TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TÜRKİYE'DE YETİŞEN BAZI SCORZONERA L. TÜRLERİ ÜZERİNDE FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR

Özlem BAHADIR

FARMAKOGNOZİ ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Gülçin SALTAN ÇİTOĞLU

2009- ANKARA

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

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

Tez Savunma Tarihi: 13/07/2009

Prof. Dr. Gülçin SALTAN ÇİTOĞLU
Ankara Üniversitesi
Jüri Başkanı

Prof. Dr. Maksut ÇOŞKUN
Ankara Üniversitesi

Prof. Dr. Ömür DEMİREZER
Hacettepe Üniversitesi

Prof. Dr. Belma KONUKLUGİL
Ankara Üniversitesi

Doç. Dr. Murat KARTAL
Ankara Üniversitesi

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	ii
İçindekiler	iii
Önsöz	viii
Simgeler ve Kısaltmalar	x
Çizelgeler	xii
Şekiller	xiv
1.GİRİŞ	**1**
1.1. Ağrı	4
1.1.1. Ağrı Teorileri	7
1.1.2. Ağrı İletimi	9
1.1.2.1.Periferik Mekanizmalar	10
1.1.2.1.1. Nosiseptörler	10
1.1.2.1.2. Visseral Ağrı İletimi	12
1.1.2.2. Omurilik Dorsal Boynuz Nöronal Sistemi	13
1.1.2.2.1. Arka Boynuzun Anatomi ve Fizyolojisi	13
1.1.2.2.2. Kapı Kontrol Teorisi	15
1.1.2.3. Çıkan (Ascending) Ağrı İletim Sistemi	16
1.1.2.4. İnen (Descending) Supraspinal Kontrol	18
1.1.2.5. Serebral Korteks	19
1.1.3. Santral Nörofizyolojik Ağrı Mekanizmaları	19
1.1.4. Ağrının Sınıflandırılması	21
1.1.4.1 Fizyolojik-Klinik Ağrı	21
1.1.4.2. Süreye Bağlı Ağrı	21
1.1.4.2.1 Akut Ağrı	21
1.1.4.2.2. Kronik Ağrı	22
1.1.4.3. Kaynaklandığı Bölgeye Göre Ağrı	22
1.1.4.3.1. Somatik Ağrı	22
1.1.4.3.2. Visseral Ağrı	22

1.1.4.3.3. Sempatik Ağrı 23
1.1.4.4. Mekanizmasına Göre Ağrı Sınıflandırması 23
1.1.4.4.1. Nosiseptif Ağrı 23
1.1.4.4.2. Nöropatik Ağrı 24
1.1.4.4.3. Deaferantasyon Ağrısı 25
1.1.4.4.4. Reaktif Ağrı 25
1.1.4.4.5. Psikosomatik Ağrı (Psikojenik Ağrı) 25
1.1.4.5. Ağrı Tedavisi 26
1.1.4.5.1. Ağrı Kesici İlaçlar 26
1.1.4.5.2. Ağrı Kesicilerin Sınıflandırılması 27
1.1.4.5.2.1. Periferik Etkili Analjezikler 27
1.1.4.5.2.2. Santral Etkili Analjezikler 29
1.1.4.5.2.3. Sekonder (İkincil) Analjezikler 30
1.1.4.5.2.4. Ağrı Tedavisinde Kullanılan Fitofarmasötikler 31
1.1.4.6. Deneysel Ağrı Araştırmalarında Kullanılan Hayvan Modelleri 31
1.1.4.6.1. Uyarı ve Yanıt 33
1.1.4.6.1.1. Elektriksel Uyarı 34
1.1.4.6.1.2. Termal Uyarı 35
1.1.4.6.1.3. Mekanik Uyarı 36
1.1.4.6.1.4. Kimyasal Uyarı 37
1.1.4.6.2. Nosisepsiyon Davranış Modelleri 39
1.1.4.6.3. Deneysel Ağrı Modelleri 39
1.1.4.6.3.1. Kısa Süreli Uyarı Kullanılan Testler 40
1.1.4.6.3.1.1. Termal Uyarıcının Kullanımına Dayanan Testler 40
1.1.4.6.3.1.1.1. Kuyruk Kaldırma (Tail-Flick) Testi 41
1.1.4.6.3.1.1.1.1. Radyan Isı Kullanılan Kuyruk Kaldırma Testi 41
1.1.4.6.3.1.1.1.2. Kuyruk Daldırma (Tail- Immersiyon) Testi 43
1.1.4.6.3.1.1.2. Pençe Geri Çekme Testi 43
1.1.4.6.3.1.1.3. Sıcak Tabaka (Hot Plate) Testi 44
1.1.4.6.3.1.1.4. Soğuk Uyarıcı Kullanılan Testler 45
1.1.4.6.3.1.2. Mekanik Uyarıcıların Kullanımına Dayalı Testler 45
1.1.4.6.3.1.2.1. Pençe Çekme Testi (Paw withdrawal/ Paw pressure test) 45

1.1.4.6.3.1.2.2. Kuyruk Sıkıştırma Testi (Tail Pinch/Tail Clip Test) 46
1.1.4.6.3.1.3. Elektriksel Uyarıcıların Kullanımına Dayalı Testler 46
1.1.4.6.3.1.3.1. Uzun Süreli Elektriksel Uyarı 46
1.1.4.6.3.1.3.2. Tek Bir Şok veya Kısa Süreli Elektriksel Uyarının Kullanımı 47
1.1.4.6.3.1.3.2.1. Kuyruğun Uyarılması 47
1.1.4.6.3.1.3.2.2. Diş pulpasının Uyarılması 47
1.1.4.6.3.1.3.2.2. Uzuvların Uyarılması 48
1.1.4.6.3.2. Uzun Süreli Uyarı Kullanılan Testler 48
1.1.4.6.3.2.1. Ağrı Yapıcı Ajanların Alımını İçeren Testler 49
1.1.4.6.3.2.1.1. İntradermal Enjeksiyon 49
1.1.4.6.3.2.1.2. İrritan Ajanın İntraperitoneal Enjeksiyonu“Kıvranma Testi” 50
1.1.4.6.2.2.2. İç Organların Stimülasyonu 52
1.2. Türkiye’de Halk Arasında Ağrı Kesici Olarak Kullanılan Bitkiler 56
1.3. *Scorzonera* Türlerinin Botanik Özellikleri 64
1.3.1. Bitkinin Sistematikteki Yeri 64
1.3.2. Asteraceae Familyasının Özellikleri 64
1.3.3. *Scorzonera* Cins Özellikleri 65
1.3.4. *Scorzonera* L. Cinsinin Tayin Anahtarı 70
1.4. *Scorzonera* Türleri Üzerinde Yapılan Kimyasal Çalışmalar 74
1.4.1. Terpenik Bileşikler 74
1.4.1.1. Triterpenler 74
1.4.1.2. Seskiterpenler 77
1.4.1.3. Steroller 80
1.4.2. Flavonoitler 81
1.4.3. Kumarinler 84
1.4.4. Lignanlar 86
1.4.5. Bibenzil Türevleri 90
1.4.6. Uçucu Bileşikler 92
1.4.7. Diğer Bileşikler 92
1.5. *Scorzonera* Türleri Üzerinde Yapılan Aktivite Çalışmaları 101

2. GEREÇ VE YÖNTEM **103**
2.1. Gereç 103
2.1.1. Bitkisel Gereç 103
2.1.2. Deney Hayvanları 108
2.2. Yöntem 110
2.2.1. Fitokimyasal Çalışmalar 110
2.2.1.1.Ekstraksiyon 110
2.2.1.1.1.Metanol-Su Ekstresinin Hazırlanışı 110
2.2.1.1.2.Metanol Ekstresinin Hazırlanışı 110
2.2.1.1.2.1. Metanol Ekstresinin Fraksiyonlandırılması 111
2.2.1.2. Kromatografik Yöntemler 113
2.2.1.2.1.İnce Tabaka Kromatografisi 113
2.2.1.2.2.Kolon Kromatografisi 114
2.2.1.2.2.1. Kolonun Hazırlanması 114
2.2.1.2.2.2. Ekstrenin Kolona Uygulanması 114
2.2.1.2.2.3. Hekzanlı Ekstrenin Fraksiyonlandırılması 115
2.2.1.2.3.Preparatif İnce Tabaka Kromatografisi 116
2.2.1.3. İzole Edilen Bileşiklerin Yapı Tayini 117
2.2.1.3.1. NMR Spektrometrisi 117
2.2.1.3.2.Kütle Spektrometrisi (MS) 117
2.2.1.3.2.1. APCI-HR MS 117
2.2.1.3.2.2. GC-MS 118
2.2.1.3.3. Erime Noktası Tayini 119
2.2.1.3.4. $[\alpha]_D$ Optik Çevirme Değerlerinin Ölçümü 119
2.2.2. Analjezik (Antinosiseptif aktivite) Ativite Tayin Yöntemleri 120
2.2.2.1. Asetik Asitle İndüklenen Kıvranma Testi 120
2.2.2.2. Kuyruk Kaldırma Testi 122
2.2.2.3. İstatistiksel Analiz 123

3. BULGULAR **124**
3.1. Fitokimyasal Çalışmalar 124
3.1.1.Ön Tarama Çalışmaları ile ilgili Bulgular 124
3.1.1.1. Metanol-Su Ekstresi Bulguları 124
3.1.1.2. Metanol Ekstresi Bulguları 124
3.1.1.3. Metanol Ekstresinin Fraksiyonlandırılması 124
3.1.2. Kromatografik Bulgular 126
3.1.2.1. İTK Bulguları 126
3.1.2.2. Kolon Kromatografisi Bulguları 129
3.1.3. Yapı Tayini Bulguları 137
3.1.3.1. SL-1 Bileşiğinin Yapı Tayini 137
3.1.3.2. SL-2 Bileşiğinin Yapı Tayini 152
3.1.3.3. SL-3 Bileşiğinin Yapı Tayini 166
3.1.3.4. SL-4 Bileşiğinin Yapı Tayini 180
3.1.3.5. SL-5 Bileşiğinin Yapı Tayini 194
3.2. Analjezik (Antinosiseptif aktivite) Ativite Bulguları 208
3.2.1. Asetik Asitle İndüklenen Kıvranma Testi Bulguları 208
3.2.2. Kuyruk Kaldırma (Tail-Flick) Testi Bulguları 216

4. TARTIŞMA **228**
5. SONUÇ VE ÖNERİLER **233**
ÖZET **235**
SUMMARY **237**
KAYNAKLAR **239**
ÖZGEÇMİŞ **246**

ÖNSÖZ

Türkiye, Asya ve Avrupa Kıtalarının birleştiği, çevresi denizlerle kaplı bir yarımada olması nedeniyle üç ayrı fitocoğrafik bölgeyi içeren zengin bitki örtüsüne sahip bir ülkedir. Tarihe bakıldığında bu zengin floraya sahip ülkede yaşayan halkın eski tarihlerden beri gıda ve tedavi amacıyla bu bitkilerden yararlandıklarını görmekteyiz.

Farmakognozinin esas çalışma alanı olarak düşünülen halk tıbbında kullanılan bitkilerin araştırılması son yıllarda fitokimyasal çalışmalara oranla giderek ilginin arttığı bir alan haline gelmiştir.

Tez konusu olarak seçtiğimiz *Scorzonera latifolia* bitkisi hem gıda olarak hem de tıbbi amaçlarla halk arasında kullanıma sahip bir cinsin üyesidir. *Scorzonera* cinsi Avrupa'da yaygın olarak yetişen, sebze olarak tüketilen, kültürü yapılan ve bunun yanında stomaşik, mukolitik, diüretik, antipiretik, yara iyi edici gibi çeşitli amaçlarla kullanımı olan bir cinstir. Çin ve Moğolistan gibi Asya ülkelerinde de özellikle halk arasında antipiretik ve antienflamatuar kullanımı ile dikkat çeken türler yetişmektedir. Yaptığımız bu tez çalışması ile özellikle Doğu Anadolu'da çeşitli amaçların yanısıra analjezik etkisi nedeniyle kullanımı göze çarpan *S. latifolia*'nın bu etkisinin bilimsel olarak araştırılması ve bu etkiyi hangi bileşik veya bileşiklerin gösterdiğinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Dünya'da yetişen diğer türlerin çeşitli kullanımlarının yanında analjezik etki nedeniyle kullanıma ilk olarak Türk halk hekimliğinde rastlanmıştır. *S. latifolia*'nın köklerinden elde edilen lateksden hazırlanan yakı sakızı analjezik olarak haricen kullanılmaktadır. Ayrıca yakı sakızının hazırlanmasında *S. latifolia*'ya yakın türlerin lateksinden de yararlanılmaktadır. Halk arasındaki kullanıma dayanarak yürüttüğümüz bu tez çalışması bu konuda yapılan ilk çalışma niteliğini taşımaktadır. *S. latifolia* üzerinde daha önce yapılmış herhangi bir fitokimyasal çalışmaya ve aktivite çalışmasına rastlanmamıştır. Bulduğumuz sonuçlar bitkinin kullanımını desteklemektedir ve bu sonuçlar bize Farmakognozik araştırmalarda bitkilerin halk arasındaki kullanımlarından yola çıkmanın ya da bir başka deyişle halk tıbbında kullanılan

bitkilerin özellikle araştırma konusu olarak seçilmelerinin ne denli önem taşıdığını vurgulamaktadır.

Tez çalışmalarımın her aşamasında bilgi ve tecrübelerini, maddi ve manevi anlamda tüm desteğini benden hiçbir zaman esirgemeyen, her türlü imkanı sunan, her zaman ve her koşulda desteğini hissettiren çok değerli hocam Prof. Dr. Gülçin Saltan Çitoğlu'na öncelikle sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Doktora tez çalışmama birlikte başladığım ancak emekliliği nedeniyle danışmanlığımdan ayrılmış olan hocam Prof. Dr. Nazire Özkal'a vermiş olduğu tüm destek ve emek için, fikirlerini hiçbir zaman benden esirgemediği ve manevi desteğini her zaman hissettirdiği için hocam Doç Dr. Alev Tosun'a ve tüm Farmakognozi Anabilim Dalı öğretim üyelerine ve araştırma görevlisi arkadaşlarıma verdikleri destek ve anlayış için teşekkürü bir borç bilirim. Bunlarla birlikte tez çalışmam sırasında özellikle İTK kromatogramlarımın fotoğraflarının çekilmesinde yararlandığım fakültemiz merkez laboratuarının olanaklarından yararlanma imkanı bulduğum Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dekanlığı'na da ayrıca teşekkürlerimi sunarım.

Analjezik aktivite çalışmalarımı birlikte yürüttüğümüz, çalışkanlığı ve dürüstlüğü ile her zaman kendime örnek aldığım sayın hocam Yrd. Doç. Dr. Hanefi Özbek'e sunduğu tüm imkanlar ve yardımları için; Tez bitkimin toplanmasında bana yol gösteren sayın Prof. Dr. Hayri Duman'a ve Doç. Dr. Gencay Akgül'e; NMR analizlerim için Prof. Dr. Hakan Göker'e ayrıca çalışmalarımın bir kısmını gerçekleştirdiğim Çek Cumhuriyeti, Brno Veterinerlik ve Eczacılık Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Dekanı Prof. Milan Zemlicka'ya sunmuş olduğu tüm imkanlar için, yine aynı üniversitede araştırma görevlisi olarak çalışan Dr. Karel Smejkal'a yardımları için ve maddelerimin yapılarının aydınlatılmasında emeği olan İtalya Padua Üniveristesi'nde çalışan Dr. Stefano D'll Acqua'ya teşekkürlerimi sunarım.

En önemlisi, beni bu günlere getiren, emeklerini hiçbir zaman ödeyemeceğim anne ve babama hayatımın her aşamasında gösterdikleri maddi ve manevi tüm destekleri, sabır ve anlayışları için sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

SİMGELER VE KISALTMALAR

α	: Alfa
AEF	: Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu
APCI	: Atmospheric Pressure Chemical Ionization
ASTM	: American Society for Testing and Materials
BAYF	: Biyolojik Aktiviteyle Yönlendirilmiş Fraksiyonlandırma
β	: Beta
CGRP	: Calcitonine Gene-Related Peptid
COSY	: Correlation Spectroscopy
COX	: Cyclooxygenase
DEPT	: Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
δ	: Delta
DMSO	: Dimetilsülfoksit
DPPH	: 2,2-Difenil-1,2-Pikril hidrazil
ED_{50}	: % 50 Effective Dose (% 50'sine Etkili Doz)
EIMS	: Electron Impact Mass Spectrometry
GABA	: Gama Amino Butirik Asit
GC	: Gas Chromatography
HCl	: Hidroklorik Asit
HIV	: Human Immunodeficieny Virus
HMBC	: Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HMQC	: Heteronuclear Multiple Quantum Chorence
H_2O	: Su
HPLC	: High Performance Liquid Chromatography
HR MS	: High Resolution Mass Spectrometry
H_2SO_4	: Sülfirik Asit
IAPS	: International Association for the Study of Pain
IR	: İnfrared
İTK	: İnce Tabaka Kromatografisi
LTQ	: Linear Trap Quadrupole
mg	: Miligram

MPLC	: Medium Pressure Liquid Chromatography
MS	: Mass Spectrometry
NMR	: Nuclear Magnetic Resonance
NOESY	: Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy
NS	: Nosiseptif spesifik
ppm	: Part per million
R_f	: Retention factor
RP-18	: Reverse Phase-18
Si gel 60	: Silikajel 60
TOCSY	: Total Correlation Spectroscopy
UV	: Ultraviyole
VPL	: Ventral Posterolateral
WDR	: Wide Dynamic Range

ÇİZELGELER

Çizelge 1.	Deneysel ağrı modelleri	54
Çizelge 2.	Türkiye'de halk arasında ağrı kesici olarak kullanılan bitkiler	56
Çizelge 3.	Türkiye'de yetişen *Scorzonera* L. türleri ve yetişme yerleri	67
Çizelge 4.	*Scorzonera* türleri üzerinde yapılan fitokimyasal çalışmalar sonucu elde edilen bileşikler	98
Çizelge 5.	*Scorzonera* türlerinin toplandığı lokaliteler	103
Çizelge 6.	*S. latifolia* metanollü ekstresinden sıvı sıvı ekstraksiyonu ile elde edilen fraksiyonların İTK analizi için kullanılan solvan sistemleri	113
Çizelge 7.	Hekzanlı ekstrenin fraksiyonlandırılmasında kullanılan çözücü oranları	115
Çizelge 8.	**24-27** ve **34-44** fraksiyonlarına uygulanan küçük kolon kromatografisinde kullanılan çözücü sistemleri ile toplanan fraksiyon hacmi ve sayısı	116
Çizelge 9.	Preparatif ince tabaka kromatografisinde kullanılan çözücü sistemleri	116
Çizelge 10.	APCI-HR MS cihazında çalışma koşulları	118
Çizelge 11.	GC-MS analiz koşulları	118
Çizelge 12.	*Scorzonera* türlerinin ekstrelerinin miktarları ve kullanılan çözücü	120
Çizelge 13.	*S. latifolia*'dan elde edilen fraksiyonların miktarları ve kullanılan çözücü	120
Çizelge 14.	*S. latifolia* hekzanlı ekstresinden elde edilen fraksiyonların miktarları ve kullanılan çözücü	121
Çizelge 15.	*S. latifolia* hekzanlı ekstresinden elde edilen bileşiklerin miktarları ve kullanılan çözücü	121
Çizelge 16.	*Scorzonera* türlerinden analjezik aktivite için hazırlanan metanol:su ekstrelerinin miktarları ve % verimleri	124
Çizelge 17.	*S. latifolia* n-hekzanlı ekstresinden elde edilen maddeler ve R_f değerleri	129

Çizelge 18. Kolon kromatografisinde elde edilen fraksiyonlar ve kullanılan çözücü oranları 130
Çizelge 19. SL-1 bileşiğinin ^{1}H ve ^{13}C NMR bulguları 149
Çizelge 20. SL-2 bileşiğinin ^{1}H ve ^{13}C NMR bulguları 164
Çizelge 21. SL-3 bileşiğinin ^{1}H ve ^{13}C NMR bulguları 178
Çizelge 22. SL-4 bileşiğinin ^{1}H ve ^{13}C NMR bulguları 192
Çizelge 23. SL-5 bileşiğinin ^{1}H ve ^{13}C NMR bulguları 206
Çizelge 24. *Scorzonera* türlerinin farelerde asetik asitle indüklenen kıvranma test sonuçları 208
Çizelge 25. *S. latifolia* ekstresine ait fraksiyonların asetik asitle indüklenen kıvranma test sonuçları 210
Çizelge 26. *S. latifolia* ekstresinin hekzanlı fraksiyonundan elde edilen alt fraksiyonların farelerde asetik asitle indüklenen kıvranma test sonuçları 212
Çizelge 27. *S. latifolia*'dan elde edilen bileşiklerin farelerde asetik asitle indüklenen kıvranma test sonuçları 214
Çizelge 28. *Scorzonera* türlerinin kuyruk kaldırma test sonuçları 217
Çizelge 29. *S. latifolia* ekstresine ait fraksiyonların kuyruk kaldırma test sonuçları 220
Çizelge 30. *S. latifolia* ekstresinin hekzanlı fraksiyonundan elde edilen alt fraksiyonların kuyruk kaldırma test sonuçları 223
Çizelge 31. *S. latifolia*'dan elde edilen bileşiklerin kuyruk kaldırma test sonuçları 226

ŞEKİLLER

Şekil 1.	*Scorzonera* türlerinden elde edilen triterpenler	77
Şekil 2.	*Scorzonera* türlerinden elde edilen seskiterpenler	79
Şekil 3.	*Scorzonera* türlerinden elde edilen steroller	80
Şekil 4.	*Scorzonera* türlerinden elde edilen flavonoitler	83
Şekil 5.	*Scorzonera* türlerinden elde edilen kumarinler	86
Şekil 6.	*Scorzonera* türlerinden elde edilen lignanlar	90
Şekil 7.	*Scorzonera* türlerinden elde edilen bibenzil türevi bileşikler	91
Şekil 8.	*Scorzonera* türlerinden elde edilen fenolik bileşikler	97
Şekil 9.	*Scorzonera latifolia* (Fisch&Mey) DC.	104
Şekil 10.	*Scorzonera mollis* Bieb. ssp. *szowitzii*	105
Şekil 11.	*Scorzonera suberosa* ssp. *suberosa* C. Koch	106
Şekil 12.	*Scorzonera tomentosa* L.	107
Şekil 13.	Deney hayvanlarının beslendiği kafesler	109
Şekil 14.	Deney hayvanlarının tartımının alındığı terazi	109
Şekil 15.	*Scorzonera latifolia*'nın metanollü kök ekstresinin sıvı sıvı ekstraksiyonla fraksiyonlandırma şeması	112
Şekil 16.	Deney hayvanlarına intraperitonal enjeksiyon ile ilaç uygulanması	122
Şekil 17.	Kuyruk kaldırma (Tail-flick) ölçüm cihazı	123
Şekil 18.	*Scorzonera latifolia*'nın fraksiyonlandırılması sonucu elde edilen ekstreler ve miktarları	125
Şekil 19.	*Scorzonera* türlerinin çözücü 1 sisteminde sırasıyla gün ışığında, UV 254 nm, UV 366 nm ve vanilin-H_2SO_4 ile muamele sonrası İTK kromatogramları	126
Şekil 20.	*Scorzonera* türlerinin çözücü 2 sisteminde sırasıyla gün ışığında, UV 254 nm, UV 366 nm ve vanilin-H_2SO_4 ile muamele sonrası İTK kromatogramları	127
Şekil 21.	*Scorzonera* türlerinin çözücü 3 sisteminde sırasıyla gün ışığında, UV 254 nm, UV 366 nm ve vanilin-H_2SO_4 ile muamele sonrası İTK kromatogramları	127

Şekil 22. *S. latifolia*'nın metanollü ekstresinden elde edilen fraksiyonların hekzan:etilasetat (9:1) çözücü sisteminde sırasıyla gün ışığında, UV 254 nm, UV 366 nm ve vanilin-H_2SO_4 ile muamele sonrası İTK kromatogramları 128

Şekil 23. *S. latifolia*'nın metanollü ekstresinden elde edilen fraksiyonların kloroform:metanol (9:1) sisteminde sırasıyla gün ışığında, UV 254 nm, UV 366 nm ve vanilin-H_2SO_4 ile muamele sonrası İTK kromatogramları 128

Şekil 24. *S. latifolia*'nın metanollü ekstresinden elde edilen fraksiyonların etilasetat:metanol:su (100:13,5:10) sisteminde sırasıyla gün ışığında, UV 254 nm, UV 366 nm ve vanilin-H_2SO_4 ile ısıtma sonrası İTK kromatogramları 128

Şekil 25. *S. latifolia*'nın n-hekzanlı ekstresinden elde edilen maddelere ait İTK kromatogramı 129

Şekil 26. *S. latifolia* köklerinden hazırlanan metanollü ekstreden elde edilen bileşikler 131

Şekil 27. Hekzanlı fraksiyondan kolon kromatografisi ile elde edilen fraksiyonlar ve izole edilen maddeler 132

Şekil 28. n-Hekzanlı ekstrenin 24-27. fraksiyonundan elde edilen bileşikler 135

Şekil 29. SL-1 bileşiğinin izolasyon şeması 137

Şekil 30. SL-1 bileşiğinin HR-MS spektrumu 138

Şekil 31. SL-1 bileşiğinin EI-MS spektrumu 139

Şekil 32. SL-1 bileşiğinin ^{1}H-NMR spektrumu 140

Şekil 33. SL-1 bileşiğinin ^{13}C-NMR spektrumu 141

Şekil 34. SL-1 bileşiğinin DEPT spektrumu 142

Şekil 35. SL-1 bileşiğinin HMQC spektrumu 143

Şekil 36. SL-1 bileşiğinin HMBC spektrumu 144

Şekil 37. SL-1 bileşiğinin NOESY spektrumu 145

Şekil 38. SL-1 bileşiğinin COSY spektrumu 146

Şekil 39. SL-1 bileşiğinin TOCSY spektrumu 147

Şekil 40. SL-2 bileşiğinin izolasyon şeması 152

Şekil 41. SL-2 bileşiğinin HR MS spektrumu 153

Şekil 42. SL-2 bileşiğinin GC MS spektrumu 154
Şekil 43. SL-2 bileşiğinin ^{1}H-NMR spektrumu 155
Şekil 44. SL-2 bileşiğinin ^{13}C-NMR spektrumu 156
Şekil 45. SL-2 bileşiğinin DEPT spektrumu 157
Şekil 46. SL-2 bileşiğinin HMQC spektrumu 158
Şekil 47. SL-2 bileşiğinin HMBC spektrumu 159
Şekil 48. SL-2 bileşiğinin NOESY spektrumu 160
Şekil 49. SL-2 bileşiğinin COSY spektrumu 161
Şekil 50. SL-2 bileşiğinin TOCSY spektrumu 162
Şekil 51. SL-3 bileşiğinin izolasyon şeması 166
Şekil 52. SL-3 bileşiğinin HR-MS spektrumu 167
Şekil 53. SL-3 bileşiğinin GC-MS spektrumu 168
Şekil 54. SL-3 bileşiğinin ^{1}H NMR spektrumu 169
Şekil 55. SL-3 bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu 170
Şekil 56. SL-3 bileşiğinin DEPT spektrumu 171
Şekil 57. SL-3 bileşiğinin HMQC spektrumu 172
Şekil 58. SL-3 bileşiğinin HMBC spektrumu 173
Şekil 59. SL-3 bileşiğinin NOESY spektrumu 174
Şekil 60. SL-3 bileşiğinin COSY spektrumu 175
Şekil 61. SL-3 bileşiğinin TOCSY spektrumu 176
Şekil 62. SL-4 bileşiğinin izolasyon şeması 180
Şekil 63. SL-4 bileşiğinin HR MS spektrumu 181
Şekil 64. SL-4 bileşiğinin GC MS spektrumu 182
Şekil 65. SL-4 bileşiğinin ^{1}H-NMR spektrumu 183
Şekil 66. SL-4 bileşiğinin ^{13}C- NMR spektrumu 184
Şekil 67. SL-4 bileşiğinin DEPT spektrumu 185
Şekil 68. SL-4 bileşiğinin HMQC spektrumu 186
Şekil 69. SL-4 bileşiğinin HMBC spektrumu 187
Şekil 70. SL-4 bileşiğinin NOESY spektrumu 188
Şekil 71. SL-4 bileşiğinin COSY spektrumu 189
Şekil 72. SL-4 bileşiğinin TOCSY spektrumu 190
Şekil 73. SL-5 bileşiğinin izolasyon şeması 194

Şekil 74.	SL-5 bileşiğinin HR-MS spektrumu	195
Şekil 75.	SL-5 bileşiğinin GC-MS spektrumu	196
Şekil 76.	SL-5 bileşiğinin ^{1}H-NMR spektrumu	197
Şekil 77.	SL-5 bileşiğinin ^{13}C-NMR spektrumu	198
Şekil 78.	SL-5 bileşiğinin DEPT spektrumu	199
Şekil 79.	SL-5 bileşiğinin HMQC spektrumu	200
Şekil 80.	SL-5 bileşiğinin HMBC spektrumu	201
Şekil 81.	SL-5 bileşiğinin NOESY spektrumu	202
Şekil 82.	SL-5 bileşiğinin COSY spektrumu	203
Şekil 83.	SL-5 bileşiğinin TOCSY spektrumu	204
Şekil 84.	*Scorzonera* türlerinin farelerde asetik asitle indüklenen kıvranma test sonuçları	209
Şekil 85.	*S. latifolia* ekstresine ait fraksiyonların asetik asitle indüklenen kıvranma test sonuçları	211
Şekil 86.	*S. latifolia* ekstresinin hekzanlı fraksiyonundan elde edilen alt fraksiyonların asetik asitle indüklenen kıvranma test sonuçları	213
Şekil 87.	*S. latifolia*'dan elde edilen bileşiklerin farelerde asetik asitle indüklenen kıvranma test sonuçları	215
Şekil 88.	*Scorzonera* türlerinin kuyruk kaldırma test sonuçları	218
Şekil 89.	*S. latifolia* ekstresine ait fraksiyonların kuyruk kaldırma test sonuçları	221
Şekil 90.	*S. latifolia* ekstresinin hekzanlı fraksiyonundan elde edilen alt fraksiyonların kuyruk kaldırma test sonuçları	224
Şekil 91.	*S. latifolia*'dan elde edilen bileşiklerin kuyruk kaldırma test sonuçları	227

1.GİRİŞ

Asteraceae familyasına ait olan *Scorzonera* L. cinsi, esas olarak Akdeniz Bölgesi kökenli olup, Orta Avrupa'dan Orta Asya'ya kadar yayılış göstermektedir. İsmini İspanyolca siyah kabuk anlamına gelen "escorza nera" sözcüklerinden alan cins Dünya'da 175'den fazla tür ile temsil edilmektedir. Avrupa'da Rusya'nın kuzeyinden İspanya ve Yunanistan'a kadar uzayan bölgede 28, çok sayıda tür ile temsil edildiği bir diğer ülke olan Çin'de 32 türü yetişmektedir. Ülkemizde ise *Scorzonera* cinsine ait floraya kayıtlı 39 tür bulunmaktadır ve bu sayı yeni bulunan türlerle birlikte 49'a çıkmıştır.

Scorzonera hispanica Avrupa'da en yaygın olarak yetişen türdür ve İngilizce Black salsify olarak adlandırılmaktadır. Bitkinin kullanılan kısmı bitkiye adını veren siyah kabuklu, havuç şeklindeki kökleridir. Eski Romalılar ve Yunanlılar tarafından yiyecek olarak tüketilen tür 1500'li yıllardan itibaren kültüre alınmış ve süs bitkisi olarak, tıbbi amaçla ve sebze olarak kullanılmıştır. Orta Çağ'da ise güçlü tonik etkili ve yılan ısırıklarını tedavi edici amaçlarla kullanılmış ve hatta bu kullanımı nedeniyle *yılan otu* adını da almıştır. Günümüzde özellikle Belçika, Fransa ve Hollanda'da sebze olarak kullanılmak üzere kültürü yapılmaktadır. *S. hispanica* pişirilip sebze olarak tüketilmesinin yanısıra halk arasında tedavi amacıyla soğuk algınlığı da dahil olmak üzere çeşitli akciğer hastalıklarında tedavi edici amaçla, iştah açıcı, mukolitik, stomaşik, diüretik ve antipiretik olarak kullanılmaktadır. Ayrıca kahveye de katılmaktadır (Hınts, 1994; Zidorn ve ark., 2000a; Douglas, 2001; Stephens, 2005; Wang ve ark., 2009). Avrupa'da yetişen ve sebze olarak tüketilen bir diğer tür ise *S. humilis* L.'dir. Bitki Avrupa'dan Portekiz ve Rusya'ya kadar yayılan bir alanda yetişmektedir. Orta Avrupa'da kısıtlı bir yetişme alanına sahiptir ve bu nedenle nesli tükenme tehlikesi olan bitkilerden olduğu düşünülmektedir. Bitki ayrıca halk arasında tıbbi amaçla yara iyileştirici olarak ve gastrointestinal düzensizliklerde kullanılmaktadır (Zidorn ve ark., 2000b). Yunanistan ve Güney Ege Bölgesine özgü bir tür olan *S. cretica* Willd. ise geleneksel Yunan mutfağında iştah açıcı olarak et yemekleriyle birlikte kullanılmaktadır ve bu tür Türkiye Florası'nda da yer

almaktadır (Paraschos ve ark., 2001). Moğolistan'da yetişen *S. pseudodivaricata* Turcz ve *S. divaricata* Lipsch türleri de halk arasında tıbbi amaçla kullanılmaktadır. *S. divaricata* kök ve toprak üstü kısmı, antipiretik ve antidot olarak ülserde ve kötü huylu mide tümörlerinde; *S. pseudodivaricata* ise diyare, parazitik hastalıklar, akciğer ödemi, bakteriyel ve viral enfeksiyon kaynaklı ateşli durumlarda ve diüretik olarak kullanılmaktadır (Tsevegsuren ve ark., 2007). Çin'de yetişen *S. mongolica* Maxim. ve *S. austriaca* Willd. türleri ise ateş, çıban ve meme iltihabı tedavisinde kullanılmaktadır.

Türkiye'de de *Scorzonera* türleri çoğunlukla sebze olarak tüketilmektedir. Anadolu'da yetişen bazı türlerin kök ve taze sürgünleri *yemlik* adıyla taze veya pişmiş halde tüketilmektedir. Yemlik gıda olarak kullanımının yanı sıra, halk arasında damar sertliği, yüksek tansiyon, romatizma, böbrek hastalıkları ve şeker hastalığında kullanılmaktadır. Bu amaçla bitki tazeyken toplanmaktadır, yaşlı ve çiçeklenmiş bitki kullanılmamaktadır. Avrupa'da yaygın olarak yetişen *S. hispanica* türü Türkiye'de doğal olarak yetişmemektedir buna karşın Osmanlı İmparatorluğu zamanında İstanbul ve çevresinde kültürünün yapıldığı ve halk arasında *kara iskorçina* adıyla yılan sokmalarına karşı kullanıldığı belirtilmiştir. *S. hispanica* dışında ülkemizde sebze olarak tüketilen diğer türler yetiştikleri bölgeye göre farklı isimler almaktadır. Bu türlerden *Scorzonera cana* (C.A. Mey.) Hoffm. *karakök* veya *teke sakalı* olarak isimlendirilmekte, yaprakları salata olarak kullanılmaktadır. *Scorzonera latifolia* (Fisch. and Mey.) DC. ise *geniş yapraklı karakök* veya *mesdek* olarak bilinmekte, yaprakları ve kökleri salatalarda kullanılmaktadır. *Scorzonera mollis* Bieb. ise Gümüşhane bölgesinde *goftigoda* ismiyle tanınmakta ve kökleri yenmektedir. *Scorzonera suberosa* C. Koch. türünün de yumru şeklindeki kökleri yenmekte ve *yabani havuç* olarak isimlendirilmektedir. (Baytop, 1999; Turan ve ark., 2003). Sebze olarak kullanımının haricinde halk arasında kullanımıyla dikkat çeken *Scorzonera* cinsinin en önemli türü *Scorzonera latifolia*'dır. *S. latifolia* ve buna benzer başka türlerin köklerinden elde edilen lateks kurutularak bir sakız hazırlanmaktadır. Başlangıçta beyaz renkli olan bu lateks güneşte kurutulduğunda önce kahverengi daha sonra siyah renk almakta, yumuşakken kalıplara dökülerek şekillendirilmekte ve ipe dizilmektedir. Ticari olarak hazırlanan sakız, daire şeklinde

ve ortası deliktir. Bu şekilde hazırlanan ve kullanılan sakıza *beniş*, *çingene sakızı*, *kandil sakızı*, *karasakız*, *merkosakızı*, *selsepet sakızı*, *yerleme sakızı* gibi değişik isimler verilmektedir. Haricen yakı halinde ağrı dindirici olarak ve kısırlığa karşı kullanılmaktadır. Yakı hazırlamak için 100 g lateks, 10 g çekem (*Viscum album*) ile dövülerek bir beze sürülmekte ve bu bez de ağrıyan yere ve kısırlık için de kadınların karnına tatbik edilerek, cilt üzerinde bir hafta bırakılmaktadır. Yakı sakızının dahilen kullanımı da mevcut olup kurt düşürücü olarak kullanılmaktadır (Baytop, 1999; Douglas, 2001; Turan ve ark., 2003; Zidorn ve ark., 2003).

Dünya'da ve Türkiye'de halk arasında gerek sebze olarak gerekse tıbbi amaçla kullanılan *Scorzonera* türleri üzerinde yapılan çalışmalar incelendiğinde özellikle 49 türün yetiştiği ülkemizde detaylı bir çalışma olmadığı görülmektedir. Bu çalışmada ilk olarak halk arasında en çok kullanıma sahip ve ağrı kesici etkisi bilinen *S. latifolia*'nın ayrıca yakın bir tür olan *S. tomentosa* L. ile halk arasında kullanıma sahip olan *S. mollis* ve *S. suberosa* türlerinin analjezik etkilerinin ve biyolojik aktiviteyle yönlendirilmiş fraksiyonlandırma (BAYF) ile kimyasal içeriklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla öncelikle bitki türlerinden hazırlanan total metanollü ekstrelerin analjezik aktiviteleri asetik asitle indüklenen kıvranma (writhing test) ve kuyruk kaldırma (tail-flick test) testleri kullanılarak ölçülmüş, etkisi en yüksek olan tür saptanmıştır. Etkisi en yüksek olan türden hazırlanan metanollü ekstre önce değişik polaritedeki solvanlar (Hekzan, kloroform, etilasetat, butanol) kullanılarak fraksiyonlandırılmıştır. Fraksiyonlar aynı yöntemler kullanılarak analjezik aktivite yönünden değerlendirilmiş ve tespit edilen en etkili fraksiyondan hareketle izolasyon aşamasına geçilmiştir. Fraksiyonlardan izole edilen bileşikler saflaştırılarak yapıları spektral yöntemlerle (UV, IR, MS, 1D ve 2D NMR) aydınlatılmış ve analjezik aktiviteleri ölçülerek, aktiviteden sorumlu bileşikler tespit edilmiştir.

1.1. Ağrı

Ağrı insanoğlunun tarihi ile eşdeğerdir ve insanoğlu var olduğundan beri ağrıya karşı savaş vermektedir. Yaşamının herhangi bir döneminde ağrı çekmeyen bir insan neredeyse yoktur ve insanoğlu yüzyıllardır tüm yaşamını etkileyen, yaşamının bir parçası haline gelen ağrının gizemini çözmeye çalışmaktadır (Erdine, 2007a; Erdine, 2007b).

Latince'de "ceza, intikam, işkence" anlamına gelen 'poena' sözcüğünden türeyen ve İngilizce karşılığı 'pain' olan ağrının kontrol altına alınması zordur. Ağrı, genellikle doku hasarına karşı cevap olarak oluşan, kendisini oluşturan uyarıdan kaçmak için motivasyon ve uyanıklığa yol açan hoş olmayan bir duygu olarak kabul edilir. Uluslararası Ağrı Araştırma Teşkilatı olan IAPS ağrıyı; "belirgin bir nedene bağlı olan veya olmayan, insanın geçmişindeki tüm deneyimleriyle ilgili olan hoş olmayan bir duygu"olarak tanımlamaktadır.

Ağrının insanın yaşamını etkilemesi nedeniyle, sadece sinirlerle iletilen, beyinde algılanan bir duygu olarak tanımlanması doğru değildir. Ağrının en önemli özelliği öznel olması yani kişiden kişiye farklılık göstermesidir. Ağrılı bir uyaran karşısında her insanın verdiği yanıt farklıdır. Ağrının tanımında yer alan geçmişteki tüm deneyimlerle ilgili olma özelliği ağrının birçok toplumsal ve kültürel özellikleri kapsadığı anlamına gelmektedir. İnsanın kültürel yapısı olayları algılama biçimini etkiler. İnsanların yaşadıkları ortamlar, düşünce biçimleri ve kültürleri ağrıya karşı davranışlarında önemli rol oynamaktadır. Bunların yanında ağrının insanların kişisel özellikleri, yaş, cinsiyet, eğitim ve din gibi etkenlerle değişmesi de ağrının yalnızca algılanan bir deneyim değil aynı zamanda yorumlanan bir deneyim olmasından kaynaklanmaktadır (Aydın, 2002; Çakmak, 2007; Erdine, 2007a; Işık, 2008).

Ağrının tarihsel gelişimine bakıldığında, insanlar var olmalarından bu yana ağrılarını dindirebilmek için çok değişik yollara başvurmuşlardır. Tarih öncesi çağlarda ağrıyan yerlerini soğuk suya daldırma ya da güneşte kızdırdıkları taş parçalarını ağrıyan yerlerine bastırma gibi içgüdüsel davranışlarda bulunmuşlardır. Birçok

uygarlık ağrıyı tanrıların gazabı olarak görmüş ve bu nedenle dinsel inançlarını arttırmışlar, büyüler yapmışlar ve hatta insanları kurban etmişlerdir (Erdine 2007a; Erdine, 2007b). Eski Mısır uygarlığında kalp ağrının merkezi olarak düşünülmüş, ağrıyı gidermekte kullanmak için **Nepenthe** adı verilen, afyon olduğu tahmin edilen bir maddeden bahsedilmiştir. M.Ö. 4000 yıl öncesine dayandığı tahmin edilen eski Hint uygarlığının kutsal kitabı **Riğvera**'da bugün bile kullanılmakta olan bitki ve hayvanlardan elde edilen bazı analjeziklerden söz edilmektedir. **Akupunktur** da ağrı tedavisinde çok önemli bir yere sahiptir ve Çin Uygarlığında 2500 yıllık bir geçmişe sahiptir. Yine eski Yunanlılara ait mitolojik öykülerde ve **Homeros**'un destanlarında da bazı ağrı giderici ilaçlardan ve yöntemlerden bahsedilmiştir. Modern tıbbın babası olarak bilinen **Hipokrat** da (M.Ö. 460-360) ağrıyı vücuttaki bir dengesizlik olarak tanımlamış ve klinik düzeydeki ağrıya önem vermiş, birçok analjezik madde ve ağrı kesici yöntemler kullanmıştır. Bu maddeler arasında *afyon*, *adamotu kökü* ve *köknar ağacı* bulunmaktadır. Ayrıca günümüzde **Algoloji** olarak isimlendirilen ağrı biliminin kökenini oluşturan **Algos** (ağrı) terimi ilk kez **Hipokrat** tarafından kullanılmıştır. **Büyük İskender** zamanında ise kadavralar üzerinde yapılan çalışmalarda, beynin hareket ve hislerin merkezi olduğu gösterilmiş, beyin ve omuriliğe giden sinirler ayrılmış; beyin, beyin sapı ve onları bağlayan yollar ortaya konmuştur. Ancak bu bilgiler çıkan savaşlar ve yangınlarda büyük oranda kaybolmuştur. Eski Roma uygarlığında hekim eczacı olarak bilinen **Dioscorides** M.S. 77 yılında yazdığı **Materia Medica** adlı eserinde *afyon*, *banotu* ve *baldırandan* hazırlamış olduğu haplardan söz etmiştir. M.S. 130-200 yıllarında yaşamış olan **Galen** ise omurilik ve sinirler üzerinde yaptığı çalışmaların sonuçlarına göre ağrının dokuların bütünlüğünün bir şekilde bozulmasına bağlı olarak bilinçte meydana gelen bir alt bozukluk olduğunu söylemiştir. İslam Tıbbına baktığımızda ise Batılılar tarafından Alkindus olarak bilinen **Abu Yusuf Yakub İbn İshak Al Kindi**, **Materia Medica** adlı eserinde *banotu* ve *it üzümü* gibi bitkilerin sedatif ve analjezik etkilerinden bahsetmiştir. **İbn-i Sina** ise **Kanun** adlı eserinde ağrı fizyolojisi ve ağrı dindirme yöntemlerinden bahsetmiştir. Ağrı kesicilerin, ağrıyı oluşturan nedeni veya maddenin dağılımını değiştirerek etki gösterdiklerini savunmuş ve ağrıyı sınıflandırmıştır. Bunun yanısıra ağrıyan yere *keten tohumu* ve *dereotundan* hazırlanan lapanın sürülmesi, narkotiklerin verilmesi ve soğuk tatbiki gibi ağrı

dindirme yöntemlerinden bahsetmiştir. Rönesans döneminde ise Bizans İmparatorluğunda yetişen bilim adamları İstanbul'un fethi ile Avrupa'nın her yerine dağılmış ve bilgilerini yaymaya başlamışlardır. Bu dönemin yaşayan en büyük bilim adamlarından biri olan **Leonardo da Vinci** insan anatomisi ve fizyolojisi konusunda çok önemli çalışmalar yapmış, beyin, beyin sapı ve omurilik üzerinde çalışmalarını yoğunlaştırmış ve sinir sisteminin tümünü incelemiştir. Yine aynı dönemde yaşamış olan **Paracelsus** tarafından *güzelavrat otu* ve diğer bazı bitkiler kullanılmış ve uyku verici özelliği bulunan eter yeniden keşfedilmiştir. Çalışmalar giderek artan bir hızla devam etmiş, 18. ve 19. yüzyıllarda merkezi sinir sistemi ile ilgili çok önemli gelişmeler kaydedilmiştir. 19. yüzyıl morfin ve benzeri ilaçların kullanımı için çok önemli bir dönemdir. Bu dönemde en çok kullanılan ağrı kesicilerin başında, *Papaver somniferum*'dan elde edilen *afyon*, *şarap*, *alkol*, *adamotu*, *güzel avrat otu* ve *marihuana* gelmektedir. Morfin ilk olarak **Friedrich Wilhelm Sertürner** (1783-1841) tarafından *opium*'dan elde edilmiştir ve adı eski Yunanca'da rüyalar tanrısı olan **Morhpheus**'dan esinlenerek verilmiştir. Günümüzde tedavide çok önemli olan bir diğer analjezik ilaç olan aspirin ise 1897 yılında **Felix Hoffman** tarafından söğüt yapraklarından elde edilen salisilik asitten üretilmiştir. Yirminci yüzyılda 1930 ve 1945 yılları arasında ağrı konusunda çok önemli gelişmeler olmuştur. Bunlardan biri Fransız cerrah **Leriche**'nin kronik ağrıyı bir hastalık olarak kabul etmesidir. Bir diğeri İkinci Dünya Savaşı sırasında **Bonica** ve **Alexander** isimli araştırmacıların ağrı tedavisi konusunda değişik görüşler ileri sürmeleri, tedavinin ancak multidisipliner bir biçimde ele alınmasıyla başarılı olunabileceği sonucuna varmaları ve ağrı tedavisinin babası olarak bilinen **Bonica** tarafından ilk ağrı kliniğinin 1946 yılında kurulmasıdır. Bir diğer önemli gelişme ise 1965 yılında Kanadalı **Ronald Melzack** ve İngiliz **Patrick Wall** tarafından, bugünkü ağrı kavramlarının üzerine kurulduğu ve ağrı konusunda bir devrim niteliği taşıyan teorilerini ileri sürmeleri olmuştur. 1974 yılında Uluslararası Ağrı Araştırma Teşkilatının (International Association for the Study of Pain-IAPS) kurulmasıyla ağrı çalışmalarındaki en büyük atılımlardan biri yapılmış ve tüm dünyada ağrı klinikleri kurularak, ağrı, özellikle de kronik ağrı bir hastalık olarak kabul edilmeye başlanmıştır. Ülkemizde ise ilk ağrı ünitesi 1986 yılında İstanbul Tıp Fakültesi'nde kurulmuştur. Algoloji Bilim Dalı da yine İstanbul Tıp Fakültesinde 1990 yılında kurulmuştur. Günümüzde Tıp

Fakültelerine bağlı Eğitim Hastanelerinde 20 kadar algoloji bilim dalı bulunmaktadır (Erdine, 2007a).

1.1.1. Ağrı Teorileri

Uzun yıllar ağrı ile ilgili fizyolojik mekanizmanın açıklanmasına yönelik iki görüş hakim olmuştur. İlk görüş **Von Frey** tarafından ileri sürülen "Spesifite Teorisidir": **Von Frey** deride sıcak, soğuk, dokunma ve ağrı duyularını algılayan spesifik reseptörler olduğunu; görme ve işitme duyularında olduğu gibi, bu duyuların her birinin deride ayrı bir son organa sahip olduğunu ve her uyarana özel son organın beyne özel bir yolla bağlandığını, ağrı duyusunu meydana getiren impulsun hasarın meydana geldiği yerden, santral sinir sistemine ve kortekse ulaşmasının bu özel yol ile olduğunu iddia etmiştir (Kayaalp, 1998; Erdine, 2007b; Işık, 2008).

Diğer teori ise **Goldscheider**'e ait olan "Pattern veya Sumasyon Teorisi" olup ağrı mekanizmasındaki psikolojik unsurları açıklamaktadır. Bu teoriye göre; özel ağrı reseptörleri, sinirleri ve iletim sistemi yoktur. Ağrı duyusu cilde uygulanan basınç ve ısı uyaranları tarafından nonspesifik periferik reseptörlerde ve sinir liflerinde oluşturulan impulsların arka boynuz hücrelerinde toplanması (sumasyonu) ile oluşturulur ve buradaki birikim belli bir seviyeyi geçerse ağrı hissedilir. **Goldscheider**'a göre ağrı duyusunun son ve kritik belirleyicisi uyarının süresi ve uyarılar toplamıdır (Kayaalp, 1998; Erdine, 2007b; Işık, 2008).

Ağrının mekanizmasını psikolojik ve fizyolojik açıdan tam olarak açıklamakta yetersiz kalan bu teorilerin karşısında **Ronald Melzack** ve **Patrick Wall** adlı araştırıcılar tarafından 1965 yılında ileri sürülen "Kapı Kontrol Teorisi" ağrı konusunda bir devrim niteliği taşımaktadır (Edirne, 2007a; Edirne, 2007b; Işık, 2008). Kapı Kontrol Teorisi ile geçmişte sadece basit bir durak olarak bilinen omuriliğin, ağrının vücutta beyne varmadan durdurulmasını sağladığı ve vücudun ağrıyı kontrol altına almak için verdiği savaşta önemli bir nitelik taşıdığı anlaşılmıştır. Ağrılı uyaran ilk olarak ciltte bulunan nosiseptörler (ağrı algılayıcıları)

tarafından karşılanır. Ağrılı uyaran dokuda bir harabiyet meydana getirir ve meydana gelen harabiyete bağlı olarak cilt ve cilt altından çeşitli maddeler salgılanarak ciltte şişlik veya kızarıklık meydana gelir. Hem ağrılı uyaran hem de salgılanan maddeler ağrı reseptörlerini hassas hale getirir. Bu şekilde uyarılan ağrı reseptörlerinin bağlı olduğu sinirler ağrı bilgisini omuriliğe ve oradan da beyne taşımaya başlar, böylece deriden beyne yolculuk başlamış olur. Kapı Kontrol Teorisi'ne göre ise ağrının iletilmesi sırasında omurilik, deriden ve organlardan gelen ağrılı uyaranları durdurmaya çalışır. Omurilik içinde yer alan sinirler, harekete geçerek ağrıyı baskılamaya başlarlar. Bunun yanı sıra beyin de inen kontrol sistemi ile serotonin, adrenalin, endorfin, enkefalin gibi morfin benzeri nörotransmitter maddeler salgılar. Yapılan tüm bu çabalar sonucunda ağrı ya omurilik düzeyinde durur, yani kapı kapanır ya da kapı açılır, yani ağrı bilgisi yoluna devam ederek beyin sapı ve beyne doğru gider. Ağrının beyne ulaşması ile ağrı hemen başlamaz; hem omurilik hem de beyin inen kontrol sistemini harekete geçirerek tekrar nörotransmitter maddeler salgılar ve ağrıyı geçirmeye çalışırlar. Tüm bu kontrol sistemleri yetersiz kaldığında ise insan ağrıyı hisseder. Ağrı beyne ulaştığında tüm beyni etkiler. Daha önceleri ağrının algılanmasında beynin yalnızca belirli bölgelerinin rol aldığı düşünülürken artık tamamının rolü olduğu ortaya çıkmıştır. Bütün bu olaylar ağrının basit bir harabiyet sonucu gelişen bir duygu olmadığını, beyin tarafından algılanan ve nöromatriks adı verilen geniş bir ağ içerisinde değerlendirilen bir duygu olduğunu göstermektedir. Ayrıca beynin de sadece sinirsel uyarıları saptayan ve çözümleyen bir merkez değil, dış uyaranlar olmasa bile algısal bir deneyim yaratan bir merkez olduğu anlaşılmaktadır; ki bunun anlamı, ağrı olması için her zaman bir travma veya uyaran olması gerekmediğidir. Bu açıdan bakıldığında fantom ağrısı adı verilen hayalet ağrıların oluşumu da açıklanabilmektedir. Vücuttaki deneyimin nasıl oluştuğuna bakıldığında ise; genetik olarak yapılanmış, sinir çekirdeklerinden oluşan matriksin, alınan uyarılarla, deneyimlerle şekillenerek nöromatriksi oluşturduğu ve bu süreç sonunda kişinin sinir imzasının ortaya çıktığı ve bu imzanın da nöromatriksin mimarisiyle belirlendiği tespit edilmiştir. Bu mimari genetik, kronik fiziksel ve psikolojik streslerle belirlenmektedir ancak tam olarak nasıl şekillendiği bilinmemektedir. Bu da ağrı tedavisinde yaşanan eksiklikleri ve yetersizlikleri açıklamaktadır. Ayrıca hayvan deneyleriyle klinik çalışmalar arasındaki uçurumun

nedeni de nöromatrikse bağlanmaktadır. Çünkü hayvanlarda nöromatriks yapısı insana göre her zaman eksik kalmaktadır. Bu nedenle yapılan hayvan çalışmaları, her ne kadar ağrı araştırmalarında sayısız faydalar sağlamış olsa da klinik ağrının ancak küçük bir kısmını yansıtabilmektedir. Ağrı süreci içinde vücudun genetik yapısının, sinirsel ve hormonal mekanizmalarının yer aldığı da bilinmektedir. Bunların yanı sıra psikolojik faktörler de ağrının ayrılmaz bir parçası olarak kabul edilmektedir. Ağrının bu şekilde çok yönlü öznel bir deneyim olarak algılanması ağrı tedavisinde yenilikleri de beraberinde getirmiş nöromatriks teorisi ile stresin ve psikolojik etkenlerin ağrıyı nasıl etkilediği açıklanırken, genetik yapının önemi de anlaşılmıştır. Ağrıya duyarlılıkta bireysel farklılıklar üzerinde yapılan çalışmalarda elde edilen bir sonuç da ağrıya duyarlı genlerin varlığıdır. Ağrıya duyarlı genler, ağrıya yanıtı etkileyebilmekte ve migren gibi nedeni belli olmayan hastalıklarda ön plana çıkmaktadırlar. Genetik açıdan bir diğer önemli durum da hastaların analjeziklere karşı dirençli olmalarıdır; ki bu durum da yine genetik duyarlılıkla açıklanabilmektedir.

Tüm bu araştırmaların sonuçlarına bakıldığında, ağrı tedavisinin ağrının tipine göre büyük farklılıklar göstereceği açıktır ve ağrı mekanizmasının bilinmesinin yanısıra tedavi yöntemlerinin mekanizmalarının da bilinmesi gerekmektedir (Erdine, 2007a; Erdine, 2007b).

1.1.2. Ağrının İletimi

Ağrının reseptörlerden alınıp beyne taşınmasında ve ağrı olarak algılanmasında belirli anatomik yapılar ve çeşitli nörotransmitter sistemler görev almaktadır. Ağrının taşınmasında görev alan yapılar aşağıda belirtildiği şekilde bölümlere ayrılabilmektedir (Güzeldemir, 2008).

1.1.2.1. Periferik Mekanizmalar

1.1.2.1.1. Nosiseptörler

Cilt ve diğer organlar yalnızca ağrılı uyarıları algılayan spesifik reseptörlere (nosiseptör) sahiptir. Bu reseptörler serbest sinir uçlarında yer almakta ve yüksek şiddetteki mekanik, termal ve kimyasal uyarılarla uyarılmaktadır. Reseptörler yerleşim bölgelerine göre somatik ve visseral nosiseptörler olarak sınıflandırılmaktadır.

Somatik nosiseptörler, ciltte ve derin dokularda yer almalarına göre kutanöz ve derin nosiseptörler olmak üzere iki şekilde adlandırılmakta ve görevlerine göre iki sınıfta yer almaktadırlar; mekanik ve termal uyarılara cevap veren A-δ mekanotermalreseptörler ve şiddetli mekanik, kimyasal, aşırı sıcak ve soğuk uyaranlara cevap veren C-polimodal reseptörler. Ağrılı uyaran ilk olarak serbest sinir uçlarındaki bu reseptörler tarafından algılanır ve omuriliğe sinir lifleriyle taşınır.

Ağrılı uyaranın reseptörler tarafından algılanarak üst merkezlere doğru iletilmesi dört aşamada gerçekleşmektedir:

a. Transdüksiyon: Bir enerjinin başka bir enerjiye dönüşmesidir. Uyarının sinirlerin duyusal uçlarında yani reseptörlerde elektriksel aktiviteye dönüştürüldüğü aşamadır.

b. Transmisyon: Ağrı bilgisinin nosiseptörler tarafından algılandıktan sonra daha üst merkezlere doğru iletilmesidir. Bu iletimde miyelinli A-δ lifleri ve miyelinsiz C lifleri görevlidirler.

c. Modülasyon: Esas olarak omurilik seviyesinde gerçekleşen bir olaydır. Ağrılı uyaran omurilik düzeyinde bir değişime uğramakta ve bu değişim sonucunda daha üst merkezlere iletilmektedir.

d. Persepsiyon: Omurilikten geçen uyarının çeşitli çıkan yollar aracılığı ile üst merkezlere doğru iletilip, bireyin psikolojisi ile etkileşimi ve duyusal deneyimleri sonucu gelişen, ağrının algılandığı son aşamadır (Aydın, 2002; Çakmak, 2007; Erdine, 2007b; Işık, 2008).

Sinir lifleri başlıca A, B, C ve D gruplarına ayrılır. Bu gruplar da kendi içlerinde tekrar gruplara ayrılır. Ağrı bilgisi genel olarak A ve C lifleri ile taşınmaktadır. Mekanoreseptörlerden kaynak alan miyelinli, kalın A-α ve A-β lifleri yalnızca düşük eşik değerli mekanoreseptörlerin uyarısına cevap vermekte ve esas olarak ağrı oluşturmayan (nonnoksious) uyarıları iletmektedir. Bu sistemle gelen uyarı ağrı uyandırmaz. Ancak ağrılı uyaran tarafından aktive edilen liflerden gelen uyarının değiştirilmesi için bilgi verir. Beyin bu sistemle gelen uyarıyı ayırt edilebilen bir biçimde algılar; dokunma, ısı, pozisyon ve lokalizasyon hakkında bilgi sahibi olur. İnce miyelinli A-δ ve miyelinsiz C lifleri ise ağrılı uyaranın santral merkezlere iletiminden sorumludurlar. Bu sinir lifleri yüksek bir eşik değere ve yavaş iletim hızına sahiptir, ancak A-δ liflerinin bir kısmı orta veya düşük şiddetteki uyarılar tarafından da aktive edilebilmektedir. C lifleri ise yüksek eşik değerli miyelinsiz liflerdir; şiddetli veya zarar verici tekrarlayan uyarılarla aktive edilmektedir. Bazı yüksek eşik değerli C lifleri daha az spesifiktir ve yalnızca tek bir uyarıya cevap verir, bir kısmı ise birçok farklı uyarı ile aktive edilebilir yani polimodal özellik gösterir. A-δ liflerinin aktivasyonu ile keskin, lokalize bir ağrı oluşurken, C liflerinin tekrarlayan ağrılı uyarılarla aktivasyonu ile lokalize edilemeyen, dayanılmaz, şiddetli bir ağrı hissedilir.

İnce afferent lifler paloespinotalamik sistemin kaynağını oluştururlar. İnce lif-reseptör üniteleri birinci nörondur, hücre gövdeleri arka kök ganglionunda bulunur. Arka boynuza girdikten sonra dallara ayrılarak sinaps yaparlar (ikinci nöron). Sinapstan sonra ikinci nöronun lifleri orta hattı geçerek ve ventrolateral kolonda

yukarı doğru çıkarak beyin sapı, orta beyin ve talamusa ulaşır. Üçüncü nöronlar ise talamustan kortekse yayılır (Erdine, 2007b; Işık, 2008).

Reseptörlerin nasıl aktive olduğu tam olarak bilinmemekle birlikte, aktive olduklarında bazı fonksiyonel değişiklikler oluştuğu, uyarının reseptör membranının yapısını değiştirerek onun depolarize olmasını sağladığı ve primer afferent sinir lifinde aksiyon potansiyeli oluşturduğu, bazı olgularda da membranın mekanik deformasyonu sonucunda oluştuğu bilinmektedir. Ağrılı uyarının tekrarlanmasıyla **sensitizasyon** adını verdiğimiz bir olay gelişir. Bu durumda birçok duyusal organ yorulmaya başlar ve daha az yanıt verir. Yaralanma ya da hastalık sonucu oluşan doku hasarında da benzer şekilde sensitizasyon gelişmektedir. Yaralanma sonucu nosiseptif uyaran nörojenik bir enflamasyon cevabı oluşturarak P maddesi, nörokinin A, CGRP (kalsitonin genine bağlı peptit) gibi bazı maddelerin salgılanmasını sağlar ki bu maddeler duyusal ve sempatik sinir liflerinde uyarılmada değişiklikler meydana getirir, vazodilatasyona, plazma proteinlerinin ekstravazasyonuna ve enflamatuar hücrelerden potasyum iyonları, bradikinin, serotonin, nitrik oksit, peptidler, prostaglandinler gibi çeşitli kimyasal mediatörlerin; salınmasına neden olur. Bu maddelerin salgılanması da yüksek eşik değerdeki nosiseptörleri uyararak periferik sensitizasyon dediğimiz olayı meydana getirir. Bu durum ayrıca ağrı eşiğinde düşmeye, normalde ağrı oluşturmayan uyarının (nonnoxious stimulus) ağrıya neden olmasına (allodini) ve ağrılı uyarıya karşı aşırı cevaba (hiperaljeziye) neden olmaktadır (Durmaz, 1998; Aydın, 2002; Çakmak, 2007; Erdine, 2007b; Işık, 2008).

1.1.2.1.2. Visseral Ağrı İletimi

Organlarda ve santral sinir sistemi dışındaki diğer tüm dokularda reseptörler bulunduğu tesbit edilmiştir, ancak iç organlardaki reseptör sayısı cilttekine göre çok daha azdır ve bu reseptörler farklı bir aktivasyon şekli gösterirler. Yapılan son çalışmalara göre iç organlarda iki tip reseptör bulunduğu ortaya konmuştur. Birinci tip reseptörler doğal uyaranlara karşı yüksek eşik değere sahip reseptörlerdir. Bu

reseptörlerin uyarılması ağrıya yol açar. Bu reseptörlere kalp, venler, akciğer ve solunum yolları, özefagus, safra yolları, ince barsak, kolon, üreter, mesane ve uterusta rastlanmıştır. Bu reseptörler özellikle içi boş organlardan kaynaklanan şiddetli ağrılarda harekete geçmektedirler. Çoğunlukla mekanik uyarılara yanıt vermektedirler. İkinci tip reseptörler ise daha düşük eşik değerdedir ve daha çok ağrısız uyaranlarla uyarılmaktadırlar. Yine çoğunlukla doğal olan mekanik uyarılara yanıt verirler. Bu tip reseptörlere kalp, özefagus, kolon, mesane ve testislerde rastlanmıştır. Bir başka görüşe göre de, iç organlarda normalde yanıt vermeyen, enflamasyon ve travma durumlarında harekete geçen sessiz reseptörler de bulunmaktadır. Bu reseptörler özellikle kronik ağrılarda önem taşımakta, spinal reflekslerde ve otonom cevapta uzun süreli değişikliklere yol açmaktadırlar. Kolon ve mesanedeki reseptörlerin % 40-45'inin bu tip reseptörler olduğu varsayılmaktadır. Visseral ağrı ile ilgili bilgi omuriliğe otonom liflerle, en sık olarak da sempatik liflerle (B lifleri) taşınmaktadır. Visseral nosiseptif bilginin omurilikten hipotalamik çekirdeklere iletildiği düşünülmektedir ve arka boynuza ulaştıktan sonraki iletim ve gidiş somatik iletimle aynıdır. Bunlar, arka boynuzda somatik afferentlerle aynı bölgeye gider. Visseral ağrı kesin olarak lokalize edilemeyen bir ağrıdır bunun sebebi visseral reseptörlerin omurilikte birçok spinal segmentte geniş bir dağılım göstermesi ve geniş bir reseptif alana sahip olmasıdır (Erdine, 2007b; Işık, 2008).

1.1.2.2. Omurilik Dorsal Boynuz Nöronal Sistemi

1.1.2.2.1. Arka Boynuzun Anatomi ve Fizyolojisi

Arka boynuz hücreleri, ağrının 2. nöronlarının olduğu yerdir. Bu nöronlar 3 gruba ayrılmaktadır:

1. **Projeksiyon nöronları:** Aktive olduklarında oluşan sinyaller afferent sisteme geçer ve ağrı üst merkezlerde algılanır. Bu nöronlar lamina I'de yoğun olarak bulunan ve sadece A-δ ve C lifleri ile uyarılan "**Nosiseptif spesifik = NS**" nöronlar ve lamina I ve V'de bulunan, hem nosiseptörlerden hem de düşük

eşikli mekanoreseptörlerden gelen uyarıları alan "**Wide dynamic range =WDR**" nöronlar olmak üzere iki gruba ayrılırlar.

2. **Eksitatuar nöronlar:** Ağrılı uyaranları projeksiyon nöronlarına geçirmekle görevlidirler.
3. **İnhibitör nöronlar:** Genellikle A-δ ve C liflerinden gelen sinyallerle aktive olup daha üst merkezlere ağrılı informasyonun akışını düzenlemede önemli rol alırlar. Geniş çaplı liflerle aktive olurlarsa da projeksiyon nöronlarında inhibisyona neden olurlar (Durmaz, 1998; Aydın, 2002; Çakmak, 2007).

Omuriliğin arka boynuzu, hücre tiplerine, afferent bağlantılara ve histokimyasal özelliklerine göre **Rexed** tarafından 10 laminaya ayrılmıştır. Arka boynuz gri maddesi, birinci nöronların çoğunun sinaps yaptığı bölgedir. En dış kısımda yer alan **Lamina I**, başlıca küçük çaplı afferent liflerden gelen ağrılı impulsları alır. **Lamina II** ve **III** ciltten gelen birçok afferent lifin sonlandığı **"substantia gelatinosa"** olarak adlandırılan kısımdır. Bu bölge ile üst ve alt tabakalar arasında birçok bağlantı bulunmaktadır. **Wall** ve **Melzack** tarafından tanımlanan bu iki tabaka, duyu sinirlerinin getirdiği uyarıların beyne iletilmesini sağlayan **Lamina V**'teki T hücrelerine uyarı geçişini düzenleyen bir ara sistemdir. Substantia jelatinosa sistemi T hücreleri üzerinde frenleyici bir etki göstermekte, inhibitör bir mekanizma gibi hareket etmektedir. **Lamina IV**, ağrı oluşturmayan duyusal impulsları taşıyan, kalın kutaneal afferent lifleri alır. Hücreler, düşük bir eşik değere sahiptir ve hafif uyarılara cevap verir. Ağrılı uyarı veya A-δ ve C liflerinin aktivasyonu bu hücreleri aktive etmekte yetersiz kalmakta ve aslında bu hücreleri inhibe etmektedir. **Lamina V** tabakası ise birçok kaynaktan gelen visserler, kaslar, kan damarları ve derin dokulardan A-δ ve C lifleri ile gelen uyarıları alır, özellikle de ağrılı uyarılara karşı çok hassastır. Hem substantia jelatinosa hem de üst merkezlerle ilişki içindedir. Spinotalamik traktusların kaynağını büyük oranda **Lamina V** hücreleri oluşturmaktadır. **Lamina V** visseral duyusal uyarıların ulaştığı omurilik noktası olarak kabul edilir. **Lamina VI** tabakasındaki eksitasyon ve cevaplar büyük oranda ağrısız uyarılarla ilgilidir. Ağrı iletimini sağlayan çıkan (ascending) yollara katılan **Lamina VII - IX** ön boynuzun parçalarıdır. **Lamina X** ise yüksek şiddetteki uyarılara cevap veren, santral kanal etrafında yoğunlaşmış hücrelerden oluşmuştur ve

bu hücreler, omurilikte nosiseptif bilgiyi beyine getiren multisinaptik bir zincir oluşturmaktadır (Işık, 2008).

Arka boynuzda, ağrı süreci içerisinde görev alan çeşitli nörotransmitter ve nöromodülatör maddeler de yer almaktadır. Ağrılı uyarıları daha üst merkezlere iletmede görevli başlıca iki tip nörotransmitter bulunmaktadır; glutamat ve aspartat gibi aksitatör aminoasitler ile primer afferentlerden salgılanan P maddesi, nörokinin-A, kolesistokinin ve calsitonin-gene related peptid (CGRP) gibi nöropeptitler (Durmaz, 1998; Aydın, 2002; Çakmak, 2007).

1.1.2.2.2. Kapı Kontrol Teorisi

Wall ve **Melzack** tarafından 1965 yılında, ağrının fizyolojisini açıklamak üzere kapı kontrol teorisi ileri sürülmüştür. Bu teoriye göre ağrı ilk olarak omurilikte kontrol edilmektedir. Omurilik deri ve organlardan gelen ağrılı uyaranları durdurmaya çalışır; bu amaçla omurilik içerisinde yer alan sinirler harekete geçer. Omuriliğin V. laminasındaki T hücrelerine (transmisyon hücreleri) uyarı geçişi, substantia gelatinosa (II ve III. lamina) hücreleri tarafından ayarlanır. Substantia gelatinosa hücreleri T hücrelerine uyarı geçişini iki olası yolla etkiler;

a. Presinaptik yol; A-δ ve C lifi aksonlarında uyarıyı bloke ederek,

b. Postsinaptik yol; kimyasal transmitter salınımını inhibe ederek ve gelen eksitatör uyarıların algılanma seviyesini değiştirerek.

Bu iki spinal kapı olarak ifade edilmektedir. Substantia gelatinosa hücreleri de başlıca geniş çaplı, kalın lifler olan A-α ve A-β liflerinin aktivitesi ile kontrol edilmektedir. Kalın liflerin uyarılması ağrı oluşturmaz ancak, neospinotalamik traktus yoluyla ağrının enformasyonunda rol oynar. Korteks, bu yolla daha ağrı algılanmadan önce uyarının cinsi, lokalizasyonu ve şiddeti hakkında bilgi edinir ve hızlı bir şekilde spinal kapı (substantia gelatinosa) ve T hücrelerine emirler göndererek bu sistemi santral yolla ayarlar. Kalın liflerin uyarılması, substantia gelatinosa hücrelerini stimüle ederek T hücrelerine uyarı geçişini inhibe eder, yani kapıyı kapatır. İnce liflerin uyarılması ise substantia gelatinosa hücrelerini inhibe ederek T hücrelerine uyarı geçişini artırır yani kapıyı açar.

Bu arada beyin de inen kontrol sistemi adı verilen sistemle morfin benzeri maddeler salgılar. Periferik afferent uyarı ile substantia gelatinosanın ayarlanması ve inen impulslar tarafından santral kontrolün sağlanması, omurilik transmisyon hücrelerinin (T hücreleri) net frenleyici etkisini oluşturur. T hücrelerinin frenleyici etkisi kritik bir seviyeyi geçtiği an aktivasyon sistemi ateşlenir ve ağrı duyulur. Hastanın psikolojik durumunun, kültürel seviyesinin, anksiyete ve heyecan gibi duygusal durumlarının kapı kontrol mekanizmasının açılması veya kapanması üzerinde etkiye sahip olması nedeniyle bu sistem ağrının algılanmasında büyük bir öneme sahiptir (Işık, 2008).

1.1.2.3. Çıkan (Ascending) Ağrı İletim Sistemi

Ağrının omurilikten beyne taşınması değişik yollarla olmaktadır. Dorsal boynuz hücrelerinde yeteri kadar eksitasyon meydana geldiğinde bu impluslar projeksiyon nöronlarıyla yukarı merkezlere iletilir. Antero-lateral spinotalamik traktus içerisinde yer alan spino-talamik ve spino-retiküler yollar eskiden beri iyi bilinmektedir. Bunların dışında yeni tanımlanan ya da eskiden tanımlanmış fakat yeni kabul gören spinomezensefalik, spinoservikal, postsinaptik dorsal kolon yolu, nosiseptör enformasyon yolu, propriospinal nöronların multisinaptik yolu gibi başka yollar da bulunmaktadır. Spino retiküler ve spino mezensefalik yollar özellikle hem yavaş ilerleyen hem de lokalizasyon açısından spesifik olmayan ağrıların taşınmasında rol alırlar. Bu sistemle taşınan uyarılar hem kortekse hem de limbik sisteme yayılarak ağrıya karşı dikkat olayını ve ağrı esnasında görülen genel otonomik ve emosyonel değişimleri sağlamaktadır.

1. **Spinotalamik Yol:** Lamina I,V ve VII nöronlarından köken alan nosiseptif uyarı, talamusta ventral posterolateral (VPL) çekirdekte (3. Nöron), talamustan çıkan uzantılar ise kortekste sonlanır. Bu çekirdek vücudun özel bölgeleri için bölümlere ayrılmıştır. Bu yol sayesinde ağrı; yer, şiddet ve zaman gibi diskriminatif (ayırma) özellikleriyle birlikte algılanmaktadır. Tanımlayıcı ve hızlı bir yolaktır, ağrının yeri hakkında bilinç düzeyine bilgi ulaştırmaktadır.

2. **Spinoretiküler Yol:** Anterolateral çıkıcı sistem içinde ilerler. Bir kısmı bulbus ve ponstaki retiküler çekirdek gruplarına bir kısmı ise spinal kordun iki tarafında yer alan talamustaki intralaminar çekirdeklere çıkar. Nöronal bilgiyi daha sonra singulat kıvrımın ön parçası (duyu), amigdala (hafıza ve duyu), hipotalamus (duyu ve duyuya vasküler yanıt) gibi birçok beyin bölgesine ulaştırmaktadır. Esas olarak görevi kortikal ve subkortikal yapıları (limbik sistem ve diensefalon) genel bir uyanıklılık içinde tutmak ve zararlı uyarılara karşı genel bir alarm durumu yaratmaktır. Daha yavaş ileten bir sistemdir.

3. **Spinomezensefalik Yol:** Dorsal boynuz Lamina I ve V'teki nosiseptif uyarıları alan nöronlar anterolateral sistem içerisinde yer alırlar ve mezensefalik periakuaduktal gri cevhere kadar yükselirler. Bu yol ön beyindeki parabrakial çekirdek, amigdala, hipotalamus ve diğer limbik sistem yapılarına gider. Bu yol, analjezik etki sağlayan enkefalinerjik nöronların bulunduğu periakuaduktaya bağlantı yapması nedeniyle nosisepsiyonda önemli bir role sahiptir. Periakuaduktal gri cevher, antinosiseptif mekanizmaların tetiklendiği en önemli bölgelerden bir tanesidir.

4. **Dorsal kolon Yolu:** Visseral nosisepsiyonu ve somatik dokunma ve pozisyon duyusunu talamusa taşır.

5. **Spino-hipotalamik yol:** Retiküler formasyonda sinaps yapmayan yeni tanımlanmış bir yoldur. Deri, dudak, genital organlar, gastrointestinal yol, intrakranial kan damarı, dil ve korneadan duyusal önem taşıyan bilgileri doğrudan hipotalamusa taşımaktadır.

Ağrılı uyarının üst merkezlere taşınmasında esas olarak ilk üç yolak görev almaktadır. Diğer yolaklar ağrılı uyarıları götürebilme yeteneğine sahip olsa da birinci derecede önem taşımamaktadırlar (Durmaz, 1998; Aydın, 2002; Güzeldemir, 2008; Işık, 2008).

1.1.2.4. İnen (Descending) Supraspinal Kontrol

Omurilik düzeyinde primer afferentleri deprese ederek ağrılı uyaranları kontrol altında tutan sisteme "inen kontrol sistemi" adı verilmektedir. İlk olarak Melzack ve Wall adlı araştırıcılar tarafından öne sürülmüştür ve Kapı kontrol teorisinin gelişimi de bu yönde yapılan çalışmalar sonucunda gerçekleşmiştir. Ağrı impulsları spinal ve supra spinal inici efferent nöral yolla kontrol edilebilmekte, değiştirilebilmekte veya inhibe edilebilmektedir. (Aydın, 2002; Çakmak, 2007; Erdine, 2007b; Işık, 2008; Güzeldemir, 2008). Bu antinosiseptif sistemi 3 grup içinde toplamak mümkündür:

1. Mezensefalik periakuaduktal gri cevherde yer alan enkefalinerjik nöronlar: Bu nöronlar, hipotalamus ve serebral korteks ile ilişkilidirler. Hipotalamus kökenli nöronlar endorfin taşımaktadır. Mezensefalonda yer alan periakuaduktal gri cevherden başlayan yol, bulbusdaki retiküler formasyona giderek serotoninerjik nöronlarla sinaps yapar ve böylelikle bulbusdaki serotonin nöronlarını uyarır. Bu nöronlar da omuriliğin arka boynuzu ve trigeminal sinirin duyusal çekirdeğine giderek presinaptik ve postsinaptik bağlantılarla projeksiyon nöronları üzerinde inhibisyon meydana getirirler.

2. Bulbus ve ponsta yerleşimli çekirdekler: Bu çekirdeklerin temel nörotransmitteri noradrenalindir. Bu şekilde dorsal boynuz projeksiyon nöronları üzerinde inhibitör etki gösterirler.

3. Antinosiseptif spinal segmental mekanizmalar. Özellikle spinal yerleşimli enkefalinerjik nöronlar rol oynamaktadır. Hem C hem de A-δ liflerinden gelen kollaterallerle aktive olurlar. Bu nedenle hem presinaptik, hem de postsinaptik inhibisyona yol açarlar.

Monoaminerjik ve enkefalinerjik antinosiseptif etkilerin tümü, hücresel düzeyde Lamina I ve Lamina II'de bulunan nosiseptif nöronlar üzerinde K^+ iyonu membran etkinliğini arttırarak ve hiperpolarizasyon oluşturarak meydana gelmektedir. Ayrıca

GABA'nın (Gama amino bütirik asit) da antinosiseptif mekanizmalara katıldığı düşünülmektedir. Projeksiyon nöronları üzerindeki hızlı ve kısa süreli inhibisyon en çok monoaminerjik transmitterler GABA ve kısmen de enkefalin ile olmaktadır. Uzun süreli inhibisyon ise endorfin, kısmen enkefalin ve somatostatin ile oluşmaktadır. Ayrıca somatostatin ve bombesin gibi nöropeptitler de inhibitör etki yapmaktadırlar (Durmaz, 1998; Aydın, 2002; Işık, 2008; Güzeldemir, 2008).

1.1.2.5. Serebral Korteks

Ağrıda serebral korteksin görevi net olarak anlaşılamamıştır ancak ağrının bilinçli olarak algılanması korteksin tamamını kapsayan bir beyin etkinliğine bağlıdır. Korteksin ağrı olayına etkisinin sosyo-kültürel değerler, anksiyete, telkin, geçmiş deneyimler gibi faktörlerin ışığında belirlendiği düşünülmektedir. Bu faktörler ağrı eşiğini ve ağrıya tepkiyi sağlayan önemli etmenlerdir (Aydın, 2002; Çakmak, 2007; Erdine, 2007b; Güzeldemir, 2008).

1.1.3. Santral Nörofizyolojik Ağrı Mekanizmaları

Ağrı, yalnızca bir uyaran ve buna karşılık bir yanıtın verildiği basit bir biyolojik süreç olmaktan çok daha fazlasıdır. Birçok duyusal, duygusal ve davranışsal etkenlerin rol oynadığı karmaşık bir süreçtir. Ağrının kişiden kişiye farklılık göstermesinin nedeni de budur (Erdine, 2007b; Işık, 2008).

Periferik mekanizmalardan gelen duyusal uyarılar, bu uyarıları değerlendirerek uygun cevaplar oluşturan beyin merkezlerine iletilir. Yapılan çalışmalar sonucunda ağrılı uyaranın, beyinde sensoryal, motor, premotor, frontal, parietal, oksipital ve anterior singulat bölgelerini etkilediği gösterilmiştir ve kesin olmamakla birlikte, parietal bölgenin ağrının değerlendirilmesinde, frontal bölgenin ise ağrıya karşı duyusal cevapta etkili olduğu düşünülmektedir (Erdine, 2007b). Bununla birlikte sonuçta oluşan impulsu ağrı olarak tanımak, duyusal impulsa bir nitelik kazandırmak

ve organizmanın kendisini korumasını sağlamak amacıyla üç esas psikolojik mekanizma aktive edilmektedir. Bunlardan birincisi olan duyusal diskriminatif boyutta, uyarının lokalizasyonu, süresi ve şiddeti algılanmaktadır. Motivasyonal-affektif boyut ise hissi davranışın belirlendiği, duyusal uyarıya anlam ve önemin verildiği boyuttur. Ağrılı uyaran genellikle zihinsel dikkati, normal cevabı, düşünce ve davranışı değiştirir; kişi ağrıyı oluşturan nedenden kaçmak ve ağrıyı durdurmak amacıyla hareket eder. Bu mekanizmada omurilik T hücrelerinden gelen impulslar spinotalamik ve spinobulber traktuslara ait ikinci nöronlarla taşınarak medüller retiküler formasyonda ve orta beyinde gri maddede sonlanır. Bu alanlardan çıkan lifler de iki sisteme gider. Bunlardan birincisi talamusun medial intralaminer nükleusları diğeri ise limbik sistemdir. Talamusda yer alan bu nükleusun stimülasyonu ile anksiyete, hoş olmayan, lokalizasyonu zayıf bir duyu oluşur, beraberinde korkuya benzer cevaplar ve kaçınma davranışı ortaya çıkar. Bundan sonra iletim üçüncü nöronlarla korteks ve limbik sisteme iletilir. Limbik sistem santral elemanı hipotalamus olan ve birçok subkortikal yapıdan oluşan bir sistemdir. Anterior talamus, amigdal nükleus, hipokampus ve bazal ganglionları içerir. Bu yapılar bir duyunun hissi (affektif) niteliğini verir; duyunun hoş olan veya hoş olmayan niteliği ile acı çekme ve ödüllendirme sürecini limbik sistem ayarlar. Böylece kişinin ağrı duyusuna karşı tavrı ve hissi belirlenir ve buna göre çekinme ve kaçınma davranışı oluşturulur.

Kognitif (bilişsel) boyut ise ağrının değerlendirildiği ve motor cevabın belirlendiği boyuttur. Bu aşamada duyuya entellektüel bir boyut kazandırılır. Frontal korteks ve ilişkili olduğu beyin alanları, olası koruyucu veya uzaklaştırıcı stratejilerin belirlendiği yani ağrı deneyimine nitelik kazandıran ve en iyi stratejinin oluşturulması için bir kararın verildiği zihinsel işlemlerde ve motor mekanizmalar tarafından oluşturulan cevabın belirlenmesinde santral bir rol oynamaktadır (Işık, 2008).

1.1.4. Ağrının Sınıflandırılması

Ağrıyı başlıca dört ana başlık altında sınıflandırmak mümkündür:

- Fizyolojik-klinik ağrı,
- Süreye bağlı ağrı,
- Kaynaklandığı bölgeye göre ağrı,
- Mekanizmasına göre ağrı.

1.1.4.1 Fizyolojik-Klinik Ağrı

Ağrı fizyolojik ya da klinik (fizyopatolojik) olmak üzere iki şekilde değerlendirilebilir: Fizyolojik ağrı periferde ağrılı uyaranların nosiseptörleri uyarmasıyla başlamakta ve beynin algılamasıyla meydana gelmektedir. Fizyolojik ağrı geçici, koruyucu bir işlevi olan potansiyel bir harabiyete karşı uyarıcı bir sistem olarak görev yapan bir ağrıdır. Fizyolojik ağrıda A-δ ve C lifleri etkin hale gelmektedir. Klinik yani fizyopatolojik ağrı ise çok daha farklı bir biçimde seyretmektedir ve olaya birçok süreç katılmaktadır. A-δ ve C liflerinin yanı sıra A-β lifleri de aktif hale geçmektedir. Ağrı artık fizyolojik değil patolojik bir durumda olup periferik ve santral sensitizasyon meydana gelmektedir (Erdine, 2007a).

1.1.4.2. Süreye Bağlı Ağrı

1.1.4.2.1 Akut ağrı

Ani başlayan ve uyarı işlevi gören bir ağrıdır. Daima nosiseptif özelliktedir. Akut ağrı ani olarak doku hasarı ile birlikte başlar ve neden olan hasar ile arasında yer, zaman ve şiddet açısından yakın bir ilişki görülür. Hasarın azalmasıyla yani iyileşme sürecinde giderek azalır ve kaybolur. Akut ağrı bir belirtidir, hastalık değildir. Akut ağrıyı kendi içinde beklenen ve beklenmeyen ağrı olarak ikiye ayırmak mümkündür.

Beklenen ağrılar, önceden tahmin edilen ve önlem alınabilen ağrılardır (örn: Doğum ağrısı, ameliyat sonrası ağrılar gibi). Yanık, kırık, kazalar sonucu görülen ağrılar ise beklenmeyen ağrılardır ve bu tip ağrılarda ağrı eşiği yüksek olabilir bu nedenle hasta her zaman büyük bir ağrı çekmeyebilir. Akut ağrı, üzerinden 3-6 ay kadar süre geçtiğinde kronik ağrı özellikleri gösterir.

1.1.4.2.2. Kronik ağrı

Çoğunlukla nosiseptif özelliktedir. Akut ağrılı bir hastalığın veya bir yaralanmanın iyileşme sürecinin normal seyrinden çıkması sonucunda görülen, çok daha uzun bir zaman boyunca, aylarca hatta yıllarca devam eden ağrı tipidir. Kişinin hayat kalitesini değiştirerek anormal davranışlara yönelten, daha çok psikolojik etkenlerin rol aldığı karmaşık bir ağrı tipidir. Kronik ağrı, günümüzde başlı başına bir hastalık olarak kabul edilmektedir (Aydın, 2002; Çakmak, 2007; Erdine, 2007a).

1.1.4.3. Kaynaklandığı Bölgeye Göre Ağrı

1.1.4.3.1. Somatik Ağrı

Çoğunlukla sinir lifleriyle taşınan, somatik sinirlerden kaynaklanan, ani olarak başlayan, iyi lokalize edilen, keskin bir ağrıdır. Sinirlerin yayıldığı bölgede algılanır: batma, zonklama, sızlama tarzındadır. Kırık, çıkık ve travma durumlarında görülen ağrı genellikle somatik ağrı olarak tanımlanmaktadır.

1.1.4.3.2. Visseral Ağrı

İç organlardan kaynaklanan ağrılardır. İç organlardan gelen ağrılı uyaranlar, otonom sisteme ait afferent yollarla taşınırlar. Kimyasal tahriş edici maddeler, organların ani olarak gerilmesi, aşırı kasılmalar ve kan akımının azalması gibi durumlar iç organlarda ağrıya neden olmaktadır. Fakat iç organların hepsi her zaman ağrıya karşı

hassas değildir. İç organlardan kaynaklanan ağrılar genellikle yeri kolay kolay saptanamayan, yavaş yavaş artan ve başka bölgelere doğru yayılan yani yansıyan ağrılardır.

1.1.4.3.3. Sempatik Ağrı

Sempatik sinir sisteminin aktivasyonu ile oluşan ağrılardır. Diğer ağrı tiplerine göre oldukça farklıdırlar. Esas olarak hastalığın geçmesinden bir süre sonra başlarlar ve giderek artan bir şiddete sahiptirler. Deri genellikle hassas ve soğuktur ve soğuk ortamlarda bu hassasiyet artmaktadır. Yanma ve üşüme arasında bir his tanımlanmaktadır ve özellikle geceleri ağrı artmaktadır. Ağrıyan kol ve bacaklarda deri bozuklukları da ortaya çıkmaktadır. Kozalji adını verdiğimiz yanma tarzındaki ağrılar ve damarlardan kaynaklanan ağrılar sempatik ağrılara örnektir.

1.1.4.4. Mekanizmasına göre Ağrı Sınıflandırması

Ağrı sınıflandırmasındaki en önemli sınıflandırma biçimidir. Bu sınıflandırma özellikle ağrı tedavisi konusunda çok önemli gelişmeler sağlamıştır. Ağrı belirli bir mekanizmayla ortaya çıkmaktadır, tedavi amacıyla kullanılan yöntemler ve ilaçlar da belirli bir mekanizmaya göre etki göstermektedirler. Ağrı mekanizmasının olduğu kadar tedavi yöntemlerinin ve ağrı kesicilerin de etki mekanizmalarının bilinmesi, ağrının çok daha kısa sürede ve etkin bir biçimde tedavi edilmesini sağlar.

Ağrı, mekanizmalarına göre şu şekilde sınıflandırılabilir:

1.1.4.4.1. Nosiseptif Ağrı

Nosiseptör adı verilen ağrı algılayıcılarının uyarılmasına bağlı olarak ortaya çıkan ağrı tipidir. Nosiseptörler, sinir sistemi dışında tüm doku ve organlarda bulunan

reseptörlerdir. Bu ağrı tipinde vücudun herhangi bir yerinde meydana gelen doku yaralanması sonucu, ağrılı uyarı sinir uçlarında yer alan nosiseptörler tarafından algılanır ve afferent lifler ile omuriliğe oradan da talamusa iletilir ve beyin kabuğu (serebral korteks) tarafından ağrı olarak algılanır. Bu ağrı şekli somatik veya visseral ağrı olarak iki alt gruba ayrılır. İkisi arasındaki temel fark, somatik ağrının duyusal liflerle, visseral ağrının ise sempatik liflerle taşınmasıdır. Somatik yapılardan kaynaklanan nosiseptif ağrı, sızlama şeklinde, bıçak batar gibi, zonklama, basınç hissi gibi tarif edilir. İç organlardan kaynaklanan ağrı (eğer tıkanma söz konusu ise) kemirici ve kramp şeklinde, bazen de sızlama ve zonklama şeklindedir. Ağrının oluşmasına somatik ve visseral sistemlerin ne dereceye kadar katıldığı her zaman kolayca belirlenemez. Aspirin benzeri ilaçlar ile morfin türevi santral etkili analjezikler bu ağrı tipinde kullanılan ağrı kesici ilaçlardır.

1.1.4.4.2. Nöropatik Ağrı

Nörolojik bir yapı veya işlevin değişmesi ile ortaya çıkar. Diyabette olduğu gibi salgılanan çeşitli maddelerin sinir dokusunu etkilemesi veya disk hernisinde (bel fıtığı) olduğu gibi mekanik bir baskı sonucunda, ağrı algılayıcılarının doğrudan etki altında kalmasıyla ortaya çıkan ağrı tipidir. Non noniseptif ağrılar için yaygın olarak kullanılan bir terimdir. Nöropatik ağrının nosiseptif ağrıdan en belirgin farkı, sürekli bir nosiseptif uyarının bulunmamasıdır. Nöropatik ağrı duyusal bozukluğun olduğu bölgede algılanmaktadır. Aralıklı, kısa süreli, batıcı, saplanıcı tarzda bir ağrıdır. Hoş olmayan uyuşukluk hissi, yanma, karıncalanma gibi hisler mevcuttur. Ağrı, doku harabiyetini oluşturan patolojinin devam etmemesine rağmen mevcuttur. Ağrı eşiği düştüğü için normalde ağrısız olan bir uyarı ağrı meydana getirebilir; ayrıca hiperaljezi de oluşabilir. Omurilik yaralanması, multipl skleroz, epilepsi ve felç gibi yapısal değişikliklere bağlı olarak gelişen ağrılar nöropatik ağrıya diğer örneklerdir. Nöropatik ağrının tedavisinde bilinen analjeziklerin çoğu yetersizdir. Bu durumda santral etkili antidepresanlar, sedatifler gibi ikincil analjezikler olarak adlandırılan ilaçlar kullanılmaktadır.

1.1.4.4.3. Deaferantasyon Ağrısı

Periferik ve santral sinir sistemindeki bozukluklara bağlı olarak somatosensoryal uyarı iletiminin kesilmesiyle ortaya çıkan ağrılardır. Normalde önce omuriliğe daha sonra merkezi sinir sistemine giden ileti, sinir harabiyetine bağlı olarak kesilmiştir. Bir anlamda sinirin elektriksel deşarjında kısa devreler meydana gelmiştir ve bu kısa devreler ağrıya yol açmaktadır. Yanıcı tarzda bir ağrıdır. İlk birkaç ay içerisinde tedavi edilmediğinde çok uzun süreli ve geçmeyen ağrılara yol açabilir. Fantom (hayalet) ağrıları, zona sonrasında görülen ağrılar bu ağrı tipine örnektir.

1.1.4.4.4. Reaktif Ağrı

Vücudun çeşitli olaylara karşı bir reaksiyonu olarak motor ya da sempatik afferentlerin refleks aktivasyonlarıyla nosiseptörlerin uyarılması sonucu ortaya çıkan ağrılardır. Damarların büzüşmesiyle ortaya çıkan ağrılar, halk arasında kulunç olarak bilinen kas ağrıları, sürekli, derin ve sızlayıcı nitelikte olan miyofasyal ağrılar bu ağrı tipine örnektir.

1.1.4.4.5. Psikosomatik Ağrı (Psikojenik Ağrı)

Anksiyete ve depresyon gibi psikolojik sorunların arttığı durumlarda ağrı olarak tanımlanan duygulardır. Hasta, bir anlamda ağrıyı kullanarak çeşitli sorunlarını; kişisel, ekonomik veya toplumsal; ağrı biçiminde ifade ederek ilgi çekmeye ve dikkati kendi üzerinde toplamaya çalışmaktadır. Kısaca hastanın psişik veya psikososyal sorunlarını ağrı biçiminde ifade etmesidir. Ağrılı bir durum mevcut olsa bile, asıl sorun psikolojik olup hastanın nörofizyolojik duyarlılığının artması ile önemsiz bir doku sorununu aşırı şekilde hissetmesidir. Antidepresan ilaçlarla birlikte psikiyatrik tedavinin de uygulanması şarttır (Aydın, 2002; Çakmak, 2007).

1.1.4.5. Ağrı Tedavisi

Ağrı tedavisinde öncelikle hastanın ayrıntılı bir biçimde değerlendirilmesi gereklidir. Ağrının başlangıcı, gelişimi, yeri, niteliği ve şiddeti bilinerek, mekanizmasının ve hastanın genel durumunun değerlendirilmesi, en uygun tedavi yönteminin bulunması açısından büyük önem taşımaktadır.

Genel olarak ağrı tedavisinde kullanılan ilaçlar ve yöntemler şu şekilde sınıflandırılmıştır:

- Ağrı kesici ilaçlar,
- Fizik tedavi yöntemleri,
- Sinir blokları,
- Radyofrekans termokoagülasyon,
- Radyoterapi,
- İntraspinal sistemler,
- Cerrahi yöntemler,
- Psikolojik yöntemler,
- Alternatif tıp yöntemleri.

1.1.4.5.1. Ağrı Kesici İlaçlar

Analjeziklerin kullanımı çok eski zamanlara kadar dayanmaktadır ve hatta insanlığın tarihi kadar eskidir. Opium ve bundan elde edilen morfin ve benzeri türevlerinin yaklaşık 5000 yıllık bir geçmişi vardır. Non-steroidal antienflamatuar ilaçların atası sayılan salisilik asit yani aspirin ise 100 yıldan beri kullanılmaktadır. Analjezikler en sık kullanılan ilaçların başında gelmektedir. Bu yaygın kullanımları analjeziklerin yanlış kullanımını da beraberinde getirmektedir. Bu nedenle analjezik kullanımında ilkelerin doğru belirlenmesi ve hastaların yeterince bilgilendirilmesi son derece önem taşımaktadır.

Analjeziklerin doğru kullanılmasında;

- Öncelikle oral yol tercih edilmelidir,
- Analjeziklerin verilme sıklığı her hasta için ayrı düzenlenmelidir,
- Analjezikler ağrı başlamadan önce ve düzenli aralıklarla verilmelidir,
- Analjezikler basamak ilkelerine göre, yani en düşük etkiliden en yüksek etkiliye doğru olacak şekilde hastaya verilmelidir.

Analjeziklerle tedavide ilk olarak en düşük basamakta yer alan aspirin ve benzeri ilaçlar yani non-steroidal antienflamatuar ilaçlar verilmelidir. Bu ilaçlara ilave olarak ikincil analjezikler olarak adlandırılan antidepresanlar, kas gevşeticiler ve benzeri ilaçlar bulunmaktadır. Bu aşamadan sonra ise morfin türevleri yer almaktadır. Dünya Sağlık Örgütü tarafından geliştirilmiş olan bu üçlü basamak yaklaşık olarak hastaların % 80-85'inde etkili olmaktadır. Bu yöntemler etkili olmadığı takdirde girişimsel yöntemlere geçilmesi gerekmektedir.

1.1.4.5.2. Ağrı Kesicilerin Sınıflandırılması

1.1.4.5.2.1. Periferik Etkili Analjezikler

Bunlar bölgesel etkili ağrı kesiciler ya da non-steroidal antienflamatuar ajanlar olarak da bilinmektedirler. **Hoffman** tarafından 1853'de söğüt ağacının kabuğundan aspirinin geliştirilmesi ve 1893 yılında ise Bayer firması tarafından tedaviye sunulması periferik etkili analjeziklerin başlangıcı olarak kabul edilmektedir.

Non-steroidal antienflamatuar ilaçlar, değişen düzeylerde analjezik, antipiretik ve antienflamatuar etki göstermektedirler. Hafif ve orta şiddetteki ağrılardan baş ağrısı, diş ağrısı ve bel ağrılarında; migren ve dismenorede, romatizmal ateşte, romatoid artrit, osteoartrit, tendinit, gut gibi enflamasyon durumlarında, kronik ağrılarda ve kanser ağrılarında (özellikle kemik metastazı olan) semptomatik olarak kullanılmaktadırlar.

Non-steroidal antienflamatuar ilaçlar etkilerini araşidonik asit metabolizmasındaki önemli enzimlerden bir tanesi olan siklooksijenazı (COX) inhibe ederek prostaglandinlerin sentez ve salınımlarını azaltmak suretiyle göstermektedirler. Prostaglandinler nosiseptörleri mekanik uyaranlara karşı duyarlılaştırmak ve ağrı iletimini baskılayan inen yollarla etkileşime girmek suretiyle ağrı oluşumunda rol alan önemli mediyatörlerdir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarla non-steroidal antienflamatuar ajanların periferik etkileri yanında merkezi etkilerinin de var olduğu tespit edilmiştir.

Non-steroidal antienflamatuar ilaçların santral analjeziklerden farklı olarak bağımlılık oluşturma, tolerans geliştirme, solunum depresyonu ve uyku haline yol açma gibi dezavantajları yoktur. Ancak bunların yanında non-steroidal antienflamatuar ajanların tavan etkisi vardır. Tavan etkisi belli bir dozun üzerinde verildiklerinde analjezik etki görülmemesi buna karşı yan etkilerinin artmasıdır. Kullanımlarında bu tavan etkisine dikkat edilmelidir. Non-steroidal antienflamatuar ajanların kullanımında dikkat edilecek bir diğer nokta ise semptomatik amaçla yalnızca ihtiyaç duyulduğu zaman değil düzenli olarak kullanılmalarıdır.

Non-steroidal antienflamatuar ajanlar başlıca mide-barsak sistemi üzerinde, böbreklerde, kalp damar sisteminde, karaciğerde, kan değerleri ve pıhtılaşması üzerinde ve akciğerde bazı yan etkilere sahiptirler; alerji veya deri döküntüleri meydana getirebilirler.

Non-steroidal antienflamatuar ajanlara örnek olarak şunlar verilebilir: Aspirin, parasetamol (asetaminofen), diklofenak sodyum, diflunisal, etodolak, ibuprofen, indometazin, ketoprofen, ketorolak trometamin, naproksen sodyum, piroksikam, sulindak. Non-steroidal antienflamatuar ajanların analjezik etkisi opioid analjezikler, antidepresan ilaçlar ve ilaç dışı tedavi yöntemleriyle birlikte uygulandığında güçlenmektedir (Erdine, 2007a).

1.1.4.5.2.2. Santral Etkili Analjezikler

Merkezi etkili ağrı kesiciler ya da **opioid analjezikler** olarak da bilinmektedirler. Morfin ve benzeri ilaçlar için kullanılan "narkotik analjezikler" geçmişte sıklıkla kullanılmış olsa da yanlış bir adlandırmadır. "Opiat" sözcüğü opiumdan elde edilen doğal ve yarı sentetik ilaçlar için kullanılmakta, "opioid" sözcüğü ise morfin benzeri tam sentetik ilaçlar için kullanılmaktadır. Ancak günümüzde opioid sözcüğü morfine benzer doğal, sentetik ve yarı sentetik tüm ilaçları kapsamaktadır. Morfin ilk kez 1803 yılında **Sertürner** tarafından opiumdan izole edilmiştir. Günümüzde morfin benzeri yarı sentetik, sentetik pek çok ilaç bulunmasına rağmen morfin ağrı kesici olarak değerini hala korumaktadır.

Opioid analjezikler ağrının algılanmasını ve ona karşı reaksiyonu değiştirerek merkezi sinir sistemine ağrının taşınmasını engellemektedirler. Opioidler, kendilerine özgü reseptörlere bağlanarak etkilerini göstermektedirler (Erdine, 2007a).

Morfin ağrı iletimini hem spinal düzeyde hem de supraspinal düzeyde etkilemektedir. Spinal düzeyde etki yerinin, omuriliğin arka boynuzundaki birinci ağrı nöronu (duyusal nöron) ile ikinci nöron arasında olduğu düşünülmektedir. Presinaptik opioid reseptörlerini aktive etmek suretiyle, presinaptik inhibisyon meydana getirmektedir. Bu reseptörler inici sistemin uyarılması sonucunda ara nöronların ucundan salıverilen enkefalinlerin etkiledikleri reseptörlerdir. Supraspinal analjezik etkinliği ise omurilik arka boynuzuna ve trigeminusun duyusal çekirdeğine giden inici inhibitör yolakların aktivasyonuna bağlıdır. Morfinin supraspinal analjezi oluşturmasında kısmen talamusta bulunan nöronlar ile ve diğer bazı subkortikal yapılardaki etkisinin de katkısı vardır. Talamusun spesifik çekirdeklerindeki impulsu inhibe etmemektedir; buna karşılık periferik uyarılarla non-spesifik talamus çekirdeklerinde meydana getirilen aksiyon potansiyellerini inhibe etmektedir (Kayaalp, 1998).

Morfin ve benzeri ilaçların her türlü ağrıda kullanıldığı iddiası yanlıştır. Şiddetli ve sürekli ağrıda yararlı bir kullanıma sahiptirler ancak, keskin, arada sırada gelen

ağrıda çok etkili değildir; kanser ve diğer hastalıklara bağlı kronik ağrılarda kullanılmaktadırlar.

Sıklıkla gözlenen yan etkileri: Disfori, uyku hali, solunumun bozulması, öksürük refleksinin baskılanması, bulantı-kusma, kabızlık, idrar yapmada güçlüktür. Ayrıca opioidlere karşı fiziksel ve psişik bağımlılık gelişebilir bu nedenle terapötik dozlarda ve farmakokinetik özelliklerine uygun doz aralıklarında kullanılmalıdır; böylelikle hastalarda hem ağrı etkin bir biçimde kontrol altına alınabilir hem de bağımlılık gelişme olasılığı azalır.

Opioid türevleri dört gruba ayrılır:

- Morfin, kodein ve yarı sentetik türevler (hidromorfon, oksikodon, oksimorfon, eroin, levorfanol, rasemorfan),
- Sentetik türevler (meperidin, metadon, dekstromoramid, fentanil, dekstropropoksifen, sufentanil, alfentanil, tilidin, anileridin, piminodin, femoperidin, alfaprodin, levo-alfa-asetil metadol),
- Karma etkili türevler (agonist-antagonist etki) (pentazosin, nalbufin, butorfanol, siklazosin, buprenorfin, meptazinol, dezosin, propriam, nalorfin),
- Antagonistler: Nalokson, naltrekson (analjezik etki yoktur).

1.1.4.5.2.3. Sekonder (İkincil) Analjezikler

Adjuvan analjezikler adıyla da bilinmektedirler. Esas kullanım alanları ağrı olmayan, ancak bazı ağrı sendromlarında faydalı oldukları bilinen, birbirlerinden çok farklı farmakolojik gruplarda yer alan ilaçlardır. Bu gruptaki ilaçlar ya doğrudan kendileri ağrı kesici etki gösterirler ya da diğer ağrı kesicilerin etkilerini kuvvetlendirirler. Bazen tek başlarına bazen kendi aralarında bazen de primer analjeziklerle kombine halde kullanılabilmektedirler. Antidepresanlar, antikonvülzanlar, lokal anestezikler, α-adrenerjik agonistler, kas gevşeticiler, immunosupresifler (kortizonlar), kalsiyum düzenleyiciler gibi birçok ilaç grubu ikincil analjezikler içinde yer almaktadır. Özellikle morfin ve aspirin gibi bilinen ağrı kesicilerin etkili olmadığı durumlarda bu

ikinci grup analjezikler daha etkili olmaktadırlar. Bu nedenle bu gruba yeni kuşak ağrı kesiciler adı verilmektedir (Erdine, 2007a).

1.1.4.5.2.4. Ağrı Tedavisinde Kullanılan Fitofarmasötikler

Ağrı tedavisinde fitofarmasötikler de önemli bir yere sahiptir. Ağrı kesici olarak kullanılan bitkisel ürünler de ağrı kesici ilaçlar gibi ya doğrudan ağrıyı gidererek, ya antienflamatuar etkileri nedeniyle non-steroidal antienflamatuar ilaçlar gibi ağrıya neden olan enflamasyonu gidererek veya sekonder analjezikler gibi sedatif, spazm giderici, kas gevşetici v.b. etkilerle ya da tüm bu etkileri kombine halde göstererek etkilerini ortaya koymaktadırlar. Bu etki mekanizmaları bitkisel ilaçlarda çoğunlukla birden çok etken maddenin varlığı nedeniyle içiçe geçmiş durumdadır.

Halk arasında ağrı kesici olarak kullanılan çok sayıda bitkinin varlığına karşılık yapılan bilimsel çalışmalar oldukça az sayıdadır. Bununla birlikte günümüzde etkinliği klinik çalışmalarla da kanıtlanmış ve piyasada preparatları bulunan bazı ürünler de bulunmaktadır. Bunlara örnek olarak şunlar verilebilir:

- Feverfew (*Tanacetum parthenium*)
- Devil's Claw (*Harpagophytum procumbens*)
- White Willow Bark (*Salix alba*) (Heinrich ve ark., 2004; Gagnier ve ark., 2007; Integrative pain medicine, 2009).

1.1.4.6. Deneysel Ağrı Araştırmalarında Kullanılan Hayvan Modelleri

Hayvanlar üzerinde yapılan ağrı testlerinde amaç ya herhangi bir maddenin potansiyel analjezik etkinliğini belirlemek ya da ağrı mekanizmasını açıklamaktır. Hayvanlar üzerinde yapılan ağrı çalışmalarında en önemli problem ağrının hayvanda

doğrudan gözlenememesi nedeniyle ölçümünde yaşanan güçlüklerdir. Bu durumda ağrıyı yalnızca nosiseptif uyarıya verilen yanıtların incelenmesiyle ölçmek mümkün olmaktadır fakat bu yanıtlar mutlaka her zaman bu yanıtlara eşlik eden bir duyarlılık olduğu anlamına gelmemektedir. Analjezinin oluşumundan tek bir mekanizmanın sorumlu olmayışı, birden çok mekanizmanın devreye girmesi; bunun yanında hayvanın sözlü olarak kendini ifade edememesi gibi nedenler ağrı testlerinin geliştirilmesi için yapılan tüm çalışmalara rağmen, halen ağrı ile hayvan davranışının tam olarak ilişkilendirilememesinin başlıca sebepleridir. Hayvanlar sözlü olarak kendilerini ifade edemezler fakat benzer durumlara benzer motor yanıtlar verirler. Ağrının ne zaman algılandığının tespit edilebilmesi için hayvan davranışlarının doğru değerlendirilmesi bu açıdan büyük önem taşımaktadır. Ayrıca her hayvan türü, ağrıyı kendi davranış dağarcığına göre kendi davranışlarıyla ifade etmektedir. Bu açıdan bakıldığında her bir türün davranışlarının tanımlanması, yapılan testlerde kullanılan hayvan türüne göre önem kazanmaktadır. En güvenilir ağrı işaretleri fiziksel olanlardır. Özellikle hayvanın uyarana çığlık atma (haykırma) veya inleme gibi sesli yanıtlar verdiği bazı durumlar vardır ki bu durumlarda hayvanın ağrı hissettiğine dair neredeyse hiç şüphe duyulmaz. Diğer taraftan hayvanın ağrı hissetmediğini tespit etmek çok daha zordur çünkü bunu gösteren tipik fiziksel bir işaret veya belirgin bir davranış yoktur. Şu da bilinmektedir ki bitkinlik ve/veya hareketsizlik de bazen ağrıya eşlik edebilir. Davranışsal reaksiyonlarla ilgili yapılan hayvan deneylerinin yalnızca zararlı olabilecek uyarılar sonucunda oluşan hoş olmayan duyarlılığı göstermeye yaradığı, ve gözlenen davranışların çoğunlukla spesifik olmadığı unutulmamalıdır (Le Bars ve ark., 2001; Arıcıoğlu, 2007).

Ağrıya verilen yanıtlar, yanıtı veren odak noktasına göre ayırt edilebilir:

1. Merkezi sinir sisteminde aşağıda yer alan merkezler tarafından düzenlenen yanıtlar,
2. Merkezi sinir sisteminde yukarıdaki merkezler tarafından düzenlenen daha kompleks yanıtlar.

İlk bahsedilen yanıt şekli, beyin fonksiyonları olmayan hayvanlarda da sağlanabilir ve bu yanıt şekli "pseudoaffective reflexes" olarak isimlendirilmiştir. Basit motor yanıtlardır; geri çekme, sıçrama, kasılma ve benzeri nörovejetatif reaksiyonlar, taşikardi, arteriyel hipertansiyon, midriyazis, nefes alışının artması gibi sempatik tonuslarda artış ve ses çıkarma şeklinde gözlenen yanıtlardır.

Daha kompleks (karmaşık) reaksiyonlar ise şartlı motor refleksleri içerir; bir öğrenme periyodu sonucunda oluşurlar ve bu periyot bazen çok hızlı olabilir. Genel olarak bu davranışların önemi, yeni bir hasarın oluşumuna karşı koruma kadar var olan bir lezyonun da kötüleşmesinden kaçınmadır. Kaçma, ağrılı deneyimden sorumlu nesneye güvenmeme, kaçınma, saldırganlık gibi davranışsal reaksiyonlara veya çeşitli davranışlarda (sosyal, seksüel, beslenme ve uyku gibi) değişime sıklıkla rastlanmaktadır. Eğer uyarı yeterince şiddetli olursa verilen reaksiyon kaçma veya saldırı şeklinde olmaktadır. Kısa ve keskin ağrılar söz konusu ise; geri çekme, sıçrama gibi motor yanıtlar görülür. Bununla birlikte şu da kaydedilmiştir ki; aktif motor reaksiyonlar kadar pasif motor yanıtlar da sıktır. Hareketsizlik hayvanın ağrısız bir pozisyonda kalmasını sağlar. Özellikle uzun süren ağrılar kasılma ile ilgili olabilir ve hayvan bu durumda uzun süre ağrılı bölgeyi hareket ettirmez.

İnsanlarda bir duyu olarak tanımlanan ağrı, hayvanlarda yalnızca onların tepkileriyle değerlendirilebilmektedir. İnsanlarla kıyaslandığında özellikle serebral yapılardaki farklılıklar nedeniyle hayvanlardaki ağrı sorusuna ancak insani bir yaklaşım söz konusu olabilmektedir. Kortikal gelişimin derecesi düşünüldüğünde ki; tek fark bu değildir; en azından insanlarla hayvanların fizyolojik tepkilerindeki farklılıkların varlığı bir açıdan açıklanabilmektedir (Le Bars ve ark., 2001).

1.1.4.6.1. Uyarı ve Yanıt

Bilinci yerinde hayvanlar üzerinde yapılan deneysel çalışmalar genellikle davranışsal çalışmalar olarak tasarlanmıştır. Davranışsal kelimesi geniş bir ifade olmakla birlikte burada bahsedilen, basit bir biçimde geri çekme reflekslerini de içeren, hayvanların

davranış dağarcığının birer parçası olan tüm yanıtlar anlamındadır. Nosisepsiyon çalışmalarında kullanılan davranışsal testler yani nosisepsiyon testleri, bir uyarı-yanıt (input-output) sisteminden oluşmaktadır. Bu testler tanımlanırken karakteristik bir input (araştırıcı tarafından uygulanan uyarı) ve bir output (hayvanın reaksiyonu) belirtilmelidir. Bu nedenlerle bu testlerin tanımlanmasında öncelikle uyarıcının nasıl olduğu belirtilmeli daha sonra da ölçülen davranışın parametreleri belirlenmelidir.

Kullanılan uyarıcı tipleri 4 ana başlık altında toplanabilmektedir:

1. Elektriksel,
2. Termal,
3. Mekanik,
4. Kimyasal.

Uyarıcının ayrıca sahip olması gereken bazı özellikler vardır. Bunlar; ölçülebilir, yeniden tekrar edilebilir olması ve yayılıcı olmamasıdır. Uyarıcı tiplerinin hiçbirisinin ideal olmadığı düşünülmekle birlikte, kimyasal uyarının akut klinik ağrıyı en çok taklit eden uyarı tipi olduğu düşünülmektedir (Le Bars ve ark., 2001).

1.1.4.6.1.1. Elektriksel Uyarı

Elektriksel uyarının kullanımı 19. y.y. ortalarına kadar uzanmaktadır. Dokunun elektriksel uyarımında, afferent lifler kalınlıklarıyla ters orantılı olarak uyarılmakta yani ilk olarak A-β daha sonra A-δ ve en sonunda C lifleri aktive olmaktadır ki bu küçük çaplı sinirlerin diğer lifler uyarılmadan uyarılmalarının mümkün olmadığı anlamına gelmektedir.

Elektriksel uyarı uygulama açısından; ölçülebilir, yeniden yapılabilir olması, yayılıcı olmaması ve senkronize afferent sinyaller üretilebilmesi açısından avantajlıdır. Ancak bunların yanı sıra bazı ciddi dezavantajları da vardır. En başta yer alan şudur; elektriksel uyarı normal çevrede karşılaşılan doğal bir uyarı tipi değildir. Daha da

önemlisi şiddetli elektriksel uyarı ile nosisepsiyona doğrudan karışmayan geniş çaplı lifler de dahil olmak üzere, ayırdetmeden tüm periferal liflerin uyarılmasıdır. Duyu sinirlerine elektriksel uyarı uygulandığında, geniş ve ince çaplı tüm tiplerdeki periferal liflerin nonselektif aktivasyonu sonucu ağrı da dahil olmak üzere birçok duyu meydana gelmektedir. Bu dezavantaj bir diğer taraftan sistemik olarak alınan bir maddenin merkezi sinir sistemi üzerindeki etkilerini araştırmak için bir avantaj haline gelmektedir. Bir diğer dezavantajı ise uyarılan dokuların özdirencinde değişiklikler meydana getirmesi ve bu nedenle tanımlanan bazı güçlüklerdir. Bu durum ancak sabit akımlı uyarıcı kullanımı ve voltajın yanı sıra uygulanan uyarının akımının da izlenmesiyle minimuma indirilebilir. Ancak sabit akımlı uyarıcı kullanımı da tüm problemleri çözmez, sadece verilen akımın teslim edildiğini doğrular, niyetlenen hedefe (örn: hayvan pençesi) sabit bir biçimde gittiğini doğrulamaz çünkü her zaman diğer iletken ortamlardan, değişebilen miktarlarda akım iletilebilme olasılığı vardır. Bunun olup olmadığını değerlendirmek için akımı üretmede gereken voltajın izlenmesi esastır; çünkü bu durum dokuların özdirenci ile değişmektedir; böylece özdirencin deney esnasında değişip değişmediği gözlenebilmektedir.

Elektriksel uyarı, şiddetine bağlı olarak, spinal reflekslerden karmaşık sesli yanıtlara ve oldukça organize şekildeki bazı davranışlara (kaçma ve saldırganlık gibi) kadar değişen geniş bir davranışsal yanıt aralığı ortaya çıkarabilmektedir (Le Bars ve ark., 2001; Arıcıoğlu, 2007).

1.1.4.6.1.2. Termal Uyarı

Termal uyarı kullanılan testlerde uyarılan daima cilttir. Isı derideki reseptörleri uyarmada daha selektiftir; nosiseptörleri ve ilave olarak termoreseptörleri uyarmaktadır. Radyan ısının kullanıldığı kuyruk kaldırma testinde ise dokunma duyusuna ilişkin bir uyarı meydana gelmediği için daha da selektif bir uyarı oluşmaktadır. Termal uyarı kaynağı hedeften uzak olabilir (kuyruk kaldırma testi) veya doğrudan cilt ile temas halinde olabilir (sıcak tabaka, kuyruk daldırma testi v.b.). Termal ısı kullanılan modellerde en önemli dezavantajlardan biri kalori gücü

zayıf olan uyarıcıların (radyan lambalar gibi) bu metodu sınırlandırmasıdır. Bu yolla derinin ısıtılma hızı yavaş olmakta, bunun sonucunda da periferal ve merkezi nöronlar farklı zamanlarda aktive olmaktadır. Bu nedenle liflerin eşzamanlı uyarılmasının gerektiği duyusal sistemler için uygun bir yöntem değildir. Diğer taraftan hayvanın kuyruğunun veya pençesinin termostatik banyoya daldırılması bir anda değil fakat nispeten daha hızlı bir sıcaklık artışı sağlamaktadır. Diğer bir dezavantaj ise geleneksel olarak kullanılan radyasyon kaynaklarının visible bölge ve ona komşu IR bölgesindeki ışınlarının cilt tarafından zayıf absorbe edilmesi ve iyi yansıtılmasıdır.

Termal radyasyonun sıcaklığı ağrı eşiğine kadar yükseltmesi bazı parametrelere bağlıdır: Birincisi cildin radyasyon özellikleri, yani yansıma, geçirgenlik ve absorbsiyon özellikleri ki; bu özellikler radyasyon kaynağından yayılan elektromanyetik spektruma bağlıdır ve akkor lamba aracılığıyla verilen elektrik akımının şiddetiyle değişir. Ayrıca cildin pigmentasyonu ile de değişmekte, pigmentasyon arttıkça absorbsiyon azalmaktadır. İkincisi cildin iletme özellikleri (yayılma gücü) ve üçüncüsü cildin başlangıç (ilk) sıcaklığıdır. Cilt yüzeyine verilmek için salıverilen ısı enerjisinin miktarı ise ampulün spektral yoğunluğunun gücüne ve maruz kalma süresine bağlıdır (Le Bars ve ark., 2001; Arıcıoğlu, 2007).

1.1.4.6.1.3. Mekanik Uyarı

Mekanik uyarı 20. y.y.'da von Frey tarafından kullanılan ve nörologlar tarafından ilgi gören bir yöntem olmuş, ancak termal testlerin ortaya çıkmasıyla eski popülerliği kalmamıştır. Genel olarak ağrı eşiğinin belirlenmesinde kullanılan bir uyarı tipidir. Arka pençe veya daha az olarak kuyrukta belirli bir noktaya giderek artan şiddette sürekli basınç uygulanır. Basınç uygulaması ağrı eşiğine gelindiğinde kesilir. Eşiği belirlemek için ölçülen parametre gözlenen davranıştır; pençenin aniden geri çekilmesi, hayvanın pençesini kurtarmak için mücadele etmesi ve vokalizasyondur. Mekanik uyarıya yanıt uyarının durdurulmasıyla hemen elde edilmektedir ancak yöntem uyarının hızlı bir biçimde verilmesine ve sinir liflerinin eş zamanlı uyarılmasına izin vermez. Bu da dezavantaj açısından termal uyarıyla hemen hemen

aynıdır. Mekanik uyarı ile düşük eşikli mekanoreseptörler ve nosiseptörler aktive olmakta ve bu nedenle de bu tipte uyarı spesifik olmamaktadır. Ayrıca bazı durumlarda uyarının şiddetini ölçmek tam olarak mümkün olmamakta ve mekanik uyarı gerçekten nosiseptif özellikte olduğunda veya tekrarlandığında dokuda değişiklikler, duyarlılık veya gerçek yaralar meydana gelebilmektedir. Bunların dışında, mekanik uyarı uygulanmasında özellikle de serbest hareket eden hayvanlarda bazı teknik sorunlar yaşanmaktadır. Nosiseptif uyarının uygulandığı bölgelerin kemirgenler gibi küçük hayvanlarda küçük olması nedeniyle araştırıcı için uyarı ve reaksiyonu ayırt etmede de bazı problemler ortaya çıkabilmektedir. Ağrılı mekanik uyarı ile üretilen yanıtlar uyarının şiddeti ve/veya süresi ile ilişkili olarak sesli reflekslerden kompleks motor davranışlara kadar derecelendirilmiş bir aralıkta, ihmal edilemeyecek kadar çok çeşitliliktedir, bu nedenle bireysel farklılıklar fazladır (Le Bars ve ark., 2001; Arcıoğlu, 2007).

1.1.4.6.1.4. Kimyasal Uyarı

Kimyasal uyarı ağrı yapıcı ajanların yavaş hatta çok yavaş verilmesini içeren bir uyarı biçimidir. Bu açıdan bakıldığında kimyasal uyarı diğer uyarı biçimlerinden çok belirgin bir biçimde farklıdır, ayrıca daha gelişmiş, daha uzun süren ve bir kez uygulandığı takdirde kaçınılmaz bir özelliğe sahiptir. Ancak bu uyarı tipiyle eş zamanlı tipik refleksler meydana getirilemez. Meydana gelen davranışlar değişken olsa da kemirgenlerde nispeten basmakalıp davranışlardır. Kimyasal uyarı kullanılan testler bahsedilen diğer testlerden açık bir biçimde fiziksel yapı ve süreç açısından ayırt edilebilmektedir. Bu tip uyarı kullanılan testlerde ağrı eşiği hiçbir şekilde ölçülemez fakat eşiğin üstündeki bir uyarıya yanıt kaçınılmaz bir biçimde birim zamandaki davranışsal skorla ölçülebilir. Kimyasal deneysel modeller doğal klinik ağrıya en yakın olanlardır (Le Bars ve ark., 2001).

Tüm nosiseptif uyarılar fiziksel özellik, uygulama yeri, uygulama yerinin geçmiş hikayesi olmak üzere üç farklı parametreye bağlıdır.

Uyaranın fiziksel özelliği kontrol edilebilir bir parametredir. Fizyolojik açıdan bakıldığında uyaranın şiddetinin (intensity), süresinin (duration) ve uyarının yüzey alanının kontrol edilmesi esastır. Bu üç parametre nosiseptif bilginin genel miktarını belirler ve bu bilgi periferik sinir sistemi tarafından merkezi sinir sistemine taşınır. Uyarının vücutta somatik, visseral, eklemsel ve kassal olmak üzere hangi bölgeye uygulandığı ikinci parametredir. Klinik ağrı tipinin başlıca hangi doku tipinden kaynaklandığını ayırt etmek oldukça önemlidir. Nosiseptif testlerde genellikle uyarı cilde uygulanır, daha az olarak iç organlarla ilgili yapılara uygulanır. Ayrıca insanlarda ve hayvanlarda cilt dokularının duyarlılığında farklılıklar olabileceği de dikkate alınmalıdır. Ayrıca bazı türlerde cildin bazı bölgelerinin spesifik fonksiyonlara sahip olduğu bilinmektedir. Örneğin kemirgen kuyruğu pek çok nosiseptif testte kullanılan bir yapıdır ve ısı düzenlenmesi, dengelenmesi için en önemli organdır. Üçüncü parametre ise uygulama yerinin geçmiş hikayesidir.

Uyarı uygulanırken dikkat edilmesi gereken bir diğer konu ise lezyon oluşturulmamasıdır. Bu nedenle hayvanın uyarıya ne kadar maruz kalmasının gerektiği (cut off time) ile ilgili sınırlar belirlenmelidir. Bu limit uyarının şiddeti arttırıldığında çok daha önemli olmaktadır. Ayrıca uyarının tekrarlanması periferal reseptörlerde duyarlılığa ve/veya merkezi duyarlılığa (omurilik seviyesinde mediatörlerin birikimiyle) ve antinosiseptif etki sırasında zaman limitinin artmasına neden olabilmektedir. Zaman limitini belirlemek için kontrol reaksiyon zamanının üç kez yapılması önerilmektedir.

Uyarıya verilen yanıt ya da reaksiyonlar çoğunlukla basit refleks hareketlerden daha karmaşık davranışlara (kaçma, kaçınma) kadar uzanan geniş bir yelpazede gözlenir. Hemen hemen tüm olaylarda motor yanıt gözlenmektedir, istem dışı (vejetatif) yanıtlar ise yalnızca ara sıra dikkate alınmaktadır. Bu testlerden elde edilen tüm sonuçlar göz önüne alındığında şu mutlaka akılda tutulmalıdır ki nosiseptif işlem diğer olaylarla özellikle de hareketlilikle etkileşebilir. Ayrıca buna eşit derecede önemli olduğu düşünülen bir diğer durum da nosisepsiyonun organizmanın hemostatik dengesinden sorumlu diğer olaylar arasında yer aldığıdır. Günümüzde sekonder yan etkiye sahip olmayan bir analjezik olmadığı düşünülürse nosisepsiyon

testlerinin sonuçlarını analiz etmenin ne denli zor olduğu anlaşılmaktadır (Le Bars ve ark., 2001).

1.1.4.6.2. Nosisepsiyon Davranış Modelleri

Hayvanlarda nosisepsiyon için ideal bir davranışsal modelin bazı özelliklere sahip olması gerekir. Bunlar; spesifite, sensitivite, geçerlilik, güvenilirlik ve tekrarlanabilirliktir. Ancak hiçbir nosisepsiyon testinin bu kriterlerin tümünü taşımaması nedeniyle hangi testin kullanılacağının seçimi genellikle tartışmalı bir durumdur.

1.1.4.6.3. Deneysel Ağrı Modelleri

Deneysel ağrı modellerini değişik şekillerde sınıflandırmak mümkündür. Uyarıya karşılık alınan yanıtın eşik veya eşik üstü olmasına göre temel olarak iki gruba ayırmak mümkündür. Fakat yapılan tüm testlerde yanıtın yalnızca tek bir nokta olarak eşik mi yoksa eşik üstü mü olduğu ölçülebilir. Eğer ağrı modeli akut kütanöz ve akut visseral ağrı olarak düşünülürse, yapılan testler kısa süreli uyarıya (saniyeler süren) dayanan ve uzun süreli uyarıya (dakikalar süren) dayanan testler olmak üzere temel olarak iki gruba ayrılır. Kısa süreli uyarıya dayanan testlerde, genellikle giderek artan şiddette deri üzerinde küçük bir alana fiziksel bir uyarı (termal, mekanik ve elektriksel) uygulanır. Uzun süreli uyarıya dayanan testler ise deri veya iç organ kaynaklı ağrılarla ilgilidir, kimyasal bir uyarıcı subkutan veya intraperitoneal olarak uygulanır. Ayrıca bu uzun süreli ağrı kategorisine iç organların distansiyonuna dayalı testler (visseral mekanik uyarı) de eklenebilir. Bu tip uyarılar da orta derecede bir zaman almaktadırlar. Kullanılmakta olan deneysel ağrı modelleri **Çizelge 1.**'de özetlenmiştir.

1.1.4.6.3.1. Kısa Süreli Uyarı Kullanılan Testler

Bu testler yaygın olarak kullanılırlar ve genellikle:

- Kısa süreli uyarı içerirler,
- Visseral bölgelerden çok somatik bölgelerin uyarılmasına dayanan yöntemlerdir,
- Sonuç olarak ağrı eşiğinin ölçülmesini içerirler,
- Genellikle giderek artan şiddetteki uyarıcıya yanıt zamanını ölçmeyi içeren yöntemlerdir ki bu reaksiyon zamanı eşikle ilişkilidir,
- Minimum yüzey alanının uyarılmasını içeren yöntemlerdir, ancak önemli iki istisna vardır; sıcak tabaka ve elektrikli ızgara (electrified grid) yöntemlerinde dört pati ve kuyruk eş zamanlı uyarılır.
- Uyarının tipine göre; termal, mekanik ve elektriksel uyarı olarak sınıflandırılabilir.

1.1.4.6.3.1.1. Termal Uyarıcının Kullanımına Dayanan Testler

Termal stimülasyon içeren testlerde daima cilt uyarılmaktadır. Bu testler visseral veya kas-iskelet dokularının uyarılmasını içermezler. Radyan ısı, termoreseptörleri uyarır ve giderek artan termal uyarının kullanımı ile organize ve değiştirilemez bir biçimde önce termoreseptörlerin, sonra termoreseptörler ve nosiseptörlerin, daha sonra yalnızca nosiseptörlerin ve en son olarak nosiseptörlerle paradoksal soğuk reseptörlerinin birlikte uyarıldığı bir zincirleme aktivasyon başlar.

İlk çalışma **Ercoli** ve **Lewis** tarafından 2200 sıçan üzerinde yapılmıştır. Işın hayvanların bir gün önceden traş edilmiş sırtlarına yöneltilmiş ve eş zamanlı olarak süre ölçülmeye başlanmıştır. Başarılı bir biçimde iki yanıt; sınırlı olarak aniden kıpırdama ve genel olarak da kaçma yanıtları ölçülmüştür. Aynı araştırıcılar tarafından yapılan ilginç bir çalışmada ise morfin kullanılmıştır. Morfinin bu her iki davranışı da etkilemesinin yanında özellikle kaçma refleksini daha güçlü etkilediği tespit edilmiştir.

1.1.4.6.3.1.1.1. Kuyruk Kaldırma (Tail-Flick) Testi

Bu testin iki değişik uygulaması vardır. Bir tanesi hayvanın kuyruğunun küçük bir alanına radyan ışının uygulanması, diğeri ise daha önceden sıcaklığı belirlenmiş su içine kuyruğun daldırılması şeklindedir. Benzer olmalarına karşın bu iki alternatif yöntem aslında fiziksel seviyede oldukça farklıdır. Radyan ışın uygulanmasında derinin sıcaklığı zamanın kareköküyle değişirken sıcak suya daldırıldığında daha hızlı değişmektedir. Ayrıca uyarılan yüzey alanları da oldukça farklıdır.

1.1.4.6.3.1.1.1.1. Radyan Isı Kullanılan Kuyruk Kaldırma (tail-flick) Testi

Kuyruk kaldırma testi Hardy ve ark. tarafından insanlara uygulanan metodun basitleştirilmiş bir versiyonudur (Le Bars ve ark., 2001) ve hayvanlar üzerinde ilk kez D'Amour ve Smith (1941) tarafından kullanılmıştır. Bu testte hayvanın kuyruğunda belirli bir noktaya, bir lamba aracılığıyla radyan ısı uygulanır. Kuyruğun konulduğu yerin altında bir fotosensör bulunmaktadır. Hayvan ağrı hissettiğinde kuyruğunu ani ve şiddetli bir biçimde geri çeker ve fotosensör aracılığıyla devre kapanır. Isı uygulamasının başlandığı andan kuyruğun çekilmesine kadar geçen süre kaydedilir, bu reaksiyon zamanı genellikle "kuyruk çekme süresi (tail-flick latency)" olarak bilinmektedir. Bu genellikle 2-10 sn arasında daha da sıklıkla 2-4 sn arasındadır, ancak daha uzun da olabileceği belirtilmiştir. Bununla birlikte radyan ısıya 20 sn (cut-off time)'den daha fazla maruz kalma tavsiye edilmemektedir, aksi halde doku hasarı meydana gelebilmekte ve kuyruk yanabilmektedir. Bu basit spinal refleks hayvanın ağrı eşiğini belirlemektedir ve analjezik madde verildiğinde bu süre belirgin bir biçimde uzamaktadır. Bu test ile doğrudan ağrı ölçümünden çok, nosiseptif spinal refleks değerlendirilmektedir (D'Amour and Smith, 1941; Le Bars ve ark., 2001; Arıcıoğlu, 2007). Bu metodun en önemli avantajları, basitliği ve verilen koşullar altında reaksiyon süresinin çok fazla bireysel değişkenlik göstermemesidir. Kuyruk hareketinin reaksiyon zamanı radyan ışının şiddeti ile değişmektedir ancak verilen akımın şiddeti ve böylece yayılan radyan ısı reosta kullanılmak suretiyle kontrol edilebilmektedir. Uyarı şiddetli olduğu zaman, sıcaklık

eğimi daha dik ve de sonuç olarak reaksiyon zamanı daha kısadır, hareket ise daha büyüktür. Reaksiyon zamanı uyarılan yüzey alanı ile de değişiklik göstermektedir, alan arttıkça reaksiyon zamanı azalmaktadır. Bununla birlikte reaksiyon zamanı uyarılan bölge ile de değişmekte, kuyruğun merkezden uzak kısımları uyarıldığında reaksiyon zamanı düşmektedir. Yapılan çalışmalarda kuyruğun merkezden uzak kısımlarının, gövdeye bağlandığı kısmının uyarılmasına göre morfine daha duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Gerçekte kuyruğun merkezden uzak kısımlarından gelen afferent liflerin yolu merkezde yer alanlara görer daha uzundur. Sıçanların kuyrukları oldukça karmaşık bir yapıdır ve kuyruk hareketi 8-14 kadar kas aracılığıyla sağlanmaktadır, konik şekli nedeniyle ve taşıdığı reseptör tipleri nedeniyle termal uyarıdan etkilenmektedir. Ancak tam olarak neden kuyruğun uyarılan bölgesiyle reaksiyon zamanının değiştiğine dair yeterli bir açıklama yoktur. Kuyruğun uç kısmında derinin daha ince olması nedeniyle uyarının nosiseptörlere daha kolay ulaşmasının mümkün olabileceği düşünülmektedir. Bu da kısmen kuyruğun farklı bölgelerinin uyarılmasıyla elde edilen sonuçların farklılığını açıklamaktadır. Kuyruk kaldırma testinin spinal refleks olduğu belirtilmiş ise de daha sonra yapılan bir denemede sadece basit bir spinal refleks olmadığı birden çok nöral yapıyı içeren daha karmaşık bir olay olduğu gösterilmiştir. **Jensen** ve **Yaksh** isimli araştırıcılar tarafından yapılan çalışmada ise, sağlam hayvanlar ve kronik spinal (48 saat spinalizasyon sonrası spinal şoktan kurtulmuş) hayvanlar karşılaştırılmıştır ve 2 ayrı şiddette uyarı uygulanmıştır. Hareket meydana getirebilecek kadar güçlü bir uyarı verildiğinde sağlam hayvanlarda 2 sn'de reaksiyon meydana gelmiştir, spinal hayvanlarda da benzer şekildedir. Ancak sağlam hayvanlarda 4-5 sn'de reaksiyon meydana getirecek şiddette uyarı verildiği zaman ise spinal hayvanlarda 10 sn hareketin sağlanması için yetersiz kalmıştır. Bu sonuçlara bakılarak kuyruk kaldırma hareketinin sadece spinal refleks olmadığı daha karmaşık, daha üst kısımlarda yer alan nöral yapıları içeren bir olay olabileceği düşünülmektedir. Benzer bir açıklama ise bu yöntemin bir öğrenme işlemine yol açabileceğidir (Le Bars ve ark., 2001).

1.1.4.6.3.1.1.1.2. Kuyruk Daldırma Testi (Tail Immersion Testi)

Kuyruk daldırma testinde hayvanın kuyruğu sabit ısıda tutulan sıcak suya daldırılır. Hayvanın kuyruğunun daldırılması kuyruğun ani bir hareketine bazen de tüm vücudun geri çekilmesine neden olmaktadır. Hayvanın reaksiyon süresi ağrı eşiğini belirler. Bu test, radyan ısı kullanılan kuyruk kaldırma testinden açıkça görüldüğü gibi oldukça farklıdır. En belirgin farklılık uyarının yapıldığı alanın daha büyük olmasıdır. Sıcak su içine kuyruğun daldırılmasıyla sıcaklık çok hızlı ve daha çok veya daha az lineer bir biçimde artar ki bu durum radyan ısıda olduğundan oldukça farklıdır. Bu yanıtta esas ilgi çeken farklı sıcaklıkların uygulanma olasılığıdır. Sıcak uyarıcı yerine soğuk uyarıcı ve ayrıca sıcaklığı yavaş yavaş artan banyolar da kullanılabilmektedir. Bu testin kuyruk kaldırma testinden en önemli farkı ve avantajı, daha düşük sıcaklıklarda çalışılabildiği için düşük analjezi potansiyeli olan ilaçların etkileri için araştırmada kullanılabilmesidir (Le Bars ve ark., 2001; Arıcıoğlu, 2007).

1.1.4.6.3.1.1.2. Pençe Geri Çekme Testi

Bu test esas olarak tümüyle **D'Amour** ve **Smith**'in testiyle kıyaslanabilir fakat kuyruk gibi sıçanlarda ve farelerde ısının düzenlenmesinden sorumlu bir organı içermemesi nedeniyle daha avantajlıdır. Bu modelde enflamasyon sonucu oluşan ağrı üzerinde (hiperaljezi) çalışılmaktadır. Karragenin subkutan olarak enjekte edilmesiyle ya da ultraviyole ışınlara maruz bırakılarak enflamasyon oluşturulan pençe üzerine radyan ısı uygulanır ve hayvanın pençesini çekme refleksinin süresi ölçülür. Bu yöntemin avantajlarından biri radyan ısı uygulanan hayvanların serbestçe dolaşmasıdır. Bununla birlikte bacağın pozisyonu bu faktörü bir dezavantaj haline getirmektedir çünkü hayvanın pozisyonu ile fleksör kaslarda aktivitenin seviyesi değişmektedir. Yapılan bir çalışma ile anestezi uygulanmış sıçanlarda ısıtma eğrisi dik olduğunda (6.5 ^{o}C/s), pençe geri çekme reaksiyon zamanının kısa olduğu ve cilt yüzey sıcaklığının oldukça yüksek bir seviyeye ulaştığı ayrıca Aδ liflerinin aktive edildiği sonucuna varılmıştır. Isıtma yavaş olduğunda ise (1 ^{o}C/s) reaksiyon

zamanının daha uzun, cilt sıcaklığının artışının daha az olduğu ve yalnızca C liflerinin aktive edildiği tespit edilmiştir (Le Bars ve ark., 2001).

1.1.4.6.3.1.1.3. Sıcak Tabaka (Hot Plate) Testi

Bu test ilk olarak 1944 yılında **Woolfe** ve **McDonald** tarafından tanımlanmıştır. Fakat daha sonra **Eddy** ve **Leimbach** tarafından 1953 yılında modifiye edilmiştir. Günümüzde sık kullanılan yöntemlerden biridir. Esas olarak tabanı ısıtıcı veya kaynar su ile 50-56 ^{o}C'ye ısıtılan, etrafı kapalı üstü açık metal bir yüzey üzerine bırakılan sıçan veya farenin temelde pençe yalama ve zıplama davranışlarını gösterinceye kadar olan reaksiyon zamanının ölçümüne dayanan bir yöntemdir. Bir fare için normal reaksiyon süresi 5-20 sn arasında değişmektedir. Deneyin uygulanma süresi, doku hasarına neden olabileceğinden 30 sn'den fazla olmamalıdır. Analjezik aktivite ölçümlerinde en sık kullanılan yöntemlerden biri olmasına rağmen hayvanın ağrıyı algıladığına dair hangi davranışının ağrı belirtisi olarak kabul edileceği konusunda sorunlar vardır. Davranış yalnızca arka ayağın çekilmesi olabilir ya da ayak çekme ve yalama, tekmeleme, sallama veya sıçrama şeklinde olabilir. Daha az sıklıkta hayvan sadece ön ayaklarını yalayabilir veya ön ayaklarını yalayarak başlar ve arka ayaklarını yalayarak sonlandırabilir. Farelerde nispeten klişeleşmiş davranışlar gözlenir ancak sıçanlarda daha karmaşıktır. **Espejo** ve **Mir** adlı araştırıcılar bu şekilde 12 farklı davranış tespit etmişlerdir. Bu davranışlar "kaotik savunma hareketleri" olarak tanımlanmıştır. Bu kadar çok farklı davranışın olması nedeniyle bunları gözlemlemek çok zordur. Ayrıca bu test öğrenme olayına karşı oldukça hassastır, yani öğrenme işlemi çabuk gerçekleşmektedir, giderek zıplama reaksiyonunun zamanı kısalır ve bununla beraber yalama davranışı kaybolur. Öğrenme davranışı nedeniyle hayvan ilk test sırasında önce pençelerini yalayıp sonra zıplayabilir, fakat sonraki testlerde hemen hemen neredeyse doğrudan zıplamaya başlar ve reaksiyon zamanı oldukça kısalır. Benzer biçimde hayvanlar ısıtılmamış plak üzerine konsalar bile, bunu takiben sıcaklığın uygulandığı testte, standart koşullar altında reaksiyon zamanında azalma meydana gelmektedir. Ayrıca testin günde 1 kez veya haftada bir kez yinelenmesinin de reaksiyon zamanında azalmaya

yol açması kaçınılmazdır. Tüm bu faktörler bu testi oldukça dikkat isteyen, hassas bir test haline getirmektedir. Bu testin spesifitesi ve sensitivitesi pençe yalama ya da zıplama şeklinde yapılan ilk davranışın göz ardı edilmesiyle ya da sıcaklığın düşürülmesiyle arttırılabilir (Le Bars ve ark., 2001; Arıcıoğlu, 2007).

1.1.4.6.3.1.1.4. Soğuk Uyarıcı Kullanılan Testler

Soğuk uyarıcı akut ağrı testlerinde nadiren kullanılmaktadır ancak kronik ağrı modellerinde daha yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu test tekniklerinde, kuyruğun ya da bir uzvun soğuk suya daldırılması ya da hayvanın soğuk bir yüzeye yerleştirilmesi gibi sıcak uyarıcıların kullanıldığı testlerden esinlenilmiştir (Le Bars ve ark., 2001; Arıcıoğlu, 2007).

1.1.4.6.3.1.2. Mekanik Uyarıcıların Kullanımına Dayalı Testler

1.1.4.6.3.1.2.1. Pençe Çekme Testi (Paw Withdrawal/ Paw Pressure Test)

Esas olarak mekanik uyaran kullanımıyla ağrı eşiğinin belirlenmesini sağlayan bir testtir. Özellikle enflamasyonlu pençede nonsteroidal antienflamatuar ilaçların etkilerinin araştırılmasında oldukça ideal bir testtir. Nosiseptif mekanik uyarı iki düz yüzey arasına sıkıştırılmış pençeye bir pedal yardımıyla giderek arttırılan şiddette uygulanır. Kullanılan cihazlar, giderek artan ölçülebilir basınçların uygulanabilmesine ve eşiğe ulaşıldığı zaman testin kesilmesine olanak sağlamaktadır. Uygulamanın sonlandırılması hayvanın göstereceği tepkiye bağlıdır. Temel yanıt vokalizasyon ve buna eşlik eden ayak çekme davranışıdır. Ölçülen parametre verilen davranışın görünen eşik değeridir (gram olarak ağırlık). Basınç arttığında pençe geri çekme refleksi görülür, bu hareket ile hayvan bacağının serbest kalması için uğraşır, sonra bir çeşit çabalama ve son olarak da vokalizasyon görülür. Bu reflekslerden birincisi şüphe götürmez bir biçimde spinal reflekstir. Son iki yanıt ise supraspinal yapıları içermektedir.

Bu testin duyarlılığını geliştirmek amacı ile Randall ve Selitto tarafından yapılan çalışmada mekanik uyarı, sağlıklı pençe ve önceden kroton yağı, bira mayası veya karragen gibi enflamasyon yapıcı ajanlar subkutan olarak enjekte edilerek enflamasyon oluşturulan pençe üzerine uygulanmış ve eşik değerleri kıyaslanmıştır. Bu şekilde metodun duyarlılığı geliştirilmiş fakat iki farklı farmakolojik etkinin, analjezik ve antienflamatuar etkinin karışmasına sebep olmuştur. Bununla beraber bir sonraki çalışmada aynı hayvanda sağlıklı ve enflamasyonlu pençede aynı deneme yapılmış ve bu problemin üstesinden gelinmiştir. Nonsteroidal antienflamatuar ilaçların (NSAIDs) ilk bahsedilen farklı hayvanlarda yapılan denemede inaktif olmasına karşın, yapılan bu son denemede vokalizasyon eşiğini arttırdıkları tespit edilmiştir (Le Bars ve ark., 2001; Arıcıoğlu, 2007).

1.1.4.6.3.1.2.2. Kuyruk Sıkıştırma Testi (Tail Pinch/Tail Clip Test)

Temel prensibi ayak çekme testi ile aynıdır. Hayvanın kuyruğu iki düz yüzey arasında sıkıştırılarak basınç uygulanır ve basınç giderek arttırılır. Basıncın şiddetine göre hayvan kuyruğunu ısırmaya çalışma gibi bir tepki gösterir. Tepki gösterme süresi ölçülerek analjezik etkinlik değerlendirilir (Arıcıoğlu, 2007).

1.1.4.6.3.1.3. Elektriksel Uyarıcıların Kullanımına Dayalı Testler

1.1.4.6.3.1.3.1. Uzun Süreli Elektriksel Uyarı

Elektriksel uyarı giderek artan şiddette bir süre (birkaç yüz milisaniye boyunca) sıçanların veya farelerin kuyruğuna subkutan elektrotlar aracılığıyla verilir. Bu şekilde giderek artan şiddette elektriksel uyarı uygulandığında kuyruğun refleks hareketi ve vokalizasyon gözlenir. Vokalizasyon uyarılma periyodundan sonra da devam eder. Bu yanıtlar merkezi sinir sisteminde nosiseptif sinyallerin farklı seviyelerde; omurilik, beyin sapı, talamus/rinenkefal bütünleşmesine bağlıdır. Talamus/rinenkefal beynin, ağrı davranışının duygusal ve güdüsel görünüşünü yansıtan kısmıdır.

Uzun süreli elektriksel uyarının kullanıldığı bir başka yöntem daha vardır. Bu yöntem sıcak tabaka testine benzer bir yöntemdir. Hayvan, elektrik akımı verilen bir tabaka üzerinde serbestçe dolaşır. Verilen elektrik şokuna iki şekilde yanıt alınır; sakınma-kaçma ile ürkme reaksiyonu (flinch) genel olarak çömelme ve kapanma şeklinde ve sıçrama (jump) hareketi gözlenir. Bu nedenle bu testin adı flinch-jump testi olarak bilinir fakat günümüzde geçerliliği olmayan, kullanılmayan bir yöntemdir (Le Bars ve ark., 2001).

1.1.4.6.3.1.3.2. Tek Bir Şok veya Kısa Süreli Elektriksel Uyarının Kullanımı

1.1.4.6.3.1.3.2.1. Kuyruğun Uyarılması

Bu test diğer testlerden oldukça farklı bir testtir. Elektriksel uyarı kuyruğa tek bir sefer ve süresi ölçülebilecek kadar kısa (10-20 milisaniye) uygulanır ve gözlenen davranışlar diğer testlerle bağlantılı olsa da farklıdır. Uyarının şiddeti arttırıldığında şu davranışlar gözlenir; çekme, kaçma davranışı, vokalizasyon ve elektrotları ısırma. Bu davranışlar hiyerarşik olarak organize olmuşlardır, merkezi sinir sisteminde nosiseptif sinyallerin farklı seviyelerde entegrasyonuna bağlı olarak gelişirler ve içlerinde elektrotları ısırma en koordineli olandır. Bu metot farelere adapte edilmiştir ve kısmi opium agonistlerini de içeren analjeziklerin analizi için yeterli bir test gibi gözükmektedir. Tek bir şok veya oldukça kısa süreli elektriksel uyarı, sesli kompleks davranışları kışkırtmaktadır. Bu şekildeki uyarıcı belirli düzenli aralıklarla yankı bulunmayan bir odada tutulan farelerin pençe veya kuyruğuna uygulanır. Hayvandan sesli yanıtların toplanması için hayvanın baş kısmından biraz uzağa sabitlenmiş bir mikrofon yerleştirilir ve toplanan sessel yanıtların özellikleri incelenir. Günümüzde bu işlemler bilgisayarlar aracılığı ile yapılabilmektedir (Le Bars ve ark., 2001).

1.1.4.6.3.1.3.2.2. Diş Pulpasının Uyarılması

Elektriksel uyarının en önemli dezavantajı seçici olmayan bir biçimde farklı tipteki primer afferent sinir liflerini uyarmasıdır. Diş pulpası üzerinde yapılan çalışmalarla,

elektriksel uyarı kullanılarak selektif nosiseptif uyarıya çok yakın bir uyarı yapılabildiği belirlenmiştir. Genellikle sıçanlar kullanılmaktadır ve anestezi altında hayvanın diş minesinde ya da dış dentin tabakasında açılan boşluğa elektrotlar yerleştirilir ve sabitlenir. Kısa aralıklı artan şidette uyarı verilir. Bu testte iki tip yanıt gözlenmektedir: 1. Yalama, çiğneme, yüz ifadesinde bazı değişiklikler ve baş hareketleri, 2. Çene açılma refleksi, hayvan uyanıkken ya da anestezi uygulanmış halde iken, elektromiyograf ile kaslarda meydana gelen değişiklikler kaydedilebilir. Bu test ile opioit analjeziklerle yapılan denemelerde kıvranma testine göre çok daha iyi ayırt edici sonuçlar alınmıştır. Ayrıca sıcak tabaka testi ile aktivitesi belirlenemeyen non-opioid analjeziklerin aktivitesinin bu yöntemle ortaya konabildiği tespit edilmiştir. Bunların yanında non-antienflamatuar ajanlara karşı çok duyarlı değildir, ancak toksik etki gözlenebilecek kadar yüksek dozlarda etki göstermiştir (Le Bars ve ark., 2001).

1.1.4.6.3.1.3.2.2. Uzuvların Uyarılması

Bu testte, nosiseptif hareketler elektromiyograf aracılığıyla kaydedilir. Test elektromiyografik ölçüm ile herhangi bir hareket olmasa bile yanıtın ölçülebilmesine ve ayrıca eşik üstü çalışmalarda yanıtın değerlendirilebilmesine olanak sağlar. Davranışsal tetlerden çok daha az kullanılmaktadır (Le Bars ve ark., 2001).

1.1.4.6.3.2. Uzun Süreli Uyarı Kullanılan Testler

Temel olarak bu testlerde nosiseptif uyarıcı olarak irritan, acı meydana getiren kimyasal ajanlar kullanılır. Bu testler diğer testlerin çoğundan oldukça farklıdır. En önemli fark nosiseptif eşiğin belirlenememesidir ve zamanla değişen şiddette uyarıcıya karşılık gözlenen davranışa kantitatif bir yaklaşımda bulunulabilmektedir.

Uyarıcı kullanımı başlıca intradermal veya intraperitoneal enjeksiyonla olmaktadır. Daha az yaygın olarak da intra-arteriyel veya intradental bradikinin, ayrıca son

zamanlarda özellikle davranışsal olmayan ağrı modellerinde anestezi uygulanmış hayvanlarda ağrı yapıcı maddelerin intrakapsüler (çene) enjeksiyonları kullanılmaktadır.

Bu bölümdeki testlerin aynı zamanda iç organların stimülasyonuna dayandığı düşünülmektedir. Hayvan visseral ağrı modelleri uyarıcı tipine göre iki kategoriye ayrılmaktadır; ağrı yapıcı ajanların alımını içeren testler ve iç organların gerilmesini içeren testler.

1.1.4.6.3.2.1. Ağrı Yapıcı Ajanların Alımını İçeren Testler

1.1.4.6.3.2.1.1. İntradermal Enjeksiyon

İntradermal enjeksiyonlarda en yaygın olarak kullanılan madde formalindir. Formalin formaldehitin % 37'lik sulu çözeltisidir. Formalin dışında hipertonik tuz, etilen diamin tetra asetik asit, Freund's adjuvant, kapsaisin ve arı iğnesi kullanılmaktadır.

Sıçan ön pençesinin dorsal veya ventral yüzeyine % 0.5-15 formalin çözeltisinin uygulanması, ağrılı bir davranışa neden olur ve bu davranış 4 seviyeli bir ölçek üzerinden değerlendirilir:

0 = Normal duruş
1 = Enjekte edilen pençe yer üzerinde durur fakat hayvanı desteklemez
2 = Enjekte edilen pençe açıkça kalkmıştır
3 = Enjekte edilen pençe yalanmış, kemirilmiş veya sarsılmıştır.

Bu yanıtlar çok önemlidir. Hayvanlar sürekli olarak gözlemlenir ve sonuçlar ya her bir zaman biriminde veya düzenli zaman aralıklarında açıklanır. Başka bir değerlendirme yöntemine göre ölçülen parametre birim zamanda, hayvanın pençesini yalama veya çekme sayısı olabilir, hayvanın pençesini ısırdığı/yaladığı toplam zaman

olabilir ve hatta kafese yerleştirilmiş gerim ölçer ile elde edilen, hayvanda gözlenen tüm bacak fleksiyon hareketlerinin sayısı olabilir.

Formalin testinde oluşan yanıt bifaziktir ve gözlenen davranışların yoğunluğu formalin çözeltisinin konsantrasyonuna bağlıdır. Erken/akut faz olarak adlandırılan başlangıç fazı enjeksiyonu takiben başlar ve yaklaşık 3-5 dakika kadar sürer. Daha sonra sessiz bir periyod ve ardından geç/tonik faz olarak adlandırılmış olan ikinci faz başlar. İkinci faz enjeksiyondan sonra 20.-30. dakikalar arasını kapsar. İlk fazda nosiseptörler doğrudan kimyasal uyaranla uyarılırlar, buna karşılık ikinci fazda enflamasyon meydana gelir. İkinci fazda neler olduğu bir tartışma konusudur. Bazı araştırıcılar, ikinci fazın birinci fazda nöronal aktivasyonla tetiklenen merkezi sinir sistemindeki işlemlerin sonucu olduğunu savunmaktadır. Fakat aslında böyle olmadığı ve ikinci fazın periferal mekanizmaları içerdiği yapılan çalışmalarla açıkça gösterilmiştir. Çok sayıda araştırma sonucuna göre bu iki fazın, anatomik, nörokimyasal ve farmakolojik açıdan oldukça farklı olduğu tespit edilmiştir.

Opioit analjeziklerin her iki fazda da etkili oldukları ancak, özellikle ikinci fazın bu gruba daha duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Non-steroidal antienflamatuar ajanlar ise yalnızca ikinci fazda, özellikle formalinin yüksek dozlarında etkili gibi gözükmektedirler (Le Bars ve ark., 2001; Arıcıoğlu, 2007).

1.1.4.6.3.2.1.2. İrritan Ajanın İntraperitoneal Enjeksiyonu "Kıvranma Testi" (Writhing Test)

Bu test abdominal kıvrılma testi, abdominal kasılma yanıtı veya gerilme testi veya daha yaygın olarak "kıvranma testi (writhing test)" olarak bilinmektedir. İrritan ajanın intraperitoneal olarak uygulanmasıyla seröz membranlarda (karın zarında) irritasyon meydana gelmekte ve sonuç olarak abdominal kasılmalar, vücudun tüm olarak hareketi (özellikle arka pençelerin), dorsoabdominal kasların kasılması ile tanımlanan oldukça kalıplaşmış davranışlar ile motor aktivitede azalma ve motor düzensizliği meydana gelmektedir. Ağrının ölçümü ağrı yapıcı ajanın enjeksiyonu

sonucunda oluşan her bir zaman birimindeki abdominal krampların ölçülmesine dayanır. Bu davranışların refleks olduğu ve visseral ağrının daha doğrusu peritoneovisseral ağrının kanıtı olduğu düşünülmektedir. Aslında karın zarı somatik sinirleri de içermektedir, bu nedenle ağrının tamamiyle visseral olmadığı düşünülmektedir. Bununla birlikte ağrı peritonit sonucunda oluşan ağrıya benzemektedir. Oluşan krampların sıklığı zamanla azalmakta, bu nedenle de tek bir hayvanda analjezik maddenin etkisi süresince değerlendirme yapmak imkansız hale gelmektedir. Enjeksiyondan birkaç dakika sonra abdominal kasılmalar başlar ve 5-10 dakika içinde maksimuma ulaşır bu nedenle pek çok araştırmada kasılmaların gözlenme süresi 30 dakika ile sınırlandırılmıştır.

Orijinal olarak Sigmund ve arkadaşları tarafından 1957 yılında tanımlanan fenilbenzokinon kullanılan testte daha sonra birçok değişiklikler yapılmıştır. Kullanılan kimyasal ajanla ilgili değişiklikler yapılmış; asetilkolin, dilüe HCl, asetik asit, bradikinin, adrenalin, adenozin trifosfat, potasyum klorit, triptamin, oksitosin gibi farklı maddeler kullanılmıştır. Günümüzde en çok kullanılan kimyasal uyarıcılar fenilkinon veya asetik asittir (%0.6-0.9). Ayrıca kullanılan kimyasal uyarıcının konsantrasyonunda, sıcaklıkta, enjekte edilen çözeltinin hacminde, deneysel koşullarda ve davranışsal değişikliklerin gözlenme şeklinde olmak üzere pek çok değişiklik yapılmıştır. Böylece test basitleştirilmiş ve duyarlılığı arttırılmıştır.

Bu metot zayıf analjeziklerin etkilerini tespit etmek için avantajlı bir yöntemdir ancak spesifiteden yoksundur. Gerçekte sadece major ve minör analjezik aktiviteye sahip olmayan bazı diğer maddeler; adrenerjik blokörler, antihistaminikler, kas gevşeticiler, monoamino oksidaz inhibitörleri ve nöroleptikler için de kullanılmaktadır. Bu nedenle pozitif sonuç analjezik aktivite anlamında önemli değildir. Bununla beraber tüm analjezikler abdominal krampları inhibe ettiği için farmakodinamik özellikleri bilinmeyen molekülleri elemede yararlıdır. Kıvranma testi zayıf bir spesifiteye sahip olmasına karşın insanlardaki analjezik dozlarıyla sıçanlardan elde edilen ED_{50} değerleri arasındaki korelasyon ile gösterildiği gibi az çok tahmin edici özelliğe sahip ve duyarlı, günümüzde sıklıkla kullanılan bir testtir (Le Bars ve ark., 2001; Arıcıoğlu, 2007).

1.1.4.6.2.2.2. İç Organların Stimülasyonu

Ağrı verici maddelerin doğrudan iç organlara enjeksiyonu ile gerçekleştirilen test modelleri gerçek visseral ağrı modelleri olarak kabul edilmektedir. Örneğin sıçan kolonuna formalin verilmesi ile kompleks iki aşamalı bir yanıt elde edilmektedir. İlk aşamada vücut gerilir ve kasılmalar meydana gelir, ikinci aşamada ise çoğunlukla abdominal yalama ve ısırmayı içeren kompleks davranışlar gözlenir. Kolon içine gliserol infüzyonu da abdominal kasılmalara neden olmaktadır. Benzer biçimde mesane ağrısı için de modeller geliştirilmiştir, kapsaisin ve kapsaisin benzeri maddelerin veya terebentinin mesane içine verilmesiyle refleksler veya daha kompleks davranışlar gözlemlenmiştir. Son zamanlarda yapılan bir diğer araştırmada hardal yağı uterus içine verilerek enflamatuar uterus ağrısı meydana getirilmiş ve bu ağrı sıçanlarda kompleks davranışlar şeklinde gözlemlenmiştir.

İç organların gerilmesiyle elde edilen ağrının, daha doğal bir ağrılı uyaran olduğu tartışılmaktadır. İç organların gerilmesi uzun yıllar boyunca elekrofizyolojik çalışmalarda kullanılmış olmasına rağmen, bir uyarıcı olarak ağrı verici şiddette davranış modellerinde kullanımı yenidir. Bu amaçla sıçanlarda, şişirilebilir balonla kolorektal gerilim meydana getirilmesi en yaygın olarak kullanılan uyarıdır. Bu uyarıcıya karşı kaçma davranışı ve abdominal kaslarda elektromiyografik olarak kaydedilebilen refleks hareketleri meydana gelmiştir. Ayrıca bu uyarı sonucu ile anestezi uygulanmamış hayvanlarda artmış arteriyel basınç ve taşikardi gibi ölçülebilir istemsiz yanıtlar da gelişmektedir.

Bu yöntemleri geliştirmek için çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Örneğin anestezi uygulanmış sıçanlarda asetik asit ile kolon enflamasyonlu hale getirilmiş ve kolonun distansiyona cevabı ölçülmüş, bu şekilde duyarlılığın arttığı tespit edilmiştir. Bilinci yerinde hayvanlarda ise aynı uygulama yapıldığında abdominal reflekslerin arttığı ancak eşik değerinin değişmediği gözlenmiştir. Diğer bir nosisepsiyon modelinde bilinci yerinde sıçanlara, mide veya duedonum distansiyonu ağrı uyaranı olarak kullanılmıştır. Kolonik gerilme modeli sıçanlar dışındaki diğer türlerde, tavşanda ve köpekte de uygulanmış bir modeldir. İç organların mekanik yolla uyarılması sonucu

elde edilen yanıtların anestezi uygulanmış hayvanlarda artmış arteriyel kan basıncı gibi ölçülebilir istemsiz hareketlerin kaydedilmesiyle de mümkün olduğu tespit edilmiştir (Le Bars ve ark., 2001).

Deneysel hayvan modelleri içinde ayrıca nöropatik ağrıyı değerlendirmek için de geliştirilmiş özel yöntemler bulunmaktadır. Bu hayvan modelleri ile periferik veya santral sinir sistemi hasarı sonucunda oluşan nörolojik disfonksiyon mekanizmalarının anlaşılması sağlanmıştır. Hayvanlarda geliştirilen ilk nöropatik ağrı modeli Wall ve ark. tarafından yapılmış olup temel olarak şu başlıklar altındadır:

- Total denervasyon modelleri,
- Parsiyel denervasyon modelleri,
- Santral sinir sistemi uygulamaları modelleri,
- Sistemik uygulamalarla gelişen modeller (Arıcıoğlu, 2007).

Çizelge 1. Deneysel ağrı modelleri

	UYARICI TİPİ	**KULLANILAN DENEYSEL MODEL**		**ÖLÇÜLEN PARAMETRE**
Kısa Süreli Uyarı testleri	Termal	Kuyruk kaldırma testi (Tail-flick)	Radyan ısı kullanılan kuyruk kaldırma testi	Kuyruğun ani ve şiddetli bir biçimde geri çekilme süresi
			Kuyruk daldırma testi	Kuyruğun bazen de tüm vücudun aniden çekilme süresi
		Pençe geri çekme testi		Pençe çekme refleks süresi
		Sıcak tabaka testi (Hot plate)		Yalnızca arka ayağın çekilme süresi/Ayak çekme ve yalama, tekmeleme, sallama/ sıçrama süresi
		Soğuk uyarıcı kullanılan testler		Sıcak uygulanan tüm testlerde ölçülen davranışlar
	Mekanik	Pençe çekme testi		Pençe çekme refleksi ve vokalizasyon davranışının görüldüğü eşik değeri)
		Kuyruk sıkıştırma testi (Tail clip/Tail Pinch Testi)		Kuyruğunu ısırmaya çalışması davranışının görüldüğü eşik değeri

	UYARICI TİPİ	KULLANILAN DENEYSEL MODEL		ÖLÇÜLEN PARAMETRE
Kısa Süreli Uyarı Testleri	Elektrik	Uzun süreli elektriksel uyarı		Kuyruk refleks hareketi ve vokalizasyonun gözlendiği eşik değeri
		Kısa süreli elektriksel uyarı	Kuyruğun uyarılması	Çekme, kaçma, vokalizasyon, elektrotları ısırma davranışlarının gözlendiği eşik değeri
			Diş pulpasının uyarılması	Yalama, çiğneme, yüz ifadesindeki değişiklikler ve baş hareketleri/Çene açılma refleksi, elektromiyograf ile ölçülen kaslarda meydana gelen değişikliklerin gözlendiği eşik değeri
			Uzuvların uyarılması	Elektromiyograf ile ölçülen nosiseptif hareketin eşik değeri
Uzun süreli Uyarı Testleri	Ağrı yapıcı ajanların alımı	İntradermal enjeksiyon (Formalin, hipertonik tuz, etilen diamin tetra asetik asit, Freund's adjuvant, kapsaisin ve arı iğnesi kullanılabilir)		Pençenin duruşu, pençe yalama veya çekme sayısı veya pençe ısırma, yalama süresi
		İntraperitoneal enjeksiyon (asetik asit, fenilbenzokinon, asetilkolin, dilüe HCl, bradikinin, adrenalin, adenozin trifosfat, potasyum klorit, triptamin, oksitosin kullanılabilir)		Birim zamandaki (30 dk) abdominal kasılmaların sayısı
	Distansiyon Enflamasyon yapıcı ajanlar+distansiyon	İç organların stimülasyonu		Refleksler/kompleks davranışlar/ Ölçülebilen istemsiz yanıtlar

1.2. Türkiye'de Halk Arasında Ağrı Kesici Olarak Kullanılan Bitkiler

Türkiye'de yapılan etnobotanik çalışmalar incelendiğinde halk arasında analjezik amaçla kullanılan pekçok bitkinin bulunduğu görülmektedir. Literatür bilgilerine dayanılarak analjezik etkileri için kullanılan bitkiler **Çizelge 2**'de verilmiştir. Değişik birçok familyaya ait olan bu türlerin hem kullanılan kısımları hem de kullanım biçimleri açısından oldukça çeşitlilik gösterdikleri göze çarpmaktadır. Yapılan biyoaktivite çalışmalarının kısıtlı olması nedeniyle bu türlerin analjezik etkinliklerine dair ortak bir noktanın varlığından bahsetmek ya da etkilerinin benzer bileşiklerden kaynakladığını söylemek oldukça güçtür. Ancak daha ileri çalışmaların bu bitkilerin etkinliği ve etkiden sorumlu bileşiklerinin belirlenmesi konusunda yeni bulgular ortaya koyacağı düşünülmektedir.

Çizelge 2. Türkiye'de halk arasında ağrı kesici olarak kullanılan bitkiler

Bitki adı	**Yöresel adı**	**Kullanılan kısmı**	**Kullanım şekli**	**Kaynak**
Acacia senegal Willd. Leguminosae	Arabistan zamkı	Zamk	Sulu çözelti	Baytop,1999
Acarus calamus L. Araceae	Eğir	Kök	Rendeleniş ve çiğnenerek	Yeşilada ve ark., 1995
Achillea biebersteinii Afan. Compositae	Sancı çiçeği	Çiçek	Dekoksiyon (D)	Yeşilada ve ark., 1995
Achillea millefolium L. ssp. *millefolium* Compositae	Akbaşlı Akbaşotu	Çiçek	Dekoksiyon (D)	Honda ve ark., 1996
		Herba	Ateşte ısıtılarak (H)	
Achillea wilhelmsii C. Koch Compositae	Arı çiçeği	Çiçek	Dekoksiyon (D)	Yeşilada ve ark., 1995
Aconitum napellus L. Ranunculaceae	Kurtboğan	Yumru	Belirtilmemiş	Baytop,1999

Alcea setosa (Boiss.) Alef. Malvaceae	Devegülü	Yaprak Çiçek	Lapa halinde (H)	Fujita ve ark., 1995
Allium cepa L. Liliaceae	Soğan	Soğan	Pişirilerek veya rendelenerek (H)	Honda ve ark., 1996 Yeşilada ve ark., 1999
Anacyclus pyrethrum DC. Compositae	Nezleotu	Kök	Dekoksiyon (H)	Baytop,1999
Anthemis austriaca Jacq. Compositae	Akbaşotu	Çiçek	Dekoksiyon (D)	Fujita ve ark., 1995
Anthemis cotula L. Compositae	Koyungözü	Çiçek	Başka bitkilerle karıştırılarak pişirilir Lapa halinde (H)	Fujita ve ark., 1995
Anthemis cretica L. ssp. *tenuiloba* Compositae	Papatya	Çiçek	İnfuzyon (D)	Honda ve ark., 1996
Anthemis nobilis L. Compositae	Alman papatyası	Çiçek	İnfüzyon (D, H)	Baytop,1999
Anthemis wildemanniana Fisch et Mey. Compositae	Papatya	Çiçek	İnfüzyon (D)	Honda ve ark., 1996
Arceuthobim oxycedri (D.C.) Bieb. Loranthaceaes	Çakırga burcu	Herba	Dekoksiyon (D)	Fujita ve ark., 1995
Arum sp. Areceae	Nifik	Yaprak	Çiğ salata, Dekoksiyon (H)	Şimşek ve ark., 2004
Arum balansanum R. Mill. Araceae	Sancıotu Yılanyastığı	Kök	Rendelenerek (D)	Honda ve ark., 1996
Artemisia absinthium L. Compositae	Acı yavşan	Çiçek	Çiçekler bir gece suda bekletilir (D)	Yeşilada ve ark., 1995
Artemisia austriaca Jacq. Compositae	Yavşan	Herba	Dekoksiyon (D)	Sezik ve ark., 1997
Atropa belladonna L. Solanaceae	Güzelavratotu	Yaprak	Belirtilmemiş	Baytop,1999

Bellis perennis L. Compositae	Papatya Baboçya	Yaprak Çiçek	Çiğ halde Dekoksiyon (D)	Şimşek ve ark., 2004
Brassica nigra (L.) Koch Cruciferae	Hardal	Tohum	Lapa halinde (H)	Baytop,1999
Brassica oleraceae L. Cruciferae	Lahana	Yaprak	Doğrudan (H)	Baytop,1999
Cannabis sativa L. Cannabinaceae	Kenevirotu	Çiçekli dal uçları	Toz halde (D)	Baytop,1999
Cedrus libani A. Rich. Pinaceae	Sedir ağacı Karahekim Karakatran	Katran	(H)	Yeşilada ve ark., 1995
Centaurea solstitialis L. ssp. *solstitialis* Compositae	Sarıdiken	Çiçek Yaprak	Taze halde çiçekler yenir Yapraklardan dekoksiyon halinde (D)	Yeşilada ve ark., 1995
Chelidonium majus L. Papaveraceae	___	Gövde özsuyu	(H)	Fujita ve ark., 1995
Chrysanthemum coronarium L. Compositae	Papatya	Çiçek	Dekoksiyon (D)	Honda ve ark., 1996
Cistus laurifolius Cistaceae	Murt	Yaprak	Soğuk suyla kaynatılıp veya sıcak suda bekletilip ağrıyan yere sarılır (H)	Şimşek ve ark., 2004
Conium maculatum L. Umbelliferae	Baldıranotu	Meyve	Çok zehirli olduğundan günümüzde kullanılmamakta	Baytop,1999
Cornus mas L. Cornaceae	Zoğal Kiren	Tohum	Kavrulmuş, öğtülmüş ve suyla kaynatılmış halde (D)	Fujita ve ark., 1995
Cydonia oblonga Miller Rosaceae	Ayva	Yaprak	İnfüzyon (D)	Honda ve ark., 1996
Daphne gnidioides Jaub. Et Spach. Thymelaeaceae	Yircik	Yaprak	*Origanum onites* ile birlikte pişirilip zeytinyağı eklenerek pomat şeklinde (H)	Honda ve ark., 1996
Ecballium elaterium A. Rich. Cucurbitaceae	Acıkavun Eşek hıyarı	Meyve	Olgun meyvelerin suyu çıkarılır	Şimşek ve ark., 2004
Euphorbia kotschyana Fenzl. Euphorbiaceae	Sütlükotu	Lateks	Bulgur üzerine absorbe ettirilerek (D)	Yeşilada ve ark., 1995

Gelsemium sempervirens Ait. Loganiaceae	Yasemin Sarı yasemin	Kök	Tentür, ekstre (D)	Baytop,1999
Gentiana cruciata L. Gentianaceae	Yeşiken	Herba	İnfüzyon (D)	Sezik ve ark., 1992
Glycyrrhiza glabra L. Fabaceae	Meyan kökü	Kök	Dekoksiyon (D)	Şimşek ve ark., 2004
Hyoscyamus niger L. Solanaceae	Banotu	Yaprak	Dekoksiyon	Baytop,1999
	Gözotu	Tohum	Suyla kaynatılarak (H)	Fujita ve ark., 1995
Juniperus sp. Cupressaceae	Andız Ardıç bebesi	Meyve	Dekoksiyon	Şimşek ve ark., 2004
Juniperus drupaceae Lab. Cupressaceae	Andız Andız gılığı	Meyve Tohum	Dekoksiyon (D)	Yeşilada ve ark., 1995
Juniperus oxycedrus L. Cupressaceae	Tikenardıcı	Meyve	Yakı halinde (H)	Yeşilada ve ark., 1995
	Ardıç, ardıç gligılisi, sığanardıç	Meyve	Kuruüzüm ve kırmızıbiber ile karıştırılıp ezilerek (H)	Honda ve ark., 1996
Juniperus communis L. ssp. *nana* Cupressaceae	Ardıç Ardıç gugucu	Meyve	(D)	Fujita ve ark., 1995
Laser trilobum (L.) Borkh. Umbelliferae	Keyiksırası Sancıotu	Tohum	Dekoksiyon (D)	Honda ve ark., 1996
Laurocerasus officinalis Roemer Rosaceae	Karayemiş	Yaprak	Ateşte tutuluduktan sonra (H)	Yeşilada ve ark., 1999
Lavandula stoechas L. Labiatae	Karabaş	Çiçek	İnfüzyon (D, H)	Baytop,1999
Linum usitatissimum L. Linaceae	Keten	Tohum	Lapa halinde (H)	Baytop,1999
Malva neglecta Wallr. Malvaceae	Ebegümeci	Herba	Lapa halinde (H)	Yeşilada ve ark., 1995
		Tüm bitki	Dekoksiyon (D)	Şimşek ve ark., 2004
Malva nicaeensis All. Malvaceae	Ebegümeci Kömeç	Herba	Dekoksiyon (D) Lapa halinde(H)	Yeşilada ve ark., 1995

Manragorae autumnalis Bertol. Solanaceae	Adamotu	Kök	İnfüzyon	Baytop,1999
Matricaria chamomillae L. Compositae	Adi Papatya, tıbbi papatya	Çiçek	İnfüzyon (D, H)	Baytop,1999 Şimşek ve ark., 2004
Mentha sp. Labiatae	Nane	Yaprak	Dekoksiyon, İnfüzyon Çiğ olarak (D)	 Şimşek ve ark., 2004
Mentha longifolia (L.) Huds. ssp. *typhoides* (Briq.) Harley Labiatae	Naneotu	Herba	Dekoksiyon (D)	Honda ve ark., 1996
Mespilus germanica L. Rosaceae	Döngel	Kabuk	Kabuklar kaynatılarak (D)	Yeşilada ve ark., 1999
Momordica charantia L. Cucurbitaceae	Kudret narı	Meyve	Lapa Halide (H)	Şimşek ve ark., 2004
Myrtus communis L. Myrtaceae	Mersin	Yaprak	Dekoksiyon (D)	Şimşek ve ark., 2004
Nasturtium officinale R.Br. Brassicaceae	Ispatan	Herba	Lapa halinde (H)	Yeşilada ve ark., 1995
	Gerdemeotu	Herba	Çiğnenerek (D)	Sezik ve ark., 2001
Nigella sativa L. Ranunculaceae	Çörekotu Karacaotu	Tohum Tohum sabit yağı	(D)	Yeşilada ve ark., 1995
Origanum vulgare L. Labiatae	Kekik	Herba	Aromatik su Dekoksiyon (D)	Yeşilada ve ark., 1993
Origanum onites L. Labiatae	Kekik	Herba Uçucu yağ	*Daphne gnidioides* yapraklarıyla pişirilerek lapa halinde (H)	Honda ve ark., 1996
Papaver somniferum L. Papaveraceae	Haşhaş	Meyve	Dekoksiyon (Gargara halinde)	Baytop,1999
Persica vulgaris Miller Rosaceae	Şeftali	Yaprak	Dekoksiyon (D)	Sezik ve ark., 2001
Pinus brutia Ten. Pinaceae	Kızılçam	Reçine	(H)	Sezik ve ark., 2001
Pinus nigra Am. ssp. *pallasiana* (Lamb.)Holmboe Pinaceae	Karaçam, bise çam pisesi	Reçine	(H)	Yeşilada ve ark., 1995 Sezik ve ark., 2001

Plumbago europea L. Plumbaginaceae	Kurşunotu	Kök	Doğrudan Çiğnenerek (D)	Baytop,1999
Populus nigra L. Salicaceae	Kavak	Tomurcuk	Merhem olarak (H)	Baytop,1999
Polysticum aculeatum (L.) Roth. Aspidiaceae	Eğraltı	Herba	(H)	Fujita ve ark., 1995
Prunus laurocerasus L. Rosaceae	Taflan	Yaprak	Suyu elde edilir (D)	Baytop,1999
Reseda lutea L. Resedaceae	Eşek gerdemesi	Kök	Dekoksiyon (D)	Yeşilada ve ark., 1995
Rhododendron ponticum L. Ericaceae	Komar	Yaprak	İnfüzyon (D)	Baytop,1999
Rosa canina L Rosaceae	Kuşburnu İtburnu	Meyve	Dekoksiyon (D)	Yeşilada ve ark., 1995 Sezik ve ark., 2001
Rumex sp. Polygonaceae	Efelek Labada	Yaprak	Lapa halinde (H)	Şimşek ve ark., 2004
Ruta graveolens L. Rutaceae	Sedefotu	Çiçekli dallar	Yağlı maserasyon (H)	Baytop,1999
Salvia sp. Labiatae	Adaçayı	Tüm bitki	Dekoksiyon İnfüzyon (D)	Şimşek ve ark., 2004
Salvia tomentosa Miller Labiatae	Kırçayı	Herba	İnfüzyon (D)	Honda ve ark., 1996
Salvia russellii Bentham Labiatae	Şaplamaotu	Herba	Dekoksiyon (D)	Sezik ve ark., 2001
Salvia dichroantha Stapf. Labiatae	Yağlıkara	Yaprak	İnfüzyon (D)	Sezik ve ark., 2001
Salvia verticulata L. ssp. *amasiaca* Bornm. Labiatae	Yağlıkara	Yaprak	İnfüzyon (D)	Sezik ve ark., 2001
Sambucus ebulus L. Caprifoliaceae	Hekimana	Yaprak	Dekoksiyon (D)	Sezik ve ark., 1992

Satureai cuneifolia Ten. Labiatae	Kekik	Herba	İnfüzyon (D)	Sezik ve ark., 2001
Scorzonera latifolia (Fisch. et Mey.) DC. Compositae	Yakısakızı	Lateks	Yakı olarak (H)	Baytop,1999
Sideritis psidica Boiss. Labiatae	Havaotu, dallıadaçayı	Herba	Lapa halinde (H)	Yeşilada ve ark., 1995
Solanum nigrum L. Solanaceae	Köpeküzümü	Çiçekli dallar	İnfüzyon (D, H)	Baytop,1999
Solanum tuberosum L. Solanaceae	Patates Kumpir	Yumru	Dilimlenerek Rendelenerek (H)	Sezik ve ark., 2001
Teucrium polium L. Labiatae	Acı yavşan	Tüm bitki	Dekoksiyon	Şimşek ve ark., 2004
	Oğlanotu, paryavsan, bozbağırotu	Herba	Flaster şeklinde (H)	Yeşilada ve ark., 1995
	Kırkekiği	Herba	Dekoksiyon	Honda ve ark., 1996
	Koyunotu	Herba	Taze halde dekoksiyon (D)	Fujita ve ark., 1995
	Sırçanotu	Herba	Bitki özsuyu (D)	Sezik ve ark., 2001
Thymus sp. Labiatae	Kekik	Yaprak	Dekoksiyon	Şimşek ve ark., 2004
Thymus zygioides Griseb. var. *lycaonicus* Labiatae	Kekik, çağsak kekiği, taşlık kekiği	Herba	Dekoksiyon	Honda ve ark., 1996
Ulmus glabra Hudson Ulmaceae	Karaağaç	Kök kabukları	Sütle kaynatılır (H)	Sezik ve ark., 2001
Urtica dioica L. Urticaceae	Isırgan	Tüm bitki	Dekoksiyon	Şimşek ve ark., 2004
Urtica membranacea Poir. Urticaceae	Isırgı	Herba	Lapa halinde (H)	Yeşilada ve ark., 1995
Urtica pilulifera L. Urticaceae	Gezgezk	Herba	Dekoksiyon (D)	Sezik ve ark., 1997

Urtica urens L. Urticaceae	Isırgan	Herba	Lapa halinde (H)	Yeşilada ve ark., 1995
Verbascum pumilum Boiss. and Heldr. Scrophulariaceae	Yalangı Sığırkuyruğu	Yaprak	Dekoksiyon (D)	Sezik ve ark., 2001
Veronica anagallis-aquatica L. Scrophulariaceae	Karaot	Herba	Taze halde veya süt ile lapa halinde (H)	Fujita ve ark., 1995
Viburnum lanata L. Caprifoliaceae	Germişek	Meyve	İnfüzyon (D)	Baytop,1999
Vicia ervilia (L.) Willd. Fabaceae	Burçak	Meyve	Kavrulmuş ve öğütülmüş olarak (D)	Honda ve ark., 1996

1.3. *Scorzonera* Türlerinin Botanik Özellikleri

1.3.1. Bitkinin Sistematikteki Yeri

Alem : Plantae
Bölüm : Magnoliophyta
Sınıf : Magnoliopsida
Alt Sınıf : Asteridae
Takım : Asterales
Familya : Asteraceae
Alt Familya : Cichorioideae
Cins : *Scorzonera* L.

1.3.2. Asteraceae Familyasının Özellikleri

Familyanın ismi yıldız şeklinde çiçekleri olan *Aster* cinsinden gelmektedir. Bu familyadaki bitkilerin çoğu otsu, çok azı ise çalı ve ağaç şeklindedir. Yapraklar alternan veya oppozit dizilişlidir ya da yaprakların hepsi tabandadır. Çiçek durumu kapitulumdur. Çiçekler erdişi veya tekeşeyli; aktinomorf veya zigomorftur. Kapitulum dilsi (ligulat) ve tüpsü (tubulat) çiçeklerden oluşmaktadır. Bazı türler yalnızca dilsi veya yalnızca tüpsü çiçekleri de taşıyabilmektedir. Kapitulum tabanında braktelerden meydana gelmiş bir involukrum bulunmaktadır. Kaliks ya tamamen körelmiş ya da papus, halka veya pul biçimindedir. Korolla 5 petalli ve simpetal, tubular çiçeklerde aktinomorf, ligulat olanlarda ise zigomorftur. Stamenler 5 tane, anterleri birleşik, filamentleri serbesttir (singenezik). Ovaryumları alt durumlu, iki karpelden meydana gelmiş, tek ovüllüdür. Meyve akendir, bazen tepesinde bir kaliks artığı veya papus taşıyabilir. Familyada yer alan bitkilerin çoğunda Compositae tipi salgı tüyü ve örtü tüyü bulunmaktadır (Zeybek, 1985; Baytop, 1996; Tanker ve ark., 2004).

Asteraceae familyası esas olarak 2 altfamilyadan oluşmaktadır; Asteroideae (Tubuliflorae) ve Cichorioideae (Liguliflorae). Asteroideae altfamilyasındaki bitkilerde, kapitulumdaki çiçeklerin tamamı veya en azından ortada yer alanları tüpsü, çevredekiler dilsidir. Çoğunlukla süt borusu taşımazlar. Eczacılıkta kullanılan ve drog elde edilen bitkilerin çoğu bu taksonda yer alır. Cichorioideae altfamilyasında yer alan bitkilerde ise kapitulum yalnızca dilsi çiçeklerden oluşmaktadır. Bitkiler süt borusu taşır ve nadiren uçucu yağ içerirler. *Scorzonera* L. cinsi, Cichorioideae altfamilyasında yer alan bir cinstir (Tanker ve ark., 2004).

Asteraceae, çiçekli bitkilerin en geniş familyası olarak bilinmektedir. Dünya'da 1600'den fazla cins ve 23.000 kadar türle temsil edilen bir familyadır. Türkiye'de 133 cins ve bunlara ait 1156'dan fazla türü bulunmaktadır (Wikipedia, 2008).

1.3.3. *Scorzonera* Cins Özellikleri

Scorzonera türleri, tek yıllık, iki yıllık veya çok yıllık otsu nadiren yarı çalımsıdır. Gövde genelde yapraksızdır. Toprakaltı kalın, silindirik, rizomlu veya yumruludur. Yapraklar tabanda veya gövde üzerinde, basit ve parçalanmamış, lineardan geniş ovat lanseolata kadar değişen şekilde veya derin pennat parçalı, saplı veya sapsızdır. Kapitulum homogam ve tüm çiçekler dilsi, her bir gövde de tek veya birkaç tanedir. İnvolukrum ovat veya silindirik, involukrumu oluşturan brakteler 2 sıra halinde, içtekiler dıştakilerden daha uzun ve otsudur. Çiçek tablası tüysüz ve hemen hemen düzdür. Çiçekler beyazdan sarıya kadar, menekşe renginden mora kadar değişen renklerde veya mor-sarı renklidirler. Akenler, silindirik, düz veya kostalıdır, bazen enine pürüzlüdür, tüysüz veya tüylü, gagasız, saplı veya sapsızdırlar. Papus 3 sıralı, sapsız, yumuşak ince ve uzun tüylüdür, bazen üst kısımlarda bazen de tamamıyla kısa sakalımsı tüylüdür (Davis, 1975).

Scorzonera cinsi, Türkiye'de 49 kadar türle temsil edilmektedir. Bu türlerin 39 tanesi Türkiye Florasının 5. cildinde, 2 tanesi 10. ciltte (supplement I), 1 tanesi 11. ciltte (supplement II), diğer 7 tür ise supplement III'de yayınlanmıştır. Ülkemizde yetişen

bu türler ve yetiştiği yerler Tablo 1'de gösterilmiştir. (Davis, 1975; Ünal ve Göktürk, 2003; Duran ve Hamzaoğlu, 2004; Özhatay ve Kültür, 2006).

Çizelge 3. Türkiye'de yetişen *Scorzonera* L. türleri ve yetişme yerleri

Bitki Adı	**Yetişme Yeri**	**Yöresel Adı**	**Halk Arasında Kullanılışı**
S. laciniata ssp. *laciniata*	Ankara, Çanakkale, Elazığ, Eskişehir, Hakkari, Kastamonu, Konya, Sivas, Tekirdağ, Urfa, Uşak		kullanımı yok
S. laciniata ssp. *calcitrapifolia*	Isparta, Kayseri, Konya		kullanımı yok
S. cana var. *cana*	Amasya, Ankara, Antalya, Bitlis, Bursa, Edirne, Erzurum, Gümüşhane, İstanbul, İzmir, Kastamonu, Konya, Kütahya, Sivas	dedesakalı (Konya-Ladik) karakök (Erzurum)	salata olarak
S. cana var. j*acquiana*	Ankara, Erzincan, Erzurum, Hakkari, İstanbul, İzmir, Kars, Mardin, Van	dedesakalı (Konya-Ladik) karakök (Erzurum)	salata olarak
S. cana var. a*lpina*	Adana, Bitlis, Erzurum, Hatay, İçel, İstanbul, Kastamonu, Kütahya, Tunceli	dedesakalı (Konya-Ladik) Karakök (Erzurum)	salata olarak
S. cana var. *radicosa*	Ankara, Antalya, Giresun, Isparta, Kayseri, Maraş, Niğde, Van	dedesakalı (Konya-Ladik) Karakök (Erzurum)	salata olarak
S. armeniaca	Erzincan, Gümüşane		kullanımı yok
S. hieracifolia	Kayseri, Konya, Niğde, Sivas		kullanımı yok
S. suberosa ssp. *suberosa*	Ankara, Ağrı, Denizli, Eskişehir, Giresun, Gümüşane, Kars, Sivas, Van	yabani havuç	kökleri yenmektedir
S. suberosa ssp. *cariensis*	Burdur, Isparta, Kütahya	yabani havuç	kökleri yenmektedir
S. mollis ssp. *mollis*	Ağrı, Gümüşhane, Hakkari, İstanbul, Kırklareli, Mardin, Sinop, Tunceli	goftigoda (Gümüşane)	kökleri yenmektedir
S. mollis ssp. *szowitzii*	Ankara, Burdur, Gaziantep, Gümüşhane, İçel, Kars, Kastamonu, Kayseri, Konya, Maltya, Urfa, Van,	goftigoda (Gümüşane)	kökleri yenmektedir
S. inaequiscapa	Gümüşane, Yozgat	güzer	
S. phaeopappa	Adana, Antalya, Gaziantep, Niğde, Urfa		kullanımı yok
**S. semicana*	Ağrı, Elazığ, Kars, Mardin, Sivas, Urfa,		kullanımı yok
S. papposa	Malatya, Maraş, Siirt, Urfa,	yemlik	kullanımı yok
S. acuminata	Ankara, Çorum, Uşak	yemlik	kullanımı yok
S. hispanica	İstanbul (Kültür), Tekirdağ	kara iskorçina iskoçine yemlik	terletici, göğüs yumuşatıcı, idrar arttırıcı yılan sokmasına karşı

S. incisa	Adana, Erzincan, Erzurum, Gümüşane, Kars, Van		kullanımı yok
**S. lacera*	Adana, Hatay, İçel, Konya		kullanımı yok
**S. violacea*	Antalya, Burdur, Konya		kullanımı yok
S. elata	Antalya, Aydın, Bursa, İzmir, Kastamonu, Manisa, Sivas,		kullanımı yok
S. davisii	Hakkari		kullanımı yok
S. cretica	Khalki Adası		kullanımı yok
S. parviflora	Ankara, Çankırı, Çorum, Erzururm, Kars, Kırşehir, Konya, Niğde, Sivas	yemlik	kullanımı yok
**S. argyria*	Burdur		kullanımı yok
**S. eriophora*	Ankara, Denizli, Erzincan, Eskişehir, Isparta, Konya, Kütahya, Muğla, Nevşehir, Sivas,		kullanımı yok
S. cinerea	Erzincan, Hakkari, Konya, Nevşehir, Niğde, Van	tekesakalı, yemlik, yer sakızı, dağ sakızı, kanık sakızı, kır sakızı	sakız (Van bölgesinde)
S. amasiana	Amasya		kullanımı yok
S. pygmaea ssp. *pygmaea*	Bursa, Isparta		kullanımı yok
**S. pygmaea* ssp. *nutans*	Çankırı, Kastamonu, Zonguldak,		kullanımı yok
S. seidlitzii	Artvin, Çoruh, Kars		kullanımı yok
**S. lasiocarpa*	Hatay		kullanımı yok
S. rigida	Adana, Ağrı, Bitlis, Erzincan, Van,	dağ çöveni yakı otu yakı sakızı	kullanımı yok
**S. sericea*	Amasya, Erzincan, Gümüşane, Maraş, Niğde Rize		kullanımı yok
S. pseudolanata	Ankara, Antalya, Elazığ, Erzincan, Konya, Mardin, Sivas		kullanımı yok
S. sublanata	Ankara, Antalya, Aydın, Çanakkalle, Denizli, İzmir, Uşak	kanlık gelendost	kökünden sakız çıkarılır
S. latifolia	Bingöl, Bitlis, Diyarbakır, Hakkari, Elazığ, Erzurum, Kars, Sivas	yakı sakızı	haricen yakı halinde ağrı dindirici, kısırlığa karşı, dahilen kurt düşürücü yaprakları tütün olarak içilir
S. latifolia var. *angustifolia*	Erzurum		kullanımı yok
**S. mirabilis*	Hakkari		kullanımı yok
S. veratrifolia	Hakkari, Van		kullanımı yok
S. sosnowskyi	Erzurum	yakı otu, yakı sakızı	

**S. tomentosa*	Ankara, Çankırı, Erzincan, Erzurum, Gümüşane, Kars, Kastamonu, Konya, Malatya, Sivas, Uşak,	pınar nalbant	Kökleri ve lateksi haricen yara iyi edici
**S. acantholimon*	Sivas		kullanımı yok
**S. aucherana*	Erzincan, Sivas		kullanımı yok
S. kotschyi	Adana, Diyarbakır, Mardin, Urfa,		kullanımı yok
**S. boissieri*	Adana, Bozoğlan		kullanımı yok
**S. longiana* (Yeni tür)	Antalya (Gazi Paşa)		kullanımı yok
**S. pisidica* (Yeni Tür)	Burdur (Dirmil)		kullanımı yok
**S. sandrasica* (Yeni tür)	Muğla		kullanımı yok
**S. gokcheoglui* O. Ünal & R.S. Göktürk (Yeni tür)	Antalya (Alanya)		kullanımı yok
**S.ekimii* A. Duran (Yeni tür)	Yozgat (Aydıncık)		kullanımı yok
**S. adilii* A. Duran (Yeni tür)	Konya (Ereğli)		kullanımı yok
**S. aytatchii* A. Duran & Sagiroglu (Yeni tür)	Konya (Ereğli)		kullanımı yok
**S. yildirimlii* A. Duran & Hamzaoğlu (Yeni tür)	Osmaniye		kullanımı yok
**S. karabelensis* Parolly & Kilion (Yeni tür)	Muğla (Fethiye)		kullanımı yok
**S. ulrichii* Parolly & N. Kilion (Yeni tür)	Antalya (Alanya)		kullanımı yok

1.3.4. *Scorzonera* L. Cinsinin Tayin Anahtarı

Flora of Turkey and The East Agean Islands isimli eserin 5. cildinde *Scorzonera* cinsinin tayin anahtarı aşağıdaki şekilde verilmiştir.

1.Bazılarında taban yaprakları kabaca dişlidir, derin pennat parçalıdır
2.Çiçekler sarı renkli, bazılarında involukrumdaki brakteler boynuzumsu çıkıntı taşır
3.Ovaryum ve akenler yünsü tüylü

3. *armeniaca*

3.Ovaryum ve akenler tüysüz
4.Bazı taban yapraklar tam, ovat (Tuzlu ortamda yaşayan bitkiler)

4. *hieraciifolia*

4.Taban yaprakları hemen hemen daima derin pennat parçalı, parçalar linear
5.Tek yıllık veya iki yıllık, ligulalar yaklaşık içteki braktelerin uzunluğunda

1. *laciniata*

5.Çok yıllık, ligulalar içteki braktelerin uzunluğunun en az 1,5 katı uzunlukta

2. *cana*

2.Çiçekler menekşe renginden morumsu kırmızıya kadar değişen renklerde veya mor tüplü sarı renklidir, involukrumdaki braktelerde boynuzumsu çıkıntı yoktur, akenler saplı değildir
6.Kapitulum (35-)40-50 mm uzunlukta, mor tüplü sarı renkli çiçekler

13. *incisa*

6.Kapitulum 25-40 mm uzunlukta, çiçekler menekşe-mor renklerde
7.Gövde 25-40 mm, yapraklar otsu, brakteler akut

14. *lacera*

7.Gövde 10-20 cm, yapraklar derimsi, brakteler obtus

15. *violaceae*

1.Yapraklar tam, kenarları bazen dalgalı
8. Yaprakların boyu genişliğinin 2-5(-6) katı kadar
9. Bitki, (15-)20-70 cm, gövdeli, yapraklar uzun, yumuşak, sık tüylü-yünsü keçemsi tüylü
10.Ovaryum ve akenler yünsü tüylü
11. Yapraklar yünsü veya kısa yumuşak tüylü, grimsi
12. Ana gövdede yaklaşık 10 kapitulum

34. *sosnowskyi*

12. Ana gövdede yaklaşık 35 kapitulum

33. *veratrifolia*

11. Yapraklar seyrek olarak ince uzun yumuşak tüylü-tüysüz, yeşil

31. *latifolia*

10. Ovaryum ve akenler tüysüz

13.Dıştaki brakteler yaklaşık 5 mm, ince uzun yumuşak tüylü

32. *mirabilis*

13.Dıştaki brakteler 17-19 mm, yünsü tüylü

35. *tomentosa*

9. Bitki, 5-15 cm, gövdeli veya hemen hemen skapuslu, yapraklar keçemsi sık tüylü veya yünsü tüylü

14. Yapraklar keçemsi sık tüylü, içteki brakteler akut

20. *argyrea*

14. Yapraklar grimsi beyaz görünüşlü sık tüylü-yünsü tüylü, içteki brakteler obtus

39. *boissieri*

8. Yaprakların boyu genişliğinin 5 katından daha fazladır

15.Bitki yarıçalımsı

36. *acantholimon*

15.Bitki otsu

16.Bitki hemen hemen skapuslu, gövde tabanda veya taban yakın bir yerde dallanmış, genellikle kapitulum taşır

17.Kökten itibaren çok gövdeli (caespitose), yapraklar sert, 1-10 cm, düz kenarlı, sarı çiçekli

18.Yapraklar ipeksi tüylü

28. *sericea*

18.Yapraklar tüysüz, seyrek olarak yünsü tüylü veya kısa yumuşak tüylü

19.Çiçekli gövde 10-30 cm, yapraklar kısa yumuşak tüylü

27. *rigida*

19.Çiçekli gövde 5-10(-12) cm, yapraklar seyrek olarak yünsü tüylü-tüysüz

20. Ovaryum ve akenler yünsü tüylü

26. *lasiocarpa*

20. Ovaryum ve akenler tüysüz

21.Yapraklar seyrek yünsü tüylü, dıştaki brakteler 3-5 mm, ovat-lanseolat

24. *pygmaea*

21.Yapraklar yoğun yünsü tüylü, dıştaki brakteler 5-8 mm lanseolat

25. *seidlitzii*

17.Kökten itibaren çok gövdeli değil, yapraklar yumuşak, 3,5-25 cm, bazen kenarları dalgalı, sarı veya mor çiçekli

22. Çiçekler leylak rengi-mor

23.Toprakaltı yumrulu (Kuzey ve Kuzeydoğu Anadolu)

5. *suberosa*

23.Toprakaltı silindirik (Güney ve Doğu Anadolu)

8. *phaeopappa*

22.Çiçekler sarı

24.Kapitulum 25-50 mm uzunlukta, meyvede içteki brakteler 30-50 mm

25.Yapraklar 8-20 mm genişlikte

9. *semicana*

25.Yapraklar 2-5 mm genişlikte

6. *mollis*

24.Kapitulum 10-25 mm uzunlukta, meyvede içteki brakteler yaklaşık 20 mm

26.Tüm bitki gri, ince uzun yumuşak tüylü

22. *cinerea*

26.Bitki yeşil, yapraklar seyrek olarak, kıvrık kısa yumuşak tüylü-tüysüz

27.Yapraklar olgunlukta tüysüz veya yumuşak, kısa, kıvrık tüylü

28.Yapraklar tüysüz, toprakaltı silindirik sürünücü

19. *parviflora*

28.Yapraklar kısa, kıvrık yumuşak tüylü, toprakaltı yumrulu

7. *inaequiscapa*

27.Yapraklar olgunlukta yünsü tüylü, bazen tabanlara doğru daha yoğun, akenler yünsü tüylü

29.Yapraklar 8-15 mm genişlikte, kenarları dalgalı, çiçekli gövde 5-12 cm

29. *pseudolanata*

29.Yapraklar 2-4-(6) mm genişlikte, kenarları düz, çiçekli gövde 10-25 cm

30. *sublanata*

16.Bitki net bir biçimde gövdeli, gövde genellikle tabandan başlayan toplam uzunluğun en az 1/4'ünde dallanmış

30.Kapitulum 10-20 mm uzunlukta, içteki brakteler 8-12 mm, akenler yaklaşık 4 mm, yünsü tüylü

31.Gövde 1(-3) kapitulum taşır, yatıktır, yapraklar 2-4 mm genişlikte

38. *kotschyi*

31.Gövde çok sayıda kapitulum taşır, diktir, yapraklar 6-8 mm genişlikte

37. *aucherana*

30.Kapitulum 15-60 mm uzunlukta, içteki brakteler 12-50 mm, akenler 6,5-30 mm, tüysüz veya yünsü tüylü

32. Yapraklar en az genişliğinin 20 katı kadar boydadır, linear-linear lanseolat

33.Meyvede içteki brakteler 30-50 mm, akenler 15-30 mm

34.En uçtaki dallar, bitkinin toplam yüksekliğinin 1/4'ünden fazla değil

17. *davisii*

34.En uçtaki dallar, bitkinin toplam yüksekliğinin en az 1/2'si kadar

35. Yapraklar 8-20 mm genişlikte

9. *semicana*

35. Yapraklar 2-5 mm genişlikte

5. *mollis*

33.Meyvede içteki brakteler 20 mm, akenler yaklaşık 8 mm

36. Yapraklar 1-2 mm genişlikte, akenler tüysüz

16.*elata*

36. Yapraklar 3-9 mm genişlikte, akenler yünsü tüylü

18.*cretica*

32. Yapraklar en az genişliğinin 8-12 katı kadar boyda, ince lansoelat- lanseolat

37. Yapraklar yoğun yünsü tüylü-keçemsi sık tüylü, akenler yünsü tüylü

21. *eriophora*

37. Yapraklar tüysüz veya kıvrık kısa yumuşak tüylü, ince uzun yumuşak tüylü veya seyrek olarak kolay düşen yünsü tüylü, akenler tüysüz

38. Kapitulum 15-25 mm uzunlukta, yapraklar ince uzun yumuşak tüylü

39. Yapraklar yoğun bir biçimde gri yumuşak ince uzun tüylü, kenarları düz

22. *cinerea*

39. Yapraklar seyrek bir biçimde gri yumuşak ince uzun tüylü, kenarları dalgalı (Kuzey Anadolu)

23. *amasiana*

38. Kapitulum 25-43 mm uzunlukta, yapraklar kıvrık kısa yumuşak tüylü veya kolay düşen yünsü tüylü zamanla tüysüz

40. Çiçekler pembe-leylak rengi (Doğu Anadolu)

10. *papposa*

40. Çiçekler sarı (Kuzeybatı Anadolu ve Orta Anadolu)

41. Yapraklar hafif derimsi, aken gövdesi çizgili fakat pürüzlü değil

11. *acuminata*

41. Yapraklar otsu, aken gövdesi çizgili ve pürüzlü-kabarcıklı

12. *hispanica*

1.4. *Scorzonera* Türleri Üzerinde Yapılan Kimyasal Çalışmalar

Scorzonera türleri üzerinde yapılan kimyasal çalışmalara bakıldığında, Asteraceae familyasının Lactucaceae tribüsünde yer alan diğer bitkiler gibi *Scorzonera* türlerinin de terpenik bileşikler açısından zengin olduğu bunun yanı sıra fenolik bileşikleri de taşıdığı görülmektedir (Tsevegsuren ve ark., 2007). *Scorzonera* türlerinin taşıdığı bileşikler şu şekilde sınıflandırmak mümkündür:

1.4.1. Terpenik Bileşikler

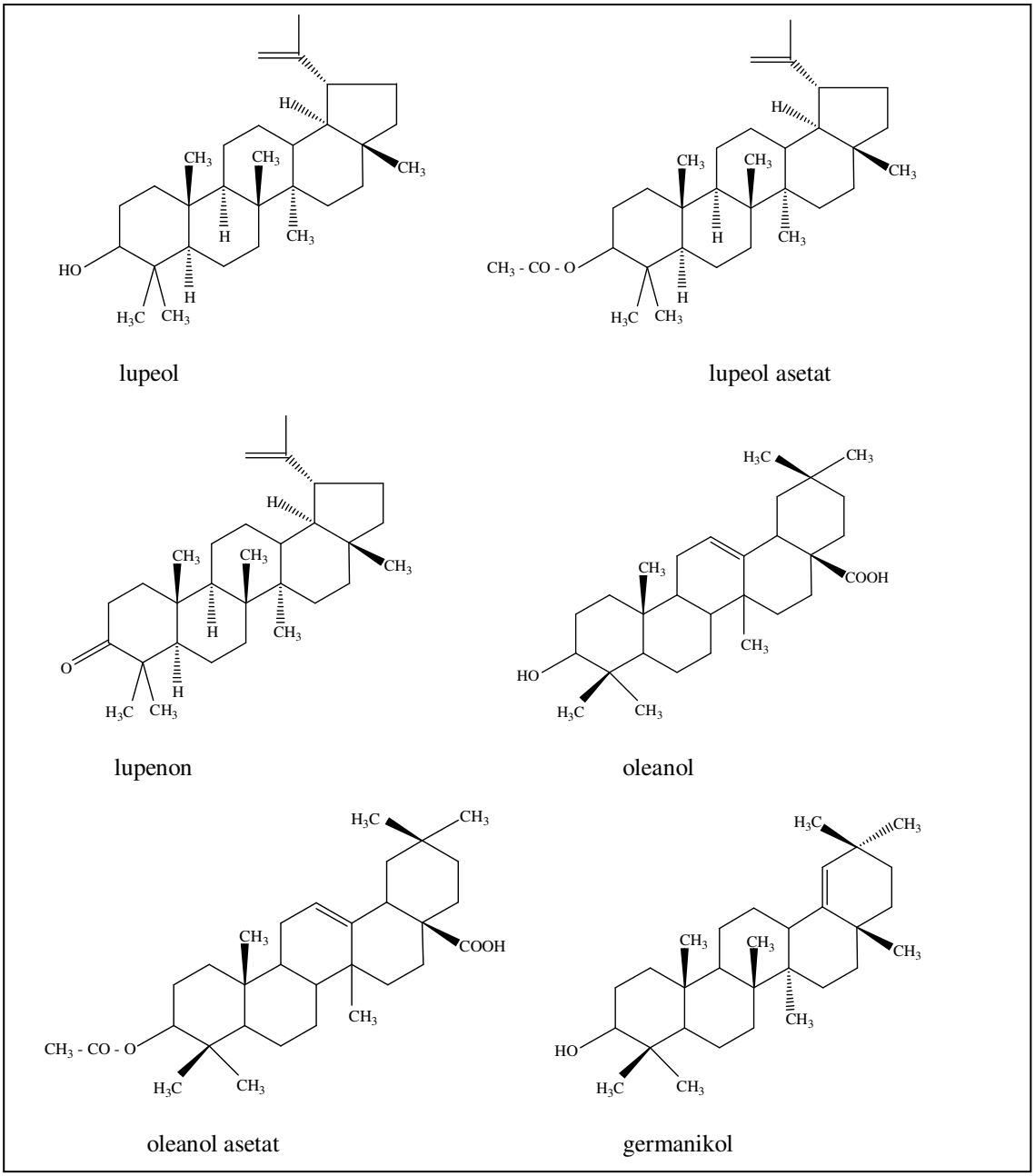
1.4.1.1. Triterpenler

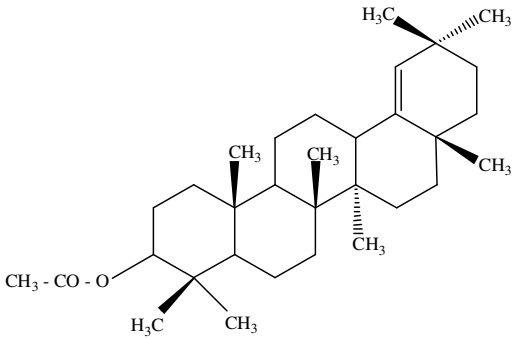
Scorzonera tomentosa'nın toprak üstü kısımlarından triterpen yapısında **lupeol**, **lupeol asetat** ve **α-amirin** izole edilmiştir (Öksüz ve ark., 1990). Ayrıca *S. columnae* L. bitkisinden de Menichini ve Statti tarafından (1994) lupeol elde edilmiştir

Paraschos ve arkadaşları ise *S. cretica* Willd.'nın diklorometanlı ekstresinden 10 kadar triterpenik yapılı bileşik izole etmiştir. Bu bileşikleri izole etmek için öncelikle tüm bitki kurutulup toz edildikten sonra, sırasıyla diklorometan ve metanol ile ekstre edilmiştir. Ekstreler kuruluğa kadar vakumda yoğunlaştırılıp Si gel 60 ve artan polaritedeki diklorometan-metanol solvan karışımı ile vakum sıvı kromatografisi kullanılarak fraksiyonlandırılmıştır. Diklorometan fraksiyonları yine Si gel ve diklorometan-metanol karışımı ile kolon kromatografisi uygulanarak saflaştırılmış ve bileşiklerin yapıları ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR, MS ile spesifik çevirme verilerine dayanılarak **oleanol asetat**, **germanikol asetat**, **lupeol asetat**, **germanikon**, **lupenon**, **oleanol**, **germanikol**, **lupeol**, **taraksasterol** ve **taraksasterol asetat** olarak aydınlatılmıştır. (Paraschos ve ark., 2001).

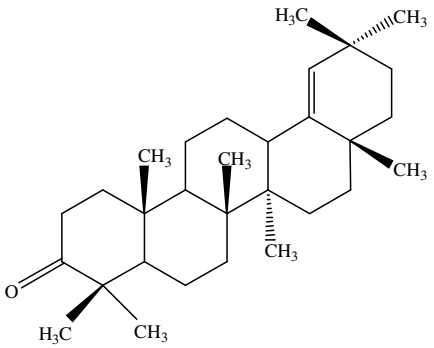
S. mongolica bitkisinden olean iskeleti taşıyan triterpenik yağ asitleri izole edilmiştir. Bu bileşiklerin izolasyonu için öncelikle kurutulan bitkiden metanol ile oda

sıcaklığında bir ekstre hazırlanmıştır. Ekstre vakum altında kuruluğa kadar uçurulup elde edilen artık kolon kromatografisi yöntemi kullanılarak silikajel üzerinde petrol eteri: aseton ile elüe edilerek fraksiyonlandırılmıştır. Fraksiyonlar tekrar kolon kromatografisi ve HPLC yöntemleriyle temizlenerek **3β-tetradekanoil moradiol** ve **3β-dodekanoil moradiol** bileşikleri elde edilmiştir (Wang ve ark., 2007).

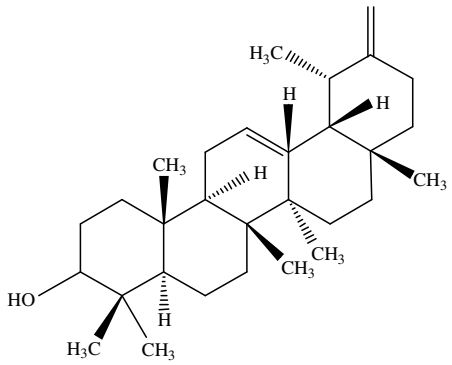




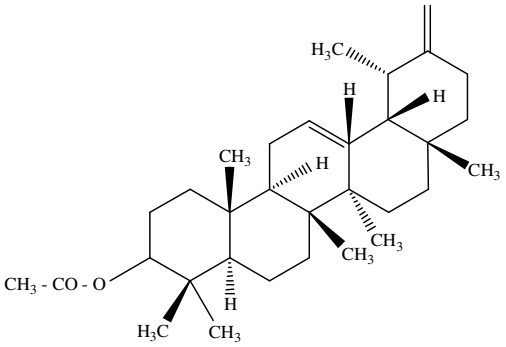
germanikol asetat



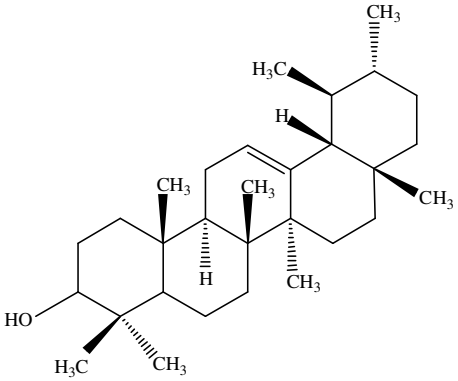
germanikon



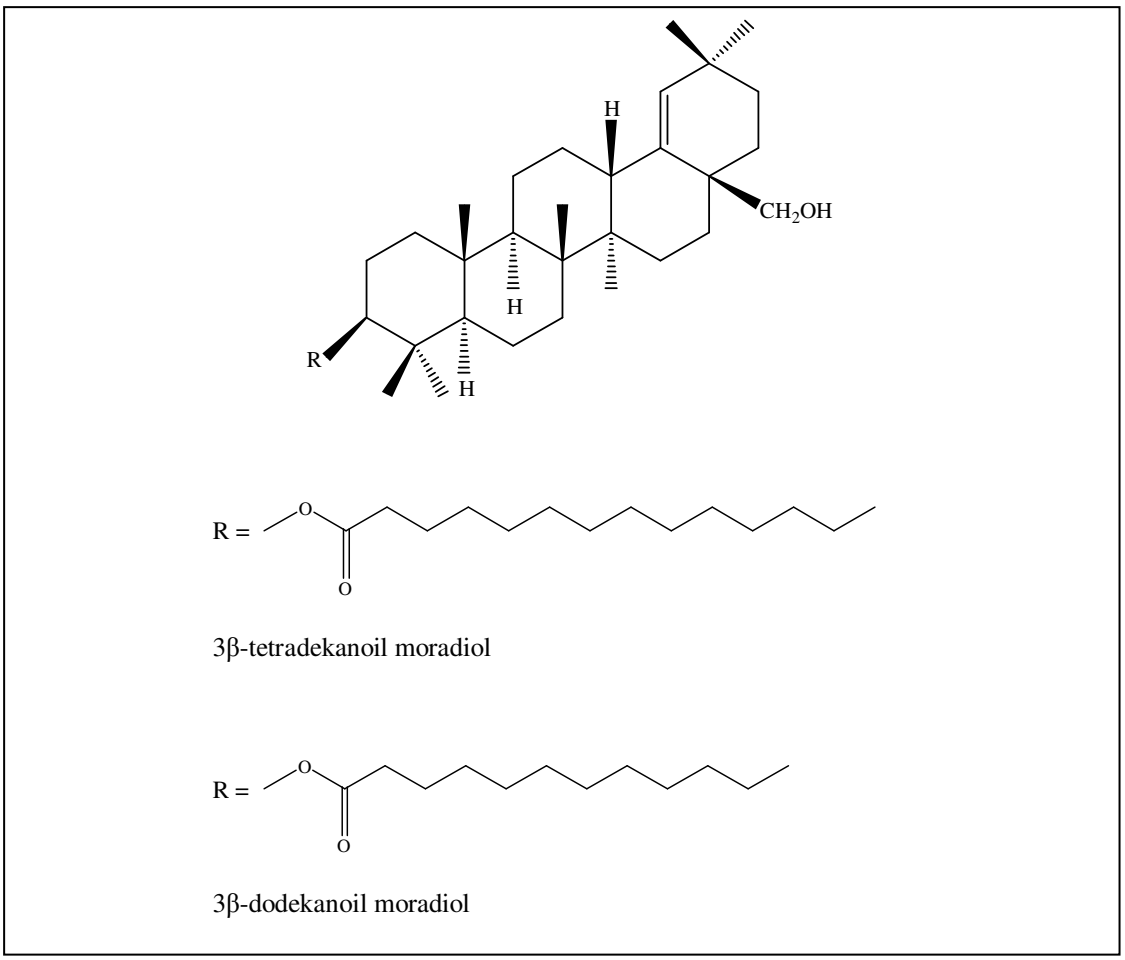
taraksasterol



taraksasterol astetat



α-amirin



Şekil 1 *Scorzonera* türlerinden elde edilen triterpenler

1.4.1.2. Seskiterpenler

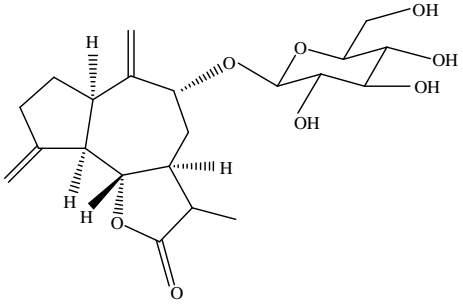
Bryanskii ve arkadaşları tarafından (1992) *Scorzonera hispanica* bitki doku kültüründen bir seskiterpen glikozit izole edilip yapısı **6,9-dihidroksi-4,10,14,15-tetradihidrogayan-6,12-olit 9-10-β-D-glukopiranozit (skorzonerozit)** olarak açıklanmıştır.

Zidorn ve arkadaşları tarafından (2000a) yapılan başka bir çalışmada *S. hispanica*'dan **skorzonerozit,** bisabolan türevi **puligluton**, skorzonerozit'in 11,13 dehidro türevi olan **ikserizozit D** ve **3-O-anjeloil-11β, 13-dihidrodesasil siyanaropikrin-8-β-D-glukozit** izole edilmiştir. Bu çalışmada seskiterpenleri izole etmek için *S. hispanica* metanol ile ekstre edilmiş, metanol ekstresi vakumda

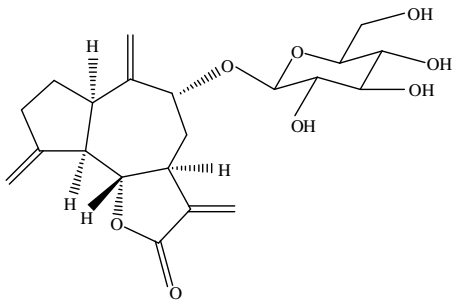
konsantre edilip su ve etilasetat ile dağılıma uğratılmıştır. Etilasetat fazı kuruluğa kadar uçurulup elde edilen artık Si gel 60 üzerinde diklorometan-metanol ve diklorometan-aseton ile fraksiyonlandırılmıştır. **Puligluton** ve **ikserizozit D** bileşikleri elde edilen fraksiyonlardan izokratik semi-preparatif HPLC (RP-18 kolon, asetonitril/su 25/75, 50/50) yöntemiyle, **3-O-anjeloil-11β, 13-dihidrodesasil siyanaropikrin-8-β-D-glukozit** bileşiği ise MPLC (LiChroprep RP-18, asetonitril/su 25/75) uygulanarak saflaştırılmıştır.

S. austriaca bitkisinin köklerinden hazırlanan asetonlu ekstreden yeni bir seskiterpen lakton olan, **3-β,11α-dihidroksi-4β-metil-gaya-10(14)-en-12,6α-olit** bileşiği izole edilmiştir (Li ve ark., 2004). Zhu ve ark. (2009) tarafından yapılan bir başka çalışmada ise yine köklerden hazırlanan asetonlu ekstreden hareketle silikajel kolonda petrol eteri: aseton, petrol eteri:etilasetat, kloroform:aseton çözücü sistemleri kullanılarak az rastlanan bir halka yapısına sahip dimerik gayanolit yapısında 2 yeni bileşik; bigayaskorzolit A ve B izole edilmiştir. Bileşiklerin yapıları 1D ve 2D NMR teknikleri, MS, UV ve IR yöntemleri kullanılarak aydınlatılmıştır.

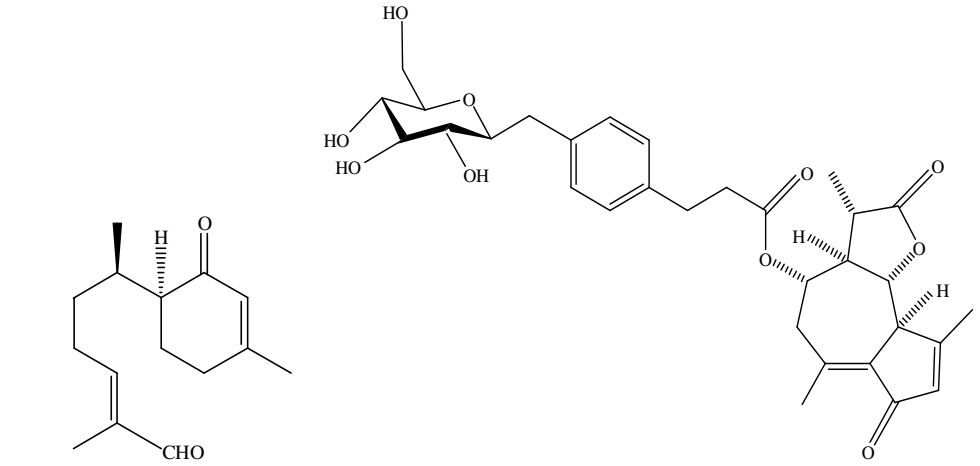
S. pseudodivaricata bitkisinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanollü ekstrenin etilasetatlı fraksiyonu sefadeks LH 20 üzerinde, metanol ile elüe edilerek kolon kromatografisi ile fraksiyonlandırılmış ve major bileşik olarak seskiterpen yapısındaki **skorzonerin** izole edilmiştir. Yapısı NMR teknikleri, MS ve diğer spektroskopik yöntemler kullanılarak aydınlatılmıştır (Tsevegsuren ve ark., 2007).



skorzonerozit

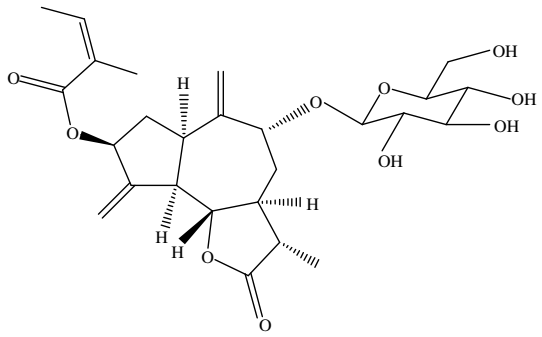


ikserizozit D

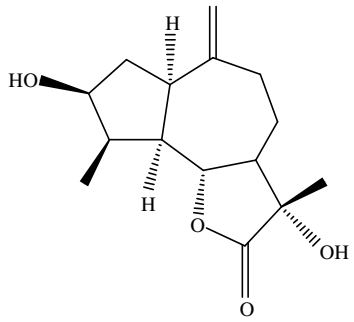


puligluton

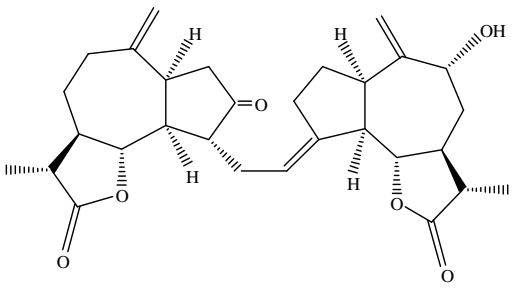
skorzonerin



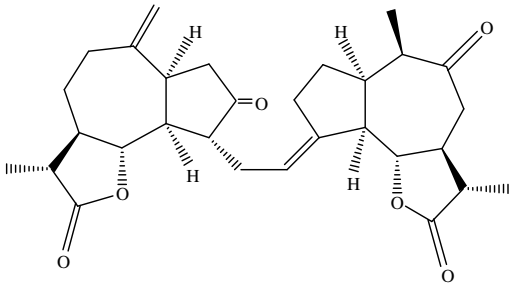
3-O-anjeloil-11β, 13-dihidrodesasil siyanaropikrin-8-β-D-glukozit



3-β,11α-dihidroksi 4β-metil-gaya-10(14)-en-12,6α-olit



bigayaskorzolit A

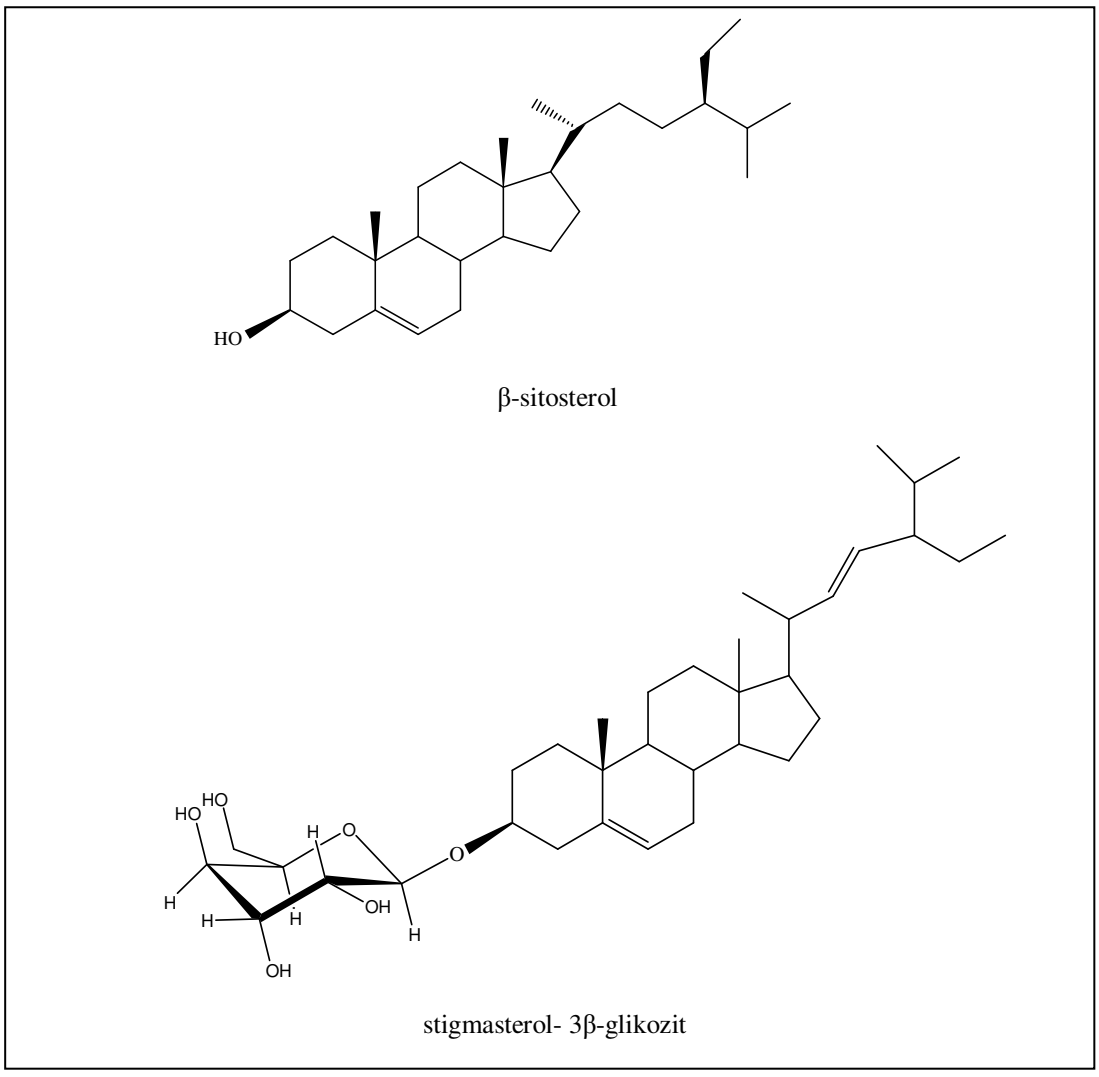


bigayaskorzolit B

Şekil 2. *Scorzonera* türlerinden elde edilen seskiterpenler

1.4.1.3. Steroller

β-sitosterol, *Scorzonera columnae* (Menichini ve Statti, 1994) ile *S. hispanica* (Zidorn ve ark., 2000a)'dan izole edilmiştir. Ayrıca *S. tomentosa*'dan da β-sitosterol ve stigmasterol- 3β-glikozit bileşikleri izole edilmiştir (Öksüz ve ark., 1990).



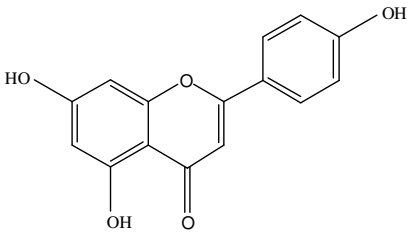
Şekil 3. *Scorzonera* türlerinden elde edilen steroller

1.4.2. Flavonoitler

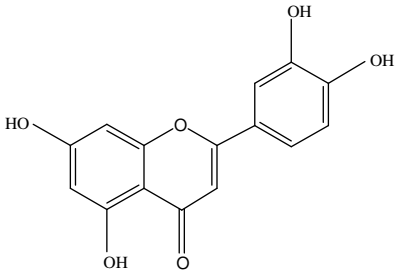
Scorzonera columnae'den, ilk olarak 1994'de flavonoit yapısında **apigenol**, **luteolol**, **kersetol** ve **kersetol-3-(6″-kafeil)-galaktozit** bileşikleri izole edilmiştir (Menichini ve Statti, 1994).

Jiang ve ark. tarafından yapılan başka bir çalışmada ise (2006) *S. austriaca*'dan hareketle % 95'lik etanol kullanılarak oda sıcaklığında hazırlanmış ekstre vakum altında kuruluğa kadar uçurulduktan sonra elde edilen artık su içinde süspanse edilmiş ve sırasıyla kloroform ve n-butanol ile fraksiyonlandırılmıştır. n-Butanollü ekstre kolon kromatografisi kullanılarak fraksiyonlara ayrılmış, elde edilen fraksiyonlar tekrar Sefadeks LH-20 üzerinde metanol ile ve poliamit üzerinde metanol-su karışımı ile elüe edilerek **luteolol-3'-(6-E-*p*-kumaroil-β-D-glukopiranozit)** bileşiği saflaştırılmıştır. Saflaştırılan bileşiğin yapısı NMR teknikleri (^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR) ve MS yardımıyla aydınlatılmıştır. Ayrıca izole edilen tüm bileşiklerle birlikte, kapiller elektroforez yöntemiyle fitokimyasal analizi de yapılmıştır.

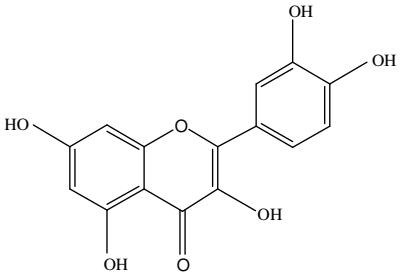
S. divaricata ve *pseudivaricata* bitkilerinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanollü ekstrenin etilasetatlı fraksiyonundan hareketle önce sefadeks LH 20 üzerinde, metanol ile elüe edilmek suretiyle yapılan kolon kromatografisiyle elde edilen fraksiyonlar daha sonra tekrar kolon kromatografisi ve semi-preparatif HPLC yöntemleri kullanılarak saflaştırılmış ve *S. divaricata*'dan **apigenol**, **izoviteksin-4'-*O*-glukozit**, **izoviteksin-2'-*O*-ksilozit**, **kemferol-3-*O*-rutozit**; *S. pseudivaricata*'dan ise **izoviteksin-2''-*O*-ksilozit**, **luteolol**, **luteolol-7-glukozit**, **luteolol-5-glukozit** izole edilmiştir. İzole edilen bileşiklerin yapıları çeşitli NMR teknikleri (^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR, COSY, HMBC) kullanılarak aydınlatılmıştır (Tsevegsuren ve ark., 2007).



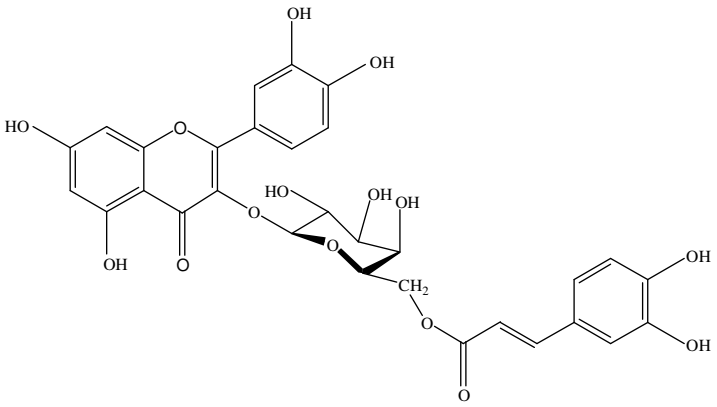
apigenol



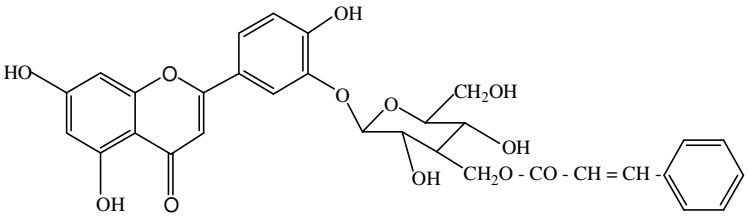
luteolol



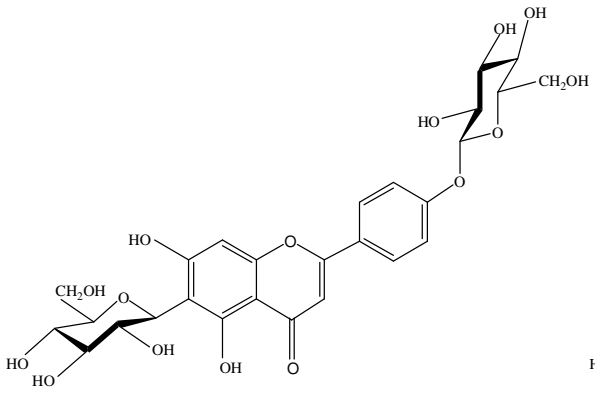
kersetol



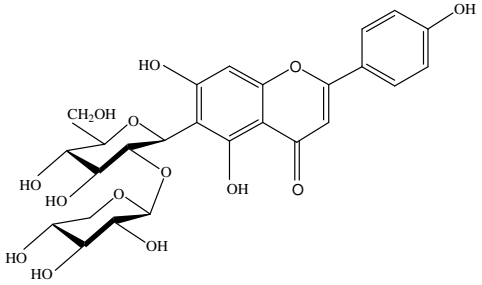
kersetol-3-6”kafeilgalaktozit



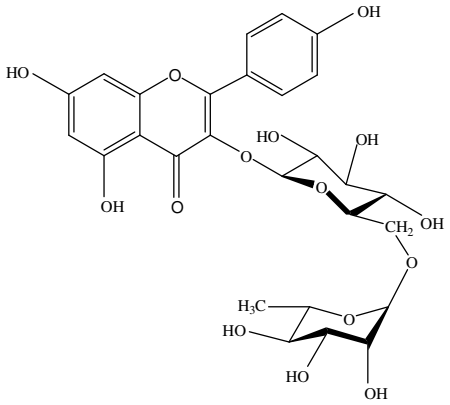
luteolol-3'-(6-E-*p*-kumaroil-β-D-glukopiranozit)



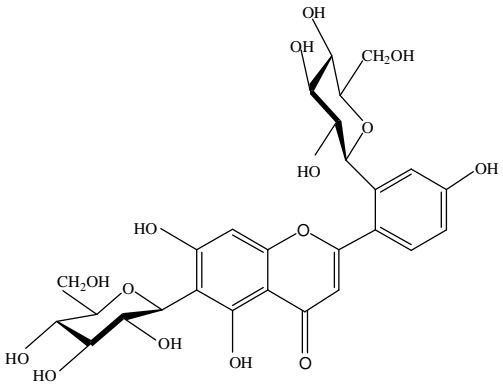
izoviteksin-4'- *O*- glukozit



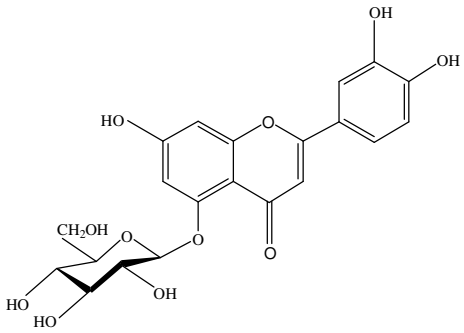
izoviteksin-2"-*O*-ksilozit



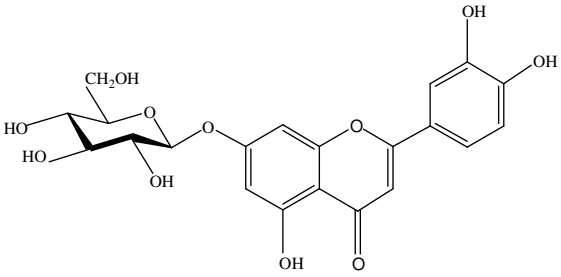
kemferol-3-rutozit



izoviteksin-2'-*O*-ksilozit



luteolol-5-glukozit



luteolol-7-glukozit

Şekil 4. *Scorzonera* türlerinden elde edilen flavonoitler

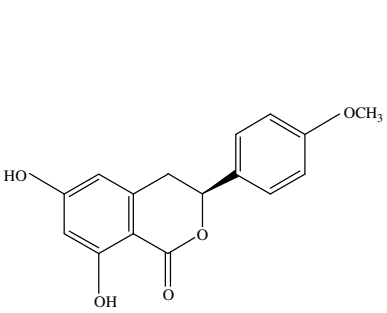
1.4.3. Kumarinler

Paraschos ve ark. (2001) tarafından yapılan bir çalışma ile *Scorzonera cretica* kurutulup toz edildikten sonra, sırasıyla diklorometan ve metanol ile ekstre edilmiştir. Ekstreler kuruluğa kadar vakumda yoğunlaştırılıp Si gel 60 ve artan polaritedeki diklorometan-metanol solvan karışımı ile vakum sıvı kromatografisi ile fraksiyonlandırılmıştır. Metanol ile elüe edilen fraksiyonlar MPLC (RP-18 Sigel 60) ile su-metanol solvan sistemi kullanılarak saflaştırılmak suretiyle, dihidroizokumarin yapısında **skorzokretisin** ve bunun glikozitleri olan **skorzokretikozit I** ve **skorzokretikosit II** izole edilmiş, izole edilen bileşiklerin yapıları ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR ile 2D NMR teknikleri (COSY, COSY-LR, HMQC ve HMBC) kullanılarak aydınlatılmıştır.

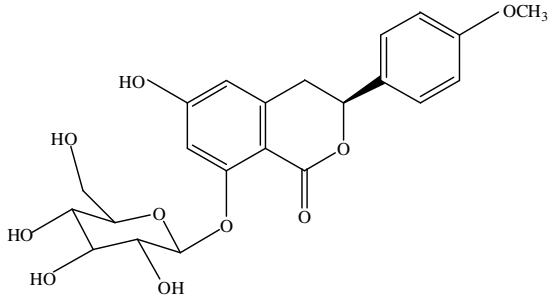
S. divaricata ve *S. pseudodivaricata* bitkilerinin toprak üstü kısımlarından ise kumarin yapısındaki **skopoletin** bileşiği izole edilmiştir. Bitkilerin toprak üstü kısımlarından oda sıcaklığında maserasyonla hazırlanan metanollü ekstresi kuruluğa kadar yoğunlaştırıldıktan sonra, metanol-su karışımında çözülüp sırasıyla; n-hekzan, etilasetat ve n-butanol ile fraksiyonlandırılmıştır. Etilasetatlı fraksiyondan hareketle Sefadeks LH 20 üzerinde, metanol ile elüe edilmek suretiyle yapılan kolon kromatografisi elde edilen fraksiyonlar tekrar kolon kromatografisi ve semi-preparatif HPLC yöntemleri kullanılarak saflaştırılmıştır. İzole edilen bileşiğin yapısı çeşitli NMR teknikleri (^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR, COSY, HMBC) kullanılarak aydınlatılmıştır (Tsevegsuren ve ark., 2007).

Sarı ve arkadaşları tarafından (2007) yapılan başka bir çalışmada ise, *S. tomentosa*'dan fenolik bileşiklerin yanı sıra dihidroizokumarin yapısında bazı bileşikler de izole edilmiştir. Bu amaçla bitkinin toprak altı kısımından metanollü ekstre hazırlanmış ve kuruluğa kadar vakum altında yoğunlaştırılmıştır. Artık metanol:su karışımında çözülüp sırasıyla petrol eteri, etilasetat ve n-butanol ile fraksiyonlandırılmıştır. Etilasetatlı fraksiyon silikajel üzerinde, metanol:diklorometan çözücü sistemi kullanılarak kolon kromatografisi yöntemiyle fraksiyonlandırılmıştır. Fraksiyonlar tekrar kolon kromatografisi, preparatif İTK ve semi-preparatif HPLC

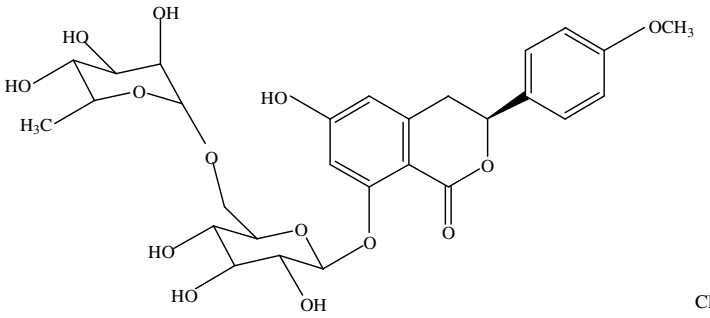
yöntemleri kullanılarak saflaştırılmış ve dihidroizokumarin yapısında; **(±)skorzotomentosin**, **(-)-skorzotomentosin-4'-*O*-β-glukozit**, **(±) hidragenol** ve **(±) hidragenol-4'-*O*-β-glukozit** bileşikleri izole edilmiştir.



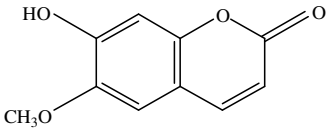
skorzokretisin



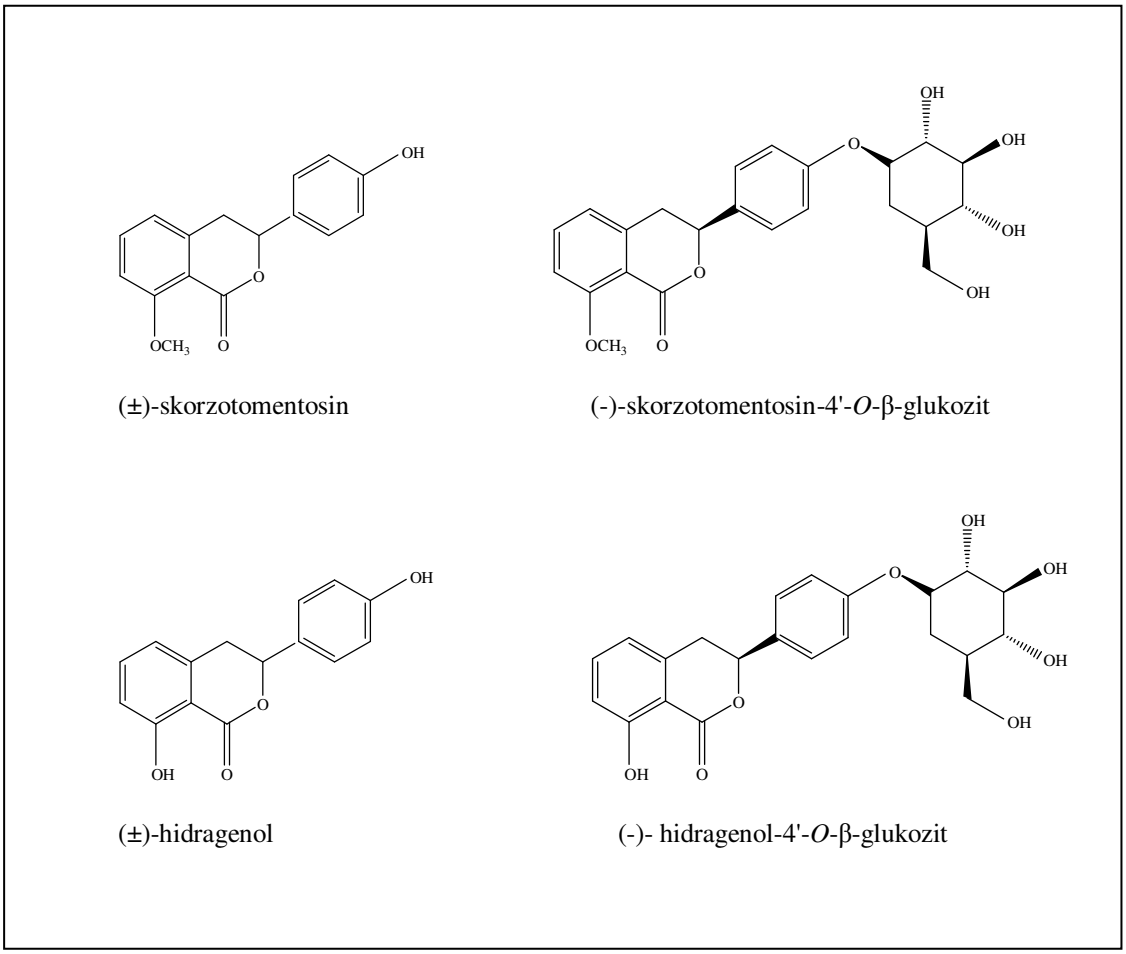
skorzokretikozit I



skorzokretikosit II



skopoletin



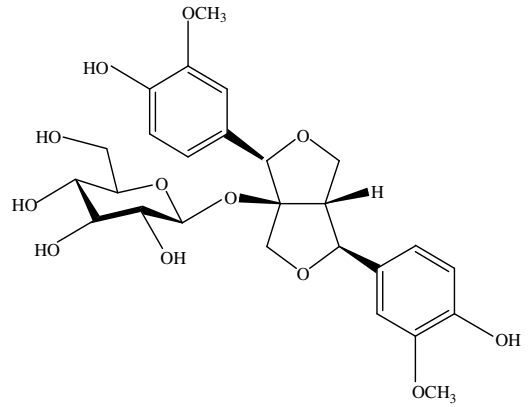
Şekil 5. *Scorzonera* türlerinden elde edilen kumarinler

1.4.4. Lignanlar

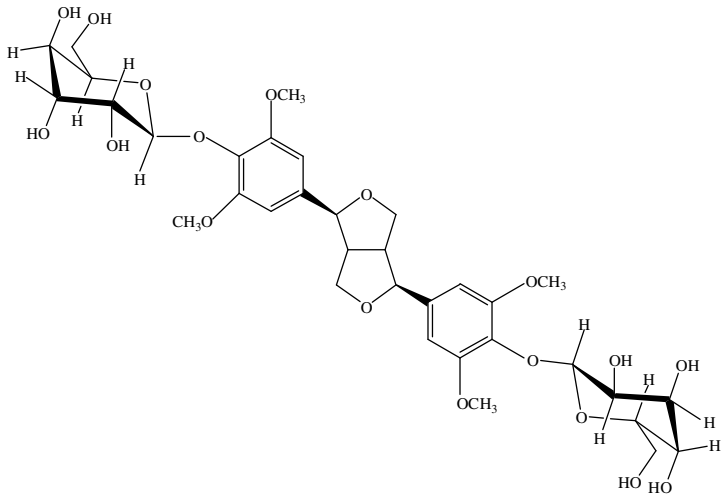
Scorzonera türlerinden lignan yapısındaki bileşikler ilk olarak Rus araştırıcılar tarafından *Scorzonera hispanica* hücre kültürlerinden elde edilmiştir. Bryanskii ve ark. (1992) *S. hispanica* doku kültürlerinden **siringarezinol-*O*-β-D-glukopiranozit**'i elde etmişlerdir. Yapılan bir başka doku kültürü çalışmasında **skorzonozit** olarak isimlendirilen **5-metoksidehidro koniferil alkolün 4-β-D glukopiranoziti** ve **dehidrokoniferil alkolün 4-β-D glukopiranoziti** elde edilmiş ve molekül yapıları UV, ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR ile aydınlatılmıştır (Tolstikhina ve Semenov, 1998). Aynı araştırıcılar tarafından gerçekleştirilen bir sonraki çalışmada ise **pinorezinol-4″-β-D-glukopiranozit**, **mediorezinol-4″-β-D-glukopiranozit** ve **mediorezinol-4'-β-D-glukopiranozit** isimli lignan glikozitleri elde edilmiştir (Tolstikhina ve ark., 1999).

Khobrakona ve ark. tarafından (2003) ise yine *S. hispanica* doku kültürü kullanılarak bir lignan glikoziti olan **siringarezinol monoglukoziti** izole edilmiştir.

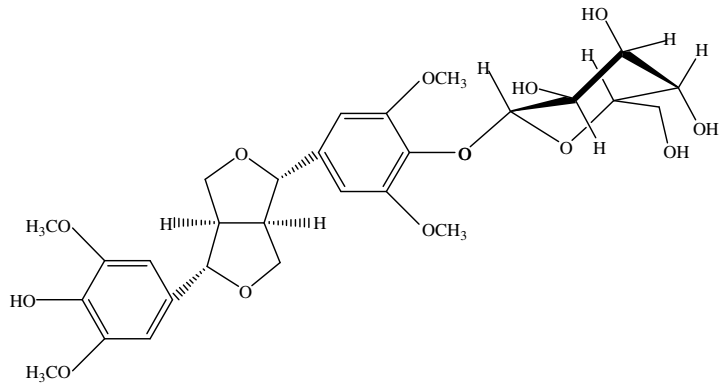
Bir diğer çalışmada, *S. hispanica*'dan yine lignan yapısında olan, **(1S,3aR,4R,6aR)-tetrahidro 1,4-bis (4β-D-glukopiranoziloksi-3,5-dimetoksi-fenil -tetrahidrofuro-[3,4-c]furan olarak adlandırılan** bileşik izole edilmiştir (Zidorn ve ark., 2000a). *S. humilis* bitkisi üzerinde yapılan bir başka çalışmada ise, bitkinin toprakaltı kısmından hazırlanan metanollü ekstre vakum altında kuruluğa kadar yoğunlaştırılıp sulu-metanol ve etilasetat arasında fraksiyonlandırılmış, etilasetatlı fraksiyon kolon kromatografisi ile, önce silikajel üzerinde (petrol eteri:diklorometan:aseton, etilasetat:aseton, etilasetat:metanol ve diklorometan:metanol) daha sonra sefadeks LH 20 üzerinde (metanol:etilasetat:su, 3:1:1) ve son olarak RP-18 üzerinde (su:asetonitril) saflaştırılmış ve lignan yapısındaki **pinorezinol-1-il-β-D-glukopiranozit (=(1S,3aR,4R,6aR)-tetrahidro 1,4-bis(4-hidroksi-2 metoksifenil)-1*H*,3*H*-furo [3,4-c] furan-3a-il β-D-glukopiranozit)** bileşiği elde edilmiştir (Zidorn ve ark., 2000b).



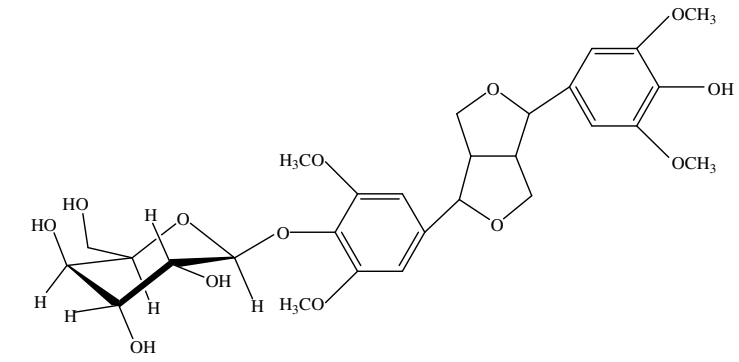
pinorezinol-1-il-β-D-glukopiranozit (=(1S,3aR,4R,6aR)-tetrahidro 1,4-bis(4-hidroksi-2 metoksifenil)-1*H*,3*H*-furo [3,4-c] furan-3a-il β-D-glukopiranozit



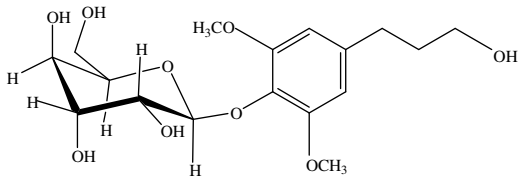
(1S,3aR,4R,6aR)-tetrahidro 1,4-bis (4β-D-glukopiranoziloksi-3,5-dimetoksi-fenil-tetrahidrofuro-[3,4-c] furan



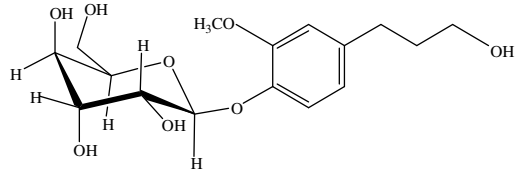
siringarezinol –*O*– β-D- glukopiranozit



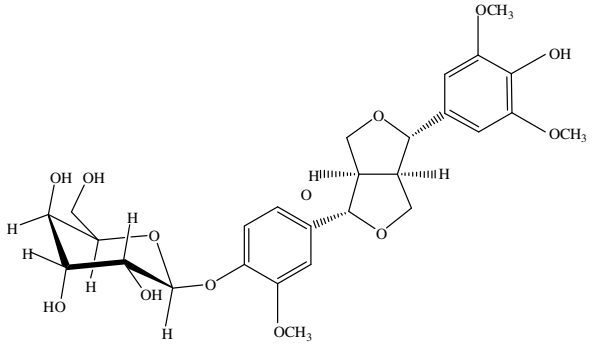
siringarezinol monoglukozit



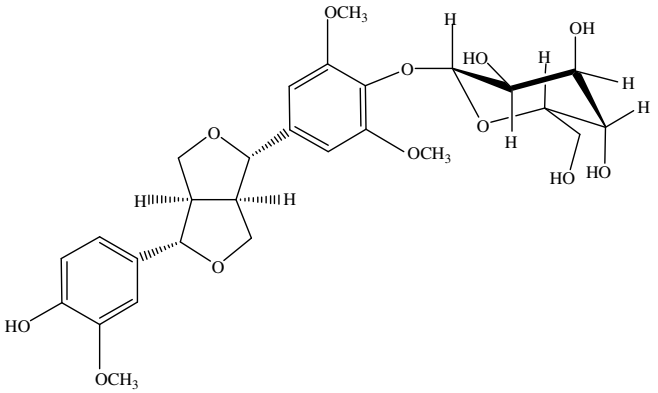
5-metoksidihidrokoniferil alkol 4- β-D- glukopiranozit



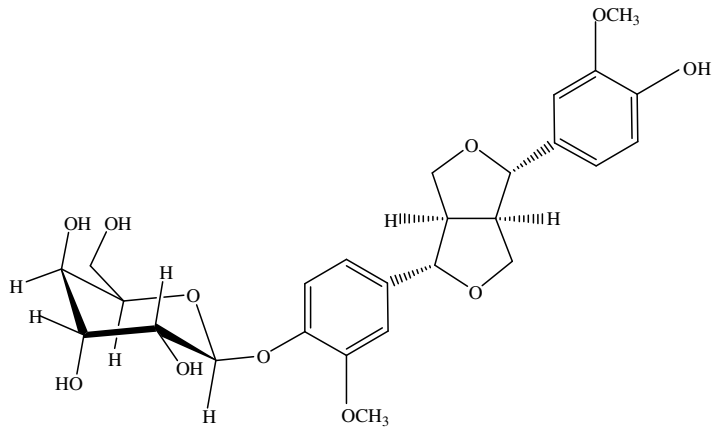
dihidrokoniferil alkol 4- β-D- glukopiranozit



mediorezinol-4”-β-D-glukopiranozit



mediorezinol-4’-β-D-glukopiranozit

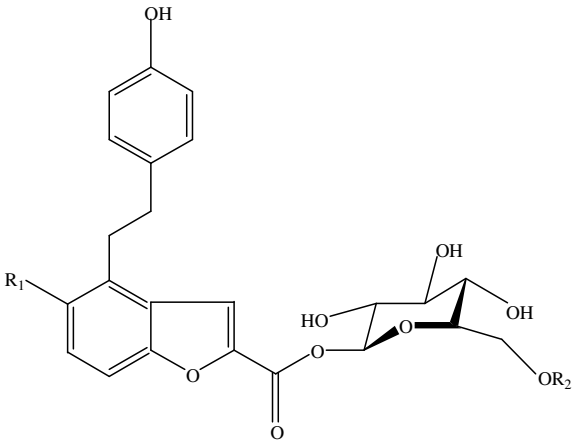


pinorezinol-4''-β-D-glukopiranozit

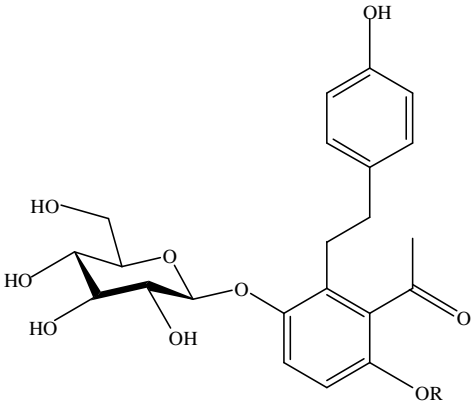
Şekil 6. *Scorzonera* türlerinden elde edilen lignanlar

1.4.5. Bibenzil Türevleri

Feniletilbenzofuran çekirdeği taşıyan ve doğal bileşiklerin yeni bir sınıfı olan tirolobibenzil yapısındaki bileşikler ilk olarak *Scorzonera humilis*'den izole edilmiştir. Bitkinin toprak altı kısımlarından hazırlanan metanol ekstresi su/metanol (2:1) ve etilasetat arasında fraksiyonlandırılmış ve etilasetatlı ekstre silikajel üzerinde kolon kromatografisi yöntemiyle, petrol eteri:diklorometan:aseton, etilasetat:aseton, etilasetat:metanol ve diklorometan:metanol çözücü sistemleri kullanılarak fraksiyonlara ayrılmıştır. Daha sonra sefadeks LH-20 kolonda metanol:etilasetat:su (3:1:1) ve en son olarak da RP-18 kullanılarak su:asetonitril elüsyonuyla **tirolobibenzil A**, **tirolobibenzil B** ve **tirolobibenzil C** bileşikleri izole edilmiştir (Zidorn ve ark., 2000b). Aynı araştırıcılar aynı bitki ile daha sonra yaptıkları bir çalışmada 1-β-D-apiozil-β-D-glukopiranozil-4-[2-(4-hidroksifenil) etil] benzofuran-2- karboksalat-3 yapısındaki **tirolobibenzil D**'yi (Zidorn ve ark., 2002) bunu takiben de **tirolobibenzil E** ve **tirolobibenzil F**'yi de izole etmişlerdir (Zidorn ve ark., 2003).



R1= H	R2= H	tirolobibenzil A
R1= OH	R2= H	tirolobibenzil B
R1= H	R2= β-D-apiozil	tirolobibenzil D
R1= O-β-D-glukozil	R2= H	tirolobibenzil F



R = H	tirolobibenzil C
R = β-D-glukozil	tirolobibenzil E

Şekil 7. *Scorzonera* türlerinden elde edilen bibenzil türevi bileşikler

1.4.6. Uçucu Bileşikler

Scorzonera hispanica'nın uçucu bileşikleri gaz kromatografisi yöntemiyle ile analiz edilmiştir. Bitkiden Likens-Nickerson aparatı ile elde edilen ekstrenin analizi sonucunda toplam 114 bileşik tanımlanmıştır. Bunlar arasında 8 alifatik asit ve 32 alifatik hidrokarbon sırasıyla yağın % 30.6 ve % 26.9'unu oluşturmaktadır. En çok bulunan bileşiğin % 22.1 oran ile hekzadekanoik asite ait olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca ekstrenin % 20.3 oranında furanoeremofilan türevi olan, 40 kadar uçucu seskiterpen taşıdığı da belirlenmiştir (Macleod ve ark., 1991).

1.4.7. Diğer Bileşikler

Scorzonera austriaca bitkisinin %95'lik etanollü ekstresinden, Jiang ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada (2006) **12-hidroksi desmetoksi yangonin**, **12-β-D-glikopiranozit desmetoksi yangonin** oldukları tespit edilen fenolik yapıda iki bileşik izole edilmiştir. Bitkinin tümünden hazırlanan etanollü ekstre vakum altında kuruluğa kadar uçurulduktan sonra elde edilen artık su içinde süspanse edilmiş ve sırasıyla kloroform ve n-butanol ile fraksiyonlandırılmıştır. n-Butanollü ekstre reçine (HPD100) kullanılan kolon kromatografisi yöntemiyle, sırasıyla su ve % 95'lik etanol kullanılarak fraksiyonlara ayrılmış, elde edilen fraksiyonlar ise silikajel kolon üzerinde kloroform ve metanol kullanılarak elüe edilmiştir. Daha sonra tekrarlanan silikajel kolon ve RP-18 kolon kromatografisi yöntemleriyle bu iki bileşik saflaştırılmış ve yapıları NMR teknikleri (^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR) ve MS yardımıyla aydınlatılmıştır.

S. divaricata ve *S. pseudodivaricata* bitkilerinin toprak üstü kısımlarından bilinen bazı kinik asit türevleriyle bazı yeni bileşikler izole edilmiştir. *S. divaricata*'dan **klorojenik asit** ve kinik asit türevleri olan **feruloilpodospermik asit A** ve **B** yeni bileşikler olarak; *S. pseudodivaricata*'dan ise, **3,5-kafeilkinik asit, pilatifillozit** ve **skorzonerik asit** izole edilmiştir. Bitkilerin toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanollü ekstre kuruluğa kadar yoğunlaştırıldıktan sonra, hekzan, etilasetat ve n-

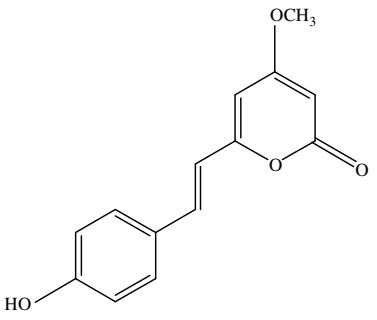
butanol arasında fraksiyonlandırılmıştır. Etilasetatlı ekstre sefadeks LH-20 üzerinde metanol ile fraksiyonlara ayrıldıktan sonra silikajel üzerinde tekrarlanan kolon kromatografisi ve semipreparatif HPLC ile *S. divaricata*'dan **feruloilpodospermik asit A** ve **B** ile **klorojenik asit** elde edilmiştir. *S. pseudodivaricata*'dan da benzer şekilde sefadeks kolondan elde edilen fraksiyonların tekrar silikajel üzerinde diklorometan:metanol ile elüe edilerek fraksiyonlandırılmasıyla **3,5-kafeilkinik asit, pilatifillozit** ve **skorzonerik asit** elde edilmiştir (Tsevegsuren ve ark., 2007).

Sarı ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada ise, *S. tomentosa* bitkisinden fenolik yapıda bazı bileşikler izole edilmiştir. Bitkinin toprak altı kısmından hazırlanan metanollü ekstre kuruluğa kadar vakum altında yoğunlaştırılmış ve metanol:su karışımında çözülüp sırasıyla petrol eteri, etilasetat ve n-butanol ile fraksiyonlandırılmıştır. Etilasetatlı fraksiyon silikajel üzerinde, metanol:diklorometan çözücü sistemi kullanılarak kolon kromatografisi yöntemiyle fraksiyonlara ayrılmış, ve fraksiyonlar tekrar kolon kromatografisi, preparatif İTK ve semi-preparatif HPLC yöntemleri kullanılarak saflaştırılmıştır. Yapılan bu izolasyon çalışmaları sonucunda, **(±) hidra-makrofillol A** ve **B**, **(±) skorzofitalit**, **skorzoerzincanin** isimli bileşikler izole edilmiştir (Sarı ve ark., 2007).

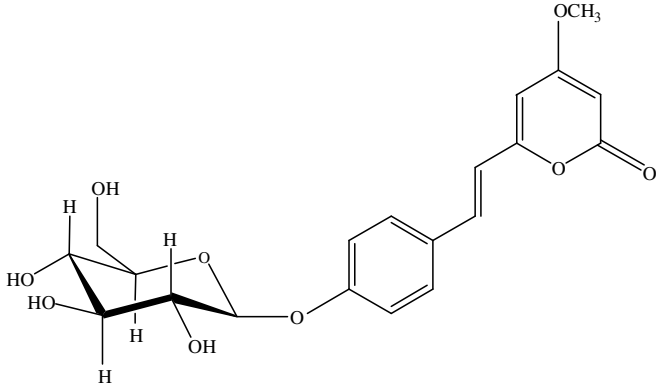
Scorzonera radiata üzerinde Wang ve ark., (2009) yapılan bir başka çalışmada, bitkinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanollü ekstrenin sıvı sıvı ektraksiyonu sonucunda elde edilen etilasetatlı fraksiyon önce HP-20 reçine üzerinde kolon kromatografisi ile ana fraksiyonlara ayrılmış. Daha sonra bu fraksiyonlar sefadeks LH-20 üzerinde tekrar kolon kromatografisi ve RP-18 kolon kullanılan semi-preparatif HPLC yöntemleriyle metanol ve metanol:su çözücü sistemleri kullanılarak saflaştırılmış ve dihidrostilben türevi beş yeni bileşik; **skorzodihidrostilben A, B, C, D** ve **E** izole edilmiştir.

Bu izolasyon çalışmalarının haricinde Zidorn ve ark. tarafından (2003) yapılan kalitatif bir çalışmada HPLC yöntemi kullanılarak çeşitli *Scorzonera* türlerinin tirolobibenzil grubu bileşikleri ve bazı fenolik bileşikleri içerip içermediği incelenmiştir. Analizi yapılan tüm *Scorzonera* türlerinde ki bu türler şunlardır; *S.*

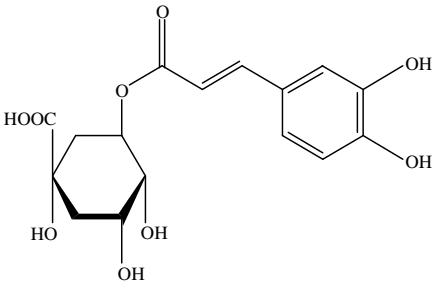
aristata, *S. austriaca*, *S. baetica*, *S. hispanica*, *S. humilis*, *S. parviflora*, *S. purpurea*, *S.rosea*, *S. trachysperma*; fenolik bileşikler olan klorojenik asit ve 3,5-dikafeil kinik asit varlığı tespit edilmiştir.



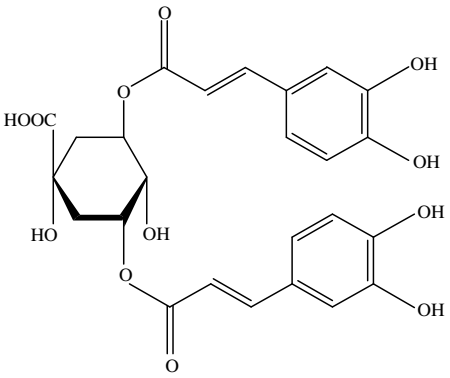
12-hidroksi desmetoksi yangonin



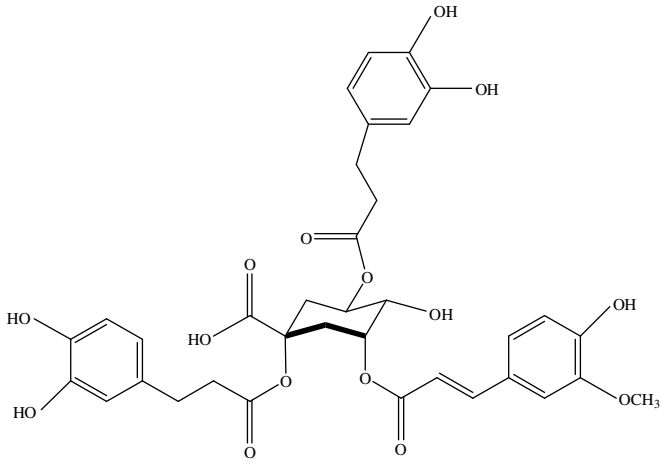
12-β-D-glukopiranozit desmetoksi yangonin



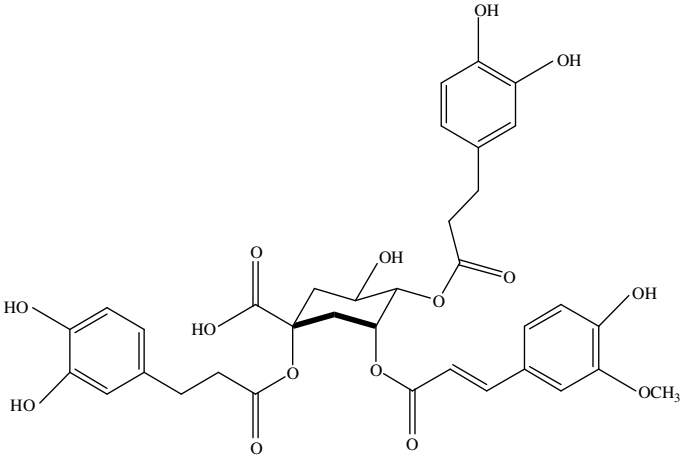
klorojenik asit



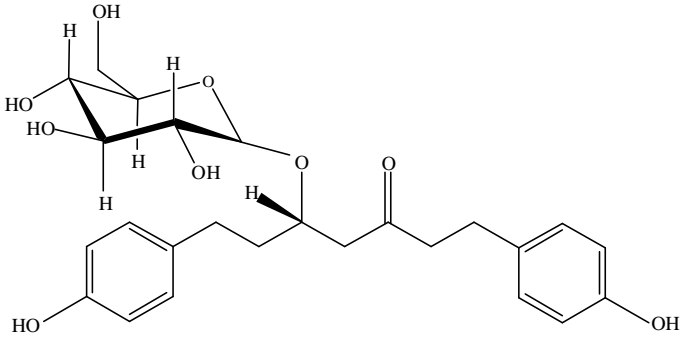
3,5-kafeoilkinik asit



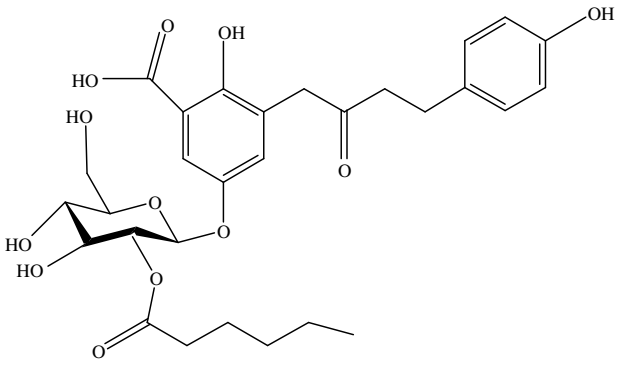
feruloilpodospermik asit A



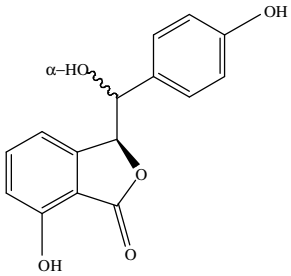
feruloilpodospermik asit B



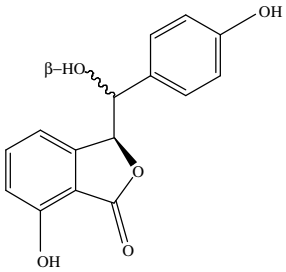
pilatifillozit



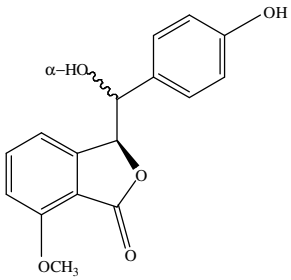
skorzonerik asit



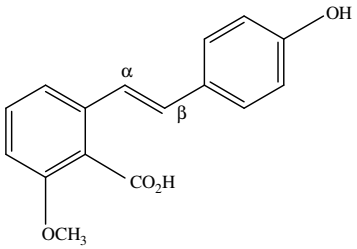
(±) hidro- makrofillol A



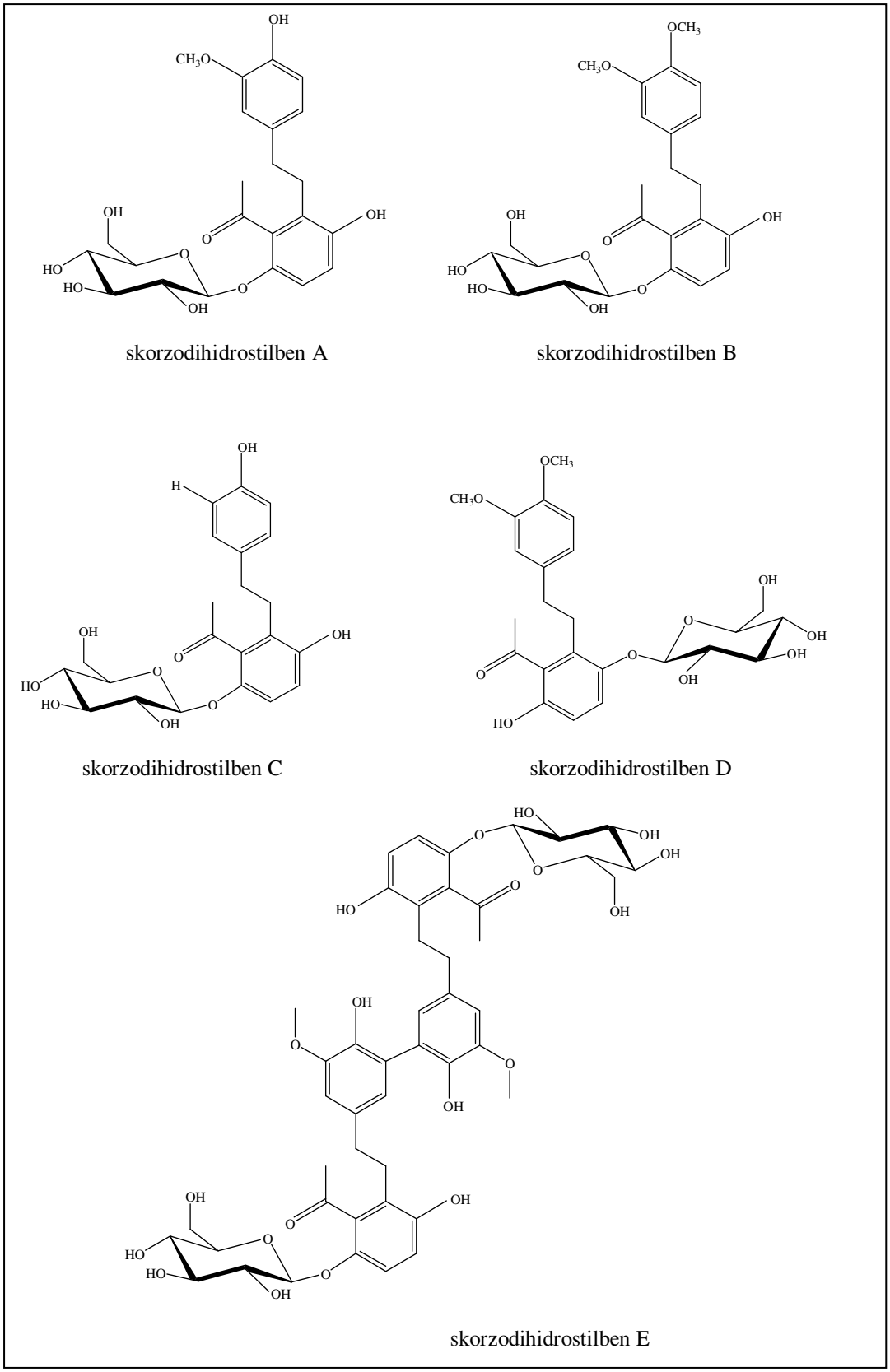
(±) hidra- makrofillol B



(±) skorzofitalit



skorzoerzincanin



Şekil 8. *Scorzonera* türlerinden elde edilen fenolik bileşikler

Çizelge 4. *Scorzonera* türleri üzerinde yapılan fitokimyasal çalışmalar sonucu elde edilen bileşikler

TÜR	ELDE EDİLEN BİLEŞİKLER	KAYNAK
S. aristata	3,5 dikafeil kinik asit klorojenik asit	Zidorn ve ark., 2003
S. austriaca	3,5 dikafeil kinik asit klorojenik asit	Zidorn ve ark., 2003
	3-β,11α-dihidroksi-4β-metil-gaya-10(14)-en-12,6α-olit	Juan ve ark., 2004
	12-hidroksi desmetoksi yangonin, 12-β-D-glikopiranozit desmetoksi yangonin	Jiang ve ark., 2006
	luteolol-3'-(6-E-*p*-kumaroil-β-D-gluko-piranozit)	Jiang ve ark., 2006
	bigayaskorzolit A bigayaskorzolit B	Zhu ve ark., 2009
S. baetica	3,5 dikafeil kinik asit klorojenik asit	Zidorn ve ark., 2003
S. columnae	lupeol	Menichini ve Statti 1994
	β-sitosterol	
	apigenol kersetol kersetol-3-(6″-kafeil)-galaktozit luteolol	
S. cretica	germanikol germanikol asetat germanikon lupeol lupeol asetat lupenon oleanol oleanol asetat taraksasterol taraksasterol asetat	Paraschos ve ark., 2001
	skorzokretikozit I skorzokretikozit II skorzokretisin	

S. divaricata	apigenol izoviteksin-4'-*O*-glukozit izoviteksin-2'-*O*-ksilozit kemferol-3-*O*-rutozit	Tsevegsuren ve ark., 2007
	skopoletin	
	feruloilpodospermik asit A feruloilpodospermik asit B klorojenik asit	
S. hispanica	3-O-anjeloil-11β, 13-dihidrodesasil-siyanoropikrin-8-β-D-glukozit ikserizozit D puligluton skorzonerozit	Zidorn ve ark., 2000a
	β-sitosterol	Zidorn ve ark., 2000a
	dehidrokoniferil alkol 4-β-D-gluko-piranozit skorzonozit	Tolstikhina ve Semenov, 1998
	mediorezinol-4'-β-D-glukopiranozit mediorezinol-4″-β-D-glukopiranozit pinorezinol-4″-β-D-glukopiranozit	Tolstikhina ve ark., 1999
	siringarezinol monoglukozit	Khobrakona ve ark., 2003
	siringarezinol-*O*-β-D-glukopiranozit	Bryanskii ve ark., 1992
	(1S,3aR,4R,6aR)-tetrahidro 1,4-bis (4β-D-glukopiranoziloksi-3,5-dimetoksi-fenil -tetrahidrofuro-[3,4-c]furan	Zidorn ve ark., 2000b
	3,5 dikafeil kinik asit klorojenik asit	Zidorn ve ark., 2003
S. humilis	pinorezinol-1-il-β-D-glikopiranozit	Zidorn ve ark., 2000b
	tirolobibenzil A, tirolobibenzil B tirolobibenzil C	Zidorn ve ark., 2000b
	tirolobibenzil D	Zidorn ve ark., 2002
	tirolobibenzil E tirolobibenzil F	Zidorn ve ark., 2003
	3,5 dikafeil kinik asit	Zidorn ve ark., 2003

	klorojenik asit	
S. mongolica	3β-dodekanoil moradiol 3β-tetradekanoil moradiol	Wang ve ark., 2007
S. parviflora	3,5 dikafeil kinik asit klorojenik asit	Zidorn ve ark., 2003
S. pseudodivaricata	skorzonerin	Tsevegsuren ve ark., 2007
	izoviteksin-2"-*O*-ksilozit luteolol luteolol-5-glukozit luteolol-7-glukozit	
	skopoletin	
	3,5-kafeilkinik asit pilatifillozit skorzonerik asit	
S. purpurea	3,5 dikafeil kinik asit klorojenik asit	Zidorn ve ark., 2003
S. radiata	skorzodihidrostilben A skorzodihidrostilben B skorzodihidrostilben C skorzodihidrostilben D skorzodihidrostilben E	Wang ve ark., 2009
S. rosea	3,5 dikafeil kinik asit klorojenik asit	Zidorn ve ark., 2003
S. tomentosa	(±) hidrangenol, (-)-hidrangenol-4'-*O*-β-glukozit, (±) skorzotomentosin, (-)-skorzotomentosin-4'-*O*-β-glukozit	Sarı ve ark., 2007
	(±) hidra- makrofillol A (±) hidra- makrofillol B skorzoerzincanin (±) skorzofitalit	
	α-amirin lupeol lupeol asetat	Öksüz ve ark., 1990
	β-sitosterol stigmasterol- 3β-glikozit	
S. trachysperma	3,5 dikafeil kinik asit klorojenik asit	Zidorn ve ark., 2003

1.5. *Scorzonera* Türleri Üzerinde Yapılan Aktivite Çalışmaları

Scorzonera türlerinin hem Avrupa'da hem de Çin ve Moğolistan gibi Asya ülkelerinde ve Türkiye'de halk arasında yaygın kullanımına rağmen aktivite çalışmalarına özellikle 2000 yılından sonra rastlanmaktadır.

Scorzonera hispanica'dan hücre kültürü ile siringarezinol, pinorezinol, mediorezinol, 5-metoksidehidrokoniferil alkol gibi lignan ve neolignan glukozitleri elde edilmiştir. Bu bileşiklerden siringarezinol glikozitin immunomodülatör etkisi azatiyopirin nedenli immunosupresyon modeli kullanılarak farelerde hücresel ve humoral immünite yanıtları ölçülerek değerlendirilmiştir. Siringarezinol monoglikozit timüs ağırlığını ve hücresel immüniteyi belirleyen gecikmiş hipersensitivite yanıtını belirgin bir biçimde azaltmıştır. Ayrıca humoral immün yanıt parametrelerini yeniden düzenleyerek şekillenen antikor hücrelerinin sayısını ve dalak ağırlığını arttırmıştır. Bileşiğin immunomodulatör etkisi referans olarak kullanılan *Eleutherococcus senticosus* ekstresinden daha güçlü bulunmuştur (Khobrakova ve ark., 2003)

Zidorn ve arkadaşları (2002) *S. humilis* üzerinde yaptıkları çalışmalarında izole ettikleri tirolobibenzil türevlerinin sitotoksik etkisini, *Bacillus subtilis, Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı antibakteriyel etkisini ve *Candida albicans, Cladosporium resinae* ile *Trichophyton mentagrophytes*'e karşı antifungal etkisini test etmişler ancak etkisiz bulmuşlardır. *S. humilis*'in kullanıldığı bir başka çalışmada Heren's karsinoma tümör gelişimindeki etkisi test edilmiştir. Sıçan karaciğeri sitoplazmik proteazların aktivitesi ölçülmüş, asit ve nötral enzim aktivite düzeylerinde tümör gelişiminde 2-6 kat artış gözlenmiştir. *S. humilis* ise bu aktiviteyi ve ayrıca hasta hayvanların karaciğer ağırlığını da normal değerlere indirmiştir (Marchenko ve ark., 2000).

S. glabra sulu ve metanollü ekstresinin HIV Tip 1 virüsüne karşı aktivitesi incelenmiş, sulu ekstresinin orta derecede etkili metanollü ekstresinin ise etkisiz olduğu tespit edilmiştir (Ma ve ark., 2002).

S. mollis Bieb (Compositae)'den elde edilen aseton, etil asetat, kloroform, etanol, metanol, dimetil sülfoksit (DMSO) ve %5'lik tween 20 karışımlı su ekstrelerinin antimikrobiyal aktiviteleri disk difüzyon metoduna göre *Bacillus subtilis Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloacae*, *Proteus vulgaris* bakteri kültürlerine ve *Candida albicans* maya kültürüne karşı test edilmiştir. Çalışma sonuçlarına göre *S. mollis* 'den elde edilen ekstreler bazı gram olumlu ve gram olumsuz bakterilere karşı belirgin bir antibakterial aktivite göstermiş, *Candida albicans* kültürüne karşı ise yalnızca bitkinin yapraklarından elde edilen etanol, etil-asetat ve aseton esktreleri antifungal aktivite göstermiştir (Ertürk ve Demirbağ, 2003).

S. pseudodivaricata ve *S. divaricata* bitkilerinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanollü ekstrelerinden hareketle biyoaktivite ile yönlendirilmiş izolasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Antioksidan (DPPH radikalini süpürücü) aktivite ve sitotoksik aktivite (L5178Y fare lenfoma hücreleri üzerinde antiproliferatif etk) ölçülmüştür. *S. divaricata*'nın DPPH radikal süpürücü aktiviteye sahip fraksiyonundan, klorojenik asit ve kinik asit türevleri olan feruloil podospermik asit A ve B bileşikleri izole dilmiş ve bu iki bileşiğin klorojenik asitten bile daha güçlü antioksidan aktiviteye sahip oldukları tespit edilmiştir. *S. pseudodivaricata*'dan aktif fraksiyondan izole edilen bileşiklerden biri olan pilatifillozit bileşiğinin bu fraksiyonun sitotoksik aktivitesinden sorumlu bileşik olduğu önceden de tespit edildiği gibi antilösemik aktivitegösterdiği fare lenfoma hücreleri (L5175Y) üzerindeki sitotoksik aktivite testiyle belirlenmiştir (Tsevegsuren ve ark., 2007).

Moğolistan'da yetişen bir diğer tür *Scorzonera radiata*'nın toprak üstü kısımlarından izole edilen dihidrostilben türevi, skorzodihidrostilben A, B, C, D ve E bileşiklerinin antioksidan aktiviteleri DPPH radikalini süpürücü etkileri test edilerek ölçülmüştür. Skorzodihidrostilben A ve E bileşiklerinin hem diğer izole edilen bileşiklerden hem de referans olarak kullanılan resveratrolden çok daha yüksek bir aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Aynı çalışmada skorzodihidrostilben A ve B bileşiklerinin sitotoksik etkileri de değerlendirilmiş ancak aktivite tespit edilmemiştir (Wang ve ark., 2009).

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Gereç

2.1.1. Bitkisel Gereç

Bu çalışmada aşağıda isimleri ve toplandığı lokaliteler belirtilen bitkilerin kurutulmuş toprak altı kısımları kullanıldı (**Çizelge 5.**). Herbaryum için seçilen örnekler preslenip kurutulduktan sonra teşhis edilerek Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumuna (AEF) kaldırıldı.

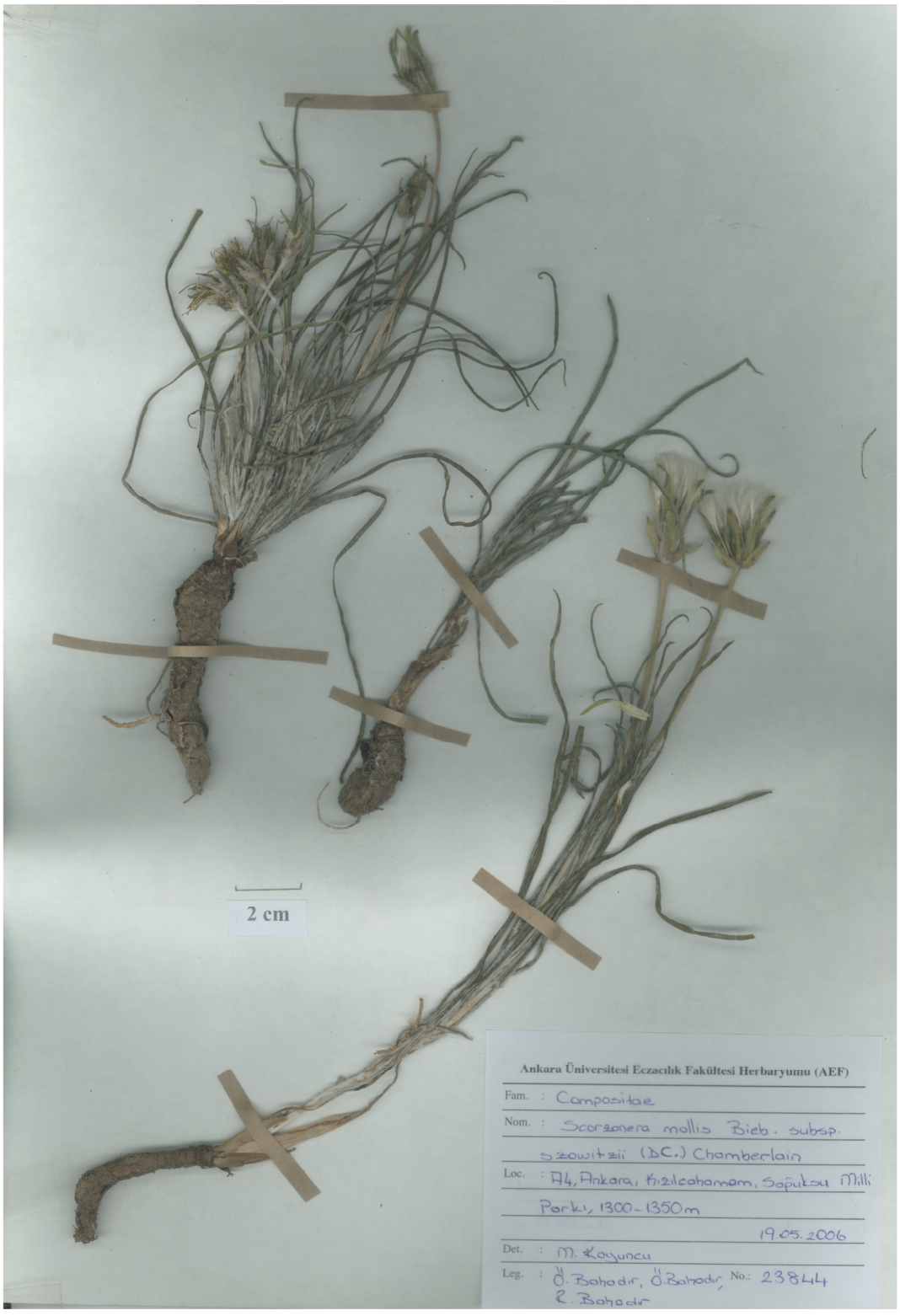
Çizelge 5. *Scorzonera* türlerinin toplandığı lokaliteler

Bitki Türü	**Herbaryum Numarası**	**Lokalite**	**Toplanma Tarihi**	**Toplayan**	**Teşhis Eden**
S. latifolia (Fisch. & Mey.) DC	AEF 23830	A9, Kars, Arpaçay, Telek Köyü- Melek Köyü arası, taşlık kayalık güney yamaçlar, step, tarla sınırının üstü tepelikler, 1800-1900m	03.08.2005	Ö. Bahadır, R. Bahadır, G.Akgül	H. Duman
S. mollis Bieb. ssp. *szowitzii*	AEF 23844	A4, Ankara, Kızılcahamam Soğuksu Milli Parkı, 1300-1350 m	19.05.2006	Ö. Bahadır, Ö. Bahadır, R. Bahadır	M. Koyuncu
S. suberosa C. Koch ssp. *suberosa*	AEF 23843	B6, Kayseri, Pınarbaşı, Halitbeyören Köyü, Kaynar yolu çıkışı, sol taraf yamaçlar, 1520 m	28.05.2006	Ö. Bahadır, Ö. Bahadır, R. Bahadır	A.M. Özkan Gençler
S. tomentosa L.	AEF 23841	B5, Yozgat, Akdağmadeni çıkışı, dere karşısı taşlık yamaçlar, 1250 m	09.07.2005	Ö. Bahadır, İ. Bahadır, R. Bahadır	H. Duman

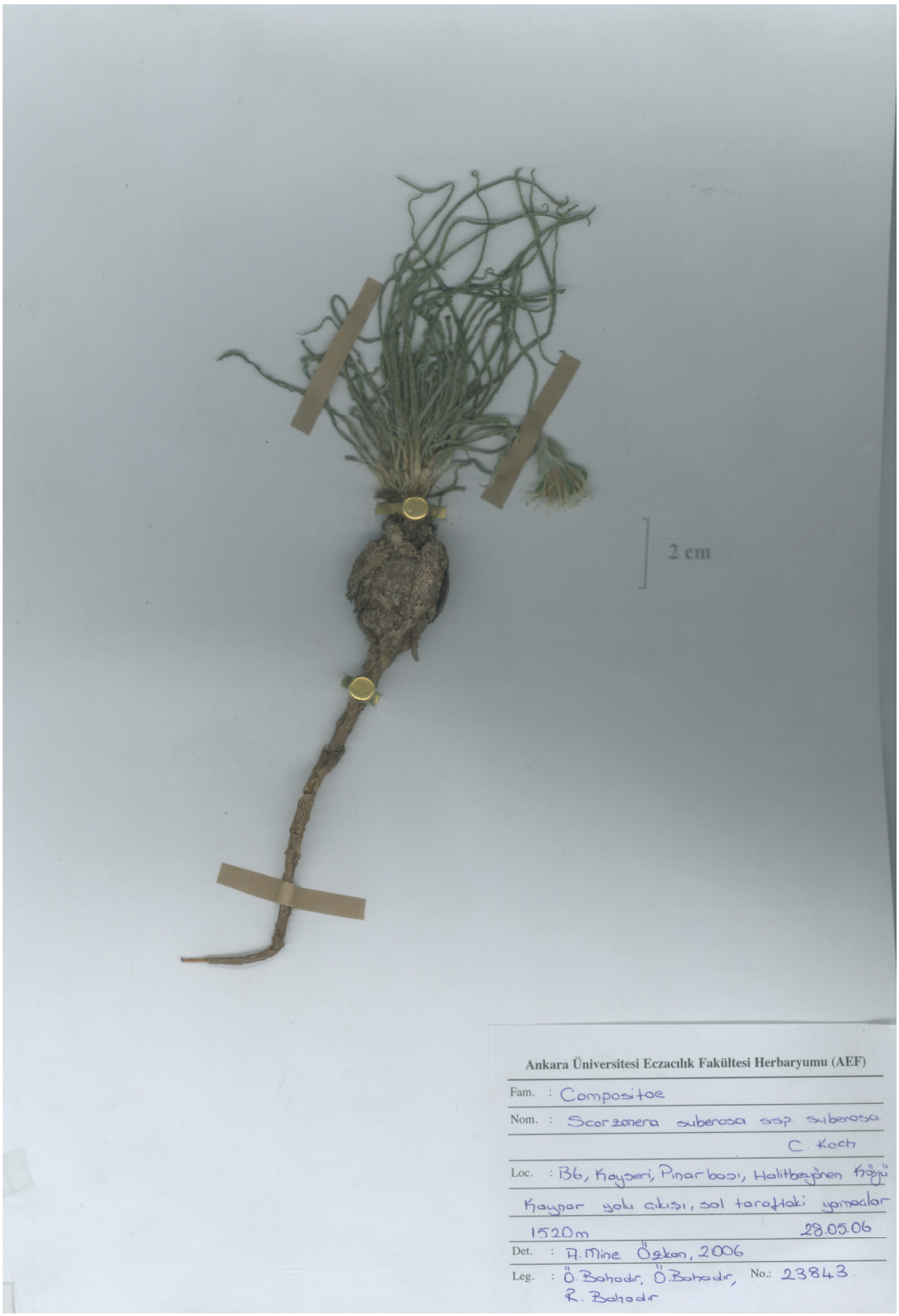
Toplanan *Scorzonera* türlerine ait herbaryum örneklerinin resimleri aşağıda verilmiştir.



Şekil 9. *Scorzonera latifolia* (Fisch&Mey) DC.



Şekil 10. *Scorzonera mollis* Bieb. ssp. *szowitsii*



Şekil 11. *Scorzonera suberosa* ssp. *suberosa* C. Koch



Şekil 12. *Scorzonera tomentosa* L.

2.1.2. Deney Hayvanları

Bu çalışmada Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Ünitesinden temin edilen 20-24 g ağırlığındaki Balb/C fareler kullanıldı. Hayvanlar 48 cm x 35 cm x 22 cm boyutlarında standart kafeslerde ve oda sıcaklığında (22 ± 2 ^{o}C) 12 saat ışık 12 saat karanlık ritminde ışıklandırılan odalarda, çeşme suyu ve Van Yem Fabrikası'ndan temin edilen standart pelet yem ile beslendi. Yem ve su alımı serbest bırakıldı. Çalışmaya başlamadan önce Yüzüncü Yıl Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'ndan onay alındı.



Şekil 13. Deney hayvanlarının beslendiği kafesler



Şekil 14. Deney hayvanlarının tartımının alındığı terazi

2.2. Yöntem

2.2.1. Fitokimyasal Çalışmalar

2.2.1.1.Ekstraksiyon

Ön denemeler için bitkisel materyalin metanol-su ve metanol ekstreleri hazırlanarak ön tarama deneylerinde kullanıldı.

2.2.1.1.1.Metanol-Su Ekstresinin Hazırlanışı

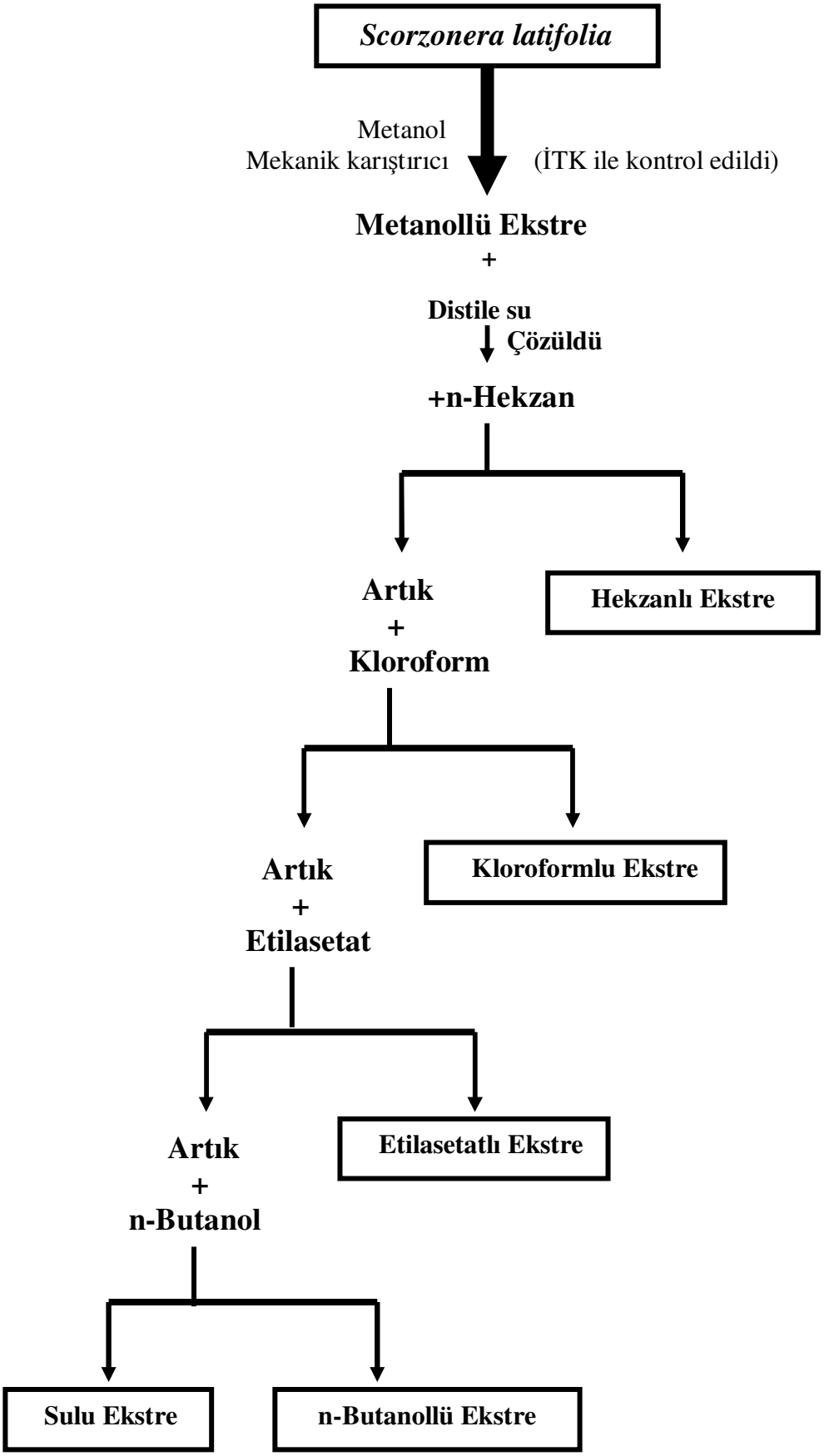
Çalışma materyali olarak seçilmiş olan *Scorzonera* cinsine ait; *S. latifolia*, *S. mollis* ssp. *szowitzii*, *S. suberosa* ssp. *suberosa* ve *S. tomentosa* ile aktarlarda satılan yakı sakızının ön biyolojik etki çalışmalarını değerlendirmek için 500 ml metanol-su (80:20) ekstreleri hazırlandı. Bu amaçla 200 g bitkisel materyal, metanol:su (80:20) karışımı ile oda sıcaklığında karıştırıcı kullanılarak ekstre edildi. Elde edilen ekstreler pilili süzgeç kağıdından süzülüp alçak basınç altında yoğunlaştırıldıktan sonra, liyofilizatörde kurutularak toz edildi ve % verimleri saptandı.

2.2.1.1.2.Metanol Ekstresinin Hazırlanışı

Ön çalışmalarda etki açısından en yüksek aktiviteye sahip olduğu bulunan *S. latifolia* bitkisinin toprak altı kısmından metanollü ekstre hazırlandı. Bu amaçla 700g bitkisel materyalden hareket edildi. Oda sıcaklığında, karıştırıcı yardımıyla, günde 8 saat olmak üzere 7 gün boyunca, 7L metanol kullanılarak ekstraksiyon yapıldı. Ekstraksiyon işleminin sonlandırılması, İTK ile kontrol edildi ve belirgin bir leke gözlemlenmeyinceye kadar ekstraksiyona devam edildi. Elde edilen metanollü ekstre pilili süzgeç kağıdından süzüldükten sonra alçak basınçta yoğunlaştırılarak kurutuldu.

2.2.1.1.2.1. Metanol Ekstresinin Fraksiyonlandırılması

S. latifolia'nın toprak altı kısımlarından elde edilen metanollü ekstre tamamen kurutulduktan sonra etkili bileşikleri izole etmek amacıyla Biyolojik Aktiviteyle Yönlendirilmiş Fraksiyonlandırma (BAYF) işlemi uygulandı ve işleme ilk olarak sıvı sıvı ekstraksiyonu ile başlandı. Bu amaçla kurutulan metanollü ekstre 500 ml distile suda çözüldü ve ayırma hunisine alınarak üzerine sırasıyla; n-hekzan (3x500ml), kloroform (4x500ml), etilasetat (10x500ml) ve n-butanol (15x500ml) eklendi ve ekstre edildi. n-Butanol ile fraksiyonlandırmada, n-butanol öncelikle su ile doyuruldu. Bu işlem soncunda kalan sulu ekstre ile birlikte toplam 5 fraksiyon elde edildi. Elde edilen hekzan, kloroform, etilasetat ve n-butanollü ekstreler alçak basınçta yoğunlaştırılarak, sulu ekstre ise liyofilize edilerek kurutuldu ve tartıldı. *S. latifolia* bitkisinin metanollü kök ekstresinin sıvı sıvı ekstraksiyon ile fraksiyonlandırılması işlemine ait şema **Şekil 15.**'de verilmiştir.



Şekil 15. *S. latifolia*'nın metanollü kök ekstresinin sıvı sıvı ekstraksiyonla fraksiyonlandırma şeması

2.2.1.2. Kromatografik Yöntemler

2.2.1.2.1.İnce Tabaka Kromatografisi

S. latifolia, S. mollis ssp. *szowitzii, S. suberosa* ssp. *suberosa* ve *S. tomentosa* türlerinin köklerinden hazırlanan sulu-metanollü ekstreler İTK ile aşağıda belirtilen çözücü sistemleri kullanılarak incelendi.

Adsorban : Silika jel 60 F_{254} (Merck, 1. 05554 20x20) hazır kaplı plak
Çözücü Sistemi 1 : Etilasetat:Glasiyel asetik asit:Formik Asit:Su (100:11:11:27)
Çözücü Sistemi 2 : Kloroform: Metanol: Su (64:50:10)
Çözücü Sistemi 3 : n-Hekzan: Etilasetat (9:1)
Revelatör : Vanilin-H_2SO_4 reaktifi

S. latifolia bitkisinin toprak altı kısmından hazırlanan metanollü ekstresinden sıvı-sıvı ekstraksiyonu ile elde edilen fraksiyonlar ise silika jel 60 F_{254} (Merck, 1.05554 20x20) kaplı hazır plaklar üzerinde, her bir fraksiyon için ayrı olarak **Çizelge 6.**'da belirtilen çözücü sistemleri kullanılarak incelendi. Bileşiklere ait lekeler Vanilin-H_2SO_4 reaktifi ile ısıtma sonucunda belirlendi.

Çizelge 6. *S. latifolia* metanollü ekstresinden sıvı sıvı ekstraksiyonu ile elde edilen fraksiyonların İTK analizi için kullanılan solvan sistemleri

Fraksiyon	**Kullanılan İTK Solvan Sistemleri**
n-Hekzan fraksiyonu	n-hekzan: etilasetat (9,5:0,5; 9:1; 8,5:1,5; 8:2), n-hekzan: aseton (8:2), petrol eteri: aseton (9:1), kloroform: aseton (9:1) benzen: aseton (9,5:0,5; 9:1)
Kloroform fraksiyonu	n-hekzan: etilasetat (9:1) kloroform: metanol (9:1)
Etilasetat fraksiyonu	etilasetat: metanol: su (100:13,5:10)
n-Butanol fraksiyonu	etilasetat: metanol: su (100:13,5:10) etilasetat: glasiyel asetik asit: formik asit: su (100:11:11:27)
Sulu fraksiyon	etilasetat: metanol: su (100:13,5:10) etilasetat: glasiyel asetik asit: formik asit: su (100:11:11:27)

S. latifolia'nın n-hekzanlı ekstresinden izole edilen bileşikler ise, silika jel 60 F_{254} (Merck, 1. 05554 20x20) hazır kaplı plaklar üzerinde n-hekzan: etilasetat (9:1) çözücü sisteminde incelendikten sonra lekeler Vanilin-H_2SO_4 reaktifi ile ısıtma sunucunda gözlenmiştir.

2.2.1.2.2. Kolon Kromatografisi

Etkiden sorumlu olabilecek bileşik/bileşikleri izole etmek amacıyla, en yüksek analjezik aktiviteye sahip olan hekzanlı ekstrenin kullanılmasına karar verildi. Bu amaçla izolasyona öncelikle kolon kromatografisi yöntemiyle başlandı.

2.2.1.2.2.1. Kolonun Hazırlanması

Adsorban olarak Silika jel 60 (70-230 mesh, 0.063-0.200 mm, Merck 1.07734.1000 ASTM) kullanıldı. 330 g silika jel tartılarak 5 cm çapında ve 67 cm boyundaki cam kolona hekzan ile karıştırıldıktan sonra hiç hava kabarcığı kalmayacak şekilde doldurulduktan ve daha sonra ayrımı yapılacak hekzanlı ekstre uygulanarak izolasyon işlemine başlandı.

2.2.1.2.2.2. Ekstrenin Kolona Uygulanması

Hekzanlı ekstrenin kolona uygulanması kuru tatbik metoduna göre yapılmıştır. Bu amaçla hekzanlı ekstre tam olarak tartıldıktan sonra (20 g) bir kapsülde hekzan içerisinde tamamen çözüldü ve ağırlığı kadar silika jel 60 (20 g) ile karıştırıldı. Kuruması için çeker ocak altına bırakıldı. Tamamen kurutulduktan sonra silika jele emdirilmiş ekstre kolona tatbik edildi. Ekstrenin üst kısmına bir miktar daha silika jel ilave edilerek ekstrenin havalanması engellendi. Elüsyon işlemiyle hekzanlı ekstre fraksiyonlandırılmaya başlandı.

2.2.1.2.2.3. Hekzanlı Ekstrenin Fraksiyonlandırılması

Elüsyona n-hekzan ile başlandı ve **Çizelge 7.**'de belirtildiği şekilde n-hekzan: etilasetat'ın giderek artan polaritedeki karışımları ile devam edildi. Saf etilasetat fraksiyonundan sonra etilasetat:metanol (1:1) ve en son metanol ile yıkanarak işlem sonlandırıldı. Fraksiyonlar 200 ml'lik hacimlerde toplandı ve toplam 115 fraksiyon elde edildi. Elde edilen fraksiyonlar İTK ile incelenerek R_f değerlerine göre aynı olan fraksiyonlar birleştirildi.

Çizelge 7. Hekzanlı ekstrenin fraksiyonlandırılmasında kullanılan çözücü oranları

Sistem No	**Çözücü oranları**
1	hekzan
2	hekzan:etilasetat (99:1)
3	hekzan:etilasetat (95:5)
4	hekzan:etilasetat (90:10)
5	hekzan:etilasetat (85:15)
6	hekzan:etilasetat (80:20)
7	hekzan:etilasetat (70:30)
8	hekzan:etilasetat (60:40)
9	hekzan:etilasetat (50:50)
10	etilasetat
11	etilasetat:metanol (50:50)
12	metanol

Ön temizleme işleminden sonra fraksiyonların içerdiği bileşikleri saflaştırmak amacıyla tekrar kolon kromatografisi, preparatif ince tabaka kromatografisi ve kristallendirme gibi yöntemlerden yararlanıldı.

Küçük kolon kromatografisi **24-27** ve **34-44** fraksiyonlarına uygulandı. Adsorban olarak silika jel 40 (Fluka 60734, 0.015-0.035 mm, ≥ 400 mesh ASTM, 600 m^2/g

(B.E.T)) kullanıldı. Elüsyon vakum altında azot gazı kullanılarak gerçekleştirildi. Fraksiyonlar kolona çözücü içinde uygulandı. Bu amaçla öncelikle fraksiyonlar tartıldı ve kloroform içinde çözüldü. Daha sonra kolon içinde yer alan çözücü silika jel ile aynı seviyeye gelinceye kadar akıtıldı ve ekstre pipet ile kolonun üst kısmına uygulanarak silika jele tamamen emdirildikten sonra elüsyon için hazırlanan çözücü sistemleri uygulanarak fraksiyonlamaya başlandı. **24-27** ve **34-44** fraksiyonlarına uygulanan küçük kolon kromatografisinde kullanılan çözücü sistemleri ile toplanan fraksiyon hacmi ve sayısı **Çizelge 8**'de belirtilmiştir.

Çizelge 8. 24-27 ve **34-44** fraksiyonlarına uygulanan küçük kolon kromatografisinde kullanılan çözücü sistemleri ile toplanan fraksiyon hacmi ve sayısı

Fraksiyon	**Kullanılan Adsorban**	**Çözücü sistemi**	**Toplanan fraksiyon hacmi**	**Toplanan fraksiyon sayısı**
24-27	silika jel 40 (Fluka 60734)	petroleteri: etilasetat (98:2)	20 ml	43
34-44	silika jel 40 (Fluka 60734)	benzen:aseton (20:1)	20 ml	24

2.2.1.2.3.Preparatif İnce Tabaka Kromatografisi

Kolon kromatografisi ile elde edilen fraksiyonlarda bulunan bileşikleri saflaştırmak amacıyla diğer bir kromatografik yöntem olarak preparatif ince tabaka kromatografisinden yararlanıldı. Silika jel 60 F_{254} (Merck 1.05744, 20x20, 0.5 mm) kaplanmış hazır plaklar üzerinde **Çizelge 9**'da belirtilen çözücü sistemleri kullanılarak temizleme işlemi gerçekleştirildi.

Çizelge 9. Preparatif ince tabaka kromatografisinde kullanılan çözücü sistemleri

Sistem No	**Solvan Sistemi**
1	hekzan:etilasetat (97:3, 96:4, 75:25)
2	petrol eteri:etilasetat (99:1, 98:2)
3	petrol eteri:aseton (90:10)
4	benzen:aseton (20:1)
5	benzen:heptan (1:1)
6	kloroform

Lekelerin belirlenmesi için plaklar, aluminyum folyo ile kapatılıp, kenardan yalnızca 1 cm'lik bir bölge açık bırakıldı ve bu kısma Vanilin-H_2SO_4 reaktifi uygulandı. Belirlenen lekeler kazınarak Kloroform içerisinde 1 gece hiçbir işlem yapılmadan ardından ultrasonik banyoda 15 dk bekletilip süzüldü. Süzme işlemi silika jeli geçirmeyecek çapta porlara sahip süzgeç kağıdından (S&S Filter paper circles, 125 mm, 589[3] blue ribbon) yapıldı. Süzüntüler rotavaporda yoğunlaştırılarak, İTK ile saflıkları kontrol edildi.

2.2.1.3. İzole Edilen Bileşiklerin Yapı Tayini

Kolon ve preparatif ince tabaka kromatografisi yardımıyla birbirinden ayrılan bileşikler kristallendirme ya da kromatografik yöntemlerle saflaştırıldı ve her bir bileşiğin yapısı aşağıda belirtilen spektroskopik yöntemlerle tayin edildi.

2.2.1.3.1. NMR Spektrometrisi

Bileşiklerin dötorokloroform ($CDCl_3$) içinde hazırlanan çözeltilerinin ^{1}H-NMR ve ^{13}C-NMR, DEPT, HMBC, HMQC, COSY, TOCSY ve NOESY spektrumları İtalya, Padova Üniversitesi'nde bulunan Bruker Anx 300 NMR Spektrometre cihazı kullanılarak alındı.

2.2.1.3.2. Kütle Spektrometrisi (MS)

2.2.1.3.2.1. APCI-HR MS

İzole edilen bileşiklerin kütleleri Çek Cumhuriyeti Prag- Çek Cumhuriyeti Bilim Akademisi, Organik Kimya and Biyokimya Enstitüsün'de bulunan APCI iyon kaynağı ile kombine haldeki LTQ Orbitrap XL hibrit Kütle Spektrometresi (Thermo Fischer Scientific Waltham, MA, USA) ile ölçüldü.

Örnekler kloroform içinde çözülüp, metanol ile dilüe edildikten sonra **Çizelge 10**'da verilen koşullar altında 2 µL enjekte edildi.

Çizelge 10. APCI-HR MS cihazında çalışma koşulları

APCI-HR MS	
Mobil faz	asetonitril: izopropanol (7:3)
Akış hızı	300 µL/dk
Deşarj akımı (discharge current)	4,5 µA
Kapiller voltaj (capillary voltage)	0 V
Tüp lens voltajı (tube lens voltage)	70 V
Buharlaştırıcı (vaporizer)	300 ^{o}C
Kapiller sıcaklık (capillary temperature)	200 ^{o}C

Kütle spektrumları protonlanmış rezerpin molekülü (m/z 609,28066) internal standart kullanımıyla kalibre edilmiştir.

2.2.1.3.2.2. GC-MS

Bileşiklerin kütleleri ayrıca GC-MS ile de ölçüldü. Bu amaçla bileşikler kloroform içinde çözülüp otosampler (7683B) vasıtasıyla 1µL hacimde kütle spektrometresi (5975 B) ile kombine gaz kromatografisine (6890 N) (Agilent) verildi. Analiz koşulları **Çizelge 11**'de verilmiştir.

Çizelge 11. GC-MS analiz koşulları

GC-MS	
Enjektör sıcaklığı	220 ^{o}C
Split oranı	100:1
Kolon	HP5-MS fused silika kapiller kolon (30m x 250 µm film thickness 0.25 µm) (Agilent)
Taşıyıcı gaz	Helyum 1 ml/dk akış hızında
Sıcaklık programı	50 ^{o}C 1 dk 7 ^{o}C/dk 20 dk'da 320 ^{o}C
Kütle spektrometresi	25-850 m/z
EI kaynağı sıcaklığı	230 ^{o}C
Transfer line sıcaklığı	250 ^{o}C

2.2.1.3.3. Erime Noktası Tayini

Bileşiklerin erime noktaları, bir ucu kapatılmış kılcal içerisine yerleştirilen maddenin erime noktası tayin cihazına konarak tam olarak eridiği sıcaklığın ölçülmesiyle belirlendi. Herbir madde için ölçüm 3 kez tekrarlandı. Cihaz olarak Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Anabilim Dalın'da bulunan Electrothermal 9100 kullanıldı.

2.2.1.3.4. $[\alpha]_D$ Optik Çevirme Değerlerinin Ölçümü

İtalya, Padova Üniversitesi'nde bulunan JASCO P2000 Digital Polarimeter cihazı kullanılarak, izole edilen bileşiklerin optik çevirme değerleri kloroform içinde çözülerek ölçüldü.

2.2.2. Analjezik (Antinosiseptif aktivite) Aktivite Tayin Yöntemleri

2.2.2.1. Asetik Asitle İndüklenen Kıvranma Testi (Acetic acid induced Writhing Test)

Koster ve arkadaşlarının (Koster ve ark., 1959) geliştirdiği metot modifiye edilerek uygulandı.

Abdominal kıvranma, periton içine (i.p.) % 6'lık, 60 mg/kg dozda asetik asit enjekte edilerek oluşturuldu. Hayvanlara asetik asit uygulanmasından 30 dakika önce, test edilecek ekstre ve bileşikler i.p. olarak **Şekil 24**'de gösterildiği gibi verildi. Asetik asit enjeksiyonundan 5 dakika sonra test başlatıldı. 15 dk boyunca farelerin kıvranma sayıları gözlemlendi ve kaydedildi. Test edilecek ekstre, fraksiyon ve bileşikler test edilecek doza göre ayarlanarak hassas terazide tartıldı ve 1 ml çözücü (Serum fizyolojik (SF), % 15 Tween 80 çözeltisi veya dimetil sülfoksit (DMSO) içinde çözülerek hayvanların ağırlıklarına uygun miktarda i.p. olarak **Çizelge 12, Çizelge 13, Çizelge 14** ve **Çizelge 15**'de gösterildiği şekilde verildi.

Çizelge 12. *Scorzonera* türlerinin ekstrelerinin miktarları ve kullanılan çözücü

Ekstre	**Kullanılan Çözücü**	**Dozaj**
S. latifolia	SF	100 mg/kg, 50 mg/kg, 25 mg/kg
S. mollis ssp. *szowitsii*	SF	100 mg/kg
S. suberosa ssp. *suberosa*	SF	100 mg/kg
S. tomentosa	SF	100 mg/kg, 50 mg/kg, 25 mg/kg

Çizelge 13. *S. latifolia*'dan elde edilen fraksiyonların miktarları ve kullanılan çözücü

Fraksiyon	**Kullanılan Çözücü**	**Dozaj**
n-Hekzan	% 15 Tween 80	50 mg/kg
Kloroform	% 15 Tween 80	50 mg/kg
Etilasetat	% 15 Tween 80	50 mg/kg
n-Butanol	SF	50 mg/kg
Su	SF	50 mg/kg

Çizelge 14. *S. latifolia* hekzanlı ekstresinden elde edilen fraksiyonların miktarları ve kullanılan çözücü

Fraksiyon	**Kullanılan Çözücü**	**Dozaj**
24-27	DMSO	25 mg/kg
28-33	DMSO	25 mg/kg
34-44	DMSO	25 mg/kg
45-53	DMSO	25 mg/kg
54-67	DMSO	25 mg/kg
68-82	% 15 Tween 80	25 mg/kg
83-95	% 15 Tween 80	25 mg/kg
96-114	% 15 Tween 80	25 mg/kg

Çizelge 15. *S. latifolia* hekzanlı ekstresinden elde edilen bileşiklerin miktarları ve kullanılan çözücü

Bileşik	**Kullanılan Çözücü**	**Dozaj**
SL-1	DMSO	10 mg/kg
SL-2	DMSO	10 mg/kg
SL-3	DMSO	10 mg/kg
SL-4	DMSO	10 mg/kg
SL-5	DMSO	10 mg/kg

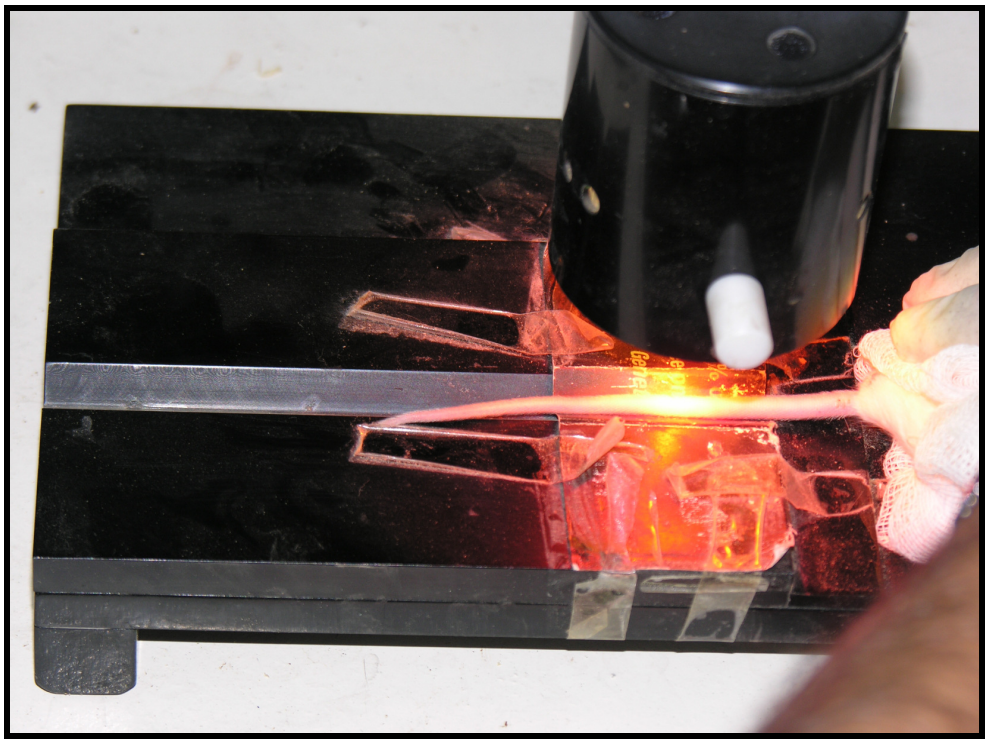
Kontrol grubuna da aynı hacimde çözücü (SF, %15 Tween 80 veya DMSO) i.p. olarak verildi. Bu çalışmada standart olarak seçilen asetilsalisilik asit ağızdan (p.o.) 300 mg/kg dozda kullanıldı (Hunskaar ve ark., 1985). Asetik asit enjeksiyonu sonrasında 15 dakika boyunca farelerin kıvranma sayıları gözlenip kaydedildi. Sonuçlar her grubun kıvranma sayılarının ortalamalarının hesaplanarak bu sonuçların kontrol grubu ile birlikte değerlendirilmesiyle elde edildi.



Şekil 16. Deney hayvanlarına intraperitonal enjeksiyon ile ilaç uygulanması

2.2.2.2. Kuyruk Kaldırma Testi (Tail-flick Test)

Kuyruk kaldırma testi ile nosiseptif yanıt, D'Amour ve Smith (1941) tarafından tanımlanan metot kullanılarak **Şekil 17**'de gözlenen tail-flick cihazı (LSI Letica LE 7106, Spain) ile değerlendirildi. Hayvanların kuyrukları bir eldiven yardımıyla cihaza yerleştirildi. Kuyruk ucundan 1-2 cm yukarısı odaklanarak belirli bir şiddette radyan ısı uygulandı ve hayvanın kuyruğunu kaldırma refleksini göstermesine kadar geçen süre kaydedildi. Radyan ısı hayvanın tepkisiz kalması durumunda en fazla 15 sn olacak şekilde ayarlandı Tüm deneylerde farelerde iki kez ölçüm yapıldı. İlk ölçüm test maddeleri uygulanmadan 30 dakika önce yapıldı. Etkisi ölçülecek olan ekstre, fraksiyon ve maddeler asetik asitle indüklenen kıvranma testinde olduğu gibi **Çizelge 12, Çizelge 13, Çizelge 14** ve **Çizelge 15'**de verilen dozlarla aynı dozlarda ve aynı çözücü içerisinde çözülmek suretiyle i.p. olarak verildi. Diğer ölçümler maddeler uygulandıktan sonra 30., 90. ve 150. dakikalarda yapıldı. Referans olarak 150 mg/kg dozda asetilsalisilik asit ve 10 mg/kg dozda morfin hidroklorür kullanıldı (Parimala ve ark., 2003; Matsumoto ve ark., 2004).



Şekil 17. Kuyruk kaldırma (Tail-flick) ölçüm cihazı

Kontrol grubuna ise sadece aynı hacimde çözücü (SF, %15 Tween 80 veya DMSO) i.p. olarak verildi.

2.2.2.3. İstatistiksel Analiz

Veriler ortalama ± standart hata ortalaması şeklinde ifade edildi. Student's-t paired, varyans analizi (post-hoc Dunnett) testleri uygulandı. $p< 0,05$ değeri anlamlı kabul edildi.

3. BULGULAR

3.1. Fitokimyasal Çalışmalar

3.1.1.Ön Tarama Çalışmaları ile İlgili Bulgular

3.1.1.1. Metanol-Su Ekstresi Bulguları

Scorzonera türlerinin köklerinden analjezik aktivitelerini değerlendirmek için, metanol:su (80:20) ile hazırlanan ekstrelerin miktarları ve yüzde verimleri **Çizelge 16.**'da verilmiştir.

Çizelge 16. *Scorzonera* türlerinden analjezik aktivite için hazırlanan metanol:su ekstrelerin miktarları ve % verimleri

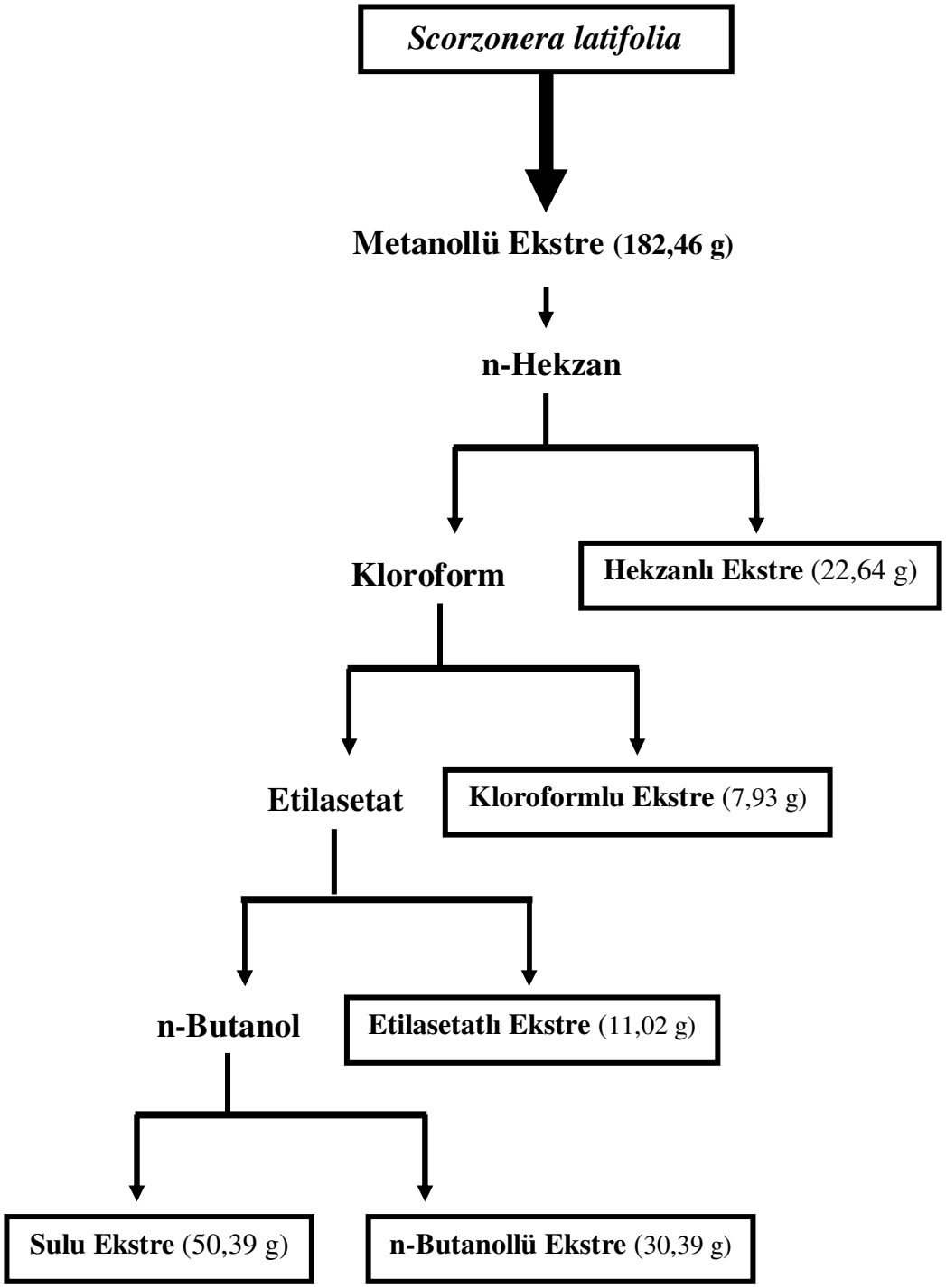
Tür	**Miktar (% verim)**
S. latifolia	47.3657g (% 23.7)
S. tomentosa	32.3292g (% 16.2)
S. mollis ssp. *szowitsii*	40.8406g (% 20.4)
S. suberosa ssp. *suberosa*	34.8716g (% 17.4)
Yakı sakızı	5.97g (% 2.98)

3.1.1.2. Metanol Ekstresi Bulguları

Scorzonera latifolia bitkisinin toprak altı kısmından (700 g) metanol ile 182.46 g ekstre elde edildi.

3.1.1.3. Metanol Ekstresinin Fraksiyonlandırılması

S. latifolia'nın toprak altı kısımlarından hazırlanan metanollü ekstreden elde edilen n-hekzan, kloroform, etilasetat, n-butanol ve sulu fraksiyonların miktarları **Şekil 18.**'de verilmiştir.

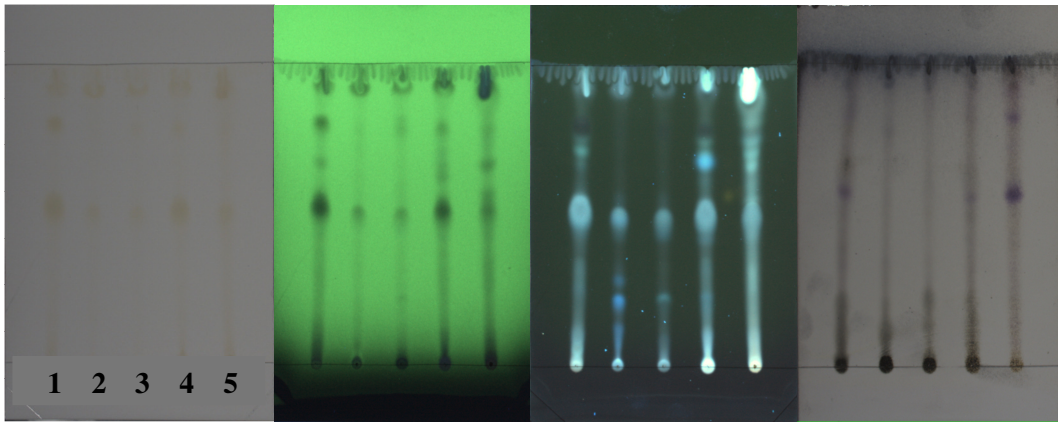


Şekil 18. *Scorzonera latifolia*'nın fraksiyonlandırılması sonucu elde edilen ekstreler ve miktarları

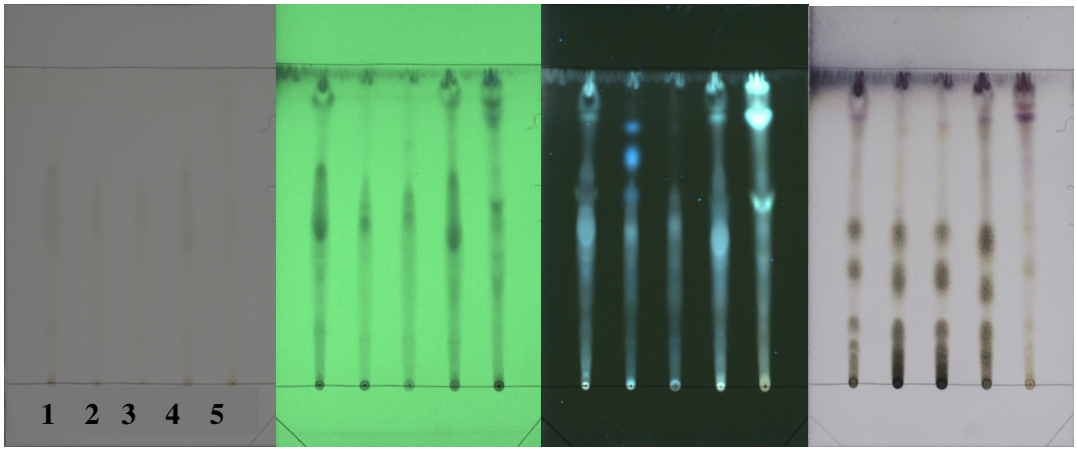
3.1.2. Kromatografik Bulgular

3.1.2.1. İTK Bulguları

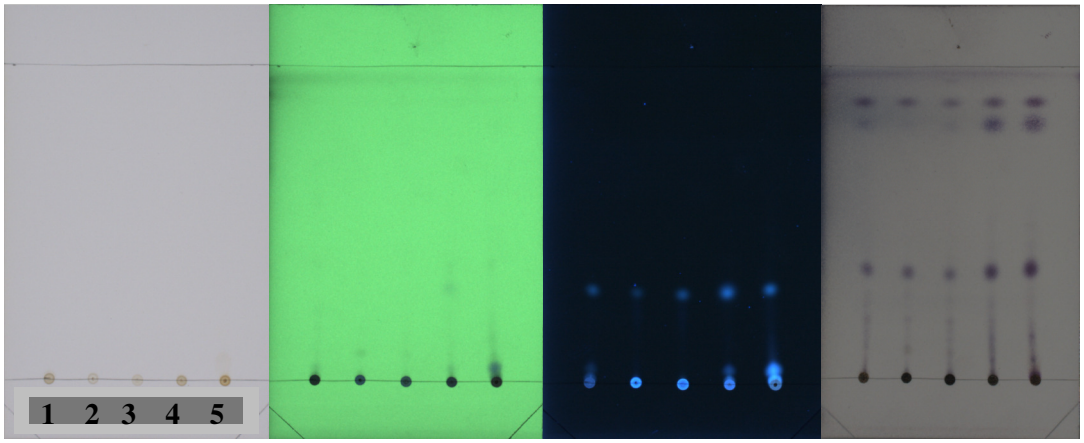
S. latifolia, S. mollis ssp. *szowitsii, S. suberosa* ssp. *suberosa* ve *S. tomentosa* ve yakı sakızı üzerinde yapılan İTK incelemeleri çözücü sistemi 1, 2 ve 3 kullanılarak yapılmıştır ve İTK sonuçları **Şekil 19, Şekil 20** ve **Şekil 21**'de sırasıyla *S. latifolia* **(1)**, *S. mollis* ssp. *szowitsii* **(2)**, *S. suberosa* ssp. *suberosa* **(3)**, *S. tomentosa* **(4)** ve yakı sakızı **(5)** şeklinde numaralandırılarak gösterilmiştir.



Şekil 19. *Scorzonera* türlerinin çözücü 1sisteminde sırasıyla gün ışığında, UV 254 nm, UV 366 nm ve Vanilin-H_2SO_4 ile muamele sonrası İTK kromatogramları

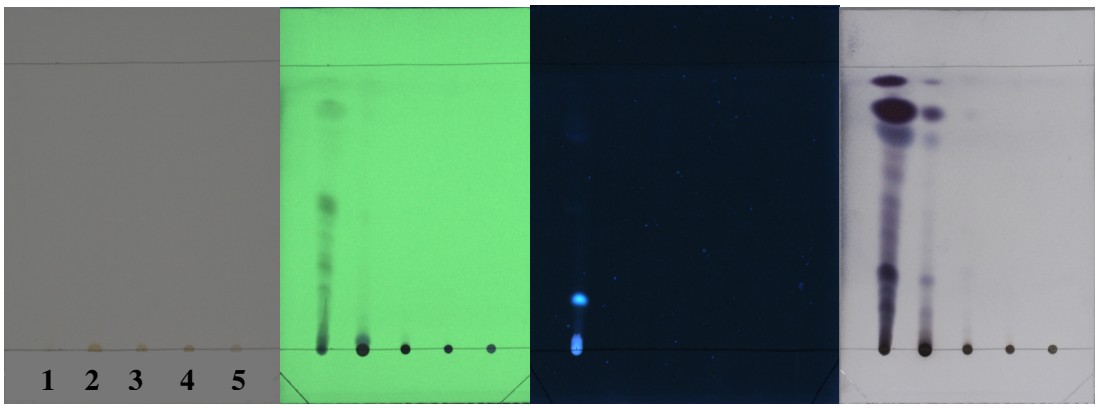


Şekil 20. *Scorzonera* türlerinin çözücü 2 sisteminde sırasıyla gün ışığında, UV 254 nm, UV 366 nm ve Vanilin-H_2SO_4 ile muamele sonrası İTK kromatogramları

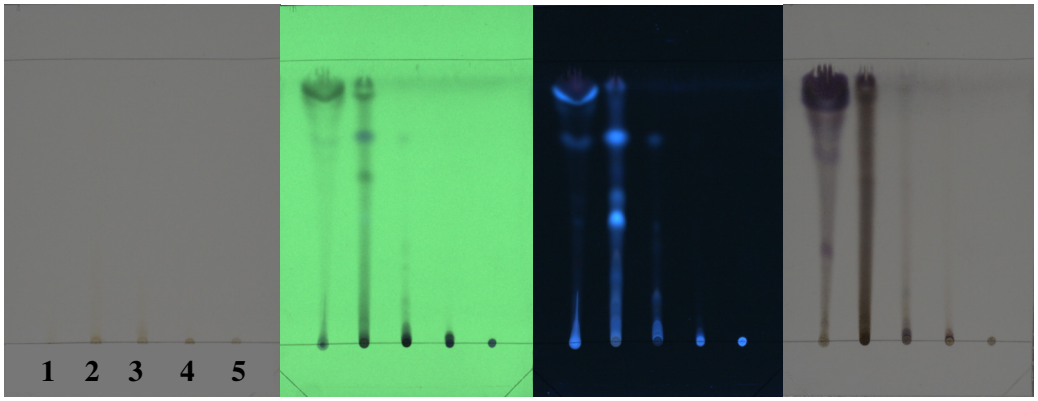


Şekil 21. *Scorzonera* türlerinin çözücü 3 sisteminde sırasıyla gün ışığında, UV 254 nm, UV 366 nm ve Vanilin-H_2SO_4 ile muamele sonrası İTK kromatogramları

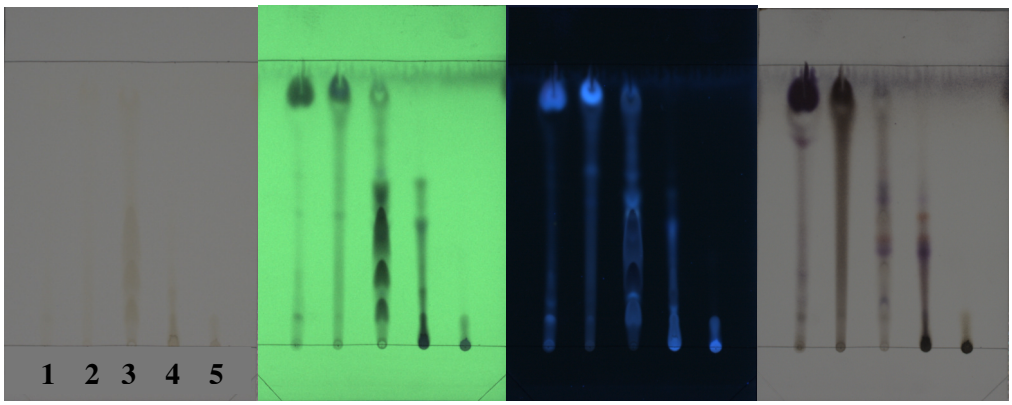
S. latifolia'nın metanollü ekstresinden elde edilen fraksiyonların İTK ile incelenmesi sonucunda, fraksiyonlara ait kromatogramların belirgin bir biçimde birbirlerinden farklı olduğu ancak hekzanlı ve kloroformlu ekstrenin birkaç ortak bileşiğe sahip olduğu gözlenmiştir. Fraksiyonların çözücü sistemi 1, 2 ve 3 ile yapılan İTK sonuçları **Şekil 22, Şekil 23** ve **Şekil 24**'de sırasıyla n-hekzanlı fraksiyon **(1)**, kloroformlu fraksiyon **(2)**, etilasetatlı fraksiyon **(3)**, n-butanollü fraksiyon **(4)** ve sulu fraksiyon **(5)** şeklinde numaralandırılarak gösterilmiştir



Şekil 22. *S. latifolia*'nın metanollü ekstresinden elde edilen fraksiyonların hekzan: etilasetat (9:1) çözücü sisteminde sırasıyla gün ışığında, UV 254 nm, UV 366 nm ve Vanilin-H_2SO_4 ile muamele sonrası İTK kromatogramları

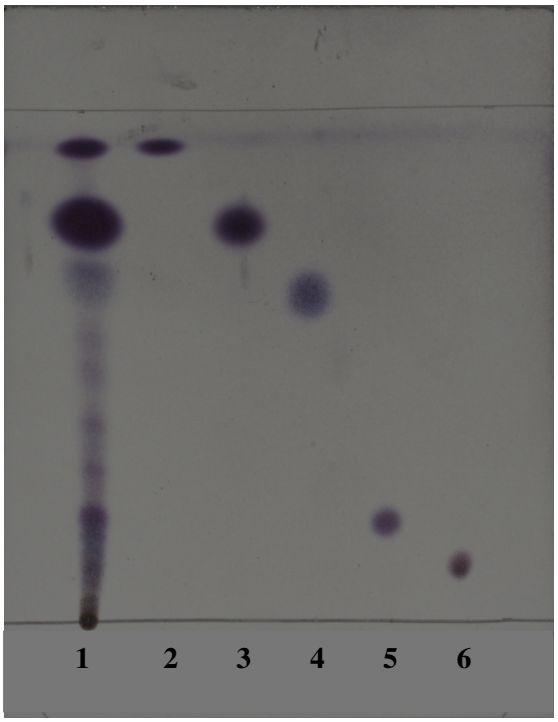


Şekil 23. *S. latifolia*'nın metanollü ekstresinden elde edilen fraksiyonların kloroform: metanol (9:1) sisteminde sırasıyla gün ışığında, UV 254 nm, UV 366 nm ve Vanilin-H_2SO_4 ile muamele Sonrası İTK kromatogramları



Şekil 24. *S. latifolia*'nın metanollü ekstresinden elde edilen fraksiyonların etilasetat: metanol: su (100:13,5:10) sisteminde sırasıyla gün ışığında, UV 254 nm, UV 366 nm ve Vanilin-H_2SO_4 ile ısıtma sonrası İTK kromatogramları

S. latifolia'nın n-hekzanlı fraksiyonundan elde edilen bileşiklerin İTK ile incelenmesi sonucunda elde edilen kromatogram **Şekil 25.**'de sırasıyla n-hekzanlı fraksiyon **(1)**, SL-1 **(2)**, SL-2 **(3)**, SL-3 **(4)**, SL-4 **(5)** ve SL-5 **(6)** şeklinde numaralandırılarak gösterilmiştir. Bileşiklere ait R_f değerleri ise **Çizelge 17.**'de verilmiştir.



Şekil 25. *S. latifolia*'nın n-hekzanlı ekstresinden elde edilen maddelere ait İTK kromatogramı

Madde no	R_f
SL-1	0,93
SL-2	0,77
SL-3	0,64
SL-4	0,19
SL-5	0,10

Çizelge 17. *S. latifolia* n-hekzanlı ekstresinden elde edilen maddeler ve R_f değerleri

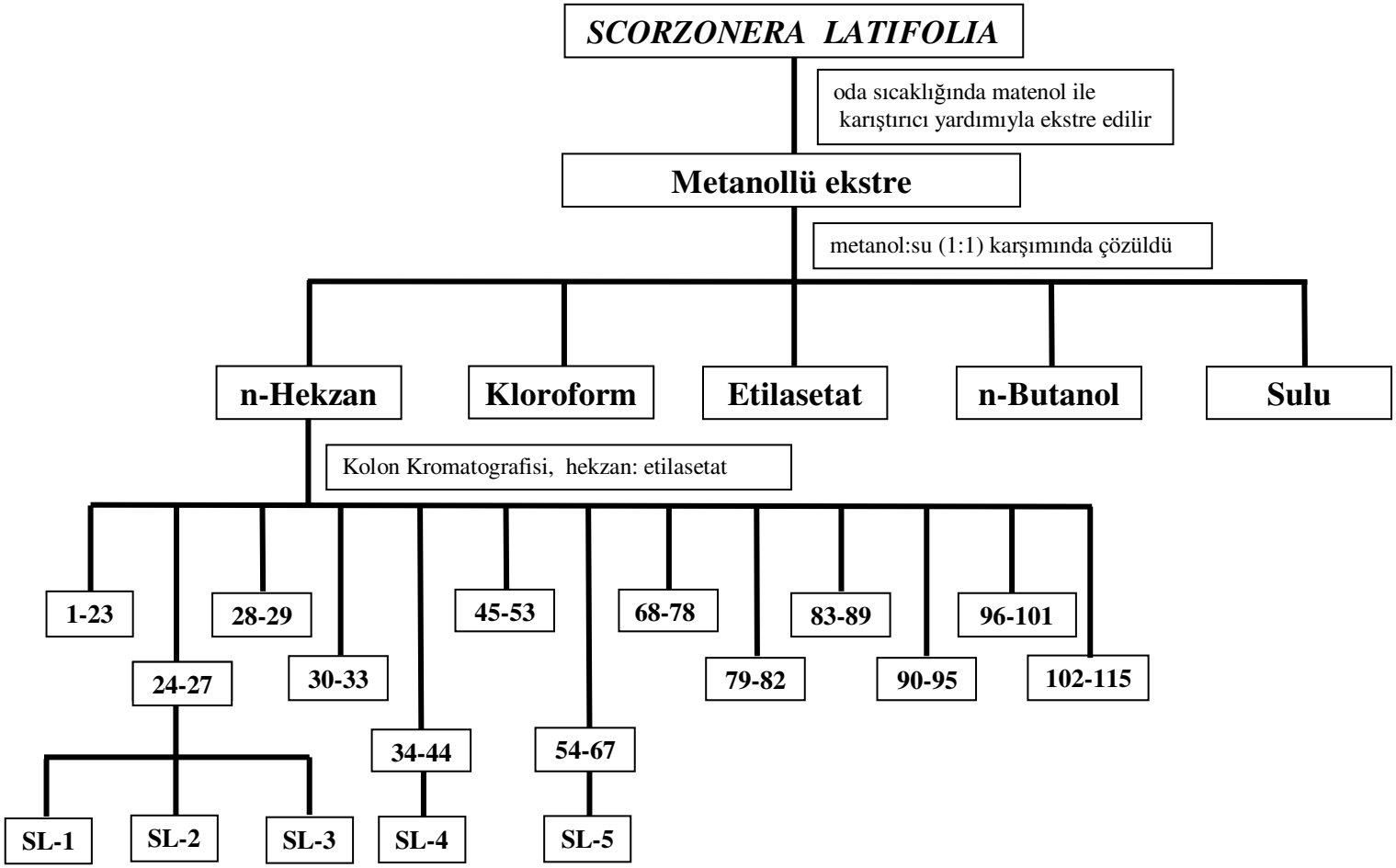
3.1.2.2. Kolon Kromatografisi Bulguları

S. latifolia toprak altı kısımlarından oda sıcaklığında hazırlanan metanollü ekstreden elde edilen n-hekzan fraksiyonunun kolon kromatografisine tabi tutulması sonucunda elde edilen fraksiyonlar ve elüsyon için kullanılan çözülerin oranları **Çizelge 18.**'de verildi.

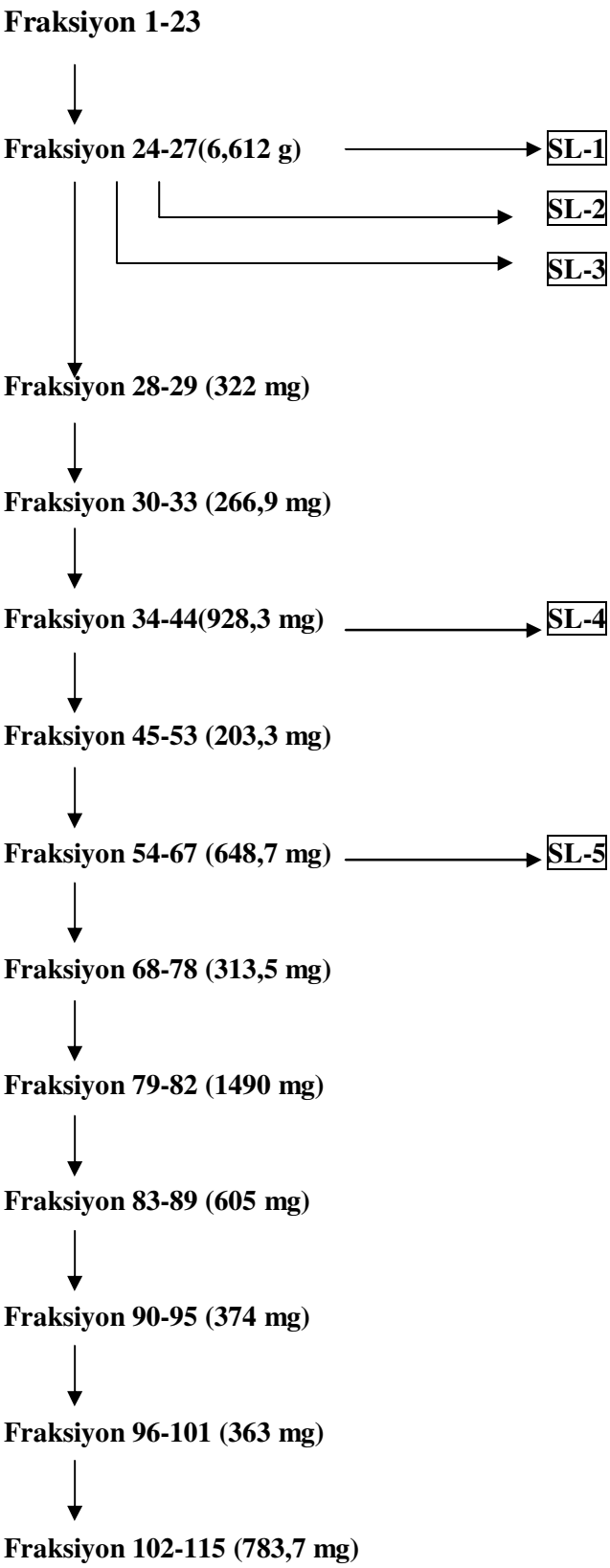
Çizelge 18. Kolon kromatografisinde elde edilen fraksiyonlar ve kullanılan çözücü oranları

Fraksiyon	**Çözücü oranları**
1-13	hekzan
14-21	hekzan:etilasetat (99:1)
22-70	hekzan:etilasetat (95:5)
71-77	hekzan:etilasetat (90:10)
78-84	hekzan:etilasetat (85:15)
85-90	hekzan:etilasetat (80:20)
91-95	hekzan:etilasetat (70:30)
96-101	hekzan:etilasetat (60:40)
102-107	hekzan:etilasetat (50:50)
108-113	etilasetat
114	etilasetat:metanol (50:50)
115	metanol

Elde edilen fraksiyonların içerdikleri bileşikler İTK ile incelendi ve aynı bileşikleri içeren fraksiyonlar birleştirildi. Birleştirildikten sonra elde edilen fraksiyonlar ve bu fraksiyonlardan elde edilen maddeler **Şekil 26.** ve **Şekil 27.**'de verildi.



Şekil 26. *S. latifolia* kök metanollü ekstresinden elde edilen bileşikler



Şekil 27. Hekzanlı fraksiyondan kolon kromatografisi ile elde edilen fraksiyonlar ve izole edilen maddeler

n-Hekzan:etilasetat (95:5) çözücü sistemiyle gelen **24-27.** fraksiyon ile yapılan aktivite çalışmaları sonucunda analjezik etkisi en yüksek fraksiyon olduğu tespit edildi. Yapılan İTK çalışmaları ile bu fraksiyonun birden fazla bileşik içerdiği belirlendi. İzolasyon çalışmaları sonucunda bu fraksiyondan 3 bileşik; **SL-1, SL-2** ve **SL-3** izole edildi. İzolasyon için öncelikle küçük kolon kromatografisi yapıldı. Adsorban olarak silika jel 40 (Fluka 60734) tartıldı (155 g) ve 45 cm boyda 5 cm çapındaki cam kolona elüsyon için kullanılan petrol eteri: etilasetat (98: 2) karışımı ile karıştırılarak doldurulduldu. **24-27.** fraksiyon 6.612 g tartılarak kloroform içinde çözülerek kolona uygulandı ve vakum altında azot gazı kullanılarak, petrol eteri: etilasetat (98: 2) çözücü sistemi ile elüe edildi. 50 ml'lik hacimde toplam 52 fraksiyon elde edildi. **SL-2** bileşiği 21-24. fraksiyonlardan çöken kısmın tekrar krsitallendirilmesiyle elde edildi. Kristallendirme işlemi için 21-24. Fraksiyonların çöken kısmı hekzanda sıcak uygulaması ile çözülerek doygun bir çözelti hazırlandı ve 1 gece buzdolabında bekletildi. Elde edilen kristaller süzülerek ayrıldı.

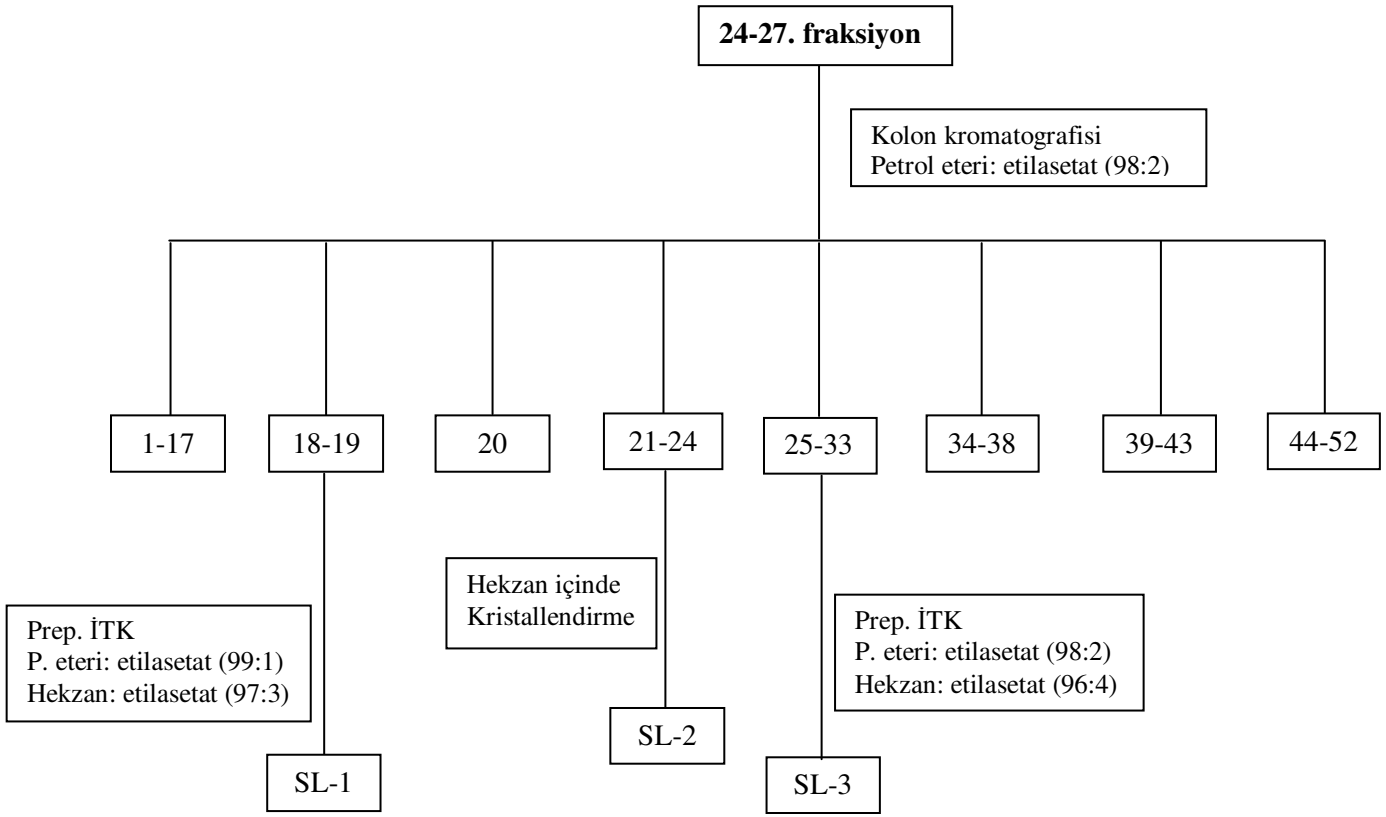
SL-3 bileşiği preparatif ince tabaka kromatografisi ile küçük kolondan alınan 25-33. Fraksiyonlardan (681 mg) hareketle elde edildi. Adsorban olarak silika jel 60 ile kaplı hazır plaklar (Merck 5724, 0.25 mm, 5x20 cm) ve çözücü sistemi olarak da petrol eteri: etilasetat (98: 2) solvan sitemi kullanıldı. Daha sonra hekzan: etilasetat (96: 4) solvan sistemi kullanılarak temizleme işlemi yapıldı ve kloroform içinde çözülüp metanol ilavesiyle kristallendirildi.

SL-1 bileşiği de yine aynı kolondan elde edilen 18-19. fraksiyonlardan (2,5 g) preparatif İTK ile petrol eteri: etilasetat (99:1) ve hekzan: etilasetat (97:3) solvan sistemleri kullanılarak elde edildi.

İzole edilen her 3 bileşik de UV 254 nm ve 366 nm'de gözlenemediğinden lekeler vanilin-H_2SO_4 reaktifi ile belirlendi. Preparatif İTK ile lekelerin belirlenmesi plakların üst kısmının yalnızca yandan 1 cm kadar açıklık kalacak şekilde kapatılarak, reaktif püskürtülüp ısıtılmasıyla yapıldı. Renklenen kısım tüm plak üzerinde çizilerek kazındı. Kazınan silika jel, kloroform içinde 1 gece daha sonra da

ultrasonik banyoda 15 dk bekletilip süzülerek silika jelden ayrıldı ve kristallendirildi. Kristaller süzülerek kurutulup ve tartıldı.

24-27. fraksiyondan elde edilen bileşikler **Şekil 28**'de şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 28. n-hekzanlı ekstrenin 24-27. fraksiyonundan elde edilen bileşikler

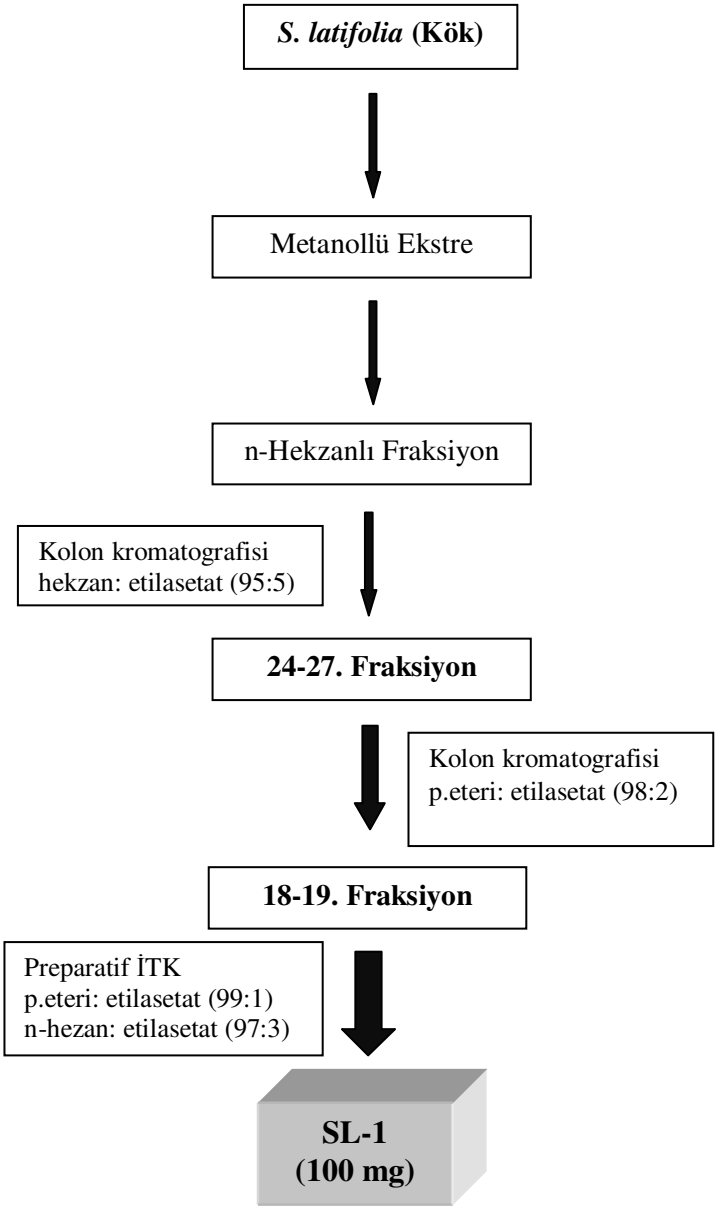
SL-4 bileşiğini elde etmek için n-hekzan fraksiyonun kolon kromatografisi ile elde edilen **34-44.** fraksiyonu önce preparatif ince tabaka kromatografisi ile silika jel 60 (Merck 1,05744, 0.5 mm, 20x20 cm) ile kaplanmış hazır plaklar üzerinde n-hekzan: etilasetat (8:2) solvan sistemiyle 3 bant halinde ayrıldı. **SL-4** bileşiğini taşımakta olan bant vanilin-H_2SO_4 reaktifi ile belirlendikten sonra kazınarak kloroform içinde çözüldü ve süzülerek silika jelden ayrıldı. Daha sonra temizleme işlemine tekrar kolon kromatografisi ile devam edildi. Bu amaçla 18.26 g silikajel 40 (Fluka 60734) ile doldurulmuş 32 cm boyunda ve 2 cm çapındaki cam kolon kullanıldı. Vakum altında azot gazı kullanılarak, benzen: aseton (20:1) solvan sistemi ile elüe edildi. Toplam 20 fraksiyon elde edildi. **11-15.** fraksiyonlardan benzen: aseton (20:1) ve ardından kloroform çözücü sistemlerinin kullanıldığı preparatif İTK ile temizlendi. Kloroform içinde çözülüp metanol ilave edilerek kristallenmesi sağlandı ve ilk oluşan iğne şeklindeki renksiz kristallerin süzülmesiyle **SL-4** bileşiği elde edildi.

54-67. fraksiyondan elde edilen **SL-5** bileşiğinin izolasyonu ise yine preparatif ince tabaka kromatografisi ile silikajel 60 (Merck 1,05744, 0.5 mm, 20x20 cm) ile kaplanmış hazır plaklar kullanılarak yapıldı. n-Hekzan:etilasetat (75:25) çözücü sistemi kullanıldı. Vanilin-H_2SO_4 reaktifi ile pembe-kahverengi renk veren bant kazınarak kloroformda çözülüp silika jelden ayrıldıktan sonra metanol ilave edilerek **SL-5** bileşiği kristallendirildi. Kristaller süzülerek ayrıldı ve **SL-5** bileşiği elde edildi.

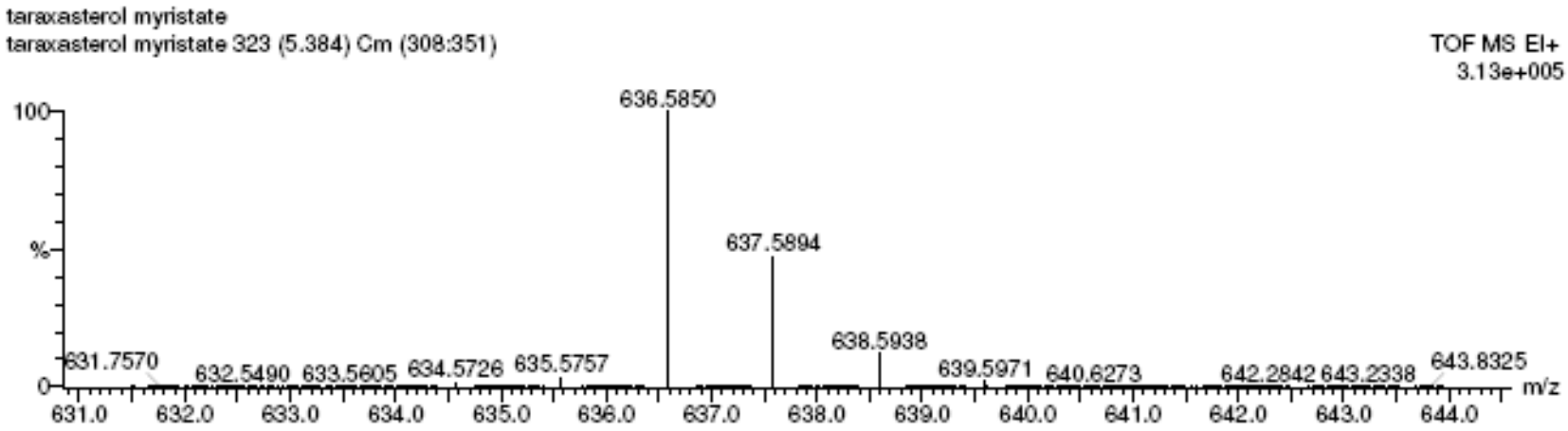
3.1.3. Yapı Tayini Bulguları

3.1.3.1. SL-1 Bileşiğinin Yapı Tayini

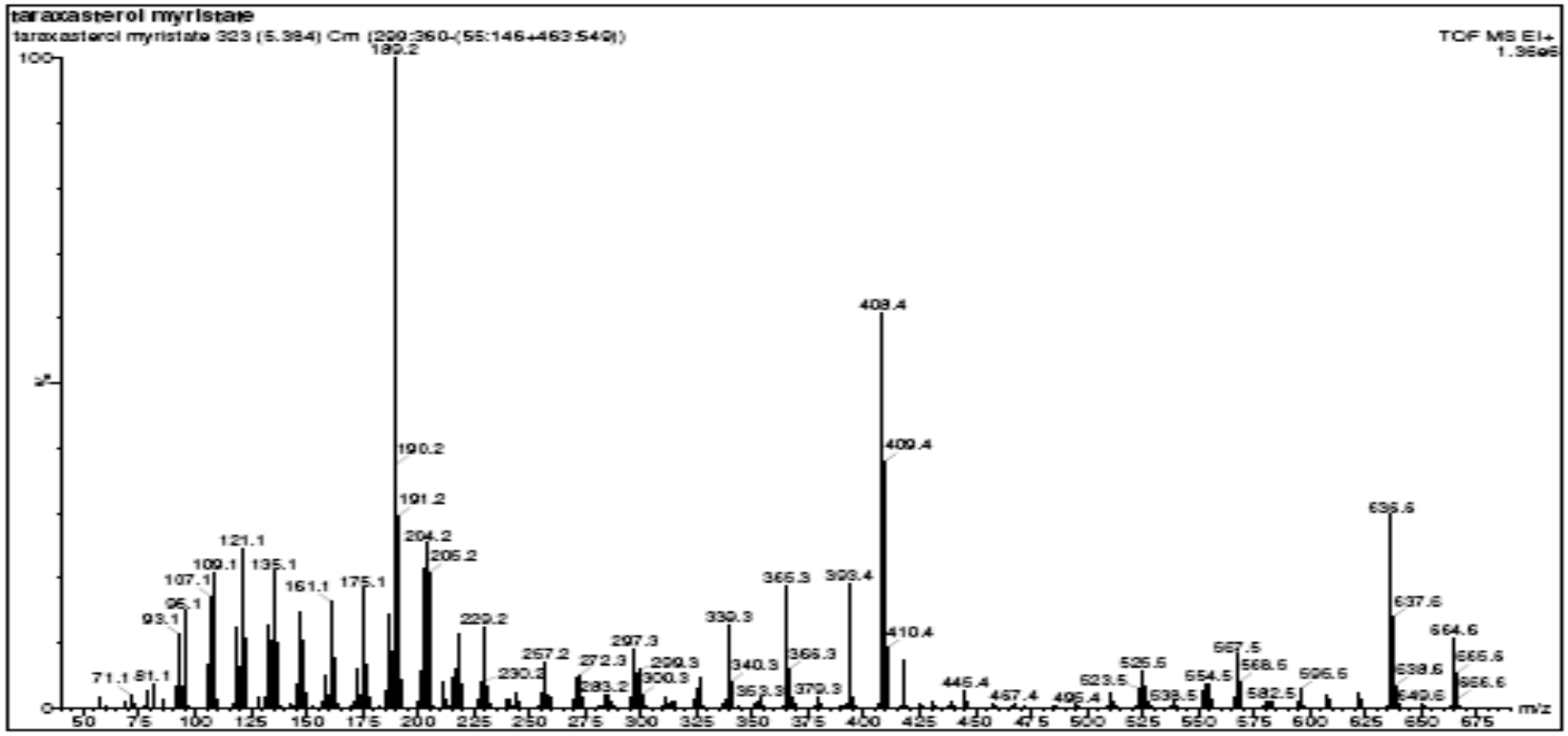
SL-1 Bileşiğinin İzolasyon Şeması



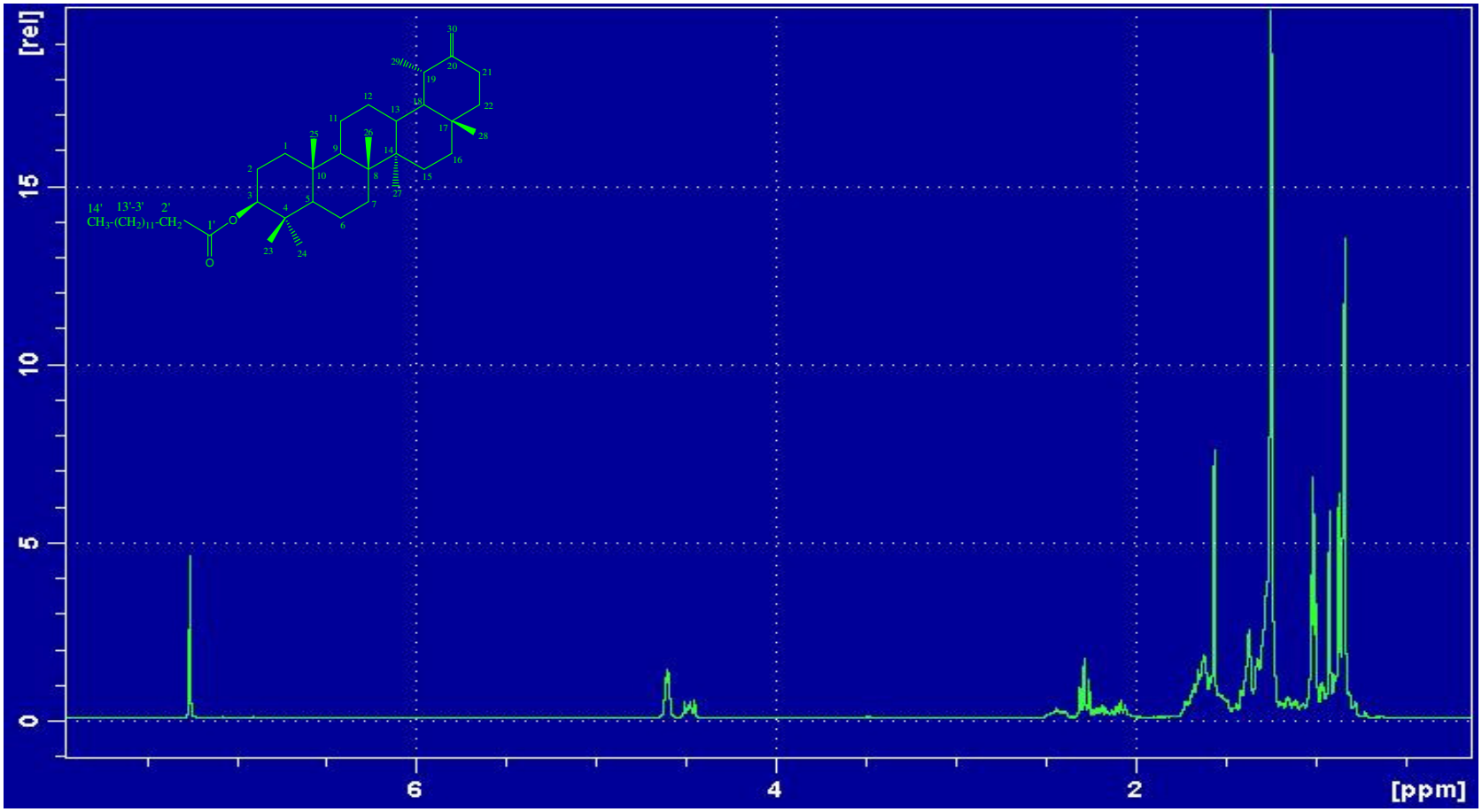
Şekil 29. SL-1 bileşiğinin izolasyon şeması



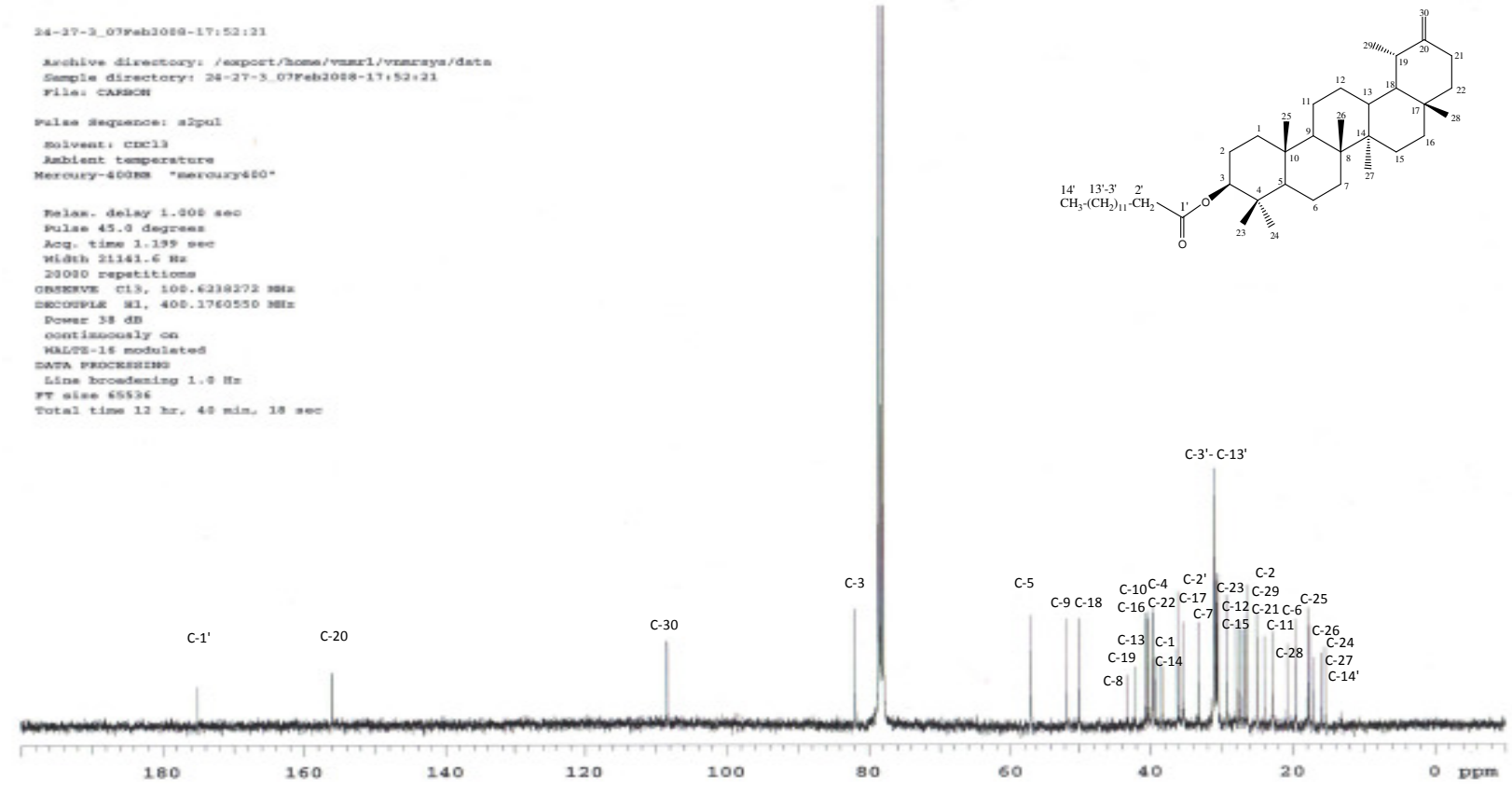
Şekil 30. SL-1 bileşiğinin HR MS spektrumu



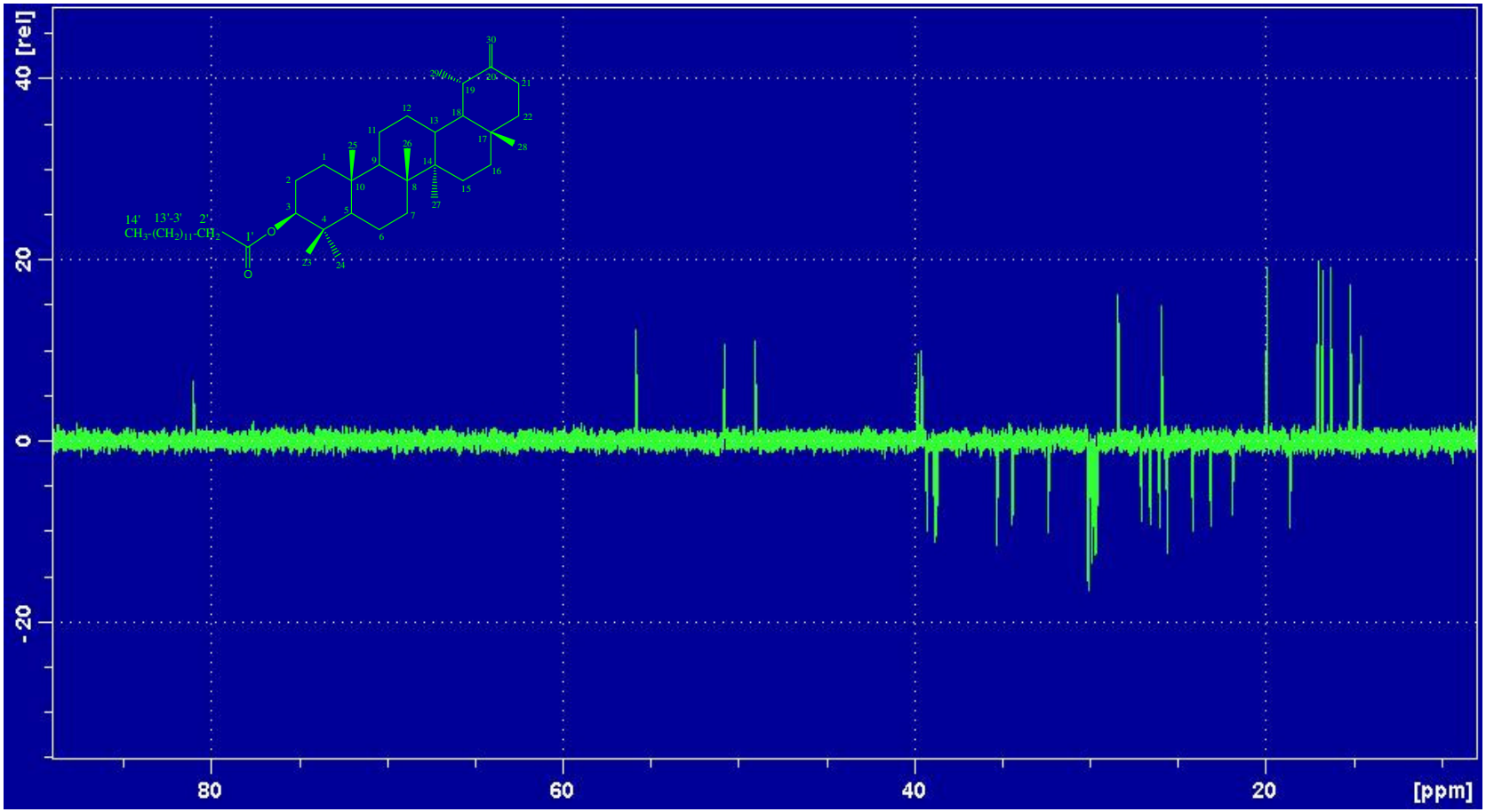
Şekil 31. SL-1 bileşiğinin EI MS spektrumu



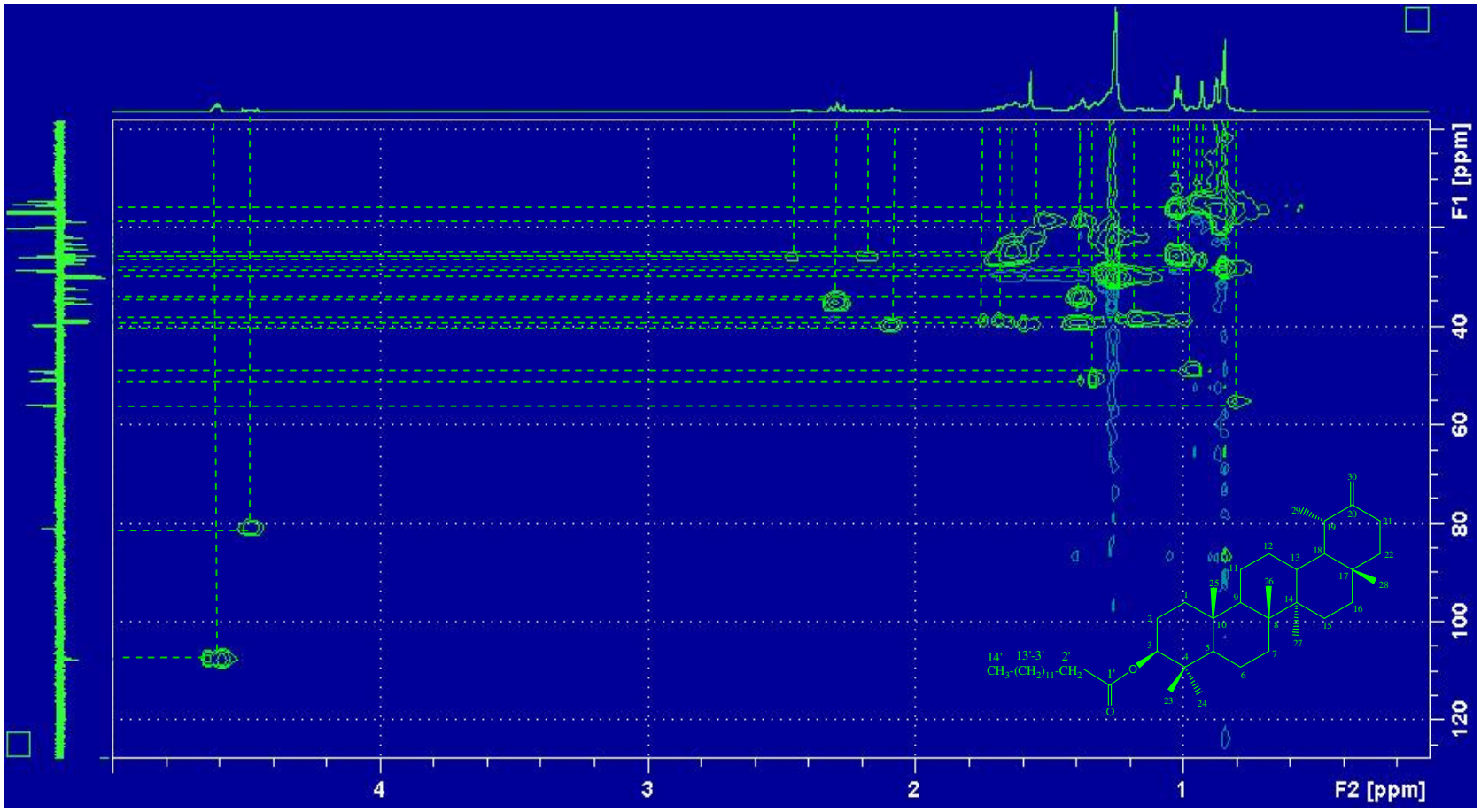
Şekil 32. SL-1 bileşiğinin ^{1}H-NMR spektrumu



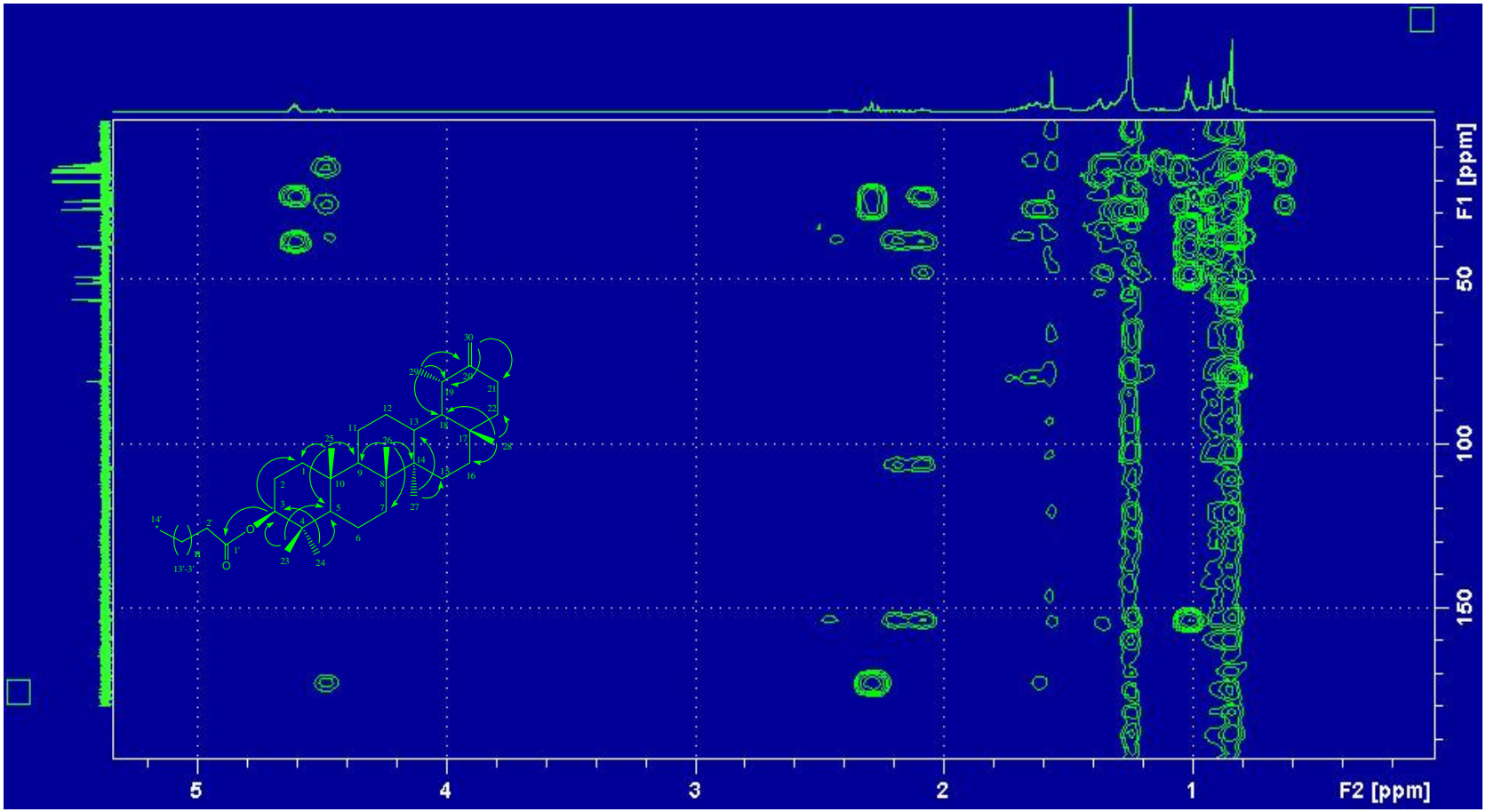
Şekil 33. SL-1 bileşiğinin ^{13}C-NMR spektrumu



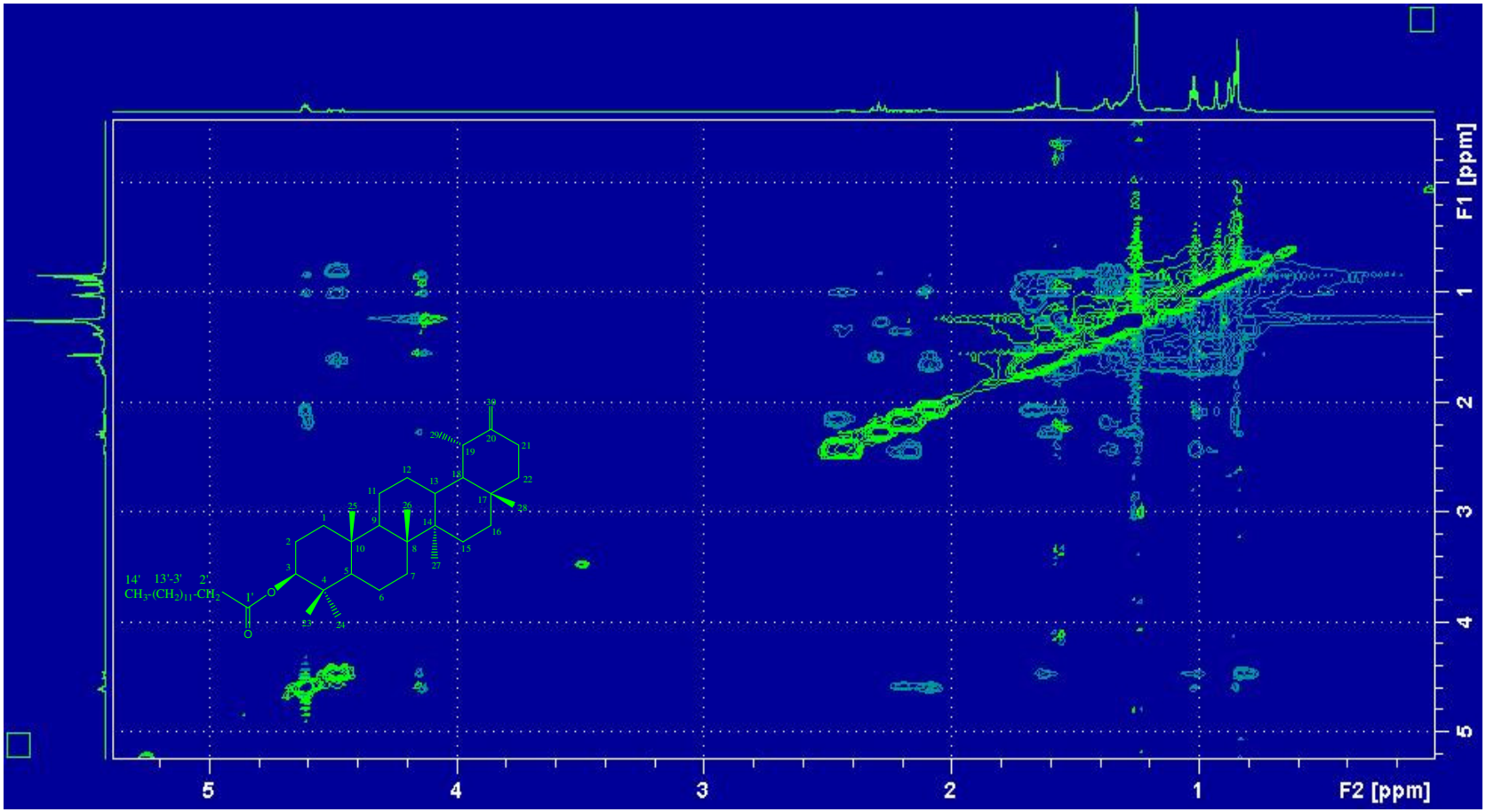
Şekil 34. SL-1 bileşiğinin DEPT spektrumu



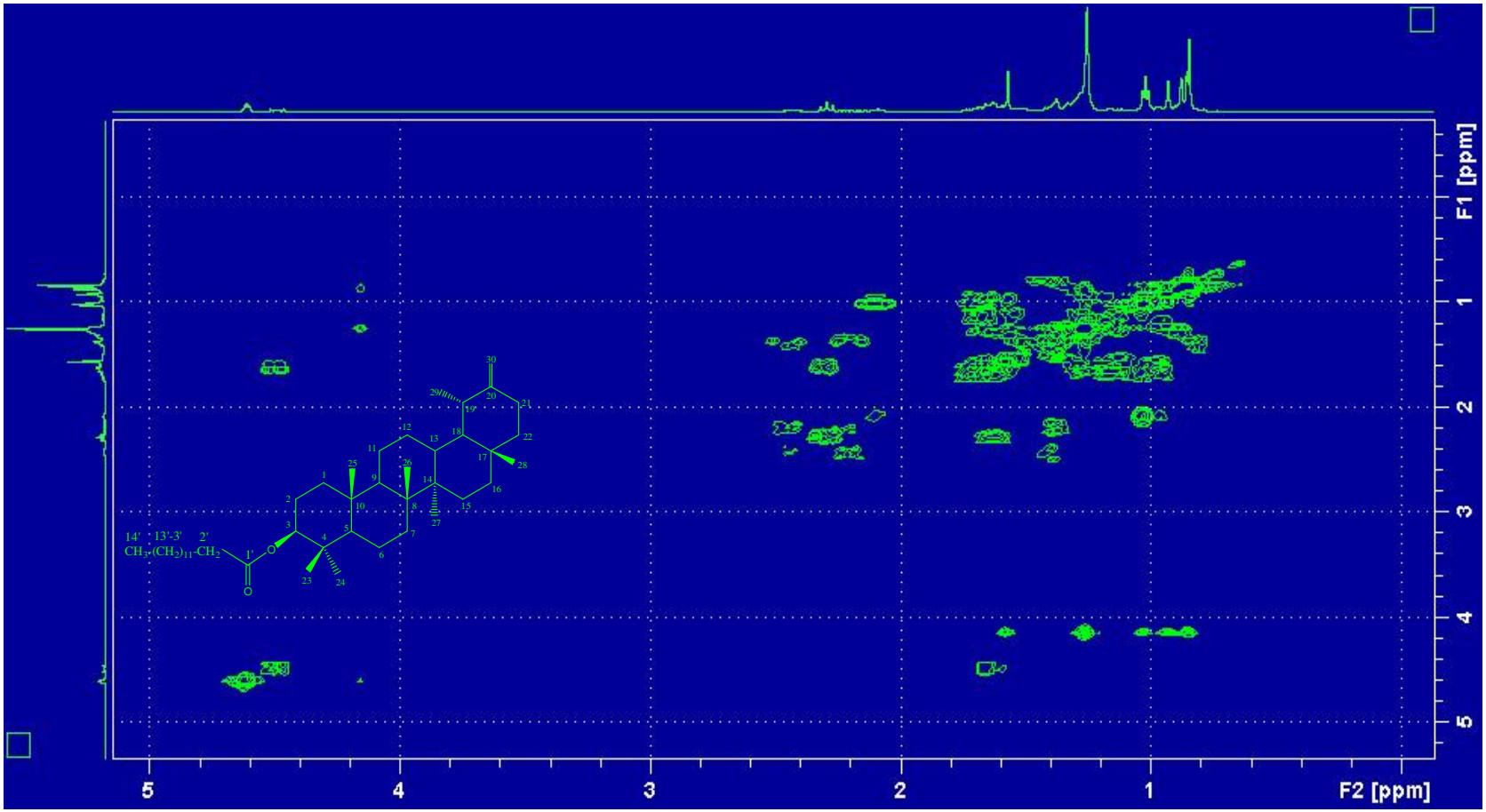
Şekil 35. SL-1 bileşiğinin HMQC spektrumu



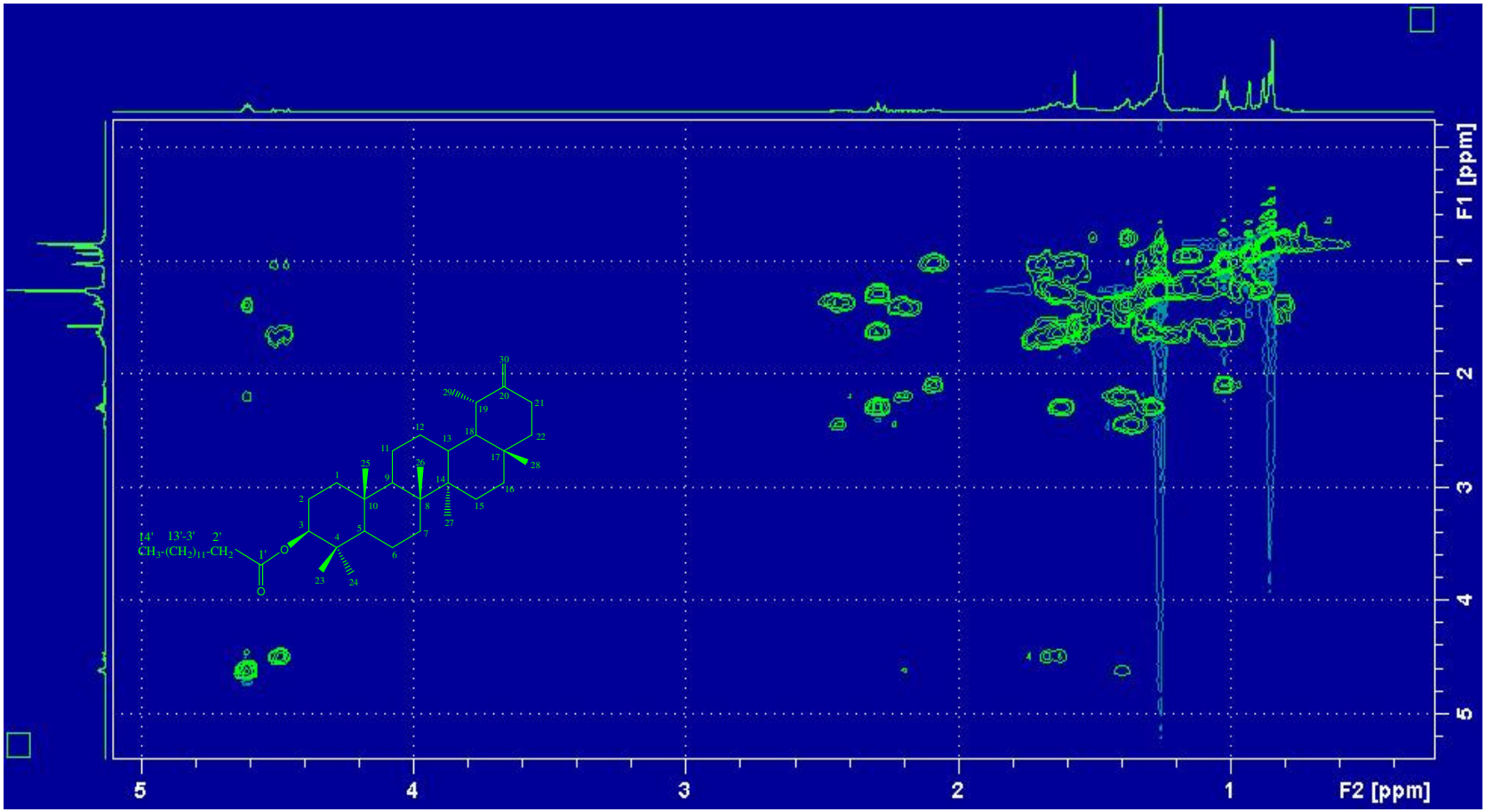
Şekil 36. SL-1 bileşiğinin HMBC spektrumu



Şekil 37. SL-1 bileşiğinin NOESY spektrumu

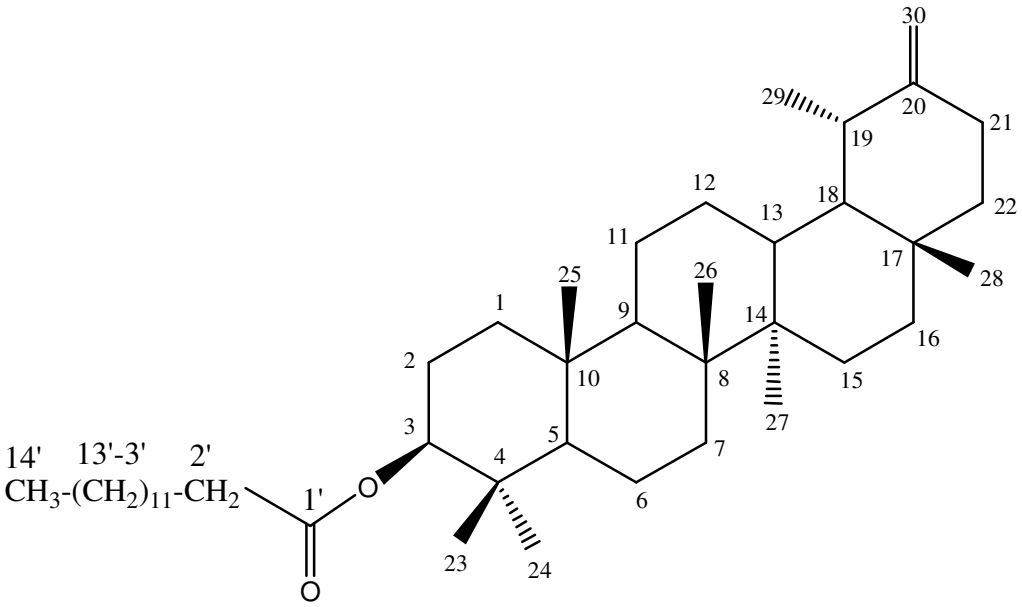


Şekil 38. SL-1 bileşiğinin COSY spektrumu



Şekil 39. SL-1 bileşiğinin TOCSY spektrumu

Formülü **:**



Molekül Adı **:** Taraksasterol miristat

Molekül Ağırlığı **:** 636,5850 (HR MS); 636,6 (EI MS)

Molekül Formülü **:** $C_{44}H_{76}O_2$

Özelliği **:** Beyaz amorf toz

Erime Derecesi **:** 96-98 ^{o}C

Optik Çevirme Derecesi ([α]D) **:** + 180 (c =1.5, kloroform)

Çizelge 19. SL-1 bileşiğinin ^{1}H ve ^{13}C NMR bulguları

Kimyasal kayma	Proton	C	δ (ppm)
1,16- 1,05 (2H, m)	H-1	C-1	37,7
1,66 (2H, m)	H-2	C-2	25,5
4,48 (1H dd, J = 10.5;6.6)	H-3	C-3	80,1
---	---	C-4	38.2
0,78 (1H, m)	H-5	C-5	55,1
1,42 (2H, m)	H-6	C-6	18,9
1,39 (2H, m)	H-7	C-7	33,4
---	---	C-8	42,4
1,34 (1H, m)	H-9	C-9	50,1
---	---	C-10	38,8
1,56-1,17 (2H, m)	H-11	C-11	21,8
1,70 (2H, m)	H-12	C-12	26,0
1,57 (1H, m)	H-13	C-13	40,0
---	---	C-14	37,7
1,70-0,11 (2H, m)	H-15	C-15	26,5
1,15-1,72 (2H, m)	H-16	C-16	38,6
---	---	C-17	35.3
0,96 (1H, m)	H-18	C-18	49,5
2,09 (1H, m)	H-19	C-19	40,0
---	---	C-20	154,0
2,19-2,45 (2H, m)	H-21	C-21	25,9
1,39 (2H, m)	H-22	C-22	38,1
0,85 (3H, s)	H-23	C-23	28,6
0,84 (3H, s)	H-24	C-24	15,2
0,86 (3H,s)	H-25	C-25	17,1
1.02 (3H, s)	H-26	C-26	16,8
0,92 (3H,s)	H-27	C-27	14.9
0,85 (3H, s)	H-28	C-28	19,9
1,02 (3H, d, J=6.56)	H-29	C-29	25,8
4,61 (2H, s)	H-30	C-30	107,5
---	-C=O	C-1'	172,9
2,28 (2H, m)	CH_2	C-2'	35,6
1,26 (24H, m)	$(CH_2)_{11}$	C-3'-C-13'	29,7-30,2
0,86 (3H, t, J=6.6)	CH_3	C-14'	14,5

SL-1 bileşiğinin ^{1}H-NMR spektrumuna bakıldığında SL-2 bileşiğinin ^{1}H-NMR spektrumu ile çok benzerlik gözlenmektedir. En önemli farklılık SL-2'de δ 2,05'de (3H) gözlenen asetat grubuna ait protonların verdiği singletin, SL-1'de gözlenememesidir. ^{1}H-NMR spektrumunda δ 4,61 ppm'de gözlenen sinyal olefinik yapıyı işaret etmektedir. δ 4,48 (1H, dd) sinyali ise elektronegatif bir gruba bağlı metil protonlarına aittir. Çok sayıda alifatik sinyallerin varlığı dikkat çekmektedir. δ 0,84 (3H), δ 0,85 (3H), δ 0,86 (6H) ve δ 0,92 (3H) ppm'de gözlenen singletler 5 metil grubunun varlığını göstermektedir. δ 1,02 (6H) ppm'de üst üste yer alan singlet ve dublet fazladan iki metil grubunun varlığını işaret etmektedir ki bu toplam olarak bileşikte 7 ayrı metil grubunun bulunduğunu göstermektedir. ^{13}C NMR spektrumunda SL-2 bileşiğinin 44 karbon atomuna sahip olduğu ve DEPT spektrumu ile kıyaslandığında bir olefinik (δ 107,5) ve 23 alifatik CH_2 grubunun bulunduğu anlaşılmaktadır. Spektrumun küçük bir alanında 29,7- 30,2 ppm'lik bir bölgede yer alan alifatik CH_2 sinyalleri uzun alifatik bir zincirin varlığını göstermektedir.

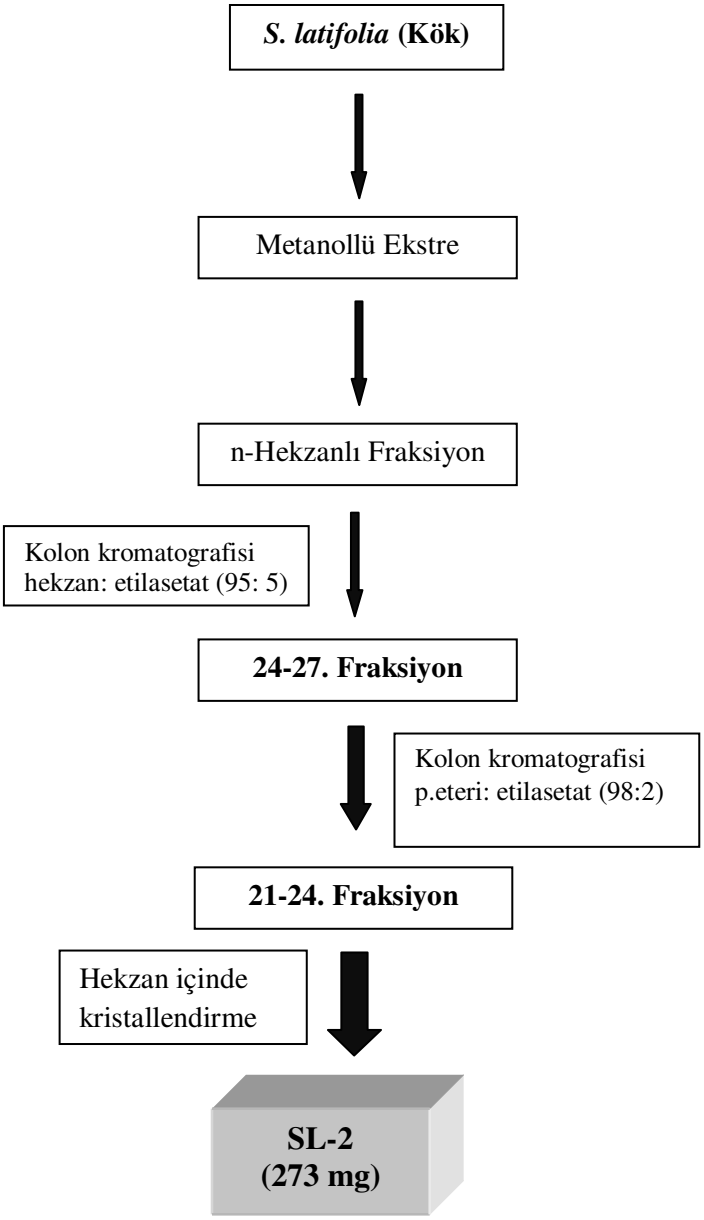
HMQC spektrumu proton taşıyan tüm karbon atomlarını tespit etmemizi sağlamaktadır. HMQC spektrumu verileri COSY ve TOCSY verileriyle karşılaştırıldığında δ 4,48 sinyalinin δ 1,66 (H-2) ile ve δ 1,66 sinyalinin de δ 1,05-1,16 (H-1) ile ilişkili olduğu anlaşılmaktadır. Olefinik CH_2 grubunun δ 4,61 ppm'de gözlenen sinyalleri δ 2,45 (H-21) ppm'deki sinyallerle ilişkilidir. δ 2,45-2,19 ppm'de sinyal veren protonları taşıyan karbon atomunun δ 25,5 ppm'de sinyal veren 21. Konumdaki CH_2 olduğu HMQC spektrumundan anlaşılmaktadır. COSY spektrumuna bakıldığında ise H-21 protonlarının δ 1,39 ppm'de sinyal veren 22. Konumdaki proton ile ilişkili olduğu anlaşılmaktadır. Ayrıca HMBC spektrumunda H-3 (δ 4,48) sinyalinin C atomununun δ 172,9 ppm'de rezonans olduğu, 23. Ve 24. Konumlardaki karbon atomlarının da kimyasal kaymalarının sırasıyla δ 28,6 ve δ15,2 ppm olduğu görülmektedir. δ 0,84 ppm'deki sinyalin C-5 (δ 55,1), C-3 (δ 80,1), C-23 (δ 15,2) ve C-24 (δ 28,6) ile ilişkili olduğu, 4. C atomunda yer alan geminal metil gruplarının ve 3. konumdaki -OH grubunun varlığı HMBC spektrumundan anlaşılmaktadır.

SL-1 bileşiğinin HMBC, HMQC, ^{1}H-NMR ve ^{13}C-NMR spektrumları terpenik yapıdaki ana iskeletin taraksasterol olduğunu göstermektedir. 3. konumda yer alan protonun δ 4,48 ppm'de sinyal vermesi ve ayrıca δ 172,9'da yer alan karbon sinyali ile ilişkili olduğunun HMBC spektrumundan gözlenmesi bu konumdan bir ester grubunun bağlandığını göstermektedir.

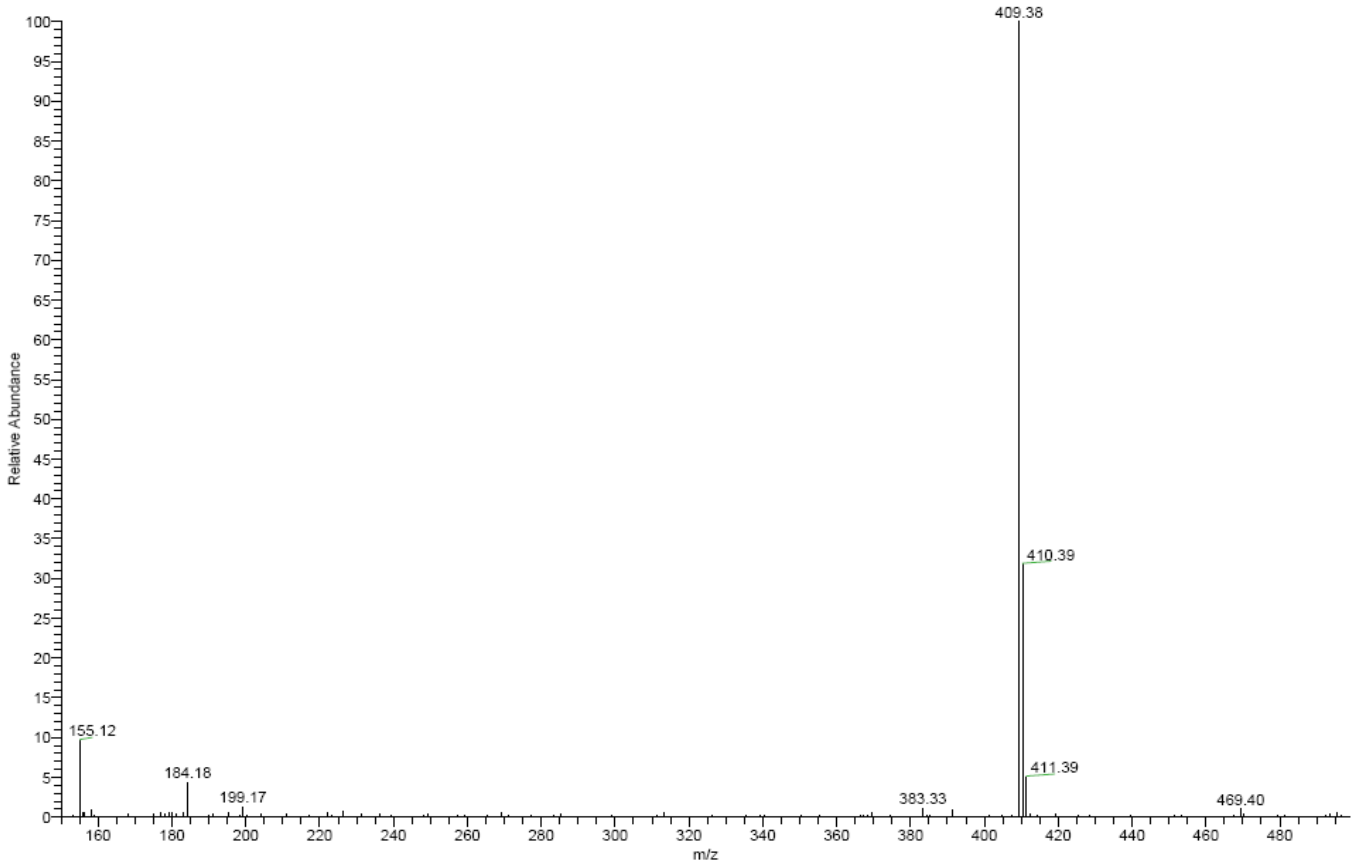
DEPT ve ^{13}C-NMR spektrumunlarının incelenmesiyle yan zincirin 12 tane CH_2, karbonil grubu ve terminal metil grubu olmak üzere toplam 14 karbon atomundan oluştuğu yani yağ asidinin tetradekanoik asit (miristik asit), dolayısıyla SL-1 bileşiğinin taraksasterol miristat olduğu tespit edilmiştir.

3.1.3.2. SL-2 Bileşiğinin Yapı Tayini

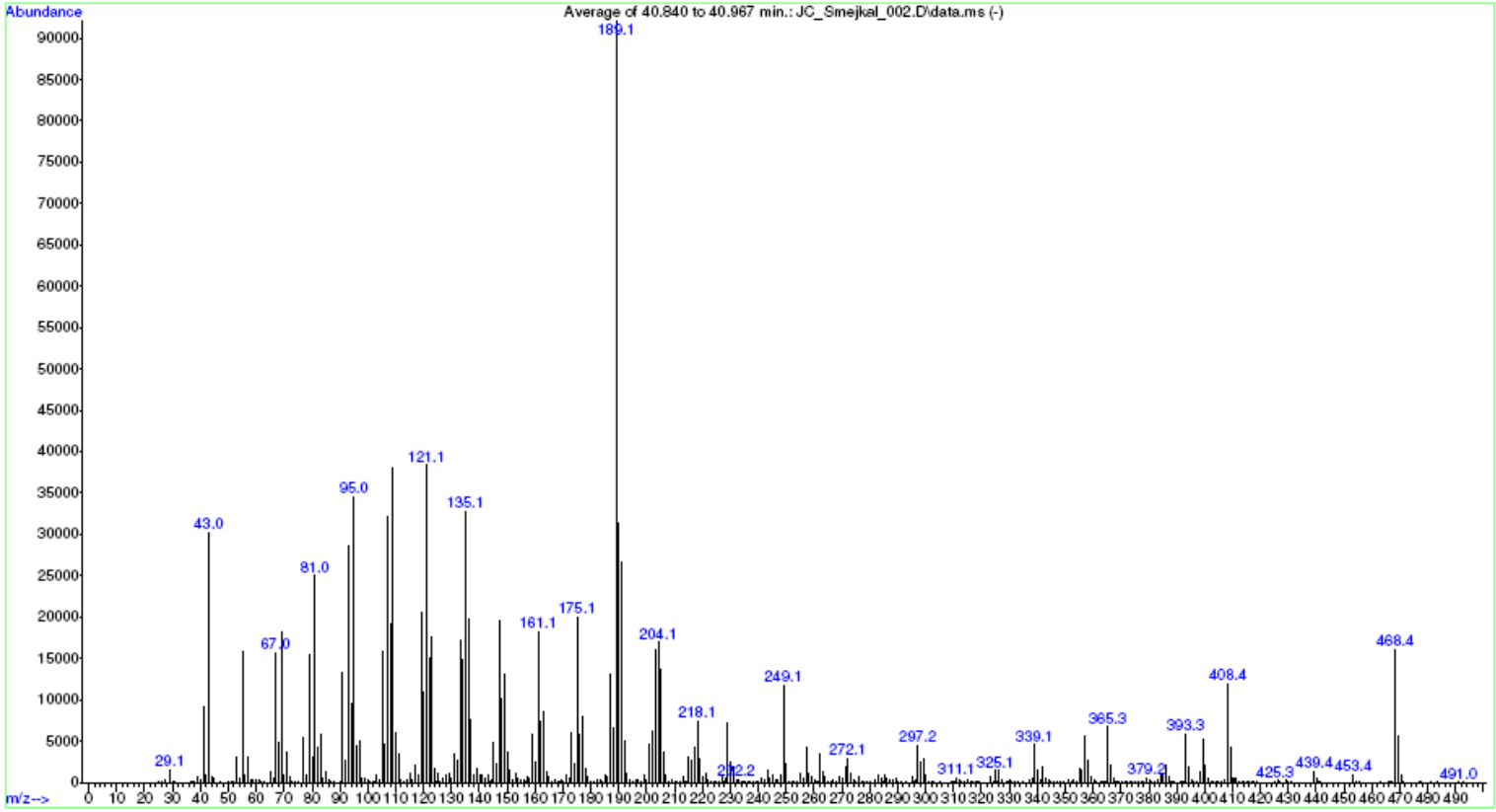
SL-2 Bileşiğinin İzolasyon Şeması



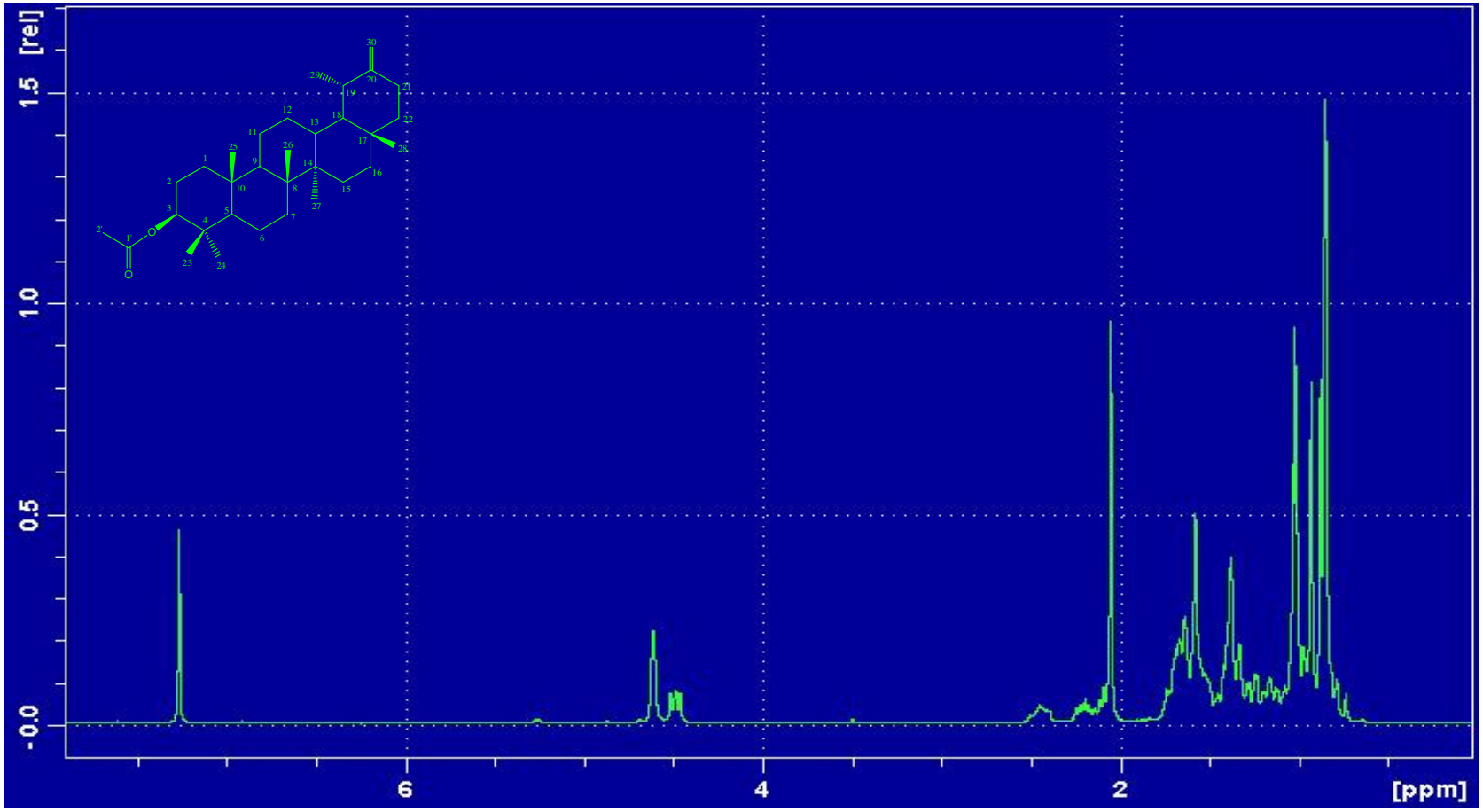
Şekil 40. SL-2 bileşiğinin izolasyon şeması



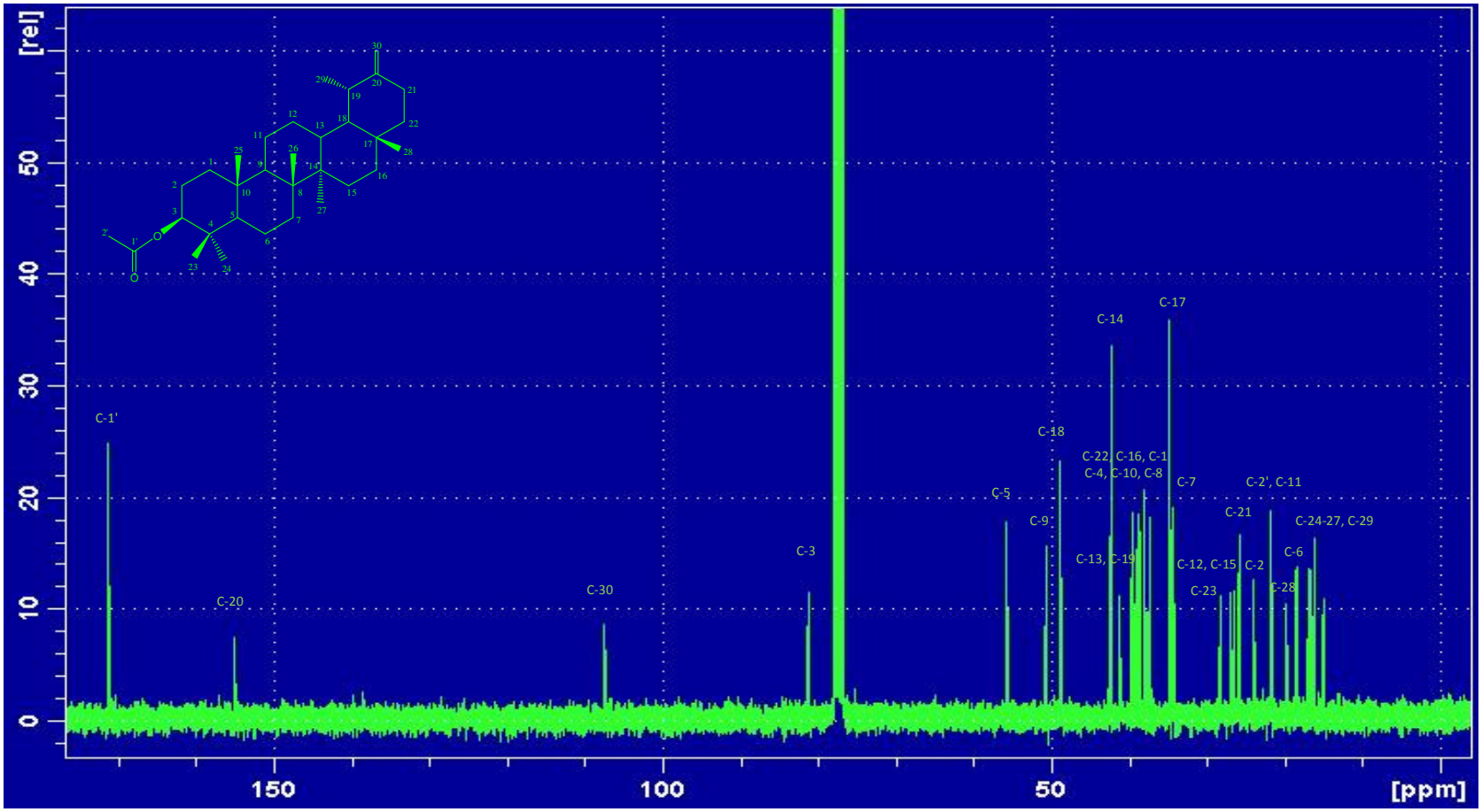
Şekil 41. SL-2 bileşiğinin HR MS spektrumu



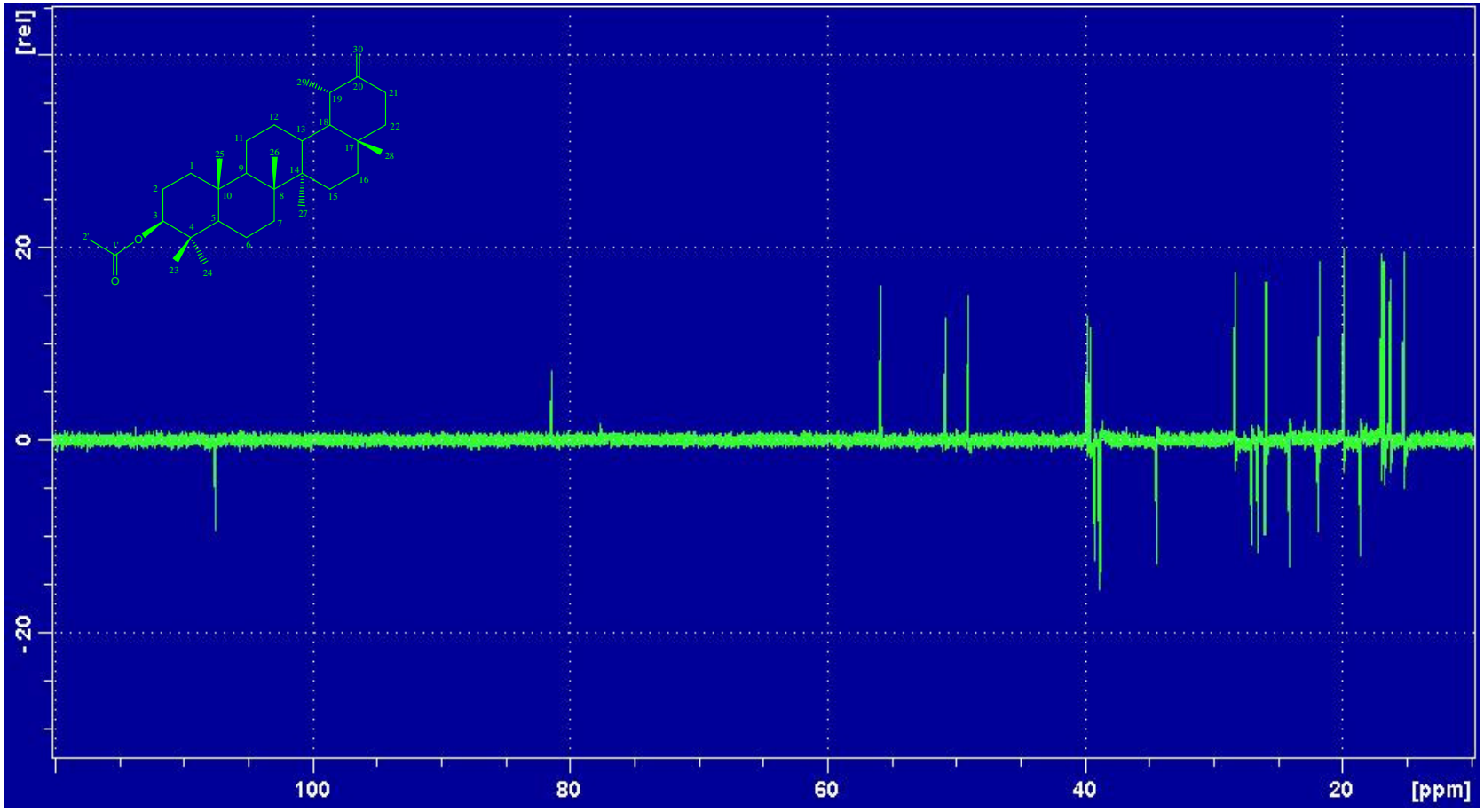
Şekil 42. SL-2 bileşiğinin GC MS spektrumu



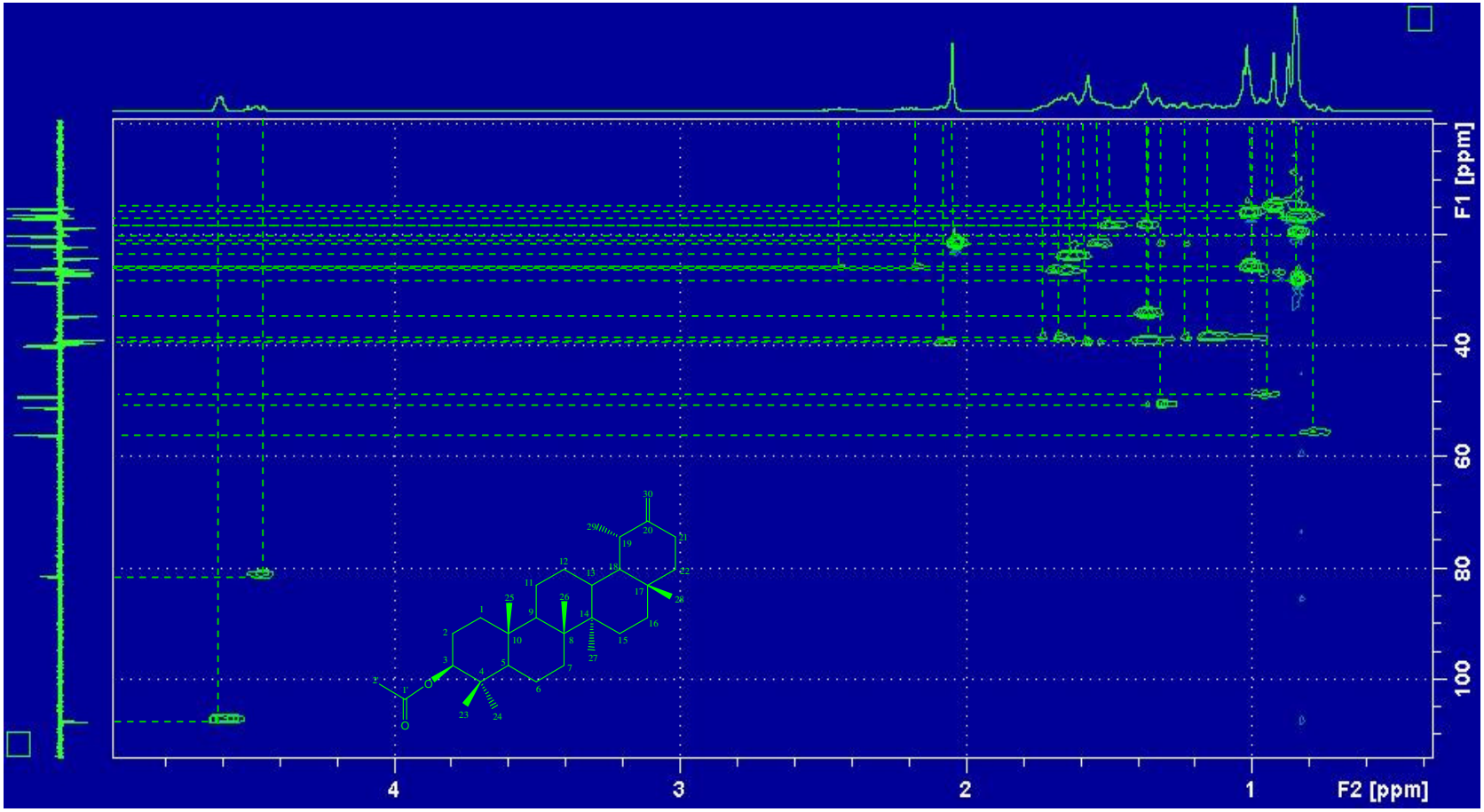
Şekil 43. SL-2 bileşiğinin ^{1}H-NMR spektrumu



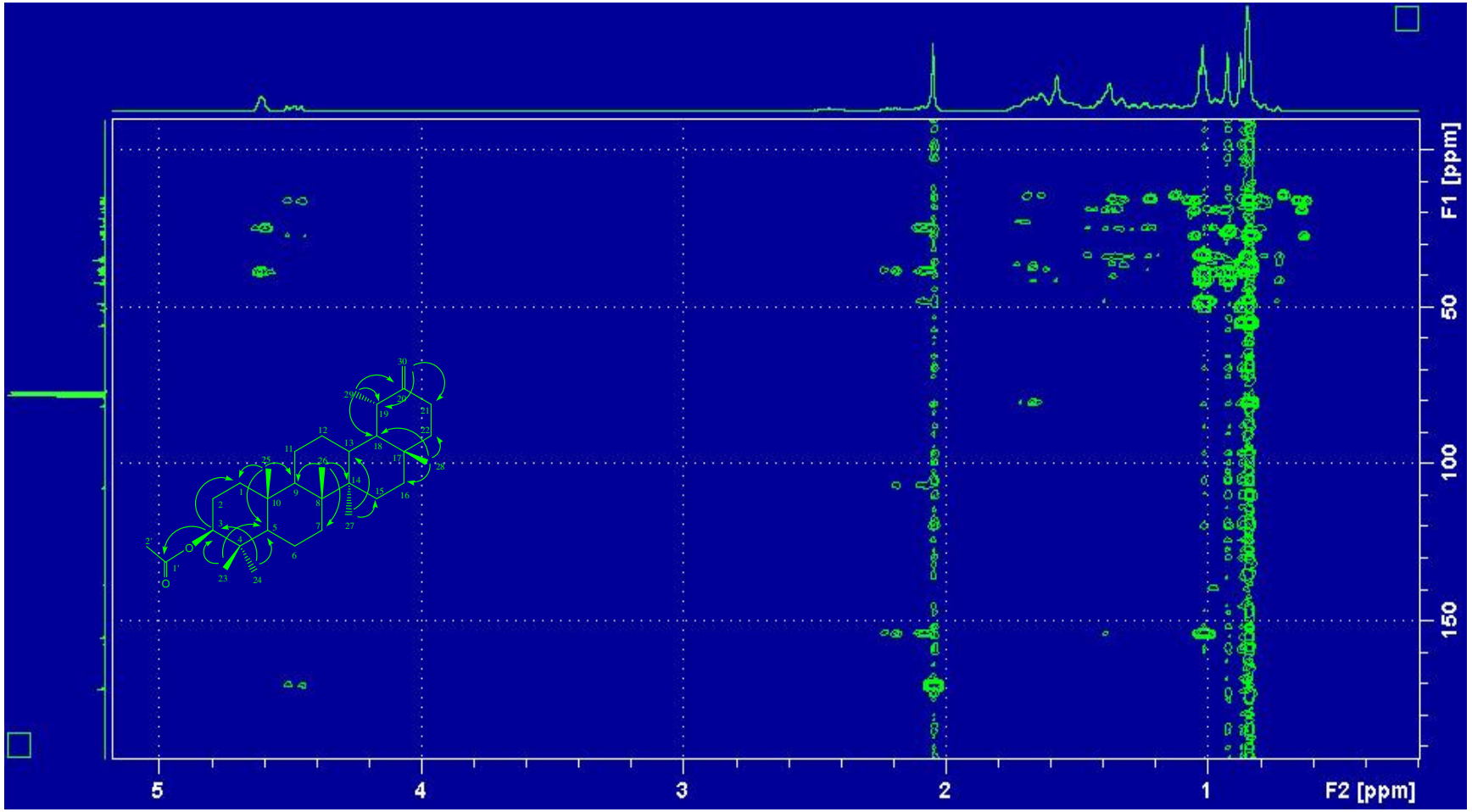
Şekil 44. SL-2 bileşiğinin ^{13}C-NMR spektrumu



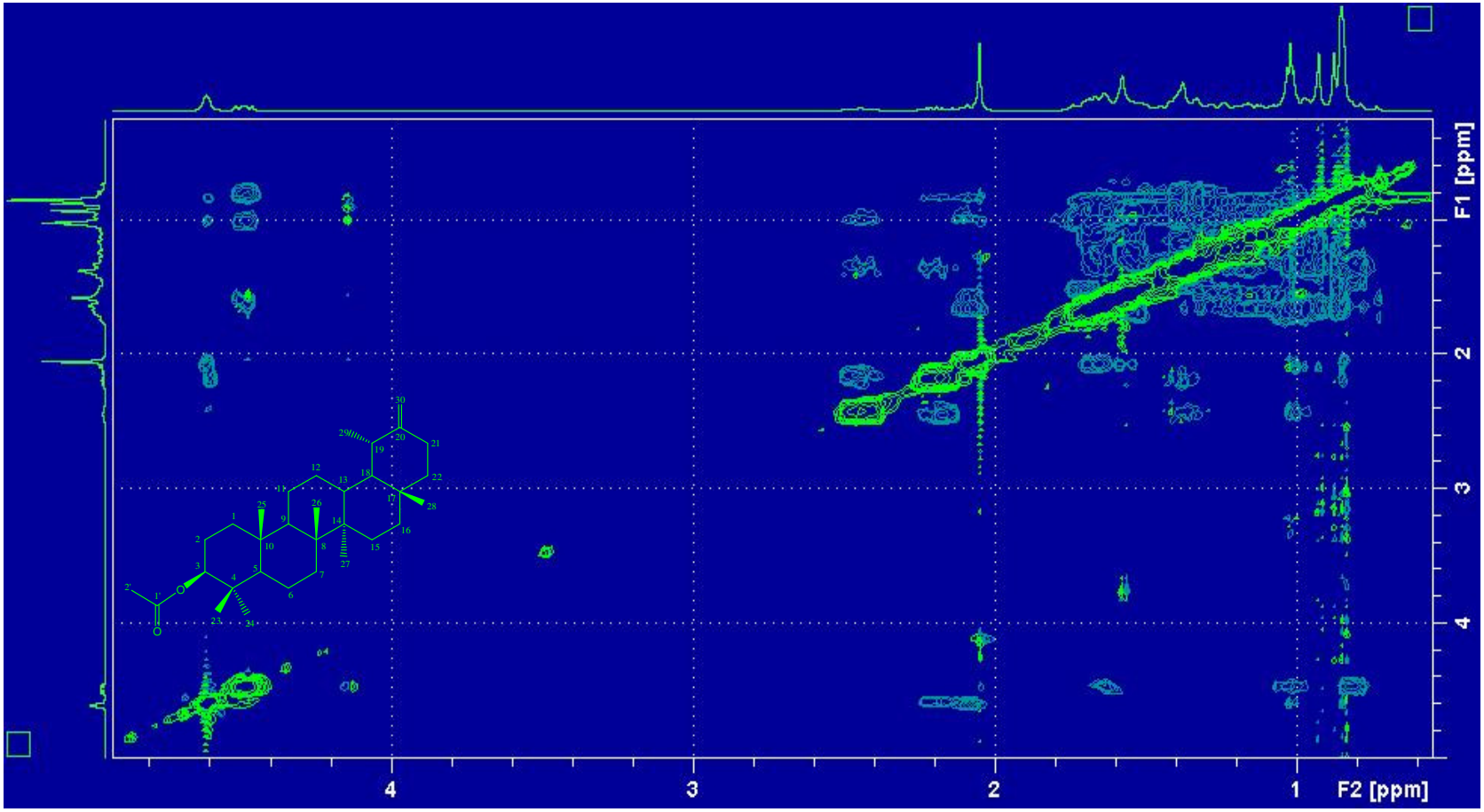
Şekil 45. SL-2 bileşiğinin DEPT spektrumu



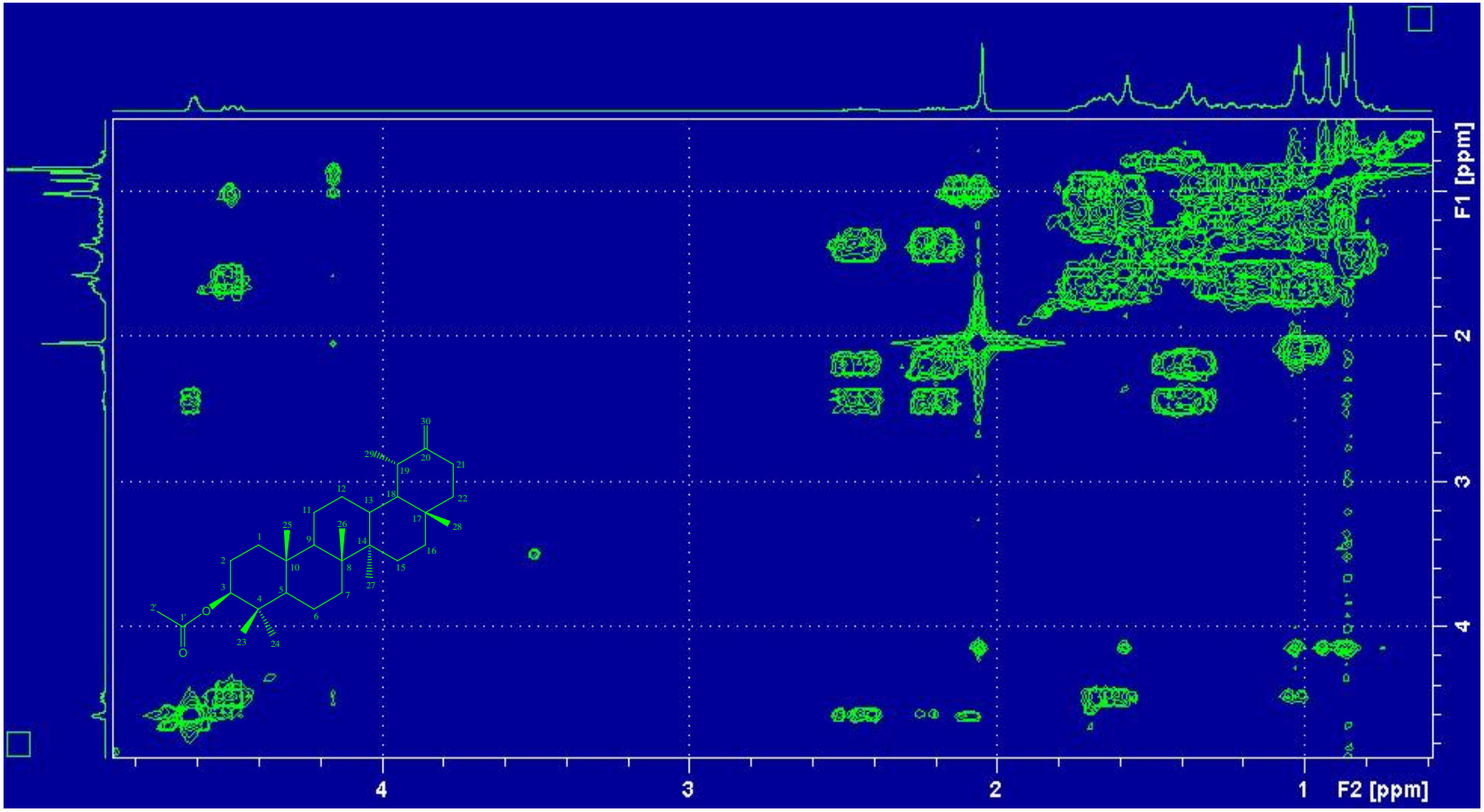
Şekil 46. SL-2 bileşiğinin HMQC spektrumu



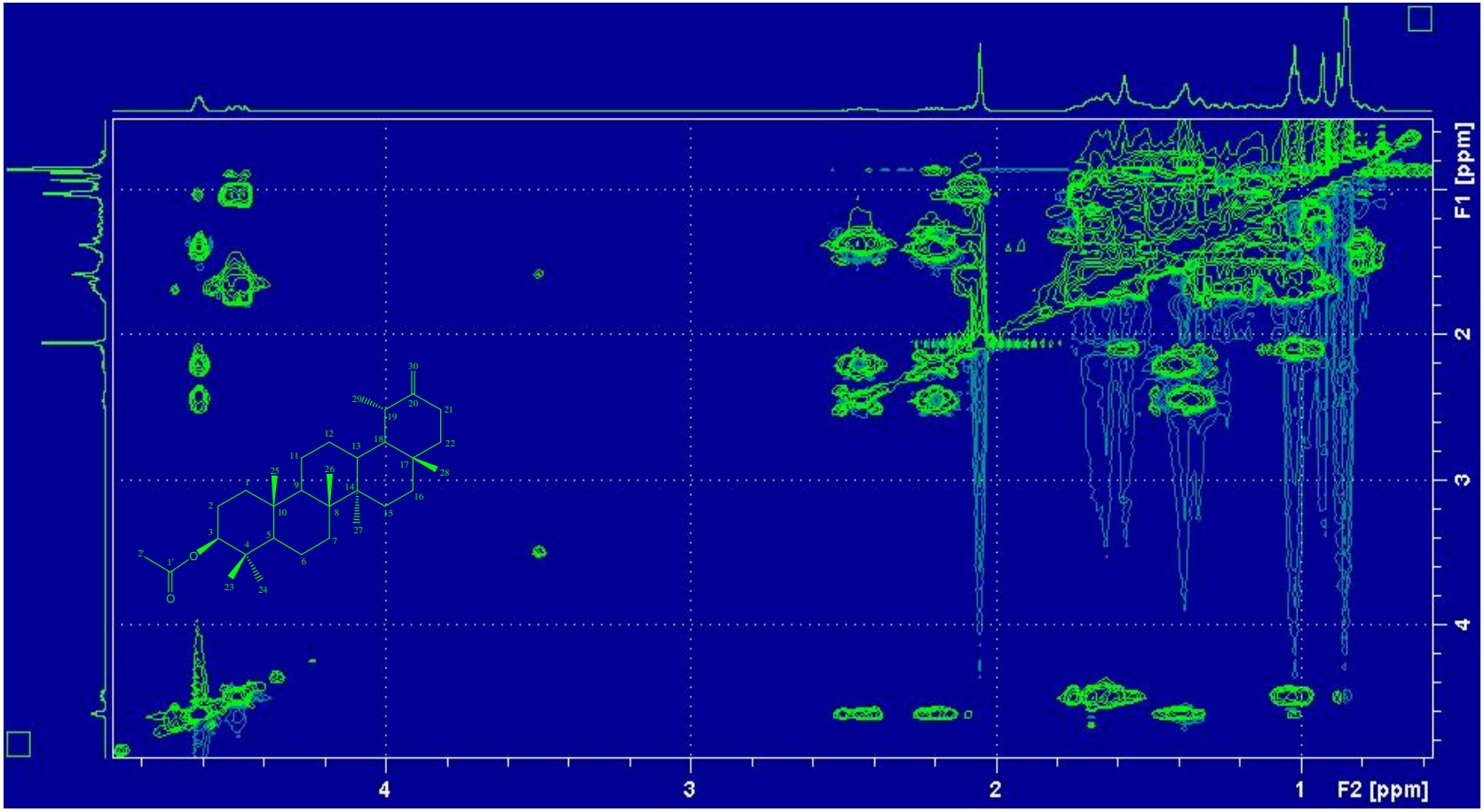
Şekil 47. SL-2 bileşiğinin HMBC spektrumu



Şekil 48. SL-2 bileşiğinin NOESY spektrumu

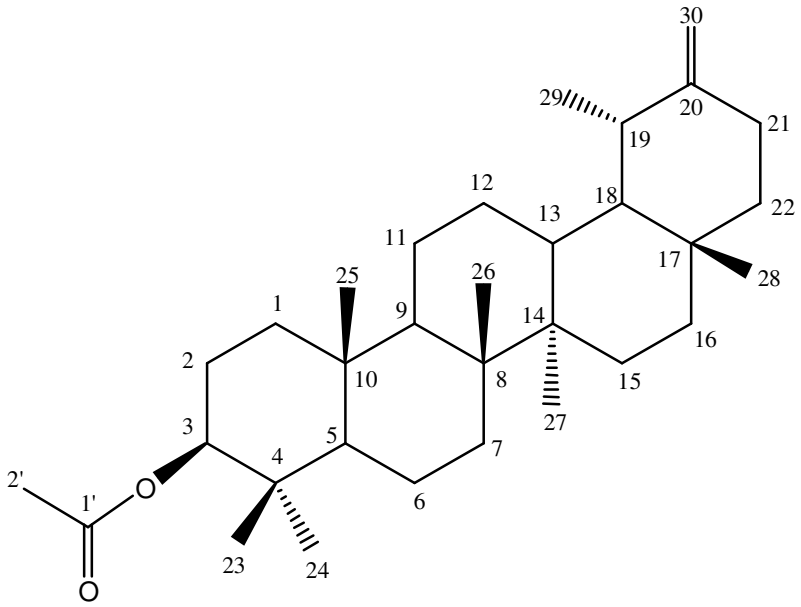


Şekil 49. SL-2 bileşiğinin COSY spektrumu



Şekil 50. SL-2 bileşiğinin TOCSY spektrumu

Formülü :



Molekül Adı **:** Taraksaterol asetat

Molekül Ağırlığı **:** 469,40392 m/z (HR MS); 468,4 (GC MS)

Molekül Formülü **:** $C_{32}H_{52}O_2$

Özelliği **:** Renksiz kristaller

Erime Noktası **:** 239-242 ^{o}C

Optik Çevirme Derecesi ([α]D) **: +**103 (c = 1 g/ 100ml kloroform)

Çizelge 20. SL-2 bileşiğinin ^{1}H ve ^{13}C NMR bulguları

Kimyasal kayma	proton	C	δ (ppm)
1,16- 1,05 (2H, m)	H-1	C-1	38,2
1,64 (2H, m)	H-2	C-2	23,6
4,48 (1H, dd, 6.37;9.60)	H-3	C-3	81,0
---	---	C-4	37,5
0,79 (1H, m)	H-5	C-5	55,2
1,39-1,53 (2H-m)	H-6	C-6	18,6
1,40 (2H, m)	H-7	C-7	34,0
---	---	C-8	37,2
1,34 (1H, m)	H-9	C-9	50,1
---	---	C-10	37,4
1,56 (2H, m)	H-11	C-11	21,4
1,69 (2H, m)	H-12	C-12	26,0
1,59 (1H, m)	H-13	C-13	39,0
---	---	C-14	42,7
0,95 (2H, m)	H-15	C-15	26,5
1,16-1,72 (2H, m)	H-16	C-16	38,3
---	---	C-17	35,1
0,96 (1H, m)	H-18	C-18	49,2
2,10 (1H, m)	H-19	C-19	39,2
---	---	C-20	154,8
2,18-2,46 (2H, m)	H-21	C-21	25,5
1,39 (2H, m)	H-22	C-22	38,7
0,86 (3H, s)	H-23	C-23	28,6
0,86 (3H, s)	H-24	C-24	15,6
0,87 (3H,s)	H-25	C-25	15,2
1.02 (3H, s)	H-26	C-26	16,3
0,93 (3H,s)	H-27	C-27	15,0
0,86 (3H, s)	H-28	C-28	19,7
1,02 (3H, d, J=6.50)	H-29	C-29	15.7
4,61 (2H, s)	H-30	C-30	107,6
2,05 (3H, s)	CH_3	CH_3-C=O	21,5; 171,6

SL-2 bileşiğinin DEPT ve ^{13}C NMR spektrumlarının incelenmesi sonucunda molekülün 32 karbon atomu taşıdığı ve bunlardan 7 tanesinin CH, 12 tanesinin CH_2, 9 tanesinin CH_3 olduğu kalan 4 C atomunun ise kuaterner durumda olduğu saptanmıştır. HR-MS ile molekül ağırlığı 469 m/z (H^+) ve kapalı formülü $C_{32}H_{52}O_2$ olarak tespit edilmiştir. ^{13}C spektrumunda δ 23,6 ve 38,2 ppm'lerde gözlenen sinyaller C-2 ve C-1 atomlarına aittir. 107,6 ppm'de gözlenen sinyalin C-30 karbon atomuna ait olduğu ve bu karbon atomunun bir çifte bağ ile δ 154,8 ppm'de sinyal veren C-20 karbon atomuna bağlı olduğu tespit edilmiştir.

HMBC spektrumuna bakıldığında kimyasal kayması δ 4,48 olan H-3 protonu ile δ 2,05'deki singletin δ 172,9'daki ester karbonil atomu ile korelasyonu 3. karbona

bağlı bir asetil grubunun varlığını ortaya koymaktadır ve bu karbon atomu 81,0 ppm'de rezonans olmuştur.

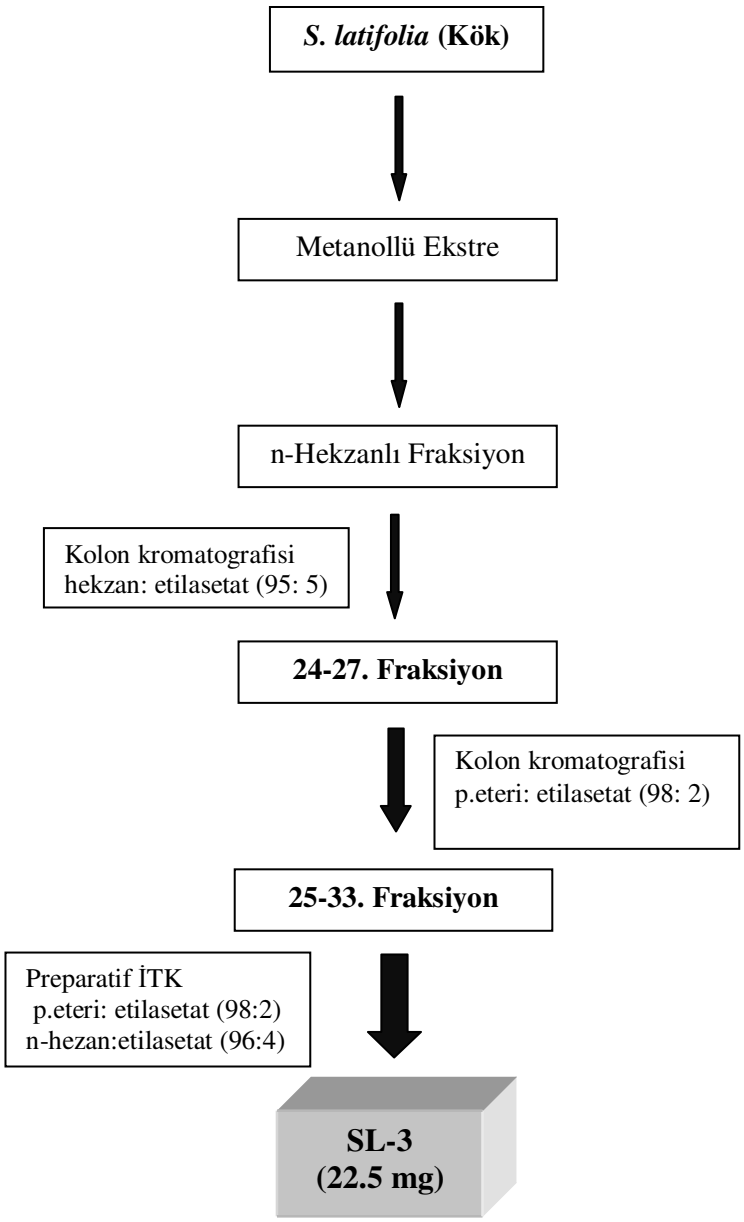
^{1}H-NMR spektrumunda 0,86 ppm de gözlenen protonların yine ^{13}C spektrumunda 28,6 ve 15,6 ppm'lerde gözlenen C-23 ve C-24 ile ilişkili olduğu HMQC spektrumunda görülmüştür. Bu protonlar ayrıca sırasıyla C-5 ve C-4'deki tersiyer (55,2 ppm) ve quaterner (37,5 ppm) C atomları ile de ilgilidir. B halkasında H-6 ve H-7 sinyallerinin korelasyonu COSY spektrumunda görülmektedir.

18,6 ppm'deki karakteristik sinyalin C-6; 34,0 ppm'deki karakteristik sinyalin ise C-7'ye ait olduğu HMQC spektrumunda görülmektedir. 1,02'de görülen dublet, metil protonlarına ait olup ^{13}C spektrumunda 15,70'de görülmekte olup 29. C'daki protonu göstermektedir. ^{13}C spektrumundaki 19,7'de, ^{1}H-NMR'da ise 0,86 ppm'de görülen sinyaller 28. C'daki metin protonlarını işaret etmektedir.

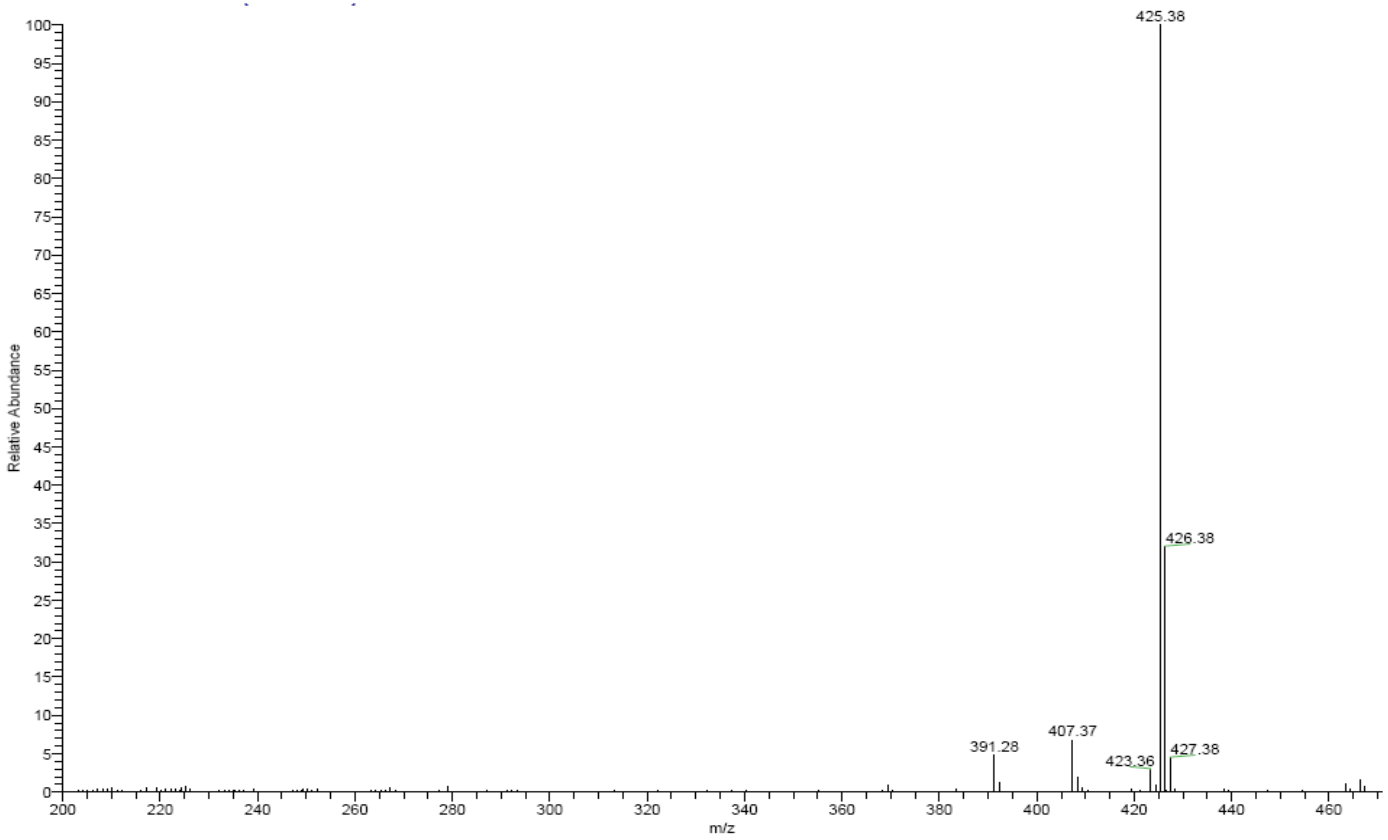
SL-2 bileşiğinin ^{1}H, ^{13}C NMR ve 2D NMR verilerine bakılarak ve bu verilerin literatür bulgularıyla (Iijima ve ark., 1994) kıyaslanmasıyla taraksasterol asetat yapısında olduğu tespit edilmiştir.

3.1.3.3. SL-3 Bileşiğinin Yapı Tayini

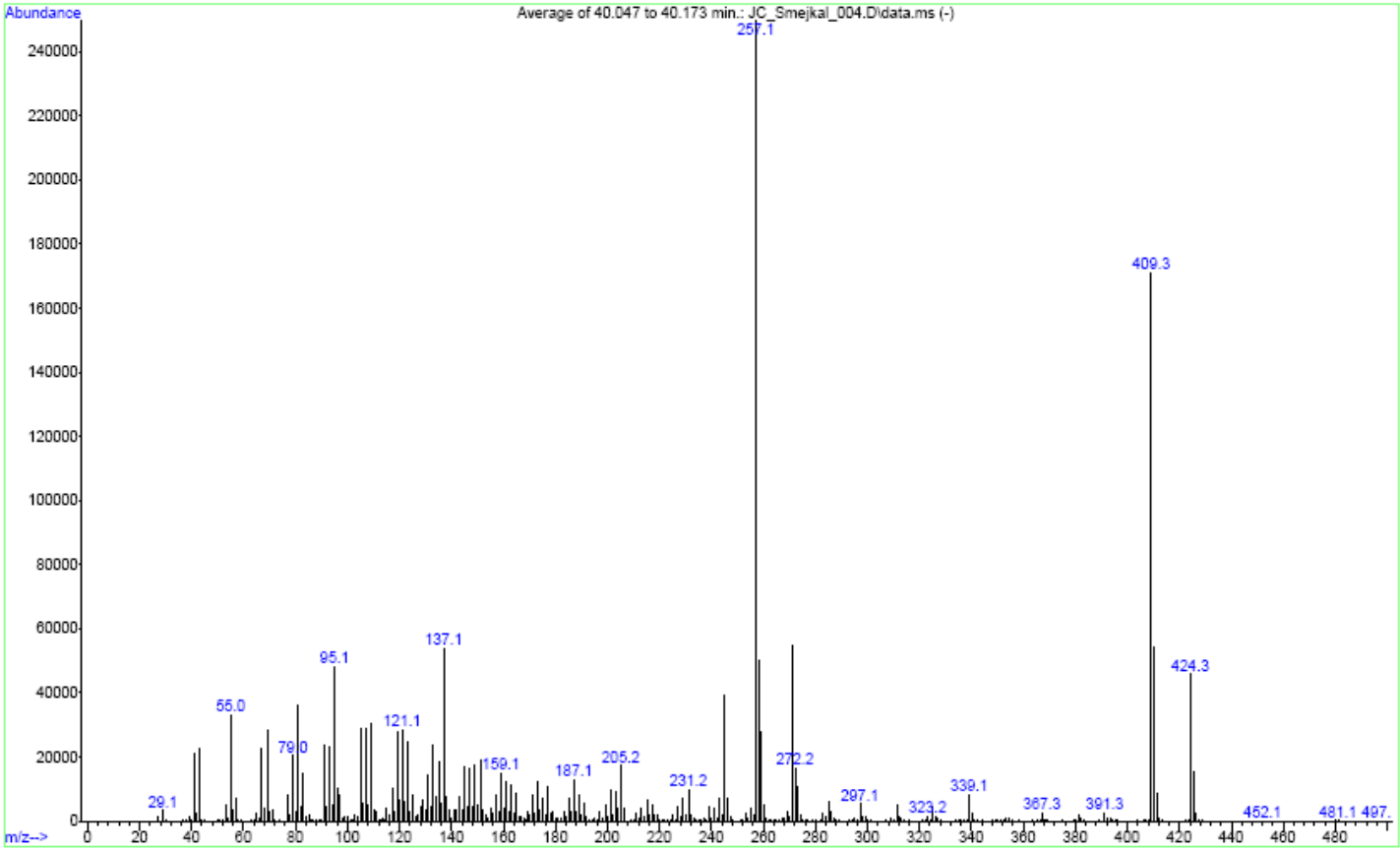
SL-3 Bileşiğinin İzolasyon Şeması



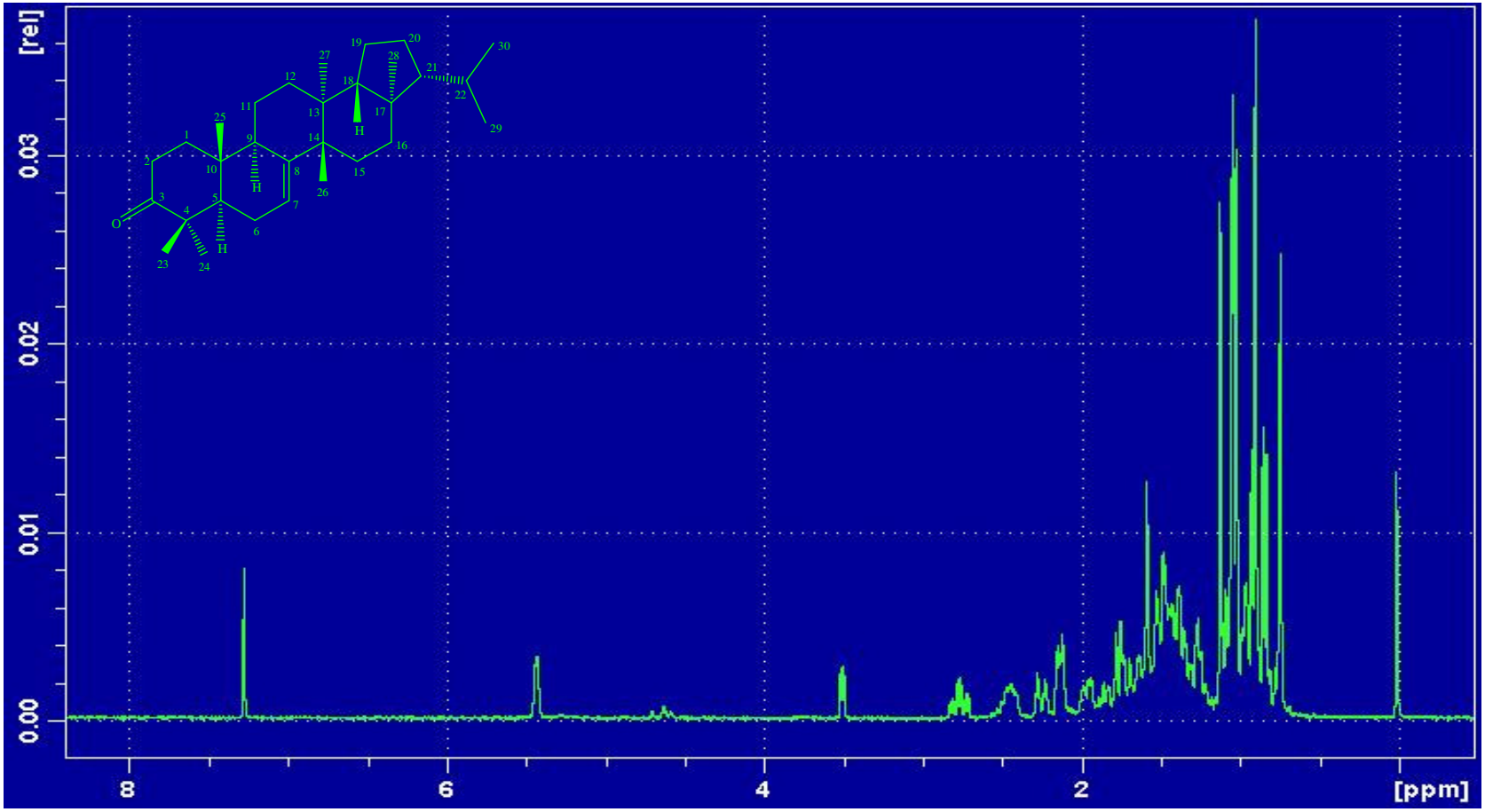
Şekil 51. SL-3 bileşiğinin izolasyon şeması



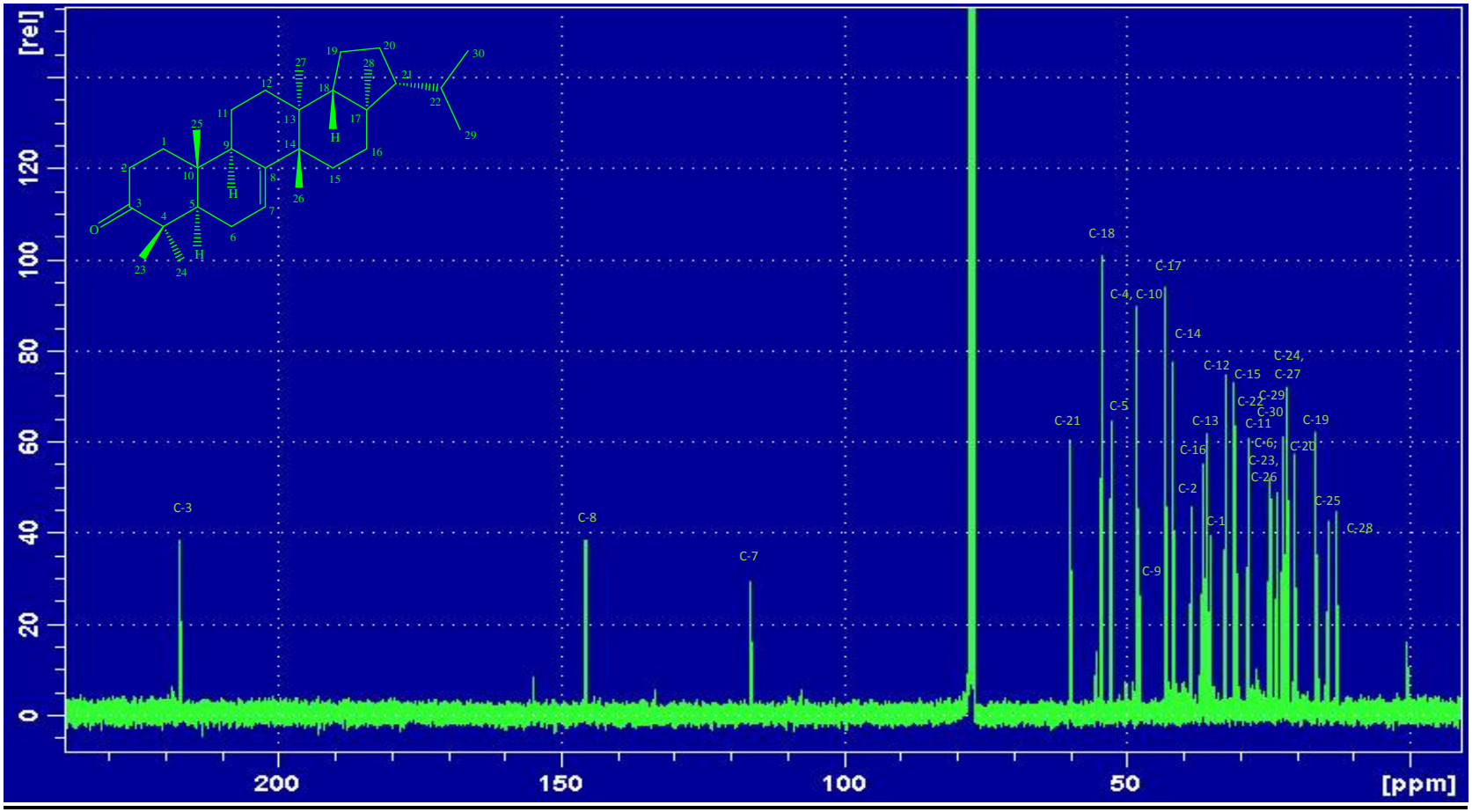
Şekil 52. SL-3 bileşiğinin HR-MS spektrumu



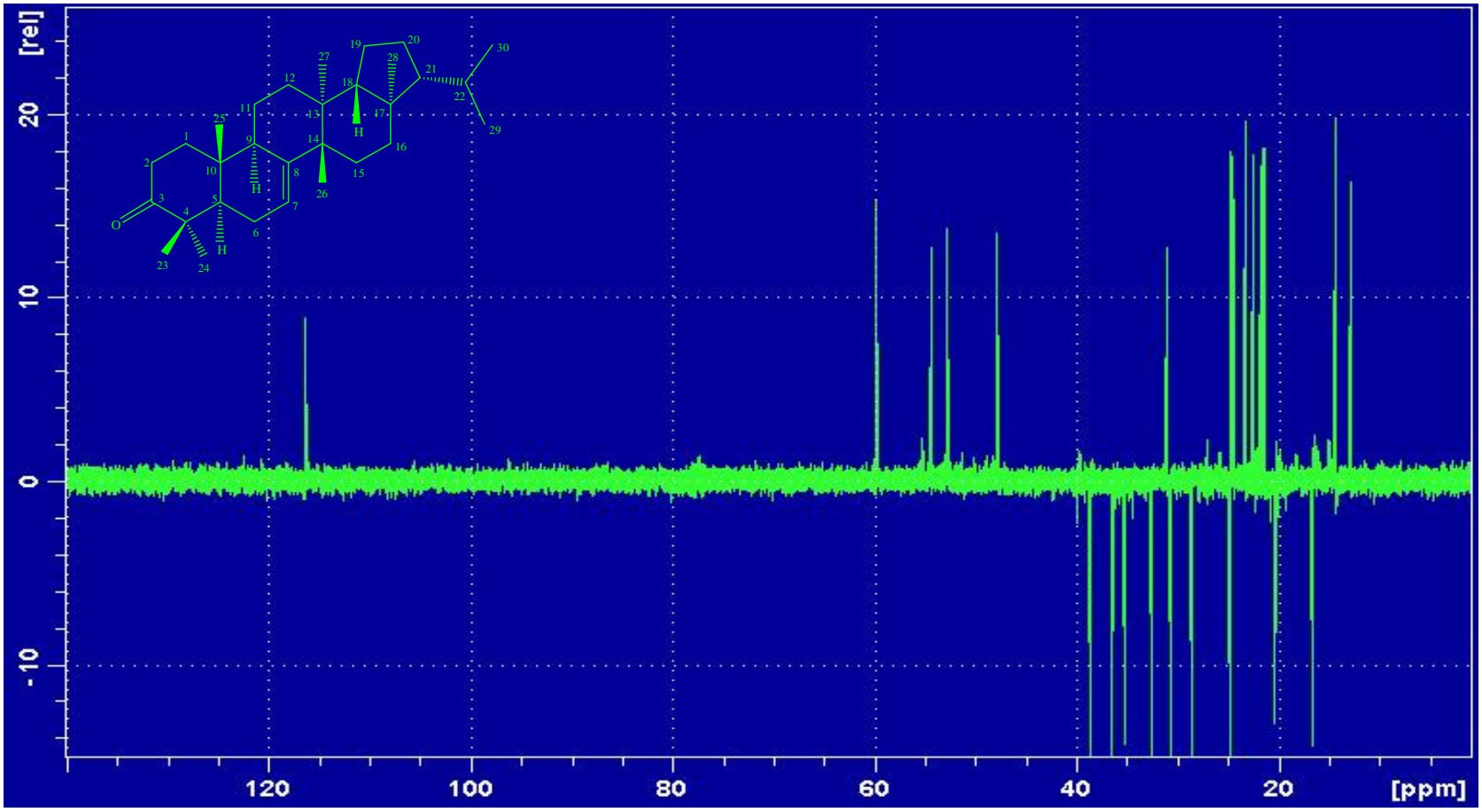
Şekil 53. SL-3 bileşiğinin GC-MS spektrumu



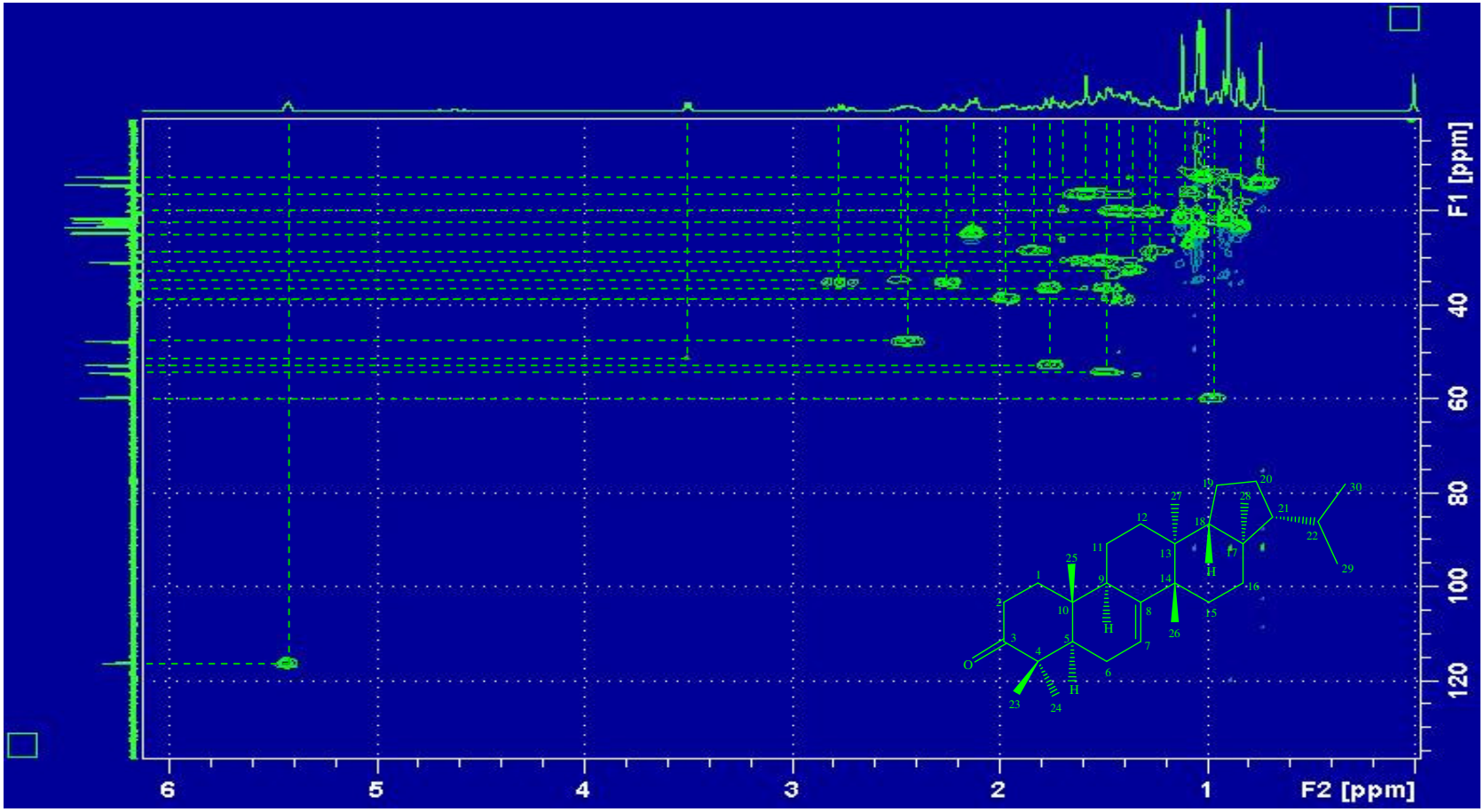
Şekil 54. SL-3 bileşiğinin ^{1}H NMR spektrumu



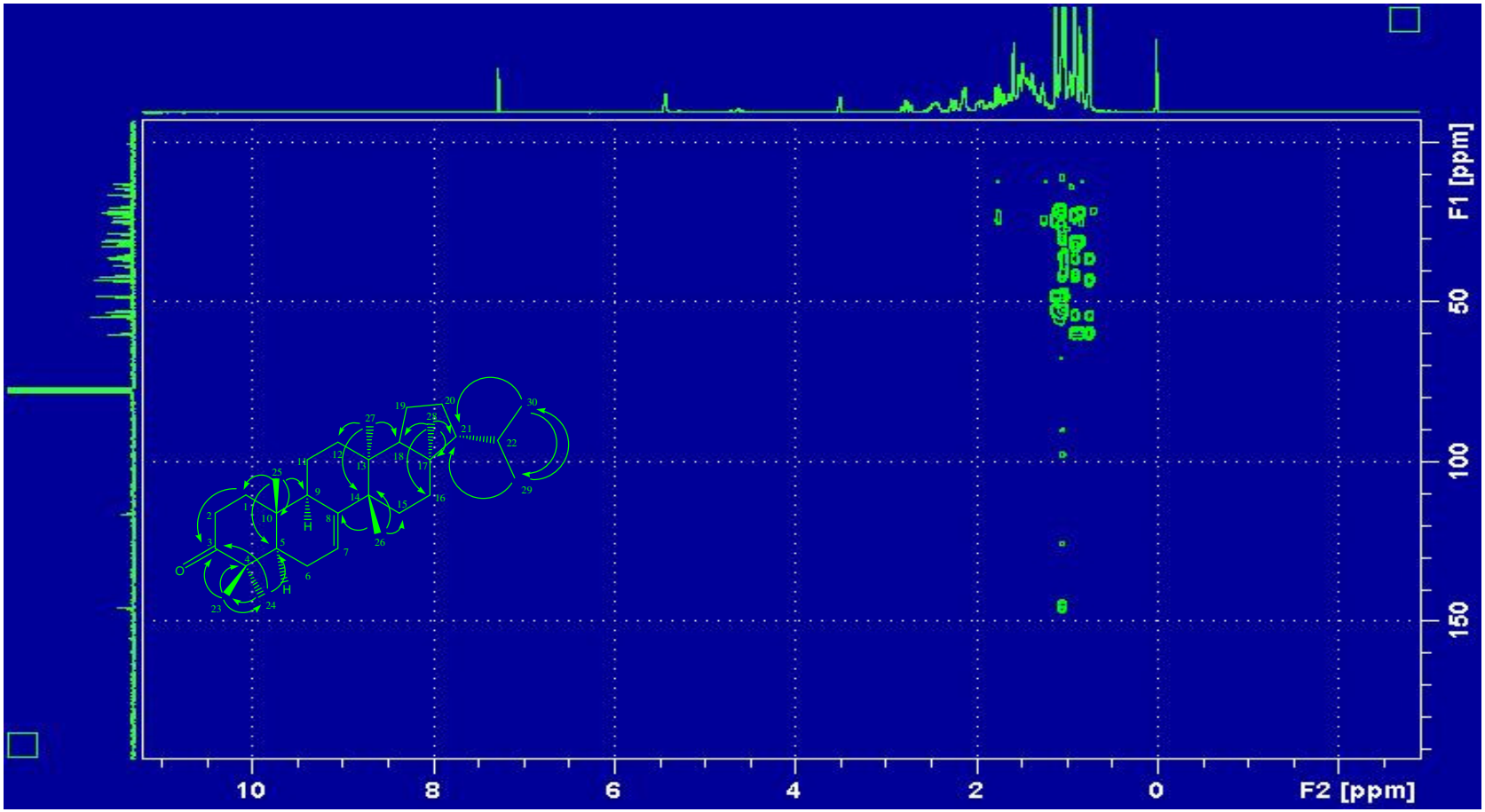
Şekil 55. SL-3 bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu



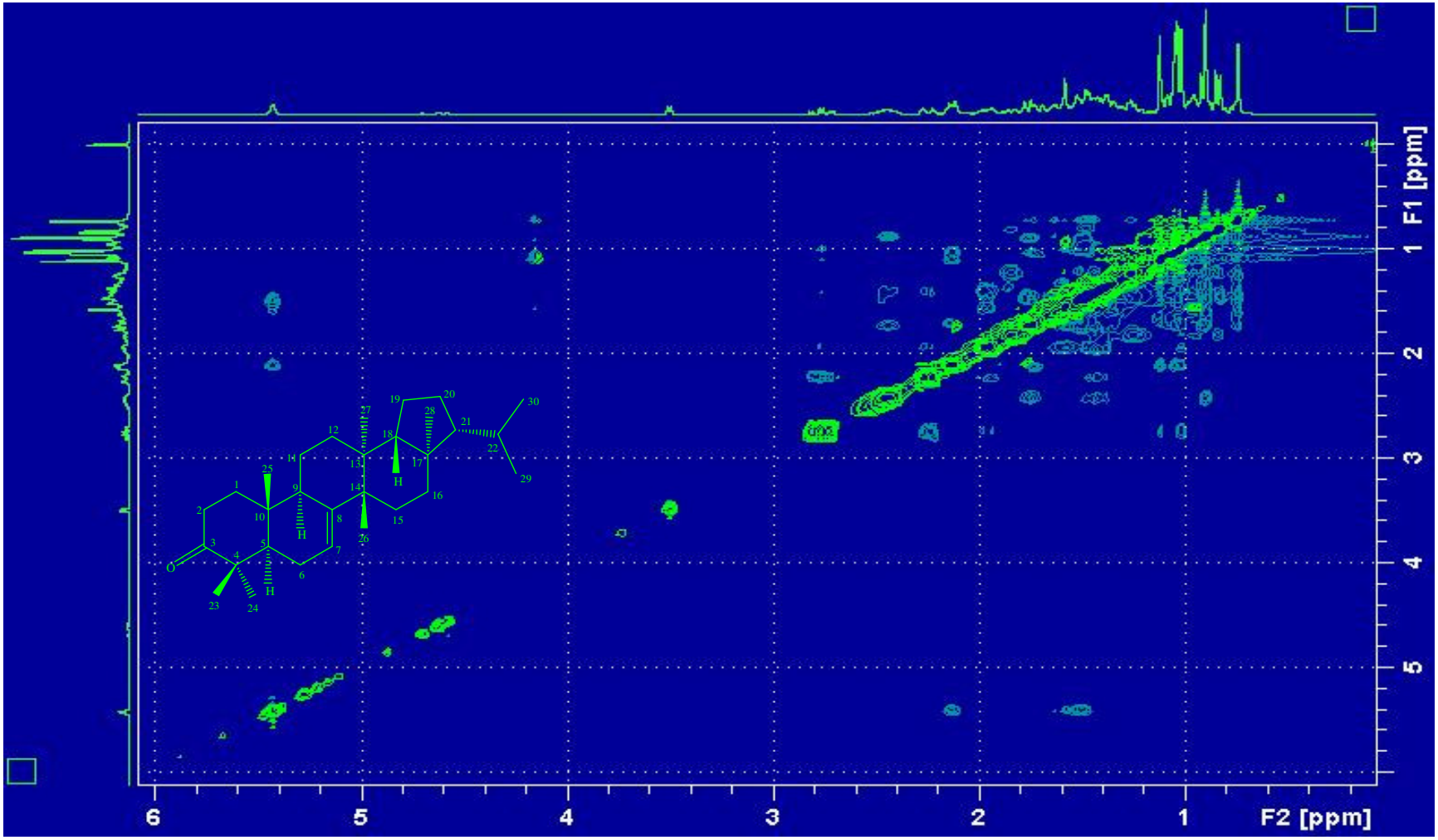
Şekil 56. SL-3 bileşiğinin DEPT spektrumu



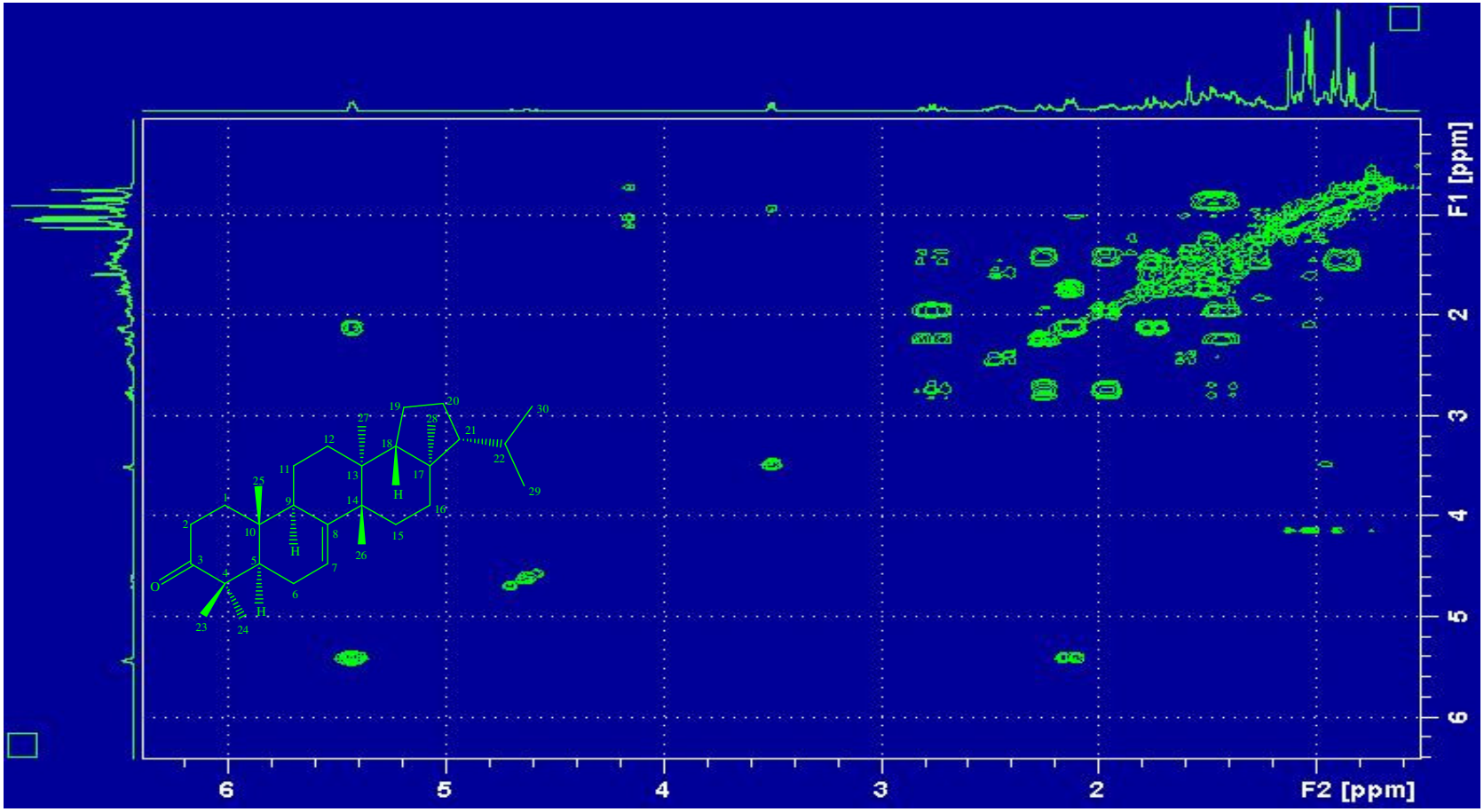
Şekil 57. SL-3 bileşiğinin HMQC spektrumu



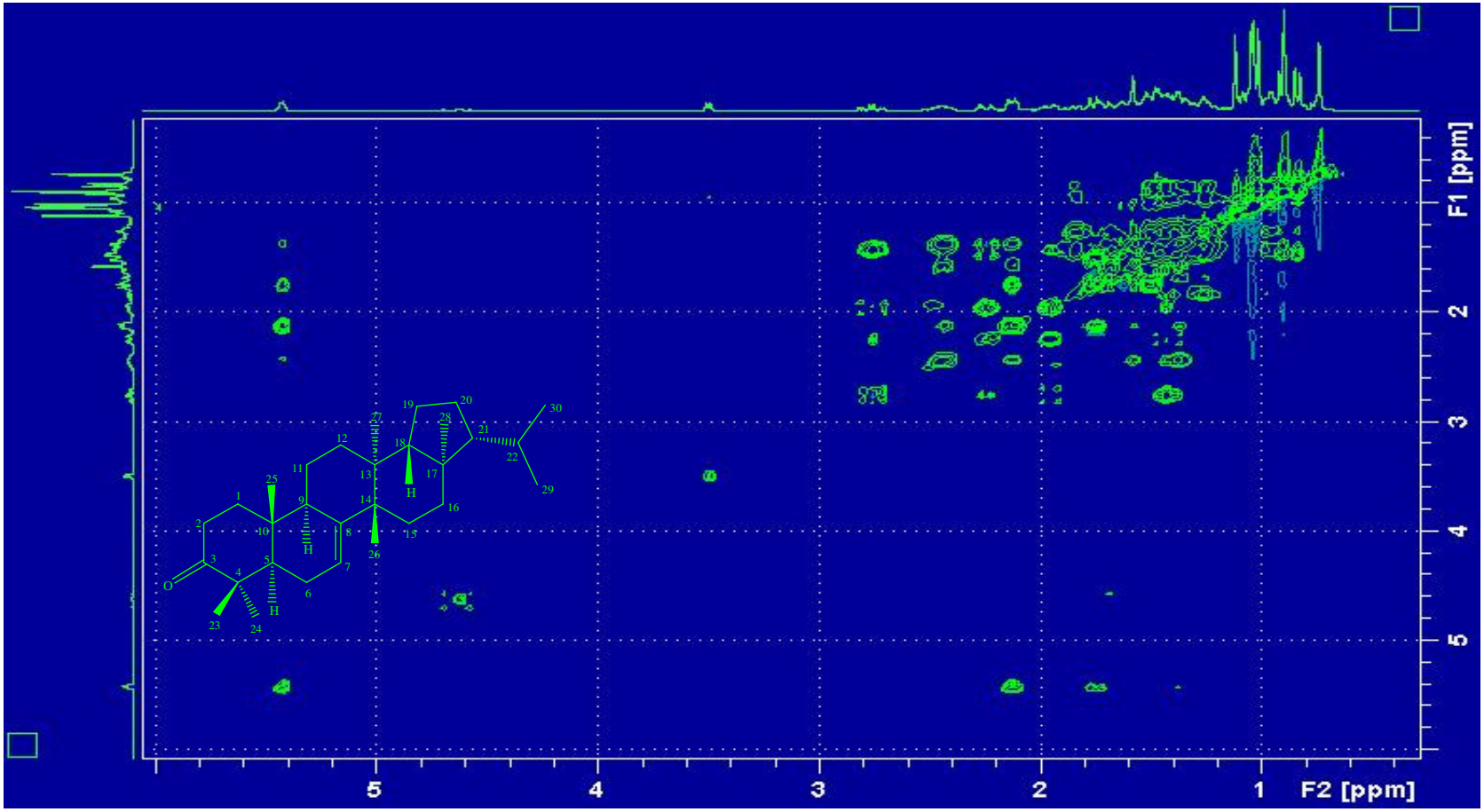
Şekil 58. SL-3 bileşiğinin HMBC spektrumu



Şekil 59. SL-3 bileşiğinin NOESY spektrumu

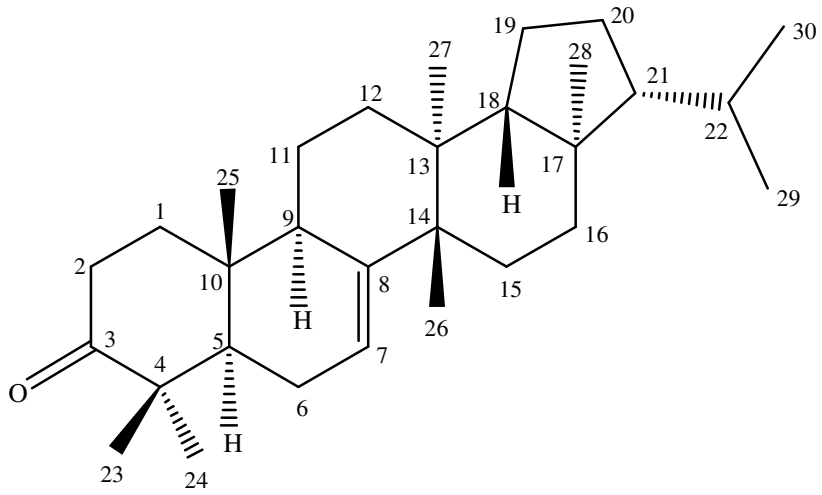


Şekil 60. SL-3 bileşiğinin COSY spektrumu



Şekil 61. SL-3 bileşiğinin TOCSY spektrumu

Formülü **:**



Molekül Adı **:** Fern-7-en-3-β-on

Molekül Ağırlığı **:** 424,37791 m/z (HR MS); 424,3 (GC MS)

Molekül Formülü **:** $C_{30}H_{48}O$

Özelliği **:** Renksiz kristaller

Erime Derecesi **:** 164,4-166,6 ^{o}C

Çizelge 21. SL-3 bileşiğinin ^{1}H-NMR ve ^{13}C-NMR bulguları

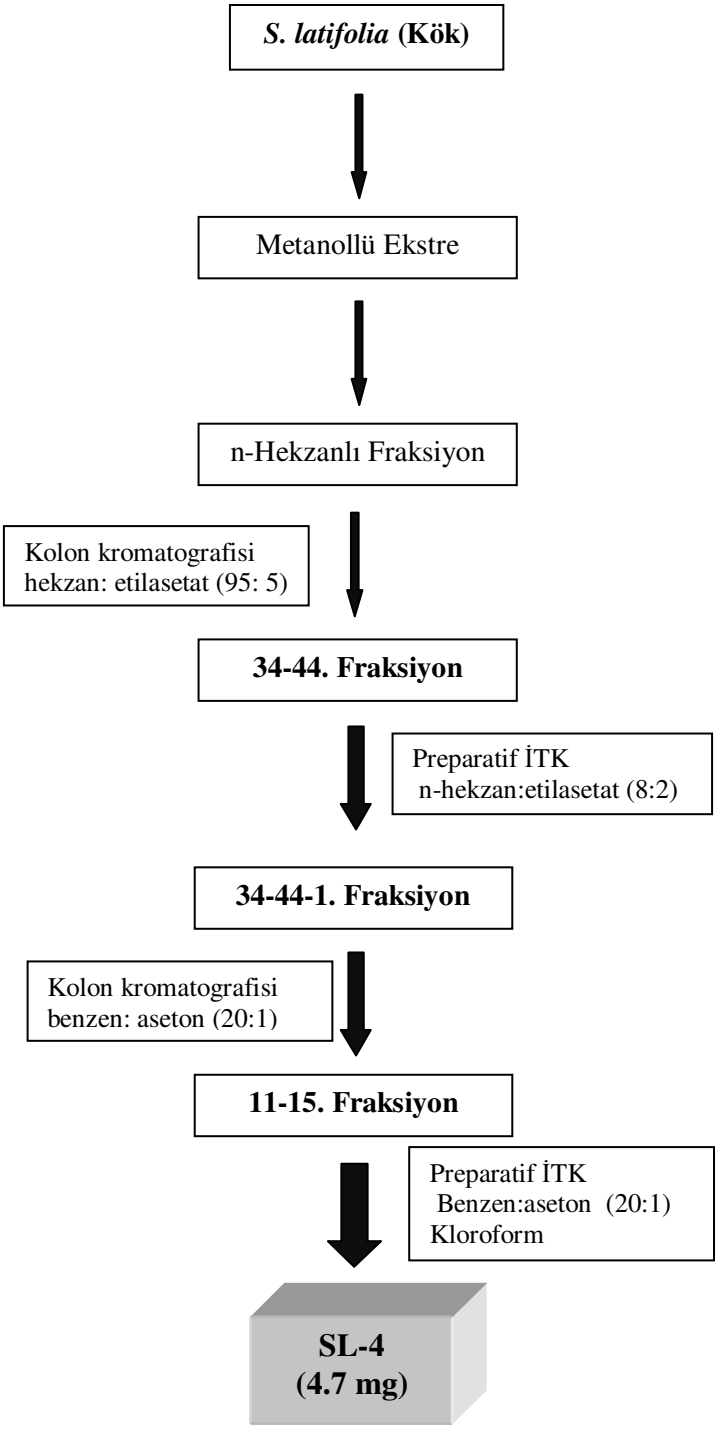
Kimyasal kayma	proton	C atomu	δ (ppm)
2,76-2.25 (2H, m)	H-1	C-1	35,2
1,97-1,42 (2H, m)	H-2	C-2	38,7
---	---	C-3	217,4
---	---	C-4	48,2
1,72 (1H, m)	H-5	C-5	52,7
2,13 (2H, m)	H-6	C-6	24,9
5,42 (1H, m)	H-7	C-7	116,5
---	---	C-8	145,7
2,43 (1H, m)	H-9	C-9	47,8
---	---	C-10	48,2
1,84-1.24 (2H, m)	H-11	C-11	28,7
1,37 (2H, m)	H-12	C-12	32,6
---	---	C-13	36,5
---	---	C-14	41,8
1,50-1,64 (2H, m)	H-15	C-15	30,5
1,76-1.48 (2H, m)	H-16	C-16	36,6
---	---	C-17	43,2
1,48 (1H, m)	H-18	C-18	54,6
1,40-1,42 (2H, m)	H-19	C-19	16,7
1,26-1,43 (2H, m)	H-20	C-20	20,3
0,97 (1H, m)	H-21	C-21	59,9
1,47 (1H, m)	H-22	C-22	31,1
1,05 (3H, s)	H-23	C-23	24,6
1,12 (3H, s)	H-24	C-24	21,8
1,02 (3H, s)	H-25	C-25	12,7
1,03 (3H, s)	H-26	C-26	24,8
0,89 (3H, s)	H-27	C-27	21.5
0,73 (3H, s)	H-28	C-28	14,5
0,90 (3H, s)	H-29	C-29	22.5
0,83 (3H, s)	H-30	C-30	23,7

SL-3 bileşiğinin ^{1}H NMR, ^{13}C NMR ve 2D spektrumlarının tümü incelendiğinde SL-4 bileşiği ile çok benzedikleri fakat 3. pozisyonda yer alan fonksiyonlu grup açısından farklı oldukları anlaşılmaktadır. SL-4 bileşiğinde yer alan –OH grubunun yerine SL-3 bileşiğinde keton grubunun bulunduğu ^{13}C spektrumuna bakıldığında δ 217,4'de görülen sinyal ve bu sinyalin H-1 δ 2,76-2,25 sinyali ile HMBC korelasyonundan anlaşılmaktadır. ^{13}C spektrumunda 30 karbon atomuna ait sinyal gözlenmektedir. δ 145,7 ve 116,5'de görülen sinyallerin 7. ve 8. konumlardaki çifte bağa ait olduğu düşünülmektedir. DEPT spektrumuna bakıldığında ise moleküle ait 9 CH_2 grubunun varlığı ve ^{13}C spektrumuyla karşılaştırılması sonucu da kuaterner pozisyonda 6 karbon atomunun bulunduğu anlaşılmaktadır. HMQC spektrumu kuaterner durumda olmayan karbon atomlarıyla protonların ilişkilerini anlamamızı sağlamakta ve δ 0.73 singletin δ_C 14.5 ile, 0.83'de gözlenen singletin δ_C 23.7 ile,

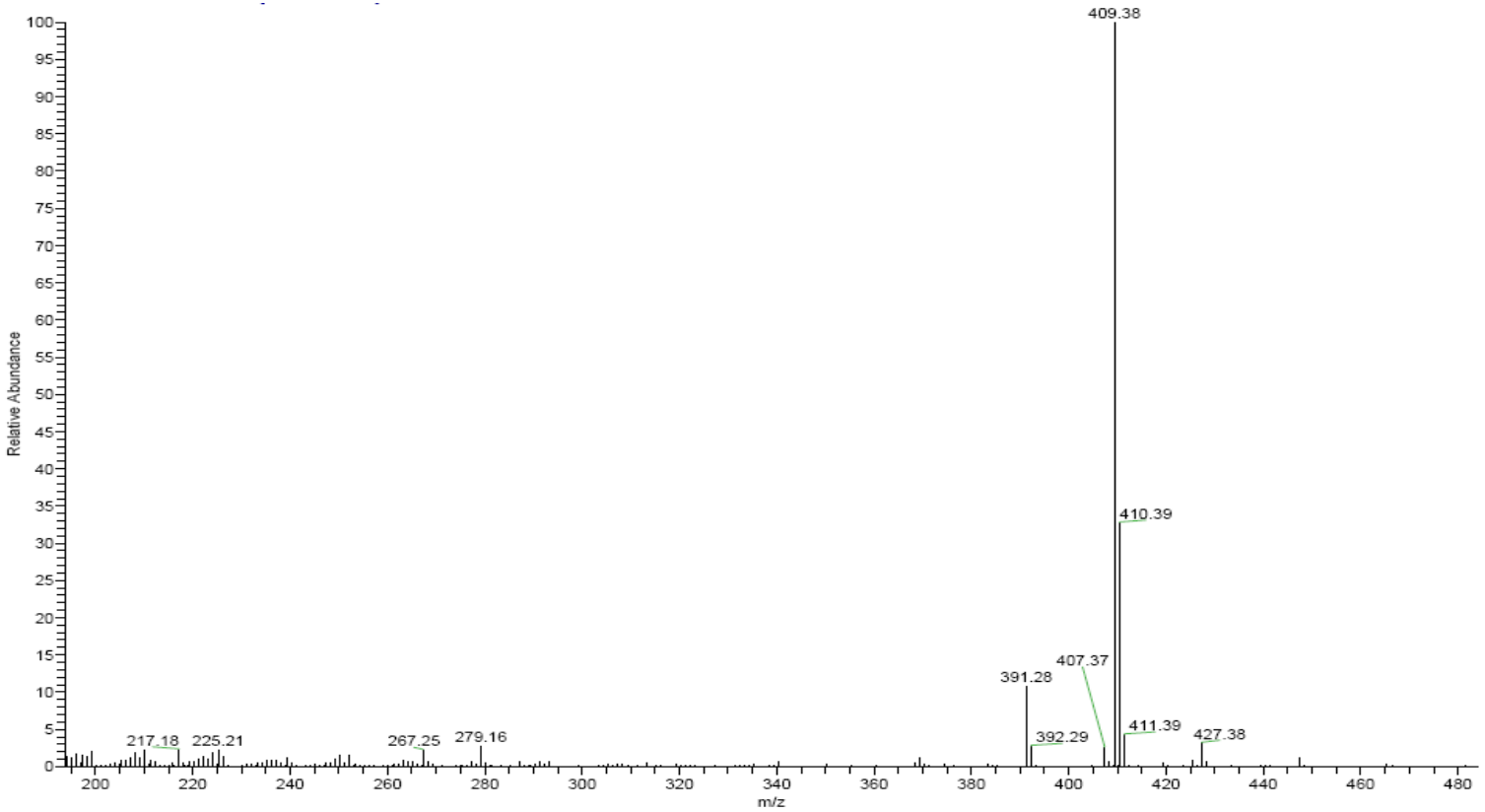
0.89'daki singletin δ_C 21.5 ile; 0,90'daki singletin δ_C 22.5 ile, 1,02; 1,03; 1,05; 1,12'de gözlenen singletlerin de sırasıyla δ_C 12,7; δ_C 24,8; δ_C 24,6 ve δ_C 21,8 ile ilişkili olduğu anlaşılmaktadır. Tüm bu verilerden yola çıkılarak SL-3 bileşiğinin yapısının fern-7-en-3-β-on olduğuna karar verilmiştir.

3.1.3.4. SL-4 Bileşiğinin Yapı Tayini

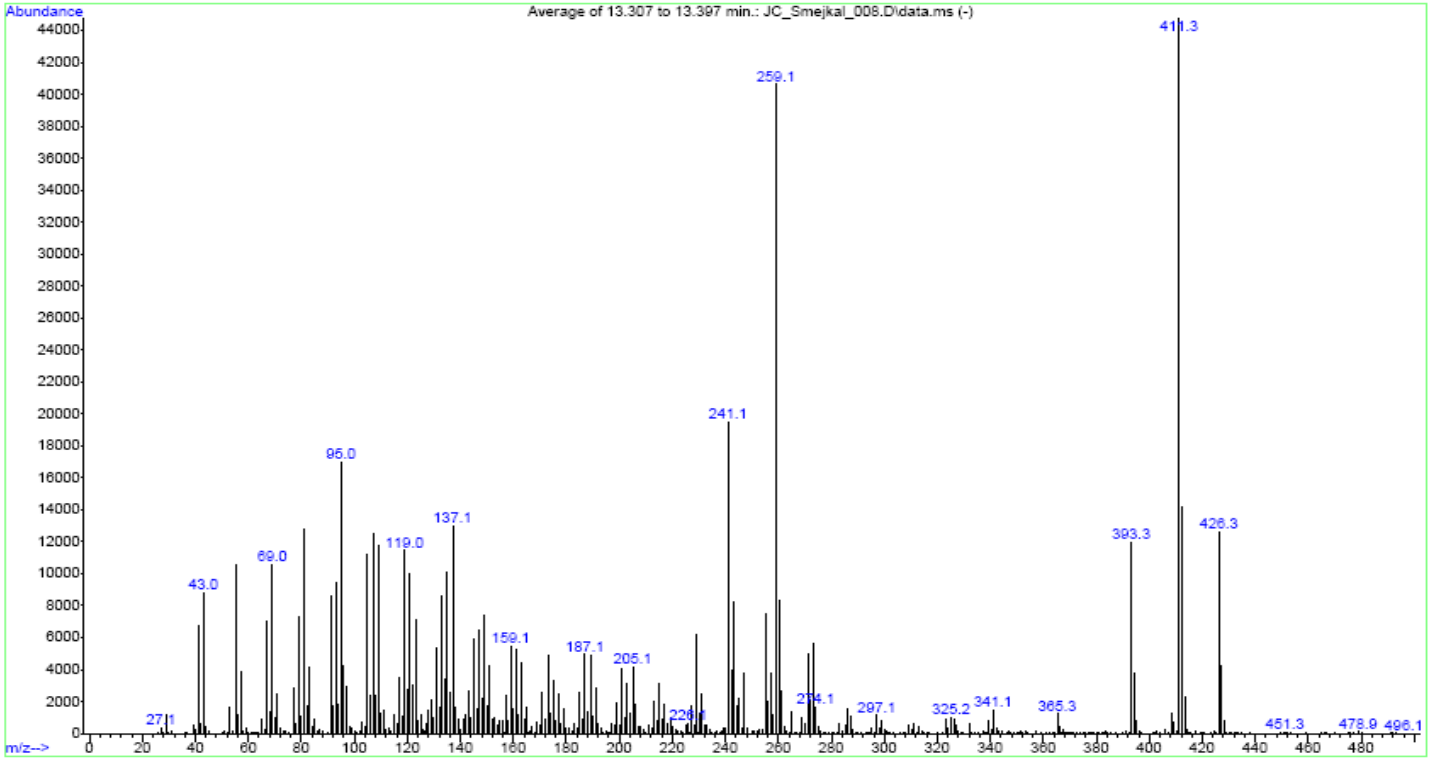
SL-4 Bileşiğinin İzolasyon Şeması



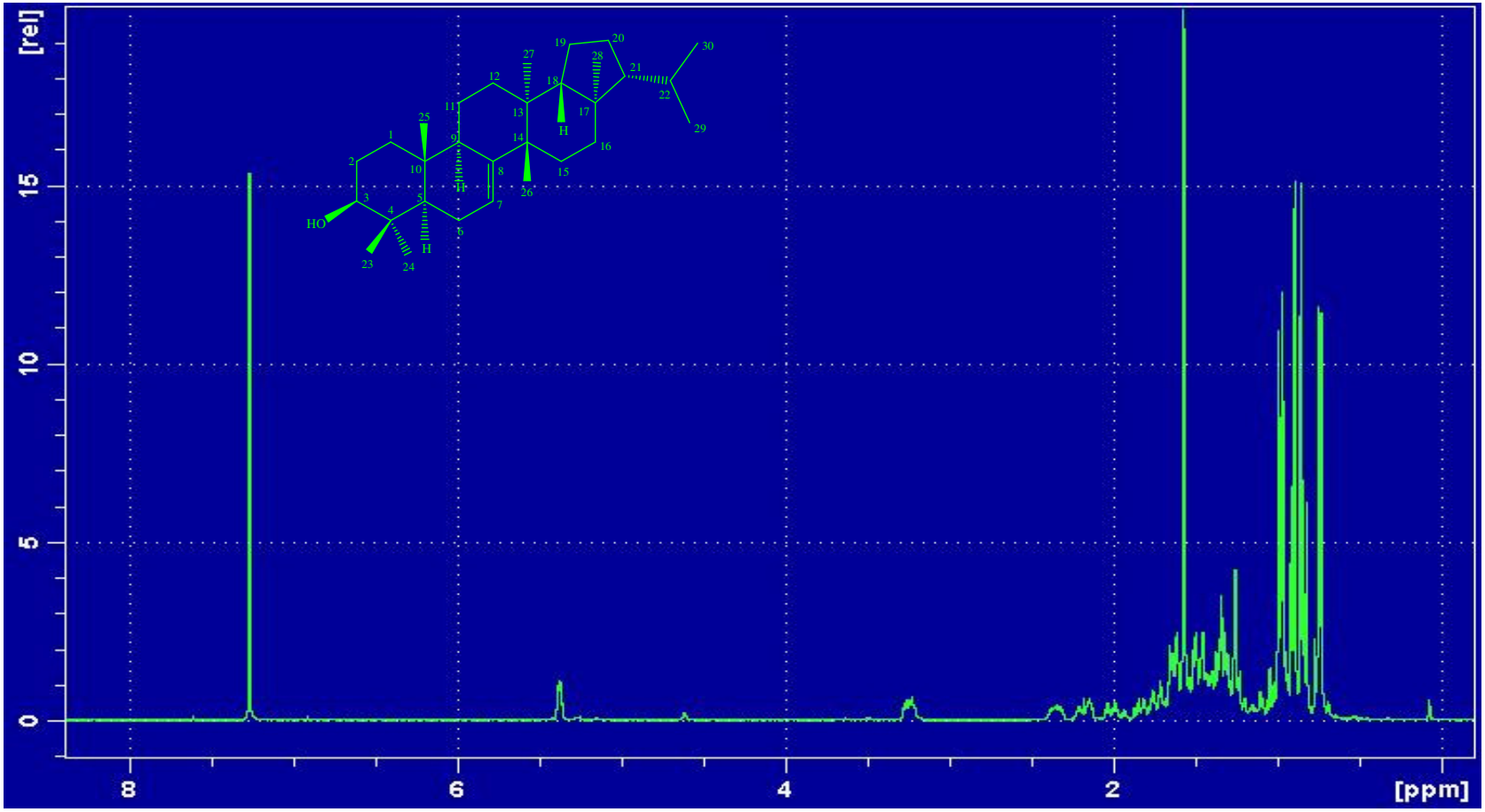
Şekil 62. SL-4 bileşiğinin izolasyon şeması



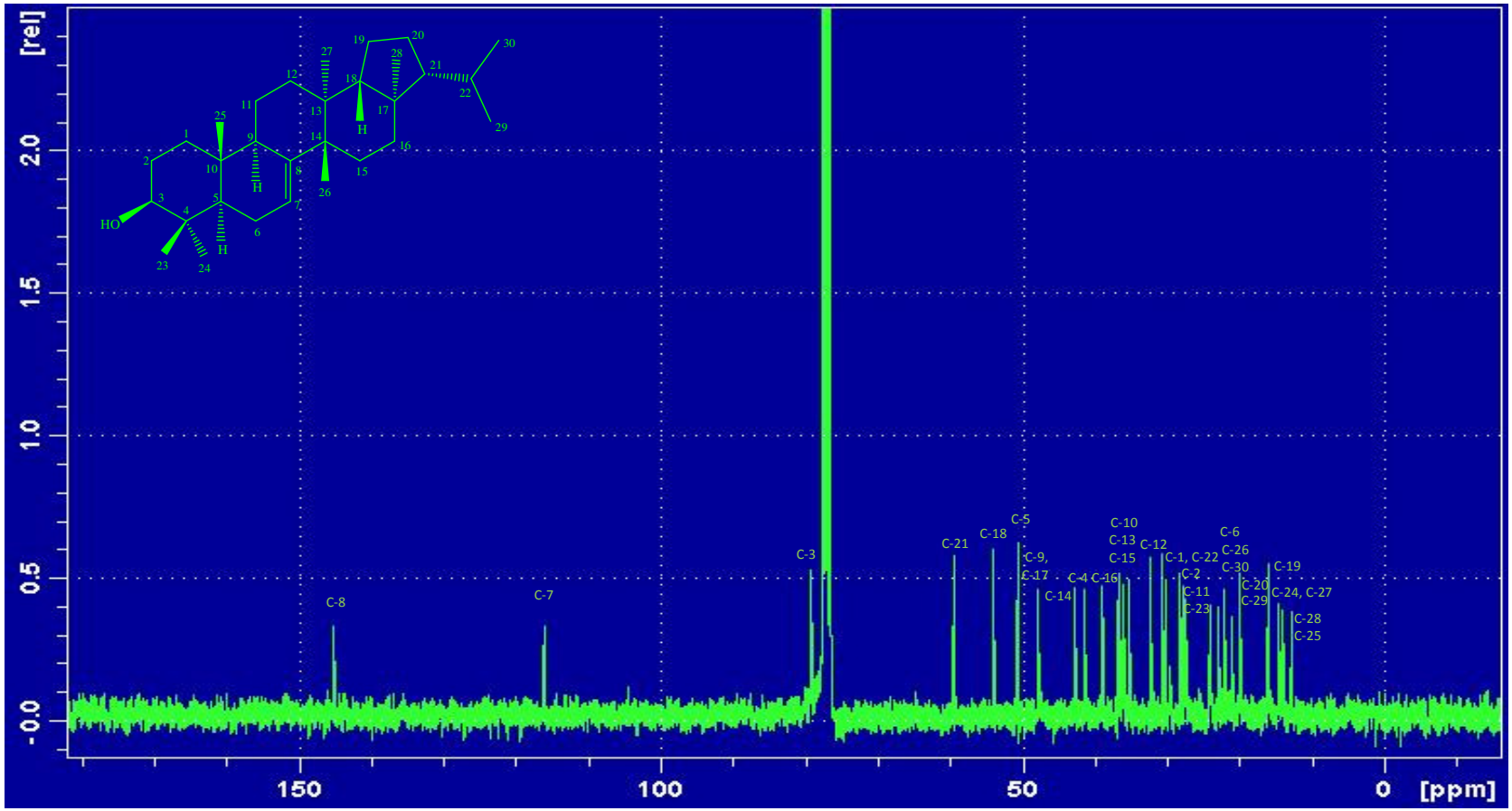
Şekil 63. SL-4 bileşiğinin HR MS spektrumu



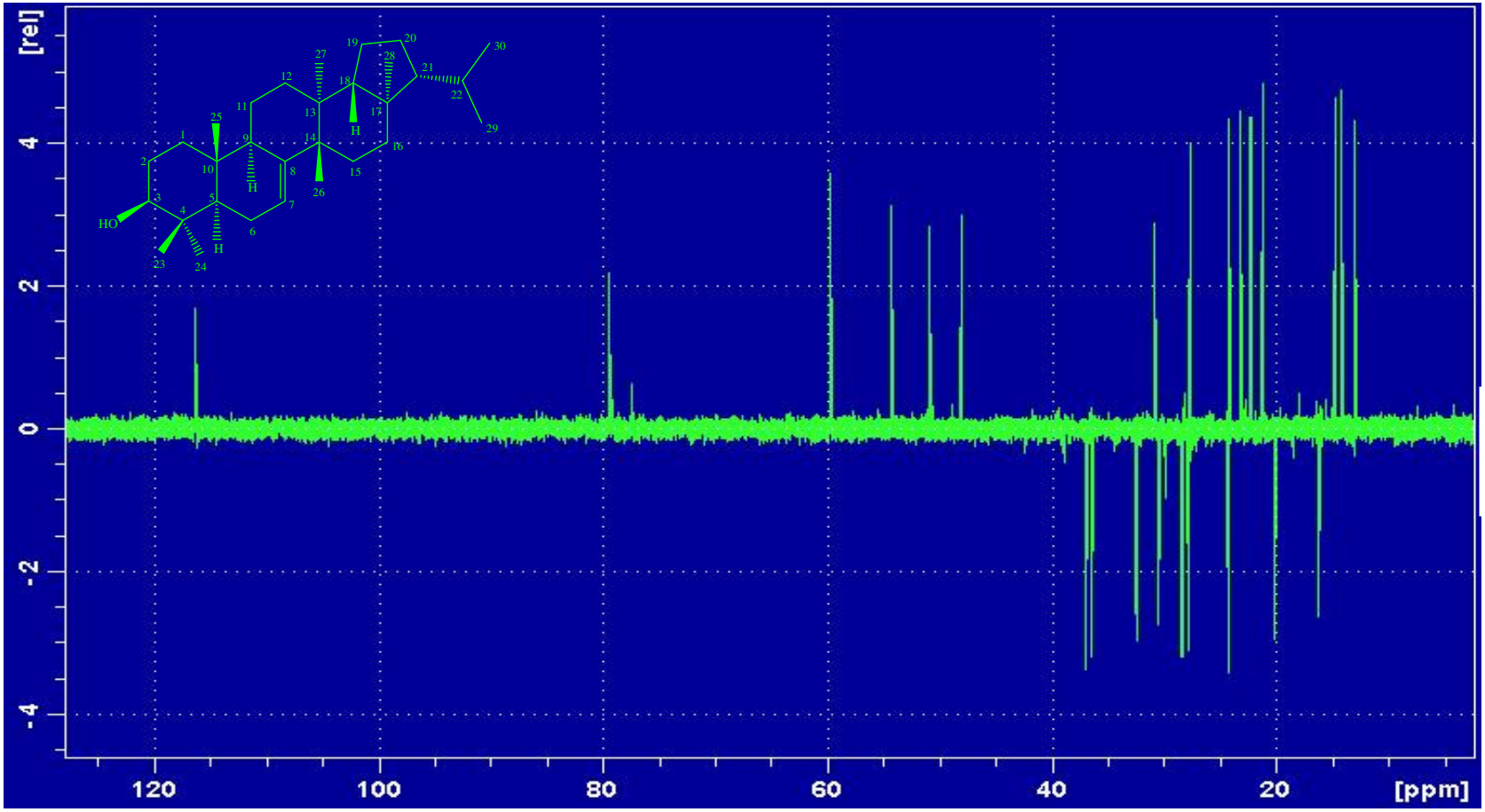
Şekil 64. SL-4 bileşiğinin GC MS spektrumu



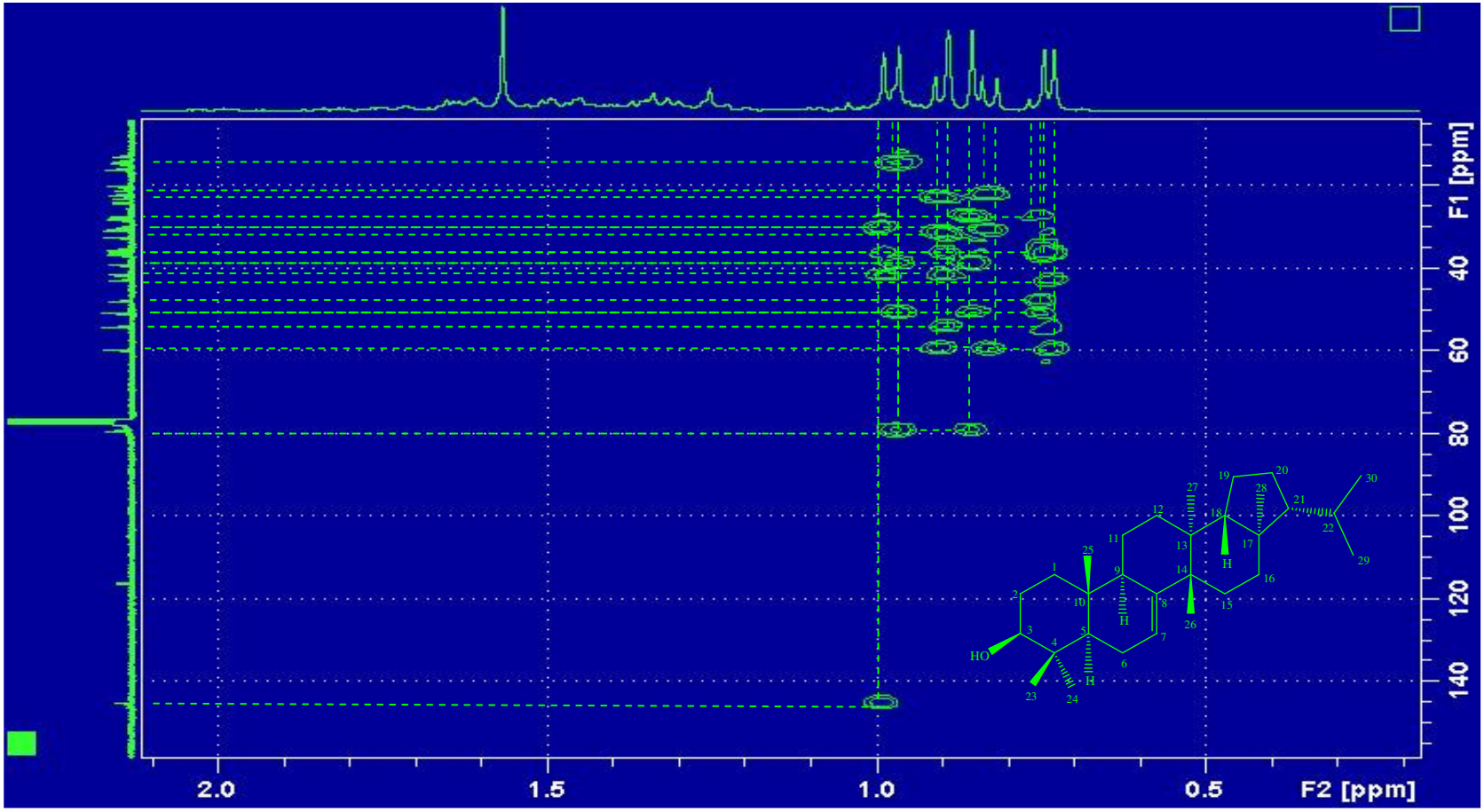
Şekil 65. SL-4 bileşiğinin ^{1}H-NMR spektrumu



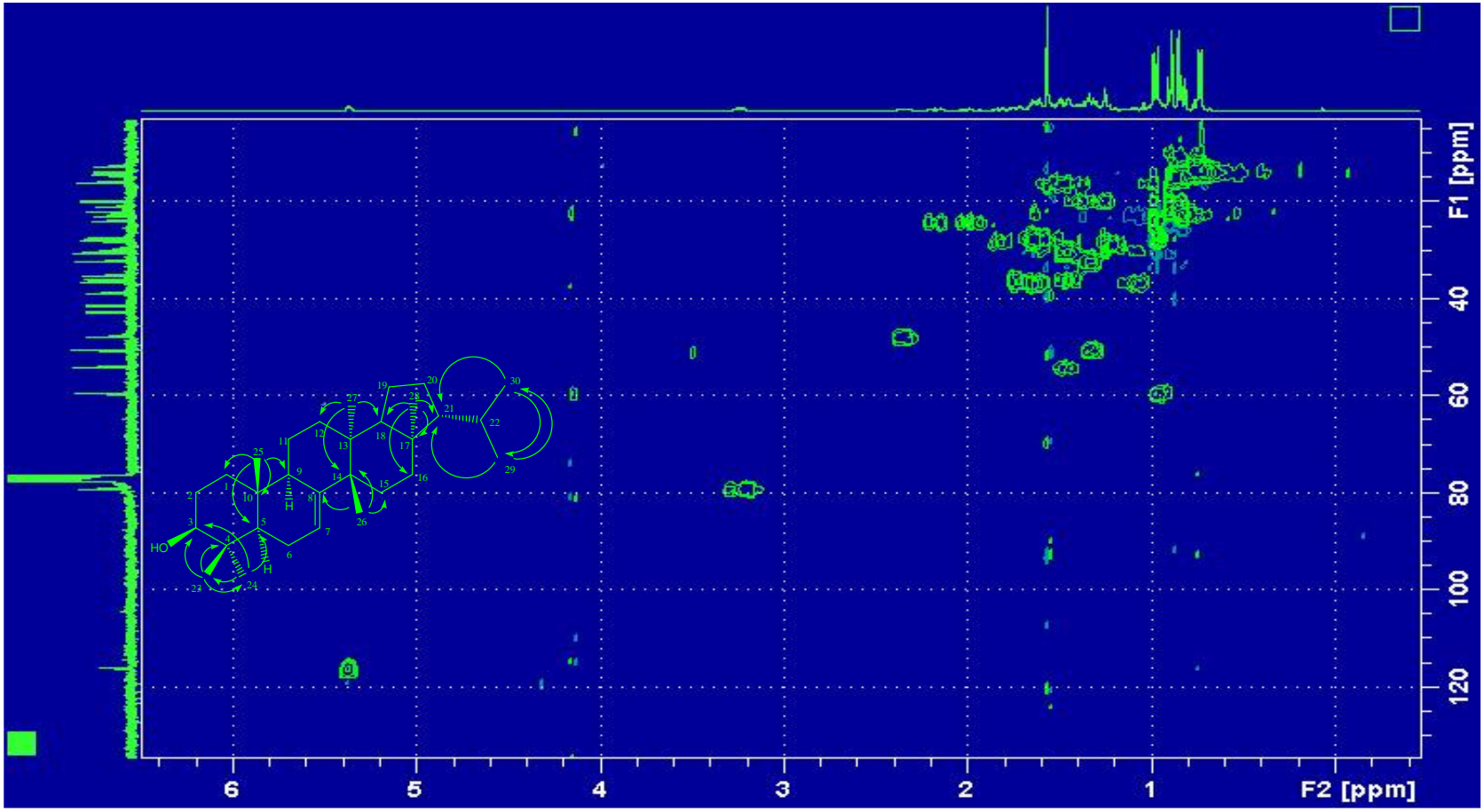
Şekil 66. SL-4 bileşiğinin ^{13}C-NMR spektrumu



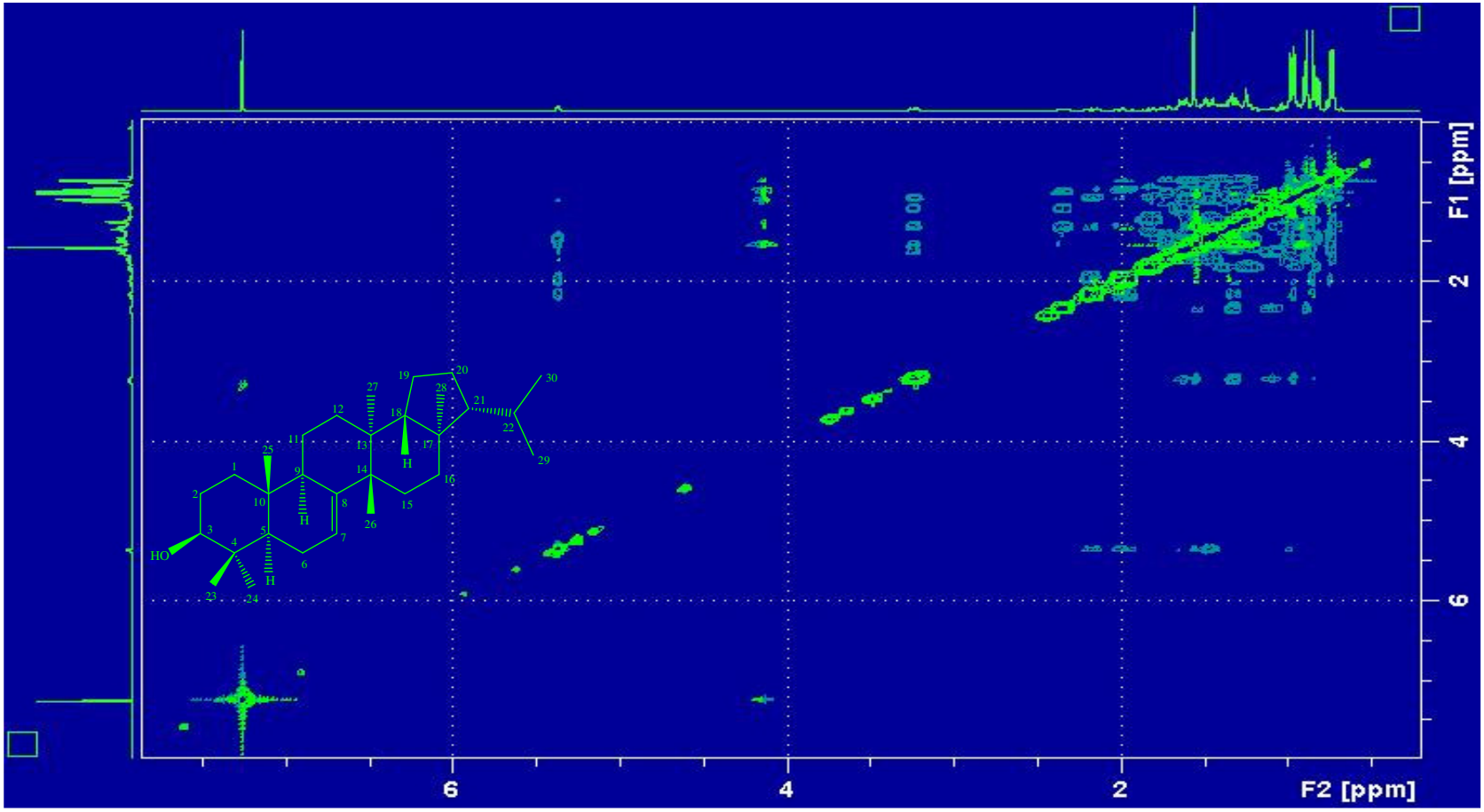
Şekil 67. SL-4 bileşiğinin DEPT spektrumu



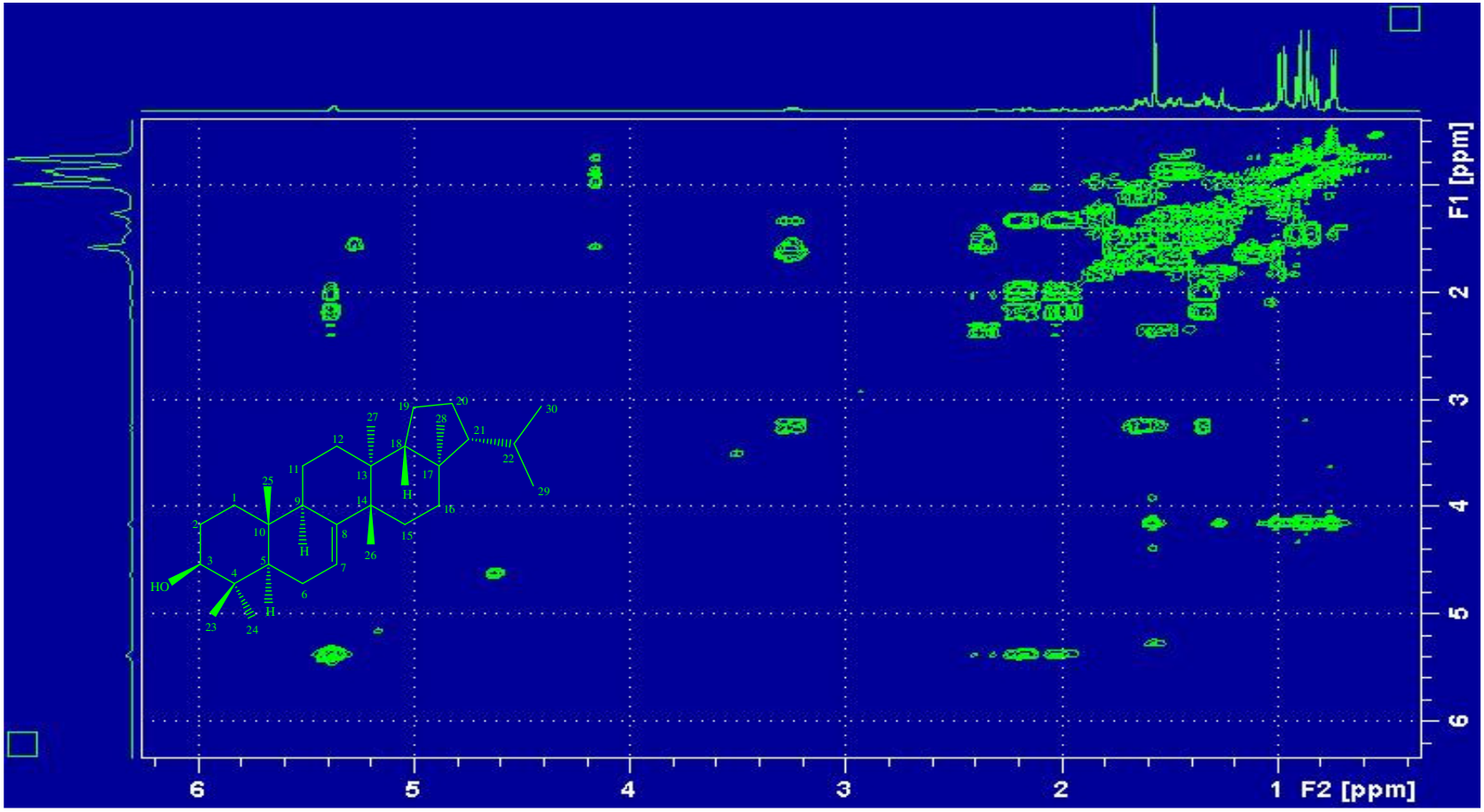
Şekil 68. SL-4 bileşiğinin HMQC spektrumu



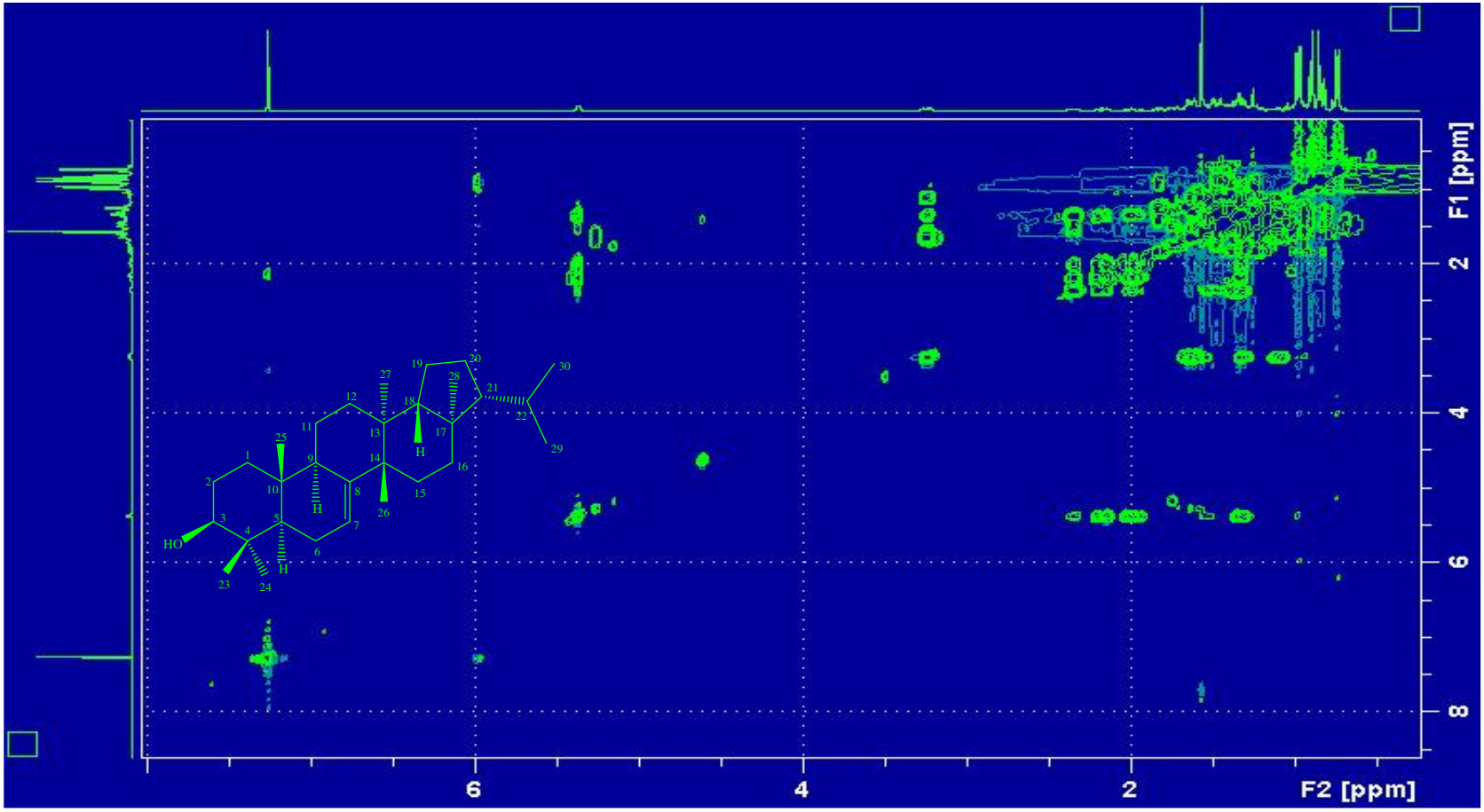
Şekil 69. SL-4 bileşiğinin HMBC spektrumu



Şekil 70. SL-4 bileşiğinin NOESY spektrumu

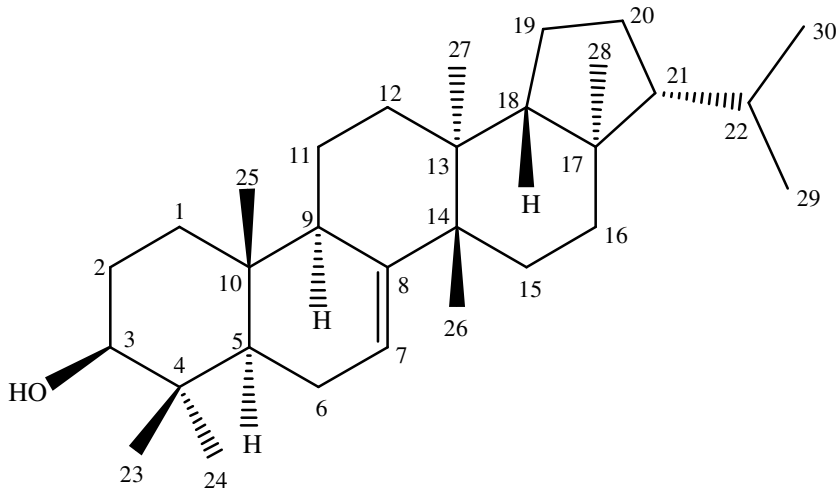


Şekil 71. SL-4 bileşiğinin COSY spektrumu



Şekil 72. SL-4 bileşiğinin TOCSY spektrumu

Formülü **:**



Molekül Adı **:** Fern-7-en-3-β-ol, motiol,

Molekül Ağırlığı **:** 427,39308 m/z (HR MS); 426,3 m/z (GC MS)

Molekül Formülü **:** $C_{30}H_{50}O$

Özelliği **:** Beyaz ince iğne şeklinde kristal

Erime Derecesi **:** 127-130 ^{o}C

Optik Çevirme Derecesi ([α]D) : -26 (c=1.9, kloroform)

Çizelge 22. SL-4 bileşiğinin ^{1}H-NMR ve ^{13}C-NMR bulguları

Kimyasal kayma	proton	C atomu	δ (ppm)
1,47 (2H, m)	H-1	C-1	30,6
1,83-1,64 (2H, m)	H-2	C-2	28,5
3,24 (1H, dd, J=10,6;4,70)	H-3	C-3	78,6
---	---	C-4	38,7
1,32 (1H, m)	H-5	C-5	50,6
1,98-2,18 (2H, m)	H-6	C-6	24,3
5,37 (1H, m)	H-7	C-7	116,3
---	---	C-8	145,3
2,38 (1H, m)	H-9	C-9	48,1
---	---	C-10	35,7
1,57 (2H, m)	H-11	C-11	27,9
1,35 (2H, m)	H-12	C-12	32,5
---	---	C-13	35,2
---	---	C-14	40,9
1,74-1,47 (2H, m)	H-15	C-15	36,4
1,63 (2H, m)	H-16	C-16	37,0
---	---	C-17	48,8
1,46 (1H, m)	H-18	C-18	54,3
1,48 (2H, m)	H-19	C-19	16,2
1,26 (2H, m)	H-20	C-20	20,1
0,96 (1H, m)	H-21	C-21	59,4
1,47 (1H, m)	H-22	C-22	30,9
0,97 (3H, s)	H-23	C-23	27,4
0,86 (3H, s)	H-24	C-24	14,1
0,75 (3H, s)	H-25	C-25	12,9
0,99 (3H, s)	H-26	C-26	24,1
0,89 (3H, s)	H-27	C-27	14.7
0,73 (3H, s)	H-28	C-28	12,9
0,91 (3H, s)	H-29	C-29	22.2
0,83 (3H, s)	H-30	C-30	23,1

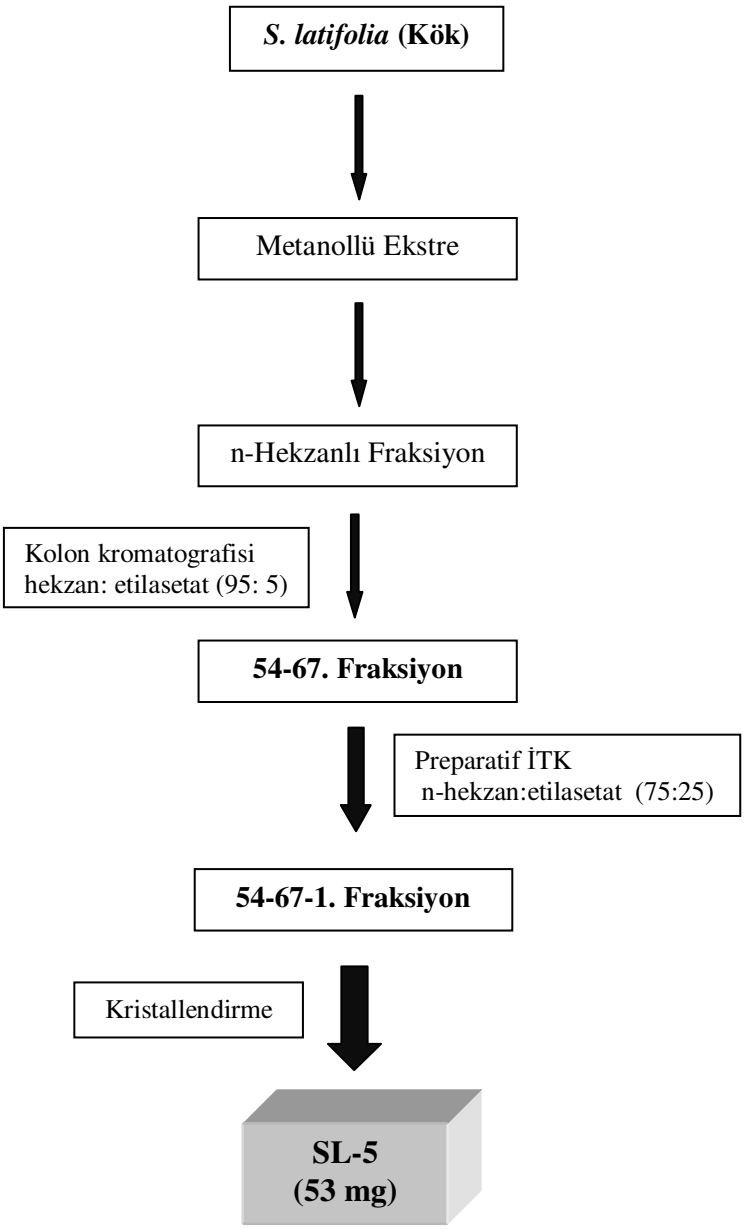
SL-4 bileşiğinin ^{13}C-NMR spektrumuna bakıldığında 30 C taşıdığı, bunlardan iki tanesinin δ 145,3 ve δ 116,3'de sinyal veren olefinik C rezonanslarına ait olduğu ve bir tanesinin de δ 78,6'daki alifatik elektronegatif bir grubun bağlı olduğu C atomuna ait olduğu tespit edilmiştir. Bileşiğin DEPT spektrumu 9 CH_2 varlığını gösterirken, ^{13}C-NMR spektrumu ile kıyaslandığında 6 tane quaterner C atomunun var olduğu anlaşılmaktadır. HMQC spektrumuna bakıldığında ise, quaterner pozisyonda olmayan karbon atomlarının varlığı anlaşılmaktadır. Bu spektrumdan 6 metil grubunun; δ 0,73s (δ_C 12,9); δ 0,75s (δ_C 12,9); 0,83s (δ_C 23,1); 0,86s (δ_C 14,1); δ 0,89 (δ_C 14,7); 0,91s (δ_C 22,2); δ 0,97s (δ_C 27,4) pozisyonlarında rezonans olduğu anlaşılmaktadır.

HMBC spektrumuna bakıldığında, δ 0,83 (CH_3-30) ve δ 0,91 (CH_3-29)'de gözlenen singletlerin, δ 59,4 (C-21) ve δ 30,9 (C-22)'deki C rezonanslarıyla ilişkili olduğu ve bu her iki singletin de δ 1,47 (C-22) proton sinyali ile etkileştiği gözlenmiştir. Bu bulgular bize molekülde bir izopropil grubunun varlığını göstermektedir. HMBC spektrumunda ayrıca, δ 0,73 (CH_3-28)'de gözlenen singletin δ 59,4 (C-21); δ 54,3 (C-18) ve δ 37,0 (C-16) ile ve δ 0.89 (CH_3-27)'deki singletin de δ 54,3 (C-18); 40,9 (C-14) ve 35,2 (C-13) ile etkileştiği, δ 0,99 (CH_3-26)'daki singletin δ 144,5 (C-8); δ 40,9 (C-14); δ 36,4 (C-15) ile δ 0,75 deki singletin de δ 35,7 (C-10); δ 30,6 (C-1) ve 48,1 (C-9)'daki C rezonanslarıyla etkileştiği gözlenmektedir.

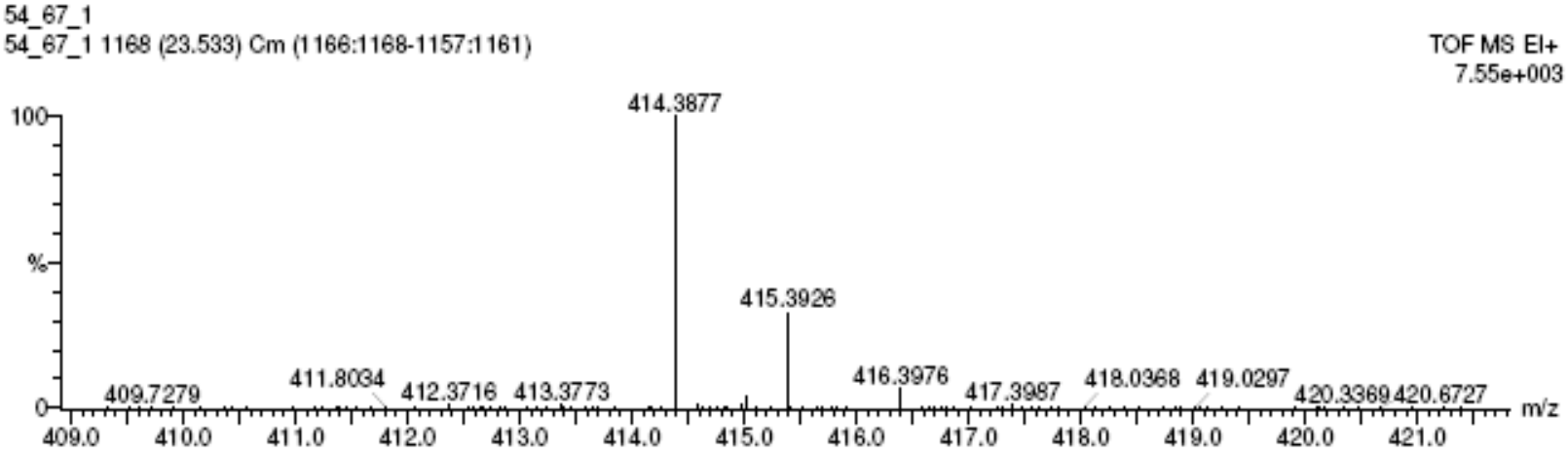
COSY ve TOCSY bulguları; δ 3,24 (H-3)'ün δ 1,64-1,83 (H-2) ile H-2 protonlarının ise δ 1,47 (H-1) ile; δ 5,37 (H-7)'nin 1,98-2,18 (H-6) ile H-6 protonlarının ise δ 1,32 (H-5) ile eşleştiğini göstermektedir. Ayrıca δ 2.38 (H-9) proton sinyalinin δ 1,57 (H-11) ile H-11 protonlarının da δ 1,35 (H-12) ile; δ 1,46 (H-18)'in δ 1,74-1,47 (CH_2-15) ve CH_2-15'in de δ 1,63 (CH_2-16) ile ve δ 1,48 (H-19) protonunun da δ 1,26 (H-20) ile etkileştiği de gözlenmektedir. DEPT ve HMQC spektrumlarına bakıldığında her bir CH ve CH_2 gruplarının C titreşimleri tamamlanarak tüm bulgular göz önüne alındığında SL-4 bileşiğinin fernen türevi olabileceği düşünülmüştür. Bulgular benzer yapıların literatür bilgileriyle ve NOESY bulguları ile kıyaslandığında da benzer bir sonuç çıkarılmıştır. 3. konumda yer alan –OH grubunun β konumunda yer aldığı düşünülmektedir çünkü NOESY spektrumunda δ 3,24'deki H-3 proton sinyalinin H-5 (δ 1,32) ile ilişkili olduğu gözlenmiştir. Ayrıca H-9 protonlarının (δ 2,38) H-5 ile ilişkili olması da H-9 protonlarının da α konumunda yer aldığını göstermektedir. δ 0,99 (CH_2-26) δ 1,46 (H-18) ve δ 0.73 (CH_3-28) ile δ 0.89 (CH_3-27) arasında gözlenen NOESY ilişkileri bu grupların da aynı konumda olduklarını göstermektedir. Hem literatür bilgilerine dayanılarak hem de NOESY ilişkileri dikkate alındığında, 27. ve 28. konumlardaki -CH_3 gruplarının ve 21. konumdaki izopropil grubunun da α konumunda olduğu düşünülmektedir. Bu bulgulara dayanılarak SL-4 bileşiğinin fern-7-en-3-β-ol yapısında olduğu düşünülmektedir.

3.1.3.5. SL-5 Bileşiğinin Yapı Tayini

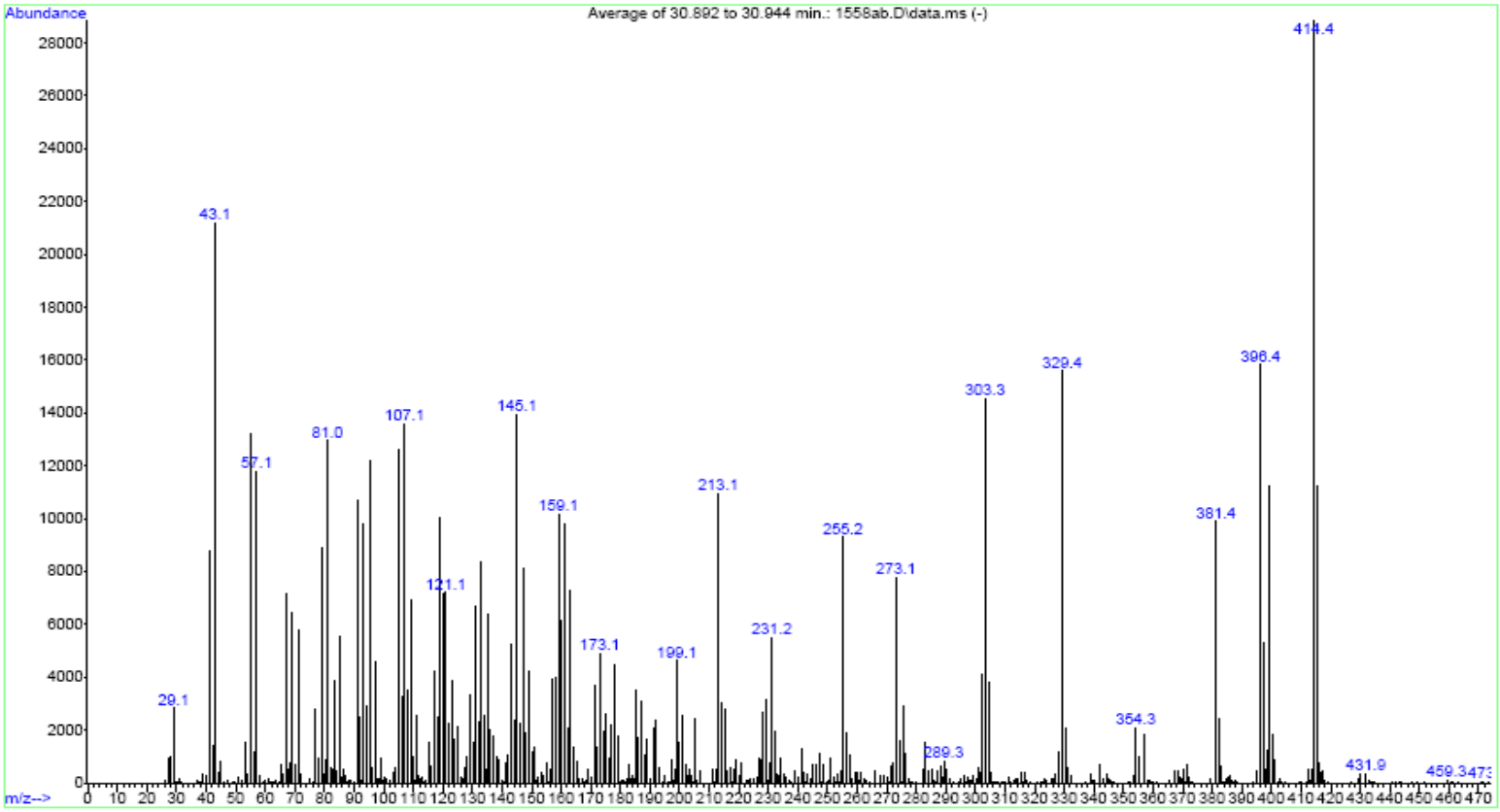
SL-5 Bileşiğinin İzolasyon Şeması



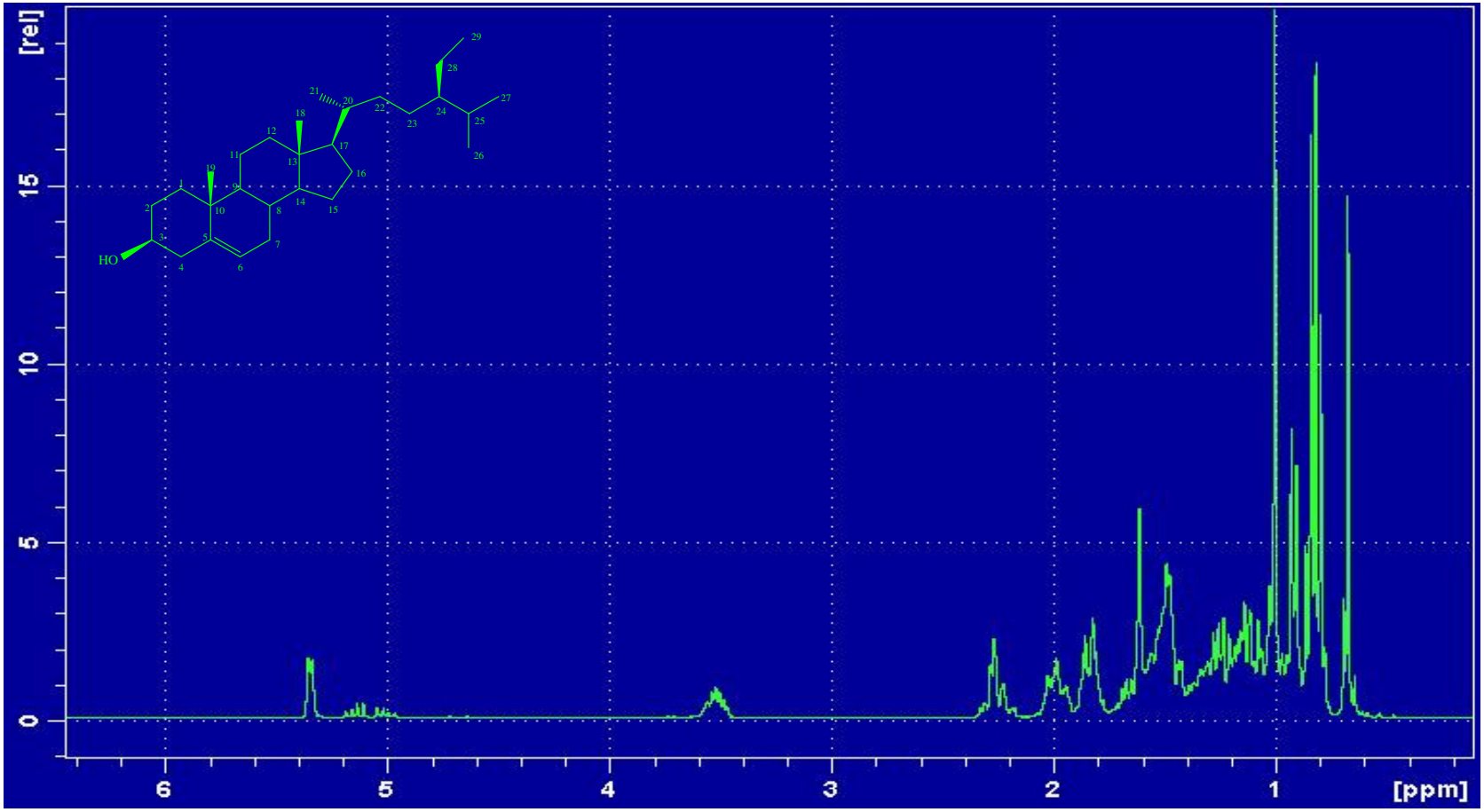
Şekil 73. SL-5 bileşiğinin izolasyon şeması



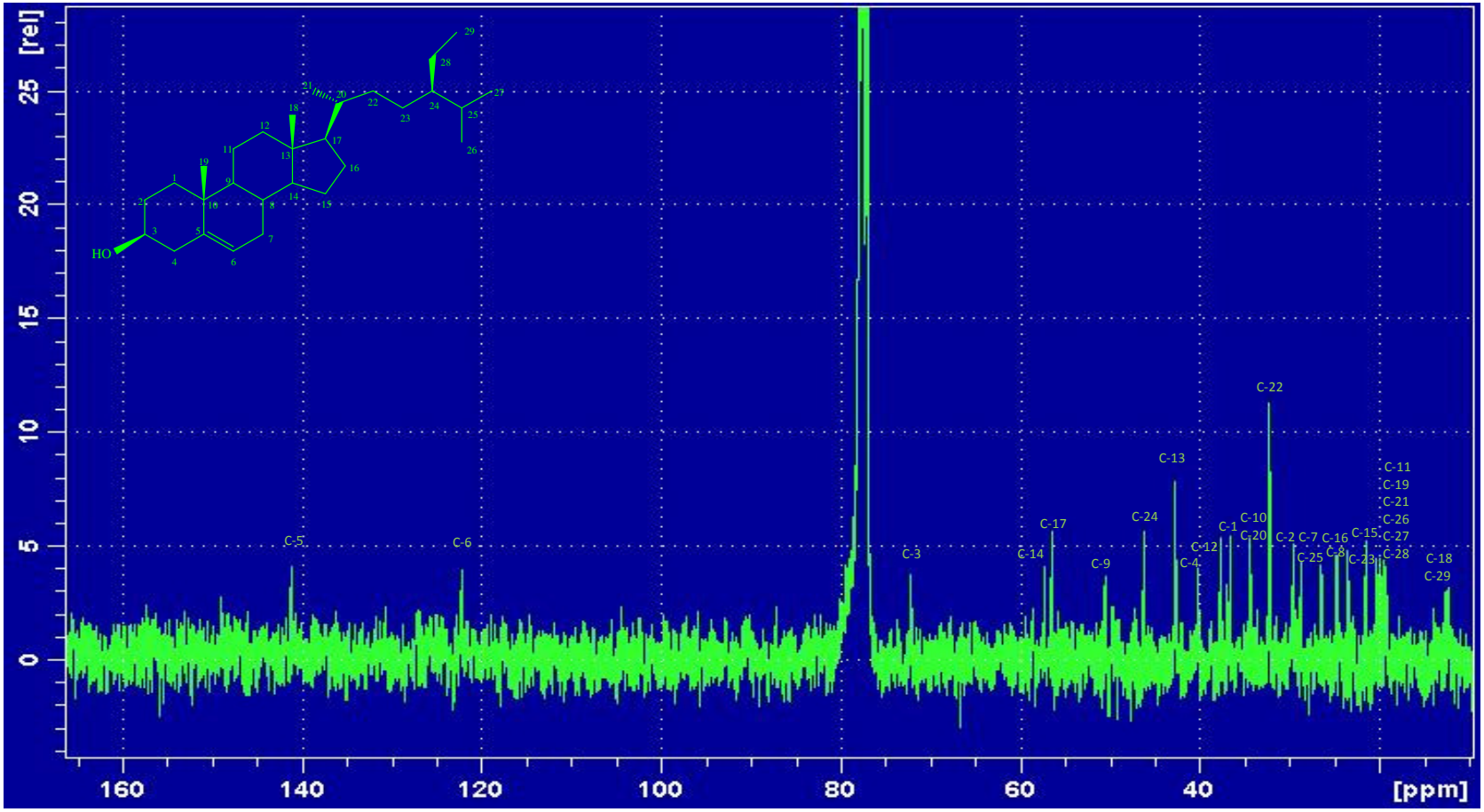
Şekil 74. SL-5 bileşiğinin HR MS spektrumu



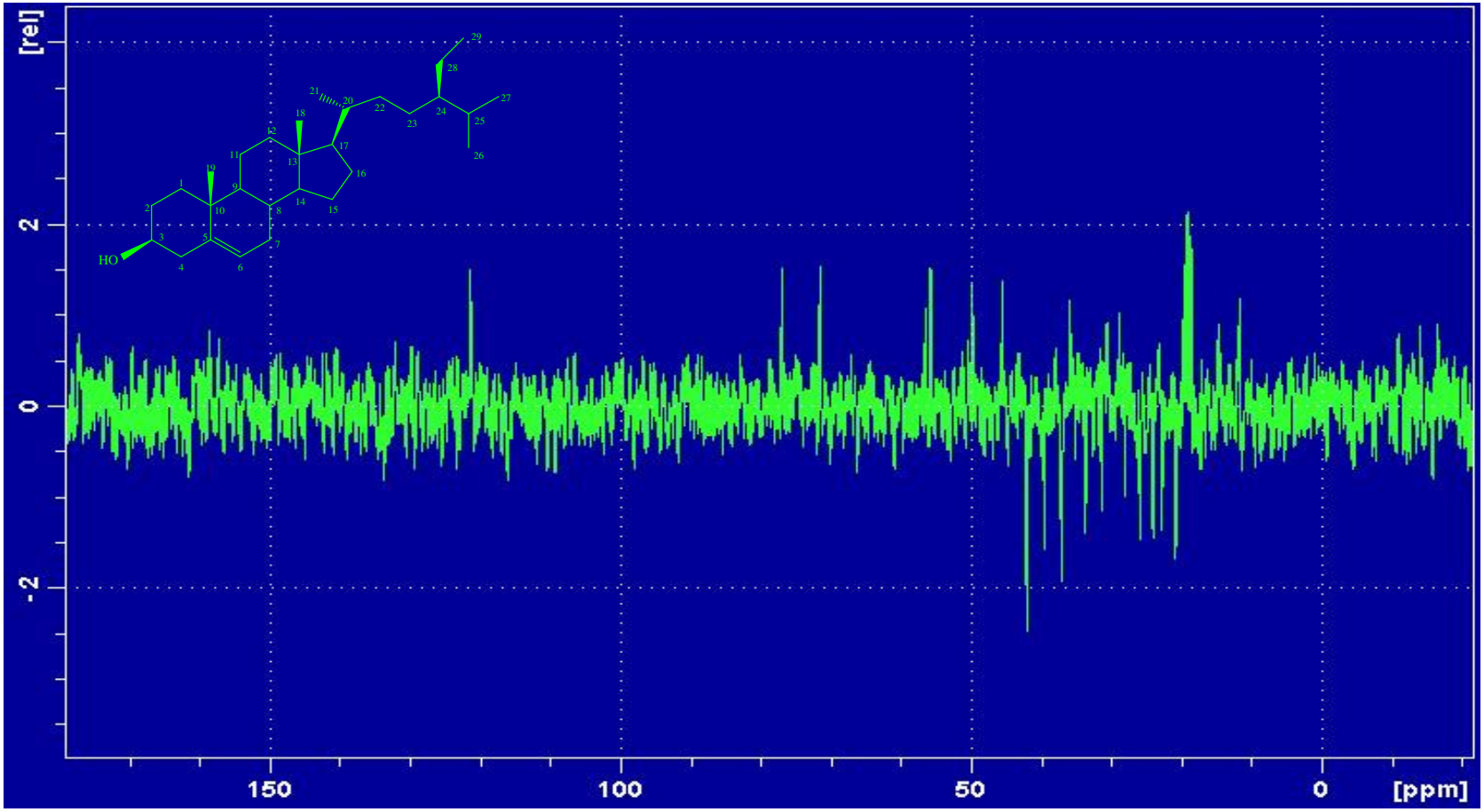
Şekil 75. SL-5 bileşiğinin GC-MS spektrumu



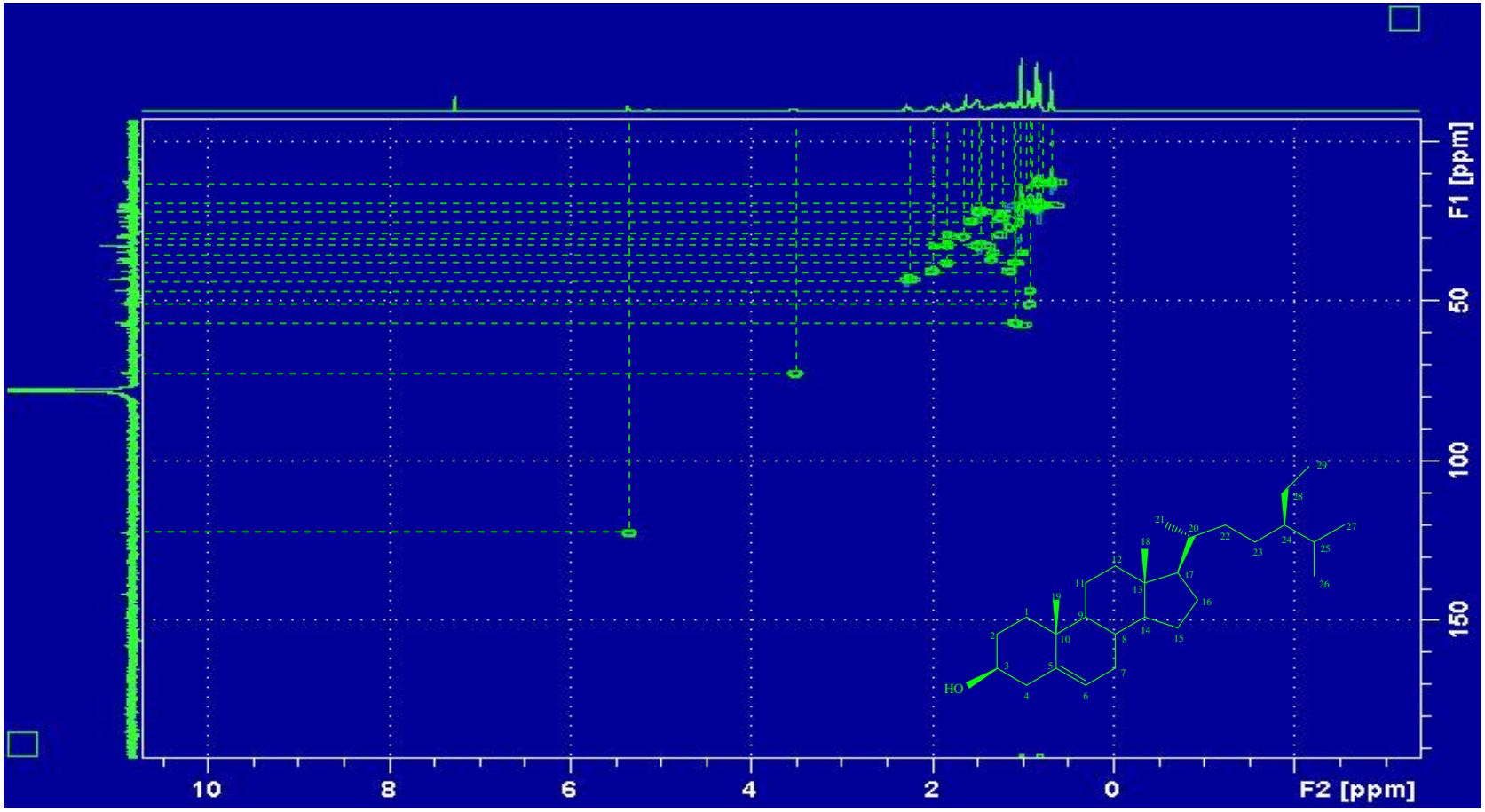
Şekil 76. SL-5 bileşiğinin ^{1}H-NMR spektrumu



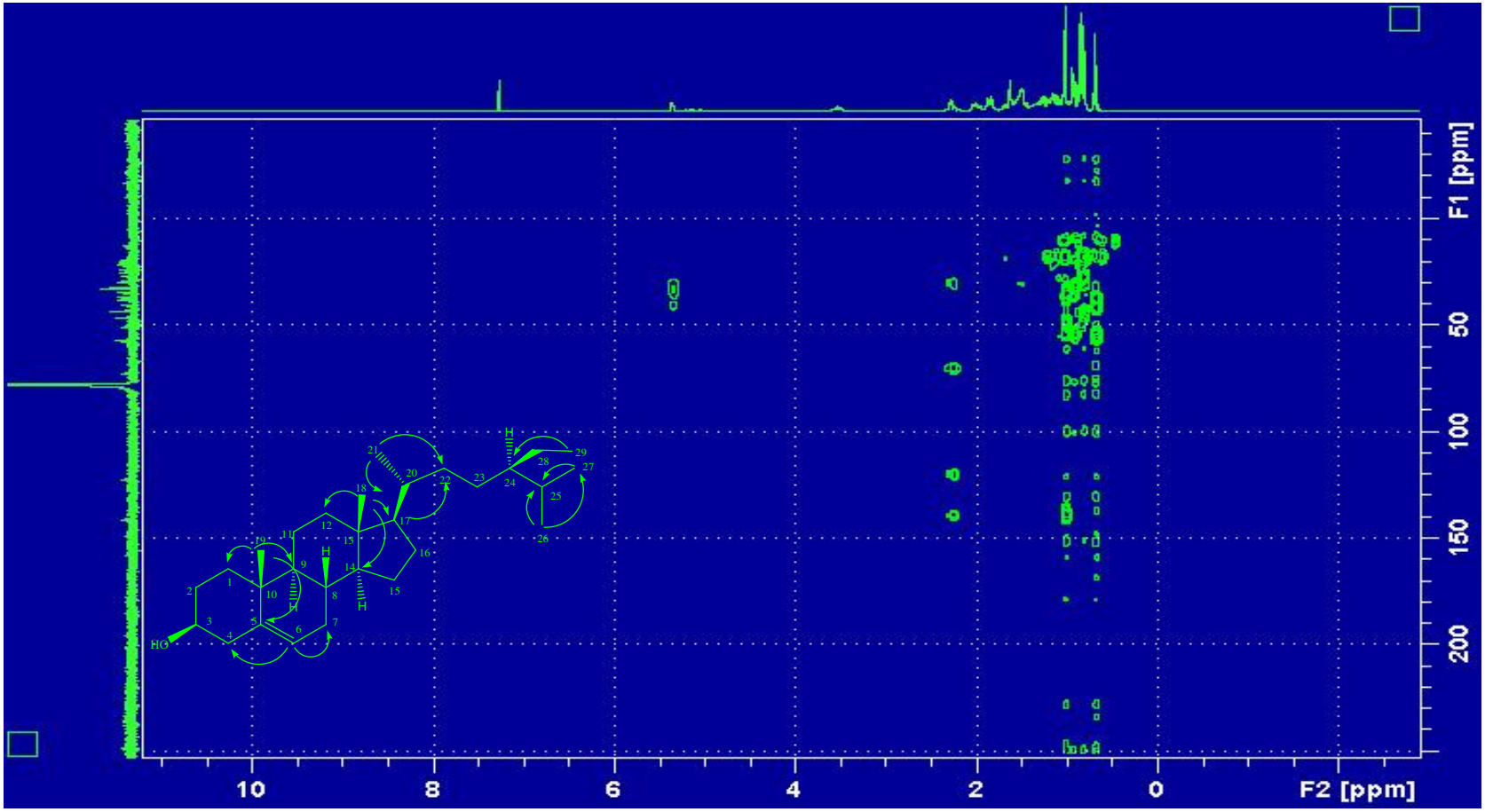
Şekil 77. SL-5 bileşiğinin ^{13}C-NMR spektrumu



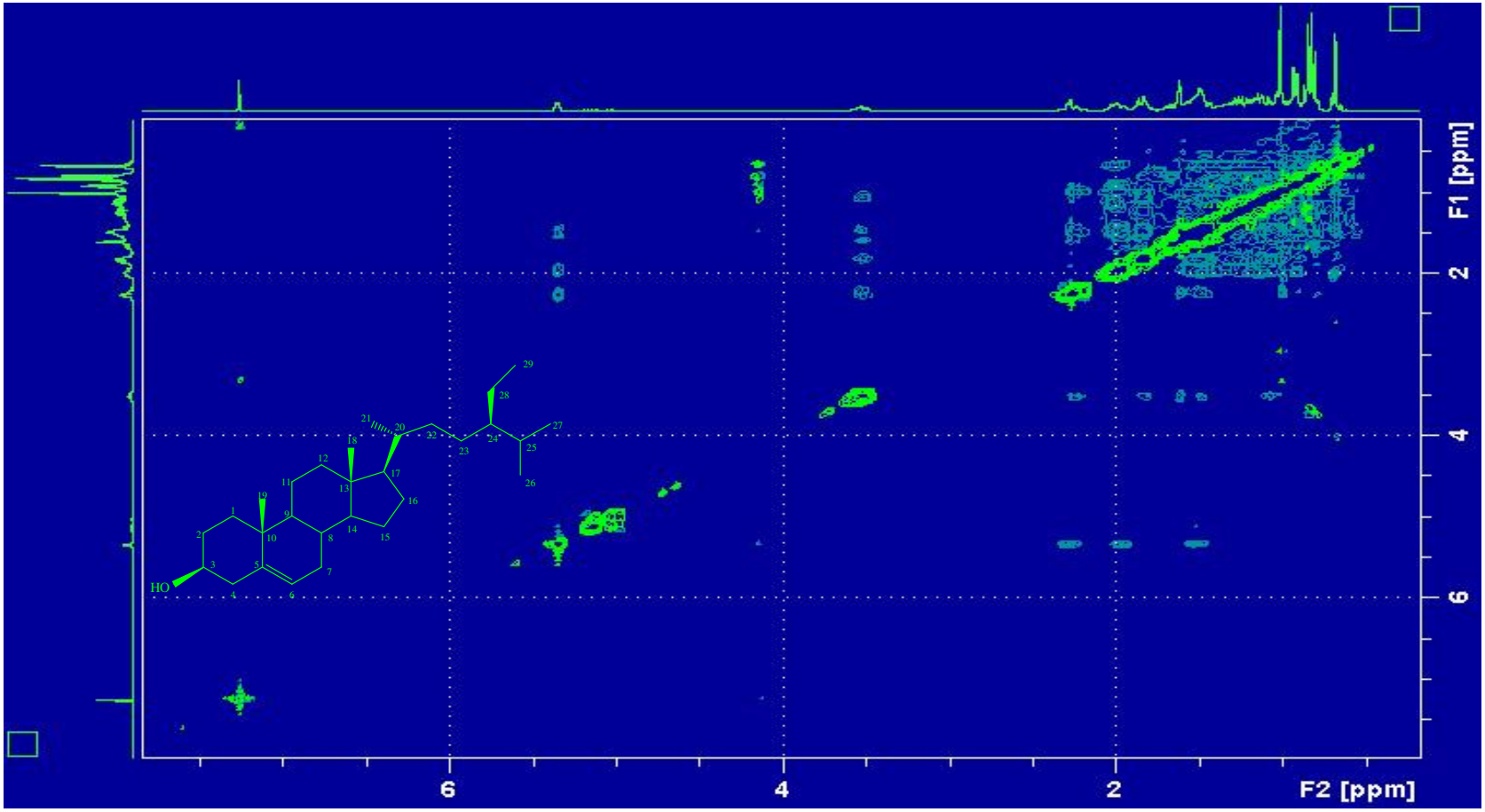
Şekil 78. SL-5 bileşiğinin DEPT spektrumu



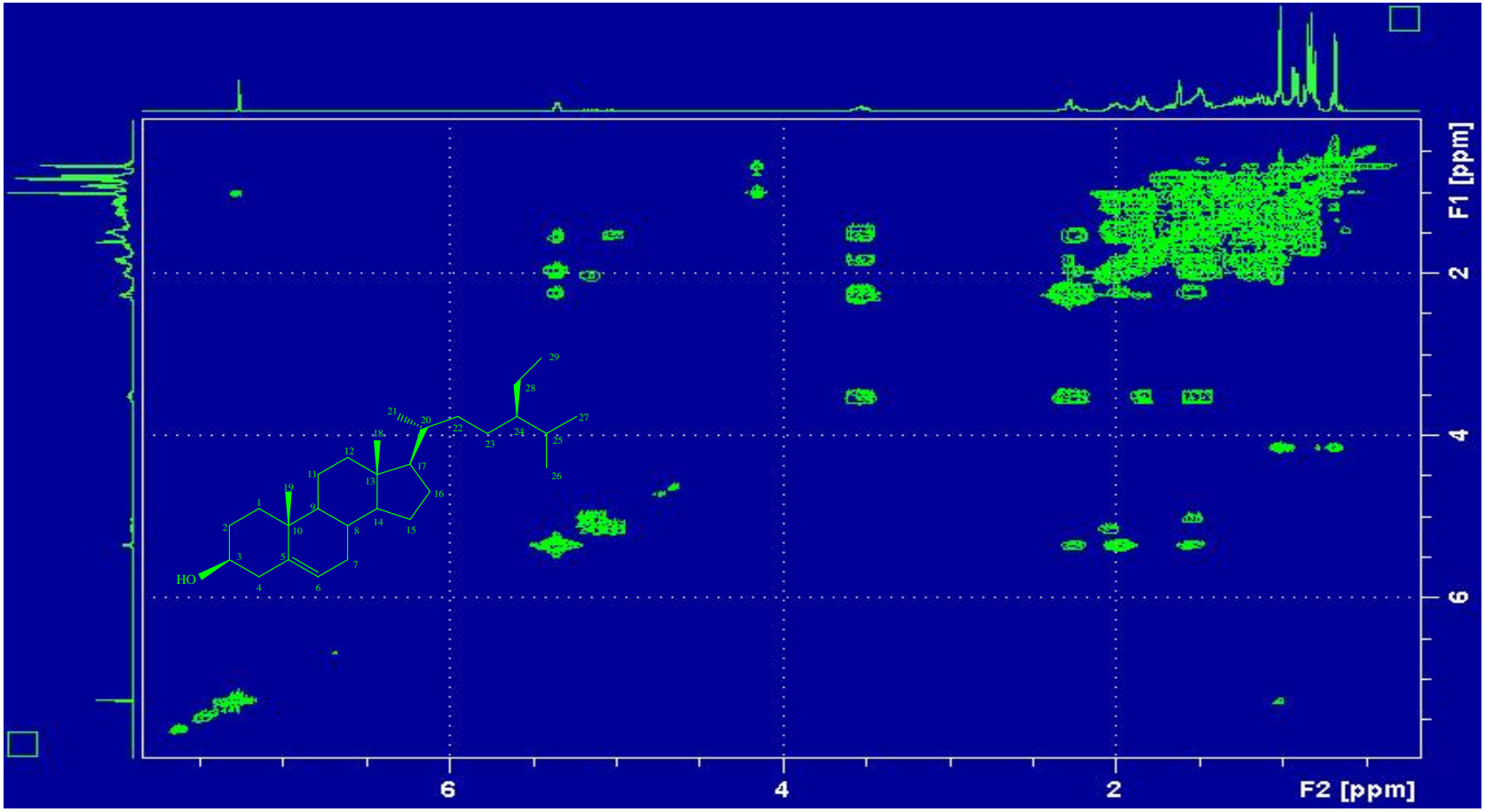
Şekil 79. SL-5 bileşiğinin HMQC spektrumu



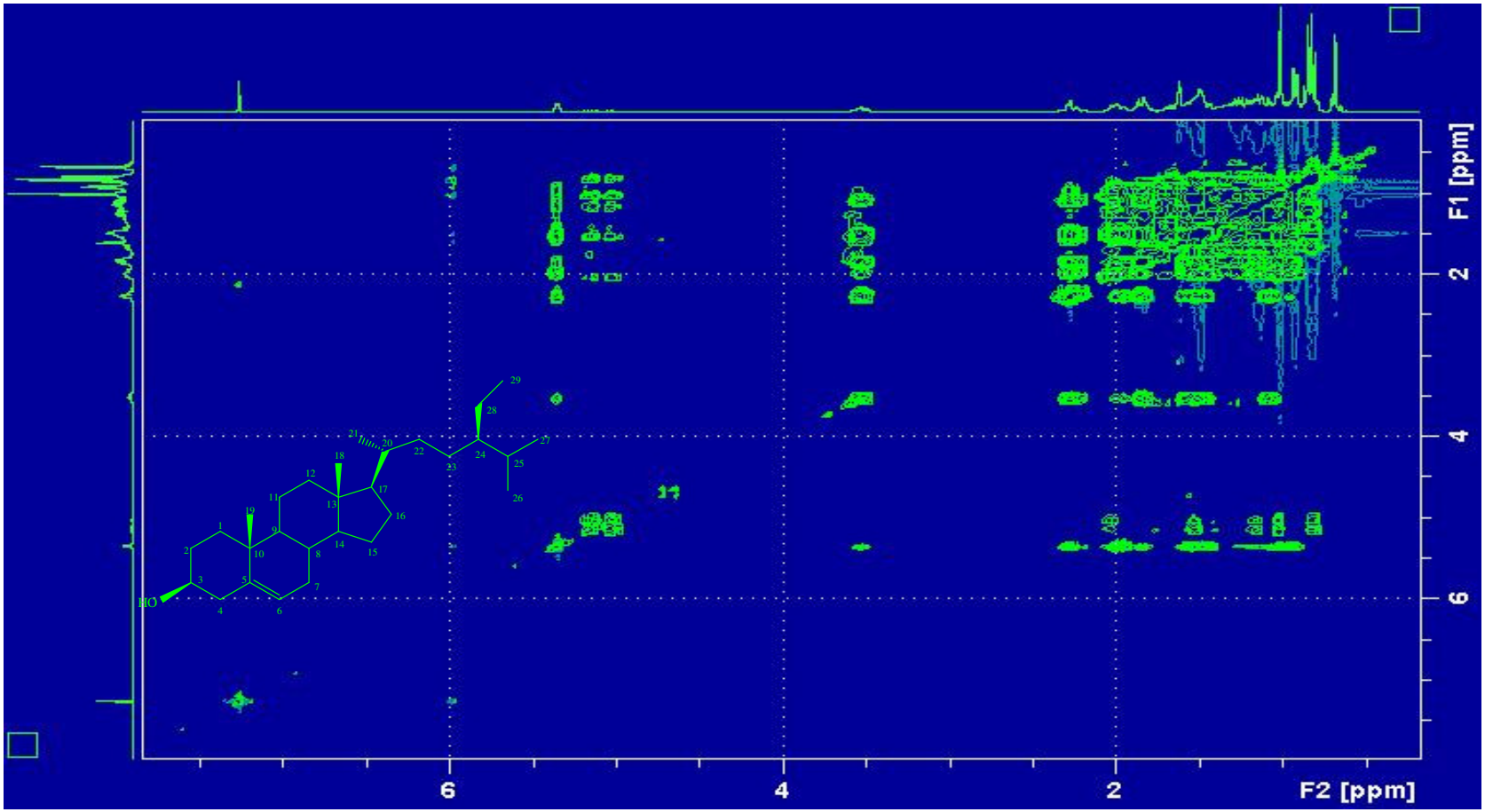
Şekil 80. SL-5 bileşiğinin HMBC spektrumu



Şekil 81. SL-5 bileşiğinin NOESY spektrumu

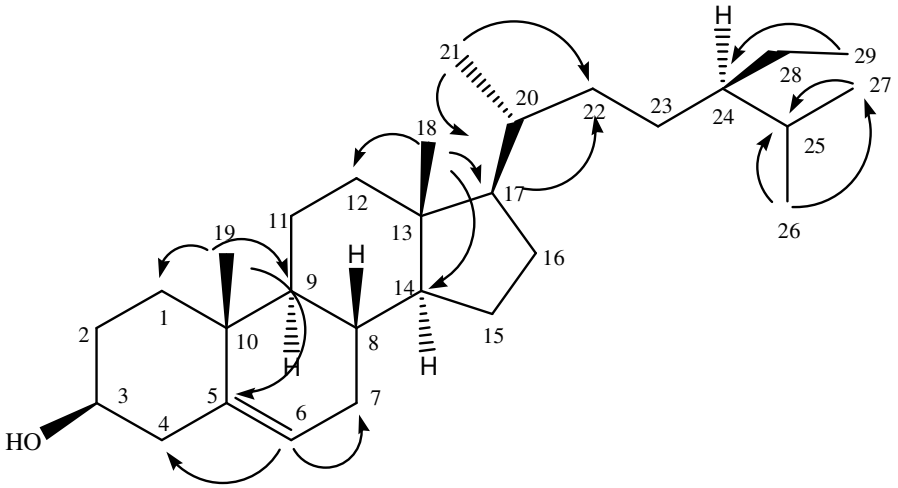


Şekil 82. SL-5 bileşiğinin COSY spektrumu



Şekil 83. SL-5 bileşiğinin TOCSY spektrumu

Formülü **:**



Molekül Adı **:** β-sitosterol

Molekül Ağırlığı **:** 414,3877 m/z (HR MS); 414,4 m/z (GC-MS)

Molekül Formülü **:** $C_{29}H_{50}O$

Özelliği **:** Renksiz kristal

Erime Derecesi **:** 134-136 C^{o}

Çizelge 23. SL-5 bileşiğinin ^{1}H-NMR ve ^{13}C-NMR bulguları

Kimyasal kayma	proton	C atomu	δ (ppm)
1,34 – 1,00 (2H)	H-1	C-1	36,4
1,83 – 1,51 (2H)	H-2	C-2	31,8
3,52 (1H)	H-3	C-3	72,0
2,28 (2H)	H-4	C-4	42,1
---	---	C-5	140,4
5,35 (1H, d, J= 4,75)	H-6	C-6	121,8
1,96 - 1,53 (2H)	H-7	C-7	31,9
1,15 (1H)	H-8	C-8	32,1
0,91 (1H)	H-9	C-9	49,7
---	---	C-10	36,1
1,51 (2H)	H-11	C-11	21,4
1,80 (2H)	H-12	C-12	37,6
---	---	C-13	43,1
1,09 (1H)	H-14	C-14	56,7
1,57 – 1,08 (2H)	H-15	C-15	24,1
1,83 – 1,27 (2H)	H-16	C-16	28,4
1,06 (1H)	H-17	C-17	56,1
0,67 (3H, s)	H-18	C-18	11,9
1,01 (3H, s)	H-19	C-19	19,7
1,35 (1H, m)	H-20	C-20	36,1
0,91 (3H, d, J= 6,58)	H-21	C-21	18,9
1,43 (1H)	H-22	C-22	32,9
1,15 (1H)	H-23	C-23	26,2
0,92 (1H)	H-24	C-24	45,2
1,67 (1H)	H-25	C-25	29,2
0,81 (3H, d, J=6,63)	H-26	C-26	19,8
0,83 (3H, d, J=7,03)	H-27	C-27	19,8
1,23 (2H, m)	H-28	C-28	23,0
0,79 (3H, t, J=5,10)	H-29	C-29	12,3

SL-5 bileşiği δ 0,67 ve δ 1,01 ppm'de sinyal veren iki, δ 0,83 (J=7,03); 0,81 (J=6,63); 0,91 (J=6,58) ve 0,79 (J=5,10) ppm'de gözlenen dört olmak üzere toplam 6 metil grubu taşımaktadır. δ 3, 52 ppm'de gözlenen sinyal elektron çekici bir grubun varlığını ayrıca δ 5,35 (d (J=4,75) ppm'deki sinyal de olefinik bir yapıyı göstermektedir. HMQC spektrumu incelendiğinde kuaterner pozisyonda olmayan karbon atomlarının kimyasal kaymaları tespit edilmektedir. COSY ve TOCSY verilerine bakıldığında δ 1,34-1,00 ppm ile 1,51-1,83 ppm, δ 3,52 ve δ 2,28 ppm arasında ilişki olduğu gözlenmektedir. Ayrıca δ 5,35 ppm'deki sinyalin δ 1,53-1,96 ppm'deki sinyal ile ve bu sinyallerin de δ 1,15 ve δ 0,91 ppm'deki sinyallerle ilişkili olduğu COSY spektrumundan gözlenmektedir. δ 0,83 ve δ 0,81 ppm'deki dubletlerin δ 1,67 ppm'deki sinyalle ilişkili olması yan zincirdeki izopropil grubunun varlığını desteklemektedir. COSY, TOCSY, HMBC, HMQC ve ^{13}C-NMR verilerine

dayanarak ayrıca bu değerlerin özellikle de ^{13}C-NMR, DEPT, HMQC ve HMBC verilerinin literatür bilgileriyle kıyaslanmasıyla SL-5 bileşiğinin β-sitosterol olduğu tespit edilmiştir (Kovangko et al., 2000).

3.2. Analjezik (Antinosiseptif aktivite) Aktivite Bulguları

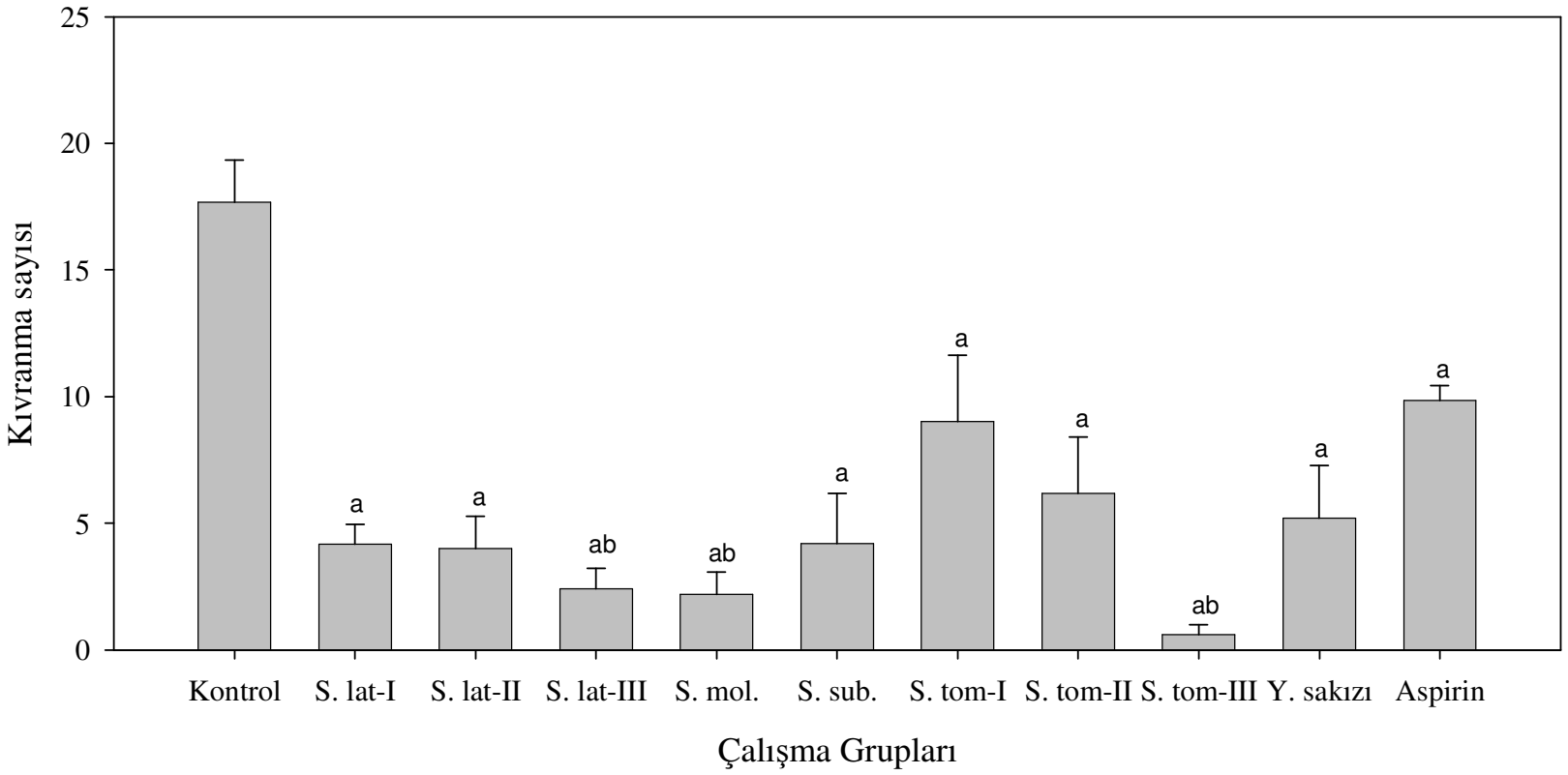
3.2.1. Asetik Asitle İndüklenen Kıvranma Testi (Acetic acid induced Writhing Test) Bulguları

S. latifolia, *S. tomentosa*, *S. suberosa*, *S. mollis* ve yakı sakızının metanol-su ekstreleri farelerde asetik asitle indüklenen kıvranma testi sonucu doza bağlı olarak inhibisyona neden oldu. Meydana gelen inhibisyon **Çizelge 24.**'de ve **Şekil 83.**'de verilmiştir.

Çizelge 24. *Scorzonera* türlerinin farelerde asetik asitle indüklenen kıvranma testi sonuçları

Grup	**Kıvranma sayısı (mean ± SEM)**	**İnhibisyon (%)**
Kontrol	17.71 ± 1.41	-
Asetil salisilik asit	[a] 9.83 ± 0.60	44.49
S. latifolia (25 mg/kg)	[a] 4.17 ± 0.80	76.45
S. latifolia (50 mg/kg)	[a] 4.00 ± 1.26	77.41
S. latifolia (100 mg/kg)	[ab] 2.00 ± 0.78	88.70
S. tomentosa (25 mg/kg)	[a] 9.00 ± 2.62	49.18
S. tomentosa (50 mg/kg)	[a] 6.17 ± 2.24	65.16
S. tomentosa (100 mg/kg)	[ab] 0.60 ± 0.40	96.61
S. suberosa (100 mg/kg)	[a] 4.20 ± 1.99	76.28
S. mollis (100 mg/kg)	[ab] 2.20 ± 0.86	87.57
Yakı sakızı (100 mg/kg)	[a] 5.20 ± 2.08	70.63
F-value	*10.662*	
P value	*0.000*	

a: $p<0.05$ (kontrol grubu ile karşılaştırma)
b: $p<0.05$ (aspirin grubu ile karşılaştırma)



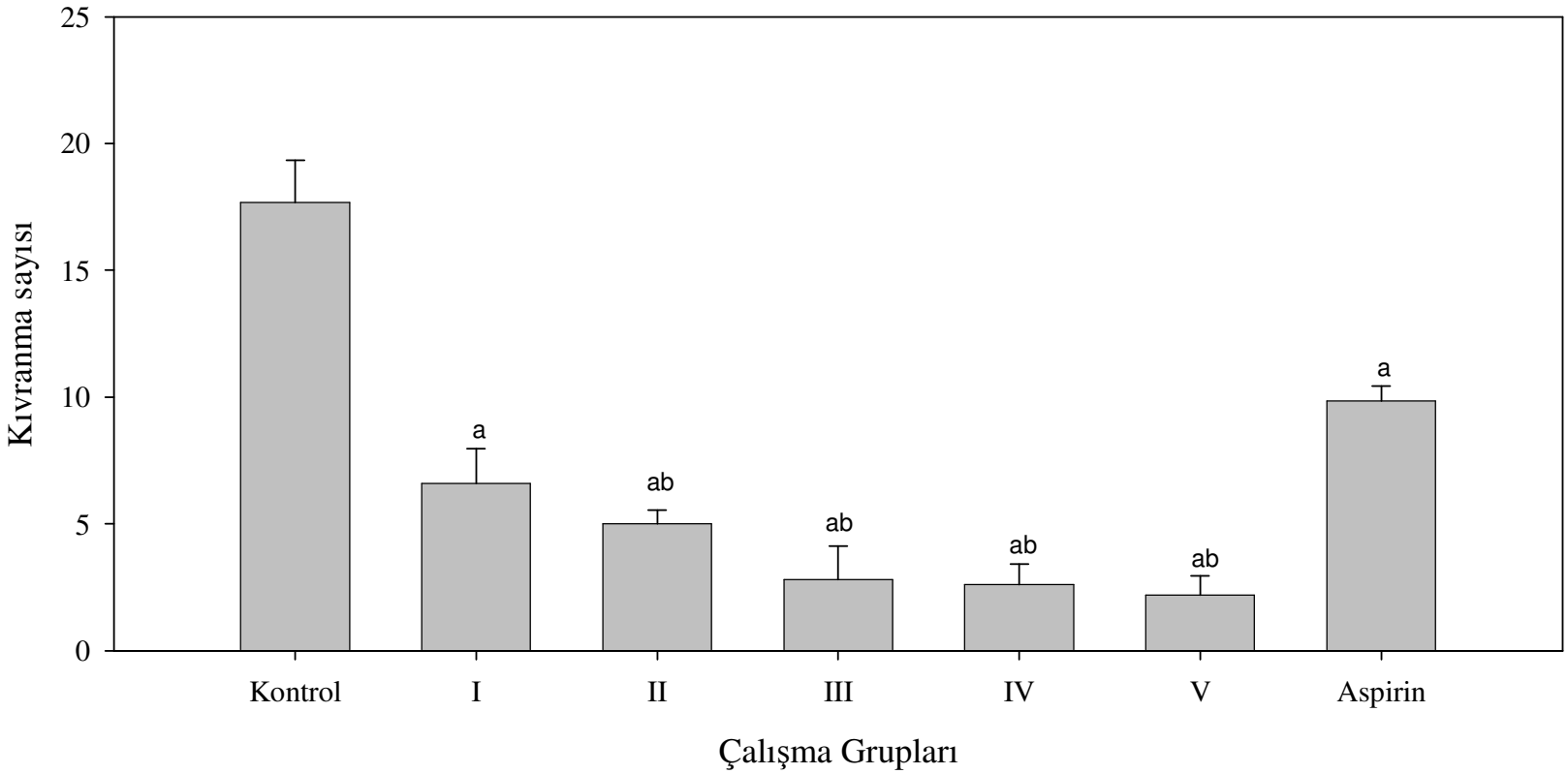
Şekil 84. *Scorzonera* türlerinin farelerde asetik asitle indüklenen kıvranma testi sonuçları

Buna göre en aktif ekstre olarak bulunan *S. latifolia*'nın metanollü ekstresinin BAYF yöntemi izlenerek, çözücü-çözücü ekstraksiyonu ile fraksiyonlanması sonucu elde edilen fraksiyonların da analjezik aktiviteleri ölçüldü.

Çizelge 25. *S. latifolia* ekstresine ait fraksiyonların farelerde asetik asitle indüklenen kıvranma testi sonuçları

Grup	**Kıvranma sayısı (ortalama ± SEM)**	**İnhibisyon (%)**
Control	17.71 ± 1.41	-
Aspirin	[a] 9.83 ± 0.60	44.49
n-Hekzan	[ab] 2.20 ± 0.74	87.57
Kloroform	[ab] 2.60 ± 0.81	85.31
Etilasetat	[ab] 2.80 ± 1.32	84.18
n-Butanol	[ab] 5.00 ± 0.55	71.76
Sulu fraksiyon	[a] 6.60 ± 1.36	62.73
F-value	*30.756*	
P value	*0.000*	

a: $p<0.05$ (kontrol grubu ile karşılaştırma)
b: $p<0.05$ (aspirin grubu ile karşılaştırma)



Şekil 85. *S. latifolia* ekstresine ait fraksiyonların asetik asitle indüklenen kıvranma testi sonuçları

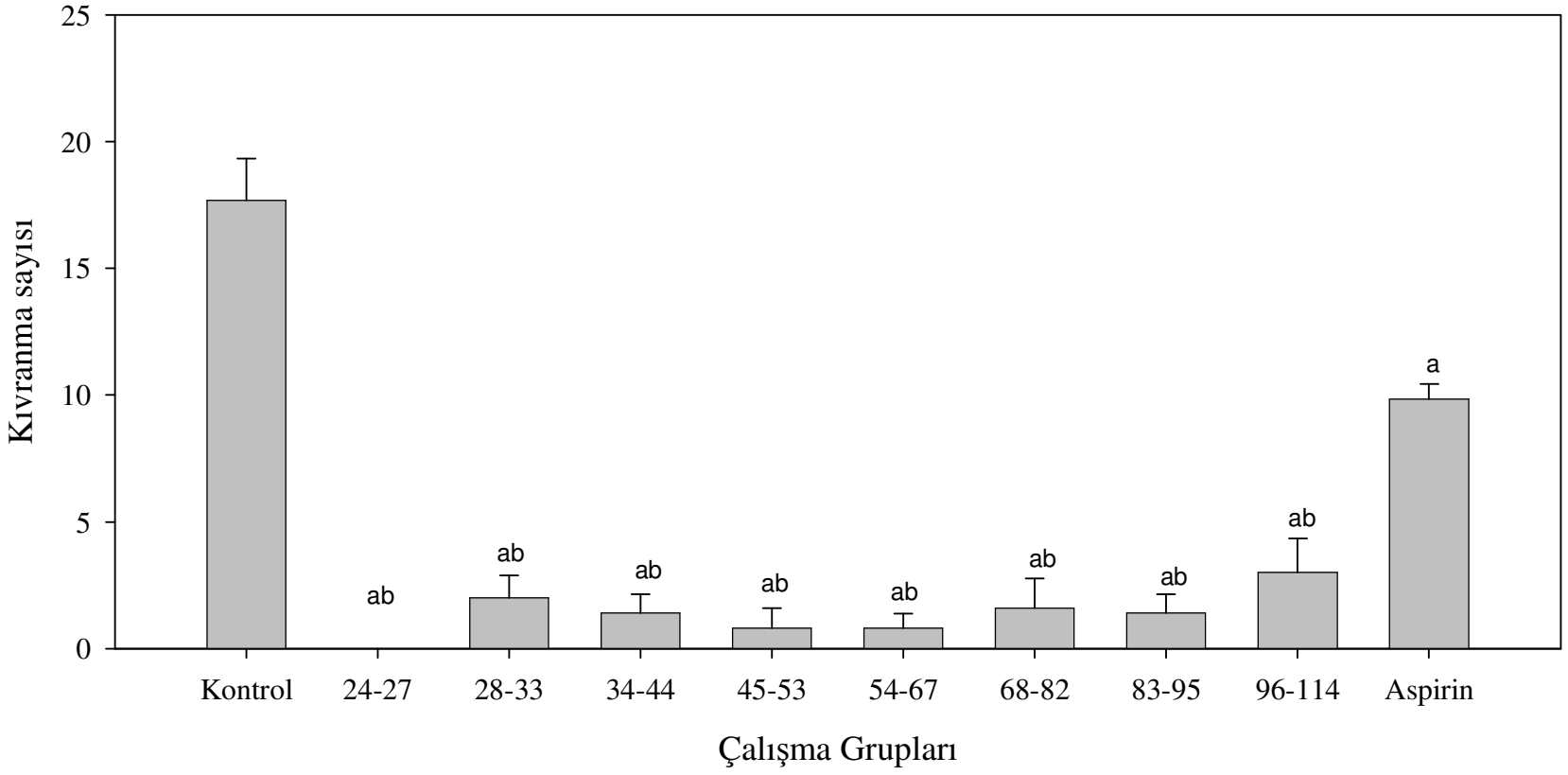
I: Sulu fraksiyon; II: N-butanol; III: Etil asetat; IV: Kloroform; V: Hekzan fraksiyonu

En aktif fraksiyon olarak n-hekzan fraksiyonu tespit edildi. Bu fraksiyonda bulunan ve etkiden sorumlu olabileceği düşünülen bileşikleri tespit etmek amacıyla n-hekzan fraksiyonu silika jel kolonda, n-hekzan: etilasetat çözücülerinin giderek artan polaritedeki karışımlarıyla elüe edilmek suretiyle ayırıma tabi tutuldu. Yapılan İTK çalışmaları sonucuna göre birleştirilerek toplam 13 alt fraksiyon elde edildi. Elde edilen bu fraksiyonların analjezik aktiviteleri ölçüldü.

Çizelge 26. *S. latifolia* ekstresinin hekzanlı fraksiyonundan elde edilen alt fraksiyonların asetik asitle indüklenen kıvranma testi sonuçları

Gruplar	**Kıvranma sayısı**	**% inhibisyon**
Kontrol	17.67 ± 1.67	
24-27	[ab] 0.00 ± 0.00	100.00
28-33	[ab] 2.00 ± 0.89	88.68
34-44	[ab] 1.40 ± 0.75	92.08
45-53	[ab] 0.80 ± 0.80	95.47
54-67	[ab] 0.80 ± 0.58	95.47
68-82	[ab] 1.60 ± 1.17	90.95
83-95	[ab] 1.40 ± 0.75	92.08
96-114	[ab] 3.00 ± 1.34	83.02
Aspirin	[a] 9.83 ± 0.60	44.37

a: $p<0.05$ (kontrol grubu ile karşılaştırma)
b: $p<0.05$ (Aspirin grubu ile karşılaştırma)



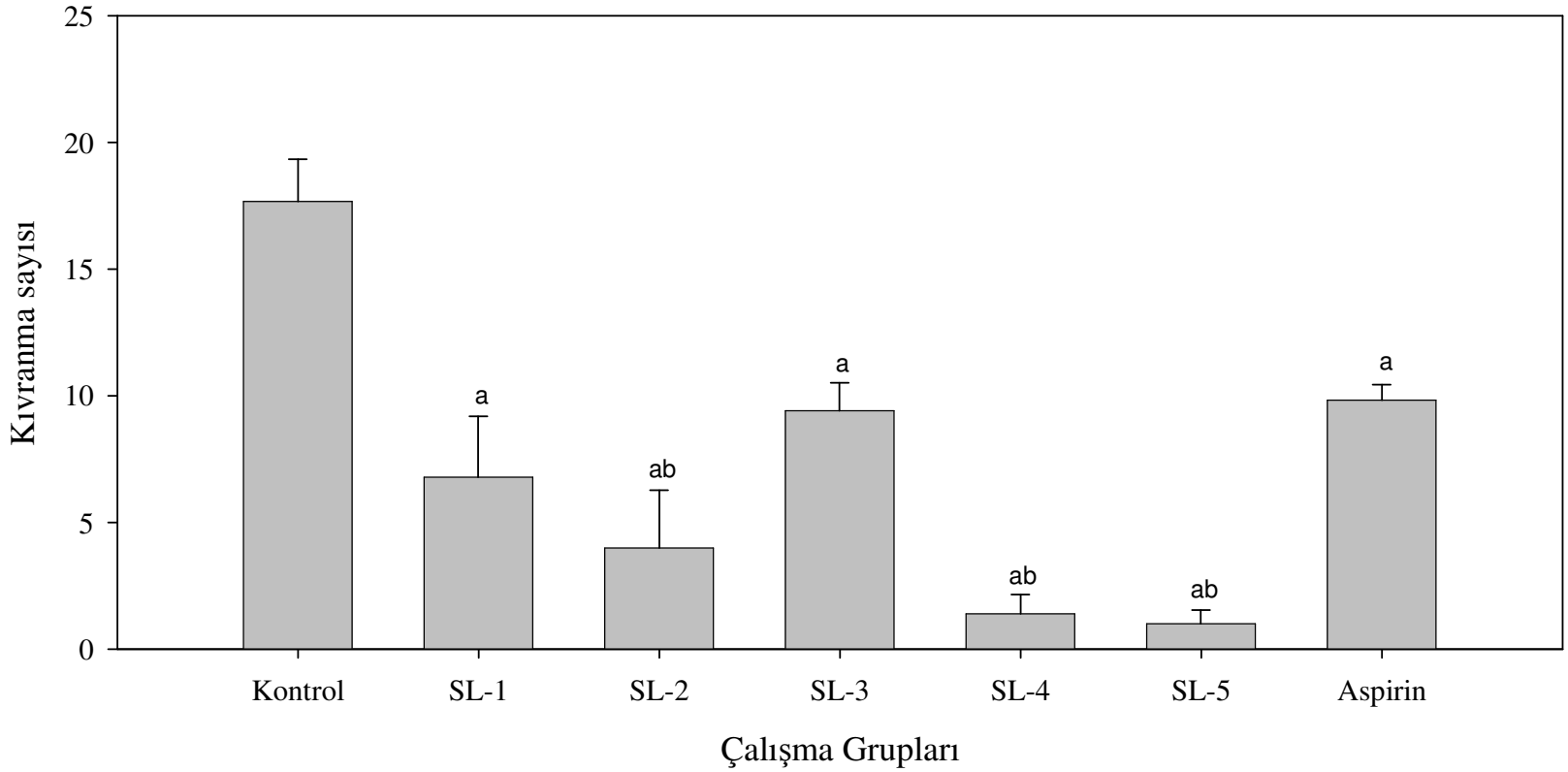
Şekil 86. *S. latifolia* ekstresinin hekzanlı fraksiyonundan elde edilen alt fraksiyonların asetik asitle indüklenen kıvranma testi sonuçları

En etkili fraksiyonun Fr. 24-27 olduğu tespit edildi. İTK çalışmaları sonucuna göre başlıca 3 maddenin SL-1, SL-2 ve SL-3 bileşiklerinin bulunduğu tespit edildi. Bu bileşikler tekrar silika jel üzerinde yapılan kolon kromatografisi ile ayrılıp preparatif İTK ile temizlenmek suretiyle saflaştırıldı ve analjezik aktiviteleri ölçüldü.

Çizelge 27. *S. latifolia*'dan elde edilen bileşiklerin farelerde asetik asitle indüklenen kıvranma testi sonuçları

Gruplar	**Kıvranma sayısı**	**İnhibisyon (%)**
Kontrol	17.67 ± 1.67	
SL-1	[a] 6.80 ± 2.40	61.52
SL-2	[ab] 4.00 ± 2.26	77.36
SL-3	[a] 9.40 ± 1.12	46.80
SL-4	[ab] 1.40 ± 0.75	92.08
SL-5	[ab] 1.00 ± 0.55	94.34
Aspirin	[a] 9.83 ± 0.60	44.37

a: $p<0.05$ (kontrol grubu ile karşılaştırma)
b: $p<0.05$ (Aspirin grubu ile karşılaştırma)



Şekil 87. *S. latifolia*'dan elde edilen bileşiklerin farelerde asetik asitle indüklenen kıvranma testi sonuçları

3.2.2. Kuyruk Kaldırma (Tail-Flick) Testi Bulguları

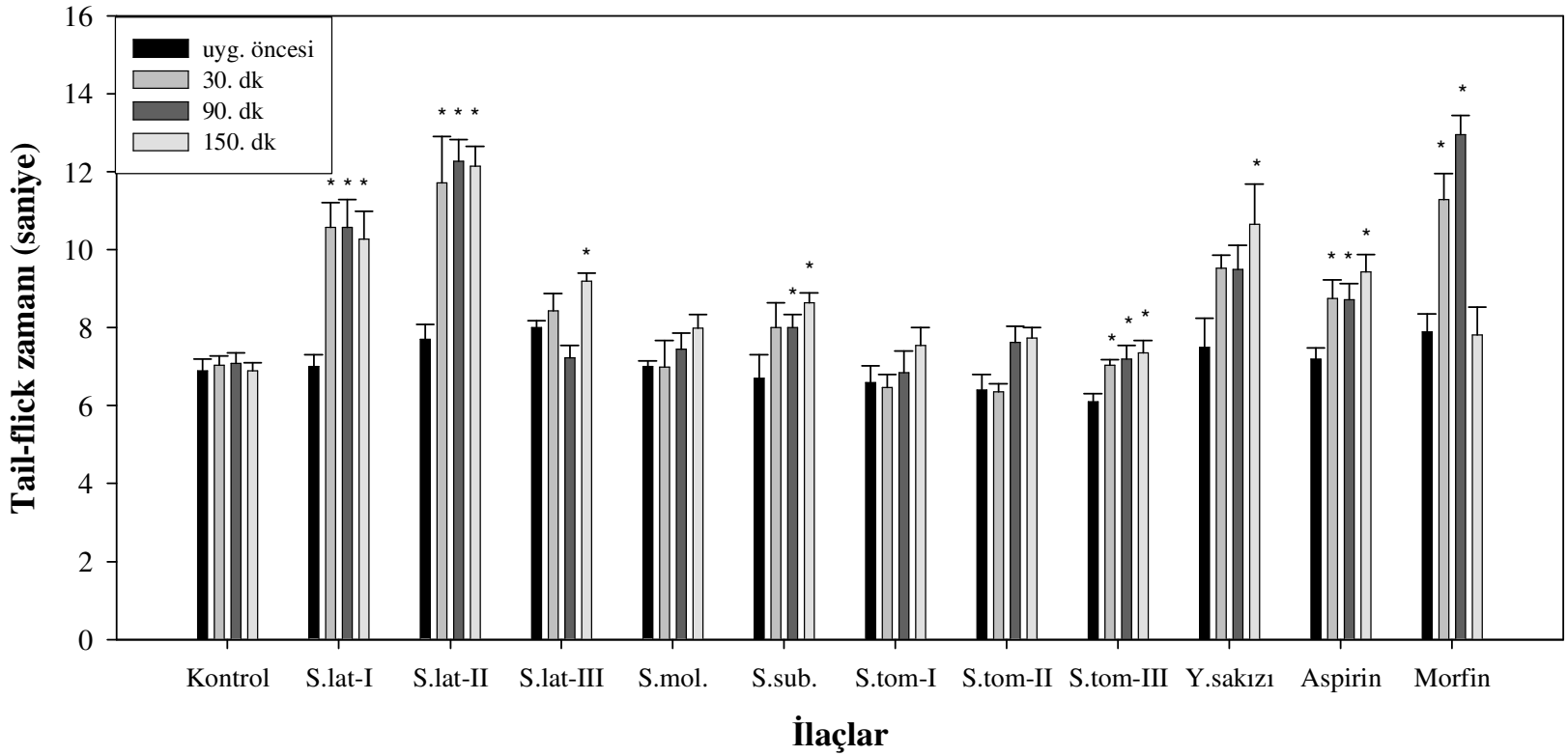
S. latifolia, *S. tomentosa*, *S. suberosa*, *S. mollis* ve yakı sakızının metanollü ekstrelerinin analjezik etkisi 30., 90. ve 150. dakikalarda ölçüldü. Sonuçlar tablo halinde gösterildi.

.

Çizelge 28. *Scorzonera* türlerinin kuyruk kaldırma testi sonuçları

Gruplar	**Uygulama öncesi**	**30. dakika**	**90. dakika**	**150. dakika**
Kontrol	6.90 ± 0.29	7.03 ± 0.25	7.08 ± 0.28	6.90 ± 0.20
S.-lat-I	7.00 ± 0.30	*10.57 ± 0.64	*10.58 ± 0.71	*10.78 ± 0.71
S.-lat-II	7.70 ± 0.38	*11.72 ± 1.18	*12.27 ± 0.56	*12.14 ± 0.52
S.-lat-III	8.00 ± 0.18	8.44 ± 0.43	7.23 ± 0.32	*9.20 ± 0.20
S. mol.	7.00 ± 0.14	6.99 ± 0.68	8.01 ± 0.33	8.64 ± 0.26
S. sub.	6.70 ± 0.60	8.00 ± 0.63	*8.01 ± 0.33	*8.64 ± 0.26
S. tom-I	6.60 ± 0.42	6.46 ± 0.34	6.85 ± 0.55	7.55 ± 0.46
S. tom-II	6.40 ± 0.40	6.36 ± 0.21	7.63 ± 0.40	7.74 ± 0.27
S. tom-III	6.10 ± 0.20	*7.04 ± 0.14	*7.20 ± 0.35	*7.36 ± 0.32
Yakı sakızı	7.50 ± 0.74	9.52 ± 0.34	9.50 ± 0.61	*10.65 ± 1.04
Aspirin	7.20 ± 0.28	*8.75 ± 0.47	*8.72 ± 0.42	*9.43 ± 0.44
Morfin	7.90 ± 0.46	*11.29 ± 0.67	*12.96 ± 0.49	7.82 ± 0.71

*: $p<0.05$ (Uygulama öncesi değerle karşılaştırma)



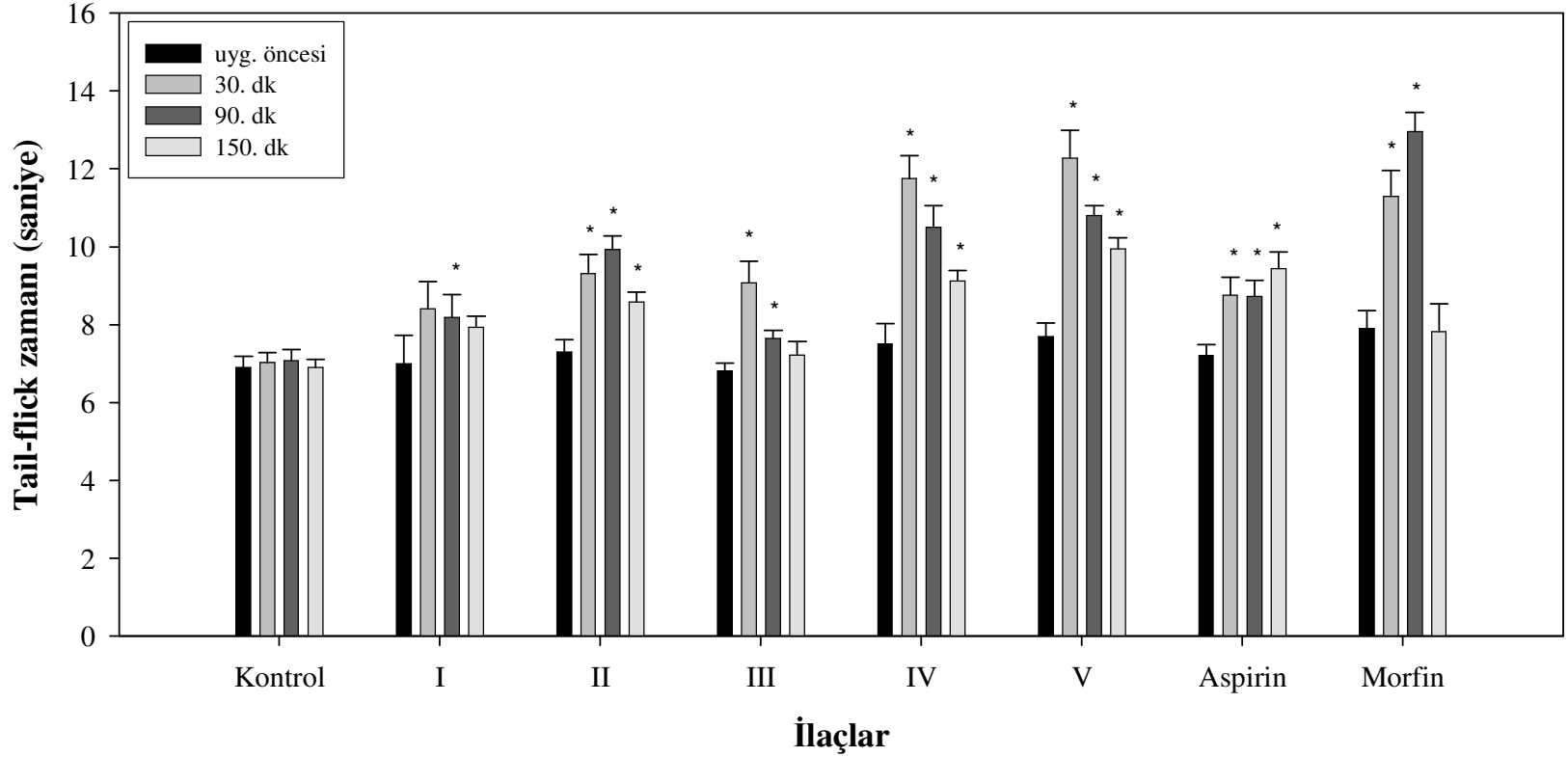
Şekil 88. *Scorzonera* türlerinin kuyruk kaldırma testi sonuçları

Bu test sonucuna göre en etkili olan tür yine *S. latifolia* olarak saptandı. Aynı şekilde çözücü-çözücü ekstraksiyonu ile elde edilen fraksiyonların aktivitesi ölçüldü.

Çizelge 29. *S. latifolia* ekstresine ait fraksiyonların kuyruk kaldırma test sonuçları

Gruplar	**Uygulama öncesi**	**30. dakika**	**90. dakika**	**150. dakika**
Kontrol	6.90 ± 0.29	7.03 ± 0.25	7.08 ± 0.28	6.90 ± 0.20
I	7.00 ± 0.73	8.40 ± 0.71	*8.18 ± 0.59	7.93 ± 0.28
II	7.30 ± 0.31	*9.32 ± 0.48	*9.93 ± 0.35	*8.58 ± 0.26
III	6.80 ± 0.22	*9.07 ± 0.55	*7.65 ± 0.20	7.22 ± 0.34
IV	7.50 ± 0.53	*11.75 ± 0.59	*10.50 ± 0.56	*9.13 ± 0.26
V	7.70 ± 0.34	*12.27 ± 0.72	*10.81 ± 0.25	*9.94 ± 0.29
Aspirin	7.20 ± 0.28	*8.75 ± 0.47	*8.72 ± 0.42	*9.43 ± 0.44
Morfin	7.90 ± 0.46	*11.29 ± 0.67	*12.96 ± 0.49	7.82 ± 0.71

*: $p<0.05$ (Uygulama öncesi değerle karşılaştırma).



Şekil 89. *S. latifolia* ekstresine ait fraksiyonların kuyruk kaldırma test sonuçları

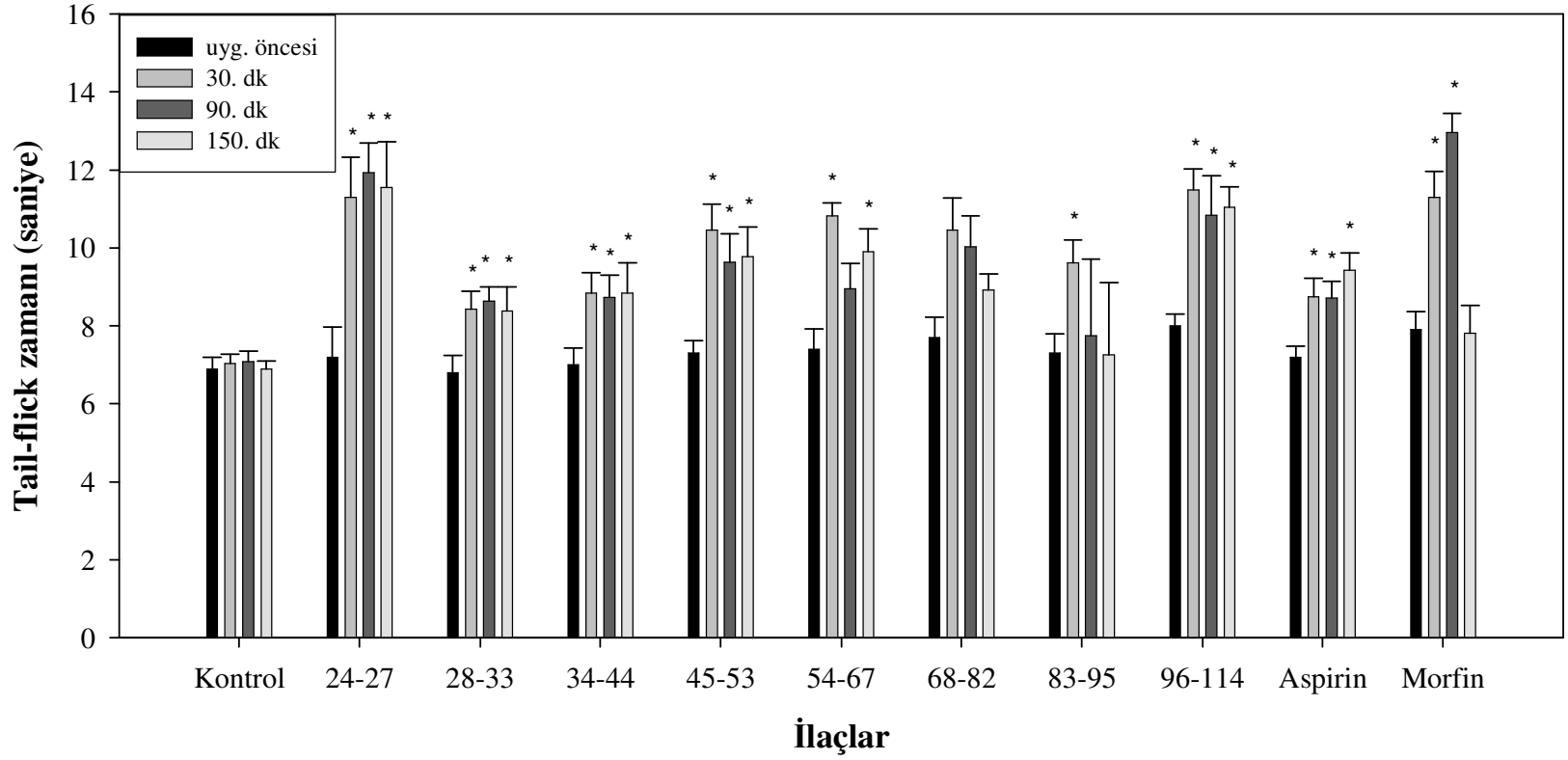
I: Sulu fraksiyon; II: N-butanol; III: Etil asetat; IV: Kloroform; V: Hekzan fraksiyonu

En aktif fraksiyon olarak yine n-hekzan fraksiyonu tespit edildi. Bu fraksiyondan kolon kromatografisiyle elde edilen alt fraksiyonların analjezik aktiviteleri ölçüldü.

Çizelge 30. *S. latifolia* ekstresinin hekzanlı fraksiyonundan elde edilen alt fraksiyonların kuyruk kaldırma test sonuçları

Gruplar	**Uygulama öncesi**	**30. dakika**	**90. dakika**	**150. dakika**
Kontrol	6.90 ± 0.29	7.03 ± 0.25	7.08 ± 0.28	6.90 ± 0.20
24-27	7.20 ± 0.77	*11.30 ± 1.02	*11.94 ± 0.75	*11.56 ± 1.16
28-33	6.80 ± 0.45	*8.43 ± 0.46	*8.64 ± 0.36	*8.38 ± 0.62
34-44	7.00 ± 0.44	*8.84 ± 0.53	*8.73 ± 0.58	*8.84 ± 0.78
45-53	7.30 ± 0.33	*10.45 ± 0.67	*9.64 ± 0.73	*9.78 ± 0.76
54-67	7.40 ± 0.52	*10.82 ± 0.34	8.95 ± 0.65	*9.90 ± 0.59
68-82	7.70 ± 0.53	10.46 ± 0.82	10.03 ± 0.80	8.92 ± 0.42
83-95	7.30 ± 0.50	*9.61 ± 0.59	7.75 ± 1.97	7.26 ± 1.86
96-114	8.00 ± 0.31	*11.49 ± 0.54	*10.84 ± 1.01	*11.04 ± 0.53
Aspirin	7.20 ± 0.28	*8.75 ± 0.47	*8.72 ± 0.42	*9.43 ± 0.44
Morfin	7.90 ± 0.46	*11.29 ± 0.67	*12.96 ± 0.49	7.82 ± 0.71

*: $p<0.05$ (Uygulama öncesi değerle karşılaştırma)



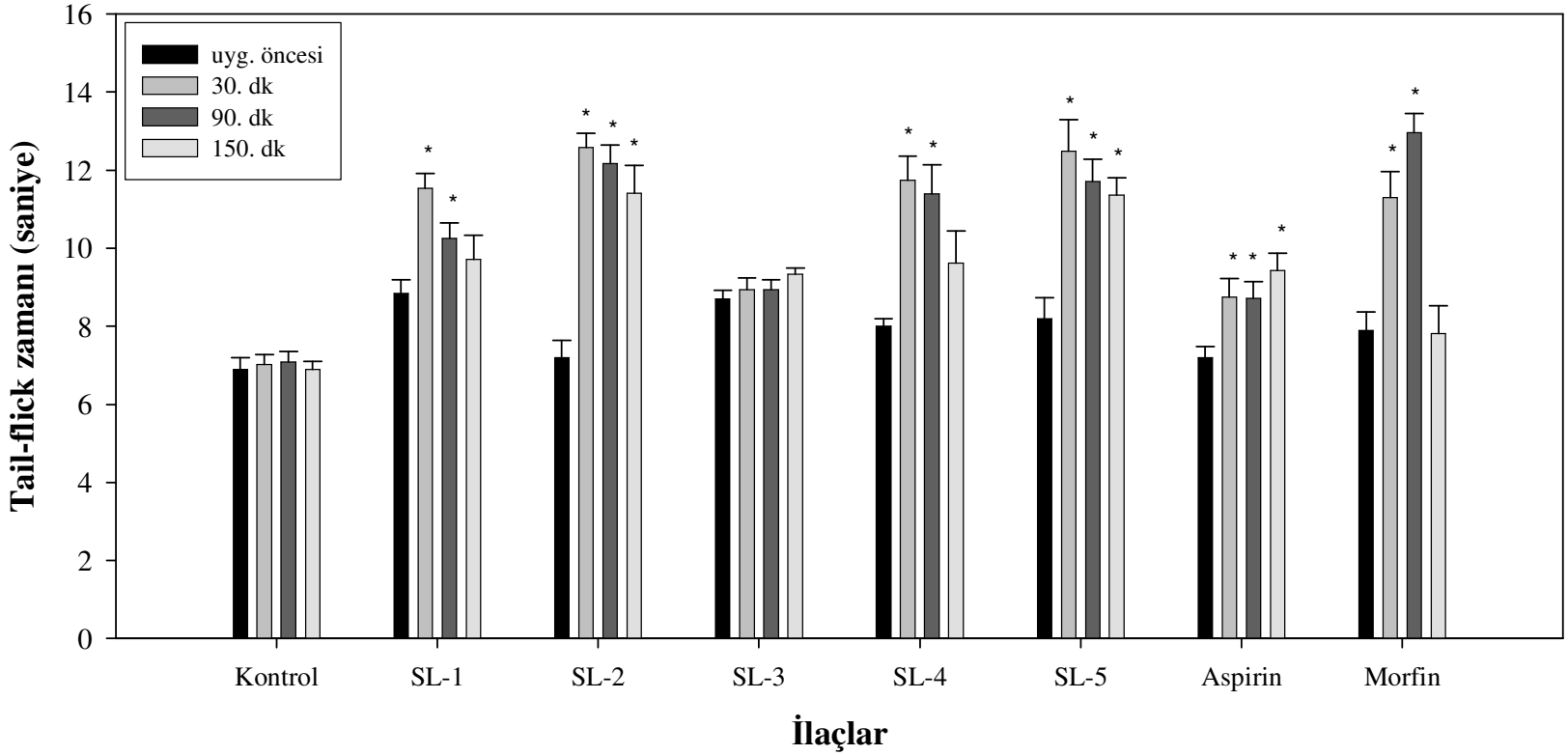
Şekil 90. *S. latifolia* ekstresinin hekzanlı fraksiyonundan elde edilen alt fraksiyonların kuyruk kaldırma test sonuçları

En etkili bulunan 24-27. fraksiyondan izole edilen SL-1, SL-2 ve SL-3 bileşikleri ile diğer aktif fraksiyonlardan elde edilen SL-4 ve SL-5 bileşiklerinin de analjezik aktiviteleri ölçüldü.

Çizelge 31. *S. latifolia*'dan elde edilen bileşiklerin kuyruk kaldırma testi sonuçları

Gruplar	**Uygulama öncesi**	**30. dakika**	**90. dakika**	**150. dakika**
Kontrol	6.90 ± 0.29	7.03 ± 0.25	7.08 ± 0.28	6.90 ± 0.20
SL-1	8.84 ± 0.35	*11.54 ± 0.38	*10.26 ± 0.39	9.72 ± 0.61
SL-2	7.20 ± 0.44	*12.59 ± 0.36	*12.17 ± 0.49	*11.41 ± 0.71
SL-3	8.70 ± 0.23	8.94 ± 0.30	8.94 ± 0.25	9.34 ± 0.16
SL-4	8.00 ± 0.20	*11.74 ± 0.62	*11.40 ± 0.73	9.62 ± 0.82
SL-5	8.20 ± 0.54	*12.49 ± 0.80	*11.71 ± 0.57	*11.37 ± 0.44
Aspirin	7.20 ± 0.28	*8.75 ± 0.47	*8.72 ± 0.42	*9.43 ± 0.44
Morfin	7.90 ± 0.46	*11.29 ± 0.67	*12.96 ± 0.49	7.82 ± 0.71

*: $p<0.05$ (Uygulama öncesi değerle karşılaştırma)



Şekil 91. *S. latifolia*'dan elde edilen bileşiklerin kuyruk kaldırma testi sonuçları

4. TARTIŞMA

Orta Avrupa'dan Orta Asya'ya kadar yayılış gösteren *Scorzonera* cinsi tüm Dünya'da yaklaşık 175 tür ile temsil edilmektedir. Türkiye'de ise bu sayı yeni bulunan türlerle birlikte 49 olarak tespit edilmiştir. Ülkemizde çok sayıda türü yetişmekte olan *Scorzonera* cinsi üzerinde yaptığımız bu tez çalışması ile birçok önemli bulgu elde ettik. Oldukça eski tarihlerden beri Avrupa'da sebze olarak tüketilen ve 16.-17. y.y.'lardan beri bu amaçla kültürü yapılmakta olan, ülkemizde de halk arasında gerek sebze olarak gerekse tıbbi amaçlarla kullanılan *Scorzonera* türleri üzerinde yapılan bilimsel çalışmaların azlığı dikkat çekmektedir.Yapılmış olan çalışmalar özellikle son yıllarda artış göstermiştir ve bu çalışmalardan fitokimyasal nitelikte olanlar biyolojik aktivite çalışmalarına oranla daha fazla yer tutmaktadır.

Çalışmamızda halk arasındaki kullanımlarına dayanarak başlıca dört tür; *S. latifolia*, *S. mollis* ssp. *szowitzii*, *S. suberosa* ssp. *suberosa*, *S. tomentosa*; belirledik. Bu dört türü ve *S. latifolia* köklerinden elde edilen lateksin kurutulmasıyla hazırlanan, halk arasında kısırlığa karşı, kurt düşürücü gibi amaçların yanında özellikle ağrı kesici olarak kullanılan yakı sakızını antinosiseptif etkisi açısından asetik asit nedenli kıvranma testi ve kuyruk kaldırma testini kullanarak değerlendirdik. Asetik asit nedenli kıvranma testi sonuçlarına göre *S. latifolia* 25 mg/kg ve 50 mg/kg dozlarda kontol grubuna göre, 100 mg/kg dozda ise hem kontrol grubuna hem de aspirin grubuna göre daha etkili bulunmuştur. *S. tomentosa* ve *S. mollis* ssp. *szowitzii* 100 mg/kg dozda hem kontrol hem aspirin grubuna göre, *S. suberosa* ssp. *suberosa* ve yakı sakızı ise yalnızca kontrol grubuna göre etkili bulunmuştur. Kuyruk kaldırma test sonuçları incelendiğinde ise *S. latifolia*'nın 25 mg/kg ve 50 mg/kg dozlarda hem kontrol grubu hem de aspirin grubu ile kıyaslandığında oldukça belirgin bir aktivite gösterdiği ve hatta 50 mg/kg dozda 30. ve 90. dakikalarda aktivitenin hemen hemen morfinin etkisiyle eşit olduğu, 150. dakikada ise morfinden daha yüksek bir aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. 100 mg/kg dozda ise aktivitenin artması beklenirken tam tersi azaldığı ve yalnızca 150. dakikada anlamlı bir aktivite gösterdiği bulunmuştur.

S. tomentosa ve *S. suberosa* ssp. *suberosa* 100 mg/kg dozda 90. ve 150. dakikalarda, yakı sakızı ise yalnızca 150. dakikada orta düzeyde bir aktivite göstermiştir.

S. latifolia her iki test sonucuna göre de oldukça etkili bulundu ve en yüksek aktiviteyi gösteren tür olarak tespit edildi. Daha sonraki çalışmalarımızı ve bu tür üzerinden yürüterek biyolojik aktiviteyle yönlendirilmiş fraksiyonlama (BAYF) yöntemiyle önce etkili fraksiyonları saptadık daha sonra etkiden sorumlu olabilecek bileşiklere ulaştık. Bu amaçla *S. latifolia* kök ekstresinden öncelikle, sıvı-sıvı ekstraksiyonla beş ayrı fraksiyon; n-hekzan, kloroform, etilasetat, n-butanol ve su; elde edildi. Bu fraksiyonlar yine antinosiseptif aktiviteleri için test edildi ve sulu fraksiyon dışındaki tüm fraksiyonlar her iki aktivite testinde de oldukça etkili bulundu. Bununla birlikte n-hekzan ekstresi **çizelge 25** ve **çizelge 29**'da görüldüğü gibi en etkili fraksiyon olarak belirlendi. Bunu çok az bir farkla kloroform fraksiyonu ve orta derecede etkili sayılabilecek etilasetat ve n-butanol fraksiyonları takip etmektedir. n-Hekzan fraksiyonu daha sonraki aşamada kolon kromatografisi kullanılarak silikajel üzerinde daha alt fraksiyonlara ayrıldı. 24-27. alt fraksiyon her iki antinosiseptif aktivite testinde de aktif bulundu. 25 mg/kg dozda hem kontrol hem de aspirin grubundan daha yüksek, 30. ve 90. dakikalarda hemen hemen morfinle eşit düzeyde, 150. dakikada ise morfinden de daha yüksek aktiviteye sahip olduğu tespit edildi ve en etkili alt fraksiyon olarak belirlendi. Bununla birlikte diğer alt fraksiyonlarda da değişen derecelerde aktivite tespit edildi. Asetik asit nedenli kıvranma testine göre 24-27. fraksiyonu 54-67; 45-53; 34-44; 83-95; 68-82; 28-33 ve 96-114. alt fraksiyonlar, kuyruk kaldırma testine göre ise 96-114; 54-67; 45-53; 34-44 ve 28-33. alt fraksiyonlar takip etmektedir (**Çizelge 26, Çizelge 30**). BAYF'ın son basamağı olarak en etkili alt fraksiyon 24-27'den triterpenik yapıda üç bileşik izole edildi. Bu fraksiyon dışında 34-44. ve 54-67. alt fraksiyonlardan da birer tane olmak üzere toplam beş bileşik izole ettik. İzole edilen bileşiklerin yapıları, MS, 1D ve 2D NMR (HMBC, HMQC, NOESY, COSY, TOCSY) gibi spektral tekniklerle aydınlatıldı taraksasterol miristat (SL-1), taraksasterol asetat (SL-2), fern-7-en-3-β-on (SL-3), fern-7-en-3-β-ol (SL-4) (motiol) ve β-sitosterol (SL-5) olarak tayin edildi. İzole edilen bu bileşiklerden fern-7-en-3-β-on, fern-7-en-3-β-ol ve taraksasterol miristat *Scorzonera* türlerinden ilk olarak izole edilmiştir. Daha önce yapılan

çalışmalarda taraksasterol asetat *S. cretica*'dan; β-sitosterol ise *S. tomentosa*'dan izole edilmiştir (Öksüz ve ark., 1990; Paraschos ve ark., 2001).

İzole edilen bileşiklerin aktiviteleri de yine asetik asit nedenli kıvranma ve kuyruk kaldırma testleri kullanılarak ölçüldü. β-sitosterol asetik asit nedenli kıvranma testi sonuçlarına göre en yüksek aktiviteyi gösteren bileşik olarak tespit edildi, sonra sırasıyla motiol (fern-7-en-3-β-ol), taraksasterol asetat, taraksasterol miristat ve fern-7-en-3-β-on bileşikleri etkili olarak belirlendi. Fern-7-en-3-β-on dışındaki tüm bileşikler hem aspirin hem de kontrol grubuna göre, fern-7-en-3-β-on ise yalnızca kontrol grubuna göre etkili bulundu. Kuyruk kaldırma testinde ise en yüksek aktiviteyi gösteren bileşik taraksasterol asetat olarak belirlendi. Bileşik aspirin ve kontrol gruplarına göre etkili bulunmasının yanında 90. dakikada morfinle eşit düzeyde; 30. ve 150. dakikalarda ise morfinden daha yüksek bir aktivite gösterdi. β-sitosterol ise aspirin ve kontrol grubuna göre etkili bulundu ancak morfin ile kıyaslandığında 30. dakikada çok küçük bir farkla daha etkili olduğu, 90. dakikada etkisinin düştüğü, 150. dakikada ise etkisinin yine bir miktar daha düşmesine karşın morfinden daha güçlü olduğu gözlendi. Motiol (fern-7-en-3-β-ol) ve taraksasterol miristatın da 30. ve 90. dakikalarda aspirin ve kontrol gruplarına göre daha etkili olduğu, 150. dakikada ise belirgin bir biçimde aktivitelerinin düştüğü gözlendi. Fern-7-en-3-β-on bileşiğinin kuyruk kaldırma test sonuçları incelendiğinde ise morfin ve aspirin referans gruplarının yanında kontrol grubuna göre de anlamlı sayılabilecek bir etkisinin bulunmadığı görüldü. Kıvranma testi günümüzde sıklıkla kullanılan, duyarlı ancak spesifiteden yoksun bir testtir. Bununla birlikte bu test ile meydana getirilen ağrı akut klinik ağrıya en çok benzerlik gösteren ağrıdır. Bu test majör ve minör analjezikler yanında analjezik aktiviteye sahip olmayan pekçok bileşiğe de yanıt vermektedir. Kısaca bu test ile sadece kuvvetli analjezikleri değil zayıf etkili analjezikleri ve ayrıca kas gevşeticiler, antispazmodik ilaçlar gibi doğrudan analjezik olarak kullanılmayan diğer bazı ilaçları da rahatlıkla tespit etmek mümkün olmaktadır. Buna karşılık kuyruk kaldırma testi analjezik aktivite ölçümünde daha spesifik olarak kuvvetli analjezik aktivite gösteren bileşiklere cevap veren bir testtir. Zayıf etkili analjezik ilaçları bu test ile tespit etmek pek mümkün olmamaktadır. Bulduğumuz sonuçları kuyruk kaldırma testinin seçiciliğini gözönüne alarak

değerlendirdiğimizde en etkili alt fraksiyon olarak tespit edilen 24-27. alt fraksiyonun aktivitesinden sorumlu başlıca iki bileşikten; taraksasterol asetat ve taraksasterol miristattan bahsedilebilir. Taraksasterol asetat bitkiler aleminde özellikle de Compositae familyası bitkilerinde (Dominguez ve ark., 1974; Herz ve Watanabe, 1983; Borges-Del-Castillo ve ark., 1984; Matsunaga ve ark., 1988; Sen ve ark., 1992; Elgamal ve ark., 1997; Khalilova ve ark., 2004) sıklıkla rastlanan bir triterpendir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda antispazmodik (Kırımer ve ark., 1995), antienflamatuar (Singh ve ark., 1991; Perez-Garcia ve ark., 2005), hepatite karşı koruyucu (Iijima ve ark., 1995) etkilerinin bulunduğu tespit edilmiştir. Palacios-Espinosa ve ark (2008) tarafından yapılan bir çalışmada ise *Brickellia veronicifolia* bitkisinden biyolojik aktiviteyle yönlendirilmiş fraksiyonlama ile taraksasterol asetat, güçlü analjezik aktiviteye sahip bir bileşik olarak izole edilmiştir. *Scorzonera* türlerinden ilk kez izole edilmiş olan taraksasterol miristat ve fern-7-en-3-β-on bileşikleri üzerinde ise yapılmış herhangi bir aktivite çalışmasına rastlanmamış olup bu çalışma ile ilk kez değerlendirilmişlerdir. Taraksasterol miristat yalnızca 3. konumunda taşıdığı uzun lipofilik yan zincir nedeniyle taraksasterol asetattan farklılık göstermektedir. Bu farklılık sonucunda bileşiğin aktivitesinin taraksasterol asetata kıyasla düştüğü, kıvranma testinde yalnızca kontrol grubuna göre anlamlı bir aktivite gösterdiği, kuyruk kaldırma testinde ise 30. ve 90. dakikalarda yine kontrol grubuna göre etkili bulunduğu ve aktivitesinin 150. dakikada düştüğü görülmektedir. Bu sonuca göre taraksasterol halkasının 3. konumunda yer alan fonksiyonlu grubun, antinosiseptif aktivite açısından önem taşıdığı düşünülmektedir.

Diğer fraksiyonlardan izole edilen bileşiklere bakıldığında ise her ikisinin de her iki aktivite testinde önemli derecelerde etkili bulunduğu ve dolayısıyla bitkinin antinosiseptif aktivitesine katkılarının olduğu görülmektedir. β-sitosterol bitkilerde en yaygın olarak bulunan, kolesterol düşürücü etkisinin yanında (Kritchevsky ve Chen, 2005), antienflamatuar, antineoplastik, antipiretik ve immunomodülatör etkileriyle dikkat çekmektedir (Bouic ve ark., 1999). Backhouse ve ark., (2008) tarafından yapılan bir çalışmada *Buddleja globosa* bitkisinin fitosterol fraksiyonunun ki içerisinde β-sitosterol de yer almaktadır, antienflamatuar ve analjezik etkili olduğu tespit edilmiştir. Villasenör ve ark., (2002) tarafından yapılan bir başka çalışmada

ise sıcak tabaka ve asetik asit nedenli kıvranma testlerinde β-sitosterol kuvvetli analjezik etkili bir bileşik olarak tespit edilmiştir ki bizim yaptığımız çalışma da bu çalışmaları desteklemektedir. Motiol (fern-7-en-3-β-ol) ise daha önce *Rhododendron linearifolium* var. *macrocephalum* (Kariyone ve ark., 1957) ve *Hibiscus cannabinus* (Seca ve ark., 2000) bitkilerinden izole edilmiş bir triterpendir ve üzerinde aktiviteye yönelik herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Yaptığımız bu çalışmada aktivite açısından ilk kez değerlendirilmiş ve kayda değer bir antinosiseptif aktivitesinin bulunduğu tespit edilmiştir. Ayrıca bitkiden fern-7-en-3-β-on bileşiğinin de izole edilmiş olması bize bu ana halkayı taşıyan iki bileşik üzerinde yapı-etki ilişkilerini inceleme olanağı vermektedir. Aktivite sonuçları incelendiğinde (**Çizelge 27** ve **Çizelge 31**) 3. konumunda –OH grubu taşıyan fern-7-en-3-β-ol (motiol) bileşiğinin hem asetik asit nedenli kıvranma testinde hem de kuyruk kaldırma testinde oldukça aktif bir bileşik olarak tespit edilmesine karşın, fern-7-en-3-β-on bileşiğinde hidroksil grubunun yerini keton grubunun almasıyla aktivitenin çok belirgin bir biçimde düşerek bileşiğin hemen hemen tamamen etkisiz hale gelmesi taraksasterol ana iskeletinde olduğu gibi 3. konumda yer alan fonksiyonlu grubun aktivite açısından ne denli önemli olduğunu vurgulamaktadır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yaptığımız bu çalışma ile ülkemizde halk arasında yakı halinde ağrı kesici olarak kullanılan *S. latifolia* köklerinden Biyolojik Aktiviteyle Yönlendirilmiş Fraksiyonlandırma (BAYF) ile beş bileşik izole edildi ve izole edilen bileşiklerin yapıları, taraksasterol miristat, taraksasterol asetat, fern-7-en-3-β-on, fern-7-en-3-β-ol ve β-sitosterol olarak belirlendi. Bu bileşiklerden taraksasterol asetat ve β-sitosterol daha önce *Scorzonera* türlerinden izole edilen bileşiklerdir ancak fern-7-en-3-β-on, fern-7-en-3-β-ol ve taraksasterol miristat bu cinsten ilk kez izole edilmiştir.

İzole edilen tüm bileşikler değişen derecelerde antinosiseptif aktivite göstermiştir. Böylelikle, bu çalışma ile *S. latifolia*'nın halk arasındaki kullanımı bilimsel olarak kanıtlanmıştır ve bu etkinin izole edilen bileşiklerin sinerjik etkisi sonucunda gerçekleştiği düşünülmektedir ki 24-27. alt fraksiyonun aktivitesinin bu fraksiyondan izole edilen üç bileşiğin; taraksasterol miristat, taraksasterol asetat, fern-7-en-3-β-on ayrı ayrı aktivitelerinden daha yüksek bulunması bunu kanıtlamaktadır. Ayrıca bitkinin n-hekzanlı ekstresinin diğer alt fraksiyonlarından elde edilen β-sitosterol ve fern-7-en-3-β-ol (motiol) bileşiklerinin de aktif bulunması bu bileşiklerin de bitkinin antinosiseptif aktivitesine katkılarının bulunduğunu göstermektedir.

Sonuç olarak *S. latifolia*'nın analjezik aktivitesinin içerdiği bileşiklerin sinerjik etkisinden kaynaklandığı, izole edilen bileşiklerin yanında izole edilmemiş diğer bileşiklerin de aktiviteye katkılarının olduğu düşünülmektedir. Daha net bir sonucun ortaya konabilmesi için diğer alt fraksiyonların da taşıdığı bileşiklerin izole edilerek antinosiseptif aktivitelerinin test edilmesi gerekmektedir. Bunun yanında taraksasterol asetatın her iki test sonucuna göre aktivitesinin oldukça yüksek bulunması ve daha önce başka araştırıcılar tarafından da benzer sonuçların elde edilmesi (Palacios-Espinosa ve ark., 2008) bu bileşik üzerinde araştırmalara devam edilerek başka yöntemlerin de denenmesi ve etki mekanizması üzerinde çalışılması ve tez çalışmamızda kullandığımız diğer bitkilerin de taraksasterol asetat içeriklerinin belirlenerek gösterdikleri antinosiseptif aktiviteyle bir ilişkisinin olup olmadığının

araştırılmasının da yine bitkinin analjezik aktivitesinin gerçekte hangi bileşiklerden kaynaklandığı konusunda oldukça aydınlatıcı olacağı düşünülmektedir.

Ayrıca taraksasterol asetat ile taraksasterol miristat ve fern-7-en-3-β-ol ile fern-7-en-3-β-on bileşikleri arasındaki aktivite farklılıklarının anlamlı bulunması, bu bileşikler üzerinde yapı etki çalışmalarının gerekliliğini vurgulamaktadır. Değişik türevlerinin incelenerek aktivite açısından incelenmelerinin, daha etkili bileşiklere ulaşmada yararlı olabileceği düşünülmektedir.

ÖZET

Türkiye'de Yetişen Bazı *Scozronera* L. Türleri Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar

Yaptığımız bu tez çalışması ile ülkemizde çok sayıda türü yetişmekte olan gerek sebze olarak gerekse değişik tıbbi amaçlarla halk arasında kullanıma sahip olan *Scorzonera* cinsi üzerinde Biyolojik Aktiviteyle Yönlendirilmiş Fraksiyonlama (BAYF) tekniği kullanılarak farmakognozik bir araştırma gerçekleştirilmiştir.

Halk arasındaki kullanımlarına dayanarak belirlenen dört *Scorzonera* türü; *S. latifolia*, *S. mollis* ssp. *szowitzii*, *S. suberosa* ssp. *suberosa*, *S. tomentosa* öncelikle antinosiseptif aktiviteleri açısından, asetik asit-nedenli kıvranma testi ve kuyruk kaldırma testleri kullanılarak kıyaslandı ve en yüksek aktiviteyi gösteren tür belirlendi. Halk arasında yakı halinde ağrı kesici etkisinden dolayı kullanılan *S. latifolia* antinosiseptif aktivitesi en yüksek tür olarak tespit edildi. Daha sonra *S. latifolia* kök ekstresi sıvı-sıvı ekstraksiyon metodu kullanılarak sırasıyla n-hekzan, kloroform, etilasetat, n-bütanol ile ekstre edildi. Kalan sulu fraksiyon ile birlikte toplam beş fraksiyon elde edildi ve antinosiseptif aktiviteleri test edildi. n-Hekzanlı ekstre en yüksek aktiviteyi gösteren fraksiyon olarak belirlendi ve silikajel üzerinde kolon kromatografisiyle alt fraksiyonlara ayrıldı. Elde edilen alt fraksiyonlar da antinosiseptif aktiviteleri için test edildiler ve 24-27. alt fraksiyon en etkili alt fraksiyon olarak tespit edildi. Bu alt fraksiyondan üç madde izole edildi ve yapıları spektral verilere (MS, 1D ve 2D NMR) ve fiziksel özelliklere (erime noktası, optik çevirme derecesi) bakılarak taraksasterol miristat, taraksasterol asetat, fern-7-en-3-β-on olarak belirlendi. Ayrıca yüksek aktivite gösteren diğer iki alt fraksiyon 34-44 ve 54-67'den de birer bileşik izole edildi ve yapıları sırasıyla fern-7-en-3-β-ol (motiol) ve β-sitosterol olarak aydınlatıldı.

Antinosiseptif aktivite test sonuçları incelendiğinde tüm bileşiklerin değişen derecelerde aktivite gösterdiklerini, dolayısıyla *S. latifolia*'nın aktivitesinden tek bir

bileşiğin ya da bazı bileşiklerin sorumlu olmadığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte kuyruk kaldırma test sonuçlarına göre taraksasterol asetat, asetik asit-nedenli kıvranma test sonuçlarına göre ise β-sitosterolün en yüksek aktiviteyi göstermiş, bunlara karşılık etkili fraksiyondan izole edilen fern-7-en-3-β-on bileşiğinin ise her iki test sonucuna göre hemen hemen tamamen etkisiz olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar Sözcükler: Asteraceae, *Scorzonera*, *Scorzonera latifolia*, Kıvranma Testi, Kuyruk Kaldırma Testi

SUMMARY

Pharmacognostical Studies on some *Scorzonera* L. Species Growing in Turkey

In this study, we performed a pharmacognostical study by using bioassay guided fractionation on *Scorzonera* species which have some traditional usage in Turkish folk medicine and used as a vegetable.

Firstly four *Scorzonera* species; *S. latifolia*, *S. mollis* ssp. *szowitzii*, *S. suberosa* ssp. *suberosa*, *S. tomentosa* were tested for their antinociceptive activity by using acetic acid-induced writhing test and tail-flick test. *S. latifolia* which is used as an analgesic in Turkish folk medicine was found to be the most active species. Methanolic axtract of *S. latifolia* roots were subjected to liquid-liquid extraction with n-hexane, chloroform, ethylacetate and n-butanol respectively. With the remain water extract we obtained five fraction. All of these fractions were tested for their antinociceptive activities. n-Hexane fraction which showed the most potent activity was separated to subfractions on silicagel with column chromatography. On the last step of our study we isolated three compounds; taraxasteryl myristic acid ester, taraxasteryl acetate and fern-7-en-3-β-one from the 24-27. subfraction was established the more active than the other subfractions. Moreover fern-7-en-3-β-ol and β-sitosterol were isolated from the subfraction 34-44 and 54-67 respectively which were also found to be active in antinociceptive activity test models. Structures of the isolated compounds were elucidated using spectroscopic methods (MS, 1D and 2D NMR) and physical methods (melting point and optical rotation).

All of the isolated compounds showed the antinociceptive activity in different proportion. In this respect antinociceptive activity of *S. latifolia* can be attributed to synergic effect of the all compounds which *S. latifolia* contain. However taraxasteryl acetate and β-sitosterol were found to be the most active compounds in the tail-flick test and acetic acid-induced writhing test respectively. Also fern-7-en-3-β-one which

was isolated from the most active subfraction 24-27, was determined as almost nearly inactive compound.

Key Words: Asteraceae, *Scorzonera*, *Scorzonera latifolia*, Writhing Test, Tail-Flick Test

5. KAYNAKLAR

ARICIOĞLU, F., (2007). Ağrı Araştırmalarında Kullanılan Hayvan Modelleri. *Klinik Gelişim*, **20** (3): 28-36.

AYDIN, O.N., (2002). Ağrı ve Ağrı mekanizmalarına Güncel Bakış. *Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, **3**(2): 37-48.

BACKHOUSE, N., ROSALES, L., APABLAZA, C., GOÏTY, L., ERAZO, S., NEGRETE, R., THEODOLUZ, C., RODRÍGUEZ, J., DELPORTE, C. (2008). Analgesic, anti-inflammatory and antioxidant properties of Buddleja globosa, Buddlejaceae. *Journal of Ethnopharmacology*, **116**(2): 263-269.

BAYTOP, T., (1999). Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi. Ankara:Nobel Tıp Kitabevleri, p.:236-237.

BAYTOP, A., (1996). Farmasötik Botanik Ders Kitabı. İstanbul: İstanbul Üniversitesi Basımevi, p.:255-260.

BOHM, B.A., STUESSY, T.F., (2001). Flavonoids of the Sunflower Family (Asteraceae). Viyana: Springer-Verlag, p.:336.

BORGES-DEL-CASTILLO, J., VAZQUEZ-BUENO, P., SECUNDINO-LUCAS, M., MARTINEZ-MARTIR, A.I., JOSEPH-NATHAN, P., (1984). The *N*-2-phenylethylcinnamamide from *Spilanthes ocymifolia*. *Phytochemistry*, **23**(11):2671-2672.

BOUIC, P.J.D., LAMPRECHT, J.H., (1999). Plant Sterols and Sterolins: A Review of Their Immune-Modulating Properties. *Alternative Medicine Review*, **4**(3): 170-177.

BRYANSKII, O.V., TOLSTIKHINA, V.V., SEMENOV, A.A. (1992). Syringaresinol Glycosides from a Tissue Culture of *Scorzonera hispanica*. *Khimiya Prirodnykh Soedinenii*, **5**:591-592.

BRYANSKII, O.V., TOLSTIKHINA, V.V., ZINCHENKO, S.V., SEMENOV, A.A. (1992). A Sesquiterpene Glucoside from Cultivated Cells. *Khimiya Prirodnykh Soedinenii*, **6**: 640-645.

CHAMBERLAIN, D.F., (1975). *Scorzonera* L. In: DAVIS, P.H. (Ed.) Flora of Turkey and The East Aegean Islands. Vol. 5. Edinburgh: University Press, p.: 632-657.

ÇAKMAK, M., (2007). Abdominal Histerektomi Operasyonunda Fasya Altına veya Üstüne Uygulanan Bupivakainin Postoperatif Analjezik Etkinliğinin Karşılaştırılması. Uzmanlık Tezi, Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İzmir.

D'AMOUR, F.E., & SMITH, D.L. (1941). A method for determinig loss of pain sensation. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **72**: 74-79.

DOMINGUEZ, X.A., AMPARO GONZALEZ, M., ZAMUDIO, A., GARZA, A., (1974). Taraxasterol from *Stevia berlandieri* and *Cirsium texanum*. *Phytochemistry*, **13**(9):2001.

DOUGLAS, J., (2001). *Scorzonera hispanica*- a European vegetable. [http://www.crop.cri.nz/home/products-services/publications/broadsheets/ 028scorzonera. pdf], Erişim tarihi: 10.10.2005.

DURAN, A., HAMZAOĞLU, E., (2004). A new species of *Scorzonera* (Asteraceae) from South Anatolia, Turkey. *Biologi, Bratislava*, **59**(1): 47-50.

DURMAZ, B., (1998). Ağrı Mekanizmaları. *Türkiye Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Dergisi*, **44**(Özel sayı 2).

ELGAMAL, M.H.A., OUF, S.A., HANNA, A.G., YASSIN, F.Y., (1997). Phytochemical and Mycological Investigation of *Artemisia monosperma*. *Folia Microbiologica*, **42**(3):203-210.

ERDİNE, S., (2007a). Ağrı ve Analjezikler. Ankara: Fersa Matbaacılık.

ERDİNE, S., (2007b). Ağrı mekanizmaları. *Klinik Gelişim*, **20** (3): 7-17.

ERTÜRK, Ö., DEMİRBAĞ, Z. (2003). *Scorzonera mollis* Bieb. (Compositae) Bitkisinin Antimikrobiyal Aktivitesi. *Ekoloji Çevre Dergisi*, **47**(12): 27-31.

FUJİTA, T., SEZİK, E., TABATA, M., YEŞİLADA, E., HONDA, G., TAKEDA, Y., TANAKA, T. ve TAKAİSHİ, Y. (1995). Traditional Medicine in Turkey VII. Folk Medicine in the Middle and West Black Sea Regions. *Economic Botany*, **49**(4): 406-422.

GAGNIER, J.J., VAN JULDER, M.W., BERMAN, B., BOMBARDIER, C. (2007). Herbal Medicine For Low Back Pain: A Cachrone Review. *Spine*, **32**(1): 82-92.

GÜNER, A., ÖZHATAY, N., EKİM, T., BAŞER, K.H.C. (2000). Flora of Turkey and The East Aegean Islands. Supplement 2. Edinburgh: University Press, p.: 167.

GÜZELDEMİR, M.E., (2008). Ağrı Tanımı ve Tedavisinde Genel Prensipler. Erişim: [http://www.gata.edu.tr/cerrahibilimler/anestezi/metin/a%C4%9Fr%C4%B1%20tan%C4%B1m%C4%B1%20ve%20tedavisinde%20genel%20prensipler.doc]. Erişim Tarihi: 09.03.2008.

HEINRICH, M., BARNES, J., GIBBONS, S., WILLIAMSON, E.M., (2004). Fundamentals of Pharmacognosy and Phytotheraphy. London: Churchill Livingstone Elsevier Science Limited, p.: 262-267.

HERZ, W., WATANABE, K., (1983). Sesquiterpene alcohols and triterpenoids from *Liatris microcephala*. *Phytochemistry,* **22**(6):1457-1459.

HINTS, G., (1994). SCORZONERA, SALSIFY, AND CELTUCE. *Mother Earth News*, **146**: 22.

HONDA, G., YEŞİLADA, E., TABATA, M., SEZİK, E., FUJİTA, T., TAKEDA, Y., TAKAİSHİ, Y. ve TANAKA, T. (1996). Traditional Medicine in Turkey VI. Folk medicine in West Anatolia: Afyon, Kütahya, Denizli, Muğla, Aydın Provinces. *Journal of Ethnopharmacology*, **53**: 75-87.

HUNSKAAR, S., FASMER, O.B., & HOLE, K. (1985). Formalin test in mice, a useful technique for evaluating mild analgesics. *Journal of Neuroscience Methods* **14**: 69-76.

IIJIMA, K., KIYOHARA, H., TANAKA, M., MATSUMOTO, T., CYONG, J., YAMADA, H., (1994). Preventive Effect of Taraxasteryl Acetate from *Inula britannica* subsp. *Japonica* on Experimental Hepatitis *in vivo*. *Planta Medica*, **61**: 50-53.

INTEGRATIVE PAIN MEDICINE, (2009). Pain Management, Herbal Medicine. Erişim:[http://www.healingchronicpain.org/content/introduction/comp_herbal. asp]. Erişim Tarihi: 01.07.2009.

IŞIK, G., (2008). Ağrı Fizyolojisi. Erişim: [http://lokman.cu.edu.tr/anestezi/ anestezinot/agri.htm]. Erişim Tarihi: 09.03.2008.

JIANG, T.F., WANG, Y.H., LV, Z.H., YUE, M. (2007). Determination of Kava Lactones and Flavonoid Glycoside in *Scorzonera austriaca* by capillary zone electrophoresis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **43**(3): 854-858.

KARIYONE, T., HASHIMOTO, Y., TOBINAGA, S., (1957). Triterpenoids. IX.* The Chemical Constituent of Bird Lime Exracted from *Rhododendron linearifolium* SIEB. ET ZUCC. var. *macrosepalum* MAKINO. *Journal of Pharmaceutical Society of Japan*, **5**(4): 369-370.

KAYAALP, O., (1998). Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. Ankara: Hacettepe Taş Kitabevi, p.: 981-1003.

KHALILOVA, A.Z., LITVINOV, I.A., BESKROVNYI, D.V., GUBAIDULLIN, A.T., SHAKUROVA, E.R., NURIEV, I.R., KHALILOV, L.M., DZHEMILEV, U.M., (2004). Isolation and Crystal Structura of Taraxasteryl Acetate from *Onopordum acanthium*. *Chemistry of Natural Compounds*, **40**(3):254-257.

KHOBRAKOVA, V.B., NIKOLAEV, S.M., TOLSTIKHINA, V.V., SEMENOV, A.A., (2003). Immunomodulating Properties of Lignan Glucoside from Cultivated Cells of *Scorzonera hispanica*. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, **37**(7): 10-11.

KIRIMER, N., TUNALIER, Z., BAŞER, K.H.C., CİNGİ, İ., (1997). Antispazmodik and Spasmogenic Effects of *Scolymus hispanicus* and Taraxasteryl Acetaet on Isolated Ileum Preparations. *Planta Medica*, **63**:556-558.

KOSTER, R., ANDERSON, M., & DE BEER., E.J. (1959). Acetic acid for analgesic screening. *Federation Proceedings*, **18**:412-416.

KRITCHEVSKY, D., CHEN, S.C., (2005). Phytosterols-health benefits and potential concerns: a review. *Nutrition Research*, **25**: 413-428.

LE BARS, D., GOZARIU, M., CADDEN, S.W., (2001). Animal Models of Nociception. *Pharmacological Reviews*, **53**(4): 597-652.

LI, J., WU, Q.X., SHI, Y.P., ZHU, Y. (2004). A new Sesquiterpene Lactone from *Scorzonera austriaca*. *Chinese Chemical Letters*, **15**(11): 1309-1310.

MA, C., NAKAMURA, N., MIYASHIRO, H., HATTORI, M., KOMATSU, K., KAWAHATA, T., OTAKE, T., (2002). Screening of Chinese and Mongolian Herbal Drugs for Anti-human Immunodeficiency Virus Type 1 (HIV-1) Activity. *Phytotheraphy Research*, **16**:186-189.

MACLEOD, G., AMES, J.M., (1991). Gas Chromatography-Mass Spectrometry of the Volatile Components of Cooked Scorzonera. *Phytochemistry*., **30**(3): 883-888.

MARCHENKO, M.M., KOPYL'CHUK, H.P., HRYGOR'IEVA, O.V., (2000). Activity of Cytoplasmic Proteinases from Rat Liver in Heren's Carcinoma During Tumor Growth and Treatment with Medicinal Herbs. *Ukr. Biokhim. Zh.*, **72**(3):91-94.

MATSUMOTO, K., IHORIE, S., ISHIKAVA, H., TAKAYAMA, H., NORIO, A., PONGLUX, D., & WATANABE, K. (2004). Antinociceptive effect of 7-hydroxymitragynine in mice: discovery of an orally active opioid analgesic from the Thai medicinal herb *Mitragyna speciosa*. *Life Sciences*, **74**: 2143-2155.

MATSUNAGA, S., TANAKA, R., AKAGI, M., (1988). Triterpenoids from *Euphorbia maculata*. *Phytochemistry*, **27**(2):535-537.

MENICHINI, F., STATTI, G., (1994). Flavonoid Glycosides from *Scorzonera columnae*. *Fitoterapia*, **65**(6): 555-556.

ÖKSÜZ, S., GÖREN, N., ULUBELEN, A. (1990). Terpenoids from *Scorzonera tomentosa*. *Fitoterapia*, **61**(1): 92-93.

ÖZHATAY, N., KÜLTÜR, Ş., (2006). Check-List of Additional Taxa to the Supplement Flora of Turkey III. *Turkish Journal of Botany*, **30**: 281-316.

PALACIOS-ESPINOSA, F., DECIGA-CAMPOS, M., MATA, R., (2008). Antinociceptive, hypoglycemic and spasmolytic effects of Ibrickellia veronicifolia. *Journal of Ethnopharmacology*, **118**: 448-454.

PARASCHOS, S., MAGIATIS, P., KALPOUTZAKIS, E., HARVALA, C., SKALTSOUNIS, A.L., (2001). Tree New Dihydroisocoumarins from the Greek Endemic Species *Scorzonera cretica*. *Journal of Natural Products*, **64**: 1585-1587.

PARIMALA, DEVI, B., BOOMINATHAN, R., & MANDAL, C. (2003). Anti-inflammatory, analgesic and antipyretic properties of *Clitoria ternatea* root. *Fitoterapia*, **74**: 345-349.

PEREZ-GARCIA, F., MARIN, E., PARELLA, T., ADZET, T., CANIGUERAL, S., (2005). Activity of taraxasteryl acetate on inflammation and heat shock protein synthesis. *Phytomedicine*, **12**:278-284.

SARI, A., ZIDORN, C., ELLMERER, E.P., ÖZGÖKÇE, F., ONGANIA, K.H., STUPPNER, H. (2007). Phenolic Compounds from *Scorzonera tomentosa* L. *Helvetica Chimica Acta*, **90**: 311-317.

SECA, A.M.L., SILVA, A.M.S., SILVESTRE, A.J.D., CAVALEIRO, J.A.S., DOMINGUES, F.M.J., NETO, C.P., (2000). Chemical Composition of the Light Petroleum Extract of *Hibiscus cannabinus* Bark and Core. *Phytochemical Analysis*, **11**: 345-350.

SEN, S., SAHU, N. P., MAHATO, S.B., (1992). Flavonol glycosides from *Calotropis gigantea*. *Phytochemistry*, **31**(8):2919-2921.

SEZİK, E., ZOR, M. ve YEŞİLADA, E. (1992). Traditional Medicine in Turkey II. Folk Medicine in Kastamonu. *International Journal of Pharmacognosy*, **30**(3): 233-239.

SEZİK, E., YEŞİLADA, E., TABATA, M., HONDA, G., TAKAISHI, Y., FUJITA, T., TANAKA, T. ve TAKEDA, Y. (1997). Traditional Medicine in Turkey VIII. Folk Medicine in East Anatolia; Erzurum, Erzincan, Ağrı, Kars, Iğdır Provinces. *Economic Botany*, **51**(3): 195-211.

SEZİK, E., YEŞİLADA, E., HONDA, G., TAKAISHI, Y., TAKEDA, Y. ve TANAKA, T. (2001). Traditional Medicine in Turkey X. Folk medicine in Central Anatolia. *Journal of Ethnopharmacology*, **75**: 95-115.

SINGH, B., RAM, S.N., PANDEY, V.B., JOSHI, V.K., GAMBHIR, S.S., (1991). Studies on Antiinflammatory Activity of Taraxasterol Acetate from *Echinops echinatus* in Rats and Mice. *Phytotherapy Research*, **5**:103-106.

STEPHENS, J. M., (2005). *Scorzonera, Scorzonera hispanica* L. Erişim: [http://edis.ifas.uf/.edu/MV13]. Erişim Tarihi: 30.11.2005.

ŞİMŞEK, I., AYTEKİN, F., YEŞİLADA, E., YILDIRIMLI, Ş., (2002). Anadolu'da Halk Arasında Bitkilerin Kullanılış Amaçları Üzerinde Etnobotanik Bir Çalışma. 14. Bitkisel İlaç hammaddeleri Toplantısı, Eskişehir.

TANKER, N., KOYUNCU, M., COŞKUN, M., (2004). Farmasötik Botanik. Ankara: Ankara Üniversitesi Basımevi, p.: 319-326.

TOLSTIKHINA, V.V., SEMENOV, A.A., USHAKOV, I.A. (1999). Minor Furofuranoid Lignans from Cultivated Cells of *Scorzonera hispanica*. *Rastitel'nye Resursy*, **35**(1): 87-90.

TOLSTIKHINA, V.V., SEMENOV, A.A., (1998). Minor Metabolites of *Scorzonera hispanica* Cell Culture. *Rastitel'nye Resursy*, **34**(2): 77-80.

TSEVEGSUREN, N., EDRADA, R.A., LIN, W., EBEL, R., TORRE, C., ORTLEPP, S., WRAY, V., PROKSCH, P. (2007). Biologically Active Natural Products from Mongolian Medicinal Plants *Scorzonera divaricata* and *Scorzonera pseudodivaricata*. *Journal of Natural Products*, **70**: 962-967.

TURAN, M., KORDALİ, S., ZENGİN, H., DURSUN, A., SEZEN, Y., (2003). Macro and Micro Mineral Content of Some Wild Edible Leaves Consumed in Eastern Anatolia. *Soil and Plant Sci.*, **53**: 129-137.

ÜNAL, O., GÖKTÜRK, R.S. (2003). A new Species of *Scorzonera* L. (Asteraceae) from South Anatolia, Turkey. *Botanical Journal of the Linnean Society*, **142**:465-468.

VILLASENOR, I.M., ANGELADA, J., CANLAS, A.P., ECHEGOYEN, D., (2002). Bioactivity Studies on β-Sitosterol and its Glucoside. *Phytotheraphy Research*, **16**: 417-421.

WANG, B., LI, G.Q., QUI, P.J., GUAN, H.S. (2007). Two New Olean-type Triterpene Fatty Esters from *Scorzonera mongolica*. *Chinese Chemical Letters*, **18**: 708-710.

WANG, Y., EDRADA-EBEL, R.A., TSEVEGSUREN, N., SENDKER, J., BRAUN, M., WRAY, V., LIN, W., PROKSCH, P., (Basımda). Dihydrostilbene Derivatives from the Mongolian Medicinal Plant *Scorzonera radiata*. *Journal of Natural Products*.

Wikipedia, (2008). Asteraceae. Erişim: [http://en.wikipedia.org/wiki/Asteraceae]. Erişim Tarihi: 30.12.2008.

YEŞİLADA, E., HONDA, G., SEZİK, E., TABATA, M., GOTO, K. ve IKESHIRO, Y. (1993). Traditional Medicine in Turkey IV. Folk Medicine in the Mediterraneaen subdivision. *Journal of Ethnopharmacology*, **39**: 31-38.

YEŞİLADA, E., HONDA, G., SEZİK, E., TABATA, M., FUJITA, T., TANAKA, T., TAKEDA, Y. ve TAKAİSHİ, Y. (1995). Traditional Medicine in Turkey V. Folk Medicine in the inner Taurus Mountains. *Journal of Ethnopharmacology*, **46**: 133-152.

YEŞİLADA, E., SEZİK, E., HONDA, G., TAKAISHI, Y., TAKEDA, Y. ve TANAKA, T. (1999). Traditional Medicine in Turkey IX. Folk Medicine in north-west Anatolia. *Journal of Ethnopharmacology*, **64**: 195-210.

YILDIRIMLI, Ş. (1986). Munzur Dağlarının Tıbbi ve Endüstriyel Bitkileri. *Fırat Havzası Tıbbi ve Endüstriyel Bitkileri Sempozyumu*, Elazığ, Türkiye.

ZEYBEK, N., (1985). Farmasötik Botanik. İzmir: Ege Üniversitesi Basımevi, p.: 337-348.

ZHU, Y., WU, Q., HU, P., WU, W., (2009). Biguaiascorzolides A and B: Two novel dimeric guaianolides with a rare skeleton, from *Scorzonera austriaca*. *Food Chemistry*, **114**: 1316-1320.

ZIDORN, C., ELLMERER-MÜLLER, E.P., STUPPNER, H., (2000a). Sesquiterpenoids from *Scorzonera hispanica* L. *Pharmazie*, **55**:550-551.

ZIDORN, C., ELLMERER-MÜLLER, E.P., STUPPNER, H., (2000b). Tyrolobibenzyls-Novel Secondary Metabolites from *Scorzonera humilis* L. *Helvetica Chimica Acta*, **83**: 2920-2925.

ZIDORN, C., SPITALER, R., ELLMERER-MÜLLER, E.P., PERRY, N.B., GERHAUSER, C., STUPPNER, H., (2002). Structure of tyrolobibenzyl D and biological activity of tyrolobibenzyls from *Scorzonera humilis* L. *Z. Naturforsch*, **57**(7-8):614-619.

ZIDORN, C., ELLMERER, E.P., STURM, S., STUPPNER, H., (2003). Tyrolobibenzyls E and F from *Scorzonera humilis* and distribution of caffeic acid derivatives, lignans and tyrolobibenzyls in European taxa of the subtribe Scorzonerinae (Lactuceae, Asteraceae). *Phytochemistry*, **63**: 61-67.

ÖZGEÇMİŞ

1978 yılında Ankara'da doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Ankara'da tamamladım. 1996 yılında Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nde eczacılık öğrenimime başladım ve 2000 yılında mezun oldum. Aynı yıl Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı'nda yüksek lisansa başladım. Şubat 2001 yılında Farmakognozi Anabilim Dalına araştırma görevlisi olarak atandım. Yüksek lisansımı 2003 yılında tamamlayarak doktora eğitimime başladım. Doktora çalışmam sırasında tezimin bir kısmını Ankara Üniversitesi Erasmus programından yararlanarak 3 ay gittiğim Çek Cumhuriyeti Brno Veterinerlik ve Eczacılık Üniversitesi'nde tamamladım. Halen Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı'nda araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım.