



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



TÜRKİYE'DE YETİŞEN BAZI *ACHILLEA* L. TÜRLERİ ÜZERİNDE FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR

Selman ŞABANOĞLU

**FARMAKOGNOZİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. M. Levent ALTUN**

**ANKARA
2016**

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TÜRKİYE’DE YETİŞEN BAZI *ACHILLEA* L. TÜRLERİ
ÜZERİNDE FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR**

Selman ŞABANOĞLU

**FARMAKOGNOZİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. M. Levent ALTUN**

**ANKARA
2016**

Ankara Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Yüksek Lisans tezi olarak hazırlayıp sunduğum “TÜRKİYE’DE YETİŞEN BAZI *ACHILLEA* L. TÜRLERİ ÜZERİNDE FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir. Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Selman ŞABANOĞLU

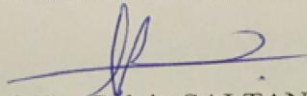
Tarih: 02.12.2016

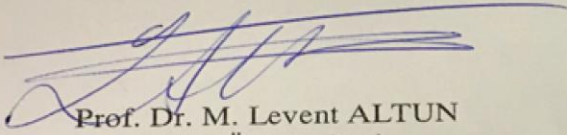
İmza:

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

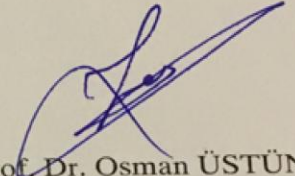
Farmakognozi Anabilim Dalında
Selman ŞABANOĞLU tarafından hazırlanan
"Türkiye'de Yetişen Bazı *Achillea* L. Türleri Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar"
adlı tez çalışması
Aşağıdaki jüri tarafından YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak OY BİRLİĞİ ile kabul
edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 02.12.2016


Prof. Dr. Gülçin SALTAN İŞCAN
Ankara Üniversitesi
Jüri Başkanı


Prof. Dr. M. Levent ALTUN
Ankara Üniversitesi

Üye


Prof. Dr. Osman ÜSTÜN
Gazi Üniversitesi

Üye

Tez hakkında alınan jüri kararı, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

Prof. Dr. K. Zafer KARAER
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Kabul ve Onay	iii
İçindekiler	iv
Önsöz	vii
Simgeler ve Kısaltmalar	ix
Şekiller	xi
Çizelgeler	xiii
1. GİRİŞ	15
1.1. Botanik Özellikler	16
1.1.1. Bitkinin Sistematikteki Yeri	16
1.1.2. Bitkinin Farklı Dillerdeki İsimleri	17
1.1.3. Asteracea Familyasının Botanik Özellikleri	18
1.1.4. <i>Achillea</i> L. Cinsinin Botanik Özellikleri	19
1.1.5. <i>Achillea biebersteinii</i> Afan. Türünün Botanik Özellikleri	20
1.1.6. <i>Achillea setacea</i> Waldst. et Kit Türünün Botanik Özellikleri	21
1.1.7. <i>Achillea wilhelmsii</i> C. Koch Türünün Botanik Özellikleri	22
1.2. <i>Achillea</i> L. Türleri Üzerinde Yapılan Çalışmalar	23
1.2.1. Etnobotanik Çalışmalar	23
1.2.2. Fitokimyasal Çalışmalar	30
1.2.2.1. Fenolik Asitler	30
1.2.2.2. Flavonoidler	31
1.2.2.3. Terpenik Bileşikler	34
1.2.2.3.1. Monoterpenler	34
1.2.2.3.2. Seskiterpen Laktonlar	35
1.2.2.3.3. Diterpenler	39
1.2.2.3.4. Triterpenler	40
1.2.2.4. Azotlu Bileşikler ve Aminoasitler	40

1.2.2.5. Uçucu Bileşikler	40
1.2.2.6. Diğer Bileşikler	47
1.2.3. Biyoaktivite Çalışmaları	48
1.2.3.1. Antioksidan Etki	48
1.2.3.2. Anksiyolitik Etki	56
1.2.3.3. Antimikrobiyal Etki	57
1.2.3.4. Antihelmintik Etki	63
1.2.3.5. Antikolinesteraz Etki	64
1.2.3.6. Antikonflikt Etki	64
1.2.3.7. Antinosiseptif Etki	65
1.2.3.8. Antiülser Etki	66
1.2.3.9. Antihiperglisemik Etki	69
1.2.3.10. Antihipertansif Etki	70
1.2.3.11. Antispazmodik Etki	72
1.2.3.12. Antienflamatuar Etki	74
1.2.3.13. İmmunosupresif Etki	75
1.2.3.14. İnsektisit Etki	77
1.2.3.15. Sitotoksik ve Antiproliferatif Etki	80
1.2.3.16. Östrojenik Etki	83
1.2.3.17. Yara İyileştirici Etki	84
1.2.3.18. Diğer Etkiler	85
2. GEREÇ VE YÖNTEM	94
2.1. Gereç	94
2.1.1. Bitkisel Materyal	94
2.2. Yöntem	96
2.2.1. Fitokimyasal Çalışmalar	96
2.2.1.1. Etken Bileşiklerin Kalitatif Analizleri	96
2.2.1.1.1. Alkaloid Teşhisi	97
2.2.1.1.2. Kardiyolojik Heterozit Teşhisi	97
2.2.1.1.3. Saponozit Teşhisi	98
2.2.1.1.4. Flavon Heterozitlerinin Teşhisi	98
2.2.1.1.5. Antosiyanozit Teşhisi	99
2.2.1.1.6. Siyanogenetik Heterozit Teşhisi	99
2.2.1.1.7. Tanen Teşhisi	100
2.2.1.1.8. Antrasenozit Teşhisi	100
2.2.1.1.9. Kumarin Teşhisi	100
2.2.1.2. Farmakope Analizleri	101
2.2.1.2.1. Yabancı Madde Aranması Testi	101
2.2.1.2.2. Kurutmada Kayıp Testi	101
2.2.1.2.3. Kül Miktar Testi	101
2.2.1.2.4. HCl'de Çözünmeyen Kül Testi	102
2.2.1.3. Total Fenol Miktar Tayini	102
2.2.1.4. Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi Analizleri	103
2.2.1.4.1. Fenolik Bileşiklerin HPLC ile Miktar Tayini	105
2.2.1.4.2. LOQ ve LOD Değerlerinin Hesaplanması	109
2.2.1.4.3. Recovery Hesaplanması	109
2.3. Biyolojik Aktivite Çalışmaları	110

2.3.1. Antimikrobiyal Aktivite	110
2.3.1.1. Antimikrobiyal Aktivite için Uçucu Yağ Eldesi	111
2.3.1.2. Antimikrobiyal Aktivite için Su ve Etanol Ekstraksiyonu	111
2.3.2. Antioksidan Aktivite	111
2.3.2.1. DPPH Radikal Süpürücü Aktivite Yöntemi	112
2.3.2.2. ABTS Yöntemi	113
3. BULGULAR	116
3.1. Etken Bileşiklerin Kalitatif Teşhisleri	116
3.2. Farmakope Analizleri	117
3.3. Total Fenol Miktarları	117
3.4. <i>Achillea biebersteinii</i> , <i>A. setacea</i> ve <i>A. wilhelmsii</i> 'de Bulunan Bazı Fenolik Bileşiklerin YPSK ile Teşhisleri	118
3.5. <i>Achillea biebersteinii</i> , <i>A. setacea</i> ve <i>A. wilhelmsii</i> 'de Bulunan Bazı Fenolik Bileşiklerin YPSK ile Miktar Tayinleri	128
3.5.1. Standartlara ait Kalibrasyon Eğrileri ve Doğru Denklemleri	129
3.5.1.1. Klorojenik Aside ait Kalibrasyon Eğrisi ve Doğru Denklemi	129
3.5.1.2. Kafeik Aside ait Kalibrasyon Eğrisi ve Doğru Denklemi	130
3.5.1.3. Rutine ait Kalibrasyon Eğrisi ve Doğru Denklemi	131
3.5.1.4. Kersetine ait Kalibrasyon Eğrisi ve Doğru Denklemi	132
3.5.1.5. Luteoline ait Kalibrasyon Eğrisi ve Doğru Denklemi	134
3.5.1.6. Apigenine ait Kalibrasyon Eğrisi ve Doğru Denklemi	135
3.6. Biyolojik Aktivite Çalışmalarına Ait Bulgular	136
3.6.1. Antimikrobiyal Aktivite	136
3.6.2. Antioksidan Aktivite	138
4. TARTIŞMA	139
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	145
ÖZET	147
SUMMARY	148
KAYNAKLAR	149
ÖZGEÇMİŞ	166

ÖNSÖZ

Achillea mitolojik bir bitki olup dünyada 100'den fazla türle temsil edilen bir cinstir. Ülkemizde ise 30 taksonu endemik olmak üzere toplam 52 taksonla temsil edilmektedir. Bu tez çalışmasında Kayseri'den toplanan *Achillea biebersteinii*, *Achillea setacea* ve *Achillea wilhelmsii* türleri üzerinde farmakope analizleri, fitokimyasal çalışmalar, antioksidan ve antimikrobiyal aktivite çalışmaları yapılarak bilim dünyasına katkı sağlamak amaçlanmıştır.

Çalışmalarım esnasında benden hiçbir şekilde bilgisini, tecrübesini, emeğini ve samimiyetini esirgemeyen; beni yönlendiren; desteğini, sabrını ve hoşgörüsünü her zaman hissettiğim; birlikte çalışmaktan onur ve mutluluk duyduğum; Sayın ve sevgili danışman hocam Prof. Dr. M. Levent ALTUN'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarım boyunca ilgi ve yardımlarıyla bana destek olan, laboratuvarımızın tüm olanaklarından faydalanmamı sağlayan başta Anabilim Dalı Başkanımız değerli hocam Prof. Dr. Gülçin SALTAN İŞCAN başta olmak üzere Farmakognozi Anabilim Dalı öğretim üyelerine ve araştırma görevlisi arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Değerli bilgi ve birikimlerini çalışmanın her anında benimle paylaşan Sayın hocam Yrd. Doç. Dr. Alper GÖKBULUT'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Antimikrobiyal aktivite çalışmalarında bilgisini, yardımlarını ve emeğini esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Müjde YÜCE ERYILMAZ'a teşekkür ederim.

Hayatımın her noktasında sevgi ve destekleriyle arkamda duran, bugünlere gelmemi sağlayan annem ve babam başta olmak üzere tüm aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ve daima en büyük destekçim olan, her zaman bana güvenen ve her zaman her şekilde benim mutlu olmam için elinden geleni yapan nişanlım İrem AŞIK' a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

SİMGELER VE KISALTMALAR

α	Alfa
ABTS	2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)
AEF	Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbariyumu
ATCC	American Type Culture Collection
β	Beta
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
cm	Santimetre
COX	Siklooksijenaz
DAD	Diode array dedector
dk	Dakika
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
EC ₅₀	Maksimum etkinin yarısını yapan konsantrasyon
EUCAST	European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
FID	Flame ionisation dedector (alev iyonizasyon dedektörü)
FRAP	Demir (III) indirgeyici antioksidan kapasite
γ	Gama
GABA	Gama Amino Butirik Asit
GAE	Gallik asit eşdeğeri
GC	Gaz kromatografisi
HDL	Yüksek yoğunluklu lipoprotein

HPLC	High Performance Liquid Chromatography
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
H ₂ SO ₄	Sülfürik asit
IC ₅₀	Maksimum inhibisyon konsantrasyonunun yarısı
IL	İnterlökin
IV	İntravenöz
LC	Liquid chromatography (sıvı kromatografisi)
LDL	Düşük yoğunluklu lipoprotein
LOD	Limit of detection (teşhis edilebilir en düşük limit - teşhis sınırı)
LOQ	Limit of quantification (hesaplanabilir en düşük limit - tayin sınırı)
MTT	Mikrokültür Tetrazolyum Testi
M	Molar
MeOD	Dötorometanol
µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre
mg	Miligram
mm	Milimetre
MBC	% 99,9'ünü öldüren konsantrasyon
MFC	Minimum fungusid konsantrasyon
MIC	Minimum inhibitör konsantrasyonu
MLC	Minimum letal konsantrasyon
MS	Mass spectrometry (kütle spektrometresi)
Na ₂ CO ₃	Sodyum karbonat
NMR	Nükleer manyetik rezonans
ORAC	Oksijen radikali absorban kapasitesi
°C	Santigrat derece
TBARS	Tiyobarbütirik asit reaktif ürünleri
TEAC	Trolox eşiti antioksidan kapasite
UV	Ultraviyole
YPSK	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi

ŞEKİLLER

Şekil 2.1.	<i>A. biebersteinii</i> 'nin doğadaki görünüşü	95
Şekil 2.2.	<i>A. setacea</i> 'nin doğadaki görünüşü	95
Şekil 2.3.	<i>A. wilhelmsii</i> 'nin doğadaki görünüşü	96
Şekil 3.1.	<i>A. biebersteinii</i> 'nin metanol ile hazırlanmış çiçek ekstresinin 360 nm'deki HPLC kromatogramı: Klorojenik asit (1), Kafeik asit (2), Rutin (3), Kersetin (4), Luteolin (5), Apigenin (6)	119
Şekil 3.2.	<i>A. setacea</i> 'nin metanol ile hazırlanmış çiçek ekstresinin 360 nm'deki HPLC kromatogramı: Klorojenik asit (1), Rutin (2), Luteolin (3), Apigenin (4)	119
Şekil 3.3.	<i>A. wilhelmsii</i> 'nin metanol ile hazırlanmış çiçek ekstresinin 360 nm'deki HPLC kromatogramı: Klorojenik asit (1), Kafeik asit (2), Rutin (3), Kersetin (4), Luteolin (5), Apigenin (6)	120
Şekil 3.4.	<i>A. biebersteinii</i> 'nin metanol ile hazırlanmış yaprak ekstresinin 360 nm'deki HPLC kromatogramı: Klorojenik asit (1), Kafeik asit (2), Rutin (3), Kersetin (4), Luteolin (5)	120
Şekil 3.5.	<i>A. setacea</i> 'nin metanol ile hazırlanmış yaprak ekstresinin 360 nm'deki HPLC kromatogramı: Klorojenik asit (1), Kafeik asit (2), Rutin (3), Kersetin (4), Luteolin (5), Apigenin (6)	121
Şekil 3.6.	<i>A. wilhelmsii</i> 'nin metanol ile hazırlanmış yaprak ekstresinin 360 nm'deki HPLC kromatogramı: Klorojenik asit (1), Kafeik asit (2), Rutin (3)	121
Şekil 3.7.	<i>A. biebersteinii</i> 'nin metanol ile hazırlanmış kök ekstresinin 360	122

	nm'deki HPLC kromatogramı: Klorojenik asit (1), Kafeik asit (2)	
Şekil 3.8.	<i>A. setacea</i> 'nin metanol ile hazırlanmış kök ekstresinin 360 nm'deki HPLC kromatogramı: Klorojenik asit (1), Kafeik asit (2)	122
Şekil 3.9.	<i>A. wilhelmsii</i> 'nin metanol ile hazırlanmış kök ekstresinin 360 nm'deki HPLC kromatogramı: Klorojenik asit (1), Kafeik asit (2)	123
Şekil 3.10.	Fenolik bileşiklerin 360 nm'deki HPLC kromatogramı: Klorojenik asit (1), Kafeik asit (2), Rutin (3), Kersetin (4), Luteolin (5), Apigenin (6)	123
Şekil 3.11.	HPLC ile % miktar tayini yapılan fenolik bileşiklerin molekül formülleri	124
Şekil 3.12.	Klorojenik asitin UV spektrumu	125
Şekil 3.13.	Kafeik asitin UV spektrumu	125
Şekil 3.14.	Rutinün UV spektrumu	126
Şekil 3.15.	Kersetinin UV spektrumu	126
Şekil 3.16.	Luteolinin UV spektrumu	127
Şekil 3.17.	Apigenin UV spektrumu	127
Şekil 3.18.	Klorojenik asite ait kalibrasyon eğrisi	129
Şekil 3.19.	Kafeik asite ait kalibrasyon eğrisi	130
Şekil 3.20.	Rutine ait kalibrasyon eğrisi	132
Şekil 3.21.	Kersetine ait kalibrasyon eğrisi	133
Şekil 3.22.	Luteoline ait kalibrasyon eğrisi	134
Şekil 3.23.	Apigenine ait kalibrasyon eğrisi	135

ÇİZELGELER

Çizelge 1.1.	<i>A. millefolium</i> uçucu yağının içerdiği bileşikler	42
Çizelge 2.1.	YPSK analizlerinde kullanılan gradient elüsyon sistemi	104
Çizelge 2.2.	YPSK analizinde kullanılan çözücü sistemi 6	105
Çizelge 3.1.	<i>A. biebersteinii</i> , <i>A. setacea</i> ve <i>A. wilhelmsii</i> 'de bulunan etken bileşikler	116
Çizelge 3.2.	<i>A. biebersteinii</i> , <i>A. setacea</i> ve <i>A. wilhelmsii</i> 'nin Avrupa Farmakopesi uygunluk testleri	117
Çizelge 3.3.	<i>A. biebersteinii</i> , <i>A. setacea</i> ve <i>A. wilhelmsii</i> 'nin içerdikleri Total Fenol Miktarları	118
Çizelge 3.4.	<i>A. biebersteinii</i> , <i>A. setacea</i> ve <i>A. wilhelmsii</i> 'nin çiçek, yaprak ve kök ekstralarında saptanan fenolik bileşiklerin % miktarları	128
Çizelge 3.5.	Klorojenik asite ait konsantrasyon değerleri ve pik alanlarının ortalaması	129
Çizelge 3.6.	Klorojenik asite ait retansiyon zamanı, doğru denklemi, korelasyon katsayısı (R^2), LOD ve LOQ değerleri, recovery değeri, gün içi ve günler arası % RSD değerleri	130
Çizelge 3.7.	Kafeik asite ait konsantrasyon değerleri ve pik alanlarının ortalaması	131
Çizelge 3.8.	Kafeik asite ait retansiyon zamanı, doğru denklemi, korelasyon katsayısı (R^2), LOD ve LOQ değerleri, recovery değeri, gün içi ve günler arası % RSD değerleri	131

Çizelge 3.9.	Rutine ait konsantrasyon değerleri ve pik alanlarının ortalaması	132
Çizelge 3.10.	Rutine ait retansiyon zamanı, doğru denklemi, korelasyon katsayısı (R^2), LOD ve LOQ değerleri, recovery değeri, gün içi ve günler arası % RSD değerleri	132
Çizelge 3.11.	Kersetine ait konsantrasyon değerleri ve pik alanlarının ortalaması	133
Çizelge 3.12.	Kersetine ait retansiyon zamanı, doğru denklemi, korelasyon katsayısı (R^2), LOD ve LOQ değerleri, recovery değeri, gün içi ve günler arası % RSD değerleri	133
Çizelge 3.13.	Luteoline ait konsantrasyon değerleri ve pik alanlarının ortalaması	134
Çizelge 3.14.	Luteoline ait retansiyon zamanı, doğru denklemi, korelasyon katsayısı (R^2), LOD ve LOQ değerleri, recovery değeri, gün içi ve günler arası % RSD değerleri	134
Çizelge 3.15.	Apigenine ait konsantrasyon değerleri ve pik alanlarının ortalaması	135
Çizelge 3.16.	Apigenine ait retansiyon zamanı, doğru denklemi, korelasyon katsayısı (R^2), LOD ve LOQ değerleri, recovery değeri, gün içi ve günler arası % RSD değerleri	136
Çizelge 3.17.	Tüm bileşiklerin retansiyon zamanları, doğru denklemleri, korelasyon katsayıları (R^2), LOD ve LOQ değerleri, recovery değerleri, gün içi ve günler arası % RSD değerleri	136
Çizelge 3.18.	<i>A. biebersteinii</i> , <i>A. setacea</i> ve <i>A. wilhelmsii</i> uçucu yağlarının MIC değerleri (mg/ml)	137
Çizelge 3.19.	<i>A. biebersteinii</i> , <i>A. setacea</i> ve <i>A. wilhelmsii</i> ekstralarının MIC değerleri (mg/ml)	137
Çizelge 3.20.	<i>A. biebersteinii</i> , <i>A. setacea</i> ve <i>A. wilhelmsii</i> 'nin antioksidan aktivitelerine ait IC_{50} değerleri	138

1.GİRİŞ

Achillea Asteraceae familyasına ait, başlıca ılıman kuşakta olmak üzere, deniz seviyesinden 3000 m'ye kadar hemen hemen her türlü habitatta yetişebilen, dünya çapında 100'den fazla (yaklaşık 140 civarında) türe sahip olan yabani bir cinistir. *Achillea* cinsi, Akdeniz iklim bölgelerinin tipik bitkisi olup Avrupa, Asya ve Kuzey Afrika'da geniş bir dağılım göstermektedir (Trifonovic ve ark., 2006; Arabacı, 2006). Ülkemizde ise 30 taksonu endemik olmak üzere toplam 52 taksonla temsil edilmektedir (Ağar, 2010).

Achillea mitolojik bir geçmişe sahiptir. Günümüze kadar gelen bilgilere göre, İlyada Destanı kahramanlarından Achilles'in savaşlardan sonra kanamalarını durdurmaları ve yaralarını iyileştirmeleri için bu bitkilerden askerlerine dağıttığı bilinmektedir. O zamanlardan beri bu cins Achilles'den dolayı *Achillea* adı ile anılmıştır (Akkol ve ark., 2011).

Türkçe civanperçemi diye adlandırılan *Achillea millefolium* L. gerek doğal ve gerekse de kültür formu olarak *Achillea* cinsi içinde dünyada en çok yayılışa sahip türdür. Bu tür üzerinde tıbbi önemine yönelik birçok çalışma yapılmıştır (Dall'Acqua ve ark., 2011). Bu tür *Achillea* cinsinin tip türü olarak belirlenmiştir (Arabacı, 2006).

Bitkinin çiçeklenme zamanında haziran ayından eylül ayına kadar toplanan toprak üstü kısımları kurutularak drog elde edilir. Halk hekimliğinde en popüler kan dindirici bitkilerden biridir. Dahilen dispeptik rahatsızlıklarda, mide ağrılarında, ülserde, gastritte, soğuk algınlığı ve ateşte; haricen de psikosomatik kaynaklı kramp ağrılarında kullanılmaktadır. Emenagog etkili olarak kadınların menopoz ve adet ile beraber görülebilen jinekolojik ağrılarında kullanılır. Dünyanın birçok yerinde bitkisel çay olarak oldukça yaygın kullanılan civanperçemi bitkisi; ayrıca merhem, bitki tentürü ya da oturma banyoları şeklinde de kullanılmaktadır (Arabacı, 2006).

Achillea türleri fitokimyasal açıdan biyolojik olarak aktif çok sayıda bileşiğe sahip olup başlıca terpenoitler (monoterpenler, seskiterpenler, diterpenler, triterpenler), flavonoitler ve fenolik asitler içermektedir. Ayrıca alkaloidler, azotlu bileşikler (aminoasitler), steroller, lignanlar, alkanlar ve inülin içermektedir. Bunların yanında *Achillea* türleri uçucu yağ bakımından da zengin bir kimyasal içeriğe sahiptir. (Lim, 2014).

Achillea türleri üzerinde yapılan biyolojik aktivite çalışmalarında bu türlerin anksiyolitik, antibakteriyel, antifungal, antienflamatuvar, antifungal, antihelmintik, antikolinesteraz, antikonflit, antinosiseptif, antioksidan, antiplasmodiyal, antitümör, antiülser, antispermatojenik, antiviral, cilt gençleştirici, diüretik, hemostatik, hepatoprotektif, hipoglisemik, hipotansif, insektisit, immunosupresif, koloretik, östrojenik, spazmolitik, vazoprotektif ve yara iyi edici gibi etkileri olduğu yapılan in vivo ve in vitro çalışmalarla kanıtlanmıştır. Bu biyolojik aktivitelerin özellikle bu cinsin uçucu yağında bulunan seskiterpen laktonlar, flavonoitler ve fenolik asitlerden kaynaklandığı tespit edilmiştir (Lim, 2014).

Bu tez çalışmasında ülkemizde geniş bir yayılım gösteren *Achillea* cinsinin Kayseri civarından toplanan *A. biebersteinii*, *A. setacea* ve *A. wilhelmsii* türlerinin kimyasal içeriklerinin araştırılarak, bu türlerin Avrupa Farmakopesi'nde kayıtlı olan *A. millefolium* türü yerine kullanılabilirliğinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Ayrıca bu türlerin antioksidan ve antimikrobiyal aktivite çalışmalarının yapılması amaçlanmıştır.

1.1. Botanik Özellikler

1.1.1. Bitkinin Sistematikteki Yeri

Achillea L. cinsinin sistematik sınıflandırması:

Alem : Plantae
Alt Alem : Tracheobionta
Bölüm : Magnoliophyta
Sınıf : Magnoliopsida
Alt Sınıf : Asteridae
Üst Takım : Asteranae
Takım : Asterales
Familya : Asteraceae
Alt Familya : Asteroideae
Cins : *Achillea* L.

(Davis, 1975)

1.1.2. Bitkinin Farklı Dillerdeki İsimleri

Ülkemizde *Achillea* türleri farklı yöresel isimlerle bilinmekte olup en yaygın civanperçemi olarak bilinmektedir. Bunun dışında kurpotu, dişotu, ayvadana, ronağvaç, sporiş, sporiyiş, krannavaz, akbaşı, barsamotu, binbiryaprakotu, marsamotu, kandil çiçeği, baytaran, pireotu, yılan çiçeği, sarıçiçek, ormaderen, buyucan, kılıçotu, gırtkesen, çoban kirpiği olarak adlandırılmaktadır.

İngilizcede ise genel olarak yarrow olarak adlandırılmakta olup çeşitli türleri bad man's plaything, bloodworth, carpenter's weed, common yarrow, devil's plaything, fernweed, gordaldo, knight's milfoil, milfoil, musk milfoil, nosebleed, nosebleed plant, old man's pepper, plumajillo, sanguinary, sneezewort, soldier's friend, soldier's woundwort, stanuchweed, thousand-seal, thousand-seal bad man's plaything, thousand weed, thousand-leaf, western yarrow, woundwort, yarrow bloodwort, yarrow milfoil, yarroway olarak da isimlendirilmektedir.

Almancada achillenkraut, augenbraue der venus, bauchwenkraut, blutkraut, blutstillkraut, feldscharfgarbe, frauendank, frauenkraut, garbenkraut, gebenkraut, gemeine schaf garbe, gerwel, gewöhnliche schafgarbe, gliedkraut, gotteshand,

grillengras, katzen kraut, katzenschwanz. Çincede shi, shi cao, yang shi cao. Fransızcada achillee, achille mille-feuille, herba e dinde, herbe aux charpentiers, herbe aux militaires, herbe de saint jean, mille feuille; Hintçede gandhni, darey di jadi, biranjasipha, gandana, gandrain, puthkanda, bhut kesi, bimjasif, rajmari, rojmaari, achchilliya, tukhm gandana, buiranjasif, brinjasuf, chuabu, saijum. İspanyolcada aquilea, artemisa bastarda, camomila, cientoenrama, flor de la pluma, hierba de las heridas, hierba de loscarpinteros, hierba para almorranas, meona, milenrama, milfullas. İtalyancada achillea, achillea millefoglie, millefoglio, millefoglio montano, herba de tall, herba de les cent fulles, herba de les mil fulles, herba dels conills, camomillùn, camamilla, camomilla di montago, erba amara, erba besa, erba matta, ıva selvadiga, ıvone, foia del tai; Persçede boumadaran, biranjasib, biranjasif, bu-l-maderan. Yunancada ise achilleas olarak isimlendirilmektedirler (Lim, 2014; Cornara ve ark., 2014; Bibi ve ark., 2014; Eissa ve ark., 2014; Savikin ve ark., 2013; Tetik ve ark., 2013; Altundag ve Öztürk, 2011).

1.1.3. Asteracea Familyasının Botanik Özellikleri

Asteraceae tek yıllık, iki yıllık ya da çok yıllık otsu ya da bazen çalı, nadiren küçük ya da orta büyüklükte ağaç şeklinde, tüysüz ya da çoğu zaman çeşitli şekillerde salgılı ya da salgısız tüylü bitkiler. Dokular latisferli ya da latisfersiz. Yapraklar alternat ya da bazen karşılıklı, nadiren dairesel, stipulasız (nadiren stipulalı), basit ve tam ya da dişliden çeşitli şekillerde parçalanmış, bileşik. Çiçek durumu birçok sık baş şeklinde birçok sayıda sapsız çiçeklerin çiçek tablası üzerine dizilip, hemen hemen her zaman birkaç sıralı fillariden (involukral brakte) oluşan koruyucu bir involukrum tarafından çevrilen kapitulum şeklinde kümelenmiştir; kapitulum bazen ikincil bir kapitulum benzeri baş şeklinde kümelenmiştir (yalancı baş). Reseptakulum çıplak ya da palealı, uzun tüylü ya da kılçıklı. Çiçekler epigin, sinpetal, tam ya da bazıları dişi ya da nötr ya da işlev bakımından erkek. Kaliks ovaryumun ucunda papus denilen tüyler, kıllar, pullar ya da kılçıklar ya da devamlı korona (taç) ile temsil edilmektedir ve bazen papus tamamen yoktur. Korolla tüp şeklinde (huni şeklinde ya da tabanda silindirik, üste doğru çan şeklinde), filiform, dilsiy ya da

nadiren iki dudaklı, genellikle 3 ya da 5 dişli; nadiren bulunmaz. Stamenler (4-) 5, filamentler korolla tüpüne bağlı, anterler kenarlarından birleşerek stilusu silindir şeklinde sarar (singenezis), nadiren serbest; iç yüzeylerinden açılır. Ovaryum alt durumda, tek gözlü, tabanda bir adet anatrop ovüllü; stilus genellikle yukarı doğru 2 kola bölünmüş, çoğu zaman disk çiçeklerin stiluları anterlerdeki poleni yakalayacak şekilde fırça tüylü. Meyve aken (sipsela), genellikle kalıcı ya da düşücü papuslu, papus sapsız ya da gaga benzeri bir uzantının (rostrum) ucundan çıkar. Kapitulumlar ya homogram ya da heterogramdır. Bazen kapitulumlar tek eşeylidir. Bu durumda, bir kapitulumda yalnız dişi (pistillat) ya da erkek çiçek (staminat) bulunur (Tanker ve ark., 1993; Davis, 1975).

Asteraceae familyası üyeleri yeryüzünün hemen hemen her yerinde yayılış göstermektedir. Özellikle Amerika'nın güney batısı ve Meksika, Brezilya'nın güneyi, And dağları boyunca, Akdeniz Bölgesi, Güneybatı Asya, Orta Asya, Güney Afrika ve Avustralya'da yoğun olarak bulunmaktadır (Giorgi ve ark., 2009).

Kozmopolit bir familya olan Asteraceae, yaklaşık 1100 cins ve 25000-30000 kadar tür içerir. Ülkemizde 136 cins ve 1195 tür ile temsil edilmektedir. Buna göre hem tür hem de cins bakımından hem çiçekli bitkilerin hem de floramızın en zengin familyasıdır (Li ve ark., 2011).

Bu familya üyelerinin kimyasal bileşikleri yoğun olarak incelenmiş ve şimdiye kadar 28000'den fazla madde tespit edilmiştir. Bu familyada uçucu yağ, inülin, lateks, flavonoidler, seskiterpen laktonlar en sık rastlanan bileşikler olup ayrıca alkaloidler, saponozitler ve kumarinler saptanmıştır (Li ve ark., 2011).

1.1.4. *Achillea* L. Cinsinin Botanik Özellikleri

Çok yıllık otsu ya da yarı çalimsı bitki, kalın ya da ince odunsu rizomlu, rizomlar bazen sürünücü. Gövde dik ya da yükselici, silindirik ya da köşeli, düz boyuna çizgili ya da derin oluklu. Yapraklar tamdan 3-4 pinnatipartite değişen, alternat. Kapitula

heterogram, radyat, saplı ya da sapsız, küçük ya da orta büyüklükte, genellikle uç kısımda korimbus şeklinde düzenlenmiş, çok nadiren tek, bazen basit şemsiye. İnvolutrum oblong-silindirik, ovoid, yarı küremsi ya da genişçe yarı küremsi. Fillariler 3-4 sıralı, dıştakiler içtekilere göre daha küçük, dar ya da genişçe şeffaf kenarlı. Çiçekler beyaz ya da sarı, bazen pembe; dilsî çiçekler dişi, tek bir daire halinde, laminanın uç kısmı loblu ya da lobsuz; tüpsü çiçekler hermafrodit, düzenli 5-dişli, korolla tüpü basık ya da değil, tabanı akenin tepesini saran bir torba şeklinde. Reseptakulum düz ya da konveks, palealı, pala lanseolat ya da oblong, zarsı, paleanın ucuna kadar uzamayan orta damarlı. Aken oblong, oblanseolat ya da oblong-obovat, tüsüz, lineolat, lineat ya da sukrobikulat, sırttan basık, kanatsız, ucu nispeten daha geniş, bazen kalın dudak şeklinde kanatlı, kahverengimsi-beyaz. Papus bulunmaz (Arabacı, 2006).

Achillea türlerinde çiçek rengi önemli bir ayırt edici karakterdir. Fakat çiçeklerin rengi arazide geç evrede solmaktadır. Sarı renk soluk sarıya, beyaz renk ise kirli beyaza dönüşmektedir (Davis, 1975).

1.1.5. *Achillea biebersteinii* Afan. Türünün Botanik Özellikleri

Bitki ince rizomlu, rizomlar sürünücü ve dallanmış. Gövde 10-100 cm, dik, genellikle tek ya da birkaç tane, düz ya da hafifçe eğri, dallanmamış ya da yukarı doğru hafifçe dallanmış, bazen de tabanda kısa steril dallanmış, silindirik, yukarı doğru hafifçe köşeli, boyuna çizgili, sıkça dağınık pubesent. Yaprakları homomorfik, silindirik, 2-3 pinnatisekt, raşilla düz, 0,5-1 mm; taban yaprakları lineerden lineer-lanseolata kadar, (5-)8-12 x 1-2,5 cm (4 cm'ye kadar petiol ile birlikte), alt kısımdaki birincil segmentler küçük, geniş aralıklı, orta kısımdaki birincil segmentler ovat-oblong, 4-6 x 2-4 mm, setamsıdan lineere kadar loblara bölünmüş, en uçtaki lob 1-4(-6) x 0,2-1 mm; gövdenin orta kısmındaki yapraklar oblong-lineerden lineer-lanseolata kadar, 2,5-6 x 0,5-2 cm, sapsız, birincil segmentler ovat-oblong, 3-6 x 2-4 cm, lineer-setamsıdan lanseolata kadar loblara bölünmüş, en uçtaki lob 1-4 x 0,2-1 mm, ucu kıkırdağımsı, akutdan akuminata kadar;

gövdenin üst kısmındaki yapraklar küçük, sapsız ve daha az parçalı, birincil segmentler genellikle bölünmemiş, seyrek ya da sık piloz. Çiçek durumu sapı 0,5-4 mm. Kapitulum (20-)30-200 ya da daha fazla, korimbus 2-10 cm genişliğinde. İnvolutrum oblong'dan genişçe ovoide kadar, 3-4 x 2-3 mm. Fillariler 4 sıralı, obtuz, pubescent; dıştakiler ovoidan oblonga kadar, 1-1,5 x 0,5-1 mm, ucu bazen kahverengimsi; içtekiler oblong, 2-3,5 x 1-1,5 mm, darca şeffaf kenarlı. Palea lanseolat, 2-2,5 x 0,5 mm, zarsı, akutdan obtuza kadar, uç kısmı piloz. Dilsî çiçekler 4-5 adet, altın sarısı renkli, 3-3,5 x 2-2,5 mm, lamina obtrapeziform, 1-1,5 x 2-2,5 mm, uç kısmı hafifçe 3 loplu; tüpsü çiçekler yaklaşık 10-30 adet, sarı, 2,5 x 0,5 mm, ovaryum 0,8-1 mm. Aken oblong, 1-1,2 x 0,4-0,6 mm, lineat, kahverengimsi.

Yetiştirme yerleri: Çankırı: Çankırı-Kalecik, Samsun: Ladik, 700 m, Kars: Kars-Susuz yolu 3. km, 1800 m, Bilecik: Söğüt-Eskişehir yolu 15. km, 950 m, Ankara: Beynam Ormanı, 1200 m, Kayseri: Develi, Burdur: Burdur-Buçak yolu 26. km, 800 m (Davis, 1982).

1.1.6. *Achillea setacea* Waldst. et Kit Türünün Botanik Özellikleri

Bitki ince rizomlu, rizomlar sürünücü, dallanmış. Gövde 10-80 cm, dik ya da yükselici, tek ya da birkaç tane, düz ya da nadiren eğri, dallanmamış ya da bazen yukarı doğru hafifçe dallanmış, silindirik, boyuna çizgili, ipeksi tüylü-yünlü. Yapraklar homomorfik, silindirik, lineer-lanseolat, taban yaprakları 6-16 x 0,4-2(-3) cm, (3 cm'ye kadar petiol ile birlikte), gövde yaprakları 1,5-6 x 0,3-1 cm, sapsız, 2-3 pinnatisekt segmentlerin hepsi aynı şekilli, setamsı, çok sayıda, raşis 0,4-0,8 mm, dişsiz, uç kısımdaki segmentler 0,5-1,5 x 0,1-0,3(-0,5) mm, akuminat, kıkırdağımsı, ipeksi tüylü. Çiçek durumu sapı 0,5-3(-5) mm. Kapitulum 30-150 ya da daha fazla, korimbus 2,5-9 cm genişliğinde. İnvolutrum oblongdan lineer-oblonga kadar, 3-4,5 x 1,5-2,5(-3) mm. Fillariler 3-4 sıralı, akuttan subakuta kadar, darca şeffaf kenarlı, bazen kahverengimsi uçlu, pubescent; dıştakiler oblongdan ovoid-lanseolata kadar, 1,5-2 x 0,5-1 mm; içtekiler oblongdan lanseolata kadar, 3-4 x 1 mm. Palea lanseolat, 3-3,5 x 0,75-1 mm, zarsı, akut, uç kısmı piloz. Dilsî çiçekler 4-6 adet, beyaz, 2,5-3 x

2 mm, lamina obtrapeziform, 1-1.2(-1.5) x 1-2 mm, uç kısmı hafifçe 3 loblu; tüpsü çiçekler yaklaşık 10-20 adet, sarı, 2.5 x 0.5 mm, ovaryum 2 mm. Aken oblong-oblanseolat, 1.4-1.8 x 0.5 mm, lineat, kahverengimsi.

Yetiştirme yerleri: Kırklareli: Pınarhisar'ın 3 km kuzeybatısı, Bolu/Ankara: Gerede-Bolu arası 1050 m, Afyon: Dinar'ın 16 km güneyinde, Ankara: Ankara'nın 34 km güneydoğusu, 1300 m, Malatya: Hekimhan, 1300 m, Erzurum: Palandöken Dağı Çat-Erzurum arası, 2300 m, Konya: Ereğli, 1100 m (Davis, 1982).

1.1.7. *Achillea wilhelmsii* C. Koch Türünün Botanik Özellikleri

Bitki ince odunsu rizomlu. Gövde 10-35 cm, yükselici, çok sayıda, uzun steril sürgünlü, dallanmış, sık yapraklı, silindirik, boyuna çizgili, yatık beyaz tomentoz. Yapraklar homomorfik, lineer, (0,5-)1-4 x (0,05-)0,1-0,3 cm, sapsız, pinnatisekt, imbrikat ya da bazen aralıklı segmentlere bölünmüş; segmentler 0,5-1 x 1-1,5 mm, 3 loblu ya da 3 partite, lobların hepsi aynı şekilli, dairemsiden genişçe kuneata kadar, 0,5-1 x 0,5 mm, kenarı küçük dişli, gövde yaprakları eşit uzunlukta, eşit aralıklı ve korimbosa kadar uzanmış, yünsü pubescent, sık sık tüysüzce. Çiçek durumu sapı 1-4(-7) mm. Kapitulum 5-40, korimbus 1,5-5,5 cm genişliğinde. İnvokrum genişçe ovooidden yarı küremsiyeye kadar, 2,5-5 x 2,5-5 mm. Fillariler 2-3 sıralı, beyaz yatık tomentoz; dıştakiler ovattan lanseolata kadar, 1,5-2 x 1 mm, subakut ya da obtus, kahverengimsi uçlu; içtekiler oblong, 2,5-3 x 1 mm, obtus, darca şeffaf ya da kahverengimsi kenarlı. Palea lineer-lanseolat, 2,5 x 1 mm, subakut ya da obtus, zarsı, piloz. Dilsî çiçekler 3-5 adet, parlak sarı (olgunlukta soluk sarı), 1-2 x 1,5-2 mm, lamina genişçe obtrapeziform, 1-1,5 x 1,5-2 mm, uç kısmı belirgin 3 loplu; tüpsü çiçekler 15-25 adet, sarı, 2-2,5 x 0,5 mm, ovaryumu 1 mm. Aken ters ovat, 1,3-1,5 x 0,4-0,5 mm, lineolat, kahverengimsi.

Yetiştirme yerleri: Ankara: Beypazarı, 500 m, Amasya: Amasya-Merzifon arası, Tokat: Tokat-Sivas arasında Çamlıbel, Kütahya: Kütahya-Gediz arasında, 1000 m,

Eskişehir: Eskişehir'in 16 km doğusunda, 980 m, Sivas: Zara, 1300-1400 m, Urfa: Birecik, Mardin: Mardin (Davis, 1982).

1.2. *Achillea* L. Türleri Üzerinde Yapılan Çalışmalar

1.2.1. Etnobotanik Çalışmalar

Achillea türleri üzerine yapılan etnobotanik çalışmalarda bu cinsin halk arasında geniş bir kullanım alanına sahip olduğunu göstermiştir.

Brezilya'nın güneyinde Atlantik ormanları bölgesinde yapılan bir etnobotanik çalışmada *A. millefolium*' un pnömoni, ateş, mide rahatsızlıkları ve gripte kullanıldığı; ayrıca antibiyotik ve sedatif olarak da kullanımı olduğu rapor edilmiş (Tribess ve ark., 2015).

Hindistan'ın Kathua bölgesinde yapılan araştırmada *A. millefolium*'un halk hekimliğinde yapraklarının yaralı bölgeye yapıştırılması suretiyle deri hastalıklarında ve analjezik amaçlı olarak kullanılmış. İnce köklerinden hazırlanan macuna pamuk batırılıp ağrıyan diş konması suretiyle analjezik amaçlı kullanıldığı bildirilmiştir (Rao ve ark., 2015). Hindistan'da Himalaya'ların kuzey bölgesinde geleneksel fitoterapide kullanılan bitkiler ile ilgili bir çalışmada *A. millefolium*'un çiçekli baş kısımlarının ve yapraklarının gastrik problemler ve ateşde kullanıldığı bildirilmiştir. Yaprakları çiğnenerek diş ağrısında ağrıyı gidermek için kullanılırken; dekoksionları kanamalı ağrılarda kullanılmıştır. Diyforetik, histeri, ülser, vajinal problemlerde ve hemeroidde kullanıldığı da rapor edilmiştir (Sharma ve ark., 2004).

İspanya'nın Katalonya bölgesinde yapılan bir etnobotanik çalışmada civanperçeminin antiseptik olarak haricen banyosunun kullanıldığı rapor edilmiştir (Rigat ve ark., 2015). İspanya'nın İber yarımadasında bulunan tıbbi bitkiler ile ilgili yapılan bir etnobotanik çalışmada *A. millefolium*'un sindirim bozukluklarında, boğaz

ağrısında ve yaralarda kullanıldığı bildirilmiştir. Çiçekleri yaraları tedavi etmek için dekoksionları lapa şeklinde haricen; sindirim şikayetlerinde infüzyonları dahilen; solunum şikayetlerinde, boğaz ağrısında buhar şeklinde dahilen kullanıldığı bildirilmiştir (Cavero ve ark., 2011).

İtalya'nın kuzeybatı Alp bölgesinde yapılan bir etnobotanik çalışmada *A. collina*'nın çiçeklerinin infüzyonu sindirim problemlerinde, *A. erba-rotta*'nın çiçeklerinin dekoksionu arpacık ve konjunktivite karşı, *A. ligustica*'nın yapraklarının ve sürgünlerinin enerji vermesi amacıyla kullanıldıkları bildirilmiştir. *A. millefolium*'un ise çiçekli kısımlarının halen tıbbi uygulamalarda rahatlatıcı olarak çay formu verildiği bildirilmiştir (Cornara ve ark., 2014). İtalya'nın Sondrio bölgesinde yapılan bir etnobotanik çalışmada *A. millefolium*'un taze veya kurutulmuş yaprak ve çiçekleri kullanılmakta olup infüzyonları iştah açıcı, sindirim problemlerinde, diüretik, antienflamatuvar, antihemoroidal ve adet ağrılarında; dezenfektan ve yara kapatıcı amacıyla taze yaprakları lapa halinde kullanılmaktadır. Veteriner hekimlikte ise inekler için sindirimin kolaylaşması amacıyla infüzyonları kullanılmaktadır. *A. moschata*'nın da taze ya da kurutulmuş çiçeklerinin infüzyon formunda dahilen sindirim problemlerinde, hipertansiyonda, antinevraljik amaçlı; idrar yolu enfeksiyonları ve vajinitte infüzyonlarını bu bölgelere sürerek kullanılmaktadır (Vitalini ve ark., 2013). İtalya Valvesitono'da geleneksel kullanımı olan tıbbi bitkiler ile yapılan bir çalışmada çiçeklerinin infüzyonu sindirim problemlerinde günde birkaç çay bardağı infüzyonu içilerek kullanılmakta olduğu tespit edilmiştir (Vitalini ve ark., 2009). İtalya Sardunya'da yapılan etnofarmakolojik bir çalışmada *A. millefolium*'un çiçeklerinin likör şeklinde sindirim problemlerinde, diş ağrısında taze çiçeklerini çiğneyerek, çiçeklerinin infüzyonu laksatif amaçlı olarak, çiçeklerinden hazırlanan merhem fisürlere, yaralara ve hemoroide karşı antienflamatuvar etkili olarak kullanıldığı; toprak üstü kısımlarının infüzyon ve dekoksionu menstrual düzensizliklere ve ağrılara karşı, yine toprak üstü kısımlarından hazırlanan infüzyon ya da banyoları kadın üreme sistemlerindeki problemlere karşı kullanıldığı bildirilmiştir. Ayrıca *A. millefolium*'un veterinerlikte toprak üstü kısımlarından hazırlanan infüzyon sindirim problemlerine karşı kullanılmıştır. *A. moschata* ise taze yapraklarından hazırlanan infüzyon ya da yapraklarının yaralı bölgeye sarmak

suretiyle yaraların iyileşmesinde ve hemostatik etkili olarak kullanılmış; ayrıca infüzyonları analjezik etkili olarak kullanılmıştır. *A. moschata*'nın diğer bitkilerle kombine olarak kullanıldığı da bildirilmiştir. *Matricaria recutita* ile birlikte infüzyonu rahatlatıcı olarak kullanılmış, *Cetraria islandica* ve *Artemisia absinthium* ile birlikte dekoksyonu öksürük ve bronşite karşı kullanılmıştır. Veterinerlikte sindirim problemlerine karşı kullanıldığı ve masaj şeklinde hayvanlara sürülerek daha kaliteli süt ve yağ üretimi sağladığı bildirilmiştir (Cas ve ark., 2015).

İsviçre Alplerinin orta ve güney kesimlerindeki yabani gıda bitkileri üzerine yapılan etnobotanik çalışmalarda *A. millefolium*'un endokrin sistem ve gastrointestinal sistem rahatsızlıklarında kullanıldığı bildirilmiştir. GIS üzerinde koliklere karşı, şişkinlik ve gaz durumlarda kullanılmakta; ayrıca mensturasyon bozukluklarına karşı ve menopoz süresince kullanımı olduğu bildirilmiştir (Abbet ve ark., 2014).

İran'ın kuzeybatısındaki Urmia şehrinde bitkinin dekoksyon şeklinde çiçekleri kullanılmaktadır. Antikonvulsan ve anti epileptik etkili olarak geleneksel terapötik kullanımı mevcuttur (Saki ve ark., 2014). Urmia şehrinde gastrointestinal rahatsızlıkların tedavisinde kullanılan tıbbi bitkiler ile yapılan bir başka çalışmada *A. millefolium*'un dekoksyon veya infüzyonu şeklinde kullanımı olduğu tespit edilmiştir. Mide asidini azaltıcı etkisi olması ve bu etkisini de vagus sinir inhibisyonu yaparak mide asit salgısını inhibe etmek suretiyle gerçekleştirdiği bulunmuş bu yüzden de gastritte kullanıldığı rapor edilmiştir (Bahmani ve ark., 2014). İran' da yapılan bir başka çalışmada antenflamatuvar, karminatif ve antiinfektif etkili olarak tıbbi kullanımı olduğu bildirilmiştir (Naeini ve ark., 2009).

Pakistan'ın kuzey bölgesindeki etnobotanik kullanımı olan bitkilerle yapılan çalışmada *A. millefolium*'un dekoksyon ve infüzyon formunda öksürük ve bol mukus gelmesinde kullanıldığı tespit edilmiştir (Kayani ve ark., 2014). Pakistan'da yapılan bir başka etnobotanik çalışmada *A. wilhelmsii*'nin karın ağrısında, diyabette, gastritte ve obezitede infüzyon ve dekoksyon formlarının kullanıldığı bildirilmiştir (Bibi ve ark., 2014).

Sırbistan'ın güney ve batı bölgelerinde geleneksel kullanımı olan tıbbi bitkilerin etnobotanik çalışmasında *A. millefolium*'un infüzyonu iştah kaybında, gastrointestinal rahatsızlıklarda, menstrual rahatsızlıklarda, kramplarda ve öksürükte kullanılmaktadır (Savikin ve ark., 2013). Sırbistan'da bulunan Kopaonik dağında yabani olarak yetişen ve kullanılan tıbbi bitkiler ile ilgili yapılan bir etnobotanik çalışmada *A. millefolium*'un aromatik, astrenjan ve diüretik etkili olarak kullanıldığı bildirilmiştir. Yemeklerden önce çayı iştah açıcı olarak ve ayrıca gastrointestinal rahatsızlıklarda diyare ve dispepside de çayı kullanılmıştır. Solunum rahatsızlıklarında grip, nezle, öksürük ve bronşial astımda eşit miktarda civanperçemi yaprağı, öksürük otu, melisa ve ebegümece çiçekleri karıştırılarak çayı içildiği bildirilmiştir. Haricen yaprakları hemoroidde, ülserde ve yaralarda kullanıldığı bildirilmiştir (Jaric ve ark., 2007). Sırbistan'da yapılan bir başka etnobotanik çalışmada *A. clypeolata*'nın halk hekimliğinde dahilen çaylarının böbrek problemlerinde, öksürükte ve iştah açmada; *A. millefolium*'un ise dahilen çaylarının menopoz sorunlarında, soğuk algınlığında, solunum problemlerinde, mide bulantısında; haricen yapraklarından hazırlanan yakaların yaralanmalarda eklem iltihabını azaltmak ve yaraların iyileşmesini hızlandırmak amacıyla kullanıldığı bildirilmiştir (Jaric ve ark., 2015).

Mısır-Sina Yarımadası'nda yapılan bir etnobotanik çalışmada *A. fragrantissima*'nın toprak üstü kısımlarının infüzyon formu histeride ve analjezik etkili olarak başağrısında, antihelmintik, emenagog, antispazmodik amaçlı ve anemide kullanıldığı bildirilmiştir. Haricen ise göz rahatsızlıklarında kullanıldığı bildirilmiştir. *A. santolina*'nın ise toprak üstü kısımlarının ve köklerinin infüzyon formunda karminatif, antihelmintik ve antienflamatuar etkili olarak kullanıldığı bildirilmiştir (Eissa ve ark., 2014).

Estonya halk hekimliğinde *A. millefolium*'un ezilmiş yaprakları kanamayı durdurmak için kullanılmıştır. Civanperçeminin halk hekimliğinde oldukça çeşitli 99 hastalığa karşı kullanıldığı düşünülmektedir. Fakat genel olarak infüzyonları soğuk algınlığı ve semptomlarına karşı, mide rahatsızlıklarında, anemi ve diğer kan ile ilgili rahatsızlıklarda kullanılmaktadır. İştah açıcı olarak kullanılmış; ayrıca sindirim

problemlerine karşı da kullanılmış ama çoğunlukla çay olarak kanamaya karşı, hemoroid ve düzensiz menstruasyonda kullanılmıştır (Soukand ve Kalle; 2013). Estonya’da yapılan başka bir çalışmada *A. millefolium*’un halk hekimliğinde çiçeklerinin ve toprak üstü kısımlarının çay şeklinde kullanılmaktadır. Yiyecek olarak ise yaprakları kullanılmaktadır (Soukand ve Kalle; 2012).

Meksika’da kullanılan tıbbi bitkiler ile yapılan bir çalışmada *A. millefolium*’un halk hekimliğinde toprak üstü kısımlarının infüzyonu oral olarak mide rahatsızlıklarında, diyarede kusmada ve kalp krizi ataklarında kullanılmakta olduğu bildirilmiştir (Alonso-Castro ve ark., 2012). Meksika-Hidalgo’da bulunan tıbbi bitkiler ile ilgili yapılan bir etnobotanik çalışmada *A. millefolium*’un yapraklarının maserasyon ve dekoksasyon formunun topikal olarak uygulanarak kulak ağrısında kullanıldığı bildirilmiştir (Andrade-Cetto, 2009).

İngiltere’de bir dönem yaşam süren Anglosaksonlara ait olan farmakope kayıtlarına göre *A. millefolium*’un yüzdeki şişlikler ve döküntülerde, yaraların iyileşmesinde, baş ağrısında, bağırsak ve karın ağrısında, mide ekşimesinde, sindirim güçlüğünde, diyarede, yılan sokması ve köpek ısırmasında kullanılmıştır. Kökleri de diş ağrısında aç karnına yenerek kullanılmıştır (Watkins ve ark., 2011).

Ülkemizde Doğu Anadolu’da yapılan bir etnobotanik çalışmada *A. millefolium* subsp. *millefolium*’un halk arasında kapitulularının dahili olarak dekoksasyon ve infüzyon formunda ve haricen ise ezilerek diüretik, karminatif, menstrual rahatsızlıklarda, mide rahatsızlıklarında, üriner antiseptiği, antitüsif, tonik, karın ağrısında, soğuk algınlığında; herbasının ise yara iyileştirici ve astrenjan olarak, *A. aleppica* herbasının dekoksasyon formunda dahilen diüretik, karminatif ve emenagog amaçlı; *A. biebersteinii* kapitulularının dekoksasyon formunda dahilen, kapituluların ezilerek haricen veya lapa halinde haricen diüretik, astım, kardiyotonik, mide kuvvetlendirici, karminatif, tonik, soğuk algınlığı, nefralji, jinekolojik rahatsızlıklarda, kadın kısırlığında, emenagog, sarılık, ekspektoran amaçlarla ve herbasının apse, yaralarda, astrenjan amaçla, ödemde, cilt üzerindeki kızarıklarda, *A. cappadocica* yaprakları haricen lapa formunda ve dahilen

dekoksasyon ve infüzyon formlarında astrenjan, ödem, emenagog ve mide kuvvetlendirici amaçlarla, *A. coarctata* herbası dahilen dekoksasyon formunda diüretik, karminatif ve menstrual rahatsızlıklarda, *A. schischkinii* kapitulumlarının toz edilerek dahilen karminatif amaçla, *A. setacea* herbasının dahilen infüzyon ve dekoksasyon formlarında emenagog ve mide kuvvetlendirici amaçlarla, *A. tenuifolia* yapraklarının dahilen hiperkolesteralde, diyabette, astımda, bronşitte ve öksürükte, *A. vermicularis* herbasının dahilen dekoksasyon formunda mide kuvvetlendirici olarak ve son olarak *A. wilhelmsii* kapitulumlarının dahilen infüzyon formunda ve haricen dekoksasyon formunda diüretik, karın ağrısı, mide kuvvetlendirici, emenagog, kadın kısırlığında ve herbasının antihemoroidal amaçlarla kullanıldıkları bildirilmiştir (Altundag ve Ozturk., 2011). Elazığ-Maden'de yapılan bir etnofarmakolojik çalışmada *A. millefolium*'un halk arasında antianemik, antibakteriyel, antienflamatuvar, antispazmodik, iştah açıcı, diüretik, emoliyan, dizanteri ve hemaroid ile böbrek ve sindirim rahatsızlıklarında ve diş ağrısında kullanılmakta olduğu tespit edilmiştir (Cakilcioglu ve ark., 2011). Elazığ-Sivrice'deki tıbbi bitkiler üzerine yapılan bir etnobotanik çalışmada yapraklarının dekoksasyonu yemeklerden sonra 1 çay bardağı içilerek antianemik ve antispazmodik etkili olarak sindirim problemlerinde ve hemoroidde kullanılmaktadır (Cakilcioglu ve Turkoglu, 2010). Elazığ'da yapılan bir etnobotanik çalışmada ülkemizde endemik olarak yetişen *A. schischkinii*'nin toprak üstü kısımlarının dekoksasyon formu haricen yara iyileştirici olarak; *A. wilhelmsii*'nin ise dekoksasyon formu dahilen emenagog olarak kullanıldığı bildirilmiştir (Hayta ve ark., 2014). Malatya'da yapılan bir etnobotanik çalışmada *A. schischkinii* çiçeklerinden hazırlanan dekoksasyonun diyabetik rahatsızlıklarda, *A. biebersteinii* çiçeklerinden hazırlanan infüzyonun romatizmada, sinüzitte ve diş ağrısında, *A. wilhelmsii* çiçeklerinden hazırlanan infüzyonların genital enfeksiyonlarda, hemostatik etkili olarak kullanıldıkları bildirilmiştir (Tetik ve ark., 2013). Bingöl-Solhan'da yapılan bir etnobotanik çalışmada *A. biebersteinii* çiçeklerinden hazırlanan infüzyonun romatizmada, hepatitte, sinüzitte, diş ve adet ağrısında kullanıldığı bildirilmiştir (Polat ve ark., 2013).

Tıbbi Herbalistler Ulusal Enstitüsü'nün sarı kartlı raporu bulunan bitkiler ile ilgili yapılan bir çalışmada, *A. millefolium*'un kullanımı ile ilgili bir raporda tentürü, 1:4

oranında % 25, 100 ml içinde 33 ml olacak şekilde, günde 3 defa 5er ml olarak kullanılması tavsiye edilmiştir. Advers reaksiyon olarak bulantı ve kusma görülmüştür. İlk gün 4 defa kusma, ikinci ve üçüncü gün 1'er kez kusma görülmüştür. Keskin kokusu nedeniyle hastaların kullanmasının güçleştiği görülmüştür. Altı bitkiyle birlikte başka hiçbir ilaç ve takviyeye gerek kalmadan kullanıldığı rapor edilmiştir (Broughton, 2011).

İspanya İber yarımadası bitkileri üzerine yapılan etnoveteriner çalışmada çiçekli kısımlarının infüzyonları karın ağrısında dahili olarak kullanıldığı ve genel olarak sindirim rahatsızlıklarında kullanıldığı bildirilmiştir (Akerreta ve ark., 2010).

Özbekistan halk hekimliğinde Minberg ismiyle bilinen *A. millefolium*'un çiçekleri sarılığa karşı çayı içilerek kullanılmaktadır (Sezik ve ark., 2004).

Yunanistan-Selanik'de herbal marketlerde satılan ürünlerdeki bitkilerin etnobotanik kullanımları incelendiğinde *A. millefolium*'un infüzyonları, dekoksasyonları ve haricen uygulama şeklinde hemoroide, hipertansiyonda, diyabette, kolit, kabızlık, safra kesesi taşında, gastritte, bağırsak ve karaciğer hastalıklarında, grip, artrit ve romatizmada, diüretik ve dismenorede, menstrual rahatsızlıklarda, antipiretik, iştah açıcı, kanın temizlenmesinde ve uyarıcı olarak kullanıldığı rapor edilmiştir (Hanlidou ve ark., 2004).

Gürcistan halk hekimliği geleneklerine göre, mide-bağırsak rahatsızlıkları ve anti-septik (kan durdurucu) olarak aneminin tedavisinde kullanılmıştır. Ayrıca, diyabet ve hipertansiyonda ve antimikrobiyal ajan olarak da kullanılmıştır. Geleneksel olarak abortif, emenagog, kontraseptif ve uterus kaslarını uyarıcı olarak kullanılmış. Bu nedenle de gebelikte kullanımı kontrendikedir (Martkoplshvili ve Kvavadze, 2015).

İtalya'da yapılan bir çalışmada *A. millefolium*'un veteriner hekimlikte hayvan yemi olarak kullanıldığı bildirilmiştir (Vitalini ve ark., 2009).

Kanada'da evcil hayvanlar ve domuzlar üzerine yapılan bir etnoveteriner çalışmasında; *A. millefolium*'un çiçeklerinin evcil hayvanlarda ve domuzlarda diyareyi durdurmak için kullanıldığı bildirilmiştir. Avrupa tıbbında gastrointestinal ve hepatobilyer rahatsızlıklarda hayvanlarda kullanılmış ve Sinarin'den daha güçlü aktivite gösterdiği anlaşılmıştır (Lans ve ark., 2007).

A. millefolium homeopatide varisde, arteriyel kanamada ve konvülziyonlarda (istem dışı kasılma) kullanılmaktadır.

1.2.2. Fitokimyasal Çalışmalar

1.2.2.1. Fenolik Asitler

A. millefolium herbasının içerdiği fenolik bileşikleri araştırılmış ve majör fenolik bileşik olarak kafeik asit (429 mg/g bitki) ve neoklorojenik asit (118 mg/g bitki) bulunmuştur. Ayrıca daha az oranda ferulik (35 mg/g bitki) asit bulunmuştur (Wojdylo ve ark., 2007). Başka bir çalışmada *A. millefolium*'un içerdiği fenolik bileşiklerin miktar tayini ters faz HPLC yöntemiyle yapılmış ve majör fenolik asit olarak kafeik, *p*-kumarik, ferulik ve neoklorojenik asit içerdiği tespit edilmiştir (Salarbashi ve ark., 2014).

Başka bir çalışmada *A. millefolium*'un toprak üstü kısımlarının metanollü ekstresinden klorojenik asit, 1,3-dikafeilkinik asit, 1,4-dikafeilkinik asit, 3,4-dikafeilkinik asit ve 3,5-dikafeilkinik asit izole edilmiştir (Vitalini ve ark., 2011). *A. millefolium* toprak üstü kısımlarının içerdiği polifenolik bileşiklerin analizinin yapıldığı bir başka çalışmada klorojenik asit (8,12 g/kg bitki), 3,5-dikafeilkinik asit (21,59 g/kg bitki), 1,5 dikafeilkinik asit (8,88 g/kg bitki), 4,5-dikafeilkinik asit (3,31 g/kg bitki) izole edilmiştir. Total kafeil türevi 41,9 g/kg bitki, total hidroksisinnamik asit türevi 52,67 g/kg bitki ve flavonoit miktarı ise 12,92 g/kg bitki olarak bulunmuştur (Fraise ve ark., 2011).

Yapılan bir başka çalışmada *A. millefolium*'un etanol ekstresinin çeşitli fraksiyonlarından 35 bileşik izole edilmiştir. Bunlar arasında mandelik asit, salisilik asit, vanilik asit, gallik asit, floroglusinol, prokateşik asit, pirokateşol ve tannik asit gibi fenolik asitler bulunmaktadır (Lim, 2014).

Asteraceae familyasına ait *A. millefolium*'un da bulunduğu 12 bitkinin içerdiği hidroksisinnamat türevlerine bakıldığı bir çalışmada; LC-MS ile yapısı aydınlatılan 47 bileşikten 10 tanesini *A. millefolium*'un da içerdiği tespit edilmiş ve bunlar 1-kafeilklinik asit, 3-kafeilklinik asit, 4-kafeilklinik asit, 5-kafeilklinik asit, 5-feruloilklinik asit, 1,5-dikafeilklinik asit, 3,5-dikafeilklinik asit, 3,4-dikafeilklinik asit, 4,5-dikafeilklinik asit ve 1-kafeil-3-feruloilklinik asit olarak tanımlanmıştır (Jaiswal ve ark., 2011).

Balkanların güneyinde endemik olarak bulunan *A. holosericea* köklerinden izole edilen 3-*O*-[E]-feruloil-5-*O*-[E]-kafeilklinik asit ve 4-*O*-[E]-feruloil-5-*O*-[E]-kafeilklinik asit bileşikleri bu cinsten ilk defa izole edilmiştir (Radulovic ve ark., 2006).

1.2.2.2. Flavonoidler

Flavonoidler fenolik bileşiklerin en çok çalışılan sınıflarından birini temsil eder ve son zamanlarda insan sağlığına katkısındaki rolünden dolayı daha fazla ilgi çekmeye başlamıştır. Yapılan çalışmalar *Achillea* cinsinin çok çeşitli ve fazla miktarda flavonoidleri ve bu flavonoidlerin monoglikozitleri (başlıca *O*-glikozitler, *C*-glikozitler ve *O*-glukuronidler), diglikozitleri (*O*-diglikozitler, *C*-diglikozitler, *O*-rutinosidler, 6-*C*-glikozil-8-*C*-arabinosil) ve bunların metil türevlerini içermektedir (Tuberoso ve ark., 2009).

İtalya'nın Sardunya adasının farklı bölgelerinden toplanan *A. millefolium*'un etanol (%95):su (7:3) ekstresinin içerdiği bileşiklerin LC-ES/MS ile yapılan analizinde apigenin, luteolin, kersetin, visenin-2 (apigenin-6,8-*C*-diglikozit), apigenin-7-*O*-

rutinozit, kozmosiin-apigetrin (apigenin-7-*O*-glikozit), luteolin-7-*O*-glikozit, rutin (kersetin-3-*O*-rutinozit), santin (6-hidroksikemferol-3,6,4'-trimetil eter), 6-OH-kemferol-3,6,7,4'-tetrametil eter, 6-OH-kemferol-3,6-dimetil eter, şaftozit (apigenin-6-*C*-glikozit-8-*C*-arabinozit), izoşaftozit (apigenin-6-*C*-arabinozit-8-*C*-glikozit) ve sentaureidin (5,7,3'-trihidroksi-3,6,4'-trimetoksi flavon) olmak üzere toplam 13 tane flavonoit izole edilmiştir. Ayrıca *A. ligustica* çiçeklerinden hazırlanan % 95 etanollü ekstresinde 6-OH kemferol-3,6,4'-trimetil eter, luteolin, apigenin ve apigenin-6-*C*-glikozit-8-*C*-arabinozit majör flavonoitler olarak bulunmuştur (Tuberoso ve ark., 2009).

HPLC-DAD ve LC-MS ile yürütülen çalışmalar sonucunda *A. millefolium*' un ana bileşenlerinden olan flavonoitleri % 10 oranında içerdiği tespit edilmiştir. Bitkide apigenin-4-*O*-glikozit, luteolin-4-*O*-glikozit, kersetin-4-glikozit, luteolin-7-glikuronid ve luteolin-diglikozit bulunmuştur (Dall' Acqua ve ark., 2011).

Litvanya'da farklı alanlardan toplanan *A. millefolium*' un çiçeklerinin içerdiği fenolik bileşiklere bakılmıştır. Bu çalışmada da apigenin, luteolin ve bunların 7-*O*-glikozit türevleri bulunmuştur. Farklı olarak luteolin-3'-7-di-*O*-glikozit bulunmuştur (Benetis ve ark., 2008).

Yapılan başka bir çalışmada *A. millefolium* subsp. *millefolium*' un flavon metil eterleri içerdiği tespit edilmiştir. Majör bileşen olarak 3-metil betuletol (6-OH kemferol 3,6,4'-trimetil eter), sentaureidin (6-OH kersetin 3,6,4'-trimetil eter) ve pektolinarinengin (skutellerin-6,4'-dimetil eter) tespit edilmiş; bunun yanında 6-OH kemferol 3,6-dimetil eter, 6-OH kersetin 3,6 dimetil eter, penduletin (6-OH kemferol 3,6,7-trimetil eter), 6-OH kersetin 3,6,7-trimetil eter, 6-OH kemferol 3,6,7,4'-tetrametil eter, kastisin (6-OH kersetin 3,6,7,4'-tetrametil eter), artemetin (6-OH kersetin 3,6,7,3',4'-pentametil eter), hispidulin (6-OH apigenin (skutellerin)-6-metil eter), nepetin (6-OH luteolin-6-metil eter), sirsimaritin (skutellerin 6,7-dimetil eter), sirsiliol (6-OH luteolin-6,7 dimetil eter), eupatilin (6-OH luteolin 6,3',4'-trimetil eter), salvigenin (skutellerin 6,7,4'-trimetil eter) ve 6-OH luteolin 6,7,3',4'-tetrametil eter içerdiği tespit edilmiştir (Valant-Vetschera ve Wollenweber, 2001). *A.*

millefolium subsp. *millefolium* ile ilgili bir başka çalışmada ek olarak sirsilineol bileşiği izole edilmiş (Ulubelen ve ark., 1980). Bir başka çalışmada *A. millefolium* subsp. *millefolium*'un kloroformlu ekstresinden 6 flavonoit aglikonu izole edilmiş ve majör flavonoit aglikonu olarak artemetin ve krizosplenol D (6-OH kesretin 3,6,7-trimetil eter) içerdiği tespit edilmiş ve majör flavonoit glikoziti olarak kersetin-3-*O*-glikozit içerdiği bulunmuş. Ayrıca viteksin (5,7,4'-trihidroksiflavon-8-*C*-glikozil), svertisin (5,4'-dihidroksi-7-*O*-meflavon-6-*C*-glikozil), svetijponin (5,3',4'-trihidroksi-7-*O*-Meflavon-6-glikozil), diosmetin-7-*O*-glikozit, kemferol-3-*O*-glikozit, kersetin-3-*O*-glikozit, kersetin-3-*O*-ramnoglikozit içermektedir (Ivancheva ve ark., 2002).

A. millefolium üzerine yapılan bir diğer çalışmada di-*O*-glikozit türevi flavonoit olan luteolin-4'-7-di-*O*-glikozit ve izoramnetin-3-*O*-rutinosid; di-*C*-glikozit flavonoitler apigenin-4'-*O*-glikozit, luteolin-4'-*O*-glikozit ve 6-OH-luteolin-7-*O*-glikozit; malonil ester glikozit olan luteolin-7-malonil-glikozit, apigenin-7-malonil-glikozit ve ilk antispazmodik bileşik olan sinarozit bulunmuştur (Benedek ve ark., 2007; Vitalini ve ark., 2011). *A. millefolium*'un toprak üstü kısımlarının metanollü ekstresinden apigenin-7-*O*-β-D-glikopiranozit, luteolin 4'-*O*-β-D-glikopiranozit ve apigenin-7-*O*-glikopiranozit izole edilmiştir (Innocenti ve ark., 2007).

A. millefolium' un koleretik etkilerini araştırmak için yapılan bir çalışmada ise luteolin-7-*O*-β-D-glikuronid izole edilmiştir (Benedek ve ark., 2006).

A. millefolium'un etanollü ekstresi ile yapılan bir çalışmada 35 tane bileşik izole edilmiştir. Flavonoit olarak izoramnetin izole edilmiştir. Bir başka çalışmada ise 5-OH-3,6,7,4'-tetrametoksi flavon izole edilmiştir (Lim, 2014).

A. millefolium'un çiçekleri ve yapraklarının metanol ekstresi ile yapılan bir çalışmada 28 tane bileşik izole edilmiştir. Majör flavonoit olarak luteolin-*O*-asetilheksosid ve apigenin-*O*-asetilheksosid olarak bulunmuştur. Bu iki flavonoitin yanında apigenin-*C*-heksosid-*C*-heksosid, apigenin-*C*-heksosid-*C*-pentozid, apigenin-*C*-glikoz-*C*-pentozid, luteolin-6-*C*-glikozit, kersetin-*O*-pentosil-heksosid,

kersetin-*O*-heksosid, kersetin-*O*-malonilheksosil-ramnozid, kemferol-*O*-pentosil-heksosid, kersetin-3-*O*-rutinozid, apigenin-*O*-diheksosid, izoramnetin-*O*-heksosid, kersetin-*O*-asetilheksosid, apigenin-*O*-pentosil-heksosid, luteolin-*O*-asetilheksosid, izoramnetin-*O*-asetilheksosid ve apigenin-*O*-asetilheksosid izole edilmiştir (Dias ve ark., 2013).

A. tenuifolia'nın toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanollü ekstresinden kolon kromatografisi ile luteolin türevi flavonoidlerden 5-OH-3',4'-dimetoksiflavon-7-*O*-(ramnozid) ve bu cinsten ilk defa 5-OH-3'-metoksiflavon-4'-*O*-(pentenil-4-on)-7-*O*-(2'')-(ramnozid) ramnozid izole edilmiştir (Shafaghat ve ark., 2014).

A. setacea toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanol:su (4:6) ekstresinden kapiler elektroforez yöntemiyle flavon-*O* ve -*C* glikozitleri yapısında orientin ve izoorientin bileşikleri izole edilmiştir (Marchart ve Kopp, 2003).

1.2.2.3. Terpenik Bileşikler

1.2.2.3.1. Monoterpen

Achillea fragrantissima'dan oksijenlenmiş monoterpen yapısında santolinan, 8-hidroksisantolin-1,4-dien-6-al, 1-santolinen-4,5,8-triol ve 5,8-epoksi-4,6-dihidroksisantolin-1-en izole edilmiştir (Saeidnia ve ark., 2011).

1.2.2.3.2. Seskiterpen Laktonlar

Literatür verilerine göre *A. millefolium*'dan 1 β ,10 β -epoksideasetoksimatrikarin ve 1,10 epoksiguayanolit izole edildiği bildirilmiştir (Hassan ve ark., 2007). Bir başka literatürde *A. millefolium*'dan akillin, millefin, asetoksiartabsin, balkanolit, asetil balkanolit, 2,3-dihidro-deasetoksimatrisin ve majör bileşen olarak bu cinste bulunan ilk proazulen olan akillisin (8 α -asetoksi-10-epi-artabsin) içerdiği bildirilmiştir (Ulubelen ve ark., 1990; Li ve ark., 2011). Bir başka literatür verisinde *A. millefolium*'un α -ongipinen-1-on içerdiği rapor edilmiştir (Werner ve ark., 2003).

A. millefolium'un çiçekli kısımları ile yapılan bir başka çalışmada çiçeklerinin eterli ekstresinden peroksit köprüsüyle siklopentan zincirine bağlı ve α -metilen- γ -butirillakton yapısında 2 guayanolit izole edilmiş ve α -peroksiakhifolid ve β -peroksiizoakhifolid olarak tanımlanmıştır (Falk ve ark., 1975).

A. millefolium subsp. *millefolium*'un toprak üstü kısımlarından 2 seskiterpen lakton izole edilmiştir. Bu izole edilenlerden akillifolin ilk defa izole edilmiştir. İzole edilen diğer iki seskiterpen lakton olan dihidroreynosin ve dihidropartenolid bileşikleri ilk defa *Achillea* cinsinden izole edilmiştir (Ulubelen ve ark., 1990) Bir diğer çalışmada *A. millefolium*'un seskiterpen lakton olan 10-isovalerildeasetilizoapresin içerdiği bildirilmiştir (Todorova ve ark., 2007).

A. millefolium'un çiçekli kısımlarının diklorometanlı ekstresinin HPLC-UV/VIS ile yapılan analizinde 8 α -angeloiloksi artabsin-1,4-endoperoksit ve 8 α -tigloiloksi-artabsin-1,4-endoperoksit bulunduğu tespit edilmiştir (Kubelka ve ark., 1999).

Macaristan'da yapılan bir çalışmada *A. millefolium*'un çiçekli baş kısımlarının diklorometanlı ekstresinin UV-VIS ve NMR yöntemleri ile yapılan bir çalışmada 5 adet guayanolit izole edilmiştir. İzole edilen bileşikler; lökodin, 8 α -angelioksi-lökodin, deasetil matrikarin, akillisin ve 8 α -angelioksi-akillisin (Glasl ve ark., 2002). *A. millefolium*'un çiçeklerinin metanollü ekstresinden ilk defa akillinin A (2 β ,3 β -

epoksi-1 α ,4 β , 10 α -trihidroksiguaya-11(13)-en-12,6 α -olit) isminde sitotoksik bir bileşik izole edilmiştir (Li ve ark., 2011).

Bir başka çalışmada *A. millefolium* çiçeklerinden akillinin B ve akillinin C isminde yeni seskiterpen lakton izole edilmiştir (Li ve ark., 2012b). *A. millefolium* çiçeklerinin metanollü ekstresinden 1,10-sekoguayanolit yapısında 10 tane bileşik izole edilmiştir. Bunlar millifolides A, millifolides B, millifolides C, iso-seko-tanapartolid, arteludooisinolid A, 3-asetil-iso-seko-tanapartolid, 3-metoksi-tanapartolid, seko-tanapartolid A, seko-tanapartolid B, 5-*epi*-seko-tanapartolid A bileşikleridir (Li ve ark., 2012a).

A. millefolium'un toprak üstü kısımlarının n-hekzan, kloroform, sulu-metanol ve sulu ekstrelerinden ilk defa seko-psödoguayanolit yapısında paulitin, isopaulitin, psilostakin C izole edilmiştir. Ayrıca seskiterpen lakton yapısında da sintenin izole edilmiştir (Csupor-Löffler ve ark., 2009).

A. millefolium'un antitümör etkisinin araştırıldığı bir çalışmada akimilik asit A, B ve C olmak üzere 3 adet seskiterpen yapısında bileşik izole edilmiştir (Lim, 2014).

A. cretica'nın toprak üstü kısımlarının sulu ekstresinin çeşitli fraksiyonlarından seskiterpen lakton yapısında klorin içeren yeni bir bileşik ve epimerik sekoguayanolit yapısında yeni bir bileşik olan tanafallin bileşikleri izole edilmiştir. Ayrıca yine bir seskiterpen olan vomifoliol izole edilmiştir (Hichri ve ark., 2015).

A. falcata'dan seko-tanapartolid yapısında 3- β -metoksi-izo-seko-tanapartolid, tanafillin, izo-seko-tanapartolid ve 8-OH-3-metoksi-izo-seko-tanapartolid bileşikleri izole edilmiştir (Ghantous ve ark., 2009).

A. ligustica toprak üstü kısımlarının etanollü ekstresinin hekzan-etilasetatlı fraksiyonundan algerianolid isminde yeni bir guayanolit izole edilmiştir (Boudjerda ve ark., 2008).

A. distans çiçekli kısımlarından hazırlanan kloroformlu ekstreninin çeşitli fraksiyonlarından seskiterpen lakton yapısında 8 α -izovaleroildeasetilezomantanin,

13-OH-3 β -tigloyiloksi germakren-1(10)*E*,4*E*,7(11)-trien-12,6 α -olid, 10-(2-metilbutanol)-deasetilizoapresin, 8 α -tigloyiloksidehidrolökodin, 8 α -tigloyiloksisinin, 8 α -izovaleroyiloksisinin, izo- α -peroksiakifolid, distansolid A ve distansolid B isimlerinde 9 tane yeni bileşik izole edilmiştir (Todorova ve ark., 2007a).

Bulgaristan'ın 6 farklı bölgesinden toplanan *A. collina*'dan hazırlanan kloroformlu ekstrenin farklı fraksiyonlarından seskiterpen lakton yapısında bileşikler izole edilmiştir. Eudesmanolid yapısında 11 α ,13-dihidrosantamarin, 11-*epi*-artecin, 11 α ,13-dihidroreynosin ve 1 β -OH-11-*epi*-kolartrin bileşiklerini; germakren yapısında artabin, 1 β -OH-6 β H,7 α H,11 α H-germakren-4(5),10(15)-dien-6,12-olid-(11-*epi*-gallisin), 11 α ,13-dihidropartenolid ve 3 β -(2-metilbutiroloksi)-9 β -OH-germakren-1(10),4-dienolid bileşiklerini ve son olarak guayanolit yapısında ise matrikarin, deasetilmatrikarin, 11,13-dehidrodeasetilmatrikarin, akillin, 8 α -hidroksiakillin, 8 α -angeloyiloksiartabsin, 8 α -angeloyiloksitannunolid, 8 α -angeloyiloksi-1 β ,2 β ,4 β ,5 β -diepoksi-10 β -OH-6 β H,7 α H,11 β H-12,6 α -guayanolid, dehidrolökodin, 8 α -tigloksiartabsin, akillisin, 8 α -angeloksi-3-oksa-artabsin, 8 α -tigloksi-3-oksa-artabsin, 3-oksa-akillisin, matrisin, 4-*epi*-matrisin, 8 α -tigloksi-11(β H),13-dihidro-10-*epi*-tanapartin- α -peroksit ve 8 α -izobutiriloksi-11(β H),13-dihidro-10-*epi*-tanapartin- α -peroksit bileşiklerini içerdikleri tespit edilmiştir (Todorova ve ark., 2007b). Yapılan bir başka çalışmada *A. collina* çiçeklerinden hazırlanan kloroformlu ekstrenin çeşitli fraksiyonlarından 11 tane yeni bileşik izole edilmiştir. İzole edilen bileşiklerden 8 α -asetoksi-11-*epi*-tannunolid C, 5 α -hidroksimatrikarin, 8 α -izobutiriloksi-11(β H),13-dihidro-10-*epi*-tanapartin- α -peroksit, 8 α -tigloyiloksi-11(β H),13-dihidro,10-*epi*-tanapartin- α -peroksit, 4 α ,10 β -dihidroksi-8 α -tigloyiloksi-2-okso-6 β H,7 α H,11 β H-1(5)-guayen-12,6 α -olid, 1 α ,2 α ,4 α ,5 α -diepoksi-8 α -tigloyiloksi-10 β -OH-6 β H,7 α H,11 β H-12,6 α -guayanolid, 1 β ,2 β ,3 β ,4 β -diepoksi-8 α -tigloyiloksi-10 β -hidroksi,6 β H,7 α H,11 β -12,6 α -guayanolid, 1 α ,2 α ,3 α ,4 α -diepoksi-8 α -tigloyiloksi-10 β -hidroksi,6 β H,7 α H,11 β H-12,6 α -guayanolid ve 1 α ,2 α ,3 α ,4 α -diepoksi-8 α -angeloyiloksi-10 β -hidroksi,6 β H,7 α H,11 β H-12,6 α -guayanolid bileşikleri guayanolid yapısında, 8 α -asetoksi-3 β -hidroksi-11(α H),13-dihidro kostunolid bileşiği germakren yapısında ve akikollinolid bileşiği ise dimerik guayanolit yapısındadır (Trendafilova ve ark., 2006).

Lökodin, 8-deasetilmatrikarin ve 5-hidroksilökodin bileşikleri *A. santolina*'nın toprak üstü kısımlarından izole edilmiştir. *A. vermicularis*'den akillenon, vermikulon ve vermikularon izole edilmiştir (Si ve ark., 2006).

A. asplenifolia çiçekli kısımlarından hazırlanan klorformlu ekstrenin farklı fraksiyonlarından 15 yeni seskiterpen lakton (9 tanesi guayanolid ve 6 tanesi germakranolid yapısında) yapısında 8 α -asetoksitannunolid B, 8 α -asetoksi-6-*epi*-tannunolid B, 8 α -angeloiloksitannunolid B, 8 α -angeloiloksi-6-*epi*-tannunolid B, 8 α -angeloiloksi-11-*epi*-tannunolid C, 8 α -angeloiloksi-4 α -metoksiguaya-1(10),2-dien-12,6 α -olid, 8 α -angeloiloksi-4 α -metoksiguaya-1(10),2-dien-12,6 α -olid, 8 α -angeloiloksi-4 β -metoksiguaya-1(10),2-dien-12,6 α -olid, 8-deasetil-8-angeloil-4-*epi*-matrikin, 13-asetoksi-3 β -izovaleroiloksigermakre-1(10)E,4E,7(11)-trien-12,6 α -olid, 13-asetoksi-3 β -(2-metilbutiriloksi)-germakre-1(10)E,4E,7(11)-trien-12,6 α -olid, 13-OH-3 β -izovaleroiloksigermakre-1(10)E,4E,7(11)-trien-12,6 α -diolid, 13-OH-3 β -(2-metilbutiriloksi)germakre-1(10)E,4E,7(11)-trien-12,6 α -diolid, 3 β -izovaleroiloksi-8 α -OH-11(α H),13dihidrokokostunolit, 3 β -(2-metilbutiriloksi)-8 α -hidroksi-11 α (H),13-dihidrokokostunolit, 8 α -angeloiloksi-1 α ,2 α ,4 α ,5 α -diepoksi-10 β -hidroksi-6 β H,7 α H,11 β H-12,6 α -guayanolid bileşikleri izole edilmiştir (Todorova ve ark., 2006).

A. clavennae toprak üstü kısımlarından 8 tane guayanolid ve 3 tane de bisabolen yapısında bileşikler izole edilmiştir. İzole edilen bileşiklerden 9 α -asetoksiartekanin, 3 α -kloro-4 β ,10 α -dihidroksi-1 β ,2 β -epoksi-5 α ,7 α H-guaya-11(13)-en-12,6 α -olid, 3 α -kloro-9 α -asetoksi-4 β ,10 α -dihidroksi-1 β ,2 β -epoksi-5 α ,7 α H-guaya-11(13)-en-12,6 α -olid ve 9 α -asetoksiandalusin guayanolid yapısında ve 9(E)-4-okso-7-OH-11-hidroperoksi-bisabol-2,9-dien ise bisabolen yapısındaki yeni bileşiklerdir (Trifunovic ve ark., 2006). *A. clavennae*'nin eter, hekzan ve metanollü ekstrelerinin çeşitli fraksiyonlarının NMR, UV, IR ve MS ile yapılan analizlerinde alkanlar, yağ asitleri, monotерpenler, seskiterpenler ve flavonoidler izole edilmiştir. Guayanolit yapısında rupikolin A ve rupikolin B, 1-deoksi-1 α -peroksi-rupikolin A ve 1-deoksi-1 α -peroksi-rupikolin B bileşikleri izole edilmiştir (Stojanovic ve ark., 2005).

A. depressa toprak üstü kısımlarından seskiterpen lakton yapısında tanapartin- α -peroksit, reynosin, ridentin, akrifolid ve 3β -kloro- $4\alpha,10\alpha$ -dihidroksi- $1\alpha,2\alpha$ -epoksi- $5\alpha,7\alpha$ H-guaya-11(13)-en-12,6 α -olid izole edilmiştir (Trifunovic ve ark., 2005).

A. ligustica toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanol:diklorometan ekstresinin çeşitli fraksiyonlarında seskiterpen lakton yapısında ligustolid A ve ligustolid B isminde 2 tane yeni bileşik izole edilmiştir (Ahmed ve ark., 2003).

A. holosericea toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanol:diklorometan (1:1) ekstresinden eudesmen yapısında 3β -asetoksi, $5\alpha,11,12,13$ -tetrahidroksi-eudesm-4(15)-en, $3\beta,12,13$ -triasetoksi- $5\alpha,11$ -dihidroksi-eudesm-4(15)-en, 3-okso, $11,12,13$ -trihidroksi-eudesm-4-en ve 3-okso, $12,13$ -diasetoksi, 11 -hidroksi-eudesm-4-en bileşikleri izole edilmiştir (Ahmed ve ark., 2002).

A. ageratum toprak üstü kısımlarından germakren yapısında ageratriol-9-O-asetilageratriol, 1-dehidro-ageratriol ve 1(10)-epoksigermakre-5,9-diol; flavonoit yapısında krizosplenol ve sirsiliol bileşikleri izole edilmiştir (Vieira ve ark., 1997).

A. pratensis türü üzerine yapılan birçok çalışmada eusmonolit grubu seskiterpenlere rastlanılmış ve tauremisin, arglanin, artesalin, sentamarin bileşikleri izole edilmiştir. *A. depressa* 'dan ise bunlara ek olarak reynosin izole edilmiştir (Si ve ark., 2006).

Macaristan'da yapılan bir çalışmada *A. millefolium*'un çiçekli baş kısımlarının diklorometanlı ekstresinin UV-VIS ve NMR yöntemleri ile yapılan bir çalışmada 3β -hidroksi- $11\alpha,13$ -dihidrokokstunolit isminde bir germakren izole edilmiştir (Glasl ve ark., 2002).

1.2.2.3.3. Diterpen

Achillea türlerinden izole edilen diterpenler kauren oksitlerdir. *A. clypeolata* türünden $16\alpha,17$ -epoksi-ent-kauren, $16\alpha,17$ -epoksi-19-asetoksi-ent-kauren ve $16\alpha,17$ -epoksi- 3α -asetoksi-ent-kauren izole edilmiştir (Si ve ark., 2006).

1.2.2.3.4. Triterpen

A. millefolium ile yapılan bir çalışmada bitkinin majör triterpeni α -amirin olarak bulunmuş ve ayrıca yapısında β -amirin, taraksasterol ve psödotaraksasterol içerdiği tespit edilmiştir (Lim, 2014). *A. millefolium* subsp. *millefolium*'un toprak üstü kısımları ile yapılan bir çalışmada α -amirin asetat, β -sitosterol, sitosteril-3 β -glikozit izole edilmiştir (Ulubelen ve ark., 1990).

A. odorata'dan ilk monosiklik triterpenoid olan akilleol A ve akilleol B izole edilmiştir. (Barrero ve ark., 2002).

1.2.2.4. Azotlu Bileşikler ve Aminoasitler

A. millefolium'un toprak üstü kısımlarının metanollü ekstresinden aminoasit türevi bileşiklerinden betain, betonisin, kolin, prolin ve stakhidrin izole edilmiştir (Mehlführer ve ark.,1996).

A. millefolium'un alkamid yapısında izoaffinin içerdiği tespit edilmiştir (Gamboa-Leon ve Chilton, 2000). COX-1 enzimini inhibe eden bir alkamid olan undeka-2E,4E-dien-8,10-diyonik asit izobütülamid izole edilmiştir (Clifford ve ark., 2002).

A. millefolium toprak altı kısımlarının lipofilik ekstresinden 17 farklı alkamid izole edilmiş ve yapıları çeşitli spektroskopik yöntemlerle aydınlatılmıştır. Bu bileşiklerin dekatetraenoik asit piperidinleri, dekadienoik asit tiramidleri ve p-metoksi türevlerinden oluştuğu anlaşılmıştır. İzole edilen bileşiklerden 6 tanesi olefinik asit içerdiği ve majör bileşen (2E,4E,6Z)-2,4,6-dekatrienoik asit piperidin olduğu tespit edilmiştir (Greger ve Hofer, 1989). *A. millefolium*'un petroleterli ekstresinden de çeşitli alkamidler izole edilmiş; bunlar asetilenik amidler, olefinik izobütülamid ve dekatetraenoik amid yapısında bileşiklerdir (Greger ve Werner, 1990).

A. millefolium ile yapılan bir çalışmada etanollü ekstresinin çeşitli fraksiyonlarından 35 tane bileşik izole edilmiş olup bunlar içerisinde aminoasit türevi bileşiklerden adenin ve homostakhidrin içerdiği tespit edilmiştir.(Lim, 2014).

1.2.2.5. Uçucu Bileşikler

Achillea türlerinin uçucu yağın bileşim ve miktarı bitkinin varyetesine, elde edilmiş zamanı ve yöresine göre çok değişmektedir (Baytop,1999). Alman kodeksine göre Herba Millefolii'de uçucu yağ oranının minimum % 0,2 olması istendiğini bildirmişlerdir (Çiçekte % 0,5 ; sap ve yapraklarda % 0,2-0,7). Yapılan çalışmalarda *A. millefolium* bitkisinin uçucu yağında bulunan majör bileşenler olarak kamazulen, sabinen, germakren-D, β -pinen, 1,8-sineol, linalol, α - ve β -tuyon, cis- ve trans- β -osimen, mirsen, kafur, askaridol, β -karyofilen, p-simen, bornil asetat, kamfen, limonen, g-terpinen, karyofilen oksit, α -fellandren, β -eudesmol ve α -bisabolol içerdiği belirtilmiştir. Uçucu yağındaki monoterpen miktarının seskiterpen miktarından daha fazla olduğu bildirilmiştir (Gudaityte ve Venskutonis, 2007).

Litvanya'nın 14 farklı bölgesinden toplanan 19 tane *A. millefolium* örneğinin çiçekleri ve yaprakları ayrı olarak su distilasyonu ile uçucu yağı elde edilip analiz edilmiştir. Çiçekli kısımlarından % 0,15-0,55 (h/a) oranında, yapraklarından % 0,06-0,19 (h/a) oranında uçucu yağ elde edilmiştir. GC-MS ile izole edilen toplam 117 tane bileşik **Çizelge 1.1.**'de verilmiştir. Monoterpenlerin miktarı % 32,6 (% 12,6'sı alifatik monoterpen, % 20'si oksijenli monoterpen); seskiterpen miktarı ise % 51,1 (% 28,1'i alifatik,% 23'ü oksijenli seskiterpen) olarak tespit edilmiştir. Çiçekli kısımlarında bulunan majör bileşikler; β -pinen (% 0,33-62,29), β -mirsen (% 0,05-69,76), α -fellandren (% 0,13-29,96), 1,8-sineol (% 2,30-21,57) ve kamazulen (% 0,08-30,70)'dir. Analizi yapılan örneklerin tamamının α -pinen, β -pinen, 1,8-sineol, trans- β -osimen ve kafur içerdiği görülmüştür. Sabinen (% 0,06-12,58) sadece yapraklardan elde edilen uçucu yağda tespit edilmiştir (Gudaityte ve Venskutonis, 2007).

Çizelge 1.1. *A. millefolium* uçucu yağının içerdiği bileşikler

Trisklin	α -tuyon	α -pinen	kamfen
sabinen	β -pinen	β -mirsen	α -fellandren
α -terpinen	<i>p</i> -simen	limonen	β -fellandren
1,8-sineol	<i>cis</i> - β -osimen	<i>trans</i> - β -osimen	γ -terpinen
<i>cis</i> -sabinen hidrat	1-nonen-3-ol	terpinolen	linalol OMT
n-nonanal	nonen-3-ol t	<i>cis-p</i> -ment-2-en-1-ol	<i>iso</i> -3-tuyon t
<i>trans-p</i> -ment-2-en-1-ol	<i>trans</i> -sabinen hidrat	kafur	<i>cis</i> -chrysanthenol
izoborneol	pinokarvon	borneol	terpinen-4-ol
tuyon-3-en-10-ol t	α -terpinol	<i>cis</i> -dihidrokarvol	mirtenol
<i>trans</i> -karvol	pulegon	<i>trans</i> -chrysanthenyl asetat	geranil
oktanoik asit	<i>cis</i> -chrysanthenyl asetat	bornil asetat	geraniol
timol	longipinen	eugenol	ylangen
dekanoik asit	siklosativen	β -burbonen	α -kopen
7- <i>epi</i> -seskituyon	<i>trans</i> -metil sinnamat	β -elemen	izoeugenol
metil eugenol	β -karyofilen	β -gurjunen	α - <i>trans</i> -bergamoten
<i>cis</i> -murola-3,5-dien	α -humulen	<i>allo</i> -aromadendren	<i>trans</i> - β -farnesen
<i>cis</i> -murola-4(14)-5-dien	α -Patkulen	γ -gurjunen	α -amorfen
<i>ar</i> -kurkumen	γ -murolen	α -kadinen	α -zingiberen
bisiklogermakren	α -murolen	β -bisabolen	miristisin
γ -kadinen	β -selinen	<i>cis</i> -seskisabinen hidrat	<i>cis</i> -nerolidol
<i>trans</i> , <i>trans</i> α -farnesen	germakren-A	<i>trans</i> -nerolidol	germakren-B
germakren-D-4-ol	spatulenol	karyofilen oksit	β -oplopenon
viridiflorol	1,10- <i>di-epi</i> -kubenol	elemol izomer	1- <i>epi</i> -kubenol
2- <i>trans</i> ,6- <i>trans</i> -farnesil asetat	karyofilla-4-(14),8(15)- dien-5- α -ol	<i>epi</i> - α -murolol	<i>trans</i> -14-hidroksi-9- <i>epi</i> - β -karyofilen
α -murolol	selin-11-en-4- α -ol	vulgaron-B izomer	elemol asetat
α -sadinol	valeranon	heptadekan	oplopenon izomer
2- <i>cis</i> ,6- <i>cis</i> -farnesol	kamazulen	α -oksobisabolen	metil linolenat
2- <i>trans</i> ,6- <i>cis</i> -farnesol	<i>cis</i> -sadin-4-en-7-ol		

Bir başka çalışmada *A. millefolium*'un uçucu yağı hidrodistilasyon ve superkritik CO₂ ekstraksiyonu yöntemi ile 10 MPa basınçta, 40-60 °C sıcaklıkta elde edilmiştir. Bu iki yöntemin uçucu yağın verimi ve içeriği bakımından karşılaştırılması yapılmıştır. Majör bileşenler; kafur (ekstraksiyonda % 26,4; distilasyonda % 38,4), 1,8-sineol (% 9,6 ; % 16,2), bornil asetat (% 16,7 ; % 4,3), γ -terpinen (% 9 ; % 9,4) ve terpinolen (% 7,6 ; % 3,9) olarak tespit edilmiştir. Hidrodistilasyonla karşılaştırıldığında; monoterpenerin verimi CO₂ gazından kendilerini tamamen

ayıramamaları nedeniyle süperkritik ekstraksiyonda düşük oranda olduğu görülmüş; fakat monoterpen asetatlar ve seskiterpenler gibi daha az uçucu bileşenlerin verimi yüksek bulunmuştur. Hidrodistilasyonla ortaya çıkan γ -terpinen ve terpinolennin hidrolizleri özellikle 40°C'deki ekstraksiyon sıcaklığında süperkritik ekstraksiyonda baskılanmıştır (Bocevka ve Sovova, 2007).

İtalya'nın güneyinde ve Portekiz'de yetişen *A. millefolium*'un çiçekli kısımlarının uçucu yağı CO₂ ile süperkritik ekstraksiyon ve ayrıca su distilasyonu ile elde edilmiştir. GC-FID ve GC-MS ile analiz yapılmıştır. İtalya'dan toplanan örnekte majör bileşen olarak diğerlerinden farklı olarak α -asaron (ekstraksiyonda % 25,6 ve distilasyonda % 33,3 oranında) izole edilmiştir (Falconieri ve ark., 2011). Litvanya'da yetişen *A. millefolium* subsp. *millefolium*'un 40 farklı yerden toplanan örneklerinin çiçekleri ve yapraklarının uçucu yağ bileşenine GC-MS ile bakılmıştır. Uçucu yağın majör bileşenlerinin borneol, kafur, kamazulen, β -pinen, *trans*-nerolidol, 1,8-sineol olduğu tespit edilmiştir (Mockute ve Judzentiene, 2003). *A. millefolium*'un uçucu yağlarının araştırıldığı bir başka çalışmada majör bileşen olarak sabinen (% 37), β -karyofilen (% 18), β -kubebin (% 9) ve 1,8-sineol (% 8) tespit edilmiştir (Alvarenga ve ark., 2015). İran'da yapılan bir çalışmada *Anethum graveolens* ve *Carum copticum*'un tohumlarından ve *A. millefolium*'un toprak üstü kısımlarından uçucu yağ elde edilmiş ve GC-MS ile analizleri yapılmıştır. En düşük uçucu yağ verimi % 0,96 \pm 0,13 (h/a) ile *A. millefolium*'da görülmüştür. *A. millefolium* uçucu yağının majör bileşenleri olarak timol (% 26), borneol (% 16), limonen (% 14), karvakrol (% 10) ve α -pinen tespit edilmiştir (Kazemi, 2015). Portekiz'den 2 farklı alandan toplanan *A. millefolium* köklerinin popülasyonu ile 2 adet kök kültürü GC ve GC-MS ile uçucu yağları analiz edilmiştir. Bitki köklerinin uçucu yağ verimi % 0,1 ve % 0,05 (h/a); hücre kültüründeki köklerin verimi % 0,05 (h/a) olarak bulunmuştur. Kökten elde edilen yağların majör bileşeni oksijen içeren seskiterpenlerden olan *epi*-kubenol bileşiği olmuştur (% 18 ve % 26). Kültür köklerinden elden edilen yağdaki majör bileşen ise oksijen içeren monoterpen bileşik olan izovalerat (% 27 ve % 43) olmuştur. Kültür ve normal bitkinin köklerinin uçucu yağında kalitatif ve kantitatif olarak içerdikleri bileşikler bakımından farklılıklar görülmüştür (Lourenço ve ark., 1999).

Türkiye’den toplanan *A. millefolium* subsp. *millefolium*’un uçucu yağının analizi yapılmış ve uçucu yağda 36 adet bileşen bulunmuştur. Ökalyptol (% 24,6), kafur (% 16,7), α -terpinol (% 10,2), β -pinen (% 4,2) ve borneol (% 4) majör bileşenler olup uçucu yağın % 60,7’sini oluşturduğu görülmüştür (Candan ve ark., 2003).

Mısır’da yapılan bir çalışmada *A. santolina*’nın toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağın GC-MS ile analizi yapılmış ve majör bileşenler olarak 1,6-dimetil-1,5-siklookatadien (% 60,52), fragranol (% 10,52), β -tuyon (% 8,96) ve 1,8-sineol (% 8,61) bulunmuştur (Mohamed ve Abdelgaleil, 2008).

Türkiye’de yapılan bir çalışmada 2 farklı bölgeden toplanan *A. biebersteini*, tek bölgeden toplanan *A. teretifolia* ve *A. vermicularis* bitkilerinin toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağların GC-MS ile analizleri yapılmıştır. Ağrı Dağı’ndan toplanan *A. biebersteini*’den 70 tane bileşik izole edilmiş ve majör bileşenler 1,8-sineol (% 30,6), piperiton (% 28,9) ve kafur (% 11,7) olarak tespit edilirken; Dumluca bölgesinden toplanan *A. biebersteini*’den 61 tane bileşik izole edilmiş ve majör bileşenleri 1,8-sineol (% 31,1), kafur (% 14,4) ve α -tuyon (% 12,9) olarak tespit edilmiştir. *A. teretifolia*’dan ise 57 bileşik izole edilmiş ve majör bileşenler 1,8-sineol (% 15,9), borneol (% 8,1), kafur (% 7) ve T-kadinol (% 5,9) olarak tespit edilmiştir. Türkiye’de *A. vermicularis*’in uçucu yağı ilk defa bu çalışmada analiz edilmiş ve 61 bileşik izole edilmiştir. Uçucu yağın majör bileşenleri olarak 1,8-sineol (% 29,2), kafur (% 25,8), borneol (% 5,2), piperiton (% 4,5) ve kamfen (% 3,8) tespit edilmiştir (Polatoğlu ve ark., 2013).

A. falcata’nın toprak üstü kısımlarından ve köklerinden uçucu yağ elde edilmiş ve GC-FID ve GC-MS ile analizleri yapılmıştır. Bu 2 uçucu yağda toplam 180 farklı bileşik bulunmuştur. Toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağın majör bileşenleri *trans*-sabinol (% 19,1), *trans*-sabinil asetat (% 11,4) ve 1,8-sineol (% 4,9) iken; köklerinden elde edilen uçucu yağın majör bileşenleri γ -kostol (% 8,1), spatulenol (% 6,4) ve *trans*-sabinol (% 6,5) olarak bulunmuştur. Ayrıca bu çalışmada *trans*-sabinil tigliat isminde yeni bir bileşik izole edilmiştir (Radulovic ve ark., 2015).

Mısır'da yapılan bir çalışmada *A. fragrantissima*'nın toprak üstü kısmından su distilasyonu ile uçucu yağı izole edilmiş ve GC-MS ile analiz edilmiştir. Uçucu yağın majör bileşenleri olarak *cis*-tuyon (% 28,4), 2,5-dimetil-3-vinil-4-hekzen-2-ol (% 16,1) ve 3,3,6-trimetil-1,5-heptadien-4-on (% 14,8) bulunmuştur (Nenaah ve ark., 2015).

Yunanistan'da endemik olarak yetişen *A. umbellata*'dan elde edilen uçucu yağın GC-MS ile yapılan analizinde fragranil ester yapısında 6 yeni bileşik izole edilmiş ve majör bileşen olarak fragranol, fragranil asetat ve fragranil benzoat tespit edilmiştir (Abad ve ark., 2013). Bir başka çalışmada *A. umbellata* toprak üstü kısımlarından su distilasyonu yöntemiyle uçucu yağ elde edilmiş ve GC-MS ile analizi yapılmış ve 132 bileşik tanımlanmıştır. Uçucu yağın majör bileşenleri olarak fragranil asetat (% 44,7) ve fragranol (% 29,9) bulunmuştur. Uçucu yağda fragranil ester yapısında 21 tane bileşik izole edilmiş ve fragranil heptanoat, fragranil oktanoat, fragranil benzoat, fragranil nonanoat, fragranil dekanoat ve fragranil hegzadekanoat bileşiklerinin yeni doğal bileşikler olduğu görülmüştür (Radulovic ve ark., 2012).

Samsun'dan toplanan *A. gypsicola* toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağın GC-MS ile yapılan analizinde; uçucu yağın bileşiminin % 94,42'sinin oksijenli monoterpenlerden oluştuğu görülmüş ve majör bileşen olarak kafur (% 40,17), 1,8-sineol (% 22,01), piperiton (% 11,29) ve borneol (% 9,5) tespit edilmiştir (Tozlu ve ark., 2011).

A. cretica'nın toprak üstü kısımlarından uçucu yağ elde edilmiş ve GC-MS ile yapılan analizinde 76 bileşik izole edilmiş ve majör bileşenler olarak karyofilendienol ve β -malien bulunmuştur (Abad ve ark., 2013).

İtalya'da yapılan bir çalışmada *A. ligustica* çiçeklerinden uçucu yağ elde edilmiş ve GC-FID ve GC-MS ile yapılan analizinde majör bileşenler olarak linalol (% 24,79), viridiflorol (% 9,59), β -pinen (% 6,39), 1,8-sineol (% 5,77) ve terpinen-4-ol (% 5,30) tespit edilmiştir (Maggi ve ark., 2009). *A. ligustica* toprak üstü kısımlarından uçucu yağ elde edildiği bir başka çalışmada, uçucu yağın GC-MS ile yapılan analizinde 96

bileşik izole edilmiş ve majör bileşen olarak santolin alkol bulunmuş ki bu bileşik bu türden ilk defa izole edilmiştir. Bunun yanında diğer majör bileşenler olarak borneol, sabinol, *trans* sabinil asetat, α -tuyon ve düşük miktarda da viridiflorol bulunmuştur (Abad ve ark., 2013).

İran'da 19 farklı bölgeden toplanan altı *Achillea* türünün yapraklarından uçucu yağ elde edilmiş ve GC-MS ile yapılan analizlerinde *A. millefolium*'dan 33, *A. filipendulina*'dan 31, *A. tenuifolia*'dan 49, *A. santolina*'dan 43, *A. biebersteinii*'den 39 ve *A. eriophora*'dan ise 25 bileşik izole edilmiştir. *A. millefolium*'un majör bileşenleri germakren-D (% 4-45), borneol (% 47), α -kopen (% 39), α -sedren (% 17) ve kafur (% 16); *A. filipendulina*'nın majör bileşenleri 2,7-dimetil-4(E),6-oktadien-2-ol (% 23-24), germakren-D (% 11-23) ve bornil asetat (% 11-14); *A. tenuifolia*'nın majör bileşenleri germakren-D (% 7-70), 1,8-sineol (% 5-15), kafur (% 6-15) ve spatulenol (% 6-35); *A. santolina*'nın majör bileşenleri kafur (% 10-48) ve germakren-D (% 3-20); *A. biebersteinii*'nin majör bileşenleri kafur (% 2-23), α -terpinol (% 8-14) ve spatulenol (% 11-12) ve son olarak *A. eriophora*'nın majör bileşenleri germakren-D (% 19) ve kafur (% 10) olarak bulunmuştur (Rahimmalek ve ark., 2009).

A. gypsicola ve *A. biebersteinii* toprak üstü kısımlarından su distilasyonu ile elde edilen uçucu yağların ve çiçeklerinden hazırlanan *n*-hekzanlı ekstrelerin GC ve GC-MS ile analizleri yapılmıştır. *A. gypsicola* uçucu yağının ve ekstresinin majör bileşenlerinin oranları sırasıyla % 40-38 oranında kafur, % 22-14 oranında 1,8-sineol, % 11-16 oranında piperiton olarak bulunmuştur. *A. biebersteinii* uçucu yağının ve ekstresinin majör bileşenlerinin oranları ise sırasıyla % 38-24 oranında 1,8-sineol ve % 24-28 oranında kafur olarak bulunmuştur. Ayrıca *A. biebersteinii* ekstresinin analizinde *n*-trikozan (% 10), *n*-eikozan (% 9,68), *n*-heneikozan (% 9,55) bileşikleri tespit edilmiştir (Kordali ve ark., 2009).

A. setacea ve *A. teretifolia* toprak üstü kısımlarından uçucu yağları elde edilmiş ve GC-MS ile analizlerinin yapıldığı bir çalışmada sırasıyla 51 (uçucu yağın % 79,8'i) ve 42 (uçucu yağın % 87,1'i) tane bileşik tespit edilmiştir. *A. setacea* uçucu yağının

majör bileşenleri ökaliptol (% 18,5) ve sabinen (% 10,8); *A. teretifolia* uçucu yağının majör bileşenleri ökaliptol (% 19,9), borneol (% 11,9) ve kafur (% 11,1) olarak tespit edilmiştir (Ünlü ve ark., 2002).

Achillea distans Willd. subsp. *distans* bitkisinin köklerinden 185 tane uçucu bileşen izole edilmiş; τ -kadinol (% 17,6), alismol (% 14,1) ve α -kadinol (% 9,1) majör bileşenler olarak tespit edilmiştir (Lazarevic ve ark., 2010).

1.2.2.6. Diğer Bileşikler

A. millefolium fenolik glikozit yapısında yüksek oranda arbutin (hidrokinon- β -D-glikopiranozit) adında bir bileşik izole edilmiştir (Petkou ve ark., 2002, Couteau ve Coiffard, 2000).

A. millefolium'un etanol ekstresinin farklı fraksiyonlarından glikozit yapısında bir bileşik olan mandelonitril glikozit; yağ asitlerinden kaprik asit metil esteri, linoleik asit etil esteri, linoleik asit metil esteri, palmitik asit etil esteri, palmitik asit metil esteri ve undesilenik asit metil esteri izole edilmiştir (Lim, 2014). *A. millefolium*'un çiçekleri ve yapraklarının metanol ekstresi ile yapılan bir çalışmada okzalik asit, kinik asit, malik asit, şikimik asit, sitrik asit, suksinik asit ve fumarik asit gibi çeşitli organik asitler izole edilmiştir (Dias ve ark., 2013).

A. millefolium ile yapılan bir çalışmada majör sterol bileşiği olarak β -sitosterol izole edilmiş ve bunun yanında daha düşük miktarda stigmasterol, kampesterol ve kolesterol gibi steroller de izole edilmiştir (Lim, 2014).

A. millefolium toprak altı kısımlarının lipofilik ekstresinden lignan yapısında bir bileşik olan sesamin izole edilmiştir (Greger ve Hofer, 1989). Bir başka çalışmada *A. millefolium*'un toprak üstü kısımlarının metanollü ham ekstresinden ilk defa neolignan yapısında bir bileşik olan dihidrodehidrodikoniferil alkol 9-*O*- β -glikopiranosid izole edilmiştir (Innocenti ve ark., 2007).

A. clavennae ile yapılan bir çalışmada bitkinin toprak üstü kısımlarından lignan yapısında sesamin ve kumarin yapısında izofraksiidin bileşikleri izole edilmiştir (Trifunovic ve ark., 2006).

Bazı *Achillea* türlerinde bulunan lignan yapısındaki bileşiklerle ilgili yapılan bir çalışmada *A. lingulata*, *A. holosericea* ve *A. cretica*'nın sesartemin ve yangambin içerdiği bulunmuştur. Pinosesinol ve fargesin sadece *A. lingulata*'dan; epiyangambin ve episesartemin sadece *A. holosericea*'dan; sesamin *A. ptarmica* ve *A. gypsicola*'dan; epiaskantin *A. lingulata* ve *A. holosericea*'dan; magnolin ve epimagnolin *A. holosericea* ve *A. gypsicola*'dan; askantin, epiudesmin ve kobusin ise *A. lingulata*, *A. holosericea* ve *A. gypsicola*'dan izole edilmiştir (Stojanovic ve ark., 2005). Bir başka çalışmada *A. holosericea*'dan 3'-demetoksiaskantin, 3'-demetoksiyangambin ve izo-3'-demetoksiyangambin izole edilmiştir (Si ve ark., 2006). *A. lingulata*'nın ise toprak üstü kısımları ve köklerinden lignan yapısında kobusin ile birlikte ilk defa bu cinsten pinosinol ve fargesin bileşikleri izole edilmiştir (Trifunovic ve ark., 2003).

1.2.3. Biyoaktivite Çalışmaları

1.2.3.1. Antioksidan Etki

A. millefolium'un ticari ve yabani örneklerinin metanol ekstresi, infüzyonu ve dekoksasyonu (en çok kullanılan iki formu) kimyasal olarak karakterize edilmiş ve in vitro antioksidan aktivitesi (serbest radikal süpürücü etki, lipid peroksidasyon inhibisyonu ve indirgenme gücü) araştırılmıştır. Tokoferol ve askorbik asit gibi antioksidan moleküllerin *A. millefolium*'da önemli ölçüde bulunduğu kantitatif olarak tespit edilmiştir. En yüksek antioksidan aktiviteyi ticari örnek göstermiştir. Her iki örnekte de dekoksasyon formu daha yüksek DPPH süpürücü aktivitesi, β -karoten beyazlatma inhibisyonu ve TBARS inhibisyonu göstermiştir. İnfüzyon formu ise en yüksek indirgenme gücü sunmuştur. (Dias ve ark., 2013).

A. millefolium'un toprak üstü kısımlarının metanollü ekstresinin ve bu ekstreten izole edilen bileşiklerin serbest radikal süpürücü etkisi DPPH ile; total antioksidan kapasitesi testi Cu^{++} dan Cu^{+} ya redüksiyonu ile (tiyobütirik asitreaksiyon veren maddeler) ve lipid peroksidasyon inhibisyonu tespit edilmiştir. İzole edilen bileşiklerin içinde $1\mu\text{M}$ konsantrasyonda luteolin-7-*O*-glikozit en yüksek DPPH süpürücü aktivite göstermiş ve IC_{50} değeri $1,10 \pm 0,09$ olarak hesaplanmış olup referans olarak kullanılan askorbik asitin IC_{50} değeri ise $1,31 \pm 0,12$ 'dir. Metanollü ekstre ise IC_{50} değeri $1,18 \pm 0,10$ ile en yüksek ikinci aktiviteyi göstermiştir. TBARS testinde luteolin-7-*O*-glikozit ve apigenin-7-*O*-glikozit $1\mu\text{M}$ konsantrasyonda yüksek antioksidan aktivite göstermiş olup; izole edilen diğer bileşikler (kafeilklinik asit türevleri ve rutin) $10\mu\text{M}$ konsantrasyonda antioksidan aktivite gösterebilmişlerdir. Total antioksidan kapasitesi testine bakıldığında $1\mu\text{M}$ konsantrasyonda luteolin-7-*O*-glikozit'in meq ürik asit eşdeğeri $0,11 \pm 0,03$ ve luteolin-4'-*O*-glikozit'in meq ürik asit eşdeğeri $0,09 \pm 0,01$ olarak bulunmuş, referans standart olarak kullanılan askorbik asitin meq ürik asit eşdeğeri ise $0,33 \pm 0,02$ olarak hesaplanmıştır. İzole edilen bileşikler arasında en yüksek antioksidan aktiviteyi tüm testlerde de luteolin-7-*O*-glikozit göstermiştir (Vitalini ve ark., 2011).

Erzurum'da yapılan bir çalışmada *A. millefolium*'un toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanollü ekstrenin ve bu ekstreten hazırlanan petrol eterli, kloroformlu, etilasetatlı, *n*-butanollü ve sulu fraksiyonların DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi, ABTS radikal katyonu renk giderme testi, süperoksit anyonu radikal süpürücü etkisi ve total antioksidan aktivitesi ferri tiyosiyanat metodu ile araştırılmıştır. En güçlü antioksidan aktiviteyi etilasetatlı fraksiyon göstermiştir. Etilasetatlı fraksiyon $40\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonda DPPH radikali üzerine etkinliği % 55,1; ABTS katyon radikal süpürücü etkisi % 97; süperoksit anyon üzerine etkisi % 85,5 ve lipid peroksidasyon inhibisyonu % 36,6 olarak tespit edilmiştir. Ayrıca *A. millefolium*'dan luteolin, luteolin-7-*O*- β -D-glikozit, apigenin-7-*O*- β -D-glikozit ve 6-OH-luteolin-7-*O*- β -D-glikozit izole edilmiş ve bu bileşiklerin de fraksiyonlar gibi antioksidan etkileri araştırılmış ve en etkili bileşik 6-OH-luteolin-7-*O*- β -D-glikozit olarak bulunmuştur. DPPH üzerine etkisi % 92,8; ABTS üzerine etkisi % 97,7;

süperoksit üzerine etkisi % 100 ve lipid peroksidasyon inhibisyonu % 49,7 olarak tespit edilmiştir (Sevindik ve ark., 2015).

A. millefolium'un farklı ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak DPPH radikal süpürücü etkisi ve demir (III) indirgeyici antioksidan kapasitesi araştırılmış ve mikrodalga destekli ekstraksiyonun DPPH radikal süpürücü etkisi % $71,72 \pm 2,12$ olarak bulunurken bu etki katı-sıvı ekstraksiyonda $51,48 \pm 0,84$ ve maserasyonda $21,58 \pm 0,88$ olarak bulunmuştur. FRAP aktiviteleri ise mikrodalga destekli ekstraksiyonda $2,023 \pm 0,015$ mmol/l olarak bulunurken bu etki katı-sıvı ekstraksiyonda $1,544 \pm 0,032$ mmol/l ve maserasyonda $0,977 \pm 0,025$ mmol/l olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar mikrodalga destekli ekstrenin daha güçlü antioksidan aktivite gösterdiğini kanıtlamıştır (Milutinovic ve ark., 2015).

Slovenya'da yapılan bir çalışmada 4 tıbbi bitkinin (*A. millefolium*, *Salvia officinalis*, *Origanum vulgare* subsp. *vulgare* ve *Gentiana lutea*) sulu ve metanollü ekstrelerinin antioksidan aktivitelerine bakılmıştır. Serbest radikal süpürücü etkisi DPPH serbest radikali ile spektrofotometrik olarak; biyolojik aktivitesi ise immobilize fibroblast hücrelerine bağlı olan labaratuvarında hazırlanmış biyosensör yardımıyla bakılmıştır (deney süresi 3 dk). *A. millefolium* yapraklarının sulu ekstresi spektrofotomeride en yüksek DPPH süpürücü etki göstermiştir. Biyosensör yönteminde önemli oranda daha düşük etkinlik göstermiştir. 2 farklı yöntem arasında mutlak bir korelasyon gözlemlenmiştir. Metanol ekstrelerinde ise bitkiler eşit derecede DPPH süpürücü etki göstermiştir. Metanollü ekstreler sulu ekstreye göre daha yüksek antioksidan aktivite göstermiştir. Bu çalışmada yeni hücre biyosensörü ile bitkisel kökenli bileşiklerin antioksidan özelliklerinin araştırılmasında hızlı ve yüksek verimli olması nedeniyle düşünülebilecek bir yöntem olduğu da görülmüştür (Kintzios ve ark., 2010).

Bir çalışmada 12 bitkinin yapraklarının sulu ekstrelerinin hemoliz ve bakteriyofaj P22 koruması aracılığıyla antioksidan kapasitelerinin tespiti amaçlanmıştır. Bakteriyofaj P22/*Salmonella typhimurium* sistemi, insan eritrositlerini korumasını tahlil etmenin yanı sıra, hidrojen peroksitin neden olduğu oksidasyona karşı bitkilerin sulu ekstrelerinde kullanılmıştır. Bu çalışma aynı zamanda yukarıda bahsedilen

bakteriyofaj bazlı sistemin bitki ekstralarının antioksidan aktivitesini değerlendirmek için uygun bir yöntem olduğunu, 12 test bitkisi arasında *Rubus idaeus*, *Salvia sp*, *Satureja montana* ve *A. millefolium*'un H₂O₂'nin neden olduğu oksidatif hasara karşı etkin bir şekilde koruyuculuğu kanıtlamıştır. Hemoliz her bir bitki ekstresi ile tedavi öncesinde inhibe edilmiştir. Hem hemoliz hem de bakteriyofaj testlerinde bu 4 bitki etkin bulunmuştur; fakat en yüksek etki *A. millefolium*'da gözlenmiştir (Gião ve ark., 2010).

A. millefolium ile 8 farklı bölgeden toplanan *A. ligustica*'nın %95 etanol:su (7:3) ekstresinin antioksidan aktiviteleri DPPH süpürücü testi ile incelenmiştir. *A. millefolium*'un genel olarak antioksidan aktivitesinin daha aktif olduğu görülmüştür. 9 farklı ekstrenin TEAC değeri 4,18-12,53 mM arasında değişen değerlerde bulunmuş ve *A. millefolium* 6,20 ± 0,41 mM TEAC değeri ile en yüksek ikinci antioksidan aktiviteyi göstermiştir. Bu çalışmada ayrıca linoleik asit oto-oksidasyon deneyi yapılmış ve burada da tüm ekstralar aktif bulunmuştur (Tuberoso ve ark., 2009).

Kuzey Amerika'dan toplanan 35 antidiyabetik etkili olduğu düşünülen tıbbi bitkinin metanollü ekstraları hazırlanmıştır. Antioksidan aktivite serbest radikal süpürücü DPPH kullanılarak belirlenmiştir. En güçlü aktiviteyi bitkilerin meyveleri (3,73 ± 0,07 ppm), sonra kabuk ve dalları (21,38 ± 3,84 ppm) en düşük aktiviteyi ise kökleri (196,44 ± 30,58 ppm) göstermiştir. *A. millefolium*'un tıbbi olarak kullanılan kısmının (köklerinin) IC₅₀ değeri 67,64 ± 2,75 ppm; yapraklarının IC₅₀ değeri 35,86 ± 1,65 ppm ve çiçeklerinin IC₅₀ değeri ise 41,23 ± 2,8 ppm olarak bulunmuştur. Diğer kısımları tıbbi olarak kullanılan kısmına oranla daha aktif bulunmuştur (McCune ve Johns, 2007).

Fransa'da popüler tıpta bitki çayı olarak kullanılan 16 bitkinin (*Filipendula ulmaria*, *Lithospermum officinal*, *Alchemilla vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*, *A. millefolium*, *Betula pendula*, *Hieracium pilosella*, *Equisetum arvensse*, *Lamium album*, *Cynara scolymus*, *Humulus lupulus*, *Vaccinium myrtillus*, *Chamomilla recutita*, *Lotus corniculatus*, *Melilotus officinalis*, *Urtica dioica*) sulu alkollü ekstralarından hazırlanan sulu fraksiyonlarının çeşitli aktivitelerine bakılmıştır. Antioksidan

özellikleri; DPPH, süperoksit ve hidroksil radikallerinin inhibisyonunun gözlenmesine dayanan ESR metodu ile yapılmış. Antioksidan etki içerdikleri total fenolik bileşik miktarı ile orantılı bulunmuştur. Antioksidan aktivite testlerinde *A. millefolium* bu bitkiler arasında en güçlü antioksidan aktivite gösterenlerden biri olmuştur (Trouillas ve ark., 2003).

Bir başka çalışmada *A. millefolium* subsp. *millefolium*'un uçucu yağını ve metanollü ekstresinin in vitro DPPH radikal süpürücü, hidroksil radikal süpürücü (Fe^{+3} – EDTA- H_2O_2 deoksiriboz sistemi ile), süperoksit radikali inhibisyonu (ksantin-ksantin oksidaz sistemi) ve lipit peroksidasyon oluşum inhibisyonu (sıçan karaciğer homojenatında) aktiviteleri araştırılmış ve uçucu yağının metanollü ekstreden ve referans bileşiklerden daha güçlü antioksidan aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur (Candan ve ark., 2003).

A. millefolium'un herbasının sulu alkollü ekstresinin kimyasal ve biyolojik deneyler kullanılarak antioksidan aktivitesi araştırılmıştır. Online HPLC-DPPH testi ekstrenin belirgin antiradikal aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir. Bitki ekstresinin ve bitkide tanımlanıp izole edilen fenolik bileşikleri içeren karışımın (luteolin, klorojenik asit, rutin, luteolin-7-glikozit) sıçan kalbindeki mitokondrial fonksiyonları üzerindeki etkisi incelenmiştir. *A. millefolium* ekstresi konsantrasyona bağlı olarak iç mitokondrial zarın bütünlüğünde herhangi bir değişiklik yapmadan sıçanlarda kalp mitokondrisinin 3. konumunda solunum sayısı azalmasını indüklediği bulunmuştur. Bu sonuçlar ekstrenin kompleks-2 bağımlı süksinat oksidasyonunu, piruvat-maleat oksidasyonuna kıyasla daha fazla etkilediğini göstermektedir. Piruvat oksidasyonu yalnızca yüksek konsantrasyonda ekstre kullanıldığında gözlemlenmiştir (tanımlanan fenoliklerin toplam içeriği: 1658 ng/ml). Bununla birlikte süksinat oksidasyonun da ise düşük ekstre konsantrasyonunda dahi görülmüştür (tanımlanan fenoliklerin toplam içeriği: 553 ng/ml). Fenolik karışımın ise mitokondriyal konum 3'de solunum sayısı üzerinde herhangi bir etkisi görülmemiştir. Florometrik ölçümler, konum 3'de solunum sayısı üzerinde etkisi olmayan konsantrasyondaki ekstrenin önemli ölçüde mitokondrielerde hidrojen peroksit üretimini azalttığı gözlenmiştir (Trumbeckaite ve ark., 2011).

Yapılan bir başka çalışmada *A. millefolium*'un çiçekli kısımlarından metanol, etil asetat ve su ile hazırlanan ekstralarının 25 ; 75 ; 125 ve 175 µg/ml konsantrasyonlarda DPPH yöntemiyle radikal süpürücü etkisine bakılmıştır. Etil asetatlı ekstrenin en güçlü antioksidan aktivitesi gösterdiği tespit edilmiştir (Paduch ve ark., 2008).

Türkiye'de yapılan bir çalışmada 2 farklı bölgeden toplanan *A. biebersteini*, tek bölgeden toplanan *A. teretifolia* ve *A. vermicularis* bitkilerinin toprak üstü kısımlarında elde edilen uçucu yağların DPPH radikal süpürücü etkileri farklı konsantrasyon ve inkübasyon dönemlerinde incelenmiştir. En güçlü DPPH süpürücü aktiviteyi 60. dakikada 20 mg/ml konsantrasyonda *A. teretifolia* (% 89,92 ± 0,49) göstermiştir. *A. vermicularis* (% 80,46 ± 1,12) *A. teretifolia*'ya yakın aktivite gösterirken; *A. biebersteini* (% 63,41 ± 2,06) düşük DPPH süpürücü aktivite göstermiştir (Polatoğlu ve ark., 2013).

İran'da yapılan bir çalışmada *Anethum graveolens* ve *Carum copticum*'un tohumlarından ve *A. millefolium*'un toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağların antioksidan aktiviteleri 3 yöntemle araştırılmış ve *A. millefolium*'dan elde edilen uçucu yağ tüm testlerde en yüksek aktiviteyi göstermiştir. β-karoten ağartma testinde 1,1 ± 0,12 µl/ml ve DPPH süpürme testinde 22,11 ± 0,06 µl/ml IC₅₀ değerleriyle ve FRAP testinde 360,16 ± 0,12 µmol Fe⁺²/g uçucu yağ değeri ile referans olarak kullanılan trolox maddesinden bile daha yüksek antioksidan aktivite göstermiştir (Kazemi, 2015).

Suudi Arabistan'dan toplanan *A. fragrantissima*, *Amaranthus viridis*, *Asteriscus graveolens*, *Chenopodium album* ve *Conyza bonariensis* bitkilerinden hazırlanan metanollü (% 70) ekstralarının DPPH süpürücü aktivite ve FRAP testleri ile antioksidan etkileri araştırılmıştır. *A. fragrantissima* % 32 DPPH inhibisyonu ve FRAP testinde ise 1165,11 ± 44,20 µM FeSO₄/g antioksidan aktivite değeri ile diğer bitkiler arasında orta şiddette bir antioksidan aktivite göstermiştir (Kazemi, 2015).

A. biebersteinii ve *A. wilhelmsii*'nin yaprak ve çiçeklerinden maserasyon ve farklı şiddetlerde (% 40 ; 70 ve 100) ultrasonik destekli ekstraksiyon yöntemleriyle metanollü ekstreleri hazırlanmış ve antioksidan aktiviteleri DPPH radikal süpürücü ve Fe⁺³ indirgeyici antioksidan kapasitesi testleri ile araştırıldığı bir çalışmada *A. biebersteinii* iki yöntemde de daha güçlü antioksidan aktivite göstermiştir (Salarbashi ve ark., 2014).

Cezayir'de yapılan bir çalışmada *A. odorata* yapraklarından hazırlanan metanol-su (80:20 h/h) ekstresinin farklı konsantrasyonlardaki antioksidan aktivitesi DPPH radikal süpürücü, Fe⁺³ indirgeyici antioksidan kapasite, H₂O₂ radikali nötralizasyonu testleri ile araştırılmıştır. *A. odorata* 200 µg/ml konsantrasyonda gösterdiği DPPH radikal süpürücü aktivitesi (% 88,34) ile referans madde olarak kullanılan α-tokoferolden (% 75,17) daha yüksek antioksidan aktivite göstermiştir. Fe⁺³ indirgeyici antioksidan kapasite testinde de DPPH testine benzer derecede aktivite göstermiştir. H₂O₂ radikali nötralizasyonu testinde ise; 125 µg/ml konsantrasyonda en yüksek (% 89,97) antioksidan aktiviteyi göstermiştir (Boutennoun ve ark., 2014).

İran'da yapılan bir çalışmada *A. pachycephalla*, *A. aucherii* ve *A. kellalensis* bitkilerinin % 80 metanollü ekstresi hazırlanmış ve bu ekstrelerin hem total fenol miktarları araştırılmış hem de farklı konsantrasyonlardaki antioksidan aktiviteleri araştırılmış ve maksimum antioksidan etkiyi tüm testlerde 500 µg/ml konsantrasyonda gösterdikleri bulunmuştur. En çok fenolik içeriğe sahip bitkinin *A. pachycephalla* olduğu bulunmuş ve bunu sırasıyla *A. kellalensis* ve *A. aucherii* takip etmiştir. Total fenol miktarı DPPH radikal süpürücü testinde *A. pachycephalla* 248 µg/ml IC₅₀ değeri ile en yüksek antioksidan potansiyeli göstermiştir. *A. kellalensis* ve *A. aucherii* sırasıyla 518 µg/ml ve 843 µg/ml IC₅₀ değerleri göstermiştir. β-karoten-linoleik asit testi ve indirgeyici güç antioksidan testlerinde de benzer sonuçlar bulunmuştur (Gharibi ve ark., 2013).

A. tenuifolia'nın köklerinden metanol ve etilasetat ile hazırlanan ekstralarının total fenol miktarları belirlenmiş ve etilasetatlı ekstresinin (70,6 ± 3,8 GAE µg/ml ekstre), metanollü ekstresinden (59,4 ± 1 GAE µg/ml ekstre) daha fazla fenolik bileşik

içerdiği görülmüştür. Fakat DPPH radikal süpürücü aktiviteleri karşılaştırıldığında metanollü ekstresinin daha yüksek antioksidan etki kapasitesine sahip olduğu görülmüştür. *A. tenuifolia*'nın köklerinin tanenler, terpenler ve steroller bakımından zengin olması nedeniyle antioksidan aktivitesi fenolik madde miktarından bağımsızlık göstermiştir (Manayi ve ark., 2012).

Farklı bölgelerden toplanan *A. ligustica*'nın çiçeklerinden hazırlanan % 95 etanollü ekstrenin DPPH radikal süpürücü aktivitesi 4,18- 12,3 mM arasında değişen TEAC değerlerinde bulunmuştur. Ayrıca 9 ekstreden 5'inde 5 µg konsantrasyonda güçlü bir şekilde enzimatik olmayan lipid peroksidasyon inhibisyonu göstermişlerdir (Tuberoso ve ark., 2009). İtalya'da yapılan bir çalışmada ise *A. ligustica* çiçeklerinden ve yaprak/köklerinden ayrı ayrı uçucu yağlar elde edilmiş ve bu uçucu yağların antioksidan aktiviteleri araştırılmıştır. Çiçekli kısımlarından elde edilen uçucu yağ DPPH (IC₅₀: 47,2 µg/ml) ve ABTS (IC₅₀: 35,4 µg/ml) radikal süpürücü ve β-karoten ağartma (% 27,6 inhibisyon) testlerinde diğer kısımlarından elde edilen uçucu yağdan daha yüksek oranda antioksidan aktivite göstermiştir (Maggi ve ark., 2009).

A. santolina toprak üstü kısımlarından elde edilen etanol:su (7:3 h/h) ekstresinin antioksidan aktivitesi DPPH, süperoksit ve hidroksil radikal süpürücü, linoleik asit emülsiyon sistemi, indirgeme gücü testleri ile ve protein inhibisyonu üzerindeki inhibisyon etkisi sıçan karaciğerindeki lipid peroksidasyonunun indüklediği Fe⁺²/askorbat inhibisyonu ile araştırılmıştır. Tüm testlerde kontrol grubuyla karşılaştırıldığında güçlü antioksidan aktivite göstermiştir (Ardestani ve Yazdanparast, 2007).

A. alexandri-regis toprak üstü kısımlarından hazırlanan etil asetat ve butanollü ekstrelerin in vitro antioksidan aktiviteleri araştırılmıştır. Etil asetatlı ekstresi tüm biyolojik testlerde (karaciğer homojenatında, hemolize kanda, serum ve postmitokondrial karaciğer fraksiyonlarında) güçlü hidroksil radikali süpürücü aktivite gösterirken, butanollü ekstre sadece postmitokondrial karaciğer fraksiyonunda hidroksil radikalini önemli ölçüde redüklemiştir. Bunlara karşın iki

ekstre de süperoksit radikali süpürücü etkilerini sadece hemolize kanda göstermişlerdir (Kundakovic ve ark., 2005).

1.2.3.2. Anksiyolitik Etki

A. millefolium'un toprak üstü kısımlarının sulu etanollü ekstralarının hayvan modellerinde potansiyel anksiyolitik benzeri etkisini ölçmek amacıyla yapılan çalışmada; açık saha testleri, bilye gizlenmesi ve yükseltilmiş çoklu labirent testlerine maruz kalmış farelerdeki bitkinin etkisine bakılmıştır. *A. millefolium*'un etkileri GABA_A/benzodiazepin aracılığıyla değerlendirilmiş olup yarışmasız GABA_A reseptör antagonisti olan pikrotoksin; benzodiazepin antagonisti olan flumazenil ve GABA reseptörü üzerinden benzodiazepine bağlanan [³H]-flunitrazepam ile ön tedavi yapılmıştır. *A. millefolium*'un 30-600 mg/kg dozda oral uygulanmasında bilye gizlenmesi ve yükseltilmiş çoklu labirent testlerindeki anksiyolitik benzeri etkisi akut ve kronik (25 gün) kullanımda verilen dozlarda lokomotor aktivitesini değiştirmemiştir. Bu davranış profili diazepam ile benzerlik göstermektedir. *A. millefolium*'un etkileri yükseltilmiş çoklu labirent içine pikrotoksin ile ön tedavi öncesi değişmemiştir; fakat kısmi olarak flumazenilin tarafından bloke edilmiştir. Ayrıca *A. millefolium* [³H]-flunitrazepam bağlanmasında herhangi bir değişikliğe neden olmamıştır. Sonuçlar göstermiştir ki; bitkinin sulu etanollü ekstralarının oral uygulandığındaki anksiyolitik benzeri etkileri büyük olasılıkla GABA/Benzodiazepin sinir iletiminin aracılık ettiği durumla ilgili olmadığı belirlenmiş ve kısa süreli sonrasında tekrarlanan uygulamada tolerans görülmemiştir (Baretta ve ark., 2012).

Benzer bir çalışmada anksiyete ve depresyondaki aktivitesini değerlendirmek için *A. millefolium*'un toprak üstü kısımlarının sulu etanollü ekstresinin akut ve kronik etkilerine 300 mg/kg dozda yükseltilmiş çoklu labirent sıçan testi, yüzme testi ve kuyruk süspansiyon testleri kullanılarak bakılmıştır. Pozitif kontrol amaçlı İmipramin (10 mg/kg) ve Diazepam (0,75 mg/kg) kullanılmıştır. *A. millefolium*'un anksiyolitik benzeri etkisinde GABA/Benzodiazepin'in katılımını değerlendirmek için Pikrotoksinin ve Flumazenil kullanılmıştır. Veriler ANOVA ile analiz edilip

Newman-Keuls testi ile gerçekleştirilmiştir. *A. millefolium*'un akut ve kronik uygulamada, diazepam benzer şekilde kapalı kol girdilerinde değişiklik olmaksızın açık kollarda harcanan zaman artmıştır. *A. millefolium*'un akut anksiyolitik benzeri etkisi Pikrotoksin ve Flumazenil tarafından bloke edilmemiştir. Bu da bize bu ekstrenin anksiyolitik benzeri etkisinin GABA/Benzodiazepin mekanizması yoluyla gerçekleşmediğini göstermiştir. Zorunlu yüzme testinde ise İmipramin bu deneyde etki göstermese de (muhtemelen düşük doz ve küçük örnekleme nedeniyle), *A. millefolium* ekstresinin kronik uygulanması antidepresan ilaçlara benzer bir etki göstererek immobilitiyi arttırmıştır. Diğer taraftan kuyruk süspansiyon testinde ise herhangi bir etkisi görülmemiştir. *A. millefolium*'un anksiyolitik etkisi, Flumazenilin ile ön tedaviden engellenmediği için GABA/Benzodiazepin nörotransmisyonundan bağımsızdır. Ayrıca uzun süre yüksek dozlardan ekstre kullanılmasına rağmen sıçanlarda herhangi bir toksisite göstermemiştir (Baretta ve ark., 2009).

1.2.3.3. Antimikrobiyal Etki

İran'da geleneksel tıpta kullanılan 16 bitkinin uçucu yağlarının anti-*Candida albicans* etkileri disk difüzyon ve makrodilüsyon sıvı besiyeri yöntemleri ile birlikte kontrol grupları kullanılarak (Amfoterisin B, Nistanin, Ketokonazol) araştırılmıştır. Bu 16 bitkinin 14'ünde 150-2300 µg/ml değişen MIC konsantrasyonunda etki görülmüş; fakat *A. millefolium*'da 2 yöntemde de etki gözlemlenmemiştir (Naeini ve ark., 2009).

A. clavennae, *A. holosericea*, *A. lingulata* ve *A. millefolium*'un toprak üstü kısımlarının (hekzan:eter:metanol 1:1:1) ekstreleri disk difüzyon testi yöntemi ile 5 bakteri (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Salmonella enteritidis*) ve 2 mantar (*Aspergillus niger* ve *Candida albicans*) türü üzerindeki antimikrobiyal etkileri incelenmiştir. Tüm türler test edilen tüm suşlara karşı geniş bir spektrumda antimikrobiyal aktivite göstermiştir. *A. clavennae* bu bitkiler arasındaki en güçlü aktiviteyi gösterirken, *A. millefolium* en düşük aktiviteyi göstermiştir (Stojanovic ve ark., 2005).

Brezilya’da kullanılan 35 tıbbi bitkinin yapraklarının ve köklerinden elde edilen uçucu yağlarının ve bu kısımlarının etanollü (% 70) ekstrelerinin anti-*Candida albicans* etkileri araştırılmıştır. 13 bitkinin uçucu yağlarında etki gözlenmiş ve etanol ekstrelerinde ise etki gözlenmemiştir. Kimyasal analizler, bilinen antimikrobiyal etkiye sahip bileşiklerin varlığını da göstermiş olup; 1,8-sineol, geranial, germakren-D, limonen, linalol ve mentol olarak tanımlanmıştır. *A. millefolium*’un uçucu yağı 0,25 mg/ml MIC değeri ile araştırılan bitkiler arasında en güçlü antimikrobiyal aktivite gösterenlerden biri olmuştur. Etanol ekstresinin ise MIC konsantrasyonu 2 mg/ml’den fazla bulunmuştur (Duarte ve ark., 2005).

Güney Teksas’da yaraların ve enfeksiyonların tedavisinde kullanılan 23 bitkinin antibakteriyel etkilerini araştırmak amacıyla bu bitkilerin çiçekleri ve dallarının etanollü tentürleri ve sulu ekstreleri hazırlanmıştır. *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Escherichia coli* bakterilerindeki etkisi kör difüzyon diskleri (Kirby-Bauer disk difüzyon duyarlılık testi) kullanılarak araştırılmıştır. Ekstre ve tentürlerin etkinliği ticari olarak hazırlanmış antibiyotik difüzyon diskleri ile karşılaştırılmıştır. Sulu ekstrelerde etkinlik gözlenmemiş sadece tentürlerde etki gözlenmiştir. *A. millefolium*, *S. Aureus* bakterisi üzerinde 2,5 mm zon temizleme çapında etkili olmuştur. Diğer iki bakteri türü üzerine etkisi görülmemiştir (Romero ve ark., 2005).

16 Sibirya bitkisinin etanol ekstresi *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Candida albicans* üzerindeki antimikrobiyal etkileri incelenmiştir. *A. millefolium*’un toprak üstü kısımlarından hazırlanan etanol ekstresi *B. cereus* ve *S. aureus*’ a karşı 62,5 mg bitki/ml MIC konsantrasyonunda aktivite göstermiş. Diğer bakterilere karşı aktivite göstermemiştir. Rizomlarından hazırlanan etanol ekstresi ise sadece *S. aureus*’a karşı 62,5 mg bitki/ml MIC konsantrasyonunda aktivite göstermiştir (Kokoska ve ark., 2002).

İtalya’nın güneyinde ve Portekiz’de yetişen *A. millefolium*’un çiçekli kısımlarından elde edilen uçucu yağın antifungal aktiviteleri *Candida albicans*, *C. tropicalis*, *C.*

krusei, *C. guillermundii*, *C. parapsilosis*, *Cryptococcus neoformans*, *Trichophyton rubrum*, *T. mentagrophytes*, *T. mentagrophytes* var. *interdigitale*, *T. verrucosum*, *Microsporum canis*, *M. gypseum*, *Epidermophyton floccosum*, *Aspergillus niger*, *A. fumigatus* ve *A. flavus*'a karşı makrodilüsyon sıvı besiyeri metodu ile araştırılmıştır. MIC ve MLC değerlerine göre en güçlü aktiviteyi dermatofit suşlara karşı göstermiştir. MIC değerleri 0,32-1,25 µl/ml değişen konsantrasyonda bulunmuştur (Falconieri ve ark., 2011).

Yapılan bir çalışmada gıda işleme ortamlarından izole edilmiş olan ve menenjit, septisemi, ensefalit, doğumsal sorunlar ve gebelikte düşüğe neden olabilen gram (+) bakterilerden *Listeria monocytogenes* ve *Listeria innocua*'nın planktonik hücreleri ve biyofilmleri *A. millefolium* uçucu yağlarının inhibitör etkisine karşı test edilmiştir. Bitkinin uçucu yağlarının planktonik hücrelere karşı tea tree oil'e (*Melaleuca alternifolia*) eşdeğer bir şekilde güçlü bakterisit etkiye sahip olduğu bulunmuştur. *A. millefolium* uçucu yağının farklı konsantrasyonlarda inkübe edilmesinden sonra biyofilm oluşumu ve büyümesinin inhibisyonu kristal viyole ve 3-[4,5-dimetiltiyazol-2-il]-2,5 difeniltetrazolyum bromid testi ile değerlendirilmiştir. *A. millefolium* uçucu yağı önemli ölçüde polistiren, paslanmaz çelik ve yüksek yoğunluklu polietilen yüzeylerde *Listeria* hücrelerinin başlangıç hücre ekini inhibe etmiş; fakat polistiren yüzeyinde 6 saat öncesinden oluşturulmuş biyofilm yapısına daha düşük inhibitör etki göstermiştir. Biyofilmlerin metabolik aktivitesi uçucu yağ ile inkübasyondan sonra önemli ölçüde azalmıştır (Jadhav ve ark., 2013).

A. millefolium subsp. *millefolium* uçucu yağının agar kuyu difüzyon metodu ve disk difüzyon metodu ile yapılan antimikrobiyal etki çalışmalarında, uçucu yağın *Streptococcus pneumoniae*, *Clostridium perfringens*, *Candida albicans*, *Mycobacterium smegmatis*, *Acinetobacter lwoffii* ve *Candida krusei*'ye karşı güçlü antimikrobiyal aktivite gösterdiği bulunmuştur. Fakat metanol ekstresinin suda çözünmeyen kısımları çok az antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Test edilen bakterilere karşı 4,5 ila 72 mg/ml değişen MIC konsantrasyonlarında uçucu yağın antimikrobiyal aktivitesi bulunmuş ve en güçlü antimikrobiyal aktiviteyi

Streptococcus pneumoniae, *Clostridium perfringens* ve *Candida albicans*'a karşı 4,5 mg/ml MIC konsantrasyonunda göstermiştir (Candan ve ark., 2003).

Bir araştırmada ise 15 *H. pylori* suşuna karşı in vitro duyarlılık gösteren ekstreler incelenmiş ve *A. millefolium*' un metanol ekstralarının MIC aralığı 50 µg/ml olarak bulunmuştur. Bir başka çalışmada Brezilya' nın 13 tıbbi bitkisinin ekstralarının bakterilere (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis* ve *S. aureus*) ve mayalara (*Candida albicans*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* ve *C. tropicalis*) karşı antimikrobiyal etkilerinin olup olmadığı araştırılmış ve *A. millefolium*' un etanol-su ekstresinin inaktif olduğu bildirilmiştir (Saeidnia ve ark. 2011).

A. umbellata uçucu yağının ve uçucu yağından izole edilen majör bileşiklerinden fragranol, fragranil asetat ve fragrail benzoatın *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enteritidis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus* sp. ve *Candida albicans*'a karşı antimikrobiyal aktiviteleri değerlendirilmiştir. İncelenen tüm örnekler antimikrobiyal aktivite göstermişler; fakat tüm mikroorganizmalara karşı en yüksek antimikrobiyal aktiviteyi 0,09-6,25 mg/ml değişen MIC değerlerinde fragranol bileşiği göstermiştir. En güçlü etkisini *C. albicans* üzerine 0,09 MIC değerinde göstermiştir. Fragranol'dan sonra en etkili bileşik 0,39-6,25 mg/ml değişen MIC değerlerinde *A. umbellata* uçucu yağı olmuştur (Radulovic ve ark., 2012).

Samsun'dan toplanan *A. gypsicola*'nın toprak üştü kısımlarından elde edilen uçucu yağın farklı konsantrasyonlarda *Bruchus dentipes* (bakla tahılbiti) haşaresine karşı insektisit etkisi araştırılmıştır. Uçucu yağın uygulamadan 12 saat sonra *B. dentipes*'e karşı 5 µl/L konsantrasyonda % 93; 10 µl/L konsantrasyonda % 98 ve 20 µl/L konsantrasyonda % 100 mortalite görölmüştür. Ayrıca uçucu yağ uygulanmasından 18 ; 24 ; 30 ve 36 saat sonrasında tüm konsantrasyonlarda % 100 mortalite göstermişlerdir (Tozlu ve ark., 2011).

İran'da yapılan bir çalışmada *Anethum graveolens* ve *Carum copticum*'un tohumlarından ve *A. millefolium*'un toprak üştü kısımlarından elde edilen uçucu

yağların antimikrobiyal aktiviteleri *B. cereus*, *E. faecalis*, *S. aureus*, *E. Coli*, *P. aeruginosa*, *P. mirabilis*, *S. typhimurium*, *C. Freundii* bakterilerine ve *C. albicans* ve *A. fumigatus* mantarlarına karşı mikrodilüsyon yöntemiyle araştırılmıştır. *A. millefolium*'un test edilen tüm mikroorganizmalara karşı en yüksek antimikrobiyal aktiviteyi göstermiştir. Uçucu yağın MIC, MBC ve MFC değerleri referans olarak kullanılan ampisilin ve flukanazolden bile daha düşük bulunmuştur (Kazemi, 2015).

A. tenuifolia'nın toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanollü ekstresinin 3 farklı bakteriye (*B. subtilis*, *S. epidermidis* ve *E. faecalis*) karşı antimikrobiyal aktivitesi disk difüzyon metodu ile araştırılmış ve maksimum inhibitör aktiviteyi *B. subtilis*'e karşı gösterirken; *S. epidermidis*'e karşı inhibitör aktivite gösterememiştir (Shafaghat ve ark., 2014).

A. biebersteinii ve *A. wilhelmsii*'nin yaprak ve çiçeklerinden maserasyon ve farklı şiddetlerde (% 40 ; 70 ve 100) ultrasonik destekli ekstraksiyon yöntemleriyle metanollü ekstreleri hazırlanmış ve *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* ve *S. Epidermidis* bakterilerine karşı antimikrobiyal aktiviteleri araştırılmıştır. Bitkilerin gram pozitif bakteriler üzerinde daha yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdiği görülmüştür. Bitkilerin bu bakteriler üzerindeki MIC değerleri 0,01 ile 10 mg/ml konsantrasyonda değiştiği görülmüş ve *A. biebersteinii*'nin daha yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (Salarbashi ve ark., 2014).

A. ligustica toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağın *Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli* ve *S. aureus* bakterilerine karşı güçlü antimikrobiyal aktivite gösterdiği bulunmuştur (Abad ve ark., 2013). İtalya'da yapılan bir çalışmada *A. ligustica* çiçeklerinden ve diğer kısımlarından (kök ve yapraklar) elde edilen uçucu yağların ve bu uçucu yağlardan izole edilen bazı majör bileşiklerin (β -pinen, linalol, terpinen-4-ol ve 1,8-sineol) *Staphylococcus aureus*, *S. mutans*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* ve *Candida albicans* mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal aktiviteleri sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle araştırılmıştır. Uçucu

yağlar ve bileşikler en güçlü antimikrobiyal aktiviteyi *S. mutans*'a karşı 39-625 µg/ml değişen MIC değerlerinde göstermişlerdir (Maggi ve ark., 2009).

A. cretica'nın toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağın antimikrobiyal aktivitesi sıvı besiyeri sulandırma metoduyla araştırılmış ve gram (+) bakterilerden *Staphylococcus aureus*'a karşı 125 µg/ml ve *Bacillus cereus*'a karşı 62,5 µg/ml MIC değerleri göstermiştir (Abad ve ark., 2013).

A. clavennae uçucu yağının çeşitli bakterilere karşı disk difüzyon metodu ile antimikrobiyal aktivitesinin araştırıldığı bir çalışmada uçucu yağ maksimum etkiyi *Klebsiella pneumoniae* ve *Streptococcus pneumoniae* bakterilerine karşı göstermiştir. Uçucu yağ ayrıca gram (-) bakterilerden *Haemophilus influenzae* ve *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı güçlü antimikrobiyal aktivite göstermiş fakat; gram (+) bakterilerden *S. pyogenes*'e karşı aktivite gösterememiştir (Skocibusic ve ark., 2004).

A. setacea ve *A. teretifolia*'dan elde edilen uçucu yağların 14 mikroorganizmaya (*Staphylococcus aureus*, *S. pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis*, *Bacillus cereus*, *Acinetobacter lwoffii*, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Clostridium perfringens*, *Mycobacterium smegmatis*, *Candida albicans* ve *Candida krusei*) karşı antimikrobiyal aktiviteleri araştırılmıştır. İki ekstrede *C. perfringens*, *Acinetobacter lwoffii* ve *C. albicans* mikroorganizmalarına karşı 0,28-2,25 mg/ml değişen MIC değerinde güçlü antimikrobiyal aktivite göstermişlerdir. Diğer mikroorganizmalara karşı düşük aktivite göstermişlerdir (Ünlü ve ark., 2002).

A. biebersteinii, *A. nobilis* ssp. *neilreichii* ve *A. wilhelmsii* etanol ekstrelerinin *M. tuberculosis*'e karşı antimikobakteriyel etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada sadece *A. wilhelmsii* etanol ekstresi 200 µg/ml MIC değerinde orta şiddette bir etki göstermiş diğer bitkiler herhangi bir aktivite gösterememiştir (Tosun ve ark., 2004).

A. gypsicola ve *A. biebersteinii* toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağların ve çiçeklerinden hazırlanan *n*-hekzanlı ekstrelerin antifungal aktiviteleri *Alternaria*

alternata, *Botrytis sp.*, *Fusarium avenaceum*, *F.culmorum*, *F. equiseti*, *F. graminearum*, *F. oxysporum*, *F. sambucinum*, *F. solani*, *Monilinia sp.*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum* mikroorganizmalar üzerinde araştırılmıştır. Uçucu yağlar sadece *F. graminearum* ve *F. equiseti*'ye karşı düşük antifungal aktivite göstermiştir. Ayrıca *A. gypsicola* uçucu yağı tüm mantarlara karşı en güçlü antifungal aktiviteyi göstermiştir. Bitkileri *n*-hekzanlı ekstraları çok düşük antifungal aktivite göstermiş ve hatta *F. graminearum* ve *F. equiseti* mantarlarının etkilerini stimule etmiştir (Kordali ve ark., 2009).

1.2.3.4. Antihelmintik Etki

A. millefolium'un tüm kısımlarının sulu ve etanollü ekstralarının antihelmintik aktiviteleri koyunlardaki gastrointestinal kurtlara karşı değerlendirilmiştir. Kurtların motilite inhibisyon testi in vitro olarak çalışılmış ve dışkıda yumurta sayısının azaltılması deneyi ise in vivo olarak yapılmıştır. In vitro çalışmalar yaşayan *Haemonchus contortus* kurtlarına karşı sulu ve etanollü ekstraların önemli antihelmintik etkileri olduğu, 8 saat ekstre ile maruziyetten sonra onların belirgin biçimde felç (paraliz) ya da ölümleri ile anlaşılmıştır. *A. millefolium* 25 mg/ml konsantrasyondaki sulu ekstresi kurtların motilitesini (hareket edebilmesini) % 94,4 oranında inhibe etmiş; etanollü ekstre ise % 88,88 oranında inhibisyon göstermiştir. Sulu ekstrenin mortalite indeksi 0,95 iken etanollü ekstreninki 0,9; % 50 letal konsantrasyon sulu ekstre için 0,05 mg/ml ve etanollü ekstre için 0,11 mg/ml olarak bulunmuştur. *A. millefolium*'un sulu ve etanollü ekstralarının in vivo antihelmintik etkileri 2 g/kg sulu ekstre ile 15 gün boyunca tedavi edilen koyunlarda nematod (iplik kurdu) yumurta sayısında maksimum % 88,40 oranında azalma göstermiştir. 2 g/kg etanollü ekstrenin yine 15 gün boyunca tedavi edilen koyunlarda dışkıdaki yumurta sayısında % 76,13 oranında azalma göstermiştir. Sonuç olarak in vivo ve in vitro çalışmalar sulu ekstrenin daha güçlü antihelmintik etkisi olduğunu göstermiştir (Tariq ve ark., 2008).

1.2.3.5. Antikolinesteraz Etki

Alzheimer hastalığının tedavisi üzerine yapılan bir çalışmada *A. millefolium*'un toprak üstü kısımlarının metanollü ekstresi hazırlanmış ve bu ekstreden luteolin, luteolin-7-*O*- β -D-glikozit, apigenin-7-*O*- β -D-glikozit ve 6-OH-luteolin-7-*O*- β -D-glikozit flavonoidleri izole edilmiştir. Ayrıca bu metanollü ekstreden petrol eterli, kloroformlu, etilasetatlı, *n*-butanol ve sulu fraksiyonları hazırlanmış ve hem bu fraksiyonların hem de izole edilen bileşiklerin kolinesteraz ve butilesteraz enzimleri üzerine inhibisyon etkileri araştırılmıştır. *n*-butanol fraksiyonu 25 μ g/ml konsantrasyonda asetilkolinesteraz üzerine en yüksek inhibisyon aktiviteyi göstermiş (% 51,3); butirilkolinesteraz üzerine ise düşük inhibitör etki göstermiştir (% 23,5). 6-OH-luteolin 7-*O*- β -D glikozit in siliko (bilgisayar ortamında) ve in vitro ortamda en güçlü asetilkolinesteraz (IC₅₀: 1,65 μ M) ve butirilkolinesteraz (IC₅₀: 1,97 μ M) inhibitör etki göstermiştir (Sevindik ve ark., 2015).

A. falcata'nın toprak üstü kısımlarından ve köklerinden elde edilen uçucu yağda bulunan bazı bileşikler (*trans*-sabinol ve çeşitli esterleri) izole edilmiş ve bunların in vitro ve in siliko (moleküler yerleştirme) asetilkolinesteraz inhibitör aktiviteleri araştırılmıştır. İn vitro çalışmada, en güçlü (% 40) asetilkolinesteraz inhibitör aktiviteyi 20 μ g/ml konsantrasyonda *trans*-sabinil senekoat göstermiştir. Diğer izole edilen bileşiklerden *trans*-sabinol % 25,3; *trans*-sabinil tiglats % 23,7; *trans*-sabinil asetat % 22,7 ve *trans*-sabinil format % 18,9 oranında asetilkolinesteraz inhibitör aktivite göstermiştir (Radulovic ve ark., 2015).

1.2.3.6. Antikonflikt Etki

Anksiyolitik etki gibi görünen, *A. millefolium* çiçeklerinin sulu ekstresinin antikonflikt benzeri etkisi, dişi Wistar sıçanlarda sıçanların son proöstrus ya da diöstrus dönemlerinde çalışılmıştır. Kontrol sıçanlarda son proöstrus dönemi, diöstrus (östrus: kızgınlık dönemi adet dönemi) ile karşılaştırıldığında çatışma (konflikt) davranışında azalma olduğu görülmüştür. Referans olarak kullanılan

Diazepam intraperitoneal olarak 2 mg/kg dozda uygulandığında, hem son proöstrus hem de diöstrus döneminde konflikti redüklediği anlaşılmış ve 8 ; 10 ve 12 mg/kg dozda bitki ekstresi uygulandığında son proöstrus dönemindeki kızgınlık davranışını azalttığı tespit edilmiştir. Diğer taraftan; yalnız 12 mg/kg dozda ekstre diöstrustaki davranışı azaltmıştır. *A. millefolium*'un antikonflikt etkisi, östrous döngü fazına bağlı olarak değişebileceği anlaşılmıştır (Molina-Hernandez ve ark., 2004).

1.2.3.7. Antinosiseptif Etki

A. millefolium ve *Artemisia vulgaris* bitkilerinden hazırlanan sulu : etanollü (50:50) ekstrenin; analjezik, antienflamatuar ve antispazmodik olarak halk hekimliğinde kullanımlarını değerlendirmek amacıyla hot plate, ağrıdan kıvrınma, formalin ve intestinal geçiş testleri yapılmıştır. *A. millefolium* sulu etanollü ekstresinin 500 ve 1000 mg/kg konsantrasyonda, abdominal kontorsiyonunu % 65 ve % 23 oranında önemli ölçüde engellemiştir. *A. vulgaris* ise % 48 ve % 59 oranında engellemiştir. Ekstrelerin hiçbiri farelerde intestinal geçiş testlerinde farklılık göstermemiş ve ayrıca hot plate ve formalin testlerinde de yanıt zamanlarında değişiklik görülmemiştir (Pires ve ark., 2009).

A. falcata'nın toprak üstü kısımlarından ve köklerinden elde edilen uçucu yağda bulunan bazı bileşikler (*trans*-sabinol ve çeşitli esterleri) izole edilmiş ve bunların antinosiseptif etkileri farelerde sıcak tabaka, kuyruk batırma ve asetilkolin kaynaklı karın kıvrınma testleri kullanılarak farklı nosiseptif uyarılara (termal ve kimyasal) karşı test edilmiştir. En güçlü antinosiseptif etkiyi kuyruk batırma testinde 12,5 mg/kg konsantrasyonda % 22,4 inhibisyon oranıyla *trans*-sabinol; sıcak plaka testinde en güçlü etkiyi 50 mg/kg konsantrasyonda % 39,7 inhibisyon oranıyla *trans*-sabinil senekoat ve son olarak asetilkolin kaynaklı karın kıvrınma testinde 50 mg/kg konsantrasyonda % 80,6 inhibisyon oranıyla *trans*-sabinil asetat göstermiştir (Radulovic ve ark., 2015).

Mısır'da geleneksel kullanımı olan *A. fragrantissima*'nın toprak üstü kısımlarından hazırlanan nonpolar yapıdaki diklorometan:metanol (1:1) ve polar yapıdaki % 70 su-metanollü ekstralarının, merkezi ve periferik olarak farelerde yapılan sıcak plaka ve kıvranma testleriyle doza bağımlı analjezik etkileri olduğu kanıtlanmıştır. Her 2 ekstre uygulanmalarından 30, 60 ve 90 dk sonrasında referansa karşı sıcak plaka testinde termal uyarana karşı reaksiyon süresini uzatmışlardır. Uygulamayı takiben 90 dk sonunda termal uyarıcıya karşı maksimum korumayı 400 mg/kg dozda nonpolar ekstre (% 81) göstermiştir. Referans madde olan indometazin ise % 89 koruma göstermiştir. Asetik asitle indüklenen kıvranma testinde her iki ekstre 200 ve 400 mg/kg konsantrasyonlarda kıvranma sayısında önemli azalma göstermiştir. En güçlü etki polar ekstrede 400 mg/kg dozda % 55 koruma ile gözlenmiştir. Referans madde olan asetil salisilik asit ise % 58 koruma sağlamıştır (Abdel-Rahman ve ark., 2015).

1.2.3.8. Antiülser Etki

A. millefolium'un toprak üstü kısımlarının sulu-alkollü (% 90) (1:1 h/h) ekstresinin gastroprotektif etkileri ve bu aktivitedeki mekanizmaları incelenmiştir. Sıçanların, etanol ile indüklenen akut gastrik lezyonlara ve %80 asetik asitle indüklenen kronik gastrik ülserle maruz kalınmasının akabinde sulu alkollü ekstre ile tedavi edilmiştir. Tedavinin ardından glutasyon seviyeleri ve süperoksit dismutaz aktiviteleri ölçülmüştür. Myeloperoksidaz aktivitesi, histolojik ve immünohistokimyasal analizler asetik asit ile indüklenen mide ülserli hayvanlarda gerçekleştirilmiştir. Sulu-alkollü ekstrenin 30, 100 ve 300 mg/kg dozda oral uygulanmasında etanol kaynaklı mide lezyonlarını sırasıyla % 35, 56 ve 81 oranında inhibe ettiği gözlenmiştir. Omeprazol ve askorbik asidin, etanol kaynaklı mide lezyonuna karşı etkinliği önceden bilindiğinden, pozitif kontrol olarak kullanılmışlardır. Omeprazol 40 mg/kg ve Askorbik asit 500 mg/kg dozda sırasıyla % 72 ve 35 oranında gastrik lezyonu inhibe ettiği görülmüştür. Sulu-alkollü ekstre ile 1 ve 10 mg/kg dozda oral tedavide asetik asit kaynaklı kronik ülseri sırasıyla % 43 ve 65 oranında azaltırken; 40 mg/kg dozda Omeprazol % 69 oranında azaltmıştır. Bu etki proliferatif hücre çekirdek

antijeninin immunohistokimyasal testlerle hücre çoğalmasının artışı gösteren ülser indüksiyonundan sonra gastrik mukozada önemli rejenerasyon göstermesiyle teyit edilmiştir. Etanol ile indüklenen ülserde glutasyon ve süperoksit dismutaz seviyeleri % 51 ve 37 oranında azalmıştır. Sulu-alkollü ekstre ile 300 mg/kg dozda yapılan tedavi asetik asidin indüklediği gastrik lezyonlardan sonra glutasyon düzeylerinde ve süperoksit dismutaz aktivitesindeki azalmayı engellemiştir. Omeprazol (40 mg/kg dozda) süperoksit dismutaz aktivitesindeki azalmayı önlemiş fakat glutasyon seviyesindeki azalmaya etkisi olmamıştır. Askorbik asit ise (500 mg/kg dozda) dozda % 45 ve 43 oranında glutasyon ve süperoksit dismutaz seviyelerinde artış göstermiştir. Asetik asit ile indüklenen ülserde glutasyon ve süperoksit dismutaz seviyeleri % 54 ve 33 oranında azalmıştır. 10 mg/kg dozdaki ekstre ile yapılan tedavi sonucunda tekrar eski seviyelerine çıkmıştır. Asetik asitle indüklenen kronik gastrik ülserde myeloperoksidaz aktivitesi % 82 oranında artmıştır. 10 mg/kg dozda sulu-alkollü ekstre asetik asitle indüklenen gastrik ülserlerin myeloperoksidaz aktivitesini % 68 oranında inhibe ederken; Omeprazol % 42 ve Askorbik asit % 60 oranında inhibe etmiştir (Potrich ve ark., 2010).

Benzer bir çalışmada *A. millefolium*'un toprak üstü kısımlarının sulu ekstresinin mide mukozası ve ülser üzerine etkinliği araştırılmıştır. Ayrıca ekstre ile kronik maruziyetten sonra bitkinin sulu ekstresinin güvenliği ve etkinliği değerlendirilmiştir. Sulu ekstrenin etanol ve indometazin ile indüklenen akut gastrik lezyonlara karşı mide mukozasını korumada etkili olduğu ve asetik asidin indüklediği kronik mide lezyonlarını iyileştirdiği görülmüştür. Asetik asit ile indüklenen kronik gastritte 100-300 mg/kg dozda 7 gün boyunca sulu ekstrenin oral uygulanmasında % 75 ve 90 oranında kronik gastritte azalma görülmüştür (ED₅₀: 32 mg/kg). Fakat 7gün sonunda asetik asit enjekte edilince kontrol grubuna kıyasla kronik gastriti önleyemediği görülmüştür. Etanol ile indüklenen akut gastrik lezyonda ekstrenin ED₅₀ değeri 936 mg/kg olarak bulunmuş olup ekstre en yüksek etkiyi 2000 mg/kg dozda göstermiştir. İndometazin verilmeden 1 saat önce ekstrenin uygulanması ile gastrik lezyonları % 49 oranında önlenmiştir. Ayrıca hipokritik testler de yapılmıştır. 90 gün boyunca ekstrenin uygulanmasında herhangi bir hayvan ölümü gerçekleşmemiştir. Bu da bu bitkinin herhangi bir toksisitesinin olmadığını göstermiştir. Güvenilirlik çalışmaları

günlük olarak sulu ekstrenin 0,3 ; 0,6 ve 1,2 g/kg günlük dozda ya da su (10 ml/kg) ile karıştırılarak 28 ve 90 gün boyunca erkek ve dişi Wistar sıçanlarına uygulanması ile gerçekleştirilmiştir. Klinik gözlemler, otopsi, hematoloji, klinik, biyokimyasal, histopatolojik tetkikler, vücut ve organ ağırlığı ölçümleri yapılmıştır. Erkek ve dişi hayvanlarda karaciğer ağırlığında, kolesterolde ve HDL kolesterolde hafif değişiklikler gözlemlenmiştir. Bu değişiklikler sulu ekstre ile hayvanların maruz kalma süreleri ya da dozlarıyla ilişkili olmadığı gözlenmiştir. Ekstre ile çok uzun süre maruz kalınmasında bile herhangi bir toksik etkisi olmadığı ve güçlü bir antiülser etkisi olduğu görülmüştür (Cavalcanti ve ark., 2006).

Pakistan'da yapılan bir çalışmada *A. millefolium*'un *Helicobacter pylori* ile enfekte edilmiş hücrelerde önemli ölçüde aktivite gösterdiği bulunmuş ve bu etkisini reaktif oksijen türevi olarak yaptığı anlaşılmıştır (Zaidi ve ark., 2012).

Mısır'da geleneksel kullanımı olan *A. fragrantissima*'nın toprak üstü kısımlarından hazırlanan nonpolar yapıdaki diklorometan:metanol (1:1) ve polar yapıdaki % 70 su-metanollü ekstrelerinin antiülser etkileri sıçanların mide ve kolon dokularında araştırılmıştır. Asetik asit ile indüklenen sıçanlarda oluşan ülseratif kolitler üzerine en güçlü etkiyi 7 gün boyunca 400 mg/kg dozda uygulanan polar ekstre göstermiştir. Sıçanlarda pilor ligasyonu ile oluşturulan gastrik ülserde polar ekstre hiçbir etkinlik gösterememiştir. Nonpolar ekstre gastrik mukozada 200 ve 400 mg/kg konsantrasyonlarda sırasıyla % 27 ve % 31 oranında koruma sağlamıştır. Ayrıca nonpolar ekstre mide hacminde ve total asiditede önemli azalma göstermiştir (Abdel-Rahman ve ark., 2015).

A. wilhelmsii'nin sulu-etanollü ekstresinin etkileri bazal ve vagal uyarılmış koşullardaki sıçanlarda mide asidi çıkışı ile araştırılmıştır. Çalışmanın sonucunda birer mililitrelik 3 doz (0,5 ;1 ve 2 mg/kg) *A. wilhelmsii*'un test grubundaki her sıçanın midesine girişiyle birlikte kontrol grubundaki serum fizyolojinin de aynı oranda sıçanların midesine verilmesiyle, bitkinin bazal durumda asit çıkışı üzerinde önleyici etkisi olduğu gözlemlenmiştir. Ekstrenin inhibe edici etkisini (1 ve 2 mg/kg

dozda) gastrik vagus parasempatik sinir yoluyla yaptığı anlaşılmıştır (Saeidnia ve ark. 2011).

1.2.3.9. Antihiperglisemik Etki

A. millefolium'un metanollü ve sulu ekstralarının 150-200 g ağırlığındaki Wistar sıçanların, alloksan monohidratın (150 mg/kg vücut ağırlığı) taze hazırlanmış solüsyonu tek bir intraperitoneal enjeksiyon ile indüklenmiş diyabetik sıçanların β hücreleri üzerindeki koruyucu etkinliği, hipoglisemik ve hipolipidemik etkileri araştırılmıştır. Sıçanlar kontrol, diyabetik kontrol, Glibenklamid ile tedavi edilen diyabetikler ve ekstralar ile tedavi grupları şeklinde ayrılmışlardır. Bu gruplardan toplanan kan serumunda glikoz, kolesterol, trigliseridler, VLDL, SGOT, SGPT ve ALP gibi çeşitli biyokimyasal parametreler analiz edilmiştir. Deneyin 14. gününde sıçanların pankreasları histopatolojik çalışmalar için kazılarak toplanmıştır. Ekstreler, diyabetik sıçanlarda 250 ve 500 mg/kg vücut ağırlığı seviyelerinde kan glikoz düzeyinde, TGL, VLDL, kolesterol, SGOT, SGPT ve ALP düzeylerinde önemli bir azalma göstermiştir. Ekstreler, Alloksan monohidratın sitotoksik etkilerinden pankreasın β hücrelerini korumuştur. Sonuçlar, ekstraların hiperglisemi de etkili olduğunu göstermiş ve alloksan monohidratın etkin olduğu diğer metabolik anomalilere karşı da etkin bir koruyuculuğu olduğu belirlenmiştir. Metanol ekstresi sulu ekstrede daha etkili olduğu görülmüştür (Mustafa ve ark., 2012).

Hırvatistan'da antidiyabetik etkili bitkisel preparatın (*A. millefolium* L., *Vaccinium myrtillus* L., *Taraxacum officinale* Web., *Cichorium intybus* L., *Juniperus communis* L., *Centaurea umbellatum* Gilib., *Phaseolus vulgaris*, *Morus nigra* L. ve *Valleriana officinalis* L.) antihiperglisemik etkileri araştırılmıştır. Etanollü ekstraları (% 60 etanol) ve bu etanollü ekstrede etanolün uçurulmasıyla elde edilen ham ekstre olmak üzere 2 ekstre üzerinde çalışma yapılmıştır. Alloksan'ın neden olduğu obez olmayan diyabetik farelerde 20 mg/kg dozda bu ekstralar uygulanmıştır. Uygulamadan önce ve uygulamayı takiben 10, 30, 60 ve 120. dakikalarda kan şekeri seviyeleri tespit edilmiştir. İki ekstre de kan şekerini sırasıyla % 10 ve % 20 oranında

düşürmüştür. Bu farelerde fruktozamin ve serum glikoz seviyeleri tespit edilmiştir. Etanollü ham ekstrenin hipoglisemik etkisini doğrulamak için 20 mg/kg dozda ham ekstre ve 25 mg/100 g akarboz farklı fare gruplarına oral olarak verilmiş ve 7 gün boyunca tedavi devam etmiştir. Ham ekstre ile yapılan bu tedavide önemli oranda düşük glukoz ve fruktozamin görülmüştür. Bu çalışma ile ham ekstrenin alloksanın neden olduğu obez olmayan diyabetik sıçanlarda glukoz ve fruktozamin seviyelerini önemli oranda düşürdüğü anlaşılmıştır (Petlevski ve ark., 2001).

A. santolina toprak üstü kısımlarından hazırlanan etanol:su (7:3 h/h) ekstresinin streptozotosin ile tedavi edilen diyabetik sıçanlarda pankreatik hasar üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Ekstrenin diyabetik sıçanlara günde 0,1 g/kg dozda oral olarak verilmesi sonucunda 30 gün boyunca kan glikoz seviyesini önemli oranda düşürmüş ve 30. gün sonunda 16,30 mmol/l olan diyabetik sıçanlardaki kan glikoz seviyesini 6,70 mmol/l'ye düşürmüştür. Ayrıca diyabetik sıçanlarda vücut ağırlığı kontrol grubuna göre ciddi düşüş gösterirken ekstre vücut ağırlığında artış göstermiştir. Ekstrenin diyabetik sıçanlardaki süperoksit dismutaz, katalaz, pankreatik glutatyon seviyelerine de bakılmış ve katalaz ve süperoksit dismutaz seviyelerinde önemli bir artış göstermiş ve glutatyon seviyesini de kontrol grubunun normal seviyesine çekmiştir. Ayrıca ekstrenin diyabetik sıçanlarda görülen yüksek serum nitrikosit, malondialdehid ve protein oksidasyon endekslerinden protein karbonil ve ileri derecede okside protein ürünleri seviyesinde önemli bir düşüş göstermiştir (Yazdanparast ve ark., 2007).

1.2.3.10. Antihipertansif Etki

A. millefolium'dan hazırlanan sulu alkollü ekstresinin (% 90 Etanol) ve diklorometanlı, etilasetatlı, butanollü fraksiyonlarının ve diklorometan-2'li alt fraksiyonları anestezi uygulanmış sıçanlardaki hipotansif etkileri incelenmiş, bunun yanında *A. millefolium*'dan artemetin isimli flavonoit izole edilmiştir. Oral uygulamadaki sulu-etanollü ekstreden 100-300 mg/kg, diklorometanlı fraksiyondan 20 mg/kg, diklorometan-2'li alt fraksiyondan 10-30 mg/kg, etil asetatlı fraksiyondan

10 mg/kg ve butanollü fraksiyondan 50 mg/kg konsantrasyonlarda normal tansiyonlu sıçanların 3 saat sonunda ortalama arteriyel basıncını azalttığı görülmüştür. NMR ile yapılan fitokimyasal analizlerde diklorometan ve diklorometan-2'li fraksiyonlarda yüksek miktarda armetin açığa çıkmış ve izole edilerek sıçanlarda 1,5 mg/kg dozda oral yolla ve 0,15 ; 0,35 ; 0,75 ve 1,5 mg/kg dozda intravenöz olarak uygulanmıştır. Bu flavonoit ile $11,47 \pm 1,5$ mm Hg (1,5 mg/kg iv) basıncına kadar arteriyel basıncı doza bağımlı olarak azaltmanın mümkün olduğu görülmüştür. Artemetin ile indüklenen hipotansiyonun anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibisyonu ile ilişkili olup olmadığını araştırmak için, Anjiyotensin-I'in ve Bradikinin'in vasküler etkileri bu flavonoitin etkisi ile birlikte değerlendirilmiştir. Artemetin 0,75 mg/kg dozda IV olarak uygulandığında bradikinin ile indüklenen hipotansiyonun ortalama uzunluğu artarken, Anjiyotensin-I'in hipertansif cevabının belirgin ölçüde (% 40-50 oranında) azaldığı görülmüş. 1,5 mg/kg dozda Artemetin aynı zamanda kontrol grubuna göre in vitro olarak anjiyotensin dönüştürücü enzim aktivitesini plasmada % 37, vaskülerde % 63'e kadar düşürmüştür. Diğer yandan Anjiyotensin-II ile indüklenen hipertansiyonda değişiklik gösterememiştir. Artemetin, anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörü bir antihipertansif ilaç etken maddesi olan Kaptopril'e benzer etkinlik göstermiştir. Sonuç olarak ekstre ve fraksiyonlar yüksek hipotansif etki göstermiş ve anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibisyonu ile Anjiyotensin-II oluşumunu azaltmak için in vivo olarak yüksek armetin düzeyinin bir etkisinin olabileceğini düşündürmüştür (de Souza ve ark., 2011).

Bir başka çalışmada *A. millefolium*'un hipotansif, kardiyodepresan, vazodilatör ve bronkodilatör etkileri araştırılmıştır. *A. millefolium* % 70 sulu metanollü ekstresi hazırlanmış ve bu kuru ekstreten 1-100 mg/kg'a değişen dozlarda anestezi altındaki sıçanlarda kan basıncındaki düşme gözlenmiştir. Kobaylarda kendi kendine atriyal dokuları yenerek negatif inotropik ve kronotropik etkiler göstermiştir. İzole tavşan aort halkalarında, 0,3-10 mg/ml ekstre fenilefrin (1 μ m) ve potasyum (+) kaynaklı kasılmaları gevşetmiş; verapamilin neden olduğu ve Ca⁺² bulundurmayan ortamda fenilefrin kontrol piki elde etmeyi bastırmıştır. *A. millefolium*'un % 70 su-metanol ekstresinden elde edilen ham ekstreten vazodilatör etkisi sağlam endotel preperatlarında N(ω)-nitro-l-arjinin metil ester kısmen bloke edilmiştir. Kobay trake

şeritlerinde, ekstre Karbakrol (1µm) ve potasyum (+) kaynaklı kasılmaları inhibe etmiştir. Bu sonuçlar bitkinin hipotansif, kardiyovasküler baskılayıcı ve bronkodilatör etkileri olduğunu kanıtlamıştır (Khan ve Gilani, 2011).

1.2.3.11. Antispazmodik Etki

A. millefolium'un flavonoit fraksiyonu ve bu fraksiyondaki majör flavonoit olan kersetin ve 2 flavonoit metabolitinin spazmolitik aktivitesine kobay ileumunda bakılmıştır. Kersetin, luteolin ve apigenin aglikonları yüksek antispazmodik aktivite göstermiş olup IC₅₀ değerleri sırasıyla 7,8 ; 9,8 ve 12,5 µmol/ml olarak bulunmuştur. Rutin ve flavonoit metabolitlerinden homoprotokateşik asit ve homovanilik asit kobay ileumlarında herhangi kontraktilite gösterememiştir. Flavonoit fraksiyonunun spazmolitik aktivitesi üzerindeki sonuçlardan glikozitlerin ve bunların aglikonlarının, civanperçeminden hazırlanan çaylarda bulunan flavonoit konsantrasyonunun kalsiyum akımının blokajının neden olduğu ve aynı zaman medyatör antagonistik etkilerin neden olduğu bağırsaklarda spazmolitik etki yapabilecek düzeyde içerdiği sonucuna varılmıştır (Lemmens-Gruber ve ark., 2006).

A. millefolium'un çiçekli ve yapraklı kısımlarının sulu-alkollü ekstresi in vitro kobay ileumunda elektriksel kaynaklı kasılmaları doza bağımlı olarak inhibe etmiştir. İleum segmentlerindeki uyarıdaki kasılma depresyonu doza bağımlı olarak değişmiş IC₅₀ değeri 1,5 mg/ml olup maksimum inhibisyon değeri % 32 ± 2,9 olarak tespit edilmiş. *A. millefolium* ekstresi 5 farklı konsantrasyonda uygulanmış ve maksimum etkiyi 5 mg/ml konsantrasyonda göstermiştir. Daha yüksek konsantrasyonda (15 mg/ml) ekstrenin uygulanmasında herhangi bir spazmolitik etki göstermediği tespit edilmiştir. Ekstrenin antispazmodik etkisinin geri dönüşümlü olarak gerçekleştiği tespit edilmiştir (Babaei ve ark., 2007). Bir başka çalışmada *A. millefolium*'un toprak üstü kısımlarının sulu etanollü ekstresinin izole sıçan ileumundaki antispazmodik etkileri araştırılmıştır. Asetilkolin (1 mM) ve KCl (60 mM) izotonik kasılmalar oluşturmak için kullanılırken; Propranolol ve Nω-Nitro-L-arjinin metilester hidroklorid (L-NAME) ekstrenin etki mekahnizmasını araştırmak için kullanılmıştır.

Sonuçlar ekstrenin, asetilkolinin indüklediği kasılmaları ve KCl'nin indüklediği ileumdaki kasılmaları azalttığı görülmüştür. KCl ve asetilkolin tarafından indüklenen kasılmaların üzerindeki ekstrenin inhibe edici etkisi propranolol ve l-name tarafından önemli ölçüde engellenemediği görülmüştür. Sonuç olarak *A. millefolium*, sıçanların ileumundaki düz kasların kasılmasını önlediği ve bu bitkinin bağırsak spazmlarını da önlemesi için kullanılabileceğini göstermiştir (Moradi ve ark., 2013). Yapılan başka bir çalışmada *A. millefolium*'un % 70 sulu-metanollü ekstresinin halk hekimliğinde kullanılan bazı rasyonelize izole bağırsak preparatlarının antispazmodik etkileri araştırılmıştır. İzole tavşan jejunum (ince bağırsağın üst kısmı) preparatlarında, ekstrenin 0,3-10 mg/ml değişen konsantrasyonlarda K⁺ ile indüklenen kasılmalar ve Ca⁺⁺ konsantrasyonuna yanıt eğrilerinde sağa doğru kayma görülmüştür. Bu sonuçlar ekstrenin, antispazmodik bileşik olan verapamil ile benzer etki gösterdiğini kanıtlamıştır (Yaesh ve ark., 2006). *A. millefolium*'un sulu alkollü ekstresinin 0,05 ila 5 mg/ml arasında değişen 5 farklı konsantrasyonun guinea domuzunun ileumunda kontraktıl yanıtlara etkisinin olduğu bulunmuştur. Dokuların kasılmalarındaki değişiklikler fizyografa bağlanan transdüser amplifikatör kullanılarak takip edilmiştir. Sonuçlar kontraktıl yanıtın doza bağımlı bir şekilde ekstre tarafından inhibe edildiğini göstermiştir (EC₅₀: 1,5 mg/ml). Bu sonuçlar, *A. millefolium* ekstresinin kobay ileumunda elektriksel olarak tetiklenen kasılmaların inhibisyonuna neden olduğunu ortaya koymuştur (Saeidnia ve ark. 2011).

A. nobilis subsp. *sipylea*'nın sıçan duodenumu üzerindeki antispazmodik etkisini araştırmak için bitkinin etanollü ekstresinin (% 70) sıçan duodenumunda, asetilkolin ve CaCl₂ ile indüklenen doz-yanıt eğrilerinde inhibitör etkisinin olduğu bulunmuştur. Bu etki, doz-yanıt eğrisi üzerinde papaverinin etkisine benzer ancak atropinin yaptığı etkiden uzak olduğu görülmüştür. Ekstre aynı zamanda CaCl₂'nin indüklediği eğrilerdeki maksimum yanıtı da verapamil ile benzer şekilde azaltmıştır (Saeidnia ve ark. 2011).

1.2.3.12. Antienflamatuar Etki

A. millefolium'un antienflamatuar etki mekanizmasının araştırıldığı bir çalışmada, bitkinin toprak üstü kısımlarının % 20 metanollü ekstresi ve bu ekstreden flavonoitler ve dikafeilkinik asitler bakımından zenginleştirilmiş olan 2 fraksiyonunun in vitro proteaz inhibisyonu deneyleri yapılarak bu etkinin mekanizması tespit edilmek istenmiştir. Enflamasyon süreci ile ilişkili olan proteazlardan insan nötrofil elastazı (HNE) ve matriks metaloproteazlar (MMP-2 ve -9) üzerindeki etkilerine bakılmıştır. Flavonoit fraksiyonunun insan nötrofil elastaz (HNE) inhibisyonunun IC₅₀ değeri 20 µg/ml iken dikafeilkinik asitli fraksiyonun IC₅₀ değeri 72 µg/ml olarak bulunmuştur. Ekstre ve flavonoit fraksiyonu MMP-2 ve MMP-9 üzerinde sırasıyla 600-800 µg/ml IC₅₀ değerlerinde inhibitör aktivite göstermiştir. Dikafeilkinik asit fraksiyonu, flavonoit fraksiyonundan ve bitki ekstresinden daha güçlü etki göstermiştir. Sonuç olarak, *A. millefolium*'un in vitro anti-filojistik (iltihabı azaltan) etkisine kısmen de olsa MMP-2 ve -9 ile HNE inhibisyonu aracılık etmiştir. Bu çalışma *Achillea*'nın farmakolojik aktivitesi için daha anlayışlı bakışlar getirmekte ve antifilojistik ilaç olarak geleneksel uygulamayı doğrulamıştır (Benedek ve ark., 2007). Bir başka çalışmada *A. millefolium*'un çiçeklerinin sulu ekstresinden izole edilen suda çözünen protein-karbonhidrat kompleksi 40 mg/kg dozda fare ayak ödemi testinde güçlü antienflamatuar etki göstermiştir (Lim, 2014).

Fransa'da popüler tıpta bitki çayı olarak kullanılan *A. millefolium*'un da bulunduğu 16 bitkinin sulu alkollü ekstrelerinin çeşitli aktivitelerine bakılmıştır. Bu sulu alkollü ekstreden sulu fraksiyon hazırlanmıştır. Bu bitkilerin lipooksijenaz aktivitesini inhibe etmelerini değerlendirmek amacıyla antienflamatuar etkisine bakılmıştır. Antienflamatuar aktivite bakımından (lipooksijenaz inhibisyonu aktivitesi) *A. millefolium* 6. en yüksek aktiviteyi gösteren bitki olmuş ve IC₅₀ değeri 1,25 mg/ml olarak bulunurken en yüksek aktiviteyi gösteren bitki olan *F. ulmira* için IC₅₀ değeri 0,46 mg/ml olarak bulunmuştur (Trouillas ve ark., 2003).

Mısır'da geleneksel kullanımı olan *A. fragrantissima*'nın toprak üstü kısımlarından hazırlanan nonpolar yapıdaki diklorometan:metanol (1:1) ve polar yapıdaki % 70 su-

metanollü ekstralarının Albino fareler üzerindeki antienflamatuar etkileri karragenan ile indüklenen sıçan pençe ödemi testi ile araştırılmıştır. 200 ve 400 mg/kg konsantrasyonlarda non-polar ekstre karragenan enjeksiyonundan 2 saat sonra ödemi sırasıyla % 26 ve 29 oranında inhibe etmiştir. Polar ekstre ise karragenan enjeksiyonundan 4 saat sonra 400 mg/kg konsantrasyonda ödemi % 45 oranında inhibe ederek (indometazin % 47 oranında inhibisyon göstermiş) en yüksek antienflamatuar etkiyi göstermiştir (Abdel-Rahman ve ark., 2015).

İran'da yapılan bir çalışmada *Anethum graveolens* ve *Carum copticum*'un tohumlarından ve *A. millefolium*'un toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağların antienflamatuar etkileri in vitro lipopolisakkarit uyarmalı makrofaj modelinde enflamasyon ajanı olan nitrit üretim miktarları araştırılmıştır. *A. millefolium* lipopolisakkarit uyarımı ile $33,98 \pm 0,21 \mu\text{M}$ 'a çıkan nitrit miktarını $15,04 \pm 0,11 \mu\text{M}$ 'a indirerek en güçlü antienflamatuar etkiyi göstermiştir (Kazemi, 2015).

1.2.3.13. İmmunosupresif Etki

A. millefolium'un toprak üstü kısımlarından metanollü ve sulu ekstralar hazırlanmış ve sulu ekstre ile metanollü ekstrenin uçurulmasıyla elde edilen ham ekstrenin ve bu ekstreten elde edilen petrol eterli, kloroformlu ve etilasetatlı fraksiyonların immünolojik özellikleri mikrohemağlütinasyon testi kullanılarak farelerde (her bir fraksiyon ve ekstre için 6 fare) humoral immun sistem BALB/c'de incelenmiştir. Sadece etilasetatlı fraksiyon 125 mg/kg ve sulu ekstre 61,5 mg/kg konsantrasyonda farelerde anti-SRCB (koyun alyuvar hücresi) titresinde önemli bir düşüş göstermiştir. Fraksiyonların immünolojik özellikleri kafeik asit türevlerinin glikozitlerinden kaynaklı olduğu düşünülmüştür (Yassa ve ark., 2007).

A. talagonica ve *A. millefolium*'un uçucu yağlarının 0,05 ; 0,1 ; 0,2 ve 0,4 g/kg konsantrasyonlarda BALB/c farelerine karşı humoral bağışıklık tepkileri incelenmiştir. *A. millefolium* tüm konsantrasyonlarda anti-SRCB titresinde düşüş

gösterirken diğer tür etkinlik göstermemiştir (Saeidnia ve Yassa, 2004). Yapılan bir çalışmada *A. millefolium*'un alkollü ekstralarının farelerde hem hümorale hem de hücrele bağışıklık fonksiyonları üzerinde belirgin uyarıcı etki göstermiştir. Bitkinin sulu ekstresi 100 mg/kg dozda geciktirmeli hipersensitivite tepkisinde belirgin bir artış göstermiştir. Hemaglutinasyon testinde bitki ekstraları tüm dozlarda belirgin stimülatör etki göstermiştir (Kumar ve ark., 2012).

Makrofajlar hücre dışı ortamlarda 100'den fazla bileşik şekilde salınırlar. Bunların arasında; TNF- α ve H₂O₂ gibi sitokinler ve ara oksijen bileşikleri sayılabilir. Bu çalışmada *A. millefolium* uçucu yağlarının etkisi; hidrojen peroksite belirlenmesi ve Swiss farelerinde peritoneal makrofaj hücrelerinin kültüründe salınan Tümör Nekroz Faktörü- α (TNF- α) ile belirlenmiştir. Uçucu yağ etkisi ticari azulen ile karşılaştırılarak test edilmiştir. Deneyde uçucu yağ varlığında makrofaj canlılığı analiz edilmiştir. 1:100 ve 1:200 oranında dilüe edilen uçucu yağlar en güçlü etkileri göstermiştir. H₂O₂ az oranda üretilmiş ve TNF- α 'nın serbestliği gözlenmiştir. Ticari azulen, uçucu yağa göre daha fazla bu hücreleri üretmiştir. *A. millefolium*, H₂O₂ ve TNF- α üretimini artırmış olup bu bize uçucu yağın makrofajları aktive ettiğini göstermiştir (Lopes ve ark., 2005).

Bir başka çalışmada *Menyanthes trifoliata* ve *A. millefolium*'un sulu ve etanollü ekstralarının dendritik hücrelerin maturasyonu ve allojenik CD4⁺ hücrelerini aktive edebilme yeteneklerini saptamayı amaçlamıştır. İnsan monositlerinden türetilmiş dendritik hücrelerin 2 bitkinin liyofilize edilmiş sulu ve etanollü ekstralarının varlığında ve yokluğunda mature olması ve bunların ekspresyonu yüzey moleküllerinin akış sitometresi ile analizi ve ELISA testiyle sitoksin salgılanması ölçülmüştür. Dendritik hücrelerin, 2 bitkinin sulu ekstralarının varlığında allojenik CD4⁺ T hücreleri ile birlikte kültürlendiğinde, T hücreleri tarafından yüzey moleküllerinin ekspresyonu ve onların sitoksin salgılanması ve hücre çoğalması belirlenmiştir. Bu 2 bitkinin sulu ekstralarının varlığında dendritik hücrelerin maturasyonu incelenen yüzey moleküllerinin ekspresyonunu etkilememiş fakat ekstraların yokluğunda dendritik hücrelerin olgunlaşması ile karşılaştırıldığında salgılanan IL-12p40/IL-10 oranı azalmıştır. *A. millefolium* sulu ekstresinin varlığında

dendritik hücrelerin maturasyonu, IL-17 salgısını azalttığı ancak allojenik CD4⁺ hücreleri tarafından IFN-gama ve IL-10 salgılamasını etkilemediği gözlemlenmiştir. *Menyanthes trifoliata* sulu ekstresi dendritik hücrelerinin supresif fenotipini indüklemekte ve allojenik CD4⁺ T hücrelerinin stimülasyonu Th1 ve Th17 indüklenme kapasitesini düşürmekteyken, civanperçemi sulu ekstresi Th17 cevabını indüklemek için dendritik hücrelerin kapasitesini düşürdüğü görülmüştür (Jonsdottir ve ark., 2011).

A. talagonica herbasından hazırlanan sulu ekstrenin BALB/c farelerde ve albino tavşanlardaki humoral antikor yanıtları üzerindeki etkileri araştırılmış ve 7 gün boyunca intraperitoneal olarak uygulanan ekstrenin hemagglütinasyon antikor titresinde önemli bir düşüş göstermiştir. Ekstrenin 0,5 g/kg dozda intraskapular olarak uygulanmasında tavşanlarda primer yanıtta anti-HD titresinde önemli bir düşüş gösterirken, sekonder yanıtta herhangi bir değişiklik gösterememiştir. BALB/c farelerinde anti-SRCB antikor titresinde 0,25 g/kg dozda çok yüksek bir düşüş gösterdiği bulunmuştur (Rezaeipoor ve ark., 1999).

1.2.3.14. İnsektisit Etki

A. millefolium, *A. biebersteinii* ve *A. santolina* toprak üstü kısımlarından su distilasyonu ile uçucu yağları elde edilmiş ve bu yağların *Tribolium castaneum*'a (kırmızı tahıl böceği) karşı önemli ölçüde toksik ve büyümeyi inhibe edici etkisi olduğu belirlenmiştir. Toksikite deneyleri uçucu yağları topikal olarak uygulama, uçucu yağları tedavi amaçlı filtre kağıtları üzerine uygulama, uçucu yağları fümigasyon şeklinde uygulama ve uçucu yağların nano emülsiyonlarını fümigasyon şeklinde uygulama olmak üzere 4 farklı yöntem kullanılarak 48 ve 96 saatlik dilimler halinde larva ve yetişkin dönem karşılaştırılmıştır. 96 saatte daha yüksek toksisite gözlenmiş ve yetişkin evre, larva dönemine göre daha fazla duyarlılık göstermiştir. Uçucu yağların nano emülsiyonları hazırlanıp fumigat şeklinde uygulandığında toksisite belirgin ölçüde artmıştır. Bu 3 bitki arasında *T. castaneum*'a karşı en düşük

toksisiteyi *A. millefolium* uçucu yağı gösterirken, *A. biebersteinii* en yüksek toksisiteyi göstermiştir (Nenaah, 2014).

Artemisia annua ile *A. millefolium*'un yapraklarının metanollü ekstresinin mortalite, büyüme, beslenme endeksleri gibi enzimatik veya enzimatik olmayan aktivitelerinin kontrollü şartlar altında turpgil bitkilerinden küçük beyaz *Pierisrapae* L. isminde zararlı haşeresine karşı 5 farklı konsantrasyonda (% 0,625 ;% 1,25 ;% 2,5 ; % 5 ve % 10) çalışma yapılmıştır. 24 ve 48. saatlerdeki LC₅₀ ve LC₂₅ değerleri ölçülmüş ve en aktif olduğu zaman 48 saat sonrası olarak bulunmuştur. LC₅₀ ve LC₂₅ değerleri *Artemisia* için % 9,387 ve % 3,645; *Achillea* için % 4,19 ve % 1,69 olarak bulunmuştur. En düşük konsantrasyonda (% 0,625) *Artemisia*'nın etkisi % 29,826 iken *Achillea*'nın etkisi % 44,185 olarak bulunmuştur. Beslenme endeksleri larva ve pulpa evresinde kalma sürelerinde artış ve bir takım parametrelerde çeşitli şekillerde etkilenmiştir. Alanin ve Aspartat aminotransferazlar sert bir düşüş gösterirken, alkalen fosfataz aktivite düzeyinde belirgin bir artış görülmüştür. Enzimatik olmayan bileşikler için glikoz ve ürik asit miktarı arttıkça total protein ve kolesterol azalmıştır. Bu sonuçlar, bu iki tıbbi bitkinin haşereleri kontrol etmek için kullanışlı olabileceği ve potansiyel sekonder metabolitlere sahip olabileceğini göstermiştir. *A. millefolium* daha toksik etki göstermiş. Sonuçta ekstreler kullanıldığında pulpa ve larva döneminin arttığı gözlenmiş; fakat *Artemisia* gelişme dönemi üzerinde herhangi bir aktivite göstermezken; *A. millefolium* düşük konsantrasyonda hafif bir artış yüksek konsantrasyonda ise daha belirgin bir artış göstermiştir (Hasheminia ve ark., 2011).

Mısır'da yapılan bir çalışmada *A. santolina*'nın toprak üstü kısımlarından uçucu yağ elde edilmiş ve bu uçucu yağın *Sitophilus oryzae* (buğday biti) ve *Tribolium castaneum* (kırmızı un böceği) üzerine insektisit etkileri araştırılmıştır. *A. santolina*, *Sitophilus oryzae*'ye karşı fumigant toksisitesinin LC₅₀ değeri 79,63 µl/L iken *Tribolium castaneum*'a karşı LC₅₀ değeri 76,26 µl/L olarak bulunmuştur (Mohamed ve Abdelgaleil, 2008).

Türkiye'de yapılan bir çalışmada 2 farklı bölgeden toplanan *A. biebersteini* ve bir bölgeden toplanan *A. teretifolia*'nın çiçeklerinden elde edilen uçucu yağların

Sitophilus granarius ve *Lemna minör* haşarelerine karşı insektisit aktiviteleri araştırılmış ve tüm bitkiler *Sitophilus granarius*'a karşı güçlü insektisit kontakt toksisitesi göstermiş; fakat en güçlü toksisiteyi % 100 oranında Ağrı Dağı'ndan toplanan *A. biebersteinii* örnekleri 0,2 µl/L konsantrasyonda göstermiştir. Buna rağmen *Sitophilus granarius*'a karşı düşük insektisit fumigant toksisitesi göstermişlerdir. Ağrı Dağı'ndan toplanan *A. biebersteinii*, *Sitophilus granarius*'a karşı % 36,64 ± 0,12 mortalite oranı ile en güçlü fumigant toksisitesi gösterirken; *Lemna minör*'e karşı bu iki bitki de düşük fumigant fitotoksosite göstermiştir (Polatoğlu ve ark., 2013).

Mısır'da yapılan bir çalışmada *A. fragrantissima*; *Ageratum conyzoides* ve *Tagetes minuta* bitkilerinin toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağların ve nanoemülsiyonlarının *Callosobruchus maculatus*'a (börülce böceği) karşı fumigant etkisi araştırılmış ve uygulamadan 48 ve 96 saat sonraki sonuçlarda en yüksek aktiviteyi *A. conyzoides* gösterirken; *A. fragrantissima* daha düşük etki göstermiştir (Nenaah ve ark., 2015).

A. biebersteinii, *A. conyzoides* ve *A. fragrantissima* toprak üstü kısımlarının ve toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağların *Sitophilus oryzae*, *Rhyzopertha dominica* ve *Tribolium castaneum* zararlı haşarelerine karşı insektisit aktiviteleri araştırılmıştır. Bu 3 bitkinin toprak üstü kısımlarının toz edilerek 20 mg/kg tahıl konsantrasyonunda 12 gün boyunca tahılların bulunduğu yere serpiştirilmeleri sonucunda gösterdikleri mortalite oranı *S. oryzae* için sırasıyla % 88,2 ; 73,6 ve 64,4; *R. dominica* için sırasıyla % 100 ; 100 ve 82,2; *T. castaneum* için ise sırasıyla % 67,4 ; 60,6 ve 53 olarak bulunmuştur. Bu 3 bitkinin uçucu yağının ise 60 µl/L konsantrasyonda 12 gün boyunca uygulanmaları sonucunda gösterdikleri mortalite oranı *S. oryzae* için sırasıyla % 100 ; 89,3 ve 78,6; *R. dominica* için sırasıyla % 100 ; 100 ve 91,3; *T. castaneum* için ise sırasıyla % 92,8 ; 71,5 ve 70 olarak bulunmuştur (Nenaah, 2014).

1.2.3.15. Sitotoksik ve Antiproliferatif Etki

A. millefolium'un doğal ve ticari formlarında MCF-7 (göğüs adenokarsinoma), NCI-H460 (küçük olmayan hücreli akciğer karsinoma), HCT-15 (kolon karsinoma), HeLa (servikal (rahim) karsinoma) ve HepG2 (hepatoselüler karsinoma) olmak üzere 5 farklı insan tümör hücre hattı üzerindeki antitümör etkisine bakılmıştır. Yabani civanperçeminin infüzyonu meme kanseri (metanol ekstresi de yakın aktivite göstermiş) ve hepatoselüler karsinomaya karşı en yüksek antitümör etkiyi göstermiş. Fakat ticari civanperçeminin metanol ekstresi akciğer, kolon ve servikal karsinomaya karşı en yüksek etkiyi göstermişlerdir. Sadece tümör olmayan karaciğer hücreleri üzerinde düşük oranda toksik etki göstermiştir. Tümör hücreleri (HepG2) için bulunan GI₅₀ değerleri hepatotoksik GI₅₀ değerinden daima daha düşük bulunmuş ve bu yüzden numunelerin tümör hücresi olmayan hücreler için bulunan toksik olmayan GI₅₀ konsantrasyonda antitümör etkili olarak kullanılabilceğini göstermiştir. HeLa ve MCF-7 tümör hücre hattı üzerinde *A. millefolium*'dan izole edilen seskiterpen lakton ve flavonoidlerin antiproliferatif etkisi olduğu ve bu etkinin bitkinin sulu ve alkollü ekstrelerinde olduğu anlaşılmıştır. Yapılan çalışmalarda *A. millefolium*'dan izole edilen seskiterpen yapısında Akimilik asit A, B ve C, farelerin P-388 lösemili hücrelerinde in vivo deneylerde etkili olduğu bulunmuştur (Lim, 2014).

A. millefolium çiçeklerinin metanollü ekstresinden 1,10-sekoguayanolit yapısında 10 tane bileşik izole edilmiş ve bunların insan tümör hücre çizgilerindeki (MCF7WT ve PC3) antitümör etkileri incelenmiştir. İzole edilen bileşiklerden seko-tanapartolid A, in vitro MCF7WT'ye (insan meme kanseri hücre çizgisi) karşı orta derecede hücre büyümesini inhibe edici aktivite göstermiştir. Fakat, PC3'e (insan prostat kanseri hücre çizgisi) karşı hiç aktivite gösterememiştir (Li ve ark., 2012a).

A. millefolium çiçeklerinin metanollü ekstresinden izole edilen bir guayanolit olan Akillinin A'nın; A549 (akciğer hücresi adenokarsinoması), RERF-LC-kj ve QG-90 (insan küçük olmayan hücreli akciğer kanseri hücre çizgisi), PC-3 ve QG-90 (insan küçük hücreli akciğer kanseri hücre çizgisi) hücrelerine karşı potansiyel

antiproliferatif etkisi olduğu bulunmuştur. Bileşiğin etkisi sisplatin ile kontrol edilmiş ve sisplatinden daha aktif olduğu görülmüştür (Li ve ark., 2011).

A. millefolium'un toprak üstü kısımlarının n-hekzan, kloroform, sulu-metanol ve sulu ekstralarının insan tümör hücre çizgileri agrega edilerek antiproliferatif etkileri araştırılmıştır. Kloroformlu ekstre HeLa (% 88,91 oranında) ve MCF-7 (% 54 oranında) hücrelerine karşı hücre proliferasyonunu yüksek oranda inhibe edici aktivite göstermiş, A431 (% 21 oranında) hücreleri üzerine ılımlı bir etkisi görülmüştür. Buna göre detaylı bir biyoaktivite çalışması uygun görülmüş. Bu çalışmada ayrıca VLC, CPC, PLC ve jel filtrasyon gibi kromatografik yöntemlerle 5 flavonoit (apigenin, luteolin, sentaureidin, kastingin ve artemetin) ve 5 seskiterpenoid (paulitin, isopaulitin, psilostakin C, deasetilmatrikarin ve sintenin) izole edilmiştir. Antiproliferatif deneyler civanperçemi toprak üstü kısımlarındaki en etkili bileşiğin sentaureidin olduğunu göstermiştir. Özellikle HeLa hücrelerine karşı IC₅₀ değeri 0,0819 µm ve MCF-7 hücrelerine karşı IC₅₀ değeri 0,1250 µm ve A431 hücrelerine karşı ise IC₅₀ değeri 0,3450 µm bulunmuş ve hücre büyümesini yüksek derece de inhibe edici aktivite görülmüştür. Kastingin de her 3 tümör hücre hattına karşı son derece etkili olduğu görülmüştür. Apigenin, luteolin ve isopaulitin orta derecede aktif olduğu görülmüştür. Artemetin, psilostakin C, deasetilmatrikarin ve sintenin bu hücre hatlarına karşı herhangi bir antiproliferatif etki göstermediği bulunmuştur (Csupor-Löffler ve ark., 2009).

Fransa'da popüler tıpta bitki çayı olarak kullanılan 16 bitkinin sulu alkollü ekstralarından hazırlanan sulu fraksiyonlarının Melanom B16 hücrelerinin proliferasyonu üzerindeki etkilerine bakıldığı bir çalışmada; *A. millefolium*'un B16 fare melanoma hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisini ölçmek için yapılan deneyde 0,25 mg/ml konsantrasyonda düşük aktivite görülmüş, fakat 0,5 mg/ml konsantrasyonda önemli bir antiproliferatif etki görülmüştür (Trouillas ve ark., 2003).

A. cretica'nın toprak üstü kısımlarının sulu ekstresinin çeşitli fraksiyonlarından izole edilen seskiterpen yapısındaki tanafallin, vomifoliol ve klorin yapısında ilk defa izole edilen bir bileşiğin 4 farklı insan kanser hücre hattı üzerindeki (HCT-116, IGROV-1,

OVCAR-3 ve MCF-7) sitotoksik etkileri araştırılmıştır. Seskiterpen lakton yapısında olup klorin içeren bileşik en güçlü sitotoksik aktiviteyi göstermiş ve 4 farklı insan kanser hücre hattı arasında, yumurtalık hücre hattı üzerinde en yüksek sitotoksik aktiviteyi (IC_{50} : $23 \pm 2 \mu M$) göstermiştir. Diğer iki bileşik çok düşük sitotoksik aktivite göstermiştir (Hichri ve ark., 2015).

Cezayir’de yapılan bir çalışmada, *A. odorata* yapraklarından hazırlanan metanol:su (8:2 h/h) ekstresinin farklı konsantrasyonlardaki sitotoksik aktivitesi MTT testi ile MCF-7, Hep2 ve WEHI hücrelerinde araştırılmıştır. Ekstre 50 $\mu g/ml$ konsantrasyonda, Hep2 (% 61,54) ve WEHI (% 81,13) hücreleri üzerinde iyi bir antiproliferatif etki gösterirken MCF-7 (% 42,9) hücresinde ise daha düşük aktivite göstermiştir. Fakat gösterdiği inhibisyon oranı referans olarak kullanılan kolşisinin aynı konsantrasyonda gösterdiği etkiden daha yüksek bulunmuştur (Boutennoun ve ark., 2014).

İran’da yapılan bir çalışmada *A. santolinoides* subsp. *wilhelmsii* ve *A. vermicularis* ile birlikte toplam 19 bitkinin metanollü ekstrelerinin 0,5 mg/ml konsantrasyonda MTT testiyle MCF-7, HepG-2, A-549 (küçük olmayan karaciğer karsinoma) ve HT-29 (kolorektal adenokarsinoma) hücreleri üzerindeki sitotoksik etkileri araştırılmıştır. *A. santolinoides* subsp. *wilhelmsii* sadece MCF-7 hücre hattı üzerinde sitotoksik etki göstermiş ve IC_{50} değeri 60,7 $\mu g/ml$ bulunmuştur. Buna karşılık *A.vermicularis* 3 kanser hücre hattı üzerinde sitotoksik etki göstermiş ve IC_{50} değerleri MCF-7 hücre hattı için 34,8 $\mu g/ml$, A-549 hücre hattı için, 65,8 $\mu g/ml$ ve HT-29 hücre hattı için 55,6 $\mu g/ml$ olarak bulunmuştur. İki bitkide ortak olarak hepatoselüler karsinoma hücre hattı üzerine sitotoksik aktivite gösterememiştir (Naghbi ve ark., 2014).

İtalya’da yapılan bir çalışmada *A. ligustica* çiçeklerinden ve diğer kısımlarından (kök ve yapraklar) elde edilen uçucu yağların sitotoksik aktiviteleri T98G (insan glioblastoma multiform hücreleri), A431 (skuamöz karsinoma hücreleri), PC3 (prostat adenokarsinoma hücreleri) ve B16-F1 (melanom hücreleri) hücre hatlarında MTT testi ile araştırılmıştır. Çiçeklerinden elde edilen uçucu yağ daha yüksek sitotoksik aktivite göstermiş ve en yüksek sitotoksik aktiviteyi $0,22 \pm 0,022 IC_{50}$ değeri ile B16-F1 hücre hattına karşı göstermiştir (Maggi ve ark., 2009).

A. falcata'dan izole edilen bileşiklerden 3- β -metoksi-izo-seko-tanapartolid, 8-OH-3-metoksi-izo-seko-tanapartolid ve izo-seko-tanapartolid'in β -konformeri ve karışım halindeki α ve β -OH diastereoizomerinin güçlü bir şekilde HaCa-T hücre büyümesini inhibe ettikleri bulunmuştur. En güçlü etkiyi 3- β -metoksi-izo-seko-tanapartolid 25 μ g/ml konsantrasyonda hücrenin canlılığını % 65 oranında düşürerek göstermiş ve IC₅₀ değeri 7,1 μ g/ml olarak bulunmuştur. Diğer bileşikler ise % 11-32 arasında değişen oranlarda hücre büyümesini inhibe ettikleri bulunmuştur (Ghantous ve ark., 2009).

A. clavennae toprak üstü kısımlarından izole edilen guyanolid yapısındaki 9 α -asetoksiartekanin ve apressin, bisabolen yapısındaki indusumenon ve flavonol yapısındaki sentaureidin bileşiklerinin HeLa (insan boyun karsinoma), Fem-X (insan malign melanoma), K562 (insan miyelojen lösemi) hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkileri araştırılmıştır. HeLa ve Fem-X hücreleri üzerine en yüksek sitotoksikiteyi sentaureidin sırasıyla 2,55 ve 3,56 μ M IC₅₀ değerleri ile göstermiş ve bu hücreler üzerindeki sitotoksik etkisi referans bileşik olan sisplatin'den daha güçlü olduğu görülmüştür. K562 hücresi üzerine en yüksek sitotoksik etkiyi apressin 4,44 μ M IC₅₀ değerinde göstermiş ve sisplatin'den daha düşük bir IC₅₀ değerine sahiptir. Bisabolen yapısındaki indusumenon ise tüm kanser hücreleri üzerine düşük bir sitotoksik aktivite göstermiştir (Trifunovic ve ark., 2006).

1.2.3.16. Östrojenik Etki

A. millefolium'un kimyasal bileşenlerinin östrojen reseptörlerine (ER) ve östrojenik aktivite üzerlerine etkisini tespit edebilmek amacıyla bu saf bileşiklerin izolasyonu ve biyolojik karakterizasyonu yapılmıştır. İn vitro rekombinant MCF-7 hücrelerine bağlı olarak, *A. millefolium*'un toprak üstü kısımlarının metanollü ham ekstresinin östrojenik aktivitesi saptanmıştır. Ham ekstrenin polarlığı artan çözücülerle (petrol eteri, kloroform ve su) fraksiyonlanması sonrasında metanol:su (9:1) fraksiyonunda östrojenik aktivite bulunmuştur. İzole edilen bileşiklerden apigenin ve luteolin test

edilen östrojenik bileşikler arasında en önemlileri olduğu görülmüştür. Bunlar; geçici olarak transfekte edilmiş hücreler kullanılarak yapılan çalışmada α ve β östrojen reseptörleri üzerinde önemli etkinlikleri görülmüştür (Innocenti ve ark., 2007).

İran'da İslamik Azad Üniversitesi'nde yapılan çift körlü randomize çalışmada 19-23 yaş arasında, bekar, 25-30 gün arasında değişen ve son 3 ay boyunca düzenli adet döngüsü olan, devam eden bir hormonal tedavisi olmayan, menstrual ağrıyı hafifletmek için herhangi bir ilaç kullanımı olmayan kız öğrenciler seçilmiştir. Sekonder dismenoreyi de ortadan kaldırmak için ultrason yapılmıştır. Bu çalışmada; ağrı skorları 3'den az olanlar hafif dismenore; 4-6 olanlar orta dereceli dismenore; 6'dan yüksek olanlar şiddetli/sert dismenore olarak kabul edilmiştir. Hafif dismenore saptananlar çalışma dışı bırakılmıştır. Uygun öğrenciler rastgele dengeli blok randomizasyon yöntemiyle 2 gruba ayrılmıştır. *A. millefolium*'un çiçekli baş kısımlarından hazırlanan çayı, deney grubundaki insanlara toplam 2 döngüde menstrual periyodun 1.gününden 3. gününe kadar sabah, öğle ve akşam yemekle birlikte 3 gün süreyle 3er çay bardağı içmeleri istenmiştir. Görsel analog skala, dismenorenin şiddetinin değişikliklerini ölçmek için kullanılmıştır. *A. millefolium* grubunda ağrı skoru ortalama değişimi, plasebo grubuna göre anlamlı ölçüde fazla olmuş ve *A. millefolium* kullanımının hiçbir yan etkisi görülmemiştir. *A. millefolium*'un tedaviye başladıktan sonra 1. ve 2. aylarda semptomları iyileştirdiği ve menstrual dönemde kanamayı ve ağrıyı azalttığını göstermiştir (Jenabi ve Fereidoony, 2014).

1.2.3.17. Yara İyileştirici Etki

A. millefolium'un sulu ekstresini yanık yaralar üzerindeki etkisinin Hollanda tavşanları üzerinde in vitro olarak araştırıldığı bir çalışmada tavşanların dorsal bölgelerinde Hoekstra yöntemi ile yanık yaralar oluşturulmuş ve hergün 5 ml *A. millefolium* sulu ekstresi ile tedavi edilmiştir. Kontrol grubu tavşanlarına ise aynı miktarda Salin ile tedavi yapılmıştır. Kontrol grubuyla deney grubu arasındaki kontraksiyon oranlarında anlamlı fark gözlenmiş ve 21. günde hispatolojik deneylere

geçilmiş ve deney grubunda granülasyon ve epitelizasyonun daha fazla olduğu ve kolojen fibrillerin daha düzenli olduğu gözlenmiştir (Jalali ve ark., 2007). Benzer bir çalışmada Hoekstra yöntemi ile 20 yetişkin, 43 beyaz tavşanın dorsal bölgelerinde yaralar oluşturulmuş ve 3 ayrı grup olarak yara iyileştirici aktivite araştırılmıştır. 1. gruptaki hayvanlar 5 ml doğal bal ile, 2. gruptakiler *A. millefolium* sulu ekstresi ile ve son gruptakiler kombine şekilde bal ve sulu ekstre ile 21 gün boyunca tedavi edilmiştir. Tedavi sonunda 3 grupta aynı oranlarda yara iyileştirici aktivite göstermiş, bal ve sulu ekstrenin kombine kullanımında yaranın iyileşmesi üzerinde ekstra bir etkisi olmamıştır (Tatli ve ark., 2009).

A. millefolium'un Eucerin bazlı krem içerisindeki % 5'lik sulu-etanollü ekstresi ile tedavi edilen tavşanlarda kontrol grubuna kıyasla yara iyilişmesi üzerinde anlamlı bir fark gözlemlenmiştir. Kolojenasyon ve proliferasyonda artış gözlenirken bu etkinin iç ve dış kanamayı durduran akillein ve akilletin gibi bileşikler sayesinde olduğu belirtilmiştir (Hemmati ve ark., 2002).

A. biebersteinii köklerinden hazırlanan *n*-hekzan, kloroform, etil asetat ve metanol ekstralarının sıçan ve farelerdeki yara iyileştirici aktiviteleri tensiyometri ile lineer insizyon ve dairesel eksizyon yara modelleri kullanılarak araştırılmıştır. Ekstrelerin yara iyileştirici etkileri eksizyon yara metodunda, standart yara merhemi olan ve % 100 kontraksiyon yapan Madecassol ile karşılaştırılmış ve *n*-hekzan ekstresi % 84,2'lik kontraksiyon değeri ile referans maddeye en yakın değeri gösterdiği tespit edilmiştir. Bu ekstrenin insizyon yara metodunda da gerilme direncinde % 40,1 oranında anlamlı bir artış göstermiştir. Histopatolojik sonuçlar her iki yöntemde bulunan sonuçları desteklemiş ve *A. biebersteinii*'nin önemli ölçüde yara iyileştirici aktivite gösterdiğini kanıtlamıştır (Akkol ve ark., 2009).

1.2.3.18. Diğer Etkiler

A. millefolium ekstresinin in vivo deri yüzeyinin görünümünü gençleştirme kapasitesi araştırılmış; ayrıca ex vivo (canlı/organizma dışında) kantitatif görüntü analizi

kullanılarak ekstrenin insan deri biyopsisinde çeşitli epidermal farklılaşma belirleyicilerinin üzerindeki ekspresyonu değerlendirilmiş ve ex vivo çalışmalar için 60 yaş üstü bayanlar donör olarak seçilmiştir. Sonuçta % 0,5'lik ekstrenin kültürlü deri biyopsilerinde sitokeratin 10, transglutaminaz-1 ve filagrinin geliştirilmiş bir sentezleme profili yanı sıra, epidermal kalınlığında da artış görülmüştür. Sitokeratin 10 yoğunluğu tedavisiz durumda $34,7 \pm 24,4$ A.U. iken *A. millefolium* ile tedavide $70,8 \pm 29,9$ A.U. olarak bulunmuştur. Transglutaminaz-1 tedavi edilmeyen biyopsisi $35,6 \pm 24,8$ A.U. iken *A. millefolium* ile tedavide biyopsi $22,6 \pm 24,3$ A.U. olarak bulunmuştur. In vivo çalışmada, *A. millefolium*'un % 2' lik ekstresi ile 47-68 yaş aralığında seçilen 20 sağlıklı kadınla yapılan tedavide epidermal yenilenme zamanına bakılmış; kontrol grubunda $19,5 \pm 14,4$ gün, plasebo grubunda $16,4 \pm 13,9$ gün, referans olarak alınan cilt yenileme bileşeni olan glikolik asitte (% 3'lük) $12,3 \pm 4,3$ gün iken *A. millefolium*'un % 2'lik ekstresinde $12,9 \pm 6,1$ gün olarak gerçekleşmiştir. Yapılan diğer in vivo klinik çalışmalarda ise 48-67 yaş arasında 63 kadın seçilmiş ve *A. millefolium*'un % 2' lik ekstresi ile yapılan 2 aylık tedavide kırışıklık skalalarına bakılmış; ayrıca bir de gözenek görünümü ve cilt yumuşaklıklarına bakılmıştır. Ekstre, plaseboya karşı önemli ölçüde kırışıklık skalasında (% 14 oranında) kırışıklıkları azaltmış, gözenek görünümünü % 21 oranında azaltmıştır. Cilt yumuşaklığında ise % 31 oranında iyileşme gerçekleştirdiği görülmüştür. Ayrıca; sonuçlar referans olarak alınan cilt yenileme bileşeni olan glikolik asite göre çok daha iyi bulunmuştur (Pain ve ark., 2011).

Brezilya'da yapılan bir çalışmada, *A. millefolium*'un toprak üstü kısımlarının ekstrelerinin ve yarı saflaştırılmış fraksiyonlarının diüretik etkisi mekanizması ile birlikte erkek Wistar sıçanlarda incelenmiştir. Sulu ve sulu etanollü ekstreler ile diklorometan altfraksiyonu ve hidroklorotiyazid altfraksiyonu oral olarak tatbik edilmiş ve hayvanlar, idrarların toplanması için 8 saat boyunca metabolik kafesler içinde muhafaza edilmiştir. *A. millefolium*'un diüretik etkisinde bradikinin ve prostaglandinlerin ilişkisini değerlendirilmesi için, seçilmiş olan sıçan gruplarında diklorometan alt fraksiyonu ile tedavisinden önce; sıçanlara indometazin (5 mg/kg oral) ya da HOE (1,5 mg/kg intraperitonal) (Bradikinin B2 reseptör antagonisti) tatbik edilmiştir (*A. millefolium*'un diklorometan alt fraksiyonunda majör olarak

artemetin adında bir flavonoit bulunmuş, bunun sıçanlarda kan basıncını azalttığı gözlenmiş ve bu çalışmada da o yüzden diklorometan alt fraksiyonu kullanılmış). İdrar hacmi, pH, dansite, elektrolit atılımı ve kondüktibilite (iletkenlik) ölçülmüştür. Hidroklorotiyazidin (10 mg/kg) de benzer şekilde, sulu etanollü ekstre (30, 100 ve 300 mg/kg) ile diklorometanlı ekstrelerin (10 ve 30 mg/kg) her ikisinin de kontrol grubuyla karşılaştırıldığında idrar hacmini ve Na⁺ ve K⁺ atılımını arttırdığı tespit edilmiştir. Ancak sulu ekstrede (125, 250 ve 500 mg/kg) bu durum gözlenmemiştir. Diklorometan alt fraksiyonunun diüretik etkisi indometazin (siklooksijenaz inhibitörü) ile olduğu gibi HOE tarafından da innhibe edilmiştir. Bu çalışmada *A. millefolium*'dan elde edilen ekstrelerin sıçanlara oral olarak uygulandığında etkin bir şekilde diürezi artırmanın mümkün olduğunu göstermiş ve bu etki, hem siklooksijenazların aktivitesine hem de bradikinin B2 reseptörlerin aktivasyonuna bağlı olarak değişmektedir (de Souza ve ark., 2013).

A. millefolium yapraklarının etanollü ekstresinden izole edilen glikoalkaolitlerden Akillin-1 ve Akillin-2 tavşanlarda Sabraze metodu ile yapılan deneyde kan pıhtılaşma süresini düşürdüğü bulunmuştur. 0,5 mg/kg vücut ağırlığı dozunda intravenöz olarak verilmesiyle normal ortalama pıhtılaşma zamanı olan 170 ± 31 saniyeyi 117 ± 26 saniyeye düşürmüştür (% 32 oranında). Ayrıca 45 dakika boyunca takip edilmiş ve herhangi bir toksik etki gözlenmemiştir (Miller ve Chow, 1954).

A. millefolium'un % 70 sulu-metanollü ekstresinin farelerde D-galaktozamin (D-GaIN) ve lipopolisakkarit (LPS) ile indüklenen hepatitteki hepatoprotektif etkileri incelenmiştir. D-GaIN (700 mg/kg) ve LPS'nin (25 µg/kg) birlikte kullanımında farelerde % 100 ölüm görülmüştür. *A. millefolium* ekstresi (300 mg/kg) ile farelerin ön tedavisinde mortaliteyi % 40 oranında azaltmıştır. D-GaIN (700 mg/kg) ve LPS'nin (1 µg/kg) birlikte plazma alanin aminotransferaz (ALT) ve aspartat aminotransferaz (AST) seviyelerini kontrol grubuna göre önemli ölçüde arttırdığı görülmüştür. Buna karşılık *A. millefolium* ekstresi (150-600 mg/kg) plazma ALT ve AST artışına bağlı olarak oluşan toksinleri önemli ölçüde önlediği görülmüştür. Ekstrenin hepatoprotektif etkisi karaciğer histopatolojisi sonuçları ile de doğrulanmıştır. Bu durum toksin grubundaki hayvanlarla karşılaştırıldığında

parankimal tıkanıklık olmaması, hücrelerin şişkinliği ve apoptotik hücrelerin azalması ile doğrulanmıştır (Yaesh ve ark., 2006).

Avrupa tıbbında *A. millefolium* gastrointestinal ve hepatobilier rahatsızlıklarda kullanılmaktadır. Bu çalışmada dikafeilkinik asit ve luteolin 7-O-β-D-glukuronit ile zenginleştirilmiş fraksiyonların izole perfüze sıçan karaciğeri üzerine koloretik etkileri *Cynara scolymus*'un majör bileşeni Sinarin ile karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. 3,4-, 3,5- ve 4,5-dikafeilkinik asit ve luteolin 7-O-β-D-glukuronit içeren fraksiyon % 20 metanollü civanperçemi ekstresinden katı faz ekstraksiyon ile hazırlanmış ve % 48,8 kafeik asit ve % 3,4 luteolin 7-O-β-D-glukuronit içermektedir. İzole perfüze sıçan karaciğeri deneyleri *A. millefolium* ekstrelerinin doza bağımlı olarak (10-20-40 mg/l dozda) safra akışında sırasıyla % 23,1± 6,9 ; % 44,1 ± 17,2 ve % 47 ± 12,2 oranında artış göstermiştir. Kolorezis *Cynara scolymus*'dan elde edilen internal standart olan sinarinden 2-3 kat daha fazla görülmüştür. Luteolin ve kafeik asitin kombine etkisi yalnız sinarin kullanımından daha yüksek safra akışı etkinliği göstermiş ve koloretik etkide bu 2 bileşenin etkili olduğu anlaşılmıştır (Benedek ve ark., 2006).

Kemoterapi kaynaklı oluşan oral mukozitin tedavisinde *A.millefolium*'un dekoksasyonunun etkisi Çift Körlü Randomize Kontrol Çalışması ile araştırılmıştır. Çalışmada, 2013-2014 yıllarında kemoterapi kaynaklı ağız mukoziti (oral mukozit) olan 56 kanser hastası, oral mukozit şiddetleri benzer olan kontrol ve deney grupları olarak rastgele 2 gruba ayrılmıştır. Deney grubuna *A. millefolium* dekoksasyonu ile rutin solüsyonu (difenhidramin solüsyonuna 1400 mg lidokain, 224 mg dexametazon ve 3,5 gr sukralfat eklenerek hazırlanmış) (50:50) karışımı; kontrol grubuna ise rutin solüsyonu günde 4 defa 14 gün boyunca gargara yaptırılmıştır. Uygulamadan önce, uygulamanın 7. ve 14. gününde olmak üzere oral mukozit şiddeti 3 kez değerlendirilmiştir. Veriler; Wilcoxon, Kruskale Wallis, Manne Whitney U, Friedman, Chi-square ve Fisher testleri kullanılarak analiz edilmiştir. Çalışmanın başlangıcında oral mukozit şiddeti skoru 2,39 ± 0,875 iken; deney grubunda 7. günde 1,07 ± 0,85, 14. günde 0,32 ± 0,54 olarak ölçülmüştür. Bununla birlikte kontrol grubunda 7. günde 2,75 ± 0,87 ve 14.günde 2,89 ± 0,956 olarak

ölçülmüş ve değerlerden anlaşılacağı üzere oral mukozit şiddeti solüsyonunda düşüş göstermiştir. *A. millefolium*'un dekoksasyonu rutin solüsyonuna göre oral mukoziti çok daha yüksek oranda iyileştirmiştir. Bu sebepten kemoterapi kaynaklı oral mukoziti olan hastalarda kullanılmak üzere önerilmektedir (Miranzadeh ve ark., 2014).

A. millefolium'un çiçekli baş kısımlarının sulu ekstresinin in vivo izole fare ve insan mide antrum şeritlerinde ve mide boşalması üzerine fenol kırmızısı yemek metodu ile kontrol farelerinde ve gastrik anomaliler ile indüklenen kanser kemoterapisi modelinde etkisi araştırılmıştır. Ekstre fare ve insan mide şeritlerini daraltmış ve bu etki heksametonium ve tetradoksinden etkilenmemiş; fakat atropin tarafından güçlü bir şekilde azaltıldığı görülmüştür. Ekstrenin 1 µg/ml'den 30000 µg/ml'ye değişen konsantrasyonda uygulanması ile izole fare mide antrum şeritlerinde ve izole insan mide antrum şeritlerinde maksimum etkiyi 30000 µg/ml konsantrasyonda sırasıyla % 89,2 ± 4,5 ve % 97,7 ± 5,3 kasılma göstermişler ve EC₅₀ değerleri sırasıyla 617,5 ± 12,1 ve 581,4 ± 12,4 µg/ml olarak hesaplanmıştır. Ekstreden izole edilen kimyasal bileşiklerden kolinde bu etki görülmüş ama rutin ve apigeninde görülmemiştir. Kolin'den yoksun olan ekstre kasılma etkilerini göstermemiş. Ekstre in vivo sisplatin ile tedavi edilen farelerde ve kontrol grubunda mide boşalmasını uyarmış ve ekstre patolojik durumlarda daha aktif olduğu görülmüştür. Sonuç olarak, mide antrumu üzerinde doğrudan spazmojenik etkisi olduğu görülmüş ve bu etkiden sorumlu olan bileşenin kolin olduğu saptanmış, ekstre prokinetik etkisi in vivo olarak dispepsi tedavisinde geleneksel kullanımın altında yatan farmakolojik kökene dayandığı gözlenmiştir (Borrelli ve ark., 2012).

A. millefolium çiçeklerinin etanollü (% 96) ekstresinin günde 200 mg/kg konsantrasyonda intraperitoneal olarak 20 gün boyunca, sulu-alkollü (% 80 etanol) ekstresinin günde 300 mg/kg konsantrasyonda oral olarak 30 gün boyunca Swiss farelerine spermatogenezis etkileri ışık ve elektron mikroskopuyla morfolojik özellikleri değerlendirilmiştir. İmmature germ hücrelerinde ekfoliyasyon (cildi ölü hücrelerden arındırma, pul pul dökülme), germ hücre nekrozisi ve seminifer tübül vakuolizasyonu gözlenmiştir. Ekstre ile tedavi edilen hayvanlarda germ epitelindeki metafazlarda artış görülmüş bunun nedeni sitotoksik maddeler veya hücre

çoğalmasını uyaran maddelerden kaynaklı olabileceği düşünülmüştür. Tedavide vücut ağırlığında, testit veya seminal vezikül (meni kesesi) ağırlığında önemli bir fark bulunmamıştır. Fakat üreme organlarında makroskopik değişiklikler gözlenmiştir. Kontrol grubundaki hayvanların seminifer tübülü hepsinde normal olmadığı anlaşılmıştır. Bazı hayvanlarda metafazda da gözlenmiştir. Oral tedavi uygulanan hayvanlarda % 5 ile 50 arasında değişen oranlarda testislerinde vakuolizasyon gözlenmiştir. Bu tübüllerin yakınlarında interstiyel dokuda artış ve lökosit infiltrasyonu görülmüştür. Metafazik hücrelerin büyük bir kısmında, spermatogoni ve spermatozoidlerde tedavi edilen hayvanların germ epitelinde gözlenmiştir. Fakat bu etkiler tüm testiste görülemediği (Montanari ve ark., 1998). 50 Wistar sıçan üzerinde yapılan bir çalışmada (10ar sıçandan oluşan 5 gruptan 3'ü deney grubu, 1 tanesi kontrol grubu ve diğeri plasebo grubu) *A. millefolium*'un spermaller üzerine etkisi araştırılmıştır. Spermatogenez üzerine 200, 400 ve 800 mg/kg dozlarda *A. millefolium* çiçeklerinin sulu alkollü ekstresi intraperitoneal olarak 22 gün boyunca her gün uygulanmıştır. Kontrol grubuna sadece distile su ve plasebo grubuna hiçbir şey verilmemiştir. Daha sonra her grupta 5 sıçan hariç geri kalan öldürülmüştür. Bu 5 sıçan ekstrenin geri dönüşlülüğünü değerlendirmek için 2 gün süre daha deneye devam edilmiş fakat ekstre uygulanmamıştır. 200 mg/kg dozda etki gözlemlenmezken, 400 mg/kg dozda hücre düzeninde ve sayısında anlamlı bir fark görülmüş fakat 22 günden sonra canlı olan 5 fare de kontrol grubu ile aralarında anlamlı bir fark görülmemiş ve bu da bize bu dozda geri dönüşüm göstermiştir. 800 mg/kg dozda ise spermatogenez üzerine önemli etki göstermiş fakat 22 günden sonraki kalan 5 fare de kontrol grubu ile aralarında önemli bir fark görülmüş bu yüzden bu dozun geri dönüşümlülüğünün olmadığı anlaşılmıştır (Takzaree ve ark., 2008).

Syzygium aromaticum L., *Ocimum basilicum* L. ve *A. millefolium* bitkilerinin buhar distilasyonu ile elde edilen uçucu yağlarının ve GC ve GC-MS ile izole edilen bazı kimyasal bileşenlerinin (Eugenol ve Linalol) *Trypanosoma cruzi*'nin epimastigot ve kan dolaşımı tripomastigot formlarında tripanosidal etkileri incelenmiştir. Uçucu yağların parazit gelişimini inhibe edici etkisinin IC₅₀ değerleri ve *Trypanosoma cruzi*'ye bağlı bileşenler Neubauer haznesinde hücre sayımı ile belirlenmiştir. Hücre

morfolojisindeki değişiklikler elektron mikroskopunda tarama ve transmisyon ile gözlemlenmiştir. Yağlar ve bileşenleri ile tedavide bu parazitin büyümesinin inhibe edildiği görülmüş ve en etkili bitki *Syzygium aromaticum* L. olarak bulunmuştur. *A. millefolium*'un bu parazitin epimastigot formuna karşı gösterdiği tripanosidal etkisinin IC₅₀ değeri 145,5 µg/ml iken tripomastigot formunun tripanosidal etkisinin IC₅₀ değeri 228 µg/ml olarak bulunmuştur (Santoro ve ark., 2007). *Blastocystis* spp. hayvanların ve insanların bağırsaklarında bulunan yaygın bir parazittir. Yapı olarak tanımlanmakla birlikte patojenitesi, yaşamı ve tedavisi hakkında henüz bir bilgi edinilememiştir. *A. millefolium*'un metanol ekstresinin bu parazite karşı aktivite gösterdiği herhangi bir sitotoksik etkisinin bulunmadığı tespit edilmiştir (Özbilgin ve ark., 2013). Bir başka çalışmada sıtmaya karşı Endonezya'da geleneksel olarak kullanılan bitkiden elde edilen sıcak su ekstresinin antiplasmodial etkili olduğu bulunmuştur. *A. millefolium* ekstresi 1 mg/ml konsantrasyonda *Plasmodium falciparum*'u in vitro ortamda neredeyse tümüyle inhibe etmiştir. Bir eritrositik parazit olan *Babesia gibsoni* Patton için de benzer toksik aktivite göstermiştir (Adams ve ark., 2011).

Sıçanlarda, vasküler düz kas hücrelerinin (VSMCs) primer büyümesi üzerinde *A. millefolium* metanol ekstresinin etkisi in vitro olarak incelenmiş ve ayrıca bu süreçte östrojen reseptörlerinin (ER) potansiyel tutumu da gözlemlenmiştir. Ek olarak, *A. millefolium* ekstresinin NF-B yolunu modüle etme yeteneği insan umbilikal damar (göbek damarı) endotel hücrelerinde (HUVEC) test edilmiştir. Sonuçlar *A. millefolium*'un geleneksel kullanımlarından bazılarını desteklemiş, vasküler inflamasyon üzerindeki etkilerine ilişkin etki potansiyellerini göstermiştir. Sonuç olarak *A. millefolium* ekstrelerinin 60 µg/ml konsantrasyonda başlangıca göre % 30-40 oranında vasküler düz kas hücrelerinin büyümesi gözlenmiştir. Buna karşılık, 200 µg/ml olan en yüksek konsantrasyonda test edilen VSMCs büyümesi üzerine indüklenen tutarsız etkileri muhtemelen belirli bir *Achillea* bileşeninin toksisitesinden kaynaklandığı düşünülmüştür (Dall'Acqua ve ark., 2011).

Ankara'dan toplanan *A. biebersteinii* toprak üstü kısımlarında hazırlanan *n*-hekzan, etilasetat ve metanol ekstrelerinin 2 ml/kg dozda, sıçanlarda endometriozis tedavisi

üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Etilasetat ile yapılan tedavide endometrial odaklarının hacimlerinin önemli ölçüde azaldığı ve herhangi bir intraabdominal adhezyon oluşmadığı görülmüştür. Ayrıca etilasetatlı tedavi sonrasında TNF- α , VEGF ve IL-6 düzeyleri önemli ölçüde düşmüştür. Diğer ekstreleri ise çok düşük etkili bulunmuştur (Demirel ve ark., 2014).

A. wilhelmsii'nin sulu-etanolü ekstresinin 42 erkek Wistar sıçanlarından izole edilen aort üzerindeki gevşetici etkisi araştırıldığı bir çalışmada ekstre, hem sağlam hem de soyulmuş endotelin fenilefrin ve potasyum klorürle daraltılmış aortunda önemli ölçüde gevşeme göstermiştir. Ekstre endotelden bağımsız şekilde vazorelaksan etki göstermiştir. Ayrıca ekstre kümülatif kalsiyum konsantrasyonları varlığında fenilefrin ve potasyum klorürle daraltılmış aortta anlamlı ölçüde gevşeme göstermiştir (Harandizadeh ve ark., 2011).

A. wilhelmsii'nin sulu-etanolü ekstresinin kobay hayvanların trake zincirindeki muskarinik reseptörler üzerindeki etkisi test edilmiş ve ekstrenin antikolinergik etkisi referans alınan atropin ve salin bileşiklerinin etkisine yakın bulunmuştur (Boskabady ve ark., 2011).

Mısır'da 42 bitkinin sulu-alkollü ekstrelerinin antiviral aktiviteleri HSV (Herpes simplex-1 virüsü), POLIO (poliomyelit virüsü) ve VSV (veziküler stomatit virüsü)'ye karşı test edilmiştir. *A. fragrantissima* 10-100 μ g/ml değişen nontoksik dozlarda POLIO'ya karşı en yüksek antiviral aktiviteyi gösterenlerden biri olmuştur (Soltan ve Zaki, 2009).

Farklı cinslerdeki 66 çöl bitkisinin ekstrelerinin lipopolisakkarit (primer mikroglial hücreleri tarafından üretilen ve NO'yu oluşturan) üzerindeki etkileri incelenen bir çalışmada; çeşitli hastalıkların tedavisi için geleneksel tıpta uzun yıllardır kullanılan *A. fragrantissima*'nin ekstrelerinin en etkili ekstreler olduğu bulunmuştur. Bunun haricinde bu hücrelerdeki antinöroenflamatuvar etkileri de incelenmiştir. Bu ekstrenin hiçbir hücrenin canlılığını etkilemeden mikroglial hücrelerin aktive ettiği lipopolisakkarit tarafından üretilen NO'yu yaklaşık % 70 oranında inhibe etmiştir. Ek olarak bu ekstre bu hücrelerdeki iNOS, COX-2, MMP-9, TNF α , IL-1 β gibi

proenflamatuvar aracilarin ekspresyonunu ortaya çikaran lipopolisakkaritleri inhibe etmiştir (Elmann ve ark., 2011).

A. millefolium'un polifenolik ve total ekstrelerinin eritrositler üzerindeki lipit peroksidasyonunu arttırmak için 5,2 µg/ml, 5,1 µg/ml, 0,5 µg/ml ve 0,25 µg/ml konsantrasyonlarda bitki ekstreleri AAHP yöntemi ile test edilmiştir. Hemoliz seviyesi 415 nm'de UV ile ölçülmüştür. Hemoliz oluşumu üzerinde bu bitkilerin etkisi doza bağımlı olarak değişiklik göstermiştir. *A. millefolium*'un polifenolik ekstresinin etkisi % 50,70 iken total ekstresinin etkisi % 20'den az bulunmuştur (Asgary ve ark., 2010).

Siklofosfamid geniş ölçüde çeşitli kanserlerin tedavisinde ve aynı zamanda bağışıklık sistemini baskılayan ajandır. Bununla birlikte siklofosfamidin üreme toksisitesi dahil olmak üzere bir çok yan etkisinin olduğu bilinmektedir. Bu çalışmada *A. millefolium*'un çiçeklerinin sulu ekstresinin antioksidan ve antiinflamatuvar aktivitelerinin siklofosfamid ile tedavi esnasında üreme toksisitesine karşı koruyucu bir madde olarak hizmet edebileceğinin olup olmadığını değerlendirmek amacıyla erkek Wistar sıçanlar gruplara ayrılmış ve siklofosfamid ve ekstreyle tedavi edilmiştir. Siklofosfamid ile tedavi edilen grupta çok sayıda histolojik değişikliklerin yanı sıra vücutlarında, testislerinde ve epididimis ağırlığında önemli düşüşler gözlenmiştir. Siklofosfamid ile tedavi sonucunda epididimal sperm sayısı ve serum testosteron konsantrasyonu ile birlikte stereolojik parametreler, spermatogenik aktiviteler ve testiküler antioksidan kapasite önemli ölçüde azalmıştır. *Achillea* ile birlikte uygulamada yukarıdaki parametrelerde kısmi toparlanma görülmüştür. Bu bulgular *A. millefolium* çiçeklerinin sulu ekstrelerinin siklofosfamid kaynaklı testiküler toksisiteye karşı kısmen koruyucu olabileceğini göstermiştir (Jalali ve ark., 2012).

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Gereç

2.1.1. Bitkisel Materyal

Çalışmalarda kullanılan *A. biebersteinii* Afan., *A. setacea* Waldst. et Kit. ve *A. wilhelmsii* C. Koch. bitkileri 31 Temmuz 2014 tarihinde Kayseri ili Yahyalı İlçesi Kirazlı Köyü Gerzile Yayla'sında (35°20'41'' E, 38°2'4'' N) 1794 metre yükseklikten toplanmışlardır. Herbarium için hazırlanan örnekler preslenip kurutulduktan sonra Prof. Dr. Ayşe Mine GENÇLER ÖZKAN tarafından teşhis edilip Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbariumu'na sırasıyla AEF26686, AEF26688 ve AEF26687 numaralarıyla kaydedilip kaldırılmışlardır. Bitkiler uygun şekilde kurutularak, fitokimyasal analiz ve biyolojik aktivite testlerinde kullanıma hazır hale getirilmişlerdir.



Şekil 2.1. *A. biebersteinii*'nin doğadaki görünüşü



Şekil 2.2. *A. setacea*'nin doğadaki görünüşü



Şekil 2.3. *A. wilhelmsii*'nin doğadaki görünüşü

2.2. Yöntem

2.2.1. Fitokimyasal Çalışmalar

2.2.1.1. Etken Bileşiklerin Kalitatif Analizleri

A. biebersteinii, *A. setacea* ve *A. wilhelmsii*'nin toprak üstü kısımlarında alkaloit, saponozit, flavonozit, antosiyanozit, kardiyolojik heterozit, siyanogenetik heterozit, antrasenozit, tanen ve kumarin etken bileşiklerinin varlığı araştırılmıştır.

2.2.1.1.1. Alkaloit Teşhisi

A. biebersteinii, *A. setacea* ve *A. wilhelmsii*'nin toz edilmiş toprak üstü kısımlarından 0,5 g alınıp, 10 ml % 6 H₂SO₄ içeren % 70'lik etanol ile 1 dakika kaynatılmış, soğutulmuş ve süzölmüştür. Süzöntünün bir kısmı 2 ayrı tüpe alınmış, Mayer ve Dragendorf reaktifleri ilave edilmiş ve Mayer reaktifi damlatılan tüpte kirli beyaz çökelek, Dragendorf reaktifi damlatılan tüpte turuncu çökelek gözlenmiştir. Kalan süzöntü üzerine yeterli miktarda % 25'lik Na₂CO₃ ilave edilerek alkalilendirme işlemi yapılmış ve bu işlemde sonra 15 ml kloroform ile ekstre edilmiştir. Kloroformlu faz alınıp 15 ml % 10'luk asetik asit ile muamele edilmiş ve asetik asitli faz 3 tüpe aktarılmıştır. Birinci tüp kontrol için ayrılmış, ikinci tüp üzerine Mayer reaktifi ve üçüncü tüpe ise Dragendorf reaktifi damlatılarak çökelek ve renk meydana gelip gelmediği gözlenmiştir (Altun ve Tanker, 2000).

2.2.1.1.2. Kardiyoaktif Heterozit Teşhisi

A. biebersteinii, *A. setacea* ve *A. wilhelmsii*'nin toz edilmiş toprak üstü kısımlarından 2 g alınıp, 10 ml % 70'lik etanol ile 2 dakika kaynatılmış ve süzölmüştür. Süzöntü 2 misli su ile seyreltilip üzerine 1 ml derişik kurşun-subasetat ilave edilerek süzölmüştür. Süzöntü 10 ml kloroform ile ekstre edilmiş ve kloroformlu faz 3 ayrı kapsüle alınmıştır.

Keller-Kliani Reaksiyonu: Kapsüldeki çözeltili su banyosunda kuruluğa kadar uçurulmuştur. Üzerine 3 ml % 3,5'lik glasiyal asetik asitli FeCl₃ ilave edilmiş ve 1 dakika beklenmiştir. Sonra deney tüpünde bulunan 2 ml derişik H₂SO₄ üzerine tabaka oluşturacak şekilde dikkatlice aktarılmış ve meydana gelen renk gözlenmiştir.

Baljet Reaksiyonu: Kapsüldeki çözeltili su banyosunda kuruluğa kadar uçurulup, artık 1 ml etanolde çözüldükten sonra üzerine Baljet reaktifi damlatılmış ve oluşan renk gözlemlenmiştir.

Liebermann-Burchard Reaksiyonu: Kapsüldeki çözelti su banyosunda kuruluğa kadar uçurulup, artık 1 ml glasiyal asetik asitte çözüldükten sonra bu çözelti 1-2 damla H_2SO_4 ile tabakalandırıldığında oluşan renk gözlemlenmiştir (Altun ve Tanker, 2000).

2.2.1.1.3. Saponozit Teşhisi

A. biebersteinii, *A. setacea* ve *A. wilhelmsii*'nin toz edilmiş toprak üstü kısımlarından 100 mg alınıp, 100 ml su ile 30 dakika boyunca kaynatılmıştır. Kaynama sırasında çözeltinin asiditesi turnusol kağıdı ile kontrol edilmiş ve asit karakter gösterirse % 1'lik Na_2CO_3 ile nötrleştirme işlemi yapılmıştır. Soğutulduktan sonra balonjojeye süzülmüş ve 100 ml'ye su ile tamamlanmıştır. Daha sonra bu dekoksiyondan 10 deney tüpüne 1 ml'den başlayarak giderek artan ardışık miktarda konmuş ve her tüp distile suyla 10 ml'ye tamamlanmıştır. Tüpler 15 saniye yatay olarak kuvvetlice çalkalanıp, 15 dakika bekllettikten sonra kalıcı köpük meydana gelip gelmediği gözlemlenmiştir (Altun ve Tanker, 2000).

2.2.1.1.4. Flavon Heterozitlerinin Teşhisi

A. biebersteinii, *A. setacea* ve *A. wilhelmsii*'nin toz edilmiş toprak üstü kısımlarından hazırlanan % 2'lik dekoksiyonlar süzülüp, soğutulduktan sonra üçe ayrılıp aşağıdaki reaksiyonlar uygulanmıştır.

- Birkaç damla % 10 'luk amonyak çözeltisi ilave edildiği zaman oluşan renk gözlemlenmiştir.
- Bazik kurşun asetat ilave edilmesi sonucunda oluşan renk gözlemlenmiştir.
- Sulu $FeCl_3$ çözeltisinden damla damla ilave edilerek oluşan renk gözlemlenmiştir.

Siyanidin Reaksiyonu: *A. biebersteinii*, *A. setacea* ve *A. wilhelmsii*'nin toz edilmiş toprak üstü kısımları 10 ml metanol ile iyice çalkalanarak ve hafif ısıtılarak ekstre

edilip süzölmüştür. Süzöntü üzerine 1 ml derişik HCl ve bir spatöl ucu Mg tozu ilave edilmiş ve H₂ çıkışı ile köpükte oluşan renk gözlemlenmiştir (Altun ve Tanker, 2000).

2.2.1.1.5. Antosiyanozit Teşhisi

A. biebersteinii, *A. setacea* ve *A. wilhelmsii*'nin toz edilmiş toprak üstü kısımları % 50'lik etanol ile kısık ateşte ısıtılarak ekstre edilip, süzölmüştür. Süzöntü 5 kısma ayrılmış ve aşağıdaki reaksiyonlar uygulanmıştır.

- Dilüe H₂SO₄ ilavesiyle oluşan renk gözlemlenmiştir.
- NaOH çözeltisi ilave edilmiş ve ardından HCl ile asitlendirildiğinde meydana gelen renk gözlemlenmiştir.
- Bir miktar amil alkol konup çalkalanmış ve tabakalarda meydana gelen renk gözlemlenmiştir.
- Dilüe H₂SO₄ ile hafifçe ısıtılmış ve soğuduktan sonra amil alkol ile çalkalanmış ve bu çalkalama sonrasında oluşan tabakalarda meydana gelen renk gözlemlenmiştir (Altun ve Tanker, 2000).

2.2.1.1.6. Siyanogenetik Heterozit Teşhisi

A. biebersteinii, *A. setacea* ve *A. wilhelmsii*'nin toz edilmiş toprak üstü kısımlarından 1 g alınmış ve droğu ıslatacak kadar su ilave edilmiştir. Pikrik asit emdirilmiş bir kağıt şerit, sodyum karbonat çözeltisiyle ıslatılmıştır. Islatılmış droğun bulunduğu erlen içerisine bu kağıt sarkıtılarak bir mantar tıpa yardımıyla erlenin boynuna hafifçe sıkıştırılmıştır. Erlen hafifçe ısıtılmış ve kağıtta meydana gelen renk gözlemlenmiştir (Altun ve Tanker, 2000).

2.2.1.1.7. Tanen Teşhisi

A. biebersteinii, *A. setacea* ve *A. wilhelmsii*'nin toz edilmiş toprak üstü kısımlarından su ile % 5'lik infüzyonlar hazırlanmış ve bu infüzyon üzerinde aşağıdaki deneyler yapılmıştır.

- Ağır metal tuzları ile verdiği çökelek gözlemlenmiştir.
- % 5'lik FeCl₃ ile verdiği renk gözlenmiştir.
- % 1'lik tuzlu jelatin çözeltisiyle verdiği çökelek gözlemlenmiştir.
- Bromlu su ilave edildiği zaman oluşan renk gözlemlenmiştir.
- Stiasny reaktifi (formol + derişik HCl) ilavesiyle oluşan çökelek gözlemlenmiştir (Altun ve Tanker, 2000).

2.2.1.1.8. Antrasenozit Teşhisi

A. biebersteinii, *A. setacea* ve *A. wilhelmsii*'nin toz edilmiş toprak üstü kısımlarından 0,1 g tartılmış ve 10 ml dilüe H₂SO₄ ilave edilerek 5 dakika kaynatılmıştır. Kaynatıldıktan sonra süzülüp, soğutulmuş ve benzen ile ekstre edilmiştir. Benzenli tabaka alınmış ve % 10'luk NH₃ ile çalkalanmış ve alttaki amonyaklı tabakanın rengi gözlemlenmiştir (Altun ve Tanker, 2000).

2.2.1.1.9. Kumarin Teşhisi

A. biebersteinii, *A. setacea* ve *A. wilhelmsii*'nin toz edilmiş toprak üstü kısımlarından 1 g alınarak üzerine 10 ml 1 N H₂SO₄ ilave edilmiş ve geri çeviren soğutucu altında 10 dakika kaynatılmıştır. Ekstre sıcakken süzölmüş ve süzöntü 15 ml kloroform ile ekstre edilmiştir. Kloroformlu faz üzerine 5 ml % 10'luk NH₃ ilave edilip çalkalanmış ve 5 dakikalık bekleme sonunda UV 366 nm'de amonyaklı fazın floresan verip vermediği kontrol edilmiştir (Altun ve Tanker, 2000).

2.2.1.2. Farmakope Analizleri

2.2.1.2.1. Yabancı Madde Aranması Testi

A. biebersteinii, *A. setacea* ve *A. wilhelmsii* bitkilerinden 10 g tartılıp ince bir tabaka halinde bir yüzey üzerine serilmiş ve çıplak gözle yabancı maddelerin varlığı incelenerek büyüklüğü ve miktarı hesaplanmıştır. Avrupa Farmakopesine göre Millefolii herba'da bulunan yabancı madde oranı maksimum % 2 olmalı ve 3 mm'den daha büyük çapa sahip olan dallarında maksimum % 5 olmalıdır.

2.2.1.2.2. Kurutmada Kayıp Testi

A. biebersteinii, *A. setacea* ve *A. wilhelmsii*'nin toz edilmiş toprak üstü kısımlarından 0,5 g tartılmış ve tartım kabına konulmuş ve 105 °C etüvde 2 saat boyunca kurutma işlemi yapılmıştır. Avrupa Farmakopesine göre Millefolii herba maksimum % 12 nem içermelidir.

2.2.1.2.3. Kül Miktar Testi

Bir porselen kroze 30 dakika kor haline gelinceye kadar ısıtılıp, desikatörde soğutulduktan sonra darası alınmıştır. *A. biebersteinii*, *A. setacea* ve *A. wilhelmsii*'nin toz edilmiş toprak üstü kısımlarından 1 g tartılıp kroze içerisine konmuş ve 100-105 °C'de 1 saat kurutulmuş ve 600 ± 25 °C fırına alınmıştır. Sabit ağırlığa gelene kadar birer saat fırında yakma işlemi yapılmış ve her bir yakmadan sonra desikatörde soğutma işlemi yapılmıştır. Bu işlemler esnasında herhangi bir zamanda alev oluşmamasına dikkat edilmiştir. Sabit ağırlığa geldikten sonra desikatörde soğutularak tartım alınmıştır. Avrupa Farmakopesine göre Millefolii herba maksimum % 10 kül içermelidir.

2.2.1.2.4. HCl'de Çözünmeyen Kül Testi

Bitkilerden elde edilen kül içerisine 15 ml su ve 10 ml HCl ilave edilmiş ve üzeri saat camı ile kapatılmıştır. Bu çözelti 10 dk boyunca hafifçe ısıtılarak kaynatılmış ve ardından soğumaya bırakılmış ve bir filtre kağıdından süzülmüştür. Süzüntü nötr olana kadar kalıntı sıcak su ile yıkanmış, kurutulmuş, kırmızı kül haline gelinceye kadar yakılmış ve desikatörde soğutulduktan sonra tartılmıştır. Art arda yapılan 2 tartım arasındaki fark en fazla 1 mg olana kadar ısıtılmıştır. Avrupa Farmakopesine göre *Millefolii herba* külü maksimum % 2,5 oranında HCl'de çözünmemelidir.

2.1.1.3. Total Fenol Miktar Tayini

A. biebersteinii, *A. setacea* ve *A. wilhelmsii*'nin kurutup toz edilmiş çiçek, yaprak ve köklerinden 5er g tartılmış ve 100 ml metanol ile manyetik karıştırıcıda oda sıcaklığında 250 rpm'de 6 saat süreyle ekstraksiyonları yapılmış ve bu ekstratların total fenol miktarının belirlenmesi için; modifiye edilmiş bir Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılmıştır. Miktar tayini, bir ekstre için 3 seri halinde olacak şekilde yapılmıştır. Ekstrelerden ayrı ayrı tam tartım 20 mg alınmış ve metanol ile balon jode 10 ml'ye tamamlanmış ve böylece yeni ekstratların konsantrasyonu 2 mg/ml ekstre olarak belirlenmiştir.

Ayrı ayrı erlenlere 100' er µl alınan yaprak, çiçek ve kök ekstratlarına; 7900 µl distile su ve 500 µl Folin-Ciocalteu reaktifi ilave edilmiş, vortekste karıştırılarak 30 saniye ila 8 dakika arası bekletilmiştir. Daha sonra karışıma, önceden hazırlanıp buzdolabında muhafaza edilmiş, 1500 µl % 20'lik Na₂CO₃ çözeltisinden ilave edilmiş ve bu son karışım karanlıkta 2 saat bekletilmiştir. Bekleme süresi sonunda, test çözeltilerinin UV spektrofotometresinde 765 nm dalga boyunda verdikleri absorbans değerleri ölçülmüş; her bir test çözeltisi için ortalama değerler hesaplanarak sonuçlar kaydedilmiştir.

Sonuçların, referans bileşik gallik asit eşdeğeri olarak verilebilmesi için; öncelikle gallik asitin konsantrasyonu bilinen metanollü çözeltisinden hareket edilmiştir. Beş farklı konsantrasyonda gallik asit çözeltisinin hazırlanabilmesi için, belirlenen miktarlar mikropipet yardımıyla çekilip; 10 ml'lik balon jodelerde metanolla tamamlanmıştır. Erlene aktarılan 100 µl karışım üzerine, 7900 µl su ve 500 µl Folin-Ciocalteu reaktifi ilave edilmiş; vortekste karıştırılarak 8 dakika bekletilmiştir. Daha sonra karışıma, önceden hazırlanıp buzdolabında muhafaza edilmiş, % 20'lik Na₂CO₃ çözeltisinden 1500 µl ilave edilmiş ve karanlıkta 2 saat bekletilmiştir. Daha sonra 5 farklı gallik asit çözeltisinin; UV spektrofotometresinde 765 nm dalga boyunda verdiği absorbans değerleri, dilüsyon derecelerine kıyaslanarak bir kalibrasyon eğrisi oluşturulmuş ve bu eğriden hareketle bir doğru denklemi elde edilmiştir. Test çözeltilerine ait absorbans değerleri; elde edilen doğru denkleminde yerine yazılarak, *A. biebersteinii*, *A. setacea* ve *A. wilhelmsii*'nin çiçek, yaprak ve köklerinin içerdiği fenolik bileşiklerin total miktarı, mg gallik asit ekivalanı (GAE)/g kuru ekstre cinsinden tayin edilmiştir (Singleton ve ark., 1999).

2.2.1.4. Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi Analizleri

Bitkilerin fitokimyasal içeriğinin belirlenmesi için YPSK cihazı kullanılmıştır. Bitkilerin çiçek, yaprak ve kökleri ayrı ayrı toz edilerek, her bir kısmından 200'er mg tam tartım alınıp, 10 ml HPLC saflığında metanol ile manyetik karıştırıcı yardımıyla oda sıcaklığında 6 saat 350 rpm'de ekstre edilmiştir. Vatman filtre kağıdından süzülen 9 ekstre HPLC saflığında metanol ile balon jode 10 ml'ye tamamlanmışlardır. Bu stok ekstrelerden enjektör yardımıyla 1-2 ml çekilip 0,45 µ filtreden süzülerek HPLC sistemine enjekte edilmek üzere viallere aktarılmışlardır. Hazırlanan bu çözeltiler aynı analiz koşullarında sisteme art arda 3 kez enjekte edilmiştir. Bu ekstrelerin fitokimyasal içeriğinin belirlenebilmesi amacıyla **Çizelge 2.1.**'de belirtilen analiz koşullarında çalışılmıştır.

Çizelge 2.1.YPSK analizlerinde kullanılan gradient elüsyon sistemi

Cihaz	HP Agilent 1260 series LC sistemi
Pompa	HP Agilent 1260 series 4 (quaternary pump) LC pompa
Kolon	ACE 5 µ C18 (150 mm x 4,6 mm)
Sıcaklık	-
Akış hızı	0,9 ml/dk
Enjeksiyon ünitesi:	HP Agilent 1260 series autosampler
Enjeksiyon miktarı	10 µl
Elüsyon	Gradient
Maksimum Basınç	600 bar
Çözücü sistemi	% 0,2 oranında TFA içeren H ₂ O (Çözücü A) Asetonitril:Metanol (8:2) (Çözücü B)

Ekstraksiyonlarda ve HPLC analizlerinde; çözücü olarak HPLC saflığında metanol (Sigma-Aldrich, 34885), asetonitril (Merck, 1.00030.2500), TFA (Sigma-Aldrich, 302031) ve bidistile su kullanılmıştır. HPLC’de analiz koşulları sabit tutulup, farklı çözücü sistemleri denenerek ekstrenin en uygun ayrımını sağlayan sistem belirlenmiştir. Denenen çözücü sistemleri arasında en iyi ayrımı **Çizelge 2.2**’deki sisteme sahip olan çözücü sistemi-6 vermiştir.

Çözücü sistemi 1’de; çözücü kompozisyonu (A:B); 95:5 (0. dk), 85:15 (5. dk), 75:25 (10. dk), 65:35 (15. dk), 50:50 (20. dk), 35:65 (25. dk), 20:80 (30. dk), 95:5 (35.dk) olarak denenmiştir.

Çözücü sistemi 2’de; çözücü kompozisyonu (A:B); 95:5 (0. dk), 85:15 (5. dk), 80:20 (10. dk), 75:25 (15. dk), 70:30 (20. dk), 65:35 (22. dk), 50:50 (26. dk), 35:65 (30.dk), 20:80 (35. dk), 95:5 (40. dk) olarak denenmiştir.

Çözücü sistemi 3’de; çözücü kompozisyonu (A:B); 95:5 (0. dk), 85:15 (5. dk), 80:20 (10. dk), 75:25 (20. dk), 70:30 (22. dk), 65:35 (26. dk), 50:50 (30. dk), 35:65 (35.dk), 20:80 (40. dk), 95:5 (42. dk) olarak denenmiştir.

Çözücü sistemi 4’de; çözücü kompozisyonu (A:B); 100:0 (0. dk), 95:5 (5. dk), 90:10 (10. dk), 85:15 (15. dk), 75:25 (25. dk), 50:50 (30. dk), 25:75 (35. dk), 95:5 (39. dk) olarak denenmiştir.

Çözücü sistemi 5’de; çözücü kompozisyonu (A:B); 95:5 (0. dk), 85:15 (5. dk), 80:20 (10. dk), 80:20 (15. dk), 65:35 (25. dk), 35:65 (30. dk), 20:80 (35. dk), 95:5 (39. dk) olarak denenmiştir.

Çizelge 2.2.YPSK analizinde kullanılan çözücü sistemi-6

Zaman(dk)	Çözücü A % 0,2 TFA içeren H ₂ O	Çözücü B Asetonitril:Metanol (8:2)
0	95	5
5	85	15
15	85	15
20	80	20
25	70	30
30	65	35
35	50	50
39	95	5

Bu 3 türe ait literatürler taranmış ve bu türlerde olabilecek olan fenolik yapıdaki maddelerden elimizde bulunanlar standart olarak kullanılmıştır. Bitkilerden hazırlanan ekstralar ve standartlar sisteme aynı koşullarda enjekte edilmişlerdir. Analizler sonucunda ekstrenin kromatogramında görülen bileşiklerin, standart maddelerin retansiyon zamanlarına ve UV spektrumlarına göre kıyaslanarak hangi bileşikleri içerdiği tespit edilmiş ve kantitatif analizlere geçilmiştir.

2.2.1.4.1. Fenolik Bileşiklerin HPLC ile Miktar Tayini

Ekstrelerin HPLC ile yapılan kalitatif analizler sonucunda bileşimlerinde tespit edilen klorojenik asit, kafeik asit, rutin, kersetin, luteolin ve apigeninin miktar tayinleri yapılmıştır.

Standart maddelerden belirli miktarlarda tam tartım alınıp, balon jodede HPLC saflığında metanol ile 10 ml'ye tamamlanmışlardır. Hazırlanan bu stok çözeltilerden hareketle 5 farklı konsantrasyonda çözeltiler hazırlanmış ve HPLC sistemine art arda 3er kez enjeksiyon yapılmıştır. Standart maddelerin maksimum absorbans gösterdikleri dalga boyunda tespit edilen standartlara ait pik alanlarının ortalama değerleri hesaplanmıştır. Hesaplanan pik alanlarının, konsantrasyon değerleriyle kıyaslanması sonucu bir kalibrasyon eğrisi oluşturulmuş ve bu eğriden hareketle bir doğru denklemi elde edilmiştir.

Ekstrelerde standart maddelere ait piklerin alan değerleri, elde edilen doğru denkleminde yerine yazılarak bu üç *Achillea* türünün çiçek, yaprak ve köklerinde bulunan fenolik bileşiklerin miktarları tayin edilmiştir.

Klorojenik Asite ait Kalibrasyon Eğrisi ve Doğru Denklemi

Klorojenik asitten 5 mg tam tartım alınmış ve balonjodede HPLC saflığında metanol ile 10 ml'ye tamamlanarak 0,5 mg/ml konsantrasyonda stok çözelti hazırlanmıştır. Hazırlanan stok çözeltilerden hareketle 0,3333 mg/ml, 0,1666 mg/ml, 0,0666 mg/ml, 0,0333 mg/ml ve 0,0066 mg/ml konsantrasyonlarda farklı 5 klorojenik asit çözeltisi hazırlanmıştır. Hazırlanan bu çözeltiler aynı analiz koşullarında sisteme art arda 3 kez enjekte edilmiş; konsantrasyon dereceleri (x) ile 330 nm dalga boyunda verdikleri pik alanlarının ortalaması (y) kullanılarak bir kalibrasyon denklemi ($y=mx+n$) ve korelasyon katsayısı (R^2) elde edilmiştir. Bulunan değerler denklemde yerine konulmuş ve 3 *Achillea* türünün çiçek, yaprak ve köklerinin içerdiği klorojenik asit miktarları hesaplanmıştır.

Kafeik Asite ait Kalibrasyon Eğrisi ve Doğru Denklemi

Kafeik asitten 5 mg tam tartım alınmış ve balonjodede HPLC saflığında metanol ile 10 ml'ye tamamlanarak 0,5 mg/ml konsantrasyonda stok çözelti hazırlanmıştır.

Hazırlanan stok çözümlerden hareketle 0,3333 mg/ml, 0,1666 mg/ml, 0,0666 mg/ml, 0,0333 mg/ml ve 0,0066 mg/ml konsantrasyonlarda farklı 5 kafeik asit çözeltisi hazırlanmıştır. Hazırlanan bu çözeltiler aynı analiz koşullarında sisteme art arda 3 kez enjekte edilmiş; konsantrasyon dereceleri (x) ile 330 nm dalga boyunda verdikleri pik alanlarının ortalaması (y) kullanılarak bir kalibrasyon denklemi ($y=mx+n$) ve korelasyon katsayısı (R^2) elde edilmiştir. Bulunan değerler denklemde yerine konulmuş ve 3 *Achillea* türünün çiçek, yaprak ve köklerinin içerdiği kafeik asit miktarları hesaplanmıştır.

Rutine ait Kalibrasyon Eğrisi ve Doğru Denklemi

Rutinden 5 mg tam tartım alınmış ve balonjojede HPLC saflığında metanol ile 10 ml'ye tamamlanarak 0,5 mg/ml konsantrasyonda stok çözelti hazırlanmıştır. Hazırlanan stok çözümlerden hareketle 0,3333 mg/ml, 0,1666 mg/ml, 0,0666 mg/ml, 0,0333 mg/ml ve 0,0066 mg/ml konsantrasyonlarda farklı 5 rutin çözeltisi hazırlanmıştır. Hazırlanan bu çözeltiler aynı analiz koşullarında sisteme art arda 3 kez enjekte edilmiş; konsantrasyon dereceleri (x) ile 360 nm dalga boyunda verdikleri pik alanlarının ortalaması (y) kullanılarak bir kalibrasyon denklemi ($y=mx+n$) ve korelasyon katsayısı (R^2) elde edilmiştir. Bulunan değerler denklemde yerine konulmuş ve 3 *Achillea* türünün çiçek, yaprak ve köklerinin içerdiği rutin miktarları hesaplanmıştır.

Kersetine ait Kalibrasyon Eğrisi ve Doğru Denklemi

Kersetinden 5 mg tam tartım alınmış ve balonjojede HPLC saflığında metanol ile 10 ml'ye tamamlanarak 0,5 mg/ml konsantrasyonda stok çözelti hazırlanmıştır. Hazırlanan stok çözümlerden hareketle 0,3333 mg/ml, 0,1666 mg/ml, 0,0666 mg/ml, 0,0333 mg/ml ve 0,0066 mg/ml konsantrasyonlarda farklı 5 kersetin çözeltisi hazırlanmıştır. Hazırlanan bu çözeltiler aynı analiz koşullarında sisteme art arda 3 kez enjekte edilmiş; konsantrasyon dereceleri (x) ile 360 nm dalga boyunda

verdikleri pik alanlarının ortalaması (y) kullanılarak bir kalibrasyon denklemi ($y=mx+n$) ve korelasyon katsayısı (R^2) elde edilmiştir. Bulunan değerler denklemde yerine konulmuş ve 3 *Achillea* türünün çiçek, yaprak ve köklerinin içerdiği kersetin miktarları hesaplanmıştır.

Luteoline ait Kalibrasyon Eğrisi ve Doğru Denklemi

Luteolinden 0,6 mg tam tartım alınmış ve balonjojede HPLC saflığında metanol ile 10 ml'ye tamamlanarak 0,06 mg/ml konsantrasyonda stok çözelti hazırlanmıştır. Hazırlanan stok çözülden hareketle 0,04 mg/ml, 0,02 mg/ml, 0,008 mg/ml, 0,004 mg/ml ve 0,0008 mg/ml konsantrasyonlarda farklı 5 luteolin çözeltisi hazırlanmıştır. Hazırlanan bu çözeltiler aynı analiz koşullarında sisteme art arda 3 kez enjekte edilmiş; konsantrasyon dereceleri (x) ile 340 nm dalga boyunda verdikleri pik alanlarının ortalaması (y) kullanılarak bir kalibrasyon denklemi ($y=mx+n$) ve korelasyon katsayısı (R^2) elde edilmiştir. Bulunan değerler denklemde yerine konulmuş ve 3 *Achillea* türünün çiçek, yaprak ve köklerinin içerdiği luteolin miktarları hesaplanmıştır.

Apigenine ait Kalibrasyon Eğrisi ve Doğru Denklemi

Apigeninden 1 mg tam tartım alınmış ve balonjojede HPLC saflığında metanol ile 10 ml'ye tamamlanarak 0,1 mg/ml konsantrasyonda stok çözelti hazırlanmıştır. Hazırlanan stok çözülden hareketle 0,0666 mg/ml, 0,0333 mg/ml, 0,0133 mg/ml, 0,0066 mg/ml ve 0,0013 mg/ml konsantrasyonlarda farklı 5 apigenin çözeltisi hazırlanmıştır. Hazırlanan bu çözeltiler aynı analiz koşullarında sisteme art arda 3 kez enjekte edilmiş; konsantrasyon dereceleri (x) ile 360 nm dalga boyunda verdikleri pik alanlarının ortalaması (y) kullanılarak bir kalibrasyon denklemi ($y=mx+n$) ve korelasyon katsayısı (R^2) elde edilmiştir. Bulunan değerler denklemde yerine konulmuş ve 3 *Achillea* türünün çiçek, yaprak ve köklerinin içerdiği apigenin miktarları hesaplanmıştır.

2.2.1.4.2. LOQ ve LOD Değerlerinin Hesaplanması

Miktar tayini yapılan tüm bileşikler için LOD değerleri hesaplanırken S/N oranı 3; LOQ değeri hesaplanırken ise S/N oranı 10 olarak alınmıştır. Miktar tayini yapılan her bir bileşik için; LOD ve LOQ değerleri hesaplandıktan sonra, LOQ konsantrasyonlarında gün içi (repeatability) farklılıkları da gözlemlemek için art arda 9 kez sisteme enjeksiyon yapılmış ve LOQ konsantrasyonlarına karşılık gelen alanların % RSD değerleri de deneysel olarak hesaplanmıştır. Ayrıca standartların % RSD değerlerinde günler arası (intermediate precision) farklılıkları gözlemlemek için farklı bir günde hesaplanmış olan LOQ konsantrasyonlarında art arda 9 kez sisteme enjeksiyon yapılmış ve % RSD değerleri hesaplanmıştır.

$$\% \text{ RSD} = (\text{SD}/\text{Mean}) \times 100$$

2.2.1.4.3. Recovery Hesaplanması

A. biebersteinii'nin toz edilmiş çiçeklerinden 200 mg tam tartım alınmış ve üzerine 0,05 mg/ml konsantrasyonlardaki klorojenik asit, kafeik asit, rutin ve kersetin bileşiklerinden; 0,01 mg/ml konsantrasyondaki apigeninden ve 0,006 mg/ml konsantrasyondaki luteolinden 1'er ml eklenmiş ve 10 ml'ye HPLC saflığında metanol ile tamamlanarak; manyetik karıştırıcı yardımıyla oda sıcaklığında 6 saat 350 rpm'de ekstre edilmiştir. Vatman filtre kağıdından süzülen ekstre HPLC saflığında metanol ile balon jode 10 ml'ye tamamlanmıştır. Bu stok ekstreten enjektör yardımıyla 1-2 ml çekilip 0,45 µ filtreden süzülerek HPLC sistemine enjekte edilmek üzere viallere aktarılmıştır. Sisteme aynı analiz koşullarında art arda 6 kez enjekte edilmiştir.

2.3. Biyolojik Aktivite Çalışmaları

2.3.1. Antimikrobiyal Aktivite

A. biebersteinii, *A. setacea* ve *A. wilhelmsii*'nin yaprak, çiçek ve köklerinden hazırlanan sulu ve etanollü (% 96) ekstreler ile bu 3 bitkinin toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağların antimikrobiyal aktivite tayinleri için test edilen tüm mikroorganizmaların MIC değerleri EUCAST ve CLSI önerileri göz önüne alınarak makrodilüsyon (tüp) yöntemi ile belirlenmiş ve Mueller-Hinton Broth besiyeri kullanılmıştır. Ekstrelerin ve uçucu yağların azalan miktarda iki katlı dilüsyonları besiyeri içerisinde hazırlanmış (1 mg/ml-0,625 mg/ml aralığında) ve her bir tüp eşit miktardaki 18-24 saatlik mikroorganizma kültürü ile inoküle edilmiştir. Tüpler, 35 ± 1 °C'de 18 saat inkübasyona bırakılmışlardır. İnkübasyon süresi sonunda üreme görülmeyen son tüpün konsantrasyonu MIC değeri (mg/ml) olarak kaydedilmiştir. Antimikrobiyal aktivite tayininde American Type Culture Collection (ATCC) Rockville tarafından elde edilen bakteri ve mantar suşlarından yararlanılmıştır. Kullanılan mikroorganizmalar aşağıda verilmiştir.

Gram-pozitif bakteriler:

Staphylococcus aureus ATCC 25923

Bacillus subtilis ATCC 6633

Gram-negatif bakteriler:

Escherichia coli ATCC 25922

Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853

Maya:

Candida albicans ATCC 10231

Bitkilerin çiçek, yaprak ve köklerinden elde edilen sulu ve etanollü (% 96) ekstreler tüm bakteri ve mantar suşlarına karşı test edilmiştir. *A. biebersteinii* uçucu yağı *S.*

aureus, *B. subtilis*, *E. coli* ve *C. albicans* mikroorganizmalara karşı test edilirken; *A. setacea* ve *A. wilhelmsii* uçucu yağları miktar yetersizliğinden dolayı sadece *C. albicans* maya suşuna karşı test edilmişlerdir.

2.3.1.1. Antimikrobiyal Aktivite için Uçucu Yağ Eldesi

A. biebersteinii, *A. setacea* ve *A. wilhelmsii* bitkilerinin kurutulup toz edilmiş toprak üstü kısımlarından tam tartımlar alınmış ve Avrupa Farmakopesi Clevenger Cihazı'nda su distilasyonu yöntemiyle 3 saat boyunca distile edilmiş ve uçucu yağları elde edilmiştir. Elde edilen uçucu yağlar pastör pipeti yardımıyla toplanarak viallere aktarılmış ve buzdolabında muhafaza edilmişlerdir.

2.3.1.2. Antimikrobiyal Aktivite için Su ve Etanol Ekstraksiyonu

A. biebersteinii, *A. setacea* ve *A. wilhelmsii*'nin kurutulup toz edilmiş yaprak, çiçek ve köklerinden tam tartım alınmış; manyetik karıştırıcı yardımıyla oda sıcaklığında 6 saat 250 rpm'de su ve etanol (% 96) ile ekstre edilmişlerdir. Bu ekstraksiyon işlemleri 3 kez tekrarlanmıştır. Elde edilen etanollü (% 96) ekstreler, pileli süzgeç kağıdından süzildükten sonra; rotavapor yardımıyla çözücüsünden kurtarılmışlardır. Elde edilen sulu ekstreler ise -40 °C'de dondurulduktan sonra liofilizatör yardımıyla suyundan kurtarılmışlardır.

2.3.2. Antioksidan Aktivite

A. biebersteinii, *A. setacea* ve *A. wilhelmsii* bitkilerinin antioksidan aktiviteleri; in vitro olarak DPPH radikal süpürücü aktivite ve ABTS yöntemleri kullanılarak test edilmiştir.

2.3.2.1. DPPH Radikal Süpürücü Aktivite Yöntemi

A. biebersteinii, *A. setacea* ve *A. wilhelmsii*'nin kurutup toz edilmiş çiçek, yaprak ve köklerinden 5er g tartılmış ve 100 ml metanol ile manyetik karıştırıcıda oda sıcaklığında 250 rpm'de 6 saat süreyle ekstraksiyonları yapılmıştır. Filtre kağıdından süzülen ekstrelerden organik faz evapore edilmiştir. Ekstrelerden, ayrı ayrı tam tartım 20 mg alınmış ve balon jode metanol ile 10 ml'ye tamamlanmışlardır. Ekstreleri sonikatör yardımıyla çözdükten sonra, 2 mg/ml konsantrasyonda stok çözeltiler elde edilmiş ve bu stok çözeltilerden hareketle; her bir ekstre için konsantrasyonları 2 mg/ml, 1,5 mg/ml, 1 mg/ml, 0,5 mg/ml ve 0,25 mg/ml olan 5 farklı çözelti elde edilmiştir (Gökbulut, 2015).

Pembe-mor renkli bir bileşik olan DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazin) radikalinden 15 mg tam tartım alınmış; amber renkli bir şişede, 500 ml HPLC saflığında metanol ile muamele edilmiştir. Sonikatör yardımıyla iyice karıştırılan DPPH çözeltisi, buzdolabında muhafaza edilmiştir (Gökbulut, 2015).

Hazırlanan çözeltinin UV spektrofotometresinde 517 nm'de verdiği absorbans; 0,7 ile 0,8 arasında bir değer alınmaya kadar sistem metanol ile dilue edilmiştir. DPPH final çözeltisinin verdiği absorbans değeri A_0 olarak kaydedilmiştir (Gökbulut, 2015).

Daha sonra her bir ekstre için; 250 µl örneğe 2750 µl DPPH final çözeltisi ilave edilmiş; uygun büyüklükte bir tüpte hafifçe çalkanarak karıştırılmıştır. Reaksiyonun gerçekleşmesi için; tüpler 10 dakika boyunca karanlıkta bekletilmiştir. Daha sonra her bir karışımın, UV spektrofotometresinde 517 nm'de verdiği absorbans değeri kaydedilmiştir (Gökbulut, 2015).

Reaksiyon sonucunda, DPPH radikali antioksidandan bir proton alarak renksiz α, α -difenil- β -pikrilhidrazin molekülüne dönüşürken; pembe-mor renk açılır. Rengin şiddetindeki azalmaya bağlı olarak DPPH radikali % inhibisyon derecesi belirlenmiştir (Gökbulut, 2015).

$$\text{DPPH Radikal \% İnhibisyon} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

A0: DPPH çözeltisinin reaksiyon öncesi 517 nm’de okunan absorbans değeri

A1: DPPH çözeltisinin reaksiyon sonrası 517 nm’de okunan absorbans değeri

Ekstrelerin, her bir konsantrasyon derecesi için; DPPH radikali % inhibisyon derecesi ve IC₅₀ değeri hesaplanmış; sonuçlar referans çözülden elde edilen verilerle kıyaslanarak yorumlanmıştır (Gökbulut, 2015).

Referans bileşik olarak seçilen kafeik asitten hazırlanan stok çözülden hareketle 0,125 mg/ml, 0,075 mg/ml, 0,025 mg/ml ve 0,01 mg/ml konsantrasyonda çözümler hazırlanmıştır. Çözümlerin; UV spektrofotometresinde 517 nm’de verdiği absorbans değeri kullanılarak, % inhibisyon ve IC₅₀ değerleri hesaplanmıştır (Gökbulut, 2015).

2.3.2.2. ABTS Yöntemi

A. biebersteinii, *A. setacea* ve *A. wilhelmsii*’nin kurutulmuş çiçek, yaprak ve köklerinden 5er g tartılmış ve 100 ml metanol ile manyetik karıştırıcıda oda sıcaklığında 250 rpm’de 6 saat süreyle ekstraksiyonları yapılmıştır. Filtre kağıdından süzülen ekstraktlardan organik faz evapore edilmiştir. Ekstrelerden, ayrı ayrı tam tartım 20 mg alınmış ve balon jode metanol ile 10 ml’ye tamamlanmışlardır. Ekstreleri sonikatör yardımıyla çözdükten sonra, 2 mg/ml konsantrasyonda stok çözümler elde edilmiş ve bu stok çözümlerden hareketle; her bir ekstre için konsantrasyonları 2 mg/ml, 1,5 mg/ml, 1 mg/ml, 0,5 mg/ml ve 0,25 mg/ml olan 5 farklı çözelti elde edilmiştir (Gökbulut, 2015).

Yöntemde 7mM ABTS (2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit)’nin mavi-yeşil renkli ABTS^{•+} radikaline oksitlenebilmesi için; bileşiğin distile sudaki çözeltisine 2.45 mM K₂S₂O₈ (potasyum persülfat) ilave edilmiştir. Bu amaçla, ABTS bileşiğinden tam tartım 20 mg alınmış; 3.67 mg K₂S₂O₈ ve 5.55 ml distile su ile

sonikatörde iyice karıştırılmıştır. Amber renkli bir şişede muhafaza edilen çözelti; reaksiyonun gerçekleşebilmesi için karanlıkta, oda sıcaklığında, 16 saat süreyle bekletilmiştir (Gökbulut, 2015).

Hazırlanan çözeltinin UV spektrofotometresinde 734 nm’de verdiği absorbans; 0,7 ile 0,8 arasında bir değer alınca kadar sistem metanol ile dilue edilmiştir. ABTS final çözeltisinin verdiği absorbans değeri A_0 olarak kaydedilmiştir (Gökbulut, 2015).

Daha sonra her bir ekstre için, 250 µl örneğe 2750 µl ABTS final çözeltisi ilave edilmiş; uygun büyüklükte bir tüpte hafifçe çalkanarak karıştırılmıştır. Reaksiyonun gerçekleşmesi için; tüpler 6 dakika boyunca karanlıkta bekletilmiştir. Daha sonra her bir karışımın, UV spektrofotometresinde 734 nm’de verdiği absorbans değeri kaydedilmiştir (Gökbulut, 2015).

Reaksiyon sonucunda oluşan $ABTS^+$ radikal katyonunun; antioksidan ile reaksiyona girmesi sonucu mavi-yeşil renk açılır. Rengin şiddetindeki azalmaya bağlı olarak; ABTS radikali % inhibisyon derecesi belirlenmiştir (Gökbulut, 2015).

$$ABTS \text{ Radikal } \% \text{ İnhibisyon} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

A0: ABTS çözeltisinin reaksiyon öncesi 734 nm’de okunan absorbans değeri

A1: ABTS çözeltisinin reaksiyon sonrası 734 nm’de okunan absorbans değeri

Ekstrelerin her bir konsantrasyon derecesi için, ABTS radikali % inhibisyon derecesi ve IC_{50} değeri hesaplanmış; sonuçlar referans çözeltilerden elde edilen verilerle kıyaslanarak yorumlanmıştır (Gökbulut, 2015).

Referans bileşik olarak seçilen kafeik asit ve trolokstan hareketle stok çözeltiler hazırlanmıştır. Kafeik asitten hazırlanan stok çözeltiden hareketle; 0,05 mg/ml, 0,1 mg/ml, 0,02 mg/ml, 0,01 mg/ml ve 0,04 mg/ml konsantrasyonda çözeltiler hazırlanmıştır. Çözeltilerin, UV spektrofotometresinde 734 nm’de verdiği absorbans değeri kullanılarak, % inhibisyon ve IC_{50} değerleri hesaplanmıştır (Gökbulut, 2015).

Trolokstan hazırlanan stok çözeltilerden hareketle; 0,05 mg/ml, 0,1 mg/ml, 0,025 mg/ml, 0,0125 mg/ml ve 0,00625 mg/ml konsantrasyonda çözeltiler hazırlanmıştır. Çözeltilerin; UV spektrofotometresinde 734 nm'de verdiği absorbans değeri kullanılarak, % inhibisyon ve IC₅₀ değerleri hesaplanmıştır (Gökbulut, 2015).



3. BULGULAR

3.1. Etken Bileşiklerin Kalitatif Teşhisleri

A. biebersteinii, *A. setacea* ve *A. wilhelmsii*'nin toprak üstü kısımlarında yapılan etken bileşik taramalarında elde edilen sonuçlar **Çizelge 3.1**'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. *A. biebersteinii*, *A. setacea* ve *A. wilhelmsii*'de bulunan etken bileşikler

Etken Bileşikler	Reaktifler	<i>A. biebersteinii</i>	<i>A. setacea</i>	<i>A. wilhelmsii</i>
Alkaloitler	Dragendorf ile çökelek	-	-	-
	Mayer ile çökelek	-	-	-
Kardiyoaktif Heterozitler	Keller-Kliani ile esmer kırmızı halka	-	-	-
	Baljet ile turuncu renk	+	+	+
	Liebermann-Burchard ile mor halka	+	+	+
Saponozitler	Kalıcı köpük	+	+	+
Flavonozitler	% 10'luk NH ₃	Turuncu	Sarı	Sarı
	Bazik kurşun asetat ile sarı çökelek	+	+	+
	Siyanidin reaksiyonu	+	+	+
Antosiyanozitler	Dilüe H ₂ SO ₄ ile kırmızı renk	-	-	-
	Önce NaOH sonra HCl ilavesiyle	Sarı-kırmızı	Açık sarı	Kırmızı
	Kurşun asetat ile çökelek	-	-	-
	Amil alkol ile renklenme	-	-	-
	Dilüe H ₂ SO ₄ ve amil alkol ile renklenme	-	-	-
Siyanogenetik Heterozitler	Sodyum pikratlı süzgeç kağıdında tuğla kırmızısı renklenme	-	-	-
Tanenler	Ağır metal tuzları ile çökelek	-	-	-
	% 5'lik FeCl ₃ ile esmer-yeşil çökelek	-	-	-
	Tuzlu jelatin ile çökelek	-	-	-
	Bromlu su ile çökelek	-	-	-
	Stiasny ile çökelek	-	-	-

Çizelge 3.1. Devam. *A. biebersteinii*, *A. setacea* ve *A. wilhelmsii*'de bulunan etken bileşikler

Etken Bileşikler	Reaktifler	<i>A. biebersteinii</i>	<i>A. setacea</i>	<i>A. wilhelmsii</i>
Antrasenozitler	Amonyaklı tabakada sarı-kırmızı renklenme	-	-	-
Kumarinler	Amonyaklı tabakada UV ₃₆₆ nm'de kuvvetli floresans	-	-	-

3.2. Farmakope Analizleri

A. biebersteinii, *A. setacea* ve *A. wilhelmsii* bitkileri ile yapılan farmakope analizlerine ait sonuçlar ve Avrupa Farmakopesi'nde bulunan Herba millefolli'ye ait olan değerler **Çizelge 3.2.**' de verilmiştir.

Çizelge 3.2. *A. biebersteinii*, *A. setacea* ve *A. wilhelmsii*'nin Avrupa Farmakopesi uygunluk testleri

Uygulanan testler	<i>A. biebersteinii</i>	<i>A. setacea</i>	<i>A. wilhelmsii</i>	<i>A. millefolium</i> (EP)
Yabancı Madde	% 3	% 3,2	% 3,1	max. % 5
Kurutmada Kayıp	% 10	% 9	% 8	max. % 12
Kül Miktarı	% 7	% 5	% 8	max. % 10
HCl'de Çözünmeyen Kül	% 1,9	% 1,7	% 2,1	max. % 2,5

3.3. Total Fenol Miktarları

A. biebersteinii, *A. setacea* ve *A. wilhelmsii*'nin içerdikleri total fenol miktarlarına ait sonuçlar **Çizelge 3.3.**' de verilmiştir.

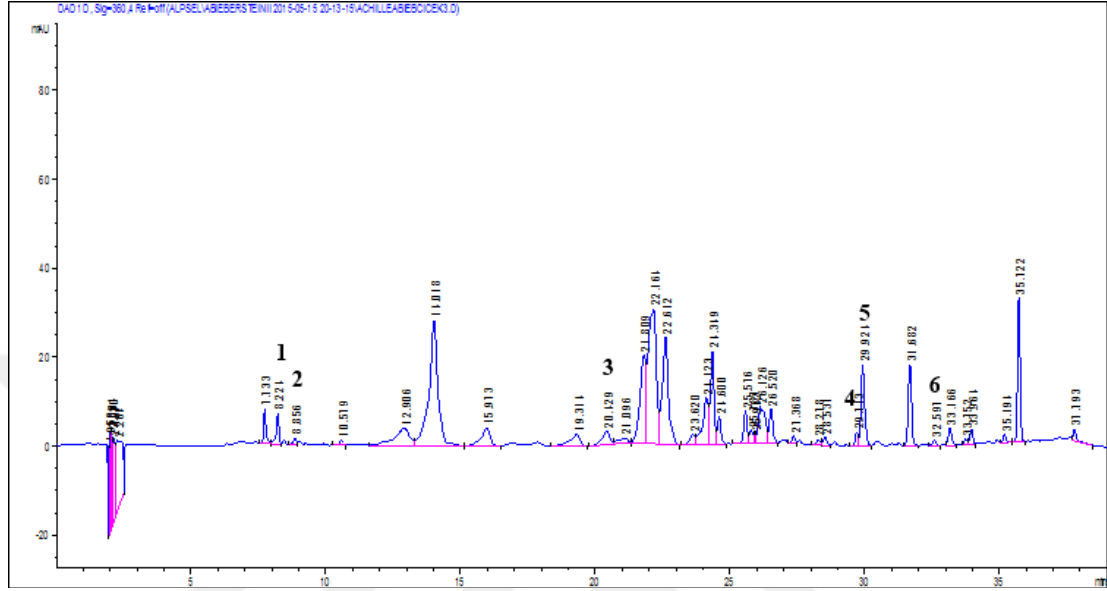
Çizelge 3.3. *A. biebersteinii*, *A. setacea* ve *A. wilhelmsii*'nin İçerdikleri Total Fenol Miktarları

	Türler	Folin Ciocalteu (mgGAE/g ekstre)
Çiçek	<i>A. biebersteinii</i>	131,4 ± 2,5
	<i>A. setacea</i>	121,2 ± 4,4
	<i>A. wilhelmsii</i>	119,4 ± 1,4
Yaprak	<i>A. biebersteinii</i>	178,4 ± 9,5
	<i>A. setacea</i>	167,9 ± 3,5
	<i>A. wilhelmsii</i>	155,5 ± 8,7
Kök	<i>A. biebersteinii</i>	113,2 ± 1,9
	<i>A. setacea</i>	154,1 ± 5,6
	<i>A. wilhelmsii</i>	136,4 ± 8,8

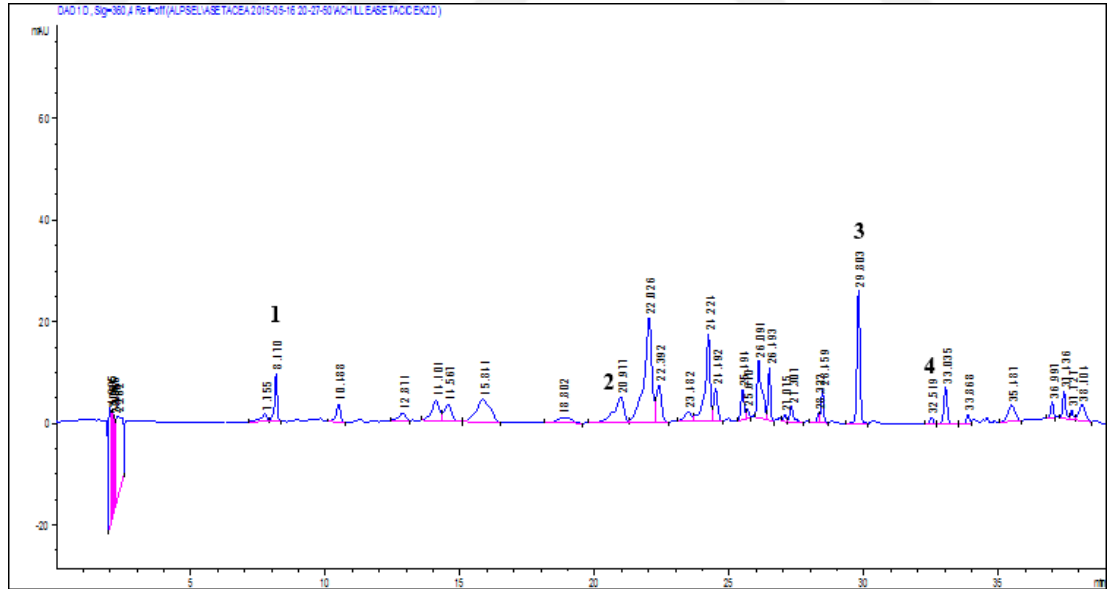
3.4. *Achillea biebersteinii*, *A. setacea* ve *A. wilhelmsii*'de Bulunan Bazı Fenolik Bileşiklerin YPSK ile Teşhisleri

A. biebersteinii, *A. setacea* ve *A. wilhelmsii*'nin çiçek, yaprak ve kök ekstraları ile bitkide bulunması muhtemel olan bazı fenolik bileşikler aynı koşullarda HPLC'de incelenmiştir. Ekstreler ve standart bileşiklere ait elde edilen retansiyon zamanları ve UV spektrumları kıyaslanarak, bitkilerin fenolik içerik profilleri ortaya çıkarılmıştır. Yapılan kalitatif analizlerde, incelenen *Achillea* türlerinin yaprak, çiçek ve köklerinin; klorojenik asit, kafeik asit, rutin, kersetin, luteolin ve apigenin bileşiklerini içerdiği görülmüştür. *A. biebersteinii*, *A. setacea* ve *A. wilhelmsii*'nin çiçek ekstralarının HPLC kromatogramları sırasıyla **Şekil 3.1**, **Şekil 3.2** ve **Şekil 3.3**'de; *A. biebersteinii*, *A. setacea* ve *A. wilhelmsii*'nin yaprak ekstralarının HPLC kromatogramları sırasıyla **Şekil 3.4.**, **Şekil 3.5.** ve **Şekil 3.6.**'da ve *A. biebersteinii*, *A. setacea* ve *A. wilhelmsii*'nin kök ekstralarının HPLC kromatogramları sırasıyla **Şekil 3.7.**, **Şekil 3.8.** ve **Şekil 3.9.**'da verilmiştir.

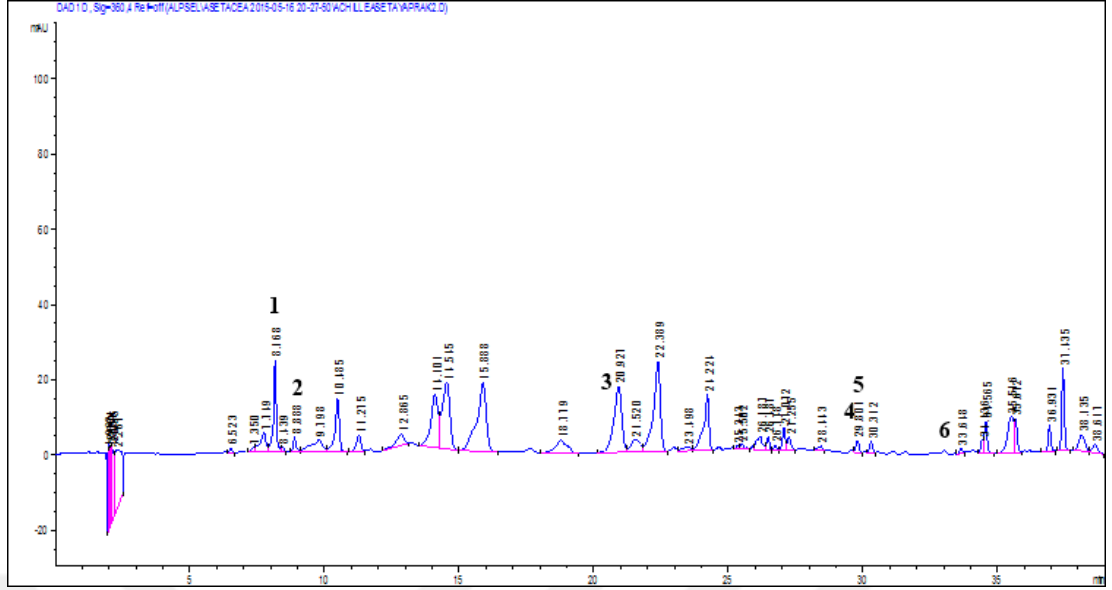
Miktar tayini yapılan fenolik bileşiklere ait HPLC kromatogramı ise **Şekil 3.10.**'da verilmiştir. Bu fenolik bileşiklere ait molekül formülleri ise **Şekil 3.11.**'de yer almaktadır.



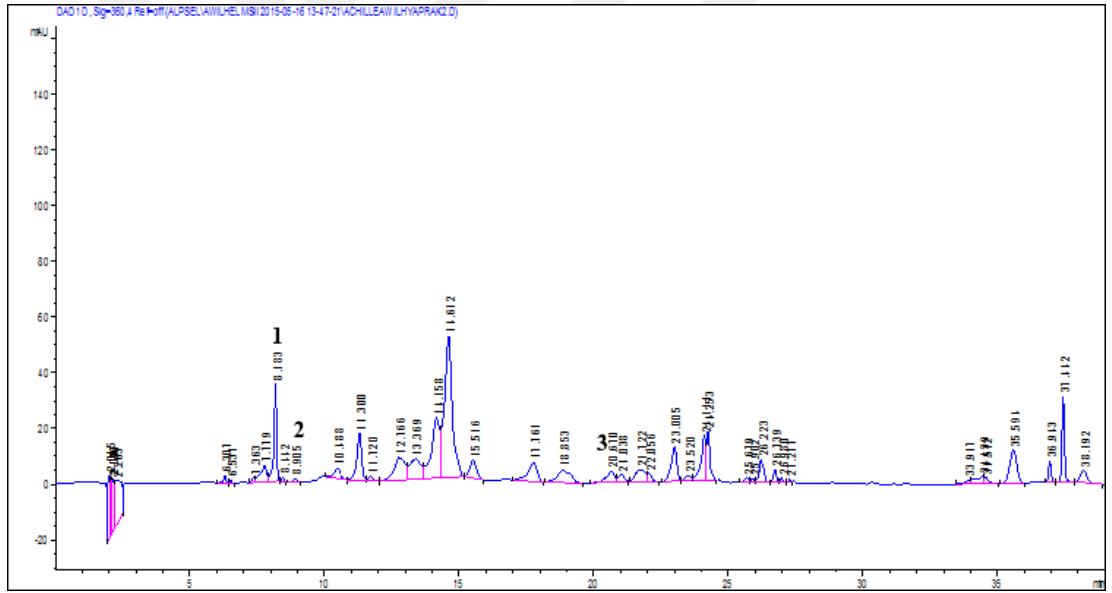
Şekil 3.1. *A. biebersteinii*'nin metanol ile hazırlanmış çiçek ekstresinin 360 nm'deki HPLC kromatogramı: Klorojenik asit (1), Kafeik asit (2), Rutin (3), Kersetin (4), Luteolin (5), Apigenin (6)



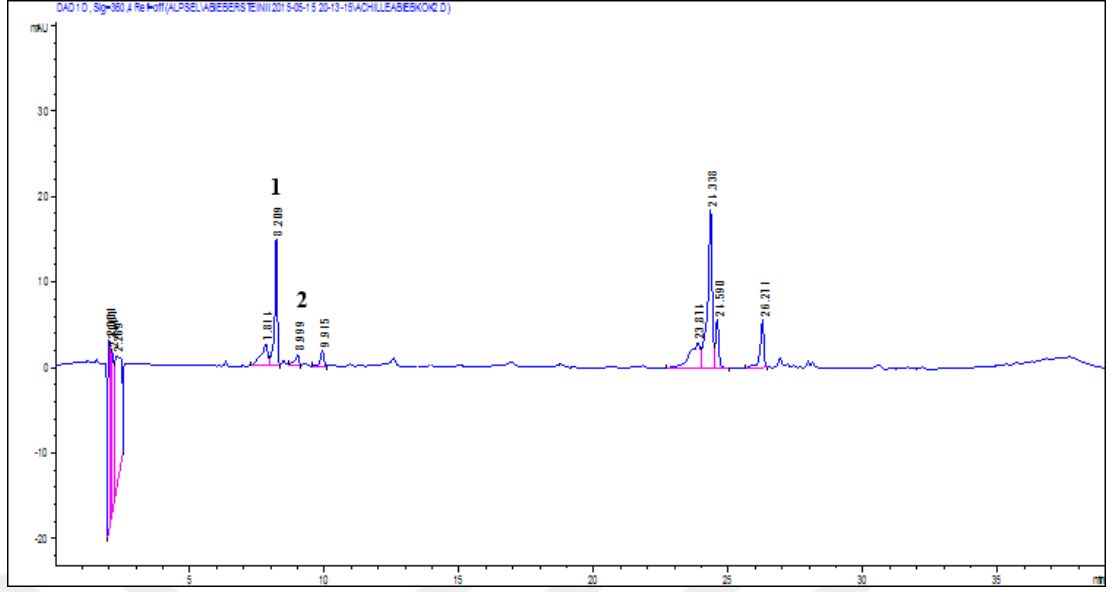
Şekil 3.2. *A. setacea*'nin metanol ile hazırlanmış çiçek ekstresinin 360 nm'deki HPLC kromatogramı: Klorojenik asit (1), Rutin (2), Luteolin (3), Apigenin (4)



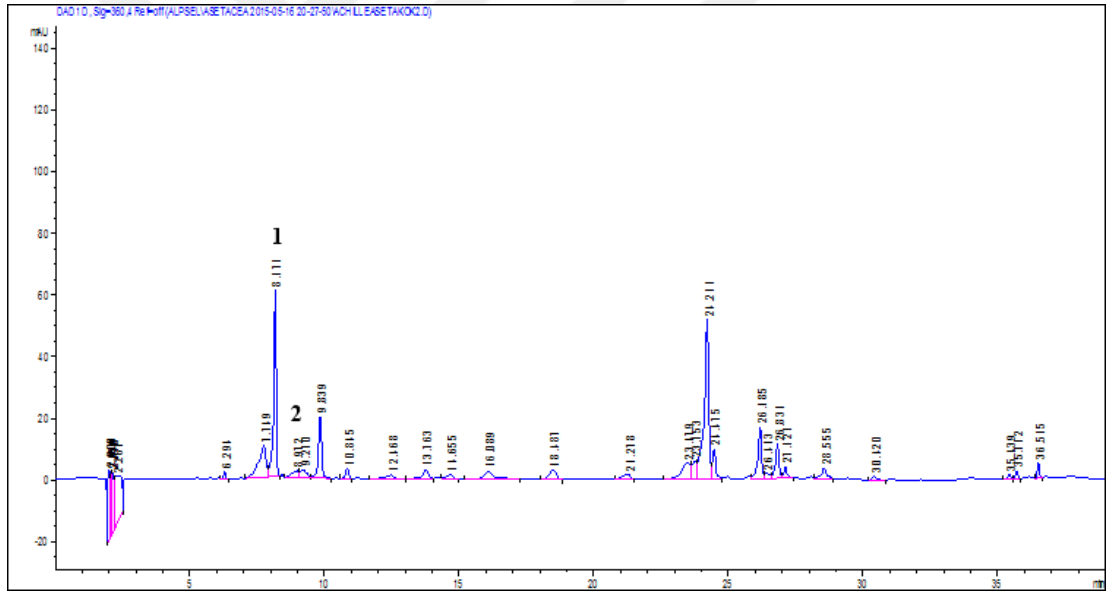
Şekil 3.5. *A. setacea*'nin metanol ile hazırlanmış yaprak ekstresinin 360 nm'deki HPLC kromatogramı: Klorojenik asit (1), Kafeik asit (2), Rutin (3), Kersetin (4), Luteolin (5), Apigenin (6)



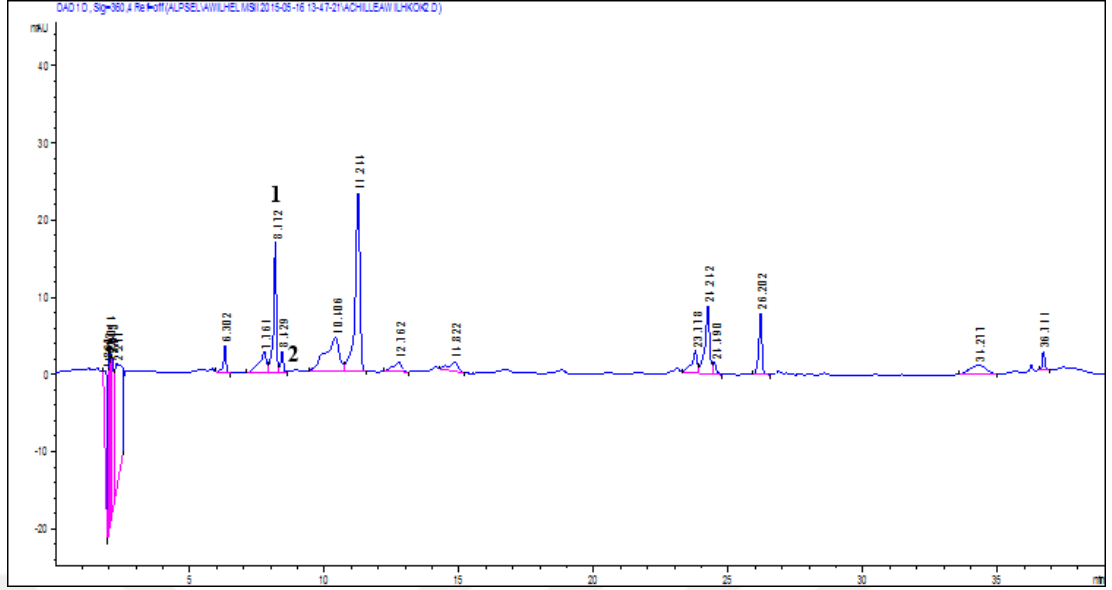
Şekil 3.6. *A. wilhelmii*'nin metanol ile hazırlanmış yaprak ekstresinin 360 nm'deki HPLC kromatogramı: Klorojenik asit (1), Kafeik asit (2), Rutin (3)



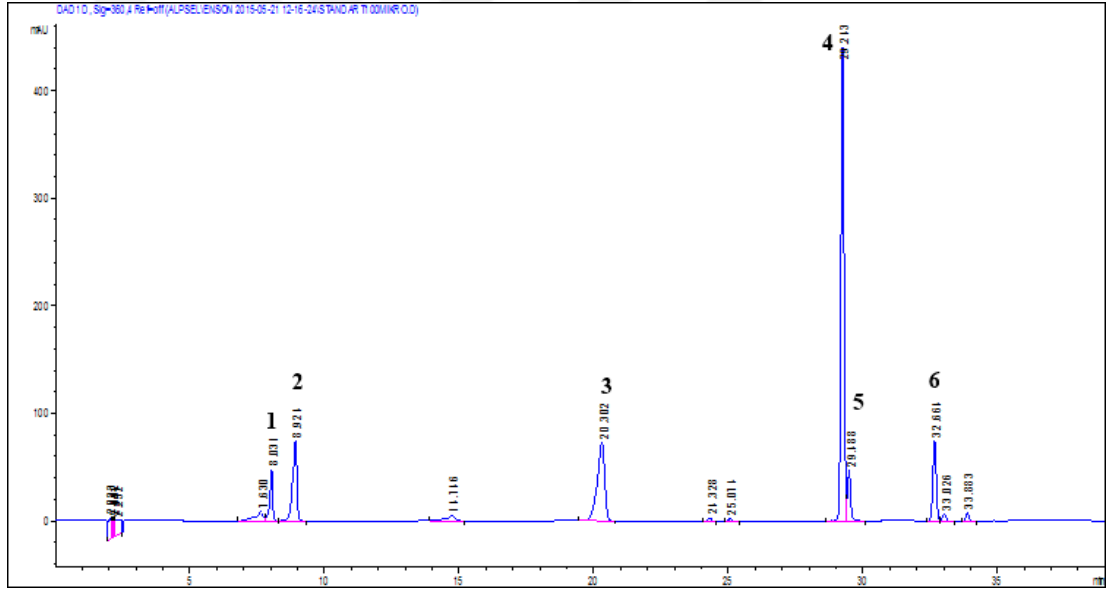
Şekil 3.7. *A. biebersteinii*'nin metanol ile hazırlanmış kök ekstresinin 360 nm'deki HPLC kromatogramı: Klorojenik asit (1), Kafeik asit (2)



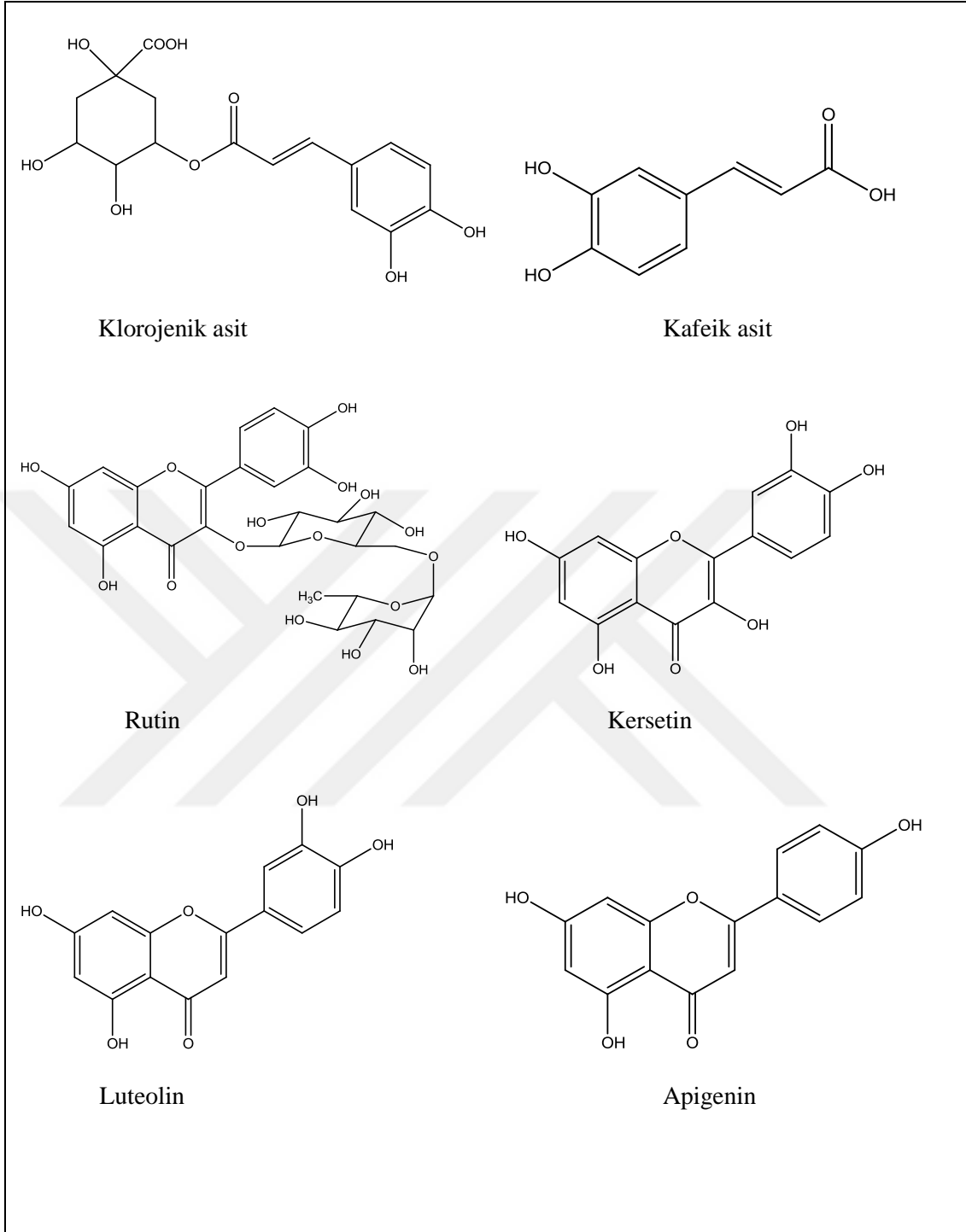
Şekil 3.8. *A. setacea*'nin metanol ile hazırlanmış kök ekstresinin 360 nm'deki HPLC kromatogramı: Klorojenik asit (1), Kafeik asit (2)



Şekil 3.9. *A. wilhelmsii*'nin metanol ile hazırlanmış kök ekstresinin 360 nm'deki HPLC kromatogramı: Klorojenik asit (1), Kafeik asit (2)

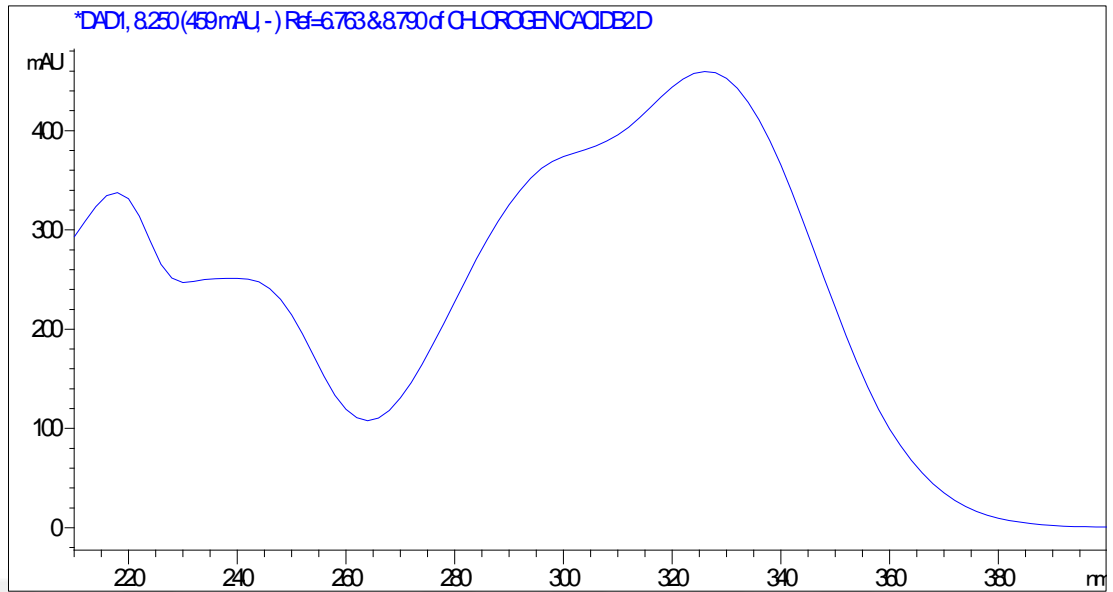


Şekil 3.10. Fenolik bileşiklerin 360 nm'deki HPLC kromatogramı: Klorojenik asit (1), Kafeik asit (2), Rutin (3), Kersetin (4), Luteolin (5), Apigenin (6)

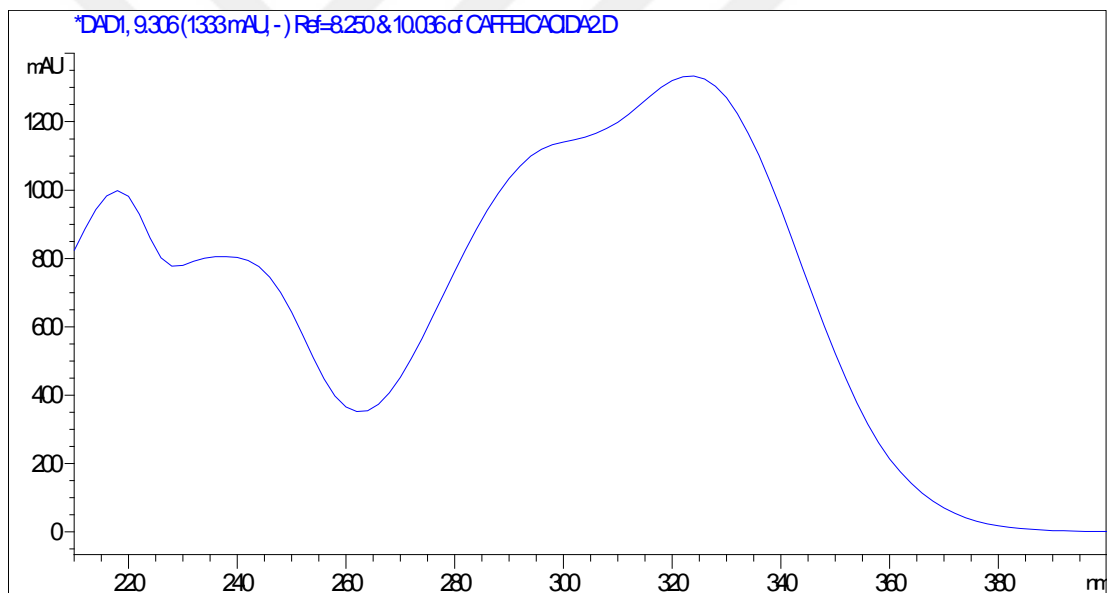


Şekil 3.11. HPLC ile % miktar tayini yapılan fenolik bileşiklerin molekül formülleri

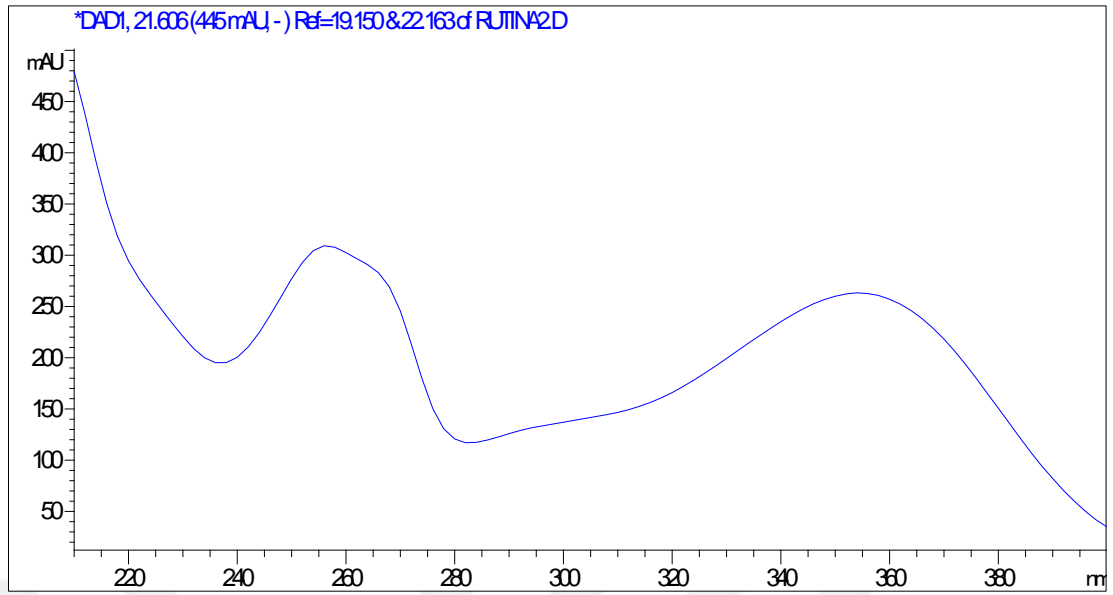
Kalitatif ve kantitatif olarak analiz edilen bileşiklerin, UV spektrumları aşağıda verilmiştir.



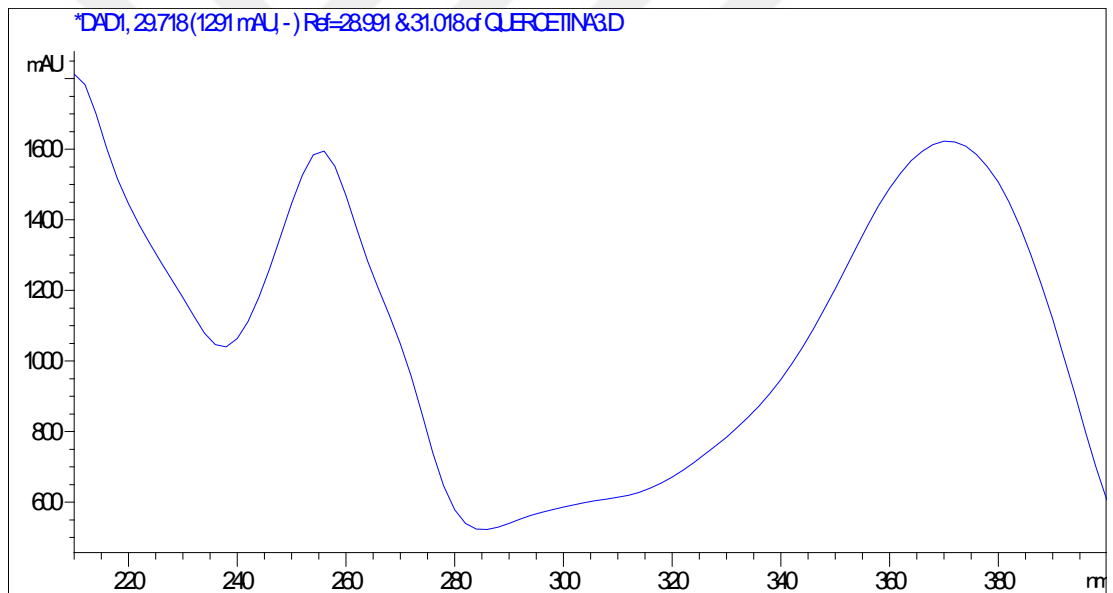
Şekil 3.12. Klorojenik asitin UV spektrumu



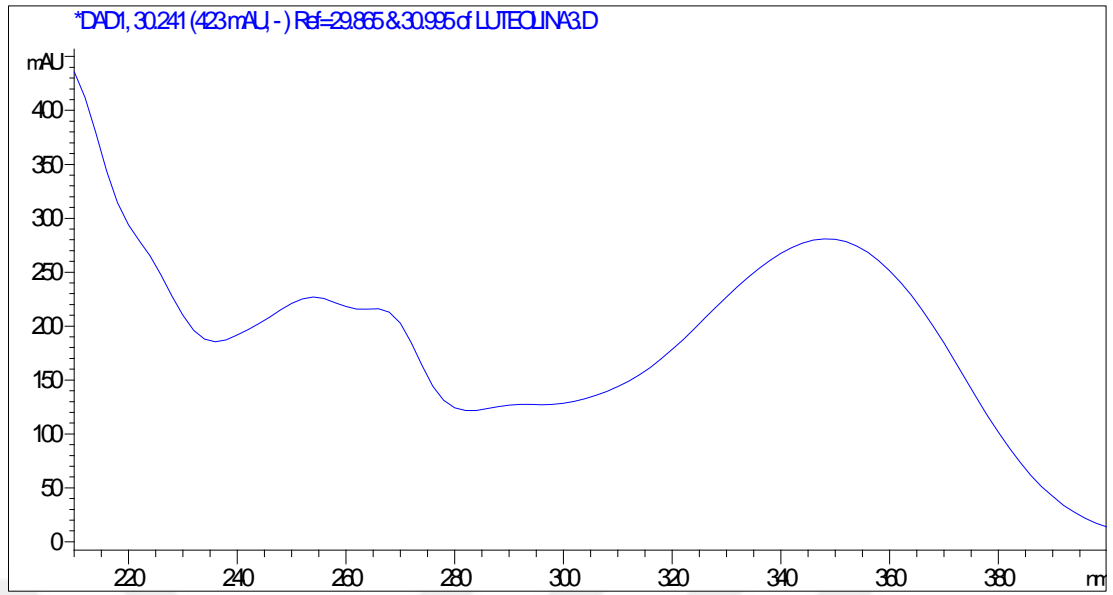
Şekil 3.13. Kafeik asitin UV spektrumu



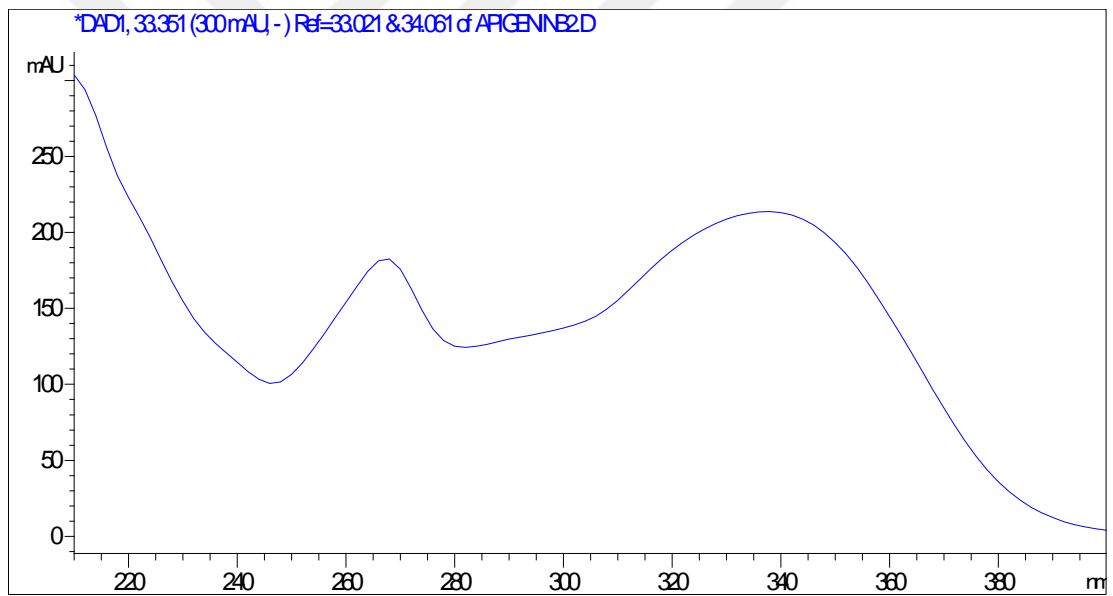
Şekil 3.14. Rutinin UV spektrumu



Şekil 3.15. Kersetinin UV spektrumu



Şekil 3.16. Luteolinin UV spektrumu



Şekil 3.17. Apigenin UV spektrumu

3.5. *Achillea biebersteinii*, *A. setacea* ve *A. wilhelmsii*'de Bulunan Bazı Fenolik Bileşiklerin YPSK ile Miktar Tayinleri

A. biebersteinii, *A. setacea* ve *A. wilhelmsii*'nin çiçek, yaprak ve kök ekstralarında bulunduğu tespit edilen klorojenik asit, kafeik asit, rutin, kersetin, luteolin ve apigenin bileşiklerinin miktarları tayin edilmiştir. Bileşikler ve ekstralar ters-faz YPSK ile analiz edilmiş ve en iyi ayrımı sağlayan çözücü sistemi-6 ile çalışılmıştır. Bitkilerin çiçek, yaprak ve kök ekstralarında; klorojenik asit, kafeik asit, rutin, kersetin, luteolin ve apigenin bileşiklerinin belirlenen % miktarları **Çizelge 3.4.**'de verilmiştir.

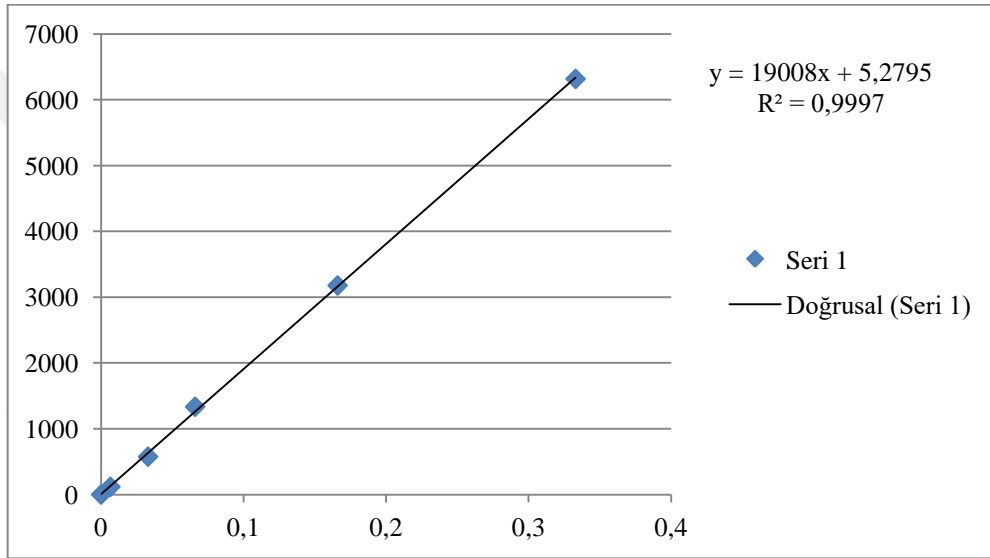
Çizelge 3.4. *A. biebersteinii*, *A. setacea* ve *A. wilhelmsii*'nin çiçek, yaprak ve kök ekstralarında saptanan fenolik bileşiklerin % miktarları

		Bileşikler (g/100g)					
	Türler	Klorojenik asit	Kafeik asit	Rutin	Kersetin	Luteolin	Apigenin
Çiçek	<i>A.biebersteinii</i>	0,0519±0,00	0,0008±0,00	0,0205±0,00	0,0035±0,00	0,0240±0,00	0,0044±0,00
	<i>A.setacea</i>	0,0707±0,00	-	0,0169±0,00	-	0,0293±0,00	0,0044±0,00
	<i>A.wilhelmsii</i>	0,0696±0,00	0,0021±0,00	0,0307±0,00	0,0036±0,00	0,0076±0,00	0,0034±0,00
Yaprak	<i>A.biebersteinii</i>	0,1094±0,00	0,0006±0,00	0,0527±0,00	0,0017±0,00	0,0042±0,00	Nd
	<i>A.setacea</i>	0,1937±0,00	0,0007±0,00	0,1358±0,00	0,0018±0,00	0,0053±0,00	0,0041±0,00
	<i>A.wilhelmsii</i>	0,2745±0,01	0,0013±0,00	0,0202±0,00	-	-	-
Kök	<i>A.biebersteinii</i>	0,1139±0,00	0,0018±0,00	-	-	-	-
	<i>A.setacea</i>	0,4778±0,02	0,0083±0,00	-	-	-	-
	<i>A.wilhelmsii</i>	0,1328±0,01	0,0007±0,00	-	-	-	-

3.5.1. Standartlara ait Kalibrasyon Eğrileri ve Doğru Denklemleri

3.5.1.1. Klorojenik Aside ait Kalibrasyon Eğrisi ve Doğru Denklemi

Klorojenik asite ait kalibrasyon eğrisi **Şekil 3.18.**'de; konsantrasyon değerleri ve pik alanlarının ortalaması **Çizelge 3.5.**'de; doğru denklemi, korelasyon katsayısı (R^2), recovery değerleri (%), LOD ve LOQ değerleri, gün içi ve günler arası % RSD değerleri **Çizelge 3.6.**'da verilmiştir.



Şekil 3.18. Klorojenik asite ait kalibrasyon eğrisi

Çizelge 3.5. Klorojenik asite ait konsantrasyon değerleri ve pik alanlarının ortalaması

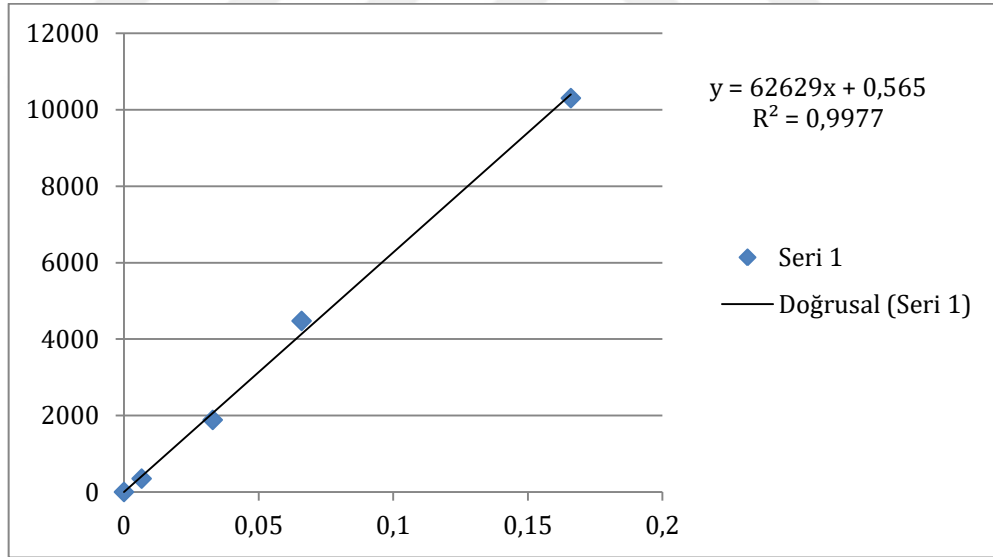
X (konsantrasyon, mg/ml)	Y (pik alanları ortalaması, n=3)
0,333	6317,2
0,166	3177,9
0,066	1334,8
0,033	576,1
0,0066	117,9

Çizelge 3.6. Klorojenik asite ait retansiyon zamanı, doğru denklemi, korelasyon katsayısı (R^2), LOD ve LOQ değerleri, recovery değeri, gün içi ve günler arası % RSD değerleri

Bileşik	Retansiyon Zamanı (dk)	Doğru Denklemi	R^2	LOD ($\mu\text{g/ml}$)	LOQ ($\mu\text{g/ml}$)	Recovery (%)	Precision-intraday (% RSD)	Precision-interday (% RSD)
Klorojenik asit	8,03	$y = 19008x + 5,2795$	0,9997	0,0198	0,066	88,9-98,85	2,53	5,98

3.5.1.2. Kafeik Aside ait Kalibrasyon Eğrisi ve Doğru Denklemi

Kafeik asite ait kalibrasyon eğrisi **Şekil 3.19**'da; konsantrasyon değerleri ve pik alanlarının ortalaması **Çizelge 3.7**'de; doğru denklemi, korelasyon katsayısı (R^2), recovery değerleri (%), LOD ve LOQ değerleri, gün içi ve günler arası % RSD değerleri **Çizelge 3.8**'de verilmiştir.



Şekil 3.19. Kafeik asite ait kalibrasyon eğrisi

Çizelge 3.7. Kafeik asite ait konsantrasyon değerleri ve pik alanlarının ortalaması

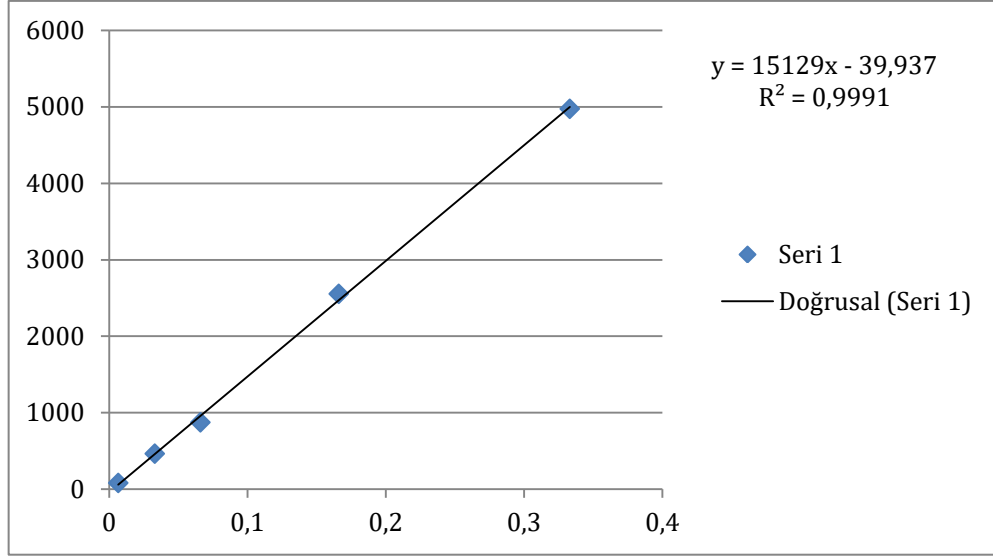
X (konsantrasyon, mg/ml)	Y (pik alanları ortalaması, n=3)
0,333	19191,33
0,166	10113,3
0,066	4474,6
0,033	1886,4
0,0066	351,8

Çizelge 3.8. Kafeik asite ait retansiyon zamanı, doğru denklemi, korelasyon katsayısı (R^2), LOD ve LOQ değerleri, recovery değeri, gün içi ve günler arası % RSD değerleri

Bileşik	Retansiyon Zamanı (dk)	Doğru Denklemi	R^2	LOD ($\mu\text{g/ml}$)	LOQ ($\mu\text{g/ml}$)	Recovery (%)	Precision-intraday (% RSD)	Precision-interday (% RSD)
Kafeik asit	8,92	$y= 62629x + 0,565$	0,9977	0,0111	0,037	93,3-112	1,4	6,16

3.5.1.3. Rutine ait Kalibrasyon Eğrisi ve Doğru Denklemi

Rutine ait kalibrasyon eğrisi **Şekil 3.20.**'de; konsantrasyon değerleri ve pik alanlarının ortalaması **Çizelge 3.9.**'da; doğru denklemi, korelasyon katsayısı (R^2), recovery değerleri (%), LOD ve LOQ değerleri, gün içi ve günler arası % RSD değerleri **Çizelge 3.10.**'da verilmiştir.



Şekil 3.20. Rutine ait kalibrasyon eğrisi

Çizelge 3.9. Rutine ait konsantrasyon değerleri ve pik alanlarının ortalaması

X (konsantrasyon, mg/ml)	Y (pik alanları ortalaması, n=3)
0,333	4972,6
0,166	2554,1
0,066	874,1
0,033	464,7
0,0066	81,7

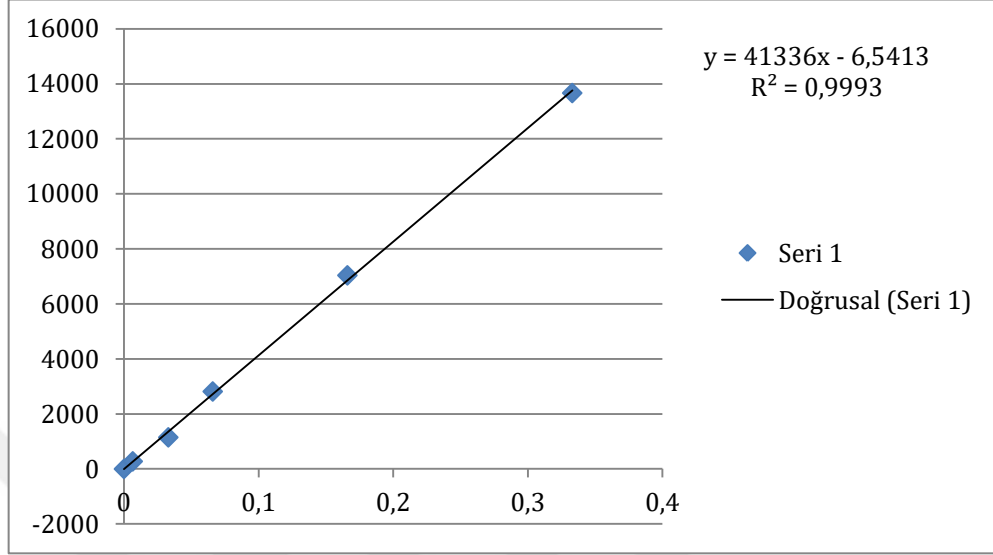
Çizelge 3.10. Rutine ait retansiyon zamanı, doğru denklemi, korelasyon katsayısı (R^2), LOD ve LOQ değerleri, recovery değeri, gün içi ve günler arası % RSD değerleri

Bileşik	Retansiyon Zamanı (dk)	Doğru Denklemi	R^2	LOD ($\mu\text{g/ml}$)	LOQ ($\mu\text{g/ml}$)	Recovery (%)	Precision-intraday (% RSD)	Precision-interday (% RSD)
Rutin	20,30	$y = 15129x - 39,937$	0,9991	0,0066	0,022	82,6-99,9	0,93	2,53

3.5.1.4. Kersetine ait Kalibrasyon Eğrisi ve Doğru Denklemi

Kersetine ait kalibrasyon eğrisi Şekil 3.21.'de; konsantrasyon değerleri ve pik alanlarının ortalaması Çizelge 3.11.'de; doğru denklemi, korelasyon katsayısı (R^2),

recovery değerleri (%), LOD ve LOQ değerleri, gün içi ve günler arası % RSD değerleri **Çizelge 3.12.**'de verilmiştir.



Şekil 3.21. Kersetine ait kalibrasyon eğrisi

Çizelge 3.11. Kersetine ait konsantrasyon değerleri ve pik alanlarının ortalaması

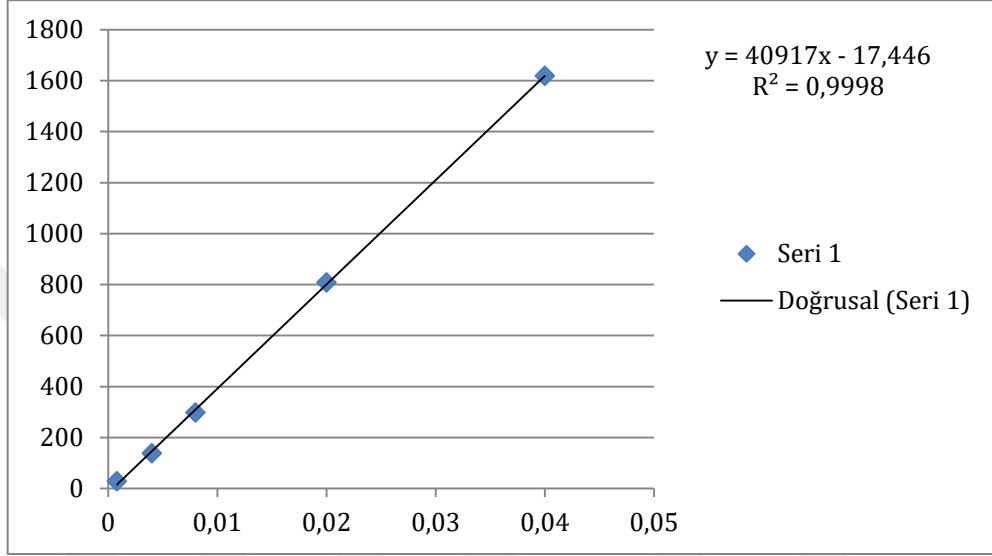
X (konsantrasyon, mg/ml)	Y (pik alanları ortalaması, n=3)
0,333	13667,6
0,166	7039,5
0,066	2817,2
0,033	1150,0
0,0066	278,1

Çizelge 3.12. Kersetine ait retansiyon zamanı, doğru denklemi, korelasyon katsayısı (R^2), LOD ve LOQ değerleri, recovery değeri, gün içi ve günler arası % RSD değerleri

Bileşik	Retansiyon Zamanı (dk)	Doğru Denklemi	R^2	LOD ($\mu\text{g/ml}$)	LOQ ($\mu\text{g/ml}$)	Recovery (%)	Precision-intraday (% RSD)	Precision-interday (% RSD)
Kersetin	29,24	$y = 41336x - 6,5413$	0,9993	0,0156	0,052	93,4-111,8	3,25	4,67

3.5.1.5. Luteoline ait Kalibrasyon Eğrisi ve Doğru Denklemi

Luteoline ait kalibrasyon eğrisi Şekil 3.22.'de konsantrasyon değerleri ve pik alanlarının ortalaması Çizelge 3.13.'de; doğru denklemi, korelasyon katsayısı (R^2), recovery değerleri (%), LOD ve LOQ değerleri, gün içi ve günler arası % RSD değerleri Çizelge 3.14'de verilmiştir.



Şekil 3.22. Luteoline ait kalibrasyon eğrisi

Çizelge 3.13. Luteoline ait konsantrasyon değerleri ve pik alanlarının ortalaması

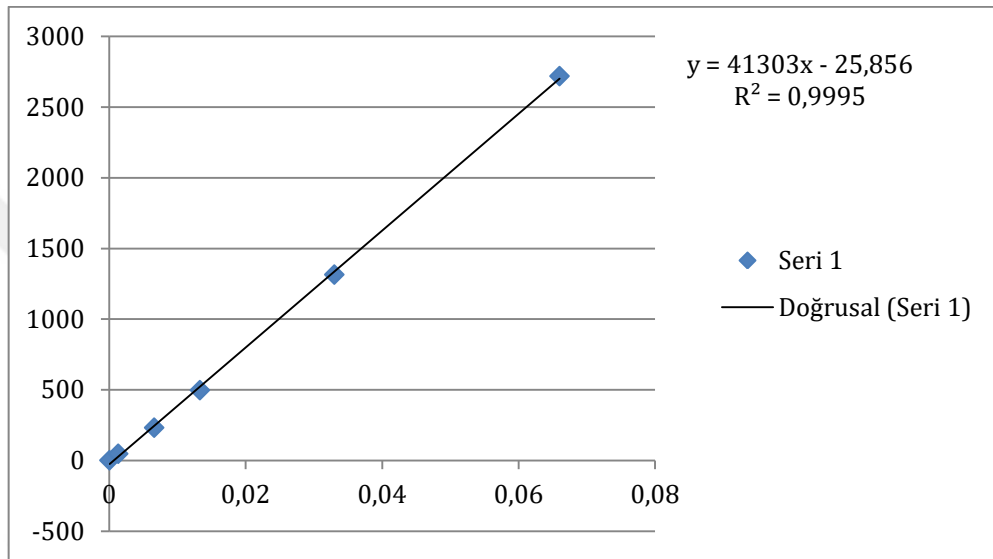
X (konsantrasyon, mg/ml)	Y (pik alanları ortalaması, n=3)
0,04	1618,4
0,02	808,1
0,008	298,2
0,004	138,2
0,0008	28,5

Çizelge 3.14. Luteoline ait retansiyon zamanı, doğru denklemi, korelasyon katsayısı (R^2), LOD ve LOQ değerleri, recovery değeri, gün içi ve günler arası % RSD değerleri

Bileşik	Retansiyon Zamanı (dk)	Doğru Denklemi	R^2	LOD ($\mu\text{g/ml}$)	LOQ ($\mu\text{g/ml}$)	Recovery (%)	Precision-intraday (% RSD)	Precision-interday (% RSD)
Luteolin	29,48	$y = 40917x - 17,446$	0,9998	0,0195	0,065	84,8-98,8	3,25	6,13

3.5.1.6. Apigenine ait Kalibrasyon Eğrisi ve Doğru Denklemi

Apigenine ait kalibrasyon eğrisi Şekil 3.23’de; konsantrasyon değerleri ve pik alanlarının ortalaması Çizelge 3.15.’de; doğru denklemi, korelasyon katsayısı (R^2), recovery değerleri (%), LOD ve LOQ değerleri, gün içi ve günler arası % RSD değerleri Çizelge 3.16’da verilmiştir.



Şekil 3.23. Apigenine ait kalibrasyon eğrisi

Çizelge 3.15. Apigenine ait konsantrasyon değerleri ve pik alanlarının ortalaması

X (konsantrasyon, mg/ml)	Y (pik alanları ortalaması, n=3)
0,066	2717,6
0,033	1314,6
0,0133	497,6
0,0066	232,5
0,00133	48,1

Çizelge 3.16. Apigenine ait retansiyon zamanı, doğru denklemi, korelasyon katsayısı (R^2), LOD ve LOQ değerleri, recovery değeri, gün içi ve günler arası % RSD değerleri

Bileşik	Retansiyon Zamanı (dk)	Doğru Denklemi	R^2	LOD ($\mu\text{g/ml}$)	LOQ ($\mu\text{g/ml}$)	Recovery (%)	Precision-intraday (% RSD)	Precision-interday (% RSD)
Apigenin	32,66	$y = 41303x - 25,856$	0,9995	0,0132	0,044	94,6-97	2,29	3,72

Tüm bileşiklerin retansiyon zamanları, doğru denklemleri, korelasyon katsayıları (R^2), LOD ve LOQ değerleri, recovery değerleri, gün içi ve günler arası % RSD değerleri **Çizelge 3.17.**'de toplu olarak verilmiştir.

Çizelge 3.17. Tüm bileşiklerin retansiyon zamanları, doğru denklemleri, korelasyon katsayıları (R^2), LOD ve LOQ değerleri, recovery değerleri, gün içi ve günler arası % RSD değerleri

Bileşik	Retansiyon Zamanı (dk)	Doğru Denklemi	R^2	LOD ($\mu\text{g/ml}$)	LOQ ($\mu\text{g/ml}$)	Recovery (%)	Precision-intraday (% RSD)	Precision-interday (% RSD)
Klorojenik asit	8,03	$y = 19008x + 5,2795$	0,9997	0,0198	0,066	88,9-98,85	2,53	5,98
Kafeik asit	8,92	$y = 62629x + 0,565$	0,9977	0,0111	0,037	93,3-112	1,4	6,16
Rutin	20,30	$y = 15129x - 39,937$	0,9991	0,0066	0,022	82,6-99,9	0,93	2,53
Kersetin	29,24	$y = 41336x - 6,5413$	0,9993	0,0156	0,052	93,4-111,8	3,25	4,67
Luteolin	29,48	$y = 40917x - 17,446$	0,9998	0,0195	0,065	84,8-98,8	3,25	6,13
Apigenin	32,66	$y = 41303x - 25,856$	0,9995	0,0132	0,044	94,6-97	2,29	3,72

3.6. Biyolojik Aktivite Çalışmalarına Ait Bulgular

3.6.1. Antimikrobiyal Aktivite

A. biebersteinii, *A. setacea* ve *A. wilhelmsii*'nin toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağın test edilen Gram-pozitif ve Gram-negatif bakteriler ve maya suşlarına

karşı sergiledikleri antimikrobiyal aktivite ve elde edilen minimum inhibisyon konsantrasyonu (MIC) değerleri **Çizelge 18**'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.18. *A. biebersteinii*, *A. setacea* ve *A. wilhelmsii* uçucu yağlarının MIC değerleri (mg/ml)

Uçucu Yağ	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>
<i>A. biebersteinii</i>	6,24 µl	1,56 µl	1,56 µl	< 0,78 µl
<i>A. setacea</i>	Çalışılmadı	Çalışılmadı	Çalışılmadı	1,56 µl
<i>A. wilhelmsii</i>	Çalışılmadı	Çalışılmadı	Çalışılmadı	3,12 µl

A. biebersteinii, *A. setacea* ve *A. wilhelmsii*'nin çiçek, yaprak ve köklerinden elde edilen sulu ve etanollü (% 96) ekstraların test edilen Gram-pozitif ve Gram-negatif bakteriler ve maya suşlarına karşı sergiledikleri antimikrobiyal aktivite ve elde edilen minimum inhibisyon konsantrasyonu (MIC) değerleri **Çizelge 3.19.**'da gösterilmiştir.

Çizelge 3.19. *A. biebersteinii*, *A. setacea* ve *A. wilhelmsii* ekstralarının MIC değerleri (mg/ml)

Ekstreler		<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>	
<i>A. biebersteinii</i>	Çiçek	Etanol	0,5	0,5	0,5	0,5	0,25
		Su	-	-	-	-	-
	Yaprak	Etanol	0,5	0,5	0,5	0,5	0,25
		Su	-	-	-	-	-
	Kök	Etanol	0,5	0,5	0,5	0,5	0,25
		Su	-	-	-	-	-
<i>A. setacea</i>	Çiçek	Etanol	0,5	0,5	0,5	0,5	0,25
		Su	-	-	-	-	-
	Yaprak	Etanol	0,5	0,5	0,5	0,5	0,25
		Su	-	-	-	-	-
	Kök	Etanol	0,5	0,5	0,5	0,5	0,125
		Su	-	-	-	-	-
<i>A. wilhelmsii</i>	Çiçek	Etanol	1	0,5	0,5	0,5	0,25
		Su	-	-	-	-	-
	Yaprak	Etanol	1	0,5	0,5	0,5	0,25
		Su	-	-	-	-	-
	Kök	Etanol	1	0,5	0,5	0,5	0,25
		Su	-	-	-	-	-

3.6.2. Antioksidan Aktivite

A. biebersteinii, *A. setacea* ve *A. wilhelmsii*'nin çiçek, yaprak ve köklerinden elde edilen metanollü ekstraktların; DPPH radikal süpürücü aktivite ve ABTS yöntemleriyle elde edilen antioksidan aktivitelerine ait IC₅₀ değerleri **Çizelge 3.20.**'de verilmiştir.

Çizelge 3.20. *A. biebersteinii*, *A. setacea* ve *A. wilhelmsii*'nin antioksidan aktivitelerine ait IC₅₀ değerleri

	Türler	DPPH IC ₅₀ (mg/mL)	ABTS IC ₅₀ (mg/mL)
Çiçek	<i>A. biebersteinii</i>	0,670 ± 0,044	0,138 ± 0,024
	<i>A. setacea</i>	0,947 ± 0,023	0,432 ± 0,003
	<i>A. wilhelmsii</i>	1,500 ± 0,024	0,329 ± 0,009
Yaprak	<i>A. biebersteinii</i>	0,377 ± 0,011	0,016 ± 0,002
	<i>A. setacea</i>	0,470 ± 0,002	0,144 ± 0,005
	<i>A. wilhelmsii</i>	0,812 ± 0,013	0,214 ± 0,001
Kök	<i>A. biebersteinii</i>	0,773 ± 0,053	0,279 ± 0,007
	<i>A. setacea</i>	0,497 ± 0,013	0,143 ± 0,004
	<i>A. wilhelmsii</i>	0,991 ± 0,017	0,184 ± 0,011

4.TARTIŞMA

Achillea cinsi Asteraceae familyasına ait olup dünya üzerinde geniş bir yayılım alanı gösteren ve dünyada 140 civarında, ülkemizde ise 23 tanesi endemik olmak üzere 46 tür ile temsil edilmektedir. *Achillea* türlerinin dünyada ve ülkemizde halk hekimliğinde geniş bir kullanımı vardır. Bu cinsin en fazla çalışma yapılan türü olan *A. millefolium*; Avrupa Farmakopesi'nde, Komisyon E, WHO, ESCOP ve PDR monograflarında ve EMA'ya kayıtlıdır. Komisyon E monografında, *A. millefolium* dahili olarak iştah eksikliğinde, dispepsi ve kramp tipi karın ağrısında; oturma banyosu olarak kadınlarda pelvik konjesyonuna bağlı ağrılarda topik uygulama yapılabileceği belirtilmiştir (Kocevar ve ark., 2008). *A. millefolium*'un kurutulmuş çiçekleri ve herbası Avrupa Resmi Bitki Monografi'nda geçici iştah kaybında ve küçük yüzeysel yaraların tedavisinde kullanılan geleneksel tıbbi bitkisel ürün olarak kayıtlıdır (Micallef ve ark., 2015).

Bu çalışmada Kayseri ili Yahyalı ilçesi Gerzila yaylasından toplanan *A. biebersteinii* Afan., *A. setacea* Waldst. et Kit ve *A. wilhelmsii* C. Koch türlerinin toprak üstü kısımların üzerinde etken madde taraması yapılmıştır. Avrupa Farmakopesi'nde kayıtlı olan bu cinsin ofisinal türü *A. millefolium* ile bu türleri karşılaştırmak üzere farmakope uygulamaları yapılmıştır. Bu 3 türün çiçek, yaprak ve kök kısımlarından ayrı ayrı hazırlanan ekstreleri içerdikleri total fenol miktarları araştırılmış ve bu kısımlarında bulunan fenolik bileşiklerin HPLC ile kalitatif ve kantitatif analizleri yapılmıştır. Biyolojik aktivite çalışmalarında ise bu 3 türün çiçek, yaprak ve kök kısımlarından hazırlanan metanol ekstresinin DPPH ve ABTS yöntemleri ile antioksidan aktiviteleri araştırılmıştır. Bu 3 türün toprak üstü kısımlarından uçucu yağ elde edilmiş ve hem bu uçucu yağların hem de bu 3 türün çiçek, yaprak ve kök kısımlarından hazırlanan etanol (% 96) ve su ekstrlerinin gram (+) ve gram (-) bakteriler ile mayalar üzerindeki antimikrobiyal aktiviteleri araştırılmıştır.

Üç türün toprak üstü kısımları ile yapılan etken madde aranması testlerinde bu üç türün de alkaloit, antosiyanozit, siyanogenetik heterozit, tanen, antrasenozit ve

kumarin içermediği tespit edilmiştir. Kardiyoaktif heterozitler için yapılan tanıma testlerinde ise bu üç türün de Baljet reaksiyonu ile mor-turuncu renk vermesi bu türlerin beşli lakton halkası taşıdığını, Liebermann-Burchard reaksiyonu ile mor halka vermesi ile de bu kardiyoaktif heterozitin steroid yapısında olduğu anlaşılmıştır. Bu üç türün kardiyoaktif heterozitlerin yanında saponin ve flavonozitler de içerdikleri tespit edilmiştir. Literatür verileri de *Achillea* türlerinin flavonoitler ve saponozitler içerdiğini göstermektedir. Fakat kardiyoaktif heterozitlerin varlığı ile ilgili bir çalışma bulunmamaktadır.

Çalışılan *Achillea* türlerinin farmakope yönünden uygunluğunun araştırılması ve bu üç türün farmakopede kayıtlı olan *A. millefolium* türü yerine kullanılabilirliğini denetlemek amacıyla farmakope uygulamaları yapılmıştır. Çalışılan üç türde yapılan yabancı madde, kurutmada kayıp, kül miktar tayini ve HCl'de çözünmeyen kül testlerinde farmakopeye uygunluk göstermişlerdir. Bu sonuçlar bu üç türün de *A. millefolium* yerine kullanılabileceğini göstermiştir.

Achillea türleri fenolik bileşikler bakımından çok zengin bir çeşitliliğe sahiptir. İçerdiği fenolik bileşiklerin büyük bir çoğunluğunu da fenolik asitler ve flavonoitler oluşturmaktadır. Bu nedenle bu çalışmada fenolik bileşikler üzerinde yoğunlaşıldı ve elimizde bulunan fenolik yapıdaki standart maddelerin bu üç tür içerisindeki kalitatif ve kantitatif analizleri YPSK ile bakıldı. Ayrıca bu üç türün içerdiği fenolik bileşiklerin miktarı da Folin-Ciocalteu yöntemi ile gallik asit eşdeğerliğinde araştırılmıştır.

A. biebersteinii, *A. setacea* ve *A. wilhelmsii*'nin çiçek, yaprak ve köklerinin total fenol miktarları karşılaştırıldığında yaprak ekstrelerin en yüksek total fenol miktarına sahip olduğu ve *A. biebersteinii* yaprak ekstresinin $178,4 \pm 9,5$ mg GAE/g ekstre ile en yüksek fenol miktarına sahip olduğu görülmüştür. En yüksek ikinci total fenol miktarı $167,9 \pm 3,5$ mg GAE/g ekstre ile *A. setacea* yaprak ekstresine ve en yüksek üçüncü total fenol miktarı ise $155,5 \pm 8,7$ mg GAE/g ekstre ile *A. wilhelmsii* yaprak ekstresinde görülmüştür. *A. setacea* ve *A. wilhelmsii* türlerinde kök kısımları, çiçekli kısımlarından daha yüksek fenol içeriğine sahipken; *A. biebersteinii*'de bunun tam

tersi olduğu görülmüştür. Bu üç tür içerisinde en düşük total fenol içeriği $113,2 \pm 1,9$ mg GAE/g ekstre ile *A. biebersteinii* kök ekstresine ait olduğu bulunmuştur. Literatür verileri de bu sonuçları desteklemektedir. Örneğin; Salarbashi ve ark. (2014), *A. biebersteinii* ve *A. wilhelmsii*'nin yaprak ve çiçeklerinden hazırlanan metanollü ekstrelerinin total fenol miktarının Folin–Ciocalteu metodu ile araştırmış ve *A. biebersteinii*'nin daha fazla fenolik madde miktarı içerdiğini tespit etmişlerdir. Bir başka çalışmada ise *A. millefolium*'un farklı ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak Folin–Ciocalteu metodu ile total fenol miktarı araştırıldığı bir çalışmada en yüksek total fenol miktarı mikrodalga destekli ekstraksiyonda $237,74 \pm 2,08$ mg GAE/g olarak; katı-sıvı ekstraksiyonda $182,9 \pm 1,72$ mg GAE/g; maserasyonda ise $135,26 \pm 1,72$ mg GAE/g olarak bulunmuştur (Milutinovic ve ark., 2015).

Achillea türlerine ait literatürler taranmış ve bu türlerde bulunabilecek olan fenolik yapıdaki maddelerden elimizde bulunan standartlar belirlenmiş ve bitkilerin yaprak, çiçek ve kök ekstreleri geliştirilen yöntemle HPLC'ye uygulanmıştır. Bitkilerden hazırlanan ekstreler ve standartlar sisteme aynı koşullarda arda arda enjekte edilmiş ve analizler sonucunda ekstrenin kromatogramında görülen bileşiklerin, standart maddelerin retansiyon zamanlarına ve UV spektrumlarına göre kıyaslanarak hangi bileşikler içerdiği tespit edilmiş ve kantitatif analizlere geçilmiştir. Çalıştığımız üç türün klorojenik asit, kafeik asit, rutin, kersetin, luteolin ve apigenin bileşiklerini içerdiği tespit edilirken; bu türlerin *p*-kumarik asit, ferulik asit ve gallik asit bileşiklerini içermediği tespit edilmiştir.

En iyi ayırımı yapmak amacıyla tarafımızdan geliştirilen ters faz-HPLC yöntemi ile söz konusu bileşiklerin çiçek, yaprak ve kök ekstrelerindeki miktarları tayin edilmiştir. Bu yeni yöntemin doğruluğu çeşitli parametreler ile kanıtlanmıştır. Regresyon denklemini hesaplamak için, standart maddelerin 5 farklı konsantrasyonda çözeltileri hazırlanmış ve HPLC sistemine 3er kez enjekte edilmişler ve buradan elde edilen sonuçlar ile kalibrasyon eğrileri oluşturulmuştur. Ayrıca bu bileşikler, aynı HPLC koşullarında farklı bir günde sisteme enjekte edilmişlerdir. Kullanılan standart bileşiklerin korelasyon katsayıları iyi bir doğrusallık göstermiş ve en düşük korelasyon katsayısı değeri 0,9977 bulunmuştur.

Klorojenik asit, kafeik asit, rutin, kersetin, luteolin ve apigenin bileşiklerinin aynı günde sisteme enjekte edildiğinde oluşan farklılıklar için hesaplanan % RSD değerleri sırasıyla % 2,53 ; 1,4 ; 0,93 ; 3,25 ; 3,25 ve 2,29 olarak bulunmuştur. Klorojenik asit, kafeik asit, rutin, kersetin, luteolin ve apigenin bileşiklerinin farklı günde sisteme enjekte edildiğinde oluşan farklılıklar için hesaplanan % RSD değerleri sırasıyla % 5,98 ; 6,16 ; 2,53 ; 4,67 ; 6,13 ve 3,72 olarak bulunmuştur. Geri kazanım değerleri ise klorojenik asit için % 88,9-98,8; kafeik asit için % 93,3-112; rutin için % 82,6-99,9; kersetin için % 93,4-111,8; luteolin için % 84,8-98,8 ve apigenin için % 94,6-97 olarak bulunmuştur.

Fenolik asit yapısındaki bileşiklerden klorojenik asit, üç türün de çiçek, yaprak ve kök kısımlarında bulunduğu; ayrıca kök ve yaprak kısımlarının çiçekli kısımlarından daha fazla klorojenik asit içerdiği tespit edilmiştir. En fazla klorojenik asiti *A. setacea* kök kısmının % 0,4778±0,0213 g olarak içerdiği tespit edilmiştir. Kafeik asit sadece *A. setacea*'nın çiçekli kısımlarında bulunmadığı ve üç türde de kafeik asitin, klorojenik asitten daha az oranda bulunduğu tespit edilmiştir. En fazla kafeik asiti *A. setacea* kök kısmının % 0,0083 g olarak içerdiği tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre *A. setacea* kök kısmı en yüksek fenolik asit içeriğine sahip olduğu görülmüştür. Total fenol miktar deneyi ile karşılaştırıldığında da *A. setacea* kök kısımları diğer türlerin köklerinden daha yüksek miktarda fenolik bileşik içerdiği bulunmuş ve bu sonuç HPLC sonuçlarını desteklemektedir.

Çalışılan türlerde tespit ettiğimiz flavonoit yapısındaki bileşiklerin miktarları fenolik asit yapısındaki bileşiklerden daha düşük oranda bulunmuş ve bu bileşikler üç türün de kök kısımlarında rastlanılmamıştır. Rutin bileşiği tüm türlerin çiçek ve yapraklarında tespit edilmiştir. Kersetin bileşiği *A. setacea*'nın çiçek ve *A. wilhelmsii*'nin yaprak kısımlarında; luteolin ve apigenin bileşikleri ise sadece *A. wilhelmsii*'nin yaprak kısımlarında tespit edilememiştir. Ayrıca apigenin bileşiği *A. biebersteinii*'nin çiçekli kısımlarında bulunduğu tespit edilmiş; fakat miktarı çok düşük olduğu için miktar tayini yapılamamıştır. En yüksek rutin miktarı % 0,1358 g ile *A. setacea* yapraklarında; kersetin miktarı % 0,0036 g ile *A. wilhelmsii* çiçeklerinde; luteolin miktarı 0,0293 ile *A. setacea* çiçeklerinde ve son olarak

apigenin miktarı % 0,0044 g ile *A. biebersteinii* ve *A. setacea* çiçeklerinde görülmüştür.

Achillea türleri içerdiği yüksek miktardaki fenolik bileşiklerden dolayı güçlü antioksidan aktivite gösterdiği bilinmektedir. Bu çalışmada yapılan total fenol miktar tayini ile *A. biebersteinii*, *A.setacea* ve *A. wilhelmsii*'nin yüksek miktarda fenolik içeriğe sahip olduğu tespit edilmiş ve bu türlerin antioksidan aktiviteleri DPPH radikal süpürücü aktivite ve ABTS testleri ile araştırılmıştır. DPPH ve ABTS testlerinde bulunan sonuçlar birbirlerine paralellik göstermiştir. DPPH radikal süpürücü aktivite yöntemiyle elde edilen sonuçlar üç türün de yapraklarının en yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir. ABTS testinde ise türlerin yaprak ve kökleri, çiçekli kısımlarına göre daha yüksek antioksidan aktivite göstermiştir. *A. biebersteinii* yaprak ekstresi ABTS ve DPPH testlerinde sırasıyla 16 µg/ml ve 377 µg/ml IC₅₀ değerleriyle en güçlü antioksidan aktiviteyi göstermiştir. En düşük antioksidan aktiviteyi ise iki testte de *A. wilhelmsii* göstermiştir. Bulunan bu sonuçlar türlerin içerdikleri total fenol miktarı ile de paralellik göstermektedir.

Tez kapsamında çalışılan türlerin çiçek, yaprak ve köklerinden elde edilen sulu ve etanollü (% 96) ekstreleri ile toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağların antimikrobiyal aktiviteleri makrodilüsyon yöntemiyle *S. aureus*, *B. subtilis*, *E. coli*, *P. aeruginosa* ve *C. albicans* suşlarına karşı araştırılmıştır. *S. aureus*'a karşı *A. biebersteinii* ve *A. setacea*'nın çiçek, yaprak ve köklerinin etanol ekstresinin MIC değeri 0,5 mg/ml; *A. wilhelmsii*'nin çiçek, yaprak ve köklerinin etanol ekstresinin MIC değeri 1 mg/ml olarak bulunmuştur. *B. subtilis*, *E. coli* ve *P. aeruginosa* bakterilerine karşı tüm türler 0,5 mg/ml MIC değerinde antibakteriyel etki göstermişlerdir. *C. albicans* suşuna karşı en yüksek antifungal aktiviteyi *A. wilhelmsii* kök etanol ekstresi 0,125 mg/ml MIC değeri ile göstermiştir. Tüm türlerin sulu ekstreleri test edilen tüm suşlara karşı antimikrobiyal aktivite göstermemiştir. Tüm türlerin etanollü ekstrelerinin test bakterilerine karşı MIC değerleri 0,5 ila 1 mg/ml arasında değişmekte iken maya suşuna karşı MIC değeri 0,125 ila 0,25 mg/ml arasında değişmekte olduğu bulunmuştur. Ekstrelerden elde ettiğimiz MIC değerleri etanollü ekstrelerin antifungal etkisinin, antibakteriyel etkisinden daha fazla

olduğunu kanıtlamıştır. Tez kapsamında çalışılan türlerin toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağların miktarları tüm suşlarla çalışmak için yeterli miktarda olmadığı için *A. setacea* ve *A. wilhelmsii* türlerinden elde edilen uçucu yağların antimikrobiyal aktivitesi sadece *C. albicans*'a karşı araştırılmıştır. Bu suşu seçmemizin nedeni ise etanol ekstralarının en güçlü antimikrobiyal aktiviteyi *C. albicans*'a karşı göstermesidir. *A. biebersteinii* uçucu yağının antimikrobiyal aktivitesi ise *S. aureus*, *B. subtilis*, *E.coli* ve *C. albicans* suşlarına karşı araştırılmıştır. *A. biebersteinii* uçucu yağı en güçlü aktiviteyi *C. albicans* suşuna karşı 0,78 μ l'den daha düşük MIC değeri ile göstermiştir. Çalışılan  tür arasında, *C. albicans*' a karşı en güçlü antimikrobiyal aktiviteyi de *A. biebersteinii* uçucu yağı göstermiştir.



5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Achillea türleri üzerinde yapılan çalışmalar, bu cinsin fitokimyasal açıdan zengin olduğunu ve çok sayıda biyolojik etkisinin olduğunu göstermektedir. Üzerinde en fazla çalışma yapılan ve Avrupa Farmakopesi'ne kayıtlı olan tür *A.millefolium*'dur. Bu çalışmada ülkemizde de yetişen *A.biebersteinii*, *A. setacea* ve *A. wilhelmsii* türlerinin Avrupa Farmakopesi'ne uygunluğunun araştırılarak *A.millefolium* ile karşılaştırılması amacıyla yapılmıştır. Bu türler, ülkemizde yaygın olarak yetişen türler olmaları ve geleneksel kullanımları göz önünde bulundurularak seçilmiştir.

Achillea türleri üzerinde yapılan fitokimyasal çalışmalar flavonozit ve fenolik asit gibi fenolik bileşikler açısından zengin olduklarını ortaya koymakla birlikte, türler terpenik bileşikler açısından da zengindir. Biyoaktivite çalışmaları ise bu bitkilerin antioksidan, antimikrobiyal, yara iyi edici, antienflamatuar etkili olduklarını ve jinekolojik hastalıklarda kullanılabileceklerini göstermektedir.

Bitkilerin yapılan farmakope analizlerine ait sonuçlar, üç türün de Avrupa Farmakopesi standartlarına uygun olduğu ortaya konmuştur. Fakat Avrupa Farmakopesi'nde kayıtlı olan cinsin ofisial türü olan *A. millefolium* yerine bu üç türün de kullanılabilmesi için farmakopede belirtilen miktar tayini tespiti yapılarak karar verilmelidir.

Bitkilerin çiçek, yaprak ve kök ekstraları ile birlikte toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağların antimikrobiyal aktivite çalışma sonuçları literatür verileri ile karşılaştırıldığında yapılan diğer çalışmalarla benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir.

Bitkilerin çiçek, yaprak ve köklerinin HPLC analizi yapılarak içerdiği fenolik bileşikler kalitatif ve kantitatif olarak tespit edilmiş ve bu fenolik bileşiklerin gösterdiği antioksidan aktivite sonuçları bitkilerin kısımları ile paralellik göstermiştir.

Yapılan fitokimyasal ve biyolojik aktivite çalışmalarının sonuçları bu üç türün de sosyal ve ekonomik açıdan değerlendirilebileceğini göstermiştir. Bu türlerin göstermiş oldukları güçlü antioksidan ve antimikrobiyal aktivite üzerinden ilaç sanayisi bakımından ürün geliştirilebileceği düşünülmektedir. Ayrıca halk arasında kullanımı esas alınarak yara iyileştirici ve emenagog etkili olarak kullanılmak üzere standardize bitki ekstresi hazırlanıp ticareti yapılabileceği düşünülmektedir. Tespit edilen fenolik bileşiklerin haricinde bu üç türde bulunan diğer bileşikler izole edilip yapısı aydınlatılarak farklı aktivitelere bakılabilir.



ÖZET

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

Achillea mitolojik bir bitki olup Asteraceae familyasına ait, özellikle kuzey yarımkürede yetişen ve dünyada 100'den fazla türle temsil edilen bir cinstir. Ülkemizde ise 30 taksonu endemik olmak üzere toplam 52 taksonla temsil edilmektedir. Üzerinde en fazla bilimsel çalışma yapılan *Achillea millefolium* L. türüdür. *Achillea* türleri halk hekimliğinde ateş düşürmek, soğuk algınlığını gidermek, sindirim şikayetlerini gidermek ve yaraları iyileştirmek amacıyla kullanılmaktadır.

Ülkemizde doğal olarak yetişen *A.biebersteinii* Afan., *A. setacea* Waldst. & Kit.ve *A. wilhelmsii* C. Koch. türlerinin içerdiği etken madde grupları belirlenmiş, Avrupa Farmakopesi esas alınarak farmakope analizleri yapılmıştır.

Bitkilerin çiçek, yaprak ve köklerinin içerdiği toplam fenolik madde miktarları ile içerdikleri fenolik bileşikler YPSK ile kalitatif ve kantitatif olarak tespit edilmiş ve antioksidan aktiviteleri araştırılmıştır. Ekstrelerin toplam fenolik madde miktarları Folin-Ciocaltaeu yöntemi ile değerlendirilmiş, en yüksek toplam fenolik madde miktarı *A. biebersteinii* yaprak ekstrelerinde tespit edilmiştir. Ekstrelerin antioksidan aktiviteleri DPPH ve ABTS yöntemleriyle araştırılmış ve sonuçlar toplam fenolik madde miktarıyla paralellik göstererek en güçlü etki *A. biebersteinii* yaprak ekstrelerinde görülmüştür. YPSK sisteminde bitkilerin farklı kısımlarının içerdiği fenolik bileşikler yeni geliştirilen metodla analiz edilmiş ve bitkilerin çeşitli kısımlarında klorojenik asit, kafeik asit, rutin, kersetin, luteolin ve apigenin bileşikler tespit edilmiştir.

Bitkilerin çiçek, yaprak ve köklerinden hazırlanan sulu ve etanollü ekstreler ile toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağların antimikrobiyal aktivitesi 4 farklı bakteri ve bir maya üzerinde mikrodilüsyon yöntemiyle test edilmiştir. Bitkilerin sulu ekstreleri antimikrobiyal aktivite göstermemiştir. Etanollü ekstreler 0,125-1 mg/ml MIC değerleri arasında antimikrobiyal aktivite göstermişlerdir. Tüm ekstreler arasında *C. albicans* suşuna karşı 0.125 mg/ml MIC değeri ile en güçlü antimikrobiyal aktiviteyi *A. setacea* kök ekstresi göstermiştir. Elde edilen uçucu yağ miktarı yeterli olmadığı için sadece maya suşuna karşı antimikrobiyal aktivite çalışması yapılmış ve *A. biebersteinii* uçucu yağı 0,78 µl MIC değeri ile en güçlü aktivite görülmüştür.

Anahtar Sözcükler: *Achillea*, *Achillea biebersteinii*, *Achillea setacea*, *Achillea wilhelmsii*, Antimikrobiyal aktivite, Antioksidan aktivite, YPSK

SUMMARY

Pharmacognostical Studies on Some *Achillea* L. Species Growing in Turkey

The genus *Achillea* belongs to the Asteraceae family, comprises over 100 species worldwide, mainly distributed in the northern hemisphere is a mythological plant. The genus is represented by 52 taxa of which 30 taxa are endemic in our country. Species of *Achillea millefolium* L. is the most commonly used in scientific studies. *Achillea* species are used for fever, common cold, digestive complaints and wound healing in folk medicine.

A. biebersteinii Afan., *A. setacea* Waldst. & Kit. and *A. wilhelmsii* C. Koch. species, which are growing naturally in our country, types of active substance groups were determined and were analyzed according to European Pharmacopoeia 7.0.

The methanol extracts of the flowers, leaves and roots of the plants were examined using in-vitro models for determining the total phenolic content and antioxidant activity. Folin Ciocalteu method was used to present the total phenolic content, and DPPH and ABTS radical scavenging assays were preferred to determine the antioxidant capacity. Among all the investigated species, *A. biebersteinii* leaf extract showed apparent DPPH radical scavenging and ABTS radical scavenging activity. Results of antioxidant activity was showed parallel with total phenolic contents of extracts. To clarify the significant antioxidant potential of the plants, phenolic compounds were analyzed qualitatively and quantitatively using a newly developed and validated RP-HPLC-DAD method. Chlorogenic acid, caffeic acid, rutin, quercetin, luteolin and apigenin were identified and quantified in the extracts.

Antimicrobial activity of aqueous and ethanol extracts of flowers, leaves and stems and essential oils of aerial parts of *A. biebersteinii*, *A. setacea* and *A. wilhelmsii* were tested on 4 different bacteria and one yeast by microdilution method. No antimicrobial activity was observed with the aqueous extracts, whereas the ethanol extracts possessed activity having MIC values of 0.125-1 mg/ml against all the tested microorganisms. Among all the investigated extracts, root ethanol extract of *A. setacea* has the strongest activity against the *C. albicans* with MIC values of 0.125 mg/ml. As for essential oils, the strongest activity was observed with essential oil of *A. biebersteinii* having MIC value 0.78 µl.

Keywords: *Achillea*, *Achillea biebersteinii*, *Achillea setacea*, *Achillea wilhelmsii*, Antimicrobial activity, Antioxidant activity, HPLC

KAYNAKLAR

- ABAD MJ, BEDOYA LM, BERMEJO P (2013). Essential oils from the Asteraceae family active against multidrug-resistant bacteria. *Fighting Multidrug Resistance with Herbal Extracts, Essential Oils and Their Components: Chapter 14*, 205-221
- ABBET C, MAYOR R, ROGUET D, SPICHIGER R, HAMBURGER M, POTTERAT O (2014). Ethnobotanical survey on wild alpine food plants in Lower and Central Valais (Switzerland). *J. Ethnopharmacol.*, **151**: 624-634
- ABDEL-RAHMAN RF, ALQASOUMI SI, EL-DESOKY AH, SOLIMAN GA, PARE PW, HEGAZY MEF (2015). Evaluation of the anti-inflammatory, analgesic and anti-ulcerogenic potentials of *Achillea fragrantissima* (Forssk.). *S. Afr. J. Bot.*, **98**: 122-127
- ADAMS M, ALTHER W, KESSLER M, KLUGE M, HAMBURGER M (2011). Malaria in the renaissance: Remedies from European herbals from the 16th and 17th century. *J. Ethnopharmacol.*, **133**: 278-288
- AĞAR OT (2010). Bazı *Achillea* L. türleri üzerinde farmasötik botanik araştırmalar. Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
- AHMED AA, GATI T, HUSSEIN TA, ALI AT, TZAKOU OA, COULADIS MA, MABRY TJ, TOTTH G (2003). Ligustolide A and B, two novel sesquiterpenes with rare skeletons and three 1,10-seco-guaianolide derivatives from *Achillea ligustica*. *Tetrahedron*, **59**: 3729-3735
- AHMED AA, MAHMOUD AA, ALI ET, TZAKOU O, COULADIS M, MABRY TJ, GATI T, TOTTH G (2002). Two highly oxygenate deudesmanes and 10 lignans from *Achillea holosericea*. *Phytochemistry*, **59**: 851-856
- AKERRETA S, CALVO MI, CAVERO RY (2010). Ethnoveterinary knowledge in Navarra (Iberian Peninsula). *J. Ethnopharmacol.*, **130**: 369-378
- AKKOL EK, KOCA U, PESIN I, YILMAZER D (2009). Evaluation of the wound healing potential of *Achillea biebersteinii* Afan. (Asteraceae) by in vivo excision and incision models. *Evid-Based Compl. Alt.*
- ALONSO-CASTRO AJ, MALDONADO-MIRANDA JJ, ZARATE-MARTINEZ A, JACOBO-SALCEDO MDR, FERNANDEZ-GALICIA C, FIGUEROA-ZUNIGA LA, RIOS-REYES NA, de LEON-RUBIO MA, MADELLIN-CASTILLO NA, REYES-MUNGUIA A, MENDEZ-MARTINEZ R, CARRANZA-ALVAREZ C (2012). Medicinal plants used in the Huasteca Potosina, Mexico. *J. Ethnopharmacol.*, **143**: 292-298

- ALTUN ML, TANKER N (2000). *Psoralea bituminosa* L. ve *Psoralea acaulis* Stev. Bitkilerinde Etken Bileşiklerin Kalitatif Analizi. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University*, **29**: 1-8
- ALTUNDAG E, OZTURK M (2011). Ethnomedicinal studies on the plant resources of east Anatolia, Turkey. *Procedia Social and Behavioral Sciences*, **19**: 756-777
- ALVARENGA ICA, BOLDRIN PF, PACHECO FV, SILVA ST, BERTOLUCCI SKV, PINTO JEBP (2015). Effects on growth, essential oil content and composition of the volatile fraction of *Achillea millefolium* L. cultivated in hydroponic systems deficient in macro- and micro elements. *Sci. Hortic.-Amsterdam*
- ANDRADE-CETTO A (2009). Ethnobotanical study of the medicinal plants from Tlanchinol, Hidalgo, México. *J. Ethnopharmacol.*, **122**: 163-171
- ARABACI T (2006). Türkiye’de yetişen *Achillea* L. (Asteraceae) cinsinin revizyonu. Doktora Tezi, İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
- ARDESTANI A, YAZDANPARAST R (2007). Antioxidant and free radical scavenging potential of *Achillea santolina* extracts. *FoodChem.*, **104**: 21-29
- ASGARY S, NADERI GH, ALIGHANADI A, GOLBON S (2010). Protective effect of some herbal medicine against oxidative hemolysis of human erythrocytes. *Oxidation and Atherogenesis*, 307
- BABAEI M, ABARGHOEI ME, AKHAVAN MM, ANSARI R, VAFAEI AA, TAHERIAN AA, MOUSAVI S, TOUSSY J (2007). Antimotility effect of hydroalcoholic extract of yarrow (*Achillea millefolium*) on the guinea-pig ileum. *Journal of Biological Science*, **10(20)**: 3673-3677
- BAHMANI M, ZARGARAN A, RAFIEIAN-KOPAEI M (2014). Identification of medicinal plants of Urmia for treatment of gastrointestinal disorders. *Rev. Bras. Farmacogn.*, **24**: 468-480
- BARETTA IP, FELIZARDO RA, BIMBATO VF, dos SANTOS MGJ, KASSUYA CAL, JUNIOR AG, da SILVA CR, de OLIVEIRA SM, FERREIRA J, ANDREATINI R (2012). Anxiolytic-like effects of acute and chronic treatment with *Achillea millefolium* L. extract. *J. Ethnopharmacol.*, **140**: 46-54
- BARRERO AF, CUERVA JM, ALVAREZ-MANZANEDA J, OLTRA JE, CHAHBOUN R (2002). First synthesis of achilleol A usingtitanium(III) chemistry. *Tetrahedron*, **43**: 2793-2796
- BENEDEK B, GEISZ N, JAGER W, THALHAMMER T, KOPP B (2006). Choleric effects of yarrow (*Achillea millefolium* s.l.) in the isolated perfused rat liver. *Phytomedicine*, **13**: 702-706

- BENEDEK B, KOPP B, MELZIG MF (2007). *Achillea millefolium* L. s.l. – Is the anti-inflammatory activity mediated by protease inhibition?. *J. Ethnopharmacol.*, **113**: 312-317
- BENEDEK B, ROTHWANGL-WILTSCHNIGG K, ROZEMA E, GJONCAJ N, REZNICEK G, JURENITSCH J, KOPP B, GLASL S (2008). Yarrow (*Achillea millefolium* L. s.l.): Pharmaceutical quality of commercial samples. *Pharmazie*, **63**: 23-26
- BIBI T, AHMAD M, TAREEN RB, TAREEN NM, JABEEN R, REHMAN SU, SULTANA S, ZAFAR M (2014). Ethnobotany of medicinal plants in district Mastung of Balochistan province-Pakistan. *J.Ethnopharmacol.*, **157**: 79-89
- BOCEVSKA M, SOVOVA H (2007). Supercritical CO₂ extraction of essential oil from yarrow. *J. of Supercritical Fluids*, **40**: 360-367
- BORRELLI F, ROMANO B, FASOLINO I, TAGLIATATELA-SCAFATI O, APREA G, CAPASSO R, CAPASSO F, COPPOLA-BOTTAZZI E, IZZO AA (2012). Prokinetic effect of a standardized yarrow (*Achillea millefolium*) extract and its constituent choline: studies in the mouse and human stomach. *Neurogastroent. Motil.*, **24**: 164-172
- BOSKABADY MH, FEIZPOUR A, BAYRAMI G, GHOLAMNEZHAD Z, SHAFEI MN (2011). Anticholinergic effect of *Achillea wilhelmsii* on guinea pig tracheal chain. *Clin. Biochem.*, **44(13)**: 346
- BOUDJERDA A, ZATER H, BENAYACHE S, CHALCHAT JC, GONZALEZ-PLATAS J, LEON F, BROUARD I, BERMEJO J, BENAYACHE F (2008). A new guaianolide and other constituents from *Achillea ligustica*. *Biochemical Systematics and Ecology*, **36**: 461-466
- BOUTENNOUN H, BOUSSOUF L, RAWASHDEH A, AL-QAOUUD, ABDELHAFEZ S, KEBIECHE M, MADANI K (2014). In vitro cytotoxic and antioxidant activities of phenolic components of Algerian *Achillea odorata* leaves. *Arabian Journal of Chemistry*
- BROUGHTON A (2011). An overview of Yellow Card reporting by NIMH practitioners. *Journal of Herbal Medicine*, **1**: 15-29
- CAKILCIOGLU U, KHATUN S, TURKOGLU I, HAYTA S (2011). Ethnopharmacological survey of medicinal plants in Maden (Elazig-Turkey). *J. Ethnopharmacol.*, **137**: 469-486
- CAKILCIOGLU U, TURKOGLU I (2010). An ethnobotanical survey of medicinal plants in Sivrice (Elazığ-Turkey). *J. Ethnopharmacol.*, **132**: 165-175

- CANDAN F, UNLU M, TEPE B, DAFERERA D, POLISSIOU M, SOKMEN A, AKPULAT HA (2003). Antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and methanol extracts of *Achillea millefolium* subsp. *millefolium* Afan. (Asteraceae). *J. Ethnopharmacol.*, **87**: 215-220
- CAS LD, PUGNI F, FICO G (2015). Tradition of use on medicinal species in Valfurva (Sondrio, Italy). *J. Ethnopharmacol.*, **163**: 113-134
- CAVALCANTI AM, BAGGIO CH, FREITAS CS, RIECK L, de SOUSA RS, SILVA-SANTOS JED, MESIA-VELA S, MARQUES MCA (2006). Safety and antiulcer efficacy studies of *Achillea millefolium* L. after chronic treatment in Wistar rats. *J. Ethnopharmacol.*, **107**: 277-284
- CAVERO RY, AKERRETA S, CALVO MI (2011). Pharmaceutical ethnobotany in the Middle Navarra (Iberian Peninsula). *J. Ethnopharmacol.*, **137**: 844-855
- CLIFFORD LJ, NAIR MG, RANA J, DEWITT DL (2002). Bioactivity of alkaloids isolated from *Echinacea purpurea* (L.) Moench. *Phytomedicine*, **9**: 249-253
- CORNARA L, LA ROCCA A, TERRIZZANO L, DENTE F, MARIOTTI MG (2014). Ethnobotanical and phytomedical knowledge in the North-Western Ligurian Alps. *J. Ethnopharmacol.*, **155**: 463-484
- CSUPOR-LOFFLER B, HAJDU Z, ZUPKO I, RETHY B, FALKAY G, FORGO P, HOHMANN J (2009). Antiproliferative effect of flavonoids and sesquiterpenoids from *Achillea millefolium* s.l. on cultured human tumour cell lines. *Phytother. Res.*, **23**: 672-676
- DALL'ACQUA S, BOLEGO C, CIGNARELLA A, GAION RM, INNOCENTI G (2011). Vasoprotective activity of standardized *Achillea millefolium* extract. *Phytomedicine*, **18**: 1031-1036
- DALSENTER PR, CAVALCANTI AM, ANDRADE AJM, ARAUJO SL, MARQUES MCA (2004). Reproductive evaluation of aqueous crude extract of *Achillea millefolium* L. (Asteraceae) in Wistar rats. *Reprod. Toxicol.*, **18**: 819-823
- DAUR I (2015). Chemical composition of selected Saudi medicinal plants. *Arabian Journal of Chemistry*, **8**: 329-332
- DAVIS PH (1975). Flora of Turkey and the East Aegean Islands: Volume 5 *Edinb. Un. Press, Edinburg.*
- DEMİREL MA, SUNTAR I, ILHAN M, KELES H, AKKOL EK (2014). Experimental endometriosis remission in rats treated with *Achillea biebersteinii* Afan.: Histopathological evaluation and determination of cytokine levels. *Eur. J. Obstet. Gyn. R. B.*, **175**: 172-177

- de SOUZA P, CRESTANI S, da SILVA RCV, GASPAROTTO F, KASSUYA CAL, da SILVA-SANTOS JE, JUNIOR AG (2013). Involvement of bradykinin and prostaglandins in the diuretic effects of *Achillea millefolium* L. (Asteraceae). *J. Ethnopharmacol.*, **149**: 157-161
- de SOUZA P, GASPAROTTO Jr A, CRESTANI S, STEFANELLO MEA, MARQUES MCA, da SILVA-SANTOS JE, KASSUYA CAL (2011). Hypotensive mechanism of the extracts and artemetin isolated from *Achillea millefolium* L. (Asteraceae) in rats. *Phytomedicine*, **18**: 819-825
- DIAS MI, BARROS L, DUENAS M, PEREIRE E, CARVALHO AM, ALVES RC, OLIVEIRA MBPP, SANTOS-BUELGA C, FERREIRA ICFR (2013). Chemical composition of wild and commercial *Achillea millefolium* L. and bioactivity of the methanolic extract, infusion and decoction. *Food Chem.*, **141**: 4152-4160
- DUARTE MCT, FIGUEIRA GM, SARTORATTO A, REHDER VLG, DELARMELINA C (2005). Anti-Candida activity of Brazilian medicinal plants. *J. Ethnopharmacol.*, **97**: 305-311
- EISSA TAF, PALOMINO OM, CARRETERO ME, GOMEZ-SERRANILLOS MP (2014). Ethnopharmacological study of medicinal plants used in the treatment of CNS disorders in Sinai Peninsula, Egypt. *J. Ethnopharmacol.*, **151**: 317-332
- FALCONIERI D, PIRAS A, PORCEDDA S, MARONGIU B, GONÇALVES MJ, CABRAL C, CAVALEIRO C, SALGUERIO (2011). Chemical composition and biological activity of the volatile extracts of *Achillea millefolium*. *Npc*, **6(10)**: 1527-1530
- GAMBOA-LEON R, CHILTON WS (2000). Isobutylamide numbing agents of toothache grass, *Ctenium aromaticum*. *Biochem. Syst. Ecol.*, **28**: 1019-1021
- GHANTOUS A, NASSER N, SAAB I, DARWICHE N, SALIBA NA (2009). Structure–activity relation ship of seco-tanaphthalides isolated from *Achillea falcata* for inhibition of HaCaT cell growth. *Eur. J. Med. Chem.*, **44**: 3794-3797
- GHARIBI S, TABATABAEI BES, SAEIDI G, GOLI SAH, TALEBI M (2013). Total phenolic content and antioxidant activity of three Iranian endemic *Achillea* species. *Ind. Crop. Prod.*, **50**: 154-158
- GLASL S, MUCAJI P, WERNER I, PRESSER A, JURENITSCH J (2002). Sesquiterpenes and flavonoid aglycones from a Hungarian taxon of the *Achillea millefolium* group. *Z. Naturforsch.*, **57c**: 976-982

- GÖKBULUT A (2015). Validated RP-HPLC method for quantification of phenolic compounds in methanol extracts of aerial parts and roots of *Thymus sipyleus* and evaluation of antioxidant potential. *Tropical J of Pharm Res.*, **514(10)**: 1871-1877
- GREGER H, HOFER O (1989). Polyenoic acid piperideides and other alkalamides from *Achillea millefolium*. *Phytochemistry*, **28(9)**: 2363-2368
- GREGER H, WERNER A (1990). Comparative HPLC analyses of alkalamides within the *Achillea millefolium* group. *Planta Med.*, **56(5)**: 482-486
- GUDAITYTE O, VENSKUTONIS PR (2007). Chemotypes of *Achillea millefolium* transferred from 14 different locations in Lithuania to the controlled environment. *Biochem. Syst. Ecol.*, **35**: 582-592
- FRAISSE D, FELGINES C, TEXIER O, LAMAISON JL (2011). Caffeoyl derivatives: Major antioxidant compounds of some wild herbs of the Asteraceae family. *Food and Nutrition Sciences*, **2**: 181-192
- Haidara K, Zamir L, Shi QW, Batist G (2006). The flavonoid Casticin has multiple mechanisms of tumor cytotoxicity action. *Cancer Lett.*, **242**: 180-190
- HANLIDOU E, KAROUSOU R, KLEFTOYANNI V, KOKKINI S (2004). The herbal market of Thessaloniki (N Greece) and its relation to the ethnobotanical tradition. *J. Ethnopharmacol.*, **91**: 281-289
- HARANDIZADEH F, NIAZMAND S, RASULI MB, HOSEINI SM, ZABIHI-NARGES A (2011). Investigating the relaxant effect of hydroalcoholic extract of *Achillea wilhelmsii* on isolated aorta in rat. *Clin. Biochem.*, **44(13)**: 354
- HASHEMINIA SM, SENDI JJ, JAHROMI KT, MOHARRAMIPOUR S (2011). The effects of *Artemisia annua* L. and *Achillea millefolium* L. crude leaf extracts on the toxicity, development, feeding efficiency and chemical activities of small cabbage *Pieris rapae* L. (Lepidoptera: Pieridae). *Pestic. Biochem. Phys.*, **99**: 244-249
- HASSAN Z, HUSSAIN H, AHMAD VU, ANJUM S, PPESCITELLÌ G, KURTAN T, KROHN K (2007). Absolute configuration of 1 β ,10 β -epoxy desacetoxo matricarin isolated from *Carthamus oxycantha* by means of TDDFT CD calculations. *Tetrahedron-Asymmetr.*, **18**: 2905-2909
- HAYTA S, POLAT R, SELVİ S (2014). Traditional uses of medicinal plants in Elazığ (Turkey). *J. Ethnopharmacol.*, **154**: 613-623
- HEMMATI AA, ARZI A, AMIN M (2002). Effect of *Achillea millefolium* extract in wound healing of rabbit. *J. Nat. Med.*, **2(2)**: 164-167

- HICHRI F, ZNATI M, JANNET HB, BOUJILA J (2015). A new sesquiterpene lactone and secoguaianolides from *Achillea cretica* L. growing in Tunisia. *Ind. Crop. Prod.*, **77**: 735-740
- INNOCENTI G, VEGETO E, DALL'ACQUA S, CIANA P, GIORGETTI M, AGRADI E, SOZZI A, FICO G, TOME F (2007). In vitro estrogenic activity of *Achillea millefolium* L.. *Phytomedicine*, **14**: 147-152
- JADHAV S, SHAH R, BHAVE M, PALOMBO EA (2013). Inhibitory activity of yarrow essential oil on *Listeria* planktonic cells and biofilms. *FoodControl*, **29**: 125-130
- JAIWALL R, KIPROTICH J, KUHNERT N (2011). Determination of the hydroxycinnamate profile of 12 members of the Asteraceae family. *Phytochemistry*, **72**: 781-790
- JALALI AS, HASANZADEH S, MALEKINEJAD H (2012). *Achillea millefolium* inflorescence aqueous extract ameliorates cyclophosphamide-induced toxicity in rat testis: stereological evidences. *Chinese Journal of Natural Medicines*, **10(4)**: 0247-0254
- JALALI FSS, TAJIK H, TEHRANI A (2007). Experimental evaluation of repair process of burn wound treated with aqueous extract of *Achillea millefolium* on animal model: Clinical and histopathological study. *J. Anim. Vet. Adv.*, **6(12)**: 1357-1361
- JARIC S, MACUKANOVIC-JOCIC M, DJURDJEVIC L, MITROVIC M, KOSTIC O, KARADZIC B, PAVLOVIC P (2015). An ethnobotanical survey of traditionally used plants on Suvaplanina mountain (south-eastern Serbia). *J.Ethnopharmacol.*, **175**: 93-108
- JARIC S, POPOVIC Z, MACUKANOVIC-JOCIC M, DJURDJEVIC L, MIJATOVIC M, KARADZIC B, MITROVIC M, PAVLOVIC P (2007). An ethnobotanical study on the usage of wild medicinal herbs from Kopaonik Mountain (Central Serbia). *J. Ethnopharmacol.*, **111**: 160-175
- JENABI E, FEREDOONY B (2014). The Effect of *Achillea millefolium* on relief of primary dysmenorrhea: A double-blind Randomized clinical trial. *J. Pediatr. Adol. Gynec.*, **28(5)**: 402-4
- JONSDOTTIR G, OMARSDOTTIR S, VIKINGSSON A, HARDARDOTTIR I, FREYSDOTTIR J (2011). Aqueous extracts from *Menyanthes trifoliata* and *Achillea millefolium* affect maturation of human dendritic cells and their activation of allogeneic CD4+ T cells in vitro. *J. Ethnopharmacol.*, **136**: 88-93

- KAYANI S, AHMAD M, ZAFAR M, SULTANA S, KHAN MPZ, ASHRAF MA, HUSSAIN J, YASSEEN G (2014). Ethnobotanical uses of medicinal plants for respiratory disorders among the inhabitants of Gallies–Abbottabad, Northern Pakistan. *J. Ethnopharmacol.*, **156**: 47-60
- KAZEMI M (2015). Chemical composition and antimicrobial, antioxidant activities and anti-inflammatory potential of *Achillea millefolium* L., *Anethum graveolens* L., and *Carum copticum* L. essential oils. *Journal of Herbal Medicine*
- KHAN AU, GILANI AU (2011). Blood pressure lowering, cardiovascular inhibitory and bronchodilatory actions of *Achillea millefolium*. *Phytother. Res.*, **25**: 577-583
- KINTZIOS S, PAPAGEORGIOU K, YIAKOUMETTIS I, BARICEVIC D, KUSAR A (2010). Evaluation of the antioxidants activities of four Slovene medicinal plant species by traditional and novel biosensory assays. *J Pharmaceut. Biomed.*, **53**: 773-776
- KOCEVAR N, GLAVAC I, INJAC R, KREFT S (2008). Comparison of capillary electrophoresis and high performance liquid chromatography for determination of flavonoids in *Achillea millefolium*. *J. Pharmaceut. Biomed.*, **46**: 609-614
- KOKOSKA L, POLESNY Z, RADA V, NEPOVIM A, VANEK T (2002). Screening of some Siberian medicinal plants for antimicrobial activity. *J. Ethnopharmacol.*, **82**: 51-53
- KORDALI S, CAKIR A, AKCIN TA, METE E, AKCIN A, AYDIN T, KILIC H (2009). Antifungal and herbicidal properties of essential oil and n-hexane extracts of *Achillea gypsicola* Hub-Mor. and *Achillea biebersteinii* Afan. (Asteraceae). *Ind. Crop. Prod.*, **29**: 562-570
- KUBELKA W, KASTNER U, GLASL S, SAUKEL J, JURENITSCH J (1999). Chemotaxonomic relevance of sesquiterpenes within the *Achillea millefolium* group. *Biochem. Syst. Ecol.*, **27**: 437-444
- KUMAR D, ARYA V, KAUR R, BHAT ZA, GUPTA VK, KUMAR V (2012). A review of immunomodulators in the Indian traditional health care system. *J. Microbiol. Immunol.*, **45**: 165-184
- KUNDAKOVIC T, MIMICA-DUKIC N, KOVACEVIC N (2005). Free radical scavenging activity of *Achillea alexandri-regis* extracts. *Fitoterapia*, **76**: 574-576
- LANS C, TURNER N, KHAN T, BRAUER G (2007). Ethnoveterinary medicines used to treat endoparasites and stomach problems in pigs and pets in British Columbia, Canada. *Vet. Parasitol.*, **148**: 325-340

- LIM TK (2014). Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants: Volume 7, Flowers. Springer, Dordrecht Heidelberg, New York, London. s.: 138-162
- LI Y, NI ZY, ZHU MC, ZHANG K, WU YB, DONG M, SHI QW, HUO CH, SAURIOL F, KIYOTA H, GU YC, CONG B (2012a). Millifolides A–C. New 1,10-Secoguaianolides from the flowers of *Achillea millefolium*. *Z. Naturforsch.*, **67**: 438-446
- LI Y, ZHANG ML, CONG B, WANG SM, DONG M, SAURIOL F, HUO CH, SHI QW, GU YC, KIYOTA H (2011). *Achillea millefolium* L. s.l. herb extract: Antioxidant activity and effect on therat heart mitochondrial functions. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **75(8)**: 1554-1556
- LI Y, ZHU MC, ZHANG ML, WANG YF, DONG M, SHI QW, HUO CH, SAURIOL F, KIYOTA H, GU YC, CONG B (2012b). Achillinin B and C, new sesquiterpene dimers isolated from *Achillea millefolium*. *Tetrahedron Lett.*, **53**: 2601-2603
- LOPES FCM, BENZATTI FB, MENDONÇA C, JUNIOR J, MOREIRA RRD, CARLOS IZ (2005). Effect of the essential oil of *Achillea millefolium* L. in the production of hydrogen peroxide and tumor necrosis factor- α in murine macrophages. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, **41(3)**: 401-406
- LOURENÇO PML, FIGUEIREDO AC, BARROSO JG, PEDRO LG, OLIVEIRA MM, DEANS SG, SCHEFFER JJC (1999). Essential oils from hairy root cultures and from plant roots of *Achillea millefolium*. *Phytochemistry*, **51**: 637-642
- MAGGI F, BRAMUCCI M, CECCHINI C, COMAN MM, CRESCI A, CRISTALLI G, LUPIDI G, PAPA F, QUASSINTI L, SAGRATINI G, VITTORI S (2009). Composition and biological activity of essential oil of *Achillea ligustica* All. (Asteraceae) naturalized in centralItaly: Ideal candidate for anti-cariogenic formulations. *Fitoteraopia*, **80**: 313-319
- MANAYI A, MIRNEZAMI T, SAEIDNIA S, AJANI Y (2012). Pharmacognostical evaluation, phytochemical analysis and antioxidant activity of the roots of *Achillea tenuifolia* LAM. *Pharmacognosy Journal*, **4(30)**: 14-19
- MARCHART E, KOPP B (2003). Capillary electrophoretic separation and quantification of flavone-O- and C-glycosides in *Achillea setacea* W. et K.. *J. Chromatogr. B*, **792**: 363-368
- MARTINEZ MJA, LAZARO RM, OLMO LMBD, BENITO PB (2008). Anti-infectious activity in the anthemideae tribe. *Natural Products Chemistry*, **35**: 445-516
- MARTKOPLISHVILI I, KVAVADZE E (2015). Some popular medicinal plants and diseases of the upper palaeolithic in Western Georgia. *J. Ethnopharmacol.*, **166**: 42-52

- McCUNE LM, JOHNS T (2007). Antioxidant activity relates to plant part, life form and growing condition in some diabetes remedies. *J. Ethnopharmacol.*, **112**: 461-469
- MEHLFUHRER M, TROLL K, JURENITSCH J, AUER H, KUBELKA W (1996). Betaines and free proline within the *Achillea millefolium* group. *Phytochemistry*, **44(6)**: 1067-1069
- MICALLEF B, ATTARD E, SERRACINO-INGLOTT A, BORG JJ (2015). Could EU herbal monographs contribute to Malta's treatment armamentarium?. *Phytomedicine*, **22**: 400-405
- MILLER FM, CHOW LM (1954). Alkaloids of *Achillea millefolium* L. I. Isolation and Characterization of Achilleine. *J. Am. Chem. Soc.*, **76(5)**:1353–1354
- MILUTINOVIC M, RADOVANOVIC N, COROVIC M, SILER-MARINKOVIC S, RAJILIC-STOJANOVIC M, DIMITRIJEVIC-BRANKOVIC S (2015). Optimisation of microwave-assisted extraction parameters for antioxidants from waste *Achillea millefolium* dust. *Ind. Crop. Prod.*, **77**: 333-341
- MIRANZADEH S, ADIB-HAJBAGHERY M, SOLEYMANPOOR L, EHSANI M (2014). Effect of adding the herb *Achillea millefolium* on mouthwash on chemotherapy induced oral mucositis in cancer patients: A double-blind randomized controlled trial. *Eur. J. Oncol. Nurs.*, **30**: 1-7
- MOCKUTE D, JUDZENTIENE A (2003). Variability of the essential oils composition of *Achillea millefolium* ssp. *millefolium* growing wild in Lithuania. *Biochem. Syst. Ecol.*, **31**: 1033-1045
- MOHAMED MIE, ABDELGALEIL SAM (2008). Chemical composition and insecticidal potential of essential oils from Egyptian plants against *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae) and *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Appl. Entomol. Zool.*, **43(4)**: 599-607
- MOLINA-HERNANDEZ M, TELLEZ-ALCANTARA NP, DIAZ MA, GARCIA JP, LOPEZ JIO, JARAMILLO MT (2004). Anticonflict actions of aqueous extracts of flowers of *Achillea millefolium* L. vary according to the estrous cycle phases in wistar rats. *Phytother Res.*, **18**: 915-920
- MONTANARI T, de CARVALHO JE, DOLDER H (1998). Antispermatic Effect of *Achillea millefolium* L. in mice. *Contraception*, **58**: 309-313
- MORADI MT, RAFIEIAN-KOUPAEI M, IMANI-RASTABI R, NASIRI J, SHAHRANI M, RABIEI Z, ALIBABAEI Z (2013). Antispasmodic effects of yarrow (*Achillea millefolium* L.) extract in the isolated ileum of rat. *Afr. J. Tradit. Complement Altern. Med.*, **10(6)**: 499-503

- MUSTAFA KG, GANAI BA, AKBAR S, DAR MY, MASOOD A (2012). β -cell protective efficacy, hypoglycemic and hypolipidemic effects of extracts of *Achillea millefolium* in diabetic rats. *Chinese Journal of Natural Medicines*, **10(3)**: 0185-0189
- NAEINI A, KHOSRAVI AR, CHITSAZ M, SHOKRI H, KAMLNEJAD M (2009). Anti-Candida albicans activity of some Iranian plants used in traditional medicine. *Journal de Mycologie Médicale*, **19**: 168-172
- NAHGIBI F, KHALAJ A, MOSADDEGH M, MALEKMOHAMADI M, HAMZELO-MOGHADAM M (2014). Cytotoxic activity evaluation of some medicinal plants, selected from Iranian traditional medicine Pharmacopoeia to treat cancer and related disorders. *J.Ethnopharmacol.*, **155**: 230-239
- NENAAH GE (2014). Bioactivity of powders and essential oils of three Asteraceae plants as post-harvest grain protectants against three major coleopteran pests. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, **17**: 701-709
- NENAAH GE (2014). Chemical composition, toxicity and growth inhibitory activities of essential oils of three *Achillea* species and their nano-emulsions against *Tribolium castaneum* (Herbst). *Ind. Crop. Prod.*, **53**: 252-260
- NENAAH GE, IBRAHIM SIA, AL-ASSIUTY B (2015). Chemical composition, insecticidal activity and persistence of three Asteraceae essential oils and their nanoemulsions against *Callosobruchus maculatus* (F.). *J. Stored Prod. Res.*, **61**: 9-16
- ÖZBİLGİN A, DURMUŞKAHYA C, KİLİMCİOĞLU AA, KAYALAR H, KURT Ö, ERMİŞ VÖ, TABAK T, ÖSTAN İ (2013). In vitro efficacy of *Quercus infectoria* Oliv. and *Achillea millefolium* L. extracts against *Blastocystis* spp. isolates. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.*, **19(3)**: 511-516
- PADUCH R, MATYSIK G, NOWAK-KRYSKA M, NIEDZIELA P, KANDEFER-SZERSZEN M (2008). Essential oil composition and in vitro biological activity of *Achillea millefolium* L. extracts. *Journal of Pre-Clinical and Clinical Research*, **2(1)**: 049-058
- PAIN S, ALTOBELLI C, BOHER A, CITTADINI L, FAVRE-MERCURET M, GAILLARD C, SOHM B, VOGELGESANG B, ANDRE-FREI V (2011). Surface rejuvenating effect of *Achillea millefolium* extract. *Int. J. Cosmetic Sci.*, **33**: 535-542
- PEIRCE A (1999). Practical Guide to Natural Medicines
- PETKOU D, DIAMANTIDIS G, VASILAKAKIS M (2002). Arbutin oxidation by pear (*Pyrus communis* L.) peroxidases. *PlantSci.*, **162**: 115-119

- PETLEVSKI R, HADJIZA M, SLIJEPCEVIC M, JURETIC D (2001). Effect of 'antidiabetis' herbal preparation on serum glucose and fructosamine in NOD mice. *J. Ethnopharmacol.*, **75**: 181-184
- PIRES JM, MENDES FR, NEGRI G, DUARTE-ALMEIDA JM, CARLINI EA (2009). Antinociceptive peripheral effect of *Achillea millefolium* L. and *Artemisia vulgaris* L.: Both plants known popularly by brand names of analgesic drugs. *Phytother. Res.*, **23**: 212-219
- POLAT R, CAKILCIOGLU U, SATIL F (2013). Traditional uses of medicinal plants in Solhan (Bingöl—Turkey). *J. Ethnopharmacol.*, **148**: 951-963
- POLATOĞLU K, KARAKOÇ ÖC, GÖREN N (2013). Phytotoxic, DPPH scavenging, insecticidal activities and essential oil composition of *Achillea vermicularis*, *A. teretifolia* and proposed chemotypes of *A. biebersteinii* (Asteraceae). *Ind. Crop. Prod.*, **51**: 35-45
- POTRICH FB, ALLEMAND A, da SILVA LM, dos SANTOS AC, BAGGIO CH, FREITAS CS, MENDES DAGB, ANDRE E, WERNER MFDP MARQUES MCA (2010). Antiulcerogenic activity of hydroalcoholic extract of *Achillea millefolium* L.: Involvement of the antioxidant system. *J. Ethnopharmacol.*, **130**: 85-92
- RADULOVIC NS, DEKIC MS, RANDELOVIC PJ, STOJANOVIC NM, ZARUBICA AR, STOJANOVIC-RADIC ZZ (2012). Toxic essential oils: Anxiolytic, antinociceptive and antimicrobial properties of the yarrow *Achillea umbellata* Sibth. et Sm. (Asteraceae) volatiles. *FoodChem. Toxicol.*, **50**: 2016-2026
- RADULOVIC N, STOJANOVIC G, ASAKAWA Y (2006). Hydroxycinnamoyl conjugates from the roots of *Achillea holosericea* Sibth. et Sm.. *Biochemical Systematics and Ecology*, **34**: 83-87
- RADULOVIC NS, MLADENOVIC MZ, RANDJELOVIC PJ, STOJANOVIC NM, DEKIC MS, BLAGOJEVIC PD (2015). Toxic essential oils. Part IV: The essential oil of *Achillea falcata* L. as a source of biologically/pharmacologically active trans-sabinylesters. *FoodChem. Toxicol.*, **80**: 114-129
- RAHIMMALEK M, TABATABAEI BES, ETEMADI N, GOLI SAH, ARZANI A, ZEINALI H (2009). Essential oil variation among and within six *Achillea* species transferred from different ecological regions in Iran to the field conditions. *Ind. Crop. Prod.*, **29**: 348-355
- RAO PK, HASAN SS, BHELLUM BL, MANHAS RK (2015). Ethnomedicinal plants of Kathua district, J&K, India. *J. Ethnopharmacol.*, **171**: 12-27

- REZAEIPOOR R, SAEIDNIA S, KAMALINEJAD M (1999). Immunosuppressive activity of *Achillea talagonica* on humoral immuneresponses in experimental animals. *J.Ethnopharmacol.*, **65**: 273-276
- RIGAT M, VALLES J, D'AMBROSIO U, GRAS A, IGLESIAS J, GARNATJE T (2015). Plants with topical uses in the Ripollès district (Pyrenees, Catalonia, Iberian Peninsula): Ethnobotanical survey and pharmacological validation in the literature. *J. Ethnopharmacol.*, **164**: 162-179
- ROMERO CD, CHOPIN SF, BUCK G, MARTINEZ E, GARCIA M, BIXBY L (2005). Antibacterial properties of common herbal remedies of the southwest. *J. Ethnopharmacol.*, **99**: 253-257
- SAEIDNIA S, YASSA N, REZAEIPOOR R (2011). Comparative investigation of the essential oils of *Achillea talagonica* Boiss. and *A. millefolium*, chemical composition and immunological studies. *J. Essent. Oil Res.*, **16**: 262-265
- SAKI K, BAHMANI M, RAFIEIAN-KOPAEI M, HASSANZADAZAR H, DEHGHAN K, BAHMANI F, ASADZADEH J (2014). The most common native medicinal plants used for psychiatric and neurological disorders in Urmia city, northwest of Iran. *Asian Pac. J. Trop. Dis.*, **4**: 895-901
- SALARBASHI D, BAZZAZ BSF, KARIMKHANI MM, NOGHABI ZS, KHANZADEH F, SAHEBKAR A (2014). Oil stability index and biological activities of *Achillea biebersteinii* and *Achillea wilhelmsii* extracts as influenced by various ultrasound intensities. *Ind. Crop. Prod.*, **55**: 163-172
- SANTORO GF, CARDOSO MG, GUIMARAES LGL, MENDONÇA LZ, SOARES MJ (2007). *Trypanosoma cruzi*: Activity of essential oils from *Achillea millefolium* L., *Syzygium aromaticum* L. and *Ocimum basilicum* L. on epimastigotes and trypomastigotes. *Exp. Parasitol.*, **116**: 283-290
- SAVIKIN K, ZDUNIC G, MENKOVIC N, ZIVKOVIC J, CUCIJ N, TERESCENKO M, BIGOVIC D (2013). Ethnobotanical study on traditional use of medicinal plants in South-Western Serbia, Zlatibor district. *J. Ethnopharmacol.*, **146**: 803-810
- SEVİNDİK HG, GÜVENALP Z, YERDELEN KÖ, YUCA H, DEMIREZER LÖ (2015). The discovery of potential anticholinesterase compounds from *Achillea millefolium* L.. *Ind. Crop. Prod.*, **76**: 873-879
- SEZİK E, YESİLADA E, SHADIDOYATOV H, KULIYEV Z, NIGMATULLAEV AM, ARIPOV HN, TAKAISHI Y, TAKEDA Y, HONDA G (2004). Folk medicine in Uzbekistan I. Toshkent, Djizzax, and Samarqand provinces. *J. Ethnopharmacol.*, **92**: 197-207

- SHAFAGHAT A, PIRFARSHI F, SHAFAGHATLONBAR M (2014). Luteolin derivatives and antimicrobial activity of *Achillea tenuifolia* Lam. methanol extract. *Ind. Crop. Prod.*, **62**: 533-536
- SHARMA PK, CHAUHAN NS, LAL B (2004). Observations on the traditional phytotherapy among the inhabitants of Parvati valley in western Himalaya, India. *J. Ethnopharmacol.*, **92**: 167-176
- SI XT, ZHANG ML, SHI QW, KIYOTA H (2006). Chemical constituents of the plants in the genus *Achillea*. *Chem. Biodivers.*, **3(11)**: 1163-1180
- SKOCIBUSIC M, BEZIC N, DUNKIC V, RADONIC A (2004). Antibacterial activity of *Achillea clavennae* essential oil against respiratory tract pathogens. *Fitoterapia*, **75**: 733-736
- SOLTAN MM, ZAKI AK (2009). Antiviral screening of forty-two Egyptian medicinal plants. *J.Ethnopharmacol.*, **126**: 102-107
- SOUKAND R, KALLE R (2012). The use of teetaimed in Estonia, 1880s–1990s. *Appetite*, **59**: 523-530
- SOUKAND R, KALLE R (2013). Where does the border lie: Locally grown plants used formaking tea for recreation and/or healing, 1970s–1990s Estonia. *J. Ethnopharmacol.*, **150**: 162-174
- STOJANOVIC G, HASHIMOTO T, ASAKAWA Y, PALIC R (2005). Chemical composition of the *Achillea lingulata* extract. *Biochemical Systematics and Ecology*, **33**: 207-210
- STOJANOVIC G, RADULOVIC N, HASHIMOTO T, PALIC R (2005). In vitro antimicrobial activity of extracts of four *Achillea* species: The composition of *Achillea clavennae* L. (Asteraceae) extract. *J. Ethnopharmacol.*, **101**: 185-190
- TAKZAREE N, MORTAZAVI H, SAFAIE S, HOSSEINI SJ (2008). Assessment the effect of *Achillea millefolium* L. extract on spermatogenesis and its reversibility. *Toxicol. Lett.*, **180**: 203-204
- TARIQ KA, CHISHTI MZ, AHMAD F, SHAWL AS (2008). Anthelmintic efficacy of *Achillea millifolium* against gastrointestinal nematodes of sheep: in vitro and in vivo studies. *J. Helminthol.*, **82**: 227-233
- TATLI II, SAHPAZ S, AKKOL EK, MARTIN-NIZARD F, GRESSIER B, EZER N, FRANÇOIS B (2009). Antioxidant, anti-inflammatory, and antinociceptive activities of Turkish medicinal plants. *Pharm. Biol.*, **47(9)**: 916-921

- TETİK F, CİVELEK S, ÇAKILCIOĞLU U (2013). Traditional uses of some medicinal plants in Malatya (Turkey). *J. Ethnopharmacol.*, **146**: 331-346
- TODOROVA M, TRENDAFILOVA A, MIKHOVA B, VITKOVA A, DUDDECK H (2007). Chemotypes in *Achillea collina* based on sesquiterpene lactone profile. *Phytochemistry*, **68**: 1722-1730
- TODOROVA M, TRENDAFILOVA A, MIKHOVA B, VITKOVA A, DUDDECK H (2007). Terpenoids from *Achillea distans* Waldst. & Kit. ex Willd. *Biochem. Syst. Ecol.*, **35**: 852-858
- TODOROVA MN, MIKHOVA B, TRENDAFILOVA A, VITKOVA A, DUDDECK H, ANCHEV M (2006). Sesquiterpene lactones from *Achillea asplenifolia*. *Biochemical Systematics and Ecology*, **34**: 136-143
- TOSUN F, AKYÜZ-KIZILAY Ç, ŞENER B, VURAL M, PALITTAPONGARNPIM P (2004). Antimycobacterial screening of some Turkish plants. *J. Ethnopharmacol.*, **95**: 273-275
- TOZLU E, ÇAKIR A, KORDALI S, TOZLU G, ÖZER H, AKCİN TA (2011). Chemical compositions and insecticidal effects of essential oils isolated from *Achillea gypsicola*, *Satureja hortensis*, *Origanum acutidens* and *Hypericum scabrum* against broadbean weevil (*Bruchus dentipes*). *Sci. Hortic.-Amsterdam*, **130**: 9-17
- TRENDAFILOVA A, TODOROVA M, MIKHOVA B, VITKOVA A, DUDDECK H (2006). Sesquiterpene lactones from *Achillea collina* J. Becker ex Reichenb.. *Phytochemistry*, **67**: 764-770
- TRIBESS B, PINTARELLI GM, BINI LA, CAMARGO A, FUNEZ LA, de GASPER AL, ZENI ALB (2015). Ethnobotanical study of plants used for therapeutic purposes in the Atlantic Forest region, Southern Brazil. *J. Ethnopharmacol.*, **164**: 136-146
- TRIFUNOVIC S, ALJANCIC I, VAJS V, MACURA S, MILOSAVLJEVIC S (2005). Sesquiterpene lactones and flavonoids of *Achillea depressa*. *Biochemical Systematics and Ecology*, **33**: 317-322
- TRIFUNOVIC S, VAJS V, JURANIC Z, ZIZAK Z, TESEVIC V, MACURA S, MILOSAVLJEVIC S (2006). Cytotoxic constituents of *Achillea clavennae* from Montenegro. *Phytochemistry*, **67**: 887-893
- TRIFUNOVIC S, VAJS V, JURANIC Z, ZIZAK Z, TESEVIC V, MACURA S, MILOSAVLJEVIC S (2006). Cytotoxic constituents of *Achillea clavennae* from Montenegro. *Phytochemistry*, **67**: 887-893

- TRIFUNOVIC S, VAJS V, TESEVIC V, DJOKOVIC D, MILOSAVLJEVIC S (2003). Lignans from the plant species *Achillea lingulata*. *J. Serb. Chem. Soc.*, **68(4-5)**: 277-280
- TROUILLAS P, CALLISTE CA, ALLAIS DP, SIMON A, MARFAK A, DELAGE C, DUROUX JL (2003). Antioxidant, anti-inflammatory and antiproliferative properties of sixteen water plant extracts used in the Limousin countryside as herbal teas. *Food Chem.*, **80**: 399-407
- TRUMBECKAITE S, BENETIS R, BUMBLAUSKIENE L, BURDULIS D, JANULIS V, TOLEIKIS A, VISKELIS P, JAKSTAS V (2011). *Achillea millefolium* L. s.l. herb extract: Antioxidant activity and effect on the rat heart mitochondrial functions. *Food Chem.*, **127**: 1540-1548
- TUBEROSO CIG, MONTORO P, PIACENTE S, CORONA G, DEIANA M, DESSI MA, PIZZA C, CABRAS P (2009). Flavonoid characterization and antioxidant activity of hydroalcoholic extracts from *Achillea ligustica* All.. *J Pharmaceut. Biomed.*, **50**: 440-448
- ÜNLÜ M, DAFERERA D, DÖNMEZ E, POLISSIOU M, TEPE B, SÖKMEN A (2002). Compositions and the in vitro antimicrobial activities of the essential oils of *Achillea setacea* and *Achillea teretifolia* (Compositae). *J.Ethnopharmacol.*, **83**: 117-121
- VALANT-VETSCHERA KM, WOLLENWEBER E (2001). Exudate flavonoid aglycones in the alpine species of *Achillea* sect. *Ptarmica*: Chemosystematics of *A. moschata* and related species (Compositae-Anthemideae). *Biochem. Syst. Ecol.*, **29**: 149-159
- VIEIRA LM, KIJOA A, PEREIRA JA, GEDRIS TE, HERZ W (1997). Germacranes and flavonoids from *Achillea ageratum*. *Phytochemistry*, **45(1)**: 111-115
- VITALINI S, BERETTA G, IRITI M, ORSENIGO S, BASILICO N, DALL'ACQUA S, IORIZZI M, FICO G (2011). Phenolic compounds from *Achillea millefolium* L. and their bioactivity. *Acta Biochimica Polonica*, **58(2)**: 203-209
- VITALINI S, IRITI M, PURICELLI C, CIUCHI D, SEGALE A, FICO G (2013). Traditional knowledge on medicinal and food plants used in Val San Giacomo (Sondrio, Italy)—An alpine ethnobotanical study. *J. Ethnopharmacol.*, **145**: 517-529
- VITALINI S, TOME F, FICO G (2009). Traditional uses of medicinal plants in Valvestino (Italy). *J. Ethnopharmacol.*, **121**: 106-116
- WATKINS F, PENDRY B, CORCORAN O, SANCHEZ-MEDINA A (2011). Anglo-Saxon pharmacopoeia revisited: a potential treasure in drug discovery. *Drug Discov. Today*, **16**: 1069-1075

- WOJDYLO A, OSMIANSKI J, CZEMERYYS R (2007). Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chem.*, **105**: 940-949
- YAEESH S, JAMAL Q, KHAN AU, GILANI AH (2006). Studies on hepatoprotective, antispasmodic and calcium antagonist activities of the aqueous-methanol extract of *Achillea millefolium*. *Phytother. Res.*, **20**: 546-551
- YASSA N, SAEIDNNIA S, PIROUZI R, AKBARIPOUR M, SHAFIEE A (2007). Three phenolic glycosides and immunological properties of *Achillea millefolium* from Iran, population of Golestan. *Daru.*, **15(1)**: 49-52
- YAZDANPARAST R, ARDESTANI A, JAMSHIDI S (2007). Experimental diabetes treated with *Achillea santolina*: Effect on pancreatic oxidative parameters. *J. Ethnopharmacol.*, **12**: 13-18
- ZAIDI SF, MUHAMMAD JS, SHAHRYAR S, USMANGHANI K, GILANI AH, JAFRI W, SUGIYAMA T (2012). Anti-inflammatory and cytoprotective effects of selected Pakistani medicinal plants in *Helicobacter pylori*-infected gastric epithelial cells. *J. Ethnopharmacol.*, **141**: 403-410

ÖZGEÇMİŞ

I. Bireysel Bilgiler

Adı : Selman
Soyadı : ŞABANOĞLU
Doğum yeri ve tarihi : Kayseri – 05.01.1991
Uyruğu : T.C.
Medeni durumu : Bekar
İletişim adresi ve telefon :Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Farmakognozi Anabilim dalı - 0 554 981 82 73

II. Eğitimi

2008-2013 Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi (Ankara)
2004-2008 Suluova Şehit Metehan Atmaca Anadolu Lisesi
(Amasya-Suluova)
1999-2004 Bolat İlköğretim Okulu (Amasya-Suluova)
1996-2004 Mahmut Hümayun Özhelvacı İlköğretim Okulu
(Gaziantep-Şehitkamil)

Yabancı Dili İngilizce

III. Ünvanları

2013 - Eczacı

IV. Mesleki Deneyimi

2013 – (Devam Ediyor) Araştırma görevlisi
(Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Farmakognozi Anabilim Dalı)

V. Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

Farmakognozi ve Fitoterapi Derneği

VI. Bilimsel İlgi Alanları

ŞABANOĞLU S, GÖKBULUT A, ALTUN ML (2016). Antioxidant potential, Total Phenolic Content and HPLC Analysis of *Achillea coarctata*. 20th International Congress Phytopharm 2016, 13-14 July, 2016 St-Petersburg, Russia.

ŞABANOĞLU S, GÖKBULUT A, ALTUN ML (2015). Total Phenolic Contents, Antioxidant Potential and Phenolic Compound Profiles of Three *Achillea* Species. 11th International Symposium on Pharmaceutical Sciences, 9-12 June, Ankara, Turkey

Şabanoğlu S, Khazneh E, Saltan G, Tekin M, Acıkara-Bahadır Ö, Ergene B (2014). *Achillea sintenisii* Hub. Mor. Türünün Fenolik Bileşiklerinin Araştırılması. 21. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, 28 Mayıs-1 Haziran, Ürgüp, Turkey.

VII. Bilimsel Etkinlikleri

Achillea millefolium L. ve Önemi, 2015 (Yüksek Lisans Semineri)

Achillea türlerinden Biyolojik Olarak Aktif Metabolitlerin Ayrılması, 2013 (Lisans Dönem Projesi)

VIII-Diğer Bilgiler