





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

**POLİKİSTİK OVER SENDROMUNDA  
YAYGIN OLARAK KULLANILAN BAZI  
BİTKİLERİN ANTİOKSİDAN  
SEVİYELERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**NURAN NESLİNUR TÜRKAN**

**TEZ DANIŞMANI  
PROF. DR. MAHFUZ ELMATAŞ**

**GELENEKSEL VE TAMAMLAYICI TIP ANA BİLİM DALI  
GELENEKSEL VE TAMAMLAYICI TIP YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ  
OCAK/2022**

## BEYAN

Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Hamidiye Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Mevcut tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu,
- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Mevcut tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı, bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Nuran Neslinur Türkan

## TEŞEKKÜR

Başta yüksek lisans tezimin başlangıcından sonuna kadar asla beni yarı yolda bırakmayarak, her daim bana ve labaratuvar ekibimize tam destek veren anneme, devamlı kendimi aşmam için beni çeşitli duygularla besleyen babama ve bizlerden vazgeçmeyerek her zaman yanımda olarak sahip olduğu ilim ile yolumuzu aydınlatmış olan değerli hocam sayın Prof. Dr. Mahfuz ELMASTAŞ'a büyük sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.



## İÇİNDEKİLER

|                                                                                           |      |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| TEŞEKKÜR.....                                                                             | iv   |
| İÇİNDEKİLER .....                                                                         | v    |
| TABLolar LİSTESİ.....                                                                     | vii  |
| ŞEKİLLER LİSTESİ .....                                                                    | viii |
| SİMGELER VE KISALTMALAR .....                                                             | ix   |
| ÖZET .....                                                                                | x    |
| ABSTRACT.....                                                                             | xii  |
| 1. GİRİŞ VE AMAÇ.....                                                                     | 14   |
| 2. GENEL BİLGİLER .....                                                                   | 17   |
| 2.1. POLİKİSTİK OVER SENDROMU .....                                                       | 17   |
| 2.2. SAĞLIK VE ANTİOKSİDAN İLİŞKİSİ.....                                                  | 19   |
| 2.3. POLİKİSTİK OVER SENDROMU OKSİDAN VE ANTİOKSİDAN İLİŞKİSİ .....                       | 20   |
| 2.4. ANTİOKSİDAN ETKİ MEKANİZMASI.....                                                    | 20   |
| 2.4.1. Oksidatif Stres .....                                                              | 21   |
| 2.4.2. Antioksidan Savunma Sistemleri .....                                               | 22   |
| 2.4.3. Antioksidan Ölçüm Yöntemleri .....                                                 | 23   |
| 2.5. ÇALIŞMADA KULLANILAN TIBBİ BİTKİLER .....                                            | 25   |
| 2.5.1. Melek Otu ( <i>Angelica sinensis</i> ) .....                                       | 25   |
| 2.5.2. Aslan Pençesi ( <i>Alchemilla alpina</i> ) .....                                   | 26   |
| 2.5.3. Hayıt Otu ( <i>Vitex agnus-castus</i> ) Tohumu .....                               | 27   |
| 2.5.4. Civan Perçemi ( <i>Achillea millefolium</i> ) .....                                | 28   |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEM.....                                                                   | 31   |
| 3.1. BİTKİ MATERYALI.....                                                                 | 31   |
| 3.2. KULLANILAN KİMYASAL MADDELER.....                                                    | 31   |
| 3.3. KULLANILAN CİHAZLAR.....                                                             | 31   |
| 3.4. EKSTRELERİN HAZIRLANMASI .....                                                       | 32   |
| 3.5. ANTİOKSİDAN AKTİVİTE ANALİZLERİ.....                                                 | 32   |
| 3.5.1. Demir (III) İyon İndirgeyici Gücü Antioksidan Aktivitesi (FRAP).....               | 33   |
| 3.5.2. Bakır (II) İyon İndirgeme Esaslı Antioksidan Kapasite (CUPRAC) .....               | 33   |
| 3.5.3. 2,2-Difenyl-1-pikrilhidrazil (DPPH') Radikal Giderme Aktivitesi .....              | 34   |
| 3.5.4. 2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS <sup>•+</sup> )..... | 35   |
| 4. BULGULAR.....                                                                          | 36   |

|                                                                                                                 |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 4.1. EKSTRAKSİYON VERİMLERİ.....                                                                                | 33 |
| 4.2. DEMİR (III) İYON İNDİRGEYİCİ GÜCÜ ANTİOKSİDAN AKTİVİTE<br>BULGULARI.....                                   | 33 |
| 4.3. BAKIR (II) İYON İNDİRGEME (CUPRAC) ESASLI ANTİOKSİDAN<br>KAPASİTE BULGULARI.....                           | 38 |
| 4.4. 2,2-DİFENİL-1-PİKRİLHİDRAZİL (DPPH <sup>•</sup> ) RADİKAL GİDERME<br>AKTİVİTE BULGULARI.....               | 40 |
| 4.5. 2,2'-AZİNO-BİS (3-ETHYLBENZOTHIASOLİNE-6-SULFONİC ACİD)<br>KATYON RADİKALİ GİDERME AKTİVİTE BULGULARI..... | 42 |
| 5. TARTIŞMA.....                                                                                                | 44 |
| 6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....                                                                                    | 47 |
| KAYNAKLAR.....                                                                                                  | 50 |
| EKLER.....                                                                                                      | 54 |

## TABLÖLAR LİSTESİ

|                                                                                                          |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tablo 4.1:</b> Bitki ve karışımlarının ham ekstre verimleri(%).....                                   | 36 |
| <b>Tablo 4.2:</b> Demir (Fe+3) indirgeme gücü aktivitesi (μmol Fe+2 Eşdeğer/g Ekstre).....               | 37 |
| <b>Tablo 4.3:</b> Bakır (II) iyon indirgeme esaslı antioksidan aktivitesi (μmol TE/g Ekstre) .....       | 39 |
| <b>Tablo 4.4:</b> DPPH <sup>•</sup> serbest radikali giderme aktivite bulguları (IC <sub>50</sub> )..... | 41 |
| <b>Tablo 4.5:</b> ABTS <sup>•+</sup> katyon radikali giderme aktivite bulguları (μg/mL) .....            | 43 |



## ŞEKİLLER LİSTESİ

|                                                                                                                   |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 2.1: Fenolik bileşiklerin serbest radikallerin giderilme reaksiyon mekanizması.....                         | 24 |
| Şekil 4.1: Demir (III) iyon indirgeme gücü kalibrasyon grafiği (FRAP analizi).....                                | 37 |
| Şekil 4.2: Demir ( $\text{Fe}^{+3}$ ) indirgeme gücü aktivitesi ( $\mu\text{mol Fe}^{+2}$ eşdeğer/g ekstre) ..... | 38 |
| Şekil 4.3: Troloks standardının kalibrasyon grafiği (CUPRAC analizi).....                                         | 39 |
| Şekil 4.4: Bakır (II) iyon indirgeme gücü antioksidan aktivitesi ( $\mu\text{mol TE/g}$ ekstre) .....             | 40 |
| Şekil 4.5: DPPH $^{\bullet}$ serbest radikali giderme aktivite bulguları ( $\mu\text{g/mL}$ ).....                | 41 |
| Şekil 4.6: ABTS $^{+}$ katyon radikali giderme aktivite bulguları ( $\mu\text{g/mL}$ ).....                       | 43 |

## SİMGELER VE KISALTMALAR

|                        |                                                                                                                                                                    |
|------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>A</b>               | : Absorbans                                                                                                                                                        |
| <b>ABTS</b>            | : 2,2'-Azino-bis (3-Etilbenztiyazolin-6-sülfonik asit)                                                                                                             |
| <b>AE</b>              | : Antiradikal verimlilik                                                                                                                                           |
| <b>CUPRAC</b>          | : Bakır iyonu indirgeme gücü antioksidan kapasite                                                                                                                  |
| <b>DMSO</b>            | : Dimethyl sulphoxye                                                                                                                                               |
| <b>DPPH</b>            | : 1, 1-Difenil-2-pikril-hidrazil                                                                                                                                   |
| <b>FRAP</b>            | : Demir (III) iyon indirgeme güç antioksidan aktivite                                                                                                              |
| <b>Karışım X</b>       | : X markasına ait ticari olarak üretilen ruhsatlı ürün. Etiketinde; hayıt out tohumu, civan perçemi, aslan pençesi ve melek otu içerdiği karışım                   |
| <b>Karışım (2,5x4)</b> | : 2,5 gram hayıt out tohumu, 2,5 gram civan perçemi, 2,5 gram aslan pençesi ve 2,5gram melek otu içeren tarafımızca hazırlanan ve aktivite analizi yapılan karışım |
| <b>PKOS</b>            | : Polikistik over sendromu                                                                                                                                         |
| <b>TEAC</b>            | : Trolox eşdeğer antioksidan kapasite                                                                                                                              |
| <b>TPTZ</b>            | : 2,4,6 Tris(2-pyridyl)-s-triazin                                                                                                                                  |
| <b>UV</b>              | : Ultra viyole                                                                                                                                                     |
| <b>UV-VIS</b>          | : Ultra viyole-görünür bölge                                                                                                                                       |

# POLİKİSTİK OVER SENDROMUNDA YAYGIN OLARAK KULLANILAN BAZI BİTKİLERİN ANTİOKSİDAN SEVİYELERİNİN ARAŞTIRILMASI

## ÖZET

**Amaç:** Bitkilerin tedavi amaçlı kullanımı insanlık tarihi ile başlar. Çağımızda bilimsel araştırma süzgecinden geçirilen tıbbi bitkilerin, bilinenden daha çok faydalı ve hastalıkların tedavisinde kullanılabileceği anlaşılmıştır. Bu nedenle de günümüzde bitkilerle tedavi “fitoterapi” adıyla bilinen bilim dalı haline gelmiştir. Yüzyıllardır tedavi amaçlı uygulamalarda fitoterapi halk arasında giderek çeşitliliğe ve değişikliklere uğrayarak daha yararlı hale getirme çabaları artmıştır. Halk arasında polikistik over sendromunu (PKOS) tedavi etmek amacı ile birçok bitkiden yararlanılmaktadır. Birçok hastalığın tetikleyicisi olarak bilinen oksidan madde ve serbest radikaller PKOS’un da nedenlerinden biri olarak kabul edilmektedir. Bu nedenle, çalışmamızda PKOS hastalığının tedavisinde halk arasında yaygın olarak kullanılan hayıt otu tohumu (*Vitex agnus-castus*), civan perçemi (*Achillea millefolium*), aslan pençesi (*Alchemilla alpina*) ve melek otu (*Angelica sinensis*) bitkilerinin *in vitro* antioksidan aktivitelerinin araştırılması hedeflenmiştir.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışmada kullanılacak bitkilerin su, etanol ve hekzan çözücülerıyla ayrı ayrı ve birbirlerine sabit oranda karıştırılarak elde edilen ekstrelerin antioksidan aktiviteleri CUPRAK ve FRAP indirgeme gücü aktiviteleri ve DPPH<sup>•</sup> ve ABTS<sup>++</sup> radikallerinin giderme aktiviteleri spektrofotometrik olarak analiz edilmiştir. Sonuçlar troloksa eşdeğer ve IC<sub>50</sub> olarak verilmiştir.

**Bulgular:** Elde edilen veriler ile PKOS tedavisinde kullanılan hayıt otu tohumu, civan perçemi, aslan pençesi, melek otu bitkileri ile bunların eşit miktardaki karışımlarının antioksidan kapasiteleri şu şekilde görülmüştür. Radikal giderme aktivitesi bakımından incelendiğinde civan perçemi, hayıt otu ve karışım (2,5x4) sulu ekstreleri en yüksek aktivite göstermiştir. Radikal oluşumunu engelleme en yüksek aktivite aslan pençesi ve karışım (2,5x4) sulu ekstrelerinde görülmüştür.

**Sonuç:** Herbir bitkinin farklı ekstrelerinin farklı antioksidan metotlardaki aktivitelerinin farklı olduğu görölmüştür. Ancak tüm veriler değerdendirildiğinde karışım (2,5x4) sulu ekstresinin antioksidan kapasitesinin en iyi olduğu görölmüştür.

**Anahtar Kelimeler:** Antioksidan Aktivite, Antioksidan Kapasite, Fitoterapi, Halk Tıbbı, Polikistik Over Sendromu



# INVESTIGATION OF ANTIOXIDANT CAPACITIES OF SOME COMMONLY USED PLANTS IN POLYCYSTIC OVARY SYNDROME

## ABSTRACT

**Aim:** The use of plants for therapeutic purposes begins with the history of humanity. It has been understood that medicinal plants, which have been passed through the filter of scientific research in our age, can be used more beneficial and in the treatment of diseases than is known. For this reason, treatment with herbs has become a branch of science known as “phytotherapy” today. For centuries, efforts to make phytotherapy more useful by undergoing diversity and changes have increased among the people in therapeutic applications. Many herbs are used to treat polycystic ovary syndrome (PCOS). Oxidant substances and free radicals, which are known to be the triggers of many diseases, are also accepted as one of the causes of PCOS. Therefore, in the study, it was aimed to investigate the in vitro antioxidant activities of chasteberry seeds (*Vitex agnus-castus*), yarrow (*Achillea millefolium*), lion's claw (*Alchemilla alpina*) and angelica (*Angelica sinensis*) plants, which are widely used in the treatment of PCOS disease.

**Materials and Methods:** The antioxidant activities of water, ethanol and hexane extract separately and mixing the plants with at a constant rate were analyzed by CUPRAC and FRAP reducing power activities and the scavenging activities of DPPH<sup>•</sup> and ABTS<sup>•+</sup> radicals spectrophotometrically. Results are given as trolox equivalent and IC<sub>50</sub>.

**Results:** According to data, the antioxidant capacities of chasteberry seeds, yarrow, lion's claw, angelica herbs and their mixtures in equal amounts, which are used in the treatment of PCOS, are shown as follows. When examined in terms of radical removal activity, aqueous extracts of yarrow, chasteberry and mixture (2,5x4) showed the highest activity. The highest activity in inhibiting radical formation was observed in aqueous extracts of lion's claw and mixture (2,5x4).

**Conclusion:** It was observed that the activities of different extracts of each plant in different antioxidant methods were different. However, when all data were evaluated, it was seen that the antioxidant capacity of the mixture (2.5x4) aqueous extract was the best.

**Key Words:** Antioxidant Activity, Antioxidant Capacity, Phytotherapy, Polycystic Ovary Syndrome, Public Medicine



## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Çok eski zamanlardan beri insanlık doğada bulduğu her şeyden şifa aramak amaçlı yararlanmıştır. Önemli kaynaklardan birisi de devamlı farklı yollar denenerek kullanılmaya çalışılmış bitkiler dünyasıdır.

20.yy'da çocuk sahibi olmaya aday her dişi bireyde sıklıkla rastlanan ve yine hormonal temelli sorunlara dayalı olarak ortaya çıkan sendromların başında PKOS gelmektedir. Temelde hiperandrojenizm ve yüksek oksidatif stres ile sıklıkla görülen obezite, insülin direnci, anormal aylık döngüsü, oligomenore veya anovülasyonla ilişkili bir endokrin bozukluğu olarak tanımlanmaktadır (1). Göstergelerin bazıları ise şöyledir: baş ağrısı, kısırlık, tip2 diyabet, depresyon, kolesterol değerlerinde yükseklik.

Hem metabolik hem de üreme bozukluğu ile karakterize sıklıkla görülen bu tıbbi durum için çeşitli farmasötik tedavi yöntemleri uygulanmaktadır. Bununla birlikte, uzun süren tedavi dönemlerinin yan etkilerinin oluşu ve bunların olası düşük negatif etkinliği, tamamlayıcı tıbbi ve alternatif tedavi yöntemlerini değerli bir seçenek haline getirmektedir (2).

Günümüz reçetelerinde kısırlık gibi jinekoloji sorunlarının tedavisinde uzun dönemdir kullanılan ve dünya çapında da PKOS için hala çeşitli yöntemlerle kullanılmaya devam eden bitki yelpazesinin çok geniş olduğu bitkisel ilaçlara odaklanan bir trend oluşmaktadır. *Cinnamomum verum*, *Trigonella foenum-graecum* L. ve *Vitex agnus castus* gibi tıbbi bitkiler, adet ve ovulatuvar bozukluklar, obezite, insülin direnci, lipid metabolizması disfonksiyonu ile androjen fazlalığının ilgili koşulları etkileyebileceği bulunmuştur. Son yıllarda geleneksel ve tamamlayıcı tıp (GETAT) tedavi yöntemlerinin kullanımının artması ve geleneksel Fars ve Çin tıbbında tanımlanması yapılmış bu reçetelere bir yönelişin oluşması bu tür tedavi yöntemlerinin incelenip araştırılmayı zorunlu kılmaktadır. Halk arasında kullanılan bu tedavi yöntemlerinin bilimsel temellere oturtularak kanıta dayalı bir hale getirilmesi ile modern tedavi yöntemlere destek olabilecek yeni destekleyici tedavi yöntemlerinin gelişmesine katkı sağlayacağı açıktır.

Bu araştırmada yaygın bir şekilde halk arasında PKOS tedavisinde kullanılan bazı bitkilerin antioksidan etkinliği ile direkt veya dolaylı olarak ilişki kurulabilir. Elde edilecek veriler ile çalışma konusu olan bitkilerin antioksidan etkinliğinin immun ve bağışıklık sistemi üzerine olan etkinlikleri ile ilgili yeni araştırmalara ilham kaynağı olabileceği tahmin edilmektedir.

Ayrıca bu araştırmada kullanılan hayıt otu tohumu (*Vitex agnus-castus*), civan perçemi (*Achillea millefolium*), aslan pençesi (*Alchemilla alpina*) ve melek otu (*Angelica sinensis*) bitkilerinin birlikte kullanıldığı takdirde birlerin olan sinerjetik veya antagonist etkileri ortaya çıkarılması önemli bir bilimsel veri olacağı değerlendirilmektedir.

Son yıllarda PKOS'un görülme sıklığının artmasının yanı sıra genç yaşlarda da fark edilir bir artışın olması bu konu üzerine dikkatleri çekmiştir. Uygulanan reçetelerin konuya tamamen tek yönlü hormonal kontrol amaçlı verilen doğum kontrol ilaçları ile olmasından ötürü yine kalıcı bir çözümün olmaması durumun biraz daha ciddiye alınmasını gerektirdiğinden çalışmamızın tedavi reçetelerinin çeşitliliğine katkı sağlayacağı öngörülmektedir. Bitkisel tedavi de PCOS için bir seçenek olabilir. İstatistiksel veriler, Amerika Birleşik Devletleri'ndeki nüfusun yaklaşık %12'sinin bitkisel ilaç kullandığını ve bu oranın Çin'de daha yüksek olduğunu göstermektedir. Tayvan'da, kadınların %89,22'si PKOS teşhisi konulduktan sonra geleneksel Çin tıbbı (GT) uygulayıcılarına başvurak tedavi edilmiştir. Bu hastaların %50,37'si Çin bitkisel tıbbı (BT) ile tedavi edildiği rapor edilmiştir (3).

Obezite, dislipidemi ve hiperinsülinemi gibi geniş endokrin ve metabolik bozukluklar PKOS ile ilişkili oksidatif streten sorumlu olabileceği gibi takviye süresince statinler, LDL, toplam kolesterol ve trigliseritleri iyileştirmede güvenli ve etkili olan ve antioksidan aktiviteye sahip umut verici bir grup ajan olarak kabul edilmiştir.

Matriks metalloproteinazların (MMP'lerin) yumurtalık disfonksiyonu da dahil olmak üzere çeşitli patolojik süreçlerde rol oynadığı düşünüldüğünden, prolidaz bir matriks metalloproteinaz olarak kabul edilerek, PKOS hastalarında ve sağlıklı bireylerde biyokimyasal düzeyde serum prolidaz aktivitesi ve oksidatif-antioksidatif durumunun değerlendirildiği bir çalışma yapılmıştır. Bu çalışmada otuz üç PKOS

hastası ve 28 sağlıklı hiperandrojenik olmayan dişi birey üzerinde yapılarak prolidaz aktivitesi, oksidatif stres indeksi (OSI), toplam antioksidan durumu (TAS), luteinize edici hormon (LH), toplam oksidan durumu (TOS), folikül uyarıcı hormon (FSH), toplam testosteron (T) ve prolaktin (PRL) seviyelerine bakılmıştır. Prolidaz aktivite seviyeleri, toplam oksidan durumu, oksidatif stres indeksi, LH, PRL ve T, PKOS grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edilirken PKOS grubunda toplam antioksidan durum düzeyleri sağlıklı gruba göre daha düşük bulunmuş, serum prolidaz aktivitesi ile oksidatif stres artmış ve FSH açısından PKOS ve kontrol grupları arasında anlamlı bir fark görülmemiştir.

Bu çalışmada hayıt otu tohumu (*Vitex agnus-castus*), civan perçemi (*Achillea millefolium*), aslan pençesi (*Alchemilla alpina*) ve melek otu (*Angelica sinensis*) bitkilerinin farklı polaritedeki çözücüler ile (Su, Etanol ve Hekzan) elde edilecek ekstrelerin antioksidan kapasite: 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH<sup>•</sup>) Radikal Giderme Aktivitesi ve 2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfoniz acid)(ABTS<sup>+</sup>) in vitor analizleri ile radikal giderme aktiviteleri ve Bakır(II) İyon İndirgeme Esaslı Antioksidan Kapasite (CUPRAC), Demir(III) İyon İndirgeyici Gücü Antioksidan Aktivitesi (FRAP) aktiviteleri ile de radikal oluşumunu engelleme potansiyelleri ortaya çıkarılması hedeflenmektedir.

Çalışmalar sonucunda halk arasında sıklıkla kullanılmakta olan bu bitkilerin antioksidan kapasitelerinin değerlendirilmesi ile ilgili bilimsel verilerin elde edilecektir. Bu çalışma ile PKOS'da geleneksel olarak kullanılan bu bitkilerin tedavide kullanımı ile ilgili antioksidan değerlendirmesi ortaya konulacaktır. Ayrıca bu çalışma ile elde edilecek veriler ışığında çalışma konusu olan bitkiler ile ilgili standardize ürün, geleneksel ve bitkisel tıbbi ürün (GBTÜ) ve bunlar ile ilgili klinik çalışmalar için bilimsel veriler elde edilmiş olunacaktır.

## 2. GENEL BİLGİLER

Günümüz reçetelerinde kısırlık gibi pek çok jinekolojik sorunların tedavisinde uzun dönemdir kullanılmakta olan ve dünya çapında da PKOS tedavisini amaçlayan çok çeşitli yöntemlerin ele alındığı bilinmektedir. Tedavi amaçlı kullanımda olan bitkilerin yelpazesinin çok geniş olduğu da bitkisel ilaçlara odaklanan bir çalışmada belirtilmiştir. *Cinnamomum verum*, *Trigonella foenum-graecum* L. ve *Vitex agnus castus* gibi tıbbi bitkiler, adet ve ovuluar bozukluklar, obezite, insülin direnci, lipid metabolizması disfonksiyonu ile androjen fazlalığının ilgili koşulları etkileyebileceği bulunmuştur (1).

### 2.1. POLİKİSTİK OVER SENDROMU

Bazı hastalıklar cinsiyete özgüdür. Jinekolojik sorunlar, kadınlarda üreme veya östrojen kontrollü organlardaki bozulmayı içerir. Bu sorunlardan bazıları tedavi edilebilirken, bazıları kronik veya ölümcüldür. Bu bozuklukların birçoğu doğurganlığı etkiler. Büyük ölçüde endokrin bozukluğuna neden olan bazı kimyasalların etkisi ve maruziyetinin artmasıyla birlikte, hormonal bozukluk vakaları keskin bir şekilde artmaktadır. Yaygın olarak karşılaşılan bu üreme ve hormonal anormallıklarının bazıları amenore, endometriozis, polikistik over sendromu, miyomlar, kısırlık, yumurtalık kanseri, düşük, ektopik gebelik, erken doğum vb. sayılabilir (2-4).

Çocuk doğurma çağındaki kadınları etkileyen bir dizi semptomları olan polikistik over sendromu (PKOS) kadın cinsiyet hormonlarındaki dengesizliğin bir sonucudur. Bu hastalık, yumurtalık antral foliküllerinde kistlere yol açar. Yumurtanın 'fonksiyonel kist' adı verilen kiste dönüşmesi yumurtlamayı engeller. Yumurtlama engellendiğinden adet döngüsünün bozulmasına neden olarak 'amenore'ye neden olur. Hormonal dengesizlik nedeniyle yumurtalık foliküllerinde birden fazla kist oluştuğunda PKOS olarak tanımlanır. PKOS 20.yy da çocuk sahibi olabilecek dişi bireyler arasında en sık rastlanan ve yine bu kişiler arasında hormonal temelli sorunlara dayalı olarak ortaya çıkan sendromların başında gelen, temelinde ise hiperandrojenizm ve yüksek oksidatif stres seviyesi ile sıklıkla izlenen obezite, anormal adet döngüsü (hiç olmama veya anormal aralıklar ile uzun olma), insülin direnci ile oligomenore veya anovülasyonla ilişkili bir endokrin bozukluğu olarak tanımlanır (4-6).

Polikistik over sendromu (PKOS), hem metabolik hem de üreme bozuklukları ile karakterize, sık görülen bir tıbbi durumdur. PKOS için farklı farmasötik tedaviler

önerilmiştir. Bununla birlikte, uzun süreli tedavilerin yan etkilerinin oluşu ve bunların olası düşük etkinliği, tamamlayıcı ve alternatif tedavileri değerli bir seçenek haline getirmiştir (1,7).

Polikistik over sendromu için halihazırda mevcut terapötik yaklaşımlar, oral ilaçların kullanımından önce metabolik bozukluk için birinci basamak tedavi olarak yaşam tarzı ve davranış yönetimini önermektedir ve bu müdahaleler insülin direncini, hiperlipidemi ve gebelik oranını iyileştirebilir (8). Son dönem araştırmaları tamamlayıcı tedavilerin kullanımının arttığını göstermektedir. Tamamlayıcı tıbbın bir parçası bitkisel ilaç, geleneksel Fars ve Çin tıbbında tanımlıdır. Şifalı bitkiler PKOS hastalarının jinekolojik ve kısırlık sorunlarının tedavisinde uzun süredir kullanılmaktadır (2,9).

Dünya çapında PKOS için kullanılan bitkisel ilaçlara odaklanan bir araştırmada, çok sayıda çalışmaya göre, PKOS'un çeşitli yönlerini iyileştirmek için geniş bir bitki yelpazesinin kullanılabileceği belirtilmiştir. *Cinnamomum verum*, *Trigonella foenum-graecum* L. ve *Vitex agnus castus* gibi tıbbi bitkiler, adet ve ovulatuvar bozukluklar, obezite, insülin direnci, lipid metabolizması disfonksiyonu ile androjen fazlalığının ilgili koşulları etkileyebileceği rapor edilmiştir (1).

Bu rahatsızlığın tedavi sürecinde ilaç kullanımı, vücutta hormonal dengenin sağlanması ile yağ ve şeker metabolizmasının dengelenmesini amaçlar. PKOS tedavisi için diğer hormonal kontrol ajanları ise östrojen, progesteron gibi üreme sistemini düzenleyici doğum kontrol hapları ve mensturasyonu düzenleyicilerdir. PKOS tedavisinde farmakoteröpatik ajanlar kullanıldığı gibi hayat tarzının değiştirilerek sağlıklı bir diyetin yaşama adapte edilmesi temelde amaçlanan iyileşme şeklidir.

Bitkiler geçmişten günümüze halk arasında birçok hastalığın tedavisinde ve önlenmesinde kullanılmış fakat hiçbir tedavi devamlı olmadığı müddetçe tam tedavi sağlanamaz. Eğer PKOS benzeri hormonal temelli sendromların tedavisinde devamlılık sağlanamazsa tekrarlayan bir döngüye girilerek denge bozukluğunun yenilenmesi söz konusudur.

## 2.2. SAĞLIK VE ANTİOKSİDAN İLİŞKİSİ

Bir bileşiğin antioksidan olarak tanımlanabilmesi için hem radikal giderme aktivitesi hem de radikal oluşumunu engelleme aktivitesine sahip olması gerekmektedir. Antioksidanlar, oksidasyon tepkimelerini anlamlı derecede azaltan bileşikler olup yükseltgemeye sebep olan bileşiğe oranla çok daha düşük derişimde olan yapılardan oluşurlar. Antioksidan aktiviteyse serbest radikal ve antioksidan bileşiğin bir araya gelmesi ile meydana getirdiği tepkimeye denir. Antioksidan kapasiteyi ise antioksidan bileşiklerden oluşan bir karışımın radikalle yaptığı tepkime olarak tanımlamak da mümkündür (10).

Reaktif oksijen türleri/serbest radikal üretebilme potansiyeline sahip tepkimeler gerçekleştirebilen kimyasal bileşiklere pro-oksideranlar denir. Bu türleri süpürerek yok eden, davranışlarını aksine çeviren ya da etkilerini baskılayan bileşiklere ise antioksidanlar denir. Normal bir hücrede, prooksideranlarla antioksidanlar denge halinde bulunurlar. Ancak bu denge durumu oksideran türleri üretimindeki artışa bağlı olarak veya ortamdaki antioksidan bileşiklerin azalmasıyla pro-oksideranlar lehine bozulabilirler. Oksidatif stress hali olarak adlandırılan bu durum hücrede ciddi olarak hasara neden olur. Birçok hastalığın etyopatogeneğinde oksidatif stress rol almaktadır (11-14).

Son yıllarda, kontrol edilemeyen oksidatif stressi engellemeye yönelik birçok çalışma yapılmakta olup, çalışmalarda; karsinogene, nörodejeneratif rahatsızlıklar, ateroskleroz, kronik enflamasyon hastalıkları, yaşlanma, radyasyon hasarı ve diğer patobiyolojik hastalıkların başlangıcıyla gelişim evrelerinde de oksidatif stressin önemli ölçüde rol oynadığı ortaya konulmuştur (11-16).

Oksideranlar ve serbest radikaller çok kısa bir yarılanma ömrüne sahip olduklarından fazla reaktif bileşikler olup DNA, proteinler ve lipitler gibi biyomoleküllere zarar verici etkileri bulunmaktadır. Bu türler reaktif azot türevli (NOS) veya reaktif oksijen türevli (ROS) olabilmektedirler. ROS türleri süperoksit ( $O_2^-$ ), hidroperoksil ( $HO_2^-$ ), hidroksil ( $HO^\bullet$ ), alkoksiller ( $RO^\bullet$ ) ve peroksil ( $ROO^\bullet$ ) ile serbest radikal olmayan hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), ozon ( $O_3$ ), hipokloröz asit ( $HOCl$ ) ve singlet oksijen ( $^1O_2$ )'dir. Azot türevli reaktif türler ise peroksinitrit ( $ONOO^-$ ), nitric oksit ( $NO$ ), azot dioksit ( $NO_2$ ) ve dinitrojen trioksit ( $N_2O_3$ )'tir (17).

### 2.3. POLİ KİSTİK OVER SENDROMU OKSİDAN VE ANTİOKSİDAN İLİŞKİSİ

Oksidan ve antioksidan sistemler arasındaki dengesizlik olarak tanımlanan oksidatif stresin kadın hastalıklarında önemli rol oynadığı daha önce yapılan çalışmalarla da tespit edilmiştir. Oksidatif stres, PKOS, endometriozis ve açıklanamayan kısırlık gibi bir dizi üreme hastalığına yol açabileceğinin üzerinde durmak gerektiği vurgulanmaktadır (7,18).

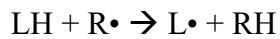
Reaktif oksijen türlerinin dışı üreme sistemindeki fizyolojik ve patolojik etkileri ve tüp bebek yöntemlerinin başarısına etkileri ile ilgili antioksidan takviyesinin, serbest radikallerin üretimini kontrol ederek üreme hastalıklarının tedavisinde etkili olabileceği ve tüp bebek kültür ortamının antioksidan takviyesi ile başarı olasılığının artabileceği ortaya konulmuştur. Oksidatif stresin kadın doğurganlığı üzerindeki etkilerini anlamak için gelecekte randomize kontrollü klinik çalışmasına ihtiyaç duyulmaktadır (19).

### 2.4. ANTİOKSİDAN ETKİ MEKANİZMASI

Küçük molekül kütlesine sahip antioksidan (KMKA) molekülleri hücre zarından kolayca geçerek oksidatif hasarı olan bölgeye ulaşmasıyla başlamaktadır. Daha sonra hasarlı hücre tarafından bu moleküller tekrar oluşmaktadır (20-21). İnsan dokularında, hücresel KMKA'lar farklı kaynaklardan elde edilirler. Glutasyon, nikotinamid, karnozin hücre tarafından üretilirken, ürik asit ve bilirubin metabolik faaliyetlerin yan ürünü olarak ortaya çıkmaktadır. Askorbik asit, tokoferoller ve birçok polifenolse besinler yoluyla vücuda alınırlar.

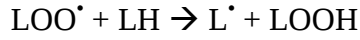
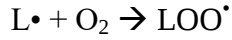
Serbest radikallerce meydana gelen oksidasyon olayı çok basamaklı bir tepkime şeklinde oluşur. Bu tepkimenin aşamaları başlangıç (initiation), çoğalma (propagation), ilerleme (branching) ve sonuç (termination) bölümlerinden oluşur (22).

Başlangıç:



Bu tepkimede LH lipit gibi bir substrat molekülünü temsil ederken  $R\bullet$  oksidasyonu başlatıcı serbest radikali temsil etmektedir. Lipit oksidasyonu sonucu son derece reaktif bir lipit radikali oluşur ( $L\bullet$ ) ve bu radikal hızlı bir şekilde oksijenle tepkimeye girerek lipit peroksil radikalini üretir ( $LOO\bullet$ ).

Yayılma:



Peroksil radikalleri zincirleme tepkime taşıyıcısı olarak görev alır. Lipit moleküllerinin oksidasyonu sonucu lipit hidroperoksitlerinin oluşumuna sebep olurlar. Lipit hidroperoksitleri alkol, aldehit, alkilformat, keton ve hidrokarbonlar ile alkoksi radikallerin yıkımında rol oynar.

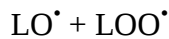
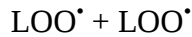
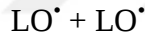
İlerleme:



Lipit hidroksiperoksitlerinin yıkımında bazı geçiş metalleri de görev almaktadır.

Sonuç:

Sonlandırma tepkimeleri farklı radikallerin tepkimeye girmesi ve radikal özelliklerini kaybetmeleriyle neticelenir (23).



#### 2.4.1. Oksidatif Stres

Oksidatif stres, hücresel metabolizma esnasında ortaya çıkan süperoksit radikali, hidroksil radikali ve hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen türlerindeki artış (ROS) ile bunları detoksifiye eden, antioksidanların yetersizliği sonucu oksidatif dengesizliğin oluşması olarak tanımlanmaktadır. Oksidatif stresteeki artışla oluşan reaktif oksijen türleri hücre içi lipit ve protein yapıların doymamış bağ içeren gruplarına ve DNA'daki bazların doymamış bağları içeren gruplarına saldırarak bir hidrojen atomu koparır, zincirleme oksidasyon reaksiyonlarının başlamasına sebep olurlar. Sonuçta ise hücre içi lipit, protein ve DNA gibi biyomoleküller hasar alarak hücrenin zarar görmesi veya hücre ölümü ile sonuçlanacak olay dizilimi açığa çıkmış olur. Oksidatif hasarın varlığını da serbest radikallerin etkileri ile makromoleküllerin oksidatif hasarı sonucunda açığa çıkan malondialdehit (MDA), protein karbonil (PCO), 8-hidroksiguanozin (8-OHG) gibi

ürünlerin vücut sıvıları ve dokularda çeşitli biyokimyasal analiz yöntemleri kullanılarak ölçülmesi mümkündür (24).

Canlılar yaşamları boyu hem ekzojen hemde metabolik sürecin bir parçası olarak endojen radikal ve reaktif oksijen türlerine maruz kalmaktadırlar. İnsan vücudu bu serbest radikaller ve reaktif oksijen türlerinin etkilerini nötralize edebilen bir antioksidan sistem yapısına sahip olmakla beraber sistem kendisini oksidanlar ile dengede tutmaktadır. Bu dengenin oksidanlar lehine kaymasıyla ise oksidatif stres oluşumu ve bunun getirisi olarak dengesizlik ile önemli hücre kompartmanlarında geri dönüşümsüz hasarların oluşumu söz konusudur (25).

#### **2.4.2. Antioksidan Savunma Sistemleri**

Reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için birçok savunma mekanizması mevcuttur. Bu mekanizmalar "antioksidan savunma sistemleri" veya kısaca "antioksidanlar" olarak bilinirler.

Antioksidanlar dört ayrı şekilde etki ederler.

- 1- Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma veya daha zayıf yeni moleküle çevirme toplayıcı etkidir. Antioksidan enzimler, trakeobronşiyal mukus ve küçük moleküller bu tip etki gösterirler.
- 2- Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma veya inaktif şekle dönüştürme bastırıcı etkidir. Vitaminler, flavanoidler bu tarz bir etkiye sahiptirler.
- 3- Serbest oksijen radikallerini bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etki zincir kırıcı etkidir. Hemoglobinin, seruloplazmin ve mineraller zincir kırıcı etki gösterirler.
- 4- Serbest radikallerin oluşturdukları hasarın onarılması onarıcı etkidir.

Antioksidan sistem; serbest radikalleri hücre zarına, nükleik asitlere (DNA) ve hücre bileşenlerine saldırmadan kendine çeker ve bağlar. Günümüzde antioksidanların gıda sanayinde kullanımı oldukça yaygın olup hemen hemen tükettiğimiz her ürüne antioksidan maddeler katılmaktadır. Bunlar gıdaları bozulmaya karşı korumakta olup onların daha uzun süreli saklanması sağlar, bunlardan bazıları bütillenmiş hidroksi toluen (BHT) ve bütillenmiş hidroksi anisol (BHA) bileşikleridir ancak bunların toksik

etkilerinden şüphelenilmektedir. Bu nedenle son yıllarda yeni, daha güvenli ve ucuz antioksidan maddelerin bulunması için doğal ürünler üzerinde yaygın çalışmalar yapılmaktadır (26).

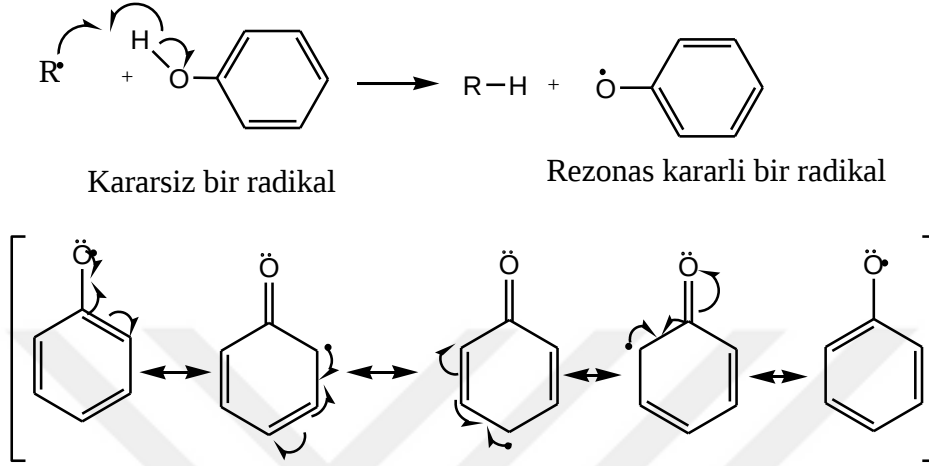
Antioksidanlar vücutta çok kısa ömürlü fakat saldırgan olan serbest radikaller diye adlandırılan moleküllerle savaşırlar. Eğer serbest radikaller nötralize edilmezlerse vücutta ciddi hasarlara neden olabilirler. Sürekli gelişmekte olan teknoloji, oluşan çevre kirliliği, sigara, UV vb. pek çok diğer etken sürekli olarak çeşitli toksik maddelerle karşı karşıya kalmamıza neden olmaktadır. Bu etkiler kendini serbest radikal oluşumuyla gösterir. Tüm bu nedenlerden dolayı dış etkilerle oluşan hastalıklar artmakta, genetik hastalıkların da çevresel etkilerle daha çok belirginleşmesine neden olmaktadır. Bu hastalıklara çözüm getirmek öncelikle bu hastalıkların oluşumunu engellemekle gerçekleşebilir. Bunun için de ilaçlardan öte alınan besinler önem kazanmaktadır. Serbest radikallerin etkilerini önleyen ve gıdalarda bol miktarda bulunması gereken C vitamini ve E vitamini kanser ve kalp hastalıkları gibi toplumda erken ölümlerin başlıca nedenleri olan hastalıkların oluşumunu önlemektedir. Besinlerin dışında dışarıdan yapılacak takviyelerin de yararlı olduğu yapılan doz tespit çalışmalarıyla anlaşılmıştır. Ancak vücutta bulunan hassas denge alınacak aşırı dozlarla kolayca bozulabilmekte, bunun sınırının ise konabilmesi gerekmektedir (27,28).

#### **2.4.3. Antioksidan Ölçüm Yöntemleri**

Antioksidan; canlı organizmalarda serbest radikallerin oluşumunu engelleyen ya da oluşan serbest radikalleri zararsız hale getiren bioaktif maddeler olarak tanımlanır. Biyolojik olarak ise antioksidan madde, oksijeni ile bozulan ürünlere ilave edilerek bu bozulmayı engelleyen veya geciktiren sentetik ya da doğal madde olarak tanımlanmaktadır.

Bitki türevli yenilebilir/yenilemez ürünler büyük oranda antioksidan özelliğe sahip fenolik bileşikler (örneğin; fenolik asitler, flavanoidler, antosiyaninler, taninler, lignanlar ve kateşinler) içerir. Bu fenolikler, kalp hastalıkları, bazı kanser türleri ve oksidatif strese bağlı diğer hastalıklara yakalanma riskini arttırdığı bilinen zararlı serbest radikalleri engeller. Fenolik bileşiklerin serbest radikal giderme mekanizması genel olarak incelendiğinde; kararsız serbest radikal fenolik bileşikler ile tepkimeye girerek daha stabil hale gelmektedir. Serbest radikal kararlı bir yapı oluşturur. Fenol grubu rezonans kararlı bir radikal oluşturur. Bu sayede serbest radikali zararsız hale getirilir.

Şekil 2.1’de mekanizma gösterilmiştir. Yapılan çalışmalarda endemik bitkiler ile gıda örneklerinde antioksidan tayinler gerçekleştirilirken, çeşitli modifikasyonlarla serum ve plazma örneklerinde de antioksidan aktivite tayinleri gerçekleştirilebildiği görülmektedir (29,30).



**Şekil 2.1.** Fenolik bileşiklerin serbest radikallerin giderilme reaksiyon mekanizması

Serbest radikaller, normal veya patolojik hücre metabolizmasında oluşabilir, Serbest radikallerden olan süperoksit anyon radikali ( $\text{O}_2^{\bullet-}$ ), hidroksil radikali ( $\text{OH}^{\bullet}$ ), nitrik oksit radikali ( $\text{NO}^{\bullet}$ ), hidrojen peroksit ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) gibi reaktif oksijen türleri (ROS)’nin canlı organizmasında oluşması durumunda kanser, siroz, damar sertliği gibi birçok hastalığın başlamasında rol oynar. Serbest radikallerden etkilenen diğer bir önemli alan ise gıda sektörüdür. Antioksidanlar yaygın bir şekilde gıdaları oksidatif bozulmaya karşı koruma sağlamak amacıyla gıda katkı maddesi olarak kullanılmaktadır. Bu nedenle, antioksidan gıda sektöründe çok önemli bir rol oynamaktadır (31,32).

Demir indirgeme gücü (FRAP) ve bakır indirgeme gücü (CUPRAC) antioksidan aktivite yöntemleri benzer bir şekilde elektron transferine dayanan bir antioksidan kapasite/aktivite tayin yöntemidir (33). Bu iki yöntemi de hızlı, ucuz, basit ve sağlamlığı yüksek sonuçlar veren, çok komplike ölçüm cihazları gerektirmeyen bir antioksidan aktivite tayin yöntemleridir.

## 2.5. ÇALIŞMADA KULLANILAN TIBBİ BİTKİLER

### 2.5.1. Melek Otu (*Angelica sinensis*)

Melek otu bilinen diğer bir diğer adı dong quai, Apiaceae ailesine bağlı yüzyıllardan beri gelen eski Çin tıbbında da önemli yeri olan bir tıbbi bitkidir. *Angelica sinensis* kökleri polisakkaritler, organik asitler, uçucu yağlar ve flavonoidler dahil olmak üzere 70'den fazla bileşik içerir. Bunlar arasında *Angelica sinensis* polisakkaritleri kan zenginleştirme özelliklerinde önemli bir rol oynayan bileşigidir. Ek olarak, *Angelica sinensis* önemli araştırma ve uygulama potansiyeli sunan antioksidan, kan dolaşımını canlandırıcı, antitümör, hepatoprotektif, yaşlanma karşıtı ve anti-inflamatuar etkilere ve ayrıca mükemmel immünomodülatör özelliklere sahip olduğu bildirilmiştir (34). Önemli bileşikler, bitkinin uçucu yağ fraksiyonlarında bulunan alkilftalidleri ve ferulik asittir. Bitkinin diğer ek uçucu yağları, amino asitler, lipitler, aromatik bileşikler, polisakkaritler, monoterpenler ve diterpenleri içerir. Kökünde A, B1, B12, E, biotin ve nikotinik asit vitaminlerinin yanı sıra bir dizi minerali de bulundurur (35).

Melek otu bitkisi Çin geleneksel tıbbında da uygulama alanlarında devamlı karşımıza çıkan bir çok reçetenin içerisinde yerleşmiş bir bitkidir. Genel bilinen özellikleri ile *Angelica sinensis*; kadın hastalıklarında progesteron düzenlemesi, göğüs kanserinde tedavi ve göğüs kanserinde korumada; ağrı kesici olarak; anti-inflamatuar özellikte; immun güçlendirici ajanlar içermek; depresyon ve anksiyetide; demir eksikliği anemisi tedavisinde; A vitamini içeriğinde; kronik pelvic ağrılarda anti-spazm rolünde ve iltihaplanmalara karşı verilen bitkisel tedavi formüllerinde karşımıza çokça çıkmaktadır (34).

Diğer kullanıldığı tedavi yöntemlerinden dismenore ve endometriozisde anti-inflamatuar, analjezik ve antispazmodik etkisi ile Menstrüel düzensizlikler gibi amenorede, rahim atonisinde ve kısırlıkta tedavi amaçlı olarak kullanımları mevcuttur. Yine melek otu halsizlikte, dolaşımdaki problemleri iyileştirmede, kardiyovasküler hastalıklardan koruyucu ile kullanıldığı bilinmektedir (36).

### 2.5.2. Aslan Pençesi (*Alchemilla alpina*)

*A. alpina* çok yıllık bir bitki oluşu ile yumuşak, gri-yeşil, taraklı ve/veya yarı yuvarlak yaprakları ile bilinir. Genellikle Türkiye’de boy ortalamaları 15-30 cm. arasında değişerek alçak büyüyen bir yer örtüsü olarak adlandırılabilir. Çekici görünümünün yanı sıra halklar arasında ilginç hikayelere de sahiptir. Uzun yıllardır da ülkemizde bulunup kullanılmaktadır (37).

Yapılan bir çalışmada yine aslan pençesinin bir türü olan *Alchemilla mollis* (Buser) Rothm kök metanolik-su ekstraktları, alloksan ile indüklenerek oluşturulan diyabetik fareler üzerinde karbon tetraklorür kaynaklı hepatotoksisite ve hipoglisemik aktivitedeki hepatoprotektif aktiviteleri açısından değerlendirilmiştir. Elde edilen hiç bir ekstrede kan şekeri seviyeleri üzerinde etki saptanmamakla birlikte, hepatoprotektif aktivite sonuçları, serum ALT seviyelerinin, 100 mg/kg ve 200 mg/kg dozlarında hem toprak hem anten kısmı hem de kök ekstraktları tarafından önemli ölçüde düştüğü rapor edilmiştir. Histopatolojik inceleme, *A. mollis*’in üst kısımları(antenleri) ile köklerinin, hücresel hasar üzerine önemli ölçüde iyileştirme sağladığı belirlenmiş; karbon tetraklorür grubu ile karşılaştırıldığında en önemli aktivite, 200 mg/kg dozunda *A. mollis* üst(anten) kısımlarının ekstraktlarında gözlenmiştir. *A. mollis* bitkisinin fenolik içeriğine bakıldığında, özellikle güçlü antioksidan özelliklere sahip olan flavonoidlerde hepatoprotektif aktivitenin olduğu kanıtı sunulmuştur (38).

Klinik çalışmalar ve uzun süreli kullanımın temelinde ise, *A. vulgaris*’in özel olmadan ishal, gastrointestinal sistem bozuklukları ve dismenore için uygulanması ESCOP Monograflarında kayıtlara geçmiştir (39). Avrupa Farmakopesinde, bu bitkinin toprak üstü kısımları kimyasal içeriği minimum % 6 olacak şekilde tanen, klorojenik asit ve kafeik asit içeriğine sahip olarak tanımlanmaktadır (40).

*Alchemilla mollis* (Buser) *Alchemilla* cinsinden Rothm, geleneksel Avrupa tıbbında da kullanılmakla birlikte *A. mollis* ekstresini içeren ticari bir ilaç olan "Herba Alchemillae", büzücü, idrar söktürücü ve antispazmodik etkilere sahip olup aynı zamanda halk hekimliğinde yaraların tedavisi ve aşırı adet kanamasının tedavisi için kullanılmaktadır (41,42).

Türk halk hekimliğinde *Alchemilla*’nın türleri yerel olarak aslan pençesi olarak ya da findık otu olarak da isimlendirilir. Toprak üstü kısımları yaraları tedavi etmede (43-47), yatıştırıcı (48), tonik, antidiyareik, diüretik olarak (44,49,50), menstruasyon

düzensizliklerinde (51), jinekolojik problemlerde (52,53), karaciğer iltihabının tedavisinde kullanılıp, astım, bronşit, öksürük (53) ve diğer diyabet, böbrek, bağırsak ve mide rahatsızlıklarıyla (54,55), deri hastalıklarının tedavi sürecinde de kullanımı mevcuttur (56).

Aslan ağzı bitkisi ile yapılan çalışmalarda sonucunda, *A. mollis*'ten izole edilen flavonoidlerin ve diğer fenoliklerin, bitkinin hepatoprotektif aktivitesinden sorumlu olduğu tespit edilmiştir (57).

### 2.5.3. Hayıt Otu (*Vitex agnus-castus*) Tohumu

*Vitex agnus-castus*, Orta Asya, Akdeniz bölgesi ve Güney Avrupa'da bulunan ve hasat edilen, hayıt ağacı ve keşiş biberi ortak adlarıyla bilinir. Bu bitki Verbenaceae familyasına ait olup ortalama 1,5-2 m boyunda büyüeyebilen küçük, yaprak döken bir ağaç veya büyük bir çalıdır. Yaprakların çapı 7,6-10 cm'dir ve yapraklar parmak şeklinde olup 5-7 parmak benzeri yaprakçık içerir. Meyveleri yaklaşık olarak 3-4 mm çapında sert bir yapıya sahip olup özel kokusu vardır. Tadı hafif acımsı bir lezzette olup ve rengi grimsi esmerdir. Üstte gri-yeşil renkte ve altta daha açık renkte aromatikler. Çiçekler salkım halinde, menekşeden maviye, koyu mora, kokulu, yazdan erken sonbahara kadar çiçek açar ve meyveler karabibere benzer dört tohum taşıyan mor böğürtlen gibidir. Bu bitki, meyvesi ve kurutulmuş yaprakları tıbbi amaçlar için kullanıldığı için bitkisel bir ürün olarak kabul edilir. *V. agnus-castus*'un tıbbi kısmı meyvedir. *V. agnus-castus* tohumlarından üretilen bir içeceği içtikten sonra cinsel isteği azalttığı için “iffet kuzusu” olarak da adlandırılır. çeşitli jinekolojik problemler için eski Mısır, Yunanistan, İran ve Roma da tıbbi amaçlı kullanılmıştır (58).

Alternatif ve tamamlayıcı tıp, adet düzensizliği ve adet gecikmelerin tedavisinde *Vitex agnus castus* kullanımı da dahil olmak üzere bir çok tıbbi bitki önerilmiştir. Hayıt meyveleri flavonoidler, uçucu yağlar, diterpenler ve glikozitler dahil olmak üzere çeşitli aktif bileşiklere sahip olan ve bu bileşiklerin bazılarının hormonlar, nörotransmitterler, opioid sistemi ve ağrı ve enflamatuar etkilerinden dolayı kadın hastalıklarında başvuru önemli tıbbi bitkilerden biridir (59). Geleneksel İran tıbbında, *V. agnus-castus*'un yaprak ve meyveleri, gıdalarda lezzet ve baharat olarak ve meyveleri ise biber yerine kullanılmaya uygun adaylardır. Meyve, adet bozukluklarını hafifletmek için hormon benzeri bir ilaç olarak ve antiepileptik, gaz giderici, enerji verici, yatıştırıcı, antikonvülsan, sakinleştirici ve sindirim bozukluklarını tedavi etmek için tavsiye

edilmiştir. Farklı milletlerin etnobotaniklerinde bu bitki, adet ağrıları, göz hastalıklarını, spazmodik dismenoreyi, yetersiz emzirmeyi, akne, yılan sokması ve akrep sokmasını, mide ağrısını tedavi etmek için ve ayrıca spazm, anafrodizyak ve emmenagog ajanı olarak kullanılır (60). Meyvelerinin infüzyon halinde (%2-5) idrar arttırıcı, gaz söktürücü ve yatıştırıcı olarak kullanıldığı bilinmektedir. Urfa (Siverek) bölgesinde meyvesinden hazırlanan infüzyonun erken doğumları önleyici etkisinden dolayı kullanıldığı bilinmektedir. Batı Anadolu bölgesinde (Muğla ve Aydın) çiçek distilasyonundan elde edilen uçucu yağ, kekik yağı yerine kullanılmakta ve Meyve ya da yaprak tozunun, yünlü kumaşları güvelere karşı koruduğuna inanılmaktadır (49).

Hayıt otu (*Vitex agnus-castus*) tohumu bitkisinin Aydın ve Muğla yöresinde halk tıbbında 3 değişik kullanım biçimi mevcuttur. El ve ayaklardaki mantar hastalığına karşı halk arasında lezyonlu bölge bitkinin su ile kaynatılan buharında tutmakta veya bitki su ile kaynatılarak el veya ayak bu su içine bekletilmektedir. Kadın hastalıklarına karşı ise bitkinin çiçekleri su ile kaynatılıp, buharı içine rahatsız olan dişi birey oturtulmaktadır. Ayrıca idrar söktürücü olarak kullanımı oldukça fazla olup, meyveleri kaynamış su içinde bekletilmekte ve hazırlanan infüzyondan günde bir çay bardağı içirilmektedir (53).

Kadın hastalıkları ve PKOS için çeşitli tedavi seçenekleri mevcuttur. Kılavuzlar, fiziksel egzersiz, stres azaltma teknikleri ve/veya düşük seviyelerde kafein ve alkol alımı ile sağlıklı bir diyet gibi farmakolojik olmayan müdahalelere öncelik verilmesinin önemine işaret etmektedir. Orta ve ciddi vakalarında, antidepresan kullanımına veya yumurtalık baskılanmasına dayalı farmakoterapi endike olabilir. Antidepresanların ve oral kontraseptiflerin yerleşik etkinliğine rağmen, bu ajanlardan fayda görmeyen veya tolere edemeyen kadınlar için tedavi seçeneklerinin değerlendirilmesine hala ihtiyaç duyulmaktadır (61).

#### 2.5.4. Civan Perçemi (*Achillea millefolium*)

*Achillea millefolium* İngilizce adı yarrow, Arapça adları: shavella, huzambil; Urduca adı: biranjasef olan bitki Asteraceae familyasına aittir. Boyu 50 cm kadar uzunluğunda kadar küçük, çok yıllık, püsküllü bir bitkidir. Yapraklar alternatif, dikdörtgen-mızrak şeklinde, üç pinnatisect, ince bir şekilde lineer, dentat ve mukronat az çok tüylü segmentlere bölünmüştür. Çiçekler çok sayıda, küçük ve beyazdır, gövde ve dalların uçlarında korymbose, oval, düz tepeli başları vardır. Himalayalarda ve

Avrupa'da bulunur. *A. millefolium*, başlıca anti-inflamatuar etkileri ile bilinen önemli bir tıbbi bitkidir (62).

Civanperçemi (*Achillea millefolium* L.), Avrupa'dan Asya'ya iltihaplanmalara, yara iyileşmesi için, spazmodik gastrointestinal bozuklukların, hepatobiliyer ve jinekolojik rahatsızlıkların tedavisinde birçok kültürün geleneksel ve tamamlayıcı tıbbında yaygın olarak kullanılan Asteraceae ailesinin önde gelen bir türüdür. Bitki içinde tükürük ve mide asidini artırarak sindirime yararlı ve yardımcı olan flavonoidleri bulundurur. Salisilik asit ve kafeik asit gibi fenolik asitler, *Achillea millefolium*'da bulunan, anti-inflamatuar ve anti-bakteriyel özelliklere sahip bileşiklerdir (63).

Civanperçemi (*Achillea millefolium*), halk arasında baş ağrısı şikayetlerine ve hemoroit oluşumu gibi iltihaplı hastalıkların tedavisinde kaynatma yöntemi ile kullanılmış olup daha önce yapılmış bir çalışmaya göre de, in vivo ve in vitro aktivitesine bakılarak metanolik ekstraktının doğurganlığa ve anti-bakteriyel aktivitesine etkileri değerlendirmek istenmiştir. Sonuçlar bitkinin daha yüksek dozlarının, sperm başı anormalliğini artırdığını ve içerdiği antibakteriyel aktiviteye ek olarak -dozuna bağlı bir şekilde- doğurganlığın azalmasına neden olduğunu saptamıştır. Civanperçemi içeriğinde flavonoidler ve bu etkilere sahip diğer kimyasal bileşenler bulunur (64-66).

Civan perçemi bitkisinin henüz kullanılmamış olan potansiyelini araştırıp ortaya koymak adına 2017'de yapılmış bir yayında yetersiz kalan ve hala yapılması gereken in vitro, klinik, patolojik çalışmalara vurgu yapılmıştır. İncelemeye göre kayda değer farmakolojik faaliyetler sebebiyle, *A. millefolium* yeni ilaç keşiflerinde çok iyi bir seçenek olabilir. Bitkide bulunan mono ile seskiterpenler uçucu yağlarının% 90'ını oluşturur ve en temsili metabolitlerin başında gelir. Çok çeşitli kimyasal bileşiklerin de beraberinde rapor edildiği belirtilmiştir. Birçok in-vitro ve in-vivo modeldeki farklı farmakolojik deneyler, *A. millefolium*'un antiinflamatuar, anti-ülser, antikanser aktiviteleri vb. potansiyelini kanıtlamış olduğunu ve bununla beraber birçok geleneksel kullanımı bulunmaktadır (49,67).

*Achillea millefolium* hemoroid ve baş ağrısı gibi rahatsızlıklarda halk arasında kullanılmaktadır. Ayrıca adet bozukluklarında faydalı olduğu bildirilmektedir. Çiçekli bitkiler, bitkilerin diğer kısımlarına kıyasla en fazla biyolojik aktiviteye sahiptir. On dokuzuncu yüzyılda, diğer tüm bitkilerden daha fazla sayıda belirtiyeye sahip olduğu

söyleniyordu. Bu bitkinin çiçeklerinden antialerjik bir bileşik izole edilmiştir. Saman nezlesinde kullanılır. Solunum yolu enfeksiyonlarında etkilidir, özellikle solunum yolu rahatsızlıkları için infüzyon şeklinde önerilmektedir. Yağın emülsifikasyonunda yardımcı olan safra üretimini artırır. İdrar söktürücüdür ve böbrek taşı gibi böbrek rahatsızlıklarında kullanılabilir. Yüksek tansiyonda genellikle kullanılan çeşitli bitkisel formülasyonlarda yer kullanılmaktadır. Bu bitki, diğer bitkilerin aktivitesini arttırmak ve kan temizleyici olarak kullanılır. Antiinflamatuardır ve romatoid artrit, gut ve osteoartrit gibi kasiskelet sistemi rahatsızlıklarında da kullanıldığı rapor edilmiştir. Mevcut kanıta dayalı tıp çağında çeşitli tıbbi faaliyetler kaydedilmiştir. *A. millefolium*'un terapötik bir ajan olarak parlak bir geleceği vardır. *A. millefolium*, büyük ölçekli pazarlama için çok önemlidir. Hem aktif maddeler hem de biyolojik etkiler açısından keşfedilmesi gereken çok şey olduğu da açıktır (63).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Sağlık Bilimleri Üniversitesi Hamidiye Eczacılık Fakültesin Fitoterapi Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Yüksek lisans tez çalışması olan bu çalışma 2020 Ekim ayında araştırmaya başlanmıştır. Çalışmada kullanılan bitkiler örnekleri Kadıköy, Üsküdar veya Eminönü yerel aktarlardan temin edilmiştir.

#### 3.1. BİTKİ MATERYALI

Bu çalışmada halk arasında PKOS tedavisinde yaygın olarak kullanılan bitki materyalleri, yerel market veya aktarlarda satılan standardize edilmiş (üreten firma etiketi bulunan, türü etiketi üzerinde yazılı, yasal üretim izinleri bulunan) ürünler temin edilmiştir. Çalışmada, hayıt otu (*Vitex agnus-castus*) tohumu, civan perçemi (*Achillea millefolium*), aslan pençesi (*Alchemilla alpina*) ve melek otu (*Angelica sinensis*) bitki materyalleri kullanılmıştır. Ayrıca PKOS tedavisi için ticari olarak satılan ve bitki karışımı olan mamül bir kapsül ürünü (kapsül X) de kullanılmıştır.

#### 3.2. KULLANILAN KİMYASAL MADDELER

Etil alkol, hekzan, Trolox, DPPH<sup>•</sup>, Bakır-II-klorür ( $\text{CuCl}_2$ ), Demir-III-klorürü ( $\text{FeCl}_3$ ), Demir-II-sülfat ( $\text{FeSO}_4$ ) Neokuproin (2,9-dimetil-1,10-fenantrolin), Hidroklorik asit (HCl), Formik asit ( $\text{HCOOH}$ ), 2,4,6-Tripyridyl-S-triazine, ABTS<sup>•</sup> Sigma-Aldrich (Sigma-Aldrich, Darmstadt, Almanya) firmasından temin edilmiştir. Diğer kullanılan kimyasal malzemeler analitik saflıkta olup Türkiye'deki tedarikçi firmalardan temin edilmiştir.

#### 3.3. KULLANILAN CİHAZLAR

Buzdolabı (Bosh), Orbital çalkalayıcı (Onilab, ABD), Sonikatör (Isolab, İstanbul, Türkiye), liyofilizatör (HyperCOOL), Isıtıcıli manyetik karıştırıcı (Velp), Hassas Terazi (Electronic Balance ATX224, Shimadzu, Japan), Rotary evaporatör (Heildoph, Hei-Vap Value G3 Rotary Evaporatör - Standart), Shimadzu UV-1900i spektrofotometre (Shimadzu, Kyoto, Japonya).

Tüm bitkiler ekstraksiyondan önce öğütücüde işleminden geçirilerek buzdolabında (-18 C) saklanmıştır. Daha sonrada da deneyler aşamında hazırlanan stoklar yine -4 C ve -18 C'de saklanmaya devam edilmiştir.

### 3.4. EKSTRELERİN HAZIRLANMASI

Öğütölmüş bitkiler örneklelerinden belli miktarlarda (5 g-10 g) alınarak bitki örneklelerinin 25 katı kadar çözücü ilave edilerek ekstraksiyon yapıldı. Etanol ve hekzan ekstrelele soxhlet ekstraksiyon cihazı ile yapıldı. Ekstraksiyon işleminde sonra karışım oda sıcaklığına geldikten sonra çözücüler rotary evaportör ile uzaklaştırıldı ve ham ekstrelelele verimi hesaplandı. Daha sonra bu ekstrelelele antioksidan aktivite analizlelerinde kullanıldı. Çalışma süresince ekstrelelele buzdolabında bekletildi.

Bitki numunelerinin su ekstraksiyonu dekoksasyon yöntemi ile yapıldı. Öğütölmüş bitkiler örneklelerinden belli miktarlarda (5 g-10 g) alınarak 750 mL saf su ilave edilerek 1L'lik cam beher içeisine açık hava atmosferinde ısıtılarak kaynatıldı. Kaynatma işleml bitince soğumaya bırakılan ekstrelelele oda sıcaklığına geldikten sonra liyofilizatör balonlarına ya da uygun kaplara alınarak -20°C de donduruldu. Daha sonra ekstrelelele liyafüzyatörün içine bırakılıp (72 saat) kuruma işleminde sonra küçük kaplara alınmıştır. Elde edilen liyofilize toz halindeki ekstrelelele antioksidan analizlelerinde kullanılmıştır. Analiz süresince ekstrelelele -20°C de bekletilmiştir.

Çalışmamızda hayıt otu (*Vitex agnus-castus*) tohumu, civan perçemi (*Achillea millefolium*), aslan pençesi (*Alchemilla alpina*) ve melek otu (*Angelica sinensis*) bitki materyallerinin yanısıra bu bitkilerde eşit miktarda (2,5 g) alıp karıştırılarak bu karışımında ekstresi aynı şekilde hazırlandı ve analizlelele yapıldı. Buna Karışım (2,5x4) diye isimlendirilme yapılmıştır.

Çalışmada Karışım X diye isimlendirilen PKOS tedavisi için ticari satılan bir preparat kapsulundeki materyal alınarak diğlelele bitkilerde kullanılan ekstraksiyon yöntemi ile ekstre hazırlanmış ve antioksidan aktivitesi incelenmiştir.

### 3.5. ANTIOKSIDAN AKTİVİTE ANALİZLERİ

Antioksidan aktivite analizlelele için hayıt otu (*Vitex agnus-castus*) tohumu, civan perçemi (*Achillea millefolium*), aslan pençesi (*Alchemilla alpina*) ve melek otu (*Angelica sinensis*) bitki ekstrelelerinden 1 mg/mL konsantrasyonunda stok çözeltili hazırlanmıştır. Bu stok ekstre çözeltilisi antioksidan aktivitelerinin analizinde ekstre kaynağı olarak kullanıldı. Analiz yönteminin optimizasyonu için bu stok çözeltili

daha seyreltik veya daha konsnatre şeklinde kullanılabilir. Bu çalışmamızda bitki antioksidan aktiviteleri çok yüksek olan durumlarda stoklarda 1/5, 1/10 ve 1/20 oranında seyreltmeye gidilmiştir (etanol ve su ektrelerinde). Bitki antioksidan aktiviteleri çok düşük olan durumlarda ise stoklarda 2 kat veya 5 kat gibi oranlarda derişik hazırlamaya gidilmiştir (hekzan ektrelerinde).

### **3.5.1. Demir (III) İyon İndirgeyici Gücü Antioksidan Aktivitesi (FRAP)**

Demir (III)'ün indirgeme gücü aktivitesi Benzei ve Strain tarafından geliştirilen yöntem ile yapılmıştır (68). Ortamda bulunan Demir (III) iyonu 2,4,6-Tripyridyl-Striazine (TPTZ) ile reaksiyonu sonucu oluşan [Fe(III)-TPTZ] kompleksi antioksidanların etkisiyle Fe(II)-tripiridiltiazin [Fe(II)-TPTZ] kompleksine indirgenmektedir. Meydana gelen Fe (II)-TPTZ kompleksinin rengi koyu mavi olup 593 nm'de maksimum absorbans verir. FRAP reaktifi; 40 mM HCl içinde hazırlanmış 10 mM 2,4,6-Tripyridyl-S-triazine çözeltisi ile suda hazırlanmış 20 mM'lık FeCl<sub>3</sub> çözeltisinden 1'er mL ve 300 mM'lık asetat tamponundan (pH 3.6) 10 mL karıştırılarak hazırlanır. Her bir ekstrenin farklı konsantrasyonları 3 mL taze hazırlanmış FRAP reaktifi ile karıştırılır ve reaksiyon karışımları 37 °C'de 4 dakika süreyle inkübe edilir. UV spektrofotometrede 593 nm'de absorbans okunur. Pozitif kontrol demir sülfat (FeSO<sub>4</sub>) kullanılmıştır. Sonuçlar gram ekstre başına mikro mol FeSO<sub>4</sub> eşdeğeri (µmol FeSO<sub>4</sub>/g Ekstre) olarak hesaplanmıştır.

Stokların hazırlanması esnasında etanol ve su ekstraktları saf su ile hazırlanmış, hekzan ektreleri dimetil sulfoksit (DMSO) ile hazırlandı. Kör (blank) olarak 1 mL su + 3 mL FRAP reaktifi kullanıldı.

### **3.5.2. Bakır (II) İyon İndirgeme Esaslı Antioksidan Kapasite (CUPRAC)**

Bakır (II) İyonu İndirgeme Esaslı Antioksidan Kapasite (CUPRAC) Apak ve arkadaşları tarafından geliştirilen bakır (II) iyonu ve neokuproin reaktifi kullanılarak antioksidan kapasite analizi yapılmıştır (69). 10 mM'lık Bakır (II) klorür çözeltisi ve pH'sı 7.0 olan 1 M amonyum asetat tamponu su ile hazırlandı. 7,5 mM'lık Neokuproin (2,9-dimetil-1,10-fenantrolin) çözeltisi etanol ile hazırlandı. Bir cam tüp içerisine bakır (II) çözeltisi, neokuproin çözeltisi ve amonyum asetat tamponundan sırasıyla 1'er mL eklendi. Üzerine farklı konsantrasyonlarda ekstre çözeltileri ilave edilerek toplam hacim 4,1 mL olacak şekilde ayarlandı. Oda koşullarında ağzı kapalı olarak 30 dakika boyunca

bekletildi. Bu süre sonunda içinde örnek bulunmayan referans çözeltiye karşı 450 nm’de absorbans değerleri ölçüldü. Pozitif kontrol için Trolox kullanıldı. Sonuçlar gram kuru madde başına mikro mol troloks eşdeğeri (μmol TE/g Ekstre) olarak hesaplanmıştır.

Troloxun stok çözeltisi  $1 \times 10^{-3} \text{M}$  konsantrasyonda olacak şekilde hazırlandı. Deneyin yapılma esnasında sırasıyla önceden hazırlanmış bakır (II) klorür, neocuprin ve amino asetat tamponundan otomatik pipet yardımıyla 1’er mL alınarak cam tüplere aktarılmıştır. Ardından tüplere Troloxun stok çözeltisinden farklı miktarlarda (50, 100, 150, 200, 250, 300 μL) eklendi. Son olarak vortexlenerek 30dk karanlık ortamda inkübasyona bırakılmıştır. Sürenin sonunda spektrofotometrede 450 nm dalga boyu ile absorbansları ölçülmüştür.

Aynı işlemler her bir ekstre örneği için tekraredilerek bulunan sonuçların grafiği oluşturulmuş ve hesaplamalar yapılmıştır.

### 3.5.3. 2,2-Difenyl-1-pikrilhidrazil (DPPH<sup>•</sup>) Radikal Giderme Aktivitesi

Nötr serbest bir radikal olan 1,1-diphenyl-2 picrylhydrazil (DPPH<sup>•</sup>) ile radikal giderme aktivitesi ilk olarak 1995 yılında Brand-Williams ve arkadaşları tarafından oluşturulan metota bazı modifikasyonlar ile yapıldı (31). DPPH<sup>•</sup> çözeltisi etil alkolde 0.1mM olacak şekilde hazırlandı ve bu çözeltiden 3 mL’lik bir miktar 1 mL ekstrelerin farklı konsantrasyonlarına ilave edildi. Karışım çalkalandıktan sonra 30 dakika boyunca oda sıcaklığında ve karanlıkta inkübe edildi. UV-1900i spektrofotometresi kullanarak bu karışımların ve köre karşı (etanol) absorbansları 517 nm’de ölçüldü. Karşılaştırma adına Trolox standardı 6 farklı konsantrasyonda ölçüldü. Troloks satnadarı ve her bir ekstrenin DPPH rdikal giderme aktivitelerinin kalibrasyon grafiklerinden bazı örnekleri eklerde verilmiştir (Ek-1-Ek-7). Örneklerin ve standardın DPPH<sup>•</sup> radikalleri giderici kapasiteleri aşağıdaki denklem ile hesaplandı.

$$DPPH^{\bullet} \text{ radikal giderme aktivitesi: } \left( \frac{A_0 - A_1}{A_0} \right) \times 100$$

A0: Kontrol (DPPH<sup>•</sup>) absorbansı; A1: Numune (ekstreler) ve standardın (Trolox) absorbansı. Grafik eğrisi denkleminde %50 radikal gidermeyi (inhibisyon) sağlayan konsantrasyon belirlenerek IC<sub>50</sub> değerleri hesaplandı.

#### 3.5.4. 2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS<sup>•+</sup>)

2,2'-Azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS<sup>•+</sup>) radikali giderme aktivitesi, ABTS bileşiğinin potasyum persulfate ile ortalama 12 saat inkübe edildikten sonra ortaya çıkan ABTS<sup>•+</sup> radikalinin giderilmesi temeline dayanmaktadır. Bu radikal oldukça karalıdır ve koyu bir renk verir. Bu çözelti su ile seyreltilerek 734 nm'de absorbanısı 0.7±0.05'i geçmeyecek şekilde ayarlandı. Örnekler bu çözelti ile karıştırıldığında oluşan renk açılması ABTS<sup>•+</sup> radikali gidermesinin göstergesidir (70). Troloks standardı ve ekstrelerin farklı konsantrasyonları ABTS<sup>•+</sup> çözeltisine ilave edildikten sonra 30 dakika inkübe edildi ve absorbanıları 734 nm'de ölçüldü. Troloks satnadarı ve her bir ekstrenin ABTS<sup>•+</sup> rdikal giderme aktivitelerinin kalibrasyon grafiklerinden bazı örnekleri eklerde verilmiştir (Ek-8-Ek-12). Sonuçlar ABTS<sup>•+</sup> radikalının %50'sini gideren konsantrasyonu (IC<sub>50</sub> değeri) olarak verilmiştir.

$$\text{ABTS radikal giderme aktivitesi} : \left( \frac{A_0 - A_1}{A_0} \right) \times 100$$

A<sub>0</sub>: Kontrol (ABTS<sup>•+</sup>) absorbanısı; A<sub>1</sub>: Numune (ekstreler) ve standardın (Trolox) absorbanısı.

## 4. BULGULAR

### 4.1. EKSTRAKSİYON VERİMLERİ

Çalışmamızın konusu olan hayıt otu (*Vitex agnus-castus*) tohumu, civan perçemi (*Achillea millefolium*), aslan pençesi (*Alchemilla alpina*) ve melek otu (*Angelica sinensis*) bitkilerin önce farklı polaritedeki çözücüler ile ekstraktları elde hazırlandı. Bu ekstraktların hazırlanmasında polar, orta polarite ve apolar çözücülerden yaygın olarak kullanılan su, etil alkol ve hekzan çözücülerini kullanarak ekstraksiyon yapıldı. Elde edilen ham ekstraktların ekstraksiyon verim yüzdeleri Tablo 4.1’de verilmiştir.

**Tablo 4.1:** Bitki ham ekstraktlarının verimleri (%)

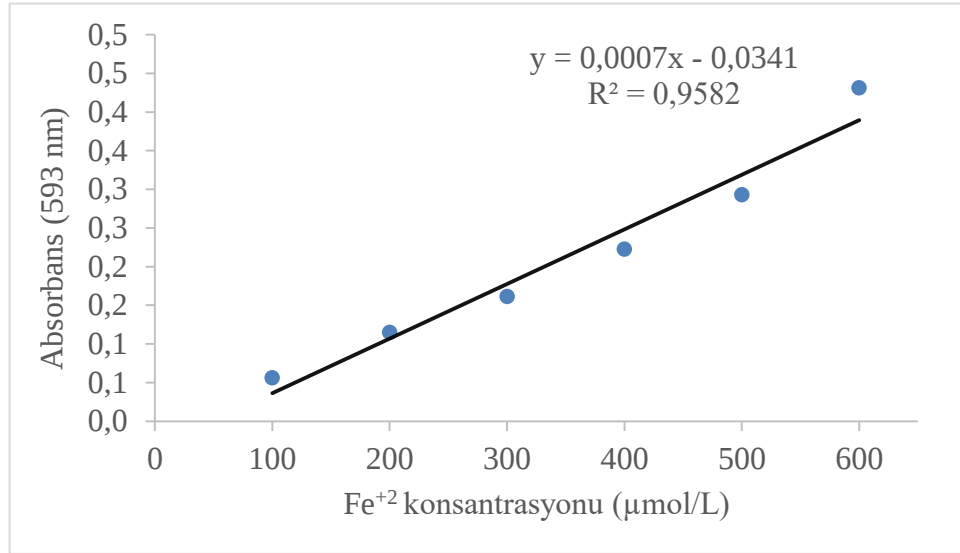
|                         | Etanol | Hekzan | Su   |
|-------------------------|--------|--------|------|
| <b>Civan perçemi</b>    | 21,2   | 2,8    | 22,4 |
| <b>Aslan Pençesi</b>    | 23,8   | 2      | 24,1 |
| <b>Hayır Out Tohumu</b> | 14,9   | 6,4    | 10   |
| <b>Melek Otu</b>        | 5,4    | 0,3    | 7,7  |
| <b>Karışım X</b>        | 6      | 1      | 53,8 |
| <b>Karışım (2,5x4)</b>  | 16,8   | 3      | 10,9 |

### 4.2. DEMİR (III) İYON İNDİRGEYİCİ GÜCÜ ANTİOKSİDAN AKTİVİTE BULGULARI

Antioksidan kapasite ölçümleri iki temel üzerine bina edilmektedir. Bunlardan biri radikal giderme aktivitesi (DPPH<sup>\*</sup>, ABTS<sup>•+</sup>, vb) diğeri ise metal iyonlarının indirgeme (FRAP, CUPRAC, vb) kapasitesidir. Bu çalışmada DPPH<sup>\*</sup>, ABTS<sup>•+</sup>, FRAP ve CUPRAC yöntemleri kullanılarak bitki ekstraktlarının antioksidan kapasiteleri belirlenmiştir.

Analizler yapıldıktan sonra gerekli hesaplamalar yapılarak Demir (III) iyonun demir (II)’ye indirgenme esasına dayanan indirgeme gücü analiz (FRAP) bulguları  $\mu\text{mol Fe}^{+2}$  eşdeğer/g ekstre şeklinde verilmiştir. Bu yöntem ile  $\text{Fe}^{+3}$ ’ün indirgenme

kapasitesi tayini için  $Fe^{+3}$ 'ün, 2,4,6-Tripyridyl-Striazine (TPTZ) ile reaksiyonu sonucu oluşan  $[Fe(III)-TPTZ]$  kompleksi antioksidanların etkisiyle  $Fe(II)$ -tripiridiltriiazin  $[Fe(II)-TPTZ]$  kompleksine indirgenmektedir. Meydana gelen  $Fe(II)-TPTZ$  kompleks spektrofotometre ile 593 nm'de absorbans ölçülür.  $Fe^{+2}$  standardı olarak demir sülfat ( $FeSO_4$ ) kullanılmıştır.



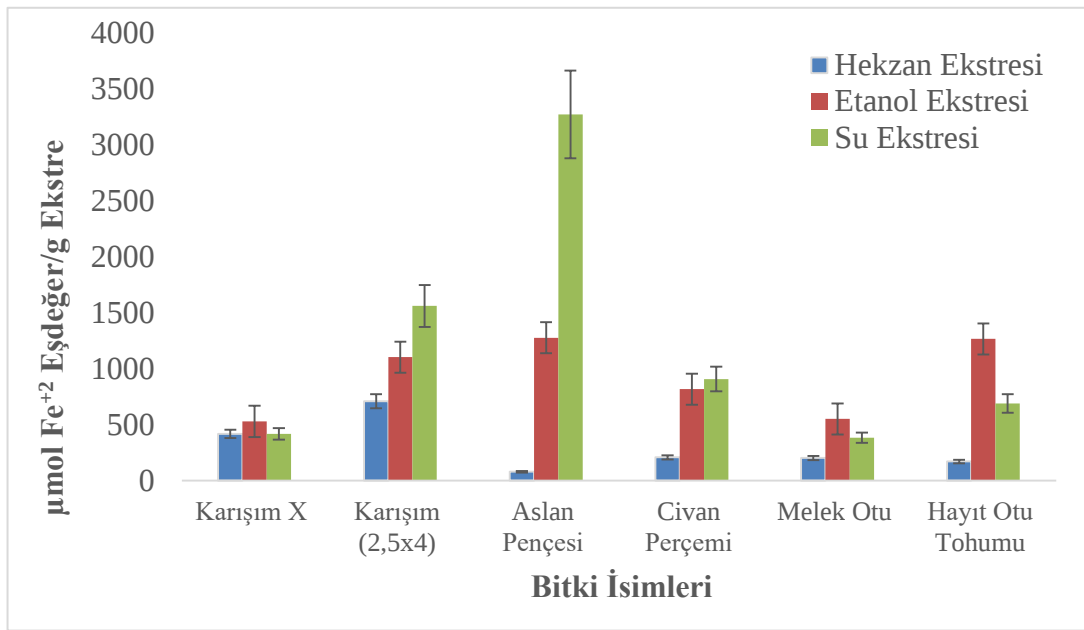
**Şekil 4.1:** Demir (III) iyon indirgeme gücü kalibrasyon grafiği (FRAP analizi)

Demir iyonu indirgeme gücü aktivitesin bulguları değerlendirildiğinde en yüksek aktivitenin aslan pençesi su ekstresinde ( $3273,0 \mu\text{mol } Fe^{+2}$  eşdeğer/g ekstre) bulunurken en düşük aktivite de aslan pençesi hekzan ekstresinde ( $80,1 \mu\text{mol } Fe^{+2}$  eşdeğer/g ekstre) bulunmuştur (Tablo 4.2)

**Tablo 4.2:** Demir ( $Fe^{+3}$ ) indirgeme gücü aktivitesi ( $\mu\text{mol } Fe^{+2}$  eşdeğer/g ekstre)

| Bitkilerin İsimleri     | Hekzan Ekstresi | Etanol Ekstresi | Su Ekstresi |
|-------------------------|-----------------|-----------------|-------------|
| <b>Karışım X</b>        | 418,7±6         | 530,1±6         | 418,7±5     |
| <b>Karışım (2,5x4)</b>  | 710,1±7         | 1103,7±12       | 1561,6±13   |
| <b>Aslan Pençesi</b>    | 80,1±5          | 1277,3±10       | 3273,0±18   |
| <b>Civan Perçemi</b>    | 209,4±3         | 818,0±11        | 908,7±12    |
| <b>Melek Otu</b>        | 203,1±7         | 552,3±9         | 384,4±9     |
| <b>Hayıt Otu Tohumu</b> | 172,3±6         | 1266,6±15       | 690,1±12    |

Şekil 4.2’de de görüldüğü gibi FRAP aktivitesi ekstrelerde kullanılan çözücüler ile de farklılıklar gözlemlenmektedir. Karışım (2,5x4), civan perçemi ve aslan pençesi ekstrelerinin FRAP apolarlıktan polarlığı bağlı olarak yükselirken analiz edilen diğer numunelerde bu eğilim görülmemektedir. En düşük FRAP aktivitenin her üç ekstrede de en düşük olduğu karışımX ve melek otunda gözlemlenmiştir. Halk arasında en sık kullanılan şeklinin sulu (infüzyon yada dekoksasyon) ekstre şeklinde olduğu düşünüldüğünde en iyi FRAP aktivitesinin karışım (2,5x4) ve civan perçemi bitkilerinin olduğu görülmüştür (Şekil 4.2).



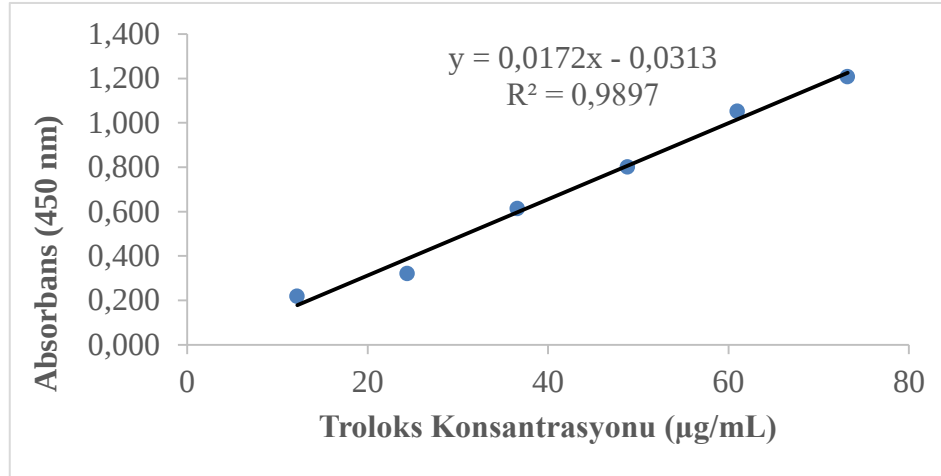
Şekil 4.2: Demir (Fe<sup>3+</sup>) indirgeme gücü aktivitesi (µmol Fe<sup>2+</sup> eşdeğer/g ekstre)

#### 4.3. BAKIR (II) İYON İNDİRGEME (CUPRAC) ESASLI ANTİOKSİDAN KAPASİTE BULGULARI

Bitkilerin antioksidan aktiviteleri *in vitro* olarak analiz edilmiş olup pozitif kontrol olarak kullanılan standart maddeler ile karşılaştırılmaları yapılmıştır.

Bakır (II) iyonu indirgeme gücü antioksidan aktivite (CUPRAC) analizi ile kromojenik bir oksidan ajan olan bakır (II)’nin neokuproin reaktifi kullanılarak, bakır (II)’nin bakır (I) haline indirgenmesi ölçülmüştür. Ekstrelerin neocuprin bakır (II) kompleksini neocuprin bakır (I) kompleksine dönüştürülmesi ile oluşan renk değişiminin 450 nm de spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Ekstrelerin CUPRAC aktivitelerinin troloks eşdeğeri hesaplanmasında farklı konsantrasyonlarda troloks

ölçümleri yapılarak kalibrasyon grafiği (Şekil 4.3) elde edilmiş ve verilerin hesaplanmasında bu grafik veya denklemi kullanılmıştır. Bu analizde sonuçların gram ekstre başına mikro mol troloks eşdeğeri ( $\mu\text{mol TE/g}$  ekstre) olarak verilmiştir.



**Şekil 4.3:** Troloks standardının kalibrasyon grafiği (CUPRAC analizi)

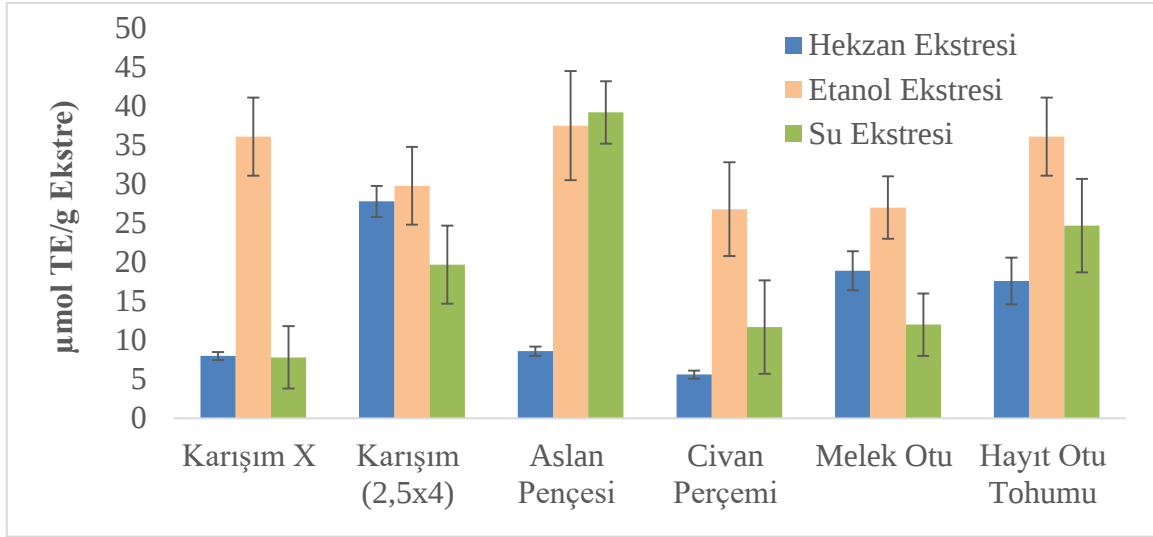
Aslan pençesinin su ve etanol ekstrelerinin CUPRAC aktivitesi en yüksek (39,2 ve 37,5  $\mu\text{mol TE/g}$  Ekstre) bulunmuşken en düşük aktivite ise civan perçemi (5,6  $\mu\text{mol TE/g}$  Ekstre), karışım X (7,98  $\mu\text{mol TE/g}$  Ekstre ) ve aslan pençesi (8,6  $\mu\text{mol TE/g}$  Ekstre) hekzan ekstrelerinde gözlemlenmiştir (Tablo 4.3 ve Şekil 4.3). Bu analizde en yüksek aktivitenin gözlemlendiği ekstrelerin etanol ve su ekstreleri olduğu görülmüştür (Tablo 4.3. ve Şekil 4.3).

**Tablo 4.3.:** Bakır (II) iyon indirgeme esaslı antioksidan aktivitesi ( $\mu\text{mol TE/g}$  ekstre)

| Bitkilerin İsimleri     | Hekzan Ekstresi | Etanol Ekstresi | Su Ekstresi |
|-------------------------|-----------------|-----------------|-------------|
| <b>Karışım X</b>        | 7,98±2,1        | 36,1±5,2        | 7,8±4,6     |
| <b>Karışım (2,5x4)</b>  | 27,8±2,5        | 29,8±5,3        | 19,7±5,1    |
| <b>Aslan Pençesi</b>    | 8,6±0,6         | 37,5±7,5        | 39,2±4,7    |
| <b>Civan Perçemi</b>    | 5,6±0,5         | 26,8±6,4        | 11,7±6,5    |
| <b>Melek Otu</b>        | 18,9±2,5        | 27,2±4,9        | 12,0±4,4    |
| <b>Hayıt Otu Tohumu</b> | 17,6±3,4        | 36,1±5,8        | 24,7±6,6    |

Bakır (II) iyonu indirgeme gücü antioksidan aktivite sonuçları bir bütün olarak değerlendirildiğinde hayıt otu (*Vitex agnus-castus*) tohumu, civan perçemi (*Achillea*

*millefolium*), aslan pençesi (*Alchemilla alpina*) ve melek otu (*Angelica sinensis*) ekstralarının en iyi aktivitelerin etil alkol ve su ekstralarında olduğu görülmüştür (Şekil 4.3). Halk arasında kullanımının genellikle su ile demleme yada kaynatma şeklinde olduğu için su ekstralarının CUPRAC aktivitelerinin kullanılması serbest radikal oluşumunun engellenebileceği düşünülmektedir.



Şekil 4.4: Bakır (II) iyon indirgeme gücü antioksidan aktivitesi (µmol TE/g ekstre)

#### 4.4. 2,2-DİFENİL-1-PİKRİLHİDRAZİL (DPPH<sup>•</sup>) RADİKAL GİDERME AKTİVİTE BULGULARI

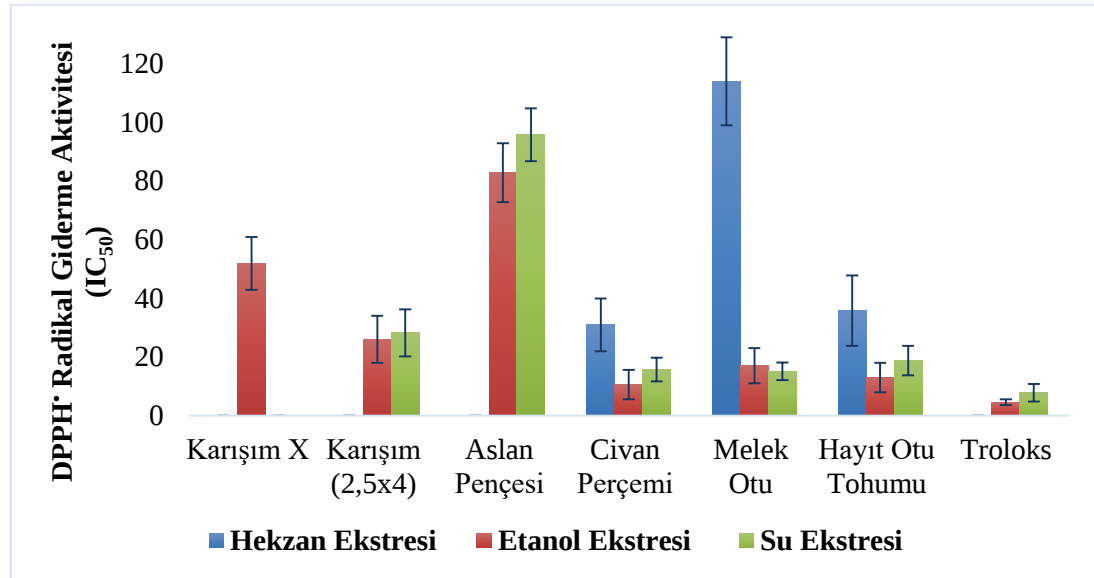
Her bir ekstrenin farklı konsantrasyonlarda DPPH<sup>•</sup> radikali giderme aktiviteleri analiz edilerek Troloks aktivitesi ile karşılaştırılmıştır. Farklı konsantrasyonlarda Troloks bileşiğinin DPPH<sup>•</sup> radikal giderme aktivitesinin yüzde inhibisyon grafiği kullanılarak IC<sub>50</sub> değeri hesaplanmıştır. Aynı hesaplanma çalışmada kullanılan hayıt otu (*Vitex agnus-castus*) tohumu, civan perçemi (*Achillea millefolium*), aslan pençesi (*Alchemilla alpina*), melek otu (*Angelica sinensis*) bitkileri, karışım (2,5x4) ve Karışım X için elde edilen her bir ekstre için yapılarak sonuçlar Tablo 4.4'de verilmiştir. Her bir ekstrenin DPPH<sup>•</sup> radikali giderme aktiviteleri Troloks ile kıyaslandığında tüm ekstraların aktivitesi Troloks'tan daha düşük bulunmuştur. Ancak ekstralar birbirleri ile kıyaslandığında en yüksek aktiviteye sahip olan civan perçemi (*Achillea millefolium*) ve hayıt otu (*Vitex agnus-castus*) tohumu etanol ekstraları ardından da melek otu (*Angelica sinensis*) ve civan perçemi (*Achillea millefolium*) sulu ekstraları olduğu gözlemlenmiştir (Tablo 4.4).

**Tablo 4.4.:** DPPH<sup>•</sup> serbest radikali giderme aktivite bulguları (IC<sub>50</sub>).

| Bitkilerin İsimleri | Hekzan Ekstresi (µg/ mL) | Etanol Ekstresi (µg/ mL) | Su Ekstresi (µg/ mL) |
|---------------------|--------------------------|--------------------------|----------------------|
| Karışım X           | *AY                      | 51,93±9                  | *AY                  |
| Karışım (2,5x4)     | *AY                      | 26,05±8                  | 28,21±8              |
| Aslan Pençesi       | *AY                      | 82,79±10                 | 95,71±9              |
| Civan Perçemi       | 30,94±9                  | 10,61±5                  | 15,72±4              |
| Melek Otu           | 113,92±15                | 17,06±6                  | 15,1±3               |
| Hayıt Otu Tohumu    | 35,80±12                 | 12,95±5                  | 18,79±5              |
| Troloks             |                          | 4,56±1                   | 7,78±3               |

\*AY: Aktivite göstermemiştir.

Tablo 4.4 incelendiğinde Karışım X'in hem hekzan hem de su ekstresinin aktivite göstermediği sadece etil alkol ekstresinin düşük de olsa bir aktivite gösterdiği görülmektedir. Karışım(2,5x4) ve aslan pençesinin de hekzan ekstrelerinin DPPH<sup>•</sup> serbest radikal giderme aktiviteye sahip olmadığı görülmüştür. Civan perçemi, melek otu ve hayıt otu tohumu hekzan ekstreleri ise düşük bir DPPH<sup>•</sup> radikal giderme aktivite gösterdiği görülmüştür (Tablo 4.4, Şekil 4.4).



**Şekil 4.5.:** DPPH<sup>•</sup> serbest radikali giderme aktivite bulguları (µg/mL).

#### 4.5. 2,2'-AZİNO-BİS (3-ETHYLBENZOTHIASOLİNE-6-SULFONİC ACİD) KATYON RADİKALİ GİDERME AKTİVİTE BULGULARI

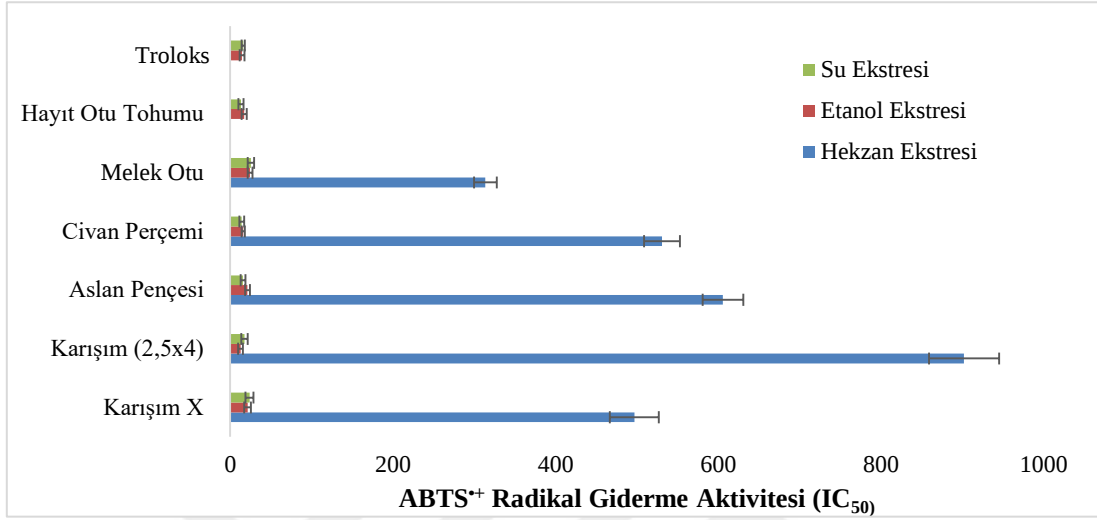
Her bir ekstrenin ABTS<sup>++</sup> katyon radikali giderme aktivite için farklı konsantrasyonlarda ekstreler kullanılarak değerlendirilmiştir. Elde edilen bulguların yüzde inhibisyon aktiviteleri hesaplanarak veriler IC<sub>50</sub> şeklinde verilmiştir (Tablo 4.5 ve Şekil 4.5). Sonuçlar pozitif kontrol için kullanılan troloks standardı ile kıyaslanmıştır. Bu analiz için kullanılan bitkilerin hekzan ekstrelerinin ABTS<sup>++</sup> katyon radikali giderme aktiviteleri incelendiğinde hayıt otu tohumunun aktivite göstermediği gözlemlenmiştir. Diğer ekstrelerin ABTS<sup>++</sup> katyon radikali giderme aktiviteleri ise troloksi ile kıyaslandığında çok düşük olduğu görülmüştür (Tablo 4.5). Hekzan ekstrelerinin aktiviteleri için de en yüksek ABTS<sup>++</sup> katyon radikali giderme aktivitesi gösteren melek otu (313,8 µg/mL) troloks ile kıyaslandığında yaklaşık olarak 20 kat daha düşük olduğu görülmüştür.

Çalışmada kullanılan ekstrelerin etil alkol ekstrelerinin ABTS<sup>++</sup> katyon radikali giderme aktiviteleri 12,77-24,33 µg/mL aralığında değiştiği görülmüştür (Tablo 4.5). Kullanılan etil alkol ekstrelerinde en yüksek aktiviteye sahip olan ekstrenin karışım (2,5x4) olduğu gözlemlenmiştir. Karışım (2,5x4) etil alkol ekstresinin ABTS<sup>++</sup> katyon radikali giderme aktivitesi (12,77 µg/mL) troloks standardından (14,56 µg/mL) daha yüksek bir aktiviteye gösterdiği görülmüştür. Kullanılan etil alkol ekstrelerinden en düşük aktiviteyi melek otu (24,33 µg/mL) göstermiştir (Tablo 4.5). Etil alkol ekstrelerinin ABTS<sup>++</sup> katyon radikali giderme aktiviteleri bir bütün olarak değerlendirilip troloks standardı ile karşılaştırıldığında tüm ekstrelerin iyi bir aktiviteye sahip olduğu söylenebilir. Aşağıdaki tabloda verilen AY aktivite göstermemiştir.

**Tablo 4.5.:** ABTS<sup>++</sup> katyon radikali giderme aktivite bulguları (IC<sub>50</sub>).

| Bitkilerin İsimleri | Hekzan Ekstresi (µg/mL) | Etanol Ekstresi (µg/mL) | Su Ekstresi (µg/mL) |
|---------------------|-------------------------|-------------------------|---------------------|
| Karışım X           | 496,94±30               | 21,33±4                 | 23,71±5             |
| Karışım (2,5x4)     | 902,41±43               | 12,77±3                 | 17,46±4             |
| Aslan Pençesi       | 605,85±25               | 21,29±3                 | 15,72±3             |
| Civan Perçemi       | 531,11±22               | 16,03±2                 | 14,2±3              |
| Melek Otu           | 313,80±14               | 24,33±3                 | 25,43±4             |
| Hayıt Otu Tohumu    | AY                      | 17,16±3                 | 13,25±3             |
| Troloks             |                         | 14,56±3                 | 15,85±2             |

Bu çalışmanın konusu olan bitki ve karışımların su ekstralarının ABTS<sup>++</sup> katyon radikali giderme aktivitelerinin IC<sub>50</sub> değerleri 13,25-25,43 µg/mL aralığında değiştiği görülmüştür (Tablo 4.5 ve Şekil 4.5).



Şekil 4.6.: ABTS<sup>++</sup> katyon radikali giderme aktivite bulguları (µg/mL).

Sulu ekstralarının ABTS<sup>++</sup> katyon radikali giderme aktivitelerinin IC<sub>50</sub> değerleri aynı çözücü ile hazırlanan troluks ile kıyaslanmıştır. Elde edilen veriler değerlendirildiğinde troluks standardından (15,85 µg/mL) daha yüksek aktivite gösteren bitkilerin hayıt otu tohumu (13,25 µg/mL), civan perçemi (14,2 µg/mL) ve aslan pençesi (15,72 µg/mL) ekstraları olduğu gözlemlenmiştir (Tablo 4.5).

Melek otu (25,43 µg/mL), karışım X (23,71 µg/mL) ve karışım (2,5x4) (17,46 µg/mL) su ekstralarının ABTS<sup>++</sup> katyon radikali giderme aktivitelerinin standart olarak kullanılan troluksdan (15,85 µg/mL) daha düşük olduğu görülmüştür (Tablo 4.5).

## 5. TARTIŞMA

Demir (III) iyonun demir (II)'ye indirgeme gücü (FRAP) aktivite analizinde pozitif kontrol olarak  $\text{Fe}^{+2}$  kullanıldı ve sonuçlar  $\mu\text{mol Fe}^{+2}$  eşdeğer/g ekstre olarak hesaplanmıştır. FRAP antioksidan aktivitesi yüksek olan ekstreler sırasıyla 3273  $\mu\text{mol Fe}^{+2}$  eşdeğer/g ekstre değeri ile aslan pençesi su ekstresi, 1561  $\mu\text{mol Fe}^{+2}$  eşdeğer/g ekstre değeri ile karışım (2,5x4) su ekstresi, 1277  $\mu\text{mol Fe}^{+2}$  eşdeğer/g ekstre değeri ile aslan pençesi etil alkol ekstresi ve 1266  $\mu\text{mol Fe}^{+2}$  eşdeğer/g ekstre değeri ile hayıt otu tohumu etil alkol ekstresi olduğu görülmüştür (Tablo 4.2).

Demir (III) iyonun demir (II)'ye indirgeme gücü (FRAP) antioksidan aktivitesinde elde edilen bulgulardan aslan pençesinin su ve metanol ekstreleri literatür bulguları ile karşılaştırıldığında benzer bulunmuştur, ancak literatürlerde verilen rakamların yorumlanması ve kullanılan standartların farklı antioksidan maddeler olmasından dolayı çalışmamızda elde edilen sonuçlar ile kıyası zor olmaktadır (68-72). Çalışmamızda kullanılan bitkilerin özellikle su ve etanol ekstrelerinin yüksek FRAP aktiviteye sahip olduğu görülmüştür.

Bakır (II) iyon indirgeme antioksidan aktivitesi (CUPRAC) sonuçları gram ekstre başına  $\mu\text{mol}$  troloks eşdeğeri ( $\mu\text{mol TE/g}$  Ekstre) olarak hesaplanmıştır. CUPRAC aktivite sonuçları değerlendirildiğinde en yüksek aktivitenin görüldüğü ekstreler sırasıyla 39,2  $\mu\text{mol TE/g}$  Ekstre ve 37,5  $\mu\text{mol TE/g}$  Ekstre değeri ile aslan pençesi su ve etanol ekstreleri ve 36,1  $\mu\text{mol TE/g}$  Ekstre değerleri ile hayıt otu tohumu ve karışım X etanol ekstreleri olduğu görülmüştür (Tablo 4.3). CUPRAC antioksidan aktivite ile ilgili elde edilen bulgulardan aslan pençesi ile elde edilen su ekstresi daha önce yapılan çalışmalar ile kıyaslandığında uyum içinde olduğu görülmüştür (73,74). Hayıt otu tohumu ekstresinin bu çalışmadaki CUPRAC sonuçları literatürle kıyaslandığında benzer bulunduğudur (58,75).

Antioksidan aktivite bulgularından DPPH<sup>•</sup> radikalini giderme aktivitesi  $\text{IC}_{50}$  değerleri hesaplanarak kullanılmıştır. Çalışmamızda en yüksek DPPH<sup>•</sup> radikali giderme aktivitesi gösteren ekstreler sırasıyla 10,16  $\mu\text{g/mL}$   $\text{IC}_{50}$  değeri ile cıvan perçemi etil alkol ekstresi, 12,95  $\mu\text{g/mL}$   $\text{IC}_{50}$  değeri ile hayıt otu tohumu etanol ekstresi, 15,13  $\mu\text{g/mL}$   $\text{IC}_{50}$  değeri ile melek otu su ekstresi ve 14,72  $\mu\text{g/mL}$   $\text{IC}_{50}$  değeri ile cıvan perçemi su ekstresi olduğu görülmüştür (Tablo 4.4).

DPPH<sup>•</sup> sonuçlarından elde edilen bulgulardan civan perçemi, melek otu ve hayırt otu tohumunun etanol su ekstreleri daha önce yapılan çalışmalarla kıyaslandığında benzerlik arz etmektedir (65,73,76,77). Bu çalışmada karışım X, karışım (2,5x4) ve aslan pençesi hekzan ekstrelerinin DPPH<sup>•</sup> radikal giderme aktiviteleri gözlemlenememişken diğer bitkilerin hekzan ekstrelerinin ise DPPH<sup>•</sup> radikal giderme aktiviteleri çok düşük bulunmuştur.

ABTS<sup>++</sup> katyonun radikali giderme aktivitesinde en yüksek aktivite gösteren ekstreler sırasıyla 12,77 µg/mL IC<sub>50</sub> değeri ile karışım (2,5x4) etanol, 13,25µg/mL IC<sub>50</sub> değeri ile hayırt otu tohumu su ekstresi, 14,4 µg/mL IC<sub>50</sub> değeri ile civan perçemi su ekstresi ve 15,72 µg/mL IC<sub>50</sub> değeri ile aslan pençesi su ekstresi olduğu gözlemlenmiştir (Tablo 4.5). ABTS<sup>++</sup> katyon radikali giderme aktivitesinin belirlenmesinde bitki ve karışımların farklı polaritedeki ekstreleri analiz edildi. Çalışmamızda analiz edilen bitkilerden hayırt otu tohumu hekzan ekstresinin ABTS<sup>++</sup> katyon radikali giderme aktivite gözlemlenememişken diğer bitkilerin hekzan ekstrelerinin ABTS<sup>++</sup> katyon radikali giderme aktiviteleri çok düşük olduğu görüldü (Tablo 4.5).

Çalışmamızın konusu olan bitki ve karışımların hekzan ekstresinin ABTS<sup>++</sup> katyon radikali giderme aktiviteleri daha önce yapılan çalışmalarda apolar çözücü kullanılarak hazırlanan ABTS<sup>++</sup> katyon radikali giderme aktivitesinin polar ekstrelere kıyasla çok düşük etki gösterdiği rapor edilmiştir (74,78,79).

Kullandığımız 4 farklı yöntemde, birlikte ve ayrı ayrı kullanıldıkları takdirde antioksidan seviyelerinde farklılıklar gösteren 4 farklı bitki çeşidimiz bulunmaktadır. Ortamda oluşturdıkları etkileşimler sonucu PKOS'da yer alan hormonal mekanizmaya dolaylı yoldan dahil olmaktadır. Bilinçsiz kullanımı yaygın olan bu bitkilerin bilimsel veriler ışığında değerlendirilerek tedavi reçetelerine öyle girmeleri amaçlanmaktadır.

Hormonal sistemin immune sistemi üzerine nasıl etki ettiğini anlamak için sadece stres faktörünü üzerine yapılan çalışmaları ele alacak olursak bilindiği üzere stress seviyesinin immun sistemini baskılayıcı bir yanı bulunmaktadır. Son 20 yılda hem hayvan modellerinde hem de insan çalışmalarında stresin nöroendokrin hormonları, özellikle glukokortikoidleri ve katekolaminleri aynı zamanda bir dereceye kadar prolaktin, büyüme hormonu ve sinir büyüme faktörünü de arttırdığı tespit edilmiştir. Bu stres hormonlarının etkisi altında kalan bünyede azalmış NK

hücre aktivitesi, lenfosit popölasyonları, lenfosit proliferasyonu, antikor üretimi ve latent viral enfeksiyonların reaktivasyonu dahil olmak üzere bağışıklık fonksiyonu üzerinde negatif etkilerinin olduğu bulunmuştur. Stresin bağışıklık fonksiyonu üzerindeki etkilerine ve sağlık üzerindeki etkilerine dair bilimsel kanıtlar sağlayan diğer verilerde ise bağışıklık sistemi üzerindeki bu tür etkilerin sağlık üzerinde, bunlarla sınırlı kalmamakla birlikte, gecikmiş yara iyileşmesi, aşılamaaya karşı bozulmuş tepkiler ve kanser gelişimi ve ilerlemesini içeren ciddi sonuçları olduğu bilinmektedir (80).

Elde edilen veriler ile PKOS tedavisinde kullanılan bitkilerin antioksidan kapasitelerinin saptaması yapılmıştır. Yine son dönem araştırmaları geleneksel tedavi yöntemlerinin kullanımının arttığını ortaya koyarak, zaten geleneksel Fars ve Çin tıbbında tanımlanması yapılmış ve reçetelere girmiş olan tedavi yöntemlerini inceleyip araştırmamızı zorunlu kılmaktadır.

## 6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

20.yy. dişi bireylerinde sık rastlanır hale gelen ve görülme sıklığı yaş aralığında da fark edilir artış olduğu PKOS, dişi bireylerin sağlıkları üzerine endişe teşkil edecek bir noktaya dikkat çekmektedir. Metabolik durum ve bağışıklık fonksiyonları ele alındığında aralarında karmaşık bir düzen mevcuttur. Bu durum bireylerde görülebilecek olası hastalık riskini de doğrudan etkilemektedir.

Bilindiği üzere halk arasında kullanılan çeşitli (aktarların önerdiği) bitki ve karışımları, fizyolojik parametrelerde bireysel farklılıklar gösterse bile kullanılış şekillerine bağlı olarak bunu takip eden patolojik denge ve sistem ayarlamalarının hormon ve dolaylı olarak immune sistemine de etki edeceği bir gerçektir.

Virüs, bakteri gibi mikroorganizmalara karşı vücudun savunma sisteminde bulunan çeşitli elemanlar (makrofajlar, sitokinler, fagositler, B ve T lenfositleri ve doğal öldürücü hücreler) vücuda giren patojene karşı vücudu savunmak için beraber çalışırlar. Oral alınan her şey ile vücudun immün sistem arasında önemli bir ilişki bulunmaktadır ve malnutrüsyon olası halinde vücut enfeksiyonlardan çok kolay bir şekilde etkilenebilir. Bu da bağışıklık fonksiyonlarının tepkisinin azalmasına sebep olacaktır. Bu sebep ile bağışıklık sisteminin sağlıklı bir şekilde fonksiyonunu sürdürebilmesi için gerekli olan makro ve mikro besin öğelerinin önerilen miktarlarda tüketilmesi önemli olduğu gibi tüketilen bitki kürlerinin de ne ölçüde etki edeceğini bilmek önem arz etmektedir.

Polikistik over sendromu (PKOS), kadınlarda sık görülen bir metabolik ve üreme bozukluğu olmakla beraber metabolik olarak stabil değildir. Bundan dolayı PKOS'lu bireylerde artmış bir kardiyovasküler risk ile birlikte dislipidemi en kalıcı ve en yaygın olanı olarak tespit edilmiştir. Yine PKOS hastalarında LDL kolesterolün yüksek olması ile birlikte obez PKOS vakalarında yaşamlarının üçüncü on yılından itibaren HDL kolesterol konsantrasyonlarında azalma tespit edilirken, trigliseritlerin yaşamın ikinci on yılından itibaren yükselmeye başladığı görülmektedir. PKOS, oksidatif stres, yani artan serbest radikal üretimi ve ardından azalan serum antioksidan seviyeleri ile antioksidan enzim aktivitesi ile ilişkilidir.

Yapılan tayin yöntemlerinde seçmiş olduğumuz bitkilerin neredeyse her bir yöntemde ve her bir ekstraktında fazlasıyla yüksek çıkması çalışmanın başarıya ulaştığını gösterir.

Herbalların her birisi kendi başına kullanıldıklarında farklı sonuçlar verirken beraber kullanıldıklarında kimi yöntemde antagonist kiminde ise agonist etkileşimde olduklarını gösteriyor.

Sonuçlar gösteriyor ki deneyler esnasında kullanılan bitkilerin, her çözücü ile az da olsa etkileşime girmesi antioksidan kapasitelerinin yüksek olduğuna işarettir.

Karışım X ekstresinin sulu ve hekzanlı çözeltilerinde yapılan deneyler sonucu kendisinin görünürde verim hacmi çok olsa da yararının yok denecek kadar az olduğunu söylemek de yanlış olmaz. Diğer yandan bizim hazırladığımız karışım 2,5x4, çözücüsü ne olursa olsun belirlenen antioksidan tayin yöntemleri sonucunda elde edilen veriler göstermiştir ki verim çok yüksektir.

Melek otu ve civan perçeminin kendi aralarında yarıştığını söylemek yanlış olmaz. Yine melek otunun birçok çözücüde farklı yöntemlerle elde edilen ektraktlarının yüksek ölçüde antioksidan sahibi olduğu yapılan çalışmalar arasındadır (81).

Genel manada PKOS hormon sisteminden direkt etkilense de uzun vadede antioksidan kapasiteleri böylesine yüksek olan bitkilerin kendileri ve karışımlarının kullanımının ardından mutlaka etkileyeceğini söylemek mümkündür.

Piyasan alınan Karışım X tabletinin antioksidan kapasitesi Karışım 2,5x4'e kıyasla çok seviyelerde olduğu görülmüştür. Eğer bitki karışımları kullanılacaksa bu çalışmada antioksidan bakımından değerlendirilen Karışım (2,5x4) karışımının çay şeklinde kullanılması daha yararlı olabileceği söylenebilir.

Günümüzde PKOS ve PKOS gibi yaygın olarak görülen, hormonal düzeyde kontrolü ve tedavisi %100 mümkün olmayan hastalık ve türevlerinin daha iyi anlaşılacak biyolojik aktivitenin kendi içindeki çalışma mekanizmasına odaklı alternatif yollar ve hali hazırda uygulanmakta olan tedavi yollarının daha çok gündeme getirilerek klinik çapta gönüllüler ile yapılacak çalışmalara gerek görülmektedir. Bu sayede durum değerlendirmesi daha çabuk ve kesin olarak

yapılacak ve yeni bakış açılarına olanak sağlayan pozitif düşünceler yayılacaktır (82,83).

Daha önce yapılan çalışmalarda da PKOS'un tedavisi için bazı önemli tıbbi bitkiler öne çıkarılmış ve mevcut bozuk durumu iyileştirerek yönlendirdiği çeşitli hormonal ve immunsal sistemde rol aldığı kanıtlanmıştır.

Çalışmamızda analiz edilen bitkilerin hem radikal giderme aktiviteleri hem de radikal oluşumunu engelleme kapasiteleri bakımından değerlendirildiğinde, aslan pençesi, melek otu, civan perçemi ve hayıt otu tohumu su ekstralarının yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğu görülmüştür. Sulu ekstralar halk arasındaki kullanıma en uygun olan şekli olmakla beraber kolay ve ucuz bir yöntemdir. Bu bitkilerin özellikle halk arasında kullanımı olan sulu ekstralarının yüksek aktivite gösteriyor olması bu bitkilerin antioksidan çayı olarak kullanılabilceği sonucu çıkarılabilir. Ancak bu bitkiler ile ilgili toksisite çalışmaları ve kanıta dayalı kaliteli ve yeterli çalışmaların yapılması gerektiği kanaatindeyiz. Toksisite çalışmalarının yapılmasından sonra bu bitkilerden geleneksel ve bitkisel tıbbi ürün (GBTÜ) geliştirilmesi çalışmaları yapılması gerekli olduğu bu çalışmadan çıkardığımız önemli sonuçlardan biridir.

Herbir bitkinin farklıözücüler ile elde edilen ekstralarının farklı in vitro antioksidan metotlardaki aktiviteleri farklı olduğu görülmüştür. Ancak tüm veriler değerlendirildiğinde karışım (2,5x4) sulu ekstresinin antioksidan kapasitesinin en yüksek olduğu ve bunun çay şeklinde kullanılmasının daha uygun olduğu görülmüştür.

## KAYNAKLAR

1. Jazani AM, Azgomi HND, Agzomi AND, Azgomi RND. (2019). A comprehensive review of clinical studies with herbal medicine on polycystic ovary syndrome (PCOS). *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, 27, 863–877.
2. Yadav K, Ghadge P, Langeh A, Kalbhare S, Phadtare P, Bhoite R. (2020). A Review on Herbal Medicinal Plant for Treatment of Polycystic Ovarian Syndrome (PCOS). *Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development*, 8(4), 83-87.
3. Lin MJ, Chen HW, Liu PH, Cheng WJ, Kou SL, Kao MC. (2019). The prescription patterns of traditional Chinese medicine for women with polycystic ovary syndrome in Taiwan: A nationwide population-based study, *Medicine*, 98, 24.
4. Patel S. (2018). Polycystic ovary syndrome (PCOS), an inflammatory, systemic, lifestyle endocrinopathy. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 182, 27–36.
5. Evliyaoğlu O. (2011). Polycystic ovary syndrome and hirsutism. *Turk Pediatri Arsivi*, 46 (1), 97–102.
6. Victor VM, Rovira-Llopis S, Banuls C, Diaz-Morales N, Martinez de Marañon A, Rios-Navarro C, Alverz A, Gomes M, Rocha M, Hernández-Mijares1A. (2016). Insulin resistance in pcso patients enhances oxidative stress and leukocyte adhesion: Role of myeloperoxidase. *PLoS One*;11(3): e0151960. doi: 10.1371/journal.pone.0151960.
7. Abasian Z, Rostamzadeh A, Mohammadi M, Hosseini M, Rafieian-kopaei M. (2018). A review on role of medicinal plants in polycystic ovarian syndrome: Pathophysiology, neuroendocrine signaling, therapeutic status and future prospects. *Middle East Fertility Society Journal*, 23(4), 255–262.
8. Naderpoor N, Shorakae S, Courten B, Misso ML, Moran LJ, Teede HJ. (2016). Metformin and lifestyle modification in polycystic ovary syndrome: Systematic review and meta-analysis. *Human Reproduction Update*, 22(3), 408–409.
9. Liao WT, Su CC, Lee MT, Li CJ, Lin CL, Chiang JH, Yen HR. (2019). Integrative Chinese herbal medicine therapy reduced the risk of type 2 diabetes mellitus in patients with polycystic ovary syndrome: A nationwide matched cohort study. *Journal of Ethnopharmacology*, 243,112091.
10. Litescu SC, Eremia S, Radu GL. (2010). Methods for the Determination of Antioxidant Capacity in Food and Raw Materials. İçinde: Giardi MT, Rea G, Berra B (editörler). *Bio-Farms for Nutraceuticals: Functional Food and Safety Control by Biosensors*, 241-249.
11. Beck MA, Levander OA. (1998). Dietary oxidative stress and the potentiation of viral infection. *Annual Review of Nutrition*, 18, 93-116.
12. Iuliano L, Pratico D, Ferro D, Basili S, FitzGerald GA, Violi F. (1998). Enhanced lipid peroxidation in hepatic cirrhosis. *Thrombosis Research*, 91, 130-131.
13. Frei B. (1994). Reactive Oxygen Species and Antioxidant Vitamins - Mechanisms of Action. *American Journal of Medicine*, 97, 5-S13.
14. Peterhans E. (1997). Oxidants and antioxidants in viral diseases: Disease mechanisms and metabolic regulation. *Journal of Nutrition*, 12, 962-965.
15. Beck MA. (2000). Nutritionally induced oxidative stress: effect on viral disease. *American Journal of Clinical Nutrition*, 71, 1676-1679.
16. Treitinger A, Spada C, Verdi JC, Miranda AFB, Oliveira OV, Silveira MVS, Moriel P, Abdalla DSP. (2000). Decreased antioxidant defence in individuals infected by the human immunodeficiency virus. *European Journal of Clinical Investigation*, 30, 454-459.
17. Evans P, Halliwell B. (1999). Free radicals and hearing-Cause, consequence, and criteria: Henderson D, Salvi RJ, Quaranta A, McFadden SL, Burkard RF (editörler). *Ototoxicity: Basic Science and Clinical Applications*: 19-40.
18. Dou L, Zheng Y, Li L, Gui X, Chen Y, Yu M, Guo Y. (2018). The effect of cinnamon on polycystic ovary syndrome in a mouse model. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 16(1), 1–10.
19. Tola EN. (2014). Oksidan ve antioksidan sistemlerin kadın fertilitesine etkileri, *SDU Journal of Health Science Institute / SDÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 5(1), 26-31.
20. Gutteridge JMC, Halliwell B. (1992). Comments on Review of Free-Radicals in Biology ad Medicine. *Free Radical Biology and Medicine*, 12, 93-95.
21. Halliwell B, Gutteridge JMC. (1986). Oxygen Free-Radicals and Iron in Relation to Biology and Medicine - Some Problems and Concepts. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 246, 501-514.
22. Antolovich M, Prenzler PD, Patsalides E, McDonald S, Robards K. (2002). Methods for testing antioxidant activity. *Analyst*, 127, 183-198.

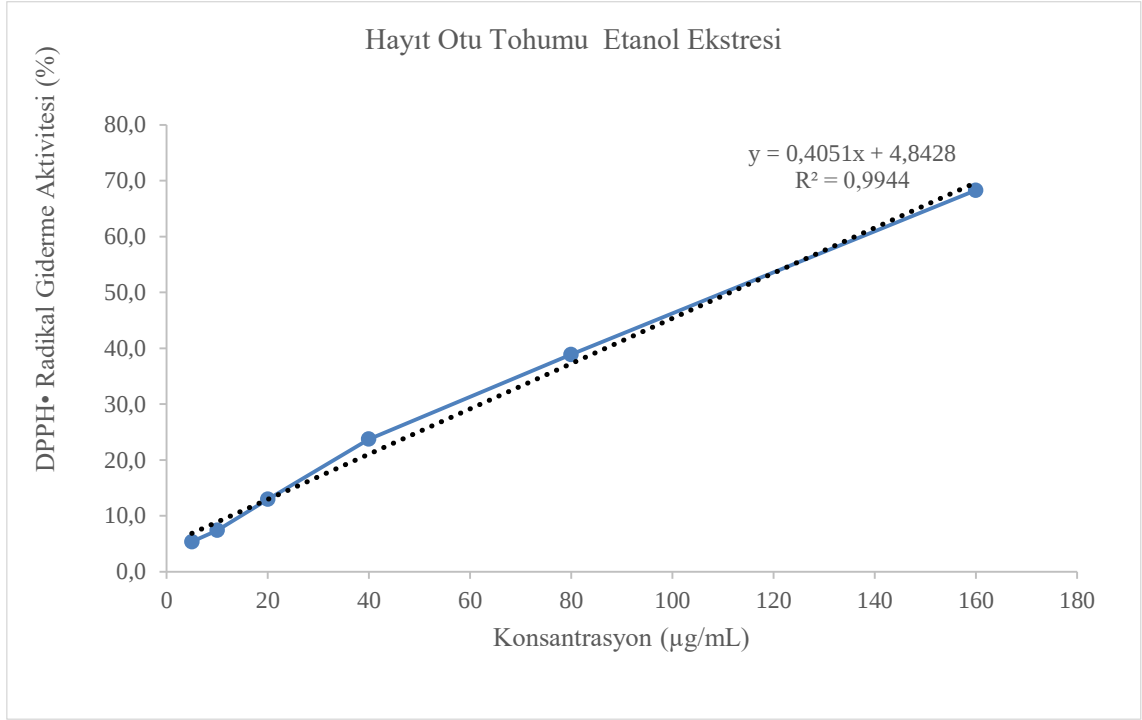
23. Kanner J, German JB, Kinsella JE. (1987). Initiation of Lipid-Peroxidation in Biological-Systems. *Crc Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 25, 317-364
24. Özcan O, Erdal H, Çakırca G, Yönden Z. (2015). Oksidatif stres ve hücre içi lipid, protein ve DNA yapıları üzerine etkileri; *Journal of Clinical and Experimental Investigations*, 6 (3): 331-336.
25. Biçim G. (2013). Oksidatif stres ve antioksidan kapasite ile ilişkili gen polimorfizmlerinin değişik yöntemlerle belirlenmesi. Marmara Üni. Biyokimya Tıp.YL-Tez.
26. Shahidi F, Ambigaipalan P. (2015). Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects A review. *Journal of Functional Foods*, 18, 820-897.
27. Bravo L. (2019). Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism, and Nutritional Significance. *Nutrition Reviews*, 56(11),317-333.
28. Ali SS, KasojuN, Luthra A, Singh A, Saharanabasava H, Sahu A, Bora U. (2018). Indian medicinal herbs as sources of antioxidants. *Food Research International*, 41(1), 1–15.
29. Apak R, Guclu K, Ozyurek M, Celik SE. (2006). A novel total antioxidant capacity measurement for food and plasma antioxidants: CUPRAC method. *Febs Journal*, 273, 72-72.
30. Sozgen K, Cekic SD, Tutem E, Apak R. (2006). Spectrophotometric total protein assay with copper(II)-neocuproine reagent in alkaline medium. *Talanta*, 68, 1601-1609
31. Brand-Williams W, Cuvelier M.E, Berset C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28, 25–30.
32. Gülçin I, Huyut Z, Elmastaş M, Aboul-Enein HY. (2010). Radical scavenging and antioxidant activity of tannic acid. *Arabian Journal of Chemistry*, 3(1), 43–53.
33. Huang DJ, Ou BX, Prior RL. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 1841-1856.
34. Bi SJ, Fu RJ, Li JJ, Chen YY, Tang YP. (2021). The Bioactivities and Potential Clinical Values of Angelica Sinensis Polysaccharides. *Natural Product Communications*, 16(3), 1–18.
35. Hou C, Yin M, Lan P, Wang P, Nie H, Ji X. (2021). Recent progress in the research of Angelica sinensis (Oliv.) Diels polysaccharides: extraction, purification, structure and bioactivities. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 8(1),1–14.
36. Kwon C.Y, Cho IH, Park KS. (2020). Therapeutic Effects and Mechanisms of Herbal Medicines for Treating Polycystic Ovary Syndrome: A Review. *Frontiers in Pharmacology*, 11, 1192. doi: 10.3389/fphar.2020.01192.
37. Sargın SA, Akçicek E, Selvi S. (2013). An ethnobotanical study of medicinal plants used by the local people of Alaşehir (Manisa) in Turkey. *Journal of Ethnopharmacology*, 150(3),860-74.
38. Ozbek H, Acikara OB, Keskin I, Kirmiz NI, Ozbilgin S, Oz BE, Kurtul E, Ozrenk BC, Tekin M, Saltan G. (2017). Evaluation of hepatoprotective and antidiabetic activity of Alchemilla mollis. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 86, 172-176.
39. ESCOP Monographs, Online Series, European Scientific Cooperative on Phytotherapy, United Kingdom, 2013 (n.d.)
40. European Pharmacopoeia 6.0 (vol.2) Alchemillae Herba.01/2008: 1123 (n.d.)
41. Makau JN, Watanabe K, Kobayashi N. (2013). Anti-influenza activity of Alchemilla mollis extract: possible virucidal activity against influenza virus particles. *Drug Discoveries & Therapeutics*, 7(5), 189-195.
42. Yarnell E, Abascal K. (2009). Multiphasic herbal prescribing for menstruating women. *Alternative and Complementary Therapies*, 15(3), 126–134, doi:http://dx.doi.org/10.1089/ act.2009.15305.
43. Uycan SD, Ozkan ZC, Akbulut S. (2011). Ethnobotanic features of Rize/Turkey province. *Biological Diversity and Conservation*, 6 (3), 57–66.
44. Kava I, Behçet L, Cakilcioglu U. (2014). Ethnobotanical study on medicinal plants in Geçitli and its surrounding (Hakkari-Turkey), *Journal of Ethnopharmacology*, 155(1), 171–184.
45. Mükemre M, Behçet L, Çakılcioglu U. (2015). Ethnobotanical study on medicinal plants in villages of Çatak (Van-Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, 166, 361–374.
46. Güzel Y, Güzelşemme M, Miski M. (2015). Ethnobotany of medicinal plants used in Antakya: a multicultural district in Hatay Province of Turkey, *Journal of Ethnopharmacology*, 174 118–152.
47. Baytop T. (1999). Türkiye’de bitkiler ile tedavi, Phytotherapy in Turkey, Past and Present, Nobel Publishers, Istanbul.
48. Altundag E, Ozturk M. (2011) Ethnomedicinal studies on the plant resources of east Anatolia, Turkey. *Procedia - Social and Behavioral Sciences*, 19, 756–777.
49. Akbulut S, Bayramoglu MM. (2013). The trade and use of some medical and aromatic herbs in Turkey, *Studies on Ethno-Medicine*, 7(2), 67–77.
50. Polat R, Satil F, Cakilcioglu U. (2011). Medicinal plants and their use properties of sold market in Bingöl (Turkey) district, *Biological Diversity and Conservation*, 4, 25–35.

51. Sagirolu TM, Arslantürk ZK, Akgül A. (2012). An ethnobotanical survey from hayrat (Trabzon) and Kalkandere (Rize/Turkey), *Biological Diversity and Conservation*, 5, 31–43.
52. Kalankan G, Ozkan ZC, Akbulut S. (2015). Medicinal and aromatic wild plants and traditional usage of them in mount ida (Balıkesir/Turkey), *Journal of Applied Biological Sciences*, 9(3), 25–33.
53. Polat R, Cakilcioglu U, Kaltalioglu K, Ulasan MD, Turkmen Z. (2015). An ethnobotanical study on medicinal plants in Espiye and its surrounding (Giresun-Turkey) *Journal of Ethnopharmacology*, 163, 1–11.
54. Akbulut S, Ozkan ZC. (2014). Traditional usage of some wild plants in Trabzon region (Turkey), *Kastamonu Universitesi Orman Fakültesi Dergisi*, 14, 135–145.
55. Akbulut S, Bayramoglu MM. (2014). Reflections of socio-economic and demographic structure of urban and rural on the use of medicinal and aromatic plants: the sample of Trabzon province, *Studies on Ethno-Medicine*, 8(1), 89–100.
56. Trendafilova A, Todorova M, Gavrilova A, Vitkova A. (2011). Flavonoid constituents and free radical scavenging activity of *Alchemilla mollis*. *Natural Product Communications*, 6(11), 1851–1854.
57. Niroumand MC, Heydarpour F, Farzaei MH. (2018). Pharmacological and Therapeutic Effects of *Vitex agnus-castus* L.: A Review. *Pharmacognosy Reviews*, 12, 102–114.
58. Cerqueira RO, Frey BN, Leclerc E, Brietzke E. (2017). *Vitex agnus castus* for premenstrual syndrome and premenstrual dysphoric disorder: a systematic review. *Archives of Women's Mental Health*, 20(6), 713–719.
59. Souto EB, Alessandra A, Nazhand A, Lucarini M, Zaccardelli M, Souto SB, Silva AM, Severino P, Novellino E, Santini A. (2020). *Vitex agnus-castus* L.: Main features and nutraceutical perspectives. *Forests*, 11(7), 1–16.
60. Fisher C, Adams J, Hickman L, Sibbritt D. (2016). The use of complementary and alternative medicine by 7427 Australian women with cyclic perimenstrual pain and discomfort: A cross-sectional study. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16(1), 1–11.
61. Mohammadhosseini M, Sarker S. D, ve Akbarzadeh A. (2017). Chemical composition of the essential oils and extracts of *Achillea* species and their biological activities: A review. *Journal of Ethnopharmacology*, 199, 257–315.
62. Akram M, (2017). Minireview on *Achillea millefolium* Linn. *Journal of Membrane Biology*, 246(9), 661–663.
63. Dall'Acqua S, Bolego C, Cignarella A, Gaion R. M. ve Innocenti G. (2011). Vasoprotective activity of standardized *Achillea millefolium* extract. *Phytomedicine*, 18(12), 1031–1036.
64. Candan F, Unlu M, Tepe B, Deferera D, Polissiou M, Sökmen A, Akpulat HŞ. (2003). Antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and methanol extracts of *Achillea millefolium* subsp. *millefolium* Afan. (Asteraceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 87(2-3), 215–220.
65. Montanari T, De Carvalho JE, Dolder H. (1998). Antispermatic effect of *Achillea millefolium* L. in mice, *Contraception*, 58(5), 309–313.
66. Dorjsembe B, Lee HJ, Kim M, Dulamjav B, Jigjid T, Nho CW. (2017). *Achillea asiatica* extract and its active compounds induce cutaneous wound healing. *Journal of Ethnopharmacology*, 206, 306–314.
67. Benzie IFF, Strain JJ. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*, 239, 70–76.
68. Apak R, Güçlü K, Demirata B, Ozyurek M, Celik SE, Bektasoglu B, Berker KI, Ozyurt D. (2007). Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. *Molecules*, 12, 1496–1547.
69. Roberta R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice Evans C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26 (9-10), 1231-1237.
70. Küpeli Akkol E, Demirel MA, Acıkara OB, Süntar I, Ergene B, İlhan M, Özbilgin S, Saltan G, Keleş H, Tekin M. (2015). Phytochemical analyses and effects of *Alchemilla mollis* (Buser) Rothm. and *Alchemilla persica* Rothm. in rat endometriosis model. *Archives of Gynecology and Obstetrics*, 292(3), 619–628.
71. Firat YY, Kaya D, İnanç N. (2021). İnfertil Kadınların Bitkisel Ürün Kullanım Durumları. *İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Dergisi*, 6(2), 7-13.
72. Ali SI, Gopalakrishnan B, Venkatesalu V. (2017). Pharmacognosy, Phytochemistry and Pharmacological Properties of *Achillea millefolium* L.: A Review. *Phytotherapy Research*, 31(8), 1140–1161.

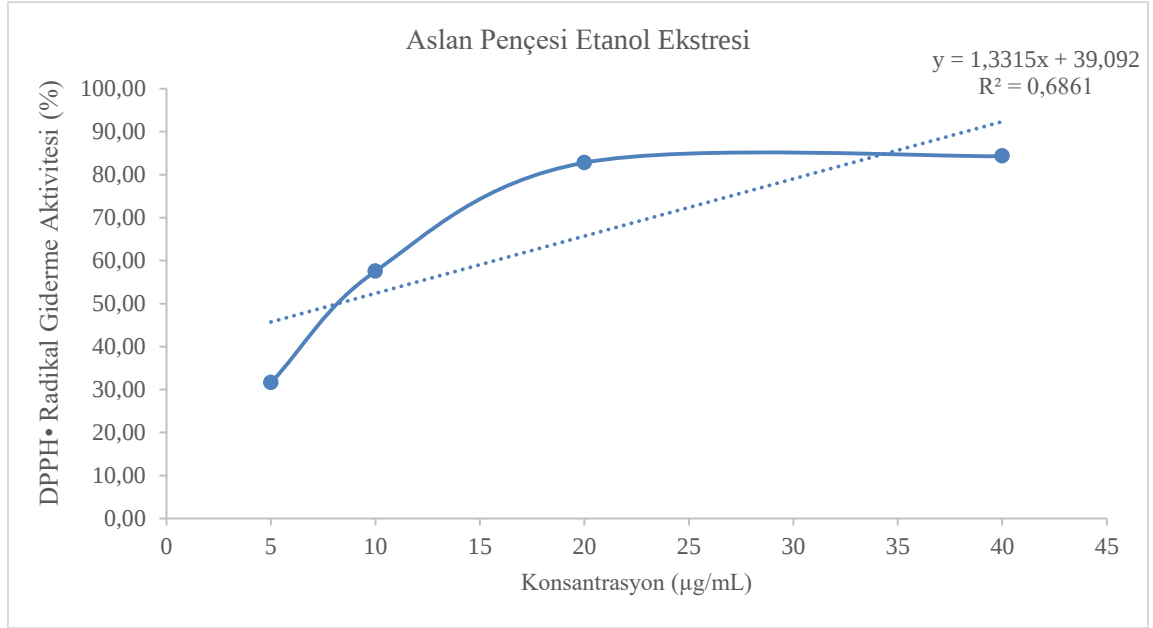
73. Georgieva L, Gadjalova A, Mihaylova D, Pavlov A. (2015). *Achillea millefolium* L. Phytochemical profile and in vitro antioxidant activity. *International Food Research Journal*, 22(4), 1347–1352.
74. El Kamari F, Ousaaïd D, Taroq A, El Atki Y, Aouam I, Lyoussi B, Abdellaoui A. (2021). Bioactive ingredients of different extracts of *Vitex Agnus Castus*. *Jordan Journal of Biological Sciences*, 14(2), 267–270.
75. Kuruüzüm-Uz A, Güvenalp Z, Ströch K, Demirezer LÖ, Zeeck A. (2008). Antioxidant potency of flavonoids from *Vitex agnus-castus* L. growing in Turkey. *Fabad Journal of Pharmaceutical Sciences*, 33(1), 11–16.
76. Kazemi M. (2015). Chemical composition and antimicrobial, antioxidant activities and anti-inflammatory potential of *Achillea millefolium* L., *Anethum graveolens* L., and *Carum copticum* L. essential oils. *Journal of Herbal Medicine*, 5(4), 217–222.
77. Kain D, Kumar S, Vandana V, Suryavanshi A, Arya A. (2021). Metabolic Characterization, Antioxidant Capacity, and In vitro Antiuro lithiatic Potential of *Achillea millefolium* L. *Journal of Young Pharmacists*, 13(3), 211–216.
78. Acet T, Özcan K. (2018). Aslanpençesi (*Alchemilla ellenbergiana*) Ekstrelerinin Antioksidan ve Antimikrobiyal Özelliklerinin Belirlenmesi. *Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 8, 113–121.
79. Jeanette I, Webster M, Glaser R. (2008). Stress hormones and immune function. *J.I. Webster Marketon, R. Glaser/Cellular Immunology*, 252, 16–26.
80. Li X, Wu X, Huang L. (2009). Correlation between antioxidant activities and phenolic contents of *radix Angelicae sinensis* (Danggui). *Molecules*, 14(12), 5349–5361.
81. Macut D, Pfeifer M, Yildiz BO, Diamanti-Kandarakis E (eds): Polycystic Ovary Syndrome. Novel Insights into Causes and Therapy. Frontiers of Hormone Research Home-Karger Publishers. 2013, 40, pp 51–63.
82. Hilali N, Vural M, Camuzcuoglu H, Camuzcuoglu A, Aksoy N. (2012). Increased prolidase activity and oxidative stress in PCOS. *Clinical Endocrinology*; 79, 105–110.

## EKLER

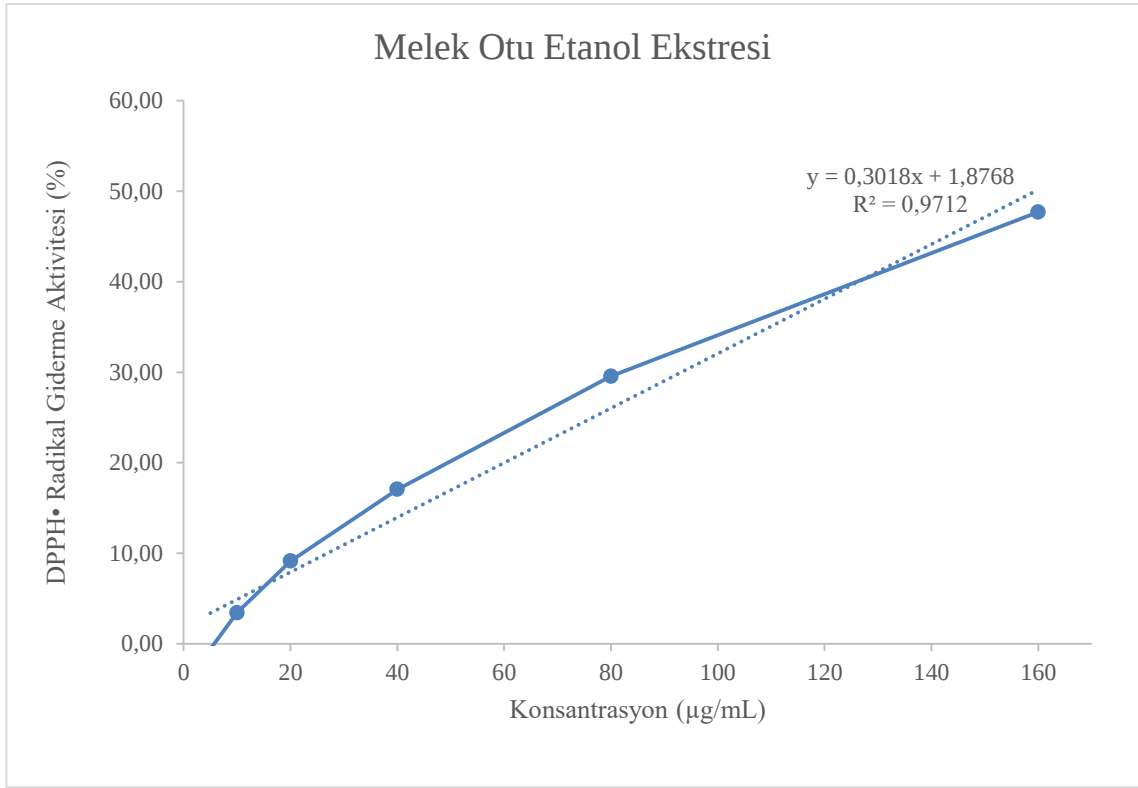
### EK- 1.Hayıt Otu Tohumu Etanol Ekstresinin DPPH• Radikal Giderme Aktivite Kalibrasyon Grafiği.



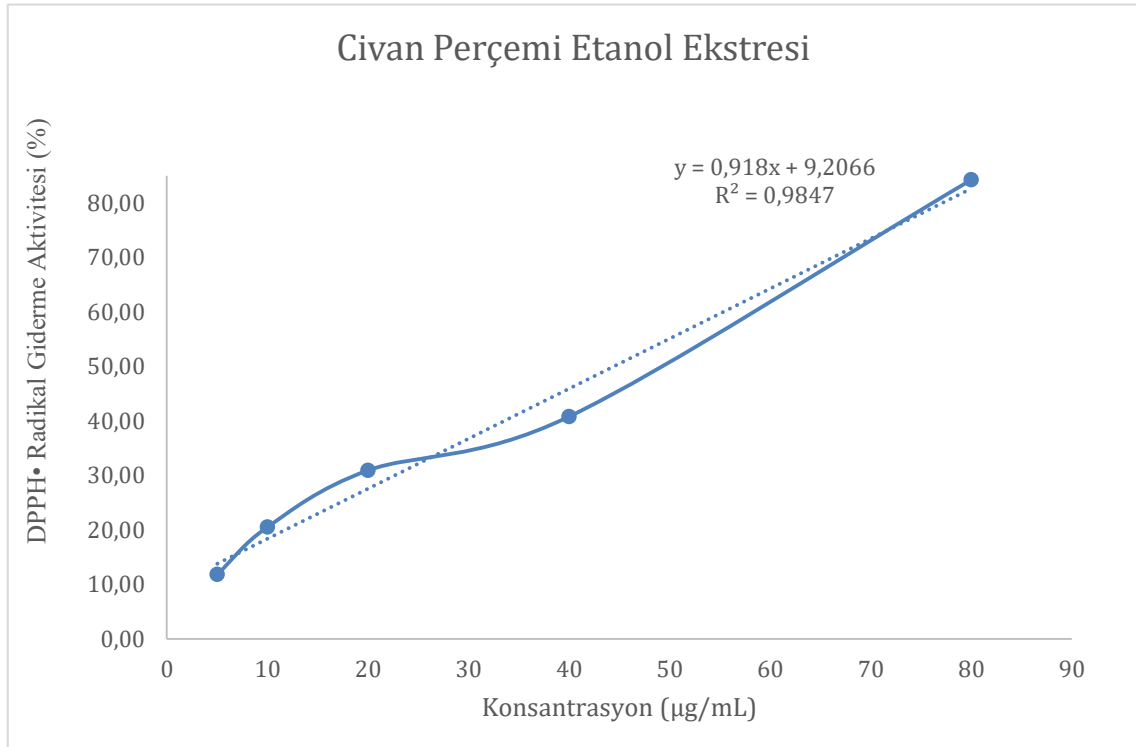
**EK-2.Aslan Pençesi Etanol Ekstresinin DPPH• Radikal Giderme Aktivite Kalibrasyon Grafiği.**



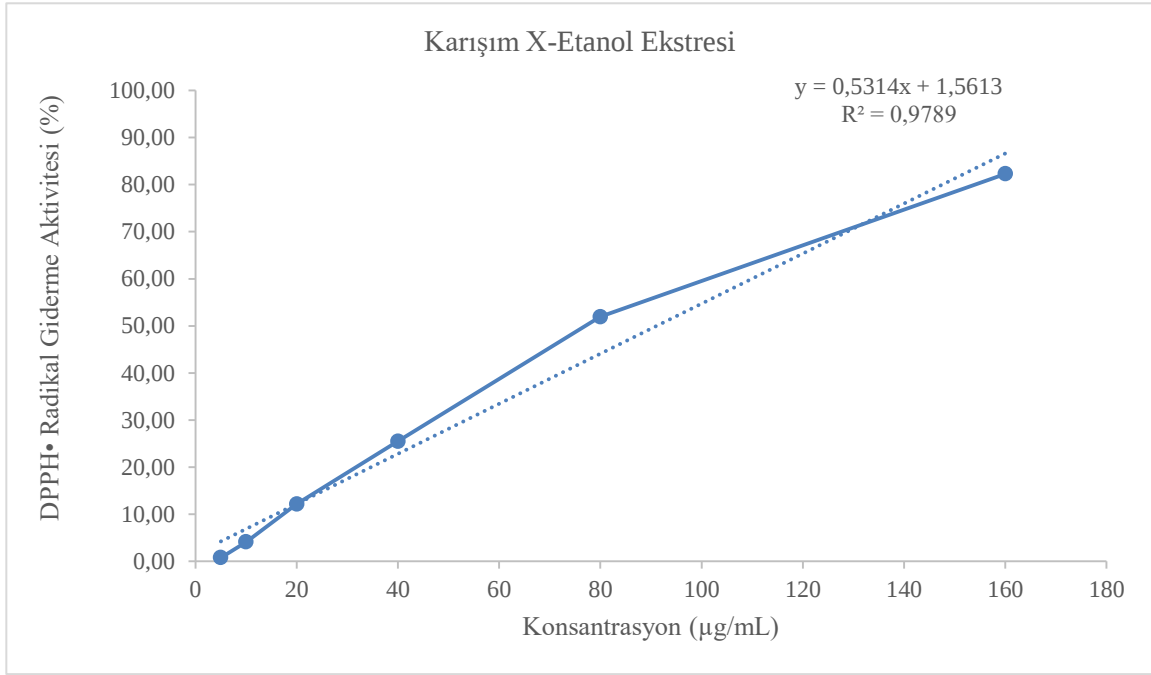
**EK-3.Melek Otu Etanol Ekstresinin DPPH' Radikal Giderme Aktivite Kalibrasyon Grafiği.**



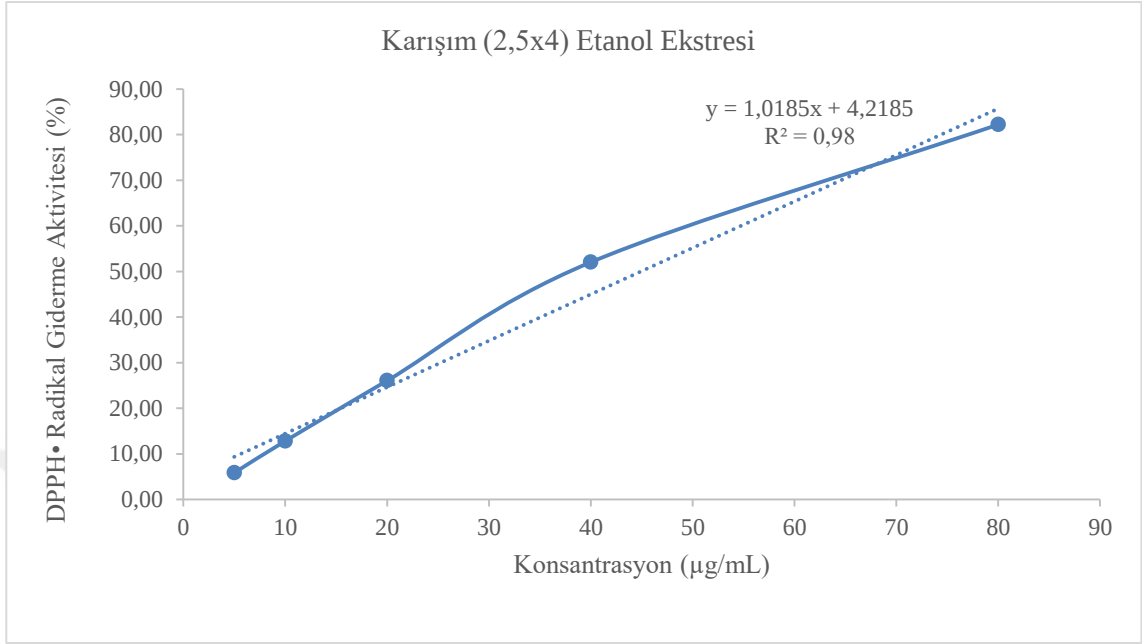
**EK-4.Civan Perçemi Etanol Ekstresinin DPPH• Radikal Giderme Aktivitesi Kalibrasyon Grafiği.**



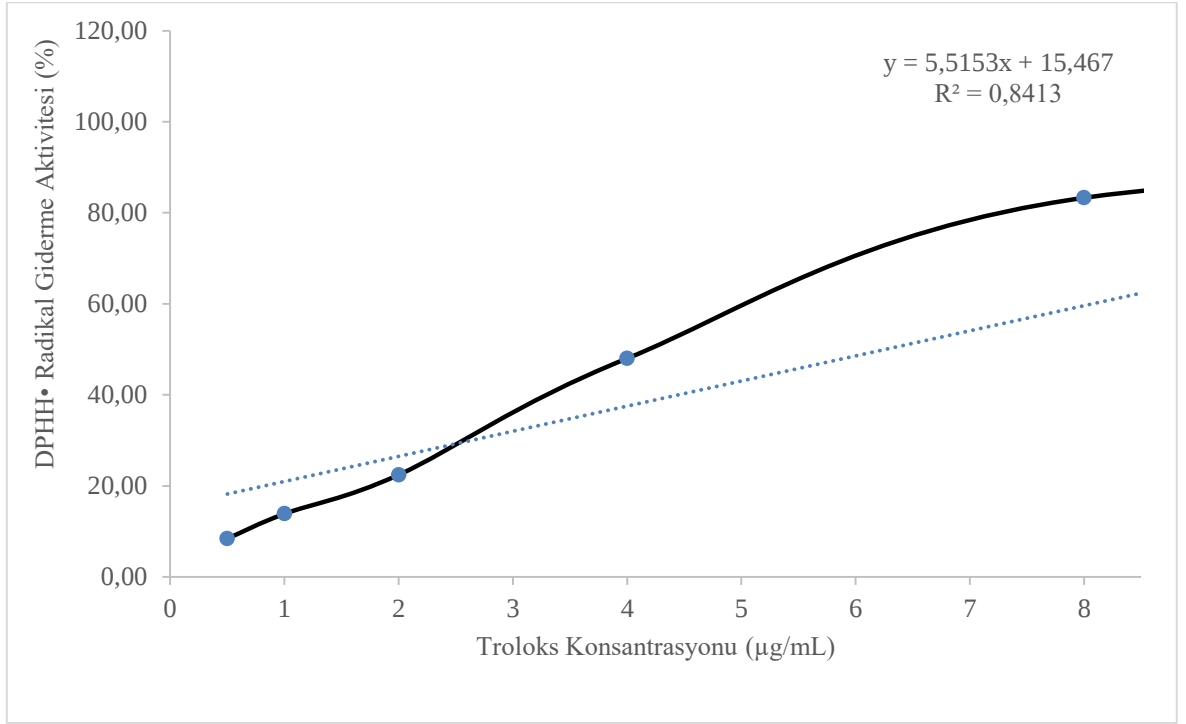
**EK-5.Karışım X Etanol Ekstresinin DPPH• Radikal Giderme Aktivite Kalibrasyon Grafiği.**



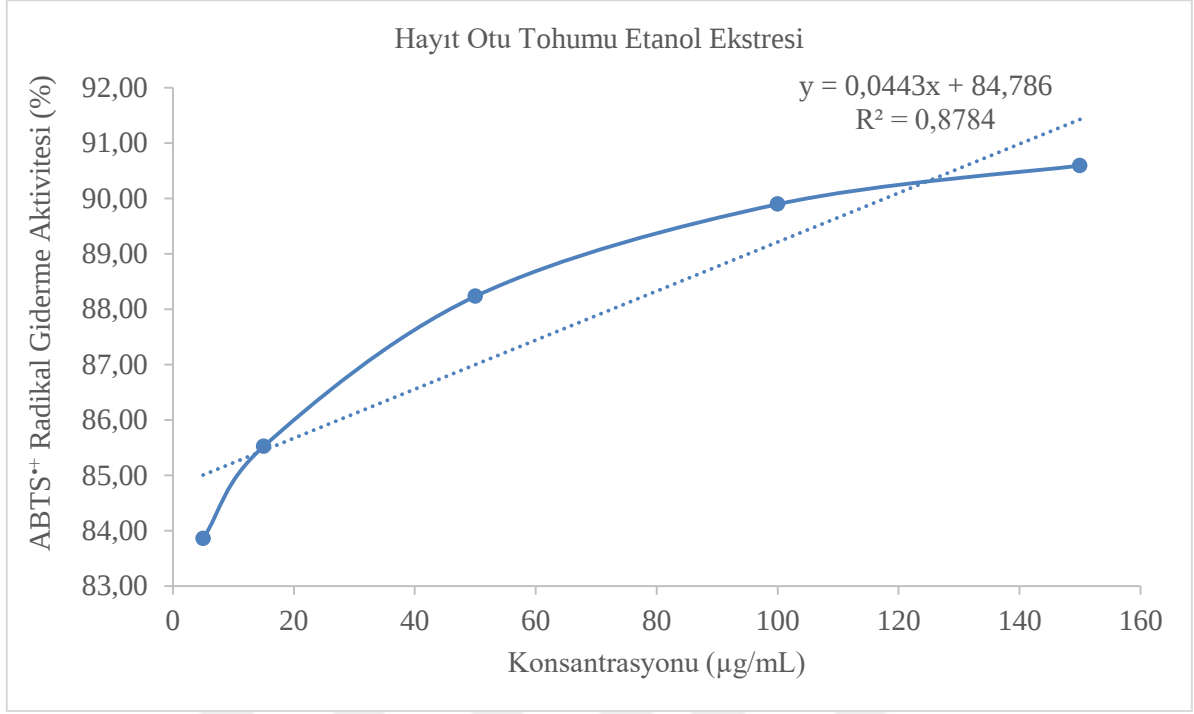
**EK- 6.Karışı (2,5x4) Etanol Ekstresinin DPPH• Radikal Giderme Aktivite Kalibrasyon Grafiği.**



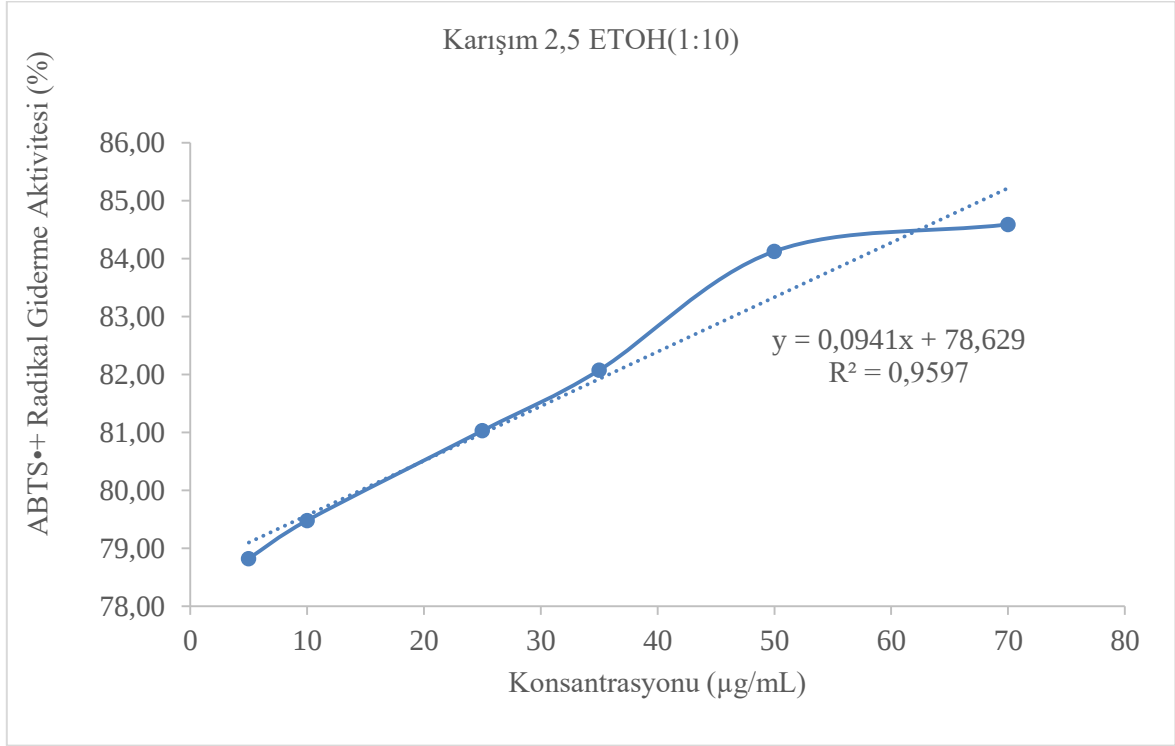
**EK-7.Troloks Etanol Çözeltisi DPPH• Radikal Giderme Aktivite Kalibrasyon Grafiği.**



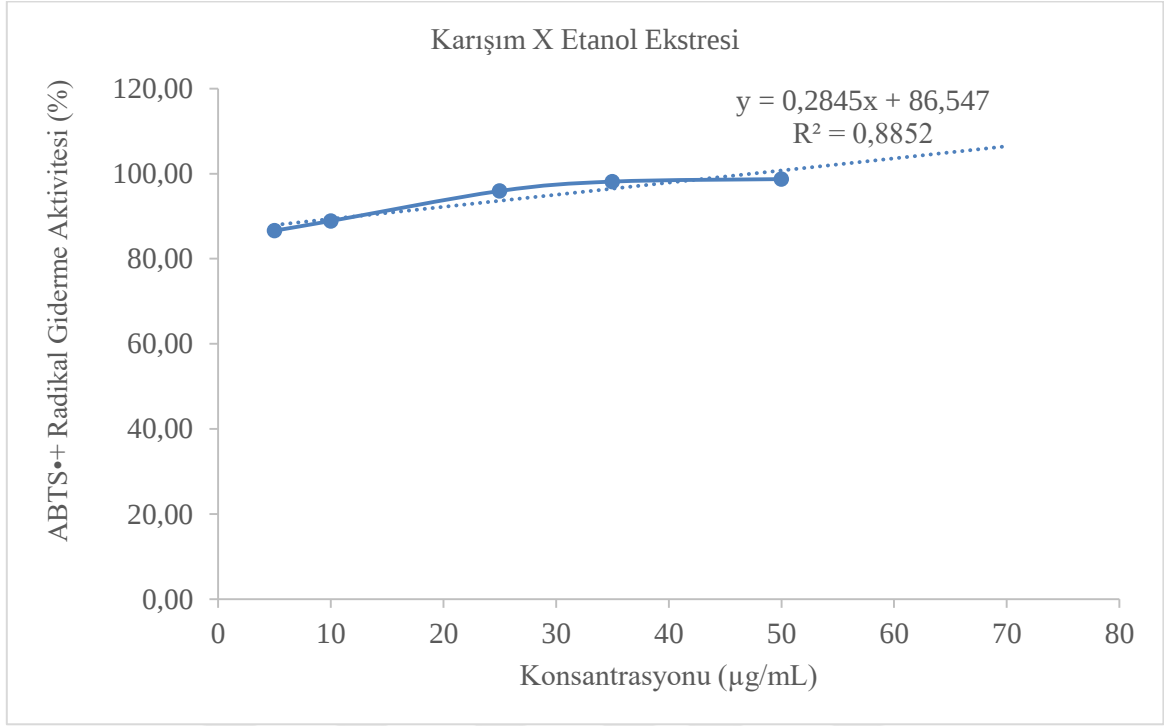
**EK-8.Hayıt Otu Tohumu Etanol Kstresi ABTS<sup>•+</sup> Radikal Giderme Aktivite Kalibrasyon Grafiği.**



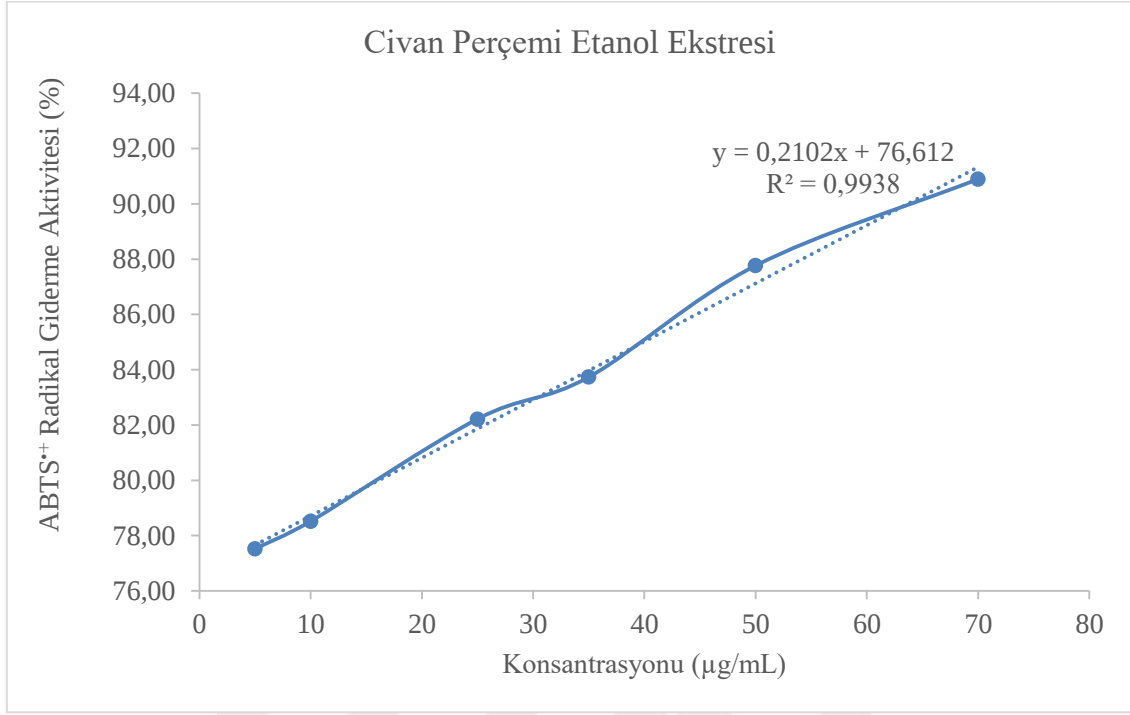
**EK-9.Karışım (2,5x4) Etanol Kstresi ABTS•+ Radikal Giderme Aktivite Kalibrasyon Grafiği.**



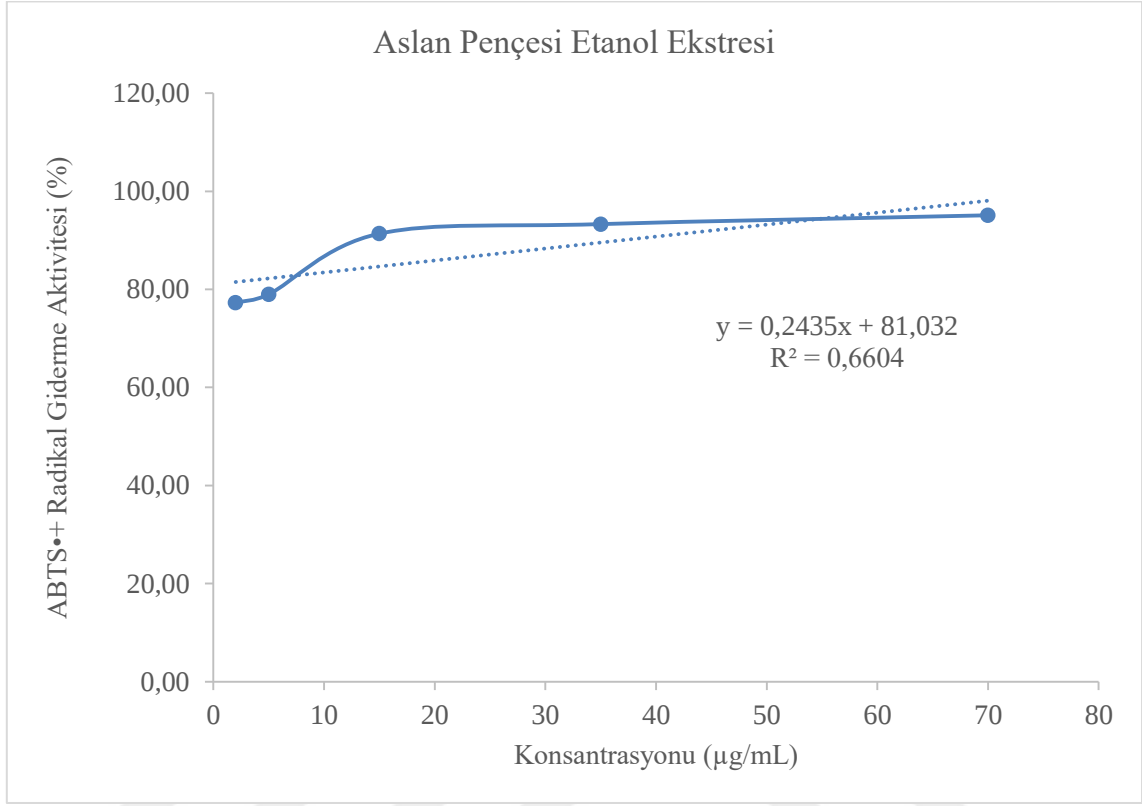
**EK-10.Karışım X Etanol Kstresi ABTS•+ Radikal Giderme Aktivite Kalibrasyon Grafiği.**



**EK-11.Civan Perçemi Etanol Kstresi ABTS<sup>•+</sup> Radikal Giderme Aktivite Kalibrasyon Grafiği.**



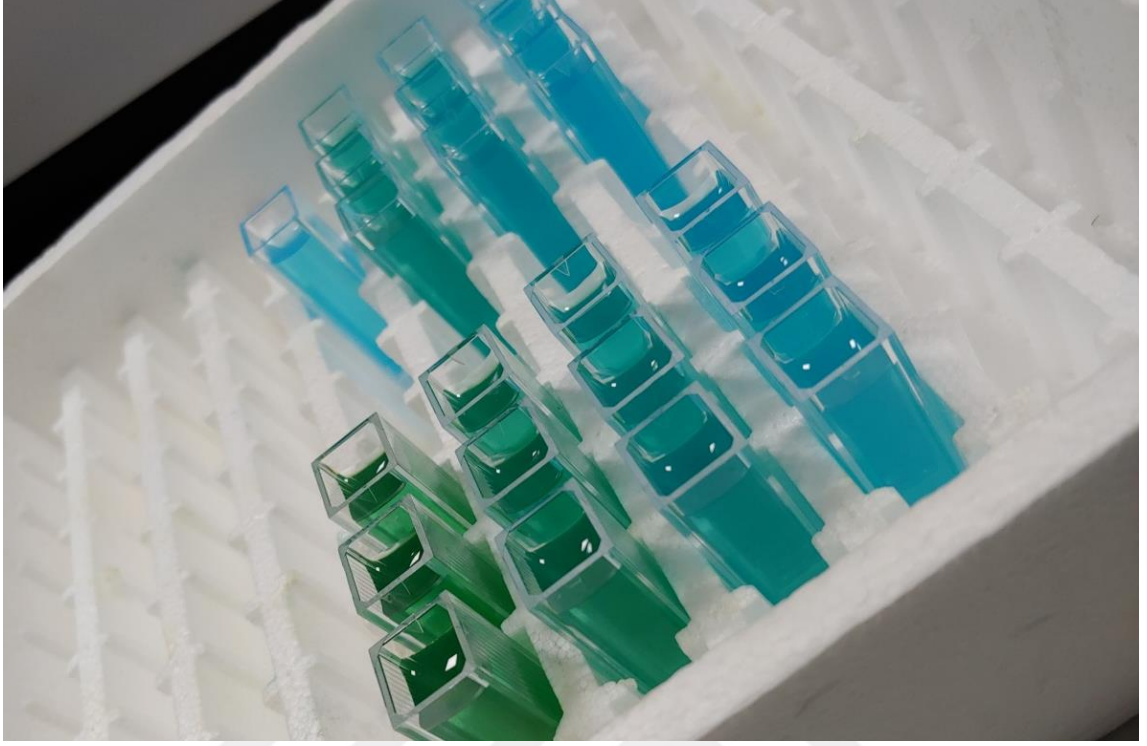
**EK-12.Aslan Pençesi Etanol Kstresi ABTS•+ Radikal Giderme Aktivite Kalibrasyon Grafiği.**



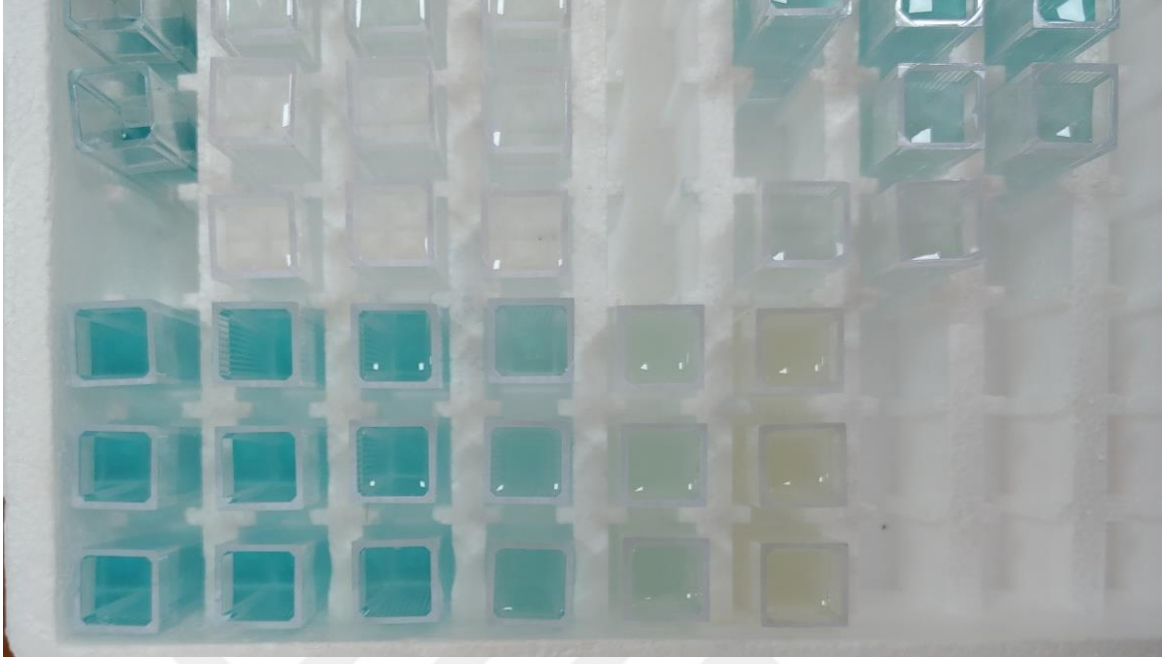
**EK-13.DPPH Uygulamasından Bir Fotograf (Karışım (2,5x4))**



**EK-14.CUPRAC Uygulamasından Bir Fotoğraf (Civan Perçemi)**



**EK-15.ABTS Uygulamasından Bir Fotograf (Karışım (2,5x4))**



**EK-16.FRAP uygulamasından bir fotograf (Aslan Pençesi)**

