

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

***GENTIANA OLIVIERI* GRISEB.'İN NÖROPROTEKTİF ETKİSİ**

**Uzm. Ecz. Sevda KARABEYESER**

**Farmakognozi Programı**  
**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**ANKARA**

**2024**



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

***GENTIANA OLIVIERI* GRISEB.'İN NÖROPROTEKTİF ETKİSİ**

**Uzm. Ecz. Sevda KARABEYESER**

**Farmakognozi Programı**  
**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI**  
**Prof. Dr. Funda Nuray YALÇIN**

**ANKARA**

**2024**

***GENTIANA OLIVIERI* GRİSEB.'İN NÖROPROTEKTİF ETKİSİ****Öğrenci: Sevda KARABEYESER****Danışman: Prof. Dr. Funda Nuray YALÇIN**

Bu tez çalışması 16.04.2024 tarihinde jürimiz tarafından Farmakognozi Programında yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

**Jüri Başkanı:** *Prof. Dr. Ayşe Uz*  
*Hacettepe Üniversitesi*

**Tez Danışmanı:** *Prof. Dr. Funda Nuray YALÇIN*  
*Hacettepe Üniversitesi*

**Üye:** *Dr. Öğr. Üyesi Merve YÜZBAŞIOĞLU BARAN*  
*Sağlık Bilimleri Üniversitesi*

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun bulunmuştur.

*Prof. Dr. Müge YEMİŞCİ ÖZKAN*  
**Enstitü Müdürü**

## YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/raporumun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kağıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Hacettepe Üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alınarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

Yükseköğretim Kurulu tarafından yayınlanan “**Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge**” kapsamında tezim aşağıda belirtilen koşullar haricince YÖK Ulusal Tez Merkezi / H.Ü. Kütüphaneleri Açık Erişim Sisteminde erişime açılır.

- Enstitü / Fakülte yönetim kurulu kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren 2 yıl ertelenmiştir. <sup>(1)</sup>
- Enstitü / Fakülte yönetim kurulunun gerekçeli kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren ... ay ertelenmiştir. <sup>(2)</sup>
- Tezimle ilgili gizlilik kararı verilmiştir. <sup>(3)</sup>

13 /06/2024

Sevda KARABEYESER

i

<sup>1</sup>“Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge”

- (1) Madde 6. 1. Lisansüstü teze ilgili patent başvurusu yapılması veya patent alma sürecinin devam etmesi durumunda, tez **danışmanın** önerisi ve **enstitü anabilim dalının** uygun görüşü üzerine **enstitü** veya **fakülte yönetim kurulu** iki yıl süre ile tezin erişime açılmasının ertelenmesine karar verebilir.
- (2) Madde 6. 2. Yeni teknik, materyal ve metotların kullanıldığı, henüz makaleye dönüşmemiş veya patent gibi yöntemlerle korunmamış ve internetten paylaşılması durumunda 3. şahıslara veya kurumlara haksız kazanç imkanı oluşturabilecek bilgi ve bulguları içeren tezler hakkında tez **danışmanın** önerisi ve **enstitü anabilim dalının** uygun görüşü üzerine **enstitü** veya **fakülte yönetim kurulunun** gerekçeli kararı ile altı ayı aşmamak üzere tezin erişime açılması engellenebilir.
- (3) Madde 7. 1. Ulusal çıkarları veya güvenliği ilgilendiren, emniyet, istihbarat, savunma ve güvenlik, sağlık vb. konulara ilişkin lisansüstü tezlerle ilgili gizlilik kararı, **tezin yapıldığı kurum** tarafından verilir \*. Kurum ve kuruluşlarla yapılan işbirliği protokolü çerçevesinde hazırlanan lisansüstü tezlere ilişkin gizlilik kararı ise, **ilgili kurum ve kuruluşun önerisi** ile **enstitü** veya **fakültenin** uygun görüşü üzerine **üniversite yönetim kurulu** tarafından verilir. Gizlilik kararı verilen tezler Yükseköğretim Kuruluna bildirilir.  
Madde 7.2. Gizlilik kararı verilen tezler gizlilik süresince enstitü veya fakülte tarafından gizlilik kuralları çerçevesinde muhafaza edilir, gizlilik kararının kaldırılması halinde Tez Otomasyon Sistemine yüklenir

\* Tez **danışmanın** önerisi ve **enstitü anabilim dalının** uygun görüşü üzerine **enstitü** veya **fakülte yönetim kurulu** tarafından karar verilir.

## ETİK BEYAN

Bu çalışmadaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında özgün olduğunu, *Prof. Dr. Funda Nuray YALÇIN* danışmanlığında tarafımdan üretildiğini ve Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Yönergesine göre yazıldığını beyan ederim.

*Ecz. Sevda KARABEYESER*

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bana bilgisi ve deneyimiyle yol gösteren, desteği ve anlayışını her zaman hissettiren, karşılaştığım her problemde yanımda olan ve öğrencisi olmaktan büyük mutluluk duyduğum çok kıymetli danışman hocam Prof. Dr. Funda Nuray YALÇIN'a,

Hücre kültürü ve aktivite çalışmalarında desteğini esirgemeyen Prof.Dr. Ülfet Pınar ERKEKOĞLU' na ve Arş.Gör. Deniz Arca ÇAKIR'a,

Tez çalışmalarım boyunca uygun ortam ve şartların oluşmasını sağlayan, desteklerini esirgemeyen önceki Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Funda Nuray YALÇIN'a ve şu anki Anabilim Dalı Başkanımız Prof.Dr. Ayşe UZ'a

Tez çalışmalarım boyunca desteklerini eksik etmeyen Dr. Öğr. Üyesi Nadire ÖZENVER, Dr. Öğr. Üyesi Çiğdem KAHRAMAN başta olmak üzere Farmakognozi ve Farmasötik Botanik ailesindeki tüm öğretim üyelerine,

Bu süreç boyunca yanımda olduklarını her zaman hissettiren, daha keyifli ve anlamlı geçirmemi sağlayan sevgili Halime Eda YALÇIN, Eliz UYANIR, Arş.Gör. Hilal ERDEM ve Arş.Gör. Kübra UZUN başta olmak üzere beraber bu süreci paylaşan arkadaşlarıma,

Tanıştığımız ilk günden bugüne desteklerini hissettiren sevgili Ezgi KAYAN ELUZ, Sümeyra PANCUR, Neslihan SARIKOZ, Hande Nur ÖZALP ve Beyza UĞURTÜRK' e

Bana okumayı, yazmayı öğreterek eğitim hayatımın başlangıcından bugüne kadar beni her koşulda destekleyen, bilgi ve tecrübeleriyle yol gösteren sadece ablam değil arkadaşım da olan sevgili Merve KARABEYESER BAKAN'a,

Eğitim hayatımın başlangıcından itibaren maddi manevi desteklerini esirgemeyen ve beni koşulsuzca seven babam Osman KARABEYESER ve annem Gülsüm KARABEYESER başta olmak üzere aileme,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

## ÖZET

**Karabeyeser S. *Gentiana olivieri*' nin Nöroprotektif Etkisi. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakognozi Programı Yüksek Lisans Tezi. Ankara, 2024.** *Gentiana* cinsi dünyada 400, Türkiye'de 12 türe sahiptir ve bu cinse ait bitkiler uzun yıllardır halk tıbbında geniş bir kullanım yelpazesine sahip olmuşlardır. Bu türlerden *Gentiana olivieri* Griseb. Güneydoğu ve Doğu Anadolu'da halk arasında iştah açıcı, acı tonik, antidiyabetik ve aşırı korkmuş kişilerde oluşan tutukluğun, dona kalmanın giderilmesinde kullanılır. Bu bölgede "Afat", "Afat otu" ismiyle bilinmektedir. Anabilim Dalımızda yapılan çalışmalara devam niteliğinde olan bu çalışmada Gaziantep bölgesinden ticari olarak yetiştirilen *Gentiana olivieri*' nin toprak üstü kısımlarının fitokimyasal içeriğinin belirlenmesi ve nöroprotektif etkilerinin incelenmesi hedeflenmiştir. Bu amaçla *G. olivieri*' nin dekoksasyon, etanol, su, kloroform ve *n*-butanol ekstraktları hazırlanmış ve nöroprotektif etkileri SH-SY5Y insan nöroblastoma hücre hattında test edilmiştir. LPS ile uyarılan hücre içi sitokin seviyeleri üzerindeki etkileri değerlendirildiğinde etanol ve su ekstraktları IFN- $\alpha$  , sulu ekstre IFN- $\beta$  , kloroform ve su ekstraktları c1q , *n*-butanol ve kloroform c3 ve sulu ekstre c9 seviyelerini anlamlı seviyede arttırmıştır. *n*-butanol ekstresinden gerçekleştirilen kromatografik çalışmalarla 1 sekoiridoit glikoziti (svertiamarin) ve 1 oligosakkarit saflaştırılmıştır. İzole edilen bileşiklerin yapıları çeşitli spektroskopik yöntemler ( $^{13}\text{C}$  NMR,  $^1\text{H}$  NMR, DEPT, COSY teknikleri) kullanılarak aydınlatılmıştır. Ayrıca daha önce *Gentiana* türlerinden elde edilmiş olan svertiamarin, sverozit, gentiopikrozit ve izoorientin metabolitleri LC-qTOF-MS ile *G. olivieri* ekstraktları içinde tespit edilmiştir.

**Anahtar kelimeler:** *Gentiana olivieri*, sekoiridoit, nöroprotektif etki, izolasyon



## ABSTRACT

**Karabeyeser S. Neuroprotective Effect of *Gentiana olivieri*. Hacettepe University Graduate School of Health Sciences Pharmacognosy Programme Master's Thesis. Ankara, 2024.** The genus *Gentiana* has 400 species in the world and 12 species in Türkiye, and plants belonging to this genus have had a wide range of uses in folk medicine for many years. *Gentiana olivieri* Griseb. used in Southeastern and Eastern Anatolia as an appetite stimulant, bitter tonic, and antidiabetic, as well as for the relief of stiffness and frostbite in terrified people. In this region, it is known as "Afat" or "Afat otu". In this study, which is a continuation of the studies carried out in our department, the aim was to determine the phytochemical content of the aerial parts of *Gentiana olivieri* obtained commercially from the Gaziantep region and to investigate their neuroprotective effects. For this purpose, decoction, ethanol, water, chloroform and *n*-butanol extracts of *G. olivieri* were prepared, and their neuroprotective effects were tested on the human neuroblastoma cell line SH-SY5Y. When the effects on intracellular cytokine levels induced by LPS were evaluated, ethanol and water extracts significantly increased IFN- $\alpha$ , aqueous extract IFN- $\beta$ , chloroform and water extracts c1q, *n*-butanol and chloroform c3 and aqueous extract c9 levels. 1 secoiridoide glycoside (svertiamarin) and 1 oligosaccharide were purified from *n*-butanol extract by chromatographic studies. The structures of the isolated compounds were elucidated using various spectroscopic methods ( $^{13}\text{C}$  NMR,  $^1\text{H}$  NMR, DEPT, and COSY techniques). In addition, the metabolites of svertiamarin, sveroside, gentiopicroside and isoorientin, which were previously obtained from *Gentiana* species, were detected in *G. olivieri* extracts by LC-qTOF-MS.

**Key words:** *Gentiana olivieri*, secoiridoide, neuroprotective effect, isolation

## İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	iii
YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI	iv
ETİK BEYAN	v
TEŞEKKÜR	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGE VE KISALTMALAR	xi
<b>1. GİRİŞ</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b>	<b>3</b>
2.1. Botanik Bilgiler	3
2.1.1. Gentianaceae Familyası	3
2.1.2. <i>Gentiana</i> L. Cinsi	3
2.1.3. <i>G. olivieri</i> Griseb.	5
2.2. <i>Gentiana</i> Türleri Üzerinde Yapılan Çalışmalar	7
2.2.1. <i>Gentiana</i> Türleri Üzerinde Yapılmış Fitokimyasal Çalışmalar	7
2.2.2. <i>Gentiana</i> Türlerinin Kullanılışları ve Biyolojik Etkileri	44
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM</b>	<b>57</b>
3.1. Fitokimyasal Çalışmalar	57
3.1.1. Bitkisel Materyal	57
3.1.2. Kimyasal Maddeler ve Gereçler	58
3.1.3. Kromatografik Yöntemler	59
3.1.4. Ekstraksiyon ve İzolasyon Çalışmaları	63
3.1.5. Biyolojik Etki Çalışmaları	72
<b>4. BULGULAR</b>	<b>76</b>
4.1. Fitokimyasal Çalışmalara Ait Bulgular	77
4.1.1. İzole Edilen Bileşiklerin Yapı Tayinleri	80
4.2. Farmakolojik Çalışmalara Ait Bulgular	85
4.2.1. MTT Testleri	86
4.2.2. Hücre İçi Sitokin (Ifn- $\alpha$ , Ifn- $\beta$ , Kompleman protein C1q, C3, C6 ve C9, Nrf-2) Seviyeleri	87
<b>5. TARTIŞMA</b>	<b>92</b>
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER</b>	<b>94</b>

<b>7. KAYNAKLAR</b>	<b>95</b>
<b>8. EKLER</b>	<b>103</b>
EK-1: Tez Çalışması Orjinallik Raporu	103
EK-2: Dijital Makbuz	104
<b>9. ÖZGEÇMİŞ</b>	<b>105</b>

## SİMGE VE KISALTMALAR

<b><sup>13</sup>C NMR</b>	<sup>13</sup> C-Nuclear Magnetic Resonance
<b><sup>1</sup>H- NMR</b>	<sup>1</sup> H- Nuclear Magnetic Resonance
<b><math>\alpha</math></b>	Alfa
<b><math>\beta</math></b>	Beta
<b>Ac</b>	Asetil
<b>ALP</b>	Alkalen fosfataz
<b>ALT</b>	Alanin aminotransferaz
<b>AST</b>	Aspartat aminotransferaz
<b>CH<sub>3</sub></b>	Metil
<b>CHCl<sub>3</sub></b>	Kloroform
<b>CH<sub>3</sub>OH</b>	Metanol
<b>cm</b>	Santimetre
<b>CO<sub>2</sub></b>	Karbondioksit
<b>CCl<sub>4</sub></b>	Karbon tetraklorür
<b>COX</b>	Cyclooxygenase
<b>COSY</b>	Correlated Spectroscopy
<b>d</b>	Dublet
<b>dd</b>	Dublet dublet
<b>DEPT</b>	Distortionless Enhancement By Polarization Transfer
<b>DPBS</b> Çözeltisi	Dulbecco'nun Fosfat Tamponlu Serum Fizyolojik
<b>DPPH</b>	2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil
<b>dk</b>	Dakika

<b>ELISA</b>	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
<b>EtOAc</b>	Etil asetat
<b>EtOH</b>	Etanol
<b>Fr.</b>	Fraksiyon
<b>g</b>	Gram
<b>gd</b>	Geniş dublet
<b>glu</b>	Glukoz
<b>gs</b>	Geniş singlet
<b>H<sub>2</sub>O</b>	Su
<b>HDL</b>	Yüksek dansiteli lipoprotein
<b>Hz</b>	Hertz
<b>IC<sub>20</sub></b>	% 20 oranında inhibe eden konsantrasyon
<b>IC<sub>50</sub></b>	% 50 oranında inhibe eden konsantrasyon
<b>İTK</b>	İnce Tabaka Kromatografisi
<b>j</b>	Kenetlenme sabiti
<b>KK</b>	Kolon Kromatografisi
<b>L</b>	Litre
<b>LC-qTOF-MS</b> Spektroskopy	Liquid Chromatography- quadripol Time of Flight-Mass
<b>LPS</b>	Lipopolisakkarit
<b>m</b>	Metre
<b><i>m</i></b>	Multiplet
<b>MBK</b>	Minimum bakterisidal konsantrasyon
<b>MeOH</b>	Metanol
<b>mg</b>	Miligram

<b>MHz</b>	Megahertz
<b>MIK</b>	Minimum İnhibitör Konsantrasyon
<b>mL</b>	Mililitre
<b>mm</b>	Milimetre
<b>MTT</b>	(3- (4,5-dimetiltiyazol-2-il) -2-5-difeniltetrazolyum bromür)
<b><i>n</i>-BuOH</b>	<i>n</i> -butanol
<b>NF-κB</b>	Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells
<b>NMR</b>	Nuclear Magnetic Resonance
<b>NO</b>	Nitrik oksit
<b>OBSK</b>	Orta Basıncılı Sıvı Kromatografisi
<b>OMe</b>	Metoksil
<b>PGE-2</b>	Prostaglandin E-2
<b>Poliamit K.K.</b>	Poliamit Kolon Kromatografisi
<b>ppm</b>	Part per million
<b>Ram</b>	Ramnoz
<b><i>s</i></b>	Singlet
<b>SH-SY5Y</b>	İnsan nöroblastoma hücre hattı
<b>Silika jel K.K.</b>	Silika jel kolon kromatografisi
<b>Sephadex K.K.</b>	Sephadex® LH-20 Kolon Kromatografisi
<b><i>t</i></b>	Triplet
<b>TNF-α</b>	Tümör Nekrozu Faktörü-alfa
<b>UV</b>	Ultra-Violet
<b>v/v</b>	Hacim/hacim
<b>VSK</b>	Vakumlu Sıvı Kromatografisi

**YBSK**

Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi

## ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa
2.1. <i>Gentiana olivieri</i> Griseb. - Türkiye bitki örtüsündeki yayılışı (A4, A6, B6, B8, B9, C6, C7, C8, C9, C10)	6
2.2. <i>Gentiana olivieri</i> Griseb. – Türkiye’de yetiştiği şehirler	6
3.1. <i>G. olivieri</i> su, kloroform ve <i>n</i> -butanol ekstralarının İTK yöntemi ile karşılaştırılması	65
3.2. <i>G. olivieri</i> ekstraksiyon şeması	65
3.3. <i>G. olivieri</i> üzerinde yapılan izolasyon çalışmaları	71
3.4. MTT yöntemi ile sitotoksosite deneyinin basamakları	73
4.1. NAG-n/14-17a (NAG-n-13-18) ve NAG-n/14-17b (NAG-n-19-24) bileşiklerine ait İTK plağı	78
4.2. NAB-30-34 ve NAD-2/17-18’ e ait İTK plağı	78
4.3. Sverozit, svertiamarin, izorientin ve gentiopikrozit ile dekoksasyon, etanol, su, kloroform ve <i>n</i> -butanol ekstralarının İTK yöntemi ile karşılaştırılması	79
4.4. LC-qTOF-MS <i>G. olivieri</i> dekoksasyon, etanol, su, kloroform ve <i>n</i> -butanol ekstraları temel pik kromatogramları	79
4.5. LC-qTOF-MS ile <i>G. olivieri</i> dekoksasyon, etanol, su, kloroform ve <i>n</i> -butanol ekstralarının fitokimyasal içerik karşılaştırılması	80
4.6. Svertiamarin (Nag-2-19-24)’in <sup>13</sup> C NMR Spektrumu (MeOH, 600 MHz)	83
4.7. Svertiamarin (Nag-2-19-24)’in <sup>1</sup> H NMR Spektrumu (MeOH, 600 MHz)	84
4.8. Svertiamarin (Nag-2-19-24)’in 2D <sup>1</sup> H, <sup>1</sup> H-Homonükleer Korelasyonlu Spektrumu (COSY).	85
4.9. <i>G. olivieri</i> ekstralarının SH-SY5Y insan nöroblastoma hücrelerinde hücre canlılığı-konsantrasyon grafiği	86
4.10. <i>G. olivieri</i> ekstralarının SH-SY5Y insan nöroblastoma hücrelerinin hücre içi Ifn- $\alpha$ seviyesindeki değişime etki grafiği	88
4.11. <i>G. olivieri</i> ekstralarının SH-SY5Y insan nöroblastoma hücrelerinin hücre içi Ifn- $\beta$ seviyesindeki değişime etki grafiği	88
4.12. <i>G. olivieri</i> ekstralarının SH-SY5Y insan nöroblastoma hücrelerinin hücre içi C1q seviyesindeki değişime etki grafiği	89
4.13. <i>G. olivieri</i> ekstralarının SH-SY5Y insan nöroblastoma hücrelerinin hücre içi C3 seviyesindeki değişime etki grafiği	89



- 4.14.** *G. olivieri* ekstrelerinin SH-SY5Y insan nöroblastoma hücrelerinin hücre içi C6 seviyesindeki değişime etki grafiği 90
- 4.15.** *G. olivieri* ekstrelerinin SH-SY5Y insan nöroblastoma hücrelerinin hücre içi C9 seviyesindeki değişime etki grafiği 90
- 4.16.** *G. olivieri* ekstrelerinin SH-SY5Y insan nöroblastoma hücrelerinin hücre içi Nrf-2 seviyesindeki değişime etki grafiği 91

## TABLOLAR

<b>Tablo</b>	<b>Sayfa</b>
2.1. <i>Gentiana</i> türlerinden izole edilen iridoitler	8
2.2. <i>Gentiana</i> türlerinden izole edilen iridoitler (devam)	9
2.3. <i>Gentiana</i> türlerinden izole edilen iridoitler (devam)	10
2.4. <i>Gentiana</i> türlerinden izole edilen sekoiridoitler	11
2.5. <i>Gentiana</i> türlerinden izole edilen sekoiridoitler (devam)	12
2.6. <i>Gentiana</i> türlerinden izole edilen sekoiridoitler (devam)	13
2.7. <i>Gentiana</i> türlerinden izole edilen sekoiridoitler (devam)	14
2.8. <i>Gentiana</i> türlerinden izole edilen sekoiridoitler (devam)	15
2.9. <i>Gentiana</i> türlerinden izole edilen sekoiridoitler (devam)	16
2.10. <i>Gentiana</i> türlerinden izole edilen sekoiridoitler (devam)	17
2.11. <i>Gentiana</i> türlerinden izole edilen sekoiridoitler (devam)	18
2.12. <i>Gentiana</i> türlerinden izole edilen sekoiridoitler (devam)	19
2.13. <i>Gentiana</i> türlerinden izole edilen sekoiridoitler (devam)	20
2.14. <i>Gentiana</i> türlerinden izole edilen sekoiridoitler (devam)	21
2.15. <i>Gentiana</i> türlerinden izole edilen sekoiridoitler (devam)	21
2.16. <i>Gentiana</i> türlerinden izole edilen sekoiridoitler (devam)	23
2.17. <i>Gentiana</i> türlerinden izole edilen triterpenler	27
2.18. <i>Gentiana</i> türlerinden izole edilen triterpenler (devam)	28
2.19. <i>Gentiana</i> türlerinden izole edilen Steroller	30
2.20. <i>Gentiana</i> türlerinden izole edilen fenolikler	32
2.21. <i>Gentiana</i> türlerinden izole edilen flavon-C6-glikozitleri	34
2.22. <i>Gentiana</i> türlerinden izole edilen flavon-C6-glikozitleri (devam)	35
2.23. <i>Gentiana</i> türlerinden izole edilen ksanton-C-glikozitleri	38
2.24. <i>Gentiana</i> türlerinden izole edilen Lignanlar	39
2.25. <i>Gentiana</i> türlerinden izole edilen lignanlar (devam)	40
2.26. <i>Gentiana</i> türlerinden izole edilen kumarinler	42
2.27. <i>Gentiana</i> türlerinden izole edilen kumarinler (devam)	42
2.28. <i>Gentiana</i> türlerinden izole edilen Lipid bazlı sekonder metabolitler	43
3.1. İzolasyon aşamasında kullanılan solvan sistemleri	58
3.2. LC-qTOF-MS analizlerde kullanılan gradient elüsyon programı	62

<b>3.3.</b> Metabolomiks analizler için optimize edilmiş LC-qTOF-MS analiz koşulları ve cihaz parametreleri	63
<b>3.4.</b> Poliamit kolon fraksiyonları (N ekstresi)	66
<b>3.5.</b> Ters Faz kolon fraksiyonları ( NA ekstresi)	67
<b>3.6.</b> Silikajel Faz kolon fraksiyonları ( NAG ekstresi)	68
<b>4.1.</b> Svertiamarinin <sup>1</sup> H-NMR ve <sup>13</sup> C- NMR spektral değerleri (MeOH, 1H: 460 MHz, 13C: 600 MHz).	82
<b>4.2.</b> <i>G.olivieri</i> ekstrelerinin SH-SY5Y insan nöroblastoma hücrelerinin canlılığına optimal etki eden doz (hücrelerin canlılığını değiştirmeyen doz) tablosu	86

## 1. GİRİŞ

*Gentiana* L. cinsi dünyada yaklaşık 400 tür ile temsil edilirken ülkemizde 12 tür yetişmektedir(1). *Gentian* ismi bazı kaynaklara göre bu bitkiyi tanımlayıp vebanın tedavisinde kullandığına inanılan kral *Gentius*' tan gelmektedir. *Gentiana* cinsine ait bitkiler yüzyıllardan beri süs bitkisi olarak ve halk ilaçları olarak kullanılmaktadır (1-4).

Geleneksel Çin tıbbında *G. dahurica*, *G. crassicaulis* ve *G. manshurica* gibi türler karaciğer, *G. scabra* ve *G. macrophylla* türleri sindirim sistemi rahatsızlıklarının, *G. rhodantha* ise zatürre, bronşit, tüberküloz ve hepatit tedavisinde kullanılmaktadır (2, 3, 5-7). Tibet'te *G. farreri* zatürre tedavisinde kullanılmaktadır. Kore tıbbında *G. scabra* antidiyabetik olarak kullanılır. *G. kurroo* Unani tıp sisteminde ağrı kesici, ateş düşürücü, anti-inflamatuvar ve hepatit tedavisinde kullanılır. Sırp geleneksel tıbbında *G. punctate* sindirim sistemi ile ilgili problemlerin tedavisinde yer almaktadır. Kafkasya'da *G. asclepiadea*, *G. cruciata*, *G. gelida*, *G. paradoxa*, *G. pneumonanthe* ve *G. septemfida* gibi *Gentiana* türleri antidiyabetik, iştah açıcı ve ateş düşürücü etkilerinden dolayı kullanılmaktadır. Ayurvedik tıpta ateş ve sarılık gibi durumların tedavisinde, Sırp geleneksel tıbbında sindirim sistemi ile ilgili problemlerde İtalyan tıbbında ise antiinflamatuvar olarak kullanılmaktadır (1, 4, 8). Türkiye'de yetişen *Gentiana* türlerinden *G. lutea* Avrupa Farmakopesi başta olmak üzere çeşitli farmakope ve monografalarda yer almaktadır. *G. lutea* gastrointestinal problemlerin tedavisinde, yara tedavisinde ayrıca antiromatizmal, antinevraljik, antiinflamatuvar, hepatoprotektif, ve antimikrobiyal olarak kullanılmaktadır (1, 3, 4, 9-11). Anadolu'da ise özellikle *G. asclepiadea*, *G. cruciata* ve *G. olivieri* olmak üzere *Gentiana* türleri acı tonik, ateş düşürücü olarak ve mide rahatsızlıklarının tedavisinde kullanılmaktadır (2-4, 12, 13).

Ülkemizde Doğu ve Güneydoğu Anadolu bölgesinde yetişen *G. olivieri* halk ilacı olarak iştah açıcı, acı tonik, antidiyabetik ve aşırı korkmuş kişilerde oluşan tutukluğun, dona kalmanın giderilmesinde kullanılır (14, 15).

*Gentiana* türleriyle yapılan farmakolojik çalışmalarda geleneksel kullanımı destekleyen etkilerin yanı sıra bu bitkilerin sahip olduğu farklı etkiler de ortaya konulmuştur. Örneğin Anadolu'da yetişen *G. asclepiadea*'nın asetilkolinesteraz (AChE) inhibitörü olduğu, *G. cruciata*'nın antiinflamatuvar, analjezik, antioksidan ve antijenotoksik etki gösterdiği, *G. lutea*'nın antioksidan, antibakteriyel etki gösterdiği, *G. septemfida*'nın antitümoral aktivite

gösterdiği ve *G. olivieri*'nin hepatoprotektif, antidiyabetik, antiepileptik, antidepresan, immunmodülatör aktivite gösterdiği yapılan deneysel çalışmalarla kanıtlanmıştır (16-23).

*Gentiana* türlerinde sekonder metabolit olarak iridoit, sekoiridoit büyük bir çoğunluğu C glikoziti olmak üzere flavonoit ve ksanton türevi bileşikler yer almaktadır. Bu gruplar aktiviteden sorumlu oldukları gibi kemotaksonomik açıdan da oldukça önemlidir.

Anabilim dalımızda yapılmış olan *Gentiana* türleriyle ilgili çalışmaların devamı niteliğinde planlanan bu tezde Gaziantep bölgesinden ticari olarak elde edilen *G. olivieri*'nin toprak üstü kısımlarının fitokimyasal içeriğinin belirlenmesi ve nöroprotektif etkilerinin incelenmesi hedeflenmiştir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Botanik Bilgiler

#### 2.1.1. Gentianaceae Familyası

Gentianaceae familyası Gentianales takımının en büyük familyalarından birisi olup 91 cins ve yaklaşık 1700 türden oluşan genellikle ılıman bölgelerde yetişen; ağaç, çalı bir ya da çok yıllık otsu bitkilerden oluşmaktadır. Yaprakları çoğunlukla tüysüz, tam, sapsız, karşılıklı ve dekussat yerleşimliken tabanda rozet şeklinde yerleşim göstermektedir. Çiçekler aktinomorf yapıda olup hem kaliks hem korolla 4-8 parçalıdır. Kaliks genellikle sinsepal formdadır ve sepaller üst üste geçmiş veya bitişik durumdadır. Korolla ise sinpetal, rotat veya salverformdadır. Stamenler petallerle aynı sayıdadır ve tüp şeklindeki korollanın içerisinde yer almaktadır. Anterler genellikle filamentlere bazifiks bağlanırlar. Ovaryum epigin (11) durumlu, çok ovüllü, çift karpelli ve genellikle tek gözlü nadiren çift gözlüdür. Stilus çoğunlukla bir tanedir ve terminal yerleşime sahiptir. Plasenta çift cidarlı, plasentalanma paryetal olup meyve 2 gözlü septisit kapsül şeklindedir. Ülkemizde 7 cins ve 80' e yakın türüyle geniş bir yelpazede bulunmaktadır (1, 3, 24-27).

#### 2.1.2. *Gentiana* L. Cinsi

1700 yılında Tournefort'un isimlendirdiği *Gentiana* içerdiği yaklaşık 400 türle ait olduğu Gentianaceae familyasının en büyük cinsidir. Hem güney hem kuzey yarım kürede geniş bir dağılıma sahip olup özellikle Asya, Güneydoğu Asya, Avrupa ve Kuzey Amerika'nın ılıman bölgelerinin alpin habitatlarında yetişmektedir. Türkiye'de *Gentiana* cinsine ait 12 tür 14 takson mevcuttur.(2, 4, 11, 13, 16, 28, 29)

*Gentiana* cinsi genellikle çok yıllık nadiren tek yıllık otsu bitkilerden oluşmaktadır. Bazı durumlarda dallı, yatık kümeler şeklindeyken gövde bazı durumlarda da etli rizomdan yükselen bir veya daha çok sayıda sürgüne sahiptir. Çiçekler terminal yalnız veya aksiller salkım formunda 4-5(6) parçalıdır. Kaliks az çok derin parçalı, loblar kısmen bir iç zar ile birleşiktir. Korolla fazla derin olmayan borumsu şekilden huni şekline kadar değişen biçimlerde. Petaller sarı, krem rengi nadiren beyaz ya da soluk, koyu menekşe-mavi rengindedir. Çoğunlukla ana loblarla birlikte alternan durumda ara loblar yer almaktadır. Korolla boğazı ise içte tüysüzdür. Anterler filamentlere bazifiks bağlanır. Ovaryum epigin (7) durumlu, kısa stiluslu veya stilussuzdur. Stigma kalıcı ve 2 tanedir. Nektaryum ovaryum tabanında yer

almaktadır. Kapsula formundaki meyve değişik şekillerde (eliptikten oblonga kadar genişleyen bir yelpazede) saplı veya sapsız olabilmektedir. (1, 4, 16)

### **Türkiye Bitki Örtüsünde Yetişen *Gentiana* Türleri İçin Tayin Anahtarı (1)**

1. Taban yaprakları çok büyük (40 x 25 cm'ye kadar); korolla yarıdan fazlaya kadar bölünmüş, parlak sarı **1. *lutea***

1. Taban yaprakları 15 x 3 cm'ye kadar (çoğunlukla daha küçük); korolla yarıdan daha az bölünmüş, beyaz, soluk sarı, mavi veya menekşe

2. Gövdeler uzun, genellikle 30 cm'den daha uzun, çiçekler yaprakların koltuklarında

3. Yapraklar akut; çiçekler 5 parçalı; anterler birleşmiş **2. *asclepiadea***

3. Yapraklar obtus; çiçekler 4 parçalı; anterler serbest **3. *cruciata***

2. Gövdeler kısa, genellikle 30 cm'den daha kısa, çiçekler terminal veya terminal ve lateral

4. Bir yıllık bitkiler

5. Korolla soluk mavi, loblar obtus; kapsula saplı **5. *aquatica***

5. Korolla parlak mavi, loblar akut; kapsula sapsız **12. *nivalis***

4. Çok yıllık bitkiler

6. Toprak altı gövdesi tepede lifli bir kılıfla kaplı; gövde dik, 10-40 cm **4. *olivieri***

6. Toprak altı gövdesi tepede lifli bir kılıfla kaplı değil; gövdeler genellikle yere yatık veya 10 cm'den daha kısa

7. Korolla soluk sarı **9. *gelida***

7. Korolla mavi (nadiren beyaz)

8. Çiçekler 3 veya daha fazla, terminal durumda; gövdeler basit **7. *septemfida***

8. Çiçekler genellikle tepede tek tek; gövdeler basit veya dallanmış

9. Çiçekli gövdeler 11 veya daha fazla sayıda internodyumlu; gövdeler basit, yatık **8. boissieri**

9. Çiçekli gövdeler 11'den daha az sayıda internodyumlu; gövdeler genellikle tabanda çok dallanmış, örtü oluşturmuş

10. Korollanın ikincil lobları hemen hemen ana loblara eşit, korolla 10 parçalı; internodlar hemen hemen eşit **6. pyrenaica**

10. Korollanın ikincil lobları küçük, ana lobların yarı uzunluğundan daha kısa; nodusların arası çiçeklenmeden sonra uzamış

11. En uzun rozet yapraklar gövde yapraklarından daha uzun; korolla boyu (20-) 28 mm veya daha uzun **10. verna**

11. Rozet yapraklar hemen hemen gövde yapraklarına eşit; korolla boyu 20 mm'den daha kısa **11. brachyphylla**

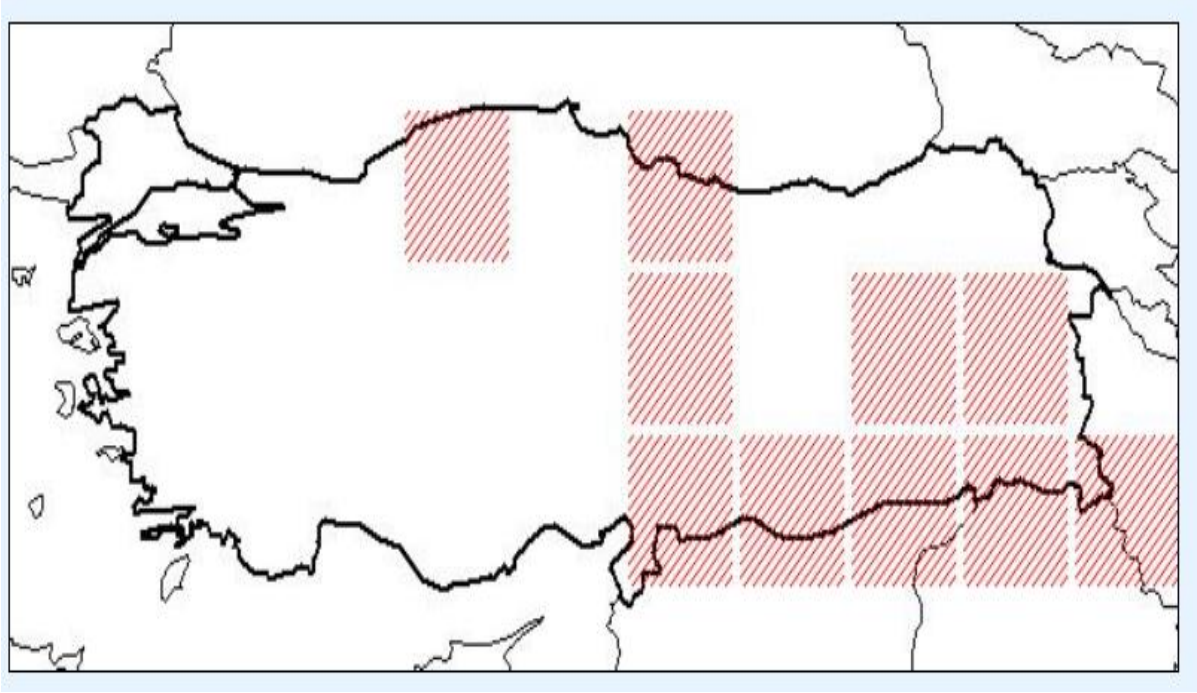
### 2.1.3. **G. olivieri Griseb.**

1-3 dik çiçekli, rozet yaprakları tabanda yer alan, boyu 10-40 cm olan gövdeye sahip çok yıllık 350–2300 metre yükseklikte yetişen otsu bitki. Uç kısmı tüylü bir kılıfla kaplı rizom. Nodyumlar arası mesafe (internodyum) tepede fazlayken diğer kısımlarda azdır. Subakut, obtus veya oblanseolat şekle sahip, boyu 15 cm' ye kadar çıkan rozet yapraklar, lanseolat şekilli boyu 6 cm gövde yaprakları, tabanlarda gövdeyi kılıf gibi sarmış perfoliat şekilli yapraklar. Gövde tüysüz, ince ve diktir. Çiçekler tam, iç kısmı beyaz, mor-mavi renkli, tepede terminal yerleşimli (1-)3-10, aktinomorfik. Kaliks 12-15 mm yarısına kadar bölünmüş eşit loblu 5 parçadan oluşur. Korolla 20-30 mm boyunda 1/3 oranında bölünmüş, yan loblar yarısı kadar boya sahip. Filamentler 6-8 mm boyunda doğrusal. Ovaryum epigin (7) durumlu. Kısa saplı kapsula meyve. Nisan- Temmuz ayları çiçeklenme dönemi (1, 30, 31).



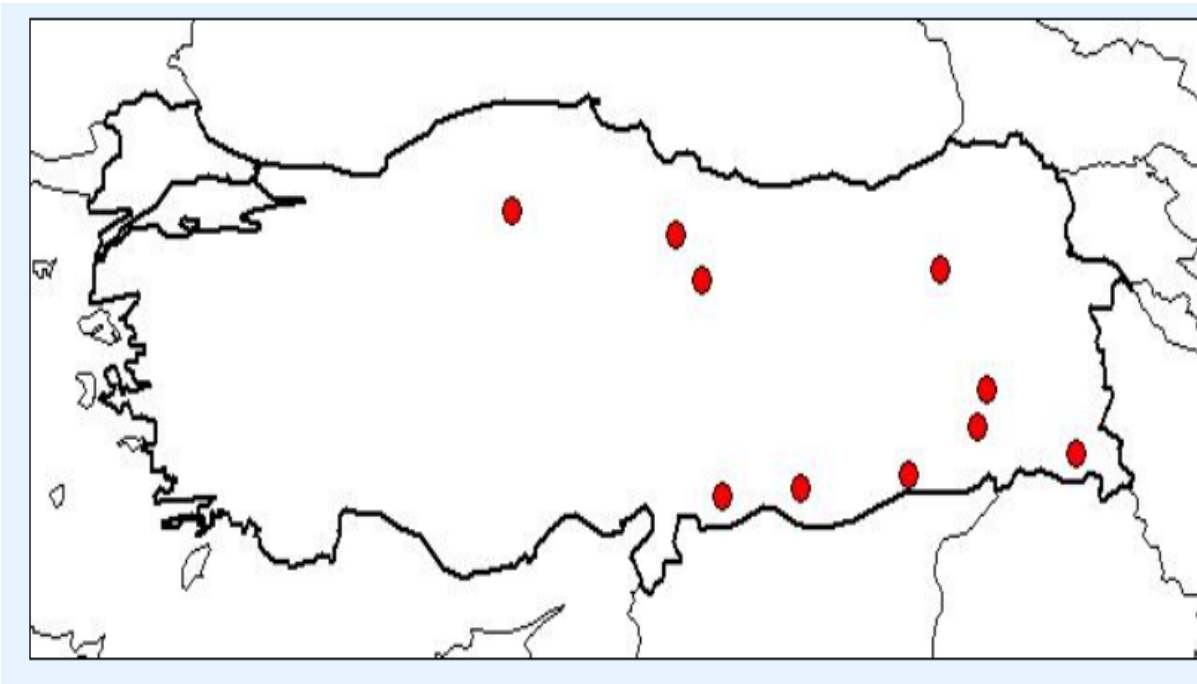
**Şekil 2.1.** *Gentiana olivieri* Griseb. - Türkiye bitki örtüsündeki yayılışı (A4, A6, B6, B8, B9, C6, C7, C8, C9, C10)

[Türkiye Bitkileri Veri Servisi (TÜBİVES), <http://turkherb.ibu.edu.tr/>]



**Şekil 2.2.** *Gentiana olivieri* Griseb. – Türkiye’de yetiştiği şehirler

[Türkiye Bitkileri Veri Servisi (TÜBİVES), <http://turkherb.ibu.edu.tr/>]



## 2.2. *Gentiana* Türleri Üzerinde Yapılan Çalışmalar

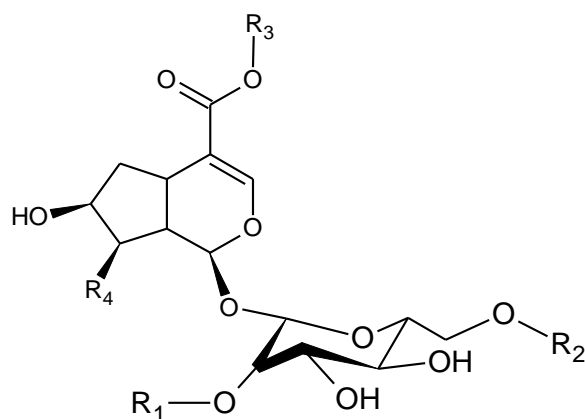
Daha önce yapılmış olan “*Gentiana olivieri* Griseb. Üzerinde Farmakognozik Araştırma” adlı (H.Ü. Farmakognozik-doktora 1988), “*Gentiana lutea* ssp. *symphyandra* Murb. (Hayek) İridoitleri” (Anadolu Üniversitesi-doktora 1997) ve “Bazı *Gentiana* Türleri Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar” (H.Ü. Farmakognozik-doktora 2013) tezleri kapsamında yayınlanma tarihlerine kadar olan çalışmalar derlenmiştir. Tekrara düşmemek amacıyla bu tez kapsamında 2013 yılı sonrasında gerçekleştirilen çalışmalar derlenmiştir.

### 2.2.1. *Gentiana* Türleri Üzerinde Yapılmış Fitokimyasal Çalışmalar

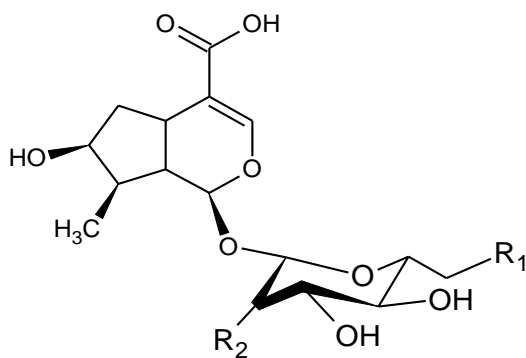
Bu bölümde 2013’den itibaren olan fitokimyasal çalışmalar sonucunda elde edilmiş bileşikler; İridoitler, Sekoiridoitler, Flavonoidler, Ksantonlar, Triterpenler, Steroller, Kumarinler, Lignanlar, Fenoller ve Diğer bileşikler altında sınıflandırılmıştır.

Tablolar ana iskeletler üzerinden oluşturulmuş, farklı yapılar kendi iskeletleri ile gösterilmiştir. Tablolar bileşik ismi, değişken grup, Bitki ismi, bitkinin çalışılan kısmı ve kaynaklardan oluşmaktadır. Fitokimyasal çalışmalarda kullanılan bitki bölümleri ifade edilirken Ç: Çiçek, K: Kök, R: Rizom, T.B: Tüm Bitki, T.Ü: Toprak Üstü, Y: Yaprığı temsil edecek şekilde kısaltmalar kullanılmıştır, eğer çalışmada hangi kısmın kullanıldığı belirtilmemişse boş bırakılmıştır.

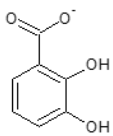
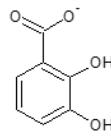
## a) İridoitler

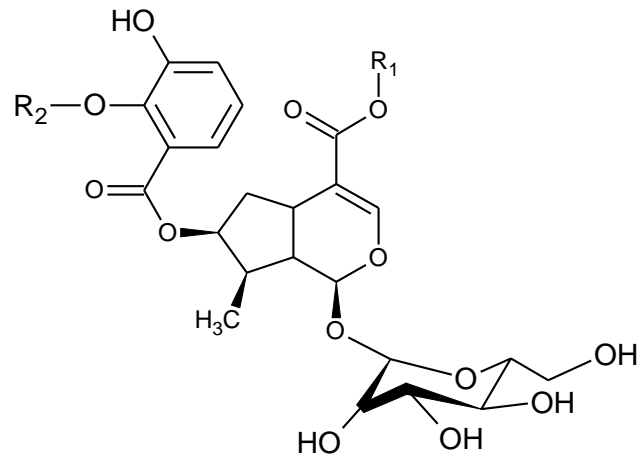
Tablo 2.1. *Gentiana* türlerinden izole edilen iridoitler

Bileşik	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	Bitki	Çalışılan Kısım	Kaynak
Loganik asit	H	H	H	CH <sub>3</sub>	<i>G. rigescens</i>	K, R	(32, 33)
					<i>G. urnula</i>	T.B.	(34)
					<i>G. dahurica</i>	K	(35)
					<i>G. cruciata</i>	T.Ü.	(17)
					<i>G. macrophylla</i> <i>Pall</i>	Ç	(36, 37)
					<i>G. lutea</i>	K,Ç	(38, 39)
					<i>G. algida</i>		(40)
7-epiloganin	H	H	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	<i>G. urnula</i>	T.B.	(34)
Loganin	H	H	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	<i>G. dahurica</i>	K	(35)
					<i>G. scabra</i>		(41)
Karyoptozit	H	H	CH <sub>3</sub>	OH	<i>G. scabra</i>		(41)



**Tablo 2.2.** *Gentiana* türlerinden izole edilen iridoitler (devam)

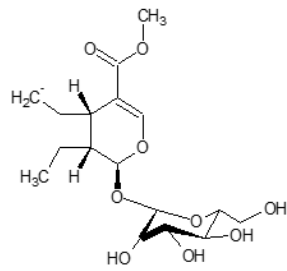
Bileşik	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	Bitki	Çalışılan Kısım	Kaynak
Algidizit I	OH		<i>G. algida</i>	-	(40)
Algidizit II		OH	<i>G. algida</i>	-	(40)



**Tablo 2.3.** *Gentiana* türlerinden izole edilen iridoitler (devam)

Bileşik	R1	R2	Bitki	Çalışılan Kısmı	Kaynak
---------	----	----	-------	-----------------	--------

Gentiournozit B



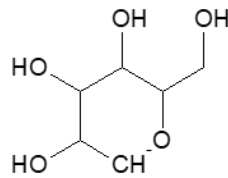
Glu

*G. urnula*

TB

(34)

Gentiournozit E

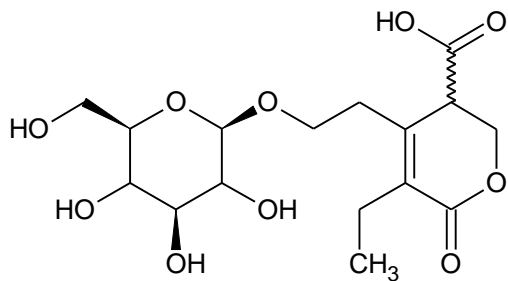


H

*G. urnula*

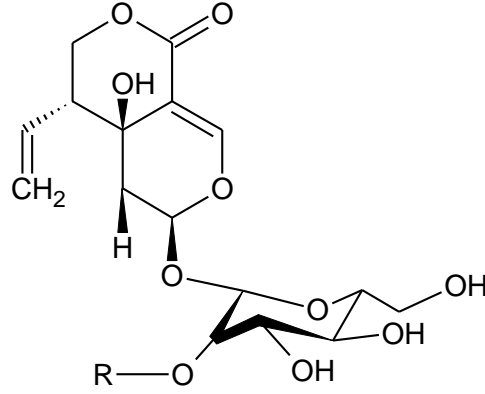
TB

(34)



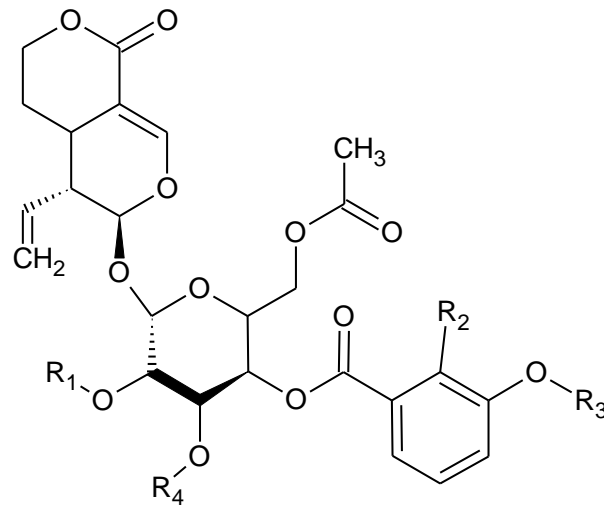
Gentikrazit A/ B (*G. crassicaulis* (K)) (42)

## b) Sekoiridoitler

Tablo 2.4. *Gentiana* türlerinden izole edilen sekoiridoitler

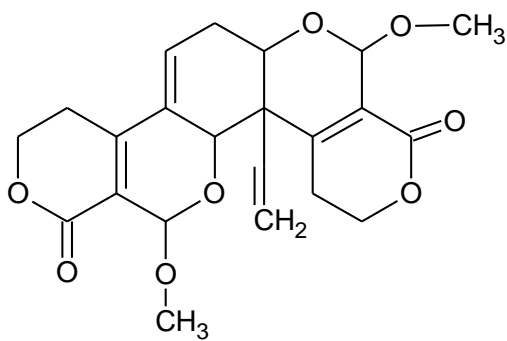
Bileşik	R	Bitki	Çalışılan Kısım	Kaynak
Svertiamarin	H	<i>G. asklepiadea</i>	Ç, Y, K	(16)
		<i>G. cruciata</i>	K	(16)
		<i>G. olivieri</i>	Ç, Y, K	(16)
		<i>G. septemfida</i>	Ç, K	(16)
		<i>G.koru</i>	Ç	(16)
		<i>G. rigescens</i>	K,R	(33)
			-	(32)
		<i>G. dahurica</i>	K	(35)
		<i>G. macrophylla</i>	Ç	(36)
			-	(37)
		<i>G. purpurea</i>	K	(43)
		<i>G. lutea</i>	Ç, K	(38)
		<i>G. crassicaulis</i>	K	(44)
2'-(2,3-dihidroksibenzoil) svertiamarin	S	<i>G. rigescens</i>	K	(45)

S: [2-hidroksi-3-(1-β-D-glukopiranoziloksi)]benzoil

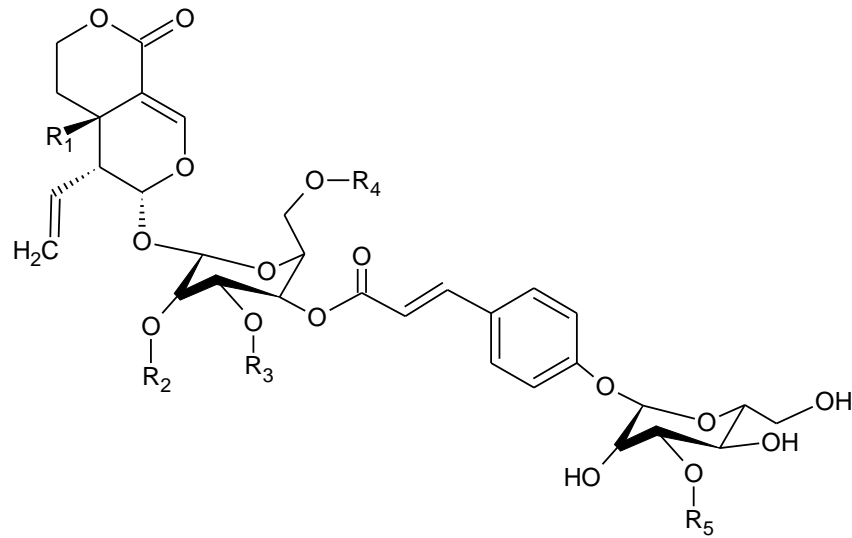


**Tablo 2.5.** *Gentiana* türlerinden izole edilen sekoiridoitler (devam)

Bileşik	R1	R2	R3	R4	Bitki	Çalışılan Kısım	Kaynak
Triflorozit	Ac	OH	Glu	Ac	<i>G. scabra</i>	K	(41)
2"-dehidroksi triflorozit	Ac	H	Glu	Ac	<i>G. scabra</i>	K	(46)
2,3- deasetil triflorozit	H	OH	Glu	H	<i>G. scabra</i>	K	(41)
3- deasetil triflorozit	Ac	OH	Glu	H	<i>G. scabra</i>	K	(41)
2- deasetil triflorozit	H	OH	Glu	Ac	<i>G. scabra</i>	K	(41)
4"-O-β-d-glukopiranozil triflorozit	Ac	OH	Glu-Glu (4→1)	Ac	<i>G. scabra</i>	K	(41)
Deglukozil triflorozit	Ac	OH	H	Ac	<i>G. scabra</i>	K	(41)



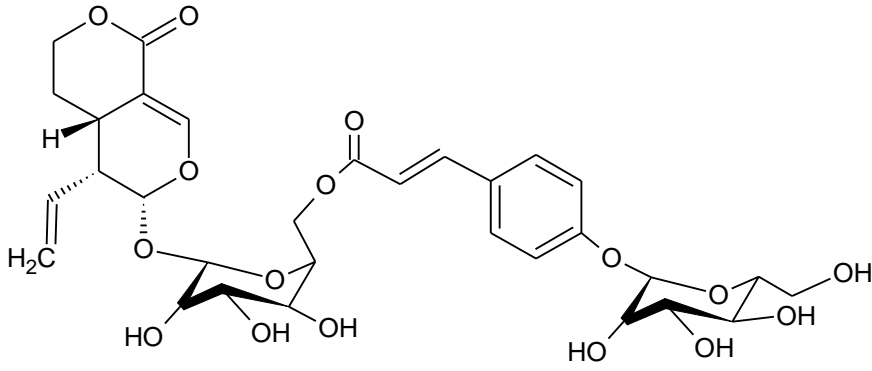
Gentimilegenin A/ B (*G. macrophylla* (K)) (47)



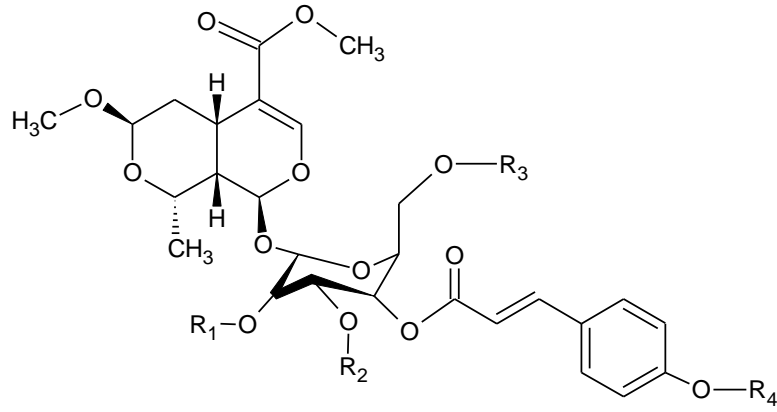
**Tablo 2.6.** *Gentiana* türlerinden izole edilen sekoiridoitler (devam)

Bileşik	R1	R2	R3	R4	R5	Bitki	Çalışılan Kısım	Kaynak
Olivierisekozit A	H	Ac	Ac	Ac	H	<i>G. olivieri</i>	-	(19)
							TÜ	(48)
Olivierisekozit B	H	Ac	Ac	Ac	Glu	<i>G. olivieri</i>	-	(19)
							TÜ	(48)
Olivierisekozit C	H	Ac	Ac	H	H	<i>G. olivieri</i>	-	(19)
Olivierisekozit E	OH	Ac	Ac	Ac	H	<i>G. olivieri</i>	-	(19)



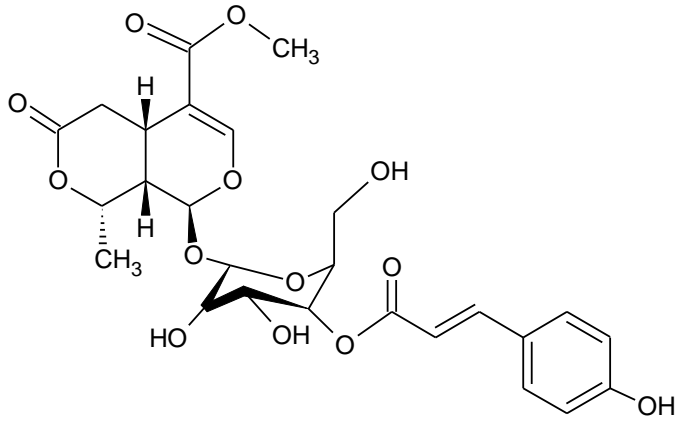
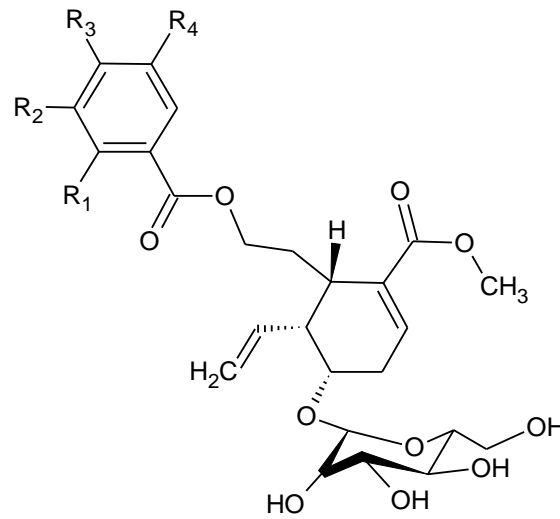


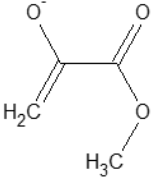
Olivierisekozit D (*G. olivieri*) (19)

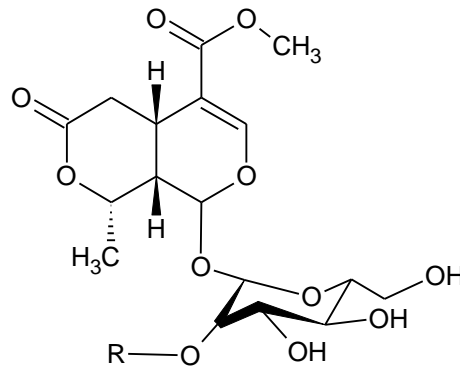


**Tablo 2.7.** *Gentiana* türlerinden izole edilen sekoiridoitler (devam)

Bileşik	R1	R2	R3	R4	Bitki	Çalışılan Kısım	Kaynak
Olivierisekozit F	H	H	Ac	H	<i>G. olivieri</i>	-	(19)
Olivierisekozit G	H	Ac	Ac	Glu	<i>G. olivieri</i>	-	(19)
Olivierisekozit H	Ac	Ac	Ac	Glu	<i>G. olivieri</i>	-	(19)

Olivierisekozit I (*G. olivieri*) (19)**Tablo 2.8.** *Gentiana* türlerinden izole edilen sekoiridoitler (devam)

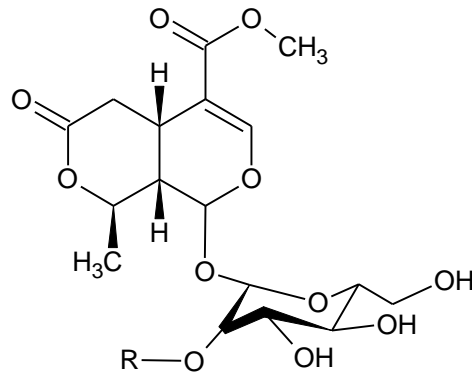
Bileşik	R1	R2	R3	R4	Bitki	Çalışılan Kısım	Kaynak
Olivierisekozit J	H	OH	H	H	<i>G. olivieri</i>	-	(19)
Olivierisekozit K	H	H	OH	H	<i>G. olivieri</i>	-	(19)
Olivierisekozit L	H		H	H	<i>G. olivieri</i>	-	(19)
Olivierisekozit M	OH	H	H	OCH <sub>3</sub>	<i>G. olivieri</i>	-	(19)



**Tablo 2.9.** *Gentiana* türlerinden izole edilen sekoiridoitler (devam)

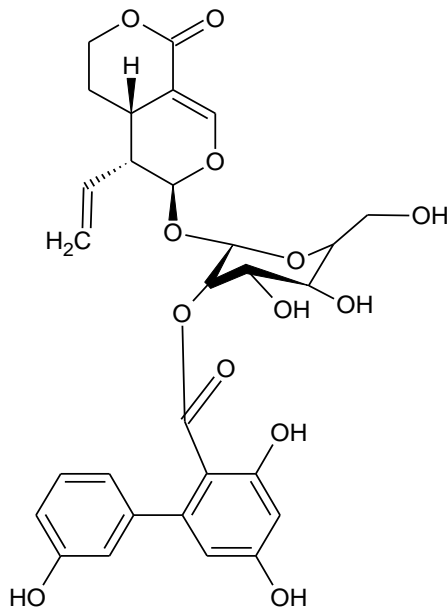
Bileşik	R	Bitki	Çalışılan Kısım	Kaynak
Kingizit	H	<i>G. dahurica</i>	K	(35)
2'-O-(2'', 3''-dihidroksi benzoil) kingizit	S	<i>G. scabra</i>	K	(46)
2'-O-benzoil kingizit	Benzoil	<i>G. scabra</i>	K	(46)

S: 2'', 3''-dihidroksi benzoil



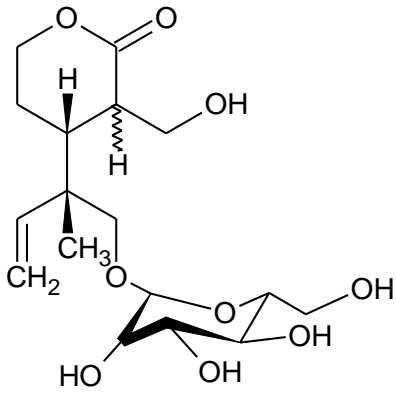
**Tablo 2.10.** *Gentiana* türlerinden izole edilen sekoiridoitler (devam)

Bileşik	R	Bitki	Çalışılan Kısım	Kaynak
Epikingizit	H	<i>G. dahurica</i>	K	(35)
6' O-(3''-hidroksi benzoil)- 8-epi-kingizit	3''-hidroksi benzoil	<i>G. scabra</i>	K	(46)
6' O-(4''-hidroksi benzoil)- 8-epi-kingizit	4''-hidroksi benzoil	<i>G. scabra</i>	K	(46)
6' O-(2'', 3''-dihidroksi benzoil)- 8-epi-kingizit	2'', 3''-dihidroksi benzoil	<i>G. scabra</i>	K	(46)

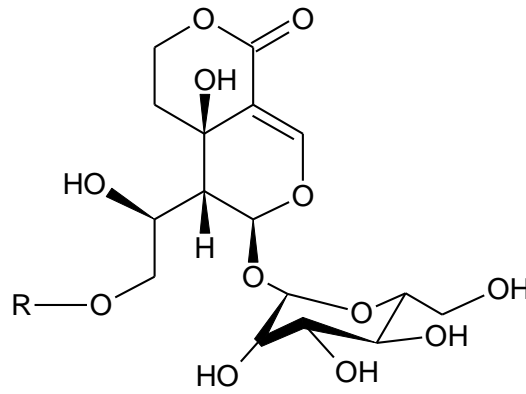


*Gentiana* türlerinden izole edilen sekoiridoitler (devam)

Bileşik	Bitki	Çalışılan Kısım	Kaynak
Amarogentin	<i>G. rigescens</i>	K	(49)
	<i>G. purpurea</i>	K	(43)
	<i>G. lutea</i>	K	(39)
		Y	(50)

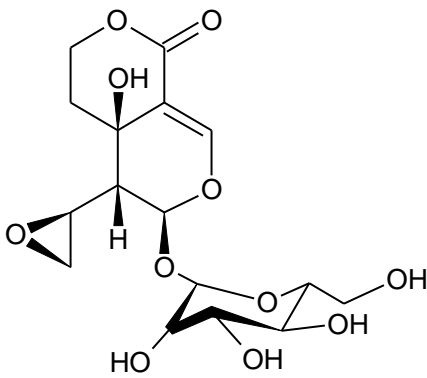


1-*O*- $\beta$ -D-glukopiranozil ampleksin (*G. dahurica* (K)) (35)

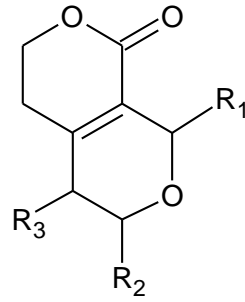


**Tablo 2.11.** *Gentiana* türlerinden izole edilen sekoiridoitler (devam)

Bileşik	R	Bitki	Çalışılan Kısım	Kaynak
Krukiatozit	Benzoil	<i>G. cruciata</i>	TÜ	(17)
Östomoruzzit	H	<i>G. cruciata</i>	TÜ	(17)

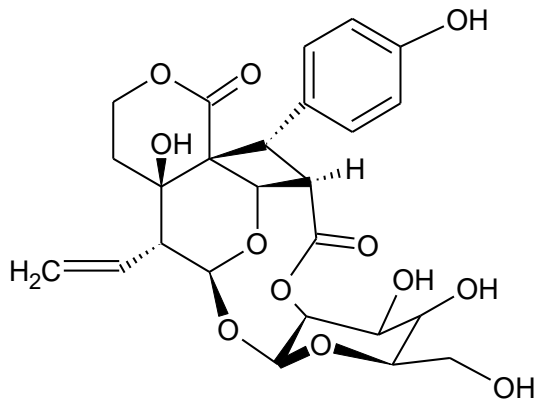


Östomozit (*G. cruciata* (TÜ)) (17)

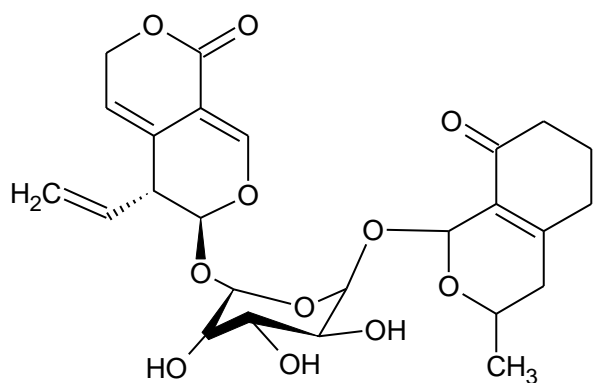


**Tablo 2.12.** *Gentiana* türlerinden izole edilen sekoiridoitler (devam)

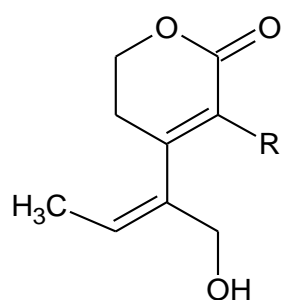
Bileşik	R1	R2	R3	Bitki	Çalışılan Kısım	Kaynak
Sverimilegenin E	OCH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	H	<i>G. crassicaulis</i>	K	(44)
Sverimilegenin H	H	OH	CHCH <sub>3</sub>	<i>G. crassicaulis</i>	K	(44)
Sverimilegenin I	H	OCH <sub>3</sub>	CHCH <sub>3</sub>	<i>G. crassicaulis</i>	K	(44)
Sverimuslakton A	H	CH <sub>3</sub>	H	<i>G. crassicaulis</i>	K	(44)



Rigenolit A (*G. rigescens* (TÜ)) (45)

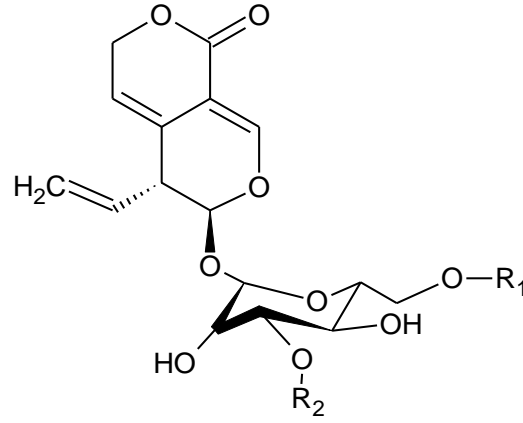


Rigenolit B/ C (*G. rigescens* (K)) (51)



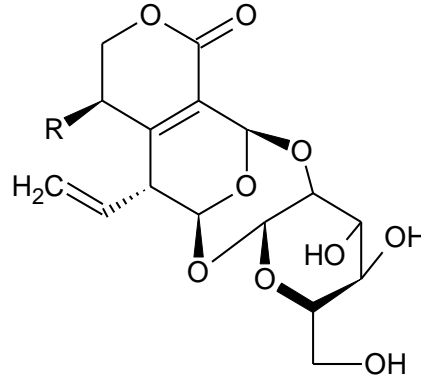
**Tablo 2.13.** *Gentiana* türlerinden izole edilen sekoiridoitler (devam)

Bileşik	R	Bitki	Çalışılan Kısım	Kaynak
Rigenolit D	CH <sub>2</sub> OH	<i>G. rigescens</i>	TÜ	(52)
Rigenolit E	H	<i>G. rigescens</i>	TÜ	(52)



**Tablo 2.14.** *Gentiana* türlerinden izole edilen sekoiridoitler (devam)

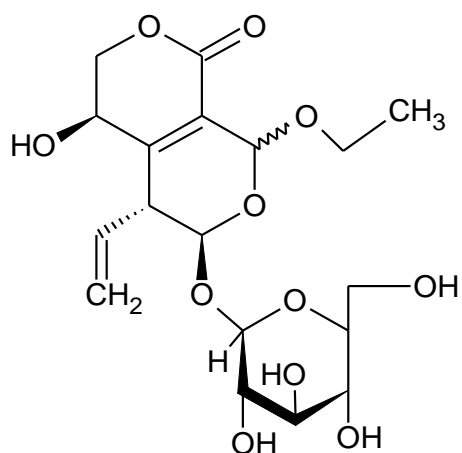
Bileşik	R1	R2	Bitki	Çalışılan Kısım	Kaynak
Rigenolit F	H	Ac	<i>G. rigescens</i>	TÜ	(52)
Rigenolit G	Ac	Ac	<i>G. rigescens</i>	TÜ	(52)
Rigenolit H	Ac	2,3 dihidroksi benzoat	<i>G. rigescens</i>	TÜ	(52)



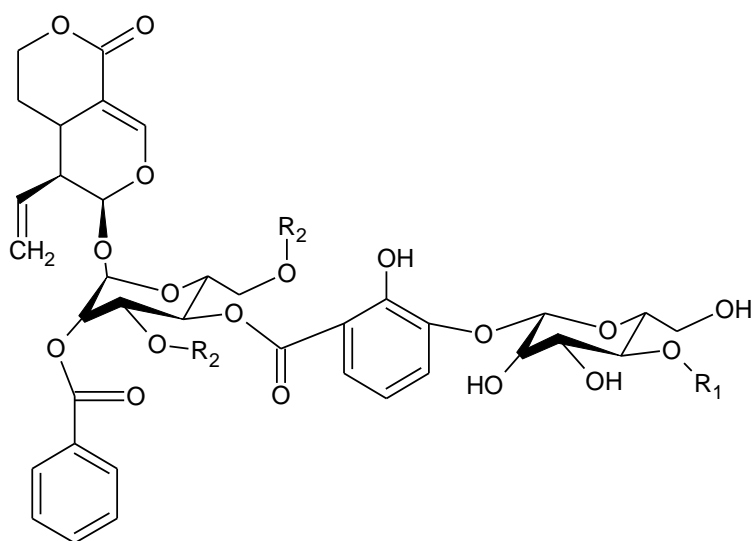
**Tablo 2.15.** *Gentiana* türlerinden izole edilen sekoiridoitler (devam)

Bileşik	R	Bitki	Çalışılan Kısım	Kaynak
Gentiananozit A	OH	<i>G. crassicaulis</i>	-	(53)
Gentiananozit B	H	<i>G. crassicaulis</i>	-	(53)



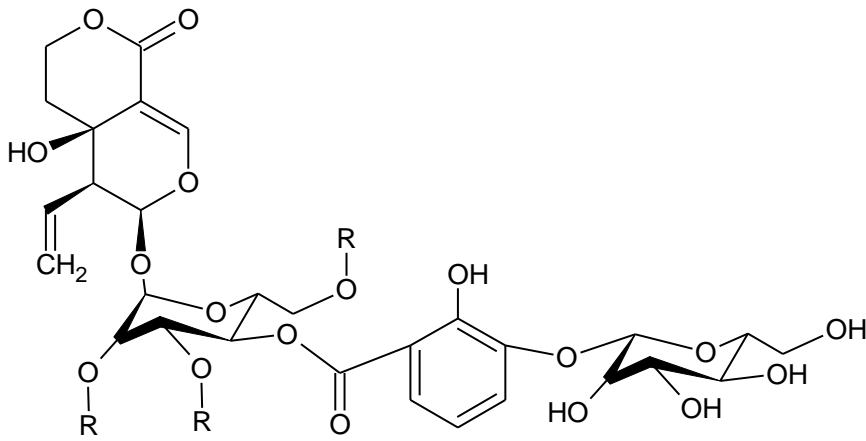


Gentiananozit C ( $3\alpha$ ) (*G. crassicaulis*), Gentiananozit D ( $3\beta$ ) (*G. crassicaulis*) (53)



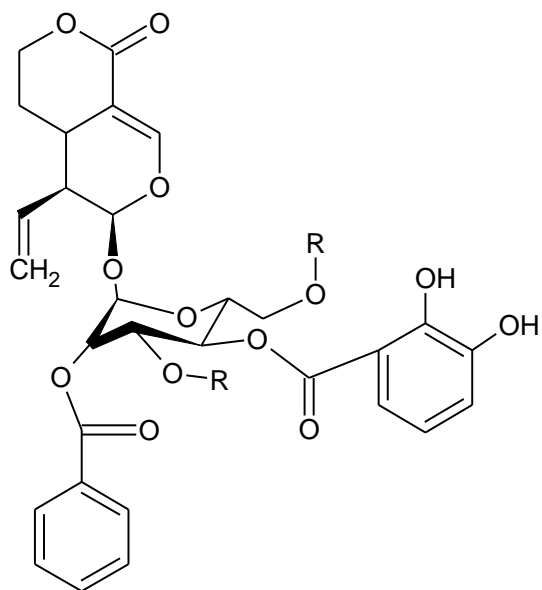
**Tablo 2.16.** *Gentiana* türlerinden izole edilen sekoiridoitler (devam)

Bileşik	R1	R2	Bitki	Çalışılan Kısım	Kaynak
Skabrazit	H	Ac	<i>G. scabra</i>	-	(41)
4'''-O-β-d-glukopiranozilskabrozit	Glu	Ac	<i>G. scabra</i>	-	(41)



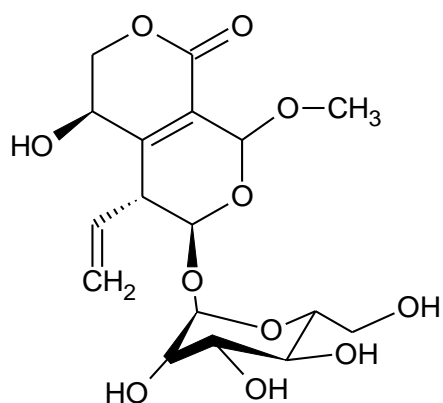
R: Ac

Gelidozit (*G. scabra*) (41)

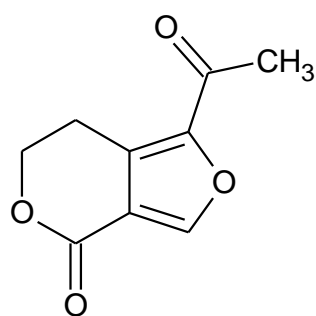


R: Ac

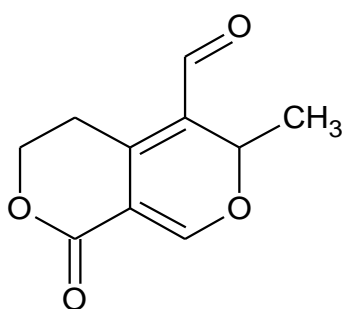
De glukozil skabrazit (*G. scabra*) (41)



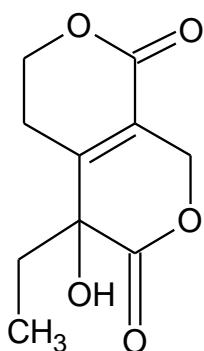
6B-hidroksi-3-svertiajapozit A (*G. scabra* (K)) (46)



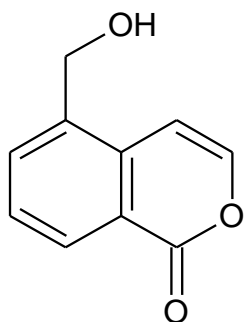
Angelone (*G. purpurea* (K)) (43)



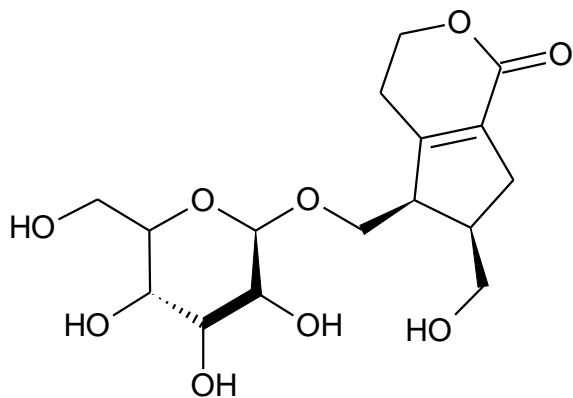
Gentiogenal (*G. purpurea* (K)) (43)

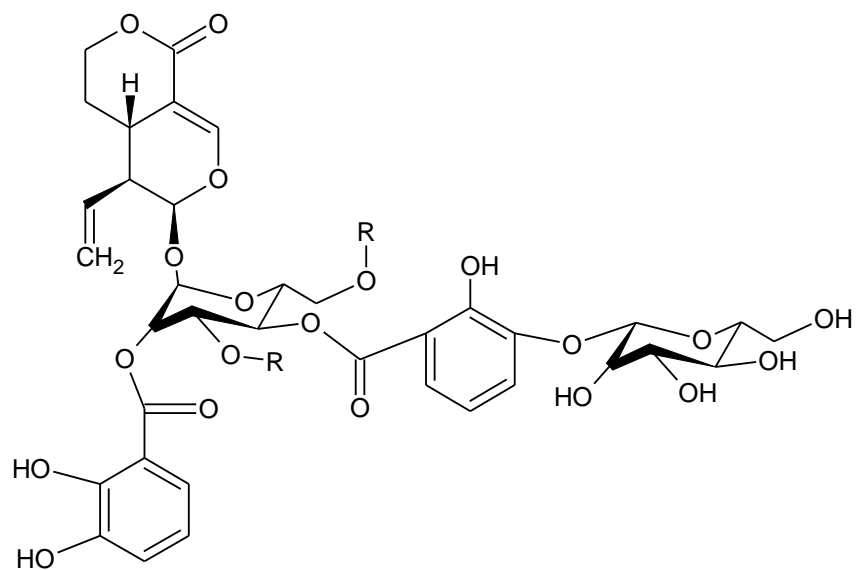
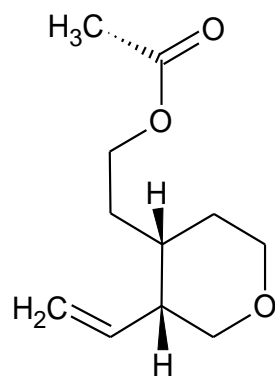


Gentiolakton (*G. triflora* (K)) (54)

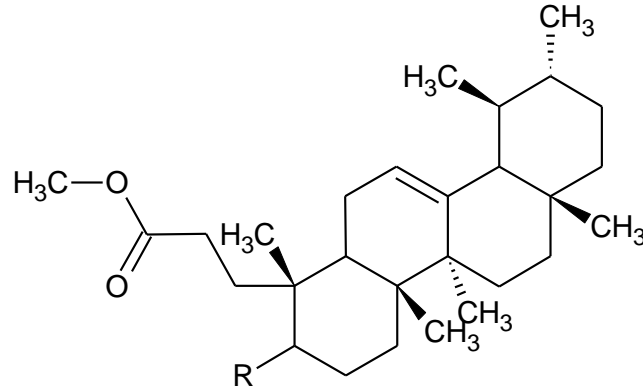


5-hidroksimetilizokromen-1-on (*G. crassicaulis* (K)) (44)



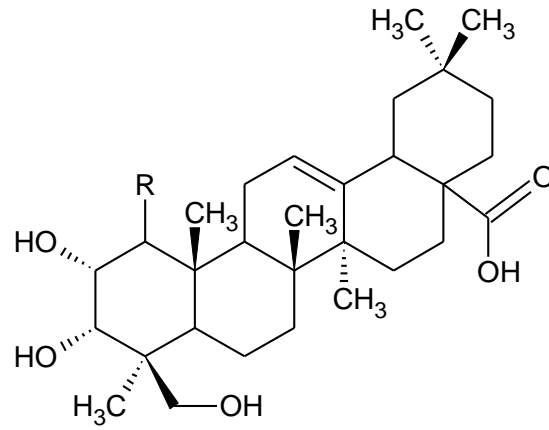
Algiolit A (*G. algida* (TÜ)) (55)Makrofillozit A (*G. rigescens* (K)) (45)Olivierigenin (*G. olivieri* (TÜ)) (48)

c) Diğer Terpenik Bileşikler



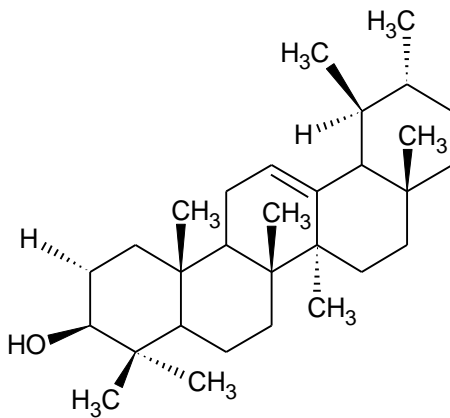
**Tablo 2.17.** *Gentiana* türlerinden izole edilen triterpenler

Bileşik	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	Bitki	Çalışılan Kısım	Kaynak
Roburik Asit (3,4-sekoursa- 4(23),12-dien- 3-oik asit)		H	<i>G. dahurica</i>	K	(35)
4-Hidroksi roburik asit metil ester		CH <sub>3</sub>	<i>G. macrophylla</i>	K	(47)

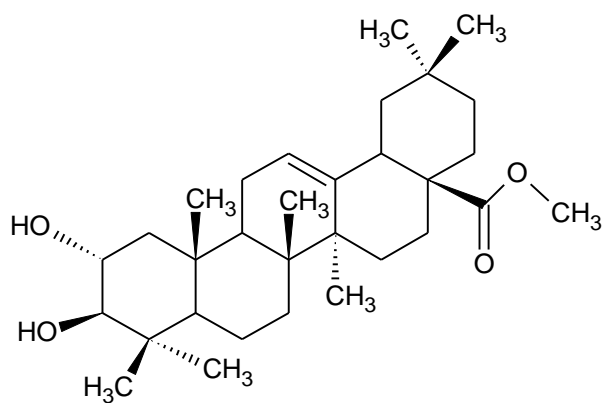


**Tablo 2.18.** *Gentiana* türlerinden izole edilen triterpenler (devam)

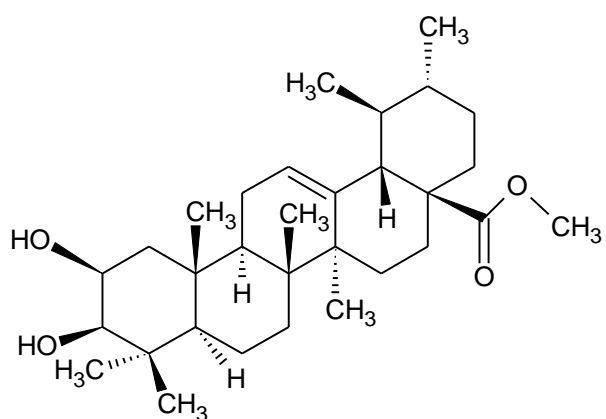
Bileşik	R	Bitki	Çalışılan Kısım	Kaynak
2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,24-tri-hidroksi olean- 12-en-28-oik asit	H	<i>G. dahurica</i>	K	(35)
		<i>G. macrophylla</i>		(56)
1 $\alpha$ ,2 $\alpha$ ,3 $\beta$ ,24-tetra- hidroksi olean-12-en- 28-oik asit	OH	<i>G. macrophylla</i>		(56)



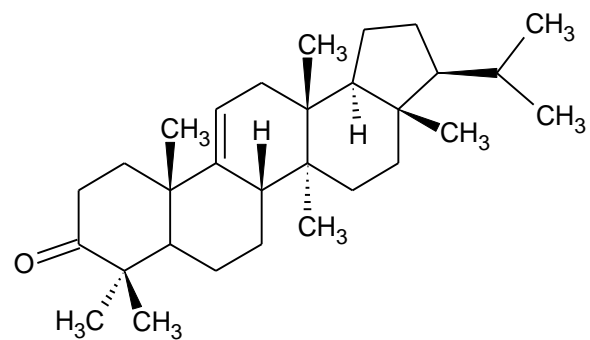
$\alpha$ -Amirin (*G. algida*) (57)



Metil 3-epimaslinat (*G. algida*) (57)

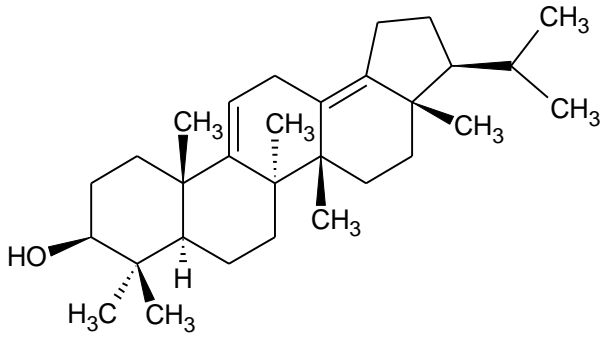


Metil-2- β,3-β -dihidroksi-urs-12-en-28-olat (*G. algida*) (57)

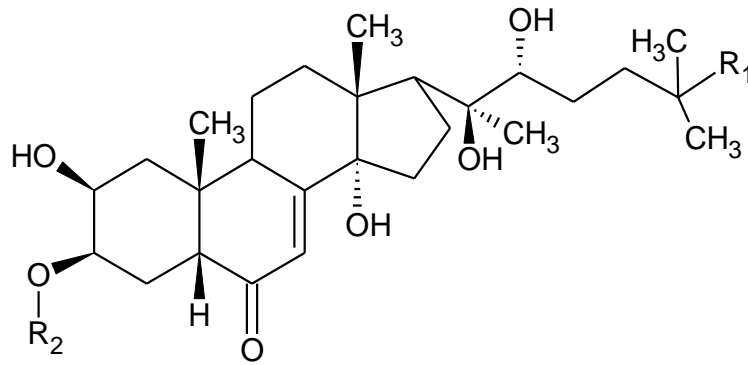


Arborinon (*G. algida*) (57)

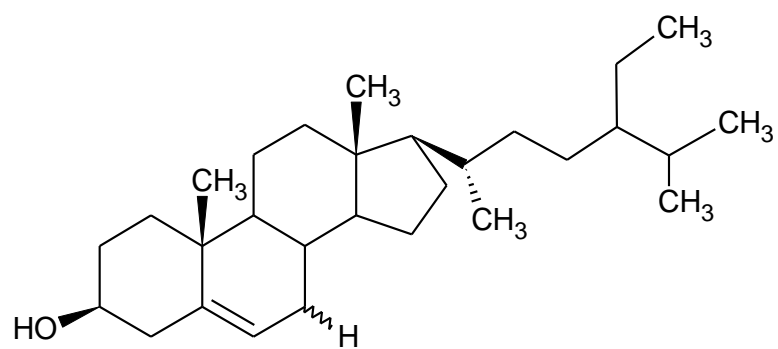


Bohmerol (*G. algida*) (57)

## d) Steroller

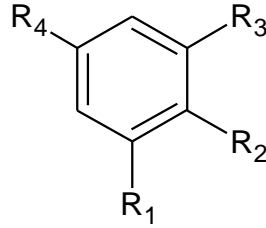
Tablo 2.19. *Gentiana* türlerinden izole edilen Steroller

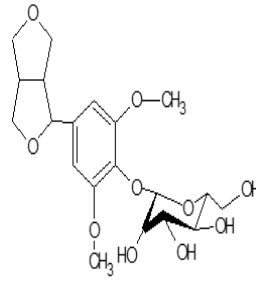
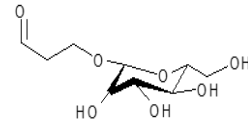
Bileşik	R1	R2	Bitki	Çalışılan Kısım	Kaynak
Ajugasteron C	H	H	<i>G.dahurica</i>	K	(35)
20-hidroksiekdison	OH	H	<i>G.dahurica</i>	K	(35)
20-hidroksiekdison 3-asetat	OH	Ac	<i>G.dahurica</i>	K	(35)

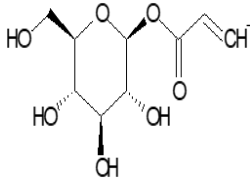
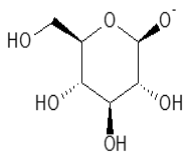
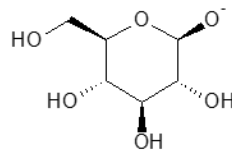
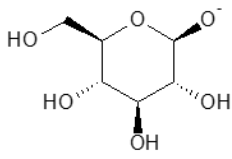
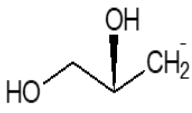


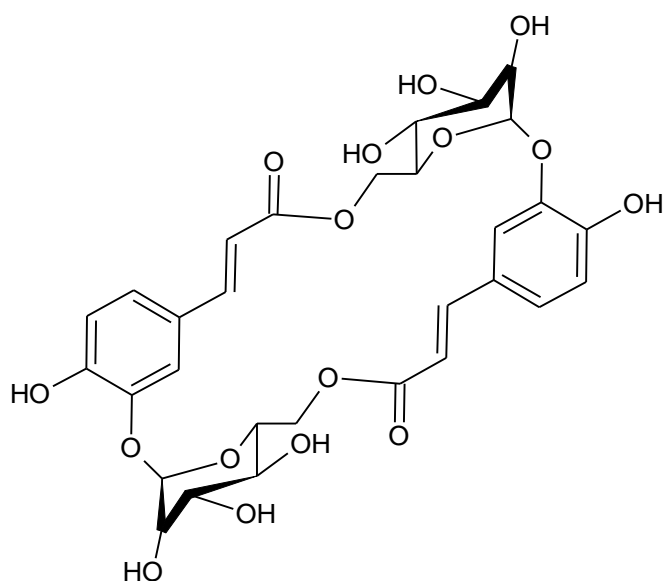
$\beta$ -Sitosterol (*G. algida*, *G. crassicaulis* (K)) (44, 58)

## e) Fenolikler

Tablo 2.20. *Gentiana* türlerinden izole edilen fenolikler

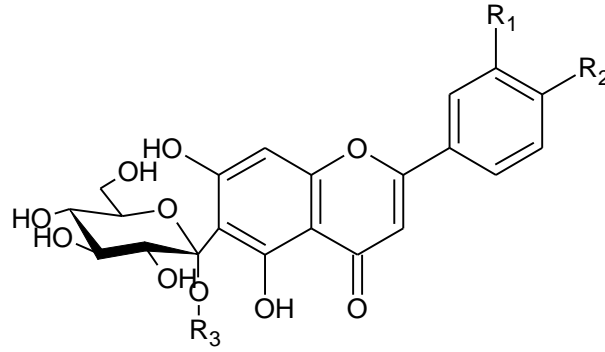
Bileşik	R1	R2	R3	R4	Bitki	Çalışılan Kısmı	Kaynak
Eleuterozit B	CH <sub>3</sub> O	Glu-O	CH <sub>3</sub> O	CH <sub>2</sub> CHCH <sub>2</sub> OH	<i>G. urnula</i> <i>G. scabra</i>	TB	K
(2-hidroksifenil)-O-β-D-glukopiranozit	OH	Glu-O	H	H	<i>G. urnula</i>	TB	
Eleuterozit E	CH <sub>3</sub> O	Glu-O	CH <sub>3</sub> O		<i>G. dahurica</i>		K
β-hidroksi propiovanilon 3-O-β-D-glukopiranozit	CH <sub>3</sub> O	OH	H		<i>G. urnula</i>	TB	
Siringik asit	CH <sub>3</sub> O	OH	CH <sub>3</sub> O	COOH	<i>G. purpurea</i>		K
Ferulik asit	CH <sub>3</sub> O	OH	H	CH <sub>2</sub> CHCOOH	<i>G. crassicaulis</i>		K
etil 3-(β-D-glukopiranoziloksi)-2-hidroksibenzoat	Glu-O	OH	COOCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	H	<i>G. crassicaulis</i>		K

1-O-Kafeoil glukoz	OH	OH	H		<i>G. scabra</i>	K
3-(β-D-glukopiranozil oks)-2-hidroksi-benzoik asit metil ester		OH	COOCH <sub>3</sub>	H	<i>G. scabra</i>	K
Koaburazit	CH <sub>3</sub> O	OH	CH <sub>3</sub> O		<i>G. scabra</i>	K
Benzil-O-β-D-glukopiranozit	H	H	H		<i>G. scabra</i>	K
(2S)-3-(4-hidroksi-3-metoksifenil)-1,2-propandiol	H	OH	OH		<i>G. scabra</i>	K

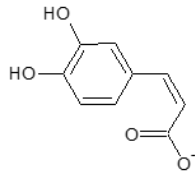


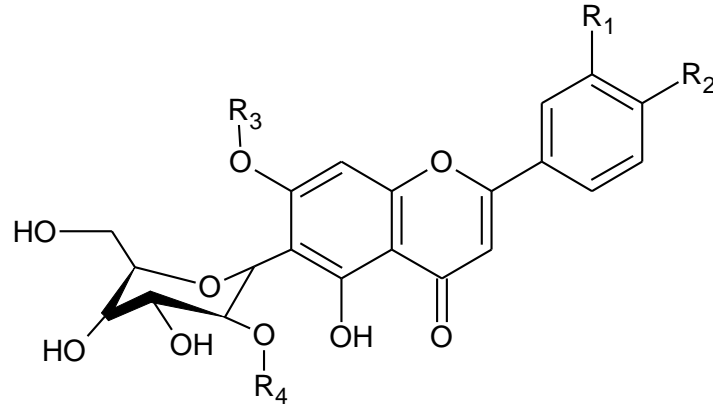
Siklik 4-O-β-D-glukopiranozilkafeik asit dimer (*Gentiana crassicaulis* (K)) (44)

## f) Flavanoitler

Tablo 2.21. *Gentiana* türlerinden izole edilen flavon-C6-glikozitleri

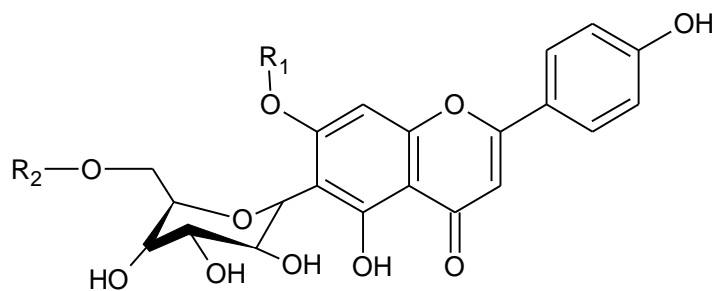
Bileşik	R1	R2	R3	Bitki	Çalışılan Kısım	Kaynak
İzoorientin	OH	OH	H	<i>G. asklepiadea</i>	Ç, Y	(16)
				<i>G. cruciata</i>	K, Ç, TÜ	(16, 17)
				<i>G. olivieri</i>	Y	(16, 48)
				<i>G. septemfida</i>	Y	(16)
				<i>G.koru</i>	Y	(16)
				<i>G. veitchiorum</i>		(59)
				<i>G. dahurica</i>	Y	(60)
				<i>G. macrophylla</i>	Y	(60)
İzoorientin- 2"-O- glukozit	OH	OH	Glu	<i>G. dahurica</i>	Y	(60)
				<i>G. macrophylla</i>	Y	(60)
İzoorientin- 2"-O- arabinozit	OH	OH	Ara	<i>G. dahurica</i>	Y	(60)
İzoorientin- 4',2"-di-O- glukozit	OH	Glu	Glu	<i>G. macrophylla</i>	Y	(60)
İzoorientin- 4'-O-glukozit	OH	Glu	H	<i>G. macrophylla</i>	Y	(60)
İzoorientin- 2"-O-kafeat	OH	OH		<i>G. macrophylla</i>	Y	(60)





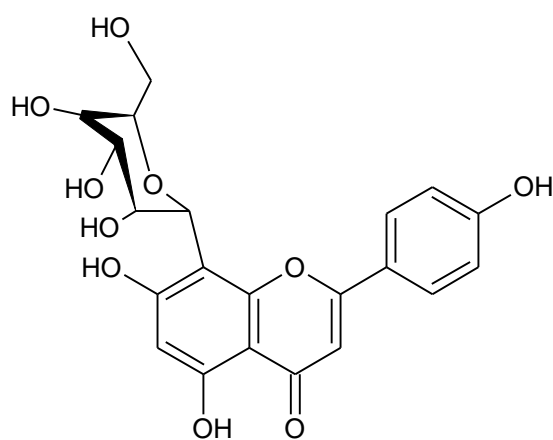
**Tablo 2.22.** *Gentiana* türlerinden izole edilen flavon-C6-glikozitleri (devam)

Bileşik	R1	R2	R3	R4	Bitki	Çalışılan Kısım	Kaynak
İzoviteksin	H	OH	H	H	<i>G. septemfida</i>	Y	(16)
					<i>G. cruciata</i>	TÜ	(17)
					<i>G. lutea</i>	K, Ç	(38)
					<i>G. dahurica</i>	Y	(60)
					<i>G. macrophylla</i>	Y	(60)
İzosaponarin	H	OGLu	H	H	<i>G. urnula</i>	TB	(34)
İzoviteksin 2''-(E)-ferulat	H	OH	H	Feru	<i>G. cruciata</i>	TÜ	(17)
İzoviteksin 2''-O-glukozit	H	OH	H	Glu	<i>G. dahurica</i>	Y	(60)
					<i>G. macrophylla</i>	Y	(60)
İzoviteksin-4'-O-glukozit	H	Glu	H	H	<i>G. macrophylla</i>	Y	(60)
Saponarin (İzoviteksin-7-O-glukozit)	H	OH	Glu	H	<i>G. macrophylla</i>	Y	(60)
Saponarin 2''-O-arabinozit	H	OH	Glu	Ara	<i>G. dahurica</i>	Y	(60)
İzoskoparin (İzoorientin-3'-metil eter)	OCH <sub>3</sub>	OH	H	H	<i>G. algida</i>		(58)
İzoskoparin 4'-O-glukozit	OCH <sub>3</sub>	Glu	H	H	<i>G. macrophylla</i>	Y	(60)
İzoorientin (Homorientin)	OH	OH	H	H	<i>G. lutea</i>	K,Ç	(38)

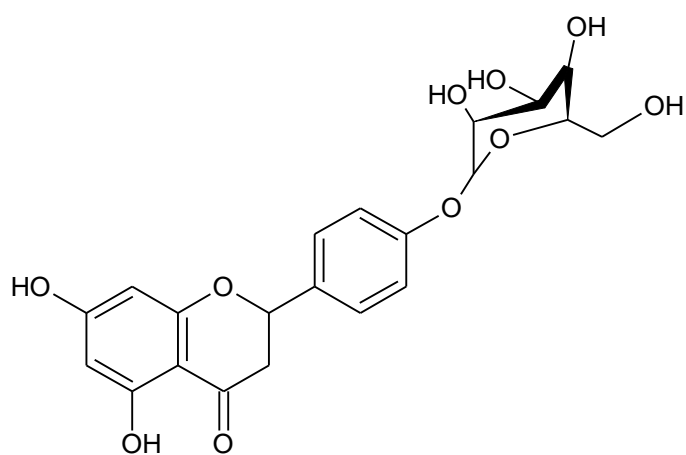


R<sub>1</sub>: Glu  
R<sub>2</sub>: Kafeik asit

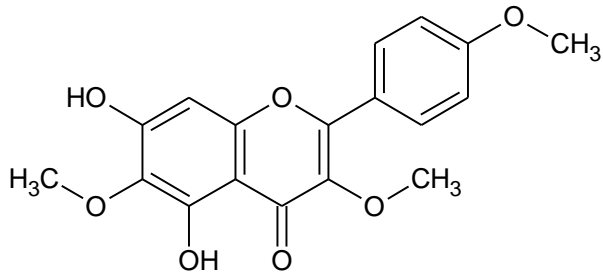
Saponarin-6''-O-kafeat (*G. macrophylla* (Y)) (60)



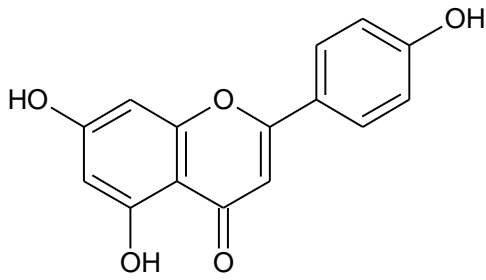
Viteksin (flavon-C8-glikoziti) (*G. asclepiadea* (Y), *G.koru* (Ç)) (16)



naringenin 4'-O-β-glukopiranozit (flavanon) (*G. purpurea* (K)) (43)

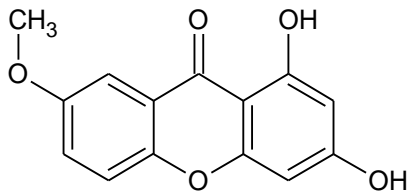


3,6,4'-Trimetoksi-5,7-dihidroksiflavon (flavon) (*G. algida*) (58)



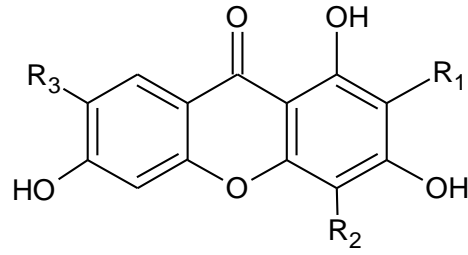
Apigenin (flavon) (61)

### g) Ksantonlar



İzogentisin (*G. lutea* K,Ç) (1,3,7-trisubstitüe ksantonlar) (*G. lutea* (K,Ç)) (38)

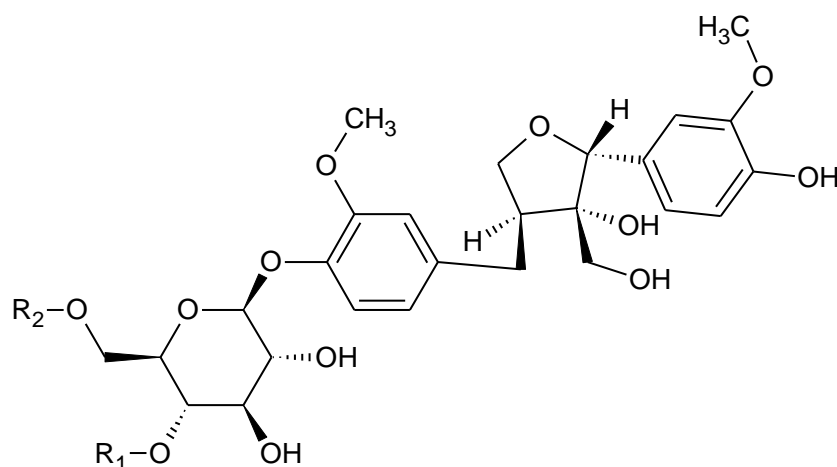




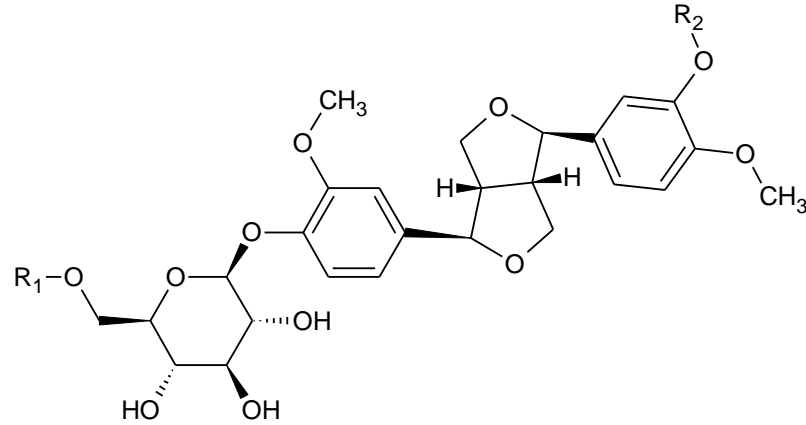
**Tablo 2.23.** *Gentiana* türlerinden izole edilen ksanton-C-glikozitleri

Bileşik	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	Bitki	Çalışılan Kısım	Kaynak
Mangiferin	Glu	H	OH	<i>G. cruciata</i>	TÜ	(17)
				<i>G. lutea</i>	K,Ç	(38)
				<i>G. dahurica</i>	Y	(60)
Neomangiferin	Glu	H	OGlu	<i>G. dahurica</i>	Y	(60)
İzomangiferin	H	Glu	OH	<i>G. dahurica</i>	Y	(60)

## h) Lignanlar

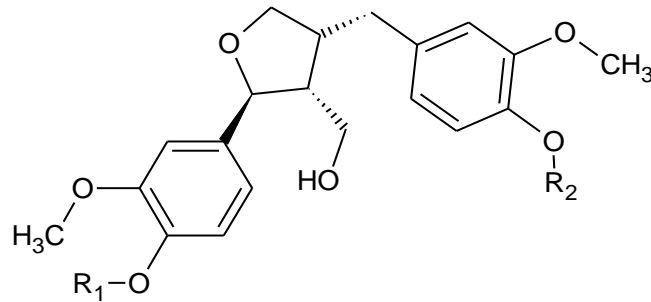
Tablo 2.24. *Gentiana* türlerinden izole edilen Lignanlar

Bileşik	R1	R2	Bitki	Çalışılan Kısım	Kaynak
8-Hidroksilarisirezinol-4'-O-(6-O-p-hidroksibenzoil)-β-D-glukozit	H	p-hidroksibenzoil	<i>G. macrophylla</i>	K	(62)
8-Hidroksilarisirezinol-4'-O-(6-O-feruloil)-β-D-glukozit	H	Feruloil	<i>G. macrophylla</i>	K	(62)
8-Hidroksilarisirezinol-4'-O-[6-O-(4-O-β-D-glukozil)-kafeoil]-β-D-glukozit	H	4-β-D-glukozil kafeoil	<i>G. macrophylla</i>	K	(62)
8-Hidroksilarisirezinol-4'-O-[β-D-glukozil-(1 → 4)]-(6-O-p-hidroksibenzoil)-β-D-glukozit	β-D-glu	p-hidroksibenzoil	<i>G. macrophylla</i>	K	(62)
8-Hidroksilarisirezinol-4'-O-[β-D-glukosil-(1 → 4)]-(6-O-vaniloil)-β-D-glukozit	β-D-glu	Vaniloil	<i>G. macrophylla</i>	K	(62)



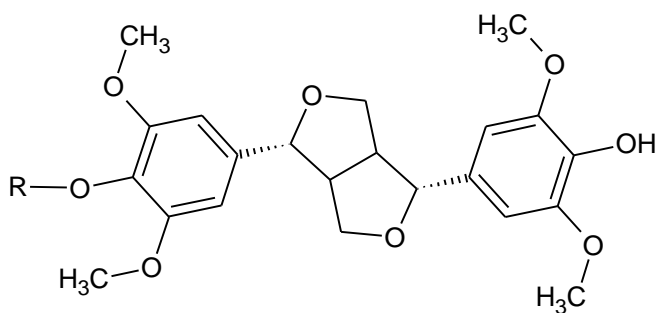
R<sub>1</sub>: 4-β-D-glukozil-kafeoil/ R<sub>2</sub>: Glu

Pinorezinol-4-O-β-D-glukozil-4'-O-[6-O-(4-O-β-D-glukozil)-kafeoil]-β-D-glukozit  
(*G. macrophylla* (K)) (62)



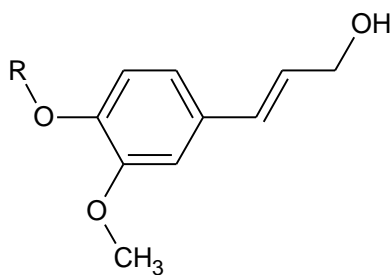
**Tablo 2.25.** *Gentiana* türlerinden izole edilen lignanlar (devam)

Bileşik	R1	R2	Bitki	Çalışılan Kısım	Kaynak
Larisirezinol -4'-O-β-D-glukopiranozitol	H	H	<i>G. dahurica</i>	K	(35)
7S,8R,8R'-(-)-larisirezinol-4-O-β-D-glukopiranozitol-4'-O-(2-O-β-D-glukopiranozitol)-β-D-glukopiranozitol	Glu	Glu-4'-(20)	<i>G. dahurica</i>	K	(35)



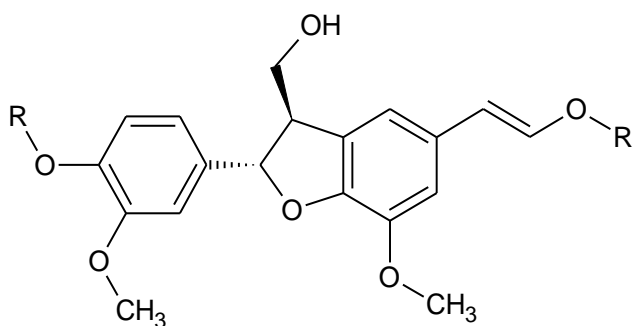
R: Glu

Siringarezinol-*O*-glukozit (*G. dahurica*-(K)(35), *G. urnula*- (TB)(34), *G. purpurea* -(3, 43))



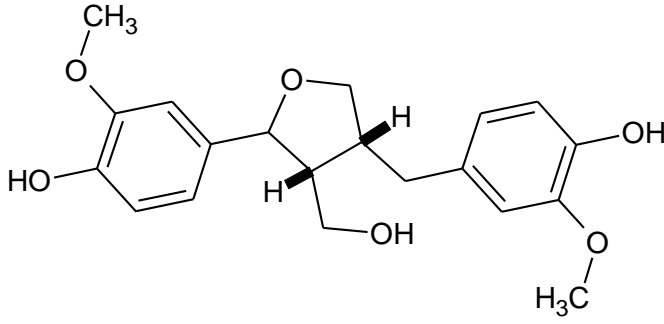
R: Glu

Koniferin (*G. urnula*- (TB)(34), *G. dahurica*-(3, 35))



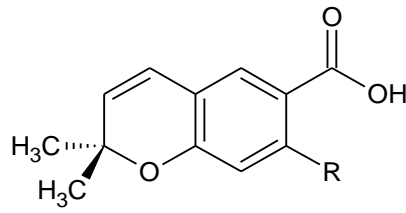
R: Glu

Dehidrodikoniferil alkohol 4,γ'-di-*O*-β-d-glukopiranozit (*G. dahurica* -(K)) (35)



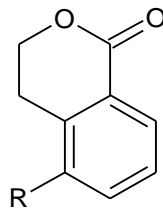
Berkemol (*G. scabra* - MeOH (K)) (63)

### i) Kumarinler



**Tablo 2.26.** *Gentiana* türlerinden izole edilen kumarinler

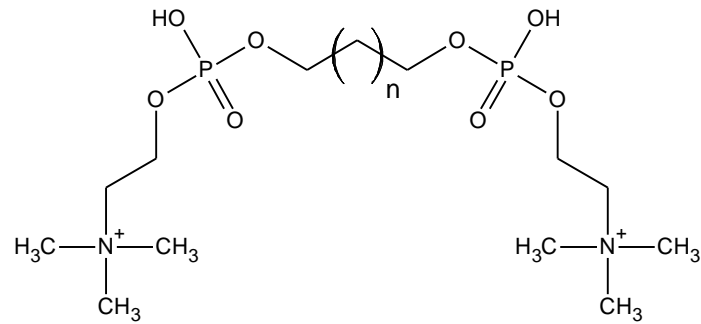
Bileşik	R	Bitki	Çalışılan Kısmı	Kaynak
2-Hidroksianofinik asit	OH	<i>G. crassicaulis</i>	K	(44)
2-Metoksianofinik asit	OCH <sub>3</sub>	<i>G. macrophylla</i>		(37)



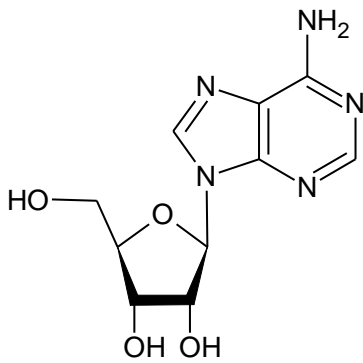
**Tablo 2.27.** *Gentiana* türlerinden izole edilen kumarinler (devam)

Bileşik	R	Bitki	Çalışılan Kısmı	Kaynak
Eritrosentaurin	CHO	<i>G. purpurea</i>	K	(43)
Eritrosentaurin dimetil asetal	CH(OCH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	<i>G. purpurea</i>	K	(43)

## j) Diğer bileşikler

Tablo 2.28. *Gentiana* türlerinden izole edilen Lipid bazlı sekonder metabolitler

Bileşik	n	Bitki	Çalışılan Kısım	Kaynak
Gentianaline A	19	<i>G. crassicaulis</i>	K	(64)
Gentianaline B	21	<i>G. crassicaulis</i>	K	(64)
Gentianaline C	22	<i>G. crassicaulis</i>	K	(64)

Adenozin (*G. crassicaulis*) (K) (44)

### 2.2.2. *Gentiana* Türlerinin Kullanılışları ve Biyolojik Etkileri

Bu bölüm *Gentiana* Türlerinin Halk İlacı Olarak Kullanılışları ve *Gentiana* Türleri Üzerinde Yapılan Farmakolojik Çalışmalar olmak üzere 2 kısımdan oluşmaktadır.

#### a) *Gentiana* Türlerinin Halk İlacı Olarak Kullanılışları

*G. algida* Çin'de pnömoninin ve atlet ayağının geleneksel tedavisinde olarak kullanılmaktadır (6, 65).

*G. asclepiadea* Anadolu'da iştah açıcı, ateş düşürücü ve mide üzerine etkilerinden dolayı, Çin'de hepatoprotektif olarak, Kafkasya bölgesinde pnömoni, tüberküloz, hepatit, mide ağrısı, hemoroid, sıtma, anemi, bronşitin tedavisinde ve ateş düşürücü, antidiyabetik etkilerinden dolayı geleneksel olarak kullanılmaktadır (4, 13, 66, 67).

*G. chirayita* ve *G. punctata* Romanya'da geleneksel olarak iştah açıcı olarak ve grip tedavisinde kullanılmaktadır (68).

*G. crassicaulis*' in kurutulmuş köklerinden *G. macrophylla*, *G. dahurica* ve *G. straminea* ile birlikte romatoid artrit, inme, artralji, sarılık, inflamasyon, malnütrisyon, spazm, iştahsızlık, ağrı, şişlik, kabızlık, hipertansiyonun tedavisinde kullanılan "Qin-Jiao" ismi verilen Çin Farmakopesi'nde kayıtlı olan geleneksel Çin ilacı hazırlanmaktadır (2, 16, 28, 35, 47).

*G. cruciata* Anadolu'da iştah açıcı, ateş düşürücü ve mide üzerine etkilerinden dolayı, Çin'de iştah açıcı olarak, Kafkasya bölgesinde pnömoni, tüberküloz, hepatit, mide ağrısı, hemoroid, sıtma, anemi, bronşitin tedavisinde geleneksel olarak kullanılmaktadır (4, 13, 66, 67).

*G. dahurica*, Tibet'te romatoid artritinin geleneksel tedavisinde kullanılırken, çiçekleri geleneksel Moğol ilacı olarak akciğeri rahatlatmada, öksürük ve boğaz ağrısının tedavisinde kullanılmaktadır (35).

*G. dendrology*, *G. lhassica*, *G. robusta*, *G. siphonantha*, *G. tibetica* ve *G. waltonii* Çin'de geleneksel olarak hepatobiliyer sistem ile ilişkili hastalıklarda kullanılmaktadır (3).

*G. farreri* Tibet'te geleneksel halk ilacı olarak ateş ve zatürrenin tedavisinde kullanılmaktadır (2).

*G. floribunda* Himalayalarda yetişen endemik bir bitkidir. Hepato-biliyer sistem hastalıklarında, hipertansiyon, nörolojik hastalıklarda, konjestif solunum, gastrointestinal motilite bozukluklarında bölgede geleneksel olarak kullanılmaktadır (69).

*G. kokiana* İtalya (Orta-Kuzey) da ve Güney Avrupa'da yetişen endemik bir bitkidir. Toskana'da geleneksel olarak kökleri kaynatılarak acı tonik olarak, spazmolitik ve antipiretik ve antihipertansif etki için kullanılmaktadır (70).

*G. kurroo* geleneksel Çin tıbbında balgam söktürücü, acı tonik, gaz giderici, anti-helmintik ve mide rahatsızlıklarının tedavisinde kullanılırken Unani tıbbında ağrı, inflamasyon, ateş ve hepatit tedavisinde kullanılır (4, 12).

*G. lutea* dünyanın bir çok yerinde kullanımı olan ve bir çok farmakopede yer alan *Gentiana* cinsine ait en bilindik türdür. Avrupa İlaç Ajansı'nı da da *G.lutea*' ya ait monograf yer almaktadır. Ayrıca Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'nun sitesinde de 2019 yılından beri monografi yayımlanmaktadır. Anadolu'da iştah açıcı, ateş düşürücü, yara iyileştirici, antianemik ve mide üzerine etkilerinden dolayı, Avrupa'da (orta ve güney) karaciğer inflamasyonunda, çeşitli göz ve gastrointestinal hastalıkların tedavisinde, bağışıklık sistemini güçlendirmede, İtalya'da alkolde hazırlanan maseratinin haricen antinevraljik ve anti-romatizmal olarak kullanılışı vardır. Sırp geleneksel tıbbında sindirim sistemi rahatsızlıklarında, ayurvedik tıpta ateş düşürücü, sarılık ve çeşitli karaciğer hasarı sonucu oluşan hastalıkları tedavi etmek için kullanılır. Japon farmakopesinde sodyum bikarbonat ile hazırlanmış formülasyonu yer almaktadır (3, 4, 8, 11, 48, 66, 71).

*G. macrophylla* gastrointestinal sistem için tonik olarak, safra kesesi ve karaciğer ile ilgili hastalıkların tedavisinde Çin tıbbında, ateş düşürücü, , hepatit, mide iltihabı, bağırsak iltihabı, kolesistiti tedavi edici olarak Moğol tıbbında kullanılmaktadır (3, 72, 73).

*G. manshurica*'nın kök ve rizomlarından *G. scabra*, *G. triflora* ve *G. rigescens* ile birlikte karaciğer hastalıklarının tedavisinde kullanılan Çin farmakopesine kayıtlı "Longdan" ismi verilen geleneksel Çin ilacı hazırlanmaktadır(2, 4, 5).

*G. olivieri* Griseb. Türkiye'de özellikle Doğu ve Güneydoğu Anadolu'da "Afat" adıyla ve "7 yıllık korkuyu gideren bitki" olarak bilinmektedir. Herbasının infüzyonu tonik (iştah açıcı), ateş düşürücü ve mide ile ilgili hastalıkların tedavinde kullanılırken, dekoksionu çeşitli ruhsal hastalıkların ve korkuların tedavisinde kullanılmaktadır. Sulu maseratı antidiyabetik olarak tip-2 diyabetlilerde kullanılmaktadır. Karaciğer ile ilgili hastalıklarda ve anemide de halk arasında kullanılmaktadır (15, 22, 67, 74). Pakistan'da ülser, apse ve deri hastalıklarının tedavisinde, idrar yolu enfeksiyonlarında ve kökleri genital bölge enfeksiyonu olan çocuklarda kullanılmaktadır (30, 75). Özbekistan'da karın ağrısının, soğuk algınlığının tedavisinde, müshil etkisiyle kabızlığın giderilmesinde, hazımsızlığı giderilmesinde ve yaraları iyileştirmekte



kullanılmaktadır (30, 31, 48). Ayurvedik ve Unani tıp sistemlerinde karaciğer hastalıklarının tedavisinde, sudorifik (terletici), antidepresan, antiinflamatuvar, gastroprotektif ve antiülserojenik etkileriyle yer almaktadır (30, 31, 76, 77).

*G. paradoxa*, *G. pneumonanthe* ve *G. septemfida* Kafkasya bölgesinde pnömoni, tüberküloz, hepatit, mide ağrısı, hemoroid, sıtma, anemi, bronşitin tedavisinde ve ateş düşürücü, iştah açıcı ve antidiyabetik etkilerinden dolayı geleneksel olarak kullanılmaktadır (13).

*G. rhodantha*'nın herbası Çin'de yaşayan Miao halkı tarafından geleneksel olarak tüberküloz, öksürük , pnömoni, sarılık, bronşit ve hepatit tedavisinde kullanılmakta olup Çin farmakopesine kayıtlıdır. Tadı düzenlemek için *Glycyrrhiza uralensis* (meyan kökü) ile beraber kullanılmaktadır (2, 4, 6, 48).

*G. scabra* geleneksel Çin tıbbında Vitiligo tedavisi için hazırlanan çeşitli formülasyonların içerisinde yer almaktadır. Kore'de geleneksel olarak antidiyabetik olarak Romanya' da ise iştah açıcı ve grip tedavisinde kullanılmaktadır (3, 4, 68).

*G. straminea* Tibet geleneksel tıbbında antimikrobiyal ve ateş düşürücü olarak kullanılmaktadır (73).

#### **a) Gentiana Türleri Üzerinde Yapılan Farmakolojik Çalışmalar**

##### **Hepatoprotektif Etki**

*G. asclepiadea* L. toprak üstü ve köklerinin metanol ekstraktları farelerde CCl<sub>4</sub> (Karbon tetra klorür) kaynaklı karaciğer hasarına karşı koruyucu etki göstermiştir. Bu koruyucu etkiyi

aminotransferazın serumdaki seviyesinin artışı önleyerek, karaciğerde oluşan lezyonları iyileştirerek ve oksidatif stresi azaltarak göstermiştir (78).

*G. cruciata* toprak üstü kısımlarının metanol ekstresi farelerde CCl<sub>4</sub> (Karbon tetra klorür) kaynaklı karaciğer hasarında değişen biyobelirteçleri ( Serum AST, ALT, ALP, total protein ve total bilirubin ) düzenlemiş ve karaciğer fonksiyonlarının değişimini engellemiştir. Bu etkinin ekstrede yüksek oranda bulunan gentiopikrozitten kaynaklandığı düşünülmüştür (18).

*G. macrophylla* kurutulmuş köklerinin %70 EtOH ekstresinden elde edilmiş olan 8-Hidroksi-larisiresinol-4'-O-(6-Op-hidroksibenzoil)-β-D-glukozit, 8-Hidroksi-larisiresinol-4'-O-(6-O-feruloil)-β-D-glukozit, 8-Hidroksi-larisiresinol-4'-O-[β-D-glukozil-(1→4)]-(6-O-vanilloil)-β-D-glukozit, Pinoresinol-4-O-β-D-glukozil- 4' - O-[6-O-(4-O-β-D-glukozil)-kafeoil]-β-D-glukozit bileşikleri MH7A hücre hattında IL-1β (proinflamatuvar sitokin)' nin salınımını anlamlı şekilde azaltmıştır. Ayrıca bu bileşikler D-galaktozamin uygulanarak oluşturulan AML12 hepatosit hasar modelinde anlamlı derecede hepatoprotektif etki göstermiştir. 8-Hidroksi-larisiresinol-4'-O-[β-D-glukozil-(1→4)]-(6-O-vanilloil)-β-D-glukozit silybin kadar etkili bulunmuş olup anti-apoptotik protein olan Bcl-2 ekspresyonunu arttırıp pro apoptotik protein olan Bax ekspresyonunu azaltarak hücre apoptozunu düzenlemektedir (62).

*G. olivieri* EtOH ekstresinden elde edilen olivierisekozit M bileşiği L02 ve HepG2 hücre hatlarında ve loganin bileşiği HepG2 hücre hattında palmitik asit kaynaklı oluşan hasara karşı hepatoprotektif etki göstermiştir (19).

*G. olivieri* %80 EtOH maseratı ve elde edilen izoorientin CCl<sub>4</sub> tarafından hasar görmüş olan karaciğer hücreleri üzerinde güçlü hepatoprotektif etki göstermiştir. (Antioksidan aktivitelerinden ötürü olduğu düşünülmektedir mekanizmanın aydınlatılması için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.) (23)

### **Antiinflamatuvar Aktivite**

*G. cruciata* L. kurutulmuş toprak üstü kısımlarının MeOH ekstresinden elde edilen 10-O-benzoilöstomoruzit, gentiopikrozit, izorientin ve izoviteksin 2''-(E)-ferulat bileşikleri nitrit ve IL-6 üzerinde güçlü sayılabilecek anlamlı bir antiinflamatuvar aktivite gösterirken, gentiopikrozit PGE<sub>2</sub> seviyesini de düşürerek analjezik etki de göstermiştir (17).

*G. dahurica* Geleneksel Çin formülasyonu olan Qin-Jiao'da yer alan diğer Gentiana türleriyle birlikte içerdikleri iridoit glikozitler COX-1/2 üzerinde inhibitör etki göstermiştir.

(COX enzimine ana bileşikler olan loganik asit ve gentiopikrozitin yanı sıra minör bileşiklerde inhibitör etki göstermiştir.) (35)

*G. kurroo* bitkinin tamamından hazırlanan petrol eteri, etil asetat, su ve metanol ekstreleri inflamasyon oluşmuş farelerde hücrel immün yanıtı ve antikor oluşumu üzerinde denenmiş ve metanol ekstresi en yüksek etkiyi göstermiştir (79).

*G. macrophylla* köklerinden %70 EtOH ekstresinde bulunan iridoitler IL-10 ( antiinflamatuvar sitokin) seviyesini arttırarak, IL-8 ve IL-1 $\beta$  (proinflamatuvar sitokin) seviyesini azaltarak A549 hücre hattında antiinflamatuvar etki göstermiştir (56).

*G. macrophylla*'den elde edilen gentiopikrozit farelerde %70 EtOH ile oluşan mide mukozasında oluşan hasara karşı anlamlı bir koruma oluşturmuştur. EGF ve VEGF seviyelerini düzenlemiş ve HSP-70 i yükselterek antiinflamatuvar etki göstererek bu korumayı sağladığı düşünülmektedir (80).

*G. purpurea* bitkinin sıcak suyla hazırlanmış ekstresinde bulunan amarogentin ve gentiopikrozit ile birlikte bozulma ürünleri olan gentiogenal ve eritrosentaurin TNF-a' nın salgılanmasını azaltarak güçlü bir antiinflamatuvar aktivite göstermektedir (43).

*G. olivieri* Griseb EtOH ekstraktından elde edilen olivierozit B ve 6'-gentizoil-8- *epi* -kingizit bileşikleri LPS ile indüklenen RAW264 hücrelerinde anlamlı antiinflamatuvar yanıt oluşturmuştur (19).

*G. scabra* köklerinin CHCl<sub>3</sub> ekstresinin LPS ile uyarılmış RAW264 fare makrofaj hücrelerinde TNF-a, IL-6 ve NO üretimini inhibe ederek antiinflamatuvar yanıt oluşturmuştur. (46) Başka bir çalışmada kök ve rizomlarının %70 EtOH ekstresi IL-6, TNF- $\alpha$ , MCP-1 ve IFN- $\gamma$  üretimini azaltıp antiinflamatuvar yanıt oluşturarak farelerdeki deri lezyonlarının iyileşmesini sağlamıştır. %70 EtOH ekstresinin Balb/c fareleriyle yapılan çalışmada farelerin cilt yüzeyindeki soyulma, pürüzlülük, kabuklanma gibi semptomları düzelttiği, cildi sıkılaştırıp melanin ve eritem indeksini düşürdüğü, epidermal hiperplaziyi, hiperkeratozu , ve immün hücre infiltrasyonunu engellediği, MCP-1, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  ve IL-6 üretimi inflamatuvarlı dokularda inhibe ettiği görülmüştür(81). Ayrıca yine kök ve rizomlarının MeOH ekstresinin C57BL/6 fare hücre hattına uygulanmasıyla TNF- $\alpha$ , IL-6 ve IL-12 p40 üretimini inhibe ederek antiinflamatuvar etki göstermektedir (41).

*G. triflora* köklerinin MeOH ekstresinin LPS ile uyarılmış RAW264 hücrelerinde iNOS, COX-2 ve TNF-a üretimini inhibe ederek antiinflamatuvar aktivite göstermiştir (54).

### **Kolinesteraz İnhibitör Aktivite**

*G. verna* kök, yaprak ve çiçeklerinden MeOH, EtOAc ve DCM ekstralarının asetilkolinesteraz (AChE) inhibitör aktiviteleri değerlendirilmiş ve güçlü kolinesteraz intibitörü özelliği gösterdiği tespit edilmiştir. (16).

### **Antioksidan Aktivite**

*G.asclepiadea* köklerinin MeOH ekstresinden etil asetat, kloroform ve *n*-butanol fraksiyonları elde edilip bu fraksiyonların total antioksidan kapasitesi, DPPH radikal süpürücü etkisine değerlendirilerek antioksidan aktivitesi değerlendirilmiş olup etil asetat fraksiyonunun antioksidan kapasitesi en yüksek olan fraksiyon olduğu gösterilmiştir. Etil asetat fraksiyonunun fenolik bileşikler açısından zengin olması antioksidan aktiviteden fenolik grupların asıl sorumlu grup olabileceğini göstermektedir (78).

*G. cruciata toprak üstü ve köklerinin* MeOH ekstresinin , süperoksit radikal temizleme, DPPH, ABTS radikal süpürücü etki, redoksasyon ve farklı sistemlerde lipid peroksidasyon kapasitelerine bakılmıştır ve toprak üstü kısmının antioksidan aktivitesinin daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Bunun fenolik özellikle flavanoid bileşiklerin miktarıyla ilişkili olduğu düşünülmektedir. Ayrıca 1-9 pH aralığında 1 saatlik inkübasyon ve ısıtma uygulamasında fenolik bileşiklerin azalmadığı ve antioksidan kapasitenin arttığı görülmüştür (82).

*G. lutea* çiçeklerin ve sapların etanol ekstralarına DPPH (2.2-Difenil-1-pikrilhidrazil Radikal) testi uygulanmış olup çok güçlü olmayan antioksidan etki göstermişlerdir (83).

*G. macrophylla köklerinin* MeOH ekstresinin antioksidan aktivitesine bakmak için NBT testi, DPPH (Askorbik asit ile karşılaştırmalı) testi yapılmış ve toplam fenolik içeriğine bakılmış olup DPPH testinde askorbik asite benzer bir antioksidan aktivite gösterirken NBT testinde zayıf etki göstermiştir. Yanıktan oluşan yaraların iyileşmesinde antimikrobiyal aktivitesiyle birlikte güçlü antioksidan aktivitesinin önemli olabileceği düşünülmektedir (84).

*G. scabra* polisakkaritleri DPPH, Demir indirgeme kapasitesi, Hidroksil radikal temizleme deneyi ve Süperoksit anyon radikal temizleme kapasite testlerinde antioksidan etki göstermişlerdir (85).

*G. scabra* su ekstresinden hazırlanan polisakkarit fraksiyonunun GSP Ia ve GSP II-b' in Hidroksil radikali, DPPH ve Süperoksit anyon radikali üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir.

DPPH testinde GSP Ia ve GSP II-b güçlü antioksidan aktivite gösterirken Süperoksit anyon ve Hidroksil radikal üzerinde etkileri düşük kalmıştır (86).

*G. veitchiorum* çiçeğinden elde edilen apigeninin hiperlipidemik sıçanlarda karaciğer homojenatı ve serumda MDA (malondialdehit) içeriği ve SOD (süperoksit dismutaz) aktivitesine bakılarak antioksidan aktivitesi değerlendirilmiştir. Apigenin verilen sıçanlarda MDA değerinde anlamlı azalmalar olurken SOD aktivitesinde anlamlı artışlar görülmüştür (61).

*G. verna* kök, yaprak ve çiçeklerinden MeOH, EtOAc ve DCM ekstralarının radikal süpürme, ferrik indirgeme, şelasyon yapabilme kapasitelerine bakılarak antioksidan aktivitesi gösterilmiştir (16).

### **Anti-Artrit Etki**

*G. macrophylla* köklerinin EtOH ekstresinden elde edilen 8-hidroksi-larisiresinol-4'- *O*- (6- *O* - *p* -hidroksibenzoil) - $\beta$  -D-glukozit, 8-hidroksi-larisiresinol-4'- *O*- (6- *O* feruloil)- $\beta$  -D-glukozit, 8-hidroksi-larisiresinol-4'- *O*- [ $\beta$  -D-glukozil-(1  $\rightarrow$  4)]-(6- *O* -vanilloil) - $\beta$  -D-glukozit ve pinoresinol-4-O- $\beta$ -D-glukozil-4'-O-[6-O-(4-O- $\beta$ -D-glukozil)-kafeoil]- $\beta$ -D-glukozit bileşikleri TNF- $\alpha$  tarafından indüklenen MH7A hücrelerinde artan IL-1 $\beta$  miktarını deksmetazon benzeri etki göstererek anlamlı seviyede azaltmıştır (62).

*G. macrophylla* çiçeklerinin %75 EtOH ekstresi TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$ 'yi regüle edip iNOS ve COX-2 ekspresyonunu inhibe ederek sıçanlarda romatoid artrit patolojik gelişimini engellemiştir (36).

### **Apoptoz Regülasyonu**

*G. macrophylla* köklerinin EtOH ekstresinden elde edilen 8-hidroksi-larisiresinol-4'- *O*- [ $\beta$  -D-glukozil-(1  $\rightarrow$  4)]-(6- *O* -vanilloil) - $\beta$  -D-glukozit adlı bileşik Bax (pro-apoptotik) ekspresyonunu azaltırken Bcl-2 (antiapoptotik) ekspresyonunu artırarak MH7A hücrelerinde apoptozunu regüle etmiştir (62).

### **Antikoagülan aktivite**

*G. scabra* köklerinden elde edilen polisakkaritlerin antikoagülan aktiviteleri PT (protrombin zamanı) analiziyle ekstrinsik pıhtılaşma faktörlerinin ayırt edici özelliklerini ortaya koymak , TT (trombin zamanı ) analizifibrinin trombin tarafından fibrinojenden dönüştürülmesinin ölçülmesi ve APTT (aktive parsiyel tromboplastin zamanı) analizi ile XII, XI, IX, VIII ve prekallikrein intrinsik pıhtılaşma faktörlerini değerlendirmek için

kullanılmışlardır. Elde edilen polisakkaritlerin PT, TT ve APTT'yi uzattığını ve antikoagülan aktivite gösterdiği görülmüştür (87).

### **Antigenotoksik Aktivite**

*G. asclepiadea* köklerinin MeOH ekstresinin elde edilen CHCl<sub>3</sub>, *n*-butanol ve EtOAc fraksiyonları EMS (etil metansülfonat) ile indüklenen DNA hasarına karşı antigenotoksik aktivite göstermişlerdir (88).

*G. cruciata* kök ve toprak üstü kısımları CCl<sub>4</sub> karaciğer hücrelerinde neden olduğu DNA hasarı düzeylerini belirgin şekilde azaltmıştır (82).

*G. lutea* 'nın yaprak ve köklerinin %50 EtOH ekstresinin Hepatoma HepG2 hücre hattında gıda kaynaklı mutajenler olan IQ ve PhIP'in (aromatik aminler) oluşturduğu genotoksik etkilere karşı ksenobiyotiklerden arandırmadan sorumlu olan Nrf2 transkripsiyon faktörünü artırma, radikal süpürme etkisi, antioksidan aktivitesiyle anti genotoksik aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (38).

### **İmmünomodülatör Aktivite**

*G. crassicaulis* köklerinin sulu ekstresinden saflaştırılan polisakkaritler kompleman sistemine etki ederek güçlü bir aktivite gösterip potansiyel birer immünomodülatör oldukları tespit edilmiştir (89).

*G. kurroo* nun petrol eteri, etil asetat, metanol ve su ekstrelerinin Erkek albino Wistar sıçanlarda yapılan DTH (Gecikmiş Tip Aşırı Duyarlılık) testi ve Hemagglütinasyon Antikor Titresi (Ekstrelerin B hücrelerindeki antikor üretimine etkisinin incelenmesi için yapılan test) testler ile incelenmiş olup 2 testte de metanol ekstresinin anlamlı immünomodülatör yanıt oluşturduğu görülmüştür (79).

*G. olivieri* %80 etanol ekstresinin ve bu ekstrenin *n*-butanol fraksiyonunun Balb/C farelerinde yapılan Humoral antikor titresi testi ve Gecikmeli aşırı duyarlılık cevabı testlerine 24. ve 48. saatteki yanıtları değerlendirilmiştir. Humoral antikor testi sonuçlarına göre *n*-butanol fraksiyonu etanol ekstresinden daha etkili bulunmuştur. Gecikmeli aşırı duyarlılık cevabı testinin sonuçlarına göre ise etanol ekstresinin de *n*-butanol fraksiyonunun da 48. saat sonuçları etkili bulunmuştur (77).

*G. scabra* su ekstresi hazırlanıp konsantre hale getirildikten sonra etanol eklenip santrifüj edilip Sevag reaktifıyla proteinlerinden ayrılmıştır. Daha sonra dondurulup çözülüp çözünmeyen hiçbir molekül kalmayana kadar santrifüjlenerek çeşitli kolonlar yardımıyla jel

filtrasyon kromatografisiyle polisakkarit elüsyonu hazırlanmıştır. Ayırıştırılan polisakkaritler hem GSP Ia'in hem GSP II-b' in lenfosit proliferasyonunu anlamlı ölçüde arttırdığı görülmüştür (86).

### **Antiaging Etki**

*G. rigescens* köklerinin MeOH ekstresinden elde edilen amarogentin çeşitli dozlarda (1, 3 ve 10  $\mu\text{M}$ ) uygulandığında K6001 maya hücrelerinin replikasyon süresini anlamlı ölçüde arttırdığı, SOD (süperoksit dismutaz), CAT (katalaz), GPx (glutasyon peroksidaz) enzimlerinin aktivitesini ve gen ekspresyonunu artırarak hayatta kalmasını (oksidatif stres altında) önemli ölçüde arttırdığı ancak bu maya hücrelerinin mutasyonu sonucu oluşan SKN7, SOD1, UTH1 ve SOD2 in replikasyon süresi üzerinde olumlu bir etkisi olmamıştır. Bütün bu sonuçlar amarogentinin antiaging aktivitede önemli bir bileşik olacağını düşündürmüştür (49).

### **Nöroprotektif etki**

*G. rigescens* köklerinin MeOH ekstresinden elde edilen amarogentin çeşitli dozlarda (1, 3 ve 10  $\mu\text{M}$ )  $\text{H}_2\text{O}_2$  ile hasara uğratılmış PC12 hücre hattına uygulandığında bu hücrelerin canlılık oranını, SOD (süperoksit dismutaz) ve SOD2'nin aktivitesini ve GPx (glutasyon peroksidaz), CAT (katalaz), SOD2, Bcl-x1 ve Nrf2'nin gen ekspresyonunu önemli ölçüde arttırdığı ve MDA (malondialdehit) ve ROS (reaktif oksijen türleri) seviyelerinin anlamlı şekilde azaltarak nöroprotektif etki göstermiştir (49).

*G. scabra* kök ve rizomlarının MeOH ekstresinden elde edilen bileşiklerin antitümoral ve nöroprotektif etkisi Kinürenin yolağının hız sınırlayıcı basamağını katalize edenIDO (indoleamin 2,3-dioksijenaz) inhibitör aktivitesi ile değerlendirilmiştir. Elde edilen bileşiklerden masililik asit ve oleanolik asit yüksek, ürginolik asit orta, skabranol ve 1 $\beta$ ,2a,3a,24-tetrahidroksiolean-12-en-28-oik asit ise zayıf inhibitör aktivite göstermişlerdir (90).

### **Antimikrobiyal Aktivite**

*G. lutea* çiçek, sap ve yaprakların EtOH, petrol eteri, su ve kloroform ekstrelerinin antimikrobiyal aktivitelerinin değerlendirilmesi için bu ekstreler çeşitli bakteriyel suşlara (Gram pozitif: *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, Gram negatif: *Escherichia coli*, *Salmonella abony* ve *Candida albicans*) uygulanmıştır. Kloroform ekstrelerinin tüm suşlara karşı en etkili olan ekstreler olduğu tespit edilmiştir. Çiçekten hazırlanan ekstrelerin *Candida albicans* ve *Salmonella abony*' ye karşı belirgin etkileri vardır. Tüm EtOH ekstrelerinin bütün

suşlar üzerinde anlamlı etkileri varken su ekstralarının herhangi bir antimikrobiyal etkisi bulunamamıştır (83).

*G. macrophylla* köklerinin MeOH ekstresinin yanık yaralarından elde edilmiş bazı bakteriyel suşlar (Gram pozitif: *Enterococcus faecalis*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus uberis*, Gram negatif: *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Escherichia coli*) üzerindeki antimikrobiyal etkisi MIK (Minimum inhibitör konsantrasyon) ve MBK (minimum bakterisidal konsantrasyon)'ya bakılarak değerlendirilmiştir. *G. macrophylla* köklerinin MeOH ekstresi değerlendirilen tüm suşlara karşı anlamlı seviyede antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Yanık yaralarından izole edilen bakterilere karşı göstermiş olduğu güçlü antimikrobiyal ve antioksidan aktivite yanık yaralarını tedavisinde anlamlı olabileceğini düşündürmüştür (84).

*G. olivieri* nin EtOH ekstresinin, bu ekstreten izole edilen gentianin ve sulu fraksiyonunun antibakteriyel ve antifungal aktiviteleri incelenmiştir. Bazı bakteriyel suşlara (Gram negatif: *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio cholerae*, *Pseudallescheria boydii* ve *Escherichia coli*) karşı güçlü antibakteriyel aktivite gösterdiği bulunmuştur. Etanol ekstresinin ve gentianinin çeşitli mantar suşlarına (*Nigrospora oryzae*, *Drechslera rostrata*, *Epidermophyton floccosum* ve *Allescheria boydii*) karşı antifungal aktivite göstermiştir (75).

### **Antidiyabetik aktivite**

*G. kurroo* etil asetat, metanol, petrol eteri ve %50 EtOH ekstralarının STZ (Streptozotolin) ile pankreasının  $\beta$  hücrelerine zarar verilerek diyabetik hale getirilmiş Albino Wistar sıçanlardaki antidiyabetik etkisi açlık kan glukoz seviyesindeki ve poliüri, polidipsi, polifaji gibi diyabetik semptomlardaki değişim değerlendirilmiştir. Sıçanlarda ekstraların ALP, ALT ve AST'yi önemli ölçüde azalttığı ve açlık kan glikozunu dengeledikleri biyokimyasal sonuçlar değerlendirildiğinde görülmüştür ayrıca ve poliüri, polidipsi, polifaji gibi semptomları düzeltmiştir (91).

*G. olivieri* su ve MeOH ekstralarının antidiyabetik etkisi sağlıklı ve CMC (karboksimetilselüloz) çözeltisiyle diyabetik hale getirilmiş Sprague-Dawley sıçanlarında kan açlık glukoz seviyesi, kan trigliserit seviyesi ve OGTT (oral glukoz tolerans testi) ile değerlendirilmiştir. Su ekstresinin anlamlı bir etki göstermediği ve MeOH ekstresinin güçlü bir antidiyabetik etki gösterdiği görülmüştür (22).

*G. scabra* su ekstresinin antidiyabetik etkisi NCI-H716 (İnsan enteroendokrin hücresi) hücre hattında ve farelerde yapılan çalışmalarda G $\beta\gamma$  yoluyla GLP-1 (glukagon benzeri peptid-



1) salgılanmasını arttırdığı görülmüştür. Farelerde yapılan OGTT (oral glukoz tolerans testi) ile de antidiyabetik aktivite gösterdiği bulunmuştur (92).

### **Kolestrol Düşürücü Aktivite**

*G. lutea* köklerinin su ekstresinin ve bu ekstrede elde edilen izoviteksinin kolestrol düşürücü aktivitesinin RASMC (sıçan aortik kas hücresi) hücre hattında ve HUVEC (insan göbek damarı endotel hücresi) hücre hattında ROS (reaktif oksijen türlerinin) oluşumunu ve lökosit yapışmasını engellediği görülmüştür. Hem su ekstresi hem izoviteksinin HUVEC hücre hattında TNF- $\alpha$  ile indüklenen VCAM-1 ve ICAM-1'in ekspresyonunu, fosfolipaz C-  $\gamma$  aktivasyonu ve PDGF-BB (büyüme faktörü-BB) ile indüklenen RASMC'in göçü ve hücre içi kalsiyum artışını da inhibe edilmiştir. STZ sıçanların diyetine toz olarak *G. lutea* eklendiğinde kandaki kolestrol miktarını azaltmıştır. Aort damarının duvarında lipit birikimini azaltmıştır. *G. lutea* tedavisinden sonra iNOS (indüklenebilir nitrik oksit sentaz), VE-kadherin (vasküler endotelyal kaderin) ve VCAM-1 (vasküler hücre adezyon molekülü-1) ekspresyonunu azaltmıştır (93).

*G. veitchiorum* çiçeklerinin %95 MeOH, %70 MeOH ve su ekstresinin ve %70 MeOH ekstresinden elde edilen apigeninin antihiperlipidemik aktivitesi SD sıçanlarıyla yapılan çalışmalarla değerlendirilmiştir. Kanda TG (trigliserit) ve TC (toplam kolesterol) seviyeleri ve MDA içeriği ve SOD aktivitesine sırasıyla sıçanların karaciğer homojenatından ve serumdan bakılmıştır. Apigenin serum TC ve TG seviyelerini anlamlı ölçüde azaltmıştır. Ayrıca MDA seviyesini anlamlı ölçüde azaltmıştır ve SOD seviyesini önemli ölçüde arttırmıştır. Apigeninin antioksidan aktivitesi ABTS, DPPH ve FRAP yöntemleriyle ölçülmüş olup dikkat çekici seviyede antioksidan etki gösterdiği bulunmuştur (61).

### **Melanogenez İnhibisyonu**

*G. veitchiorum* kök ve çiçek su ekstresinininden elde edilen izorientin B16F10 (fare melanom hücreleri) hücre hattının melanin miktarını tirozinaz enziminin hücre içi ekspresyonunu inhibe ederek azaltmıştır (59).

### **UV Koruyucu Etki**

*G. lutea* sürgün ve köklerinin ekstresinin Hs 294T (insan melanom hücreleri) ve MRC-5 (fetal akciğer fibroblastları) hücre hatlarının MTT testiyle toksik olmayan konsantrasyonlarını belirlenmiştir. Alkalın komet testi kullanılarak antigenotoksik etkisi doza bağlıdır. UV

koruyucu etki gücü UVC ve UVA nin oksidatif hasara neden olması nedeniyle hazırlanan ekstrenin antioksidan kapasitesine bağlı olup DPPH testiyle antioksidan kapasite ölçülmüştür. Sürgün ekstresinin güçlü, kök ekstresinin orta derecede antioksidan aktivite göstermiş olup UVC ve UVA' ya karşı anlamlı derecede koruyucu etki göstermişlerdir (94).

### **Antidepresan Etki**

*G. olivieri* çiçeklerinin %80 EtOH ekstresinin antidepresan aktivitesi 3 hafta hafif kronik strese maruz kalan Sprague-Dawley sıçanlarda davranışsal ve biyokimyasal parametreler incelenerek değerlendirilmiştir. Ekstre sıçanların strese bağlı azalan sakkaroz tüketimini düzenlemiş, karaciğer kortikosteron, proinflamatuvar sitokin TNF- $\alpha$  ve IL-6 seviyelerinin artışını engelleyip hipokampüste azalan noradrenalin ve seratonin seviyelerini ve antioksidan parametreleri önemli ölçüde arttırmıştır (20).

### **Obezite Karşıtı Etki**

*G. scabra* EtOH ekstresinden elde edilen gentiopikrozit günde 1 defa olacak şekilde 12 hafta boyunca obez olan C57BL/6N farelerine verilmiştir. Visseral (iç organ) ve epididimal (testislerin arka tarafında yer alan sperm depolama ve taşıma görevi olan tüp) yağ kütlesinde azalmaya, 3T3-L1 adiposit hücrelerinin boyutunu lipogenez/adipogenezde etkili genler supresyonuyla lipid birikimini ve adiposit farklılaşmasını inhibe ederek anlamlı seviyede küçülttüğü ve 3T3-L1'in inflamatuvar yanıtını arttırdığı görülmüştür. Tüm bu bulgular gentiopikrozitin yüksek yağlı besinlerle beslenen farelerde obeziteye karşı anlamlı bir etkisinin olduğunu göstermektedir (95).

### **Sitotoksite**

*G. dinarica* invitro kültür köklerinin E<sub>1</sub>, E<sub>2</sub> ve E<sub>3</sub> ekstrelerinin (E<sub>1</sub>: değiştirilmemiş köklerin MeOH ekstresi, E<sub>2</sub>: A4M70GUS suşu ile inoküle olmuş *Agrobacterium rhizogenes* ile transformasyonu gerçekleşmiş köklerinin MeOH ekstresi, E<sub>3</sub>: 15834/PI suşu ile inoküle olmuş *Agrobacterium rhizogenes* ile transformasyonu gerçekleşmiş köklerinin MeOH ekstresi) U251 hücre hattında sitotoksik aktivitesi değerlendirilirken kristal viyole ve MTT testiyle toksik olmayan konsantrasyonlar belirlenmiş, flow sitometrisiyle hücre döngüsünün analizi, oksidatif stres, otofaji seviyeleri ve farklılaşma belirteçlerinin ifadesi değerlendirilmiş ve WB (immunblotlama) ile otofaji ve bununla ilgili sinyal yolları analiz edilmiştir. Ksanton açısından zengin (norsvertianin) E<sub>3</sub> ekstresi U251 hücrelerinin büyümesini ve hücre döngüsünü inhibe edilmesini, oksidatif stresin ve farklılaşma belirteçlerinin artmasını, otofajinin tetiklenmesini sağlamıştır ayrıca norsvertianin de hücre farklılaşmasını indükleyip hücre

çoğalmasını durdurmuştur. Bu sonuçlar değerlendirildiğinde  $E_3$ 'ün anlamlı antitümoral aktivite gösterdiği sonucuna ulaşılmıştır (96).

### **Antitümoral Aktivite**

*G. scabra* EtOH ekstresinden elde edilen polisakkaritlerin antitümoral aktiviteleri Sarcoma oluşturulmuş Erkek BALB/c farelere uygulanıp sonrasında katı tümörün tartılmasıyla değerlendirilmiştir. Katı tümör ağırlıkları ekstreye tedavi edilen grup ile kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı ölçüde fark olması ve Sarcoma 180 hücreleri olan farelerde vücut ağırlığı azalırken ekstrenin vücut ağırlığını da dikkate değer ölçüde arttırması antitümoral aktiviteyi göstermiştir (97).

*G. septemfida* toprak üstü kısımlarının EtOH ekstresinin çeşitli dozlarının (300, 200, 100, 50, 25, 10 µg/mL) HT-29 (kolorektal kanser hücresi) hücre hattında antiproliferatif aktivitesi (hücre siklusunun G2 fazına etki ederek DNA sentezinin engellenmesi) XTT (2,3-Bis-(2-Metoksi-4-nitro-5-sülfofenil)-2H-tetrazolyum-5-karboksanilid, disodyum tuzu) hücre canlılığı kiti kullanılarak değerlendirilmiştir. HT-29'un canlılığını azaltmıştır. Apoptotik etkisi ise kaspaz-3, kaspaz-7, kaspaz-8, kaspaz-9, kaspaz-10, Bid, Bcl-2 ve Bax'ın aktivitelerine bakılarak değerlendirilmiştir. kaspaz-3, -7, -8 ve -10 ve Bax ekspresyonunu arttırmış, Bid ve Bcl-2 ekspresyonunu azaltmıştır (98).

### **İştah Açıcı Etki**

*G. olivieri* %70 EtOH ekstresinin gentiopikrozit üzerinden standardize edilerek formüle edilerek iştah açıcı etkisi acılık değeri değerlendirilerek iştah açıcı etkisi olduğu değerlendirilmiştir (99).

### **Antihipertansif Etki**

*G. olivieri* EtOH ekstresinin ve EtOH ekstresinden saflaştırılan alkaloid gentianin Wistar sıçanlarının kalp atışı hızının düzenlemiş ve kan basıncını düşürerek antihipertansif aktivite göstermiştir (100).

### **Antiepileptik Etki**

*G. olivieri* %80 EtOH ekstresinin (200, 750 ve 1000 mg/kg) İsviçre albino farelerinde MES kaynaklı nöbetlere karşı  $Ca^{2+}$  kanallarına ve GABA aminojerjik mekanizmasıyla etki ederek

antiepileptik aktivite gösterdiği düşünölmektedir. PTZ ile oluşturulan nöbete karşı ise aktivite göstermemiştir. PIC ile oluşturulan nöbete karşı farelerin %25'inde aktivite göstermiştir (21).

### **3. GEREÇ VE YÖNTEM**

#### **3.1. Fitokimyasal Çalışmalar**

##### **3.1.1. Bitkisel Materyal**

*G. olivieri* Griseb. 2021 yılında Gaziantep ilinden ticari olarak satın alınmıştır. Gaziantep yöresinde "Afat" ismiyle bilinmektedir. Çalışmamızda gölgede kurutulmuş bitkinin toprak üstü kısımlarını kullanılmıştır. Kullanılan örnek Prof. Dr. Funda Nuray Yalçın tarafından tayin edilmiş ve laboratuvarımızda Yalcin F-2022-01 kodu ile numaralandırılarak saklanmaktadır.

### 3.1.2. Kimyasal Maddeler ve Gereçler

#### a) Kimyasal Maddeler

**Solvan:** *n*-Butanol, Etilasetat, Su, Kloroform, Metanol, Etanol

**Adsorban:**

Kolon kromatografisinde; Poliamit, Sefadeks, Normal faz silika jel ve Ters faz silika jel

İnce Tabaka Kromatografisinde (İTK); Hazır alüminyum plaklar

**Revelatör:** Vanilin/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (vanilin' in derişik sülfürik asit içindeki % 1' lik çözeltisi).

**Solvan Sistemleri:** Aşağıda yer alan tabloda verilmiştir.

**Tablo 3.1.** İzolasyon aşamasında kullanılan solvan sistemleri

Kromatografik sistem	Solvan sistemi
İTK	CHCl <sub>3</sub> :MeOH: H <sub>2</sub> O (61:32:7/ 80:20:2)
KK (Silika jel)	CHCl <sub>3</sub> :MeOH: H <sub>2</sub> O (90:10:1 → 60:40:4) CHCl <sub>3</sub> :MeOH (90:10/50:50)
KK (Poliamit)	MeOH-H <sub>2</sub> O %(0:100 → 100:0)
KK (RP)	MeOH-H <sub>2</sub> O %(0:100 → 100:0)
KK (OBSK)	H <sub>2</sub> O, MeOH-H <sub>2</sub> O % (5:95/ 10:90/ 50:50)
KK (Sefadeks)	MeOH

#### b) Gereçler

**UV Spektrofotometresi :** Agilent 8453, Biotek MQX 200 µQuant Universal Microplate Spektroskopy

**Kütle Spektrometresi :**

LC-MS/MS: Agilent

**NMR Spektrometresi (1D ve 2D):**

<sup>1</sup>H NMR: Agilent Premium Compact (600 Mhz)

<sup>13</sup>C NMR: Agilent Premium Compact (600 Mhz)

**Liyofilizatör :** Virtis Freezemobile 6, Virtis 145 Mr Ba

**Rotavapor :** Buchi R-210, Vakum kontrol ünitesi V-850

Vakum pompası Buchi V-700

Isıtıcı su banyosu Buchi B-491

Su soğutucusu, sirkulatörü Thermo EZ Cool 80

**UV Lambası :** Camag (Tip: 29000)

**Kromatografi Tankı :** Camag (cam küvet, 22 x 23 x 8 cm)

**Vakum pompası :** Millipore

**Ultrasonik banyo :** Transsonic 570

**Etüv :** Elektro-mag

**Manyetik karıştırıcı :** Heidolph

### **3.1.3. Kromatografik Yöntemler**

Çalışmamız boyunca fraksiyonlama, ayırım ve saflaştırma amacıyla dolgu maddesi olarak poliamit, sefadeks, normal faz silika jel ve ters faz silika jel gibi materyaller içeren kolon kromatografisi yöntemi kullanılmıştır ayrıca fraksiyonların takibi yapılırken İnce Tabaka Kromatografi (İTK) yönteminden yararlanılmıştır.

#### **a) İnce Tabaka Kromatografisi (İTK)**

**Adsorban :** Alüminyum hazır plak (Silika jel 60 F254)

**Solvan Sistemi :** 61:32:7, 80:20:2 (Kloroform: Metanol: Su)

**Numune Tatbiki :** Numune, plağın alt ucunun 1 cm yukarısına pastör pipeti kullanılarak ve tatbik noktaları arasında en fazla 1 cm aralıklar bulunacak şekilde tatbik yapılır.

**Sürüklenme Mesafesi :** 7-10 cm

**Lekelerin belirlenmesi :** 2 Yöntem kullanılır:

1. UV 254 ve 366 nm'deki (Camag UV lambası) floresanın gözlenmesi
2. Derişik sülfürik asitteki vanilinin % 1'lik çözeltisi püskürtülerek uygulandıktan sonra 1-2 dk 105 °C' de ısıtma

#### **b) Poliamit Kolon Kromatografisi**

Tez çalışmamızda hazırlamış olduğumuz ekstrenin ön fraksiyonlama işlemi için poliamit kolon kromatografisi yöntemi kullanılmıştır.

**Adsorban :** Poliamit (Polyamide 6, 50-160 µm)

**Solvan Sistemleri :** %100 H<sub>2</sub>O → %100 MeOH

**Kolonun Hazırlanması :** Yeterli miktarda distile su kullanılarak süspande edilmiş olan 50-100 g poliamit manyetik bir karıştırıcıda 10-12 saat karıştırılarak şişmesi sağlanır. Hazırlanmış olan süspande haldeki karışım, alt kısmına pamuk yerleştirilen cam kolona aktarılır. Dolgu materyali tam olarak yerleşene kadar distile su ile yıkanır.

**Numunenin Tatbik Edilmesi :** Yeterli miktarda distile su ile çözülmüş numune pipet yardımıyla kolona tatbik edilir. Numune adsorbe edildikten sonra üst yüzeye pamuk yerleştirilerek distile su ile fraksiyonlama işlemi başlatılır.

#### c) Silika Jel Kolon Kromatografisi

Çalışmamızda ön fraksiyonlama sonrasında ayırım ve saflaştırma işlemleri için silika jel kolon kromatografisi kullanılmıştır.

**Adsorban :** Silika jel (Kieselgel 60, 70-230 mesh, 0.063-0.2 mm)

**Kolonun Hazırlanması :** Yeterli miktarda tartılmış olan silika jel ve elüsyona başlanacak solvan sistemi süspansiyon haline getirilir. Süspansiyon haldeki bu karışım alt ucuna pamuk yerleştirilen cam kolona aktarılır. Dolgu maddesinin kolondan yeterli miktarda solvan sistemi geçirilerek yerleşmesi sağlandıktan sonra adsorban üzerinde birkaç mm solvan kalıncaya kadar beklenir.

**Numunenin Tatbik Edilmesi :**

**Yaş Tatbik:** Solvan sisteminde çözümlenerek hazırlanmış olan numune pipet yardımıyla kolona tatbik edilir. Numune adsorbe olduktan sonra üzeri pamuk ile kapatılıp dikkatlice eklenen solvan sistemi ile elüsyona başlanır.

**Kuru Tatbik:** Numune iyi çözüldüğü bir çözücüde çözümlenip yeterli miktarda adsorban ile karıştırılır. Adsorbsiyon gerçekleştikten sonra tamamen kuruyup toz haline gelen karışım üzerinde az miktarda solvan olan kolona tatbik edilir ve üst kısım pamuk ile kapatılıp elüsyona başlanır.

#### d) Sefadeks Kolon Kromatografisi

Çalışmamızda ayırım ve saflaştırma işlemleri için sefadeks kolon kromatografisi kullanılmıştır.

**Adsorban :** Sephadex LH-20

**Solvan Sistemleri :** %100 MeOH

**Kolonun Hazırlanması :** Yeterli miktarda adsorban uygun miktarda metanol ile karıştırılarak süspansiyon edilir. Karışım alt ucuna pamuk yerleştirilmiş kolona aktarıldıktan sonra adsorban oturana kadar kolon yeterli miktarda MeOH ile yıkanır.

**Numune Tatbiki :** Metanolde ile çözülmüş numune pipet yardımıyla kolona tatbik edilir. Numune adsorbe edildikten sonra üst yüzeye pamuk yerleştirilerek metanol ile elüsyon işlemi başlatılır.

#### e) Vakumlu Sıvı Kromatografisi (VSK)

Çalışmamızda ön fraksiyonlama sonrasında ayırım ve saflaştırma işlemleri için vakumlu sıvı kromatografisi (VSK) kullanılmıştır.

**Dolgu Materyali :** LiChroprep C18

**Kolon:** Cam kolon (600 cm<sup>3</sup>)

**Solvan Sistemleri :** H<sub>2</sub>O, H<sub>2</sub>O- MeOH % (90:10/ 80:20/ 70:30/ 50:50/ 40:60/30:70/ 20:80/ 10:90), MeOH

**Kolonun Hazırlanması :** Yeterli miktarda adsorban G4 filtre taşıyan kolona (cam) kuru olarak doldurulup vakum yardımıyla sıkıştırılır. Adsorban doygunluğunu sağlamak için kolondan 100-150 ml MeOH geçirilir. Kolondan ilk olarak yeterli miktarda su sonrasında da elüsyona başlanacak solvan sistemi geçirilerek şartlandırılır.

**Numune Tatbiki :** Solvan sisteminde çözülerek hazırlanmış olan numune pipet yardımıyla kolona tatbik edilir. Numune adsorbe olduktan sonra üzeri pamuk ile kapatılıp dikkatlice eklenen solvan sistemi ile vakum açılarak fraksiyonlar vakum erleninde toplanacak şekilde elüsyona başlanır.

#### f) Orta Basıncılı Sıvı Kromatografisi (OBSK)

**Adsorban :** LiChroprep C18 (40-63 µm, Merck)

**Kolon :** Prep Elut Kolon 53 ml (44035)

Büchi cam kolon (3 x 25 cm)

**Peristaltik Pompa :** Büchi 681

**Enjeksiyon Ünitesi :** Sepacore® Injection Unit



Sample Loop 20 ml (44852)

**Solvan Sistemi :** H<sub>2</sub>O, MeOH-H<sub>2</sub>O % (5:95/ 10:90/ 50:50)

**Akış Hızı :** 10 ml/dk

**Basınç :** 5-15 bar

**Fraksiyon Hacmi :** ~ 45 ml

**Fraksiyon Toplayıcı :** Büchi 660

**Kolonun Hazırlanması :** Yeterli miktarda adsorban kolona doldurulur ve basınçla sıkıştırılır. Kolondan adsorbanın doygunluğu sağlanana kadar metanol geçirilir. Kolondan ilk olarak yeterli miktarda su, sonrasında da kullanılacak solvan sistemi geçirilerek şartlandırılır.

**Numune Tatbiki :** Numune birkaç mL solvan sisteminde çözülür ve bir enjektör yardımıyla kolona enjekte edilir.

#### g) LC-qTOF-MS

**%0.1 Formik Asit (FA) çözeltisi:** 1 mL derişik FA (%98) çözeltisiyle su ile seyreltilerek 1 L hazırlanmış FA çözeltisi.

**%0.1 FA içeren asetonitril çözeltisi:** 1 mL derişik FA (%98) çözeltisiyle asetonitril ile seyreltilerek 1 L hazırlanmış FA çözeltisi.

MeOH'da çözüldürülen örnekler doğrudan analizlerde kullanılmıştır. Metabolit analizleri C18 (2.1 x 100 mm, 2.7 µm) kolonlar kullanılarak negatif ve pozitif iyonizasyon modunda olmak üzere LC-qTOF-MS ile analizler gerçekleştirilmiştir. Analizler 0.3 mL/dakika akış hızında gradient elüsyon (Tablo 3.2) ile %0.1 formik asit içeren su (A) ve % 0.1 formik asit içeren asetonitril (B) hareketli fazlarıyla 30 dakikada C18 (100 mm x 2.1 mm, 2.7 µm) kolon kullanılarak gerçekleştirilmiştir. qTOF-MS ile hem negatif hem de pozitif iyonizasyon modunda çalışılmıştır (Tablo 3.3). Her iki kromatografik sistemde gradient elüsyon uygulanarak analizler 30 dakikada gerçekleştirilmiştir. Elde edilen kompleks kromatogramlar Agilent MassHunter yazılımı kullanılarak pikler ayrıştırılmıştır. (106)

**Tablo 3.2.** LC-qTOF-MS analizlerde kullanılan gradient elüsyon programı.

Zaman (dakika)	% Hareketli faz B*
0	10
1	10
14	90

15	90
20	10
25	10

\*%0.1 formik asit içeren asetonitril

**Tablo 3.3.** Metabolomiks analizler için optimize edilmiş LC-qTOF-MS analiz koşulları ve cihaz parametreleri

	Pozitif iyonizasyon	Negatif iyonizasyon
<b>Kütle aralığı</b>	50-1700 amu	50-1700 amu
<b>Tarama hızı (spektrum/sn)</b>	2	2
<b>Sprey voltajı(kV)</b>	3500	3500
<b>Skimmer voltajı (V)</b>	65	65
<b>Gaz sıcaklığı (°C)</b>	325	325
<b>Gaz akışı (L/dakika)</b>	10	10
<b>Nebulizer (psig)</b>	45	45

### 3.1.4. Ekstraksiyon ve İzolasyon Çalışmaları

#### a) Ekstraksiyon

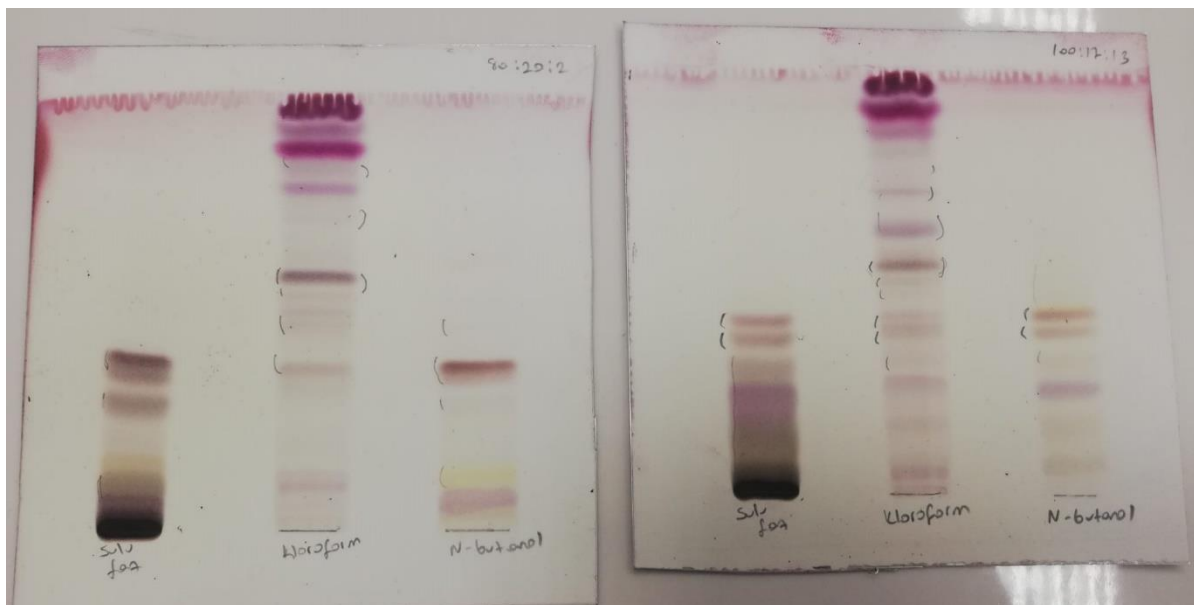
Gaziantep'ten ticari olarak satın alınan *Gentiana olivieri*'nin toprak üstü kısımları açık havada ve gölgede kurutulmuştur. Kurutulmuş bitki (356,39 g) toz haline getirildikten sonra bir miktarı (10,01 g) ileri çalışmalar için ayrılmıştır kalan kısımdan 10,08 g kadarı dekoksasyon yapmak için ayrılmıştır.

Dekoksasyon yöntemiyle hazırlanan ekstre aktivite çalışmalarında kullanılmıştır. Kalan toz haline getirilmiş numune 4 L etanol ile 40° C' de rotavaporda 3 saat boyunca ekstre edilmiştir. Pileli süzgeç kağıdı yardımıyla süzülüp kalan kısma 2,5 L etanol ile aynı işlemler uygulanmış ve süzülmüştür. Kalan bitki kısmına 2 L etanol ile yeniden aynı işlemler uygulanmıştır. Elde edilen ekstratlar birleştirilerek darası alınmış balona aktarılmıştır. Rotavapor yardımıyla alçak basınç altında 40° C' de uçurularak yoğunlaştırılmıştır. Kuru etanol ekstresinden (91,11 g) bir miktar (9,95 g) yedek olarak ayrılmıştır.

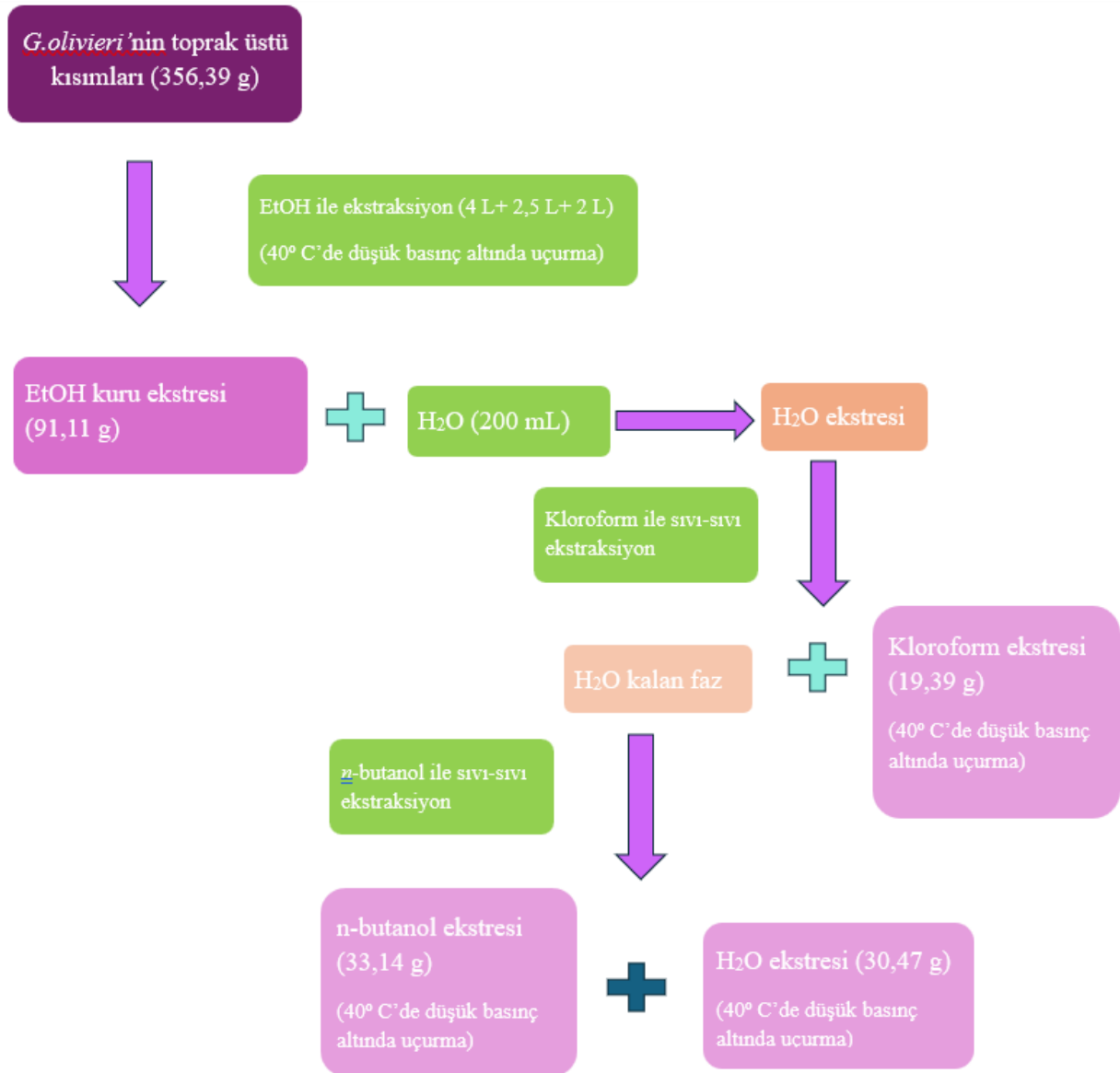
Kalan kuru etanol ekstresi (81,16 g) 200 mL distile suda çözülerek ayırma hunisine alınmış 3 kez 200'er mL kloroformla sıvı-sıvı ekstraksiyon işlemi yapılmıştır. Bu işlem klorofil gibi apolar maddeleri uzaklaştırmamızı sağlamıştır. Kloroform fazı rotavapor yardımıyla alçak basınç altında 40° C' de kuruluğa kadar uçurularak yoğunlaştırılmıştır (Kloroformlu ekstre:19,36 g).

Kalan sulu faza 3 kez 200'er mL *n*-butanol ile sıvı-sıvı ekstraksiyon işlemi yapılmıştır. Kalan sulu faz rotavapor yardımıyla alçak basınç altında 40° C' de kuruluğa kadar uçurularak yoğunlaştırılmıştır (Sulu ekstre 30,47 g). Sulu ekstre ve kloroform ekstresinin sıvı kısımları uçurulduktan sonra az miktarda su ile çözülüp liyofilize edilmiştir. (Şekil 3.2)

*n*-butanol ekstresi rotavapor yardımıyla alçak basınç altında 40° C' de kuruluğa kadar uçurularak yoğunlaştırılmıştır (*n*-butanollü ekstre 33,14 g). İleri çalışmalar için kuru *n*-butanol ekstresinden bir miktar (2,68 g) ayrılmıştır. İTK ile ekstratlar karşılaştırılmış ve kalan *n*-butanol ekstresi ile fitokimyasal çalışmalar yapılmaya başlanmıştır (Şekil 3.1).



**Şekil 3.1.** *G. olivieri* su, kloroform ve *n*-butanol ekstralarının İTK yöntemi ile karşılaştırılması



**Şekil 3.2.** *G. olivieri* ekstraksiyon şeması

### a) İzolasyon Çalışmaları

*Gentiana olivieri*'nin 33,14 g kadar olan *n*-butanol ekstresi poliamit kolona (120 g) bir miktar distile suda çözülerek tatbik edilmiştir. Bu kolondan 54 fraksiyon elde edilmiştir. Kolonda MeOH-H<sub>2</sub>O (0:100→ 100:0) solvan sistemi kullanılmıştır. Fraksiyonların takibi İnce tabaka kromatografisi kullanılarak yapılmıştır. İTK plağı 61:32:7 sisteminde sürüklenmiştir. Plaktaki leke oluşumuna UV 254'te, UV 366'da ve %1 vanilin sülfürik asit püskürtülüp 105°C'de ısıtılarak bakılmıştır. Fraksiyonların içerdiği fitokimyasallar göz önüne alınarak yapılan birleştirmeler sonucunda 18 ana fraksiyon oluşturulmuştur. İTK plaklarının incelenmesi

sonucunda benzer madde grupları taşıdığı tespit edilen fraksiyon 3 ile fraksiyon 4-5 birleştirilmiştir (21,04 g). Fitokimyasal çalışmaların devamı bu fraksiyon üzerinden devam etmiştir.

Fraksiyonlar *n*-butanol ekstresinden elde edildiği için N ve ilk fraksiyonlardan olan 3-5 ile çalışmaya devam edildiği için NA koduyla isimlendirilip sonraki isimlendirmelerde bunun üzerinden yapılmıştır. (Tablo 3.4)

**Tablo 3.4.** Poliamit kolon fraksiyonları (N ekstresi)

Fraksiyon	Miktar (g)	Elüe edildiği mobil faz (% MeOH)
3	16,8	% 0
4-5	4,24	% 5
6-9	0,25	% 10
10-13	0,19	% 15
14-16	0,15	% 20
17-18	0,20	% 25
19-20	0,13	% 30
21-22	0,12	% 50
23-24	0,11	% 55
25-27	0,63	% 60
28-29	0,79	% 65
30-32	0,20	% 70
33-34	0,22	% 75
35-39	0,45	% 80
40-42	0,24	% 85
43-45	0,18	% 90
46-49	0,10	% 95
50-54	0,12	% 100

Fraksiyon 3-5 (21,04 g) RP-18 (ters faz) kolona tatbik edilmeden önce kolon (%100 MeOH' dan %100 H<sub>2</sub>O' ya giden solvan sistemleri ( %100-80-60-40-20 MeOH) birer kolon boyu (600 cm<sup>3</sup>) geçirilerek kolon şartlanmıştır. Tatbik yapıldıktan sonra %100 H<sub>2</sub>O' dan %100

MeOH' a kadar gradient olarak %10 MeOH miktarı artırılarak hazırlanan solvan sistemlerinden 500'er mL geçirilmiştir. İTK plağı 61:32:7 sisteminde sürüklenmiştir ve UV 254'te, UV 366 nm'de ve %1 vanilin sülfürik asit püskürtülüp 105°C' de ısıtılarak leke oluşumuna bakılmıştır. (Tablo 3.5)

**Tablo 3.5.** Ters Faz kolon fraksiyonları ( NA ekstresi)

Fraksiyon	Miktar (mg)	Elüe edildiği mobil faz (% MeOH)	NA Ekstre ismi
0-23	130	% 0	NAA
24-26	540	% 0	NAB
27-41	1800	% 0	NAC
42-50	160	% 0	NAD
51-74	280	% 0	NAE
75-106	180	% 0	NAF
107-135	1240	% 10	NAG
136-150	200	% 10	NAH
151-166	3980	% 10	NAI
167-198	1500	% 20	NAK
199-212	3210	% 20	NAL
213-230	130	% 30	NAM
231-237	60	% 30	NAN
238-240	300	% 50	NAO
241-244	70	% 60	NAÖ
245-246	530	% 70	NAP
247-251	70	% 80	NAR
252-256	50	% 90	NAS
257-261	80	% 100	NAT
262-266	50	% 100	NAU
267-272	50	% 100	NAV
273-277	80	% 100	NAZ

- Fr NAB (540 mg) Sefadeks kolona ( $\pi \times (1,65\text{cm})^2 \times 31,2\text{ cm}$ ) tatbik edilmiştir. Solvan sistemi olarak 200 mL MeOH kullanılmıştır. İTK plağı 61:32:7 sisteminde sürüklenmiştir ve UV 254'te, UV 366' da ve vanilin sülfürik asit püskürtülüp 105°C' de bakılmıştır. Buradan saf olarak **NAB-30-34** (80 mg) bileşiği elde edilmiştir.
- Fr NAD (160 mg) Sefadeks kolona (266 cm<sup>3</sup>) tatbik edilmiştir. Solvan sistemi olarak 150 mL MeOH kullanılmıştır. İTK plağı 61:32:7 sisteminde sürüklenmiştir ve UV 254'te, UV 366' da ve vanilin sülfürik asit püskürtülüp 105°C' de bakılmıştır. Buradan saf olarak **NAD-2/17-18** (5 mg) bileşiği elde edilmiştir.
- Fr NAG (1240 mg) Silikajel kolona kuru tatbik yöntemiyle tatbik edilmiştir. Solvan sistemi olarak CHCl<sub>3</sub>-MeOH-H<sub>2</sub>O (90:10:1 → 75:25:2,5) kullanılmıştır. Sonrasında %100 Metanolla yıkanmıştır. İTK plakları 61:32:7/ 80:20:2 sistemlerinde sürüklenmiştir ve UV 254'te, UV 366' da ve vanilin sülfürik asit püskürtülüp 105°C' de bakılmıştır. NAG'a ait fraksiyon bilgileri aşağıdaki tabloda yer almaktadır. (Tablo 3.6)

**Tablo 3.6.** Silikajel Faz kolon fraksiyonları ( NAG ekstresi)

Fraksiyon	Miktar (mg)	Elüe edildiği mobil faz (%CHCl <sub>3</sub> -MeOH-H <sub>2</sub> O)	NAG Ekstre ismi
9-10	3,5	% 90:10:1	NAG-a
11-12	47,5	% 90:10:1	NAG-b
13-14	45	% 90:10:1	NAG-c
15-16	41,7	% 90:10:1	NAG-d
17-19	49,9	% 90:10:1	NAG-e
20-21	48,3	% 90:10:1	NAG-f
22-25	44,4	% 90:10:1	NAG-g
26-28	48,6	% 90:10:1	NAG-h
29-33	59	% 90:10:1	NAG-ı
34-39	56,2	% 90:10:1	NAG-x
40-45	61	% 90:10:1	NAG-j
45-46 arası	61,1	% 90:10:1	NAG-k
46-47	59,5	% 90:10:1	NAG-l
48-51	58,5	% 90:10:1	NAG-m
52-59	115,6	% 80:20:2	NAG-n

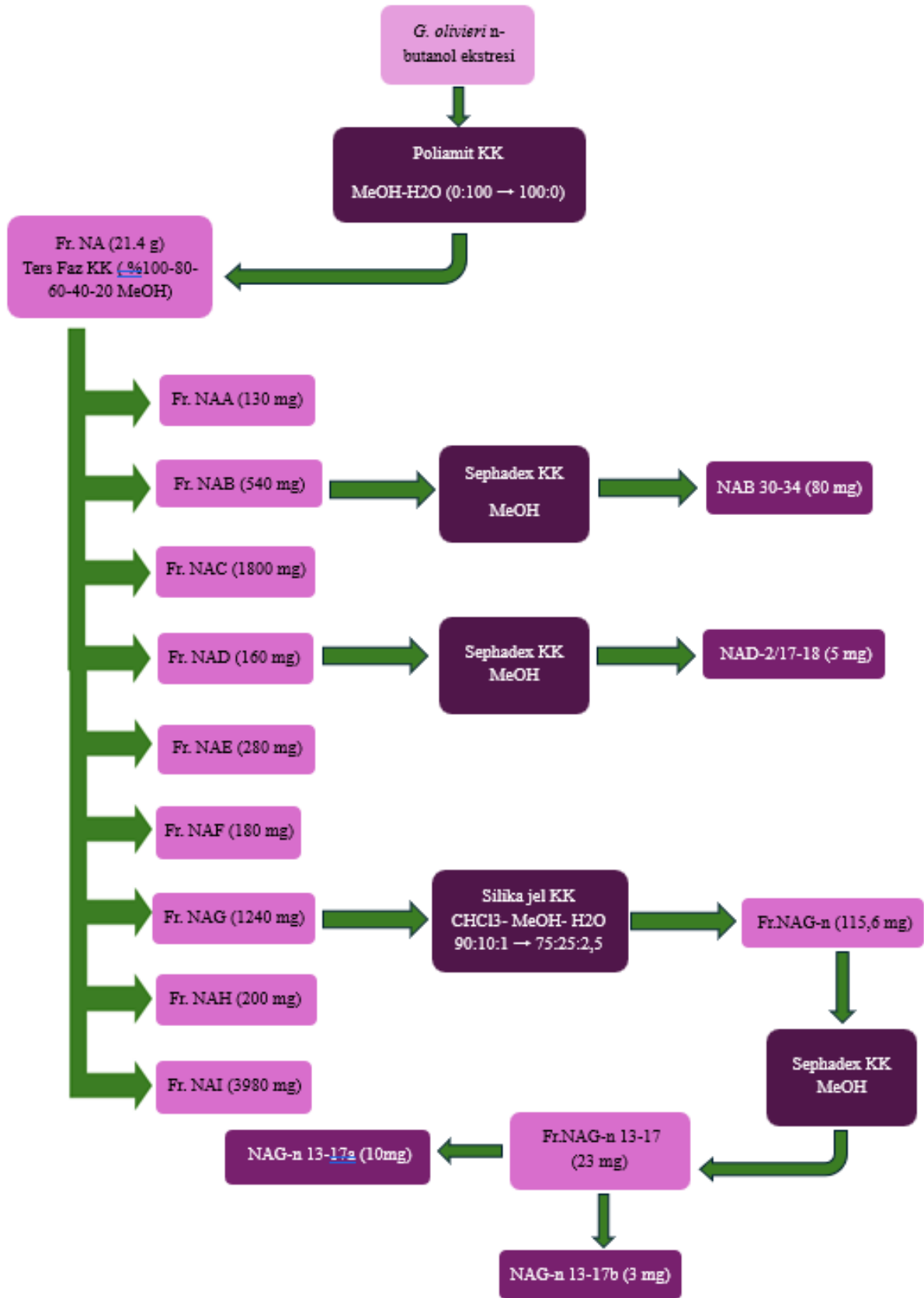
60-63	76,7	% 80:20:2	NAG-o
64-70	146,7	% 80:20:2	NAG-q
71-73	104,3	% 80:20:2	NAG-p
74-76	94,7	% 80:20:2	NAG-r
77-78	71,9	% 80:20:2	NAG-s
79-86	104,6	% 80:20:2	NAG-w
87-89	60,8	% 80:20:2	NAG-t
90-96	73,4	% 80:20:2	NAG-u
97-104	62,3	% 75:25:2,5	NAG- $\alpha$
105-119	69,4	% 75:25:2,5	NAG-v
120-154	86,7	% 75:25:2,5	NAG-y
155-168	87,8	% 75:25:2,5	NAG-z

- Fr NAG' dan elde edilen NAG-n (115,6 mg) fraksiyonu Sefadex kolona ( $\pi \times (1,2\text{cm})^2 \times 28,6\text{ cm}$ ) tatbik edilmiştir. Solvan sistemi olarak 160 mL MeOH kullanılmıştır. Ayrım sağlanamadığı için solvan kısmı uçurulduktan sonra yeniden Sephadex kolona ( $\pi \times (1,2\text{cm})^2 \times 28,6\text{ cm}$ ) tatbik edilmiştir. Solvan sistemi olarak 190 mL MeOH kullanılmıştır. İTK plağı 61:32:7 sisteminde sürüklenmiştir ve UV 254'te, UV 366' da ve vanilin sülfürik asit püskürtülüp 105°C' de bakılmıştır.
  - ✓ NAG-n'den elde edilen NAG-n/14-17 (23 mg) fraksiyonu Sefadex kolona ( $124\text{ cm}^3$ ) tatbik edilmiştir. Solvan sistemi olarak 160 mL MeOH kullanılmıştır. İTK plağı 61:32:7 sisteminde sürüklenmiştir ve UV 254'te, UV 366' da ve vanilin sülfürik asit püskürtülüp 105°C' de bakılmıştır. Buradan **NAG-n/14-17a** (10 mg) ve **NAG-n/14-17b** (3 mg) maddeleri elde edilmiştir.
- Fr NAG' dan elde edilen NAG-q (146,7 mg) fraksiyonu Sefadex kolona ( $\pi \times (1,2\text{cm})^2 \times 28,6\text{ cm}$ ) tatbik edilmiştir. Solvan sistemi olarak 150 mL MeOH kullanılmıştır. İTK plağı 61:32:7 sisteminde sürüklenmiştir ve UV 254'te, UV 366' da ve vanilin sülfürik asit püskürtülüp 105°C' de bakılmıştır.
- Fr NAG' dan elde edilen NAG-p (104,3 mg) fraksiyonu Sefadex kolona ( $\pi \times (1,2\text{cm})^2 \times 28,6\text{ cm}$ ) tatbik edilmiştir. Solvan sistemi olarak 150 mL MeOH kullanılmıştır. İTK plağı 61:32:7 sisteminde sürüklenmiştir ve UV 254'te, UV 366' da ve vanilin sülfürik asit püskürtülüp 105°C' de bakılmıştır.



***Gentiana olivieri* bitkisinden izole edilen bileşikler:**

- **NAB-30-34:** *Gentiana olivieri*'nin *n*-butanol ekstresinin (N) (33,14 g) poliamit kolona tatbik edilmesinden elde edilen Fr-3-5 (NA) (21,04 g) RP-18 kolona tatbik edilmiştir. Bu kolondan elde edilen Fr 24-26 (NAB) (540 mg) Sefadeks kolona tatbik edilmiştir. Bu kolondan %100 MeOH solvan sistemi ile kahverengi renge sahip **NAB-30-34** bileşiği elde edilmiştir.
- **NAD-2/17-18:** *Gentiana olivieri*'nin *n*-butanol ekstresinin (N) (33,14 g) poliamit kolona tatbik edilmesinden elde edilen Fr-3-5 (NA) (21,04 g) RP-18 kolona tatbik edilmiştir. Bu kolondan elde edilen Fr 42-50 (13) (160 mg) Sefadeks kolona tatbik edilmiştir. Bu kolondan %100 MeOH solvan sistemi ile kahverengi renge sahip **NAD-2/17-18** bileşiği elde edilmiştir.
- **NAG-n/14-17a ve NAG-n/14-17b:** *Gentiana olivieri*'nin *n*-butanol ekstresinin (N) (33,14 g) poliamit kolona tatbik edilmesinden elde edilen Fr-3-5 (NA) (21,04 g) RP-18 kolona tatbik edilmiştir. Bu kolondan elde edilen Fr 107-135 (NAG) (1240 mg) Silikajel kolona kuru tatbik edilmiştir. Silikajel kolondan elde edilen Fr 52-59 (NAG-n) (115,6 mg) fraksiyonu Sefadeks kolona tatbik edilmiştir. Beyaz amorf bir toz halinde olan **NAG-n/14-17a ve NAG-n/14-17b** bileşikleri elde edilmiştir. Yapılan yapı tayin çalışmalarında bu 2 bileşiğin aynı bileşik olduğu bulunmuştur. (Şekil 3.3)



Şekil 3.3. *G. olivieri* üzerinde yapılan izolasyon çalışmaları

### 3.1.5. Biyolojik Etki Çalışmaları

#### a) Nöroprotektif Etki

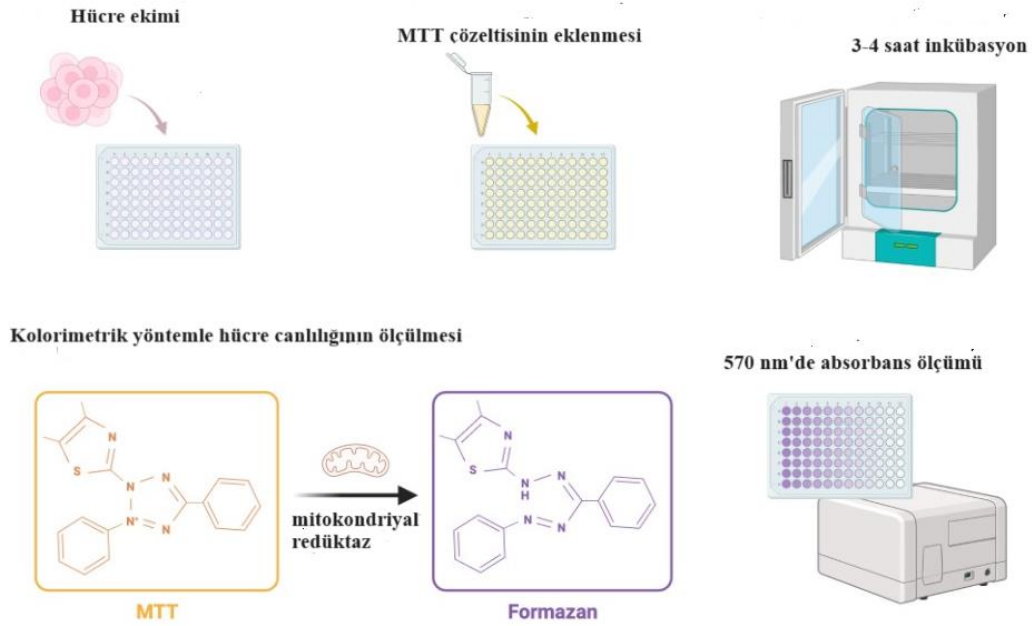
*Gentiana olivieri*'nin etanolle hazırlanan ana ekstresinin ve bu ekstreden elde edilen kloroform, n-butanol ve su ekstralarının nöroprotektif etkilerinin tayininde SH-SY5Y insan nöroblastoma hücre hattında optimal dozların (hücrelerin canlılığını değiştirmeyen doz) belirlenmesi için MTT [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolyum bromür] hücre canlılığı testi kullanılmıştır. Deneysel hataları azaltmak ve istatistiksel hesaplamaların yapılabilmesi için 3 kuyucuk, 2 tekrarlı (n=2) olacak şekilde çalışılmıştır (Şekil 3.4).

#### MTT Yöntemi

MTT 1983'de Mossman ve arkadaşları tarafından geliştirilen hücre canlılığını ve çoğalma yeteneğini ölçmek için hücrenin mitokondriyal ve metabolik aktivitelerinin değerlendirildiği kolorimetrik bir yöntemdir. Yöntemin esası sarı renkli tetrazonyum tuzu olan MTT [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolyum bromür] bileşiğinin mitokondriyal bir enzim olan süksinat dehidrogenaz aracılığıyla mor renkli kristal formdaki formazana dönüşmesine dayanır (101) (102).

- Dimetil Sülfoksit (DMSO): Yoğunluğu 1,1 g/cm<sup>3</sup> olup deney sırasında gerekli miktarlarda kullanılmıştır.
- MTT Çözeltisi: 24 saat içerisinde kullanılmak üzere deneyden hemen önce hazırlanmıştır. Hazırlanan MTT çözelti konsantrasyonu 0,5 mg/mL olup 20 mg toz haldeki MTT 4 mL DPBS'de çözülerek hazırlanmıştır.
- DMEM-F12: DMEM ve Ham's F12 besiyerinin 1:1 oranda birleşiminden elde edilmiş olan besiyeridir.
- Penisilin/streptomisin (%1 (h/h)) antibiyotik içeren DMEM-F12 (spesifik olarak L-glutamin 15 mM HEPES içerir.) vasatı kullanılarak hücre süspansiyonu hazırlanmıştır. %1 penisilin/streptomisin içeren DMEM-F12 vasatında hücre süspansiyonu hazırlanmıştır.
- Hazırlanan hücre süspansiyonları 100'er µl (1 µl'de 200 hücre olacak şekilde) 96 kuyucuklu plakalara ekilmiştir. Sonrasında % 95 nem, %5 CO<sub>2</sub> ve 37 °C sıcaklığa sahip inkübatörde 24 saat inkübe edilmiştir.
- İnkübasyon sonrası kuyucuklarda hücrelerin üzerinde yer alan çözelti kısımları hücreleri yerinden oynatmayacak şekilde aspire edilmiştir.

- Aspire edilen hücrelerin üzerine 100'er µl farklı konsantrasyonlardaki numune çözeltilerini içeren vasat ilave edilerek % 95 nem, %5 CO<sub>2</sub> ve 37 °C sıcaklığa sahip inkübatörde 24 saat inkübe edilmiştir.
- İnkübasyon sonrası kuyucuklarda hücrelerin üzerinde yer alan çözelti kısımları hücreleri yerinden oynatmayacak şekilde aspire edilmiştir.
- 100 µl taze olarak PBS içerisinde hazırlanmış MTT çözeltisi (0,5 mg/mL) kuyucuklara eklenmiştir. Aynı koşullarda inkübatörde 3 saat inkübe edilmiştir. (MTT çözeltisi ışıktan bozulabileceği için bu aşamada hem plak hem MTT çözeltisi ışıktan korunarak çalışılmıştır.)
- İnkübasyon sonrası kuyucuklarda formazan kristalleri yerinden oynatmayacak şekilde MTT çözeltisi aspire edilmiştir.
- Formazan kristallerinin 150 µl DMSO'da 5 dk çalkalayıcıyla çalkalanarak kuyucuklarda çözeltisi hazırlanmıştır.
- 570 nm'de absorbanslar ölçülmüştür. Sonuçlar kaydedilmiştir. (Şekil 3.4)



Şekil 3.4. MTT yöntemi ile sitotoksosite deneyinin basamakları.

### Hücre Canlılığının Hesaplanması

Sonuçların daha sağlıklı olabilmesi için her bir ekstre ile 2 tekrarlı olacak şekilde çalışılmıştır.

Hücre canlılığı hesaplanırken herhangi bir ekstrenin uygulanmadığı kontrol grubu her bir ekstrenin (dekoksasyon, etanol, *n*-butanol, su ve kloroform ekstreleri) uygulandığı hücre gruplarıyla ayrı ayrı karşılaştırılmıştır. Bütün ekstrelerin negatif kontrole karşı 10, 25, 75, 100, 200 µg/mL konsantrasyonlarının hücre canlılığı üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir ve hücre canlılığını değiştirmeyen optimal dozlar belirlenmiştir.

- Kontrol grubunun absorpsiyon değerlerinin ortalaması alınmıştır. Bu değerde hücre canlılığı %100 olarak kabul edilmiştir.
- İstatiksel değerlendirmeler SPSS 22.0 (Chicago, IL) programı kullanılarak yapılmıştır.
- Anlamlılık düzeyleri negatif kontrole karşı (p), \* p<0,05 olarak belirlenmiştir. 0,05' den daha küçük p değerleri anlamlı olarak kabul edilmiştir.

### Deney Hücre Grupları

**K (Kontrol grubu):** Sadece besiyeri uygulanan hücre grubu

**L (LPS grubu):** Lipopolisakkarit (LPS) eklenen besiyeri uygulanan hücre grubu

**C (Kloroform ekstresi grubu):** 24 saat LPS + 50 µg/mL *G. olivieri* kloroform ekstresini içeren besiyeri uygulanan hücre grubu

**D (Dekoksasyon grubu):** 24 saat LPS + 75 µg/mL *G. olivieri* dekoksasyonunu içeren besiyeri uygulanan hücre grubu

**E (Etanol ekstresi grubu):** 24 saat LPS + 10 µg/ml *G. olivieri* etanol ekstresini içeren besiyeri uygulanan hücre grubu

**N (n-butanol ekstresi grubu):** 24 saat LPS + 50 µg/mL *G. olivieri* n-butanol ekstresini içeren besiyeri uygulanan hücre grubu

**S (Sulu ekstre grubu):** 24 saat LPS + 50 µg/mL *G. olivieri* sulu ekstresini içeren besiyeri uygulanan hücre grubu

### Hücre İçi Sitokin (Ifn- $\alpha$ , Ifn- $\beta$ , Kompleman protein C1q, C3, C6 ve C9, Nrf-2) Seviyelerinin Ölçümü

Sitokinler bağışıklık, inflamasyon gibi durumları düzenleyen küçük yapılı proteinlerdir(103). Hücre içi sitokin (Ifn- $\alpha$ , Ifn- $\beta$ , Kompleman protein C1q, C3, C6 ve C9, Nrf-2) salınımını uyarmak için endotoksin özelliğe sahip LPS (Lipopolisakkarit) kullanılmıştır.

Hücre içi sitokin (Ifn- $\alpha$ , Ifn- $\beta$ , Kompleman protein C1q, C3, C6 ve C9, Nrf-2) seviyelerini ölçmek için sandviç ELISA (Enzim Bağlantılı İmmünosorbent Testi) prensibine dayalı bir kit kullanılmıştır. Bu kitte yer alan plaka sitokin antikoru ile kaplanmıştır. Antikor, konjugat içeren numune ve tamponun birleşmesi esasıyla çalışır. Bu yöntemde renkli bir kompleks oluşmakta ve renk oluşumunu durdurmak için durdurma solüsyonu kullanılmaktadır. Renk yoğunluğu antikor konsantrasyonu ile ters orantılıdır.

### **Yöntemin Uygulanışı**

- 96 kuyucuklu ELISA plağında önceden belirlenen kuyucuklara 100  $\mu$ L standart veya deney örneklerinden eklenmiştir. Kontrol kuyusuna 100  $\mu$ L PBS (pH 7,0-7,2) eklenmiştir.
- Örnek kuyucuklarına 10  $\mu$ L Denge Solüsyonu eklenerek karıştırılmıştır.
- Bütün kuyucuklara (kontrol kuyucuğu dışında kalanlar) 50  $\mu$ L ekstre eklenerek karıştırılmıştır. Üzeri kapatılan plak 1 saat 37 °C' de inkübasyona bırakılmıştır.
- Ardından plaka 5 defa tampon ile yıkanmış ve her yıkama işlemi yapıldığında tampon (300  $\mu$ L) 60 sn bekletilmiştir. Sonrasında kuyucuklar boşaltılmış ve plak kurulama kağıdı ile kurutulmuştur.
- Bütün kuyucuklara 50'şer  $\mu$ L Substrat A ve B eklenip plağın üzeri kapatılarak 20 dk 37 °C' de inkübasyona bırakılmıştır. Reaksiyon ışıktan etkilenebileceği için plak ışıktan korunarak çalışılmıştır.
- Durdurma Solüsyonu tüm kuyucuklara 50  $\mu$ L olarak eklenmiş ve renk değişimi durdurulmuştur.
- 450 nm'de absorbans değerleri ölçülmüştür.
- Çalışmada hem pozitif kontrol (L) hem negatif kontrol (K) grupları kullanılmıştır.

### **Hücre İçi Sitokin (Ifn- $\alpha$ , Ifn- $\beta$ , Kompleman protein C1q, C3, C6 ve C9, Nrf-2) Seviyelerinin Hesaplanması**

Tüm örnek ve standartlar için çift okuma yapıp ortalama değerleri alınmıştır. Körün ortalama absorbans değeri bütün örnek ve standartlardan çıkarılmıştır. Standart konsantrasyonlar (x eksen) absorbans değerleriyle (y eksen) ilişkilendirilerek grafikler oluşturulmuştur.

### **İstatistiksel Analiz**

SPSS 22.0 (Chicago, IL) programı kullanılarak veriler istatistiksel olarak analiz edilmiştir. Karşılaştırmalar Kruskal-Wallis varyans analizi yapıp farklılıklar Student-t testi ile belirlenmiştir. 0,05' den daha küçük P değerleri anlamlı olarak kabul edilmiştir.

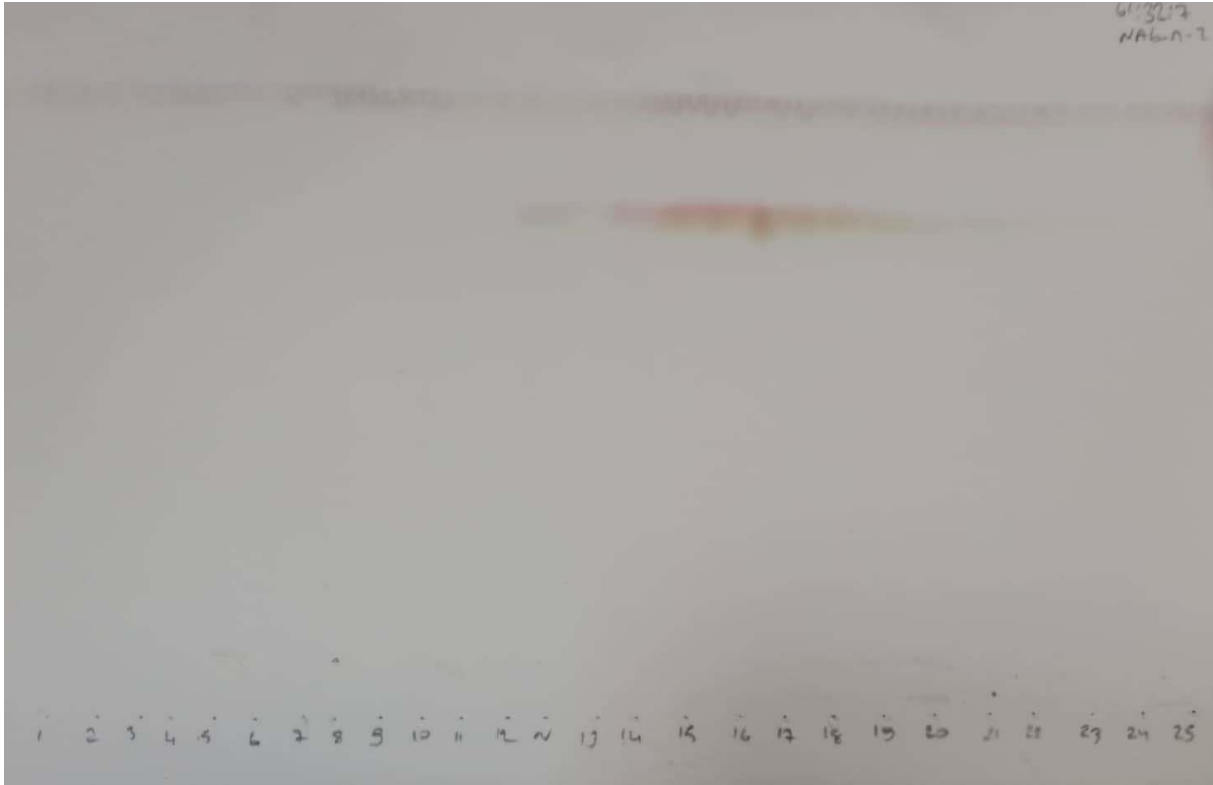
#### **4. BULGULAR**

Tez çalışmamızın bulguları *G. olivieri*'nin n-butanol ekstresine uygulanan değişik kromatografik yöntemlerle saflaştırılan bileşiklerin yapılarının tayin edildiği "Fitokimyasal

Çalışmalara Ait Bulgular” ve *G. olivieri*’nin su dekoksiyonu, etanol, su, kloroform ve n-butanol ekstralarının nöroprotektif etkilerinin değerlendirildiği “Farmakolojik Çalışmalara Ait Bulgular” olmak üzere 2 alt başlık altında toplanmıştır.

#### 4.1. Fitokimyasal Çalışmalara Ait Bulgular

*G. olivieri*’nin toprak üstü kısımlarının *n*-butanol ekstresi poliamit kolana tatbik edilerek fraksiyonlanmış bu fraksiyonlardan yapılan izolasyon çalışmaları sonucunda 4 bileşik saf olarak elde edilmiştir. İzole edilen bileşiklerin yapı aydınlatma çalışmalarında 1D-NMR ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  NMR ve DEPT) ve 2D-NMR (COSY) spektroskopilerinden faydalanılmıştır. Bu sonuçlara göre **NAG-n/14-17a** ve **NAG-n/14-17b** bileşiklerinin aynı bileşik olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.1). Sonuçlar değerlendirildiğinde bileşiklerden 1 tanesi sekoiridoit glikozit diğer 2 tanesinin oz yapısında bileşikler olduğu bulunmuştur. Sekoiridoit glikozit yapısında olan bileşik svertiamarin (**NAG-n/14-17a** ve **NAG-n/14-17b**) olarak belirlenmiştir. Oz yapısındaki bileşiklerin (**NAB-30-34**) ve (**NAD-2/17-18**) spektrumlarındaki girişimler nedeniyle yapıları aydınlatılamamıştır (Şekil 4.2).



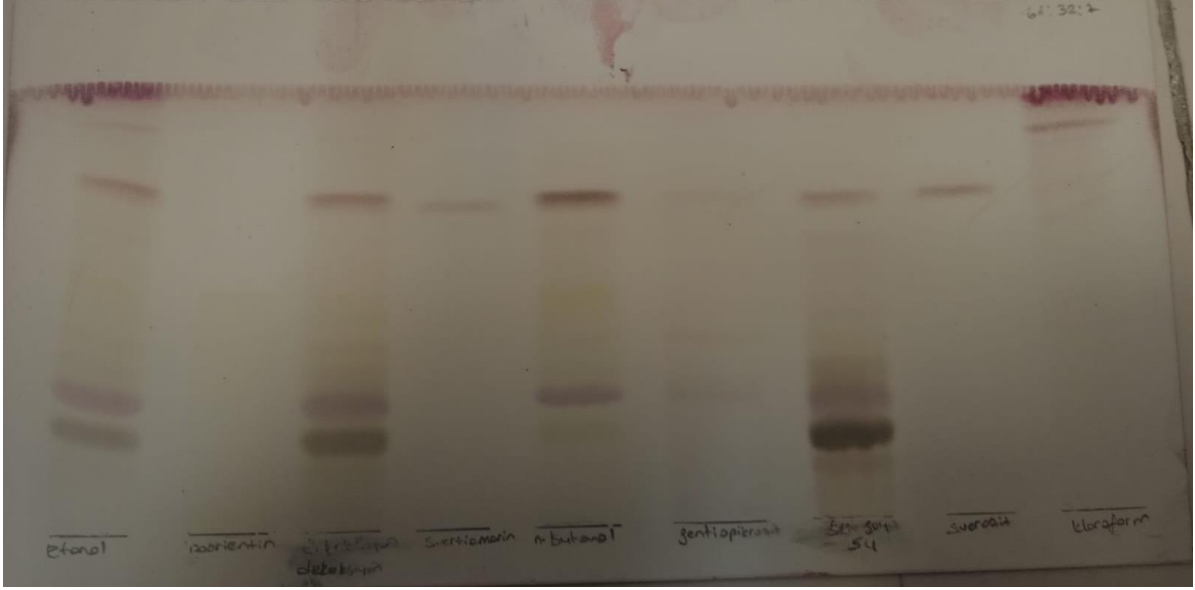


**Şekil 4.1.** NAG-n/14-17a (NAG-n-13-18) ve NAG-n/14-17b (NAG-n-19-24) bileşiklerine ait İTK plağı

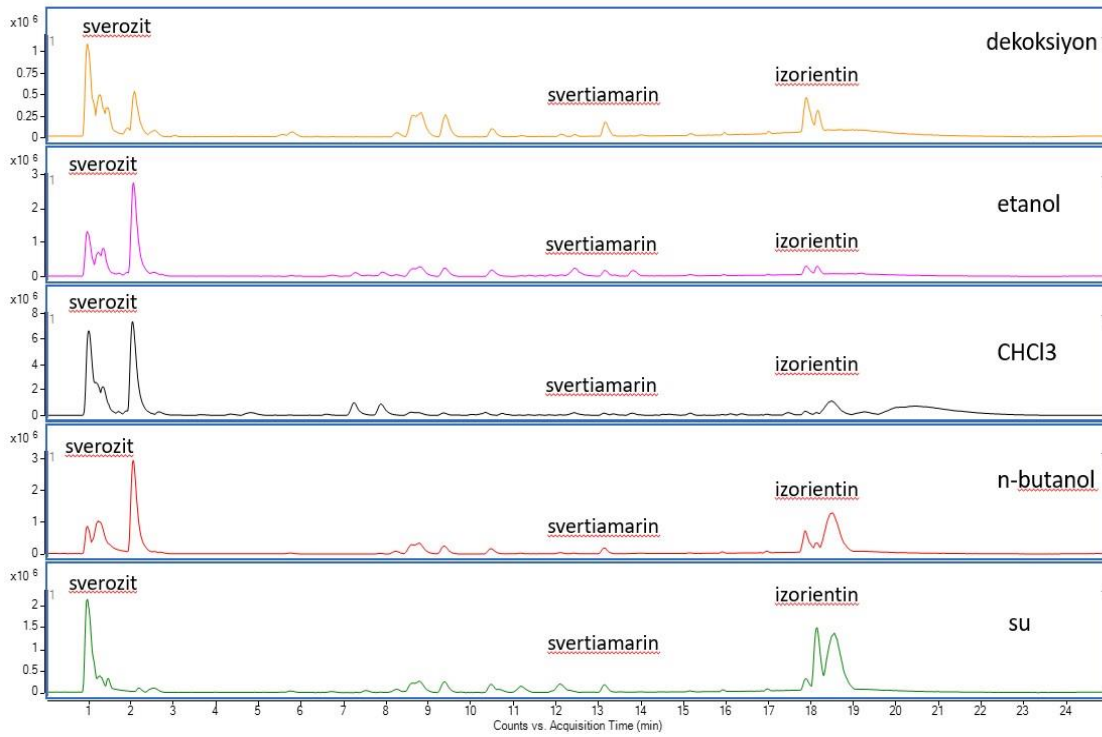


**Şekil 4.2.** NAB-30-34 ve NAD-2/17-18' e ait İTK plağı

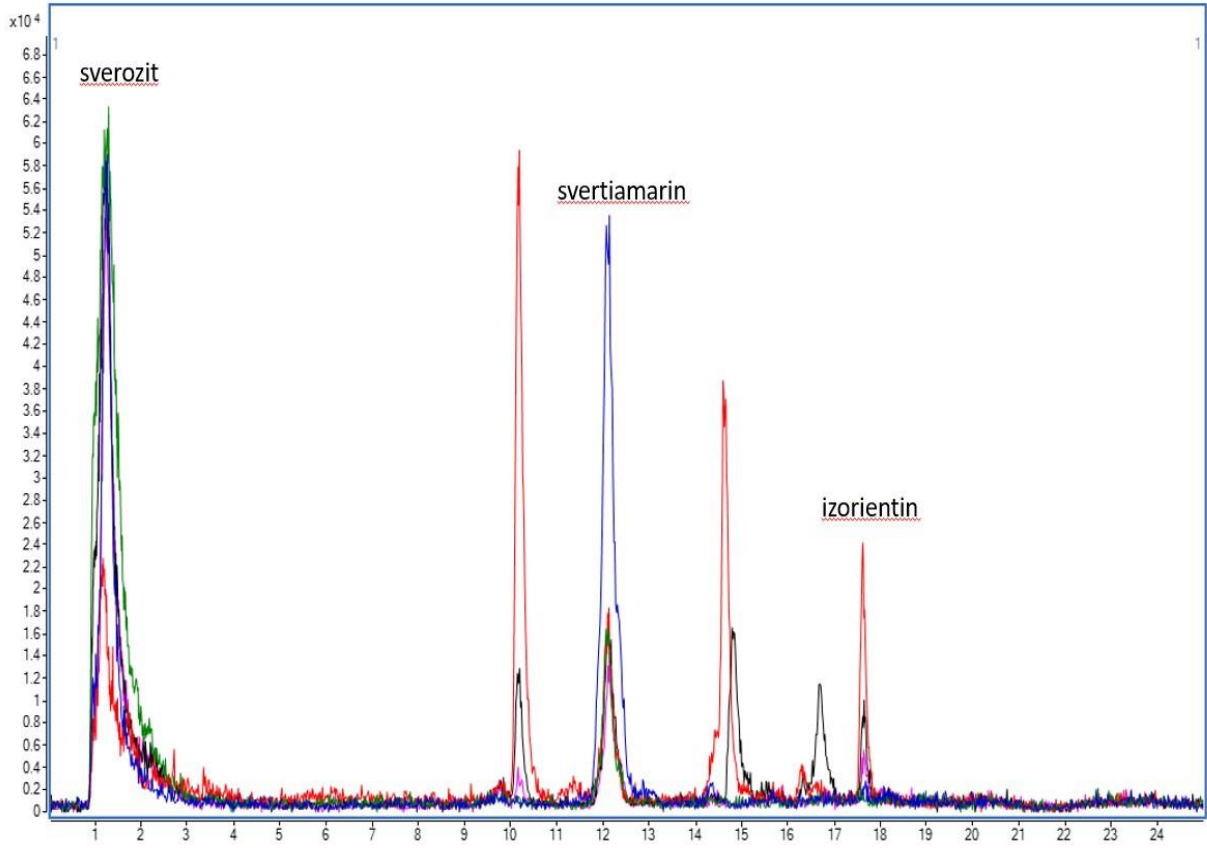
Ayrıca daha önce diğer *Gentiana* türlerinden elde edilen standart bileşiklerden gentiopikrozit, sverozit, svertiamarin ve izorientinin bizim çalıştığımız tür olan *Gentiana olivieri*'de de bulunup bulunmadığını saptamak üzere hazırlanan ekstreler içinde İTK ve LC-qTOF-MS ile analizleri yapılmıştır. Bu analizlere göre dekoksiyon, *n*-BuOH, EtOH ve su ekstrelerinde sverozit, svertiamarin ve izoorientin bileşiklerinin bulunduğunu göstermiştir (Şekil 4.3, 4.4, 4.5).



**Şekil 4.3.** Sverozit, svertiamarin, izorientin ve gentiopikrozit ile dekoksiyon, etanol, su, kloroform ve n-butanol ekstralarının İTK yöntemi ile karşılaştırılması



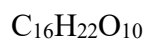
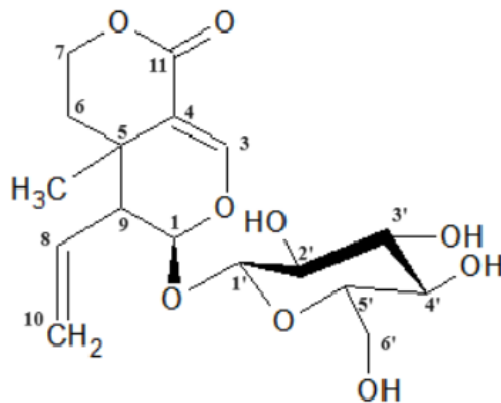
**Şekil 4.4.** LC-qTOF-MS *G. olivieri* dekoksiyon, etanol, su, kloroform ve n-butanol ekstraları temel pik kromotogramları



**Şekil 4.5.** LC-qTOF-MS ile *G. olivieri* dekoksiyon, etanol, su, kloroform ve n-butanol ekstraktlarının fitokimyasal içerik karşılaştırılması

#### 4.1.1. İzole Edilen Bileşiklerin Yapı Tayinleri

##### Svertiamarin (NAG-n/14-17a ve NAG-n/14-17b)



(Molekül ağırlığı: 374 g/mol)

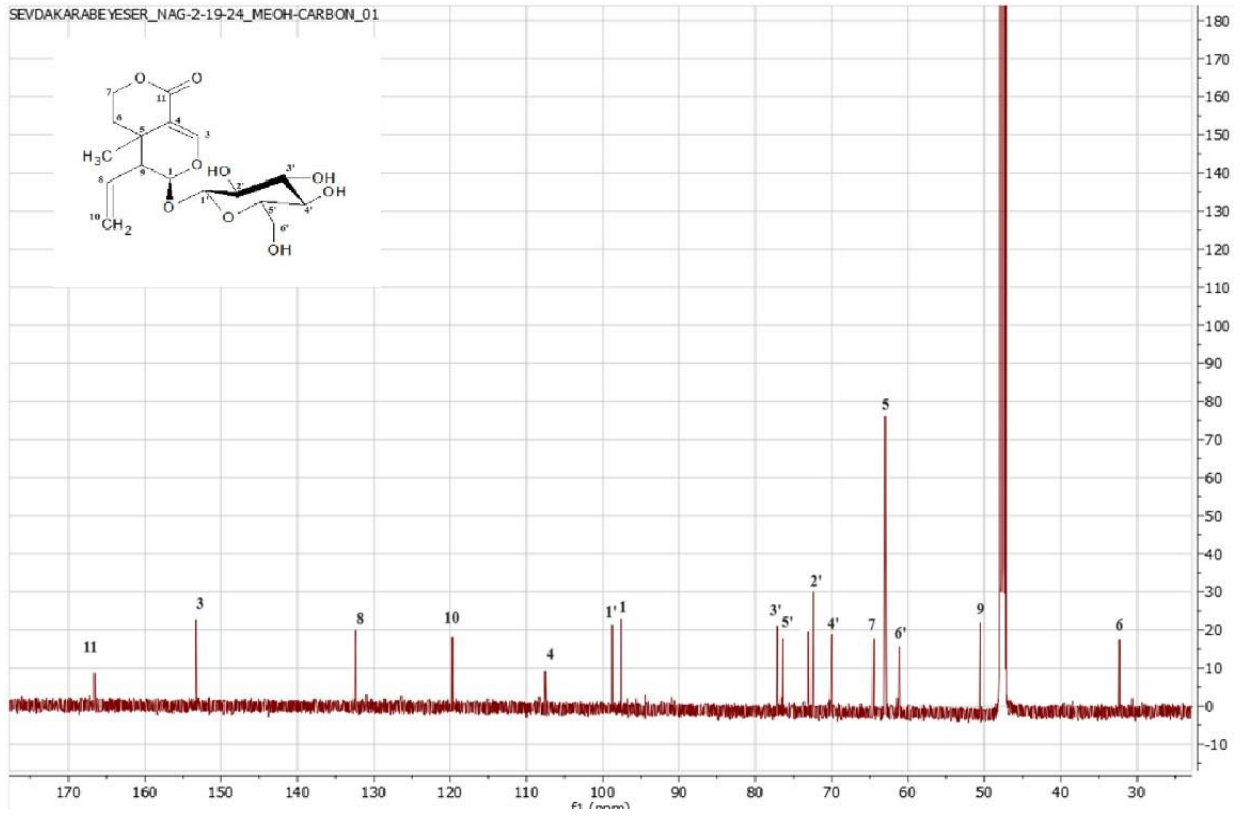
Svertiamarin bileşiği *G. olivieri* bitkisinden, beyaz amorf bir toz şeklinde elde edilmiştir. Bileşiğin kapalı formülü, MS spektrumunda elde edilen pozitif iyon piki ( $m/z$  375  $[M+H]^+$ ) piki ile  $^1H$  NMR,  $^{13}C$  NMR, DEPT, COSY, spektrumlarında gözlenen sinyaller yardımıyla  $C_{16}H_{22}O_{10}$  olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.1, Şekil 4.6, Şekil 4.7, Şekil 4.8 ve Şekil 4.9) **NAG-n/14-17b** bileşiğin NMR spektrumlarında  $\delta H$  4.62 (1H, d,  $J = 7.9$  Hz, H-1') ve  $\delta C$  98.76 (C-1')'de gözlenen anomerik proton ve karbon rezonansları ile diğer oz sinyalleri ( $\delta H$  3.15-3.65 ve  $\delta C$  61.16-73.05) yapının monoglikozidik olduğunu ve bileşiğin bir glukoz ünitesi taşıdığını göstermektedir. Anomerik protonun kenetlenme sabiti değeri ( $J = 7.9$  Hz)  $\beta$  şeklindeki bağ konfigürasyonu için karakteristiktir. Bileşiğin  $^{13}C$  NMR ve DEPT-135 spektrumları birlikte değerlendirildiğinde gözlenen 16 karbon rezonansından glukozu ait 6 sinyal çıkarıldığında, aglikona ait 3 metilen ( $\delta C$  32.30,  $\delta C$  64.50 ve  $\delta C$  119.72) ve dört metin ( $\delta C$  97.66, 153.28, 132.40 ve 50.55) ve üç katerner ( $\delta C$  107.54, 62.87 ve  $\delta C$  166.55) karbon rezonansı bileşiğin iridoit olduğunu göstermektedir.  $^1H$  NMR ve COSY spektrumlarının birlikte yorumlanması ile bileşiğin yapısında aglikona ait 10 proton bulunduğu görülmüştür.  $\delta H$  5.43 (d,  $J = 7.3$  Hz),  $\delta H$  5.35 (m, H-10a) ve  $\delta H$  5.28 (m, H-10b) sinyalleri 3 vinilik protona ait sinyaller olarak yorumlanmıştır. Bu sinyallerin görülmesi molekülün sverozit ya da sekologanin tipte bir sekoiridoit olabileceğini düşündürmektedir. C-3 protonunun, sverozite ait sinyalle karşılaştırıldığında, bir singlet ( $\delta H$  7.51) şeklinde gözlenmiş olması, C-5'te bir süstitüsyon olduğuna işaret etmektedir. C-3 karbonunun kimyasal kayma değeri de göz önünde bulundurulduğunda ( $\delta C$  64.50) bu karbona bağlı bir -OH grubuna işaret etmektedir.  $^1H$  NMR ve HMQC spektrumlarında C-7 konumuna atfedilen H-7 $\alpha$  ve H-7 $\beta$  ( $\delta H$  4.26, dd,  $J = 10.2/ 4.1$ ;  $\delta H$  4.57, m) 20 numaralı bileşiğin sverozit tipte bir sekoiridoit yapısı gösterdiğini belirtir.  $\delta H$  5.72 (d)'de gözlenen sinyal aglikonun H-1 protonunun sinyalidir.  $\delta H$  4.62 (d,  $J = 7.9$  Hz)'de görülen sinyal yapıdaki  $\beta$  glukopiranozit ünitesinin H-1' anomerik protonuna aittir. Literatür verileriyle karşılaştırıldığında bileşiğin yapısı svertiamarin olarak tespit edilmiştir (130).

**Tablo 4.1.** Svertiamarinin <sup>1</sup>H-NMR ve <sup>13</sup>C- NMR spektral değerleri (MeOH, 1H: 460 MHz, 13C: 600 MHz).

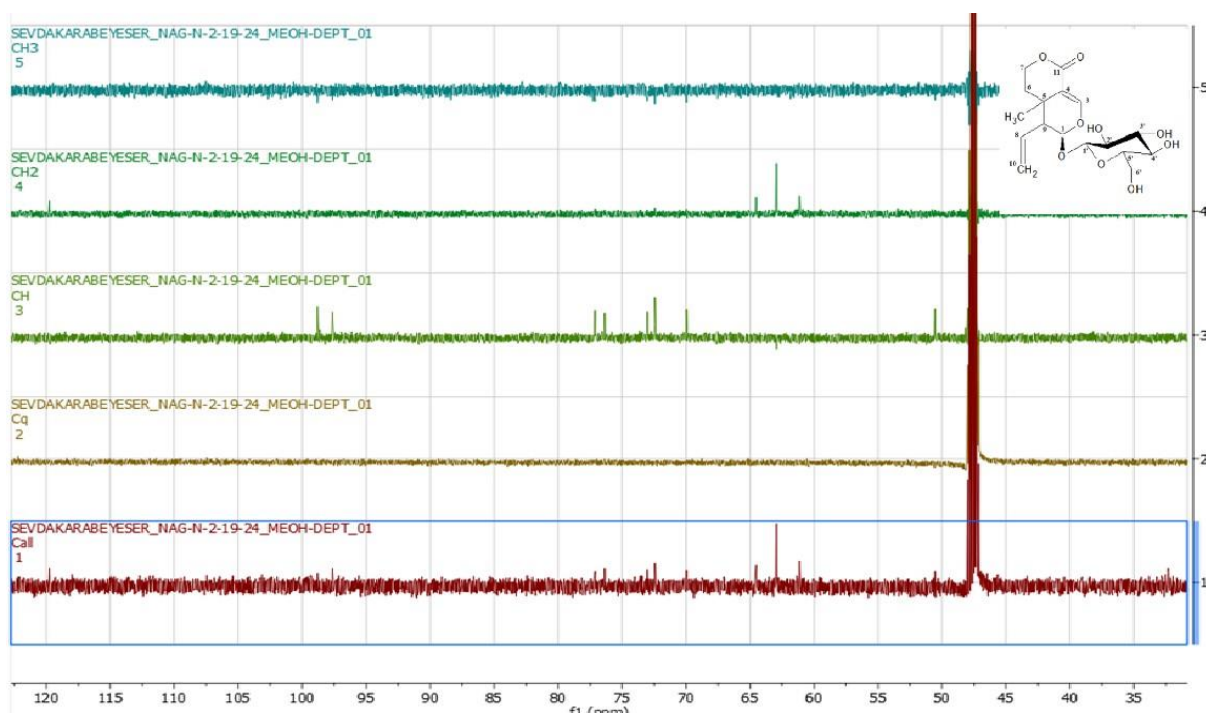
C/H	DEPT	$\delta$ C ppm	$\delta$ H ppm/ J Hz
Aglikon			
1	CH	97.67	5.71*
3	CH	153.23	7.60 s
4	C	107.22	
5	C	62.86	
6	CH <sub>2</sub>	32.26	1.9 ddd/ 5.25 1.39 d /6.6
7	CH <sub>2</sub>	64.48	4.73 dd/4.08, 10.8 4.73*
8	CH	132.42	5.35*
9	CH	50.55	2.90 dd/9.2, 1.1
10	CH <sub>2</sub>	119.60	5.28*, 5.35*
11	C	166.49	
Glukoz			

1'	CH	98.73	4.62 d/ 7.8
2'	CH	72.99	3.15-3.39*
3'	CH	77.10	3.15-3.39*
4'	CH	69.94	3.15-3.39*
5'	CH	76.35	3.15-3.39*
6'	CH <sub>2</sub>	61.12	3.88 dd/12.19,2.47 3.68 d/5.5

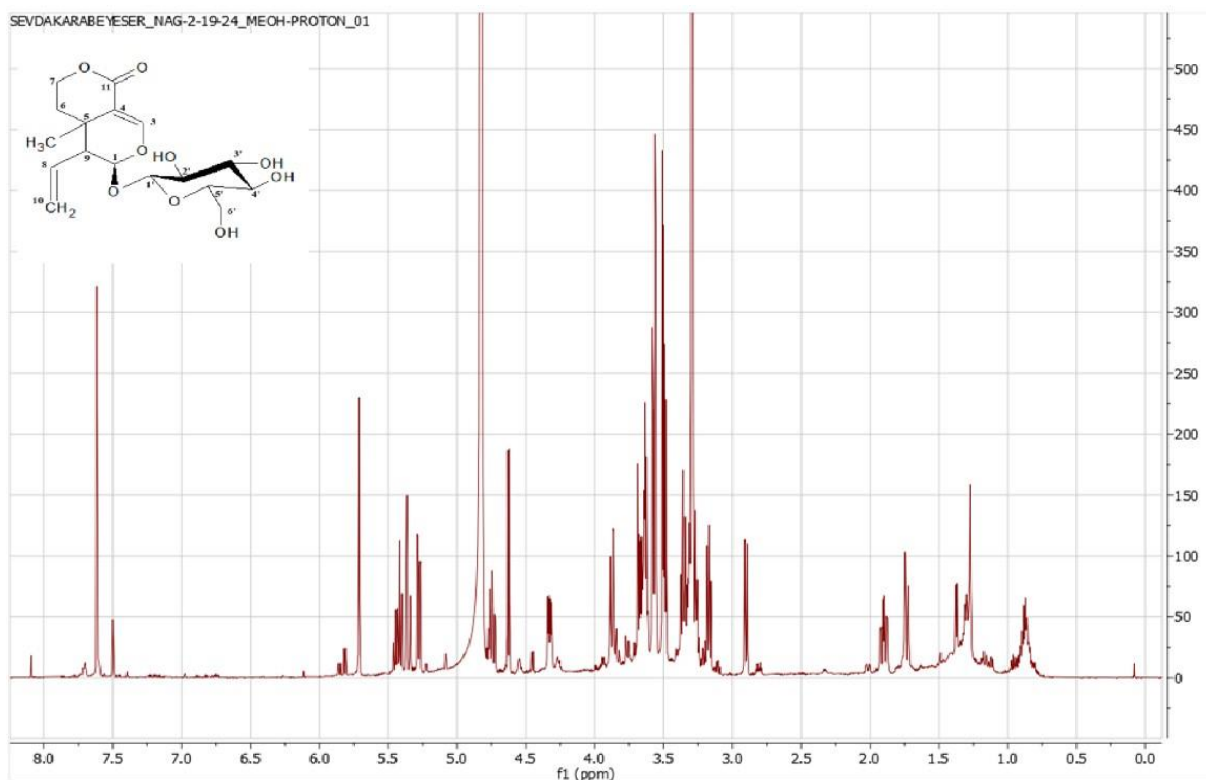
\*Girişim nedeniyle ölçülemediği.



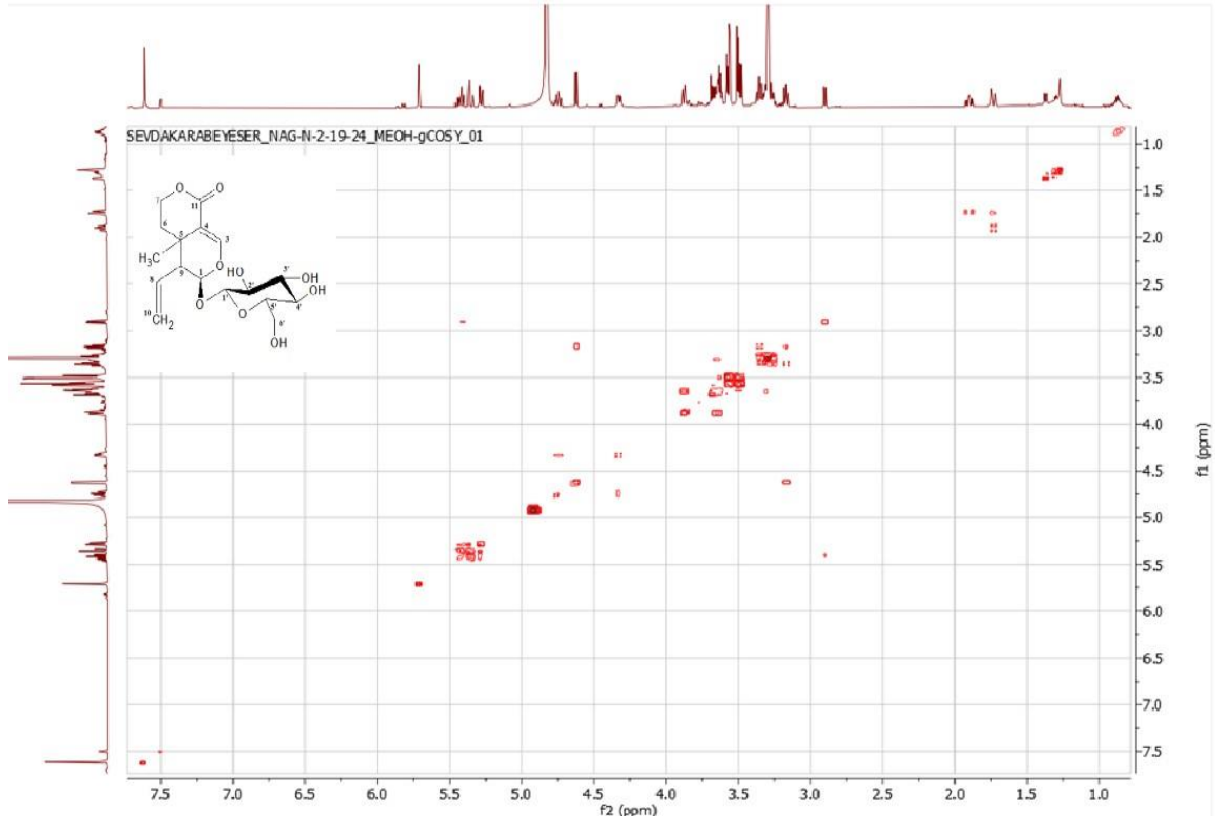
Şekil 4.6. Svertiamarin (Nag-2-19-24)'in <sup>13</sup>C NMR Spektrumu (MeOH, 600 MHz).



Şekil 4.7. Svertiamarin (Nag-2-19-24)'in DEPT Spektrumu (MeOH, 600 MHz).



Şekil 4.8. Svertiamarin (Nag-2-19-24)'in  $^1\text{H}$  NMR Spektrumu (MeOH, 600 MHz).



**Şekil 4.9.** Svertiamarin (Nag-2-19-24)'in 2D  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -Homonükleer Korelasyonlu Spektrumu (COSY).

## 4.2.Farmakolojik Çalışmalara Ait Bulgular

### Nöroprotektif Etki Çalışması

Tez kapsamında *G. olivieri* bitkisinin toprak üstü kısımlarının dekoksasyon, etanol, su, kloroform ve *n*-butanol ekstralarının nöroprotektif etkilerinin araştırılarak halk arasındaki kullanımının bilimsel olarak kanıtlanan etkilerle ilişkisinin araştırılması planlanmıştır. Halk arasında aşırı korkmuş kişilerde oluşan tutukluğun, dona kalmanın giderilmesinde kullanılmaktadır. Bu etkinin bitkinin nöronlar üzerindeki pozitif etkisi ile ilişkili olduğu düşünüldüğünden nöroprotektif etkisinin tespiti önem taşımaktadır. Bu kapsamda nöroprotektif etki ile ilgili değerlendirmede bulunmak için;

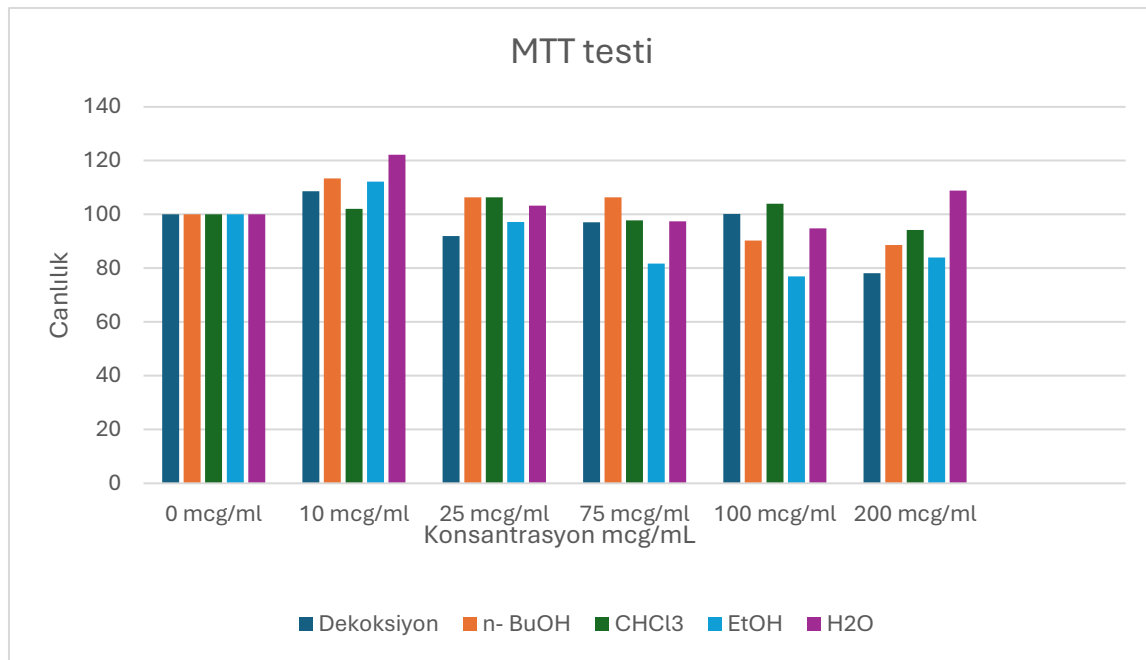
- MTT testleri ile etkinin tayininde SH-SY5Y insan nöroblastoma hücre hattında uygulanacak *G.olivieri* bitkisinin toprak üstü kısımlarının kısımlarının dekoksasyon, etanol, su, kloroform ve *n*-butanol ekstralarının optimal dozları(hücrelerin canlılığını değiştirmeyen doz) seçilmiştir. Bu optimal dozlar ekstraların hücre canlılığını arttırmadığı ya da azaltmadığı yani değiştirmedığı konsantrasyonlar olarak belirlenmiştir.



- LPS ile hasara uğratılmış tayininde SH-SY5Y insan nöroblastoma hücreleri tarafından üretilen bazı sitokin ( Ifn- $\alpha$ , Ifn- $\beta$ , Kompleman protein C1q, C3, C6 ve C9, Nrf-2) seviyeleri üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir.

#### 4.2.1. MTT Testleri

MTT hücrelerin mitokondriyal enzim aktivitesini ölçmek için kullanılır. Klorimetrik bir yöntemdir. Çalışmamızda MTT testleri hücre içi sitokin (Ifn- $\alpha$ , Ifn- $\beta$ , Kompleman protein C1q, C3, C6 ve C9, Nrf-2) seviyeleri ölçülmeden önce SH-SY5Y insan nöroblastoma hücre hattına uygulanacak ekstrelerin optimal dozunun (hücrelerin canlılığını değiştirmeyen doz) belirlenmesi için kullanılmıştır. Belirlenen dozlar; Dekoksyon: 75  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , Etanol ekstresi: 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , Sulu ekstre: 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , Kloroform ekstresi: 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  ve n-butanol ekstresi: 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  şeklindedir. (Şekil 4.10 ve Tablo 4.2)



**Şekil 4.10.** *G.olivieri* ekstrlerinin SH-SY5Y insan nöroblastoma hücrelerinde hücre canlılığı-konsantrasyon grafiği

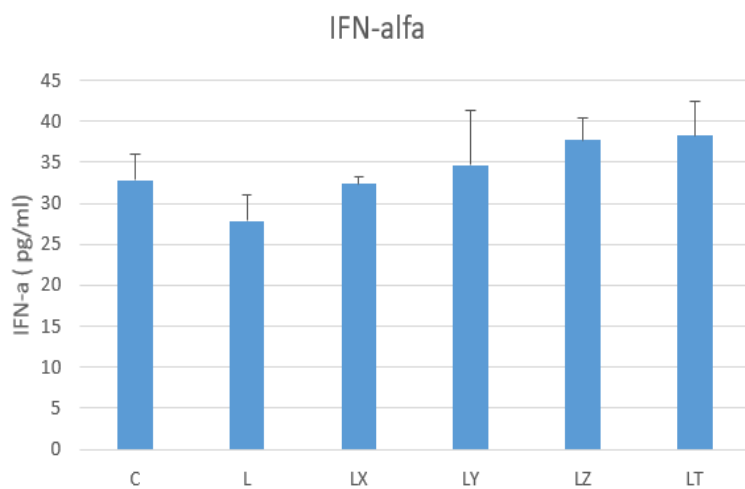
**Tablo 4.2.** *G.olivieri* ekstrlerinin SH-SY5Y insan nöroblastoma hücrelerinin canlılığına optimal etki eden doz (hücrelerin canlılığını değiştirmeyen doz) tablosu

Ekstre	Optimal Doz
--------	-------------

Dekoksiyon	75 µg/ml
Etanol	10 µg/ml
Sulu	50 µg/ml
Kloroform	50 µg/ml
n-butanol	50 µg/ml

#### 4.2.2. Hücre İçi Sitokin (Ifn- $\alpha$ , Ifn- $\beta$ , Kompleman protein C1q, C3, C6 ve C9, Nrf-2) Seviyeleri

SH-SY5Y insan nöroblastoma hücreleri LPS ile uyarılmıştır. LPS (lipopolisakkarit), endotoksin özelliğiyle SH-SY5Y insan nöroblastoma hücrelerinin hücre içi sitokin (Ifn- $\alpha$ , Ifn- $\beta$ , Kompleman protein C1q, C3, C6 ve C9, Nrf-2) seviyelerini arttırmaktadır. *G. olivieri* ekstralarının uygulandığı LPS ile uyarılmış SH-SY5Y insan nöroblastoma hücrelerinin hücre içi sitokin (Ifn- $\alpha$ , Ifn- $\beta$ , Kompleman protein C1q, C3, C6 ve C9, Nrf-2) seviyeleri ölçülerek ekstraların nöroprotektif etkisi saptanmıştır ( Şekil 4.11, 4.12, 4.13, 4.14, 4.15, 4.16 ve 4.17).

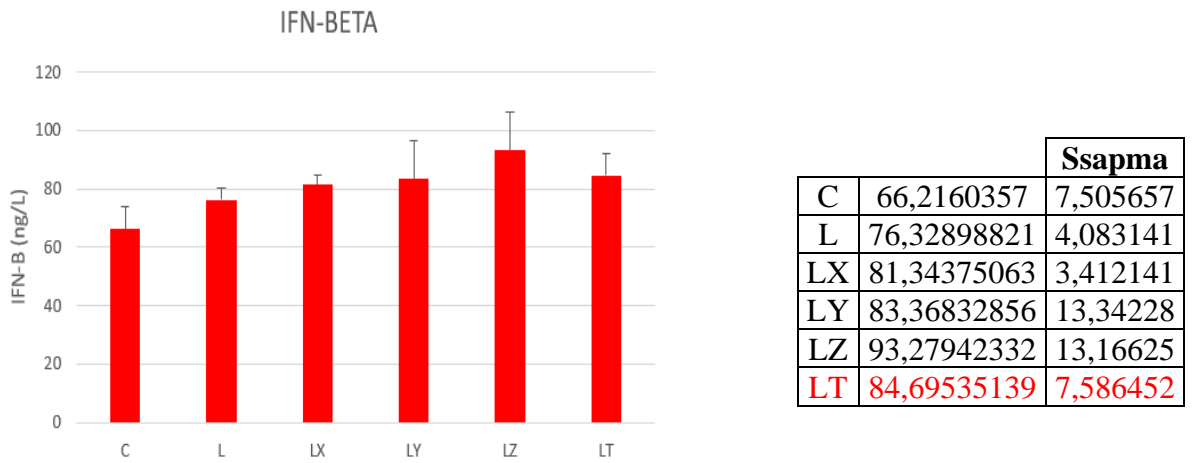


	Ssapma	
C	32,84067	3,1212057
L	27,86139	3,2103206
LX	32,35314	0,8513173
LY	34,65539	6,6737249
LZ	37,71866	2,7754074
LT	38,24625	4,1090857

**Şekil 4.11.** *G. olivieri* ekstralarının SH-SY5Y insan nöroblastoma hücrelerinin hücre içi Ifn- $\alpha$  seviyesindeki değişime etki grafiği,

*C: Kontrol. L:LPS. LX: LPS ve n-butanol ekstresi. LY: LPS ve kloroform ekstresi. LZ: LPS and EtOH ekstresi.*

*LT: LPS ve sulu ekstre.*



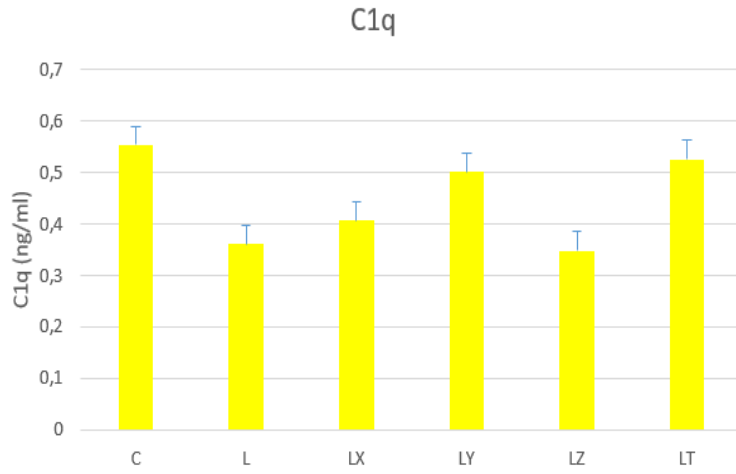
**Şekil 4.12.** *G. olivieri* ekstralarının SH-SY5Y insan nöroblastoma hücrelerinin hücre içi Ifn- $\beta$  seviyesindeki değişime etki grafiği,

*C: Kontrol. L:LPS. LX: LPS ve n-butanol ekstresi. LY: LPS ve kloroform ekstresi. LZ: LPS and EtOH ekstresi.*

*LT: LPS ve sulu ekstre.*

	<b>pg/<math>\mu</math>g C1q</b>	<b>Ssapma</b>
C	0,55359	0,02996094
L	0,361352	0,04751095

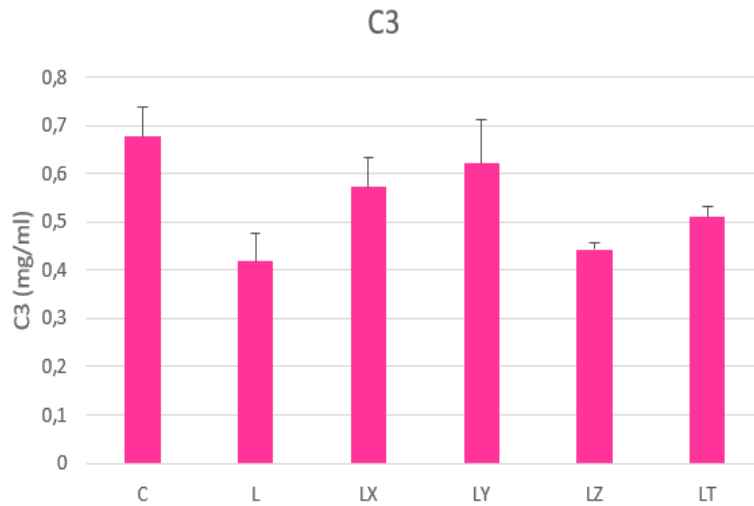
LX	0,407465	0,08364874
LY	0,501736	0,02331388
LZ	0,348476	0,04555226
LT	0,526132	0,0058002



**Şekil 4.13.** *G. olivieri* ekstralarının SH-SY5Y insan nöroblastoma hücrelerinin hücre içi C1q seviyesindeki değişime etki grafiği,

*C: Kontrol. L:LPS. LX: LPS ve n-butanol ekstresi. LY: LPS ve kloroform ekstresi. LZ: LPS and EtOH ekstresi.*

*LT: LPS ve sulu ekstre.*

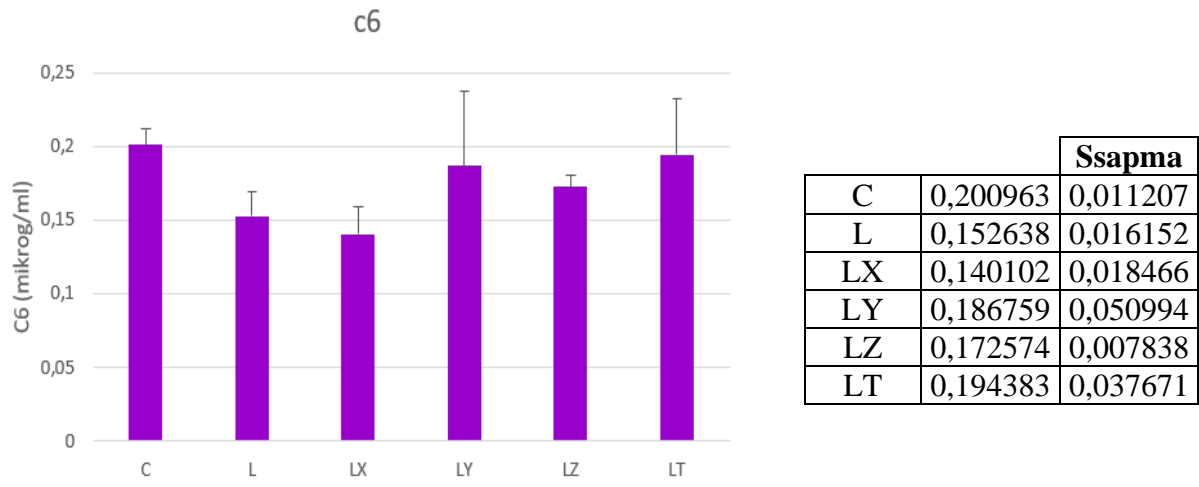


	mg/µg C3	SSapma
<b>C</b>	0,676918	0,059628
<b>L</b>	0,417965	0,058712
<b>LX</b>	0,57202	0,061573
<b>LY</b>	0,620339	0,091412
<b>LZ</b>	0,443209	0,014997
<b>LT</b>	0,510552	0,021434

**Şekil 4.14.** *G. olivieri* ekstralarının SH-SY5Y insan nöroblastoma hücrelerinin hücre içi C3 seviyesindeki değişime etki grafiği,

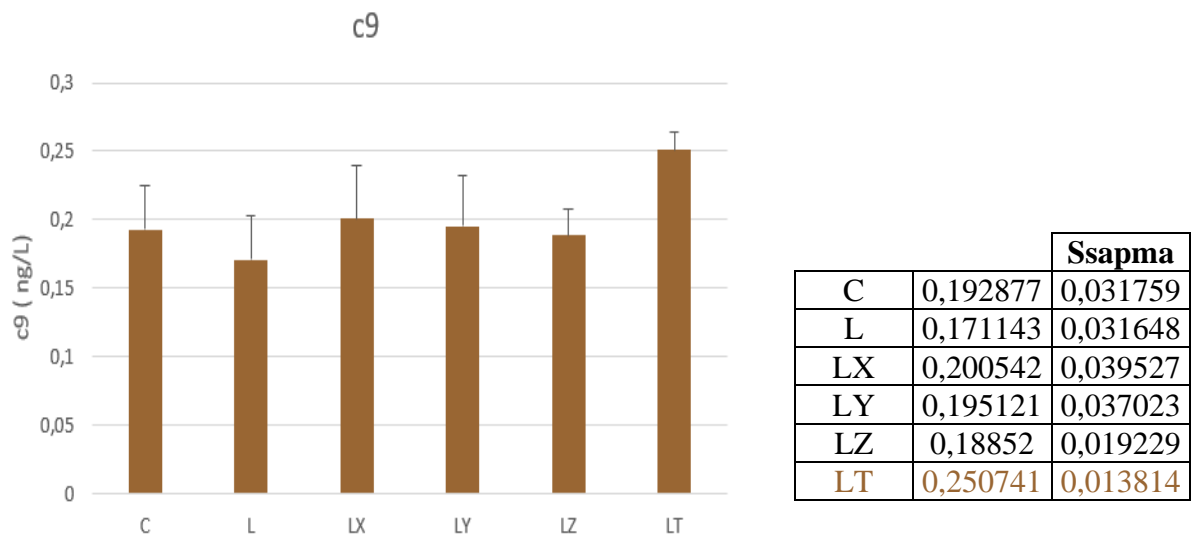
*C: Kontrol. L:LPS. LX: LPS ve n-butanol ekstresi. LY: LPS ve kloroform ekstresi. LZ: LPS and EtOH ekstresi.*

*LT: LPS ve sulu ekstre.*



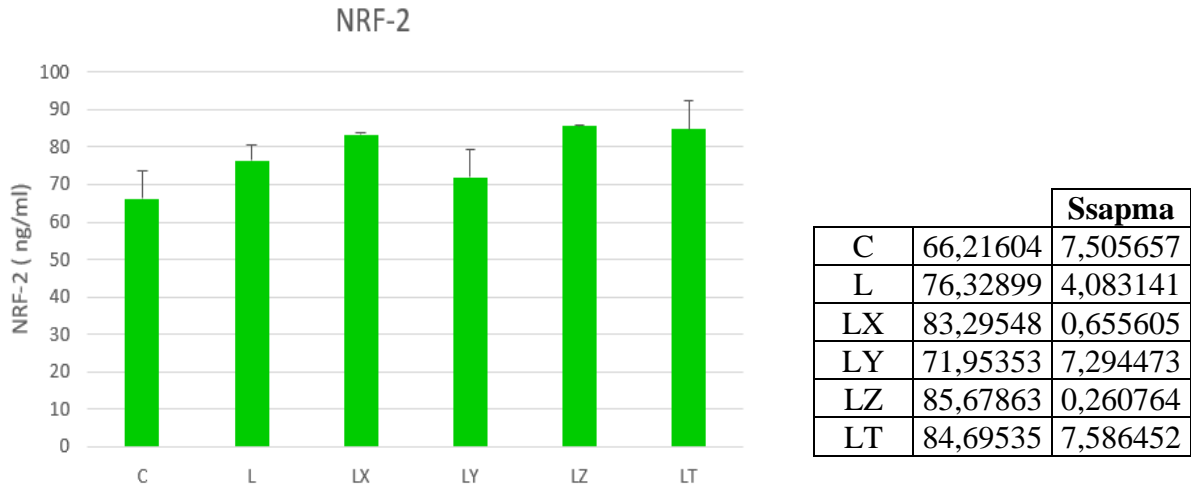
**Şekil 4.15.** *G. olivieri* ekstrelerinin SH-SY5Y insan nöroblastoma hücrelerinin hücre içi C6 seviyesindeki değişime etki grafiği,

C: Kontrol. L:LPS. LX: LPS ve n-butanol ekstresi. LY: LPS ve kloroform ekstresi. LZ: LPS and EtOH ekstresi. LT: LPS ve sulu ekstre.



**Şekil 4.16.** *G. olivieri* ekstrelerinin SH-SY5Y insan nöroblastoma hücrelerinin hücre içi C9 seviyesindeki değişime etki grafiği,

C: Kontrol. L:LPS. LX: LPS ve n-butanol ekstresi. LY: LPS ve kloroform ekstresi. LZ: LPS and EtOH ekstresi. LT: LPS ve sulu ekstre.



**Şekil 4.17.** *G. olivieri* ekstralarının SH-SY5Y insan nöroblastoma hücrelerinin hücre içi Nrf-2 seviyesindeki değişime etki grafiği,

C: Kontrol. L:LPS. LX: LPS ve *n*-butanol ekstresi. LY: LPS ve kloroform ekstresi. LZ: LPS and EtOH ekstresi. LT: LPS ve sulu ekstre.

Sonuçlar genel olarak incelendiğinde *G. olivieri* ekstralarının uygulandığı LPS ile uyarılmış SH-SY5Y insan nöroblastoma hücrelerinin hücre içi sitokin seviyeleri üzerinde sulu ekstre diğer ekstralara göre daha güçlü bir etki göstermiştir. LPS ile uyarılan hücre içi sitokin seviyeleri üzerindeki etkileri değerlendirildiğinde etanol ve su ekstraları IFN- $\alpha$  (p değ LZ: 0.015 ve p değ. LT: 0.026), sulu ekstre IFN- $\beta$  (p değ LT: 0.016), kloroform ve su ekstraları c1q (p değ. LY:0.033 ve p değ. LT:0.018) , *n*-butanol ve kloroform c3 (p değ LX:0.034 ve p değ. LY:0.032) ve sulu ekstre c9 (p değ. LT:0.048) seviyelerini anlamlı seviyede arttırmıştır.

*n*-butanol ekstresinden gerçekleştirilen kromatografik çalışmalarla 1 sekoiridoit glikoziti (svertiamarin) ve 1 oligosakkarit saflaştırılmıştır.

## 5. TARTIŞMA

*Gentiana* L. cinsi dünyada yaklaşık 400 tür ile temsil edilirken ülkemizde 12 tür yetişmektedir.(1). *Gentiana* türleri dünya genelinde iştah açıcı olarak, antidiyabetik, antiinflamatuvar olarak, ayrıca sindirim rahatsızlıkları tedavisinde ve tonik olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (2-4).

*Gentiana lutea*'nın sonbaharda toplanıp güneşte kurutulmuş kök ve rizomları “Radix Gentianae” droğunu verir. *G. lutea* Avrupa Farmakopesi başta olmak üzere çeşitli farmakope ve EMA, WHO ve ESCOP monograflarında iştah açıcı özelliği nedeniyle yer almaktadır. Drog, Anadolu’da, halk arasında iştah açıcı, ateş düşürücü, antidepresan ve yara iyi edici amaçlarla kullanılmaktadır (14).

*G. olivieri* Gaziantep, Erzurum ve Urfa yöresinde “afat” adıyla “yedi yıllık korkuyu alan bitki” olarak tanınmakta ve çiçekli toprak üstü kısımlarının % 2-3'lük infüzyonları korku ve hafif depresyon gibi durumlarda halk ilacı olarak kullanılmaktadır (14).

*Gentiana* türleri özellikle sekoiridoit, iridoit, ksanton ve C-flavonoit yapılu bileşikler taşıyan bitkilerdir. Bu bileşiklerden sekoiridoitlerin antikolinergik ve hepatoprotektif etkileri olduğu; ksanton bileşiklerinin ise MAO inhibisyonu yapmak suretiyle MSS üzerinde stimulan etki gösterdikleri, ayrıca antiinflamatuvar ve hipoglisemik etkilerinin olduğu bilinmektedir(104). Bununla birlikte, özellikle ksanton sınıfındaki bileşiklerin *Gentiana* cinsinin kemotaksonomisi için önemli bir anahtar rolü oynadığı da kabul edilmektedir (105).

*Gentiana olivieri* bitkisinin toprak üstü kısımları üzerinde bir kısmı anabilim dalımızda olmak üzere fitokimyasal içeriği ve biyolojik etkisi ile ilgili bazı çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmalarda bitkiden özellikle sekoiridoit yapıdaki gentiopikrozit, svertiamarin, izorientin, sverozit başta olmak üzere çeşitli sekonder metabolitlerin izolasyon ve yapı tayini gerçekleştirilmiştir. Bitkinin toprak üstü kısımlarının biyolojik etkileri için çoğunlukla *in vivo* çalışmalar bulunmaktadır. 2020 yayınlanan bir çalışmada bitkinin antidepresan etkisi sıçanlarda test edilmiştir(20). Bu tez kapsamında Anabilim Dalımızda yapılmış olan *Gentiana* türleriyle ilgili çalışmaların devamı niteliğinde *G. olivieri*'nin toprak üstü kısımlarının fitokimyasal içeriğinin belirlenmesi ve nöroprotektif etkilerinin incelenmesi hedeflenmiştir.

Bu noktadan hareketle Gaziantep'te ticari ürün olarak satılan Afat otu satın alınarak, halk arasındaki kullanımına uygun bir şekilde dekoksasyonu, etanol, su, kloroform ve *n*-butanol ekstraktları hazırlanmış ve nöroprotektif etkileri SH-SY5Y insan nöroblastoma hücre hattında test edilmiştir. LPS ile uyarılan hücre içi sitokin seviyeleri üzerindeki etkileri

değerlendirildiğinde etanol ve su ekstreleri IFN- $\alpha$  , sulu ekstre IFN- $\beta$  , kloroform ve su ekstreleri c1q , n-butanol ve kloroform c3 ve sulu ekstre c9 seviyelerini arttırmıştır. Bu sonuçlar 2022 yılında Anabilim Dalımızda yapılmış olan *Gentiana olivieri* ile benzer sekonder metabolit içeriğine sahip bazı *Gentianella* türleri olan *G. caucasea*, *G. ciliata* ve *G. holosteoides* türleriyle yapılmış olan “Bazı *Gentianella* Türlerinin Fitokimyasal Analizleri ve Sekonder Metabolitlerinin Bdnf (Beyin-Türevli Nörotrofik Faktör) Üzerindeki Etkileri” doktora çalışmasıyla örtüşen sonuçlar elde edilmiştir. *G. olivieri*'nin su dekoksasyonu, etanol, su, kloroform ve *n*-butanol ekstreleri ile daha önce diğer *Gentiana* türlerinden elde edilen standart bileşikler olan gentiopikrozit, sverozit, svertiamarin ve izoorientin karşılaştırılmış ve İTK ve LC-qTOF-MS yöntemleriyle su dekoksasyonu, etanol, su ve *n*-butanol ekstrelerinde sverozit, svertiamarin ve izoorientin olduğu kanıtlanmıştır. Ayrıca elde edilen *n*-butanol ekstresinden gerçekleştirilen kromatografik çalışmalarla 1 sekoiridoit glikoziti (svertiamarin) ve 1 oligosakkarit saflaştırılmıştır.



## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışması kapsamında;

- *G. olivieri*' nin dekoksasyon, etanol, su, kloroform ve *n*-butanol ekstreleri hazırlanmıştır.
- Ekstrelerin nöroprotektif etkileri SH-SY5Y insan nöroblastoma hücre hattında test edilmiştir. MTT testi ile hücrelerin canlılığını değiştirmeyen optimal doz belirlenmiştir. LPS ile uyarılan hücre içi sitokin seviyeleri üzerindeki etkileri değerlendirildiğinde etanol ve su ekstreleri IFN- $\alpha$  , sulu ekstre IFN- $\beta$  , kloroform ve su ekstreleri c1q , *n*-butanol ve kloroform c3 ve sulu ekstre c9 seviyelerini arttırmıştır.
- *n*-butanol ekstresinden gerçekleştirilen kromatografik çalışmalarla 1 sekoiridoit glikoziti (svertiamarin) ve 1 oligosakkarit saflaştırılmıştır.
- Aktif olan ekstrelerin sekoiridoitlerce zengin ekstreler olduğu İTK ve LC-qTOF-MS yöntemleriyle tespit edilmiştir.
- Gentianaceae familyası bitkilerinden *Gentianella* türleri üzerinde Anabilim dalımızda gerçekleştirilen çalışmalarda sekoiridoitlerin BDNF ekspresyonunu artırdıkları tespit edilmiştir. Bu nedenle daha ileri çalışmalarda bitkinin sekoiridoitlerinin tek tek bu aktivite testlerinde denenmesi gerekmektedir.

## 7. KAYNAKLAR

1. Pritchard N. *Gentiana* LPH Davis (Ed.). Flora of Turkey and the East Aegean Islands (c. 6, s. 183-190). Edinburgh: University Press; 1978.
2. Pan Y, Zhao Y-L, Zhang J, Li W-Y, Wang Y-Z. Phytochemistry and pharmacological activities of the genus *Gentiana* (Gentianaceae). *Chemistry & biodiversity*. 2016;13(2):107-50.
3. Mirzaee F, Hosseini A, Jouybari HB, Davoodi A, Azadbakht M. Medicinal, biological and phytochemical properties of *Gentiana* species. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*. 2017;7(4):400-8.
4. Jiang M, Cui B-W, Wu Y-L, Nan J-X, Lian L-H. Genus *Gentiana*: A review on phytochemistry, pharmacology and molecular mechanism. *Journal of Ethnopharmacology*. 2021;264:113391.
5. Lu K-H, Liu C-T, Raghu R, Sheen L-Y. Therapeutic potential of Chinese herbal medicines in alcoholic liver disease. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*. 2012;2(2):115-22.
6. Tan R, Wolfender J-L, Ma W, Zhang L, Hostettmann K. Secoiridoids and antifungal aromatic acids from *Gentiana algida*. *Phytochemistry*. 1996;41(1):111-6.
7. Ma WG, Fuzzati N, Wolfender JL, Hostettmann K, Yang CR. Rhodenthoside A, a new type of acylated secoiridoid glycoside from *Gentiana rhodantha*. *Helvetica chimica acta*. 1994;77(6):1660-71.
8. Amin A. Ketoconazole-induced testicular damage in rats reduced by *Gentiana* extract. *Experimental and Toxicologic Pathology*. 2008;59(6):377-84.
9. Šavikin K, Menković N, Zdunić G, Stević T, Radanović D, Janković T. Antimicrobial activity of *Gentiana lutea* L. extracts. *Zeitschrift für Naturforschung C*. 2009;64(5-6):339-42.
10. Nastasijević B, Lazarević-Pašti T, Dimitrijević-Branković S, Pašti I, Vujačić A, Joksić G, Vasić V. Inhibition of myeloperoxidase and antioxidative activity of *Gentiana lutea* extracts. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*. 2012;66:191-6.
11. Eröz Poyraz İ, Poyraz İ, Kıyan H, Öztürk N, Erken S, Gulbag F, Özzambak M. Detection of the genotoxicity of *Gentiana* L. extracts by using RAPD-PCR and ISSR-PCR techniques. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*. 2018;52(4).
12. Latif A, Khan T, Afaq S. Anti-inflammatory activity of flower tops of *Gentiana kurroo* Royale extract. *Pharmacologyonline*. 2006;3:575-80.
13. Olennikov DN, Gadimli AI, Isaev JI, Kashchenko NI, Prokopyev AS, Kataeva TN, et al. Caucasian *Gentiana* species: Untargeted LC-MS metabolic profiling, antioxidant and digestive enzyme inhibiting activity of six plants. *Metabolites*. 2019;9(11):271.
14. Kaya D. Bazı *Gentiana* Türleri Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar. Ankara: Hacettepe Üniversitesi; 2013.
15. Ersöz T, Çalış İ. C-glucosylflavones from *Gentiana olivieri*. *Hacettepe University J Fac Pharm*. 1991;11:29.

16. Senol FS, Yagci Tuzun C, Toker G, Orhan IE. An in vitro perspective to cholinesterase inhibitory and antioxidant activity of five *Gentiana* species and *Gentianella caucasea*. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 2012;63(7):802-12.
17. Konya R, Reis R, Sipahi H, Barta A, Hohmann J, Kırmızıbekmez H. Secondary metabolites from *Gentiana cruciata* L. and their anti-inflammatory and analgesic activities. *Natural Product Research*. 2023;37(18):3025-32.
18. Mihailović V, Katanić J, Mišić D, Stanković V, Mihailović M, Uskoković A, et al. Hepatoprotective effects of secoiridoid-rich extracts from *Gentiana cruciata* L. against carbon tetrachloride induced liver damage in rats. *Food & function*. 2014;5(8):1795-803.
19. Maituoheti R, Rouzimaimaiti R, Tang D, Zhao J, Aisa HA. Seco-iridoid glycosides from the *Gentiana olivieri* Griseb and their bioactivities. *Phytochemistry*. 2023;215:113839.
20. Berk A, Yılmaz İ, Abacıoğlu N, Kaymaz MB, Karaaslan MG, Savan EK. Antidepressant effect of *Gentiana olivieri* Griseb. in male rats exposed to chronic mild stress. *Libyan Journal of Medicine*. 2020;15(1).
21. Aslan M, Orhan DD, Orhan N. Effect of *Gentiana olivieri* on experimental epilepsy models. *Pharmacognosy Magazine*. 2011;7(28):344.
22. Sezik E, Aslan M, Yesilada E, Ito S. Hypoglycaemic activity of *Gentiana olivieri* and isolation of the active constituent through bioassay-directed fractionation techniques. *Life sciences*. 2005;76(11):1223-38.
23. Orhan DD, Aslan M, Aktay G, Ergun E, Yesilada E, Ergun F. Evaluation of hepatoprotective effect of *Gentiana olivieri* herbs on subacute administration and isolation of active principle. *Life Sciences*. 2003;72(20):2273-83.
24. A. B. İngilizce-Türkçe Botanik Kılavuzu. İstanbul Üniversitesi (Yayın No: 4058): Eczacılık Fakültesi Yayın No: 70. 1998.
25. Takhtadzhian AL. Diversity and classification of flowering plants: Columbia University Press; 1997.
26. Albert V, Struwe L. Gentianaceae in context. *Gentianaceae: systematics and natural history* Cambridge University Press, Cambridge. 2002:1-20.
27. Evans WC. Trease and Evans' pharmacognosy: Elsevier Health Sciences; 2009.
28. Yang J-L, Liu L-L, Shi Y-P. Phytochemicals and biological activities of *Gentiana* species. *Natural product communications*. 2010;5(4):1934578X1000500432.
29. Xu Y, Li Y, G. Maffucci K, Huang L, Zeng R. Analytical methods of phytochemicals from the genus *Gentiana*. *Molecules*. 2017;22(12):2080.
30. Arya V, Thakur N, Kashyap C. Medicinal vigor of Gul-e-ghafis (*Gentiana olivieri* Griseb.)-A Review. *Unani research*. 2011;1(2):12-7.
31. Nazamuddin M. *Gentiana olivieri* Griseb (Flower Of Ghaafis): A Valuable Medicinal Herb Of Unani Medicine-A Review. 2014.
32. Qi L-M, Zhang J, Zhao Y-L, Zuo Z-T, Jin H, Wang Y-Z. Quantitative and qualitative characterization of *Gentiana rigescens* Franch (Gentianaceae) on different parts and

cultivations years by HPLC and FTIR spectroscopy. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*. 2017;2017.

33. Yang Y, Zhao R, Gao H, Wang Z, Yang X, Ruan M, et al.  $\beta$ -Cyclodextrin as a booster for ultrasound-assisted extraction of secoiridoids from *Gentiana rigescens* using a biobased deep eutectic solvent. *Industrial Crops and Products*. 2023;204:117410.

34. Lan Y-p, Huang M-h, Yang M, Zhang P-z. Chemical Constituents from *Gentiana urnula*. *Chemistry of Natural Compounds*. 2023;59(4):689-91.

35. Wang Y-M, Xu M, Wang D, Yang C-R, Zeng Y, Zhang Y-J. Anti-inflammatory compounds of “Qin-Jiao”, the roots of *Gentiana dahurica* (Gentianaceae). *Journal of Ethnopharmacology*. 2013;147(2):341-8.

36. Jia N, Chu W, Li Y, Ding L, Duan J, Cui J, et al. Iridoid glycosides from the flowers of *Gentiana macrophylla* Pall. ameliorate collagen-induced arthritis in rats. *Journal of ethnopharmacology*. 2016;189:1-9.

37. Rho T, Jung M, Lee MW, Chin YW, Yoon KD. Efficient methods for isolating five phytochemicals from *Gentiana macrophylla* using high-performance countercurrent chromatography. *Journal of separation science*. 2016;39(24):4723-31.

38. Cvetković S, Nastasijević B, Mitić-Ćulafić D, Đukanović S, Tenji D, Knežević-Vukčević J, Nikolić B. New insight into the antigenotoxic activity of *Gentiana lutea* extracts—protective effect against food borne mutagens. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. 2020;858:503251.

39. Coelho C, Figueredo G, Lafarge C, Bou-Maroun E, Flahaut S. Mid-infrared spectroscopy combined with multivariate analysis and machine-learning: A powerful tool to simultaneously assess geographical origin, growing conditions and bitter content in *Gentiana lutea* roots. *Industrial Crops and Products*. 2022;187:115349.

40. Olennikov D, Chirikova N. Algidisides I and II, new iridoid glycosides from *Gentiana algida*. *Chemistry of Natural Compounds*. 2016;52:637-41.

41. Li W, Zhou W, Kim S, Koo J-E, Kim Y, Koh Y-S, et al. Three new secoiridoid glycosides from the rhizomes and roots of *Gentiana scabra* and their anti-inflammatory activities. *Natural Product Research*. 2015;29(20):1920-7.

42. Gao Q, Zhou LX, Huang R, Zhang SX, Chen G. Five New Glycoside Constituents from the Roots of *Gentiana crassicaulis* Duthie ex Burk. *Chemistry & Biodiversity*. 2023;20(8):e202300841.

43. Zhang L, Ulriksen ES, Hoel H, Sandvik L, Malterud KE, Inngjerdingen KT, et al. Phytochemical characterization and anti-inflammatory activity of a water extract of *Gentiana purpurea* roots. *Journal of Ethnopharmacology*. 2023;301:115818.

44. Huang R, Wang X, Liu H, Hu H-M, Hu W-Y, Chen G. Chemical constituents from *Gentiana crassicaulis* Duthie ex Burk. *Biochemical systematics and ecology*. 2020;92:104115.

45. Suyama Y, Kurimoto S-i, Kawazoe K, Murakami K, Sun H-D, Li S-L, et al. Rigenolide A, a new secoiridoid glucoside with a cyclobutane skeleton, and three new acylated secoiridoid glucosides from *Gentiana rigescens* Franch. *Fitoterapia*. 2013;91:166-72.

46. He Y-M, Zhu S, Ge Y-W, Kazuma K, Zou K, Cai S-Q, Komatsu K. The anti-inflammatory secoiridoid glycosides from *Gentiana scabrae* Radix: the root and rhizome of *Gentiana scabra*. *Journal of natural medicines*. 2015;69:303-12.
47. Hou S-B, Wang X, Huang R, Liu H, Hu H-M, Hu W-Y, et al. Seven new chemical constituents from the roots of *Gentiana macrophylla* pall. *Fitoterapia*. 2020;141:104476.
48. Kırmızıbekmez H, Tatar D, Erdoğan M, Kúsz N, Hohmann J. A new depside and a new secoiridoid from the aerial parts of *Gentiana olivieri* from flora of Turkey. *Natural Product Research*. 2022;36(9):2208-14.
49. Disasa D, Cheng L, Manzoor M, Liu Q, Wang Y, Xiang L, Qi J. Amarogentin from *Gentiana rigescens* Franch exhibits antiaging and neuroprotective effects through antioxidative stress. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2020;2020.
50. Fiorito S, Epifano F, Palumbo L, Collevicchio C, Mascioli F, Spogli R, Genovese S. Leaves of yellow gentian (*Gentiana lutea*) as an alternative source of bitter secoiridoid glycosides. *Journal of Natural Products*. 2022;85(9):2232-5.
51. Suyama Y, Tanaka N, Kawazoe K, Murakami K, Li S-L, Sun H-D, Kashiwada Y. Rigenolides B and C, conjugates of norsecoiridoid and secoiridoid glucoside from *Gentiana rigescens* Franch. *Tetrahedron Letters*. 2017;58(15):1459-61.
52. Suyama Y, Tanaka N, Kawazoe K, Murakami K, Li S-L, Sun H-D, Kashiwada Y. Rigenolides D–H, norsecoiridoid and secoiridoids from *Gentiana rigescens* Franch. *Journal of natural medicines*. 2018;72:576-81.
53. He Y-M, Zhu S, Ge Y-W, Cai S-Q, Komatsu K. Secoiridoid glycosides from the root of *Gentiana crassicaulis* with inhibitory effects against LPS-induced NO and IL-6 production in RAW264 macrophages. *Journal of natural medicines*. 2015;69:366-74.
54. Yamada H, Kikuchi S, Inui T, Takahashi H, Kimura K-i. Gentiolactone, a secoiridoid dilactone from *Gentiana triflora*, inhibits TNF- $\alpha$ , iNOS and Cox-2 mRNA expression and blocks NF- $\kappa$ B promoter activity in murine macrophages. *PLoS One*. 2014;9(11):e113834.
55. Tanaka N, Takekata M, Kurimoto S-i, Kawazoe K, Murakami K, Damdinjav D, et al. Algiolide A, secoiridoid glucoside from Mongolian medicinal plant *Gentiana algida*. *Tetrahedron letters*. 2015;56(6):817-9.
56. Huang PQ, Luo YX, Zhang YJ, Li ZX, Wen Y, Zhang K, et al. Terpenoid Glucosides from That Attenuate TNF- $\alpha$  Induced Pulmonary Inflammation in A549 Cells. *Molecules*. 2023;28(18).
57. Yang AM, Han H, Li J, Wu R. Triterpenoids from. *Chemistry of Natural Compounds*. 2015;51(2):381-2.
58. Yang AM, Li H, Liu JL, Han H, Sun J. Chemical constituents of *Gentiana algida*. *Chemistry of Natural Compounds*. 2013;49:755-6.
59. Wu Q-Y, Wong ZC-F, Wang C, Fung AH-Y, Wong EO-Y, Chan GK-L, et al. Isoorientin derived from *Gentiana veitchiorum* Hemsl. flowers inhibits melanogenesis by down-regulating MITF-induced tyrosinase expression. *Phytomedicine*. 2019;57:129-36.

60. Olennikov D, Chirikova N. New compounds from Siberian *Gentiana* species. II. Xanthone and C, O-glycosylflavone. *Chemistry of Natural Compounds*. 2021;57(4):681-4.
61. Dou XJ, Zhou ZQ, Ren RM, Xu MJ. Apigenin, flavonoid component isolated from flower suppresses the oxidative stress through LDLR-LCAT signaling pathway. *Biomed Pharmacother*. 2020;128.
62. Huang P-Q, Kang K-W, Huang D-Y, Zhao C-L, Zheng H, Luo Y-X, et al. Lignan glucosides from *Gentiana macrophylla* with potential anti-arthritis and hepatoprotective activities. *Phytochemistry*. 2024;217:113920.
63. Li W, Kim JH, Zhou W, Shim SH, Ma JY, Kim YH. Soluble epoxide hydrolase inhibitory activity of phenolic components from the rhizomes and roots of *Gentiana scabra*. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 2015;79(6):907-11.
64. Ren SY, Deng KJ, Qiu S, Wang M, Avula B, Tripathi SK, et al. Identification of Antifungal Bisphosphocholines from Medicinal Species. *Journal of Natural Products*. 2020;83(10):3207-11.
65. Tan RX, Hu J, Kong LD, Wolfender JL, Hostettmann K. Two new secoiridoid glycosides from *Gentiana algida*. *Planta Med*. 1997;63(6):567-9.
66. Kaya D, Yalçın FN, Bedir E, Çalis I, Steinhauser L, Albert K, Ersöz T. New benzophenone glucosides from the aerial parts of *L. subsp (Soltok.) Hayek*. *Phytochem Lett*. 2011;4(4):459-61.
67. Baytop T. Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi Geçmişte ve Bugün. (2bs) İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri. 1999.
68. Suci M, Ardelean A. hepatoprotective and microbiological studies of three genera: *Equisetum*, *Lycopodium*, and *Gentiana*. *Analele Universitatii din Oradea, Fascicula Biologie*. 2012;19(2).
69. Khan A-u, Mustafa MR, Khan AU, Murugan DD. Hypotensive effect of *Gentiana floribunda* is mediated through Ca<sup>++</sup> antagonism pathway. *BMC complementary and alternative medicine*. 2012;12:1-9.
70. Baragatti B, Calderone V, Testai L, Martinotti E, Chericoni S, Morelli I. Vasodilator activity of crude methanolic extract of *Gentiana kokiana* Perr. et Song.(Gentianaceae). *Journal of ethnopharmacology*. 2002;79(3):369-72.
71. Niiho Y, Yamazaki T, Nakajima Y, Yamamoto T, Ando H, Hirai Y, et al. Gastroprotective effects of bitter principles isolated from *Gentian* root and *Swertia* herb on experimentally-induced gastric lesions in rats. *Journal of Natural Medicines*. 2006;60:82-8.
72. Yu F, Yu F, Li R, Wang R. Inhibitory effects of the *Gentiana macrophylla* (Gentianaceae) extract on rheumatoid arthritis of rats. *Journal of ethnopharmacology*. 2004;95(1):77-81.
73. Jia N, Li Y, Wu Y, Xi M, Hur G, Zhang X, et al. Comparison of the anti-inflammatory and analgesic effects of *Gentiana macrophylla* Pall. and *Gentiana straminea* Maxim., and identification of their active constituents. *Journal of ethnopharmacology*. 2012;144(3):638-45.

74. Baser K. Herb drugs and herbalists in Turkey, *Studia Culturae Islamicae*, Institute for the Study of Languages and Cultures of Asia and Africa. Tokyo University of Foreign Studies. 1986;27:32,121,221.
75. Mansoor A, Zaidi MI, Malghani M. Biological Efficacy of the Extracts and Pure Compound of *Gentiana oliveri*. *Pak J Biol Sci*. 1999;2(3):807-8.
76. Shaikh Z, Kamyab S, Deshpande M, Mulla G, Bhatt N, Moghe A. A systematic review of Unani formulations for potential in treatment of hepatocellular carcinoma. *Int J Pharm Sci & Res*. 2021;12(10):5253-63.
77. Singh S, Yadav C, Noolvi MN. Quantification of Oleanolic acid in the flower of *Gentiana olivieri* Griseb. by HPLC. *Journal of basic and clinical pharmacy*. 2012;3(2):241.
78. Mihailović V, Mihailović M, Uskoković A, Arambašić J, Mišić D, Stanković V, et al. Hepatoprotective effects of *Gentiana asclepiadea* L. extracts against carbon tetrachloride induced liver injury in rats. *Food and chemical toxicology*. 2013;52:83-90.
79. Mubashir K, Ghazanfar K, Ganai BA, Akbar S, Malik AH, Masood A. Scientific validation of *Gentiana kurroo* Royle for anti-inflammatory and immunomodulatory potential. *International Scholarly Research Notices*. 2014;2014.
80. Yang Y, Wang Z, Zhang L, Yin B, Lv L, He J, et al. Protective effect of gentiopicroside from *Gentiana macrophylla* Pall. in ethanol-induced gastric mucosal injury in mice. *Phytotherapy research*. 2018;32(2):259-66.
81. Yang B, Kim S, Kim J-H, Lim C, Kim H, Cho S. *Gentiana scabra* Bunge roots alleviates skin lesions of contact dermatitis in mice. *Journal of ethnopharmacology*. 2019;233:141-7.
82. Mihailović V, Mišić D, Matic S, Mihailović M, Stanić S, Vrvic MM, et al. Comparative phytochemical analysis of *Gentiana cruciata* L. roots and aerial parts, and their biological activities. *Industrial Crops and Products*. 2015;73:49-62.
83. Karalija E, Čavar Zeljković S, Dahija S, Bešta-Gajević R, Parić A. Phenolics of aerial parts of *Gentiana lutea* L. and their biological activity. *Agronomy*. 2021;11(7):1442.
84. Yin C, Xie L, Guo Y. Phytochemical analysis and antibacterial activity of *Gentiana macrophylla* extract against bacteria isolated from burn wound infections. *Microbial pathogenesis*. 2018;114:25-8.
85. Cheng Z, Zhang Y, Song H, Zhou H, Zhong F, Hu H, Feng Y. Extraction optimization, characterization and antioxidant activity of polysaccharide from *Gentiana scabra* bge. *International journal of biological macromolecules*. 2016;93:369-80.
86. Wang Z, Wang C, Su T, Zhang J. Antioxidant and immunological activities of polysaccharides from *Gentiana scabra* Bunge roots. *Carbohydrate polymers*. 2014;112:114-8.
87. Cai W, Xu H, Xie L, Sun J, Sun T, Wu X, Fu Q. Purification, characterization and in vitro anticoagulant activity of polysaccharides from *Gentiana scabra* Bunge roots. *Carbohydrate Polymers*. 2016;140:308-13.
88. Mihailovic V, Matic S, Mišić D, Solujic S, Stanic S, Katanic J, et al. Chemical composition, antioxidant and antigenotoxic activities of different fractions of *Gentiana asclepiadea* L. roots extract. *EXCLI journal*. 2013;12:807.

89. Zou Y-F, Fu Y-P, Chen X-F, Austarheim I, Inngjerdingen KT, Huang C, et al. Polysaccharides with immunomodulating activity from roots of *Gentiana crassicaulis*. Carbohydrate polymers. 2017;172:306-14.
90. Li W, Li LY, Zhou W, Hwang I, Ma JY, Kim YH. Triterpenoids isolated from the rhizomes and roots of *Gentiana scabra* and their inhibition of indoleamine 2, 3-dioxygenase. Archives of pharmacal research. 2015;38:2124-30.
91. Ghazanfar K, Mubashir K, Dar SA, Nazir T, Hameed I, Ganai BA, et al. *Gentiana kurroo* Royle attenuates the metabolic aberrations in diabetic rats; Swertiamarin, swertisin and lupeol being the possible bioactive principles. Journal of Complementary and Integrative Medicine. 2017;14(3).
92. Suh H-W, Lee K-B, Kim K-S, Yang HJ, Choi E-K, Shin MH, et al. A bitter herbal medicine *Gentiana scabra* root extract stimulates glucagon-like peptide-1 secretion and regulates blood glucose in db/db mouse. Journal of ethnopharmacology. 2015;172:219-26.
93. Kesavan R, Chandel S, Upadhyay S, Bendre R, Ganugula R, Potunuru U, et al. *Gentiana lutea* exerts anti-atherosclerotic effects by preventing endothelial inflammation and smooth muscle cell migration. Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases. 2016;26(4):293-301.
94. Cvetković S, Vuletić S, Vunduk J, Klaus A, Mitić-Ćulafić D, Nikolić B. The role of *Gentiana lutea* extracts in reducing UV-induced DNA damage. Mutagenesis. 2023;38(1):71-80.
95. Choi R-Y, Nam S-J, Lee H-I, Lee J, Leutou AS, Ham JR, Lee M-K. Gentiopicroside isolated from *Gentiana scabra* Bge. inhibits adipogenesis in 3T3-L1 cells and reduces body weight in diet-induced obese mice. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. 2019;29(14):1699-704.
96. Tovilovic-Kovacevic G, Krstic-Milosevic D, Vinterhalter B, Toljic M, Perovic V, Trajkovic V, et al. Xanthone-rich extract from *Gentiana dinarica* transformed roots and its active component norswertianin induce autophagy and ROS-dependent differentiation of human glioblastoma cell line. Phytomedicine. 2018;47:151-60.
97. Wang C, Wang Y, Zhang J, Wang Z. Optimization for the extraction of polysaccharides from *Gentiana scabra* Bunge and their antioxidant in vitro and anti-tumor activity in vivo. Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers. 2014;45(4):1126-32.
98. Kaska A, Seçme M. The antioxidant potential, phenolic compounds, cytotoxic activity and mineral element analysis of *Gentiana septemfida* Pallas and its antiproliferative effect on HT-29 cell line. European Journal of Integrative Medicine. 2023;59:102240.
99. Azadbakht M, Nayebi E, Fard RE, Khaleghi F. Standardization and formulation of an herbal appetite-stimulating drug from *Gentiana olivieri*. Journal of herbal medicine. 2020;19:100306.
100. Mansoor A, Samad A, Zaidi M, Aftab K. Hypotensive Effect of *Gentiana olivieri* and its alkaloid Gentianine in Rats. Pharmacy and Pharmacology Communications. 1998;4(4):229-30.
101. Van Meerloo J, Kaspers GJ, Cloos J. Cell sensitivity assays: the MTT assay. Cancer cell culture: methods and protocols. 2011:237-45.



102. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of immunological methods*. 1983;65(1-2):55-63.
103. Akdoğan M, Yöntem M. Sitokinler. *Online Türk Sağlık Bilimleri Dergisi*. 2018;3(1):36-45.
104. Jensen SR, Schripsema J. *Chemotaxonomy and pharmacology of Gentianaceae. Gentianaceae-systematics and natural history*: Cambridge University Press; 2002. p. 573-631.
105. Hostettmann K, Wagner H. *Xanthone glycosides*. 1977.
106. M. Waris, E. Kocak, E.M. Gonulalan, L.O. Demirezer, S. Kir, E. Nemitlu, *Metabolomics analysis insight into medicinal plant science, Trac-Trend Anal Chem* 157 (2022).

## 8. EKLER

### EK-1: Tez Çalışması Orjinallik Raporu

#### TEZ YL


##### ORJİNALLİK RAPORU

% <b>9</b>	% <b>9</b>	% <b>2</b>	%
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

##### BİRİNCİL KAYNAKLAR

<b>1</b>	<a href="http://acikbilim.yok.gov.tr">acikbilim.yok.gov.tr</a> İnternet Kaynağı	% <b>5</b>
<b>2</b>	<a href="http://www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080">www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080</a> İnternet Kaynağı	% <b>2</b>
<b>3</b>	<a href="http://openaccess.hacettepe.edu.tr">openaccess.hacettepe.edu.tr</a> İnternet Kaynağı	% <b>1</b>
<b>4</b>	<a href="http://nek.istanbul.edu.tr:4444">nek.istanbul.edu.tr:4444</a> İnternet Kaynağı	<% <b>1</b>
<b>5</b>	<a href="http://vdoc.pub">vdoc.pub</a> İnternet Kaynağı	<% <b>1</b>
<b>6</b>	<a href="http://www.scribd.com">www.scribd.com</a> İnternet Kaynağı	<% <b>1</b>
<b>7</b>	<a href="http://www.tdx.cat">www.tdx.cat</a> İnternet Kaynağı	<% <b>1</b>

## EK-2: Dijital Makbuz



### Digital Receipt

This receipt acknowledges that **Turnitin** received your paper. Below you will find the receipt information regarding your submission.

The first page of your submissions is displayed below.

Submission author:	Sevda karabeyeser
Assignment title:	tez
Submission title:	TEZ YL
File name:	Sevda_KARABEYESER_YL_TEZ_FY-SK.docx
File size:	9.89M
Page count:	127
Word count:	17,518
Character count:	115,078
Submission date:	13-Jun-2024 10:13AM (UTC+0300)
Submission ID:	2401631407

TC  
BACETTPE DAVRANISIM  
SAGLIK BILIMLERI ENSTITUSU

GENEL ANAOKULU VE OKUL ÖĞRETİM ENSTİTUSU

Doç. Dr. Sevdâ KARABEYESER

Yükseköğretim Programı  
YÖK AKADEMIK TEST

AKADEMİK  
2024

Copyright 2024 Turnitin. All rights reserved.

## 9. ÖZGEÇMİŞ