

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

**(DOKTORA TEZİ)**

**DROSANTHE VE TAENIOCARPIUM SEKSİYONLARINA  
AİT BAZI ENDEMİK HYPERICUM TÜRLERİNİN  
KİMYASAL BİLEŞİMİ VE BİYOLOJİK AKTİVİTE  
YÖNÜNDEN İNCELENMESİ**

**ESRA EROĞLU ÖZKAN**

**DANIŞMAN  
PROF.DR. AFİFE MAT**

**FARMAKOGNOZİ ANABİLİM DALI  
FARMAKOGNOZİ PROGRAMI**

**İSTANBUL-2011**

**TEZ ONAYI**

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakognozi Anabilim Dalı Farmakognozi Programında Esra EROĞLU ÖZKAN tarafından hazırlanan "Drosanthe ve Taeniocarpium Seksiyonlarına Ait Bazı Endemik Hypericum Türlerinin Kimyasal Bileşimi ve Biyolojik Aktivite Yönünden İncelenmesi" başlıklı Doktora tezi, yapılan tez sınavında Jürimiz tarafından başarılı bulunarak kabul edilmiştir.

29 / 12 / 2011

Tez Sınav Jürisi

<u>Ünvanı Adı Soyadı (Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı)</u>	<u>İmzası</u>
1.Prof.Dr. Afife MAT, İstanbul Ün., Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi A.B.D.	
2.Prof.Dr. Ali H. MERİÇLİ, İstanbul Ün., Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi A.B.D.	
3.Prof.Dr. Betül DEMİRCİ, Anadolu Ün., Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi A.B.D.	
4.Doç.Dr. Gül ÖZHAN, İstanbul Ün., Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Toksikoloji A.B.D.	
5.Doç.Dr. Şükran KÜLTÜR, İstanbul Ün., Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Botanik A.B.D.	

**BEYAN**

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

ESRA EROĞLU ÖZKAN



## İTHAF

Hayatımdaki en değerli ve en güzel insan,

anneme...

## TEŞEKKÜR

Bu tezin hazırlanması için gerekli olanakları sağlayan Farmakognozi Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof.Dr. Ali H. Meriçli ve tezimin her aşamasında değerli bilgileri, deneyimleri ve güler yüzü ile bana destek olan Sayın Hocam Prof.Dr. Afife Mat'a saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarım esnasında bana destek olan Farmakognozi Anabilim Dalı öğretim üyeleri, yardımcıları ve elemanlarına teşekkürlerimi sunarım.

Bitkinin teşhisinde ve botanik açıdan incelenmesinde yardımcı olan Farmasötik Botanik Anabilim Dalı Başkanı Prof.Dr. Neriman Özhatay ve Doç.Dr. Şükran Kültür'e teşekkür ederim.

Tezimin antimikrobiyal aktivite çalışmalarını yürütmeme olanak sağlayan Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof.Dr. Gülten Ötük'e ve çalışmalarımda yardımını esirgemeyen Doç.Dr. Berna Özbek Çelik'e teşekkür ederim.

Antioksidan aktivite çalışmalarımda laboratuvar desteği sağlayan Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Prof.Dr. Ayşe Can'a, bilgi ve deneyimlerini paylaşmaktan kaçınmayan Yrd.Doç.Dr. Nurten Özsoy'a teşekkür ederim.

Sitotoksik aktivite çalışmalarımı yürütmeme olanak sağlayan Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof.Dr. Buket Alpertunga'ya, zaman ve emek sarfederek yardımlarını esirgemeyen Doç.Dr. Gül Özhan'a teşekkür ederim.

YBSK ile ilgili sorularımı her zaman sabırla yanıtlayan arkadaşım Sena'ya; her türlü sıkıntımı ve sevincimi paylaşan, hep yanımda olan arkadaşlarım Elif, Mercan, Gökçe ve Serpil'e varlıkları ve dostlukları için teşekkür ederim.

Uzun süren öğrencilik hayatımın bu son aşamasına kadar her daim arkamda ve yanımda olan, bana inanan ve güvenen canım annem ve babama en içten sevgi, saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

İnancı, sabrı ve desteği ile her zaman yanımda olan, bu çalışmayı gerçekleştirebilmem için fedakarlığını esirgemeyen sevgili eşim Koray Özdal Özkan'a çok teşekkür ederim.

Bu çalışmayı destekleyen İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne teşekkür ederim.



*Hypericum spectabile* / Arapgir – Malatya (ISTE 93192)



*Hypericum pseudolaeve* / Arapgir – Malatya (ISTE 93193)



*Hypericum thymbrifolium* / Darende – Malatya (ISTE 93194)



*Hypericum neurocalycinum* / Hadim – Konya (ISTE 93195)



*Hypericum malatyanum* / Doğanşehir – Malatya (ISTE 93196)





*Hypericum perforatum* / Kemaliye – Erzincan (ISTE 93197)

Fotoğraflar: Esra EROĞLU ÖZKAN

## İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI .....	İİ
BEYAN.....	İİİ
İTHAF.....	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER .....	X
TABLolar LİSTESİ.....	XIV
ŞEKİLLER LİSTESİ .....	XVIII
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ .....	XXIV
ÖZET .....	XXVII
ABSTRACT.....	XXVIII
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	4
2.1. Botanik Bölüm .....	4
2.1.1. Hypericaceae (Guttiferae, Clusiaceae) Familyası.....	4
2.1.2. <i>Hypericum</i> L. Cinsi Genel Özellikleri .....	4
2.1.3. <i>Drosanthe</i> (Spach) Endl. Seksiyonu Genel Özellikleri.....	5
2.1.3.1. <i>Hypericum spectabile</i> Jaub. & Spach.....	7
2.1.3.2. <i>Hypericum pseudolaeve</i> Robson .....	7
2.1.3.3. <i>Hypericum thymbriifolium</i> Boiss. & Noë.....	8
2.1.4. <i>Taeniocarpium</i> Jaub. & Spach. Seksiyonu Genel Özellikleri.....	9
2.1.4.1. <i>Hypericum neurocalycinum</i> Boiss. & Heldr. ....	10
2.1.4.2. <i>Hypericum malatyanum</i> Peşmen.....	10
2.1.5. <i>Hypericum</i> Seksiyonu Genel Özellikleri .....	11
2.1.5.1. <i>Hypericum perforatum</i> L.....	12
2.2. Kimyasal Bölüm .....	13
2.2.1. Naftodiantron Türevi Bileşikler .....	13
2.2.2. Floroglusinol Türevi Bileşikler.....	14
2.2.3. Flavonoidler .....	18
2.2.4. Fenolik Asitler.....	20
2.2.5. Tanenler ve Proantosiyanidinler .....	22

2.2.6. Ksanton Türevleri .....	22
2.2.7. Uçucu Yağ Bileşikleri .....	24
2.3. Farmakolojik Bölüm .....	25
2.3.1. Antidepresan Aktivite .....	27
2.3.2. Antimikrobiyal Aktivite .....	29
2.3.3. Antioksidan Aktivite .....	35
2.3.4. Sitotoksik Aktivite .....	39
2.3.5. Antiinflamatuvar Etkisi .....	41
2.3.6. Analjezik Etkisi .....	43
2.3.7. Yara İyileştirici Etkisi .....	44
2.3.8. Premenstrüal Sendrom Üzerine Etkisi .....	45
2.3.9. Bağımlılık Üzerine Etkisi .....	46
2.3.10. Diğer Etkileri .....	48
2.3.11. Farmakokinetik Özellikleri .....	48
2.3.12. Yan Etkileri ve Kontrendikasyonları .....	49
2.3.13. Gebelikte Kullanımı .....	51
2.3.14. İlaç Etkileşimleri .....	51
2.3.15. Toksisitesi .....	52
3. GEREÇ VE YÖNTEM .....	54
3.1. Materyal .....	54
3.2. Genel Metotlar .....	55
3.2.1. Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi ile Miktar Tayini .....	55
3.2.1.1. Naftodiantron, Floroglusinol Türevi Bileşiklerin ve Fenolik Bileşiklerin Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (YBSK) İle Analizi .....	55
3.2.1.2. Ekstrelerin ve Örnek Çözeltilerin Hazırlanması .....	58
3.2.1.3. Standart Çözeltilerin Hazırlanması .....	59
3.2.1.4. Ölçü Eğrisi Hazırlanması .....	59
3.2.2. <i>In vitro</i> Antioksidan Aktivite Araştırması .....	59
3.2.2.1. Ekstrelerin Hazırlanması .....	59
3.2.2.2. Kullanılan Aletler .....	59
3.2.2.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler .....	59
3.2.2.4. Kullanılan Çözeltiler .....	60
3.2.2.5. Fenolik Bileşiklerin Miktar Tayini .....	61

3.2.2.6. Flavonoit Miktar Tayini .....	62
3.2.2.7. <i>Hypericum</i> Ekstrelerinin Demir (III) - Askorbik Asit ile İndüklenmiş Fosfatidilkolin Lipozomlarının Peroksidasyonu Üzerine Antioksidan Etkisi .....	62
3.2.2.8. Süperoksit Anyonu Giderici Aktivite Tayini .....	65
3.2.2.9. DPPH Radikali Giderici Aktivite Tayini .....	66
3.2.2.10. Ferri İyonu Redükleyici Gücü.....	67
3.2.2.11. İstatiksel Değerlendirme .....	68
3.2.3. <i>In vitro</i> Sitotoksik Aktivite Tayini Araştırması .....	68
3.2.3.1. Ekstrelerin Hazırlanması.....	68
3.2.3.2. Kullanılan Aletler.....	68
3.2.3.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler .....	68
3.2.3.4. Kullanılan Hücreler ve Hücrelerin Hazırlanması.....	69
3.2.3.5. LDH Sitotoksikite Belirleme Testi .....	69
3.2.3.6. WST-1 Hücre Proliferasyonu Ölçümü Testi.....	71
3.2.4. Antimikrobiyal Aktivite Araştırması .....	73
4. BULGULAR.....	75
4.1. Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (YBSK) ile Miktar Tayini Sonuçları .....	75
4.1.1. YBSK ile Analizi Yapılan Ekstrelerin Verimleri .....	75
4.1.2. YBSK ile Naftodiantron Türevi Bileşiklerin Miktar Tayini Sonuçları.....	75
4.1.2.1. YBSK ile Psödohiperisin Miktar Tayini Sonuçları.....	75
4.1.2.2. YBSK ile Hiperisin Miktar Tayini Sonuçları.....	84
4.1.3. YBSK ile Fenolik Bileşiklerin Miktar Tayini Sonuçları .....	92
4.1.3.1. YBSK ile Klorojenik asit Miktar Tayini Sonuçları.....	92
4.1.3.2. YBSK ile Rutin Miktar Tayini Sonuçları.....	103
4.1.3.3. YBSK ile Hiperozit Miktar Tayini Sonuçları .....	115
4.1.3.4. YBSK ile İzokersitrin Miktar Tayini Sonuçları.....	127
4.1.3.5. YBSK ile Kersitrin Miktar Tayini Sonuçları .....	139
4.1.3.6. YBSK ile Kempferol Miktar Tayini Sonuçları .....	150
4.1.3.7. YBSK ile Kersetin Miktar Tayini Sonuçları.....	162
4.1.3.8. YBSK ile Amentoflavon Miktar Tayini Sonuçları .....	174
4.1.4. YBSK ile Floroglusinol Türevi Bileşiklerin Miktar Tayini Sonuçları .....	186
4.1.4.1. YBSK ile Hiperforin Miktar Tayini Sonuçları.....	186
4.2. Antioksidan Aktivite Tayini Sonuçları .....	193

4.2.1. Fenolik Bileşiklerin Miktar Tayini Sonuçları .....	193
4.2.2. Flavonoit Miktar Tayini Sonuçları.....	194
4.2.3. Lipozom Peroksidasyonu Üzerine Antioksidan Etki Sonuçları.....	195
4.2.4. Süperoksit Radikali Giderici Aktivite Sonuçları .....	196
4.2.5. DPPH Radikali Giderici Aktivite Sonuçları .....	198
4.2.6. Ferri İyonu Redükleyici (İndirgeyici) Güç Tayini Sonuçları.....	199
4.3. <i>In vitro</i> Sitotoksik Aktivite Tayini Sonuçları.....	200
4.3.1. LDH Sitotoksik Belirleme Testi Sonuçları.....	201
4.3.2. WST-1 Hücre Proliferasyonu Ölçümü Testi Sonuçları .....	202
4.3.2.1. WST-1 ile 1h İnkübasyon Sonuçları .....	202
4.3.2.2. WST-1 ile 4h İnkübasyon Sonuçları .....	204
4.4. Antimikrobiyal Aktivite Tayini Sonuçları .....	205
5. TARTIŞMA .....	212
KAYNAKLAR .....	232
ÖZGEÇMİŞ .....	257

## TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 3-1: <i>Hypericum</i> türleri için YBSK'da kullanılan gradient yöntemi .....	58
Tablo 4-1: Ekstrelerin verimleri .....	75
Tablo 4-2: Psödohiperisin standartına ait konsantrasyon-pik alanı şeması .....	76
Tablo 4-3: <i>H. spectabile</i> türünün içerdiği psödohiperisin miktarı hesaplamaları.....	78
Tablo 4-4: <i>H. pseudolaeve</i> türünün içerdiği psödohiperisin miktarı hesaplamaları.....	79
Tablo 4-5: <i>H. thymbrifolium</i> türünün içerdiği psödohiperisin miktarı hesaplamaları ....	80
Tablo 4-6: <i>H. neurocalycinum</i> türünün içerdiği psödohiperisin miktarı hesaplamaları .	81
Tablo 4-7: <i>H. malatyanum</i> türünün içerdiği psödohiperisin miktarı hesaplamaları .....	82
Tablo 4-8: <i>H. perforatum</i> türünün içerdiği psödohiperisin miktarı hesaplamaları.....	83
Tablo 4-9: Analizi yapılan örneklerin içerdiği psödohiperisin yüzdeleri .....	83
Tablo 4-10: Hiperisin standartına ait konsantrasyon-pik alanı şeması .....	84
Tablo 4-11: <i>H. spectabile</i> türünün içerdiği hiperisin miktarı hesaplamaları .....	86
Tablo 4-12: <i>H. pseudolaeve</i> türünün içerdiği hiperisin miktarı hesaplamaları.....	87
Tablo 4-13: <i>H. thymbrifolium</i> türünün içerdiği hiperisin miktarı hesaplamaları.....	88
Tablo 4-14: <i>H. neurocalycinum</i> türünün içerdiği hiperisin miktarı hesaplamaları.....	89
Tablo 4-15: <i>H. malatyanum</i> türünün içerdiği hiperisin miktarı hesaplamaları.....	90
Tablo 4-16: <i>H. perforatum</i> türünün içerdiği hiperisin miktarı hesaplamaları .....	91
Tablo 4-17: Analizi yapılan örneklerin hiperisin yüzdeleri.....	91
Tablo 4-18: Klorojenik asit standartına ait konsantrasyon-pik alanı şeması .....	93
Tablo 4-19: <i>H. spectabile</i> türünün içerdiği klorojenik asit miktarı hesaplamaları .....	95
Tablo 4-20: <i>H. pseudolaeve</i> türünün içerdiği klorojenik asit miktarı hesaplamaları.....	96
Tablo 4-21: <i>H. thymbrifolium</i> türünün içerdiği klorojenik asit miktarı hesaplamaları..	98
Tablo 4-22: <i>H. neurocalycinum</i> türünün içerdiği klorojenik asit miktarı hesaplamaları	99
Tablo 4-23: <i>H. malatyanum</i> türünün içerdiği klorojenik asit miktarı hesaplamaları...	101
Tablo 4-24: <i>H. perforatum</i> türünün içerdiği klorojenik asit miktarı hesaplamaları .....	102
Tablo 4-25: Analizi yapılan örneklerin klorojenik asit yüzdeleri.....	103
Tablo 4-26: Rutin standartına ait konsantrasyon-pik alanı şeması .....	104
Tablo 4-27: <i>H. spectabile</i> türünün içerdiği rutin miktarı hesaplamaları.....	106
Tablo 4-28: <i>H.pseudolaeve</i> türünün içerdiği rutin miktarı hesaplamaları .....	108
Tablo 4-29: <i>H. thymbrifolium</i> türünün içerdiği rutin miktarı hesaplamaları .....	109

Tablo 4-30: <i>H. neurocalycinum</i> türünün içerdiği rutin miktarı hesaplamaları .....	111
Tablo 4-31: <i>H. malatyanum</i> türünün içerdiği rutin miktarı hesaplamaları .....	112
Tablo 4-32: <i>H. perforatum</i> türünün içerdiği rutin miktarı hesaplamaları .....	114
Tablo 4-33: Analizi yapılan örneklerin rutin yüzdeleri .....	114
Tablo 4-34: Hiperozit standartına ait konsantrasyon-pik alanı şeması .....	116
Tablo 4-35: <i>H. spectabile</i> türünün içerdiği hiperozit miktarı hesaplamaları .....	118
Tablo 4-36: <i>H. pseudolaeve</i> türünün içerdiği hiperozit miktarı hesaplamaları .....	119
Tablo 4-37: <i>H. thymbrifolium</i> türünün içerdiği hiperozit miktarı hesaplamaları .....	121
Tablo 4-38: <i>H. neurocalycinum</i> türünün içerdiği hiperozit miktarı hesaplamaları .....	122
Tablo 4-39: <i>H. malatyanum</i> türünün içerdiği hiperozit miktarı hesaplamaları .....	124
Tablo 4-40: <i>H. perforatum</i> türünün içerdiği hiperozit miktarı hesaplamaları .....	125
Tablo 4-41: Analizi yapılan örneklerin hiperozit yüzdeleri .....	126
Tablo 4-42: İzokersitrin standartına ait konsantrasyon-pik alanı şeması .....	128
Tablo 4-43: <i>H. spectabile</i> türünün içerdiği izokersitrin miktarı hesaplamaları .....	130
Tablo 4-44: <i>H. pseudolaeve</i> türünün içerdiği izokersitrin miktarı hesaplamaları .....	131
Tablo 4-45: <i>H. thymbrifolium</i> türünün içerdiği izokersitrin miktarı hesaplamaları .....	133
Tablo 4-46: <i>H. neurocalycinum</i> türünün içerdiği izokersitrin miktarı hesaplamaları ..	134
Tablo 4-47: <i>H. malatyanum</i> türünün içerdiği izokersitrin miktarı hesaplamaları .....	136
Tablo 4-48: <i>H. perforatum</i> türünün içerdiği izokersitrin miktarı hesaplamaları .....	137
Tablo 4-49: Analizi yapılan örneklerin izokersitrin yüzdeleri .....	138
Tablo 4-50: Kersitrin standartına ait konsantrasyon-pik alanı şeması .....	140
Tablo 4-51: <i>H. spectabile</i> türünün içerdiği kersitrin miktarı hesaplamaları .....	142
Tablo 4-52: <i>H. pseudolaeve</i> türünün içerdiği kersitrin miktarı hesaplamaları .....	143
Tablo 4-53: <i>H. thymbrifolium</i> türünün içerdiği kersitrin miktarı hesaplamaları .....	145
Tablo 4-54: <i>H. malatyanum</i> türünün içerdiği kersitrin miktarı hesaplamaları .....	147
Tablo 4-55: <i>H. perforatum</i> türünün içerdiği kersitrin miktarı hesaplamaları .....	148
Tablo 4-56: Analizi yapılan örneklerin kersitrin yüzdeleri .....	149
Tablo 4-57: Kempferol standartına ait konsantrasyon-pik alanı şeması .....	151
Tablo 4-58: <i>H. spectabile</i> türünün içerdiği kempferol miktarı hesaplamaları .....	153
Tablo 4-59: <i>H. pseudolaeve</i> türünün içerdiği kempferol miktarı hesaplamaları .....	154
Tablo 4-60: <i>H. thymbrifolium</i> türünün içerdiği kempferol miktarı hesaplamaları .....	156
Tablo 4-61: <i>H. neurocalycinum</i> türünün içerdiği kempferol miktarı hesaplamaları ....	157
Tablo 4-62: <i>H. malatyanum</i> türünün içerdiği kempferol miktarı hesaplamaları .....	159

Tablo 4-63: <i>H. perforatum</i> türünün içerdiği kempferol miktarı hesaplamaları.....	160
Tablo 4-64: Analizi yapılan örneklerin kempferol yüzdeleri .....	161
Tablo 4-65: Kersetin standartına ait konsantrasyon-pik alanı şeması .....	163
Tablo 4-66: <i>H. spectabile</i> türünün içerdiği kersetin miktarı hesaplamaları .....	165
Tablo 4-67: <i>H. pseudolaeve</i> türünün içerdiği kersetin miktarı hesaplamaları.....	166
Tablo 4-68: <i>H. thymbrifolium</i> türünün içerdiği kersetin miktarı hesaplamaları.....	168
Tablo 4-69: <i>H. neurocalycinum</i> türünün içerdiği kersetin miktarı hesaplamaları.....	169
Tablo 4-70: <i>H. malatyanum</i> türünün içerdiği kersetin miktarı hesaplamaları.....	171
Tablo 4-71: <i>H. perforatum</i> türünün içerdiği kersetin miktarı hesaplamaları.....	172
Tablo 4-72: Analizi yapılan örneklerin kersetin yüzdeleri .....	173
Tablo 4-73: Amentoflavon standartına ait konsantrasyon-pik alanı şeması.....	175
Tablo 4-74: <i>H. spectabile</i> türünün içerdiği amentoflavon miktarı hesaplamaları .....	177
Tablo 4-75: <i>H. pseudolaeve</i> türüne ait amentoflavon miktarı hesaplamaları.....	178
Tablo 4-76: <i>H. thymbrifolium</i> türünün içerdiği amentoflavon miktarı hesaplamaları..	180
Tablo 4-77: <i>H. neurocalycinum</i> türüne ait amentoflavon miktarı hesaplamaları.....	181
Tablo 4-78: <i>H. malatyanum</i> türüne ait amentoflavon miktarı hesaplamaları.....	183
Tablo 4-79: <i>H. perforatum</i> türünün içerdiği amentoflavon miktarı hesaplamaları .....	184
Tablo 4-80: Analizi yapılan örneklerin amentoflavon yüzdeleri.....	185
Tablo 4-81: Hiperforin standartına ait konsantrasyon-pik alanı şeması.....	186
Tablo 4-82: <i>H. spectabile</i> türünün içerdiği hiperforin miktarı hesaplamaları .....	188
Tablo 4-83: <i>H. pseudolaeve</i> türünün içerdiği hiperforin miktarı hesaplamaları.....	189
Tablo 4-84: <i>H. malatyanum</i> türünün içerdiği hiperforin miktarı hesaplamaları.....	191
Tablo 4-85: <i>H. perforatum</i> türüne ait hiperforin miktarı hesaplamaları.....	192
Tablo 4-86: Analizi yapılan örneklerin hiperforin yüzdeleri.....	192
Tablo 4-87: <i>Hypericum</i> türlerinden hazırlanan metanol ekstralarının içerdikleri total ekstre edilebilir madde miktarı (EC), fenolik madde (PC, bitki ağırlığının her gramı için gallik asit ekivalanı (GAE) olarak) ve flavonoid (bitki ağırlığının her gramı için kateşin ekivalanı (CE) olarak) miktarları.....	195
Tablo 4-88: <i>Hypericum</i> türlerinin metanol ekstralarının EC <sub>50</sub> değeri olarak antioksidan aktiviteleri .....	200
Tablo 4-89: LDH testi - Ortalama absorban değerleri (OD 490 nm, 600 nm ref.) .....	201
Tablo 4-90: LDH testi – (Ortalama absorban değerleri – BC absorban değeri).....	201
Tablo 4-91: LDH testi – Sitotoksikite (%) değerleri.....	202



Tablo 4-92: WST-1 testi (1h) - Ortalama absorbans değerleri .....	202
Tablo 4-93: WST-1 testi (1h)–(Ortalama absorbans değerleri–BC absorbans değeri)	203
Tablo 4-94: : WST-1 testi (1h) – Canlılık (%) değerleri .....	203
Tablo 4-95: WST-1 testi (4h) - Ortalama absorbans değerleri .....	204
Tablo 4-96: WST-1 testi (4h)–(Ortalama absorbans değerleri–BC absorbans değeri)	204
Tablo 4-97: WST-1 testi (4h) – Canlılık (%) değerleri .....	205
Tablo 4-98: Antimikrobiyal aktivite için hazırlanan ekstrelerin verimleri.....	206
Tablo 4-99: <i>H. spectabile</i> türüne ait ekstrelerin antimikrobiyal aktivite sonuçları .....	206
Tablo 4-100: <i>H. pseudolaeve</i> türüne ait ekstrelerin antimikrobiyal aktivite sonuçları.	207
Tablo 4-101: <i>H. thymbrifolium</i> türüne ait ekstrelerin antimikrobiyal aktivite sonuçları .....	208
Tablo 4-102: <i>H. neurocalycinum</i> türüne ait ekstrelerin antimikrobiyal aktivite sonuçları .....	209
Tablo 4-103: <i>H. malatyanum</i> türüne ait ekstrelerin antimikrobiyal aktivite sonuçları.	210
Tablo 4-104: <i>H. perforatum</i> türüne ait ekstrelerin antimikrobiyal aktivite sonuçları ..	211
Tablo 5-1: <i>Hypericum</i> türlerinin YBSK analizi ile belirlenen psödohiperisin ve hiperisin miktarları.....	213
Tablo 5-3: <i>Hypericum</i> türlerinin YBSK analizi ile belirlenen hiperforin miktarı .....	214
Tablo 5-4: Türkiye’de yetişen bazı <i>Hypericum</i> türleri ile yapılan çalışmalarda rapor edilen psödohiperisin, hiperisin ve hiperforin miktarları.....	215
Tablo 5-5: <i>Hypericum</i> türlerinin YBSK analizi ile belirlenen fenolik asit ve flavonoit miktarları.....	217

## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: <i>Hypericum</i> türlerinin kimyasal bileşiminde bulunan başlıca naftodiantron türevlerinin açık formülleri.....	14
Şekil 2-2: <i>Hypericum</i> türlerinin kimyasal bileşiminde bulunan başlıca floroglusinol türevlerinin açık formülleri.....	15
Şekil 2-3: <i>Hypericum</i> türlerinin kimyasal bileşiminde bulunan başlıca flavonoit bileşiklerinin açık formülleri .....	19
Şekil 2-4: <i>Hypericum</i> türlerinin kimyasal bileşiminde bulunan başlıca fenolik asit türevlerinin açık formülleri.....	21
Şekil 2-5: <i>Hypericum</i> türlerinin kimyasal bileşiminde bulunan proantosiyanidinlerin açık formülleri.....	22
Şekil 3-1: Lipit peroksidasyonunun şeması.....	63
Şekil 3-2: Süperoksit radikali oluşum şeması.....	65
Şekil 3-3: 2, 2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH <sup>•</sup> ) .....	67
Şekil 3-4: LDH testinin reaksiyon şeması (LDH: Laktat dehidrojenaz enzimi).....	69
Şekil 3-5: 96 kuyucuklu mikroplaka.....	71
Şekil 3-6: WST-1 testinin reaksiyon şeması.....	72
Şekil 3-7: 96 kuyucuklu mikroplaka.....	73
Şekil 4-1: Psödohiperisin standartına ait LC kromatogramı.....	76
Şekil 4-2: Psödohiperisin standartına ait ölçü eğrisi.....	76
Şekil 4-3: <i>H. spectabile</i> , psödohiperisin pikinin görüldüğü LC kromatogramı.....	77
Şekil 4-4: <i>H. pseudolaeve</i> , psödohiperisin pikinin görüldüğü LC kromatogramı .....	78
Şekil 4-5: <i>H. thymbrifolium</i> , psödohiperisin pikinin görüldüğü LC kromatogramı .....	79
Şekil 4-6: <i>H. neurocalycinum</i> , psödohiperisin pikinin görüldüğü LC kromatogramı ....	80
Şekil 4-7: <i>H. malatyanum</i> , psödohiperisin pikinin görüldüğü LC kromatogramı .....	81
Şekil 4-8: <i>H. perforatum</i> , psödohiperisin pikinin görüldüğü LC kromatogramı.....	82
Şekil 4-9: <i>Hypericum</i> türlerinin psödohiperisin içerikleri açısından karşılaştırılması ...	83
Şekil 4-10: Hiperisin standartına ait LC kromatogramı.....	84
Şekil 4-11: Hiperisin standartına ait ölçü eğrisi.....	85
Şekil 4-12: <i>H. spectabile</i> , hiperisin pikinin görüldüğü LC kromatogramı .....	85
Şekil 4-13: <i>H. pseudolaeve</i> , hiperisin pikinin görüldüğü LC kromatogramı.....	86
Şekil 4-14: <i>H. thymbrifolium</i> , hiperisin pikinin görüldüğü LC kromatogramı.....	87

Şekil 4-15: <i>H. neurocalycinum</i> , hiperisin pikinin görüldüğü LC kromatogramı.....	88
Şekil 4-16: <i>H. malatyanum</i> , hiperisin pikinin görüldüğü LC kromatogramı.....	89
Şekil 4-17: <i>H. perforatum</i> , hiperisin pikinin görüldüğü LC kromatogramı .....	90
Şekil 4-18: <i>Hypericum</i> türlerinin hiperisin içerikleri açısından karşılaştırılması .....	91
Şekil 4-19: Klorojenik asit standartına ait LC kromatogramı.....	92
Şekil 4-20: Klorojenik asit standartına ait UV kromatogramı .....	92
Şekil 4-21: Klorojenik asit standartına ait ölçü eğrisi.....	93
Şekil 4-22: <i>H. spectabile</i> , klorojenik asit pikinin görüldüğü LC kromatogramı .....	94
Şekil 4-23: <i>H. spectabile</i> , klorojenik asit pikine ait UV kromatogramı .....	94
Şekil 4-24: <i>H. pseudolaeve</i> , klorojenik asit pikinin görüldüğü LC kromatogramı.....	95
Şekil 4-25: <i>H. pseudolaeve</i> , klorojenik asit pikine ait UV kromatogramı.....	96
Şekil 4-26: <i>H. thymbrifolium</i> , klorojenik asit pikinin görüldüğü LC kromatogramı.....	97
Şekil 4-27: <i>H. thymbrifolium</i> , klorojenik asit pikine ait UV kromatogramı.....	97
Şekil 4-28: <i>H. neurocalycinum</i> , klorojenik asit pikinin görüldüğü LC kromatogramı...	98
Şekil 4-29: <i>H. neurocalycinum</i> , klorojenik asit pikine ait UV kromatogramı.....	99
Şekil 4-30: <i>H. malatyanum</i> , klorojenik asit pikinin görüldüğü LC kromatogramı.....	100
Şekil 4-31: <i>H. malatyanum</i> , klorojenik asit pikine ait UV kromatogramı.....	100
Şekil 4-32: <i>H. perforatum</i> , klorojenik asit pikinin görüldüğü LC kromatogramı .....	101
Şekil 4-33: <i>H. perforatum</i> , klorojenik asit pikine ait UV kromatogramı .....	102
Şekil 4-34: <i>Hypericum</i> türlerinin klorojenik asit içerikleri açısından karşılaştırılması	103
Şekil 4-35: Rutin standartına ait LC kromatogramı.....	104
Şekil 4-36: Rutin standartına ait UV kromatogramı .....	104
Şekil 4-37: Rutin standartına ait ölçü eğrisi.....	105
Şekil 4-38: <i>H. spectabile</i> , rutin pikinin görüldüğü LC kromatogramı.....	105
Şekil 4-39: <i>H. spectabile</i> , rutin pikine ait UV kromatogramı.....	106
Şekil 4-40: <i>H. pseudolaeve</i> , rutin pikinin görüldüğü LC kromatogramı .....	107
Şekil 4-41: <i>H. pseudolaeve</i> , rutin pikine ait UV kromatogramı .....	107
Şekil 4-42: <i>H. thymbrifolium</i> , rutin pikinin görüldüğü LC kromatogramı .....	108
Şekil 4-43: <i>H. thymbrifolium</i> , rutin pikine ait UV kromatogramı .....	109
Şekil 4-44: <i>H. neurocalycinum</i> , rutin pikinin görüldüğü LC kromatogramı .....	110
Şekil 4-45: <i>H. neurocalycinum</i> , rutin pikine ait UV kromatogramı .....	110
Şekil 4-46: <i>H. malatyanum</i> , rutin pikinin görüldüğü LC kromatogramı .....	111
Şekil 4-47: <i>H. malatyanum</i> , rutin pikine ait UV kromatogramı .....	112

Şekil 4-48: <i>H. perforatum</i> , rutin pikinin görüldüğü LC kromatogramı.....	113
Şekil 4-49: <i>H. perforatum</i> , rutin pikine ait UV kromatogramı.....	113
Şekil 4-50: <i>Hypericum</i> türlerinin rutin içerikleri açısından karşılaştırılması .....	114
Şekil 4-51: Hiperozit standartına ait LC kromatogramı .....	115
Şekil 4-52: Hiperozit standartına ait UV kromatogramı.....	115
Şekil 4-53: Hiperozit standartına ait ölçü eğrisi .....	116
Şekil 4-54: <i>H. spectabile</i> , hiperozit pikinin görüldüğü LC kromatogramı.....	117
Şekil 4-55: <i>H. spectabile</i> , hiperozit pikine ait UV kromatogramı .....	117
Şekil 4-56: <i>H. pseudolaeve</i> , hiperozit pikinin görüldüğü LC kromatogramı .....	118
Şekil 4-57: <i>H. pseudolaeve</i> , hiperozit pikine ait UV kromatogramı .....	119
Şekil 4-58: <i>H. thymbrifolium</i> , hiperozit pikinin görüldüğü LC kromatogramı .....	120
Şekil 4-59: <i>H. thymbrifolium</i> , hiperozit pikine ait UV kromatogramı.....	120
Şekil 4-60: <i>H. neurocalycinum</i> , hiperozit pikinin görüldüğü LC kromatogramı .....	121
Şekil 4-61: <i>H. neurocalycinum</i> , hiperozit pikine ait UV kromatogramı .....	122
Şekil 4-62: <i>H. malatyanum</i> , hiperozit pikinin görüldüğü LC kromatogramı .....	123
Şekil 4-63: <i>H. malatyanum</i> , hiperozit pikine ait UV kromatogramı .....	123
Şekil 4-64: <i>H. perforatum</i> , hiperozit pikinin görüldüğü LC kromatogramı .....	124
Şekil 4-65: <i>H. perforatum</i> , hiperozit pikine ait UV kromatogramı .....	125
Şekil 4-66: <i>Hypericum</i> türlerinin hiperozit içerikleri açısından karşılaştırılması.....	126
Şekil 4-67: İzokersitrin standartına ait kromatogram .....	127
Şekil 4-68: İzokersitrin standartına ait UV kromatogramı .....	127
Şekil 4-69: İzokersitrin standartına ait ölçü eğrisi .....	128
Şekil 4-70: <i>H. spectabile</i> , izokersitrin pikinin görüldüğü LC kromatogramı.....	129
Şekil 4-71: <i>H. spectabile</i> , izokersitrin pikine ait UV kromatogramı .....	129
Şekil 4-72: <i>H. pseudolaeve</i> , izokersitrin pikinin görüldüğü LC kromatogramı .....	130
Şekil 4-73: <i>H. pseudolaeve</i> , izokersitrin pikine ait UV kromatogramı .....	131
Şekil 4-74: <i>H. thymbrifolium</i> , izokersitrin pikinin görüldüğü LC kromatogramı .....	132
Şekil 4-75: <i>H. thymbrifolium</i> , izokersitrin pikine ait UV kromatogramı.....	132
Şekil 4-76: <i>H. neurocalycinum</i> , izokersitrin pikinin görüldüğü LC kromatogramı .....	133
Şekil 4-77: <i>H. neurocalycinum</i> , izokersitrin pikine ait UV kromatogramı .....	134
Şekil 4-78: <i>H. malatyanum</i> , izokersitrin pikinin görüldüğü LC kromatogramı .....	135
Şekil 4-79: <i>H. malatyanum</i> , izokersitrin pikine ait UV kromatogramı .....	135
Şekil 4-80: <i>H. perforatum</i> , izokersitrin pikinin görüldüğü LC kromatogramı .....	136

Şekil 4-81: <i>H. perforatum</i> , izokersitrin pikine ait UV kromatogramı .....	137
Şekil 4-82: <i>Hypericum</i> türlerinin izokersitrin içerikleri açısından karşılaştırılması.....	138
Şekil 4-83: Kersitrin standartına ait LC kromatogramı .....	139
Şekil 4-84: Kersitrin standartına ait UV kromatogramı.....	139
Şekil 4-85: Kersitrin standartına ait ölçü eğrisi .....	140
Şekil 4-86: <i>H. spectabile</i> , kersitrin pikinin görüldüğü ait LC kromatogramı.....	141
Şekil 4-87: <i>H. spectabile</i> , kersitrin pikine ait UV kromatogramı.....	141
Şekil 4-88: <i>H. pseudolaeve</i> , kersitrin pikinin görüldüğü LC kromatogramı .....	142
Şekil 4-89: <i>H. pseudolaeve</i> , kersitrin pikine ait UV kromatogramı .....	143
Şekil 4-90: <i>H. thymbrifolium</i> , kersitrin pikinin görüldüğü LC kromatogramı .....	144
Şekil 4-91: <i>H. thymbrifolium</i> , kersitrin pikine ait UV kromatogramı .....	144
Şekil 4-92: <i>H. neurocalycinum</i> , metanol ekstresine ait LC kromatogramı .....	145
Şekil 4-93: <i>H. malatyanum</i> , kersitrin pikinin görüldüğü LC kromatogramı .....	146
Şekil 4-94: <i>H. malatyanum.</i> , kersitrin pikine ait UV kromatogramı .....	146
Şekil 4-95: <i>H. perforatum</i> , kersitrin pikinin görüldüğü LC kromatogramı .....	147
Şekil 4-96: <i>H. perforatum</i> , kersitrin pikine ait UV kromatogramı .....	148
Şekil 4-97: <i>Hypericum</i> türlerinin kersitrin içerikleri açısından karşılaştırılması.....	149
Şekil 4-98: Kempferol standartına ait LC kromatogramı .....	150
Şekil 4-99: Kempferol standartına ait UV kromatogramı .....	150
Şekil 4-100: Kempferol standartına ait ölçü eğrisi .....	151
Şekil 4-101: <i>H. spectabile</i> , kempferol pikinin görüldüğü LC kromatogramı.....	152
Şekil 4-102: <i>H. spectabile</i> , kempferol pikine ait UV kromatogramı.....	152
Şekil 4-103: <i>H. pseudolaeve</i> , kempferol pikinin görüldüğü LC kromatogramı .....	153
Şekil 4-104: <i>H. pseudolaeve</i> , kempferol pikine ait UV kromatogramı .....	154
Şekil 4-105: <i>H. thymbrifolium</i> , kempferol pikinin görüldüğü LC kromatogramı .....	155
Şekil 4-106: <i>H. thymbrifolium</i> , kempferol pikine ait UV kromatogramı .....	155
Şekil 4-107: <i>H. neurocalycinum</i> , kempferol pikinin görüldüğü LC kromatogramı .....	156
Şekil 4-108: <i>H. neurocalycinum</i> , kempferol pikine ait UV kromatogramı .....	157
Şekil 4-109: <i>H. malatyanum</i> , kempferol pikinin görüldüğü LC kromatogramı .....	158
Şekil 4-110: <i>H. malatyanum</i> , kempferol pikine ait LC kromatogramı.....	158
Şekil 4-111: <i>H. perforatum</i> , kempferol pikinin görüldüğü LC kromatogramı.....	159
Şekil 4-112: <i>H. perforatum</i> , kempferol pikine ait UV kromatogramı .....	160
Şekil 4-113: <i>Hypericum</i> türlerinin kempferol içerikleri açısından karşılaştırılması.....	161

Şekil 4-114: Kersetin standartına ait LC kromatogramı .....	162
Şekil 4-115: Kersetin standartına ait UV kromatogramı .....	162
Şekil 4-116: Kersetin standartına ait ölçü eğrisi .....	163
Şekil 4-117: <i>H. spectabile</i> , kersetin pikinin görüldüğü LC kromatogramı .....	164
Şekil 4-118: <i>H. spectabile</i> , kersetin pikine ait UV kromatogramı.....	164
Şekil 4-119: <i>H. pseudolaeve</i> , kersetin pikinin görüldüğü LC kromatogramı .....	165
Şekil 4-120: <i>H. pseudolaeve</i> , kersetin pikine ait UV kromatogramı .....	166
Şekil 4-121: <i>H. thymbrifolium</i> , kersetin pikinin görüldüğü LC kromatogramı .....	167
Şekil 4-122: <i>H. thymbrifolium</i> , kersetin pikine ait UV kromatogramı .....	167
Şekil 4-123: <i>H. neurocalycinum</i> , kersetin pikinin görüldüğü LC kromatogramı .....	168
Şekil 4-124: <i>H. neurocalycinum</i> , kersetin pikine ait UV kromatogramı .....	169
Şekil 4-125: <i>H. malatyanum</i> , kersetin pikinin görüldüğü LC kromatogramı .....	170
Şekil 4-126: <i>H. malatyanum</i> , kersetin pikine ait UV kromatogramı .....	170
Şekil 4-127: <i>H. perforatum</i> , kersetin pikinin görüldüğü LC kromatogramı.....	171
Şekil 4-128: <i>H. perforatum</i> , kersetin pikine ait UV kromatogramı .....	172
Şekil 4-129: <i>Hypericum</i> türlerinin kempferol içerikleri açısından karşılaştırılması.....	173
Şekil 4-130: Amentoflavon standartına ait LC kromatogramı .....	174
Şekil 4-131: Amentoflavon standartına ait UV kromatogramı.....	174
Şekil 4-132: Amentoflavon standartına ait ölçü eğrisi .....	175
Şekil 4-133: <i>H. spectabile</i> , amentoflavon pikinin görüldüğü LC kromatogramı .....	176
Şekil 4-134: <i>H. spectabile</i> , amentoflavon pikine ait UV kromatogramı .....	176
Şekil 4-135: <i>H. pseudolaeve</i> , amentoflavon pikinin görüldüğü LC kromatogramı.....	177
Şekil 4-136: <i>H. pseudolaeve</i> , amentoflavon pikine ait UV kromatogramı.....	178
Şekil 4-137: <i>H. thymbrifolium</i> , amentoflavon pikinin görüldüğü LC kromatogramı...	179
Şekil 4-138: <i>H. thymbrifolium</i> , amentoflavon pikine ait UV kromatogramı.....	179
Şekil 4-139: <i>H. neurocalycinum</i> , amentoflavon pikinin görüldüğü LC kromatogramı	180
Şekil 4-140: <i>H. neurocalycinum</i> , amentoflavon pikine ait UV kromatogramı.....	181
Şekil 4-141: <i>H. malatyanum</i> , amentoflavon pikinin görüldüğü LC kromatogramı.....	182
Şekil 4-142: <i>H. malatyanum</i> , amentoflavon pikine ait UV kromatogramı.....	182
Şekil 4-143: <i>H. perforatum</i> , amentoflavon pikinin görüldüğü LC kromatogramı .....	183
Şekil 4-144: <i>H. perforatum</i> , amentoflavon pikine ait UV kromatogramı .....	184
Şekil 4-145: <i>Hypericum</i> türlerinin amentoflavon içerikleri açısından karşılaştırılması	185
Şekil 4-146: Hiperforin standartına ait LC kromatogramı.....	186

Şekil 4-147: Hiperforin standartına ait ölçü eğrisi.....	187
Şekil 4-148: <i>H. spectabile</i> , hiperforin pikinin görüldüğü LC kromatogramı .....	187
Şekil 4-149: <i>H. pseudolaeve</i> , hiperforin pikinin görüldüğü LC kromatogramı.....	188
Şekil 4-150: <i>H. thymbrifolium</i> , metanol ekstresine ait LC kromatogramı.....	189
Şekil 4-151: <i>H. neurocalycinum</i> , metanol ekstresine ait LC kromatogramı .....	190
Şekil 4-152: <i>H. malatyanum</i> , hiperforin pikinin görüldüğü LC kromatogramı.....	190
Şekil 4-153: <i>H. perforatum</i> , hiperforin pikinin görüldüğü LC kromatogramı .....	191
Şekil 4-154: <i>Hypericum</i> türlerinin hiperforin içerikleri açısından karşılaştırılması .....	192
Şekil 4-155: Gallik asit standart eğrisi ve regresyon denklemi .....	193
Şekil 4-156: Kateşin standart eğrisi ve regresyon denklemi.....	194
Şekil 4-157: <i>Hypericum</i> ekstrelerinin doza bağlı olarak lipid peroksidasyonu inhibe edici aktivitelerinin karşılaştırılması.....	196
Şekil 4-158: <i>Hypericum</i> ekstrelerinin doza bağlı süperoksit radikali giderici aktivitelerinin karşılaştırılması .....	197
Şekil 4-159: <i>Hypericum</i> ekstrelerinin doza bağlı DPPH radikali giderici aktivitelerinin karşılaştırılması.....	198
Şekil 4-160: <i>Hypericum</i> ekstrelerinin doza bağlı ferri iyonu redükleyici güç tayini sonuçlarının karşılaştırılması .....	199
Şekil 5-2: <i>Hypericum</i> türlerinin YBSK analizi ile belirlenen psödohiperisin ve hiperisin yüzdelerini gösteren grafik .....	213
Şekil 5-3: <i>Hypericum</i> türlerinin YBSK analizi ile belirlenen fenolik bileşiklerinin yüzdelerini gösteren grafik .....	218
Şekil 5-4: <i>Hypericum</i> türlerinin fenolik ve flavonoit bileşiklerinin ekstre ve bitkideki yüzdelerini gösteren grafik .....	221
Şekil 5-5: <i>Hypericum</i> metanol ekstrelerinin antioksidan aktivite tayinlerindeki EC <sub>50</sub> değerleri .....	226

**SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ**

- A: Aseton ekstresi  
ABD: Amerika Birleşik Devletleri  
ABTS: 2,2'-azino-di-[3-ethylbenzthiazoline sulphonate (6)]  
ACT: Advanced Chromatography Technologies  
ATCC: American Type Culture Collection  
BC: Background Control  
BHT: Butil Hidroksi Toluen  
CCL-2: Cervical Cancer Cell Lines-2  
CE: Catechin Equivalent  
CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute  
COX-1: Siklooksijenaz-1  
DEE: Dietil eter Ekstresi  
DMEM: Dulbecco's Modified Eagle's Medium  
DMSO: Dimetilsülfoksit  
DPPH: 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil  
e: Ekstre içerisindeki madde miktarının % değeri  
EC: Effective Concentration  
EC: Extractable Compounds  
ESCOP: European Scientific Cooperative on Phytotherapy  
FBS: Fetal Bovine Serum  
FMDV: Foot and Mouth Disease Virus  
FRAP: Ferric Reducing Ability of Plasma  
g: Gram  
GABA:  $\gamma$ -aminobütirik asit  
GAE: Gallic Acid Equivalent  
h: Bitki içerisindeki madde miktarının % değeri  
h: Hour  
HC: High Control



HCl: Hidroklorik asit  
HCMV: Human Cytomegalovirus  
HHV-6: Human Herpes Virus - 6  
HIV: Human Immunodeficiency Virus  
HPLC: High Performance Liquid Chromatography  
HSCCC: High Speed Countercurrent Chromatography  
İSTE: İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu  
K: Kloroform ekstresi  
L: Litre  
L: Serbest lipid radikalleri  
LC: Liquid Chromatography  
LC: Low Control  
LDH: Laktat Dehidrojenaz  
LOO: Lipid peroksit radikalleri  
LPO: Lipit peroksidaz  
M.Ö.: Milattan Önce  
M.S.:Milattan Sonra  
M: Metanol ekstresi  
M: Molar  
MAO: Monoamin Oksidaz  
MDA: Malondialdehit  
mg: Miligram  
MİK: Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu  
ml: Mililitre  
MRSA: Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*  
MSSA: Methicillin Sensitive *Staphylococcus aureus*  
MTT: 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-difenil tetrazolium bromid  
NADH: Nikotinamid adenin dinükleoit  
NBT: Nitroblue tetrazolium  
nm: Nanometre

- NOS: Nitrik Oksit Sentaz
- PBS: Phosphate Buffered Saline
- PC: Phenolic Compounds
- PDT: Photodynamic Therapy
- PE: Petrol eteri ekstresi
- PMS: Premenstrüel sendrom
- PMS: Phenazine methosulfate
- PRRSV: Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus
- ROT: Reaktif Oksijen Türleri
- RSD: Relative Standard Deviation
- SD: Standard Deviation
- SOD: Süperoksit dismutaz
- SSRI: Selective Serotonin Reuptake Inhibitors
- TBA: Tiyobarbitürik Asit
- TBARS: Thiobarbituric Acid Reactive Substances
- TCA: Trikloroasetik Asit
- TM: Total metanol ekstresi
- TPA: Tetradekanoilforbol asetat
- UV: Ultraviolet Visible
- WST-1: 4-[3-(4-iyodofenil)-2-(4-nitro-fenil)-2H-5-tetrazolio]-1,3-benzen disülfonat
- x: 1 ml enjekte edilen numune içerisindeki madde miktarının mg cinsinden değeri
- XTT: 2,3-bis[2-metoksi-4-nitro-5-sülfofenil]-2H-tetrazolium-5-karboksanilid
- YBSK: Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi
- µg: Mikrogram

## ÖZET

EROĞLU ÖZKAN, E. (2011). Drosanthe ve Taeniocarpium Seksiyonlarına Ait Bazı Endemik Hypericum Türlerinin Kimyasal Bileşimi ve Biyolojik Aktivite Yönünden İncelenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmakognozi ABD. Doktora Tezi. İstanbul.

Bu çalışmada, Orta ve Doğu Anadolu'dan toplanmış olan Drosanthe seksiyonuna ait *Hypericum spectabile*, *H. pseudolaeve* ve *H. thymbrifolium*, Taeniocarpium seksiyonuna ait *H. neurocalycinum* ve *H. malatyanum* türleri kimyasal içerik ve biyolojik aktivite bakımından *H. perforatum* ile karşılaştırılmıştır. Bu türlerin kimyasal içerikleri ve biyolojik aktiviteleri literatürde ilk kez bu çalışma ile saptanmıştır. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (YBSK) kullanılarak psödohiperisin, hiperisin, hiperforin, klorojenik asit, rutin, hiperozit, izokersitrin, kersitrin, kempferol, kersetin ve amentoflavon miktarları belirlenmiştir. Total fenolik bileşik ve total flavonoit miktar tayini yanı sıra antioksidan, sitotoksik ve antimikrobiyal aktiviteleri araştırılmıştır.

İncelenen bitki örneklerinin düşük oranda psödohiperisin, hiperisin ve hiperforin içerdiği belirlenmiş, klorojenik asitin *H. pseudolaeve*, hiperozit ve amentoflavonun *H. malatyanum*, kempferol ve kersitrinin *H. spectabile*, kersetinin *H. neurocalycinum* türlerinde *H. perforatum* türünden daha yüksek oranda bulunduğu saptanmıştır. Türlerin yüksek antioksidan potansiyele sahip oldukları belirlenmiş ve bu etkinin bitki içeriğindeki flavonoit ve diğer fenolik bileşiklerden kaynaklandığı düşünülmüştür. *H. perforatum* ve *H. malatyanum* türlerinin diğer türlere göre yüksek sitotoksik aktiviteye sahip olması, türler üzerinde *in vitro* ve *in vivo* sitotoksik aktivite çalışmalarının devam etmesi gerektiğini göstermiştir. Bu çalışmada incelenen türlerin tüm ekstrelerinin *Staphylococcus aureus*, metisiline dirençli *S. aureus* ve *S. epidermidis* suşlarına karşı yüksek antibakteriyel aktivite gösterdiği, bazı ekstrelerin ise *Candida albicans* suşuna karşı düşük antifungal aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Hypericum*, Hiperisin, Hiperforin, Fenolik Bileşikler, Biyolojik Aktivite.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 6189

## ABSTRACT

EROGLU OZKAN, E. (2011). Investigation of the Chemical Composition and the Biological Activities of Some Endemic Hypericum Species belonging to the Drosanthe and Taeniocarpium Sections. Istanbul University Institute of Health Science, Department of Pharmacognosy, PhD Thesis, Istanbul.

In this study, aerial parts of the following species collected from Central and Eastern Anatolia, *Hypericum spectabile*, *H. pseudolaeve* and *H. thymbrifolium* (section Drosanthe), *H. neurocalycinum* and *H. malatyanum* (section Taeniocarpium) were compared to *H. perforatum* for their chemical contents and biological activities which are reported for the first time. Quantitative determination of pseudohypericin, hypericin, hyperforin, chlorogenic acid, rutin, hyperoside, isoquercitrin, quercitrin, kaempferol, quercetin and amentoflavone were performed by High Performance Liquid Chromatography (HPLC). The total phenolic and total flavonoids contents were investigated as well as their antioxidant, cytotoxic and antimicrobial activities.

Very low amount of pseudohypericin, hypericin and hyperforin were observed in all samples. Comparing to the *H. perforatum*, the chlorogenic acid content is higher in *H. pseudolaeve*, the hyperoside and amentoflavone contents are higher in *H. malatyanum*, the quercitrin and kaempferol contents are higher in *H. spectabile* and the quercetin content is higher in *H. neurocalycinum*. All samples showed high antioxidant potential due to their rich phenolic and flavonoid amount. High cytotoxic activity of *H. perforatum* and *H. malatyanum* suggests the need of further in vitro and in vivo studies. High antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus*, the methicilline resistant *S. aureus*, *S. epidermidis* were observed in all extracts and some of them showed lesser antifungal activity against *Candida albicans*.

**Keywords:** Hypericum, Hypericin, Hyperforin, Phenolic Compounds, Biological Activity.

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No: 6189

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Bitkilerin tedavide kullanılması insanlığın doğuşuyla birlikte başlamış, deneme yanılma yoluyla elde edilen bilgiler yüzyıllar boyunca birikmiş ve doğada doğal olarak yetişen bitkilerin ilaç niteliği kazanmasına neden olmuştur.

Günümüze ulaşabilen kalıntılara bakıldığında birçok medeniyetin bitkileri tedavide reçetelendirdiği ortaya çıkmaktadır. Mezopotamya, Mısır, Çin ve Hindistan'da bitkilerin tedavide kullanılışlarına, Eski Mezopotamya'da yaklaşık M.Ö. 3000 yıl öncesine dayanan bitkisel reçetelerin varlığına rastlanmaktadır. Eski Mısır'da ise M.Ö. 1550 yılına ait, 1873 yılında Georg Ebers tarafından bulunan Ebers Papirüsü'nde o dönem için tıbbi olarak kabul edilen 877 bitki reçetesi kayıt altına alınmıştır. 600 bitki ve 1000 reçete içeriği ile Osmanlı dönemini ve Avrupa'yı etkileyen önemli bir eser olan *Materia Medica*, M.S. 40-60 yılları arasında yaşayan Pedanius Dioscorides tarafından 5 cilt olarak yazılmış ve birçok tıbbi kitap için yol gösterici olmuştur (Baytop, 1966; Baytop, 1999; Baytop, 2001).

16. ve 17. yüzyıllarda bitkilerin botanik özellikleri ve doğru teşhisleri önem kazanmış, bitkiler botanik özelliklerine ve familyalarına göre sınıflandırılmışlardır. 18. yüzyılda Linnaeus tarafından canlı varlıklar sistematik bir şekilde sınıflandırılmış ve tıbbi bitkiler de bu sınıflandırma içerisinde yerini almıştır. Tıbbi bitkiler ile günümüzde yapılan çalışmaların temelini oluşturan gelişme 1806 yılında *Papaver somniferum* bitkisinden, bitkinin içeriğindeki etken madde olan morfin alkaloidinin Eczacı Friedrich Wilhelm Adam Sertürner (1783-1841) tarafından izole edilmesi olmuş, bu gelişmeyi Fransız eczacılar Caventou ve Pelletier'in kinin alkaloidini izole etmeleri izlemiştir (Baytop, 2001; Mat, 2010).

Tıbbi bitkilerden izole edilen aktif bileşiklerin zamanla sentetik olarak elde edilmesi tedavide bitkilerin yerini sentetik ilaçların almasına neden olmuş, sentetik ilaçlarla yapılan tedavilerde ortaya çıkan yan etkiler ise uzun yıllar boyu biriken bilgi ve deneyim ile tedavide güvenilirliği olan tıbbi bitkilere dönüşü arttırmıştır. Tıbbi bitkilerin kök, gövde, yaprak, çiçek, meyve ve tohum gibi kısımlarından elde edilen tıbbi çaylar, yağlar, tentürler halk arasında birçok hastalığın tedavisinde halen daha kullanılmakla birlikte standardize ekstraktları de eczanelerde yerlerini almaktadır (Griggs, 1997; Baytop, 1999).

Halk arasında ve modern tedavide kullanılışlarına bakıldığında önemli tıbbi bitkiler arasında yer alan *Hypericum perforatum* bu çalışma gibi birçok araştırmaya konu olmaktadır. 2000 yıldan uzun süredir tedavide kullanılan bitki dünya genelinde St. John's Wort adıyla bilinmektedir. Birçok *Hypericum* türü arasından bu türün tercih edilmesinin yeryüzünde çok yaygın olarak yetişmesi olduğu düşünülmektedir. Bitkinin genelinde ve özellikle çiçeklerinde yoğun olarak bulunan, hiperisin ve türevleri gibi etken bileşikler içeren siyah salgı organellerinin ezilmesiyle ortaya çıkan kırmızı rengin, Ortaçağ döneminde öldürülen Baptist John'un kanından kaynaklandığına inanılarak bitkiye St. John's Wort adı verildiği düşünülse de bu ismin bitkinin çiçeklenme döneminin Baptist John'un günü olarak kutlanan 24 Haziran'a denk gelmesinden de kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Ayrıca bitkinin Kudüs'teki St. John şövalyeleri tarafından, Haçlı Seferleri sırasında savaş meydanında oluşan yaralanmalarda kullanılmasından dolayı da bu ismin verildiğine inanılmaktadır (Istikoglou ve ark, 2010).

Antik Yunan ve Roma döneminde *H. perforatum* bitkisinin kötü ruhları uzak tuttuğuna inanıldığından ikonların üzerine motif olarak işlendiği görülmektedir. Cins adı olan "*Hypericum*", latince "hyper" ve "ikon" anlamına gelen "eikon" kelimelerinin birleşiminden oluşmuştur (Barnes ve ark, 2001). Tür adı olan "*perforatum*" ise bitki ışığa tutulduğunda yaprak ve çiçekleri üzerinde bulunan nokta şeklindeki, yarı saydam salgı organellerinin delikli bir görünüme neden olmasından kaynaklanmaktadır (Bombardelli ve Morazzoni, 1995; Blumenthal ve ark, 2000).

*H. perforatum* türünün Hippocrates, Theophrastus, Dioscorides ve Galenos gibi ünlü hekim ve eczacıların eserlerinde yara ve yanık iyi edici etkilerinden dolayı yer aldığı bilinmektedir. Psikiyatrik rahatsızlıklarda kullanılışıyla ilgili ilk kayıtlar Paracelsus zamanına aittir. Paracelsus bu bitkinin dahilen bağırsak kurtlarına karşı etkili olduğunu, düşünce ikilemlerine karşı kullanıldığını ve iyi bir ruh haline neden olduğunu bildirmiştir. O tarihten bu yana çiçekli toprak üstü kısımlarından hazırlanan çay ve ekstrelerin ruh ve sinir hastalıkları tedavisinde kullanıldığı görülmektedir (Müller, 2005; Rutten, 2007; Istikoglou ve ark, 2010). *H. perforatum*, 19. ve 20. yüzyıllarda başlayan ve günümüzde halen devam eden kimyasal ve biyolojik çalışmaların sonucu olarak birçok ulusal farmakope ve monografların psikiyatrik ilaçlar bölümünde yerini almıştır (Baytop, 1999; Blumenthal ve ark, 2000; Istikoglou ve ark, 2010).

Hypericaceae familyasına ait *Hypericum* cinsinin yeryüzünde yaklaşık 400 türü saptanmıştır (Müller, 2005). Türkiye florasında 45 tanesi endemik olmak üzere 100 takson kayıtlıdır (Robson, 1966; Robson, 1988; Özhatay ve ark, 1999; Dönmez, 2000; Özhatay ve ark, 2009; Özhatay ve ark, 2011). Ülkemizde halk arasında uzun yıllardır, çiçekli toprak üstü kısımlarının zeytinyağı içerisinde 2-3 hafta bekletilmesi ile elde edilen yağı yara ve yanık tedavisinde, çiçekli toprak üstü kısımlarından hazırlanan infüzyonu ise midevi ve kurt düşürücü olarak kullanılmaktadır. Halk arasında yara ve yanık tedavisinde kullanılmasından dolayı “yara otu” ya da “mayasıl otu”, yaprak ve çiçeklerindeki yarı saydam salgı organellerinin neden olduğu delikli görünümünden dolayı “binbirdelik otu” ve ışığa karşı duyarlılığı arttırarak bitkiyi yiyen koyun ve kuzuların güneşe çıktıklarında bazen ölümle sonuçlanabilen duyarlılıklarından dolayı da “koyunkıran” ya da “kuzukıran” olarak isimlendirilmektedir (Baytop, 1999).

Uzun yıllardır *H. perforatum* üzerinde yürütülen çalışmalar sonucu bitkinin kimyasal içeriği aydınlatılmış, naftodiantron yapısında bileşikler, floroglusinol türevleri, flavonoidler, biflavonoidler, fenolik asitler, prosiyanidinler, ksanton türevleri, uçucu yağ bileşikleri ve bazı lipofilik bileşikler taşıdığı belirlenmiştir. Antidepresan etkinin bitkinin taşıdığı naftodiantron yapısındaki hiperisinden kaynaklandığı düşünülse de son yıllarda total ekstreler ile yapılan klinik çalışmalar bu etkiden floroglusinol yapısındaki hiperforin, flavonoidler ve biflavonların sorumlu olduğunu göstermiştir (Hostettmann ve Wolfender, 2005).

Son yıllarda giderek artan hasta sayısı nedeniyle tüm dünyada yaygın bir hastalık halini alan depresyon tedavisinde bitkisel yaklaşımın önemli bir bölümünü oluşturan *H. perforatum* türünden yola çıkılarak günümüze kadar 70’den fazla *Hypericum* türü fitokimyasal açıdan incelenmiştir (Hostettmann ve Wolfender, 2005). *H. perforatum* bitkisinin standardize preparatlarının Türkiye eczanelerinde de yerini alması bu türe olan ilgiyi arttırmış ve ülkemizde yetişen farklı türler üzerinde de kimyasal ve farmakolojik araştırmalar yapılmasına neden olmuştur. Bu çalışma Türkiye’de yetişen, Drosanthe ve Taeniocarpium seksiyonlarına ait 5 endemik türün, yakın lokasyonda yetişen *H. perforatum* türü ile karşılaştırmalı olarak kimyasal ve farmakolojik değerinin aydınlatılması için planlanmıştır. Bu türler üzerinde daha önce yapılmış bir çalışmaya rastlanmadığından, elde edilen sonuçlar literatürde ilk kez yerini alacaktır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Botanik Bölüm

#### 2.1.1. Hypericaceae (Guttiferae, Clusiaceae) Familyası

Genel olarak bileşiminde hiperisin etken maddesi içeren siyah veya kırmızı renkli glandlar veya bileşiminde uçucu yağ içeren şeffaf glandlar taşıyan, bazen çalı, genellikle otsu bitkiler. Yapraklar tam, karşılıklı, nadiren halka şeklinde dizili. Sepaller 5, tomurcukta imbrikat. Petaller 5, serbest, tomurcukta burulmuş şekilde. Stamenler demetler halinde veya dağınık. Ovaryum eksen veya yanal plasentalı, üst durumlu. Tohumlar endospermasız (Robson, 1966).

#### 2.1.2. *Hypericum* L. Cinsi Genel Özellikleri

Çiçekler erdişi. Sepaller 5. Petaller 5, genellikle sarı renkli, çoğunlukla hafif kırmızı renkli veya kırmızı damarlı, nektaryumlar nadiren uzantılı. Stamenler 5'li demetler halinde, petallerin önünde, serbest veya 4'ü birleşerek sepallerin önünde 2'li birleşik demet şeklinde, her biri 3'ten 125'e kadar stamenli, nadiren verimsiz demeti taşır. Ovaryum 3-5 gözlü veya her plasentanın 2'den çok ovül taşıdığı birleşik 1 gözlü. Stiluslar 3-5, serbest, ince. Meyve septisit kapsula, resin taşıyan salgı cepli veya keseli, nadiren etlenmiş ve açılmayan (Robson, 1966).

*Hypericum* cinsine ait türler Türkiye Florası'nda 19 seksiyon altında toplanmış ve bu seksiyonların isimleri aşağıda belirtilmiştir (Robson, 1966).

- *Androseaemum* (Duham.) Endl.
- *Inodorum* Stef.
- *Bupleuroides* Stef.
- *Arthrophyllum* Jaub. & Spach.



- Triadenioides Jaub. & Spach.
- Heterophyllum Robson.
- Triadenia (Spach)
- Drosanthe (Spach) Endl.
- Taeniocarpium Jaub. & Spach.
- Coridium Spach.
- Adenosepalum Spach.
- Drosocarpium Spach.
- Oligostema (Boiss.) Stef.
- Thasia Boiss.
- Crossophyllum Spach.
- Olympia (Spach) Endl.
- Cammpyiopus (Spach) Endl.
- Origanifolia Stef.
- Hypericum

Bu çalışmada araştırılan türlere ve bu türlerin ait oldukları seksiyonlara ait bilgiler aşağıda yer almaktadır.

### **2.1.3. Drosanthe (Spach) Endl. Seksiyonu Genel Özellikleri**

Çok yıllık otsu bitkiler, bazen tabanda odunsu; genellikle sepal ve petal kenarlarında siyah glandlı, nadiren ise üst yüzey veya yaprak uçlarında. Petaller ve stamenler kalıcı. Petaller bazen kırmızı damarlı ya da kırmızımsı renkli, genellikle tırnaklı. Stamen demetleri 3. Stilus 3. Kapsula ve valvleri kırmızı değil. Tohumlar düzden kabarcıklıya değişen şekillerde (Robson 1966).

**Drosanthe Seksiyonu İçerisinde Bulunan Taksonlar** (Robson, 1966; Robson, 1988).

- *H. spectabile* Jaub. & Spach. (Endemik)
- *H. amblysepalum* Hochst.
- *H. lysimachioides* Boiss. & Noë var. *lysimachioides*
- *H. lysimachioides* Boiss. & Noë var. *spathulatum* Robson
- *H. hyssopifolium* Chaix subsp. *elongatum* (Ledeb.) Woron var. *elongatum* Ledeb.
- *H. hyssopifolium* Chaix subsp. *elongatum* (Ledeb.) Woron var. *apiculatum* Robson
- *H. hyssopifolium* Chaix subsp. *elongatum* (Ledeb.) Woron var. *microcalycinum* (Boiss. & Heldr.) Boiss.
- *H. sorgerae* Robson (Endemik)
- *H. apricum* Kar. Et Kir.
- *H. davisii* Robson
- *H. lydium* Boiss.
- *H. retusum* Aucher
- *H. pseudolaeve* Robson (Endemik)
- *H. helianthemoides* (Spach) Boiss.
- *H. olivieri* (Spach) Boiss.
- *H. thymbrifolium* Boiss. & Noë (Endemik)
- *H. uniglandulosum* Hausskn. ex Bornm. (Endemik)
- *H. salsolifolium* Hand.-Mazz. (Endemik)
- *H. capitatum* Choisy. var. *capitatum* (Endemik)
- *H. capitatum* Choisy. var. *luteum* Robson
- *H. scabroides* Robson & Poulter (Endemik)

- *H. scabrum* L.
- *H. thymopsis* Boiss. (Endemik)

### 2.1.3.1. *Hypericum spectabile* Jaub. & Spach., III. Or. 1:57, t.29 (1842).

#### **Botanik Özellikleri:**

Gövde 35-60 cm yükseklikte, dik, bazen sürünücü veya tabanda köklü, çıplak ve glandsız. Yapraklar ana gövdede, 20-45 mm, üçgensel-ovattan yarı dairemsiyeye kadar değişen şekillerde, serbest ve tabanda kordat, amplexikauldan perfoliata kadar değişen şekillerde çıplak ve mat mavimsi yeşil renkte. Çiçek durumu piramidal, çok çiçekli. Sepaller oblong, obtus (nadiren akut) – yuvarlak, kirpiksi glandlı. Petaller 9-14 mm, bazen kırmızı damarlı. Kapsula ovooidden yarı küremsiyeye kadar değişen şekillerde, gagalı.

**Çiçeklenme Zamanı:** Mayıs - Haziran

**Yetiştirme Ortamı ve Yükseklik:** Tarla kenarlarında ve nadasa bırakılmış topraklarda, 570-1280 m.

**Türkiye'deki Yayılışı:** **B7** Erzincan: Kemaliye'nin 8 km kuzeyinde, 1280 m. Malatya: Arapgir'den Kemaliye'ye giderken, 1160 m. **B9** Siirt: Keşan Deresi, Hasteri Dağı'nın 7 km kuzeyi, 1200 m. **C6** Adıyaman: Besni Dağı, Gölbaşı'ndan Pazarcık'a giderken, 850 m. Kahramanmaraş: 570 m (Robson, 1966).

### 2.1.3.2. *Hypericum pseudolaeve* Robson in Notes R.B.G. Edinb. 27:190 (1967).

#### **Botanik Özellikleri:**

Gövde 15-60 cm yükseklikte, dik, çıplak, küçük kırmızımsı glandlar yok ya da çok belirgin. Yapraklar ana gövdede, 8-22 mm, dar, oblong linear, bazen revolut, yuvarlak veya kısa apikulat, çıplak veya dalgalı papilli, mat mavimsi yeşil renkte değil. Çiçeklenme durumu silindirik veya geniş piramidal, çok çiçekli. Sepaller oblongtan-

lanseolata değişen şekillerde, tepede akut-yuvarlak, 1/3 ünde birleşik, glandlı dişli ya da çok kısa saplı glandlı. Petaller 6-8 mm. Kapsula 4-6 mm, küremsi, gagalı veya değil.

**Çiçeklenme zamanı:** Mayıs - Temmuz

**Yetiştirme Ortamı ve Yükseklik:** Kuru volkanik, metamorfik yamaç ve bozkırlarda, 500 - 2000 m.

**Türkiye'deki Yayılışı:**

Tip örneği **B7** Erzincan: Cimin yukarılarında Keşiş Dağı eteklerinde, 1700 m.

**A4** Ankara: Hacıkadın Vadisi, Keçiören. Ankara: Çankaya, Dikmen Vadisi, 1000 m, **B5** Nevşehir: Nevşehir, 1200 m, **B7** Malatya: Malatya'dan Arapgir'e. Elazığ, Maden, 1300 m, **B8** Erzurum: Ilıca ve Tercan Dağları arasında, 2000 m, Siirt: Sirvan'dan Kurtalan'a (Robson, 1966).

**2.1.3.3. *Hypericum thymbrifolium*** Boiss. & Noë in Boiss., Diagn. ser. 2(1):107 (1853).

**Botanik Özellikleri:**

Gövde 9-22 cm yükseklikte, dik, çıplak, bazen kırmızı glandlı noktalı. Ana gövde yaprakları 7-13 mm, linear, revolut, genellikle mukrolu, papilli, puberulus veya hemen hemen çıplak, mat mavimsi yeşil renkli. Çiçek durumu silindirik veya dar piramidal, çok çiçekli. Sepaller ± dar oblongtan, ovat-lanseolata kadar değişen şekillerde, akut, sapsız glandlı veya kenarları dişli glandlı. Petaller 5-7(-9) mm. Kapsula 3-4,5 mm uzunlukta, küremsi, kısa gagalı.

**Çiçeklenme zamanı:** Haziran

**Yetiştirme Ortamı ve Yükseklik:** Kalkerli bozkırlarda 920-1500 m.

**Türkiye'deki Yayılışı:**

Tip örneği **B6** Kapadokya: Harput ve Sivas arasında orta yükseklikteki dağlarda yetişir.

**B6** Sivas: Gürün, 1400 m, Malatya: Darende yukarılarında, 1500 m, Kahramanmaraş: Elbistan'dan Darende'ye, **B7** Malatya: Malatya'nın 3 km doğusunda, 920 m (Robson, 1966).

#### 2.1.4. *Taeniocarpium* Jaub. & Spach. Seksiyonu Genel Özellikleri

Bazen tabanda odunsu veya yarı çalimsı, çok yıllık bitkiler. Sepal, petal ve brakteol kenarları ve bazen brakte kenarları ve yaprak tepeleri siyah glandlı. Petaller ve stamenler kalıcı. Petaller genellikle kırmızı veya turuncu damarlı ya da kırmızımsı renkte ve tırnaksız. Stamen demetleri 3. Stilus 3. Kapsula valvleri sıklıkla kırmızı renkte ve boyuna salgı kanallı. Tohumlar hafifçe pürüzlüden kabarcıklıya kadar değişen şekillerde (Robson, 1966).

***Taeniocarpium* Seksiyonunun İçerdiği Taksonlar** (Robson, 1966; Robson, 1988; Özhatay ve ark, 1999; Dönmez, 2000; Özhatay ve ark, 2009).

- *H. hirsutum* L.
- *H. pruinaum* Boiss. & Bal.
- *H. kotschyanum* Boiss. (Endemik)
- *H. neurocalycinum* Boiss. & Heldr. (Endemik)
- *H. confertum* Choisy. subsp. *confertum*
- *H. confertum* Choisy. subsp. *stenobotrys* (Boiss.) Holmboe
- *H. venustum* Fenzl
- *H. linarioides* Bosse
- *H. armenum* Jaub. & Spach.
- *H. fissurale* Woron. (Endemik)
- *H. thymifolium* Banks and Sol.
- *H. crenulatum* Boiss. (Endemik)
- *H. nummularioides* Trautv.
- *H. monadenum* Robson (Endemik)
- *H. havvae* Güner (Endemik)
- *H. pumilio* Bornm. (Endemik)

- *H. peshmenii* Yıldırım (Endemik)
- *H. marginatum* Woron. (Endemik)
- *H. malatyanum* Peşmen (Endemik)
- *H. saxifragum* Robson & Hub.-Mor. (Endemik)

**2.1.4.1. *Hypericum neurocalycinum*** Boiss. & Heldr. in Boiss., Diagn. ser. 1(8): 114 (1849).

**Botanik Özellikleri:**

Gövde 6-15 cm yükseklikte, dik ya da yükselici bitkiler. Ana gövde yaprakları 5-7 mm, oblong-linear, kısa yumuşak tüylü. Çiçek durumu aralıklı spika şeklinde, 1-5 çiçekli. Sepaller oblongtan – spatulata kadar değişen şekillerde, tepede yuvarlak, 7-9 çizgili, siyah glandlı kirpikli. Petaller 10-15 mm. Kapsula 6-7 mm, ovoid.

**Çiçeklenme zamanı:** Haziran

**Yetiştirme Ortamı ve Yükseklik:** Kalkerli kayalarda 1900 m.

**Türkiye'deki Yayılışı:**

Tip örneği C4 Konya: Hadim Gevne arası, İspatlı Yaylası'nın doğusunda, 1900 m (Robson, 1966).

**2.1.4.2. *Hypericum malatyanum*** Peşmen in Notes. R.B.G. Edinb. 38:436, t.1C (1980).

**Botanik Özellikleri:**

Gövde 5-12 cm yükseklikte, tabanda odunsu ve toprak üzerine yatık, yükselici. Yaprakları 3-7(-9) mm, obovat-eliptik, kenarları düz ya da az çok sertleşmiş, çıplak, mat mavimsi yeşil renkte, intramarjinal ve yüzeysel glandlı. Çiçek durumu (1-)2-3 çiçekli. Sepaller dar ovat-oblong, tepede akut ile subobtus arası, siyah glandlı ve küçük dişli. Petaller 8-10 mm, tepede tek siyah glandlı ya da değil. Kapsula 4-5 mm, ovoid.

Toplanan örnekler (ISTE 93196) *H. malatyanum* türünden yaprak şekilleri ve çiçek sayısı bakımından farklılıklar gösterdiğinden bitki üzerinde yapılan botanik çalışmalar devam etmektedir.

**Çiçeklenme zamanı:** Temmuz - Haziran

**Yetiştirme Ortamı ve Yükseklik:** Kireçli kayaların oyuk ve çatlaklarında, 1900-2000 m.

**Türkiye’deki Yayılışı:**

Tip örneği **B6** Malatya: Doğanşehir, Eskiköy, Meletbaşı mezresi, 1900-2000 m. (Robson, 1988).

### 2.1.5. *Hypericum* Seksiyonu Genel Özellikleri:

Çok yıllık, çıplak bitkiler; gövde, yapraklar (kenar çizgisinden biraz içerde ve bazen yüzeyel), anterler ve bazen sepaller ve petaller siyah glandlı. Gövde koltuklarda sürgünlü. Petaller ve stamenler kalıcı. Petaller bazen yüzeyde ve/veya kenarlarda siyah glandlı. Stamenler 3’lü demetler halinde, stiluslar 3. Kapsula çok sayıda boyuna salgı kanalı veya sırtta şişkin halde salgı kanallı ve yanal salgı cepli. Tohumlar ağimsı – çukurlu (Robson, 1966).

#### ***Hypericum* Seksiyonunun İçerdiği Türler (Robson, 1966).**

- *H. tetrapterum* Fries
- *H. perforatum* L.
- *H. triquetrifolium* Turra
- *H. elegans* Steph. ex Willd.

**2.1.5.1. *Hypericum perforatum* L.**, Sp. Pl. 785 (1753). Ic: Reichb., Ic. Fl. Germ. 6: t. 343 (1844); Ross-Craig, Draw. Brit. Pl. 6: t. 7 (1952).

**Botanik Özellikleri:**

Gövde 10-110 cm yükseklikte, dik, bazen köklenmiş, 2 çizgili, dallar  $\pm$  yükselici. Yapraklar 5-35 mm, dar ovat veya lanseolattan eliptik-oblong veya şeritsiye kadar değişen şekillerde nadiren oblanseolat, sapsız veya hemen hemen tepede saplı ve büyük saydam noktalı. Sepaller lanseolat-oblong veya eliptik, akut-akkuminat veya kısa aristalı, tam, siyah noktasız veya birkaç yüzeysel siyah noktalı. Petaller (5)-8-15 mm, kenarlarda birkaç siyah noktalı ve bazen yüzeysel siyah çizgili. Kapsula (4-)5-9 mm, ovoit-piramidal, sırtta salgı kanallı ve yanlarda salgı cepli.

**Çiçeklenme Zamanı:** (Nisan) Mayıs – Ağustos (Eylül)

**Yetiştirme Ortamı ve Yükseklik:** Mezofitik bölgelerin kuru ortamlarında, su kenarlarında, deniz seviyesinden 2500 m'ye kadar yükseklikte yetişebilir.

**Türkiye'deki Yayılışı:**

Geniş yayılım göstermektedir (Robson, 1966).



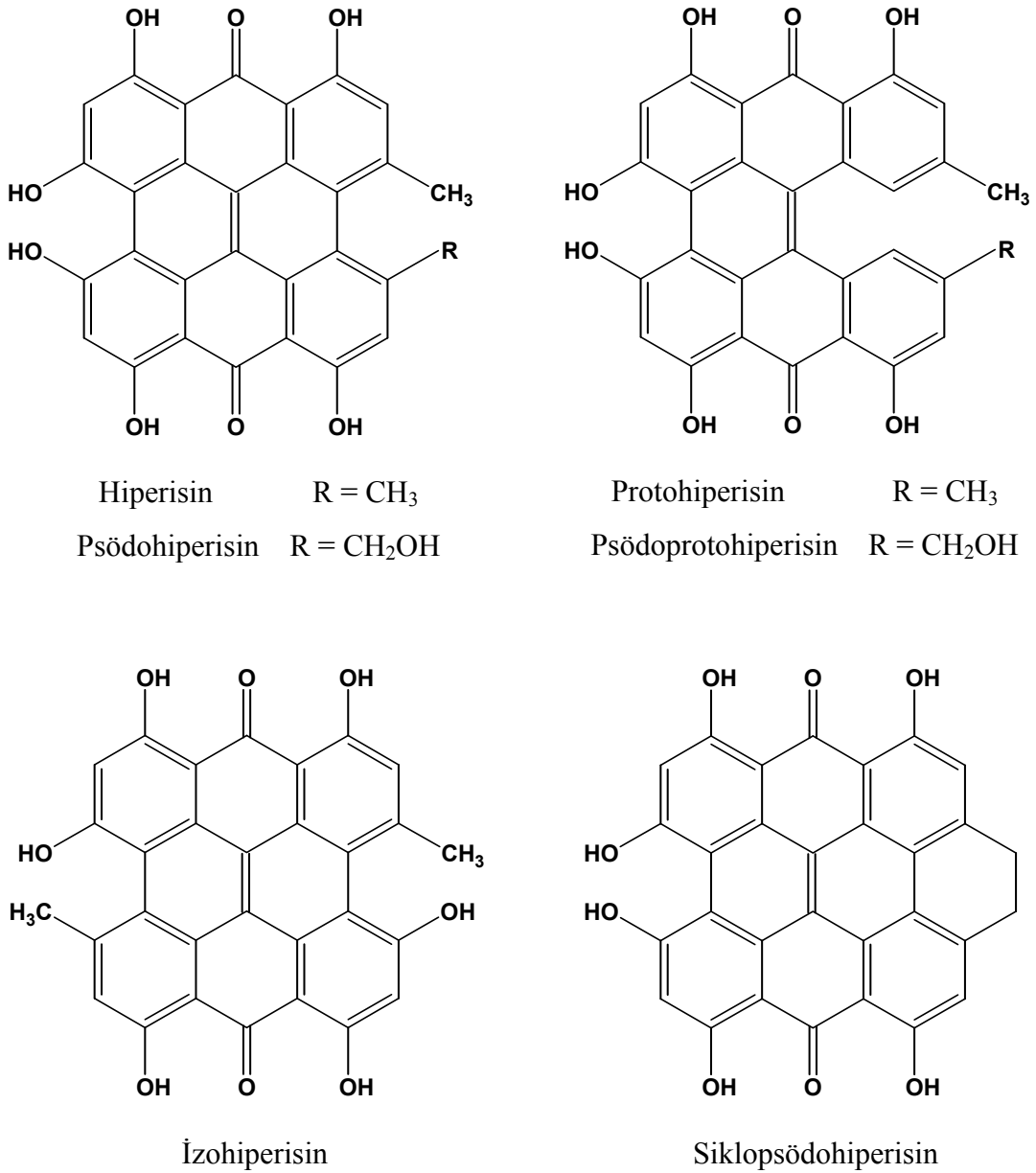
## 2.2. Kimyasal Bölüm

### 2.2.1. Naftodiantron Türevi Bileşikler

Naftodiantron türevi bileşikler yaprak ve çiçeklerin siyah salgı organellerinde bulunan kırmızı renkli bileşiklerdir. Bu bileşikler üzerine ilk kimyasal çalışma Buchner tarafından 1830 yılında yapılmıştır. Buchner hiperisini bitkiden izole etmiş ve “Hypericumrot” olarak isimlendirmiştir. 1895 yılında bitkinin alkol ekstresinin absorpsiyon spektrumu aydınlatılmış, 1911 yılında Cerny tarafından bileşiğe “hiperisin” adı verilmiştir ve yapısı  $C_{16}H_{10}O_5$  olarak aydınlatılmıştır. O zamanlarda 1 kg kurutulmuş çiçeklerden 1,2 g hiperisin izole edilmiştir. 1927 yılında hiperisin yanlılıkla antosiyanidin sınıfına dahil edilmiş, 1953 yılında bu yanlı Brockman tarafından düzeltilerek yapısı 10, 11 dimetil - 1, 3, 4, 6, 8, 12 - hekzahidroksinaftodiantron olarak aydınlatılmış ve total sentezi açıklanmıştır. Bu keşiften sonra 1957-1976 yılları arasında bitkiden farklı hiperisin türevleri izole edilmiştir. Ancak hiperisin ve psödohiperisin bileşiklerinin bitkideki majör naftodiantron türevi bileşikler olduğu saptanmıştır (Bombardelli ve Morazzoni, 1995; Hostettmann ve Wolfender, 2005).

Bitkide total naftodiantron türevleri %0,05-0,3 oranında bulunmaktadır (ESCOP, 2003). Bu bileşiklerden hiperisin emodin-antranol türevi olup sentezi aşamasında öncelikle 4, 4' bağına taşımayan stabil olmayan protohiperisin ve protopsödohiperisin meydana gelmektedir (Dewick, 2003). Bu bileşikler ışığın etkisiyle stabil olan hiperisin ve psödohiperisin bileşiklerine dönüşürler (Delaey ve ark, 1999). Kurutulmuş bitki içerisinde hiperisin ve psödohiperisin yaklaşık %0,1-0,15 oranında bulunmaktadır. Bitkinin standardize sulu alkollü ekstresinin yaklaşık %0,15 oranında hiperisin içerdiği saptanmıştır. Taze bitkinin kimyasal bileşiminde hiperisin biyosentezi öncü maddelerinden izohiperisin, protohiperisin ve protopsödohiperisin bileşikleri de bulunmaktadır. Ayrıca bitki içerisinde psödohiperisinin oksidasyon ürünü olduğu düşünülen siklopsödohiperisin bileşiğine de rastlanmıştır (Barnes ve ark, 2007).

Naftodiantron bileşiklerinin sudaki çözünürlüğü çok düşük olduğundan 60-80°C'de hazırlanan bir infüzyona ancak %40 oranında geçebilirler. Bu oranın %5'i hiperisinden, %35'i psödohiperisinden oluşmaktadır (Bilia, 2002).



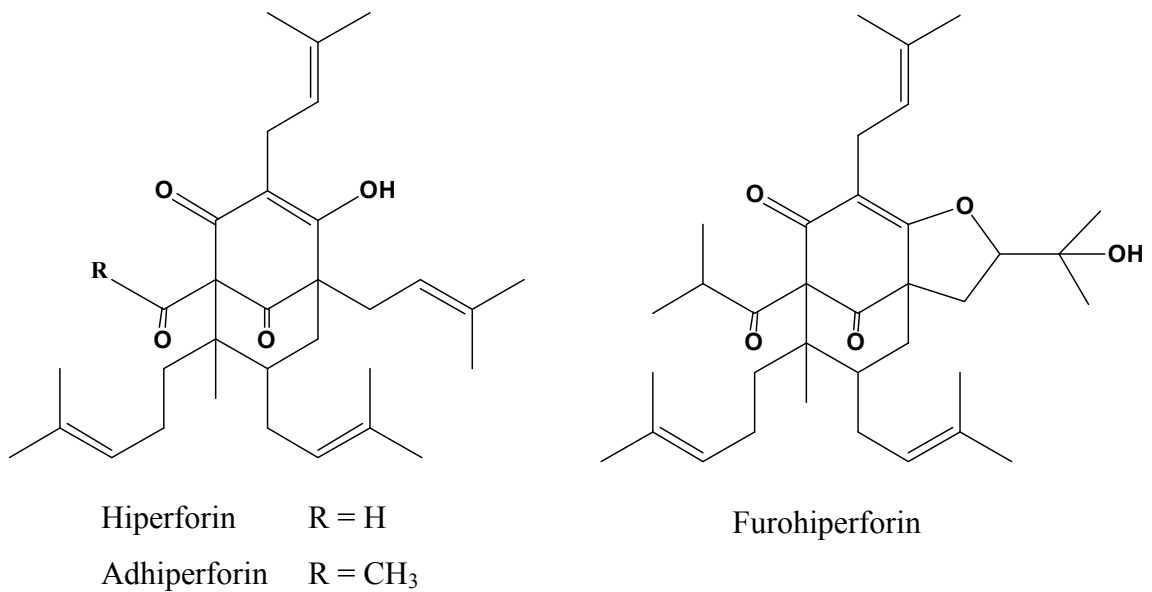
**Şekil 2-1:** *Hypericum* türlerinin kimyasal bileşiminde bulunan başlıca naftodiantron türevlerinin açık formülleri

### 2.2.2. Floroglusinol Türevi Bileşikler

*H. perforatum* bitkisinin çiçeklerinde ve olgun meyvelerinde bulunan floroglusinol türevi bileşiklerden majör olan hiperforin antibakteriyel özelliği nedeniyle 1971 yılında Rus bilim adamı Gurevich tarafından keşfedilmiştir. Hiperforinin kimyasal yapısı ve fizikokimyasal özellikleri 1975 yılından bu yana yapılan birçok çalışma ile aydınlatılmış ancak total sentezi şimdiye kadar açıklanamamıştır. Sonraki yıllarda

bitkide hiperforinden çok daha az miktarda bulunan, floroglusinol yapısında adhiperforin adlı bir bileşik izole edilmiş ve yapısı aydınlatılmıştır.

Uzun yıllar hiperforin ile ilgili yapılan farmakolojik çalışmalar stabilitesinin düşük olması nedeniyle kesin sonuç ve değerlendirmeler ile sonuçlandırılmamıştır. Son yıllarda bitkiden izolasyonu HSCCC (High Speed Counter Current Chromatography) kullanılarak başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiş ve  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de metanol içerisinde bozulmadan saklanması sağlanmıştır. İzole edilen hiperforin organik ve inorganik tuzlarına türevlendirilerek de stabilize edilebilmektedir. Ancak her iki şekilde de ısı ve ışığa karşı hassasiyeti yüksek olduğundan bozulmadan saklanabilmesi için ısı ve ışıktan korunmalıdır. Ayrıca hiperforinin izolasyonu sırasında bitkiden çok düşük oranlarda farklı floroglusinol türevleri de Verotta tarafından izole edilmiştir. Bu bileşiklerin hiperforinin sentezi aşamasında oluşan oksidasyon ürünleri ve türevleri olduğu ya da artifakt olduğu konusunda tartışmalar devam etmektedir. Bitkide bulunan bu türevler furohiperforin (=ortoforin), deoksifurohiperforin, deoksihidroperoksifurohiperforin, furoadhiperforin, oksepahiperforin ve 8-hidroksihiperforin-8,1-hemiasetal olarak adlandırılmaktadır (Zanoli, 2004; Hostettmann ve Wolfender, 2005). Tatsis ve arkadaşları tarafından 2007 yılında yapılan bir çalışmada *H. perforatum* türünden hiperforin ve adhiperforin sentezinin prokürsörleri olduğu düşünülen iki yeni floroglusinol türevi izole edilmiş, hiperforin ve adhiperforin olarak adlandırılmışlardır.



**Şekil 2-2:** *Hypericum* türlerinin kimyasal bileşiminde bulunan başlıca floroglusinol türevlerinin açık formülleri

*H. perforatum* %2-4,5 oranında hiperforin ve %0,2-1,8 oranında adhiperforin taşımaktadır (ESCOP, 2003; Hostettmann ve Wolfender, 2005). Bitkinin standardize sulu alkollü ekstresinin yaklaşık %5 oranında hiperforin içerdiği saptanmıştır (Barnes ve ark, 2001; Dewick, 2003). *H. perforatum* ekstresi içerisinde antidepresan etkiden sorumlu bileşik olması nedeniyle üzerinde birçok çalışma yapılan hiperforinin depresyon tedavisindeki etki mekanizması ile ilgili şimdiye kadar birçok modelleme yapılmıştır ve araştırmalar devam etmektedir.

Farklı *Hypericum* türleri üzerinde yürütülen çalışmalarda bazı floroglusinol türevleri izole edilmiştir. *H. erectum* türünün toprak üstü kısımlarının kloroform ekstresinden beş floroglusinol türevi izole edilmiş ve otogirin, otogiron, erektion A, erektion B ve erektion C olarak adlandırılmıştır (Moon, 2010). Aynı tür ile yapılan başka bir çalışmada ise erekton A ve B olmak üzere iki yeni poliprenilat floroglusinol türevi bileşik tanımlanmıştır (An ve ark, 2002).

*H. polyanthemum* türünden uliginosin B olarak adlandırılan floroglusinol türevi bir bileşik izole edilmiştir (Cargnin ve ark, 2010).

*H. brasiliense* türünün kimyasal bileşiminde floroglusinol türevi bileşiklerden japonisin A, uliginosin B ve izouliginosin B bulunduğu saptanmıştır (Franca, 2009; Leal ve ark, 2010).

*H. ascyron* türü ile yapılan bir çalışmada tomoeon A-H olmak üzere sekiz floroglusinol türevi izole edilmiştir (Hashida ve ark, 2008).

*H. japonicum* türünden yeni bir floroglusinol diglikozit türevi olan 4,6-dimetil-1-O-[ $\alpha$ -L-rhamnopyranozil-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glukopiranozil] multifidol izole edilmiştir (Wang ve ark, 2008). Aynı tür ile yapılan farklı bir çalışmada üç yeni floroglusinol türevi izole edilmiş, flaveson, sarotralin ve sarotralen B olarak adlandırılmıştır (Hu ve ark, 2000).

*H. empetrifolium* türünün Türkiye ve Yunanistan'da doğal olarak yetişen örnekleri ile yapılan bir çalışmada iki açılfloroglusinol türevi izole edilmiş ve yapıları 3-geranil-1-(2'-metilpropanoil) floroglusinol ve 3-geranil-1-(2'-metilbutanoil) floroglusinol olarak adlandırılmıştır (Crockett ve ark, 2008b).

*H. annulatum* subsp. *annulatum* türünün bir prenilat floroglusinol türevi olan hiperatomarin taşıdığı saptanmıştır (Momekov ve ark, 2008).

*H. pseudopetiolum* var. *kiusianum* taksonunun toprak üstü kısımlarından kroman iskeleti taşıyan petiolin A ve petiolin B, dihidrofuran halkası taşıyan petiolin C olmak üzere üç yeni floroglusinol türevi izole edilmiştir (Tanaka ve ark, 2008).

Bir poliizoprenilat floroglusinol türevi olan hiperfoliatin *H. perfoliatum* türünün toprak üstü kısımlarından izole edilerek üzerinde farmakolojik çalışmalar yürütülmüştür (Do Rego ve ark, 2007).

*H. japonicum* türünün toprak üstü kısımlarının etanol ekstresinden HSCCC ile izolasyon çalışmaları yapılmış, sarotialen A, sarotralen B ve sarotalin G olmak üzere üç floroglusinol türevi tanımlanmıştır (Peng ve ark, 2006).

Yunanistan'ın endemik *Hypericum* türlerinden olan *H. jovis* ile yapılan bir çalışmada diklormetan ekstresinden iki yeni floroglusinol türevi izole edilmiş, hiperjovinol A ve B olarak adlandırılmıştır (Athanasias ve ark, 2004).

*H. sampsonii* türünden 2,4,6-trihidroksibenzofenon; 2,4,6-trihidroksibenzofenon-4-O-geranil eter; 2,4,6-trihidroksibenzofenon-3-C-geranil eter; sampsonion D ve H ile altı yeni poliprenilat floroglusinol türevi izole edilmiş, hipersampson A-F olarak adlandırılmıştır (Lin ve Wu, 2003).

*H. atomarium* subsp. *degenii* türünün lipofilik ekstresinden prenilat floroglusinol türevi bir bileşik olan hiperatomarin izole edilmiştir (Savikin-Fodulovic ve ark, 2003).

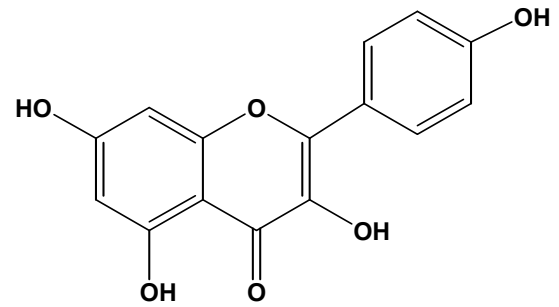
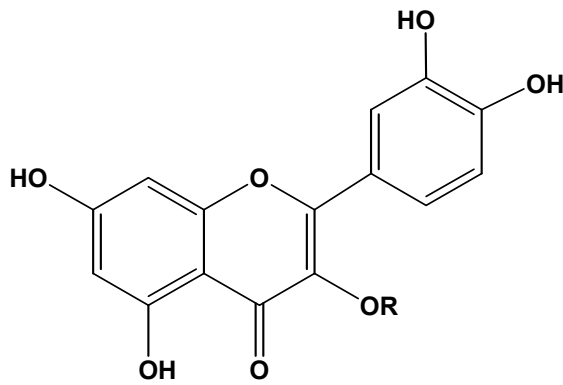
*H. papuanum* ile yapılan bir çalışmada, toprak üstü kısımlarının petrol eteri ekstresinden prenilat bisiklik ve trisiklik açılfloroglusinol türevleri izole edilmiştir. Beş yeni trisiksik türev papuaforin A-E, üç yeni bisiklik türev hiperquinon A-B ve hiperpapuanon olarak adlandırılmıştır (Winkelmann ve ark, 2001a). Aynı tür ile aynı araştırmacıların yaptığı başka bir çalışmada ise enaimeon A, B, C ve 1'-hidroksiialibinon A, B, D olmak üzere altı yeni prenilat floroglusinol türevi bileşik literatüre eklenmiştir (Winkelmann ve ark, 2001b). Yine aynı araştırmacıların aynı tür ile yaptıkları bir çalışmanın sonucunda beş trisiklik floroglusinol türevi bileşik elde edilmiş ve ialibinon A-E olarak adlandırılmıştır (Winkelmann ve ark, 2000).

*H. connatum* türü ile yapılan bir çalışmada, bitkinin *n*-hekzan ekstresinden floroglusinol türevi bir bileşik olan hiperbrasilol B izole edilmiştir. Aynı bileşik daha önce yapılan çalışmalarda *H. caprifoliatum* ve *H. brasiliense* türlerinden de izole edilmiş ve tanımlanmıştır (Rocha ve ark, 1996; Nör ve ark, 2004; Fritz ve ark, 2007).

### 2.2.3. Flavonoitler

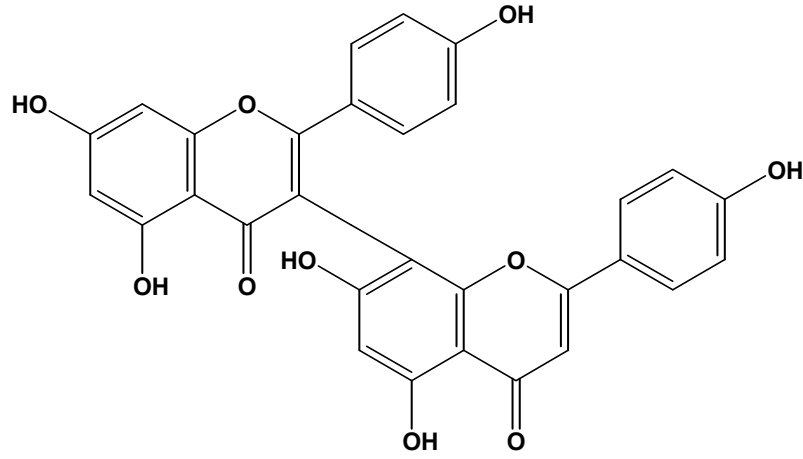
*Hypericum* türleri ana flavonoit bileşiklerinden kersetin ve glikozitlerini içermektedir. Bu bileşiklerden kersetin-3-galaktozit majör flavonoit olarak bitkiden izole edilmiş ve “hiperisin” olarak adlandırılmıştır. Bu yanlış adlandırma Sprecher tarafından düzeltilmiş ve kersetin-3-galaktozit “hiperozit” olarak adlandırılmıştır. Bitki içeriğinde yaygın olarak bulunan diğer kersetin glikozitleri kersetin-3-O-ramnozid (kersitrin), kersetin-3-O-glikozit (izokersitrin) ve kersetin-3-O-rutinozit (rutin) olarak belirlenmiştir. Dihidrokersetin, luteolin, kempferol ve mirsetin ise *Hypericum* türlerinden izole edilen minör flavonoit aglikonlarını oluşturmaktadır.

*H. perforatum* türünün kimyasal bileşiminde %1,6 rutin, %0,9 hiperozit ve %0,3 izokersitrin olmak üzere yaklaşık %2-4 oranında flavonoit bileşikleri ile %0,05-0,01 oranında amentoflavon (I3', II8 biapigenin) ve %0,1-0,5 oranında I3, II8 biapigenin bulunmaktadır (Hostettmann ve Wolfender, 2005).

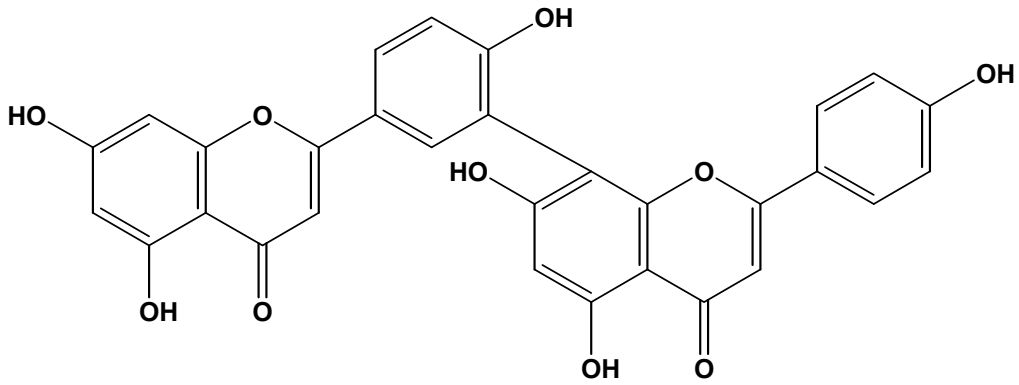


Rutin	R = Ramnoglukozit
Hiperozit	R = Galaktozit
İzokersitrin	R = Glukozit
Kersitrin	R = Ramnozid
Kersetin	R = H

Kempferol



I3, II8 - biapigenin



Amentoflavon (I3', II8 - biapigenin)

**Şekil 2-3:** *Hypericum* türlerinin kimyasal bileşiminde bulunan başlıca flavonoit bileşiklerinin açık formülleri

*H. wightianum* ile yapılan bir çalışmada bilinen flavon bileşiklerinin yanında yeni bir flavon bileşiği izole edilmiş ve wigtianin olarak isimlendirilmiştir (Tao ve Wu, 2004).

*H. canariense* türünden suda çözünebilen beş yeni flavon glikoziti, kersetin-3-glukopiranonat ve bunun poliasetat türevleri izole edilmiş ve yapıları aydınlatılmıştır (Diaz ve ark, 2010).

*H. ternum* türünün flavonoit bileşikleri üzerine yapılan bir çalışmada *Hypericum* cinsinin bilinen flavonoitlerinin dışında guajaverin bileşiği tanımlanmıştır (Pinhatti ve ark, 2010).

Farklı *Hypericum* türlerinden yeni bileşiklerin izole edildiği ve tanımlandığı çalışmalar dışında bilinen flavonlar ve türevlerinin elde edildiği çalışmalar da mevcuttur. *H. hyssopifolium* türü ile yapılan bir çalışmada I3, II8-biapigenin, kersetin, kersetin-3-O- $\alpha$ -arabinofuranozit, kersetin-3-O- $\beta$ -D-galaktopiranozit ve kersetin-3-O- $\beta$ -D-galaktopiranozit-7-O- $\beta$ -D-glukopiranozit olmak üzere bilinen beş flavon bileşiği tanımlanmıştır (Çakır ve ark, 2003).

*H. calycinum* türünden rutin, kersetin, kersitrin, hiperozit, izokersitrin, mikuelianin (kersetin-3-O- $\beta$ -D-glukopiranozit) ve I3, II8-biapigenin izole edilmiş ve yapıları aydınlatılmıştır (Dogrukol-Ak ve ark, 2001; Kırmızıbekmez ve ark, 2008a).

*H. triquetrifolium* ile yapılan bir çalışmada rutin, hiperozit, apigenin-7-O-glukozit, kempferol, kersitrin, kersetin ve amentoflavon izole edilmiştir (Çırak ve ark, 2011).

*H. richerii* türü ile yapılan bir çalışma sonucu kersetin, izokersitrin, mirsetin-3-O-glukozit ve I3, II8-biapigenin elde edilmiştir (Zdunic ve ark, 2011).

*H. perforatum* türünün toprak üstü kısımlarından elde edilen farklı ekstratlar ile birçok çalışma yapılmıştır. Metanol ekstresi ile yapılan bir çalışmada rutin, mikuelianin, hiperozit, kersitrin elde edilmiştir (Kırmızıbekmez ve ark, 2008b). Başka bir çalışmada bu bileşiklere ilave olarak kersetin, I3, II8-biapigenin, amentoflavon (I3', II8 biapigenin) izole edilmiştir (Orčić ve ark, 2011).

Tatsis ve arkadaşları tarafından 2007 yılında yapılan bir çalışmada yine metanol ekstresinden, bu bileşiklere ek olarak astilbin [2(R):3(R)-taksifolin-3- $\alpha$ -L-ramnopiranozit] izole edilmiştir.

*H. conatum* türünün metanol ekstresi ile yapılan bir çalışmada amentoflavon (I3', II8 biapigenin), hiperozit, guajaverine ve luteoforol olmak üzere 4 flavonoid bileşiği izole edilmiş ve tanımlanmıştır (Fritz ve ark, 2007).

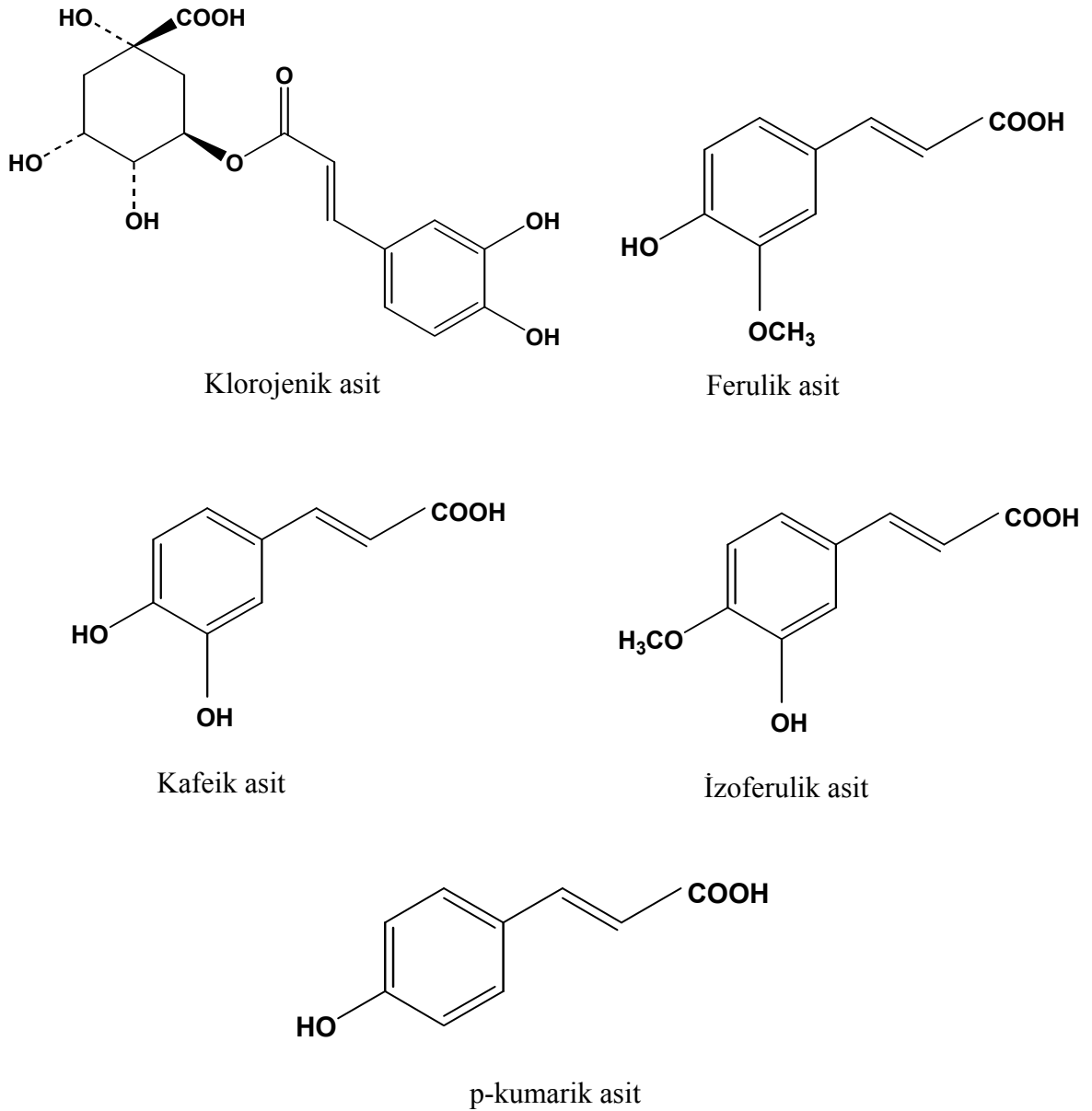
#### 2.2.4. Fenolik Asitler

*H. perforatum* türünün kimyasal bileşiminde p-kumarik asit, ferulik asit, izoferulik asit, kafeik asit ve klorojenik asit gibi yaygın bulunan fenolik asitler ve p-



hidroksi-benzoik asit, vanilik asit bulunmaktadır (Barnes ve ark, 2001; Hostettmann ve Wolfender, 2005). *Hypericum* türlerinin fenolik bileşikleri ile ilgili yapılan çalışmalarda klorojenik asit türevlerine rastlanmış ve bu türevler neoklorojenik asit ve kriptoklorojenik asit olarak adlandırılmıştır (Silva ve ark, 2008; Helmja ve ark, 2011).

Tatsis ve arkadaşları tarafından 2007 yılında yapılan bir çalışmada 3-O-kumaroilkinik asit, Zhang ve arkadaşları tarafından 2011 yılında yapılan bir çalışmada ise 3-O-kafeoilkinik asit ve türevleri *H. perforatum* türünden izole edilmiştir. *H. richerii* türü ile yapılan bir çalışma sonucu ise mirsetin-3-O-kafeoilkinik asit ve mirsetin-5-O-kafeoilkinik asit elde edilmiştir (Zdunic ve ark, 2011).

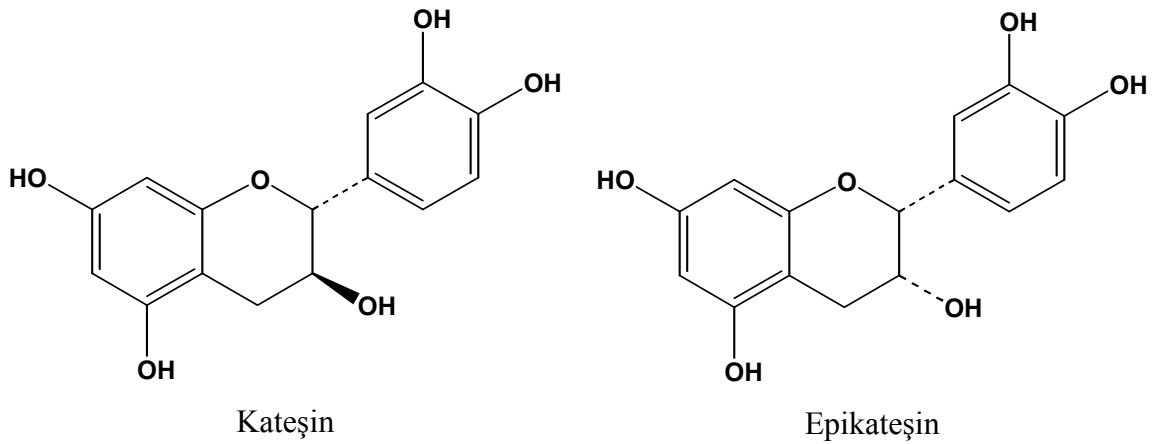


**Şekil 2-4:** *Hypericum* türlerinin kimyasal bileşiminde bulunan başlıca fenolik asit türevlerinin açık formülleri

### 2.2.5. Tanenler ve Proantosiyanidinler

*H. perforatum* türünün kimyasal bileşiminde kondanse tanenlerin varlığı 1925 yılında saptanmış, 1953 yılında Neuwald ve Hagenström tarafından bitkinin sürgünlerinde %3,8, yapraklarında %12,4 ve çiçeklerinde %16,2 oranında bulunduğu belirlenmiştir (Ernst, 2003).

*H. perforatum* bitkisinin tohumlarını da içeren kurutulmuş toprak üstü kısımlarının ağırlığının yaklaşık %12'sini oluşturan proantosiyanidinlerin varlığı ilk kez 1959 yılında Racz ve Fuzi tarafından saptanmıştır. Bu proantosiyanidinler kateşin ve epikateşin türevlerinin (dimerler, trimerler, tetrimerler ve oligomerler) karışımından oluşmaktadır (Ernst, 2003; Hostettmann ve Wolfender, 2005).



**Şekil 2-5:** *Hypericum* türlerinin kimyasal bileşiminde bulunan proantosiyanidinlerin açık formülleri

### 2.2.6. Ksanton Türevleri

*H. perforatum* bitkisinin çiçekli toprak üstü kısımlarında eser miktarda 1,3,6,7-tetrahidroksi-ksanton taşıdığı bilinmektedir (Hostettmann ve Wolfender, 2005). Ancak bu türün kökleri ile yapılan bir çalışmada 1,6-dihidroksi-5-metoksi-4,5-dihidro-4,4,5-trimetilfurano-(2,3:3,4)-ksanton; 4,6-dihidroksi-2,3-dimetoksi-ksanton ve *cis*-kielkorin adı verilen üç ksanton türevi izole edilmiştir (Crockett ve ark, 2011).

Kültüre alınmış *H. perforatum* subsp. *perforatum* alt türünün kallusundan izole edilen ksanton türevi bileşiklere bakıldığında, iki yeni bileşik olan 1-hidroksi-5,6,7-trimetoksi-ksanton ve 3-O-metil-paksanton varlığı, bilinen bileşiklerden olan paksanton, kadensin G, 1-hidroksi-6,7-dimetoksi-ksanton, 1,3,6,7-tetrahidroksi-ksanton ve 1,3,5,6-tetrahidroksi-ksanton varlığı saptanmıştır (Ferrari ve ark, 2005).

*H. sampsonii* türünün topraküstü kısımlarının diklormetan ekstresinden iki yeni prenilat ksanton izole edilmiş ve hiperikumksanton A ve hiperikumksanton B olarak adlandırılmıştır (Wen-Bo ve ark, 2011a). Aynı ekstreden sampson C (= 9H-ksanten-9-on) adı verilen yeni bir ksanton daha izole edilmiş ve yapısı aydınlatılmıştır (Wen-Bo ve ark, 2011b).

*H. ellipticum* türünün toprak üstü kısımlarından 1,3,7-trihidroksi-8-(3-metil-2-butenil)-9H-ksanten-9-on; 1,6-dihidroksi-4-metoksi-9H-ksanten-9-on ve 1,4,5-trihidroksi-9H-ksanten-9-on olmak üzere üç bilinen ksanton türevi izole edilmiştir (Manning ve ark, 2011).

*H. canariense* türünün toprak üstü kısımlarının sulu ekstresinden ksanton glikozitleri mangiferin 2',3',4',6'-tetraasetat ve yeni analogları 1,3,6,7'-tetrametoksi; 1,3,6-trimetoksi-4-asetoksi ve 1,7-diasetoksi-3,6-dimetoksi izole edilmiştir (Diaz ve ark, 2010).

*H. chinense* türünden simetrik bir dimerik ksanton izole edilmiş ve hiperidiksanton olduğu anlaşılmıştır (Wang ve ark, 2010). Aynı bitkinin köklerinden bir ksantonolignoid türevi olan 2-O-demetilkielkorin ve bir fenilksanton olan kineksanton A izole edilmiştir (Tanaka ve ark, 2009).

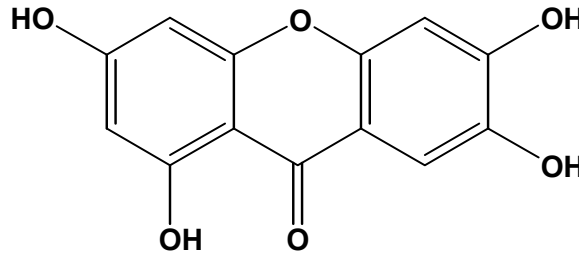
*H. ascyron* türünden 1,3,5-trihidroksi-6,7-[2'-(1-metiletenil)-dihydrofurano]-ksanton; 1,3,5-trihidroksi-6,7-[2'-(1-hidroksi-1-metiletıl)-dihydrofurano]-ksanton ve 1,3,5-trihidroksi-6-O-prenil-ksanton olmak üzere 3 yeni prenilat ksanton izole edilmiştir (Hashida ve ark, 2007).

*H. japonicum* türü ile yapılan bir çalışmada, toprak üstü kısımlarının etanol ekstresinin etilasetat fraksiyonundan izole edilen bileşiklerin yapıları 1,6-dihidroksiizojaseröbin-5-O-D-glikozit ve 3,6,7-tri-hidroksi-1-metoksi-ksanton olarak aydınlatılmış ve iki yeni ksanton türevi oldukları anlaşılmıştır (Fu ve ark, 2006).

*H. scabrum* türünün de toprak üstü kısımlarının etanol ekstresinin etilasetat fraksiyonundan 6 yeni ksanton türevi izole edilmiş ve hiperksanton A-F olarak adlandırılmışlardır (Tanaka ve ark, 2004).

*H. geminiflorum* türünün köklerinden izole edilen 6,7-dihidroksi-1,3-dimetoksi-ksanton; 4-hidroksi-1,2-dimetoksi-ksanton ve gemiksanton A üç yeni ksanton türeği, toksiloksanton B; 1,5,6-trihidroksi-3-metoksi-ksanton; 3,8-dihidroksi-1,2-dimetoksi-ksanton ve 1,3,5,6-tetrahidroksi-ksanton ise bilinen ksanton türevleridir (Mei-Ing ve ark, 1999).

Kültüre alınmış *H. patulum* türünden de yeni bir prenilat ksanton türeği izole edilmiş ve patulon (=1,2-dihidro-3,6,8-trihidroksi-1,1-bis(3-metilbut-2-enil)-ksanten-2,9-dion) olarak adlandırılmıştır (Ishiguro ve ark, 1997).



1, 3, 6, 7 - tetrahidroksiksanton

### 2.2.7. Uçucu Yağ Bileşikleri

Bitki yaklaşık olarak 0,6-3 ml/kg oranında uçucu yağ (terpenoid hidrokarbonlar, 2-metiloktan, *n*-alkanoller), triterpenler ve steroller taşımaktadır. *H. perforatum* türünün uçucu yağının bileşenlerini aydınlatma çalışmaları 1904 yılında başlamış, yapılan çalışmalar sonucunda %0,1-0,35 uçucu yağ içerdiği ve bu oranın hasat zamanına ve toprak üstü kısımlarının kalitesine göre değişim gösterdiği, majör bileşiğin 2-metiloktan (en az %30) olduğu saptanmıştır (Barnes ve ark, 2001; Hostettmann ve Wolfender, 2005).

Farklı *Hypericum* türleri ile yapılan çalışmalarda ana bileşenlerin türe göre değişiklik gösterdiği, oksijenli ya da oksijensiz monoterpenler ya da seskiterpenlerden ve genellikle 2-metiloktan, *n*-nonan, *n*-undekan,  $\alpha$ -pinen,  $\beta$ -pinen, limonen,  $\beta$ -karyofilen, karyofilen oksit,  $\alpha$ -terpineol, geraniol, oktanal, dekanal, dodekanol, 2-metildekan, 2-metildodekan,  $\beta$ -farnesen,  $\gamma$ -kadinen,  $\delta$ -kadinen,  $\alpha$ -kadinol, cis-kalamen ve spatulenol olduğu görülmüştür (Erken ve ark, 2001; Demirci, 2005; Smelcerovic ve

Raabe, 2007; Crockett ve ark, 2007; Crockett ve ark, 2008a; Özkan ve ark, 2009; Chauhan ve ark, 2011).

### 2.3. Farmakolojik Bölüm

*Hypericum perforatum* ve bazı *Hypericum* türlerinin antik çağlardan günümüze kadar birçok hastalığın tedavisinde halk arasında kullanıldığı bilinmektedir.

Dioscorides *H. perforatum*, *H. asciron*, *H. androseamum* ve *H. coris* türlerinin tohumlarının dövülerek bal şerbeti ya da şarap ile günde 2 fincan içilmesini siyatik tedavisinde önermiştir. Tohumlu yapraklı dallarının ise diyare ve yanıkların tedavisinde çok etkili olduğunu belirtmiştir. 1568 yılında Matthioli tarafından yazılan “Discorsi sulla Materia Medica” (Materia Medica Üzerine Tartışmalar) adlı eserin 165. bölümünde diüretik ve emenagog etkili olduğundan bahsedilmiş, 3-4 günde bir nöbete neden olan sıtma tedavisinde kullanımını tavsiye edilmiştir. Theophrastus Yunanistan’da yetişen bir tür olan *H. lanuginosum* türünü harici kullanım için önermiştir. Galenos diüretik ve emenagog aktivitesi olduğunu kabul etmiştir (Müller, 2005; Dell’Aica ve ark, 2007).

Romalı bir doktor olan Castore Durante 1617 yılında “Herbario Nuovo” adlı eserinde *Hypericum* için zehirlenmelere ve böbrek taşlarına karşı, paralizi ve epilepsi tedavisinde dahilen kullanım belirtmiş, haricen ise hazırlanan yağının yara iyileştirici, böcek ve yılan ısırıklarına karşı kullanıldığını yazmıştır. Bitkinin çiçekli toprak üstü kısımlarının zeytinyağı içerisinde ve güneşte 2-3 hafta bekletilmesiyle hazırlanan “Hyperici oleum” yara ve yanık tedavisinde önemli kullanılışı nedeniyle 1618 yılında Londra Farmakopesinin ilk baskısında yerini almıştır ve günümüzde de halen yara iyileştirici olarak önerilmektedir (Dell’Aica ve ark, 2007; Hussain ve ark, 2009). “Hyperici oleum” turuncu kırmızıdan parlak kırmızıya dönen renklerde fluoresans gösterdiğinden bu rengin hiperisinden kaynaklandığı düşünülmüş, ancak yapılan çalışmalar hiperisinin güneş ışığının etkisiyle bozunmaya uğradığını, kırmızı rengin hiperisinin lipofilik bozunma ürünlerinden kaynaklandığını göstermiştir. Yağın terapötik aktivitesinden sorumlu olduğu düşünülen hiperforinin, güneş ışığı altında bekletilerek hazırlanan yağda 3 ay süreyle stabil kaldığı belirlenmiştir. Sonuç olarak

taze hazırlanan yağ içerisinde hiperforin, hiperisinin bozunma ürünleri ve flavonoit glikozitleri bulunduğu saptanmıştır (Maisenbacher ve Kovar, 1992).

Uzun zaman önce sinirlilik ve uyku bozukluğu ile patolojisi tanımlanan depresyonun tedavisinde *H. perforatum* türünün kullanımı ilk kez 16. yüzyılda Paracelsus tarafından önerilmiştir. 1722 yılında Jackson tarafından yazılan “De Mania” adlı eserin 7. bölümünde, günümüzün depresyon belirtileri içerisinde yer alan şikayetlerin tedavisinde *H. perforatum* türünün dekoksiyonunun kullanılışından bahsetmiştir. 1757 yılında Fransız botanikçi Geoffroy, mental rahatsızlıkların tedavisi için tentürünün kullanıldığını bildirmiştir. 1882 yılında Gubernatis ve 1885 yılında Cantani tarafından “Hayatın ıstıraplarını unutturan” olarak tanımlanmıştır. 1938 yılında Gerhard Madaus *H. perforatum* preparatlarının sinirsel ve mental rahatsızlıklar, nevroz ve insomnia tedavisinde kullanıldığını belirtmiştir (Ernst, 2003; Dell’Aica ve ark, 2007).

Etnofarmakognozok açıdan incelendiğinde, Amerikan yerlileri tarafından dahilen avortan olarak, ayrıca şiddetli diyare, yüksek ateş ve tüberküloza karşı, haricen ise dermatolojik ve böcek ısırıklarına karşı kullanıldığı kayıtlıdır (Ernst, 2003; Dell’Aica ve ark, 2007). Avrupa’da halk arasında antiflojistik, bronşiyal enflamasyonlara ve ürogenital sistem rahatsızlıklarına karşı, hemoroid, yara, yanık ve ülser tedavisinde kullanılmıştır (Bombardelli ve Marozzoni, 1995). Rusya’da halk arasında gastroenterit, romatizma, yanık, hemoroid, öksürük, yara, ülser ve aşırı kanamaların tedavisinde kullanılmıştır (Ernst, 2003). Türkiye’de halk arasında dahilen antispazmodik, kabız etkili, yatıştırıcı ve kurt düşürücü olarak, haricen ise yara ve yanıkların tedavisinde kullanılmış ve kullanılmaktadır (Baytop, 1999).

Dünya genelinde yaygın olarak kullanılan *H. perforatum*, Çek Cumhuriyeti, Fransa, Romanya, Rusya, İngiltere ve Avrupa farmakopelerinde, Alman Komisyon E ve ESCOP (*European Scientific Cooperative on Phytotherapy*) monograflarında yer almaktadır (Blumenthal ve ark, 2000; Barnes, 2001).

Yüzyıllar boyunca halk tıbbında önemli yeri olan bu bitki ile ilgili kimyasal ve farmakolojik çalışmalar 30-40 yıl önce başlamış, birçok farmakolojik aktivite ve bu aktivitelerin etki mekanizmaları aydınlatılmıştır. Günümüzde standardize ekstreleri hafif ve orta şiddetli depresyon tedavisinde kullanılmaktadır.

*Hypericum* türlerinin farmakolojik etkileri ve bu etkiler ile ilgili yapılan bazı çalışmalar ayrıntılı olarak incelenmiş ve devam eden sayfalarda özetlenmiştir.

### 2.3.1. Antidepresan Aktivite

Günümüzde duygusal, zihinsel, davranışsal ve bedensel bazı belirtilerle kendisini gösteren, mutsuz, karamsar ve ümitsiz bir ruh hali ile hayattan zevk alamama ve kendini yalnız hissetme durumunun eşlik ettiği bir hastalık olarak tanımlanan depresyon, tarihte ilk kez Hippocrates tarafından beyin maddesi eksikliğinin bir hastalığı olarak tanımlanmıştır. *H. perforatum* bitkisinin psikiyatrik rahatsızlıklarda kullanılabileceğini ilk olarak ortaya koyan Paracelsus'tan sonra, bitki ekstralarının hafif ve orta şiddetli depresyon tedavisinde etkili olabileceği düşünülmüş ve konuyla ilgili çok sayıda klinik çalışma yapılmıştır (Blumenthal ve ark, 2000).

Yapılan klinik çalışmalar *H. perforatum* ekstralarının antidepresan benzeri etkiye sahip olduğunu göstermiş ve göstermektedir, ancak etki mekanizması ve etkili kimyasal bileşik ile ilgili henüz kesin bir sonuca varılamadığından yaklaşımlar üzerinden çalışmalar devam etmektedir (Hussain ve ark, 2009).

İlk zamanlarda antidepresan etkiden sorumlu bileşiğin naftodiantron yapısındaki hiperisin olduğu düşünülmüş, ancak devam eden çalışmalar sonucunda antidepresan etkinin floroglusinol yapısındaki hiperforinden kaynaklandığı bildirilmiştir. Son zamanlarda *H. perforatum* ekstresinin antidepresan etkisinin floroglusinol türevlerinden hiperforin ve adhiperforin ile flavonoit bileşiklerinden hiperozit, izokersitrin, mikuealianin ve I3, II8 biapigenin bileşiklerinin sinerjik etkisinden kaynaklandığı düşünülmektedir (Suzuki ve ark, 1984; Chattarjee ve ark, 1998; Müller ve ark, 2001; Butterweck, 2003; Beerhues, 2006; Medina ve ark, 2006).

Bu bileşiklerin antidepresan etki mekanizması ile ilgili hipotezler bulunmakla beraber kesin bir sonuca varılamamıştır. Hiperforinin, monoaminler,  $\gamma$ -aminobütirik asit (GABA) ve glutamatlar gibi nörotransmitterlerin geri alınımını engelleyerek sinaptik aralıklarda bu nörotransmitterlerin miktarını arttırdığı saptanmıştır. Bu etkiyi sentetik antidepresanların (SSRI) yaptığı gibi nörotransmitter taşıyıcı proteine yarışmalı olarak

bağlanmak yerine farklı bir mekanizma üzerinden gerçekleştirdiği düşünülmektedir. Hiperforinin hücre zarında  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  transferini aktive ederek hücre içi  $\text{Na}^+$  konsantrasyonunun artmasına ve hücre dışı  $\text{Na}^+$  konsantrasyonunun azalmasına neden olduğu ve böylelikle nörotransmitterlerin  $\text{Na}^+$  iyonu ile hücre içine taşınmasını engellendiği, sinaptik aralıklardaki nörotransmitter konsantrasyonlarını arttırdığı görüşü mevcuttur. Farklı bir yaklaşıma göre hiperforinin, presinaptik vezikül zarında bulunan  $\text{H}^+/\text{ATPaz}$  pompasının vezikülün içi ile sitoplazma arasında oluşturduğu pH farkını azaltarak nörotransmitterlerin vezikül içine girişlerini ve orada depolanmalarını doza bağlı olarak inhibe ettiği düşünülmektedir. Bu şekilde sitoplazmadaki serbest nörotransmitter miktarı artmakta, sitoplazma ile hücre dışı ortam arasındaki nörotransmitter konsantrasyon farkı azalmakta ve nörotransmitterlerin sinaptik uca geri alımları engellenmektedir (Müller, 2003; Zanoli, 2004; Treiber ve ark, 2005; Can ve ark, 2009).

*H. perforatum* türünün antidepresan etkisi çiçekli toprak üstü kısımlarından hazırlanan ekstreler ile yapılan klinik çalışmalarla kanıtlanmıştır. Kullanılan ekstreler WS 5570, STW 3-VI, Ze 117 gibi patentli ve standardize ticari preparatlardır (Can ve ark, 2009). Bu çalışmalardan birkaç örnek aşağıda özetlenmektedir.

154 hasta ile yürütülen randomize, çok merkezli, çift kör ve plasebo kontrollü bir çalışmada orta şiddetli depresyona karşı 900 mg/gün *H. perforatum* STW 3-VI patentli, standardize ekstresi ile 20 mg/gün sitalopram 6 hafta süresince uygulanmış, STW 3-VI ekstresinin uygulandığı grupta tedaviye yanıt süresinin kısaldığı ve hastalığın tekrarlama oranının düştüğü belirlenmiştir (Singer ve ark, 2011).

Akut majör depresyon tanılı 251 yetişkin hasta ile yapılan bir çalışmada 900 mg/gün *H. perforatum* WS 5570 patentli, standardize ekstresi ile 20 mg/gün paroksetin 6 hafta süresince uygulanmış ve WS 5570 ekstresinin en az paroksetin kadar etkili olduğu ve daha iyi tolere edildiği saptanmıştır (Szegeci ve ark, 2007).

3000 hasta üzerinde yapılan 10 çalışmada, %50 ve %60'lık *H. perforatum* (HP) etanol ekstreleri plaseboya ve sentetik antidepresanlardan imipramine ve fluoksetine karşı değerlendirilmiştir. Sonuç olarak 5 çalışmada HP ekstresi plaseboya karşı anlamlı bir üstünlük gösterirken diğer 5 çalışmada imipramin ve fluoksetin kadar iyi olduğu bildirilmiştir (Schulz, 2002).



150 mg/gün imipraminin, 500 mg/gün *H. perforatum* Ze 117 patentli, standardize ekstresi ile karşılaştırıldığı 324 hasta ile yapılan bir çalışmada, terapötik etkinliklerinin aynı olduğu, ancak Ze 117 ekstresinin daha iyi tolere edildiği ve daha az yan etki gösterdiği saptanmıştır (Kaufeler ve ark, 2001).

500 mg/gün *H. perforatum* Ze 117 patentli, standardize ekstresinin etkisinin 20 mg/gün fluoksetin ile karşılaştırıldığı 240 hasta ile yapılan başka bir çalışmada ise Ze 117 ekstresinin hafif depresyon bulgularını fluoksetinden daha iyi tolere ettiği ve antidepresan etkisinin fluoksetine eş değer olduğu gözlenmiştir (Schrader, 2000).

30 hafif ve orta şiddetli depresyon hastasında yapılan diğer bir çalışmada 600-900 mg/gün *H. perforatum* LI 160 patentli, standardize ekstresi ile 50-75 mg/gün sertralin karşılaştırılmış LI 160 ekstresinin hafif ve orta şiddetli depresyon tedavisinde en az sertralin kadar etkili olduğu gösterilmiştir (Brenner ve Azbel, 2000).

### 2.3.2. Antimikrobiyal Aktivite

#### Antibakteriyel Aktivite

*H. perforatum* türünün tarihten bu yana halk arasında egzema, ülser, yara ve yanık tedavisinde kullanılması ve 17. yy.'da çiçekli toprak üstü kısımlarından hazırlanan yağının doktorlar tarafından ameliyat yaralarını ve iltihaplı yaraları temizlemek için kullanılması antimikrobiyal etkisinin uzun yıllardır bilindiğini göstermektedir (Dell'Aica ve ark, 2007).

*In vitro* olarak yapılan birçok çalışma *H. perforatum* türünün çiçekli toprak üstü kısımlarından hazırlanan ekstrelerin antibakteriyel etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Dekoksiyonunun *Staphylococcus*, *Shigellae* ve *Escherichia coli* suşlarına karşı aktivite gösterdiği, etanol ekstresinin Gram-pozitif bakterilere (*Enterococcus faecalis* ve *S. aureus* ATCC 1112) karşı Gram-negatif bakterilerden çok daha etkili olduğu, Gram-negatif bakterilere (*Salmonella thypi* ATCC 1595, *Shigella dysenteriae* ATCC 1188, *Yersinia enterocolitica* ATCC 1151, *E. coli* ATCC 1330 ve *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 1074) karşı çok daha az aktif olduğu ya da hiç aktivite göstermediği saptanmıştır. Gram-pozitif bakterilere karşı en iyi aktiviteyi metanol

ekstresinin gösterdiği, MİK değerinin  $50 \mu\text{g/ml}^{-1}$  olduğu belirlenmiştir (Avato ve ark, 2004; Conforti ve ark, 2005; Saddiqe ve ark, 2010).

1999 yılında Hindistan'da yapılan bir çalışma, *H. perforatum* türünün farklı kısımlarından elde edilen ekstraların antibakteriyel etkisini incelemiş ve antibakteriyel etkiden sorumlu olan bileşiğin izolasyonu için yol göstermiştir. İzolasyon ve yapı tayini çalışmaları sonucu bu bileşiğin hiperforin olduğu anlaşılmıştır. Lipofilik özellikte olan bu maddenin petrol eteri ekstresinde bulunduğu saptanmış, ancak saf olarak izole edilen hiperforinin stabilitesinin düşük olması antibakteriyel aktivite çalışmalarını bir süre engellemiştir (Schempp ve ark, 1999). Agar dilüsyon yöntemi kullanılarak  $0,1-100 \mu\text{g/ml}^{-1}$  konsantrasyonlarındaki hiperforinin Gram-negatif bakterilere karşı herhangi bir aktivite göstermediği belirlenmiştir.  $1-100 \mu\text{g/ml}^{-1}$  konsantrasyon aralığında hiperforinin metisiline ve penisiline dirençli *Staphylococcus aureus* suşlarını da içeren Gram-pozitif bakterilere karşı aktivitesine bakıldığında tüm suşlarının çoğalmasını inhibe ettiği görülmüştür. Metisiline ve penisiline dirençli suşların bazı penisilin türevlerine, sefalosporinlere, klindamisin, eritromisin, gentamisin, ofloksasin ve piperasilin-tazobaktama karşı da dirençli oldukları bilinmektedir. Hiperforinin bu suşların dışında, en az  $0,1 \mu\text{g/ml}^{-1}$  konsantrasyonda *Corynebacterium diphtheriae* (E 6040),  $1 \mu\text{g/ml}^{-1}$  konsantrasyonda *Streptococcus agalactiae* B (D 595) ve *S. pyogenes* A (E 12449) suşlarına karşı da antibakteriyel aktivite gösterdiği saptanmıştır. Yapılan birçok çalışma hiperforinin antibakteriyel etkiyi yüksek konsantrasyonlarda gösterdiği sonucunu rapor etmektedir (Fiebich ve ark, 1999; Schempp ve ark, 1999; Saddiqe ve ark, 2010).

*H. perforatum* türünün çiçekli toprak üstü kısımlarının petrol eteri ekstresi ile yapılan bir çalışmada metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) suşuna karşı yüksek aktivite gözlenmiş, lipofilik bileşik olan hiperforinin bu ekstreye yüksek olarak geçtiği ve bu etkiden sorumlu olduğu rapor edilmiştir (Reichling ve ark, 2001). Farklı bir çalışmada *H. perforatum* türünün çiçekli toprak üstü kısımlarının metanol, petrol eteri, kloroform ve etil asetat ekstraları ile antibakteriyel aktivite tayini yapılmış, en yüksek aktiviteyi etil asetat ekstresinin gösterdiği ve ekstrenin YBSK ile incelenmesi sonucu içeriğinde flavonoit bileşikleri, hiperisin ve hiperforin taşıdığı saptanmıştır (Avato ve ark, 2004).

*H. perforatum* türünden izole edilen deoksihiperforin, furohiperforin, furoadhiperforin, furohiperforin A, piranohiperforin, hiperforin gibi floroglusinol türevi bileşiklerin Gram-pozitiflerden *S. aureus*, *Bacillus subtilis* spor formu, Gram-negatiflerden *Escherichia coli* suşlarına karşı antibakteriyel aktivitelerine agar difüzyon metoduyla bakılmıştır. Gram-negatiflere ve Gram-pozitiflerden *B. subtilis* spor formuna karşı hiçbir bileşik etki göstermezken *S. aureus* suşuna karşı furohiperforin A etki göstermiştir (Vajs ve ark, 2003).

Türkiye’de yapılan bir çalışmada, *H. perforatum* türünün çiçekli toprak üstü kısımlarından hazırlanan ekstrelerin standart ve klinik olarak izole edilen *Helicobacter pylori* suşlarına karşı gösterdiği anti-*Helicobacter* aktiviteye bakılmış, butanol ve kloroform ekstrelerinin yüksek aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Yeşilada ve ark, 1999).

*H. perforatum* türünün antibakteriyel aktivitesi üzerinde mevsimsel değişikliklerin etkilerini belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada, dondurulmuş bitkiden sulu etanol ekstresi hazırlanmış ve Gram-pozitif (*S. aureus* ATCC 12600) ve Gram-negatif (*E. coli* ATCC 8677 ve *P. aeruginosa* ATCC 9721) bakterilere karşı incelenmiştir. Temmuz ayında toplanan örneklerden hazırlanan ekstre aktivite göstermezken Ağustos ayında toplanan örneklerden hazırlanan ekstre aktivite göstermiştir. Bu çalışma ile antibakteriyel aktivitenin bitkinin toplanma zamanına göre değişiklik gösterebileceği saptanmıştır (Borchardt ve ark, 2008).

Reichling ve arkadaşları 2001 yılında yaptıkları bir çalışmada su ile seyreltilen *H. perforatum* çaylarının Gram-pozitif bakterilere, özellikle de metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) suşuna karşı aktivite gösterdiğini belirlemiştir.

Perkolasyon ile hazırlanan *H. perforatum* su ve etanol ekstrelerinin metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) ve metisiline hassas *S. aureus* (MSSA) suşlarına karşı aktivitelerine bakılmış etanol ekstresinin su ekstresine göre çok daha iyi aktivite gösterdiği ve MRSA’ya karşı MSSA’dan daha aktif olduğu saptanmıştır (Saddiqe ve ark, 2010).

*H. perforatum* ekstrelerinin antibakteriyel aktiviteye sahip olması farklı *Hypericum* türleri ile araştırmalar yapılmasına neden olmuştur. *H. brasiliense*, *H. scabrum*, *H. hircinum*, *H. hookerianum*, *H. canariense*, *H. maculatum*, *H. mysorense* ve *H. patulum* türlerinden elde edilen ekstrelerin ve saf bileşiklerin antibakteriyel aktivitelerine bakılmış, ekstrelerin çoğunda aktivite gözlenmiş saf bileşiklerde ise ya

çok zayıf aktivite görülmüş ya da hiç görülmemiştir (Rocha ve ark, 1995; Rocha ve ark, 1996; Pistelli ve ark, 2000; Mukherjee ve ark, 2001; Rabanal ve ark, 2002; Matsuhisa ve ark, 2002; Mukherjee ve ark, 2002).

Türkiye için endemik türlerden *H. kazdaghensis* aseton, kloroform ve metanol ekstrelerinin *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella thyphimurium* ve *Staphylococcus aureus* suşuna karşı antibakteriyel aktivitesinin gentamisine karşılaştırıldığı bir çalışma sonucu tüm ekstrelerin çok güçlü antibakteriyel etki gösterdiği, ayrıca *Pseudomonas aeruginosa* ve *Bacillus subtilis* suşuna karşı duyarlı oldukları saptanmıştır (Dulger ve Gonuz, 2005).

*H. perforatum* türünden elde edilen uçucu yağın antibakteriyel aktivitesine bakılan bir çalışmada disk difüzyon yöntemi kullanılmış, *K. pneumoniae*, *Salmonella enteridis*, *S. lutae* 9341, *S. aureus* 6538, *E. coli* 95, *B. subtilis* "S" ve *B. subtilis* 841 suşlarına karşı aktivite gözlenirken *P. aeruginosa* suşuna karşı aktivite gözlenmemiştir (Saddiye ve ark, 2010).

Farklı *Hypericum* türlerinin uçucu yağlarının antibakteriyel aktivitesiyle ilgili bir çalışmada *H. alpinum*, *H. barbatum*, *H. rumeliacum*, *H. maculatum*, *H. perforatum*, *H. hirsutum* uçucu yağlarının *Bacillus cereus*, *Micrococcus luteus*, *Sarcina lutea*, *Staphylococcus aureus*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas tolaasii*, *Salmonella enteritidis* suşlarına karşı etkisine bakılmıştır. En yüksek aktivite *H. barbatum* uçucu yağında görülmüş, *H. alpinum* ve *H. hirsutum* uçucu yağlarının *P. mirabilis* ve *P. aeruginosa* suşlarına karşı hiç etkisinin olmadığı saptanmıştır (Saroglou ve ark, 2007).

*H. hyssopifolium* ve *H. lysimachioides* uçucu yağlarının 9 farklı mikroorganizma üzerinde antibakteriyel etkisine bakılan bir çalışmada ise tüm suşlara karşı çok iyi aktivite görüldüğü rapor edilmiştir (Toker ve ark, 2006).

Rusya'da oldukça yaygın olarak reçete edilen ve *H. perforatum* ekstresi içeren "Novoimanine" ve "İmanine" adlı antibakteriyel etkili preparatlar bulunmaktadır. *In vivo* ve *in vitro* olarak yürütülen çalışmalar bu preparatların *Staphylococcus aureus* enfeksiyonlarına karşı sülfanilamitten daha etkili olduklarını göstermiş, hiperforin içerdiği rapor edilen "Novoimanine" adlı preparatın MİK değerinin  $0,1\mu\text{g/ml}^{-1}$  olduğunu bildirmiştir (Saddiye ve ark, 2010).

Almanya’da *H. perforatum* çiçeklerinin ekstresini içeren merhemler bulunmakta ve antiseptik özellikleri nedeniyle kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalar bu merhemlerin ikinci ve üçüncü derece yanık tedavisinde kullanıldığında iyileşme sürecini bilinen tedavi yöntemlerine göre üç kat hızlandırdığını göstermiştir (Saddiqe ve ark, 2010). *H. perforatum* standardize ekstresi (%1,5 oranında hiperforin) içeren başka bir merhem plasebo ile karşılaştırmalı olarak atopik dermatite karşı etkisine bakılmış, hafif ve orta şiddetli atopik dermatit tedavisinde plaseboya karşı önemli bir üstünlük gösterdiği saptanmıştır (Schempp ve ark, 2003a). %30, %40 ve %50 “Hyperici oleum” içeren üç lipofilik merhem formülasyonunun dermal ve vajinal uygulamada *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus viridans*, *Micrococcus luteus* ATCC 9341, *Moraxella catarrhalis* ve *Lactobacillus acidophilus* suşlarına karşı aktivitelerine bakılmış, vajinanın doğal florasında bulunan *Lactobacillus acidophilus* haricindeki suşlara karşı aktivite gözlenmiş, merhem içeriğindeki “Hyperici oleum” miktarı arttıkça antibakteriyel aktivitenin de arttığı belirlenmiştir (Saddiqe ve ark, 2010).

#### Antifungal Aktivite

*H. perforatum* etanol ekstresinin antifungal aktivitesinin araştırıldığı bir çalışma ile *Fusarium oxysporum* ve *Penicillium canescens* suşlarına karşı aktivite görüldüğü rapor edilmiştir (Milosevic ve ark, 2007).

*H. perforatum* türünden izole edilen deoksihiperforin, furohiperforin, furoadhiperforin, furohiperforin A, piranohiperforin, hiperforin gibi floroglusinol türevi bileşiklerin *Candida albicans* suşuna karşı antifungal aktivitelerine agar difüzyon metoduyla bakılmıştır. Hiperforinin ve furohiperforinin antifungal aktivite göstermediği, ancak metabolitlerinden piranohiperforinin anlamlı, furohiperforin A’nın ise zayıf etki gösterdiği saptanmıştır (Vajs ve ark, 2003).

*H. perforatum* uçucu yağı ile yapılan bir çalışmada *Microsporum gypseum*, *Trichinophyton rubrum*, *Aspergillus flavus*, *Curvularia lunata* ve *Fusarium vasiinfectum* suşlarına karşı antifungal aktivite görülmüştür (Saddiqe ve ark, 2010).

*Hypericum* türleriyle ilgili bir çalışmada *H. alpinum*, *H. barbatum*, *H. rumeliacum*, *H. maculatum*, *H. perforatum*, *H. hirsutum* uçucu yağlarının antifungal aktivitesine *Candida albicans* suşuna karşı bakılmıştır. *H. alpinum* ve *H. hirsutum* uçucu yağlarının aktivite göstermediği, diğerlerinin ise zayıf etkili olduğu saptanmıştır (Saroglou ve ark, 2007).

*H. perforatum* türünden izole edilen, bilinen flavonoidlerden kersitrin, hiperozit, avikularin, rutin, kersetin ve kempferolün; ayrıca yeni olarak tanımlanan 6''-O-asetil kersetin 3-O-β-D-allosid flavonol glikozitinin antifungal aktivitesinin araştırıldığı bir çalışmada kersitrin, kersetin ve 6''-O-asetil kersetin 3-O-β-D-allosid *Helminthosporium sativum* suşuna karşı, kersitrin ve 6''-O-asetil kersetin 3-O-β-D-allosid ayrıca *Fusarium graminearum* suşuna karşı aktivite göstermiştir (Saddiqe ve ark, 2010).

#### Antiviral Aktivite

*H. perforatum* ekstrelerinin antiviral aktivitesi ile ilgili yapılan çalışmalar bu aktiviteden sorumlu başlıca bileşiğin hiperisin, ikincil sorumlu bileşiğin ise psödohiperisin olduğunu göstermiştir (Kubin ve ark, 2005). Genel olarak hiperisin birçok virüs suşuna karşı *in vitro* olarak aktivite göstermektedir. Antiviral aktiviteyi hiperisin-preinkübasyon ve ışığa bağımlı inaktivasyon reaksiyonu ile viral enfektivitinin inhibisyonu ve/veya viral replikasyonun inhibisyonu yoluyla meydana getirmektedir. Bu aktivitenin ışık ve oksijen varlığından etkilendiği, hiperisinin virüsidal ve antiviral aktivitesinde bu iki faktörün önemli olduğu görülmektedir (Miskovski, 2002).

Son yıllarda yapılan çalışmalar hiperisinin *in vitro* koşullarda, insan sitomegalovirüsü (HCMV), ayak ve ağız virüsü (FMDV) adsorblama yeteneği ve doza bağımlı olarak da domuz üreme ve solunum yolu sendromu virüsü (PRRSV) üzerinde inhibisyona neden olduğunu göstermiştir. Farklı bir çalışma ise insan herpes virüsü-6 (HHV-6) ile enfekte lenfoblastlarda hiperisinin herhangi bir aktivite göstermediğini rapor etmiştir. HIV-I ve Hepatit C hastaları ile yürütülen *in vivo* çalışmalarda herhangi bir etki saptanamamış ve hastalarda yan etki olarak fototoksisite gözlenmiştir. Ancak bazı çalışmalar HIV-I virüsüne karşı hiperisinin aktivite gösterdiği yönünde sonuçlar sunmaktadır (Kubin ve ark, 2005). Bu çelişki ışık etkisinin hiperisinin aktivitesini

belirlemesinden kaynaklanmakta, *in vivo* ve *in vitro* çalışmaların sonuçlarının farklılık göstermesi vücudun pek çok bölgesinin ışıktan yoksun olması ile açıklanmaktadır. Bu durum viral enfeksiyonların tedavisinde hiperisin kullanımını sınırlamaktadır (Karioti ve Bilia, 2010).

*H. perforatum* metanol ekstresinin fraksiyonları ile insan sitomegalovirüsü (HCMV)'ne karşı yapılan bir çalışma sonucunda bir fraksiyonun gansiklovirden daha iyi antiviral aktivite gösterdiği saptanmıştır (Axarlis ve ark, 1998).

*H. connatum* türünün metanol ve fraksiyonlu *n*-hekzan, diklormetan, ve metanol ekstreleri ile bitkiden izole edilen floroglusinol türevi bileşiklerden hiperbrasilol B, flavonoidlerden amentoflavon (I3', II8 biapigenin) ve luteoforol bileşiklerinin Herpes simplex virüslerine (HSV) karşı antiviral aktivitesine bakılmıştır. Ekstrelerin ve saf bileşiklerin HSV-1'e karşı antiherpetik aktiviteye sahip olduğu, ayrıca HSV-1'in sitopatik etkisinin inhibisyonunda en etkili bileşiğin luteoforol olduğu belirlenmiştir (Fritz ve ark, 2007).

### 2.3.3. Antioksidan Aktivite

Reaktif oksijen türleri (ROT), çeşitli serbest radikallerin oluşturduğu serbest radikal zincir reaksiyonlarını başlatabilirler ve hücrede süperoksit ( $O_2^{\bullet-}$ ), hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), hidroksil ( $OH^{\bullet}$ ), peroksit, alkoksil radikalleri gibi çeşitli serbest radikallerin oluşumuna neden olurlar.

Serbest radikaller yapısında çiftleşmemiş bir veya birden fazla elektron bulunduran ve diğer moleküllerden elektron koparma yeteneğine sahip olan atom veya moleküllerdir. Hücresel metabolizma sırasında üretilen bu tip maddeler, ortaklanmamış elektronlarından dolayı oldukça reaktiftirler. Hücrede oluşan reaktif oksijen türleri "antioksidan savunma sistemleri" veya kısaca "antioksidanlar" olarak bilinen mekanizmalarla ortadan kaldırılırlar. Vücudun antioksidan savunması ile serbest radikal üretimi arasındaki dengesizlik sonucu, hücrelerin lipid tabakası peroksidasyona uğrayarak, oksidatif stres diye adlandırılan hücre hasarları meydana gelir. Çevreden ve besinlerle, oksidan etkili zararlı maddelerin vücuda alınmasının yanı sıra, yaşın ilerlemesiyle ortaya çıkan azalan enzim aktivitesine bağlı olarak da vücudun

antioksidan savunma mekanizması yetersiz kalabilmektedir. Antioksidan etkiye sahip olan çeşitli vitaminler, minareller ve belirli enzimlerin dışarıdan vücuda alınabilmesi yanında, beslenme de iyi bir antioksidan savunma aracı olabilmektedir. Antioksidan maddeler hastalıklardan korunmada önemli bir rol üstlenirler. Yapılan araştırmalar sonucunda, antioksidan maddelerin kanser ve kalp rahatsızlıklarının da içinde bulunduğu kronik hastalıklara yakalanma riskini azalttığı saptanmıştır (Halliwell, 2006).

Son yıllarda doğal beslenmenin yanında bitkilerle tedavi de önem kazanmıştır. Bu amaçla halk arasında kullanılan bitkilerin biyokimyasal etkileri incelenerek bu kullanımlarının bilimsel dayanağı olup olmadığı araştırılmaktadır. Bitkilerin bazı hastalıkları iyileştirici etkilerinin doğal antioksidanlardan ileri geldiğine dair bilgiler mevcuttur. Bu nedenle halk arasında yaygın olarak çeşitli amaçlarla kullanılan bitki ekstrelerinin antioksidan aktivitelerinin ve bu aktiviteden sorumlu bileşiklerin yapılarının aydınlatılması ile ilgili çalışmalar hız kazanmıştır.

*H. perforatum* türünün flavonoit ekstresinin serbest radikal giderici ve antioksidan etkisini değerlendirmek amacıyla yapılan *in vitro* testler sonucunda, flavonoit içeriği açısından zengin ekstrenin kuvvetli antioksidan etki gösterdiği saptanmış ve kalp rahatsızlıklarında önerilebilecek bir besin desteği ya da ilaç olma potansiyeli taşıdığı belirtilmiştir (Zou ve ark, 2004).

*H. perforatum* total etanol ekstresi ve bileşenlerinin antioksidan aktivitesinin incelendiği bir çalışmada, flavonoit bileşiklerinden kersetin ve luteolinin en etkili radikal gidericiler olduğu, hiperozit ve klorojenik asidin ise en etkili peroksil radikal süpürücüler oldukları belirlenmiştir (Silva ve ark, 2008).

*H. perforatum* üzerinde yapılan başka bir çalışmada, etanol ekstresinin içerdiği flavonoitler ve fenolik asitler nedeniyle *H.perforatum* türünün önemli antioksidan özelliklere sahip olduğu açıklanmıştır (Silva ve ark, 2005).

Standardize edilmiş *H. perforatum* ekstrelerinden hazırlanmış tabletlerin serbest radikal giderici etkisini saptamak amacıyla yapılan bir çalışmanın sonucunda, *in vitro* ve insan vasküler sisteminde süperoksit radikalleri için kuvvetli inhibitör etkisi olduğu bulunmuştur (Hunt ve ark, 2001).

Balkanlarda yetişen 9 farklı *Hypericum* türünün metanol ekstrelerinin *in vitro* antimikrobiyal ve antioksidan aktivitelerinin araştırıldığı bir çalışmada ise, *H.*



*perforatum* türünün çiçeklerinden hazırlanan ekstre ile *H. barbatum* türünün toprak üstü kısımlarından hazırlanan ekstrenin en yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğu saptanmıştır (Radulovic ve ark, 2007).

Azor Adaları'nda endemik olarak yetişen *H. foliosum* türünün çiçekli toprak üstü kısımlarından hazırlanan su ekstresi, *H. perforatum*, *H. androsaemum*, *H. undulatum* türleri ve yeşil çaydan hazırlanan su ekstreleri ile antioksidan aktiviteleri açısından karşılaştırılmıştır. *H. foliosum* su ekstresinin, diğer *Hypericum* ekstrelerinin antioksidan aktivitelerinden pek farklı olmasada antioksidan aktiviteye sahip olduğu ancak tüm *Hypericum* türlerinin yeşil çaydan daha düşük antioksidan aktiviteye sahip olduğu saptanmıştır (Rainha ve ark, 2011).

*H. sampsonii*, *H. perforatum* ve *H. japonicum* taze toprak üstü kısımlarının etanol ekstrelerinin süperoksit dismutaz enzim inhibisyon aktivitelerine bakılan bir çalışmada en yüksek aktiviteyi *H. japonicum* göstermiş, *H. sampsonii* ve *H. perforatum* türleri bunu takip etmiştir (Chen ve ark, 2009).

Bulgaristan'da 13 *Hypericum* türünün metanol ekstresi ile yapılan bir çalışmada, en yüksek antioksidan aktiviteyi *H. cerastoides*, *H. perforatum* ve *H. maculatum* türlerinin gösterdiği rapor edilmiştir (Zheleva-Dimitrova ve ark, 2010).

*H. organifolium*, *H. montbretii* türlerinin yaprak ve çiçeklerinden hazırlanan metanol, etilasetat ve su ekstrelerinin antioksidan aktivitesinin *H. perforatum* türüyle karşılaştırıldığı bir çalışmada, sonuçlar ekstrelerin total fenolik madde miktarları ile paralellik göstermiştir. *H. organifolium* yaprak ekstresinin standart olarak kullanılan butil hidroksi toluenden (BHT), *H. montbretii* ve *H. perforatum* yaprak ve çiçek ekstrelerinden 2-3 kat daha aktif olduğu saptanmıştır (Öztürk ve ark, 2009).

Türkiye'de yetişen *H. scabrum*, *H. lysimachioides* var. *lysimachioides* ve *H. retusum* türlerinin etanol ekstrelerinin antioksidan etkilerine beş farklı metot ile bakılmış, bu üç ekstrenin de çok güçlü antioksidan aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Barış ve ark, 2011).

Yine Türkiye'de yetişen *H. triquetrifolium* ve *H. scabroides* etanol ekstrelerinin antioksidan aktivitelerine bakılmış, güçlü antioksidan aktivite gösterdikleri ve doğal antioksidan olarak kullanılabilirler sonucuna varılmıştır (Kızıllı ve ark, 2008).

*H. triquetrifolium* türünün topraküstü kısımlarının metanol ekstresinden elde edilen beş ayrı maddenin antioksidan aktivitelerine DPPH ve TBA metodu ile bakılan bir çalışmada, hiperisin en düşük, I3, II8 biapigenin ise en güçlü antioksidan aktiviteyi göstermiştir (Conforti ve ark, 2002).

Türkiye’de yetişen *H. hyssopifolium* subsp. *elongatum* var. *elongatum* türünün topraküstü kısımlarının metanol ekstresinden elde edilen fenolik bileşiklerin de radikal süpürücü etkileri ve antioksidan özelliklerinin bulunduğu rapor edilmiştir (Çakır ve ark, 2003).

İtalya’da yetişen 8 *Hypericum* taksonu üzerinde yapılan bir çalışmada da *Hypericum* taksonlarının belirgin antioksidan aktiviteye sahip oldukları belirtilmiştir (Sagratini ve ark, 2008).

*H. ascyron* türünün etil asetat ve metanol ekstrelerinden izole edilen hiperozit, izokersitrin ve kempferol bileşiklerinin DPPH, ABTS ve FRAP yöntemleri kullanılarak antioksidan kapasitesine bakılan bir çalışmanın sonucunda düşük antioksidan etkiye sahip oldukları görülmüştür (Kang ve ark, 2011).

*H. richerii* türünün metanol, etilasetat, *n*-butanol ve kloroform ekstrelerinin antioksidan kapasitesinin ölçüldüğü bir çalışmada en yüksek radikal süpürücü etkiyi etilasetat ekstresinin gösterdiği saptanmıştır (Zdunic ve ark, 2011).

*H. hookerianum* türünün kök, yaprak, çiçek ve toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanol ekstrelerinin antioksidan aktivitesini araştıran bir çalışmada, sonuçların total fenolik madde ve total flavonoit içeriği ile paralellik gösterdiği ve en yüksek aktiviteye yaprak ekstresinin sahip olduğu belirlenmiştir (Chandrashekar ve ark, 2009).

Yunanistan’da yetişen *H. rumeliacum* subsp. *apollinis* toprak üstü kısımlarının metanol ekstresinin DPPH metoduna göre antioksidan etki gösterdiği belirlenmiştir (Galati ve ark, 2008).

### 2.3.4. Sitotoksik Aktivite

*Hypericum* türlerinin antikanser etkisi yeni bir yaklaşım olarak öne sürülen fotodinamik tedavi (PDT) yöntemiyle araştırılmaktadır. *In vitro* ve *in vivo* şartlarda kullanılan bu yöntem kanser hücrelerinin ve anormal büyüme gösteren normal hücrelerin büyümesini durduran, bu hücrelerin apoptozisini ve nekrozunu indükleyen etki göstermektedir (Agostinis ve ark, 2002; Piette ve ark, 2003). *Hypericum* türlerine ait ekstraktların ve ekstraktan izole edilen sitotoksik etkinliği olduğu düşünülen kimyasal bileşiklerin doz ve zamana bağlı hücrel toksisitesine PDT dışında MTT, XTT, WST-1, LDH gibi testlerle *in vitro* olarak bakılmaktadır.

PDT yönteminin esası kanser hücrelerinin normal hücrelerden daha fazla ilaç biriktirmesine dayanır. İlaç toplardamardan enjekte edildikten sonra ışıkla karşılaşmaya kadar aktif değildir, tümör hücreleri tarafından absorbe edildikten sonra kendisinin maksimum absorpsiyonunu veren dalga boyu ile aynı dalga boyunda görünür ışık gönderilmesi sonucu ortamdaki oksijenden sitotoksik aktiviteye sahip reaktif oksijen türevlerinin (peroksidazlar, hidroksil radikalleri) oluşmasına neden olur. Bu sitotoksik ürünler hücre membranının lipit ve proteinlerini oksitleyerek geri dönüşümsüz hücrel hasara neden olurlar. Bu hasar damarsal yapı bozukluğuna neden olarak tümör dokusunun kanlanması azalma ile apoptozise ya da nekroze sürüklenme gibi direkt ya da nötrofil ve makrofajları uyarıp immün sistemi aktive etmek suretiyle indirekt olmak üzere iki şekilde gerçekleşebilir. PDT baş, beyin, göz, boyun, özofagus, erken dönem akciğer kanseri, mesane, over kanserleri ile deri kanserlerinde denenmektedir. Tedavi, noninvasiv oluşu, yan etkilerinin yok denecek kadar az olması ve uygulanabilirliğinin kolaylığı ile kemoterapi, radyoterapi ve cerrahiye alternatif bir kanser tedavisi yöntemidir (Delaey ve ark, 2000; Agostinis ve ark, 2002; Piette ve ark, 2003).

*Hypericum* türlerinin kimyasal bileşiminde bulunan hiperisin fotosensibilizan özellikte olması fotodinamik tedavide etkili olabileceğini göstermektedir. Hiperisin, ışık ile aktive olarak protein kinaz C ve diğer protein kinazları stimüle eden büyüme faktörlerini inhibe eder, membran lipitlerinin peroksidasyonunu indükler, süperoksit dismutaz aktivitesini artırır ve hücrel glutatyon seviyesinin düşmesine neden olarak

mitokondriyal fonksiyonları zayıflatır ve bu şekilde PDT’de etki gösterir (Delaey ve ark, 2000; Agostinis ve ark, 2002).

Hiperisin ile *in vitro* ortamda PDT’de yapılan çalışmalar; eritrolösemi (Roschetti ve ark, 2004), glioblastoma hücreleri (Couldwell ve ark, 1994), pankreas (Liu ve ark, 2000), nazofarengial (Du ve ark, 2004), prostat kanseri hücreleri (Colasanti ve ark, 2000) ile hepatoma, kolon, mide gibi çeşitli tümör hücrelerine karşı sitotoksik etkiye sahip olduğunu ve yüksek konsantrasyonlarda dahi normal hücreler üzerine toksisite göstermediğini belirlemiştir (Delaey ve ark, 2000; Agostinis ve ark, 2002; Hostanska ve ark, 2003; Court, 2003).

*H. perforatum* çiçeklerinin metanol ekstresi ile hiperisinin eritrolösemi hücrelerine karşı sitotoksik aktivitesine bakılan bir çalışmada, ekstrenin hücrelerin büyümesini doza bağımlı ve uzun süreli inhibe ettiği ve apoptozisi indüklediği, hiperisinin ekstreden ayrı olarak tümör hücresine zarar verdiği saptanmıştır (Roschetti ve ark, 2004).

Hiperisin ile farklı kanser hücreleri modellerinde yapılan *in vitro* ve *in vivo* çalışmalar olumlu sonuçlar vermiştir. Ovaryum kanseri tedavisinde sıçanlarda yapılan bir çalışmada etkinliği görülmüş, mesane kanseri tedavisinde yüksek hassasiyet ve spesifiklik gösterdiği belirlenmiştir (Zeisser-Labouèbe ve ark, 2006).

Hiperisin ve hiperforin ile birlikte yapılan bir çalışmada sinerjist etkileşimleri sonucu kaspaz enzim ailesini aktive ederek apoptozisi indükledikleri ve hücrel ölümüne yol açtıkları gösterilmiştir (Hostanska ve ark, 2003).

Hiperisinin multipl miyelom, meme, kolon ve küçük hücreli akciğer kanserlerinde antikanser ilaç rezistansına neden olan glutatyon-S-transferazı baskıladığı saptanmıştır (Du ve ark, 2004).

*H. elegans* türünün toprak üstü kısımlarından elde edilen elegafenon ve 7-epi-klusianon bileşiklerinin Hodgkin lenfoma, insan eritro-miyeloblastoid lösemi ve insan lenfoid doku kanseri hücreleri üzerine MTT ile yapılan sitotoksik aktivite çalışmaları önemli olumlu sonuçlar vermiştir (Nedialkov ve ark, 2011).

*H. erectum* türünden izole edilen otogirin, otogirone, erectquione A, erectquione B ve erectquione C bileşiklerinin epitelyal over kanser hücreleri üzerine olan sitotoksik

aktivitesine MTT testi ile bakılmış ve anlamlı bir aktivite göstermediği belirlenmiştir (Moon, 2010).

*H. ascyron* türünden izole edilen tomoeon A-H olarak adlandırılan 8 floroglusinol türevi bileşiğin insan kanser hücreleri ve ilaca dirençli insan kanser hücreleri üzerine sitotoksik aktivitesine MTT testi ile bakılan bir çalışmada, tomoeon F bileşiğinin her iki hücre hattına karşı sentetik bir antikanser ilaç olan doksorubisinden daha yüksek aktivite gösterdiği saptanmıştır (Hashida ve ark, 2008).

*H. triquetrifolium* metanol ekstresi ve ekstreden izole edilen hiperisin, I3, II8 biapigenin, kersitrin, kempferol-3-O-glukozit ve epikateşinin sitotoksik aktivitesine sülforodamin testiyle bakılmıştır. Metanol ekstresinin büyük hücreli akciğer kanseri hücreleri haricindeki hücre hatlarına karşı aktivite göstermediği, I3, II8 biapigeninin büyük hücreli akciğer kanseri ve larinks malign neoplazmı hücrelerine karşı yüksek aktivite gösterdiği, kempferol-3-O-glukozitin büyük hücreli akciğer ve böbrek kanseri hücrelerine karşı yüksek aktivite gösterdiği, hiperisinin larinks malign neoplazmı hücrelerine karşı düşük aktivite ve fetal akciğer kanseri hücrelerine karşı önemli aktivite gösterdiği, kersitrin ve epikateşinin ise bu çalışmada kullanılan hücre hatlarına karşı aktivite göstermediği belirlenmiştir (Conforti ve ark, 2007).

Kolon ve karaciğer kanseri hücreleri üzerine beş farklı *Hypericum* türünün sitotoksik aktivitesinin araştırıldığı bir çalışmada tüm türlerin orta derecede bir aktivite gösterdiği ancak, *H. triquetrifolium* ve *H. empetrifolium* türlerinin iki hücre hattına da yüksek sitotoksikite gösterdiği saptanmıştır (Couladis ve ark, 2002).

### 2.3.5. Antienflamatuar Etkisi

*Hypericum* ekstrelerinin antienflamatuar aktivitesi üzerine yapılan birçok çalışma bulunmaktadır.

*H. perforatum* ekstresinin karagen nedenli akciğer hasarı oluşturulmuş erkek farelerdeki antienflamatuar etkisinin değerlendirildiği bir çalışmada ekstrenin akciğerde akut yangı oluşumunu önlediği saptanmıştır (Menegazzi ve ark, 2006).

*H. empetrifolium* metanol ekstresinin karagen nedenli arka ayak ödemi oluşturulan erkek Wistar sıçanlardaki antienflamatuar etkisine bakılan bir çalışmada, ekstrenin ödem önleyici aktivitesinin indometazinden daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Trovato ve ark, 2001).

*H. triquetrifolium* metanol ekstresinin karagen nedenli arka ayak ödemi oluşturulan erkek Wistar sıçanlardaki antienflamatuar etkisine bakılan bir çalışmada ekstrenin sıçanların ayaklarındaki şişmeyi engellediği rapor edilmiştir (Öztürk ve ark, 2002).

*H. perforatum*, *H. empetrifolium* ve *H. triquetrifolium* metanol ekstrlerinin *in vitro* koşullarda antienflamatuar etkisine miyeloperoksidaz (MPO) enzim inhibisyonu üzerinden bakılmış, üç ekstrenin de antienflamatuar aktivite gösterdiği ve bu aktivitenin MPO enzim inhibisyonuyla bağlantılı olduğu saptanmıştır (Pabuçcuoğlu ve ark, 2003).

*H. canariense* ve *H. glandulosum* toprak üstü kısımlarından hazırlanan infüzyon, metanol ekstresi ve fraksiyonlarının topikal antienflamatuar etkilerine fareler üzerinde bakılan bir çalışmada, infüzyonların ve *H. canariense* ekstresinin su fraksiyonu dışındaki tüm ekstrlerinin TPA (tetradekanoilforbol asetat) nedenli kulak ödemi önemli ölçüde azalttığı saptanmıştır (Rabanal ve ark, 2005).

*H. reflexum* toprak üstü kısımlarının etanol ekstresi ve fraksiyonlarının topikal antienflamatuar etkilerine fareler üzerinde bakılan bir çalışmada metanol ekstresi ve bu ekstrenin kloroform ve butanol fraksiyonlarının TPA (tetradekanoilforbol asetat) nedenli kulak ödemi azalttığı rapor edilmiştir (Sanchez-Mateo ve ark, 2006).

*H. perforatum* türünün toprak üstü kısımlarından ayçiçek yağıyla hazırlanan ekstrenin karagen nedenli arka ayak ödemi oluşturulan sıçanlardaki antienflamatuar aktivitesinin araştırıldığı bir çalışmada, içerisinde yüksek miktarda kersetin ve I3, II8 biapigenin bulunduğu saptanan “Hyperici oleum” drogunun antienflamatuar aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Zdunic ve ark, 2009).

*H. barbatum*, *H. androsaemum*, *H. richerii*, *H. hirsutum*, *H. perforatum* ve kültüre alınmış *H. perforatum* türlerinin etanol ekstrleri ile yapılan bir çalışmada karagen nedenli arka ayak ödemi oluşturulan sıçanlardaki antienflamatuar etkilerine bakılmış, özellikle *H. hirsutum*, *H. perforatum* ve kültüre alınmış *H. perforatum* ekstrleri olmak üzere tüm ekstrlerinin aktivite gösterdiği, ancak ekstrlerinin içeriğindeki

hiperisin miktarı ile aktivite arasında bir korelasyon olmadığı bildirilmiştir (Savikin ve ark, 2007).

Yunanistan'da yetişen *H. rumeliacum* subsp. *apollinis* türünün metanol ekstresinin karagen nedenli arka ayak ödemi oluşturulan sıçanlardaki ödemi inhibe ettiği gözlemlenmiştir (Galati ve ark, 2008).

Hiperforinin antienflamatuar etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmada siklooksijenaz-1 (COX-1) ve 5-lipooksijenaz enzimlerinin inhibisyonuyla antienflamatuar aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Medina ve ark, 2006).

### 2.3.6. Analjezik Etkisi

*Hypericum* türlerinin analjezik etkisini araştıran birçok çalışma bulunmaktadır. Bunlardan bazıları aşağıda özetlenmiştir.

*H. perforatum* türünün metanol ekstresinin analjezik aktivitesinin üç farklı metotla değerlendirildiği bir çalışmada, analjezik etki görülmüş ancak etki mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır (Morteza-Semnani ve ark, 2003).

*H. perforatum* türünün sulu etanol ekstresinin fareler üzerindeki analjezik aktivitesine opium, morfin ve aspirin ile karşılaştırmalı olarak bakılmış, doza bağımlı olarak gözlenen analjezik aktivitenin opioid reseptörlerin aktivasyonu ile bağlantılı olabileceği rapor edilmiştir (Subhan ve ark, 2007).

*H. triquetrifolium* türünün metanol ekstresinin analjezik aktivitesine erkek Swiss fareler üzerinde bakılmış, ekstrenin analjezik aktiviteye sahip olduğu ve bu etkinin serotonin ve noradrenalin geri alımının inhibisyonuyla gerçekleşmiş olabileceği düşünülmüştür (Apaydın ve ark, 1999).

*H. empetrifolium* türünün metanol ekstresinin analjezik etkisine erkek Swiss fareler üzerinde iki yöntem ile bakılmış ve herhangi bir analjezik etki gözlenmemiştir (Trovato ve ark, 2001).

*H. brasiliense* türünün sulu alkollü ekstresinin analjezik aktivitesine bakılan bir çalışmada, ekstrenin analjezik etkiye sahip olduğu saptanmıştır (Mendes ve ark, 2002).

*H. canariense* ve *H. glandulosum* türünün infüzyonu, metanol ekstreleri ve fraksiyonlarının analjezik etkilerine bakılan bir çalışmada her iki türün de ekstrelerinin ve bazı fraksiyonlarının analjezik etkiye sahip olduğu görülmüştür (Rabanal ve ark, 2005).

*H. reflexum* türünün metanol ekstresinin sıçanlar üzerindeki analjezik etkisine bakılan bir çalışmada, ekstrenin merkezi ve periferik analjezik aktiviteye sahip olduğu belirlenmiş ancak etki mekanizması çözümlenememiştir (Sánchez-Mateo ve ark, 2006).

*H. grandifolium* türünün metanol ekstresi ve bu ekstrenin su, butanol ve kloroform fraksiyonlarının fareler üzerindeki analjezik etkisine bakılan bir çalışmada, metanol ekstresi ve bu ekstrenin kloroform fraksiyonunun periferik ve merkezi analjezik etkiye sahip olduğu belirlenmiştir (Bonkanka ve ark, 2011).

*H. caprifoliatum* ve *H. polyanthemum* türlerinin sikloheksan ve metanol ekstrelerinin fareler üzerindeki analjezik etkisinin değerlendirildiği bir çalışmada, bütün ekstrelerin analjezik aktiviteye sahip olduğu ve sikloheksan ekstrelerinin bu aktiviteyi opioid sistem aracılığıyla gösterdiği saptanmıştır (Viana ve ark, 2003).

### 2.3.7. Yara İyileştirici Etkisi

*H. perforatum* türünün çiçekli toprak üstü kısımlarından hazırlanan zeytinyağı ekstresi halk arasında yara ve yanık tedavisinde kullanılan oldukça popüler bir drogtur (Suntar ve ark, 2010). Yanık ve yaralarının iyileşme sürecini ve skar oluşumunu azaltan bu drogun yara iyileştirici aktivitesini fibroblastları uyarıp kollajen yapımını artırarak sağladığı saptanmıştır (Öztürk ve ark, 2007).

*H. perforatum* ve *Calendula officinalis* türlerinden hazırlanan tentürlerin sıçanlar üzerinde yara iyileştirici etkisine bakılan bir çalışmada, her iki bitkinin de yara iyileştirici etkiye sahip olduğu ancak *H. perforatum* tentürünün aktivitesinin *C. officinalis* tentürüne göre daha yüksek olduğu saptanmıştır (Rao ve ark, 1991).

*H. patulum* türü ile *in vivo* olarak yürütülen bir çalışmada bitkinin yapraklarından hazırlanan metanol ekstresini %5 ve %10 oranında içeren merhemlerin yara iyileştirici etkisi nitrofurazon merhemi ile karşılaştırılmıştır. %10 oranında ekstre



içeren merhem standart ilaç gibi etkisini 4 günde göstermeye başlayıp 18 gün sonunda tam bir iyileşme sağlarken %5 oranında ekstre içeren merhem etkisini 8 gün içinde göstermeye başlayıp 20 günde yaraların tam olarak iyileşmesini sağlamıştır (Mukherjee ve ark, 2000).

*H. perforatum* ve *Calendula arvensis* türlerinden buğday yağında maserasyonu ile hazırlanan ekstreler sezaryen doğum yapmış olan 24 hasta üzerinde denenmiş, deney grubunda %70 *H. perforatum* ve %30 *C. arvensis* yağlı ekstre karışımı, kontrol grubunda ise sadece buğday yağı kullanılmıştır. Deney grubunun sezaryen yaralarında kontrol grubuna göre 2 kat daha hızlı iyileşme sağladığı bildirilmiştir (Lavagna ve ark, 2001).

*H. perforatum* etanol ekstresinin tavuk embriyonik fibroblastları üzerinde yara iyileştirici aktivitesine dekspantenol ve *Centella asiatica* ekstresi ile karşılaştırmalı olarak bakılan bir çalışmada *H. perforatum* etanol ekstresinin yara iyileştirici aktiviteyi *C. asiatica* ekstresinin etki mekanizmasına benzer şekilde, kolajen üretimini artırarak meydana getirdiği belirlenmiştir (Öztürk ve ark, 2007).

*H. perforatum* ve *H. scabrum* türlerinin etanol ekstreleri ile yapılan *in vivo* yara iyileştirici aktivite çalışması sonucunda *H. scabrum* ekstresi etkisiz bulunurken, etkili bulunan *H. perforatum* etanol ekstresi fraksiyonlandırılmış ve etil asetat ekstresinin en yüksek yara iyileştirici aktiviteyi gösterdiği saptanmış, etil asetat fraksiyonu içerisinde bulunan naftodiantron ve flavon bileşiklerinin sinerjik etki ile yara iyileştirici aktiviteyi sağladığı düşünülmüştür (Suntar ve ark, 2010).

### 2.3.8. Premenstrüal Sendrom Üzerine Etkisi

Premenstrüal sendrom (PMS), menstrüal evrenin bir hafta öncesinden başlayan ve menstrüal evrenin sonuna kadar devam eden duygusal ve fizyolojik semptomları tanımlamaktadır. Hafif ve orta şiddetli depresyon tedavisinde etkili olan *H. perforatum* türünün PMS tedavisinde etkinliği araştırılmaktadır.

90 PMS'li kadın hasta ile yapılan bir çalışmada, 2 menstrüel dönemi kapsayacak şekilde 900 µg/gün hiperisin içeren *H. perforatum* ekstresi tableti alan gönüllülerin

%50'sinde semptomlarda azalma görülmüş, genel olarak tedaviye iyi uyum ve tolerans geliştiği belirlenmiştir (Stevinson ve Ernst, 2000).

169 PMS'li hasta ile yapılan diğer bir çalışmada ise, *H. perforatum* ekstresi alan grubun PMS tedavisinde plaseboya göre üstünlük gösterdiği ancak verilerin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı rapor edilmiştir (Hicks ve ark, 2004).

*H. perforatum* standardize tabletlerinin PMS tedavisindeki etkinliğinin araştırıldığı farklı bir çalışmada, *H. perforatum* alan grubun PMS'de çok sık görülen fiziksel ve davranışsal semptomların azalmasında plaseboya göre çok daha etkili olduğu saptanmış, ancak plasebo alan grup ile deney grubunun proenflamatuar sitokin düzeyleri arasında belirgin bir fark olmadığından, etki mekanizmasının tek bir yolağa bağlı olmadığı düşünülmüştür. *H. perforatum* türünün PMS'de sıklıkla görülen ağrı ve ruh hali üzerine etkinliğin olup olmadığıyla ilgili uzun vadeli çalışmalara ihtiyaç olduğu bildirilmiştir (Canning ve ark, 2010).

En az altı aylık periyotta PMS rahatsızlığı yaşayan 170 kadın hasta ile yapılan randomize, çift kör ve plasebo kontrollü çalışmada, deney grubuna standardize *H. perforatum* ekstresi içeren tablet, diğer gruba selüloz tablet sekiz hafta süresince uygulanmıştır. PMS rahatsızlıklarını azaltmada *H. perforatum* ekstresinin plasebodan daha etkili olduğunun gözlemlendiği bu çalışma ile *H. perforatum* türünün orta ve şiddetli PMS'de iyi tolere edilen ve etkili bir ilaç olabileceği saptanmıştır (Ghazanfarpour ve ark, 2011).

### 2.3.9. Bağımlılık Üzerine Etkisi

Antidepresan ilaçlar başta alkolizm olmak üzere çeşitli bağımlılık türlerinin tedavisinde kullanılmaktadır. *H. perforatum* türünün hafif ve orta şiddetli depresyon tedavisinde kullanıldığı dikkate alınarak çeşitli bağımlılıklar üzerine etkisinin araştırıldığı çalışmalar yapılmıştır.

*H. perforatum* ekstresinin alkol tüketimini azaltan etkisi üzerine yapılan bir çalışmada, yüksek etkinlik saptanmış ve bu etkinlik ekstrenin antidepresan etkisi ile bağdaştırılmıştır (Carai ve ark, 2000).

*H. perforatum* ekstresinin alkol bağımlılığına etkisinin imipramin ve fluoksetine karşı araştırıldığı *in vivo* bir çalışmada, fluoksetin ve ekstrenin alkol tüketimini azalttığı belirlenmiştir (De Vry ve ark, 1999).

*H. perforatum* ekstresinin nalokson ve naltrekson ile karşılaştırmalı olarak alkol alımı üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada en iyi alkol azaltıcı etkinin nalokson ve ekstrenin kombine olarak verildiği grupta gözlemlendiği bildirilmiştir (Perfurni ve ark, 2003).

*H. perforatum* ekstresinin alkol alımını azaltıcı etki mekanizmasının araştırıldığı bir çalışmada, etkinin sigma reseptörleri ya da serotonerjik aktivite ile ilişkili olmadığı saptanmıştır (Panocka ve ark, 2000).

*H. perforatum* ekstresi; *Pueraria lobata* ekstresi ve ekstresinden izole edilen puerarin, daidzein ve daidzin bileşiği; *Tabernanthe iboga* ekstresi ve ekstresinden izole edilen ibogain bileşiği ile yapılan bir çalışmada alkol alımını azaltıcı etkilerine bakılmış, puerarin ve *H. perforatum* ekstresinin etkili olduğu belirlenmiştir (Rezvani ve ark, 2003).

*H. perforatum* ekstresinin sadece alkolizm değil, nikotin ve kafein bağımlılığı sonucu oluşan yoksunluk sendromlarını da azaltıcı etkiye sahip olduğu yapılan araştırmalarla saptanmıştır (Uzbay ve ark, 2007; Uzbay ve ark, 2006). *H. perforatum* ekstresinin bağımlılık üzerine olan etki mekanizmasının serotonin geri alımını azaltması ve monoaminoksidaz (MAO) inhibisyonu gibi serotonerjik mekanizma aracılığıyla ya da nitrikoksitsentaz (NOS) inhibisyonuyla nitrikoksit salınımını azaltarak meydana getirdiği düşünülmektedir (Uzbay, 2008).

*H. perforatum* ile antidepresan bir ilaç olan aynı zamanda sigarayı bırakmaya yardımcı olarak kullanılan bupropiyonun etki mekanizmalarının paralel olması bitkinin sigara bağımlılığı tedavisinde etkili olabileceğini düşündürmüştür. Sigara bağımlısı hastalar üzerinde plaseboya karşı yürütülen faz II çalışmanın sonucunda elde edilen istatistikler *H. perforatum* türünün sigarayı bırakmaya yardımcı olduğunu göstermektedir (Lawvere ve ark, 2006).

*H. perforatum* su, sulu etanol ve etanol ekstrelerinin eroin bağımlılığı oluşturulan sıçanlardaki eroin yoksunluk sendromu üzerine olan etkilerinin araştırıldığı

bir çalışmada, su ekstresinin etkisi görülmezken sulu etanol ve etanol ekstralarının yoksunluk belirtilerini azalttığı saptanmıştır (Subhan ve ark, 2009).

### 2.3.10. Diğer Etkileri

*H. perforatum* türü ile ilgili yukarıda bahsedilen alanların dışında farklı alanlarda da birçok aktivite çalışması yapılmış ve yapılmaktadır.

*H. perforatum* ekstralarının anksiyolitik etkisini bildiren *in vivo* hayvan deneyleri ve klinik çalışmalar bulunmaktadır (Panocka ve ark, 2000; Kobak ve ark, 2003; Kobak ve ark, 2005). Uyku bozuklukları, mevsimsel duygulanım bozuklukları, kognitif bozukluklar üzerine yapılan çalışmalarda *H. perforatum* olumlu sonuçlar vermiştir (Kumar, 2000; Klusa ve ark, 2001; Can ve ark, 2008). Antikonvülzan etkisinin ve epilepsi nöbetlerini önleyebileceğinin bildirildiği çalışmalar da bulunmaktadır (Hosseinzadeh ve ark, 2005). Parkinson tedavisinde bromokriptin ile kombine uygulandığında dopamin seviyesini yükselttiği saptanmıştır (Mohanasundari ve ark, 2006).

Bitkinin ekstralarının antiülserojenik etkisinin bulunduğu *in vivo* deneylerle kanıtlanmıştır (Yeşilada ve Gürbüz, 1998). Hepatoprotektif etkisi ile yapılan çalışmalarda aktivitenin hiperisin miktarı yüksek olan fraksiyonlarda daha yüksek olduğu saptanmıştır (Öztürk ve ark, 1992; Herekman-Demir ve ark, 2001).

### 2.3.11. Farmakokinetik Özellikleri

*H. perforatum* preparatlarının etkinliği hiperisin yüzdesi olarak verildiğinden farmakokinetik çalışmaları genellikle hiperisin üzerinden yapılmıştır.

Standardize *H. perforatum* ekstresi içeren LI 160 isimli preparatın farmakokinetiği ile yapılan bir çalışmada, oral yoldan alınan hiperisinin 2 saat içinde maksimum absorpsiyona ulaştığı, psödohiperisinin ise 0,5-1 saat arasında absorbe olduğu belirlenmiştir. 900 mg/gün dozda verildiğinde kararlı plazma konsantrasyonuna 4 günde ulaşmıştır. Kan beyin engelini aştığı belirlenen hiperisinin tek doz alımlarda

eliminasyon yarı ömrünün 16-36 saat arasında değiştiği saptanmış, ancak eliminasyon yolu henüz belirlenmemiştir (Staffeldt ve ark, 1994).

*H. perforatum* ekstresinin (%0,3 hiperisin) tavsiye edilen günlük kullanım dozu 900 mg olarak bildirilmiştir. Ekstre ile yapılan farklı bir çalışmada, biyoyararlanımının %15-20 arasında olduğu ve eliminasyon süresinin uzun olduğu, hiperisinin maksimum konsantrasyona 4-6 saatte ulaştığı, plazma yarılanma ömrünün yaklaşık 25 saat olduğu saptanmıştır. Beyindeki konsantrasyonu plazma konsantrasyonunun %5'i kadar olan hiperisinin beyin dokusundaki yarılanma ömrünün çok uzun olduğu belirlenmiştir. (Jacobson ve ark, 2001).

*H. perforatum* ekstresinin biyoyararlanımını ve farmakokinetiğini araştıran başka bir çalışmada 115 µg hiperisin ve 38 µg psödohiperisin içeren ekstre kullanılmış ve 2 gönüllüye i.v. (intravenöz) olarak uygulanmıştır. Yarılanma ömürlerinin sırasıyla 40 ve 25 saat olduğu belirlenmiştir. Çalışma sağlıklı gönüllülere *H. perforatum* ekstresi (250 µg hiperisin ve 526 µg psödohiperisin) içeren tabletler ile farklı dozlarda uygulanarak devam etmiştir. Sonuç olarak hiperisinin yüksek dozlarda eliminasyon yarı ömrünün 48 saate uzadığı ancak psödohiperisinin yarı ömrünün değişmediği bildirilmiştir (Bhattaram ve ark, 2002).

300 mg *H. perforatum* ekstresi (14,8 mg hiperforin) içeren tabletlerin sağlıklı gönüllülere uygulanmasından 3,5 saat sonra 150 µg/l olan maksimum plazma konsantrasyonuna ulaştığı, yarılanma ömrünün 9 saat ve eliminasyon süresinin 12 saat olduğu saptanmıştır (Di Carlo ve ark, 2001).

### 2.3.12. Yan Etkileri ve Kontrendikasyonları

*H. perforatum* preparatları güvenilir bir yan etki profiline sahip olmakla beraber, yapılan çalışmalar sonucu çeşitli yan etkiler de bildirilmiştir.

3250 hasta ile yapılan bir ilaç izleme çalışmasında, hastalara 900 mg/gün *H. perforatum* ekstresi uygulanmış ve yan etkiler, gastrointestinal irritasyonlar (%2,4), huzursuzluk, aşırı yorgunluk ve alerjik deri reaksiyonları olarak saptanmıştır (Woelk ve ark, 1994).

Santral sinir sistemi ile ilgili yapılan bir araştırmada *H. perforatum* ile depresyon tedavisi gören hastalar incelenmiştir. Hastaların %0,3'ünde huzursuzluk, %0,4'nde ise yorgunluk belirtileri rapor edilmiştir. Yine benzer bir çalışmada tedavi başladıktan sonra meydana gelen semptomlar %5 yorgunluk, %6 huzursuzluk ve %7 başağrısı olarak belirlenmiştir. Gastrointestinal sistemde oluşan yan etkilerin araştırıldığı klinik bir çalışmada hastalara günde 3 defa 300 mg *Hypericum* ekstresi verilmiş, %0,55 iştahsızlık, %0,55 diyare, %0,55 bulantı ve %0,55 mide ağrısı gözlenirken %3 ağız kuruluğu, %5 de ekstrenin içerdiği tanen nedeniyle konstipasyon Őikayetleri belirlenmiştir. Yüksek konsantrasyonlarda alınan *H. perforatum* ekstresinin *in vitro* koşullarda sperm hücreleri ve yumurtalıklarda mutajenik etki gösterdiği üreme hücrelerinde zarara neden olduğu gösterilmiştir (PDR, 2000; Greeson ve ark, 2001).

Di Carlo ve arkadaşları tarafından 2001 yılında yapılan bir çalışmada *H. perforatum* ekstresinin gastrointestinal irritasyon, yorgunluk, baş dönmesi, ağız kuruluğu ve baş ağrısına neden olduğu, yüksek dozda işığa karşı hassasiyet ve deride kızarıklıklar meydana getirdiği rapor edilmiştir.

*H. perforatum* ekstresiyle yapılan bir çalışmada paroksetinle birlikte kullanıldığında serotonerjik sendroma neden olduğu saptanmıştır (Rodriguez-Landa ve Contreras, 2003).

Bipolar yatkınlığı olan hastalarla yapılan çalışmalarda mani semptomlarını arttırabileceği rapor edilmiş, depresyon ve anksiyete tedavisi için kullanılan hastalarda mani, hipomani, akut anksiyete ve Őizofrenik belirtiler bildirilmiş, bitkinin kullanımının kesilmesi ile bu belirtiler sona ermiştir (Can ve ark, 2008). Ayrıca ekstrenin kullanımıyla konfüzyon, sedasyon ve ağız kuruluğu gibi istenmeyen etkiler de bildirilmiştir (Henderson ve ark, 2002).

*H. perforatum* ekstresinin antikoagülan ilaç tedavisi gören hastalarda, cerrahi girişim yapılması gereken hastalarda, çocuklarda (0-12 yaş), güneş işığına maruz kalma durumlarında, hepatik hastalığı olanlarda, HIV enfeksiyonunda, hipertansiyonda, intihar düşüncesinde, kalp hastalığında, kazanılmış immün yetmezlik sendromunda, mani durumlarında, nörolojik hastalıklarda, organ transplantasyonu sonrası, psikozlarda, serebrovasküler hastalıklarda, tiroid hastalarında, renal hastalık, renal zafiyet ve renal yetmezlik durumlarında kullanılması kontrendikedir (Elektronik kaynak, 2011a).

### 2.3.13. Gebelikte Kullanımı

*H. perforatum* ekstresinin fareler üzerinde gebelik ve emzirme döneminde kullanımının güvenilirliğini araştıran bir çalışmada, ekstre uygulaması çiftleşme öncesinde başlamış, gebelik boyunca devam etmiş, doğum sonrası yavruların fiziksel gelişimi izlenmiştir. Sonuçta *H. perforatum* ekstresinin herhangi bir olumsuzluğa neden olmadığı bildirilmiştir (Rayburn ve ark, 2001).

*H. perforatum* ekstresinin sıçanlardaki gebelik ve emzirme döneminde kullanımı ile yapılan farklı bir çalışmada, ekstre uygulaması çiftleşme öncesinde başlamış, gebelik boyunca devam etmiştir. Doğum sonrası karaciğer, böbrek, akciğer, kalp, beyin ve bağırsaklar incelenmiş, sonuç olarak karaciğer ve böbreklerde hasar tespit edilmiştir (Gregoretti ve ark, 2004).

Gebelik döneminde kullanımı ile ilgili yapılan çalışmaların kısıtlı olması ve klinik olarak çalışma yapılamaması nedeniyle herhangi bir risk oluşturmaması açısından *Hypericum* ekstrelerinin gebelerde ve çocuk emziren annelerde kullanımı önerilmemektedir.

### 2.3.14. İlaç Etkileşimleri

*H. perforatum* ekstresi sitalopram, fluoksetin, fluvoksamin, paroksetin, sertralin gibi SSRI (Selektif Serotonin Reuptake İnhibitörleri) ilaçları ile birlikte kullanıldığında 5-HT<sub>1A</sub> reseptörlerinin aşırı stümlasyonuna neden olduğundan serotonerjik etkilerde artış ve bunun sonucunda mental durum değişiklikleri, diyforez, koordinasyon bozukluğu, tremor, miyoklonus, güçsüzlük, hiperrefleksi ve ateş belirtilerinin eşlik ettiği serotonin sendromu gelişebilir (Fugh-Berman, 2000; Can ve ark, 2008; Elektronik kaynak, 2011a).

*H. perforatum* ekstresiyle yapılan *in vitro* çalışmalar, karaciğerde bulunan sitokrom P-450 (CYP) 3A4 izoenzimini redüklediğini göstermiştir. Sitokrom P-450 3A4 enzimi digoksin, indinavir, nelfinavir, ritonavir, sakinavir gibi HIV proteaz inhibitörleri; karbamazepin, fenobarbiton, fenitoin gibi antikonvülzanlar; sumatriptan,

naratriptan, rizatriptan, zolmitriptan gibi triptanlar; siklosporin gibi immünosüpresanlar; aprepitant gibi antiemetikler; warfarin, teofilin, oral kontraseptifler sedasyona neden olmayan antihistaminikler, kalsiyum kanal blokerleri, koenzim-A redüktaz inhibitörleri, benzodiazepinler, warfarin, teofilin, oral kontraseptifler, makrolit antibiyotikler, siklosporinler, karbamazepin, ketokonazol ve kortizon gibi ilaçların metabolizasyonunu arttırarak bu ilaçların plazma konsantrasyonlarını ve etkiyi azaltır. (Biffignandi ve ark, 2000; Karlıova ve ark, 2000; Jobst ve ark, 2000; PDR, 2000; Wang ve ark, 2001; Izzo ve ark, 2002; Henderson ve ark, 2002; Mai ve ark, 2004; Frye ve ark, 2004; Müller ve ark, 2004; Tirona ve Bailey, 2006; Borrelli ve Izzo, 2009; Elektronik kaynak, 2011a).

*H. perforatum* ekstresinin monoamin oksidaz (MAO) inhibitörleri ya da bu enzimi inhibe eden alkol, kafein ve tiramin açısından zengin besinler ile birlikte kullanımı ile etki artışı ve hipertansif kriz meydana gelebilir. Beta-sempatomimetik aminlerle ve psödoefedrinle birlikte kullanımı da benzer etkilere neden olabilir. Antineoplastik ve immünomodülatör ilaçlar ile birlikte kullanıldığında kalpte blok ve aritmi riski oluşabilir. *H. perforatum* ekstreleri tannik asit taşıdığından dolayı demir emilimini engelleyebilir, bu nedenle demir eksikliğinde kullanılan preparatlarla birlikte kullanılmamalıdır. İçeriğindeki hiperisin nedeniyle tetrasiklin, sülfonamidler, tiazidler, kinolonlar, piroksikam ve diğer fotosensibilizan ajanlarla kullanımı sonucu ciltte güneş yanığı benzeri semptomlar görülebilir (PDR, 2000; Barnes ve ark, 2001; Elektronik kaynak, 2011a).

### 2.3.15. Toksisitesi

*H. perforatum* ekstresinin yüksek dozda kullanımı sonucunda antikolinerjik ve kardiyotoksik etkilerin antidepresanlarla karşılaştırmalı olarak incelendiği bir çalışmada oluşan toksik etkilerin antidepresanlara oranla daha düşük olduğu belirlenmiştir (Greeson ve ark, 2001).

*H. perforatum* ekstresi ve trisiklik antidepresan kullanan hastalar ile yapılan bir çalışmada ilaç kullanımından önce ve sonra çekilen elektrokardiyogramlar karşılaştırılmış, trisiklik antidepresan kullanan hastaların elektrokardiyogramlarında



değişim gözlenirken *H. perforatum* ekstresi kullanan hastaların elektrokardiyogramlarında bir değişim gözlenmemiştir (Czekalla ve ark, 1997).

*H. perforatum* ekstresinin karaciğer ve böbrek üzerinde toksik etkisi olup olmadığını hayvanlar üzerinde inceleyen bir çalışma sonucu herhangi bir toksisite görülmemiş, ayrıca *H. perforatum* ekstresi kullanan 386 hastanın kan testleri, karaciğer fonksiyon testleri ve serum kreatinin düzeylerinde olumsuz anlamda bir değişim belirlenmemiştir (Gaster ve Holroyd, 2000).

### Fototoksitesisi

*H. perforatum* ekstresinin yüksek miktarlarda tüketilmesi ve ışığa maruziyet sonucu ekstre içerisinde bulunan hiperisin nedeniyle deri üzerinde kızarıklık ve ödem ile beliren fototoksik etki oluşmakta ve hiperisizm olarak adlandırılmaktadır (Vandenbogaerde ve ark, 1998). Ekstre içerisindeki fototoksik etkiden sorumlu bileşiğin saptanması için yapılan çalışmalar sonucu flavonoit bileşiklerinden rutin ve kersitrinin de fototoksik etkiye sahip olduğu ancak hiperisinin tek başına uygulandığında ekstrede daha yüksek aktiviteye sahip olması etkiden sorumlu bileşiğin hiperisin olduğunu açıkça göstermektedir (Wilhelm ve ark, 2001).

Genellikle *H. perforatum* bitkisini aşırı olarak tüketen hayvanlarda görülen fototoksitesite ile ilgili yapılan çalışmalar sonucunda, ekstreyi kullanan hastaların güneşle temas eden bölgelerinde nadir olarak sinir hasarı nedeniyle batıcı ağrılar, deride hassasiyet, kaşıntı ve kızarıklık ortaya çıktığı rapor edilmiştir (Schempp ve ark, 2003b).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

*Hypericum spectabile* Jaub. & Spach örnekleri 06.06.2010 tarihinde Malatya, Arapgir, Arapgir'den Kemaliye'ye, Ağın sapağını geçtikten sonra, Kemaliye'ye yaklaşık 40 km kala, 1157 m yükseklikten toplanmıştır (ISTE 93192).

*Hypericum pseudolaeve* Robson örnekleri 06.06.2010 tarihinde Malatya, Malatya'dan Arapgir'e yaklaşık 20 km kala, sol ve sağ bozkır ve yamaçlarda, 1264 m yükseklikten toplanmıştır (ISTE 93193).

*Hypericum thymbrifolium* Boiss. & Noë örnekleri 05.06.2010 tarihinde Malatya, Darende, Darende'den 10 km Gürün'e doğru, 1425 m yükseklikten toplanmıştır (ISTE 93194).

*Hypericum neurocalycinum* Boiss. & Heldr. örnekleri 15.06.2010 tarihinde Konya, Hadim, Hadim – Gevne arası, İspatlı Yaylası, doğu yamaçlardan, 1969 m yükseklikten toplanmıştır (ISTE 93195).

*Hypericum malatyanum* örnekleri 05.06.2010 tarihinde Malatya, Doğanşehir, Eskiköy, Meletbaşı mezresi, kayalıklardan 1906 m yükseklikten toplanmıştır (ISTE 93196).

*Hypericum perforatum* L. örnekleri 06.06.2010 tarihinde Erzincan, Malatya - Arapgir'den Erzincan - Kemaliye'ye, Kemaliye'ye yaklaşık 8 km kala, yol kenarlarından, 978 m yükseklikten toplanmıştır (ISTE 93197).

Bütün örnekler Esra EROĞLU ÖZKAN tarafından toplandı, oda ısısında gölgede kurutuldu ve değirmende toz edildi.

## 3.2. Genel Metotlar

### 3.2.1. Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi ile Miktar Tayini

#### 3.2.1.1. Naftodiantron, Floroglusinol Türevi Bileşiklerin ve Fenolik Bileşiklerin Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (YBSK) İle Analizi:

Bu çalışmada farklı bölgelerden toplanan *Hypericum spectabile*, *H. pseudolaeve*, *H. thymbrifolium*, *H. neurocalycinum*, *H. malatyanum* ve *H. perforatum* türlerinin çiçekli toprak üstü kısımlarının içerdiği naftodiantron bileşiklerinden psödohiperisin ve hiperisin, floroglusinol bileşiklerinden hiperforin, fenolik bileşiklerden klorojenik asit, rutin, hiperozit, izokersitrin, kersitrin, kempferol, kersetin ve amentoflavon miktarları YBSK yöntemi ile karşılaştırmalı olarak belirlendi.

*Hypericum* türlerinde hiperisin, hiperforin türevleri ve fenolik bileşiklerle ilgili YBSK ile yapılan çalışmalar incelendiğinde, en uygun çözücülerin metanol, fosforik asit, asetonitril ve su olduğu anlaşıldı, yapılan denemeler sonucunda Avrupa Farmakopesi 2008'de ayrıntıları verilen metodun en iyi ayrımı sağladığı saptandı (European Pharmacopoeia, 2008). Bu denemelerde; psödohiperisin ve hiperisinin metanoldeki farklı konsantrasyondaki çözeltilerinden 20µl, hiperforin ve fenolik bileşiklerin metanoldeki farklı konsantrasyonlardaki çözeltilerinden 10µl kolona uygulanarak standart maddelerin alıkonma zamanları belirlendi ve konsantrasyon aralıkları oluşturuldu. Bölüm 3.2.1.2.'de anlatıldığı gibi hazırlanan ekstrelerin metanoldeki farklı konsantrasyonları kolona uygulanarak ön değerlendirmeler yapıldı ve her standart madde için ölçü eğrisi aralıkları ile her ekstre için ölçü eğrisinin orta noktasına gelecek şekilde en uygun konsantrasyonlar belirlendi, bu şekilde sonuçların doğruya en yakın olması sağlandı. Standart maddelerin her konsantrasyonu ve her ekstrenin uygun konsantrasyonlarından 3'er deneme yapılarak ortalama değerler ve standart sapma değerleri saptandı. Bu değerler matematiksel olarak doğruya en yakın olana kadar denemeler tekrarlandı.

**Aletin Özellikleri:**

YBSK yönteminde SCL – 10A SHIMADZU aletinden yararlanıldı. Kullanılan aletin özellikleri ve çalışma koşulları aşağıda belirtilmiştir.

Pompa: LC – 10 AD

Enjektör (Otomatik): SIL – 10 AD

Dedektör: SPD – M10A

Kolon: ACE 5 µm C18 (250 x 4,6 mm) (ACT: Advanced Chromatography Technologies)

Kolon Fırını: CTO – 10AS

**Psödohiperisin ve Hiperisin İçin Çalışma Koşulları:**

**Çözücü:** Metanol (Standart maddeler ve ekstratlar metanol ile çözülerek hazırlandı.)

**Mobil Faz :** Etil asetat : 15,6 g/l sodyum dihidrojen fosfat içeren çözelti (Fosforik asit ile pH 2) : Metanol (39 : 41 : 160)

**Kolon:** ACE 5 µm C18 (250 x 4,6 mm) (ACT: Advanced Chromatography Technologies)

**Dedektör dalga boyu:** Psödohiperisin ve Hiperisin için 590 nm

**Akış hızı:** 1 ml/dak

**Kolon sıcaklığı:** 40°C

**Enjeksiyon hacmi:** 20 µl

**Kullanılan çözücüler:** Metanol (Merck 1.06007.2500), Etil asetat (Merck 1.00868.2500), orto - Fosforik asit (%85) (Fluka 79606), Sodyum dihidrojen fosfat (Merck 1.06345.1000), ultra saf su (Milli-Q). Kullanılan tüm çözücüler YBSK için uygun saflıktadır.

**Standart maddeler:** Psödohiperisin 10 mg (PhytoPlan – 3272.97)

Hiperisin 1 mg ( Fluka – 56690 )

**Metot:** İzokratik yöntem ile çalışılmıştır.

**Hiperforin ve Fenolik Bileşikler İçin Çalışma Koşulları:**

**Çözücü:** Metanol (Standart maddeler ve ekstreler metanol ile çözülerek hazırlandı.)

**Mobil Faz :** Mobil Faz A: Fosforik asit / Su ( 3:1000 V/V )

Mobil Faz B: Fosforik asit / Asetonitril ( 3:1000 V/V )

**Kolon:** ACE 5 µm C18 (250 x 4,6 mm) (ACT: Advanced Chromatography Technologies)

**Dedektör dalga boyu:** Hiperforin için 275 nm

Fenolik Bileşikler için 360 nm

**Akış hızı:** 1 ml/dak

**Kolon sıcaklığı:** 40°C

**Enjeksiyon hacmi:** 10 µl

**Kullanılan çözücüler:** Metanol (Merck 1.06007.2500), Asetonitril (Merck 1.00030.2500), orto - Fosforik asit (%85) (Fluka 79606), ultra saf su (Milli-Q). Kullanılan tüm çözücüler YBSK için uygun saflıktadır.

**Standart maddeler:** Hiperforin 250 µg/250 µl ( Sigma H5160 )

Klorojenik asit 250 mg (Aldrich C3878)

Rutin 50 g (Sigma R5143)

Hiperozit 5 mg (Kersetin-3-D-galaktozit) (Sigma 83388)

İzokersetin 10 mg (Kersetin-3β-D-glukozit) (Sigma 17793)

Kersitrin 10 mg (Kersetin-3-O-ramnozid) (Sigma Q3001)

Kempferol 25 mg (Sigma 60010)

Kersetin 10 g (Sigma Q4951)

Amentoflavon 5 mg (I3', II8 Biapigenin) (Sigma 40584)

**Metot:** Aşağıda ayrıntıları verilen gradient sistem ile çalışılmıştır.

**Tablo 3-1:** *Hypericum* türleri için YBSK’da kullanılan gradient yöntem

<b>Zaman (dakika)</b>	<b>Mobil Faz A ( % v/v)</b>	<b>Mobil Faz B (% v/v)</b>
0 – 8	82	18
8 – 18	82 → 47	18 → 53
18 – 18.1	47 → 3	53 → 97
18.1 – 19	3	97
19 – 29	3	97
29 – 30	3 → 82	97 → 18

### 3.2.1.2. Ekstrelerin ve Örnek Çözeltilerin Hazırlanması

10g drog 100ml metanol ile oda ısısında ve ışıktan korunarak 3 gün maserasyona bırakıldı. Bu işlem aynı drog ile 1 defa daha tekrar edildi. Maserat 45°C’yi geçmeyen ısıda alçak basınç altında kuruluğa kadar yoğunlaştırıldı. -80°C’de donduruldu ve liyofilize edildi. Droglardan bu şekilde hazırlanan ekstreler -20°C’de muhafaza edildi (Trovato ve ark, 2001; Rabanal ve ark, 2005; Radulovic ve ark, 2007; European Pharmacopoeia, 2008).

Kuru ekstrelerden, yapılan deneme enjeksiyonlarının sonuçlarına göre belirlenen en uygun konsantrasyon için tartım alındı, metanolde çözüldü, 0,45µm’lik filtrelerden süzüldü ve viallere alındı. Çözeltiler enjeksiyon öncesi taze ve 3 örnek olarak hazırlandı.

#### **Aletlerin Özellikleri:**

Alçak basınç ile yoğunlaştırma işlemi Buchi (Vakum kontrol ünitesi V-850, Vakum pompası V-700, Rotasyon ünitesi R-210, Su banyosu B-491) rotavapor ile yapıldı.

Liyofilizasyon işlemi Labconco (Freeze Dry System LYPH-LOCK6) liyofilizatör ile yapıldı.

### 3.2.1.3. Standart Çözeltilerin Hazırlanması

Standart maddeler metanol ile çözüldü, uygun konsantrasyonlara seyreltildi ve 0,45µm'lik filtrelerden süzülerek viallere alındı. Standart çözeltiler enjeksiyon öncesi taze ve 3 örnek olarak hazırlandı.

### 3.2.1.4. Ölçü Eğrisi Hazırlanması

Bölüm 3.2.1.3.'de belirtildiği gibi hazırlanan standart çözeltilerin uygun dalga boyunda (psödohiperisin ve hiperisin için 590 nm, hiperforin için 275 nm ve fenolik bileşikler için 360 nm) saptanan piklerinin alanları hesaplatıldı. Her çözelti 3 kez çalışıldı ve bu değerlerin ortalaması alınarak, ortalama pik alanlarına karşılık gelen konsantrasyon değerlerinden geçen ölçü eğrisi hazırlandı.

## 3.2.2. *In vitro* Antioksidan Aktivite Araştırması

### 3.2.2.1. Ekstrelerin Hazırlanması

Ekstreler Bölüm 3.2.1.2.'de anlatıldığı gibi hazırlanmış ve -20°C'de muhafaza edilmiştir.

### 3.2.2.2. Kullanılan Aletler

Antioksidan aktivite tayinlerinde Thermomix BU su banyosu, spektrofotometrik ölçümlerinde, Shimadzu UV-1208 spektrofotometre, santrifüj işlemlerinde, masa tipi soğutuculu santrifüj (Heraeus-Megafuge 1.OR), pH tayininde Radiometer 92 pH metre'den yararlanıldı.

### 3.2.2.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Ekstrenin total fenolik bileşik tayininde kullanılan Folin ayırıcının hazırlanmasında sodyum tungstat ( $\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ; Merck 106672), sodyum molibdat ( $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ; Merck 386521), % 85  $\text{H}_3\text{PO}_4$  (Merck 100564), derişik hidroklorik asit ( $\text{HCl}$ ; Merck 100314), lityum sülfat ( $\text{Li}_2\text{SO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ; Merck 105694) ve brom (Merck

101945) kullanıldı. Fenol bileşiklerinin tayininde standart olarak gallik asit (3,4,5-hidroksibenzoik asit; Sigma G7384) kullanıldı.

Flavonoit miktar tayininde sodyum nitrit ( $\text{NaNO}_2$ ; Merck 106544), alüminyum klorür ( $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ; Merck 101083), sodyum hidroksit ( $\text{NaOH}$ ; Merck 106462) ve standart olarak kateşin (Fluka 22110) kullanıldı.

Lipozom peroksidasyonu üzerine antioksidan etkinin tayininde soya L- $\alpha$ -fosfatidilkolini (Tip IV-S; Sigma P3644), L-askorbik asit (Sigma A5960), ferri klorür ( $\text{Fe}_3\text{Cl}$ ; Merck 803945), trikloroasetik asit (TCA; Merck 100810), tiyobarbitürik asit (TBA; Merck 108180), butillenmiş hidroksitoluen (BHT; Fluka 34750) ve *n*-butanol (Merck 100988) kullanıldı.

DPPH radikali (DPPH $\bullet$ ) giderici aktivitesi tayininde 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (Sigma D9132) ve metanol (Merck 106008) kullanıldı.

Süperoksit radikali giderici aktivitesi tayininde nitroblue tetrazolium (NBT; Fluka 74032), phenazine methosulphate (PMS; Sigma P 9625),  $\beta$ -nicotinamide adenine dinucleotide reduced ( $\beta$ -NADH; Fluka 43420) kullanıldı.

Ferri iyonu redükleyici gücü tayininde potasyum ferrisiyanür kullanıldı.

Standart olarak kersetin (Fluka 83370) kullanıldı.

Tamponların hazırlanmasında sodyum fosfat dibazik ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ; Sigma S7907), sodyum fosfat monobazik ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ; Sigma S 3139), potasyum dihidrojen fosfat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ; Sigma P5339), dipotasyum hidrojen fosfat ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ; Sigma 60354) kullanıldı.

#### 3.2.2.4. Kullanılan Çözeltiler

##### **Ekstrenin Fenolik Bileşik ve Protein Miktar Tayininde Kullanılan Folin-Ciocalteu Ayırıcının Hazırlanması**

1500 ml'lik yuvarlak dipli balona 100 g sodyum tungstat ( $\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ), 25 g sodyum molibdat ( $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ), 700 ml distile su, 50 ml %85 fosforik asit ve 100 ml derişik HCl aktarıldı. Geri soğutucu altında 10 saat ısıtıldı ve karışıma 150 g lityum



sülfat, 50 ml su ve birkaç damla brom ilave edildi. Bromun fazlasını bertaraf etmek için 15 dakika ısıtıldı, soğutuldu ve 1000 ml'ye distile su ile tamamlandı (Folin ve Ciocalteu, 1927).

#### **TCA/TBA Ayıracı**

6 g trikloroasetik asit ve 0,15 g tiyobarbitürik asidin 40 ml 0,25N HCl'de (1N HCl'in 4 kez seyreltilmesiyle hazırlandı) hafif ısıtılarak (60 - 70°C'de) çözünmesi ile hazırlandı.

#### **1M DPPH• Stok Çözeltisi**

39,43 mg DPPH• 60 ml metanolde çözüldü. Hacim 100 ml'ye metanol ile tamamlandı.

#### **6 x 10<sup>-5</sup>M DPPH• Çalışma Çözeltisi**

6 ml 1M DPPH• stok çözeltisine 94 ml metanol ilave edilmesi ile hazırlandı.

### **3.2.2.5. Fenolik Bileşiklerin Miktar Tayini**

*Hypericum* ekstrelerinin total fenolik bileşikleri miktarı Folin-Ciocalteu ayıracı kullanılarak Slinkard ve Singleton'un (1977) geliştirdiği metoda göre tayin edildi. Değişik konsantrasyonlarda (0,625 - 5 mg/ml) hazırlanan ekstreden 0,1'er ml tüplere alındı ve hacimleri 4,6 ml olacak şekilde distile su ilave edildi. 0,1 ml Folin-Ciocalteu ayıracı (distile su ile 1/3 oranında seyreltildi) ve 0,3 ml %2 sodyum karbonat çözeltisinden ilave edildi, tüpler vorteks mikserde karıştırıldı ve 2 saat bekletildikten sonra meydana gelen mavi rengin absorbansı ekstrenin yerine 0,1 ml distile su içeren köre karşı 760 nm'de ölçüldü. Gallik asit (50 - 400 µg/ml) ile standart eğri çizildi. Sonuçlar mg gallik asit ekivalanları/g yaprak pulpası olarak ifade edildi. Deney üç kez tekrarlandı ve ortalaması alındı.

#### **Gallik Asit Standart Eğri Denkleminin Elde Edilmesi**

Gallik asit standart eğri denkleminin elde edilmesi için önce gallik asidin 1000 µg/ml'lik çözeltisi hazırlandı. Bu çözeltinin distile su ile seyreltilmesiyle konsantrasyonları 400 µg/ml, 300 µg/ml, 200 µg/ml, 100 µg/ml ve 50 µg/ml olan

çözeltiler elde edildi. Çözeltilere Folin-Ciocalteu metodu uygulandıktan sonra oluşan renklerin absorbansları 760 nm’de ölçüldü. Deney beş kez tekrarlandı ve bulunan değerlerden, en küçük kareler yönteminin uygulanmasıyla gallik asit standart eğrisi çizildi ve regresyon denklemi elde edildi.

### **3.2.2.6. Flavonoit Miktar Tayini**

Flavonoitlerin miktarı Sakanaka ve arkadaşlarının (2005) geliştirdiği metoda göre yapıldı. 0,25 ml ekstre (0,626 – 5 mg/ml) veya standart olarak kullanılan kateşin çözeltileri 1,25 ml distile su ile karıştırıldı. 75 µl %5’lik sodyum nitrit ilave edildikten 6 dakika sonra 150 µl %10’luk alüminyum klorür ilave edildi ve karışım 5 dakika bekletildikten sonra 0,5 ml 1 M sodyum hidroksit ilave edildi. Reaksiyon karışımı 2,5 ml’ye distile su ile tamamlandıktan ve karıştırıldıktan sonra meydana gelen rengin absorbansı 510 nm’de ayıraç körüne karşı ölçüldü. Sonuçlar mg kateşin ekivalanları/g yaprak pulpası olarak ifade edildi. Deney üç kez tekrarlandı ve ortalaması alındı.

### **Kateşin Standart Eğri Denkleminin Elde Edilmesi**

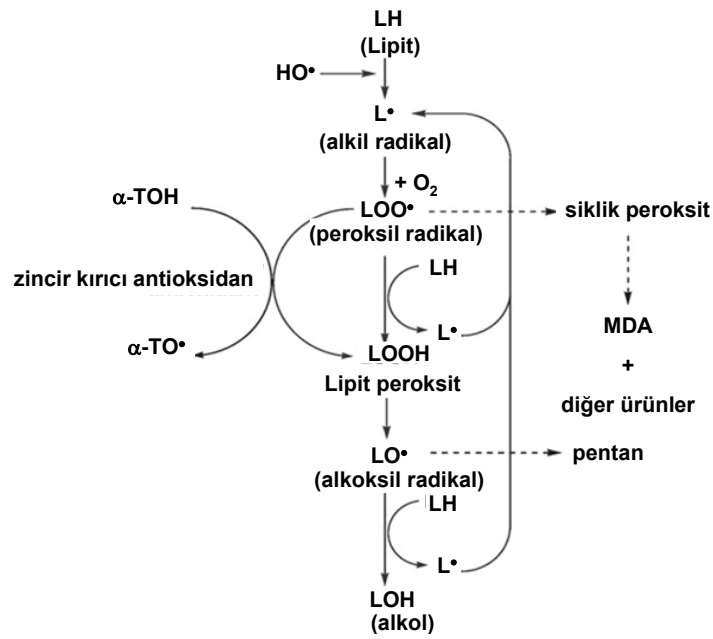
Kateşin standart eğri denkleminin elde edilmesi için önce kateşinin 0,25 mg/ml’lik çözeltisi hazırlandı. Bu çözeltinin distile su ile seyreltilmesiyle konsantrasyonları 0,125 mg/ml, 0,0625 mg/ml, 0,031 mg/ml ve 0,016 mg/ml olan çözeltiler elde edildi. Çözeltilere Sakanaka ve arkadaşlarının (2005) geliştirdiği metod uygulandıktan sonra oluşan renklerin absorbansları 510 nm’de ölçüldü. Deney beş kez tekrarlandı ve bulunan değerlerden, en küçük kareler yönteminin uygulanmasıyla kateşin standart eğrisi çizildi ve regresyon denklemi elde edildi.

### **3.2.2.7. *Hypericum* Ekstrelerinin Demir (III) - Askorbik Asit ile İndüklenmiş Fosfatidilkolin Lipozomlarının Peroksidasyonu Üzerine Antioksidan Etkisi**

Lipid peroksidasyonu ve süperoksit radikali oluşumu normal metabolik yolların işleyişi sırasında, hücrenin, sitoplazma, mitokondri, endoplazmik retikulum, hücre membranı gibi bölümlerinde meydana geldiği için ekstrelerin lipid peroksit ve

süperoksit radikalleri giderici etkileri biyolojik sistemdeki antioksidan aktivitelerini yansıtmaktadır.

Membran fosfolipitlerindeki çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidatif yıkımı lipid peroksidasyonu olarak bilinir. Lipid peroksidasyonu kendi kendini devam ettiren zincir reaksiyonu şeklinde ilerler ve oldukça zararlıdır. Hücre membranlarında lipid serbest radikalleri ( $L^\bullet$ ) ve lipid peroksit radikallerinin ( $LOO^\bullet$ ) oluşması, reaktif oksijen türlerinin (ROT) neden olduğu hücre hasarının önemli bir özelliği olarak kabul edilir (Halliwell ve Chirico, 1993).



Şekil 3-1: Lipit peroksidasyonunun şeması

Fosfolipitler, gıdalardaki antioksidan bileşiklerin membran lipid peroksidasyonunu inhibe edici etkisinin tayininde ideal bir model oluşturan ve gıdaların potansiyel antioksidan aktivitesinin değerlendirilmesinde kullanılan çok önemli substratlardır (Chatterjee ve Agarwal 1988). Bu testin amacı *Hypericum* türlerinden hazırlanan metanol ekstraktlarının, soya fosfatidilkolininden (lesitinden) hazırlanan lipozomlardan oluşturulan suni lipid sisteminin FeCl<sub>3</sub> ve askorbik asit ile inkübasyonu sonucunda oluşan peroksit radikallerini giderme kapasitesini ölçmektir. Fosfolipitlerden oluşturulan lipozomlar, demir (III) ve askorbik asit varlığında lipid peroksidasyonuna uğrarlar ve biyolojik olarak aktif aldehytler oluşur. Üç veya daha fazla çift bağ içeren

yağ asitlerinin peroksidasyonunda malondialdehit (MDA) meydana gelir. MDA lipit peroksidasyonunun derecesiyle iyi korelasyon gösterir. Bu nedenle MDA ölçülmesi lipit peroksit seviyelerinin indikatörü olarak kullanılır. Malondialdehit (MDA) ile tiyobarbitürik asit (TBA)'in reaksiyona girmesiyle oluşan tiyobarbitürik asit reaktif türleri (TBARS)'nin pembe rengi 532 nm'de ölçülerek ekstrenin lipit peroksidasyonuna karşı inhibisyon aktivitesi tayin edildi.

*Hypericum* türlerinin lipit peroksidasyonuna karşı inhibisyon aktivitesi Duh ve arkadaşlarının (1999) geliştirdiği metoda göre yapıldı.

300 mg lesitin 30 ml, 50 mM potasyum fosfat tamponu (pH 7,0) ile süspansiyon haline getirildi ve buz içeren kaptaki her 30 saniyede dinlendirilerek toplam 10 dakika sonikatörde muamele edilerek (9 cycle/ 26 % power) 10 mg/ml fosfolipit lipozomları içeren bir süspansiyon elde edildi. Deney 3,25 ml'lik reaksiyon ortamında gerçekleştirildi. İlave edilen maddelerin reaksiyon ortamındaki konsantrasyonları parantez içinde gösterildi. 0,25 ml ekstre (0,625 – 10 mg/ml) veya standart olarak kersetin (0,005 – 0,16 mg/ml)'e 1 ml 10 mg/ml lipozom süspansiyonu (3,08 mg/ml), 1 ml 400 µM FeCl<sub>3</sub> (123 µM) ilave edildi ve reaksiyon 1 ml 400 µM askorbik asit (123 µM) ilavesi ile başlatıldı. Karışım 37°C'de 60 dakika inkübe edildikten sonra lipit peroksidasyonunun son ürünü olan MDA, TBA metodu ile tayin edildi (Buege ve Aust, 1978). 500 µl reaksiyon karışımına 1000 µl TCA - TBA ayırıcı (%15 w/v TCA ve %0,375 TBA'nın 0,25 N HCl'deki çözeltisi) ve 14 µl %2'lik BHT'nin absolü etanoldeki çözeltisi ilave edildi. Reaksiyon karışımı vortekste karıştırıldı ve 100°C'de 10 dakika kaynar su banyosunda bekletildi. Soğutulduktan sonra 1,5 ml *n*-butanol ilave edildi ve 3000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. Üst kısımdaki organik tabakanın pembe renginin absorbansı 532 nm'de ölçüldü. *Hypericum* ekstralarının lipit peroksidasyonunu inhibe edici yüzdesi aşağıdaki denkleme göre hesaplandı.

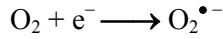
**Denkleme 3-1:** Lipit peroksidasyonunun % inhibisyon hesabı

$$\text{Inhibisyon (\%)} = \left(1 - \frac{\text{İndol türevinin 532 nm'deki absorbansı } I}{\text{Kontrolün 532 nm'deki absorbansı } I_0}\right) \times 100$$

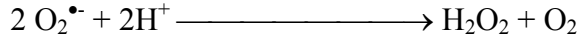
EC<sub>50</sub> değeri (%50 TBARS oluşumunun inhibisyonunu sağlayan ekstre veya standart konsantrasyonu) absise antioksidan miktarı, ordinata inhibisyon yüzdeleri verilerinin uygulanması ile çizilen eğrinin linear kısmından elde edilen regresyon denkleminde hesaplandı. Deney üç kez tekrarlandı ve ortalaması alındı.

### 3.2.2.8. Süperoksit Anyonu Giderici Aktivite Tayini

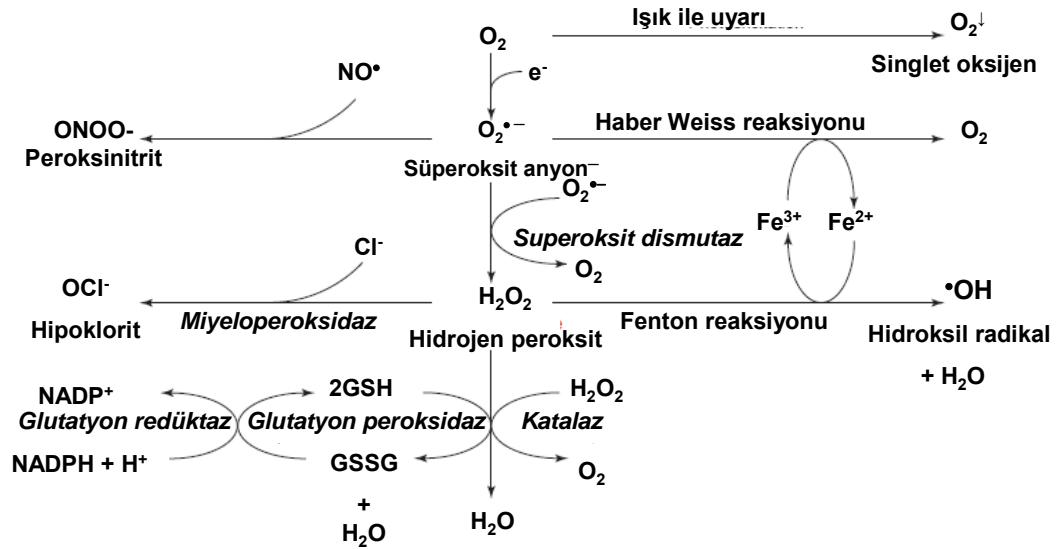
Süperoksit radikali, normal hücre metabolizmasında, mitokondriyal, endoplazmik retiküler ve nükleer membran elektron transport işlemleri sırasında oluşan bir ara üründür. Süperoksit radikali, oksijen molekülüne bir elektron ilavesi ile oluşur ve serbest radikal hasarına karşı koruyucu antioksidan bir enzim olan ve oksidan hasar oluşumu ile birlikte artan süperoksit dismutaz (SOD) aracılığı ile hidrojen peroksite indirgenir (Halliwell, 1989).



*Süperoksit dismutaz*



Diğer radikallere göre daha az reaktif olsa da, bu radikal anyonun asıl önemi, hidrojen peroksit kaynağı olmasıdır ve geçiş metalleri varlığında, Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonu ile en reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikale dönüşerek hücre zarlarında lipid peroksidasyonunu başlatabilmekte ve zarsal antioksidanları (tokoferol) oksitleyebilmektedir (Halliwell ve Gutteridge, 1984).



Şekil 3-2: Süperoksit radikali oluşum şeması

Süperoksit anyonu giderici aktivite Nishikimi, Rao ve Yagi (1972) metoduna göre tayin edildi. Deney, PMS (Fenazin metasülfat) –NADH (Nikotinamid adenin dinükleotit) sistemindeki NADH oksidasyonu ile oluşan süperoksitin nitroblue tetrazoliumu (NBT) indirgemesi sonucu oluşan renkli formazonların 560 nm'deki absorbansların ölçülmesi esasına dayanır. Süperoksit anyonu giderici aktiviteye sahip olan antioksidanın varlığında bu indirgeme meydana gelmez ve mavi-mor renk oluşmaz.

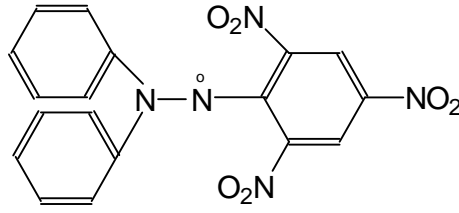
0,1 ml ekstre (0,16 – 5 mg/ml) veya standart olarak kullanılan kersetin (0,16 – 0,625 mg/ml)'e 1 ml nitroblue tetrazolium (NBT) çözeltisi (100 mmol/L fosfat tamponunda (pH 7,4) hazırlanmış 156 µmol/L NBT) ve 1 ml NADH çözeltisi (100 mmol/L fosfat tamponunda (pH 7,4) hazırlanmış 468 µmol/L NADH ) ilave edildi. Reaksiyon, 100 µl fenazin metosülfat (PMS) çözeltisinin (100 mmol/L fosfat tamponunda -pH 7,4- hazırlanmış 60 µmol/L PMS) ilavesi ile başlatıldı. Reaksiyon karışımına 25°C de 5 dakika inkübe edildi ve oluşan rengin absorbansı 560 nm de köre (sadece NBT ve NADH çözeltileri içerir) karşı okundu. Pozitif ve negatif kontroller paralel olarak çalışıldı. Pozitif kontrolde ekstrenin yerine standart, negatif kontrolde ise çözücü (metanol) kullanıldı. Deney üç kez tekrarlandı ve ortalaması alındı. Süperoksit anyonu giderici aktivite aşağıdaki denkleme göre hesaplandı.

**Denklem 3-2:** Süperoksit anyonu giderici aktivite % hesabı

$$\text{Süperoksit radikali giderici aktivitesi (\%)} = \left(1 - \frac{\text{Ekstrenin 560 nm'deki absorbansı}}{\text{Kontrolün 560 nm'deki absorbansı}}\right) \times 100$$

### 3.2.2.9. DPPH Radikali Giderici Aktivite Tayini

DPPH radikali giderici aktivite Brand-Williams, Cuvelier ve Berset (1995) metoduna göre tayin edildi. DPPH• (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) dayanıklı olan ve en çok kullanılan organik nitrojen radikalidir. Antioksidanlar hidroksil grubundan hidrojen atomu vericisi olarak etki gösterirler ve zincir oluşturan radikalleri daha az reaktif türlere dönüştürerek lipid peroksidasyonunu devam ettiren zincir reaksiyonunu durdururlar. Antioksidan varlığında mor renkli 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil sarı renkli difenilpikril hidrazine redüklenir. Huang ve arkadaşları (2005) en çok kullanılan dayanıklı organik nitrojen radikali olan DPPH•'i şekil halinde göstermiştir (Şekil 3-1).



**Şekil 3-3:** 2, 2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH•)

0,1 ml ekstre (0,16 – 2,5 mg/ml) veya standart olarak kullanılan kersetin (0,01 – 0,31 mg/ml)'e 3,9 ml DPPH•'ın metanoldeki çözeltisi ( $6 \times 10^{-5}$  M) ilave edildi. Karışım 30 dakika karanlıkta bekletildi. Absorbanslar 517 nm'de spektrofotometrede metanole karşı okundu. Pozitif ve negatif kontroller paralel olarak çalışıldı. Pozitif kontrolde ekstrenin yerine standart, negatif kontrolde ise çözücü (metanol) kullanıldı. Deney üç kez tekrarlandı ve ortalaması alındı. Antioksidanın EC<sub>50</sub> konsantrasyonu (antioksidan numunenin %50 DPPH radikali giderici aktivitesi göstermesi için gerekli olan antioksidan miktarı), absise antioksidan miktarı, ordinata % DPPH radikali giderici aktivitesi verilerinin uygulanması ile çizilen eğrinin lineer kısmından elde edilen regresyon denkleminde hesaplandı. DPPH radikali giderici aktivite aşağıdaki denkleme göre hesaplandı.

**Denklem 3-3:** DPPH radikali giderici aktivite % hesabı

$$DPPH \text{ radikali giderici aktivitesi (\%)} = \left(1 - \frac{\text{Ekstrenin } 517 \text{ nm'deki absorbansı}}{\text{Kontrolün } 517 \text{ nm'deki absorbansı}}\right) \times 100$$

### 3.2.2.10. Ferri İyonu Redükleyici Gücü

Fe<sup>3+</sup>'ü Fe<sup>2+</sup>'ye redükleyici güç Oyaizu ve ark.(1986) tarafından geliştirilen metoda göre yapıldı. 0,1 ml *Hypericum* ekstresi (0,31 – 5 mg/ml) veya standart olarak kullanılan kersetin (0,04 – 1,25 mg/ml), 0,25 ml 0,2 M fosfat tamponu (pH 6,6) ve 0,25 ml %1 potasyum ferrisiyanür ile karıştırıldı ve 50°C de 20 dakika inkübe edildi. Bu sürenin sonunda reaksiyon 0,25 ml % 10 TCA ile durduruldu. Karışım 10 dakika 3000 rpm de santrifüj edildi. Ayrı tüplere alınan 0,25 ml süpernatanta 0,25 ml distile su ve 0,5 ml %0,1 Fe<sub>3</sub>Cl ilave edildi ve absorbanslar 700 nm'de okundu. Yüksek absorbans yüksek redükleyici gücün göstergesidir.

### 3.2.2.11. İstatiksel Değerlendirme

Çalışma sonucunda elde edilen veriler ortalama ve  $\pm$  standart sapma olarak verildi. Test edilen maddelerin arasındaki farkın değerlendirilmesinde Student's t testinden yararlanıldı. Anlamlılık sınırı olarak  $p < 0,05$  kabul edildi. Değişkenler arasındaki ilişki ise kolerasyon analizi ile değerlendirildi.

### 3.2.3. *In vitro* Sitotoksik Aktivite Tayini Araştırması

Hücre kültürleri üzerinde gerçekleştirilen sitotoksikite tayinleri, hücre canlılığı belirleme testi, hücre çoğalma hızının ölçülme testi, hücre morfolojisinde meydana gelen değişikliklerin mikroskopik inceleme ile belirlenmesi, hücredeki toplam protein miktar tayini, enzim aktivite tayini ve hücresel nükleik asit sentezinin ölçülmesi esaslarına dayanılarak yapılır. *Hypericum* ekstrelerinin sitotoksik aktivitesi, enzim aktivitesini belirleyen LDH testi ve hücre canlılığını belirleyen WST-1 testi ile araştırılmıştır.

#### 3.2.3.1. Ekstrelerin Hazırlanması

Ekstreler Bölüm 3.2.1.2.'de anlatıldığı gibi hazırlanmış ve  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edilmiştir.

#### 3.2.3.2. Kullanılan Aletler

Sitotoksik aktivite tayinlerinde Laminar Kabin (Biosafety), mikropilaka okuyucu (Biotek Epoch),  $\text{CO}_2$ 'li inkübatör (Thermo-scientific Heracell 150i) ve mini orbital çalkalayıcı (Stuart SSMI)'dan yararlanıldı.

#### 3.2.3.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler

DMEM (Dulbecco'nun Modifiye edilmiş Eagle Medyumu) Düşük Glikoz (Wisent 319010CL), fetal sığır serumu (FBS) (Wisent 080110) ve penisilin-streptomisin (Wisent 450201EL), LDH test kiti (Roche 04744926001) ve WST-1 test kiti (Roche 11644807001) kullanılmıştır.



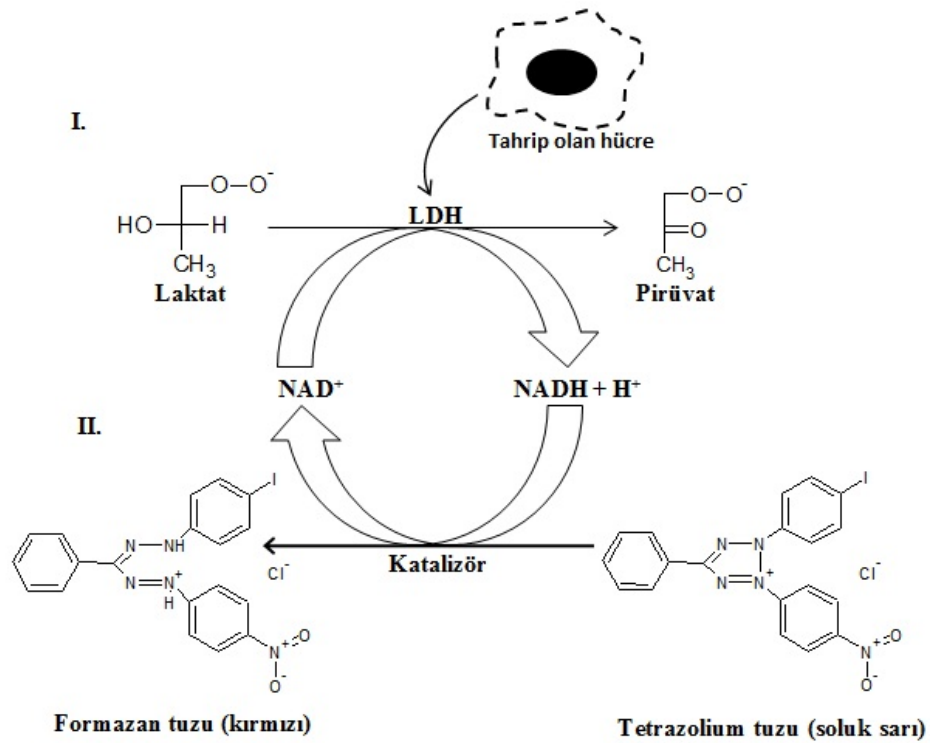
### 3.2.3.4. Kullanılan Hücreler ve Hücrelerin Hazırlanması

Deneylerde HeLa (serviks adenokarsinomu) hücreleri (CCL-2) kullanıldı.

HeLa hücreleri inaktive edilmiş %10 fetal sığır serumu (FBS) ve 100U- 100 µg/ml Penisilin-Streptomisin içeren DMEM - Düşük Glükoz medyumunda (Dulbecco'nun Modifiye edilmiş Eagle Medyum) 37°C'de, %5 CO<sub>2</sub>'li inkübatörde 25 ve 75 cm<sup>2</sup>'lik steril flasklarda kültüre edildi. Hücreler haftada 2-3 kez rutin olarak pasajlandı. Hücreler, hücre kültür kabını %70 (yoğunluk olarak) kaplamış (konflent) duruma gelince deneyler için kullanıldı.

### 3.2.3.5. LDH Sitotoksosite Belirleme Testi

Laktat dehidrojenaz (LDH) testi plazma membran hasarlarının kantitatif olarak tayin edildiği ve sitotoksitenin klasik değerlendirilmesinde sıklıkla kullanılan bir testtir. Tüm hücrelerde bulunan sitoplazmik bir enzim olan laktat dehidrojenaz, hücrenin tahrip olması ya da hücre membranının hasara uğraması gibi durumlarda hücre dışına çıkar. LDH testi bu enzimin aktivitesinin spektrofotometrik olarak ölçülmesi esasına dayanmaktadır (Fotakis ve Timbrell, 2006)



Şekil 3-4: LDH testinin reaksiyon şeması (LDH: Laktat dehidrojenaz enzimi)

### **Kit İceriği**

- 1- Katalizör (Diaforaz/NAD<sup>+</sup> karışımı)
- 2- Boya Çözeltisi (İyodotetrazolium klorür ve sodyum laktat )
- 3- Liziz Çözeltisi (Hücrelerin tahribi için)
- 4- Stop Çözeltisi (LDH reaksiyonunu durdurmak için)

### **Kontroller**

1- Background Control (BC): Sadece besiyeri içerir, hücre içermez. Besiyerinde LDH aktivitesi olup olmadığını belirlemek için kullanılır.

2- Low Control (LC): Spontan LDH. Hiçbir uygulama yapılmamış, normal hücrelerden salınan LDH aktivitesini belirlemek için kullanılır.

3- High Control (HC): Maksimum LDH. Liziz ilavesiyle hücrelerden salınabilen maksimum LDH seviyesini belirlemek için kullanılır.

Deneyde kullanılan HeLa hücresi içeren besiyerinin hücre konsantrasyonu 1 - 2 x 10<sup>4</sup> hücre/100µl olacak şekilde ayarlanmıştır. Ekstre konsantrasyonları yapılan denemeler sonucunda belirlenmiş ve 0,0625 mg/ml, 0,125 mg/ml, 0,25 mg/ml, 0,5 mg/ml ve 1 mg/ml olacak şekilde hazırlanmıştır. Reaksiyon karışımı 250 µl katalizör ve 11,25 ml boya çözeltisinin (1:45) karıştırılmasıyla taze olarak hazırlanmıştır. Deneye başlamadan önce 96 kuyucuklu mikropkaka fosfat tamponu (PBS) ile yıkanmıştır. BK kuyularına 100 µl hücre içermeyen besiyeri, LC ve HC kuyularına 50 µl hücre içermeyen besiyeri ve 50 µl hücre yerleştirilmiştir. HC kuyularına ayrıca 5 µl liziz çözeltisi eklenmiştir. Aktivitesi ölçülecek deneysel örneklerin kuyularına ise 50 µl hücre ve 50 µl dimetilsülfoksit (DMSO):su (1:4) karışımı ile çözündürülmüş farklı konsantrasyonlarda ekstreler ilave edilmiştir. 96 kuyucuklu mikropkaka (Şekil 3-3), 15 dakika inkübasyona (37°C, %5 CO<sub>2</sub>) bırakılmış ve sonrasında da 10 saniye çalkalanmıştır. Her kuyucuğa 100µl reaksiyon karışımı eklenmiş ve 15-25°C'de, ışıktan koruyarak 20 dakika inkübasyona (37°C, %5 CO<sub>2</sub>) bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası her kuyucuğa 50 µl stop çözeltisi ilave edilmiş, 10 saniye çalkalanmış ve mikropkaka okuyucuda 490 nm'de (Ref.600 nm) ölçüm yapılmıştır (Elektronik kaynak, 2011b).

Her sonuç 2 ayrı günde ve aynı deney içerisinde 2 defa tekrar edilmiştir. Değerlerin ortalaması alınarak % sitotoksosite değeri aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

**Denklem 3-4:** LDH testi ile sitotoksik aktivitenin % hesabı

$$\text{Sitotoksosite (\%)} = \left( \frac{\text{Örnek absorbansı} - \text{LC absorbansı}}{\text{HC absorbansı} - \text{LC absorbansı}} \right) \times 100$$

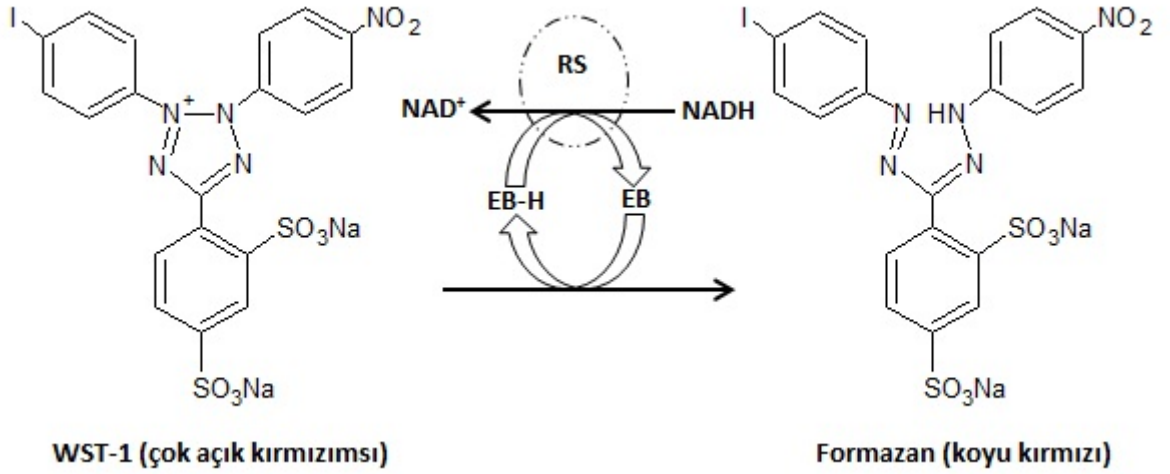
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B	BC	A1	A2	A3	A4	A5	D1	D2	D3	D4	D5	BC
C	BC	A1	A2	A3	A4	A5	D1	D2	D3	D4	D5	BC
D	LC	B1	B2	B3	B4	B5	E1	E2	E3	E4	E5	HC
E	LC	B1	B2	B3	B4	B5	E1	E2	E3	E4	E5	HC
F	LC	C1	C2	C3	C4	C5	F1	F2	F3	F4	F5	HC
G	LC	C1	C2	C3	C4	C5	F1	F2	F3	F4	F5	HC
H												

**Şekil 3-5:** 96 kuyucuklu mikroplaka (BC: Background Control, LC: Low Control, HC: High Control / A: *H. spectabile*, B: *H. pseudolaeve*, C: *H. thymbrifolium*, D: *H. neurocalycinum*, E: *H. malatyanum*, F: *H. perforatum* / 1: 0,0625 mg/ml, 2: 0,125 mg/ml, 3: 0,25 mg/ml, 4: 0,5 mg/ml, 5: 1 mg/ml)

### 3.2.3.6. WST-1 Hücre Proliferasyonu Ölçümü Testi

Sitotoksitenin değerlendirilmesinde kullanılan diğer testlerden biri olan WST-1 testi, LDH testinden farklı olarak membran hasarının değil de hücre mitokondriyel ve solunum zinciri hasarlarının tespitine dayalı bir testtir. Hassas ve pratik olması, tekrarlanabilir sonuçlar elde edilebilmesi nedeniyle tercih edilen bu test, çok açık kırmızımsı renkte bir tetrazolyum tuzu olan WST-1 (4-[3-(4-iyodofenil)-2-(4-nitrofenil)-2H-5-tetrazolio]-1,3-benzen disülfonat)'in hücrelerin mitokondrilerindeki süksinat tetrazolyum redüktaz enzimi aracılığıyla koyu kırmızı renkli ve suda çözünebilen formazana dönüşmesi esasına dayanmaktadır. 450-490 nm dalga boyunda

ELISA okuyucuda değerlendirilen sonuçlar hücre canlılığının belirlenmesinde ve dolayısıyla sitotoksik aktivite analizlerinde kullanılır (Gad, 2000; Koren ve ark, 2009).



**Şekil 3-6:** WST-1 testinin reaksiyon şeması (WST-1: (4-[3-(4-iyodofenil)-2-(4-nitro-fenil)-2H-5-tetrazolio]-1,3-benzen disülfonat); EB: Elektron bağlayıcı ajan; RS: Mitokondriyel süksinat-tetrazolyum-redüktaz sistem)

### **Kit İçeriği**

1- Hücre proliferasyon ajanı WST-1

### **Kontroller**

- 1- Background Control (BC): Sadece besiyeri içerir, hücre içermez.
- 2- Low Control (LC): Hiçbir uygulama yapılmamış, normal hücre ve besiyeri içerir.

Deneyde kullanılan HeLa hücresi içeren besiyerinin hücre konsantrasyonu 1 - 2 x 10<sup>4</sup> hücre/100 µl olacak şekilde ayarlanmıştır. Ekstre konsantrasyonları yapılan denemeler sonucunda belirlenmiş ve 0,0625 mg/ml, 0,125 mg/ml, 0,25 mg/ml, 0,5 mg/ml ve 1 mg/ml olacak şekilde hazırlanmıştır. Deneye başlamadan önce 96 kuyucuklu mikroyapı fosfat tamponu (PBS) ile yıkanmıştır. BC kuyularına 100 µl hücre içermeyen besiyeri, LC kuyularına 50 µl hücre içermeyen besiyeri ve 50 µl hücre yerleştirilmiştir. Aktivitesi ölçülecek deneysel örneklerin kuyularına ise 50 µl hücre ve

50 µl dimetilsülfoksit (DMSO):su (1:4) karışımı ile çözüldürülmüş farklı konsantrasyonlarda ekstratlar ilave edilmiştir. Tüm kuyucuklara 10 µl hücre proliferasyon ajanı WST-1 eklenir, 0,5-4 saat arası inkübasyona (37°C, %5 CO<sub>2</sub>) bırakılır. İnkübasyon sonrası 1 dakika çalkalanır ve 420 nm'de (Ref.600 nm) mikropılaka okuyucuda ölçüm alınır (Elektronik kaynak, 2011c). Bu çalışmada inkübasyon süresi 1h ve 4h olmak üzere 2 deneme yapılmış, her sonuç 2 ayrı günde ve aynı deney içerisinde 2 defa tekrar edilmiştir. Değerlerin ortalaması alınarak % canlılık değeri aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

**Denklem 3-5:** WST-1 testi ile canlılığın % hesabı

$$\text{Canlılık (\%)} = \frac{\text{Örnek absorbansı} \times 100}{\text{LC absorbansı}}$$

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B		A1	A2	A3	A4	A5	D1	D2	D3	D4	D5	
C	BC	A1	A2	A3	A4	A5	D1	D2	D3	D4	D5	LC
D	BC	B1	B2	B3	B4	B5	E1	E2	E3	E4	E5	LC
E	BC	B1	B2	B3	B4	B5	E1	E2	E3	E4	E5	LC
F	BC	C1	C2	C3	C4	C5	F1	F2	F3	F4	F5	LC
G		C1	C2	C3	C4	C5	F1	F2	F3	F4	F5	
H												

**Şekil 3-7:** 96 kuyucuklu mikropılaka (BC: Background Control, LC: Low Control / A: *H. spectabile*, B: *H. pseudolaeva*, C: *H. thymbrifolium*, D: *H. neurocalycinum*, E: *H. malatyanum*, F: *H. perforatum* / 1: 0,0625 mg/ml, 2: 0,125 mg/ml, 3: 0,25 mg/ml, 4: 0,5 mg/ml, 5: 1 mg/ml)

### 3.2.4. Antimikrobiyal Aktivite Araştırması

*Hypericum spectabile*, *H. pseudolaeva*, *H. thymbrifolium*, *H. neurocalycinum*, *H. malatyanum*, *H. perforatum* türlerinin çiçekli toprak üstü kısımlarından ayrı ayrı 10g

tartıldı. Sırasıyla petrol eteri, dietileter, kloroform, aseton ve metanol ile Soxhlet apareyinde tüketilerek her biri için 5 çeşit ekstre hazırlandı. Bölüm 3.2.1.2.'de anlatıldığı gibi hazırlanan total metanol ekstresi de dahil olmak üzere her tür için 6 farklı kuru ekstreten ayrı ayrı 10 mg tartıldı ve bu ekstreler ile antimikrobiyal aktivite çalışması yapıldı.

Antimikrobiyal aktivite testinde Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) kriterleri doğrultusunda mikrodilüsyon yöntemi kullanılmıştır (CLSI, 2000a). Ekstrelerin *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, metisiline dirençli (*Meticillin Resistant*) *Staphylococcus aureus* ATCC 33591 (MRSA), *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 4352, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 1539, *Proteus mirabilis* ATCC 14153'e karşı Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MİK) değerleri saptanmıştır. Ekstrelerin *Candida albicans* ATCC 10231'e karşı antifungal aktivitesi ise yine CLSI kriterleri doğrultusunda dilüsyon yöntemiyle saptanmıştır (CLSI, 2000b). Çalışmada kullanılan bakterilerin inokulumu Mueller-Hinton Broth (Difco, Detroid, USA) besiyerindeki 4-6 h'lik kültüründen  $5 \times 10^5$  kob/ml (koloni oluşturan birim), *Candida albicans* ATCC 10231 için ise RPMI-1640 (Sigma) besiyerindeki 24h'lik kültüründen  $0,5-2,5 \times 10^3$  kob/ml olacak şekilde hazırlanmıştır. Ekim yapılmış mikropalaklar bakteriler için 35°C'de 18-24h, *Candida albicans* ATCC 10231 için ise 35°C'de 48h inkübe edilmiştir. Gözle görülür üremenin olmadığı en düşük madde konsantrasyonu MİK değeri olarak belirlenmiştir.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (YBSK) ile Miktar Tayini Sonuçları

#### 4.1.1. YBSK ile Analizi Yapılan Ekstrelerin Verimleri:

Bölüm 3.2.1.2.'de anlatıldığı gibi hazırlanan metanol ekstralarının verimleri aşağıdaki tabloda (Tablo 4-1) gösterilmiş ve bitki içerisindeki % değerler hesaplanırken bu verimler esas alınmıştır.

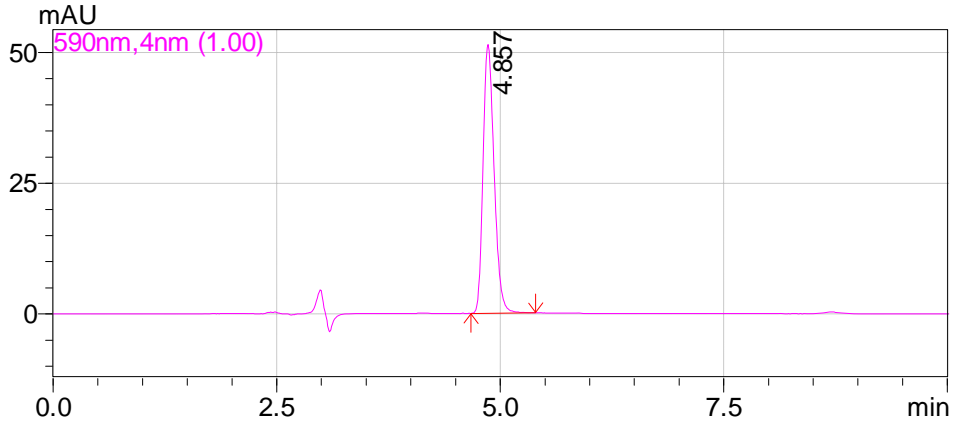
**Tablo 4-1:** Ekstrelerin verimleri

	<b>Metanol Ekstresi (%)</b>
<i>H. spectabile</i>	21,3
<i>H. pseudolaeve</i>	14,9
<i>H. thymbrifolium</i>	17,3
<i>H. neurocalycinum</i>	16,5
<i>H. malatyanum</i>	23,3
<i>H. perforatum</i>	26,8

#### 4.1.2. YBSK ile Naftodiantron Türevi Bileşiklerin Miktar Tayini Sonuçları

##### 4.1.2.1. YBSK ile Psödohiperisin Miktar Tayini Sonuçları

Bölüm 3.2.1.3.'de anlatıldığı gibi hazırlanan psödohiperisin standartı 5 farklı konsantrasyonda 3 örnek olarak kolona enjekte edildi. Kromatogramların değerlendirilmesinde otomatik olarak YBSK cihazının hesapladığı pik alanı değerleri kullanıldı. Kolona enjekte edilen standart psödohiperisinin retansiyon zamanı 4.857 dakika olarak belirlendi. Psödohiperisin standartına ait kromatogram (Şekil 4-1), konsantrasyon ve pik alanı değerleri aşağıda gösterilmiştir (Tablo 4-2).

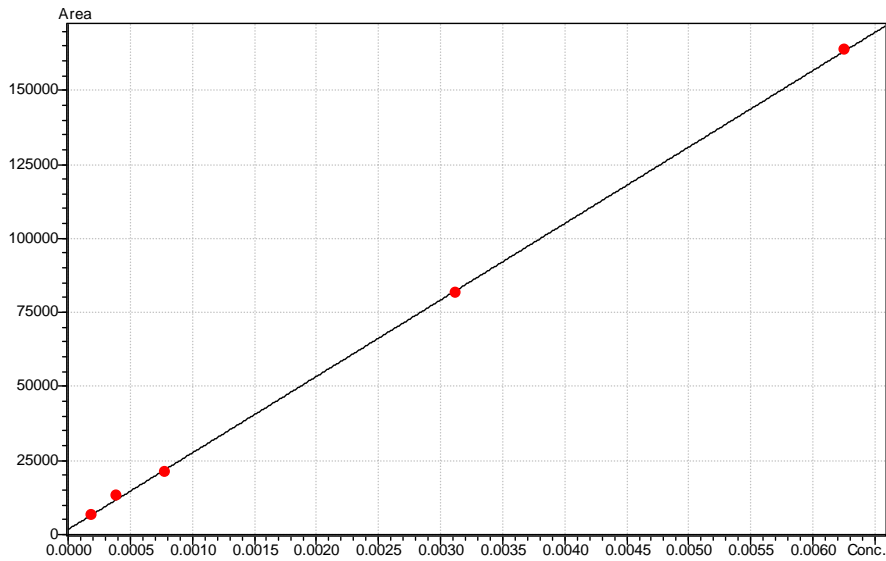


Şekil 4-1: Psödohiperisin standartına ait LC kromatogramı

Tablo 4-2: Psödohiperisin standartına ait konsantrasyon-pik alanı şeması

Konsantrasyon	Ortalama Alan	Standart Sapma	%RSD	Alan-1	Alan-2	Alan-3
0,006250	163537	37974,52	23,22078	204895	155475	130241
0,003125	81692	21329,86	26,11021	104804	77506	62765
0,000780	20996	5089,99	24,24277	26854	17653	18481
0,000390	13168	4216,82	32,02266	18035	10612	10857
0,000195	6652	2529,12	38,01835	9572	5124	5262

Bu değerler esas alınarak psödohiperisin standartına ait ölçü eğrisi hazırlanmış ve doğru denklemi belirlenmiştir (Şekil 4-2).



Şekil 4-2: Psödohiperisin standartına ait ölçü eğrisi



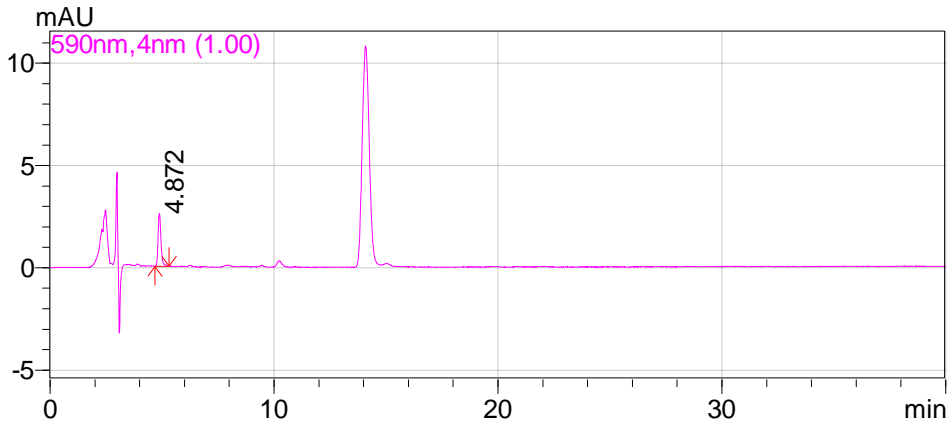
**Hesaplanan doğru denklemi:**

$$y = 2,582269e+007x + 1741,874$$

$$r^2 = 0,9998$$

$$r = 0,9999$$

Psödohiperisin standartı ile doğru denklemi belirlendikten sonra Bölüm 3.2.1.2.'de anlatıldığı gibi droglardan hazırlanan ekstreler kolona enjekte edildi. Ekstrelelere ait kromatogramlar aşağıda gösterilmiştir.

***Hypericum spectabile* ekstresine ait kromatogram ve değerler:**

**Şekil 4-3:** *H. spectabile*, psödohiperisin pikinin görüldüğü LC kromatogramı

**Tablo 4-3:** *H. spectabile* türünün içerdiği psödohiperisin miktarı hesaplamaları

<b>Konsantrasyon*</b> <b>(mg/ml)</b>	<b>Alan</b>	<b>x**</b> <b>(mg/ml)</b>
10	22988	0,00082
	17647	0,00062
	18387	0,00065

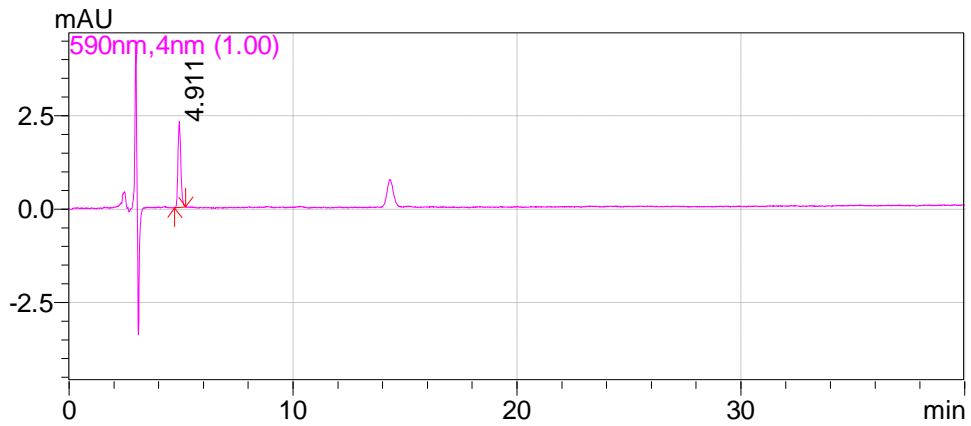
\* Enjektte edilen numunenin konsantrasyonu  
\*\* 1 ml enjektte edilen numune içerisindeki psödohiperisin miktarının mg cinsinden değeri

<b>Ekstre Verimi* (%)</b>	<b>e** (%)</b>	<b>e<sub>ort</sub></b>	<b>SD***</b>
21,3	<b>0,00823</b>	0,00695	0,00112
	<b>0,00616</b>		
	<b>0,00645</b>		

\* 100 gram bitkiden elde edilen ekstre miktarı, \*\* Ekstre içerisindeki psödohiperisin miktarının % değeri ( $e = (x / \text{Konsantrasyon}) * 100$ ), \*\*\*e'lerin standart sapması

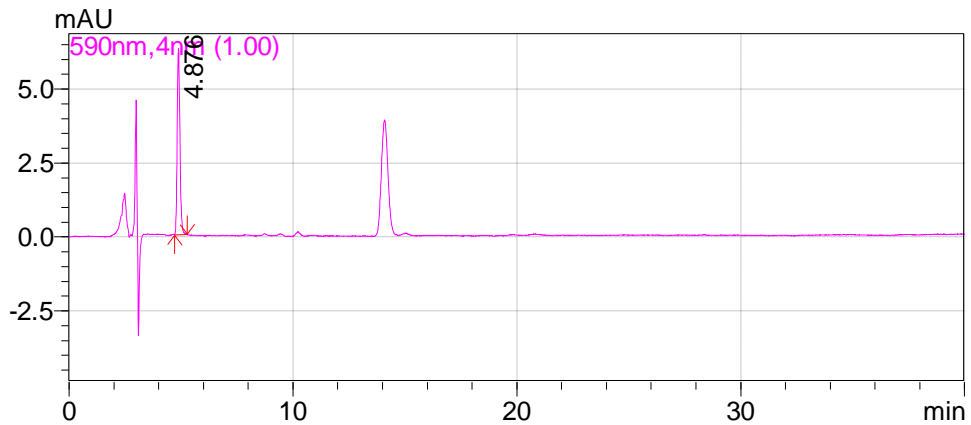
<b>h* (%)</b>	<b>h<sub>ort</sub></b>	<b>SD **</b>
0,00175	<b>0,00148</b>	<b>0,00024</b>
0,00131		
0,00137		

\* Bitki içerisindeki % psödohiperisin miktarı ( $h = \text{ekstre verimi} * e / 100$ ), \*\* h'ların standart sapması

***Hypericum pseudolaeye* ekstresine ait kromatogram ve değerler:****Şekil 4-4:** *H. pseudolaeye*, psödohiperisin pikinin görüldüğü LC kromatogramı

**Tablo 4-4:** *H. pseudolaeve* türünün içerdiği psödohiperisin miktarı hesaplamaları

<b>Konsantrasyon*</b> <b>(mg/ml)</b>	<b>Alan</b>	<b>x**</b> <b>(mg/ml)</b>	
1	20134	0,00071	
	19490	0,00069	
	33752	0,00124	
* Enjektte edilen numunenin konsantrasyonu			
** 1 ml enjektte edilen numune içerisindeki psödohiperisin miktarının mg cinsinden değeri			
<b>Ekstre Verimi* (%)</b>	<b>e** (%)</b>	<b>e<sub>ort</sub></b>	<b>SD***</b>
14,9	<b>0,07120</b>	0,08793	0,03117
	<b>0,06870</b>		
	<b>0,12390</b>		
* 100 gram bitkiden elde edilen ekstre miktarı, ** Ekstre içerisindeki psödohiperisin miktarının % değeri ( $e = (x / \text{Konsantrasyon}) * 100$ ), ***e'lerin standart sapması			
<b>h* (%)</b>	<b>h<sub>ort</sub></b>	<b>SD **</b>	
0,01061	<b>0,01310</b>	<b>0,00464</b>	
0,01024			
0,01846			
* Bitki içerisindeki % psödohiperisin miktarı ( $h = \text{ekstre verimi} * e / 100$ ), ** h'ların standart sapması			

***Hypericum thymbrifolium* ekstreğine ait kromatogram ve değerler:****Şekil 4-5:** *H. thymbrifolium*, psödohiperisin pikinin görüldüğü LC kromatogramı

**Tablo 4-5:** *H. thymbrifolium* türünün içerdiği psödohiperisin miktarı hesaplamaları

Konsantrasyon* (mg/ml)	Alan	x** (mg/ml)
4	54097	0,00203
	58058	0,00218
	49691	0,00186

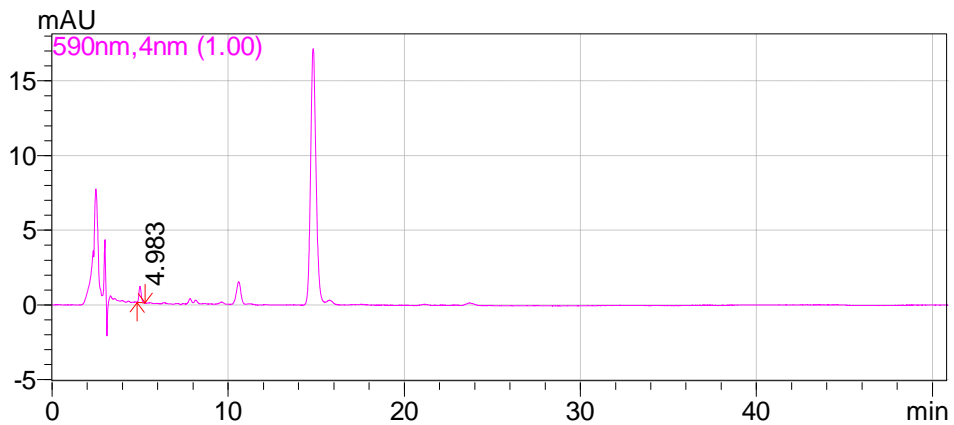
\* Enjektte edilen numunenin konsantrasyonu  
\*\* 1 ml enjektte edilen numune içerisindeki psödohiperisin miktarının mg cinsinden değeri

Ekstre Verimi* (%)	e** (%)	e <sub>ort</sub>	SD***
	<b>0,05070</b>		
17,3	<b>0,05453</b>	0,05055	0,00405
	<b>0,04643</b>		

\* 100 gram bitkiden elde edilen ekstre miktarı, \*\* Ekstre içerisindeki psödohiperisin miktarının % değeri ( $e = (x / \text{Konsantrasyon}) * 100$ ), \*\*\*e'lerin standart sapması

h* (%)	h <sub>ort</sub>	SD **
0,00877		
0,00943	<b>0,00875</b>	<b>0,00070</b>
0,00803		

\* Bitki içerisindeki % psödohiperisin miktarı ( $h = \text{ekstre verimi} * e / 100$ ), \*\* h'ların standart sapması

***Hypericum neurocalycinum* ekstresine ait kromatogram ve değerler:****Şekil 4-6:** *H. neurocalycinum*, psödohiperisin pikinin görüldüğü LC kromatogramı

**Tablo 4-6:** *H. neurocalycinum* türünün içerdiği psödohiperisin miktarı hesaplamaları

Konsantrasyon* (mg/ml)	Alan	x** (mg/ml)
30	9538	0,00030
	9125	0,00029
	8910	0,00028

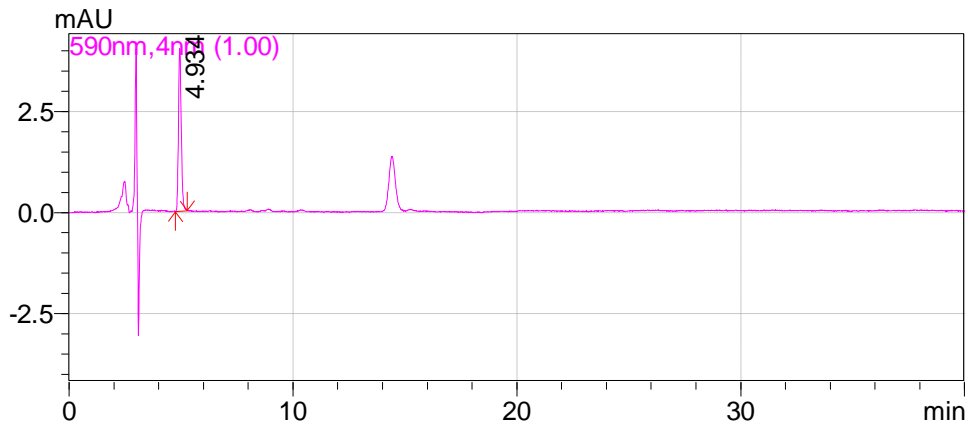
\* Enjektte edilen numunenin konsantrasyonu

\*\* 1 ml enjektte edilen numune içerisindeki psödohiperisin miktarının mg cinsinden değeri

Ekstre Verimi* (%)	e** (%)	e <sub>ort</sub>	SD***
16,5	0,00101	0,00096	0,00004
	0,00095		
	0,00093		

\* 100 gram bitkiden elde edilen ekstre miktarı, \*\* Ekstre içerisindeki psödohiperisin miktarının % değeri ( $e = (x / \text{Konsantrasyon}) * 100$ ), \*\*\*e'lerin standart sapması

h* (%)	h <sub>ort</sub>	SD **
0,00017	0,00016	0,00001
0,00016		
0,00015		

\* Bitki içerisindeki % psödohiperisin miktarı ( $h = \text{ekstre verimi} * e / 100$ ), \*\* h'ların standart sapması***Hypericum malatyanum* ekstresine ait kromatogram ve değerler:****Şekil 4-7:** *H. malatyanum*, psödohiperisin pikinin görüldüğü LC kromatogramı

**Tablo 4-7:** *H. malatyanum* türünün içerdiği psödohiperisin miktarı hesaplamaları

Konsantrasyon* (mg/ml)	Alan	x** (mg/ml)
3	35245	0,001297
	31569	0,001155
	31220	0,001142

\* Enjektte edilen numunenin konsantrasyonu

\*\* 1 ml enjektte edilen numune içerisindeki psödohiperisin miktarının mg cinsinden değeri

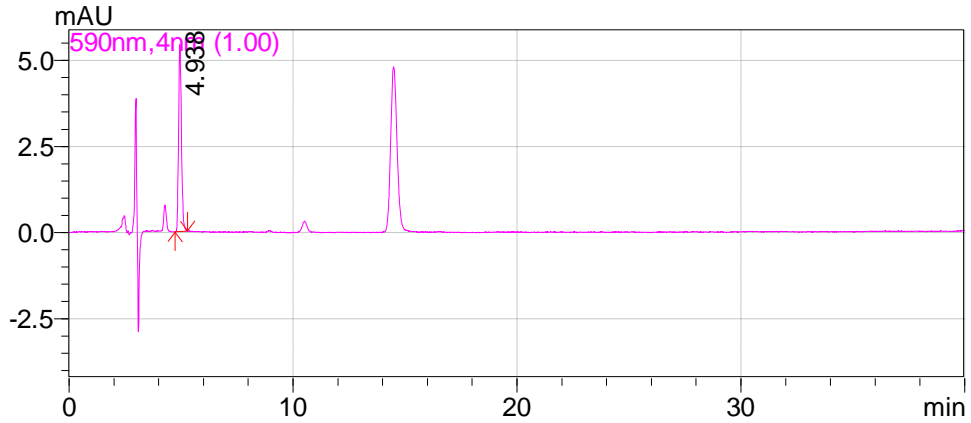
Ekstre Verimi* (%)	e** (%)	e <sub>ort</sub>	SD***
23,3	0,04323	0,03993	0,00286
	0,03850		
	0,03807		

\* 100 gram bitkiden elde edilen ekstre miktarı, \*\* Ekstre içerisindeki psödohiperisin miktarının % değeri ( $e = (x / \text{Konsantrasyon}) * 100$ ), \*\*\*e'lerin standart sapması

h* (%)	h <sub>ort</sub>	SD **
0,01007	0,00930	0,00067
0,00897		
0,00887		

\* Bitki içerisindeki % psödohiperisin miktarı ( $h = \text{ekstre verimi} * e / 100$ ), \*\* h'ların standart sapması

### *Hypericum perforatum* ekstresine ait kromatogram ve değerler:



**Şekil 4-8:** *H. perforatum*, psödohiperisin pikinin görüldüğü LC kromatogramı

**Tablo 4-8:** *H. perforatum* türünün içerdiği psödohiperisin miktarı hesaplamaları

<b>Konsantrasyon*</b> <b>(mg/ml)</b>	<b>Alan</b>	<b>x**</b> <b>(mg/ml)</b>
	47777	0,00178
0,5	34322	0,00126
	35021	0,00129

\* Enjektte edilen numunenin konsantrasyonu  
\*\* 1 ml enjektte edilen numune içerisindeki psödohiperisin miktarının mg cinsinden değeri

<b>Ekstre Verimi* (%)</b>	<b>e** (%)</b>	<b>e<sub>ort</sub></b>	<b>SD***</b>
	<b>0,35660</b>		
26,8	<b>0,25240</b>	0,28893	0,05866
	<b>0,25780</b>		

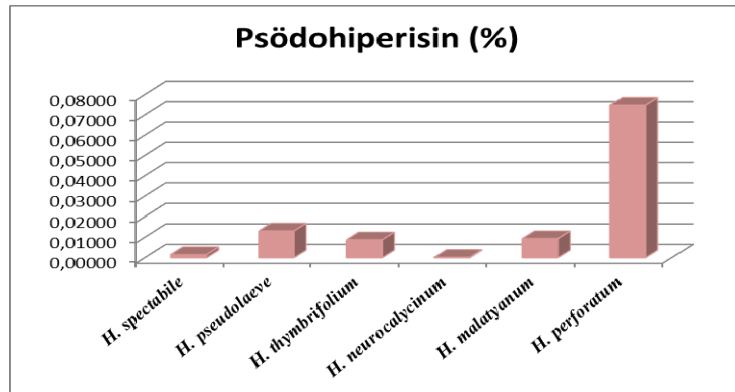
\* 100 gram bitkiden elde edilen ekstre miktarı, \*\* Ekstre içerisindeki psödohiperisin miktarının % değeri ( $e = (x / \text{Konsantrasyon}) * 100$ ), \*\*\*e'lerin standart sapması

<b>h* (%)</b>	<b>h<sub>ort</sub></b>	<b>SD **</b>
0,08753		
0,06764	<b>0,07475</b>	<b>0,01109</b>
0,06909		

\* Bitki içerisindeki % psödohiperisin miktarı ( $h = \text{ekstre verimi} * e / 100$ ), \*\* h'ların standart sapması

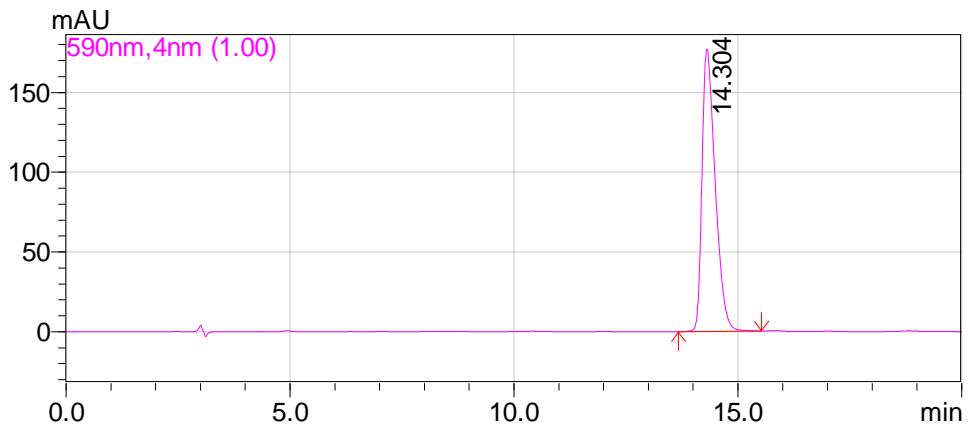
**Tablo 4-9:** Analizi yapılan örneklerin içerdiği psödohiperisin yüzdeleri

<b>% Psödohiperisin</b>	
<i>H. spectabile</i>	0,00148
<i>H. pseudolaeye</i>	0,01310
<i>H. thymbrifolium</i>	0,00875
<i>H. neurocalycinum</i>	0,00016
<i>H. malatyanum</i>	0,00930
<i>H. perforatum</i>	0,07475

**Şekil 4-9:** *Hypericum* türlerinin psödohiperisin içerikleri açısından karşılaştırılması

#### 4.1.2.2. YBSK ile Hiperisin Miktar Tayini Sonuçları

Bölüm 3.2.1.3.'de anlatıldığı gibi hazırlanan hiperisin standartı 5 farklı konsantrasyonda 3 örnek olarak kolona enjekte edildi. Kromatogramların değerlendirilmesinde otomatik olarak YBSK cihazının hesapladığı pik alanı değerleri kullanıldı. Kolona enjekte edilen standart hiperisinin retansiyon zamanı 14.304 dakika olarak belirlendi. Hiperisin standartına ait kromatogram (Şekil 4-10), konsantrasyon ve pik alanı değerleri (Tablo 4-10) aşağıda gösterilmiştir.



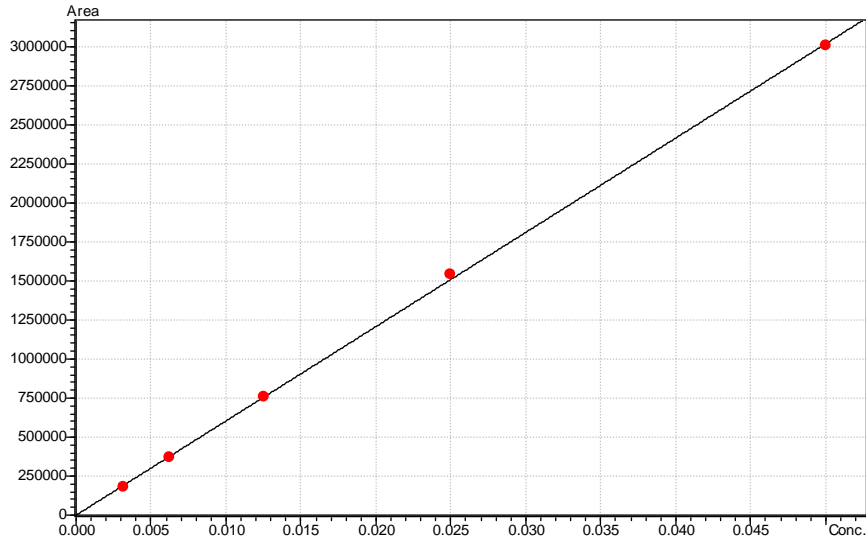
Şekil 4-10: Hiperisin standartına ait LC kromatogramı

Tablo 4-10: Hiperisin standartına ait konsantrasyon-pik alanı şeması

Konsantrasyon	Ortalama Alan	Standart Sapma	%RSD	Alan-1	Alan-2	Alan-3
0,050000	3003057	516210,9	17,18951	2711248	2698841	3599083
0,025000	1539417	345753,1	22,46000	1342502	1337103	1938646
0,012500	757630	127507,9	16,82983	684199	683828	904863
0,006250	368509	52026,22	14,11804	337600	339352	428575
0,003125	178418	21401,07	11,99492	166237	165887	203129

Bu değerler esas alınarak hiperisin standartına ait ölçü eğrisi hazırlanmış ve doğru denklemi belirlenmiştir (Şekil 4-11).





Şekil 4-11: Hiperisin standartına ait ölçü eğrisi

**Hesaplanan doğru denklemi:**

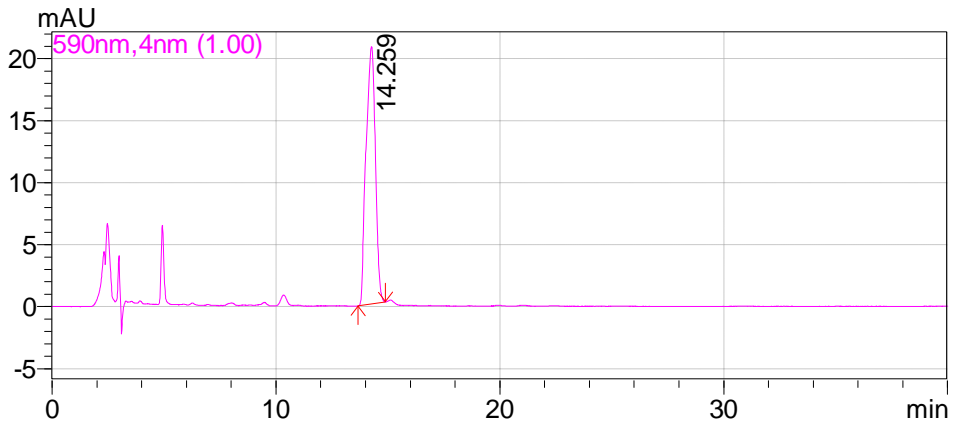
$$y = 6,034111e+007x + 297,2292$$

$$r^2 = 0,9999$$

$$r = 0,9999$$

Hiperisin standartı ile doğru denklemi belirlendikten sonra Bölüm 3.2.1.2.'de anlatıldığı gibi droglardan hazırlanan ekstreler kolona enjekte edildi. Ekstrelelere ait kromatogramlar aşağıda gösterilmiştir.

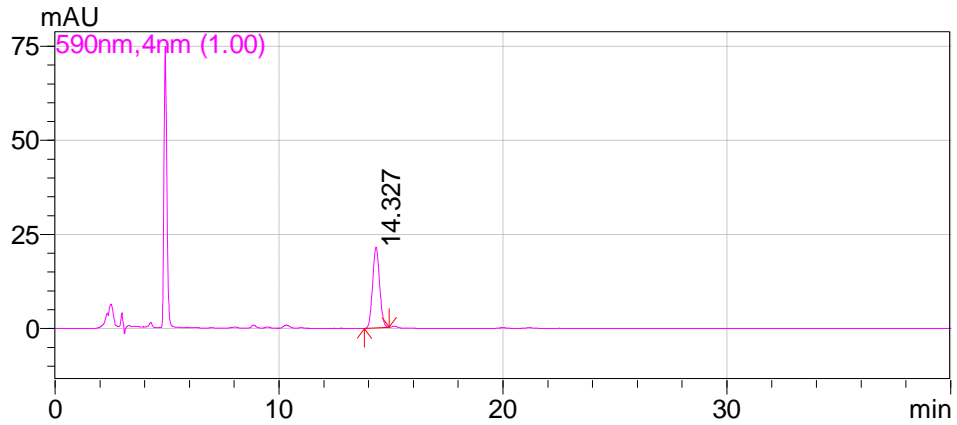
***Hypericum spectabile* ekstresine ait kromatogram ve değerler:**



Şekil 4-12: *H. spectabile*, hiperisin pikinin görüldüğü LC kromatogramı

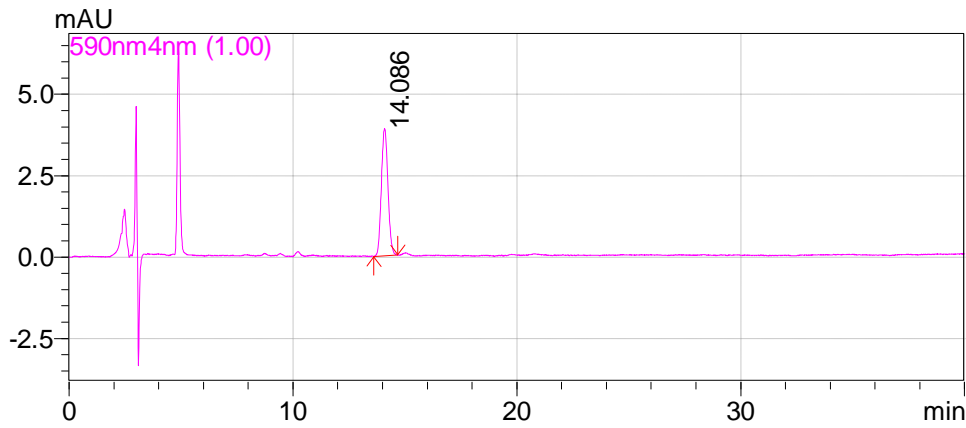
**Tablo 4-11:** *H. spectabile* türünün içerdiği hiperisin miktarı hesaplamaları

<b>Konsantrasyon*</b> <b>(mg/ml)</b>	<b>Alan</b>	<b>x**</b> <b>(mg/ml)</b>	
30	602746	0,00998	
	599420	0,00993	
	583791	0,00967	
* Enjektte edilen numunenin konsantrasyonu			
** 1 ml enjektte edilen numune içerisindeki hiperisin miktarının mg cinsinden değeri			
<b>Ekstre Verimi* (%)</b>	<b>e** (%)</b>	<b>e<sub>ort</sub></b>	<b>SD***</b>
21,3	<b>0,03328</b>	0,03287	0,00056
	<b>0,03310</b>		
	<b>0,03223</b>		
* 100 gram bitkiden elde edilen ekstre miktarı, ** Ekstre içerisindeki hiperisin miktarının % değeri ( $e = (x / \text{Konsantrasyon}) * 100$ ), ***e'lerin standart sapması			
<b>h* (%)</b>	<b>h<sub>ort</sub></b>	<b>SD **</b>	
0,00709	<b>0,00700</b>	<b>0,00012</b>	
0,00705			
0,00686			
* Bitki içerisindeki % hiperisin miktarı ( $h = \text{ekstre verimi} * e / 100$ ), ** h'ların standart sapması			

***Hypericum pseudolaeve* ekstresine ait kromatogram ve değerler:****Şekil 4-13:** *H. pseudolaeve*, hiperisin pikinin görüldüğü LC kromatogramı

**Tablo 4-12:** *H. pseudolaeve* türünün içerdiği hiperisin miktarı hesaplamaları

<b>Konsantrasyon*</b> <b>(mg/ml)</b>	<b>Alan</b>	<b>x**</b> <b>(mg/ml)</b>	
30	465684	0,00771	
	474548	0,00786	
	460528	0,00763	
* Enjektte edilen numunenin konsantrasyonu			
** 1 ml enjektte edilen numune içerisindeki hiperisin miktarının mg cinsinden değeri			
<b>Ekstre Verimi* (%)</b>	<b>e** (%)</b>	<b>e<sub>ort</sub></b>	<b>SD***</b>
14,9	<b>0,02571</b>	0,02578	0,00039
	<b>0,02620</b>		
	<b>0,02542</b>		
* 100 gram bitkiden elde edilen ekstre miktarı, ** Ekstre içerisindeki hiperisin miktarının % değeri ( $e = (x / \text{Konsantrasyon}) * 100$ ), ***e'lerin standart sapması			
<b>h* (%)</b>	<b>h<sub>ort</sub></b>	<b>SD **</b>	
0,00383	<b>0,00384</b>	<b>0,00006</b>	
0,00390			
0,00379			
* Bitki içerisindeki % hiperisin miktarı ( $h = \text{ekstre verimi} * e / 100$ ), ** h'ların standart sapması			

***Hypericum thymbrifolium* ekstreğine ait kromatogram ve değerler:****Şekil 4-14:** *H. thymbrifolium*, hiperisin pikinin görüldüğü LC kromatogramı

**Tablo 4-13:** *H. thymbrifolium* türünün içerdiği hiperisin miktarı hesaplamaları

<b>Konsantrasyon*</b> <b>(mg/ml)</b>	<b>Alan</b>	<b>x**</b> <b>(mg/ml)</b>
30	476109	0,00789
	446351	0,00739
	457490	0,00758

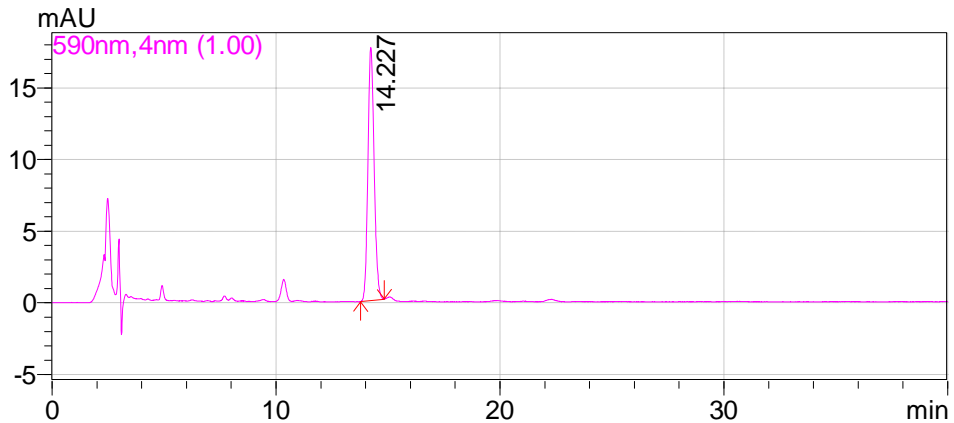
\* Enjektte edilen numunenin konsantrasyonu  
\*\* 1 ml enjektte edilen numune içerisindeki hiperisin miktarının mg cinsinden değeri

<b>Ekstre Verimi* (%)</b>	<b>e** (%)</b>	<b>e<sub>ort</sub></b>	<b>SD***</b>
17,3	<b>0,02628</b>	0,02539	0,00083
	<b>0,02464</b>		
	<b>0,02526</b>		

\* 100 gram bitkiden elde edilen ekstre miktarı, \*\* Ekstre içerisindeki hiperisin miktarının % değeri ( $e = (x / \text{Konsantrasyon}) * 100$ ), \*\*\*e'lerin standart sapması

<b>h* (%)</b>	<b>h<sub>ort</sub></b>	<b>SD **</b>
0,00455	<b>0,00439</b>	<b>0,00014</b>
0,00426		
0,00437		

\* Bitki içerisindeki % hiperisin miktarı ( $h = \text{ekstre verimi} * e / 100$ ), \*\* h'ların standart sapması

***Hypericum neurocalycinum* ekstresine ait kromatogram ve değerler:****Şekil 4-15:** *H. neurocalycinum*, hiperisin pikinin görüldüğü LC kromatogramı

**Tablo 4-14:** *H. neurocalycinum* türünün içerdiği hiperisin miktarı hesaplamaları

Konsantrasyon* (mg/ml)	Alan	x** (mg/ml)
30	353509	0,00585
	363418	0,00602
	343904	0,00569

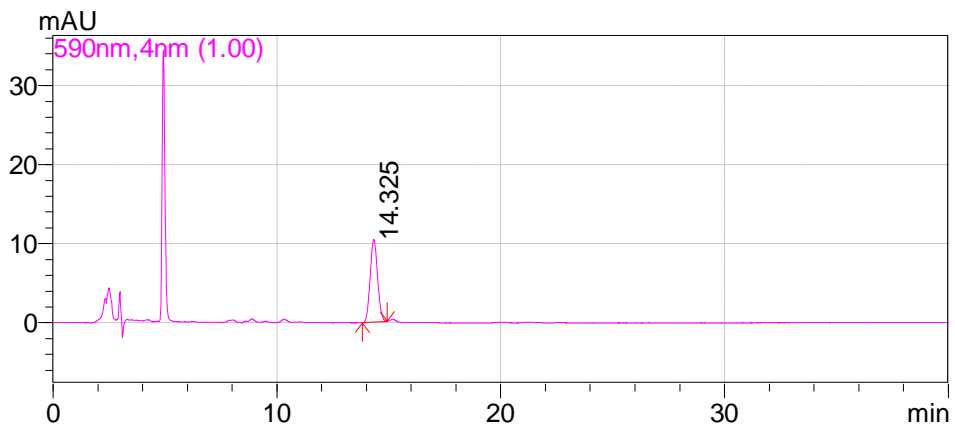
\* Enjektte edilen numunenin konsantrasyonu

\*\* 1 ml enjektte edilen numune içerisindeki hiperisin miktarının mg cinsinden değeri

Ekstre Verimi* (%)	e** (%)	e <sub>ort</sub>	SD***
16,5	0,01951	0,01952	0,00054
	0,02006		
	0,01898		

\* 100 gram bitkiden elde edilen ekstre miktarı, \*\* Ekstre içerisindeki hiperisin miktarının % değeri ( $e = (x / \text{Konsantrasyon}) * 100$ ), \*\*\*e'lerin standart sapması

h* (%)	h <sub>ort</sub>	SD **
0,00322	0,00322	0,00009
0,00331		
0,00313		

\* Bitki içerisindeki % hiperisin miktarı ( $h = \text{ekstre verimi} * e / 100$ ), \*\* h'ların standart sapması***Hypericum malatyanum* ekstresine ait kromatogram ve değerler:****Şekil 4-16:** *H. malatyanum*, hiperisin pikinin görüldüğü LC kromatogramı

**Tablo 4-15:** *H. malatyanum* türünün içerdiği hiperisin miktarı hesaplamaları

<b>Konsantrasyon*</b> <b>(mg/ml)</b>	<b>Alan</b>	<b>x**</b> <b>(mg/ml)</b>
30	238957	0,00396
	234695	0,00389
	234697	0,00389

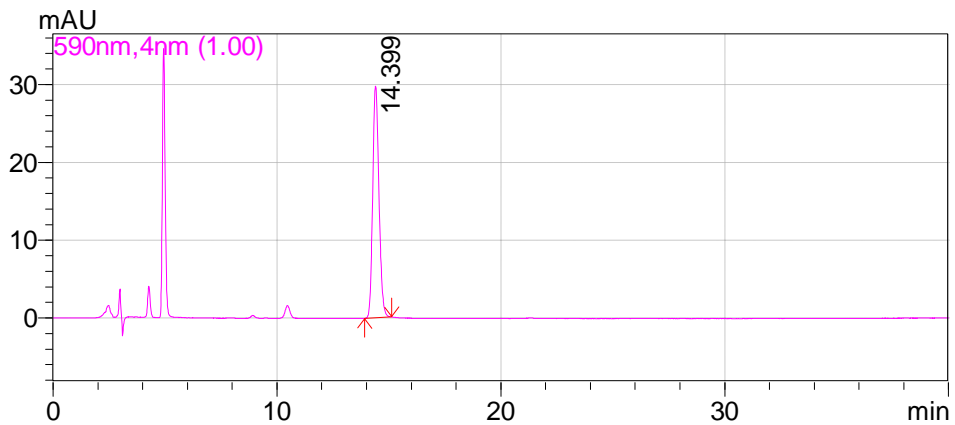
\* Enjekte edilen numunenin konsantrasyonu  
\*\* 1 ml enjekte edilen numune içerisindeki hiperisin miktarının mg cinsinden değeri

<b>Ekstre Verimi* (%)</b>	<b>e** (%)</b>	<b>e<sub>ort</sub></b>	<b>SD***</b>
23,3	<b>0,01318</b>	0,01303	0,00013
	<b>0,01295</b>		
	<b>0,01295</b>		

\* 100 gram bitkiden elde edilen ekstre miktarı, \*\* Ekstre içerisindeki hiperisin miktarının % değeri ( $e = (x / \text{Konsantrasyon}) * 100$ ), \*\*\*e'lerin standart sapması

<b>h* (%)</b>	<b>h<sub>ort</sub></b>	<b>SD **</b>
0,00307	<b>0,00304</b>	<b>0,00003</b>
0,00302		
0,00302		

\* Bitki içerisindeki % hiperisin miktarı ( $h = \text{ekstre verimi} * e / 100$ ), \*\* h'ların standart sapması

***Hypericum perforatum* ekstresine ait kromatogram ve değerler****Şekil 4-17:** *H. perforatum*, hiperisin pikinin görüldüğü LC kromatogramı

**Tablo 4-16:** *H. perforatum* türünün içerdiği hiperisin miktarı hesaplamaları

Konsantrasyon* (mg/ml)	Alan	x** (mg/ml)
4	576418	0,00955
	590180	0,00978
	652155	0,01080

\* Enjektte edilen numunenin konsantrasyonu  
\*\* 1 ml enjektte edilen numune içerisindeki hiperisin miktarının mg cinsinden değeri

Ekstre Verimi* (%)	e** (%)	e <sub>ort</sub>	SD***
26,8	0,23870		
	0,24440	0,25107	0,01673
	0,27010		

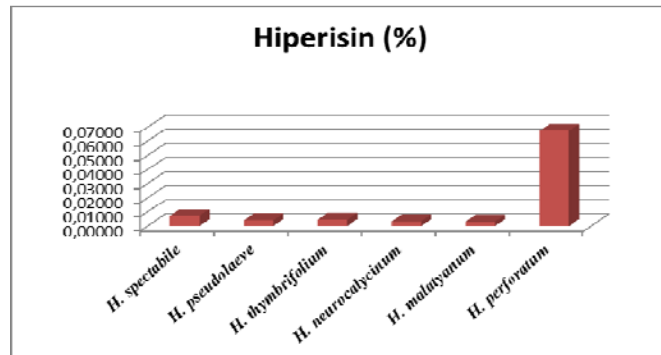
\* 100 gram bitkiden elde edilen ekstre miktarı, \*\* Ekstre içerisindeki hiperisin miktarının % değeri ( $e = (x / \text{Konsantrasyon}) * 100$ ), \*\*\*e'lerin standart sapması

h* (%)	h <sub>ort</sub>	SD **
0,06397		
0,06550	0,06729	0,00448
0,07239		

\* Bitki içerisindeki % hiperisin miktarı ( $h = \text{ekstre verimi} * e / 100$ ), \*\* h'ların standart sapması

**Tablo 4-17:** Analizi yapılan örneklerin hiperisin yüzdeleri

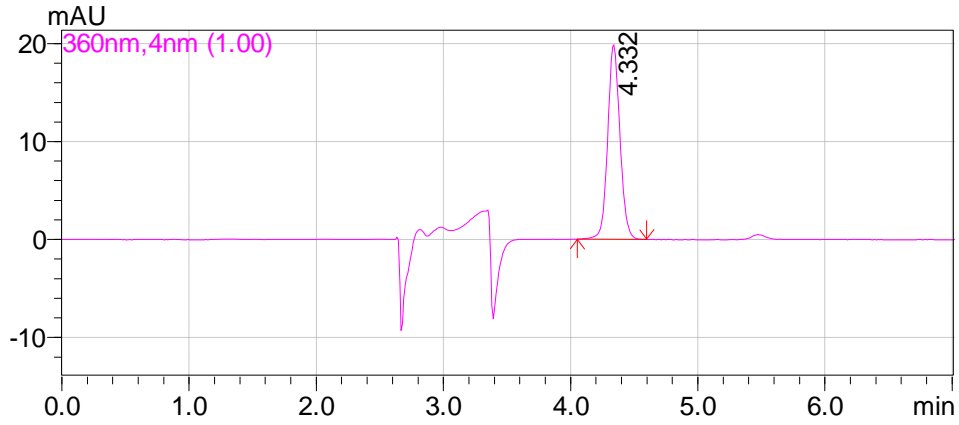
	% Hiperisin
<i>H. spectabile</i>	0,00700
<i>H. pseudolaeye</i>	0,00384
<i>H. thymbrifolium</i>	0,00439
<i>H. neurocalycinum</i>	0,00322
<i>H. malatyanum</i>	0,00304
<i>H. perforatum</i>	0,06729

**Şekil 4-18:** *Hypericum* türlerinin hiperisin içerikleri açısından karşılaştırılması

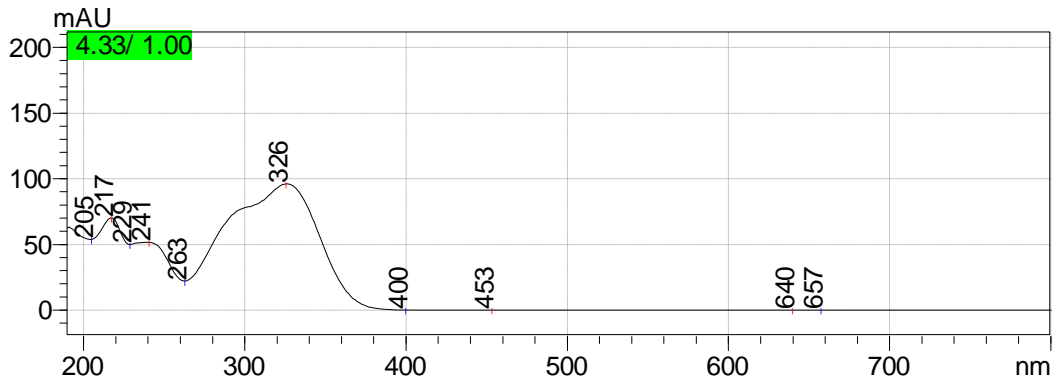
### 4.1.3. YBSK ile Fenolik Bileşiklerin Miktar Tayini Sonuçları

#### 4.1.3.1. YBSK ile Klorojenik asit Miktar Tayini Sonuçları

Bölüm 3.2.1.3.'de anlatıldığı gibi hazırlanan klorojenik asit standardı 5 farklı konsantrasyonda 3 örnek olarak kolona enjekte edildi. Kromatogramların değerlendirilmesinde otomatik olarak YBSK cihazının hesapladığı pik alanı değerleri kullanıldı. Kolona enjekte edilen standart klorojenik asit retansiyon zamanı 4.332 dakika olarak belirlendi. Klorojenik asit standartına ait kromatogramlar (Şekil 4-19 ve Şekil 4-20), konsantrasyon ve pik alanı değerleri (Tablo 4-18) aşağıda gösterilmiştir.



Şekil 4-19: Klorojenik asit standartına ait LC kromatogramı



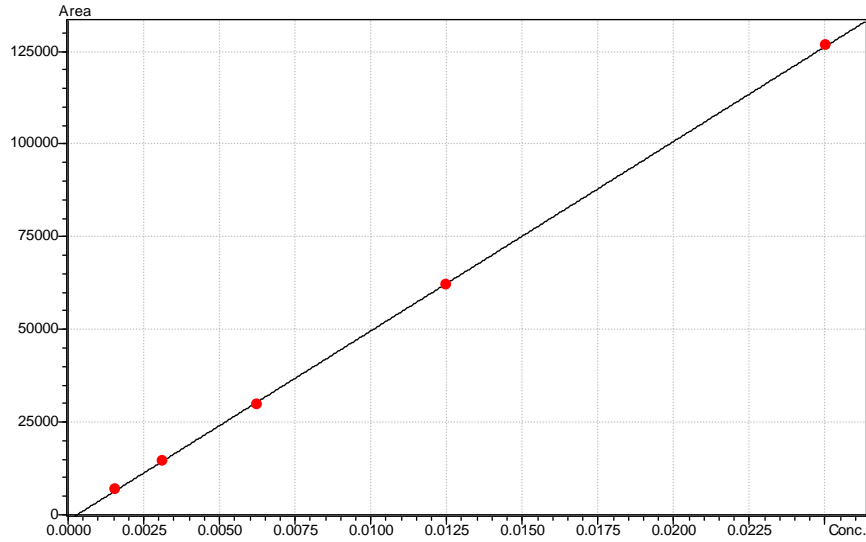
Şekil 4-20: Klorojenik asit standartına ait UV kromatogramı



**Tablo 4-18:** Klorojenik asit standartına ait konsantrasyon-pik alanı şeması

Konsantrasyon	Ortalama Alan	Standart Sapma	%RSD	Alan-1	Alan-2	Alan-3
0,0250000	126518	42634,02	33,69807	132967	165560	81026
0,0125000	62098	19373,53	31,19827	65773	79371	41150
0,0062500	29801	9235,480	30,99041	31839	37848	19717
0,0031250	14693	4970,481	33,82867	15649	19116	9314
0,0015625	6968	2446,156	35,10603	7749	8928	4227

Bu değerler esas alınarak klorojenik asit standartına ait ölçü eğrisi hazırlanmış ve doğru denklemi belirlenmiştir (Şekil 4-21).

**Şekil 4-21:** Klorojenik asit standartına ait ölçü eğrisi**Hesaplanan doğru denklemi:**

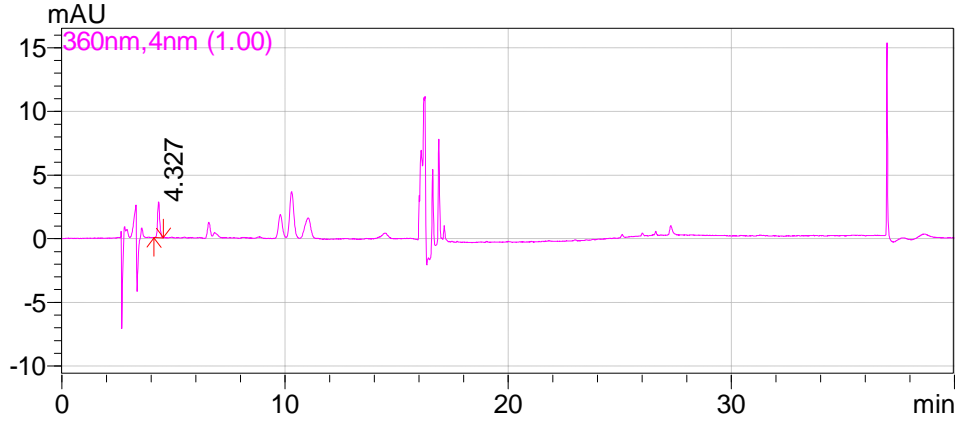
$$y = 5110294x + 1490,398$$

$$r^2 = 0,9999$$

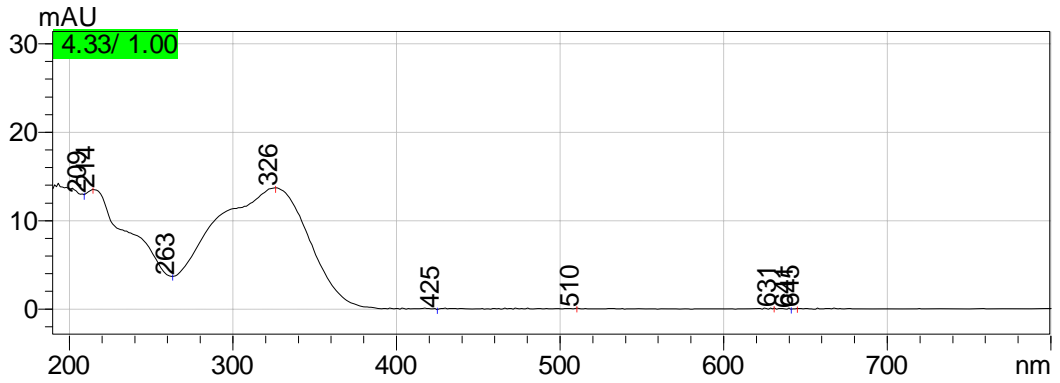
$$r = 0,9999$$

Klorojenik asit standartı ile doğru denklemi belirlendikten sonra Bölüm 3.2.1.2.'de anlatıldığı gibi droglardan hazırlanan ekstreler kolona enjekte edildi. Ekstrelelere ait kromatogramlar aşağıda gösterilmiştir.

***Hypericum spectabile* ekstresine ait kromatogramlar ve değerler:**



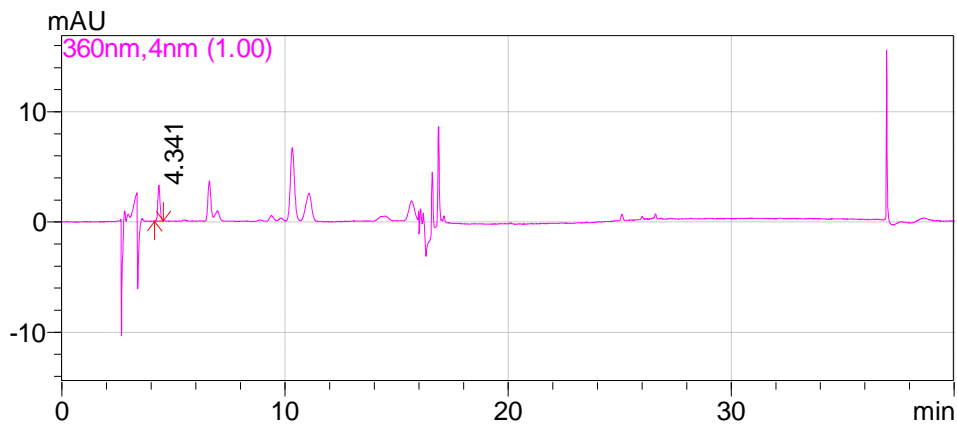
**Şekil 4-22:** *H. spectabile*, klorojenik asit pikinin görüldüğü LC kromatogramı

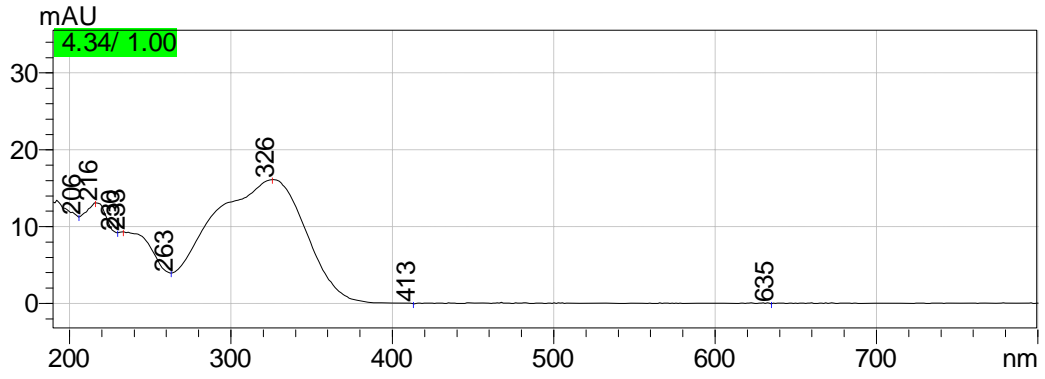


**Şekil 4-23:** *H. spectabile*, klorojenik asit pikine ait UV kromatogramı

**Tablo 4-19:** *H. spectabile* türünün içerdiği klorojenik asit miktarı hesaplamaları

<b>Konsantrasyon*</b> <b>(mg/ml)</b>	<b>Alan</b>	<b>x**</b> <b>(mg/ml)</b>	
0,4	18734	0,00385	
	22553	0,00461	
	23612	0,00482	
* Enjektte edilen numunenin konsantrasyonu			
** 1 ml enjektte edilen numune içerisindeki klorojenik asit miktarının mg cinsinden değeri			
<b>Ekstre Verimi* (%)</b>	<b>e** (%)</b>	<b>e<sub>ort</sub></b>	<b>SD***</b>
21,3	<b>0,96350</b>	1,10642	0,12650
	<b>1,15175</b>		
	<b>1,20400</b>		
* 100 gram bitkiden elde edilen ekstre miktarı, ** Ekstre içerisindeki klorojenik asit miktarının % değeri ( $e = (x / \text{Konsantrasyon}) * 100$ ), ***e'lerin standart sapması			
<b>h* (%)</b>	<b>h<sub>ort</sub></b>	<b>SD **</b>	
0,20523	<b>0,23567</b>	<b>0,02694</b>	
0,24532			
0,25645			
* Bitki içerisindeki % klorojenik asit miktarı ( $h = \text{ekstre verimi} * e / 100$ ), ** h'ların standart sapması			

***Hypericum pseudolaeye* ekstresine ait kromatogramlar ve değerler:****Şekil 4-24:** *H. pseudolaeye*, klorojenik asit pikinin görüldüğü LC kromatogramı



Şekil 4-25: *H. pseudolaeve*, klorojenik asit pikine ait UV kromatogramı

Tablo 4-20: *H. pseudolaeve* türünün içerdiği klorojenik asit miktarı hesaplamaları

Konsantrasyon* (mg/ml)	Alan	x** (mg/ml)
	22365	0,00457
0,25	21646	0,00443
	35836	0,00723

\* Enjektte edilen numunenin konsantrasyonu

\*\* 1 ml enjektte edilen numune içerisindeki klorojenik asit miktarının mg cinsinden değeri

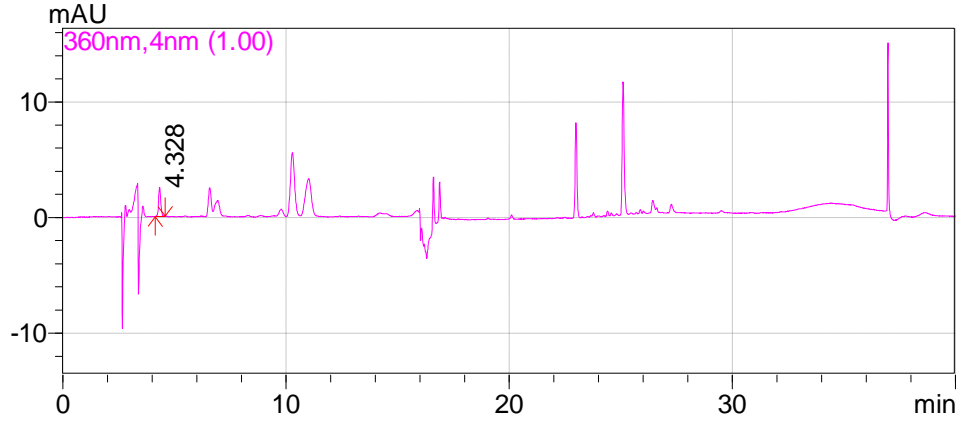
Ekstre Verimi* (%)	e** (%)	e <sub>ort</sub>	SD***
	<b>1,82800</b>		
14,9	<b>1,77120</b>	2,16320	0,63041
	<b>2,89040</b>		

\* 100 gram bitkiden elde edilen ekstre miktarı, \*\* Ekstre içerisindeki klorojenik asit miktarının % değeri ( $e = (x / \text{Konsantrasyon}) * 100$ ), \*\*\*e'lerin standart sapması

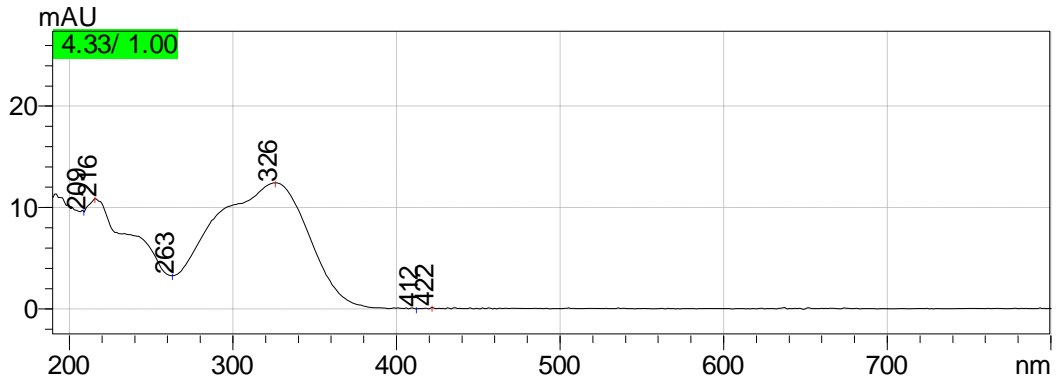
h* (%)	h <sub>ort</sub>	SD **
0,27237		
0,26391	<b>0,32232</b>	<b>0,09393</b>
0,43067		

\* Bitki içerisindeki % klorojenik asit miktarı ( $h = \text{ekstre verimi} * e / 100$ ), \*\* h'ların standart sapması

***Hypericum thymbrifolium* ekstresine ait kromatogramlar ve değerler:**



**Şekil 4-26:** *H. thymbrifolium*, klorojenik asit pikinin görüldüğü LC kromatogramı



**Şekil 4-27:** *H. thymbrifolium*, klorojenik asit pikine ait UV kromatogramı

**Tablo 4-21:** *H. thymbrifolium* türünün içerdiği klorojenik asit miktarı hesaplamaları

Konsantrasyon* (mg/ml)	Alan	x** (mg/ml)
	17289	0,00357
0,25	25808	0,00525
	19494	0,00400

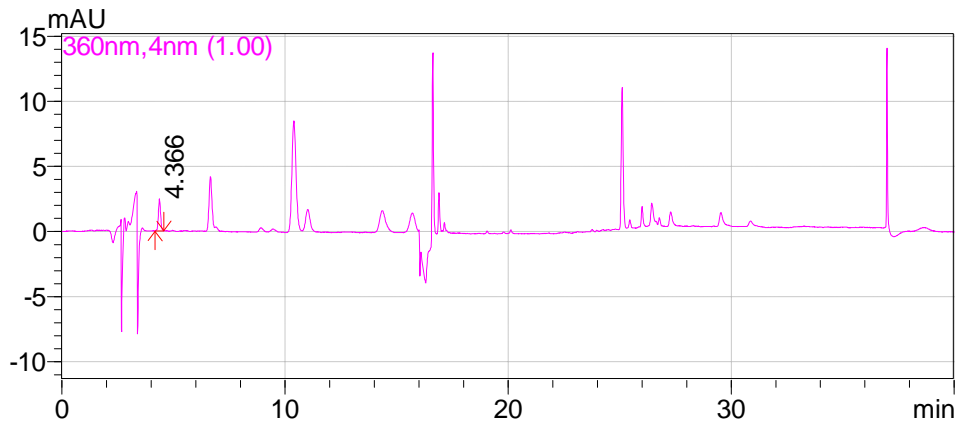
\* Enjektte edilen numunenin konsantrasyonu

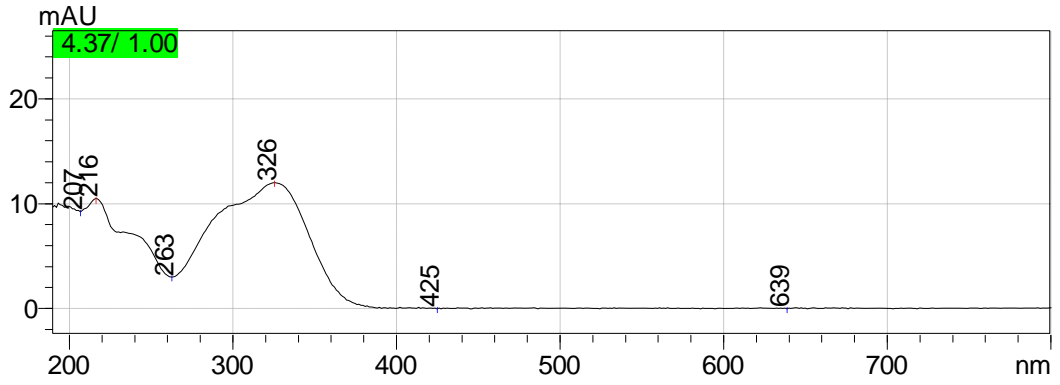
\*\* 1 ml enjektte edilen numune içerisindeki klorojenik asit miktarının mg cinsinden değeri

Ekstre Verimi* (%)	e** (%)	e <sub>ort</sub>	SD***
	1,42760		
17,3	2,09960	1,70960	0,34877
	1,60160		

\* 100 gram bitkiden elde edilen ekstre miktarı, \*\* Ekstre içerisindeki klorojenik asit miktarının % değeri ( $e = (x / \text{Konsantrasyon}) * 100$ ), \*\*\*e'lerin standart sapması

h* (%)	h <sub>ort</sub>	SD **
0,24697		
0,36323	0,29576	0,06034
0,27708		

\* Bitki içerisindeki % klorojenik asit miktarı ( $h = \text{ekstre verimi} * e / 100$ ), \*\* h'ların standart sapması***Hypericum neurocalycinum* ekstresine ait kromatogramlar ve değerler:****Şekil 4-28:** *H. neurocalycinum*, klorojenik asit pikinin görüldüğü LC kromatogramı



Şekil 4-29: *H. neurocalycinum*, klorojenik asit pikine ait UV kromatogramı

Tablo 4-22: *H. neurocalycinum* türünün içerdiği klorojenik asit miktarı hesaplamaları

Konsantrasyon* (mg/ml)	Alan	x** (mg/ml)
	16846	0,00348
0,25	20953	0,00429
	19773	0,00406

\* Enjektte edilen numunenin konsantrasyonu

\*\* 1 ml enjektte edilen numune içerisindeki klorojenik asit miktarının mg cinsinden değeri

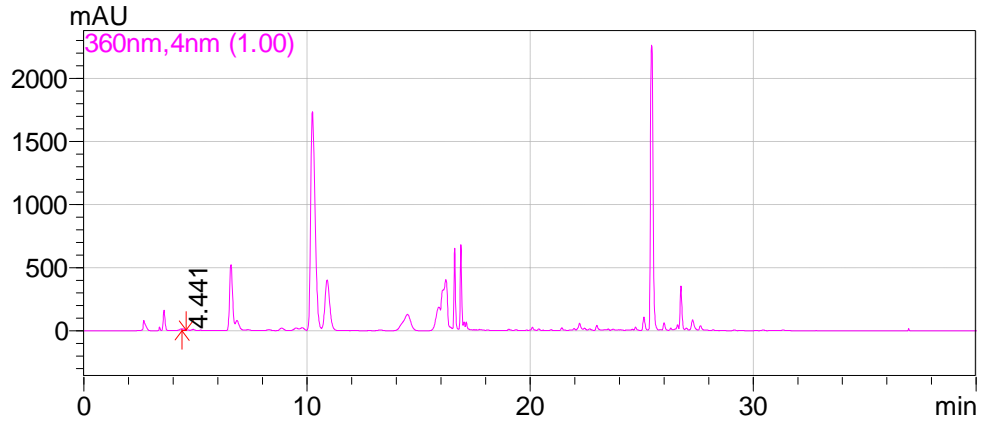
Ekstre Verimi* (%)	e** (%)	e <sub>ort</sub>	SD***
	<b>1,39280</b>		
16,5	<b>1,71680</b>	1,57773	0,16680
	<b>1,62360</b>		

\* 100 gram bitkiden elde edilen ekstre miktarı, \*\* Ekstre içerisindeki klorojenik asit miktarının % değeri ( $e = (x / \text{Konsantrasyon}) * 100$ ), \*\*\*e'lerin standart sapması

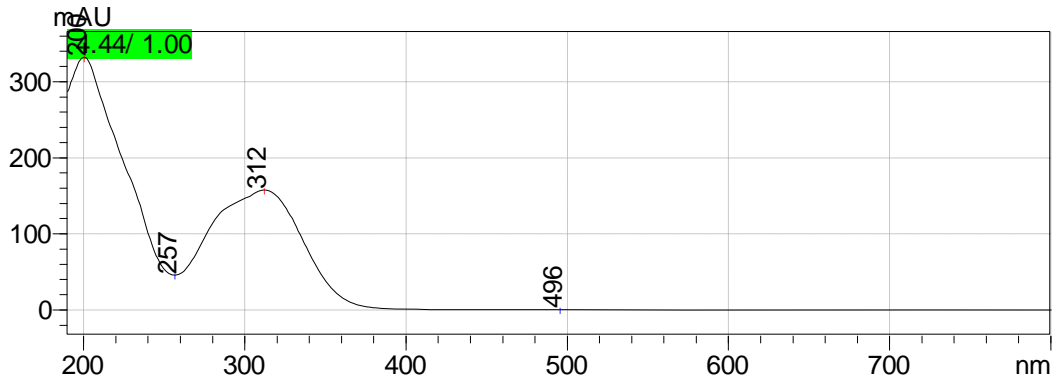
h* (%)	h <sub>ort</sub>	SD **
0,22981		
0,28327	<b>0,26033</b>	<b>0,02752</b>
0,26789		

\* Bitki içerisindeki % klorojenik asit miktarı ( $h = \text{ekstre verimi} * e / 100$ ), \*\* h'ların standart sapması

***Hypericum malatyanum* ekstresine ait kromatogramlar ve değerler:**



**Şekil 4-30:** *H. malatyanum*, klorojenik asit pikinin görüldüğü LC kromatogramı



**Şekil 4-31:** *H. malatyanum*, klorojenik asit pikine ait UV kromatogramı



**Tablo 4-23:** *H. malatyanum* türünün içerdiği klorojenik asit miktarı hesaplamaları

<b>Konsantrasyon*</b> <b>(mg/ml)</b>	<b>Alan</b>	<b>x**</b> <b>(mg/ml)</b>
30	74271	0,01480
	64979	0,01297
	68267	0,01362

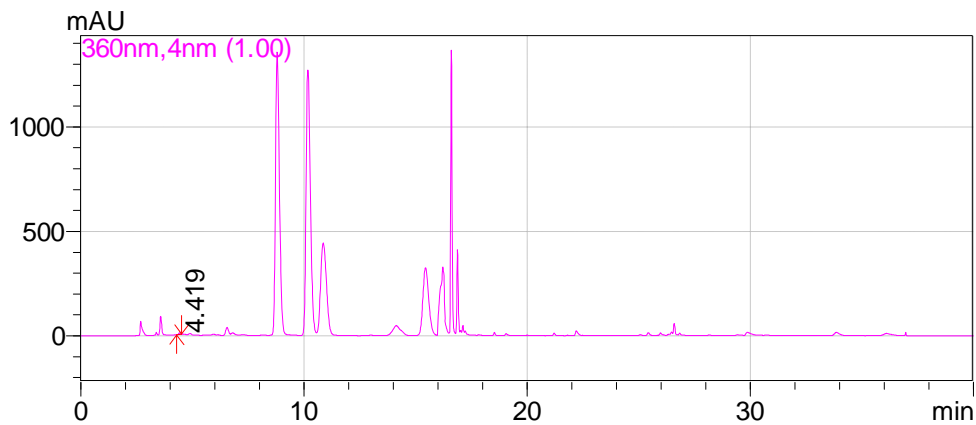
\* Enjektte edilen numunenin konsantrasyonu  
\*\* 1 ml enjektte edilen numune içerisindeki klorojenik asit miktarının mg cinsinden değeri

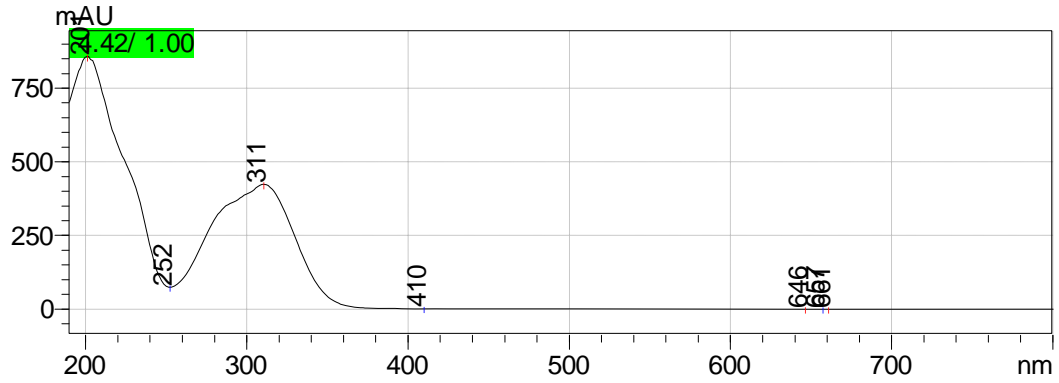
<b>Ekstre Verimi* (%)</b>	<b>e** (%)</b>	<b>e<sub>ort</sub></b>	<b>SD***</b>
23,3	<b>0,04934</b>	0,04599	0,00309
	<b>0,04324</b>		
	<b>0,04540</b>		

\* 100 gram bitkiden elde edilen ekstre miktarı, \*\* Ekstre içerisindeki klorojenik asit miktarının % değeri ( $e = (x / \text{Konsantrasyon}) * 100$ ), \*\*\*e'lerin standart sapması

<b>h* (%)</b>	<b>h<sub>ort</sub></b>	<b>SD **</b>
0,01150	<b>0,01072</b>	<b>0,00072</b>
0,01007		
0,01058		

\* Bitki içerisindeki % klorojenik asit miktarı ( $h = \text{ekstre verimi} * e / 100$ ), \*\* h'ların standart sapması

***Hypericum perforatum* ekstresine ait kromatogramlar ve değerler:****Şekil 4-32:** *H. perforatum*, klorojenik asit pikinin görüldüğü LC kromatogramı



Şekil 4-33: *H. perforatum*, klorojenik asit pikine ait UV kromatogramı

Tablo 4-24: *H. perforatum* türünün içerdiği klorojenik asit miktarı hesaplamaları

Konsantrasyon* (mg/ml)	Alan	x** (mg/ml)
	42129	0,00847
30	47814	0,00959
	44206	0,00888

\* Enjekte edilen numunenin konsantrasyonu

\*\* 1 ml enjekte edilen numune içerisindeki klorojenik asit miktarının mg cinsinden değeri

Ekstre Verimi* (%)	e** (%)	e <sub>ort</sub>	SD***
	0,02822		
26,8	0,03196	0,02992	0,00189
	0,02959		

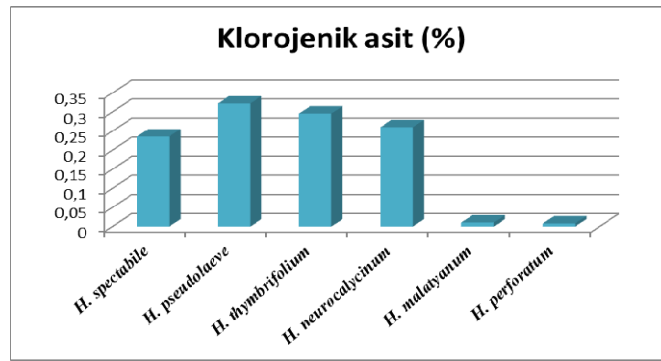
\* 100 gram bitkiden elde edilen ekstre miktarı, \*\* Ekstre içerisindeki klorojenik asit miktarının % değeri ( $e = (x / \text{Konsantrasyon}) * 100$ ), \*\*\*e'lerin standart sapması

h* (%)	h <sub>ort</sub>	SD **
0,00756		
0,00856	0,00802	0,00051
0,00793		

\* Bitki içerisindeki % klorojenik asit miktarı ( $h = \text{ekstre verimi} * e / 100$ ), \*\* h'ların standart sapması

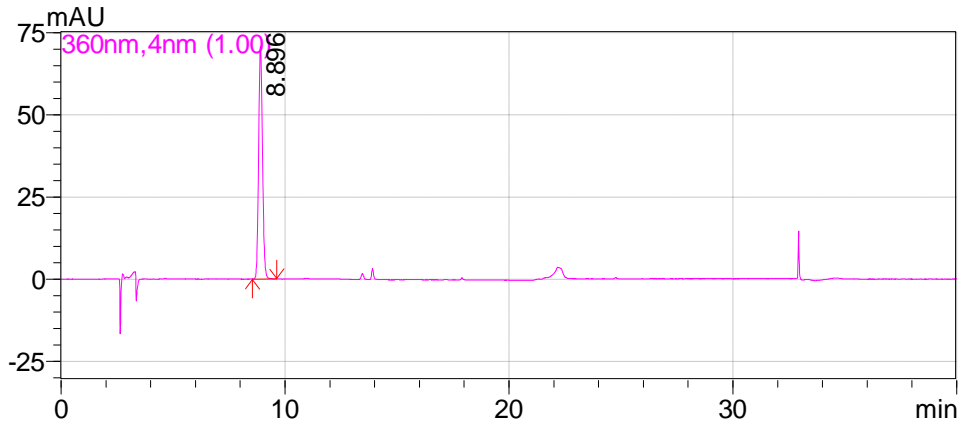
**Tablo 4-25:** Analizi yapılan örneklerin klorojenik asit yüzdeleri

% Klorojenik asit	
<i>H. spectabile</i>	0,23567
<i>H. pseudolaeve</i>	0,32232
<i>H. thymbrifolium</i>	0,29576
<i>H. neurocalycinum</i>	0,26033
<i>H. malatyanum</i>	0,01072
<i>H. perforatum</i>	0,00802

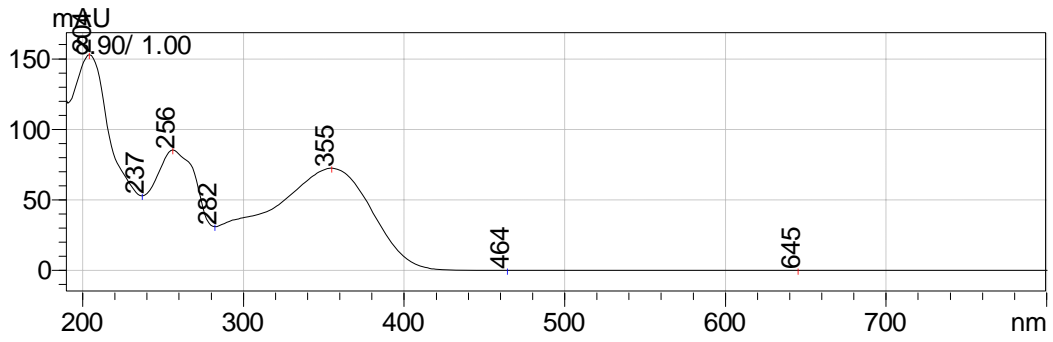
**Şekil 4-34:** *Hypericum* türlerinin klorojenik asit içerikleri açısından karşılaştırılması

#### 4.1.3.2. YBSK ile Rutin Miktar Tayini Sonuçları

Bölüm 3.2.1.3.'de anlatıldığı gibi hazırlanan rutin standardı 5 farklı konsantrasyonda 3 örnek olarak kolona enjekte edildi. Kromatogramların değerlendirilmesinde otomatik olarak YBSK cihazının hesapladığı pik alanı değerleri kullanıldı. Kolona enjekte edilen standart rutin retansiyon zamanı 8,896 dakika olarak belirlendi. Rutin standartına ait kromatogramlar (Şekil 4-35 ve Şekil 4-36), konsantrasyon ve pik alanı değerleri (Tablo 4-27) aşağıda gösterilmiştir.



Şekil 4-35: Rutin standartına ait LC kromatogramı

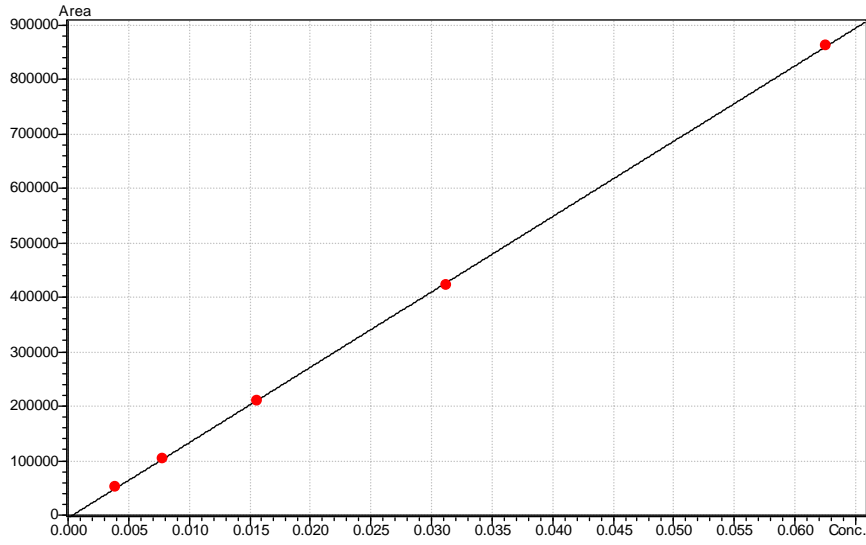


Şekil 4-36: Rutin standartına ait UV kromatogramı

Tablo 4-26: Rutin standartına ait konsantrasyon-pik alanı şeması

Konsantrasyon	Ortalama Alan	Standart Sapma	%RSD	Alan-1	Alan-2	Alan-3
0,062500	861340	14556,26	1,689956	853499	878136	852385
0,031250	423408	10068,80	2,378035	434575	420628	415022
0,015625	209760	5767,424	2,749541	206040	216403	206835
0,007800	103431	4798,367	4,639177	105469	106875	97951
0,003900	51033	1654,290	3,241601	52654	51098	49347

Bu değerler esas alınarak rutin standartına ait ölçü eğrisi hazırlanmış ve doğru denklemi belirlenmiştir (Şekil 4-37).



Şekil 4-37: Rutin standartına ait ölçü eğrisi

**Hesaplanan doğru denklemi:**

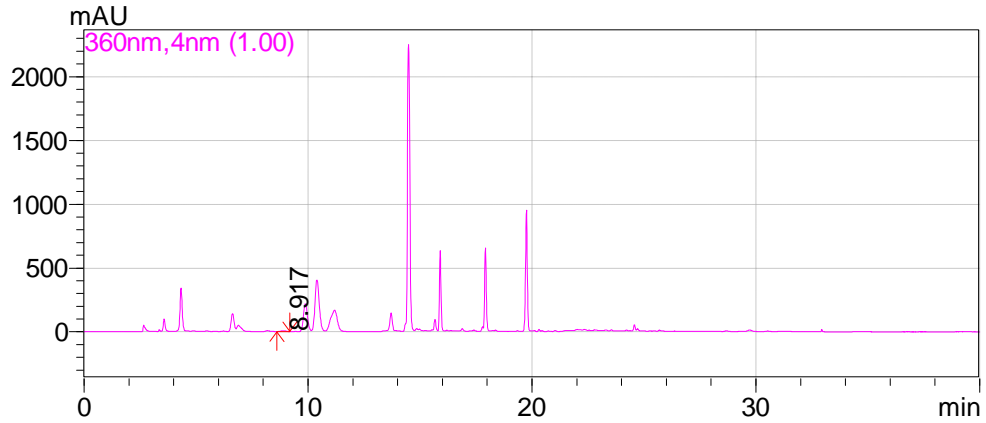
$$y = 1,383368e+007x + 5188,182$$

$$r^2 = 0,9999$$

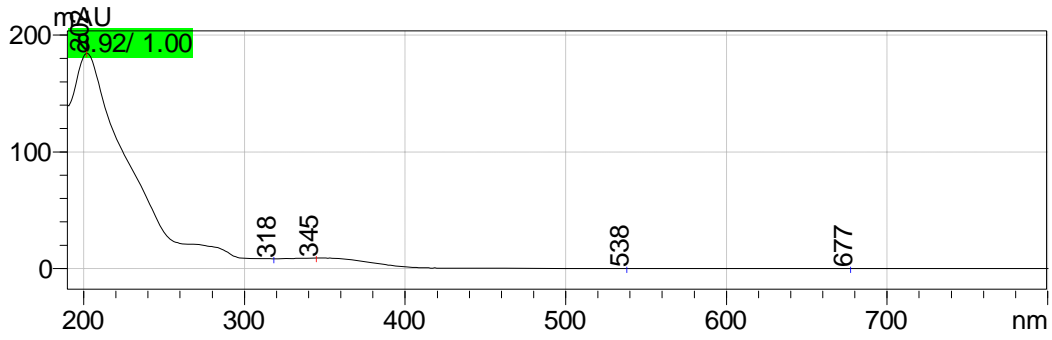
$$r = 0,9999$$

Rutin standartı ile doğru denklemi belirlendikten sonra Bölüm 3.2.1.2.'de anlatıldığı gibi droglardan hazırlanan ekstreler kolona enjekte edildi. Ekstrelelere ait kromatogramlar aşağıda gösterilmiştir.

***Hypericum spectabile* ekstresine ait kromatogramlar ve değerler:**



Şekil 4-38: *H. spectabile*, rutin pikinin görüldüğü LC kromatogramı



Şekil 4-39: *H. spectabile*, rutin pikine ait UV kromatogramı

Tablo 4-27: *H. spectabile* türünün içerdiği rutin miktarı hesaplamaları

Konsantrasyon* (mg/ml)	Alan	x** (mg/ml)
	97769	0,00744
20	108280	0,00820
	101434	0,00771

\* Enjekte edilen numunenin konsantrasyonu

\*\* 1 ml enjekte edilen numune içerisindeki rutin miktarının mg cinsinden değeri

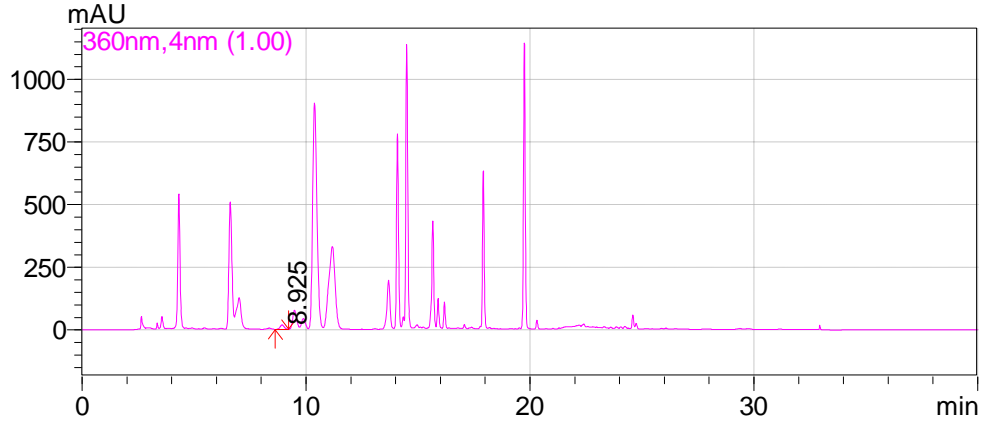
Ekstre Verimi* (%)	e** (%)	e <sub>ort</sub>	SD***
	<b>0,03722</b>		
21,3	<b>0,04101</b>	0,03892	0,00193
	<b>0,03854</b>		

\* 100 gram bitkiden elde edilen ekstre miktarı, \*\* Ekstre içerisindeki rutin miktarının % değeri ( $e = (x / \text{Konsantrasyon}) * 100$ ), \*\*\*e'lerin standart sapması

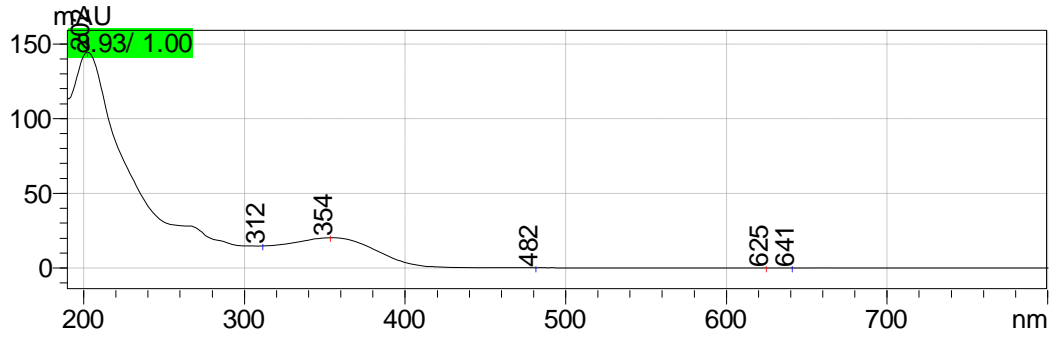
h* (%)	h <sub>ort</sub>	SD **
0,00793		
0,00874	<b>0,00829</b>	<b>0,00041</b>
0,00821		

\* Bitki içerisindeki % rutin miktarı ( $h = \text{ekstre verimi} * e / 100$ ), \*\* h'ların standart sapması

***Hypericum pseudolaeve* ekstresine ait kromatogramlar ve değerler:**



**Şekil 4-40:** *H. pseudolaeve*, rutin pikinin görüldüğü LC kromatogramı



**Şekil 4-41:** *H. pseudolaeve*, rutin pikine ait UV kromatogramı

**Tablo 4-28:** *H.pseudolaeve* türünün içerdiği rutin miktarı hesaplamaları

<b>Konsantrasyon*</b> <b>(mg/ml)</b>	<b>Alan</b>	<b>x**</b> <b>(mg/ml)</b>	
	222220	0,01644	
20	211537	0,01567	
	184101	0,01368	

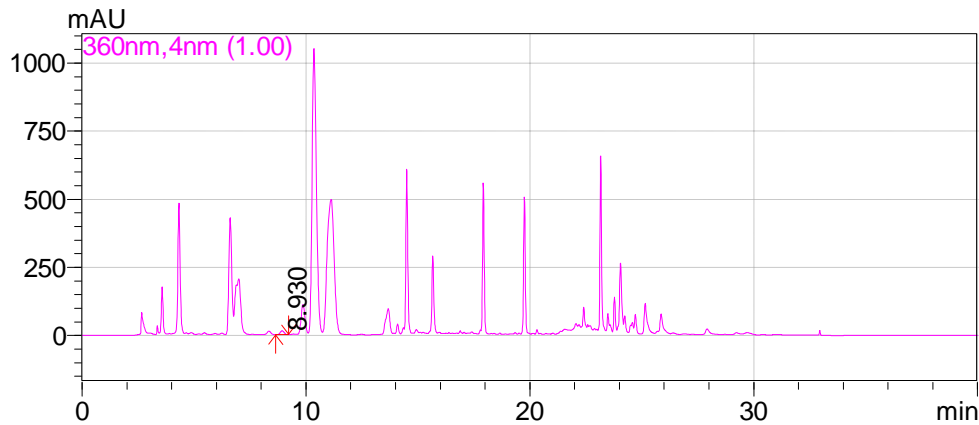
\* Enjekte edilen numunenin konsantrasyonu  
\*\* 1 ml enjekte edilen numune içerisindeki rutin miktarının mg cinsinden değeri

<b>Ekstre Verimi* (%)</b>	<b>e** (%)</b>	<b>e<sub>ort</sub></b>	<b>SD***</b>
	<b>0,08220</b>		
14,9	<b>0,07834</b>	0,07632	0,00711
	<b>0,06842</b>		

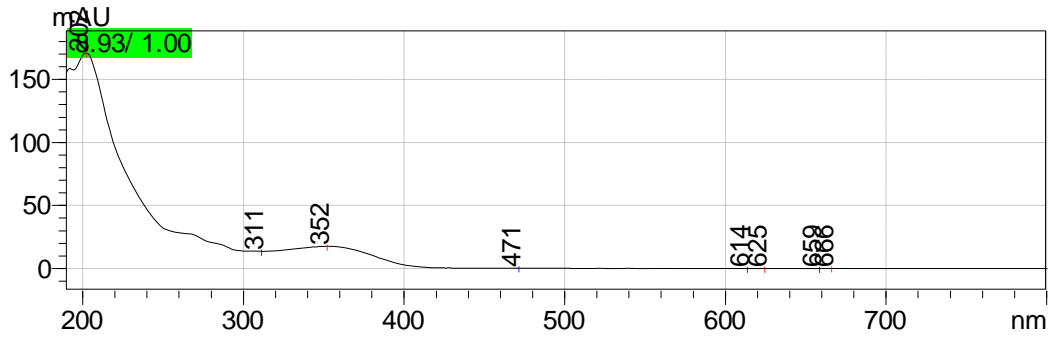
\* 100 gram bitkiden elde edilen ekstre miktarı, \*\* Ekstre içerisindeki rutin miktarının % değeri ( $e = (x / \text{Konsantrasyon}) * 100$ ), \*\*\*e'lerin standart sapması

<b>h* (%)</b>	<b>h<sub>ort</sub></b>	<b>SD **</b>
0,01225		
0,01167	<b>0,01137</b>	<b>0,00106</b>
0,01019		

\* Bitki içerisindeki % rutin miktarı ( $h = \text{ekstre verimi} * e / 100$ ), \*\* h'ların standart sapması

***Hypericum thymbrifolium* ekstresine ait kromatogramlar ve değerler:****Şekil 4-42:** *H. thymbrifolium*, rutin pikinin görüldüğü LC kromatogramı





Şekil 4-43: *H. thymbrifolium*, rutin pikine ait UV kromatogramı

Tablo 4-29: *H. thymbrifolium* türünün içerdiği rutin miktarı hesaplamaları

Konsantrasyon* (mg/ml)	Alan	x** (mg/ml)
	179198	0,01333
20	199486	0,01480
	183404	0,01363

\* Enjekte edilen numunenin konsantrasyonu  
\*\* 1 ml enjekte edilen numune içerisindeki rutin miktarının mg cinsinden değeri

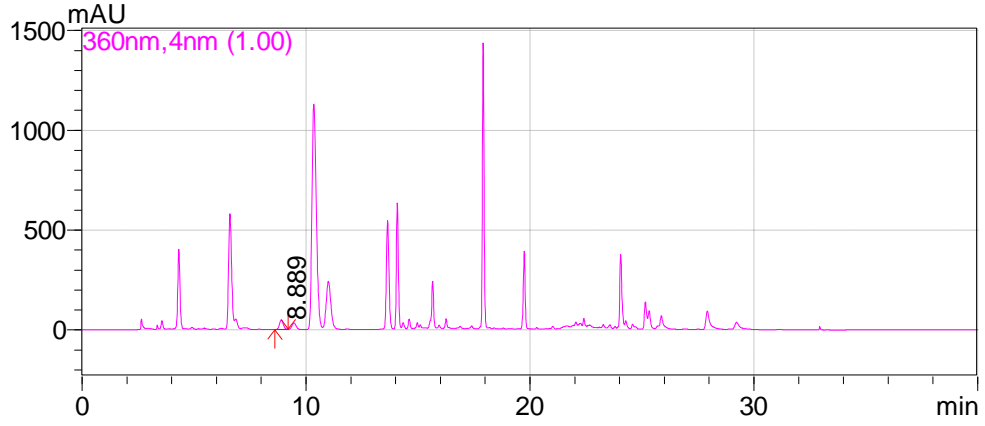
Ekstre Verimi* (%)	e** (%)	e <sub>ort</sub>	SD***
	0,06665		
17,3	0,07398	0,06960	0,00387
	0,06817		

\* 100 gram bitkiden elde edilen ekstre miktarı, \*\* Ekstre içerisindeki rutin miktarının % değeri ( $e = (x / \text{Konsantrasyon}) * 100$ ), \*\*\*e'lerin standart sapması

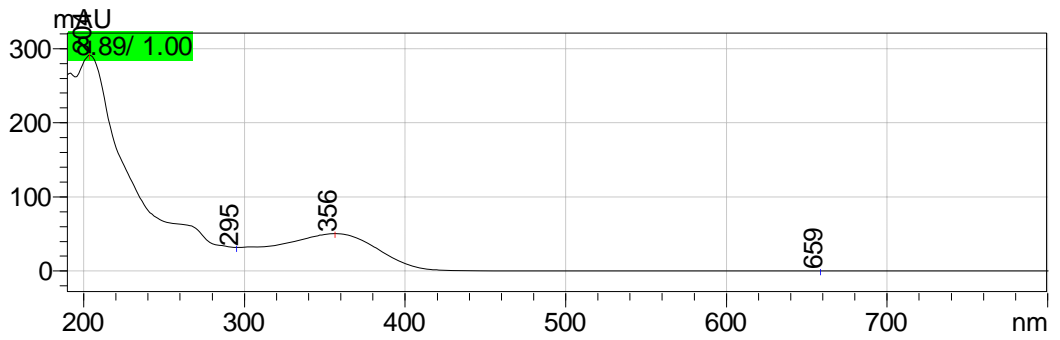
h* (%)	h <sub>ort</sub>	SD **
0,01166		
0,01280	0,01208	0,00062
0,01179		

\* Bitki içerisindeki % rutin miktarı ( $h = \text{ekstre verimi} * e / 100$ ), \*\* h'ların standart sapması

***Hypericum neurocalycinum* ekstresine ait kromatogramlar ve değerler:**



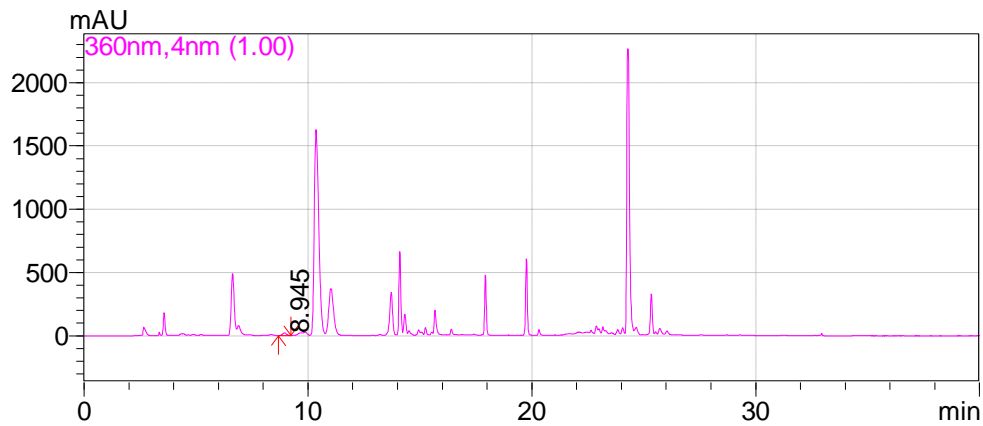
**Şekil 4-44:** *H. neurocalycinum*, rutin pikinin görüldüğü LC kromatogramı

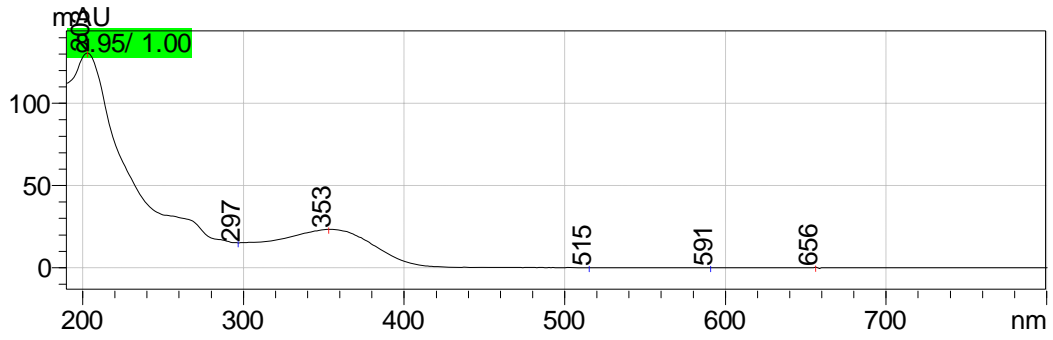


**Şekil 4-45:** *H. neurocalycinum*, rutin pikine ait UV kromatogramı

**Tablo 4-30:** *H. neurocalycinum* türünün içerdiği rutin miktarı hesaplamaları

<b>Konsantrasyon*</b> <b>(mg/ml)</b>	<b>Alan</b>	<b>x**</b> <b>(mg/ml)</b>	
20	527566	0,03851	
	552248	0,04030	
	563997	0,04115	
* Enjekte edilen numunenin konsantrasyonu ** 1 ml enjekte edilen numune içerisindeki rutin miktarının mg cinsinden değeri			
<b>Ekstre Verimi* (%)</b>	<b>e** (%)</b>	<b>e<sub>ort</sub></b>	<b>SD***</b>
16,5	0,19256	0,19992	0,00672
	0,20148		
	0,20573		
* 100 gram bitkiden elde edilen ekstre miktarı, ** Ekstre içerisindeki rutin miktarının % değeri ( $e = (x / \text{Konsantrasyon}) * 100$ ), ***e'lerin standart sapması			
<b>h* (%)</b>	<b>h<sub>ort</sub></b>	<b>SD **</b>	
0,03177	0,03299	0,00111	
0,03324			
0,03394			
* Bitki içerisindeki % rutin miktarı ( $h = \text{ekstre verimi} * e / 100$ ), ** h'ların standart sapması			

***Hypericum malatyanum* ekstresine ait kromatogramlar ve değerler:****Şekil 4-46:** *H. malatyanum*, rutin pikinin görüldüğü LC kromatogramı



Şekil 4-47: *H. malatyanum*, rutin pikine ait UV kromatogramı

Tablo 4-31: *H. malatyanum* türünün içerdiği rutin miktarı hesaplamaları

Konsantrasyon* (mg/ml)	Alan	x** (mg/ml)
	252014	0,01859
20	228682	0,01691
	204565	0,01516

\* Enjekte edilen numunenin konsantrasyonu

\*\* 1 ml enjekte edilen numune içerisindeki rutin miktarının mg cinsinden değeri

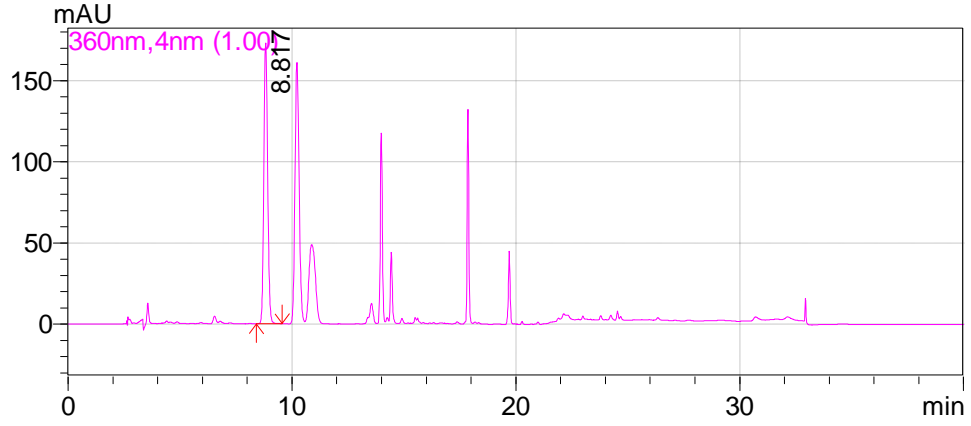
Ekstre Verimi* (%)	e** (%)	e <sub>ort</sub>	SD***
	<b>0,09296</b>		
23,3	<b>0,08453</b>	0,08444	0,00857
	<b>0,07582</b>		

\* 100 gram bitkiden elde edilen ekstre miktarı, \*\* Ekstre içerisindeki rutin miktarının % değeri ( $e = (x / \text{Konsantrasyon}) * 100$ ), \*\*\*e'lerin standart sapması

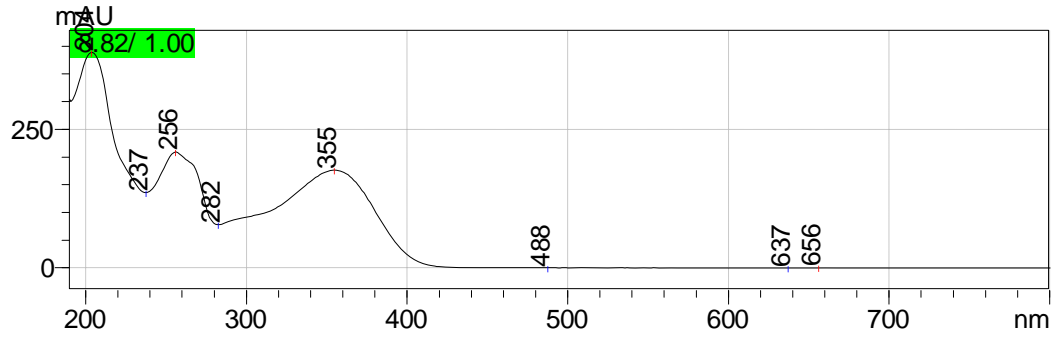
h* (%)	h <sub>ort</sub>	SD **
0,02166		
0,01970	<b>0,01967</b>	<b>0,00200</b>
0,01767		

\* Bitki içerisindeki % rutin miktarı ( $h = \text{ekstre verimi} * e / 100$ ), \*\* h'ların standart sapması

***Hypericum perforatum* ekstresine ait kromatogramlar ve değerler:**



**Şekil 4-48:** *H. perforatum*, rutin pikinin görüldüğü LC kromatogramı



**Şekil 4-49:** *H. perforatum*, rutin pikine ait UV kromatogramı

**Tablo 4-32:** *H. perforatum* türünün içerdiği rutin miktarı hesaplamaları

Konsantrasyon* (mg/ml)	Alan	x** (mg/ml)
4	2054086	0,14886
	2074517	0,15034
	2183765	0,15823

\* Enjekte edilen numunenin konsantrasyonu  
\*\* 1 ml enjekte edilen numune içerisindeki rutin miktarının mg cinsinden değeri

Ekstre Verimi* (%)	e** (%)	e <sub>ort</sub>	SD***
26,8	3,72148	3,81191	0,12602
	3,75840		
	3,95585		

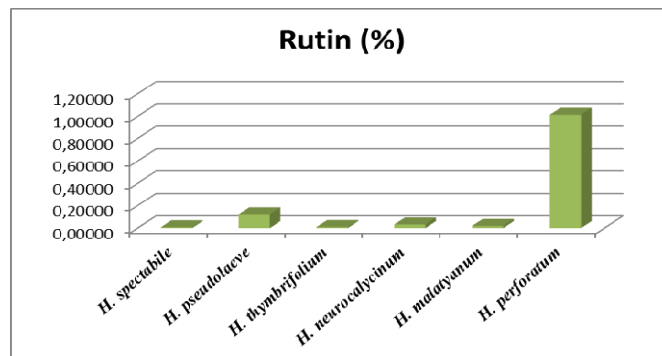
\* 100 gram bitkiden elde edilen ekstre miktarı, \*\* Ekstre içerisindeki rutin miktarının % değeri ( $e = (x / \text{Konsantrasyon}) * 100$ ), \*\*\*e'lerin standart sapması

h* (%)	h <sub>ort</sub>	SD **
0,99736	1,01533	0,03909
0,98846		
1,06017		

\* Bitki içerisindeki % rutin miktarı ( $h = \text{ekstre verimi} * e / 100$ ), \*\* h'ların standart sapması

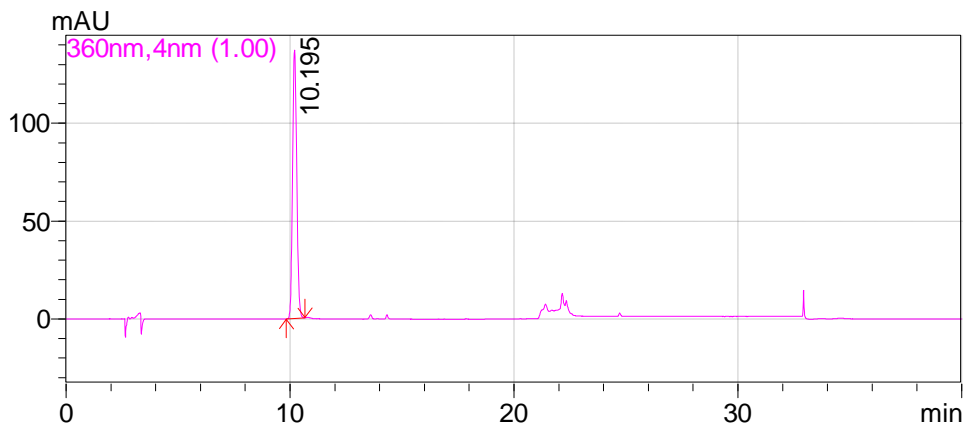
**Tablo 4-33:** Analizi yapılan örneklerin rutin yüzdeleri

	% Rutin
<i>H. spectabile</i>	0,00829
<i>H. pseudolaeye</i>	0,12080
<i>H. thymbrifolium</i>	0,01000
<i>H. neurocalycinum</i>	0,03299
<i>H. malatyanum</i>	0,01967
<i>H. perforatum</i>	1,01533

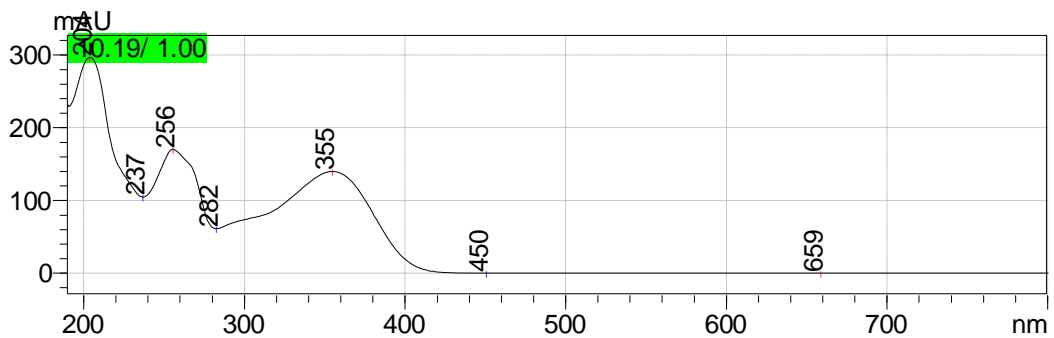
**Şekil 4-50:** *Hypericum* türlerinin rutin içerikleri açısından karşılaştırılması

#### 4.1.3.3. YBSK ile Hiperozit Miktar Tayini Sonuçları

Bölüm 3.2.1.3.'de anlatıldığı gibi hazırlanan hiperozit standartı 5 farklı konsantrasyonda 3 örnek olarak kolona enjekte edildi. Kromatogramların değerlendirilmesinde otomatik olarak YBSK cihazının hesapladığı pik alanı değerleri kullanıldı. Kolona enjekte edilen standart hiperozit retansiyon zamanı 10,195 dakika olarak belirlendi. Hiperozit standartına ait kromatogramlar (Şekil 4-51 ve Şekil 4-52), konsantrasyon ve pik alanı değerleri (Tablo 4-34) aşağıda gösterilmiştir.



Şekil 4-51: Hiperozit standartına ait LC kromatogramı

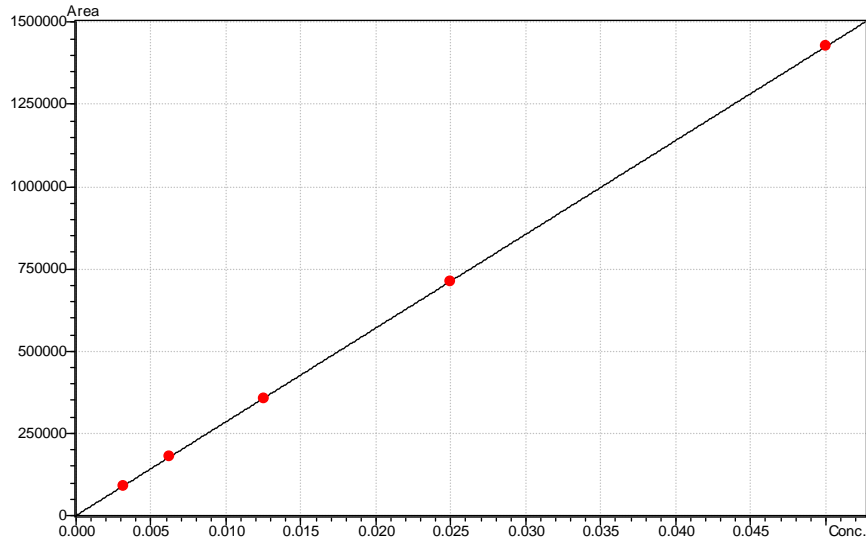


Şekil 4-52: Hiperozit standartına ait UV kromatogramı

**Tablo 4-34:** Hiperozit standartına ait konsantrasyon-pik alanı şeması

Konsantrasyon	Ortalama Alan	Standart Sapma	%RSD	Alan-1	Alan-2	Alan-3
0,0500000	1426340	329256,3	23,083990	1769491	1113007	1396522
0,0250000	710788	153253,4	21,561050	867944	561760	702662
0,0125000	357815	78047,12	21,812160	434329	278320	360795
0,0062500	178196	39315,40	22,063020	218525	139980	176083
0,0031250	90351	19137,64	21,181450	108092	70071	92890

Bu değerler esas alınarak hiperozit standartına ait ölçü eğrisi hazırlanmış ve doğru denklemi belirlenmiştir (Şekil 4-53).

**Şekil 4-53:** Hiperozit standartına ait ölçü eğrisi**Hesaplanan doğru denklemi:**

$$y = 2,849917e+007x + 526,7023$$

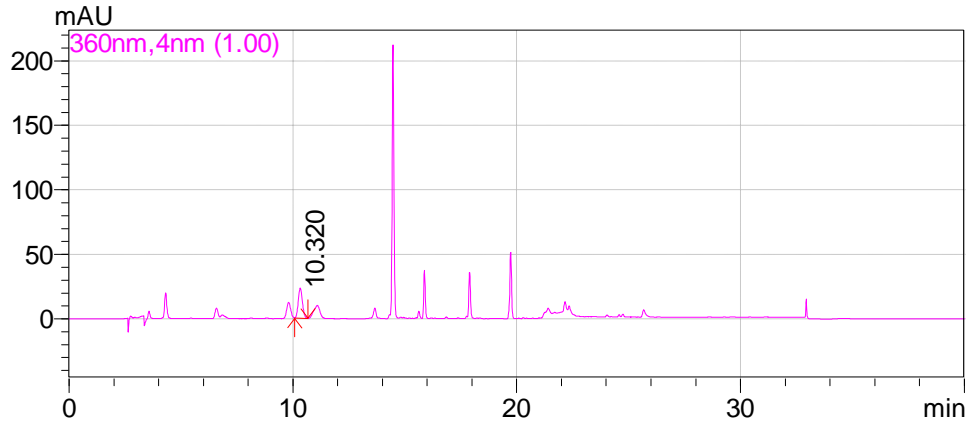
$$r^2 = 0,9999$$

$$r = 0,9999$$

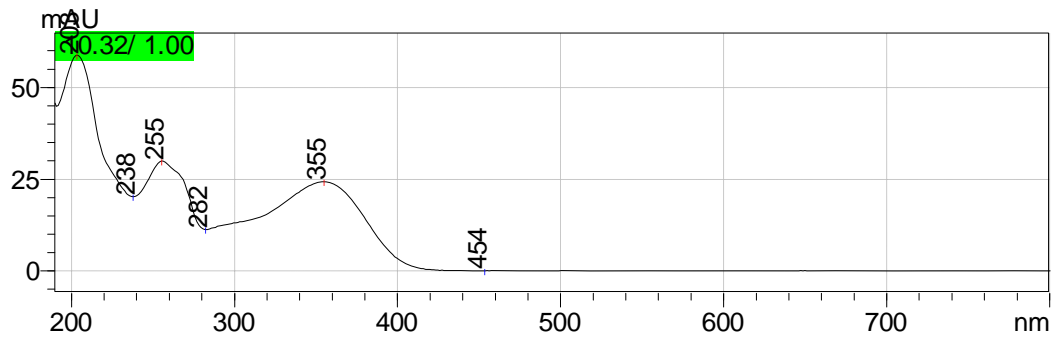
Hiperozit standartı ile doğru denklemi belirlendikten sonra Bölüm 3.2.1.2.'de anlatıldığı gibi droglardan hazırlanan ekstralar kolona enjekte edildi. Ekstrelele ait kromatogramlar aşağıda gösterilmiştir.



***Hypericum spectabile* ekstresine ait kromatogramlar ve değerler:**



**Şekil 4-54:** *H. spectabile*, hiperozit pikinin görüldüğü LC kromatogramı



**Şekil 4-55:** *H. spectabile*, hiperozit pikine ait UV kromatogramı

**Tablo 4-35:** *H. spectabile* türünün içerdiği hiperozit miktarı hesaplamaları

<b>Konsantrasyon*</b> <b>(mg/ml)</b>	<b>Alan</b>	<b>x**</b> <b>(mg/ml)</b>
2	300229	0,01052
	290329	0,01017
	324179	0,01136

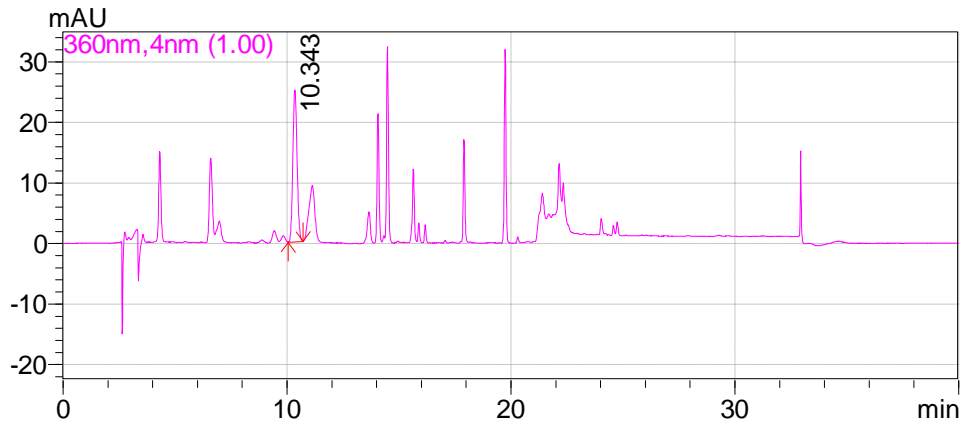
\* Enjektte edilen numunenin konsantrasyonu  
\*\* 1 ml enjektte edilen numune içerisindeki hiperozit miktarının mg cinsinden değeri

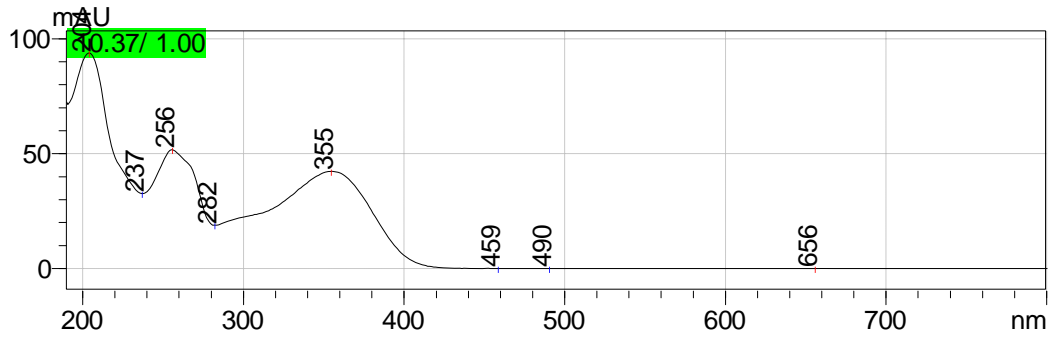
<b>Ekstre Verimi* (%)</b>	<b>e** (%)</b>	<b>e<sub>ort</sub></b>	<b>SD***</b>
21,3	<b>0,52580</b>	0,53403	0,03054
	<b>0,50845</b>		
	<b>0,56785</b>		

\* 100 gram bitkiden elde edilen ekstre miktarı, \*\* Ekstre içerisindeki hiperozit miktarının % değeri ( $e = (x / \text{Konsantrasyon}) * 100$ ), \*\*\*e'lerin standart sapması

<b>h* (%)</b>	<b>h<sub>ort</sub></b>	<b>SD **</b>
0,11200	<b>0,11375</b>	<b>0,00651</b>
0,10830		
0,12095		

\* Bitki içerisindeki % hiperozit miktarı ( $h = \text{ekstre verimi} * e / 100$ ), \*\* h'ların standart sapması

***Hypericum pseudolaeye* ekstresine ait kromatogramlar ve değerler:****Şekil 4-56:** *H. pseudolaeye*, hiperozit pikinin görüldüğü LC kromatogramı



Şekil 4-57: *H. pseudolaeve*, hiperozit pikine ait UV kromatogramı

Tablo 4-36: *H. pseudolaeve* türünün içerdiği hiperozit miktarı hesaplamaları

Konsantrasyon* (mg/ml)	Alan	x** (mg/ml)
	329882	0,01156
1	317677	0,01113
	539666	0,01892

\* Enjekte edilen numunenin konsantrasyonu

\*\* 1 ml enjekte edilen numune içerisindeki hiperozit miktarının mg cinsinden değeri

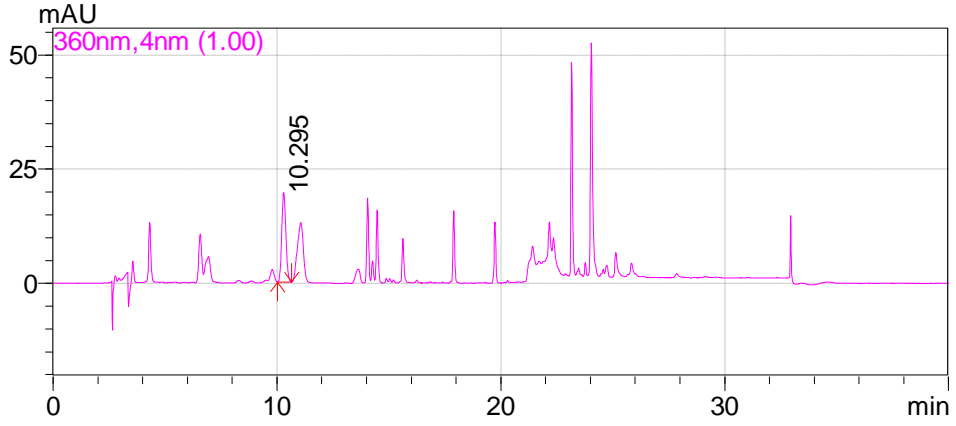
Ekstre Verimi* (%)	e** (%)	e <sub>ort</sub>	SD***
	1,15570		
14,9	1,11280	1,38673	0,43784
	1,89170		

\* 100 gram bitkiden elde edilen ekstre miktarı, \*\* Ekstre içerisindeki hiperozit miktarının % değeri ( $e = (x / \text{Konsantrasyon}) * 100$ ), \*\*\*e'lerin standart sapması

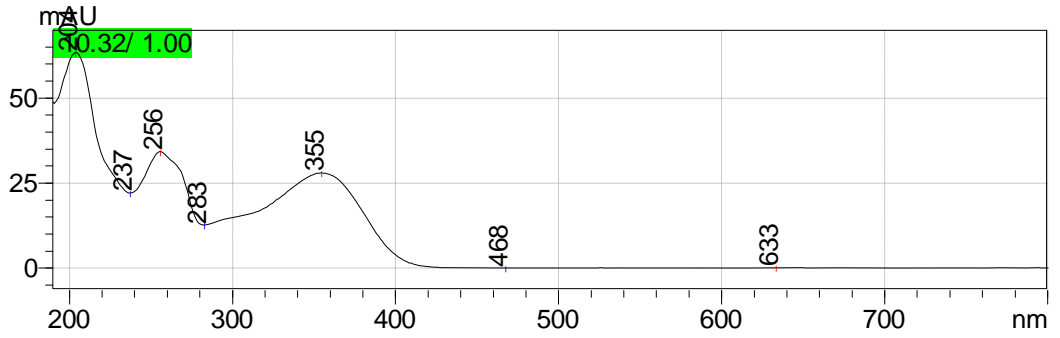
h* (%)	h <sub>ort</sub>	SD **
0,17220		
0,16581	0,20662	0,06524
0,28186		

\* Bitki içerisindeki % hiperozit miktarı ( $h = \text{ekstre verimi} * e / 100$ ), \*\* h'ların standart sapması

***Hypericum thymbrifolium* ekstresine ait kromatogramlar ve değerler:**



**Şekil 4-58:** *H. thymbrifolium*, hiperozit pikinin görüldüğü LC kromatogramı



**Şekil 4-59:** *H. thymbrifolium*, hiperozit pikine ait UV kromatogramı

**Tablo 4-37:** *H. thymbrifolium* türünün içerdiği hiperozit miktarı hesaplamaları

<b>Konsantrasyon*</b> <b>(mg/ml)</b>	<b>Alan</b>	<b>x**</b> <b>(mg/ml)</b>
1	252540	0,00884
	230917	0,00808
	587719	0,01222

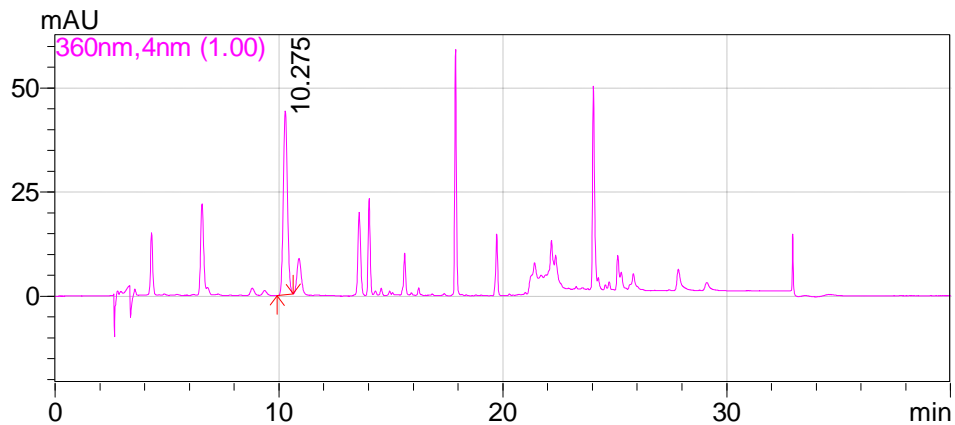
\* Enjektte edilen numunenin konsantrasyonu  
\*\* 1 ml enjektte edilen numune içerisindeki hiperozit miktarının mg cinsinden değeri

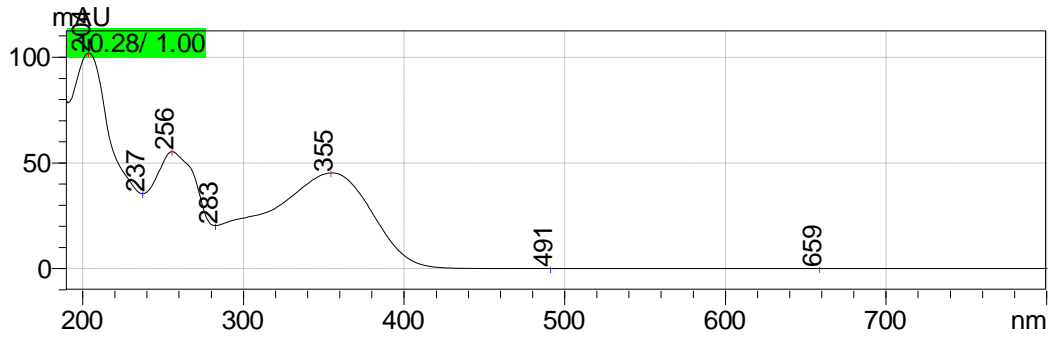
<b>Ekstre Verimi* (%)</b>	<b>e** (%)</b>	<b>e<sub>ort</sub></b>	<b>SD***</b>
17,3	<b>0,88430</b>	0,97150	0,22006
	<b>0,80840</b>		
	<b>1,22180</b>		

\* 100 gram bitkiden elde edilen ekstre miktarı, \*\* Ekstre içerisindeki hiperozit miktarının % değeri ( $e = (x / \text{Konsantrasyon}) * 100$ ), \*\*\*e'lerin standart sapması

<b>h* (%)</b>	<b>h<sub>ort</sub></b>	<b>SD **</b>
0,15298	<b>0,16807</b>	<b>0,03807</b>
0,13985		
0,21137		

\* Bitki içerisindeki % hiperozit miktarı ( $h = \text{ekstre verimi} * e / 100$ ), \*\* h'ların standart sapması

***Hypericum neurocalycinum* ekstresine ait kromatogramlar ve değerler:****Şekil 4-60:** *H. neurocalycinum*, hiperozit pikinin görüldüğü LC kromatogramı



Şekil 4-61: *H. neurocalycinum*, hiperozit pikine ait UV kromatogramı

Tablo 4-38: *H. neurocalycinum* türünün içerdiği hiperozit miktarı hesaplamaları

Konsantrasyon* (mg/ml)	Alan	x** (mg/ml)
	569288	0,01996
1	421577	0,01477
	587719	0,02060

\* Enjekte edilen numunenin konsantrasyonu

\*\* 1 ml enjekte edilen numune içerisindeki hiperozit miktarının mg cinsinden değeri

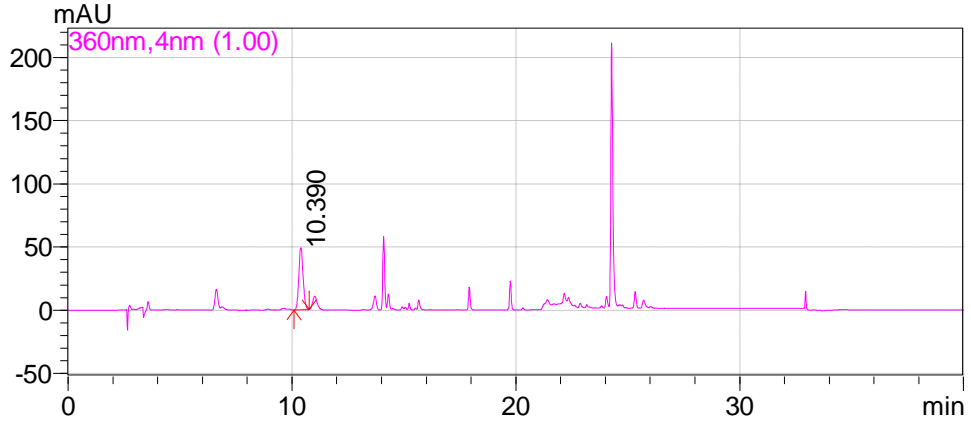
Ekstre Verimi* (%)	e** (%)	e <sub>ort</sub>	SD***
	<b>1,99570</b>		
16,5	<b>1,47740</b>	1,84450	0,31956
	<b>2,06040</b>		

\* 100 gram bitkiden elde edilen ekstre miktarı, \*\* Ekstre içerisindeki hiperozit miktarının % değeri ( $e = (x / \text{Konsantrasyon}) * 100$ ), \*\*\*e'lerin standart sapması

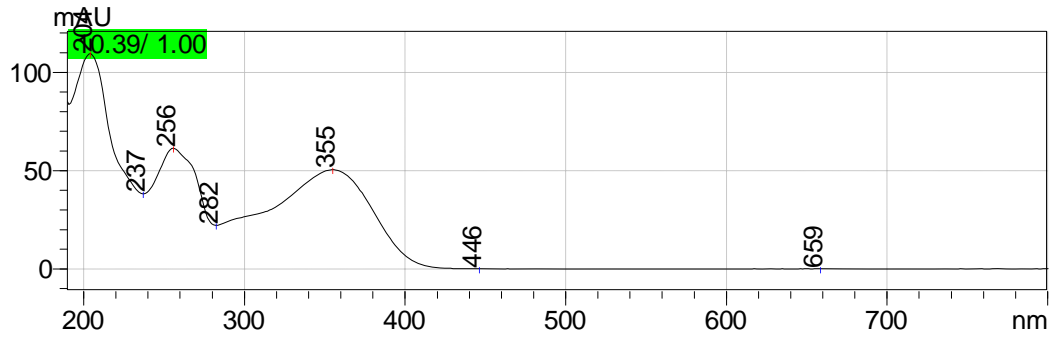
h* (%)	h <sub>ort</sub>	SD **
0,32929		
0,24377	<b>0,30434</b>	<b>0,05273</b>
0,33997		

\* Bitki içerisindeki % hiperozit miktarı ( $h = \text{ekstre verimi} * e / 100$ ), \*\* h'ların standart sapması

***Hypericum malatyanum* ekstresine ait kromatogramlar ve değerler:**



**Şekil 4-62:** *H. malatyanum*, hiperozit pikinin görüldüğü LC kromatogramı



**Şekil 4-63:** *H. malatyanum*, hiperozit pikine ait UV kromatogramı

**Tablo 4-39:** *H. malatyanum* türünün içerdiği hiperozit miktarı hesaplamaları

<b>Konsantrasyon*</b> <b>(mg/ml)</b>	<b>Alan</b>	<b>x**</b> <b>(mg/ml)</b>
1	650775	0,02282
	776007	0,02721
	730403	0,02561

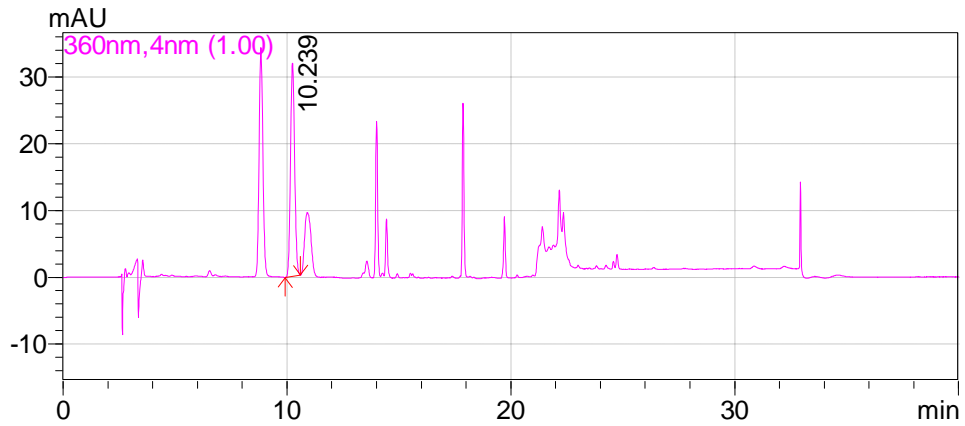
\* Enjektte edilen numunenin konsantrasyonu  
\*\* 1 ml enjektte edilen numune içerisindeki hiperozit miktarının mg cinsinden değeri

<b>Ekstre Verimi* (%)</b>	<b>e** (%)</b>	<b>e<sub>ort</sub></b>	<b>SD***</b>
23,3	2,28160	2,52123	0,22243
	2,72110		
	2,56100		

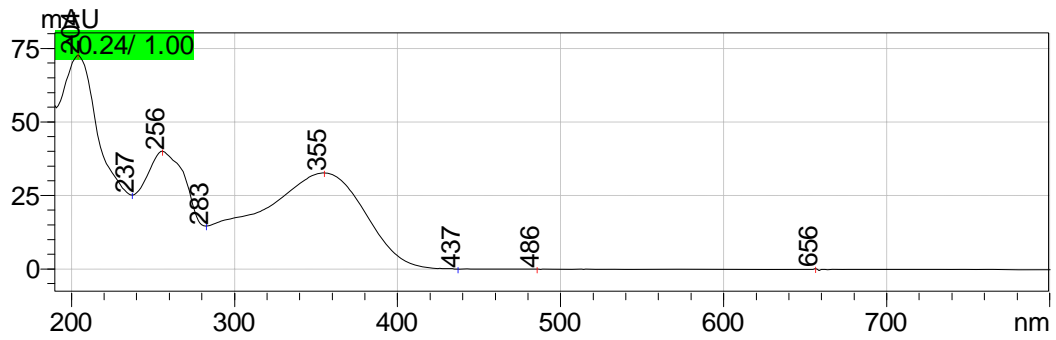
\* 100 gram bitkiden elde edilen ekstre miktarı, \*\* Ekstre içerisindeki hiperozit miktarının % değeri ( $e = (x / \text{Konsantrasyon}) * 100$ ), \*\*\*e'lerin standart sapması

<b>h* (%)</b>	<b>h<sub>ort</sub></b>	<b>SD **</b>
0,53161	0,58745	0,05183
0,63402		
0,59671		

\* Bitki içerisindeki % hiperozit miktarı ( $h = \text{ekstre verimi} * e / 100$ ), \*\* h'ların standart sapması

***Hypericum perforatum* ekstresine ait kromatogramlar ve değerler:****Şekil 4-64:** *H. perforatum*, hiperozit pikinin görüldüğü LC kromatogramı





Şekil 4-65: *H. perforatum*, hiperozit pikine ait UV kromatogramı

Tablo 4-40: *H. perforatum* türünün içerdiği hiperozit miktarı hesaplamaları

Konsantrasyon* (mg/ml)	Alan	x** (mg/ml)
1	411374	0,01442
	602476	0,02112
	554538	0,01944

\* Enjekte edilen numunenin konsantrasyonu

\*\* 1 ml enjekte edilen numune içerisindeki hiperozit miktarının mg cinsinden değeri

Ekstre Verimi* (%)	e** (%)	e <sub>ort</sub>	SD***
26,8	1,44160	1,83257	0,34886
	2,11210		
	1,94400		

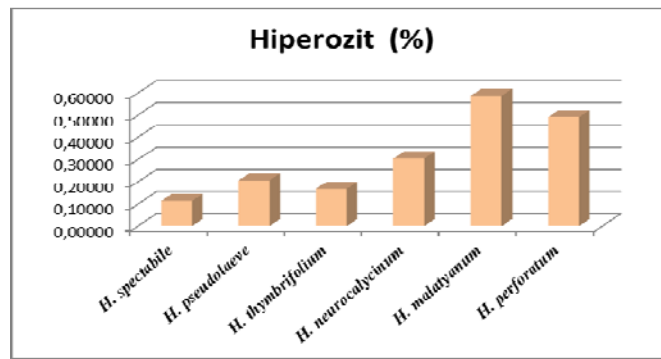
\* 100 gram bitkiden elde edilen ekstre miktarı, \*\* Ekstre içerisindeki hiperozit miktarının % değeri ( $e = (x / \text{Konsantrasyon}) * 100$ ), \*\*\*e'lerin standart sapması

h* (%)	h <sub>ort</sub>	SD **
0,38635	0,49113	0,09350
0,56604		
0,52099		

\* Bitki içerisindeki % hiperozit miktarı ( $h = \text{ekstre verimi} * e / 100$ ), \*\* h'ların standart sapması

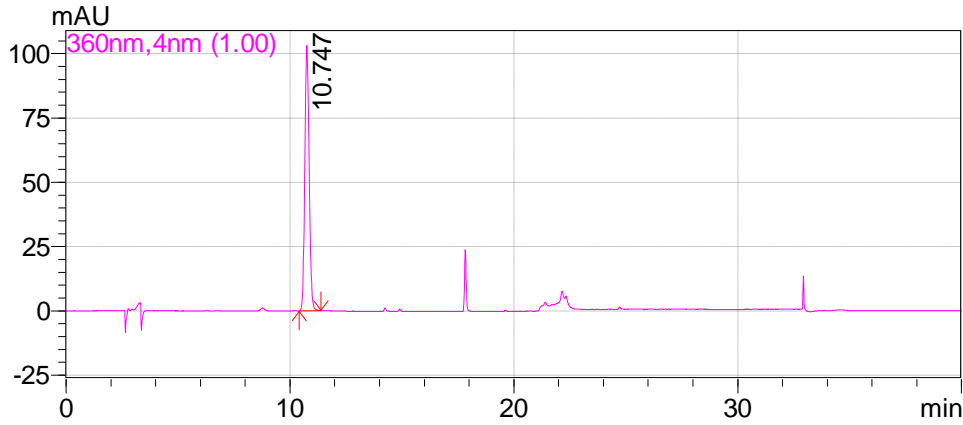
**Tablo 4-41:** Analizi yapılan örneklerin hiperozit yüzdeleri

	<b>% Hiperozit</b>
<i>H. spectabile</i>	0,11375
<i>H. pseudolaeve</i>	0,20662
<i>H. thymbrifolium</i>	0,16807
<i>H. neurocalycinum</i>	0,30434
<i>H. malatyanum</i>	0,58745
<i>H. perforatum</i>	0,49113

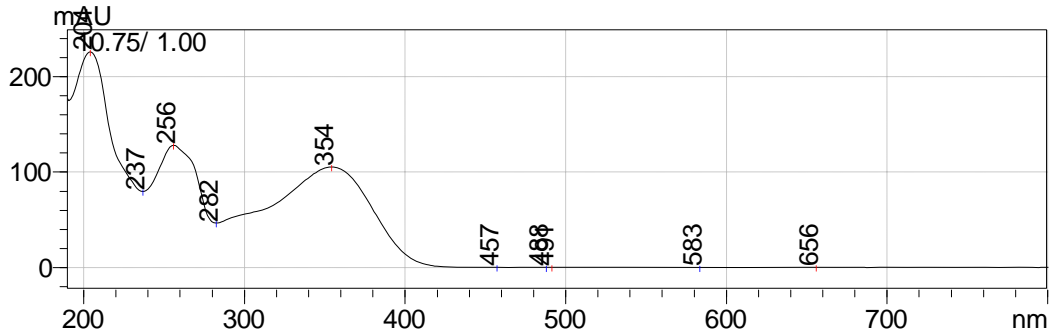
**Şekil 4-66:** *Hypericum* türlerinin hiperozit içerikleri açısından karşılaştırılması

#### 4.1.3.4. YBSK ile İzokersitrin Miktar Tayini Sonuçları

Bölüm 3.2.1.3.'de anlatıldığı gibi hazırlanan izokersitrin standartı 5 farklı konsantrasyonda 3 örnek olarak kolona enjekte edildi. Kromatogramların değerlendirilmesinde otomatik olarak YBSK cihazının hesapladığı pik alanı değerleri kullanıldı. Kolona enjekte edilen standart izokersitrin retansiyon zamanı 10,747 dakika olarak belirlendi. İzokersitrin standartına ait kromatogramlar (Şekil 4-67 ve Şekil 4-68), konsantrasyon ve pik alanı değerleri (Tablo 4-43) aşağıda gösterilmiştir.



Şekil 4-67: İzokersitrin standartına ait kromatogram

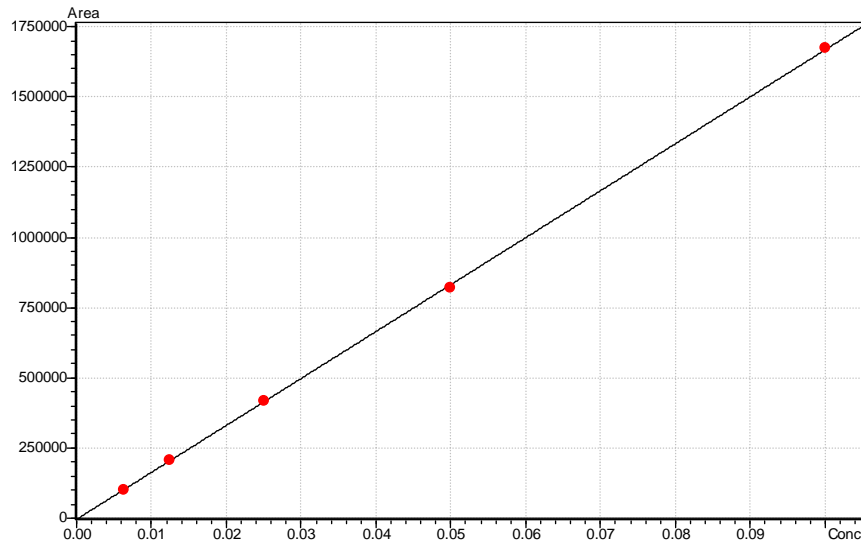


Şekil 4-68: İzokersitrin standartına ait UV kromatogramı

**Tablo 4-42:** İzokersitrin standartına ait konsantrasyon-pik alanı şeması

Konsantrasyon	Ortalama Alan	Standart Sapma	%RSD	Alan-1	Alan-2	Alan-3
0,10000	1672216	235304,4	14,07141	1400669	1816033	1799947
0,05000	819471	107465,0	13,11395	695556	887135	875722
0,02500	418188	42186,32	10,08788	369862	437047	447656
0,01250	207644	23735,38	11,43080	180384	218817	223731
0,00625	101745	11594,31	11,39550	88358	108592	108284

Bu değerler esas alınarak izokersitrin standartına ait ölçü eğrisi hazırlanmış ve doğru denklemi belirlenmiştir (Şekil 4-69).

**Şekil 4-69:** İzokersitrin standartına ait ölçü eğrisi**Hesaplanan doğru denklemi:**

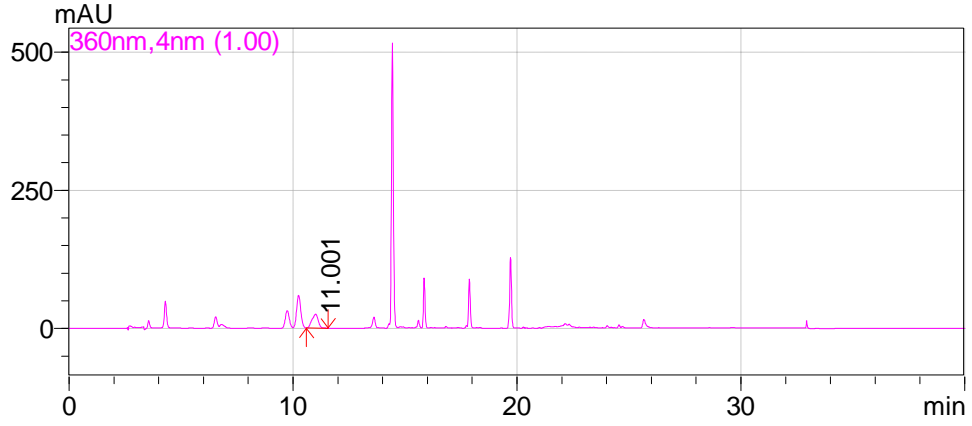
$$y = 1,671137e+007x - 3712,788$$

$$r^2 = 0,9999$$

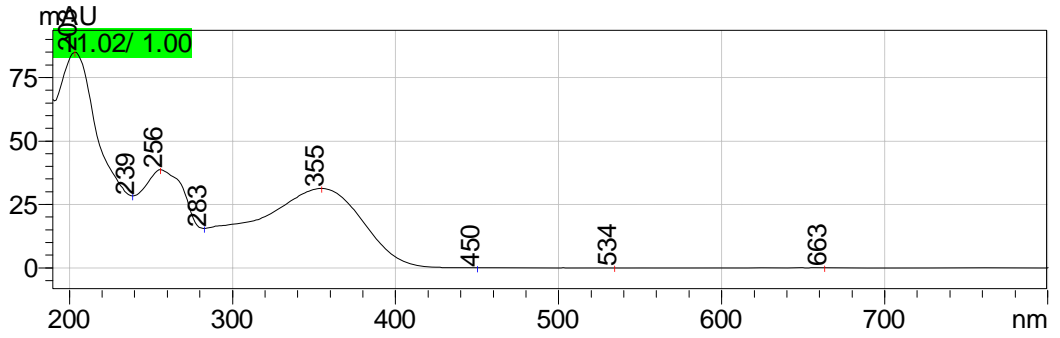
$$r = 0,9999$$

İzokersitrin standartı ile doğru denklemi belirlendikten sonra Bölüm 3.2.1.2.'de anlatıldığı gibi droglardan hazırlanan ekstreler kolona enjekte edildi. Ekstrelere ait kromatogramlar aşağıda gösterilmiştir.

***Hypericum spectabile* ekstresine ait kromatogramlar ve değerler:**



**Şekil 4-70:** *H. spectabile*, izokersitrin pikinin görüldüğü LC kromatogramı



**Şekil 4-71:** *H. spectabile*, izokersitrin pikine ait UV kromatogramı

**Tablo 4-43:** *H. spectabile* türünün içerdiği izokersitrin miktarı hesaplamaları

<b>Konsantrasyon*</b> <b>(mg/ml)</b>	<b>Alan</b>	<b>x**</b> <b>(mg/ml)</b>
5	484323	0,02920
	577448	0,03478
	559051	0,03368

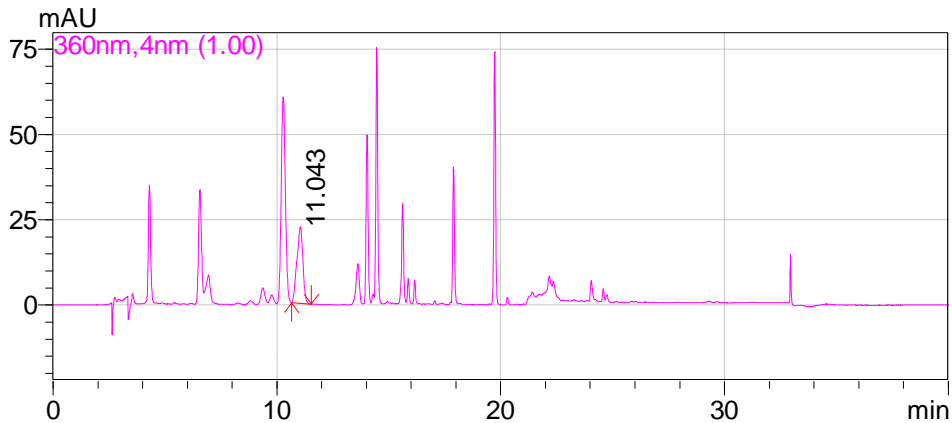
\* Enjekte edilen numunenin konsantrasyonu  
\*\* 1 ml enjekte edilen numune içerisindeki izokersitrin miktarının mg cinsinden değeri

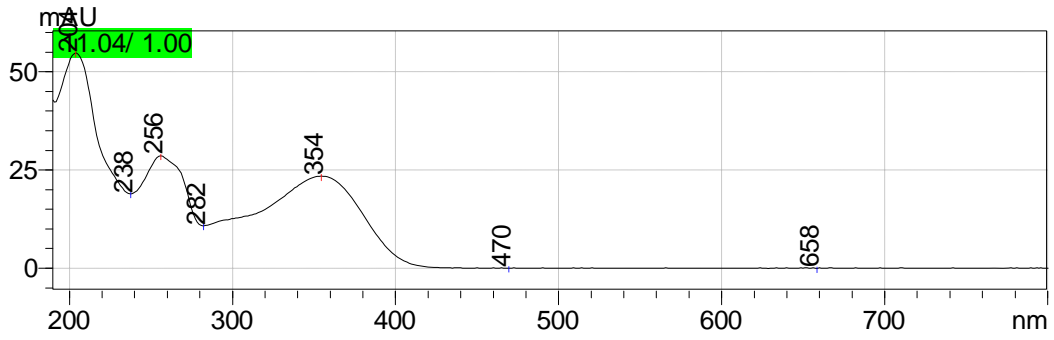
<b>Ekstre Verimi* (%)</b>	<b>e** (%)</b>	<b>e<sub>ort</sub></b>	<b>SD***</b>
21,3	<b>0,58408</b>	0,65104	0,05902
	<b>0,69552</b>		
	<b>0,67352</b>		

\* 100 gram bitkiden elde edilen ekstre miktarı, \*\* Ekstre içerisindeki izokersitrin miktarının % değeri ( $e = (x / \text{Konsantrasyon}) * 100$ ), \*\*\*e'lerin standart sapması

<b>h* (%)</b>	<b>h<sub>ort</sub></b>	<b>SD **</b>
0,12441	<b>0,13867</b>	<b>0,01257</b>
0,14815		
0,14346		

\* Bitki içerisindeki % izokersitrin miktarı ( $h = \text{ekstre verimi} * e / 100$ ), \*\* h'ların standart sapması

***Hypericum pseudolaeye* ekstresine ait kromatogramlar ve değerler:****Şekil 4-72:** *H. pseudolaeye*, izokersitrin pikinin görüldüğü LC kromatogramı



Şekil 4-73: *H. pseudolaeve*, izokersitrin pikine ait UV kromatogramı

Tablo 4-44: *H. pseudolaeve* türünün içerdiği izokersitrin miktarı hesaplamaları

Konsantrasyon* (mg/ml)	Alan	x** (mg/ml)
	414549	0,02503
2	478177	0,02884
	353558	0,02138

\* Enjekte edilen numunenin konsantrasyonu

\*\* 1 ml enjekte edilen numune içerisindeki izokersitrin miktarının mg cinsinden değeri

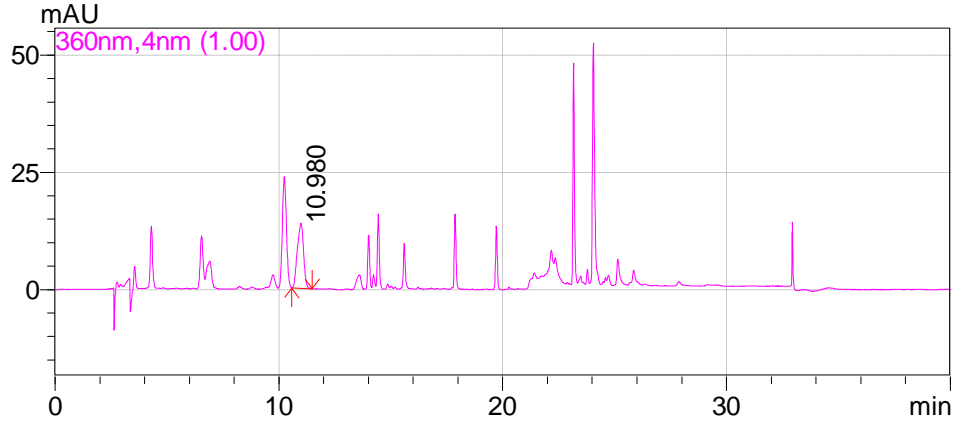
Ekstre Verimi* (%)	e** (%)	e <sub>ort</sub>	SD***
	<b>1,25145</b>		
14,9	<b>1,44180</b>	1,25408	0,18641
	<b>1,06900</b>		

\* 100 gram bitkiden elde edilen ekstre miktarı, \*\* Ekstre içerisindeki izokersitrin miktarının % değeri ( $e = (x / \text{Konsantrasyon}) * 100$ ), \*\*\*e'lerin standart sapması

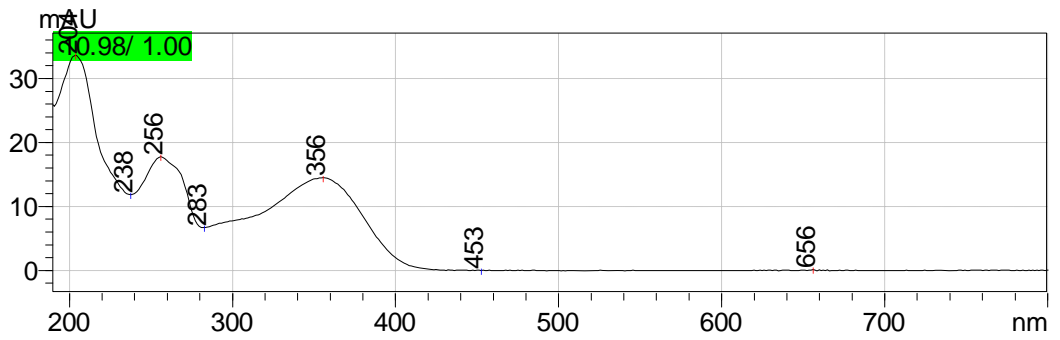
h* (%)	h <sub>ort</sub>	SD **
0,18647		
0,21483	<b>0,18686</b>	<b>0,02778</b>
0,15928		

\* Bitki içerisindeki % izokersitrin miktarı ( $h = \text{ekstre verimi} * e / 100$ ), \*\* h'ların standart sapması

***Hypericum thymbrifolium* ekstresine ait kromatogramlar ve değerler:**



**Şekil 4-74:** *H. thymbrifolium*, izokersitrin pikinin görüldüğü LC kromatogramı



**Şekil 4-75:** *H. thymbrifolium*, izokersitrin pikine ait UV kromatogramı



**Tablo 4-45:** *H. thymbrifolium* türünün içerdiği izokersitrin miktarı hesaplamaları

<b>Konsantrasyon*</b> <b>(mg/ml)</b>	<b>Alan</b>	<b>x**</b> <b>(mg/ml)</b>
	267939	0,01626
1	239630	0,01456
	361717	0,02187

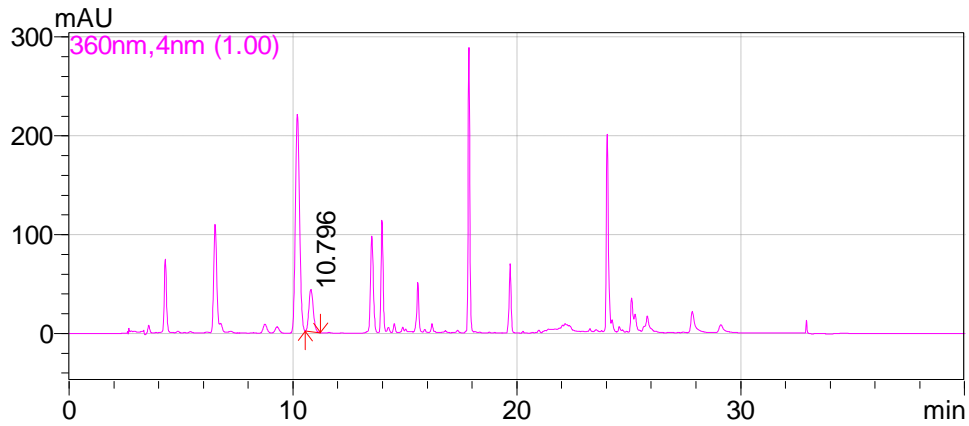
\* Enjektte edilen numunenin konsantrasyonu  
\*\* 1 ml enjektte edilen numune içerisindeki izokersitrin miktarının mg cinsinden değeri

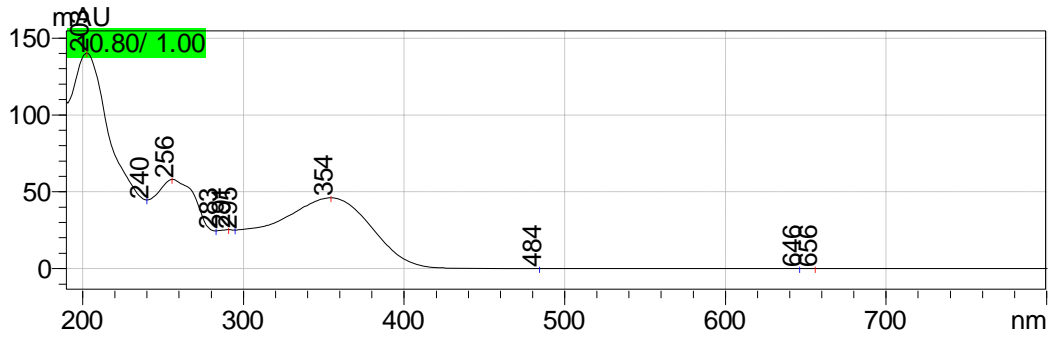
<b>Ekstre Verimi* (%)</b>	<b>e** (%)</b>	<b>e<sub>ort</sub></b>	<b>SD***</b>
	<b>1,62560</b>		
17,3	<b>1,45620</b>	1,75617	0,38235
	<b>2,18670</b>		

\* 100 gram bitkiden elde edilen ekstre miktarı, \*\* Ekstre içerisindeki izokersitrin miktarının % değeri ( $e = (x / \text{Konsantrasyon}) * 100$ ), \*\*\*e'lerin standart sapması

<b>h* (%)</b>	<b>h<sub>ort</sub></b>	<b>SD **</b>
0,28123		
0,25192	<b>0,30382</b>	<b>0,06615</b>
0,37830		

\* Bitki içerisindeki % izokersitrin miktarı ( $h = \text{ekstre verimi} * e / 100$ ), \*\* h'ların standart sapması

***Hypericum neurocalycinum* ekstresine ait kromatogramlar ve değerler:****Şekil 4-76:** *H. neurocalycinum*, izokersitrin pikinin görüldüğü LC kromatogramı



Şekil 4-77: *H. neurocalycinum*, izokersitrin pikine ait UV kromatogramı

Tablo 4-46: *H. neurocalycinum* türünün içerdiği izokersitrin miktarı hesaplamaları

Konsantrasyon* (mg/ml)	Alan	x** (mg/ml)
	582552	0,03508
5	662632	0,03987
	592945	0,03570

\* Enjekte edilen numunenin konsantrasyonu

\*\* 1 ml enjekte edilen numune içerisindeki izokersitrin miktarının mg cinsinden değeri

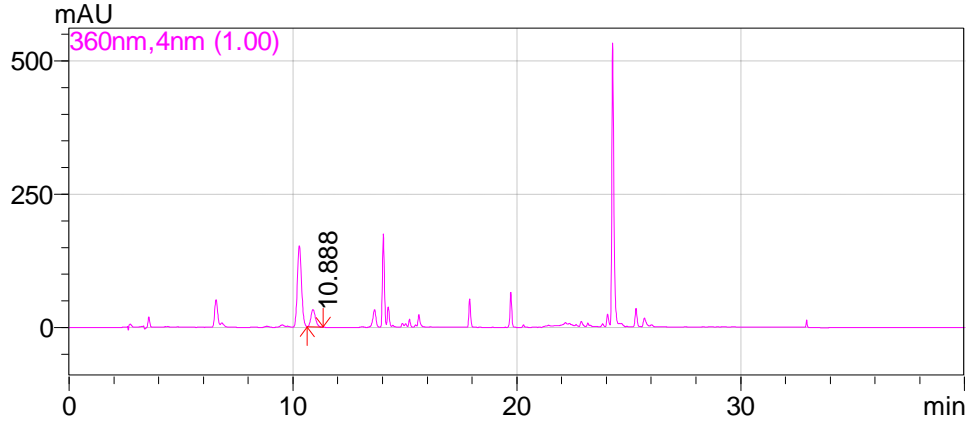
Ekstre Verimi* (%)	e** (%)	e <sub>ort</sub>	SD***
	<b>0,70164</b>		
16,5	<b>0,79748</b>	0,73773	0,05211
	<b>0,71408</b>		

\* 100 gram bitkiden elde edilen ekstre miktarı, \*\* Ekstre içerisindeki izokersitrin miktarının % değeri ( $e = (x / \text{Konsantrasyon}) * 100$ ), \*\*\*e'lerin standart sapması

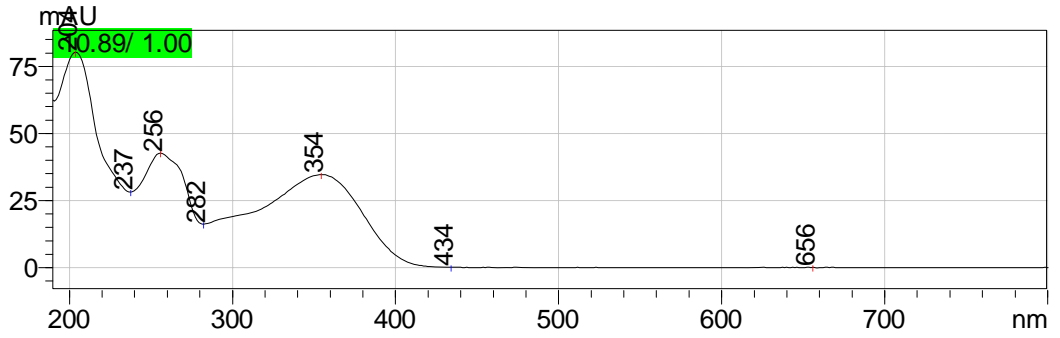
h* (%)	h <sub>ort</sub>	SD **
0,11577		
0,13158	<b>0,12173</b>	<b>0,00860</b>
0,11782		

\* Bitki içerisindeki % izokersitrin miktarı ( $h = \text{ekstre verimi} * e / 100$ ), \*\* h'ların standart sapması

***Hypericum malatyanum* ekstresine ait kromatogramlar ve değerler:**



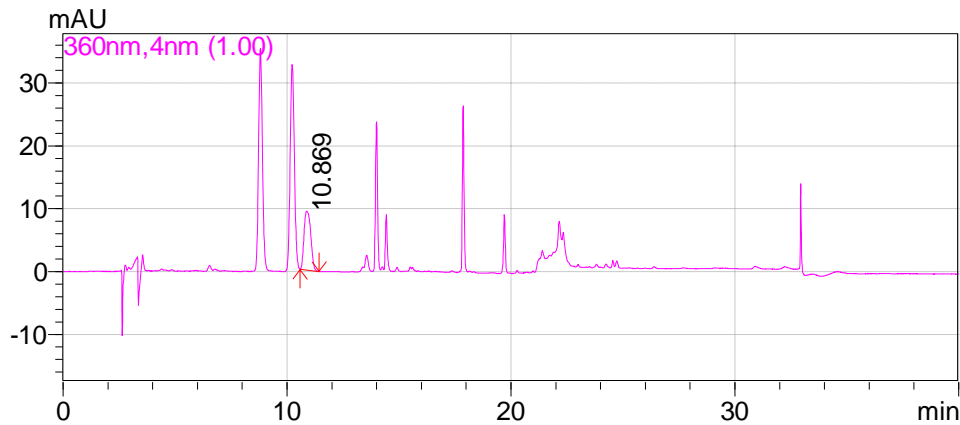
**Şekil 4-78:** *H. malatyanum*, izokersitrin pikinin görüldüğü LC kromatogramı

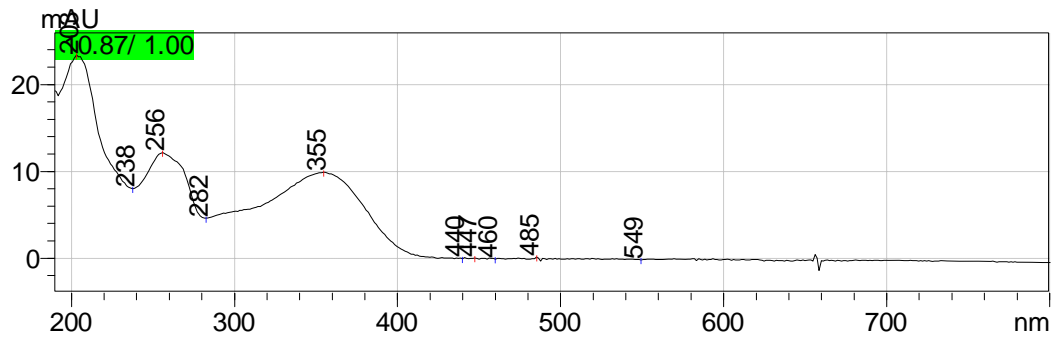


**Şekil 4-79:** *H. malatyanum*, izokersitrin pikine ait UV kromatogramı

**Tablo 4-47:** *H. malatyanum* türünün içerdiği izokersitrin miktarı hesaplamaları

<b>Konsantrasyon*</b> <b>(mg/ml)</b>	<b>Alan</b>	<b>x**</b> <b>(mg/ml)</b>	
3	454059	0,02739	
	401819	0,02427	
	423583	0,02557	
* Enjekte edilen numunenin konsantrasyonu			
** 1 ml enjekte edilen numune içerisindeki izokersitrin miktarının mg cinsinden değeri			
<b>Ekstre Verimi* (%)</b>	<b>e** (%)</b>	<b>e<sub>ort</sub></b>	<b>SD***</b>
23,3	<b>0,91310</b>	0,85810	0,05234
	<b>0,80890</b>		
	<b>0,85230</b>		
* 100 gram bitkiden elde edilen ekstre miktarı, ** Ekstre içerisindeki izokersitrin miktarının % değeri ( $e = (x / \text{Konsantrasyon}) * 100$ ), ***e'lerin standart sapması			
<b>h* (%)</b>	<b>h<sub>ort</sub></b>	<b>SD **</b>	
0,21275	<b>0,19994</b>	<b>0,01220</b>	
0,18847			
0,19859			
* Bitki içerisindeki % izokersitrin miktarı ( $h = \text{ekstre verimi} * e / 100$ ), ** h'ların standart sapması			

***Hypericum perforatum* ekstresine ait kromatogramlar ve değerler:****Şekil 4-80:** *H. perforatum*, izokersitrin pikinin görüldüğü LC kromatogramı



Şekil 4-81: *H. perforatum*, izokersitrin pikine ait UV kromatogramı

Tablo 4-48: *H. perforatum* türünün içerdiği izokersitrin miktarı hesaplamaları

Konsantrasyon* (mg/ml)	Alan	x** (mg/ml)
1	195083	0,01190
	270411	0,01640
	249096	0,01513

\* Enjekte edilen numunenin konsantrasyonu

\*\* 1 ml enjekte edilen numune içerisindeki izokersitrin miktarının mg cinsinden değeri

Ekstre Verimi* (%)	e** (%)	e <sub>ort</sub>	SD***
26,8	1,18960	1,44757	0,23232
	1,64030		
	1,51280		

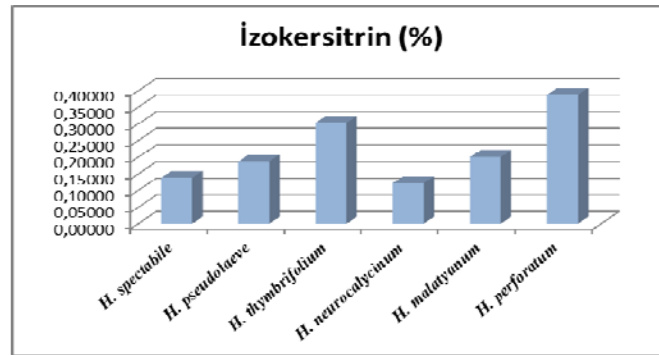
\* 100 gram bitkiden elde edilen ekstre miktarı, \*\* Ekstre içerisindeki izokersitrin miktarının % değeri ( $e = (x / \text{Konsantrasyon}) * 100$ ), \*\*\*e'lerin standart sapması

h* (%)	h <sub>ort</sub>	SD **
0,31881	0,38795	0,06226
0,43960		
0,40543		

\* Bitki içerisindeki % izokersitrin miktarı ( $h = \text{ekstre verimi} * e / 100$ ), \*\* h'ların standart sapması

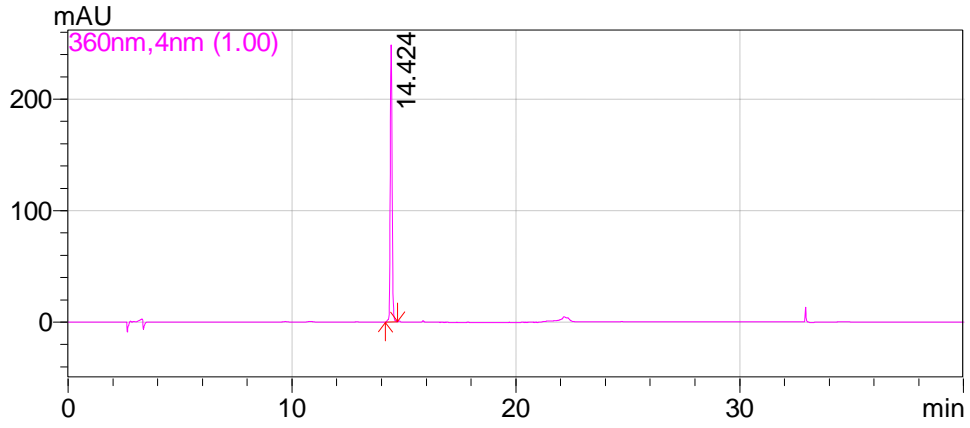
**Tablo 4-49:** Analizi yapılan örneklerin izokersitrin yüzdeleri

	<b>% İzokersitrin</b>
<i>H. spectabile</i>	0,13867
<i>H. pseudolaeve</i>	0,18686
<i>H. thymbrifolium</i>	0,30382
<i>H. neurocalycinum</i>	0,12173
<i>H. malatyanum</i>	0,19994
<i>H. perforatum</i>	0,38795

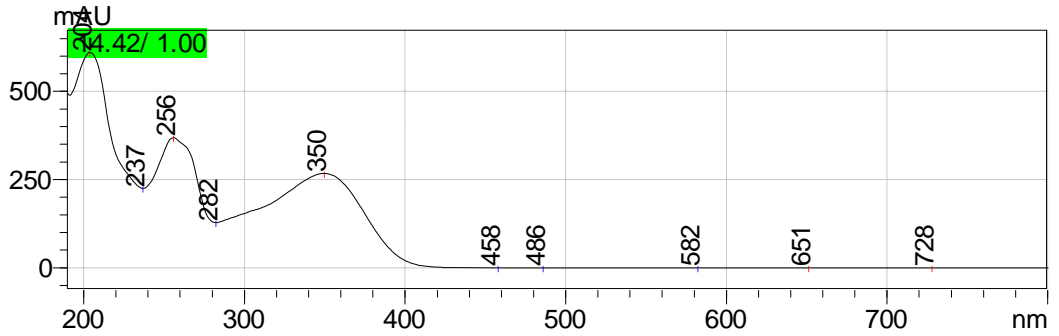
**Şekil 4-82:** *Hypericum* türlerinin izokersitrin içerikleri açısından karşılaştırılması

#### 4.1.3.5. YBSK ile Kersitrin Miktar Tayini Sonuçları

Bölüm 3.2.1.3.'de anlatıldığı gibi hazırlanan kersitrin standartı 5 farklı konsantrasyonda 3 örnek olarak kolona enjekte edildi. Kromatogramların değerlendirilmesinde otomatik olarak YBSK cihazının hesapladığı pik alanı değerleri kullanıldı. Kolona enjekte edilen standart kersitrin retansiyon zamanı 14,424 dakika olarak belirlendi. Kersitrin standartına ait kromatogramlar (Şekil 4-83 ve Şekil 4-84), konsantrasyon ve pik alanı değerleri (Tablo 4-50) aşağıda gösterilmiştir.



Şekil 4-83: Kersitrin standartına ait LC kromatogramı

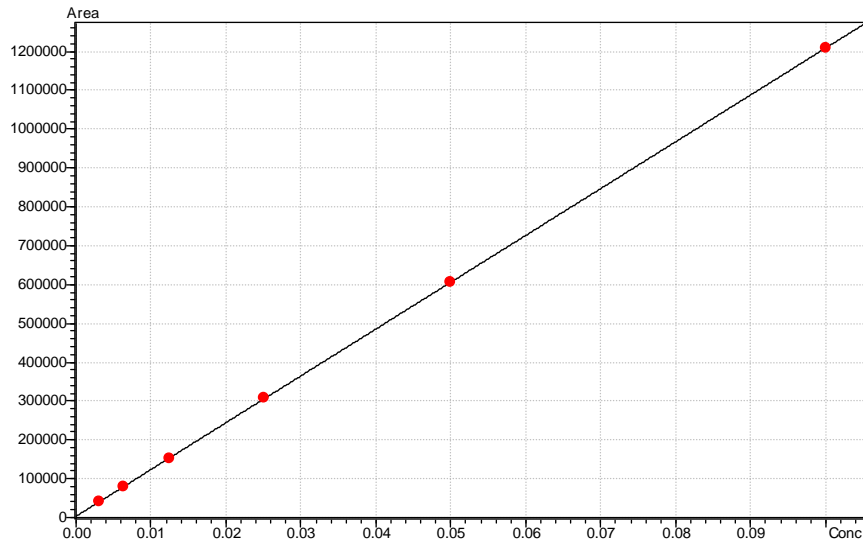


Şekil 4-84: Kersitrin standartına ait UV kromatogramı

**Tablo 4-50:** Kersitrin standartına ait konsantrasyon-pik alanı şeması

Konsantrasyon	Ortalama Alan	Standart Sapma	%RSD	Alan-1	Alan-2	Alan-3
0,10000	1207716	412836,5	34,18324	1429456	1462301	731391
0,05000	607708	201993,1	33,23851	729532	719047	374545
0,02500	306948	104791,2	34,13969	366884	368013	185948
0,01250	150911	46945,17	31,10795	175611	180349	96772
0,00625	80061	25613,56	31,99260	89821	99360	51002

Bu değerler esas alınarak kersitrin standartına ait ölçü eğrisi hazırlanmış ve doğru denklemi belirlenmiştir (Şekil 4-85).

**Şekil 4-85:** Kersitrin standartına ait ölçü eğrisi**Hesaplanan doğru denklemi:**

$$y = 1,205178e+007x - 3518,974$$

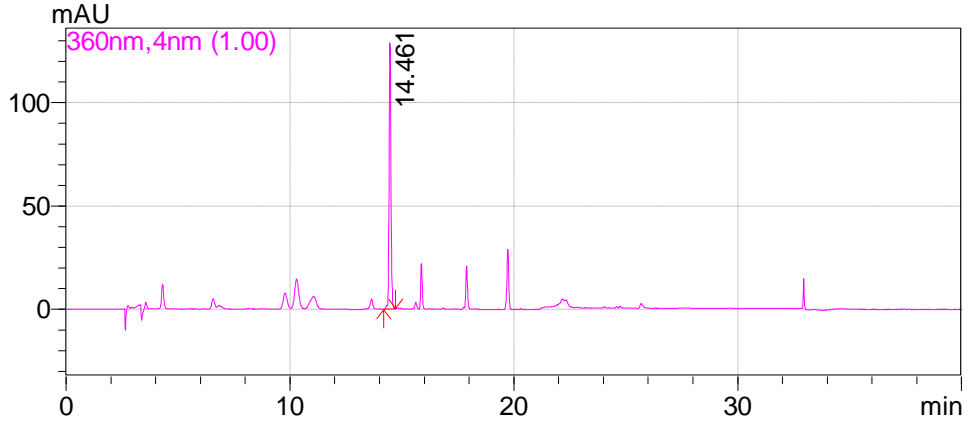
$$r^2 = 0,9999$$

$$r = 0,9999$$

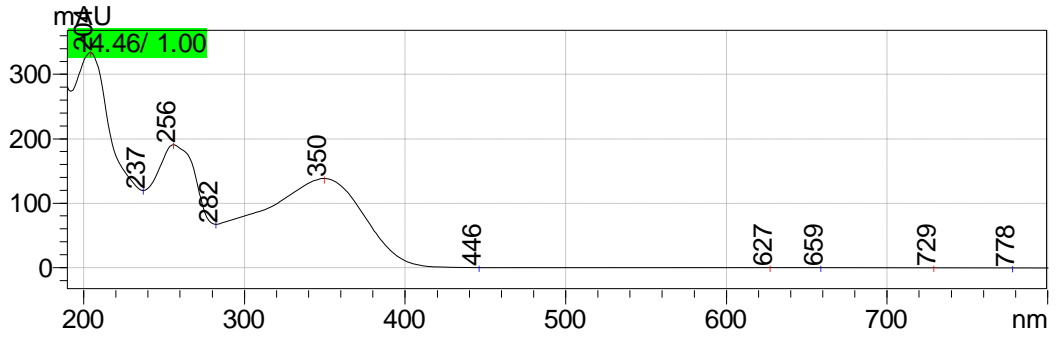
Kersitrin standartı ile doğru denklemi belirlendikten sonra Bölüm 3.2.1.2.'de anlatıldığı gibi droglardan hazırlanan ekstreler kolona enjekte edildi. Ekstrelelere ait kromatogramlar aşağıda gösterilmiştir.



***Hypericum spectabile* ekstresine ait kromatogramlar ve değerler:**



**Şekil 4-86:** *H. spectabile*, kersitrin pikinin görüldüğü ait LC kromatogramı



**Şekil 4-87:** *H. spectabile*, kersitrin pikine ait UV kromatogramı

**Tablo 4-51:** *H. spectabile* türünün içerdiği kersitrin miktarı hesaplamaları

Konsantrasyon* (mg/ml)	Alan	x** (mg/ml)
1	744404	0,06148
	754053	0,06228
	695537	0,05742

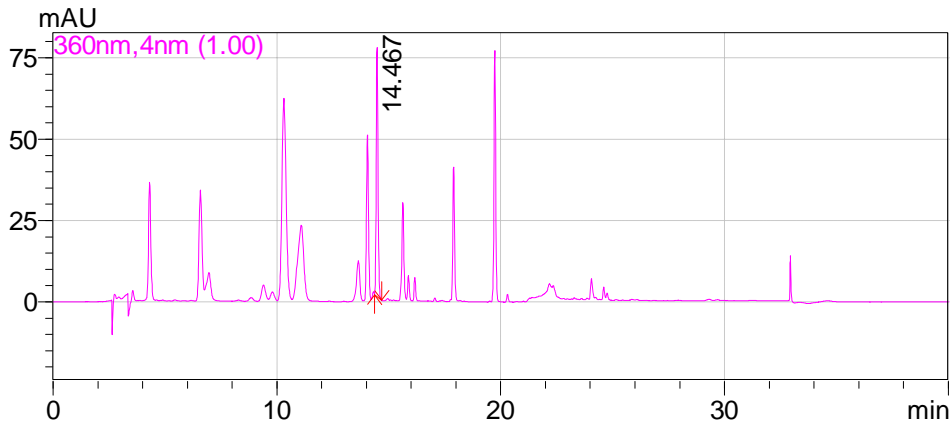
\* Enjektte edilen numunenin konsantrasyonu

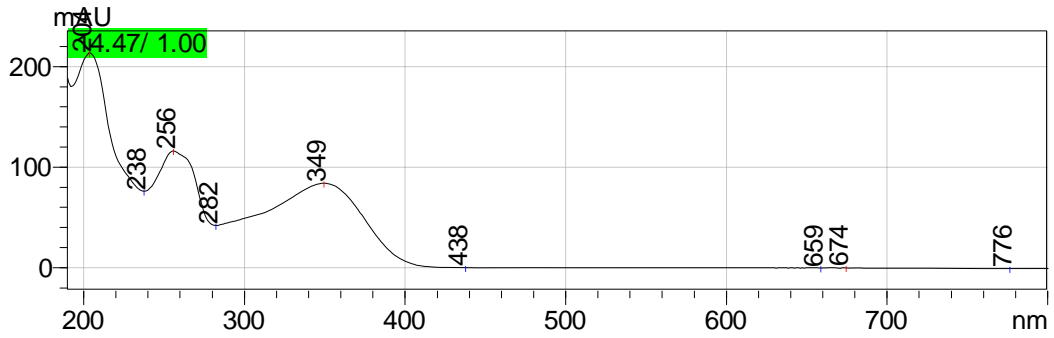
\*\* 1 ml enjektte edilen numune içerisindeki kersitrin miktarının mg cinsinden değeri

Ekstre Verimi* (%)	e** (%)	e <sub>ort</sub>	SD***
21,3	6,14750	6,03903	0,26034
	6,22760		
	5,74200		

\* 100 gram bitkiden elde edilen ekstre miktarı, \*\* Ekstre içerisindeki kersitrin miktarının % değeri ( $e = (x / \text{Konsantrasyon}) * 100$ ), \*\*\*e'lerin standart sapması

h* (%)	h <sub>ort</sub>	SD **
1,30942	1,28631	0,05545
1,32648		
1,22305		

\* Bitki içerisindeki % kersitrin miktarı ( $h = \text{ekstre verimi} * e / 100$ ), \*\* h'ların standart sapması***Hypericum pseudolaeve* ekstresine ait kromatogramlar ve değerler:****Şekil 4-88:** *H. pseudolaeve*, kersitrin pikinin görüldüğü LC kromatogramı



Şekil 4-89: *H. pseudolaeve*, kersitrin pikine ait UV kromatogramı

Tablo 4-52: *H. pseudolaeve* türünün içerdiği kersitrin miktarı hesaplamaları

Konsantrasyon* (mg/ml)	Alan	x** (mg/ml)
	436707	0,03594
2	481716	0,03968
	358667	0,02947

\* Enjekte edilen numunenin konsantrasyonu

\*\* 1 ml enjekte edilen numune içerisindeki kersitrin miktarının mg cinsinden değeri

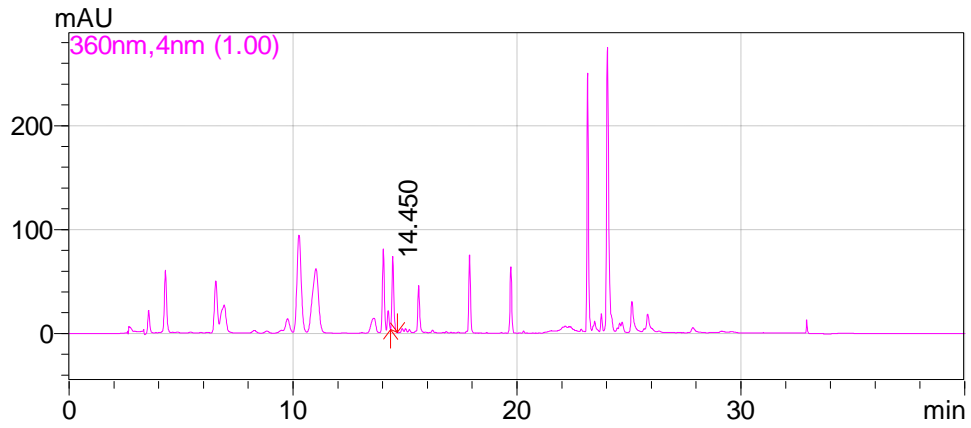
Ekstre Verimi* (%)	e** (%)	e <sub>ort</sub>	SD***
	1,79720		
14,9	1,98395	1,75153	0,25830
	1,47345		

\* 100 gram bitkiden elde edilen ekstre miktarı, \*\* Ekstre içerisindeki kersitrin miktarının % değeri ( $e = (x / \text{Konsantrasyon}) * 100$ ), \*\*\*e'lerin standart sapması

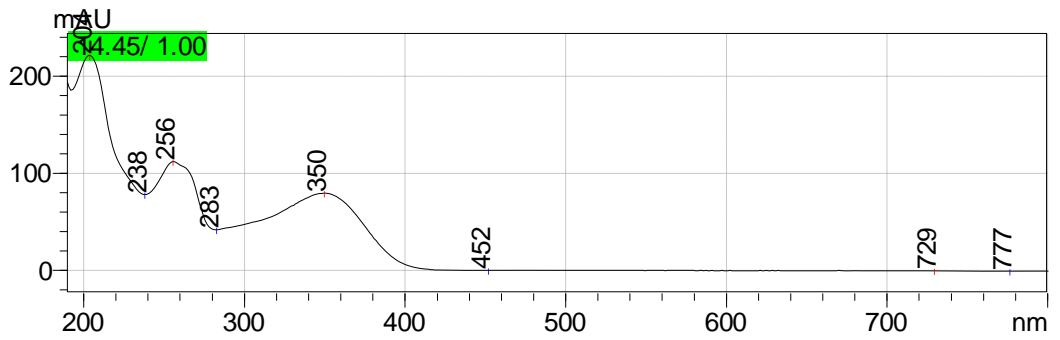
h* (%)	h <sub>ort</sub>	SD **
0,26778		
0,29561	0,26098	0,03849
0,21954		

\* Bitki içerisindeki % kersitrin miktarı ( $h = \text{ekstre verimi} * e / 100$ ), \*\* h'ların standart sapması

***Hypericum thymbrifolium* ekstresine ait kromatogramlar ve değerler:**



**Şekil 4-90:** *H. thymbrifolium*, kersitrin pikinin görüldüğü LC kromatogramı



**Şekil 4-91:** *H. thymbrifolium*, kersitrin pikine ait UV kromatogramı

**Tablo 4-53:** *H. thymbrifolium* türünün içerdiği kersitrin miktarı hesaplamaları

Konsantrasyon* (mg/ml)	Alan	x** (mg/ml)
4	401600	0,033031
	469467	0,038662
	437885	0,036042

\* Enjektte edilen numunenin konsantrasyonu  
\*\* 1 ml enjektte edilen numune içerisindeki kersitrin miktarının mg cinsinden değeri

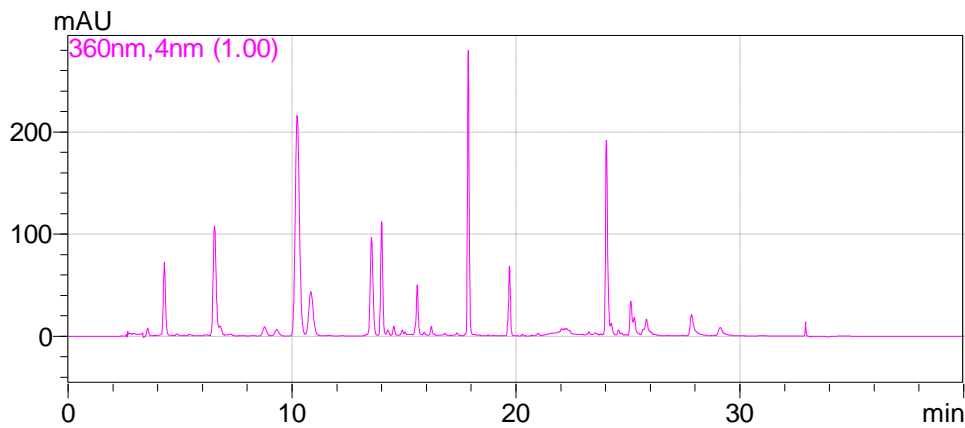
Ekstre Verimi* (%)	e** (%)	e <sub>ort</sub>	SD***
17,3	0,82578		
	0,96655	0,89779	0,07044
	0,90105		

\* 100 gram bitkiden elde edilen ekstre miktarı, \*\* Ekstre içerisindeki kersitrin miktarının % değeri ( $e = (x / \text{Konsantrasyon}) * 100$ ), \*\*\*e'lerin standart sapması

h* (%)	h <sub>ort</sub>	SD **
0,14286		
0,16721	0,15532	0,01219
0,15588		

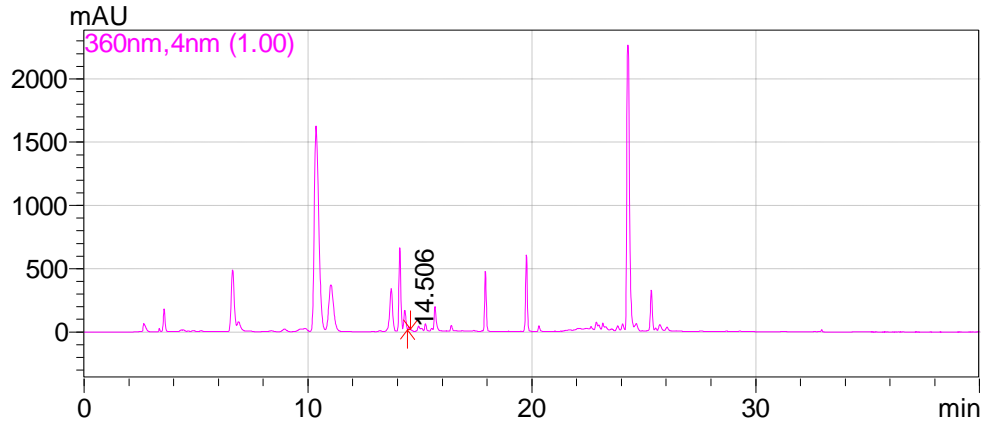
\* Bitki içerisindeki % kersitrin miktarı ( $h = \text{ekstre verimi} * e / 100$ ), \*\* h'ların standart sapması

### *Hypericum neurocalycinum* ekstresine ait kromatogramlar ve değerler:

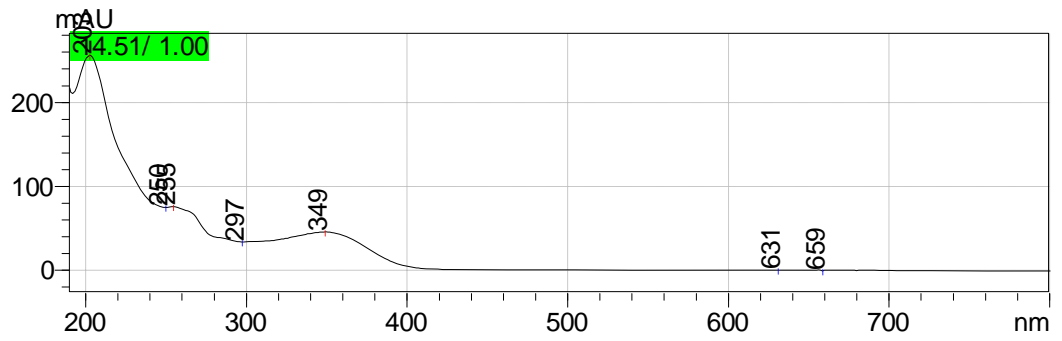
**Şekil 4-92:** *H. neurocalycinum*, metanol ekstresine ait LC kromatogramı

*H. neurocalycinum* ekstresinde kersitrin standartı ile aynı retansiyon zamanına ve aynı UV değerlerine sahip bir pik saptanmamıştır.

***Hypericum malatyanum* ekstresine ait kromatogramlar ve değerler:**



**Şekil 4-93:** *H. malatyanum*, kersitrin pikinin görüldüğü LC kromatogramı



**Şekil 4-94:** *H. malatyanum*., kersitrin pikine ait UV kromatogramı

**Tablo 4-54:** *H. malatyanum* türünün içerdiği kersitrin miktarı hesaplamaları

<b>Konsantrasyon*</b> <b>(mg/ml)</b>	<b>Alan</b>	<b>x**</b> <b>(mg/ml)</b>
	87991	0,00701
20	86900	0,00692
	74783	0,00591

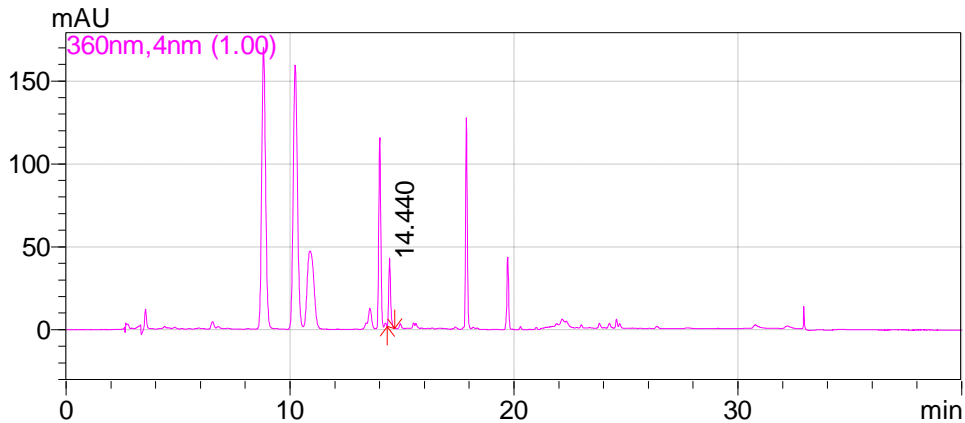
\* Enjektte edilen numunenin konsantrasyonu  
\*\* 1 ml enjektte edilen numune içerisindeki kersitrin miktarının mg cinsinden değeri

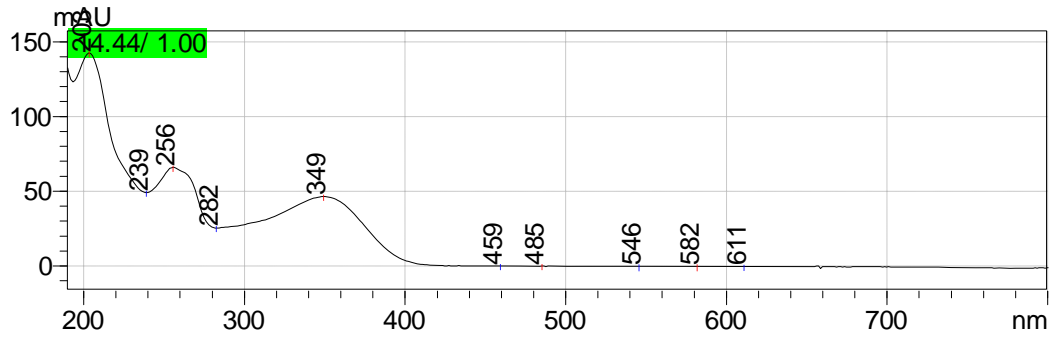
<b>Ekstre Verimi* (%)</b>	<b>e** (%)</b>	<b>e<sub>ort</sub></b>	<b>SD***</b>
	<b>0,03505</b>		
23,3	<b>0,03460</b>	0,03307	0,00304
	<b>0,02957</b>		

\* 100 gram bitkiden elde edilen ekstre miktarı, \*\* Ekstre içerisindeki kersitrin miktarının % değeri ( $e = (x / \text{Konsantrasyon}) * 100$ ), \*\*\*e'lerin standart sapması

<b>h* (%)</b>	<b>h<sub>ort</sub></b>	<b>SD **</b>
0,00817		
0,00806	<b>0,00770</b>	<b>0,00071</b>
0,00689		

\* Bitki içerisindeki % kersitrin miktarı ( $h = \text{ekstre verimi} * e / 100$ ), \*\* h'ların standart sapması

***Hypericum perforatum* ekstresine ait kromatogramlar ve değerler:****Şekil 4-95:** *H. perforatum*, kersitrin pikinin görüldüğü LC kromatogramı



Şekil 4-96: *H. perforatum*, kersitrin pikine ait UV kromatogramı

Tablo 4-55: *H. perforatum* türünün içerdiği kersitrin miktarı hesaplamaları

Konsantrasyon* (mg/ml)	Alan	x** (mg/ml)
	240009	0,01962
4	239051	0,01954
	259386	0,02123

\* Enjekte edilen numunenin konsantrasyonu

\*\* 1 ml enjekte edilen numune içerisindeki kersitrin miktarının mg cinsinden değeri

Ekstre Verimi* (%)	e** (%)	e <sub>ort</sub>	SD***
	<b>0,49058</b>		
26,8	<b>0,48858</b>	0,50331	0,02381
	<b>0,53078</b>		

\* 100 gram bitkiden elde edilen ekstre miktarı, \*\* Ekstre içerisindeki kersitrin miktarının % değeri ( $e = (x / \text{Konsantrasyon}) * 100$ ), \*\*\*e'lerin standart sapması

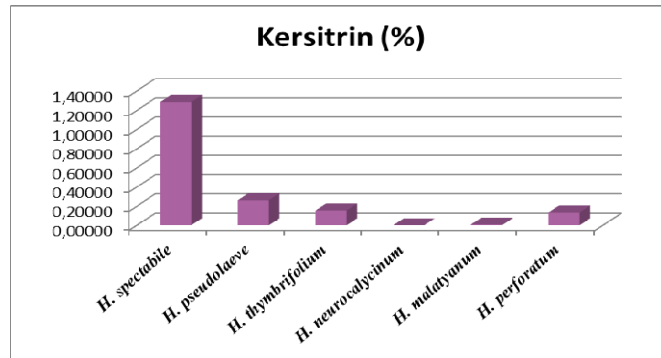
h* (%)	h <sub>ort</sub>	SD **
0,13147		
0,13094	<b>0,13489</b>	<b>0,00638</b>
0,14225		

\* Bitki içerisindeki % kersitrin miktarı ( $h = \text{ekstre verimi} * e / 100$ ), \*\* h'ların standart sapması



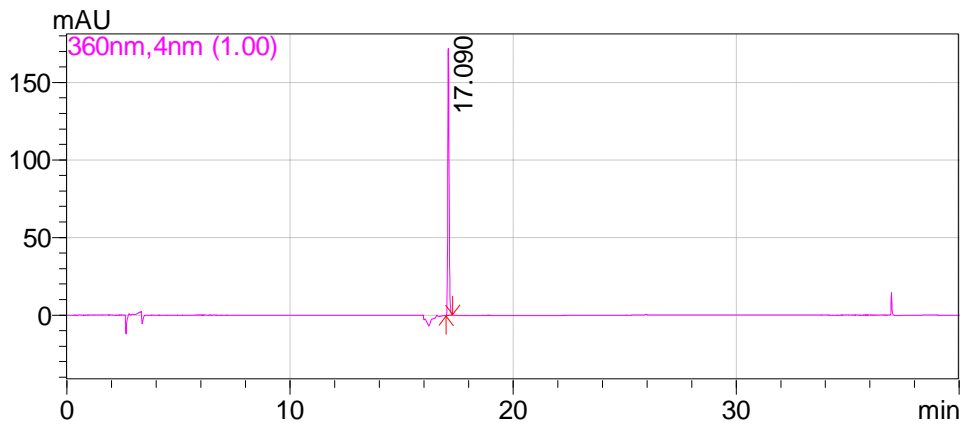
**Tablo 4-56:** Analizi yapılan örneklerin kersitrin yüzdeleri

	<b>% Kersitrin</b>
<i>H. spectabile</i>	1,28631
<i>H. pseudolaeve</i>	0,26098
<i>H. thymbrifolium</i>	0,15532
<i>H. neurocalycinum</i>	-
<i>H. malatyanum</i>	0,00770
<i>H. perforatum</i>	0,13489

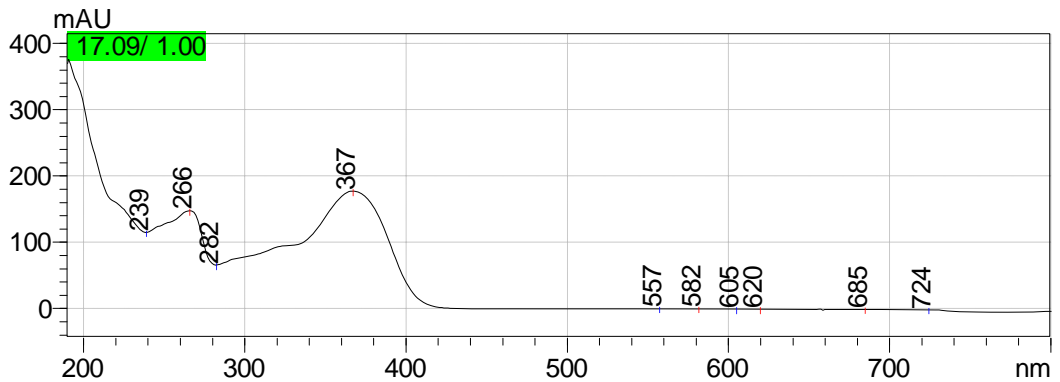
**Şekil 4-97:** *Hypericum* türlerinin kersitrin içerikleri açısından karşılaştırılması

#### 4.1.3.6. YBSK ile Kempferol Miktar Tayini Sonuçları

Bölüm 3.2.1.3.'de anlatıldığı gibi hazırlanan kempferol standartı 6 farklı konsantrasyonda 3 örnek olarak kolona enjekte edildi. Kromatogramların değerlendirilmesinde otomatik olarak YBSK cihazının hesapladığı pik alanı değerleri kullanıldı. Kolona enjekte edilen standart kempferol retansiyon zamanı 17,090 dakika olarak belirlendi. Kempferol standartına ait kromatogramlar (Şekil 4-98 ve Şekil 4-99), konsantrasyon ve pik alanı değerleri (Tablo 4-57) aşağıda gösterilmiştir.



Şekil 4-98: Kempferol standartına ait LC kromatogramı

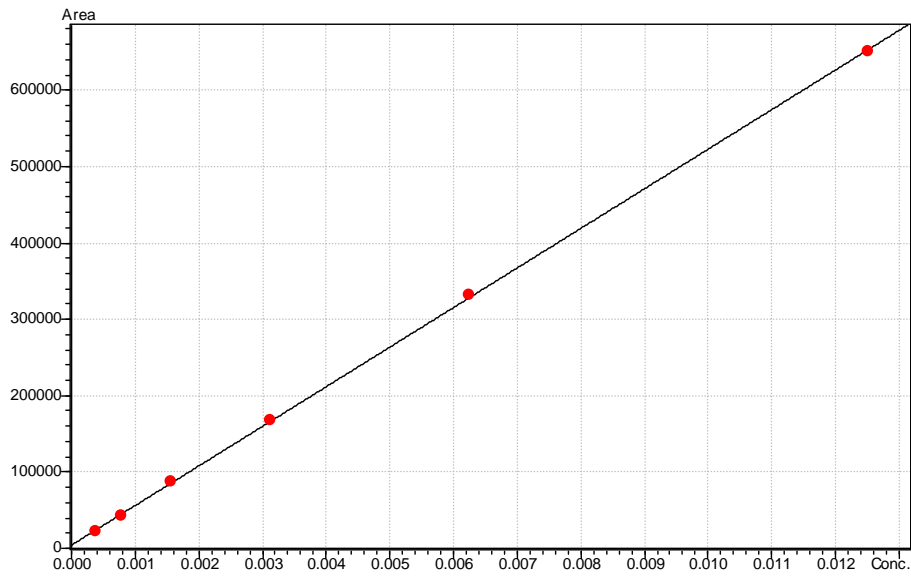


Şekil 4-99: Kempferol standartına ait UV kromatogramı

Tablo 4-57: Kempferol standartına ait konsantrasyon-pik alanı şeması

Konsantrasyon	Ortalama Alan	Standart Sapma	%RSD	Alan-1	Alan-2	Alan-3
0,0125000	650203	93952,97	14,44978	745571	557733	647306
0,0062500	331743	48757,13	14,69727	383384	286502	325343
0,0031250	168217	28954,51	17,21263	200362	144183	160105
0,0015625	87219	12191,58	13,97812	101066	78096	82496
0,0007800	42683	7,470736	17,50281	50268	35332	42450
0,0003900	21810	2,363420	10,83628	24390	19750	21290

Bu değerler esas alınarak kempferol standartına ait ölçü eğrisi hazırlanmış ve doğru denklemi belirlenmiştir (Şekil 4-100).



Şekil 4-100: Kempferol standartına ait ölçü eğrisi

**Hesaplanan doğru denklemi:**

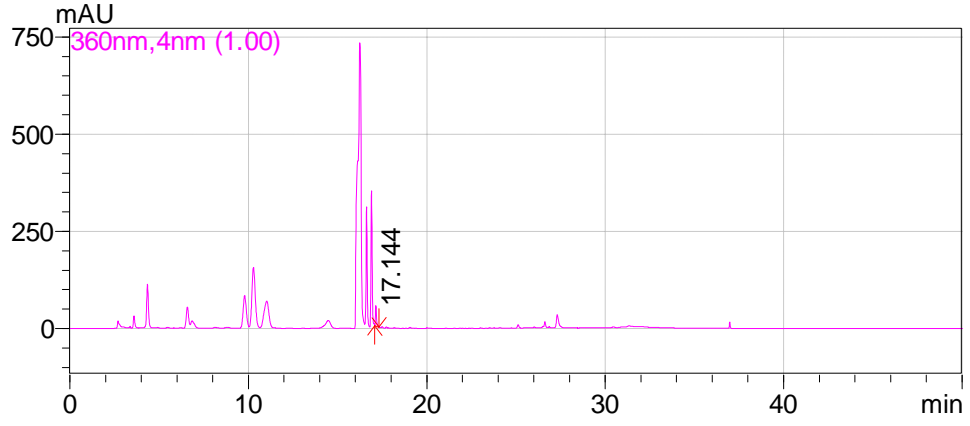
$$y = 5,183916e+007x + 4373,856$$

$$r^2 = 0,9999$$

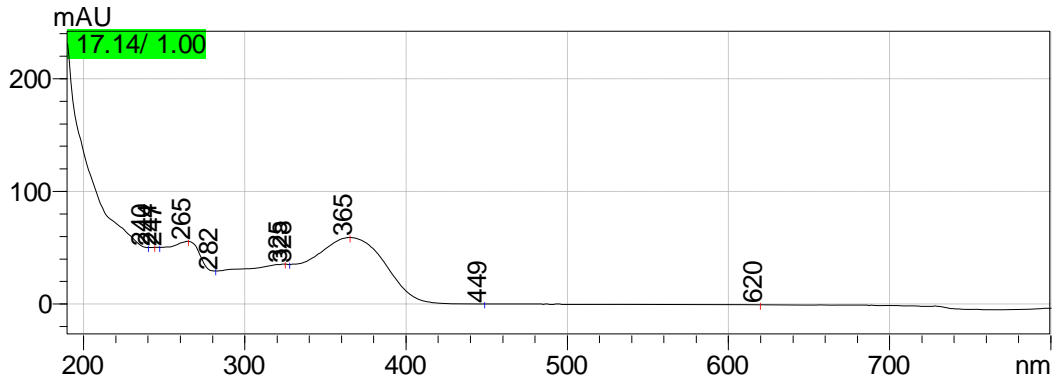
$$r = 0,9999$$

Kempferol standartı ile doğru denklemi belirlendikten sonra Bölüm 3.2.1.2.'de anlatıldığı gibi droglardan hazırlanan ekstreler kolona enjekte edildi. Ekstrelelere ait kromatogramlar aşağıda gösterilmiştir.

***Hypericum spectabile* ekstresine ait kromatogramlar ve değerler:**



**Şekil 4-101:** *H. spectabile*, kempferol pikinin görüldüğü LC kromatogramı



**Şekil 4-102:** *H. spectabile*, kempferol pikine ait UV kromatogramı

**Tablo 4-58:** *H. spectabile* türünün içerdiği kempferol miktarı hesaplamaları

Konsantrasyon* (mg/ml)	Alan	x** (mg/ml)
	223501	0,00423
10	188091	0,00354
	189166	0,00357

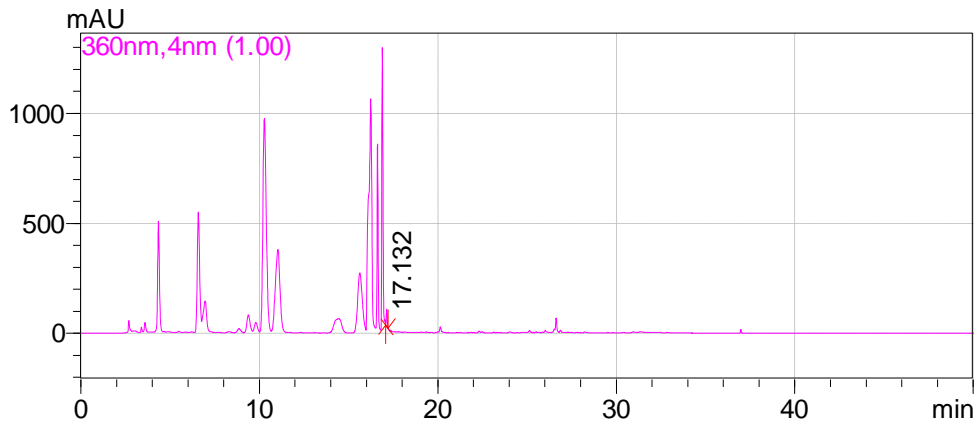
\* Enjektte edilen numunenin konsantrasyonu

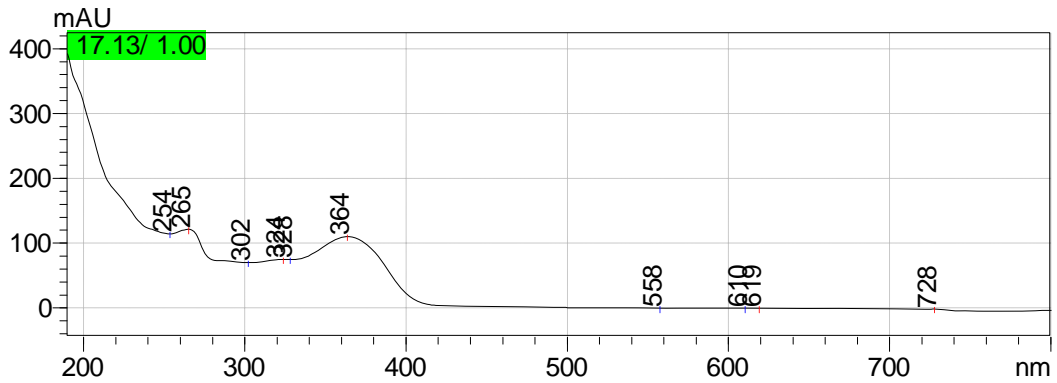
\*\* 1 ml enjektte edilen numune içerisindeki kempferol miktarının mg cinsinden değeri

Ekstre Verimi* (%)	e** (%)	e <sub>ort</sub>	SD***
	<b>0,04227</b>		
21,3	<b>0,03544</b>	0,03779	0,00388
	<b>0,03565</b>		

\* 100 gram bitkiden elde edilen ekstre miktarı, \*\* Ekstre içerisindeki kempferol miktarının % değeri ( $e = (x / \text{Konsantrasyon}) * 100$ ), \*\*\*e'lerin standart sapması

h* (%)	h <sub>ort</sub>	SD **
0,00900		
0,00755	<b>0,00805</b>	<b>0,00083</b>
0,00759		

\* Bitki içerisindeki % kempferol miktarı ( $h = \text{ekstre verimi} * e / 100$ ), \*\* h'ların standart sapması***Hypericum pseudolaeve* ekstresine ait kromatogramlar ve değerler:****Şekil 4-103:** *H. pseudolaeve*, kempferol pikinin görüldüğü LC kromatogramı

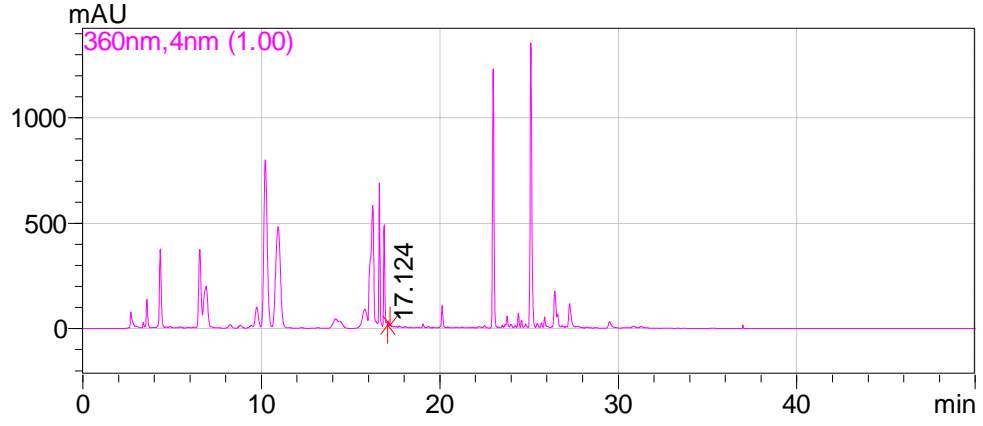


Şekil 4-104: *H. pseudolaeye*, kempferol pikine ait UV kromatogramı

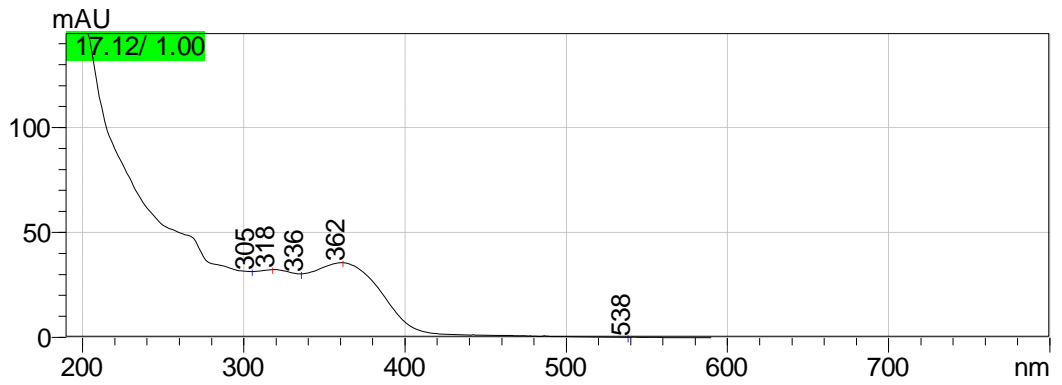
Tablo 4-59: *H. pseudolaeye* türünün içerdiği kempferol miktarı hesaplamaları

Konsantrasyon* (mg/ml)	Alan	x** (mg/ml)	
20	281671	0,005349	
	247584	0,004692	
	226978	0,004294	
* Enjekte edilen numunenin konsantrasyonu			
** 1 ml enjekte edilen numune içerisindeki kempferol miktarının mg cinsinden değeri			
Ekstre Verimi* (%)	e** (%)	e <sub>ort</sub>	SD***
14,9	0,02675	0,02389	0,00266
	0,02346		
	0,02147		
* 100 gram bitkiden elde edilen ekstre miktarı, ** Ekstre içerisindeki kempferol miktarının % değeri ( $e = (x / \text{Konsantrasyon}) * 100$ ), ***e'lerin standart sapması			
h* (%)	h <sub>ort</sub>	SD **	
0,00399	0,00356	0,00040	
0,00350			
0,00320			
* Bitki içerisindeki % kempferol miktarı ( $h = \text{ekstre verimi} * e / 100$ ), ** h'ların standart sapması			

***Hypericum thymbrifolium* ekstresine ait kromatogramlar ve değerler:**



**Şekil 4-105:** *H. thymbrifolium*, kempferol pikinin görüldüğü LC kromatogramı



**Şekil 4-106:** *H. thymbrifolium*, kempferol pikine ait UV kromatogramı

**Tablo 4-60:** *H. thymbrifolium* türünün içerdiği kempferol miktarı hesaplamaları

<b>Konsantrasyon*</b> <b>(mg/ml)</b>	<b>Alan</b>	<b>x**</b> <b>(mg/ml)</b>
30	70669	0,00128
	65113	0,00117
	66255	0,00119

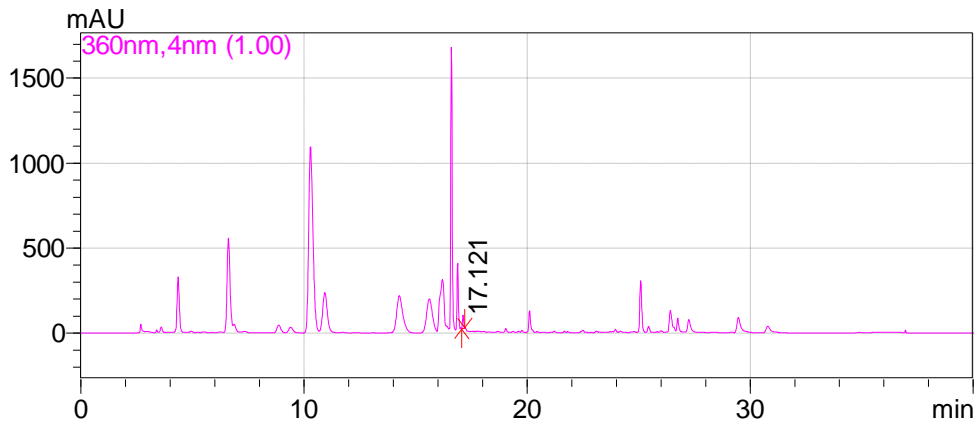
\* Enjektte edilen numunenin konsantrasyonu  
\*\* 1 ml enjektte edilen numune içerisindeki kempferol miktarının mg cinsinden değeri

<b>Ekstre Verimi* (%)</b>	<b>e** (%)</b>	<b>e<sub>ort</sub></b>	<b>SD***</b>
17,3	<b>0,00426</b>	0,00405	0,00019
	<b>0,00391</b>		
	<b>0,00398</b>		

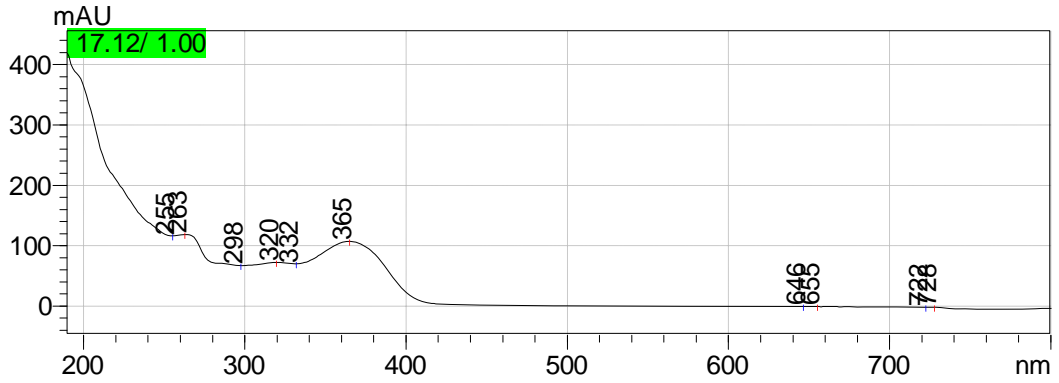
\* 100 gram bitkiden elde edilen ekstre miktarı, \*\* Ekstre içerisindeki kempferol miktarının % değeri ( $e = (x / \text{Konsantrasyon}) * 100$ ), \*\*\*e'lerin standart sapması

<b>h* (%)</b>	<b>h<sub>ort</sub></b>	<b>SD **</b>
0,00074	<b>0,00070</b>	<b>0,00003</b>
0,00068		
0,00069		

\* Bitki içerisindeki % kempferol miktarı ( $h = \text{ekstre verimi} * e / 100$ ), \*\* h'ların standart sapması

***Hypericum neurocalycinum* ekstresine ait kromatogramlar ve değerler:****Şekil 4-107:** *H. neurocalycinum*, kempferol pikinin görüldüğü LC kromatogramı





Şekil 4-108: *H. neurocalycinum*, kempferol pikine ait UV kromatogramı

Tablo 4-61: *H. neurocalycinum* türünün içerdiği kempferol miktarı hesaplamaları

Konsantrasyon* (mg/ml)	Alan	x** (mg/ml)
20	293784	0,00558
	316305	0,00602
	311468	0,00592

\* Enjekte edilen numunenin konsantrasyonu

\*\* 1 ml enjekte edilen numune içerisindeki kempferol miktarının mg cinsinden değeri

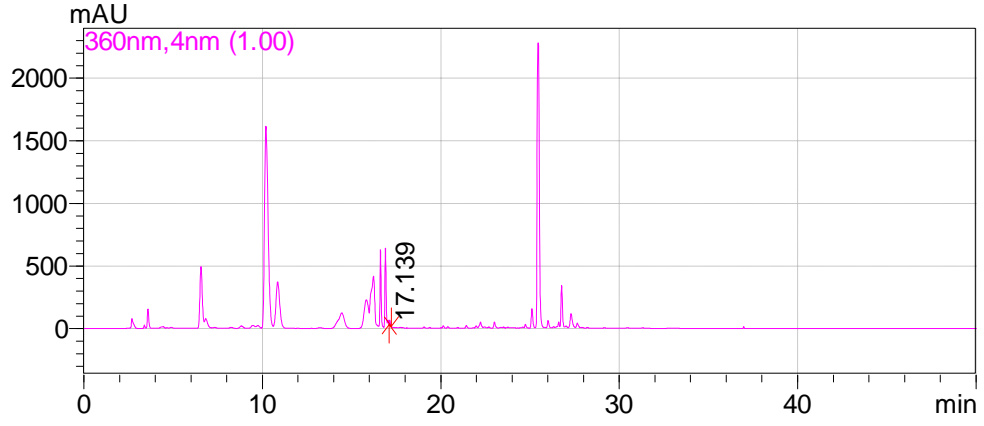
Ekstre Verimi* (%)	e** (%)	e <sub>ort</sub>	SD***
16,5	0,02792	0,02921	0,00114
	0,03009		
	0,02962		

\* 100 gram bitkiden elde edilen ekstre miktarı, \*\* Ekstre içerisindeki kempferol miktarının % değeri ( $e = (x / \text{Konsantrasyon}) * 100$ ), \*\*\*e'lerin standart sapması

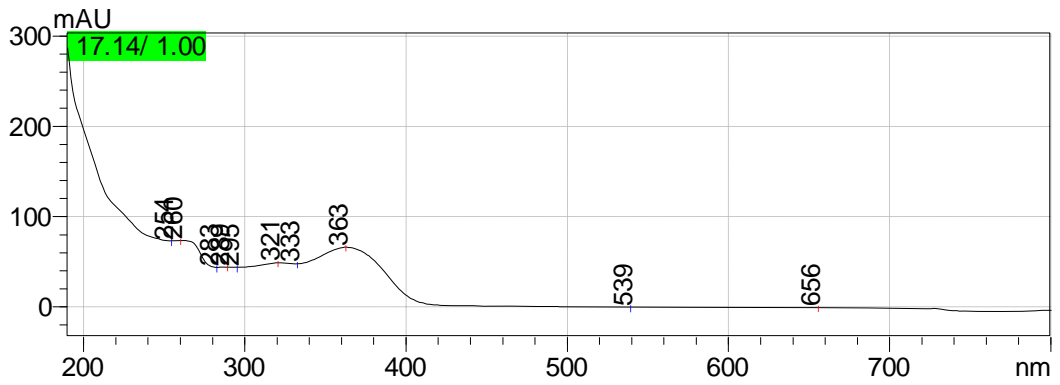
h* (%)	h <sub>ort</sub>	SD **
0,00461	0,00482	0,00019
0,00496		
0,00489		

\* Bitki içerisindeki % kempferol miktarı ( $h = \text{ekstre verimi} * e / 100$ ), \*\* h'ların standart sapması

***Hypericum malatyanum* ekstresine ait kromatogramlar ve değerler:**



**Şekil 4-109:** *H. malatyanum*, kempferol pikinin görüldüğü LC kromatogramı



**Şekil 4-110:** *H. malatyanum*, kempferol pikine ait LC kromatogramı

**Tablo 4-62:** *H. malatyanum* türünün içerdiği kempferol miktarı hesaplamaları

<b>Konsantrasyon*</b> <b>(mg/ml)</b>	<b>Alan</b>	<b>x**</b> <b>(mg/ml)</b>
	133209	0,00249
30	134721	0,00251
	121572	0,00226

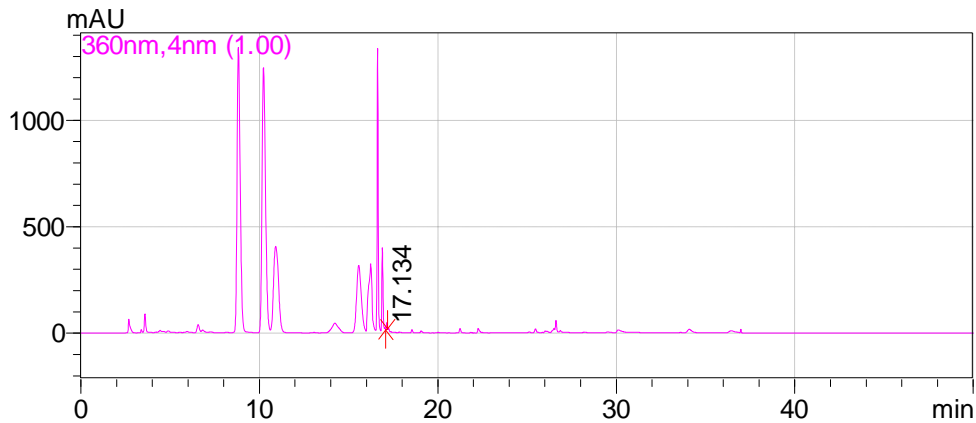
\* Enjektte edilen numunenin konsantrasyonu  
\*\* 1 ml enjektte edilen numune içerisindeki kempferol miktarının mg cinsinden değeri

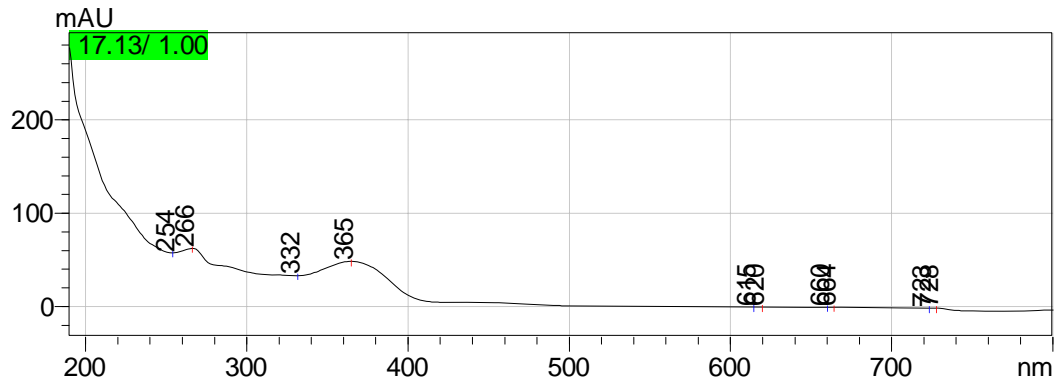
<b>Ekstre Verimi* (%)</b>	<b>e** (%)</b>	<b>e<sub>ort</sub></b>	<b>SD***</b>
	<b>0,00828</b>		
23,3	<b>0,00838</b>	0,00807	0,00046
	<b>0,00754</b>		

\* 100 gram bitkiden elde edilen ekstre miktarı, \*\* Ekstre içerisindeki kempferol miktarının % değeri ( $e = (x / \text{Konsantrasyon}) * 100$ ), \*\*\*e'lerin standart sapması

<b>h* (%)</b>	<b>h<sub>ort</sub></b>	<b>SD **</b>
0,00193		
0,00195	<b>0,00188</b>	<b>0,00011</b>
0,00176		

\* Bitki içerisindeki % kempferol miktarı ( $h = \text{ekstre verimi} * e / 100$ ), \*\* h'ların standart sapması

***Hypericum perforatum* ekstresine ait kromatogramlar ve değerler:****Şekil 4-111:** *H. perforatum*, kempferol pikinin görüldüğü LC kromatogramı



Şekil 4-112: *H. perforatum*, kempferol pikine ait UV kromatogramı

Tablo 4-63: *H. perforatum* türünün içerdiği kempferol miktarı hesaplamaları

Konsantrasyon* (mg/ml)	Alan	x** (mg/ml)
	104808	0,00194
30	113630	0,00211
	109267	0,00202

\* Enjektte edilen numunenin konsantrasyonu

\*\* 1 ml enjektte edilen numune içerisindeki kempferol miktarının mg cinsinden değeri

Ekstre Verimi* (%)	e** (%)	e <sub>ort</sub>	SD***
	<b>0,00646</b>		
26,8	<b>0,00703</b>	0,00674	0,00029
	<b>0,00674</b>		

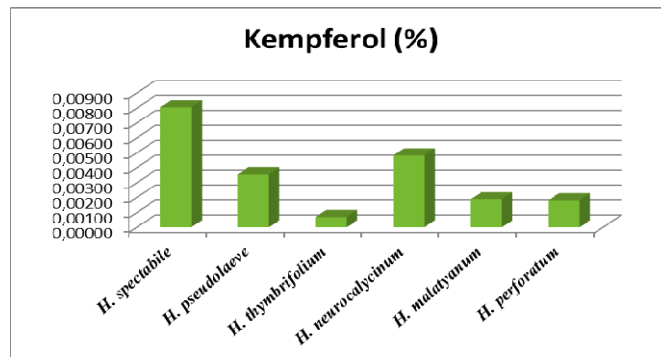
\* 100 gram bitkiden elde edilen ekstre miktarı, \*\* Ekstre içerisindeki kempferol miktarının % değeri ( $e = (x / \text{Konsantrasyon}) * 100$ ), \*\*\*e'lerin standart sapması

h* (%)	h <sub>ort</sub>	SD **
0,00173		
0,00188	<b>0,00181</b>	<b>0,00008</b>
0,00181		

\* Bitki içerisindeki % kempferol miktarı ( $h = \text{ekstre verimi} * e / 100$ ), \*\* h'ların standart sapması

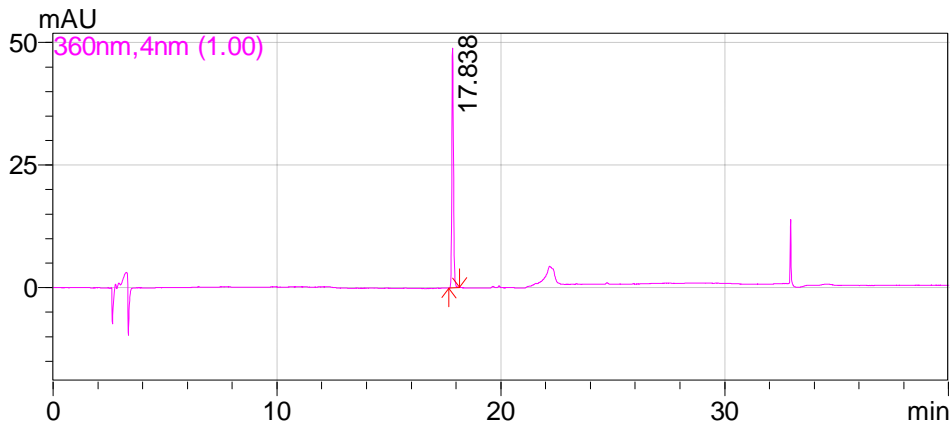
Tablo 4-64: Analizi yapılan örneklerin kempferol yüzdeleri

	% Kempferol
<i>H. spectabile</i>	0,00805
<i>H. pseudolaeve</i>	0,00356
<i>H. thymbrifolium</i>	0,00070
<i>H. neurocalycinum</i>	0,00482
<i>H. malatyanum</i>	0,00188
<i>H. perforatum</i>	0,00181

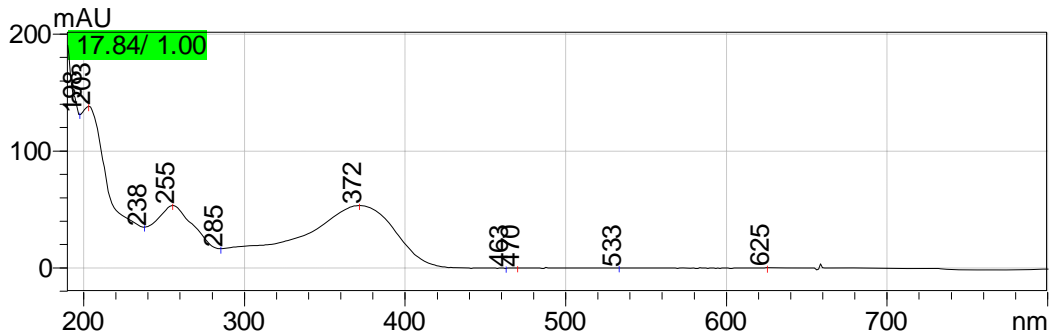
Şekil 4-113: *Hypericum* türlerinin kempferol içerikleri açısından karşılaştırılması

#### 4.1.3.7. YBSK ile Kersetin Miktar Tayini Sonuçları

Bölüm 3.2.1.3.'de anlatıldığı gibi hazırlanan kersetin standartı 5 farklı konsantrasyonda 3 örnek olarak kolona enjekte edildi. Kromatogramların değerlendirilmesinde otomatik olarak YBSK cihazının hesapladığı pik alanı değerleri kullanıldı. Kolona enjekte edilen standart kersetin retansiyon zamanı 17,838 dakika olarak belirlendi. Kersetin standartına ait kromatogramlar (Şekil 4-114 ve Şekil 4-115), konsantrasyon ve pik alanı değerleri (Tablo 4-65) aşağıda gösterilmiştir.



Şekil 4-114: Kersetin standartına ait LC kromatogramı

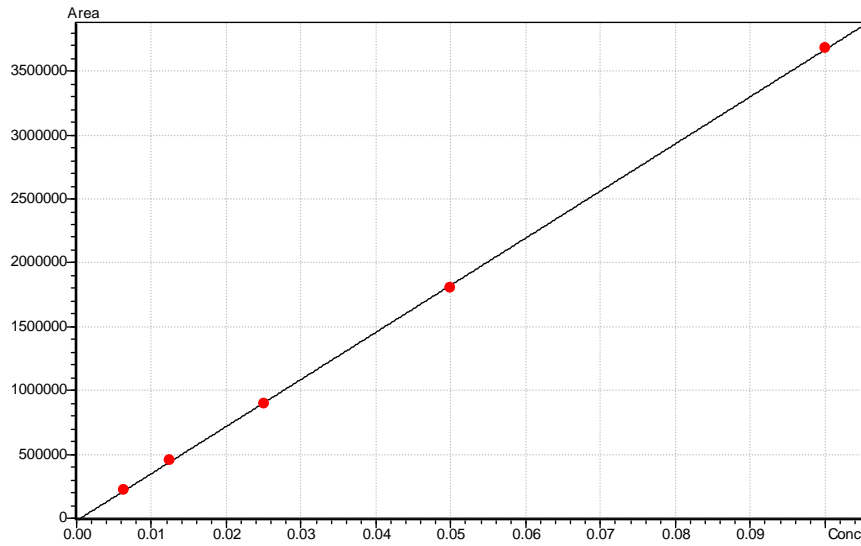


Şekil 4-115: Kersetin standartına ait UV kromatogramı

**Tablo 4-65:** Kersetin standartına ait konsantrasyon-pik alanı şeması

Konsantrasyon	Ortalama Alan	Standart Sapma	%RSD	Alan-1	Alan-2	Alan-3
0,1000000	3678252	445271,8	12,10553	3359110	3488713	4186934
0,0500000	1807392	248757,3	13,76333	1603981	1733462	2084734
0,0250000	897633	128114,3	14,27246	803575	845778	1043546
0,0125000	448418	61597,66	13,73666	401080	426113	518061
0,0062500	219616	30271,67	13,78391	198117	206497	254234

Bu değerler esas alınarak kersetin standartına ait ölçü eğrisi hazırlanmış ve doğru denklemi belirlenmiştir (Şekil 4-116).

**Şekil 4-116:** Kersetin standartına ait ölçü eğrisi**Hesaplanan doğru denklemi:**

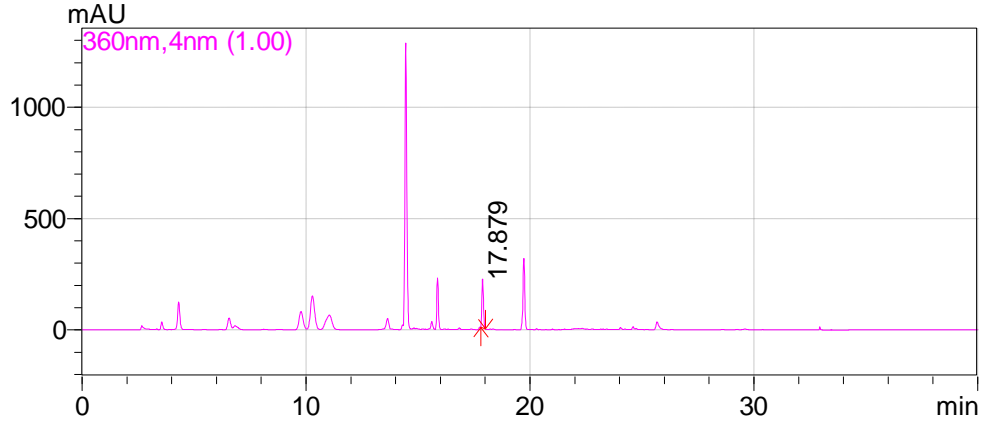
$$y = 3,688175e+007x + 18905,43$$

$$r^2 = 0,9999$$

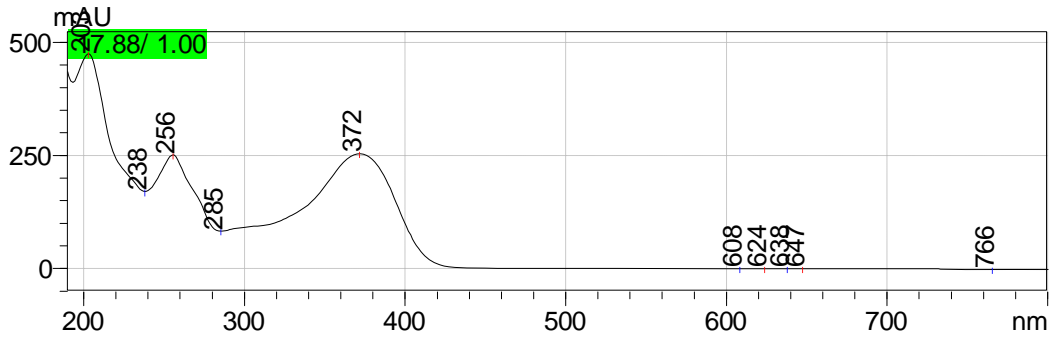
$$r = 0,9999$$

Kersetin standartı ile doğru denklemi belirlendikten sonra Bölüm 3.2.1.2.'de anlatıldığı gibi droglardan hazırlanan ekstrere kolona enjekte edildi. Ekstreler için kromatogramlar aşağıda gösterilmiştir.

***Hypericum spectabile* ekstresine ait kromatogramlar ve değerler:**



**Şekil 4-117:** *H. spectabile*, kersetin pikinin görüldüğü LC kromatogramı



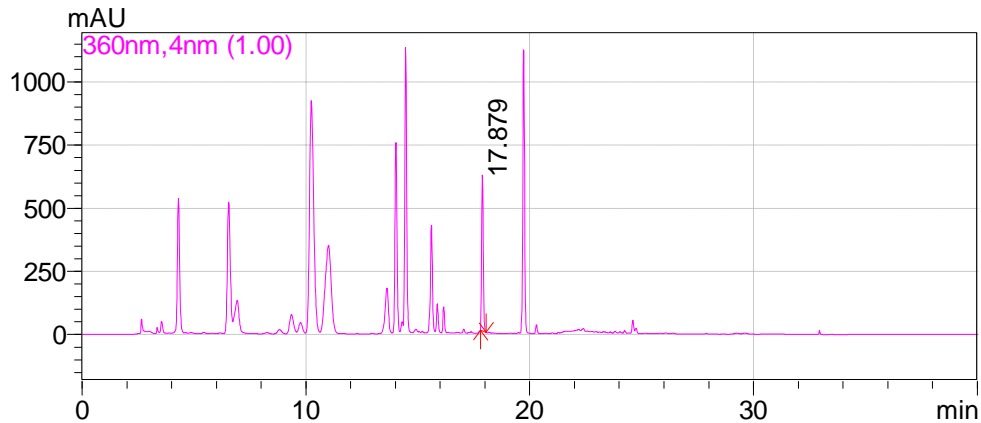
**Şekil 4-118:** *H. spectabile*, kersetin pikine ait UV kromatogramı

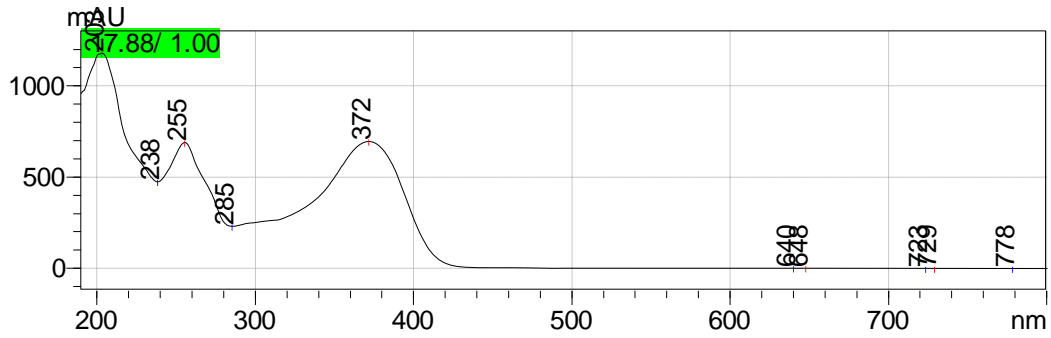


**Tablo 4-66:** *H. spectabile* türünün içerdiği kersetin miktarı hesaplamaları

<b>Konsantrasyon*</b> <b>(mg/ml)</b>	<b>Alan</b>	<b>x**</b> <b>(mg/ml)</b>	
10	1092263	0,03013	
	913539	0,02528	
	883467	0,02447	
* Enjektte edilen numunenin konsantrasyonu			
** 1 ml enjektte edilen numune içerisindeki kersetin miktarının mg cinsinden değeri			
<b>Ekstre Verimi* (%)</b>	<b>e** (%)</b>	<b>e<sub>ort</sub></b>	<b>SD***</b>
21,3	<b>0,30128</b>	0,26626	0,03060
	<b>0,25282</b>		
	<b>0,24467</b>		
* 100 gram bitkiden elde edilen ekstre miktarı, ** Ekstre içerisindeki kersetin miktarının % değeri ( $e = (x / \text{Konsantrasyon}) * 100$ ), ***e'lerin standart sapması			
<b>h* (%)</b>	<b>h<sub>ort</sub></b>	<b>SD **</b>	
0,06417	<b>0,05671</b>	<b>0,00652</b>	
0,05385			
0,05211			
* Bitki içerisindeki % kersetin miktarı ( $h = \text{ekstre verimi} * e / 100$ ), ** h'ların standart sapması			

### *Hypericum pseudolaeve* ekstresine ait kromatogramlar ve değerler:

**Şekil 4-119:** *H. pseudolaeve*, kersetin pikinin görüldüğü LC kromatogramı



Şekil 4-120: *H. pseudolaeve*, kersetin pikine ait UV kromatogramı

Tablo 4-67: *H. pseudolaeve* türünün içerdiği kersetin miktarı hesaplamaları

Konsantrasyon* (mg/ml)	Alan	x** (mg/ml)
	3145771	0,08581
20	2960859	0,08079
	2632322	0,07189

\* Enjekte edilen numunenin konsantrasyonu

\*\* 1 ml enjekte edilen numune içerisindeki kersetin miktarının mg cinsinden değeri

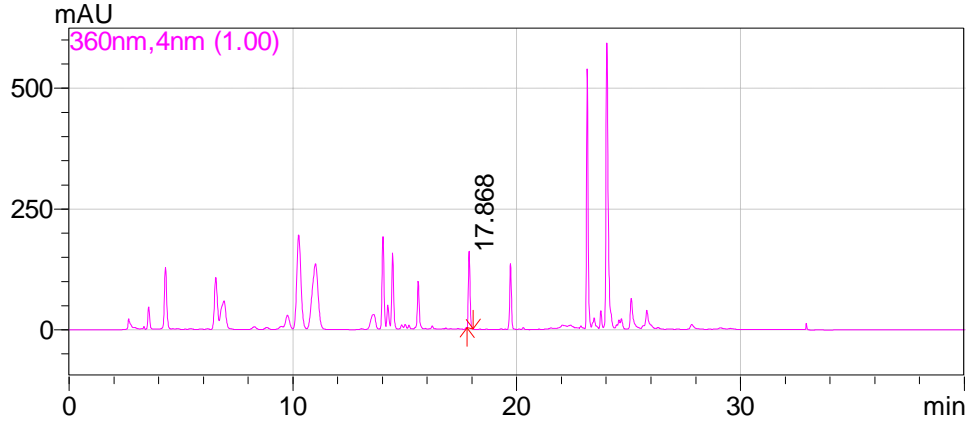
Ekstre Verimi* (%)	e** (%)	e <sub>ort</sub>	SD***
	<b>0,42903</b>		
14,9	<b>0,40396</b>	0,39747	0,03525
	<b>0,35943</b>		

\* 100 gram bitkiden elde edilen ekstre miktarı, \*\* Ekstre içerisindeki kersetin miktarının % değeri ( $e = (x / \text{Konsantrasyon}) * 100$ ), \*\*\*e'lerin standart sapması

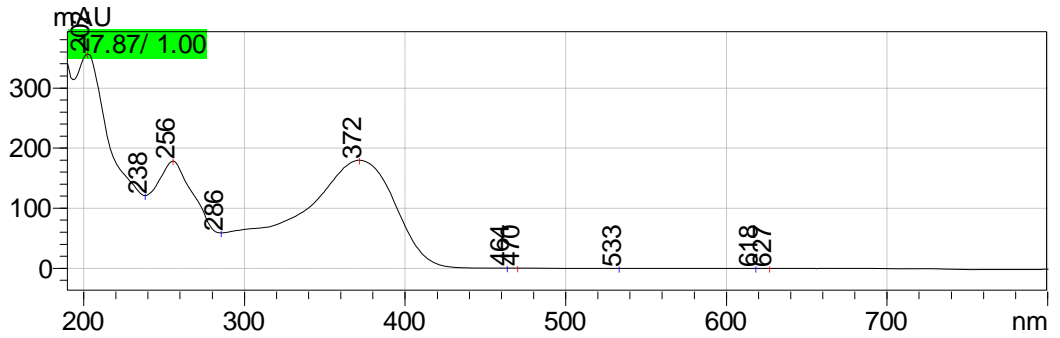
h* (%)	h <sub>ort</sub>	SD **
0,06393		
0,06019	<b>0,05922</b>	<b>0,00525</b>
0,05355		

\* Bitki içerisindeki % kersetin miktarı ( $h = \text{ekstre verimi} * e / 100$ ), \*\* h'larn standart sapması

***Hypericum thymbrifolium* ekstresine ait kromatogramlar ve değerler:**



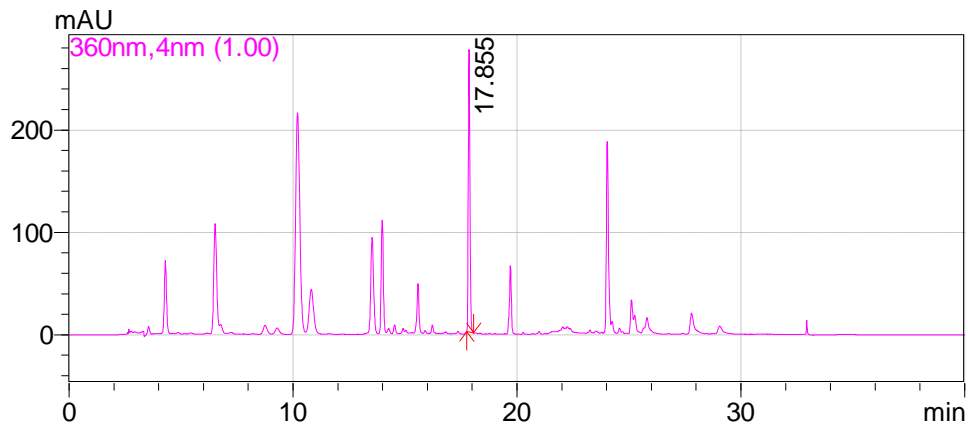
**Şekil 4-121:** *H. thymbrifolium*, kersetin pikinin görüldüğü LC kromatogramı

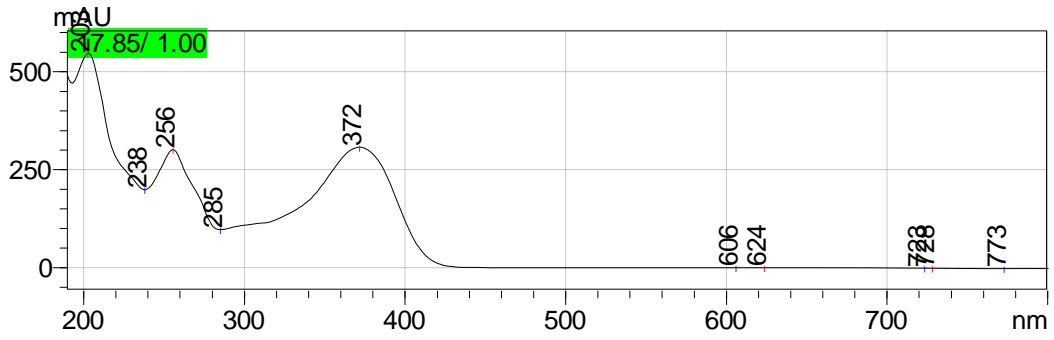


**Şekil 4-122:** *H. thymbrifolium*, kersetin pikine ait UV kromatogramı

**Tablo 4-68:** *H. thymbrifolium* türünün içerdiği kersetin miktarı hesaplamaları

<b>Konsantrasyon*</b> <b>(mg/ml)</b>	<b>Alan</b>	<b>x**</b> <b>(mg/ml)</b>	
10	810891	0,02250	
	779014	0,02164	
	834644	0,02314	
* Enjektte edilen numunenin konsantrasyonu			
** 1 ml enjektte edilen numune içerisindeki kersetin miktarının mg cinsinden değeri			
<b>Ekstre Verimi* (%)</b>	<b>e** (%)</b>	<b>e<sub>ort</sub></b>	<b>SD***</b>
17,3	<b>0,22499</b>	0,22426	0,00757
	<b>0,21635</b>		
	<b>0,23143</b>		
* 100 gram bitkiden elde edilen ekstre miktarı, ** Ekstre içerisindeki kersetin miktarının % değeri ( $e = (x / \text{Konsantrasyon}) * 100$ ), ***e'lerin standart sapması			
<b>h* (%)</b>	<b>h<sub>ort</sub></b>	<b>SD **</b>	
0,03892	<b>0,03880</b>	<b>0,00131</b>	
0,03743			
0,04004			
* Bitki içerisindeki % kersetin miktarı ( $h = \text{ekstre verimi} * e / 100$ ), ** h'ların standart sapması			

***Hypericum neurocalycinum* ekstresine ait kromatogramlar ve değerler:****Şekil 4-123:** *H. neurocalycinum*, kersetin pikinin görüldüğü LC kromatogramı



Şekil 4-124: *H. neurocalycinum*, kersetin pikine ait UV kromatogramı

Tablo 4-69: *H. neurocalycinum* türünün içerdiği kersetin miktarı hesaplamaları

Konsantrasyon* (mg/ml)	Alan	x** (mg/ml)
	1420640	0,03903
5	1672196	0,04585
	1481109	0,04067

\* Enjekte edilen numunenin konsantrasyonu

\*\* 1 ml enjekte edilen numune içerisindeki kersetin miktarının mg cinsinden değeri

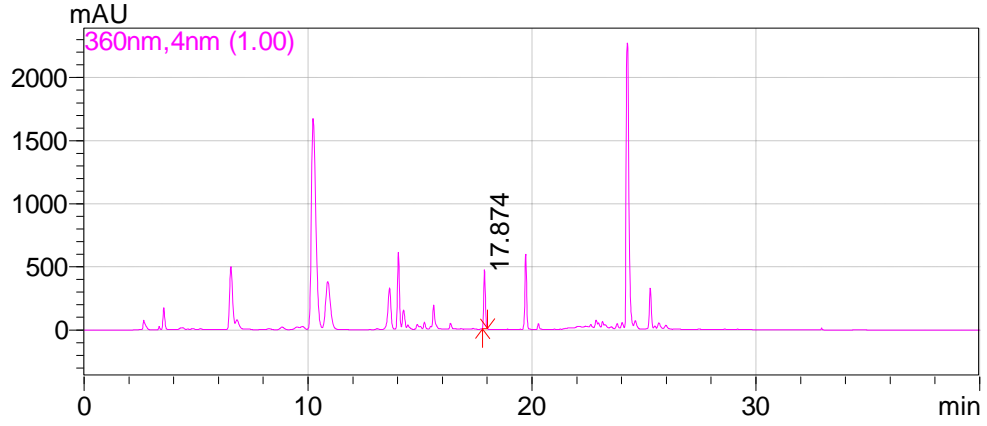
Ekstre Verimi* (%)	e** (%)	e <sub>ort</sub>	SD***
	<b>0,78020</b>		
16,5	<b>0,91704</b>	0,83689	0,07137
	<b>0,81342</b>		

\* 100 gram bitkiden elde edilen ekstre miktarı, \*\* Ekstre içerisindeki kersetin miktarının % değeri ( $e = (x / \text{Konsantrasyon}) * 100$ ), \*\*\*e'lerin standart sapması

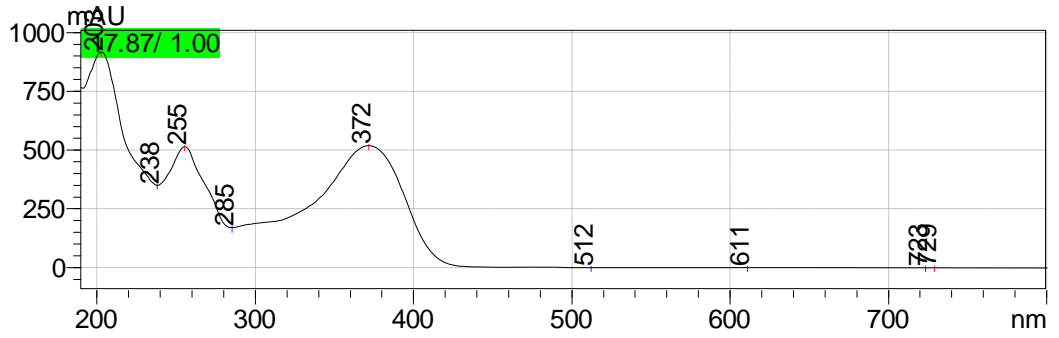
h* (%)	h <sub>ort</sub>	SD **
0,12873		
0,15131	<b>0,13809</b>	<b>0,01178</b>
0,13421		

\* Bitki içerisindeki % kersetin miktarı ( $h = \text{ekstre verimi} * e / 100$ ), \*\* h'ların standart sapması

***Hypericum malatyanum* ekstresine ait kromatogramlar ve değerler:**



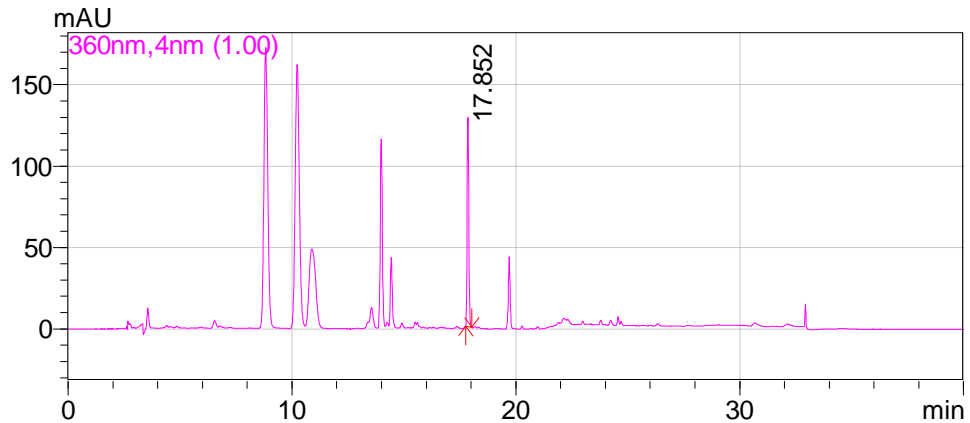
**Şekil 4-125:** *H. malatyanum*, kersetin pikinin görüldüğü LC kromatogramı

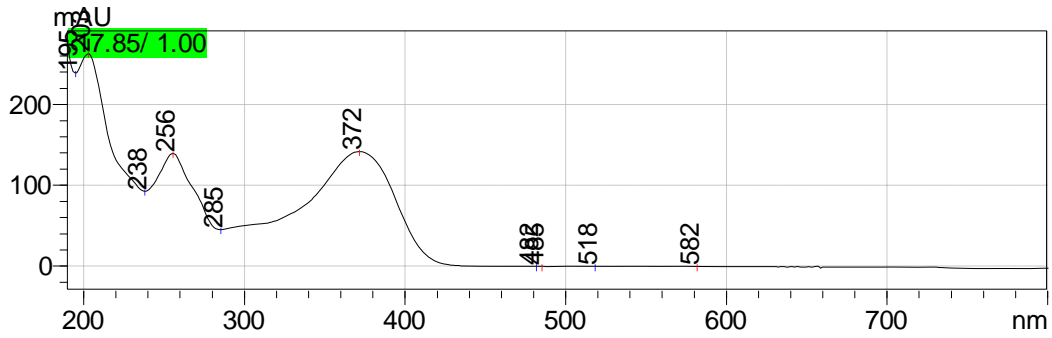


**Şekil 4-126:** *H. malatyanum*, kersetin pikine ait UV kromatogramı

**Tablo 4-70:** *H. malatyanum* türünün içerdiği kersetin miktarı hesaplamaları

<b>Konsantrasyon*</b> <b>(mg/ml)</b>	<b>Alan</b>	<b>x**</b> <b>(mg/ml)</b>	
20	2359110	0,08581	
	2358721	0,08079	
	2198945	0,07189	
* Enjektte edilen numunenin konsantrasyonu			
** 1 ml enjektte edilen numune içerisindeki kersetin miktarının mg cinsinden değeri			
<b>Ekstre Verimi* (%)</b>	<b>e** (%)</b>	<b>e<sub>ort</sub></b>	<b>SD***</b>
23,3	<b>0,42903</b>	0,39747	0,03525
	<b>0,40396</b>		
	<b>0,35943</b>		
* 100 gram bitkiden elde edilen ekstre miktarı, ** Ekstre içerisindeki kersetin miktarının % değeri ( $e = (x / \text{Konsantrasyon}) * 100$ ), ***e'lerin standart sapması			
<b>h* (%)</b>	<b>h<sub>ort</sub></b>	<b>SD **</b>	
0,09996	<b>0,09261</b>	<b>0,00821</b>	
0,09412			
0,08374			
* Bitki içerisindeki % kersetin miktarı ( $h = \text{ekstre verimi} * e / 100$ ), ** h'ların standart sapması			

***Hypericum perforatum* ekstresine ait kromatogramlar ve değerler:****Şekil 4-127:** *H. perforatum*, kersetin pikinin görüldüğü LC kromatogramı



Şekil 4-128: *H. perforatum*, kersetin pikine ait UV kromatogramı

Tablo 4-71: *H. perforatum* türünün içerdiği kersetin miktarı hesaplamaları

Konsantrasyon* (mg/ml)	Alan	x** (mg/ml)
4	654102	0,01825
	647469	0,01807
	706499	0,01967

\* Enjekte edilen numunenin konsantrasyonu

\*\* 1 ml enjekte edilen numune içerisindeki kersetin miktarının mg cinsinden değeri

Ekstre Verimi* (%)	e** (%)	e <sub>ort</sub>	SD***
26,8	0,45620	0,46653	0,02191
	0,45170		
	0,49170		

\* 100 gram bitkiden elde edilen ekstre miktarı, \*\* Ekstre içerisindeki kersetin miktarının % değeri ( $e = (x / \text{Konsantrasyon}) * 100$ ), \*\*\*e'lerin standart sapması

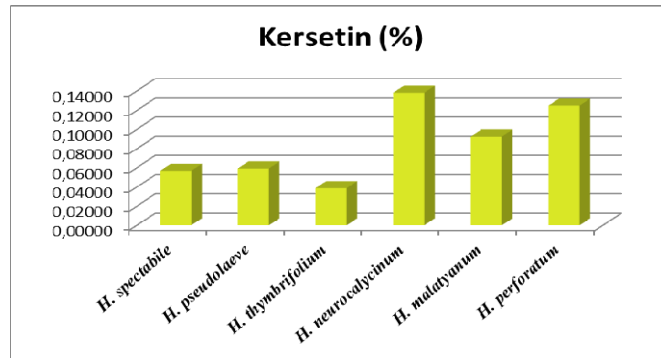
h* (%)	h <sub>ort</sub>	SD **
0,12226	0,12503	0,00587
0,12106		
0,13178		

\* Bitki içerisindeki % kersetin miktarı ( $h = \text{ekstre verimi} * e / 100$ ), \*\* h'ların standart sapması



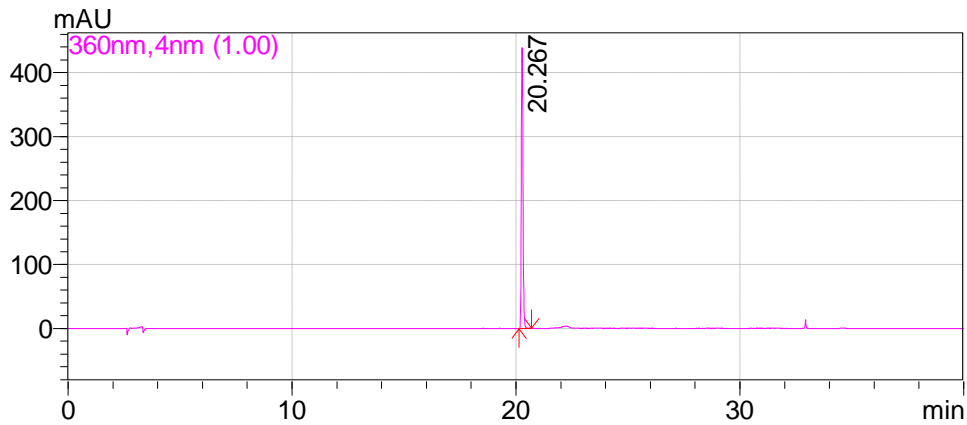
**Tablo 4-72:** Analizi yapılan örneklerin kersetin yüzdeleri

	<b>% Kersetin</b>
<i>H. spectabile</i>	0,05671
<i>H. pseudolaeve</i>	0,05922
<i>H. thymbrifolium</i>	0,03880
<i>H. neurocalycinum</i>	0,13809
<i>H. malatyanum</i>	0,09261
<i>H. perforatum</i>	0,12503

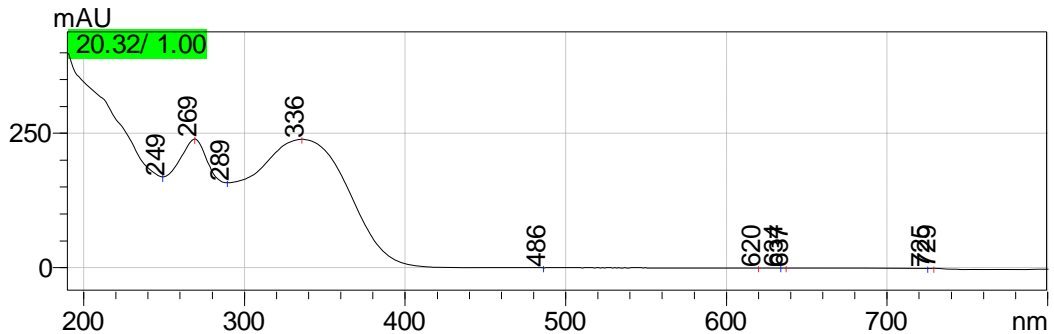
**Şekil 4-129:** *Hypericum* türlerinin kersetin içerikleri açısından karşılaştırılması

#### 4.1.3.8. YBSK ile Amentoflavon Miktar Tayini Sonuçları

Bölüm 3.2.1.3.'de anlatıldığı gibi hazırlanan amentoflavon standartı 5 farklı konsantrasyonda 3 örnek olarak kolona enjekte edildi. Kromatogramların değerlendirilmesinde otomatik olarak YBSK cihazının hesapladığı pik alanı değerleri kullanıldı. Kolona enjekte edilen standart amentoflavon retansiyon zamanı 20,267 dakika olarak belirlendi. Amentoflavon standartına ait kromatogramlar (Şekil 4-130 ve Şekil 4-131), konsantrasyon ve pik alanı değerleri (Tablo 4-73) aşağıda gösterilmiştir.



Şekil 4-130: Amentoflavon standartına ait LC kromatogramı

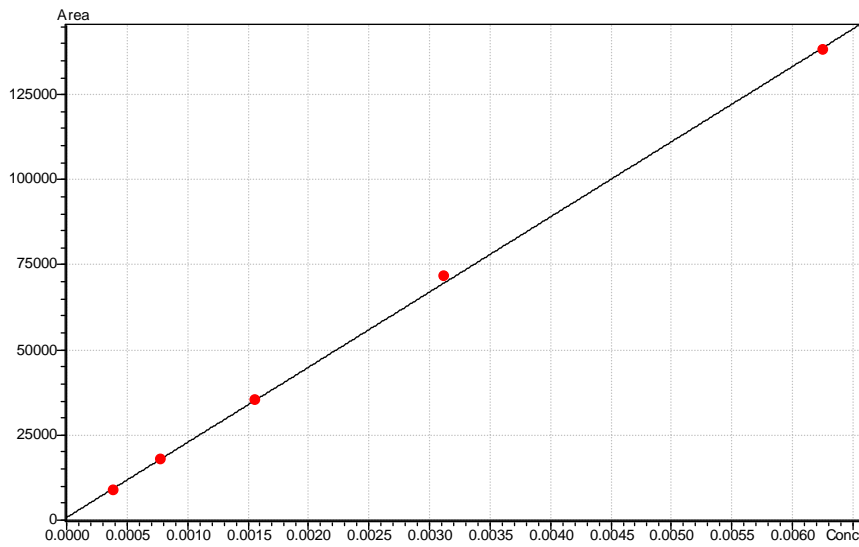


Şekil 4-131: Amentoflavon standartına ait UV kromatogramı

**Tablo 4-73: Amentoflavon standartına ait konsantrasyon-pik alanı şeması**

Konsantrasyon	Ortalama Alan	Standart Sapma	%RSD	Alan-1	Alan-2	Alan-3
0,0062500	137977	22657,37	16,42108	134630	162122	117180
0,0031250	71472	11065,96	15,48288	69932	83228	61257
0,0015625	35289	5,731,305	16,24103	34280	41458	30130
0,0007800	17815	2,523,395	14,16477	17778	20356	15310
0,0003900	8626	9,889,736	11,46486	8804	9514	7560

Bu değerler esas alınarak amentoflavon standartına ait ölçü eğrisi hazırlanmış ve doğru denklemi belirlenmiştir (Şekil 4-132).

**Şekil 4-132: Amentoflavon standartına ait ölçü eğrisi****Hesaplanan doğru denklemi:**

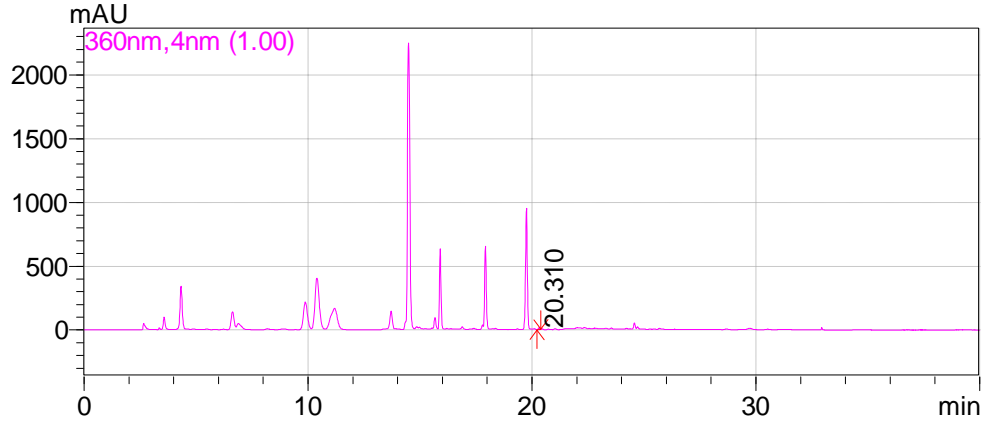
$$y = 2,207879e+007x + 772,0972$$

$$r^2 = 0,9996$$

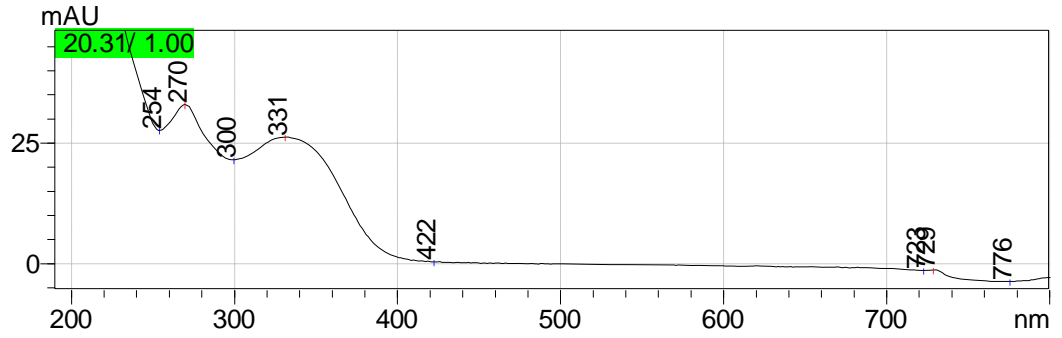
$$r = 0,9998$$

Amentoflavon standartı ile doğru denklemi belirlendikten sonra Bölüm 3.2.1.2.'de anlatıldığı gibi droglardan hazırlanan ekstreler kolona enjekte edildi. Ekstrelelere ait kromatogramlar aşağıda gösterilmiştir.

***Hypericum spectabile* ekstresine ait kromatogramlar ve değerler:**



**Şekil 4-133:** *H. spectabile*, amentoflavon pikinin görüldüğü LC kromatogramı



**Şekil 4-134:** *H. spectabile*, amentoflavon pikine ait UV kromatogramı

**Tablo 4-74:** *H. spectabile* türünün içerdiği amentoflavon miktarı hesaplamaları

<b>Konsantrasyon*</b> <b>(mg/ml)</b>	<b>Alan</b>	<b>x**</b> <b>(mg/ml)</b>
20	64334	0,00288
	65278	0,00292
	60752	0,00272

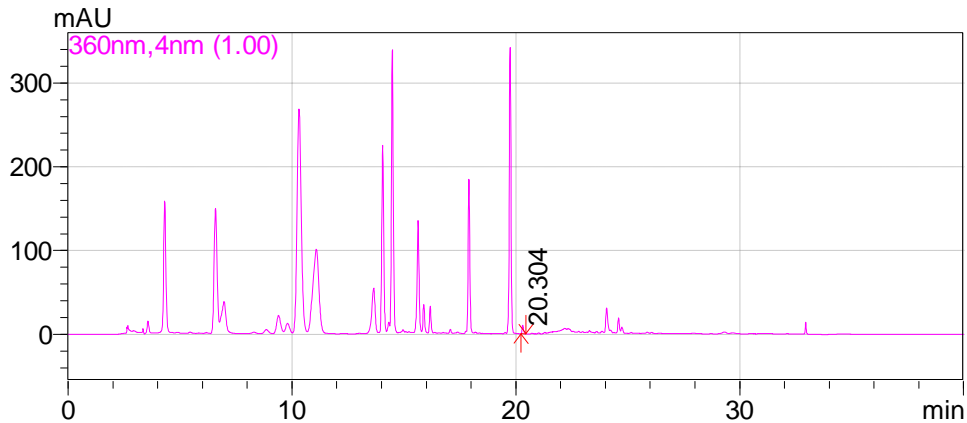
\* Enjekte edilen numunenin konsantrasyonu  
\*\* 1 ml enjekte edilen numune içerisindeki amentoflavon miktarının mg cinsinden değeri

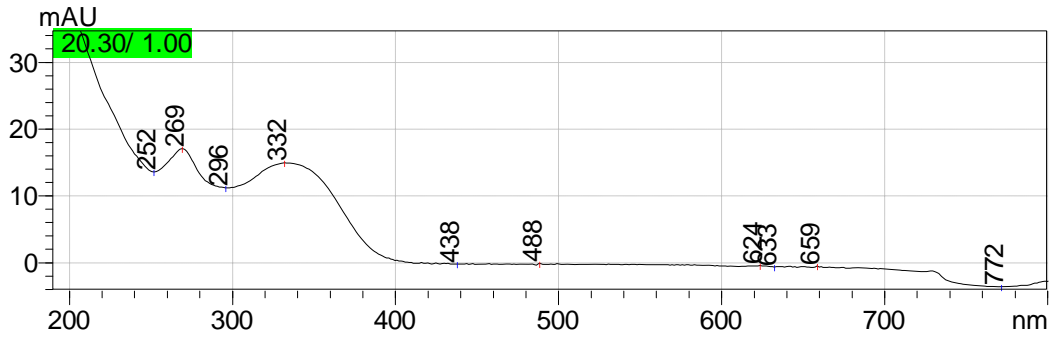
<b>Ekstre Verimi* (%)</b>	<b>e** (%)</b>	<b>e<sub>ort</sub></b>	<b>SD***</b>
21,3	<b>0,01440</b>	0,01420	0,00054
	<b>0,01461</b>		
	<b>0,01359</b>		

\* 100 gram bitkiden elde edilen ekstre miktarı, \*\* Ekstre içerisindeki amentoflavon miktarının % değeri ( $e = (x / \text{Konsantrasyon}) * 100$ ), \*\*\*e'lerin standart sapması

<b>h* (%)</b>	<b>h<sub>ort</sub></b>	<b>SD **</b>
0,00307	<b>0,00302</b>	<b>0,00012</b>
0,00311		
0,00289		

\* Bitki içerisindeki % amentoflavon miktarı ( $h = \text{ekstre verimi} * e / 100$ ), \*\* h'ların standart sapması

***Hypericum pseudolaeve* ekstresine ait kromatogramlar ve değerler:****Şekil 4-135:** *H. pseudolaeve*, amentoflavon pikinin görüldüğü LC kromatogramı



Şekil 4-136: *H. pseudolaeve*, amentoflavon pikine ait UV kromatogramı

Tablo 4-75: *H. pseudolaeve* türüne ait amentoflavon miktarı hesaplamaları

Konsantrasyon* (mg/ml)	Alan	x** (mg/ml)
	47366	0,00211
10	46421	0,00207
	50896	0,00227

\* Enjektte edilen numunenin konsantrasyonu

\*\* 1 ml enjektte edilen numune içerisindeki amentoflavon miktarının mg cinsinden değeri

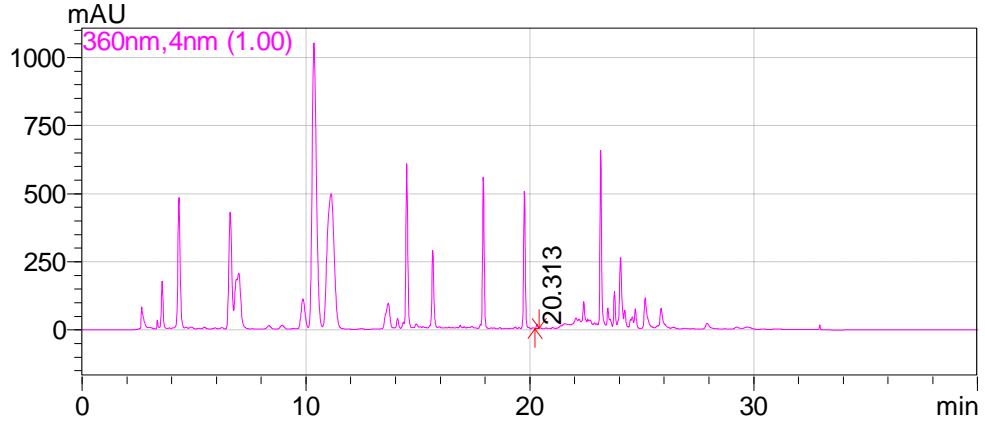
Ekstre Verimi* (%)	e** (%)	e <sub>ort</sub>	SD***
	<b>0,02110</b>		
14,9	<b>0,02068</b>	0,02149	0,00107
	<b>0,02270</b>		

\* 100 gram bitkiden elde edilen ekstre miktarı, \*\* Ekstre içerisindeki amentoflavon miktarının % değeri ( $e = (x / \text{Konsantrasyon}) * 100$ ), \*\*\*e'lerin standart sapması

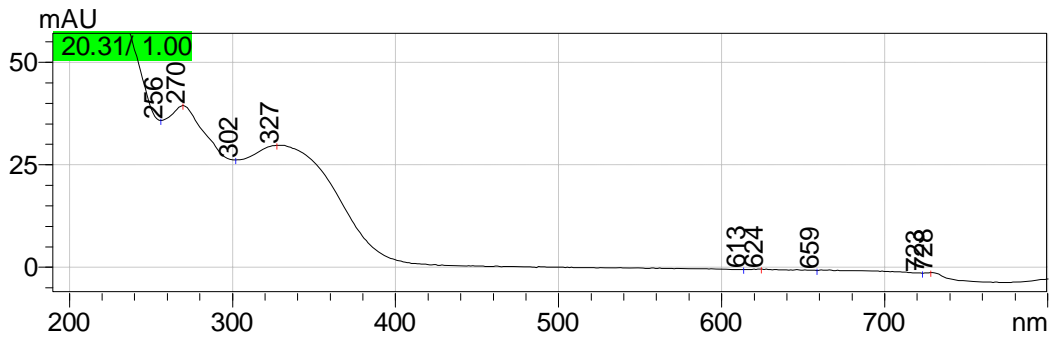
h* (%)	h <sub>ort</sub>	SD **
0,00314		
0,00308	<b>0,00320</b>	<b>0,00016</b>
0,00338		

\* Bitki içerisindeki % amentoflavon miktarı ( $h = \text{ekstre verimi} * e / 100$ ), \*\* h'ların standart sapması

***Hypericum thymbrifolium* ekstresine ait kromatogramlar ve değerler:**



**Şekil 4-137:** *H. thymbrifolium*, amentoflavon pikinin görüldüğü LC kromatogramı



**Şekil 4-138:** *H. thymbrifolium*, amentoflavon pikine ait UV kromatogramı

**Tablo 4-76:** *H. thymbrifolium* türünün içerdiği amentoflavon miktarı hesaplamaları

<b>Konsantrasyon*</b> <b>(mg/ml)</b>	<b>Alan</b>	<b>x**</b> <b>(mg/ml)</b>
20	65530	0,00293
	74711	0,00335
	68521	0,00307

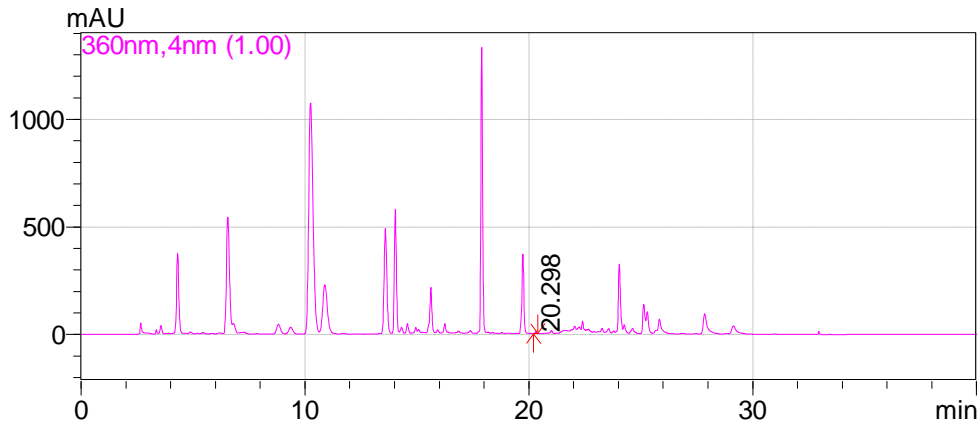
\* Enjektte edilen numunenin konsantrasyonu  
\*\* 1 ml enjektte edilen numune içerisindeki amentoflavon miktarının mg cinsinden değeri

<b>Ekstre Verimi* (%)</b>	<b>e** (%)</b>	<b>e<sub>ort</sub></b>	<b>SD***</b>
17,3	<b>0,01466</b>	0,01558	0,00106
	<b>0,01675</b>		
	<b>0,01535</b>		

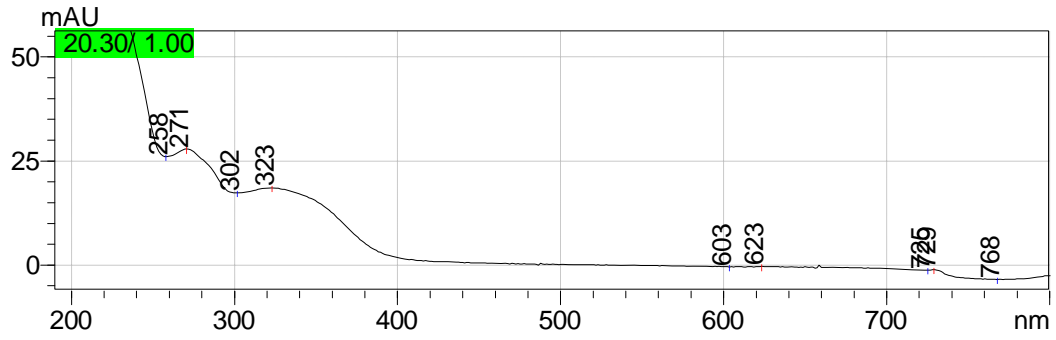
\* 100 gram bitkiden elde edilen ekstre miktarı, \*\* Ekstre içerisindeki amentoflavon miktarının % değeri ( $e = (x / \text{Konsantrasyon}) * 100$ ), \*\*\*e'lerin standart sapması

<b>h* (%)</b>	<b>h<sub>ort</sub></b>	<b>SD **</b>
0,00254	<b>0,00270</b>	<b>0,00018</b>
0,00290		
0,00265		

\* Bitki içerisindeki % amentoflavon miktarı ( $h = \text{ekstre verimi} * e / 100$ ), \*\* h'ların standart sapması

***Hypericum neurocalycinum* ekstresine ait kromatogramlar ve değerler:****Şekil 4-139:** *H. neurocalycinum*, amentoflavon pikinin görüldüğü LC kromatogramı





Şekil 4-140: *H. neurocalycinum*, amentoflavon pikine ait UV kromatogramı

Tablo 4-77: *H. neurocalycinum* türüne ait amentoflavon miktarı hesaplamaları

Konsantrasyon* (mg/ml)	Alan	x** (mg/ml)
20	38219	0,00170
	39430	0,00175
	40165	0,00178

\* Enjekte edilen numunenin konsantrasyonu

\*\* 1 ml enjekte edilen numune içerisindeki amentoflavon miktarının mg cinsinden değeri

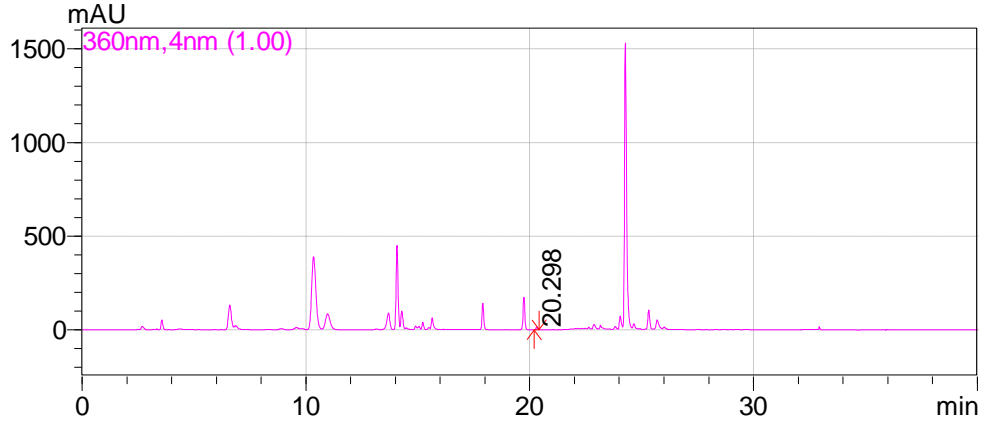
Ekstre Verimi* (%)	e** (%)	e <sub>ort</sub>	SD***
16,5	<b>0,00848</b>	0,00872	0,00022
	<b>0,00876</b>		
	<b>0,00892</b>		

\* 100 gram bitkiden elde edilen ekstre miktarı, \*\* Ekstre içerisindeki amentoflavon miktarının % değeri ( $e = (x / \text{Konsantrasyon}) * 100$ ), \*\*\*e'lerin standart sapması

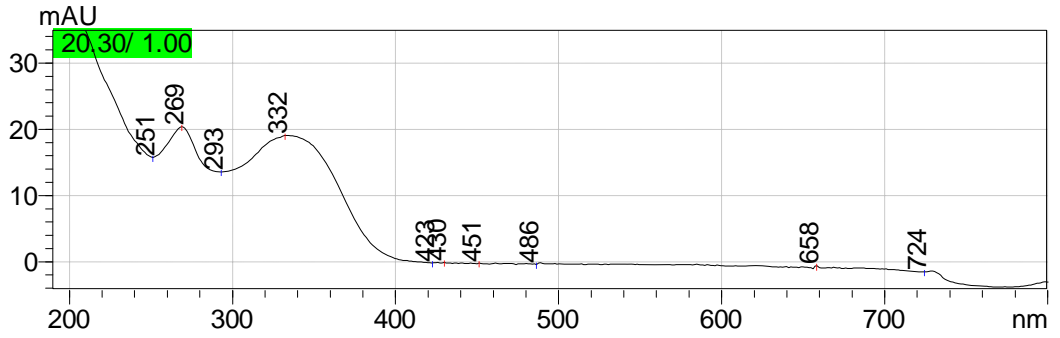
h* (%)	h <sub>ort</sub>	SD **
0,00140	<b>0,00144</b>	<b>0,00004</b>
0,00144		
0,00147		

\* Bitki içerisindeki % amentoflavon miktarı ( $h = \text{ekstre verimi} * e / 100$ ), \*\* h'ların standart sapması

***Hypericum malatyanum* ekstresine ait kromatogramlar ve değerler:**



**Şekil 4-141:** *H. malatyanum*, amentoflavon pikinin görüldüğü LC kromatogramı



**Şekil 4-142:** *H. malatyanum*, amentoflavon pikine ait UV kromatogramı

**Tablo 4-78:** *H. malatyanum* türüne ait amentoflavon miktarı hesaplamaları

Konsantrasyon* (mg/ml)	Alan	x** (mg/ml)
10	64843	0,00290
	73633	0,00330
	68578	0,00307

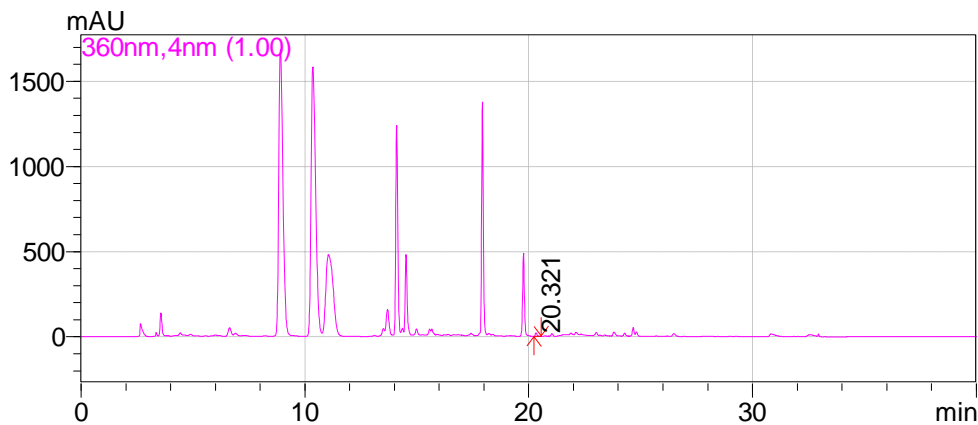
\* Enjektte edilen numunenin konsantrasyonu

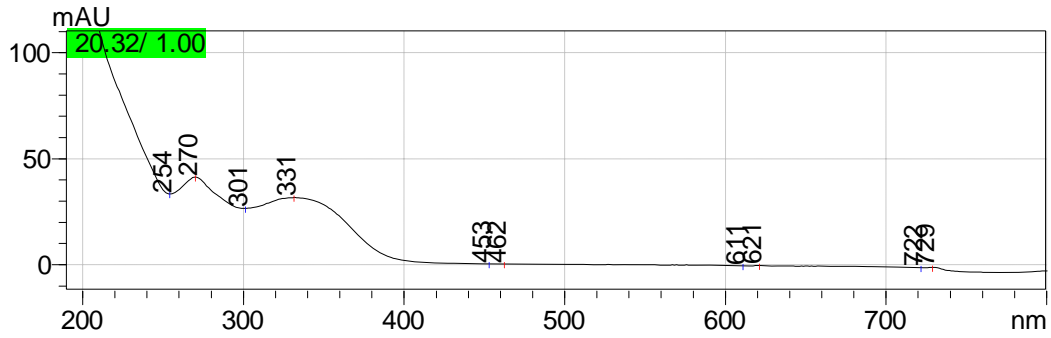
\*\* 1 ml enjektte edilen numune içerisindeki amentoflavon miktarının mg cinsinden değeri

Ekstre Verimi* (%)	e** (%)	e <sub>ort</sub>	SD***
23,3	0,02902	0,03091	0,00200
	0,03301		
	0,03071		

\* 100 gram bitkiden elde edilen ekstre miktarı, \*\* Ekstre içerisindeki amentoflavon miktarının % değeri ( $e = (x / \text{Konsantrasyon}) * 100$ ), \*\*\*e'lerin standart sapması

h* (%)	h <sub>ort</sub>	SD **
0,00676	0,00720	0,00047
0,00769		
0,00716		

\* Bitki içerisindeki % amentoflavon miktarı ( $h = \text{ekstre verimi} * e / 100$ ), \*\* h'ların standart sapması***Hypericum perforatum* ekstresine ait kromatogramlar ve değerler:****Şekil 4-143:** *H. perforatum*, amentoflavon pikinin görüldüğü LC kromatogramı



Şekil 4-144: *H. perforatum*, amentoflavon pikine ait UV kromatogramı

Tablo 4-79: *H. perforatum* türünün içerdiği amentoflavon miktarı hesaplamaları

Konsantrasyon* (mg/ml)	Alan	x** (mg/ml)
20	100493	0,00452
	96844	0,00435
	92433	0,00415

\* Enjekte edilen numunenin konsantrasyonu  
 \*\* 1 ml enjekte edilen numune içerisindeki amentoflavon miktarının mg cinsinden değeri

Ekstre Verimi* (%)	e** (%)	e <sub>ort</sub>	SD***
26,8	0,02259		
	0,02176	0,02170	0,00092
	0,02076		

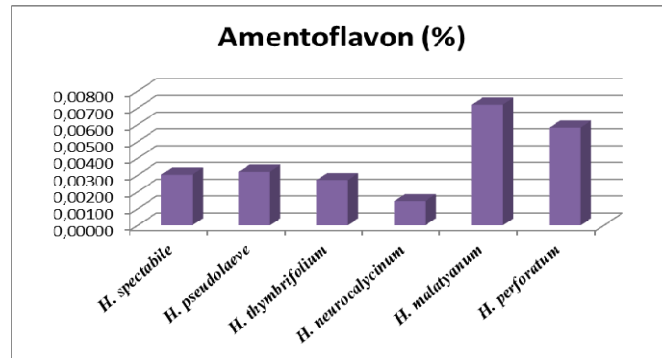
\* 100 gram bitkiden elde edilen ekstre miktarı, \*\* Ekstre içerisindeki amentoflavon miktarının % değeri ( $e = (x / \text{Konsantrasyon}) * 100$ ), \*\*\*e'lerin standart sapması

h* (%)	h <sub>ort</sub>	SD **
0,00605		
0,00583	0,00582	0,00025
0,00556		

\* Bitki içerisindeki % amentoflavon miktarı ( $h = \text{ekstre verimi} * e / 100$ ), \*\* h'ların standart sapması

**Tablo 4-80:** Analizi yapılan örneklerin amentoflavon yüzdeleri

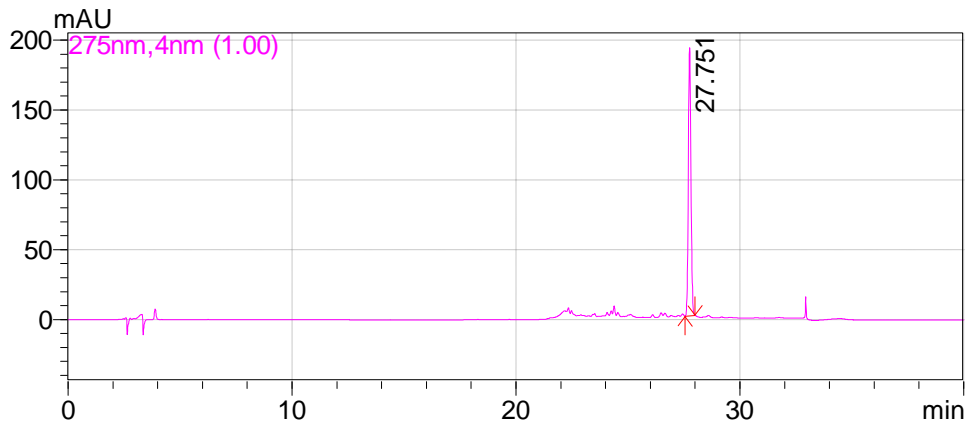
	<b>% Amentoflavon</b>
<i>H. spectabile</i>	0,00302
<i>H. pseudolaeve</i>	0,00320
<i>H. thymbrifolium</i>	0,00270
<i>H. neurocalycinum</i>	0,00144
<i>H. malatyanum</i>	0,00720
<i>H. perforatum</i>	0,00582

**Şekil 4-145:** *Hypericum* türlerinin amentoflavon içerikleri açısından karşılaştırılması

#### 4.1.4. YBSK ile Floroglusinol Türevi Bileşiklerin Miktar Tayini Sonuçları

##### 4.1.4.1. YBSK ile Hiperforin Miktar Tayini Sonuçları

Bölüm 3.2.1.3.'de anlatıldığı gibi hazırlanan hiperforin standartı 5 farklı konsantrasyonda 3 örnek olarak kolona enjekte edildi. Kromatogramların değerlendirilmesinde otomatik olarak YBSK cihazının hesapladığı pik alanı değerleri kullanıldı. Kolona enjekte edilen standart hiperforin retansiyon zamanı 27,751 dakika olarak belirlendi. Hiperforin standartına ait kromatogram (Şekil 4-146), konsantrasyon ve pik alanı değerleri (Tablo 4-81) aşağıda gösterilmiştir.

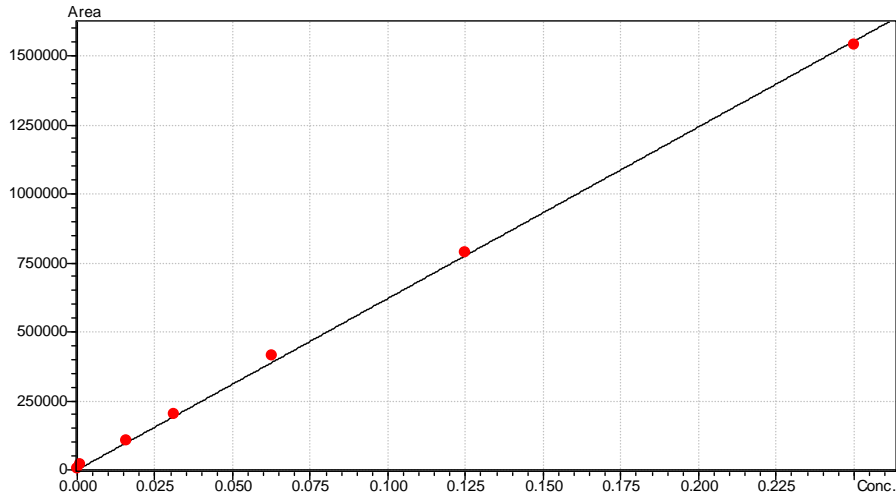


Şekil 4-146: Hiperforin standartına ait LC kromatogramı

Tablo 4-81: Hiperforin standartına ait konsantrasyon-pik alanı şeması

Konsantrasyon	Ortalama Alan	Standart Sapma	%RSD	Alan-1	Alan-2	Alan-3
0,250000	1540202	282966,2	18,372018	1215852	1668206	1736548
0,125000	785993	195070,4	24,818338	615256	744125	998598
0,062500	415074	114464,2	27,576817	309234	399434	536554
0,031250	200937	44150,92	21,972519	161058	193371	248382
0,015625	105867	16737,35	15,809790	91851	101351	124399
0,000980	20753	2576,91	12,417048	18753	19845	23661
0,000060	4484	602,61	13,439117	3827	4614	5011

Bu değerler esas alınarak hiperforin standartına ait ölçü eğrisi hazırlanmış ve doğru denklemi belirlenmiştir (Şekil 4-147).



Şekil 4-147: Hiperforin standartına ait ölçü eğrisi

**Hesaplanan doğru denklemi:**

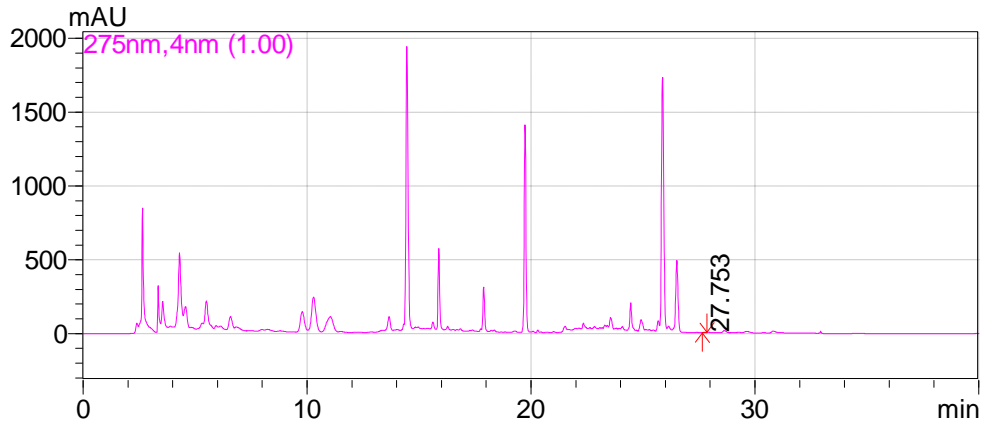
$$y = 6212343x$$

$$r^2 = 0,9997$$

$$r = 0,9999$$

Hiperforin standartı ile doğru denklemi belirlendikten sonra Bölüm 3.2.1.2.'de anlatıldığı gibi droglardan hazırlanan ekstreler kolona enjekte edildi. Ekstrelelere ait kromatogramlar aşağıda gösterilmiştir.

***Hypericum spectabile* ekstresine ait kromatogramlar ve değerler:**



Şekil 4-148: *H. spectabile*, hiperforin pikinin görüldüğü LC kromatogramı

**Tablo 4-82:** *H. spectabile* türünün içerdiği hiperforin miktarı hesaplamaları

<b>Konsantrasyon*</b> <b>(mg/ml)</b>	<b>Alan</b>	<b>x**</b> <b>(mg/ml)</b>
30	8589	0,00138
	9470	0,00152
	13066	0,00210

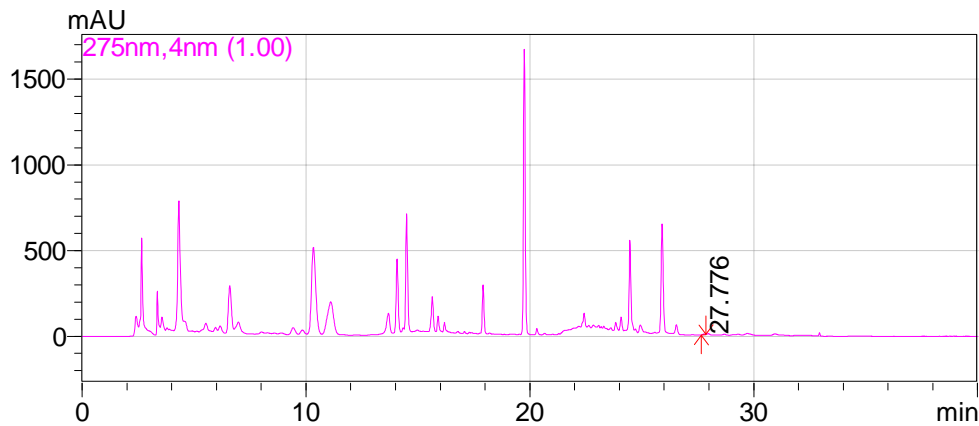
\* Enjektte edilen numunenin konsantrasyonu

\*\* 1 ml enjektte edilen numune içerisindeki hiperforin miktarının mg cinsinden değeri

<b>Ekstre Verimi* (%)</b>	<b>e** (%)</b>	<b>e<sub>ort</sub></b>	<b>SD***</b>
21,3	<b>0,00461</b>	0,00557	0,00127
	<b>0,00508</b>		
	<b>0,00701</b>		

\* 100 gram bitkiden elde edilen ekstre miktarı, \*\* Ekstre içerisindeki hiperforin miktarının % değeri ( $e = (x / \text{Konsantrasyon}) * 100$ ), \*\*\*e'lerin standart sapması

<b>h* (%)</b>	<b>h<sub>ort</sub></b>	<b>SD **</b>
0,00098	<b>0,00413</b>	<b>0,00027</b>
0,00108		
0,00149		

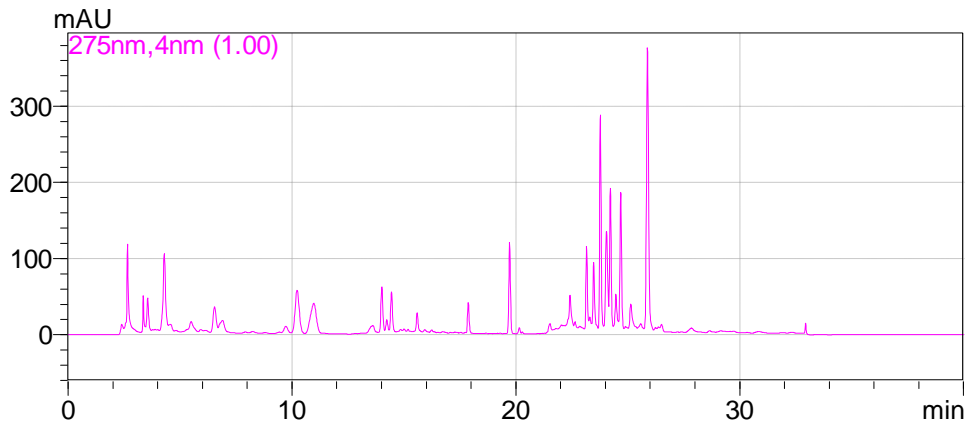
\* Bitki içerisindeki % hiperforin miktarı ( $h = \text{ekstre verimi} * e / 100$ ), \*\* h'ların standart sapması***Hypericum pseudolaeve* ekstresine ait kromatogramlar ve değerler:****Şekil 4-149:** *H. pseudolaeve*, hiperforin pikinin görüldüğü LC kromatogramı



**Tablo 4-83:** *H. pseudolaeve* türünün içerdiği hiperforin miktarı hesaplamaları

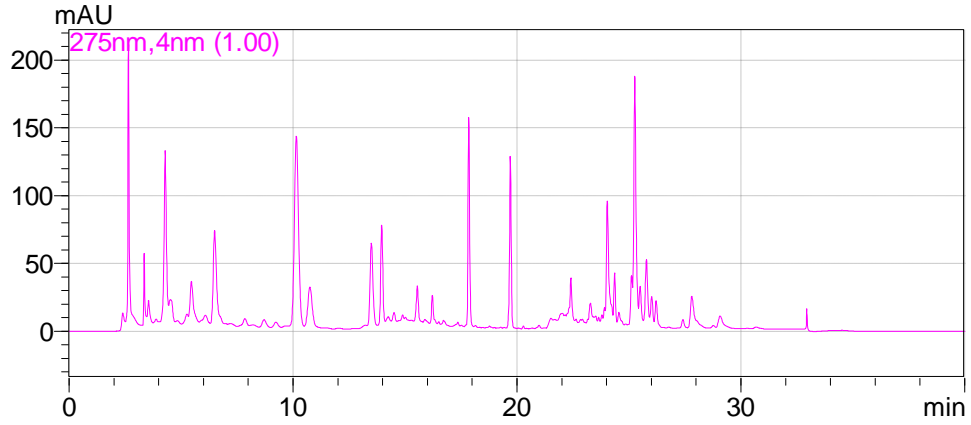
<b>Konsantrasyon*</b> <b>(mg/ml)</b>	<b>Alan</b>	<b>x**</b> <b>(mg/ml)</b>	
30	25086	0,00404	
	28545	0,00459	
	31411	0,00506	
* Enjektte edilen numunenin konsantrasyonu			
** 1 ml enjektte edilen numune içerisindeki hiperforin miktarının mg cinsinden değeri			
<b>Ekstre Verimi* (%)</b>	<b>e** (%)</b>	<b>e<sub>ort</sub></b>	<b>SD***</b>
14,9	<b>0,01346</b>	0,01521	0,00170
	<b>0,01531</b>		
	<b>0,01685</b>		
* 100 gram bitkiden elde edilen ekstre miktarı, ** Ekstre içerisindeki hiperforin miktarının % değeri ( $e = (x / \text{Konsantrasyon}) * 100$ ), ***e'lerin standart sapması			
<b>h* (%)</b>	<b>h<sub>ort</sub></b>	<b>SD **</b>	
0,00201	<b>0,00227</b>	<b>0,00025</b>	
0,00228			
0,00251			
* Bitki içerisindeki % hiperforin miktarı ( $h = \text{ekstre verimi} * e / 100$ ), ** h'ların standart sapması			

### *Hypericum thymbrifolium* ekstresine ait kromatogramlar ve değerler:

**Şekil 4-150:** *H. thymbrifolium*, metanol ekstresine ait LC kromatogramı

*H. thymbrifolium* ekstresinde hiperforin standardı ile aynı retansiyon zamanına ve aynı UV değerlerine sahip bir pik saptanmamıştır.

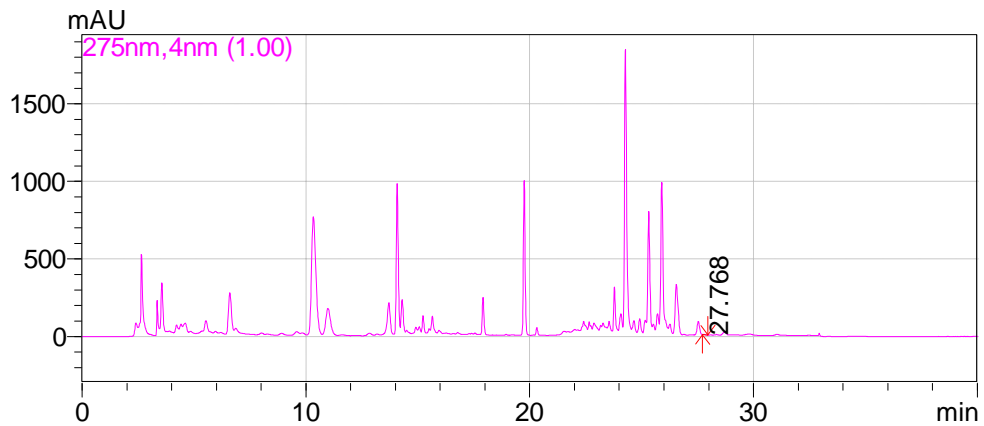
***Hypericum neurocalycinum* ekstresine ait kromatogramlar ve değerler:**



**Şekil 4-151:** *H. neurocalycinum*, metanol ekstresine ait LC kromatogramı

*H. neurocalycinum* ekstresinde hiperforin standartı ile aynı retansiyon zamanına ve aynı UV değerlerine sahip bir pik saptanmamıştır.

***Hypericum malatyanum* ekstresine ait kromatogramlar ve değerler:**



**Şekil 4-152:** *H. malatyanum*, hiperforin pikinin görüldüğü LC kromatogramı

**Tablo 4-84:** *H. malatyanum* türünün içerdiği hiperforin miktarı hesaplamaları

Konsantrasyon* (mg/ml)	Alan	x** (mg/ml)
30	10862	0,00175
	10095	0,00163
	7945	0,00128

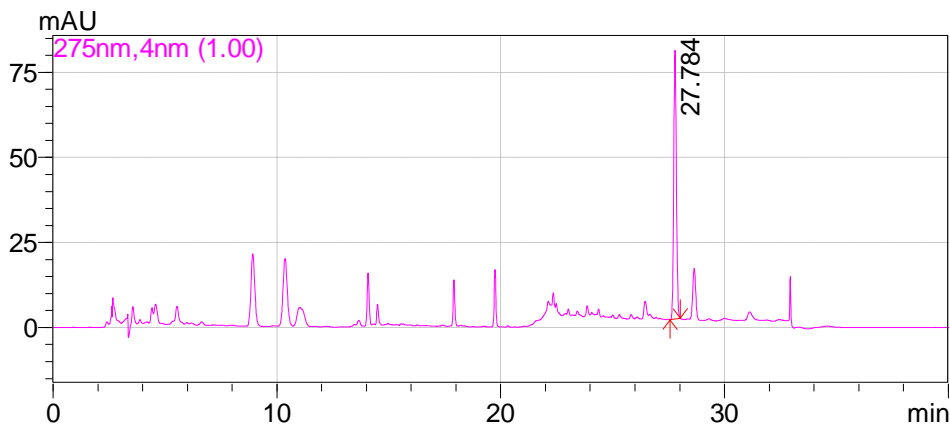
\* Enjekte edilen numunenin konsantrasyonu

\*\* 1 ml enjekte edilen numune içerisindeki hiperforin miktarının mg cinsinden değeri

Ekstre Verimi* (%)	e** (%)	e <sub>ort</sub>	SD***
23,3	0,00583	0,00517	0,00081
	0,00542		
	0,00426		

\* 100 gram bitkiden elde edilen ekstre miktarı, \*\* Ekstre içerisindeki hiperforin miktarının % değeri ( $e = (x / \text{Konsantrasyon}) * 100$ ), \*\*\*e'lerin standart sapması

h* (%)	h <sub>ort</sub>	SD **
0,00136	0,00120	0,00019
0,00126		
0,00099		

\* Bitki içerisindeki % hiperforin miktarı ( $h = \text{ekstre verimi} * e / 100$ ), \*\* h'ların standart sapması***Hypericum perforatum* ekstresine ait kromatogramlar ve değerler:****Şekil 4-153:** *H. perforatum*, hiperforin pikinin görüldüğü LC kromatogramı

**Tablo 4-85:** *H. perforatum* türüne ait hiperforin miktarı hesaplamaları

Konsantrasyon* (mg/ml)	Alan	x** (mg/ml)
1	650577	0,10470
	892350	0,14360
	804427	0,12950

\* Enjektte edilen numunenin konsantrasyonu

\*\* 1 ml enjektte edilen numune içerisindeki hiperforin miktarının mg cinsinden değeri

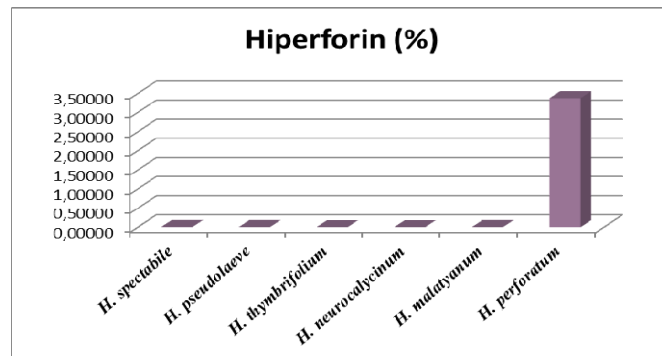
Ekstre Verimi* (%)	e** (%)	e <sub>ort</sub>	SD***
	<b>10,47000</b>		
26,8	<b>14,36000</b>	11,71000	1,96937
	<b>12,95000</b>		

\* 100 gram bitkiden elde edilen ekstre miktarı, \*\* Ekstre içerisindeki hiperforin miktarının % değeri ( $e = (x / \text{Konsantrasyon}) * 100$ ), \*\*\*e'lerin standart sapması

h* (%)	h <sub>ort</sub>	SD **
2,80596		
3,84848	<b>3,37501</b>	<b>0,52779</b>
3,47060		

\* Bitki içerisindeki % hiperforin miktarı ( $h = \text{ekstre verimi} * e / 100$ ), \*\* h'ların standart sapması**Tablo 4-86:** Analizi yapılan örneklerin hiperforin yüzdeleri

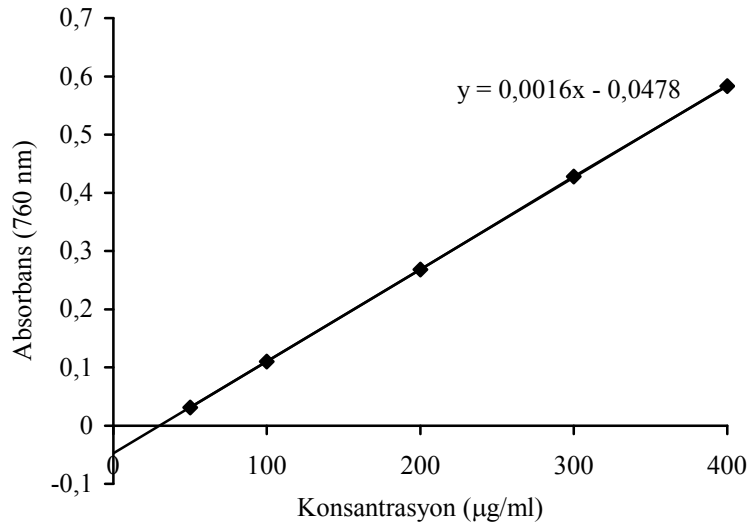
	% Hiperforin
<i>H. spectabile</i>	0,00413
<i>H. pseudolaeye</i>	0,00227
<i>H. thymrifolium</i>	-
<i>H. neurocalycinum</i>	-
<i>H. malatyanum</i>	0,00120
<i>H. perforatum</i>	3,37501

**Şekil 4-154:** *Hypericum* türlerinin hiperforin içerikleri açısından karşılaştırılması

## 4.2. Antioksidan Aktivite Tayini Sonuçları

### 4.2.1. Fenolik Bileşiklerin Miktar Tayini Sonuçları

#### Gallik Asit Standart Eğri Denklemi



**Şekil 4-155:** Gallik asit standart eğrisi ve regresyon denklemi

Bu çalışmada incelenen *Hypericum* türlerinin çiçekli toprak üstü kısımlarının 10g'ından hazırlanan metanol ekstralarının total ekstre edilebilen madde miktarları hesaplandı ve türlere ait kuru ağırlığı ekstre edilebilen madde miktarı *H. spectabile* 213,5 mg/g, *H. pseudolaeye* 149,1 mg/g, *H. thymbrifolium* 172,3 mg/g, *H. neurocalycinum* 164,7 mg/g, *H. malatyanum* 232,9 mg/g ve *H. perforatum* 267,8 mg/g olarak hesaplandı (Tablo 4-87).

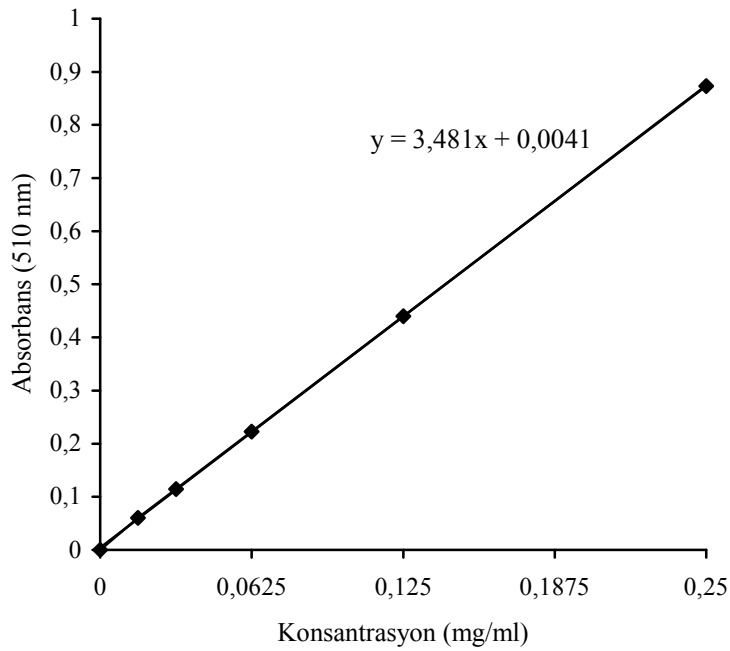
Fenolik bileşiklerin miktarının total ekstre edilebilen madde miktarına oranına bakıldığında *H. spectabile* %10; *H. pseudolaeye* %6,6; *H. thymbrifolium* %12; *H. neurocalycinum* %13,9; *H. malatyanum* %7,1 ve *H. perforatum* %12,9 olarak belirlendi.

İncelenen *Hypericum* türlerinin içerdikleri total fenol bileşiklerinin miktarı mg GAE/g kuru ağırlık olarak hesaplandığında *H. spectabile* 23,1; *H. pseudolaeye* 13,26; *H. thymbrifolium* 20,74; *H. neurocalycinum* %23,11; *H. malatyanum* 19,83 ve *H. perforatum* 34,65 olarak belirlendi. Bu değerler mg GAE/g ekstre olarak hesaplandığında ise *H. spectabile* 108; *H. pseudolaeye* 89; *H. thymbrifolium* 120,5; *H.*

*neurocalycinum* 140,9; *H.malatyanum* 85,2 ve *H. perforatum* 129,7 olarak bulundu ve Tablo 4-87'de gösterildi.

#### 4.2.2. Flavonoit Miktar Tayini Sonuçları

##### Kateşin Standart Eğri Denklemi



Şekil 4-156: Kateşin standart eğrisi ve regresyon denklemi

İncelenen *Hypericum* türlerinin içerdikleri flavonoit miktarı CE/g kuru ağırlık olarak hesaplandığında *H. spectabile* 22,44; *H. pseudolaeve* 10,3; *H. thymbrifolium* 16,99; *H. neurocalycinum* 22,8; *H. malatyanum* 14,98 ve *H. perforatum* 31,8 olarak belirlendi. Bu değerler CE/g ekstre olarak hesaplandığında ise *H. spectabile* 105,3; *H. pseudolaeve* 69,1; *H. thymbrifolium* 98,8; *H. neurocalycinum* 138,8; *H. malatyanum* 64,5 ve *H. perforatum* 119 olarak bulundu ve Tablo 4-87'de gösterildi.

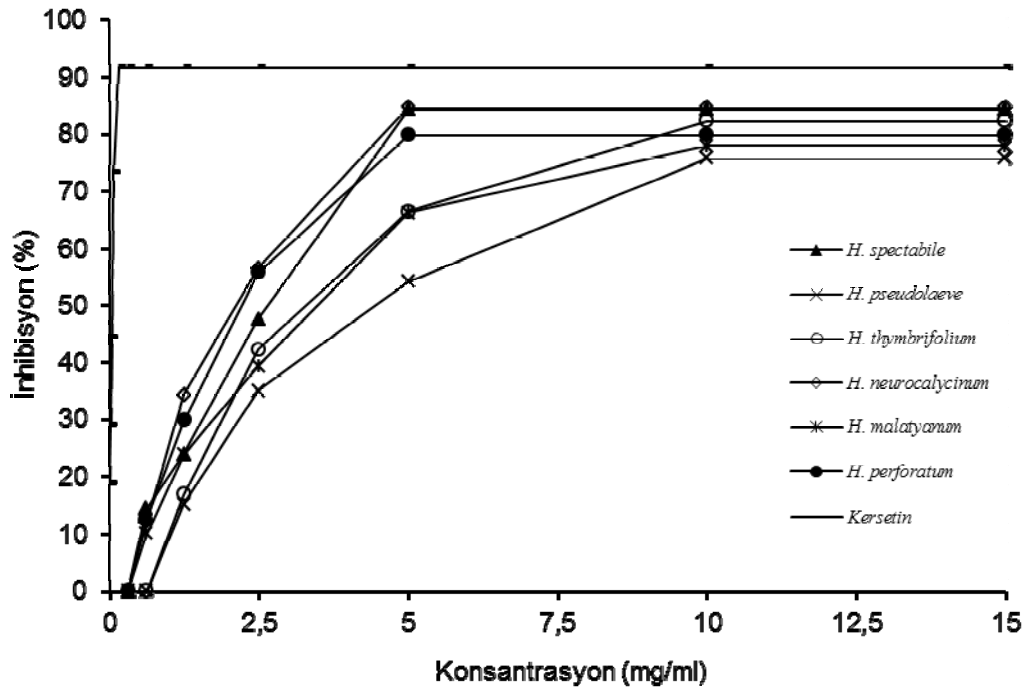
**Tablo 4-87:** *Hypericum* türlerinden hazırlanan metanol ekstralarının içerdikleri total ekstre edilebilir madde miktarı (EC), fenolik madde (PC, bitki ağırlığının her gramı için gallik asit ekivalanı (GAE) olarak) ve flavonoid (bitki ağırlığının her gramı için kateşin ekivalanı (CE) olarak) miktarları

Ekstre	EC (mg /g kuru ağırlık)	PC (mg GAE/g kuru ağırlık)	PC (mg GAE/g ekstre)	Flavonoid (mg CE/g kuru ağırlık)	Flavonoid (mg CE/g ekstre)	PC/EC (%)
<i>H. spectabile</i>	213,5	23,10 ± 2,2 <sup>a</sup>	108,0 ± 11,3 <sup>b,c,d</sup>	22,44 ± 0,3 <sup>a</sup>	105,3 ± 1,6 <sup>c</sup>	10,0
<i>H. pseudolaeve</i>	149,1	13,26 ± 1,7 <sup>b</sup>	89,0 ± 11,4 <sup>c</sup>	10,30 ± 0,2 <sup>c</sup>	69,1 ± 1,5 <sup>d</sup>	6,6
<i>H. thymbrifolium</i>	172,3	20,74 ± 2,1 <sup>a</sup>	120,5 ± 12,2 <sup>a,b</sup>	16,99 ± 0,5 <sup>b</sup>	98,8 ± 3,0 <sup>b</sup>	12,0
<i>H. neurocalycinum</i>	164,7	23,11 ± 1,5 <sup>a</sup>	140,9 ± 9,5 <sup>a</sup>	22,80 ± 1,8 <sup>a</sup>	138,8 ± 11,1 <sup>a</sup>	13,9
<i>H. malatyanum</i>	232,9	19,83 ± 0,7 <sup>a</sup>	85,2 ± 2,8 <sup>e,c</sup>	14,98 ± 0,5 <sup>d</sup>	64,5 ± 2,5 <sup>d</sup>	7,1
<i>H. perforatum</i>	267,8	34,65 ± 0,9 <sup>c</sup>	129,7 ± 3,6 <sup>a,d</sup>	31,80 ± 0,9 <sup>e</sup>	119,0 ± 3,3 <sup>a</sup>	12,9

Veriler ortalama ve ± standart sapma olarak verildi. Anlamlılık sınırı olarak  $p < 0,05$  kabul edildi. Aynı sütun içindeki farklı harfler verilerin anlamlı olarak farklı olduklarını göstermektedir.

#### 4.2.3. Lipozom Peroksidasyonu Üzerine Antioksidan Etki Sonuçları

Bu deneyde *H. neurocalycinum*, *H. spectabile* ve *H. perforatum* ekstraları maksimum antioksidan aktiviteyi 5 mg/ml konsantrasyonda göstermiş ve bu konsantrasyonda lipid peroksidasyonunu sırasıyla %87,03 ± 1,6; %84,27 ± 3,6 ve %79,74 ± 3,3 oranlarında inhibe etmişlerdir. *H. thymbrifolium*, *H. pseudolaeve* ve *H. malatyanum* ekstraları ise maksimum antioksidan aktiviteyi 10mg/ml konsantrasyonda göstermiş ve bu konsantrasyonda lipid peroksidasyonunu sırasıyla %82,25 ± 1,4; %75,74 ± 4,1 ve %77,83 ± 1,05 oranlarında inhibe etmişlerdir. Standart olarak kullanılan kersetin 0,16 mg/ml konsantrasyonda %91,6 ± 0,07 inhibisyona neden olmuş ve ekstraların doza bağlı olarak lipid peroksidasyonu inhibe edici aktiviteleri ile birlikte Şekil 4-157’de gösterilmiştir.



Şekil 4-157: *Hypericum* ekstralarının doza bağlı olarak lipid peroksidasyonu inhibe edici aktivitelerinin karşılaştırılması

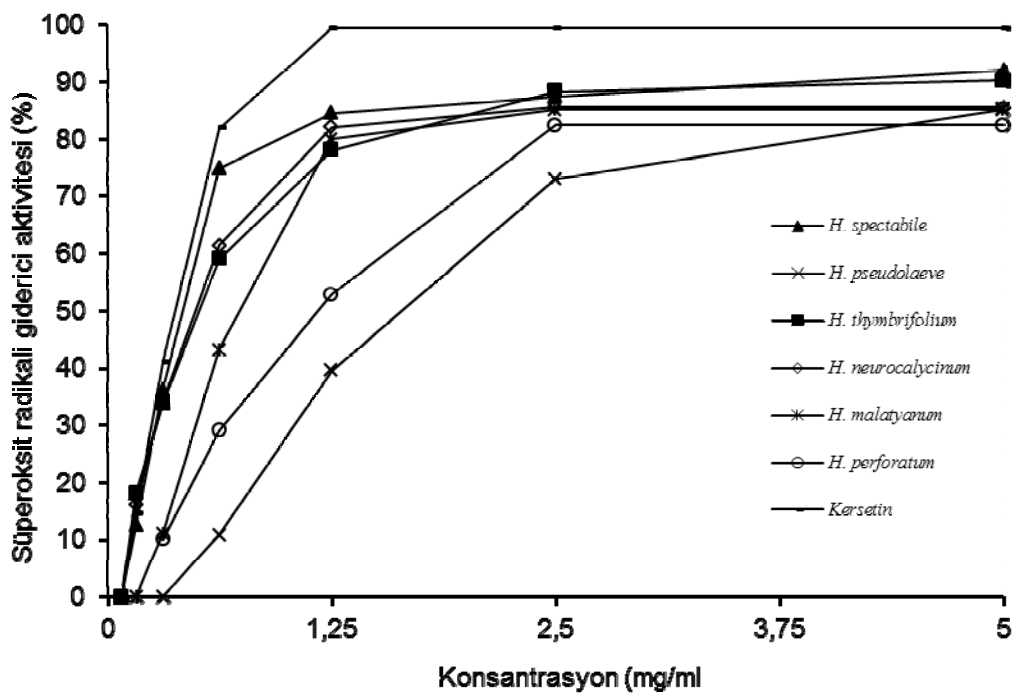
Ekstrelerin  $EC_{50}$  değerleri (% 50 TBARS oluşumunun inhibisyonunu sağlayan ekstre veya standart konsantrasyonu) *H. spectabile* 2,8; *H. pseudolaeye* 5,41; *H. thymbrifolium* 4,39; *H. neurocalycinum* 2,49; *H. malatyanum* 4,82 ve *H. perforatum* 2,74 olarak belirlenmiştir. Standart olarak kullanılan kersetinin ise  $EC_{50}$  değeri 0,059 olarak hesaplanmıştır.  $EC_{50}$  değerleri ve bu değerlerin standart sapmaları ayrıca Tablo 4-88'de gösterilmektedir.

#### 4.2.4. Süperoksit Radikali Giderici Aktivite Sonuçları

Bu çalışmada *Hypericum* ekstralarının PMS/NADH sistemi ile üretilen süperoksit radikallerini giderici etkisi incelenmiştir. *H. spectabile* ve *H. neurocalycinum* ekstraları nitroblue tetrazolium (NBT) indirgeme hızını 1,25 mg/ml konsantrasyonda sırasıyla  $84,4 \pm 3,2$  ve  $82 \pm 3,7$  oranında inhibe etmiştir. Aynı konsantrasyonda *H. thymbrifolium*  $77,9 \pm 5,1$ ; *H. pseudolaeye*  $39,53 \pm 8,1$ ; *H. malatyanum*  $79,8 \pm 2,7$  ve *H. perforatum*  $52,8 \pm 5,2$  inhibisyon aktivitesi göstermiştir.



*H. spectabile* ve *H. neurocalycinum* gibi etkili inhibisyonu *H. thymbrifolium*, *H. malatyanum* ve *H. perforatum* ekstreleri ancak 2,5 mg/ml konsantrasyonda ve  $88,2 \pm 0,38$ ;  $84,9 \pm 1,6$  ve  $82,3 \pm 4,8$  oranlarında göstermiştir. *H. pseudolaeye* ekstresinin ise maksimum inhibisyon aktivitesine 5 mg/ml konsantrasyonda ulaştığı ve  $85,1 \pm 1,3$  oranında inhibisyona neden olduğu belirlenmiştir. Standart olarak kullanılan kersetin 1,25 mg/ml konsantrasyonda  $99,3 \pm 0,27$  inhibisyon sağlamıştır. Ekstrelerin doza bağlı olarak süperoksit radikali giderici aktiviteleri Şekil 4-158’de gösterilmiştir.

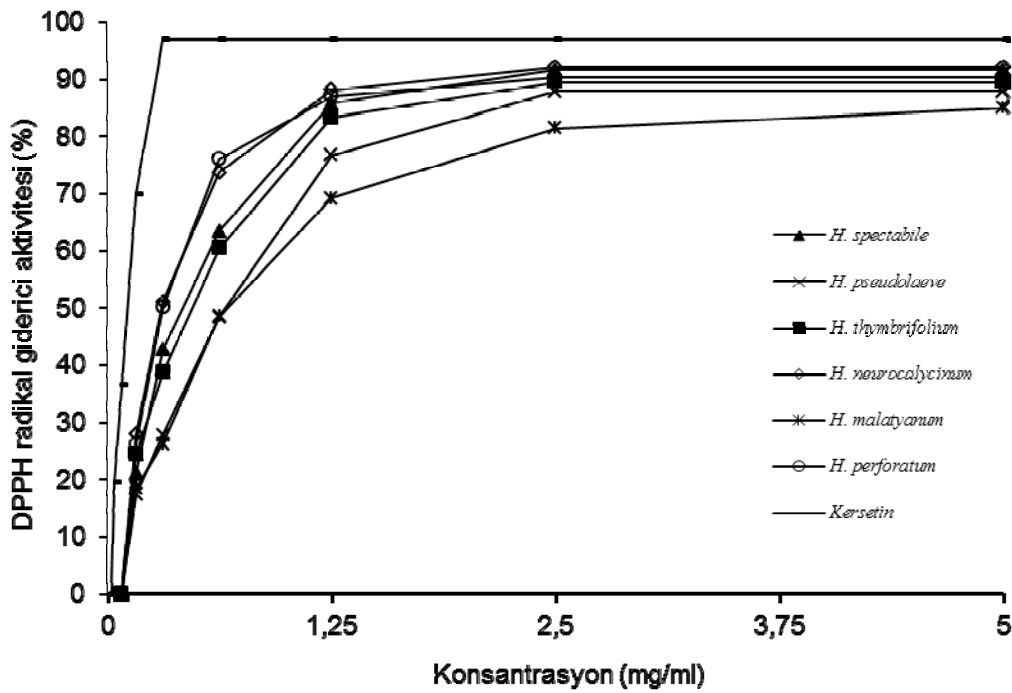


Şekil 4-158: *Hypericum* ekstrelerinin doza bağlı süperoksit radikali giderici aktivitelerinin karşılaştırılması

EC<sub>50</sub> değerlerine bakıldığında *H. spectabile* 0,43; *H. pseudolaeye* 1,73; *H. thymbrifolium* 0,641; *H. neurocalycinum* 0,613; *H. malatyanum* 0,802 ve *H. perforatum* 1,38 olarak belirlenmiştir. Standart olarak kullanılan kersetinin ise EC<sub>50</sub> değeri 0,461 olarak hesaplanmıştır. EC<sub>50</sub> değerleri ve bu değerlerin standart sapmaları ayrıca Tablo 4-88’de gösterilmektedir.

#### 4.2.5. DPPH Radikali Giderici Aktivite Sonuçları

Ekstrelerin DPPH radikali giderici aktivitesi 2,5 mg/ml konsantrasyonda ve *H. spectabile* için  $91,53 \pm 1,34$ ; *H. pseudolaeve* için  $87,69 \pm 2,40$ ; *H. thymbrifolium* için  $89,41 \pm 1,35$ ; *H. neurocalycinum* için  $92,13 \pm 0,68$ ; *H. malatyanum* için  $81,37 \pm 0,30$  ve *H. perforatum* için  $90,18 \pm 0,87$  oranlarında görülmüştür. Kersetinin ise 0,31mg/ml konsantrasyonda  $96,89 \pm 0,72$  aktivite göstermiştir. Ekstrelerin doza bağlı olarak DPPH radikali giderici aktiviteleri Şekil 4-159'da gösterilmiştir.



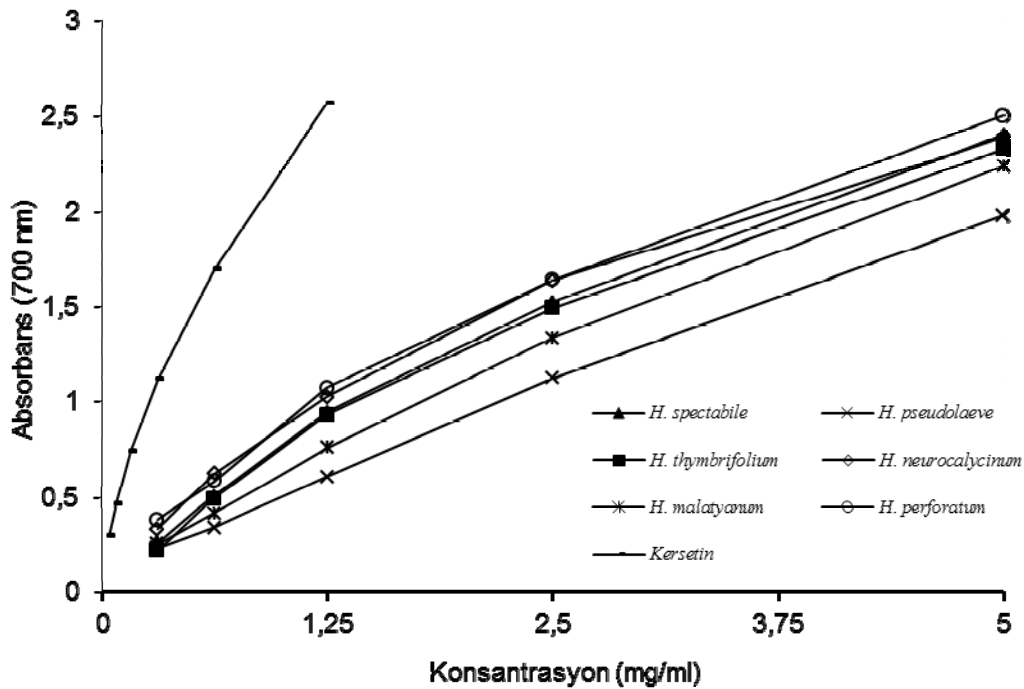
Şekil 4-159: *Hypericum* ekstrelerinin doza bağlı DPPH radikali giderici aktivitelerinin karşılaştırılması

EC<sub>50</sub> değerlerine bakıldığında *H. spectabile* 0,567; *H. pseudolaeve* 0,916; *H. thymbrifolium* 0,622; *H. neurocalycinum* 0,251; *H. malatyanum* 1,54 ve *H. perforatum* 0,265 olarak belirlenmiştir. Standart olarak kullanılan kersetinin ise EC<sub>50</sub> değeri 0,064 olarak hesaplanmıştır. EC<sub>50</sub> değerleri ve bu değerlerin standart sapmaları ayrıca Tablo 4-88'de gösterilmektedir.

#### 4.2.6. Ferri İyonu Redükleyici (İndirgeyici) Güç Tayini Sonuçları

*Hypericum* ekstreleri tarafından potasyum ferrisiyanürün ( $Fe^{3+}$ ) ferrosiyanüre ( $Fe^{2+}$ ) redüklenmesi esasına dayanan bu çalışma da kolorimetrik metod kullanarak incelenen ekstrelerin 5 mg/ml konsantrasyonda ve 700 nm'de verdikleri absorbans değerleri *H. spectabile* için  $2,40 \pm 0,029$ , *H. pseudolaeve* için  $1,97 \pm 0,016$ , *H. thymbrifolium* için  $2,32 \pm 0,033$ , *H. neurocalycinum* için  $2,39 \pm 0,039$ , *H. malatyanum* için  $2,23 \pm 0,013$  ve *H. perforatum* için  $2,50 \pm 0,004$  olarak belirlenmiştir.

0,31 – 5 mg/ml konsantrasyon aralığında ve 700 nm'de 0,2 - 2,5 nm'ye kadar artan absorbansları olarak ifade edilen redükleyici güç gösterdikleri belirlenmiş ve Şekil 4-160'da gösterilmiştir.



Şekil 4-160: *Hypericum* ekstrelerinin doza bağlı ferri iyonu redükleyici güç tayini sonuçlarının karşılaştırılması

$EC_{50}$  değerlerine bakıldığında *H. spectabile* 0,533; *H. pseudolaeve* 0,962; *H. thymbrifolium* 0,571; *H. neurocalycinum* 0,259; *H. malatyanum* 0,754 ve *H. perforatum* 0,288 olarak belirlenmiştir. Standart olarak kullanılan kersetinin ise  $EC_{50}$  değeri 0,045

olarak hesaplanmıştır. EC<sub>50</sub> değerleri ve bu değerlerin standart sapmaları ayrıca Tablo 4-88'de gösterilmektedir.

**Tablo 4-88:** *Hypericum* türlerinin metanol ekstrelerinin EC<sub>50</sub> değeri olarak antioksidan aktiviteleri

	EC <sub>50</sub> (mM)			
	Anti-LPO	SOD	DPPH	İndirgeyici güç
<i>H. spectabile</i>	2,80 ± 0,28 <sup>a</sup>	0,430 ± 0,006 <sup>b</sup>	0,567 ± 0,03 <sup>b</sup>	0,533 ± 0,03 <sup>b</sup>
<i>H. pseudolaeve</i>	5,41 ± 0,55 <sup>b</sup>	1,73 ± 0,060 <sup>c</sup>	0,916 ± 0,04 <sup>c</sup>	0,962 ± 0,04 <sup>c</sup>
<i>H. thymbrifolium</i>	4,39 ± 0,077 <sup>b</sup>	0,641 ± 0,069 <sup>a,f</sup>	0,622 ± 0,05 <sup>b</sup>	0,571 ± 0,01 <sup>b</sup>
<i>H. neurocalycinum</i>	2,49 ± 0,097 <sup>a</sup>	0,613 ± 0,052 <sup>a</sup>	0,251 ± 0,12 <sup>a</sup>	0,259 ± 0,05 <sup>a</sup>
<i>H. malatyanum</i>	4,82 ± 0,034 <sup>b</sup>	0,802 ± 0,036 <sup>d</sup>	1,54 ± 0,044 <sup>d</sup>	0,754 ± 0,01 <sup>d</sup>
<i>H. perforatum</i>	2,74 ± 0,19 <sup>a</sup>	1,38 ± 0,085 <sup>e</sup>	0,265 ± 0,12 <sup>a</sup>	0,288 ± 0,02 <sup>a</sup>
<b>Kersetin</b>	0,059 ± 0,001 <sup>d</sup>	0,461 ± 0,014 <sup>b</sup>	0,064 ± 0,001 <sup>e</sup>	0,045 ± 0,008 <sup>e</sup>

EC<sub>50</sub> değeri (% 50 TBARS oluşumunun inhibisyonunu sağlayan indol türevi konsantrasyonu; % 50 süperoksit ve DPPH radikali giderici aktivite göstermesi için gerekli olan antioksidan miktarı).

Veriler ortalama ± standart sapma olarak verildi. Anlamlılık sınırı olarak p < 0.05 kabul edildi.

Aynı satır içindeki farklı harfler verilerin anlamlı olarak farklı olduklarını göstermektedir.

### 4.3. *In vitro* Sitotoksik Aktivite Tayini Sonuçları

Bölüm 3.2.1.2. anlatıldığı gibi hazırlanan 6 farklı ekstrenin 1mg/ml, 0,5mg/ml, 0,25mg/ml, 0,125mg/ml ve 0,0625mg/ml konsantrasyonlarının HeLa CCL-2 serviks adenokarsinomu hücrelerine karşı gösterdikleri sitotoksik aktivite LDH ve WST-1 testleri ile sitotoksosite (%) ve canlılık (%) olarak belirlenmiştir.

LDH ve WST-1 testlerine ait absorbans değerleri, bu değerlere göre belirlenen sitotoksosite (%) ve canlılık (%) değerleri aşağıda tablolar halinde gösterilmektedir.

### 4.3.1. LDH Sitotoksosite Belirleme Testi Sonuçları

**Tablo 4-89:** LDH testi - Ortalama absorbans değerleri (OD 490 nm, 600 nm ref.)

	1	0,5	0,25	0,125	0,0625
	mg/ml	mg/ml	mg/ml	mg/ml	mg/ml
<i>H. spectabile</i>	2,521	1,756	1,527	-	-
<i>H. pseudolaeve</i>	2,910	1,977	1,644	-	-
<i>H. thymbrifolium</i>	2,721	2,628	2,658	-	-
<i>H. neurocalycinum</i>	2,327	2,221	1,903	-	-
<i>H. malatyanum</i>	3,387	2,636	2,221	1,649	-
<i>H. perforatum</i>	3,448	2,844	1,988	1,444	-
BC: 1,402 / LC: 2,101 / HC: 3,625					

**Tablo 4-90:** LDH testi – (Ortalama absorbans değerleri – BC absorbans değeri)

	1	0,5	0,25	0,125	0,0625
	mg/ml	mg/ml	mg/ml	mg/ml	mg/ml
<i>H. spectabile</i>	1,119	0,354	0,125	-	-
<i>H. pseudolaeve</i>	1,508	0,575	0,242	-	-
<i>H. thymbrifolium</i>	1,319	1,226	1,256	-	-
<i>H. neurocalycinum</i>	0,925	0,819	0,501	-	-
<i>H. malatyanum</i>	1,985	1,234	0,819	0,247	-
<i>H. perforatum</i>	2,046	1,442	0,586	0,042	-
LC: 0,699 / HC: 2,283					

**Tablo 4-91:** LDH testi – Sitotoksosite (%) değerleri

	Sitotoksosite (%)				
	1	0,5	0,25	0,125	0,0625
	mg/ml	mg/ml	mg/ml	mg/ml	mg/ml
<i>H. spectabile</i>	26,52	-	-	-	-
<i>H. pseudolaeve</i>	51,07	-	-	-	-
<i>H. thymbrifolium</i>	39,14	39,33	35,16	-	-
<i>H. neurocalycinum</i>	14,27	7,58	-	-	-
<i>H. malatyanum</i>	81,19	39,39	7,58	-	-
<i>H. perforatum</i>	85,04	46,91	-	-	-

#### 4.3.2. WST-1 H¼cre Proliferasyonu ¼l¼m¼ Testi Sonu¼ları

##### 4.3.2.1. WST-1 ile 1h İnk¼basyon Sonu¼ları

**Tablo 4-92:** WST-1 testi (1h) - Ortalama absorbans değerleri (OD 490 nm, 600 nm ref.)

	0,0625	0,125	0,25	0,5	1
	mg/ml	mg/ml	mg/ml	mg/ml	mg/ml
<i>H. spectabile</i>	0,575	0,463	0,411	-	0,308
<i>H. pseudolaeve</i>	0,566	0,503	0,500	0,406	0,398
<i>H. thymbrifolium</i>	0,562	0,518	0,338	0,325	-
<i>H. neurocalycinum</i>	0,578	0,477	0,356	-	0,269
<i>H. malatyanum</i>	0,519	0,493	0,487	0,420	0,387
<i>H. perforatum</i>	0,430	0,310	0,291	-	-
BC: 0,24 / LC: 0,586					

**Tablo 4-93:** WST-1 testi (1h) – (Ortalama absorbans değerleri – BC absorbans değeri)

	0,0625	0,125	0,25	0,5	1
	mg/ml	mg/ml	mg/ml	mg/ml	mg/ml
<i>H. spectabile</i>	0,335	0,223	0,171	-	0,068
<i>H. pseudolaeve</i>	0,326	0,263	0,260	0,166	0,158
<i>H. thymbriifolium</i>	0,322	0,278	0,098	0,085	-
<i>H. neurocalycinum</i>	0,338	0,207	0,116	-	0,029
<i>H. malatyanum</i>	0,279	0,253	0,247	0,180	0,147
<i>H. perforatum</i>	0,190	0,07	0,051	-	-
LC: 0,346					

**Tablo 4-94:** : WST-1 testi (1h) – Canlılık (%) değerleri

	Canlılık (%) – 1h				
	0,0625	0,125	0,25	0,5	1
	mg/ml	mg/ml	mg/ml	mg/ml	mg/ml
<i>H. spectabile</i>	96,82	64,45	49,42	-	19,65
<i>H. pseudolaeve</i>	94,22	76,01	75,14	47,98	45,66
<i>H. thymbriifolium</i>	93,06	80,35	28,32	24,57	-
<i>H. neurocalycinum</i>	97,69	59,83	33,53	-	8,38
<i>H. malatyanum</i>	80,64	73,12	71,39	52,02	42,49
<i>H. perforatum</i>	54,91	20,23	14,74	-	-

#### 4.3.2.2. WST-1 ile 4h İnkübasyon Sonuçları

**Tablo 4-95:** WST-1 testi (4h) - Ortalama absorbans değerleri (OD 490 nm, 600 nm ref.)

	0,0625	0,125	0,25	0,5	1
	mg/ml	mg/ml	mg/ml	mg/ml	mg/ml
<i>H. spectabile</i>	0,602	0,575	0,561	-	0,339
<i>H. pseudolaeve</i>	0,649	0,625	0,631	0,384	0,376
<i>H. thymbrifolium</i>	0,632	0,575	0,362	0,403	0,393
<i>H. neurocalycinum</i>	0,607	0,548	0,445	-	0,309
<i>H. malatyanum</i>	0,435	0,331	0,302	-	-
<i>H. perforatum</i>	0,532	0,503	-	0,399	-
<b>BC: 0,275 / LC: 0,634</b>					

**Tablo 4-96:** WST-1 testi (4h) – (Ortalama absorbans değerleri – BC absorbans değeri)

	0,0625	0,125	0,25	0,5	1
	mg/ml	mg/ml	mg/ml	mg/ml	mg/ml
<i>H. spectabile</i>	0,327	0,300	0,286	-	0,064
<i>H. pseudolaeve</i>	0,374	0,350	0,356	0,109	0,101
<i>H. thymbrifolium</i>	0,357	0,300	0,087	0,105	0,118
<i>H. neurocalycinum</i>	0,332	0,273	0,170	-	0,034
<i>H. malatyanum</i>	0,160	0,056	0,027	-	-
<i>H. perforatum</i>	0,257	0,228	-	0,124	-
<b>LC: 0,359</b>					



**Tablo 4-97:** WST-1 testi (4h) – Canlılık (%) değerleri

	Canlılık (%) – 4h				
	0,0625 mg/ml	0,125 mg/ml	0,25 mg/ml	0,5 mg/ml	1 mg/ml
<i>H. spectabile</i>	91,09	83,57	79,67	-	17,83
<i>H. pseudolaeye</i>	97,21	97,49	99,16	30,36	28,13
<i>H. thymbrifolium</i>	99,44	83,57	24,23	29,25	32,87
<i>H. neurocalycinum</i>	92,48	76,04	47,35	-	9,47
<i>H. malatyanum</i>	44,57	15,60	7,52	-	-
<i>H. perforatum</i>	71,59	63,51	-	34,54	-

#### 4.4. Antimikrobiyal Aktivite Tayini Sonuçları

Bölüm 3.2.1.2. ve 3.2.3.'de anlatıldığı gibi hazırlanan 6 farklı ekstre ile *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, metisiline dirençli (*Meticillin Resistant*) *Staphylococcus aureus* ATCC 33591 (MRSA), *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 4352, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 1539, *Proteus mirabilis* ATCC 14153 suşlarına karşı antimikrobiyal aktivite tayini yapıldı. Aynı ekstrelerde; *Candida albicans* ATCC 10231 suşuna karşı antifungal aktivite tayini yapıldı. Gözle görülür üremenin olmadığı en düşük madde konsantrasyonu MİK değeri olarak belirlendi.

Bölüm 3.2.1.2. ve 3.2.3.'de anlatıldığı gibi hazırlanan 6 farklı ekstrenin verimleri ve bu ekstrelerin suşlara karşı gösterdiği antimikrobiyal aktiviteye ait sonuçlar aşağıda tablolar halinde verilmiştir (Tablo 4-98, Tablo 4-99, Tablo 4-100, Tablo 4-101, Tablo 4-102, Tablo 4-103, Tablo 4-104 ).

**Tablo 4-98:** Antimikrobiyal aktivite için hazırlanan ekstrelerin verimleri

	PE (%)	DEE (%)	K (%)	A (%)	M (%)	TM (%)
<i>H. spectabile</i>	1,9	1,8	0,5	1,2	18,6	16,6
<i>H. pseudolaeve</i>	0,7	1,2	0,3	1,5	12,5	18,3
<i>H. thymbrifolium</i>	3,8	1,8	0,7	0,9	12,8	15,4
<i>H. neurocalycinum</i>	2,7	1,5	0,6	1,6	13,4	14,6
<i>H. malatyanum</i>	2,6	1,4	1,0	1,5	16,1	22,8
<i>H. perforatum</i>	4,0	2,4	1,3	2,0	17,5	27,9

PE: Petrol eteri ekstresi, DEE: Dietileter ekstresi, K: Kloroform ekstresi, A: Aseton ekstresi, M: Metanol ekstresi, TM: total metanol ekstresi.

**Tablo 4-99:** *H. spectabile* türüne ait ekstrelerin antimikrobiyal aktivite sonuçları

Mikroorganizma	<i>H. spectabile</i> Ekstreleri (mg/L)						Referans maddeler (mg/L)
	PE	DEE	K	A	M	TM	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	4,8	4,8	39	39	39	4,8	Sefuroksim-Na 1,2
MR <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC33591	312	39	156	78	312	4,8	Vankomisin 2
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	312	78	78	78	156	39	Sefuroksim 9,8
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	---	---	---	---	---	---	Sefuroksim-Na 4,9
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 4352	---	---	---	---	---	---	Sefuroksim-Na 4,9
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 1539	---	---	---	---	---	---	Seftazidim 2,4
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 14153	---	---	---	---	---	---	Sefuroksim-Na 2,4
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	156	156	156	---	---	---	Klortrimazol 4,9

PE: Petrol eteri ekstresi, DEE: Dietileter ekstresi, K: Kloroform ekstresi, A: Aseton ekstresi, M: Metanol ekstresi, TM: total metanol ekstresi.

**Tablo 4-100:** *H. pseudolaeye* türüne ait ekstrelerin antimikrobiyal aktivite sonuçları

Mikroorganizma	<i>H. pseudolaeye</i> Ekstreleri (mg/L)						Referans maddeler (mg/L)
	PE	DEE	K	A	M	TM	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	39	156	39	312	39	19	Sefuroksim-Na 1,2
MR <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC33591	312	78	156	156	156	156	Vankomisin 2
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	625	156	312	156	312	78	Sefuroksim 9,8
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	---	---	---	---	---	---	Sefuroksim-Na 4,9
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 4352	---	---	---	---	---	---	Sefuroksim-Na 4,9
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 1539	---	---	---	---	---	---	Seftazidim 2,4
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 14153	---	---	---	---	---	---	Sefuroksim-Na 2,4
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	156	---	---	---	156	156	Klortrimazol 4,9

PE: Petrol eteri ekstresi, DEE: Dietileter ekstresi, K: Kloroform ekstresi, A: Aseton ekstresi, M: Metanol ekstresi, TM: total metanol ekstresi.

**Tablo 4-101:** *H. thymbrifolium* türüne ait ekstrelerin antimikrobiyal aktivite sonuçları

Mikroorganizma	<i>H. thymbrifolium</i> Ekstreleri (mg/L)						Referans maddeler (mg/L)
	PE	DEE	K	A	M	TM	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	39	39	4,8	19	39	39	Sefuroksim-Na 1,2
MR <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC33591	4,8	4,8	78	312	78	4,8	Vankomisin 2
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	4,8	4,8	4,8	156	78	4,8	Sefuroksim 9,8
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	---	---	---	---	---	---	Sefuroksim-Na 4,9
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 4352	---	---	---	---	---	---	Sefuroksim-Na 4,9
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 1539	---	---	---	---	---	---	Seftazidim 2,4
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 14153	---	---	---	---	---	---	Sefuroksim-Na 2,4
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	---	---	---	---	---	---	Klortrimazol 4,9

PE: Petrol eteri ekstresi, DEE: Dietileter ekstresi, K: Kloroform ekstresi, A: Aseton ekstresi, M: Metanol ekstresi, TM: total metanol ekstresi.

**Tablo 4-102:** *H. neurocalycinum* türüne ait ekstrelerin antimikrobiyal aktivite sonuçları

Mikroorganizma	<i>H. neurocalycinum</i> Ekstreleri (mg/L)						Referans maddeler (mg/L)
	PE	DEE	K	A	M	TM	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	4,8	4,8	4,8	78	4,8	4,8	Sefuroksim-Na 1,2
MR <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC33591	4,8	39	78	39	78	4,8	Vankomisin 2
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	4,8	4,8	78	78	156	4,8	Sefuroksim 9,8
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	---	---	---	---	---	---	Sefuroksim-Na 4,9
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 4352	---	---	---	---	---	---	Sefuroksim-Na 4,9
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 1539	---	---	---	---	---	---	Seftazidim 2,4
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 14153	---	---	---	---	---	---	Sefuroksim-Na 2,4
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	---	---	---	---	---	---	Klortrimazol 4,9

PE: Petrol eteri ekstresi, DEE: Dietileter ekstresi, K: Kloroform ekstresi, A: Aseton ekstresi, M: Metanol ekstresi, TM: total metanol ekstresi.

**Tablo 4-103:** *H. malatyanum* türüne ait ekstrelerin antimikrobiyal aktivite sonuçları

Mikroorganizma	<i>H. malatyanum</i> Ekstreleri (mg/L)						Referans maddeler (mg/L)
	PE	DEE	K	A	M	TM	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	4,8	4,8	4,8	78	39	4,8	Sefuroksim-Na 1,2
MR <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC33591	4,8	78	78	---	156	4,8	Vankomisin 2
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	4,8	4,8	4,8	4,8	312	4,8	Sefuroksim 9,8
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	---	---	---	---	---	---	Sefuroksim-Na 4,9
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 4352	---	---	---	---	---	---	Sefuroksim-Na 4,9
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 1539	---	---	---	---	---	---	Seftazidim 2,4
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 14153	---	---	---	---	---	---	Sefuroksim-Na 2,4
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	---	---	---	---	---	---	Klortrimazol 4,9

PE: Petrol eteri ekstresi, DEE: Dietileter ekstresi, K: Kloroform ekstresi, A: Aseton ekstresi, M: Metanol ekstresi, TM: total metanol ekstresi.

**Tablo 4-104:** *H. perforatum* türüne ait ekstrelerin antimikrobiyal aktivite sonuçları

Mikroorganizma	<i>H. perforatum</i> Ekstreleri (mg/L)						Referans maddeler (mg/L)
	PE	DEE	K	A	M	TM	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	78	---	78	4,8	4,8	4,8	Sefuroksim-Na 1,2
MR <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC33591	312	156	78	78	78	39	Vankomisin 2
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	312	156	156	78	156	78	Sefuroksim 9,8
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	---	---	---	---	---	---	Sefuroksim-Na 4,9
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 4352	---	---	---	---	---	---	Sefuroksim-Na 4,9
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 1539	---	---	---	---	---	---	Seftazidim 2,4
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 14153	---	---	---	---	---	---	Sefuroksim-Na 2,4
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	---	---	---	---	---	---	Klortrimazol 4,9

PE: Petrol eteri ekstresi, DEE: Dietileter ekstresi, K: Kloroform ekstresi, A: Aseton ekstresi, M: Metanol ekstresi, TM: total metanol ekstresi.

## 5. TARTIŞMA

Ülkemizde *Hypericum* cinsine ait 45 tanesi endemik olmak üzere 100 takson kayıtlıdır. Günümüze kadar yapılan araştırmalarla bu taksonlardan bazılarının kimyasal bileşimi aydınlatılmıştır. Bu çalışma ile daha önce üzerinde herhangi bir araştırma yapılmamış olan endemik türlerden *H. spectabile*, *H. pseudolaeve*, *H. thymbrifolium*, *H. neurocalycinum* ve *H. malatyanum* türlerinin kimyasal bileşimi ve biyolojik aktivitesini aydınlatmak ve *H. perforatum* türüne alternatif bir tür olma olasılığını belirlemek amaçlanmıştır.

Türlerin metanol ekstralarının kimyasal bileşimini oluşturan naftodiantron türevlerinden psödohiperisin ve hiperisin, açılfloroglusinol türevlerinden hiperforin, fenolik asitlerden klorojenik asit, flavonoidlerden rutin, hiperozit, izokersitrin, kersitrin, kempferol, kersetin ve amentoflavon bileşiklerinin bitki içerisindeki % değerleri YBSK analizi sonucu belirlenmiş ve yakın lokasyondan toplanan *H. perforatum* türünün metanol ekstresinin YBSK ile analizinden elde edilen sonuçlarla karşılaştırılmıştır.

Biyolojik aktivite yönünden metanol ekstralarının antioksidan etki potansiyelini belirlemek amacıyla total fenol miktar tayini ve total flavonoid miktar tayini yapılmış, dört farklı metot ile (lipozom peroksidasyonu üzerine antioksidan etki, süperoksit anyonu giderici aktivite, DPPH radikali giderici aktivite, ferri iyonu redükleyici güç) antioksidan kapasiteleri ölçülmüştür. Sitotoksik aktivite çalışmaları metanol ekstraları ile HeLa hücrelerine karşı LDH ve WST-1 testleri kullanılarak yapılmıştır. Antimikrobiyal aktivite çalışmalarından antibakteriyel aktivite, Soxhlet aparatında fraksiyonlu tüketme ile elde edilen petrol eteri, dietileter, kloroform, aseton, metanol ekstraları ve maserasyonla elde edilen total metanol ekstraları ile *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* ATCC 33591 (MRSA), *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 4352, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 1539, *Proteus mirabilis* ATCC 14153 suşlarına karşı, antifungal aktivite ise aynı ekstralarla *Candida albicans* ATCC 10231 suşuna karşı yapılmıştır. Elde edilen ve aşağıda tartışılan sonuçlar beş endemik *Hypericum* türünün ilk kez çalışılması nedeniyle orijinallik taşımaktadır.

### Psödohiperisin Miktarı

YBSK ile yapılan türlerin kimyasal içeriğini aydınlatma çalışmaları psödohiperisin açısından değerlendirildiğinde; en yüksek psödohiperisin içeriğinin

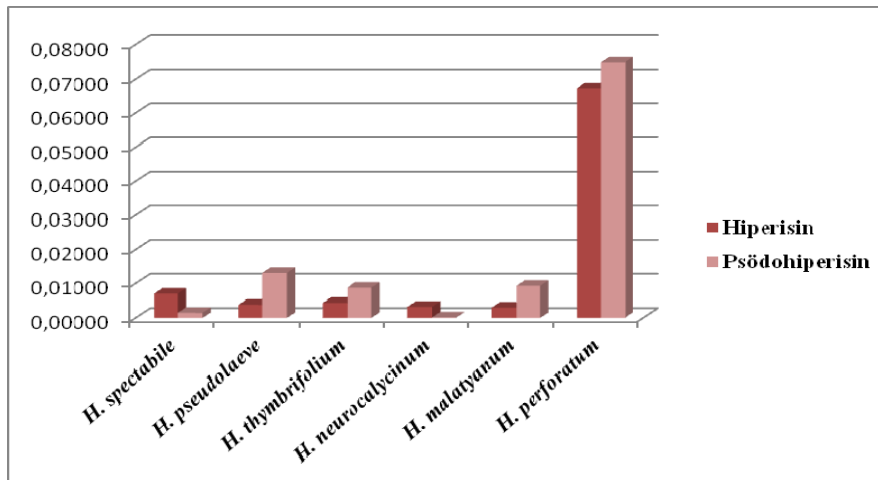


%0,0131 ile *H. pseudolaeve* türünde bulunduğu, sonrasında sırasıyla %0,0093 ile *H. malatyanum*, %0,00875 ile *H. thymbrifolium*, %0,00148 ile *H. spectabile* ve en düşük içeriğe ise %0,00016 ile *H. neurocalycinum* türlerinin sahip olduğu, *H. perforatum* türünün ise %0,075 ile *H. pseudolaeve* türünden yaklaşık altı kat daha fazla psödohiperisin içerdiği saptanmıştır.

Çalışılan türler hiperisin içerikleri açısından değerlendirildiğinde, en yüksek hiperisin içeriğine %0,007 ile *H. spectabile* türünün sahip olduğu, diğer dört türün değerlerinin birbirine yakın ve %0,03-0,045 arasında olduğu ve *H. perforatum* türünün hiperisin içeriğinin ise *H. spectabile* türünden yaklaşık 10 kat fazla olduğu Tablo 5-1’de görülmektedir.

**Tablo 5-1:** *Hypericum* türlerinin YBSK analizi ile belirlenen psödohiperisin ve hiperisin miktarları

	Bitki İçerisindeki % Değeri	
	Psödohiperisin	Hiperisin
<i>H. spectabile</i>	0,00148	0,00700
<i>H. pseudolaeve</i>	0,01310	0,00384
<i>H. thymbrifolium</i>	0,00875	0,00439
<i>H. neurocalycinum</i>	0,00016	0,00322
<i>H. malatyanum</i>	0,00930	0,00304
<i>H. perforatum</i>	0,07475	0,06729



**Şekil 5-1:** *Hypericum* türlerinin YBSK analizi ile belirlenen psödohiperisin ve hiperisin yüzdelerini gösteren grafik

*H. perforatum* türünün kurutulmuş çiçekli toprak üstü kısımlarının yaklaşık olarak %0,1-0,15 oranında hiperisin ve psödohiperisin total içeriğine sahip olduğu düşünüldüğünde çalışılan türlerden referans olarak kullanılan *H. perforatum* türünün %0,14 ile bu standart değerlere uygunluk gösterdiği belirlenmiştir. Diğer türlerin hiperisin ve psödohiperisin total içeriğine bakıldığında %0,017 ile *H. pseudolaeve*, %0,013 ile *H. thymbrifolium*, %0,012 ile *H. malatyanum*, %0,009 ile *H. spectabile* ve %0,003 ile *H. neurocalycinum* türlerinin standart değerlerin altında kaldığı görülmektedir.

#### Hiperforin Miktarı

Açılfloroglusinol türevlerinden hiperforin içeriği açısından türler karşılaştırıldığında, en yüksek değere %0,00413 ile *H. spectabile* türünün sahip olduğu, onu sırasıyla %0,00227 ile *H. pseudolaeve* ve %0,0012 ile *H. malatyanum* türlerinin takip ettiği, *H. perforatum* türünün ise %3,375 ile çalışılan türlere göre çok yüksek oranda hiperforin içerdiği belirlenmiştir. *H. thymbrifolium* ve *H. neurocalycinum* türlerinde hiperforin varlığı saptanamamıştır.

**Tablo 5-2:** *Hypericum* türlerinin YBSK analizi ile belirlenen hiperforin miktarı

<b>Bitki İçerisindeki % Değeri</b>	
<b>Hiperforin</b>	
<i>H. spectabile</i>	0,00413
<i>H. pseudolaeve</i>	0,00227
<i>H. thymbrifolium</i>	-
<i>H. neurocalycinum</i>	-
<i>H. malatyanum</i>	0,00120
<i>H. perforatum</i>	3,37501

*H. perforatum* türünün kurutulmuş çiçekli toprak üstü kısımlarının %2-4,5 oranında hiperforin içeriğine sahip olduğu düşünüldüğünde çalışılan türlerden referans olarak kullanılan *H. perforatum* türünün %3,38 ile bu standart değerlere uygunluk gösterdiği belirlenmiştir. Çalışılan türlerden ikisinde hiperforin saptanamaması ve diğer üç türün hiperforin içeriğinin standart değerlerin çok altında olması *H. perforatum* türünün hiperforin içeriği açısından diğer türlerden üstün olduğunu göstermektedir.

İncelenen *Hypericum* türleri Tablo 5-3'de yer alan, Türkiye'de yetişen, psödohiperisin, hiperisin ve hiperforin içeriği aydınlatılmış türlerle karşılaştırılmıştır. Psödohiperisin içeriği en yüksek olan *H. pseudolaeve* türü, *H. androsaemum*, *H. orientale* ve *H. scabrum* türlerine karşı üstünlük göstermektedir. Hiperisin içeriği en yüksek olan *H. spectabile* ise *H. androsaemum*, *H. orientale*, *H. organifolium*, *H. scabrum* ve *H. venustum* türlerinden daha yüksek oranda hiperisin içermektedir. Yine hiperforin içeriği en yüksek olan *H. spectabile* türü, *H. aviculariifolium*, *H. linarioides*, *H. montanum*, *H. orientale* ve *H. scabrum* türlerinden yüksek, *H. hyssopifolium* türü ile eşit oranda hiperforin bileşiği taşımaktadır.

**Tablo 5-3:** Türkiye'de yetişen bazı *Hypericum* türleri ile yapılan çalışmalarda rapor edilen psödohiperisin, hiperisin ve hiperforin miktarları

	<b>Psödohiperisin (%)</b>	<b>Hiperisin (%)</b>	<b>Hiperforin (%)</b>	
<i>H. androsaemum</i>	< 0,001	< 0,001	0,009	Smelcerovic ve ark, 2008
<i>H. aviculariifolium</i>	0,058	0,066	0,002	"
<i>H. bithynicum</i>	0,203	0,105	0,015	"
<i>H. heterophyllum</i>	0,032	0,051	0,008	"
<i>H. hirsutum</i>	0,038	0,054	0,020	"
<i>H. hyssopifolium</i>	0,046	0,052	0,004	"
	0,0051	0,003	-	Ayan ve ark, 2004
<i>H. linarioides</i>	0,056	0,034	< 0,001	Smelcerovic ve ark, 2008
<i>H. lydium</i>	-	0,121	-	Çırak ve ark, 2006
<i>H. montanum</i>	0,156	0,113	< 0,001	Smelcerovic ve ark, 2008
<i>H. montbretii</i>	0,210	0,074	0,345	"
	0,358	0,252	-	Ayan ve Çırak, 2008
<i>H. nummularioides</i>	0,018	0,020	0,025	Smelcerovic ve ark, 2008
<i>H. orientale</i>	0,004	0,002	0,003	"
<i>H. organifolium</i>	0,001	< 0,001	< 0,001	"
	0,093	-	0,163	Çırak ve ark, 2008
<i>H. perfoliatum</i>	0,023	0,029	0,014	Smelcerovic ve ark, 2008
	0,262	-	0,184	Çırak ve ark, 2008
<i>H. perforatum</i>	0,354	0,347	0,546	Smelcerovic ve ark, 2008
<i>H. pruinatum</i>	0,118	0,036	0,005	"
<i>H. scabrum</i>	0,007	0,004	0,002	"
<i>H. triquetrifolium</i>	0,349	0,456	0,005	"
<i>H. venustum</i>	-	0,003	-	Ayan ve ark, 2004

### Fenolik Bileşiklerin Miktarları

Fenolik asitlerden klorojenik asit içeriği açısından türler karşılaştırıldığında; en yüksek değere %0,322 ile *H. pseudolaeve* türünün sahip olduğu, bu türü azalan oranlarda %0,296 ile *H. thymbrifolium*, %0,26 ile *H. neurocalycinum*, %0,236 ile *H. spectabile* ve %0,11 ile *H. malatyanum* türlerinin takip ettiği Tablo 5-4'de görülmektedir. *H. perforatum* türünün ise %0,008 ile incelenen türlere göre en düşük klorojenik asit yüzdesine sahip olduğu belirlenmiştir. Çalışılan türler klorojenik asit içeriği açısından *H. perforatum* türüne üstünlük sağlamışlardır.

İncelenen türler flavon glikozitlerinden rutin içeriği açısından karşılaştırıldığında en yüksek değere %0,12 ile *H. pseudolaeve* türünün, sonra sırasıyla %0,033 ile *H. neurocalycinum*, %0,02 ile *H. malatyanum*, %0,01 ile *H. thymbrifolium* ve %0,008 ile *H. spectabile* türünün izlediği saptanmıştır. *H. perforatum* türünün ise %1,02 değeri ile *H. pseudolaeve* türünden on kat daha yüksek rutin içeriğine sahip olduğu belirlenmiştir.

Flavon glikozitlerinden hiperozit içeriği açısından en zengin türün %0,59 ile *H. malatyanum* olduğu belirlenmiştir. Bu türü azalan oranlarda %0,3 ile *H. neurocalycinum*, %0,21 ile *H. pseudolaeve*, %0,17 ile *H. thymbrifolium* ve %0,11 ile *H. spectabile* türleri takip etmektedir. *H. malatyanum* türünün %0,49 oranında hiperozit içeren *H. perforatum* türünden daha yüksek oranda hiperozit içerdiği saptanmıştır.

İzokersetin içeriği açısından değerlendirildiğinde *H. thymbrifolium* türünün %0,3 ile en yüksek değere sahip olduğu, sırasıyla %0,2 ile *H. malatyanum*, %0,19 ile *H. pseudolaeve*, %0,14 ile *H. spectabile* ve %0,12 ile *H. neurocalycinum* türlerinin onu takip ettiği Tablo 5-4'de görülmektedir. *H. perforatum* türünün %0,39 ile diğer türlerden daha yüksek oranda izokersitrin içerdiği belirlenmiştir.

Bitki içerisindeki kempferol yüzde değerlerine bakıldığında *H. spectabile* türünün %0,008 ile en yüksek değere sahip olduğu Tablo 5-4'de görülmektedir. %0,0048 ile *H. neurocalycinum*, %0,0036 ile *H. pseudolaeve*, %0,0019 ile *H. malatyanum* ve %0,0007 ile *H. thymbrifolium* türleri sıralanmaktadır. %0,0018 kempferol içeriğine sahip *H. perforatum* türüne karşı *H. thymbrifolium* haricindeki türlerin üstünlük sağladığı görülmektedir.

Flavon glikozitlerinden kersitrin içeriği %1,3 olan *H. spectabile* türünün, referans olarak kullanılan ve %0,14 kersitrin taşıyan *H. perforatum* türünden yaklaşık

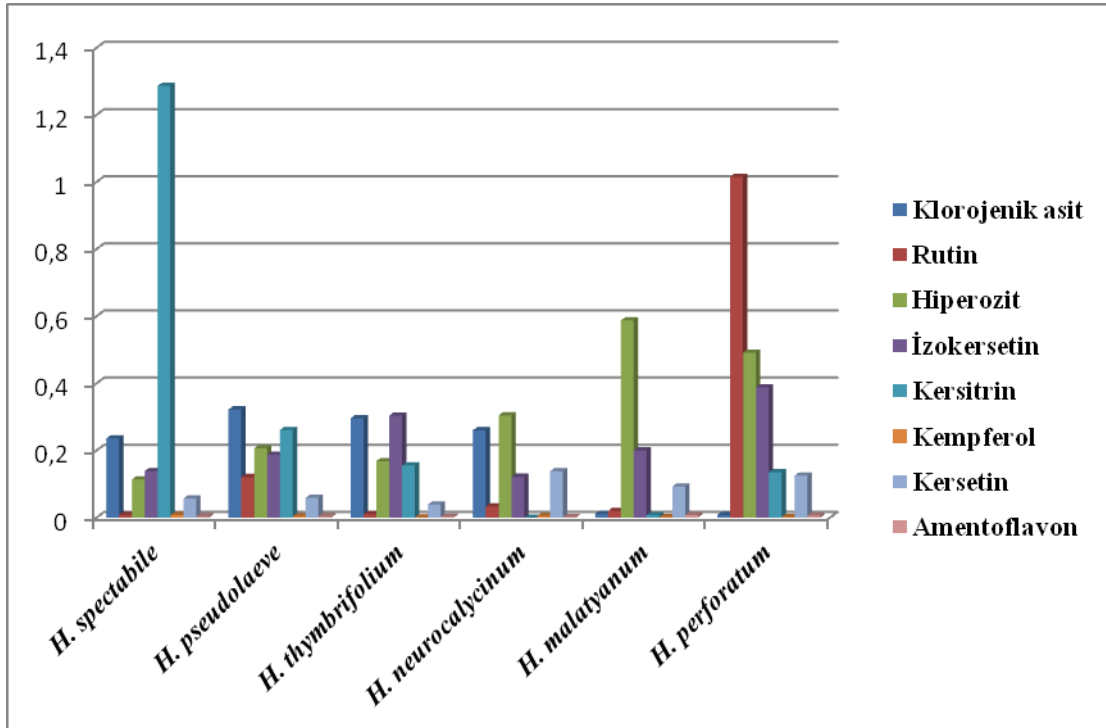
10 kat fazla kersitrin içeriğine sahip olduğu saptanmıştır. %0,26 ile *H. pseudolaeve*, %0,16 ile *H. thymbrifolium* ve %0,008 ile *H. malatyanum* türlerinin kersitrin içerikleri belirlenmiş, ancak *H. neurocalycinum* türünde kersitrin bileşiğine rastlanmamıştır.

İncelenen türler kersetin içerikleri açısından karşılaştırıldığında %0,138 ile *H. neurocalycinum* türünün *H. perforatum* türü de dahil olmak üzere en yüksek değere sahip olduğu görülmüştür. %0,09 ile *H. malatyanum*, %0,059 ile *H. pseudolaeve*, %0,057 ile *H. spectabile* ve %0,039 ile *H. thymbrifolium* türlerinin kersetin içerikleri referans olarak kullanılan ve %0,125 oranında kersetin içeren *H. perforatum* türünden düşük kalmaktadır.

Biflavon bileşiklerinden amentoflavon içerikleri değerlendirilen türlerden referans olarak kullanılan ve %0,0058 amentoflavon içeren *H. perforatum* türü dahil olmak üzere en yüksek değere %0,0072 ile *H. malatyanum* türü sahiptir. %0,0030 ve %0,0032 amentoflavon içeren *H. spectabile* ve *H. pseudolaeve* türlerini %0,0027 ile *H. thymbrifolium* ve %0,0014 ile *H. neurocalycinum* takip etmektedir.

**Tablo 5-4:** *Hypericum* türlerinin YBSK analizi ile belirlenen fenolik asit ve flavonoid miktarları

	Bitki İçerisindeki % Değeri							
	Klorojenik asit	Rutin	Hiperozit	İzokersetin	Kempferol	Kersitrin	Kersetin	Amentoflavon
<i>H. spectabile</i>	0,23567	0,00829	0,11375	0,13867	0,00805	1,28631	0,05671	0,00302
<i>H. pseudolaeve</i>	0,32232	0,12080	0,20662	0,18686	0,00356	0,26098	0,05922	0,00320
<i>H. thymbrifolium</i>	0,29576	0,01000	0,16807	0,30382	0,00070	0,15532	0,03880	0,00270
<i>H. neurocalycinum</i>	0,26033	0,03299	0,30434	0,12173	0,00482	-	0,13809	0,00144
<i>H. malatyanum</i>	0,01072	0,01967	0,58745	0,19994	0,00188	0,00770	0,09261	0,00720
<i>H. perforatum</i>	0,00802	1,01533	0,49113	0,38795	0,00181	0,13489	0,12503	0,00582



Şekil 5-2: *Hypericum* türlerinin YBSK analizi ile belirlenen fenolik bileşiklerinin yüzdelerini gösteren grafik

*H. perforatum* (%1,02) türünden sonra en fazla rutin içeren *H. pseudolaeve* (%0,12) türü Türkiye’de yetişen türlerden *H. androsaemum* (<%0,001), *H. triquetrifolium* (%0,053), *H. aviculariifolium* (<%0,001), *H. bithynicum* (%0,043), *H. perfoliatum* (%0,068), *H. orientale* (<%0,001), *H. hyssopifolium* (%0,008), *H. hirsutum* (%0,046), *H. linarioides* (%0,051), *H. nummularioides* (%0,0009), *H. pruinatum* (0,0001), *H. heterophyllum* (%0,006) ve *H. montanum* (<%0,001) türlerine göre çok daha yüksek oranda rutin taşımaktadır. Yapılan çalışmalarda Türkiye’de yetişen türler arasında rutin içeriği en yüksek tür *H. montbretii* (%3,18) olarak bildirilmiştir (Smelcerovic ve ark, 2007).

Hiperozit içeriği *H. perforatum* (%0,49) türünden yüksek olan *H. malatyanum* (%0,59) türü ise *H. aviculariifolium* (%0,089), *H. organifolium* (<%0,001), *H. orientale* (%0,53), *H. hyssopifolium* (%0,44), *H. scabrum* (%0,21), *H. heterophyllum* (%0,045) ve *H. montanum* (%0,12) türlerinden yüksek oranda hiperozit içeriğine sahiptir. Yapılan çalışmalarda Türkiye’de yetişen türler arasında hiperozit içeriği en yüksek tür *H. nummularioides* (%2,23) olarak bildirilmiştir (Smelcerovic ve ark, 2007).

Kersitrin içeriği *H. perforatum* (%0,14) türünden çok daha yüksek olan *H. spectabile* (%1,29) türü *H. androsaemum* (<%0,001), *H. triquetrifolium* (%0,39), *H. aviculariifolium* (%0,40), *H. organifolium* (%<0,001), *H. bithynicum* (%0,34), *H. montbretii* (%0,23), *H. perfoliatum* (<%0,001), *H. orientale* (%<0,001), *H. hyssopifolium* (%0,052), *H. scabrum* (%0,02), *H. hirsutum* (%0,006), *H. linarioides* (%<0,001), *H. nummularioides* (%0,14), *H. pruinatum* (%0,13), *H. heterophyllum* (%0,33) ve *H. montanum* (%0,30) türlerinden çok daha yüksek oranda kersitrin taşımaktadır. Türkiye’de yetişen türlerle yapılan çalışmalara bakıldığında en yüksek kersitrin içeriğine bu çalışmada belirlenen *H. spectabile* (%1,29) türünün sahip olduğu görülmektedir (Smelcerovic ve ark, 2007).

Kersetin içeriği *H. perforatum* (%0,13) türünden yüksek olan *H. neurocalycinum* (%0,14) türü ise *H. androsaemum* (%0,13), *H. aviculariifolium* (%0,02), *H. organifolium* (%0,06), *H. orientale* (%0,067), *H. scabrum* (%0,03), *H. heterophyllum* (%0,01) ve *H. montanum* (%0,06) türlerinden yüksek oranda kersetin içeriğine sahiptir. Yapılan çalışmalarda Türkiye’de yetişen türler arasında hiperozit içeriği en yüksek türlerin *H. perforatum* (%0,58) ve *H. montbretii* (%0,50) olarak bildirilmiştir (Smelcerovic ve ark, 2007).

#### Antioksidan Aktivite Sonuçları

Bu çalışmada incelenen türlerin antioksidan potansiyelini değerlendirmek amacıyla hazırlanan metanol ekstraların antioksidan aktiviteleri, çeşitli antioksidan testler kullanılarak incelendi. Ekstrelerin antioksidan aktiviteye sahip fenolik ve flavonoit bileşikler içerdikleri, potansiyel antioksidan olarak demir ve askorbik asit ile indüklenmiş fosfatidilkolin lipozomlarının peroksidasyonunu inhibe ettikleri, DPPH ve süperoksit radikallerini giderdikleri, indirgeyici güç gösterdikleri ve doğal antioksidan kaynağı olarak kullanılabilirler sonucuna varıldı.

İncelenen *Hypericum* türleri total ekstre edilebilen madde miktarı açısından değerlendirildiğinde, *H. perforatum* > *H. malatyanum* > *H. spectabile* > *H. thymbrifolium* > *H. neurocalycinum* > *H. pseudolaeva* şeklinde sıralandı.

Çalışılan *Hypericum* türleri ile total fenolik madde miktarı tayini çalışması fenolik maddelerin doğal antioksidanların en önemli gruplarını oluşturması nedeniyle yapıldı. Fenolik bileşikler içerisinde en fazla bulunanları flavonoitler ve fenolik asitlerdir (Scalbert ve ark, 2005). Fenol ve flavonoitler yaygın olarak tanınan ve

biyolojik membranlardaki lipit peroksidasyonunu inhibe eden doğal antioksidan yapılarıdır. Fenolik bileşiklerin antioksidan etkisinin, serbest radikalleri giderme, metal iyonlarla bileşik oluşturma (metal şelatlama) ve singlet oksijen oluşumunu engelleme veya azaltma (Rice-Evans ve ark, 1997) gibi özelliklerinden kaynaklandığı öne sürülmüştür. Flavonoit ve polifenollerin kanser ve çeşitli hastalıkların oluşumunda rol alan oksidan yapıları yok ederek, antioksidan enzimlerin aktivitelerini stimüle ederek intrasellüler oksidatif stresi azaltarak, nitrik oksit ve peroksit radikallerini direkt olarak temizleyerek etkili olabildikleri bildirilmiştir (Havsteen, 2002).

#### Total Fenolik Madde Miktarı

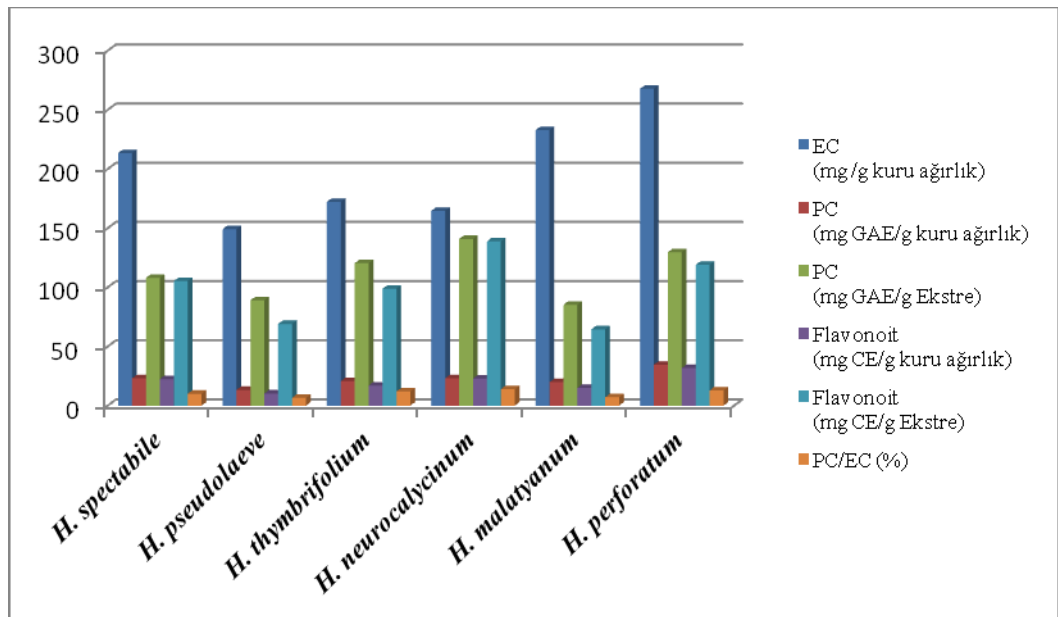
Bu çalışmada *Hypericum* türlerinin fenolik bileşik miktarının total ekstre edilebilen madde miktarına oranının %6,6 ile %13,9 arasında değiştiği gözlemlendi. Bu oran *H. spectabile* (%10), *H. pseudolaeve* (%6,6) ve *H. malatyanum* (%7,1) ekstralarında *H. neurocalycinum* (%13,9), *H. thymbrifolium* (%12) ve *H. perforatum* (%12,9) ekstralarına göre daha düşük bulundu. Bu bulgular ile ekstraların %86,1 ile %93,4 oranında fenolik olmayan bileşikler içerdikleri belirlenmiştir.

İncelenen *Hypericum* türlerinin içerdikleri total fenolik bileşiklerinin miktarının 13,26 ile 36,41 mg GAE/kuru ağırlık veya 85,2 ile 140,9 mg GAE/g ekstre arasında değiştiği görüldü. 1 g ekstrenin içerdiği mg GAE ekivalanları kıyaslandığında en yüksek miktarda fenolik bileşikler içeren ve aralarında anlamlı bir fark ( $p > 0,05$ ) gözlenmeyen *H. neurocalycinum*, *H. thymbrifolium* ve *H. perforatum* ekstraları, en düşük miktarı ise aralarında anlamlı bir fark ( $p > 0,05$ ) gözlenmeyen *H. spectabile*, *H. pseudolaeve* ve *H. malatyanum* ekstraları olduğu görüldü. Ancak *H. neurocalycinum* ve *H. thymbrifolium* ekstralarının verimi düşük olduğu için sonuçlar 1 g drogun içerdiği mg GAE ekivalanları olarak ifade edildiğinde; en yüksek miktarı aralarında anlamlı bir fark ( $p > 0,05$ ) gözlenmeyen *H. perforatum* ekstresi içerirken, onları aralarında anlamlı bir fark ( $p > 0,05$ ) gözlenmeyen *H. neurocalycinum*, *H. thymbrifolium*, *H. spectabile* ve *H. malatyanum* ekstralarının takip ettiği, en düşük miktarı ise *H. pseudolaeve* ekstresinin içerdiği görüldü. Bu miktarların *H. triquetrifolium* (267 µg GAE/ mg ekstre) ve *H. scabroides* (333 µg GAE/mg ekstre) için bildirilen miktarlardan daha düşük, *H. perforatum* ( $0,55 \pm 0,01$  mg GAE/100 g kuru ağırlık) için bildirilen miktardan daha yüksek olduğu görülmüştür (Wojdylo ve ark, 2007; Kızıl ve ark, 2008).



### Total Flavonoit Miktarı

İncelenen *Hypericum* türlerinin içerdikleri flavonoit miktarlarının 10,3 ile 22,8 mg CE/kuru ağırlık veya 64,5 ile 138,8 mg CE/g ekstre arasında değiştiği görüldü. 1g ekstrenin içerdiği mg CE ekivalanları kıyaslandığında, en yüksek miktarda flavonoit içeren ekstrelerin aralarında anlamlı bir fark ( $p > 0,05$ ) gözlenmeyen *H. neurocalycinum* ve *H. perforatum* ekstreleri olduğu, en düşük miktarda flavonoit içeren ve aralarında anlamlı bir fark ( $p > 0,05$ ) gözlenmeyen ekstrelerin ise *H. pseudolaeve* ve *H. malatyanum* ekstreleri olduğu görüldü. Ancak sonuçlar 1 g drogun içerdiği mg CE ekivalanları olarak ifade edildiğinde en yüksek miktarı *H. perforatum* ekstresi içerirken, onları aralarında anlamlı bir fark ( $p > 0,05$ ) gözlenmeyen *H. neurocalycinum*, *H. spectabile*, *H. thymbrifolium* ve *H. malatyanum* ekstrelerinin takip ettiği, en düşük miktarı ise *H. pseudolaeve* ekstresinin içerdiği görüldü.



**Şekil 5-3:** *Hypericum* türlerinin fenolik ve flavonoit bileşiklerinin ekstre ve bitkideki yüzdelere gösteren grafik

Ekstrelerin antioksidan aktiviteleri incelendiğinde *Hypericum* türlerinden hazırlanan metanol ekstrelerinin ve standart maddelerin antioksidan aktivitelerinin konsantrasyona bağlı olarak arttıkları görüldü. Ekstrelerin ve pozitif kontrol olarak kullanılan kersetinin antioksidan aktivitelerini kıyaslayabilmek için efektif

konsantrasyonları ( $EC_{50}$ ) hesaplandı ve düşük  $EC_{50}$  değeri yüksek antioksidan aktivitesinin göstergesi olarak değerlendirilmeler yapıldı.

#### Lipozom Peroksidasyonu Üzerine Antioksidan Etki

Çalışılan *Hypericum* ekstrelerinin lipozom peroksidasyonu üzerine antioksidan etkileri incelendiğinde, ekstrelerin 0,625 – 10 mg/ml konsantrasyon sınırları arasında maksimum antioksidan aktivitelerine ulaştıkları görüldü. 5 mg/ml konsantrasyonunda *H. neurocalycinum* (%87,03 ± 1,6), *H. spectabile* (%84,27 ± 3,6) ve *H. perforatum* (%79,74 ± 3,3) ekstrelerinin lipid peroksidasyon inhibisyonu şeklinde yansıyan antioksidan aktiviteleri arasında anlamlı farklılık gözlenmedi ( $p > 0,05$ ). Ancak *H. thymbrifolium* (%82,25 ± 1,40), *H. pseudolaeve* (%75,74 ± 4,1) ve *H. malatyanum* (%77,83 ± 1,05) ekstrelerinin maksimum antioksidan aktiviteye daha yüksek konsantrasyonda (10 mg/ml) ulaştıkları saptandı. Ekstrelerin antioksidan aktivitelerinin, kersetinin 0,16 mg/ml konsantrasyonunda gösterdiği aktiviteye (%91,6 ± 0,07) yakın olduğu belirlendi.

Ekstrelerin  $EC_{50}$  değerleri (%50 TBARS (Thiobarbituric Acid Reactive Substances) oluşumunun inhibisyonunu sağlayan ekstre veya standart madde konsantrasyonu) kıyaslandığında en etkili lipid peroksidasyon inhibitörleri,  $EC_{50}$  değerleri  $2,49 \pm 0,097$ ;  $2,80 \pm 0,28$ ;  $0,134 \pm 0,004$  ve  $2,74 \pm 0,19$  mg/ml olan *H. neurocalycinum*, *H. spectabile* ve *H. perforatum* ekstreleri olduğu, bunları  $EC_{50}$  değerleri  $4,39 \pm 0,077$ ;  $4,82 \pm 0,034$  ve  $5,41 \pm 0,55$  mg/ml olan *H. thymbrifolium*, *H. malatyanum* ve *H. pseudolaeve* ekstrelerinin takip ettiği saptandı.

Bu sonuçlar incelenen *Hypericum* ekstrelerinin,  $EC_{50}$  değeri  $0,059 \pm 0,001$  mg/ml olan kersetin kadar etkili lipid peroksidasyon inhibitörleri olmadıklarını göstermiş olsa bile ( $p < 0,05$ ), hidrojen atomunu vererek serbest radikalleri ve özellikle lipid peroksit radikallerini gidererek lipid peroksidasyonunu devam ettiren zincir reaksiyonunu durdurabildiklerini göstermektedir. Bu sonuçlar ile *Hypericum* türlerinin iyi bir *in vitro* antioksidan aktivite gösterdiklerini rapor eden diğer çalışmalar ile aynı yöndedir (Couladis ve ark, 2002). Silva ve arkadaşları tarafından 2005 yılında yapılan bir çalışmada, *H. perforatum* türünün askorbat/ $Fe^{2+}$  ile indüklenen lipid peroksidasyonunun %50 inhibisyonunu sağlayan ekstre miktarının ( $EC_{50}$  değerinin) 26 µg kuru ağırlık/ml olduğu rapor edilmiştir. Diğer bir çalışmada *H. perforatum* türünden

hazırlanan ekstrenin 800 µg/ml'de α-tokoferolün gösterdiği aktiviteye yakın bir lipid peroksidasyonu inhibe edici (%70) etki gösterdiği bildirilmiştir (Zou ve ark, 2004). Kızıl ve arkadaşları tarafından 2008 yılında yapılan bir çalışmada ise *H. triquetrifolium* ve *H. scabroides* ekstrelerinin sıçan beyin homojenizatındaki lipid peroksidasyonunu inhibe edici yüksek potansiyeline sahip oldukları sonucuna varılmıştır.

#### Süperoksit Radikali Giderici Etki

Çalışılan *Hypericum* ekstrelerinin indol türevlerinin PMS/NADH sistemi ile üretilen süperoksit radikallerini giderici etkisi incelenmiş, 1,25 mg/ml konsantrasyondaki ekstrelerin nitroblue tetrazoliumu (NBT) indirgeme hızını doza-bağımlı olarak inhibe ettikleri ve %84,4 ± 3,2 ile *H. spectabile*, %82,0 ± 3,7 ile *H. neurocalycinum*, %79,8 ± 2,7 ile *H. malatyanum*, %77,9 ± 5,1 ile *H. thymbrifolium*, %52,8 ± 5,2 ile *H. perforatum* ve %39,53 ± 8,1 ile *H. pseudolaeve* ekstrelerinin inhibisyon aktivitesi gösterdikleri bulunmuştur. Maksimum inhibisyon aktivitesine *H. pseudolaeve* ekstresinin (%85,1 ± 1,3) 5 mg/ml'de, *H. thymbrifolium* (%88,2 ± 0,38), *H. malatyanum* (%84,9 ± 1,6) ve *H. perforatum* (%82,3 ± 4,8) ekstrelerinin ise 2,5 mg/ml'de ulaştıkları görüldü. *H. neurocalycinum* ve *H. spectabile* ekstrelerinin 1,25 mg/ml'de gösterdikleri süperoksit radikali giderici aktivitelerinin kersetinin aynı konsantrasyonda gösterdiği aktiviteye (%99,3 ± 0,27) yakın olduğu belirlendi (p > 0,05).

EC<sub>50</sub> değerleri (ekstrenin %50 süperoksit radikali giderici aktivite göstermesi için gerekli olan miktarı) kıyaslandığında en yüksek aktiviteyi EC<sub>50</sub> değeri 0,430 ± 0,006 mg/ml olan ve aralarındaki anlamsız (p > 0.05) farklılığından da anlaşıldığı gibi benzer etkiye sahip olan *H. spectabile* ekstresi ve kersetin (0,461 ± 0,014 mg/ml) gösterirken, onları *H. neurocalycinum* (0,613 ± 0,052 mg/ml), *H. thymbrifolium* (0,641 ± 0,069 mg/ml) ve *H. malatyanum* (0,802 ± 0,036 mg/ml) ekstrelerinin takip ettiği, en düşük aktiviteyi ise *H. perforatum* (1,38 ± 0,085 mg/ml) ve *H. pseudolaeve* (1,73 ± 0,060 mg/ml) ekstrelerinin gösterdikleri belirlenmiştir.

#### DPPH Radikali Giderici Etki

İncelenen ekstrelerin biyolojik sistemlerdeki hidrojen verici etkisini tayin etmek için kullanılan DPPH radikali ile yapılan çalışmada; 2,5 mg/ml konsantrasyonda *H. neurocalycinum* (%92,13.07 ± 0,68), *H. thymbrifolium* (%89,41 ± 1,35), *H. spectabile*

(%91,5372 ± 1,34), *H. pseudolaeve* (%87,69 ± 2,40), *H. malatyanum* (%81,37 ± 0,30) ve *H. perforatum* (%90,18 ± 0,87) ekstrelerinin, kersetinin (%96,89 ± 0,72) 0,31 mg/ml konsantrasyonda gösterdiği DPPH radikali giderici aktivitesine yakın aktivite gösterdikleri görüldü.

EC<sub>50</sub> değerleri (ekstrenin %50 DPPH radikali giderici aktivite göstermesi için gerekli olan miktarı) kıyaslandığında ise en yüksek antioksidan aktiviteyi en düşük EC<sub>50</sub> değerleri sırasıyla 0,251 ± 0,12 mg/ml ile *H. neurocalycinum* ve 0,265 ± 0,12 mg/ml ile *H. perforatum* ekstrelerinin gösterdiği, bunları aralarında anlamlı bir farklılık bulunmayan (p > 0,05) ve EC<sub>50</sub> değerleri 0,622 ± 0,05 mg/ml ile *H. thymbrifolium* ve 0,567 ± 0,03 mg/ml ile *H. spectabile* ekstrelerinin takip ettiği, en düşük aktiviteyi ise EC<sub>50</sub> değerleri sırasıyla 0,916 ± 0,04 mg/ml ve 1,54 ± 0,044 mg/ml olan *H. pseudolaeve* ve *H. malatyanum* ekstrelerinin gösterdiği bulunmuştur. Ekstrelerin ve kersetinin (0,064 ± 0,001 mg/ml) EC<sub>50</sub> değerleri kıyaslandığında ise ekstrelerin DPPH giderici aktivitelerinin kersetinin aktivitesinden daha düşük olduğu saptanmıştır (p<0,05). Yapılan çalışmalarda *H. triquetrifolium* (IC<sub>50</sub> = 39,0 µg/ml) ve *H. scabroides* (IC<sub>50</sub> = 33,8 µg/ml) ekstrelerinin, ayrıca *H. perforatum* (IC<sub>50</sub> = 10,63 µg/ml) ekstresinin daha yüksek DPPH radikal giderici aktivitesi gösterdiklerini bildirilmiştir (Zou ve ark, 2004; Kızıl ve ark, 2008). Bunun nedeninin ekstrelerin fitokimyasal farklılıklarından dolayı ortaya çıktığı düşünülmüştür. Bilindiği gibi antioksidanlar hidrojen atomu vererek etki gösterirler ve zincir oluşturan radikalleri daha az reaktif türlere dönüştürürler. Bu şekilde oluşan antioksidan radikali, oksijen atomu ile aromatik halka üzerindeki çiftleşmemiş elektronun yer değiştirmesiyle stabilize olur. Bu nedenle antioksidan moleküller yapılarında genellikle fenolik fonksiyon taşırlar ve fenol halkasındaki hidroksil grubunun pozisyonu antioksidan etkiden sorumludur (Rice-Evans ve ark, 1997).

Birçok çalışmada ekstrelerin antioksidan aktiviteleri fenolik bileşiklerle ilişkilendirilmektedir. *H. perforatum* türünden hazırlanan etanol ekstresinin hiperisin, hiperforin ve türevleri, hidroksisinnamik asitler, rutin, hiperozit, kersetin, klorojenik asit, flavonoller ve flavonlar gibi birçok fenolik bileşikler içerdiği bildirilmiştir ve bu bileşiklerin ekstrenin antioksidan aktivitesinden sorumlu olabilecekleri öne sürülmüştür (Conforti ve ark, 2002; Zou ve ark, 2004; Silva ve ark, 2005). Flavonoidlerin, özellikle kersetin ve glikozit türevlerinin, *H. perforatum* türünün ekstre edebilen total etanol

ekstresinin total fenolik bileşiklerinin en büyük kısmını oluşturduğu (yaklaşık olarak %57'si), hidroksisinnamatların ise sadece %10'u kadarını oluşturduğu rapor edilmiştir (Silva ve ark, 2005). *H. androsaemum* türünden hazırlanan infüzyonun antioksidan aktivitesinin, içerdiği 3- ve 5-O-kafeoilkinik asitler, kersetin ve glikozit türevleri gibi fenolik bileşiklerden ileri gelebileceği ileri sürülmüştür (Valentao ve ark, 2002).

#### Ferri İyonu Redükleyici Gücü

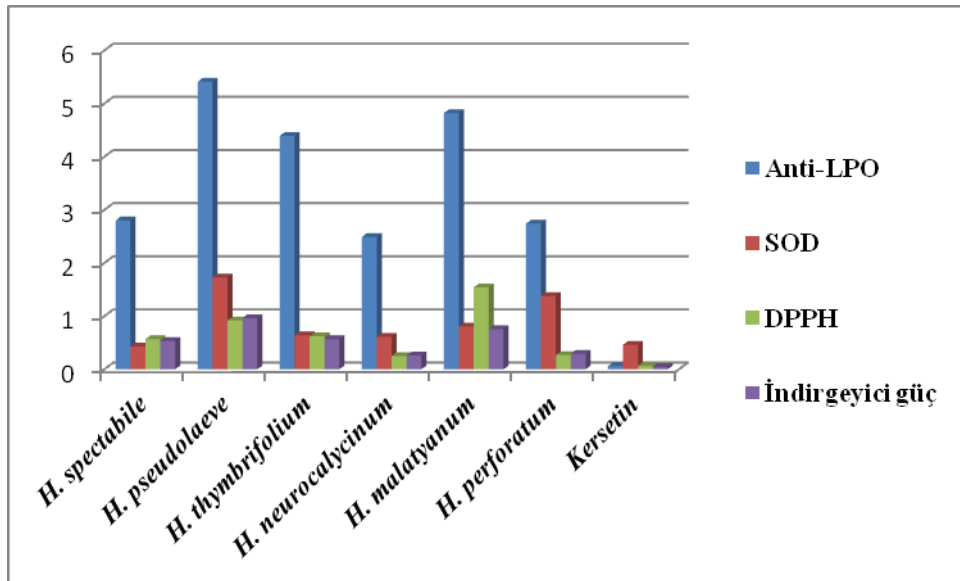
*Hypericum* ekstrelerinin ferri iyonu redükleyici (indirgeyici) gücü potansiyel antioksidan aktivitelerinin göstergesi olarak kabul edilmektedir ve elektron verici yeteneklerini yansıtmaktadır. Redükleyici gücü yüksek olan ekstreler serbest radikallerle elektron vererek ve onları zararsız hale getirerek radikal reaksiyonları sonlandırabilirler. Bu çalışmada *Hypericum* ekstreleri tarafından potasyum ferrisiyanürün ( $Fe^{3+}$ ) ferrosiyanüre ( $Fe^{2+}$ ) redüklenmesi esasına dayanan kolorimetrik metod kullanarak incelenen ekstrelerin 0,31 - 5 mg/ml konsantrasyon sınırları arasında 700 nm'de 0,2'den 2,5'e kadar artan absorbansları olarak ifade edilen redükleyici güç gösterdikleri belirlenmiştir.

5 mg/ml konsantrasyonda  $1,97 \pm 0,016$  ile *H. pseudolaeve*;  $2,23 \pm 0,013$  ile *H. malatyanum.*;  $2,32 \pm 0,033$  ile *H. thymbrifolium*;  $2,39 \pm 0,039$  ile *H. neurocalycinum*;  $2,40 \pm 0,029$  ile *H. spectabile* ve  $2,50 \pm 0,004$  ile *H. perforatum* ekstrelerinin absorbanslarının, kersetinin 1,25 mg/ml konsantrasyonda gösterdiği absorbansa ve dolayısıyla redükleyici güce yakın olduğu belirlenmiştir ( $p > 0.05$ ).

EC<sub>50</sub> değerleri (ekstrenin 0,5 absorbans değeri göstermesi için gerekli olan miktarı) kıyaslandığında ise en yüksek redükleyici gücü *H. neurocalycinum* ( $0,259 \pm 0,05$  mg/ml) ve *H. perforatum* ( $0,288 \pm 0,02$  mg/ml) ( $p > 0,05$ ) ekstrelerinin gösterdikleri, bunları *H. thymbrifolium* ve *H. spectabile* ekstrelerinin ( $p > 0.05$ ) takip ettiği belirlendi. EC<sub>50</sub> değerleri  $0,754 \pm 0,01$  mg/ml ve  $0,962 \pm 0,04$  mg/ml olan *H. malatyanum* ve *H. pseudolaeve* ekstrelerinin ise en az etkili redükleyici ajan oldukları görüldü. İncelenen ekstrelerin redükleyici güçlerinin kersetinin ( $0,045 \pm 0,008$  mg/ml) gösterdiği redükleyici güçten daha zayıf olduğu ( $p < 0,05$ ) belirlendi. İncelenen bütün ekstrelerin Fe (III)'ü redükleyici ve dolayısıyla elektron verici yeteneğe sahip oldukları sonucuna varıldı. Bu çalışmadaki sonuçlar Kızıl ve arkadaşları tarafından 2008 yılında

yapılan çalışmanın *H. triquetrifolium* ve *H. scabroides* için bildirilen sonuçlarıyla uyum göstermektedir.

Bu çalışmada 6 farklı *Hypericum* türünden hazırlanan metanol ekstralarının antioksidan aktiviteleri 4 farklı metod kullanılarak incelenmiş ve sonuçlarda gözlenen farklılıkların, oksidatif stres oluşumundaki farklı mekanizmalardan kaynaklanabileceği düşünülmüştür. EC<sub>50</sub> değerleri kıyaslandığında ekstraların DPPH ve SOD radikali giderici aktiviteleri ile redükleyici güçlerinin birbirine çok yakın olduğu ve bu aktivitelerinin lipid peroksidasyonunu inhibe edici aktivitelerinden daha yüksek oldukları belirlenmiştir. Ekstrelerin total fenolik bileşikleri ile redükleyici güçleri ve lipid peroksidasyonunu inhibe edici aktiviteleri arasında çok yüksek korelasyon ( $r^2 = 0,99$ ) gözlenmiştir. Ekstrelerin antioksidan aktivitelerinin, içerdikleri fenolik bileşiklerinin peroksit radikalleri oluşumunu engelleme, serbest radikalleri giderme ve indirgeme güçleri gibi özelliklerinden kaynaklanabileceği sonucuna varılmıştır.



**Şekil 5-4:** *Hypericum* metanol ekstralarının antioksidan aktivite tayinlerindeki EC<sub>50</sub> değerleri (Düşük EC<sub>50</sub> değeri yüksek antioksidan aktiviteye karşılık gelmektedir)

#### Sitotoksik Aktivite Sonuçları

İncelenen *Hypericum* türlerinin metanol ekstraları ile yapılan sitotoksik aktivite çalışmalarından LDH testi sonuçlarına bakıldığında, 1 mg/ml ekstre konsantrasyonunda HeLa hücreleri üzerinde en yüksek sitotoksisiteyi %85,04 ile *H. perforatum* ve %81,19

ile *H. malatyanum* göstermiştir. Yine aynı konsantrasyonda *H. pseudolaeve* %51,07 oranında hücreleri öldürürken, *H. thymbrifolium* %39,14; *H. spectabile* %26,52 ve *H. neurocalycinum* %14,27 oranında hücre ölümüne neden olmuştur. Daha düşük ekstre konsantrasyonlarında yapılan denemelerde *H. spectabile* ve *H. pseudolaeve* türlerinde aktivite görülmemiş, diğer türlerde ise 0,5 mg/ml ve 0,25 mg/ml konsantrasyonlarda düşük de olsa aktivite saptanmış, 0,125 mg/ml konsantrasyonda ve sonrasında aktivite gözlenmemiştir.

Sitotoksik aktiviteyi belirleyen yöntemlerden olan ve hücre canlılığını ölçen WST-1 testi 1h inkübasyon sonuçları değerlendirildiğinde, en düşük hücre canlılığına 0,0625 mg/ml ekstre konsantrasyonunda %54,91 ile *H. perforatum* türünün neden olduğu belirlenmiştir. Aynı ekstre konsantrasyonunda *H. malatyanum* %80,64; *H. thymbrifolium* %93,06; *H. pseudolaeve* %94,22; *H. spectabile* %96,82 ve *H. neurocalycinum* %97,69 hücre canlılığı ölçülmüştür. Minimum % canlılık olarak bakıldığında, 1 mg/ml ekstre konsantrasyonunda *H. neurocalycinum* %8,38; *H. spectabile* %19,65; *H. malatyanum* %42,49 ve *H. pseudolaeve* %45,66; 0,5 mg/ml ekstre konsantrasyonunda *H. thymbrifolium* %24,57; 0,25 mg/ml ekstre konsantrasyonunda *H. perforatum* %14,74 aktivite göstermiştir.

Sitotoksik aktiviteyi belirleyen yöntemlerden olan ve hücre canlılığını ölçen WST-1 testi 4h inkübasyon sonuçları değerlendirildiğinde, en düşük hücre canlılığına 0,0625 mg/ml ekstre konsantrasyonunda %44,57 ile *H. malatyanum* türünün neden olduğu belirlenmiştir. Aynı ekstre konsantrasyonunda *H. perforatum* %71,59; *H. spectabile* %91,09; *H. neurocalycinum* %92,48; *H. pseudolaeve* %97,21 ve *H. thymbrifolium* %99,44 hücre canlılığı ölçülmüştür. Minimum % canlılık olarak bakıldığında, 1 mg/ml ekstre konsantrasyonunda *H. neurocalycinum* %9,47; *H. spectabile* %17,83 ve *H. pseudolaeve* %28,13; 0,5 mg/ml ekstre konsantrasyonunda *H. perforatum* %34,54 ve *H. thymbrifolium* %29,25; 0,25 mg/ml ekstre konsantrasyonunda *H. malatyanum* %7,52 aktivite göstermiştir.

HeLa hücrelerine karşı LDH testi sonuçlarına göre *H. perforatum* ve *H. malatyanum* ekstrelerinin 1 mg/ml konsantrasyonda, WST-1 testi sonuçlarına göre ise 0,0625 mg/ml konsantrasyonda diğer türlere göre yüksek sitotoksik aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. *H. perforatum* türünün sitotoksik ve antiproliferatif aktiviteleri daha önce yapılan çalışmalarda bildirilmiş olmakla beraber bu çalışmanın sonuçları ile

de desteklenmektedir (Couladis ve ark, 2002; Hostanska ve ark, 2003; Roscetti ve ark, 2004; Silva ve ark, 2005). Bu çalışmada incelenen türler arasında yüksek sitotoksik aktivite gösteren *H. perforatum* ve *H. malatyanum* türlerini diğer türlerden ayıran kimyasal farklılıklara bakıldığında, iki türün de diğer türlerden daha yüksek oranda amentoflavon içerdiği saptanmış, yapılan literatür taramalarında amentoflavon bileşiğinin sitotoksik aktivitesini rapor eden bir çalışma ile bu durum bağdaştırılmıştır (Guruvayoorappan ve Kuttan, 2007).

#### Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları

Antimikrobiyal aktivite çalışmalarından antibakteriyel aktivite sonuçlarına bakıldığında *H. spectabile* türünün tüm ekstrelerinin *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 suşuna karşı aktivite gösterdiği, ancak petrol eteri, dietileter ve total metanol ekstrelerinin 4,8 mg/L MİK değeri ile MİK değeri 1,2 mg/L olan sefuroksim-Na referans maddesiyle karşılaştırıldığında diğer ekstrele göre yüksek aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Yine tüm ekstrelerin metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* ATCC33591 (MRSA) suşuna karşı aktivite gösterdiği, total metanol ekstresinin ise 4,8 mg/L MİK değeri ile MİK değeri 2 mg/L olan vankomisin referans maddesiyle karşılaştırıldığında yüksek aktivite gösterdiği saptanmıştır. *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 suşuna karşı etkiye bakıldığında total metanol ekstresinin 39 mg/L MİK değeri ile MİK değeri 9,8 mg/L olan sefuroksim referans maddesiyle karşılaştırıldığında diğer ekstrele göre daha aktif olduğu, ancak tüm ekstrelerin aktivite gösterdiği bulunmuştur. *Escherichia coli* ATCC 8739, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 4352, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 1539, *Proteus mirabilis* ATCC 14153 suşlarına karşı ise hiçbir ekstre herhangi bir aktivite göstermemiştir.

*H. pseudolaeve* türünün tüm ekstreleri *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* ATCC 33591 (MRSA) ve *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 suşlarına karşı aktivite göstermiştir. *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 suşuna karşı petrol eteri, kloroform ve metanol ekstrelerinin 39 mg/L MİK değerine, total metanol ekstresinin ise 19 mg/L MİK değerine sahip olduğu ve diğer ekstrele göre daha yüksek aktivite gösterdiği belirlenmiştir. MRSA suşuna karşı diğer ekstrele göre en iyi aktiviteyi 78 mg/L MİK değeri ile dietileter ekstresi, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 suşuna karşı ise diğer ekstrele göre en iyi aktiviteyi 78 mg/L MİK değeri ile total metanol ekstresi göstermiştir. *Escherichia coli*



ATCC 8739, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 4352, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 1539, *Proteus mirabilis* ATCC 14153 suşlarına karşı ise hiçbir ekstre herhangi bir aktivite göstermemiştir.

*H. thymbrifolium* türünün tüm ekstreleri *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 suşuna karşı aktivite gösterirken, MİK değeri 4,8 mg/L olan kloroform ekstresi diğer ekstrele göre yüksek aktivite göstermiştir. MRSA suşuna karşı tüm ekstrelerin aktif olduğu, ancak petrol eteri, dietileter ve total metanol ekstresinin 4,8 mg/L MİK değeri ile diğer ekstrele göre daha yüksek aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 suşuna karşı tüm ekstreler aktivite göstermiş, ancak 4,8 mg/L MİK değerlerine sahip petrol eteri, dietileter, kloroform ve total metanol ekstrelerinin diğer ekstrele göre daha yüksek aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir.

*H. neurocalycinum* türünün *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 suşuna karşı aseton ekstresinin MİK değerinin 78 mg/L olduğu, haricindeki tüm ekstrelerin ise 4,8 mg/L MİK değeri ile aseton ekstresine karşı yüksek aktivite gösterdiği belirlenmiştir. MRSA suşuna karşı tüm ekstreler aktivite gösterirken, petrol eteri ve total metanol ekstrelerinin 4,8 mg/L MİK değeri ile diğer ekstrelerden daha yüksek aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 suşuna karşı petrol eteri, dietileter ve total metanol ekstrelerinin 4,8 mg/L MİK değeri ile diğer ekstrelerden daha iyi aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

*H. malatyanum* türünün *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 suşuna karşı aseton ve metanol ekstreleri aktivite gösterirken, diğer ekstreler 4,8 mg/L MİK değeri ile daha yüksek aktivite göstermiştir. MRSA suşuna karşı petrol eteri ve total metanol ekstrelerinin 4,8 mg/L MİK değeri ile yüksek aktivite gösterdiği, dietileter, kloroform ve metanol ekstrelerinin de aktif olduğu, ancak aseton ekstresinin herhangi bir aktivite göstermediği belirlenmiştir. *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 suşuna karşı metanol ekstresinin düşük aktivite gösterdiği, haricindeki tüm ekstrelerin 4,8 mg/L MİK değeri ile daha yüksek aktivite gösterdiği saptanmıştır.

*H. perforatum* türünün *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 suşuna karşı aseton, metanol ve total metanol ekstreleri 4,8 mg/L MİK değeri ile petrol eteri ve kloroform ekstrelerine göre daha yüksek aktivite gösterirken, dietileter ekstresi herhangi bir aktivite göstermemiştir. MRSA suşuna karşı tüm ekstreler aktivite göstermiş, ancak

MİK değeri 39 mg/L olan total metanol ekstresi diğer ekstrelelere karşı daha yüksek aktivite göstermiştir. *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 suşuna karşı aseton ve total metanol ekstreleri 78 mg/L MİK değeri ile diğer ekstrelelere göre daha iyi aktivite göstermiştir.

Çalışılan *Hypericum* türlerinin tüm ekstrelerinin *Escherichia coli* ATCC 8739, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 4352, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 1539, *Proteus mirabilis* ATCC 14153 suşlarına karşı aktivitelerine bakılmış, ancak hiçbir ekstre herhangi bir aktivite göstermemiştir.

Antimikrobiyal aktivite çalışmalarından antifungal aktivite sonuçlarına bakıldığında *H. spectabile* ekstresinin *Candida albicans* ATCC 10231 suşuna karşı petrol eteri, dietileter ve kloroform ekstrelerinin 156 mg/L MİK değerine sahip olduğu, referans madde olarak kullanılan 4,9 mg/L MİK değerine sahip klortrimazol ile karşılaştırıldığında düşük antifungal aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Diğer ekstreler ise herhangi bir aktivite göstermemiştir.

*H. pseudolaeve* ekstresinin *Candida albicans* ATCC 10231 suşuna karşı suşuna karşı petrol eteri, metanol ve total metanol ekstrelerinin 156 mg/L MİK değeri ile düşük antifungal aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Diğer ekstreler ise herhangi bir aktivite göstermemiştir.

*H. thymbrifolium*, *H. neurocalycinum*, *H. malatyanum* ve *H. perforatum* türlerinin tüm ekstrelerinin *Candida albicans* ATCC 10231 suşuna karşı aktivite göstermediği belirlenmiştir.

Antibakteriyel aktivite sonuçları genel olarak değerlendirildiğinde, incelenen tüm *Hypericum* türlerinin tüm ekstrelerinin *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Staphylococcus aureus* ATCC33591 (MRSA), *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 suşlarına karşı aktivite göstermesi günümüze kadar yapılan birçok çalışma ile uyum göstermekte olup, *Hypericum* ekstrelerinin Gram-pozitif bakterilerden *Staphylococcus* suşlarına karşı etkili olduğunu bildiren literatürleri desteklemektedir (Fiebich ve ark, 1999; Schempp ve ark, 1999; Gibbons ve ark, 2002; Vajs ve ark, 2003; Avato ve ark, 2004; Dulger ve Gonuz, 2005; Conforti ve ark, 2005; Saddique ve ark, 2010).

Antifungal aktivite sonuçları genel olarak değerlendirildiğinde, incelenen *Hypericum* türlerinden sadece ikisinin ve bazı ekstrelerinin *Candida albicans* ATCC 10231 suşuna karşı zayıf antifungal aktivite göstermesi, diğer türlerin ekstrelerinin hiç aktivite göstermemesi günümüze kadar *Candida albicans* ATCC 10231 ile yapılan antifungal aktivite çalışmalarıyla uyum göstermektedir (Vajs ve ark, 2003; Saroglu ve ark, 2007).

#### Genel Değerlendirme

Bu tez çalışması ile incelenen türlerin, antidepresan etkiden sorumlu başlıca bileşik olarak bildirilen hiperforin içeriklerinin *H. perforatum* türüne göre çok düşük olması, hafif ve orta şiddetli depresyon tedavisinde *H. perforatum* türüne alternatif türler olamayacaklarını göstermiştir. Ancak zengin fenolik bileşiklerine sahip oldukları ve bu bileşiklerden klorojenik asitin *H. pseudolaeve*, hiperozit ve amentoflavonun *H. malatyanum*, kempferol ve kersitrinin *H. spectabile*, kersetinin *H. neurocalycinum* türlerinde *H. perforatum* türünden de fazla bulunduğu belirlenmiştir. Zengin fenolik ve flavonoit bileşikleri nedeniyle antioksidan aktiviteye sahip oldukları belirlenmiş, doğal antioksidanlar arasında değerli türler oldukları sonucuna varılmıştır. *H. perforatum* ve *H. malatyanum* türlerinin diğer türlere göre yüksek sitotoksik aktiviteye sahip olması özellikle *H. malatyanum* türü açısından önemli bir sonuç olarak ortaya çıkmış, üzerinde *in vitro* ve *in vivo* sitotoksik aktivite çalışmalarının devam etmesi gerektiğini göstermiştir. İncelenen türlerin tüm ekstrelerinin *Staphylococcus* suşlarına ve özellikle metisiline dirençli *S. aureus* suşuna karşı düşük MİK değerlerine sahip olmaları antibakteriyel özellikleri nedeniyle de değerli türler olduklarını göstermektedir.

## KAYNAKLAR

Agostinis, P., Vantieghem, A., Merlevede, W., De Witte, P.A. (2002). Hypericin in cancer treatment: more light on the way. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 34 (3), 221-241.

An, T.Y., Hu, L.H., Chen, Z.L., Sim, K.Y. (2002). Erectones A and B, two dome-shaped polyprenylated phloroglucinol derivatives, from *Hypericum erectum*. *Tetrahedron Letters*, 43 (1), 163-165.

Apaydın, S., Zeybek, U., İnce, I., Elgin, G., Karamenderes, C., Öztürk, B., Tuğlular, I. (1999). *Hypericum triquetrifolium* Turra. extract exhibits antinociceptive activity in the Mouse. *Journal of Ethnopharmacology*, 67, 307-312.

Athanasios, K., Magiatis, P., Fokialakis, N., Skaltsounis, A.L., Pratsinis, H., Kletsas, D. (2004). Hyperjovinols A and B: Two new phloroglucinol derivatives from *Hypericum jovis* with antioxidant activity in cell cultures. *Journal of Natural Products*, 67 (6), 973-977.

Avato, P., Raffo, F., Guglielmi, G., Vitali, C., Rosato, A. (2004). Extracts from St. John's Wort and their antimicrobial activity. *Phytotherapy Research*, 18, 230-232.

Axarlis, S., Mentis, A., Demetzos, C., Mitaku, S., Skaltsounis, A.L., Marselos, M., Malamas, M. (1998). Antiviral in vitro activity of *Hypericum perforatum* L. extract on the human cytomegalovirus (HCMV). *Phytotherapy Research*, 12 (7), 507-511.

Ayan, A.K., Çırak, C. (2008). Hypericin and Pseudohypericin Contents in Some *Hypericum* Species Growing in Turkey. *Pharmaceutical Biology*, 46 (4), 288-291.

Ayan, A.K., Çırak, C., Kevseroğlu, K., Zen, T. (2004). Hypericin in some *Hypericum* species from Turkey. *Asian Journal of Plant Sciences*, 3 (2), 202-204.

Barış, D., Kızıl, M., AYTEKİN, C., Kızıl, G., Yavuz, M., Çeken, B., Ertekin, A.S. (2011). *In Vitro* Antimicrobial and Antioxidant Activity of Ethanol Extract of Three *Hypericum* and Three *Achillea* Species From Turkey. *International Journal of Food Properties*, 14 (2), 339-355.

Barnes, J., Anderson, L.A., Philipson, J.D. (2001). St John's wort (*Hypericum perforatum* L.): a review of its chemistry, pharmacology and clinical properties. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 53, 583-600.

Barnes, J., Anderson, L.A., Phillipson, J.D. (2007). *Herbal Medicines*. (3th ed.). London: Pharmaceutical Press.

Baytop, T. (1966). *Farmakognoziye Giriş*. İstanbul: İsmail Akgün Matbaası.

Baytop, T. (1999). *Türkiye 'de Bitkiler ile Tedavi*. (2nd ed.). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri.

Baytop, T. (2001). *Türk Eczacılık Tarihi*. A.Mat (Ed.). İstanbul: İstanbul Üniversitesi Yayınları.

Beerhues, L. (2006). Hyperforin. *Phytochemistry*, 67 (20), 2201-2207.

Bhattaram, V.A., Graefe, U., Kohlert, C., Veit, M., Derendorf, H. (2002). Pharmacokinetics and Bioavailability of Herbal Medicinal Products. *Phytomed*, 9, 1-33.

Biffignandi, P.M., Bilia, A.R. (2000). The growing knowledge of St. John's wort (*Hypericum perforatum*) drug interactions and their clinical significance. *Current Therapy Research*, 61 (70), 389-394.

Bilia, A.L., Gallori, S., Vincieri, F.F. (2002). St. John's wort and depression, efficacy, safety and tolerability. *Life Sciences*, 70, 3077-3096.

Blumenthal, M., Goldberg, A., Brinckmann, J. (2000). *Herbal Medicine*. Newton: Integrative Medicine Communications.

Bombardelli, E., Marozzoni, P. (1995). *Hypericum perforatum*. *Fitoterapia*, 66 (1), 43-68.

Bonkanka, C.X., Sánchez-Mateo, C.D., Rabanal, R.M. (2011). Antinociceptive activity of *Hypericum grandifolium* Choisy in mice. *Journal of Natural Medicines*, 65 (1), 122-128.

Borchardt, J.R., Wyse, D.L., Sheaffer, C.C., Kauppi, K.L., Fulcher, R.G., Ehlke, N.J., Bicsboer, D.D., Bey, R.F. (2008). Antimicrobial activity of native and naturalized plants of Minnesota and Wisconsin. *Journal of Medicinal Plants Research*, 2, 98-110.

Borrelli, F., Izzo, A.A. (2009). Herb–Drug Interactions with St John’s Wort (*Hypericum perforatum*): an Update on Clinical Observations. *American Association of Pharmaceutical Scientists*, 11 (4), 710-727.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie-Food Science and Technology*, 28, 25-30.

Brenner, R., Azbel, V. (2000). Madhusoodanan, S., Pawlowska, M. Comparison of an extract of *Hypericum* (LI 160) and sertraline in the treatment of depression: a double-blind, randomized pilot study. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 22 (4), 411-419.

Buege, J.A., Aust, S.D. (1978). Microsomal lipid peroxidation. *Methods in Enzymology*, 52, 302-310.

Butterweck, V. (2003). Mechanism of action of St. John’s wort in depression, *CNS Drugs*, 17, 539-562.

Can, Ö.D., Öztürk, Y., Özkay, Ü.D. (2009). A Natural Antidepressant: *Hypericum perforatum* L. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 29 (3), 708-715.

Canning, S., Waterman, M., Orsi, N., Ayres, J., Simpson, N., Dye, L. (2010). The efficacy of *Hypericum perforatum* (St John's wort) for the treatment of premenstrual syndrome: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *CNS Drugs*, 24 (3), 207-225.

Carai, M.A., Agabio, R., Bombardelli, E., Bourov, I., Gessa, G.L., Lobina, C., Morazzoni, P., Pani, M., Reali, R., Vacca, G., Colombo, G. (2000). Potential use of the medicinal plants in the treatment of alcoholism. *Fitoterapia*, 71 (1), 38-42.

Cargnin, S.T., Nunes, J.D., Haas, J.S., Baladao, L.F., Cassel, E., Vargas, R.F., Rech, S.B., Von Poser, G.L. (2010). Supercritical fluid extraction and high performance liquid chromatographic determination of benzopyrans and phloroglucinol derivative in *Hypericum polyanthemum*. *Journal of Chromatography B-Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 878 (1), 83-87.

Chandrashekar, H.R., Venkatesh, P., Ponnusankar, S., Vijayan, P. (2009). Antioxidant activity of *Hypericum hookerianum* Wight and Arn. *Natural Product Research*, 23 (13), 1240-1251.

Chatterjee, S.S., Bhattacharya, S.K., Wonnemann, M., Singer, A., Müller, W.E. (1998). Hyperforin as a possible antidepressant component of *Hypericum* extracts. *Life Sciences*, 63 (6), 499-510.

Chatterjee, S.N., Agarwal, S. (1988). Liposomes as a membrane model for study of lipid peroxidation. *Free Radical Biology and Medicine*, 4, 51-72.

Chauhan, R.S., Vashista, R.K., Nautiyal, M.C., Tava, A., Cecotti, R. (2011). Essential Oil Composition of *Hypericum perforatum* L. From Cultivated Source. *Journal of Essential Oil Research*, 23 (3), 20-25.

Chen, C.L., Huang, C.H., Sung, J.M. (2009). Antioxidants in aerial parts of *Hypericum sampsonii*, *Hypericum japonicum* and *Hypericum perforatum*. *International Journal of Food Science and Technology*, 44, 2249-2255.

Çakır, A., Mavi, A., Yıldırım, A., Duru, M.E., Harmandar, M., Kazaz, C. (2003). Isolation and characterization of antioxidant phenolic compounds from the aerial parts of *Hypericum hyssopifolium* L. by activity-guided fractionation. *Journal of Ethnopharmacology*, 87, 73-83.

Çırak, C. (2006). Hypericin in *H. lydium* growing in Turkey. *Biochemical Systematics and Ecology*, 34, 897-899.

Çırak, C., Radusiene, J., Çamas, N. (2008). Pseudohypericin and Hyperforin in two Turkish *Hypericum* Species: Variations Among Plant Parts and Phenological Stages. *Biochemical Systematics and Ecology*, 36, 377-382.

Çırak, C., Radusiene, J., Janulis, V., Ivanauskas, L., Camaş, N., Ayan, A.K. (2011). Phenolic constituents of *Hypericum triquetrifolium* Turra (Guttiferae) growing in Turkey: variation among populations and plant parts. *Turkish Journal of Biology*, 35, 449-456.

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2000a). Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically: Approved Standard M7-A5. Wayne, Pennsylvania.

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2000b). Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts: Approved Standard M27-A NCCLS. Wayne, Pennsylvania.

Cloudwell, W.T., Gopalakrishna, R., Hinton, D.R., He, S., Weiss, M.H., Law, R.E., Apuzzo, M.L.J. (1994). Hypericin: a potential antiglioma therapy. *Neurosurgery*, 35, 705–710.

Colasanti, A., Kisslinger, A., Liuzzi, R., Quarto, M., Riccio, P., Roberti, G., Tranmontano, D., Villani, F. (2000). Hypericin photosensitization of tumor and metastatic cell lines of human prostate. *Journal of Photochemistry Photobiology B*, 54, 103–107.

Conforti, F., Loizzo, M.R., Statti, A.G., Menichini, F. (2007). Cytotoxic activity of antioxidant constituents from *Hypericum triquetrifolium* Turra. *Natural Product Research*, 21 (1), 42-46.

Conforti, F., Statti, G.A., Tundis, R., Bianchi, A., Agrimonti, C., Sacchetti, G., Andreotti, E., Menichini, F., Poli, F. (2005). Comparative chemical composition and variability of biological activity of methanolic extracts from *Hypericum perforatum* L. *Natural Product Research*, 19, 295-303.

Conforti, F., Statti, G.A., Tundis, R., Menichini, F., Houghton, P. (2002). Antioxidant activity of methanolic extract of *Hypericum triquetrifolium* Turra. aerial part. *Fitoterapia*, 73, 479-483.

Couladis, M., Badisa, R.B., Baziou, P., Chaudhuri, S.K., Pilarinou, E., Verykokidou, E., Harvala, C. (2002). Antioxidant and cytotoxic activities of *Hypericum* sp. on brine shrimps and human cancer cell lines. *Phytotherapy Research*, 16 (8), 719-722.

Court, W. E. (2003). Hypericin as a potential antitumor agent. İçinde E. Ernst (Ed.), *Hypericum: The Genus Hypericum*. London: Taylor and Francis.

Crockett, S., Demirci, B., Başer, Khan, I.A. (2007). Analysis of the Volatile Constituents of Five African and Mediterranean *Hypericum* L. (Clusiaceae, Hyperidoideae) Species. *Journal of Essential Oil Research*, 19, 302-306.



Crockett, S., Demirci, B., Başer, Khan, I.A. (2008a). Volatile Constituents of *Hypericum* L. Section *Myriandra* (Clusiaceae): Species of the *H.fasciculatum* Lam. Alliance. *Journal of Essential Oil Research*, 20, 244-249.

Crockett, S., Wenzing, E.M., Kunert, O., Bauer, R. (2008b). Anti-inflammatory phloroglucinol derivatives from *Hypericum empetrifolium*. *Phytochemistry Letters*, 1 (1), 37-43.

Crockett, S.L., Poller, B., Tabanca, N., Pferschy-Wenzing, E.M., Kunert, O., Wedge, D.E., Bucar, F. (2011). Bioactive xanthenes from the roots of *Hypericum perforatum* (common St John's wort). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91, 428–434.

Czekalla, J., Gastpar, M., Hubner, W.D., Jager, D. (1997). The effect of *Hypericum* extract on cardiac conduction as seen in the electrocardiogram compared to that of imipramine. *Pharmacopsychiatry*, 30 (2), 86-88.

De Vry, J., Maurel, S., Schreiber, R., Beun, R., Jentzsch, K.R. (1999). Comparison of *Hypericum* extracts with imipramine and fluoxetine in animal models of depression and alcoholism. *European Neuropsychopharmacology*, 9, 461-468.

Delaey, E.M., Kamuhabwa, A.R., Vandebogaerde, A.L., Witte, P.A. (1999). Photocytotoxicity of protohypericin after photoconversion to hypericin. *Planta Medica*, 65, 719-722.

Delaey, E.M., Vandebogaerde, A., Merlevede, W., Witte, P. (2000). Photocytotoxicity of hypericin in normoxic and hypoxic conditions. *Journal of Photochemistry Photobiology B*, 56, 19–24.

Dell'Aica, I., Garbisa, S., Caniato, R. (2007). The Renaissance of *Hypericum perforatum*: Bio-Medical Research Catches Up with Folk Medicine. *Current Bioactive Compounds*, 3, 109-119.

Demirci, B., Başer, K.H.C., Crockett, S., Khan, I.A. (2005). Analysis of the Volatile Constituents of Asian *Hypericum* L. (Clusiaceae, Hyperidoideae) Species. *Journal of Essential Oil Research*, 17, 659-663.

Dewick, P.M. (2003). *Medicinal Natural Products: A Systematic Approach*. (2nd ed.). West Sussex: John Wiley & Sons Ltd.

Di Carlo, G., Borrelli, F., Ernst, E., Izzo, A.A. (2001). St John's wort: Prozac from the plant kingdom. *Trends in Pharmacological Sciences*, 22 (6), 292-297.

Diaz, J.G., Paz, P.P., Herz, W. (2010). New water soluble flavone and xanthone glycosides from *Hypericum canariense* L. *Phytochemistry*, 3(4), 171-175.

Do Rego, J.C., Benkiki, N., Chosson, E., Kabouche, Z., Seguin, E., Costentin, J. (2007). Antidepressant-like effect of hyperfoliatin, a polyisoprenylated phloroglucinol derivative from *Hypericum perforatum* (Clusiaceae) is associated with an inhibition of neuronal monoamines uptake. *European Journal of Pharmacology*, 569 (3), 197-203.

Doğrukol-Ak, D., Kırimer, N., Tunçel, M. and Aboul-Enein, H.Y. (2001). Determination of rutin in *Hypericum perforatum* extract by capillary electrophoresis. *Analytical Letters*, 34(2), 185-191.

Dönmez, A.A. (2000). *Hypericum*. İçinde A. Güner (Ed.), *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Edinburgh: Edinburg University Press, Volume XI; 71-72.

Du, H.Y., Olivo, M., Tan, B.K.H., Bay, B.H. (2004). Photoactivation of hypericin down-regulates glutathione S-transferase activity in nasopharyngeal cancer cells. *Cancer Letter*, 207, 175–181.

Duh, P.D., Tu, Y.Y., Yen, G.C. (1999). Antioxidant activity of water extract of Harnng Jyur (*Chrysanthemum morifolium* Ramat). *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie-Food Science and Technology*, 32, 269-277.

Elektronik kaynak (2011a). Rx Media Pharma, İlaç Bilgi Kaynağı.

Elektronik kaynak (2011b). Roche applied science. Erişim 12.09.2011, [www.roche-applied-science.com](http://www.roche-applied-science.com), Cat.No. 04744926001.

Elektronik kaynak (2011c). Roche applied science. Erişim 12.09.2011, [www.roche-applied-science.com](http://www.roche-applied-science.com), Cat.No. 11644807001.

Erken, S., Malyer, M., Demirci, F., Demirci, B., Başer, K.H.C. (2001). Chemical Investigation on Some *Hypericum* Species Growing in Turkey-I. *Chemistry of Natural Products*, 37 (5), 434-438.

Ernst, E. (2003). *Hypericum: The Genus Hypericum*. London: Taylor and Francis.

ESCOP Monographs. (2003). *The Scientific Foundation for Herbal Medicinal Products*. New York: Thieme.

European Pharmacopoeia. (6th Ed.). (2008). Herbal Monographs; St. John's Wort (*Hyperici herba*). 3839-3842.

Ferrari, F., Pasqua, G., Monacelli, B., Cimino, P., Botta, B. (2005). Xanthones from calli of *Hypericum perforatum* subsp. *perforatum*. *Natural Product Research*, 19 (2), 171-176.

Fiebich, B., Heinrich, M., Langosch, J.M., Kammerer, N., Lieb, K. (1999). Antibacterial activity of hyperforin from St. John's Wort. *Lancet*, 354 (9180), 777.

Folin, O., Ciocalteu, V. (1927). On tyrosine and tryptophane determination in proteins. *The Journal of Biological Chemistry*, 73, 627-650.

Fotakis, G., Timbrell, J.A. (2006). *In vitro* cytotoxicity assays: Comparison of LDH, neutral red, MTT and protein assay in hepatoma cell lines following exposure to cadmium chloride. *Toxicological Letters*, 160, 171-177.

Franca, H.S., Kuster, R.M., Rito, P.D., De Oliveira, A.P., Teixeira, L.A., Rocha, L. (2009). Antibacterial activity of the phloroglucinols and hexanic extract from *Hypericum brasiliense* Choisy. *Quimica Nova*, 32 (5), 1103-1106.

Fritz, D., Venturi, C.R., Cargnin, S., Schripsema, J., Roehe, P.M., Montanha, J.A., von Poser, G.L. (2007). Herpes virus inhibitory substances from *Hypericum connatum* Lam., a plant used in southern Brazil to treat oral lesions. *Journal of Ethnopharmacology*, 113, 517-520.

Frye, R.F., Fitzgerald, S.M., Lagattuta, T.F., Hruska, M.W., Egorin, M.J. (2004). Effect of St John's Wort on imatinib mesylate pharmacokinetics. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 76, 323-329

Fu, P., Zhang, W.D., Liu, R.H., Li, T.Z., Shen, Y.H., Li, H.L., Zhang, W., Chen, S. (2006). Two new xanthones from *Hypericum japonicum*. *Natural Product Research*, 20, 1237-1240.

Fugh-Berman, A. (2000). Herb-drug interactions. *Lancet*, 355, 134-138.

Gad, S.C. (2000). *In vitro* toxicology. (2<sup>nd</sup> ed.). New York: Taylor & Francis.

Galati, E.M., Contartese, G., Miceli, N., Taviano, M.F., Sdrafkakis, V., Couladis, M., Tzakou, O., Lanuzza, F. (2008). Antiinflammatory and antioxidant activity of *Hypericum rumeliacum* Boiss. subsp *apollinis* (Boiss. & Heldr.) Robson & Strid methanol extract. *Phytotherapy Research*, 22 (6), 766-771.

Gaster, B., Holroyd, J. (2000). St John's wort for depression: a systematic review. *Archives and Internal Medicine*, 160 (2), 152-156.

Ghazanfarpour, M., Kaviani, M., Asadi, N., Ghaffarpasand, F., Ziyadlou, S., Tabatabaee, H.R., Dehgankhalili, M. (2011). *Hypericum perforatum* for the treatment of premenstrual syndrome. *International Journal of Gynecology & Obstetrics*, 113 (1), 84-85.

Gibbons, S., Ohlendorf, B., Johnsen, I. (2002). The genus *Hypericum* – a valuable resource of anti Staphylococcal leads. *Fitoterapia*, 73 (4), 300-304.

Greeson, J.M., Sanford, B., Monti, D.A. (2001). St. John's wort (*Hypericum perforatum*): a review of the current pharmacological, toxicological and clinical literature. *Psychopharmacology*, 153 (4), 402-414.

Gregoretti, B., Stebel, M., Candussio, L., Crivellato, E., Bartoli, F., Decorti, G. (2004). Toxicity of *Hypericum perforatum* (St. John's wort) administered during pregnancy and lactation in rats. *Toxicology & Applied Pharmacology*, 200, 201– 205.

Griggs, B. (1997). *Green Pharmacy, The History and Evolution of Western Herbal Medicine*. (2nd ed.). Rochester, Vermont: Healing Arts Press.

Guruvayoorappan, C., Kuttan, G. (2007). Effect of amentoflavone on the inhibition of pulmonary metastasis induced by B16F-10 melanoma cells in C57BL/6 mice. *Integrative Cancer Therapies*, 6, 185-197.

Halliwell, B. (1989). Tell me about free radicals, doctor: a review. *Journal of the Royal Society of Medicine*, 82, 747–752.

Halliwell, B. (2006). Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant Physiology*, 141, 312–322.

Halliwell, B., Chirico, S. (1993). Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. *American Journal of Clinical Nutrition*, 57, 71S-72S.

Halliwell, B., Gutteridge, M.C. (1984). Review article: Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochemical Journal*, 219, 1–14.

Hashida, W., Tanaka, N., Kashiwada, Y., Sekiya, M., Ikeshiro, Y., Takaishi, Y. (2008). Tomoeones A-H, cytotoxic phloroglucinol derivatives from *Hypericum ascyron*. *Phytochemistry*, 69 (1), 2225-2230.

Hashida, W., Tanaka, N., Takaishi, Y. (2007). Prenylated xanthenes from *Hypericum ascyron*. *Journal of Natural Medicines*, 61 (4), 371-374.

Havsteen BH. (2002). The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacology & Therapeutics*, 96, 67-202.

Helmja, K., Vaher, M., Pussa, T., Orav, A., Viltak, A., Levandi, T., Kaljurand, M. (2011). Variation in the composition of the essential oils, phenolic compounds and mineral elements of *Hypericum perforatum* L. growing in Estonia. *Natural Product Research*, 25 (5), 496-510.

Henderson, L., Yue, Q.Y., Bergquist, C., Gerden, B., Arlett, P. (2002). St. John's Wort (*Hypericum perforatum*): drug interactions and clinical outcomes. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 54 (4), 349-356.

Herekman-Demir, T., Öztürk, N., Öztürk, Y. (2001). Hepatoprotective effect of St John's Wort. *Fundamental & Clinical Pharmacology*, 15 (1), 104.

Hicks, S.M., Walker, A.F., Gallagher, J., Middleton, R.W., Wright, J. (2004). The significance of "nonsignificance" in randomized controlled studies: a discussion inspired by a double-blinded study on St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.) for premenstrual symptoms. *Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 10 (6), 925–932

Hosseinzadeh, H., Karimi, G.R., Rakhshanizadeh, M. (2005). Anticonvulsant effect of *Hypericum perforatum*: role of nitric oxide. *Journal of Ethnopharmacology*, 98(1-2), 207-208.

Hostanska, K., Reichling, J., Bommer, S., Weber, M., Saller, R. (2003). Hyperforin a constituent of St. John's Wort (*Hypericum perforatum* L.) extract induces apoptosis by triggering activation of caspases and with hypericin synergistically exerts

cytotoxicity towards human malignant cell lines. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 56, 121–132.

Hostettmann, K., Wolfender, J.L. (2005). Phytochemistry. İçinde W.E. Müller (Ed.), *St. John's Wort and its Active Principles in Depression and Anxiety*. Basel: Birkhäuser Verlag.; 5-20.

Hu, L.H., Khoo, C.W., Vittal, J.J., Sim, K.Y. (2000). Phloroglucinol derivatives from *Hypericum japonicum*. *Phytochemistry*, 53 (6), 705-709.

Huang, D., Ou, B., Prior, R.L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 53, 1841–1856.

Hunt, E.J., Lester, C.E., Lester, E.A., Tackett, R.L. (2001). Effects of St.John's wort on free radical production. *Life Sciences*, 69, 181-190.

Hussain, S., Ansari, Z.H., Arif, M. (2009). Hyperforin: A lead for Antidepressant. *International Journal of Health Research*, 2 (1), 15-22.

Ishiguro, K., Nagareya, N., Suitani, A., Fukumoto, H. (1997). A prenylated xanthone from cell suspension cultures of *Hypericum patulum*. *Phytochemistry*, 44 (6), 1065-1066.

Istikoglou, C.L., Mavreas, V., Geroulanos, G. (2010). History and therapeutic properties of *Hypericum perforatum* from antiquity until today. *Psychiatrike*, 21(4), 8-332.

Izzo, A.A., Borrelli, F., Capasso, R. (2002). Herbal Medicine: the dangers of drug interaction. *Trends in Pharmacological Sciences*, 23 (8), 358-359.

Jacobson, J. M., Feinman, L., Liebes, L., Ostrow, N., Koslowski, V., Tobia, A., Cabana, B. E., Lee, D.-H., Spritzler, J., Prince, A. M. (2001). Pharmacokinetics, Safety, and Antiviral Effects of Hypericin, a Derivative of St John's Wort Plant, in Patients With Chronic Hepatitis C Virus Infection. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 45 (2), 517-524.

Jobst, K.A., McIntyre, M., St George, D., Whitelegg, M. (2000). Safety of St John's wort (*Hypericum perforatum*). *Lancet*, 355-375.

Kang, W.Y., Song, Y.L., Zhang, L. (2011). alpha-Glucosidase inhibitory and antioxidant properties and antidiabetic activity of *Hypericum ascyron* L. *Medicinal Chemistry Research*, 20 (7), 809-816.

Karioti, A., Bilia, A.R. (2010). Hypericins as Potential Leads for New Therapeutics. *International Journal of Molecular Sciences*, 11, 562-594.

Karlıova, M., Trelchel, U., Malago, M., Frilling, A., Gerken, G., Broelsch, C.E. (2000). Interaction of *Hypericum perforatum* (St. John's wort) with cyclosporin A metabolism in a patient after liver transplantation. *Journal of Hepatology*, 33, 853-855.

Kaufeler, R., Meier, B., Brattstrom, A. (2001). Efficacy and tolerability of Ze 117 St. John's wort extract in comparison with placebo, imipramine and fluoxetine for the treatment of mild to moderate depression according to ICD-10. An overview. *Pharmacopsychiatry*, 34 (1), 49-50.

Kırmızıbekmez, H., Atay, I., Yeşilada, E. (2008b). Determination of four major flavonoids in the methanolic extract of *Hypericum perforatum* by HPTLC-densitometry. *Planta Medica*, 74, 1103.

Kırmızıbekmez, H., C Basserello, C., Pizza, C., Celep, E., Atay, I., Mercanoğlu, G., Yeşilada, E. (2008a). Antioxidant phenolics from *Hypericum calycinum*. *Planta Medica*, 74, 951.

Kızıl, G., Kızıl, M., Yavuz, M., Emen, S., Hakimoğlu, S. (2008). Antioxidant activities of ethanol extracts of *Hypericum triquetrifolium* and *Hypericum scabroides*. *Pharmaceutical Biology*, 46, 231-242.

Klusa, V., Germane, S., Nöldner, M., Chatterjee, S.S. (2001). *Hypericum* extract and hyperforin: memory-enhancing properties in rodents. *Pharmacopsychiatry*, 34 (1), 61-69.

Kobak, K.A., Taylor, L.V., Bystritsky, A., Kohlenberg, C.J., Greist, J.H., Tucker, P., Warner, G., Futterer, R., Vapnik, T. (2005). St John's wort versus placebo in obsessive-compulsive disorder: results from a double-blind study. *International Clinical Psychopharmacology*, 20 (6), 299-304.

Kobak, K.A., Taylor, L.V., Futterer, R., Warner, G. (2003). St. John's wort in generalized anxiety disorder: three more case reports. *Journal of Clinical Psychopharmacology*, 23 (5), 531-532.

Koren, E., Kohen, R., Ginsburg, I. (2009). A Cobalt-Based Tetrazolium Salts Reduction Test To Assay Polyphenols. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 57, 7644-7650.

Kubin, A., Wierrani, F., Burner, U., Alth, G., Grünberger, W. (2005). Hypericin-The facts about a controversial agent. *Current Pharmaceutical Design*, 11, 233–253.

Kumar, V., Singh, P.N., Muruganandam, A.V., Bhattacharya, S.K. (2000). Effect of Indian *Hypericum perforatum* Linn on animal models of cognitive dysfunction. *Journal of Ethnopharmacology*, 72 (1-2), 119-128.

Lavagna, S.M., Secci, D., Chimenti, P., Bonsignore, L., Ottaviani, A., Bizzarri, B. (2001). Efficacy of *Hypericum* and *Calendula* oils in the epithelial reconstruction of surgical wounds in childbirth with caesarean section. *Il Farmaco*, 56, 451-3.

Lawvere, S., Mahoney, M.C., Cummings, K.M., Kepner, J.L., Hyland, A., Lawrence, D.D., Murphy, J.M. (2006). A Phase II study of St. John's Wort for smoking cessation. *Complementary Therapies in Medicine*, 14 (3), 175-184.

Leal, K.Z., Yoneda, J.D., Lindgren, E.B., Pinheiro, C.B., Corrêa, A.L., França, H.S. (2010). Conformational analysis of phloroglucinols from *Hypericum brasiliense* by using x-ray diffraction and molecular modeling. *Journal of Brazilian Chemical Society*, 21 (5), 837-841.

Lin, Y.L., Wu, Y.S. (2003). Polyprenylate phloroglucinol derivatives from *Hypericum sampsonii*. *Helvetica Chimica Acta*, 86 (6), 2156-2163.

Liu, C.D., Kwan, D., Saxton, R.E., Mcfadden, D.W. (2000). Hypericin and photodynamic therapy decreases human pancreatic cancer *in vitro* and *in vivo*. *Journal of Surgical Research*, 93, 137–143.

Mai, I., Bauer, S., Perloff, E.S., Johne, A., Uehleke, B., Frank, B., Budde, K., Roots, I. (2001). Hyperforin content determines the magnitude of the St. John's Wort cylosporine drug interaction. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 76, 330–340.



Maisenbacher, P., Kovar, K.A. (1992). Analysis and stability of Hyperici Oleum. *Planta Medica*, 58, 351-354.

Manning, K., Petrunak, E., Lebo, M., Gonzalez-Sarrias, A., Seeram, N.P., Henry, G.E. (2011). Acylphloroglucinol and xanthenes from *Hypericum ellipticum*. *Phytochemistry*, 72(7), 662-667.

Mat, A. (2010). Bitkiden İlaça Hepsinin Bir Öyküsü Var. İstanbul: PharmaVision Kültür Yayınları.

Matsuhisa, M., Shikishima, Y., Takaishi, Y., Honda, G., Ito, M., Takeda, Y., Shibata, H., Higuti, T., Kodzhimatov, O.K., Ashurmetov, O. (2002). Benzoylphloroglucinol derivatives from *Hypericum scabrum*. *Journal of Natural Products*, 65 (3), 290-294.

Medina, M.A., Martinez-Poveda, B., Amores-Sanchez, M.I., Quesada, A.R. (2006). Hyperforin: More than an antidepressant bioactive compound? *Life Science*, 79, 105-111.

Mei-Ing, C., Jing-Ru, W., Mei-Hsun, L., Ming-Hong, Y., Chun-Nan, L. (1999). A New Chalcone, Xanthenes, and a Xanthonolignoid from *Hypericum geminiflorum*. *Journal of Natural Products*, 62 (7), 1033-1035.

Mendes, F.R., Mattei, R., Carlini, E.L.A. (2002). Activity of *Hypericum brasiliense* and *Hypericum cordatum* on the central nervous system rodents. *Fitoterapia*, 73, 462-471.

Menegazzi, M., Paola, R.D., Mazzon, E., Muia, C., Genovese, T., Crisafulli, C., Suzuki, H., Cuzzocrea, S. (2006). *Hypericum perforatum* attenuates the development of carrageenan-induced lung injury in mice. *Free Radical Biology & Medicine*, 40, 740 – 753.

Milosevic, T., Solujic, S., Sukdolak, S. (2007). *In vitro* Study of Ethanolic Extract of *Hypericum perforatum* L. On Growth and Sporulation of Some Bacteria and Fungi. *Turkish Journal of Biology*, 31, 237-241.

Miskovski, P. (2002). Hypericin – A New Antiviral and Antitumor Photosensitizer: Mechanism of Action and Interaction with Biological Macromolecules. *Current Drug Targets*, 3, 55-84.

Mohanasundari, M., Srinivasan, M.S., Sethupathy, S., Sabesan, M. (2006). Enhanced neuroprotective effect by combination of bromocriptine and *Hypericum perforatum* extract against MPTP-induced neurotoxicity in mice. *Journal of the Neurological Sciences*, 249, 140–144.

Momekov, G., Ferdinandov, D., Zheleva-Dimitrova, D., Nedilalkov, P., Girreser, U., Kitanov, G. (2008). Cytotoxic effects of hyperatomarin, a prenylated phloroglucinol from *Hypericum annulatum* Moris subsp *annulatum*, in a panel of malignant cell lines. *Phytomedicine*, 15 (11), 1010-1015.

Moon, H.I. (2010). Antiplasmodial and Cytotoxic Activity of Phloroglucinol Derivatives from *Hypericum erectum* Thunb. *Phytotherapy Research*, 24 (6), 941-944.

Morteza-Semnani, K., Mahmoudi, M., Saeedi, M., Javanmardi, A. (2003). Analgesic activity of Iranian *Hypericum perforatum*. *Toxicology Letters*, 144 (1), 88.

Müller, R.S., Breitzkreutz, J., Gröning, R. (2004). Interactions between aqueous *Hypericum perforatum* extracts and drugs: *in vitro* studies. *Phytotherapy Research*, 18, 1019–1023.

Müller, W.E. (2003). Current St. John's wort research from mode of action to clinical efficacy. *Pharmacological Research*, 47, 101-109.

Müller, W.E. (2005). Introduction and Historical Overview. In W.E. Müller (Ed.), *St. John's Wort and its Active Principles in Depression and Anxiety*. Basel: Birkhäuser Verlag.; 1-4.

Müller, W.E., Singer, A., Wonneman, M. (2001). Hyperforin - Antidepressant Activity by a Novel Mechanism of Action. *Pharmacopsychiatry*, 34 (1), 98-102.

Mukherjee, P.K., Saritha, G.S., Suresh, B. (2001). Antibacterial spectrum of *Hypericum hookerianum*. *Fitoterapia*, 72 (5), 558-560.

Mukherjee, P.K., Saritha, G.S., Suresh, B. (2002). Antimicrobial potential of two different *Hypericum* species available in India. *Phytotherapy Research*, 16 (7), 692-695.

Mukherjee, P.K., Verpoorte, R., Suresh, B. (2000). Evaluation of in-vivo wound healing activity of *Hypericum patulum* (Family: Hypericaceae) leaf extract on different wound model in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 70 (3), 315-321.

Nedialkov, P.T., Zheleva-Dimitrova, D., Momekov, G., Karlov, K., Girreser, U., Kitanov, G.M. (2011). ELEGAPHENONE and 7-epi-clusianone, the major cytotoxic constituents of *Hypericum elegans*. *Natural Product Research*, 25 (18), 1743-1750.

Nishikimi, M., Rao, N. A., Yagi, K. (1972). The occurrence of superoxide anion in the reaction of reduced phenazine methosulfate and molecular oxygen. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 46, 849-854.

Nör, C., Albring, D., Ferraz, A.B.F., Schripsema, J., Pires, V., Sonnet, P., Guillaume, D., von Poser, G.L. (2004). Phloroglucinol derivatives from four *Hypericum* species belonging to the Trigynobrathys section. *Biochemical Systematics and Ecology*, 32, 517-519.

Orčić, D., Mimica-Dukić, N.M., Francišković, M.M., Petrović, S.S., Jovin, E.Đ. (2011). Antioxidant activity relationship of phenolic compounds in *Hypericum perforatum* L. *Chemistry Central Journal*, 5 (34), 1-8.

Oyaizu, M. (1986). Studies on products of browning reaction: Antioxidative activity of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Journal of Nutrition*, 44, 307-315.

Özhatay, N., Kültür, Ş., Aksoy, N. (1999). Check-List of Additional Taxa to the Supplement Flora of Turkey II. *Turkish Journal of Botany*, 23, 151-169.

Özhatay, N., Kültür, Ş., Aslan, S. (2009). Check-List of Additional Taxa to the Supplement Flora of Turkey IV. *Turkish Journal of Botany*, 33, 191-226.

Özhatay, N., Kültür, Ş., Gürdal, M.B. (2011). Check-List of Additional Taxa to the Supplement Flora of Turkey V. *Turkish Journal of Botany*, 35, 1-36.

Özkan, A.M.G., Demirci, B., Başer, K.H.C. (2009). Essential Oil Composition of *Hypericum thymopsis* Boiss. *Journal of Essential Oil Research*, 21 (2), 149-153.

Öztürk, B., Apaydın, S., Göldeli, E., İnce, İ., Zeybek, U. (2002). *Hypericum triquetrifolium* Turra. extract exhibits antiinflammatory activity in the rat *Journal of Ethnopharmacology*, 80, 207-209.

Öztürk, N., Korkmaz, S., Öztürk, Y. (2007). Wound-healing activity of St. John's Wort (*Hypericum perforatum* L.) on chicken embryonic fibroblasts. *Journal of Ethnopharmacology*, 111, 33-39.

Öztürk, N., Tunçel, M., Potoğlu-Erkara, İ. (2009). Phenolic compounds and antioxidant activities of some *Hypericum* species: A comparative study with *H. perforatum*. *Pharmaceutical Biology*, 47 (2), 120-127.

Öztürk, Y., Aydın, S., Baser, K.H.C., Kırimer, N., Kurtar-Öztürk, N. (1992). Hepatoprotective activity of *Hypericum perforatum* L. alcoholic extracts in rodents. *Phytotherapy Research*, 6 (1), 44-46.

Pabuçcuoğlu, A., Konyalıoğlu, S., Baş, M., Meral, G.E. (2003). The *in vitro* effects of *Hypericum* species on human leukocyte myeloperoxidase activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 87 (1), 89-92.

Panocka, I., Perfumi, M., Angeletti, S., Ciccocioppo, R., Massi, M. (2000). Effects of *Hypericum perforatum* extract to ethanol intake and on behavioral despair: a search for the neurochemical systems involved. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 66 (1), 105-111.

PDR For Herbal Medicine. (2000). (2nd ed.). New Jersey, Medical Economics Company.

Peng, J.Y., Fan, G.R., Wu, Y.T. (2006). Preparative separation and isolation of three flavonoids and three phloroglucinol derivatives from *Hypericum japonicum* Thumb. using high-speed countercurrent chromatography by stepwise increasing the flow rate of the mobile phase. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 29 (11), 1619-1632.

Perfurni, M., Santoni, M., Cippitelli, A., Ciccocioppo, R., Frolidi, R., Massi, M. (2003). *Hypericum perforatum* CO<sub>2</sub> Extract and Opioid Receptor Antagonists Act Synergistically to Reduce Ethanol Intake in Alcohol-Preferring Rats. *Clinical and Experimental Research*, 27 (10), 1554-1562.

Piette, J., Volanti, C., Vantieghem, A., Matroule, J., Habraken, Y., Agostinis, P. (2003). Cell death and growth arrest in response to photodynamic therapy with membrane-bound photosensitizers. *Biochemical Pharmacology*, 66, 1651–1659.

Pinhatti, A.V., Nunes, J.D., Maurmann, N., Rosa, L.M.G., Von Poser, G.L., Rech, S.B. (2010). Phenolic compounds accumulation in *Hypericum ternum* propagated *in vitro* and during plant development acclimatization. *Acta Physiologiae Plantarum*, 32 (4), 675-681.

Pistelli, L., Bertoli, A., Zucconelli, S., Morelli, I., Panizzi, L., Menichini, F. (2000). Antimicrobial activity of crude extracts and pure compounds of *Hypericum hircinum*. *Fitoterapia*, 71 (1), 138-140.

Rabanal, R.M., Arias, A., Prado, B., Hernandez-Perez, M., Sanchez-Mateo, C.C. (2002). Antimicrobial studies on three species of *Hypericum* from the Canary Islands. *Journal of Ethnopharmacology*, 81 (2), 287-292.

Rabanal, R.M., Bonkanka, C.X., Hernández-Pérez, M., Sánchez-Mateo, C.C. (2005). Analgesic and topical anti-inflammatory activity of *Hypericum canariense* L. and *Hypericum glandulosum* Ait. *Journal of Ethnopharmacology*, 96 (3), 591-596.

Radulovic, N., Stankov-Jovanovic, V., Stojanovic, G., Smelcerovic, A., Spiteller, M., Asakawa, Y. (2007). Screening of *in vitro* antimicrobial and antioxidant activity of nine *Hypericum* species from the Balkans. *Food Chemistry*, 103 (1), 15-21.

Rainha, N., Lima, E., Baptista, J. (2011). Comparison of the endemic Azorean *Hypericum foliosum* with other *Hypericum* species: antioxidant activity and phenolic profile. *Natural Product Research*, 25 (2), 123-135.

Rao, S.G., Udupa, S.L., Rao, P.G.M., Rao, G., Kulkarni, D.R. (1991). *Calendula* and *Hypericum*: two homeopathic drugs promoting wound healing in rats. *Fitoterapia*, 62 (6), 508-510.

Rayburn, W.F., Gonzalez, C.L., Christensen, H.D., Stewart, J.D. (2001). Effect of prenatally administered *Hypericum* (St John's wort) on growth and physical maturation of mouse offspring. *American Journal Obstetrics & Gynecology*, 184, 191-195.

Reichling, J., Weseler, A., Saller, R. (2001). A current review of the antimicrobial activity of *Hypericum perforatum* L. *Pharmacopsychiatry*, 34, 116-118.

Rezvani, A.H., Overstreet, D.H., Perfumi, M., Massi, M. (2003). Plant derivatives in the treatment of alcohol dependency. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 75 (3), 593-606.

Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., Paganga, G. (1997). Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Science*, 2, 152-159.

Robson, N.K.B. (1966). *Hypericum*. İçinde P.H. Davis (Ed.), *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Edinburgh: Edinburg University Press, Volume II; 305-401.

Robson, N.K.B. (1988). *Hypericum*. İçinde P.H. Davis (Ed.), *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Edinburgh: Edinburg University Press, Volume X; 96-103.

Rocha, L., Marston, A., Potterat, O., Kaplan, M. A. C., Evans, H.S., Hostettmann, K. (1995). Antibacterial phloroglucinols and flavonoids from *Hypericum brasiliense*. *Phytochemistry*, 40 (5), 1447-1452.

Rocha, L., Marston, A., Potterat, O., Kaplan, M. A. C., Hostettmann, K. (1996). More phloroglucinols from *Hypericum brasiliense*. *Phytochemistry*, 42 (1), 185-188.

Rodriguez-Landa, J.F., Contreras, C.M. (2003). A review of clinical and experimental observations about antidepressant actions and side effects produced by *Hypericum perforatum* extracts. *Phytomed*, 10, 688–699.

Roscetti, G., Franzese, O., Comandini, A., Bonmasar, E. (2004). Cytotoxic activity of *Hypericum perforatum* L. on K562 erythroleukemic cells: differential effects between methanolic extract and hypericin. *Phytotherapy Research*, 18, 66–72.

Rutten, A.M.G. (2007). Johanniskraut: *Hypericum perforatum* L. vom Hexenkraut zum modernen Arzneimittel. *Medical History*, 51(2), 273-274.

Saddiqe, Z., Naeem, I., Maimoona, A. (2010). A review of the antibacterial activity of *Hypericum perforatum* L. *Journal of Ethnopharmacology*, 131, 511-521.

Sagrati, G., Ricciutelli, M., Vittori, S., Öztürk, N., Öztürk, Y., Maggi, F. (2008). Phytochemical and antioxidant analysis of eight *Hypericum* taxa from Central Italy. *Fitoterapia*, 79, 210-213.

Sakanaka, S., Tachibana, Y., Okada, Y. (2005). Preparation and antioxidant properties of extracts of Japanese persimmon leaf tea (kakinoha-cha). *Food Chemistry*, 89, 569–575.

Sánchez-Mateo, C.C., Bonkanka, C.X., Hernández-Pérez, M., Rabanal, R.M. (2006). Evaluation of the analgesic and topical anti-inflammatory effects of *Hypericum reflexum* L. Fil. *Journal of Ethnopharmacology*, 107 (1): 1-6.

Saroglou, V., Marin, P.D., Rancic, A., Veljic, M. and Skaltsa, H. (2007). Composition and antimicrobial activity of the essential oil of six *Hypericum* species from Serbia. *Biochemical Systematics and Ecology*, 35 (3), 146-152.

Savikin, K., Dobric, S., Tadic, V., Zdunic, G. (2007). Antiinflammatory activity of ethanol extracts of *Hypericum perforatum* L., *H. barbatum* Jacq., *H. hirsutum* L., *H. richeri* Vill. and *H. androsaemum* L. in rats. *Phytotherapy Research*, 21 (2), 176-180.

Savikin-Fodulvic, K., Aljancic, I., Vajs, V., Menkovic, N., Macura, S., Gojgic, G., Milosavljevic, S. (2003). Hyperatomarin, an antibacterial prenylated phloroglucinol from *Hypericum atomarium* ssp *degenii*. *Journal of Natural Products*, 66 (9), 1236-1238.

Scalbert, A., Manach, C., Morand, C., Rémésy, C., Jiménez, L. (2005). Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45, 287–306.

Schempp, C.M., Pelz, K., Wittmer, A., Schopf, E., Simon J.C. (1999). Antibacterial activity of hyperforin from St John's wort, against multiresistant *Staphylococcus aureus* and Gram-positive bacteria. *Lancet*, 353, 2129.

Schempp, C.M., Windeck, T., Hezel, S., Simon, J.C. (2003a). Topical treatment of atopic dermatitis with St. John's Wort cream – a randomized, placebo controlled, double blind, half-side comparison. *Phytomedicine*, 10, 31-37.

Schempp, C.M., Winghofer, B., Müller, K., Schulte-Mönting, J., Mannel, M., Schöpf, E., Simon, J.C. (2003b). Effect of oral administration of *Hypericum perforatum* extract (St. John's Wort) on skin erythema and pigmentation induced by UVB, UVA, visible light and solar simulated radiation. *Phytotherapy Research*, 17 (2), 141-146.

Schrader, E. (2000). Equivalence of St. John's wort extract (Ze 117) and fluoxetine: a randomized, controlled study in mild to moderate depression. *International Clinical Psychopharmacology*, 15 (2), 61-68.

Schulz, V. (2002). Clinical trials with *Hypericum* extracts in patients with depression - results, comparisons, conclusions for therapy with antidepressant drugs. *Phytomedicine*, 9 (5), 468-474.

Silva, B. A., Ferreres, F., Malva, J. O., Dias, A. C. P. (2005). Phytochemical and antioxidant characterization of *Hypericum perforatum* alcoholic extracts. *Food Chemistry*, 90, 157-167.

Silva, B.A., Malva, J.O., Dias, A.C.P. (2008). St. John's Wort (*Hypericum perforatum*) extracts and isolated phenolic compounds are effective antioxidants in several *in vitro* models of oxidative stress. *Food Chemistry*, 110 (3), 611-619.

Singer, A., Schmidt, M., Hauke, W., Stade, K. (2011). Duration of response after treatment of mild to moderate depression with *Hypericum* extract STW 3-VI, citalopram and placebo: A reanalysis of data from a controlled clinical trial. *Phytomedicine*, 18 (8-9), 739-742.

Slinkard, K., Singleton, V.L. (1977). Total phenol analyses: automation and comparison with manual methods. *American Journal of Enology and Viticulture*, 28, 49-55.

Smelcerovic, A., Zuehlke, S., Spitteller, M., Raabe, N., Özen, T. (2008). Phenolic constituents of 17 *Hypericum* species from Turkey. *Biochemical Systematics and Ecology*, 36 (4), 316-319.

Smelcerovic, Z., Raabe, N. (2007). Essential oil composition of *Hypericum* L. Species from Southeastern Serbia and their chemotaxonomy. *Biochemical Systematics and Ecology*, 35 (2), 99-113.

Staffeldt, B., Kerb, R., Brockmoller, J., Ploch, M., Roots, I. (1994). Pharmacokinetics of hypericin and pseudohypericin after oral intake of the *Hypericum perforatum* extract LI 160 in healthy volunteers. *Journal of Geriatric Psychiatry and Neurology*, 7 (1), 47-53.

Stevinson, C., Ernst, E. (2000). A pilot study of *Hypericum perforatum* for the treatment of premenstrual syndrome. *International Journal of Gynecology & Obstetrics*, 107 (7), 870-876.

Subhan, F., Khan, M., Ibrar, M., Nazar-ul-Islam, Khan, A., Gilani, A.H. (2007). Antagonism of Antinociceptive Effect of Hydro-Ethanollic Extract of *Hypericum perforatum* Linn. By a non Selective Opioid Receptor Antagonist, Naloxone. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 10 (5), 792-796.



Subhan, F., Khan, N., Sewell, R.D.E. (2009). Adulterant Profile of Illicit Street Heroin and Reduction of its Precipitated Physical Dependence Withdrawal Syndrome by Extracts of St John's Wort (*Hypericum perforatum*). *Phytotherapy Research*, 23, 564-571.

Suntar, I.P., Akkol, E.K., Yilmazer, D., Baykal, T., Kırmızıbekmez, H., Alper, M., Yeşilada, E. (2010). Investigations on the in vivo wound healing potential of *Hypericum perforatum* L. *Journal of Ethnopharmacology*, 127 (2), 468-477.

Suzuki, O., Katsumata, Y., Oya, M., Bladt, S., Wagner, H. (1984). Inhibition of monoamine oxidase by hipericin. *Planta Medica*, 50 (3), 272-274.

Szegedi, A., Kohnen, R., Dienel, A., Kieser, M. (2005). Acute treatment of moderate to severe depression with *Hypericum* extract WS 5570 (St John's wort): randomised controlled double blind non-inferiority trial versus paroxetine. *British Medical Journal*, 330 (7490), 503.

Tanaka, N., Kashiwada, Y., Kim, S.Y., Sekiya, M., Ikeshiro, Y., Takaishi, Y. (2009). Xanthones from *Hypericum chinense* and their cytotoxicity evaluation. *Phytochemistry*, 70 (11-12), 1456-1461.

Tanaka, N., Kubota, T., Ishiyama, H., Araki, A., Kashiwada, Y., Takaishi, Y., Mikami, Y., Kobayashi, J. (2008). Petiolins A-C, phloroglucinol derivatives from *Hypericum pseudopetiolatum* var. *kiusianum*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 16 (10), 5619-5623.

Tanaka, N., Takaishi, Y., Shikishima, Y., Nakanishi, Y., Kenneth, B., Lee, K.H., Honda, G., Ito, M., Takeda, Y., Kodzhimayov, O.K., Ashurmetov, O. (2004). Prenylated Benzophenones and Xanthones from *Hypericum scabrum*. *Journal of Natural Products*, 67 (11), 1870-1875.

Tao, S.H., Wu, F.E. (2004). A New Flavon From *Hypericum wightianum*. *Journal of Asian Natural Products Research*, 6 (4), 307-310.

Tatsis, E.C., Boeren, S., Exarchou, V., Troganis, A.N., Vervoort, J., Gerothanassis, I.P. (2007). Identification of the major constituents of *Hypericum perforatum* by LC/SPE/NMR and/or LC/MS. *Phytochemistry*, 68 (3), 383-393.

Tirona, R.G., Bailey, D.G. (2006). Herbal product–drug interactions mediated by induction. *Journal of Clinical Pharmacology*, 61 (6), 677-681.

Treiber, K., Singer, A., Henke, B. and Müller, W.E. (2005). Hyperforin activates nonselective cation channels (NSCCs). *British Journal of Pharmacology*, 145, 75-83.

Trovato, A., Raneri, E., Kouladis, M., Tzakou, O., Taviano, M.F., Galati, E.M. (2001). Anti-inflammatory and analgesic activity of *Hypericum empetrifolium* Willd. (Guttiferae). *II Farmaco*, 56 (5-7), 455-457.

Uzbay, T.I. (2008). *Hypericum perforatum* and Substance Dependence: A Review. *Phytotherapy Research*, 22, 578-582.

Uzbay, T.I., Coşkun, I., Kayır, H., Öztürk, N., Öztürk, Y. (2007). Extract of *Hypericum perforatum* blocks caffeine-induced locomotor activity in mice. *Phytotherapy Research*, 21, 415–419.

Uzbay, T.I., Kayır, H., Coşkun, İ, Öztürk, N., Öztürk, Y. (2006). Extract of *Hypericum perforatum* blocks nicotine-induced locomotor activity in mice. *Turkish Journal of Pharmaceutical Science*, 3, 31–39.

Vajs, V., Vugdelija, S., Trifunović, S., Karadžić, I., Juranić, N., Macura, S., Milosavljević, S. (2003). Further degradation product of hyperforin from *Hypericum perforatum* (St. John's Wort). *Fitoterapia*, 74, 439-444.

Valentão, P., Fernandes, E., Carvalho, F., Andrade, P.B., Seabra, R.M., de Louredes Bastos, M. (2002). Antioxidant activity of *Hypericum androsaemum* infusion: scavenging activity against superoxide radical, hydroxyl radical and hypochlorous acid. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 25, 1320-1323.

Vandenbogaerde, A.L., Kamuhabwa, A., Delaey, E., Himpens, B.E., Merlevede, W.J., Witte, P.A. (1998). Photocytotoxic effect of pseudohypericin versus hypericin. *Journal of Photochemistry and Photobiology B*, 45, 87-94.

Wang, W., Zeng, Y.H., Osman, K., Shinde, K. Rahman, M., Gibbons, S., Mu, Q. (2010). Norlignans, Acylphloroglucinols, and a Dimeric Xanthone from *Hypericum chinense*. *Journal of Natural Products*, 73 (11), 1815-1820.

Wang, X.W., Mao, Y., Wang, N.L., Yao, X.S. (2008). A New Phloroglucinol Diglycoside Derivative from *Hypericum japonicum* Thunb. *Molecules*, 13 (11), 2796-2803.

Wang, Z., Gorski, C., Hamman, M. A., Huang, S., Lesko, L. J., Hall, S. D. (2001). The effects of St John's Wort (*Hypericum perforatum*) on human cytochrome p450 activity. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 70 (4), 317–326.

Wen-Bo, X., Gui-Lin, J., Zhu-Jun, M., Lu-Ping, Q. (2011b). Two Unusual Phenolic Substances and One New Xanthone from *Hypericum sampsonii*. *Helvetica Chimica Acta*, 94, 686-692.

Wen-Bo, X., Zhu-Jun, M., Gui-Lin, J., Lu-Ping, Q. (2011a). Two New Xanthenes from *Hypericum sampsonii* and Biological Activity of the Isolated Compounds. *Phytotherapy Research*, 25, 536-539.

Wilhelm, K.P., Biel, S., Siegers, C.P. (2001). Role of flavonoids in controlling the phototoxicity of *Hypericum perforatum* extract. *Phytomed*, 8 (4), 306-309.

Winkelmann, K., Heilmann, J., Zerbe, O., Rali, T., Sticher, O. (2001a). New prenylated bi- and tricyclic phloroglucinol derivatives from *Hypericum papuanum*. *Journal of Natural Products*, 64 (6), 701-706.

Winkelmann, K., Heilmann, J., Zerbe, O., Rali, T., Sticher, O. (2001b). Further prenylated bi- and tricyclic phloroglucinol derivatives from *Hypericum papuanum*. *Helvetica Chimica Acta*, 84 (11), 3380-3392.

Winkelmann, K., Heilmann, J., Zerbe, O., Rali, T., Sticher, O. (2000). New Phloroglucinol Derivatives from *Hypericum papuanum*. *Journal of Natural Products*, 63 (1), 104-108.

Woelk, H., Burkard, G., Grünwald, J. (1994). Benefits and risks of the Hypericum extract LI 160: drug monitoring study with 3250 patients. *Journal of Geriatric Psychiatry and Neurology*, 7 (1), 34-38.

Wojdylo, A., Oszmianski, J. And Czemerzys, R. (2007). Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chemistry*, 105, 940-949.

Yeşilada, E., Gürbüz, İ. (1998). Evaluation of the antiulcerogenic effect of the flowering herbs of *Hypericum perforatum* L. *Journal of Faculty Pharmacy of Gazi*, 15 (2), 77-83.

Yeşilada, E., Gürbüz, İ., Shibata, H. (1999). Screening of Turkish anti-ulcerogenic folk remedies for anti-*Helicobacter pylori* activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 66 (3), 289-293.

Zanoli, P. (2004). Role of Hyperforin in the Pharmacological Activities of St. John's Wort. *CNS Drug Reviews*, 10 (3), 203-218.

Zdunic, G., Godevac, D., Milenkovic, M., Vucicevic, D., Savikin, K., Menkovic, N., Petrovic, S. (2009). Evaluation of *Hypericum perforatum* Oil Extracts for an Antiinflammatory and Gastroprotective Activity in Rats. *Phytotherapy Research*, 23 (1), 1559-1564.

Zdunic, G., Godevac, D., Savikin, K., Novakovic, M., Milosavljevic, S., Petrovic, S. (2011). Isolation and identification of phenolic compounds from *Hypericum richeri* Vill. and their antioxidant capacity. *Natural Product Research*, 25(3), 175-187.

Zeisser-Labouèbe, M., Lange, N., Gurny, R. and Delie, F. (2006). Hypericin-loaded nanoparticles for the photodynamic treatment of ovarian cancer. *International Journal of Pharmaceutics*, 326 (1-2), 174-181.

Zhang, Y.C., Liu, C.M., Yu, M., Zhang, Z.K., Qi, Y.J., Hu, Y. (2011). Application of accelerated solvent extraction coupled with high-performance counter-current chromatography to extraction and online isolation of chemical constituents from *Hypericum perforatum* L. *Journal of Chromatography A*, 1218 (20), 2827-2834.

Zheleva-Dimitrova, D., Nedialkov, P., Kitanov, G. (2010). Radical scavenging and antioxidant activities of methanolic extracts from *Hypericum* species growing in Bulgaria. *Pharmacognosy Magazine*, 6 (22), 74-78.

Zou, Y., Lu, Y., Wei, D. (2004). Antioxidant activity of a flavonoid-rich extract of *Hypericum perforatum* L. *in vitro*. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 52, 5032-5039.

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

<b>Adı</b>	Esra	<b>Soyadı</b>	EROĞLU ÖZKAN
<b>Doğ.Yeri</b>	Zonguldak	<b>Doğ.Tar.</b>	24.05.1981
<b>Uyruğu</b>	T.C.	<b>TC Kim No</b>	15982054026
<b>Email</b>	<a href="mailto:esraeroglu@gmail.com">esraeroglu@gmail.com</a>	<b>Tel</b>	532 502 33 80

### Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
<b>Doktora</b>	İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	2011
<b>Yük.Lis.</b>	İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	2007
<b>Lisans</b>	İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	2003
<b>Lise</b>	Ataköy Cumhuriyet Lisesi	1998

### İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.	Araştırma Görevlisi	İstanbul Üniversitesi	2004 - ....
2.	Ruhsatlandırma Sorumlusu	Yeni İlaç ve Ham. San. Ve Tic. A.Ş.	2003 - 2004

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	İyi	İyi	İyi	56.250	-

\*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
<b>LES Puanı</b>	67.889	71.671	76.451
<b>(Diğer) Puanı</b>	-	-	-

### Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Microsoft Office 2010	Çok iyi
Chemoffice	Çok iyi
Adobe Photoshop	İyi

### Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

#### Uluslararası Toplantılarda Sunulan Poster Bildiriler

- **Eroglu, E.**, Karakoc, B., Mat, A. (2006). Biological activity of *Hypericum pamphylicum*, an endemic species of Turkey. Future Trends In Phytochemistry – A Young Scientists Symposium. Olomouc, Czech Republic, 28 June - 1 July.

- Ünsal, Ç., **Eroğlu, E.**, Özbek, B., Şerbetçi, T., Sarıyar, G., Mat, A. (2006). Alkaloids and Antimicrobial Activities of *Papaver clavatum* and *P. stylatum*. Chemistry, Pharmacology and Biosynthesis of Alkaloids. Antalya, Turkey, 25-29 April.
- **Eroglu, E.**, Aksu, B., Mat, A. (2008). An overview on *Hypericum* species of Turkey. 7<sup>th</sup> Joint Meeting of AFERP, ASP, GA, PSE & SIF, On Natural Products with pharmaceutical, nutraceutical, cosmetic and agrochemical interest. Athens, Greece, 3-8 August.
- **Eroğlu Özkan, E.**, Ünsal Gürer, Ç., Kültür, Ş., Mat, A. (2011). Quantitative and Qualitative Studies on Five Endemic *Hypericum* Species of Turkey. 59<sup>th</sup> International Congress and Annual Meeting of the Society for Medicinal Plant and Natural Product Research. Antalya, Turkey, 4<sup>th</sup>-9<sup>th</sup> September.
- **Eroğlu Özkan, E.**, Demirci, B., Kültür, Ş., Mat, A., Başer, K.H.C. (2011). Volatile Oil Compositions of Some Endemic *Hypericum* Species of Turkey. 5<sup>th</sup> Congress of Pharmacy of Macedonia with International Participation. Ohrid, Macedonia, 21-25 September.

#### **Ulusal Toplantılarda Sunulan Poster Bildiriler**

- **Eroğlu, E.**, Karakoç, B., Koşar, M., Mat, A. (2007). *Hypericum pamphylicum* Robson et Davis Türünün Hiperisin Miktarı ve Biyolojik Aktivite Yönünden İncelenmesi. 17. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Kuşadası, 16-18 Ekim.
- **Eroglu, E.**, Mericli, A.H., Mat, A. (2008). *Hypericum pamphylicum* Robson & Davis Türünün Fenolik Bileşikleri. 18. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, İstanbul, 16-18 Ekim.
- Unsal, C., Kultur, S., Ozbek, B., **Eroglu, E.** (2008). Türkiye'nin Bazı Endemik *Hypericum* Türlerinin Antimikrobiyal Aktivitesi. 18. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, İstanbul, 16-18 Ekim.
- Yazıcı, S., **Eroğlu Özkan, E.**, Meriçli, F., Özçelik, H., Zapp, J., Kiemer, A.K., Meriçli, A.H. (2010). *Consolida thirkeana* Türünün Diterpen Alkaloitleri. 19. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Mersin, 27-30 Ekim.

### **Uluslararası Dergilerde Yayımlanan Bilimsel Yayınlar**

- Ünsal, Ç., Eroğlu, E., Şerbetçi, T., Mat, A., Sarıyar, G. (2008). Alkaloids of *Papaver clavatum* and *P. stylatum*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 36, 497-499.
- Eroglu, E., Aksu, B., Mat, A. (2008). An overview on *Hypericum* species of Turkey. *Planta Medica*, 9 (74), 1139. (Poster Bildiri Özeti)
- Eroğlu Özkan, E., Ünsal Gürer, Ç., Kültür, Ş., Mat, A. (2011). Quantitative and Qualitative Studies on Five Endemic *Hypericum* Species of Turkey. *Planta Medica*, 12 (77), 1396. (Poster Bildiri Özeti)
- Eroğlu Özkan, E., Demirci, B., Kültür, Ş., Mat, A., Başer, K.H.C. (2011). Volatile Oil Compositions of some Endemic *Hypericum* Species of Turkey. *Macedonian Pharmaceutical Bulletin*, 57, 210. (Poster Bildiri Özeti)

### **Ulusal Dergilerde Yayımlanan Bilimsel Yayınlar**

- Eroğlu, E. (2005). Dünyanın en eski droglarından “Ginseng radix”. *Güncel Eczacılık*, 140, 8-14.
- Eroğlu, E., Pırıldar, S. (2007). Zencefil’in Tıbbi Değeri. *Fitomed*, 3, 41-44.
- Eroğlu-Özkan, E., Mat, A. (2010). Geleneksel Tıptan Modern Tıba *Viscum album*. *Fitomed*, 14, 27-35.

### **Özel İlgi Alanları (Hobileri):**

Doğa yürüyüşleri, latin dansları, gezi ve fotoğrafçılık.