



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

**DOKTORA
TEZİ**

**HALK ARASINDA JİNEKOLOJİK RAHATSIZLIKLARDA
KULLANILAN BİTKİLERİN ETKİNLİKLERİ
ÜZERİNDE FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR**

MERT İLHAN

FARMAKOGNOZİ ANABİLİM DALI

OCAK 2019



**HALK ARASINDA JİNEKOLOJİK RAHATSIZLIKLARDA KULLANILAN
BİTKİLERİN ETKİNLİKLERİ ÜZERİNDE FARMAKOGNOZİK
ARAŞTIRMALAR**

Mert İLHAN

**DOKTORA TEZİ
FARMAKOGNOZİ ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

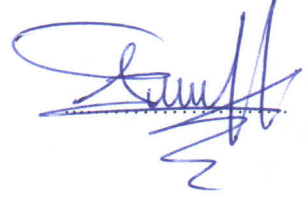
OCAK 2019

Mert İLHAN tarafından hazırlanan “Halk Arasında Jinekolojik Rahatsızlıklarda Kullanılan Bitkilerin Etkinlikleri Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ / ~~OY ÇOKLUĞU~~ ile Gazi Üniversitesi Farmakognozi Anabilim Dalı’nda DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Esra AKKOL

Farmakognozi Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~



Başkan: Prof. Dr. Erdem YEŞİLADA

Farmakognozi Anabilim Dalı, Yeditepe Üniversitesi

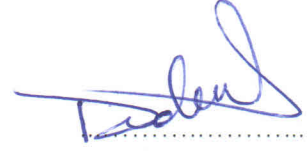
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~



Üye: Prof. Dr. Didem DELİORMAN ORHAN

Farmakognozi Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

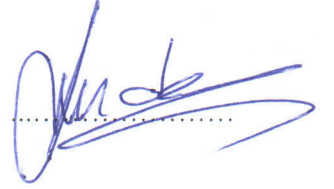
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~



Üye: Prof. Dr. Funda Nuray YALÇIN

Farmakognozi Anabilim Dalı, Hacettepe Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~



Üye: Doç. Dr. Ufuk KOCA ÇALIŞKAN

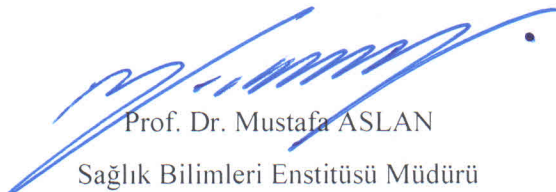
Farmakognozi Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~



Tez Savunma Tarihi: 07/01/2019

Jüri üyeleri tarafından DOKTORA tezi olarak uygun görülmüş olan bu tez Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararı ile onaylanmıştır.



Prof. Dr. Mustafa ASLAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

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

- 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,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.



Mert İLHAN

(07.01.2019)

HALK ARASINDA JİNEKOLOJİK RAHATSIZLIKLARDA KULLANILAN BİTKİLERİN ETKİNLİKLERİ ÜZERİNDE FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR

(Doktora Tezi)

Mert İLHAN

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Ocak 2019

ÖZET

Türkiye’de yapılan etnobotanik çalışmalarda, halk arasında çeşitli bitkilerin jinekolojik rahatsızlıklarda yaygın olarak kullanıldığı kayıtlıdır. Bu çalışmada, jinekolojik rahatsızlıklarda kullanıldığı tespit edilen *Anthemis austriaca* Jacq., *Cichorium intybus* L., *Melilotus officinalis* (L.) Pall., *Mentha longifolia* (L.) Huds. ve *Urtica dioica* L. bitkilerinin endometriyoz ve polikistik over sendromu (PKOS) üzerindeki etkinliklerinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu bağlamda, *A. austriaca* çiçekleri ile *C. intybus*, *M. officinalis*, *M. longifolia* ve *U. dioica* toprak üstü kısımlarından sırasıyla n-hekzan, etil asetat (EtOAc) ve metanol (MeOH) ekstraktları hazırlanmıştır. Hazırlanan ekstraktların etkinlikleri sıçanlarda deneysel olarak oluşturulan endometriyoz ve letrozol-nedenli PKOS modelleri uygulanarak değerlendirilmiştir. Oluşturulan bu sıçan modellerinde, *A. austriaca* bitkisinden hazırlanan ekstraktların en yüksek etkiyi göstermesi nedeniyle bu bitki üzerinden “Biyolojik Aktivite ile Yönlendirilen Fraksiyonlama ve İzolasyon (BAYF)” teknikleri kullanılarak çalışmaların yürütülmesine karar verilmiştir. Endometriyoz sıçan modelinde, aktivitesi en yüksek çıkan *A. austriaca* MeOH ekstresi RP-18 silika jel kolon kullanılmak suretiyle vakum sıvı kromatografisine tatbik edilmiş ve fraksiyonlama işlemi yapılarak 4 ana fraksiyon [Fr. (1-6); Fr. (7-13); Fr. (14-20); Fr. (21-29)] elde edilmiştir. Elde edilen fraksiyonlardan Fr. (1-6) ve (14-20)’nin endometriyoz sıçan modelinde önemli derecede aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Yapılan izolasyon çalışmalarında Fr. (1-6)’dan 4-(β -D-glukopiranoziloksi)-6-metil-2H-piran-2-on, en yüksek aktivite gösteren Fr. (14-20)’den ise kersetin, apigenin-7-O-(3"-asetil)- β -D-glukopiranozit, apigenin-7-O-(6"-asetil)- β -D-glukopiranozit, apigenin-7-O- β -D-glukopiranozit ve kersetin-7-O- β -D-glukopiranozit izole edilmiştir. Letrozol-nedenli PKOS sıçan modelinde, en yüksek aktiviteyi *A. austriaca* n-hekzan ekstresinin göstermesi nedeniyle bu ekstre üzerinde yapılan fitokimyasal çalışmalarda β -amirin palmitat, taraksasterol ve taraksasterol asetat olmak üzere 3 adet triterpen yapısında madde izole edilmiştir. Sonuçlar *A. austriaca* bitkisinin endometriyozu karşı gösterdiği aktivitenin, içerdiği flavonoidlerden; PKOS’a karşı gösterdiği aktivitenin ise triterpenlerden kaynaklandığını göstermiştir.

Bilim Kodu : 1017

Anahtar Kelimeler : Farmakognozi, Etnofarmakoloji, Asteraceae, *Anthemis austriaca*, Endometriyoz, PKOS, Flavonoid, Triterpen

Sayfa Adedi : 235

Danışman : Prof. Dr. Esra AKKOL

PHARMACOGNOSTICAL STUDIES ON THE EFFECTS OF PLANTS USED FOR THE
TREATMENT OF GYNECOLOGICAL DISORDERS IN FOLK MEDICINE

(Ph. D. Thesis)

Mert İLHAN

GAZI UNIVERSITY
INSTITUTE OF HEALTH SCIENCES

January 2019

ABSTRACT

There are numerous plants which are used for the treatment of gynecological disorders in ethnobotanical studies conducted in Turkey. The present study aimed to investigate the effect of *Anthemis austriaca* Jacq., *Cichorium intybus* L., *Melilotus officinalis* (L.) Pall., *Mentha longifolia* (L.) Huds. and *Urtica dioica* L. on endometriosis and polycystic ovary syndrome (PCOS). For this purpose, n-hexane, ethyl acetate (EtOAc) and methanol (MeOH) extracts were prepared from the flowers of *A. austriaca* and the aerial parts of *C. intybus*, *M. officinalis*, *M. longifolia* and *U. dioica*, successively. The effects of the prepared extracts were evaluated by surgically-induced endometriosis and letrozole-induced PCOS rat models. Since the extracts prepared from *A. austriaca* showed the highest activities in endometriosis and PCOS rat models, it was decided to conduct bioactivity guided fractionation technique on that plant. The MeOH extract, which had the highest activity in endometriosis rat model, was applied to the vacuum liquid chromatography using RP-18 for the fractionation. The obtained fractions were combined according to their thin layer chromatography profiles in order to gain 4 main fractions [Fr. (1-6); Fr. (7-13); Fr. (14-20); Fr. (21-29)]. When the activities of these fractions were evaluated in endometriosis rat model, Frs. (1-6) and (14-20) were found to have statistically significant activity. Further, 4-(β -D-glucopyranosyloxy)-6-methyl-2H-pyran-2-one was isolated from Fr. (1-6), quercetin, apigenin-7-O-(3"-acetyl)- β -D-glucopyranoside, apigenin-7-O-(6"-acetyl)- β -D-glucopyranoside, apigenin-7-O- β -D-glucopyranoside and quercetin-7-O- β -D-glucopyranoside were isolated from Fr. (14-20) which had the highest activity among the fractions. The n-hexane extract of *A. austriaca* was found to have the highest activity in letrozole-induced PCOS rat model. Further phytochemical studies on the n-hexane extract, β -amyrin palmitate, taraxasterol acetate and taraxasterol, which are triterpene derivatives, were isolated from n-hexane extract of *A. austriaca*. Consequently, the efficacy of *A. austriaca* against endometriosis could be due to its flavonoids, whereas its effect against PCOS could be due to its triterpene derivatives.

Science Code : 1017

Key Words : Pharmacognosy, Ethnopharmacology, Asteraceae, *Anthemis austriaca*,
Endometriosis, PCOS, Flavonoid, Triterpene

Page Number : 235

Advisor : Prof. Dr. Esra AKKOL

TEŞEKKÜR

“Hayaller, size inanan ve bazen bilgi denilen keskin bir sopayla sizi bir sonraki basamağa yükselten bir öğretmenle başlar”

Bu tez çalışmasında, bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, sabrını ve yol göstericiliğini benden esirgemeyen danışman hocam sayın Prof. Dr. Esra AKKOL’a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Fitokimyasal çalışmalarım sırasında, beni laboratuvarına kabul ederek bilgisini, laboratuvar imkânlarını ve University of Mississippi-National Center for Natural Products Research (NCNPR) olanaklarını esirgemeyen NCNPR direktörü Prof. Dr. İkhlas A. Khan’a, çalışmalarım sırasında karşılaştığım her sorunda deneyimlerini ve bilgilerini paylaşan Dr. Zulfıkar Ali’ye, laboratuvar arkadaşlarım Dr. Ahmad Awad ve Dr. Muhammed Zaki’ye teşekkür ederim. Biyolojik aktivite çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen Kobay A.Ş. çalışanları Vet. Hek. Salih SALAR’a ve Adil KIŞ’a teşekkür ederim. Tez kapsamında histopatolojik değerlendirmelerin yapılmasında yardımlarını esirgemeyen hocam sayın Prof. Dr. Hakkı TAŞTAN’a teşekkür ederim. Tez çalışmalarım süresince Anabilim Dalı’nın tüm imkanlarını kullanmamı sağlayan Farmakognozi Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Didem DELİORMAN ORHAN’a ve Anabilim dalındaki öğretim üye ve yardımcılarına teşekkür ederim. Tez süresince elinden geldiğince yardımlarını esirgemeyen sevgili arkadaşım Dr. Ecz. Hasya Nazlı EKİN’e teşekkür ederim.

Çocukluğumdan bugüne kadar her türlü konuda desteğini daima yanımda hissettiğim sevgili annem Nazan İLHAN’a ve lisans döneminde tanıdığım o günden sonra da hayatımdaki her anı paylaştığım hayat arkadaşım, sevgili eşim Ecz. Miray İLHAN’a sonsuz teşekkür ederim. Tez çalışmasını 2214-A Yurt Dışı Doktora Sırası Araştırma Burs Programı (2015/2) ile destekleyen Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu’na (TÜBİTAK) ve 02/2017-21 proje kodu ile destekleyen Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimine teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ	x
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	xiv
RESİMLERİN LİSTESİ	xvii
SİMGELER VE KISALTMALAR	xviii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Endometriyoz Nedir?	3
2.1.1. Endometriyozun epidemiyolojisi	3
2.1.2. Endometriyozun oluşumu	4
2.1.3. Endometriyozun teşhisi	5
2.1.4. Endometriyoz tedavi yöntemleri	6
2.1.5. Endometriyozla karşı etkinliğin belirlenmesinde kullanılan araştırma yöntemleri	7
2.1.6. Endometriyoz tedavisinde kullanılan doğal kaynaklar	10
2.2. Polikistik Over Sendromu (PKOS) Nedir?	12
2.2.1. PKOS epidemiyolojisi	12
2.2.2. PKOS patojenezi	13
2.2.3. PKOS etiyolojisi	15
2.2.4. PKOS teşhisi	16

	Sayfa
2.2.5. PKOS semptomları	16
2.2.6. PKOS tedavi yöntemleri	17
2.2.7. PKOS'a karşı etkinliğin belirlenmesinde kullanılan araştırma yöntemleri	18
2.2.8. PKOS tedavisinde kullanılan doğal kaynaklar	19
2.3. Çalışma Materyallerinin Geleneksel Kullanımı.....	20
2.4. Botanik Bilgiler	22
2.4.1. Asteraceae (Compositae) familyası	22
2.4.2. <i>Anthemis</i> cinsi	25
2.4.3. <i>Anthemis austriaca</i> Jacq. (<i>Cota austriaca</i> (Jacq.) Sch.Bip.)	27
2.5. <i>Anthemis</i> Türlerinin Kullanılış Amaçları ve Biyolojik Etkileri	32
2.5.1. <i>Anthemis</i> türlerinin halk arasında ve geleneksel tedavi sistemlerinde kullanılışı	32
2.6. <i>Anthemis</i> Türleri Üzerinde Yapılan Çalışmalar	34
2.6.1. <i>Anthemis</i> türleri üzerinde yapılmış fitokimyasal çalışmalar	34
2.6.2. <i>Anthemis</i> türlerinin uçucu yağları üzerinde yapılmış çalışmalar	53
2.6.3. <i>Anthemis</i> türleri üzerinde yapılan biyolojik aktivite çalışmaları	54
3. GEREÇ VE YÖNTEM	59
3.1. Gereç	59
3.1.1. Bitki materyali	59
3.1.2. Kullanılan Cihazlar	60
3.1.3. Kullanılan kimyasal maddeler ve sarf malzemeler	60
3.2. Yöntem	61
3.2.1. Kimyasal çalışmalar	61
3.2.2. Yapı tayini çalışmaları	72

	Sayfa
3.2.3. Biyolojik aktivite çalışmaları.....	73
3.2.4. İstatistiksel analiz.....	83
4. BULGULAR	85
4.1. Kimyasal Deney Bulguları.....	85
4.1.1. Yapı tayini.....	85
4.2. Biyolojik Aktivite Deney Bulguları	166
4.2.1. Endometriyoz sıçan modeli deney sonuçları	166
4.2.2. PKOS sıçan modeli deney sonuçları.....	174
4.2.3. Histopatolojik inceleme sonuçları.....	184
5. TARTIŞMA	193
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	211
KAYNAKLAR	213
EKLER	231
EK-1. Deney hayvanları yerel etik kurul onayı	232
ÖZGEÇMİŞ	233

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. PKOS için teşhis kriterleri	16
Çizelge 2.2. Kaynak verilere göre <i>A. austriaca</i> 'nın Türkiye'deki yayılışı.....	28
Çizelge 2.3. <i>Anthemis</i> türlerinden izole edilen seskiterpen laktonlar	35
Çizelge 2.4. <i>Anthemis</i> türlerinden izole edilen seskiterpen laktonlar	35
Çizelge 2.5. <i>Anthemis</i> türlerinden izole edilen seskiterpen laktonlar	36
Çizelge 2.6. <i>Anthemis</i> türlerinden izole edilen seskiterpen laktonlar	37
Çizelge 2.7. <i>Anthemis</i> türlerinden izole edilen seskiterpen laktonlar	37
Çizelge 2.8. <i>Anthemis</i> türlerinden izole edilen seskiterpen laktonlar	38
Çizelge 2.9. <i>Anthemis</i> türlerinden izole edilen seskiterpen laktonlar	39
Çizelge 2.10. <i>Anthemis</i> türlerinden izole edilen seskiterpen laktonlar	39
Çizelge 2.11. <i>Anthemis</i> türlerinden izole edilen seskiterpen laktonlar	40
Çizelge 2.12. <i>Anthemis</i> türlerinden izole edilen seskiterpen laktonlar	41
Çizelge 2.13. <i>Anthemis</i> türlerinden izole edilen seskiterpen laktonlar	42
Çizelge 2.14. <i>Anthemis</i> türlerinden izole edilen seskiterpen laktonlar	43
Çizelge 2.15. <i>Anthemis</i> türlerinden izole edilen seskiterpen laktonlar	44
Çizelge 2.16. <i>A. austriaca</i> bitkisinden izole edilen seskiterpen lakton ve asitler.....	45
Çizelge 2.17. <i>Anthemis</i> türlerinden izole edilen linear seskiterpen laktonlar	46
Çizelge 2.18. <i>Anthemis</i> türlerinden izole edilen linear seskiterpen laktonlar	47
Çizelge 2.19. <i>Anthemis</i> türlerinden izole edilen linear seskiterpen laktonlar	47
Çizelge 2.20. <i>Anthemis</i> türlerinden izole edilen linear seskiterpen laktonlar	48
Çizelge 2.21. <i>Anthemis</i> türlerinden izole edilen kumarinler.....	48
Çizelge 2.22. <i>Anthemis</i> türlerinden izole edilen prenile asetofenonlar.....	49
Çizelge 2.23. <i>Anthemis</i> türlerinden izole edilen flavonoidler.....	49
Çizelge 2.24. <i>Anthemis</i> türlerinden izole edilen siklohekzanon ve siklohekzenonlar	51

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.25. <i>Anthemis</i> türlerinden izole edilen steroid ve triterpen türevleri	52
Çizelge 2.26. <i>A. austriaca</i> bitkisinden izole edilen alkol türevleri.....	52
Çizelge 2.27. <i>Anthemis</i> türlerinden elde edilen uçucu yağların kimyasal bileşimi	53
Çizelge 3.1. Çalışılan bitkiler ile ilgili bilgiler	59
Çizelge 3.2. Deneylerde kullanılan madde ve solvanlar.....	60
Çizelge 3.3. Elde edilen ekstraktların verimleri.....	62
Çizelge 3.4. RP-18 kolonda kullanılan solvan sistemi.....	65
Çizelge 3.5. LC-QTOF-MS hareketli faz bileşimi ve uygulanan gradient.....	73
Çizelge 4.1. AA-1 bileşiğinin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektroskopik değerleri (CD_3OD , ^1H : 400 MHz, ^{13}C : 100 MHz)	88
Çizelge 4.2. AA-2 bileşiğinin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektroskopik değerleri (CD_3OD , ^1H : 500 MHz, ^{13}C : 125 MHz)	95
Çizelge 4.3. AA-3 bileşiğinin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektroskopik değerleri (CD_3OD , ^1H : 400 MHz, ^{13}C : 100 MHz)	103
Çizelge 4.4. AA-4 bileşiğinin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektroskopik değerleri (CD_3OD , ^1H : 400 MHz, ^{13}C : 100 MHz)	111
Çizelge 4.5. AA-5 bileşiğinin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektroskopik değerleri (DMSO , ^1H : 400 MHz, ^{13}C : 100 MHz)	121
Çizelge 4.6. AA-6 bileşiğinin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektroskopik değerleri (CD_3OD , ^1H : 400 MHz, ^{13}C : 100 MHz).....	130
Çizelge 4.7. AA-7 bileşiğinin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektroskopik değerleri (CDCl_3 : CD_3OD (1:1), ^1H : 400 MHz, ^{13}C : 100 MHz)	138
Çizelge 4.8. AA-8 bileşiğinin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektroskopik değerleri (CDCl_3 , ^1H : 400 MHz, ^{13}C : 100 MHz)	146
Çizelge 4.9. AA-9 bileşiğinin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektroskopik değerleri (CDCl_3 , ^1H : 400 MHz, ^{13}C : 400 MHz)	153
Çizelge 4.10. AA-10 bileşiğinin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektroskopik değerleri (CDCl_3 , ^1H : 500 MHz, ^{13}C : 125 MHz).....	160

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.11. Türkiye’de halk arasında jinekolojik rahatsızlıklarda kullanılan bazı bitkilerin sıçanlarda oluşturulan endometriyotik implantlardaki adezyon skorları	166
Çizelge 4.12. <i>A. austriaca</i> bitkisinin çiçeklerinden hazırlanan MeOH ekstresinden elde edilen fraksiyonların sıçanlarda oluşturulan endometriyotik implantlardaki adezyon skorları.....	167
Çizelge 4.13. Türkiye’de halk arasında jinekolojik rahatsızlıklarda kullanılan bazı bitkilerin sıçanlarda oluşturulan endometriyoz modelinde peritoneal sıvılardaki sitokin seviyeleri	171
Çizelge 4.14. <i>A. austriaca</i> bitkisinin çiçeklerinden hazırlanan MeOH ekstresinden elde edilen fraksiyonların sıçanlarda oluşturulan endometriyoz modelinde peritoneal sıvılardaki sitokin seviyeleri	172
Çizelge 4.15. Türkiye’de halk arasında jinekolojik rahatsızlıklarda kullanılan bazı bitkilerin sıçanlarda oluşturulan PKOS modelinde serum gonadotropin ve steroid seviyeleri	175
Çizelge 4.16. <i>A. austriaca</i> bitkisinin çiçeklerinden hazırlanan <i>n</i> -hekzan ekstresinden elde edilen fraksiyonların sıçanlarda oluşturulan PKOS modelinde serum gonadotropin ve steroid seviyeleri	176
Çizelge 4.17. Türkiye’de halk arasında jinekolojik rahatsızlıklarda kullanılan bazı bitkilerin sıçanlarda oluşturulan PKOS modelinde serum TK, TG, HDL-C, LDL-C, leptin ve glukoz seviyeleri.....	178
Çizelge 4.18. <i>A. austriaca</i> bitkisinin çiçeklerinden hazırlanan <i>n</i> -hekzan ekstresinden elde edilen fraksiyonların sıçanlarda oluşturulan PKOS modelinde serum TK, TG, HDL-C, LDL-C, leptin ve glukoz seviyeleri.....	179
Çizelge 4.19. Türkiye’de halk arasında jinekolojik rahatsızlıklarda kullanılan bazı bitkilerin sıçanlarda oluşturulan PKOS modelinde serum MDA, SOD, CAT ve GPx seviyeleri	181
Çizelge 4.20. <i>A. austriaca</i> bitkisinin çiçeklerinden hazırlanan <i>n</i> -hekzan ekstresinden elde edilen fraksiyonların sıçanlarda oluşturulan PKOS modelinde serum MDA, SOD, CAT ve GPx seviyeleri.....	182
Çizelge 4.21. Endometriyoz sıçan modelinde <i>A. austriaca</i> bitkisinin çiçeklerinden hazırlanan ekstrelerin ve MeOH ekstresinden elde edilen fraksiyonların uygulandığı gruplara ait iyileşme süreci.....	187
Çizelge 4.22. PKOS sıçan modelinde <i>A. austriaca</i> bitkisinin çiçeklerinden hazırlanan ekstrelerin ve <i>n</i> -hekzan ekstresinden elde edilen fraksiyonların uygulandığı gruplara ait iyileşme süreci.....	191

Çizelge	Sayfa
Çizelge 5.1. Türkiye’de halk arasında jinekolojik rahatsızlıklarda kullanılan bazı bitkilerin sıçanlarda oluşturulan endometriyoz modelinde endometriyotik implant hacimlerindeki ve peritoneal sıvılardaki sitokin seviyelerindeki % azalma.....	196
Çizelge 5.2. <i>A. austriaca</i> bitkisinin çiçeklerinden hazırlanan MeOH ekstresinden elde edilen fraksiyonların sıçanlarda oluşturulan endometriyoz modelinde endometriyotik implant hacimlerindeki ve peritoneal sıvılardaki sitokin seviyelerindeki % azalma.....	197
Çizelge 5.3. Türkiye’de halk arasında jinekolojik rahatsızlıklarda kullanılan bazı bitkilerin sıçanlarda oluşturulan PKOS modelinde serum gonadotropin ve steroid seviyelerindeki % azalış ve % artış.....	202
Çizelge 5.4. <i>A. austriaca</i> bitkisinin çiçeklerinden hazırlanan <i>n</i> -hekzan ekstresinden elde edilen fraksiyonların sıçanlarda oluşturulan PKOS modelinde serum gonadotropin ve steroid seviyelerindeki % azalış ve % artış.....	203
Çizelge 5.5. Türkiye’de halk arasında jinekolojik rahatsızlıklarda kullanılan bazı bitkilerin sıçanlarda oluşturulan PKOS modelinde serum lipid, leptin ve glukoz seviyelerindeki % azalış ve % artış.....	205
Çizelge 5.6. <i>A. austriaca</i> bitkisinin çiçeklerinden hazırlanan <i>n</i> -hekzan ekstresinden elde edilen fraksiyonların sıçanlarda oluşturulan PKOS modelinde serum lipid, leptin ve glukoz seviyelerindeki % azalış ve % artış.....	206
Çizelge 5.7. Türkiye’de halk arasında jinekolojik rahatsızlıklarda kullanılan bazı bitkilerin sıçanlarda oluşturulan PKOS modelinde serum MDA, SOD, CAT ve GPx seviyelerindeki % değişim.....	208
Çizelge 5.8. <i>A. austriaca</i> bitkisinin çiçeklerinden hazırlanan <i>n</i> -hekzan ekstresinden elde edilen fraksiyonların sıçanlarda oluşturulan PKOS modelinde serum MDA, SOD, CAT ve GPx seviyelerindeki % değişim.....	209

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Sampson teorisine göre endometriyoz oluşum şeması	5
Şekil 2.2. Polikistik over sendromu	12
Şekil 2.3. PKOS patojenezi.....	14
Şekil 2.4. <i>A. austriaca</i> 'nın Türkiye'deki yayılışı.....	30
Şekil 3.1. <i>A. austriaca</i> MeOH ekstresinden ters faz silika jel vakum sıvı ve silika jel kolon kromatografisi ile elde edilen fraksiyonlar/bileşikler.....	68
Şekil 3.2. <i>A. austriaca</i> <i>n</i> -hekzan ekstresinden silika jel kolon kromatografisi ile elde edilen fraksiyonlar/bileşikler	71
Şekil 4.1. AA-1 bileşiğine ait ¹ H-NMR spektrumu	89
Şekil 4.2. AA-1 bileşiğine ait ¹³ C-NMR spektrumu	90
Şekil 4.3. AA-1 bileşiğine ait HSQC spektrumu	91
Şekil 4.4. AA-1 bileşiğine ait HMBC spektrumu	92
Şekil 4.5. AA-1 bileşiğinin HMBC korelasyonları.....	93
Şekil 4.6. AA-1 bileşiğinin ESI-MS spektrumu	93
Şekil 4.7. AA-2 bileşiğine ait ¹ H-NMR spektrumu	96
Şekil 4.8. AA-2 bileşiğine ait ¹³ C-NMR spektrumu	97
Şekil 4.9. AA-2 bileşiğine ait HSQC spektrumu	98
Şekil 4.10. AA-2 bileşiğine ait HMBC spektrumu	99
Şekil 4.11. AA-2 bileşiğinin HMBC korelasyonları.....	100
Şekil 4.12. AA-2 bileşiğine ait QTOF-MS/MS spektrumu	100
Şekil 4.13. AA-3 bileşiğinin ¹ H-NMR spektrumu.....	104
Şekil 4.14. AA-3 bileşiğinin HSQC spektrumu.....	105
Şekil 4.15. AA-3 bileşiğinin COSY spektrumu.....	106
Şekil 4.16. AA-3 bileşiğinin HMBC spektrumu.....	107

Şekil	Sayfa
Şekil 4.17. AA-3 bileşiğinin HMBC korelasyonları.....	108
Şekil 4.18. AA-3 bileşiğinin ESI-MS spektrumu	108
Şekil 4.19. AA-4 bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu.....	112
Şekil 4.20. AA-4 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu.....	113
Şekil 4.21. AA-4 bileşiğinin COSY spektrumu.....	114
Şekil 4.22. AA-4 bileşiğinin HSQC spektrumu.....	115
Şekil 4.23. AA-4 bileşiğinin HMBC spektrumu.....	116
Şekil 4.24. AA-4 bileşiğinin HMBC spektrumunda anomerik protonun 7 konumu ile korelasyonu	117
Şekil 4.25. AA-4 bileşiğinin HMBC korelasyonları.....	118
Şekil 4.26. AA-4 bileşiğinin ESI-MS spektrumu	118
Şekil 4.27. AA-5 bileşiğine ait ^1H -NMR spektrumu	122
Şekil 4.28. AA-5 bileşiğine ait ^{13}C -NMR spektrumu	123
Şekil 4.29. AA-5 bileşiğine ait DEPT-135 spektrumu	124
Şekil 4.30. AA-5 bileşiğine ait HSQC spektrumu	125
Şekil 4.31. AA-5 bileşiğine ait HMBC spektrumu	126
Şekil 4.32. AA-5 bileşiğinin HMBC korelasyonları.....	127
Şekil 4.33. AA-5 bileşiğinin ESI-MS spektrumu	127
Şekil 4.34. AA-6 bileşiğine ait ^1H -NMR spektrumu	131
Şekil 4.35. AA-6 bileşiğine ait COSY spektrumu	132
Şekil 4.36. AA-6 bileşiğine ait HSQC spektrumu	133
Şekil 4.37. AA-6 bileşiğine ait HMBC spektrumu	134
Şekil 4.38. AA-6 bileşiğinin HMBC korelasyonları.....	135
Şekil 4.39. AA-6 bileşiğine ait ESI-MS spektrumu.....	135
Şekil 4.40. AA-7 bileşiğine ait ^1H -NMR spektrumu	139

Şekil	Sayfa
Şekil 4.41. AA-7 bileşiğine ait ^1H -NMR spektrumunda CH_3 rezonansları	140
Şekil 4.42. AA-7 bileşiğine ait ^{13}C -NMR spektrumu	141
Şekil 4.43. AA-7 bileşiğine ait ^{13}C -NMR spektrumu	142
Şekil 4.44. AA-7 bileşiğine ait HSQC spektrumu	143
Şekil 4.45. AA-7 bileşiğine ait HMBC spektrumu	144
Şekil 4.46. AA-8 bileşiğine ait ^1H -NMR spektrumu	147
Şekil 4.47. AA-8 bileşiğine ait ^{13}C -NMR spektrumu	148
Şekil 4.48. AA-8 bileşiğine ait ^{13}C -NMR spektrumu	149
Şekil 4.49. AA-8 bileşiğine ait DEPT-135 spektrumu	150
Şekil 4.50. AA-9 bileşiğine ait ^1H -NMR spektrumu	154
Şekil 4.51. AA-9 bileşiğine ait ^1H -NMR spektrumunda CH_3 rezonansları	155
Şekil 4.52. AA-9 bileşiğine ait ^{13}C -NMR spektrumu	156
Şekil 4.53. AA-9 bileşiğine ait ^{13}C -NMR spektrumu	157
Şekil 4.54. AA-9 bileşiğine ait DEPT-135 spektrumu	158
Şekil 4.55. AA-10 bileşiğine ait ^1H -NMR spektrumu	161
Şekil 4.56. AA-10 bileşiğine ait ^1H -NMR spektrumunda CH_3 rezonansları	162
Şekil 4.57. AA-10 bileşiğine ait ^{13}C -NMR spektrumu	163
Şekil 4.58. AA-10 bileşiğine ait ^{13}C -NMR spektrumu	164
Şekil 4.59. AA-10 bileşiğine ait DEPT-135 spektrumu	165
Şekil 4.60. Türkiye’de halk arasında jinekolojik rahatsızlıklarda kullanılan bazı bitkilerin sıçanlarda oluşturulan endometriyotik implant hacimleri üzerine etkileri	168
Şekil 4.61. <i>A. austriaca</i> bitkisinin çiçeklerinden hazırlanan MeOH ekstresinden elde edilen fraksiyonların sıçanlarda oluşturulan endometriyotik implant hacimleri üzerine etkisi	169

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 2.1. <i>Anthemis austriaca</i> Jacq.	27
Resim 3.1. <i>A. austriaca</i> çiçeklerinden elde edilen ekstrelerin İTK profili	63
Resim 3.2. <i>A. austriaca</i> çiçeklerinden elde edilen ekstrelerin İTK profili	64
Resim 3.3. <i>A. austriaca</i> çiçeklerinden elde edilen ekstrelerin İTK profili	64
Resim 3.4. Vakum sıvı kromatografisi	66
Resim 3.5. Endometriyotik implant görüntüsü	74
Resim 3.6. Adezyon oluşmuş endometriyotik implant.....	75
Resim 4.1. <i>A. austriaca</i> çiçeklerinden hazırlanan MeOH ekstresi ve bundan vakum sıvı kromatografisi ile elde edilen Fr. (1-6) ve Fr. (14-20)'nin tedavi sonrası endometriyotik implant görüntüleri	173
Resim 4.2. PKOS sıçan modelinde kontrol grubuna ait uterus görüntüleri.....	183
Resim 4.3. PKOS sıçan modelinde sıçanlardan alınan vajinal smir örneklerinden kontrol grubu (A) ve <i>A. austriaca</i> <i>n</i> -hekzan ekstresi (B) ile tedavi edilen gruba ait mikroskopik vajinal smir görüntüleri	183
Resim 4.4. <i>A. austriaca</i> bitkisinin çiçeklerinden hazırlanan ekstrelerin uygulandığı gruplara ait histopatolojik inceleme sonuçları.....	185
Resim 4.5. <i>A. austriaca</i> bitkisinin çiçeklerinden hazırlanan MeOH ekstresinden elde edilen fraksiyonların uygulandığı gruplara ait histopatolojik inceleme sonuçları.....	186
Resim 4.6. <i>A. austriaca</i> bitkisinin çiçeklerinden hazırlanan ekstrelerin uygulandığı gruplara ait histopatolojik inceleme sonuçları.....	189
Resim 4.7. <i>A. austriaca</i> bitkisinin çiçeklerinden hazırlanan <i>n</i> -hekzan ekstresinden elde edilen fraksiyonların uygulandığı gruplara ait histopatolojik inceleme sonuçları.....	190

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler

Açıklama

ΔA	Absorbans değişimi
α	Alfa
β	Beta
dk	Dakika
Na_2EDTA	Disodyum etilen diamin tetra asetat
g	Gram
H_2O_2	Hidrojen peroksit
L	Litre
μL	Mikrolitre
μm	Mikrometre
mg	Miligram
mL	Mililitre
mm	Milimetre
mm^3	Milimetreküp
nm	Nanometre
$^{\circ}\text{C}$	Santigrat derece
δ	Sigma
U	Ünite

Kısaltmalar

Açıklama

AEF	Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu
ANK	Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Herbaryumu
BAYF	Biyoaktivite Yönlendirmeli Fraksiyonlama ve İzolasyon
$^{13}\text{C-NMR}$	Karbon (Carbon) NMR
CAPS	N-Sikloheksil-3-Aminopropansülfonik Asit
CAT	Katalaz (Catalase)
CMC	Karboksi Metil Selüloz (Carboxy methyl cellulose)

COSY	Korelasyon Spektroskopisi (Correlation Spectroscopy)
DEA-HCl/AAP	Dietilanolin-HCl/4-Aminoantipirin
DEPT-135	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
DPPH	1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil
DSBmT	N, N-Bis (4-sulfobütil)-m-Toluidin-Disodyum
ELISA	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
EtOAc	Etil Asetat
FSH	Folikül Stimüle Edici Hormon (Follicle Stimulating Hormone)
GAZI	Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Herbaryumu
GnSH	Gonadotropin Salgılayıcı Hormon
GPx	Glutasyon Peroksidaz (Glutathione Peroxidase)
GSH	İndirgenmiş Glutasyon
GSSG	Yükseltgenmiş Glutasyon
¹H-NMR	Proton NMR
HDL-C	Yüksek Dansiteli Lipoprotein Kolesterol (High Density Lipoprotein-Cholesterol)
HMBC	Heteronükleer Çoklu Bağ Korelasyonu (Heteronuclear Multiple Bond Correlation)
HRP	Yaban Turpu Peroksidazı (Horseradish Peroxidase)
HSQC	Heteronükleer Tekli Kuantum Uyumu (Heteronuclear Single Quantum Coherence)
HUB	Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Herbaryumu
IC	İnhibisyon Konsantrasyonu (Inhibition Concentration)
IL	İnterlökin (Interleukin)
İTK	İnce Tabaka Kromatografisi
LC-TOF-MS	Sıvı Kromatografisi-Uçuş Zamanlı Kütle Spektrometresi
LDL-C	Düşük Dansiteli Lipoprotein Kolesterol (Low Density Lipoprotein-Cholesterol)
LH	Lüteinleştirici Hormon (Luteinizing Hormone)
MDA	Malondialdehit (Malondialdehyde)
MeOH	Metanol
MRG	Manyetik Rezonans Görüntüleme
NADPH	Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat (Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate)

NMR	Nükleer Manyetik Rezonans (Nuclear Magnetic Resonance)
PKOS	Polikistik Over Sendromu (Polycystic Ovary Syndrome)
RP	Ters Faz (Reverse Phase)
SH	Standart Hata
SOD	Süperoksit Dismutaz (Superoxide Dismutase)
TBA	Tiyobarbütirik Asit
TG	Trigliserit (Triglyceride)
TK	Toplam kolesterol
TMB	Tetrametilbenzidin
TNF	Tümör Nekroz Faktör (Tumor Necrosis Factor)
VEGF	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (Vascular Endothelial Growth Factor)
YPSK	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi

1. GİRİŞ

Tıbbi bitkiler asırlardan beri halk tarafından ilaç, gıda ya da baharat olarak kullanılmaktadır. 1900'lü yılların başında hastalıkların tedavisinde kullanılan ilaçların %40'ı bitki odaklı olmasına rağmen, 1970'li yıllarda bu oran %5'ten daha düşük bir seviyeye gerilemiştir. 1990'lı yıllardan sonra tıbbi bitkilere olan ilginin artması sebebiyle bitkilerin kullanımı tekrar ciddi oranda artmıştır (Bayram, Kırıcı, Tansı, Yılmaz ve Kızıl, 2010). Biyolojik Çeşitlilik Topluluğu Sekreteryası tarafından yazılan raporda 2000 yılında tıbbi bitkilerin dünya pazarındaki yerinin 60 milyar dolar olduğu ifade edilmiştir (Zhang, 2004).

Sentetik yollardan elde edilen ilaçlarda hedeflenen etkinin beklenen düzeyde olmaması ve yan etkilerinin yüksek olması nedeniyle günümüzde daha etkin ve güvenilir, kolay tolere edilebilir ilaç moleküllerinin geliştirilmesi amacıyla çok sayıda çalışma yürütülmektedir. Bu bağlamda etnofarmakolojik bilgiler ve çeşitli tedavi sistemleri, laboratuvarından kliniğe giden yolda önemli bir basamak olarak yerini almaktadır. (Patwardhan, 2005). Bu amaçla yapılan çalışmalarda, halk arasında hastalıkların tedavisinde kullanılan bitkilerin etkinliklerinin bilimsel olarak kanıtlanması ve etkiden sorumlu bileşik/lerin tespiti önem arz etmektedir.

Endometriyoz, endometriyal dokunun (gland ve stroma) uterin kavite dışında yerleşip büyümesi ile karakterize olan ve menstrüal siklusu devam eden kadınların yaklaşık %10'unda görülebilen bir hastalıktır (Mihalopoulos, 2007). Endometriyoz semptomları arasında dismenore, disparoni, kronik pelvik ağrı ve infertilite yer alır (Özler, Yıldız ve Değirmencioğlu, 2010). Bu hastalığın tedavisinde kullanılan ilaçlar, hastalığı tamamen tedavi etmemekte, ancak semptomların ortadan kaldırılmasına yardımcı olmaktadır. Bu ilaçların bırakılması durumunda ise semptomlar yeniden ortaya çıkabilmektedir (Bedaiwy, Alfaraj, Yong ve Casper, 2017).

Polikistik over sendromu (PKOS), menstrüal siklusu devam eden kadınlarda yaygın olarak görülen, ovaryum fonksiyon bozukluğu, artmış androjen üretimi ve bozulmuş gonadotropin salınması ile karakterize bir hastalıktır. Menstrüal dengenin bozulması, kılınma ve sivilcelenme bu hastalıkta sıklıkla karşılaşılan problemlerdir. Çok yönlü bir hastalık olması nedeniyle, tedavide tek bir ilaç yerine kombine ilaç tedavisi tercih edilmektedir (Kahn, 2008). Ancak fazla ilaç kullanma gerekliliği ve medikal tedavisinin sadece semptomları gidermeye yönelik olması nedeniyle tedavi başarısı sınırlı kalmaktadır.

Endometriyoz ve PKOS tedavisinde kullanılan sentetik ilaçların sınırlı etkinliği nedeniyle tedaviye yönelik alternatif ürünlerin çıkarılması günümüzde önem kazanmıştır. Geleneksel tıp sistemlerinin ve halk ilaçlarının yeni ilaç keşiflerinde önemli rol alması sebebiyle, bu tez kapsamında ülkemizde halk arasında jinekolojik rahatsızlıklara karşı kullanılan çeşitli bitkiler üzerinde biyoaktif moleküllerin izolasyonunda yaygın olarak kullanılan biyoaktivite yönlendirmeli fraksiyonlama ve izolasyon (BAYF) alışmalarının yapılması amaçlanmıştır. Bu bağlamda, seçilen bitkilerin halk arasındaki kullanım şekli esas alınarak sıçanlarda oluşturulan endometriyoz ve PKOS modelleri üzerinde etkinliklerinin incelenmesi, aktif çıkan ekstre/ler üzerinde izolasyon çalışmalarının yapılarak aktiviteden sorumlu bileşik/lerin tespiti hedeflenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Endometriyoz Nedir?

Endometriyoz, endometriyal dokunun uterus kavitesinin dışında bir yerde büyümesi ile karakterize olan kronik bir hastalıktır. Endometriyozda uterin hücreler ovaryum, idrar kesesi, serviks, rektum ile koltuk altı bölgesi gibi anormal bölgelere yerleşir ve gelişir. Oluşan bu endometriyal doku organizma tarafından uterusda gelişmiş bir doku gibi algılanarak hormon düzeylerinin bozulmasına yol açar. Kanama, enflamasyon, yara oluşumu, adezyon, deformasyon, infertilite ve çok şiddetli ağrı meydana gelir (Oyelowo, 2007a). Bu hastalıkta klasik olarak görülen pelvik enflamasyon, sadece endometriyotik lezyon sebebiyle değil aynı zamanda endometriyal dokunun uterus kavitesi dışında başka bir yerde büyümesini sağlayan bir faktör olarak ortaya çıkar.

Endometriyoz genel olarak 3 şekilde sınıflandırılır:

- (1) Peritoneal endometriyoz: Pelvik periton ve ovaryum yüzeyinde oluşan endometriyotik implant.
- (2) Endometriyoma: Endometrioit mukoza ile ilişkili ovaryum kistleri.
- (3) Rektovajinal endometriyotik nodül: Rektum ve vajina arasına yerleşmiş, fibromusküler doku ve adipoz doku ile bütünleşmiş endometriyotik dokudan oluşan katı kitle (Florova, Yarmolinskaya ve Potin, 2017).

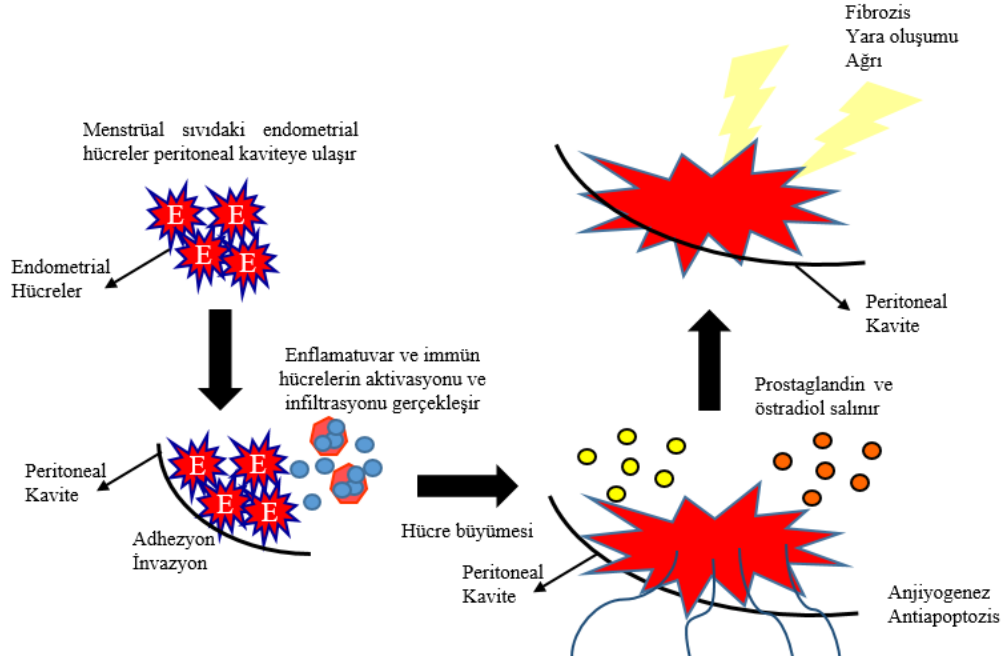
2.1.1. Endometriyozun epidemiyolojisi

Endometriyozun epidemiyolojisinin belirlenmesi, hastalığın tanımı ve kontrol seçimiyle ilgili metodolojik problemlerden dolayı diğer hastalıkların gerisinde kalmıştır. Fakat bu kısıtlamalara rağmen hastalığın epidemiyolojisiyle ilgili bilgiler son yıllardaki çalışmalarla biraz daha netlik kazanmıştır. Endometriyozun görülme sıklığı teşhise göre değişiklik göstermektedir. Bugüne kadar tamamlanan epidemiyolojik çalışmalarda tubal ligasyon geçiren kadınlarda görülen asemptomatik endometriyoz oranı yaklaşık %4 olarak bulunmuş, ancak bu oranın %1'den %7'ye kadar değişiklik gösterdiği de rapor edilmiştir. Primer infertilite problemi yaşayan kadınlar üzerinde yapılan çalışmalarda, bu problemi yaşayan kadınlarda endometriyoz görülme sıklığının %9-50 arasında olduğu (Duignan, Jordan,

Coughlan ve Logan-Edwards, 1972; Hasson, 1976; Liston, Bradford, Downie ve Kerr, 1972; Williams ve Pratt, 1977); çok şiddetli adet sancısı gören adolesanlarda ise bu oranın %50 olduğu (Bullock, Massey ve Gambrell, 1974; Cramer ve Missmer, 2002; Goldstein, deCholnoky, Emans ve Leventhal, 1980) belirlenmiştir. Yapılan çalışmalar, şiddetli adet sancısı yaşayan adolesanların endometriyoza yatkınlığının daha fazla olduğunu ve erken teşhisin önem arz ettiğini göstermiştir. Bununla birlikte ırklara göre endometriyoz görülme sıklığının uzak doğulu insanlarda daha fazla olduğu da rapor edilmiştir (Cramer ve Missmer, 2002).

2.1.2. Endometriyozun oluşumu

Endometriyoz patofizyolojisinde çeşitli faktörler rol oynamakta ve bununla ilgili çeşitli hipotezler ortaya atılmaktadır. Bunlardan bir tanesi Mayer teorisi bir diğeri ise klasik hipotez olan Sampson teorisidir. Mayer teorisine göre endometriyoz, hormonal değişikliklerin etkisi ile peritoneal hücrelerin muellerian tip hücrelere dönüşümü sonucu oluşur (Fujii, 1991). Sampson teorisi ise endometriyozun oluşumu ile ilgili en temel teori olup bugün bile geçerliliğini koruyan implantasyon teorisidir (Sampson, 1927) (Şekil 2.1). Bu teoriye göre, ovülasyon dönemindeki kadınlarda menstrüasyon akışının ters yönde olması durumunda canlı endometrial hücreler periton içine dökülür ve periton yüzeyindeki mezotel monotabakaya bağlanarak endometriyoz gelişir (Dunselman, Groothuis, de Goeij ve Evers, 2001). Peritoneal hücrelerdeki hyaluronik asit ekspresyonu endometrial hücrelerin peritoneal yüzeye adezyonunda önemli bir rol oynar (Dechaud, Witz, Montoya-Rodriguez, Degraffenreid ve Schenken, 2001). Sitokin ekspresyonunun ve ötopik endometriyum aktivitesinin artması, dökülen endometrial parçaların peritoneal yüzeye adezyonunu kolaylaştırır (Tseng ve diğerleri, 1996).



Şekil 2.1. Sampson teorisine göre endometriyoz oluşum şeması

Endometriyoz oluşumunda rol oynayan programlanmış hücre ölümü (apoptoz) endometriyumun siklik yenilenmesinde oldukça önemli bir parametre olup yapılan çalışmalarda ötopik endometrial apoptozun endometriyozlu kadınlarda azaldığı tespit edilmiştir (Meresman ve diğerleri, 2000).

Bununla birlikte, intraperitoneal bölgenin anjiyojenik potansiyeli endometrial lezyonların oluşum potansiyelini etkilemektedir (Donnez, Smoes, Gillerot, Casanas-Roux ve Nisolle, 1998; Taylor ve diğerleri, 1997). Yapılan çalışmalarda, endometriyotik implantların çevresinde aşırı damar ağının olduğu, artmış anjiyogenezle bağlı olarak invazyonun da arttığı, peritoneal kavitede aşırı anjiyogenez varlığının endometriyozla yakınlığı artırdığı belirlenmiştir (Taylor ve Lebovic, 2014).

2.1.3. Endometriyozun teşhisi

Endometriyozun semptomları arasında pelvik organlarda ağrı, dismenore, dispareni, ağrılı ovülasyon, bel ağrısı ve infertilite yer almaktadır. Endometriyoz teşhisi için aşağıdaki belirtilerden birinin veya birkaçının hastanın geçmişinde açık bir şekilde görülmesi gerekir:

- Ağrılı bağırsak hareketleri
- Ağrılı cinsel ilişki

- İnfertilite
- Karında şişlik
- Konstipasyon
- Orta ya da ciddi düzeyde menstrüal kramplar
- Şiddetli menstrüal kanamalar

Bununla birlikte endometriyoz teşhisinde pelvik muayene sonrasında da aşağıdaki belirtilerin olması gerekir:

- Ağrılı pelvik muayene ile birlikte kolay hareket etmeyen, katı uterus yapısı görülür. Uterosakral ligamentlerde elle tutulur nodüllere ve kistik yumurtalığa rastlanır.
- Spekulum muayenesi sırasında mavi endometriyomalara, vajina ve servikte şişkinliklere rastlanır.

Endometriyozun kesin teşhisinde ya laparoskopi ya da manyetik rezonans görüntüleme (MRG) yöntemleri tercih edilir. Laparoskopik değerlendirmede, abdomende yapıların daha iyi görüntülenmesini sağlamak amacıyla şişkinliğin oluşturulması karbondioksit gazı verilerek yapılır. Bu süreçte görülen yara dokusu, adezyon, çikolata kisti ve toz yanık lezyonlar endometriyozun varlığını gösterir (Oyelowo, 2007a).

2.1.4. Endometriyoz tedavi yöntemleri

Endometriyoz tedavisinde ağrının dindirilmesi ve infertilitenin giderilmesi amacıyla ilaç ya da cerrahi tedavi kullanılır. İlaç tedavisinde amaç, endometriyotik implantların küçülmesine yol açan hipoöstrojenik durumun sağlanması; cerrahi tedavide ise genellikle gözle görülen adezyon ve endometriyotik implantların lazer ya da elektrokoter yardımıyla yok edilmesidir (Adamson ve Nelson, 1997; Barbieri ve Kistner, 1986; Cunningham, 1989).

İlaç tedavisi

İlaç tedavisi, genellikle 3-6 ay boyunca uygulanır. Androjen grubu ilaçlar etkilerini endometriyotik doku büyümesini ve ovaryumda steroid üretimini baskılayarak gösterirler. Endometriyoz tedavisinde oral olarak uygulanan, zayıf bir androjen olan danazol kişilerde kilo alımı, ruhsal durum değişiklikleri, yağlı saç ve cilt, artmış LDL-C (düşük dansiteli

lipoprotein kolesterol) ve azalmış HDL-C (yüksek dansiteli lipoprotein kolesterol) gibi androjenik yan etkilere sebep olmaktadır (Packard ve Shepherd, 1994). Son zamanlarda endometriyoz tedavisinde yaygın olarak kullanılan bir diğer ilaç grubu ise buserelin, leuprolid asetat, nafarelin, goserelin gibi gonadotropin salgılayıcı hormon (GnSH) agonistleridir. İntranazal yolla ya da enjekte edilerek uygulanan bu ilaçlar da sıcak basması, vajinal kuruluk, libido ve kemik dansitesinin azalması gibi hipoöstrojenik semptomlara yol açmaktadır (Dawood, 1994; Orwoll ve diğerleri, 1994). Bununla birlikte yüksek dozlarda projestinler (norethindron, medroksiprogesteron asetat) ile kullanımı sınırlı olan anti-östrojenler (tamoksifen) ya da yüksek doz oral kontraseptiflerin de tedavide kullanılması mümkündür.

Pelvik endometriyoz tedavisinde kullanılan fakat büyük endometriyomaları tedavi etmeyen ilaçlar ile danazol ve GnSH agonistlerinin 6 aylık tedavi sonunda pelvik ağrıyı rahatlattığı klinik çalışmalarda belirlenmiştir (Hornstein, Surrey, Weisberg ve Casino, 1998; Rolland ve van der Heijden, 1990; Schenken, 1990). Başarılı bir tedavi sürecine karşın semptomların, hastalığın ciddiyetine bağlı olarak kadınların %37-74'ünde 5 yıl içinde nüksettiği tespit edilmiştir (Barbieri, Evans ve Kistner, 1982; Hornstein ve diğerleri, 1995; Waller ve Shaw, 1993).

Cerrahi tedavi

Cerrahi tedavi, endometriyal implantların lazer ya da elektrokoter yardımıyla yok edilmesi şeklinde yapılır. Fertilitenin problem olmadığı ve endometriyozdan kaynaklanan yaraların fazla olduğu vakalarda histerektomi tercih edilir. Fertilitiyi düzenlemek amacıyla yapılan lazer ameliyatlarında başarı şansının %50 olduğu rapor edilmiştir (Oyelowo, 2007a).

2.1.5. Endometriyoza karşı etkinliğin belirlenmesinde kullanılan araştırma yöntemleri

Endometriyoza karşı etkinliğin belirlenmesinde çeşitli *in vitro* ve *in vivo* yöntemlerden yararlanılmaktadır. Bu yöntemlerin esasları aşağıda sıralanmıştır:

İn vitro yöntemler

Tavuk korioallantoik membran modeli

Tavuk korioallantoik membran modeli, metastaz görülen neoplastik kanserler üzerinde çalışma yapmak amacıyla geliştirilmiştir (Armstrong, Quigley ve Sidebottom, 1982; Scher, Haudenschild ve Klagsbrun, 1976). Endometriyoz oluşturulmasına dayanan bu model endometriyal hücrelerin invazyonu ve anjiyogenez ile ilgilidir (Nap ve diğerleri, 2005).

Birçok yönden avantajlı olmasına rağmen, endometriyotik lezyon gelişiminin immunojenik yönlerini analiz etmek bu deney modelinde mümkün değildir (Griffith, Rodgers ve Schenken, 2010).

Amniyotik membran modeli

Hemidesmozom ile kollajen ve elastinden oluşan damarsız bir stroma yapısıyla kaplı olan bazal membrana amniyotik epitelin implantasyonu esasına dayanan bir yöntemdir (van der Linden, de Goeij, Dunselman, Erkens ve Evers, 1996).

İnsan doku eksplantı ve tek tabaka hücre kültürü modelleri

Disperse edilmiş endometriyum parçalarının peritoneal eksplantlara tutunmasının sağlanması ve tutunmuş endometriyumun mikroskopik olarak incelenmesi esasına dayanan bir yöntemdir (Groothuis ve diğerleri, 1999; Witz, Monotoya-Rodriguez ve Schenken, 1999).

Sitokinler

Endometriyozlu kadınların peritoneal sıvılarında interlekin-1 (IL-1), IL-6, IL-8, tümör nekroz faktör- α (TNF- α) ve monosit kemotaktik protein-1 gibi sitokinlerin seviyelerinin artışı nedeniyle, teşhiste bu parametrelere *in vitro* yöntemlerle bakılması son derece önem arz etmektedir (Griffith ve diğerleri, 2010; Oral, Olive ve Arici, 1996).

İnvazyon modelleri

Proliferasyon, göç ve apoptoz olaylarında rol alan endometriyotik lezyonların gelişmesinde invazyon önemli bir parametredir. (Bouhadir ve Mooney, 1998; O'Brien, Zegers ve Mostov, 2002). Malignan metastatik implantların invazif potansiyellerini değerlendirmek amacıyla üç boyutlu invazyon modelleri kullanılmaktadır. Kanseri ve endometriyoz araştırmalarında invazyon modeli oluşturmak için ekstraselüler matriks proteini içeren fare sarkom ekstrelerinden oluşan matrigel kullanılarak heterotopik endometriyumun peritonea tutunma kapasitesi değerlendirilir (Kobayashi, 2000; Zeitvogel, Baumann ve Starzinski-Powitz, 2001).

İn vivo yöntemler

İn vitro deney modellerinde yaşanan büyük ölçüdeki sınırlamalarından dolayı, endometriyoz patojenezinin mekanizmasının aydınlatılmasında ve test materyallerinin endometriyoz üzerindeki etkinliğinin değerlendirilmesinde hayvan modellerinin kullanılması kaçınılmazdır (Grümmer, 2012). Endometriyoz genel olarak insanlarda ve primatlarda meydana geldiği için, endometriyoz modellerinde kemirgenler ya da primatlar endometriyotik doku transplantasyonu amacıyla kullanılır.

Otolog kemirgen modelleri

Otolog kemirgen modelleri, endometriyal dokunun subkutan ya da intraperitoneal olarak aynı hayvana transplantasyonu ile oluşturulan modellerdir. Bu modeller ektopik bölgelerdeki lezyonların implantasyon boyutunun ve burada meydana gelen histolojik ve moleküler değişikliklerin incelenmesinde, anjiyogenez ve antianjiyojenik ajanların etkinliklerinin belirlenmesinde kullanılır (Grümmer, 2012).

Transplante edilen ektopik dokunun reddi bu modelde söz konusu olmadığı için genetik açıdan insan modeline benzerlik gösteren kemirgenler ile çalışma yapılabilmektedir. Ancak rodentlerde doğal olarak endometriyoz gelişmediği için otolog rodent modelleri insanlardaki modeli tam olarak yansıtmamaktadır (Grümmer, 2012).

Heterolog fare modelleri

İmmün sistemi baskılanmış farelere endometriyozlu kadınlardan alınan endometriyal dokunun transplantasyonu suretiyle ektopik bölgelerde oluşturulan endometriyozun makroskopik ve histolojik açıdan incelenmesi esasına dayanan bir modeldir. Bu model, genel olarak ektopik endometriyumun büyümesini ve implantasyonu engelleyen antianjiyogenik bileşiklerin etkisini araştırmak amacıyla kullanılmaktadır.

Maliyet açısından düşük olmakla birlikte endometriyozda gelişen mekanizmaların ve terapötik ilaçların etkilerinin *in vivo* ortamda incelenme şansını sunması nedeniyle oldukça avantajlı bir yöntemdir. Ancak bu yöntemde insan endometriyum dokusuna ihtiyaç duyulması nedeniyle bu yöntemin kullanımı kısıtlıdır (Grümmer, 2012).

Primat modelleri

Maymunlar üzerinde yapılan endometriyoz modelinin gerek oluşum gerekse gelişim açısından insanlarda oluşan endometriyozla benzerlik göstermesi nedeniyle, bu modelde çoğunlukla Asya kökenli olan *Rhesus macaques* ya da habes maymunu kullanılmaktadır. Ancak, maymunlara endometriyumun intraperitoneal enjeksiyonu suretiyle oluşturulan bu model aşırı maliyet, etik koşullar ve primatların kullanımı üzerindeki kısıtlayıcı faktörlerden dolayı çok fazla tercih edilen bir yöntem değildir (Grümmer, 2012).

2.1.6. Endometriyoz tedavisinde kullanılan doğal kaynaklar

Neto ve diğerleri tarafından yapılan bir çalışmada *Uncaria tomentosa* (Willd. ex Roem. & Schult.) DC. bitkisinden hazırlanan etanol ekstresinin 32 mg/kg/gün dozda sıçanlarda endometriyal implant hacimlerini güçlü oranda düşürdüğü dolayısıyla bitkinin endometriyoz tedavisinde tamamlayıcı bir ürün olarak kullanılabileceği belirtilmiştir (Neto ve diğerleri, 2011).

Deneyssel olarak endometriyoz oluşturulmuş sıçanlarda *Achillea biebersteinii* Afan. bitkisinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan etil asetat ekstresinin endometriyal implant hacimlerini önemli ölçüde azalttığı ve herhangi bir adezyona neden olmadığı belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, etil asetat ekstresinin endometriyoz tedavisinde etkin bir rol

oynadığı ve bu etkisinin de taşımış olduğu flavonoit aglikonlarından ileri gelmiş olabileceği rapor edilmiştir (Demirel, Suntar, İlhan, Keles ve Kupeli Akkol, 2014).

Küpeli Akkol ve diğerleri tarafından yapılan bir çalışmada, *Alchemilla mollis* (Buser) Rothm. ve *Alchemilla persica* Rothm. bitkilerinin toprak üstü kısımlarından ve köklerinden hazırlanan %80'lik metanol ekstrelerinin sıçanlarda oluşturulan endometriyoz modeli üzerinde etkileri incelenmiştir. Çalışmada, *A. mollis* toprak üstü kısımlarından hazırlanan ekstrenin endometriyal implant hacmini 101,35 mm³'ten 11,87 mm³'e; *A. persica* toprak üstü kısımlarından hazırlanan ekstrenin ise 103,30 mm³'ten 42,56 mm³'e düşürdüğü belirlenmiştir. Buna karşın her iki bitkinin de köklerinden hazırlanan ekstreler ile kontrol grubu arasında anlamlı bir farklılığa neden olmadığı belirlenmiştir (Kupeli Akkol ve diğerleri, 2015a).

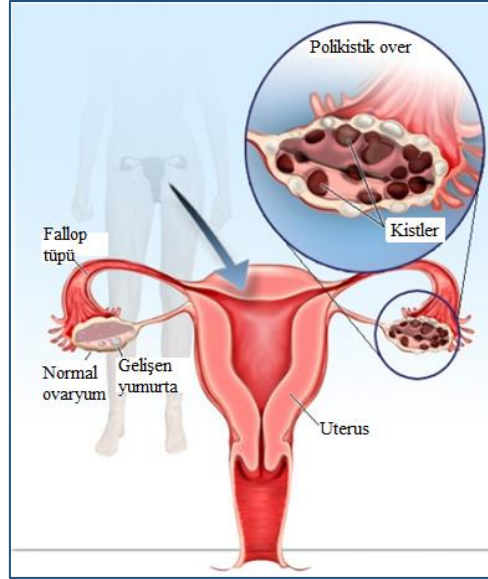
Saltan ve diğerleri tarafından yapılan bir çalışmada, *Viburnum opulus* L. meyvelerinden hazırlanan *n*-hekzan, etil asetat ve metanol ekstrelerinin etkinlikleri endometriyoz sıçan modeli üzerinde test edilmiştir. Sonuçlar, endometriyal implantlarda en fazla küçülmenin etil asetat ekstresi uygulanan grupta olduğunu göstermiştir. Biyolojik aktivite çalışmalarında aktif olduğu belirlenen ekstrede etkili bileşiğin tespiti amacıyla yapılan yüksek performanslı sıvı kromatografisi (YPSK)'nde klorojenik asitin ana bileşik olarak bulunduğu tespit edilmiştir (Saltan ve diğerleri, 2016).

İlhan ve diğerleri tarafından yapılan çalışmada *Hippophae rhamnoides* L. ve *Hypericum perforatum* L. yağ karışımının cerrahi olarak oluşturulmuş endometriyoz sıçan modelinde, yağ karışımının uygulandığı grupta endometriyal implantlarda adezyon skorları, endometriyal implant hacimleri ve peritoneal sıvıda sitokin seviyelerinin kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde azaldığı rapor edilmiştir (İlhan ve diğerleri, 2016).

Vitex negundo L. yapraklarından hazırlanan sulu ekstrenin sıçanlarda oluşturulan endometriyoz modelinde 300 mg/kg dozda endometriyal kist boyutunu önemli ölçüde azalttığı tespit edilmiştir (Amuthan ve diğerleri, 2015).

2.2. Polikistik Over Sendromu (PKOS) Nedir?

PKOS; menstrüal siklus ve insülin duyarlılığı ile ilişkili pek çok semptom için kullanılan genel bir terim olup, doğurganlık çağındaki bulunan kadınlarda yaygın olarak görülen, kılınma, obezite, menstrüal düzensizlikler, infertilite ve akne ile karakterize hormonal bir hastalıktır (Şekil 2.2) (Oyelowo, 2007b).



Şekil 2.2. Polikistik over sendromu (Vinothkumar, 2017)

2.2.1. PKOS epidemiyolojisi

Doğurganlık çağındaki kadınların %4-8'ini etkileyen ve yaygın bir endokrinolojik bozukluk olan PKOS'ta prevalans, teşhis kriterlerine göre değişiklik göstermektedir (March ve diğerleri, 2010). Bunun yanında PKOS aile öyküsü olan kadınlarda hastalığın görülme riski daha yüksektir. Hastalığın aile öyküsüne bağlı olması PKOS'un genetik bir hastalık olduğu düşüncesini akla getirmektedir (Franks ve diğerleri, 1997; Legro, Driscoll, Strauss, Fox ve Dunaif, 1998).

PKOS prevalansı birçok durumla ilişkilidir. Bunlardan bir tanesi aşırı kilodur ve obez kadınların yaklaşık %28,3'ünde PKOS görülmektedir (Alvarez-Blasco, Botella-Carretero, San Millan ve Escobar-Morreale, 2006). Bir diğer durum ise epilepsidir. Epilepsi ile PKOS arasındaki bağlantının araştırıldığı bir çalışmada, epilepsili 50 kadının 13'üne PKOS teşhisi konulmuştur (Bilo ve diğerleri, 2001). Bu durumun antiepileptik ilaçların menstrüal

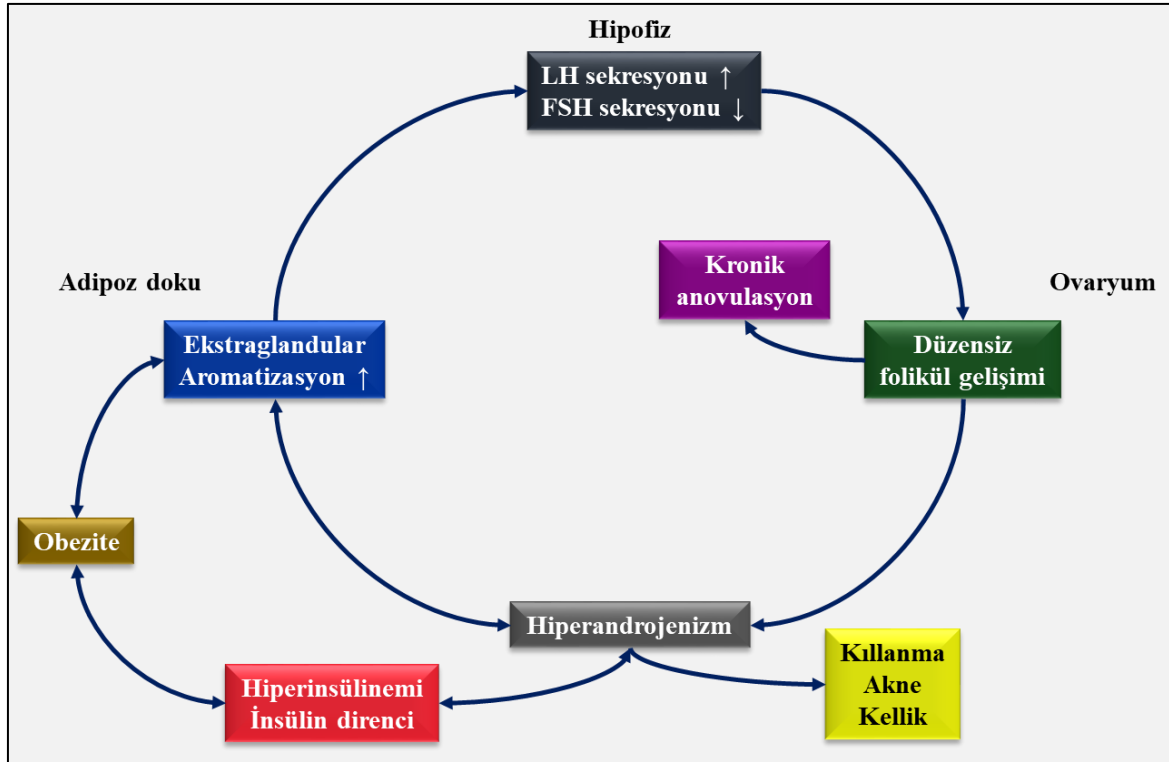
bozukluklara sebep olması ve serum testosteron düzeyini arttırmasından kaynaklandığı öne sürülmüştür (Betts, Yarrow, Dutton, Greenhill ve Rolfe, 2003; Isojarvi, Laatikainen, Pakarinen, Juntunen ve Myllyla, 1993).

Yukarıda bahsedilen faktörlere ilaveten tip 1, tip 2 ve gestasyonel diyabet de PKOS prevalansı ile ilişkilidir. Escobar-Morreale ve diğerleri tarafından yapılan bir çalışmada, tip 1 diyabetli 85 kadının 16'sına PKOS teşhisi konulduğu rapor edilmiştir (Escobar-Morreale ve diğerleri, 2000).

2.2.2. PKOS patojenezi

PKOS patojenezi şu ana kadar bilimsel açıdan tam olarak açıklanamamış olsa da gonadotropin seviyesi, ovaryum ve adrenal steroitler ile genetik faktörlerdeki anormalliklerin PKOS patojenezinde rol oynadığı yapılan çalışmalarla belirlenmiştir (Kahn, 2008).

PKOS'un ana sebebi olarak görülen hiperinsülineminin insülin direncinden kaynaklandığı; fonksiyonel hiperandrojenizmin ise insülin ve lüteinleştirici hormon (LH) seviyelerindeki artış ile ilgili olduğu rapor edilmiştir. LH seviyelerindeki artışın yüksek olan ve değişmeyen östrojen seviyesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Androjen, östrojen, insülin ve LH seviyelerinin yüksek olması durumunda hirsutizm, anovülasyon ve glukoz metabolizmasının bozulması gibi istenmeyen sonuçlar görülmektedir (Şekil 2.3). Hiperandrojenizmin altında yatan bir diğer mekanizma ise adrenal bezlerde ve ovaryumlarda androjen oluşumunu sağlayan sitokrom P450 enzim aktivitesinin bozulmasıdır. Bu durumda görülen hirsutizmin testosteronun dihidrotestosterona dönüşümünü sağlayan 5-alfa redüktaz enziminin fazlalığı durumunda olduğu belirlenmiştir (Plouffe, 2000). Hiperinsülineminin ise ovaryumda yer alan teka hücrelerindeki insülin düzenleyici moleküllerin insüline duyarlı olmasından kaynaklandığı belirlenmiştir (Zawadzki ve Dunaif, 1992).



Şekil 2.3. PKOS patojenezi

Gonadotropin anormallikleri

LH salınımındaki artış ve folikül uyarıcı hormon (FSH) salınımındaki azalma ile karakterize olan PKOS'lu kadınların %55-75'inde LH:FSH oranının arttığı yapılan çalışmalarla belirlenmiştir. LH salınımındaki aşırı artış, östradiol, progesteron ve androjen gibi steroid kaynaklı inhibisyona karşı oluşan hipotalamik refleksin bozulması ile ilişkili bir durumdur. PKOS'lu kadınlarda FSH salınım profili menstrüal siklusun erken foliküler fazındaki kadınlarda görülen duruma benzer bir profildedir. LH seviyesi ve salınımına göre çok düşük olan FSH seviyesi ovaryumda aşırı androjen üretimine sebep olur (Kahn, 2008).

Ovaryum ve adrenal steroid hormon anormallikleri

Ovaryum steroidojenezisinde meydana gelen anormallikler PKOS patojenezinde önemli rol oynamaktadır. Yapılan çalışmalarda, polistik ovaryumlardan izole edilen tekal hücrelerin yüksek miktarda androstenedion, 17α -hidroksiprogesteron ve progesteron salınımına sebep oldukları ve PKOS'lu kadınlarda görülen aşırı androjen üretiminin tekal hücrelerde steroid üretim yolağında artmış aktiviteden kaynaklandığı belirlenmiştir (Kahn, 2008).

Menstrüal siklusun foliküler fazında FSH'nin etkisiyle, androjenleri oosit hücresinin gelişiminde rol oynayarak östradiol çeviren granüloza hücrelerinde meydana gelen bozukluklar da PKOS'a ve hiperandrojenizme sebep olmaktadır. Granüloza hücreleri östradiolün üretilmesinde rol oynayan en önemli kaynaktır ve ovülasyondan sonra bu hücreler LH'nin etkisiyle lütein hücrelerine dönüşerek progesteron üretimine başlar. Ancak PKOS'ta gelişen yüksek östradiol seviyeleri, FSH üretimini engelleyerek anovülasyona sebep olur. Granüloza hücreleri lüteinize granüloza hücrelerine dönüşemediğinden progesteron üretimi gerçekleşmez. Bu döngünün herhangi bir aşamasında gerçekleşen yavaşlama ya da duraksama folikülün büyüyüp çatlamasına engel olur ve yumurtalıklarda milimetrik kistlerin oluşmasına yol açar. Bu olayların aylık olarak tekrarlaması halinde her iki ovaryumda milimetrik kistlerin sayısındaki artışa bağlı olarak PKOS oluşur (Aydos, Öztemur ve Gür-Dedeoğlu, 2016; Goodarzi ve Azziz, 2006).

Genetik faktörler

PKOS patojenezinde, genetik faktörlerin rol oynadığı pek çok araştırma ile kanıtlanmıştır. Prevalansın tek yumurta ikizlerinde %74, çift yumurta ikizlerinde %60 ve kız kardeşler arasında %22 olduğu istatistiksel olarak belirlenmiştir. Androjen reseptör, seks hormonu bağlı globülin, LH, LH reseptör, follistatin ve insülin reseptör genleri ovaryumda meydana gelen steroidojenez yolağına dahil olarak steroid hormon ve gonadotropin fonksiyonları ile insülin sekresyonu ve aktivitesini etkilemektedir (Kahn, 2008).

2.2.3. PKOS etiyojisi

Hipofiz bezi tarafından salgılanan LH ve FSH hormonlarını takiben ovaryumlarda östrojen ve progesteron ile az miktarda da olsa testosteron salgılanır. Hipofiz bezinin aşırı aktivitesi durumunda LH:FSH dengesindeki bozulmaya bağlı olarak ovaryumda aşırı testosteron salgılanması ve akabinde PKOS oluşumu görülür. Bununla birlikte, insülin seviyelerinin yüksek olması da ovaryumlardan testosteron hormonunun salgılanmasını artırır (Vinothkumar, 2017).

2.2.4. PKOS teşhisi

Amerika Ulusal Sağlık Enstitüsü'nün yayınladığı rapora göre; PKOS teşhisinde oligo ya da anovülasyona ek olarak hiperandrojenizm ile ilgili klinik/biyokimyasal verilerin gerekli olduğu belirtilmiştir. Rotterdam kriterinde ise belirtilen bu kriterlerin ikisinin de görülmesi ya da bu kriterlerden birine ilaveten polikistik ovaryumun ultrason görüntüsünün gerekli olduğu rapor edilmiştir (Çizelge 2.1) (Kahn, 2008).

Çizelge 2.1. PKOS için teşhis kriterleri

Teşhis kriteri	Amerika Ulusal Sağlık Enstitüsü Kriteri	Rotterdam Kriteri (Teşhis için 3 bulgudan 2'si gerekli)
<i>Oligo/anovülasyon</i>	+	+/-
<i>Hiperandrojenizm için klinik ve/ya da biyokimyasal bulgular</i>	+	+/-
<i>Polikistik ovaryumun ultrason görüntüsü</i>	-	+/-

+, teşhis için gerekli; -, teşhis için gerekli değil; ±, teşhis için gerekli seçenek

Ultrason muayenesinde görülen polikistik ovaryumun boyutları, 10 mm'den daha küçük olup stromanın ortasında büyümüş 10 ya da daha fazla sayıda periferik kistten oluşur (Adams, Polson ve Franks, 1986).

2.2.5. PKOS semptomları

PKOS'lu kadınlarda görülen semptomlar (Vinothkumar, 2017) aşağıda maddeler halinde verilmiştir:

- Akne
- Alopesi
- Amenore
- Depresyon
- Diyabet
- Düzensiz menstrüal sikluslar
- Endometriyal kanserler
- Hirsutizm

- İnfertilite
- İnsülin direnci
- Kardiyovasküler rahatsızlıklar
- Lipit metabolizmasında bozukluklar
- Obezite
- Uyku apnesi

2.2.6. PKOS tedavi yöntemleri

Projestin ya da kombine östrojen/projestin tedavisi

Östrojen ve projestin içeren kombine oral kontraseptifler, PKOS'lu adolesanlarda tedavide ilk tercih edilen ilaç grubudur. Bu tip oral kontraseptifler, LH salınımını ve androjen üretimini azaltarak etkilerini göstermektedirler. Androjen seviyesindeki azalma tedavinin ilk ayında ortaya çıkmaktadır. Ancak, oral kontraseptiflerin hipertansiyon ve venöz tromboembolizme sebep olmaları nedeniyle, kombine oral kontraseptif kullanan özellikle aile geçmişinde venöz tromboembolizm bulunan adolesanlarda hastaların düzenli olarak yan etki profili bakımından takip edilmeleri gerekmektedir.

Östrojen kullanımının kontrendike olduğu aktif karaciğer hastalığı, migren ve trombofilik hastalıklarda sadece projestin tedavisi tercih edilmektedir. Ancak sadece projestin içeren oral kontraseptiflerin kullanımı hirsutizm, akne ve düzensiz siklus tedavisinde etkili değildir (Kahn, 2008).

Antiandrojenler

PKOS'ta sıklıkla görülen hirsutizm durumunda antiandrojen bir madde olan spironolakton tedavide tercih edilen bir ilaçtır. Seksüel açıdan aktif olan kadınlarda, etkili kontraseptif ajanlarla birlikte reçete edilmesi gereken spironolakton diürez, baş ağrısı, menstrüal düzensizlik ve hiperkalemiye neden olabileceği için ilacın kullanıldığı süre zarfında elektrolit ve böbrek fonksiyonlarının periyodik olarak kontrol edilmesi gereklidir. Böbrek yetmezliği ve hiperkalemi durumunda spironolakton kontrendikedir (Kahn, 2008).

İnsülin duyarlılığını artırıcı ajanlar

Hepatik glukoneogenez yolağını etkileyen bir biguanit olan metformin, insülin reseptörlerinin sayısını arttırarak serum insülin ve androjen seviyesinin düşmesine neden olur. Yapılan çalışmalarda da, metformin kullanımının menstrüal siklusu, fertilitiyi ve lipid profilini düzenlediği belirlenmiştir. Ancak FDA tarafından insülin duyarlılığını artırıcı ilaçların PKOS tedavisinde kullanımı onaylanmamaktadır (Kahn, 2008).

2.2.7. PKOS'a karşı etkinliğin belirlenmesinde kullanılan araştırma yöntemleri

Hiperandrojenizm-nedenli PKOS modelleri

PKOS'un ana sebeplerinden bir tanesi olan hiperandrojenizm nedeniyle, deney hayvanları üzerinde yapılan aktivite çalışmalarında çoğunlukla testosteron, dehidroepiandrotestosteron ve dihidrotestosteron androjenik ajan olarak kullanılmaktadır. Androjenik ajanların kullanımı dışında, dozu ve deney hayvanının hangi yaşam siklusunda olduğu göz önünde bulundurulmak kaydıyla östrojen uygulaması da hiperandrojenizme neden olduğu için yaygın olarak kullanılmaktadır (Franks ve diğerleri, 1997).

Transgenik PKOS fare modelleri

Transgenik farelerde kronik olarak gonadotropin seviyelerinin normalden fazla olması nedeniyle bu tip farelerde görülen hemorajik polikistik yapılar, PKOS'lu kadınlarda görülen foliküler yapı ile benzerlik göstermemektedir. Bu nedenle PKOS teşhisi ve tedavisinde kullanılacak ürünlerin etkinliklerinin belirlenmesinde zorunlu olmadığı sürece transgenik fareler çok fazla tercih edilmemektedir (Kumar ve diğerleri, 1999; Matzuk, DeMayo, Hadsell ve Kumar, 2003; Risma ve diğerleri, 1995; van Houten ve Visser, 2014).

Antiprogesteron-nedenli PKOS modelleri

Adrenal bezlerden salgılanan ve gonadotropin sekresyonunun, foliküler gelişim ile ovülasyonun düzenlenmesinde aktif rol oynayan progesteron, ovülasyondan sonra korpus luteum tarafından sentezlenir (Buffler ve Roser, 1974; Caligaris, Astrada ve Taleisnik, 1971; Mori, Suzuki, Nishimura ve Kambegawa, 1977). Antiprogesteron-nedenli PKOS modeli, aşırı testosteron salınımına bağlı olarak foliküler bozunmanın ve anovülasyonun

oluşturulması esasına dayanan bir yöntemdir. Kemirgenlerde yapılan çalışmalarda RU486, mifepriston gibi antiprogesteronların uygulanması durumunda, deneklerde PKOS'lu kadınlarda görülen progesteron konsantrasyonunun azaldığı ve GnSH uyarılma sıklığındaki artışa bağlı olarak LH salınımının dolayısıyla ovaryumda testosteron sekresyonunun artışına sebep olan LH/FSH oranının arttığı belirlenmiştir (Sanchez-Criado, Bellido, Galiot, Lopez ve Gaytan, 1990).

Letrozol-nedenli (Aromataz inhibitörü) PKOS modelleri

Testosteron ve androstenedion hormonlarını östradiol ve östrona çeviren aromataz enzimi plasenta, ovaryum ve testislerde yoğun olarak bulunmaktadır (Corbin, Trant, Walters ve Conley, 1999). Letrozol-nedenli PKOS modeli, aromataz enzim inhibitörü etkiye sahip olan letrozolün sıçanlarda uygulanması suretiyle ovaryumda androjenlerin östrojene dönüşümünün azaltılması ve testosteron seviyesinin artışına, östradiol üretiminin azalmasına bağlı olarak polikistik foliküllerin oluşumu esasına dayanır (Corbin ve diğerleri, 1999; Shi ve Vine, 2012).

2.2.8. PKOS tedavisinde kullanılan doğal kaynaklar

Yapılarında yüksek oranda izoflavon ve lignan gibi fitoöstrojenik yapıli metabolitleri ihtiva eden keten ve soya ürünleri üzerinde yapılan çalışmalarda, bu fitoöstrojenlerin östrojen ve antiöstrojenlere yapısal olarak benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. Fitoöstrojen içeriği zengin olan soya ve keten ürünlerini çok fazla tüketen Asya kıtasında yaşayan kadınlarda, menstrüal siklusun uzun olduğu tespit edilmiş ve fitoöstrojenlerin menstrüal siklusu etkilediği düşünülerek PKOS tedavisinde etkili olabileceği rapor edilmiştir (Kasim-Karakas ve Mishra, 2009; Phipps, Martini, Lampe, Slavin ve Kurzer, 1993; Tham, Gardner ve Haskell, 1998).

Lektin, fenol, sterol ve lignanlar açısından zengin olan *Urtica dioica* L. bitkisi köklerinden hazırlanan ekstrelerin, seks hormon bağlayıcı globülinin reseptörlere bağlanmasını inhibe ettiği ve buna bağlı olarak prostat hipertrofisinde tedavisinde kullanıldığı kaynaklarda belirtilmiştir. Bu bilgi ışığında bitkinin köklerinin PKOS tedavisindeki etkinliğinin araştırılması amacıyla yapılan çeşitli çalışmalarda, globülinin testosterona bağlanma

yeteneğini arttırdığı dolayısıyla testosteron düzeyini azaltarak etki gösterdiği rapor edilmiştir (Hryb, Khan, Romas ve Rosner, 1995; Schottner, Gansser ve Spiteller, 1997a, 1997b).

Sun ve diğerleri tarafından yapılan bir çalışmada, *Paenonia lactiflora* Pall. bitkisinin kurutulmuş köklerinden elde edilen paeoniflorinin aromataz enzim aktivitesini arttırmak suretiyle progesteron seviyesinin artmasına, androjen seviyesinin ise azalmasına neden olduğu belirlenmiştir (Sun ve diğerleri, 2004).

Testosteronu dihidrotestosterona dönüştüren 5-alfa redüktaz enzimini inhibe etmesi nedeniyle prostatik hipertrofi tedavisinde yaygın olarak kullanılan *Seronea repens* (Bartram) J.K. Small bitkisi üzerinde yapılan çalışmalarda, PKOS'ta görülen testosteron kaynaklı belirtileri bu bitkinin azalttığı tespit edilmiştir (Casner, 2006; Dimitrakov, 2006).

Küpel Akkol ve diğerleri tarafından yapılan bir çalışmada, *Thuja occidentalis* L. bitkisinden elde edilen yağın ve ana bileşeni olan α -tuyonun PKOS üzerindeki etkinliği letrozol-nedenli PKOS sıçan modeli kullanılarak araştırılmıştır. Sonuçlar, *T. occidentalis* yağı ve α -tuyon uygulamasının sıçanlarda serum FSH, LH, testosteron, toplam kolesterol (TK), trigliserit (TG), LDL-C, leptin ve glukoz seviyelerini azalttığını, östradiol, progesteron ve HDL-C seviyelerini ise önemli ölçüde arttırdığını göstermiştir (Kupeli Akkol ve diğerleri, 2015b).

Ülkemizde halk arasında jinekolojik rahatsızlıklarda kullanılan *Corylus avellana* L. bitkisi üzerinde yapılan bir çalışmada, tohumlardan elde edilen yağın sıçanlarda oluşturulan letrozol-nedenli PKOS modelinde serum FSH, LH, testosteron, leptin ve glukoz seviyelerini önemli ölçüde düşürdüğü; östradiol, progesteron, HDL-C seviyelerini ise arttırdığı belirlenmiştir. Aktif bileşik/lerin belirlenmesi amacıyla yapılan YPSK'da α - tokoferol, γ - tokoferol, skualen, β -sitosterol, kampesterol ve stigmasterolün yüksek oranda olduğu ve PKOS üzerindeki etkinliğin bunlardan kaynaklanabileceği rapor edilmiştir (Demirel, İlhan, Suntar, Keles ve Kupeli Akkol, 2016).

2.3. Çalışma Materyallerinin Geleneksel Kullanımı

Türkiye'de "çatlangaç, çatlangaç süpürgesi, çukurotu, eşek karakavuşu, ham sütlüvan, talişk" gibi isimlerle bilinen *Cichorium intybus* L. bitkisinin kökleri kaynatılarak epilepsi tedavisinde (Tabata ve diğerleri, 1994); topraküstü kısımları ve köklerden hazırlanan

dekoksasyon böbrek taşlarını düşürmede, egzama ve hemoroit tedavisinde; taze kök ve topraküstü kısımları kanser tedavisinde; yaprakları *Anchusa* kökleri ile yağda kavrulup (Yeşilada ve diğerleri, 1999) ve toprak üstü kısımlarının yakılması suretiyle elde edilen küllerden hazırlanan yağ ile karıştırılarak hazırlanan merhem yara iyileştirici (Sezik ve diğerleri, 1991) amaçla kullanılmaktadır. Bununla birlikte, *C. intybus* yapraklarının halk arasında menopozal semptomları tedavi etmek amacıyla, sıcak basmasına ve sinirliliğe karşı, köklerinin menstrüal hastalıklara karşı (Kapahi, Srivastava ve Sarin, 1993; Ososki ve diğerleri, 2002), tüm bitkinin su ile kaynatılarak rahim hastalıkları ve enfeksiyonlarına karşı (Gümüş, 1994; Mükemre, 2013) kullanıldığı kayıtlıdır.

Halk arasında “sakar yonca, yonca, kokulu yonca” gibi isimlerle bilinen *Melilotus officinalis* (L.) Pall. bitkisi, Türkiye’de çeşitli yörelerde gaz giderici, diüretik, antienflamatuvar, hepatoprotektif amaçlarla kullanılmaktadır (Cakilcioglu, Khatun, Turkoglu ve Hayta, 2011; Hamid ve Raina, 2014; Tita, Mogoşanu ve Tita, 2009). *M. officinalis* toprak üstü kısımlarından hazırlanan dekoksasyon böbrek taşlarını düşürmek amacıyla, tüm bitkiden hazırlanan infüzyon ağırlı menstrüasyon, uykusuzluk ve yara iyileştirici amaçla (Hamid ve Raina, 2014), toprak üstü kısımlarından hazırlanan infüzyon jinekolojik rahatsızlıklarda (Tita ve diğerleri, 2009), kökleri Anadolu’da abortif amaçla kullanılmaktadır (Sezik ve diğerleri, 2001). Ayrıca Avrupa İlaç Ajansı tarafından yayınlanan raporda *M. officinalis* bitkisinin halk arasında uterus hastalıklarına karşı kullanıldığı da bildirilmiştir (EMA, 2008).

Mentha longifolia (L.) Huds. bitkisi Anadolu’da halk arasında “narpız, yarpuz, nane, pune, punı, deli nane, dere nanesi, su nanesi, yarpız” gibi isimlerle bilinmektedir. Bitkinin toprak üstü kısımları halk arasında baş, mide, karın ile menstrüal ağrılarında ve öksürüğe karşı kullanılmaktadır (Altundag ve Ozturk, 2011; Sezik ve diğerleri, 1997).

Ülkemizde “ısırgan, geznik, dicirgen, cızlağan” gibi isimlerle bilinen *Urtica dioica* L. bitkisi, halk arasında haricen romatizmal ağrıları gidermede, infüzyonu kansere karşı, dekoksasyonu mide ağrılarında, toprak üstü kısımları emenagog olarak, tohumları hemoroitte ve jinekolojik enflamasyonlarda (Simsek, Aytekin, Yeşilada ve Yıldırım, 2004), kökleri böbrek taşlarını düşürmek amacıyla (Honda ve diğerleri, 1996; Sezik ve diğerleri, 1997; Sezik, Zor ve Yeşilada., 1992; Yeşilada ve diğerleri, 1993), yaprakları menstrüal siklusu düzenlemek için kullanılmaktadır (Altundag ve Ozturk, 2011; Kumar, Sharma, Manhas ve

Bhatia, 2015; Mosaddegh, Naghibi, Moazzeni, Pirani ve Esmaeili, 2012; Uysal, Onar, Karabacak ve Çelik, 2010).

2.4. Botanik Bilgiler

2.4.1. Asteraceae (Compositae) familyası

Tek yıllık, iki yıllık ya da çok yıllık bitkiler ya da bazen çalı şeklinde, lateks taşıyan dokuya sahip ya da sahip değil. Yapraklar alternan, bazen karşılıklı, stipulasız (nadiren stipulalı), parçalanmamış, dişli, loblu ya da parçalara ayrılmış biçimde. Bireysel çiçekler genellikle çok sayıda (nadiren bir), sapsız ve koruyucu bir involukrum ile çevrelenmiş kapitulum halinde. Kapitulum bazen ikincil bir kapitulum benzeri baş halinde. Reseptakulum çıplak ya da pul şeklini almış, uzun tüylerle kaplı. Çiçekler epigin, ya tümü hermafrodit ve protandr ya da diş, erkek ya da eşeysiz. Kaliks ovaryumun tepesinde, papus halinde, tüylü, pullu, kıl veya diken şeklinde uzantılı, yumuşak ya da sert tüy, kılçık ya da sakal şeklinde bir papus ya da devam eden korona şeklinde, papus bazen hiç yok. Korolla gamopetal, tüpsü, ipliksi, dilsli ya da nadiren bilabiat, genelde 3- ya da 5- dişli, nadiren körelmiş. Stamenler (4~)5, petale bağlı, filamentler genelde serbest, anterler stilusun etrafında silindir halinde, nadiren serbest. Ovaryum alt durumlu ve 1 gözlü. Stilus genellikle üst kısımda ikiye çatallı, yuvarlak çiçeklerin stilusları sık tüylerle kaplı. Meyve aken, genellikle kalıcı ya da dökülen papuslarla kaplı (Grierson ve Yavin, 1975).

Asteraceae familyasına ait bitkiler “Flora of Turkey and The East Eagean Islands” da Grup A-F olmak üzere 6 grupta toplanmaktadır. Bu grupların ayrımı için verilen “Tayin Anahtarı” şu şekildedir:

- | | |
|---|--------|
| 1. Çiçeklerin hepsi ligulat, diller 5-dişli; sütlü bitkiler | Grup A |
| 1. Çiçeklerin hepsi ligulat değil, en azından merkezdekiler tüpsü; süt bulundurmeyen bitkiler | |
| 2. Yapraklar ve/ya da brakteler dikenli ya da batıcı | Grup B |
| 2. Yapraklar ve/ya da brakteler dikenli değil | |
| 3. Kapitulum kollu, uçtaki çiçekler genellikle 3- (nadiren 5- ya da fazla) dişli dilsli çiçekler, açık bir şekilde orta çiçeklerden daha uzun | |
| 4. Dilsli çiçekler parlak sarı, turuncu | Grup C |
| 4. Dilsli çiçekler beyaz, krem, pembe, kırmızı, mor ya da mavi | Grup D |

3. Kapitulumdaki bütün çiçekler tüpsü ve aynı şekil ve boyda ya da kapitulumun orta çiçekleri tüpsü, kenardakiler ipliksi ve orta çiçekler ile aynı boyda veya daha kısa, kenar çiçekler tüpsü bazen uzamış, genişlemiş ve kollu fakat genellikle silindirik, ya da dilsli ve orta çiçeklerden daha uzun

5. Reseptakulum palealı ya da uzun tüylü (tüyler en az korolla kadar uzun) Grup E

5. Reseptakulum çıplak ya da çoğunun uçları çukurlu ya da dişli Grup F

Grup D

Kapitulum kollu; dilsli çiçekler beyaz, pembe, kırmızı ya da mor; bitki dikenli değil

1. Reseptakulum palealı, palea ovat ya da dikdörtgensel ya da daha dar, kılsı ve reseptakulumun iç kısımlarında var

2. Bitkiler skapuslu: yapraklar ovat, kordat, hepsi tabanda; çiçekler kırmızı, içtekiler bilabiat 1-5 cm ya da daha uzun

94. *Uechtritzia*

2. Bitkiler yapraklı gövdeye sahip; yapraklar çeşitli şekillere sahip fakat ovat değil, kordat; kenar çiçekler beyaz, pembe ya da mor, orta çiçekler genellikle sarı, tüpsü ya da çok az bilabiat, 6 mm'den uzun değil

3. Yaprakların hepsi karşılıklı, basit; palea dar, kıla benzer, düşücü; tek yıllık bataklık bitkisi

3. *Eclipta*

3. Yapraklar alternat, genellikle pinnatisekt, nadiren basit; palea ovat ya da dikdörtgensel; tek yıllık ya da çok yıllık

4. Akenler sırttan yassılaştırmış, uçta 2 kanatlı ya da bariz damarlı

5. Daha dış taraftaki akenler zarlı ya da şeffaf kanatlara sahip

6. Orta korolla tüp tabanı 2 parçaya bölünmüş; yapraklar pinnatisekt, dışta linear, solucan şeklinde, kısımlar birbirine yakın

45. *Leucocyclus*

6. Orta korolla tüp tabanı parçalara bölünmemiş, akenin ön tarafına yapışık; yapraklar pinnatisekt, dışta dikdörtgensel-ovat, kısımlar birbirine yakın değil

44. *Anacyclus*

5. Dış taraftaki akenler ya da tüm akenlerin kenarları bariz damarlı fakat kanatlı değil

7. Orta korollanın tüp tabanı torba gibi şişmiş ve akenin tepesini sarmış; akenler tepede yassılaştırmış, yuvarlak, taşsız; paleanın orta damarı tepeye ulaşmaz

46. *Achillea*

7. Orta korollanın tüp tabanı torba gibi şişkin değil; akenin tepesi kısa korona ile kaplı; palea orta damarı tepeden küçük sivri sert bir uç ya da uzantı olarak taşmış

42. *Anthemis*

4. Akenler silindirik, köşeli ya da bazısı bariz damar ya da kanat olmadan yassılaştırmış

8. Orta korolla tüpleri ön tarafta tabanda mahmuz şeklinde uzamış, kısmen yassılaştırmış, ince çizgili, koronasız aken

43. *Chamaemelum*

8. Orta korolla tüpleri yukarıda değil; akenler silindirik, köşeli ya da az yassılaştırmış, genelde yuvarlak ya da tepede çok küçük korona, hiç olmazsa arka tarafta

42. *Anthemis*

1. Reseptakulum çıplak

9. Tüylü papus mevcut

10. Dilsî çiçekler küçük, neredeyse involukrumdan çıkmış

11. Papus 4 tüylü ve 4 daha küçük pullara sahip; yaprakların hepsi tabanda, rozetli; tek yıllık

32. *Bellium*

11. Papus tümüyle tüylü; yaprakların hepsi tabanda değil; tek yıllık ve çok yıllık

12. Yapraklar çoğunlukla gövdede; kapitulum çoğunlukla panikula; tek yıllıklar genellikle 30 cm'den daha uzun

33. *Conyza*

12. Yapraklar çoğunlukla tabanda; kapitulum yalnız ya da çok az; çok yıllıklar 20 cm'den daha uzun

31. *Psychrogeton*

10. Dilsî çiçekler büyük, involukrumdan bariz bir şekilde çıkmış; iki yıllık ya da çok yıllık bitkiler, nadiren tek yıllık

13. Kenar çiçekler verimsiz, stilusları yok

27. *Galatella*

13. Kenar çiçekler verimli, stilusları mevcut

14. Salgı tüyleri var yapışkan; iki yıllık; akenler papusun altında aniden daralmış ve hemen hemen gagalı

30. *Lachnophyllum*

14. Salgı tüyleri bazen var ama yapışkan değil; çok yıllık; akenler üstte değil

15. Kenar çiçekler 1 dişli, dilsî çiçekler 1 mm'den daha geniş; brakteler yaprak biçiminde ya da zarımsı

26. *Aster*

15. Kenar çiçekler 2-3 dişli, dilsî çiçeklerin genişliği 1 mm'den daha az; brakteler otsu, nispeten dar

29. *Erigeron*

9. Papus yok, ya da taçsı, kulakçıklı ya da palealı

16. Akenler 2 çeşit; kenardakiler üç yüzlü ya da 3 kanatlı, ortadakiler yandan yassılaştırmış

49. *Chrysanthemum*

16. kenardakiler bazen koronali olmasına rağmen akenlerin hepsi benzer fakat ortadakiler koronasız

17. Akenler 2 adet bariz kenar damarı taşır ve yandan yassılaştırmış; tek yıllık ya da çok yıllık; yapraklar genellikle rozetli

35. *Bellis*

17. Akenler ön ve arkaya doğru yassılaştırmış ya da silindirik; damarlar 2'den fazla; yapraklar çoğunlukla gövdede

18. Reseptakulum olgunlukta yarı küremsi ya da konik bir hâl alır; aken damarları eşit değil

19. Akenler bariz bir şekilde önde 3 damarlı ve önde tepeye yakın 1-2 kırmızımsı-kahverengi salgı tüyü; tek yıllık, iki yıllık ya da çok yıllık

54. *Tripleurospermum*

19. Akenler zayıf bir şekilde ön yüzde 3-5 damar taşır fakat önde kırmızımsı-kahverengi salgı tüyü taşımaz; tek yıllık

53. *Matricaria*

18. Reseptakulum düz ya da olgunlukta dışbükey; akenler eşit damarlara sahip

20. Yapraklar bölünmemiş, testere dişli ya da pinnatifit; akenler koyu ve 10 beyazımsı damara sahip

50. *Leucanthemum*

20. Yapraklar genelde pinnatisekt, nadiren bölünmemiş; akenler genellikle belli belirsiz 5-10 damarlı, damarlar ve akenler benzer renkli

51. *Tanacetum*

2.4.2. *Anthemis* cinsi

Tek yıllık, iki yıllık ya da çok yıllık bitkiler, bazen yarı çalimsı ya da küçük çalılar, seyrek ya da yoğun yumuşak ya da ipeksi tüylerle kaplı. Gövde basit ya da dallanmış. Yapraklar genellikle 1-3 pinnatisekt, nadiren basit; pinnat, pektinat ya da palmat şekilde loblara bölünmüş. Kapitulum yalnız ve çıplak pedunkul üzerinde, kollu ya da tabla şeklinde.

İnvolutukrum yarı küremsi, topaç şeklinde ya da kısa silindirik; brakteler imbrikat, genellikle 3 sıralı, iç tarafta genellikle daralmış ya da geniş bir şekilde zarımsı uçlu. Reseptakulum dışa bükülmüş ya da konik; palea düz-lanseolat, subulat ya da oblanseolat, zarımsı ya da kıkırdaksı, tepede akut, mukronat ya da akuminat genelde uzunluğu ortadaki çiçekler kadar ya da daha uzun. Kenar çiçekler genellikle verimli; dilsî çiçekler beyaz ya da sarı, nadiren morumsu, korolla tüpsü bazen akenler üzerinde. Ortadaki çiçekler tüpsü, 5 dişli, sarı, nadiren morumsu, korollalar bazen tabanda şişkin. Akenler genellikle enine kesitte ters dönmüş koni şeklinde, silindirik ya da kare şeklinde. Ortadaki çiçeklerde papus yok ya da akenin tepesinde yuvarlak (Grierson ve Yavin, 1975).

Anthemis cinsine ait bitkiler “Flora of Turkey and The East Eagean Islands” da 3 seksiyon ile temsil edilmekte olup bu seksiyonların ayrımı için verilen “Tayin Anahtarı” şu şekildedir:

1. Akenler enine kesitte silindirik ya da kare şeklinde ya da sadece tepede az yassılaştırmış, yuvarlak, taca benzer ya da kulakçık şeklinde; palea oblanseolat, linear-lanseolat ya da biz şeklinde; yapraklar 1-3 pinnatisekt, bazı çok yıllıklarda nadiren basit, yaprak kısımları pinnat ya da üç loba bölünmüş
2. Palea dikdörtgenimsi ya da oblanseolat, aniden akut ya da akuminata dönüşmüş; akenler enine kesitte köşeli ya da karemsi, genelde tepede kulakçıklı, bazen yuvarlağımsı; tek yıllık ya da çok yıllık

A. *Anthemis*

2. Palea dar şekilde linear-lanseolat ya da biz şeklinde, boyu eninden 10-15 kat daha uzun; akenler silindirik, tepe yuvarlak, loblu ya da küçük dişli, sadece tek yıllık

B. *Maruta*

1. Akenler ön arka yönde yassılaştırmış ya da enine kesitte baklava şeklinde, kenar uçları akut ya da biz şeklinde, tepede az derin taşı yapı taşı; palea akuminat, nadiren akut ya da trunkat; yapraklar 1-3 pinnatisekt, yaprakların ilk kısımları dişli ya da tarak şeklinde üçgen loblara bölünmüş; tek yıllık ve çok yıllık

C. *Cota*

2.4.3. *Anthemis austriaca* Jacq. (*Cota austriaca* (Jacq.) Sch.Bip.)



Resim 2.1. *Anthemis austriaca* Jacq.

Dik ya da yükselen, ince tüylerle kaplı, tek yıllık. Gövde tabandan dallanmış, 20-45 cm. Yapraklar 1,5-4,5 cm, çevresi dikdörtgensel, 2-pinnatisekt, ilk kısımlar 4-5 parçalı, dikdörtgensel, taraksı oblong-lanseolat loblara bölünmüş, 1,5-3 x 0,5 mm, akut. Kapitulum ışınlar olarak yayılmış; pedunkul yukarı doğru kalınlaşmış. İnvolukrum 0,75-1,25 cm genişliğinde, dıştaki brakteler ovat, akuminat, içteki brakteler dikdörtgensel ya da eliptik, sıklıklar kahverengimsi kirpikli. Reseptakulum yarı küre şeklinde; palea dikdörtgensel, daha üstlerde çeyrek akuminat. Kenar çiçekler 15-20 adet genelde verimsiz; dilsel çiçek 0,5-1,25 cm. Orta korollalar 3,5 mm, fakat tabanda şişkin değil. Akenler dikdörtgensel, kama şeklinde, 1,75-2 mm, her yanda 2-3 belirgin damarlı ve yassılaştırmış; korona bütün ya da dalgalı. Çiçeklenme dönemi. 5-6 (Resim 2.1).

A. austriaca'nın Türkiye'deki yayılışı

A. austriaca bitkisine ait incelenen Herbaryumlar ve "Flora of Turkey"de bulunan örnekler kareleme sistemine göre gruplandırılarak Çizelge 2.2 ve Şekil 2.2'deki haritada gösterilmiştir.

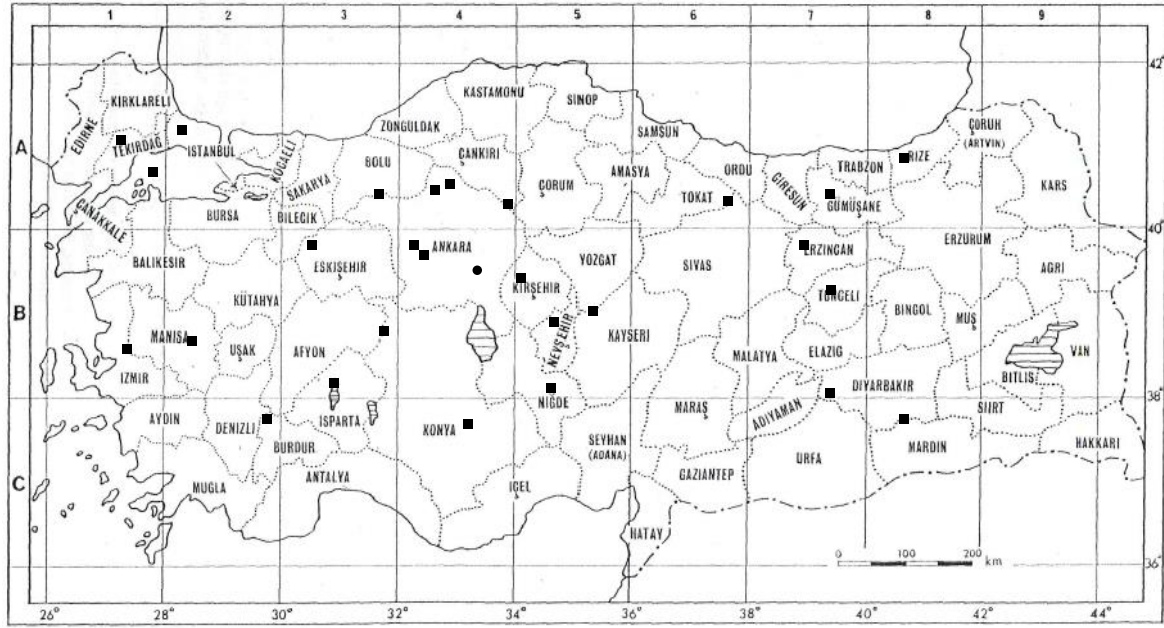
Çizelge 2.2. Kaynak verilere göre *A. austriaca*'nın Türkiye'deki yayılışı

KARE	TOPLANDIĞI YER, TARİH	KAYIT BİLGİLERİ	HERBARYUM NO	KAYNAK
A1	Bandırma, Tatlısu, 21.05.1976	Y. Akman	9232 (ANK)!	
A1	Tekirdağ'ın 15 km. doğusu	D. 34703	-	(Grierson ve Yavin, 1975)
A1	Çanakkale, Erenköy	Sint. 1883:204	-	(Grierson ve Yavin, 1975)
A2	İstanbul, Silivri	Bauer, Fitz & Spitz. 2818	-	(Grierson ve Yavin, 1975)
A3	Ankara, Nallıhan, Çulhalar mevki, 15.06.2010	E.G. Çakır	1370 (GAZI)!	-
A4	Ankara, Keçiören, Sanatoryum Caddesi, 26.06.1993	G. Akaydın	149 (HUB)!	-
A4	Kırıkkale, İmirli, Cingeyli köyleri arası, 900 m., 03.06.1990	A.A. Dönmez	(HUB)!	-
A4	Kırıkkale, Delice, Samsun asfaltı kenarı, 700 m., 29.04.1989	A.A. Dönmez	28926 (HUB)!	-
A4	Ankara, Keçiören, Hacıkadın vadisi	D. 18806	-	(Grierson ve Yavin, 1975)
A4	Ankara, Ayaş Dağları, Ayaş Beli altı, 1150 m., 19.05.1975	A.J.C. Grierson Y. Akman	3072 (ANK)!	-
A4	Ankara, Çubuk, Ovacık-Saraycık köyleri arası, 03.08.1992	E. Dündar	1422 (GAZI)!	-
A4	Ankara, Beypazarı, Kumkaya, 28.04.1986	N. Özsoy	1008 (GAZI)!	-
A4	Ankara, Ayaş, Ayaşbeli, Akkaya tepe güneydoğusu, 27.06.1986	M. Vural	4206 (GAZI)!	-
A4	Ankara, Çubuk, Çubuk 2 barajı, 18.05.1986	F. Demircioğlu	1091 (GAZI)!	-
A4	Ankara, Ayaş, Ayaşbeli, Akkaya tepe, 27.06.1986	M. Vural	4194 (GAZI)!	-
A6	Sivas, Suşehri	Sorger 69-34-8!	-	(Grierson ve Yavin, 1975)
A7	Gümüşhane, Daltaban	Sint. 1894:5912	-	(Grierson ve Yavin, 1975)
A8	Rize, Rize Sahil Yolu	A. Güner	28927 (HUB)!	-
B1	İzmir	Bal. 1854:21	-	(Grierson ve Yavin, 1975)
B2	Manisa, Akhisar ve Gördes arası	Hub.-Mor. 17282	-	(Grierson ve Yavin, 1975)
B3	Konya, Sultan Dağları	Sorger 68-45-1	-	(Grierson ve Yavin, 1975)
B3	Eskişehir, Kütahya yolu, 16.06.1968	A. Pamukçuoğlu	28932 (HUB)!	-

Çizelge 2.2. (devam) Kaynak verilere göre *A. austriaca*'nın Türkiye'deki yayılışı

KARE	TOPLANDIĞI YER, TARİH	KAYIT BİLGİLERİ	HERBARYUM NO	KAYNAK
B3	Eskişehir Karakütük Yangın Kulesi, 1700 m., 30.06.1970	A.J.C. Grierson T. Ekim	54 (ANK)!	-
B4	Ankara, Beynam	D. 13024b	-	(Grierson ve Yavin, 1975)
B4	Ankara, Beytepe, Lojmanlar çevresi step, 22.05.1975	S. Erik	28925 (HUB)!	-
B4	Ankara, Başkent Üniversitesi, Bağlıca Kampüsünün güneyi, Fen-Edebiyat Fakültesinin Arkası, 948 m., 30.05.2009	D. Töre	(HUB)!	-
B5	Nevşehir, Ürgüp	Sorger 64-30-18	-	(Grierson ve Yavin, 1975)
B5	Kayseri, Yahyalı, Aladağ-Çınko maden yatağından Eskidut mevkiine, 2500 m., 05.07.1982	Demirkuş	28928 (HUB)!	-
B5	Karakeçili-Kaman arası, Şereflikoçhisar ayrımı, 12.06.1997	D. Deliorman İ. Gürbüz M. Vural	T97D003 (GUEF)!	-
B7	Tunceli, Pertek	Orshan & Plitm. 47222	-	(Grierson ve Yavin, 1975)
B7	Erzincan, İliç, Yakuplu Köyü	Ş. Yıldırım	28930 (HUB)!	-
C2	Burdur, Tefenni	Sorger 68-22-4	-	(Grierson ve Yavin, 1975)
C3	Isparta, Çiçekdağ	Sorger 67-5-29	-	(Grierson ve Yavin, 1975)
C4	Konya, Karaman	Sorger 66-36-9	-	(Grierson ve Yavin, 1975)
C4	Konya, Ermenek, 15.06.1982	N. Tanker M. Koyuncu F. İlisulu T. Özcan	12061 (AEF)!	-
C4	Konya, Seydişehir maden ocakları, 1550 m., 16.06.1981	H. Ocakverdi	1190 (ANK)!	-
C5	Niğde, Ulukışla	Holtz, Hanel & Kesercioğlu 00621	-	(Grierson ve Yavin, 1975)
C5	Niğde, Kamışlı, Asar yaylası, 22.06.2007	M.U. Özbek	2446 (GAZI)!	-
C7	Şanlıurfa, Diyarbakır yolu, kıraç alanlar, 266 m.	B. Özudoğlu	28366 (HUB)!	-
C7	Şanlıurfa, Ceylanpınar, Beyazkule-Viranşehir arası, 5 km sonra, 04.05.1995	N. Adıgüzel	2340 (GAZI)!	-
C8	Batman, Bismil Yolu, 25.04.2009	S. Aslan	3187 (GAZI)!	-
C8	Mardin, Kızıltepe	D. 28656	-	(Grierson ve Yavin, 1975)

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



Şekil 2.4. *A. austriaca*'nın Türkiye'deki yayılışı

- : Bitkilerin “Flora of Turkey and the East Aegean Islands” ve incelenen herbaryum kayıtlarındaki toplanma yerleri
- : Çalışma materyalimizin toplanma yeri

Cota seksiyonu

Cota seksiyonuna ait bitkiler “Flora of Turkey and The East Eagean Islands” da 16 tür ile temsil edilmektedir. Bu türlerin ayrımı için verilen “Tayin Anahtarı” şu şekildedir:

1. Çok yıllık
2. Kenar çiçekler yok
3. Sarımsı dik tüyler ya da ipeksi tüylü

41. *fulvida*

3. Beyaz kısa sert tüyler ya da çıplak
4. Palea çiçeklerden 2-3 mm'den uzun

42. *oxylepis*

4. Palea çiçekler kadar uzun

36. *tinctoria*

2. Kenar çiçekler var

5. İnvolukrum 0,8-1,3 cm genişlikte

6. Kapitulum yarı küresli; brakteler açık renkte uca sahip ya da sadece içtekiler kahverengi uçlu; İç ve Orta Anadolu bitkileri

36. *tinctoria*

6. Kapitulum genişçe çan şeklinde; dar koyu uçlara sahip birçok brakte; Güney Anadolu bitkileri

39. *antitaurica*

5. İnvolukrum 1,5-2 cm genişlikte

7. Brakteler bütün koyu uçlara sahip; gövde genellikle dallanmamış, tek kapitulumlu

38. *melanoloma*

7. Brakteler açık renkte uca sahip ya da sadece içtekiler koyu uçlu; huni şeklinde dallanmış

37. *triumfettii*

1. Tek yıllık

8. Yaprakların ilk kısımları pinnat ya da palmat şekilde şeritsi-mızraksı loblara bölünmüş

9. Orta ve kenar çiçekler pembemsi-açık mor; akenler 2 mm'den daha uzun

50. *pestalozzae*

9. Kenar çiçekler beyaz, hafifçe pembe, orta çiçekler sarı; akenler 2 mm'den daha kısa

49. *halophila*

8. Yaprakların ilk kısımları dişli ya da tarak şeklinde üçgen ya da ters mızraksı loblar halinde

10. Palea tepesi küçük sert bir uçla sonlanmış ya da sadece tepede akut

11. Gövde dik, 20-60 cm uzunluğunda; palea kama şeklinde, tepesi kesik ve üstü sert bir uçla sonlanmış; akenler belli belirsiz 4-5 damarlı

47. *palestina*

11. Gövde yatay, 5-20 cm uzunluğunda; palea ovat-eliptik, akut; akenler hemen hemen pürüzsüz

48. *wiedemanniana*

10. Palea (hiç olmazsa iç taraftakiler) akuminat, tepe taban kısmının 2 katı uzunlukta

12. Akenler her tarafta bariz 8-10 damarlı

13. Palea olgunlukta morumsu-kahverengi; bitki toprak üzerine yatık

46. *melanolepis*

13. Palea olgunlukta saman renginde; bitki dik

42. *altissima*

12. Akenler pürüzsüz ya da her kenarda 1-3 damarlı

14. Paleanın akuminat tepesi taban kısmının 2 katı uzunluğunda

45. *dipsacea*

14. Paleanın akuminat tepesi taban kısmı kadar ya da çeyreği uzunluğunda

15. Yapraklar çoğunlukla 3-pinnatisekt, loblar 2-8 mm uzunluğunda; palea tepesi hemen hemen tabanı kadar

43. *coelopoda*

15. Yapraklar 2-pinnatisekt, loblar 1,5-3 mm uzunluğunda; palea tepesi taban kısmının uzunluğu ile aynı

44. *austriaca*

Son sınıflandırma sistemlerine (GBIF Secretariat, 2018; Stevens, 2001) göre *Anthemis austriaca*'nın sistematikteki yeri aşağıdaki gibidir:

Alem	:	Plantae
Alt Alem	:	Tracheobionta
Bölüm	:	Magnoliophyta
Sınıf	:	Magnoliopsida
Alt Sınıf	:	Asteridae
Üst Takım	:	Asteranae
Takım	:	Asterales
Familya	:	Asteraceae
Oymak	:	Anthemideae
Cins	:	<i>Anthemis</i>
Tür	:	<i>Anthemis austriaca</i>

2.5. *Anthemis* Türlerinin Kullanılış Amaçları ve Biyolojik Etkileri

2.5.1. *Anthemis* türlerinin halk arasında ve geleneksel tedavi sistemlerinde kullanılışı

Türkiye’de toplam 52 *Anthemis* türü yetişmektedir (Grierson ve Yavin, 1975). *Anthemis* türlerinin kullanılışı ile ilgili yayınlanan genel kaynaklarda, İç Anadolu Bölgesi’nde, Afyon’da *Anthemis cretica* L. ssp. *tenuiloba* (DC.) Grierson ve *A. wiedemanniana* Fisch et Mey. çiçeklerinden hazırlanan infüzyonun abdominal ağrıların tedavisinde (Honda ve diğerleri, 1996), *A. cretica* subsp. *tenuiloba* toprak üstü kısımlarından hazırlanan oleatın mide ağrılarında (Kultur, 2007); Ankara, Sivas ve Yozgat’ta *A. tinctoria* L. var. *pallida* DC.

ile *A. cretica* L. subsp. *anatolica* (Boiss.) Grierson çiçeklerinden hazırlanan infüzyonun saçları güçlendirmek amacıyla, romatizma, soğuk algınlığı ve kalp rahatsızlıklarında (Ozudogru, Akaydin, Erik ve Yeşilada, 2011), Ankara’da *A. armeniaca* Freyn & Sint. çiçeklerinin boğaz ağrısı ve üriner sistem enfeksiyonlarında (Günbatan, Gürbüz ve Gençler Özkan, 2016) kullanıldığı belirlenmiştir.

Doğu Anadolu Bölgesi’nde Iğdır yöresinde *A. pseudocotula* Boiss. çiçeklerinden hazırlanan infüzyonun mide ağrılarında (Sezik ve diğerleri, 1997); Elazığ yöresinde *A. tinctoria* L. var. *tinctoria* çiçeklerinden hazırlanan dekoksasyonun antispazmodik olarak ve diyabete karşı, *A. wiedemanniana* Fisch. & Mey çiçeklerinden hazırlanan dekoksasyon ve infüzyonun antispazmodik, sedatif ve üriner enflamasyonlarda (Cakilcioglu ve diğerleri, 2011), Malatya ve civarında *A. coelopoda* Boiss. var. *bourgae* Boiss. toprak üstü kısımlarından hazırlanan infüzyonun antihipertansif olarak, *A. cretica* subsp. *anatolica* çiçeklerinden hazırlanan dekoksasyonun antispazmodik olarak, *A. tinctoria* var. *tinctoria* çiçek ve yapraklarından hazırlanan infüzyonun ise öksürük kesici olarak (Tetik, Civelek ve Cakilcioglu, 2013), Bingöl yöresinde *A. wiedemanniana* dallarından hazırlanan infüzyonun öksürük, diyabet ve soğuk algınlığında (Polat, Cakilcioglu ve Satil, 2013), Hakkari’de *A. cotula* toprak üstü kısımlarından hazırlanan dekoksasyonun soğuk algınlığında ve saç kaybına karşı (Kaval, Behcet ve Cakilcioglu, 2014), *A. altissima* L. bitkisinin tüm kısımlarından hazırlanan infüzyonun sarılık, dizanteri ve öksürük tedavisinde, *A. nobilis* L. çiçeklerinden hazırlanan infüzyonun idrar söktürücü olarak, *A. pseudocotula* Boiss. çiçeklerinden hazırlanan infüzyonun mide ağrılarında, *A. wiedemannia* çiçeklerinden hazırlanan dekoksasyonun ise ağrı kesici olarak kullanıldığı kayıtlıdır (Altundag ve Ozturk, 2011).

Marmara Bölgesi’nde Kırklareli’de *A. cretica* L. subsp. *anatolica* toprak üstü kısımlarının kaynatılarak buhar banyosu şeklinde hemoroit ve öksürükte (Kultur, 2007); Balıkesir civarında *A. cotula* L. çiçeklerinden hazırlanan infüzyonun sindirimi kolaylaştırıcı, laksatif olarak ve bronşitte (Tuzlaci ve Aymaz, 2001) kullanılmaktadır.

Tez kapsamında çalışma materyali olarak belirlenen ve ülkemizde halk arasında “akbabatça, akbaba çiçeği, akbaşotu, kelemli, papatya” gibi isimlerle bilinen *A. austriaca* bitkisinin çiçeklerinden hazırlanan infüzyon ve dekoksasyonlar Afyon, Kütahya ve Bilecik yöresinde karın ağrısı, hemoroit, ishal ve soğuk algınlığında (Honda ve diğerleri, 1996); Balıkesir’de ovaryum hastalıklarında (Kaval ve diğerleri, 2014; Tetik ve diğerleri, 2013; Uysal ve

diğerleri, 2010); Ankara ve civarında bitki bütün halde hayvan yemi olarak (Simsek ve diğerleri, 2004); Malatya yöresinde çiçek ve yapraklardan hazırlanan infüzyon ile Hakkari’de tüm bitkiden hazırlanan dekoksasyon öksürüğü kesmek amacıyla (Kaval ve diğerleri, 2014; Tetik ve diğerleri, 2013) kullanılmaktadır.

Anthemis türlerinin dünyada geniş bir yayılış alanı göstermesi nedeniyle dünyada farklı bölgelerde, geleneksel ve halk tababetlerinde bu cinse ait bitkiler yaygın olarak halk arasında tedavi amacıyla kullanılmaktadır. Bu kullanılışlar yukarıda bahsedilen ülkemizdeki kullanılışlara benzer veya farklı olabilmektedir.

Hindistan’da *A. cotula* çiçeklerinden hazırlanan dekoksasyon soğuk algınlığı, ateş ve astım tedavisinde, bitkinin yapraklarından hazırlanan toz ise yanıkların üzerine dökülmek kaydıyla enflamasyonu gidermek amacıyla kullanılmaktadır (Kumar ve diğerleri, 2015).

İran’da *A. altissima* bitkisinin çiçeklerinden hazırlanan infüzyon hazımsızlıklarda ve deri beyazlatmada (Ghasemi Pirbalouti, Momeni ve Bahmani, 2013), *A. austroiranica* Rech.f., Aellen & Esfand. toprak üstü kısımlarından hazırlanan dekoksasyon ise kızamık tedavisinde banyo suyu olarak kullanılmaktadır (Mosaddegh ve diğerleri, 2012).

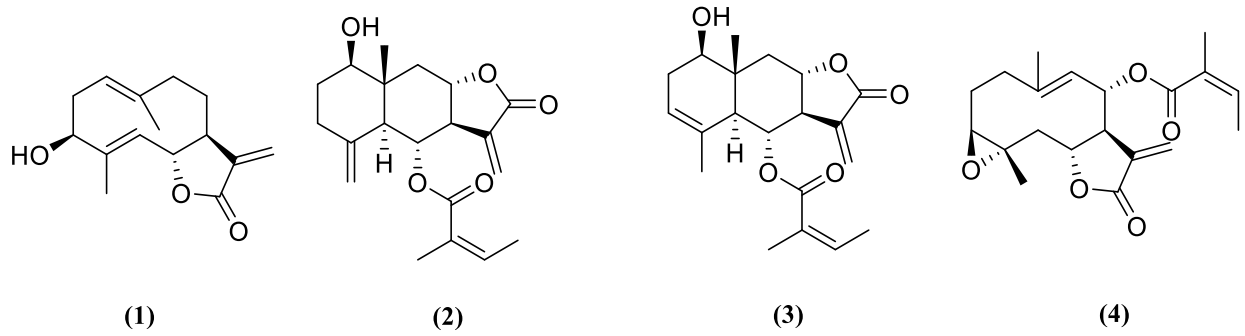
İtalya’da *A. cotula* ve *A. tinctoria* çiçekleri terletici olarak (Guarino, De Simone ve Santoro, 2008), Sırbistan’da *A. ruthenica* çiçekleri antispazmodik olarak kullanılmaktadır (Popovic ve diğerleri, 2012).

2.6. *Anthemis* Türleri Üzerinde Yapılan Çalışmalar

2.6.1. *Anthemis* türleri üzerinde yapılmış fitokimyasal çalışmalar

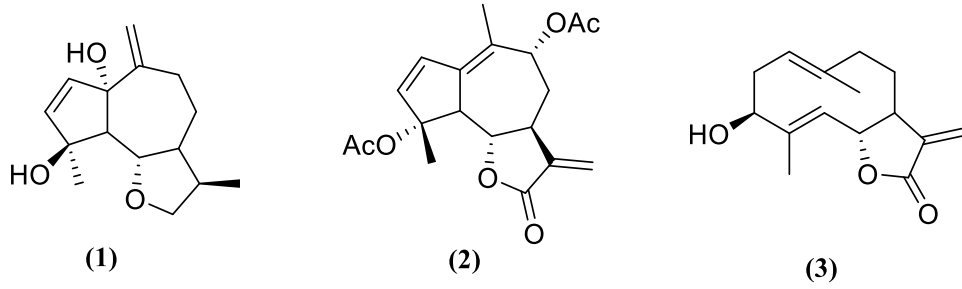
Anthemis türlerinin fitokimyasal içeriği üzerinde yapılan çalışmalarda, bu cinse ait türlerin seskiterpen laktonlar, linear seskiterpen laktonlar, kumarin ve asetofenon türevleri, flavonoidler, sikloheksanon ve sikloheksenonlar ile steroit ve triterpen türevi sekonder metabolitleri içerdiği belirlenmiştir. *Anthemis* türleri üzerinde yapılan fitokimyasal çalışmalar madde gruplarına göre sınıflandırılarak çizelgeler halinde sunulmuştur (Çizelge 2.3-2.27).

Seskiterpen laktonlar



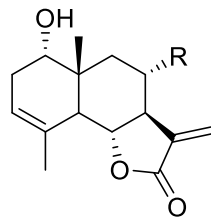
Çizelge 2.3. *Anthemis* türlerinden izole edilen seskiterpen laktonlar

Bileşik	Tür	Kaynak
3β-hidroksikostunolit (1)	<i>ruthenica</i>	Hajdu, Zupko, Rethy, Forgo ve Hohmann, 2010
Krizanin (2)		
Sivasinolit 6-O-anjelat (3)		
Tanasin (4)	<i>rumelica</i>	Hajdu ve diğerleri, 2010; Todorova, Trendafilova, Danova ve Dimitrov, 2011
	<i>ruthenica</i>	

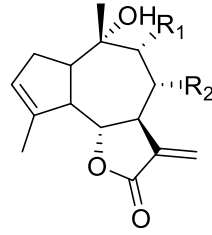


Çizelge 2.4. *Anthemis* türlerinden izole edilen seskiterpen laktonlar

Bileşik	Tür	Kaynak
1α,4β-Dihidroksi-11αH-guaia-2,10(14)-dien-12,6α-olit (1)	<i>rumelica</i>	Todorova ve diğerleri, 2011
4α,9α-Diasetoksiguaia-2,1 (10), 11(13)-trien-12,6α-olit (2)		
Hanfillin (3)		



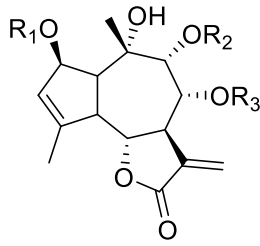
- (1) R = H
 (2) R = OAc
 (3) R = OiBu
 (4) R = OTig
 (5) R = OAng
 (6) R = OH



- (7) R₁ = R₂ = OAc
 (8) R₁ = OAc; R₂ = OiBu
 (9) R₁ = OH; R₂ = OAc
 (10) R₁ = OAc; R₂ = OH
 (11) R₁ = OAc; R₂ = OTig
 (12) R₁ = H; R₂ = OAc
 (13) R₁ = OAc; R₂ = H

Çizelge 2.5. *Anthemis* türlerinden izole edilen seskiterpen laktonlar

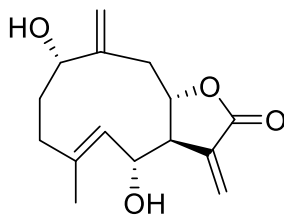
Bileşik	Tür	Kaynak
Doglanin (1)	carpatica	Staneva, Todorova ve Evstatieva, 2002
Ludalbin (2)		
8α-izobutirilloksidoglanin (3)		
8α-tigloiloksi doglanin (4)		
8α-angeloiloksidoγlanin (5)		
8α-hidroksidoγlanin (6)		
9α-asetoksi kumambrin A (7)		
8-O-izobutiril-9α-asetoksikumambrin B (8)		
9α-hidroksi kumambrin A (9)	carpatica, cretica subsp. cretica	Staneva ve diğlerleri, 2002; Vajs ve diğlerleri, 1999
9α-asetoksikumambrin B (10)		
8-O-tigloil-9α-asetoksikumambrin B (11)	carpatica	
Kumambrin A (12)		
10α-hidroksi-9α-asetoksi-guaia-3,11(13)-dien-12,6-olit (13)		



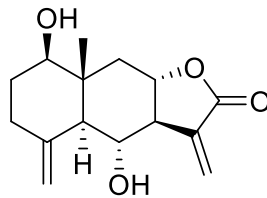
- (1) R₁, R₂, R₃ = H
 (2) R₁, R₂ = Ac, R₃ = H
 (3) R₁ = Ac, R₂ = iBu, R₃ = H
 (4) R₁ = Ac, R₂ = 2-MeBu, R₃ = H
 (5) R₁ = Ac, R₂ = iVal, R₃ = H
 (6) R₁ = H, R₂ = Ac, R₃ = Ang

Çizelge 2.6. *Anthemis* türlerinden izole edilen seskiterpen laktonlar

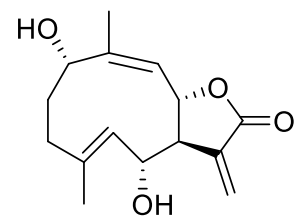
Bileşik	Tür	Kaynak
(1)	<i>alpestris</i>	Bruno, Rosselli, Bondi, Gedris ve Herz, 2002
(2)		
(3)		
(4)		
(5)		
(6)		



(1)



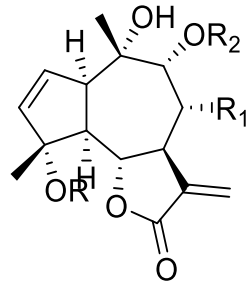
(2)



(3)

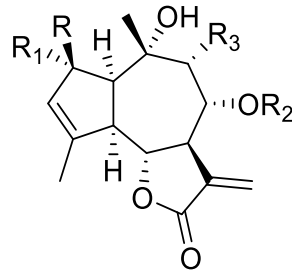
Çizelge 2.7. *Anthemis* türlerinden izole edilen seskiterpen laktonlar

Bileşik	Tür	Kaynak
1- <i>epi</i> -tatridin B (1)	<i>wiedemanniana</i>	Çelik ve diğerleri, 2005
Deasetil-β-siklopiretrosin (2)		
Tatridin A (3)		

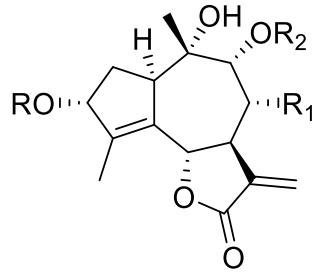


Çizelge 2.8. *Anthemis* türlerinden izole edilen seskiterpen laktonlar

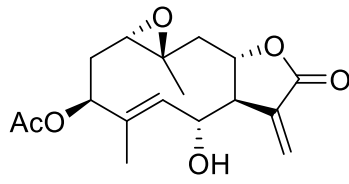
Bileşik	Tür	R	R ₁	R ₂	Kaynak
8,9 di-O-asetilantemolit B	<i>cretica</i> subsp. <i>cretica</i>	H	OAc	Ac	Vajs ve diğerleri, 1999
8-deoksi-9-O-asetilantemolit B	<i>carpatica</i>	OH	H	Ac	
8-O-asetilantemolit B	<i>cretica</i> subsp. <i>cretica</i>	H	OAc	H	
8-O-izobutiril-9-O-asetilantemolit B	<i>carpatica</i>	OH	O- <i>i</i> -But	Ac	
	<i>cretica</i> subsp. <i>cretica</i>				
8-O-tigloil-9-O-asetilantemolit B	<i>carpatica</i>	OH	OTig	Ac	
8 α -izobutiriloksi-antemolit A		H	O- <i>i</i> -But	Ac	
Antemolit A		H	H	Ac	
Antemolit B	<i>carpatica</i>	OH	OH	H	
	<i>cretica</i> subsp. <i>cretica</i>				

Çizelge 2.9. *Anthemis* türlerinden izole edilen seskiterpen laktonlar

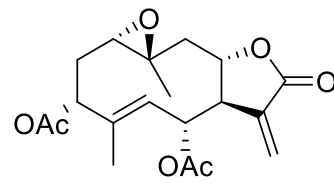
Bileşik	Tür	R	R ₁	R ₂	R ₃	Kaynak
2 α -hidro-peroksi-8-O-isobutiril-9 α -asetoksikumambrin B	<i>carpatica</i>	H	OOH	<i>i</i> -But	OAc	Vajs ve diğerleri, 2000
2 β -hidroksiepiligustrin		OH	H	H	H	
8-O-izobutiril-9 α -asetoksikumambrin B		H	H	<i>i</i> -But	OAc	
9 α -asetoksikumambrin A		H	H	Ac	OAc	
Kumambrin-B		H	H	H	H	

Çizelge 2.10. *Anthemis* türlerinden izole edilen seskiterpen laktonlar

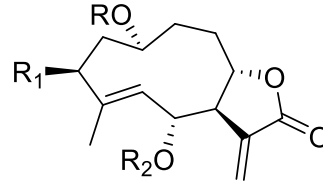
Bileşik	Tür	R	R ₁	R ₂	Kaynak
8 α -izobutiriloksiantemolit C	<i>carpatica</i>	H	O- <i>i</i> -But	Ac	Vajs ve diğerleri, 2000
8 α -Propioniloksiantemolit C		H	OProp	Ac	
8 α -Tigloiloksiantemolit C		H	OTig	Ac	
9-O-Deasetilantemolit D		H	OAc	H	
Antemolit C		H	H	Ac	
Antemolit D	<i>cretica</i> subsp. <i>cretica</i>	H	OAc	Ac	Vajs ve diğerleri, 2000
Antemolit F	<i>carpatica</i>	OH	O- <i>i</i> -But	Ac	



(1)



(6)



(2) R = H; R₁ = OAc; R₂ = H

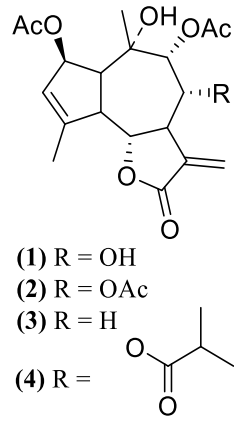
(3) R = Ac; R₁ = OAc; R₂ = Ac

(4) R = H; R₁ = H; R₂ = Ac

(5) R = Ac; R₁ = H; R₂ = Ac

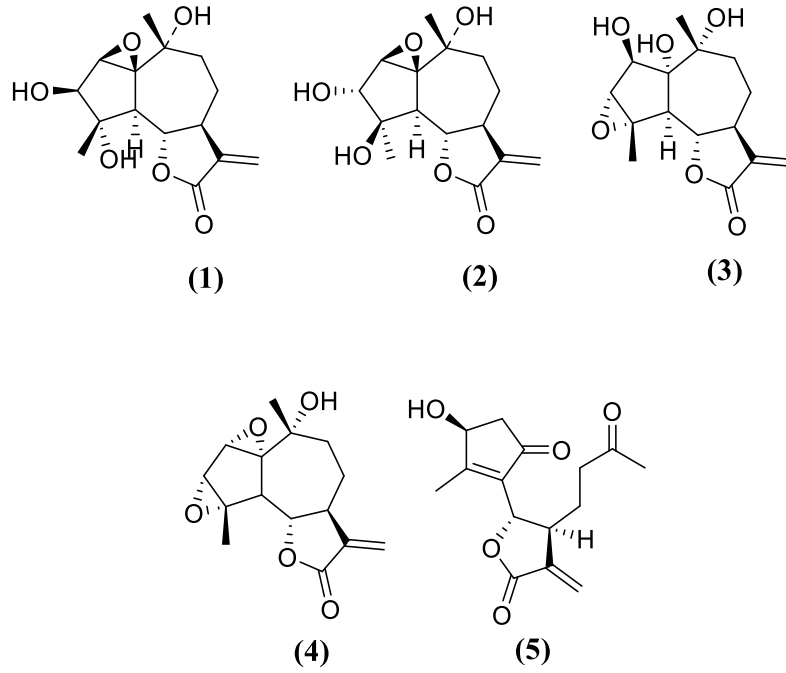
Çizelge 2.11. *Anthemis* türlerinden izole edilen seskiterpen laktonlar

Bileşik	Tür	Kaynak
(E)-1α,10β-Epoxy-3β-asetoksi-6α-hidroksigermakra-4,11(13)-dien-12, 8α-olit (1)	<i>carpatica</i>	Vajs ve diğerleri, 2000
(4E,9Z)-1α,6α-Dihidroksi-3β-asetoksigermakra-4,9,11(13)-trien-12,8α-olit (3β-asetoksideasetiltulirinol) (2)		
(4E,9Z)-1α, 6α, 3β-triasetoksigermakra-4,9,11(13)-trien-12,8α-olit(3β-asetoksi-tulirinol asetat) (3)		
Tulirinol (4)		
Tulirinol asetat (5)		
1β, 10α-Epoksikamissonin (6)		



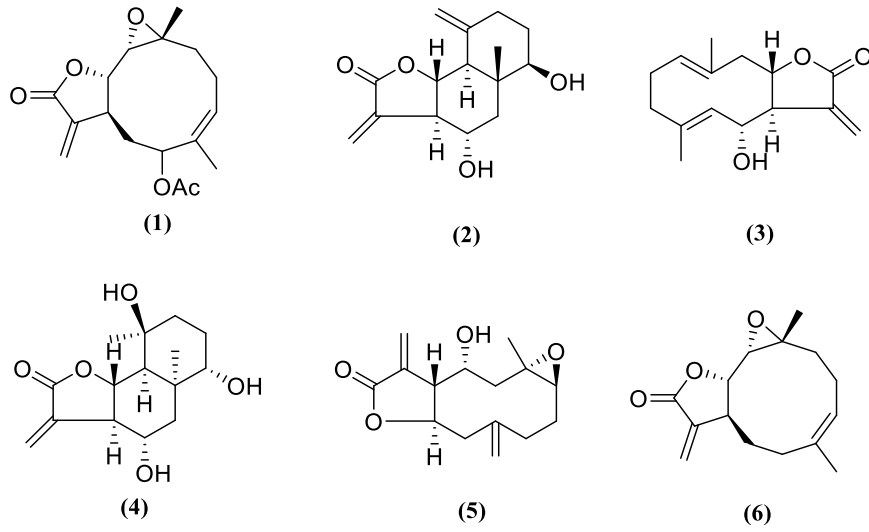
Çizelge 2.12. *Anthemis* türlerinden izole edilen seskiterpen laktonlar

Bileşik	Tür	Kaynak
(1S*, 2R* 5R*, 6R*, 7S*, 8R*, 9R*, 10S*)-2,9-diasetoksi-8,10-dihidroksiguaia-3,11(13)-dien-6, 12-olit (1)	<i>aetnensis</i>	Bruno, Banoi, Vassallo, Gedris ve Herz, 1997
(1S*, 2R*, 5R*, 6R*, 7S*, 8R*, 9R*, 10S*)-10-hidroksi-2,8,9-triasetoksiguaia-3,11(13)-dien-6,12-olit (2)		
Hidruntinolit A (3)		
Hidruntinolit B (4)		



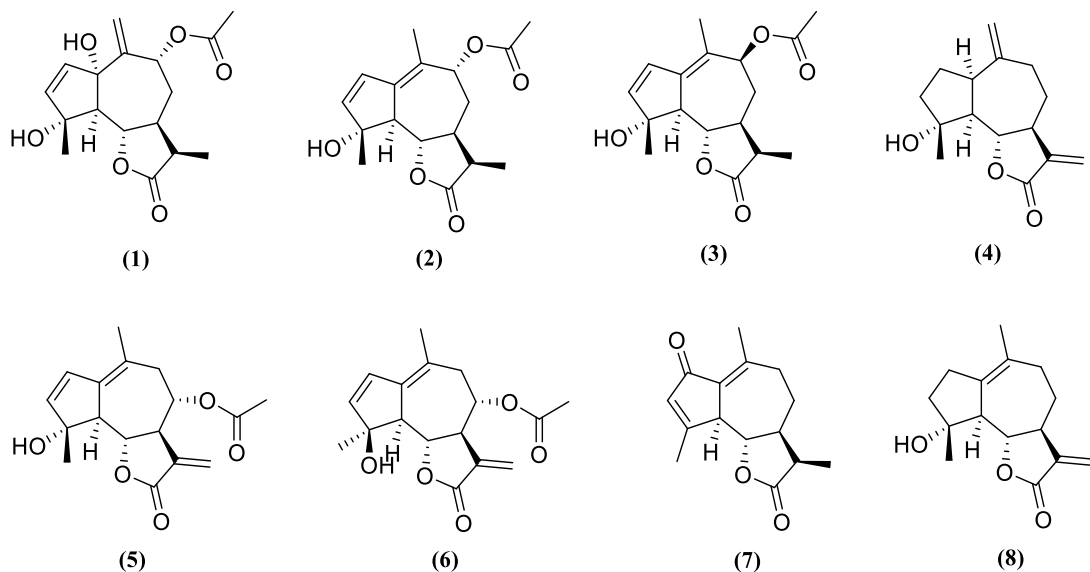
Çizelge 2.13. *Anthemis* türlerinden izole edilen seskiterpen laktonlar

Bileşik	Tür	Kaynak
1β,2β-epoksi-3β,4α,10α-trihidroksi-guayan-12,6α-olit (1)	<i>wiedemanniana</i>	Gonenc ve diğerleri, 2011
3α-kloro-4β,10α-dihidroksi-1β,2β-epoksi-5α,7αH-guai-11(13)-en-12,6α-olit (2)		
İzotansiloit (3)		
Kanin (4)		
Tanapartolit (5)		



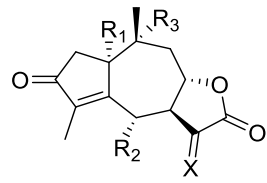
Çizelge 2.14. *Anthemis* türlerinden izole edilen seskiterpen laktonlar

Bileşik	Tür	Kaynak
9α-asetoksipartenolit (1)	<i>cretica</i> subsp. <i>petraea</i>	Venditti ve diğerleri, 2016
Dentatin A (2)	<i>melanolepis</i>	Saroglou, Karioti, Heilmann, Kypriotakis ve Skaltsa, 2007
Desasetillaurenobiolit (3)		
Melanolepin B (4)		
Melanolepin C (5)		
Partenolit (6)	<i>cretica</i> subsp. <i>petraea</i>	Venditti ve diğerleri, 2016

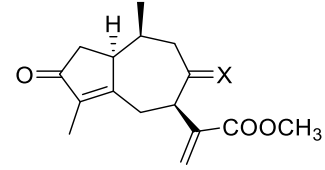


Çizelge 2.15. *Anthemis* türlerinden izole edilen seskiterpen laktonlar

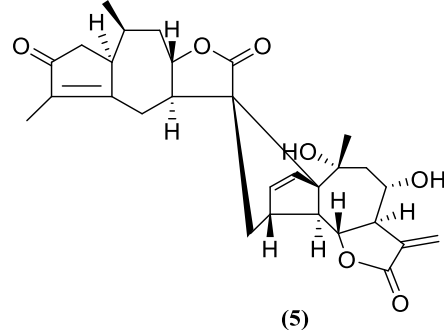
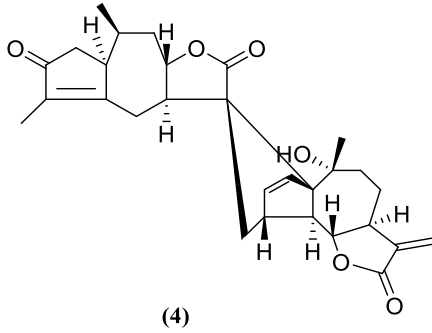
Bileşik	Tür	Kaynak
1 α ,4 α -dihidroksi-9 α -asetoksiguaya-10(14),2-dien-12,6 α -olit (1)	<i>scrobicularis</i>	Zaghloul, Yusufoglu, Salkini ve Alam, 2014
4 α -hidroksi-9 α -asetoksi-guaya-1(10),2-dien-12,6 α -olit (2)		
4 α -hidroksi-9 β -asetoksi-guaya-1(10),2-dien-12,6 α -olit (3)		
4 α -hidroksi-guaia-10(14),11(13)-dien-12,6 α -olit (4)		
8 α -asetoksi-4 α -hidroksiguaya-1(10),2,11(13)-trien-12,6 α -olit (5)	<i>segetalis</i>	Vuckovic ve diğerleri, 2010
8 α -asetoksi-4 β -hidroksiguaya-1(10),2,11(13)-trien-12,6 α -olit (6)	<i>scrobicularis</i>	Zaghloul ve diğerleri, 2014
Akillin (7)		
Mikeliolit (8)		



	R ₁	R ₂	R ₃	X
(1)	H	H	OH	α CH ₃ , H
(1a)	H	H	H	α CH ₃ , H
(2)	OH	H	H	CH ₂
(3)	H	OH	H	CH ₂
(6)	H	H	H	CH ₂



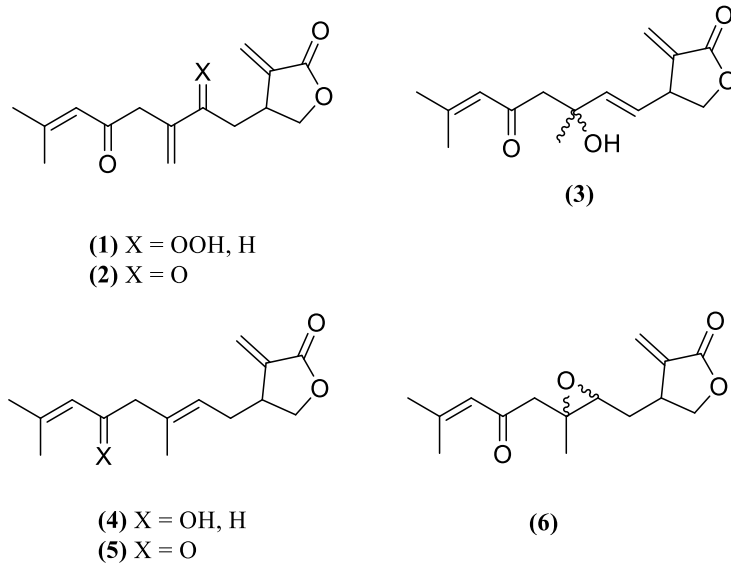
	X
(7)	O
(8)	H, α O-MeBut
(9)	H, α O-i-But
(10)	H, H



Çizelge 2.16. *A. austriaca* bitkisinden izole edilen seskiterpen lakton ve asitler

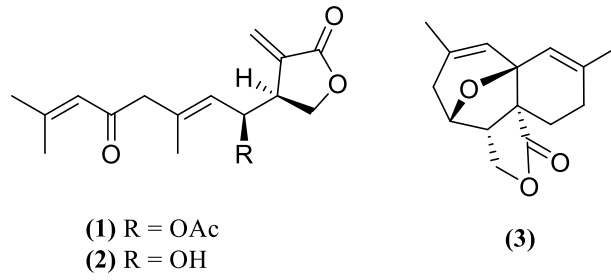
Bileşik	Tür	Kaynak
10 α -hidroksi-11 β ,13-dihidroksierantolit (1)	<i>austriaca</i>	Staneva, Trendafilova-Savkova, Todorova, Evstatieva ve Vitkova, 2004; Bohlmann, Hummel ve Laser, 1968; Bohlmann ve Zdero, 1971; Bohlmann ve Hopf, 1973
11 β ,13-dihidroksierantolit (1a)		
1 α -hidroksikserantholit (2)		
6 α -hidroksikserantholit (3)		
8 α -hidroksikserantemolit (4)		
Kserantemolit (5)		
Kserantolit (6)		
Metil 3,8-diokso-4,11(13)-guayadien-12-oat (7)		
Metil 8 α -(2-metil butanoiloksi)-3-okso-4,11(13)-guaiadien-12-oat (8)		
Metil- α -izobutiriloksi-3-okso-4,11(13)-guayadien-12-oat (9)		
Metil pekuolat (10)		

Linear seskiterpen laktonlar



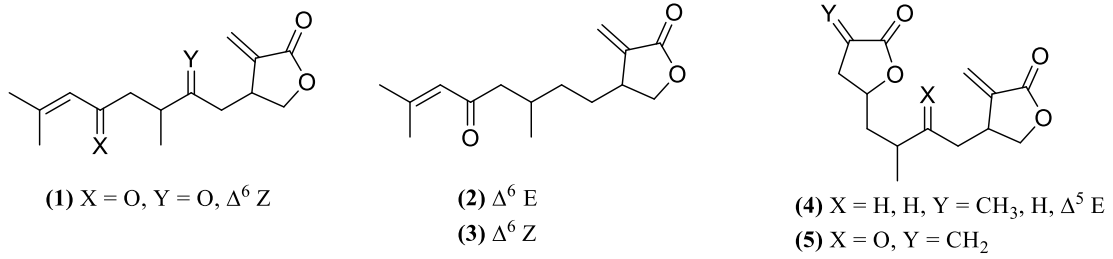
Çizelge 2.17. *Anthemis* türlerinden izole edilen linear seskiterpen laktonlar

Bileşik	Tür	Kaynak
5-hidroperoksi-6,13-dehidro-5,6-dihidroantekotuloit (1)	<i>cotula</i>	Staneva, Todorova ve Evstatieva, 2005; Vuckovic ve diğerleri, 2006a
5-okso-6,13-dehidro-5,6-dihidroantekotuloit (2)		
6-hidroksi-4,5-dehidro-5,6-dihidroantekotuloit (3)		Vuckovic ve diğerleri, 2006a
8-O-dihidroantekotuloit (4)		Staneva ve diğerleri, 2005; Vuckovic ve diğerleri, 2006a
Antekotuloit (5)	<i>auriculata</i>	Karioti ve diğerleri, 2009; Staneva ve diğerleri, 2005; Vuckovic ve diğerleri, 2006a
	<i>cotula</i>	
Antekotuloit-5,6-oksit (6)	<i>cotula</i>	Vuckovic ve diğerleri, 2006a



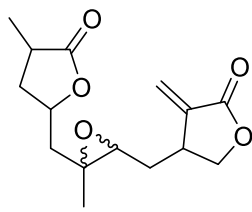
Çizelge 2.18. *Anthemis* türlerinden izole edilen linear seskiterpen laktonlar

Bileşik	Tür	Kaynak
4-asetoksiantekotulit (1)	<i>auriculata</i>	Karioti ve diğerleri, 2009
4-hidroksiantekotulit (2)		
Antekularin (3)		

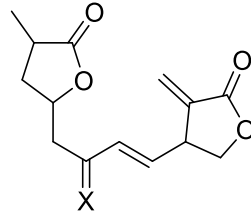


Çizelge 2.19. *Anthemis* türlerinden izole edilen linear seskiterpen laktonlar

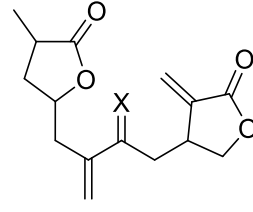
Bileşik	Tür	Kaynak
5-okso-6,7 Z-dehidro-5,6-dihidroantekotuloit (1)	<i>cotula</i>	Staneva ve diğerleri, 2005
6,7 E-dehidro-5,6-dihidroantekotuloit (2)	<i>arvensis</i> , <i>cotula</i>	Staneva ve diğerleri, 2005; Vuckovic ve diğerleri, 2006b
6,7 Z-dehidro-5,6-dihidroantekotuloit (3)		
Anteindurolit A (4)	<i>cotula</i>	Staneva ve diğerleri, 2005
Anteindurolit B (5)		



(1)



(2) X = OOH, CH₃
(3) X = OH, CH₃

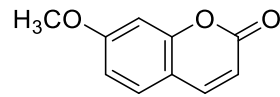


(4) X = OOH, H
(5) X = OH, H
(6) X = OAc, H
(7) X = O

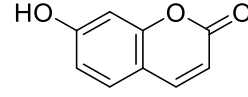
Çizelge 2.20. *Anthemis* türlerinden izole edilen linear seskiterpen laktonlar

Bileşik	Tür	Kaynak
(1)	<i>arvensis</i>	Vuckovic ve diğerleri, 2006b
(2)		
(3)		
(4)		
(5)		
(6)		
(7)		

Kumarinler



(1)

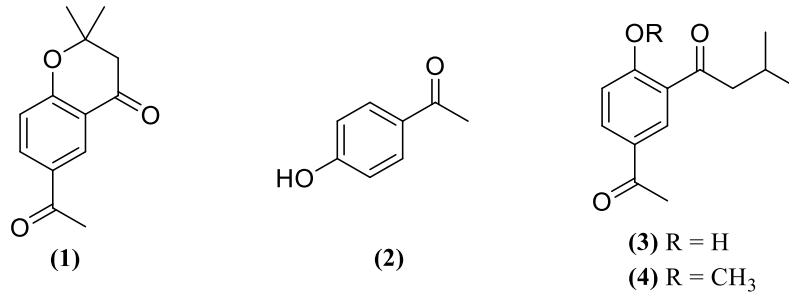


(2)

Çizelge 2.21. *Anthemis* türlerinden izole edilen kumarinler

Bileşik	Tür	Kaynak
4-metoksi kumarin (1)	<i>mirheydari</i>	Jassbi ve diğerleri, 2016
7-hidroksi kumarin (2)	<i>cretica</i> subsp. <i>petraea</i>	Venditti ve diğerleri, 2016

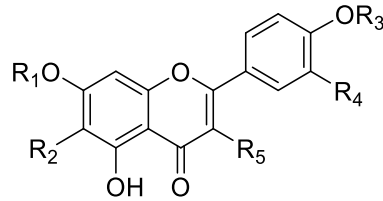
Asetofenonlar



Çizelge 2.22. *Anthemis* türlerinden izole edilen prenile asetofenonlar

Bileşik	Tür	Kaynak
2,2-dimetil-6-asetilkromanon (1)	<i>cotula</i>	Vuckovic ve diğerleri, 2006a
4'-hidroksi asetofenon (2)	<i>cretica</i> subsp. <i>petraea</i>	Venditti ve diğerleri, 2016
4-hidroksi-3-izovalerilasetofenon (3)	<i>cotula</i>	Vuckovic ve diğerleri, 2006a
4-metoksi-3-izovalerilasetofenon (4)		

Flavonoitler



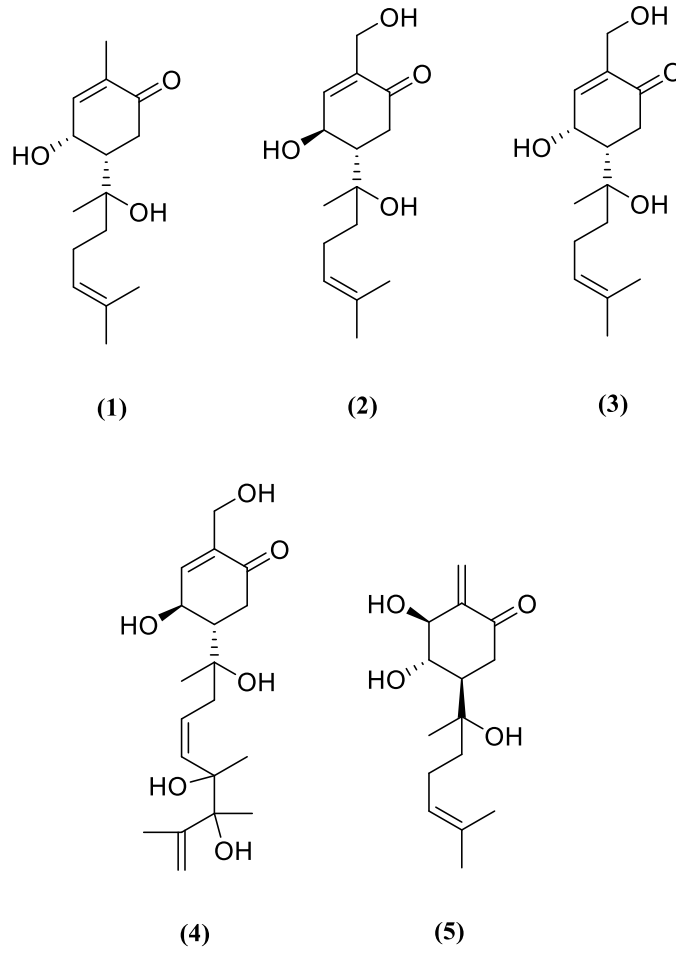
Çizelge 2.23. *Anthemis* türlerinden izole edilen flavonoitler

Bileşik	Tür	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	Kaynak
5-hidroksi-3',4',3,6,7-pentametoksiflavon	<i>wiedemanniana</i>	CH ₃	OCH ₃	CH ₃	OCH ₃	OCH ₃	Gonenc ve diğerleri, 2011
5-hidroksi-3',4',6,7-tetrametoksiflavon		CH ₃	OCH ₃	CH ₃	OCH ₃	H	
Apigenin	<i>cotula</i>	H	H	H	H	H	Vuckovic ve diğerleri, 2006a
Hispidulin		H	OCH ₃	H	H	H	

Çizelge 2.23. (devam) *Anthemis* türlerinden izole edilen flavonoidler

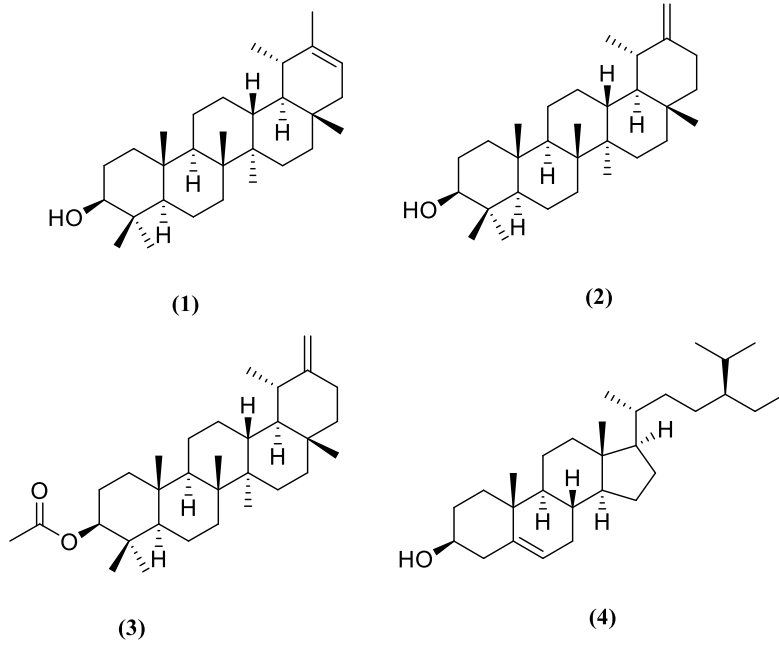
Bileşik	Tür	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	Kaynak
İzokersetin	<i>tinctoria</i>	H	H	H	OH	O-β-D-glukopiranozil	Papaioannou ve diğerleri, 2007
Kastisin	<i>wiedemanniana</i>	CH ₃	OCH ₃	CH ₃	OH	OCH ₃	Gonenc ve diğerleri, 2011
Nikotiflorin	<i>tinctoria</i>	H	H	H	H	O-α-L-ramnopiranozi l-(1→6)-β-D-glukopiranozil	Papaioannou ve diğerleri, 2007
Opatilin	<i>maritima</i>	H	OCH ₃	CH ₃	OCH ₃	H	Collu ve diğerleri, 2008; Gonenc ve diğerleri, 2011
	<i>wiedemanniana</i>						
Pektolinaringenin	<i>odontostephana</i> var. <i>odontostephana</i>	H	OCH ₃	CH ₃	H	H	Shokoohinia ve diğerleri, 2015
Rutin	<i>tinctoria</i>	H	H	H	OH	O-α-L-ramnopiranozi l-(1→6)-β-D-glukopiranozil	Papaioannou ve diğerleri, 2007
Salvigenin	<i>maritima</i>	CH ₃	OCH ₃	CH ₃	H	H	Collu ve diğerleri, 2008; Gonenc ve diğerleri, 2011; Shokoohinia ve diğerleri, 2015
	<i>odontostephana</i> var. <i>odontostephana</i>						
	<i>wiedemanniana</i>						
Santin	<i>rumelica</i>	H	OCH ₃	CH ₃	H	OH	Todorova ve diğerleri, 2011
Sentaureidin	<i>rumelica</i> , <i>ruthenica</i>	H	OCH ₃	CH ₃	OH	OH	Hajdu ve diğerleri, 2010; Todorova ve diğerleri, 2011
Sentauridin	<i>ruthenica</i>	H	OCH ₃	CH ₃	H	OH	Hajdu ve diğerleri, 2010
Sirsimaritin	<i>maritima</i>	CH ₃	OCH ₃	H	H	H	Collu ve diğerleri, 2008
Tamariksetin	<i>cretica</i> subsp. <i>petraea</i>	H	H	CH ₃	OH	OH	Venditti ve diğerleri, 2016

Sikloheksanon ve Siklohekzenonlar



Çizelge 2.24. *Anthemis* türlerinden izole edilen sikloheksanon ve siklohekzenonlar

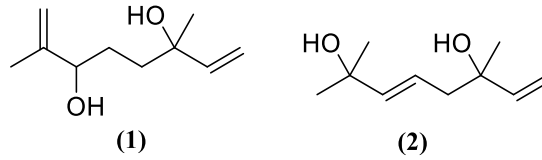
Bileşik	Tür	Kaynak
1-hidroksidelobanon (1)	<i>odontostephana</i> var. <i>odontostephana</i>	Shokoohinia ve diğerleri, 2015
Anteminon A (2)	<i>maritima</i>	Collu ve diğerleri, 2008
Anteminon A (3)	<i>odontostephana</i> var. <i>odontostephana</i>	Shokoohinia ve diğerleri, 2015
Anteminon B (4)	<i>maritima</i>	Collu ve diğerleri, 2008
Anteminon C (5)		



Çizelge 2.25. *Anthemis* türlerinden izole edilen steroid ve triterpen türevleri

Bileşik	Tür	Kaynak
Psödotaraksasterol (1)	<i>mirheydari</i>	Jassbi ve diğerleri, 2016;
Taraksasterol (2)	<i>austriaca</i>	Saroglou ve diğerleri, 2007; Staneva ve diğerleri, 2004
	<i>melanolepis</i>	
	<i>mirheydari</i>	
Taraksasterol asetat (3)	<i>austriaca</i>	Staneva ve diğerleri, 2004
β-sitosterol (4)	<i>austriaca</i>	Jassbi ve diğerleri, 2016;
	<i>mirheydari</i>	Staneva ve diğerleri, 2004

Alkol türevleri



Çizelge 2.26. *A. austriaca* bitkisinden izole edilen alkol türevleri

Bileşik	Tür	Kaynak
2,6-dimetil-1,7-oktadien-3,6-diol (1)	<i>austriaca</i>	Staneva ve diğerleri, 2004
3,7-dimetilokta-1,5-dien-3,7-diol (2)		

2.6.2. *Anthemis* türlerinin uçucu yağları üzerinde yapılan çalışmalar

Anthemis türleri üzerinde yapılan uçucu yağ çalışmaları Çizelge 2.27’de verilmiştir.

Çizelge 2.27. *Anthemis* türlerinden elde edilen uçucu yağların kimyasal bileşimi

Tür adı	Kullanılan kısım	Madde	% Bileşimi	Kaynak
<i>aciphylla</i> var. <i>aciphylla</i>	H	Santolinatrien	44,2	Mert Gonenc, Fafal Erdogan, Demirci, Baser ve Kivcak, 2012
		Metil kavikol	4,1	
		α -Terpineol	3,2	
<i>altissima</i> var. <i>altissima</i>	FL	Spatulenol	18,7	Rezaee, Jaimand ve Assareh, 2006; Samadi ve diğerleri, 2012
		Karyofillen oksit	9,3	
		1-Eikozen	7	
		Sabinen	6,2	
		α -terpineol	26,4	
		globulol	9,2	
		<i>n</i> -trikozan	4,4	
		terpinen-4-ol	4,1	
		1,8-sineol	3,8	
		β -pinen	6,30	
		<i>cis</i> -krizantenil asetat	5,36	
	F	Spatulenol	18,2	
		Karyofillen oksit	9,5	
		Metil heksadekanoat	8,0	
		İzokaryofillen	7,4	
<i>coelopoda</i> var. <i>bourgae</i>	H	β -Pinen	45,2	Mert Gonenc ve diğerleri, 2012
		Santolinatrien	14,8	
<i>cretica</i> ssp. <i>argaea</i>	H	β -pinen	14,6	Albay ve diğerleri, 2009
		α -pinen	14,3	
		Borneol	10,6	
		β -akorenol	6,5	
<i>cretica</i> subsp. <i>pontica</i>	H	β -Karyofillen	20,3	Kilic, Kocak ve Bagci, 2011
		Azulen	14,9	
		Spatulenol	6,0	
		Germakren D	5,8	
<i>marschalliana</i> ssp. <i>pectinata</i>	H	Spatulenol	21,7	Albay ve diğerleri, 2009
		Humulen epoksit II	5,9	
		B-pinen	4,8	
		α -bisabolol	4,6	

Çizelge 2.27. (devam) *Anthemis* türlerinden elde edilen uçucu yağların kimyasal bileşimi

Tür adı	Kullanılan kısım	Madde	% Bileşimi	Kaynak
<i>pseudocotula</i>	H	1,8-Sineol	39,4	Kilic ve diğerleri, 2011
		Kâfur	9,4	
		Artemisiaketon	5,7	
		Filifolen	5,2	
		α -Terpineol	4,7	
<i>triumfettii</i> subsp. <i>triumfettii</i>	FL	Elemol	15,8	Rezaee ve Jaimand, 2008
		α -Kopaen	8,6	
		Elemisin	7,9	
		Humulen oksit	8,0	
	F	α -Kopaen-8-ol	7,6	
		β -Ödesmol	7,2	
		α -Fenken	5,0	
		Ledol	4,2	
<i>wiedemanniana</i>	H	Elemol	4,0	Kivcak ve diğerleri, 2007
		Linalool	12,8	
		1,8-sineol	8,5	
		Hekzadekanoik asit	6,1	
		Krizantenon	5,7	

H: Toprak üstü kısım; FL: Çiçek; F: Yaprak

2.6.3. *Anthemis* türleri üzerinde yapılan biyolojik aktivite çalışmaları

Anti-enflamatuvar aktivite

A. aciphylla var. *aciphylla* Boiss. bitkisinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan etanol ve seskiterpen lakton ekstraktlarının anti-enflamatuvar aktivitesi, sıçanlarda karragen-nedenli arka ayak ödemi ve pamuk pelet granüloma oluşumu yöntemleri kullanılarak araştırılmıştır. Karragen-nedenli arka ayak ödemi modelinde, ekstraktların 50, 100 ve 200 mg/kg dozlarında intraperitoneal yolla uygulanması durumunda her iki ekstraktın da doza bağlı olarak anti-enflamatuvar etki gösterdiği belirlenmiştir. Pamuk pelet granüloma oluşumu yönteminde ise etanol ve seskiterpen lakton ekstraktlarının aynı dozlarda oral olarak uygulanması ile granüloma doku oluşumunu önemli derecede azalttığı tespit edilmiştir (Baltacı, Kolatan, Yılmaz ve Kivcak, 2011).

A. scrobicularis Yavin bitkisinin anti-enflamatuvar etkisinin değerlendirildiği bir çalışmada, toprak üstü kısımlardan hazırlanan metanol ekstresinin karragen-nedenli arka ayak ödemi

modelinde 250 mg/kg dozda %45, 500 mg/kg dozda ise %63 oranında anti-enflamatuvar etkiye sahip olduğu belirlenmiştir (Yusufoglu, Alam, Salkini ve Zaghloul, 2014).

Antimikrobiyal aktivite

A. xylopoda O. Schwarz bitkisinin yaprak ve çiçeklerinden elde edilen uçucu yağların *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Candida albicans*, *Candida krusei*, *Candida tropicalis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus faecalis*, *Salmonella typhimurium*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens* ve *Proteus vulgaris* suşlarına karşı antimikrobiyal etkisi disk difüzyon yöntemi kullanılarak araştırılmıştır. Çalışmada, çiçeklerden elde edilen uçucu yağın *B. subtilis*, *E. coli* ve *C. albicans*, *C. krusei* ve *C. tropicalis* türlerine karşı orta derecede; *B. cereus*, *S. aureus*, *S. faecalis*, *S. typhimurium*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *P. fluorescens* ve *P. vulgaris*'e karşı güçlü antimikrobiyal aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Yapraklardan elde edilen uçucu yağın ise *B. cereus*, *S. faecalis*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *P. vulgaris* ve *Candida* türlerine karşı orta derece antimikrobiyal aktivite gösterirken, *B. subtilis*, *S. aureus*, *P. fluorescens* ve *S. typhimurium* gibi bakterilere karşı güçlü antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Yapılan fitokimyasal analizlerde yaprak ve çiçeklerden elde edilen uçucu yağlarda borneol ana bileşen olarak tespit edilmiştir (Uzel, Guvensen ve Cetin, 2004).

Kivcak ve diğerleri tarafından yapılan bir çalışmada, *A. wiedemanniana* toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağın *B. cereus*, *B. subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *S. aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *E. coli*, *P. aeruginosa* ve *S. typhimurium* bakterileri üzerinde güçlü bakteriostatik etki gösterdiği belirlenmiştir (Kivcak ve diğerleri, 2007).

A. marschalliana ssp. *pectinata* (Boiss.) Grierson ve *A. cretica* ssp. *argaea* (Boiss. et Bal.) Grierson bitkilerinden elde edilen uçucu yağların *Yersinia pseudotuberculosis* ve *B. cereus* bakterileri üzerinde orta derecede antibakteriyel aktivite gösterdikleri tespit edilmiştir (Albay ve diğerleri, 2009).

A. altissima (L.) var. *altissima* çiçeklerinden elde edilen uçucu yağın ve ana iki bileşiğinin (α -terpineol, β -pinen) antibakteriyel aktiviteleri, Gram (+) bakterilerden olan *B. subtilis*, *S. aureus* ve *S. epidermidis* ile Gram (-) bakterilerden olan *E. coli*, *P. aeruginosa* ve *K. pneumoniae* üzerinde mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir. Çalışma

sonuçları, uçucu yağın geniş spektrumlu antibakteriyel aktivite gösterdiğini ve α -terpineolün β -pinenden daha yüksek antibakteriyel aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir (Samadi ve diğerleri, 2012).

Karioti ve diğerleri tarafından yapılan bir çalışmada, *A. auriculata* Boiss toprak üstü kısımlarından hazırlanan etil asetat ekstresinden izole edilen 4-hidroksi antekotulit isimli linear seskiterpen laktonun *Trypanosoma brucei rhodesiense*, *T. cruzi* ve *Leishmania donovani* parazitlerine karşı yüksek oranda öldürücü etkiye sahip olduğu belirlenmiştir (Karioti ve diğerleri, 2009).

De Mieri ve diğerleri tarafından yapılan benzer bir çalışmada, *A. nobilis* çiçeklerinden hazırlanan diklorometan ekstresinden izole edilen furanonobilin isimli seskiterpen laktonun *T. brucei rhodesiense* ve *L. donovani* üzerinde önemli ölçüde antiprotozoal aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir (De Mieri, Monteleone, Ismajili, Kaiser ve Hamburger, 2017).

Antioksidan aktivite

A. tinctoria L. subsp. *tinctoria* var. *pallida* DC. toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanol ekstrenin ve bu ekstreden izole edilen maddelerin antioksidan etkinliği 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) metodu ile test edilmiştir. Çalışmada, ekstrenin 0,1 mM konsantrasyonda %98,6 oranında antioksidan etki gösterdiği ve etkiden sorumlu maddenin yapılan kromatografik analizlerde konduritol F-1-O-(6'-O-E-p-kafeoil)- β -D-glukopiranozit olduğu belirlenmiştir (Papaioannou ve diğerleri, 2007).

Albayrak ve Aksoy tarafından yapılan bir çalışmada, *A. cretica* subsp. *argaea* (Boiss. & Balansa) Grierson ve *A. fumariifolia* Boiss. toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanol ekstrelerinin fosfomolibden, DPPH ve β -karoten-linoleik asit testleri üzerinde güçlü antioksidan kapasiteye sahip olduğu belirlenmiştir (Albayrak ve Aksoy, 2013).

A. deserti Boiss. bitkisinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan sulu metanollü ekstrenin antioksidan kapasitesi DPPH radikal süpürücü etki, demir şelasyon aktivite, süperoksit anyon süpürücü etki, total antioksidan kapasite ve lipid peroksidasyon inhibisyonu testleri kullanılarak değerlendirilmiştir. Hazırlanan ekstrenin test edilen tüm yöntemlerde güçlü

antioksidan etki gösterdiği, ayrıca fenolik madde içeriği değerlendirmesinde ekstrenin yüksek fenol içeriğine sahip olduğu belirlenmiştir (Shahat, Ibrahim ve Elsaid, 2014).

Lipoksijenaz inhibitör aktivitesi

A. tinctoria subsp. *tinctoria* var. *pallida* toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanol ekstrenin lipoksijenaz inhibitör aktivitesi soya fasülyesi lipoksijenazı üzerinde denenmiş ve ekstrenin lipoksijenaz enzimini konsantrasyona bağlı olarak önemli ölçüde inhibe ettiği tespit edilmiştir (Papaioannou ve diğerleri, 2007).

Hepatoprotektif aktivite

A. scrobicularis toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanol ekstresinin hepatoprotektif etkisi sıçanlarda karbon tetraklorür-nedenli karaciğer hasarı modelinde incelenmiştir. Çalışma sonuçları ekstrenin serum alanin aminotransferaz, aspartat aminotransferaz ve gama glutamil transpeptidaz seviyelerini önemli ölçüde azalttığını göstermiştir (Yusufoglu ve diğerleri, 2014).

Sitotoksik aktivite

Collu ve diğerleri tarafından yapılan bir çalışmada, *A. maritima* L. yapraklarından izole edilen üç siklohekzanon ve siklohekzenon türevi bileşiğin sitotoksik aktivitesi insan kanser hücre hatları üzerinde test edilmiştir. Sonuçlar immün sistem ile ilgili tüm hücre hatlarında (HL-60, U-937 ve Jurkat T) anteminon A ve C'nin gösterdiği sitotoksik aktivitenin anteminon B'ye göre daha yüksek olduğunu göstermiştir. Bununla birlikte, en yüksek etki HL-60 (lösemi) hücreleri üzerinde anteminon C ($IC_{50}=3,2\pm0,6 \mu M$) ile sağlanmıştır (Collu ve diğerleri, 2008).

A. auriculata bitkisinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan etil asetat ekstresinden izole edilen 4-hidroksi antekotulit'in $3,62 \mu g/mL$ IC_{50} değeriyle L6 hücre hattında en yüksek sitotoksik aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir (Karioti ve diğerleri, 2009).

Zaghloul ve diğerleri tarafından yapılan bir çalışmada, *A. scrobicularis* bitkisinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan kloroform ekstresinden izole edilen 4 α -hidroksi-guaya-10(14),11(13)-dien-12,6 α -olit ve mikeliolit bileşiklerinin HCT 116, HepG-2 ve MCF-7

hücre hatları üzerinde önemli derecede sitotoksik aktiviteye sahip oldukları belirlenmiştir (Zaghloul ve diğerleri, 2014).

Jassbi ve diğerleri tarafından yapılan bir çalışmada, *A. mirheydari* Iranshahr. bitkisinden hazırlanan diklorometan ve metanol ekstrelerinin sitotoksik aktivitesi 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromit kolorimetrik yöntemi kullanılarak insan kanser hücre hatlarına (LS180, MCF-7 ve MOLT-4) karşı test edilmiştir. Sonuçlar diklorometan ekstresinin LS180 (IC_{50} : $30,8 \pm 6,7$ $\mu\text{g/mL}$), MCF-7 (IC_{50} : $25,2 \pm 6,5$ $\mu\text{g/mL}$) ve MOLT-4 (IC_{50} : $8,6 \pm 1,1$ $\mu\text{g/mL}$) hücre hatlarına karşı önemli ölçüde sitotoksik aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir. Diklorometan ekstresinden çeşitli kromatografik yöntemler kullanılarak izole edilen taraksasterol ve psödotaraksasterol karışımının MOLT-4 hücre hattı üzerine gösterdiği sitotoksik aktivitenin diklorometan ekstresinin göstermiş olduğu sitotoksik aktiviteden daha yüksek olduğu rapor edilmiştir (Jassbi ve diğerleri, 2016).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Bitki materyali

Etnobotanik kayıtlarda halk arasında jinekolojik rahatsızlıklara karşı kullanıldığı belirlenen *Anthemis austriaca* Jacq., *Cichorium intybus* L., *Melilotus officinalis* (L.) Pall., *Mentha longifolia* (L.) Huds. ve *Urtica dioica* L. bitkilerinin toplanma yeri, tarihleri, teşhislerini yapan araştırmacılar ve herbaryum kayıtları ile ilgili bilgiler Çizelge 3.1’de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Çalışılan bitkiler ile ilgili bilgiler

Bitki	Familiya	Toplanma Yeri	Toplandığı Tarih	Teşhis Eden	Herbaryum Numarası
<i>Anthemis austriaca</i> Jacq.	Asteraceae	Ankara-Aksaray Yolu Tuz gölü çevresi	29.06.2014	Arş. Gör. Dr. Ufuk ÖZBEK*	GUEF3418
<i>Cichorium intybus</i> L.	Asteraceae	Polatlı-Yunak Yolu 30. km yol kenarı	21.06.2014	Prof. Dr. Hayri DUMAN**	GUEF3427
<i>Melilotus officinalis</i> (L.) Pall.	Fabaceae	Ankara-Bolu Yolu 60. km yol kenarları	06.07.2013	Prof. Dr. Hayri DUMAN**	GUEF3420
<i>Mentha longifolia</i> (L.) Huds.	Lamiaceae	Ankara-Bala Yolu Beynam Kavşağı ve Beynam ormanı yol kenarları	05.07.2015	Prof. Dr. Hayri DUMAN**	GUEF3475
<i>Urtica dioica</i> L.	Urticaceae	Kızılcahamam Belpınar köyü	06.07.2013	Prof. Dr. Hayri DUMAN**	GUEF3419

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

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

3.1.2. Kullanılan Cihazlar

Fitokimyasal analizler ve biyolojik aktivite deneylerinde kullanılan cihazlara ait bilgiler aşağıda verilmiştir:

Fraksiyon kollektörü:	:	Spectrum Labs CF-2
Mikrometre	:	Insize IP-65
Mikroplaka okuyucu	:	VersaMax Mikroplaka Okuyucu
Mikroskop	:	Leica CME
Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) Cihazı	:	Bruker Ascend 400 ve 500 MHz
Rotavapor	:	Buchi Rotavapor R-210
Santrifüj cihazı	:	Jouan MR-1822
Uçuş zamanlı kütle spektrometresi	:	LC-QTOF-MS Agilent G6550A

3.1.3. Kullanılan kimyasal maddeler ve sarf malzemeler

Kimyasal ve biyolojik aktivite deneylerinde kullanılan madde ve solvanlar ve bunların temin edildiği firmalar Çizelge 3.2.'de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Deneylerde kullanılan madde ve solvanlar

Madde/Solvan	Temin edildiği firma
<i>Buserelin asetat</i>	Receptal®
<i>Cerrahi iplik</i>	Lactasorb PGLA®, Orhan Boz, Türkiye
<i>Dötoro DMSO</i>	Sigma Aldrich 2206-27-1
<i>Dötoro kloroform</i>	Fisher Scientific 865-49-6
<i>Dötoro metanol</i>	Fisher Scientific 811-98-3
<i>EDTA</i>	Sigma Aldrich 60-00-4
<i>Etil asetat</i>	Fisher Scientific 141-78-6
<i>Formaldehit</i>	Merck 67-56-1
<i>FSH ölçüm kiti</i>	LifeSpan Biosciences®-LS-F6305
<i>Glutasyon</i>	Sigma Aldrich 70-18-8
<i>Glutasyon redüktaz</i>	Sigma Aldrich 9001-48-3
<i>HDL-C ölçüm kiti</i>	Siemens, Dimension, Flex reagent cartridge (DF48A)
<i>Hidrojen peroksit</i>	Merck 107209
<i>IL-6 ölçüm kiti</i>	BioSource®-MBS701221
<i>İTK plağı</i>	Sigma-Aldrich
<i>Karboksi metil selüloz</i>	Sigma-Aldrich 9000-11-7
<i>Ketamin hidroklorür</i>	Alfamine (%10)
<i>Kloroform</i>	Fisher Scientific 67-66-3, 64-17-5
<i>Ksantin oksidaz</i>	Sigma Aldrich 9002-17-9
<i>Ksilazin hidroklorür</i>	Alfazyne (%2)

Çizelge 3.2. (devam) Deneylerde kullanılan madde ve solvanlar

Madde/Solvan	Temin edildiği firma
<i>LDL-C ölçüm kiti</i>	Spinreact (Kat. No: 41023)
<i>Leptin ölçüm kiti</i>	BioVendor Kat. No: RD291001200R
<i>Letrozol</i>	Letrasan (Deva)
<i>LH ölçüm kiti</i>	LifeSpan Biosciences®-LS-F27508
<i>Malondialdehit</i>	Sigma Aldrich 122-31-6
<i>Metanol</i>	Fisher Scientific 67-56-1
<i>NADPH</i>	Sigma Aldrich 2646-71-1
<i>n-Butanol</i>	Sigma Aldrich 71-36-3
<i>n-Hekzan</i>	Fisher Scientific 110-54-3
<i>Östradiol ölçüm kiti</i>	BioVendor®- RTC009R
<i>Piridin</i>	Merck 110-86-1
<i>Progesteron ölçüm kiti</i>	LifeSpan Biosciences®-LS-F6394
<i>RP-18 silika jel</i>	Sorbtech 7631-86-9
<i>Silika jel</i>	Sorbtech 40930-25
<i>Sodyum dodesil sülfat</i>	Sigma Aldrich 151-21-3
<i>Sodyum hidroksit</i>	Merck 1310-73-2
<i>Sülfürik asit</i>	Sigma-Aldrich 7664-93-9
<i>Süperoksit dismutaz</i>	Sigma Aldrich 9054-89-1
<i>t-bütül hidroperoksit</i>	Sigma Aldrich 75-91-2
<i>Testosteron ölçüm kiti</i>	LifeSpan Biosciences®-LS-F7047
<i>TG ölçüm kiti</i>	Siemens, Dimension, Flex reagent cartridge (DF69A)
<i>Tiyobarbitirik asit</i>	Sigma Aldrich 504-17-6
<i>TK ölçüm kiti</i>	Siemens, Dimension, Flex reagent cartridge (DF27)
<i>TNF-α ölçüm kiti</i>	Cusabio®-CSB-E11987r
<i>Vanilin</i>	Sigma-Aldrich 121-33-5
<i>VEGF ölçüm kiti</i>	Cusabio®-CSB-E04757r

3.2. Yöntem

3.2.1. Kimyasal çalışmalar

Ekstraksiyon

Ön denemeler için ekstraktların hazırlanması

Toz edilen bitki materyallerinden 100'er g tartılarak sırasıyla 2'şer L *n*-hekzan, etil asetat (EtOAc) ve metanol (MeOH) ile 5 gün boyunca ekstre edildikten sonra süzüldü ve elde edilen ekstraktlar kendi aralarında birleştirilerek rotavaporda 40 °C'de alçak basınç altında yoğunlaştırıldı. Son olarak ekstraktlar vakumlu desikatöre konularak, tamamen kurumaları sağlandı. Elde edilen ekstraktların verim ve miktarları Çizelge 3.3'te verilmiştir.

Çizelge 3.3. Elde edilen ekstrelerin verimleri

Bitki	Kullanılan kısım	Ekstre	Verim (%)
<i>A. austriaca</i>	Çiçek	<i>n</i> -Hekzan	7,6
		Etil asetat	12,5
		Metanol	19,6
<i>C. intybus</i>	Toprak üstü kısım	<i>n</i> -Hekzan	6,3
		Etil asetat	11,7
		Metanol	16,5
<i>M. officinalis</i>	Toprak üstü kısım	<i>n</i> -Hekzan	5,7
		Etil asetat	11,2
		Metanol	18,4
<i>M. longifolia</i>	Toprak üstü kısım	<i>n</i> -Hekzan	6,3
		Etil asetat	3,9
		Metanol	10,1
<i>U. dioica</i>	Toprak üstü kısım	<i>n</i> -Hekzan	1,5
		Etil asetat	5,2
		Metanol	10,4

A. austriaca çiçeklerinden hazırlanan MeOH ekstresinin sıçanlarda oluşturulan endometriyoz modelinde, *n*-hekzan ekstresinin ise PKOS modeli üzerinde en yüksek aktiviteyi göstermeleri nedeniyle tez kapsamında çalışmaların bu ekstreler üzerinde yürütülmesine karar verilmiştir.

A. austriaca çiçeklerinden hazırlanan MeOH ekstresinden ters faz (RP-18) silika jel vakum sıvı ve silika jel kolon kromatografisi teknikleri kullanılarak aktif bileşiklerin izolasyonu

A. austriaca çiçeklerinden hazırlanan MeOH ekstresinin endometriyoz sıçan modelinde en yüksek aktiviteyi göstermesi nedeniyle aktiviteden sorumlu bileşik/lerin belirlenmesi amacıyla izolasyon çalışmaları yapılmıştır.

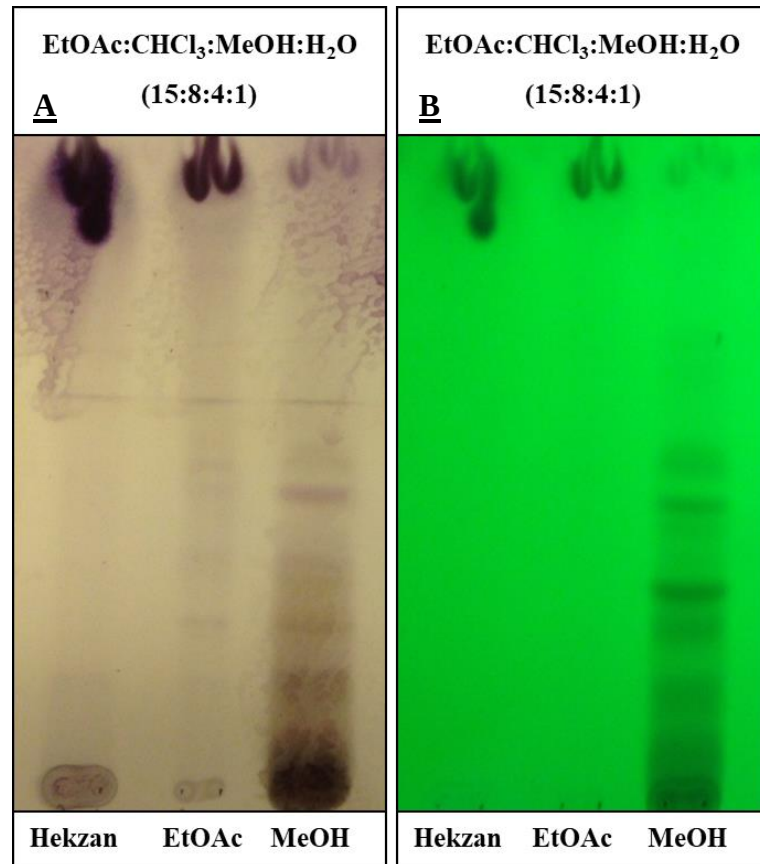
Çalışmalarımızda normal faz, silika jel kaplı alüminyum tabaka hazır plaklar kullanılmıştır.

Plak Özellikleri : Kieselgel 60 F₂₅₄ 0,2 mm; Merck; Art.5735

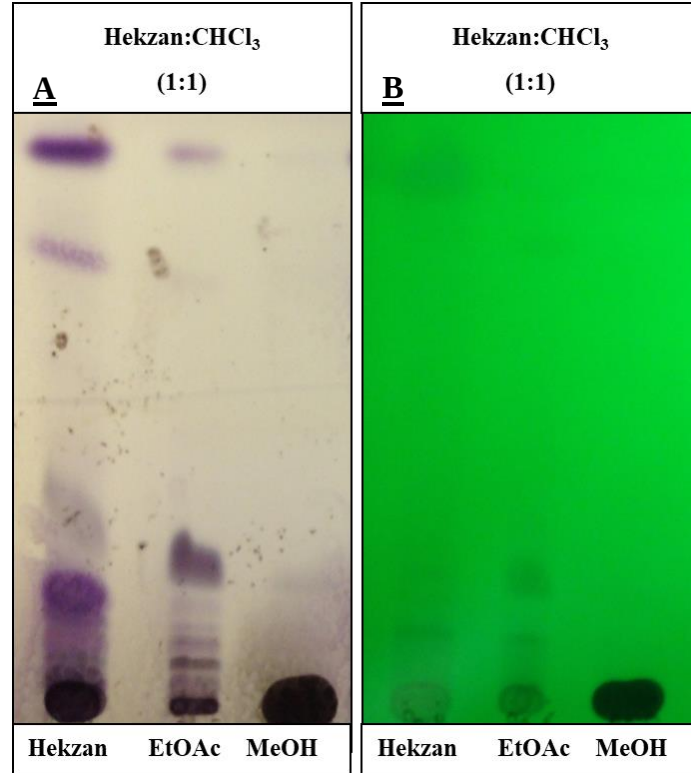
Solvan Sistemi : Etil asetat: Kloroform:Metanol: Su (15:8:4:1)

Revelatör : Vanilin-H₂SO₄ Reaktifi (t°C)

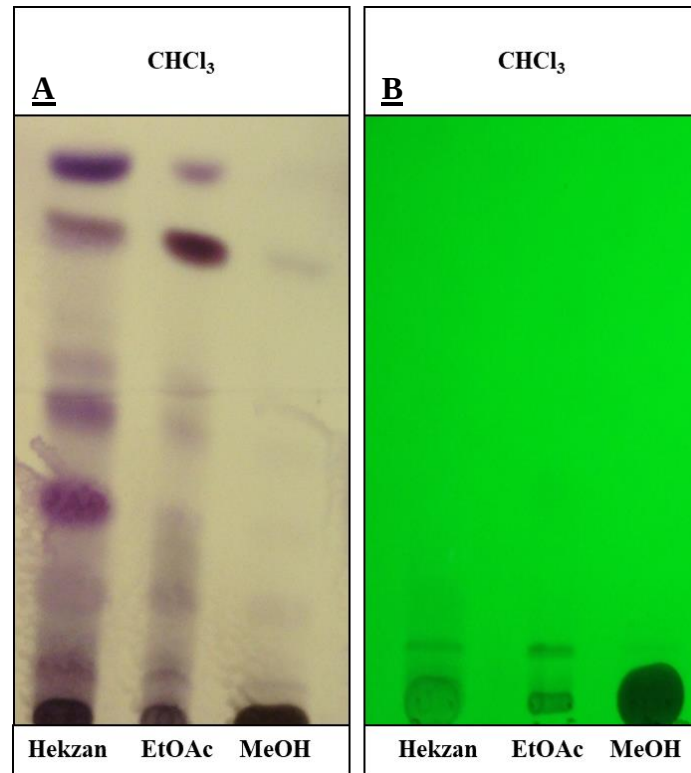
Plaklar UV lambası altında 254 ve 366 nm dalga boylarında incelenmiştir.



Resim 3.1. *A. austriaca* çiçeklerinden elde edilen ekstrelerin İTK profili
(A: Gün ışığı, B: 254 nm)



Resim 3.2. *A. austriaca* çiçeklerinden elde edilen ekstrelerin İTK profili
(A: Gün ışığı, B: 254 nm)



Resim 3.3. *A. austriaca* çiçeklerinden elde edilen ekstrelerin İTK profili
(A: Gün ışığı, B: 254 nm)

A. austriaca MeOH ekstresinin ince tabaka kromatografisi (İTK) profiline göre (Resim 3.1) polar bileşikler yönünden zengin olması nedeniyle bu ekstrenin RP-18 silika jel vakum sıvı kromatografisi ile fraksiyonlanmasına karar verilmiştir. Kullanılan kolon sisteminin özellikleri aşağıdaki gibidir:

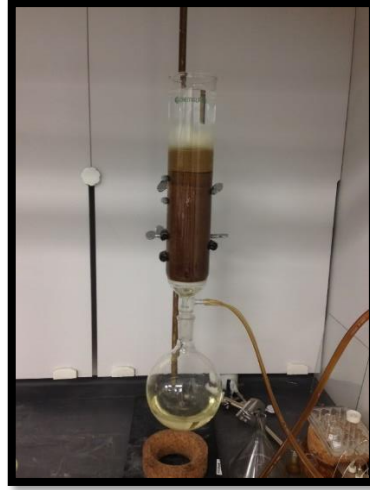
Kullanılan kolon sistemi

<u>Kolon Boyutları</u>	: 7 x 20 cm
<u>Adsorban</u>	: RP-18 Silika jel 40-75 µm, 60Å°
<u>Solvan Sistemi</u>	: H ₂ O:MeOH (100:0→ 0:100)
<u>Akış Hızı</u>	: 50 mL/dk
<u>Materyal</u>	: 20 g MeOH ekstresi

Fraksiyonların toplanması

Çizelge 3.4. RP-18 kolonda kullanılan solvan sistemi

Su	MeOH	Fraksiyon miktarı	Fraksiyon adedi
100	0	2 L	2
90	10	1 L	2
80	20	1 L	2
70	30	2 L	4
60	40	2 L	4
50	50	2 L	4
40	60	2 L	4
30	70	2 L	2
20	80	2 L	2
10	90	1 L	1
0	100	1 L	1



Resim 3.4. Vakum sıvı kromatografisi

RP-18 kolonun hazırlanması

800 g RP-18 silika jel yeterli miktarda MeOH ile karıştırılarak süspansiyon haline getirildi ve cam kolona dolduruldu. Daha sonra vakum uygulanarak RP-18 silika jelin kolona tam olarak yerleşmesi sağlandı (Resim 3.4). Bu işlemin ardından kolondan 2 L su ve 2 L MeOH geçirilerek kolon şartlandı.

20 g numune 40 g RP-18 silika jel ile homojen bir şekilde karıştırılarak kolona tatbik edildi. Kolondan alınan fraksiyonlar İTK ile kontrol edildi. İTK analizleri sonucunda aynı madde gruplarını içerdiği tespit edilen fraksiyonlar birleştirildi ve Fr. (1-6), Fr. (7-13), Fr. (14-20) ve Fr. (21-29) olmak üzere 4 fraksiyon elde edildi. Elde edilen fraksiyonlar üzerinde biyolojik aktivite ve fitokimyasal çalışmaların yapılabilmesi için yeterli miktar elde edilene kadar aynı işlem birkaç kez daha tekrarlandı. Yapılan biyolojik aktivite deneylerinde Fr. (1-6) ve Fr. (14-20) fraksiyonlarının yüksek aktivite gösterdiği tespit edildi. Fr. (1-6)'nın yapılan İTK analizinde saf olduğu belirlendi ve bu fraksiyonda yapı tayinine geçildi. Diğer aktif fraksiyon olan Fr. (14-20)'nin içerdiği maddelerin belirlenmesi amacıyla silika jel kolon kromatografisi tekniği kullanıldı.

Kullanılan kolon sisteminin özellikleri aşağıdaki gibidir:

Kullanılan kolon sistemi

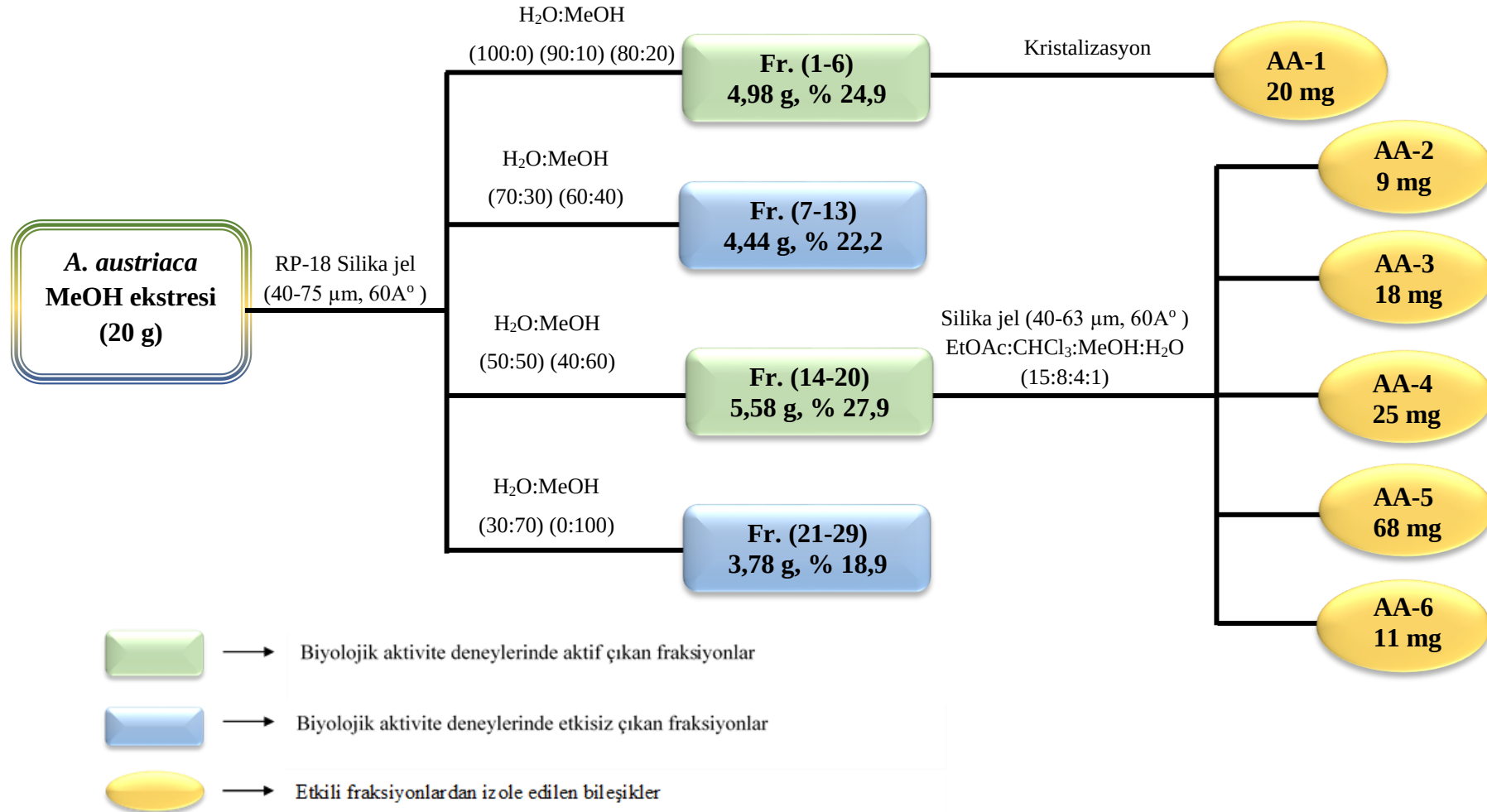
<u>Kolon Boyutları</u>	: 3 x 70 cm
<u>Adsorban</u>	: Silika jel (40-63 μm , 60A°)
<u>Solvan Sistemi</u>	: EtOAc:CHCl ₃ :MeOH:H ₂ O (15:8:4:1)
<u>Akış Hızı</u>	: 3 mL/dk
<u>Materyal</u>	: 3,5 g [Fr. (14-20)]

Silika jel kolonun hazırlanması

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

3,5 g numune 1 g silika jel ile homojen bir şekilde karıştırılarak kolona tatbik edildi. Kolondan alınan fraksiyonlar İTK ile kontrol edildi. Bu fraksiyondan 5 adet saf madde izole edildi.

MeOH ekstresinin fraksiyonlanma ve etkili bileşiklerinin izolasyon şeması Şekil 3.1’de verilmiştir.



Şekil 3.1. *A. austriaca* MeOH ekstresinden ters faz silika jel vakum sıvı ve silika jel kolon kromatografisi ile elde edilen fraksiyonlar/bileşikler

A. austriaca n-hekzan ekstresinden silika jel kolon kromatografisi tekniği kullanılarak aktif bileşiklerin izolasyonu

A. austriaca çiçeklerinden hazırlanan *n*-hekzan ekstresinin letrozol-nedenli PKOS sıçan modelinde yüksek aktivite göstermesi nedeniyle aktiviteden sorumlu bileşik/lerin belirlenmesi amacıyla izolasyon çalışmaları yapılmıştır.

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

<u>Plak Özellikleri</u>	: Kieselgel 60 F ₂₅₄ 0,2 mm; Merck; Art.5735
<u>Solvan Sistemi</u>	: Hekzan:CHCl ₃ (5:5)
<u>Revelatör</u>	: Vanilin-H ₂ SO ₄ Reaktifi (t°C)

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

A. austriaca *n*-hekzan ekstresinin İTK profilinde (Resim 3.2 ve 3.3) apolar bileşikler yönünden zengin olması nedeniyle bu ekstrenin silika jel kolon kromatografisi ile fraksiyonlanmasına karar verilmiştir. Kullanılan kolon sisteminin özellikleri aşağıdaki gibidir:

Kullanılan kolon sistemi

<u>Kolon Boyutları</u>	: 5 x 30 cm
<u>Adsorban</u>	: Silika jel (40-63 µm, 60A°)
<u>Solvan Sistemi</u>	: Hekzan:CHCl ₃ (10:0 → 0:10)
<u>Akış Hızı</u>	: 30 mL/dk
<u>Materyal</u>	: 5,97 g <i>n</i> -hekzan ekstresi

Silika jel kolonun hazırlanması

50 g silika jel yeterli miktarda kloroform ile karıştırılarak süspansiyon haline getirildi ve cam kolona hava boşluğu kalmayacak şekilde kolon kenarlarından yavaşça vurularak dolduruldu. Kolondaki adsorbanın iyice yerleşmesi için kolon ağzı kapatılarak 12 saat bekletildi. Bu işlemin ardından kolondan 1 L *n*-hekzan geçirilerek kolon şartlandı.

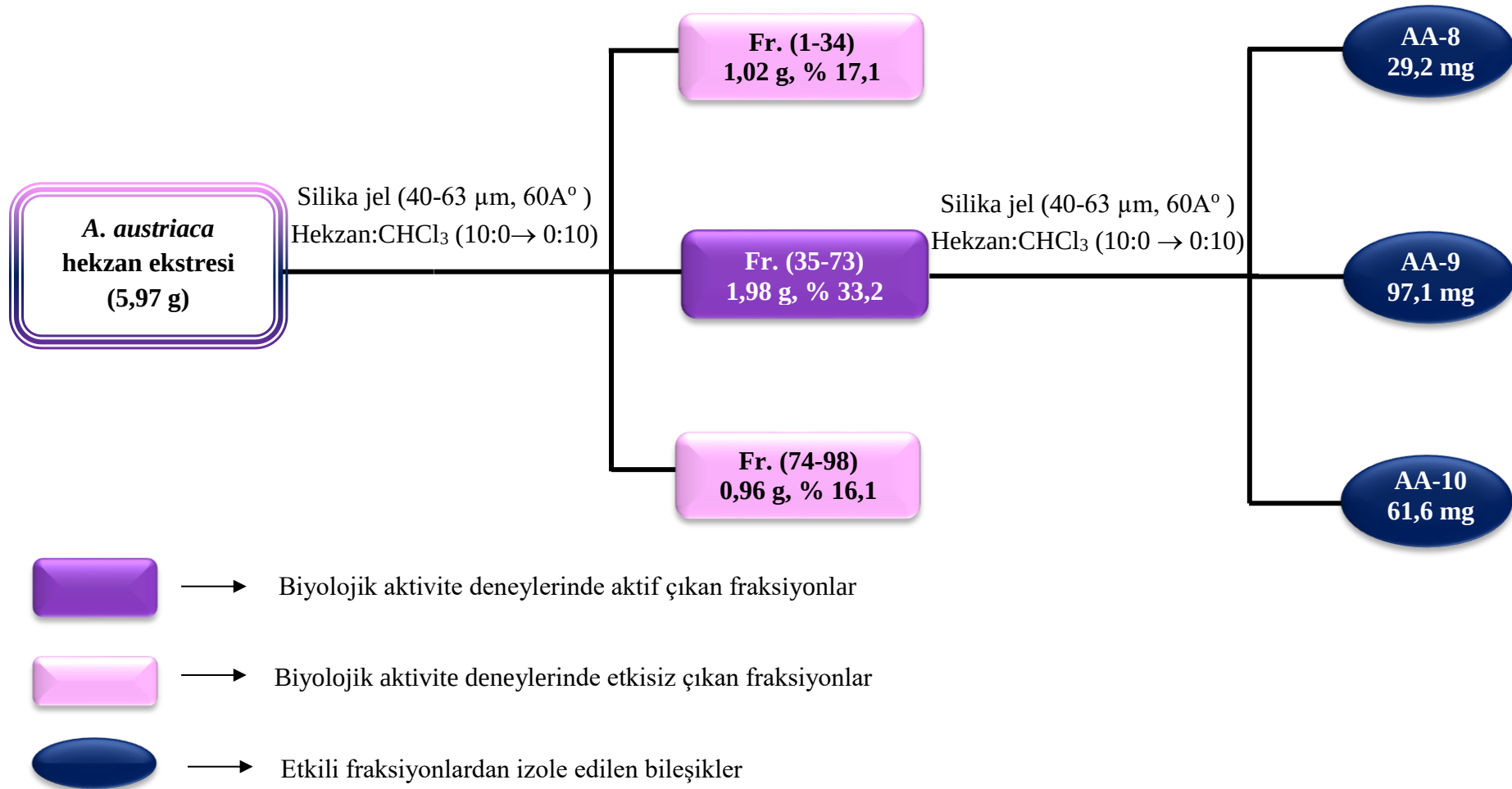
5,97 g numune 3 g silika jel ile homojen bir şekilde karıştırılarak kolona tatbik edildi. Kolondan alınan fraksiyonlar İTK ile kontrol edildi. İTK analizleri sonucunda aynı madde gruplarını içerdiği tespit edilen fraksiyonlar birleştirildi ve Fr. (1-34), Fr. (35-73) ve Fr. (74-98) olmak üzere 3 fraksiyon elde edildi. Elde edilen fraksiyonlar üzerinde biyolojik aktivite ve fitokimyasal çalışmaların yapılabilmesi için yeterli miktar elde edilene kadar aynı işlem birkaç kez daha tekrarlandı.

Yapılan biyolojik aktivite deneylerinde Fr. (35-73)'ün yüksek aktivite göstermesi nedeniyle bu fraksiyondan silika jel kolon kromatografisi tekniği kullanılarak ayırma işlemlerinin sürdürülmesine karar verildi. Analizdeki kromatografik şartlar aşağıda sunulmuştur.

Kullanılan kolon sistemi

<u>Kolon Boyutları</u>	: 3 x 30 cm
<u>Adsorban</u>	: Silika jel (40-63 μ m, 60A°)
<u>Solvan Sistemi</u>	: Hekzan:CHCl ₃ (10:0 → 0:10)
<u>Akış Hızı</u>	: 3 mL/dk
<u>Materyal</u>	: 3 g [Fr. (35-73)]

3 g Fr. (35-73), 1 g silika jel ile homojen bir şekilde karıştırılarak kolona tatbik edildi. Kolondan alınan fraksiyonlar İTK ile kontrol edildi ve 3 adet saf madde izole edildi. *A. austriaca* *n*-hekzan ekstresinin fraksiyonlanma ve etkili bileşiklerinin izolasyon şeması Şekil 3.2'de verilmiştir.



Şekil 3.2. *A. austriaca* n-hekzan ekstresinden silika jel kolon kromatografisi ile elde edilen fraksiyonlar/bileşikler

3.2.2. Yapı tayini çalışmaları

NMR Spektrumları

NMR spektrumlarının alınması için Bruker Ascend 400 ve 500 MHz NMR cihazları kullanılmıştır. Standart olarak tetrametilsilan kullanılmıştır.

Sıvı Kromatografisi- Uçuş Zamanlı Kütle Spektrometresi (LC-TOF-MS)

İzole edilen bileşiklerin kütle spektrumları için pozitif iyon elektrosprey iyonizasyon (ESI+) teknikleri kullanılmıştır. Analizdeki kromatografik şartlar aşağıda sunulmuştur.

Cihaz	: Waters LCT Premier XE UPLC/MS-TOF (Ultra performanslı sıvı kromatografisi)
Kolon	: Aquity BEH C18 (2,1 x 100 mm 1,7 µM)
Mobil faz	: Formik asit içeren (%0,1) asetronitril:su (1:90) gradient
Enjeksiyon hacmi	: 20 µL
Akış hızı	: 0,25 mL/dk
Dalga boyu	: 254 nm
Analiz süresi	: 5 dk
Yazılım	: MassLynx 4.1

LC-QTOF-MS: Agilent G6550A

İzole edilen bileşiklerin QTOF-MS spektrumlarının alınması için ESI+ teknikleri kullanılmıştır.

Cihaz	: Agilent G6550A
Kolon	: Poroshell 120 EC C18 kolon (3 x 50 mm)
Kolon sıcaklığı	: 35 °C
Enjeksiyon hacmi	: 1 µL
Akış hızı	: 0,4 mL/dk
Analiz süresi	: 15 dk
Mobil faz	: Bileşimi ve uygulanan gradient Çizelge 3.5'te verildiği gibidir.

Çizelge 3.5. LC-QTOF-MS hareketli faz bileşimi ve uygulanan gradient

Zaman (dk)	Su (%)	Asetonitril (%)
0,5	80	20
4,0	30	70
6,0	5	95
10,0	5	95
10,10	80	20
12,0	80	20

Cihaz kaynak parametreleri aşağıda verildiği gibidir:

Gaz Sıcaklığı (°C)	: 290
Gaz Akışı (L/dk)	: 14
Püskürteç (psig)	: 35
Dış (Kılıf) Gaz Sıcaklığı	: 350
Dış (Kılıf) Gaz Akışı	: 11

3.2.3. Biyolojik aktivite çalışmaları

Deney Protokolü

Deney hayvanları

Deneylerde Kobay firması Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Laboratuvarı'ndan temin edilen 200-250 g ağırlığında Wistar albino dişi sıçanlar kullanıldı. Hayvanların ortama adapte olabilmesi için deneye başlamadan önce laboratuvar şartlarında en az üç gün bekletildi. Bu bekleme süresince hayvanlar standart pellet yem ve su ile beslenerek 21-24 °C'deki oda sıcaklığında, %40-45 nem ve 12 saat aydınlık 12 saat karanlık uygulaması yapılan laboratuvarında barındırıldılar. Deneylerde her grupta altı hayvan kullanıldı.

Test Numunelerinin Hazırlanması

Biyolojik aktivite deney modellerinde, test numuneleri %0,5'lik sodyum karboksimetil selüloz (CMC) çözeltisi içerisinde, gerekli durumlarda ultrasonik banyo yardımıyla süspanse edilerek deney hayvanlarına özel mide gavajı vasıtasıyla oral yolla 100 mg/kg dozda uygulandı. Kontrol grubu hayvanlarına ise sadece test numunelerinin hazırlanmasında

kullanılan %0.5'lik CMC verildi. Endometriyoz deney modelinde test numuneleri 4 hafta boyunca, PKOS modelinde ise 45 gün boyunca sıçanlara uygulandı.

Referans madde

Referans madde olarak kullanılan buserelin asetat, deney süresi boyunca sıçanlara 20 mg/kg dozda haftada bir kere olmak kaydıyla subkütan olarak uygulandı.

In vivo aktivite deneyleri

Endometriyoz sıçan modeli

Endometriyoz sıçan modeli Vernon ve Wilson (1985) yöntemine göre yapılmıştır.

Proöstrus dönemindeki sıçanlar intraperitoneal yolla 1 mL ketamin hidroklorür (50 mg/mL) ve 1 mL ksilazin hidroklorür (20 mg/mL) uygulaması ile anesteziye alındı. Anestezi altındaki sıçanların abdomenleri tıraş edildikten sonra iyot çözeltisi ile dezenfekte edildi. Abdomene bistüri ile 3 cm'lik insizyon yapıldıktan sonra subkutan ve kas tabakaları ayrılarak abdomen açıldı. Sağ uterus kısmı çıkarıldı ve 15 mm'lik bir parça alındı. Bu parça boyuna açılarak endometriyum tabakası miyometriumdan ayrıldı. Alınan endometrial doku parçası aynı sıçanın abdominal duvarına dikildi. Abdomenin kas tabakaları ipek iplikle kapatıldı. İlk operasyondan 28 gün sonra ikinci operasyon yapılarak endometriyotik doku bölgeleri ve adezyonlar değerlendirildi. Endometrial implantların (Resim 3.5) boyutları yükseklik, en ve boy olarak mikrometre ile ölçülerek hesaplandı.

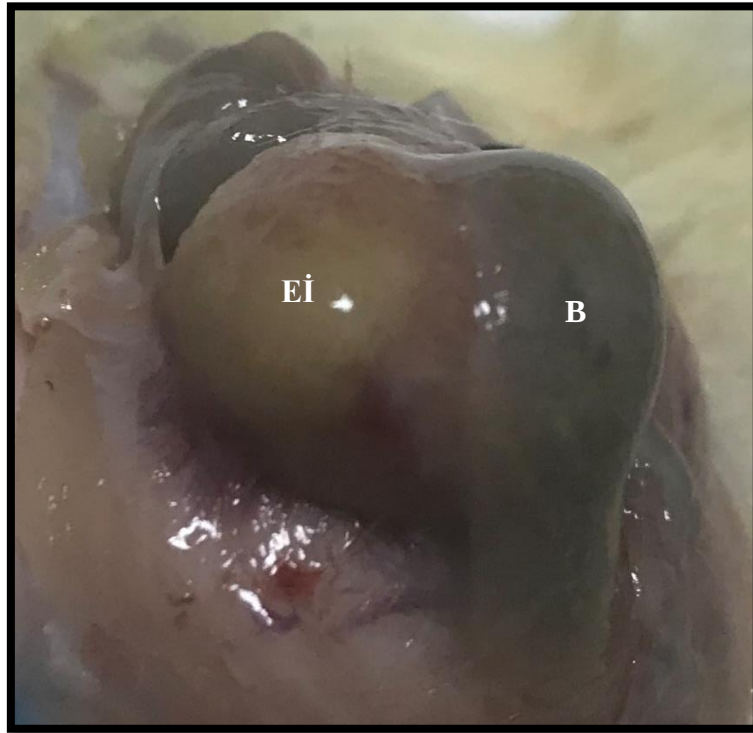


Resim 3.5. Endometriyotik implant görüntüsü

Elipsoit hacmi hesaplamak amacıyla “ $\pi/6 \times \text{en} \times \text{boy} \times \text{yükseklik}$ ” formülü kullanıldı (Altintas, Kokcu, Tosun, Cetinkaya ve Kandemir, 2008).

İntraabdominal adezyon (Resim 3.6) skorları aşağıda verilen Blauer’in skarlama sistemine göre değerlendirildi (Blauer ve Collins, 1988).

- 0: Adezyon yok
- 1: İnce adezyonlar
- 2: Bir bölgede kalın adezyon
- 3: Yayılmış kalın adezyon
- 4: İç organları da içine alan adezyon



Resim 3.6. Adezyon oluşmuş endometriyotik implant

(Eİ: Endometriyotik implant; B: Bağırsak)

Abdomen aynı prosedürle kapatıldıktan sonra kontrol grubu sıçanlarına %0,5 CMC, tedavi grubu sıçanlarına hazırlanan ekstreler ve fraksiyonlar 28 gün boyunca uygulandı. Referans grubuna ise buserelin asetat haftada bir kez subkütan olarak uygulandı. Tedavi sonrasında sıçanlar yüksek doz anestezi uygulaması ile öldürüldü ve endometriyotik doku boyutları ile adezyonlar tekrar değerlendirilerek önceki bulgularla karşılaştırıldı. Daha sonra bu dokular histopatolojik incelemeler için %10'luk formaldehitte sabitlendi (Kupeli Akkol ve diğerleri, 2015a).

PKOS Sıçan Modeli

Nonsteroidal aromataz inhibitörü olan letrozolün östrojen salınımını inhibe etmesi ile gelişen PKOS'un belirlenmesi amacıyla çalışmamızda Sasikala ve Shamila tarafından geliştirilen PKOS sıçan modeli kullanılmıştır (Sasikala ve Shamila, 2009).

Sıçanlarda PKOS oluşturmak amacıyla, %0,5 CMC içinde çözölen letrozol 21 gün boyunca günde 1 mg/kg dozda gastrik gavaj vasıtasıyla uygulandı (Kafali, Iriadam, Ozardali ve Demir, 2004; Rezvanfar ve diğerleri, 2012). PKOS oluşumunu takiben kontrol grubundaki sıçanlara 2 mL %0,5 CMC çözöltisi, tedavi grubundaki sıçanlara %0,5 CMC çözöltisi içinde süspanse edilerek hazırlanan ekstreler ve fraksiyonlar gastrik gavaj vasıtasıyla 100 mg/kg dozda 45 gün boyunca uygulandı. Referans grubuna ise haftada bir kere 20 mg dozda subkütan olarak buserelin asetat uygulandı. Son uygulamadan 24 saat sonra sıçanlar öldürüldü ve kalplerinden kan örnekleri alınarak FSH, LH, östradiol, testosteron, progesteron, total kolesterol, lipit, leptin, glukoz seviyeleri ile antioksidan aktivite parametrelerinin incelenmesi amacıyla -20°C'de dondurularak saklandı (Kupeli Akkol ve diğerleri, 2015b).

İn vitro aktivite deneyleri

Peritoneal sıvıda sitokin seviyelerinin ölçümü

Endometriyoz deney modelinde, sıçanlarda ikinci operasyonun gerçekleştirilmesi sırasında ve sıçanlar öldürüldükten sonra olmak üzere iki kez peritoneal sıvı alınarak vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), IL-6 ve TNF- α seviyeleri ölçüldü (Kupeli Akkol ve diğerleri, 2015a).

Peritoneal sıvıda VEGF, IL-6 ve TNF- α seviyelerinin ölçümü

Peritoneal sıvıda VEGF, IL-6 ve TNF- α seviyeleri ELISA kitler kullanılarak ölçüldü. Reajanlar, örnekler ve standartlar üretici talimatlarına göre hazırlandı. 100 μ L standart ve test numunesi 96 kuyucuklu plakanın her bir kuyucuğuna konuldu ve 37 °C'de 2 saat inkübasyona bırakıldı. Daha sonra her kuyucuktan sıvılar çıkarıldı ve kuyucuklara 100 μ L biotin antikor ilave edilerek 37 °C'de 1 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresinin ardından kuyucuklar 3 kez yıkama çözeltisi ile yıkandı. Yıkama işlemi tamamlandıktan sonra kuyucuklar boşaltıldı ve her kuyucuğa 100 μ L yaban turpu peroksidazı (HRP)-avidin ilave edilerek tekrar 37 °C'de 1 saat inkübasyona bırakıldı. Kuyucuklar boşaltılarak 5 kez yıkama çözeltisi ile yıkandı. Daha sonra 90 μ L 3,3',5,5'-tetrametilbenzidin (TMB) substratı eklendi ve 37 °C'de 30 dakika karanlık ortamda inkübasyona bırakıldı. Son olarak 50 μ L durdurma çözeltisi ilave edilip 450 nm'de ELISA mikropalak okuyucu ile okuma yapıldı.

Serum parametrelerinin ölçümü

PKOS deney modelinde sıçanlar öldürüldükten sonra göğüs kafesleri açıldı ve kalpten alınan kan örnekleri üzerinde FSH, LH, östradiol, testosteron, progesteron, lipid, leptin, glukoz seviyeleri ile antioksidan aktivite parametreleri aşağıda yazılan deneysel prosedürler uygulanarak incelendi (Kupeli Akkol ve diğerleri, 2015b).

Bu amaçla, alınan kan örneklerinden 5000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek serum ve plazmalar elde edildi. Plazma ve serumlar 1,5 mL'lik ependorf tüplere konularak ölçümler yapılmıncaya kadar -20 °C'de saklandı.

Serum FSH, testosteron ve progesteron seviyelerinin ölçümü

Serum FSH, testosteron ve progesteron seviyeleri ELISA kitler kullanılarak ölçüldü. Reajanlar, örnekler, standartlar ve kör, üretici talimatlarına göre hazırlandı. 50 μ L standart ve test numunesi 96 kuyucuklu plağın her bir kuyucuğuna konuldu ve hemen ardından 50 μ L reajan A eklenerek 37 °C'de 1 saat inkübasyona bırakıldı. Kuyucuklardan sıvılar çıkarıldı ve yıkama çözeltisi ile kuyucuklar 3 kez yıkandı. Ardından 100 μ L reajan B ilave edildi ve 37 °C'de 30 dakika inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresinin ardından kuyucuklar boşaltıldı ve yıkama çözeltisi ile 5 kez yıkandı. Yıkama işlemi tamamlandıktan sonra her

kuyucuğa 90 µL TMB substrat çözeltisi ilave edildi ve tekrar 37 °C’de 20 dakika inkübasyona bırakıldı. Son olarak 50 µL durdurma çözeltisi ilave edilerek 450 nm’de okuma yapıldı.

Serum LH seviyesinin ölçümü

Serum LH seviyeleri, Sandwich ELISA kit kullanılarak ölçüldü. Reajanlar, örnekler standartlar ve kör (fosfat tamponu) üretici talimatlarına göre hazırlandı. Kör çözeltinin hazırlanması amacıyla 50 µL fosfat tamponu kuyucuğa konularak üzerine 5 µL denge çözeltisi ilave edildi. Örnek ve standartlardan 50 µL kuyucuklara konuldu ve ardından kör hariç tüm kuyucuklara 100 µL HRP konjugatı ilave edildi ve 37 °C’de 1 saat inkübasyona bırakıldı. Kuyucuklar boşaltıldı ve yıkama çözeltisi ile 5 kez yıkandı. Ardından 50 µL substrat A ve 50 µL substrat B ilave edildi ve 37 ° C’de 15 dakika inkübe edildi. Son olarak 50 µL durdurma çözeltisi ilave edilerek 450 nm’de okuma yapıldı.

Serum östradiol seviyesinin ölçümü

Serum östradiol seviyeleri, ELISA kit kullanılarak ölçüldü. Reajanlar, örnekler ve standartlar üretici talimatlarına göre hazırlandı. 75 µL standart ve test numunesi kuyucuklara konuldu ve 50 µL inkübasyon tamponu ilave edildi. 2 saat oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldıktan sonra 50 µL enzim konjugatı ilave edilerek 1 saat oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı. Inkübasyon sürecinden sonra kuyucuklar boşaltılarak yıkama çözeltisi ile 4 kez yıkandı. Daha sonra 200 µL substrat çözeltisi ilave edildi ve 30 dakika boyunca karanlıkta inkübe edildi. Son olarak 50 µL durdurma çözeltisi ilave edilip 450 nm’de okuma yapıldı.

TK seviyesinin ölçümü

Kolesterol esterlerinin kolesterol esteraz enzimi etkisiyle serbest kolesterol ve yağ asitlerine dönüşmesi ve oluşan kolesterolün kolesterol oksidaz enziminin etkisiyle kolest-4-en-3-on ile H₂O₂’ye parçalanarak N, N dietilanilin-HCl/4-aminoantipirin (DEA-HCl/AAP) HRP varlığında okside olan DEA-HCl/AAP’yi oluşturması ve oluşan rengin 540 nm absorbansının ölçülmesi esasına dayanan bir yöntemdir (Bacak, 2010).

Serum TK düzeyleri, Dimension RL Max otoanalizör cihazı kullanılarak Afyon Kocatepe Üniversitesi (AKÜ) Tıp Fakültesi Biyokimya laboratuvarında ölçüldü. Bu deneyde, çok renkli uç nokta tekniği kullanılarak TK seviyesi mg/dL cinsinden hesaplandı.

TG tayini

Lipoprotein lipaz enzimi aracılığıyla trigliseritlerden açığa çıkan gliserolün, gliserol kinaz ile fosforilasyonu sonucu oluşan gliserol-3-fosfatın gliserol-3-fosfat oksidaz enzimi ile okside olarak dihidroksiaseton fosfat ve hidrojen peroksite dönüşmesi ve bundan 4-klorofenol ile H_2O_2 varlığında kuinoniminin oluşması, oluşan rengin 510 ve 700 nm’de absorbansının ölçülmesi esasına dayanan bir yöntemdir (Bacak, 2010).

Serum TG düzeyleri, Dimension RL Max otoanalizör cihazı kullanılarak AKÜ Tıp Fakültesi Biyokimya laboratuvarında ölçüldü. Bu deneyde, bikromatik uç nokta tekniği kullanılarak TG seviyesi mg/dL cinsinden hesaplandı.

HDL-C tayini

Esterleşmemiş kolesterolün N, N-bis (4-sulfobütil)-m-toluidin-disodyum (DSBmT) ile reaksiyonu sonucunda açığa çıkan renksiz ürününün kolesterol esteraz enzimi ile renkli bileşiğe dönüştürülmesi ile oluşan HDL-C miktarının ölçülmesi esasına dayanan bir yöntemdir (Bacak, 2010).

Serum HDL-C düzeyleri, Dimension RL Max otoanalizör cihazı kullanılarak AKÜ Tıp Fakültesi Biyokimya laboratuvarında ölçüldü. Bu deneyde, HDL-C seviyesi mg/dL cinsinden hesaplandı.

LDL-C tayini

Çok düşük dansiteli lipoprotein, HDL ve şilomikronların belirli koşullar altında parçalanarak LDL-C’ye dönüştürülmesi ve bundan enzim ve surfaktanlar yardımı ile renkli bileşiklerin oluşturularak absorbansının ölçülmesi esasına dayanan bir yöntemdir (Bacak, 2010).

Serum LDL-C düzeyleri, Hitachi Moduler otoanalizör cihazı kullanılarak AKÜ Tıp Fakültesi Biyokimya laboratuvarında ölçüldü. LDL-C düzeyi mg/dL cinsinden ölçüldü.

Plazma leptin düzeyinin ölçülmesi

Plazma leptin düzeyleri ELISA kit kullanılarak ölçüldü. Reajanlar, örnekler ve standartlar üretici talimatlarına göre hazırlandı ve kuyucuklara 100 µL ilave edilerek 1 saat inkübe edildi. Kuyucuklar boşaltılarak yıkama çözeltisi ile yıkandı. Yıkama işleminden sonra kuyucuklara 100 µL biotinle işaretlenmiş antikor çözeltisi eklendi ve 1 saat inkübe edildi. Kuyucuklar yıkama çözeltisi ile 3 kez yıkandıktan sonra üzerine 100 µL streptavidin-HRP konjugatı eklenerek 30 dakika inkübe edildi ve yıkandı. Yıkamadan sonra 100 µL substrat çözeltisi ilave edilerek 10 dakika inkübe edildi. Son olarak 100 µL durdurma çözeltisi ilave edilerek 450 nm’de okuma yapıldı.

Antioksidan parametrelerin değerlendirilmesi

Serum malondialdehit (MDA) düzeyinin tayini

Aerobik şartlarda örnek ile tiyobarbitürik asitin (TBA) pH 3,40’ta 90-95 °C sıcaklıkta inkübasyonu sonrasında meydana gelen ve lipid peroksidasyonunun ikincil ürünü olan MDA’nın TBA ile pembe renkteki kompleks oluşturması esasına dayanır. Oluşan bu renk şiddeti ile ortamda bulunan MDA konsantrasyonu doğru orantılıdır. MDA düzeyi 532 nm’de spektrofotometrik olarak ölçülerek hesaplanır (Güngör, 2013; Ohkawa, Ohishi ve Yagi, 1979).

Standart ve test numunelerinden 100 µL tüplere alındı ve üzerlerine 200 µL %8,1’lik sodyum dodesil sülfat, 1500 µL %20’lik asetik asit, 1500 µL %0,6’lık tiyobarbitürik asit ilave edilip karıştırıldı. Daha sonra kör tüpüne 800 µL, standart ve test numunesi tüplerine 700 µL distile su ilave edilerek 90 °C sıcaklıkta 1 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresinin ardından her tüpe 1000 µL distile su ve 5000 µL *n*-butanol/piridin çözeltisi ilave edildi. Örnekler 4000 rpm’de 10 dakika santrifüj edildi, üstteki kısım alınarak 532 nm’de spektrofotometrik olarak absorbansı okundu.

Serum süperoksit dismutaz (SOD) aktivite tayini

SOD, süperoksit radikalının H₂O₂ ve moleküler oksijene dönüşüm reaksiyonunu katalizleyen bir enzimdir. SOD aktivite tayini belirlenirken kullanılan yöntemin esası, ksantin ve ksantin oksidaz kullanılarak oluşturulan süperoksit radikallerinin, 2-[4-

iyodofenil]-3-[4-nitrofenol]-5-feniltetrazoliyum klorit (INT) ile kırmızı renkli formazan boyasını oluşturmaktadır. Bu deneyde, test numunesinin içinde bulunan SOD, süperoksit radikallerini ortamdan uzaklaştırarak formazan reaksiyonunun inhibisyonuna neden olur. 505 nm’de spektrofotometrik olarak ölçülen kırmızı rengin şiddeti SOD yokluğunda oluşan renge göre daha azdır (Fridovich, 1974; Güngör, 2013).

Standart ve test numunelerinden 25’er µL tüplere alındı. Kör olarak belirlenen tüpe 25 µL 0,01 M fosfat tamponu konuldu. Daha sonra tüm tüplere 850 µL substrat karışımı ilave edilip iyice karıştırıldı ve 125 µL ksantin oksidaz ilave edilerek tekrar karıştırıldı. 30 saniye sonra kör, standart ve test numunelerinin 505 nm dalga boyunda başlangıç absorbansları (A_1) okundu. 3 dakika sonra son absorbansları (A_2) tekrar okundu. Çalışma körü SOD içermediği için inhibisyona uğramamış reaksiyon olarak kabul edildi ve değeri %100 olarak alındı. SOD aktivitesi aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

$$\Delta A/\text{dakika örnek} = A_2 - A_1 / 3 \text{ dakika}$$

$$\% \text{ inhibisyon} = 100 - \frac{\Delta A/\text{dakika örnek} \times 100}{\Delta A/\text{dakika çalışma körü}}$$

Standartlardan yapılan ölçümler sonucunda yatay eksene SOD (U/mL), düşey eksene % inhibisyon değerleri gelecek şekilde standart eğrisi hazırlanmış ve bu eğri kullanılarak örneklerin SOD ölçüm değerleri U/mL olarak hesaplanmıştır.

Substrat karışımının hazırlanışı: 0,0007 g 0.05 mM ksantin ve 0,0012 g INT alındı ve N-sikloheksil-3-aminopropanesülfonik asit (CAPS) tamponu ile 100 mL’ye tamamlandı.

CAPS tamponu hazırlanışı: 1,1065 g 50 mM CAPS, 0,035 g EDTA ve 11,1 µL doymuş sodyum hidroksit karıştırılıp distile su ile 100 mL’ye tamamlandı.

Serum katalaz (CAT) aktivite tayini

Katalaz enzimi H_2O_2 ’nin su ve oksijene dönüşümünü katalize eder. H_2O_2 ’nin CAT tarafından gerçekleştirilen yıkım hızı, oluşan H_2O_2 ’nin 230 nm’de absorbansının spektrofotometrik olarak ölçümü esasına dayanır (Beutler, 1976; Güngör, 2013).

Deney tüplerine 50'şer μL 1M Tris-HCl, 5mM Na_2EDTA tamponu konularak pH'sı 8.0'e ayarlandı. Üzerine 900 μL 1mM hidrojen peroksit ile 30 μL distile su ilave edildi ve 37 °C'de 10 dakika inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonun ardından standart ve test numunelerinden 20'şer μL tüplere konuldu. 37 °C'de 230 nm'de 0., 150. ve 300. saniyelerde absorbans değerleri ölçülerek CAT aktivitesi aşağıdaki formüle göre hesapladı:

$$\text{CAT Aktivitesi (U/mL)} = \frac{\Delta A \times 50}{0,071}$$

ΔA : Absorbans değişimi

Serum glutatyon peroksidaz (GPx) tayini

GPx, H_2O_2 tarafından indirgenmiş glutatyonun (GSH) yükseltgenmiş glutatyona (GSSG) oksidasyonunu katalize eder. GPx aktivitesi, NADPH'in NADP^+ 'ya oksitlenmesi sırasındaki absorbans farkının 340 nm'de okunması ile ölçülür (Beutler, 1976; Güngör, 2013).

Deney tüplerine 100'er μL 1M tris tamponu, 20 μL 0,1M GSH, 100 μL 10 U/L glutatyon redüktaz ile 10 μL standart ve test numuneleri ilave edildi. Üzerinde 100 μL 2mM NADPH, 670 μL distile su ilave eklenerek 37 °C'de 10 dakika inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonun ardından 10 μL t-bütil hidroperoksit ilave edildi. Daha sonra 37 °C'de, 340 nm dalga boyunda oluşan tepkimenin absorbans değişikliği 5 dakika boyunca dakikada bir kere ölçülerek dakikadaki değişim hesaplandı. GPx aktivitesi aşağıdaki formüle göre hesaplandı:

$$\text{GPx aktivitesi (U/mL)} = \frac{\Delta A / \text{dakika} \times 100}{6,22}$$

Histopatolojik İncelemeler

Histopatolojik incelemeler için endometriyotik implantlar ve uterus dokularından alınan örnekler %10'luk formaldehit çözeltisi içerisinde tespit edilerek rutin doku takibine alındı ve parafinde bloklandı. Parafin bloklardan alınan 5 μm kalınlığındaki kesitler hematoxilen-eozin (HE) boyası ile boyanarak ışık mikroskopunda (Olympus CX41 bağlı Kameram® Dijital Image Analiz Sistemi) incelendi. Endometriyotik implant dokularında endometriyal

glandların sayısı ve büyüklüğü incelenirken, PKOS dokularında kistik foliküllerin sayısı, korpus luteum ve germinal epitel durumları incelendi.

3.2.4. İstatistiksel analiz

İstatistiksel analizlerde GraphPad Prism 6.0 (San Diego, CA, USA) programı kullanıldı. Tüm parametrelerde ANOVA testi yapıldı ve ardından Dunnett testi uygulandı.

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

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

4. BULGULAR

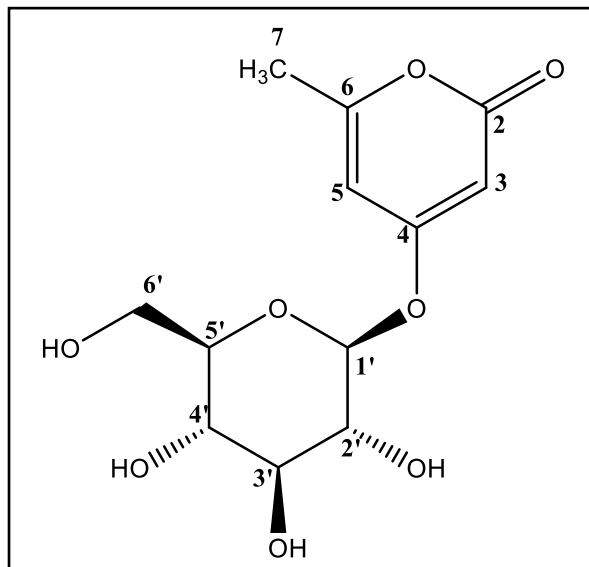
4.1. Kimyasal Deney Bulguları

4.1.1. Yapı tayini

Endometriyoz ve PKOS sıçan modelleri üzerinde etkili olduğu belirlenen *Anthemis austriaca* çiçeklerinden elde edilen ekstre ve fraksiyonlar üzerinde çeşitli kromatografik yöntemler kullanılarak etkiden sorumlu olduğu düşünülen bileşiklerin izolasyonu yapılmıştır. İzole edilen bileşiklerin yapısı çeşitli spektroskopik yöntemler (^1H -NMR, ^{13}C -NMR, DEPT-135, COSY, HSQC, HMBC) kullanılarak aydınlatılmıştır.

İzole edilen tüm bileşiklerin Türkçe isimleri ve İngilizce karşılıkları literatür takibini kolaylaştırması amacıyla aşağıda liste halinde verilmiştir.

<u>Bileşik</u>	<u>Türkçe</u>	<u>İngilizce</u>
AA-1	4-(β -D-glukopiranoziloksi)-6-metil-methyl-2H-piran-2-on	4-(β -D-glucopyranosyloxy)-6-2H-pyran-2-one
AA-2	Kersetin	Quercetin
AA-3	Apigenin-7-O-(3"-asetil)- β -D-glukopiranozit	Apigenin-7-O-(3"-acetyl)- β -D-glucopyranoside
AA-4	Apigenin-7-O-(6"-asetil)- β -D-glukopiranozit	Apigenin-7-O-(6"-acetyl)- β -D-glucopyranoside
AA-5	Apigenin-7-O- β -D-glukopiranozit	Apigenin-7-O- β -D-glucopyranoside
AA-6	Kersetin-7-O- β -D-glukopiranozit	Quercetin-7-O- β -D-glucopyranoside
AA-7	β -sitosterol 3-O- β -D-glukopiranozit	β -sitosterol 3-O- β -D-glucopyranoside
AA-8	β -amirin palmitat	β -amyrin palmitate
AA-9	Taraksasterol asetat	Taraxasterol acetate
AA-10	Taraksasterol	Taraxasterol

[AA-1] 4-(β -D-glukopiranoziloksi)-6-metil-2H-piran-2-on4-(β -D-glukopiranoziloksi)-6-metil-2H-piran-2-onC₁₂H₁₆O₈ (Mol. Ağ. : 288)

Rensiz amorf toz

¹ H-NMR (400 MHz, CD ₃ OD)	Şekil 4.1, Çizelge 4.1
¹³ C-NMR (100 MHz, CD ₃ OD)	Şekil 4.2, Çizelge 4.1
HSQC (500 MHz, CD ₃ OD)	Şekil 4.3
HMBC (500 MHz, CD ₃ OD)	Şekil 4.4 ve 4.5
ESI-MS (m/z)	Şekil 4.6

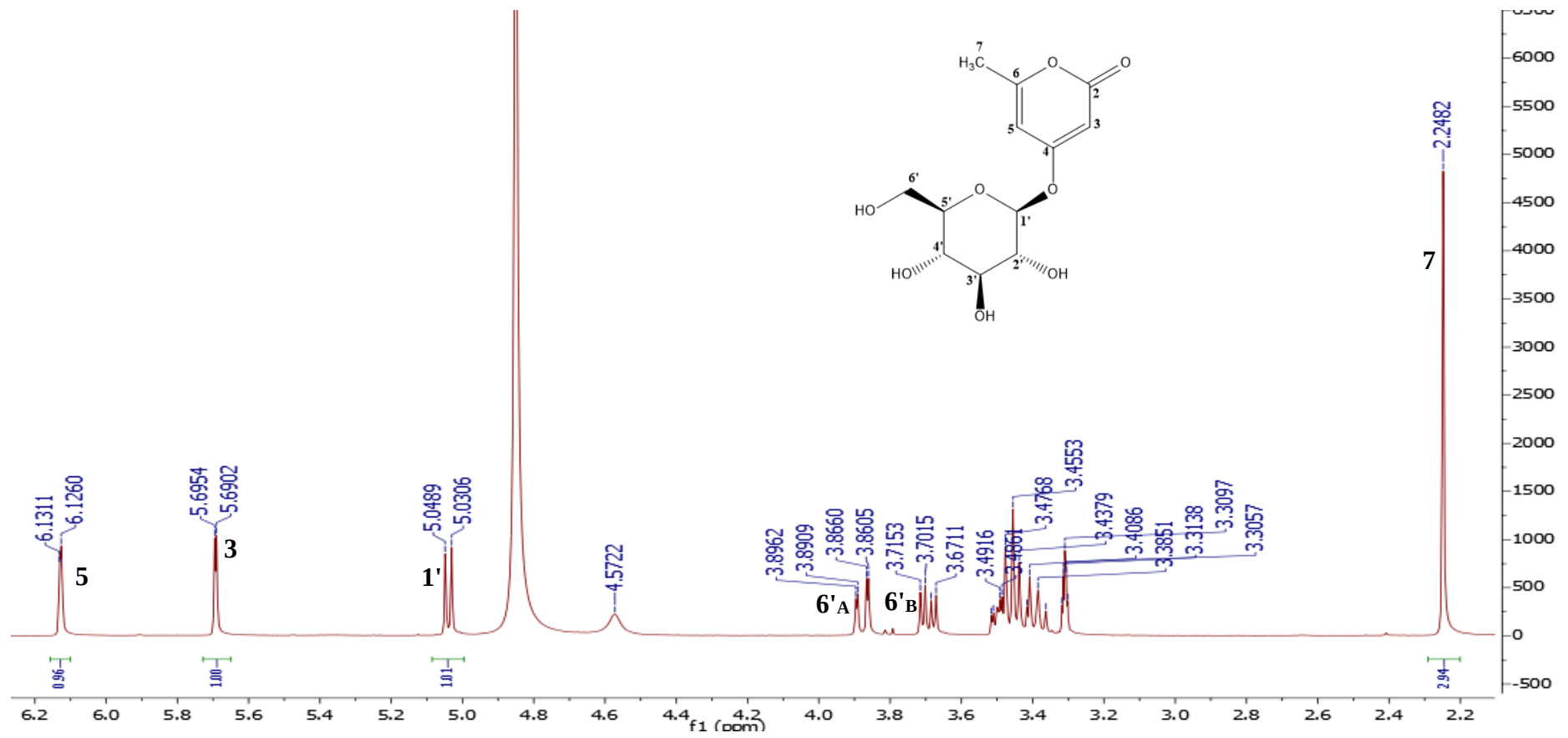
AA-1 bileşiği renksiz, amorf toz halde elde edilmiş ve ¹H-NMR, ¹³C-NMR, HSQC ve HMBC spektrumları değerlendirildiğinde bileşiğin molekül formülü C₁₂H₁₆O₈ olarak belirlenmiştir. **AA-1** bileşiğine ait ¹H-NMR spektrumunda δ 6,12 ppm'de ve δ 5,69 ppm'de iki adet yarıllma sabiti 2,1 Hz olan dublet rezonans gözlenmiştir (Şekil 4.1). Bu durum yapıda birbirlerine göre meta konumunda olan iki proton olduğunu düşündürmüştür. Proton spektrumunda δ 2,25 ppm'de 3H integrale sahip rezonansın varlığı yapıda metil grubunun varlığını göstermektedir. δ 5,04 (1H, d, $J=7,3$ Hz) ppm'de dublet varlığı ve HSQC spektrumunda bu protonun δ_c 100,8 ppm ile korelasyon göstermesi aynı zamanda ¹H-NMR spektrumunda δ 3,88 (1H, dd, $J=12,1$; 2,2 Hz) ve δ 3,69 (1H, dd, $J=12,1$; 5,5 Hz) olmak üzere iki rezonansın varlığı ve bu rezonansların HSQC spektrumunda δ 62,2 ile korelasyon göstermesi yapıda β -D-glukopiranozit varlığını işaret etmiştir (Şekil 4.2 ve 4.3). ¹³C-NMR'da δ 160-170 ppm'lerde rezonanslar görülmesi bileşiğin aromatik yapıda olduğunu

göstermektedir (Şekil 4.2). HMBC spektrumunda metil grubunun δ 164,8 ve δ 101,5 ppm ile korelasyon gösterdiği tespit edilmiştir. Bunun yanında β -D-glukopiranozitin anomerik protonunun δ 171,5 ppm ile korelasyon gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 4.4 ve 4.5). Ayrıca ESI-MS verilerine göre bileşiğin molekül ağırlığı 289,0909 m/z $[M+H]^+$ ($C_{12}H_{17}O_8$) olarak belirlenmiştir (Şekil 4.6). Elde edilen veriler literatür bulguları (Gafner, Wolfender, Hostettmann, Stoeckli-Evans ve Mavi, 1998) ile karşılaştırıldığında bileşiğin **4-(β -D-glukopiranoziloksi)-6-metil-2H-piran-2-on** olduğu tespit edilmiştir.

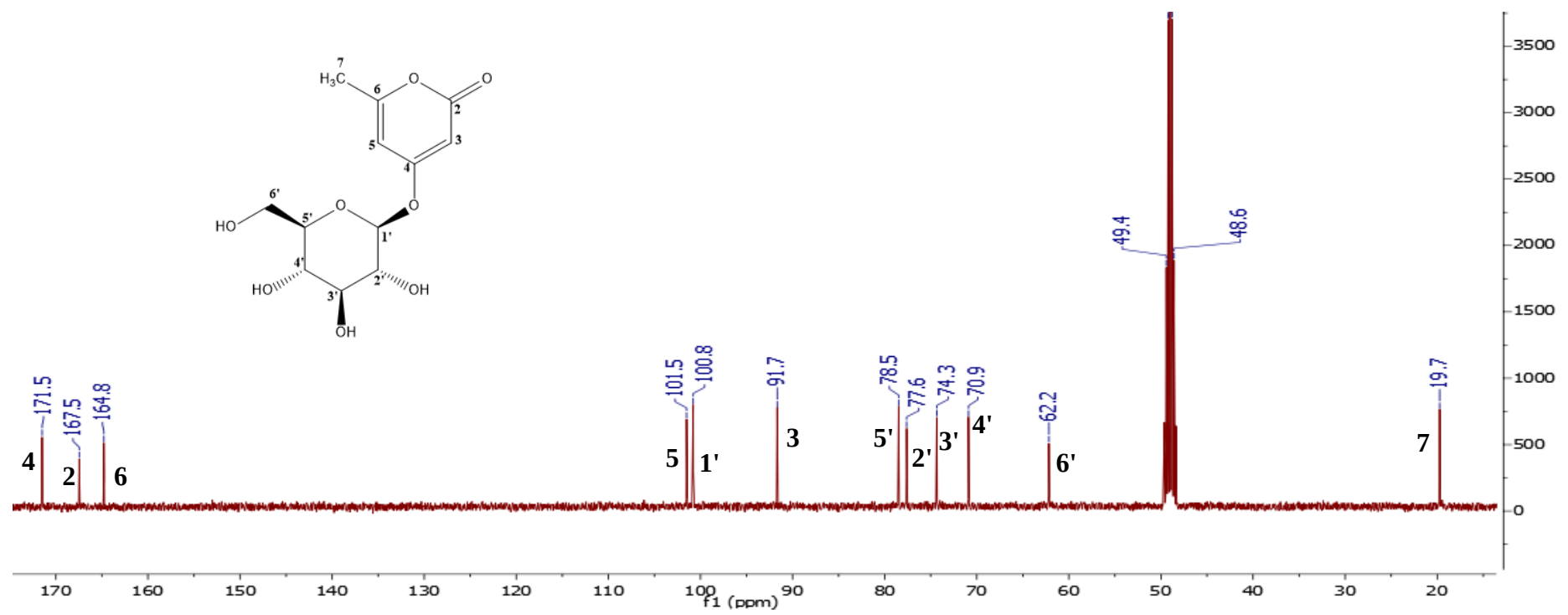
Çizelge 4.1. **AA-1** bileşiğinin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektroskopik değerleri (CD_3OD , ^1H : 400 MHz, ^{13}C : 100 MHz)

C/H atom	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm) /<i>J</i>
2 (C=O)	167,5	k
3 (CH)	91,7	5,69 (1H, d, $J=2,1$ Hz)
4 (C)	171,5	k
5 (CH)	101,5	6,13 (1H, d, $J=2,1$ Hz)
6 (C)	164,8	k
7 (CH₃)	19,7	2,25 (3H, s)
1'' (CH)	100,8	5,04 (1H, d, $J=7,3$ Hz)
2'' (CH)	77,6	3,49 (1H, m)
3'' (CH)	74,3	3,44 (1H, m)
4'' (CH)	70,9	3,38 (1H, m)
5'' (CH)	78,5	3,49 (1H, m)
6''_A (CH₂)	62,2	3,88 (1H, dd, $J=12,1$; 2,2 Hz)
6''_B (CH₂)	62,2	3,69 (1H, dd, $J=12,1$; 5,5 Hz)

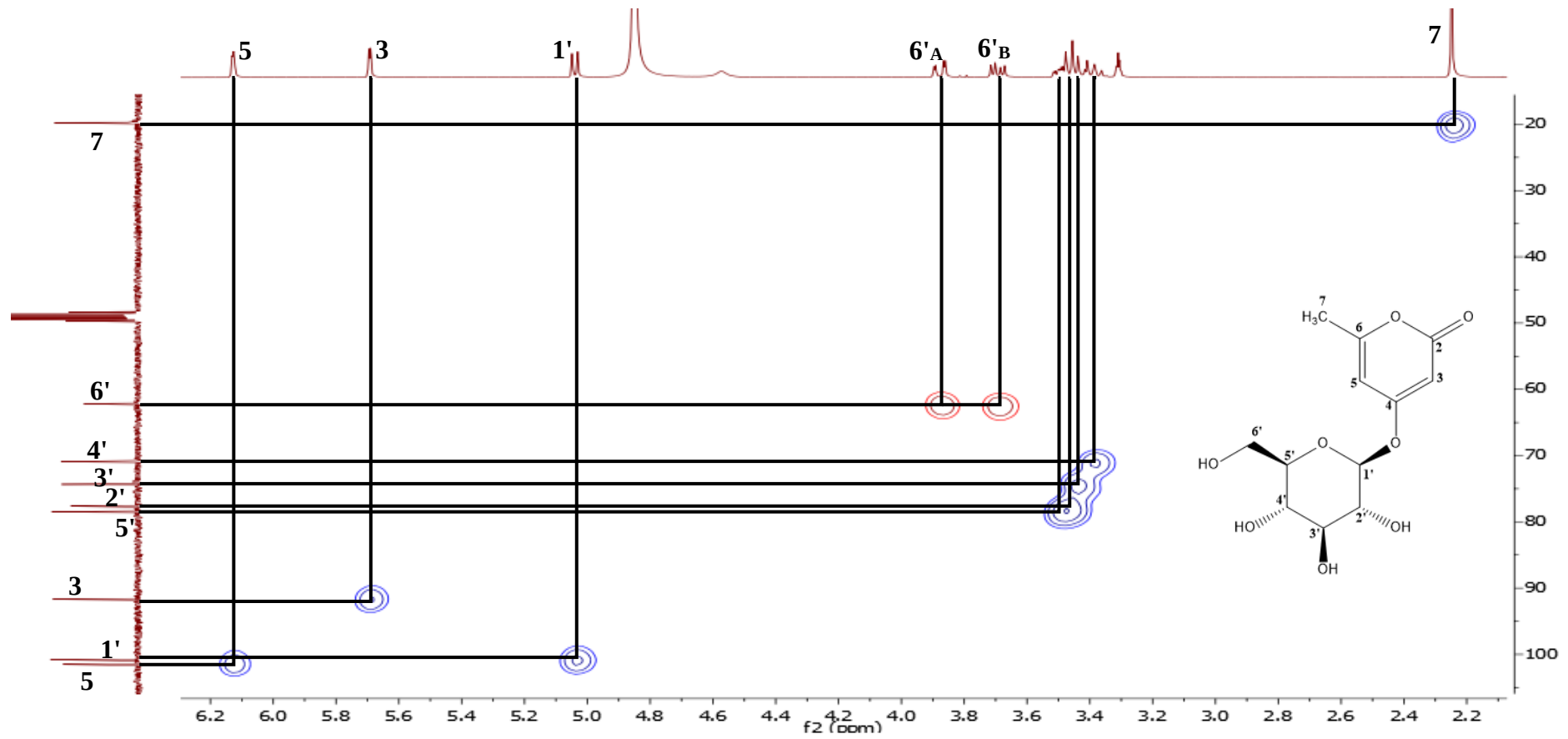
k: kuaterner



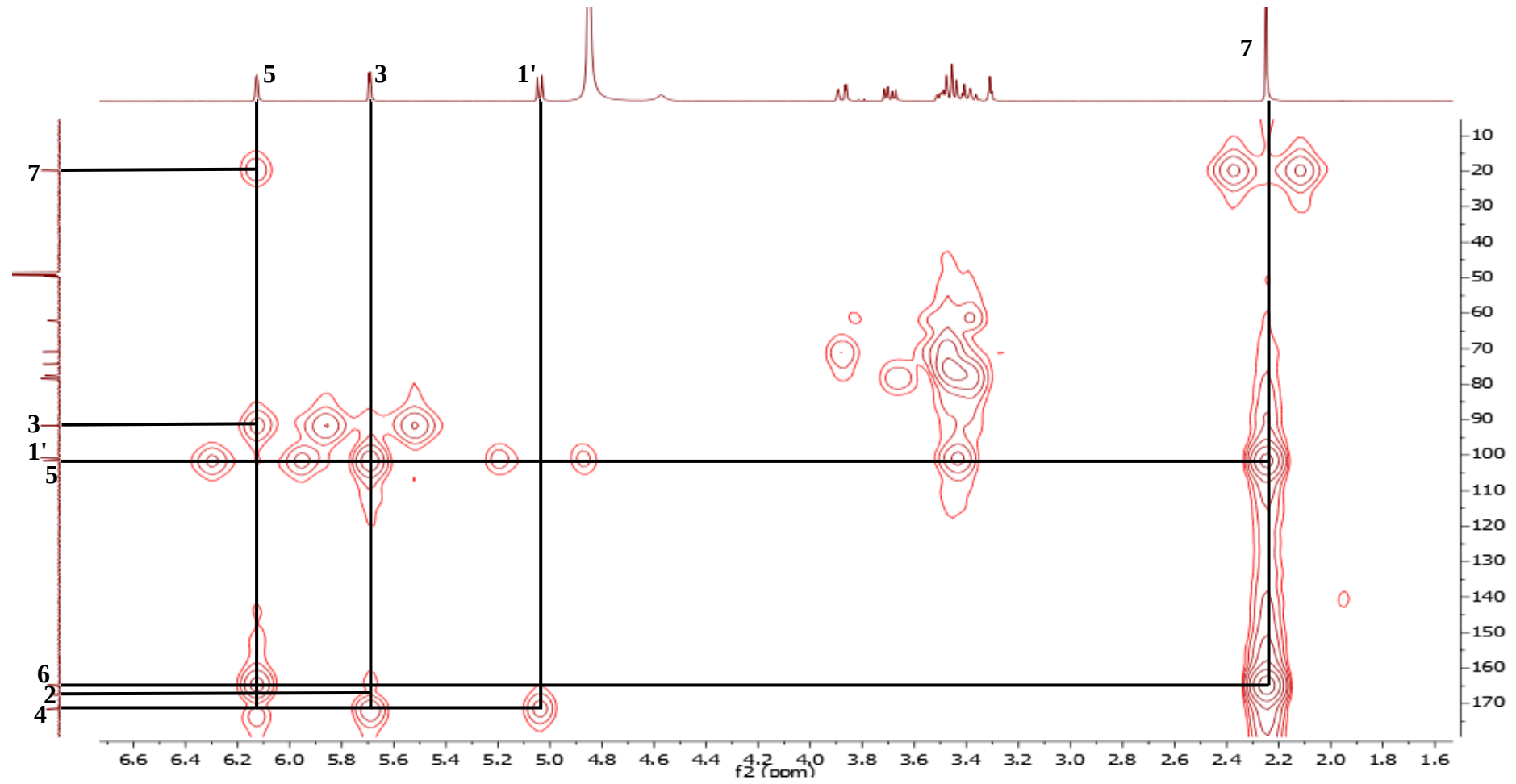
Şekil 4.1. AA-1 bileşiğine ait ^1H -NMR spektrumu



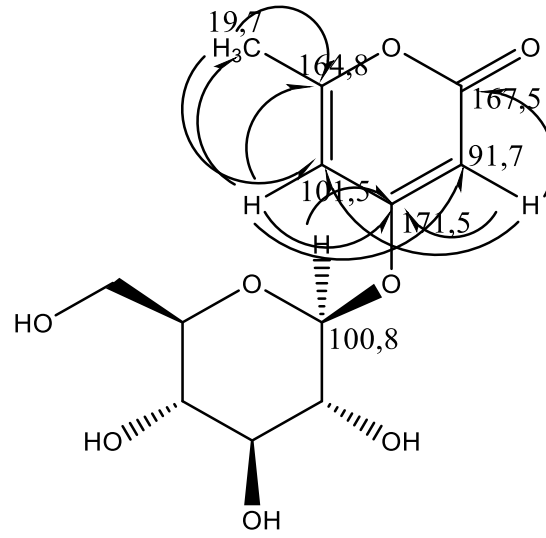
Şekil 4.2. AA-1 bileşiğine ait ¹³C-NMR spektrumu



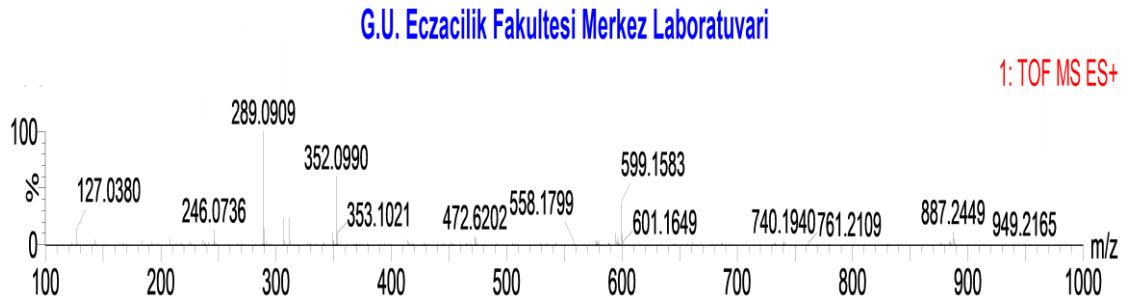
Şekil 4.3. AA-1 bileşiğine ait HSQC spektrumu



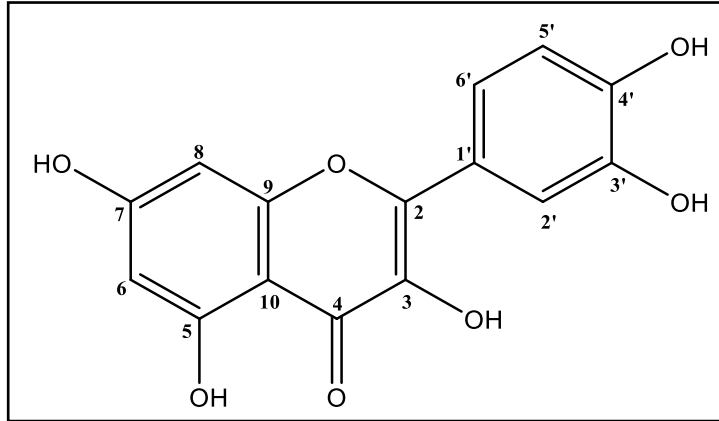
Şekil 4.4. AA-1 bileşiğine ait HMBC spektrumu



Şekil 4.5. **AA-1** bileşiğinin HMBC korelasyonları



Şekil 4.6. **AA-1** bileşiğinin ESI-MS spektrumu

[AA-2] Kersetin

Kersetin

C₁₅H₁₀O₇ (Mol. Ağ. : 302)

Sarı renkli toz

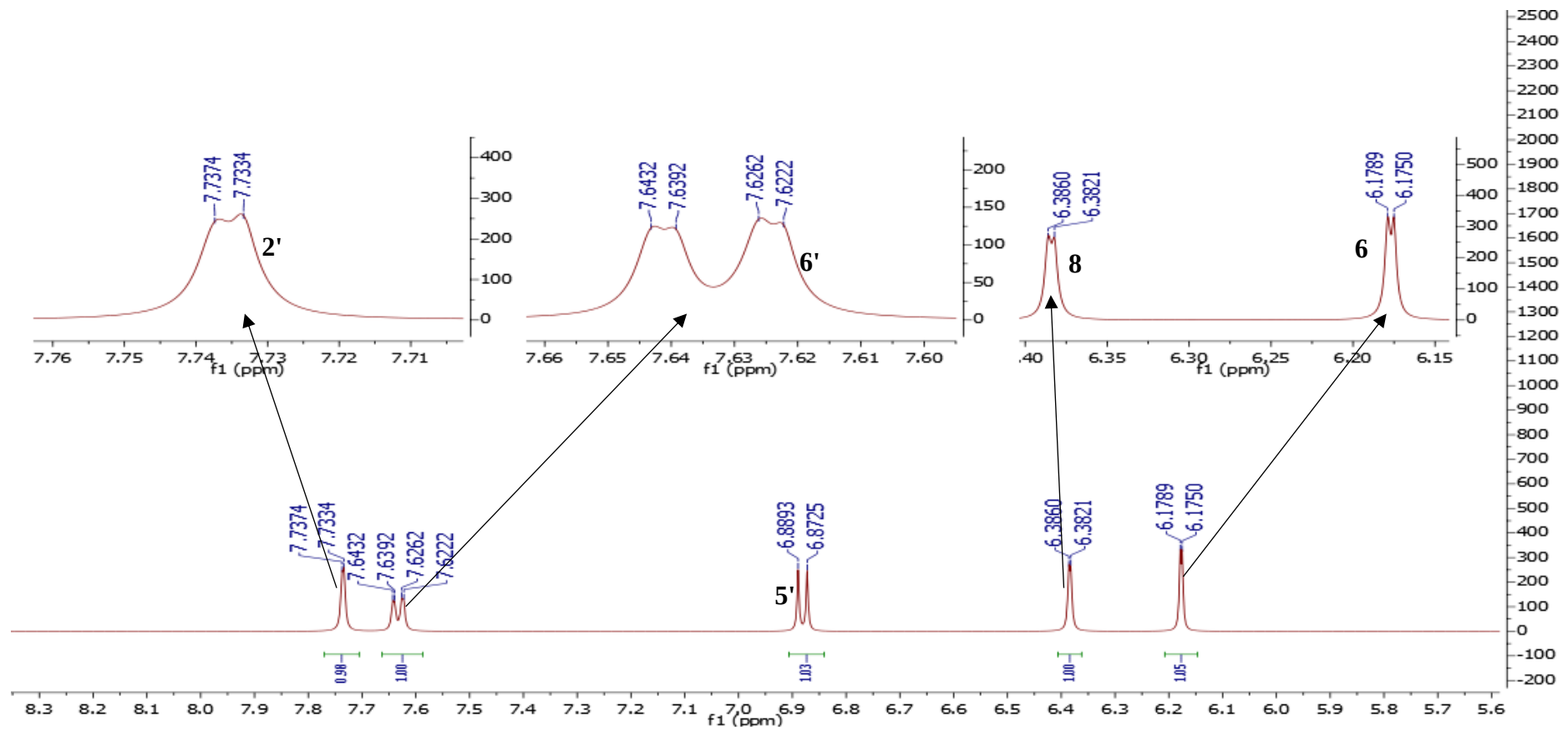
¹ H-NMR (500 MHz, CD ₃ OD)	Şekil 4.7, Çizelge 4.2
¹³ C-NMR (125 MHz, CD ₃ OD)	Şekil 4.8, Çizelge 4.2
HSQC (500MHz, CD ₃ OD)	Şekil 4.9
HMBC (500 MHz, CD ₃ OD)	Şekil 4.10 ve 4.11
EI-MS (<i>m/z</i>)	Şekil 4.12

AA-2 bileşiği renksiz, amorf toz halde elde edilmiş ve ¹H-NMR, ¹³C-NMR, HSQC ve HMBC spektrumları değerlendirildiğinde bileşiğin molekül formülü C₁₅H₁₀O₇ olarak belirlenmiştir. **AA-2** bileşiğine ait ¹H-NMR spektrumunda (Şekil 4.7) aromatik bölgede 7,73 (1H, d, *J*=2,0 Hz), 7,63 (1H, dd, *J*=8,4; 2,0 Hz) ve 6,88 (1H, d, *J*=8,4 Hz) ppm'deki rezonanslar ile ABX sistemin varlığı ve ¹³C-NMR spektrumunda (Şekil 4.8) 15 karbon olması bileşiğin flavonoit yapısında bir bileşik olduğunu düşündürmüştür. Aromatik bölgedeki ABX sistemin varlığı ve δ 6,38 (1H, d, *J*=2,0 Hz) ve 6,17 (1H, d, *J*=2,0 Hz) ppm'de iki adet dublet rezonansın varlığı ile bu flavonoitin kersetin türevi olduğu sonucuna varılmıştır. HSQC ve HMBC spektrum verileri ile tüm proton ve karbonlar atanmıştır (Şekil 4.9-4.11). Ayrıca QTOF-MS/MS verilerine göre bileşiğin molekül ağırlığı 303,0523 *m/z* [M+H]⁺ (C₁₅H₁₁O₇) olarak belirlenmiştir (Şekil 4.12). Elde edilen sonuçlar literatür bulguları (Kyriakou ve diğerleri, 2012) ile kıyaslanmasıyla bileşiğin **kersetin** olduğu tespit edilmiştir.

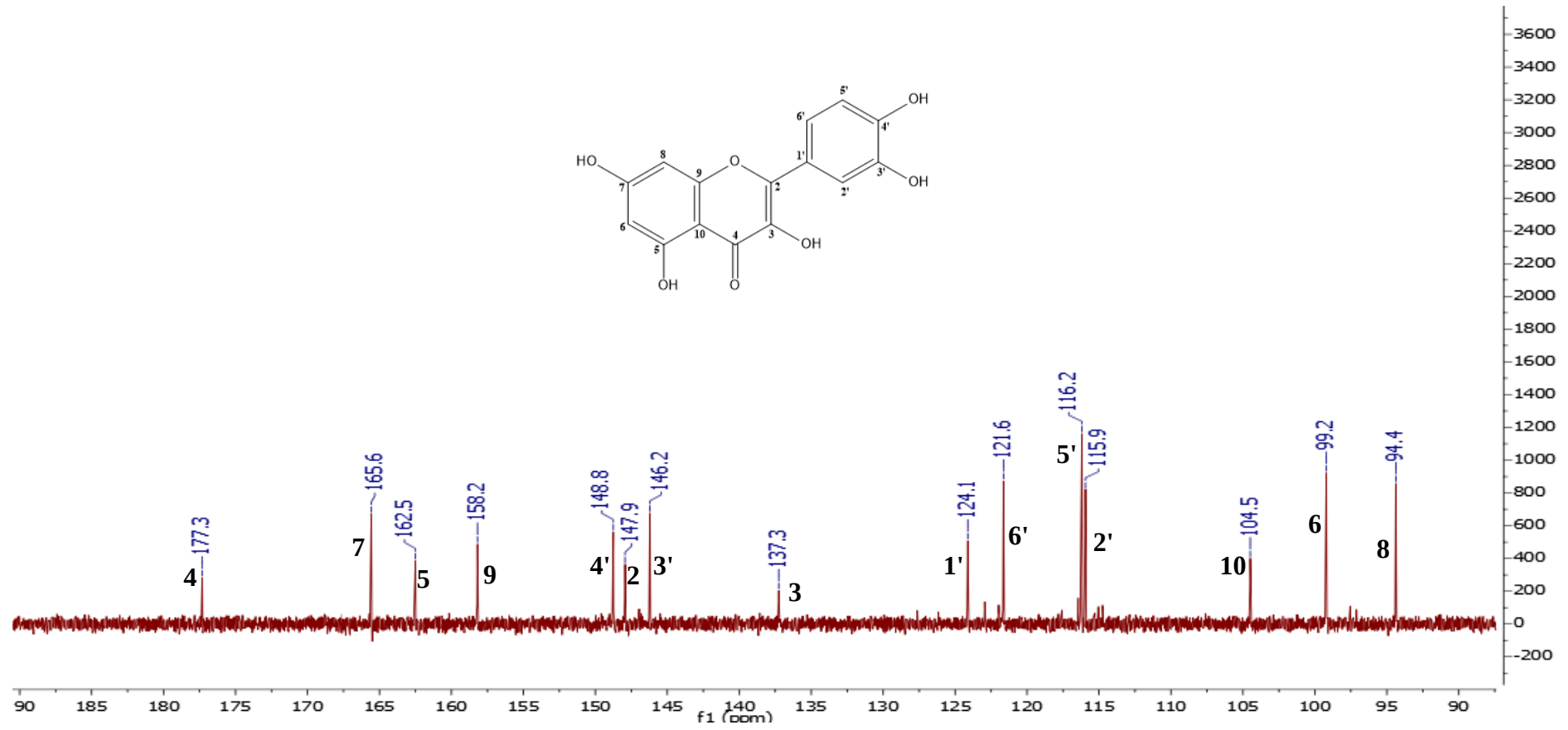
Çizelge 4.2. **AA-2** bileşiğinin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektroskopik değerleri (CD_3OD , ^1H : 500 MHz, ^{13}C : 125 MHz)

C/H	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm)
2 (C)	147,9	k
3 (C)	137,3	k
4 (C=O)	177,3	k
5 (C)	162,5	k
6 (CH)	99,2	6,17 (1H, d, $J=2,0$ Hz)
7 (C)	165,6	k
8 (CH)	94,4	6,38 (1H, d, $J=2,0$ Hz)
9 (C)	158,2	k
10 (C)	104,5	k
1' (C)	124,1	k
2' (CH)	115,9	7,73 (1H, d, $J=2,0$ Hz)
3' (C)	146,2	k
4' (C)	148,8	k
5' (CH)	116,2	6,88 (1H, d, $J=8,4$ Hz)
6' (CH)	121,6	7,63 (1H, dd, $J=8,4; 2,0$ Hz)

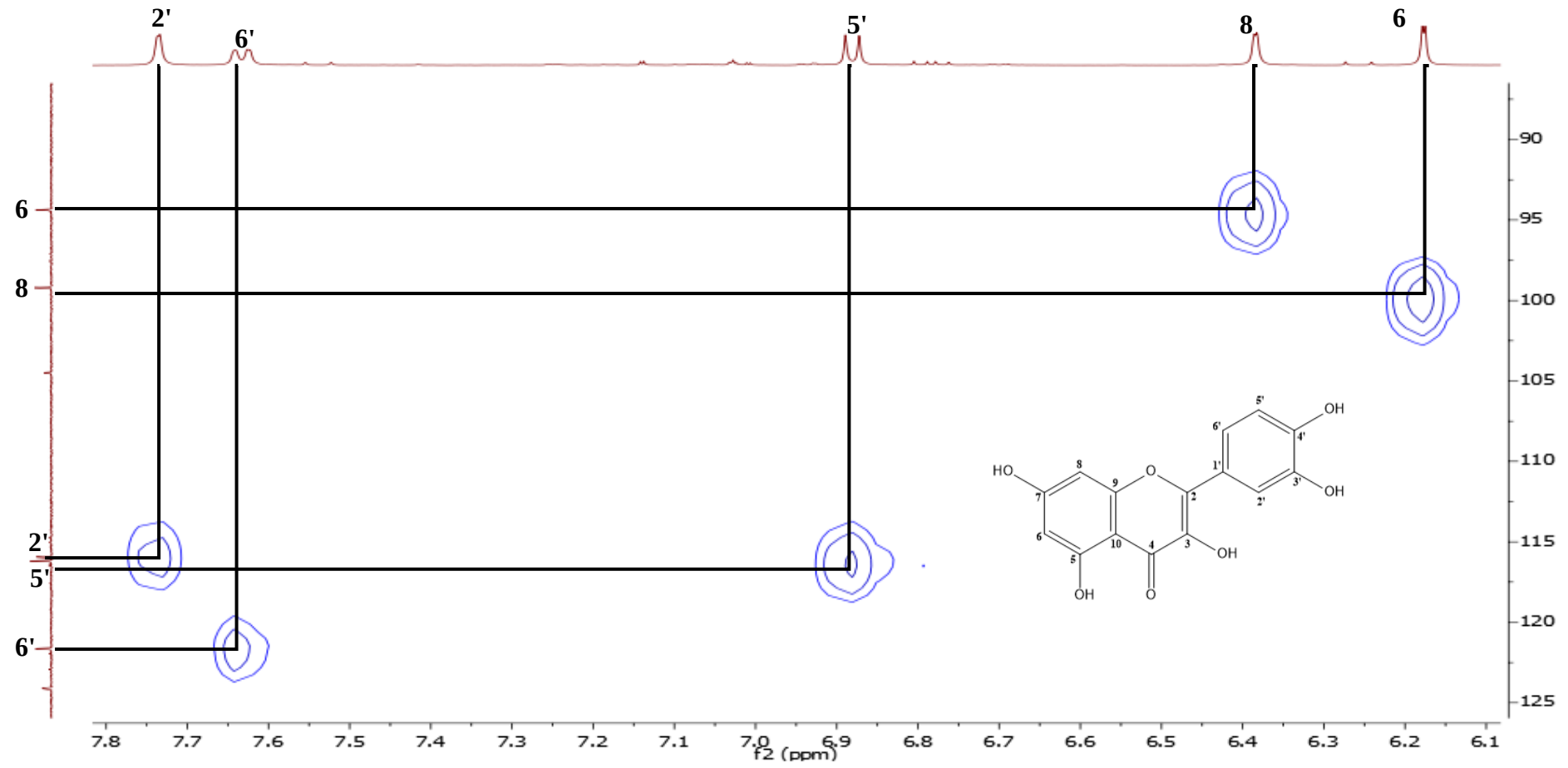
k: kuaterner



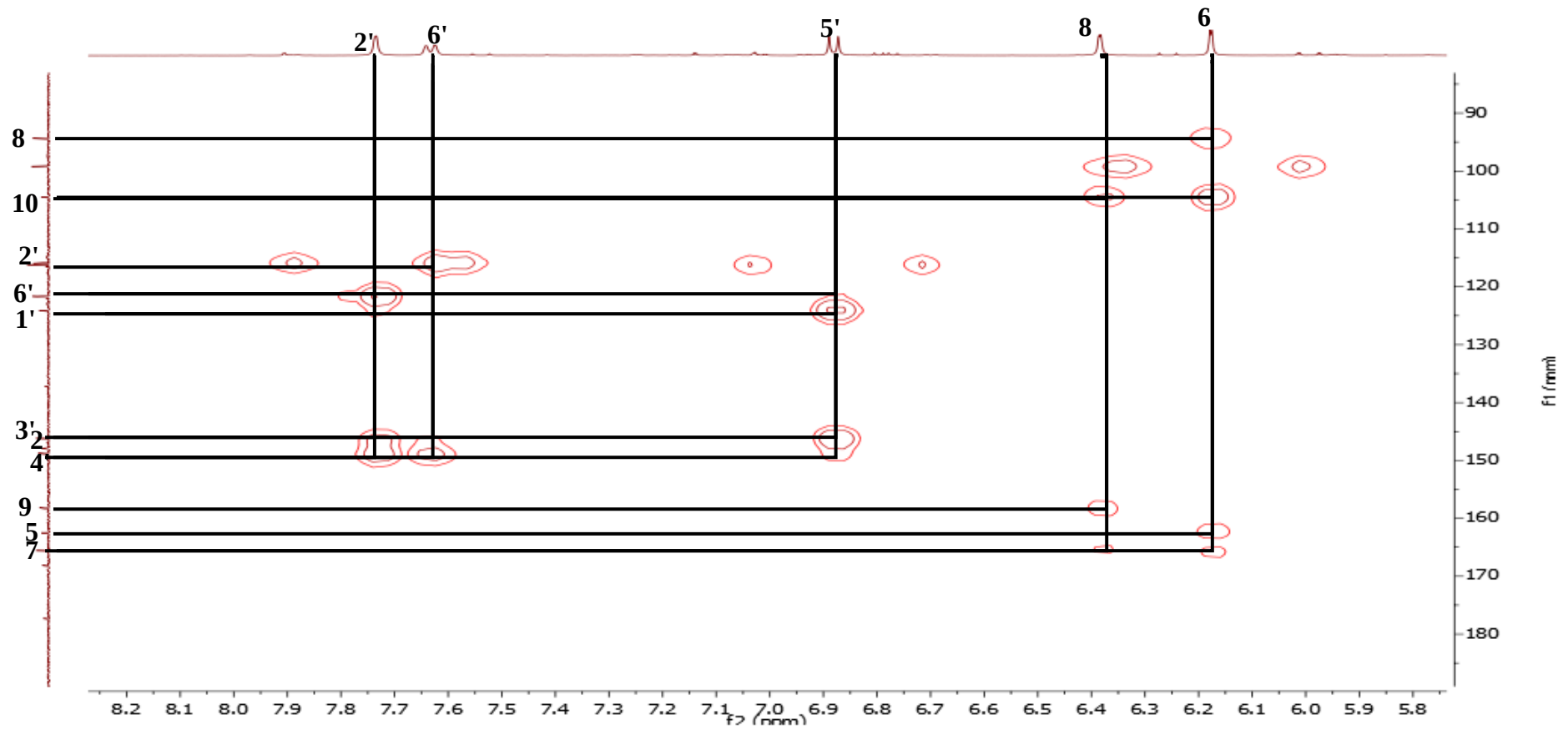
Şekil 4.7. AA-2 bileşiğine ait ^1H -NMR spektrumu



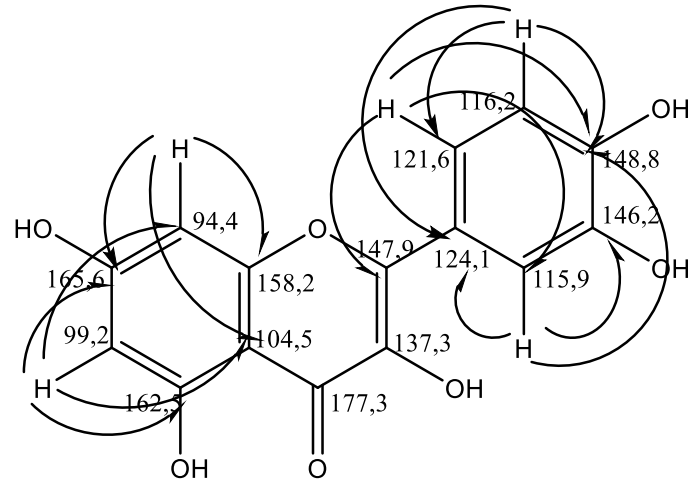
Şekil 4.8. AA-2 bileşiğine ait ^{13}C -NMR spektrumu



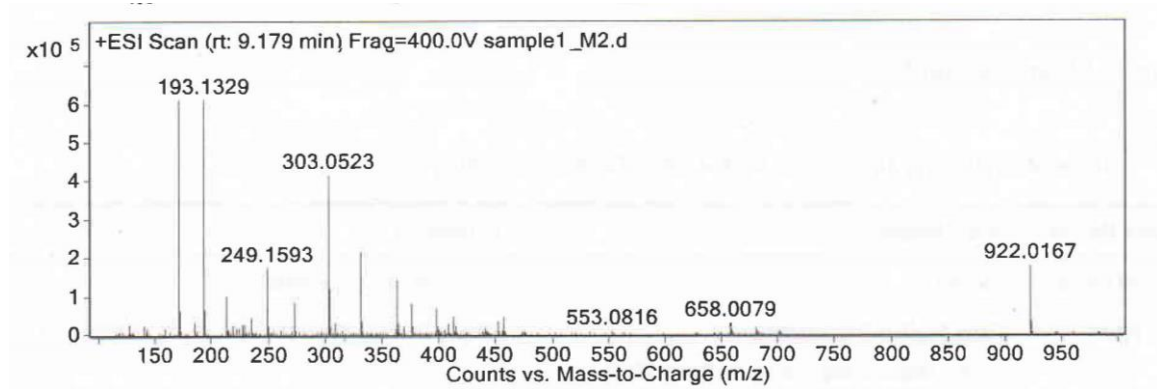
Şekil 4.9. AA-2 bileşiğine ait HSQC spektrumu



Şekil 4.10. AA-2 bileşiğine ait HMBC spektrumu

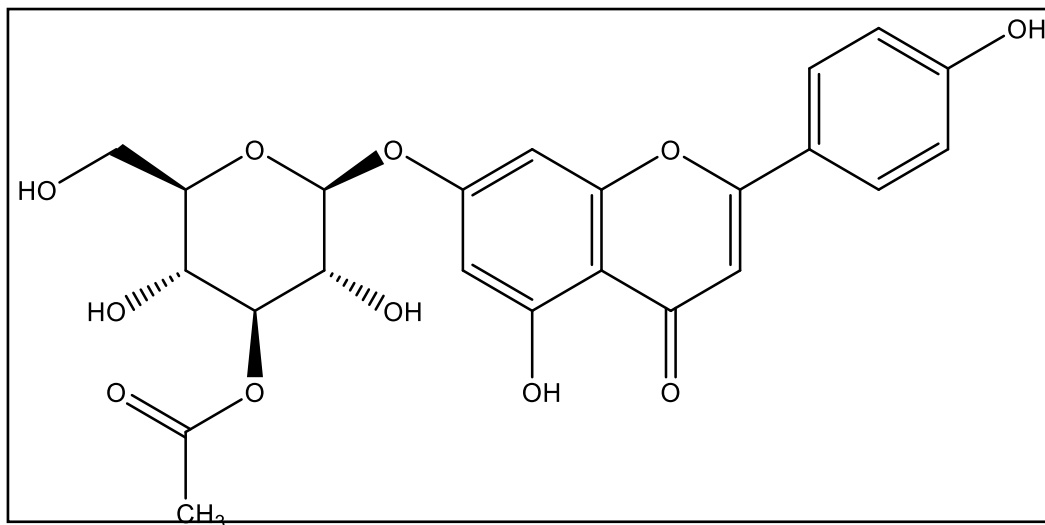


Şekil 4.11. AA-2 bileşiğinin HMBC korelasyonları



Şekil 4.12. AA-2 bileşiğine ait QTOF-MS/MS spektrumu

[AA-3] Apigenin-7-O-(3''-asetil)-β-D-glukopiranozit



Apigenin-7-O-(3''-asetil)-β-D-glukopiranozit

$C_{23}H_{22}O_{11}$ (Mol. Ağ. : 474)

Sarı renkli toz

1H -NMR (400 MHz, CD_3OD)	Şekil 4.13, Çizelge 4.3
^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD)	Çizelge 4.3
HSQC (400 MHz, CD_3OD)	Şekil 4.14
COSY (400 MHz, CD_3OD)	Şekil 4.15
HMBC (400 MHz, CD_3OD)	Şekil 4.16 ve 4.17
ESI-MS (m/z)	Şekil 4.18

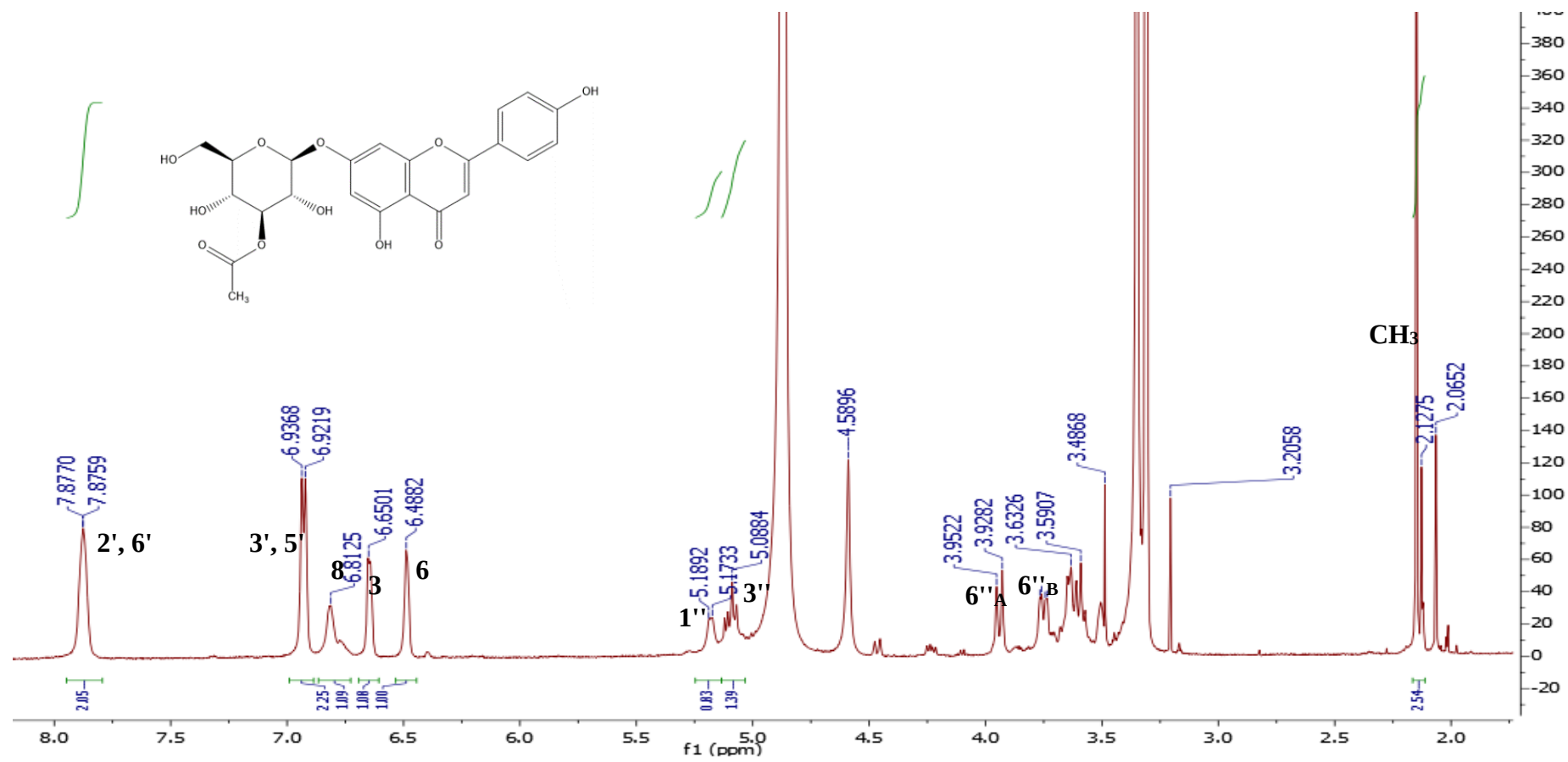
AA-3 bileşiği sarı renkli toz halde elde edilmiş ve 1H -NMR, ^{13}C -NMR, HSQC ve HMBC spektrumları değerlendirildiğinde bileşiğin molekül formülü $C_{23}H_{22}O_{11}$ olarak belirlenmiştir. **AA-3** bileşiğine ait 1H -NMR spektrumunda aromatik bölgede rezonansların olması (Şekil 4.13), ^{13}C -NMR spektrumunda 23 karbon olması ve çok sayıda oksijen bağlı karbon atomunun bulunması bileşiğin flavonoit yapısında bir bileşik olduğunu düşündürmüştür (Çizelge 4.3). Aromatik bölgede δ 7,87 (2H, d, $J=7,5$ Hz) ve δ 6,92 (2H, d, $J=7,5$ Hz) rezonansları ile AB sistemin varlığı, δ 6,81 (1H, d, $J=2,1$ Hz) ve 6,48 (1H, d, $J=2,1$ Hz) ppm'de iki adet dublet varlığı ve δ 6,65 ppm'de 1H integral değerinde bir adet singlet rezonansın varlığı ile bu flavonoitin apigenin türevi olduğu sonucuna varılmıştır. δ 5,17 ppm'de 7,9 Hz'lik yarımla sabitindeki anomerik proton ve bu protonun HSQC spektrumunda (Şekil 4.14) 101,3 ppm ile korelasyon göstermesi, ayrıca 3,94 (1H, dd, $J=12,0$; 2,1 Hz) ve 3,75 (1H, dd, $J=12,0$; 4,2 Hz) ppm'de iki adet dublet dublet rezonansın

varlığı ve bu rezonansların HSQC spektrumunda 62,1 ppm ile korelasyon göstermesi yapıda β -D-glukopiranozit varlığını düşündürmüştür. Fakat bu bileşikte klasik flavonoitlerden farklı olarak ^1H -NMR spektrumunda anomerik proton yakınında δ 5,09 (1H, m) ppm'de rezonans varlığı tespit edilmiştir. Bu rezonansın ve anomerik protonun COSY spektrumunda aynı proton ile korelasyon gösterdiği tespit edilmiştir. Bu korelasyon da δ 5,09 (1H, m) ppm'deki bu rezonansın β -D-glukopiranozitin 3" konumuna ait olduğunu düşündürmüştür (Şekil 4.15). Bu rezonanslar dışında δ 2,15 ppm'de integrali 3H (CH_3) olan bir rezonans varlığı ve ^{13}C -NMR'da flavonoit halkasının 4. konumuna ait rezonans haricinde 172,5 ppm'de ($\text{C}=\text{O}$) rezonansın görülmesi yapıda asetil varlığını kanıtlamaktadır. Ayrıca HMBC spektrumunda metil grubunun 172,5 ppm ile korelasyonu asetil varlığını doğrulamıştır (Şekil 4.16 ve 4.17). Yapıda apigenin, β -D-glukopiranozit ve asetil gruplarının varlığı NMR spektrum verileri ile kanıtlanmıştır. HMBC spektrumunda β -D-glukopiranozit anomerik protonunun 164,2 ppm ile korelasyonu β -D-glukopiranozitin apigenin halkasına 7. konumdan bağlı olduğunu göstermiştir. β -D-glukopiranozitin 3" konumunun HMBC spektrumunda asetil karbonili ile korelasyon göstermesi asetil grubunun da β -D-glukopiranozitin 3" konumundan bağlı olduğunu göstermiştir (Şekil 4.16 ve 4.17). Ayrıca ESI-MS verilerine göre bileşiğin molekül ağırlığı 475,1245 m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ ($\text{C}_{23}\text{H}_{23}\text{O}_{11}$) olarak belirlenmiştir (Şekil 4.18). Elde edilen veriler literatür bulguları (Xie, Wang ve Shi, 2014) ile karşılaştırıldığında bileşiğin **apigenin-7-O-(3''-asetil)- β -D-glukopiranozit** olduğu tespit edilmiştir.

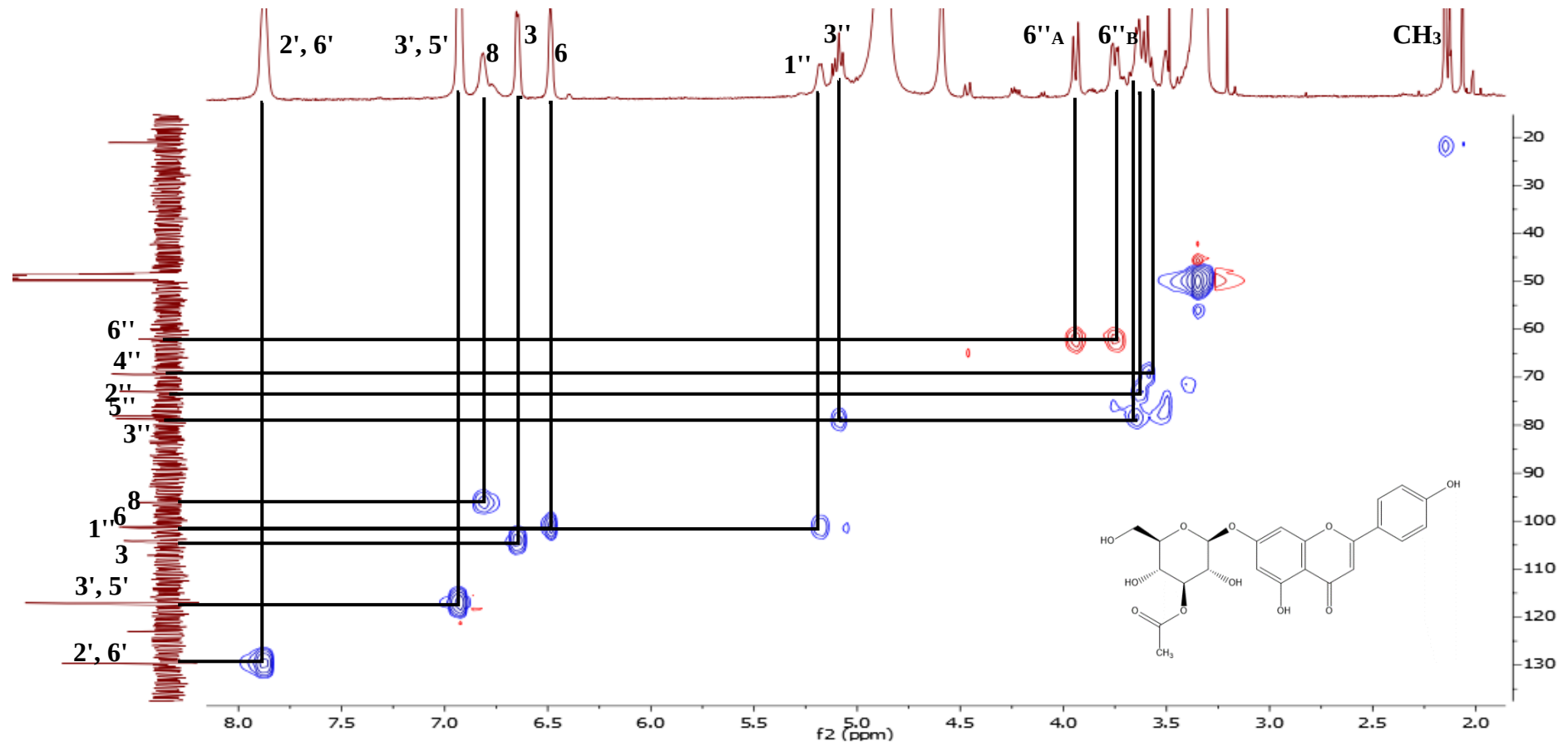
Çizelge 4.3. **AA-3** bileşiğinin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektroskopik değerleri (CD_3OD , ^1H : 400 MHz, ^{13}C : 100 MHz)

C/H	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm) / J
2 (C)	166,5	k
3 (CH)	104,1	6,65 (1H, s)
4 (C=O)	183,6	k
5 (C)	163,4	k
6 (CH)	101,2	6,48 (1H, d, $J=2,1$ Hz)
7 (C)	164,2	k
8 (CH)	96,1	6,81 (1H, d, $J=2,1$ Hz)
9 (C)	158,7	k
10 (C)	107,2	k
1' (C)	123,0	k
2', 6' (CH)	129,6	7,87 (2H, d, $J=7,5$ Hz)
3', 5' (CH)	117,1	6,92 (2H, d, $J=7,5$ Hz)
4' (C)	162,8	k
1'' (CH)	101,3	5,18 (1H, d, $J=7,9$ Hz)
2'' (CH)	73,0	3,63 (1H, m)
3'' (CH)	78,7	5,09 (1H, m)
4'' (CH)	69,4	3,59 (1H, m)
5'' (CH)	78,1	3,64 (1H, m)
6''_A (CH₂)	62,1	3,94 (1H, dd, $J=12,0$; 2,1 Hz)
6''_B (CH₂)	62,1	3,75 (1H, dd, $J=12,0$; 4,2 Hz)
Asetil		
C=O	172,5	k
CH₃	21,1	2,15 (3H, s)

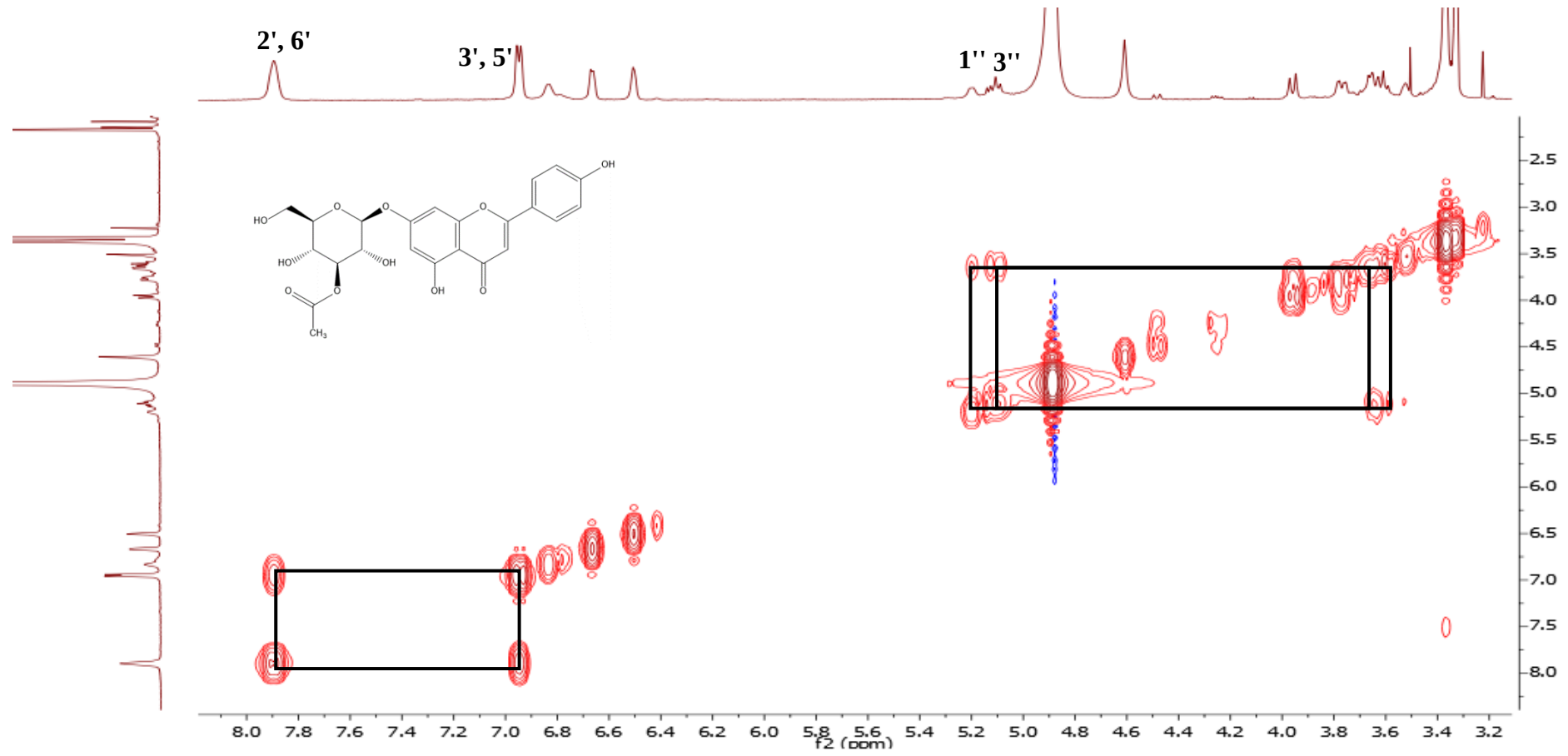
k: kuaterner



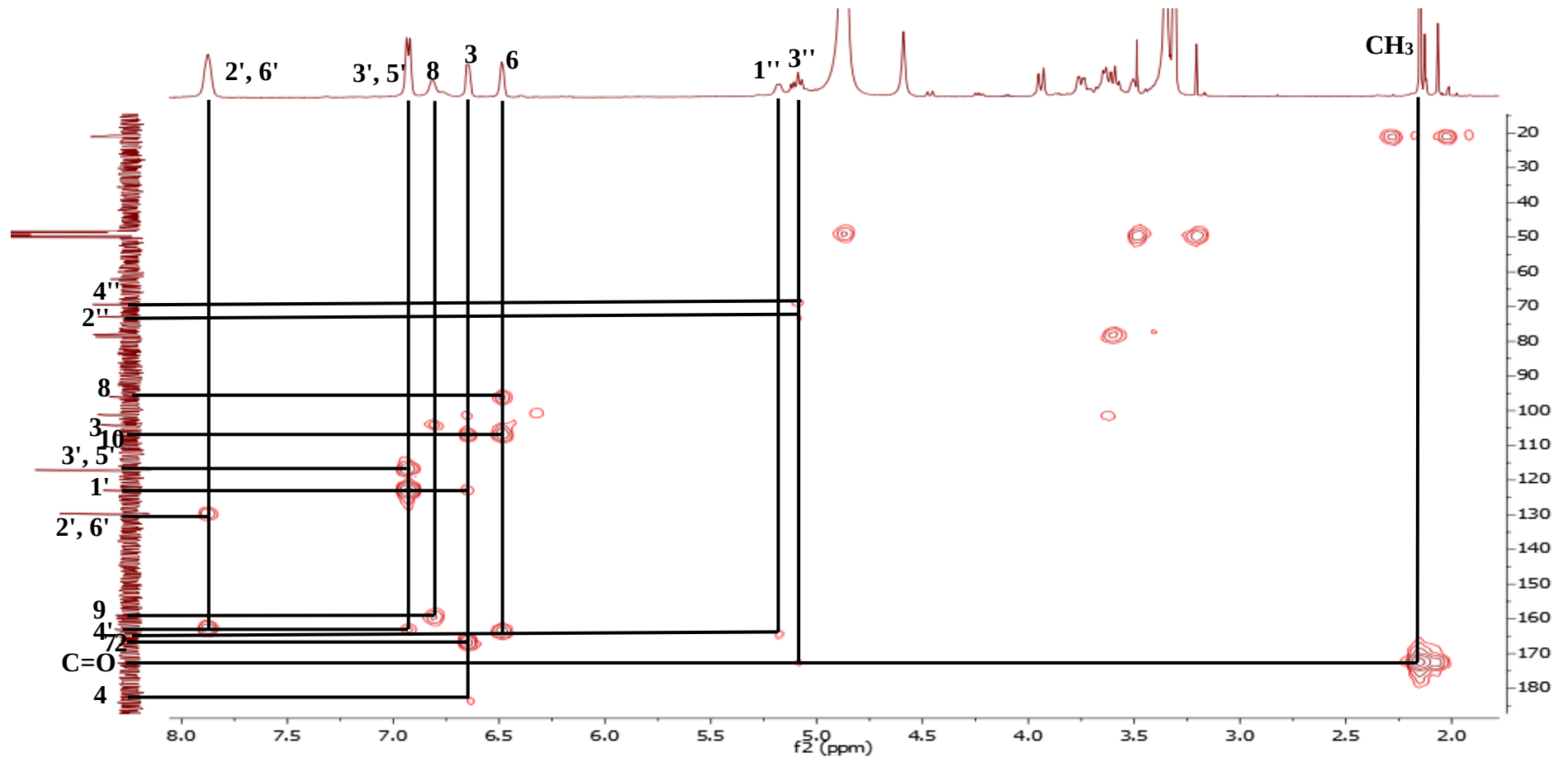
Şekil 4.13. AA-3 bileşiğinin ¹H-NMR spektrumu



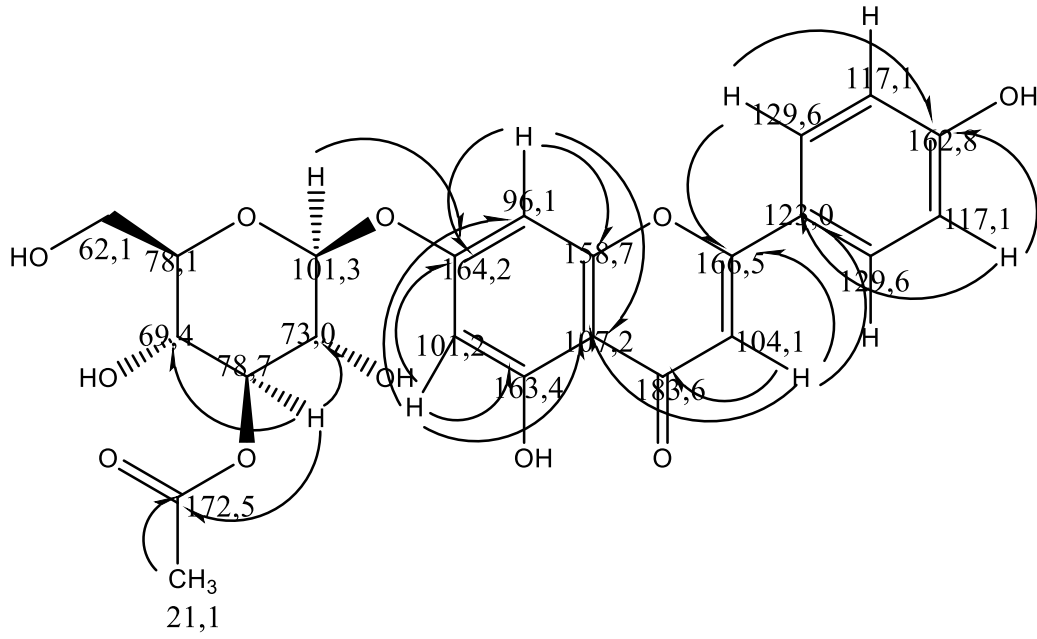
Şekil 4.14. AA-3 bileşiğinin HSQC spektrumu



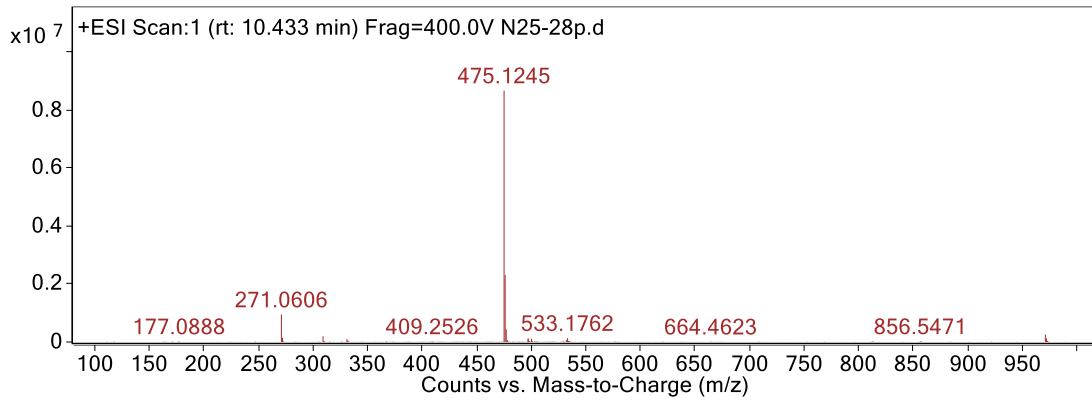
Şekil 4.15. AA-3 bileşiğinin COSY spektrumu



Şekil 4.16. AA-3 bileşiğinin HMBC spektrumu

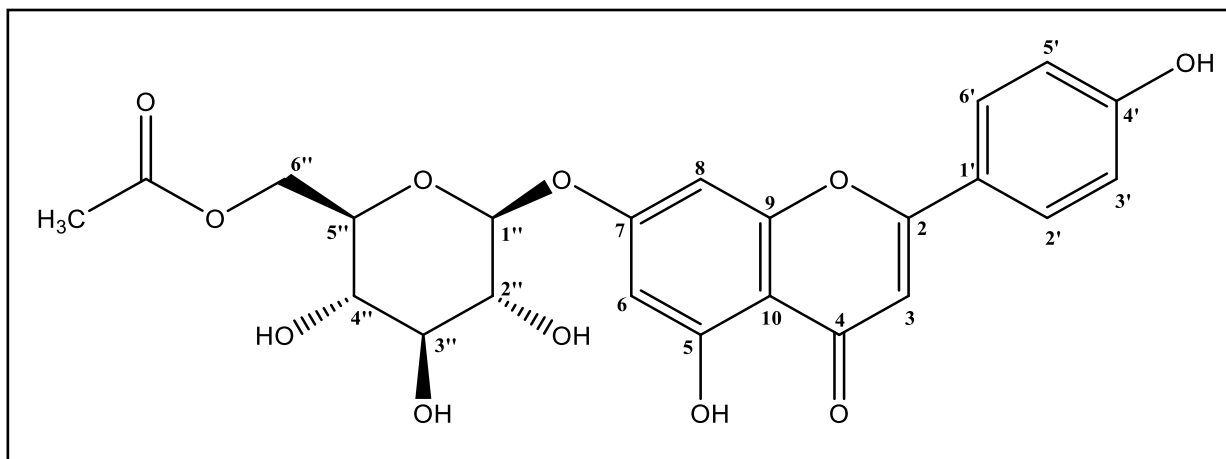


Şekil 4.17. **AA-3** bileşiğinin HMBC korelasyonları



Şekil 4.18. **AA-3** bileşiğinin ESI-MS spektrumu

[AA-4] Apigenin-7-O-(6''-asetil)-β-D-glukopiranozit



Apigenin-7-O-(6''-asetil)-β-D-glukopiranozit

$C_{23}H_{22}O_{11}$ (Mol. Ağ. : 474)

Sarı renkli kristal

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD)	Şekil 4.19, Çizelge 4.4
$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3OD)	Şekil 4.20, Çizelge 4.4
COSY (400 MHz, CD_3OD)	Şekil 4.21
HSQC (400 MHz, CD_3OD)	Şekil 4.22
HMBC (400 MHz, CD_3OD)	Şekil 4.23, Şekil 4.24, Şekil 4.25
ESI-MS (m/z)	Şekil 4.26

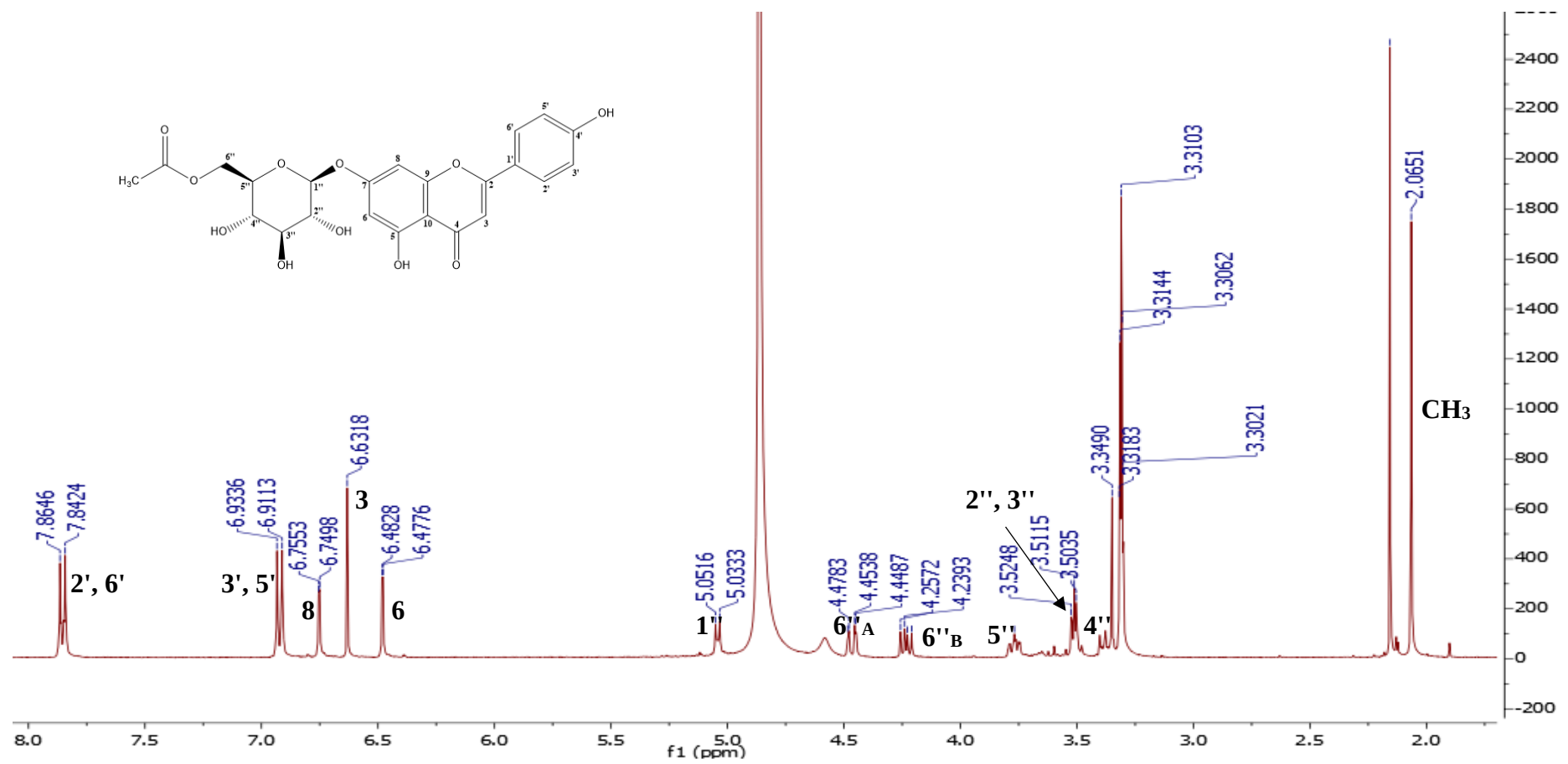
AA-4 bileşiği sarı renkli kristal halde elde edilmiş ve $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, COSY, HSQC ve HMBC spektrumları değerlendirildiğinde bileşiğin molekül formülü $C_{23}H_{22}O_{11}$ olarak belirlenmiştir. **AA-4** bileşiğine ait $^1\text{H-NMR}$ spektrumunda aromatik bölgede rezonansların olması (Şekil 4.19), $^{13}\text{C-NMR}$ spektrumunda (Şekil 4.20) 23 karbon olması ve çok sayıda oksijen bağlı karbon atomunun bulunması bileşiğin flavonoit yapısında bir bileşik olduğunu düşündürmüştür. Aromatik bölgede δ 7,85 (2H, d, $J=8,9$ Hz) ve 6,92 (2H, d, $J=8,9$ Hz) ppm'de AB sistemin varlığı, δ 6,75 (1H, d, $J=2,1$ Hz) ve 6,48 (1H, d, $J=2,1$ Hz) ppm'de iki adet dublet varlığı ve δ 6,63 ppm'de 1H integral değerinde bir adet singlet rezonansın varlığı ile bu flavonoitin apigenin türevi olduğu sonucuna varılmıştır. Ayrıca δ 7,85 (2H, d, $J=8,9$ Hz) ve 6,92 (2H, d, $J=8,9$ Hz) rezonanslarının COSY spektrumunda da birbirleri ile etkileşim gösterdikleri saptanmıştır (Şekil 4.21). Yarıлма sabitlerine bakıldığında bu rezonansların birbirine göre orta komşuluğunda olan 2 protona ait olduğu tespit edilmiştir. δ 5,04 ppm'de 7,3 Hz'lik yarıлма sabitindeki anomerik proton ve bu protonun HSQC spektrumunda 101,5 ppm ile korelasyon göstermesi, ayrıca 4,46 (1H, dd, $J=11,9$; 2,1 Hz) ve 3,49 (1H, dd, $J=11,9$;

4,7 Hz) ppm'de iki adet dublet dublet rezonansın varlığı ve bu rezonansların HSQC spektrumunda 64,8 ppm ile korelasyon göstermesi yapıda β -D-glukopiranozit varlığını düşündürmüştür (Şekil 4.22). Fakat bu bileşikte β -D-glukopiranozitin 6" konumlarının ^1H ve ^{13}C -NMR'da düşük alana kaydığı tespit edilmiştir. Bu durum da β -D-glukopiranozitin 6. konumuna elektrofilik bir grup bağlı olduğunu göstermektedir. Bu rezonanslar dışında ^1H -NMR'da 2,06 ppm'de integrali 3H (CH_3) olan rezonans varlığı ve ^{13}C -NMR'da flavonoit halkasının 4. konumuna ait rezonans haricinde 172,7 ppm'de ($\text{C}=\text{O}$) rezonans görülmesi yapıda asetil varlığını düşündürmüştür. Ayrıca HMBC spektrumunda metil grubunun 172,7 ppm ile korelasyonu asetil varlığını doğrulamıştır (Şekil 4.23). Yapıda apigenin, β -D-glukopiranozit ve asetil gruplarının varlığı NMR spektrum verileri ile kanıtlanmıştır. HMBC spektrumunda β -D-glukopiranozitin anomerik protonunun 164,6 ppm ile korelasyonu apigenin halkasına 7. konumdan bağlı olduğunu göstermiştir (Şekil 4.24). β -D-glukopiranozitin 6" konumunun HMBC spektrumunda asetil karbonili ile korelasyon göstermesi asetil grubunun da β -D-glukopiranozitin 6" konumundan bağlı olduğunu göstermiştir (Şekil 4.23 ve 4.25). Ayrıca ESI-MS verilerine göre bileşiğin molekül ağırlığı 475,1208 m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ ($\text{C}_{23}\text{H}_{23}\text{O}_{11}$) olarak belirlenmiştir (Şekil 4.26). Elde edilen sonuçlar literatür bulguları (Svehlikova ve diğerleri, 2004) ile karşılaştırıldığında bileşiğin **apigenin-7-O-(6"-asetil)- β -D-glukopiranozit** olduğu tespit edilmiştir.

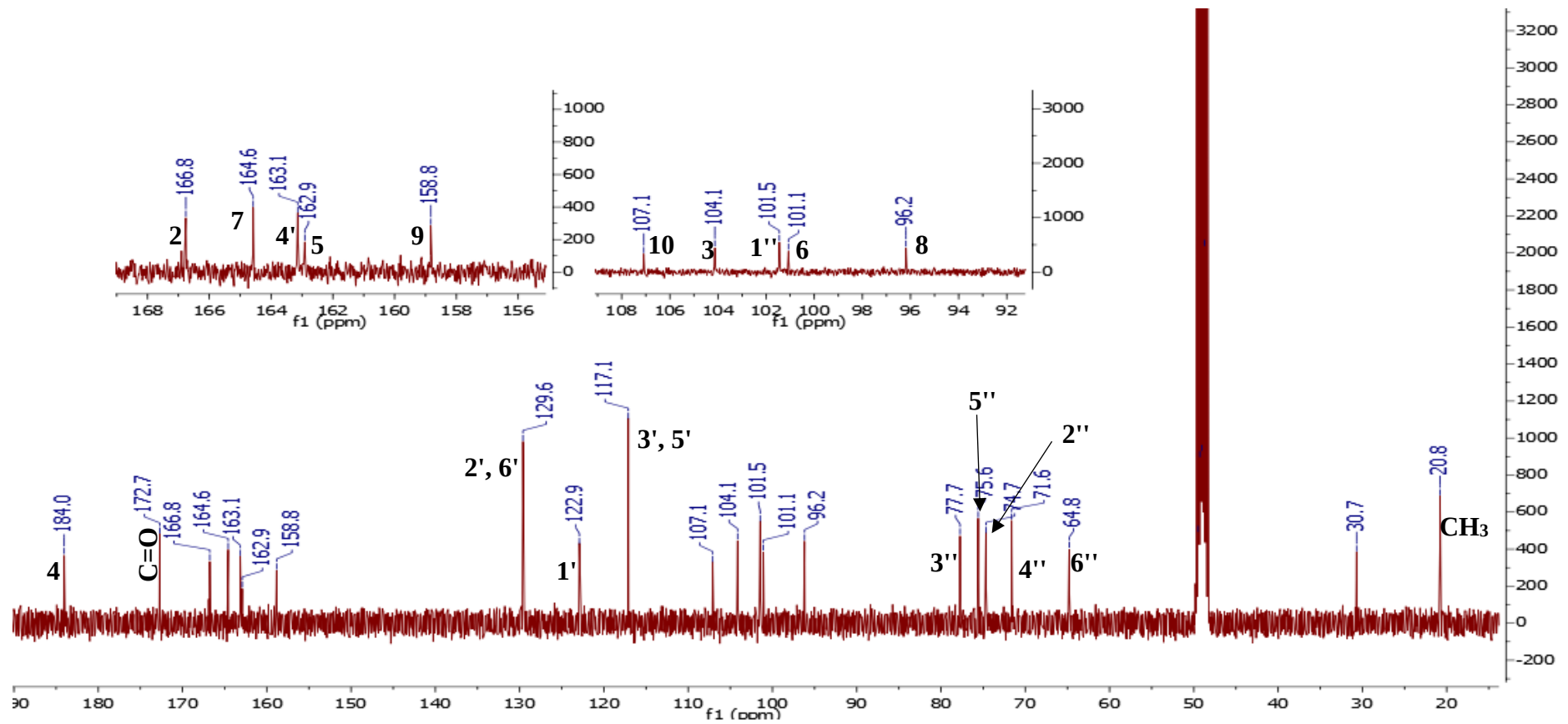
Çizelge 4.4. **AA-4** bileşiğinin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektroskopik değerleri (CD_3OD , ^1H : 400 MHz, ^{13}C : 100 MHz)

C/H	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm) / <i>J</i>
2 (C)	166,8	k
3 (CH)	104,1	6,63 (1H, s)
4 (C=O)	184,0	k
5 (C)	162,9	k
6 (CH)	101,1	6,48 (1H, d, $J=2,1$ Hz)
7 (C)	164,6	k
8 (CH)	96,2	6,75 (1H, d, $J=2,1$ Hz)
9 (C)	158,8	k
10 (C)	107,1	k
1' (C)	122,9	k
2', 6' (CH)	129,6	7,85 (2H, d, $J=8,9$ Hz)
3', 5' (CH)	117,1	6,92 (2H, d, $J=8,9$ Hz)
4' (C)	163,1	k
1'' (CH)	101,5	5,04 (1H, d, $J=7,4$ Hz)
2'' (CH)	74,7	3,50 (1H, m)
3'' (CH)	77,7	3,51 (1H, m)
4'' (CH)	71,6	3,39 (1H, m)
5'' (CH)	75,6	3,77 (1H, m)
6''_A (CH₂)	64,8	4,46 (1H, dd, $J=11,9$; 2,1 Hz)
6''_B (CH₂)	64,8	3,49 (1H, dd, $J=11,9$; 4,7 Hz)
Asetil		
C=O	172,7	k
CH₃	20,8	2,06 (3H, s)

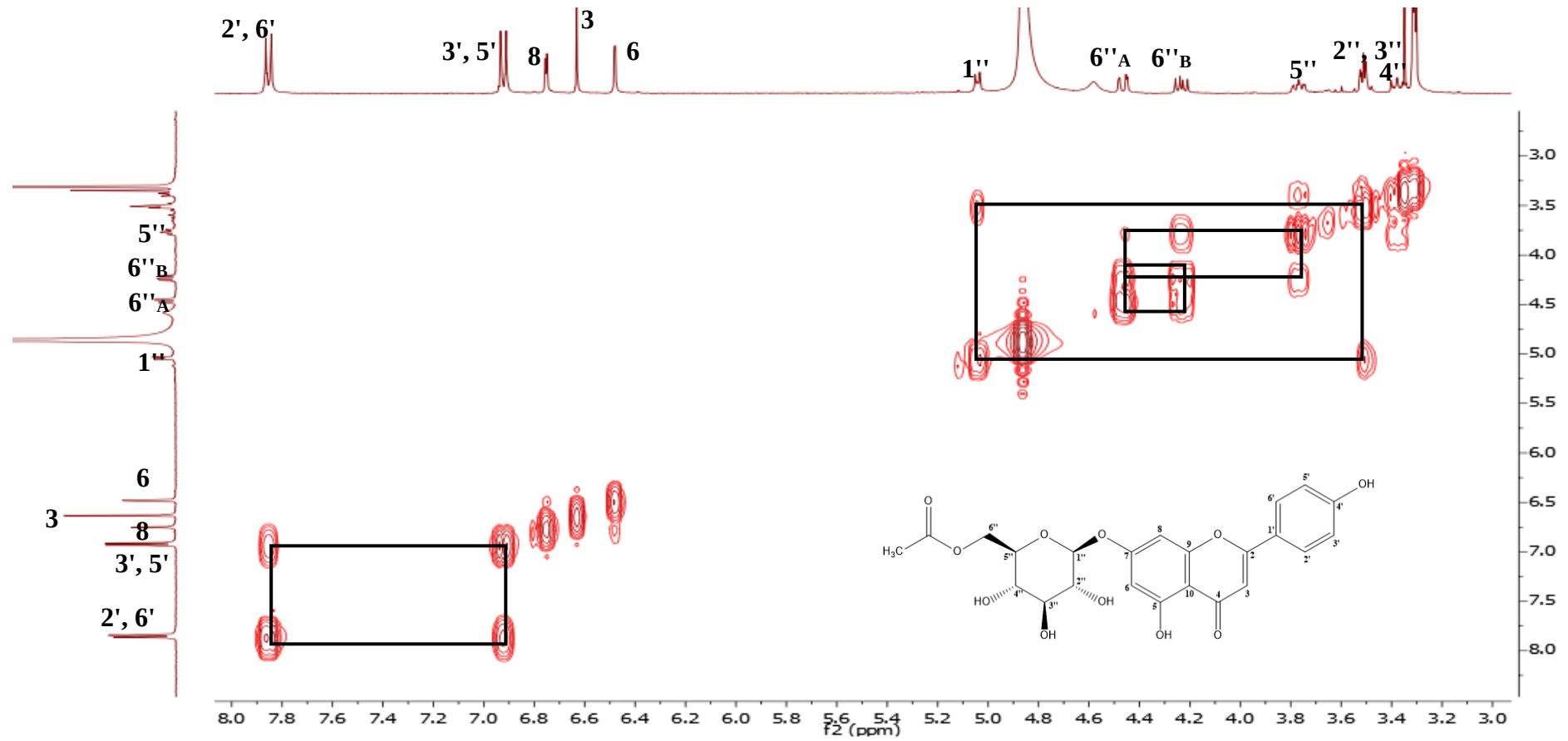
k: kuaterner



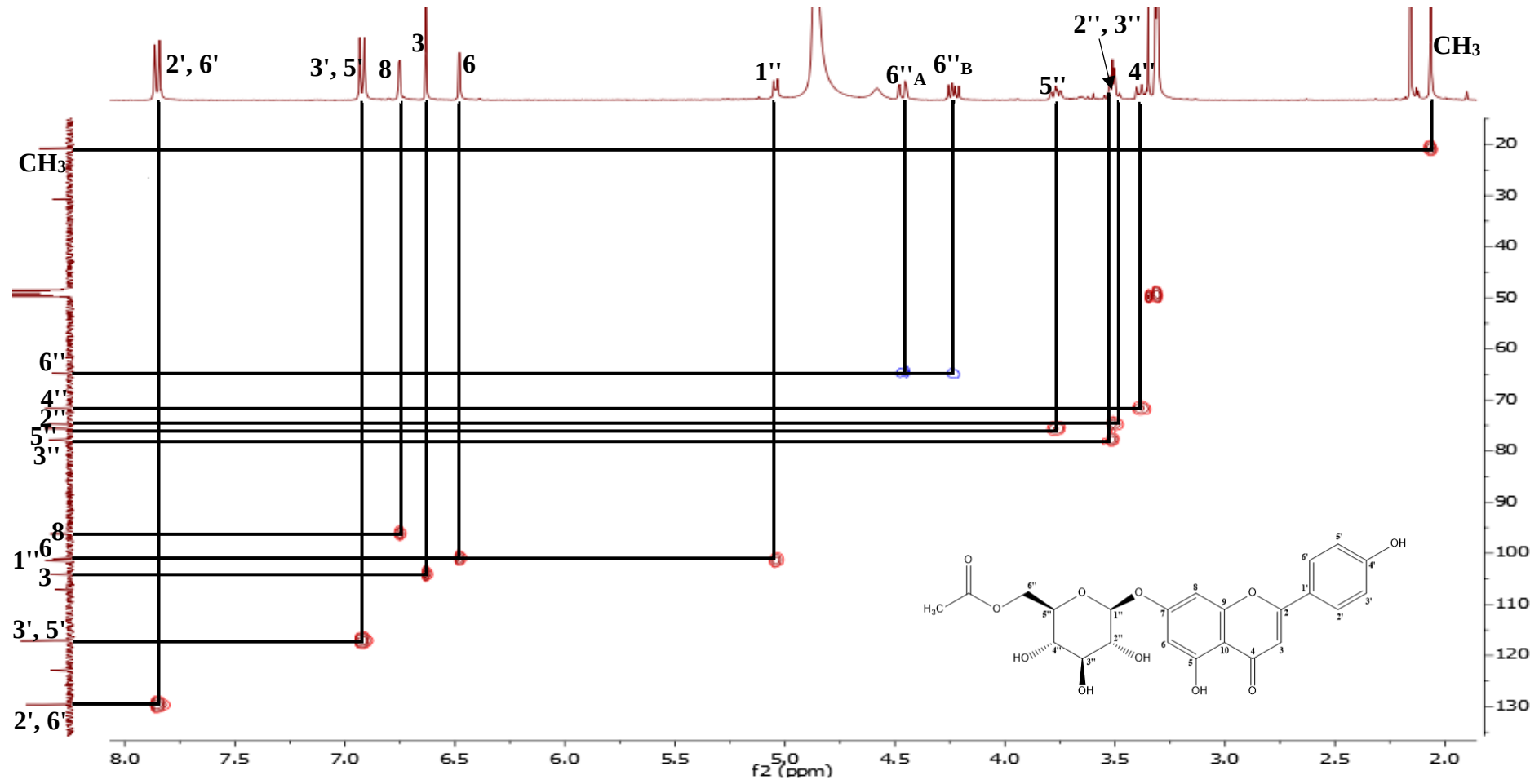
Şekil 4.19. AA-4 bileşiğinin ¹H-NMR spektrumu



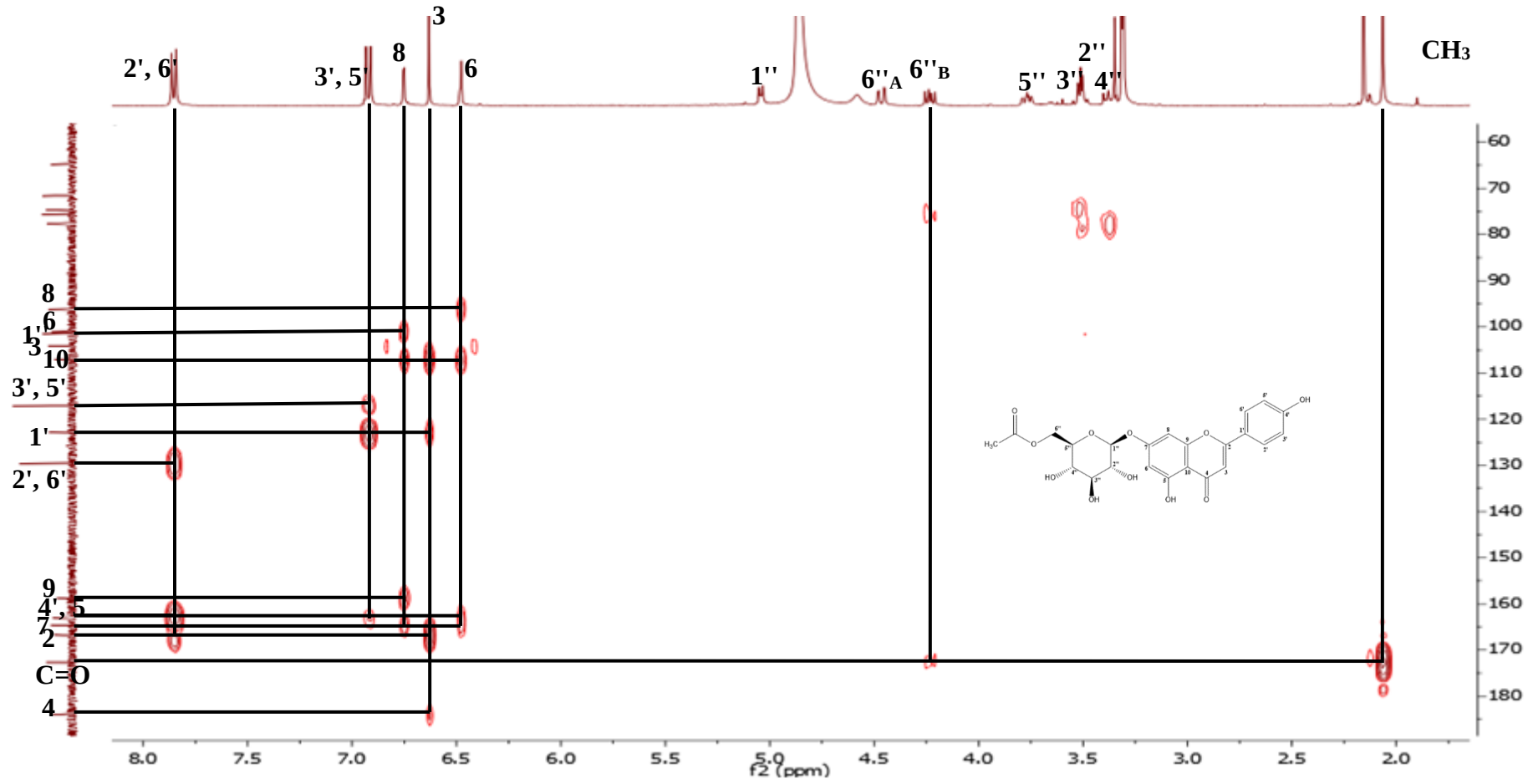
Şekil 4.20. AA-4 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu



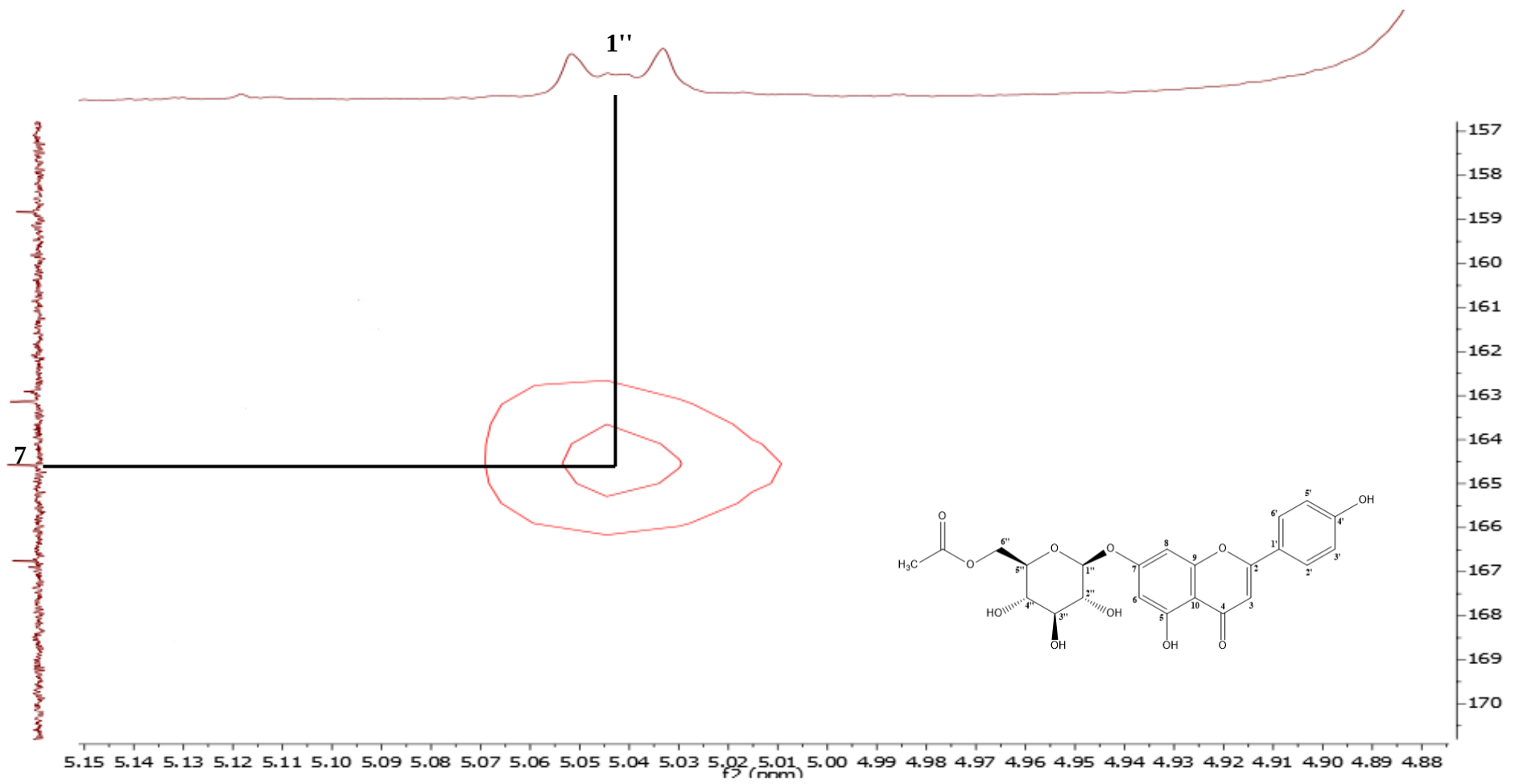
Şekil 4.21. AA-4 bileşiğinin COSY spektrumu



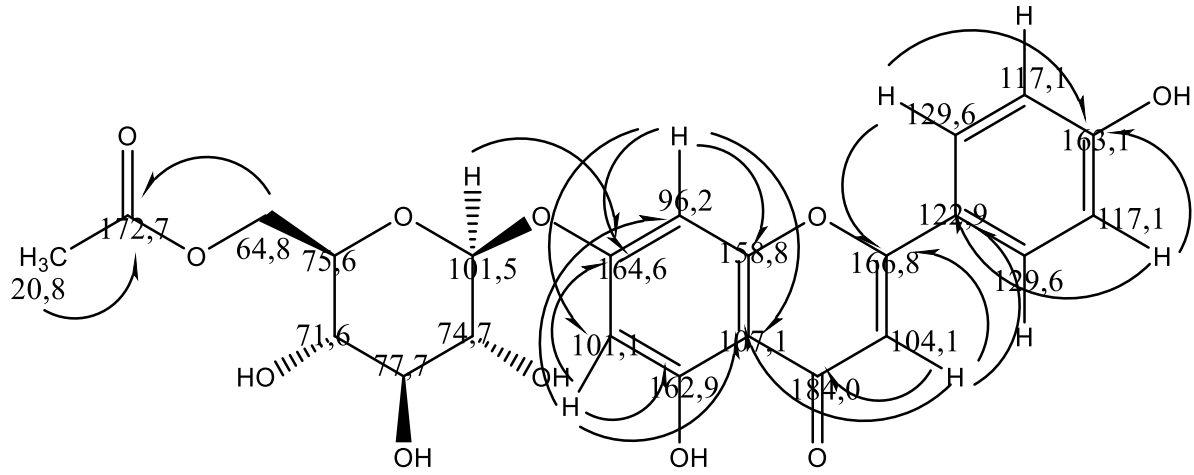
Şekil 4.22. AA-4 bileşiğinin HSQC spektrumu



Şekil 4.23. AA-4 bileşiğinin HMBC spektrumu

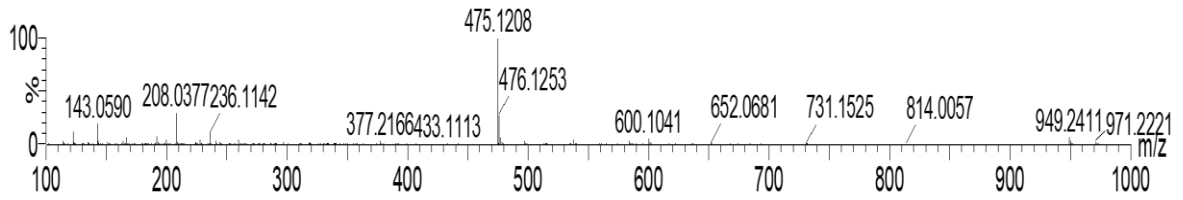


Şekil 4.24. AA-4 bileşiğinin HMBC spektrumunda anomerik protonun 7 konumu ile korelasyonu



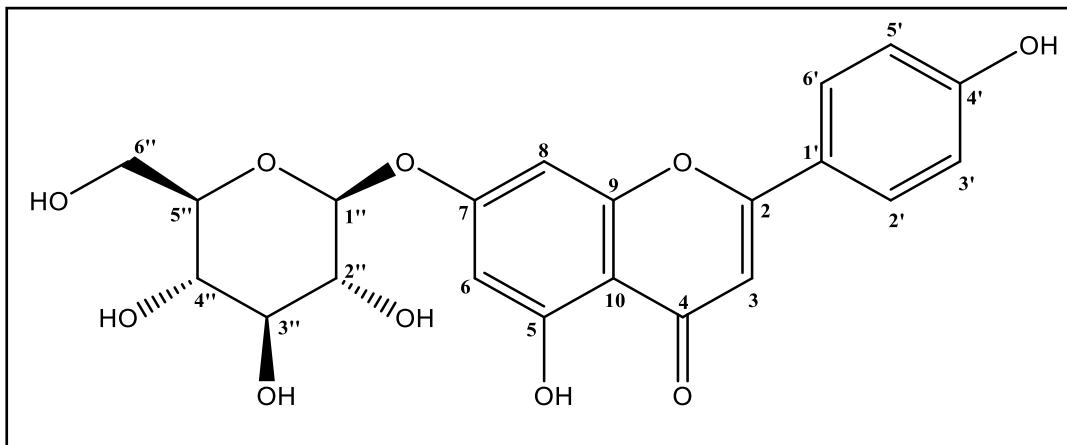
Şekil 4.25. **AA-4** bileşiğinin HMBC korelasyonları

G.U. Eczacılık Fakültesi Merkez Laboratuvarı



Şekil 4.26. **AA-4** bileşiğinin ESI-MS spektrumu

[AA-5] Apigenin-7-O-β-D-glukopiranozit



Apigenin-7-O-β-D-glukopiranozit

C₂₁H₂₀O₁₀ (Mol. Ağ. : 432)

Sarı renkli toz

¹ H-NMR (400 MHz, DMSO)	Şekil 4.27, Çizelge 4.5
¹³ C-NMR (100 MHz, DMSO)	Şekil 4.28, Çizelge 4.5
¹³ C-NMR DEPT-135 (100 MHz, DMSO)	Şekil 4.29
HSQC (400 MHz, DMSO)	Şekil 4.30
HMBC (400 MHz, DMSO)	Şekil 4.31 ve 4.32
ESI-MS (m/z)	Şekil 4.33

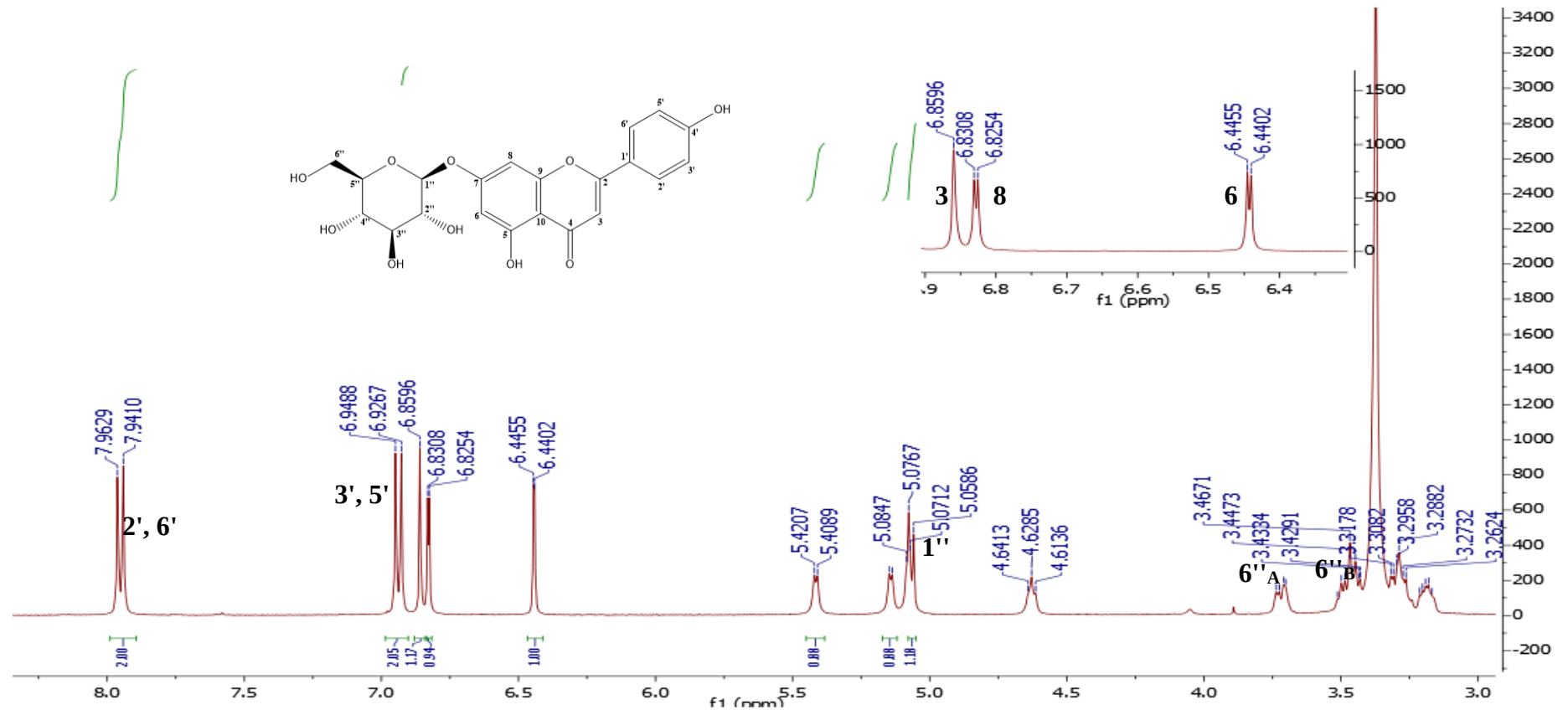
AA-5 bileşiği sarı renkli toz halde elde edilmiş ve ¹H-NMR, ¹³C-NMR, DEPT-135, HSQC ve HMBC spektrumları değerlendirildiğinde bileşiğin molekül formülü C₂₁H₂₀O₁₀ olarak belirlenmiştir. **AA-5** bileşiğine ait ¹H-NMR spektrumunda aromatik bölgede rezonansların olması (Şekil 4.27), ¹³C-NMR spektrumunda 21 karbon olması bileşiğin flavonoit yapısında bir bileşik olduğunu düşündürmüştür (Şekil 4.28). ¹H-NMR spektrumunda aromatik bölgede δ 7,95 (2H, d, J=8,8 Hz) ve 6,94 (2H, d, J=8,8 Hz) ppm'de AB sistemin varlığı, δ 6,83 (1H, d, J=2,1 Hz) ve 6,44 (1H, d, J=2,1 Hz) ppm'de iki adet dublet varlığı ve δ 6,86 ppm'de bir adet singlet rezonansın varlığı ile bu flavonoitin apigenin türevi olduğu sonucuna varılmıştır. Ayrıca δ 7,95 ve 6,94 ppm'deki rezonansların 8,8 Hz'lik yarıma sabitine sahip olmaları birbirlerine göre orto konumunda olduğunu göstermektedir. δ 5,07 ppm'de 7,2 Hz'lik yarıma sabitindeki anomerik proton ve bu protonun HSQC spektrumunda 99,5 ppm ile korelasyon göstermesi, ayrıca 3,72 (1H, dd, J=10,9; 2,8 Hz) ve 3,49 (1H, dd, J=10,9; 5,6 Hz) ppm'de iki adet dublet dublet rezonansın varlığı ve bu rezonansların HSQC spektrumunda 60,6 ppm ile korelasyon göstermesi yapıda β-D-glukopiranozit varlığını

düşündürmüştür (Şekil 4.30). Ayrıca DEPT-135 spektrumunda δ 60,6 ppm rezonansının CH_2 olduğunun görülmesi yapıdaki β -D-glukopiranozit varlığını kanıtlamıştır (Şekil 4.29). Yapıda apigenin ve β -D-glukopiranozit varlığı belirlendikten sonra HMBC spektrumu incelenerek β -D-glukopiranozitin apigeninin hangi konumunda yer aldığı belirlenmeye çalışılmıştır. HMBC spektrumuna bakıldığında β -D-glukopiranozit anomerik protonunun 163,0 ppm ile korelasyon gösterdiği saptanmıştır (Şekil 4.31 ve 4.32). Böylece β -D-glukopiranozitin apigenin halkasının 7. konumundan bağlı olduğu sonucuna varılmıştır. Ayrıca ESI-MS verilerine göre bileşiğin molekül ağırlığı 433,1129 m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ ($\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{O}_{10}$) olarak belirlenmiştir (Şekil 4.33). Bu verilerin literatür bulguları (Li, Jiang ve Shi, 2009) ile kıyaslanmasıyla bileşiğin **apigenin-7-O- β -D-glukopiranozit** olduğu tespit edilmiştir.

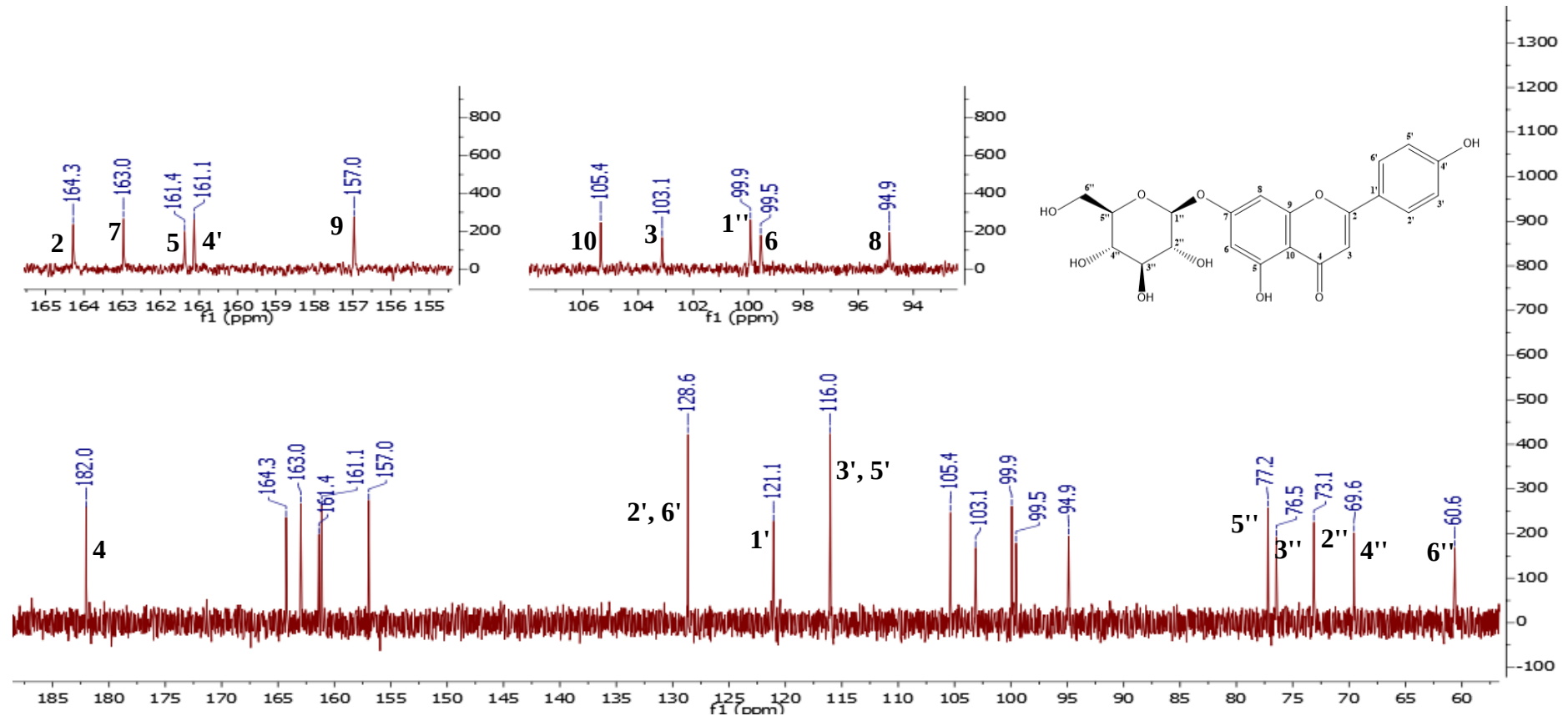
Çizelge 4.5. **AA-5** bileşiğinin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektroskopik değerleri (DMSO, ^1H : 400 MHz, ^{13}C : 100 MHz)

C/H	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm) / J
2 (C)	164,3	k
3 (CH)	103,1	6,86 (1H, s)
4 (C=O)	182,0	k
5 (C)	161,4	k
6 (CH)	99,5	6,44 (1H, d, $J=2,1$ Hz)
7 (C)	163,0	k
8 (CH)	94,9	6,83 (1H, d, $J=2,1$ Hz)
9 (C)	157,0	k
10 (C)	105,4	k
1' (C)	121,1	k
2', 6' (CH)	128,6	7,95 (2H, d, $J=8,8$ Hz)
3', 5' (CH)	116,0	6,94 (2H, d, $J=8,8$ Hz)
4' (C)	161,1	k
1'' (CH)	99,5	5,07 (1H, d, $J=7,2$ Hz)
2'' (CH)	73,1	
3'' (CH)	76,5	
4'' (CH)	69,6	3,44-3,15
5'' (CH)	77,2	
6''_A (CH₂)	60,6	3,72 (1H, dd, $J=10,9$; 2,8 Hz)
6''_B (CH₂)	60,6	3,49 (1H, dd, $J=10,9$; 5,6 Hz)

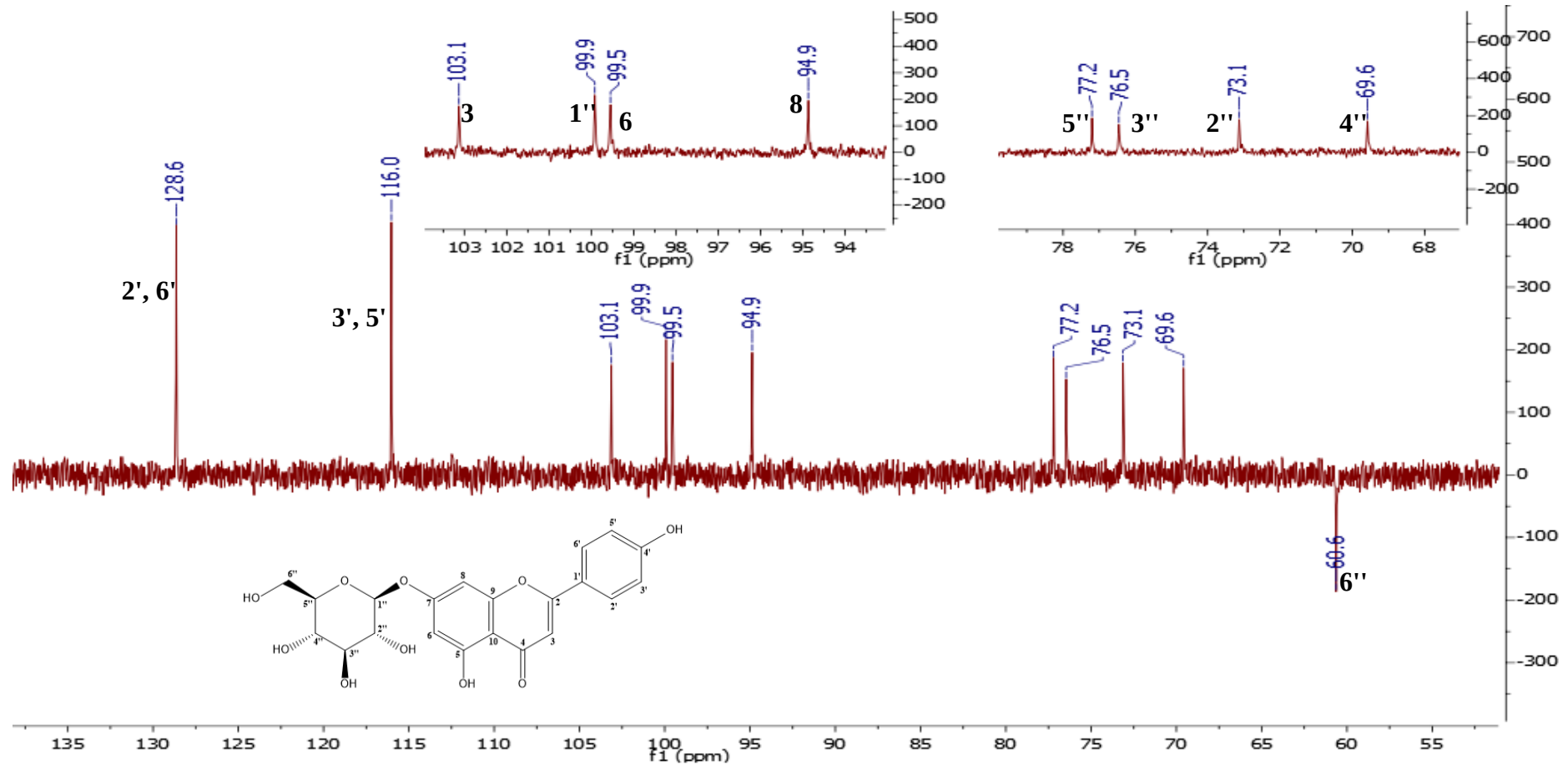
k: kuaterner



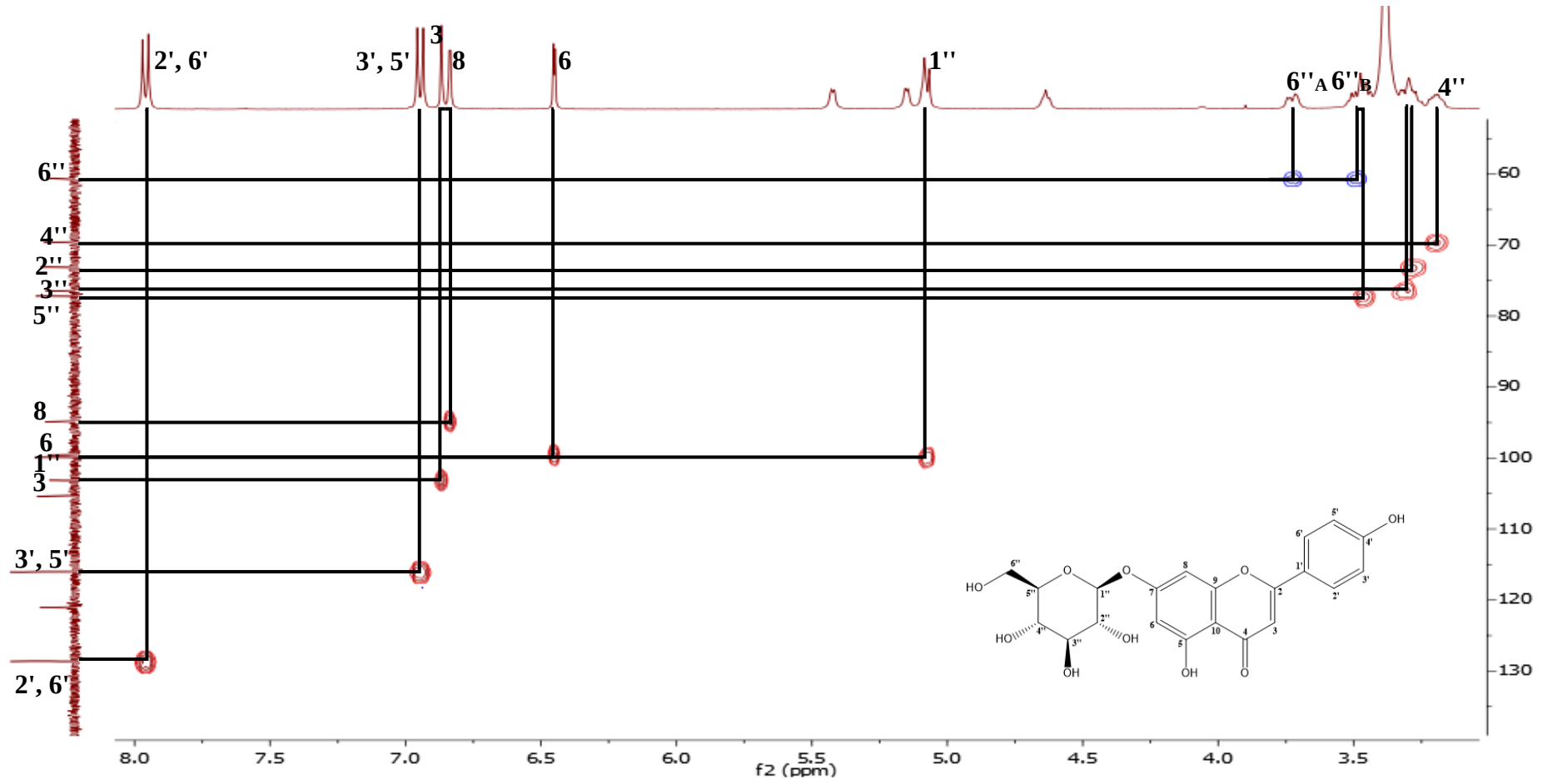
Şekil 4.27. AA-5 bileşiğine ait ^1H -NMR spektrumu



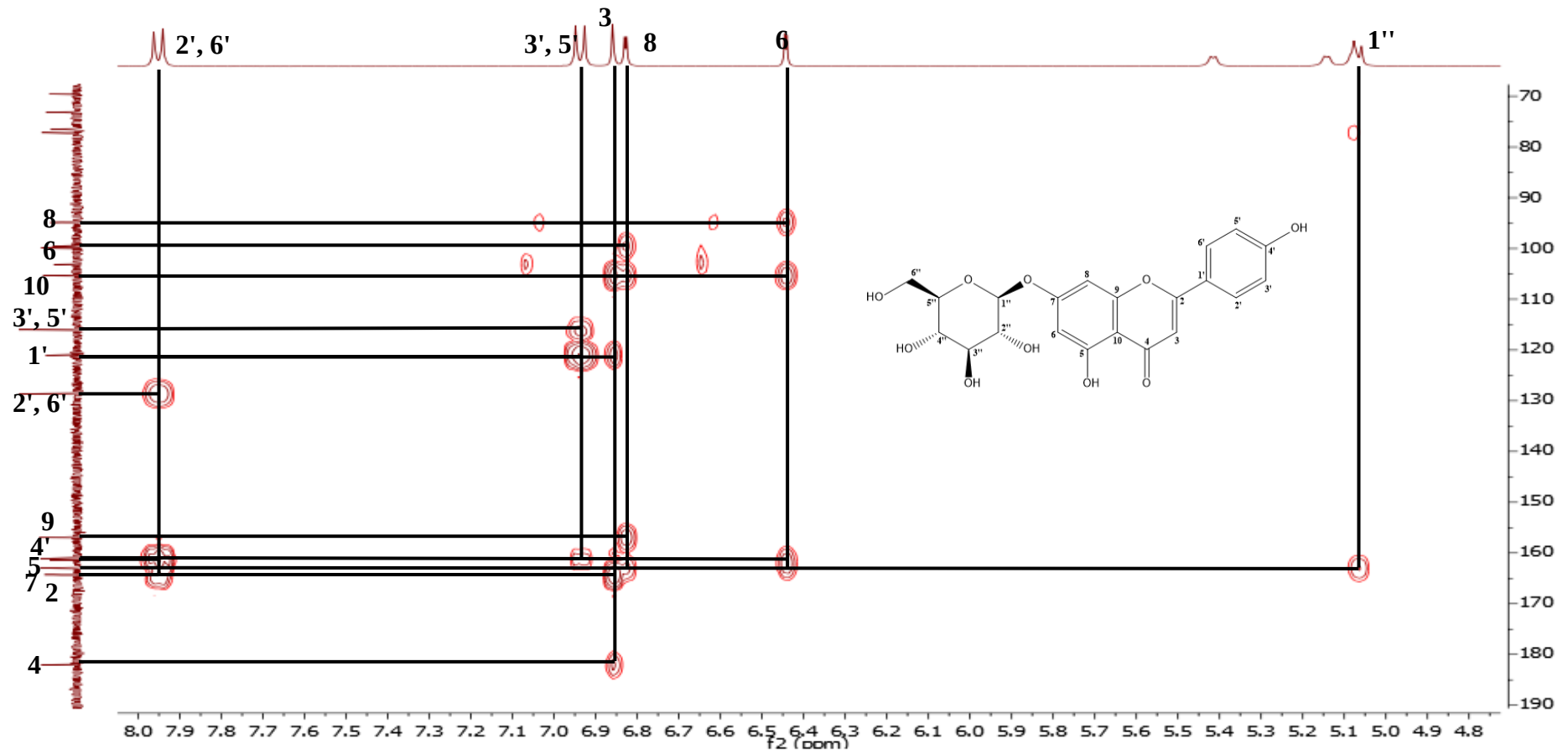
Şekil 4.28. AA-5 bileşiğine ait ^{13}C -NMR spektrumu



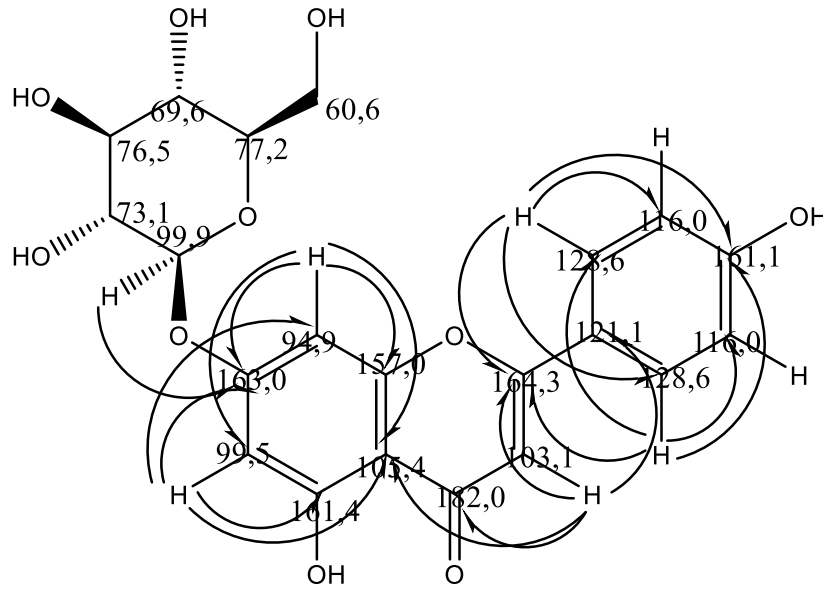
Şekil 4.29. AA-5 bileşiğine ait DEPT-135 spektrumu



Şekil 4.30. AA-5 bileşiğine ait HSQC spektrumu



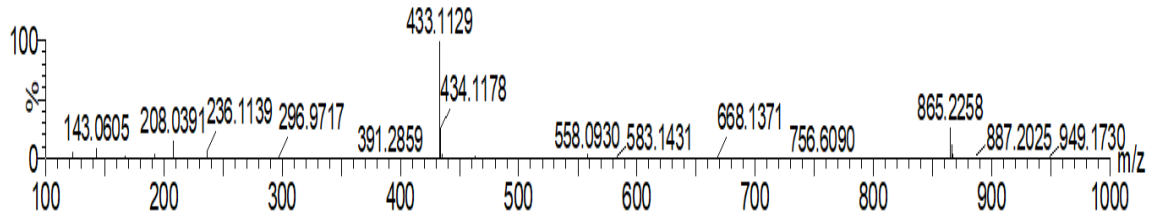
Şekil 4.31. AA-5 bileşiğine ait HMBC spektrumu



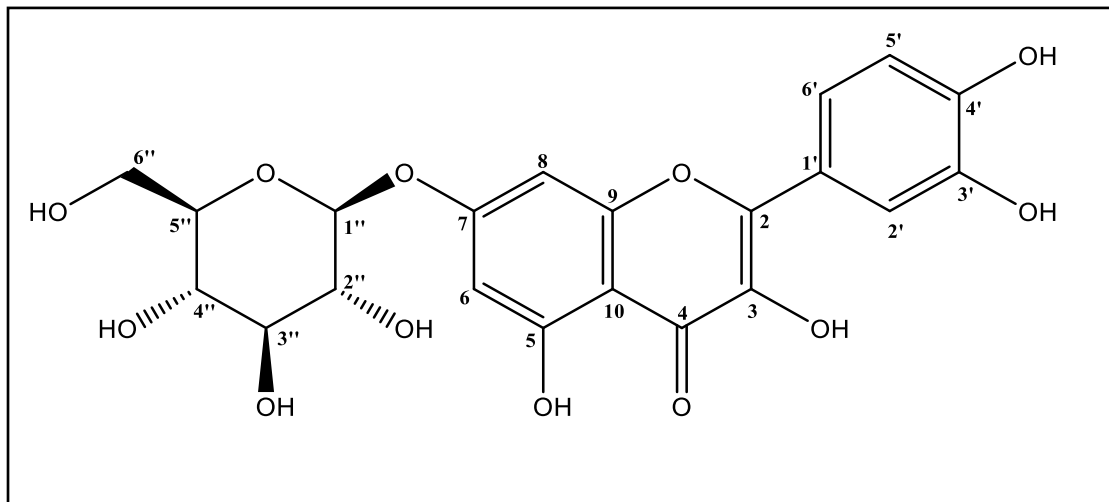
Şekil 4.32. **AA-5** bileşiğinin HMBC korelasyonları

G.U. Eczacılık Fakültesi Merkez Laboratuvarı

1: TOF MS ES+



Şekil 4.33. **AA-5** bileşiğinin ESI-MS spektrumu

[AA-6] Kersetin-7-O-β-D-glukopiranozit

Kersetin-7-O-β-D-glukopiranozit

C₂₁H₂₀O₁₂ (Mol. Ağ. : 464)

Sarı renkli toz

¹ H-NMR (400 MHz, CD ₃ OD)	Şekil 4.34, Çizelge 4.6
¹³ C-NMR (400 MHz, CD ₃ OD)	Çizelge 4.6
COSY (400 MHz, CD ₃ OD)	Şekil 4.35
HSQC (400 MHz, CD ₃ OD)	Şekil 4.36
HMBC (400 MHz, CD ₃ OD)	Şekil 4.37 ve 4.38
ESI-MS (m/z)	Şekil 4.39

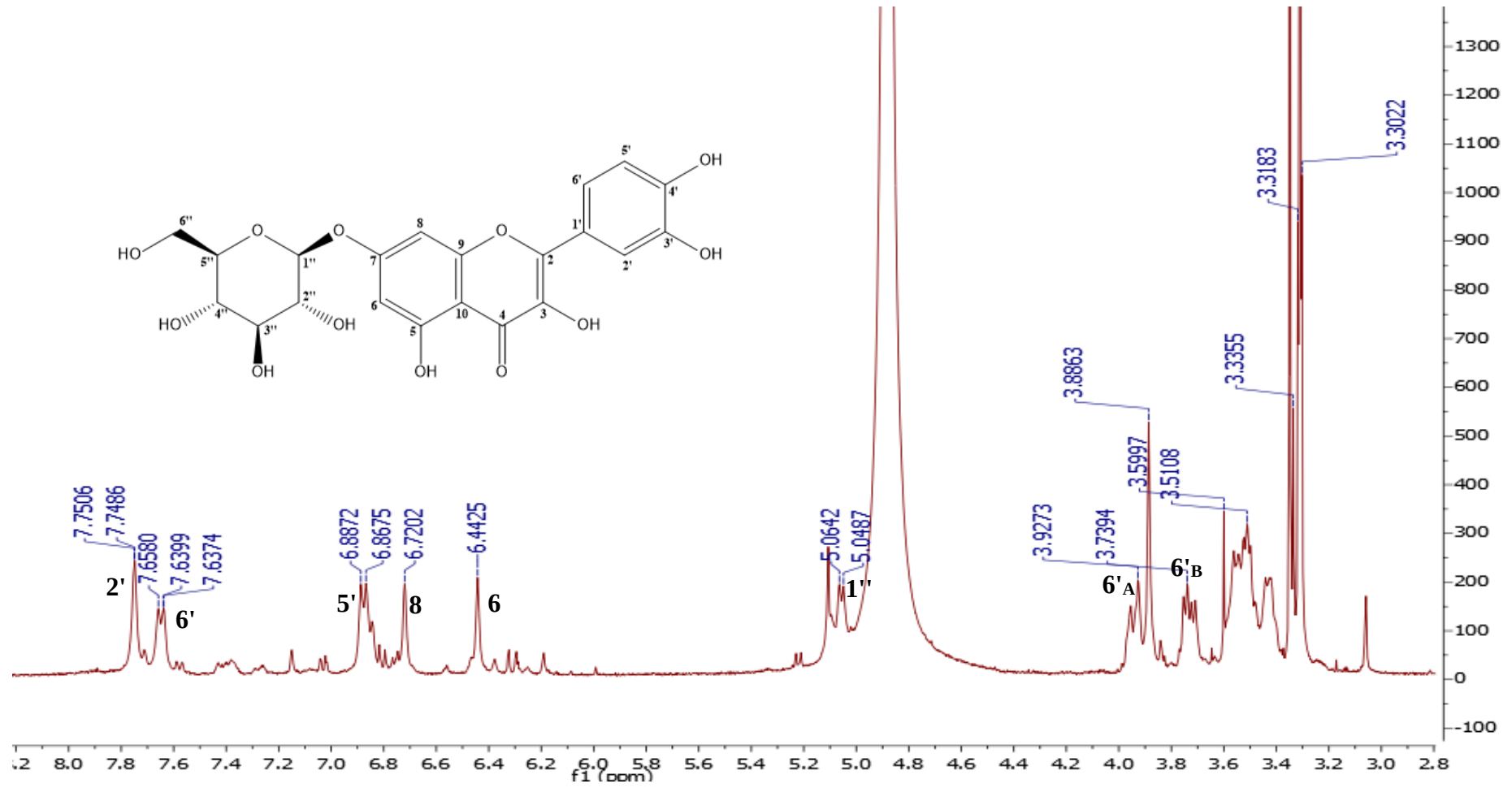
AA-6 bileşiği sarı renkli toz halde elde edilmiş ve ¹H-NMR, ¹³C-NMR, COSY, HSQC ve HMBC spektrumları değerlendirildiğinde bileşiğin molekül formülü C₂₁H₂₀O₁₂ olarak belirlenmiştir. **AA-6** bileşiğine ait ¹H-NMR spektrumunda (Şekil 4.34) aromatik bölgede rezonansların olması, ¹³C-NMR spektrumunda 21 karbon olması bileşiğin flavonoid yapısında bir bileşik olduğunu düşündürmüştür. ¹H-NMR spektrumunda aromatik bölgede δ 7,75 (1H, d, J=2,0 Hz), 7,64 (1H, dd, J=7,8; 2,0 Hz) ve 6,87 (1H, d, J=7,8 Hz) ppm'deki rezonanslar ile ABX sistemin varlığı ve δ 6,72 (1H, d, J=2,0 Hz) ve 6,44 (1H, d, J=2,0 Hz) ppm'de iki adet geniş singlet varlığı ile bu flavonoidin kersetin türevi olduğu sonucuna varılmıştır. ABX sistem protonları ve flavonoid halkasının 6 ve 8 konumuna ait rezonansların korelasyonu COSY spektrumu ile doğrulanmıştır (Şekil 4.35). δ 5,07 ppm'de 7,7 Hz'lik yarılmama sabitindeki anomerik proton ve bu protonun HSQC spektrumunda 101,6 ppm ile korelasyon göstermesi ayrıca δ 3,94 (1H, dd, J=11,8; 1,9 Hz) ve δ 3,73 (1H, dd, J=11,8; 5,6 Hz) ppm'de iki adet dublet dublet rezonansın varlığı ve bu rezonansların HSQC

spektrumunda 62,4 ppm ile korelasyon göstermesi yapıda β -D-glukopiranozit varlığını düşündürmüştür (Şekil 4.36). Yapıda kersetin ve β -D-glukopiranozit varlığı NMR spektrumlarından elde edilen veriler ile kanıtlanmıştır. β -D-glukopiranozitin kersetinin hangi konumundan bağlı olduğunun tespiti için HMBC spektrumunda anomerik protonun korelasyonları incelenmiş ve 164,4 ppm ile korelasyon gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 4.37 ve 4.38). Bu da β -D-glukopiranozitin kersetin halkasının 7. konumundan bağlı olduğunu düşündürmüştür. Ayrıca ESI-MS verilerine göre bileşiğin molekül ağırlığı 465,1094 m/z $[M+H]^+$ ($C_{21}H_{21}O_{12}$) olarak belirlenmiştir (Şekil 4.39). Elde edilen sonuçlar literatür bulguları (Legault ve diğerleri, 2011) ile karşılaştırıldığında bileşiğin **kersetin-7-O- β -D-glukopiranozit** olduğu tespit edilmiştir.

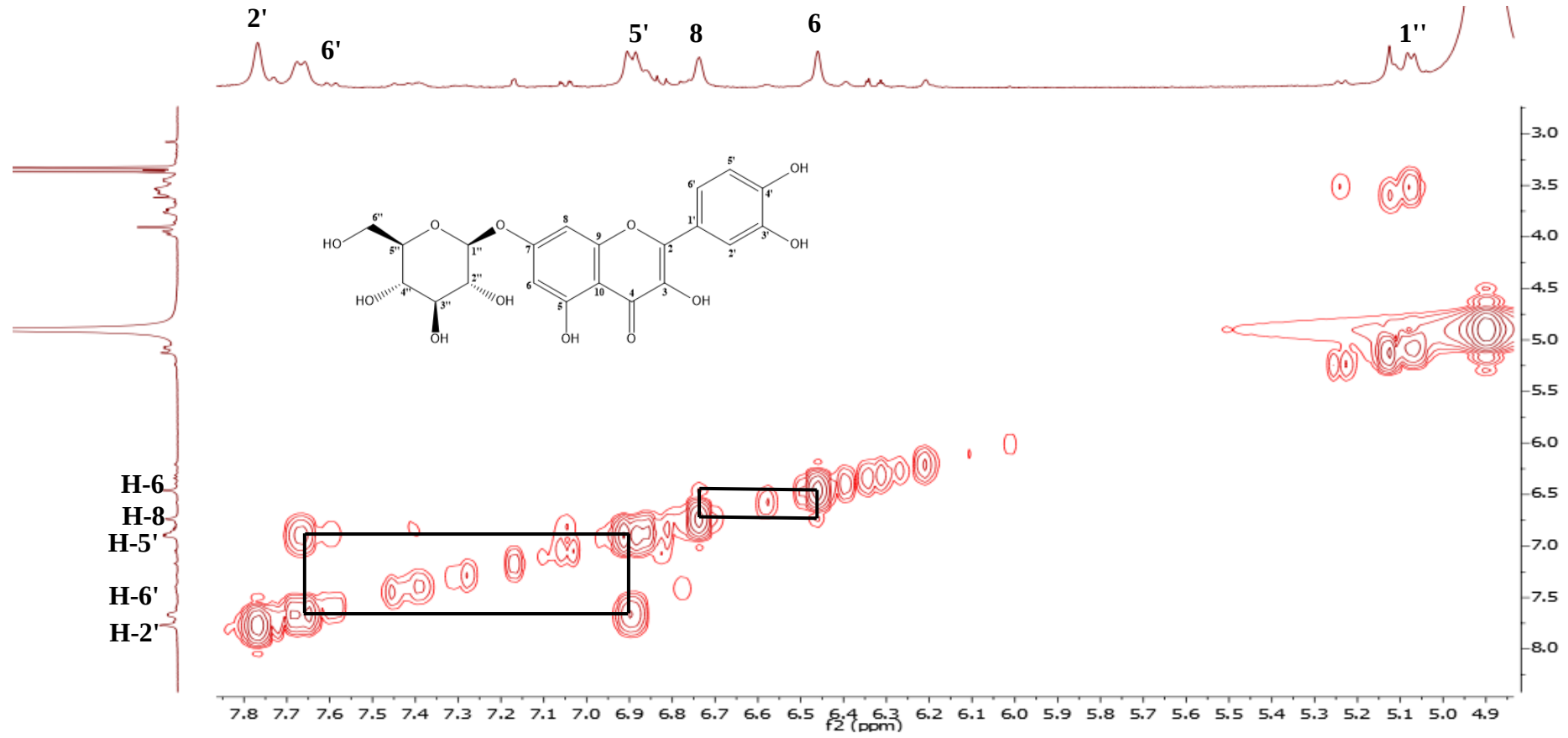
Çizelge 4.6. **AA-6** bileşiğinin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektroskopik değerleri (CD_3OD , ^1H : 400 MHz, ^{13}C : 100 MHz)

C/H	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm) / J
2 (C)	148,2	k
3 (C)	136,5	k
4 (C=O)	177,3	k
5 (C)	161,5	k
6 (CH)	100,2	6,44 (1H, d, $J=2,0$ Hz)
7 (C)	164,4	k
8 (CH)	95,5	6,72 (1H, d, $J=2,0$ Hz)
9 (C)	156,2	k
10 (C)	105,9	k
1' (C)	124,0	k
2' (CH)	116,2	7,75 (1H, d, $J=2,0$ Hz)
3' (C)	146,2	k
4' (C)	148,7	k
5' (CH)	116,2	6,87 (1H, d, $J=7,8$ Hz)
6' (CH)	121,9	7,64 (1H, dd, $J=7,8$; 2,0 Hz)
1'' (CH)	101,6	5,07 (1H, d, $J=7,7$ Hz)
2'' (CH)	74,7	3,56-3,36
3'' (CH)	77,8	
4'' (CH)	71,3	
5'' (CH)	78,3	
6''_A (CH₂)	62,4	3,94 (1H, dd, $J=11,8$; 1,9 Hz)
6''_B (CH₂)	62,4	3,73 (1H, dd, $J=11,8$; 5,6 Hz)

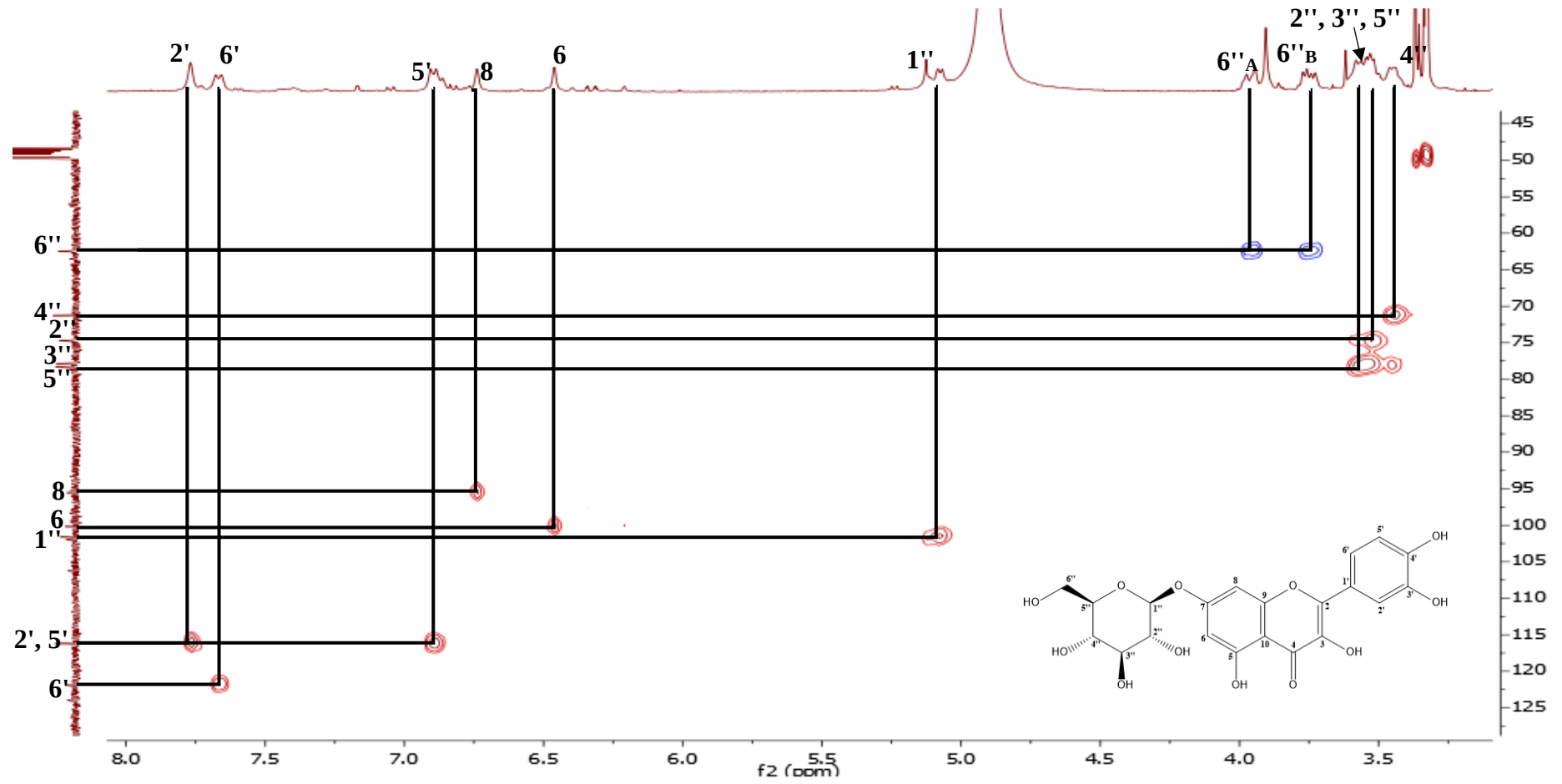
k: kuaterner



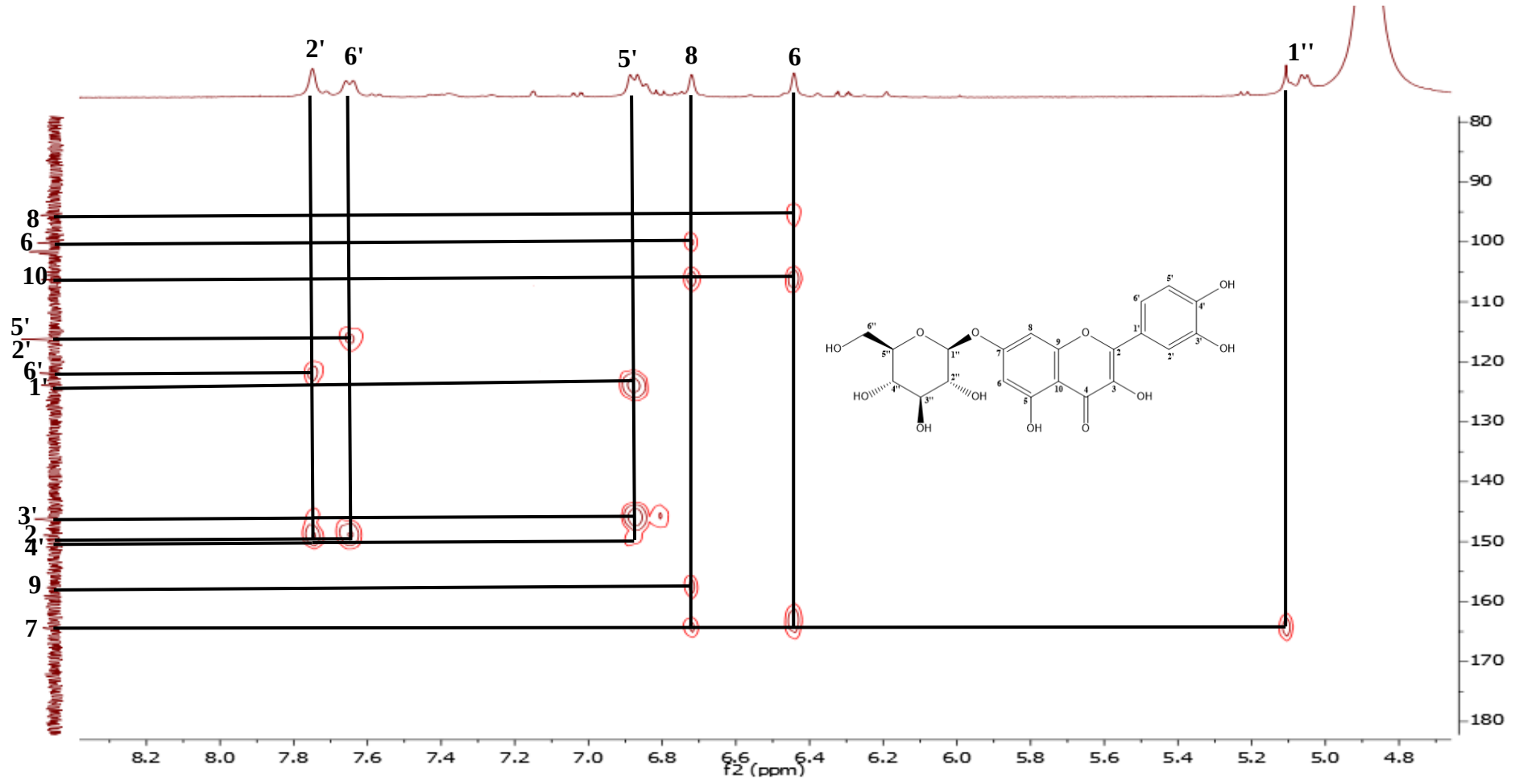
Şekil 4.34. AA-6 bileşiğine ait $^1\text{H-NMR}$ spektrumu



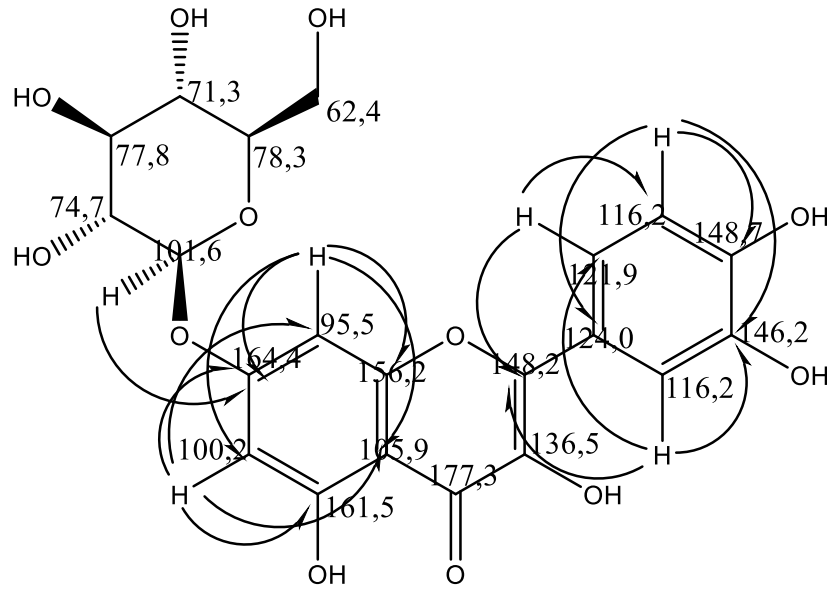
Şekil 4.35. AA-6 bileşiğine ait COSY spektrumu



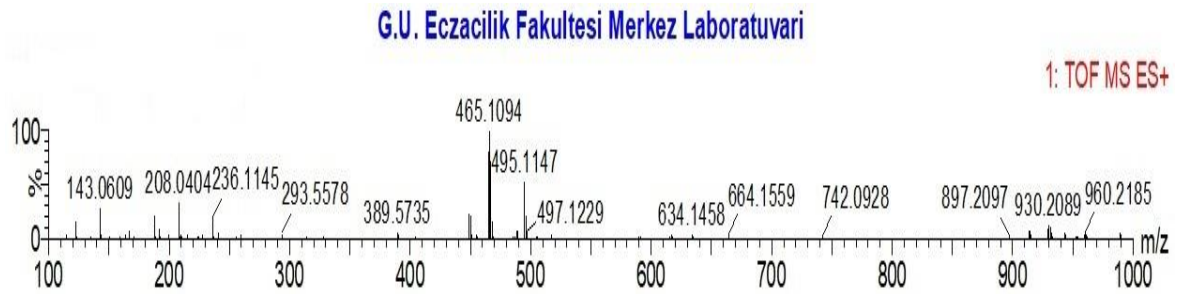
Şekil 4.36. AA-6 bileşiğine ait HSQC spektrumu



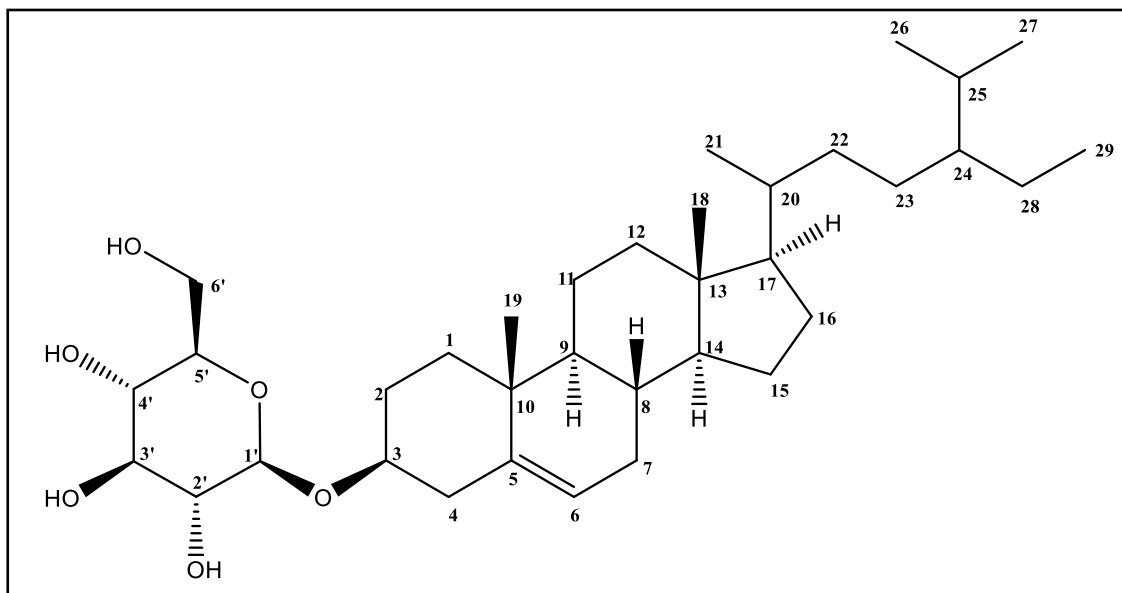
Şekil 4.37. AA-6 bileşiğine ait HMBC spektrumu



Şekil 4.38. **AA-6** bileşiğinin HMBC korelasyonları



Şekil 4.39. **AA-6** bileşiğine ait ESI-MS spektrumu

[AA-7] β -sitosterol 3-O- β -D-glukopiranozit β -sitosterol 3-O- β -D-glukopiranozit $C_{35}H_{60}O_6$ (Mol. Ağ. : 576)

Beyaz renkli toz

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3:CD_3OD$ (1:1))	Şekil 4.40 ve 4.41, Çizelge 4.7
^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3:CD_3OD$ (1:1))	Şekil 4.42 ve 4.43, Çizelge 4.7
HSQC (400 MHz, $CDCl_3:CD_3OD$ (1:1))	Şekil 4.44
HMBC (400 MHz, $CDCl_3:CD_3OD$ (1:1))	Şekil 4.45

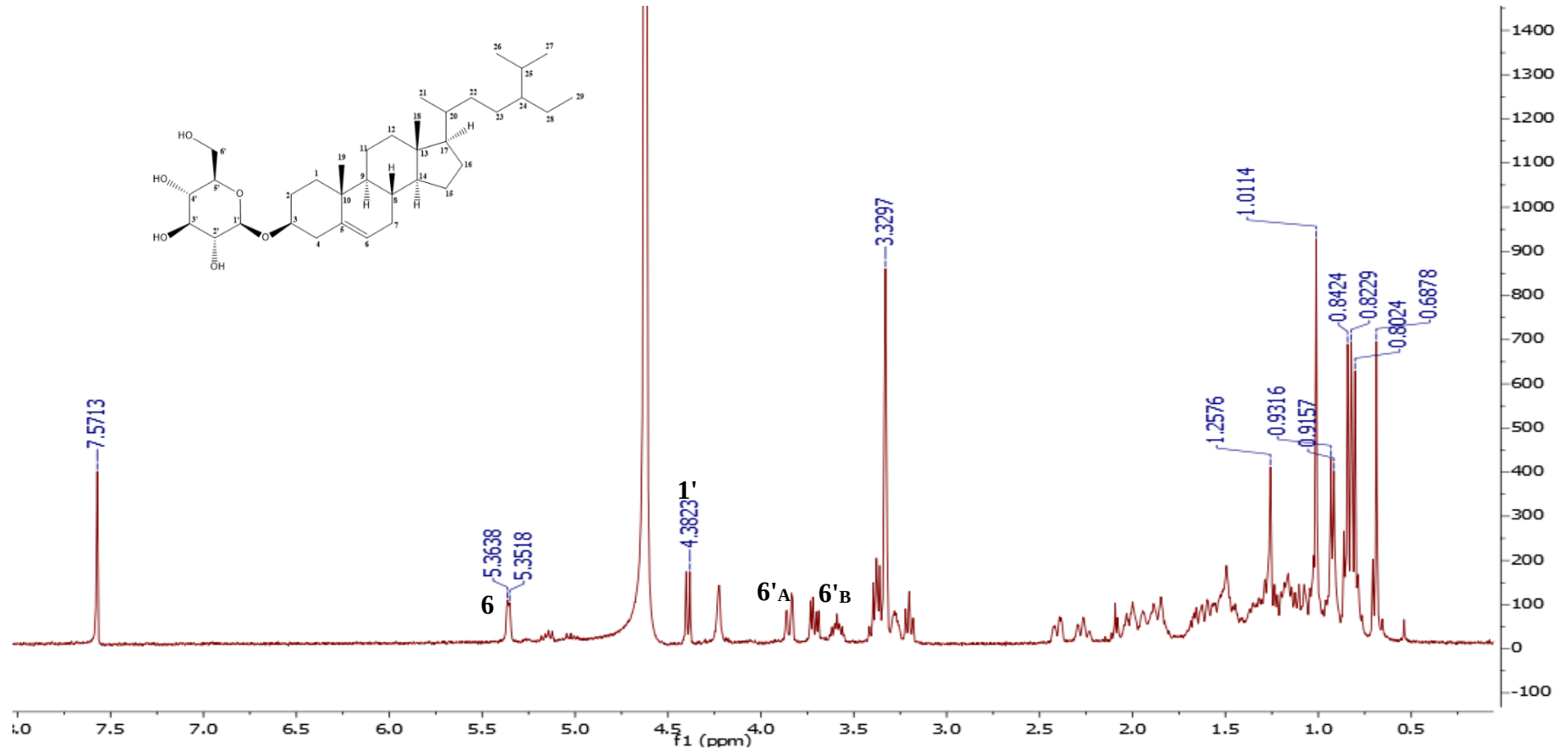
AA-7 bileşiği beyaz renkli toz halde elde edilmiş ve 1H -NMR, ^{13}C -NMR ve DEPT 135 spektrumları değerlendirildiğinde bileşiğin molekül formülü $C_{35}H_{60}O_6$ olarak belirlenmiştir. **AA-7** bileşiğinin 1H , ^{13}C -NMR ve DEPT-135 verilerine bakılarak bileşikteki 35 karbonun 15'i CH, 11'i CH_2 , 6'sı CH_3 , 3'ü kuaterner karbon atomu olduğu belirlenmiştir. Bileşiğin 1H -NMR spektrumunda δ 4,64'te dublet gözlenen anomerik proton sinyali ($J=7,8$ Hz, H-1') yapıda şeker molekülünün bulunduğunu ortaya koymuştur (Şekil 4.40). 1H -NMR spektrumunda 6 metil sinyali gözlenmiştir (Şekil 4.41). ^{13}C -NMR spektrumunda 141,0 ve 122,5 ppm'de rezonansların varlığı halkada çifte bağın varlığını işaret etmektedir (Şekil 4.42 ve 4.43). HSQC spektrumu yardımı ile çifte bağ protonlarına ait ve şeker protonlarına ait karbonlar belirlenmiştir (Şekil 4.44). HMBC spektrumunda δ 79,6'daki C-3 sinyali ile anomerik proton arasındaki etkileşim β -D-glukopiranozitin C-3 olduğunu göstermiştir (Şekil 4.45). Elde edilen veriler literatür bulguları (Kojima, Sato, Hatano ve Ogura, 1990; Rai ve

diğerleri, 2006) ile karşılaştırıldığında bileşiğin **β -sitosterol 3-O- β -D-glukopiranozit** yapısında olduğu tespit edilmiştir.

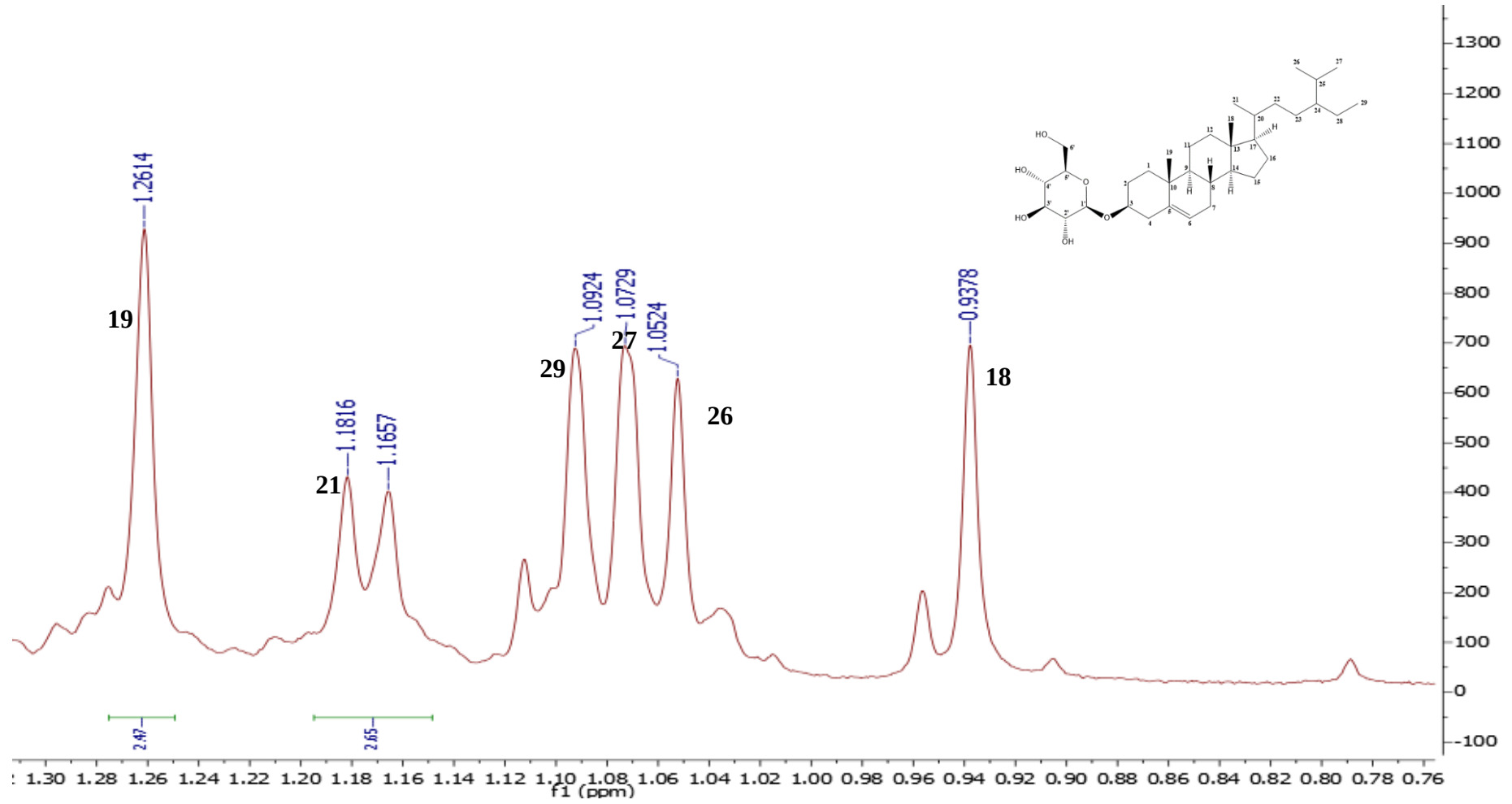
Çizelge 4.7. **AA-7** bileşiğinin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektroskopik değerleri ($\text{CDCl}_3:\text{CD}_3\text{OD}$ (1:1), ^1H : 400 MHz, ^{13}C : 100 MHz)

C/H	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm) / J
1 (CH ₂)	37,9	-
2 (CH ₂)	30,1	-
3 (CH)	79,6	-
4 (CH ₂)	40,4	-
5 (C)	141,0	k
6 (CH)	122,5	5,60 (1H, gs)
7 (CH ₂)	32,5	-
8 (CH)	31,6	-
9 (CH)	50,8	-
10 (C)	37,3	k
11 (CH ₂)	21,6	-
12 (CH ₂)	39,2	-
13 (C)	42,9	k
14 (CH)	57,4	-
15 (CH ₂)	24,8	-
16 (CH ₂)	28,8	-
17 (CH)	56,7	-
18 (CH ₃)	12,2	0,93 (3H, s)
19 (CH ₃)	19,7	1,26 (3H, s)
20 (CH)	36,7	-
21 (CH ₃)	19,1	1,17 (3H, d, $J=6,36$ Hz)
22 (CH ₂)	34,5	-
23 (CH ₂)	26,6	-
24 (CH)	46,5	-
25 (CH)	29,7	-
26 (CH ₃)	19,3	1,05 (3H, d)
27 (CH ₃)	20,1	1,07 (3H, d)
28 (CH ₂)	23,6	-
29 (CH ₃)	12,2	1,09 (3H, t)
1' (CH)	101,8	4,64 (1H, d, $J=7,8$ Hz)
2' (CH)	74,2	3,45 (1H, t)
3' (CH)	77,2	3,63 (1H, m)
4' (CH)	70,9	3,62 (1H, m)
5' (CH)	76,7	3,52 (1H, m)
6'A (CH ₂)	62,3	4,10 (1H, dd, $J=12,0$; 2,5 Hz)
6'B (CH ₂)	62,3	3,96 (1H, dd, $J=12,0$; 5,1 Hz)

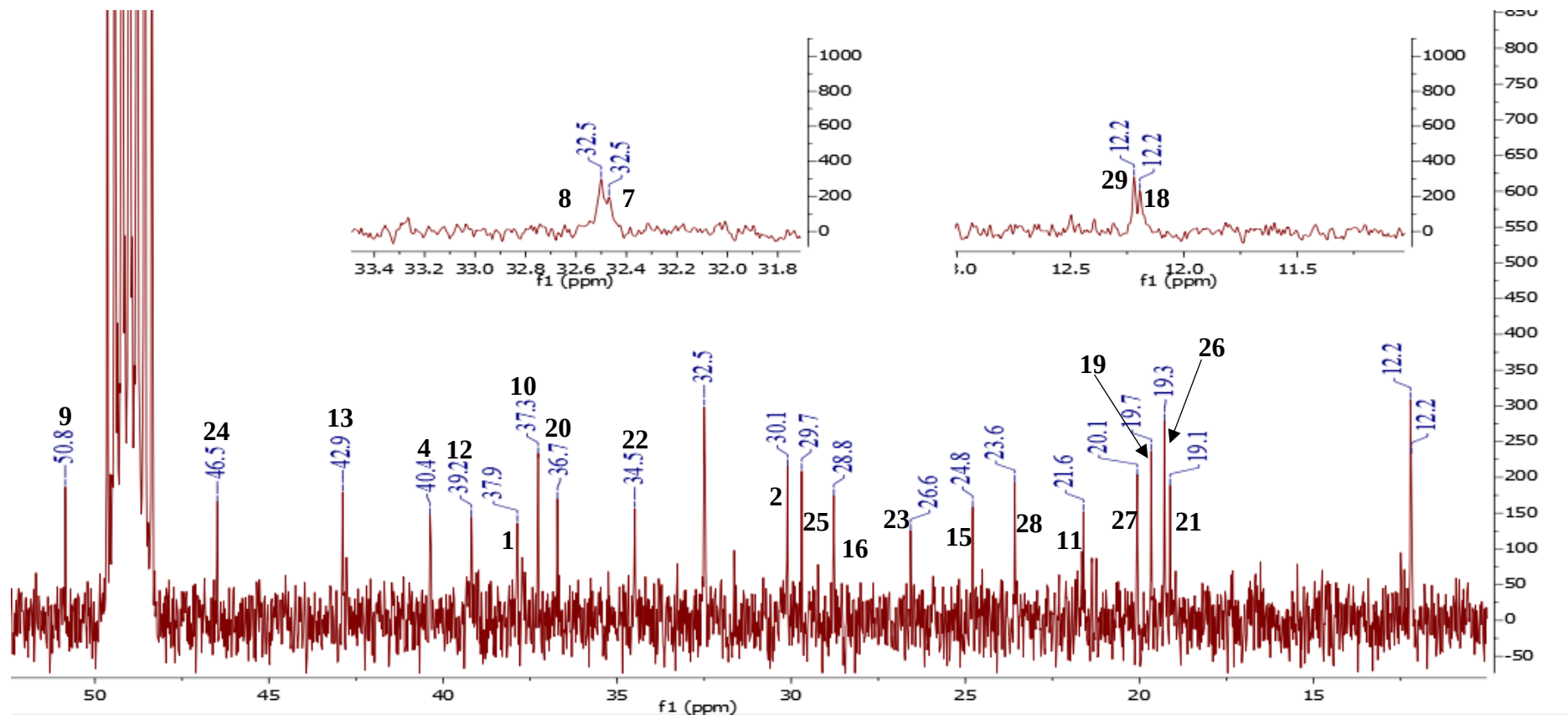
k: kuaterner; gs: geniş singlet



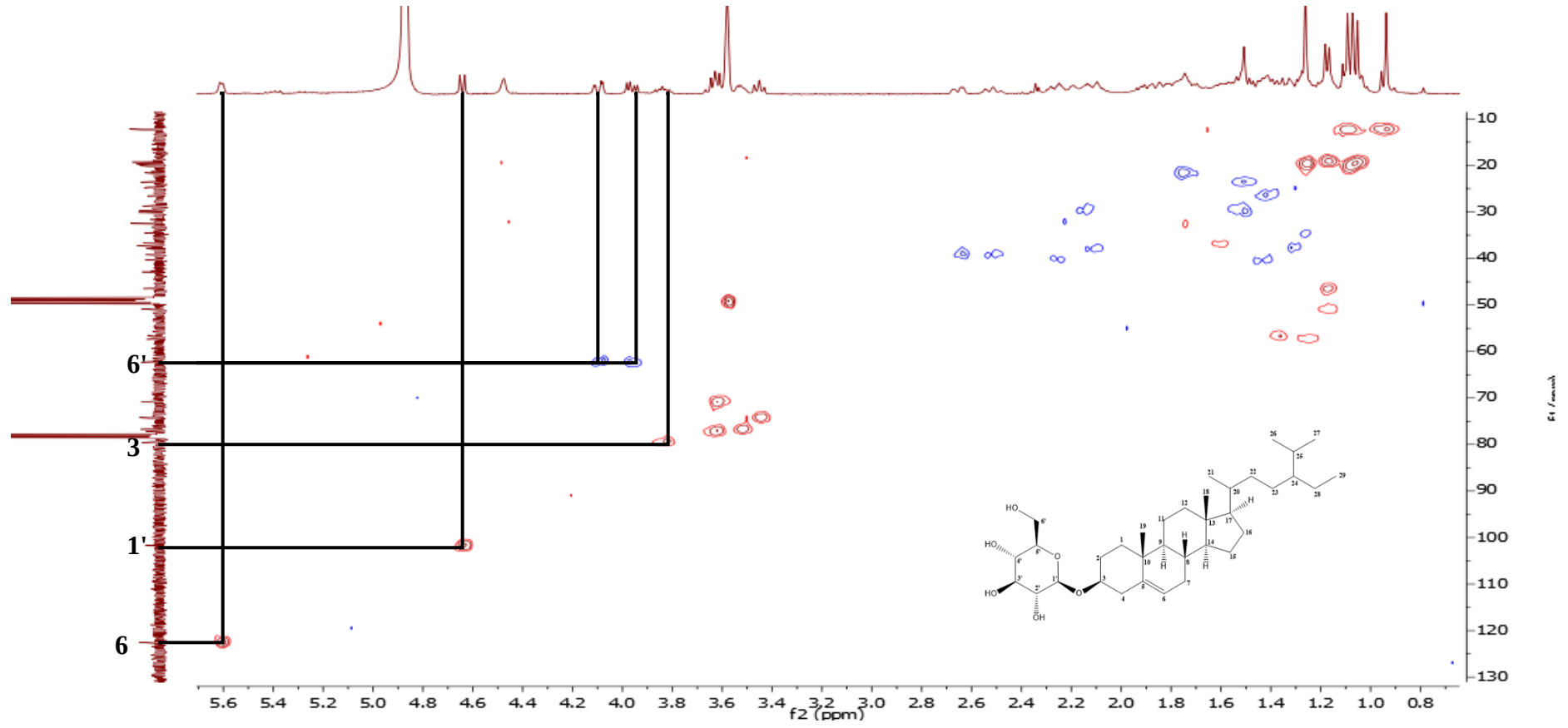
Şekil 4.40. AA-7 bileşiğine ait ¹H-NMR spektrumu



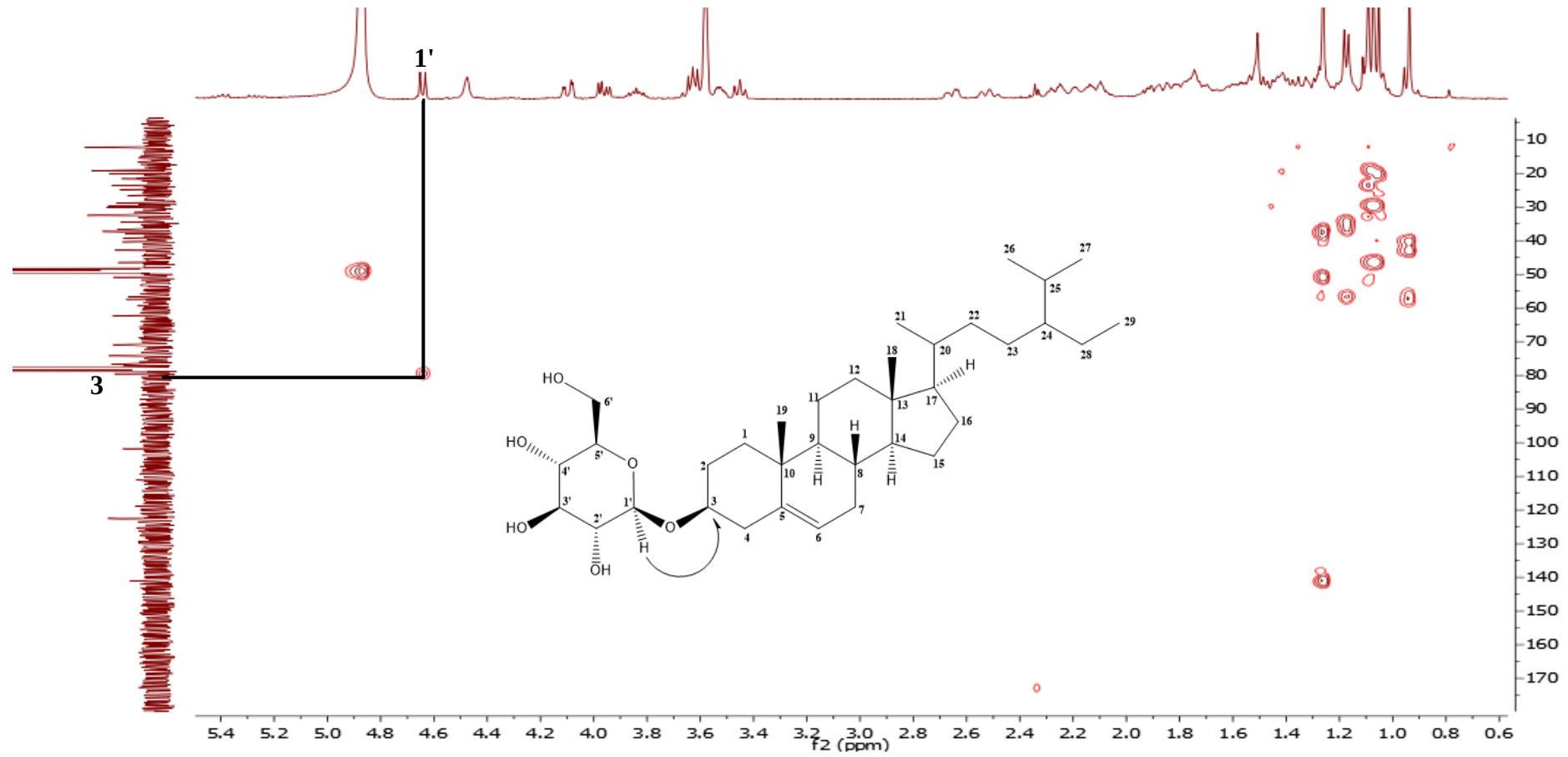
Şekil 4.41. AA-7 bileşiğine ait ^1H -NMR spektrumunda CH_3 rezonansları



Şekil 4.43. AA-7 bileşiğine ait ^{13}C -NMR spektrumu

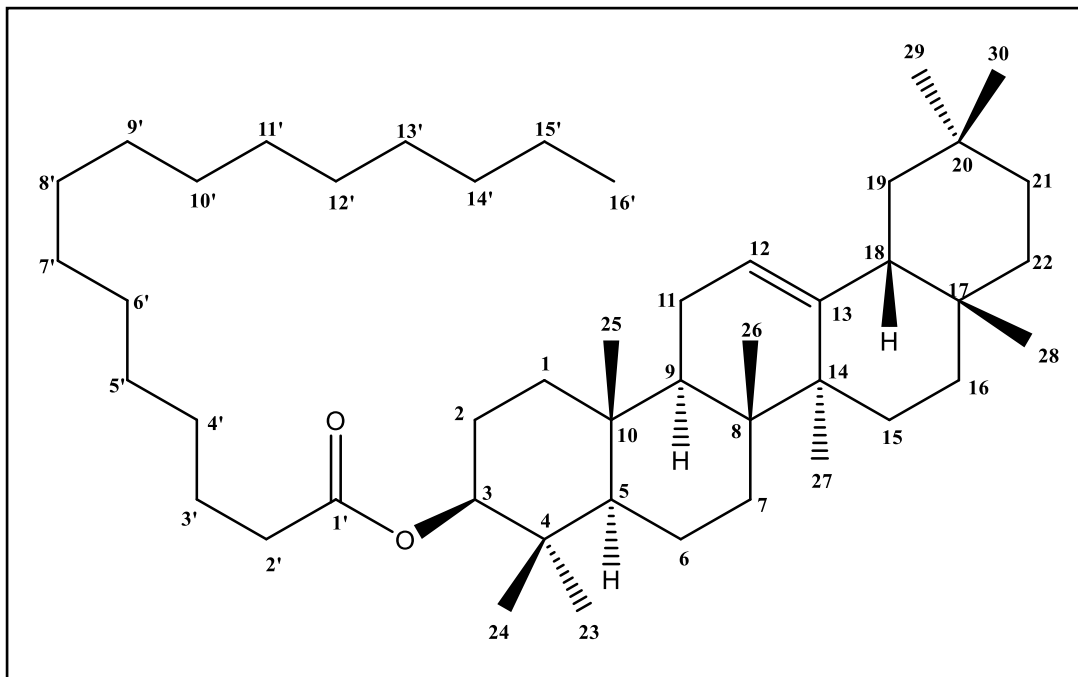


Şekil 4.44. AA-7 bileşiğine ait HSQC spektrumu



Şekil 4.45. AA-7 bileşiğine ait HMBC spektrumu

[AA-8] β -amirin palmitat



β -amirin palmitat

$C_{46}H_{80}O_2$ (Mol. Ağ.: 665)

Beyaz renkli toz

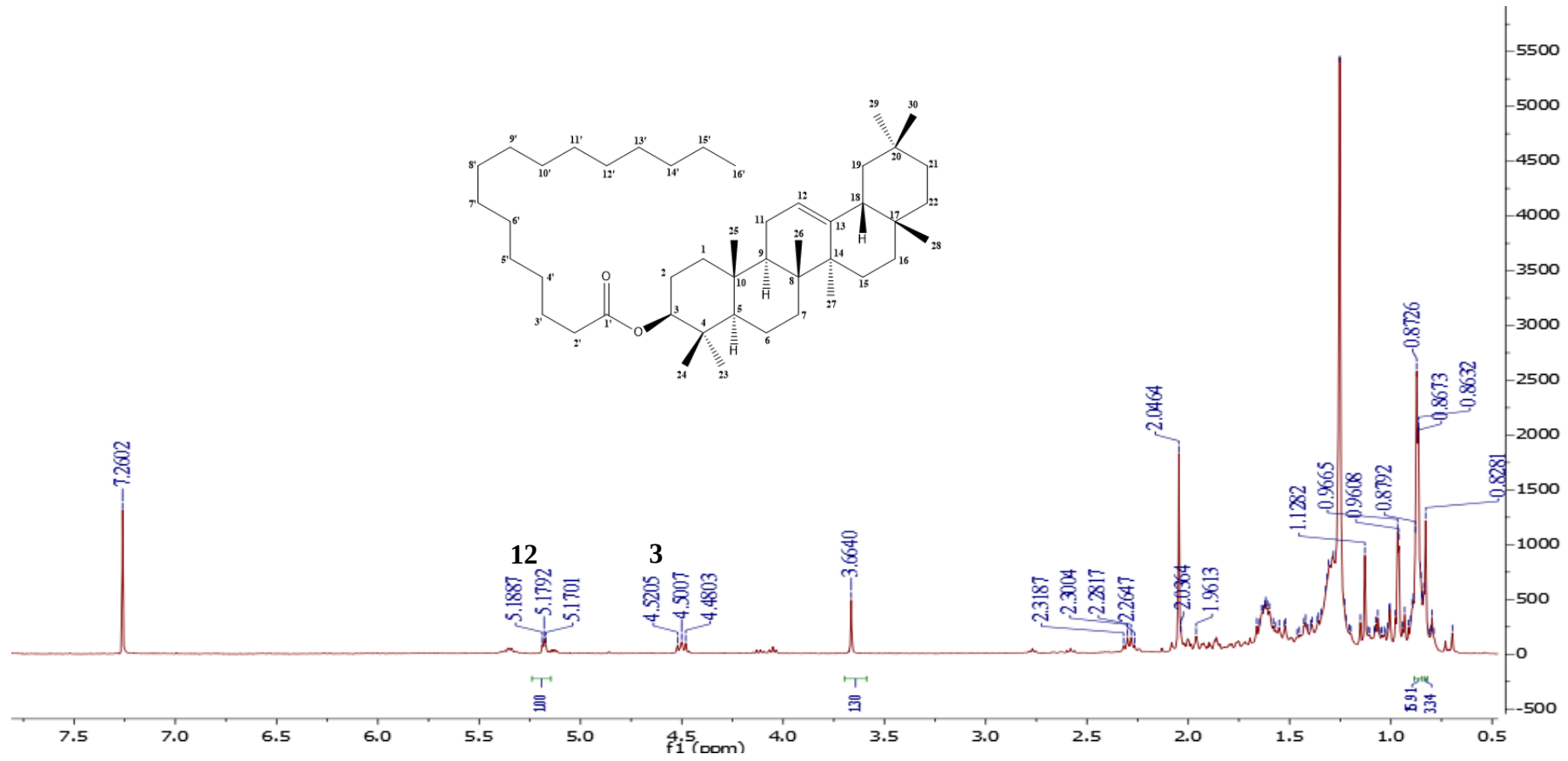
1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$)	Şekil 4.46, Çizelge 4.8
^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$)	Şekil 4.47 ve 4.48, Çizelge 4.8
^{13}C -NMR DEPT-135 (100MHz, $CDCl_3$)	Şekil 4.49

AA-8 bileşiği beyaz renkli toz halde elde edilmiş ve 1H -NMR, ^{13}C -NMR ve DEPT 135 spektrumları değerlendirildiğinde bileşiğin molekül formülü $C_{46}H_{80}O_2$ olarak belirlenmiştir. ^{13}C -NMR spektrumunda 29,6 ppm'de uzun bir rezonansın olması molekülde uzun zincirli alifatik bir grubun bağlı olduğunu düşündürmüştür. **AA-8** bileşiğinin 1H , ^{13}C -NMR ve DEPT-135 verileri literatür bulguları (Abed, Sirat ve Zulkifli, 2015; Yu Yan ve Wu Wang, 2017) ile karşılaştırıldığında bileşiğin **β -amirin palmitat** yapısında olduğu tespit edilmiştir.

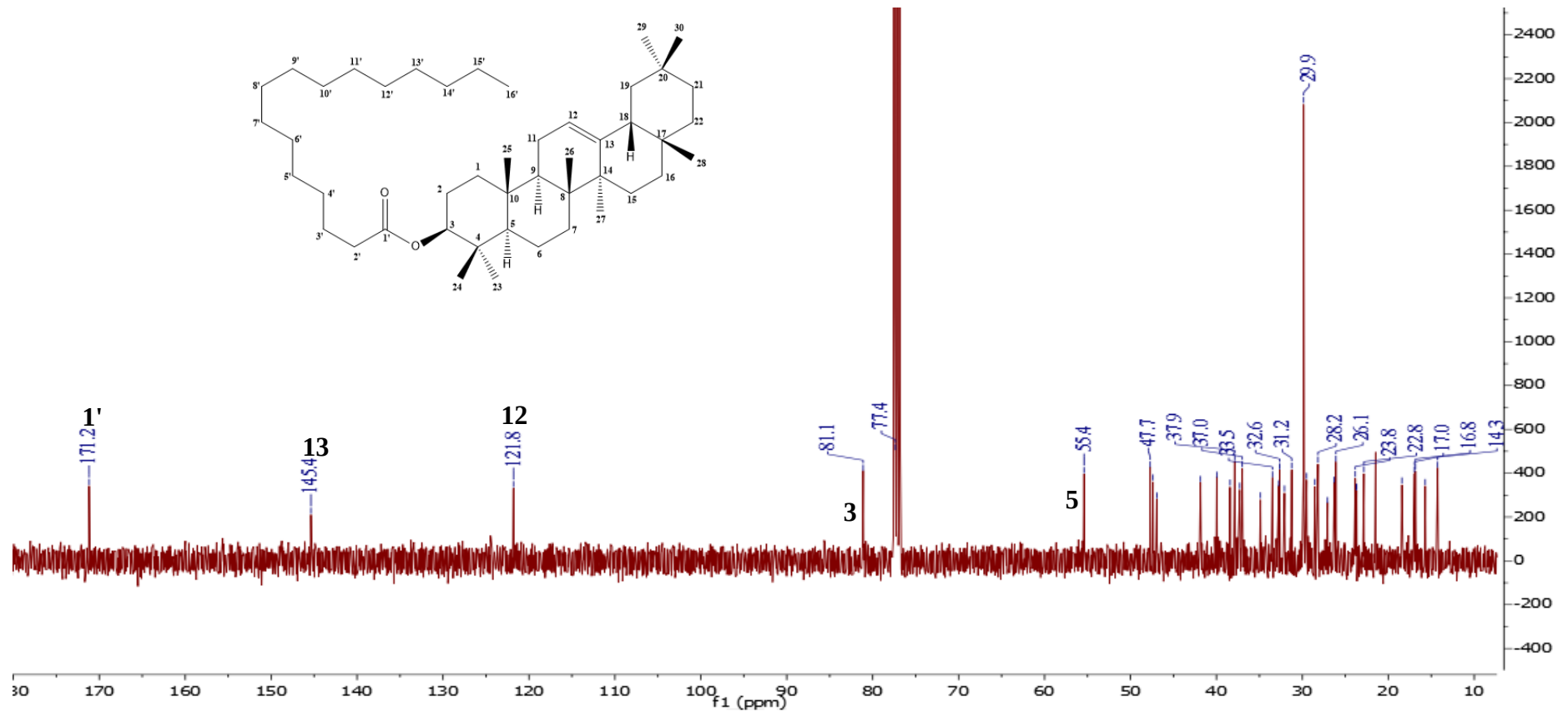
Çizelge 4.8. **AA-8** bileşiğinin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektroskopik değerleri (CDCl_3 , ^1H : 400 MHz, ^{13}C : 100 MHz)

C/H	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm) / J
1 (CH ₂)	38,4	-
2 (CH ₂)	22,8	-
3 (CH)	81,1	4,50 (1H, dd, $J=8,1$; 7,9 Hz)
4 (C)	37,9	k
5 (CH)	55,4	-
6 (CH ₂)	18,4	-
7 (CH ₂)	32,7	-
8 (C)	40,0	k
9 (CH)	47,4	-
10 (C)	37,0	k
11 (CH ₂)	23,7	-
12 (CH)	121,8	5,18 (1H, t, $J=3,7$ Hz)
13 (C)	145,4	k
14 (C)	41,9	k
15 (CH ₂)	27,1	-
16 (CH ₂)	26,3	-
17 (C)	32,6	k
18 (CH)	47,7	-
19 (CH ₂)	46,9	-
20 (C)	31,2	k
21 (CH ₂)	34,9	-
22 (CH ₂)	37,3	-
23 (CH ₃)	28,2	0,82-0,87 (3H, s)
24 (CH ₃)	16,8	0,82-0,87 (3H, s)
25 (CH ₃)	15,7	0,82-0,87 (3H, s)
26 (CH ₃)	17,0	0,97 (3H,s)
27 (CH ₃)	26,1	-
28 (CH ₃)	28,5	0,82-0,87 (3H, s)
29 (CH ₃)	33,5	0,82-0,87 (3H, s)
30 (CH ₃)	23,8	0,820,87 (3H, s)
1' (C=O)	171,2	k
2' (CH ₂)	34,9	2,29 (2H, dd, $J=7,3$; 6,8 Hz)
3' (CH ₂)	25,8	
4'-13' (CH ₂)	29,5-29,9	
14' (CH ₂)	32,1	
15' (CH ₂)	23,7	
16' (CH ₃)	14,3	

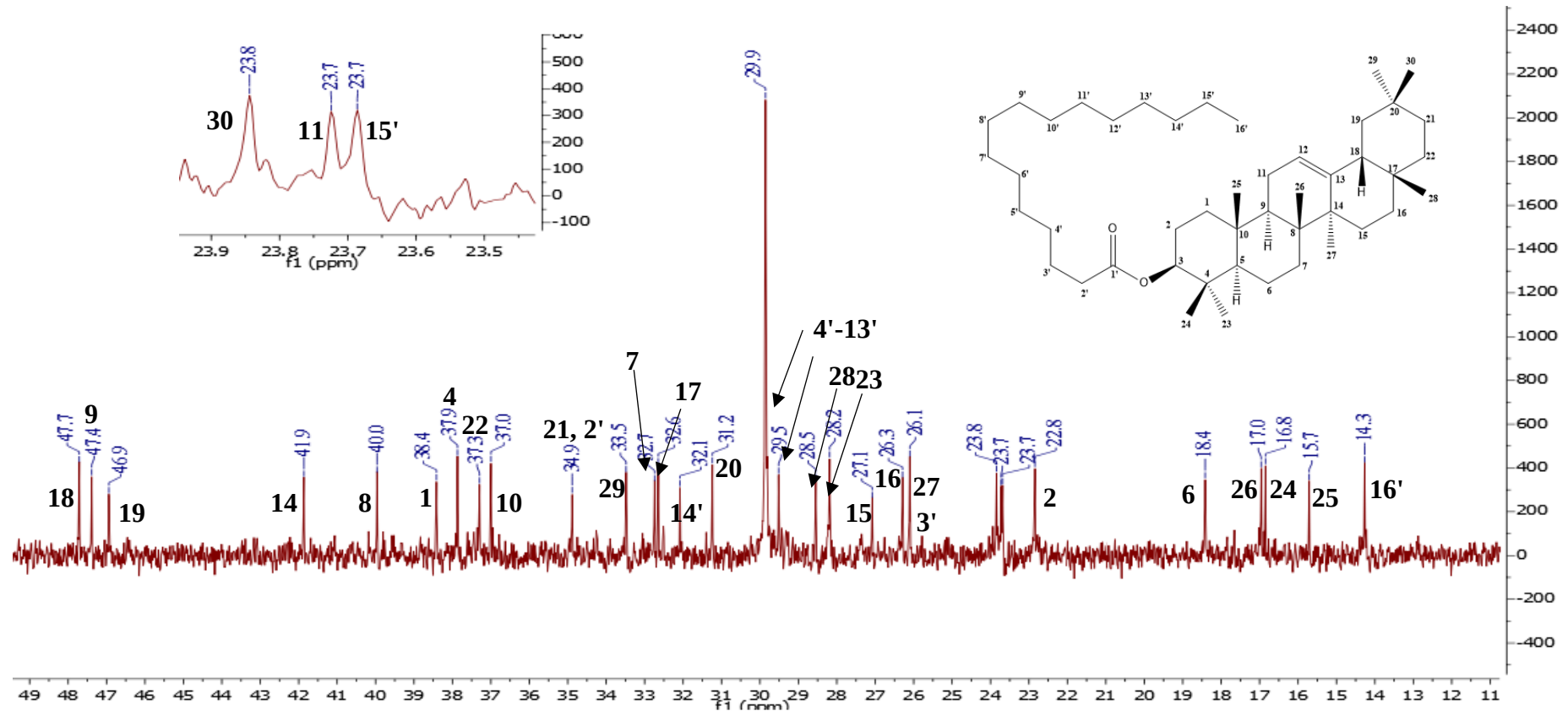
k: kuaterner



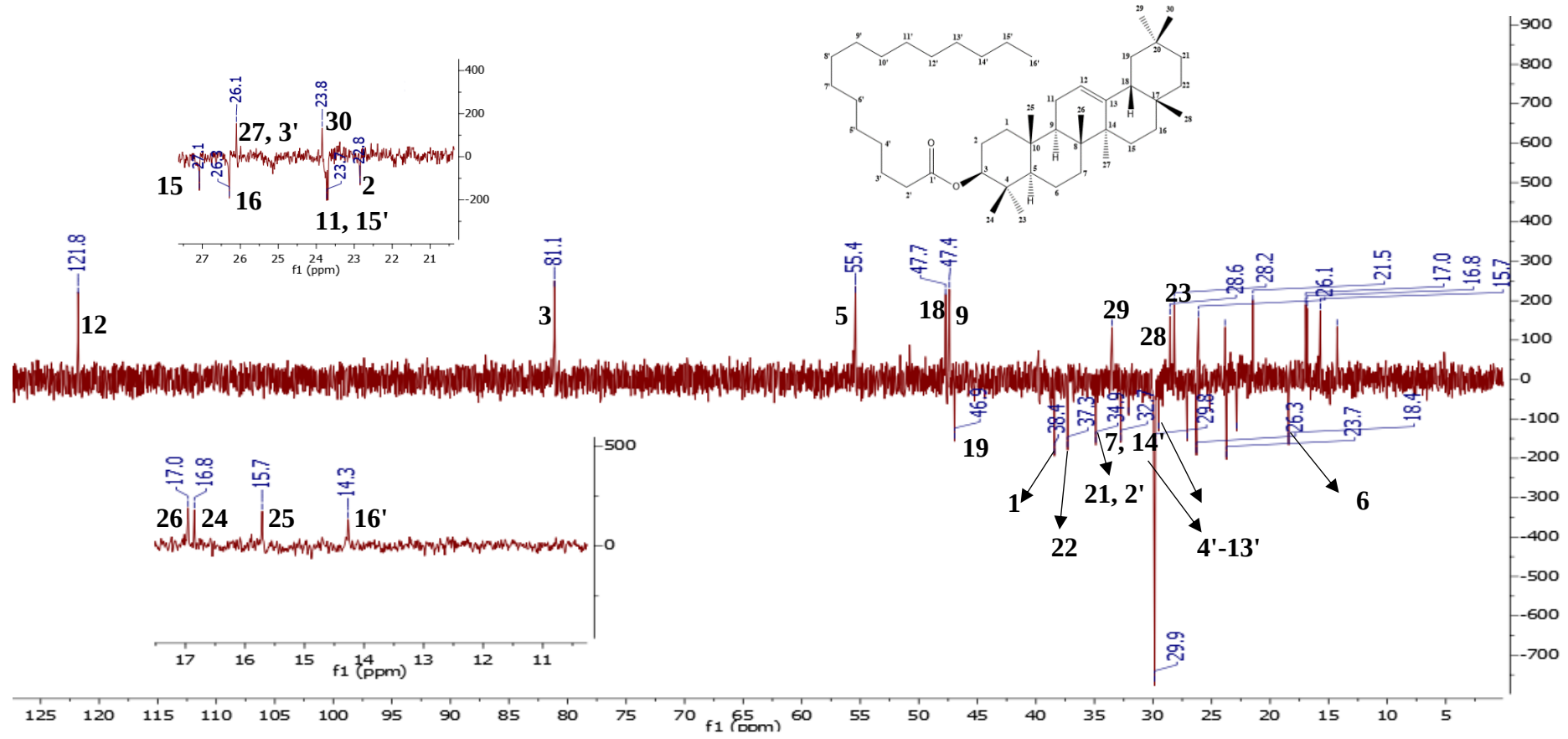
Şekil 4.46. AA-8 bileşiğine ait ^1H -NMR spektrumu



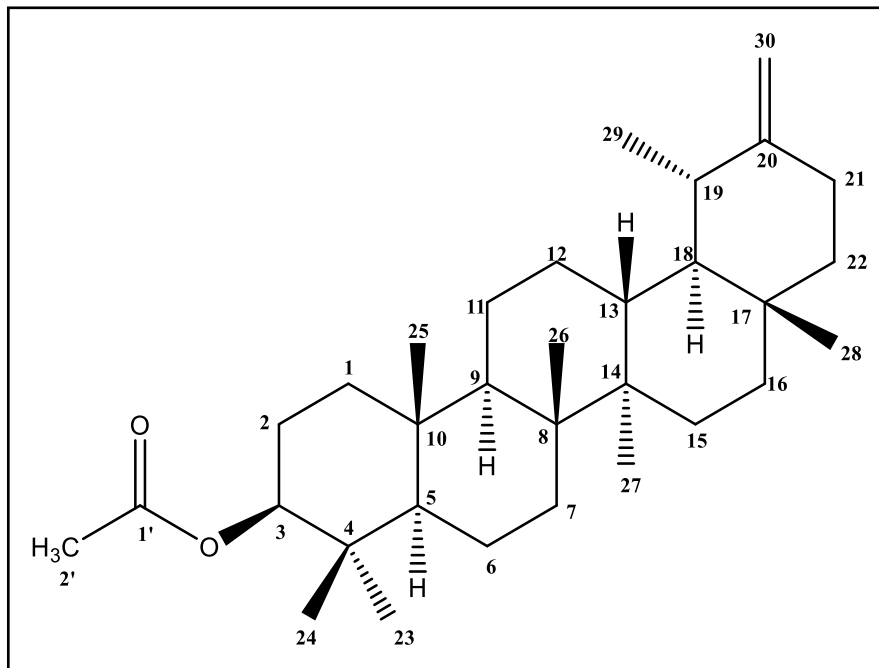
Şekil 4.47. **AA-8** bileşiğine ait ^{13}C -NMR spektrumu



Şekil 4.48. AA-8 bileşiğine ait ^{13}C -NMR spektrumu



Şekil 4.49. AA-8 bileşiğine ait DEPT-135 spektrumu

[AA-9] Taraksasterol asetat

Taraksasterol asetat

C₃₂H₅₂O₂ (Mol. Ağ.: 468)

Beyaz renkli toz

¹ H-NMR (400 MHz, CDCl ₃)	Şekil 4.50 ve 4.51, Çizelge 4.9
¹³ C-NMR (100 MHz, CDCl ₃)	Şekil 4.52 ve 4.53, Çizelge 4.9
¹³ C-NMR DEPT-135 (100MHz, CDCl ₃)	Şekil 4.54

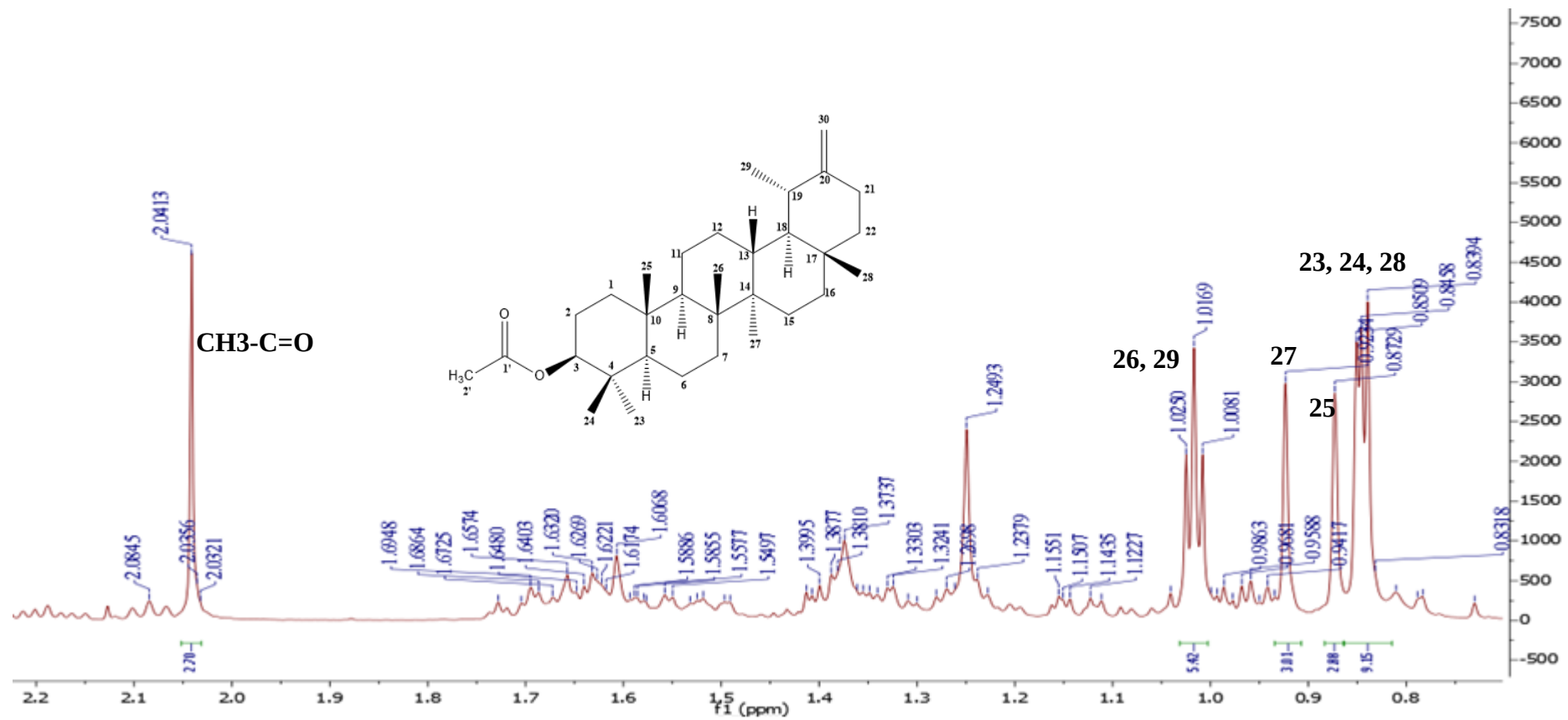
AA-9 bileşiği beyaz renkli toz halde elde edilmiş ve ¹H-NMR, ¹³C-NMR ve DEPT-135 spektrumları değerlendirildiğinde bileşiğin molekül formülü C₃₂H₅₂O₂ olarak belirlenmiştir (Şekil 4.50 ve 4.51). **AA-9** kodlu bileşiğe ait olan ¹³C-NMR spektrumu incelendiğinde bu bileşiğe ait 32 adet karbonun bulunduğu belirlenmiştir. 32 karbonun 6 tanesinin CH, 11 tanesinin CH₂, 8 tanesinin CH₃, 7 tanesinin ise kuaterner karbon atomu olduğu belirlenmiştir. Elde edilen bu veriler bileşiğin triterpen yapısında bir bileşik olduğunu düşündürmüştür. ¹³C-NMR spektrumunda gözlenen 107,3 ve 154,8 ppm'deki rezonanslar halka dışı çift bağ varlığını göstermektedir. NMR verileri bileşiğin taraksasterol türevi bir bileşik olduğunu düşündürmüştür, fakat bileşiğin 32 karbona sahip olması ve ¹³C-NMR'da 171,2 ppm'de bir karbonil grubunun varlığı ve CH₃ sayısının taraksasterolden bir fazla olması sebebiyle bileşiğin taraksasterol asetat olduğu sonucuna varılmıştır (Şekil 4.52- 4.54). Ayrıca ¹H-NMR spektrumunda 3. konum protonunun 3,20'den 4,48 ppm'e kayması 3. konuma bağlı bir asetil

grubu olduğunu düşündürmüştür. **AA-9** bileşiminin ^1H , ^{13}C -NMR ve DEPT-135 verileri literatür bulguları (Khalilov ve diğerleri, 2003) ile karşılaştırıldığında bileşimin **taraksasterol asetat** yapısında olduğu tespit edilmiştir.

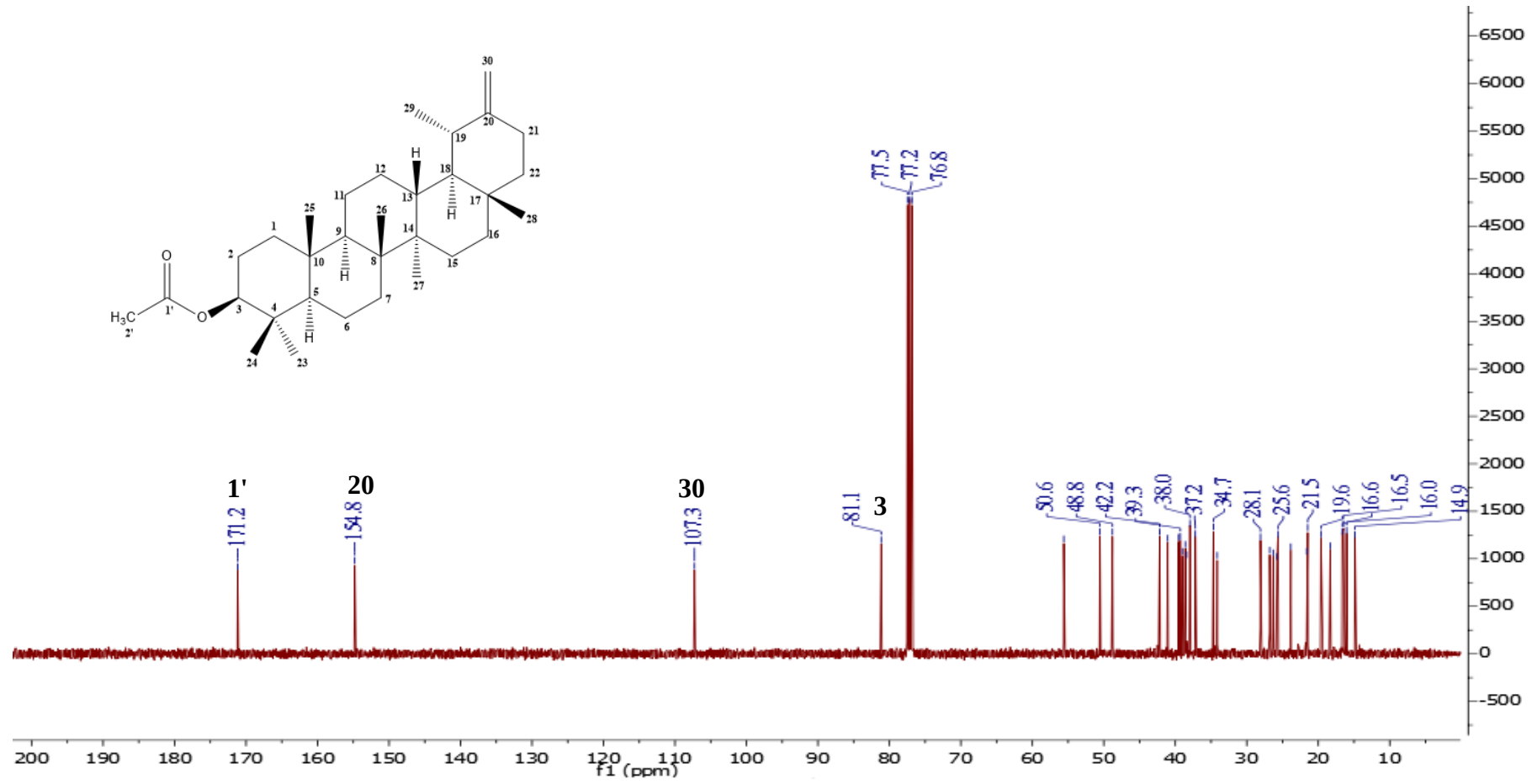
Çizelge 4.9. **AA-9** bileşiğinin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektroskopik değerleri (CDCl_3 , ^1H : 400 MHz, ^{13}C : 400 MHz)

C/H	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm) / J
1 (CH_2)	38,4	-
2 (CH_2)	23,8	-
3 (CH)	81,1	4,48 (1H, dd, $J=10,8$; 4,3 Hz)
4 (C)	38,0	k
5 (CH)	58,6	-
6 (CH_2)	18,3	-
7 (CH_2)	34,2	-
8 (C)	41,1	k
9 (CH)	50,6	-
10 (C)	37,2	k
11 (CH_2)	21,6	-
12 (CH_2)	25,8	-
13 (CH)	39,5	-
14 (C)	42,2	k
15 (CH_2)	26,3	-
16 (CH_2)	38,6	-
17 (C)	34,7	k
18 (CH)	48,8	-
19 (CH)	39,3	-
20 (C)	154,8	k
21 (CH_2)	26,8	-
22 (CH_2)	39,0	-
23 (CH_3)	28,1	0,86 (3H,s)
24 (CH_3)	16,0	0,86 (3H, s)
25 (CH_3)	16,5	0,87 (3H, s)
26 (CH_3)	16,6	1,02 (3H,s)
27 (CH_3)	14,9	0,92 (3H, s)
28 (CH_3)	19,6	0,86 (3H, s)
29 (CH_3)	25,6	1,01 (3H, d, $J=6,76$ Hz)
30 (CH_2)	107,3	4,60 (2H, m)
1' (C=O)	171,2	k
2' (CH_3)	21,5	2,04 (3H, s)

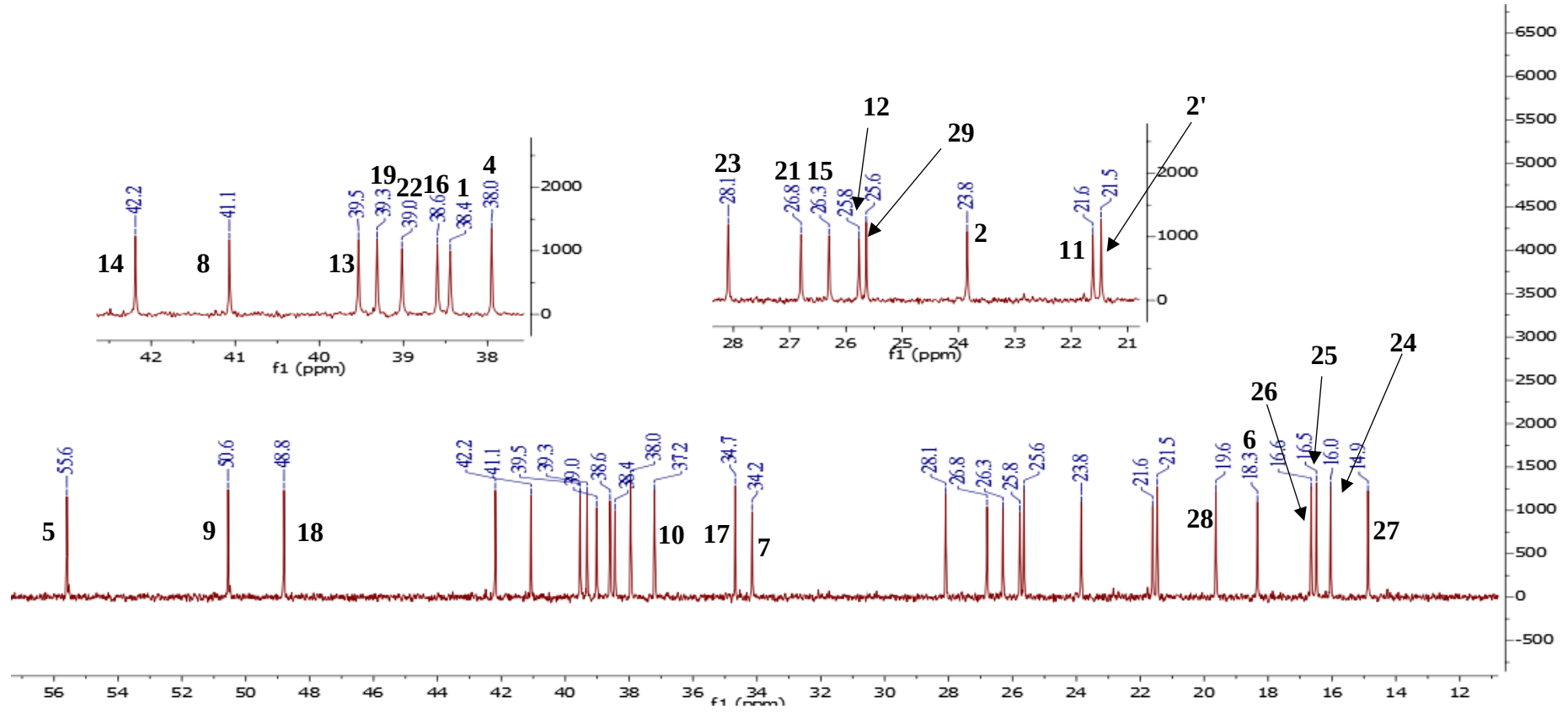
k: kuaterner



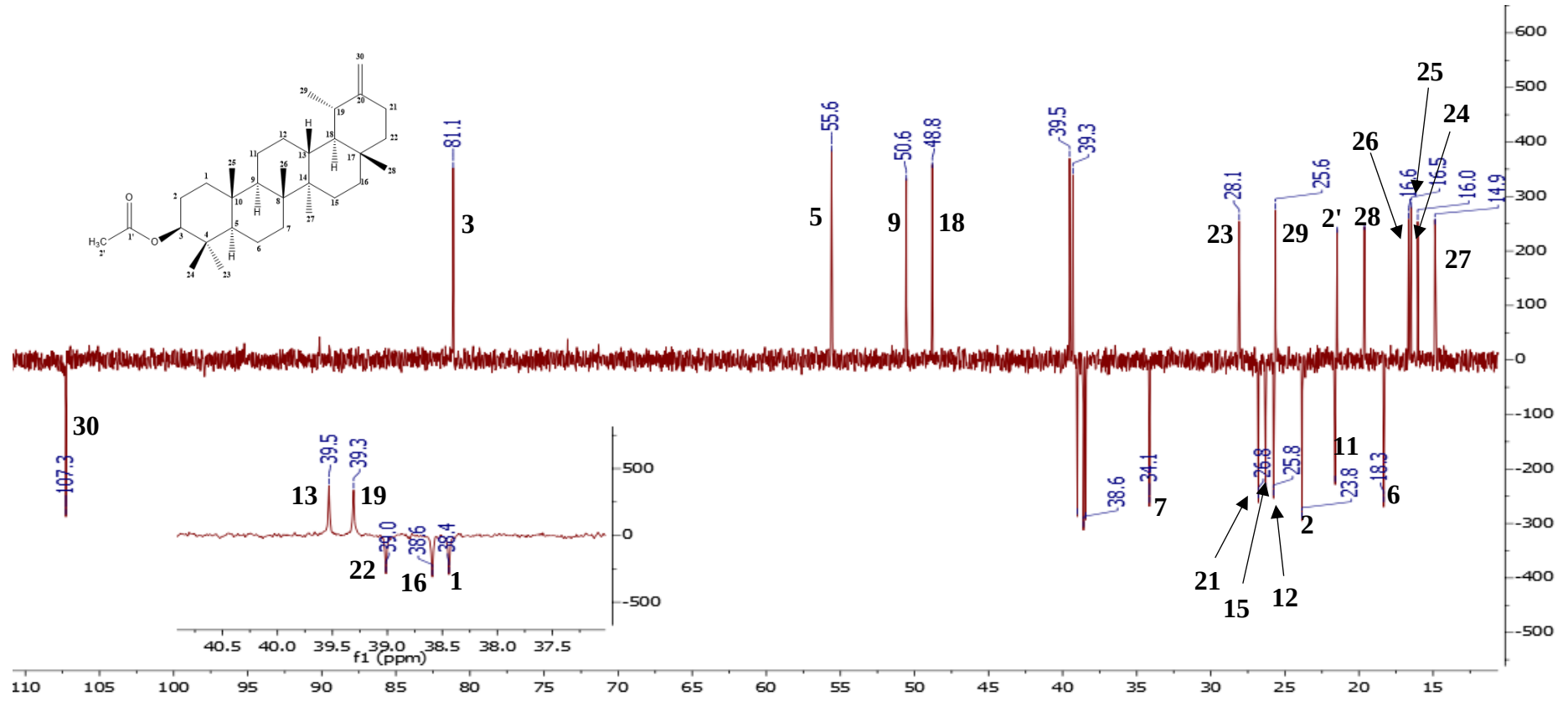
Şekil 4.51. AA-9 bileşiğine ait ¹H-NMR spektrumunda CH₃ rezonansları



Şekil 4.52. AA-9 bileşiğine ait ^{13}C -NMR spektrumu

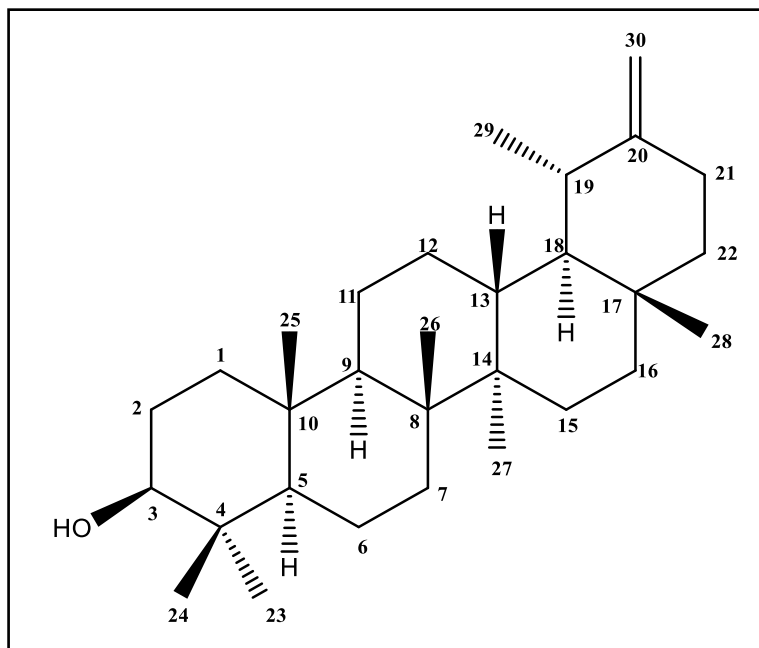


Şekil 4.53. AA-9 bileşiğine ait ^{13}C -NMR spektrumu



Şekil 4.54. AA-9 bileşiğine ait DEPT-135 spektrumu

[AA-10] Taraksasterol



Taraksasterol

$C_{30}H_{50}O$ (Mol. Ağ.: 426)

Beyaz renkli toz

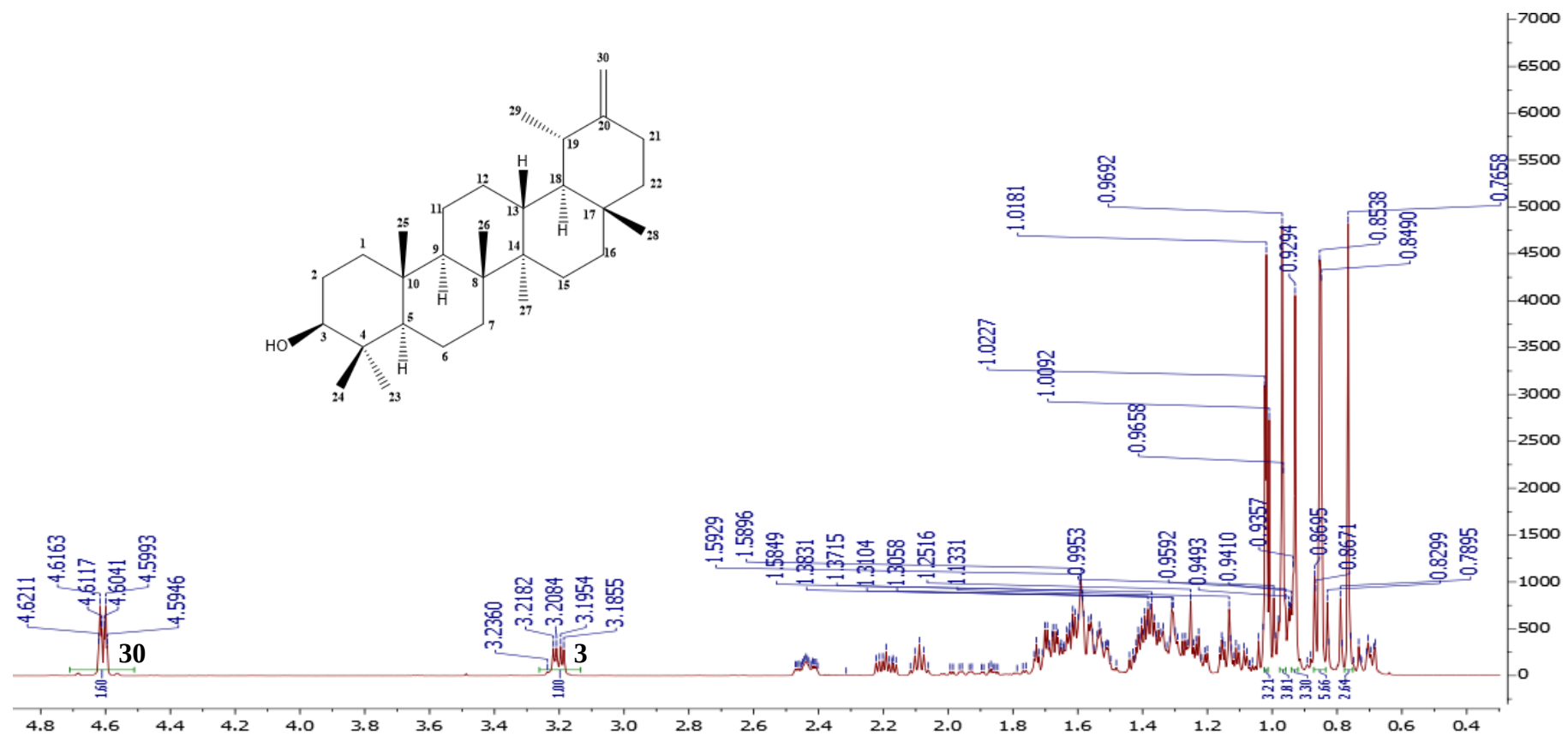
1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$)	Şekil 4.55 ve 4.56, Çizelge 4.10
^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$)	Şekil 4.57 ve 4.58, Çizelge 4.10
^{13}C -NMR DEPT-135 (125 MHz, $CDCl_3$)	Şekil 4.59

AA-10 bileşiği beyaz renkli toz halde elde edilmiş ve 1H -NMR (Şekil 4.55 ve 4.56), ^{13}C -NMR ve DEPT-135 spektrumları değerlendirildiğinde bileşiğin molekül formülü $C_{30}H_{50}O$ olarak belirlenmiştir. **AA-10** kodlu bileşiğe ait olan ^{13}C -NMR spektrumu incelendiğinde bu bileşiğe ait 30 adet karbonun bulunduğu belirlenmiştir. 30 karbonun 6 tanesinin CH, 11 tanesinin CH_2 , 7 tanesinin CH_3 , 6 tanesinin ise kuaterner karbon atomu olduğu belirlenmiştir. Elde edilen bu veriler bileşiğin triterpen yapısında bir bileşik olduğunu düşündürmüştür (Şekil 4.57-4.59). ^{13}C -NMR spektrumunda gözlenen 107,3 ve 154,8 ppm'deki rezonanslar halka dışı çifte bağ varlığını göstermektedir. **AA-10** bileşiğinin 1H , ^{13}C -NMR ve DEPT-135 verilerine literatür bulgularıyla (Ma ve diğerleri, 2017) karşılaştırıldığında bileşiğin **taraksasterol** yapısında olduğu tespit edilmiştir.

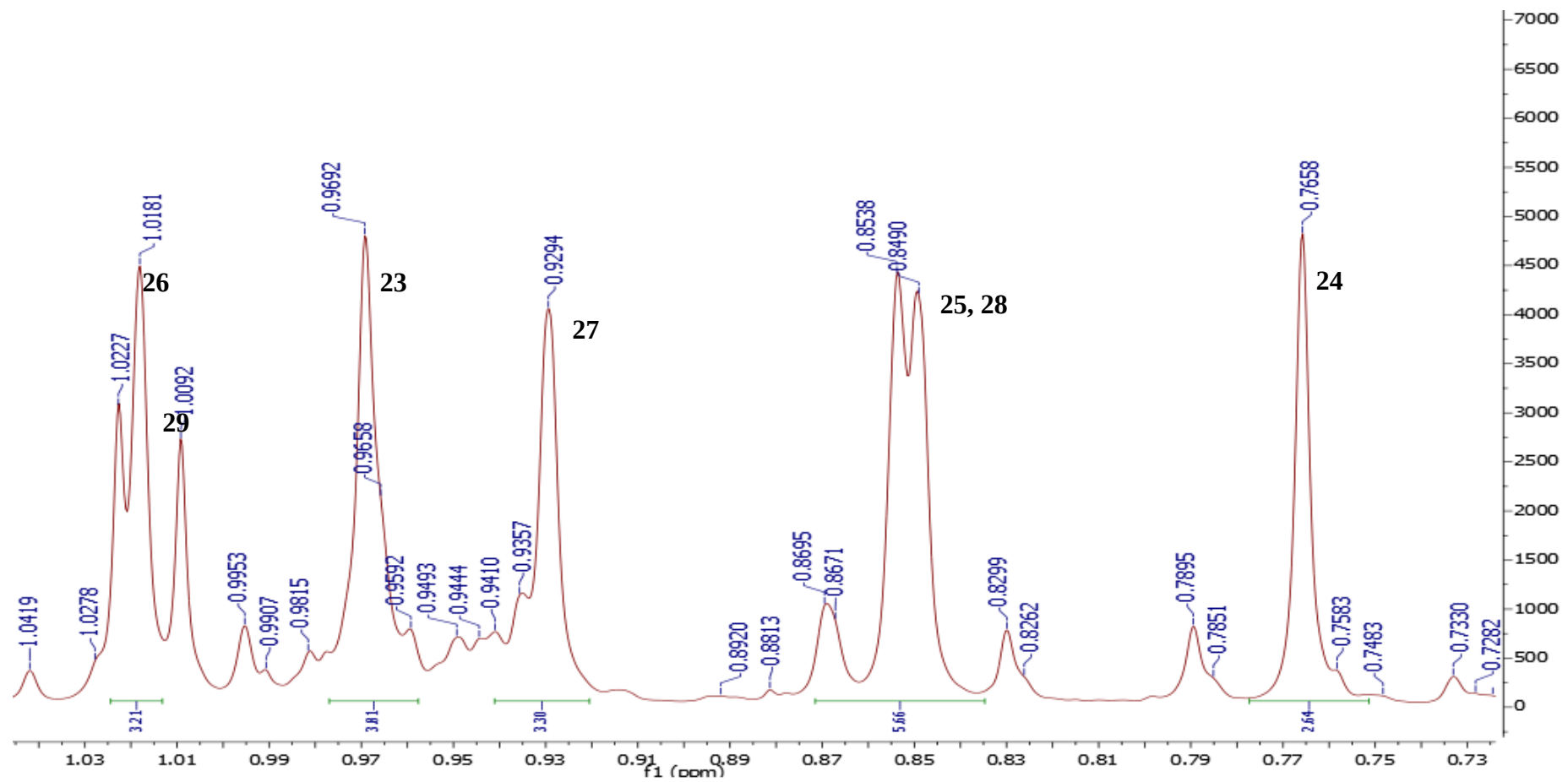
Çizelge 4.10. **AA-10** bileşiğinin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektroskopik değerleri (CDCl_3 , ^1H : 500 MHz, ^{13}C : 125 MHz)

C/H	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm) / J
1 (CH_2)	38,4	-
2 (CH_2)	26,8	-
3 (CH)	79,2	3,20 (1H, dd, $J=11,0$; 4,0 Hz)
4 (C)	39,0	k
5 (CH)	55,5	-
6 (CH_2)	18,4	-
7 (CH_2)	34,2	-
8 (C)	41,0	k
9 (CH)	50,6	-
10 (C)	37,3	k
11 (CH_2)	21,6	-
12 (CH_2)	25,8	-
13 (CH)	39,5	-
14 (C)	42,2	k
15 (CH_2)	26,3	-
16 (CH_2)	38,9	-
17 (C)	34,7	k
18 (CH)	48,8	-
19 (CH)	39,3	-
20 (C)	154,8	k
21 (CH_2)	27,5	-
22 (CH_2)	39,0	-
23 (CH_3)	28,1	0,97 (3H,s)
24 (CH_3)	15,5	0,76 (3H, s)
25 (CH_3)	16,0	0,85 (3H, s)
26 (CH_3)	16,4	1,01 (3H,s)
27 (CH_3)	14,9	0,93 (3H, s)
28 (CH_3)	19,6	0,85 (3H, s)
29 (CH_3)	25,6	1,01 (3H, d, $J=6,75$ Hz)
30 (CH_2)	107,3	4,61 (2H, m)

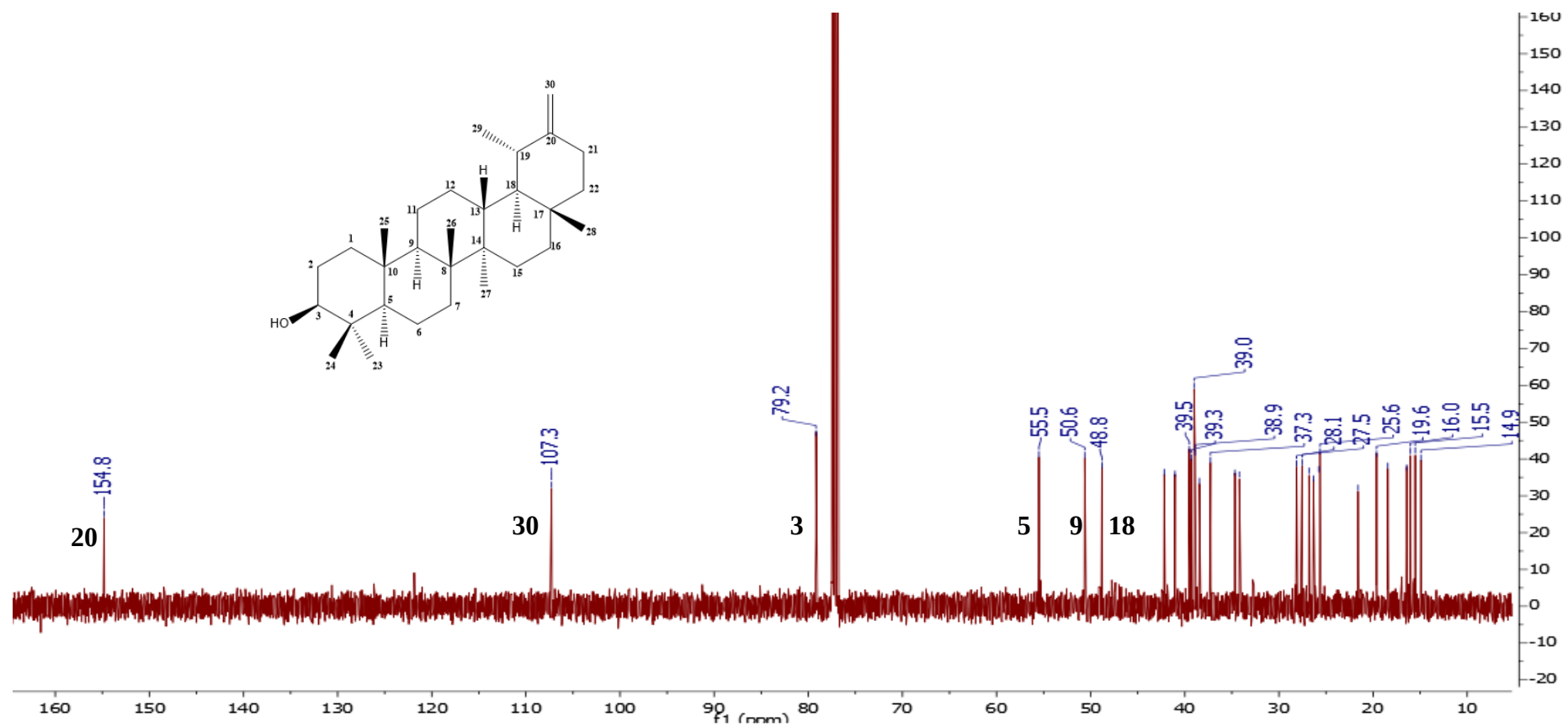
k: kuaterner



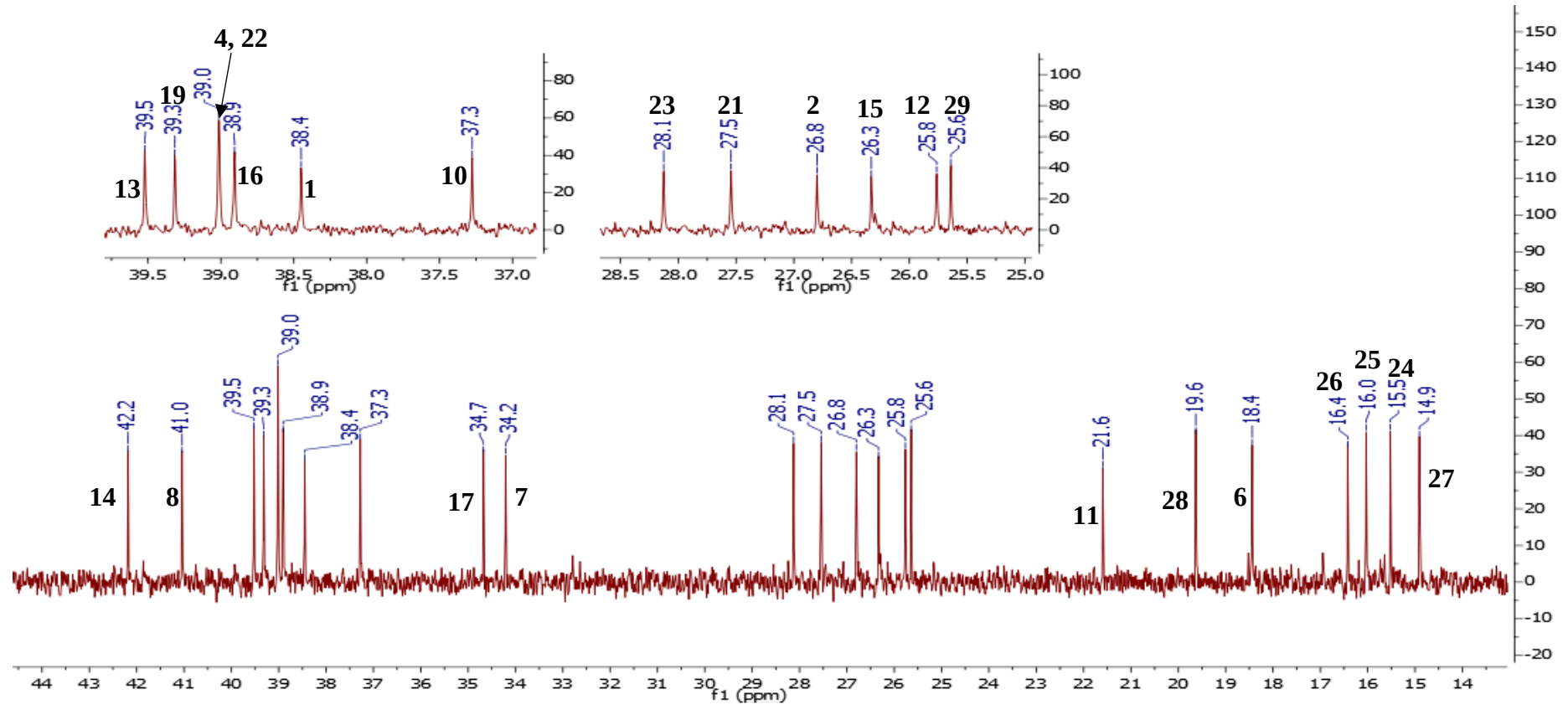
Şekil 4.55. AA-10 bileşiğine ait ^1H -NMR spektrumu



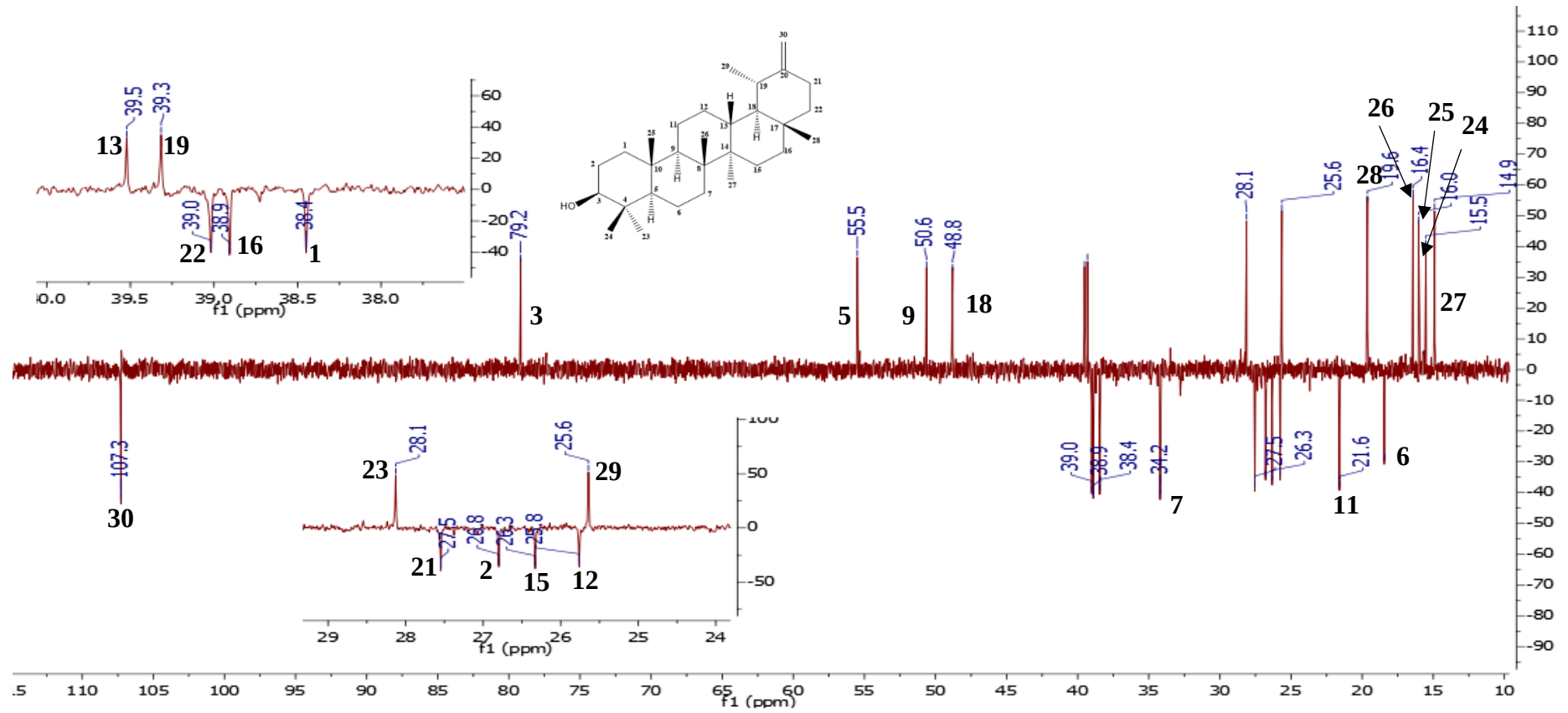
Şekil 4.56. AA-10 bileşiğine ait ^1H -NMR spektrumunda CH_3 rezonansları



Şekil 4.57. AA-10 bileşiğine ait ^{13}C -NMR spektrumu



Şekil 4.58. AA-10 bileşiğine ait ^{13}C -NMR spektrumu



Şekil 4.59. AA-10 bileşiğine ait DEPT-135 spektrumu

4.2. Biyolojik Aktivite Deney Bulguları

Türkiye’de halk arasında jinekolojik rahatsızlıklara karşı kullanılan bazı bitkilerden hazırlanan ekstrelerin ve daha ileri çalışmaların yürütülmesi amacı ile seçilen *A. austriaca* bitkisinden elde edilen fraksiyonların endometriyoz ve PKOS sıçan modelleri üzerindeki etkileri çizelge ve şekiller halinde sunulmuştur (Çizelge 4.11-4.20 ve Şekil 4.60-4.61).

4.2.1. Endometriyoz sıçan modeli deney sonuçları

Adezyon skorlarının değerlendirilmesi

Halk arasında jinekolojik rahatsızlıklara karşı kullanılan bazı bitkilerden hazırlanan ekstrelerin ve daha ileri çalışmaların yürütülmesi amacı ile seçilen *A. austriaca* bitkisinden elde edilen fraksiyonların sıçanlarda oluşturulan endometriyotik implantlardaki adezyon skorları çizelgeler halinde verilmiştir (Çizelge 4.11 ve 4.12).

Çizelge 4.11. Türkiye’de halk arasında jinekolojik rahatsızlıklarda kullanılan bazı bitkilerin sıçanlarda oluşturulan endometriyotik implantlardaki adezyon skorları

Gruplar	Ekstre tipi	Doz (mg/kg)	Adezyon skorları $\pm$ S.H.		Adezyon skorlarında azalma (%)
			Tedavi öncesi	Tedavi sonrası	
Kontrol	CMC	-	3,2 $\pm$ 0,7	3,5 $\pm$ 0,6	-
<i>Anthemis austriaca</i>	<i>n</i> -Hekzan	100	2,8 $\pm$ 0,7	2,0 $\pm$ 0,4	28,6
	EtOAc		2,9 $\pm$ 0,8	1,4 $\pm$ 0,5*	51,7
	MeOH		3,1 $\pm$ 0,7	1,1 $\pm$ 0,3**	64,5
<i>Cichorium intybus</i>	<i>n</i> -Hekzan		3,4 $\pm$ 0,9	2,5 $\pm$ 0,6	26,4
	EtOAc		3,1 $\pm$ 0,6	2,3 $\pm$ 0,6	25,8
	MeOH		2,9 $\pm$ 0,4	1,3 $\pm$ 0,5**	55,2
<i>Melilotus officinalis</i>	<i>n</i> -Hekzan		3,3 $\pm$ 0,9	2,6 $\pm$ 0,8	21,2
	EtOAc		3,2 $\pm$ 0,7	2,2 $\pm$ 0,7	31,3
	MeOH		2,9 $\pm$ 1,1	1,8 $\pm$ 1,1	37,9
<i>Mentha longifolia</i>	<i>n</i> -Hekzan		2,7 $\pm$ 0,8	2,2 $\pm$ 0,6	18,5
	EtOAc		3,3 $\pm$ 0,4	2,5 $\pm$ 0,9	24,2
	MeOH		3,1 $\pm$ 0,8	1,9 $\pm$ 0,4	38,7
<i>Urtica dioica</i>	<i>n</i> -Hekzan		2,8 $\pm$ 0,6	2,4 $\pm$ 0,9	14,3
	EtOAc		2,6 $\pm$ 0,9	1,8 $\pm$ 0,8	30,8
	MeOH		2,9 $\pm$ 0,6	1,6 $\pm$ 0,4*	44,8
Referans	Buserelin asetat	20	3,0 $\pm$ 0,8	0,0 $\pm$ 0,0***	100

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

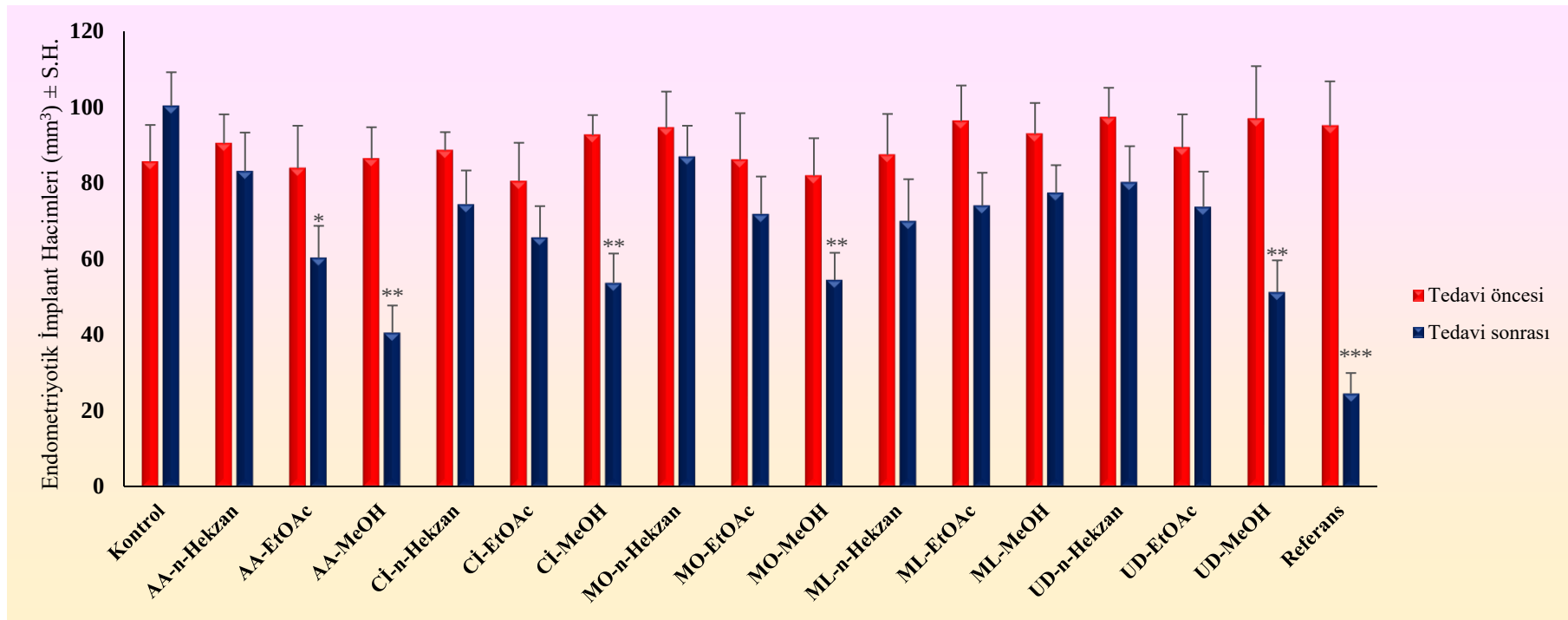
Çizelge 4.12. *A. austriaca* bitkisinin çiçeklerinden hazırlanan MeOH ekstresinden elde edilen fraksiyonların sıçanlarda oluşturulan endometriyotik implantlardaki adezyon skorları

Gruplar	Doz (mg/kg)	Adezyon skorları $\pm$ S.H.		Adezyon skorlarında azalma (%)
		Tedavi öncesi	Tedavi sonrası	
Kontrol (CMC)	-	3,5 $\pm$ 1,3	3,8 $\pm$ 0,8	-
Fr. (1-6)	100	2,9 $\pm$ 0,7	1,9 $\pm$ 0,7*	34,5
Fr. (7-13)		3,5 $\pm$ 0,8	3,3 $\pm$ 1,0	5,7
Fr. (14-20)		3,1 $\pm$ 0,9	1,0 $\pm$ 0,2**	67,7
Fr. (21-29)		3,5 $\pm$ 0,7	3,3 $\pm$ 0,5	5,7
Referans	20	2,6 $\pm$ 0,7	0,0 $\pm$ 0,0***	100

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

Endometriyotik implant hacimlerinin değerlendirilmesi

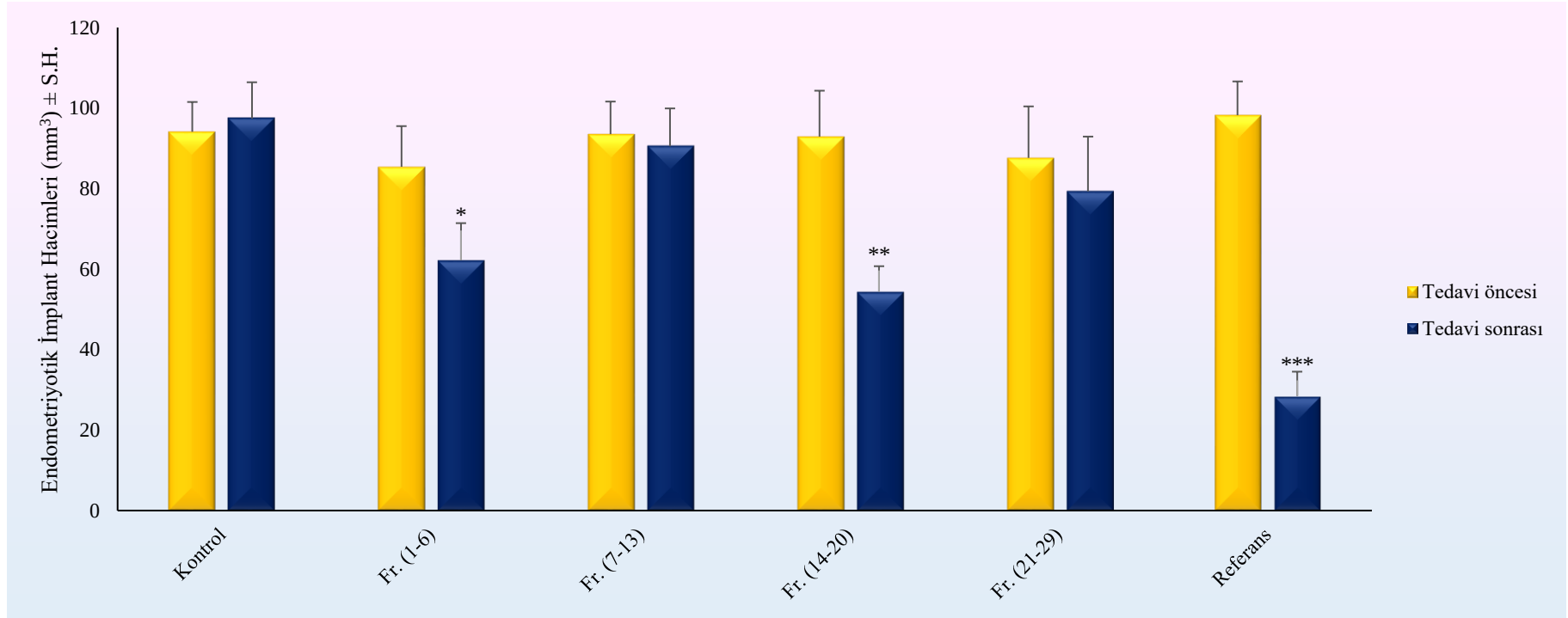
Halk arasında jinekolojik rahatsızlıklara karşı kullanılan bazı bitkilerden hazırlanan ekstrelerin ve daha ileri çalışmaların yürütülmesi amacı ile seçilen *A. austriaca* bitkisinden elde edilen fraksiyonların sıçanlarda oluşturulan endometriyotik implant hacimleri üzerine etkisi şekiller halinde verilmiştir (Şekil 4.60 ve 4.61).



Şekil 4.60. Türkiye’de halk arasında jinekolojik rahatsızlıklarda kullanılan bazı bitkilerin sıçanlarda oluşturulan endometriyotik implant hacimleri üzerine etkileri

(AA: *Anthemis austriaca*; Cİ: *Cichorium intybus*; MO: *Melilotus officinalis*; ML: *Mentha longifolia*; UD: *Urtica dioica*)

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



Şekil 4.61. *A. austriaca* bitkisinin çiçeklerinden hazırlanan MeOH ekstresinden elde edilen fraksiyonların sıçanlarda oluşturulan endometriotik implant hacimleri üzerine etkisi

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

Sitokin seviyelerinin değerlendirilmesi

Halk arasında jinekolojik rahatsızlıklara karşı kullanılan bazı bitkilerden hazırlanan ekstrelerin ve daha ileri çalışmaların yürütölmesi amacı ile seçilen *A. austriaca* bitkisinden elde edilen fraksiyonların peritoneal sitokin seviyeleri üzerine etkisi çizelgeler halinde verilmiştir (Çizelge 4.13 ve 4.14).

Çizelge 4.13. Türkiye’de halk arasında jinekolojik rahatsızlıklarda kullanılan bazı bitkilerin sıçanlarda oluşturulan endometriyoz modelinde peritoneal sıvılardaki sitokin seviyeleri

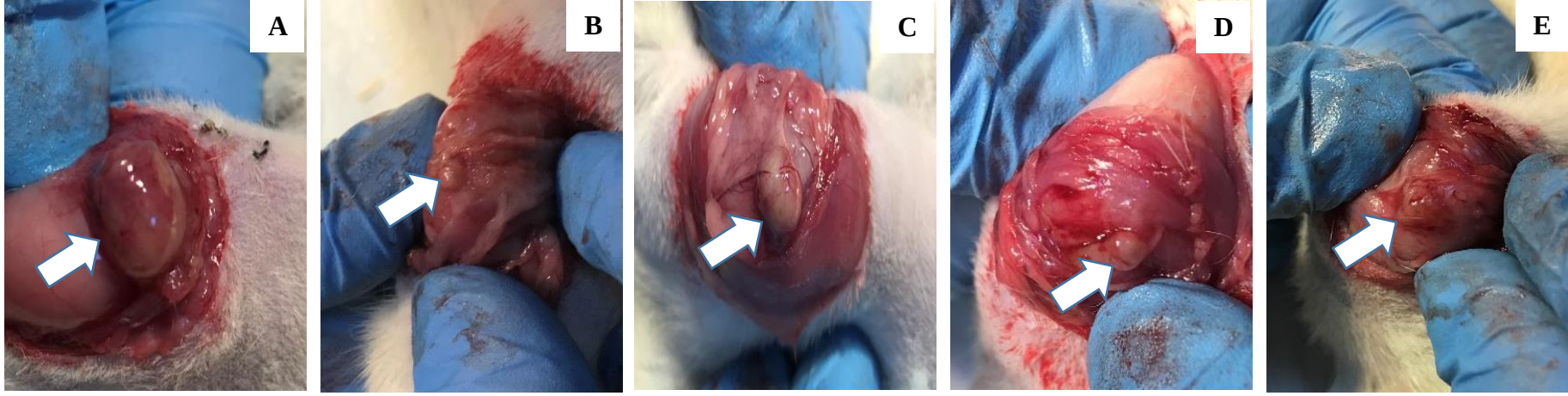
Gruplar	Ekstre tipi	Doz (mg/kg)	Peritoneal TNF- α seviyesi (pg/mL)		Peritoneal VEGF seviyesi (pg/mL)		Peritoneal IL-6 seviyesi (pg/mL)	
			Tedavi öncesi	Tedavi sonrası	Tedavi öncesi	Tedavi sonrası	Tedavi öncesi	Tedavi sonrası
Kontrol	CMC	-	9,4 $\pm$ 3,1	8,9 $\pm$ 2,0	23,8 $\pm$ 5,4	26,1 $\pm$ 7,2	51,4 $\pm$ 10,2	50,3 $\pm$ 8,7
<i>Anthemis austriaca</i>	<i>n</i> -Hekzan	100	8,9 $\pm$ 2,3	7,6 $\pm$ 1,9	22,8 $\pm$ 7,1	20,9 $\pm$ 10,1	58,6 $\pm$ 15,2	53,1 $\pm$ 14,3
	EtOAc		9,5 $\pm$ 1,4	5,3 $\pm$ 1,4*	24,1 $\pm$ 8,5	15,2 $\pm$ 4,7*	52,7 $\pm$ 9,6	42,2 $\pm$ 9,0*
	MeOH		13,7 $\pm$ 4,2	3,8 $\pm$ 0,7**	28,4 $\pm$ 7,4	16,3 $\pm$ 7,6*	54,4 $\pm$ 14,6	30,1 $\pm$ 9,3**
<i>Cichorium intybus</i>	<i>n</i> -Hekzan		8,4 $\pm$ 1,9	6,8 $\pm$ 2,1	25,4 $\pm$ 10,6	21,7 $\pm$ 6,1	59,0 $\pm$ 17,3	54,4 $\pm$ 12,8
	EtOAc		10,4 $\pm$ 2,6	8,3 $\pm$ 1,6	29,0 $\pm$ 9,9	19,8 $\pm$ 8,3	54,9 $\pm$ 13,6	50,8 $\pm$ 11,3
	MeOH		9,7 $\pm$ 3,1	4,8 $\pm$ 1,1**	21,6 $\pm$ 8,2	13,5 $\pm$ 3,1*	56,5 $\pm$ 15,1	39,3 $\pm$ 10,5*
<i>Melilotus officinalis</i>	<i>n</i> -Hekzan		9,3 $\pm$ 2,7	8,5 $\pm$ 2,4	22,5 $\pm$ 7,1	19,2 $\pm$ 7,2	51,4 $\pm$ 11,4	46,2 $\pm$ 11,4
	EtOAc		11,2 $\pm$ 3,8	8,4 $\pm$ 2,5	26,7 $\pm$ 9,3	19,7 $\pm$ 11,0	56,3 $\pm$ 10,9	47,8 $\pm$ 9,3
	MeOH		10,1 $\pm$ 2,5	5,2 $\pm$ 0,9*	28,1 $\pm$ 8,2	17,4 $\pm$ 4,3*	53,5 $\pm$ 15,8	42,5 $\pm$ 8,1*
<i>Mentha longifolia</i>	<i>n</i> -Hekzan		9,4 $\pm$ 2,9	8,5 $\pm$ 1,3	31,5 $\pm$ 9,1	25,2 $\pm$ 11,3	51,6 $\pm$ 14,3	48,4 $\pm$ 11,2
	EtOAc		14,1 $\pm$ 3,8	12,2 $\pm$ 1,2	25,8 $\pm$ 8,3	18,4 $\pm$ 9,9	59,1 $\pm$ 18,8	55,6 $\pm$ 10,9
	MeOH		9,8 $\pm$ 2,7	7,3 $\pm$ 2,4	27,3 $\pm$ 9,4	23,9 $\pm$ 9,4	60,4 $\pm$ 14,1	51,8 $\pm$ 13,6
<i>Urtica dioica</i>	<i>n</i> -Hekzan		8,8 $\pm$ 1,3	7,6 $\pm$ 3,1	30,7 $\pm$ 11,2	29,1 $\pm$ 9,6	55,7 $\pm$ 19,2	53,6 $\pm$ 14,9
	EtOAc		13,9 $\pm$ 4,1	10,3 $\pm$ 3,4	26,1 $\pm$ 8,7	24,6 $\pm$ 7,7	52,5 $\pm$ 15,0	54,2 $\pm$ 13,8
	MeOH		8,5 $\pm$ 1,5	4,4 $\pm$ 0,9**	27,4 $\pm$ 10,8	14,9 $\pm$ 4,6*	53,3 $\pm$ 9,8	41,7 $\pm$ 14,5*
Referans	Buserelin asetat	20	9,1 $\pm$ 0,9	2,4 $\pm$ 0,6***	20,1 $\pm$ 6,8	9,9 $\pm$ 1,5***	50,2 $\pm$ 11,3	24,3 $\pm$ 9,8***

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

Çizelge 4.14. *A. austriaca* bitkisinin çiçeklerinden hazırlanan MeOH ekstresinden elde edilen fraksiyonların sıçanlarda oluşturulan endometriyoz modelinde peritoneal sıvılardaki sitokin seviyeleri

Gruplar	Doz (mg/kg)	Peritoneal TNF- α seviyesi (pg/mL)		Peritoneal VEGF seviyesi (pg/mL)		Peritoneal IL-6 seviyesi (pg/mL)	
		Tedavi öncesi	Tedavi sonrası	Tedavi öncesi	Tedavi sonrası	Tedavi öncesi	Tedavi sonrası
<i>Kontrol (CMC)</i>	-	9,9 $\pm$ 2,6	10,4 $\pm$ 3,5	26,2 $\pm$ 6,7	28,2 $\pm$ 4,6	52,7 $\pm$ 13,1	55,4 $\pm$ 11,8
<i>Fr. (1-6)</i>	100	9,4 $\pm$ 3,5	6,4 $\pm$ 2,3	28,4 $\pm$ 8,5	16,1 $\pm$ 4,1*	57,5 $\pm$ 13,4	44,7 $\pm$ 9,1*
<i>Fr. (7-13)</i>		10,1 $\pm$ 2,1	9,7 $\pm$ 2,4	26,6 $\pm$ 7,9	26,8 $\pm$ 9,3	58,4 $\pm$ 12,6	56,1 $\pm$ 11,5
<i>Fr. (14-20)</i>		13,7 $\pm$ 3,2	5,7 $\pm$ 1,3*	27,9 $\pm$ 6,5	14,8 $\pm$ 5,2*	55,9 $\pm$ 9,8	38,0 $\pm$ 7,4**
<i>Fr. (21-29)</i>		12,6 $\pm$ 5,4	13,9 $\pm$ 5,2	22,3 $\pm$ 9,6	21,8 $\pm$ 8,1	50,1 $\pm$ 10,4	52,4 $\pm$ 8,5
<i>Referans</i>	20	12,9 $\pm$ 4,1	2,0 $\pm$ 0,5***	25,7 $\pm$ 7,8	10,2 $\pm$ 0,7***	53,6 $\pm$ 9,7	20,7 $\pm$ 5,6***

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



Resim 4.1. *A. austriaca* çiçeklerinden hazırlanan MeOH ekstresi ve bundan vakum sıvı kromatografisi ile elde edilen Fr. (1-6) ve Fr. (14-20)'nin tedavi sonrası endometriyotik implant görüntüleri

[(A): Kontrol grubu; (B): MeOH ekstresi grubu; (C): Fr. (1-6); (D) Fr. (14-20); (E): Referans grubu (Buserelin asetat)]

4.2.2. PKOS sıçan modeli deney sonuçları

Serum gonadotropin ve steroid seviyeleri

Halk arasında jinekolojik rahatsızlıklara karşı kullanılan bazı bitkilerden hazırlanan ekstrelerin ve daha ileri çalışmaların yürütülmesi amacı ile seçilen *A. austriaca* bitkisinden elde edilen fraksiyonların PKOS sıçan modelindeki serum gonadotropin ve steroid seviyeleri çizelge halinde verilmiştir (Çizelge 4.15 ve 4.16).

Çizelge 4.15. Türkiye’de halk arasında jinekolojik rahatsızlıklarda kullanılan bazı bitkilerin sıçanlarda oluşturulan PKOS modelinde serum gonadotropin ve steroid seviyeleri

Gruplar	Ekstre tipi	Doz (mg/kg)	FSH (ng/mL)	LH (ng/mL)	Östradiol (pg/mL)	Progesteron (ng/mL)	Testosteron (ng/dL)
Kontrol	CMC	-	116,7 ± 6,1	10,4 ± 2,1	3,8 ± 0,7	9,6 ± 1,2	243,8 ± 10,2
<i>Anthemis austriaca</i>	<i>n</i> -Hekzan	100	70,8 ± 5,1**	4,2 ± 0,8*	9,5 ± 0,4**	24,3 ± 1,4**	81,4 ± 6,3**
	EtOAc		100,2 ± 7,4	8,1 ± 2,3	4,0 ± 1,1	15,8 ± 3,4	193,1 ± 9,6
	MeOH		105,4 ± 5,3	8,6 ± 1,4	4,2 ± 0,9	12,4 ± 2,6	214,1 ± 12,3
<i>Cichorium intybus</i>	<i>n</i> -Hekzan		75,4 ± 4,6*	3,7 ± 0,6**	7,9 ± 0,8*	20,5 ± 1,9*	105,3 ± 9,6**
	EtOAc		92,6 ± 7,8	9,4 ± 0,9	5,8 ± 0,8	11,4 ± 1,6	225,7 ± 13,6
	MeOH		81,4 ± 4,2	7,4 ± 1,3	6,3 ± 0,9	14,4 ± 2,8	158,4 ± 17,3
<i>Melilotus officinalis</i>	<i>n</i> -Hekzan		111,9 ± 8,7	9,8 ± 2,4	4,5 ± 1,3	11,5 ± 3,5	203,4 ± 15,3
	EtOAc		102,7 ± 5,5	10,7 ± 1,8	5,6 ± 0,6	12,1 ± 2,7	182,8 ± 25,9
	MeOH		94,2 ± 4,9	8,6 ± 0,5	5,8 ± 0,7	16,3 ± 1,9	133,7 ± 16,1
<i>Mentha longifolia</i>	<i>n</i> -Hekzan		88,5 ± 7,1	7,4 ± 1,3	3,9 ± 0,7	17,1 ± 2,8	164,2 ± 18,9
	EtOAc		96,4 ± 6,8	7,9 ± 1,0	4,1 ± 0,8	14,7 ± 1,9	179,7 ± 14,4
	MeOH		91,9 ± 5,4	7,2 ± 1,2	3,8 ± 0,6	13,2 ± 1,5	183,6 ± 10,8
<i>Urtica dioica</i>	<i>n</i> -Hekzan		72,4 ± 4,8**	4,8 ± 0,3*	8,6 ± 0,8**	22,6 ± 1,5**	94,2 ± 9,9**
	EtOAc		91,6 ± 7,9	7,9 ± 0,9	6,1 ± 0,5	13,6 ± 3,9	163,5 ± 11,5
	MeOH		93,8 ± 8,4	8,8 ± 1,4	5,3 ± 0,9	12,7 ± 2,8	206,8 ± 29,4
Referans	Buserelin asetat	20	65,3 ± 3,7**	3,3 ± 0,4**	12,6 ± 0,4**	27,5 ± 1,6**	63,4 ± 5,1***

FSH: Folikül stimüle edici hormon; LH: Lüteinleştirici hormon

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

Çizelge 4.16. *A. austriaca* bitkisinin çiçeklerinden hazırlanan *n*-hekzan ekstresinden elde edilen fraksiyonların sıçanlarda oluşturulan PKOS modelinde serum gonadotropin ve steroid seviyeleri

Gruplar	Doz (mg/kg)	FSH (ng/mL)	LH (ng/mL)	Östradiol (pg/mL)	Progesteron (ng/mL)	Testosteron (ng/dL)
<i>Kontrol (CMC)</i>	-	128,9 ± 11,3	16,2 ± 4,1	5,9 ± 1,8	12,6 ± 2,9	294,5 ± 21,6
<i>Fr. (1-34)</i>	100	114,0 ± 9,8	14,7 ± 2,9	6,3 ± 1,5	12,1 ± 1,8	276,2 ± 18,0
<i>Fr. (35-73)</i>		74,6 ± 7,3**	6,1 ± 0,4**	13,9 ± 1,2**	33,8 ± 3,4**	95,3 ± 11,7**
<i>Fr. (74-98)</i>		118,0 ± 17,6	13,4 ± 3,2	7,1 ± 1,4	15,7 ± 1,6	250,3 ± 34,2
<i>Referans</i>	20	70,2 ± 4,1**	4,8 ± 0,5**	18,3 ± 0,6**	42,3 ± 2,1***	71,8 ± 6,3***

FSH: Folikül stimüle edici hormon; LH: Lüteinleştirici hormon

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

Serum TK, TG, HDL-C, LDL-C, leptin ve glukoz seviyeleri

Halk arasında jinekolojik rahatsızlıklara karşı kullanılan bazı bitkilerden hazırlanan ekstrelerin ve daha ileri çalışmaların yürütülmesi amacı ile seçilen *A. austriaca* bitkisinden elde edilen fraksiyonların PKOS sıçan modelindeki serum TK, TG, HDL-C, LDL-C, leptin ve glukoz seviyeleri çizelge halinde verilmiştir (Çizelge 4.17 ve 4.18).

Çizelge 4.17. Türkiye’de halk arasında jinekolojik rahatsızlıklarda kullanılan bazı bitkilerin sıçanlarda oluşturulan PKOS modelinde serum TK, TG, HDL-C, LDL-C, leptin ve glukoz seviyeleri

Gruplar	Ekstre tipi	Doz (mg/kg)	TK (mg/dL)	TG (mg/dL)	HDL-C (mg/dL)	LDL-C (mg/dL)	Leptin (pg/mL)	Glukoz (mg/dL)
Kontrol	CMC	-	50,6 ± 9,2	108,4 ± 18,3	50,8 ± 7,5	31,2 ± 8,4	815,4 ± 84,9	171,1 ± 14,7
<i>Anthemis austriaca</i>	<i>n</i> -Hekzan	100	32,1 ± 8,3**	78,6 ± 9,3*	81,1 ± 6,1**	22,2 ± 4,7*	417,6 ± 74,6*	91,6 ± 9,3**
	EtOAc		48,4 ± 6,9	106,3 ± 15,6	61,4 ± 9,1	23,8 ± 4,9	773,2 ± 101,2	162,5 ± 21,1
	MeOH		45,3 ± 9,7	102,1 ± 14,2	57,3 ± 8,7	26,4 ± 5,7	693,6 ± 121,7	154,0 ± 12,6
<i>Cichorium intybus</i>	<i>n</i> -Hekzan		40,7 ± 6,1*	85,0 ± 11,3*	72,9 ± 7,8*	25,7 ± 8,3	366,7 ± 69,4*	100,5 ± 8,1**
	EtOAc		47,4 ± 10,9	97,5 ± 13,4	60,5 ± 8,2	28,6 ± 6,9	587,3 ± 153,2	160,1 ± 15,2
	MeOH		42,1 ± 11,3	104,9 ± 15,8	65,2 ± 6,1	26,8 ± 9,6	621,4 ± 142,8	134,1 ± 12,8
<i>Melilotus officinalis</i>	<i>n</i> -Hekzan		48,2 ± 5,4	92,7 ± 9,9	61,5 ± 8,4	24,9 ± 6,8	725,3 ± 134,9	149,7 ± 13,4
	EtOAc		43,9 ± 12,7	101,3 ± 13,2	53,7 ± 6,2	27,7 ± 7,3	671,9 ± 94,1	158,9 ± 11,2
	MeOH		41,6 ± 9,8	107,4 ± 16,3	63,8 ± 10,1	29,3 ± 7,9	490,5 ± 59,3	146,1 ± 15,6
<i>Mentha longifolia</i>	<i>n</i> -Hekzan		45,2 ± 10,4	94,5 ± 11,8	67,4 ± 6,9	24,8 ± 6,0	515,3 ± 182,4	127,4 ± 10,3
	EtOAc		46,3 ± 6,8	89,4 ± 14,7	63,0 ± 5,6	29,4 ± 7,1	791,4 ± 126,3	119,1 ± 11,8
	MeOH		41,4 ± 11,7	88,2 ± 9,8	59,4 ± 7,4	31,4 ± 10,6	601,7 ± 107,2	128,9 ± 14,3
<i>Urtica dioica</i>	<i>n</i> -Hekzan		36,1 ± 6,6*	93,8 ± 10,4	70,6 ± 6,3*	21,2 ± 6,8*	452,3 ± 83,6*	103,9 ± 10,2*
	EtOAc		45,9 ± 12,4	103,7 ± 15,5	62,3 ± 11,9	28,5 ± 5,8	638,9 ± 113,4	128,1 ± 12,4
	MeOH		49,2 ± 8,8	96,2 ± 12,7	55,8 ± 8,1	25,9 ± 4,4	791,2 ± 79,8	147,2 ± 15,3
Referans	Buserelin asetat	20	27,2 ± 4,3**	74,9 ± 7,1**	83,9 ± 5,3**	17,1 ± 3,8**	335,2 ± 46,2**	80,8 ± 4,1***

TK: Toplam kolesterol; TG: Trigliserit; HDL-C: Yüksek dansiteli lipoprotein kolesterol; LDL-C: Düşük dansiteli lipoprotein kolesterol

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

Çizelge 4.18. *A. austriaca* bitkisinin çiçeklerinden hazırlanan *n*-hekzan ekstresinden elde edilen fraksiyonların sıçanlarda oluşturulan PKOS modelinde serum TK, TG, HDL-C, LDL-C, leptin ve glukoz seviyeleri

Gruplar	Doz (mg/kg)	TK (mg/dL)	TG (mg/dL)	HDL-C (mg/dL)	LDL-C (mg/dL)	Leptin (pg/mL)	Glukoz (mg/dL)
<i>Kontrol (CMC)</i>	-	63,9 ± 8,6	127,9 ± 14,1	56,3 ± 11,8	36,9 ± 9,7	738,6 ± 115, 3	195,4 ± 19,6
<i>Fr. (1-34)</i>	100	54,3 ± 6,9	113,4 ± 12,3	58,8 ± 7,6	34,2 ± 7,2	705,3 ± 94,6	173,2 ± 21,2
<i>Fr. (35-73)</i>		33,8 ± 5,1**	86,9 ± 9,3*	89,4 ± 4,7**	21,3 ± 4,2*	463,7 ± 74,6*	98,3 ± 6,7**
<i>Fr. (74-98)</i>		58,9 ± 11,7	111,8 ± 9,2	52,6 ± 8,4	33,7 ± 8,4	725,4 ± 104,5	163,9 ± 17,4
<i>Referans</i>	20	30,6 ± 4,3**	79,6 ± 5,2**	95,1 ± 7,8**	18,6 ± 2,9**	303,1 ± 38,7***	89,6 ± 4,3***

TK: Toplam kolesterol; TG: Trigliserit; HDL-C: Yüksek dansiteli lipoprotein kolesterol; LDL-C: Düşük dansiteli lipoprotein kolesterol

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

Antioksidan parametrelerin değerlendirilmesi

Halk arasında jinekolojik rahatsızlıklara karşı kullanılan bazı bitkilerden hazırlanan ekstrelerin ve daha ileri çalışmaların yürütülmesi amacı ile seçilen *A. austriaca* bitkisinden elde edilen fraksiyonların PKOS sıçan modelindeki serum MDA, SOD, CAT ve GPx seviyeleri çizelge halinde verilmiştir (Çizelge 4.19 ve 4.20).

Çizelge 4.19. Türkiye’de halk arasında jinekolojik rahatsızlıklarda kullanılan bazı bitkilerin sıçanlarda oluşturulan PKOS modelinde serum MDA, SOD, CAT ve GPx seviyeleri

Gruplar	Ekstre tipi	Doz (mg/kg)	MDA (nmol/mL)	SOD (U/mL)	CAT (U/mL)	GPx (U/mL)
Kontrol	CMC	-	4,6 ± 0,7	653,6 ± 37,1	5,3 ± 2,1	136,9 ± 12,4
<i>Anthemis austriaca</i>	<i>n</i> -Hekzan	100	1,9 ± 0,6**	1157,3 ± 20,5**	8,1 ± 1,5*	127,6 ± 15,8
	EtOAc		3,5 ± 1,2	724,8 ± 24,4	5,7 ± 1,8	114,1 ± 10,3
	MeOH		4,1 ± 1,6	701,7 ± 40,2	4,9 ± 1,2	139,4 ± 18,1
<i>Cichorium intybus</i>	<i>n</i> -Hekzan		2,8 ± 0,8*	1014,1 ± 25,3*	6,5 ± 1,1	109,2 ± 17,6
	EtOAc		4,2 ± 0,9	818,9 ± 27,1	5,8 ± 2,7	148,5 ± 21,6
	MeOH		3,0 ± 1,4	978,6 ± 31,4	6,1 ± 1,9	121,3 ± 14,2
<i>Melilotus officinalis</i>	<i>n</i> -Hekzan		4,9 ± 1,7	772,4 ± 36,8	5,7 ± 1,4	105,4 ± 15,3
	EtOAc		4,4 ± 2,5	741,3 ± 37,2	5,4 ± 2,8	122,7 ± 13,8
	MeOH		3,7 ± 1,5	915,8 ± 28,7	6,7 ± 1,3	114,2 ± 16,4
<i>Mentha longifolia</i>	<i>n</i> -Hekzan		3,2 ± 1,2	885,9 ± 23,1	7,4 ± 2,6	101,1 ± 12,3
	EtOAc		4,2 ± 1,1	674,2 ± 44,8	5,9 ± 1,3	135,7 ± 15,2
	MeOH		3,1 ± 1,8	953,1 ± 36,4	7,2 ± 2,1	104,6 ± 11,9
<i>Urtica dioica</i>	<i>n</i> -Hekzan		2,4 ± 0,6*	1096,2 ± 18,6*	7,8 ± 1,3*	111,3 ± 10,8
	EtOAc		3,6 ± 1,4	931,7 ± 30,9	6,3 ± 1,7	127,2 ± 18,4
	MeOH		3,3 ± 1,2	783,1 ± 49,7	5,8 ± 2,4	131,6 ± 13,7
Referans	Buserelin asetat	20	1,4 ± 0,3**	1241,5 ± 15,6**	9,2 ± 1,1**	93,5 ± 8,2

MDA: Malondialdehit; SOD: Süperoksit dismutaz; CAT: Katalaz; GPx: Glutatyon peroksidaz

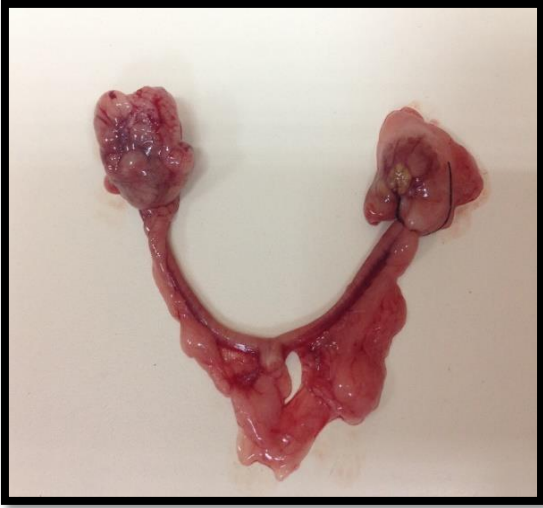
* : p < 0,05; ** : p < 0,01; *** : p < 0,001; S. H.: Standart Hata

Çizelge 4.20. *A. austriaca* bitkisinin çiçeklerinden hazırlanan *n*-hekzan ekstresinden elde edilen fraksiyonların sıçanlarda oluşturulan PKOS modelinde serum MDA, SOD, CAT ve GPx seviyeleri

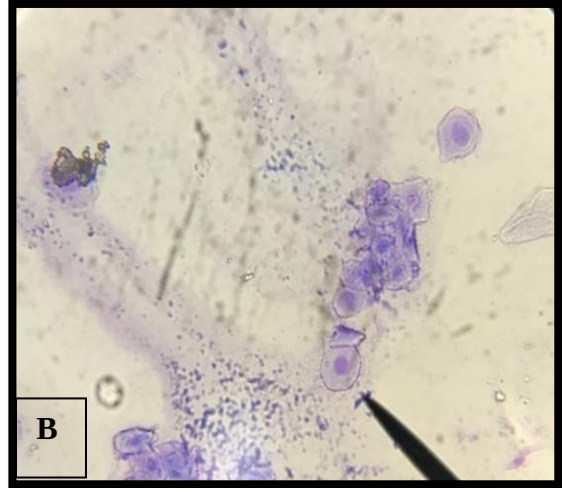
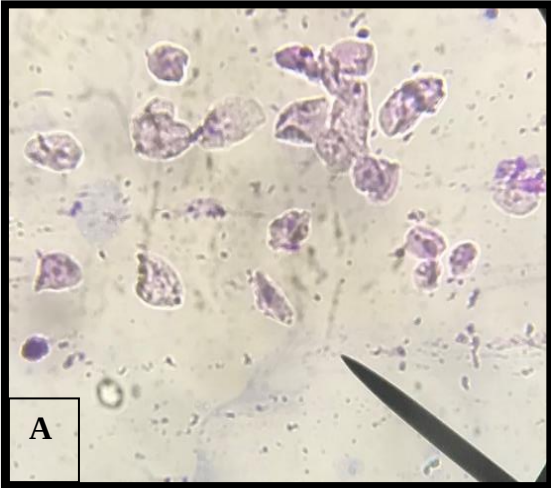
Gruplar	Doz (mg/kg)	MDA (nmol/mL)	SOD (U/mL)	CAT (U/mL)	GPx (U/mL)
<i>Kontrol (CMC)</i>	-	6,1 ± 1,1	716,8 ± 48,4	6,8 ± 1,9	126,4 ± 18,8
<i>Fr. (1-34)</i>	100	5,3 ± 0,8	762,9 ± 43,6	7,2 ± 1,6	116,9 ± 12,8
<i>Fr. (35-73)</i>		3,1 ± 0,5*	1149,9 ± 37,6**	9,5 ± 1,3*	104,9 ± 15,7
<i>Fr. (74-98)</i>		5,9 ± 1,4	748,9 ± 27,8	7,0 ± 2,4	123,9 ± 11,4
<i>Referans</i>	20	1,1 ± 0,2**	1362,3 ± 29,3***	13,8 ± 1,0**	118,8 ± 10,2

TK: Toplam kolesterol; TG: Trigliserit; HDL-C: Yüksek dansiteli lipoprotein kolesterol; LDL-C: Düşük dansiteli lipoprotein kolesterol

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



Resim 4.2. PKOS sıçan modelinde kontrol grubuna ait uterus görüntüleri

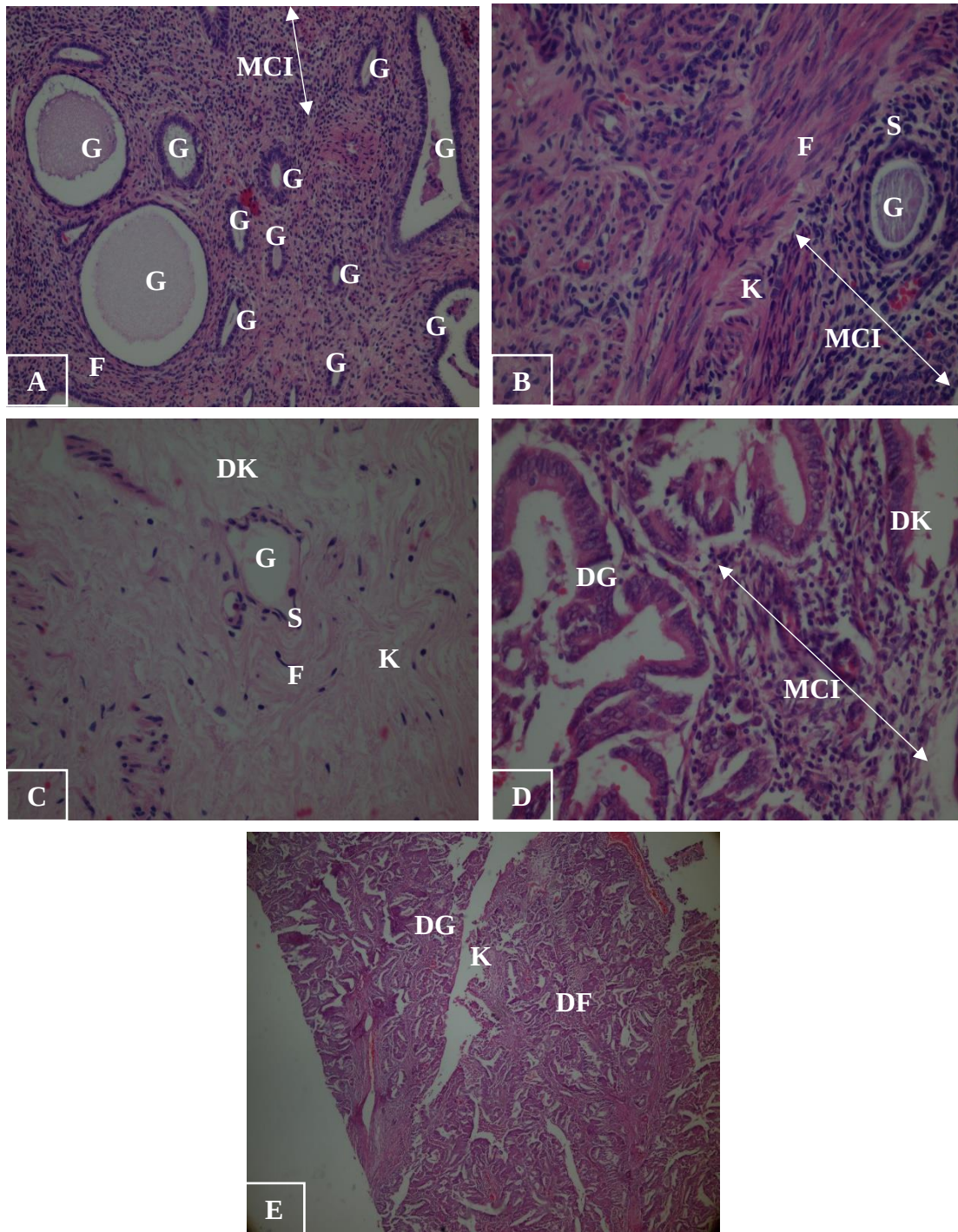


Resim 4.3. PKOS sıçan modelinde sıçanlardan alınan vajinal smir örneklerinden kontrol grubu (A) ve *A. austriaca* n-hekzan ekstresi (B) ile tedavi edilen gruba ait mikroskopik vajinal smir görüntüleri

4.2.3. Histopatolojik inceleme sonuçları

Endometriyoz sıçan modeli histopatolojik inceleme sonuçları

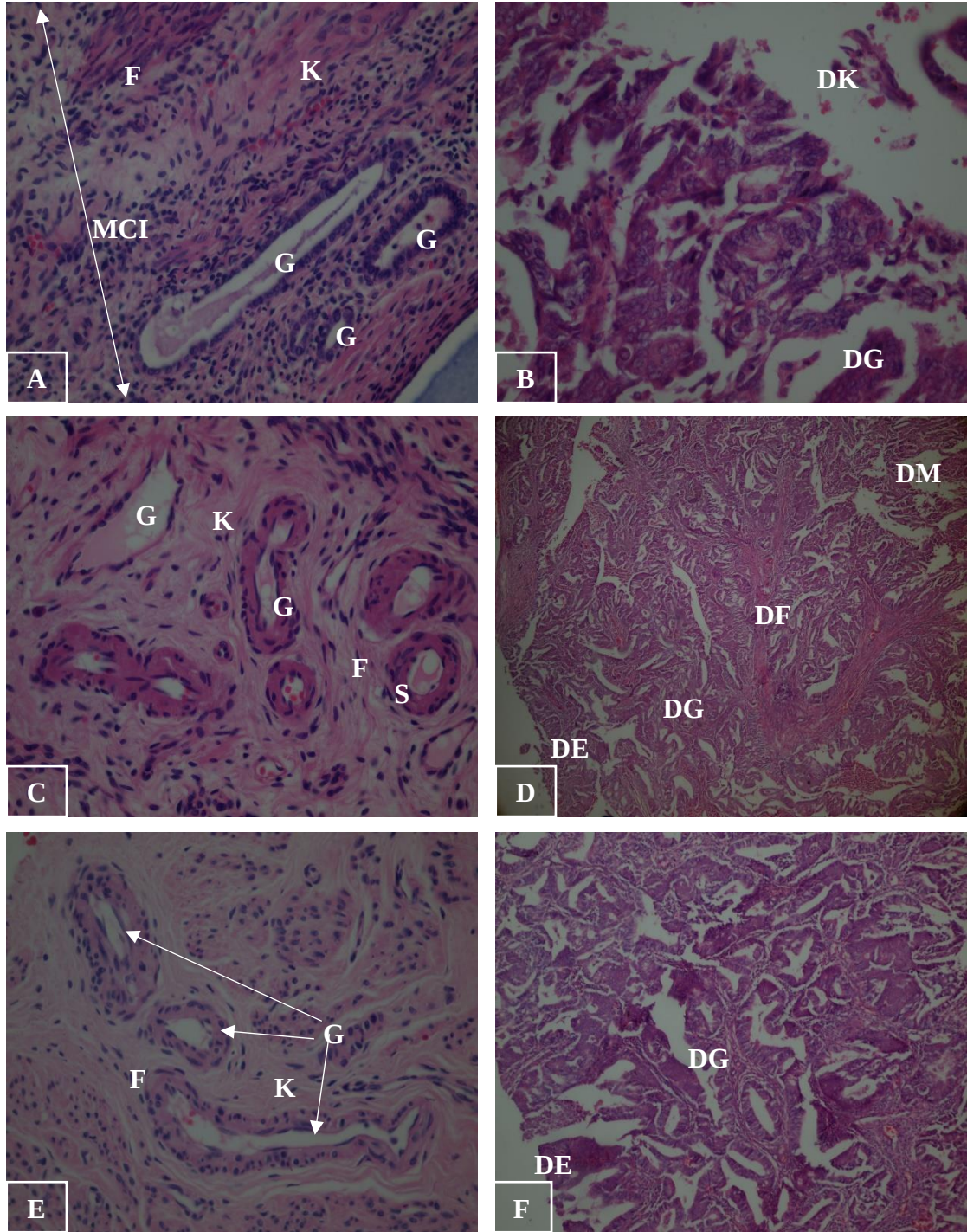
Halk arasında jinekolojik rahatsızlıklara karşı kullanılan *A. austriaca* çiçeklerinden elde edilen *n*-hekzan, EtOAc ve MeOH ekstralarının uygulandığı gruplardaki histopatolojik inceleme sonuçları Resim 4.4'te, MeOH ekstresinden elde edilen fraksiyonların uygulandığı gruplardaki histopatolojik inceleme sonuçları Resim 4.5'te verilmiştir.



Resim 4.4. *A. austriaca* bitkisinin çiçeklerinden hazırlanan ekstraktların uygulandığı gruplara ait histopatolojik inceleme sonuçları

(A) Kontrol; (B) *n*-Hekzan ekstresi; (C) EtOAc ekstresi; (D) MeOH ekstresi; (E) Referans (Buserelin asetat)

F: fibroblast, G: endometriyal gland, MCI: mononükleer hücre infiltrasyonu, S: stroma, K: kollajen, DK: dejenere kollajen, DG: dejenere endometriyal gland, DF: dejenere fonksiyonel tabaka, DM: dejenere kas



Resim 4.5. *A. austriaca* bitkisinin çiçeklerinden hazırlanan MeOH ekstresinden elde edilen fraksiyonların uygulandığı gruplara ait histopatolojik inceleme sonuçları

(A) Kontrol; (B) Fr. (1-6); (C) Fr. (7-13); (D) Fr. (14-20); (E) Fr. (21-29); (F) Referans (Buserelin asetat)

F: fibroblast, G: endometrial gland, MCI: mononükleer hücre infiltrasyonu, S: stroma, K: kollajen, DK: dejenere kollajen, DG: dejenere endometrial gland, DK: dejenere kollajen, DF: dejenere fonksiyonel tabaka, DM: dejenere kas, DE: dejenere endometrial epitel

Çizelge 4.21. Endometriyoz sıçan modelinde *A. austriaca* bitkisinin çiçeklerinden hazırlanan ekstrelerin ve MeOH ekstresinden elde edilen fraksiyonların uygulandığı gruplara ait iyileşme süreci

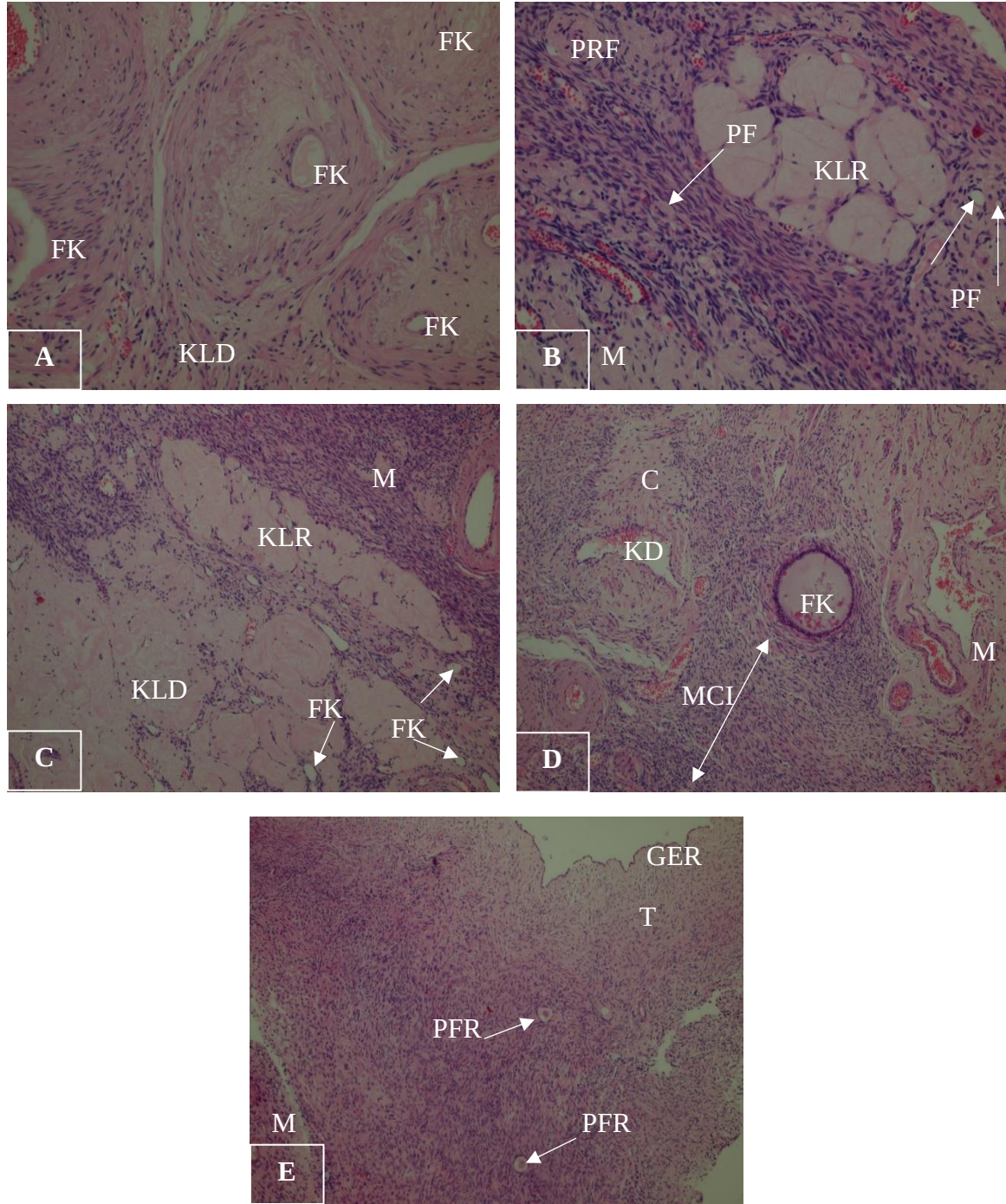
Gruplar	EG	DEG	MCI	S
Kontrol	+++	-	++	+++
<i>n</i> -Hekzan ekstresi	++	-	++	++
EtOAc ekstresi	++	-	+	++
MeOH ekstresi	-	++	+	-
Referans	-	+++	-	-
Kontrol	+++	-	+++	+++
Fr. A	-	+	-	-
Fr. B	+++	-	+	+++
Fr. C	-	++	-	-
Fr. D	++	-	+	++
Referans	-	+++	-	-

EG: Endometriyal gland; DEG: Dejenere endometriyal gland; S: Stroma; MCI: Mononükleer hücre infiltrasyonu

(+): Az; (++): Orta; (+++): Fazla

PKOS sıçan modeli histopatolojik inceleme sonuçları

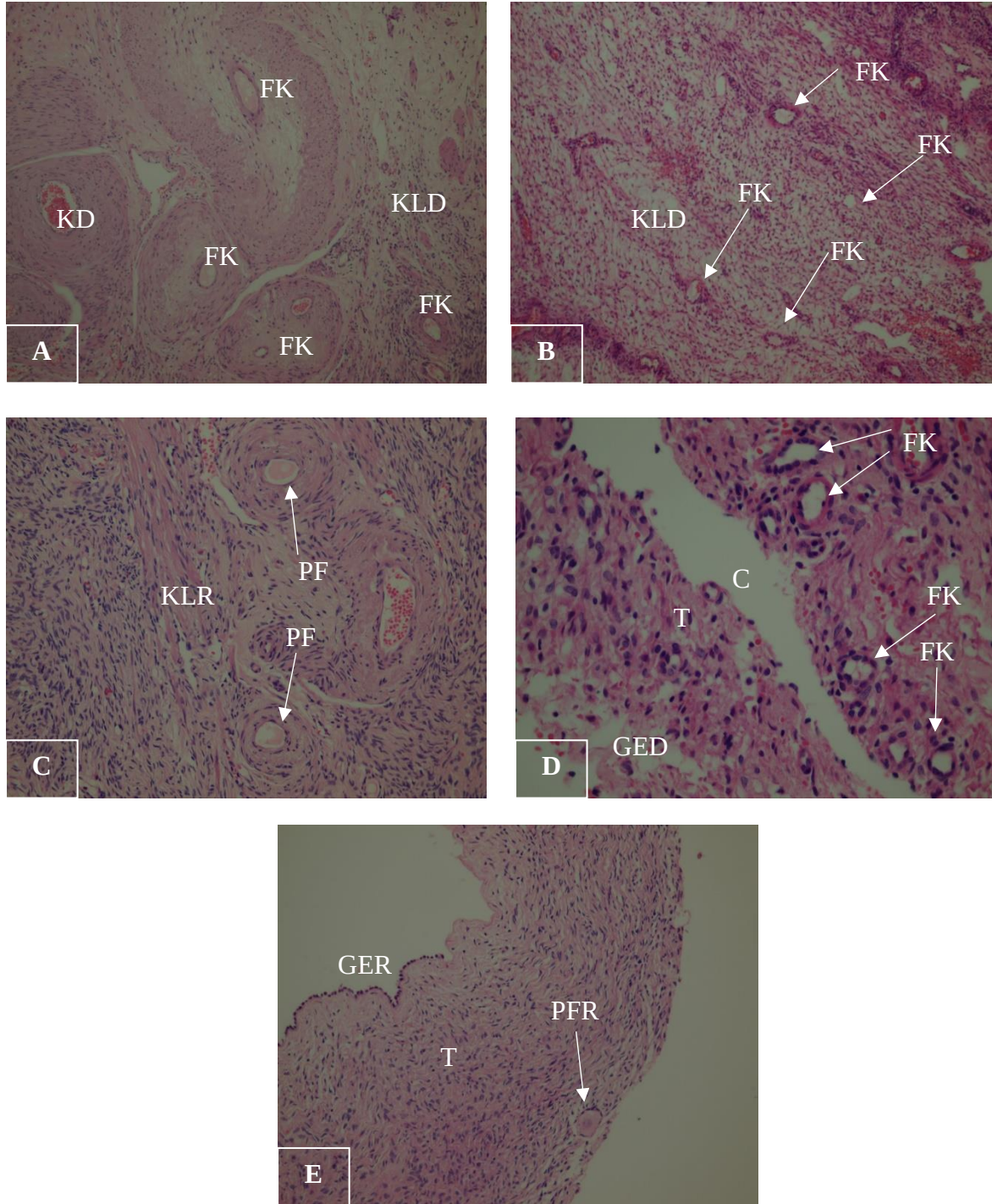
Halk arasında jinekolojik rahatsızlıklara karşı kullanılan *A. austriaca* çiçeklerinden elde edilen *n*-hekzan, EtOAc ve MeOH ekstrelerinin uygulandığı gruplardaki histopatolojik inceleme sonuçları Resim 4.6’da, *n*-hekzan ekstrelerinden elde edilen fraksiyonların uygulandığı gruplardaki histopatolojik inceleme sonuçları Resim 4.7’de verilmiştir.



Resim 4.6. *A. austriaca* bitkisinin çiçeklerinden hazırlanan ekstraktların uygulandığı gruplara ait histopatolojik inceleme sonuçları

(A) Kontrol; (B) *n*-Hekzan ekstresi; (C) EtOAc ekstresi; (D) MeOH ekstresi; (E) Referans (Buserelin asetat)

FK: foliküler kist, KLD: korpus luteum dejenerasyonu, PRF: primordial folikül, PF: primer folikül, PFR: primer folikül rejenerasyonu, C: kollajen, KLR: korpus luteum rejenerasyonu, M: medulla, KD: kan damarları, MCI: mononükleer hücre infiltrasyonu, GER: germinal epitel, T: Tunica albuginea



Resim 4.7. *A. austriaca* bitkisinin çiçeklerinden hazırlanan *n*-hekzan ekstresinden elde edilen fraksiyonların uygulandığı gruplara ait histopatolojik inceleme sonuçları

(A) Kontrol; (B) Fr. (1-34); (C) Fr. (35-73); (D) Fr. (74-98); (E) Referans (Buserelin asetat)

FK: foliküler kist, KLD: korpus luteum dejenerasyonu, PF: primer folikül, PFR: primer folikül rejenerasyonu, KLR: korpus luteum rejenerasyonu, KD: kan damarları, GER: germinal epitel, T: Tunica albuginea, C: Kollajen

Çizelge 4.22. PKOS sıçan modelinde *A. austriaca* bitkisinin çiçeklerinden hazırlanan ekstrelerin ve *n*-hekzan ekstresinden elde edilen fraksiyonların uygulandığı gruplara ait iyileşme süreci

Gruplar	FK	KLR	KLD	GER	PF
Kontrol	+++	-	+++	-	-
<i>n</i> -Hekzan ekstresi	-	++	-	-	++
EtOAc ekstresi	++	+	+	-	-
MeOH ekstresi	+++	-	-	-	-
Referans	-	+++	-	+++	+++
Kontrol	+++	-	+++	-	-
Fr. A	+++	-	+++	-	-
Fr. B	-	++	-	-	++
Fr. C	+++	-	-	-	-
Referans	-	+++	-	+++	++

EG: Endometriyal gland; DEG: Dejenere endometriyal gland; S: Stroma; MCI: Mononükleer hücre infiltrasyonu

(+): Az; (++): Orta; (+++): Fazla

5. TARTIŞMA

Ektopik endometriyal dokunun uterus kavitesi dışında başka bir yere implantasyonu olarak tanımlanan endometriyoz, doğurganlık çağındaki kadınların yaklaşık %10-15'inde, infertil kadınların ise %30'unda görülen bir hastalıktır (Asghari, Valizadeh, Aghebati-Maleki, Nouri ve Yousefi, 2018; Defrere ve diğerleri, 2008). Endometriyozda baş ağrısı, yorgunluk, derin pelvik ağrı, ağrılı menstrüasyon, ağrılı cinsel ilişki ve gastrointestinal problemler sıklıkla görülmektedir (Kold, Hansen, Vedsted-Hansen ve Forman, 2012). Bu hastalığın tedavisinde kullanılan ilaçlar, hastalığı tamamen tedavi etmemekte ancak semptomların ortadan kalkmasına yardımcı olmaktadır. Bu ilaçların bırakılması durumunda ise semptomlar yeniden ortaya çıkabilmektedir (Bedaiwy ve diğerleri, 2017).

Polikistik over sendromu (PKOS), menstrüal siklusu devam eden kadınlarda yaygın olarak görülen, ovaryum fonksiyon bozukluğu, artmış androjen üretimi ve bozulmuş gonadotropin salınması ile karakterize bir hastalıktır. Menstrüal dengenin bozulması, kılınma ve sivilcelenme bu hastalıkta sıklıkla karşılaşılan problemlerdir. Çok yönlü bir hastalık olması nedeniyle, tedavide tek bir ilaç yerine kombine ilaç tedavisi tercih edilmektedir (Kahn, 2008). Ancak fazla ilaç kullanma gerekliliği ve medikal tedavinin sadece semptomları gidermeye yönelik olması nedeniyle tedavi başarısı sınırlı kalmaktadır.

Endometriyoz ve PKOS tedavisinde kullanılan mevcut ilaçların etkilerinin yetersiz kalması nedeniyle tedaviye yönelik alternatif ürünlerin çıkarılması günümüzde önem kazanmıştır. Türkiye'de ve dünyada halk arasında jinekolojik rahatsızlıklara karşı kullanılan bitkiler ile ilgili zengin bir bilgi birikimi bulunmaktadır (Baytop, 1999; Sezik ve diğerleri, 2001; Ososki ve diğerleri, 2002; Tuzlacı, 2006; Tita ve diğerleri, 2009; Uysal ve diğerleri, 2010; Yeşil, 2007; Yeşilada ve diğerleri, 1999).

Çalışmamızda, halk arasında jinekolojik rahatsızlıklara karşı kullanıldığı tespit edilen *A. austriaca*, *C. intybus*, *M. officinalis*, *M. longifolia*, *U. dioica* bitkilerinin aktiviteleri sıçanlarda oluşturulan endometriyoz ve PKOS modellerinde değerlendirilmiştir. Yapılan aktivite çalışmalarında *A. austriaca* bitkisinin en yüksek etkiye sahip olduğu, bunu *U. dioica*, *C. intybus* ve *M. officinalis* bitkilerinden hazırlanan MeOH ekstraktlarının takip ettiği belirlenmiştir (Çizelge 4.10 ve 4.12, Şekil 4.54). Bundan sonraki aşamada, çalışmalarımız

en yüksek aktiviteyi gösteren *A. austriaca* bitkisi üzerinde BAYF tekniği uygulanarak yürütülmüştür.

Endometriyoz sığın modeli kullanılmıştır. Bu modelde test materyalleri 4 hafta boyunca sığınlara uygulanmıştır. Bu süre sonunda tüm sığınlar öldürülmüş ve adezyon skorları, endometriyotik implant hacimleri ve periton sıvılarında sitokin seviyeleri değerlendirilmiştir. *A. austriaca* bitkisinden hazırlanan *n*-hekzan ekstresinin adezyon oluşumunu %28,6 oranında azaltmasına rağmen bu değerin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir iyileşmeyi göstermediği belirlenmiştir. Buna karşın, MeOH ekstresinin adezyon oluşumunu %64,5, EtOAc ekstresinin ise %51,7 oranında azalttığı ve sonuçların istatistiksel açıdan anlamlı olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.10). Etkiden sorumlu bileşik/lerin tespiti amacıyla aktif çıkan MeOH ekstresi RP-18 silika jel kolon kromatografisi ile fraksiyonlanmış ve Fr. (1-6), Fr. (7-13), Fr. (14-20) ile Fr. (21-29) olmak üzere 4 fraksiyon elde edilmiştir. Bu fraksiyonlardan Fr. (1-6)'nın adezyon oluşumunu %34,5; Fr. (14-20)'nin %67,7 düşürdüğü tespit edilmiştir. İstatistiksel değerlendirmelerde Fr. (1-6) ve Fr. (14-20) ile tedavi edilen grupların sonuçları kontrol grubu sonuçları ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olduğu; Fr. (7-13) ve Fr. (21-29) ile tedavi edilen grupların sonuçlarında ise herhangi bir anlamlı farkın olmadığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.12).

Endometriyoz sığın modelinde değerlendirilen bir başka parametre olan endometriyotik implant hacimleri oluşan implantların eni, boyu ve yüksekliği ölçülerek hesaplanmıştır. *A. austriaca* *n*-hekzan ekstresinin implant hacimini %8,1 düşürdüğü ancak bu sonucun kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı olmadığı (Şekil 4.60), buna karşın MeOH ekstresinin implant hacmini %53,1; EtOAc ekstresinin ise %28,1 (Resim 4.1) düşürdüğü tespit edilmiştir (Çizelge 5.1). MeOH ekstresinden elde edilen fraksiyonlardan Fr. (1-6) uygulanan grupta endometriyotik implant hacminin %27,2, Fr. (14-20) uygulanan grupta ise endometriyotik implant hacminin %41,4 oranında düştüğü belirlenmiştir (Çizelge 5.2). Fr. (7-13) ve Fr. (21-29) ile tedavi edilen grupların endometriyotik implant hacimleri ile kontrol grubunun sonuçları karşılaştırıldığında herhangi bir anlamlı fark olmadığı da tespit edilmiştir (Şekil 4.61).

Enflamatuvar sitokinler, endometriyozlu hastaların periton sıvılarında rol alan önemli faktörlerdir (Gazvani ve Templeton, 2002; Harada, Iwabe ve Terakawa, 2001; Oral ve diğerleri, 1996). Proenflamatuvar bir sitokin olan TNF- α , endometriyozda enflamatuvar faktörlerin peritoneal kaviteye göçünün hızlanmasında ve peritonda bölgesel kan damarlarının geçirgenliğinin artmasında rol oynayarak peritoneal enflamasyonu artırmaktadır (Asghari ve diğerleri, 2018). Bununla birlikte yapılan pek çok çalışmada, TNF- α seviyesindeki artışa bağlı olarak adezif hücrelerin sayısının (Mackay, Loetscher, Stueber, Gehr ve Lesslauer, 1993) ve endometriyotik stromal hücrelerin proliferasyonunun arttığı da (Iwabe ve diğerleri, 2000) tespit edilmiştir.

Endometriyoz patojenezinde rol oynayan bir diğer sitokin ise IL-6'dır. IL-6, hem proenflamatuvar sitokin hem de anti-enflamatuvar myokin olarak davranan bifazik immün bir moleküldür. Bu sitokin üzerinde yapılan çalışmalarda, IL-6'nın endometriyal hücrelerin implantasyonunda büyük rol oynadığı (Harada ve diğerleri, 2001) ve endometriyozlu kadınların periton sıvısında seviyelerinin önemli ölçüde arttığı (Wu ve Ho, 2003) rapor edilmiştir.

Endometriyozda anjiyogenez oluşumunda rol alan ve damarsal geçirgenlik faktörü olarak da bilinen VEGF, heparin bağlı bir glikoproteindir (Charnock-Jones ve diğerleri, 1993; Smith, 1998; Wu ve Ho, 2003). Yapılan çalışmalarda, endometriyozlu hastalarda peritonda belirgin bir damar ağı oluşumu nedeniyle periton sıvısında VEGF seviyesinin arttığı belirlenmiştir (McLaren ve diğerleri, 1996).

Çalışmamızda *A. austriaca* n-hekzan ekstresinin, TNF- α , IL-6 ve VEGF seviyelerini azalttığı ancak kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Buna karşın, *A. austriaca* MeOH ekstresinin peritoneal TNF- α seviyesini %72,3; VEGF seviyesini %42,6; IL-6 seviyesini %44,7; EtOAc ekstresinin ise peritoneal TNF- α seviyesini %44,2; VEGF seviyesini %36,9; IL-6 seviyesini %19,9 oranında düşürdüğü belirlenmiştir (Çizelge 4.13 ve Çizelge 5.1). *A. austriaca* MeOH ekstresinden elde edilen fraksiyonlar arasında sitokin seviyeleri üzerinde en etkili bulunan fraksiyon Fr. (14-20) olarak belirlenmiştir. Bu fraksiyonun peritoneal TNF- α seviyesini %58,4; VEGF seviyesini %46,9; IL-6 seviyesini ise %32 oranında düşürdüğü tespit edilmiştir (Çizelge 4.14 ve Çizelge 5.2). Sonuçlar *A. austriaca* bitkisinin endometriyozda artan sitokin seviyelerini düşürerek tedaviye katkı sağladığını göstermiştir.

Çizelge 5.1. Türkiye’de halk arasında jinekolojik rahatsızlıklarda kullanılan bazı bitkilerin sıçanlarda oluşturulan endometriyoz modelinde endometriyotik implant hacimlerindeki ve peritoneal sıvılardaki sitokin seviyelerindeki % azalma

Gruplar	Ekstre tipi	Endometriyotik implant hacimlerindeki azalma (%)	TNF- α seviyesindeki azalma (%)	VEGF seviyesindeki azalma (%)	IL-6 seviyesindeki azalma (%)
Kontrol		-	5,3	-	2,1
A. austriaca	<i>n</i> -Hekzan	8,1	14,6	8,3	9,4
	EtOAc	28,1	44,2	36,9	19,9
	MeOH	53,1	72,3	42,6	44,7
C. intybus	<i>n</i> -Hekzan	16,1	19,0	14,6	7,8
	EtOAc	18,5	20,2	31,7	7,5
	MeOH	42,1	50,5	37,5	30,4
M. officinalis	<i>n</i> -Hekzan	8,0	8,6	14,7	10,1
	EtOAc	16,6	25,0	26,2	15,1
	MeOH	33,6	48,5	38,1	20,6
M. longifolia	<i>n</i> -Hekzan	20,0	9,6	20,0	6,2
	EtOAc	23,2	13,5	28,7	5,9
	MeOH	16,7	25,5	12,5	14,2
U. dioica	<i>n</i> -Hekzan	17,5	13,6	5,2	3,8
	EtOAc	17,5	25,9	5,7	-
	MeOH	47,2	48,2	45,6	21,8
Referans		74,2	73,6	50,7	51,6

% Azalma oranları tedavi öncesi ve tedavi sonrası değerler esas alınarak hesaplanmıştır.

Çizelge 5.2. *A. austriaca* bitkisinin çiçeklerinden hazırlanan MeOH ekstresinden elde edilen fraksiyonların sıçanlarda oluşturulan endometriyoz modelinde endometriyotik implant hacimlerindeki ve peritoneal sıvılardaki sitokin seviyelerindeki % azalma

Gruplar	Endometriyotik implant hacmindeki azalma (%)	TNF- α seviyesindeki azalma (%)	VEGF seviyesindeki azalma (%)	IL-6 seviyesindeki azalma (%)
<i>Kontrol</i>	-	-	-	-
<i>Fr. (1-6)</i>	27,2	31,9	43,3	22,3
<i>Fr. (7-13)</i>	3,2	3,9	-	3,9
<i>Fr. (14-20)</i>	41,4	58,4	46,9	32,0
<i>Fr. (21-29)</i>	9,5	-	2,2	-
<i>Referans</i>	70,9	84,5	60,3	61,4

% Azalma oranları tedavi öncesi ve tedavi sonrası değerler esas alınarak hesaplanmıştır.

Çalışma materyallerinin, endometriyoz üzerindeki aktivitelerinin hücresel ve yapısal düzeyde değerlendirilmesine katkı sağlaması nedeniyle bu çalışmada histopatolojik analizler de yapılmıştır. Hematoksilen-eozin ile boyanmış endometriyotik implant dokuları ışık mikroskobu altında incelenmiştir. Histopatolojik incelemelerde kontrol gruplarında çok sayıda endometriyal gland, stroma, mononükleer hücre infiltrasyonuna rastlanırken, *A. austriaca* MeOH ekstresi ile Fr. (1-6) ve Fr. (14-20) fraksiyonlarının uygulandığı gruplarda endometriyal gland sayısında ve mononükleer hücre infiltrasyonunda azalmanın ve dejenere endometriyal glandların olduğu belirlenmiştir (Resim 4.4 ve 4.5, Çizelge 4.21).

Etkiden sorumlu bileşik/lerin izolasyonu amacıyla, endometriyoz sıçan modelinde kuvvetli aktivite gösteren *A. austriaca* MeOH ekstresinden elde edilen Fr. (1-6) ve Fr. (14-20) fraksiyonları ile orta derecede aktivite gösteren EtOAc ekstresi üzerinde izolasyon çalışmaları yürütülmüştür. İzolasyon çalışmaları sonucunda MeOH ekstresinden **4-(β -D-glukopiranoziloksi)-6-metil-2H-piran-2-on**, **apigenin-7-O-(3''-asetil)- β -D-glukopiranozit**, **apigenin-7-O-(6''-asetil)- β -D-glukopiranozit**, **apigenin-7-O- β -D-glukopiranozit**, **kersetin-7-O- β -D-glukopiranozit** ve **kersetin**; EtOAc ekstresinden ise steroid yapısında olan **β -sitosterol 3-O- β -D-glukopiranozit** izole edilmiştir. Yapılan literatür taramalarında *A. austriaca* bitkisi üzerinde şimdiye kadar yapılmış sadece bir adet izolasyon çalışmasının bulunduğu ve bu çalışmalarda terpenik ve steroid yapıdaki maddelerin yapılarının belirlendiği tespit edilmiştir (Staneva ve diğerleri, 2004). Çalışmamızda izole edilen maddeler bu tür için ilk kez rapor edilmiş olup “**apigenin-7-O- β -D-glukopiranozit**” en iyi aktivite gösteren Fr. (14-20)’nin ana bileşiği olarak belirlenmiştir. Guzelmeric, Vovk ve Yeşilada (2015) tarafından *A. austriaca* bitkisi üzerinde yapılan yüksek performanslı ince tabaka kromatografisi çalışmasında, bu bitkinin yüksek miktarda apigenin-7-O- β -D-glukopiranozit içerdiği rapor edilmiştir. Bu bağlamda elde edilen veriler ile çalışma sonuçlarımızın birbiri ile uyumluluk gösterdiği tespit edilmiştir.

Endometriyozda flavonoidlerin etki mekanizmalarının aydınlatılmasına yönelik herhangi bir çalışma bulunmamasına karşın, bu bileşiklerin östrojen reseptörleri üzerine etkileri ile ilgili pek çok araştırma literatürde kayıtlıdır (Collins-Burow ve diğerleri, 2012; Collins-Burow, Burow, Duong ve McLachlan, 2000; Huang, Fang, Wang ve Wong, 2010). Collins-Burow ve diğerleri (2000) tarafından yapılan bir çalışmada flavonoidlerin östrojenik aktivitelerinin yanında önemli ölçüde antiöstrojenik aktiviteye de sahip oldukları, hatta apigenin, luteolin ve kemferit gibi flavonoidlerin antiöstrojenik aktivitelerinin östrojenik aktivitelerinden daha

fazla olduğu belirlenmiştir (Collins-Burow ve diğerleri, 2000). Endometriyoz ve östrojen seviyesi arasındaki bağlantının araştırıldığı çalışmalarda, östrojen seviyesindeki artışın endometriyal lezyonların büyümesine neden olduğu, östrojen seviyesindeki baskılanmanın ise lezyonların iyileşmesini sağladığı rapor edilmiştir (Kitawaki ve diğerleri, 2002). Bedaiwy ve diğerleri tarafından yapılan benzer bir çalışmada da endometriyotik implantların canlılığını sürdürebilmesi için östrojeni kullandıkları belirlenmiştir (Bedaiwy ve diğerleri, 2017). Tarafımızdan yapılan aktivite ve izolasyon çalışmaları sonucunda *A. austriaca* bitkisinin endometriyozla karşı etkinliği kanıtlanmış ve en aktif fraksiyonundan 3 adet apigenin türevi ve 2 adet kersetin türevi olmak üzere 5 farklı flavonoit ana bileşikler olarak izole edilmiştir. Yapılan aktivite çalışmaları göz önünde bulundurulduğunda, *A. austriaca* MeOH ekstresinin flavonoit bakımından zengin fraksiyonunun, endometriyozla karşı etkinliğinin flavonoitlerin sahip olduğu antiöstrojenik aktiviteden kaynaklandığı düşünülmüştür.

Leyva-Lopez, Gutierrez-Grijalva, Ambriz-Perez ve Heredia (2016) tarafından yapılan bir çalışmada apigenin ve kersetinin TNF- α ve IL-6 ekspresyonunu yüksek oranda inhibe ettiği rapor edilmiştir. Apigenin ve kersetinin VEGF seviyelerindeki etkileri üzerine yapılan çalışmalarda, bu flavonoitlerin VEGF'nin aktivasyonunu ve farelerde anjiyogenezini inhibe ettiği belirlenmiştir (Li ve diğerleri, 2015; Liu ve diğerleri, 2005). Yapılan çalışmalar göz önüne alındığında, çalışmamızda *A. austriaca* MeOH ekstresinin endometriyozla karşı gösterdiği yüksek aktivitede, apigenin ve kersetinin antiöstrojenik etkinliklerinin yanında sitokinler üzerindeki inhibitör etkinliğinin de katkı sağladığı düşünülmüştür.

Çalışmamızda sıçanlarda oluşturulan endometriyoz modelinde *A. austriaca* MeOH ekstresinin yanında EtOAc ekstresinin de orta derecede aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir. Bu ekstreten ana madde olarak izole edilen β -sitosterol glikozit bileşiğinin yapılan daha önceki çalışmalarda, immunomodülatör etkinliğe sahip olduğu (Bouic ve Lamprecht, 1999; Fraile ve diğerleri, 2012), Choi ve diğerleri (2012) tarafından yapılan bir çalışmada ise lipopolisakkarit ile uyarılmış fare makrofajlarında nitrik oksit üretimini ve IL-6 aktivitesini azaltarak anti-enflamatuvar aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Choi ve diğerleri, 2012). Literatür bilgileri de göz önüne alındığında, *A. austriaca* EtOAc ekstresinin endometriyozla karşı göstermiş olduğu orta derecedeki aktivitenin içerdiği β -sitosterol glikozit bileşiğinin sahip olduğu immunomodülatör özelliğinden kaynaklandığı düşünülmüştür.

Tez kapsamında, test materyallerinin PKOS'a karşı etkinliğinin değerlendirilmesi amacıyla sıçanlarda letrozol-nedenli PKOS modeli uygulanmıştır. Bu modelde, letrozol uygulaması ile PKOS oluşturulan sıçanlara 45 gün boyunca test numuneleri uygulanmış ve deney sonunda sıçanlardan alınan kan örneklerinde serum gonadotropin, steroid, lipid, leptin, glukoz ve antioksidan aktivite parametreleri değerlendirilmiştir.

Dokuların alınması esnasında yapılan makroskopik incelemelerde, kontrol grubundaki sıçanların uterus ve adipoz dokularının büyüdüğü belirlenmiştir (Resim 4.2). Bununla birlikte sıçanlardan alınan uterus dokuları üzerinde yapılan histopatolojik incelemelerde, kontrol grubunda çok sayıda foliküler kist ve korpus luteum dejenerasyonu görülürken; *A. austriaca* *n*-hekzan ekstresi uygulanan grupta korpus luteum rejenerasyonu ve çok sayıda primer folikül oluşumu gözlenmiştir. Referans madde grubunda ise primer folikül rejenerasyonu ve germinal epitel varlığı tespit edilmiştir (Resim 4.6). *n*-Hekzan ekstresinden elde edilen fraksiyonların uygulandığı gruplardaki histopatolojik incelemelerde Fr. (35-73) uygulanan grupta primer folikül oluşumu ve korpus luteum rejenerasyonu görülürken, diğer fraksiyonların uygulandığı gruplarda ise çok sayıda foliküler kist görüntüsüne rastlanmıştır (Resim 4.7).

Östrus sikluslarını kontrol etmek amacıyla sıçanlardan alınan smir örneklerinde yapılan mikroskopik incelemelerde, kontrol grubundaki sıçanlarda düzensiz ve sürekli östrusa sahip hücrelerin varlığı tespit edilirken *A. austriaca* bitkisinden hazırlanan *n*-hekzan ekstresi uygulanan gruptaki sıçanlarda düzenli östrusa sahip hücrelerin olduğu belirlenmiştir (Resim 4.3).

PKOS patojenezinde çok önemli bir role sahip olan hiperandrojenizm durumunda, GnSH-LH sekresyonuna bağlı olarak ovaryum steroidlerinin negatif geri bildirimini inhibe etmek suretiyle LH salınımında artış gerçekleşir (Ropelato ve diğerleri, 2009). LH seviyesinin artışına sebep olan bir diğer sebep ise progesteron, östrojen ve androjen hormonlarının hipotalamus, hipofiz ve ovaryum arasındaki geri bildirim mekanizmasını bozmasıdır (Kahn, 2008; Pastor, Griffin-Korf, Aloï, Evans ve Marshall, 1998; Ropelato ve diğerleri, 2009). Bununla birlikte yapılan çalışmalarda PKOS'ta östradiol seviyelerinin anovülasyona bağlı olarak düştüğü belirlenmiştir (Laven, Imani, Eijkemans ve Fauser, 2002).

Çalışmamızda, *A. austriaca* *n*-hekzan ekstresinin serum FSH seviyesini %39,3; LH seviyesini %59,6; testosteron seviyesini %66,6 oranında azalttığı; östradiol seviyesini %150,0; progesteron seviyesini ise %159,4 oranında artırdığı belirlenmiştir (Çizelge 4.15 ve Çizelge 5.3). *A. austriaca* *n*-hekzan ekstresinden elde edilen fraksiyonlardan serum gonadotropin ve steroid seviyeleri üzerinde en etkili bulunan fraksiyon Fr. (35-73) olarak belirlenmiştir. Bu fraksiyonun serum FSH seviyesini %42,1; LH seviyesini %62,3; testosteron seviyesini % 67,6 oranında azalttığı; östradiol seviyesini % 135,6; progesteron seviyesini ise %168,3 oranında artırdığı belirlenmiştir (Çizelge 4.16 ve Çizelge 5.4).

Çizelge 5.3. Türkiye’de halk arasında jinekolojik rahatsızlıklarda kullanılan bazı bitkilerin sıçanlarda oluşturulan PKOS modelinde serum gonadotropin ve steroid seviyelerindeki % azalış ve % artış

Gruplar	Ekstre tipi	FSH seviyesindeki azalma (%)	LH seviyesindeki azalma (%)	Östradiol seviyesindeki artma (%)	Progesteron seviyesindeki artma (%)	Testosteron seviyesindeki azalma (%)
<i>A. austriaca</i>	<i>n</i> -Hekzan	39,3	59,6	150,0	159,4	66,6
	EtOAc	14,1	22,1	5,3	64,6	20,8
	MeOH	9,7	17,3	10,5	29,2	12,2
<i>C. intybus</i>	<i>n</i> -Hekzan	35,4	64,4	107,9	113,5	56,8
	EtOAc	20,7	9,6	52,6	18,8	7,4
	MeOH	30,2	28,8	65,8	50	35,2
<i>M. officinalis</i>	<i>n</i> -Hekzan	4,1	5,8	18,4	19,8	16,6
	EtOAc	11,9	-	47,4	26,0	25,0
	MeOH	19,3	17,3	52,6	69,8	45,2
<i>M. longifolia</i>	<i>n</i> -Hekzan	24,2	28,8	2,6	78,1	32,6
	EtOAc	17,4	24,0	7,9	53,1	26,3
	MeOH	21,3	30,8	0,0	37,5	24,7
<i>U. dioica</i>	<i>n</i> -Hekzan	37,9	53,8	126,3	135,4	61,4
	EtOAc	21,5	24,0	60,5	41,7	32,9
	MeOH	19,6	15,4	39,5	32,3	15,2
<i>Referans</i>		44,0	68,3	231,6	186,5	73,9

% Artış ve azalış kontrol grubu değerleri esas alınarak hesaplanmıştır.

Çizelge 5.4. *A. austriaca* bitkisinin çiçeklerinden hazırlanan *n*-hekzan ekstresinden elde edilen fraksiyonların sıçanlarda oluşturulan PKOS modelinde serum gonadotropin ve steroid seviyelerindeki % azalış ve % artış

Gruplar	FSH seviyesindeki azalma (%)	LH seviyesindeki azalma (%)	Östradiol seviyesindeki artma (%)	Progesteron seviyesindeki artma (%)	Testosteron seviyesindeki azalma (%)
<i>Fr. (1-34)</i>	11,6	9,3	6,8	-	6,2
<i>Fr. (35-73)</i>	42,1	62,3	135,6	168,3	67,6
<i>Fr. (74-98)</i>	8,5	17,3	20,3	24,6	15,0
<i>Referans</i>	45,5	70,4	210,2	235,7	75,6

% Artış ve azalış kontrol grubu değerleri esas alınarak hesaplanmıştır.

PKOS'lu kadınlarda yapılan klinik çalışmalarda, TK, TG, LDL-C, glukoz ve leptin seviyelerinin önemli ölçüde arttığı, HDL-C seviyesinin ise azaldığı tespit edilmiştir (Kim ve Choi, 2013; Wild, 2012). Menstrüal siklusta hipotalamus-hipofiz-ovaryum geri bildirim mekanizmasına bağlı olarak granüloza hücrelerinde, oositlerde ve ilk safha embriyolarda leptin mRNA'sı ve protein üretiminde meydana gelen artış, leptin konsantrasyonunda artışa neden olur. Bununla birlikte, östrojen, progesteron, androjen ve insülin seviyeleri de leptin düzeyine etki eden önemli unsurlardır (Chakrabarti, 2013). Aynı zamanda insülin, kandaki FSH seviyesinin düzenlenmesinde de önemli rol oynamaktadır (Sudha ve diğerleri, 2000).

Çalışmamızda *A. austriaca* n-hekzan ekstresinin TK seviyesini %36,6; TG seviyesini %27,5; LDL-C seviyesini %28,8; glukoz seviyesini %46,5; plazma leptin seviyesini %48,8 oranında azalttığı; serum HDL-C seviyesini ise %59,6 oranında arttırdığı tespit edilmiştir (izelge 4.17 ve izelge 5.5). *A. austriaca* n-hekzan ekstresinden elde edilen fraksiyonlardan serum TK, TG, HDL-C, LDL-C, leptin ve glukoz seviyeleri üzerinde en etkili bulunan fraksiyon Fr. (35-73) olarak belirlenmiştir. Bu fraksiyon TK seviyesini % 47,1; TG seviyesini %32,1; LDL-C seviyesini % 42,3; glukoz seviyesini %49,7; plazma leptin seviyesini %37,2 oranında azalttığı; serum HDL-C seviyesini ise %58,8 oranında arttırdığı tespit edilmiştir (izelge 4.18 ve izelge 5.6).

Çizelge 5.5. Türkiye’de halk arasında jinekolojik rahatsızlıklarda kullanılan bazı bitkilerin sıçanlarda oluşturulan PKOS modelinde serum lipid, leptin ve glukoz seviyelerindeki % azalış ve % artış

Gruplar	Ekstre tipi	TK seviyesindeki azalma (%)	TG seviyesindeki azalma (%)	HDL-C seviyesindeki artma (%)	LDL-C seviyesindeki azalma (%)	Leptin seviyesindeki azalma (%)	Glukoz seviyesindeki azalma (%)
<i>A. austriaca</i>	<i>n</i> -Hekzan	36,6	27,5	59,6	28,8	48,8	46,5
	EtOAc	4,3	1,9	20,9	23,7	5,2	5,0
	MeOH	10,5	5,8	12,8	15,4	14,9	9,9
<i>C. intybus</i>	<i>n</i> -Hekzan	19,6	21,6	43,5	17,6	55,0	41,2
	EtOAc	6,3	10,1	19,1	8,3	27,9	6,4
	MeOH	16,8	3,2	28,3	14,1	23,8	21,6
<i>M. officinalis</i>	<i>n</i> -Hekzan	4,7	14,5	21,1	20,2	11,0	12,5
	EtOAc	13,2	6,5	5,7	11,2	17,6	7,1
	MeOH	17,8	0,9	25,6	6,1	39,8	14,6
<i>M. longifolia</i>	<i>n</i> -Hekzan	10,7	12,8	32,7	20,5	36,8	25,5
	EtOAc	8,5	17,5	24,0	5,8	2,9	30,4
	MeOH	18,2	18,6	16,9	-	26,2	24,7
<i>U. dioica</i>	<i>n</i> -Hekzan	28,7	13,5	38,9	32,1	44,5	39,3
	EtOAc	9,3	4,3	22,6	8,7	21,6	25,1
	MeOH	2,8	11,3	9,8	16,9	2,9	13,9
<i>Referans</i>		46,2	30,9	65,2	45,2	58,9	52,8

% Artış ve azalış kontrol grubu değerleri esas alınarak hesaplanmıştır.

Çizelge 5.6. *A. austriaca* bitkisinin çiçeklerinden hazırlanan *n*-hekzan ekstresinden elde edilen fraksiyonların sıçanlarda oluşturulan PKOS modelinde serum lipit, leptin ve glukoz seviyelerindeki % azalış ve % artış

Gruplar	TK seviyesindeki azalma (%)	TG seviyesindeki azalma (%)	HDL-C seviyesindeki artma (%)	LDL-C seviyesindeki azalma (%)	Leptin seviyesindeki azalma (%)	Glukoz seviyesindeki azalma (%)
<i>Fr. (1-34)</i>	15,0	11,3	4,4	7,3	4,5	11,4
<i>Fr. (35-73)</i>	47,1	32,1	58,8	42,3	37,2	49,7
<i>Fr. (74-98)</i>	7,8	12,6	-	8,7	1,8	16,1
<i>Referans</i>	52,1	37,8	68,9	49,6	58,9	54,1

% Artış ve azalış kontrol grubu değerleri esas alınarak hesaplanmıştır.

PKOS'lu kadınlarda gelişen abdominal yağlanma, aşırı androjen ve insülin direnci oksidatif stresi tetikleyen önemli unsurlardır. Oksidatif stresin artması ve antioksidan seviyelerinin azalması bu tür hastalarda kardiyovasküler hastalık, insülin direnci, hipertansiyon, obezite ve dislipidemi gibi durumların ortaya çıkmasına sebep olmaktadır (Amini, Tehranian, Movahedin, Ramezani Tehrani ve Ziaee, 2015). Reaktif oksijen türevleri lipit hidroperoksidazlar, konjuge dienler, MDA ve okside biyomoleküllerin oluşumuna neden olarak proteinlerde, membranlarda ve genlerde aşırı lipit peroksidasyonuna neden olmaktadır (Kucukkurt, Ince, Fidan ve Ozdemir, 2008). Membran lipit peroksidasyonuna bağlı olarak gelişen MDA seviyesindeki artış serbest radikal hasarının göstergesi olarak kabul edilmektedir (Keles ve diğerleri, 2012). Oksidasyon parametreleri arasında yer alan SOD, dokuları süperoksit radikallerin zararlı etkisinden koruyarak; CAT ise hidrojen peroksiti su ve oksijene dönüştürerek hücrelerdeki lipitleri, proteinleri ve DNA'yı koruyarak antioksidan etkinlik gösterir (Kyle, Miccadei, Nakae ve Farber, 1987).

Çalışmamızda, sıçanlardan alınan kan örneklerinde yapılan antioksidan aktivite tayininde, *A. austriaca* *n*-hekzan ekstresinin MDA seviyesini %58,7 oranında azalttığı, serum SOD aktivitesini %77,1; CAT aktivitesini ise %52,8 oranında artırdığı belirlenmiştir (Çizelge 4.19 ve Çizelge 5.7). *A. austriaca* *n*-hekzan ekstresinden elde edilen fraksiyonlardan serum MDA, SOD, CAT ve GPx seviyeleri üzerinde Fr. (35-73) fraksiyonu en etkili fraksiyon olarak belirlenmiştir. Bu fraksiyonun MDA seviyesini %49,2 oranında azalttığı; serum SOD aktivitesini % 60,4; CAT aktivitesini ise %39,7 oranında artırdığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.20 ve Çizelge 5.8). Çalışma sonuçları, *A. austriaca* *n*-hekzan ekstresinin lipit peroksidasyonu engelleyerek ve internal antioksidan savunma mekanizmalarını güçlendirerek PKOS tedavisine katkı sağladığını göstermiştir.

Çizelge 5.7. Türkiye’de halk arasında jinekolojik rahatsızlıklarda kullanılan bazı bitkilerin sıçanlarda oluşturulan PKOS modelinde serum MDA, SOD, CAT ve GPx seviyelerindeki % değişim

Gruplar	Ekstre tipi	MDA seviyesindeki azalma (%)	SOD aktivitesindeki artma (%)	CAT aktivitesindeki artma (%)
<i>A. austriaca</i>	<i>n</i> -Hekzan	58,7	77,1	52,8
	EtOAc	23,9	10,9	7,5
	MeOH	10,9	7,4	-
<i>C. intybus</i>	<i>n</i> -Hekzan	39,1	55,2	22,6
	EtOAc	8,7	25,3	9,4
	MeOH	34,8	49,7	15,1
<i>M. officinalis</i>	<i>n</i> -Hekzan	-	18,2	7,5
	EtOAc	4,3	13,4	1,9
	MeOH	19,6	40,1	26,4
<i>M. longifolia</i>	<i>n</i> -Hekzan	30,4	35,5	39,6
	EtOAc	8,7	3,2	11,3
	MeOH	32,6	45,8	35,8
<i>U. dioica</i>	<i>n</i> -Hekzan	47,8	67,7	47,2
	EtOAc	21,7	42,5	18,9
	MeOH	28,3	19,8	9,4
<i>Referans</i>		69,6	89,9	73,6

% Artış ve azalış kontrol grubu değerleri esas alınarak hesaplanmıştır.

Çizelge 5.8. *A. austriaca* bitkisinin çiçeklerinden hazırlanan *n*-hekzan ekstresinden elde edilen fraksiyonların sıçanlarda oluşturulan PKOS modelinde serum MDA, SOD, CAT ve GPx seviyelerindeki % değişim

Gruplar	MDA seviyesindeki azalma (%)	SOD aktivitesindeki artma (%)	CAT aktivitesindeki artma (%)
<i>Fr. (1-34)</i>	13,1	6,4	23,5
<i>Fr. (35-73)</i>	49,2	60,4	39,7
<i>Fr. (74-98)</i>	3,3	4,5	2,9
<i>Referans</i>	81,9	90,1	102,9

% Artış ve azalış kontrol grubu değerleri esas alınarak hesaplanmıştır.

Etkiden sorumlu bileşik/lerin izolasyonu amacıyla, letrozol-nedenli PKOS sıçan modelinde kuvvetli aktivite gösteren *A. austriaca* *n*-hekzan ekstresi üzerinde izolasyon çalışmaları yürütülmüştür. İzolasyon çalışmalarında ekstre bileşiminde ana maddeler olarak bulunan ve triterpenik yapıda olan **β -amirin palmitat, taraksasterol asetat ve taraksasterol** bileşikleri izole edilmiştir. Yapılan literatür taramalarında, *A. austriaca* bitkisinden taraksasterol asetat ve taraksasterol bileşiklerinin daha önceden izole edildiği belirlenmiştir (Staneva ve diğerleri, 2004). β -amirin palmitat bileşiği ise *A. austriaca* bitkisinden ilk kez bu tez çalışmasında izole edilmiştir.

Triterpen türevi maddelerin PKOS üzerindeki etki mekanizmasının aydınlatılmasına yönelik herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu bağlamda, triterpen yapısındaki maddelerin PKOS üzerindeki olası etki mekanizması araştırılmıştır. Hsu, Hsieh, Kuo ve Huang (2011) tarafından yapılan bir çalışmada, *Momordica charantia* L. bitkisinden izole edilen triterpen yapısındaki bileşiklerin α ve β östrojen reseptörlerine yüksek oranda afinite gösterdiği tespit edilmiştir. Ruhlen, Sun ve Sauter (2008) tarafından yapılan bir diğer çalışmada, *Cimicifuga racemosa* (L.) Nutt. bitkisinden elde edilen triterpen yapısındaki bileşikleri içeren ekstrenin güçlü östrojenik aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Kupeli Akkol ve diğerleri (2015b) tarafından yapılan benzer bir çalışmada, *Thuja occidentalis* L. bitkisinin terpenoit, steroid, flavonoid ve polisakkarit türevi bileşikler bakımından zengin olduğu ve bu bileşiklerin serum FSH, LH seviyelerini düzenleyerek jinekolojik hastalıkların tedavisinde yararlı olabileceği tespit edilmiştir (Kupeli Akkol ve diğerleri, 2015b). Bununla birlikte, terpen yapısındaki bileşiklerin östrojen ve progesteron hormonları arasındaki dengeyi sağlayarak menstrüal periyotların düzenlenmesinde önemli rol oynadığı da yapılan çalışmalarda rapor edilmiştir (Deb, Dubey, Jain, Pandian ve Rout, 2007; Dhiman, Bhan, Lal, Dhimman ve Singla, 2012; Naser, Bodinet, Tegtmeier ve Lindequest, 2005). Çalışmamızda literatür bilgileri de göz önüne alındığında, *A. austriaca* bitkisinin çiçeklerinden hazırlanan *n*-hekzan ekstresinin PKOS'a karşı göstermiş olduğu aktivitenin bileşimindeki triterpen türevi bileşiklerden kaynaklandığı düşünülmüştür.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Türkiye’de halk arasında jinekolojik rahatsızlıklara karşı kullanıldığı tespit edilen bitkilerin endometriyoz ve PKOS üzerindeki etkilerinin araştırıldığı tarama çalışmaları sonucunda *Anthemis austriaca* bitkisi çalışma materyali olarak seçilmiştir. *Anthemis* cinsi üzerinde pek çok çalışma yapılmasına karşın bu cinsin endometriyoz, PKOS ya da diğer jinekolojik rahatsızlıklar üzerindeki etkinliğinin değerlendirildiği herhangi bir çalışma bulunmamaktadır.

Çalışmamızda *A. austriaca* çiçeklerinden *n*-hekzan, EtOAc ve MeOH ekstreleri hazırlanmış ve bu ekstrelerin deneysel olarak oluşturulmuş endometriyoz ve letrozol-nedenli PKOS sıçan modelleri üzerindeki etkinlikleri değerlendirilmiştir. Endometriyoz sıçan modelinde, *A. austriaca* EtOAc ve MeOH ekstrelerinin yüksek etkiye sahip olmaları nedeniyle bu ekstreler üzerinde biyolojik aktivite yönlendirmeli fraksiyonlama tekniği kullanılarak etkiden sorumlu bileşik/ler izole edilmiştir. İzolasyon çalışmaları sonucunda MeOH ekstresinden **4-(β -D-glukopiranoziloksi)-6-metil-2H-piran-2-on, apigenin-7-O-(3''-asetil)- β -D-glukopiranozit, apigenin-7-O-(6''-asetil)- β -D-glukopiranozit, apigenin-7-O- β -D-glukopiranozit, kersetin-7-O- β -D-glukopiranozit ve kersetin;** EtOAc ekstresinden ise steroid yapısında olan **β -sitosterol 3-O- β -D-glukopiranozit** izole edilmiştir. İzole edilen bileşiklerin yapıları ve literatür taramaları göz önünde bulundurulduğunda, *A. austriaca* bitkisinin endometriyoz tedavisinde göstermiş olduğu etkinin içerdiği flavonoit ve sterollerden kaynaklandığı belirlenmiştir.

Letrozol-nedenli PKOS sıçan modelinde, *A. austriaca* çiçeklerinden hazırlanan *n*-hekzan ekstresinin aktif olması nedeniyle etkiden sorumlu bileşik/lerin izolasyonu amacıyla yapılan çalışmalarda, bu ekstreden ana maddeler olarak triterpenik yapıda olan **β -amirin palmitat, taraksasterol asetat ve taraksasterol** bileşikleri izole edilmiştir. Sıçanlardan alınan doku ve kan örneklerinde yapılan biyokimyasal analizlerde, *n*-hekzan ekstresinin serum gonadotropin, steroid, glukoz, lipid seviyelerini ve antioksidan parametreleri düzenleyerek PKOS tedavisinde etkili olduğu sonucuna varılmıştır. Yapılan literatür taramaları göz önünde bulundurulduğunda, *A. austriaca* bitkisinin PKOS’a karşı göstermiş olduğu etkinin taşıdığı triterpen türevi bileşiklerden kaynaklandığı tespit edilmiştir.

Yapılan bu çalışma ile ülkemizde geniş yayılış gösteren ve yapılan etnobotanik çalışmalarda, halk arasında jinekolojik rahatsızlıklara karşı kullanıldığı belirlenen *A. austriaca* çiçeklerinin endometriyoz ve PKOS semptomlarının giderilmesindeki etkinliği bilimsel platformda kanıtlanmıştır.

KAYNAKLAR

- Abed, S.A., Sirat, H.M., and Zulkifli, R.M. (2015). COX-2 inhibitors from the leaves of *Pellacalyx saccardianus* Scortech (Rhizophoraceae). *Phytochemistry Letters*, 13, 20-29.
- Adams, J., Polson, D.W., and Franks, S. (1986). Prevalence of polycystic ovaries in women with anovulation and idiopathic hirsutism. *British Medical Journal (Clinical Research Ed.)*, 293(6543), 355-359.
- Adamson, G.D., and Nelson, H.P. (1997). Surgical treatment of endometriosis. *Obstetrics and Gynecology Clinics of North America*, 24(2), 375-409.
- Albay, C.G., Albay, M., Yaylı, N., Yıldırım, N., Çoskunçelebi, K., and Yaylı, N. (2009). Essential oil analysis and antimicrobial activities of *Anthemis marschalliana* ssp. *pectinata* and *Anthemis cretica* ssp. *argaea* from Turkey. *Asian Journal of Chemistry*, 21(2), 1425-1431.
- Albayrak, S., and Aksoy, A. (2013). Evaluation of antioxidant and antimicrobial activities of two endemic *Anthemis* species in Turkey. *Journal of Food Biochemistry*, 37, 639-645.
- Altintas, D., Kokcu, A., Tosun, M., Cetinkaya, M.B., and Kandemir, B. (2008). Comparison of the effects of cetrorelix, a GnRH antagonist, and leuprolide, a GnRH agonist, on experimental endometriosis. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*, 34(6), 1014-1019.
- Altundag, E., and Ozturk, M. (2011). Ethnomedicinal studies on the plant resources of east Anatolia, Turkey. *Procedia Social and Behavioral Sciences*, 19, 756-777.
- Alvarez-Blasco, F., Botella-Carretero, J.I., San Millan, J.L., and Escobar-Morreale, H.F. (2006). Prevalence and characteristics of the polycystic ovary syndrome in overweight and obese women. *Archives of Internal Medicine*, 166(19), 2081-2086.
- Amini, L., Tehranian, N., Movahedin, M., Ramezani Tehrani, F., and Ziaee, S. (2015). Antioxidants and management of polycystic ovary syndrome in Iran: A systematic review of clinical trials. *Iranian Journal of Reproductive Medicine*, 13(1), 1-8.
- Amuthan, A., Anandh, S., Musharraf, S., Agarwal, N., Devi, V., Shenoy, R.P., and Nayal, B. (2015). Effect of Notchi kudineer (*Vitex negundo* aqueous extract) on surgically induced endometriosis in Sprague Dawley rats. *International Journal of Pharmacology and Clinical Sciences*, 4(3), 35-43.
- Armstrong, P.B., Quigley, J.P., and Sidebottom, E. (1982). Transepithelial invasion and intramesenchymal infiltration of the chick embryo chorioallantois by tumor cell lines. *Cancer Research*, 42(5), 1826-1837.
- Asghari, S., Valizadeh, A., Aghebati-Maleki, L., Nouri, M., and Yousefi, M. (2018). Endometriosis: Perspective, lights, and shadows of etiology. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 106, 163-174.

- Aydos, A., Öztumur, Y., and Gür-Dedeoğlu, B. (2016). Polikistik over sendromu ve moleküler yaklaşımlar. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 73(1), 81-88.
- Bacak, E. (2010). *Yağlı diyet ile beslenen sıçanlarda timokinon'un plazma leptin, karnitin, paraoksanaz, tiroid hormonları, insülin ve glikoz ile lipid profiline etkilerinin araştırılması*, Doktora Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Afyonkarahisar, 60-62.
- Baltacı, S., Kolatan, H.E., Yılmaz, O., and Kivcak, B. (2011). Anti-inflammatory activity of *Anthemis aciphylla* var. *aciphylla* Boiss. *Turkish Journal of Biology*, 35(6), 757-762.
- Barbieri, R.L., Evans, S., and Kistner, R.W. (1982). Danazol in the treatment of endometriosis: Analysis of 100 cases with a 4-year follow-up. *Fertility and Sterility*, 37(6), 737-746.
- Barbieri, R.L., and Kistner, R.W. (1986). Endometriosis. In R.W. Kistner (Ed.), *Gynecology Principles and Practice*. Chicago: Year Book Medical Publishers, pp. 393-414.
- Bayram, E., Kırıcı, S., Tansı, S., Yılmaz, G., and Kızıl, O.A.S. (2010). *Tıbbi ve aromatik bitkiler üretiminin artırılması olanakları*. Ziraat Mühendisliği VII. Teknik Kongresi, Ankara.
- Baytop, T. (1999). *Türkiye'de bitkiler ile tedavi geçmişte ve bugün*. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri, 371-376.
- Bedaiwy, M.A., Alfaraj, S., Yong, P., and Casper, R. (2017). New developments in the medical treatment of endometriosis. *Fertility and Sterility*, 107(3), 555-565.
- Betts, T., Yarrow, H., Dutton, N., Greenhill, L., and Rolfe, T. (2003). A study of anticonvulsant medication on ovarian function in a group of women with epilepsy who have only ever taken one anticonvulsant compared with a group of women without epilepsy. *Seizure-European Journal of Epilepsy*, 12(6), 323-329.
- Beutler, E. (1976). *Red Cell Metabolism. A manual of biochemical methods* (2nd ed.). New York: Grune and Stratton Inc.
- Bilo, L., Meo, R., Valentino, R., Di Carlo, C., Striano, S., and Nappi, C. (2001). Characterization of reproductive endocrine disorders in women with epilepsy. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 86(7), 2950-2956.
- Blauer, K.L., and Collins, R.L. (1988). The effect of intraperitoneal progesterone on postoperative adhesion formation in rabbits. *Fertility and Sterility*, 49(1), 144-149.
- Bohlmann, F., Hummel, H.C., and Laser, J. (1968). Biogenese und synthese der pyrone aus *Anthemis austriaca* Jacq. *Chemische Berichte*, 101(10), 3562-3566.
- Bohlmann, F., and Zdero, C. (1971). Notiz über ein weiteres kumulen aus *Anthemis austriaca* Jacq. *Chemische Berichte*, 104(4), 1329-1331.
- Bohlmann, F., and Hopf, P.D. (1973). Notiz über die biogenese des aus *Anthemis austriaca* Jacq. isolierten kumulens. *Chemische Berichte*, 106(11), 3772-3774.

- Bouhadir, K.H., and Mooney, D.J. (1998). *In vitro* and *in vivo* models for the reconstruction of intercellular signaling. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 842, 188-194.
- Bouic, P.J.D., and Lamprecht, J.H. (1999). Plant sterols and sterolins: A review of their immune-modulating properties. *Alternative Medicine Review*, 4(3), 170-177.
- Bruno, M., Bono, M.I., Vassallo, N., Gedris, T.E., and Herz, W. (1997). Guaianolides and other terpenoids from *Anthemis aetnensis*. *Phytochemistry*, 45(2), 375-377.
- Bruno, M., Rosselli, S., Bondi, M.L., Gedris, T.E., and Herz, W. (2002). Sesquiterpene lactones of *Anthemis alpestris*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 30, 891-895.
- Buffler, G., and Roser, S. (1974). New data concerning the role played by progesterone in the control of follicular growth in the rat. *Acta Endocrinologica*, 75(3), 569-578.
- Bullock, J.L., Massey, F.M., and Gambrell, R.D. (1974). Symptomatic endometriosis in teen-agers. A reappraisal. *Obstetrics and Gynecology*, 43(6), 896-900.
- Cakilcioglu, U., Khatun, S., Turkoglu, I., and Hayta, S. (2011). Ethnopharmacological survey of medicinal plants in Maden (Elazig-Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, 137(1), 469-486.
- Caligaris, L., Astrada, J.J., and Taleisnik, S. (1971). Biphasic effect of progesterone on the release of gonadotropin in rats. *Endocrinology*, 89(2), 331-337.
- Casner, P.R. (2006). Saw palmetto for benign prostatic hyperplasia. *New England Journal of Medicine*, 354(18), 1950-1951.
- Chakrabarti, J. (2013). Serum leptin level in women with polycystic ovary syndrome: Correlation with adiposity, insulin, and circulating testosterone. *Annals of Medical and Health Science Research*, 3(2), 191-196.
- Charnock-Jones, D.S., Sharkey, A.M., Rajput-Williams, J., Burch, D., Schofield, J.P., Fountain, S.A., Boocock, C.A., and Smith, S.K. (1993). Identification and localization of alternately spliced mRNAs for vascular endothelial growth factor in human uterus and estrogen regulation in endometrial carcinoma cell lines. *Biology of Reproduction*, 48(5), 1120-1128.
- Choi, J.N., Choi, Y.H., Lee, J.M., Noh, I.C., Park, J.W., Choi, W.S., and Choi, J.W. (2012). Anti-inflammatory effects of β -sitosterol- β -D-glucoside from *Trachelospermum jasminoides* (Apocynaceae) in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 murine macrophages. *Natural Product Research*, 26(24), 2340-2343.
- Collins-Burow, B.M., Antoon, J.W., Frigo, D.E., Elliott, S., Weldon, C.B., Boue, S.M., Beckman, B.S., Curiel, T.J., Alam, J., McLachlan, J.A., and Burow, M.E. (2012). Antiestrogenic activity of flavonoid phytochemicals mediated via the c-Jun N-terminal protein kinase pathway. Cell-type specific regulation of estrogen receptor alpha. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 132(1-2), 186-193.

- Collins-Burow, B.M., Burow, M.E., Duong, B.N., and McLachlan, J.A. (2000). Estrogenic and antiestrogenic activities of flavonoid phytochemicals through estrogen receptor binding-dependent and -independent mechanisms. *Nutrition and Cancer*, 38(2), 229-244.
- Collu, F., Bonsignore, L., Casu, M., Floris, C., Gertsch, J., and Cottiglia, F. (2008). New cytotoxic saturated and unsaturated cyclohexanones from *Anthemis maritima*. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 18(5), 1559-1562.
- Corbin, C.J., Trant, J.M., Walters, K.W., and Conley, A.J. (1999). Changes in testosterone metabolism associated with the evolution of placental and gonadal isozymes of porcine aromatase cytochrome P450. *Endocrinology*, 140(11), 5202-5210.
- Cramer, D.W., and Missmer, S.A. (2002). The epidemiology of endometriosis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 955, 11-22; discussion 34-16, 396-406.
- Cunningham, F.G. (1989). *Williams obstetrics* (18th ed.). Norwalk, CT, USA: Appleton & Lange.
- Çelik, S., Rosselli, S., Maggio, A.M., Raccuglia, R.A., Uysal, I., Kisiel, W., and Bruno, M. (2005). Sesquiterpene lactones from *Anthemis wiedemanniana*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 33, 952-956.
- Dawood, M.Y. (1994). Hormonal therapies for endometriosis: Implications for bone metabolism. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica. Supplement*, 159, 22-34.
- De Mieri, M., Monteleone, G., Ismajili, I., Kaiser, M., and Hamburger, M. (2017). Antiprotozoal activity-based profiling of a dichloromethane extract from *Anthemis nobilis* flowers. *Journal of Natural Products*, 80(2), 459-470.
- Deb, L., Dubey, S.K., Jain, A., Pandian, G.S., and Rout, S.P. (2007). Antidiarrhoeal activity of *Thuja occidentalis* Linn ethanol extract on experimental animal. *Indian Drugs Journal*, 44, 319-321.
- Dechaud, H., Witz, C.A., Montoya-Rodriguez, I.A., Degraffenreid, L.A., and Schenken, R.S. (2001). Mesothelial cell-associated hyaluronic acid promotes adhesion of endometrial cells to mesothelium. *Fertility and Sterility*, 76(5), 1012-1018.
- Defrere, S., Lousse, J.C., Gonzalez-Ramos, R., Colette, S., Donnez, J., and Van Langendonck, A. (2008). Potential involvement of iron in the pathogenesis of peritoneal endometriosis. *Molecular Human Reproduction*, 14(7), 377-385.
- Demirel, M.A., Ilhan, M., Suntar, I., Keles, H., and Kupeli Akkol, E. (2016). Activity of *Corylus avellana* seed oil in letrozole-induced polycystic ovary syndrome model in rats. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 26(1), 83-88.
- Demirel, M.A., Suntar, I., Ilhan, M., Keles, H., and Kupeli Akkol, E. (2014). Experimental endometriosis remission in rats treated with *Achillea biebersteinii* Afan.: Histopathological evaluation and determination of cytokine levels. *European Journal of Obstetrics, Gynecology, and Reproductive Biology*, 175, 172-177.

- Dhiman, A., Bhan, M., Lal, R., Dhimman, B., and Singla, C. (2012). An appraisal on pharmacognosy, phytochemistry and bioactivity of *Thuja occidentalis* Linn. (Cupressaceae). *Journal of Pharmaceutical and Scientific Innovation*, 1, 1.
- Dimitrakov, J.D. (2006). Saw palmetto for benign prostatic hyperplasia. *New England Journal of Medicine*, 354(18), 1950-1951; author reply 1950-1951.
- Donnez, J., Smoes, P., Gillerot, S., Casanas-Roux, F., and Nisolle, M. (1998). Vascular endothelial growth factor (VEGF) in endometriosis. *Human Reproduction*, 13(6), 1686-1690.
- Duignan, N.M., Jordan, J.A., Coughlan, B.M., and Logan-Edwards, R. (1972). One thousand consecutive cases of diagnostic laparoscopy. *Journal of Obstetrics and Gynaecology of the British Commonwealth*, 79(11), 1016-1024.
- Dunselman, G.A., Groothuis, P.G., de Goeij, A.F., and Evers, J.L. (2001). The Mesothelium, Teflon or Velcro? Mesothelium in endometriosis pathogenesis. *Human Reproduction*, 16(4), 605-607.
- Escobar-Morreale, H.F., Roldan, B., Barrio, R., Alonso, M., Sancho, J., de la Calle, H., and Garcia-Robles, R. (2000). High prevalence of the polycystic ovary syndrome and hirsutism in women with type 1 diabetes mellitus. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 85(11), 4182-4187.
- Florova, M.S., Yarmolinskaya, M.I., and Potin, V.V. (2017). Prospects of metformin in the treatment of endometriosis. *Journal of Obstetrics and Women's Diseases*, 66(2), 67-76.
- Fraile, L., Crisci, E., Cordoba, L., Navarro, M.A., Osada, J., and Montoya, M. (2012). Immunomodulatory properties of beta-sitosterol in pig immune responses. *International Immunopharmacology*, 13(3), 316-321.
- Franks, S., Gharani, N., Waterworth, D., Batty, S., White, D., Williamson, R., and McCarthy, M. (1997). The genetic basis of polycystic ovary syndrome. *Human Reproduction*, 12(12), 2641-2648.
- Fridovich, I. (1974). Superoxide dismutase. *Advances in Enzymology*, 4, 35-97.
- Fujii, S. (1991). Secondary mullerian system and endometriosis. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 165(1), 219-225.
- Gafner, S., Wolfender, J.L., Hostettmann, K., Stoeckli-Evans, H., and Mavi, S. (1998). Phenols, acetylenes, and sesquiterpene lactones from *Inulathera nuda*. *Helvetica Chimica Acta*, 81(11), 2062-2071.
- Gazvani, R., and Templeton, A. (2002). New considerations for the pathogenesis of endometriosis. *International Journal of Gynaecology and Obstetrics*, 76(2), 117-126.
- Ghasemi Pirbalouti, A., Momeni, M., and Bahmani, M. (2013). Ethnobotanical study of medicinal plants used by kurd tribe in dehloran and abdanan districts, Ilam province, Iran. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 10(2), 368-385.

- Goldstein, D.P., deCholnoky, C., Emans, S.J., and Leventhal, J.M. (1980). Laparoscopy in the diagnosis and management of pelvic pain in adolescents. *Journal of Reproductive Medicine*, 24(6), 251-256.
- Gonenc, T., Argyropoulou, C., Erdogan, T., Gousiadou, C., Juergenliemk, G., Kırçak, B., and Skaltsa, H. (2011). Chemical constituents from *Anthemis wiedemanniana* Fisch. & Mey. *Biochemical Systematics and Ecology*, 39, 51-55.
- Goodarzi, M.O., and Azziz, R. (2006). Diagnosis, epidemiology, and genetics of the polycystic ovary syndrome. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, 20(2), 193-205.
- Grierson, A.J.C., and Yavin, Z. (1975). *Anthemis* L. In P.H. Davis (Ed.), *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Edinburgh: University of Edinburgh Press, pp. 174-221.
- Griffith, J.S., Rodgers, A.K., and Schenken, R.S. (2010). *In vitro* models to study the pathogenesis of endometriosis. *Reproductive Sciences*, 17(1), 5-12.
- Groothuis, P.G., Koks, C.A., de Goeij, A.F., Dunselman, G.A., Arends, J.W., and Evers, J.L. (1999). Adhesion of human endometrial fragments to peritoneum *in vitro*. *Fertility and Sterility*, 71(6), 1119-1124.
- Grümmer, R. (2012). Models of endometriosis: *In vitro* and *in vivo* models. In L.C. Giudice, J.L.H. Evers, and D.L. Healy (Eds.), *Endometriosis: Science and practice*. Oxford, UK: Wiley-Blackwell, pp. 265-269.
- Guarino, C., De Simone, L., and Santoro, S. (2008). Ethnobotanical study of the Sannio area Campania Southern Italy. *Ethnobotany Research and Applications*, 6, 225-317.
- Gümüş, İ. (1994). Ağrı yöresinde yetişen bazı faydalı bitkilerin yerel adları ve kullanışları. *Turkish Journal of Botany*, 18, 107-112.
- Günbatan, T., Gürbüz, İ., and Gençler Özkan, A.M. (2016). The current status of ethnopharmacobotanical knowledge in Çamlıdere (Ankara, Turkey). *Turkish Journal of Botany*, 40, 241-249.
- Güngör, M. (2013). *Ratlarda vişne (Prunus cerasus) çekirdeği yağı, çörek otu (Nigella sativa) yağı ve toros göknarı (Abies cilicica carr.) reçinesinin yara iyileşmesine etkileri*, Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kahramanmaraş, 37-46.
- Guzelmeric, E., Vovk, I., and Yeşilada, E. (2015). Development and validation of an HPTLC method for apigenin 7-O-glucoside in chamomile flowers and its application for fingerprint discrimination of chamomile-like materials. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 107, 108-118.
- Hajdu, Z., Zupko, I., Rethy, B., Forgo, P., and Hohmann, J. (2010). Bioactivity-guided isolation of cytotoxic sesquiterpenes and flavonoids from *Anthemis ruthenica*. *Planta Medica*, 76(1), 94-96.

- Hamid, A., and Raina, A.K. (2014). Ethnobotanical uses of plants in and around Kanji wildlife sanctuary, North West Himalaya. *International Journal of Science and Research*, 3(11), 538-545.
- Harada, T., Iwabe, T., and Terakawa, N. (2001). Role of cytokines in endometriosis. *Fertility and Sterility*, 76(1), 1-10.
- Hasson, H.M. (1976). Incidence of endometriosis in diagnostic laparoscopy. *Journal of Reproductive Medicine*, 16(3), 135-138.
- Honda, G., Yeşilada, E., Tabata, M., Sezik, E., Fujita, T., Takeda, Y., Takaishi, Y., and Tanaka, T. (1996). Traditional medicine in Turkey. VI. folk medicine in West Anatolia: Afyon, Kütahya, Denizli, Muğla, Aydın provinces. *Journal of Ethnopharmacology*, 53, 75-87.
- Hornstein, M.D., Surrey, E.S., Weisberg, G.W., and Casino, L.A. (1998). Leuprolide acetate depot and hormonal add-back in endometriosis: A 12-month study. *Obstetrics and Gynecology*, 91(1), 16-24.
- Hornstein, M.D., Yuzpe, A.A., Burry, K.A., Heinrichs, L.R., Buttram, V.L., Jr., and Orwoll, E.S. (1995). Prospective randomized double-blind trial of 3 versus 6 months of nafarelin therapy for endometriosis associated pelvic pain. *Fertility and Sterility*, 63(5), 955-962.
- Hryb, D.J., Khan, M.S., Romas, N.A., and Rosner, W. (1995). The effect of extracts of the roots of the stinging nettle (*Urtica dioica*) on the interaction of SHBG with its receptor on human prostatic membranes. *Planta Medica*, 61(1), 31-32.
- Hsu, C., Hsieh, C.L., Kuo, Y.H., and Huang, C.J. (2011). Isolation and identification of cucurbitane-type triterpenoids with partial agonist/antagonist potential for estrogen receptors from *Momordica charantia*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(9), 4553-4561.
- Huang, Z., Fang, F., Wang, J., and Wong, C.W. (2010). Structural activity relationship of flavonoids with estrogen-related receptor gamma. *FEBS Letters*, 584(1), 22-26.
- Ilhan, M., Suntar, I., Demirel, M.A., Yeşilada, E., Keles, H., and Kupeli Akkol, E. (2016). A mixture of St. John's wort and sea buckthorn oils regresses endometriotic implants and affects the levels of inflammatory mediators in peritoneal fluid of the rat: A surgically induced endometriosis model. *Taiwanese Journal of Obstetrics & Gynecology*, 55(6), 786-790.
- Isojarvi, J.I., Laatikainen, T.J., Pakarinen, A.J., Juntunen, K.T., and Myllyla, V.V. (1993). Polycystic ovaries and hyperandrogenism in women taking valproate for epilepsy. *New England Journal of Medicine*, 329(19), 1383-1388.
- Iwabe, T., Harada, T., Tsudo, T., Nagano, Y., Yoshida, S., Tanikawa, M., and Terakawa, N. (2000). Tumor necrosis factor-alpha promotes proliferation of endometriotic stromal cells by inducing interleukin-8 gene and protein expression. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 85(2), 824-829.

- Internet: European Medicines Agency (EMA). (2008). *Melilotus officinalis* (L.) Lam., herba. URL: http://www.webcitation.org/query?url=https%3A%2F%2Fwww.ema.europa.eu%2Fdocuments%2Fherbal-report%2Fsuperseded-assessment-report-development-community-monographs-inclusion-herbal-substances_en-1.pdf&date=2019-01-20, Son Erişim Tarihi: 20.01.2019.
- Internet: GBIF Secretariat. Free and open access to biodiversity data. URL: <http://www.webcitation.org/query?url=https%3A%2F%2Fwww.gbif.org%2Fspecies%2F3122476&date=2018-12-03>, Son Erişim Tarihi: 03.12.2018.
- Internet: Stevens, P.F. (2001). Angiosperm phylogeny website. URL: <http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.mobot.org%2FMOBOT%2Fresearch%2FAPweb%2Fwelcome.html&date=2018-12-03>, Son Erişim Tarihi: 03.12.2018.
- Jassbi, A.R., Firuzi, O., Miri, R., Salhei, S., Zare, S., Zare, M., Masroorbabanari, M., Chandran, J.N., Schneider, B., and Baldwin, I.T. (2016). Cytotoxic activity and chemical constituents of *Anthemis mirheydari*. *Pharmaceutical Biology*, 54(10), 2044-2049.
- Kafali, H., Iriadam, M., Ozardali, I., and Demir, N. (2004). Letrozole-induced polycystic ovaries in the rat: A new model for cystic ovarian disease. *Archives of Medical Research*, 35(2), 103-108.
- Kahn, J.A. (2008). Polycystic ovary syndrome. In G.B. Slap (Ed.), *Adolescent Medicine*. Philadelphia, PA, USA: Mosby, pp. 165-174.
- Kapahi, B.K., Srivastava, T.N., and Sarin, Y.K. (1993). Traditional medicinal plants of Gurez (Kashmir) – An ethnobotanical study. *Ancient Science of Life*, 13, 119-124.
- Karioti, A., Skaltsa, H., Kaiser, M., and Tasdemir, D. (2009). Trypanocidal, leishmanicidal and cytotoxic effects of anthecotulide-type linear sesquiterpene lactones from *Anthemis auriculata*. *Phytomedicine*, 16(8), 783-787.
- Kasim-Karakas, S.E., and Mishra, S. (2009). Botanical treatment for polycystic ovary syndrome. In R.R. Watson (Ed.), *Complementary and Alternative Therapies and the Aging Population*. San Diego, CA, USA: Academic Press, pp. 317-332.
- Kaval, I., Behcet, L., and Cakilcioglu, U. (2014). Ethnobotanical study on medicinal plants in Gecitli and its surrounding (Hakkari-Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, 155(1), 171-184.
- Keles, H., Ince, S., Kucukkurt, I., Tatli, II, Akkol, E.K., Kahraman, C., and Demirel, H.H. (2012). The effects of *Feijoa sellowiana* fruits on the antioxidant defense system, lipid peroxidation, and tissue morphology in rats. *Pharmaceutical Biology*, 50(3), 318-325.
- Khalilov, L.M., Khalilova, A.Z., Shakurova, E.R., Nuriev, I.F., Kachala, V.V., Shashkov, A.S., and Dzhemilev, U.M. (2003). PMR and ¹³C NMR spectra of biologically active compounds. xii. taraxasterol and its acetate from the aerial part of *Onopordum acanthium*. *Chemistry of Natural Compounds*, 39(3), 285-288.

- Kilic, O., Kocak, A., and Bagci, E. (2011). Composition of the volatile oils of two *Anthemis* L. taxa from Turkey. *Zeitschrift für Naturforschung. Teil C: Biochemie, Biophysik, Biologie, Virologie*, 66(11-12), 535-540.
- Kim, J.J., and Choi, Y.M. (2013). Dyslipidemia in women with polycystic ovary syndrome. *Obstetrics & Gynecology Science*, 56(3), 137-142.
- Kitawaki, J., Kado, N., Ishihara, H., Koshiha, H., Kitaoka, Y., and Honjo, H. (2002). Endometriosis: The pathophysiology as an estrogen-dependent disease. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 83(1-5), 149-155.
- Kivcak, B., Mert, T., Saglam, H., Ozturk, T., Kurkcuoglu, M., and Baser, K.H.C. (2007). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Anthemis wiedemanniana* from Turkey. *Chemistry of Natural Compounds*, 43(1), 47-51.
- Kobayashi, H. (2000). Invasive capacity of heterotopic endometrium. *Gynecologic and Obstetric Investigation*, 50 Suppl 1, 26-32.
- Kojima, H., Sato, N., Hatano, A., and Ogura, H. (1990). Sterol glucosides from *Prunella vulgaris*. *Phytochemistry*, 29(7), 2351-2355.
- Kold, M., Hansen, T., Vedsted-Hansen, H., and Forman, A. (2012). Mindfulness-based psychological intervention for coping with pain in endometriosis. *Nordic Psychology*, 64(1), 2-16.
- Kucukkurt, I., Ince, S., Fidan, A.F., and Ozdemir, A. (2008). The effects of dietary supplementation of different amount of *Yucca schidigera* powder (Sarsaponin 30®) on blood and tissue antioxidant defense systems and lipid peroxidation in rats. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 7(11), 1413-1417.
- Kultur, S. (2007). Medicinal plants used in Kırklareli Province (Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, 111(2), 341-364.
- Kumar, K., Sharma, Y.P., Manhas, R.K., and Bhatia, H. (2015). Ethnomedicinal plants of Shankaracharya Hill, Srinagar, J&K, India. *Journal of Ethnopharmacology*, 170, 255-274.
- Kumar, T.R., Palapattu, G., Wang, P., Woodruff, T.K., Boime, I., Byrne, M.C., and Matzuk, M.M. (1999). Transgenic models to study gonadotropin function: The role of follicle-stimulating hormone in gonadal growth and tumorigenesis. *Molecular Endocrinology*, 13(6), 851-865.
- Kupeli Akkol, E., Demirel, M.A., Bahadir Acikara, O., Suntar, I., Ergene, B., Ilhan, M., Ozbilgin, S., Saltan, G., Keles, H., and Tekin, M. (2015a). 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.
- Kupeli Akkol, E., Ilhan, M., Demirel, M.A., Keles, H., Tumen, I., and Suntar, I. (2015b). *Thuja occidentalis* L. and its active compound, α -thujone: Promising effects in the treatment of polycystic ovary syndrome without inducing osteoporosis. *Journal of Ethnopharmacology*, 168, 25-30.

- Kyle, M.E., Miccadei, S., Nakae, D., and Farber, J.L. (1987). Superoxide dismutase and catalase protect cultured hepatocytes from the cytotoxicity of acetaminophen. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 149(3), 889-896.
- Kyriakou, E., Primikyri, A., Charisiadis, P., Katsoura, M., Gerothanassis, I.P., Stamatis, H., and Tzakos, A.G. (2012). Unexpected enzyme-catalyzed regioselective acylation of flavonoid aglycones and rapid product screening. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 10(9), 1739-1742.
- Laven, J.S., Imani, B., Eijkemans, M.J., and Fauser, B.C. (2002). New approach to polycystic ovary syndrome and other forms of anovulatory infertility. *Obstetrical and Gynecological Survey*, 57(11), 755-767.
- Legault, J., Perron, T., Mshvildadze, V., Girard-Lalancette, K., Perron, S., Laprise, C., Sirois, P., and Pichette, A. (2011). Antioxidant and anti-inflammatory activities of quercetin 7-O- β -D-glucopyranoside from the leaves of *Brasenia schreberi*. *Journal of Medicinal Food*, 14(10), 1127-1134.
- Legro, R.S., Driscoll, D., Strauss, J.F., 3rd, Fox, J., and Dunaif, A. (1998). Evidence for a genetic basis for hyperandrogenemia in polycystic ovary syndrome. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95(25), 14956-14960.
- Leyva-Lopez, N., Gutierrez-Grijalva, E.P., Ambriz-Perez, D.L., and Heredia, J.B. (2016). Flavonoids as cytokine modulators: A possible therapy for inflammation-related diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(6), 921.
- Li, F., Bai, Y., Zhao, M., Huang, L., Li, S., Li, X., and Chen, Y. (2015). Quercetin inhibits vascular endothelial growth factor-induced choroidal and retinal angiogenesis *in vitro*. *Ophthalmic Research*, 53(3), 109-116.
- Li, J., Jiang, H., and Shi, R. (2009). A new acylated quercetin glycoside from the leaves of *Stevia rebaudiana* Bertoni. *Natural Product Research*, 23(15), 1378-1383.
- Liston, W.A., Bradford, W.P., Downie, J., and Kerr, M.G. (1972). Laparoscopy in a general gynecologic unit. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 113(5), 672-677.
- Liu, L.Z., Fang, J., Zhou, Q., Hu, X., Shi, X., and Jiang, B.H. (2005). Apigenin inhibits expression of vascular endothelial growth factor and angiogenesis in human lung cancer cells: Implication of chemoprevention of lung cancer. *Molecular Pharmacology*, 68(3), 635-643.
- Ma, S., Yang, A.M., Yang, L., Guo, W.J., Li, C., and Shang, Q. (2017). Chemical constituents of *Pedicularis kansuensis*. *Chemistry of Natural Compounds*, 53(3), 586-588.
- Mackay, F., Loetscher, H., Stueber, D., Gehr, G., and Lesslauer, W. (1993). Tumor necrosis factor- α (TNF- α)-induced cell adhesion to human endothelial cells is under dominant control of one TNF receptor type, TNF-R55. *Journal of Experimental Medicine*, 177(5), 1277-1286.

- March, W.A., Moore, V.M., Willson, K.J., Phillips, D.I., Norman, R.J., and Davies, M.J. (2010). The prevalence of polycystic ovary syndrome in a community sample assessed under contrasting diagnostic criteria. *Human Reproduction*, 25(2), 544-551.
- Matzuk, M.M., DeMayo, F.J., Hadsell, L.A., and Kumar, T.R. (2003). Overexpression of human chorionic gonadotropin causes multiple reproductive defects in transgenic mice. *Biology of Reproduction*, 69(1), 338-346.
- McLaren, J., Prentice, A., Charnock-Jones, D.S., Millican, S.A., Muller, K.H., Sharkey, A.M., and Smith, S.K. (1996). Vascular endothelial growth factor is produced by peritoneal fluid macrophages in endometriosis and is regulated by ovarian steroids. *Journal of Clinical Investigation*, 98(2), 482-489.
- Meresman, G.F., Vighi, S., Buquet, R.A., Contreras-Ortiz, O., Tesone, M., and Rumi, L.S. (2000). Apoptosis and expression of Bcl-2 and Bax in eutopic endometrium from women with endometriosis. *Fertility and Sterility*, 74(4), 760-766.
- Mert Gonenc, T., Fafal Erdogan, T., Demirci, B., Baser, K.H.C., and Kivcak, B. (2012). Chemical composition of the essential oils of *Anthemis coelopoda* var. *bourgaei* and *A. aciphylla* var. *aciphylla*. *Chemistry of Natural Compounds*, 48(2), 332-334.
- Mihalopoulos, N.L. (2007). Endometriosis. In L.C. Garfunkel, J.M. Kaczorowski, and C. Christy (Eds.), *Pediatric Clinical Advisor*. Philadelphia, PA, USA: Mosby, pp. 187-188.
- Mori, T., Suzuki, A., Nishimura, T., and Kambegawa, A. (1977). Inhibition of ovulation in immature rats by anti-progesterone antiserum. *Journal of Endocrinology*, 73(1), 185-186.
- Mosaddegh, M., Naghibi, F., Moazzeni, H., Pirani, A., and Esmaeili, S. (2012). Ethnobotanical survey of herbal remedies traditionally used in Kohghiluyeh va Boyer Ahmad province of Iran. *Journal of Ethnopharmacology*, 141(1), 80-95.
- Mükemre, M., (2013). *Konalga, Sırmalı, Dokuzdam köyleri (Çatak-Van) ve çevrelerinin etnobotanik özellikleri*, Yüksek Lisans Tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Van, 59.
- Nap, A.W., Dunselman, G.A., Griffioen, A.W., Mayo, K.H., Evers, J.L., and Groothuis, P.G. (2005). Angiostatic agents prevent the development of endometriosis-like lesions in the chicken chorioallantoic membrane. *Fertility and Sterility*, 83(3), 793-795.
- Naser, B., Bodinet, C., Tegtmeier, M., and Lindequest, V. (2005). *Thuja occidentalis* (Arborvitae): A review of its pharmaceutical, pharmacological and clinical properties. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2, 69-78.
- Neto, J.N., Coelho, T.M., Aguiar, G.C., Carvalho, L.R., de Araujo, A.G., Girao, M.J., and Schor, E. (2011). Experimental endometriosis reduction in rats treated with *Uncaria tomentosa* (cat's claw) extract. *European Journal of Obstetrics, Gynecology, and Reproductive Biology*, 154(2), 205-208.

- O'Brien, L.E., Zegers, M.M., and Mostov, K.E. (2002). Opinion: Building epithelial architecture: Insights from three-dimensional culture models. *Nature Reviews: Molecular Cell Biology*, 3(7), 531-537.
- Ohkawa, H., Ohishi, N., and Yagi, K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry*, 95(2), 351-358.
- Oral, E., Olive, D.L., and Arici, A. (1996). The peritoneal environment in endometriosis. *Human Reproduction Update*, 2(5), 385-398.
- Orwoll, E.S., Yuzpe, A.A., Burry, K.A., Heinrichs, L., Buttram, V.C., Jr., and Hornstein, M.D. (1994). Nafarelin therapy in endometriosis: Long-term effects on bone mineral density. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 171(5), 1221-1225.
- Ososki, A. L., Lohr, P., Reiff, M., Balick, M. J., Kronenberg, F., Fugh-Berman, A., and O'Connor, B. (2002). Ethnobotanical literature survey of medicinal plants in the Dominican Republic used for women's health conditions. *Journal of Ethnopharmacology*, 79, 285-298.
- Oyelowo, T. (2007a). Endometriosis. In T. Oyelowo (Ed.), *Mosby's Guide to Women's Health*. St. Louis, Missouri, USA: Mosby, pp. 93-99.
- Oyelowo, T. (2007b). Polycystic ovary syndrome. In T. Oyelowo (Ed.), *Mosby's Guide to Women's Health*. St. Louis, Missouri, USA: Mosby, pp. 176-179.
- Ozudogru, B., Akaydin, G., Erik, S., and Yeşilada, E. (2011). Inferences from an ethnobotanical field expedition in the selected locations of Sivas and Yozgat provinces (Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, 137(1), 85-98.
- Özler, A., Yaldız, Ş., and Değirmencioğlu, A.İ. (2010). Abdominal wall endometriosis: A case report. *Dicle Medical Journal*, 37(4), 410-412.
- Packard, C.J., and Shepherd, J. (1994). Action of danazol on plasma lipids and lipoprotein metabolism. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica. Supplement*, 159, 35-40.
- Papaioannou, P., Lazari, D., Karioti, A., Souleles, C., Heilmann, J., Hadjipavlou-Litina, D., and Skaltsa, H. (2007). Phenolic compounds with antioxidant activity from *Anthemis tinctoria* L. (Asteraceae). *Zeitschrift für Naturforschung. Teil C: Biochemie, Biophysik, Biologie, Virologie*, 62(5-6), 326-330.
- Pastor, C.L., Griffin-Korf, M.L., Aloï, J.A., Evans, W.S., and Marshall, J.C. (1998). Polycystic ovary syndrome: Evidence for reduced sensitivity of the gonadotropin-releasing hormone pulse generator to inhibition by estradiol and progesterone. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 83(2), 582-590.
- Patwardhan, B. (2005). Ethnopharmacology and drug discovery. *Journal of Ethnopharmacology*, 100(1-2), 50-52.
- Phipps, W.R., Martini, M.C., Lampe, J.W., Slavin, J.L., and Kurzer, M.S. (1993). Effect of flax seed ingestion on the menstrual cycle. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 77(5), 1215-1219.

- Plouffe, L., Jr. (2000). Disorders of excessive hair growth in the adolescent. *Obstetrics and Gynecology Clinics of North America*, 27(1), 79-99.
- Polat, R., Cakilcioglu, U., and Satil, F. (2013). Traditional uses of medicinal plants in Solhan (Bingol-Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, 148(3), 951-963.
- Popovic, Z., Smiljanic, M., Matic, R., Kostic, M., Nikic, P., and Bojovic, S. (2012). Phytotherapeutical plants from the Deliblato Sands (Serbia): Traditional pharmacopoeia and implications for conservation. *Indian Journal of Traditional Knowledge*, 11(3), 385-400.
- Rai, N.P., Adhikari, B.B., Paudel, A., Masuda, K., Mckelvey, R.D., and Manandhar, M.D. (2006). Phytochemical constituents of the flowers of *Sarcococca coriacea* of Nepalese origin. *Journal of Nepal Chemical Society*, 21, 1-7.
- Rezaee, M.B., and Jaimand, K. (2008). Chemical constituents of the leaf and flower oils from *Athemis triumfettii* (L.) All. subsp. *triumfettii* from Iran. *Journal of Essential Oil Research*, 20(2), 172-173.
- Rezaee, M.B., Jaimand, K., and Assareh, M.H. (2006). Chemical constituents of the leaf and flower oils from *Anthemis altissima* L. var. *altissima* from Iran. *Journal of Essential Oil Research*, 18, 152-153.
- Rezvanfar, M.A., Rezvanfar, M.A., Ahmadi, A., Shojaei-Saadi, H.A., Baeeri, M., and Abdollahi, M. (2012). Molecular mechanisms of a novel selenium-based complementary medicine which confers protection against hyperandrogenism-induced polycystic ovary. *Theriogenology*, 78(3), 620-631.
- Risma, K.A., Clay, C.M., Nett, T.M., Wagner, T., Yun, J., and Nilson, J.H. (1995). Targeted overexpression of luteinizing hormone in transgenic mice leads to infertility, polycystic ovaries, and ovarian tumors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 92(5), 1322-1326.
- Rolland, R., and van der Heijden, P.F. (1990). Nafarelin versus danazol in the treatment of endometriosis. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 162(2), 586-588.
- Ropelato, M.G., Rudaz, M.C., Escobar, M.E., Bengolea, S.V., Calcagno, M.L., Veldhuis, J.D., and Barontini, M. (2009). Acute effects of testosterone infusion on the serum luteinizing hormone profile in eumenorrheic and polycystic ovary syndrome adolescents. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 94(9), 3602-3610.
- Ruhlen, R.L., Sun, G.Y., and Sauter, E.R. (2008). Black Cohosh: Insights into its mechanism(s) of action. *Integrative Medicine Insights*, 3, 21-32.
- Saltan, G., Suntar, I., Ozbilgin, S., Ilhan, M., Demirel, M.A., Oz, B.E., Keles, H., and Akkol, E.K. (2016). *Viburnum opulus* L.: A remedy for the treatment of endometriosis demonstrated by rat model of surgically-induced endometriosis. *Journal of Ethnopharmacology*, 193, 450-455.

- Samadi, N., Manayi, A., Vazirian, M., Samadi, M., Zeinalzadeh, Z., Saghari, Z., Abadian, N., Mozaffarian, V.O., and Khanavi, M. (2012). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Anthemis altissima* L. var. *altissima*. *Natural Product Research*, 26(20), 1931-1934.
- Sampson, J.A. (1927). Peritoneal endometriosis due to menstrual dissemination of endometrial tissue into the peritoneal cavity. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 14, 422-429.
- Sanchez-Criado, J.E., Bellido, C., Galiot, F., Lopez, F.J., and Gaytan, F. (1990). A possible dual mechanism of the anovulatory action of antiprogestosterone RU486 in the rat. *Biology of Reproduction*, 42(5-6), 877-886.
- Saroglou, V., Karioti, A., Heilmann, J., Kypriotakis, Z., and Skaltsa, H. (2007). Sesquiterpene lactones from *Anthemis melanolepis*. *Helvetica Chimica Acta*, 90(1), 171-175.
- Sasikala, S.L., and Shamila, S. (2009). Unique rat model exhibiting biochemical fluctuations of letrozole-induced polycystic ovary syndrome and subsequent treatment with allopathic and ayurvedic medicines. *Journal of Cell & Tissue Research*, 9(3), 2013-2017.
- Schenken, R.S. (1990). Gonadotropin-releasing hormone analogs in the treatment of endometriomas. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 162(2), 579-581.
- Scher, C., Haudenschild, C., and Klagsbrun, M. (1976). The chick chorioallantoic membrane as a model system for the study of tissue invasion by viral transformed cells. *Cell*, 8(3), 373-382.
- Schottner, M., Gansser, D., and Spiteller, G. (1997a). Interaction of lignans with human sex hormone binding globulin (SHBG). *Zeitschrift für Naturforschung. Teil C: Biochemie, Biophysik, Biologie, Virologie*, 52(11-12), 834-843.
- Schottner, M., Gansser, D., and Spiteller, G. (1997b). Lignans from the roots of *Urtica dioica* and their metabolites bind to human sex hormone binding globulin (SHBG). *Planta Medica*, 63(6), 529-532.
- Sezik, E., Yeşilada, E., Honda, G., Takaishi, Y., Takeda, Y., and Tanaka, T. (2001). Traditional medicine in Turkey X. Folk medicine in Central Anatolia. *Journal of Ethnopharmacology*, 75(2-3), 95-115.
- Sezik, E., Yeşilada, E., Tabata, M., Honda, G., Takaishi, Y., and Fujita, T. (1997). Traditional medicine in Turkey VIII. Folk medicine in East Anatolia; Erzurum, Erzincan, Ağrı, Kars, Iğdır Provinces. *Economic Botany*, 51(3), 195-211.
- Sezik, E., Tabata, M., Yeşilada, E., Honda, G., Goto, K., and Ikeshiro, Y. (1991). Traditional medicine in Turkey I. folk medicine in Northeast Anatolia. *Journal of Ethnopharmacology*, 35, 191-196.
- Sezik, E., Zor, M., and Yeşilada, E. (1992). Traditional medicine in Turkey II. folk medicine in Kastamonu. *International Journal of Pharmacognosy*, 30(3), 233-239.

- Shahat, A.A., Ibrahim, A.Y., and Elsaid, M.S. (2014). Polyphenolic content and antioxidant activity of some wild Saudi Arabian Asteraceae plants. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 7(7), 545-551.
- Shi, D., and Vine, D.F. (2012). Animal models of polycystic ovary syndrome: A focused review of rodent models in relationship to clinical phenotypes and cardiometabolic risk. *Fertility and Sterility*, 98(1), 185-193.
- Shokoohinia, Y., Sajjadi, S.E., Jassbi, A.R., Moradi, H., Ghassemi, N., and Schneider, B. (2015). Sesquiterpenes and flavonoids of *Anthemis odontostephana* var. *odontostephana*. *Chemistry of Natural Compounds*, 51(3), 491-494.
- Simsek, I., Aytakin, F., Yeşilada, E., and Yıldırım, Ş. (2004). An ethnobotanical survey of the Beypazari, Ayas, and Gündül district towns of Ankara province (Turkey). *Economic Botany*, 58(4), 705-720.
- Smith, S.K. (1998). Angiogenesis, vascular endothelial growth factor and the endometrium. *Human Reproduction Update*, 4(5), 509-519.
- Staneva, J., Todorova, M., and Evstatieva, L. (2002). Sesquiterpene lactones from *Anthemis carpatica* Willd. *Zeitschrift für Naturforschung. Teil C: Biochemie, Biophysik, Biologie, Virologie*, 57(9-10), 769-772.
- Staneva, J., Trendafilova-Savkova, A., Todorova, M.N., Evstatieva, L., and Vitkova, A. (2004). Terpenoids from *Anthemis austriaca* Jacq. *Zeitschrift für Naturforschung. Teil C: Biochemie, Biophysik, Biologie, Virologie*, 59(3-4), 161-165.
- Staneva, J.D., Todorova, M.N., and Evstatieva, L.N. (2005). New linear sesquiterpene lactones from *Anthemis cotula* L. *Biochemical Systematics and Ecology*, 33, 97-102.
- Sudha, S., Valli, G., Julie, P.M., Arunakaran, J., Govindarajulu, P., and Balasubramanian, K. (2000). Influence of streptozotocin-induced diabetes and insulin treatment on the pituitary-testicular axis during sexual maturation in rats. *Experimental and Clinical Endocrinology and Diabetes*, 108(1), 14-20.
- Sun, W.S., Imai, A., Tagami, K., Sugiyama, M., Furui, T., and Tamaya, T. (2004). *In vitro* stimulation of granulosa cells by a combination of different active ingredients of unkei-to. *American Journal of Chinese Medicine*, 32(4), 569-578.
- Svehlikova, V., Bennett, R.N., Mellon, F.A., Needs, P.W., Piacente, S., Kroon, P.A., and Bao, Y. (2004). Isolation, identification and stability of acylated derivatives of apigenin 7-O-glucoside from chamomile (*Chamomilla recutita* [L.] Rauschert). *Phytochemistry*, 65(16), 2323-2332.
- Tabata, M., Sezik, E., Honda, G., Yeşilada, E., Fukui, H., Goto, K., and Ikeshiro, Y. (1994). Traditional medicine in Turkey III. folk medicine in East Anatolia, Van and Bitlis provinces. *International Journal of Pharmacognosy*, 32(1), 3-12.
- Taylor, R., and Lebovic, D.I. (2014). Endometriosis. In J.F. Strauss and R.L. Barbieri (Eds.), *Yen & Jaffe's Reproductive Endocrinology (Seventh Edition)*. Philadelphia: Elsevier, pp. 565-585.

- Taylor, R.N., Ryan, I.P., Moore, E.S., Hornung, D., Shifren, J.L., and Tseng, J.F. (1997). Angiogenesis and macrophage activation in endometriosis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 828, 194-207.
- Tetik, F., Civelek, S., and Cakilcioglu, U. (2013). Traditional uses of some medicinal plants in Malatya (Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, 146(1), 331-346.
- Tham, D.M., Gardner, C.D., and Haskell, W.L. (1998). Clinical review 97: Potential health benefits of dietary phytoestrogens: A review of the clinical, epidemiological, and mechanistic evidence. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 83(7), 2223-2235.
- Tita, I. Mogoşanu, G.D., and Tita, M.G., (2009). Ethnobotanical inventory of medicinal plants from the South-West of Romania. *Farmacologia*, 57(2), 141-156.
- Todorova, M., Trendafilova, A., Danova, K., and Dimitrov, D. (2011). Phytochemical study of *Anthemis rumelica* (Velen.) Stoj. & Acht. *Biochemical Systematics and Ecology*, 39, 868-871.
- Tseng, J.F., Ryan, I.P., Milam, T.D., Murai, J.T., Schriock, E.D., Landers, D.V., and Taylor, R.N. (1996). Interleukin-6 secretion in vitro is up-regulated in ectopic and eutopic endometrial stromal cells from women with endometriosis. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 81(3), 1118-1122.
- Tuzlacı, E. (2006). *Şifa niyetine Türkiye'nin bitkisel halk ilaçları*. İstanbul: Alfa Yayıncılık.
- Tuzlaci, E., and Aymaz, P.E. (2001). Turkish folk medicinal plants, Part IV: Gonen (Balıkesir). *Fitoterapia*, 72(4), 323-343.
- Uysal, I., Onar, S., Karabacak, E., and Çelik, S. (2010). Ethnobotanical aspects of Kapıdağ Peninsula (Turkey). *Biological Diversity and Conservation*, 3(3), 15-22.
- Uzel, A., Guvensen, A., and Cetin, E. (2004). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Anthemis xylopoda* O. Schwarz from Turkey. *Journal of Ethnopharmacology*, 95(2-3), 151-154.
- Vajs, V., Bulatovic, V., Fodulovic-Savikin, K., Menkovic, N., Macura, S., Juranic, N., and Milosavljevic, S. (1999). Highly oxygenated guaianolides from *Anthemis cretica* subsp. *cretica*. *Phytochemistry*, 50, 287-291.
- Vajs, V., Todorovic, N., Bulatovic, V., Menkovic, N., Macura, S., Juranic, N., and Milosavljevic, S. (2000). Further sesquiterpene lactones from *Anthemis carpatica*. *Phytochemistry*, 54(6), 625-633.
- van der Linden, P.J.Q., de Goeij, A.F.P.M., Dunselman, G.A.J., Erkens, H.W.H., and Evers, J.L.H. (1996). Endometrial cell adhesion in an *in vitro* model using intact amniotic membranes. *Fertility and Sterility*, 65(1), 76-80.
- van Houten, E.L., and Visser, J.A. (2014). Mouse models to study polycystic ovary syndrome: A possible link between metabolism and ovarian function? *Reproductive Biology*, 14(1), 32-43.

- Venditti, A., Frezza, C., Rossi, G., Di Cecco, M., Ciaschetti, G., Serafini, M., and Bianco, A. (2016). Secondary metabolites with ecologic and medicinal implications in *Anthemis cretica* subsp. *petraea* from Majella National Park. *Aims Molecular Science*, 3(4), 648-660.
- Vernon, M.W., and Wilson, E.A. (1985). Studies on the surgical induction of endometriosis in the rat. *Fertility and Sterility*, 44(5), 684-694.
- Vinothkumar, S. (2017). *Effect of hydroalcoholic extract of Vitis vinifera Linn on female wistar rats with estradiol valerate induced polycystic ovarian syndrome*, Yüksek Lisans Tezi, The Tamilnadu Dr.M.G.R.Medical University, Department of Pharmacology K.M.College of Pharmacy, Madurai, Hindistan, 2.
- Vuckovic, I., Vujisic, L., Stesevic, D., Radulovic, S., Lazic, M., and Milosavljevic, S. (2010). Cytotoxic guaianolide from *Anthemis segetalis* (Asteraceae). *Phytotherapy Research*, 24(2), 225-227.
- Vuckovic, I., Vujisic, L., Vajs, V., Tesevic, V., Janackovic, P., and Milosavljevic, S. (2006a). Phytochemical investigation of *Anthemis cotula*. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 71(2), 127-133.
- Vuckovic, I., Vujisic, L., Vajs, V., Tesevic, V., Macura, S., Janackovic, P., and Milosavljevic, S. (2006b). Sesquiterpene lactones from the aerial parts of *Anthemis arvensis* L. *Biochemical Systematics and Ecology*, 34, 303-309.
- Waller, K.G., and Shaw, R.W. (1993). Gonadotropin-releasing hormone analogues for the treatment of endometriosis: Long-term follow-up. *Fertility and Sterility*, 59(3), 511-515.
- Wild, R.A. (2012). Dyslipidemia in PCOS. *Steroids*, 77(4), 295-299.
- Williams, T.J., and Pratt, J.H. (1977). Endometriosis in 1,000 consecutive celiotomies: Incidence and management. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 129(3), 245-250.
- Witz, C.A., Monotoya-Rodriguez, I.A., and Schenken, R.S. (1999). Whole explants of peritoneum and endometrium: A novel model of the early endometriosis lesion. *Fertility and Sterility*, 71(1), 56-60.
- Wu, M.Y., and Ho, H.N. (2003). The role of cytokines in endometriosis. *American Journal of Reproductive Immunology*, 49(5), 285-296.
- Xie, X.Y., Wang, R., and Shi, Y.P. (2014). Flavonoids from the flowers of *Matricaria chamomilla*. *Chemistry of Natural Compounds*, 50(5), 910-911.
- Yeşil, Y. (2007). *Kürecik (Akçadağ/Malatya) bucağında etnobotanik bir araştırma*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 275.
- Yeşilada, E., Sezik, E., Honda, G., Takaishi, Y., Takeda, Y., and Tanaka, T. (1999). Traditional medicine in Turkey IX. folk medicine in North-West Anatolia. *Journal of Ethnopharmacology*, 64(3), 195-210.

- Yeşilada, E., Honda, G., Sezik, E., Tabata, M., Goto, K., and Ikeshiro, Y. (1993). Traditional medicine in Turkey IV. folk medicine in the Mediterranean subdivision. *Journal of Ethnopharmacology*, 39, 31-38.
- Yu Yan, H., and Wu Wang, K. (2017). Triterpenoids from *Microtropis fokienensis*. *Chemistry of Natural Compounds*, 53(4), 784-786.
- Yusufoglu, H.S., Alam, A., Salkini, M.A.A., and Zaghloul, A.M. (2014). Anti-inflammatory and hepatoprotective activities of methanolic extract of *Anthemis scrobicularis* herbs. *Pharmacognosy Journal*, 6(3), 55-61.
- Zaghloul, A.M., Yusufoglu, H.S., Salkini, M.A., and Alam, A. (2014). New cytotoxic sesquiterpene lactones from *Anthemis scrobicularis*. *Journal of Asian Natural Products Research*, 16(9), 922-929.
- Zawadzki, J.K., and Dunaif, A. (1992). Diagnostic criteria for polycystic ovary syndrome: Towards a rational approach. In A. Dunaif, J.R. Givens, and F.P. Haseltine (Eds.), *Polycystic ovary syndrome*. Boston: Blackwell, pp. 377-384.
- Zeitvogel, A., Baumann, R., and Starzinski-Powitz, A. (2001). Identification of an invasive, N-cadherin-expressing epithelial cell type in endometriosis using a new cell culture model. *American Journal of Pathology*, 159(5), 1839-1852.
- Zhang, X. (2004). Traditional medicine: Its importance and protection. In S. Twarog and P. Kapoor (Eds.), *Protecting and promoting traditional knowledge: Systems, national experiences and international dimensions*. New York and Geneva: United Nations, pp. 3-6.

EKLER

EK-1. Deney hayvanları yerel etik kurul onayı



Kobay Deney Hayvanları Laboratuvarı Sanayi ve Ticaret A.Ş.
 I.O.S.B.21. Cd. 520. Sk. No:2/2 Yenimahalle ANKARA
 Tel & Fax: 0 (312) 394 70 94
 www.kobay.com.tr

KOBAY DHL A.Ş. YEREL ETİK KURULU BAŞVURU ONAYI		
BAŞVURU BİLGİLERİ	Protokol Numarası	233
	Protokol Adı	<i>Haik Arasında Jinekolojik Rahatsızlıklarda Kullanılan Çeşitli Bakılardan Elde Edilen Fraksiyonların Endometriyozis ve Polikistik Over Sendromu Üzerindeki Etkilerinin Araştırılması</i>
	Başvuru Tarihi	21.08.2017
	Sorumlu Araştırmacı Adı-Unvanı	Prof. Dr. Esra Akkol
	Sorumlu Araştırmacı Çalıştığı Kurum	Gazi Üniversitesi
	Yardımcı Araştırmacılar	Araş. Gör. Mert İhan
KARAR BİLGİLERİ	Onay Numarası	233
	Onay Tarihi	03.08.2017
	Onaylanan Hayvan Türü ve Sayısı	Wistar Albino Sıçan 105 adet
	Onay Bilgileri	Proje amaç, gereke, yaklaşım ve yöntem yönünden incelenmiş ve çalışmanın gerçekleştirilmesinde Etik sakınca bulunmadığına karar verilmiştir.
KOBAY DHL A.Ş. YEREL ETİK KURUL ÜYELERİ	Etik Kurul Başkanı Veteriner Hekim A. Begüm BUĞDAYCI AÇIKKÖL	<i>[Signature]</i>
	Etik Kurul Üyesi Doç. Dr. M. Orhan ULUDAĞ	<i>[Signature]</i>
	Etik Kurul Üyesi Doç. Dr. Güneş Esendağlı	<i>[Signature]</i>
	Etik Kurul Üyesi Dr. Buğra Adil BUYRUKÇU	<i>[Signature]</i>
	Etik Kurul Üyesi Dr. Can KOŞAL	<i>[Signature]</i>
	Etik Kurul Üyesi Vet. Hekim Ergun KARAGENÇ	<i>[Signature]</i>
	Etik Kurul Üyesi Veteriner Hekim Salih Salar	<i>[Signature]</i>
	Etik Kurul Üyesi Diğdem Yoyen Ermiş	<i>[Signature]</i>
	Etik Kurul Üyesi Turgut ALTUN	<i>[Signature]</i>
	Etik Kurul Üyesi Adil Kış	<i>[Signature]</i>
Etik Kurul Üyesi Oğuz GÜRAY	<i>[Signature]</i>	

Resim 1.1. Kobay DHL A.Ş. yerel etik kurulundan alınan etik kurul onayı

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : İLHAN, Mert
 Uyruğu : T.C.
 Doğum tarihi ve yeri : 29/09/1990 Gevaş
 Medeni hali : Evli
 Telefon : 0 (312) 202 31 78
 Faks : 0 (312) 223 50 18
 e-mail : eczmertilhan@gmail.com



Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Doktora	Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü	Devam Ediyor
Lisans	Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	2012
Lise	Van Fen Lisesi	2007

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2013-	Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü	Araştırma Görevlisi
2012-2013	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	Araştırma Görevlisi

Yabancı Dil

İngilizce [e-YDS (2018/5): 77,5; YÖKDİL (2017/7): 91,25]

Yayınlar

1. Demirel, M.A., Süntar, I., İlhan, M., Keles, H., Küpeli Akkol, E. (2014). Experimental endometriosis remission in rats with *Achillea biebersteinii* Afan.: Histopathological evaluation and determination of cytokine levels. **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**. 175, 172-177.

2. Ilhan, M., Ergene, B., Suntar, I., Ozbilgin, S., Saltan Citoglu, G., Demirel, M.A., Keles, H., Altun, L., Küpeli Akkol, E. (2014). Preclinical evaluation of anti-urolithiatic activity of *Viburnum opulus* on sodium oxalate-induced urolithiasis rat model. **Evidence Based Complementary and Alternative Medicine**. 2014.
3. Küpeli Akkol, E., Ilhan, M., Demirel, M.A., Tümen, I., Süntar, I. (2015). *Thuja occidentalis* L. and its active compound α -Thujone: Promising effects in the treatment of polycystic ovary syndrome without inducing osteoporosis. **Journal of Ethnopharmacology**. 168, 25-30.
4. Ilhan, M., Bolat, I.E., Suntar, I., Kutluay Koklu, H., Ugar Cankal, D.A., Keles, H., Küpeli Akkol, E. (2015). Topical application of the olive oil macerate of *Momordica charantia* L. promotes healing of excisional and incisional wounds in rat buccal mucosa. **Archives of Oral Biology**. 60(12), 1708-1713.
5. Küpeli Akkol, E., Demirel, M.A., Bahadır Acıkara, O., Suntar, I., Ergene, B., Ilhan, M., Ozbilgin, S., Saltan, G., Keles, 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.
6. Küpeli Akkol, E., Suntar, I., Ilhan M., Aras, M. (2015). Investigating *in vitro* enzyme inhibitory effects of *Rubus sanctus* Schreber (blackberry) and its active metabolite as a function of wound healing activity. **Journal of Herbal Medicine**. 5(4), 207-210.
7. Demirel, M.A., Ilhan, M., Suntar, I., Keles, H., Küpeli Akkol, E. (2016). Activity potential of *Corylus avellana* L. seed oil in letrozole-induced polycystic ovary syndrome (PCOS) model in rats. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**. 26(1), 83-88.
8. Ilhan M., Suntar I., Demirel M.A., Yesilada, E., Keles H., Küpeli Akkol E. (2016). A mixture of St. John's wort and sea buckthorn oils regresses endometriotic implants and affects the levels of inflammatory mediators in peritoneal fluid of the rat: A surgically induced endometriosis model. **Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology**. 55(6), 786-790.
9. Ergene Oz, B., Ilhan, M., Ozbilgin, S., Küpeli Akkol, E., Bahadır Acıkara, O., Saltan, G., Keles, H., Suntar, I. (2016). Effects of *Alchemilla mollis* and *Alchemilla persica* on the wound healing process. **Bangladesh Journal of Pharmacology**. 11, 577-584.
10. Ilhan, M., Zengin, G., Küpeli Akkol, E., Aktumsek, A., Suntar, I. (2016). The Importance of *Asphodeline* species on enzyme inhibition: Anti-elastase, anti-hyaluronidase and anti-collagenase potential. **Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences**. 13(3), 323-327.
11. Saltan, G., Suntar, I., Ozbilgin, S., Ilhan, M., Demirel, M.A., Ergene, B., Keles, H., Küpeli Akkol, E. (2016). *Viburnum opulus* L.: A remedy for the treatment of endometriosis evident by rat model of surgically-induced endometriosis. **Journal of Ethnopharmacology**. 193(4), 450-455.
12. Guragac, F.T., Ilhan, M., Tumen, I., Küpeli Akkol, E. (2017). Insights into research on the anti-inflammatory and antinociceptive activities of *Scandix iberica* Bieb. **Fresenius Environmental Bulletin**. 26(8), 5125-5135.
13. Ozbilgin, S., Küpeli Akkol, E., Ergene Oz, B., Ilhan, M., Saltan, G., Bahadır Acıkara, O., Tekin, M., Keles, H., Suntar, I. (2018). *In vivo* activity assessment of some *Tanacetum* species used as traditional wound healer along with identification of the phytochemical profile by a new validated HPLC method. **Iranian Journal of Basic Medical Sciences**. 21, 145-152.
14. Ozle, M., Uğar Çankal, A.D., Ilhan, M., Keleş, H., Küpeli Akkol, E. (2018). Evaluation of the chemopreventive effects of Ankaferd Bloodstopper in 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-induced oral epithelial dysplasia. **Clinical Oral Investigations** 22(9), 3091-3096.

15. İlhan, M., Zulfiqar, A., Khan, I.A., Küpeli Akkol, E. (2018). A new isoflavane-4-ol derivative from *Melilotus officinalis* (L.) Pall. Natural Product Research, Baskıda.
16. Gürağaç Dereli, F.T., İlhan, M., Küpeli Akkol, E. (2018). Discovery of new antidepressant agents: *In vivo* study on *Anthemis wiedemanniana* Fisch. & Mey. **Journal of Ethnopharmacology**. 226, 11-16.
17. Gürağaç Dereli, F.T., İlhan, M., Kozan, E., Küpeli Akkol, E. (2019). Effective eradication of pinworms (*Syphacia obvelata* and *Aspiculuris tetraptera*) with *Polygonum cognatum* Meissn. **Experimental Parasitology**. 196, 63-67.
18. İlhan, M., Küpeli Akkol, E., Taştan, H., Gürağaç Dereli, F.T., Tümen, I. (2019). Efficacy of *Pyrus elaeagnifolia* subsp. *elaeagnifolia* in acetic acid-induced colitis model. **Open Chemistry**. 17, 13-22.
19. İlhan, M., Gürağaç Dereli, F.T., Tümen, I., Küpeli Akkol, E. (2019). Anti-inflammatory and antinociceptive features of *Bryonia alba* L.: A possible alternative in treating rheumatism. **Open Chemistry**. 17, 23-30.

Kazandığı Burslar, Destekler ve Ödüller

1. Gazi Üniversitesi Yayın Teşvik Ödülleri
2. TÜBİTAK-2214/A Yurt Dışı Doktora Sırası Araştırma Burs Programı, University of Mississippi National Center for Natural Products Research, Oxford, MS, USA (10.06.2016-10.06.2017).
3. 2015-TÜBİTAK-Bilim İnsanı Destekleme Daire Başkanlığı (BİDEB) kongre desteği (19th International Congress "Phytopharm 2015" New Phytotherapeutics–Developments, Requirements and Success for Patients with Rational Phytotherapy and courses "GxP in biomedical research" Temmuz 21-24, 2015 Bonn, Almanya).
4. 2018-TÜBİTAK-Bilim İnsanı Destekleme Daire Başkanlığı (BİDEB) kongre desteği (10th International Conference on Orthopedics, Trauma and Rheumatology Mart 8-9, 2018 Londra, Birleşik Krallık).

Hobiler

Model uçak



GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR..

