



T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü



**VITEX AGNUS CASTUS L. (HAYIT) MEYVE VE
YAPRAKLARINDA HPLC-DAD YÖNTEMİ İLE
FENOLİK BİLEŞİKLERİN TAYİNİ VE
ANTIÖKSİDAN POTANSİYELİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Yüksek Lisans Tezi

Ceren KIMNA

Farmakognozi Anabilim Dalı

İzmir
2019

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

**VITEX AGNUS CASTUS L. (HAYIT) MEYVE VE
YAPRAKLARINDA HPLC-DAD YÖNTEMİ İLE
FENOLİK BİLEŞİKLERİN TAYİNİ VE
ANTIÖKSİDAN POTANSİYELİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**




Ceren KIMNA

Danışman
Doç. Dr. Tuğçe FAFAL

Farmakognozi Ana Bilim Dalı
Farmakognozi

İzmir
2019

Tez Değerlendirme Kurulu Üyeleri

	(Adı Soyadı)	(İmza)
Başkan	: Doç. Dr. Züçce FAHAL	
(Danışman)		
Üye	: Dr. Görkem Üycü Ayşenül Aksoy	
Üye	: Doç. Dr. Tüba Öner	

Yüksek Lisans Tezinin kabul edildiği tarih: 23/08/2018

Önsöz

Doğanın bize sunduğu olanaklar karşısında duyduğum merak, beni bu konu üzerinde daha derin bir araştırma yapmaya yönlendirmiştir. Bitki çeşitliliği açısından oldukça zengin olan bölgemiz, bizi yüzyıllardır şifayı bitkilerde bulmaya yönlendirmiştir. Günümüz teknolojisinde dahi bitkisel kaynaklı ilaç hammaddelerinin kullanımı her zaman ilgimi çekmektedir.

Gerek yol kenarlarında narin çiçekleri ve yaprakları ile dikkatimizi çekmesi, gerekse hoş kokusu ile tohumlarını ceplerimize doldurup gezdiğimiz zamanlar göz önüne alındığında, yaşadığımız bölge bakımından hayıt bitkisi ile sürekli etkileşim halindeyiz. Yüzyıllar önce çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılan hayıt (*Vitex agnus-castus* L.), günümüzde hala kadın hastalıklarının tedavisinde oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır. Ayrıca, bu bitkinin benim için özel bir anlamı ise, lise dönemimde katıldığım ilk bilim projesinin hayıt bitkisi ile gerçekleşmesidir.

Bu nedenle, Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı'nda yaptığım yüksek lisansta, özellikle hayıt bitkisi ile çalışmak istedim. “*Vitex Agnus Castus* L. (Hayıt) Meyve ve Yapraklarında HPLC-DAD Yöntemi ile Fenolik Bileşiklerin Tayini ve Antioksidan Potansiyelinin Değerlendirilmesi” başlıklı tez çalışmamda, Urla İçmeler mevkiinden toplanan hayıt meyve ve yapraklarından farklı yöntemler ile droglar hazırlayıp, flavonoid ve fenolik bileşiklerinin tayini ile antioksidan aktivite çalışmalarını gerçekleştirdim. Umuyorum ki, bu çalışma kapsamında elde edilen bulgular, yeni preparatların geliştirilmesine katkı sağlayacaktır.

İzmir, 23.08.2019

Ceren KIMNA

Özet

***Vitex agnus-castus* L. (Hayıt) Meyve ve Yapraklarında HPLC-DAD Yöntemi ile Fenolik Bileşiklerin Tayini ve Antioksidan Potansiyelinin Değerlendirilmesi**

Vitex agnus-castus L. (Hayıt), Akdeniz ikliminde geniş bir yayılım gösteren, özellikle kadın ürogenital sistem rahatsızlıkları tedavisinde yararlanılan bir bitkidir. Bu tez çalışmasında, hayıt bitkisinin meyve ve yapraklarında fenolik bileşiklerinin tayini yapılmış ve antioksidan potansiyeli değerlendirilmiştir. Urla, İçmeler bölgesinden toplanan droglar üzerinde yapılan miktar tayini araştırmaları, piyasada bulunan hayıt meyve ekstresi içeren preparat ile karşılaştırılmıştır. Elde edilen ekstrelerin toplam fenolik bileşik ve flavonoid miktarı spektroskopik yöntemlerle belirlenmiş, HPLC-DAD yöntemi ile antioksidan aktivitelerinden sorumlu bileşenlerden olduğu düşünülen klorojenik asit ve rutin adlı bileşiklerin kantitatif analizi yapılmıştır. Ekstrelerin antioksidan aktiviteleri DPPH radikali yakalama yöntemi üzerinden belirlenmiştir. Miktar tayini ve antioksidan aktivite çalışmalarında, ekstraksiyon yöntemi ve meyve ile yaprak droglarının etkisi karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. Çalışmaya göre, yaprak ekstreleri flavonoidlerce daha zengin bulunmuş, orantılı olarak daha yüksek antioksidan aktivite göstermiştir.

Anahtar Kelimeler; Verbenaceae, *Vitex agnus-castus*, hayıt, antioksidan, fenolik bileşikler, HPLC-DAD

Abstract

Determination of Phenolic Compounds and Antioxidant Potential of the Leaves and Fruits of *Vitex agnus-castus* L. (Chaste tree)

Vitex agnus-castus L. (Chaste tree), is a plant which is native of Mediterranean region and widely used in treatments for woman urogenital system diseases. In this thesis study, the phenolic compounds and antioxidant potential of fruit and leaves of the *Vitex agnus-castus* L. (Chaste tree) were determined. Plant samples collected from Urla, Icmeler region were used for quantitative studies. Additionally, results obtained from leaf and fruit extracts were compared with a commercial prepartate containing the fruit extract of Chaste tree. Total phenolic compounds and flavonoids of the extracts were determined spectroscopically. Furthermore, chlorogenic acid and rutin, which are thought to be responsible for its antioxidant activity were determined by HPLC-DAD method. Antioxidant activity of the extracts was determined by DPPH radical scavenging method. In all analysis, the effect of the extraction method and the herbal drugs prepared either from leaves and fruits were examined comparatively. According to the results, extracts of the leaves were found to be rich in flavonoids, and accordingly showing higher antioxidant activity than fruit extracts.

Keywords; Verbenaceae, *Vitex agnus-castus*, chaste tree, antioxidant, phenolic compounds, HPLC-DAD

İçindekiler

Önsöz.....	II
Özet.....	III
Abstract.....	IV
İçindekiler	V
Tablolar Dizini.....	VII
Şekiller Dizini	VIII
Kısaltma Listesi	X
Giriş.....	1
Genel Bilgiler	3
2.1. Miktar tayini ve antioksidan aktivite çalışmaları	7
Gereç ve Yöntem	8
3.1. Miktar Tayini Araştırmaları.....	8
3.1.1. Gereç.....	8
3.1.2. Yöntemler.....	9
3.1.2.1. Bitki Ekstrelerinin Hazırlanışı.....	9
3.1.2.2. Toplam Fenolik Madde Analizi	13
3.1.2.3. Toplam Flavonoit Analizi	14
3.1.2.4. Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC) ile Miktar Tayini Çalışmaları.....	14
3.2 Antioksidan Aktivite Tayini.....	17
3.2.1. Gereç.....	17
3.2.2. Yöntem	17
Bulgular.....	19
4.1. <i>Vitex agnus-castus</i> meyve ve yaprakları üzerinde yapılan miktar tayini araştırmalarına ait bulgular	19
4.1.1. Ekstraksiyon Verimi	19
4.1.2. Toplam Fenolik Madde Analizine Ait Bulgular.....	19
4.1.3. Toplam Flavonoit Analizine Ait Bulgular	21
4.1.4. Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC) ile Miktar Tayini Çalışmalarına Ait Bulgular	23
4.2. <i>Vitex agnus-castus</i> Meyve ve Yaprakları Üzerinde Yapılan Antioksidan Aktivite Tayinlerine Ait Bulgular.....	26

Tartışma	38
Sonuç ve Öneriler.....	45
Kaynaklar	47
Teşekkür	54
Özgeçmiş	55



Tablolar Dizini

Tablo 1. <i>Vitex agnus castus</i> droglarından elde edilen ekstrelerin isimlendirilmesi ve hazırlanış yöntemleri.....	12
Tablo 2. Miktar tayini çalışmalarında kullanılan HPLC sistemi ve çalışma koşulları	14
Tablo 3. Farklı koşullarda hazırlanan ekstrelerin ekstraksiyon verimi	19
Tablo 4. Ekstrelerde bulunan toplam fenolik madde miktarı.....	20
Tablo 5. Ekstrelerin hazırlandığı droglarda bulunan toplam fenolik madde miktarı.	21
Tablo 6. Ekstrelerdeki toplam flavonoid miktarı	22
Tablo 7. Ekstrelerin hazırlandığı droglardaki toplam flavonoid miktarı	23
Tablo 8. Miktar tayini analizi ön çalışmalarında belirlenen retansiyon zamanı, maksimum dalga boyu, standart ölçü denklemi ve regresyon katsayısı	25
Tablo 9. HY60, HT60 ve Agnucaston örneklerinde yapılan rutin miktar tayini analizine ait bulgular	25
Tablo 10. HY60, HT60 ve Agnucaston örneklerinde yapılan klorojenik asit miktar tayini analizine ait bulgular	26
Tablo 11. HY50 kodlu örneğin farklı konsantrasyonlarda % DPPH inhibisyon ve α - tokoferol ekivalen değerleri	28
Tablo 12. HY60 kodlu örneğin farklı konsantrasyonlarda % DPPH inhibisyon ve α - tokoferol ekivalen değerleri	28
Tablo 13. HY70 kodlu örneğin farklı konsantrasyonlarda % DPPH inhibisyon ve α - tokoferol ekivalen değerleri	29
Tablo 14. HYS kodlu örneğin farklı konsantrasyonlarda % DPPH inhibisyon ve α - tokoferol ekivalen değerleri	30
Tablo 15. HT50 kodlu örneğin farklı konsantrasyonlarda % DPPH inhibisyon ve α - tokoferol ekivalen değerleri	31
Tablo 16. HT60 kodlu örneğin farklı konsantrasyonlarda % DPPH inhibisyon ve α - tokoferol ekivalen değerleri	32
Tablo 17. HT70 kodlu örneğin farklı konsantrasyonlarda % DPPH inhibisyon ve α - tokoferol ekivalen değerleri	33
Tablo 18. HTS kodlu örneğin farklı konsantrasyonlarda % DPPH inhibisyon ve α - tokoferol ekivalen değerleri	34
Tablo 19. Yaprak ve tohum ekstrelerinin IC ₅₀ değerleri.....	37

Şekiller Dizini

Şekil 1. <i>Vitex agnus castus</i> L. bitkisinin tohum ve yaprakları.....	4
Şekil 2. <i>Vitex agnus castus</i> bitkisinin Türkiye’de yayılış alanları	4
Şekil 3. Kurutulmuş hayıt meyve (a) ve yaprakları (b).....	9
Şekil 4. Soxhlet ekstraktörü ile tohum ve yapraklardan ekstre hazırlanışı	10
Şekil 5. Çalkalama maserasyonuna ait akış şeması	11
Şekil 6. Folin-Ciocalteu reaktifinde fenolik bileşiklerin molibdenyuma elektron transferi nedeni ile gözlemlenen renk değişiminin kimyasal yapı ile gösterimi.....	13
Şekil 7. HPLC-DAD cihazının şematik gösterimi	16
Şekil 8. Agilent HP 1100 HPLC Cihazı.....	16
Şekil 9. Toplam fenolik madde analizine ait gallik asit standart ölçü eğrisi.....	20
Şekil 10. Farklı yöntemlerle hazırlanan meyve ve yaprak ekstratlarının toplam fenolik madde miktarı karşılaştırmaları.....	21
Şekil 11. Toplam flavonoit analizine ait kersetin standart ölçü eğrisi	22
Şekil 12. Farklı yöntemlerle hazırlanan meyve ve yaprak ekstratlarının toplam flavonoit miktarı karşılaştırmaları.....	23
Şekil 13. Rutin miktar tayini analizine ait standart ölçü eğrisi	24
Şekil 14. Klorojenik asit miktar tayini analizine ait standart ölçü eğrisi	24
Şekil 15. HY60 (a), HT60 (b) ve Agnucaston (c)’a ait HPLC kromatogramları.....	25
Şekil 16. DPPH radikalinin antioksidan bileşiklerle reaksiyonu	27
Şekil 17. DPPH yakalama aktivitesine ait α -tokoferol standart ölçü eğrisi.....	27
Şekil 18. HY50 kodlu örneğin farklı konsantrasyonlarda % DPPH inhibisyon ve α -tokoferol ekivalen değerlerine ait regresyon eğrisi.....	28
Şekil 19. HY60 kodlu örneğin farklı konsantrasyonlarda % DPPH inhibisyon ve α -tokoferol ekivalen değerlerine ait regresyon eğrisi.....	29
Şekil 20. HY70 kodlu örneğin farklı konsantrasyonlarda % DPPH inhibisyon ve α -tokoferol ekivalen değerlerine ait regresyon eğrisi.....	30
Şekil 21. HYS kodlu örneğin farklı konsantrasyonlarda % DPPH inhibisyon ve α -tokoferol ekivalen değerlerine ait regresyon eğrisi.....	31
Şekil 22. HT50 kodlu örneğin farklı konsantrasyonlarda % DPPH inhibisyon ve α -tokoferol ekivalen değerlerine ait regresyon eğrisi.....	32
Şekil 23. HT60 kodlu örneğin farklı konsantrasyonlarda % DPPH inhibisyon ve α -tokoferol ekivalen değerlerine ait regresyon eğrisi.....	33

Şekil 24. HT60 kodlu örneğin farklı konsantrasyonlarda % DPPH inhibisyon ve α - tokoferol ekivalen değerlerine ait regresyon eğrisi.....	34
Şekil 25. HTS kodlu örneğin farklı konsantrasyonlarda % DPPH inhibisyon ve α - tokoferol ekivalen değerlerine ait regresyon eğrisi.....	35
Şekil 26. 200 μ g/ml konsantrasyonda farklı yöntemlerle hazırlanan yaprak ve tohum ekstrelerinin antioksidan aktivite karşılaştırması.....	35
Şekil 27. 400 μ g/ml konsantrasyonda farklı yöntemlerle hazırlanan yaprak ve tohum ekstrelerinin antioksidan aktivite karşılaştırması.....	36
Şekil 28. 800 μ g/ml konsantrasyonda farklı yöntemlerle hazırlanan yaprak ve tohum ekstrelerinin antioksidan aktivite karşılaştırması.....	36



Kısaltma Listesi

mg	:	Miligram
ml	:	Mililitre
μ g	:	Mikrogram
μ l	:	Mikrolitre
nm	:	Nanometre
UV	:	Ultraviyole
HPLC	:	High Performance Liquid Chromatography (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi)
HPLC-DAD	:	High-Performance Liquid Chromatography with Diode-Array Detection (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi-Diod Array Dedektör)
RP-HPLC	:	Reversed Phase Liquid Chromatography (Ters Faz Sıvı Kromatografisi)
DPPH	:	1,1-diphenyl 2-picryl hydrazyl

Giriş

Vitex agnus-castus bitkisi, Orta Asya, Akdeniz bölgesi ve Güney Avrupa'da geniş yayılım gösteren Verbenaceae familyasına ait çalı şeklinde bir bitkidir (Ono ve diğeri, 2011; Rani ve Sharma, 2013). Hayıt bitkisinin meyveleri Avrupa Farmakopesi ve 2017 Türk Farmakopesi dahil birçok farmakopede monograf halinde yer almaktadır. Hayıt meyveleri (*Agni casti fructus*), menstrüasyon bozuklukları, premenstrüel dönem ile menopoz dönemindeki şikayetlerde yararlanılan olan bir drogtur (Girman ve diğeri, 2003; Mari ve diğeri, 2015). Fakat, hayıt bitkisinin geniş alanda ülkemizde yayılış göstermesi ve bu bitkinin güvenilir bir fitoterapötik ajan olma potansiyeli göz önünde bulundurulduğunda hayıt ile ilgili ülkemizde çok kapsamlı ve standardize ürün geliştirmeye yönelik çalışmaya rastlanılmamıştır. Gıda takviyesi adı altında piyasada bulunan ürünler arasında hem içerik hem de standardizasyon açısından önemli farklılıklar bulunmaktadır. Bazı preparatların içinde drog tozları, bazılarında ise ekstreler yer almaktadır.

Bu tez çalışmasında Urla, İçmeler mevkiinden toplanmış hayıt meyve ve yaprakları bitkisel materyal olarak kullanılmıştır. Sadece Urla/İçmeler mevkiinden örneklerin temin edilmesi ve bir vejetasyon döneminde toplanması, ayrıca sınırlı sayıda fenolik bileşiklerin kantitatif olarak tayin edilmesi çalışmanın sınırlılıklarını oluşturmaktadır.

Bu çalışmanın amacı, ülkemizin bitki florasında geniş alanda yetişen hayıt bitkisinin meyve ve yapraklarındaki fenolik bileşiklerin tayini ve antioksidan potansiyelinin araştırılmasıdır. Bu nedenle, Avrupa İlaç Ajansının (EMA) Bitki Monograflarında yer alan hazırlanış şekillerine göre hayıt meyve ve yaprak ekstrelerinin hazırlanıp toplam fenolik madde, toplam flavonoit miktarı yanında yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (High Pressure Liquid Chromatography-HPLC) yöntemi ile klorojenik asit ve rutin isimli etken maddelerin kantitatif analizi hedeflenmiştir. Tez çalışması, miktar tayini ve antioksidan aktivite çalışmaları olmak üzere iki bölümden oluşmaktadır.

İlk bölümde, çeşitli yöntemlerle elde edilen meyve ve yaprak ekstrelerinin farklı konsantrasyonlardaki toplam fenolik madde, toplam flavonoit miktarı ve yüksek basınçlı sıvı kromatografisi çalışmaları gösterilmektedir. HPLC çalışmalarında, rutin,

ve klorojenik asidin kantitatif tayini yapılmıştır. Ayrıca, elde edilen bulgular, hayıt meyve ekstresi içeren Agnucaston® tableti ile kıyaslanmıştır.

Çalışmanın ikinci basamağında, yaprak ve meyve ekstralarının DPPH yöntemi ile antioksidan aktivite çalışmaları sunulmuştur. Bu bölümde, yaprak ve meyvelerin antioksidan aktiviteleri, ekstraların hazırlanış yöntemleri dikkate alınarak karşılaştırmalı olarak sunulmuştur.

EMA Bitki Monograflarında hayıt meyveleri için belirtilen ekstre hazırlanış şekillerine göre hem meyvelerden hem de yapraklardan ekstraların hazırlanıp miktar tayini ve antioksidan aktivite çalışmalarının yapılmamış olması bu tezin özgün değerini ortaya koymaktadır. Yapraklar ve meyvelerden EMA bitki monograflarına göre hazırlanan ekstralarda karşılaştırmalı olarak yapılan bu çalışmalar, Sağlık Bakanlığı Geleneksel Bitkisel Tıbbi Ürünler (GBTÜ) onaylı hayıt preparatlarının geliştirilmesine katkı sağlayacaktır.

Genel Bilgiler

Verbenaceae familyasına ait *Vitex agnus-castus* L., 1 – 6 metre uzunluğunda, yoğun aromatik bir kokuya sahip, çok yıllık, çalı ya da küçük ağaç formunda, Akdeniz ve Ege kıyılarında genel yayılış gösteren, tipik bir Akdeniz-maki vejetasyonu bitkisidir (Güner, Özhatay, Ekim ve Başer, 2000). Kıyılardan iç kesimlere doğru 250 km'ye, deniz seviyesinden 750 m'ye kadar rakımda görülmektedir (Doğan ve Mert, 1998). Yaprakları çok parçalı, yaprakçıkları ise tek parçalıdır. Meyveleri yaklaşık 3 mm çapında olup, 4 çekirdeklidir (Güner ve diğerleri, 2000). Çiçekleri mor veya beyaz renkli, küresel, sapsız veya kısa saplıdır (Şekil 1) (Blamey ve Grey-Wilson, 2004; Kayacık, 1966). Doğan ve Mert (1998) tarafından yapılan çalışmada, hayıtın nötr ve hafif alkali, azot ve fosfor bakımından zengin, kireç ve potasyum bakımından fakir toprakları tercih ettiği tespit edilmiştir.

Verbenaceae genusunda 250'den fazla *Vitex* türü bulunmasına rağmen Türkiye'de sadece *Vitex agnus-castus* ve *Vitex pseudo-negundo* olmak üzere iki tür bulunmaktadır (Dutta ve Dutta, 1964). *Vitex agnus-castus*, Türkiye'de genel olarak Ege ve Akdeniz bölgelerinde, ayrıca Samsun, Giresun, ve Zonguldak civarında yayılış göstermektedir (Şekil 2) (Davis, 1965).

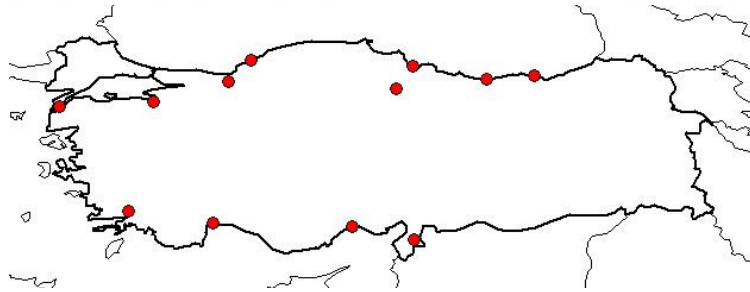
V. agnus castus L. “ıffetli ağaç, keşiş biberi, hayıt, ayıt, ayıd, beşparmak otu” olarak adlandırılmaktadır. Halk arasında hayıt bitkisinin kökleri iplik boyamada, dalları Batı Anadolu'da sepet örmede, öğütülmüş yaprak ve meyveleri ise yünlü kumaşları güvelere karşı korumada kullanılmaktadır (Baytop, 1984). Urfa ili Siverek ilçesinde ise tohumları ile hazırlanan infüzyonun erken doğumları önleyici etkisi olduğu düşünülmektedir.

Hayıt bitkisinin tedavi amaçlarıyla kullanışı ise antik çağlara dayanmaktadır. Antik Roma'da cinsel isteği azaltma etkisi ile özellikle rahipler tarafından, jinekolojik rahatsızlıkları tedavi etmek amacıyla da kadınlar tarafından kullanılmıştır. Pakistan ve Hindistan'da ise emenagog, sedatif, anafrodizyak ve galaktagog özellikleri nedeniyle geleneksel kullanımı bilinmektedir (Makhmoor ve Choudhary, 2010). Ülkemizde de halk arasında meyvelerinin infüzyonu, idrar arttırıcı, gaz söktürücü ve yatıştırıcı amaçlarla kullanılmaktadır. 17. yüzyıldan itibaren, menstrüel bozukluklarda ve emzirme döneminde süt salgılanmasında takviye olarak yaygın

olarak kullanılmıştır (Hobbs, 1991; Meyer, 1993). Günümüzde *V.agnus-castus*, menstrüasyon bozuklukları, premenstrual sendrom (PMS), mastodini ve menopozda görülen şikayetlerin giderilmesinde, drog ya da standardize ekstreler halinde kullanılmaktadır (Blumenthal, Goldberg ve Brinckmann, 2000; Brickell, 1989).



şekil 1. *Vitex agnus castus* L. bitkisinin tohum ve yaprakları. “Karahayıt’ta (Denizli) Hayıt Ağacının (*Vitex agnus-castus* L.) Geleneksel Kullanımı“ Bilge Yılmaz Kolancı, 2017, *Phaselis* III, 49-60 makalesinden aynen alınmıştır.



şekil 2. *Vitex agnus castus* bitkisinin Türkiye’de yayılış alanları (Tubives, 2015)

Günümüzde hayıtın etki mekanizması ve aktivitelerinden sorumlu etkin maddeler kesin olarak bilinmemektedir. Fakat güncel çalışmalar, hayıtın plazmada prolaktin seviyesini düşürerek menstrüel bozukluk, premenstrüel sendrom (PMS) ve mastalji rahatsızlıklarının önlenmesinde etkili olduğunu göstermektedir. *Vitex agnus-castus* L. Ekstresinin PMS, mastalji ve menstrüasyon düzensizliği tedavisinde kullanımı Komisyon E tarafından onaylanmıştır (Blumenthal ve diğerleri, 2000). Bitkinin diğer etkileri arasında kemopreventif, immünomodulatör, antiosteoporotik aktiviteler yer

almaktadır. Ayrıca, içerdiği bazı bileşenlerin antienflamatuvar, sedatif ve analjezik özelliklerden sorumlu olabileceği düşünülmektedir (Azarnia ve diğerleri, 2007).

Mergner ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, menstrüel bozuklukları olan 137 hasta incelenmiş, *V. Agnus castus* preparatlarının hormonal tedavi yerine kullanılabilmesi rapor edilmiştir (Mergner, 1992).

Roeder ve diğerleri tarafından, prolaktin düzeyi ve menstrüel bozuklukları olan 13 kadında yapılan çalışmada 3 ay içinde tüm bireylerin siklus bozukluklarının giderildiği, tedavinin hiçbir yan etkiye neden olmadığı saptanmıştır (Roeder, 1994).

Frisch ve diğerleri tarafından yapılan çalışmada *V. Agnus castus*'un premenstrual sendrom (PMS) şikayetlerini gidermede etkisi araştırılmıştır. Değerlendirmelere göre, hayıt ekstresi kullanımı, PMS tedavisinde %97 başarılı bulunmuştur (Frisch, 1968).

2000 yılında Loch ve diğerleri, *Vitex agnus-castus* meyve ekstresinden hazırlanan preparatın (Femicur® kapsül, Schaper & Brummer GmbH & Co. KG, Salzgitter, Almanya) 1634 PMS semptomları gösteren hasta üzerinde etkilerini incelemiştir. Üç aylık tedavi sonrasında hastaların %93'ünde semptom sayısında belirgin bir azalma gözlemlenmiştir (Loch ve diğerleri, 2000).

Yapılan 3 aylık randomize, plasebo kontrollü çalışmada, *V. Agnus castus* meyvelerinin %60 etanolü ekstresinin 170 PMS şikâyeti olan hastada 20 mg/gün dozda kullanımının prolaktin seviyelerini baskılayarak PMS semptomlarını etkili bir şekilde giderdiği sonucuna varılmıştır (Schellenberg, 2001).

Yapılan bir diğer çalışmada ise, *V. Agnus castus* ekstresinin mastodini üzerinde etkisi araştırılmıştır. Mastodini şikayeti olan hastalarda 3 siklus boyunca *V. Agnus castus* ekstresi ile tedavi sonucunda ağrıda önemli derecede azalma gözlemlenmiştir (Wuttke ve diğerleri, 1997).

Hayıt meyvesinden hazırlanan preparatların kullanımının, menstrüel mastaljinin önlenmesinde başarılı olduğu bilinmektedir. Menstrüel mastaljinin stres artışına bağlı olarak latent hiperprolaktinemiden kaynaklandığı, hayıtın ise prolaktin seviyesini kontrol ederek terapötik etki gösterdiği düşünülmektedir. Yapılan bir çalışmada,

hayıt meyvelerinden hazırlanan ekstrenin periyodik mastalji üzerinde etkisi, 104 premenopozal hasta üzerinde çift körlü olarak incelenmiş, etkisinin 200 mg/gün flurbiprofen dozu ile eşdeğer olduğu bulunmuştur (Dinç ve Coşkun, 2014).

43 hasta ile 3 menstrüel siklus boyunca gerçekleştirilen bir çalışmada hastalara her gün *Vitex agnus castus* preparatı verilmiştir. Çalışmanın sonunda, döngüsel mastaljinin belirgin şekilde azaldığı ve tedavinin kesilmesinden 3 ay sonra bile iyileşmenin (%20) devam ettiği rapor edilmiştir (Berger ve diğerleri, 2000).

Hayıt ekstrelerinin antibakteriyel etkileri çeşitli çalışmalarla ispatlanmıştır. Örneğin bir çalışmada, Muğla (Yerkesik Ovası) bölgesinden toplanan *Vitex agnus castus* ile hazırlanan ekstrelerin Gram(+) bakterilere karşı etkili seviyede anti bakteriyel aktivite gösterdiği gözlemlenmiştir (Dülger ve diğerleri, 2002). Arokiyaraj ve arkadaşları (2009), Hindistan'dan toplanan hayıt yapraklarının etil asetat ve hekzan ekstreleri ile yaptığı çalışmada etil asetat ekstresinin antimikrobiyal etkisini başarılı bulmuştur. Gösterdiği yüksek etkinin, içerdiği flavonoidler, terpenoidler ve steroidlerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Yapılan bir başka bir antimikrobiyal aktivite çalışmasında taze hayıt yapraklarından elde edilen uçucu yağın *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* ve *Staphylococcus aureus* bakterilerine karşı antibakteriyel aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Ghannadi ve diğerleri, 2012).

Yeni Zelanda beyaz tavşanları ile yapılan bir çalışmada ise, hayıt meyvelerinin etanol ekstresinin erken dönemde kırık iyileşmesinde faydalı olduğu gösterilmiştir. Bitkinin flavonoidlerce zengin içeriğinin bu etkiden sorumlu olabileceği düşünülmüştür (Yalçınkaya ve diğerleri, 2008).

V. agnus castus gösterdiği dopaminerjik etki nedeniyle birçok preparatta kullanılmaktadır. İlk olarak, hayıt bitkisi içeren ilaç, Gerhard Madaus (1890-1942) tarafından, Agnolyt adı ile piyasaya sürülmüştür. Preparat, 9 gram *V. Agnus castus* meyvelerinden hazırlanan tentür (1:5) içermekte ve menstrüel ritim bozuklukları ve premenstrüel semptomlarda şikâyetlerin giderilmesinde kullanılmaktadır. Ülkemizde de sağlık bakanlığı onaylı premenstrüel sendromda kullanılan Agnucaston® tableti, hayıt meyvelerinden hazırlanan özel BNO 1095 (7-11:1) ekstresini içermektedir.

2.1. Miktar tayini ve antioksidan aktivite çalışmaları

Yapılan çalışmalarda, *Vitex agnus castus* meyve, çiçek ve yapraklarının tanenler, iridoitler, driterpenler ve flavonoidlerce zengin olduğu rapor edilmiştir (Wollenweber ve Mann, 1983). Fakir ve diğerleri tarafından yapılan çalışmada (2011), Sütçüler-Çandır (Isparta) yöresinden toplanan hayıtın uçucu yağ oranları ve bileşenleri GC-MS analizi ile belirlenmiştir. 1,8-sineol ve α -pinen ana bileşenler olarak bulunmuş, uçucu yağ bileşenlerinin farklı coğrafyalarda da benzer dağılım gösterdiği tespit edilmiştir.

Sağlam ve çalışma arkadaşları tarafından, hayıt meyve ve yapraklarının etanol, n-hekzan ve su ekstralarında yapılan antioksidan aktivite çalışmasına göre ekstraların ABTS⁺ katyonu serbest radikalini yakalama yeteneği 0.097-2.5 mM Trolox eşdeğeri/g olarak belirlenip, içerdiği flavonoid ve taninlerin aktiviteden sorumlu olabileceği rapor edilmiştir (Sağlam, Pabuçcuoğlu ve Kıvçak, 2007). Çalışmada su ve etanol ekstralarının, n-hekzan ekstresinden daha güçlü antioksidan aktivite gösterdiği bulunmuştur.

Yapılan bir çalışmada ise, *Vitex agnus castus* meyvelerinin etil asetat, metanol ve n-hekzan ekstraları ile antioksidan aktivite araştırması yapılmıştır (Hajdú ve diğerleri, 2007). Sonuçlara göre, etil asetat ekstresi metanol ekstresinden daha yüksek antioksidan aktivite göstermektedir. Sarıkürkçü ve arkadaşları (2009), *Vitex agnus castus* uçucu yağı ve su, hekzan, diklorometan, etil asetat ve metanol ekstraları ile yaptığı çalışmaya göre su ekstresi diğer solventlere ve uçucu yağa göre daha yüksek antioksidan aktivite (%64-82) ve toplam fenolik bileşen içeriği (112.46 ± 1.22 μ g gallik asit eşdeğeri/mg ekstre) göstermiştir. Diklorometan ekstresi, diğerleri ile kıyaslandığında en yüksek toplam flavonoid madde miktarı göstermiştir.

Makhmoor ve Choudhary tarafından yapılan çalışmada (2010) ise hayıt bitkisinin, içerdiği fenolik bileşiklerden kaynaklı antioksidan aktivitesine bağlı olarak canlı hücrelerde oksidasyonu önleme ve inhibe etme özelliği bulunmuştur.

Gereç ve Yöntem

3.1. Miktar Tayini Araştırmaları

3.1.1. Gereç

Yapılan literatür çalışmasında, *V. Agnus-castus* L. Meyvesinin (Agni Casti fructus) Türk Farmakopesi 2017, Amerikan Bitkisel Drog Farmakopesi (AHP) Monograflarında, WHO Monograflarında, HMPC Bitkisel Drog Monograflarında, Avrupa Farmakopesinde, İngiliz Bitkisel Drog Farmakopesinde ve ESCOP Monograflarında yer aldığı tespit edilmiştir.

Çalışmada materyal olarak kullanılan droglar Urla İçmeler mevkiinden yaprakları, bitki çiçekliyken 2019 Mayıs'ta, meyveleri ise 2019 Temmuz'da toplanmış olan *Vitex agnus-castus* L. Bitkisinden hazırlanmıştır. Bitkiye ait herbaryum örnekleri, Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı Herbaryumu'nda (1262/2) bulunmaktadır.

Çalışmada kullanılmak üzere toplanan yaprak ve meyveler oda sıcaklığında, ışık almayacak şekilde kurutulmuştur (Şekil 3). Kurutulan droglar, ekstre hazırlamadan önce elektrikli değirmende (Retsch GmbH SK-1, elek çapı: 1 mm) toz edilmiştir.

Farklı yöntemlerle hazırlanan ekstrelerde alüminyum klorit yöntemi ile toplam flavonoit miktarı, Folin-Ciocalteu yöntemi ile toplam fenolik madde miktarı tespit edilmiştir. Tüm absorbans ölçümleri Optima SP 3000 Nano UV-Vis spektrofotometresi ile yapılmıştır.

Klorojenik asit ve rutin miktar tayinleri için Agilent 1100 HPLC-DAD yüksek basınçlı sıvı kromatografisi sistemi kullanılmıştır.



Şekil 3. Kurutulmuş hayıt meyve (a) ve yaprakları (b)

3.1.2. Yöntemler

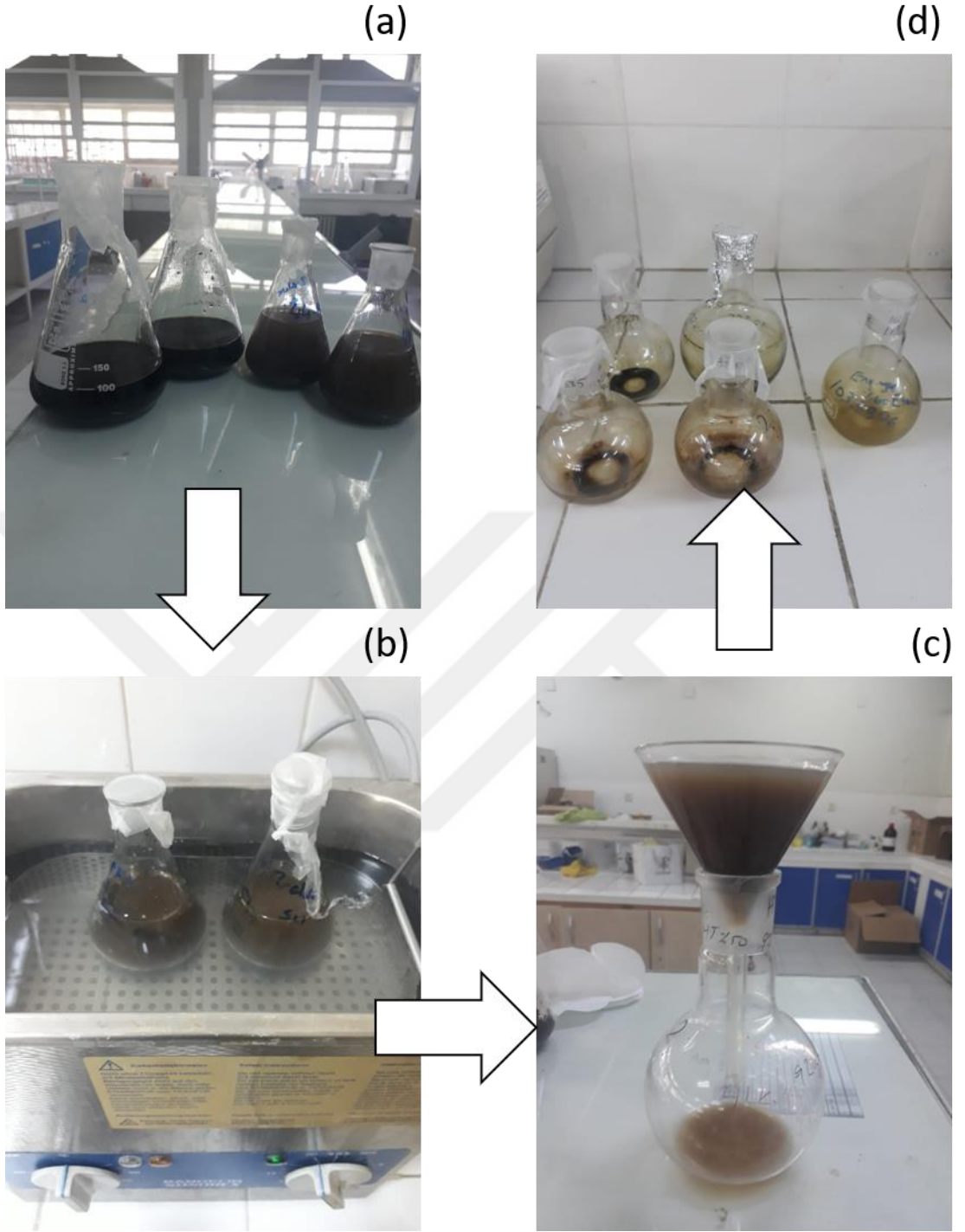
3.1.2.1. Bitki Ekstrelerinin Hazırlanışı

Droglardan 5'er gram tartılarak 100 ml sulu etanol çözeltisi (%50 ve %60'lık) ile 4 saat boyunca Soxhlet düzeneğinde katı-sıvı ekstraksiyona tabi tutuldu. Daha sonra, darası alınmış balondaki ekstreyi içeren etanol rotavaporda alçak basınç altında kuruluğa kadar uçuruldu. Yapraklar ile hazırlanan ekstreye HYS, tohum ile hazırlanan ekstreye HTS kodları verildi. Çalışmada kullanılan Soxhlet ekstraksiyon sistemi Şekil 4' te gösterilmiştir.



Şekil 4. Soxhlet ekstraktörü ile tohum ve yapraklardan ekstre hazırlanışı

Ekstre hazırlamada ikinci yöntem olarak çalkalama maserasyonu tekniği kullanıldı. Öncelikle, 5 g olarak tartılan droglar 1 gece 100 ml %50 ve %60 sulu etanolde masere edildi. Daha sonra, 4 saat boyunca su banyosu içinde, sıcaklıkları oda sıcaklığında sabit tutularak, ışık almayacak şekilde ultrasonik karıştırıcıda (Bandelin Sonorex) ekstraksiyona tabi tutuldu. Tüm ekstratler süzgeç kağıdından darası alınmış şilifli balona süzülüp çözücüleri rotavaporda (Büchi Rotavapor R-114) alçak basınçta kuruluğa kadar uçuruldu. Çalkalama maserasyonuna ait akış şeması Şekil 5’de gösterilmiştir.



Şekil 5. Çalkalama maserasyonuna ait akış şeması: Ekstrelerin sulu etanolde maserasyonu (a); ultrasonik karıştırıcıda ekstraksiyonu (b); süzgeç kağıdı ile balona süzülmesi (c) ve çözücülerinin uçurulması (d).

Soxhlet ekstraksiyonu ve ultrasonik karıştırıcıda ekstraksiyon verimi (% verim) ve drogta bulunan ekstre miktarı (a/a drog), çözücüler uçurulduktan sonra balonların ilk ve son ağırlıklıları arasındaki farka göre hesaplandı.

Tentür eldesinde 5 g drog 100 ml %70 etanol ile 5 gün süreyle ara sıra çalkalanarak karanlıkta bekletilip süzöldü. Yaprak ve tohumlar için sırası ile HY70 ve HT70 kodları verildi.

Yaprak ve tohumlardan elde edilen *Vitex agnus-castus* L. ekstreleri, drog ve ekstraksiyon yöntemine göre kodlanarak Tablo 1 'de gösterilmiştir.

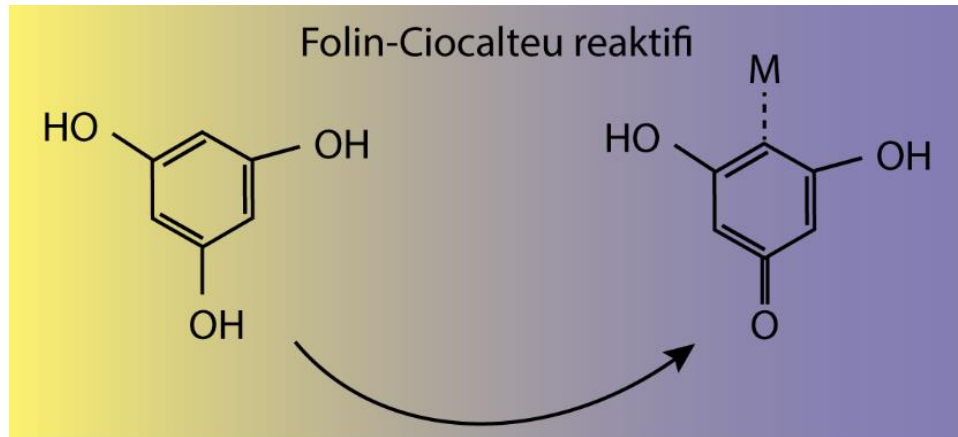
Tablo 1. *Vitex agnus castus* droglarından elde edilen ekstrelerin isimlendirilmesi ve hazırlanış yöntemleri

Drog	Ekstre	Ekstraksiyon yöntemi
Yaprak	HY 50	%50 Etanol
	HY 60	%60 Etanol
	HY S	%96 Etanol ile Soxhlet ekstraksiyonu
	HY 70	%70 Etanol ile tentür
Tohum	HT 50	%50 Etanol
	HT 60	%60 Etanol
	HT S	%96 Etanol ile Soxhlet ekstraksiyonu
	HT 70	%70 Etanol ile tentür

3.1.2.2. Toplam Fenolik Madde Analizi

Toplam fenolik madde tayininde, Folin-Ciocalteu yöntemi kullanıldı (Singleton ve Rossi, 1965). Bu yöntem, kısaca fenolik bileşiklerin molibdenyuma elektron transfer etmesine bağlı olarak mavi kompleks oluşması ve fenolik ve polifenolik maddelerin spektrokolorimetrik yöntemle kantitatif olarak tayin edilebilmesine dayanmaktadır (Şekil 6) (Albayrak, Sağdıç ve Aksoy, 2010).

10 mg/ml konsantrasyonlarda hazırlanan ekstrelerden 0.1 ml alınarak üzerine sırası ile 2.8 ml deiyonize su ve 2 ml Na_2CO_3 (%2 a/h) sulu çözeltisi ilave edildi. Daha sonra, hazırlanan karışıma 0.1 ml %50'lik fosfomolibdat ve fosfotungstat karışımı olan Folin-Ciocalteu reaktif çözeltisi eklendi. Çözelti 30 dk boyunca ışık almayacak şekilde ağzı kapalı bekletilip ara sıra çalkalandı. Daha sonra, örnekler madde içermeyen çözelti karışımı referans alınarak 750 nm dalga boyunda ölçüldü. Gallik asitin (G7384, Sigma) çeşitli konsantrasyonlarda seyreltilmesi ile hazırlanan ölçü eğrisi kullanılarak örneklerin toplam fenolik madde analizi gallik aside eşdeğer miktar olarak hesaplandı. Sonuçlar, üç ölçüm değerinin ortalaması ve standart sapma değerleri ile verildi.



Şekil 6. Folin-Ciocalteu reaktifinde fenolik bileşiklerin molibdenyuma elektron transferi nedeni ile gözlemlenen renk değişiminin kimyasal yapı ile gösterimi

3.1.2.3. Toplam Flavonoit Analizi

Vitex agnus-castus meyve ve yapraklarından hazırlanan ekstrelerde toplam flavonoit miktar tayini alüminyum klorit yöntemi ile yapıldı (Zhishen, Mengcheng, ve Jianming, 1999). 10 mg/ml konsantrasyonlardaki ekstrelerden 0.5 ml alınıp üzerine 1.5 ml %96'lık etanol ve 0.1 ml alüminyum klorit etanol çözeltisi eklendi. Hazırlanan karışıma 2.8 ml deiyonize su ilave edilerek 40 dakika boyunca ışık almayacak şekilde, ağzı kapalı ve ara sıra çalkalanarak bekletildi. Karışımın absorbansı 415 nm dalga boyunda etanol referans alınarak ölçüldü. Miktar tayini için kersetinin (\geq %98 (HPLC), Q4951, Sigma) çeşitli konsantrasyonlarda seyreltilmesi ile hazırlanan standart ölçü eğrisinden elde edilen regresyon denklemi kullanıldı. Ekstrelerin toplam flavonoit miktarı, kersetine eşdeğer flavonoit miktarı olarak belirtildi (Tomczyk ve Gudej, 2003). Sonuçlar, üç ölçüm değerinin ortalaması ve standart sapma değerleri ile verildi.

3.1.2.4. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (HPLC) ile Miktar Tayini Çalışmaları

V. agnus castus meyve ve yapraklarında klorojenik asit ve rutin miktar tayini için yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) kullanılmıştır. Ayrıca, elde edilen bulgular 4 mg hayıt meyve ekstresi içeren Agnucaston® (Bionorica) tableti ile kıyaslanmıştır. Çalışmalarda kullanılan HPLC Sisteminin özellikleri Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2. Miktar tayini çalışmalarında kullanılan HPLC sistemi ve çalışma koşulları

HPLC Sistemi	Agilent 1100 HPLC-DAD
Detektör	Diode Array Dedector (DAD)
Kolon	Inertsil® ODS-3 (25 cm x 4.6 mm x 5 µm)
Kolon sıcaklığı (°C)	30

Akis hızı (ml/dk)	1
Mobil faz	Asetonitril:Su (%0.1 fosforik asit içeren) (15:85)
Uygulama hacmi (μ l)	20

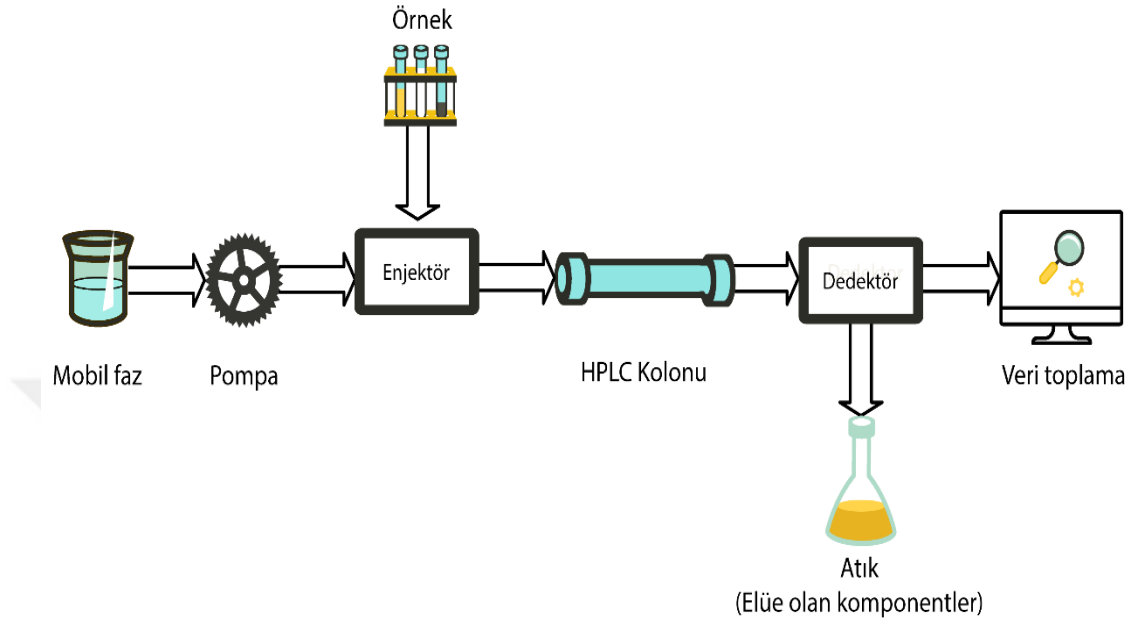
Rutin tayininde kullanılmak üzere 8.2 mg Rutin hidrat (Sigma, R5143) 2 ml metanolde çözüldü. Çözeltilerden alınan 20 μ l, metanol ile 1000 μ l'ye tamamlandı ve 345-580 nm aralığında UV spektrumu alındı. Maksimum absorbansın 355 nm dalga olduğu boyunda saptandı.

Klorojenik asit tayini için öncelikle, klorojenik asit (Sigma, C3878) 1 ml/ml konsantrasyonda metanolde hazırlanarak 200-400 nm dalga boyunda, metanol referans alınarak spektrofotometrik olarak tarandı. Klorojenik asitin maksimum absorbans gösterdiği dalga boyu 330 nm olarak tespit edildi.

Farklı konsantrasyonlara sahip standart çözeltiler, HPLC kolonuna enjekte edilip, kromatogramlarda saptanan alan değerlerine göre kalibrasyon eğrisi çizildi ve regresyon denklemi hesaplandı. Standart ölçü eğrilerinde iki paralel çalışma sonucunda okunan alan değerlerinin ortalaması kullanıldı.

Hazırlanan ekstratlar 100 mg/ml konsantrasyonda kendi çözücülerinde çözüldü. 1 ml ekstre çözeltisi 10 ml olacak şekilde metanol ile seyreltildi. 5000 rpm ile 20 dk boyunca santrifüje tabi tutulan ekstratlar, 0.45 μ m membran filtreden (Macherey-Nagel, Chromafil CA-45/25-S) süzülerek, 20 μ l loop hacmi olan enjektör bloğundan ucu küt enjektör (Hamilton) ile, üç tekrarla kolona enjekte edildi. Analizler izokratik olarak yürütüldü. Örneklerde bulunan klorojenik asit ve rutinin teşhisi, standartlara ait retansiyon zamanı ve internal standart yöntemi kullanılarak yapıldı. Klorojenik asit miktarı ve rutin miktarı regresyon denklemine göre hesaplandı. Çalışmada kullanılan HPLC sistem şeması ve cihazı Şekil 7 ve Şekil 8'de gösterilmiştir. Aynı şekilde, Agnucaston® tableti 4 mg/4ml konsantrasyonda metanolde çözülüp, santrifüj edildi ve filtre edilip 20 μ l hacimde HPLC-DAD sistemine enjekte edildi. Standartlara karşılık gelen alıkonulma zamanları ve tespit edilen dalga boylarındaki

ölçülen alanları (mAU) tespit edildi. Tüm çalışmalar ikişer tekrarlı olarak yapıldı ve sonuçlar ortalama değerler olarak hesaplandı.



Şekil 7. HPLC-DAD cihazının şematik gösterimi



Şekil 8. Agilent HP 1100 HPLC Cihazı

3.2 Antioksidan Aktivite Tayini

3.2.1. Gereç

Hayıt meyve ve yapraklarından hazırlanan ekstralarının antioksidan aktivite tayini DPPH yöntemi ile spektrofotometrik olarak yapılmıştır. Ölçümlerde Optima SP 3000 Nano UV-Vis spektrofotometresinden yararlanılmıştır.

3.2.2. Yöntem

V. agnus castus meyve ve yapraklarından hazırlanan ekstraların antioksidan aktivite ölçümü Esmaili ve arkadaşları tarafından 1,1-diphenil-2-picrylhydrazyl (DPPH) radikali yakalama aktivitesi yöntemine göre yapılmıştır (Esmaili ve Sonboli, 2010).

Bu yöntemde, temel olarak hidrojen atomu vermeye eğilimli molekül (antioksidan) tarafından DPPH serbest radikale proton transferi sonucu, absorbans değerinde azalma gözlenmektedir. Bu süreç, DPPH radikalinin indirgenerek mor renginin azalmasına bağlı olarak UV-Vis spektrofotometre ile takip edilebilmektedir (Albayrak ve diğerleri, 2010).

Öncelikle, 0.5-10 µg/ml konsantrasyon aralığında metanolde hazırlanan α-tokoferol (dl-α-tokoferol, Roche) çözeltilerinin 517 nm’de metanole karşı absorbans değerleri Optima SP 3000 Nano UV-Vis Spektrofotometresinde ölçüldü. Saptanan absorbans değerleri ile DPPH yüzde inhibisyonu hesaplanarak standart kalibrasyon eğrisi çizildi. Hesaplanan regresyon denkleminde ekstraların alfa tokoferole eşdeğer antioksidan aktivitesi saptandı.

Çeşitli konsantrasyonlarda hazırlanan ekstralardan 1 ml alınıp 4 ml DPPH stok çözeltisi (0.04 mg DPPH/ml metanol) ile seyreltildi ve 30 dakika boyunca ışık almayacak şekilde bekletildi. Ayrıca, sadece metanol ve DPPH stok çözeltisinden oluşan, ekstre içermeyen karışım da karanlıkta inkübe edildi. Daha sonra, tüm örneklerin absorbans değerleri metanole karşı ölçülerek % DPPH inhibisyon değerleri (% İ) aşağıdaki gibi hesaplandı:

$A_{boş} = 1 \text{ ml metanol} + 4 \text{ ml DPPH stok çözeltisinin absorbansı}$

$A_{örnek} = 1 \text{ ml örnek} + 4 \text{ ml DPPH stok çözeltisi karışımının absorbansı}$

$\% \dot{I} = [(A_{boş} - A_{örnek}) / A_{boş}] \times 100$

Hesaplanan % DPPH inhibisyon değerleri, α -tokoferol ile hazırlanan regresyon denklemleri kullanılarak α -tokoferole ekivalen değerler olarak hesaplandı. Ayrıca, %50 DPPH inhibisyonuna denk gelen ekstre miktarı, IC_{50} değeri olarak hesaplandı.



Bulgular

4.1. *Vitex agnus-castus* meyve ve yaprakları üzerinde yapılan miktar tayini araştırmalarına ait bulgular

4.1.1. Ekstraksiyon Verimi

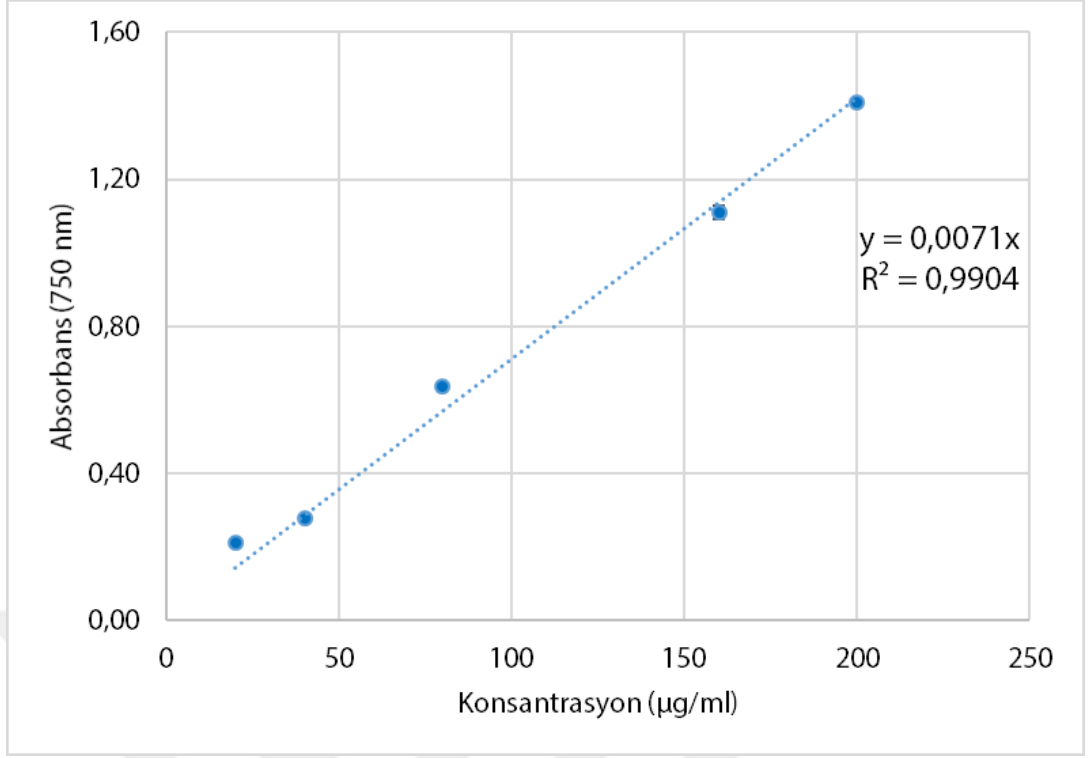
Vitex agnus-castus yaprak ve meyvelerinden çalkalama maserasyonu ve soxhlet ekstraksiyonu ile hazırlanan HY50, HY60, HYS, HT50, HT60 ve HTS kodlu ekstrelerin ekstraksiyon verimleri Tablo 3 ile gösterilmiştir.

Tablo 3. Farklı koşullarda hazırlanan ekstrelerin ekstraksiyon verimi

Gruplar	g/g drog	% Verim
HY50	0.334	33.386
HY60	0.360	36.000
HYS	0.381	38.100
HT50	0.148	14.818
HT60	0.132	13.226
HT S	0.105	10.546

4.1.2. Toplam Fenolik Madde Analizine Ait Bulgular

Toplam fenolik madde miktarı için hazırlanan gallik asit standart lu eğrisi Şekil 9 ile gösterilmiştir. HY50, HY60, HY70, HYS, HT50, HT60, HT70 ve HTS kodlu ekstrelerin Folin-Ciocalteu yöntemi ile hesaplanan toplam fenolik madde miktarları gallik asite ekivalen değeri olarak Tablo 4’de verilmiştir. Ekstraksiyon verimi bilinen ekstrelerin hazırlandığı 1 mg drogdaki toplam fenolik madde miktarı ise, Tablo 5’de gösterilmiştir. Farklı yöntemlerle hazırlanan meyve ve yaprak ekstrelerinin toplam fenolik madde miktarı ise Şekil 10’da karşılaştırmalı olarak sunulmuştur.



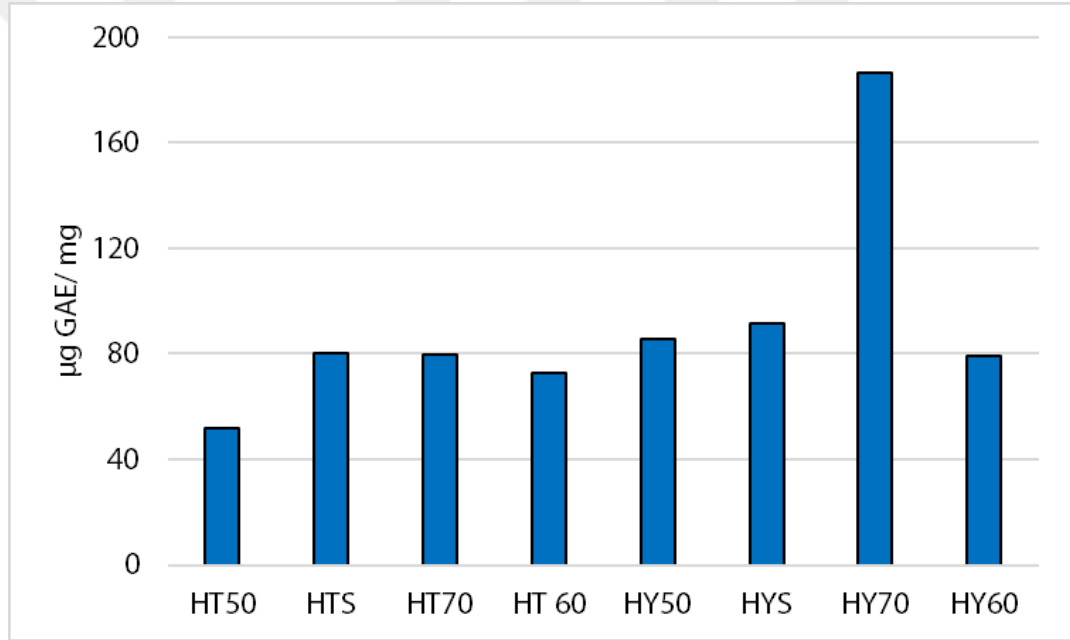
Şekil 9. Toplam fenolik madde analizine ait gallik asit standart ölçü eğrisi

Tablo 4. Ekstrelerde bulunan toplam fenolik madde miktarı

Gruplar	Miktar (µg GAE/mg ekstre)
HY50	85.634 ± 0.141
HY60	79.155 ± 0.141
HY70	186.479 ± 0.141
HYS	91.362 ± 0.215
HT50	51.878 ± 0.215
HT60	72.770 ± 0.163
HT70	79.577 ± 0.373
HTS	80.469 ± 0.215

Tablo 5. Ekstrelerin hazırlandığı droglarda bulunan toplam fenolik madde miktarı

Gruplar	Miktar ($\mu\text{g GAE/g drog}$)
HY50	28.590 ± 0.047
HY60	28.496 ± 0.051
HYS	34.908 ± 0.082
HT50	7.687 ± 0.032
HT60	9.625 ± 0.022
HTS	8.846 ± 0.023

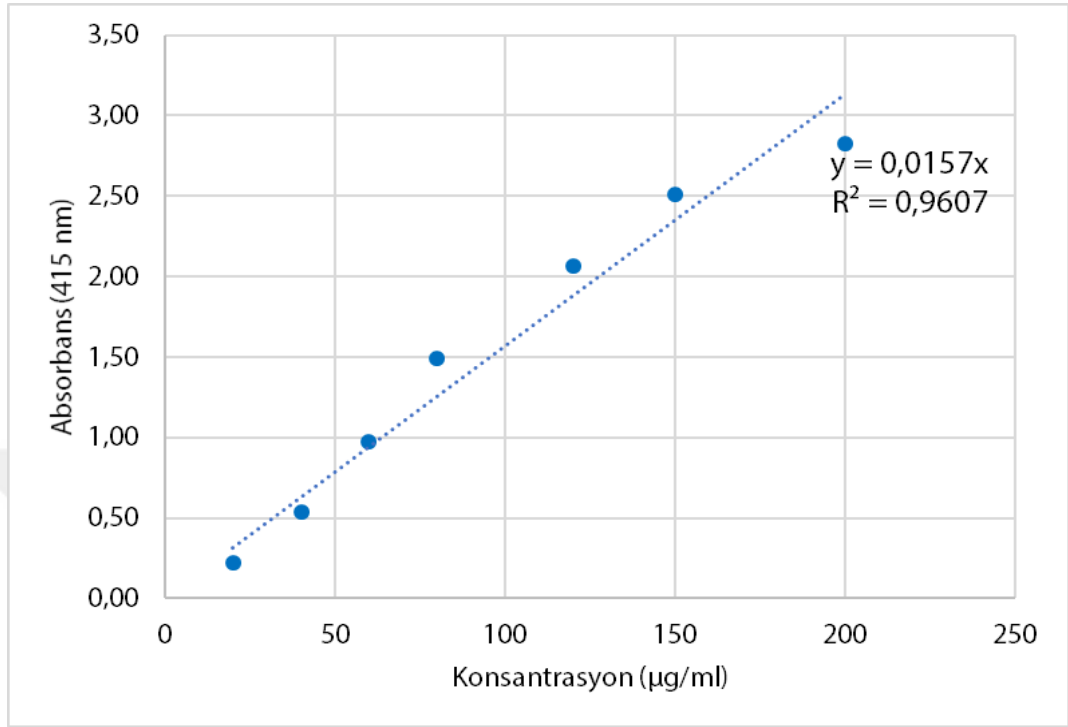


Şekil 10. Farklı yöntemlerle hazırlanan meyve ve yaprak ekstralarının toplam fenolik madde miktarı karşılaştırmaları

4.1.3. Toplam Flavonoit Analizine Ait Bulgular

Toplam flavonoit miktarı için hazırlanan kersetin standart ölçü eğrisi Şekil 11 ile gösterilmiştir. HY50, HY60, HY70, HYS, HT50, HT60, HT70 ve HTS kodlu ekstraların alüminyum klorit yöntemi ile hesaplanan toplam flavonoit miktarları kersetine ekvilen değeri olarak Tablo 6’da verilmiştir. Ekstraksiyon verimi bilinen ekstraların hazırlandığı 1 mg drogdaki toplam flavonoit miktarı ise, Tablo 7’de

gösterilmiştir. Farklı yöntemlerle hazırlanan meyve ve yaprak ekstralarının toplam flavonoid miktarı karşılaştırmaları Şekil 12’de gösterilmektedir.



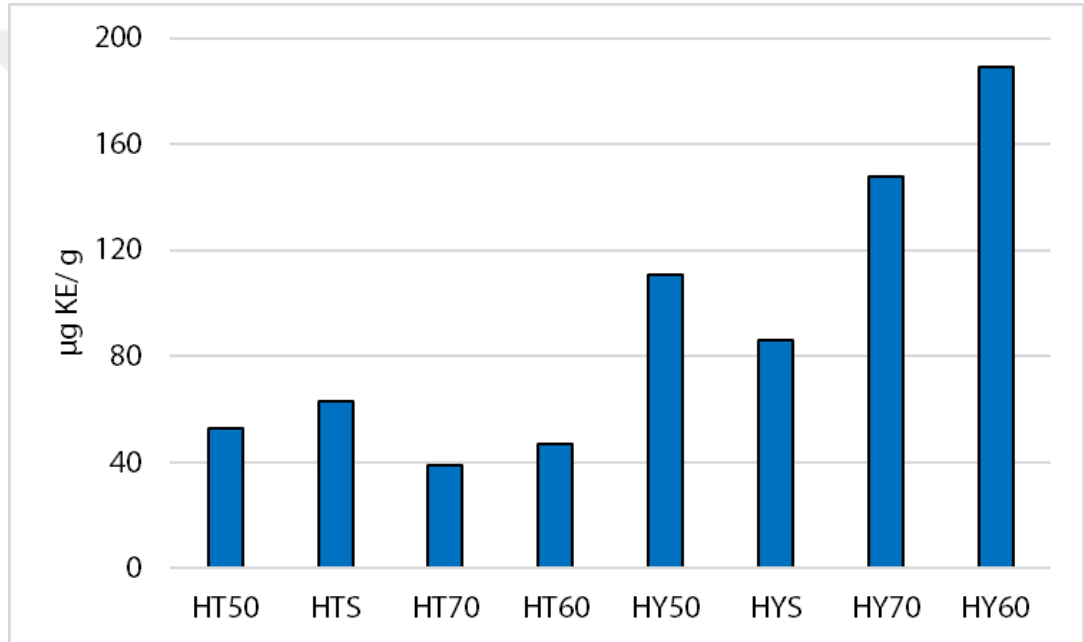
Şekil 11. Toplam flavonoid analizine ait kersetin standart ölçü eğrisi

Tablo 6. Ekstrelerdeki toplam flavonoid miktarı

Gruplar	Miktar (µg QE/mg ekstre)
HY50	110.637 ± 0.064
HY60	188.854 ± 1.011
HY70	147.749 ± 0.160
HYS	86.030 ± 0.097
HT50	52.505 ± 0.097
HT60	47.070 ± 0.064
HT70	38.726 ± 0.221
HTS	62.696 ± 0.074

Tablo 7. Ekstrelerin hazırlandığı droglardaki toplam flavonoit miktarı

Gruplar	Miktar ($\mu\text{g QE/g drog}$)
HY50	36.937 ± 0.021
HY60	67.987 ± 0.364
HYS	32.777 ± 0.037
HT50	7.780 ± 0.014
HT60	6.225 ± 0.008
HTS	6.612 ± 0.008

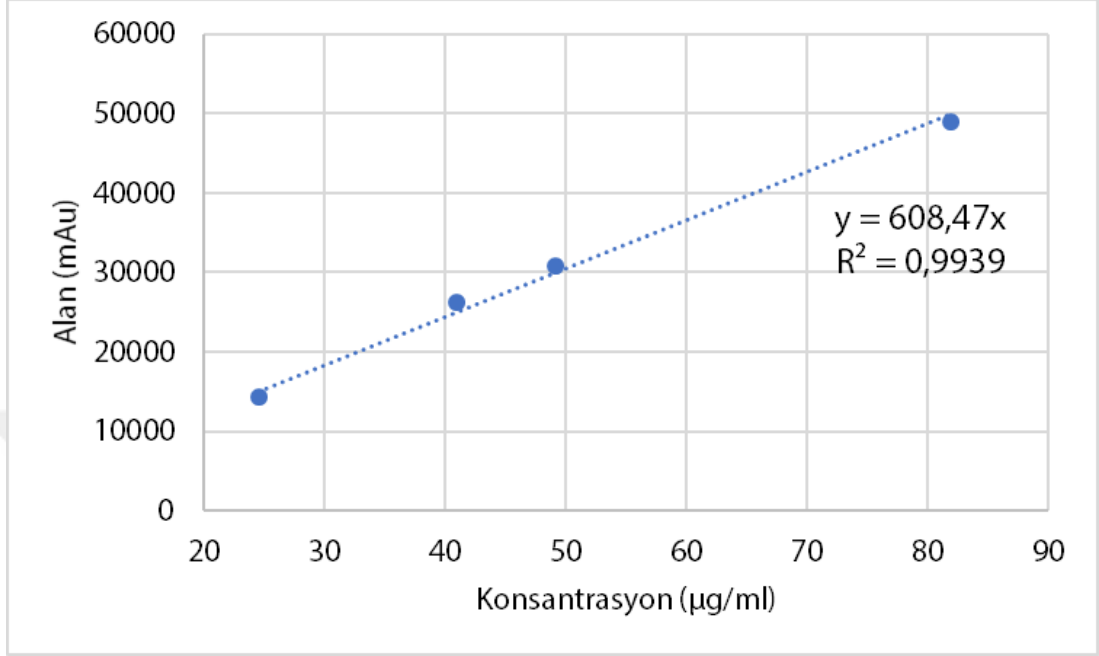


Şekil 12. Farklı yöntemlerle hazırlanan meyve ve yaprak ekstralarının toplam flavonoit miktarı karşılaştırmaları

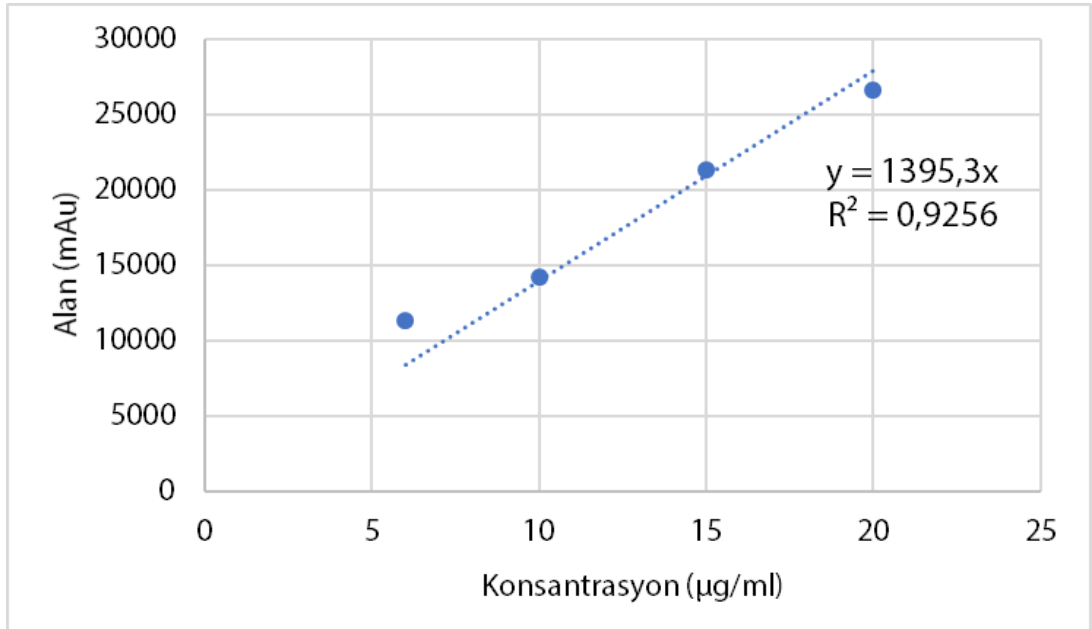
4.1.4. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (HPLC) ile Miktar Tayini Çalışmalarına Ait Bulgular

Ekstrelerde rutin ve klorojenik asit tayininde kullanılan rutin standart ölçü eğrileri sırası ile Şekil 13 ve Şekil 14'te gösterilmiştir. Rutin ve klorojenik asit tayininde kullanılan dalga boyu ve kalibrasyon denklemi, retansiyon zamanları ile birlikte Tablo 8'de gösterilmiştir. Örneklere ait kromatogramlar Şekil 15'de bulunmaktadır.

HY60 ve HT60 kodlu örnekler ve Agnucaston preparatından hazırlanan çözeltide HPLC ile yapılan miktar tayinine ait bulgular, Tablo 9 ve Tablo 10'da belirtilmiştir.



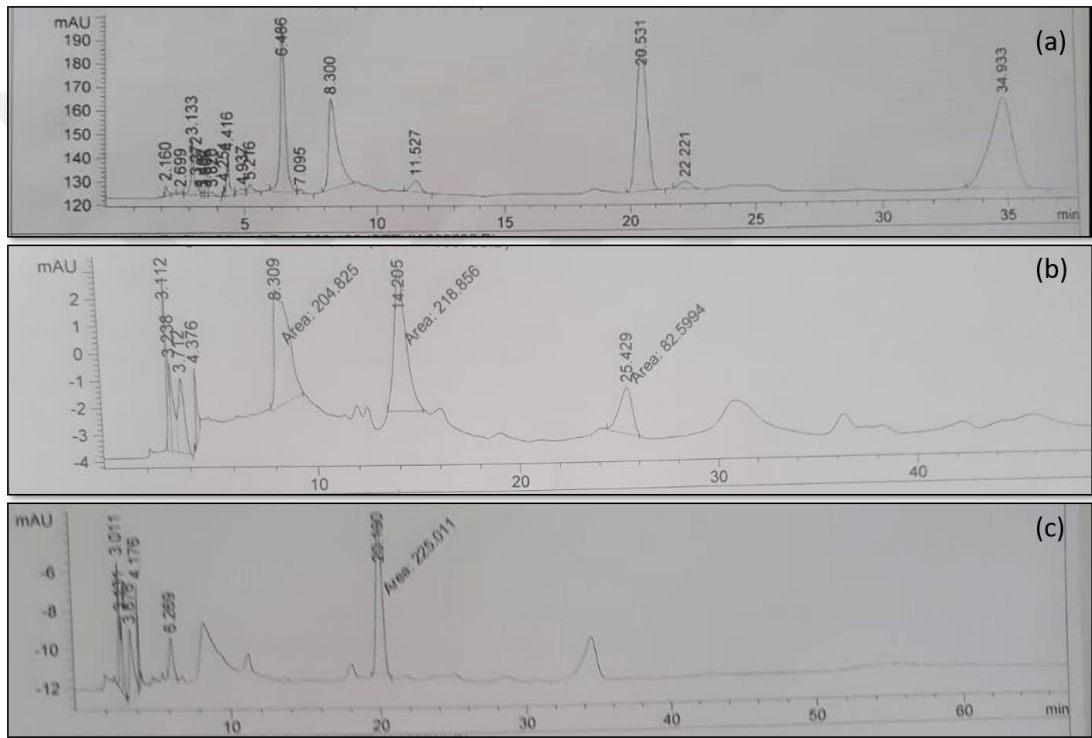
Şekil 13. Rutin miktar tayini analizine ait standart ölçü eğrisi



Şekil 14. Klorojenik asit miktar tayini analizine ait standart ölçü eğrisi

Tablo 8. Miktar tayini analizi ön çalışmalarında belirlenen retansiyon zamanı, maksimum dalga boyu, standart ölçü denklemi ve regresyon katsayısı

Madde	Retansiyon zamanı (dk)	Maksimum dalga boyu (nm)	Standart ölçü denklemi	R ²
Rutin	34.9	355	y = 1395.3x	~ 0.93
Klorojenik asit	8.3	330	y = 609.47x	≥ 0.99



Şekil 15. HY60 (a), HT60 (b) ve Agnucaston (c)'a ait HPLC kromatogramları

Tablo 9. HY60, HT60 ve Agnucaston örneklerinde yapılan rutin miktar tayini analizine ait bulgular

Madde	Rutin miktarı (mg/mg ekstre)	Rutin miktarı (mg/g drog)
HY60	0.330 x 10 ⁻²	131.48 x 10 ⁻²
HT60	0.068 x 10 ⁻²	8.81 x 10 ⁻²

Agnucaston	(-)
------------	-----

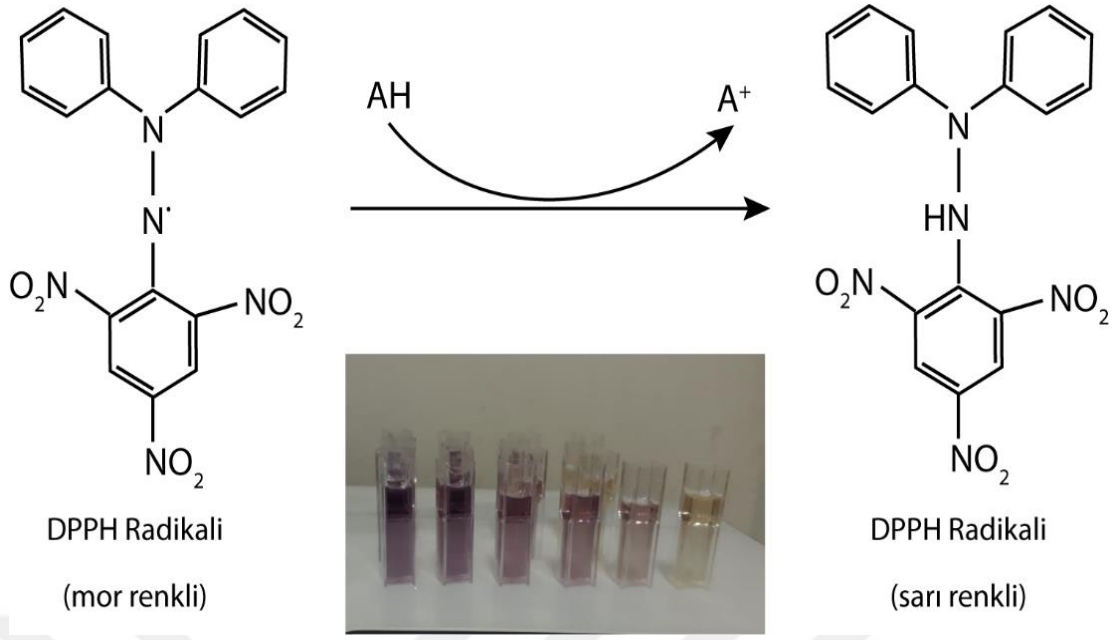
Tablo 10. HY60, HT60 ve Agnucaston örneklerinde yapılan klorojenik asit miktar tayini analizine ait bulgular

Madde	Klorojenik asit miktarı (mg/mg ekstre)	Klorojenik asit miktarı (mg/g drog)
HY60	0.45×10^{-2}	160.117×10^{-2}
HT60	0.17×10^{-2}	22.910×10^{-2}
Agnucaston	0.025×10^{-2}	

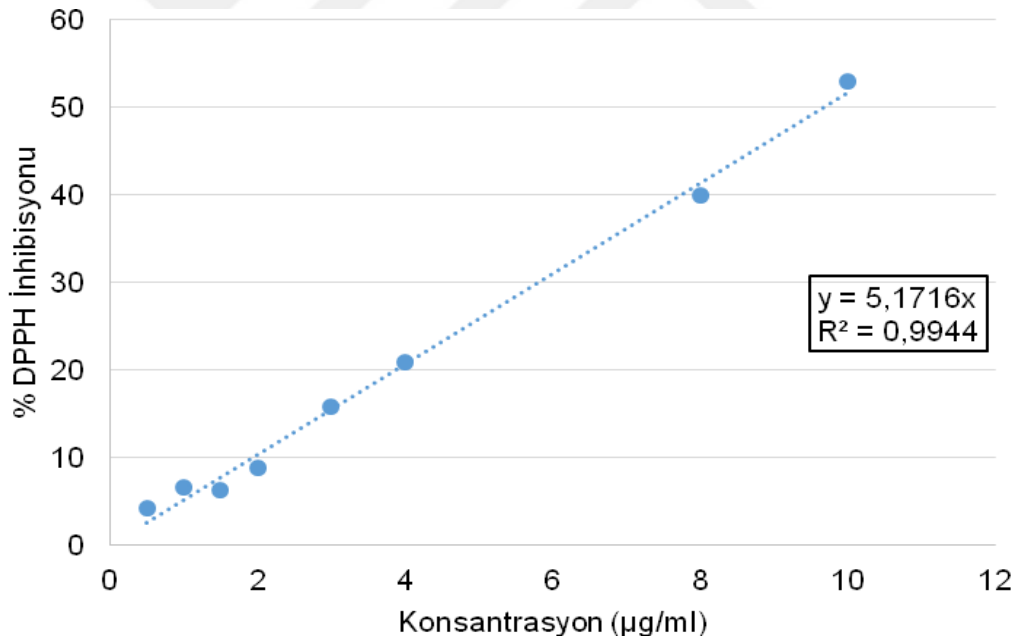
4.2. *Vitex agnus-castus* Meyve ve Yaprakları Üzerinde Yapılan Antioksidan Aktivite Tayinlerine Ait Bulgular

DPPH radikalinin indirgenmesine bağlı olarak örneklerde gözlemlenen renk değişimi Şekil 16'da gösterilmektedir. DPPH yöntemi ile antioksidan aktivite tayini için, öncelikle α -tokoferol standart ölçü eğrisi hazırlanmıştır (Şekil 17). HY50, HY60, HY70, HYS, HT50, HT60, HT70 ve HTS kodlu ekstraların % DPPH inhibisyon ve α -tokoferole ekivalen değerleri Tablo 11-18'de verilmiştir.

200, 400, 800 ve 1500 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonda yaprak ve tohumlardan farklı ekstraksiyon metotları ile hazırlanan ekstraların antioksidan aktivite karşılaştırmaları, Şekil 18-28'de yer almaktadır. Yaprak ve tohum ekstralarının IC_{50} değerleri Tablo 19'da gösterilmektedir.



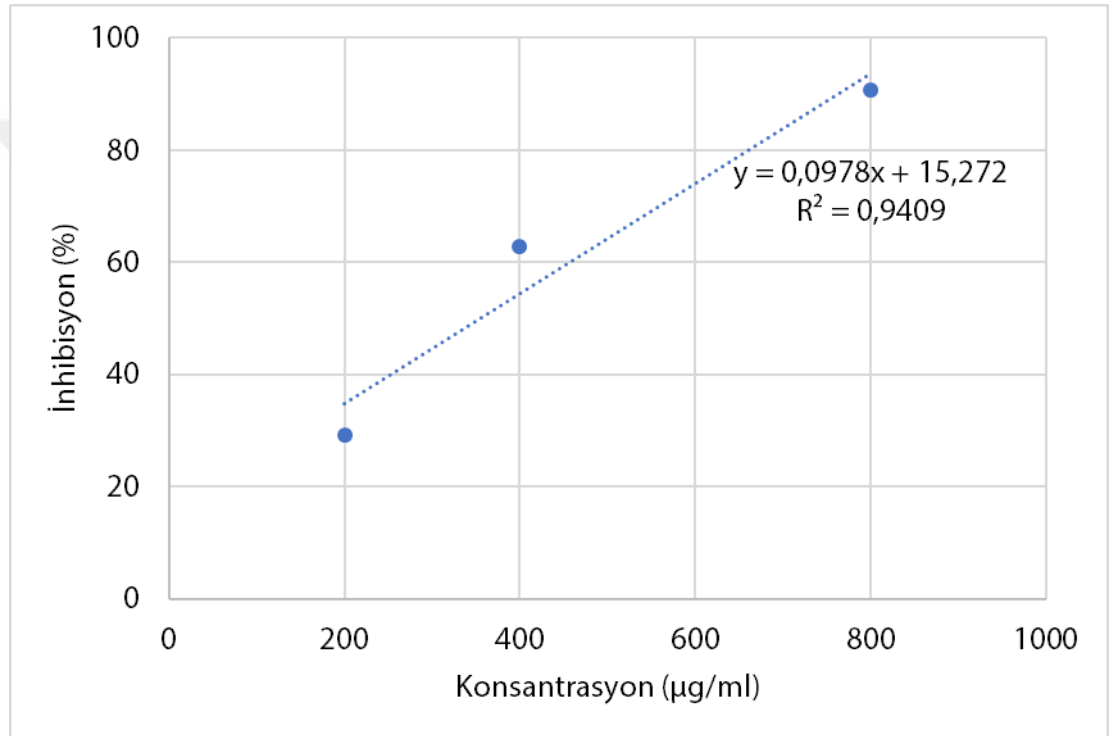
Şekil 16. DPPH radikalinin antioksidan bileşikle reaksiyonu



Şekil 17. DPPH yakalama aktivitesine ait α -tokoferol standart ölçü eğrisi

Tablo 11. HY50 kodlu örneğin farklı konsantrasyonlarda % DPPH inhibisyon ve α -tokoferol ekivalen değerleri

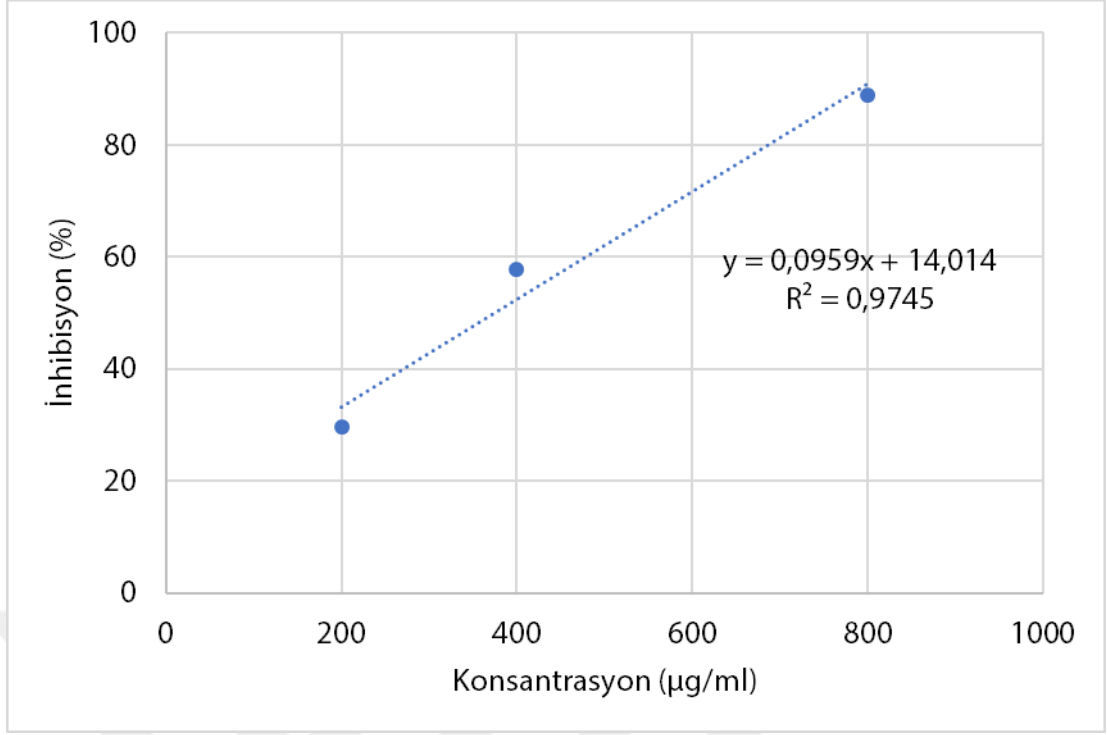
Konsantrasyon ($\mu\text{g/ml}$)	% DPPH inhibisyon	α-Tokoferol ekivalen değeri ($\mu\text{g/mg}$)
200	29.174 ± 0.128	5.641 ± 0.025
400	62.903 ± 0.111	12.163 ± 0.021
800	90.707 ± 0.128	17.539 ± 0.025



Şekil 18. HY50 kodlu örneğin farklı konsantrasyonlarda % DPPH inhibisyon ve α -tokoferol ekivalen değerlerine ait regresyon eğrisi

Tablo 12. HY60 kodlu örneğin farklı konsantrasyonlarda % DPPH inhibisyon ve α -tokoferol ekivalen değerleri

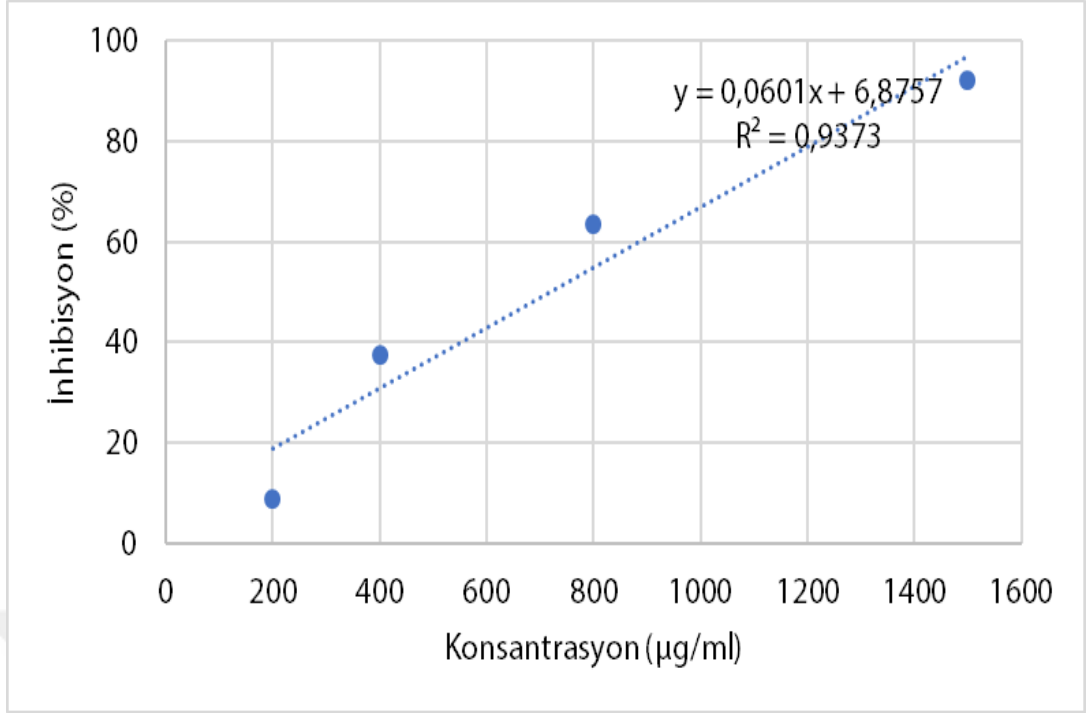
Konsantrasyon ($\mu\text{g/ml}$)	% DPPH İnhibisyon	α-Tokoferol ekivalen değeri ($\mu\text{g/mg}$)
200	29.622 ± 0.230	5.728 ± 0.045
400	57.765 ± 0.176	11.170 ± 0.034
800	88.981 ± 0.067	17.206 ± 0.013



Şekil 19. HY60 kodlu örneğin farklı konsantrasyonlarda % DPPH inhibisyon ve α -tokoferol ekivalen değerlerine ait regresyon eğrisi

Tablo 13. HY70 kodlu örneğin farklı konsantrasyonlarda % DPPH inhibisyon ve α -tokoferol ekivalen değerleri

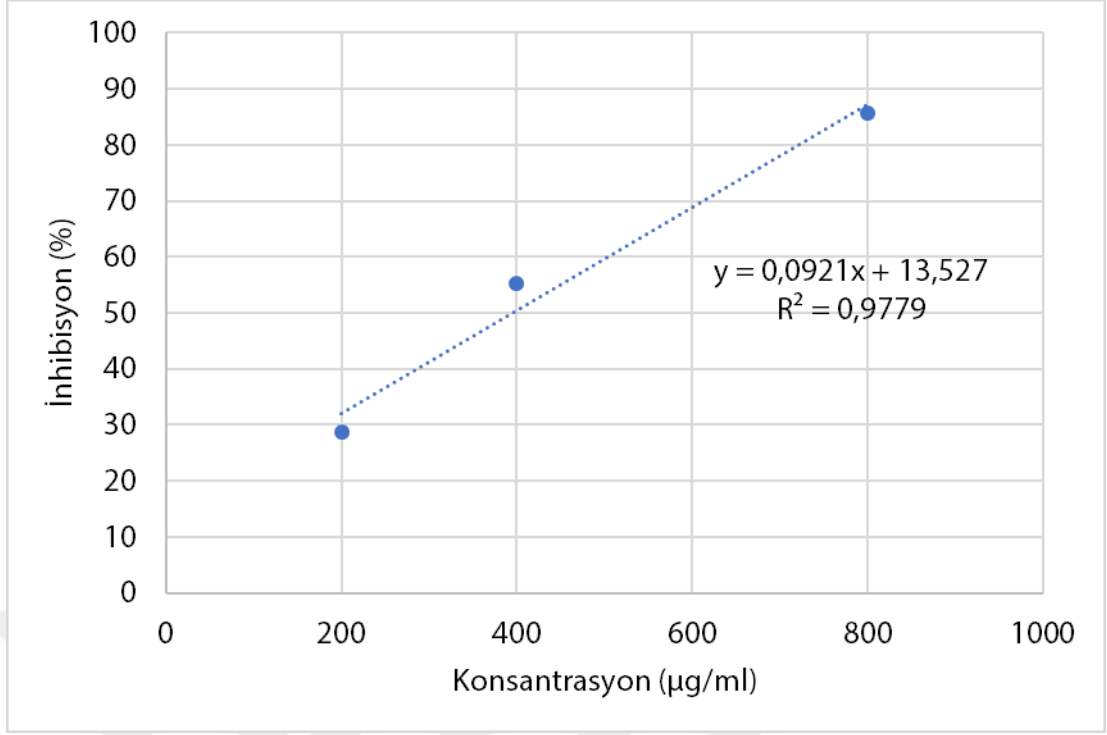
Konsantrasyon (µg/ml)	% DPPH İnhibisyon	α-Tokoferol ekivalen değeri (µg/mg)
200	79.951 ± 0.130	15.460 ± 0.025
300	80.513 ± 0.234	15.568 ± 0.045



Şekil 20. HY70 kodlu örneğin farklı konsantrasyonlarda % DPPH inhibisyon ve α -tokoferol ekivalen değerlerine ait regresyon eğrisi

Tablo 14. HYS kodlu örneğin farklı konsantrasyonlarda % DPPH inhibisyon ve α -tokoferol ekivalen değerleri

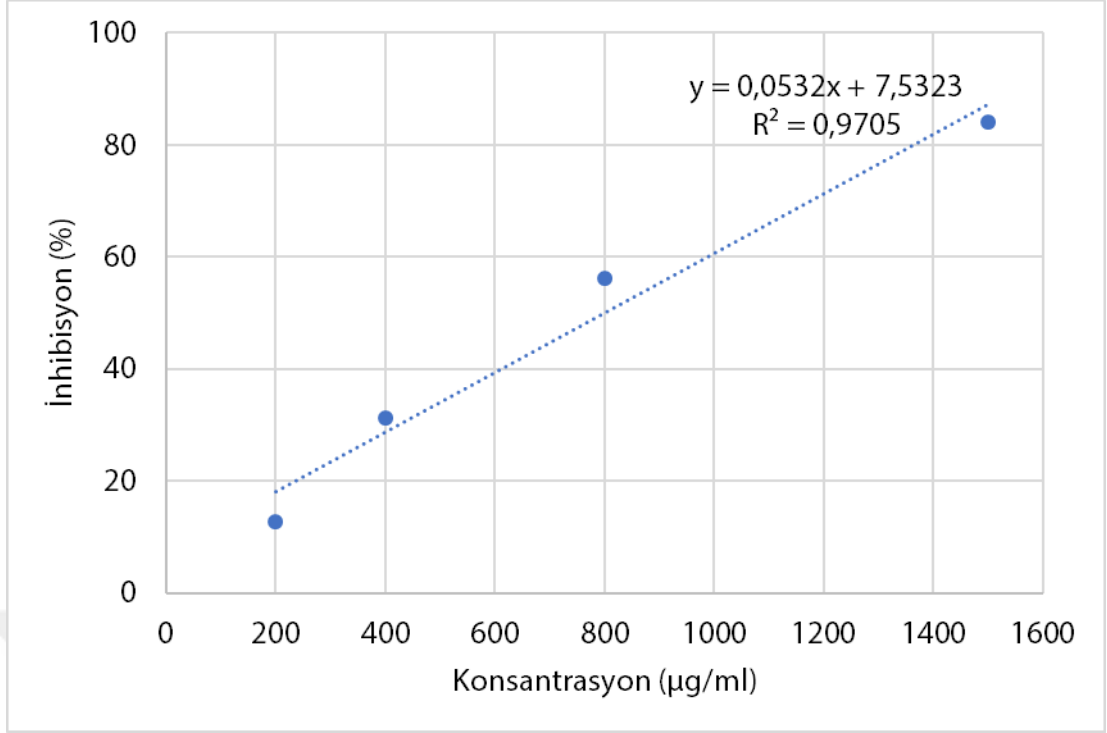
Konsantrasyon (µg/ml)	% DPPH İnhibisyon	α-Tokoferol ekivalen değeri (µg/mg)
200	28.742 ± 0.228	5.558 ± 0.044
400	55.151 ± 0.114	10.664 ± 0.022
800	85.581 ± 0.237	16.548 ± 0.046



Şekil 21. HYS kodlu örneğin farklı konsantrasyonlarda % DPPH inhibisyon ve α -tokoferol ekivalen değerlerine ait regresyon eğrisi

Tablo 15. HT50 kodlu örneğin farklı konsantrasyonlarda % DPPH inhibisyon ve α -tokoferol ekivalen değerleri

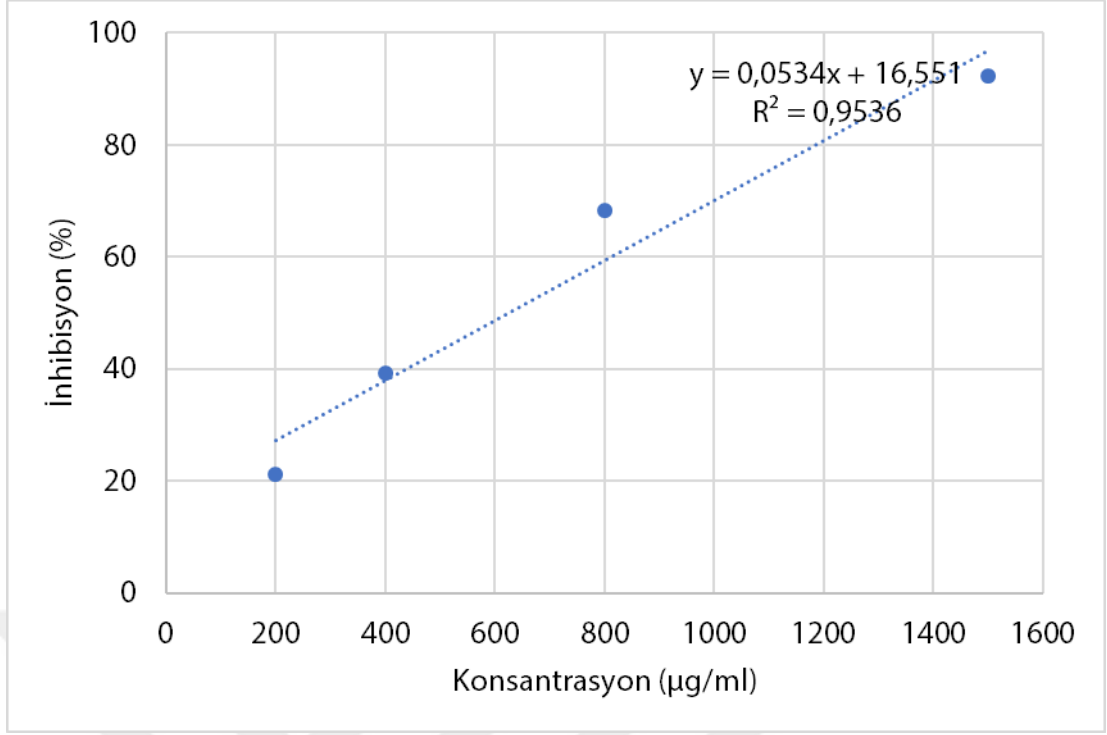
Konsantrasyon (µg/ml)	% DPPH İnhibisyon	α-Tokoferol ekivalen değeri (µg/mg)
200	12.728 ± 0.065	2.461 ± 0.013
400	31.265 ± 0.130	6.046 ± 0.025
800	56.270 ± 0.284	10.881 ± 0.055
1500	84.020 ± 0.396	16.246 ± 0.077



Şekil 22. HT50 kodlu örneğin farklı konsantrasyonlarda % DPPH inhibisyon ve α -tokoferol ekivalen değerlerine ait regresyon eğrisi

Tablo 16. HT60 kodlu örneğin farklı konsantrasyonlarda % DPPH inhibisyon ve α -tokoferol ekivalen değerleri

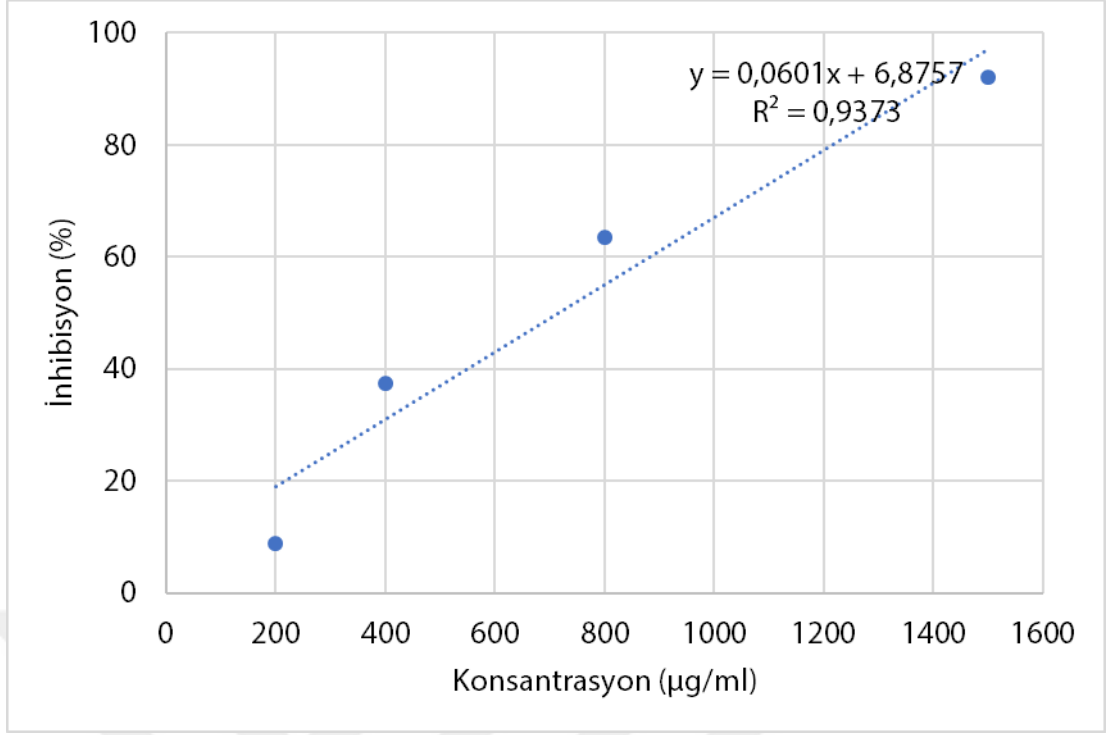
Konsantrasyon (µg/ml)	% DPPH İnhibisyon	α-Tokoferol ekivalen değeri (µg/mg)
200	21.229 ± 0.227	4.104 ± 0.044
400	39.331 ± 0.227	7.605 ± 0.044
800	68.266 ± 0.000	13.200 ± 0.000
1500	92.366 ± 0.109	17.860 ± 0.021



Şekil 23. HT60 kodlu örneğin farklı konsantrasyonlarda % DPPH inhibisyon ve α -tokoferol ekivalen değerlerine ait regresyon eğrisi

Tablo 17. HT70 kodlu örneğin farklı konsantrasyonlarda % DPPH inhibisyon ve α -tokoferol ekivalen değerleri

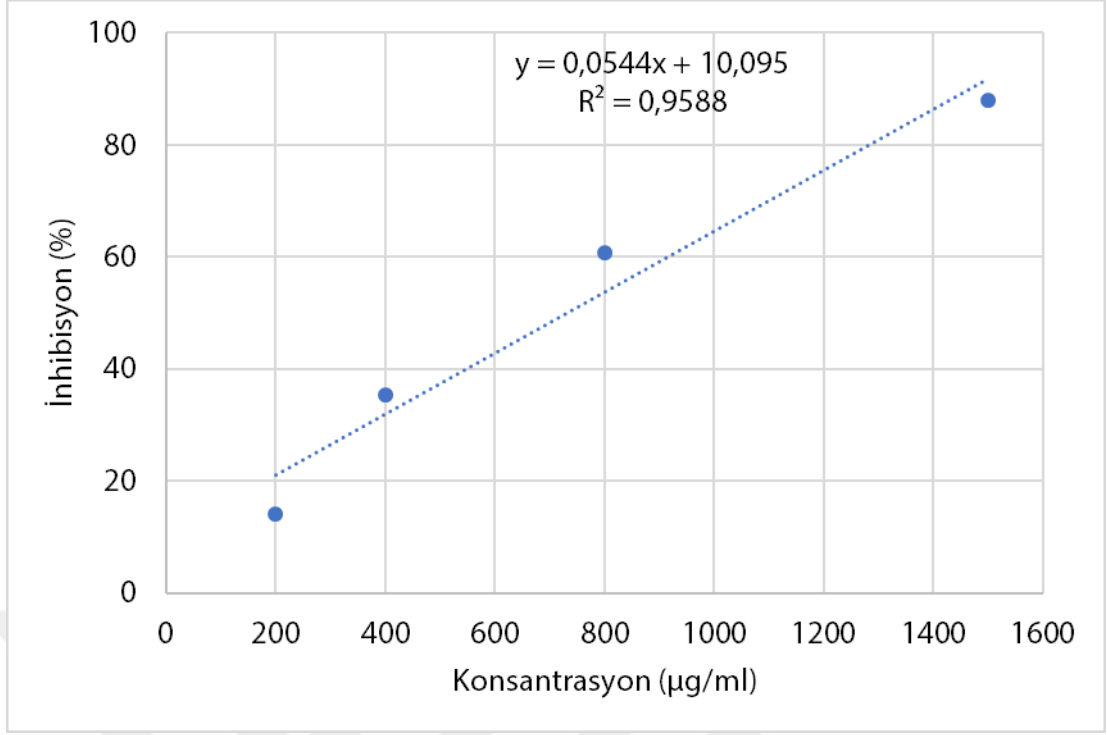
Konsantrasyon (µg/ml)	% DPPH İnhibisyon	α-Tokoferol ekivalen değeri (µg/mg)
200	8.840 ± 0.110	1.709 ± 0.021
400	37.459 ± 0.110	7.243 ± 0.021
800	63.425 ± 0.292	12.264 ± 0.057
1500	92.192 ± 0.128	17.827 ± 0.025



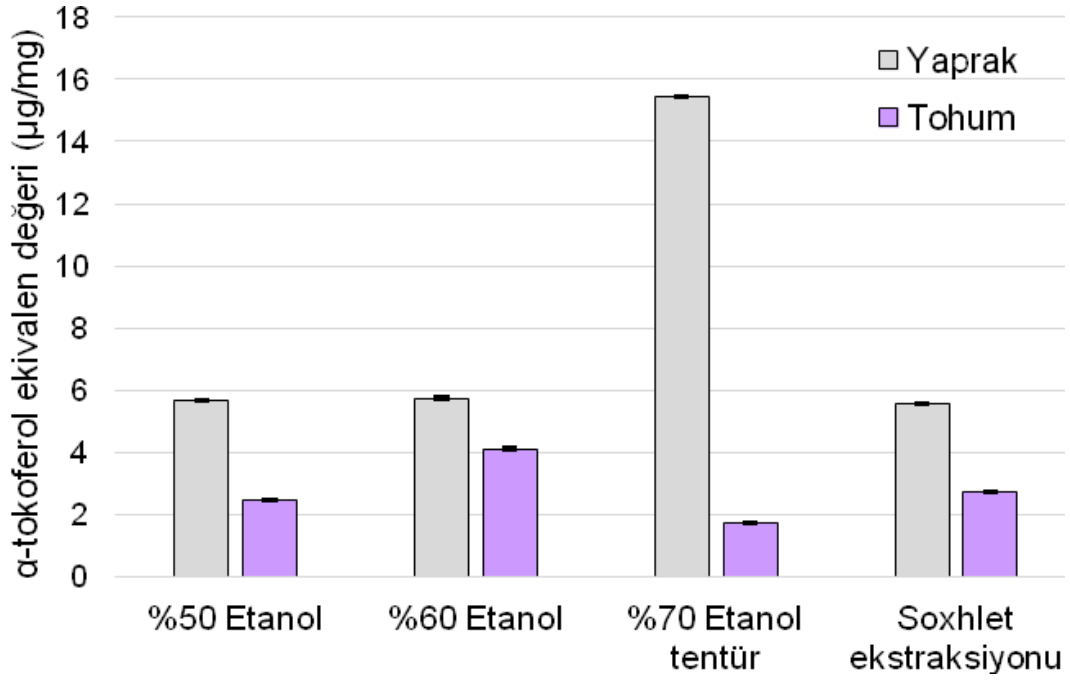
Şekil 24. HT60 kodlu örneğin farklı konsantrasyonlarda % DPPH inhibisyon ve α -tokoferol ekivalen değerlerine ait regresyon eğrisi

Tablo 18. HTS kodlu örneğin farklı konsantrasyonlarda % DPPH inhibisyon ve α -tokoferol ekivalen değerleri

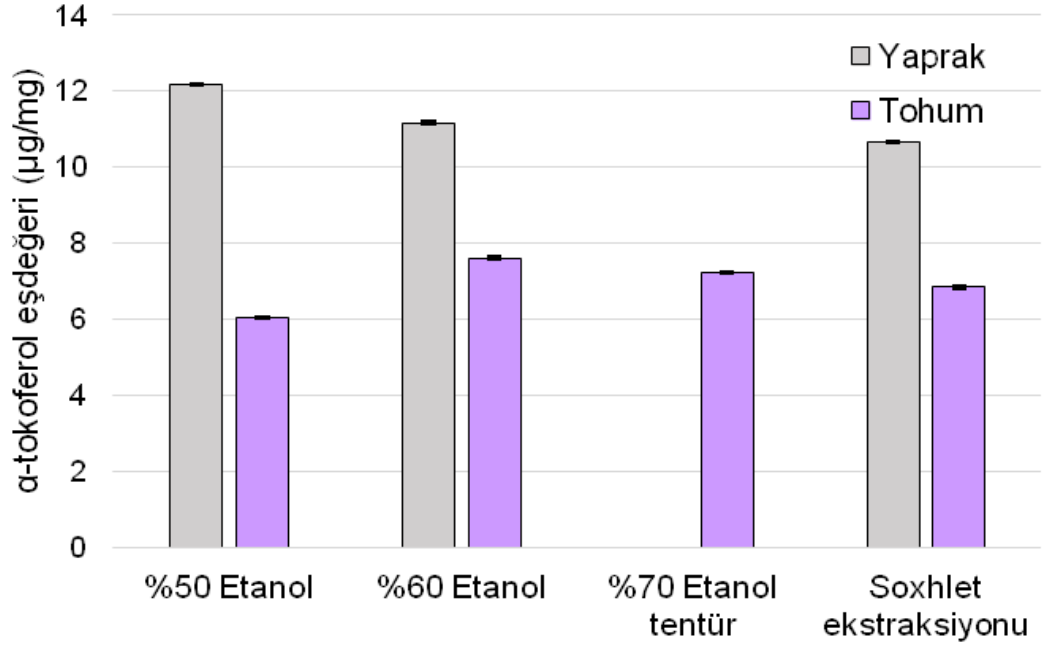
Konsantrasyon (µg/ml)	% DPPH İnhibisyon	α-Tokoferol ekivalen değeri (µg/mg)
200	14.100 ± 0.170	2.276 ± 0.033
400	35.454 ± 0.232	6.855 ± 0.045
800	60.751 ± 0.232	11.747 ± 0.045
1500	87.872 ± 0.232	16.991 ± 0.045



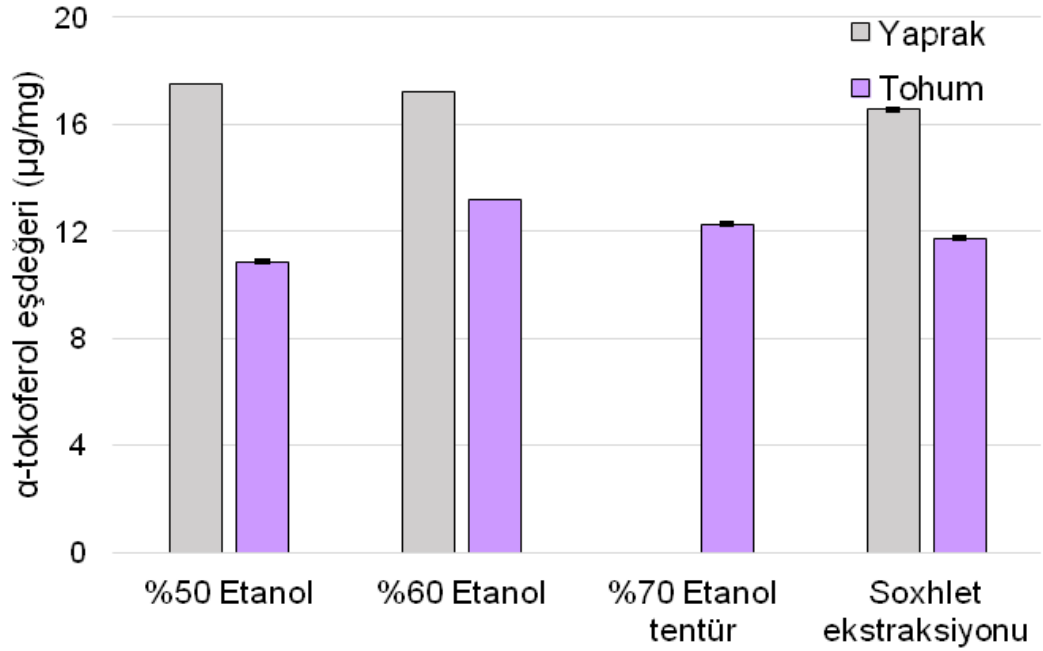
Şekil 25. HTS kodlu örneğin farklı konsantrasyonlarda % DPPH inhibisyon ve α -tokoferol ekivalen değerlerine ait regresyon eğrisi



Şekil 26. 200 µg/ml konsantrasyonda farklı yöntemlerle hazırlanan yaprak ve tohum ekstratlarının antioksidan aktivite karşılaştırması



Şekil 27. 400 µg/ml konsantrasyonda farklı yöntemlerle hazırlanan yaprak ve tohum ekstraktlarının antioksidan aktivite karşılaştırması



Şekil 28. 800 µg/ml konsantrasyonda farklı yöntemlerle hazırlanan yaprak ve tohum ekstraktlarının antioksidan aktivite karşılaştırması

Tablo 19. Yaprak ve tohum ekstralarının IC₅₀ değerleri

Gruplar	IC₅₀ (µg/ml)
HY50	355.092
HY60	375.245
HY70	161.917
HYS	396.015
HT50	798.265
HT60	626.386
HT70	717.542
HTS	733.548
α-tokoferol	9.668

Tartışma

Bu çalışmada kullanılan hayıt yaprakları, Urla İçmeler mevkiinden, bitki çiçekliyken 2019 Mayıs ayında, meyveleri ise 2019 Temmuz ayında toplanmıştır. Oda sıcaklığında ve gölgede kurutulan droglar, değirmende toz edilmiştir. Droglardan, % 50-60'lık sulu etanol çözeltileri ve etanol ile hazırlanan ekstrelerde ve % 70'lik etanol ile hazırlanan tentürlerinde Folin-Ciocalteu yöntemi ile toplam fenolik madde, Alüminyum klorit yöntemi ile toplam flavonoit miktarı, HPLC-DAD yöntemi ile rutin ve klorojenik asit miktar tayini yapılmıştır. Elde edilen bulgular, Agnucaston adlı hayıt meyve ekstresi içeren preparatla karşılaştırılmıştır. Miktar tayini çalışmalarının yanı sıra, hazırlanan tüm ekstrelerin DPPH yöntemi ile farklı konsantrasyonlarda antioksidan aktivite çalışmaları yürütülmüştür.

Bitkinin etken madde bakımından en verimli olabileceği ekstraksiyon şartlarının tespit edilmesi hem etken madde verimi hem de uygun preparat formülasyonlarının geliştirilmesi açısından oldukça önemlidir. Bu nedenle, çalışmada her iki drogdan ekstre eldesinde kullanılan yöntemlerin, etken madde miktarına etkisi kıyaslanmıştır. Yapılan miktar tayini ve aktivite çalışmalarında, Avrupa İlaç Ajansının tıbbi bitki Monograflarında yer alan yöntemler ve konsantrasyon değerleri temel alınmıştır.

Çalışmalarda kullanılan meyve ve yaprak ekstreleri, çalkalama maserasyonu (%50 ve %60 sulu etanolde), tentür (%70'lik etanolde) ve Soxhlet ekstraksiyonu (%96'lık etanolde) yöntemleri ile hazırlanmıştır. Yaprak ekstrelerinin verimi %33.39–38.10, tohumlardan hazırlanan ekstrelerin verimi ise %10.55–14.89 aralığında bulunmuştur. Sonuçlar değerlendirildiğinde, yapraklardan hazırlanan tüm ekstrelerde, tohumlar ile hazırlanan ekstrelerle kıyasla daha yüksek verim elde edilmiştir. Çalkalamalı maserasyon ve Soxhlet ekstraksiyonu yöntemleri kıyaslandığında, yapraklardan hazırlanan ekstrelerde en yüksek verim Soxhlet ekstraksiyonundan (%38.10), tohumlardan hazırlanan ekstrelerde ise %50'lik etanol ile çalkalama maserasyonu tekniği ile en yüksek verim %14.82 olarak elde edilmiştir.

Literatürde yer alan çalışmalar incelendiğinde, kullanılan çözücünün ekstraksiyon verimi üzerinde oldukça etkili olduğu görülmektedir. Örneğin, *Vitex agnus-castus*

yapraklarının su, etanol ve n-hekzan ile hazırlanan ekstreleri ile yapılan bir çalışmada ekstraksiyon verimi sırası ile %38.06, 13.06 ve 3.42 olarak bulunmuştur (Sağlam ve diğerleri, 2007).

Fenolik bileşiklerin insan sağlığı üzerinde oldukça önemli olduğu bilinmektedir. Yapılan *in vitro* çalışmalar, fenolik bileşiklerin serbest radikal süpürücü, enzimatik aktivite düzenleyici, antialerjik ve antiinflamatuvar etkilerini göstermektedir (Bravo, 1998). Bu nedenle, potansiyel ilaç hammaddesi araştırmalarında, istenen aktiviteden sorumlu fenolik bileşiklerinin miktar tayini ve standardizasyonu oldukça büyük önem taşımaktadır.

Tez kapsamında *V. agnus-castus* meyve ve yapraklarında toplam fenolik madde miktar tayini, Folin-Ciocalteu yöntemi ile, gallik asit ile hazırlanan standart ölçü eğrisinden yararlanılarak spektrokolorimetrik olarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmalarımız sonucunda en yüksek toplam fenolik madde miktarı, diğer tüm ekstre örnekleri ile kıyaslandığında oldukça yüksek olarak, yapraklar ile hazırlanan tentür ekstresinde, 186.48 µg GAE/mg ekstre olarak gözlemlenmiştir (Tablo 4, Şekil 10). Tohumlarda ise toplam fenolik madde miktarı 51.88 – 80.47 µg GAE/mg ekstre aralığında bulunmuştur. Yaprak ekstreleri ile elde edilen sonuçlar, yapılan literatür çalışmaları ile kıyaslandığında genel olarak hayıt uçucu yağında daha yüksek toplam flavonoid miktarı bildirilmiştir.

Örneğin, hayıt uçucu yağı ile yapılan bir çalışmada toplam fenolik bileşen 82.26 ± 5.94 mg GAE/g uçucu yağ olarak hesaplanmıştır (Katirae, Mahmoudi, Tahapour, Hamidian ve Emami, 2015).

2010 yılında Antalya'dan toplanan hayıt ile yapılan bir diğer çalışmada ise, hazırlanan uçucu yağın fenolik bileşen miktarı 48.05 ± 1.02 mg GAE/g ekstre) olarak rapor edilmiştir. Toplam flavonoid miktarı ise, alüminyum klorit yöntemi ile 27.45 ± 1.36 mg KE/g ekstre olarak bulunmuştur. Çalışmaya göre, toplam fenolik bileşik miktarı ve antioksidan aktivite arasında doğru orantı bulunmaktadır (Maltaş, Uysal, Yıldız ve Durak, 2010).

Çalışmalarda toplam flavonoid miktar tayini, alüminyum klorit yöntemi ile, kersetin standart alınarak spektrofotometrik olarak gerçekleştirilmiştir. Ekstrelerin toplam

flavonoit miktarları kıyaslandığında, yaprak örneklerinin meyve ekstralarına kıyasla daha yüksek flavonoit içerdiği rapor edilmiştir (Tablo 6). Sonuçlara göre, aynı drogdan farklı yöntemlerle hazırlanan ekstraların flavonoit miktarları birbirine yakınlık göstermektedir. Meyve ekstralarında en yüksek flavonoit içeriği HTS kodlu örnekte 62.97 µg KE/g kuru ekstre, yaprakta ise HY60 kodlu örnekte 185.85 µg KE/g ekstre olarak bulunmuştur. Bulgular, flavonoit miktarının yalnızca drog ile değil, aynı zamanda ekstraksiyon yöntemine göre de farklılık gösterdiğini işaret etmektedir.

Maltaş ve arkadaşları tarafından, hayıt yapraklarının metanollü ekstresi ile yapılan çalışmada toplam flavonoit miktarı Folin-Ciocalteu yöntemi ile 27.45 ± 1.36 mg KE/g drog olarak bulunmuştur. Toplam fenolik bileşik miktarı ise 45.05 ± 1.02 mg GAE/g drog olarak hesaplanmıştır. Aynı çalışmada, *Vitex agnus castus* ekstresinin *Candida albicans* türüne karşı antifungal aktivitesi ispatlanmıştır (Maltaş ve diğerleri, 2010).

Örneğin bir çalışmada, hayıt yaprak ve meyvelerinden hazırlanan metanol ekstralarında RP-HPLC yöntemi ile bazı fenolik bileşikler analiz edilmiştir. Fakat rutin her iki drogda da rastlanmamıştır. Aynı çalışmada, ekstre verimi meyve ve yapraklarda sırası ile %30 ve 29.5 olarak hesaplanmıştır. Toplam fenolik içerik ise meyve ekstresi için 114.5 ± 2.7 , yaprak ekstresi için 123.9 ± 2.28 mg GAE/g ekstre olarak hesaplanmıştır. Çalışmada, DPPH yöntemi ile yapılan antioksidan aktivite çalışmalarında standart ölçü eğrisi kafeik asit ile hazırlanmış, IC_{50} değerleri meyve için 0.612, yaprak için 0.449 mg/ml olarak bulunmuştur (Gökbulut, Özhan, Karacaoğlu ve Şarer, 2010).

İnce tabaka kromatografisi ya da kolon kromatografisi gibi diğer kromatografi yöntemleri ile kıyaslandığında, yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC), daha az miktarda örnekle çalışmasına rağmen daha hızlı ve hassas sonuç vermektedir. Bu nedenle, özellikle ekstralarda fenolik bileşiklerin izolasyonunda ve kantitatif analizinde en çok tercih edilen yöntemdir (Lee, 2000).

Bu nedenle, çalışma kapsamında, %60 sulu etanolde çalkalama maserasyonu ile hazırlanan hayıt yaprak ve meyve ekstralarında (HY60 ve HT60), HPLC yöntemi ile klorojenik asit ve rutin miktarları tespit edildi. Deteksiyonda diode array detector (DAD), sabit faz olarak ise İnterstil ODS-3 (4.6x250 mm) kolonu kullanıldı. Analiz

boyunca, aynı mobil faz bileşiminin kullanılmasının, çalışmanın tekrarlanılabilirliği açısından oldukça önemli olduğu gözlemlenmiştir.

HPLC ile rutin miktar tayini çalışmaları Tablo 9'da gösterilmiştir. Yaptığımız rutin tayini çalışmalarında, en yüksek rutin miktarı HY60 kodlu ekstrede 0.33 mg/100 mg ekstre olarak bulunmuştur. Yapılan analizlerde, Agnucaston tabletinde rutine rastlanmamıştır. Çalışmamız, literatürde belirtilen bazı çalışmalarla karşılaştırıldığında, bazı çalışmalarla uyumlu bulunduğu gibi bazıları ile ise birbirinden çok farklı sonuçlar elde edilmiştir.

Fenolik bileşikler arasında kafein ve kinik asit esteri olan klorojenik asit, yüksek antioksidan aktivitesi ile bilinmektedir (Chen ve Ho, 1997). Özellikle klorojenik asit açısından zengin bitkilerle beslenen hayvanlarda dejeneratif, yaşa bağlı hastalıklarda azalma gözlemlenmektedir (Niggeweg, Michael ve Martin, 2004).

Türkiye'de yetişen hayıt bitkisinde klorojenik asit miktar tayini ile bilinen ilk çalışma, Marmaris ve Antalya'dan toplanan hayıt meyve ve yapraklarının ters fazlı HPLC (RP-HPLC) ile incelenmesidir. Çalışmaya göre, meyve ekstraları klorojenik asit bakımından yaprak ekstralarından daha zengin olarak bulunmuştur. Meyve ekstralarının klorojenik asit içeriği %0.303-343 (a/a) olarak tayin edilmiştir (Şarer ve Gökbulut, 2008).

HPLC klorojenik asit miktar tayini çalışmaları Tablo 10'da gösterilmiştir. Klorojenik asit miktarı öncelikle drog çeşidine bağlı olarak değişmektedir. Yaptığımız klorojenik asit miktar tayini çalışmalarında, HY60 kodlu ekstre klorojenik asit açısından daha zengin bulunmuştur (0.45 mg/100 mg ekstre). Ayrıca hem yaprak hem meyve ekstralarının Agnucaston preparatından daha yüksek klorojenik asit içerdiği rapor edilmiştir.

Yapılan HPLC çalışmalarında görülen farklılıklar, bitkilerin yetişme şartı, toplanma zamanı, kurutulma ve toz hale getirilme yöntemleri gibi ekstre hazırlanma öncesi faktörlerle ilişkili olabileceği gibi, aynı zamanda ekstraksiyon yöntemi, çözücü ve çalışma koşulları ile ilişkilidir.

Serbest radikaller, organizmalardaki doğal oksidasyon süreçlerinde veya dış kaynaklı etkilere oluşmaktadır (Öğüt, 2014). Antioksidanlar, serbest radikallerin ve reaktif

oksijen türevlerinin (ROS) hücrelerde yol açtığı oksidatif hasarı önlemesi veya azaltması ile günlük diyetimizde epeyce önemlidir (Gross ve Snowdon, 1996). Böylece oksidatif strese bağlı olarak gelişen yaşa bağlı gelişen hastalıklar ve kanser, kalp rahatsızlıkları gibi birçok hastalığa karşı antioksidan takviyesi alımı gittikçe önem kazanmaktadır. Literatürdeki bazı çalışmalar, fenolik bileşenlerin antioksidan aktiviteden sorumlu olduğunu desteklemektedir (Andarwulan, Fardiaz, Wattimena ve Shetty, 1999; Tsaliki, Lagouri ve Doxastakis, 1999) .

Hayıt üzerine yapılan bazı çalışmalarda, hayıtın yüksek antioksidan aktivitesinin içerdiği toplam fenolik bileşik miktarı ile doğru orantılı olduğu rapor edilmiştir (Sarıkürkçü ve diğerleri., 2009). Bu nedenle, farklı yöntemlerde hazırlanan yaprak ve meyve ekstralarının miktar tayini ve biyolojik aktivite çalışmalarının paralel olarak yapılması oldukça önem taşımaktadır.

Tez kapsamında yapılan antioksidan aktivite çalışmalarında, % DPPH inhibisyon değerleri ve α -tokoferole ekivalen antioksidan değerleri hesaplanmıştır. Bu sonuçlar Tablo 11-18'te gösterilmiştir. Ayrıca, antioksidan aktivite değerleri, başlangıçtaki DPPH konsantrasyonunun %50 azalması için harcanması gereken antioksidan miktarını ifade eden IC₅₀ (etkin konsantrasyon) değerleri hesaplanıp Tablo 19'da gösterilmiştir (Brand-Williams ve diğerleri, 1995). Bulgular incelendiğinde, yapılan tüm ekstraksiyon yöntemlerinde yaprak ekstralarının antioksidan aktiviteleri, meyveden daha yüksek bulunmuştur. En küçük IC₅₀ değeri, hayıt yapraklarından hazırlanan %70 etanolde tentürde (131.92 μ g/ml) gözlemlenmiştir. Buna bağlı olarak, en yüksek antioksidan aktivite, aynı zamanda en yüksek toplam fenolik madde içeren HY70 kodlu örnekte saptanmıştır. Yaprak ve meyve aktiviteleri kıyaslandığında, literatürdeki bazı bulgular ile uyumlu bulunurken, bazıları ile farklılıklar gözlemlenmektedir.

Örneğin, Gökbulut ve diğerleri (2010) tarafından Antalya'dan toplanan hayıt meyve ve yapraklarının metanollü ekstraları ile yapılan çalışmada, DPPH yöntemine göre yapılan antioksidan aktivite tayinine göre meyve ekstralarının daha yüksek aktivite gösterdiği gözlemlenmiştir. Fakat aynı çalışmada, tez kapsamında yapılan fenolik madde miktarı analizinde olduğu gibi, yaprak ekstraları (123.9 \pm 2.8 mg GAE/g ekstre), meyve ekstralarından (114.5 \pm 2.7 mg GAE/g ekstre) daha yüksek toplam fenolik bileşen miktarı göstermektedir. Çalışmada analiz edilen toplam fenolik

madde miktarı, elde ettiğimiz değerlerle benzerlik göstermektedir. Fakat, aynı çalışmada sunulan HPLC çalışmalarında rutin fenolik bileşiğine rastlanmamıştır.

Çanakkale Gelibolu mevkiinden toplanan hayıt ile yapılan bir çalışmada, çiçeklerin yapraktan daha yüksek toplam fenolik bileşik miktarı içerdiği, ve orantılı olarak daha düşük IC₅₀ değeri gösterdiği rapor edilmiştir. Çiçek ve yapraklar için toplam fenolik bileşik miktarı sırası ile 47.3 ± 1.3 ve 38.6 ± 0.6 mg GAE/g drog olarak bulunmuştur. IC₅₀ değerleri ise çiçek ve yapraklar için 0.57 ve 0.61 mg drog olarak bildirilmiştir (Kırca ve Arslan, 2008).

Asdadi ve çalışma arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, Fas'ta toplanan hayıt tohumlarından elde edilen uçucu yağ, DPPH yöntemi ile incelenmiştir. Sonuçlara göre, IC₅₀ değeri 1.072 mg/ml olarak bulunmuştur (Asdadi ve diğerleri, 2015).

Yapılan bir çalışmada, Muğla Fethiye mevkiinden toplanan hayıtın çiçekli dal uçlarının metanol ekstresi üzerinde izolasyon çalışmaları yapılmış, elde edilen glikozitler DPPH yöntemi ile antioksidan aktiviteleri bakımından incelenmiştir. İzole edilen flavonoit glikozitlerinin IC₅₀ değerlerinin, referans olarak alınan askorbik asit değerinden yüksek olduğu belirtilmiştir (Kuruüzüm-Uz, Güvenalp, Ströch, Demirezer ve Zeeck, 2008).

Farklı bir çalışmada ise, hayıt yapraklarının metanol, kloroform ve su ekstreleri incelendiğine, IC₅₀ değerleri sırası ile 126.79, 178.5 ve 223.6 µg/ml olarak bulunmuştur. Çalışmada pozitif kontrol olarak kersetin kullanılmıştır (IC₅₀=1.30 µg/ml). Sonuçlara göre, metanol ekstresi en yüksek antioksidan aktivite göstermektedir (Sahib, Al-Zubaidy, Hussain ve Jassim, 2014). Çalışmada hesaplanan IC₅₀ değerleri, bu çalışmanın bulguları ile benzerlik göstermektedir.

Antioksidan aktiviteden sorumlu bileşenin tayini, çeşitli ilaç formasyonlarında standardizasyon açısından oldukça önemlidir. Bu nedenle, HPLC ile yapılan izolasyon çalışmaları, ilaç hammaddesi araştırmalarında önemini korumaktadır.

Makhmoor ve Choudhary tarafından yapılan çalışmada (2010), hayıt metanol ekstresinden izole edilen benzoik asit ve flavonoit türevlerinin antioksidan aktiviteleri DPPH yöntemi ile propil gallata eşdeğer olarak bulunmuştur. İzole edilen flavonoitlerin orta derecede antioksidan aktivite gösterdiği gözlemlenmiştir.

Çalışmaya göre, benzoik asit türevleri yüksek antioksidan aktivite (%89.34 ve %94.73 inhibisyon) göstermektedir.

Drog, ekstraksiyon yöntemi ve solvan koşullarının yanı sıra, drogların kurutulma koşulları da ekstrelerin antioksidan aktivitesini etkilemektedir. Örneğin, hayıt yapraklarının çeşitli yöntemleri ile kurutularak hazırlanan ekstreleri ile yapılan bir çalışmada, liyofilize edilen hayıt yapraklarının (~%50 DPPH İnhibisyon) 30°C'de etüvde kurutulan yapraklara göre (~%35 DPPH İnhibisyon) daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği rapor edilmiştir (Vuong ve diğerleri, 2015).



Sonuç ve Öneriler

Tez çalışmasının birinci basamağında, Avrupa İlaç Ajansının tıbbi bitki Monograflarında yer alan hazırlanış yöntemleri esas alınarak, ülkemizde yaygın olarak yetişen, flavonoidler, fenolik asit ve türevleri bakımından zengin olduğu bilinen *Vitex agnus-castus* (Hayıt) bitkisinin yaprak ve meyvelerinden ekstraların toplam fenolik bileşik ve flavonoid miktarları belirlenmiş ve rutin ve klorojenik asit bileşenlerinin diode-array deteksiyon sistemi olan yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC-DAD) ile kantitatif olarak tayini kapsamlı olarak, ayrıca hayıt meyve ekstresi içeren ticari preparatla karşılaştırmalı olarak sunulmuştur.

%70 sulu etanol ile hayıt yapraklarından hazırlanan tentür toplam fenolik bileşik içerik açısından en zengin, %60 sulu etanol ile hayıt yapraklarından çalkalama maserasyonu ile hazırlanan ekstre ise flavonoid miktarı açısından en zengin bulunmuştur. Tüm sonuçlar değerlendirildiğinde yapraklarda, meyvelerden daha yüksek sonuçlar elde edilmiştir. HPLC sonuçları değerlendirildiğinde ise, elde ettiğimiz yaprak ve meyve ekstralarında, Agnucaston preparatından daha yüksek klorojenik asit miktarı gözlemlenmiştir. Ekstrelerde rutin tayin edilmesine rağmen, Agnucaston'da rutin saptanamamıştır.

Araştırmamızın ikinci basamağında ise, *V. agnus-castus* yaprak ve meyve ekstralarının antioksidan aktivite tayini yapılmıştır. DPPH radikali yakalama metodu ile yapılan antioksidan aktivite tayininde, en yüksek aktivite, toplam fenolik bileşik miktar tayini çalışmasında da gözlemlendiği gibi hayıt yaprakları ile hazırlanan tentürde tespit edilmiştir.

Yapılan çalışmada, farklı yöntem ve çözücü konsantrasyonlarıyla hazırlanan hayıt meyve ve yaprak ekstralarının farklı oranlarda flavonoid ve fenolik bileşen miktarları içerdiği, ve buna bağlı olarak farklı antioksidan aktivite gösterdikleri belirlenmiştir. Farklı yöntemlerle hazırlanan ekstralarda yapılan miktar tayini ve aktivite çalışmaları, standardize ürün hazırlanmasında verimlilik açısından oldukça önem teşkil etmektedir. Bu çalışmanın ışığında elde edilen sonuçlar, bitkinin tıbbi olarak değerlendirilmesine olanak sağlayarak ülkemiz ekonomisine de katkı sağlayacaktır.

Avrupa Farmakopesi ve 2017 yılında basılmış olan Türk Farmakopesinde sadece hayıt meyvesinin monografına yer verilmiştir. Elde edilen meyve ve yaprak

ekstrelerinin karşılaştırmalı miktar tayini ve aktivite çalışmaları, genişletilmesi planlanan Türk Farmakopesi için önemli referans kaynak teşkil etmektedir. Yapılan karşılaştırmalı antioksidan aktivite çalışmaları, Sağlık Bakanlığı GBTÜ onaylı hayıt preparatlarının geliştirilmesine katkı sağlayacaktır. Sonuçlar, hayıt yaprak ve meyvelerinden hazırlanan ekstrelerin fenolik asit ve flavonoidlerce zengin olduğunu, ticari olarak antioksidan hammadde olarak değerlendirebileceğini göstermektedir. İlerleyen aşamalarda, Türkiye genelinde farklı bölgelerden ve farklı vejetasyon dönemlerinde toplanacak hayıt meyve ve yaprakları ile bu çalışmanın genişletilmesi planlanmaktadır.



Kaynaklar

- Albayrak, S., Sağdıç, O., ve Aksoy, A. (2010). Bitkisel ürünlerin ve gıdaların antioksidan kapasitelerinin belirlenmesinde kullanılan yöntemler. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Fen Bilimleri Dergisi*, 26(4), 401-409.
- Andarwulan, N., Fardiaz, D., Wattimena, G., ve Shetty, K. (1999). Antioxidant activity associated with lipid and phenolic mobilization during seed germination of *Pangium edule* Reinw. *Journal of agricultural and food chemistry*, 47(8), 3158-3163.
- Arokiyaraj, S., Perinbam, K., Agastian, P., ve Kumar, R. M. (2009). Phytochemical analysis and antibacterial activity of *Vitex agnus-castus*. *International Journal of Green Pharmacy (IJGP)*, 3(2).
- Asdadi, A., Hamdouch, A., Oukacha, A., Moutaj, R., Gharby, S., Harhar, H., . . . Hassani, L. I. (2015). Study on chemical analysis, antioxidant and in vitro antifungal activities of essential oil from wild *Vitex agnus-castus* L. seeds growing in area of Argan Tree of Morocco against clinical strains of *Candida* responsible for nosocomial infections. *Journal de mycologie medicale*, 25(4), e118-e127.
- Azarnia, M., Ejtemaee-Mehr, S., ve Ansari, A. S. A. (2007). Effects of vitex agnus castus on mice fetus development. *Acta Medica Iranica*, 263-270.
- Baytop, T. (1984). Treatment with plants in Turkey. *Istanbul Univ. Publ*, 3255.
- Berger, D., Schaffner, W., Schrader, E., Meier, B., ve Brattström, A. (2000). Efficacy of *Vitex agnus castus* L. extract Ze 440 in patients with pre-menstrual syndrome (PMS). *Archives of gynecology and obstetrics*, 264(3), 150-153.
- Blamey, M., ve Grey-Wilson, C. (2004). *Wild flowers of the Mediterranean: A & C Black*.
- Blumenthal, M., Goldberg, A., ve Brinckmann, J. (2000). *Herbal Medicine. Expanded Commission E monographs: Integrative Medicine Communications*.

- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.-E., ve Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25-30.
- Bravo, L. (1998). Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition reviews*, 56(11), 317-333.
- Brickell, C. (1989). *Royal Horticultural Society gardeners' encyclopedia of plants and flowers*: Dorling Kindersley.
- Chen, J. H., ve Ho, C.-T. (1997). Antioxidant activities of caffeic acid and its related hydroxycinnamic acid compounds. *Journal of agricultural and food chemistry*, 45(7), 2374-2378.
- Davis, P. H. (1965). Flora of Turkey. *Flora of Turkey*.
- Dinç, T., ve Coşkun, F. (2014). Comparison of fructus agni casti and flurbiprofen in the treatment of cyclic mastalgia in premenopausal women. *Turkish Journal of Surgery/Ulusal cerrahi dergisi*, 30(1), 34.
- Doğan, Y., ve Mert, H. H. (1998). An autecological study on the *Vitex agnus-castus* L.(Verbenaceae) distributed in West Anatolia. *Turkish Journal of Botany*, 22(5), 327-334.
- Dülger, B., Uğurlu, E., ve Gücin, F. (2002). *Vitex agnus-castus* L. *Hayıt*)'un *Antimikrobiyal Aktivitesi*, *Çev-Kor*, 11(45), 1-5.
- Dutta, A. C., ve Dutta, T. (1964). *Botany for degree students*: Oxford University Press London.
- Esmaceli, M. A., ve Sonboli, A. (2010). Antioxidant, free radical scavenging activities of *Salvia brachyantha* and its protective effect against oxidative cardiac cell injury. *Food and Chemical Toxicology*, 48(3), 846-853.
- Fakir, H., Erbaş, S., Özen, M., ve Dönmez, İ. (2014). *Hayıt* (*Vitex agnus-castus* L.)'da farklı toplama zamanlarının uçucu yağ oranı ve bileşenleri üzerine etkisi. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 1(2), 25-28.

- Frisch, H. (1968). Pathological premenstrual period, its importance for prevention and therapy. *Hippokrates*, 39(15), 585.
- Ghannadi, A., Bagherinejad, M., Abedi, D., Jalali, M., Absalan, B., ve Sadeghi, N. (2012). Antibacterial activity and composition of essential oils from *Pelargonium graveolens* L'Her and *Vitex agnus-castus* L. *Iranian journal of microbiology*, 4(4), 171.
- Girman, A., Lee, R., ve Kligler, B. (2003). An integrative medicine approach to premenstrual syndrome. *American journal of obstetrics and gynecology*, 188(5), S56-S65.
- Gökbulut, A., Özhan, O., Karacaoğlu, M., ve Şarer, E. (2010). Radical scavenging activity and vitexin content of *Vitex agnus-castus* leaves and fruits. *FABAD J. Pharm. Sci*, 35, 85-91.
- Gross, M. D., ve Snowdon, D. A. (1996). Plasma antioxidant concentrations in a population of elderly women: findings from the nun study. *Nutrition research*, 16(11-12), 1881-1890.
- Güner, A., Özhatay, N., Ekim, T., ve Başer, K. (2000). Flora of Turkey and the east Aegean Islands. *Supplement*, 2, 28.
- Hajdú, Z., Hohmann, J., Forgo, P., Martinek, T., Dervarics, M., Zupkó, I., . . . Máthé, I. (2007). Diterpenoids and flavonoids from the fruits of *Vitex agnus-castus* and antioxidant activity of the fruit extracts and their constituents. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 21(4), 391-394.
- Hobbs, C. (1991). The chaste tree: *Vitex agnus castus*. *Pharmacy in history*, 33(1), 19.
- Katirae, F., Mahmoudi, R., Tahapour, K., Hamidian, G., ve Emami, S. J. (2015). Biological properties of *Vitex agnus-castus* essential oil (Phytochemical component, antioxidant and antifungal activity). *Biotechnology and Health Sciences*.

- Kayacık, H. (1966). Orman ve Park Ağaçlarının Özel Sistematiği. 3. Cilt. Angiosperma Kapalı Tohumlular.
- Kırca, A., ve Arslan, E. (2008). Antioxidant capacity and total phenolic content of selected plants from Turkey. *International journal of food science & technology*, 43(11), 2038-2046.
- Kuruüzüm-Uz, A., Güvenalp, Z., Ströch, K., Demirezer, L. Ö., ve Zeeck, A. (2008). Antioxidant potency of flavonoids from *Vitex agnus-castus* L. growing in Turkey. *Fabad J Pharm Sci*, 33, 11-16.
- Lee, H. S. (2000). HPLC analysis of phenolic compounds (pp. 775-824). New York: Marcel Dekker Inc.
- Loch, E.-G., Selle, H., ve Boblitz, N. (2000). Treatment of premenstrual syndrome with a phytopharmaceutical formulation containing *Vitex agnus castus*. *Journal of women's health & gender-based medicine*, 9(3), 315-320.
- Makhmoor, T., ve Choudhary, M. I. (2010). Radical scavenging potential of compounds isolated from *Vitex agnus-castus*. *Turkish Journal of Chemistry*, 34(1), 119-126.
- Maleš, Ž., Medić-Šarić, M., ve Antolić, A. (1997). *Application of Numerical Methods to TLC Analysis of the Essential Fruit Oil of Vitex agnus-castus L.* Paper presented at the 45th Annual Congress of the Society for Medicinal Plant Research.
- Maltaş, E., Uysal, A., Yildiz, S., ve Durak, Y. (2010). Evaluation of antioxidant and antimicrobial activity of *Vitex agnus-castus* L. *Fresen Environ Bull*, 19, 3094-3099.
- Mari, A., Montoro, P., D'Urso, G., Macchia, M., Pizza, C., ve Piacente, S. (2015). Metabolic profiling of *Vitex agnus castus* leaves, fruits and sprouts: analysis by LC/ESI/(QqQ) MS and (HR) LC/ESI/(Orbitrap)/MSn. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 102, 215-221.

- Mergner, R. (1992). Zyklusstörungen: Therapie mit einem Vitex-agnus-castushaltigen Kombinationsarzneimittel. *Der Kassenarzt*, 7, 51-60.
- Meyer, E. (1993). Monkspepper: Mönchspfeffer: Im Mittelalter Beliebt, Jetzt Erforscht. *Pharmazie*, 26(138), 24-26.
- Niggeweg, R., Michael, A. J., ve Martin, C. (2004). Engineering plants with increased levels of the antioxidant chlorogenic acid. *Nature biotechnology*, 22(6), 746.
- Öğüt, S. (2014). Doğal Antioksidanların Önemi. *Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 11(1), 25-30.
- Ono, M., Eguchi, K., Konoshita, M., Furusawa, C., Sakamoto, J., Yasuda, S., . . . Yoshimitsu, H. (2011). A new diterpenoid glucoside and two new diterpenoids from the fruit of *Vitex agnus-castus*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 59(3), 392-396.
- Rani, A., ve Sharma, A. (2013). The genus *Vitex*: A review. *Pharmacognosy reviews*, 7(14), 188.
- Roeder, D. (1994). Therapy of cyclic disorders with *Vitex agnus-castus*. *Zeitschrift für Phytotherapie*, 15, 155-159.
- Sağlam, H., Pabuçcuoğlu, A., ve Kivçak, B. (2007). Antioxidant activity of *Vitex agnus-castus* L. extracts. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 21(11), 1059-1060.
- Sahib, H. B., Al-Zubaidy, A. A., Hussain, S. M., ve Jassim, G. A. (2014). The antiangiogenic activity of *Vitex agnus-castus* leaves extracts. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6(1), 863-869.
- Şarer, E., ve Gökbulut, A. (2008). Determination of caffeic and chlorogenic acids in the leaves and fruits of *Vitex agnus-castus*. *Turk J. Pharm. Sci*, 5(3), 167-174.
- Sarıkürkçü, C., Arısoy, K., Tepe, B., Çakır, A., Abalı, G., ve Mete, E. (2009). Studies on the antioxidant activity of essential oil and different solvent

- extracts of *Vitex agnus-castus* L. fruits from Turkey. *Food and Chemical Toxicology*, 47(10), 2479-2483.
- Schellenberg, R. (2001). Treatment for the premenstrual syndrome with agnus castus fruit extract: prospective, randomised, placebo controlled study. *Bmj*, 322(7279), 134-137.
- Singleton, V. L., ve Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.
- Tomczyk, M., ve Gudej, J. (2003). Quantitative analysis of flavonoids in the flowers and leaves of *Ficaria verna* Huds. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 58(9-10), 763-765.
- Tsaliki, E., Lagouri, V., ve Doxastakis, G. (1999). Evaluation of the antioxidant activity of lupin seed flour and derivatives (*Lupinus albus* ssp. *Graecus*). *Food chemistry*, 65(1), 71-75.
- Vuong, Q. V., Zammit, N., Munro, B. R., Murchie, S., Bowyer, M. C., ve Scarlett, C. J. (2015). Effect of Drying Conditions on Physicochemical and Antioxidant Properties of *Vitex agnus-castus* Leaves. *Journal of food processing and preservation*, 39(6), 2562-2571.
- Wollenweber, E., ve Mann, K. (1983). Flavonole aus Früchten von *Vitex agnus castus*. *Planta medica*, 48(06), 126-127.
- Wuttke, W., Splitt, G., Gorkow, C., ve Sieder, C. (1997). Behandlung zyklusabhängiger Brustschmerzen mit einem Agnus castus-haltigen Arzneimittel. *Geburtshilfe und Frauenheilkunde*, 57(10), 569-574.
- Yalçinkaya, U., Aykut, S., Akgöz, S., Özkan, Y., Ve Yanık, K. (2008). The effects of phytoestrogens on fracture healing: experimental research in New Zealand white rabbits. *Turkish Journal of Trauma & Emergency Surgery*, 14(1), 21-27.

Zhishen, J., Mengcheng, T., ve Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food chemistry*, 64(4), 555-559.



Teşekkür

Yüksek lisans çalışmalarımda desteğini her zaman gördüğüm sevgili tez danışmanım Doç. Dr. Tuğçe Fafal'a,

Yüksek lisans programı ve hayatımın geri kalan her sürecinde hiçbir yardımı esirgemeyen sevgili teyzem Prof. Dr. Hüsniye Kayalar'a,

Teorik ve pratik derslerde verdikleri değerli bilgiler için Farmakognozi Ana Bilim Dalı'nın saygıdeğer öğretim üyelerine,

Tüm meraklarımı okumaya teşvik ederek gideren annem Mediha Kımna'ya çok teşekkür ederim. Tezimi, tez çalışmalarım sürecinde kaybettiğimiz canım babam Ertan Kımna'ya adıyorum.

İzmir, 23.08.2019

Ceren KIMNA

Özgeçmiş

2015 yılında Ege Üniversitesi Kimya Mühendisliği Bölümü'nden mezun oldum ve aynı sene İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü Kimya Mühendisliği ve Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognози Anabilim Dalı'nda yüksek lisans öğrenimime başladım. 2018 yılında Kimya Mühendisliği yüksek lisansımı, biyopolimer nanokompozit temelli ilaç taşınım sistemleri üzerine yaptığım tez çalışmamla tamamladım. Şu an, Münih Teknik Üniversitesi Biyomekanik Anabilim Dalı'nda doktora çalışmalarına devam etmekteyim.

Elektronik posta adresi: cerenkimna@gmail.com