

T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BIYOLOJİ ANABİLİM DALI

**HAYIT (*Vitex agnus-castus* L.) BİTKİSİNİN SIÇANLARDA
DİYABETİK YARALARI İYİLEŞTİRMEYE OLAN ETKİSİ VE
ANTİBAKTERİYAL ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BEGÜM PARLAK

DENİZLİ, OCAK - 2017

T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI



**HAYIT (*Vitex agnus-castus* L.) BİTKİSİNİN SIÇANLARDA
DİYABETİK YARALARI İYİLEŞTİRMEYE OLAN ETKİSİ VE
ANTİBAKTERİYAL ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BEGÜM PARLAK

DENİZLİ, OCAK - 2017

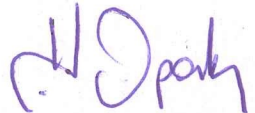
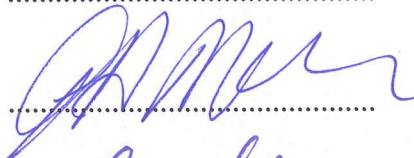
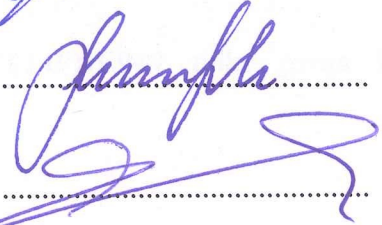
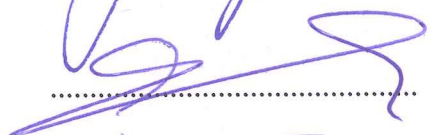
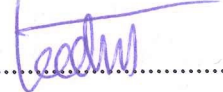
KABUL VE ONAY SAYFASI

BEGÜM PARLAK tarafından hazırlanan “Hayıt (*Vitex agnus-castus* L.) Bitkisinin Sıçanlarda Diyabetik Yaraları İyileştirmeye Olan Etkisi ve Antibakteriyal Özelliklerinin Araştırılması” adlı tez çalışmasının savunma sınavı 05.01.2017 tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen jüri tarafından oy birliği / oy çokluğu ile Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

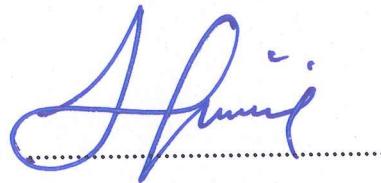
Jüri Üyeleri

İmza

Danışman
Doç. Dr. Yeşim KARA
Pamukkale Üniversitesi
Eş Danışman
Prof. Dr. Gülçin METE ABBAN
Pamukkale Üniversitesi
Üye
Prof. Dr. Mehmet Güven Görk
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi
Üye
Doç. Dr. Mehmet ÇİÇEK
Pamukkale Üniversitesi
Üye
Doç. Dr. Kamuran AKTAŞ
Celal Bayar Üniversitesi


.....

.....

.....

.....

.....

Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun
15.02.2017 tarih ve 07126..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.


.....

Prof. Dr. Uğur YÜCEL

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez çalışması BAP tarafından 2014FBE049 nolu proje ile desteklenmiştir.

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini; bu çalışmanın doğrudan birincil ürünü olmayan bulguların, verilerin ve materyallerin bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini ve alıntı yapılan çalışmalara atfedildiğine beyan ederim.



BEGÜM PARLAK

ÖZET

HAYIT (*Vitex agnus-castus* L.) BİTKİSİNİN SIÇANLARDA DİYABETİK YARALARI İYİLEŞTİRMEYE OLAN ETKİSİ VE ANTİBAKTERİYAL ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BEGÜM PARLAK

**PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

(TEZ DANIŞMANI:DOÇ. DR. YEŞİM KARA)

(EŞ DANIŞMAN:PROF. DR. GÜLÇİN METE)

DENİZLİ, OCAK - 2017

Bu tez çalışmasında tıbbi anlamda önemli bir yeri olan *Vitex agnus-castus* L. (Hayıt) türünün bitki ekstraktının diyabetik yara iyileşmesine olan etkisini ve bu bitkinin sekonder metabolitlerinin allelopotansiyel etkileri araştırılmıştır. GCMS ve toplam fenolik içeriğine bakılmış ve ayrıca Gr (-) *Escherichia coli* ATCC 25922, Gr (-) *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, Gr (+) *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ve Gr (+) *Micrococcus luteus* NCIMB 13267 bakterileri üzerine antimikrobiyal etkileri standart disk difüzyon metodu ile tespit edilmiştir. Yara iyileşmesi deneyinde, Wistar-Albino cinsi, sağlıklı, 30 erkek ve 30 dişi totalde 60 adet sıçan kullanıldı. Ortalama ağırlıkları 230 gr (200–250 gr) 20 haftalık sıçanlar kullanıldı. Erkek ve dişi sıçanlar kendi içinde 65, 265, 465, sham ve kontrol grubu olarak her bir grupta 6 şar sıçan olacak şekilde 5 grup oluşturulmuştur. 21 gün boyunca hazırlanan ekstreler sıçanlara enjeksiyon ile yara bölgesine uygulanmıştır. Sonuç olarak, dişi ve erkek sıçanların yara iyileşme sürecinde farklılıklar gözlenmiş, doz miktarı arttıkça erkeklerdeki yara iyileşme hızının arttığı görülmüştür. Dişilerde ise yine dozlara göre hızlı bir iyileşme görülürken, en iyi iyileşmenin 265 mg/kg olduğunu gözlemlenmiştir. Son olarak, yaprak ve tohum yağının hem Gr (+) hem de Gr (-) bakteriler üzerinde antimikrobiyal etkilerinin varlığı gözlemlenmiştir.

ANAHTAR KELİMELELER: *Vitex agnus-castus* L., yara iyileşmesi, sekonder metabolitler, antibakteriyal etki

ABSTRACT

INVESTIGATION OF EFFECTS OF CHASTE TREE (*Vitex agnus-castus* L.) ON DIABETIC WOUND HEALING IN RATS AND ANTIBACTERIAL PROPERTIES

MSC THESIS

BEGÜM PARLAK

PAMUKKALE UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE
BİOLOGY

(SUPERVISOR:ASSOC.PROF.DR. YEŞİM KARA)

(CO-SUPERVISOR:PROF. DR. GÜLÇİN METE GABBAN)

DENİZLİ, JANUARY 2017

In this thesis study, the effect of plant extract on diabetic wound healing of *Vitex agnus-castus* L. (Hayıt), which has an important medical significance, and allelopotential effects of secondary metabolites of this plant were searched. GCMS which left total phenolic contents and Gr (-) *Escherichia coli* ATCC 25922, Gr (-) *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, Gr (+) *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and Gr (+) *Micrococcus luteus* NCIMB 13267 bacteriums' antimicrobial effects were identified by disk diffusion method. In the wound healing experiment, 30 male and 30 female totally 60 healthy rats, which are Wistar-Albino genera, were used. Their average weights were 230 g (200-250 gr) for 20 weeks. Male and female rats were divided into five groups of 65, 265, 465, sham and control groups has six rats in each group. The extracts prepared for 21 days were applied to the wound area by injection into the rats. As a result, differences were observed in the wound healing process of male and female rats, and as the amount of dose increased, the rate of wound healing in males increased. In females, however, there was a rapid improvement compared to the differenet doses, the best healing was 265 mg. Finally, antimicrobial effects of leaf and seed oil on both Gr (+) and Gr (-) bacteria was observed.

KEYWORDS: *Vitex agnus-castus* L., wound healing, secondary metabolites, allelopathy, antibacterial effect

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
ŞEKİL LİSTESİ	v
TABLO LİSTESİ	vi
SEMBOL LİSTESİ	vii
ÖNSÖZ	viii
1. GİRİŞ	1
1.1 Çalışma Materyalinin Genel Özellikleri.....	4
1.1.1 Verbenaceae Familyasının Genel Özellikleri	4
1.1.2 Verbenaceae Familyasının Sınıflandırılması.....	4
1.1.3 <i>Vitex agnus-castus</i> L. (Hayıt) Türünün Genel Özellikleri.....	5
1.1.3.1 VAC Kimyasal İçeriği.....	8
1.1.3.2 VAC Tıbbi Kullanım Alanları	8
1.2 DİYABET MELLİTUS.....	9
1.2.1 DM Nedir ?	9
1.2.2 DM Epidemiyolojisi	9
1.3 Yara İyileşmesi.....	10
1.3.1 Yara İyileşmesinin Aşamaları.....	10
1.3.2 Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler	11
1.3.3 Yara İyileşmesinde Tıbbi Bitkilerin Önemi.....	11
1.4 Sekonder Metabolitler	11
1.4.1 Sekonder Metabolitlerin Önemi.....	12
1.4.2 Sekonder Metabolitlerin Sınıflandırılması	13
1.4.3 Fenolik Bileşikler.....	14
1.5 Uçucu Yağlar.....	14
1.5.1 Uçucu Yağların Bileşenleri.....	14
1.5.2 Uçucu Yağların Kullanım Alanları.....	14
2. MATERYAL	16
2.1 Bitkisel Materyal	16
2.2 Deney Hayvanları	17
3. YÖNTEM	18
3.1 Bitki Ekstraktlarının Hazırlanması	18
3.2 STZ ile Deneysel Diyabet Oluşturulması.....	19
3.3 Doku Kesitlerinin Alınması.....	19
3.4 Doku Takip Yöntemi.....	20
3.4.1 Fiksatif Solüsyonun Hazırlanması	20
3.5 Dokuların Histokimyasal Boyanması.....	21
3.6 Uçucu Yağ Elde Etme Yöntemi	22
3.7 Sekonder Bileşenlerin Tayini	22
3.7.1 Toplam Fenolik Bileşen Miktar Tayin Yöntemi.....	22
3.7.2 GC MS Analiz Yöntemi	23
3.7.3 HPLC Analiz Yöntemi.....	23
3.8 Standart Disk Difüzyon Yöntemi	24

4. BULGULAR	25
4.1 Yara İyileşmesi Deney Sonuçları	25
4.2 Toplam Fenolik Analiz Sonuçları	40
4.3 GC MS Analiz Sonuçları.....	44
4.4 Antibakteriyal Analiz Sonuçları.....	46
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	49
6. KAYNAKLAR.....	53
7. ÖZGEÇMİŞ.....	61

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1: <i>Vitex agnus-castus</i> L. türünün çiçekli dal yapısı	6
Şekil 1.2: <i>Vitex agnus-castus</i> L. türünün Türkiye’de yayılış gösterdiği iller.....	7
Şekil 1.3: <i>Vitex agnus-castus</i> L. türünün bulunduğu illerin kareleme metodu ile gösterilmesi.....	7
Şekil 1.4: Yara İyileşmesinin Aşamaları	10
Şekil 2.1: Hayıt bitkisinin yaprak, tohum ve çiçek kısımları (Pamukkale, Karahayıt).....	16
Şekil 2.2: Çalışmada kullanılan Wistar-Albino türü erkek ve dişi sıçanların sıraylagörünümleri.....	16
Şekil 3.1: Hayıt bitkisinin kurutulmuş yaprak ve tohum kısımları.....	19
Şekil 4.1: Kontrol grubundaki erkek ve dişi sıçanların 21 gün boyunca yara boylarındaki değişiminin karşılaştırma grafiği.....	28
Şekil 4.2: Sham grubundaki erkek ve dişi sıçanların 21 gün boyunca yara boylarındaki değişimin karşılaştırma grafiği.....	28
Şekil 4.3: 65 mg/kg ekstrakt uygulanan erkek ve dişi sıçanların 21 gün boyunca yara boylarındaki değişimin karşılaştırma grafiği.....	29
Şekil 4.4: 265 mg/kg ekstrakt uygulanan erkek ve dişi sıçanların 21 gün boyunca yara boylarındaki değişimin karşılaştırma grafiği.....	29
Şekil 4.5: 465 mg/kg ekstrakt uygulanan erkek ve dişi sıçanların 21 gün boyunca yara boylarındaki değişimin karşılaştırma grafiği.....	30
Şekil 4.6: Kontrol grubu dişi sıçan derisi HE boyama.....	33
Şekil 4.7: Sham grubu dişi sıçan derisi HE boyama.....	33
Şekil 4.8: 65 mg/kg doz uygulanan dişi sıçan derisi HE boyama.....	34
Şekil 4.9: 265 mg/kg doz uygulanan dişi sıçan derisi HE boyama.....	34
Şekil 4.10: 465 mg/kg doz uygulanan dişi sıçan derisi HE boyama.....	35
Şekil 4.11: Kontrol grubu erkek sıçan derisi HE boyama.....	36
Şekil 4.12: Sham grubu erkek sıçan derisi HE boyama.....	37
Şekil 4.13: 65 mg/kg doz uygulanan erkek sıçan derisi HE boyama.....	37
Şekil 4.14: 265 mg/kg doz uygulanan erkek sıçan derisi HE boyama.....	38
Şekil 4.15: 465 mg/kg doz uygulanan erkek sıçan derisi HE boyama.....	38
Şekil 4.16: Toplam fenolik çalışmasına ait kalibrasyon grafiği.....	40
Şekil 4.17: Alfa-tokoferol çalışmasına ait kalibrasyon grafiği.....	41
Şekil 4.18: Beta-tokoferol çalışmasına ait kalibrasyon grafiği.....	41
Şekil 4.19: Gamma- tokoferol çalışmasına ait kalibrasyon grafiği.....	42
Şekil 4.20: Delta- tokoferol çalışmasına ait kalibrasyon grafiği.....	42
Şekil 4.21: Tokoferol mix kromotografi.....	43
Şekil 4.22: Tokoferol numune kromotografi.....	43
Şekil 4.23:GC MS numune kromatogramı.....	45
Şekil 4.24: Hayıt tohum ve yaprak yağının Gr(-) <i>Escherichia coli</i> ' ye etkisi.....	46
Şekil4.25: Hayıt tohum ve yaprak yağının Gr(-) <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 'ya etkisi.....	46
Şekil 4.26: Hayıt tohum ve yaprak yağının Gr(+) <i>Staphylococcus aureus</i> 'a etkisi..	47
Şekil 4.27: Hayıt tohum ve yaprak yağının Gr(+) <i>Micrococcus luteus</i> 'a etkisi....	47

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 1.1: Vitex agnus-castus L. Türünün Sınıflandırılması.....	5
Tablo 4.1: Dişi ve erkek sıçanların kontrol grubundaki 21 gün boyunca ölçülen yara boylarındaki değişim tablosu.....	26
Tablo 4.2: Dişi ve erkek sıçanların sham grubundaki 21 gün boyunca ölçülen yara boylarındaki değişim tablosu.....	27
Tablo 4.3: Dişi ve erkek sıçanların 65 mg/kg grubundaki 21 gün boyunca ölçülen yara boylarındaki değişim tablosu.....	28
Tablo 4.4: Dişi ve erkek sıçanların 265 mg/kg grubundaki 21 gün boyunca ölçülen yara boylarındaki değişim tablosu.....	29
Tablo 4.5: Dişi ve erkek sıçanların 465 mg/kg grubundaki 21 gün boyunca ölçülen yara boylarındaki değişim tablosu.....	30
Tablo 4.6: Hayıt tohum yağı içerisindeki uçucu bileşenlerin miktarları.....	44
Tablo 4.7: Hayıt tohum ve yaprak yağının oluşturduğu inhibisyon zonlarının çapları (cm).....	48

SEMBOL LİSTESİ

$^{\circ}\text{C}$:	Santigrat derece
CM	:	Santimetre
DK	:	Dakika
SN	:	Saniye
DM	:	Diyabet Mellitus
GC	:	Gas Kromatografisi
GCMS	:	Gas Kromatografisi ve Kütle Spektroskopisi
PMS	:	Premenstrual Sendrom
KG	:	Kilogram
M	:	Metre
MM	:	Milimetre
MG	:	Miligram
ML	:	Mililitre
HE	:	Hemotoksilen Eozin Boyama
STZ	:	Streptozotosin
VAC	:	<i>Vitex agnus-castus</i>
μl	:	Mikrolitre
μm	:	Mikrometre

ÖNSÖZ

‘Hayıt (*Vitex agnus-castus* L.) Bitkisinin Esansiyal Yağları İçerisindeki Allelopatik Potansiyelli Kimyasalların Kompozisyonlarının Belirlenmesi ve Yara İyileştirme Olan Etkisinin Araştırılması’ adlı tez çalışmamda benden destek ve bilgilerini esirgemeyen değerli danışman hocalarım Doç. Dr. Yeşim KARA ve Prof. Dr. Gülçin METE GABBAN’ a sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Bu zamana kadar eğitim dönemimde katkısı olan, isimlerini sayamadığım tüm öğretmenlerime teşekkürü borç bilirim. Hayatımın her aşamasında bana destek olan ve benden yardımlarını esirgemeyen değerli dostlarıma minnetlerimi sunarım.

Hayatımın her aşamasında maddi ve manevi desteklerini benden esirgemeyen değerli annem, babam ve kardeşime sonsuz teşekkürler.

1. GİRİŞ

İlk çağlardan beri insanoğlu, beslenmesinde ve bazı hastalıkların tedavisinde bitkilerden faydalanmıştır (Gül 2014). Mitoloji de ise bitkilerin insanlara Tanrılar tarafından armağan edildiğine inanılmıştır (Tarhan ve diğ. 2016). Günümüzde de sentetik kökenli maddelerin yan etkilerinin fazla olması, özellikle antimikrobiyal, antibakteriyal olarak kullanılan sentetik ilaçlara karşı organizmaların direnç oluşturmaları gibi sebeplerden dolayı, doğal bitkisel ürünlere olan talebi artırmıştır (Dağcı ve diğ. 2002). Ayrıca bitkiler üzerinde yapılan çalışmaların artmasıyla birlikte çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılan yeni ilaçların keşfine katkı sağlanmıştır (Orhan ve diğ. 2006).

Dünya sağlık teşkilatı (WHO), 91 ülkenin tıbbi bitkileri üzerinde bazı çalışmalara dayanarak yapmış olduğu araştırmaya göre tedavi amacıyla kullanılan tıbbi bitkilerin toplam miktarının 20.000 kadar olduğunu belirtmiştir (Ertürk ve Demirdağ 2003, Çelik ve Çelik 2007). Türkiye ise 12.476 bitki taksonu ve 4080 endemik bitki ile Dünya'da önemli bir yere sahiptir (Gül 2014). Ayrıca Türkiye, Holarktık flora aleminin sınırları içerisinde yer alıp, İran-Turan, Avrupa-Sibirya ve Akdeniz fitocoğrafik bölgelerinin kesişme noktasında yer aldığından dolayı, coğrafik konumu sebebi ile de floristik yapısı büyük bir çeşitlilik içermektedir ve 500'den fazla tıbbi bitkiye sahip olması sebebiyle, tıbbi ve aromatik bitkilerin çalışılması konusunda potansiyelinin fazla olabileceği öngörülmektedir (Kendir ve Güvenç 2010).

Vitex agnus-castus L.(Hayıt) halk tarafından 'Hayıt', 'Ayıd', 'Acı Ayıt', 'Beşparmak Otu', 'Keşiş biberi' ve 'İffetli ağaç' gibi isimler ile tanınmaktadır (Gülsoy 2011). Ortaçağda rahiplerin mutfağında baharat olarak kullanılmış ve bunun rahiplerin cinsel isteklerinin azaltılmasında faydalı olduğuna inanılmıştır. Bu yüzden 'Rahip biberi' olarak da bilinmektedir (Odenthal 1998). Ayrıca farklı kültürlerde Chasteberry, Monk's pepper, Hemp tree, Wild lavender, Agnucasto, Lagano, Vitice, Keuschlamm, Möchspfeffer ve Agneau-chaste gibi isimlerle bilinmektedir (Gülsoy 2011).

Vitex agnus-castus L. türünün yaklaşık olarak 2000 yıldan uzun bir süredir tıbbi alanda kullanıldığı bilinmektedir (Meier ve diğ. 1994, Asdadi ve diğ. 2015). İlk olarak M.Ö 4. yy'da Hipokrat'ın yazıtlarında bahsedildiği görülmektedir (Odenthal 1998). Meyvelerinin infüzyon halinde (%2-5) idrar arttırıcı, gaz söktürücü ve yatıştırıcı olarak kullanıldığı bilinmektedir (Fakir ve diğ. 2014). Ayrıca, VAC ekstrelerinin insan kanser hücrelerinde ılımlı sitotoksik ve pro-apoptotik etkileri de gösterilmiştir (Sezik ve diğ. 2013). Yapılan bir diğer çalışmada ise erkeklerdeki kemik erimesi, prostatın iyi huylu büyümesinde ve prostat kanserinin tedavisinde değerli bir araç olarak VAC kullanılabileceği önerilmiştir (Ingjatovic 2012).

Urfa bölgesinde meyvesinden hazırlanan infüzyonun erken doğumları önleyici etkisi bulunduğu iddia edilmektedir. Meyve veya yaprak tozunun, yünlü kumaşları güvelere karşı koruduğu ve ayrıca hayıtın (VAC) içerdiği luteolin maddesinden ötürü doğal boyamacılıkta kullanıldığı, çeşitli mordanlanma yöntemleri ile turuncu-sarı, zeytin yeşili, haki ve açık sarı gibi renkler elde edildiği bilinmektedir (Fakir ve diğ. 2014). VAC ekstrelerinin in vivo çalışmalarında prolaktin değerlerini düşürdüğü, kemik kırıklarında iyileşmeyi artırdığı ve osteopeni önleyici etkilerinin olduğu gösterilmiştir (Sezik ve diğ. 2013).

Diabetes mellitus (DM), pankreasın insülin sekresyonunun yetersizliği ve/veya dokuların insüline cevabının bozulmasıyla oluşan, protein, yağ ve karbonhidrat metabolizmasını etkileyen metabolik bir hastalıktır (Öntürk ve Özbek 2007). DM uzun dönemde çeşitli organlarda (gözler, böbrekler, kalp, beyin, kan hücreleri) hasarlar, fonksiyon bozuklukları ve yetersizlikleri gibi rahatsızlıklara sebep olmaktadır (Çambay 2011).

Yara iyileşmesi süresinde diyabetin olumsuz etkilere sebep olduğu yapılan çoğu araştırmalarda kanıtlanmıştır (Şahin 2005). Genel olarak yara iyileşme evresi 3 evreden oluşur. 1. Enflamatuar Evre 2. Proliferasyon Evre 3. Yeniden şekillendirme Evresi (Arab ve diğ. 1994, Özkorkmaz ve Özay 2009, Aksoy ve Özakpınar 2014). Yara iyileşmesi sürecinde dokuların oksidatif hasardan korunması için antioksidan içeren bileşiklerin topikal uygulanmasının faydalı olacağı yapılan çalışmalarda gösterilmektedir. Dünya sağlık örgütü (WHO) hastalıklarda tedavi amaçlı olarak insanların yaklaşık %80'nin bitkilere dayalı ilaçları kullandığını bildirmektedir (Özkorkmaz ve Özay 2009, Sarı ve diğ. 2010).

Esansiyel yağlar adı da verilen uçucu yağlar, distilasyon yoluyla veya preslemeyle, bitkilerden veya bu bitkilerin bazı kısımlarından elde edilen kompleks karışımlardır (Evren ve Tekgüler 2011). Bitkilerden elde edilen esansiyel yağlar hücre membranından kolaylıkla geçebildiklerinden ve deri, akciğerler gibi organlardan kolaylıkla absorbe olabilirler. Ayrıca vücuda ilaç veya gıda katkı maddeleri olarak alınan uçucu yağların farmasötik değeri oldukça yüksektir ve biyolojik aktivasyonları hala merak konusudur (Erdoğan 2012).

Uçucu yağlar kozmetik, parfümeri, ilaç ve gıda sanayisi gibi farklı alanlarda kullanılmaktadır. Kullanımları ve elde edilmeleri Roma döneminden başlayarak günümüze kadar ulaşmıştır (Kılıç 2008). Ayrıca gıda, ecza, parfüm ve kozmetik gibi birçok alanda kullanılan baharat ve uçucu yağların, 1980'li yıllardan başlayarak antimikrobiyal etkileri açısından birçok araştırmada etkileri denenmiştir. Baharatlar ve türev ürünlerinin etkileri (ekstraktlar, uçucu yağlar ve bileşenleri) genellikle in vitro ortamda antibakteriyel ve antifungus etki olarak kullanılmıştır (Arslan ve Karabulut 2005).

Uçucu yağ elde edilen bitkilerin yetiştikleri yerler, iklim koşulları ve stres faktörleri gibi sebepler, içerdikleri etken madde oranlarındaki azalış veya artış miktarını etkilemektedir. (Yazlık ve Üremiş 2015).

Bu tez çalışmamızda, eskiden beri halk arasında ve tıbbi çalışmalarda sıkça kullanılan *Vitex agnus-castus* L. bitkisinin zengin içeriği sebebiyle, diyabetik yara oluşturduğumuz sıçanlarda yara iyileşmesine olan etkisini ve bunun yanında antibakteriyel özelliklerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Yapmış olduğumuz literatür çalışmalarında *Vitex agnus-castus* L. türü ile ilgili yapılmış (antifungal, antibakteriyel, antitümör, hormonal, prostat kanseri vb.) bir çok çalışmaya rastlanmıştır. Ancak literatürde *Vitex agnus-castus* L. bitkisinin yara iyileşmesine olan etkisi ile ilgili bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Ayrıca içeriğindeki sekonder bileşen zenginliği çoğu çalışmada kanıtlanmış ve kullanıldığı alanlar belirtilmiştir. Tüm bunlarla birlikte toplam fenolik ve GC MS analiziyle içeriğindeki uçucu yağların çeşitliliğini göstermek ve bu bileşenlerin antibakteriyel etkilerini görmek amaçlı olarak, disk difüzyon yöntemi ile antibakteriyel çalışma denemeleri gerçekleştirilmiştir.

1.1 Çalışma Materyalinin Genel Özellikleri

Çalışmada kullandığımız bitkisel materyalin genel özellikleri alt başlıklar şeklinde aşağıda belirtilmiştir.

1.1.1 Verbenaceae Familyasının Genel Özellikleri

Verbenaceae familya bitkileri çeşitli ülkelerde genellikle geleneksel tıp alanında kullanılan bitkiler ailesi olarak tanımlanır. Verbenaceae yaklaşık 3000 tür içeren, tropik ve subtropik bölgelerde, nadiren otsu bitkilerden oluşan ve çalimsı form ya da ağaçcık şeklindeki türleri içeren bir familyadır (Gülsoy 2011, Rahmatullah ve diğ. 2011).

1.1.2 Verbenaceae Familyasının Sınıflandırılması

Bu familya toplamda 35 cins ve 1200 tür içerir (Rahmatullah ve diğ. 2011). Verbenaceae familyasından, Vitex cinsine ait yaklaşık 250 tür içerdiği belirtilmiştir ve bu türlerden bazıları dünya çapında medikal amaçlarla kullanılmaktadır (Senatore 1996). Yapılmış başka bir çalışmada Vitex cinsinin 270 den fazla tür içerdiği belirtilmiştir (Padmalatha ve diğ. 2009). Türkiye’de Verbenaceae familyasında 6 takson yer almaktadır. Bu cins ve türler aşağıda gösterildiği gibidir (Web1).

1) Phyla L.

P.nodiflora

P.canescens

2) Verbena L.

V. officinalis

V.supina

3) Vitex L.

V. agnus – castus

V. pseudo – negundo

Tablo 1.1: *Vitex agnus-castus* L. Türünün Sınıflandırılması (TUBİVES)

Alem	Plantae
Şube	Magnoliophyta
Sınıf:	Magnolopsida
Takım	Lamiales
Familya	Verbenaceae
Cins	Vitex
Tür	<i>Vitex agnus-castus</i> L.

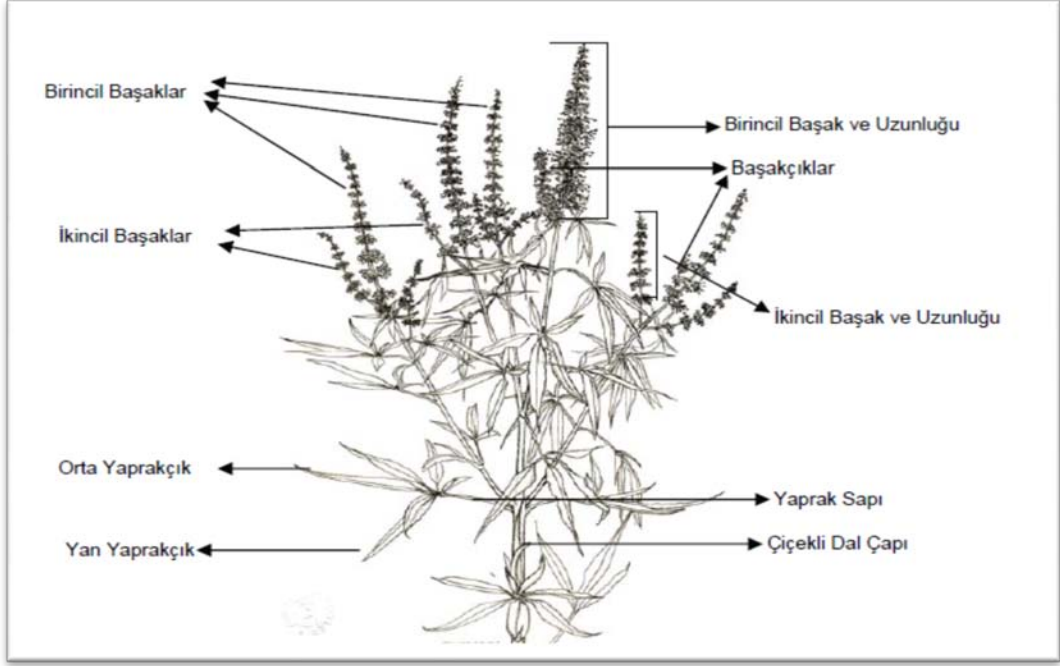
1.1.3 *Vitex agnus-castus* L. (Hayıt) Türünün Genel Özellikleri

Vitex agnus-castus L. (Hayıt) bitkisi Verbenaceae familyasında yer almaktadır (Hajdu ve diğ., 2007, Meena ve diğ. 2011, Pal ve diğ. 2013). Fakat yapılan başka bir çalışmada, filogenetik sınıflandırmada Lamiaceae familyasında yer aldığı bildirilmiştir (Asdadi ve diğ. 2015).

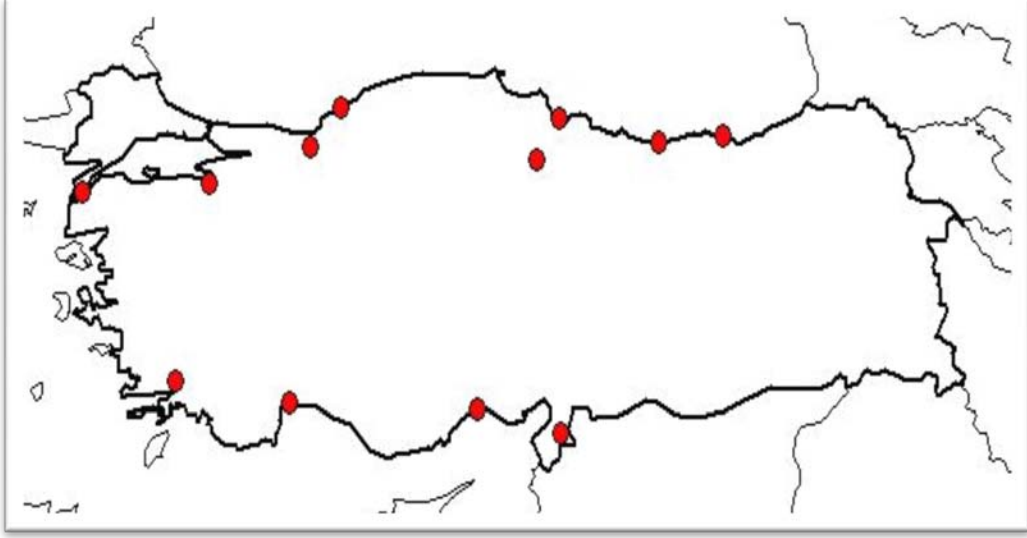
Genel olarak Akdeniz Bölgesi, Orta Asya ve Güney Avrupa'da yayılış gösteren bir türdür (Ono ve diğ. 2011). Ülkemizde ise Düzce, Zonguldak, Amasya, Antalya, Bursa, Çanakkale, Giresun, Hatay, İçel, Muğla, Samsun, Trabzon illeri başta olmak üzere (Web 1) (Bkz Şekil 1.2-1.3). Doğu Karadeniz, Marmara, Ege, Akdeniz, kısmen de Güney Doğu Anadolu bölgesinde yayılış göstermektedir (Toroğlu ve Çenet 2006). Türkiye'de Verbenaceae familyasına ait *Vitex agnus-castus* L., kışın yapraklarını döken 3-6 m boylanabilen, yuvarlak taçlı, çalı veya ağaçlık formunda bulunabilen bir bitkidir (Ajdzanovic ve diğ. 2012, Nasri ve diğ. 2004, Stojkovic ve diğ. 2011,).

Yaprakları palmat, 5-7 parçalı, üst yüzü yeşil, alt yüzü beyaz sık tüylüdür (Bkz Şekil 1.1). Yaprakçıklar genellikle düz, bazen daha geniş olabilir. İnce-uzun, 8-10 cm mavi-mor renginde çiçeklere sahiptir. Çiçeklenme dönemi Haziran ile Eylül

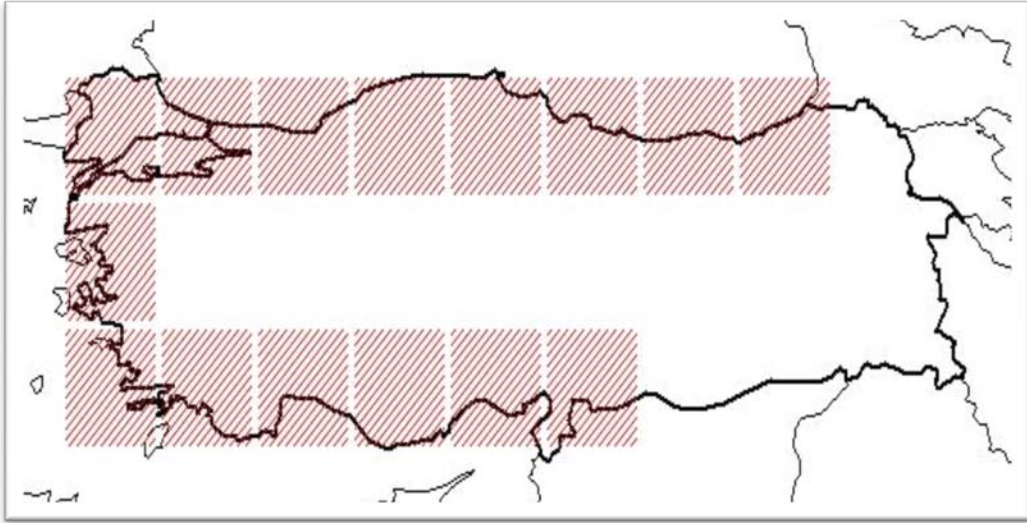
aylarında görülür (Gülsoy 2011). Meyveleri yaklaşık 3-4 mm çapında sert özel kokulu, hafif acımsı lezzette ve grimsi esmer renktedir (Fakir ve diğ. 2014).



Şekil 1.1: *Vitex agnus-castus* L. türünün çiçekli dal yapısı (Çizim: M.S. SAYAN)



Şekil 1.2: *Vitex agnus-castus* L. türünün Türkiye’de yayılış gösterdiği iller



Şekil 1.3: *Vitex agnus-castus* L türünün bulunduğu illerin kareleme metodu ile gösterilmesi

1.1.3.1 VAC Kimyasal İçeriği

Bitkinin bileşiminde genel olarak diterpenler (labdan ve klerodan tipi), diterpenoit alkaloidler (Gülsoy 2011), iridoid glikozitler, flavonoidler (kastisin, kamferol, kuersetagenin, viteksin), alkaloidler (vitisin), uçucu yağlar (1,8 cineol, linalol, terpinil asetat, alfa pinen ve beta pinen) ve esansiyel yağ asitleri (palmik asit, oleik asit, linoleik asit, stearik asit) bulunmaktadır (Gardiner 2000). VAC meyve esansiyel yağında monoterpenlerin varlığı rapor edilmiştir (Lucks ve diğ. 2002). Ayrıca yaprak ve çiçeklerinden progesteron, hidrogspirogesteron, testosteron ve androstenedion izole edilmiştir (Liu ve diğ. 2004).

1.1.3.2 VAC Tıbbi Kullanım Alanları

Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de bitkilerin çay, baharat ve tedavi amaçlı olarak kullanımı uzun yıllardan beri devam etmektedir (Toroğlu ve Çenet 2006). İlk çağlardan kalan arkeolojik bulgular, insanların besin elde etmek ve sağlık sorunlarını gidermek için öncelikle bitkilerden faydalandıklarını göstermektedir (Faydaoğlu ve Sürücüoğlu 2011). Bu yüzden hastalıkların tedavisinde kullanılan bitkilerin araştırılması çok büyük önem taşımaktadır. Çoğu bitki de bilimsel yönden araştırılmayı beklemektedir (Karaoğlu ve diğ. 2012). Bu bitkilerden biri de Avrupada geleneksel olarak kullanılan *Vitex agnus-castus* L. (Hayıt) bitkisidir (Liu ve diğ. 2004). Hayıt'ın kullanımı uzun bir tarihe dayanır. İlk kez M.Ö 4.yy da Hipokrat'ın yazıtlarında bahsedilmiştir (Nasri ve diğ. 2004). VAC genel olarak kadınlarda hormonal dengeleyici etkiye sahiptir.

Menapoz depresyonunda kadınlara verilen yüksek doz bitki kötü etkiye sebep olurken, düşük doz verilece durumda tam tersine döndüğü görülmüştür (Lucks ve diğ. 2002). Kadınlarda menopozal semptomları içeren üreme bozukluklarında ve yetersiz süt üretiminde kullanılmaktadır (Balaraju ve diğ. 2008).

Kuru meyveleri premenstrual semptomların önlenmesinde, ayrıca bazı insan kanser hücrelerine karşı sitotoksik aktivite çalışmalarında kullanılmıştır (Meena ve diğ. 2011).

VAC meyve ekstraktı korpus luteum yetersizliği, kısırlık ve akne tedavisi gibi çoğu kadın hastalıklarının tedavisinde de kullanılır. Bazı verilerde de VAC çiçek

ekstraktının insan prostat kanserini önleyebileceği önerilmiştir (Stojkovic ve diğ. 2011).

VAC tohum ve yaprak esansiyel yağlarının, kadınların yaşa bağlı yaşadığı bazı semptomlarda (hipertansiyon, kardiyovasküler komplikasyonlar, eritrosit membran akışkanlığı gibi) etkili olduğu bulunmuştur (Ajdzanovic ve diğ. 2012). Bir diğer farmolojik çalışmada *Vitex agnus-castus* L. ve Mg birlikteliği ile yapılan uygulamada kırık tedavilerini iyileştirici etkisinin olduğu gözlenmiştir (Eftekhari ve diğ. 2014).

1.2 Diyabet Mellitus

1.2.1 DM Nedir ?

Diabetes mellitus (DM), çok çeşitli etiyolojiler ile ortaya çıkabilen; insülin salınımı, insülin aktivitesi ya da her ikisinde birden oluşan aksamalardan kaynaklanan; karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasındaki düzensizlik ve kronik hiperglisemi ile karakterize edilen kronik metabolik bir hastalıktır (WHO, 1985).

Tıp literatüründe Diabet Mellitus olarak isimlendirilen şeker hastalığı, Yunanca akıp gitmek anlamına gelen dia + betes ve bal kadar tatlı anlamına gelen mellitus kelimelerinden türetilmiştir (Şahin 2015). Diyabet, kronik metabolik bir bozukluk olduğu gibi aynı zamanda da artmış bir oksidatif stres durumudur (Memişoğulları 2005).

1.2.2 DM Epidemiyolojisi

Dünya çapında yaklaşık olarak 285 milyon (20 -79 yaş popülasyonunun % 6.6sı) şeker hastası insan bulunmaktadır. 2005 yılında neredeyse 1.1 milyon insan bu hastalık yüzünden hayatını kaybetmiştir. 2030 yılında ise diyabetli hastaların sayısının 450 milyona ulaşacağı tahmin edilmektedir (Durmuşkahya ve Öztürk 2013).

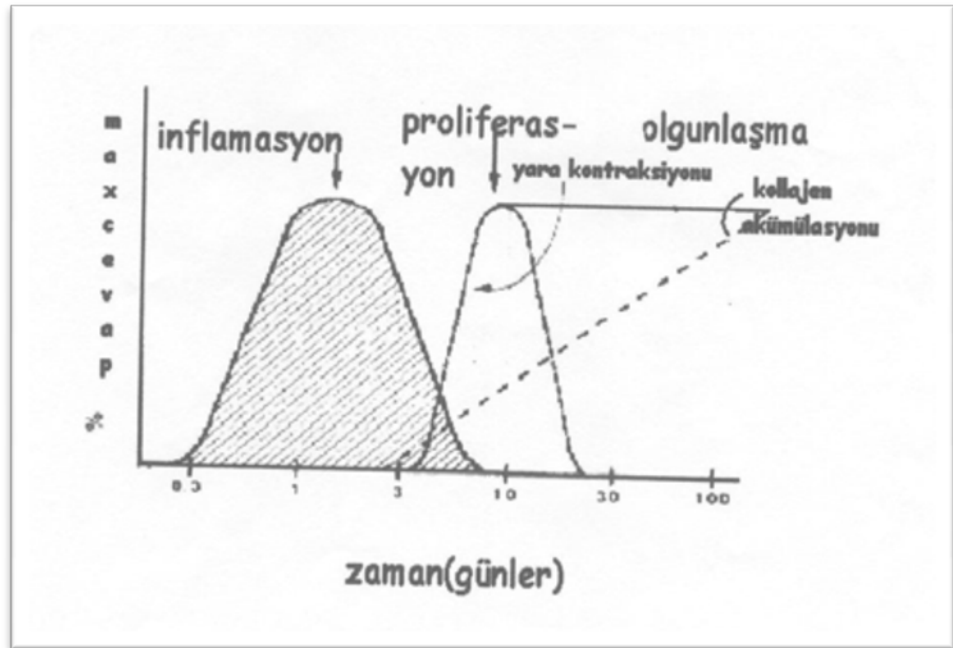
1.3 Yara İyileşmesi

Yara iyileşmesi bağ dokusu lifleri ve matriksinin yerine konulmasını gerektiren uzun bir süreçtir (Cockbill 2002). Yaralar dokulara fiziksel, kimyasal, termal, mikrobik veya immunolojik hasar vererek üretilebilir (Kulkarni 2014). İyileşme sürecinin bozulduğu yaralar, gerek hasta gerek doktor için önemli bir sorundur. Bu sorun her yıl binlerce hastayı etkiler ve milyonlarca dolarlık sağlık harcamalarına neden olur (Özler 2010).

1.3.1 Yara İyileşmesinin Aşamaları

Yara iyileşmesi pek çoğu aynı anda meydana gelen ve birbiri içine geçebilen 3 ayrı evreden meydana gelir. Yara iyileşmesinin aşamaları aşağıdaki şekil üzerinde gösterilmiştir (Özkorkmaz ve Özay 2009).

- İnflamasyon
- Proliferasyon
- Yeniden Şekillenme



Şekil 1.4: Yara iyileşmesinin aşamaları

1.3.2 Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler

Yara iyileşme sürecini olumsuz etkileyen faktörler, malnutrisyon, enfeksiyon, hipoksi, immunosupresyon, yaşlanma ve kronik hastalıklar şeklinde özetlenmiştir. Bu süreçte dengeli beslenme, enfeksiyonların önlenmesi, hiperbarik oksijen tedavisi gibi yöntemlerle yara dokusunun oksijen almasına fayda sağladığı bulunmuştur (Berk 2015).

1.3.3 Yara İyileşmesinde Tıbbi Bitkilerin Önemi

Türkiye, geniş bir yüz ölçümüne ve farklı iklimlere sahip yapısından dolayı zengin bitki çeşitliliğine sahiptir. Bu yüzden doğal ve kültürü yapılan tıbbi ve aromatik bitkiler yönünden de önemli bir potansiyele sahiptir (Yılmaz 2010). Dünya genelinde de tıbbi bitkilerin kullanımı hızla atmaktadır ve dünya nüfusunun %60'ı geleneksel tıbbi bitkileri kullanmaktadır. Ayrıca geleneksel tıpta kullanılan her üç ilaçtan biri yara ve cilt hastalıklarında kullanılmaktadır (Berk 2015).

1.4 Sekonder Metabolitler

Sekonder Metabolitler bitkiler tarafından sentez edilen ve bitkilerin temel yaşamsal işlemleri için gerekli olmayan fakat primer metabolitleri kadar önemli olan kimyasal maddelerdir. Sekonder metabolitler tesadüfi, fazlalık, hücrenin lüks bileşenleri olarak adlandırılmıştır (Taiz ve Zeiger 2008). Ancak metabolit bileşenlerinin sayıca fazla olması bitkiler için önem arz etmemesi pek inandırıcı gelmemiştir. Yapılan araştırmalar sonucunda bu bileşenlerin 100.000'in üzerinde olduğu bilinmektedir. Son yıllarda yapılan araştırmalar ise bitki genlerinin %15-25'nin sekonder metabolit oluşturmada rol aldığını göstermektedir (Mammadov 2014). Sekonder metabolitler glikoz, fotosentez ve krebs döngüsü boyunca gerçekleşen metabolik olayların yan basamaklarından üretilmektedir. Bilindiği gibi bu süreçler primer metabolitlerin ana yoludur. Bu ana yolların yan ürünleri olan asetil CoA, şikimik asit, mevalonik asit ve deoksiksiloz-5 fosfattan da sekonder metabolitler sentezlenmektedir (Dewick 2002).

1.4.1 Sekonder Metabolitlerin Önemi

Bilim adamı A. M. Nosov sekonder metabolitlerin 4 önemli özelliğini şu şekilde sıralamıştır:

1. Tüm bitkilerde bulunmaması
2. Biyolojik aktif bileşen olmaları
3. Küçük moleküllü bileşenler olmaları
4. Birçok primer metabolit bileşenlerinden sentezlenmiş olmaları

Fakat bazı sekonder metabolitler bir familya, cins hatta tür için spesifik olabilir. Bazı çok bilinen, karotenoidler, steroidler, fenoller, metabolitler ise bitkilerin neredeyse hepsinde üretilir. Bitkilere kazandırdığı avantajlar şu şekildedir (Mammadov 2014).

1. Kuraklık, tuzluluk, UV ışınları vs. gibi değişik çevre faktörlerinin oluşturduğu stres ortamına karşı koyma,
2. Herbivorlara, mikroorganizmalara karşı savunma
3. Depo bileşenler olarak,
4. Tohum dağılımını sağlamak ve hayvanları cezbetmek için gelişmiş ekolojik işlevlerde rol alırlar.

Bu sebeple sekonder bileşiklerin biyokimyasal ve fizyolojik yapıları fonksiyonlarıyla alakalı olduğu görülmektedir. Sekonder metabolitlerin boşa biriktirilen çöp bileşikler olduğu düşünülemez. Aksine herbivor, bakteri, mantar ve virüslere karşı savunmada bitkiler için önemlidirler (Wink). Ayrıca bazı ağaçlar tarafından salınan maddeler gelişmelerini olumsuz etkileyen mikroorganizmaları yok edebilme etkisine sahiptirler (Mammadov, 2014). Kısaca organların işlevlerini destekleyen veya iyileşmeyi hızlandırarak organizmadaki belirli dokuların ve organların işlevlerine olumlu etki yapan bileşiklerdir (Faydaoğlu ve Sürücüoğlu 2011).

Yapılan bazı çalışmalarla da sekonder metabolitlerin antioksidan, antimikrobiyal, antibakteriyal, antifungal, antikanser ve yaşlanmayı geciktirici etkilerinin olduğu gösterilmiştir (Orhan ve diğ. 2006).

1.4.2 Sekonder Metabolitlerin Sınıflandırılması

Sekonder metabolitler 4 büyük grup altında toplanır (Mammadov 2014).

1. Terpenler ve Terpenoidler
 - a. Hemiterpenler
 - b. Monoterpenler
 - c. Seskiterpenler
 - d. Diterpenler ve Diterpenoidler
2. Fenolik Bileşikler
 - a. Fenolik asitler
 - b. Fenilpropanoidler
 - c. Naftokinonlar ve Ksantonlar
 - d. Stilbenler ve Antrakınonlar
 - e. Flavonoidler
 - f. Polimer Fenolik Bileşenler
3. Alkoloidler
 - a. Sentezledikleri temel bileşenlere göre
 - b. Temel madde aminoasitlere göre
4. Diğer Gruplar
 - a. Glikozitler
 - b. Saponinler
 - c. Minör ve sekonder metabolitler

Organik kimya biliminin gelişmesi ile tıbbi bitkiler konusunda çok sayıda bilimsel çalışma yapılmış ve etkili kimyasal maddeler birkaç kısma ayrılmıştır. Bu maddeler glikozitler, alkaloidler, organik asitler, tanenler, vitaminler, karbonhidratlar, sabit ve uçucu yağlardır (Yaşar 2005).

1.4.3 Fenolik Bileşikler

Fenolik bileşikler çoğu bitkide bulunan, düşük moleküllü sekonder bileşikler sınıfındadır. Fenolik bileşikler fenolik asitler, flavonoidler, fenilpropanoidler ve kinonlar gibi çözülebilen bileşiklerden ve kondense taninler, ligninler, hücre duvarı bağlayıcı hidrosinamik asit gibi çözünemeyen bileşikler olarak sınıflandırılabilir (Rerkam ve diğ. 2012).

1.5 Uçucu Yağlar

Uçucu yağlar, bitkilerden su veya su buharı destilasyon yoluyla elde edilen, oda sıcaklığında sıvı halde olabilen fakat bazen donabilen, uçucu, kuvvetli kokulu ve yağimsı karışımlardır. Açıkta bırakıldıklarında, oda sıcaklığında bile buharlaşabildiklerinden "uçucu yağ", eter gibi uçtuklarından dolayı ise "eterik yağ" olarak isimlendirilirler (Çalikoğlu ve diğ. 2006).

1.5.1 Uçucu Yağların Bileşenleri

Kimyasal yapılarında en büyük çoğunluğu (yaklaşık % 90) terpenler oluşturmaktadır (Ceylan 1987). Bu türevler çoğunlukla terpenoid olarak adlandırılırlar. Mono- ve sesquiterpenler uçucu yağların temel bileşenleridir (Umay 2007). Terpenlerle birlikte alkoller, aldehitler, esterler, fenoller, azot ve kükürt içeren bazı bileşikler de uçucu yağların yapısında yer almaktadır (Kılıç 2008).

1.5.2 Uçucu Yağların Kullanım Alanları

Bitki uçucu yağları uzun yıllardan beri değişik amaçlara yönelik, özellikle bilimsel ve ticari olarak birçok alanda kullanılmaktadır. Bu kullanım alanlarının başında kozmetik, ilaç, gıda sanayi, aromaterapi ve fitoterapi gelmektedir (Şebik 2011).

Uçucu yağlar, farklı bileşenleri içeren kompleks karışımlar olduklarından dolayı biyolojik etkileri yönünden de farklılık göstermektedir. Etken maddelere göre etkileri değişmekle birlikte pek çok uçucu yağın; antimikrobiyal, karminatif, koloretik, sedatif, diüretik, antispazmodik gibi etkilere sahip olduğu yapılan çalışmalarca gösterilmiştir (Toroğlu ve Çenet 2006).

2. MATERİYAL

Çalışmada kullanmış olduğumuz materyaller alt başlıklar şekilde aşağıda belirtildiği gibidir.

2.1 Bitkisel Materyal

Çalışmış olduğumuz bitki türü ile ilgili kaynaklar taranarak çiçeklenme dönemi, habitatu ve yayılış gösterdikleri alanlar tespit edilmiştir. Bu şekilde bitkinin toplanma yeri ve zamanı belirlenmiştir. Yaprak, çiçek ve tohum kısımlarının toplanması için farklı zamanlarda arazi çalışması gerçekleştirilmiştir. Toplanma zamanı Haziran-Kasım aylarında gerçekleştirilmiştir (Stojkovic ve diğ. 2011). Bitkinin toplanması arazi koşullarına uygun şekilde yapılmıştır. Bitkimizde bulunan uçucu yağların verimini kaybetmemesi amacıyla bitkinin yaprak, tohum ve çiçek kısımları sabah erken saatlerinde toplanmış ve toplam olarak 2-3 kg yaş bitki örneği alınmıştır. Toplama yeri Pamukkale Caddesi, Karahayıt Denizli ve toplandığı rakım 253 metredir.

Bitki türünün teşhisi Pamukkale Üniversitesi Biyoloji Bölümü Sistemik Botanik Laboratuvarı'nda Doç Dr. Mehmet Çiçek tarafından yapılmıştır.

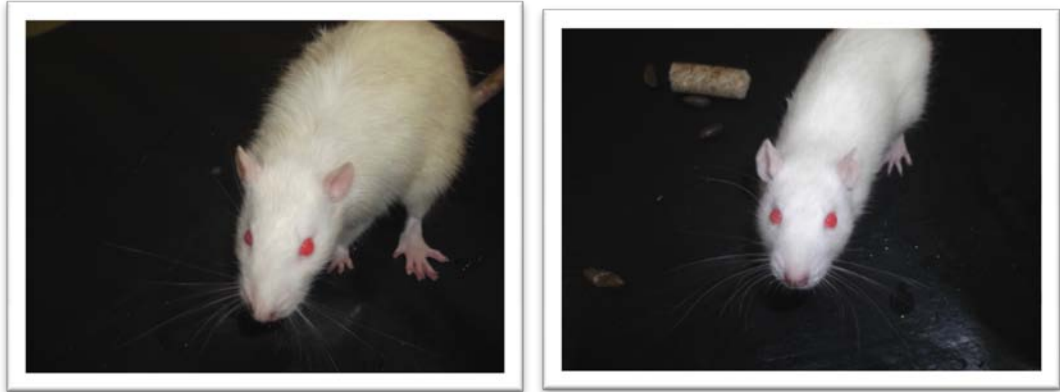


Şekil 2.1: Hayıt bitkisinin yaprak, tohum ve çiçek kısımları (Pamukkale-Karahayıt)

2.2 Deney Hayvanları

Çalışma için Pamukkale Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulundan 2016/05 sayılı toplantıda 45403 numarasıyla onay alınmıştır. Çalışmamızda kullandığımız Wistar-Albino cinsi sağlıklı sıçanlar Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Pamukkale Üniversitesi Deneysel Cerrahi Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edilmiştir. Ortalama ağırlıkları 230 gr (200-250 gr) olan 20 haftalık sıçanlar kullanılmıştır. Her grupta 6'şar sıçan olacak şekilde kontrol, sham, 65 mg/kg, 265 mg/kg ve 465 mg/kg olmak üzere 5 grup oluşturulmuştur. Kontrol grubunda sağlıklı, sham grubunda hasta fakat sulu ve etanollü ekstrak verilen sıçanlar ve diğer gruplarda (65, 265, 465) yaprak ekstraktı verilen sıçanlar olarak 5 grup oluşturulmuştur.

Sıçanlar deney süresi boyunca ayrı kafeslerde tutulmuştur ve buldukları oda 12 saat aydınlık-karanlık döngüdedir. Ayrıca oda sıcaklığı sabit 23 ± 2 °C de takip edilmiştir. Sıçanların yem ve suları takip edilerek istedikleri miktarda verilmiştir. Tüm sıçanların deney öncesi ağırlık ve kan glukoz düzeyleri (KGD) ölçülmüştür. Ölçüm için Optimum Xceed marka kan ölçüm cihazı ve Abbott Optium FreeStyle plus kan glikoz test çubukları kullanılmıştır.



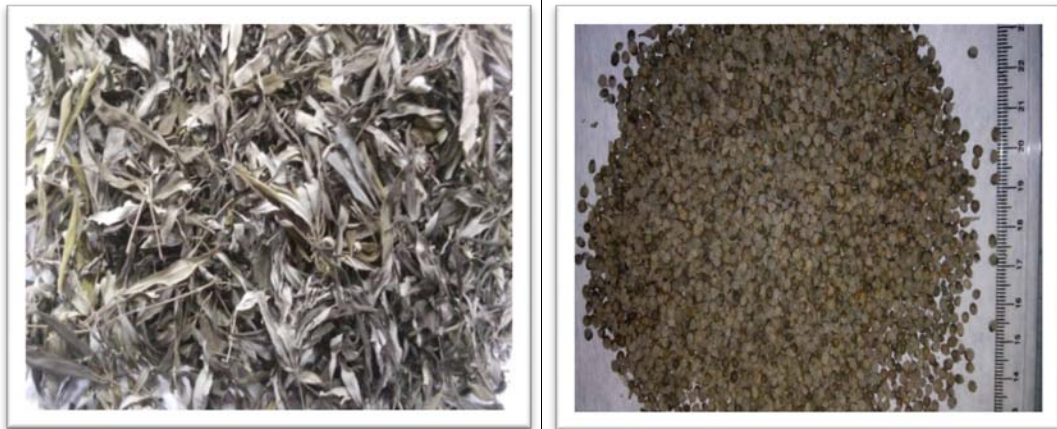
Şekil 2.2: Çalışmada kullanılan Wistar-Albino türü erkek ve dişi sıçanların sırayla görüntüleri

3. YÖNTEM

Çalışmalarımızda aşağıda verilen yöntemler izlenmiştir.

3.1 Bitki Ekstraktlarının Hazırlanması

Ekstraksiyon işlemleri Pamukkale Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Bitki Fizyolojisi laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Laboratuvar ortamına getirilen bitkiler morfolojik özelliklerini kaybetmeden uygun ortamda, güneş almayacak şekilde kurutulmuştur (Baydar ve diğ. 2008, Yaşar 2005). Kuruyan bitkiler blender (Waring Commercial Blender, USA) yardımıyla küçük parçalara ayrılarak ekstraksiyon işlemine hazır hale getirilmiştir. Her 10 gr örnek için 100 ml çözücü kullanılmıştır (Faresin ve diğ. 2000). Çözücü olarak etanol (Merck, Germany) kullanılmıştır (Dülger ve diğ. 2002, Ono ve diğ. 2011). Küçük parçalara ayrılan bitkiler su banyosunda (Nükleon Water Bath) 55 °C’de 6 saat boyunca etanol ile ekstre edilmiştir. Bu işlem en az 2 kez tekrar edilmiştir. Elde edilen karışım Whatman No 1 filtre kağıdından süzümüştür. Daha sonra çözeltideki çözücü madde Rotary Evaporatörde (IKA RV10, Germany) 50 °C’de uçurulmuştur. Ekstrenin içinde kalan su ise liyofilizatör de (Freeze Dryer) makinesinde (Labconco Freezone 6) dondurularak çekilmiştir (Faresin ve diğ. 2000). Elde edilen ekstreler deneyde kullanılma zamanına kadar -20 °C’de saklanmıştır (Liu ve Yang 2012).



Şekil 3.1: Hayıt Bitkisinin kurutulmuş yaprak ve tohum kısımları

3.2 STZ ile Deneysel Diyabet Oluşturulması

Sıçanlarda deneysel diyabet oluşturmak için (STZ) (Sigma, St. Louis, MO, USA) kullanılmıştır. Tip I ve Tip II diyabet oluşturmak için farklı dozlarda STZ uygulanabilmektedir (Kurçer ve Karaoğlu 2012). En sık kullanılan yöntem STZ'nin 50-60 mg/kg intraperitoneal enjeksiyonudur (Gürpınar ve diğ. 2010, Mohamed ve diğ. 2011). -20 °C de saklanan STZ taze olarak distile suda çözüldü ve ağırlıkları ölçülen sıçanlara gerekli dozlarda hesaplanarak tek doz şeklinde verildi. STZ öncesinde kuyruk veninden kan alınan hayvanların KGD değerleri ölçüldü. 3 gün sonunda KGD'leri 250 mg/dl nin üzerinde olan sıçanlar şeker hastası kabul edildi.

Ölçüm için Optium Xceed marka glikometri ve FreeStyle Optium plus Test Çubukları kullanıldı.

Şeker hastası olan hayvanlara, yara açmadan önce lokal anestezi yapılmıştır. Lokal anestezinin etkisi 2 dakika içinde sağlanmış, biyopsi alanı bir kalemlle işaretlenmiştir. Deri bölgesi çevreden 5 cm'lik bir alanı kapsayacak şekilde antiseptik solüsyon ile temizlenmiştir. 5 mm'lik "punch" seçilip, sıçanların sırt bölgesi traşlanmışır. İşaret parmağı ve baş parmak lezyon çevresinde, deri çizgilerine ("Relaxed skin tensionlines") zıt yönlere doğru traksiyon uygulayacak şekilde yerleştirilmiştir. Parmaklar arasındaki punch aleti dik bir şekilde derinin üstüne koyulup, vertikal basınç uygulayarak döndürülmüştür. Bu şekilde "tam kat" deri biyopsisi alınmış olur. Yara yeri oluşturulduktan sonra, 65 mg/kg, 265 mg/kg ve 465 mg/kg konsantrasyonlarda ve kontrol ve sham grublarının ekstaraksiyonu yara bölgesine intraperitoneal enjeksiyon ile 21 gün boyunca verilmiştir (Nasri ve diğ. 2004).

3.3 Doku Kesitlerinin Alınması

Sıçanlar 30 mg/kg ketamine hydrochloride ve 6 mg/kg % 2 lik xylazine hydrochloride kombinasyonunun intraperitoneal olarak uygulanmasıyla sağlanan genel anestezi altında dekapitasyon ile sakrifiye edildi. Yara bölgesinden alınan derileri %10'luk notral buffered formaldehite konuldu.

3.4 Doku Takip Yöntemi.

Doku takibinde ksilen ve etil alkol kullanılmıştır.

- a. Dokular formaldehitte 1 saat bekletilmiştir.
- b. Akarsuda 30 dk yıkandı
- c. %50'lik etil alkolde 1 saat bekletildi.
- d. %70'lik etil alkolde 1 saat bekletildi.
- e. %80'lik etil alkolde 1 saat bekletildi.
- f. %90'lik etil alkolde 1 saat bekletildi.
- g. %100'lük etil alkolde 1 saat bekletildi.
- h. Ksilen I'de 1 saat bekletildi.
- i. Ksilen II'de 1 saat bekletildi.
- j. Parafinde I'de 1 saat bekletildi.
- k. Parafin II'de 1 saat bekletildi.
- l. Dokuları parafine gömme ve etiketleme işlemi yapıldı.

Daha sonra dokular parafine gömülmüş ve bu şekilde doku örnekleri alınmıştır. Parafine gömülen bloklardan, Leica RM-2125 Rotary Microtom cihazı ile 5 mikrometre kalınlığında kesitler lizinli lamlara alındı.

3.4.1 Fiksatif Solüsyonun Hazırlanması

% 37'lik nötral buffered formaldehitden % 10'luk fiksatif solüsyonu hazırlamak için kullanılan formül = İstenilen konsantrasyon/bilinen konsantrasyon X Elde edilmek istenen miktar şeklinde hesaplanmıştır (Demir, 2001).

3.5 Dokuların Histokimyasal Boyanması

Doku takip yöntemi tamamlar örnekler mikrotom cihazı yardımıyla 5 μ 'luk kesitler alındı. Sırasıyla aşağıdaki işlemler uygulanmıştır.

- a. Kesitler, benmariden lamlara alınıp lam taşıma sepetine yerleştirildi.
- b. Lam taşıma sepeti etüvde 60 °C'de 1 gece bekletildi.
- c. Ksilen I'de 30 dk bekletildi.
- d. Ksilen II'de 30 dk bekletildi.
- e. %100'lük etil alkolde 2 dk bekletildi.
- f. %90'lık etil alkolde 2 dk bekletildi.
- g. %80'lik etil alkolde 2 dk bekletildi.
- h. %70'lük etil alkolde 3 dk bekletildi.
- i. %50'lik etil alkolde 6 dk bekletildi.
- j. 10 dk distile suda bekletildi.
- k. Hemotoksilende 8 dk bekletildi.
- l. Boya akana kadar suda yıkandı.
- m. 10 sn asit alkolde bekletildi.
- n. Tekrar suda yıkandı.
- o. 10 sn amonyakta bekletildi.
- p. Suda yıkandı.
- q. 3 dk eozinde bekletildi.
- r. Suda yıkandı.
- s. %50'lik etil alkolde 1 dk bekletildi.
- t. %70'lik etil alkolde 1 dk bekletildi.
- u. %80'lik etil alkolde 1 dk bekletildi.
- v. %90'lik etil alkolde 2 dk bekletildi.
- w. %100'lik etil alkolde 5 dk bekletildi.
- x. Kuruduktan sonra Ksilen I'de 1 dk bekletildi.
- y. Ksilen II'de 1 dk bekletildi.
- z. Entellan ile kapatıldı.

Kesitler daha sonra Olympus BX-51 ışık mikroskobu ve Olympus PP72 Digital Kamera ile incelenerek resimlendi.

3.6 Uçucu Yağ Elde Etme Yöntemi

Laboratuvar ortamında güneş almadan kurutulan bitkinin yaprak ve tohum kısımlarından Clevenger tipi cihazla yağ elde edilmiştir. Toz haline getirilen tohumlar Clevenger tipi cihazda 3 saat boyunca kaynatılmıştır. Elde edilen yağlar koyu renkli şişelere alınmış ve kullanım zamanına kadar +4 °C'de saklanmıştır (Umay 2007, Batish ve diğ. 2012).

3.7 Sekonder Bileşenlerin Tayini

İçerik analiz çalışması için elde edilen tohum yağı ve tohum kuru hali, MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ, Bilimsel ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi Müdürlüğü'ne gönderilmiştir. Toplam fenolik ve GC MS çalışma sonuçları oradan alınmıştır.

3.7.1 Toplam Fenolik Bileşen Miktar Tayin Yöntemi

Toplam fenolik madde hesaplaması için, PERKIN ELMER Lamda 25 spektrofotometre (USA) cihazı kullanılmıştır. Uygulanan aşamalar aşağıdaki gibidir.

Hesaplama: Toplam fenolik bileşik miktarı (gallik asit eşdeğeri) (Singleton ve Rossi 1965).

- Tüplere 2.4 ml saf su konulur.
- 40 mikrolitre ekstrakt ilave edilir.
- 200 mikrolitre Folin ciocalteu konulur.
- Ardından bir önceki aşama ile arasında 30 saniye ile 7.5 dakika arasında olmak koşulu ile 600 mikrolitre oda sıcaklığına getirilmiş doymuş sodyum karbonat ilave edilir.
- 760 mikrolitre saf su konulur, Vortekslenir.
- 2 saat karanlıkta oda sıcaklığında bekletilir.
- Spektrofotometrede 765 nm de okuma yapılır.

3.7.2 GC MS Analiz Yöntemi

GC MS analizi için kullanılan cihaz, Agilent Marka gaz kromatografi/kütle spektroskopisi (AGILENT 5975 C AGILENT 7890A GC) dir. Program: MSDCHEM dir. Kolon: CPWAX 52CB (50 m*0,32 mm*0,20) Çalışma Sıcaklığı: Fırın başlangıç sıcaklığı 60°C'dir. 60°C'de 2dakika bekletildikten sonra dakikada 2°C'lik artışla 220°C'ye çıkılmıştır. Bu sıcaklıkta 20 dakika beklenmiştir. Dedektör ve enjektör sıcaklığı 250°C dir (Ulusoy ve diğ. 2009).

3.7.3 HPLC Analiz Yöntemi

HPLC analizinde ekstraksiyon örneği için, 5 gr numune alınmış, 300 mL hekzan ile Hot extraction sisteminde ekstrakte edilmiştir. Hekzan evapore edilmiş, kalıntı mobil fazda çözülmüş sisteme enjekte edilmiştir (Akpan ve diğ.). Kullanılan sistem, Shimadzu Prominence, marka HPLC (Tokyo, Japonya) dur (Ulusoy ve diğ. 2009).

CBM: 20ACBM

Dedektör: RF-10AXL Fluorescence (Ex 295 nm, Em 330 nm)

Kolon Fırını: CTO-10ASVp

Pompa: LC20 AT

Autosampler: SIL 20ACHT

Bilgisayar Programı: LC Solution

Mobil Faz: n-heptane/THF (% 95/5) (v/v)

Kolon: LunaSilica (250*4.6 mm, 5 mikron)

Akış Hızı: 1,2mL/dk

Enjeksiyon hacmi: 20 µL

3.8 Standart Disk Difüzyon Yöntemi

Tohum ve yapraktan elde edilen ekstraktların antimikrobiyal aktiviteleri standart disk difüzyon metodu ile tespit edilmiştir (Collins ve diğ. 1995, Murray ve diğ., 1995). Mikroorganizmaların yoğunlukları, 0,5 ml Mc Farland standardı (10^8 CFU/ml) kullanılarak hazırlanmıştır. Bakterilerin sıvı kültüründen 250 µl alınarak Müeller Hinton Agar'a (Difco) inoküle edilmiştir. Besiyeri üzerine, 10'ar µl ekstrakt emdirilmiş 6 mm çaplı standart steril diskler (Schleicher&Schuell) yerleştirilmiştir. Daha sonra, besiyerlerine mukayese amacıyla steril Ampisillin (AM, 10 mcg, Bioanalyse) ve Penisilin (P, 10 U, Bioanalyse) antibiyotikleri yerleştirilmiştir. Besiyerleri, $37\pm 0.1^\circ\text{C}$ ' de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda disklerin çevresinde oluşan inhibisyon zonlarının çapları mm olarak ölçülmüştür. Besiyerlerinin tamamı 121°C 'de 15 dk. sterilize edilmiştir. Bakterilerin aktifleştirilmesinde Nutrient Broth besiyeri, antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesinde de Müeller Hinton Agar besiyeri kullanılmıştır.

1) Nutrient Broth (Oxoid)

Pepton.....5 gr
Yeast ekstrakt.....2 gr
Meat ekstrakt.....1 gr
NaCl.....5 gr
Distile su.....1000 ml
pH..... 7.4

2) Müeller Hinton Agar besiyeri (Difco)

Meat infusion2 gr
Casein hydrolysate17.5 gr
Nişasta.....1.5 gr
Agar-agar.....13 gr
Distile su.....1000 ml
pH..... 7.4

4. BULGULAR

Bu çalışmada elde edilen bulgular aşağıda verilmiştir.

4.1 Yara İyileşmesi Deney Sonuçları

Deneyssel diyabet oluşturduğumuz sıçanlarda, yara iyileşmesi çalışmasında erkek ve dişilerin yara boyları 21 gün boyunca ölçülmüştür. Sonuçlar tablo ve grafiklerle desteklenmiştir.

Tablo 4.1: Dişi ve erkek sıçanların kontrol grubundaki 21 gün boyunca ölçülen yara boylarındaki değişim tablosu

Erkek ve Dişi Sıçanların 21 Gün Boyunca Yaralarının Değişimi (Kontrol)												
	Erkek Sıçanlar (mm)						Dişi Sıçanlar (mm)					
Gün	1	2	3	6	7	8	1	2	5	7	8	9
1	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
2	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
3	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
4	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
5	4.5	4	4	4	4	4	4	5	5	5	5	5
6	4.5	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
7	4	4	4	3.5	4	3.5	3.5	4	4	3	4	4
8	4	4	4	3.5	3.5	3	3	3	4	3	4	4
9	4	3	3.5	3.5	3	3	3	3	4	3	4	3
10	3	3	3.5	3	3	3	2.5	3	3	2	3	3
11	3	2	3	3	2.5	2.5	2	2	3	2	3	3
12	3	2	3	3	2.5	2.5	2	2	3	2	3	3
13	2	2	2.5	2.5	2	2	2	2	3	1.5	3	2
14	2	2	2	2.5	2	2	1.5	2	2	1.5	2	2
15	2	1	2	2	1.5	2	1.5	1	2	1.5	2	2
16	2	1	2	2	1.5	1.5	1.5	1	2	1.5	2	1
17	2	1	1	2	1.5	1.5	1	1	2	1	2	1
18	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
19	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
20	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1
21	1	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1

Tablo 4.2: Dişi ve erkek sıçanların Sham grubunun 21 gün boyunca ölçülen yara boylarında değişim tablosu

Erkek ve Dişi Sıçanların 21 Gün Boyunca Yaralarının Değişimi (Sham Grubu)												
Gün	Erkek Sıçanlar (mm)						Dişi Sıçanlar (mm)					
	1	2	3	6	7	8	1	2	5	7	8	9
1	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
2	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
3	5	5	5	4.5	5	5	4.5	5	5	5	5	5
4	5	5	5	4.5	4.5	5	4.5	5	5	5	5	5
5	5	4.5	4	4	4	4.5	4	4	5	5	5	4.5
6	5	4.5	4	4	4	4.5	4	4	4.5	4	4	4.5
7	4.5	4	4	3.5	4	4.5	3.5	4	4.5	4	4	4
8	4.5	4	4	3.5	3.5	4	3.5	4	4.5	4	4	4
9	4.5	4	3.5	3.5	3.5	4	3.5	3	4	3.5	3.5	4
10	4.5	4	3.5	3	3	4	3.5	3	4	3.5	3.5	4
11	4.5	4	3	3	3	3	3	3	4	3.5	3.5	3.5
12	4	3	3	3	3	3	3	2.5	4	3.5	3.5	3.5
13	4	3	2.5	2.5	2.5	3	3	2.5	3.5	3.5	3.5	3.5
14	4	3	2.5	2	2.5	2	3	2	3.5	3.5	3	3.5
15	4	3	2.5	2	2.5	2	2.5	2	3.5	3	3	3.5
16	3	2.5	2	2	2	2	2.5	2	3.5	3	3	3
17	3	2.5	2	1.5	2	1.5	2.5	1.5	3	3	2.5	3
18	3	2.5	2	1.5	1	1.5	2	1.5	3	3	2.5	3
19	2.5	2	1.5	1.5	1	1.5	2	1.5	2.5	2	2.5	2.5
20	2.5	2	1.5	1.5	1	1	1	1	2.5	2	2	2.5
21	2.5	2	1.5	1.5	1	1	1	1	2	2	2	2.5

Tablo 4.3: 65 mg/kg ekstrakt uygulan dişi ve erkek sıçanların 21 gün boyunca ölçülen yara boylarındaki değişim tablosu

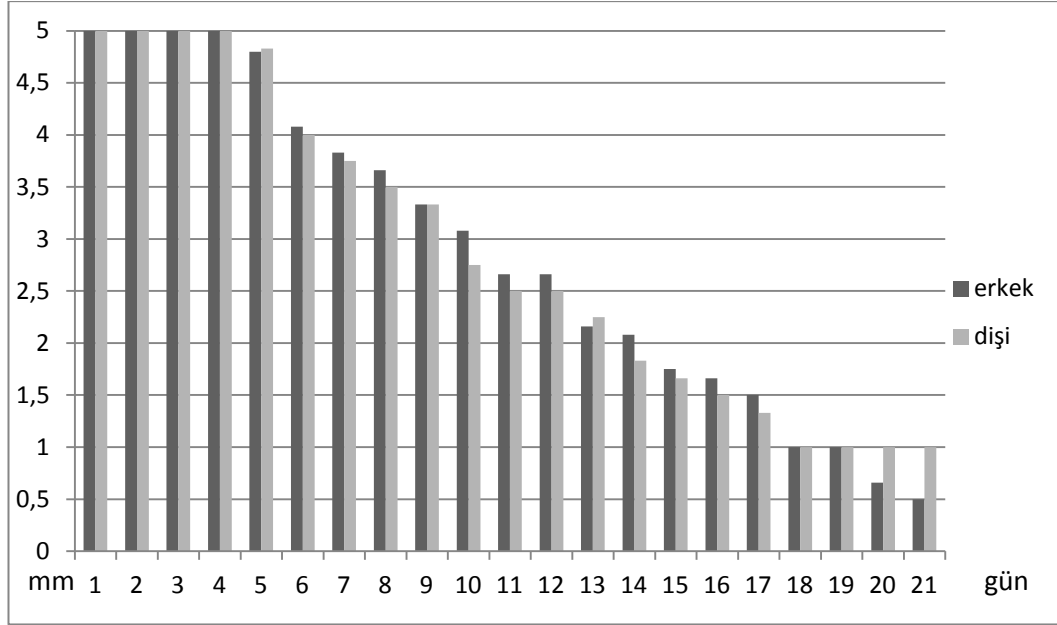
Erkek ve Dişi Sıçanların 21 Gün Boyunca Yaralarının Değişimi (65 mg/kg)												
Gün	Erkek Sıçanlar (mm)						Dişi Sıçanlar (mm)					
	1	2	3	6	7	8	1	2	5	7	8	9
1	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
2	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
3	4.8	4.8	4.8	4.8	4.5	4.5	4.5	4.5	4	4.2	4.2	4.2
4	4.8	4.8	4.8	4.5	4.5	4	4.5	4	4	3.5	3.8	3.8
5	4.5	4	4	4	4	4	4	4	3.5	3.5	3.5	3.5
6	4	3.5	4	4	4	4	4	3.5	3	3	3	3.5
7	4	3.5	4	3.5	4	3.5	3.5	3	2.8	3	3	3
8	4	3.5	4	3.5	3.5	3	3	3	2	2.5	3	3
9	4	3	3.5	3.5	3	3	3	2.5	2	2	2.5	2.5
10	3.5	3	3.5	3	3	3	2.5	2.5	2	2	2.5	2.5
11	3.5	3	3	3	2.5	2.5	2	2	1.5	1.5	2.5	2
12	3	2.8	3	3	2	2.5	2	2	1.5	1.5	2	2
13	3	2.8	2.5	2.5	2	2	2	1.5	1	1.5	2	2
14	2.5	2.5	2	2	2	2	1.5	öldü	1	1	2	2
15	2	2.5	2	2	1.5	2	1.5	öldü	1	1	2	2
16	2	2	2	2	1.5	2	1	öldü	1	1	2	1.5
17	1.5	2	1.5	1	1.5	1.5	1	öldü	1	1	1.5	1.5
18	1	1	1	1	1	1.5	0	öldü	0	0	1	1
19	0	1	1	0	1	1	0	öldü	0	0	1	1
20	0	1	0	0	1	0	0	öldü	0	0	0	0
21	0	1	0	0	0	0	0	öldü	0	0	0	0

Tablo 4.4: 265 mg/kg ekstrakt uygulanan dişi ve erkek sıçanların 21 gün boyunca ölçülen yara boylarındaki değişim tablosu

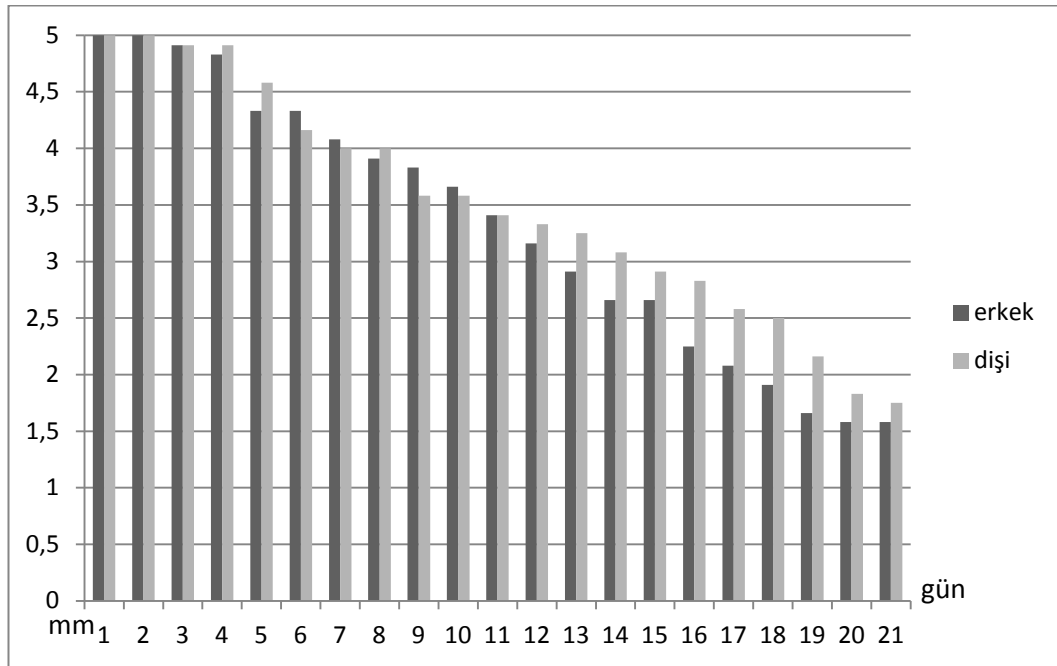
Erkek ve Dişi Sıçanların 21 Gün Boyunca Yaralarının Değişimi (265 mg/kg)												
Gün	Erkek Sıçanlar (mm)						Dişi Sıçanlar (mm)					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
2	5	5	4.8	4.8	4.8	4.8	5	5	5	5	5	5
3	4.8	4.5	4.5	4.5	4.5	4.8	4.5	4.5	5	5	5	5
4	4.5	4.5	4.5	4.5	4.5	4.5	4.5	4.5	4.5	4.5	5	4.5
5	4.5	4.5	4.5	4.5	4.5	4.5	4	4	4.5	4.5	4.8	4.5
6	4.5	4	4.5	4	4	4	4	4	4.5	4.5	4.8	4.5
7	4	4	4.5	4	4	3.5	3.5	4	4	4	4.5	4
8	4	4	4	4	4	3	3	3.5	4	4	4.5	4
9	3.5	3	4	3.5	4	3	3	3.5	3.5	3.5	4.5	4
10	3.5	3	3.5	3.5	3.5	3	2.5	2.5	3	3	4.5	4
11	3.5	3	3	3	3.5	3	2.5	2	2	2	4.5	3.5
12	3	2.5	3	3	3.5	3	2	2	1.5	1.5	4	3.5
13	3	2.5	2.5	2.5	3	2.5	2	1.5	1	1.5	4	öldü
14	3	2.5	2	2	3	2	1.5	1.5	1	1	2	öldü
15	2.5	2.5	2	2	2.5	2	1.5	1.5	0	1	2	öldü
16	2.5	2	2	2	2	2	1	1	0	1	2	öldü
17	2	2	1.5	1.5	2	1.5	1	1	0	0	1.5	öldü
18	2	1	1.5	1	1	1	0	1	0	0	1.5	öldü
19	2	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	öldü
20	2	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	öldü
21	2	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	öldü

Tablo 4.5: 465 mg/kg ekstrakt uygulan dişi ve erkek sıçanların 21 gün boyunca ölçülen yara boylarındaki değişim tablosu

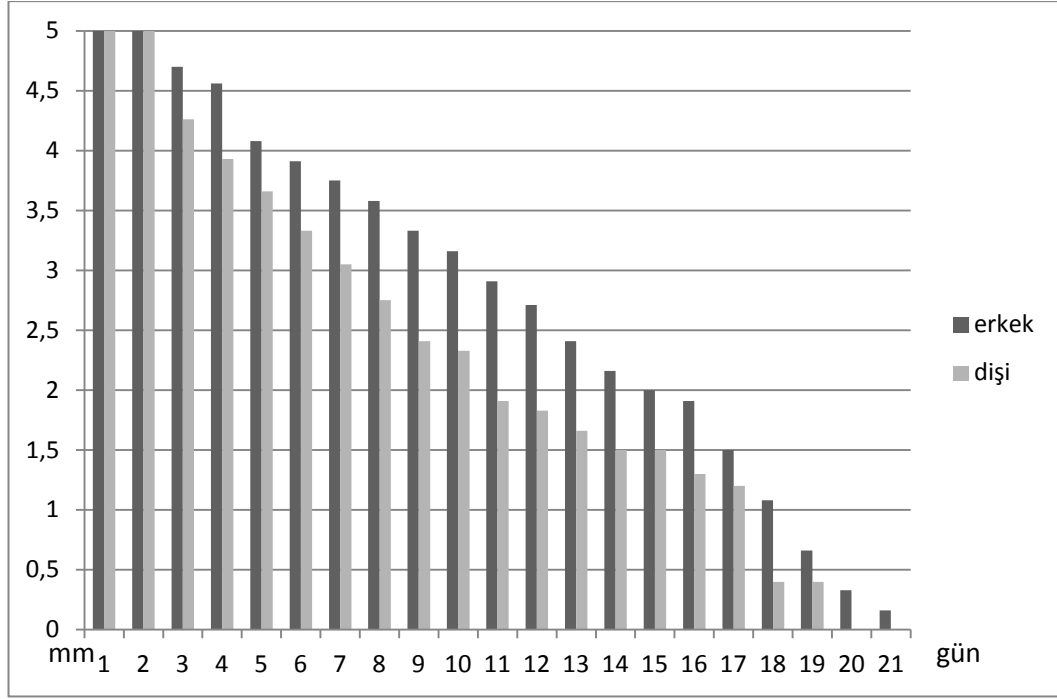
Erkek ve Dişi Sıçanların 21 Gün Boyunca Yaralarının Değişimi (465 mg/kg)												
Gün	Erkek Sıçanlar (mm)						Dişi Sıçanlar (mm)					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
2	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
3	5	5	5	5	5	4.8	4.5	4.5	5	5	5	5
4	5	5	5	5	4.8	4.5	4.5	4.5	4.5	4.5	4.8	4.5
5	5	4.5	4.5	4.5	4.8	4.5	4	4	4.5	4.5	4.8	4.5
6	5	4.5	4.5	4.5	4.8	4.5	4	4	4.5	4.5	4.5	4
7	4.5	4.5	4.5	4.5	4.5	4	3.5	4	4	4	4.5	4
8	4.5	4.5	4	4	4.5	4	3.5	3.5	4	4	4.5	4
9	4	4	4	4	4.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	4	3.5
10	4	4	3.5	4	4	3	3	öldü	3.5	3.5	4	3.5
11	4	3	3	3	4	3	3	öldü	3	3.5	3.5	3
12	3	3	3	3	3	2.5	3	öldü	3	3	3.5	3
13	2.5	2.5	2.5	2.5	2	2.5	2.5	öldü	3	3	3.5	2
14	2.5	2.5	2.5	2	1	2	2.5	öldü	3.5	öldü	3	2
15	2	2	2	2	1	2	2.5	öldü	3.5	öldü	3	2
16	2	2	1	1.5	0	1.5	2	öldü	3	öldü	3	1.5
17	1	1	1	öldü	0	1.5	2	öldü	3	öldü	2.5	1.5
18	0	0	0	öldü	0	1	2	öldü	2.5	öldü	2.5	1.5
19	0	0	0	öldü	0	0	1.5	öldü	2.5	öldü	2.5	1.5
20	0	0	0	öldü	0	0	1.5	öldü	2	öldü	2	1
21	0	0	0	öldü	0	0	1.5	öldü	2	öldü	2	1



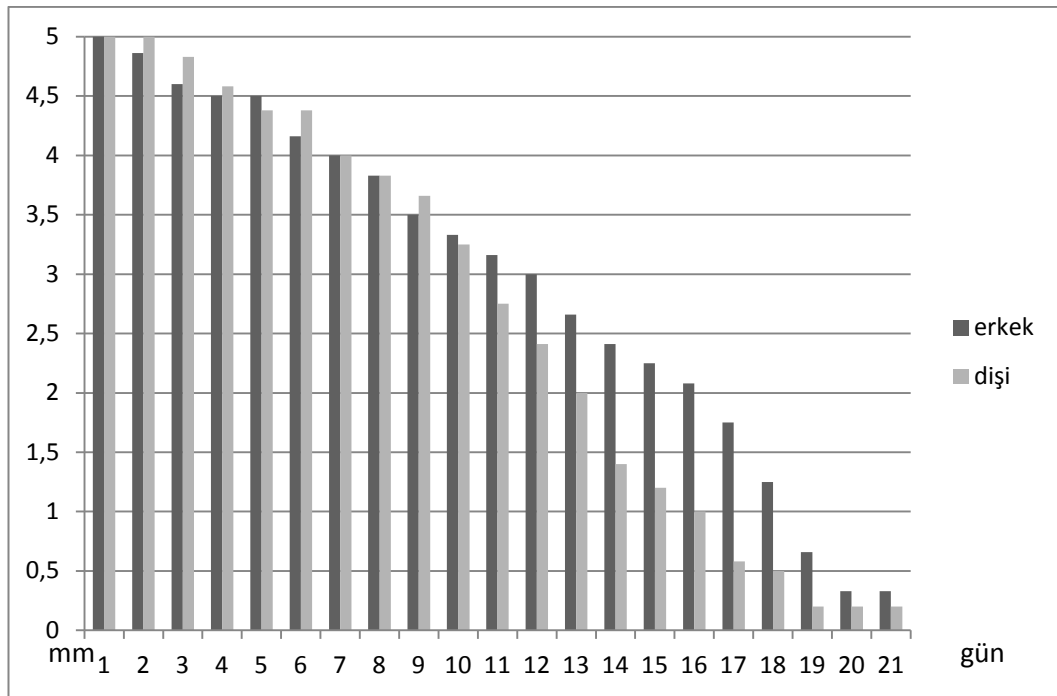
Şekil 4.1: Kontrol grubundaki erkek ve dişi sıçanların 21 gün boyunca yara boylarındaki değişimin karşılaştırma grafiği



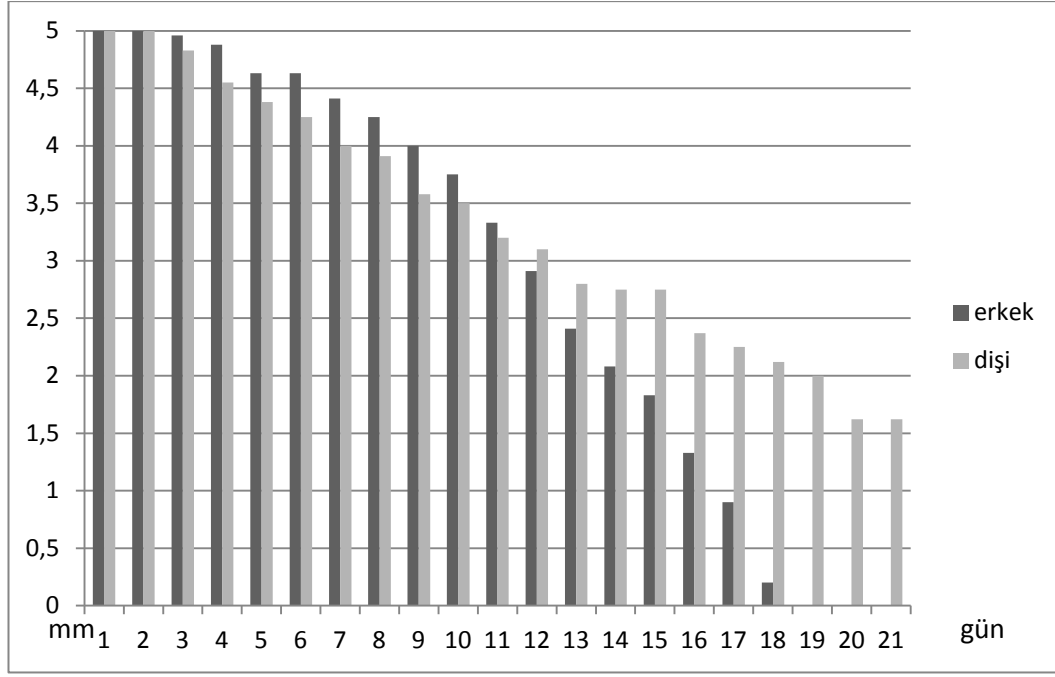
Şekil 4.2: Sham grubundaki erkek ve dişi sıçanların 21 gün boyunca yara boylarındaki değişimin karşılaştırma grafiği



Şekil 4.3: 65 mg/kg ekstrakt uygulanan erkek ve dişi sıçanların 21 gün boyunca yara boylarındaki değişimin karşılaştırma grafiği

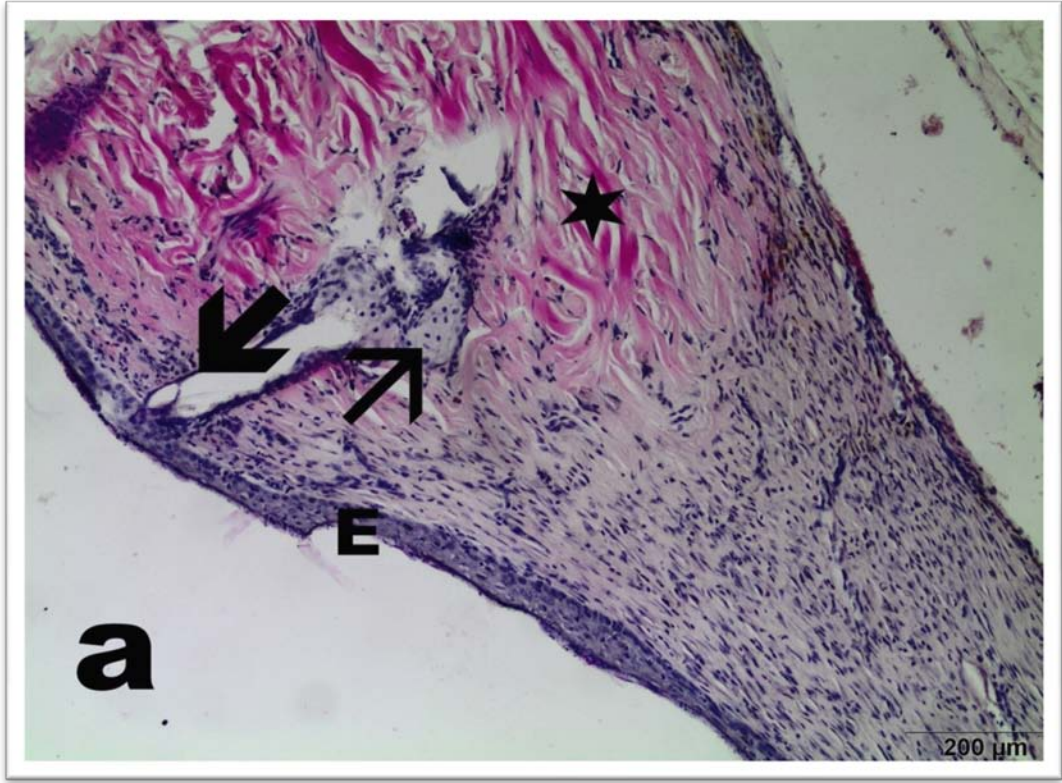


Şekil 4.4: 265 mg/kg ekstrakt uygulanan erkek ve dişi sıçanların 21 gün boyunca yara boylarındaki değişimin karşılaştırma grafiği

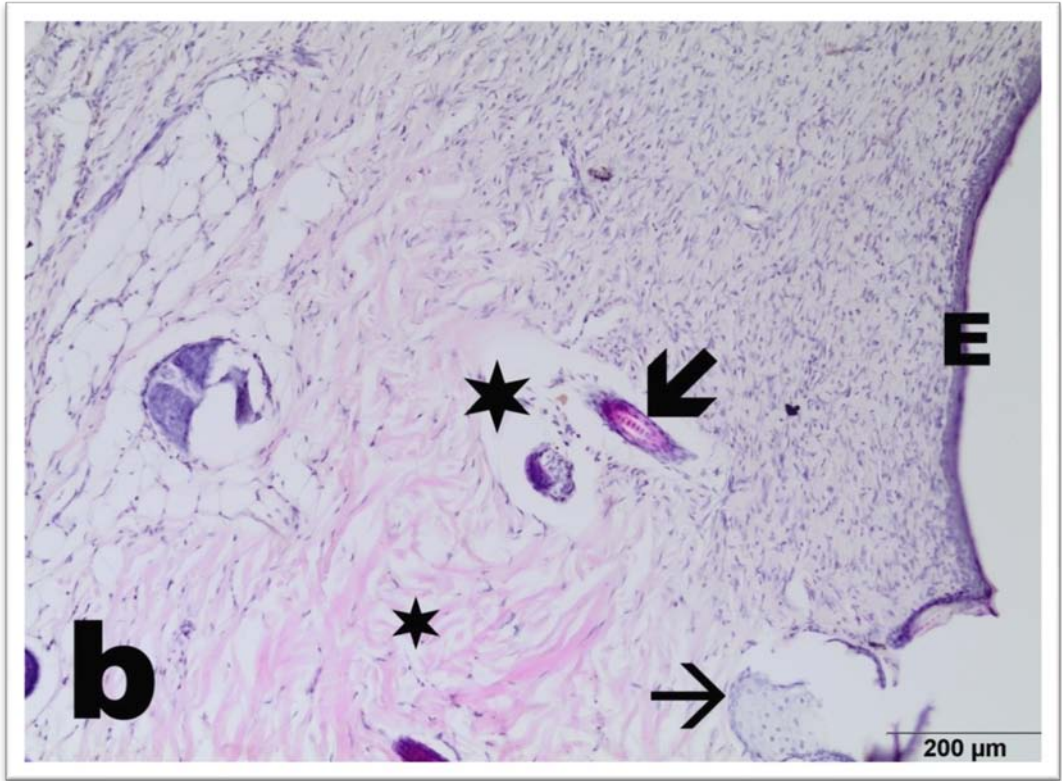


Şekil 4.5: 465 mg/kg ekstrakt uygulanan erkek ve dişi sıçanların 21 gün boyunca yara boylarındaki değişimin karşılaştırma grafiği

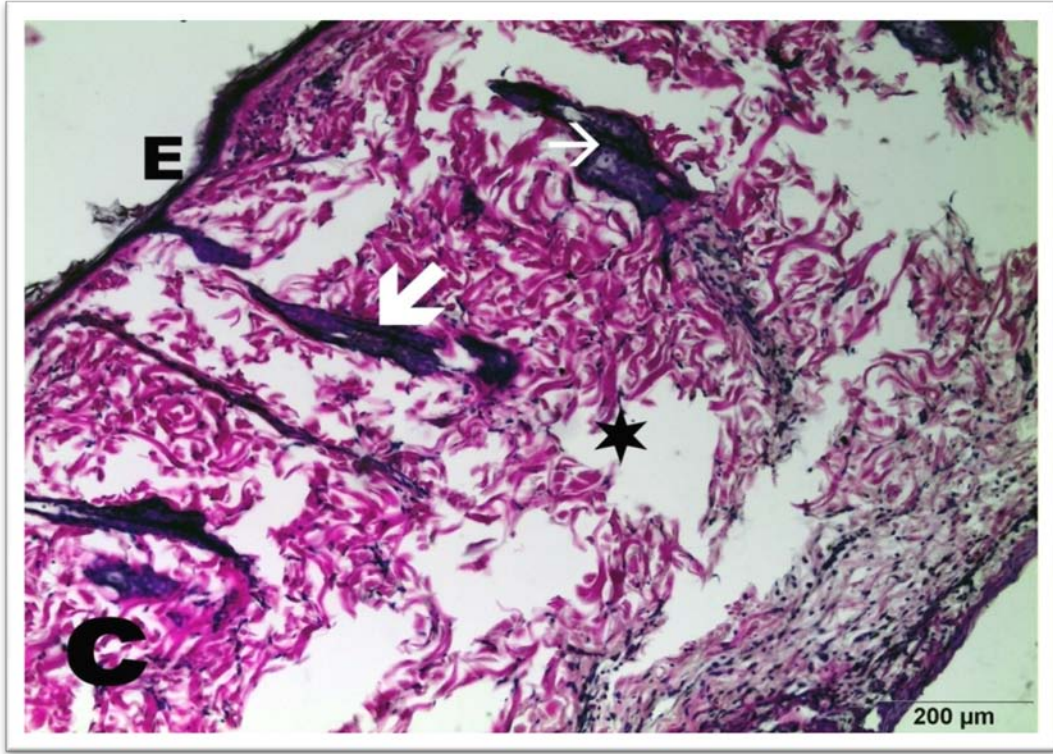
İstatksel hesaplamalar Minitap 17 programında yapılmıştır ve gruplar arasında anlamlı farklar olduğu görülmüştür. $p < 0.05$ şekilde bulunmuştur. Dişi ve erkek grupları arasındaki farkı anlamak için grafik üzerinde de karşılaştırılmalı olarak gösterilmiştir. Grafiğe bakıldığında erkek sıçanların dişi sıçanlara oranla yaralarındaki kapanmanın daha hızlı ve kısa sürede kapandığı da görülmektedir.



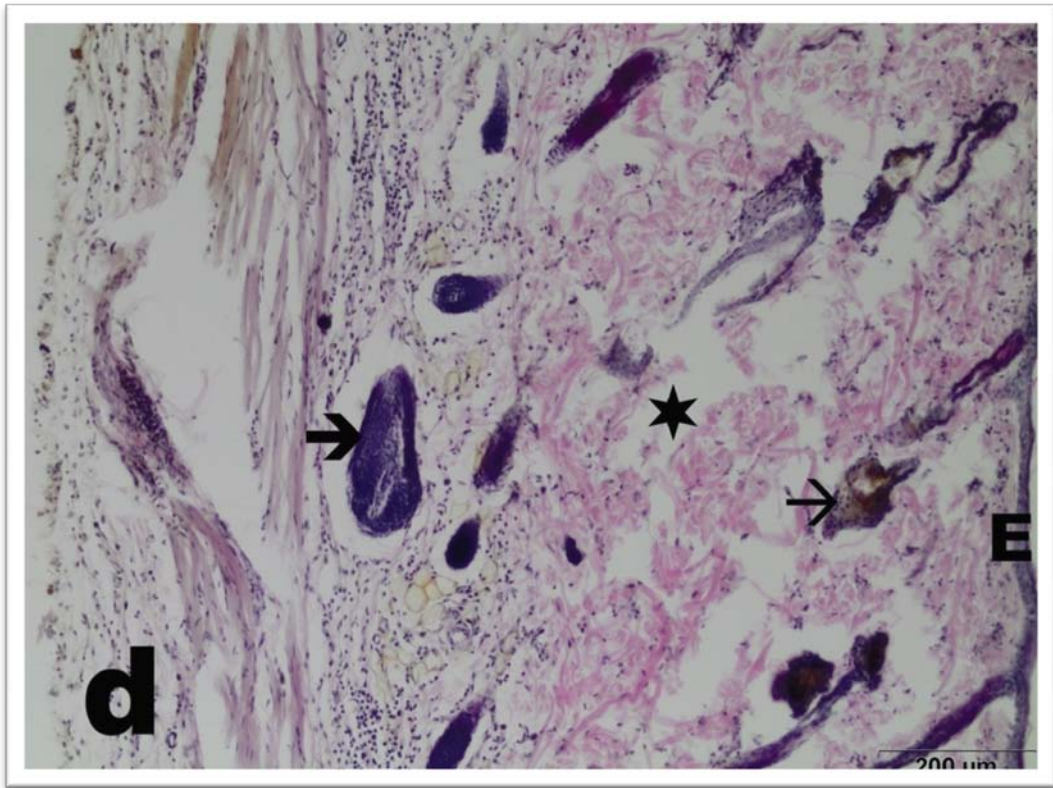
Şekil 4.6: Kontrol grubu dişi sıçan derisi HE Boyama (Kalın ok: Kıl folükülü, İnce ok: Yağ bezi, Yıldız: Kolejen Lif Demetleri arasındaki boşluk, E: Epidermis)



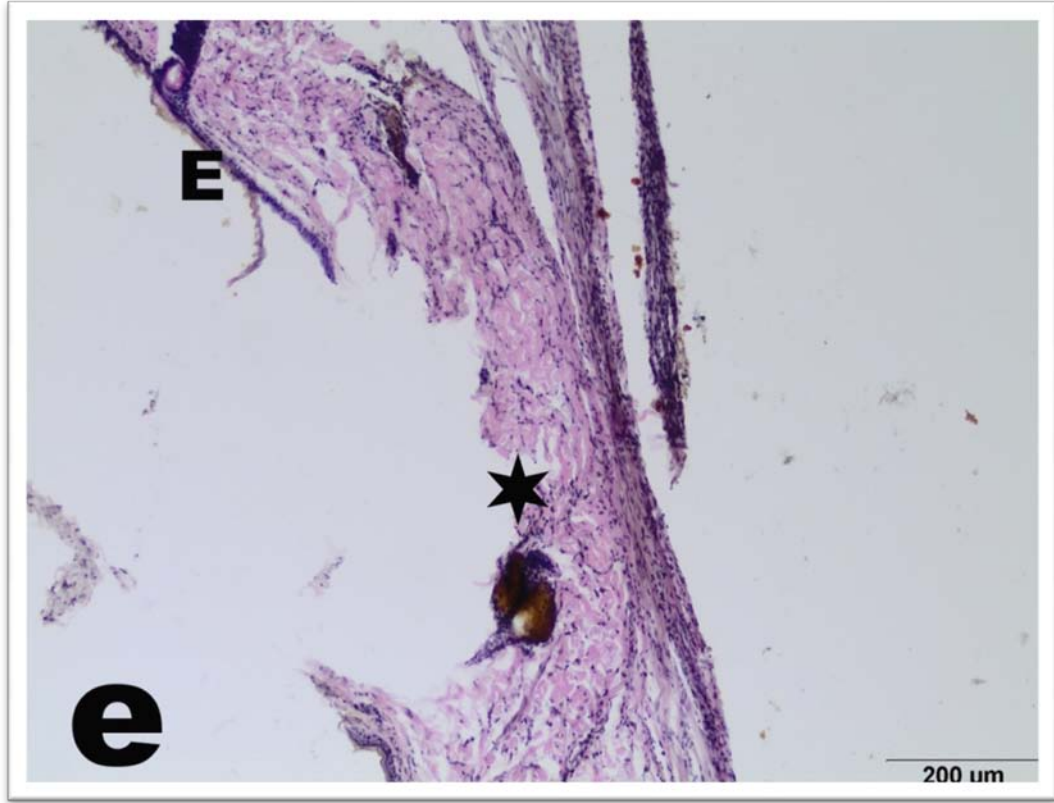
Şekil 4.7: Sham grubu dişi sıçan derisi HE boyama (Kalın ok: Kıl folükülü, İnce ok: Yağ bezi, Yıldız: Kolejen Lif Demetleri arasındaki boşluk, E: Epidermis)



Şekil 4.8: 65 mg/kg doz grubu dişi sıçan derisi HE boyama (Kalın ok: Kıl folükülü, İnce ok: Yağ bezi, Yıldız: Kolejen Lif Demetleri arasındaki boşluk, E: Epidermis)



Şekil 4.9: 265 mg/kg doz grubu dişi sıçan derisi HE boyama (Kalın ok: Kıl folükülü, İnce ok: Yağ bezi, Yıldız: Kolejen Lif Demetleri arasındaki boşluk, E: Epidermis)



Şekil 4.10: 465 mg/kg doz verilmiş dişi sıçan derisi HE boyama (Yıldız: Kolejen Lif Demetleri arasındaki boşluk, E:Epidermis)

Dişi sıçan deri boyama grup sonuçlarına bakıldığında,

Kontrol grubu diabetik yaranın oluştuğu alanda dermiste birbirine paralel seyreden kollejen liflerin kalın demetler oluşturduğu dikkati çaktı. Bu demetler her yöne uzanmaktaydı ve demetler arasında düzensiz boşluklar oluştuğu izlendi. Bu bölgede hücrelerin sayısının çok az olduğu hatta hiç olmadığı gözlemlendi (Bkz Şekil 4.6).

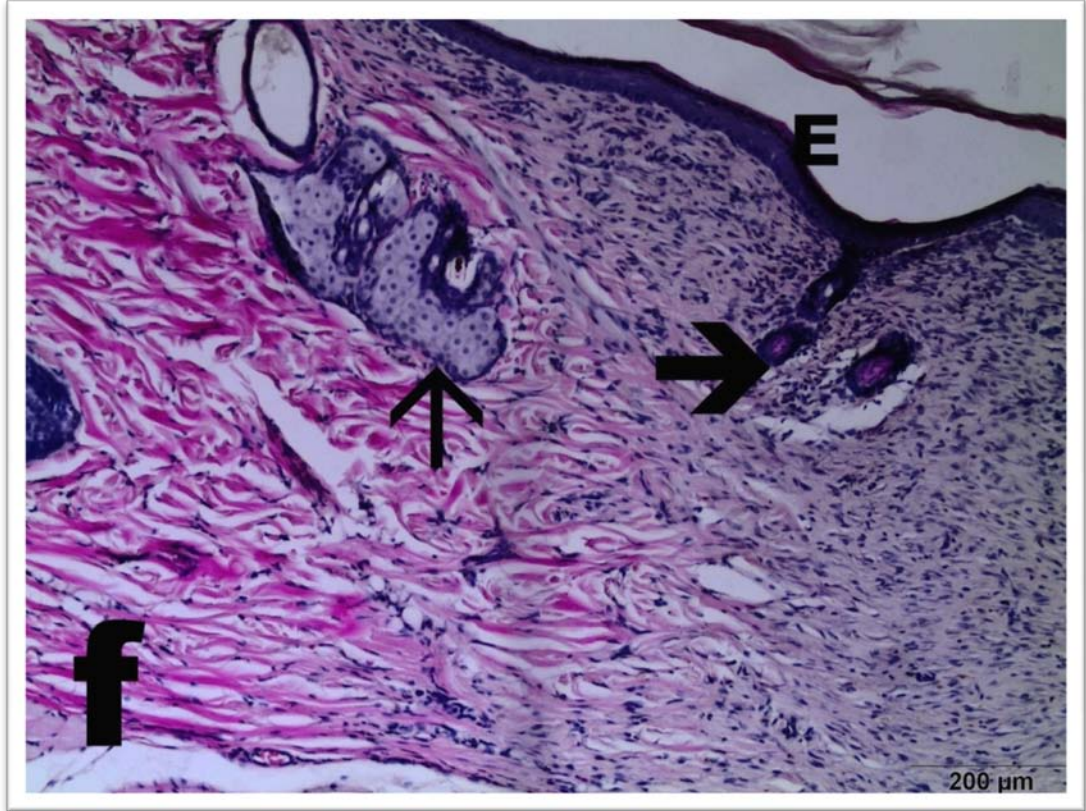
Sham grubu dişi sıçanlarda dermiste kalın kollejen lif demetleri varlığını devam ettirmekteydi. Kıl follikülleri ve yağ bezleri de bu grupta varlığını sürdürmekteydi ancak yapılar arasında boşluklar oluştuğu ve doku bütünlüğünün kaybolduğu izlendi (Bkz Şekil 4.7).

65 mg/kg Hayıt yaprak ekstreği uygulanan grupta kalın kollajen lif demetlerinde artış olduğu dikkati çaktı. Kalın lif demetleri arasında bir düzen yoktu yer yer geniş boşluklar oluşmuştu. Doku bütünlüğü bu grupta da yoktu. Epidermis, kıl follikülleri ve yağ bezleri bu grupta da izlenmeye devam ediyordu. (Bkz Şekil 4.8).

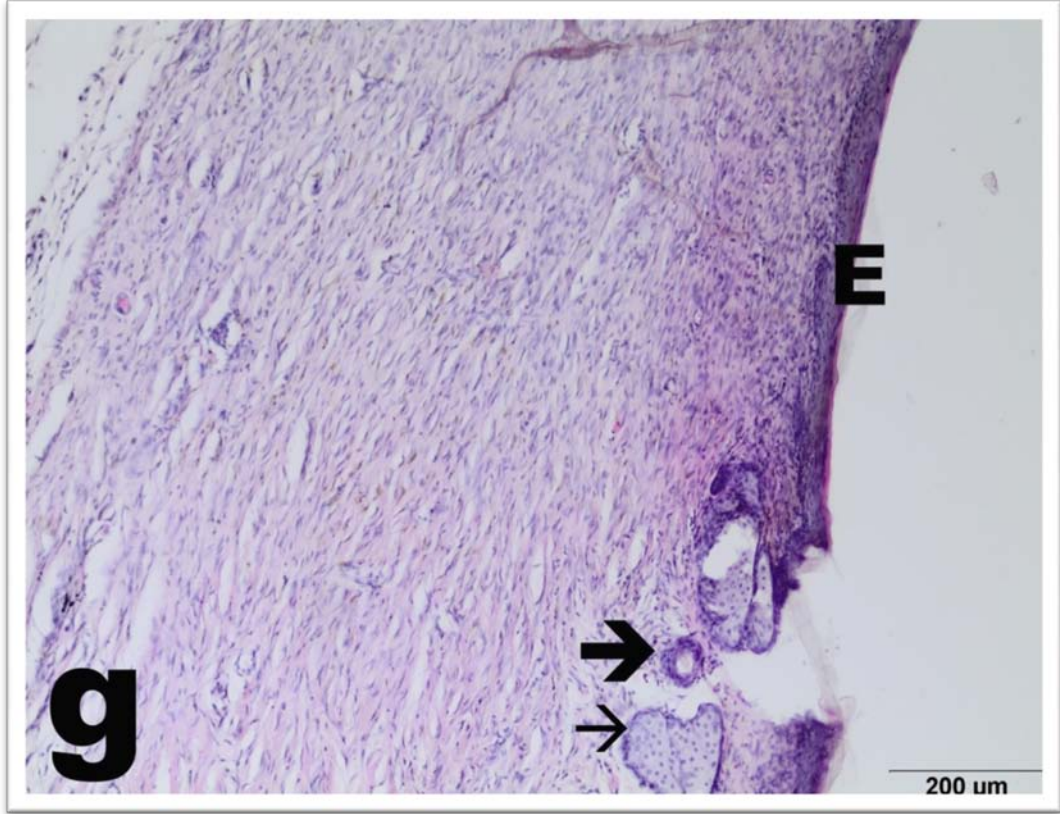
265 mg/kg Hayıt yaprak ekstratı uygulanan dişi sıçan grubu, 65 mg/kg hayıt ekstratı uygulanan gruba göre daha korunmuş olarak izlendi. Kalın kollajen demetleri, demetler arasında izlenen boşluklar varlığını sürdürse de daha azdı. Epidermis, kıl follikülleri ve yağ bezleri bu grupta da izlenmeye devam etti (Bkz Şekil 4.9).

465 mg/kg Hayıt yaprak ekstratı uygulanan dişi grupta ise diğer gruplardan daha kötü görünümdeydi. Epidermiste devamlılık ve dermiste doku bütünlüğü kaybolmuştu. Kıl follikülleri ve yağ bezleri bu grupta izlenemedi (Bkz Şekil 4.10).

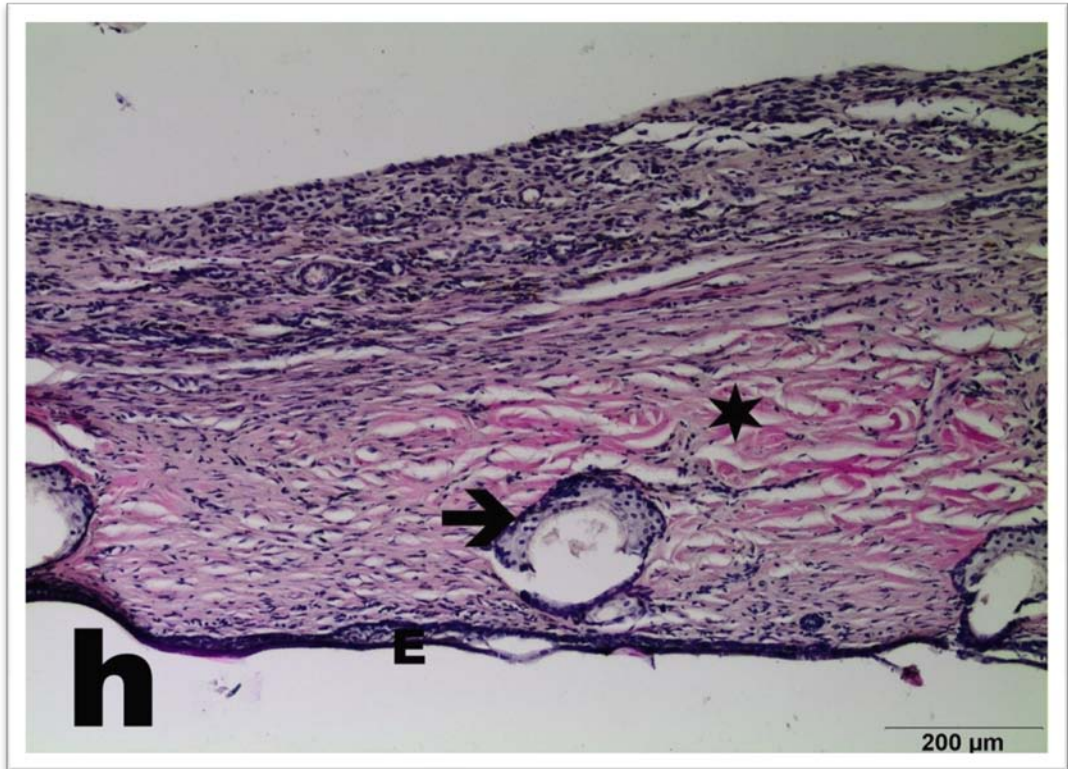
Sonuçlar karşılaştırıldığında en iyi iyileşmenin 265 mg/kg uygulanan doz grubunda olduğu görülmektedir.



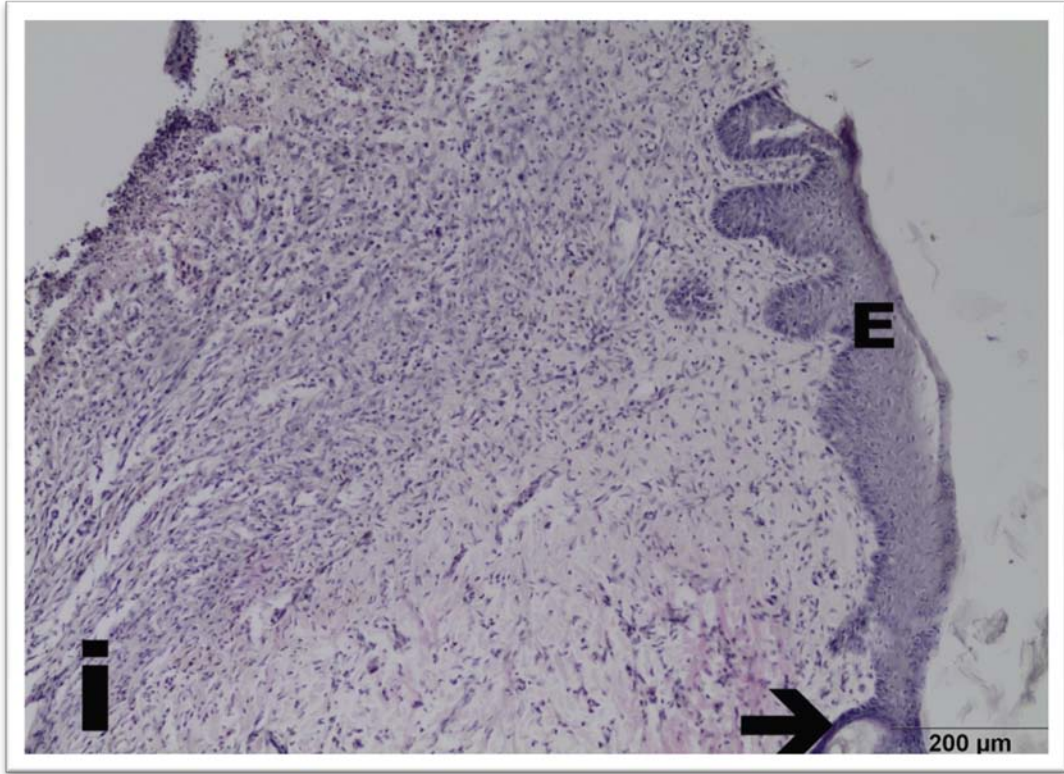
Şekil 4.11: Kontrol grubu erkek sıçan derisi HE Boyama (Kalın ok: Kıl folükülü, İnce ok: Yağ bezi, E: Epidermis)



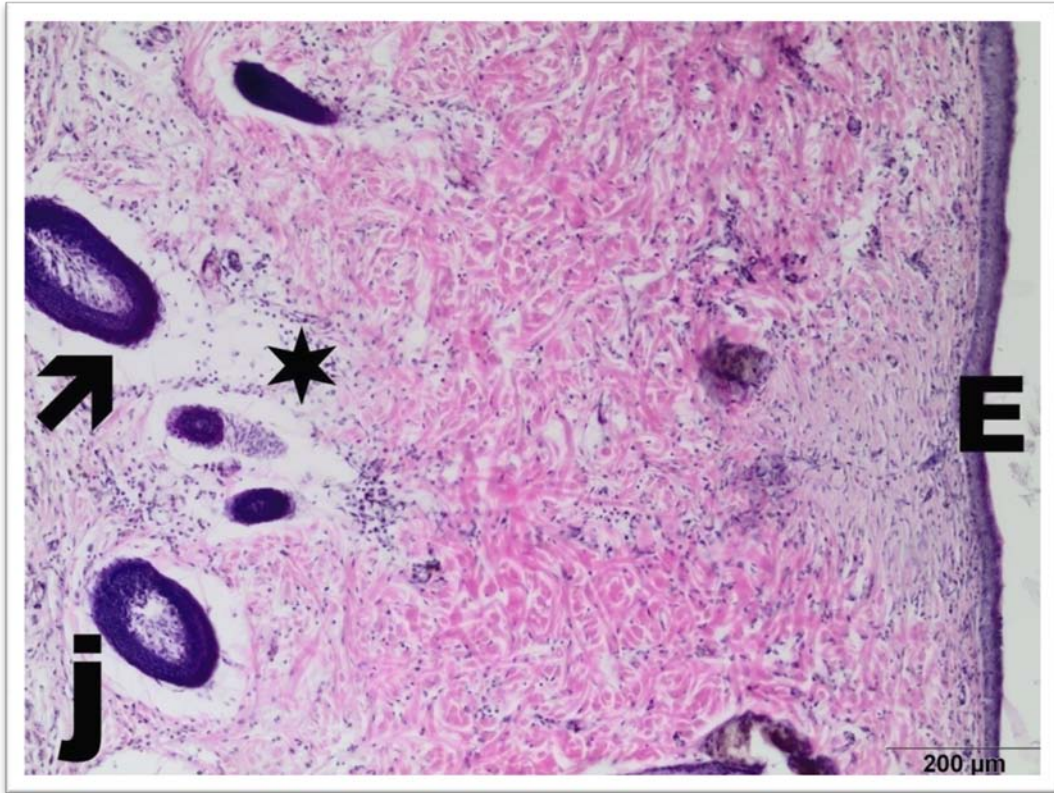
Şekil 4.12: Sham grubu erkek sıçan derisi HE Boyama (Kalın ok: Kıl folükülü, İnce ok: Yağ bezi, E: Epidermis)



Şekil 4.13: 65 mg/kg doz verilmiş erkek sıçan derisi HE Boyama (Kalın ok: Kıl folükülü, Yıldız: Kolejen Lif Demetleri arasındaki boşluk, E:Epidermis)



Şekil 4.14: 265 mg/kg doz verilmiş erkek sıçan derisi HE Boyama (Kalın ok: Kıl folükülü, E: Epidermis)



Şekil 4.15: 465 mg/kg doz verilmiş erkek sıçan derisi HE Boyama (Kalın ok: Kıl folükülü, Yıldız: Kolejen Lif Demetleri arasındaki boşluk, E: Epidermis)

Gruplar karşılaştırıldığında erkek sıçanlardan elde edilen sonuçların dişi sıçanlara oranla daha iyi olduğu görülmüştür.

Erkek sıçan deri boyama sonuçlarına bakıldığında,

Kontrol grubu diabetik erkek sıçanlarda yaranın olduğu alandaki görünüm dişi sıçanlarınkine oldukça yakındı. Bu grupta da dermiste birbirine paralel seyreden kollejen liflerin düzensiz seyreden kalın demetler oluşturduğu dikkati çekti. Bu demetler her yöne uzanmaktaydı ve demetler arasında düzensiz boşluklar vardı.

Sham grubunda kalın kollajen lif demetlerinin olmadığı gözlemlendi. Yaranın dermiste kapandığı ancak epidermiste henüz kapanmadığı dikkati çekti.

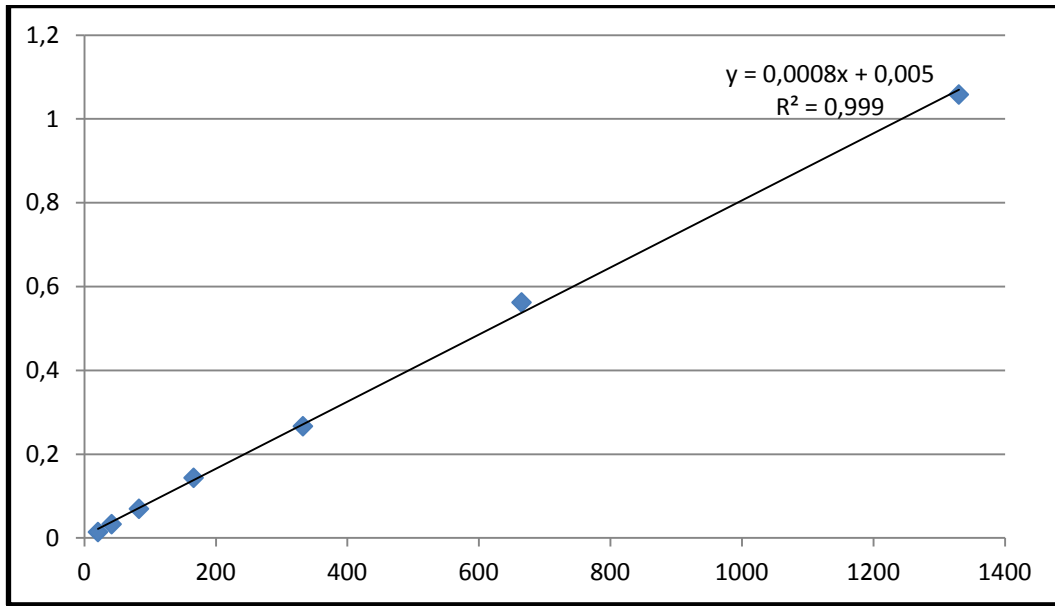
65 mg/kg Hayıt yaprak ekstratı uygulanan erkek sıçanların deri dokusunda dermistekalın kollajen lif demetlerin varlığını devam ettirdiği doku bütünlüğünün yer yer bozulduğu dikkati çekti.

265 mg/kg ve 465 mg/kg Hayt yaprak ekstratı uygulanan grupların diğer gruba karşı daha iyi görüldüğü izlendi. Bu gruplarda kalın kollajen lif demetlerinin çok azaldığı hatta 465 mg/kg Hayıt yaprak ekstratı uygulanan grupta tamamen kaybolduğu izlendi. Dokular arasında oluşan boşlukların kapandığı ve doku bütünlüğünün korunduğu dikkat çekiciydi. Epidermiste devamlılık ve kıl folliküllerinde ve yağ bezlerinde normale yakın görünüm gözlemlendi.

4.2 Toplam Fenolik Analiz Sonuçları

Ekstraksiyonu yapılan hayıt bitkisinin Toplam Fenolik miktarları grafik olarak aşağıda gösterilmiştir.

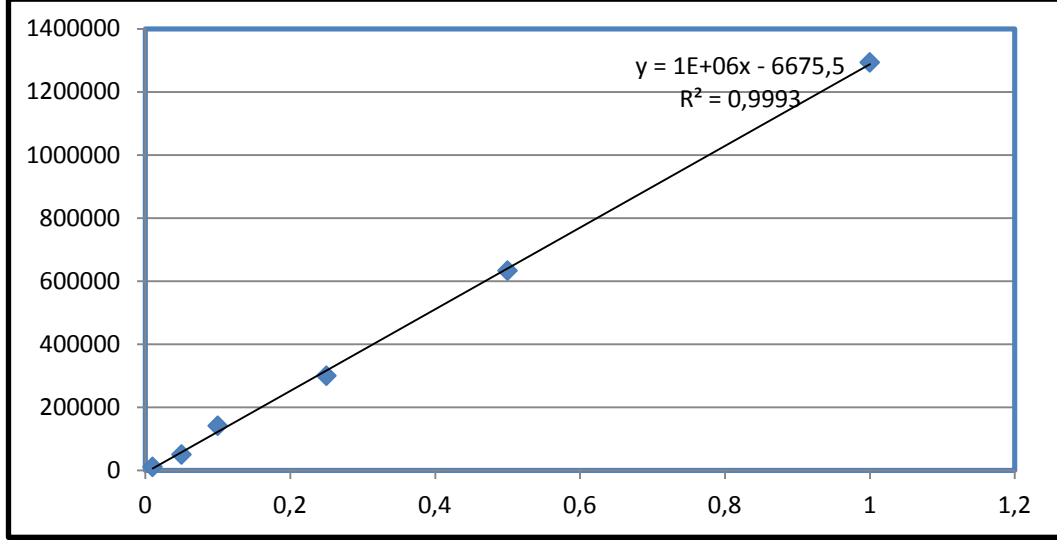
	$\mu\text{g gallic acid equivalents /g Fresh weight}$
Numune	781,22



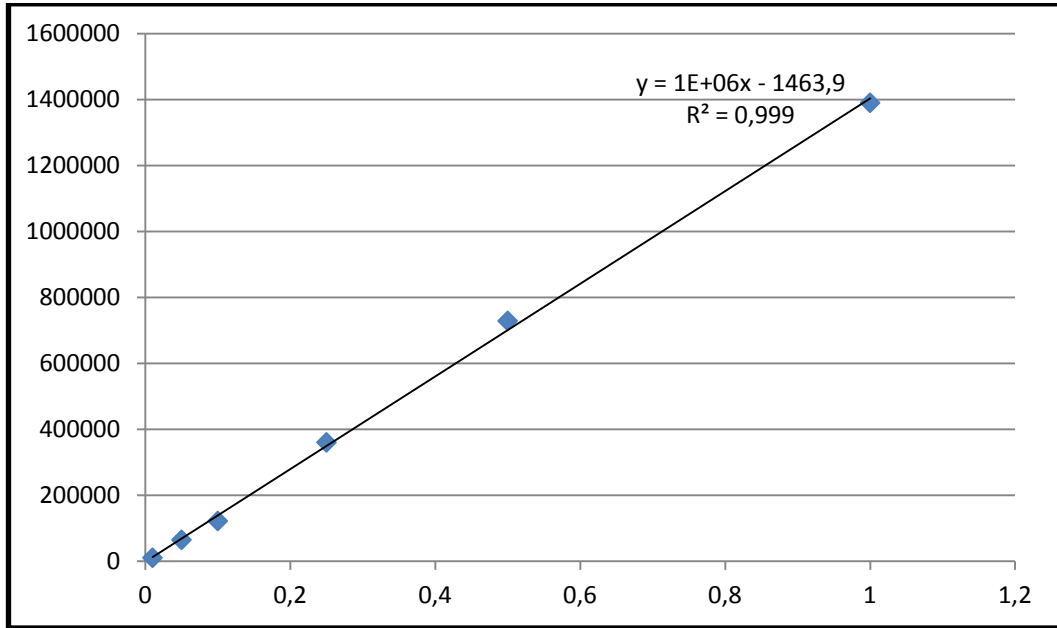
Şekil 4.16: Toplam Fenolik çalışmasına ait kalibrasyon grafiği

Numune adı	alpha -toc (mg/kg) (1)	beta -toc(mg/kg) (2)	gamma -toc (mg/kg) (3)	delta -toc (mg/kg) (4)
numune	1,013	0,296	0,191	0,124

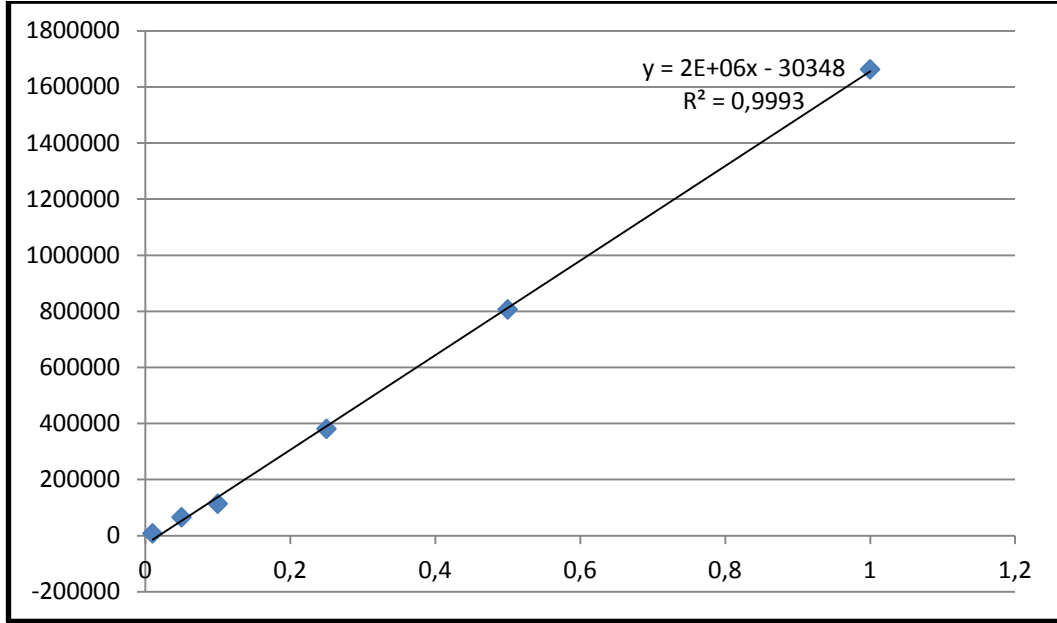
Parametre	alpha -toc	beta -toc	gamma -toc	delta -toc
Rt	2,5	4,8	5,2	7,5
LOD(mg/kg)	0,003	0,003	0,003	0,003



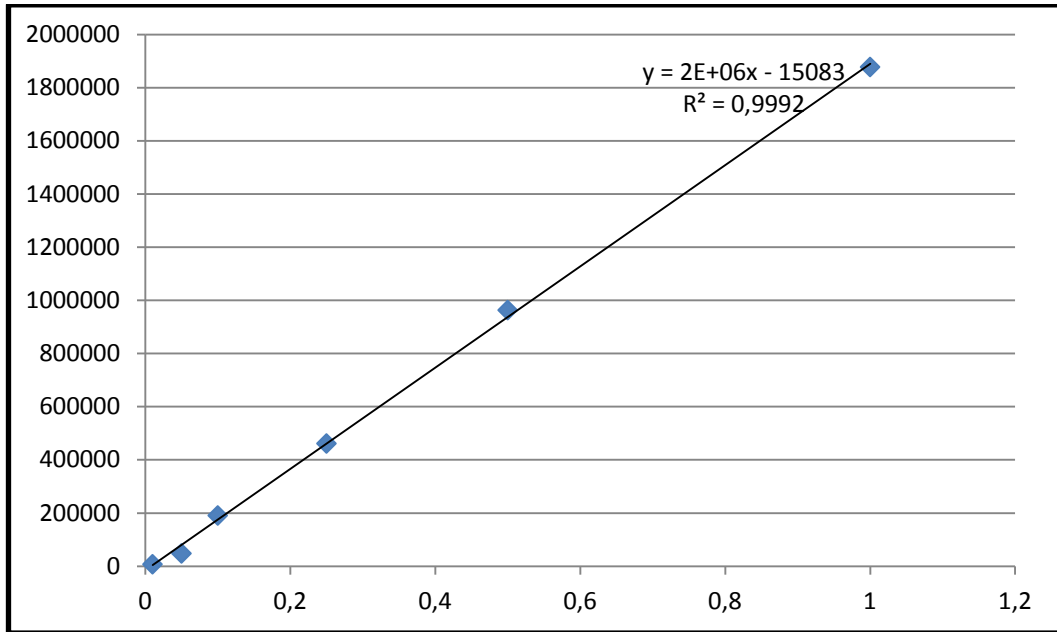
Şekil 4.17: Alpha-Tokoferol çalışmasına ait kalibrasyon grafiği



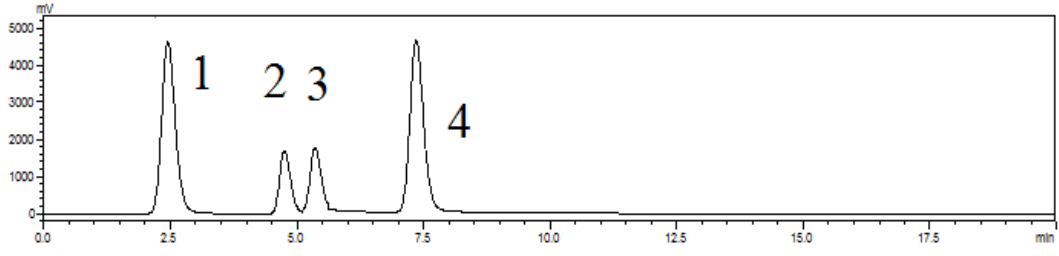
Şekil 4.18: Beta-Tokoferol çalışmasına ait kalibrasyon grafiği



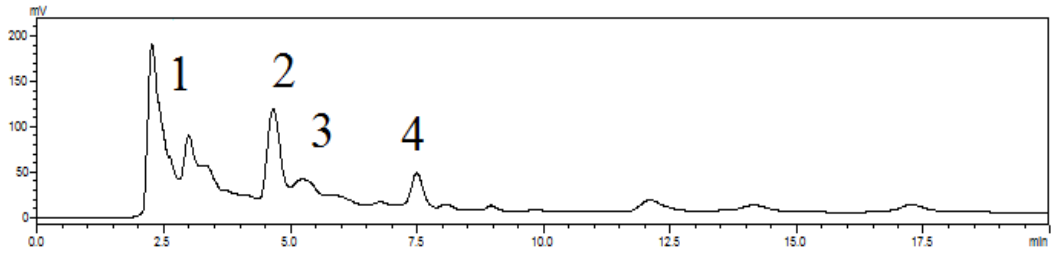
Şekil 4.19: Gamma-Tokoferol çalışmasına ait kalibrasyon grafiği



Şekil 4.20: Delta-Tokoferol çalışmasına ait kalibrasyon grafiği



Şekil 4.21: Tokoferol Mix kromatogramı



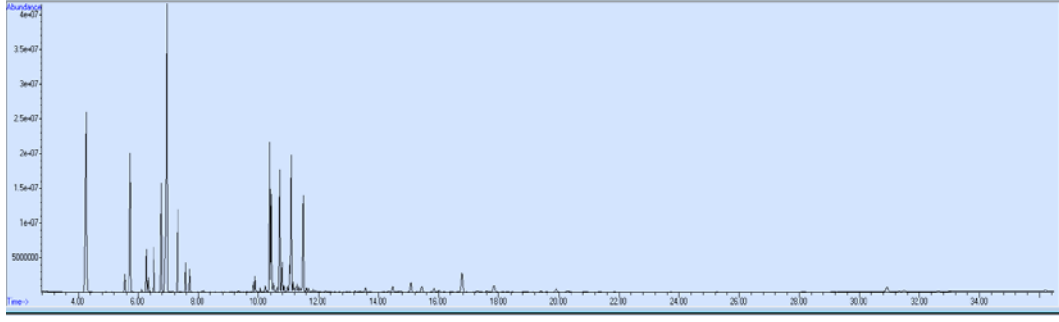
Şekil 4.22: Tokoferol Numune kromatogramı

4.3 GC MS Analiz Sonuçları

Hayıt tohumu içerisindeki uçucu yağ bileşen sonuçları aşağıda verilmiştir.

Tablo 4.6: Hayıt tohum yağ içerisindeki uçucu bileşenlerin miktarları

Bileşen	Rt	% Oran
alpha-pinene	4,2	16,228
Camphene	4,9	0,034
Haxanol	5,1	0,016
Beta-pinene	5,5	1,142
Sabinene	5,7	8,332
Hexylacetate	6,1	0,127
Beta myrcene	6,2	2,206
Phallendrene	6,3	0,711
Alpha-terpinene	6,5	2,371
Limonene	6,7	5,856
Eucalyptaol (1,8 cineole)	6,9	20,125
Beta phallendrene	6,8	2,895
Gamma terpinene	7,3	3,849
1-methyl-4-(methylethyl)-benzene	7,5	1,272
Alpha-terpinolene	7,7	0,948
4-terpineol	10,3	6,171
Trans caryophyllene	10,4	4,033
Beta farnesene	10,7	5,486
Aromaadendrene	10,8	1,256
Alpha terpenylacetate	11,0	6,127
Bicyclogermacrene	11,4	4,748
Palustrol	13,5	0,309
Caryophylleneoxide	14,4	0,254
Ledol	15,0	0,805
Benzyl alkol	15,5	0,525
Spathulanol	16,7	2,045
Beta cububene	17,8	0,701



Şekil 4.23: GC MS Numune kromatogramı

Hayıt tohum yağı içeriğindeki bileşiklere bakıldığında en yüksek orandaki bileşiğin 1,8 sineol olduğu görülmektedir. Bunun yanında alfa-pinen bileşiği de fazla miktarda bulunmaktadır. 1,8 sineol bileşiğinin diğer adı ökaliptoldur.

4.4 Antibakteriyal Analiz Sonuçları

Antibakteriyal olarak yaptığımız çalışmada, Hayıt tohum ve yaprak yağlarının Gr (-) *Escherichia coli* ATCC 25922, Gr (-) *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, Gr (+) *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ve Gr (+) *Micrococcus luteus* NCIMB 13267 bakterileri üzerine olan etki sonuçları aşağıda resimlerle gösterilmiş ve tablo şeklinde verilmiştir (Tablo 4.7).



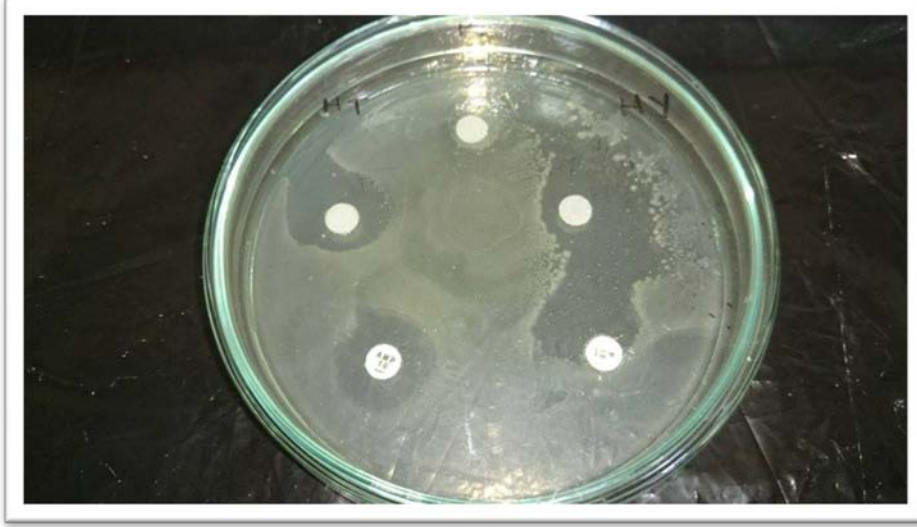
Şekil 4.24: Hayıt tohum ve yaprak yağının Gr (-) *Escherichia coli*'ye etkisi



Şekil 4.25: Hayıt tohum ve yaprak yağının Gr (-) *Pseudomonas aeruginosa*'ya etkisi

Gr (-) bakterilere baktığımızda *Escherichia coli* bakterisine uygulanan yağlardan, yaprak yağının tohuma oranla daha fazla inhibizyon zonu oluşturduğu

görülmektedir (Şekil 4.24). *Pseudomonas aeruginosa* bakterisinde ise tohum yağının daha fazla inhibizyon zonu oluşturduğu izlenmiştir (Şekil 4.25). Gr (+) olan *Staphylococcus aureus* bakterisi üzerinde yine yağrak yağının oluşturduğu inhibizyon zonunun daha fazla olduğu görülmektedir (Şekil 4.26).



Şekil 4.26: Hayıt tohum ve yaprak yağının Gr (+) *Staphylococcus aureus*'a etkisi



Şekil 4.27: Hayıt tohum ve yaprak yağının Gr (+) *Micrococcus luteus*'a etkisi

Tablo 4.7: Hayıt tohum ve yaprak yağının oluşturduğu inhibisyon çapları (cm)

	Hayıt Yaprak(cm)	Hayıt Tohum(cm)	Amp 10	P 10
<i>E. Coli</i>	4	3	3	yok
	2	1	1,5	1
	2,5	2	1,5	yok
<i>S.aureus</i>	1,1	1	3,3	1,1
	5	1,2	3	yok
	3	0,8	2	0,6
<i>P. aeureginosa</i>	yok	yok	1	1
	0,8	0,6	2,1	1,5
	yok	yok	yok	yok
<i>M.lutesus</i>	yok	yok	yok	yok
	yok	yok	yok	yok
	yok	yok	yok	yok

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında ülkemizde yayılış gösteren *Vitex agnus-catus* L.türü çalışılmıştır. Çalışmada deneysel diyabet oluşturulmuş sıçanlarda yara iyileşmesi etkisine bakılmış, ayrıca içeriğindeki sekonder bileşen zenginliğinin olması sebebiyle antibakteriyel etkisi araştırılmıştır. Tüm bunlara bağlı olarak toplam fenolik madde ve GC MS analizi yapılmış ve tohum uçucu yağ bileşenleri belirlenmiştir.

Vitex agnus-castus L. ile yapılan çalışmaların çoğu tohum, çiçek, yaprak gibi toprak üstü kısımların içerik analizleriyle ilgilidir. Menstruasyon döngüsünü düzenlemek başta olmak üzere, premenstrual sendrom belirtilerini azaltmak, progesteron, östrojen ve prolaktin seviyesini dengelemek, migren ağrılarını azaltmak gibi önemli hastalıkların tedavisinde eskiden beri kullanıldığı görülmektedir. Ayrıca, böcek ısırıklarının tedavisinde, antimikrobiyal, antifungal, anti-tümör etkilerinin olduğu rapor edilmiştir. Yapılan bu çalışmalardan bazıları aşağıda belirtilmiştir.

Yara iyileşmesi üzerine yapılan çalışmaya rastlamamış olmamız bizi bu çalışmayı yapmaya itmiş ve deney sonucunda olumlu yönde bir etkinin varlığı görülmüştür. Dişi ve erkek sıçan grupları arasında yara kapanma süresi arasında farklılıklar gözlenmiştir. Erkek sıçan gruplarında doz artışına bağlı olarak yara iyileşmesinin hızlandığı ve bu durumun ise dişilerde en iyi etkinin 265 mg/kg doz aralığında olduğu görülmüştür.

Isparta yöresinden toplanan *Vitex agnus-castus* L. bitkisi ile yapılan bir çalışmada, farklı zamanlarda toplanan çiçek ve meyve esansiyel yağlarının bileşenleri karşılaştırılmıştır. Çiçeklenme döneminde en etkili bileşiğin alfa pinen (%26.99) olduğu belirlenirken, meyve olgunlaşma döneminde 1,8 sineol (%28.34) olduğu bulunmuştur (Fakir ve diğ. 2014).

1,8 sineol hayıt bitkisinin etken maddesidir ve ökaliptol olarak da bilinir (Bkz Tablo 4.6). Ayrıca ökaliptus bitkisinin etken maddesi de yine 1,8 sineol'dur (web2). 1,8 sineol ilgili bir çok çalışma yapılmıştır ve etki etki alanları araştırılmıştır ve antienflamatuvar etkisinin olduğu kanıtlanmıştır (Juergens ve diğ. 2004).

Bir diğ er çalışmada *Vitex agnus-castus* L. bitkisinin esansiyel yağının antioksidan aktivitesi çalışılmıştır. GC ve GC-MS analiz sonucunda yağın %94.5'ini temsil eden 27 bileşiğin varlığı rapor edilmiştir. Esansiyel yağların oranları 1,8 cineol (24.98), sabinen (%13.45), alfa pinen (%10.60), alfa terpinil asetat (%6.66) ve (Z) Beta-farnesan (%5.40) olarak belirlendiği görülmüştür (Sarıkürkçü ve diğ. 2009).

Amazon bölgesinden toplanan *Vitex agnus-castus* L. bitkisinin yaprak, iek ve tohum yağlarının içerikleri karşılaştırılmıştır. Çalışma sonucunda en çok bulunan bileşiklerin sırayla, 1,8 sineol, beta-farnesan, sabinen, alfa pinen, alfa terpinil asetat, beta- karyofilen ve bisiklogermakren bulunmuştur (Zoghbi ve diğ. 1999).

2011 yılında yayınlanan bir çalışmada ise, *Vitex agnus-castus* meyvelerinde bulunan 23 adet fitokimyasal izole edilmiş ve spektroskopik metodla (NMR ve MS) yapıları karakterize edilmiştir. 23 kimyasaldan biri olan viteagnusin I yeni bir fitokimyasal olarak kayda geçmiştir (Chen 2011).

2016 yılında yayınlanmış bir çalışmada 3 yeni bileşiğin izole edildiği bildirilmiştir. Bu bileşiklerin adlarının, agnososid, castusik asit ve şeker esteri olan 1,2- di- (4-hidroksibenzoil)- beta- glukopiranos olduğu rapor edilmiştir (Kırmızıpekmez ve Demir 2016).

Vitex agnus-castus bitkisinin diterpenoid bileşiklerinin belirlenmesi ile ilgili yapılan bir çalışmada 6 adet biyoaktif bileşik izole edilmiştir. Bu bileşiklerin K562 insan tümör hücresine karşı sitotoksik etkisine bakılmıştır. En yüksek etkinin yeni bir diterpenoid alkoloid olan 9 alfa-hidroksi-13(14)-labdn-16,15-amid olarak bulunmuştur (Pal ve diğ. 2013).

Wuttke ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada ise VAC ekstraktından (BNO1095) dopaminerjik maddelerin saflaştırıldığı söylenmiştir. Bu maddenin major bileşenin klerodadienol olduğu ve prolaktin salınmasını inhibe etmede etkili olduğu rapor edilmiştir (Wuttke ve diğ. 2003).

Yapılan diğ er bir çalışmada *Vitex agnus-castus* L. meyve ve yapraklarından elde edilmiş esansiyel yağların antimikrobiyal etkisi araştırılmış ve kimyasal içeriğine bakılmıştır. Bitkinin olgunlaşmamış meyvelerinden elde edilen yağın

kimyasal içeriğinde sırasıyla en çok sabinen ve 1,8 sineol bileşiklerine rastlanmıştır. Olgun meyvelerinde ise bu sıranın 1,8 sineol ve sabinen şeklinde olduğu görülmüştür. Yapraklardan elde edilen yağda ise temel bileşiğin 1,8 sineol olduğu görülmüştür. Bakteri ve mantarlara karşı olumlu etki gösterdiği kanıtlanmış ve elmaların depolanması sırasında sorun yaratan *Aspergillus niger* patojenine karşı 1,8 sineol bileşiğinin etkili olduğu görülmüştür (Stojkovic ve diğ. 2011).

Hayıt bitkisinin tüm bu zengin bileşenleri sayesinde, yapmış olduğumuz antibakteriyel çalışmanın, *Vitex agnus-castus* L. yaprak ve tohum yağlarının, Gr(+) ve Gr (-) bakterilere karşı etkili olduğu görülmüştür. Fakat Gr(-) bakteriler üzerindeki inhibizyon zonlarının (cm) daha fazla olduğu görülmektedir. Yaprak yağının tohum yağına oranla antibakteriyel etkisinin daha fazla olduğu görülmüştür. Ancak *Pseudomonas aeruginosa* bakterisi üzerinde tohum yağının oluşturduğu inhibizyon zonunun, *Escherichia coli* bakterisinden daha fazla olduğu görülmektedir. Bu sonuca bakarak, hayıt tohumunun antibakteriyel etkisinin Gr (-) bakteriler üzerinde daha fazla olduğunu söyleyebiliriz.

Senatore ve arkadaşlarının yapmış olduğu antibakteriyel çalışmaları da bizim yaptığımız çalışmayı desteklemiş ve benzer sonuçlar görülmüştür (Senatore ve diğ. 1996).

Yapılan bir derleme çalışmada Türkiye'deki eczanelerde bulunan bitkisel ilaçlar tespit edilmiştir. Bu bitkilerden birinin de *Vitex agnus-castus* L. olduğu belirtilmiştir. Bitkinin kullanılan kısmı meyveleridir ve etken maddelerinin, bisiklikditerpenler, iridoitglukozitler, lipofilikflavonoidler ve uçucu yağlar olduğu rapor edilmiştir. Progesteron, östrojen ve prolaktin seviyesini dengelemek menstrasyon döngüsünü düzene sokmak için kullanıldığı bildirilmiştir. Ayrıca menstural dönem öncesi semptomların azalmasında etkili olduğu söylenmiştir. Yapılan bazı çalışmalarda, *Vitex agnus-castus* ekstresi içeren Agnucaston preparatındaki önerilen dozun (30-40 mg) tedavideki etkinliğinin kanıtlandığı bildirilmiştir. Agnucaston tedavisinin incelendiği uzun bir çalışmada 646 vaka incelenmiş, hastaların %65 inde tam iyileşmenin görüldüğü, %32 sinde tekrar kullanımı gerektiren geçici tedavi sağladığı ve %3 ünde herhangi bir etki gözlemlenmediği belirtilmiştir (Selçuk ve Eyisan 2012).

Halk ilacı olarak kullanılan bitkilerin rapor edildiği bir çalışmada, *Vitex agnus-castus* L. bitkisinin tohum, yaprak, çiçek ve toprak üstü aksamının kullanıldığı bildirilmiştir. Ayrıca böcek ısırıklarına engel olma, ısırıkları iyileştirme, hayvanlarda idrar söktürücü, ishal, karın ağrısı ve mide hastalıklarının tedavisinde kullanıldığı gösterilmiştir (Sarı ve diğ. 2011).

Vitex agnus-castus L. ile yapılan birçok çalışmada kimyasal bileşenleri belirlenmiş ve hormonal etkisi araştırılmıştır. Bu nedenle hormonal bozuklukların tedavisinde ve onların sebep olduğu semptomların giderilmesinde bitkisel bir alternatif olarak *Vitex agnus-castus* kullanılan bir bitki olduğu belirtilmiştir (Wuttke ve diğ. 2003).

Yapılan bir çalışmada, *Vitex agnus-castus* L. meyve ekstraktlarının kontrol ve sham grubuna göre FSH, LH ve testosteron seviyelerini artırdığı rapor edilmiştir (Nasri ve diğ. 2004).

Schellenberg ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada PMS tedavilerinde kullanılan VAC Ze440 ekstraktının doz miktarı araştırılmıştır. 8,20 ve 30 mg günlük uygulanan dozlardan PMS ağrılarını dindirici en etkili günlük dozun 20 mg olduğu kanıtlanmıştır (Schellenberg ve diğ. 2012).

Hayıt meyve ekstraktının ise antiandrojenik etki gösteren flavonoidlerden %1 kadarını içerebileceği rapor edilmiştir (Senatore ve diğ. 1996).

Sonuç olarak, tez çalışmamda da farklı dozlarda verilmiş *Vitex agnus-castus* L. yaprak ekstraktının yara iyileşmesinde etkili olduğu görülmektedir. Artan dozların yara iyileşmesinde daha hızlı etki ettiğini söyleyebiliriz. Erkek sıçanların dişilere oranla artan dozlara daha hızlı cevap verdiğini gözlemlerken, yaralarının tamamen kapandığını görmüş olduk. Dişi sıçanların ise düşük dozlarda hızla iyileştiğini söyleyebiliriz. En iyi yara iyileşme dozunun 265 mg/kg olduğu görülmüştür. Farklı doz denemeleriyle yapılacak yara iyileştirme çalışmalarının ileride yapılacak tıbbi çalışmalara ışık tutacağı kanısındayız. Hayıt bitkisinin antibakteriyal etkisinin olduğu gösterilmiş ve denenmesi gereken farklı bakterilerin de olduğu konusuna ışık tutulduğunu düşünmekteyiz.

6. KAYNAKLAR

Ajdzanovic V. ve diğ., ‘*Vitex agnus-castus* L. essential oil increases human erythrocyte membrane fluidity’, *J Med Biochem*, 31, 3, (2012).

Akpan U.G. ve diğ., ‘Extraction, Characterization and Modification of Castor Seed Oil’, *Journal of Sciences*, 8, 43-52.

Aksoy H. ve Özakpınar B., ‘Yara İyileşmesi ve Oksidatif Stres’ *Marmara Pharmaceutical Journal*, 18, 153-158, (2014).

Arab A. ve diğ., ‘Yara İyileşmesi’, *Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi*, 1, 2, (1994).

Arslan Ü. ve Karabulut Ö. A., ‘Baharat Bitkilerinin Bitki Patojeni Funguslara Karşı Antifungal Etkisi’, *Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Dergisi*, 36, 2, 131-135, (2005).

Asdadi A. ve diğ., ‘Study on chemical analysis, antioxidant and in vitro antifungal activities of essential oil from wild *Vitex agnus-castus* L. seeds growing in area of Argan Tree of Morocco against clinical strains of *Candida* responsible for nosocomial infections’, *Journal de Mycologie Médicale*, 25, 118-127, (2015).

Balaraju K. ve diğ., ‘Micropropagation of *Vitex agnus-castus*, (Verbenaceae)-a valuable medicinal plant’, *In Vitro Cell.Dev.Biol.-Plant*, 44, 436-441, (2008).

Batish D.r. ve diğ., ‘Chemical characterization and phytotoxicity of volatile essential oil from leaves of *Anisomeles indica* (Lamiaceae)’, *Biochemical Systematics and Ecology*, 41, 04-109, (2012).

Baydar H. ve diğ., ‘Sogukta Muhafaza ve Kurutmanın Yağ Gülü Çiçeklerinin Uçucu Yağ içeriği ve Bileşimine Etkileri’, *Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi* 3, 1, 42-48, (2008).

Berk A. ve diğ., ‘Yara İyileşmesi ve Diyabetik Yara Tedavisinde Kullanılan Tıbbi Bitkiler’, *Sağlık Bilimleri Dergisi*, 24, 185-192, (2015).

Ceylan, A., ‘Tıbbi Bitkiler II’, *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları*, 481, 1-22, (1987).

Chen S.N., 'Phytoconstituents from *Vitex agnus-castus* fruits', *Fitoterapia*, 82, 528–533, (2011).

Cockbill S., 'Wounds the healing process', *Hospital Pharmacist*, 9, 255-260, (2002).

Collins C.H., 'Microbiological Methods. In: Lyne, P.M., Grange, J.M., Seventh ed. Butterworths, London, p. 493, (1995).

Çalıkoğlu E. ve diğ., 'Uçucu Yag Nedir, Nasıl Üretilir ve Türkiye'deki Durumuna Genel Bir Bakış', Türkiye 9. Gıda Kongresi, Bolu, 24-26 Mayıs, (2006).

Çambay Z., 'Diyabetik Sıçanlarda Nar (*punica granatum*) Çiçeğinin Serumdaki Homosistein Düzeyine Etkilerinin Araştırılması' *NWSA*, 6,4, 5A0068, (2011).

Çelik E. ve Çelik G., 'Bitki Uçucu Yağlarının Antimikrobiyal Özellikleri', *Orlab Mikrobiyoloji Dergisi*, 05, 2, 1-5, (2007).

Dağcı E. ve diğ., 'Kahramanmaraş İlinde Yetişen Bazı Ağaç Türlerinin Antimikrobiyal Aktivitelerinin Araştırılması', *KSU J. Science and Engineering*, 5, 1, (2002).

Demir R., 'Histolojik Boyama Teknikleri', Ankara, Palme Yayıncılık, 5, 2001.

Dewick PM., 'Medical Natural Products', *A Biosynthetic Approach*, Chichester, England, 2, 6-12, (2002).

Durmuşkahya C. ve Öztürk M., 'Ethnobotanical Survey of Medicinal Plants Used for the Treatment of Diabetes in Manisa, Turkey', *Sains Malaysiana*, 42, 10, 1431–1438, (2013).

Dülger B. ve diğ., '*Vitex agnus-castus* L. (Hayıt) 'un Antimikrobiyal Aktivitesi', *Çevkor*, 11,45, 1-5, (2002).

Eftekhari M.H. ve diğ., 'Effects of "vitex agnus castus" extract and magnesium supplementation, alone and in combination, on osteogenic and angiogenic factors and fracture healing in women with long bone fracture', *J Res Med.*, 19, 1-7, (2014).

Erdoğan E. A., 'Bitki Uçucu Yağlarının Kullanım Alanları ve Muhtemel Genetik Etkileri', *Lokman Hekim Journal*, 2, 2, 21-24, (2012).

Ertürk Ö. ve Demirdağ Z. ‘*Scorzonare mollis* Bieb (Compositae) Bitkisinin Antimikrobiyal Aktivitesi’, *Çevkor*, 12, 4727-3, (2003).

Evren M. ve Tekgüler B., ‘Uçucu Yağların Antimikrobiyel Özellikleri’ *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi*, 9, 3, 28-40, (2011).

Fakir H. ve diğ., ‘Hayıt (*Vitex agnus-castus* L.)’ da Farklı Toplama Zamanlarının Uçucu Yağ Oranı ve Bileşenleri Üzerine Etkisi’ *EJOSAT*, 1,2, 25, 28, (2014).

Faydaoğlu E. ve Sürücüoğlu M. S., ‘Geçmisten Günümüze Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Kullanılması ve Ekonomik Önemi’, *Kastamonu Üni., Orman Fakültesi Dergisi*, 11, 1, 52 – 67, (2011).

Feresin, G.E., Tapia, A.A., Bustos, D.A., ‘Antibacterial activity of some medicinal plants from San Juan, Argentina’, *Fitoterapia*, 71, 4, 429-432, (2000).

Gardiner P., ‘Chasteberry (*Vitex agnus castus*)’, Revised May 11, (2000).

Girmen B. ve Karagüzel O., ‘Gazipaşa (Antalya) Yöresi Doğal Hayıt’larının (*Vitex agnus-castus* L.) Seleksiyonu-1: Seçilen Tiplerin Özellikleri’, *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 18, 3, 385-396, (2005).

Gül V., ‘Rize Yöresine Ait Tıbbi ve Aromatik Bitkilere Genel Bir Bakış’, *Iğdır Üni. Fen Bilimleri Enst. Der.*, 4, 4, 97-107, (2014).

Gülsoy G., ‘*Vitex agnus-castus* (hayıt) meyvelerinin fitoterapi açısından değerlendirilmesi’, Yüksek lisans tezi, Farmakognozi Enstitüsü, *Farmakognozi Anabilim Dalı Fitoterapi Programı*, İstanbul, (2011).

Gürpınar T., Ekerbiçer N., Uysal N., Barut T., Tarakçı F., Tuğlu M., ‘The Histologic Evaluation of Atorvastatin and Melatonin Treatment on Oxidative Stress and Apoptosis of Diabetic Rat Pancreas’, *Kafkas Üniversitesi Veterinerlik Fakülte Dergisi*, 16, 4, 547-552, (2010).

Hajdu Z. ve diğ., ‘Diterpenoids and Flavonoids from the Fruits of *Vitex agnus-castus* and Antioxidant Activity of the Fruit Extracts and Their Constituents’, *Phytother. Res.* 21, 391–394, (2007).

Ingjatovic D. ve diğ., ‘Bioactivity of the Essential oil from Berries of *Vitex agnus-castus* in Middle Aged Male Rats’, *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 7, 4, 1727-1734, (2012).

Juergens R. U., ve diğ., 'Inhibitory activity of 1,8-cineol (eucalyptol) on cytokine production in cultured human lymphocytes and monocytes', *Pulmonary Pharmacology and Therapeutics*, 17; 281-287, (2004).

Karaoğul E. ve diğ., 'Karadeniz ve Akdeniz Bölgesinde Yetişen Defne (*Laurus nobilis*)'nin Kimyasal İçeriği', *KSU J. Engineering Sci.*, Special Issue, (2012).

Kendir G. ve Güvenç A., 'Etnobotanik ve Türkiye'de Yapılmış Etnobotanik Çalışmalara Genel Bir Bakış', *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 30,1, 49-80, (2010).

Kılıç A. 'Uçucu Yağ Elde Etme Yöntemleri', *Bartın Orman Fakültesi Dergisi*, 10, 13, (2008).

Kırmızıpekmez H. ve Demir D., 'Iridoid glycosides and Phenolic Compounds from the Flowers of *Vitex agnus-castus*', *Helv. Chim. Acta*, 99, 518-522, (2016).

Kocaçalışkan İ., 'Allelopati', *Kütahya*, 5-7, (2006).

Kulkarni M. ve diğ., 'Study of Wound Healing Activity of Extracts of some Indian Medicinal Plants', *Journal of Pharmacy Research*, 8, 10, 1375-1379, 2014).

Kurçer Z. Ve Karaoğlu D., 'Deneysel Diyabet Modellerinde Alloksan ve Streptozotosin Kullanımı', *Türk Jem.*, 16, 34-40, (2012).

Liu J. ve diğ., 'Isolation of linoleic acid as an estrogenic compound from the fruits of *Vitex agnus-castus* L. (chaste-berry)', *phytotherapy*, 11, 18-23, (2004).

Liu T.T ve Yang T.S., 'Antimicrobial impact of the components of essential oil of *Litsea cubeba* from Taiwan and antimicrobial activity of the oil in food systems', *International Journal of Food Microbiology*, 156, 68-75, (2012).

Lucks B.C. ve diğ., '*Vitex agnus-castus* essential oil and menopausal balance: a self-care survey', *Complementary Therapies in Nursing & Midwifery*, 8, 148 - 154, (2002).

Mammadov, R., 'Tohumlu Bitkilerde Sekonder Metabolitler', *Ankara : Nobel*, 15-29, (2014).

Meena A. ve diğ., ‘A review of the important chemical constituents and medicinal uses of *Vitex* genus’, *Asian Journal of Traditional Medicines*, 6,2 , (2011).

Meier B. ve diğ., ‘*Vitex agnus-castus* and the way of the drug to the clinical approved Herbal Medicinal Product’, (1994).

Memişoğulları R., ‘Diyabette Serbest Radikallerin Rolü ve Antioksidanların Etkisi’, *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi*, 3, 30-39, (2005).

Mohammed A., Naimb M., and Greish S., ‘Human CD34+ stem cells promote healing of diabetic foot ulcers in rats’, *Interactive Cardio Vascular and Thoracic Surgery*, 1-6, (2011).

Murray P.R., ‘Manual of Clinical Microbiology. In: Baron, E.J., P. faller, M.A., Tenover, F.C., Yolke, R.H., Vol. 6th ed. ASM, Washington, D.C., (1995).

Nasri S. ve diğ., ‘The Effects of *Vitex agnus castus* L. Extract on Gonadotrophines and Testosterone in Male Mice’, *Iranian Int. J. Sci.* 5(1), 25-30, (2004).

Odenthal K.P., ‘*Vitex agnus castus* L.—Traditional Drug and Actual Indications’, *Phytotherapy Research*, 12, 160–161, (1998).

Ono M. ve diğ., ‘A New Diterpenoid Glucoside and Two New Diterpenoids from the Fruit of *Vitex agnus-castus*’ *Chem. Pharm. Bull.*, 59, 3, 392—396, (2011).

Orhan I. ve diğ., ‘Bioassay-guided evaluation of anti-inflammatory and antinociceptive activities of pistachio, *Pistacia vera* L.’ *Journal of Ethnopharmacol*, 105, 1-2, 235-40, (2006).

Öntürk H. ve Özbek H. ‘Deneysel Diyabet Oluşturulması ve Kan Şeker Seviyesinin Ölçülmesi’ *Genel Tıp Dergisi*, 17(4):231-236, (2007).

Özkorkmaz E. ve Özay Y. ‘Yara İyileşmesi ve Yara İyileşmesinde Kullanılan Bazı Bitkiler’ *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 2, 2, 63-67, (2009).

Özler M ve diğ., ‘Pinealektomili Ratlarda Yara İyileşmesi’, *Gülhane Tıp Dergisi*, 52, 181-184, (2010).

Padmalatha K., Jayaram K., Raju N. L., Prasad M. N. V., Arora R., 'Ethnopharmacological and Biotechnological Significance of Vitex', *Bioremediation, Biodiversity and Bioavailability*, 3, 1, 6-14, (2009).

Pal M. Ve diğ., 'Diterpenoid Compounds from *Vitex agnus-castus*', *Chemistry of Natural Compounds*, 49, 4, (2013).

Rahmatullah M. Ve diğ., 'Folk Medicinal uses of Verbenaceae family plants in Bangladesh', *Afr J Tradit Complement Altern Med.*, 8(S), 53-65, (2011).

Rerkam U. ve diğ., 'Determination of some phenolic compounds in ethanolic extract of *Elephantopus scaber* L. Leaves', *Thai J. Pharm. Sci.*, 36, (2012).

Sarı A. ve diğ., 'Ege ve Güney Marmara Bölgelerinde Halk İlacı Olarak Kullanılan Bitkiler', *ANADOLU, J. of AARI*, 20, 2, 1 – 21, (2010).

Sarıkürkçü C. ve diğ., 'Studies on the antioxidant activity of essential oil and different solvent extracts of *Vitex agnus castus* L. fruits from Turkey', *Food and Chemical Toxicology*, 47, 2479–2483, (2009).

Schellenberg R. ve diğ., 'Dose-dependent efficacy of the *Vitex agnus castus* extract Ze 440 in patients suffering from premenstrual syndrome', *Phytomedicine* 19, 1325– 1331, (2012).

Selçuk S. ve Eyisan S., 'Türkiye'deki eczanelerde bulunan bitkisel ilaçlar' *Marmara Pharmaceutical Journal*, 16, 164-180, (2012).

Senatore F. ve diğ., 'Constituents of *Vitex agnus-castus* L. Essential Oil', *Flavour and Fragrance Journal*, 11, 179-182, (1996).

Serim A. ve diğ., 'Allelopatik Bitki Ekstraktları ile Herbisitlerin Kullanımı', *Derim*, 32, 2, 225-236, (2015).

Sezik E. ve diğ., '*Vitex agnus castus* L. Preparatı ile Retrospektif Bir Çalışma' *S.D.Ü. Tıp Fak. Derg.*, 20, 2, 48-53, (2013).

Singleton, V.L., ve Rossi, J.R., 'Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid', *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144-158, (1965).

Stojkovic D. ve diğ., 'Chemical composition and antimicrobial activity of *Vitex agnus-castus* L. Fruits and leaves essential oils', *Food Chemistry*, 128, 1017–1022, (2011).

Svecova E. ve diğ., ‘Antifungal activity of Vitex agnus-castus extract against Pythium ultimum in tomato’, *Crop Protection*, 43, 223-230, (2013).

Şahin İ., ‘Streptozotocin ile Akut Diyabet Oluşturulmuş Erkek Sıçanlarda Yara İyileşmesinde Elektrik Akımının Etkisinin Araştırılması’, *Doktora tezi*, Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara, (2005).

Şebik T., ‘Piyasadan Temin Edilen Bazı Biberiye, Kekik ve Lavanta Yağlarında Kalite Tayini’, *Bitirme Tezi*, Farmasötik Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Kayseri, (2011).

Tarhan N. ve diğ., ‘Bazı Tıbbi Bitkiler ve Onlara Ait Mtoslar’, *Lokman Hekim Dergisi*, 6, 1, 1-9, (2016).

Toroğlu S. Ve Çenet M., ‘Tedavi Amaçlı kullanılan Bazı Bitkilerin Kullanım Alanları ve Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi için Kullanılan Metodlar’, *KSÜ. Fen ve Mühendislik Dergisi*, 9, 2, (2006).

Ulusoy S. ve diğ., ‘Tocopherol, Carotene, Phenolic Contents and Antibacterial Properties of Rose Essential Oil’, *Hydrosol and Absolute, Curr Microbiol*, 59, 554–558, (2009).

Umay A., ‘*Lavandula stoechas*, *Melissa officinalis* ve *Tribulus terrestris* Bitkilerinin Kimyasal İçeriklerinin Araştırılması’, Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, (2007).

Wink, M., ‘Occurrence and Function of Natural Products in Plants’, *Phytochemistry and Pharmacognosy*, EOLSS, Germany.

World Health Organisation, *Diagnosis and Clasification of Diabetes Mellitus and its Complication*, Geneva, Switzerland, 1-57, (1999).

Wuttke W. ve diğ., ‘Chaste tree (Vitex agnus-castus) Pharmacology and Clinical Indications’, *Phytomedicine*, 10, 348–357, (2003).

Yaşar S., ‘Çukurova Üniversitesi Kampüsünde Doğal Olarak Yetişen Bazı çok Yıllık Tıbbi Bitkilerin Toprak Özellikleri ile Sabit ve Uçucu Yağ İçeriklerinin Belirlenmesi’, Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, (2005).

Yazlık A. ve Üremiş İ., ‘Bazı Uçucu Yağ Bileşiklerinin Kanyaş [(*Sorghum halepense* (L.) Pers.) Gelişimine Etkinliğinin Belirlenmesi’, *Turkish Journal of Agricultural Research*, 2, 2, 93-99, (2015).

Yılmaz H. ve diğ. ‘Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Yetiştirilmesi’, MYO-OS 2010- Ulusal Meslek Yüksekokulları Öğrenci Sempozyumu, 21-22 EKİM, Düzce, (2010).

Zoghbi B. ve diğ., ‘The essential oil of Vitex agnus-castus L. growing in the Amazon region’, *Flavour Fragr. J.*, 14, 211-213 (1999).

Web 1: http://www.tubives.com/index.php?sayfa=1&tax_id=7401

Web2: <https://de.wikipedia.org/wiki/1,8-Cineol>

7. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Begüm PARLAK

Doğum Yeri ve Tarihi : Adana-28.03.1988

Lisans Üniversite : Pamukkale Üniversitesi

Elektronik posta :bparlak8@gmail.com

İletişim Adresi : 2000 Evler Mah. 76034 Sokak, Lale 2
Apartmanı, No:24-2, Kat:3 Daire:7 Seyhan/ADANA

Konferans listesi :

- Kuru A., Parlak B., Kılıç K., Kara Y., ‘Jojoba (*Simmondsia chinensis*) ve Lavanta (*Lavandula angustifolia*) Bitkilerinin Allelopatik Potansiyellerinin Belirlenmesi’ 22. Ulusal Biyoloji Kongresi, Poster Sunumu, 23-27 Haziran, Eskişehir, (2014).
- Aydın Ç., Deniz N., Parlak B., Mamadov R., ‘*Asparagus acutifolius* Türünün Etnobotanik Özellikleri ve Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi’, 22. Ulusal Biyoloji Kongresi, Poster Sunumu, 23-27 Haziran, Eskişehir, (2014).
- Parlak B., ‘The Allelopathic Effects of Fig plant (*Ficus carica*) and terebinth plant (*Pistacia terebinthus*) leaves extracts on seed germination of some weeds *Amarantus retroflexus* and *Convolvulus arvensis* L.’, Symposium on EuroAsian Biodiversity (SEAB), Sözlü sunum, 1-5 Haziran, Bakü, Azarbaycan, (2015).
- Parlak B., ‘The nectar efficiency of the nectar producing plants, the effect of bee populations on pollination and fruit efficiency’, Symposium on EuroAsian Biodiversity (SEAB), Sözlü Sunum, 1-5 Haziran, Bakü, Azarbaycan, (2015).
- Parlak B., ‘Determining the allelopathic potentials of seed and leaf of the jojoba (*Simmondsia chinensis* L.) plant’, Symposium on EuroAsian Biodiversity (SEAB), Sözlü Sunum, 1-5 Haziran, Bakü, Azarbaycan, (2015).

- Parlak B., Kara Y., Ayaz F., ‘Tuz Stresinin *Zea mays* (Mısır), *Triticumaestivum*(Buğday)ve*Helianthus annuus* (Ayçiçeği)’ta Ozmoregülatör Etkileri’ 1. Ulusal Bitki Fizyoloji Sempozyumu, Poster Sunumu, Erzurum, (2015).
- Parlak B., ‘Determination of Phenolic Compounds of Chaste berry seeds (*Vitex agnus-castus* L.) Grown in Denizli (Karahayıt)’, Symposium on EuroAsian Biodiversity (SEAB), Sözlü Sunum, 1-5 Haziran, Bakü, Azarbeycan, (2016).