, Ahmed Z, Anis E, Malik A. Phytochemical investigation of *Daphne oleoides*. Fitoterapia 1998; 69(3): 280.

56. Ulubelen A, Tan N, Tuzlacı E. Constituents of *Daphne mucronata* Fitoterapia 1990; 61: 1281.
57. Taninaka H, Takaishi Y, Honda G, Imakura Y, Sezik E, Yesilada E. Terpenoids and aromatic compounds from *Daphne oleoides* subsp. *oleoides*. Phytochemistry 1999; 52: 1525-9.
58. Riaz M, Malik A, Sadhozai SK, Hussain M, Ullah N. Daphwazirin, biscoumarin glycopyranoside from *Daphne oleoides*. Nat Prod Lett 2001; 15(6): 433-8.
59. Zhuang LG, Seligmann O, Jurcic K, Wagner H. Inhaltsstoffe von *Daphne tangutica*. Planta Med 1982; 45: 172-6.
60. Riaz M, Krohn K, Wray V, Malik A. Dicoumarinyl ether glycoside from the roots of *Daphne oleoides*. Eur J Org Chem 2002; 1436-8.
61. Ullah N, Ahmed S, Malik A. A novel dicoumarin glucoside from *Daphne oleoides*. Phytochemistry 1999; 51: 99-101.
62. Ullah N, Ahmed S, Muhammad P, Ahmed Z, Nawaz HR, Malik A. Coumarinolignoid glycoside from *Daphne oleoides*. Phytochemistry 1999; 51: 103-5.
63. Zhuang LG, Seligmann O, Wagner H. Daphneticin, a coumarinolignoid from *Daphne tangutica*. Phytochemistry 1983; 22 (2): 617-9.
64. Ullah N, Sonja P, Haslinger E, Ahmad W, Arfan M, Malik A. A lignoid glycoside and dimeric phenylpropanoids from *Daphne oleoides*. Helv Chim Acta 2001; 84: 157-62.
65. Okunishi T, Takaku N, Wattanawikkit P, Sakakibara N, Suzuki S, Sakai F, et al. Lignan Production in *Daphne odora* Cell Cultures J Wood Sci 2002; 48: 237-41.

66. Su J, Wu Z, Shen Y, Zhang C, Zhang W. Lignans from *Daphne giraldii*. Chem Nat Compd 2008; 44: 648-50.
67. Konishi T, Wada S, Kiyosawa S. Constituents of the leaves of *Daphne pseudo-mezereum*. Yakuga Zasshi 1993; 113: 670-5.
68. Pan L, Zhang XF, Deng Y, Zhou Y, Wang H, Ding LS. Chemical constituents investigation of *Daphne tangutica*. Fitoterapia 2010; 81: 38-41.
69. Ullah N, Ahmad S, Anis E, Mohammad P, Rabnawaz H, Malik A. A lignan from *Daphne oleoides*. Phytochemistry 1999; 50: 147-9.
70. Liang S, Shen YH, Tian JM, Wu ZJ, Jin HZ, Zhang WD, Yan SK. Phenylpropanoids from *Daphne feddei* and their inhibitory activities against NO production. J Nat Prod 2008; 71(11): 1902-5.
71. Zhuang LG, Seligmann O, Lotter H, Wagner H. (-)-Dihydrosesamin, a lignan from *Daphne tangutica*. Phytochemistry 1983; 22: 265-7.
72. Chen YQ, Su J, Shen YH, Zhang W, Hu XJ, Xu WZ, et al. Studies on chemical constituents of *Daphne holosericea* (Diels) Hamaya. Chin Pharm J 2008; 43(19): 1453-6.
73. Liang S, Shen YH, Tian JM, Wu ZJ, Jin HZ, Zhang WD, et al. Three new dicoumarins from *Daphne feddei*. Helv Chim Acta 2009; 92: 133-8.
74. Wang MT, Li YZ, Zhao TZ, Ji CR, Feng WS, Liu YZ. A new lignanoid from the leaves of *Daphne genkwa*. Yao Xue Xue Bao 1990; 25(11): 866-8.

75. Okunishi T, Sakakibara N, Suzuki S, Umezawa T, Shimada M, Stereochemistry of matairesinol formation by of *Daphne* secoisolariciresinol dehydrogenase. J Wood Sci 2004; 50: 77-81.
76. Ullah N, Ahmed S, Ahmed Z, Muhammad P, Malik A. Dimeric guaianolides from *Daphne oleoides*. Phytochemistry 1999; 51: 559-62.
77. Stout GH, Balkenhol WG, Poling M, Hickernell GL. The isolation and structure of daphnetoxin, the poisonous principle of *Daphne* species. J American Chem Soc 1970; 92: 1070-1.
78. Kasai R, Lee KH, Huang HC. Genkwadaphnin, a potent antileukemic diterpene from *Daphne genkwa*. Phytochemistry 1981; 20(11): 2592-4.
79. Ronlan A, Wickberg B. The structure of mezerein, a major toxic principle of *Daphne mezereum* L. Tetrahedron Lett 1970; 49: 4261-4.
80. Mukherjee K, Ray LN. Chemical Examination of *Daphne oleoides*. J Indian Chem Soc 1979; 56: 437-8.
81. Maiti PC, Barua AK, Ray AK, Ray S. Triterpenes from *Daphne cannabina* Wall. Sci and Cult 1963; 29: 160-1.
82. Chengrui W, Baozhu A, Shimin LI, Bingnan Z. The studies on the bioactive Diterpenes from *Daphne giraldii*. Acta Chim Sinica 1987; 45: 993-6.
83. Doğanca S, Apak S. *Daphne pontica* L. Üzerinde Fitokimyasal Araştırmalar. Mar Üniv Ecz Der 1986; 2(2): 157-60.
84. Liu RH, Mei CY, Shao F, Ren G, Huang HL, Chen SS, et al. Studies on the chemical constituents from *Daphne tangutica*. Zhong Yao Cai 2009; 32(12): 1846-7.

85. Grieve M, Lyle CF, A Modern Herbal The Medicinal, Culinary, cosmetic and economic properties, cultivation and folklore of herbs, grasses, fungi; shrubs and trees. Vol. 2. New York: Hener Publishing Co.; 1967.
86. Zhang W, Zhang WD, Li TZ, Liu RH, Li HL, Chen HS. A new flavan from *Daphne odora* var. *atrocaulis*. *Fitoterapia* 2004; 75: 799-800.
87. Sharma RC, Zaman A, Kidwai R. Chemical examination of *Daphne papyracea* Wall. *Indian J Chem* 1964; 2: 509-10.
88. Shrestkha RM, Obolenskaya AV, Leonovich AA. Complex use of *Daphne bholua* in paper manufacture. I. Chemical composition of bast and woodparts. *Khim Drev* 1989; (1): 76-81.
89. Mel CD. Interesting sources of natural dyestuffs textile colorist 1939; 61: 199-201.
90. Lee MY, Park BY, Kwon OK, Yuk JE, Oh SR, Kim HS, et al. Anti-inflammatory activity of (-)-aptosimon isolated from *Daphne genkwa* in RAW264.7 cells. *Int Immunopharmacol* 2009; 9: 878-85.
91. Noro T, Oda Y, Miyase T, Ueno A, Fukushima S. Inhibitors of xanthine oxidase from the flowers and buds of *Daphne genkwa*. *Chem Pharm Bull* 1983; 31: 3984-7.
92. Hong CH, Hur SK, Oh OJ, Kim SS, Nam KA, Lee SK. Evaluation of natural products on inhibition of inducible cyclooxygenase (COX-2) and nitric oxide synthase (iNOS) in cultured mouse macrophage cells. *J Ethnopharmacol* 2002; 82: 153-9.
93. Küpeli E, Tosun A, Yesilada E. Assessment of anti-inflammatory and antinociceptive activities of *Daphne pontica* L. (Thymelaeaceae). *J Ethnopharmacol* 2007; 113: 332-7.

94. Hu X, Jin H, Xu W, Zhang W, Liu X, Yan S, et al. Anti-inflammatory and analgesic effects of *Daphne retusa* Hemsl. J Ethnopharmacol 2008; 120: 118-22.
95. Harizi H, Chaabane F, Ghedira K, Chekir-Ghedira L. Inhibition of proinflammatory macrophage responses and lymphocyte proliferation *in vitro* by ethyl acetate leaf extract from *Daphne gnidium*. Cell Immunol 2011; 267: 94-101.
96. Sakuma S, Fujimoto Y, Tsunomori M, Tagano S, Nishida H, Baba K, Fujita T. Effects of Daphnodorin A, B and C, New flavans isolated from traditional Chinese medicine, on the 12-lipoxygenase and cyclooxygenase metabolism of arachidonic acid in rabbit platelets. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids 1998; 58: 143-6.
97. Deiana M, Rosa A, Casu V, Cottiglia F, Bonsignore L, Dessi MA. Chemical composition and antioxidant activity of extracts from *Daphne gnidium* L. J Am Oil Chem Soc 2003; 80(1): 65-70.
98. Liu J, Tian J, He W, Xie J, Hu Z, Chen X. Spectrofluorometric study of the binding of daphnetin to bovine serum albumin. J Pharm Biomed Anal 2004; 35: 671-7.
99. Park BY, Min BS, Ahn KS, Kwon OK, Joung H, Bae KH, et al. Daphnane diterpene esters isolated from flower buds of *Daphne genkwa* induce apoptosis in human myelocytic HL-60 cells and suppress tumor growth in Lewis lung carcinoma (LLC)-inoculated mouse model. J Ethnopharmacol 2007; 111: 496–503.
100. Zhan ZJ, Fan CQ, Ding J, Yue JM. Novel diterpenoids with potent inhibitory activity against endothelium cell HMEC and cytotoxic activities from a well-known TCM plant *Daphne genkwa*. Bioorgan Med Chem 2005; 13: 645-55.

- 101.**Zhang S, Li X, Zhang F, Yang P, Gao X Song Q. Preparation of yuanhuacine and relative daphne diterpene esters from *Daphne genkwa* and structure-activity relationship of potent inhibitory activity against DNA topoisomerase I. *Bioorgan Med Chem* 2006; 14: 3888-95.
- 102.**Zheng W, Gao X, Chen C, Tan R. Total flavonoids of *Daphne genkwa* root significantly inhibit the growth and metastasis of Lewis lung carcinoma in C57BL6 mice. *Int Immunopharmacol* 2007; 7: 117-27.
- 103.**Ren XF, Peng K, Chen XC, Xie XG, Xia YM, Pan XF. First enantioselective synthesis of daphneticin. *Chinese Chem Lett* 2003; 14(6): 551-4.
- 104.**Yazdanparast R, Sadeghi H. Nucleic acid synthesis in cancerous cells under the effect of gnidilatimonoein from *Daphne mucronata*. *Life Sci* 2004; 74: 1869-76.
- 105.**Dagang W, Sorg B, Adolf W, Seip EH, Hecker E. Oligo- and macrocyclic diterpenes in Thymelaeaceae and Euphorbiaceae occurring and utilized in Yunnan (Southwest China). 1. Daphnane type diterpene esters from *Daphne feddei*. *Phytoter Res* 1991; 5: 163-8.
- 106.**Kogiso S, Wada K, Munakata K. Odoracin, A nematicidal constituent from *Daphne odora*. *Agr Biol Chem* 1976; 40: 2119-20.
- 107.**Inamori Y, Takeuchi K, Baba K, Kozawa M. Antifungal and Insecticidal activities of daphnodorins A, B and C. *Chem Pharm Bull* 1987; 35: 3931-4.
- 108.**Murakami S, Arai I, Muramatsu M, Otomoto S, Baba K, Kozawa M. Daphnodorins inhibit gastric H⁺,K⁺-ATPase and acid secretion. *Pharm Pharmacol Lett* 1992; 2: 108-11.

- 109.**Zhang Y, Zhang H, Hua S, Ma L, Chen C, Liu X, et al. Identification of two herbal compounds with potential cholesterol-lowering activity. *Biochem Pharmacol* 2007; 74: 940-7.
- 110.**Baytop T. Türkiye'nin Tıbbi ve Zehirli Bitkileri. İstanbul: İstanbul Üniversitesi Yayınları; 1963.
- 111.**Adams M, Berset C, Kessler M, Hamburger M. Medicinal herbs for the treatment of rheumatic disorders-A survey of European herbals from the 16th and 17th century. *J Ethnopharmacol* 2009; 121:343-59.
- 112.**Cooper MR, Johnson AW. Poisonous plants in Britain and their effects on animals and man. London: M.R.C.V.S.; 1984.
- 113.**Şahin D, Özbay N. Patoloji & Histoloji. 2. baskı. Ankara: Tusem Tıbbi Yayıncılık; 2007. 423-6.
- 114.**Peşin İ. *Hypericum perforatum* L. ve *Hypericum scabrum* L. Bitkilerinin Yara iyileştirici ve antienflamatuvar aktiviteleri üzerinde çalışmalar. Yüksek Lisans. Ankara: Gazi Üniversitesi; 2007.
- 115.**Gence H. Fötal yara iyileşmesi. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası 2008; 61(3): 171-9.
- 116.**Arslantaş MK. İskemik yara tedavisinde eritropoetinin etkinliği. Tıpta Uzmanlık Tezi. İstanbul: İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi; 2007.
- 117.**Zeren İ. Yara iyileşmesi ve kollajen. Tüm yönleriyle yara iyileşmesi. Ankara: TDD Yayınları; 1996.
- 118.**Ertoý D. Yara iyileşmesinin histopatolojisi. Tüm yönleriyle yara iyileşmesi. Ankara: TDD Yayınları; 1996.
- 119.**Kondo T. Timing of skin wounds. *Legal Med* 2007; 9: 109-14.

- 120.**Kondo T, Ishida Y. Molecular pathology of wound healing. *Forensic Sci Int* 2010; 203: 93–8.
- 121.**Ciğer S. Yara iyileşmesi ve büyüme faktörleri. Tüm yönleriyle yara iyileşmesi. Ankara: TDD Yayınları; 1996.
- 122.**Şahin D, Özbay N. *Patoloji & Histoloji*. 2. baskı. Ankara: Tusem Tıbbi Yayıncılık; 2007. 423-6.
- 123.**İnan Y. *Patoloji*. 2. baskı. İstanbul: Klinisyen Tıp Kitabevleri; 2006.
- 124.**Falanga V. The chronic wound: impaired healing and solutions in the context of wound bed preparation *Blood Cell Mol Dis* 2004; 32: 88–94.
- 125.**Krishan P. The scientific study of herbal wound healing therapies: Current state of play. *Curr Anaest* 2006; 17 (1,2): 21-7.
- 126.**Khanna S. Venojarvi M. Roy S. Sharma N. Trikha P. Bagchi D. Dermal wound healing properties of redox-active grape seed proanthocyanidins. *Free Rad Biol Med* 2002; 33: 1089-96.
- 127.**Menke NB, Ward KR, Witten TM, Bonchev DG, Diegelmann RF. Impaired wound healing. *Clin Dermatol* 2007; 25: 19-25.
- 128.**Shasrabudhe A, Deodhar M. Anti-hyaluronidase, anti-elastase activity of *Garcinia indica*. *Int J Bot* 2010; 6(3): 299-303.
- 129.**Chah KF, Eze CA, Emurlosi CE, Esimone CO. Antibacterial and wound-healing properties of methanolic extracts of some Nigerian medicinal plants. *J Ethnopharmacol* 2006; 104: 164-67.

- 130.**Baie SH, Sheik KH. The wound healing properties of *Channa striatus*-cetrimide cream-tensile strength measurement. J Ethnopharmacol 2000; 71: 93–100.
- 131.**Saha K, Mukherjee PK, Das J, Pal M, Saha BP. Wound healing activity of *Leucas lavandulaefolia* Rees. J Ethnopharmacol 1997; 56: 139-44.
- 132.**Rasik AM, Raghubir R, Gupta A, Shukla A, Dubey MP, Srivastava S, Jain HK, Kulshrestha DK. Healing potential of *Calotropis procera* on dermal wounds in Guinea pigs. J Ethnopharmacol 1999; 68: 261-6.
- 133.**Zwaldo-Klarwasser G, Görlitz K, Hafemann B, Klee D, Klosterhalfen B. The chorioallantoic membrane of the chick embryo as a simple model for the study of the angiogenic and inflammatory response to biomaterials. J Materials Sci 2001; 12 (3): 195-9.
- 134.**Nithya M, Suguna L, Rosa C, The effect of nerve growth factor on the early responses during the process of wound healing. BBA 2003; 1620: 25-31.
- 135.**Sumitra M. Manikandan P. Suguna L. Efficacy of *Butea monosperma* on dermal wound healing in rats. Int J Biochem Cell Biol 2005; 37: 566-73.
- 136.**Getie M, Gebre Mariam T, Reitz R, Neubert RH. Evaluation of the release profiles of flavonoids from topical formulations of the crude extract of the leaves of *Dodonea viscosa* (Sapindaceae). Pharmazie 2002; 57: 320-2.
- 137.**Shetty S, Udupa S, Udupa L. Evaluation of antioxidant and wound healing effects of alcoholic and aqueous extract of *Ocimum sanctum* Linn in rats. Evid-Based Compl Alt 2008; 5: 95-101.

- 138.**Spanos GA, Wrolstad RE. Influence of processing and storage on the phenolic composition of Thompson seedless grape juice. *J Agric Food Chem* 1990; 38 (7): 1565–71.
- 139.**Lodhi S, Pawar RS, Jain AP, Singhai AK. Wound healing potential of *Tephrosia purpurea* (Linn.) Pers. in rats. *J Ethnopharmacol* 2006; 108: 204-10.
- 140.**Suguna L, Singh S, Sivakumar P, Sampath P, Chandrakasan G. Influence of *Terminalia chebula* on dermal wound healing in rats. *Phytother Res* 2002; 16: 227-31.
- 141.**Süntar I, Baldemir A, Coşkun M, Keleş H, Küpeli Akkol E. Wound healing acceleration effect of endemic *Ononis* species growing in Turkey. *J Ethnopharmacol* 2011; 135: 63-70.
- 142.**Sadaf F, Saleem R, Ahmed M, Ahmad SI, Navaid-ul Z. Healing potential of cream containing extract of *Sphaeranthus indicus* on dermal wounds in guinea pigs. *J Ethnopharmacol* 2006; 107: 161-3.
- 143.**Küpeli Akkol E, Süntar I, Keleş H, Yeşilada E. The potential role of female flowers inflorescence of *Typha domingensis* Pers. in wound management. *J Ethnopharmacol* 2011; 133, 1027-32.
- 144.**Peşin Süntar İ, Küpeli Akkol E, Yılmaz D, Baykal T, Alper M, Kırmızıbekmez H, Yesilada E. Investigations on the in vivo wound healing potential of *Hypericum perforatum* L. *J Ethnopharmacol* 2010; 127: 468–77.
- 145.**Süntar, İ., Tatlı, İ.İ., Küpeli Akkol, E., Keleş, H., Kahraman, C., Akdemir, Z., An ethnopharmacological study on *Verbascum* species: From conventional wound healing use to scientific verification. *J Ethnopharmacol* 2010; 132: 408-13.

- 146.**Woessner JF. The determination of hydroxyproline in tissue and protein samples containing small proportions of this imino acid. Arch Biochem Biophys 1961; 93: 440-7.
- 147.**Değim Z, Çelebi N, Sayan H, Babül A, Erdoğan D, Take G. An investigation on skin wound healing in mice with a taurine-chitosan gel formulation. Amino Acids 2002; 22: 187-98.
- 148.**Küpeli E. *Berberis crataegina* DC. Bitkisinin Romatizma Tedavisindeki Etkisi Üzerinde Çalışmalar. Yüksek Lisans. Ankara: Gazi Üniversitesi; 2000.
- 149.**Kumarasamy Y, Nahar L, Cox PJ, Jaspars M, Sarker SD. Bioactivity of secoiridoid glycosides from *Centaurium erythraea*. Phytomedicine 2003; 10: 344-7.
- 150.**Edwards JV, Howley F, Cohen IK. In vitro inhibition of human neutrophil elastase by oleic acid albumin formulations from derivatized cotton wound dressings. Int J Pharmaceut 2004; 284: 1-12.
- 151.**Lee KK, Choi JD. The effects of *Areca catechu* L. extracts on anti ageing. Int J Cosmetic Sci 1999; 21: 285-94.
- 152.**Barrantes E, Guinea M. Inhibition of collagenase and metalloproteinases by aloins and aloe gel. Life Sci 2003; 72: 843-50.
- 153.**Melzig MF, Löser B, Ciesielski S. Inhibition of neutrophil elastase activity by phenolic compounds from plants. Pharmazie 2001; 56: 967-70.
- 154.**Ma B, Guo HF, Lou HX. A new lignan and two eudesmanes from *Lepidozia vitrea*. Helv Chim Acta 2007; 90: 58-62.

- 155.**Gohari AR, Ebrahimi H, Saeidnia S, Foruzani M, Ebrahimi P, Ajani Y. Flavones and flavone glycosides from *Salvia macrosiphon* Boiss. Iranian J Pharmaceut Res 2011; 10 (2): 247-51.
- 156.**Güvenalp Z, Demirezer LÖ. Flavonol glycosides from *Asperula arvensis* L. Turk J Chem 2005; 29: 163-9.
- 157.**Tabata M, Sezik E, Honda G, Yeşilada E, Fukui H, Goto K, Ikeshiro Y. Traditional Medicine in Turkey III. Folk medicine in East Anatolia, Van and Bitlis Provinces. Int J Pharmacogn 1994; 32(1): 3-12.
- 158.**Sezik E, Zor M, Yeşilada E. Traditional Medicine in Turkey II. Folk medicine in Kastamonu. Int J Pharmacogn 1992; 30: 233-9.
- 159.**Sezik E, Yeşilada E, Tabata M, Honda G, Takaishi Y, Fujita T. et al. Traditional medicine in Turkey VIII. Folk medicine in East Anatolia; Erzurum, Erzincan, Ağrı, Kars, Iğdır Provinces. Econ Bot 1997; 51(3): 195-211.
- 160.**Kumar V. Cotran RS. Robbins SL. Robbins Basic Pathology. 7. baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi; 2003. 61-78.
- 161.**Cai Q, Rahn RO, Zhang R. Dietary flavonoids quercetin, luteolin and genistein, reduce oxidative DNA damage and lipid peroxidation and quench free radicals. Cancer Lett 1997; 119: 99-107.
- 162.**Horvathova K, Chalupa I, Sebova L, Tohtova D, Vachalkova A. Protective effect of quercetin and luteolin in human melanoma HMB-2 cells. Mutat Res 2005; 565: 105-12.
- 163.**Odontuya G, Hault JR, Houghton PJ. Structure-activity relationship for anti-inflammatory effect of luteolin and its derived glycosides. Phytother Res 2005; 19:782-6.

- 164.**Lemanska K, Van der WH, Szymusiak H, Boersma MG, Gliszczynska-Swiglo A, Rietjens IM, et al. The effect of catechol O-metylation on radical scavenging characteristics of quercetin and luteolin-a mechanistic insight. *Free Radic Res* 2004; 38; 639-47.
- 165.**Yeşilada E, Tsuchiya K, Takaishi Y, Kawazoe K. Isolation and characterization of free radical scavenging flavonoid glycosides from the flowers of *Spartium junceum* by activity-guided fractionation. *J Ethnopharmacol* 2000; 73: 471-8.
- 166.**Pettit GR, Hoard MS, Doubek DL, Schmidt JM, Pettit RK, Tackett LP, et al. Antineoplastic agents 338. The cancer cell growth inhibitory. Constituents of *Terminalia arjuna* (Combretaceae). *J Ethnopharmacol* 1996; 53: 57-63.
- 167.**Basile A, Giordano S, Lopez-Saez JA, Cobianchi RC. Antibacterial activity of pure flavonoids isolated from mosses. *Phytochemistry* 1999; 52: 1479-82.
- 168.**Sato Y, Suzaki S, Nishikawa T, Kihara M, Shibata H, Higuti T. Phytochemical flavones isolated from *Scutellaria barbata* and antibacterial activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Ethnopharmacol* 2000; 72: 483-8.
- 169.**Chung JG, Hsia TC, Kuo HM, Li YC, Lee YM, Lin SS, Hung CF. Inhibitory actions of luteolin on the growth and arylamine N-acetyltransferase activity in strains of *Helicobacter pylori* from ulcer patients. *Toxicol In Vitro* 2001; 15: 191-8.
- 170.**Xu HX, Lee SF. Activity of plant flavonoids against antibiotic- resistant bacteria. *Phytother Res* 2001; 15: 39-43.

171. Zhu X, Zhang H, Lo R. Phenolic compounds from the leaf extract of artichoke (*Cynara scolymus* L.) and their antimicrobial activities. *J Agric Food Chem* 2004; 52: 7272-8.
172. Tshikalange TE, Meyer JJ, Hussein AA. Antimicrobial activity, toxicity and the isolation of a bioactive compound from plants used to treat sexually transmitted diseases. *J Ethnopharmacol* 2005; 96: 515-9.
173. Sousa A, Ferreira IC, Calhelha R, Andrade PB, Valentao P, Seabra R. et al. Phenolics and antimicrobial activity of traditional stoned table olives 'alcaparra'. *Bioorg Med Chem* 2006; 14: 8533-8.
174. Wleklík M, Luczak M, Panasiak W, Kobus M, Lammer-Zarawska E. Structural basis for antiviral activity of flavonoids naturally occurring compounds. *Acta Virol* 1988; 32: 522-5.
175. Li YL, Ma SC, Yang YT, Ye SM, But PP. Antiviral activities of flavonoids and organic acid from *Trollius chinensis* Bunge. *J Ethnopharmacol* 2002; 79: 365-8.
176. Yi L, Li Z, Yuan K, Qu X, Chen J, Wang G, et al. Small molecules blocking the entry of severe acute respiratory syndrome coronavirus into host cells. *J Virol* 2004; 78: 11334-9.
177. Wu MJ, Weng CY, Ding HY, Wu PJ. Anti-inflammatory and antiviral effects of *Glossogyne tenuifolia*. *Life Sci* 2005; 76: 1135-46.
178. Liu AL, Liu B, Qin HL, Lee SM, Wang YT, Du GH. Anti-influenza virus activities of flavonoids from the medicinal plant *Elsholtzia rugulosa*. *Planta Med* 2008; 74: 847-51.
179. De Campos MP, Cechinel FV, Da Silva RZ, Yunes RA, Zacchino S, Juarez S, et al. Evaluation of antifungal activity of *Piper solmsianum*

C. DC. var. *solmsianum* (Piperaceae). Biol Pharm Bull 2005; 28: 1527-30.

180.Sartori MR, Pretto JB, Cruz AB, Bresciani LF, Yunes RA, Sortino M, et al. Antifungal activity of fractions and two pure compounds of flowers from *Wedelia paludosa* (*Acmela brasiliensis*) (Asteraceae). Pharmazie 2003; 58: 567-9.

181.Kırmızıbekmez H, Atay I, Kaiser M, Brun R, Cartagena MM, Carballeira NM, et al. Antiprotozoal activity of *Melampyrum arvense* and its metabolites. Phytother Res 2011; 25(1): 142-6.

182.Kim JS, Lee HJ, Lee MH, Kim J, Jin C, Ryu JH. Luteolin inhibits LPS-stimulated inducible nitric oxide synthase expression in BV-2 microglial cells. Planta Med 2006; 72: 65-8.

183.Harborne JB Williams CA. Advances in flavonoid research since 1992. Phytochemistry 2000; 55: 481-504.

184.Peters NK, Frost JW, Long SR. A plant flavone, luteolin, induces expression of *Rhizobium meliloti* nodulation genes. Science 1986; 233: 977-80.

185.Plaumann B, Fritsche M, Rimpler H, Brandner G, Hess RD. Flavonoids activate wild-type p53. Oncogene 1996; 13: 1605-14.

186.Chang J, Hsu Y, Kuo P, Kuo Y, Chiang L, Lin C. Increase of Bax/ Bcl-XL ratio and arrest of cell cycle by luteolin in immortalized human hepatoma cell line. Life Sci 2005; 76: 1883-93.

187.Kim JS, Kim JC, Shim SH, Lee EJ, Jin W, Bae K, et al. Chemical constituents of the root of *Dystaenia takeshimana* and their anti-inflammatory activity. Arch Pharm Res 2006; 29: 617-23.

- 188.**Ziyan L, Yongmei Z, Nan Z, Ning T, Baolin L. Evaluation of the anti-inflammatory activity of luteolin in experimental animal models. *Planta Med* 2007; 73: 221-6.
- 189.**Harris GK, Qian Y, Leonard SS, Sbarra DC, Shi X. Luteolin and chrysin differentially inhibit cyclooxygenase-2 expression and scavenge reactive oxygen species but similarly inhibit prostaglandin-E2 formation in RAW 264.7 cells. *J Nutr* 2006; 136: 1517-21.
- 190.**Sadik CD, Sies H, Schewe T. Inhibition of 15-lipoxygenases by flavonoids: structure-activity relations and mode of action. *Biochem Pharmacol* 2003; 65: 773-81.
- 191.**Küpeli E, Aslan M, Gurbuz I, Yesilada E. Evaluation of *in vivo* biological activity profile of isoorientin. *Z Naturforsch* 2004; 59: 787-90.
- 192.**Tormakangas L, Vuorela P, Saario E, Leinonen M, Saikku P, Vuorela H. In vivo treatment of acute *Chlamydia pneumoniae* infection with the flavonoids quercetin and luteolin and an alkyl gallate, octyl gallate, in a mouse model. *Biochem Pharmacol* 2005; 70: 1222-30.
- 193.**Kim JS, Jobin C. The flavonoid luteolin prevents lipopolysaccharide-induced NF-kappaB signalling and gene expression by blocking I kappaB kinase activity in intestinal epithelial cells and bone-marrow derived dendritic cells. *Immunology* 2005; 115: 375-87.
- 194.**Chen CY, Peng WH, Tsai KD, Hsu SL. Luteolin suppresses inflammation-associated gene expression by blocking NF-kappaB and AP-1 activation pathway in mouse alveolar macrophages. *Life Sci* 2007; 81: 1602-14.

- 195.**Choi EM. Modulatory effects of luteolin on osteoblastic function and inflammatory mediators in osteoblastic MC3T3-E1 cells. *Cell Biol Int* 2007; 31: 870-7.
- 196.**Miceli N, Taviano MF, Giuffrida D, Trovato A, Tzakou O, Galati EM. Anti-inflammatory activity of extract and fractions from *Nepeta sibthorpii* Bentham. *J Ethnopharmacol* 2005; 97: 261-6.
- 197.**Ramesh M, Rao YN, Rao AV, Prabhakar MC, Rao CS, Muralidhar N, et al. Antinociceptive and antiinflammatory activity of a flavonoid isolated from *Caralluma attenuata*. *J Ethnopharmacol* 1998; 62: 63-6.
- 198.**Kotanidou, A.; Xagorari, A.; Bagli, E.; Kitsanta, P.; Fotsis, T.; Papapetropoulos A.;, et al. Luteolin reduces lipopolysaccharide induced lethal toxicity and expression of proinflammatory molecules in mice. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 165: 818-23.
- 199.**Xagorari A, Papapetropoulos A, Mauromatis A, Economou M, Fotsis T, Roussos C. Luteolin inhibits an endotoxin-stimulated phosphorylation cascade and proinflammatory cytokine production in macrophages. *J Pharmacol Exp Ther* 2001; 296: 181-7.
- 200.**Das M, Ram A, Ghosh B. Luteolin alleviates bronchoconstriction and airway hyperreactivity in ovalbumin sensitized mice. *Inflamm Res* 2003; 52: 101-6.
- 201.**Filipe P, Haigle J, Silva JN, Freitas J, Fernandes A, Maziere JC. Anti- and pro-oxidant effects of quercetin in copper-induced low density lipoprotein oxidation. Quercetin as an effective antioxidant against pro-oxidant effects of urate. *Eur J Biochem* 2004; 271: 1991-9.

- 202.**Küpeli E, Yesilada E. Flavonoids with anti-inflammatory and antinociceptive activity from *Cistus laurifolius* L. leaves through bioassay-guided procedures. *J Ethnopharmacol* 2007; 112(3): 524-30.
- 203.**Formica JV, Regelson W. Review of the biology of Quercetin and related bioflavonoids. *Food Chem Toxicol* 1995; 33: 1061-80.
- 204.**Wadsworth TL, Koop DR. Effects of the wine polyphenolics quercetin and resveratrol on proinflammatory cytokine expression in RAW 264.7 macrophages. *Biochem Pharmacol* 1999; 57: 941-9.
- 205.**Shenouda NS, Zhou C, Browning JD, Ansell PJ, Sakla MS, Lubahn DB, et al. Phytoestrogens in common herbs regulate prostate cancer cell growth in vitro. *Nutr Cancer* 2004; 49: 200–8.
- 206.**Huang YT, Hwang JJ, Lee PP, Ke FC, Huang JH, Huang CJ. Effects of luteolin and quercetin, inhibitors of tyrosine kinase, on cell growth and metastasis-associated properties in A431 cells overexpressing epidermal growth factor receptor. *Br J Pharmacol* 1999; 128: 999-1010.
- 207.**Nair HK, Rao KV, Aalinkeel R, Mahajan S, Chawda R, Schwarts SA. Inhibition of prostate cancer cell colony formation by the flavonoid quercetin correlates with modulation of specific regulatory genes. *Clin Diagn Lab Immunol* 2004; 11: 63-9.
- 208.**Mertens-Talcott SU, Talcott ST, Percival SS. Low concentrations of quercetin and ellagic acid synergistically influence proliferation, cytotoxicity and apoptosis in MOLT-4 human leukemia cells. *J Nutr* 2003; 133: 2669-74.
- 209.**Mertens-Talcott SU, Percival SS. Ellagic acid and quercetin interact synergistically with resveratrol in the induction of apoptosis and cause

transient cell cycle arrest in human leukemia cells. *Cancer Lett* 2005; 218: 141-51.

210.Wadsworth TL, McDonald TL, Koop DR. Effects of *Ginkgo biloba* extract (EGb 761) and quercetin on lipopolysaccharide-induced signaling pathways involved in the release of tumor necrosis factor alpha. *Biochem Pharmacol* 2001; 62: 963-74.

211.Peşin Süntar İ, Küpeli Akkol E, Yalçın FN, Koca U, Keleş H, Yeşilada E. Wound healing potential of *Sambucus ebulus* L. leaves and isolation of an active component, quercetin 3-O-glucoside. *J Ethnopharmacol* 2010;129: 106–14.

212.Song L, Xu M, Lopes-Virella MF, Huang Y. Quercetin inhibits matrix metalloproteinase-1 expression in human vascular endothelial cells through extracellular signal-regulated kinase. *Arch Biochem Biophys* 2001; 391(1): 72-8.

213.Saragusti AC, Ortega MG, Cabrera JL, Estrin DA, Marti MA, Chiabrando GA. Inhibitory effect of quercetin on matrix metalloproteinase 9 activity molecular mechanism and structure-activity relationship of the flavonoid-enzyme interaction. *Eur J Pharmacol* 2010; 644(1-3): 138-45.

214.Ruszczak Z. Effect of collagen matrices on dermal wound healing *Adv Drug Deliver Rev* 2003; 55: 1595-1611.

215.Pilcher BK, Sudbeck BD, Dumin JA, Welgus HG, Parks WC. Collagenase-1 and collagen in epidermal repair. *Arch Dermatol Res* 1998; 290: 37-46.

10. EKLER

Etik Kurul İzin Belgeleri



T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı

06/07/2008

SAYI : B.30.2.GÜN.0.EU.00.00/ 74-10834
KONU:

Sayın


Doç.Dr.Esra AKKOL
Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Farmakognozi Anabilim Dalı
Öğretim Üyesi

G.Ü.ET-08.037 kod numaralı ve "Türkiye'de halk arasında yara iyileştirici amaçla kullanılan bazı bitkilerin yara iyileştirici aktivite yönünden incelenmesi" başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.

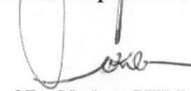
Bilgilerinizi saygılarımla rica ederim.

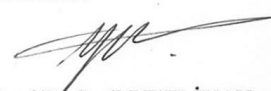
It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-08.037 and entitled "Analyzes of Wound Healing Activities of Selected Plants Used For Wound Healing in as Folk Medicine in Turkey" is in compliance with Gazi University Animal Experiments Local Ethics Committee regulations.

With my best regards.

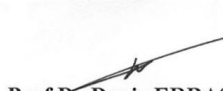

Prof.Dr.Gökhan ALPASLAN
Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkan V.
Chairman (Ed Hoc)
Gazi University Animal Experiments Ethics Committee


Prof.Dr.Engin ÇALGÜNER


Prof.Dr.Nedret KILIÇ


Prof.Dr.Sevil PEHLİVAN


Prof.Dr.Deniz ERDOĞAN


Prof.Dr.Deniz ERBAŞ


Prof.Dr.Fatma AKAR


Prof.Dr.Altan DOĞAN


Doç.Dr.Nesrin ÇOBANOĞLU


Uzman Dr.Şeyda DİKER


Vet.Hek.Dr.Osman İÇ


Ayşen KAÇMAZ



T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
REKTÖRLÜĞÜ

Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı

09.03/2010

SAYI : B.30.2.GÜN.0.05.06.00/66-3951
KONU:

Sayın


Prof.Dr.Turhan BAYKAL
Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Farmakognози Anabilim Dalı
Öğretim Üyesi

G.Ü.ET-10.027 kod numaralı ve “*Daphne oleoides Schreber ssp.oleoides ve Daphne oleoides Schreber ssp.kurdica (Bornm.) Bornm. Bitkilerinin Yara İyileştirici ve Antiinflatuvar Aktivitelerinin Değerlendirilmesi*” başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi saygılarımla rica ederim.

It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-10.027 and entitled “*Evaluation of the Wound Healing and Antiinflammatory Activities of Daphne oleoides Schreber ssp. oleoides and Daphne oleoides Schreber ssp. kurdica (Bornm.) Bornm.*” is in compliance with Gazi University Animal Experiments Local Ethics Committee regulations.

With my best regards.


Prof.Dr.Gökhan ALPASLAN
Gazi Üniversitesi
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanı

TEŞEKKÜR

Doktora danışmanlığımı üstlenerek bana her türlü destek ve yardımı sağlayan, teşvikleri ile bana yol gösteren Değerli Hocam Sayın Prof. Dr. Turhan BAYKAL'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamın yürütülmesi sırasında bilgi ve tecrübelerini benden esirgemeyen, tüm enerjisi, özverisi ve anlayışıyla her zaman yanımda olan ikinci Danışman Hocam Sayın Doç. Dr. Esra KÜPELİ AKKOL'a ve çalışmalarımın her aşamasında bilgi ve önerileriyle beni yönlendiren, zamanını ve ilgisini hiçbir zaman eksik etmeyen Hocam Sayın Prof. Dr. Erdem YEŞİLADA'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İzolasyon ve yapı tayini çalışmalarında bana laboratuvarında çalışma imkanı veren Sayın Prof. Satyajit SARKER'a; histopatolojik değerlendirmelerin yapılmasında emeği geçen Sayın Yrd. Doç. Dr. Hikmet KELEŞ'e; verdiği değerli bilgilerle botanik bölümünün şekillendirilmesindeki katkılarından dolayı Sayın Doç. Dr. Galip AKAYDIN'a ve tez çalışmalarım sırasında bana yardımcı olan Anabilim Dalı'ndaki diğer bütün hocalarıma ve asistan arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Güler yüzüyle her zaman yanımda olan ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen pozitif enerjili sevgili eşim Ahmet SÜNTAR'a, bana daima güç veren ve bu günlere gelmemi sağlayan aileme teşekkür ederim.

Doktora programı süresince çalışmalarımı Yurt İçi Doktora ve Yurt Dışı Araştırma Bursu vererek destekleyen Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu'na (TÜBİTAK) teşekkürlerimi sunarım.

11. ÖZGEÇMİŞ

Adı: İpek

Soyadı: SÜNTAR

Doğum Yeri ve Tarihi: Nazilli, 03.10.1983

Eğitimi:

2008-2011 Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı'nda Doktora

2005-2007 Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Programı'nda Yüksek Lisans

2005 Aralık Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı'na Araştırma Görevlisi olarak atandı.

2005 Eylül Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakognozi Programı'nda Yüksek Lisans çalışmalarına başladı.

2001-2005 Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Ankara (Lisans)

1998-2001 Sürmene Anadolu Lisesi (Sürmene-Trabzon), Anamur Anadolu Lisesi (Anamur-Mersin) (Lise)

1994-1998 Susurluk Anadolu Lisesi (Susurluk-Balıkesir), Karabük Anadolu Lisesi (Karabük), Sürmene Anadolu Lisesi (Sürmene-Trabzon) (Ortaokul)

1989-1994 Mutki Atatürk İlkokulu (Mutki-Bitlis), Mehmet Akif Ersoy İlkokulu (Savaştepe-Balıkesir)

Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar:

Farmakognozi ve Fitoterapi Derneği (FFD)

The Phytochemical Society of Europe (PSE)

Society for Medicinal Plant and Natural Product Research (GA)

Association for Medicinal and Aromatic Plants of Southeast European Countries (AMAPSEEC)

Kazandığı Burslar ve ödülleri:

1. Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi 2005 mezunu-onur listesi.
2. TÜBİTAK-Bilim İnsanı Destekleme Daire Başkanlığı (BİDEB) Yurtiçi Yüksek Lisans Bursu (2006-2007)
3. TÜBİTAK-Bilim İnsanı Destekleme Daire Başkanlığı (BİDEB) Yurtiçi Doktora Bursu (2008-2011)
4. TÜBİTAK-Bilim İnsanı Destekleme Daire Başkanlığı (BİDEB) Yurtdışı Araştırma Bursu (University of Wolverhampton-İngiltere, Eylül 2010-Mart 2011)
5. TÜBİTAK-Bilim İnsanı Destekleme Daire Başkanlığı (BİDEB) Yurtdışı Bilimsel Etkinliklere Katılma Desteği Programı (Trends in Natural Products Research, a PSE young scientists' meeting. June 12-25, 2011, Kolymvari-Crete, Greece)
6. Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi ulusal ve uluslararası kongrelere katılım desteği
7. Biyolojik Aktivite Dalında Poster Birinciliği Ödülü (The 14th International Congress Phytopharm, July 1-3, 2010, Saint-Petersburg, Russia)
8. Phytochemical Society of Europe - Kongre Katılım Desteği (PSE-CSIC-Young Scientists Meeting. Future Trends in Phytochemistry in the Global Era of Agri-food and Health. May 12-14, 2009 Los Narejos-Los Alcazares-Murcia, Spain)
9. Congrès International sur les Plantes Aromatiques et M dicinales-Kongre Katılım Desteđi (3th International Congress on Aromatic and Medicinal Plants-CIPAM 2011, April 13-15, 2011, Cagliari, Italy)
10. TÜBİTAK yayın teşvik ödülleri (2008-2010)
11. Gazi Üniversitesi yayın teşvik ödülleri (2008-2010)

Projeler:

1. Küpeli, E., Baykal, T., **Peşin, İ.**: *Olea europea* L. Bitkisinin Analjezik ve Antienflamatuvar Aktivitesi  zerinde Araştırmalar, Gazi Üniversitesi Araştırma Fonu, Bilimsel AraŐtırmaları Destekleme Müdürlüğü, Proje no: 02/2006-18.
2. Küpeli, E., Baykal, T., **Peşin, İ.**: Bazı *Hypericum* L. Türlerinin Yara İyileştirici Etkisi  zerinde Araştırmalar, Gazi Üniversitesi Araştırma Fonu, Bilimsel AraŐtırmaları Destekleme Müdürlüğü, Proje no: 02/2007-03.
3. Küpeli Akkol, E., Coşkun, M., **Peşin, İ.**, Baldemir, A.: Türkiye’de yetiŐen endemik *Ononis* L. Türleri  zerinde Farmakognozi Yönünden Araştırmalar” Gazi Üniversitesi Araştırma Fonu, Bilimsel AraŐtırmaları Destekleme Müdürlüğü, Proje no: 02/2009-01.
4. Baykal, T., Küpeli Akkol, E., **Süntar İ.** *Cichorium intybus* L. Bitkisinin Yara İyileştirici Etkisi üzerinde alıŐmalar. Gazi Üniversitesi Araştırma Fonu, Bilimsel AraŐtırmaları Destekleme Müdürlüğü, Proje no: 02/2010-01.
5. Baykal, T., Küpeli Akkol, E., **Süntar, İ.** *Daphne oleoides* Schreber subsp. *oleoides* ve *Daphne oleoides* Schreber subsp. *kurdica* (Bornm.) Bornm. Bitkilerinin Yara İyileştirici Aktivitelerinin Değerlendirilmesi. Gazi Üniversitesi Araştırma Fonu, Bilimsel AraŐtırmaları Destekleme Müdürlüğü, Proje no: 02/2010-15.
6. Küpeli Akkol, E., **Süntar, İ.**, Yara iyileşmesine etnofarmakolojik yaklaŐımlar: *Helichrysum graveolens* (Bieb). Sweet Bitkisinin Aktivitesinin Değerlendirilmesi. Gazi Üniversitesi Araştırma Fonu, Bilimsel AraŐtırmaları Destekleme Müdürlüğü, Proje no: 02/2011-34.