Nuerbiye Aobuliaikemu

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İSTANBUL -2022

← Adınızı soyadınızı giriniz

Tez kabul edildikten sonra yapılan **sabit ciltte sırt yazısı** bu şablona göre yazılacak. Yazılar tek satır olacak

Cilt sırtı yazıların yönü yukarıdan aşağıya (sol yandaki gibi) olacak .

← YÜKSEK LİSANS TEZİ

← 2022

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

TÜRKİYE'DE SATILAN BEŞ FARKLI HYPERICUM PERFORATUM PREPARATI ÜZERİNDE TOTAL FENOLİK MADDE MİKTAR TAYİNİ, DPPH YÖNTEMİ İLE ANTİOKSİDAN AKTİVİTESİNİN İNCELENMESİ VE ICP-OES İLE AĞIR METAL ANALİZİ

NUERBIYE AOBULIAIKEMU

DANIŞMAN
DOÇ.DR. ESRA EROĞLU ÖZKAN

FARMAKOGNOZİ ANABİLİM DALI
FARMAKOGNOZİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

İSTANBUL-2022

İTHAF

Aileme ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Tez konumun belirlenmesi ve sonraki çalışmalarımda yardımını esirgemeyen, benim sorularımı her zaman sabırla cevaplayan, tez laboratuvar çalışması kapsamında yol gösteren, tez yazımını bitirmemde beni çok motive eden Doç. Dr. Esra Eroğlu Özkan'a sonsuz saygılarımı ve sevgilerimi sunarım.

Araştırmamı bitirebilmem için çalışma ortamı sağlayan Farmakognozi Anabilim Dalı Başkanı Prof.Dr. Aynur Sarı'ya ve her türlü ilgilenen, bilgili, mütevazi, sabırlı hocalara teşekkür ederim.

LC-HR/MS çalışması kapsamında büyük destek sağlayan Bezmialem Vakıf Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Analitik Kimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç.Dr. Işıl Gazioğlu'na sonsuz teşekkür ederim.

Total TAS, TOS, OSI, antioksidan aktivite, ağır metal ve mineral miktarları ICP-OES analizleri kapsamında bana laboratuvarda çalışma ortamı sağlayan Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç.Dr. Ömer Hazman'a, sabırla cihaz kullanmayı öğreten, baştan sonuna kadar yardımcı olan Yüksek Lisans öğrencisi Zehra Kumral'a içten teşekkür ederim ve saygılarımı sunarım.

Tezimin dilbilgisi hatalarının kontrolünde yardım eden sevgili arkadaşlarım Betül Büyükkılıç ve Miraç Ekici'ye teşekkür ederim.

Benim çalışmam sırasında manevi destek olan eşim Maierdan Maimaitijiang ve arkadaşım Gulnigar Askar'a teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI ..... 错误!未定义书签。
BEYAN ..... 错误!未定义书签。
İTHAF 2
TEŞEKKÜR 3
İÇİNDEKİLER 4
TABLOLAR LİSTESİ 7
ŞEKİLLER LİSTESİ 8
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ 9
ÖZET 10
ABSTRACT 11
1. GİRİŞ VE AMAÇ 12
2. GENEL BİLGİLER 15
2.1. *Hypericum perforatum* Hakkında Genel Bilgiler 15
2.1.1. Kullanım Tarihi 15
2.1.2. Taksonomi ve Morfolojik Özellikleri 16
2.1.3. Kimyasal Özellikleri 17
2.1.3.1. Naftodiantronlar 19
2.1.3.2. Floroglusinoller 20
2.1.3.3. Flavonoitler 21
2.1.3.4. Fenolik Asitler 21
2.1.3.5. Tanenler ve Proantosiyanidinler 22
2.1.3.6. Ksanton Bileşikleri 22
2.1.3.7. Uçucu Yağlar 23
2.1.4. Farmakolojik Aktiviteleri 23
2.1.4.1. Antidepresan Aktivite 23
2.1.4.2. Yara İyileştirici Aktivite 24
2.1.4.3. Antioksidan ve Nöroprotektif Aktivite 25
2.1.4.4. Antimikrobiyal Aktivite 25
2.1.4.5. Antienflamatuar Aktivite 26
2.1.4.6. Sitotoksik Aktivite 26
2.2. Bitkisel İlaçların Üretim Prosedürleri 27

2.2.1. İyi Tarım 27
2.2.2. Toplama 28
2.2.3. Toplama Sonrası Drog Olarak İşlenmesi 29
2.2.4. Drogların Bitkisel Preparatlar Olarak İşlenmesi 29
2.2.5. Preparatların Bitkisel Dozaj Formlar Olarak İşlenmesi 30
2.3. Bitkisel İlaçların Standardize Durumu 34
2.3.1. Bitkisel İlaçlarda Kalite Sorunları 34
2.3.2. Standardize Kriterler ve Kurallar 36
2.3.3. Farklı Ülkelerde Standardize Durum 38
2.3.4. *H. perforatum* Preparatlarının Standardize Edilmesi 43
3. GEREÇ VE YÖNTEM 45
3.1. Materyal 45
3.2. Genel Metotlar 45
3.2.1. Ekstrelerin Hazırlanması 45
3.2.2. LC-HR/MS ile Fenolik Bileşiklerin Belirlenmesi 46
3.2.2.1. LC-HR/MS Cihazı ve Kromatografik Şartlar 46
3.2.2.2. Standartların Hazırlanması 48
3.2.2.3. Ölçü Eğrisi Hazırlanması 48
3.2.3. Antioksidan Aktivite 48
3.2.3.1. Total Fenolik Madde Miktarının Belirlenmesi 48
3.2.3.2. Total Antioksidan (TAS) Statü Düzeylerinin Belirlenmesi 49
3.2.3.3. Total Oksidan Statü (TOS) Düzeylerinin Belirlenmesi 50
3.2.3.4. Oksidatif Stres Indeksinin (OSI) Belirlenmesi 50
3.2.3.5. DPPH ile Antioksidan Düzeylerinin Belirlenmesi 51
3.2.4. Mineral Madde Düzeylerinin Belirlenmesi 52
3.2.5. İstatistiksel Analiz 54
4. BULGULAR 55
4.1. LC-HR/MS Bulguları 55
4.1.1. Fenolik Bileşiklerin Miktar Tayini Sonuçları 55
4.2. Antioksidan Aktivite Bulguları 60
4.2.1. Toplam Fenolik Madde Miktarları 60
4.2.2. TAS, TOS ve OSI Düzeylerinin Değerlendirilmesi 61
4.2.3. Numunelerin DPPH Radikalini Düpürücü Etkilerinin Değerlendirilmesi 62

4.3. Mineral Madde Düzeylerinin Değerlendirilmesi 63
5. TARTIŞMA 65
KAYNAKLAR 74
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....89
ÖZGEÇMİŞ ..... 错误!未定义书签。

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: *H.perforatum* da bulunan önemli biyolojik aktif bileşikler ve aktiviteleri ... 17
Tablo 2-2: Farklı formdaki bitkisel ilaçların üretim yöntemleri ve ürün çeşitleri 33
Tablo 4-1: Numunelerde tayin edilen fenolik bileşik miktarları (mg/L) 55
Tablo 4-2: Numunelere ait total fenolik madde miktarları 60
Tablo 4-3: Numunelere ait TAS, TOS ve OSI düzeyleri 61
Tablo 4-4: Numunelere ait DPPH % inhibisyon oranları 62
Tablo 4-5: Numunelere ait element seviyeleri 63

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Naftodiantron türevlerinin kimyasal formülleri 20
Şekil 2-2: Floroglusinol türevlerinin kimyasal formülleri 21
Şekil 3-1: Satın alınan beş farklı *Hypericum perforatum* preparatları ve *Hypericum perforatum* drog örneği 46
Şekil 3-2: Gallik asit kalibrasyon eğrisi grafiği 49
Şekil 3-3: TAS kalibrasyon eğrisi grafiği 50
Şekil 3-4: DPPH kalibrasyon eğrisi grafiği 52
Şekil 3-5: ICP-OES çalışma prensibi (Ağca 2007) 54
Şekil 4-1. Nature's Bounty (NB) LC-HRMS kromatogramı 56
Şekil 4-2: Shiffa Home (SH) LC-HRMS kromatogramı 57
Şekil 4-3: Arkopharma (AP) LC-HRMS kromatogramı 58
Şekil 4-4: Balen (BA) LC-HRMS kromatogramı 59
Şekil 4-5: Afye (AF) LC-HRMS kromatogramı 60
Şekil 5-1: Numunelerin Toplam Fenolik Madde miktarını gösteren grafik 67
Şekil 5-2: Numunelerin TAS, TOS, OSI düzeylerini gösteren grafik 68
Şekil 5-3: Numunelerin DPPH radikali süpürücü etkilerini gösteren grafik 70

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
ESCOP	Avrupa Fitoterapi Bilimsel Kooperatifi
MAO	Monoamin Oksidaz
MRSA	Metisiline Dirençli
PRSA	Penisiline Dirençli
GACP	İyi Tarım ve Toplama Uygulamaları
GHPP	İyi Bitkisel İşleme Uygulamaları
GMP	İyi Üretim Uygulamaları
FDA	Amerika Gıda ve İlaç Dairesi
AYUSH	Ayurveda, Yoga, Unani, Siddha ve Homeopati Departmanı
CFDA	Çin Devlet İlaç İdaresi
TCM	Geleneksel Çin Tıbbı
GETAT	Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp
TLC	İnce tabakalı kromatografi
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
HPTLC	Yüksek Performanslı İnce Tabaka Kromatografisi
LC-MS	Sıvı Kromatografisi-Kütle Spektrometresi
LC-HR/MS	Sıvı Kromatografisi-Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometresi
NMR	Nükleer Manyetik Rezonans
AP	Arkopharma St. John’s Wort
NB	Nature’s Bounty St. John’s Wort
AF	Afye St. John’s Wort
BL	Balen St. John’s Wort
SH	Shiffa Home St. John’s Wort
FCR	Folin-Ciocalteu reaktifi
TAS	Total Antioksidan Statü
TOS	Total Oksidan Statü
OSI	Oksidatif Stres Indeksi
SR	Serbest Radikaller
DPPH	(2,2-difenil-1- pikrilhidrazil) Yöntemi
ICP-OES	Endüktif olarak bağlı Plazma - Optik Emisyon Spektrometresi

ÖZET

Aobuliaikemu, N. (2022). Türkiye'de satılan beş farklı *Hypericum perforatum* preparatı üzerinde total fenolik madde miktar tayini, DPPH yöntemi ile antioksidan aktivitesinin incelenmesi ve ICP-OES ile ağır metal analizi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Farmakognozi ABD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

Bu çalışmada eczane ve aktarlardan randomize olarak seçilerek satın alınan Nature's Bounty (NB), Shiffa Home (SH), Arkopharma (AP), Balen (BA) ve Afye (AF) markalarına ait *H. perforatum* preparatlarının içeriğindeki fenolik madde profilleri LC-HR/MS ile aydınlatılmıştır. Total fenolik miktar tayini Folin-Ciocalteu yöntemi ile incelenmiş, preparatların total antioksidan statü (TAS), total oksidan statü (TOS) ve oksidatif stres indeksleri (OSI) belirlenmiştir. Antioksidan aktivitesi DPPH yöntemi ile incelenmiş, ağır metal ve mineral miktarları ICP-OES (İndüktif Eşleşmiş Plazmalı Atomik Emisyon Spektrometrisi) ile analiz edilmiştir.

LC-HR/MS çalışmasında numunelerin hiperosit ve naringenin içerdiği tespit edilmiştir. Sonuçlara göre Natures Bounty (NB)'in hiperosit içeriği en yüksek, Afye (AF)'in naringenin içeriği en yüksek olduğu görülmüştür, numuneler arasında anlamlı fark görülmemiştir.

Numuneler toplam fenolik madde içerikleri açısından değerlendirildiğinde Balen (BA) ve Arkopharma (AP)'nın diğerlerine göre daha yüksek miktarda gallik asit içerdiği kıyaslanmıştır.

En yüksek TAS değerine Shiffa Home (SH), en yüksek TOS değerine Arkopharma (AP), en yüksek OSİ değerine ise Balen (BA) numunelerinin sahip olduğu tespit edimiştir.

DPPH ile antioksidan aktivite değerlendirmesinde Shiffa Home (SH) ve Arkopharma (AP) numunelerin Vitamin C'den sonra geldiği ve diğerlerine göre daha güçlü aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

Ağır metal analizi sonucunda beş farklı numunede Cu ve Li dışında Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) üst limit belirlediği başka toksik elementler tespit edilmemiştir. Ayrıca numunelerdeki Cu içeriği DSÖ tarafından belirlenen değer olan 150 ppm'in altında, Li içeriği ise 10 ppm'in altındadır.

Anahtar Kelimeler: *Hypericum perforatum*, LC-HR/MS, Fenolik Bileşikler, Antioksidan Aktivite, Ağır Metal Analizi

ABSTRACT

Aobuliaikemu, N. (2022). Determination of the total phenolic content on five different Hypericum perforatum products sold in Turkey, investigation of antioxidant activity by DPPH method and heavy metal analysis with ICP-OES. Istanbul University Institute of Health Sciences. Pharmacognosy Department. Master Thesis. Istanbul.

In this study, the phenolic substance profiles of the Hypericum perforatum preparations of five different brands, Nature's Bounty (NB), Shiffa Home (SH), Arkopharma (AP), Balen (BA) and Afye (AF), which were purchased randomly from pharmacies and herbalists were identified by LC-HR/MS. Total phenolic quantification of the samples were analyzed by the Folin-Ciocalteu method, and the total antioxidant status (TAS), total oxidant status (TOS), and oxidative stress indices (OSI) of the samples were determined. Antioxidant activity of the samples was investigated by DPPH method, heavy metal and mineral amounts were analyzed by ICP-OES (Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry). During LC-HR/MS study, it was determined that hyperoside and naringenin contained two phenolic substances in the samples. According to the results, it was observed that Natures Bounty (NB) had the highest hyperoside content, Afye (AF) had the highest naringenin content, also there was not much difference between the samples.

When the samples were evaluated in terms of total phenolic content, Balen (BA) and Arkopharma (AP) were determined to contain higher amounts of gallic acid compared to other samples.

It was tested that Shiffa Home (SH) at the highest TAS levels, Arkopharma (AP) at the highest TOS values, and Balen (BA) with the highest OSI values.

It was also determined that Shiffa Home (SH) and Arkopharma (AP) samples came immediately after Vitamin C at the antioxidant level with DPPH.

According to heavy metal study, no other toxic elements were found other than Cu and Li, for which WHO determined upper limits in five different samples tested. In addition, Cu content was below 150 ppm, and Li was below 10 ppm, all below WHO limits.

Keywords: Hypericum perforatum, LC-HR/MS, Phenolic Compounds, Antioxidant Activity, Heavy Metal Analysis

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Çok eski zamanlardan beri, insanlık çeşitli hastalıkların tedavisi için doğadaki bitkileri ilaç olarak kullanmıştır. Tıbbi bitkilerin 60.000 yıl öncesine kadar kullanıldığına dair fosil kayıtlar vardır. En eski yazılı kayıt ise 5.000 yıllık bir Sümer kil levhasına dayanmaktadır (Sumner 2000). Bu levha haşhaş, henbane ve mandrake gibi alkaloitler içeren toplam 250'den fazla bitkiyi içermektedir (Kelly 2009).

Son 100 yıl içinde, her ne kadar kimyasal olarak sentezlenmiş ilaçların geliştirilmesi ve seri üretimi devrim yaratmışsa da günümüzde mevcut ilaçların yaklaşık % 25'inin doğrudan veya dolaylı olarak bitkilerden elde edildiği bilinmektedir (Kunle 2012).

Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) 2005 raporuna göre gelişmekte olan ülkelerdeki nüfusun büyük bölümü hala birinci basamak tedavileri için geleneksel uygulamalara ve bitkisel ilaçlara güvenmektedir. Afrika'da nüfusun %90'ı, Hindistan'da ise %70'i sağlık ihtiyaçlarını karşılamak için geleneksel tıbba bağımlıdır. Çin'de geleneksel tıp, tüm sağlık hizmetlerinin yaklaşık %40'ını oluşturmaktadır ve Çin'deki genel hastanelerin %90'ından fazlasının geleneksel tıp birimleri vardır (WHO 2005). Bununla birlikte, geleneksel tıbbın kullanımı gelişmekte olan ülkelerle sınırlı değildir. Son yirmi yılda etnobotanik araştırmaların yaygınlaşmasıyla, endüstrileşmiş ülkelerde de doğal tedaviye ilgi büyük ölçüde artmıştır (Wachtel-Galor ve Benzie. 2011).

Hypericum perforatum Hypericaceae familyasına ait bir tür olup Türkiye'de sarı kantaron, kan otu, binbirdelik otu, yara otu, mayasıl otu gibi isimlerle bilinmektedir (Baytop 1999).

İyi kurutulmuş *H.perforatum* çiçekleri ve üst yapraklarından elde edilen ekstreler, hafif ila orta derecedeki depresyonu tedavi etmek için kullanılmaktadır. *H.perforatum* ABD ve Avrupa'da en çok satılan bitkisel ürünlerinden biridir. Antidepresan tedavisinin yanı sıra, Han hanedanından beri (MÖ 206 - M.Ö. 220) Çin ve Avrupa geleneksel tıbbında diyare yara ve yanık tedavisine ek olarak zehirli hayvanların sokmaları ve ısırıklarını tedavi etmek için de kullanılmıştır (Zhang ve ark. 2020).

Hypericum bitkilerinin kimyasal yapısında bulunan başlıca bileşikler naftodiantronlar (hiperisin, psödohiperisin), floroglusinol türevleri (hiperforin, adhiperforin, hiperfirin, adhiperfirin), fenolik asitler (klorojenik asit, neoklorojenik asit, kafeik asit, şikimik asit) flavonoitler (hiperozit, kersetin, izokersetin, rutin), biflavonlar (amentoflavon,

biapigenin), olarak belirlenmiştir (Heinrich ve ark. 2017; Velingkar ve ark. 2017; Tatsis ve ark. 2007)

Hypericum cinsi bitkileri 2002 yilindan beri tıbbi bitki olarak ilan edilmiş ve monograflarda Hyperici herba adı altında geniş yer verilmiştir. *Hypericum* preparatları 2013 yılında dünya genelinde 1 milyar doları aşan bir satış gerçekleştirilmiştir (Agapouda ve ark. 2019).

Dünyada bitkisel ilaçların kullanımındaki sürekli artış ve küresel pazarın hızlı bir şekilde genişlemesi ile birlikte bitkisel maddelerin ve bitmiş bitkisel ürünlerin güvenliği ve kalitesi, sağlık yetkilileri, ilaç endüstrileri ve halk için önemli bir endişe kaynağı haline gelmiştir. Bitmiş bitkisel ürünler için özellikle karışım halindeki bitkisel ürünlerin kalite kontrolüne yönelik gereksinimler ve yöntemler kimyasal ilaçlardan çok daha karmaşıktır. Bitmiş bitkisel ürünlerin kalitesi de kullanılan hammaddelerin kalitesinden etkilenir (WHO 2014; He ve ark. 2015).

Bitkisel ilaçların kalitesi, bitkinin yetiştiği toprak, iklim koşulları, yetiştirilirken kullanılan herbisit ve pestisitler, kimyasal içeriği, nereden, nasıl ve ne zaman toplandığı, toplandıktan sonra nasıl kurutulup ekstre edildiği ve ürünlerin üretilirken nasıl işlendiğine bağlıdır (Sahoo ve Manchikanti, 2013).

Beyan edilmemiş kimyasal veya sentetik maddelerin eklenmesi, ürünün miktarını arttırmak veya maliyetini azaltmak için başka bir bitki türüyle kasıtlı olarak değiştirilmesi, yabancı bir maddenin kasıtlı olarak eklenmesi (Booker ve ark. 2016), toksik ağır metallerin izin verilen sınırın üzerinde olması (Sahoo ve ark. 2010), bitkisel materyallerde herbisit veya pestisit kalıntılarının varlığı bitkisel ürünlerin güvenliği ve etkinliği hakkında ciddi sorular yaratmıştır (Brown 2017).

Ağır metal kontaminasyonları endüstriyel kontaminasyon ve tarımsal kontaminasyon olarak iki çeşite ayrılır. Endüstriyel kontaminasyon ürünlerin taşıma ve imalat aşamasında oluşan veya oluşabilen standart altı koşullarda işlenen ürünlerde daha çok bulunan kontaminasyondur. Tarımsal kontaminasyon ise kirli hava ve kontamine suyun kök tarafından emilmesi ile meydana gelen kontaminasyondur (Abdulla ve ark. 2019).

Ağır metallerin böbrekler yoluyla düşük atılım oranları vardır, bu da çok düşük konsantrasyonlarda bile insanlar üzerinde zararlı etkilere neden olabilir. Çinko, bakır, demir, manganez ve krom gibi metaller temel besinlerdir; insan vücudunun fizyolojik ve

biyolojik işlevleri için önemlidirler. Bununla birlikte, alımlarında izin verilen belirli sınırların üzerindeki bir artış toksik hale gelebilir.

Bitkisel ilaçlara yönelik güvenlik, etkililik ve kalite testleri ürünlerin karmaşık yapıları, kimlik doğrulama sorunları ve uygun standardizasyon eksikliği nedeniyle sınırlı kalmıştır (Verma 2013). DSÖ, her ülkenin veya bölgenin bitkisel ilaçların uygun kullanımını yönetmek için bir ulusal düzenleyici sistem benimsemesini önerir. Bir düzenleyici mekanizmanın benimsenmesi, bitkisel ilaçların kabul edilebilir kalite, güvenlik ve etkinliğe sahip olmasına her zaman yardımcı olmuştur (Sahoo ve ark. 2010).

Türkiye'de bitkisel ürünlerin ruhsatlandırılması takviye edici gıda adı altında Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı'nın sorumluluğundaydı. Böylece üretici veya ithalatçılar oldukça basit bir başvuru prosedürü ile ürettikleri veya ithal ettikleri bitkisel ürünlere ruhsat alıp piyasaya sürebiliyorlardı. Bu durum ürünlerin kalite kontrollerinin eksik kalabileceği konusunda tereddütler akla getiriyordu (Ersöz 2012). 2010 yılında "Geleneksel Bitkisel Tıbbi Ürünler Yönetmeliği" yayımlanmış ve bitkisel ürünlerin ruhsatlandırılması Sağlık Bakanlığı'na verildi (Başaran 2012).

H. perforatum preparatlarına Avrupa ve Türkiye'de her sene artan ilgi ülkemizde yetişen farklı *Hypericum* türleri üzerinde kimyasal ve farmakolojik araştırmaların çoğalmasına neden olmuştur. Piyasada satılan bitkisel ürünlerin kalite kontrol çalışmalarının sınırlı olduğunu göz önünde bulundurarak bu tez konusu seçilmiştir. Bu tez çalışmasında eczane ve aktarlardan randomize olarak seçilerek satın alınan markalara ait *H. perforatum* preparatlarının içeriğindeki total fenolik miktar tayını Folin-Ciocalteu yöntemi ile incelenecek, LC-HR/MS ile fenolik madde profilleri aydınlatılacak, preparatların total antioksidan statü (TAS), total oksidan statü (TOS) ve oksidatif stres indeksleri (OSI) belirlenecektir. Antioksidan aktivitesi DPPH yöntemi ile incelenecek, ağır metal ve mineral miktarları ICP-OES (İndüktif Eşleşmiş Plazmalı Atomik Emisyon Spektrometrisi) ile analiz edilecektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. *Hypericum perforatum* Hakkında Genel Bilgiler

2.1.1. Kullanım Tarihi

Hypericum perforatum hem din hem büyü ile ilişkilendirilmiş zengin bir tarihe sahiptir. *Hypericum*'un cins adı Yunanca üst anlamına gelen "hipercon" kelimesinden gelmektedir. Bitkinin tür adı olan "perforatum" ismi ise, yaprakları ışığa tutulduğunda deliklere benzeyen birçok yarı saydam glandlara sahip olmasından dolayı verilmiştir. Uzun yıllardan beri yaygın olarak bitkinin sarı çiçekleri cilt bozuklukları ve sarılık tedavisinde kullanılmıştır (Brown 1999; Dell'Aica ve ark. 2007).

Bitkinin İngilizce adı St.John's Wort, Hıristiyanlığın yükselişiyle ortaya çıkmıştır. Avrupalı köylüler 24 Haziran St.John Günü'nde (Baptist Saint John doğum günü) çiçek açan bitkiyi topluyor ve Baptist John tarafından kutsanmak ve şeytanlardan saklanmak için uyurken yatakların altına koyuyorlardı (Upton 1997).

Avrupada kuru bitkiyi İncil ve dua kitapları içinde koruyucu tılsımlar şeklinde, kiminle evleneceğini, ne zaman öleceğini öğrenmek gibi amaçlarla fallarda kullanmışlardır (Brown 1999).

Şifalı bitki *H. perforatum'*un terapötik özellikleri ve ondan elde edilen preparatlar 2.000 yıldan fazla bir süredir bilinmektedir (Foster ve Duke 2000). Bitki en çok yara iyileştirici, adet düzensiliği, bücek ısırıklarını tedavi edici olarak biliniyor (Greeson ve ark. 2001).

*H. perforatum'*un tıbbi kullanımı ilk olarak Roma döneminde MS 1. yüzyılda Yaşlı Pliny tarafından belirtilmiştir ama sadece ishal, idrar ve mesane sorunları için destek olarak bahsedilmiştir (Gaid ve ark. 2016). Aynı zamanda, Anavarza (Kozan, Adana) doğumlu ünlü hekim Dioscorides De Materia Medica adlı eserinde *H. perforatum* türünün yara iyileştirici, analjezik, diüretik, ve antimalaryal etkilerinden bahsetmiştir (Dell'Aica ve ark. 2007). Çağdaş hekimlerden Yunanistan ve Roma hekimleri Galen ve Plenius, bu bitkinin yara iyileştirici ve ağrı giderici etkisini vurgulamıştır. 1525 yılında ünlü Alman doktor Paracelsus, ilk defa *H.perforatum*'un zihinsel rahatsızlıkları ve diğer hastalıkları tedavi etmek amacıyla kullanılabileceğini belirtmiştir (Rosenthal 1995).

Ama *H.perforatum* zihinsel rahatsızlık ilacı olarak fazla ilgi görmemiş hatta modern psikiyatrinin 1900'lü yıllar civarında ilaç tedavisini ilk kez başlattığı zamanlarda bile bir

antidepresan olarak kullanılmamıştır. Onun yerine afyon ve barbitüratlar gibi ilaçlar antidepresan tedavisinde ün kazanmıştır (Müller 2005).

H. perforatum preparatının modern tarihi 1984 yılında, eski Alman Federal Sağlık Dairesi E Komisyonunun, *H.perforatum* hakkında psikolojik rahatsızlıklar, depresif ruh hali, sinirlilik ve kaygı için kullanılmasını öneren bir monograf yayınlamasıyla başladı (Foster ve Duke 2000).

Bugün, *H.perforatum* ürünlerinin birincil endikasyonu, modern tanı kriterlerine göre depresyondur. Avrupa Fitoterapi Bilimsel Kooperatifi'nin (ESCOP) son zamanlardaki monografı, bitkinin hidroalkolik ekstreleri ve tentürlerinin başlıca endikasyonlarını, hafif depresif bozukluklar veya hafif ile orta dereceli depresif ataklar olarak listelemektedir (ESCOP 2003).

H.perforatum'un şifalı bitki olarak kullanımı 18. ve 19. yüzyıllar arasında Avrupa'dan diğer kıtalara da yayılmıştır. Genellikle anksiyete, depresyon, ödem ve gastrit tedavisi için çay ve tentür halinde tüketilmiştir. Yıllar içinde hemoroid ve iltihap tedavisinde preparatları kullanılmıştır. Ayrıca *H.perforatum* özütleri, özellikle sinir hasarını içeren yaraları, kesikleri, küçük yanıkları ve sıyrıkları tedavi etmek için de kullanılmıştır (Foster ve Duke 2000).

2.1.2. Taksonomi ve Morfolojik Özellikleri

Hypericum L. (Hypericaceae) cinsi, Antarktika dışında, dünyadaki her kıtada doğal olarak yetişen veya kültürü yapılan 469'dan fazla türü içerir (Crockett ve Robson 2011). Bu türler otlar, çalılar ve nadiren ağaçlar olarak bulunur. Ilıman bölgelerde ve tropik bölgelerde yüksek dağlarda çeşitli habitatlarda bulunur, sadece aşırı kurak, aşırı sıcak veya tuz oranı yüksek bölgelerde nadiren bulunur. Cins üzerinde İngiliz botanikçi Norman Keith Bonner Robson 1977 ile 2012 yılları arasında sınıflandırma çalışmaları yapmış ve monograflar yayımlamıştır. Yapılan monografik çalışmalar, morfolojik özelliklerin ve biyocoğrafik dağılım aralıklarının spesifik kombinasyonları ile tanımlanan 36 taksonomik bölümün tanınması ve tanımlanması ile sonuçlanmıştır (Crockett ve Robson 2011).

H. perforatum, yüksekliği 40-80 cm arasında olan çalı bitkilerinden oluşur. Saplar ve dallar yoğun olarak 1 ila 3 cm uzunluğunda ve 0.3-1.0 cm genişliğinde dikdörtgen, pürüzsüz kenarlı yapraklarla kaplıdır. Yapraklar ışığa tutulduğunda belirgin olan yarı saydam lekeler görülür. Olgun bitkilerin üst kısımları tipik olarak 1.0-2.0 cm genişliğinde

birkaç düzine beş yapraklı sarı çiçek üretebilir. Yaprakların kenarları genelde siyah noktalar vardır. Çiçek ezildiğinde kırmızı bir renk meyda gelir. *H.perforatum* anavatanı Avrupa'dır, ancak Asya, Afrika, Avustralya ve Kuzey ve Güney Amerika'daki ılıman yerlere yayılmıştır. Zayıf topraklarda gelişir ve genellikle çayırlarda, tarlalarda, atık alanlarında, yol kenarlarında ve terk edilmiş madenlerde ve taş ocaklarında bulunur. Hayvanlara karşı fototoksisite konusundaki endişeler nedeniyle, *H. perforatum*, ABD'deki yedi batı eyaletinde zararlı bir ot olarak listelenmiştir. Bitkinin ortadan kaldırılmasını destekleyen programlar Kanada, Kaliforniya ve Avustralya'da devam etmektedir (Edzard 2003; Foster ve Duke 2000; WHO NIS monograf 2010).

2.1.3. Kimyasal Özellikleri

H. perforatum kimyasal bileşenleri içinde en yaygın olarak bulunan bileşikler naftodiantronlar (hiperisin, psödohiperisin), floroglusinol türevi bileşikler (hiperforin, adhiperforin), flavononitler (rutin, hiperozit, kersetin, izokersetin), biflavonlar, uçucu yağlar (α-pinen, sineol), kumarin, karbolik asitler, ksanton bileşikleri, proantosiyanidinler ve terpenoitler dahil olmak üzere *Hypericum* türlerinin içeriğinde 900'den fazla kimyasal bileşik tanımlanmıştır (Zhang ve ark. 2020).

Bununla birlikte, bitkiden elde edilen bileşiklerin yaklaşık % 20'si biyolojik aktiviteye sahiptir. *H.perforatum* da bulunan önemli biyolojik aktif bileşikler aşağıdaki tabloda verilmiştir (Linde 2009).

Tablo 2-1: *H.perforatum*'da bulunan önemli biyolojik aktif bileşikler ve aktiviteleri

Bileşen grubu	Kimyasal Bileşenler	Kullnılan Kısım	Aktivitesi	Referans
Naftodiantronlar	Hiperisin ve Psödohiperisin (%0,03-0,3)	Çiçekler, tomurcukları	Antiviral, Fotosensibilizan, Antikanser	(Tocci ve ark. 2013; Heinrich ve ark. 2017; Agostinis ve ark. 2002)
Floroglusinoller	Hiperforin (%2,0-4,5),	Çiçekler, Tomurcuklar	Antidepresan, Antibakteriyal,	(Seger ve ark. 2004; Linde 2009;

	Adhiperforin (%0,02-1,9)		Sitotoksik, Antianjioenik	Ersoy ve ark. 2020)
Flavonoitler	Hiperozit, Rutin, Kersetin, Izokersitrin, Kersitrin	Yapraklar Sap Tomurcukları	Antidepresan, Antiflojistik, Antifungal, MAO inhibe edici aktivite	(Tusevski ve ark. 2018; Barnes ve ark. 2001)
Biflavonlar	Biapigenin	Çiçekleri	Antidepresan, Antiflojistik	(Velingkar ve ark. 2017; Silva ve ark. 2005)
Tanenler ve Proantosiyanidinler	Prosiyanidin, Kateşin, Epikateşin türevleri	Toprak üstü kısımları, Çiçekler, Tomurcuklar	Antiflojistik, Antioksidan, Antiviral, Antifungal, Antibakteriyal	(Mir ve ark. 2019);
Uçucu yağlar	Terpenler	Çiçekler, yapraklar	Antimikrobiyal, Antidepresan, Antiflojistik,	(Tocci ve ark. 2013)
Fenolik asitler	Kafeik asit, klorojenik asit, Ferulik asit,	Çiçekler, yapraklar	Antialerjik, Antienflamatuar, Antiviral, Antimikrobiyal	(Tusevski ve ark. 2018;)

Ksantonlar	Kielkorin, Noratiriyol, Mangiferin, 1,3,6,7-tetrahidroksiksanton	Kökler, çiçekler	Antimalaryal, Antimikrobiyal, Antitümör, Anti-Alzheimer antiviral, diüretik, kardiyotonik, MAO inhibitörü	(Tocci ve ark. 2018; Göransson ve Verpoorte 2010; Oliver Tusevski ve ark. 2016; Karioti and Bilia 2010)

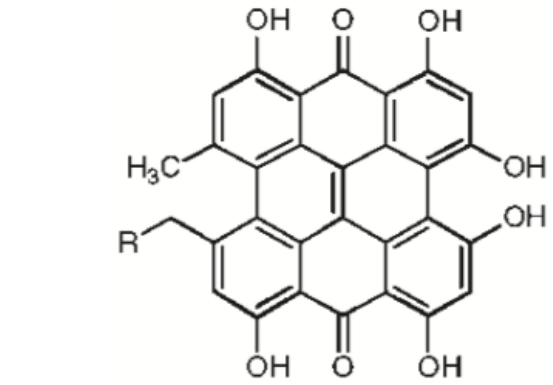
2.1.3.1. Naftodiantronlar

En çok araştırılan *H. perforatum*'dan izole edilen bileşikler sınıfı % 0.05- 0.3 arasında değişen konsantrasyonlarda standardize edilmiş naftodiantronlardır (ESCOP 2003). En yaygın naftodiantronlar arasında hiperisin, psödohiperisin, protohiperisin ve protopsödohiperisin bulunur (Mulinacci ve ark. 1999; Tocci ve ark. 2013). Bunlardan en çok bilinen hiperisin, *H. perforatum* yağlarının kırmızı renginden sorumlu olan antrakinon türevi bir bileşiktir. Hiperisin, kimyasal yapısı nedeniyle son derece fotoreaktiftir. Bu özelliğinden dolayı fotodinamik kanser tedavisinde kullanılmaktadır. Kimyasal olarak hiperisin, altı hidroksil grubuna sahip polisiklik bir kinondur. Bu antrakinon türevi sekiz halkalı ve bu halka yapısı tamamen aromatiktir. Hiperisin çiçeklerde, özellikle yaprakları boyunca bulunan siyah noktalarda bulunur (Barnes ve ark. 2001; Silva ve ark. 2005)

Hiperisin ve psödohiperisin biyosentezinin poliketid yolunu takip ettiği düşünülmektedir. Ayrıca bitkide biyosentezin öncü ürünü olarak izohiperisin, protohiperisin, protopsödohiperisin, siklopsödohiperisin bulunmaktadır. Protohiperisin ve protopsödohiperisinin fotoaktivasyonu, sırasıyla hiperisin ve psödohiperisin ile sonuçlanır (Velingkar ve ark. 2017; Barnes ve ark. 2001).

H. perforatum'daki naftodiantron içeriği %0,05 ile %0,30 arasında değişmekle birlikte, türün çeşidine göre, rakıma, fotoperiyodik koşullara, ışık koşullarına, yılın zamanına bağlı olarak içeriği değişebilir (Bruni ve Sacchetti 2009).

Avrupa Farmakopesi, Hyperici herba için minimum hiperisin miktarını, %0,08 olarak, kuru ekstrakt için %0,1-0,3 olarak belirtmiştir (Avrupa Farmakopesi 2017). US Farmakopede, bitki ve toz haline getirilmiş bitki için %0,6'dan az olmayan hiperforin içeriği ve %0,04'ten az olmayan kombine hiperisin ve psödohiperisin içeriği onaylanmıştır. Toz *H.perforatum* özü için, beyan edilen hiperisin ve hiperforin içeriğinden sadece kabul edilebilir sapmalar (% 90-110) reçete edilir olarak belirlenmiştir (ABD Farmakopesi, 2016). Çin Farmakopesi, bitkide daha düşük hiperisin ve hiperforin içeriği tanımla (%0,1) (Çin Farmakopesi 2015).



hypericin R = H

pseudohypericin R = OH

Şekil 2-1: Naftodiantron türevlerinin kimyasal formülleri

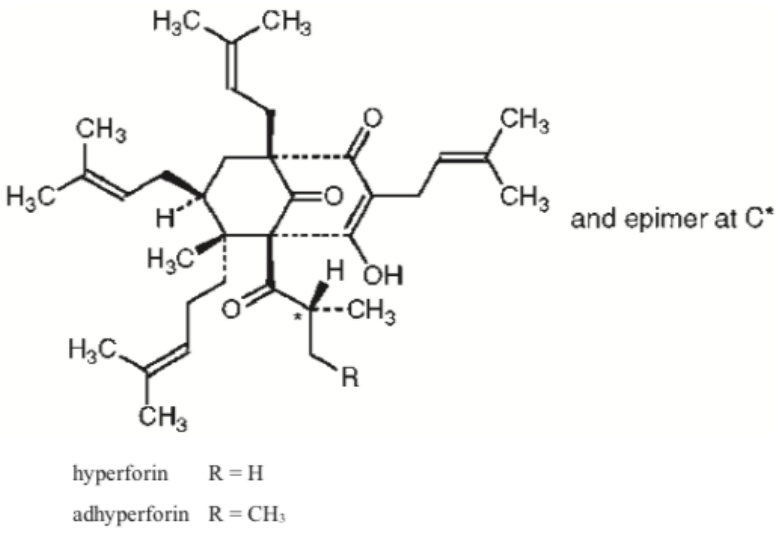
2.1.3.2. Floroglusinoller

Floroglusinol türevleri, *Hypericum* cinsinde yaygın olarak dağılmıştır. *H. perforatum*'da bulunan floroglusinol türüne ait iki ana bileşik, %2,0 - %4,5'inde hiperforin ve %0,2 - %1,9'inde adhiperforindir. Antidepresan, antimikrobiyal, sitotoksik, antianjiogenik etkileri olduğu kaydedilimiştir (Seger ve ark. 2004; Linde 2009; Ersoy ve ark. 2020).

Hiperforin hem ışık hem de oksijen varlığında stabil değildir, o yüzden bitki uygun koşullarda kurutulmadığında aslında %5 oranda bulunan hiperforin miktari azalabilir. Bitkinin hem ışıktan ve hem sıcaktan kaçınması lazımdır (Butterweck 2003; Linde ve ark. 2008).

Hiperforin ve onun stabil, suda çözünür türevi olan aristoforinin ayrıca antitümöral aktiviteye, yani antikarsinojenik, antiproliferatif, proapoptotik, antiinvaziv,

antimetastatik ve antianjiyogenik etkilere sahip olduğu bildirilmiştir (Oliveira ve ark. 2016).



Şekil 2-2: Floroglusinol türevlerinin kimyasal formülleri

2.1.3.3. Flavonoitler

Meyvelerde, çaylarda, sebzelerde ve şifalı bitkilerde bol miktarda bulunan flavonoitler, oldukça etkili serbest radikal süpürücüler olduklarından, BHA ve BHT gibi kanserojen olan ve karaciğer hasarına neden olduğundan şüphelenilen sentetik antioksidanlara göre büyük ilgi görmüş ve kapsamlı bir şekilde araştırılmıştır (Zou ve ark. 2004).

H.perforatum'da bulunan flavonoitler gövdede %7, çiçek ve yapraklarda %12 arasında değişmektedir (Wachtel-Galor ve Benzie. 2011). *H.perforatum* genelde ana bileşen olarak %1,6 rutin, %0,9 hiperozit, %0,3 izokersitrin, kersitrin, kersetin ve %2-4 flavonoit türevleri içermektedir (Tusevski ve ark. 2018; Tatsis ve ark. 2007).

2.1.3.4. Fenolik Asitler

H. perforatum özleri, çok sayıda farmakolojik aktiviteye sahip olan klorojenik asit, neoklorojenik asit ve kriptoklorojenik asit gibi hidroksisinnamik asit esterlerinin varlığı ile karakterize edilir (Jürgenliemk ve Nahrstedt 2002; Tusevski ve ark. 2016).

H.perforatum bitkisinin toplam fenolik profillerini araştırdığı bir çalışmada 22 çeişt fenolik asit tespit edilmiştir (Jürgenliemk ve Nahrstedt 2002).

Kwiecien ve arkadaşları Polonya'daki iki bitkisel şirket tarafından sağlanan bitkisel hammaddede kafeik, klorojenik, p-hidroksibenzoik, protokateşik ve vanilik asitlere ek olarak şiringik asidin de bulunduğunu ortaya koymuştur (Kwiecień ve ark. 2015).

Tusevski ve arkadaşlarının *Hypericum perforatum* kallus kültürleri ve doğada yetişen bitkilerdeki fenolik profillerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada *H.perforatum* bitki ekstresinde ilk kez rosmarinik asit bulunduğunu ortaya koymuştur (Tusevski ve ark. 2016).

H. perforatum bitkisinin kök ekstresinden kinik asit, klorojenik asit, 3-p-kumaroilkinik asit, ve 3-feruloilkinik asit izole edilmiştir (Tusevski ve ark. 2018).

2.1.3.5. Tanenler ve Proantosiyanidinler

H.perforatum %3-%16 arası değişen miktarda tanen içerir. Bitkide proantosiyanidinler kuru ağırlığın yaklaşık %12'si oranındadır. Proantosiyanidin karışımında ana bileşenler kateşin ve epikateşin türevleridir. (Melzer ve ark. 1991; Mir ve ark. 2019).

H. perforatum çiçek kısmında yaprak kısmından daha az tanen içermektedir. Yapraklarda tanen konsantrasyonu, ortam veya arttırılmış UV-B radyasyonu altında, azaltılmış UV-B radyasyon seviyesinde yetiştirilen bitkilere kıyasla daha yüksek bulunur (Germ ve ark. 2010).

Tanenlerin çeşitli önemli işlevleri vardır; birçok bitki türünde antioksidan aktiviteye önemli bir katkıda bulunurlar ve bitkilerin lezzetini ve sindirilebilirliğini etkileyerek otçullara karşı etkili koruma sağlarlar. Yeşil çay infüzyonlarındaki tanenler, protein-tanin agregasyonunda yer alır ve infüzyonun duyusal nitelikleri üzerinde bir etkiye sahiptir (Germ ve ark. 2010; Barnes ve ark. 2001).

2.1.3.6. Ksanton Bileşikleri

Ksanton bileşikleri *H. perforatum* bitkilerinin köklerinde bol miktarda bulunur (Tocci ve ark. 2018). Saptanan başlıca ksantonlar 1,7-dihidroksiksanton, paksanton, kadensin G, toksiloksanton B ve 5-O-metil-2-deprenilrheediaksanton B dir (Tocci ve ark. 2018; Tatsis ve ark. 2007).

Ksanton bileşiklerinin antibakteriyel, antimalaryal, antienflmatuvar , antioksidan, enzim inhibitör, antitümöral ve Anti-Alzheimer etkilerden sorumlu olduğu bilinmketedir (Tocci ve ark. 2018; Göransson ve Verpoorte 2010; Tusevski ve ark. 2016).

2.1.3.7. Uçucu Yağlar

Hyperici oleum, taze çiçekler çıkarıldığında veya maserasyon işlemi sırasında ısı uygulandığında kırmızı bir renge sahiptir, ancak naftodiantronlar (özellikle hiperisin ve psödohiperisin) yağa ekstrakte edilmez. İlgili bir emodin-türevlerinin, özellikle güneş ışığına maruz kalındığında hiperisinin bozunma ürününün bu renklenmeden sorumlu olduğu öne sürülmüştür. H. perforatum'un birincil biyoaktif bileşenlerinden biri olarak kabul edilen lipofilik floroglusinol türevi hiperforin ve adhiperforin ile birlikte yağa ekstrakte edilir (Mireldi ve ark. 2006; Isacchi ve ark. 2007).

Uçucu yağlar %0,05-0,9 arasında değişen konsantrasyonlarda bulunur. Bunlar çoğunlukla mono ve seskiterpenler, özellikle metil-2-oktan, n-nonan, a- ve β-pinen, a-terpineol, geranil ve eser miktarlarda misel, limonen ve karyofilen'den oluşur (Barnes ve ark. 2007; Avato 2005).

H. perforatum bitkilerindeki uçucu yağların içeriği, çiçeklenme öncesi veya meyve verme aşamasına kıyasla tam çiçeklenme aşamasında en yüksektir (sırasıyla %0,35'e karşı %0,12 ve %0,18). Araştırmalar, sıvı veya süper kritik CO_2 (verim %1.00, w/w) ile uçucu yağ ekstraksiyon verimliliğinin, buhar distilasyonundan (%0.06, w/w) daha yüksek olduğunu göstermiştir. Hiperforin ve türevleri, sıvı veya süper kritik CO_2 kullanılarak ekstrakte edilebilir, ancak buhar damıtma ile yapılamaz (Crockett 2010; Omidbaigi ve Azizi 2000).

Hypericum türleri geleneksel olarak depresyon, yaralar ve diğer cilt problemlerini tedavi etmek için kullanılırken, uçucu yağları nörit büyümesini teşvik edici, nöroprotektif, antimikrobiyal ve enzim inhibitör aktiviteleri için in vitro olarak kullanılmaktadır (Ji ve ark. 2021).

2.1.4. Farmakolojik Aktiviteleri

2.1.4.1. Antidepresan Aktivite

H. perforatum'un toprak üstü kısımlarını içeren preparatlar, hafif ile orta derecede depresyonun tedavisinde kullanılmaktadır. Bitkinin antidepresan etkinliği, ilacın sentetik antidepresanlara kıyasla avantajlarının olduğunu gösteren çalışmalar yapılmıştır (Avato 2005; Galeotti 2017).

H. perforatum'un antidepresan aktivitesinin kesin mekanizması, hangi bileşenlerin en alakalı olduğu konusunda hala belirsizdir. Erken in vitro araştırmalar, monoamin oksidaz (MAO) enziminin inhibisyonu yoluyla hiperisine bağlı bir antidepresan aktivite olduğunu iddia etmiştir (Linde 2009; Linde ve ark. 2005). Daha ileri çalışmalar, hiperforinin GABA ve L-glutamat alımını inhibe ederek antidepresan etki gösterdiğini tespit etmiştir (Greeson ve ark. 2001). Birkaç flavonoide de antidepresif aktivite rapor edilmiştir. Tüm bu sonuçlar ve depresyonun altında yatan mekanizmaların hala tam olarak anlaşılmadığı gerçeği göz önüne alındığında, *H. perforatum*'un antidepresan aktivitesinin tek bir bileşene ve/veya etki mekanizmasına bağlı değil de çok sayıda biyoaktif bileşikten kaynaklandığı daha olası görülmektedir (Nahrstedt ve Butterweck 2010; Oliveira ve ark. 2016; Forsdike and Pirotta 2019).

Barnes ve arkadaşları, *H.perforatum*'un mono preparatlarını inceleyen yedi klinik çalışma yapmış, genel olarak *H.perforatum* özütleri alan hastaların, depresyon skorlarının, sentetik antidepresan alanlara benzer sonuçlar verdiği ve plasebo alanlardan daha fazla bir azalma gösterdiği bulunmuştur (Barnes ve ark. 2001).

2.1.4.2. Yara İyileştirici Aktivite

H. perforatum yağı maseratı eski zamanlardan beri yara iyileştırici için yaygın olarak kullanılmaktadır ve bu kullanımlar antienflamatuar ve antimikrobiyal özelliklerinden kaynaklanabilir (Ji ve ark. 2021).

Bir klinik çalışma, *H. perforatum*'un yağlı ekstraktının, epitel rekonstrüksiyonunu güçlendirerek sezaryen sonrası cerrahi yaraların iyileşmesini hızlandırdığını göstermiştir (Lavagna ve ark., 2001).

Zeytinyağında geleneksel olarak hazırlanan *H. perforatum* ekstresinin in vivo yara iyileştirme aktivitesi, farelerde kesme ve kesme modelleri ile doğrulanmıştır (Süntar ve ark. 2010).

Geleneksel ve ticari olarak hazırlanmış *H. perforatum* zeytinyağı maseratlarının yirmi bir numunesinde, in vitro antimikrobiyal ve antiprotozoal aktivitelerinden sorumlu birleşikler araştırılmış ve iki markör bileşik, psödohiperisin ve hiperisin olarak rapor edilmiştir (Orhan ve ark. 2013).

HP yağının epizyotomili kadınlarda kızarıklık, ödem, ekimoz ve akıntıyı azalttığını göstermiştir. Yara bakımı için HP yağı kullanan kadınların, rutin yara bakımı veya salin

solüsyonu kullanan kadınlara kıyasla istatistiksel olarak daha az ağrı hissettiği rapor edilmiştir (Çobanoğlu ve Şendir 2020).

2.1.4.3. Antioksidan ve Nöroprotektif Aktivite

Bir çok araştırmalar, *H. perforatum* ekstraktlarının oksidatif stresi azalttığını ve nöroprotaktif, antienflamasyon ve gastrointestinale karşı rol oynadığını göstermektedir (Eroglu Ozkan ve ark. 2018; Orčić ve ark. 2011). Flavonoit açısından zengin *H. perforatum* ekstreleri, PC12 hücrelerinde (sıçan adrenal medullasının feokromositomadan türetilen bir hücre çizgisi) hidrojen peroksit kaynaklı apoptoza karşı etkilidir (Lu ve ark. 2004). Standart *H. perforatum* özleri, hidrojen peroksit aktivitesinin bir sonucu olarak DNA parçalanmasını ve hücrelerin büzülmesini önleyebilir. Oksidatif hasar, alerjiler, kanserler, kardiyak ve vasküler bozukluklar, genetik ve metabolik bozukluklar, bulaşıcı hastalıklar, nörodejeneratif hastalıklar ve oftalmolojik problemler gibi birçok hastalık ve fizyolojik bozukluktan sorumludur. Böylece *H. perforatum* , Parkinson ve Alzheimer hastalıkları gibi oksidatif stresle ilgili hastalıklar tedavisinde çok faydalı olmaktadır (Zou ve ark. 2004; Galeotti 2017).

2.1.4.4. Antimikrobiyal Aktivite

Antibakterial Aktivite

H. perforatum binlerce yıldır kesikleri, sıyrıkları ve diğer yaraları tedavi etmek için kullanılmıştır. Enflamasyonu azaltmadaki yararları iyi bilinmektedir ve bu yararları kısmen antibakteriyel etkisi ile ilişkili görünmektedir (Saddiqe ve ark. 2010; Bariş ve ark. 2011).

Çalışmalar, hiperforinin belirli mikroorganizma türlerinin büyümesini inhibe ettiğini böylece antibacterial etki gösteren ana birleşik olduğunu göstermiştir (Orhan ve ark. 2013). Test edilen tüm gram-pozitif bakterilerin büyümesini inhibe etmiş, ancak gram-negatif bakteriler üzerine hiçbir inhibitör etki göstermemiştir. Metisiline dirençli (MRSA) ve penisiline dirençli (PRSA) *Staphylococcus aureus* hiperforine karşı özellikle hassastır (Schempp ve ark. 1999).

Antifungal Aktivite

Gudzic ve arkadaşları bitkinin uçucu yağının *Aspergillus niger*'e karşı antifungal aktivite gösterdiğini ama *Candida albicans* üzerinde bir etki göstermediğini belirlemiştir (Gudzic ve ark.1997).

Mantar önleyici özelliklere gelince, kersitrin, hiperosit, avikularin, rutin, kersetin ve kaempferol flavonoidlerinin *Helminthosporium sativum*'a karşı antifungal aktivite gösterdiği rapor edilmiştir (Saddiqe ve ark. 2010).

Antiviral Aktivite

Son zamanlarda yapılan araştırmalar *H.perforatum* bitkisinin virüslerle mücadelede faydalı olduğunu ileri sürmektedir (Orhan ve ark. 2013). Farklı kimyasal bileşime sahip *H. perforatum* preparatları, çeşitli virüslere karşı test edilmiştir ve hem hiperisin hem de psödohiperisin, virüsidal ajanlar olarak özellikle etkili bulunmuştur. İki bileşiğin, Herpes simpleks virüsü tip I ve II, veziküler stomatit ve influenza virüsleri, sitomegalovirüs ve insan immün yetmezlik virüsü-1 gibi çok çeşitli virüslere ve retrovirüslere karşı aktif oldukları gösterilmiştir (Avato 2005).

Hiperisin bileşiği, özellikle ışıkla aktive edildiğinde zarflı virüslere karşı etkilidir, ancak zarfsız virüslere karşı etkili değildir (Wachtel-Galor ve Benzie 2011).

Maury ve arkadaşları tarlada yetiştirilen *H. perforatum*'daki 3-hidroksi laurik asidin anti-HIV aktivitesine sahip olduğunu bulmuştur (Maury 2009).

2.1.4.5. Antienflamatuar Aktivite

H. perforatum bir antienflamatuar ajan olarak umut vaad etmektedir. *H.perforatum* dozlarıyla beslenen sıçanlar, kolonik iltihaplanma ile ilişkili azalmış kan ve bağırsak enzim seviyeleri göstermiştir (Dost ve diğerleri 2009) ve daha düşük mide ülseri insidanslarına sahip oldukları ortaya konulmuştur (Çaycı ve Dayıoğlu 2009).

Sosa ve arkadaşları, *H. perforatum*'un lipofilik özütlerinin, etilasetat veya hidroalkolik özütlerinden daha fazla antienflamatuar aktiviteye sahip olduğunu bulmuşlardır (Orhan ve ark. 2013).

2.1.4.6. Sitotoksik Aktivite

Hiperisin ayrıca glioma, adenom, nöroblastom, karsinom, melanom, sarkom ve lösemi dahil olmak üzere çeşitli neoplastik dokulardan türetilen hücrelerin büyümesini inhibe eden bir antikanser ajan olarak araştırılmıştır (Fox ve ark. 1998). Hiperisinin aktivitesi fotodinamik özelliklerine atfedilir. Işık ve oksijen varlığında hiperisin, peroksit veya hidroksil radikallerini oluşturan süperoksit radikalleri veya tümör hücrelerini öldüren tekli oksijen molekülleri üreten güçlü bir doğal fotosensitizör görevi görür. Bu şekilde,

hiperisin fotodinamik tedavinin bir bileşeni olarak kullanılabilir (Agostinis ve ark. 2002).

2.2. Bitkisel İlaçların Üretim Prosedürleri

Tıbbi bitkiler tedavide kullanıldığında sahip oldukları farmakolojik etkinin yanı sıra, içeriğindeki pestisitler, ağır metaller, kimyasal toksinler ve karıştırıcılar gibi kontaminantlarla ilişkili olarak toksik olabilir. Genelde bu kirlenmeler bitkilerin yetiştirme, taşıma, depolamadan daha sonraki bütün işleme aşamalarına kadar devam ettiği için bitkilerin standardize edilmesi için bu bütün adımların takip edilmesi gerekmektedir (Dghaim ve ark. 2015).

Bitkisel ilaçların üretilmesi genel olarak aşağıdaki adımlardan oluşur.

1. İyi tarım
2. Bitkilerin doğru zamanda doğru şekilde toplanması
3. Toplama sonrası drog olarak işlenmesi
4. Drogların bitkisel preparat olarak işlenmesi
5. Preparatların bitkisel dozaj formu olarak işlenmesi

2.2.1. İyi Tarım

Aynı türden elde edilen tıbbi bitki materyalleri, toprak, iklim, ekolojik etki, sulama, gübre kullanımı, bitkilerin bakımı, pestisit ve herbisit kullanımı ve diğer faktörlerin etkisi nedeniyle kalite açısından önemli farklılıklar gösterebilir (WHO 2003).

Toprak, tıbbi bitkinin büyümesini ve kalitesini sağlamak için uygun miktarda besin, organik madde ve diğer elementler içermelidir. Toprak tipi, drenaj, nem tutma, doğurganlık ve pH dahil olmak üzere optimum toprak koşulları, seçilen tıbbi bitki türü veya tıbbi bitkinin hedeflenen kısmına göre belirlenir (WHO 2003).

İklim koşulları, örneğin gün uzunluğu, yağış (su temini) ve tarla sıcaklığı, tıbbi bitkilerin fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerini önemli ölçüde etkiler. Güneş ışığı süresi, ortalama yağış, gündüz ve gece sıcaklık farkları dahil ortalama sıcaklık, bitkilerin fizyolojik ve biyokimyasal aktivitelerini de etkiler (WHO 2003; Garvey ve ark. 2001).

Sulama amacıyla kullanılan su yerel, bölgesel veya ulusal kalite standartlarına uygun olmalıdır. Üreticilerin minimum düzeyde, sadece onaylı pestisitler ve herbisitler kullanması da önemlidir. Tomurcuğu kıvırma, budama ve gölgeleme gibi önlemlerin zamanında uygulanması ile bitkinin büyümesi ve gelişiminin kontrol edilmesi, üretilen tıbbi bitki materyalinin kalitesini ve miktarını arttırmak için kullanılabilir (WHO 2003).

2.2.2. Toplama

Tıbbi bitkiler, tıbbi bitki materyallerinin ve bitmiş bitkisel ürünlerin mümkün olan en iyi kalitede üretilmesini sağlamak için en uygun mevsim veya zaman aralığında hasat edilmelidir. Hasat zamanı, kullanılacak bitki kısmına bağlıdır. Hasatın uygun zamanlaması ile ilgili ayrıntılı bilgiler genellikle ulusal farmakopelerde, yayınlanmış standartlarda, resmi monograflarda ve ana referans kitaplarında bulunur. Bununla birlikte, biyolojik olarak aktif bileşenlerin konsantrasyonunun, bitkinin büyüme ve gelişme aşamasına göre değiştiği iyi bilinmektedir. Bu aynı zamanda istenmeyen toksik bitki bileşenleri için de geçerlidir. Hasat için en uygun zaman (kalite pik mevsimi / günün saati), hedeflenen tıbbi bitki parçalarının toplam vejetatif veriminden ziyade biyolojik olarak aktif bileşenlerin niteliğine ve miktarına göre belirlenmelidir. Hasat sırasında, hasat edilen tıbbi bitki materyalleri ile hiçbir yabancı maddenin, yabani ot veya toksik bitkinin karışmamasına dikkat edilmelidir. Toplama uygulamaları, doğadaki popülasyonların ve bunlarla ilişkili habitatların uzun vadede hayatta kalmasını sağlamalıdır (WHO 2018).

Tıbbi bitkiler, yol kenarları, drenaj hendekleri, maden atıkları, çöplükler ve toksik emisyonlar üretebilecek endüstriyel tesisler gibi yüksek seviyelerde böcek ilacı veya diğer olası kirleticilerin kullanıldığı veya bulunduğu alanlar ve yakınlarından toplanmamalıdır. Ek olarak, hayvan atıklarından dolayı mikrobiyal kontaminasyonu önlemek için otlaklardan aşağı akan nehir kıyıları da dahil olmak üzere aktif otlakların içinde ve çevresinde şifalı bitkilerin toplanmasından kaçınılmalıdır.

Toplama işleminden sonra, ham tıbbi bitki materyallerini, istenmeyen ve kirletici maddelerden arındırmak için, yıkama (fazla toprağın uzaklaştırılması için), tasnif etme ve kesme dahil uygun ön işlemlere tabi tutulabilir. Toplanan tıbbi bitki materyalleri böcekler, kemirgenler, kuşlar ve diğer zararlılardan ve çiftlik hayvanları ve evcil hayvanlardan korunmalıdır (WHO 2003).

2.2.3. Toplama Sonrası Drog Olarak İşlenmesi

Bitkiler hasat veya toplanmadan hemen sonra incelenmeli ve sınıflandırılmalıdır. Daha sonra birincil işleme tabi tutulurlar. Bitkisel işleme prosedürleri bir bitkiden diğerine değişebilir. Bu nedenle, bazı bitkiler kurutulmadan önce sadece ayırma, temizleme, kesme ve bölme gibi birincil işlemlere tabi tutulur. Diğerleri, kaliteyi artırmak amacıyla gelişmiş kesme (örneğin, kaynatılmış parçalarının işlenmesi), ufalama, yaşlandırma (aging), terletme (fermantasyon), pişirme / kavurma, kaynatma / buharlama, kızartma, tütsüleme, ışınlama gibi daha karmaşık adımlar gerektiren işlemlerden geçer (WHO 2018).

Bu işlemler, genel olarak küf ve diğer mikroorganizmalardan kaynaklanan hasarların önlemesi, bileşenlerin konsantre edilmesi, istenmeyen maddelerin uzaklaştırılması, terapötik özelliklerin modife edilmesi, ve toksisitenin azalmasını sağlayarak, dağıtımı, birleştirmeyi ve depolamayı kolaylaştırır (WHO 2018).

Örnek olarak, Ginseng (*Panax ginseng* C.A. Mey.) kökleri, üzerinde farklı birincil işleme prosedürleri uygulanarak beyaz ginseng ve kırmızı ginseng gibi birkaç işlenmiş ürün elde edilebilir. Beyaz ginseng güneşte veya ısı ile kurutulmuş bitkisel malzemedir, kırmızı ginseng ise bir dizi buharlama ve pişirme adımıyla hazırlanır. Bu iki tür ginseng ürünü, bazı geleneksel tıp uygulamalarında farklı terapötik kullanımlara sahiptir, kırmızı ginseng, ısı veya enerji verici etkilerinde beyaz ginseng'den daha güçlüdür (WHO 2018; Mancuso ve Santangelo 2017).

2.2.4. Drogların Bitkisel Preparatlar Olarak İşlenmesi

Bitkiler drog haline getirildikten sonra bazı durumlarda, bölümler halinde kesilir veya toz haline getirilir ve doğrudan son dozaj formu olarak kullanılır. Ancak genellikle droglar bitmiş bitkisel ürünleri üretmek için kullanılır ve kullanılmadan önce daha fazla işlemden geçirilir. Bileşenler genellikle saflaştırılmaz ve ekstreler ayrıca aktif olmayan ve / veya istenmeyen maddelerin uzaklaştırılmasıyla konsantre edilir (WHO 2005).

Böylece bitkisel preparatlar, drogların ekstraksiyon, damıtma, fraksiyonlama, konsantre etme, fermantasyon ve diğer fizikokimyasal veya biyolojik yöntemlere tabi tutulmasıyla elde edilir. Elde edilen preparatlar arasında ekstreler, difüzyonlar, tentürler, uçucu yağlar ve diğerleri bulunur (WHO 2005).

Ekstraksiyon, çözünür bitkisel bileşenlerin (terapötik aktiviteye sahip olanlar dahil), çözünmeyen bitki metabolitlerinden, hücresel matristen, seçici çözücü kullanılarak ayrıldığı bir işlemdir. Bu şekilde elde edilen bitkisel preparatlar, tıbbi ajanlar olarak kullanıma hazır olabilir veya ayrıca tabletler ve kapsüller gibi bitkisel dozaj formlarına dönüştürülebilir (WHO 2005; Azwanida 2015).

Ekstraksiyon için maserasyon, infüzyon, digestion, perkolasyon (sürekli Soxhlet ekstraksiyon veya dekoksiyon) dahil çeşitli teknikler kullanılır. Başka teknikler örneğin ısı geri akış ekstraksiyonu, karşı akım ekstraksiyonu, mikrodalga destekli ekstraksiyon, ultrasonik ekstraksiyon (sonikasyon) ve süperkritik sıvı ekstraksiyonu da uygulanabilir (WHO 2018).

Uygun çözücüler kullanılarak ekstraksiyon işleminden sonra dekoksiyon, infüzyon, tentür, maserat, oleoresin, kuru ekstrakt gibi bitkisel özler elde edilebilir (WHO 2018).

2.2.5. Preparatların Bitkisel Dozaj Formlar Olarak İşlenmesi

Çeşitli bitkisel dozaj formlarının hazırlanması ve üretimi için başlangıç malzemeleri, iyi tarım ve toplama uygulamaları (GACP) tarafından reçete edildiği gibi yetiştirilen veya toplanan kaliteli tıbbi bitkilerden oluşmalıdır, hasat sonrası işlemeye tabi tutulmalı, ardından daha önce tarif edildiği gibi iyi bitkisel işleme uygulamalarının (GHPP) altında bitkisel materyallere veya bitkisel preparatlara dönüştürmek için ilave işlemden geçirilmelidir ve uygun GMP koşullarında üretilmelidir (WHO 2007a). Elde edilen bitkisel dozaj formları aşağıdaki gibidir:

Fluidekstrakt

Bitkisel materyallerin süzülmesiyle üretilen alkollü bir sıvı özüttür.

Dekoksiyon

Kaynatma, bitkisel materyallerin suyla kaynatılmasıyla yapılan su bazlı bir bitkisel preparattır ve çeşitli geleneksel tıp bağlamlarında yaygın olarak kullanılır.

İnfüzyon

İnfüzyon, bitkisel malzemelerin kaynar suyla kısa bir süre demlenmesiyle hazırlanan seyreltik bir çözeltidir. Yemeklik yağ veya sirke ile hazırlanan infüzyonlar da mevcuttur.

Tentür

Genel bir kural olarak, bir "tentür", tipik olarak 1 kısım bitkisel malzeme ve 5-10 kısım çözücüden (örneğin etanol veya şarap) oluşan bir bitkisel materyalin alkollü veya hidroalkolik bir ekstraktıdır.

Şuruplar

Şuruplar, şekerler veya diğer tatlandırıcı maddeler içeren viskoz sıvılardır. Bal, sakaroz veya diğer tatlandırıcı ajanların bir çözeltisinde bitkisel özlerin veya kaynatmaların çözündürülmesi, karıştırılması, süspanse edilmesi veya emülsiyonlaştırılmasıyla hazırlanırlar.

Oral emülsiyonlar

Oral emülsiyonlar, homojen hale getirilen ve emülsifiye edici ajanlar ilave edilerek stabilize edilen su içinde yağ preparatları gibi en az iki karışmaz sıvıyı içeren iki fazlı bir sistemden oluşan preparatlardır. Örneğin, bitkilerden elde edilen bir yağ (örneğin hint yağı) su içinde dağıtılır ve akasya zamkı gibi bir emülsifiye edici ajan ile emülsifiye edilir.

Aromatik sular

Aromatik sular, uçucu yağlar veya diğer aromatik veya uçucu maddelerle doymuş su preparatlarıdır. Aromatik sular, kullanılan uçucu yağ veya uçucu maddelerin karakteristik bir kokusuna sahiptir.

Bitkisel çay poşetleri

Bitkisel çay poşetleri birçok geleneksel tıp sisteminde bir dozaj formu olarak kullanılır. Her çay poşeti, bir infüzyona dönüştürmek için yeterli olan öğütülmüş bitkisel malzemeler (tek bir bitki veya farklı bitkilerin bir karışımı) içerir.

Bitki tozları

Birçok geleneksel tıp sisteminde, bitkisel maddelerin öğütülmüş tozları doğrudan hastalar tarafından bir dozaj formu olarak alınır. Tozlar, nanopowder hariç çeşitli kaba veya ince partikül boyutlarına öğütülür.

Granül

Granüller, daha küçük partiküllerin topaklarından oluşan küresel partiküller halinde işlenen kurutulmuş sıvı (akışkan) özütlerdir. Tipik olarak granüller, doğrudan uygulanabilmelerine rağmen, uygulama için bir "bitkisel çay" yapmak üzere su ilavesiyle bir süspansiyon veya çözeltiye hazırlanır. Ayrıca tablet sıkıştırma veya kapsül doldurmada kullanılırlar.

Haplar

Haplar, kural olarak, ancak granüllerden daha büyük olan küçük, küresel katılar şeklinde kuru ekstrakt tozlarıdır (boyut, farklı geleneksel tıp bağlamlarında değişebilir). Bazı geleneksel tıp bağlamında, haplar ayrıca toz otlar / bitkisel malzemelerden yapılır.

Kapsüller

Kapsüller, bitkisel maddenin sert veya yumuşak, çözünür bir jelatin kabuğuna veya diğer uygun malzemelere konulduğu katı dozaj formlarıdır. Sert kabuklu kapsüller (iki parçalı kapsüller olarak da bilinir), standart boyutlarda iki parçadan (bir gövde ve bir kapak) oluşur; yumuşak kabuklu kapsüller (tek parça veya jel kapsüller olarak da bilinir), bir sıvıyı veya macunu çevreleyen bir dış kasa içerir. Kapsülün kesin bileşimi içeriğin doğasına göre değişir.

Tabletler

Tabletler, bitkisel özüt tozu, bitki tozu veya granülün eksipiyanlarla karıştırıldığı ve sıkıştırma yoluyla tanımlanmış bir şekil ve boyutta oluşturulduğu katı preparatlardır.

Pastil

Pastiller (sıkıştırılmış pastiller "troç" olarak adlandırılır), ağız boşluğunda veya boğazda, öksürük damlaları veya pastiller gibi lokal etki sağlamak için ağızda yavaşça çözünecek şekilde tasarlanmış, ancak sistemik etki de sağlayabilen katı dozaj formlarıdır. Pastiller genellikle tatlandırıcı ajanlar ve şekerli bazlar içerir.

Merhemler ve kremler

Merhemler ve kremler cilde uygulama için topikal preparatlardır. Genellikle uygun bir baz içinde çözülmüş veya dağılmış yarı katı emülsiyonlardır.

İnhalasyonlar

İnhalasyonlar, bronşiyal tüplere veya akciğerlere aerosol olarak uygulanmaya yönelik preparatlardır. Genellikle kuru toz inhalerleri veya inhalasyon sıvısı preparatlarıdır.

İnhalasyonların uygulanması için uygun cihazlar veya aparatlar gereklidir. Bitkisel çaylar veya uçucu yağlardan uçucu maddelerin buharla solunması geleneksel bir inhalasyon yöntemi olarak kullanılır.

Sıvalar ve yamalar

Sıvalar ve yamalar, cilde yapışacak ve desteğe yapışacak şekilde kumaş parçaları veya plastik elastomer levhalar üzerinde kuru veya yumuşak özler gibi bitkisel preparatlar içerir. Topikal olarak cilde uygulandığında, aktif maddeleri deriden, genellikle ağrı, sırt ağrısı veya boğaz kaslarının rahatlaması için alttaki dokulara iletir.

İlaçlı yağlar

İlaçlı yağlar, reçete edilen bitkisel malzeme, ekstrakt veya taze meyve suyunun karıştırıldığı, yumuşatıldığı veya yağda kaynatıldığı baz / araç olarak sabit yağlar kullanılarak formüle edilen preparatlardır. İlaçlı yağların hazırlanmasında farklı geleneksel yöntemler izlenir, ancak amaç, istenen bileşenlerin yağda çözünür özütleri ile zenginleştirilmiş bir yağ elde etmektir. İlaçlı yağlar topikal olarak, örneğin terapötik masajlarda ve bazı durumlarda oral uygulama için kullanılır (WHO 2011).

Farklı formdaki bitkisel ilaçların üretim yöntemleri ve bitmiş ürün çeşitleri aşağıdaki tabloda verilmiştir (Tablo 2-2).

Tablo 2-2: Farklı formdaki bitkisel ilaçların üretim yöntemleri ve ürün çeşitleri

	Üretim yöntemleri	**Ürün çeşitleri**
Drog	Ayırma, Temizleme, Kesme, Gelişmiş kemse Yaşlandırma, Terletme, Pişirme/kavurma, Kaynatma/ ağartma, Kaynatma/buharlama, Kızartma, Tütsüleme, Işınlama	Katı drog Toz drog
Preparat	Ekstraksiyon (maserasyon, infüzyon, dekoksiyon,	Fluidekstrakt, Dekoksiyon İnfüzyon, Tentür, Maserat

	perkolasyon), Damıtma, Fraksiyonlama, Konsantrasyon Fermentasyon	Oleoresin, Yumuşak ekstrakt Kuru ekstrakt
Dozaj form	GMP kuralları	Fluidekstrakt, Dekoksiyon, İnfüzyon, Tentür, Şuruplar, Oral Emülsiyonlar Aromatik sular, Bitkisel çay poşetler Bitkisel tozlar, Granül, Haplar Kapsüller, Tabletler, Pastiller Krem ve merhemler, İnhalasyonlar Sıvalar ve yamalar, İlaçlı yağlar

2.3. Bitkisel İlaçların Standardize Durumu

2.3.1. Bitkisel İlaçlarda Kalite Sorunları

Bitkisel bitkilerin toksisitesi pestisitler, mikroplar, ağır metaller, kimyasal toksinler ve karıştırıcılar gibi kontaminantlarla ilişkili olabilir. Genel olarak, coğrafya, jeokimyasal toprak özellikleri, toprak, su ve havadaki kirleticiler ve diğer büyüme, taşıma ve depolama koşulları, bitkisel bitkilerin özelliklerini ve kalitesini ve formülasyonlarını önemli ölçüde etkileyebilir (Dghaim ve ark. 2015).

Bitkilerin yanlış tanımlanması en yaygın sıkıntılardan biridir. Örneğin çok farklı kimyasal içerik gösteren Amerikan ginsengi ve Asya ginsengi morfolojik olarak benzerdir. Morfoloji yoluyla ve geleneksel otantikasyon yöntemlerine dayanan ginsenglerin yanlış tanımlanması ile alakalı çok vakalar rapor edilmiştir (Sahoo ve ark. 2010).

Beyan edilmemiş kimyasal veya sentetik maddeler veya diğer aktif bileşenler, tıbbi bitkilerin hammadde ticaretinde yaygın olan karışımlardır. Bitkisel ilaçların bir veya daha fazla sentetik ilaçla karıştırılması dünyanın farklı yerlerinden bildirilmektedir (WHO 2007b).

İkame, ürünün ağırlığını veya gücünü arttırmak veya maliyetini azaltmak için başka bir bitki türüyle kasıtlı olarak değiştirmeyi veya yabancı bir maddenin kasıtlı olarak eklenmesini içerir. Sahte veya yanlış bitkilerin kullanımı, bitkisel ürünlerin güvenliği ve etkinliği hakkında ciddi sorular yaratmıştır (He ve ark. 2015).

Booker ve arkadaşları 47 farklı *H.perforatum* ticari bitmiş ürünü (toz haline getirilmiş tozlar ve hülasalar) HPTLC ve 1H NMR spektroskopisi kullanılarak analiz etmiş. Buna göre ürünlerden %36 oranında kimyasal olarak farklı *H. perforatum* çeşitleri veya kemotiplerin ile karıştırılmış ve %19 tartrazin, amaranth, parlak mavi, gün batımı gibi gıda boyaları ile karıştırılmış olduğunu tespit etmişlerdir (Booker ve ark. 2018).

Bitkisel ilaçların kullanımıyla ilgili bir diğer yaygın sorun da ulusal düzenleyici makamlar tarafından izin verilen sınırın üzerinde toksik ağır metallerin kasıtlı veya kasıtsız bulunmasıdır. Toksik kirletici maddeler hammaddelerin toplanmasından üretime kadar tüm aşamalarda rapor edilmektedir (Yang ve ark 2014).

Birçok ağır metal, su ve toprakta doğal olarak bulunmakla birlikte, farklı endüstriyel uygulamalar, sanayi atıkları ve hidrokarbon yanma ürünleri ile suya ve toprağa ulaşabilmektedir (Chinou ve ark. 2014). Ağır metaller arasında kurşun, cıva, kadmiyum, alüminyum, çinko, bakır, krom, nikel, siyanür, arsenik, kobalt, uranyum, magnezyum ve çinko sayılabilir. Bunlar toksik metallerdir ve çok düşük konsantrasyonlarda bile mutajenik etkilere sahiptir (Yang ve ark 2014). Metal toksisitesine bağlı olarak birçok hastalık ve organ bozukluğu bildirilmiştir ve birikme miktarına bağlı olarak kanser, organ yetmezlikleri, nörolojik hastalıklar gibi önemli sağlık sorunlarına yol açabilmektedirler (Maiga ve ark 2005).

2003 yılında ABD'den ağır metal içeriği üzerine bir araştırma Hindistan ve Pakistan'da üretilen ayurvedik ilaçlar, bitkisel ilaçların yaklaşık % 20'sinin ABD Farmakopesi tarafından öngörülen sınırdan daha yüksek oranda kurşun, arsenik ve cıva içerdiğini bildirmiştir (Mazzanti ve ark. 2008).

Başka bir araştırmada İtalya'da pazarlanan on Çin ham bitkisel ilacı yabancı madde, toplam kül, mikrobiyal ve ağır metal kontaminasyonu açısından analiz edilmiş, üç numunede kül seviyesinin izin verilen sınırdan daha yüksek olduğu bulunmuştur. Bir örnek için kurşun ve toplam yaşayabilir aerobik sayının Avrupa veya İtalyan Farmakopeleri tarafından belirlenen sınırlardan daha yüksek olduğu bulunmuştur. Bunlardan sadece *Rhizoma coptidis*'in izin verilen maksimum seviyeden üç kat daha

fazla kurşun içerdiği gösterilmiştir. İki örnekte parazit kontaminasyonu bulunmuştur (Mazzanti ve ark. 2008).

Bunun dışında bitkisel materyallerde pestisit kalıntılarının varlığı geleneksel bitkisel tıbbın uluslararasılaşma sürecini ve gelişimini ciddi şekilde etkilemektedir. Pestisit kalıntıları için 30 farklı Çin tıbbı bitkilerinden 280 numuneyle yapılan bir çalışma, numunelerin % 75,8'inin PCNB, aldrin, BHC veya DDT gibi en az bir organoklorin pestisit (OCP) içerdiğini göstermiştir. 300 çeşit Çin tıbbı bitkileri ile yapılan bir başka çalışma, tüm numunelerin hekzaklorosikloheksanlar (HCH) kalıntılarına sahip olduğunu ortaya koymuştur (Sahoo ve ark. 2010).

Bitkisel ürünler yan etkilerden tamamen arınmış değildir. İyi kontrollü randomize klinik çalışmalar, bitkisel ilaçların kullanımında istenmeyen yan etkilerin mümkün olduğunu göstermiştir. Mesela Efedra kullanımı ile ilgili kardiyovasküler problemler, *Datura metel* içeren astım ilacı ile ilişkili viseral aktivitenin azalmasına neden olan antikolinerjik etkiler bitkisel ilaç yan etkilerinin birkaç örneğidir. Olumsuz etkilerle ilgili artan raporlar nedeniyle, birçok ülkede düzenleyici / izleme ajansları bitkisel ilaçlar konusunda uyarılar vermiştir (Sahoo ve ark. 2010).

DSÖ veri tabanının on altı binden fazla şüpheli bitkisel vaka raporları vardır. En sık bildirilen advers reaksiyonlar hipertansiyon, hepatit, yüz ödemi, anjiyodema, konvülsiyonlar, trombositopeni, dermatit ve ölümdür (WHO 2007b).

2.3.2. Standardize Kriterler ve Kurallar

DSÖ 2005 raporuna göre ülkeler geleneksel, tamamlayıcı alternatif ve bitkisel ilaçların düzenlenmesinin geliştirilmesi ve uygulanmasında büyük zorluklarla karşılaşmaktadır. Bunlar essas olarak şunlardır (WHO 2005; Starr ve Ranjani 2015; Heinrich 2015).

1. Tek bir tıbbi bitkinin ülkedeki gıdalara ve ilaçlara uygulanan düzenlemelere bağlı olarak, farklı ülkelerde bir gıda veya fonksiyonel bir gıda, bir diyet takviyesi veya bir bitkisel ilaç olarak tanımlanması.

2. Bitkilerin fazla ve karışık doğal bileşen içermesinden dolayı bitkisel ilaçların güvenliğinin ve etkinliğinin araştırılması ve değerlendirilmesinin zor olması.

3. Kaynak materyallerin kalitesi de buna bağlı olarak içsel faktörler (genetik) ve dışsal faktörler (çevresel koşullar, yetiştirme ve hasat, tarla toplama ve hasat sonrası / toplama

taşıma ve depolama) ile belirlenir ve bunlar üzerinde kalite kontrolleri yapmanın zor olması.

4. Yanlış bitki türlerinin yanlışlıkla kullanılması, bitkisel ürünlerin diğer, kayıt dışı ilaçlarla karıştırılması, toksik veya tehlikeli maddelerle kontaminasyon, aşırı doz, bitkisel ilaçların sağlık hizmeti sağlayıcıları veya tüketiciler tarafından kötüye kullanılması ve bitkisel ilaçların diğer ilaçlarlar etki etmesi gibi sorunlardan kaynaklanan olumsuz olaylar.

5. Ulusal ilaç otoriteleri içinde bitkisel ilaçlar hakkında genel bilgi eksikliği ve uygun değerlendirme yöntemlerinin eksikliği, geleneksel ilaçlar, alternatif ilaçlar ve bitkisel ilaçlar için ulusal politikalar, yasalar ve düzenlemelerin veya güncellenmelerin eksik olmasıdır.

Bitkilerin standardizasyonu ve kalite kontrolü, ham madde seçimi ve işlenmesi, bitmiş ürünün güvenliği, etkinliği ve stabilite değerlendirmesi gibi ham ilaç kaplama yönlerinin fizikokimyasal değerlendirmesinde yer alan süreçtir (WHO 2000). Normalde aşağıdaki gibi kalite endekslerine dikkat edilir (WHO 2000; Kunle 2012; Heinrich 2015; Fleischer ve ark. 2017).

1. Makro ve mikroskobik inceleme: Doğru çeşitliliğin tanımlanması ve zirai arananlar için.

2. Yabancı organik madde: Bu, ilacı saf formda almak için kaynak bitki dışındaki maddelerin uzaklaştırılmasını içerir.

3. Kül değerleri: Bunlar, ham ilacın kimliğini ve saflığını değerlendirmek için kriterlerdir; Toplam kül, sülfatlanmış kül, suda çözünür kül ve asitte çözünmeyen kül vb.

4. Nem içeriği: Gerçek nem oranının kontrol edilmesinde hataların azaltılmasına yardımcı olur. Ilaç malzemesinin ağırlığı. Düşük nem, ürünün bozulmasına karşı daha iyi stabilite sağlar.

5. Ekstraktif değerler: Bunlar, farklı çözücüler ortamında ham ilacın ekstrakte edilebilir kimyasal bileşenlerinin gösterge ağırlıklarıdır.

6. Ham selüloz: Bu odunsu malzeme bileşeninin belirlenmesine yardımcı olur ve saflığı değerlendirmek için bir kriterdir.

7. Kalitatif kimyasal değerlendirme: Bu, ham ilacın fitokimyasal bileşenlere göre tanımlanmasını ve karakterizasyonunu kapsar. Aktif bileşenleri tespit etmek ve izole etmek için farklı analitik teknik kullanır. Fitokimyasal tarama teknikleri, botanik tanımlama, uygun çözücülerle ekstraksiyon, saflaştırma ve farmasötik öneme sahip aktif bileşenlerin karakterizasyonunu içerir.

8. Kromatografik inceleme: Önemli kimyasal bileşenlerin markör olarak kullanılmasına dayanan ham ilacın tanımlanmasını içerir.

9. Kantitatif kimyasal değerlendirme: Bileşenlerin ana sınıflarının miktarını tahmin etmek.

10. Toksikolojik çalışmalar: Bu, potansiyel olarak zararlı mikroorganizmaların yokluğunu veya varlığını belirlemek için pestisit kalıntılarının, potansiyel olarak toksik elementlerin, LD_{50} ve Mikrobiyal test gibi hayvanlarda güvenlik çalışmalarının belirlenmesine yardımcı olur.

Ülkelerin bitkisel ilaçlar ve geleneksel ilaçlar için kendi yasaları ve düzenlemeleri vardır. DSÖ, her ülke veya bölgenin bitkisel ilaçların uygun kullanımını yönetmek için bir düzenleyici sistem benimsemesini önerir. Bir düzenleyici mekanizmanın benimsenmesi her zaman bitkisel ilaçların kabul edilebilir kalite, güvenlik ve etkinliğe sahip olmasına yardımcı olmuştur (Verma 2013; He ve ark. 2015).

Tıbbi bitkiler için İyi Tarım ve Toplama Uygulamalarına (GACP) ilişkin DSÖ kılavuzları "hasat sonrası işleme" kavramının ortaya konulduğu belirli hasat sonrası operasyonlarla birlikte tıbbi bitkilerin yetiştirilmesini ve toplanmasını kapsamaktadır. Mevcut kılavuzlarda belirtilen İyi Bitkisel İşleme Uygulamalarının (GHPP), GACP kılavuzlarını tamamlaması amaçlanmıştır ve bunlarla birlikte kullanılmalıdır. Öte yandan, DSÖ bitkisel ilaçlar için İyi Üretim Uygulamaları (GMP) kılavuzları, bitkisel ilaçların üretiminde kalite güvencesi ve kontrolü için genel teknik gereklilikler belirlemiştir (WHO 2005).

2.3.3. Farklı Ülkelerde Standardize Durum

Dünya genelinde bitkisel ilaçların kullanımı artmış olsa da, bitkisel ilaçların yan etkileri ve karıştırılması hakkındaki raporlar, geniş kullanımları ile ilgili endişeleri de artırmıştır

ve ticarileştirmelerini etkilemektedir. Ayrıca, bu ilaçların düzenleyici prosedürleri de farklı ülkelerde aynı değildir (Sahoo ve ark. 2010).

2003 yılında, uluslararası sağlık otoritelerinin küresel bir araştırması, yanıt veren çoğu üye ülkenin (92 ülke veya %65) bitkisel ilaçları kapsayan düzenlemelere sahip olduğunu, 85 ülkenin ise bitkisel ilaçlar için bir kayıt sistemine sahip olduğunu bildirmiştir (WHO 2005). Bunlardan bazıları aşağıda verilmiştir:

Amerika Birleşik Devletleri

Amerika Birleşik Devletleri'nde bitkisel ürünlerin düzenlenmesi, etkinlik, güvenlik ve pazarlama sonrası gözetim oluşturulması için farmasötik ilaçlara göre çok farklı bir çerçeve sağlayan 1994 tarihli Besin Takviyesi Sağlık ve Eğitim Yasası'nda belirtilen düzenlemeye tabidir (Bent ve Ko 2004).

Bitkisel ilaçlarda kullanılan birçok madde Gıda ve İlaç İdaresi'nin sorumluluğundadır (FDA 2015). FDA, bitkisel ilaçları Federal Gıda, İlaç ve Kozmetik Yasası veya Halk Sağlığı Hizmeti Yasası kapsamında düzenler (FDA 2015). Bu yasalara tabi olarak, ABD'de satılan ve kullanılan bitkisel ilaçlar “Gıda”, “Gıda Katkı Maddesi”, “Diyet Takviyesi” ve hatta “İlaç” olarak tanımlanabilir. İzin verilen veya yasaklanan maddeleri tanımlayabilecek diğer ülkelere göre, bu eylemler, maddeyi sağlayan tarafın tanımlamasına yer bırakmaktadır (Fleischer ve ark. 2017).

Almanya

Avrupa'daki bütün ülkeler modern ilaç kanunları dizini Avrupa Topluluğu Direktifine dayanmaktadır. Yönetmeliklerin bir parçası olarak, geleneksel Bitkisel Tıbbi Ürünler Direktifi olan 2004/24 / EC sayılı yeni Direktif, 2001/83 / EC Direktifinde bir değişikliktir. 2004/24 / EC sayılı Direktif, 2001/83 / EC sayılı Direktif kapsamında köklü tıbbi kullanım olarak sınıflandırma gereksinimlerini karşılamayan tüm geleneksel bitkisel ilaçlar için basitleştirilmiş bir kayıt prosedürü oluşturarak bitkisel ilaçlar için homojen bir Avrupa pazarı oluşturmuştur (Verma 2013; Zhang 1998).(X. Zhang 1998)(X. Zhang 1998).

Alman ilaç yasası, geleneksel bitkisel tıbbi ürünlerin tescili için hüküm içermektedir. Bitkisel ilaçlar reçeteli ilaçlar, reçetesiz ilaçlar ve bitkisel ilaçlar olarak kategorize edilir; tıbbi ve sağlıkla ilgili iddialarla satılmaktadır (WHO 2019).

Alman ulusal farmakopesi (Deutsches Arzneibuch), Avrupa farmakopesi ve AB'nin Homeopatik farmakopesi kullanılmaktadır ve yasal olarak belirlenmiştir. Alman Komisyonu E monograflarında yaklaşık 380 monografi, standart onaylarla birlikte bitkisel ilaçlara yönelik terapötik rehber kullanılmaktadır ve bunlar yasal olarak belirlenmiştir (WHO 2019).

Hindistan

Hindistan'da, geleneksel ve tamamlayıcı tıp ile ilgili ulusal politika, 2002'de yayınlanan Hindistan Tıp ve Homeopati Sistemleri Ulusal Politikası'dır. Geleneksel ve tamamlayıcı tıp ile ilgili ulusal mevzuat, 1970 Hint İlaçları Merkez Konseyi Yasası, 1973 Homeopati Merkez Konseyi Yasası ve1940 (2009'da değiştirildi) İlaç ve Kozmetik Yasası'nı içermektedir (WHO 2019).

Hindistan Hükümeti, 1995 yılında Hindistan Tıp ve Homeopati Sistemleri Departmanı olarak bilinen ayrı bir departman kurdu ve daha sonra geleneksel ve tamamlayıcı tıp için ulusal ofis olarak hizmet vermek üzere Ayurveda, Yoga, Unani, Siddha ve Homeopati Departmanı (AYUSH) olarak yeniden adlandırıldı. Sağlık Bakanlığı bünyesinde yönetilmektedir. Bağımsız AYUSH Bakanlığı 2014 yılında kuruldu (Verma 2013).

Bitkisel ilaçlar, İlaç ve Kozmetik Yasasında ayurveda, Siddha ve Unani ilaç hükümleri kapsamında düzenlenir. Reçeteli ilaçlar ve reçetesiz ilaçlar olarak kategorize edilirler ve tıbbi talepler, sağlık beyanları ve besin içeriği iddiaları ile satılırlar. (Prasad Giri et al. 2008).

Hindistan'ın Ayurveda farmakopesi, Hindistan'ın Unani farmakopesi ve Hindistan'ın Siddha farmakopesi kullanılmaktadır ve yasal olarak bağlayıcıdır. Tek otlar ve formülerler üzerine monografiler de vardır. Hint bitkisel farmakopesi de kullanılmaktadır ancak yasal olarak bağlayıcı değildir (Kumar ve ark. 2019).

Hindistan'da, resmi olarak tanınan altı geleneksel tıp sisteminin (Ayurveda, Yoga, Natüropati, Unani Tıp, Siddha ve Homeopati) kurumsallaşmış eğitim sistemleri vardır. Hindistan 2586 lisans öğrencisi yıllık kabul kapasitesine sahip 508 koleje sahiptir ve bu

kolejlerin 117'si 2493 lisansüstü öğrenciyi kabul etmektedir. Kolejler ancak merkezi hükümetin izni ve altyapılarının, müfredatlarının ve ders müfredatlarının önceden onayı ile kurulabilir (WHO 2014).

Çin

Çin Halk Cumhuriyeti'nde, bitkisel ilaçlarla ilgili ulusal düzenlemeler 1963 yılında geleneksel ilaçlarla aynı yasalarda çıkarılmıştır. Çin'deki bitkisel ürünler iki gruba ayrılır: fonksiyonel gıdalar ve ilaçlar. Her biri uygulamalarında, onay standartlarında, üretim yönetiminde, etiketlemede, teknik özelliklerde, reklamlarda ve genel denetimde farklılık gösterir (Chao ve Wu 2006).

Çin'de, genel hastanelerin yaklaşık 90%'ı bir geleneksel tedavi departmanı içerir ve hem ayakta hem de yatan hastalara geleneksel tedavi hizmetleri sağlar. Geleneksel tıp sağlık kurumları, sağlık kurumları ile ilgili geleneksel tıp kurumlarıyla aynı ulusal mevzuat tarafından yönetilmektedir. Geleneksel tıp uygulayıcılarının hem kamu hem de özel kliniklerde ve hastanelerde uygulama yapmalarına izin verilir. Devlet ve özel sigorta, Tibet, Moğol, Uygur ve Dai geleneksel tıbbını içeren Geleneksel tıplarını tamamen kapsamaktadır. Kamu veya hastalar sağlık hizmetleri için geleneksel tıp veya konvansiyonel tıbbı seçmekte özgürdür veya doktorları hangi tedavilerin sağlık sorunlarına daha uygun olabileceği konusunda tavsiyelerde bulunabilir (WHO 2014).

Çin ham ilaçlarının üretimini düzenlemek, kalitelerini sağlamak ve geleneksel Çin ilaçlarının standartlaştırılmasını ve modernizasyonunu kolaylaştırmak için 2002 yılında CFDA (Çin Devlet İlaç İdaresi) tarafından çıkarılan Çin Ham İlaçları için İyi Tarım Uygulamaları ile tamamlanmaktadır. Bu kural, bir üretim sahasının ekolojik ortamında, mikrop-plazma ve çoğaltma materyali, yetiştirme ve yetiştirme yönetimi, toplama ve birincil işleme, paketleme, nakliye ve depolama, kalite yönetimi, personel ve tesisler ve dokümantasyondaki gereksinimleri veya koşulları öngörür (He ve ark. 2015).

Çin'de, bitkisel ilaçlar için iki tür standart vardır: zorunlu ve önerilenler. Bitkisel ilaçlar zorunlu standart sistemi ulusal standartlardan ve bölgesel standarttan oluşur. Ulusal standartlar Devlet Farmakopesi Komisyonu tarafından doğrudan CFDA altında formüle edilmiştir ve Çin Halk Cumhuriyeti Farmakopesi'nde listelenmektedir. Şu anda Çin Farmakopesi 1600 TCM preparatı, 560 hazır dilim ve belirlenmiş standartları karşılayan

600 ham ilaç içermektedir. Şirketler, TCM tescilli ürünleri için GMP standartlarını karşılamaları koşuluyla, yalnızca bu TCM müstahzarlarını üretmeye ve ticarileştirmeye yetkilidir. Farmakopede veya diğer ulusal standart belgelerinde listelenmeyen hazırlanmış dilimler ve ham ilaçlar durumunda, bölgesel standart bölge hükümeti tarafından ek olarak düzenlenebilir (Hu ve Calduch 2017; Liu ve Salmon 2010).

2017'nin sonuna kadar, 60.000'den fazla geleneksel Çin ilacı ve etnik grup ilacı onaylanmış ve 4424 ilaç işletmesine (aktif farmasötik içerik ve bitmiş dozaj formları dahil) üretim GMP denetimi geçti lisansları verilmiştir. 2015 yılında, geleneksel Çin tıbbı ilaç endüstrisinin toplam çıktı değeri 786,6 milyar RMB idi ve bu ülkenin ilaç endüstrisi tarafından üretilen toplamın % 28,55'ini oluşturuyordu (WHO 2019).

Türkiye

Türkiye'de eskiden bitkisel ilaçlar Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığının sorumluluğuna aitti. 2010 yılından sonra Türkiye'de bitkisel ürünlerin ruhsatlandırılması Avrupa Birliği'nin 2001/83/EC sayılı ve 2004/24/EC sayılı bitkisel ürünler hakkındaki direktifine ve düzenlemesine paralel olarak hazırlanmış olan, 2010 yılı 6 Ekim tarihinde yayımlanan "Geleneksel Bitkisel Tıbbi Ürünler Yönetmeliği" ile Sağlık Bakanlığına verilmiştir (Başaran 2012).

Sağlık Bakanlığına ait Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp Bölümü 2012 yılında kurulmuştur. Bölümün kuruluşundan sonra bilimsel çalışma grupları oluşturulmuştur (Ersöz 2012).

Bitkisel ilaçlar, endikasyon ve farmasötik formülasyona dayanarak bitkisel ilaçlar veya geleneksel bitkisel tıbbi ürünler olarak kategorize edilir; her iki kategori de Sağlık Bakanlığı tarafından yetkilendirilmiştir. Geleneksel kullanım kaydı için, ürünün kendisi veya aktif bileşenleri, Türkiye veya Avrupa Birliği dahilinde en az 15 yıl olmak üzere 30 yıldır tıbbi kullanımda olmalı ve kendi kendine ilaç tedavisi için tasarlanmalıdır. Bu kriterleri karşılamayan ürünler ilaç olarak kabul edilir. Bitkisel ilaçlar tıbbi, sağlık ve besin içeriği iddiaları ile satılmaktadır. Gıda takviyeleri Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı tarafından yetkilendirilmiştir. Besin takviyeleri etiketinde herhangi bir iddia olmamalıdır (WHO 2019).

Avrupa farmakopesi, ulusal farmakopesi olarak kabul edilir, ancak yasal olarak bağlayıcı değildir. Avrupa farmakopesi gerekli monografiye sahip değilse, diğer ulusal farmakopeler kullanılabilir. Diğer monograflar kullanılır, ancak yasal olarak bağlayıcı değildir (WHO 2019).

Bitkisel ilaçlar için ve farmasötik ürünler için GMP rehberi ve beşeri tıbbi ürünlerin üretimine ilişkin yönetmelik kullanılmaktadır. Geleneksel ilaçlar için GMP düzenlemeleri bitkisel ilaçlar için de geçerlidir. Uygunluk mekanizmaları, üretim tesislerindeki yetkililer tarafından periyodik denetimleri ve üreticilerin uygunluk sağlama rolüne bir kişi atama gereksinimini içerir. Güvenlik gereklilikleri, geleneksel farmasötiklerle aynıdır (WHO 2019).

2014 yılında başlayan mevzuatın ardından, Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp uygulamaları yeni yasal çerçeve kapsamında Sağlık Bakanlığı tarafından düzenlenmektedir. Bu çerçeve 15 Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp uygulamasını kapsar: akupunktur, fitoterapi, apiterapi, homeopati, hipnoz, sülük tedavisi, kupa terapisi, osteopati, kayropraktik, refleksoloji, musikoterapi, proloterapi, kurtçuk tedavisi ve ozon tedavisi (GETAT 2020).

2.3.4. *H. perforatum* Preparatlarının Standardize Edilmesi

H.perforatum preparatları genellikle spektrofotometrik ölçüm ile belirlenebilen hiperisin türevleri ve hiperforin türevleri içeriğine göre standardize edilir. Avrupa Farmakopesi, Hyperici herba için minimum %0,08 hiperisin, kuru ekstrakt için %0,1-0,3 hiperisin içeriği ifade eder (Avrupa Farmakopesi 2017). ABD Farmakopesi Ulusal Formülü, bitki ve toz haline getirilmiş bitki için %0,6'dan az olmayan hiperforin içeriği ve 0.04%'ten az olmayan kombine hiperisin ve psödohiperisin içeriğini belirtir. Toz St.John’s Wort özü için, beyan edilen hiperisin ve hiperforin içeriğinden sadece kabul edilebilir sapmalar (%90-110) reçete edilir. Bu analitlerin konsantrasyonları için üst veya alt sınır yoktur (ABD Farmakopesi 2016). Çin Farmakopesi, bitkide daha düşük bir hiperosit içeriği sınırı (%0,1) tanımlar (Çin Farmakopesi 2015).

Hiperisin ve psödohiperisin, organik çözücülerle kırmızı çözeltilerle sonuçlanır ve maksimum 590 nm'de karakteristik UV spektrumlarına sahiptir. Spektrofotometrik niceliklerin önemli bir sınırlaması, diğer bitki metabolitlerinden, örneğin klorofillerden, doğrudan hiper-içerik türevleriyle örtüşen absorpsiyona sahip olabilecek olası

parazitlerin olmasıdır. Ayrıca, bu yöntem kullanılarak sadece toplam hiperisin türevi miktarı belirlenebilir, ayrı ayrı bileşiklerin nicelenmesi mümkün değildir. Bu nedenle, UV spektrofotometrisi, *H.perforatum* ürünlerinin ve bitki materyalinin kalite kontrolü için en uygun araç olarak kabul edilmez. Ayrıca *H.perforatum* 'u gıda boyalarıyla karıştırmak suretiyle UV spektrumunu taklit etmek ve analitik testi geçen standart altı malzeme üretmek mümkün olmuştur (Agapouda ve ark. 2019).

TLC ve HPTLC gibi diğer yöntemler, öncelikle *H. perforatum* ekstrelerinin kalitatif analizi için uygulanabilir. TLC tarafından yayınlanan çalışmalar çoğunlukla hiperisin ve psödohipertanin tanımlanması ve ayrılmasına odaklanmıştır. HPTLC, daha çok numunelerde bulunan bazı karışımları tanımlamak için kullanılıyor. Son zamanlarda HPLC ve LC-MS/MS'te kantitatif ve kalitatif analiz için öncelikle kullanılıyor. Bunun dışında DNA barkodlama ve NMR metabolomikleri, farmakopelerde de kullanım için geliştirilmekte olan en modern enstrümantal analiz araçlarına aittir (Seger ve ark. 2004).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Hypericum perforatum L. toprak üstü kısımları Haziran 2018 tarihinde Tekirdağ Marmara Ereğlisi'nden toplandı. Herbaryum örneği teşhis edildikten sonra İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu'nda İSTE 11680 olarak numara verilmiştir.

H. perforatum kapsülü olarak satılan beş farklı ticari firmaya ait numuneler (Arkopharma St. John's Wort, Nature's Bounty St. John's Wort, Afye St. John's Wort, Balen St. John's Wort, Shiffa Home St. John's Wort) İstanbul eczane ve aktarından satın alınmıştır (Şekil 3-1).

Bütün örnekler Nuerbiye Aobuliaikemu ve Doç. Dr. Esra EROĞLU ÖZKAN temin edilmiştir.

3.2. Genel Metotlar

3.2.1. Ekstrelerin Hazırlanması

H. perforatum numunesi dal, yaprak ve çiçekleri birlikte blenderde öğütülerek toz (ham numune) haline getirildi. Piyasada *H. perforatum* kapsülü olarak satılan beş farklı ticari firmaya ait numuneler ise iyice havanda dövülerek homojenize edildi. Homojenize edilen numunelerden 100 mg alınarak tüpe koyuldu. Üzerine 1:100 oranında 10 mL metanol eklendi. Vorteks ile karıştırıldı. Sonrasında numuneler karanlık bir ortamda 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda 20 kHz ultrasonik frekansta 10 kez sonikasyona (Bandelin, UW 2070) tabi tutuldu. Böylelikle bitki daha iyi homojen hale getirildi.

ARKOPHARMA ST.JOHN'S WORT (Hypericum perforatum)	NATURE'S BOUNTY ST.JOHN'S WORT (Hypericum perforatum)	AFYE ST.JOHN'S WORT (Hypericum perforatum)	BALEN ST.JOHN'S WORT (Hypericum perforatum)	SHİFFA HOME ST.JOHN'S WORT (Hypericum perforatum)	HYPERİCUM PERFORATUM
					

Şekil 3-1: Satın alınan beş farklı *Hypericum perforatum* preparatları ve *Hypericum perforatum* drog örneği

3.2.2. LC-HR/MS ile Fenolik Bileşiklerin Belirlenmesi

LC-HR/MS ile fenolik bileşiklerin belirlenmesi Bezmialem Vakıf Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nde gerçekleştirilmiştir.

Numunelerin analizi için metanol ekstresi 10ppm olarak hazırlandı. Sonra üzerine 100 mg/L'lik internal standart çözeltisinden nihai derişimi 3 ppm olacak şekilde eklendi. Numune 0.45 µ filtreden geçirilerek cihaza 2 µL enjekte edildi (Gülçin ve ark. 2010).

3.2.2.1. LC-HR/MS Cihazı ve Kromatografik Şartlar

Fenolik bileşiklerin aydınlatılmasında kullanılan LC- HR/MS sistemi iki adet üçlü kuadrupol kütle spektrometre cihazı, Thermo ORBİTRAP Q-EXACTIVE sistemi, 3µm Fortis C18 – 150 x 3.0 mm kolondan oluşan bir sistemdir. Kolon sıcaklığı 40 C°. Mobil faz A %1 Formik Asit - H_2O, mobil faz B %1 Formik Asit – MeOH ten oluşan gradient akış sistemi kullanılmıştır. Kullanılan aletlerin özellikleri Tablo 3-1'de sunulmuştur.

Tablo 3-1: Fenolik bileşiklerin LC-HR/MS analizinde kullanılan şartlar

Sistem	Thermo ORBİTRAP Q-EXACTIVE
Kolon	3µm Fortis C18 – 150 x 3.0 mm
Kolon Sıcaklığı	40 C°
Hareketli Faz A	%1 Formik Asit - H_2O
Hareketli Faz B	%1 Formik Asit - MeOH
Akış Hızı	1 ml/dak
Dedektör	HR/MS
Enjeksiyon Hacmi	2 µL
İyon Kaynağı	ESI

Solvent sistem akış hızı Tablo 3-2'de verilmiştir.

Tablo 3-2: Mobil sistem akışı

Zaman (dk)	Akış Hızı (ml/dk)	% A	% B
0.00	0.35	50	50
1.00	0.35	50	50
3.00	0.35	0	100
6.00	0.35	0	100
7.00	0.35	50	50

10.00	0.35	50	50

3.2.2.2. Standartların Hazırlanması

Tez çalışması kapsamında Gülçin ve arkadaşlarının geliştirdiği metoda göre, çalışılan Nature's Bounty (NB), Shiffa Home (SH), Arkopharma (AP), Balen (BA) ve Afye (AF) numunelerini LC-HR/MS ile metanol ekstrelerinin fenolik profilleri belirtildi (Gülçin ve ark. 2010).

LC-HR/MS metodunda kullanılan 40 adet standart maddeler şunlardır: fumarik asit, herniarin, kafeik asit, krisin, apigenin, emodin, narigenin, isosakuranetin, akasetin, luteolin, kamferol, skutellarein, dihidrokamferol, (-)-epikateşin, (+)-kateşin, hispidulin, ramnositrin, (+)-trans taksifolin, kersetin, (-)-epigallokateşin, 3-O-metil kersetin, nepetin, penduletin, eupatilin, rosmarinik asit, apigenin-7-glukozit CRS, astragalin, kurentin, kersetin, (-)-epigallokateşin gallat, mirisitrin, hiperosit, hederagenin, nepetin-7-glukozit, kullaik asit, naringin, luteolin-7-rutinosit, hesperidin, rutin ve verbaskosit.

Standart maddeler metanolda çözüldükten sonra azalan konsantrasyonlara seyreltildi ve 0,45µm'lik filtrelerden süzülerek viallere alındı. Standart çözeltiler enjekte edilmeden önce 3 örnek olarak hazırlandı.

3.2.2.3. Ölçü Eğrisi Hazırlanması

Hazırlanan standart çözeltilerin 360 nm okuma yapıldı, azalan konsantrasyonlarına karşılık gelen piklerin alanları hesaplatıldı. Her çözelti 3 kez okundu ve ortalaması hesaplatıldı, ortalama pik alanlarının değerleri göre kalibrasyon eğrisi oluşturuldu.

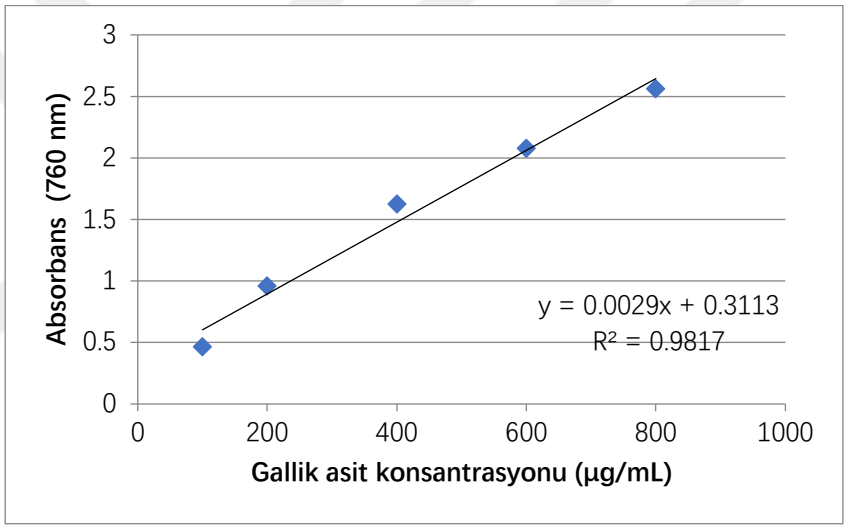
3.2.3. Antioksidan Aktivite

3.2.3.1. Total Fenolik Madde Miktarının Belirlenmesi

Total fenolik madde miktarları Folin-Ciocalteu reaktifi (FCR) metodu ile analiz edildi. "FCR reaktifi fosfotungustik ($H_3PW_{12}O_{40}$) ve fosfomolibdik ($H_3PMo_{12}O_{40}$) asitlerin karışımı olup fenol oksidasyonu sırasında bu oksitler mavi renkli bileşiklere indirgenir" (Ainsworth 2007). Polifenol miktarı belirlenirken standart olarak 100, 200, 400, 600, 800 ppm konsantrasyonlarında gallik asit kullanılmıştır. Total fenolik miktarı gallik asit

ile kıyaslama yapılarak bulunduğu için sonuçlar gallik asit eşdeğeri (equivalent) olarak belirlenmiştir. Bulunan fenolik içerik sonuçları ise µg gallik asit (µg GAE/g ekstrakt) olarak ifade edildi. Numunelerin sonikasyonu sonrasında elde edilen süpernatantlardan 100µL ekstrakt temiz bir tüpe alındı, üzerine 200µL 10%(v/v) FC reaktifi konuldu ve vortexlendi. Üzerine 800µL 700µM Na2CO3 eklendi. Oda sıcaklığında 1 saat inkübe edildikten sonra spektrofotometrik okuma (765 nm) okuma yapıldı. Analizlerde blank olarak numunelerin çözücüsü olan metanol kullanıldı.

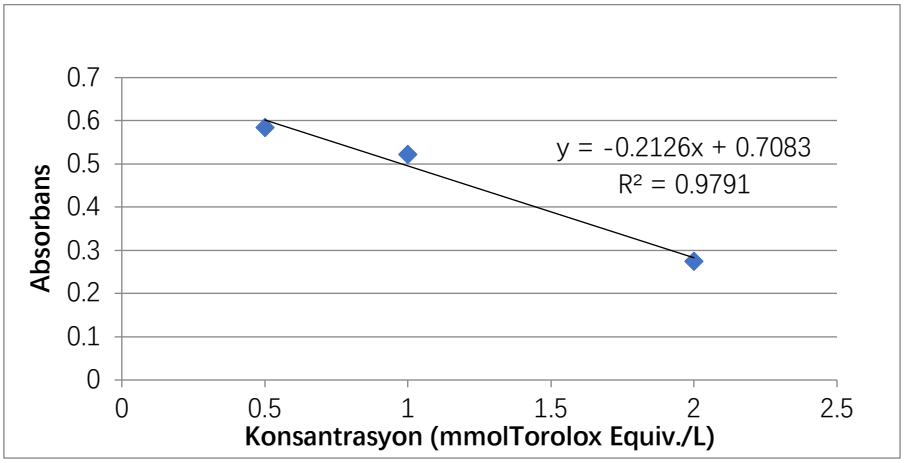
Analzilerde numunelerin total fenolik madde miktarlarının hesaplanmasında kullanılan kalibrasyon eğrisi aşağıda sunulmuştur (Şekil 3-2).



Şekil 3-2: Gallik asit kalibrasyon eğrisi grafiği

3.2.3.2. Total Antioksidan (TAS) Statü Düzeylerinin Belirlenmesi

Numunelerin TAS seviyeler ticari kit (Rell Assay, Gaziantep, Türkiye) kullanılarak ölçüldü. Analizlerde kör çözelti olarak metanol kullanıldı. Numunelerdeki TAS seviyeleri, vitamin E'nin suda çözünür şekli olan torolox eşdeğeri (Equivalent) şeklinde mmolTrolox Equivalent/L olarak ifade edildi. belirlendi.Kalibrasyon eğrisi üç farklı konsantrosyandaki (2, 1, 0.5 mmolTrolox/L) torolox çözeltisinin antioksidan değeri ile çizildi (Şekil 3-5). Numunelerin TAS seviyeleri 450 nm'de multiplaka okuyucu (Biotek ELx800) kullanılarak belirlendi.



Şekil 3-3: TAS kalibrasyon eğrisi grafiği

3.2.3.3. Total Oksidan Statü (TOS) Düzeylerinin Belirlenmesi

Bitkinin Total Oksidan Statü (TOS) o bitkinin antioksidan seviyesini kıyaslamakta yardımcı olmaktadır. Ayrıca bitkini TOS seviyesini yüksek olması antioksidan etkisinin düşük olacağını ifade etmektedir. TOS seviyeleri 20 µmol/L H_2O_2 eşdeğeri (equivalent) olarak belirlenmiştir. Bulunan TOS sonuçları ise hidrojenperoksit equivalent litre (µmol H_2O_2 Equiv./L) olarak ifade edilmiştir. Numunelerin üzerine uygun reaktifler katıldıktan sonra 540 nm okuma yapılmıştır. TOS seviyeleri analizinde kullanılan ticari kitte (Rell Assay, Gaziantep, Türkiye) belirtilen protokol aracılığı ile hesaplandı. Hesaplanan formül aşağıda verilmiştir.

TOS (µmol H_2O_2 Equiv./L) = [(ΔAbs Sample/ΔAbs standart) x 20]

3.2.3.4. Oksidatif Stres İndeksinin (OSİ) Belirlenmesi

OSI seviyeleri düşük olan numunelerin antioksidan etkisi olabileceği düşünülmektedir.

Analizlerden elde edilen TAS ve TOS verileri kullanılarak OSI değeri aşağıdaki formüle göre hesaplandı (Hazman ve ark. 2016).

OSI=(TOS/TAS)

3.2.3.5. DPPH ile Antioksidan Düzeylerinin Belirlenmesi

Biyolojik sistemlerde oksidatif stres, serbest radikallerin (SR) üretimi ile vücudun bu reaktif türleri endojen ve eksojen antioksidanların kullanımıyla yok etme yeteneği arasındaki dengesizlikle karakterize edilen karmaşık bir süreçtir. Metabolik süreçler sırasında, hızlandırıcıların diğerleri arasında hidrojen peroksit (H2O2) ve süperoksit radikal anyonu (O2 • -) gibi reaktif oksijen türleri (ROT) olduğu çok çeşitli reaksiyonlar meydana gelir. Fazla ROS varlığında biyolojik bir sistem, kardiyovasküler hastalıklardan kanserin ilerlemesine kadar farklı patolojiler sunabilir. Biyolojik sistemler, ROT'un inaktive olmasına izin veren enzimatik ve enzimatik olmayan doğaların hasarını kontrol etmek için antioksidan mekanizmalara sahiptir. Endojen antioksidanlar, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz gibi enzimler veya bilirubin ve albümin gibi enzimatik olmayan bileşiklerdir. Bir organizma yüksek konsantrasyonda ROS'a maruz kaldığında, endojen antioksidan sistem tehlikeye girer ve sonuç olarak organizmanın tam korumasını garanti edemez. Bu antioksidan eksikliğini telafi etmek için vücut, gıda, besin takviyeleri veya farmasötikler yoluyla sağlanan eksojen antioksidanları kullanabilir. En önemli eksojen antioksidanlar arasında fenolik bileşikler karotenoidler ve C vitaminleri ile selenyum ve çinko gibi bazı mineraller bulunur (Sehwag ve Das 2013).

DPPH (2,2-difenil-1- pikrilhidrazil) Yöntemi: DPPH radikali, koyu mor bir renk taşıyan birkaç kararlı organik nitrojen radikalinden biridir. Ticari olarak mevcuttur ve ABTS • + gibi testten önce üretilmesi gerekmez. Bu test, antioksidanların DPPH'ye karşı indirgeme kabiliyetinin ölçülmesine dayanır. Yetenek, elektron spin rezonansı (EPR) ile veya absorbansındaki azalma ölçülerek değerlendirilebilir. Yaygın olarak kullanılan renk giderme deneyi ilk olarak Brand-Williams ve arkadaşları tarafından rapor edildi. Antioksidan tahlilleri, test bileşikleri ile reaksiyondan sonra 515 nm'de DPPH renk kaybının ölçülmesine dayanır ve reaksiyon, bir spektrometre ile izlenir (Rock and Brunswick 2005). Kalan DPPH yüzdesi şu şekilde hesaplanır.

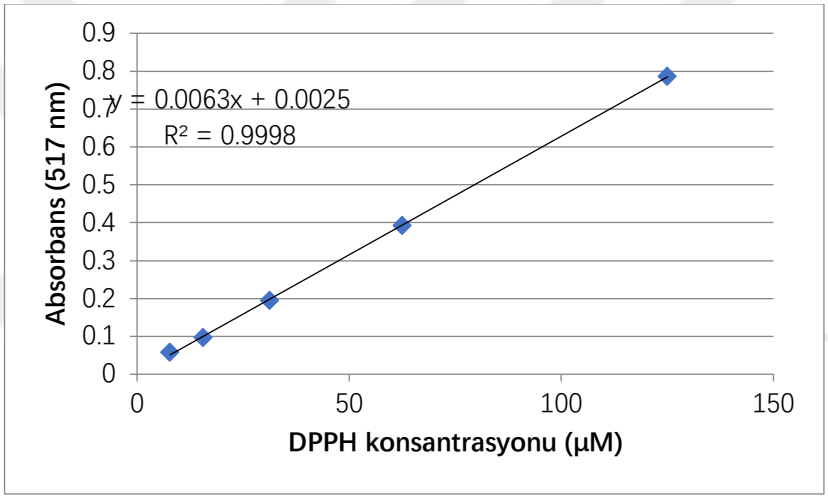
DPPH• yakalama etkisi (%) = $[(A_{kontrol} - A_{örnek}) / A_{kontrol}] \times 100$.

$A_{kontrol}$= Kontrolün absorbansı

$A_{örnek}$ = Örnek ya da standartların absorbansı

Çalışma Brand-Williams (1995) tarafından geliştirilen metoda göre yapılmıştır. Bu yönteme göre, öncelikle beş farklı konsantrasyonda 7.5, 15, 30,60,120 µM hazırlanan

DPPH radikalı çözeltilerinin 517 nm de absorbans değerleri bulunarak bir kalibrasyon eğrisi çizildi. Sonra beş farklı örnek ve standart madde BHT ve Vc den 0,1 ml alınmış ve üzerine 3,9 ml DPPH etanol solusyonu ilave edildikten sonra vortekste karıştırılıp, reaksiyon stabil duruma gelinceye dek oda sıcaklığında, karanlıkta 30 dakika bekletilmiştir. Reaksiyon sonucunda oluşan rengin absorbansı, spektrofotometrede 517 nm de ölçülmüştür (Brand-Williams 1995). Örneklerinin antioksidan değerleri DPPH kalibrasyon grafiğinden yararlanılarak hesaplanmış ve örneklerin antioksidan aktiviteleri, BHT ve Vc ye eşdeğer olarak hesaplanmıştır. Yapılan tüm deneyler 3 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiş ve sonuçların ortalaması alınmıştır. Analzilerde numunelerin DPPH miktarlarının hesaplanmasında kullanılan kalibrasyon eğrisi aşağıda sunulmuştur (Şekil 3-6).



Şekil 3-4: DPPH kalibrasyon eğrisi grafiği

Kalibrasyon eğrisi aracılığı ile deneyde kullanılan kontrol tüplerindeki numunelerin ve her bir numunenin ne kadar DPPH radikalini inhibe ettiği hesaplandı. Ayrıca her bir numuneye ait DPPH % inhibisyon oranları aşağıdaki formül kullanılarak belirlendi (Hazman, 2018).

DPPH inhibisyon oranı (%) = [(Absorbans$_{kontrol}$ – Absorbans$_{numune}$) / Absorbans$_{kontrol}$]x100.

3.2.4. Mineral Madde Düzeylerinin Belirlenmesi

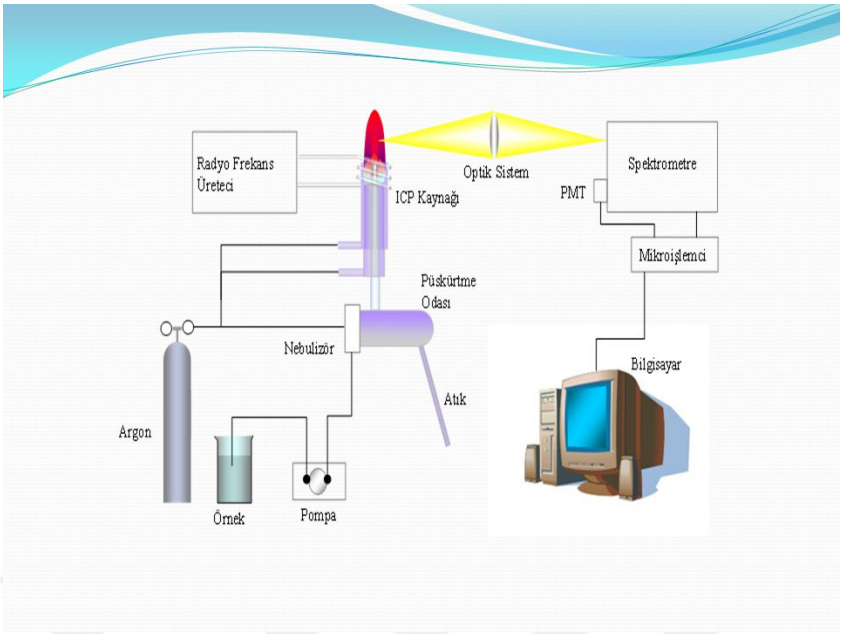
İnsan ve hayvan organizmasında önemli olan elementlerden C, H, O, N temel elementler olup insan vücudunun yaklaşık %96'sını oluştururlar. Kalan %4'ü ise Ca, P, K, S, Na, Cl, Mg den oluşan makro element adı verilen elementlerdir. İnsan

vücudunun %0.01'den daha azını oluşturan elementler iz elementleridir, bunlar Cr, Co, Cu, F, I, Fe, Zn, Mn ve diğerleridir. Birçok toksik iz element Cd, Pb, Hg gibi kirli havadan dolayı alınırken, diğer bir çok iz element beslenme yoluyla alınmaktadır.

Ağır metallerin böbrekler yoluyla düşük atılım oranları vardır, bu da çok düşük konsantrasyonlarda bile insanlar üzerinde zararlı etkilere neden olabilir. Çinko, bakır, demir, manganez ve krom gibi metaller temel besinlerdir; insan vücudunun fizyolojik ve biyolojik işlevleri için önemlidirler. Bununla birlikte, alımlarında izin verilen belirli sınırların üzerindeki bir artış toksik hale gelebilir. Genel olarak, bir dizi sağlık sorunu, immünolojik savunmalarda azalma, kardiyak disfonksiyon, fetal malformasyon, bozulmuş psikososyal ve nörolojik davranış, gastrointestinal kanser gibi sorunları meydana getirebilir (Dghaim ve ark. 2015; Stanojkovic ve ark. 2015).

ICP-OES (Endüktif olarak bağlı Plazma - Optik Emisyon Spektrometresi), (çoğunlukla suda çözünmüş) numunelerdeki elementlerin kompozisyonunun plazma ve bir spektrometre kullanılarak belirlenebildiği bir tekniktir. Teknik, 1974'ten beri ticari olarak mevcuttur ve güvenilirliği, çok elemanlı seçenekleri ve yüksek verimi sayesinde, daha spesifik analiz amaçlarında olduğu gibi her iki rutin araştırmada da yaygın olarak uygulanmaktadır.

Analiz edilecek çözelti, bir sprey odasına bir nebülizörden geçen peristaltik bir pompa ile gerçekleştirilir. Üretilen aerosol bir argon plazmasına yol açar. Plazma maddenin katı, sıvı ve gaz halinin yanında dördüncü halidir. ICP-OES'de plazma, dörtlü bir torçun sonunda içinden yüksek frekanslı alternatif akımın aktığı soğutulmuş bir endüksiyon bobini tarafından üretilir. Sonuç olarak, elektronları dairesel bir yörüngeye hızlandıran alternatif bir manyetik alan indüklenir. Argon atomu ve elektronlar arasındaki çarpışma nedeniyle iyonlaşma meydana gelir ve stabil bir plazmaya yol açar. Plazma aşırı derecede sıcaktır, 6000-7000 K. İndüksiyon bölgesinde 10000 K'ye bile ulaşabilir. Torçun desolvasyonunda numunenin atomizasyonu ve iyonizasyonları gerçekleşir. Elektronlar tarafından alınan termik enerji nedeniyle, daha yüksek bir "heyecanlı" duruma ulaşırlar. Elektronlar yer seviyesine düştüğünde enerji ışık (fotonlar) olarak serbest kalır. Her elemanın bir spektrometre ile ölçülen kendine özgü bir emisyon spektrumu vardır. Dalga boyu üzerindeki ışık yoğunluğu ölçülür ve kalibrasyon bir konsantrasyonda hesaplanır.



Şekil 3-5: ICP-OES çalışma prensibi (Ağca 2007)

Numuneler mikrodalga fırında yakma yöntemi kullanılarak çözüldü. Teflon godelere o.5g numune koyuldu, üzerine 3 mL HNO_3, 1 ml H_2O_2 ve 0.5 ml $HClO_4$ eklendi. Daha sonra teflon godeler 75 °C/5 min, 160 °C/15 min, 75°C/5 min olacak şekilde mikrodalga fırında ısıtıldı. Numuneler süzgeç kağıtla süzüldü ve 10 mL'ye tamamlanıldı. Böylece hazır hale geldi.

Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectroscopy (ICP-OES; Spectro Genesis, Germany) cihazı kullanılarak ağır mettal seviyeleri ölçüldü.

Standartlarda bulunan elementlere (Sb, Cd, As, Be, Cr, Ca, Co, Pb, Ni, Cu, Fe, Li, Mg, Sr, Mn, Mo, Se, Tl, Ti, V, Al, Zn, Ag, B, Ba, Bi, K, Ga, In) ait kalibrasyon eğrileri çizildi. Element düzeyleri mg/L (ppm) şeklinde kaydedildi (Cemek ve ark. 2011).

3.2.5. İstatistiksel Analiz

Elde edilen veriler ortalama±standart sapma şeklinde tanımlandı. Verilerin analizlerinde SPSS 18 program kullanıldı. Analizi yapılan bir parametrede bitki numuneleri arasındaki ortaya çıkan istatistiki farklılıklar üst simge ($^{a, b, c, \cdots}$) halinde verilerin sağ üst kısmında gösterildi.

4. BULGULAR

4.1. LC-HR/MS Bulguları

4.1.1. Fenolik Bileşiklerin Miktar Tayini Sonuçları

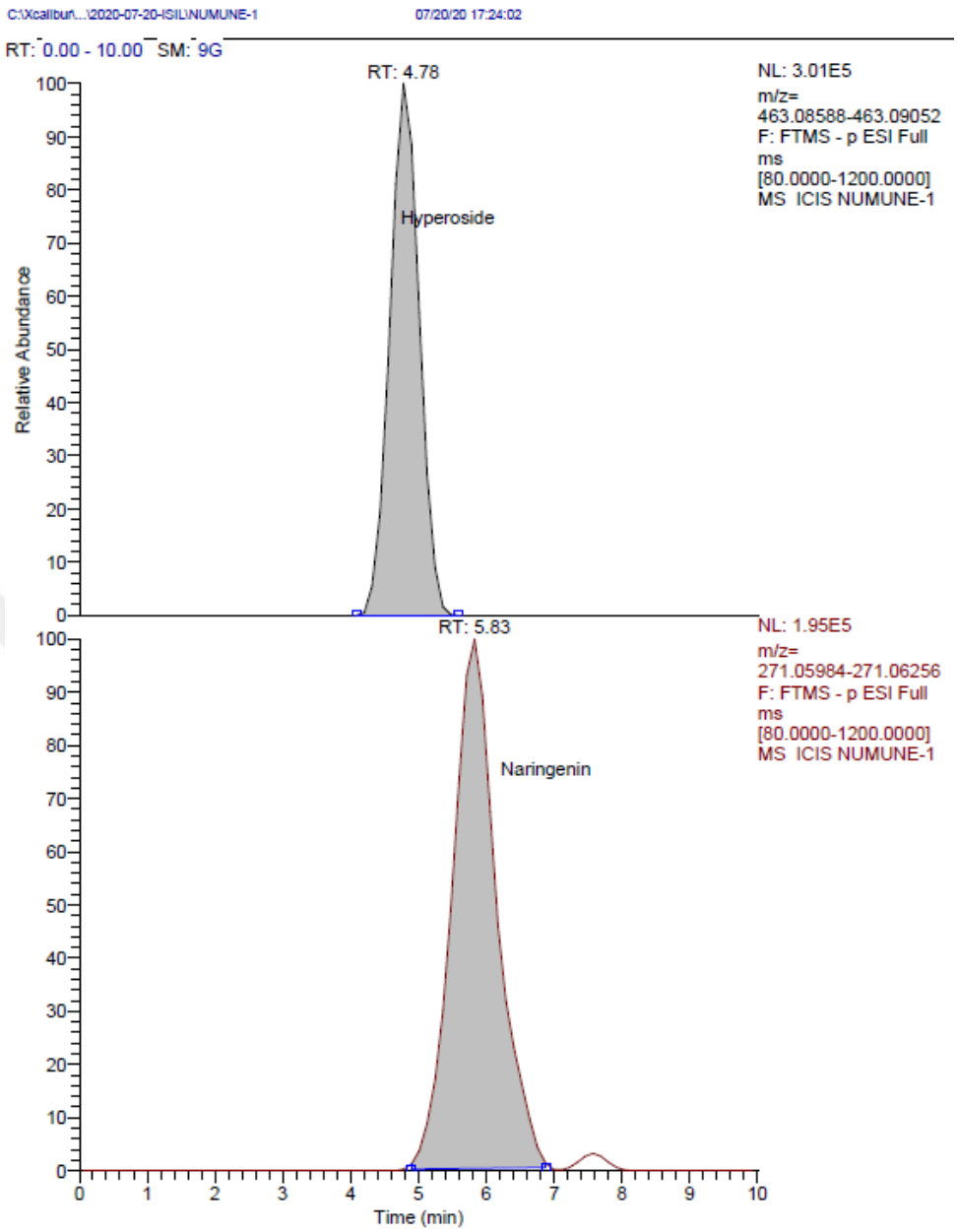
Tez çalışması kapsamında Gülçin ve arkadaşlarının geliştirdiği metoda göre, çalışılan Nature's Bounty (NB), Shiffa Home (SH), Arkopharma (AP), Balen (BA) ve Afye (AF) numunelerini LC-HR/MS ile metanol ekstrelerinin fenolik profilleri aydınlatıldı. Çalışmada 40 adet standart kullanıldı(Gülçin ve ark. 2010).

Sonuçlara göre numunelerde hiperosit ve naringenin içerdiği tespit edilmiştir.

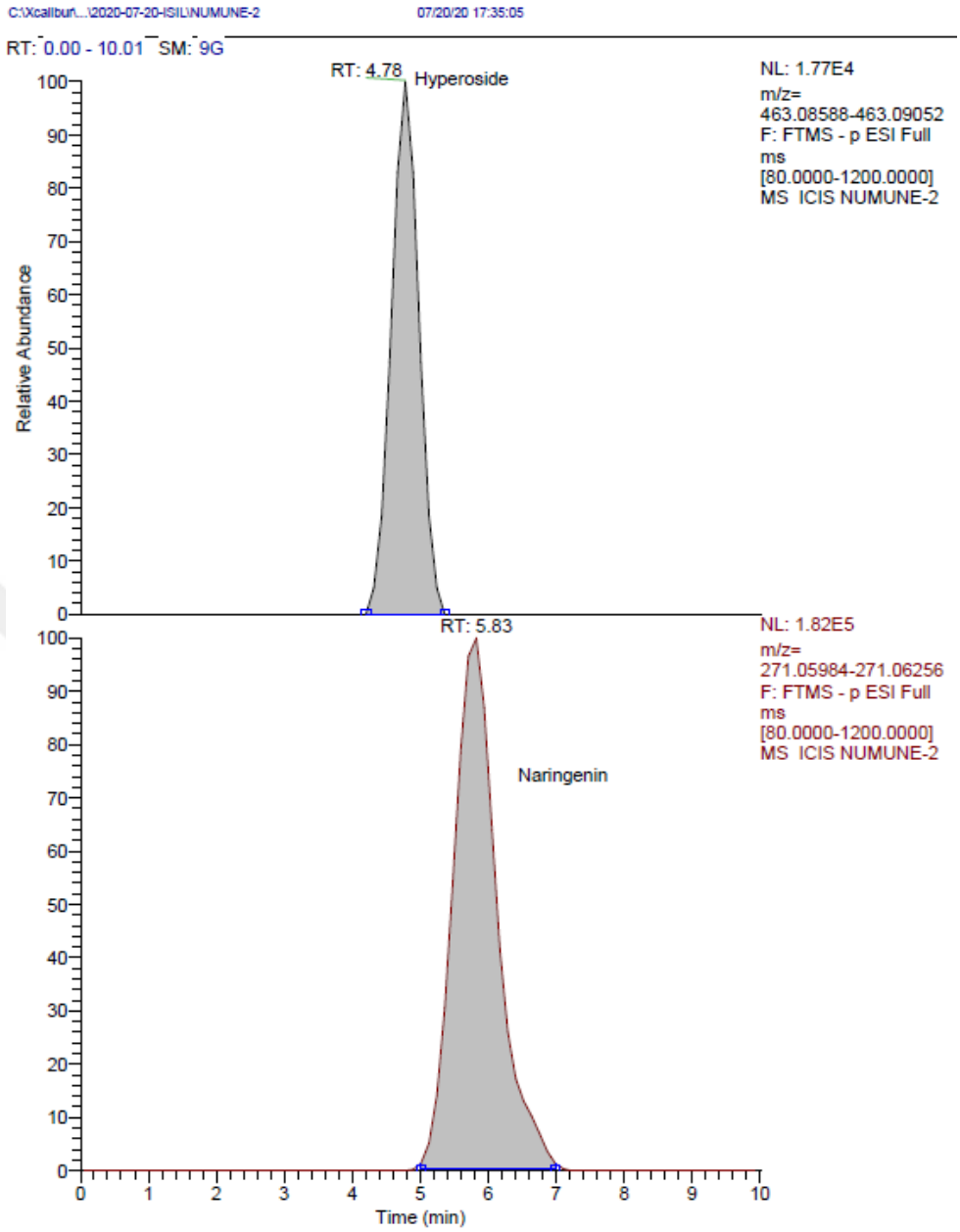
Sonuçlara göre NB'in hiperosit içeriği en yüksek olduğu görülmektedir. Naringenin içeriği en yüksek olan ise Afye, numuneler arasında çok fazla fark oluşmadığı tespit edilmiştir (Tablo 4-1). Numunelerin kromatogramlar aşağıda verilmiştir (Şekil 4-1, Şekil 4-2, Şekil 4-3, Şekil 4-4, Şekil 4-5).

Tablo 4-1: Numunelerde tayin edilen fenolik bileşik miktarları (mg/L)

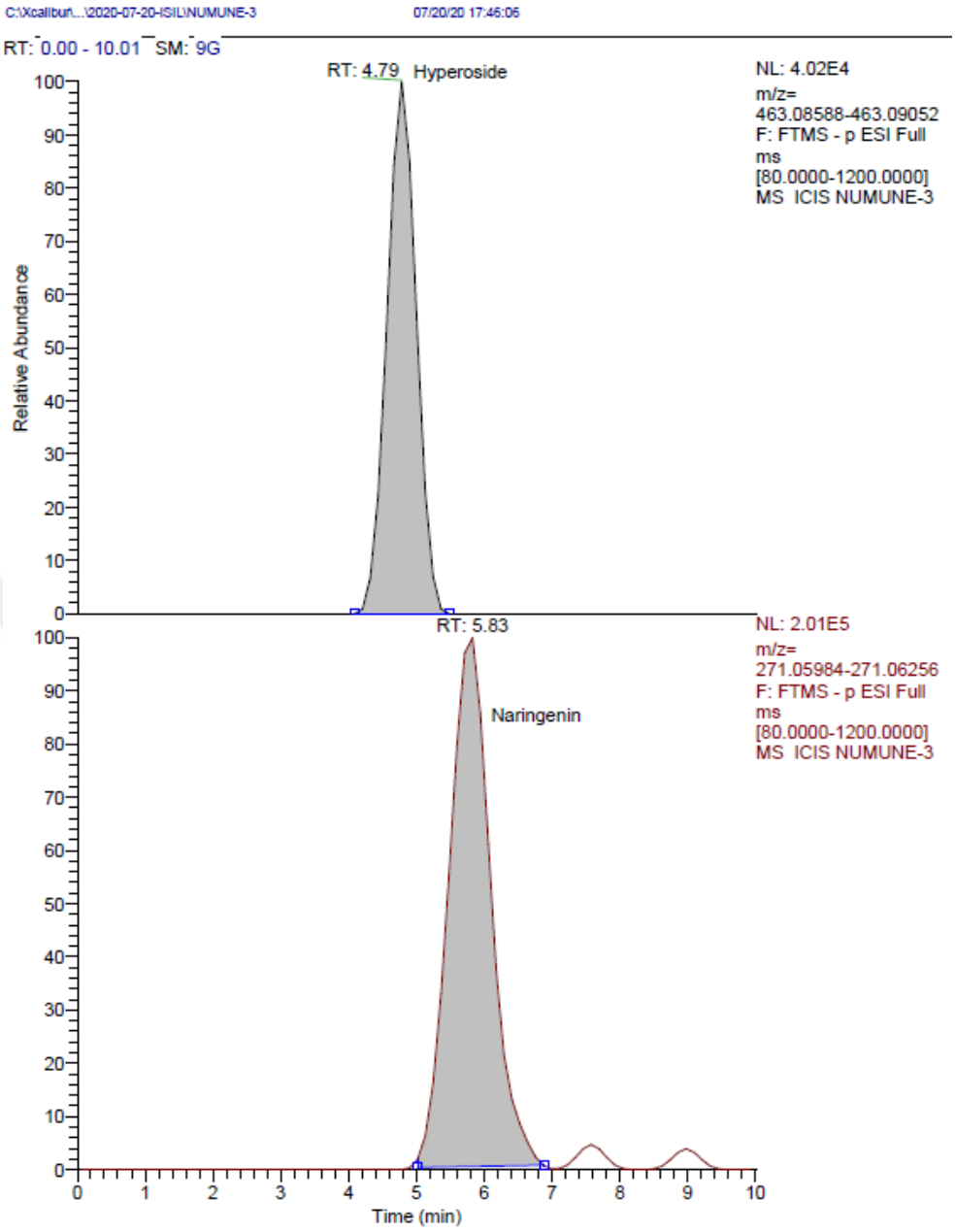
MADDE ADI	**Hiperosit**	**Naringenin**
m/z	463.0882	271.0612
İyonizasyon Modu	Negative	Negative
LineerAralık (ppm)	0.1-7	0.1-7
Nature's Bounty (NB) (ppm)	1.25	0.10
Shiffa Home (SH) (ppm)	0.18	0.13
Arkopharma (AP) (ppm)	0.26	0.10
Balen (BA) (ppm)	0.29	0.11
Afye (AF) (ppm)	<LOD	0.14
***LOD/LOQ* (mg/L)**	0.33/1.09	0.2/0.67
U % (k=2)	3.01	4.15



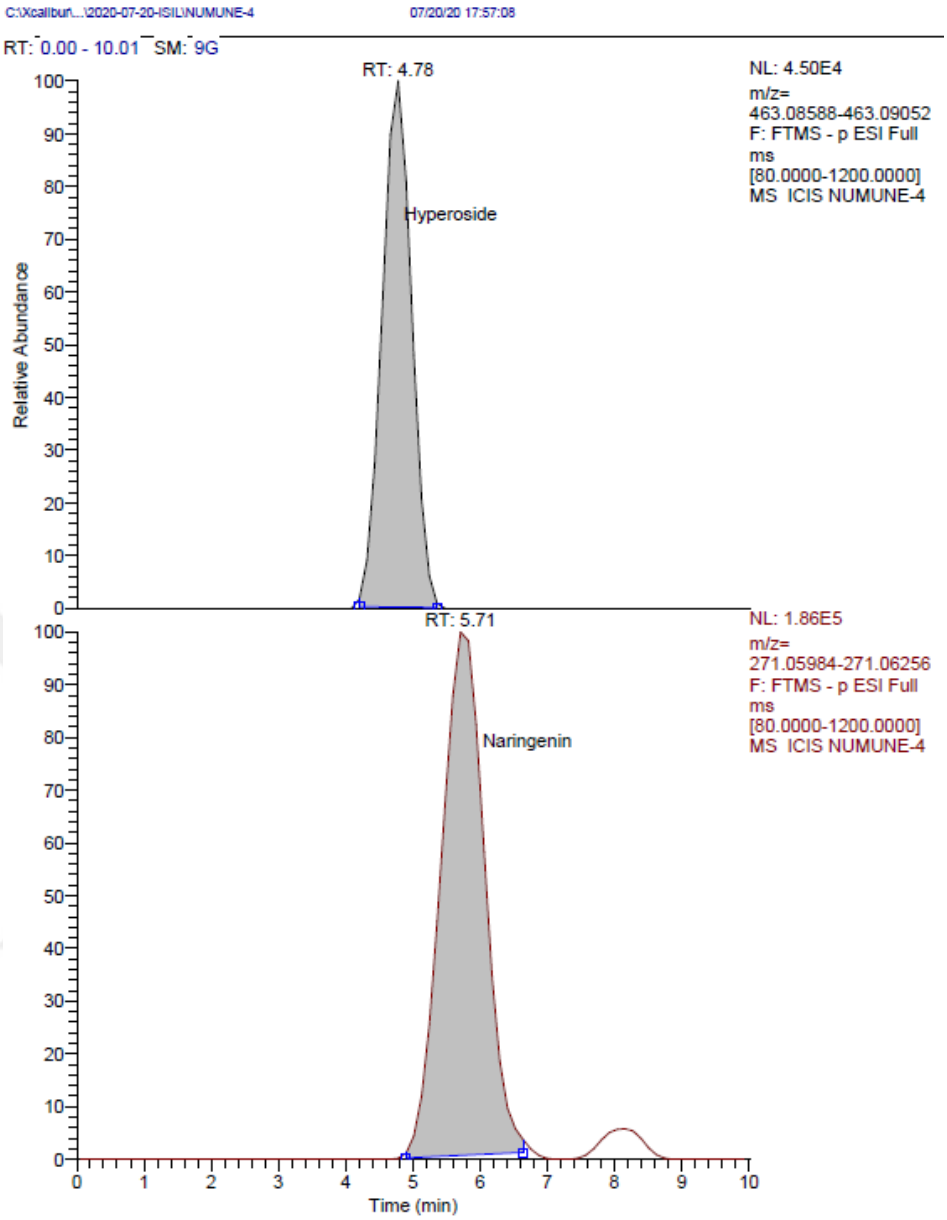
Şekil 4-1. Nature's Bounty (NB) LC-HRMS kromatogramı



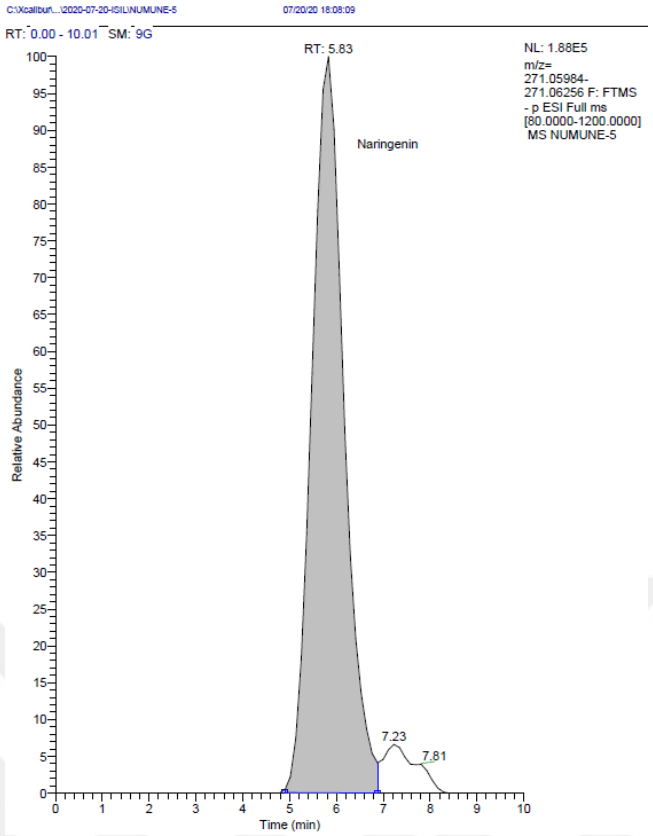
Şekil 4-2: Shiffa Home (SH) LC-HRMS kromatogramı



Şekil 4-3: Arkopharma (AP) LC-HRMS kromatogramı



Şekil 4-4: Balen (BA) LC-HRMS kromatogramı



Şekil 4-5: Afye (AF) LC-HRMS kromatogramı

4.2. Antioksidan Aktivite Bulguları

4.2.1. Toplam Fenolik Madde Miktarları

Gallik asit eşdeğeri olarak belirlenen toplam fenolik madde miktarları incelendiğinde HP, AP, BA ve NB numunelerinin fenolik madde içeriklerinin diğer numunelere oranla daha yüksek olduğu gözlendi. AF numunesinin fenolik madde içeriğinin diğerlerine göre çok az olduğu saptandı (Tablo 4-2).

Tablo 4-2: Numunelere ait total fenolik madde miktarları

Numune Adı ve Kısaltması	Fenolik madde miktarları (mg GAE /g-ekstre)
Balen (BA)	$6,51 \pm 0,41^{d}$
Nature's Bounty (NB)	$5,41 \pm 1,07^{c}$

Arkopharma (AP)	6,28±0,33^{c,d}
Shiffa Home (SH)	4,04±0,45^{b}
Afye (AF)	0,96±0,07^{a}
***Hypericum perforatum* (HP)**	5,76±0,10^{c,d}
P	0,000

4.2.2. TAS, TOS ve OSI Düzeylerinin Değerlendirilmesi

Elde edilen bulgular genel anlamda numunelerin TAS düzeylerinden ziyade TOS düzeylerinde büyük farklılıklar oluşması nedeniyle, OSI düzeylerinde önemli farklılıklar oluştuğu görülmektedir. *Hypericum perforatum* (HP), Shiffa Home (SH), Arkopharma (AP) numunelerinin TAS düzeylerinin diğer numunelere oranla istatistiki düzeyde ($p<0,05$) daha yüksek çıktığı belirlendi (Tablo 4-1).

Tablo 4-3: Numunelere ait TAS, TOS ve OSI düzeyleri

Numune Adı ve Kısaltması	**TAS (mmol Trolox Equiv./L)**	**TOS (µmol H_2O_2 Equiv./L)**	**OSI (arbitrary Unıt)**
Nature's Bounty (NB)	2,05±0,02^{a,b}	95,01±15,80^{b}	46,30±8,20^{b}
Balen (BA)	1,94±0,12^{a}	97,16±14,16^{b}	50,41±10,05^{b}
Shiffa Home (SH)	2,41±0,08^{c}	26,35±2,00^{a}	10,93±0,87^{a}
Arkopharma (AP)	2,36±0,05^{c}	105,26±5,72^{b}	44,56±3,02^{b}
Afye (AF)	2,16±0,04^{b}	16,59±3,21^{a}	7,71±1,64^{a}

***Hypericum perforatum* (HP)**	2,36±0,02[c]	17,06±3,39[a]	7,24±1,46[a]
P	0,000	0,000	0,000

4.2.3. Numunelerin DPPH Radikalini Düpürücü Etkilerinin Değerlendirilmesi

Numumelerin antioksidan aktivite değerleri Bütillenmiş Hidroksitoluen (BHT) ve Vitamin C (VitC) aktif çözeltilerinin DPPH radikalinin inhibe etme oranları belirlenmiştir. Sonuçlara göre VitC'nin radikal süpürme etkisinin en yüksek olduğu görülmüştür. VitC'den sonra ise HP, BHT, SH, AP, NB, BA, AF numunelerinin geldiği belirlendi (Tablo 4-4).

Tablo 4-4: Numunelere ait DPPH % inhibisyon oranları

Numune Adı	**DPPH İnhibisyon Oranı (%)**
Balen (BA)	84,72±0,62[b]
Nature's Bounty (NB)	84,03±0,17[b]
Arkopharma (AP)	88,09±0,20[c]
Shiffa Home (SH)	88,95±1,33[c]
Afye (AF)	59,76±1,33[a]
***Hypericum perforatum* (HP)**	88,95±0,81[c]
Bütillenmiş Hidroksitoluen (BHT)	88,45±0,29[c]
Vitamin C (VitC)	92,01±1,78[d]
P	0,000

4.3. Mineral Madde Düzeylerinin Değerlendirilmesi

Gerçekleştirilen mineral madde düzeyi analizlerinde standartlarda bulunan elementlerden Sb, Cd, As, Co, Pb, Be, Cr, Mo, Tl, Se, Ti, Ag, Al, B, Bi, Ba, Ga, Ca ve K düzeylerinin çalışma aralığının dışında olduğu gözlemlenmiştir. Element analizleri sonucunda çalışma aralığında tespit edilebilen elementler Tablo 4-5'de gösterilmiştir. Ayrıca istatistiksel olarak karşılaştırılan elementler Şekil 5-4 de belirtilmiştir.

Tablo 4-5: Numunelere ait element seviyeleri

Numune Adı ve Kısaltması	**Cu** (ppm)	**Fe** (ppm)	**Li** (ppm)	**Mg** (ppm)	**Sr** (ppm)	**V** (ppm)	**Zn** (ppm)	**Ni** (ppm)	**Mn** (ppm)
Balen (BA)	19,98±1,46[b]	19,24±3,66[a]	5,38±0,26[b]	628,17±29,24[c]	20,84±0,47[b]	4,02±0,39[a,b]	46,44±6,11[b]	-	-
Nature's Bounty (NB)	21,69±0,66[b]	50,25±14,07[a]	7,42±1,47[c]	723,05±63,91[d]	37,72±5,27[d]	4,42±0,51[b]	44,89±9,46[b]	-	-
Arkopharma (AP)	5,97±0,53[a]	5,13±0,90[a]	0,59±0,02[a]	164,25±8,46[a]	2,73±0,098[a]	-	17,63±1,99[a]	1,02±0,27[a]	40,98±3,26[a]
Shiffa Home (SH)	-	266,25±162,49[b]	5,81±0,98[b]	713,38±30,47[d]	33,06±2,73[d]	4,85±0,59[b]	27,40±1,91[a,b]	-	16,04±1,45[b]
Afye (AF)	-	138,48±12,34[a,b]	5,55±0,55[b]	404,12±7,78[b]	27,71±1,46[c]	3,46±0,19[a]	31,81±25,58[a,b]	-	-

5. TARTIŞMA

Tıbbi bitkilerin hem ham hem de hazırlanmış formda kullanımının son yıllarda büyük ölçüde arttığı dikkate alındığında, halk tarafından tüketimleri için güvenlik, kalite ve etkinliğin sağlanması gerekmektedir. Bitkisel ilaçlarla ilgili temel sorunlardan biri, bitki materyallerinde ağır metallerin kontaminasyonudur ve ciddi sağlık sorunlarına neden olabilir. Gelişmekte olan ülkelerde çevre, su, atmosfer, toprak, sterilizasyon yöntemleri ve saklama koşullarındaki kirlilik, tıbbi bitkilerin metalle kirlenmesinde önemli rol oynamaktadır (Gomez ve ark. 2004). Günümüzde, *H. perforatum* ilaç endüstrisinde kullanılan önde gelen bitkilerden biri haline gelmiştir ve şu anda çoğunlukla doğadan hasat edilen malzemelerden tedarik edilmektedir. Ayrıca dünya çapında bitki çayı olarak halk tarafından büyük ölçüde kullanılmaktadır (Çırak ve ark. 2004).

Bu tez çalışmasında, Türkiye'de eczane ve aktarlarda satılan *H. perforatum* preparatlarından beş farklı marka randomize seçilerek markalara ait preparatların LC-HR/MS ile fenolik madde miktarları aydınlatılmış, total antioksidan statü (TAS), total oksidan statü (TOS) ve oksidatif stres indeksleri (OSI), FC yöntemi ile içeriğindeki total fenolik madde miktar tayini, DPPH yöntemi ile antioksidan aktivitesi, ICP-OES (İndüktif Eşleşmiş Plazmalı Atomik Emisyon Spektrometrisi) ile ağır metal ve mineral miktarları analiz edilmiştir.

LC-HR/MS ile fenolik bileşiklerin belirlenmesi

Tez çalışması kapsamında Gülçin ve arkadaşlarının geliştirdiği metoda göre, çalışılan Nature's Bounty (NB), Shiffa Home (SH), Arkopharma (AP), Balen (BA) ve Afye (AF) numunelerinin fenolik profilleri LC-HR/MS ile çıkarılmıştır. LC-HR/MS çalışmasında 40 adet fitokimyasal standart maddenin kalitatif ve kantitatif analizi için geniş kapsamlı bir çalışma yapılmıştır (Gülçin ve ark. 2010).

Sonuçlara göre numunelerde hiperosit ve naringenin tespit edilmiştir.

Hiperosit içeriği en yüksek olan numune 1.25 mg/L ile Nature's Bounty (NB), naringenin içeriği en yüksek olan numune ise 0.14 mg/L ile Afye (AF) olmuştur, ancak

naringenin içerikleri açısından numuneler arasında çok fazla fark olmadığı tespit edilmiştir.

Ersoy ve arkadaşlarının üç farklı *Hypericum* türüne yönelik yaptığı LC–MS/MS çalışmada, *Hypericum perforatum* metanol ekstresinin 4.64 ± 0.002 µg/g oranda naringenin içerdiği saptanmıştır (Ersoy ve arkp. 2019).

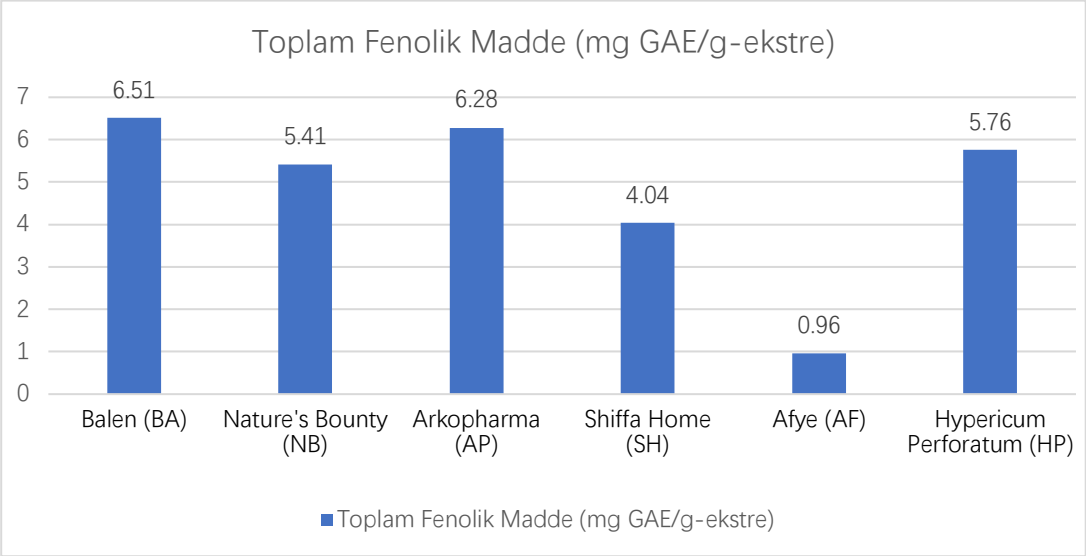
Kelebek ve arkadaşlarını üç çeşitli yöntem ile hazırlanmış *Hypericum perforatum* çaylarının fenolik profillerinin LC-DAD-ESI-MS/MS ile aydınlatıldığı çalışmada, üç farklı çayda hiperosit içeriği ayrı olarak 5.15 ± 0.19^{c} mg/L, 5.73 ± 0.15^{b} mg/L, 6.16 ± 0.20^{a} mg/L olduğu tespit edilmiştir. Bu değerlerin bizim beş numunemizin hepisinden yüksek olduğu görülmektedir (Kelebek ve ark. 2019).

Toplam fenolik madde miktarları

Total fenolik madde miktarları Folin-Ciocalteu reaktifi (FCR) kullanılarak analiz edimiştir (Ainsworth 2007).

Numunelerin fenolik madde içerikleri gallik asit ekivalanı olarak değerlendirildiğinde Balen (BA) 6,51±0,41 mg GAE /g-ekstre ve Arkopharma (AP) 6,28±0,33 mg GAE /g-ekstre ile diğer türlere kıyasla daha yüksek miktarda fenolik madde içermektedir. *Hypericum perforatum* (HP) 5,76±0,10 mg GAE /g-ekstre, Naturel Bounty (NB) 5,41±1,07 mg GAE /g-ekstre, Shiffa Home (SH) 4,04±0,45 mg GAE /g-ekstre gallik asit içermektedir. Afye (AF) 0,96±0,07 mg GAE /g-ekstre ise en düşük ve çok az seviyede gallik asit içerdiği anlaşılmıştır (Tablo 4-2). Altı numunenin karşılaştırmalı grafiği aşağıda verilmiştir (Şekil 5-2).

Bitkisel ekstrelerin bileşiminde yer alan fenolik maddelerin miktarı ekstrenin antioksidan potansiyelini de göstermektedir (Orčić ve ark. 2011). Bu yüzden Afye (AF) numunesinin düşük antioksidan aktiviteye sahip olması düşün fenolik madde içeriğiyle açıklanabilir.



Şekil 5-1: Numunelerin Toplam Fenolik Madde miktarını gösteren grafik

TAS, TOS ve OSI düzeyleri

Numunelerin TAS düzeyleri hemen hemen aynı olmasına rağmen TOS düzeylerinde büyük farklar oluşmuş, bu yüzden OSI düzeylerinde de büyük farklar oluştuğu görülmektedir. TAS seviyelerinin *Hypericum perforatum* (HP) 2,36±0,02 mmol Trolox Equiv./L, Shiffa Home (SH) 2,41±0,08 mmol Trolox Equiv./L, Arkopharma (AP) 2,36±0,05 mmol Trolox Equiv./L numunelerinde diperlerine göre daha yüksek olduğu, onları azalan oranda Afye (AF) 2,16±0,04 mmol Trolox Equiv./L, Nature's Bounty (NB) 2,05±0,02 mmol Trolox Equiv./L, Balen (BA) 1,94±0,12 mmol Trolox Equiv./L numunelerinin takip ettiği Tablo 4-1 görülmektedir.

TOS değerleri karşılaştırıldığında en yüksek değere Arkopharma (AP) 105,26±5,72 µmol H_2O_2 Equiv./L, Balen (BA) 97,16±14,16 µmol H_2O_2 Equiv./L, Nature's Bounty (NB) 95,01±15,80 µmol H_2O_2 Equiv./L preparatlarının sahip olduğu, Shiffa Home (SH) 26,35±2,00 µmol H_2O_2 Equiv./L, *Hypericum perforatum* (HP)

17,06±3,39 µmol H_2O_2 Equiv./L, Afye (AF) 16,59±3,21 µmol H_2O_2 Equiv./Lnumunelerinin çok daha düşük olduğu saptanmıştır.

OSİ değerleri en yüksek olan Balen (BA), Nature's Bounty (NB), Arkopharma (AP) sırayla 50,41±10,05; 46,30±8,20; 44,56±3,02 (arbitrary Unit) olduğu, diğerlerin ise sırayla Shiffa Home (SH) 10,93±0,87; Afye (AF) 7,71±1,64; HP 7,24±1,46 (arbitrary Unit) olarak bu üç türe göre çok düşük olduğu tespit edilmiştir.

TAS, TOS, OSI değerlerin karşılaştırmalı grafiği aşağıda verilmiştir (Şekil 5-2).



Şekil 5-2: Numunelerin TAS, TOS, OSI düzeylerini gösteren grafik

Analizi gerçekleştirilen numunelerin TOS düzeyleri incelendiğinde ise Nature's Bounty (NB), Balen (BA) ve Arkopharma (AP) numunelerinin TOS düzeylerinin diğer numunelerden istatistiki düzeyde farklı ve yüksek çıktığı gözlendi. Bunun anlamı bu numunelerde var olan oksidanların antioksidan aktiviteyi olumsuz etkileyebilecek olmalarıdır. Nitekim TOS düzeylerinin TAS düzeylerine bölünmesi sonucu elde edilen ve oksidatif stresin göstergesi olarak kabul edilen oksidatif stres indeksi (OSİ) verileri TOS düzeyleri yüksek olan bu 3 numunenin de OSİ değerlerinin yüksek olduğunu, bu nedenle antioksidan aktivitelerinin diğerlerine göre düşük olabileceği düşünülebilir. OSİ değerleri düşük olan HP, AF ve SH numunelerinin ise antioksidan aktiviteleri muhtemelen daha yüksek olacaktır.

DPPH radikali süpürücü antioksidan aktivite tayini

Sunulan çalışmada numunelerin radikal süpürücü etkilerinin daha iyi anlaşılabilmesi amacıyla radikal süpürücü etkinliği literatürde defalarca belirlenmiş olan Bütillenmiş Hidroksitoluen (BHT) ve Vitamin C (VitC) aktif maddelerinin de numunelerle birlikte aynı şartlarda hazırlanan çözeltilerinin DPPH radikalini inhibe etme oranları belirlenmiştir. Çalışma Brand-Williams'ın geliştirdiği metoda göre yapılmıştır (Brand-Williams 1995).

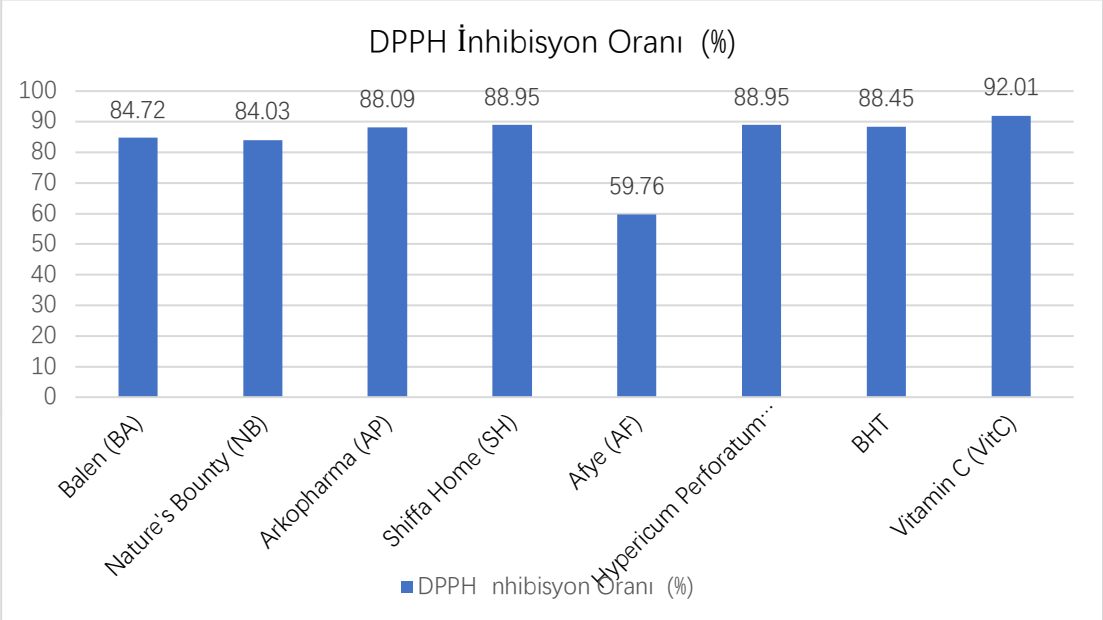
Elde edilen sonuçlar VitC'nin radikal süpürme etkisinin %92,01±1,78 olarak en yüksek olduğunu göstemektedir. VitC'den sonra ise HP %88,95±0,81; BHT %88,45± 0,29; SH %88,95±1,33, AP %88,09±0,20 numunelerinin geldiği belirlendi. BA ve NB numunelerinin ise radikal süpürücü etkilerinin %84,72±0,62 ve %84,03±0,17 ile onları takip ettiği görüldü. Bu sonuç TAS, TOS, OSI düzeylerine güre yapılan kıyasla uyumludur. Radikal süpürücü etkisi en düşük olan numunenin ise AF %59,76±1,33 numunesi olmasının sebebi ise çok düşük seviyede total fenolik madde içermesinden kaynaklanabilir. Bu sonuç ise fenolik madde miktar tayini kısmındaki sonuç ile uyumludur.

Zou ve arkadaşlarını yaptığı çalışmada *H. perforatum* türünün zengin flavonoit içeriklerinden dolayı yüksek antioksidan etkisi olduğu tespit edilmiştir (Zou ve ark. 2004). Bu test kapsamında beş farklı numunelerin hemen hemen BHT ile aynı ve VitC ile yakın seviyede antioksidan etkiye sahip olması da bunun göstergesidir.

Oksidatif hasar, allerjiler, kanserler, kardiyak ve vasküler bozukluklar, genetik ve metabolik bozukluklar, bulaşıcı hastalıklar, nörodejeneratif hastalıklar ve oftalmolojik problemler gibi birçok hastalık ve fizyolojik bozukluktan sorumludur (Oliveira ve ark. 2016; Eroglu Ozkan ve ark. 2018). *H. perforatum* böyle yüksek antioksidan aktivitesi ile Alzheimer ve Parkinson hastalığı ve felç gibi nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde önemli bir rol oynayabilir (Oliveira ve ark. 2016).

İnsan vücudunda, solunan oksijenin yaklaşık % 5'i hidroksil radikali, süperoksit anyon radikali, hidrojen peroksit, tekli oksijen, nitrik oksit radikali, hipoklorit radikali ve çeşitli lipit peroksitleri kapsayan reaktif oksijen türlerine dönüştürülür. Reaktif oksijen türlerine karşı savunma mekanizması olarak gıda sistemine antioksidanların eklenmesi

gerekmektedir (Sehwag ve Das 2013). *H. perforatum* bitkisel ürünleri yüksek antioksidan aktivitesi ile dengeli, sağlıklı beslenmenin bir parçası olabilir.



Şekil 5-3: Numunelerin DPPH radikali süpürücü etkilerini gösteren grafik

Eser element içerikleri

Çalışma ICP-OES (Spectro Genesis, Germany) cihazı kullanılarak yapılmıştır. Gerçekleştirilen mineral madde düzeyi analizlerinde standartlarda bulunan elementlerden Sb, As, Cd, Be, Pb, Cr, Co, Se,Mo, Tl, Al, Ti, Ag, B, Bi, Ba , Ga, Ca ve K düzeylerinin çalışma aralığının dışında olduğu gözlemlenmiştir.

Çalışmada kullanılan preparatların Cu, Fe, Mn, Zn, Mg, Li, Sr, V, Ni dokuz ağır metal analizi yapılmıştır ve sonuçlar Tablo 4-5 de verilmiştir.

Mg metot kısmında bahsettiğimiz gibi makro element kapsamında olduğu için iz elemnet birikiminin izin verilen limitlerden geçip geçmediğini değerlendirirken çıkartılarak yorumlanmıştır.

Cu, Fe, Mn ve Zn elementleri insan vücudunda çok fazla biyolojik aktiviteye sahip elementlerdir. Cu ve Zn, sitozolde bulunan süperoksit dismutaz (SOD1) enziminin bileşenleri iken (Hordyjewska ve ark. 2014; Olechnowicz ve ark. 2018), Mn ise mitokondriyal süperoksit dismutazın (SOD2) bir bileşenidir (Li ve Yang 2018). SOD1 ve SOD2 oksidanlar ile antioksidanlar arasındaki dengenin korunması ve oksidatif

stresin şekillenmesinin önüne geçilmesinde görevli endojen antioksidanlardır. Ayrıca bir başka endojen antioksidan olan seruloplazmin ile taşınan Cu elementi, kemik ve dişlerin oluşumunda Ca mineraline destek olup, demir metabolizmasında görev alırken (Hordyjewska ve ark. 2014), Zn elementi de antioksidatif özelliği dışında tiroid ve pankreas hormonlarının mekanizmasinda çeşitli roller oynamaktadır (Baltaci ve ark. 2019). Fe metabolizmasının, birçok patofizyolojik süreçte oksidatif stres ve antioksidanlar arasındaki dinamik etkileşimin temeli iyi bilinmektedir. Her biri 500 aminoasit kalıntısından meydana gelen dört polipeptidin tetrameri olan katalaz, oksidatif stresi arttıran unsurlardan olan hidrojen peroksiti suya dönüştüren enzimatik antioksidandır. Bu enzim, hidrojen peroksit ile reaksiyona girmesine izin veren dört porfirin hem (Fe) grubu içerir (Kaushal ve ark. 2018; Imam ve ark. 2017). Bu beş numune Cu, Fe , Mn, Zn açısından zengin olduğu için önemli bir besin kaynaği olabilir.

DSÖ'nün yayınladığı bitkisel ilaçların ağır metal içerikleri raporuna göre As, Pb, Cd, Cr, Hg, Cu, Li bitkisel ilaçların içerebileceği toksik metal olarak kabul edilmiş ve maksimum içerik üst limitler belirlenmiştir. Buna göre test yapılan beş farklı numunede Cu ve Li dışında başka toksik elmenet bulunmamıştır veya çalışma aralığının dışında olduğu için gözlemlenmemiştir. Ayrıca beş numunede beirlenen Cu içeriği DSÖ limiti olan 150 ppm'in altında, Li ise de 10 ppm'in altındadır (WHO 2007b; Kumar ve ark. 2019; Mulaudzi ve ark. 2017). Böylece toksik element içeriği standarda uygun görülmektedir.

Genel değerlendirme

H.perforatum bitkisel ilaç kullanımının artmasıyla birlikte kalite kontrollerinin daha sıkı yapılması gerektiğini vurgulayan çalışmalar mevcuttur.

Booker ve arkadaşları 47 farklı *H.perforatum* ticari bitmiş ürünü (toz haline getirilmiş tozlar ve hülasalar) HPTLC ve 1H NMR spektroskopisi kullanılarak analiz etmiş, buna göre ürünlerden %36'sı kimyasal olarak farklı *H. perforatum* çeşitleri veya kemotipleri ile karıştırılmış ve %19'unun tartrazin, amaranth, parlak mavi, gün batımı gibi gıda boyaları ile karıştırılmış olduğu tespit edilmiştir (Booker ve ark. 2018).

Gomez ve arkadaşları Arjantin pazarındaki farklı kaynaklardan toplanmış 7 *H.perforatum* ürününün (toz, tablet, tentür, çay) üzerinde ağır metal analizi yapmış,

sonuç olarak hem sıvı hem de katı numunelerde saptama sınırlarının üzerinde Cr ve Co tespit edilmiş, kesin miktarı saptanamayacak kadar yüksek bulunmuştur. Örneklerin çoğunda Al, Cd, Pb, Fe ve V mevcut olduğu saptanmıştır. *H.perforatum* örneklerinin normal şartlarda kullanılabileceği, ama ağır metallerin olumsuz etkilerine daha duyarlı olabilecek çocuklar ve yaşlılar üzerinde daha dikkatle kullanılması gerektiğini bildirmiştir (Gomez ve ark. 2007).

Ayan ve arkadaşları Türkiye'nin Karadeniz bölgesinden toplam 35 yabani popülasyonu temsil eden *H.perforatum* bitkilerini, çiçeklenme aşamasında toplanmış ve Cu, Mn, Fe, Zn ve Pb gibi bazı ağır metal içerikleri için tahlil etmiştir. Sonuç olarak Kuzey Türkiye'nin yabani popülasyonlarından *Hypericum* bitkilerinin büyük miktarda Cu, Mn, Fe, Zn ve Pb içerdiğini ve bitki örneklerinde metal birikiminin araç kaynaklı olma olasılığı ihmal edilmiştir ve bitki örneklerinde bulunan Pb'nin hem araç hem de toprak kaynaklı olması mümkündür sonucuna varılmıştır. Yol çevresinde yabani olarak büyüyen *H. perforatum* bitkilerinin Pb gibi bazı ağır metaller için hiper akümülatör olabileceği belirtmiştir (Ayan ve ark. 2006).

Pavlova ve arkadaşları serpantin üzerinde ve dışında büyüyen sekiz popülasyondan *H.perforatum* bitki örnekleri toplamış ve temel (Fe, Mn, Cr, Co, Cu, Zn) ve toksik (Ni, Cd, Pb) element konsantrasyonu açısından analiz etmiştir. Bitki Ni'ye toleranslıdır ancak toksik seviyelerde eser element biriktirme potansiyeline sahiptir. Sonuç olarak Cu, Zn ve Ni elementlerin tüm ekstraktlarda bulunduğu, kuru bitki materyalinde ve her iki tür ekstraktta da Cd, Ni ve Cr miktarlarının izin verilen sınırların üzerinde olduğu tespit edilmiştir. Bunun dışında elementlerin bitki materyalinden ekstreye aktarımının kullanılan çözücüye ve metale bağlı olduğu gösterilmiştir (Pavlova ve ark. 2015).

Eser elementler üzerinden biyokimya analiz sonuçlarını (TAS, TOS, OSI, DPPH radikali süpürme ve toplam fenolik asit içeriği) da göz önünü aldığımızda Shiffa Home (SH) ve Nature’s Bounty (NB) diğer gruplara göre ön plana çıkmaktadır. Antioksidan aktivitesi diğer örneklere kıyasla daha yüksek olan, radikal süpürme etkisi ve toplam fenolik asit içeriği açısından da iyi düzeyde bulunan SH örneğine ait Fe seviyesi anlamlı şekilde en yüksek olması, Zn seviyesi en yüksek çinko düzeyine sahip gruplardan az olmasına rağmen istatistiksel olarak farklı olmaması, Cu düzeyi tespit limitinin altında olmasına rağmen bir başka antioksidan sistem ilintili mineral olan Mn seviyesinin yüksek olması, biyokimyasal sonuçlar ile paralel şekilde fitoterapideki bu etkilerinin

eser element temelinde de gerçekleşebileceğini ortaya koymaktadır. Yine antioksidan aktivitesi daha düşük olmakla birlikte yüksek fenolik madde içeriği ve radikal süpürme etkisi bulunan NB örneğinde de özellikle radikal süpürme özelliğine diğer gruplara kıyasla yüksek Zn ve Cu seviyelerinin katkı sunduğu düşünülmektedir. Ayrıca aynı numunelerde ağır metallere ait seviyelerin çalışma aralığı dışında olması bu elementlerden kaynaklı zehirlenmenin daha az olabileceğini göstermektedir.

KAYNAKLAR

Abdulla, N. M., Adam, B., Blair, I., Oulhaj, A. (2019). Heavy metal content of herbal health supplement products in Dubai - UAE: A cross-sectional study. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 19(1), 1–9. https://doi.org/10.1186/s12906-019-2693-3

Agapouda, A., Booker, A., Kiss, T., Hohmann, J., Heinrich, M., Csupor, D. (2019). Quality control of Hypericum perforatum L. analytical challenges and recent progress. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 71(1), 15–37. https://doi.org/10.1111/jphp.12711

Agostinis, P., Vantieghem, A., Merlevede, W., De Witte, P. A. M. (2002). Hypericin in cancer treatment: More light on the way. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 34(3), 221–241. https://doi.org/10.1016/S1357-2725(01)00126-1

Avato, P. (2005). A survey on the hypericum genus: Secondary metabolites and bioactivity. In *Studies in Natural Products Chemistry* (Vol. 30, Issue C). https://doi.org/10.1016/S1572-5995(05)80043-2

Ayan, A. K., Kizilkaya, R., Cirak, C., Kevseroglu, K. (2006). Heavy Metal Contents of St. John`s wort (Hypericum perforatum L.) Growing in Northern Turkey. *Journal of Plant Sciences*, 1(3), 182–186. https://doi.org/10.3923/jps.2006.182.186

Ainsworth, E., Gillespie, K. (2007). Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin–Ciocalteu reagent. *Nature Protocols,* 2, 875–877.

Azwanida. (2015). A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation. *Medicinal & Aromatic Plants*, 04(03), 3–8. https://doi.org/10.4172/2167-0412.1000196

Bariş, D., Kizil, M., Aytekin, C., Kizil, 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. https://doi.org/10.1080/10942910903189256

Barnes, J., Anderson, L. A., Phillipson, 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(5), 583–600. https://doi.org/10.1211/0022357011775910

Baytop, T. (1999). *Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi*. (2nd ed.). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri.

Başaran, A.A. (2012). Ülkemizdeki Bitkisel İlaçlar ve Ürünlerde Yasal Durum.*Türk Eczacılar Birliği MİSED*, 27-28, 22-26.

Bent, S., Ko, R. (2004). Commonly used herbal medicines in the United States: A review. *American Journal of Medicine*, 116(7), 478–485. https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2003.10.036

Booker, A., Agapouda, A., Frommenwiler, D. A., Scotti, F., Reich, E., Heinrich, M. (2018). St John's wort (Hypericum perforatum) products – an assessment of their authenticity and quality. *Phytomedicine*, 40(October 2017), 158–164. https://doi.org/10.1016/j.phymed.2017.12.012

Booker, A., Frommenwiler, D., Reich, E., Horsfield, S., Heinrich, M. (2016). Adulteration and poor quality of Ginkgo biloba supplements. *Journal of Herbal Medicine*, 6(2), 79–87. https://doi.org/10.1016/j.hermed.2016.04.003

Brown, A. C. (2017). An overview of herb and dietary supplement efficacy, safety and government regulations in the United States with suggested improvements. Part 1 of 5 series. *Food and Chemical Toxicology*, 107, 449–471. https://doi.org/10.1016/j.fct.2016.11.001

Butterweck, V. (2003). Mechanism of action of St John's wort in depression: What is known? *CNS Drugs*, 17(8), 539–562. https://doi.org/10.2165/00023210-200317080-00001

Baltaci, A.K. Mogulkoc, R. Baltaci, S.B. (2019). Review: The role of zinc in the endocrine system. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences,* 32, 231–239.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. and Berset, C. (1995). Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie,* 28, 25-30.

Barnes, J., Anderson, L.A., Phillipson, J.D. (2007). *Herbal Medicines*. (3th ed.). London: Pharmaceutical Press. PP 550-551.

Brown, K. (1999). *An Herbalist's Guide to Growing & Using St. John's Wort.* Storey Publishing, LLC.

Bruni, R., Sacchetti, G. (2009). Factors affecting polyphenol biosynthe- sis in wild and field grown St. John'sWort (Hypericum perforatum L. Hypericaceae/Guttiferae). *Molecules,* 14:682–725.

Cemek, M., Büyükokuroğlu, M.E., Hazman, Ö., Bulut, S., Konuk, M., Birdan, Y. (2011). Antioxidant enzyme and element status in heroin addiction or heroin withdrawal in rats: effect of melatonin and vitamin E plus Se. *Biological Trace Element Research*, 139(1):41-54.

Cayci M. K, Dayioglu H. (2009). Hypericum perforatum extracts healed gastric lesions induced by hypothermic restraint stress in Wistar rats. *Saudi Medical Journal,* 30(6):750–4.

Chau, C. F., Wu, S. H. (2006). The development of regulations of Chinese herbal medicines for both medicinal and food uses. *Trends in Food Science and Technology*, 17(6), 313–323. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2005.12.005

Chinou, I., Knoess, W., Calapai, G. (2014). Regulation of herbal medicinal products in the EU: An up-to-date scientific review. *Phytochemistry Reviews*, 13(2), 539–545. https://doi.org/10.1007/s11101-014-9354-4

Cirak, C., Ayan, A. K., Kudret, K., Caliskan, O. (2004). Germination rate of St. Johns Worth (Hypericum perforatum L.) seeds exposed to different light intensisites and illumination periods. In *Journal of Biological Sciences* (Vol. 4, Issue 3, pp. 279–282).

Crockett, S. L. (2010). Essential Oil and Volatile Components of the Genus Hypericum (Hypericaceae). *Natural Product Communications*, 5(9), 1493–1506.

Crockett, S. L., Robson, N. K. B. (2011). Taxonomy and Chemotaxonomy of the Genus Hypericum. *Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology*, 5(Special Issue 1), 1–13.

Çobanoğlu, A., Şendir, M. (2020). The effect of hypericum perforatum oil on the healing process in the care of episiotomy wounds: A randomized controlled trial. *European Journal of Integrative Medicine*, 34(April 2019). https://doi.org/10.1016/j.eujim.2019.100995

Dghaim, R., Khatib, S. Al, Rasool, H., Khan, M. A. (2015). Determination of Heavy Metals Concentration in Traditional.2015.pdf. *Journal of Environmental and Public Health*, 2015, 1–6.

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(2), 109–119. https://doi.org/10.2174/157340707780809644

Dost T, Ozkayran H, Gokalp F, Yenisey C, Birincioglu M. (2009). The effect of Hypericum perforatum (St. John's Wort) on experimental colitis in rat. *Digestive Diseases and Science*, 54(6):1214–21.

Ding, H.C., Wang, Z.R. (2015). Experience of treatment and understanding of impediment disease in Shen nong ben cao jing (Shen-ntonz's Classic of Materia Medica). *Zhonghua Yi Shi Za Zhi*, 45(1), 3-6.

Dghaim, R., Khatib, S. Al, Rasool, H., Khan, M. A. (2015). Determination of Heavy Metals Concentration in Traditional.2015.pdf. *Journal of Environmental and Public Health*, 2015, 1–6.

Davis, P.H., Mill, R.R., Tan, K. (1988). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands (Supplement)* (Vol 10), Edinburgh University Press, Edinburgh, 590.

Edzard, E. (2003). *The genus Hypericum.* Taylor & Francis.

European Pharmacopoeia 9.0, 9th ed. (2017). St. John's Wort Dry Extract, Quantified. Council of Europe: 1527–1529.

Eroglu Ozkan, E., Yilmaz Ozden, T., Ozsoy, N., Mat, A. (2018). Evaluation of chemical composition, antioxidant and anti-acetylcholinesterase activities of Hypericum neurocalycinum and Hypericum malatyanum. *South African Journal of Botany*, 114, 104–110. https://doi.org/10.1016/j.sajb.2017.10.022

Ersöz, T. (2012). Bitkisel ilaçlar ve gıda takviyeleri ile ilgili genel yaklaşım ve sorunlar. *Türk Eczacılar Birliği MISED*, 27–28, 11–21.

Ersoy, E., Eroglu Ozkan, E., Boga, M., Mat, A. (2020). Evaluation of in vitro biological activities of three Hypericum species (H. calycinum, H. confertum, and H. perforatum) from Turkey. *South African Journal of Botany*, 130, 141–147. https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.12.017

ESCOP. (2003). Hyperici herba – St John's wort; in ESCOP Monographs. The Scientific Foundation of Herbal Medicinal Products, 2nd edition. Stuttgart, Thieme, pp 257–278.

Fleischer, T., Su, Y. C., Lin, S. J. S. (2017). How do government regulations influence the ability to practice Chinese herbal medicine in western countries. *Journal of Ethnopharmacology*, 196(July 2016), 104–109. https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.11.047

Fox, F. E., Niu, Z., Tobia, A., Rook, A. H. (1998). Photoactivated hypericin is an anti-proliferative agent that induces a high rate of apoptotic death of normal, transformed,

and malignant T lymphocytes: Implications for the treatment of cutaneous lymphoprohferatlve and inflammatory disorders. *Journal of Investigative Dermatology*, 111(2), 327–332. https://doi.org/10.1046/j.1523-1747.1998.00278.x

Foster, S. (2000). Retrieved 6 2020, from www.stevenfoster.com.

Forsdike, K., Pirotta, M. (2019). St John's wort for depression: scoping review about perceptions and use by general practitioners in clinical practice. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 71(1), 117–128. https://doi.org/10.1111/jphp.12775

FDA. (2007). Guidance for Industry - Complementary and Alternative Medicine. Products and their Regulation by the Food and Drug Administration. https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/complementary-and-alternative-medicine-products-and-their-regulation-food-and-drug-administration. (Eirşim 15.07.2021)

Gaid, M., Haas, P., Beuerle, T., Scholl, S., Beerhues, L. (2016). Hyperforin production in Hypericum perforatum root cultures. *Journal of Biotechnology*, 222, 47–55. https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2016.02.016

Galeotti, N. (2017). Hypericum perforatum (St John's wort) beyond depression: A therapeutic perspective for pain conditions. *Journal of Ethnopharmacology*, 200(January), 136–146. https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.02.016

Garvey, G. J., Hahn, G., Lee, R. V., Harbison, R. D. (2001). Heavy metal hazards of Asian traditional remedies. *International Journal of Environmental Health Research*, 11(1), 63–71. https://doi.org/10.1080/09603120020019656

Gomez, María R., Cerutti, S., Sombra, L. L., Silva, M. F., Martínez, L. D. (2007). Determination of heavy metals for the quality control in argentinian herbal medicines by ETAAS and ICP-OES. *Food and Chemical Toxicology*, 45(6), 1060–1064. https://doi.org/10.1016/J.FCT.2006.12.013

Gomez, María R, Cerutti, S., Olsina, R. A., Silva, M. F., Martínez, L. D. (2004). Metal content monitoring in Hypericum perforatum pharmaceutical derivatives by atomic absorption and emission spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 34(3), 569–576. https://doi.org/10.1016/S0731-7085(03)00643-5

Göransson, U., Verpoorte, R. (2010). *Recent Insights into the Biosynthesis and Biological Activities of Natural*. 854–901.

Germ, M., Stibilj, V., Kreft, S., Gaberščik, A., Kreft, I. (2010). Flavonoid, tannin and hypericin concentrations in the leaves of St. John's wort (Hypericum perforatum L.)

are affected by UV-B radiation levels. *Food Chemistry*, 122(3), 471–474. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.03.008

Gudzic, B., Nedeljkovic, J.M., Dordevic, S., Comor, J.J. (1997). Composition and anti-microbial activity ofessential oil ofHypericiHerb (Hypericum perforatum L.) from Vlasina region. *Facta Universitatis Series: Physics, Chemistry and Technology*. 1, 47–51.

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. https://doi.org/10.1007/s002130000625

Gülçin, I., Bursal, E., Şehitoğlu, M. H., Bilsel, M., Gören, A. C. (2010). Polyphenol contents and antioxidant activity of lyophilized aqueous extract of propolis from Erzurum, Turkey. *Food and Chemical Toxicology*, 48(8–9), 2227–2238. https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.05.053

Greeson, J. M., Sanford, B., and Monti, D. A. (2001). St. John's wort (Hypericum perforatum): a review of the current pharmacological, toxicological, and clinical literature. *Psychopharmacology (Berl.)*,153, 402–414. doi: 10.1007/s002130000625

GETAT. (2020). https://getatportal.saglik.gov.tr/TR,8461/geleneksel-ve-tamamlayici-tip-uygulamalari-yonetmeligi.html. (Erişim 20.07.2020).

Hazman, Ö., Erol, İ., Aksoy, L., Büyükben, A. (2018). Verbascum Lasianthum Boiss. Ex Benth. (Yünlü Sığır Kuyruğu) Türünün incelenerek Antioksidan özelliklerinin ve Mineral Madde İçeriğinin Araştırılması, Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi Sonuç Raporu, Proje No:16.ALTYP.01, Afyonkarahisar.

Hazman, Ö., Aksoy, L., Büyükben, A. (2016). Effects of crocin on experimental obesity and type-2 diabetes. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 46(5), 1593-1602.

He, T. T., Ung, C. O. L., Hu, H., Wang, Y. T. (2015). Good manufacturing practice (GMP) regulation of herbal medicine in comparative research: China GMP, cGMP, WHO-GMP, PIC/S and EU-GMP. *European Journal of Integrative Medicine*, 7(1), 55–66. https://doi.org/10.1016/j.eujim.2014.11.007

Heinrich. (2015). Quality and safety of herbal medical products: regulation and the need for quality assurance along the value chains. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 80(1), 62–66. https://doi.org/10.1111/bcp.12586

Heinrich, M., Daniels, R., Stintzing, F. C., Kammerer, D. R. (2017). Comprehensive phytochemical characterization of St. John's wort (Hypericum perforatum L.) oil macerates obtained by different extraction protocols via analytical tools applicable in routine control. *Pharmazie*, 72(3), 131–138. https://doi.org/10.1691/ph.2017.6749

Hordyjewska, A. Popiołek, Ł. Kocot, J. (2014).The many "faces" of copper in medicine and treatment. *Biometals*, 27, 611–621.

Hu, Q., Calduch, R. M. (2017). On traditional Chinese medicine regulation in China: How quality and safety of use are insured. *Pharmacological Research*, 119, 371–372. https://doi.org/10.1016/j.phrs.2017.02.025

Imam, M.U. Zhang, S. Ma, J. Wang, H. Wang, F. (2017). Antioxidants Mediate Both Iron Homeostasis and Oxidative Stress. *Nutrients* , 9, 671.

Isacchi, B., Bergonzi, M. C., Carnevali, F., van der Esch, S. A., Vincieri, F. F., Bilia, A. R. (2007). Analysis and stability of the constituents of St. John's wort oils prepared with different methods. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 45(5), 756–761. https://doi.org/10.1016/j.jpba.2007.08.025

Ji, Y. yuan, Yang, J. yi, Zhang, R. fei, Chen, Q. yu, Xu, R., Wei, X. jin, Chen, X. hang, Chen, S. xi, Guo, F. ding, Kennelly, E. J., Long, C. lin. (2021). Chemical characterization, neuroprotective, antimicrobial and enzyme inhibitory activities of Hypericum volatile oils. *Industrial Crops and Products*, 172(August), 113991. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113991

Jürgenliemk, G., Nahrstedt, A. (2002). Phenolic compounds from Hypericum perforatum. *Planta Med*, 68:88–91.

Karioti, A., Bilia, A. R. (2010). Hypericins as potential leads for new therapeutics. *International Journal of Molecular Sciences*, 11(2), 562–594. https://doi.org/10.3390/ijms11020562

Kaushal, J. Mehandia, S. Singh, G. Raina, A. Arya, S.K. (2018). Catalase enzyme: Application in bioremediation and food industry. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology,* 16, 192-199.

Kelly, K. (2009). *History of medicine.* New York: Facts on file. pp. 29.

Kelebek, H., Sevindik, O., Selli, S. (2019). LC-DAD-ESI-MS / MS-based phenolic profiling of St John ' s Wort Teas and their antioxidant activity : Eliciting infusion induced changes LC-DAD-ESI-MS / MS-based phenolic profiling of St John ' s

Wort Teas and their. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 42(1–2), 9–15. https://doi.org/10.1080/10826076.2019.1568257

Kunle. (2012). Standardization of herbal medicines - A review. *International Journal of Biodiversity and Conservation*, 4(3), 101–112. https://doi.org/10.5897/ijbc11.163

Kumar, V., Singh, S., Singh, A., Subhose, V., Prakash, O. (2019). Assessment of heavy metal ions, essential metal ions, and antioxidant properties of the most common herbal drugs in Indian Ayurvedic hospital: For ensuring quality assurance of certain Ayurvedic drugs. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 18(December 2018), 101018. https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.01.056

Kwiecień, I., Szydłowska, A., Kawka, B., Beerhues, L., Ekiert, H. (2015). Accumulation of biologically active phenolic acids in agitated shoot cultures of three Hypericum perforatum cultivars: 'Elixir', 'Helos' and 'Topas.' *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 123(2), 273–281. https://doi.org/10.1007/s11240-015-0830-3

Liu F, Pan C, Drumm P, Ang C. Y. (2005). Liquid chromatography-mass spectrometry studies of St. John's wort methanol extraction: Active constituents and their transformation. *Journal of Pharmaceutical Biomedical Analysis*, 37:303–12.

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. Farmaco 56, 451–453. https://doi.org/ 10.1016/S0014-827X(01)01060-6.

Leblebici, S., BAHTİYAR, S. D., ÖZYURT, S. (2012). Kütahya Aktarlarinda Satilan BaziTibbBitkilerin Ağir MetalMiktarlariniİncelenmesi. *Dumlupınar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 29, 1–6.

Li, L., Yang, X. (2018). The essential element manganese, oxidative stress, and metabolic diseases: Links and interactions. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity,* 1-12.

Linde, K., Berner, M. M., Kriston, L. (2008). St John's wort for major depression. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, *4*. https://doi.org/10.1002/14651858.CD000448.pub3

Linde, K. (2009). St. John's Wort - An overview. *Forschende Komplementarmedizin*, 16(3), 146–155. https://doi.org/10.1159/000209290

Linde, K., Berner, M., Egger, M., and Mulrow, C. (2005). St John's wort for depression: meta-analysis of randomised controlled trials. Br. J. Psychiatry 186, 99–107. doi: 10.1192/bjp.186.2.99

Liu, F. X., Salmon, J. W. (2010). Herbal Medicine Regulation in China, Germany, and the United States. *Integrative Medicine*, 9(5), 54–61. www.researchgate.net

Lu, Y. H., Du, C. Bin, Liu, J. W., Hong, W., Wei, D. Z. (2004). Neuroprotective effects of Hypericum perforatum on trauma induced by hydrogen peroxide in PC12 cells. *American Journal of Chinese Medicine*, 32(3), 397–405. https://doi.org/10.1142/S0192415X04002053

Mancuso, C., Santangelo, R. (2017). Panax ginseng and Panax quinquefolius: From pharmacology to toxicology. *Food and Chemical Toxicology*, 107, 362–372. https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.07.019

Mazzanti, G., Battinelli, L., Daniele, C., Costantini, S., Ciaralli, L., Evandri, M. G. (2008). Purity control of some Chinese crude herbal drugs marketed in Italy. *Food and Chemical Toxicology*, 46(9), 3043–3047. https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.06.003

Maury W, Price J. P, Brindley M. A. (2009). Identification of light-independent inhibition of human immu-nodeficiency virus-1 infection through bioguided fractionation of Hypericum perforatum. *Virology Journal,* 6,101.

Maiga, A., Diallo, D., Bye, R., Paulsen, B.S., (2005). Determination of some toxic and essential metal ions in medicinal and edible plants from Mali. J. Agric. *Food Chemistry*. 53, 2316–2321.

Mazzanti, G., Battinelli, L., Daniele, C., Costantini, S., Ciaralli, L., Evandri, M. G. (2008). Purity control of some Chinese crude herbal drugs marketed in Italy. *Food and Chemical Toxicology*, 46(9), 3043–3047. https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.06.003

Mir, M. Y., Hamid, S., Kamili, A. N., Hassan, Q. P. (2019). Sneak peek of Hypericum perforatum L.: phytochemistry, phytochemical efficacy and biotechnological interventions. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*, 28(4), 357–373. https://doi.org/10.1007/s13562-019-00490-7

Miraldi, E., Biagi, M., Giachetti, D. (2006). Chemical Constituents and Effect of Topical Application of Oleum Hyperici on Skin Sensitivity to Simulated Sun Exposure. *Natural Product Communications,*1, 209-213.

Melzer, R., Fricke, U., Hoelzl, J. (1991). Vasoactive properties of procyanidins from *Hypericum perforatum* L. in isolated porcine coronary arteries. *Arzneimittel-Forschung.*41(5), 481-483.

Mulinacci, N., Bardazzi, C., Romani, A., Pinelli, P., Vincieri, F. F., Costantini, A. (1999). HPLC-DAD and TLC-densitometry for quantification of hypericin in Hypericum perforatum L. extracts. *Chromatographia*, 49(3–4), 197–201. https://doi.org/10.1007/BF02575285

Müller, W. E. (2005). *St. John's Wort and its Active Principles in Depression and Anxiety.* Birkhäuser Verlag, Basel - Boston - Berlin.

Nahrstedt, A., and Butterweck, V. (2010). Lessons learned from herbal medicinal products: the example of St. John's Wort (perpendicular). *The Journal of Natural Production,* 73, 1015–1021. doi: 10.1021/np1000329

NNHPD. (2020) .The Natural and Non-prescription Health Products Directorate. https://www.canada.ca/en/health-canada/services/drugs-health-products/reports-publications/natural-health-products.html. (Erişim 15.07.2020).

Olechnowicz, J. Tinkov, A. Skalny, A. Suliburska, J. (2018). Zinc status is associated with inflammation, oxidative stress, lipid, and glucose metabolism. *The Journal of Physiological Sciences,* 68, 19–31.

Oliveira, A. I., Pinho, C., Sarmento, B., Dias, A. C. P. (2016). Neuroprotective activity of hypericum perforatum and its major components. *Frontiers in Plant Science*, 7(JULY2016), 1–15. https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01004

Omidbaigi, R., Azizi, M. (2000). Effect of time of harvest on hypericin and essential oil content of Hypericum perforatum L. from Iran. *Iran Agricultural Research*, 19, 155-164.

Orčić, D. Z., Mimica-Dukić, N. M., Francišković, M. M., Petrović, S. S., Jovin, E. T. (2011). Antioxidant activity relationship of phenolic compounds in Hypericum perforatum L. *Chemistry Central Journal*, 5(1), 1–8. https://doi.org/10.1186/1752-153X-5-34

Orhan, I. E., Kartal, M., Gülpinar, A. R., Cos, P., Matheeussen, A., Maes, L., Tasdemir, D. (2013). Assessment of antimicrobial and antiprotozoal activity of the olive oil macerate samples of Hypericum perforatum and their LC-DAD-MS analyses. *Food Chemistry*, 138(2–3), 870–875. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.11.053

Pavlova, D., Karadjova, I., Krasteva, I. (2015). Essential and toxic element concentrations in Hypericum perforatum. *Australian Journal of Botany*, 63(2), 152–158. https://doi.org/10.1071/BT14260

Pharmacopoeia of the People's Republic of China. (2015). Hyperici perforati Herba. Beijing. Chinese Pharmacopoeia Commission. 227– 228.

Prasad Giri, R., Gangawane, A. K., Ghorai Giri, S. (2008). Regulation on Herbal Product Used As Medicine Around the World: a Review. *International Research Journal of Engineering and Technology*, 217, 217–223. www.irjet.net

Petrovska, B. B. (2012). Historical review of medicinal plants' usage. *Pharmacognosy Reviews, 6*(11), 1-5.

Rock, L., Brunswick, N. (2005). Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* 53, 4290–4302.

Rosenthal, N. (1995). *St. John's Wort. The herbal way to feeling good.* Harper Collins Publishers, New York.

Saddiqe, Z., Naeem, I., Maimoona, A. (2010). A review of the antibacterial activity of Hypericum perforatum L. *Journal of Ethnopharmacology*, 131(3), 511–521. https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.07.034

Sahoo, N., Manchikanti, P. (2013). Herbal drug regulation and commercialization: An indian industry perspective. *Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 19(12), 957–963. https://doi.org/10.1089/acm.2012.0275

Sahoo, N., Manchikanti, P., Dey, S. (2010). Herbal drugs: Standards and regulation. *Fitoterapia*, 81(6), 462–471. https://doi.org/10.1016/j.fitote.2010.02.001

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. *The Lancet,* 353*,* 2129.

Sehwag, S., Das, M. (2013). Antioxidant Activity : An Overview. *Journal of Food Science and Technology*, *July*, 1–11.

Seger, C., Römpp, H., Sturm, S., Haslinger, E., Schmidt, P. C., Hadacek, F. (2004). Characterization of supercritical fluid extracts of St. John's Wort (Hypericum perforatum L.) by HPLC–MS and GC–MS. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 21(4), 453–463. https://doi.org/10.1016/J.EJPS.2003.10.021

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(1–2), 157–167. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.03.049

Sosa S, Pace R, Bornancin A. et al. (2007). Topical anti-inflammatory activity of extracts and compounds from Hypericum perforatum L. *Jounal of Pharmacy and Pharmacology,* 59(5):703–9.

Sumner J. (2000). *The natural history of medicinal plants.* London: Timber Press. pp. 16.

Süntar, I.P., Akkol, E.K., Yilmazer, D., Baykal, T., Kirmizibekmez, H., Alper, M., Yes¸iladac, E., 2010. Investigations on the in vivo wound healing potential of Hypericum perforatum L. *J. Ethnopharmacol.* 127, 468–477. https://doi.org/ 10.1016/j.jep.2009.10.011.

Starr. Ranjani. (2015). Too little, too late: Ineffective regulation of dietary supplements in the United States. *American Journal of Public Health*, 105(3), 478–485. https://doi.org/10.2105/AJPH.2014.302348

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. https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2006.11.026

Terzi, H., Yıldız, M. (2013). Bitkilerde Ağır Metal Toksisitesi: Proteomik Yaklaşım. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi.* 13 :1-21.

Tocci, N., Simonetti, G., D'Auria, F. D., Panella, S., Palamara, A. T., Ferrari, F., Pasqua, G. (2013). Chemical composition and antifungal activity of Hypericum perforatum subsp. angustifolium roots from wild plants and plants grown under controlled conditions. In *Plant Biosystems* (Vol. 147, Issue 3, pp. 557–562). Taylor & Francis. https://doi.org/10.1080/11263504.2013.806964

Tocci, Noemi, Gaid, M., Kaftan, F., Belkheir, A. K., Belhadj, I., Liu, B., Svatoš, A., Hänsch, R., Pasqua, G., Beerhues, L. (2018). Exodermis and endodermis are the sites of xanthone biosynthesis in Hypericum perforatum roots. *New Phytologist*, 217(3), 1099–1112. https://doi.org/10.1111/nph.14929

Tusevski, O., Stanoeva, J. P., Markoska, E., Brndevska, N., Stefova, M., Gadzovska Simic, S. (2016). Callus cultures of Hypericum perforatum L. a novel and efficient

source for xanthone production. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 125(2), 309–319. https://doi.org/10.1007/s11240-016-0951-3

Tusevski, O., Krstikj, M., Stanoeva, J. P., Stefova, M., Gadzovska Simic, S. (2018). Phenolic profile and biological activity of Hypericum perforatum L.: Can roots be considered as a new source of natural compounds? *South African Journal of Botany*, 117, 301–310. https://doi.org/10.1016/j.sajb.2018.05.030

Tusevski, Oliver, Stanoeva, J. P., Markoska, E., Brndevska, N., Stefova, M., Gadzovska Simic, S. (2016). Callus cultures of Hypericum perforatum L. a novel and efficient source for xanthone production. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 125(2), 309–319. https://doi.org/10.1007/s11240-016-0951-3

U.S. Pharmacopeia National Formulary. (2016). St. John's Wort. UPS 39 NF 34, Vol. 4. Convention, Rockville, MD: U.S. Pharmacopeial Convention, 6819–6821.

Upton, R. (1997). *St. John's Wort : The Premier Herb for Relieving Depression, Healing Wounds, and Easing Nerve Pain Keats Good Herb Guide.* NTC Contemporary.

Verma, N. (2013). Herbal Medicines: Regulation and Practice in Europe, United States and India. *International Journal of Herbal Medicine IJHM*, 1(14), 1–5.

Velingkar, V. S., Gupta, G. L., Hegde, N. B. (2017). A current update on phytochemistry, pharmacology and herb–drug interactions of Hypericum perforatum. *Phytochemistry Reviews*, 16(4), 725–744. https://doi.org/10.1007/s11101-017-950

Wachtel-Galor, S., Benzie, I. F. F. (2011). Chapter 1. In *Herbal Medicine: Biomolecular and Clinical Aspects. 2nd edition*. CRC Press/Taylor & Francis. pp. 2-3.

WHO. (2000). General Guidelines for Methodologies on Research and Evaluation of. Traditional Medicine. Geneva.

WHO. (2003). WHO Guidelines on Good Agricultural and Collection Practices (GACP) for Medicinal Plants. Geneva.

WHO. (2005). National Policy on Traditional Medicine and Regulation of Herbal. Medicines. Geneva.

WHO. (2007a). WHO Guidelines on Good Manufacturing Practices (GMP) for Herbal Medicines. Geneva.

WHO. (2007b). WHO Guidelines for Assessing Quality of Herbal Medicines with Reference to Contaminants and Residues. Geneva.

WHO. (2010). *Monographs on medicinal plants commonly used in the Newly Independent States (NIS).* pp 201-202.

WHO. (2011). Quality Control Methods for Herbal Materials. Geneva.

WHO. (2014). WHO Traditional Medicine Strategy: 2014-2023. Geneva.

WHO. (2018). WHO Guidelines on Good Herbal Processing Practices for Herbal Medicines. Geneva.

WHO. (2019). WHO Global Report on Traditional and Complementary Medicine. Geneva.

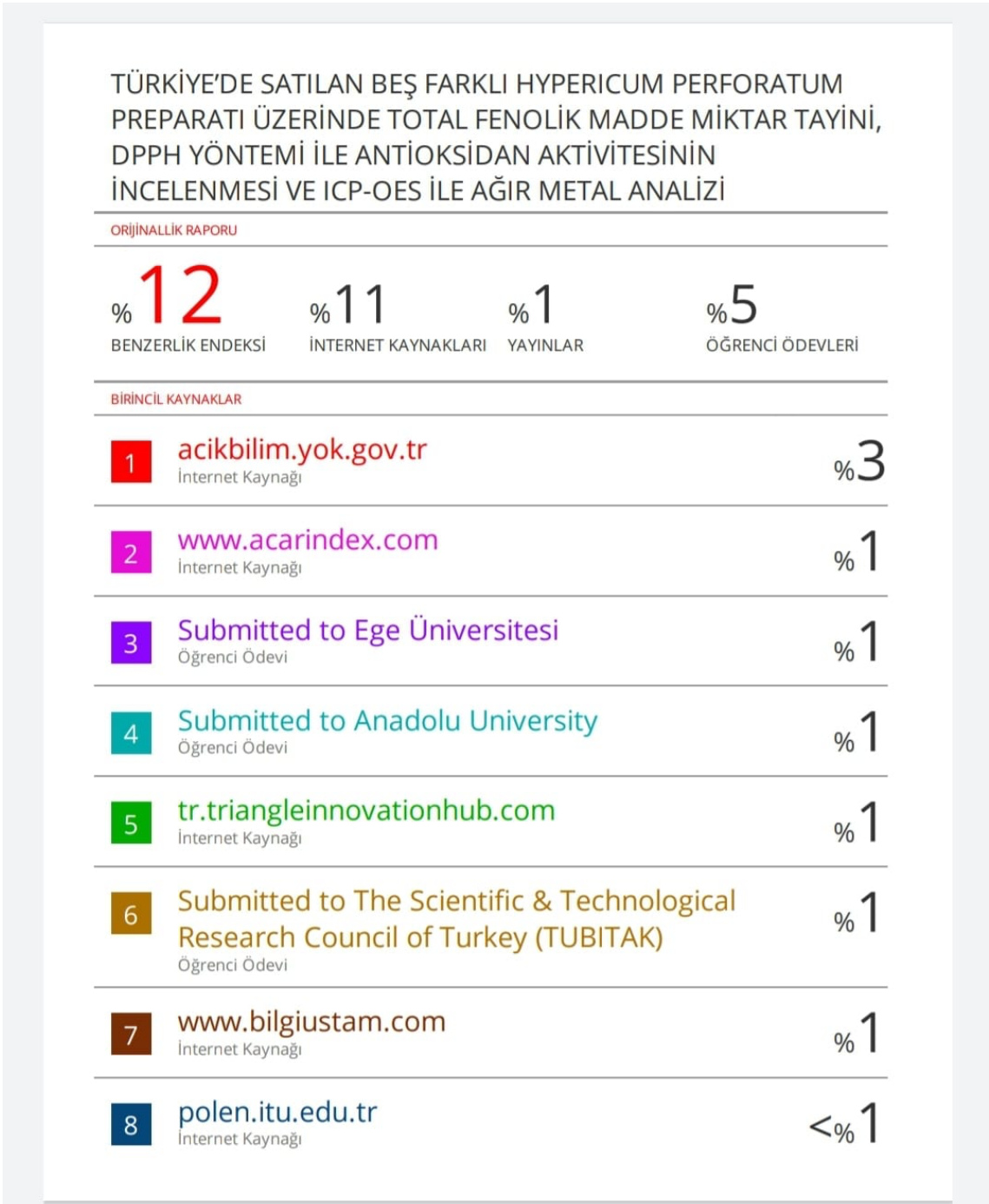
Yang, Y., Yan, G., Lin, Q. (2004). Determination of heavy metal ions in Chinese herbal medicine by microwave digestion and RP- HPLC with UV–vis detection. *Microchimica Acta*. 144(4), 297– 302.

Zhang, R., Ji, Y., Zhang, X., Kennelly, E. J., Long, C. (2020). Ethnopharmacology of Hypericum species in China: A comprehensive review on ethnobotany, phytochemistry and pharmacology. *Journal of Ethnopharmacology*, 254(February), 112686. https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.112686

Zhang, X. (1998). Regulatory Situation of Herbal Medicines: A worlwide review. *Who*, 1–49. http://apps.who.int/medicinedocs/pdf/whozip57e/whozip57e.pdf

Zou, Y., Lu, Y., Wei, D. (2004). Antioxidant activity of a flavonoid-rich extract of Hypericum perforatum L. in vitro. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(16), 5032–5039. https://doi.org/10.1021/jf049571r

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI



TÜRKİYE'DE SATILAN BEŞ FARKLI HYPERICUM PERFORATUM PREPARATI ÜZERİNDE TOTAL FENOLİK MADDE MİKTAR TAYİNİ, DPPH YÖNTEMİ İLE ANTİOKSİDAN AKTİVİTESİNİN İNCELENMESİ VE ICP-OES İLE AĞIR METAL ANALİZİ

ORİJİNALLİK RAPORU

%12	%11	%1	%5
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	acikbilim.yok.gov.tr İnternet Kaynağı	%3
2	www.acarindex.com İnternet Kaynağı	%1
3	Submitted to Ege Üniversitesi Öğrenci Ödevi	%1
4	Submitted to Anadolu University Öğrenci Ödevi	%1
5	tr.triangleinnovationhub.com İnternet Kaynağı	%1
6	Submitted to The Scientific & Technological Research Council of Turkey (TUBITAK) Öğrenci Ödevi	%1
7	www.bilgiustam.com İnternet Kaynağı	%1
8	polen.itu.edu.tr İnternet Kaynağı	<%1