T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(YÜKSEK LİSANS)

HYPERICUM PAMPHYLICUM ROBSON ET DAVIS TÜRÜNÜN HİPERİSİN MİKTARI VE BİYOLOJİK AKTİVİTE YÖNÜNDEN İNCELENMESİ

ESRA EROĞLU

DANIŞMAN
PROF.DR. AFİFE MAT

FARMAKOGNOZİ ANABİLİM DALI

İSTANBUL-2007

TEZ ONAYI

Aşağıda tanıtımı yapılan tez, jüri tarafından başarılı bulunarak Yülsek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

07 / 08 /2007

Prof.Dr.Emine Kökoğlu
Enstitü Müdürü

Kurum	: İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Program Adı	: Farmakognozi
Programın seviyesi	: Yüksek Lisans ☒ Doktora ☐
Anabilim Dalı	: Farmakognozi Anabilim Dalı
Tez Sahibi	: Esra EROĞLU
Tez Başlığı	: "Hypericum pamphylicum Robson Et Davis Türünün Hiperisin Miktarı ve Biyolojik Aktivite Yönünden İncelenmesi"
Sınav Yeri	: İ.Ü. Eczacılık Fakültesi B Blok Seminer Salonu
Sınav Tarihi	: 30 / 07 / 2007

Tez Sınav Jürisi

Ünvanı Adı Soyadı Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı

1.Prof.Dr. Afife MAT (Danışmanı, İstanbul Ün., Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi A.D.)

2.Prof.Dr. Günay SARIYAR (İstanbul Ün., Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi A.D.)

3.Prof.Dr. Fatma ERGUN (Gazi Ün., Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi A.D.)

4.Prof.Dr. Neriman ÖZHATAY (İstanbul Ün., Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Botanik A.D.)

5.Yard.Doç.Dr. Gülay MELİKOĞLU (İstanbul Ün., Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi A.D.)

BEYAN

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



Esra EROĞLU

“Sevgili anneme ve babama…”

TEŞEKKÜR

Bu tezin hazırlanması için gerekli olanakları sağlayan, bilgi birikimi ve deneyimleriyle yol gösteren Farmakognozi Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Ali H. Meriçli'ye teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans tezimin her aşamasında değerli fikirleri, bilgileri ve deneyimleri ile bana destek olan değerli hocam Sayın Prof. Dr. Afife Mat'a saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar çalışmalarım esnasında desteğini esirgemeyen sevgili hocam Araş.Gör. Dr. Sevda Süzgeç'e çok teşekkür ederim. Bitki örneklerinin toplanmasında yardımcı olan Sayın Doç. Dr. Nüshet Güner, oğlu Ata Güner ve sevgili arkadaşım Tuba Gülyurdu'na, laboratuvar desteği konusunda Recep Karaca ve Habib Erşahin'e teşekkür ederim. Tezimin hazırlanması esnasında bana destek olan Farmakognozi Anabilim Dalı öğretim üyeleri, yardımcıları ve elemanlarına teşekkürlerimi sunarım.

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

YBSK ile ilgili çalışmalarımı laboratuvarında yürütme olanağı sağlayan Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Kemal Hüsnü Can Başer'e, değerli bilgi birikimini ve deneyimlerini benimle paylaşan Sayın Doç. Dr. Müberra Koşar'a teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin antimikrobiyel aktivite çalışmalarını yürütmeme olanak sağlayan Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Gülten Ötük'e ve çalışmalarımda yardımını esirgemeyen Araş.Gör. Dr. Berna Özbek'e teşekkür ederim. Antioksidan aktivite çalışmalarım konusunda laboratuvar desteği sağlayan Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Buket Alpertunga'ya ve yardımlarını esirgemeyen sevgili arkadaşım Araş.Gör. Betül Çatalgöl'e teşekkür ederim. Flavonoit yapı tayini çalışmalarım esnasında laboratuvarlarını kullanmama olanak sağlayan Farmasötik Kimya Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Sumru Özkırımlı'ya, deneyimleriyle bana destek olan değerli arkadaşlarım Araş.Gör. Gökçe Cihan ve Araş.Gör. Elif Gürsoy'a içten teşekkürlerimi sunarım. Çalışmamın bir bölümünde laboratuvar desteği sağlayan Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi emekli Farmakognozi Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Elçin Gürkan'a ve Araş.Gör. Aliye Derya Yılmaz'a teşekkür ederim.

Hep yanımda olan, zor günlerimde desteklerini esirgemeyen can dostlarım Elif ve Mercan'a, yakın arkadaşlarım Gökçe ve Ebru'ya teşekkür ederim. Güler yüzü ve sonsuz anlayışıyla beni motive eden, güvenini her zaman hissettiğim büyük desteğim, güzel insan Koray Özdal Özkan'a sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Beni bugünlere getiren, emek veren, hayatımın her aşamasında maddi ve manevi destek olan canım annem ve canım babama en içten sevgi, saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: T-711/30062005





Hypericum pamphylicum Robson et Davis / Antalya – Alarahan

(Foto: Ecz. Esra EROĞLU)

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR V
İÇİNDEKİLER ..... Vİİ
TABLOLAR LİSTESİ X
ŞEKİLLER LİSTESİ ..... Xİİ
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ ..... Xİİİ
ÖZET ..... XİV
ABSTRACT XV
1. GİRİŞ VE AMAÇ 1
2. GENEL BİLGİLER 4
2.1. Botanik Bölüm 4
2.1.1. Hypericaceae (Guttiferae) Familyası 4
2.1.3. Arthrophyllum Jaub. & Spach. Seksiyonu 5
2.2. Kimyasal Bölüm 6
2.3. Farmakolojik Bölüm 15
2.3.1. Antidepresan Etkisi 16
2.3.2. Antimikrobiyel Etkisi 19
2.3.3. Antioksidan Etkisi 21
2.3.4. Yara İyileştirici Etkisi 22
2.3.5. Antienflamatuar Etkisi 23
2.3.6. Analjezik Etkisi 24
2.3.7. Antikanser Etkisi 24
2.3.8. Sigara Bağımlılığı ve Alkolizm Tedavisine Etkisi 25
2.3.9. Farmakokinetik Özellikleri 26
2.3.10. Yan Etkileri ve Kontrendikasyonları 26
2.3.11. İlaç Etkileşimleri 27
2.3.12. Toksisitesi 28
3. GEREÇ VE YÖNTEM 29
3.1. Materyal 29
3.2. Genel Metotlar 29
3.2.1. Fitokimyasal Ön Denemeler 29

3.2.1.1. Flavon Türevlerinin Aranması 29
3.2.1.2. Antrasen Türevlerinin Aranması 30
3.2.1.3. Saponin Aranması 30
3.2.1.4. Tanen Bileşiklerinin Aranması 30
3.2.1.5. Alkaloit Aranması 31
3.2.2. Miktar Tayini Yöntemleri 31
3.2.2.1. Su Miktar Tayini 31
3.2.2.2. Kül Miktar Tayini 31
3.2.2.3. Total Flavonoit Miktar Tayini 31
3.2.2.4. Kateşik Tanen ve Kateşin Miktar Tayini 32
3.2.3. Flavon Bileşiklerinin Tüketilmesi ve Ayrılması 33
3.2.4. Ayrılan Saf Flavon Bileşiklerinin Tanınması 34
3.2.5. Kromatografik Yöntemler 34
3.2.5.1. İnce Tabaka Kromatografisi (İTK) 34
3.2.5.2. Kağıt Kromatografisi (KK) 35
3.2.6. Sütun Kromatografisi 37
3.2.7. Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi 37
3.2.7.1. Örnek Çözeltilerin Hazırlanması 39
3.2.7.2. Standart Çözeltilerin Hazırlanması 40
3.2.7.3. Ölçü Eğrisi Hazırlanması 40
3.2.7.4. Hesaplamalar 40
3.2.8. Spektroskopik Metotlar 41
3.2.8.1. UV Spektrumu 41
3.2.8.2. IR Spektrumu 42
3.2.9. Antimikrobiyel Etki Araştırması 42
3.2.10. Serbest Radikallerin Süpürücü Etki Araştırması 43
4. BULGULAR 45
4.1. Fitokimyasal Ön Deneme Sonuçları 45
4.2. Miktar Tayinlerinin Sonuçları 46
4.2.1. Su Miktar Tayini Sonuçları 46
4.2.2. Kül Miktar Tayini Sonuçları 46
4.2.3. Total Flavonoit Miktar Tayini Sonuçları 46
4.2.4. Kateşik Tanen ve Kateşin Miktar Tayini Sonuçları 47

4.3. Flavon Bileşiklerinin Tüketilmesi ve Ayrılması 47
4.4. Ayrılan Saf Flavon Bileşiklerinin Tanınması 50
4.5. YBSK ile Hiperisin ve Hiperforin Miktar Tayini Sonuçları 61
4.6. Antimikrobiyel Aktivite Sonuçları 66
4.7. Serbest Radikal Süpürücü Etki Sonuçları 69
5. TARTIŞMA 74
KAYNAKLAR 77
ÖZGEÇMİŞ 84

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: *Hypericum* türlerinden izole edilen maddeler 8
Tablo 2-2: *Hypericum perforatum* bitkisinden izole edilmiş başlıca bileşikler 11
Tablo 3-1: İTK'da aglikonlar için kullanılan çözücü sistemleri 35
Tablo 3-2: İTK'da glikozitler için kullanılan çözücü sistemleri 35
Tablo 3-3: İTK'da şekerler için kullanılan çözücü sistemleri 35
Tablo 3-4: KK'da aglikonlar için kullanılan çözücü sistemleri 36
Tablo 3-5: KK'da glikozitler için kullanılan çözücü sistemleri 36
Tablo 3-6: KK'da şekerler için kullanılan çözücü sistemleri 36
Tablo 3-7: *Hypericum* türleri için YBSK'da kullanılan gradient yöntem 39
Tablo 4-1: Fitokimyasal ön deneme sonuçları 45
Tablo 4-2: Su miktar tayini sonuçları 46
Tablo 4-3: Kül miktar tayini sonuçları 46
Tablo 4-4: Total flavonoit miktar tayini sonuçları 47
Tablo 4-5: Kateşik tanen ve kateşin miktar tayini sonuçları 47
Tablo 4-6: Flavon ekstreleri üzerinde yapılan redüksiyon testi sonuçları 48
Tablo 4-7: HpI bileşiğine ait absorbsiyon bantları 52
Tablo 4-8: HpII bileşiğine ait absorbsiyon bantları 55
Tablo 4-9: HpIII bileşiğine ait absorbsiyon bantları 58
Tablo 4-10: Hiperisine ait konsantrasyon-pik alanı şeması 61
Tablo 4-11: Analizi yapılan örneklerin hiperisin yüzdeleri 65
Tablo 4-12: Meyveli *Hypericum pamphylicum* örneklerinden hazırlanan ekstreler üzerinde yapılan antimikrobiyel aktivite 67
Tablo 4-13: Çiçekli *Hypericum pamphylicum* örneklerinden hazırlanan ekstreler üzerinde yapılan antimikrobiyel aktivite 68
Tablo 4-14: Meyveli ekstre ile DPPH yöntemine göre elde edilen absorbans ve % inhibisyon değerleri 70
Tablo 4-15: Çiçekli ekstre ile DPPH yöntemine göre elde edilen absorbans ve % inhibisyon değerleri 71
Tablo 4-16: Askorbik asit ile DPPH yöntemine göre elde edilen absorbans ve % inhibisyon değerleri 72

Tablo 4-17: Ekstrelerin ve kontrol maddesinin hesaplanan IC_{50} değerleri..... 73

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1: IX no'lu sistemde kloroform ve etil asetat ekstrelerine ait İTK..... 49
Şekil 2: II no'lu sistemde Bant I'e ait İTK..... 49
Şekil 3: IV no'lu sistemde HpIII'e ait İTK..... 50
Şekil 4: VII no'lu sistemde HpII ve HpIII hidrolizi ile lede edilen şeker gruplarına ait İTK..... 50
Şekil 5: Hiperisine ait ölçü eğrisi..... 61
Şekil 6: Hiperisin standartına ait kromatogram..... 62
Şekil 7: Meyveli ekstreye ait kromatogram..... 62
Şekil 8: Çiçekli ekstreye ait kromatogram..... 63
Şekil 9: Hiperforin standartına ait kromatogram..... 65
Şekil 10: Meyveli ekstreye ait kromatogram..... 65
Şekil 11: Çiçekli ekstreye ait kromatogram..... 66
Şekil 12: Antioksidan aktivite tayininde ekstrelerin ve kontrol maddesinin karşılaştırmalı grafiği..... 73

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

A	YBSK kromatogramlarından elde edilen pike ait alan
$A_Ç$	Çiçekli örnekten kloroform ile elde edilen ekstre
A_M	Meyveli örnekten kloroform ile elde edilen ekstre
ATCC	American Type Culture Collection
$B_{Ç1}$	Çiçekli örnekten etil asetat ile elde edilen ekstrenin çöken kısmı
$B_{Ç2}$	Çiçekli örnekten etil asetat ile elde edilen ekstre
B_{M1}	Meyveli örnekten etil asetat ile elde edilen ekstrenin çöken kısmı
B_{M2}	Meyveli örnekten etil asetat ile elde edilen ekstre
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
ESCOP	The European Scientific Cooperative On Phytotherapy
GABA	γ-amino bütirik asit
GGI	Klinik Evrensel İzlenim Skalası
HAMD	Hamilton Depresyon Skalası
HCMV	Human Cytomegalo Virus
HIV	Human Immunodefficiency Virus
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
IR	Infrared
ISTE	İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu
İTK	İnce Tabaka Kromatografisi
KK	Kağıt Kromatografisi
MAO	Monoamin oksidaz
MİK	Minimum İnhibitör Konsantrasyonu
MPO	Myoleperoksidaz
R*f*	Retention factor
SSRI	Selektif Serotonin Reuptake Inhibitörleri
UV	Ultraviyole
YBSK	Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi

ÖZET

Eroğlu, E. (2007). *Hypericum pamphylicum* Robson et Davis Türünün Hiperisin Miktarı ve Biyolojik Aktivite Yönünden İncelenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmakognozi ABD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

Bu çalışmada Antalya-Alarahan'da endemik bir tür olarak yetişen *Hypericum pamphylicum*'un meyveli ve çiçekli örnekleri hiperisin ve hiperforin miktarı, flavonoitleri, antimikrobiyel ve serbest radikal süpürücü etkileri açısından incelenmiştir. Hiperisin ve hiperforin miktar tayini YBSK ile yapılmış, meyveli örneğin % 0,000003, çiçekli örneğin % 0,000016 oranında hiperisin içerdiği saptanmıştır. Meyveli örnekte bulunmadığı belirlenen hiperforinin çiçekli örnekte eser miktarda bulunduğu belirlenmiştir.

İncelenen bitki örneklerinin flavonoitler açısından zengin olduğu görülmüş ana aglikonu olan kersetin ve glikozitlerinden kersetin 3-glikozit elde edilmiş, yapıları aydınlatılmıştır. Kersetin 3-galaktozit varlığı ise kromatografik ve spektroskopik olarak tespit edilmiştir.

Antimikrobiyel etki tayini sonucuna göre meyveli bitki örneklerinin bazı ekstreleri *Salmonella thypi*'ye ve *Shigella flexneri*'ye karşı antimikrobiyel aktivite göstermiştir. Çiçekli bitki örneklerinin neredeyse tüm ekstrelerinin *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella thypi*, *Shigella flexneri*, *Proteus mirabilis*'e karşı antibakteriyel etki gösterdiği belirlenmiştir. Aseton ekstresi haricindeki tüm ekstrelerin ise *Candida albicans*'a karşı antifungal etki gösterdiği saptanmıştır.

Örneklerin askorbik asit ile karşılaştırmalı olarak DPPH metodu ile yapılan serbest radikal süpürücü etki tayini sonucunda etkili olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler : Endemik, *Hypericum pamphylicum*, Hiperisin, Flavonoitler, Antimikrobiyel ve Antioksidan Aktivite.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: T-711/30062005

ABSTRACT

Eroğlu, E. Hypericin content and biological activity of the *Hypericum pamphylicum* Robson et Davis. Istanbul University, Institute of Health Science, Department of Pharmacognosy. MSc. Thesis. Istanbul. 2007.

Among 80 species of *Hypericum* growing widely of Turkey, *H. pamphylicum* Robson et Davis is one of the endemic species collected from Antalya (South of Turkey). Fruiting and flowering samples of *H. pamphylicum* Robson et Davis have been investigated for hypericin and hyperforin quantity, antimicrobial activity, isolation of flavonoids and free radical scavenging capacity.

HPLC (High Performance Liquid Chromatography) was used to determine hypericin and hyperforin content. The fruiting and flowering samples were found to contain 0,000003 % and 0,000016 %, respectively. Hyperforin has not been detected in fruiting samples and was detected in trace amount in flowering samples.

Flavonoids (quercetin, quercetin 3-glucoside, quercetin 3-galactoside) were isolated by paper chromatography and their structures were elucidated by spectroscopic methods (UV, IR).

The following results have been obtained from the antimicrobial activity tests: 1) Some of the fruity samples extracts have shown antibacterial activity against *Salmonella thypi* and *Shigella flexneri,* 2) None of the extracts have shown antifungal activity, 3) Almost all of the flowering extracts have shown antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella thypi*, *Shigella flexneri* and *Proteus mirabilis*, 4) All extracts, except the aceton extract, have shown antifungal activity against *Candida albicans*.

Finally, it is concluded that both of the two plant samples were active in free radical scavenging capacity (DPPH method) assay which was carried comparing with ascorbic acid.

Key Words: Endemic, *Hypericum pamphylicum*, Hypericin, Flavonoids, Antimicrobial and Antioxidant Activity.

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No. T-711/30062005

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Bitkilerin tedavide kullanılışı insanlığın ilk zamanlarında ortaya çıkmış, gözlemler sonucu elde edilen deneyimlerin nesiller boyu kuşaktan kuşağa aktarılmasıyla günümüze kadar gelmiştir. Hayvanların beslenirken kullandıkları bitkilerin gözlemlenmesi zehirli bitkiler konusunda bir fikir oluşturmuş ve bu çerçevede hastalığa göre içgüdüsel olarak seçilen bitkilerin etkileri gözlemlenmiş böylece bitkilerle tedavinin temeli oluşmuştur. Bir süre sonra artan deneyimler, tedavide kullanılan bitkilerin bazı kısımlarını - yaprak, kök, çiçek, meyve, ağaç kabuğu - daha etkili olduğu, bitkinin toplanma mevsimi ve toplanma saatinin aktivitesi üzerinde etkili olduğu gibi bazı bilgiler edinilmesini sağlamıştır (1).

19. yy.'da kimya bilimindeki ilerlemeler sonucu bitkilerdeki etkili bileşikler saf halde elde edilmeye başlanmış, 20. yy.'da sentetik ve yarı sentetik ilaç hammaddeleri bitkisel ilaçların yerini almıştır. Son yıllarda tıbbi bitkilere olan ilginin arttığı ve bunlardan elde edilen aktif bileşikler üzerinde yapılan çalışmaların yoğunlaştığı gözlemlenmektedir. Bunun başlıca nedenlerinden biri tedavi alanına sokulan sentetik bileşiklerin bazılarında görülen tehlikeli yan etkilerdir. Bitkisel droglar uzun yıllardır tedavi alanında kullanıldıklarından yan etkileri iyi bilinmektedir. Sentetik ilaçların yan etkilerinin ise kullanım alanına girdikten sonra zaman içinde ortaya çıkması, bitkisel ilaca olan güveni arttırmıştır. Günümüzde bitkilerin tentürleri, çayları ya da standardize edilmiş ekstreleri pek çok rahatsızlık tedavisinde dahilen veya haricen kullanılmaktadır (2, 3).

Bu bitkiler arasında önemli yeri olan *Hypericum perforatum*, Hypericaceae familyasından çok yıllık bir bitki olup 2000 yıldan daha uzun süredir tedavide kullanılmaktadır. "*Hypericum*" adı yunanca hyper (üstünde) ve eikon (ikon ya da resim) kelimelerinden oluşmaktadır. Eski Yunan ve Roma'da mistik bir gücü olduğuna, kötü ruhlardan ve kötülüklerden koruduğuna dair gelişen inanışlar nedeniyle heykellerin üzerinde motif olarak kullanılmıştır. Tür ismi olan "*perforatum*" ise yaprakları üzerinde

bulunan küçük, yarı saydam glandların oluşturduğu delikli görünüşü tanımlamaktadır (4,5).

Hypericum türleri yeryüzünde yaklaşık 350 tane olup Avrupa, Asya ve Kuzey Afrika'da geniş yayılış gösterir. Türkiye'de yetişen 80 kadar türün 32 tanesi endemiktir. *Hypericum pamphylicum* endemik türler arasında yer almakta ve sadece Antalya-Alarahan bölgesinde yetişmektedir (4, 6). Anadolu'da halk arasında *Hypericum* cinsinin değişik türlerine binbirdelikotu, sarıkantaron, kanotu, kılıçotu, koyunkıran, kuzukıran, mayasılotu, yaraotu gibi bölgelere göre farklılık gösteren yerel adlar verilmiştir (2). Yeryüzünde en yaygın tür olan *Hypericum perforatum* Saint John's Wort adı ile tüm dünyada tanınmaktadır. Saint John'un bitkisi anlamına gelen bu isim bitkinin çiçeklenme döneminin her yıl Saint John's günü olarak kutlanan 24 Haziran'a denk gelmesi nedeniyle verilmiştir (7).

Hypericum perforatum'un antik Yunan ve Roma çağına ait, Hippocrates, Theophrastus, Dioscorides, Galenos gibi hekim ve herbalistlerin eserlerinde yara iyi edici ve diüretik olarak kullanıldığı kayıtlıdır. İsviçreli hekim Paracelsus zamanından günümüze kadar psikiyatrik rahatsızlıkların tedavisinde kullanılan *Hypericum perforatum*, o dönemlerde "arnica the nerves" olarak tanımlanmıştır. Çiçekli toprak üstü kısımlarından hazırlanan tıbbi çaylar ve sulu ekstreler yüzyıllardır nevralji, anksiyete, nevroz ve depresyon tedavisinde kullanılmaktadır. 19. ve 20. yüzyıllarda harici olarak yaralanma ve burkulma tedavisinde kullanımıyla hekim reçetelerine girmiştir. Birçok ulusal farmakope ve Komisyon E monograflarının psikiyatrik ilaçlar bölümünde ampul, tablet, çay, tentür formları yer almaktadır. ABD'de tentürleri, su ve yağ bazlı infüzyonları, standardize kuru ekstrelerinin kapsül ve tablet formları besin takviyesi alanında geniş yer almaktadır (5).

Türkiye'de halk arasında kullanılışı yaygındır. Çiçekli toprak üstü kısımlarından hazırlanan %1'lik infüzyonu dahilen antispazmodik, kabız etkili, kurt düşürücü olarak ve mide rahatsızlıklarında kullanılır. Zeytinyağı içinde 2-3 hafta bekletilmesiyle hazırlanan yağı ise yara ve yanık tedavisinde haricen kullanılır (2).

Hypericum cinsinin en çok bilinen türü olan *Hypericum perforatum* üzerinde yapılan çalışmalar bitkinin insanlarda hafif ve orta şiddetli depresyon tedavisinde etkili olduğunu göstermiştir. Aralık 1984'te Komisyon E, depresyon, anksiyete, sinir sistemi bozuklukları gibi psikovejetatif rahatsızlıklarda dahilen kullanımını onaylamıştır. Bu nedenle Amerika ve Avrupa'da antidepresan olarak yaygın kullanımı olan *Hypericum perforatum* üzerinde son yıllarda yapılan çalışmaların çeşitliliği ve sayısında artış görülmektedir (5).

Kimyasal içeriği naftodiantronlar, açilfloroglusinol türevleri, flavonoitler, biflavonoitler, fenolik asitler, ksantonlar, n-alkanlar, tanenler, uçucu yağlar, steroller ve vitaminler gibi çok sayıda aktif bileşikten oluşmaktadır (4, 5, 7, 8). Antidepresan aktivitenin bitkinin kırmızı renkli naftodiantron yapısındaki pigmenti olan hiperisinden kaynaklandığı düşünülse de son yıllarda yapılan çalışmalar etkiden tek bir bileşiğin sorumlu olmadığını göstermiştir. Büyük oranda açilfloroglusinol yapısındaki hiperforin ve bunun yanında hiperisin, flavonoitler ve biflavonoitlerin sinerjik etkisinin tedaviyi sağladığı saptanmıştır (9-11).

Tüm dünyada *Hypericum perforatum* kullanımının yaygınlaşması, reçete edilme oranının giderek artması *Hypericum* türlerine ilgiyi arttırmıştır. Ülkemizde de yaygın olarak yetişmesi ve halk arasında kullanımının olması, son yıllarda yurtdışından gelen preparatların piyasada hızla yerini alması farklı türler üzerinde kimyasal ve farmakolojik çalışmalar yapılmasına neden olmuştur. Bu çalışmada Türkiye'de yetişen 32 endemik türden biri olan *Hypericum pamphylicum* Robson & Davis türünün farmakolojik değerinin aydınlatılması amaçlanmıştır. Yapılan literatür taramalarında tür üzerinde daha önce yapılmış bir çalışmaya rastlanmamıştır. Antalya-Alarahan'dan meyveli ve çiçekli olarak toplanan bitkinin içerdiği hiperisin ve hiperforin miktarına Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi ile bakılmış, sonuçlar Avrupa Farmakopesi'ndeki standart değerlerle karşılaştırılmıştır. Ayrıca örnekler üzerinde kateşik tanen ve kateşin miktar tayini, flavon miktar tayini ve flavon izolasyonu yapılmış, antimikrobiyel aktivite ve serbest radikal süpürücü etkileri araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Botanik Bölüm

2.1.1. Hypericaceae (Guttiferae) Familyası

Genellikle saydam glandlı ve bu glandlarında uçucu yağ taşıyan, bazen kırmızı veya siyah glandlı ve bu glandlarında hiperisin taşıyan, çalılar veya otsu bitkiler. Yaprakları basit, karşılıklı veya nadiren çevrel. Sepaller 5, tomurcukta imbrikat dizilişli. Petaller 5, serbest, tomurcukta burulmuş. Stamenler demetler halinde veya dağınık görünümde. Ovaryum üst durumlu, plasentasyon aksiler veya parietal. Tohumlar endospermasız (12).

2.1.2. *Hypericum* L. Cinsi

Çiçekler erdişi. Sepaller 5. Petaller 5, genellikle sarı renkli ve kırmızı damarlı, nadiren nektaryumlu uzantıları var. Stamenler çok sayıda, 5'li demetler halinde ve petallerin önünde, demetler serbest veya 4'ü birleşmiş olarak sepallerin önünde 2 adet birleşik demet oluşturmakta, her birinde 3'ten 125 adete kadar stamen bulunur, nadiren verimsiz demetler ile almaşık diziliş gösterir. Ovaryum 3-5 gözlü veya 1 gözlü, her plasenta 2-çok ovüllü. Stiluslar ince, 3-5 adet, serbest. Meyve septisit kapsula, kabuğunda reçine taşıyan keseler (vesicles) veya salgı kanalları içerir (12).

Hypericum cinsinin yeryüzünde 350'ye yakın türü saptanmıştır (4). Türkiye Florası'nda ise 97 takson bulunmaktadır. Bunlardan 42 tanesi endemiktir. *Hypericum* türleri 19 seksiyon altında toplanmıştır. *Hypericum pamphylicum* Robson & Davis 4 tür ile temsil edilen **Arthrophyllum** Jaub. & Spach. seksiyonuna aittir (6, 12-14).

2.1.3. Arthrophyllum Jaub. & Spach. Seksiyonu

Sepalleri ve brakteleri üzerinde nadiren siyah glandlar taşıyan, kayalar üzerinde küme şeklinde yetişen kısa boylu çalılar. Çiçek durumu korimbos simoz veya tek. Petaller ve stamenler kalıcı, stamenler demetler halinde. Stamen demetleri 3. Stiluslar 3. Kapsül valvleri boyuna salgı kanallı. Tohum yüzeyi küçük çıkıntılı (6).

Arthrophyllum Jaub. & Spach. Seksiyonunun İçerdiği Türler:

1) *H. cardiophyllum* Boiss.
2) *H. rupestre* Jaub. & Spach.
3) *H. vacciniifolium* Hayek & Siehe
4) *H. pamphylicum* Robson & Davis

2.1.4. *Hypericum pamphylicum* Robson & Davis

14-25 cm boyunda, kayalıklarda yetişen, dallarının ucu yukarı doğru yükselmiş, yatık gövdeli çalılar. Yaprakları perfolyat, 1,8-3,5 x 1,4-3,5 cm, geniş ovat-oblong ovat, tepesi akut, tabana doğru nadiren daralmış ya da hiç daralmamış, az çok derimsi, her iki yüzü de donuk mavimsi yeşil renkte. Çiçek durumu korimbos, 5-20 çiçekli. Brakteler lanseolat-subulat, 1,5-2 mm, dentikulat, kırmızı glandlı. Sepaller eşit değil, 3-3,5 x 0,7-1 mm, lanseolat-dar oblong, tepesi obtus-yuvarlak, kenarları kırmızı glandlı, dentikulat. Petaller dar oblanseolat, yaklaşık olarak 12 x 3 mm, üzeri saydam linear glandlı. Ovaryum dar ovoit, 3 x 1,5 mm, trisulkat, stilus 10 mm (6). Kapsula 4-6 mm, ovoit, kızılımsı açık kahverengi, yüzeyi boyuna çizgili. Tohum 0,25-0,30 x 1,2-1,5 mm, linear oblong, kızılımsı koyu kahverengi, yüzeyi boyuna küçük çukurlu.

Çiçeklenme zamanı : Mayıs.
Yetişme ortamı : Kireçli kayalıklarda, 100 m yükseklikte.

Endemik:

Türkiye C3 Antalya: Alarahan, Manavgat Alanya arası sahil yolundan 7 km içeride, kalenin altında -100m- kireçli kayaların arasında (6).

2.2. Kimyasal Bölüm

Hypericum türlerinin kimyasal bileşimini aydınlatmak üzere yapılan çalışmalar en yaygın tür olan *Hypericum perforatum* üzerinde yoğunlaşmış olsa da son yıllarda diğer türlere olan ilgi artmış ve çalışmalar çeşitlilik kazanmıştır. Bu araştırmalar artan hızla devam etmekte ve bitkiden değişik yapılarda birçok yeni bileşik izole edilmektedir.

Hypericum perforatum üzerindeki ilk kimyasal çalışma 1830 yılında Buchner tarafından yapılmıştır. Buchner hiperisin bileşiğini bitkiden izole etmiş ve bileşiğe "kırmızı hiperikum" adını vermiştir. Yaklaşık 1 yüzyıl sonra, 1911 yılında Cerny tarafından yapısı aydınlatılan bileşik "hiperisin" olarak yeniden adlandırılmıştır. Hiperisinin kimyasal yapısı doğru olarak ancak 1953 yılında Brockmann tarafından tayin edilmiştir. *H. perforatum*'un kimyasal içeriğindeki diğer bileşiklerin belirlenmesi ve bu bileşikler üzerindeki çalışmalar ise 20. yy. başlarında başlamış ve halen devam etmektedir (4).

Hiperisin ve türevleri *Hypericum* türlerinde sıklıkla rastlanan kırmızı renkli bileşikler olup ön maddeleri emodin-antranol grubu moleküllerdir (4, 5). İlk izole edilen hiperisin türevleri 4, 4' bağını taşımayan protohiperisin ve protopsödohiperisin gibi proto türevi bileşiklerdir. Bu bileşikler ışığın etkisiyle daha stabil olan hiperisin ve psödohiperisine dönüşürler (15). Bitkide psödohiperisinin oksidasyon ürünü olduğu düşünülen siklopsödohiperisin adlı bir bileşiğe de rastlanmıştır (16).

Hiperisin ve türevlerinin dahil olduğu naftodiantronlar grubu solvanların büyük bölümünde çok az çözünürlük gösterirler. Saf hiperisin oda sıcaklığında suda çözünmez. Ancak 60-80°C'de hazırlanan bir infüzyona %40 oranında naftodiantron yapısında madde geçer. Bunun %35'ini psödohiperisin, %5'ini ise hiperisin oluşturur (17).

Hypericum türlerinde en az on farklı madde grubunun biyolojik aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir (4, 5, 7). Bu madde gruplarında yer alan bileşiklerin çeşitlilikleri ve miktarları bitkinin türüne, yetişme ortamına, toplanma zamanına, kurutma ve saklama koşullarına göre değişiklik göstermesine rağmen yapılan çalışmalar sonucu bitki ekstresindeki biyoaktif bileşik oranının %20 civarında olduğu tespit edilmiştir (4).

Hypericum türlerinden izole edilen maddeler Tablo 2-1'de, başlıca bileşiklerin formülleri ise Tablo 2-2'de gösterilmiştir.

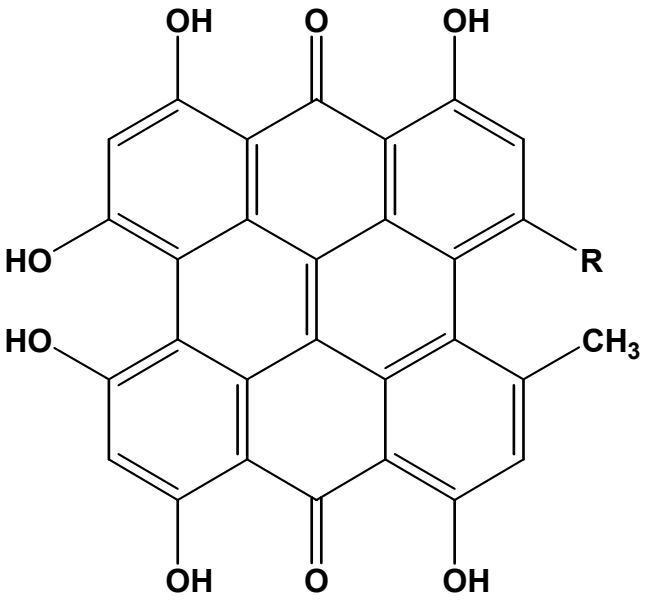
Tablo 2-1: *Hypericum* türlerinden izole edilen maddeler

Kimyasal Grup	Bulunduğu Kısım	Bileşik
Antrakinonlar	Çiçek/dallar	Emodin-antranol
Naftodiantronlar		Hiperisin Psödohiperisin Protohiperisin Protopsödohiperisin Siklopsödohiperisin İsohiperisin
Floroglusinoller	Çiçek/dallar	Hiperforin Adhiperforin Furohiperforin
Flavonoitler	Yaprak, çiçek sapı,dallar	Kersetin Hiperozit Kersitrin İsokersitrin Rutin Kemferol Mirsetin Hiperin Luteolin
Biflavonoitler		I 3' , II 8'' biapigenin (Amentoflavon) I 3 , II 8'' biapigenin

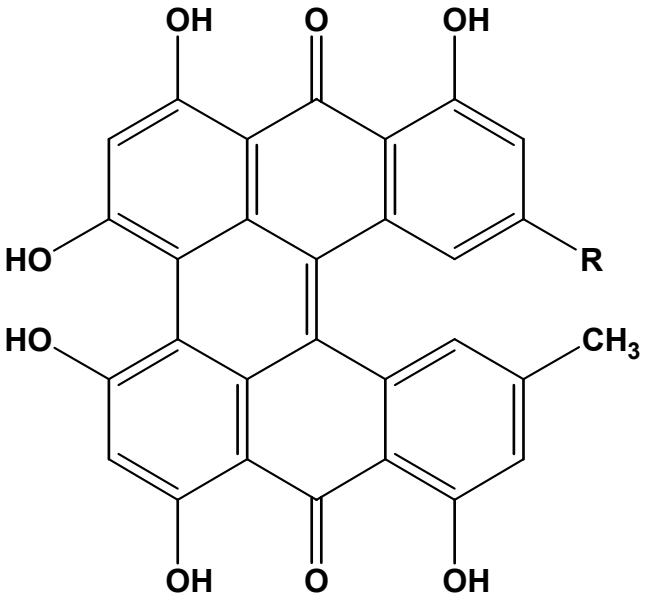
Kimyasal Grup	Bulunduğu Kısım	Bileşik
Proantosiyanidinler	Toprak üstü kısmı, Çiçek/dallar	Prosiyanidin Kateşin Epikateşin polimerleri Lökosiyanidin
Tanenler	Çiçekli topraküstü kısmı	Tannik asit Kateşik tanen
Uçucu Yağlar Monoterpenik bileşikler; Seskiterpen bileşikler;	Çiçek/yaprak	α-pinen β-pinen Metil-2-oktan n-nonan Metil-2-dekan n-undekan α-terpinol Geraniol Mirsen Limonen Karyofilen Humulen
Ksantonlar	Kök, yaprak, gövde	Kielkorin Noratirol 1,3,6,7 tetrahidroksi ksanton

Kimyasal Grup	Bulunduğu Kısım	Bileşik
Aminoasitler	Tüm bitki	GABA Sistein Glutamin Lösin Lizin Ornitin Prolin Treonin
Fenil propanlar	Tüm bitki	Kafeik asit Klorojenik asit p-Kumarik asit Ferulik asit İsoferulik asit Vanillik asit p-Hidroksibenzoik asit Hiperfolin
Diğer bileşikler	Tüm bitki	Organik asitler Peptidler Polisakkaritler Karatenoidler β-Sitosterol Nikotinamit Pektin Doymuş hidrokarbonlar Vitamin A Vitamin C Kolin Alkoller

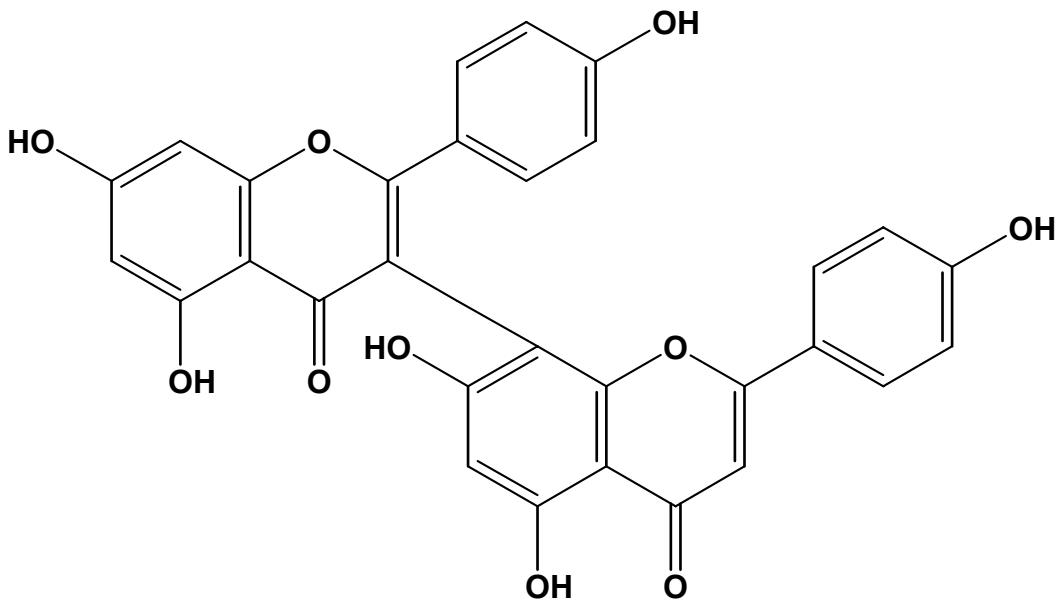
Tablo 2-2: *Hypericum perforatum* bitkisinden izole edilmiş başlıca bileşikler



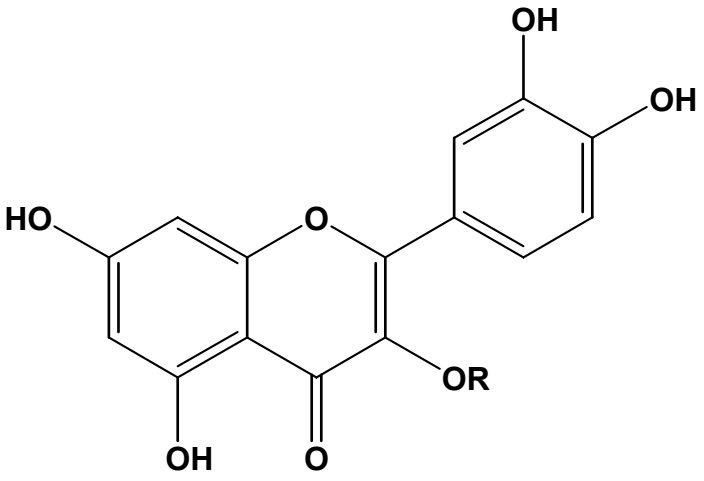
Hiperisin	**R = CH_3**
Psödohiperisin	**R = CH_2OH**



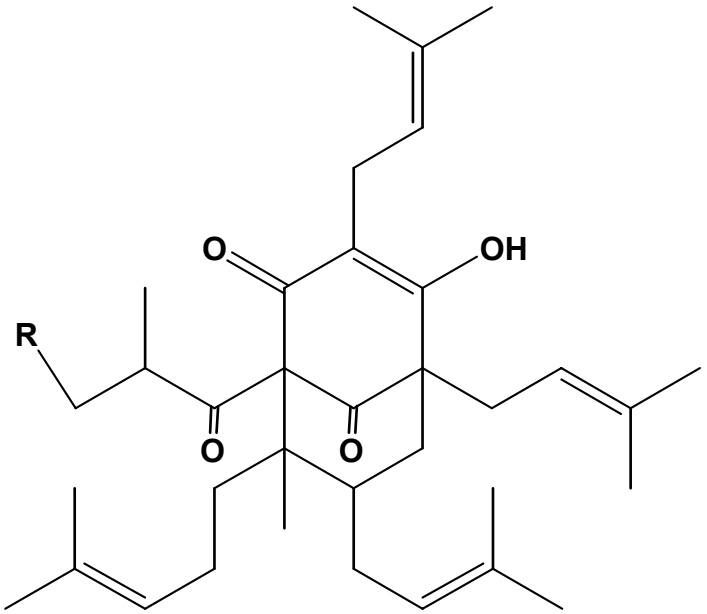
Protohiperisin	**R = CH_3**
Protopsödohiperisin	**R = CH_2OH**



I3', II8- Biapigenin

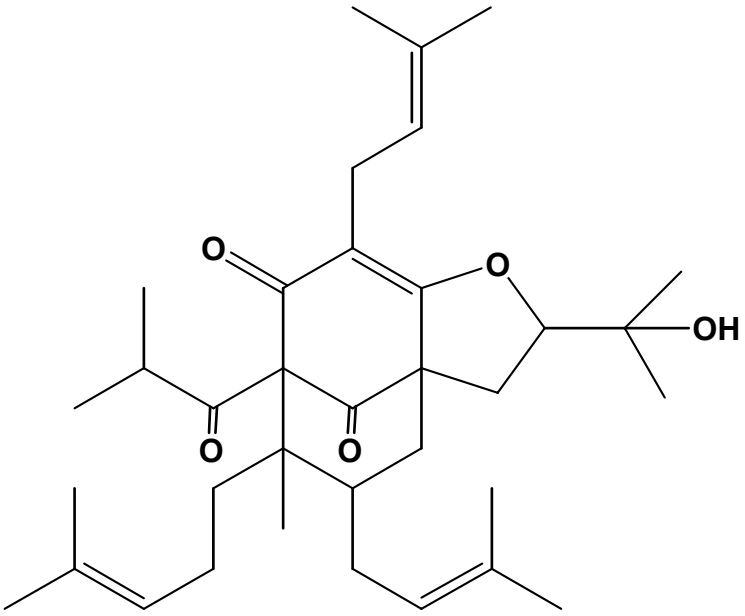


Rutin	**R = Glu-Ra**
Hiperozit	**R = Gal**
İzokersitrin	**R = Glu**
Kersitrin	**R = Ra**
Kersetin	**R = H**

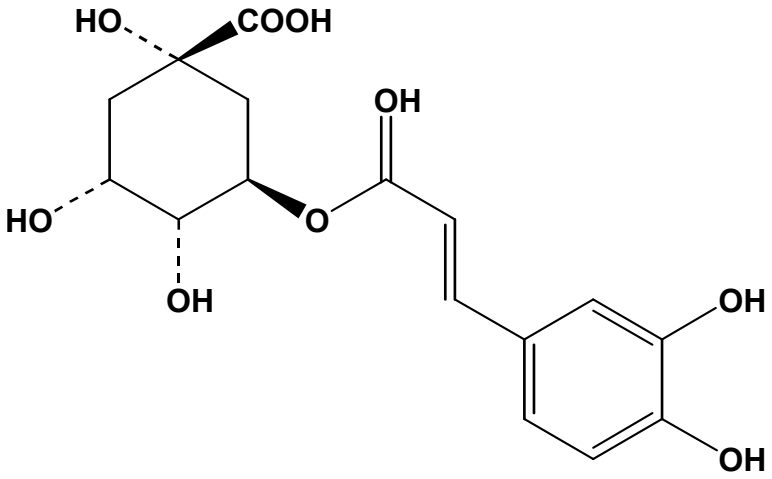


Hiperforin **R = H**

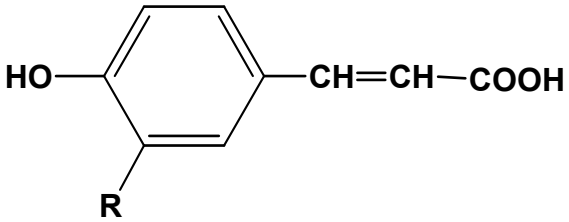
Adhiperforin **R = CH_3**



Furohiperforin



Klorojenik asit



Ferulik asit	**R = OMe**
Kafeik asit	**R = OH**
p-Kumarik asit	**R = H**

2.3. Farmakolojik Bölüm

Hypericum perforatum antik Yunan döneminde Hippocrates (İ.Ö. 460-377), Theophrastus (İ.Ö. 372-287), Dioscorides (1. yy.) ve Galenos (130-200) tarafından yara iyi edici, diüretik ve ruh durumunu düzeltici olarak kullanılmıştır (4, 5). Psikiyatrik hastalıklarda kullanılabileceği ilk olarak Paracelsus (1493-1541) tarafından ortaya konmuştur. Günümüzde standardize ekstreleri hafif ve orta şiddetli depresyon tedavisinde kullanılmaktadır (4, 5, 7, 18).

Türkiye'de halk arasında yaygın olarak tanınan *Hypericum perforatum*'un birçok değişik hastalığın tedavisinde kullanıldığı bilinmektedir. Dahilen %1'lik infüzyonu antispazmodik, kabız etkili, yatıştırıcı, kurt düşürücü, haricen ise yağı antiseptik ve özellikle yanıklarda yara iyi edici olarak kullanılmaktadır. Bu yağı hazırlamak için 100g taze veya kurutulmuş çiçek 250g zeytinyağı içinde ara sıra çalkalanarak 15 gün güneşte bekletilir ya da 100g taze veya kurutulmuş çiçek 1000g zeytinyağı içinde ara sıra çalkalanarak 2 saat su banyosunda tutulur ve pamuktan süzerek kullanılır (2). Bu metotla hazırlanan yağ turuncu kırmızıdan parlak kırmızıya dönen renklerde fluoresans gösterir. Önceleri bu rengin hiperisinden kaynaklandığı düşünülmüş, ancak yapılan çalışmalar sonucu hiperisinin güneş ışığının etkisiyle bozunmaya uğradığı, kırmızı rengin hiperisinin lipofilik bozunma ürünlerinden kaynaklandığı görülmüştür. *Hypericum perforatum*'dan hazırlanan yağın terapötik aktivitesinden sorumlu olduğu düşünülen hiperforinin, güneş ışığı altında bekletilerek hazırlanan yağda 3 ay süreyle stabil kaldığı belirlenmiştir. Sonuç olarak taze hazırlanan yağ içerisinde hiperforin, hiperisinin bozunma ürünleri ve flavonoit glikozitleri bulunduğu saptanmıştır (5, 19).

Tüm dünyada yaygın olarak kullanılan *Hypericum*, Çek Cumhuriyeti, Fransa, Romanya, Rusya farmakopelerinde, İngiliz farmakopesinin 2000 baskısında, Amerikan bitkisel farmakopesinde, İngiliz bitkisel farmakopesinde, Avrupa farmakopesinde, Almanya'da Komisyon E ve ESCOP monograflarında yer almaktadır (5, 20).

Hypericum türlerinin çok çeşitli farmakolojik etkileri bulunmakta ve bu etkiler yapılan araştırmalar ile aydınlatılmaya çalışılmaktadır. Farmakolojik etkileri ve yapılan çalışmalardan bazıları aşağıda özetlenmiştir.

2.3.1. Antidepresan Etkisi

Duygulanım alanındaki bozukluklarla ilgili bir rahatsızlık olan depresyon tarihte ilk kez Hippocrates tarafından belirlenmiş ve beyin maddesinin bir hastalığı olarak tanımlanmıştır. Depresyon isteyerek ve severek yapılan günlük aktivitelere karşı isteksizlik ve hayattan zevk alamama durumudur (21).

Hayat boyu sürme oranı %17 olan hastalığın tedavisinde bazı sorunlarla karşılaşılmakta ve bu nedenle tam sonuç alınamamaktadır. Tanı ve teşhislerde yetersizlik, hastada tedaviye olan inancın düşük olması, yetersiz ya da yanlış tedavi, antidepresan ilaçları kullanmama isteği, ilaçların yan etkileri ve pahalı olmaları hastalığın tedavisini zorlaştırmaktadır. Bu nedenle ilaçların etkili, ucuz ve iyi tolere edilebilir olması istenmektedir (22-24).

Hypericum perforatum bitkisinin psikiyatrik rahatsızlıklarda kullanılabileceğini ilk olarak ortaya koyan Paracelsus'tan sonra, bitki ekstrelerinin hafif ve orta şiddetli depresyon tedavisinde etkili olabileceği düşünülmüş ve konuyla ilgili çok sayıda çalışma yapılmıştır. Hafif depresyon "hastanın depresif belirtiler göstermesine rağmen günlük aktivitelerini gerçekleştirebilecek durumda olması", orta şiddetli depresyon ise "hastanın yoğun depresif belirtiler göstermesi ve günlük aktiviteleri gerçekleştirebilmekte zorluk çekmesi" olarak tanımlanır (4, 25). Depresyonun şiddetini ve tedavi etkisini belirlemek üzere bazı skalalar kullanılmaktadır. Bunlardan Hamilton Depresyon Skalası (HAMD), suçluluk duygusu, ruh hali, uyku bozuklukları, iş aktiviteleri, anksiyete, somatik belirtiler ve intihar düşüncesini ölçen 17-21 sorudan oluşan soru cevap şeklinde bir skaladır. Doktorlar tarafından doldurulan HAMD skalasında 14-20 arası puanlar hafif depresyonu, 21-25 arası puanlar ise orta dereceli depresyonu göstermektedir. Klinik Evrensel İzlenim Skalası (CGI) ise hekim tarafından

doldurulan dereceli bir skaladır. CGI 7 puandan oluşur, skaladaki 1 puanlı skor hastanın çok iyi düzelme gösterdiğini, 7 puanlı skor ise hastanın oldukça kötüleştiğini göstermektedir (26).

Hypericum perforatum ekstresi ile yapılan çalışmalarda, ekstrenin etkileri plasebo veya etkisi kanıtlanmış antidepresan ilaçlarla karşılaştırılmıştır. 3000 hasta üzerinde farklı dozlarda yapılan 10 çalışmada *Hypericum*'un %50 ve %60'lık etanol ekstreleri kullanılmış plaseboya, imipramine ve fluoksetine karşı değerlendirilmiştir. 10 çalışmadan 5'inde *Hypericum* ekstresi plaseboya karşı anlamlı bir üstünlük gösterirken diğer 5'inde imipramin ve fluoksetin kadar iyi olduğu bildirilmiştir (24).

324 hasta ile yapılan bir çalışmada 500mg *Hypericum perforatum* ekstresinin etkisi tam tedavi dozu olarak kullanılan 150mg imipraminin etkisi ile karşılaştırılmıştır. Sonuçlar HAMD ve CGI skalalarına göre değerlendirilmiş, her iki ilacın terapötik etkilerinin aynı olduğu, ancak *Hypericum perforatum* ekstresinin daha iyi tolere edildiği ve daha az yan etki gösterdiği saptanmıştır (27). 240 hasta ile yapılan başka bir çalışmada ise 500mg *Hypericum perforatum* ekstresinin etkisi günlük 20mg fluoksetin ile karşılaştırılmış sonuçlar HAMD ve CGI skalalarına göre değerlendirilmiştir. Sonuç olarak *Hypericum perforatum* ekstresinin hafif depresyon bulgularını gidermedeki etkisinin fluoksetinden daha iyi olduğu antidepresan etkisinin ise fluoksetine eş değer olduğu gözlenmiştir (28).

Hypericum perforatum ekstresinin etkisinin fluoksetinle karşılaştırıldığı başka bir çalışmanın sonucunda, diğer çalışmalardan farklı olarak *Hypericum perforatum* ekstresinin anksiyete semptomlarından rahatsız olan depresyon hastalarında da etki gösterdiği bildirilmiştir (29). 30 hafif ve orta şiddetli depresyon hastasında yapılan diğer bir çalışmada 600-900mg *Hypericum perforatum* ekstresi ile günlük 50-75mg olarak kullanılan sertralin karşılaştırılmış HAMD ve CGI skalalarına göre yapılan değerlendirme sonucunda *Hypericum perforatum* ekstresinin hafif ve orta şiddetli depresyon tedavisinde en az sertralin kadar etkili olduğu gösterilmiştir (30).

Hypericum perforatum ekstresinde antidepresan etkiden sorumlu bileşiğin bulunması üzerine birçok araştırma yapılmasına rağmen halen daha tam olarak aydınlatılamamış ve etki mekanizması da çözümlenememiştir. Etki mekanizması üzerine yürütülen tahminlerden biri, ekstrenin içindeki bazı maddelerin nöroreseptörlere bağlanarak nörotransmitterlerin geri alımını engellediği yönündedir (31-33). Etkiden sorumlu bileşik üzerine ise çok çeşitli fikirler öne sürülmüştür. Önceleri antidepresan etkinin hiperisinden kaynaklandığı düşünülmüş ve ekstreler hiperisine göre standardize edilmiştir. Hiperisinin antidepresan etkiyi MAO_A (monoamin oksidaz-A) ve MAO_B (monoamin oksidaz-B) enzimlerini inhibe ederek sağladığı yönünde çalışmalar yapılmıştır. Ancak bu şekilde etki edebilmesi için çok yüksek dozlar gerektiği ve tedavide kullanılan dozların bunun yanında çok yetersiz kaldığı ortaya konmuştur (34, 35). Son yıllarda hiperisinin antidepresan aktivitesinin düşük olduğu, antidepresan etkiyi sağlayan en önemli bileşiğin hiperforin olduğu saptanmıştır (36-39).

Hiperforin *Hypericum perforatum*'dan 1975 yılında Bystrov ve arkadaşları tarafından izole edilen ve isimlendirilen bisiklik poliprenilat açilfloroglusinol türevi kompleks bir bileşiktir (38). *H. barbatum, H. richeri, H. rumeliacum, H. maculatum, H. tetrapterum, H. hirsutum, H. linarioide ve H. olympicum* üzerinde hiperforin içeriği araştırılmış ancak çok düşük oranlarda hiperforin taşıdıkları saptanmıştır. Buna bağlı olarak *Hypericum perforatum*'un kantitatif majör bileşik olarak hiperforin içeren tek tür olduğu düşünülmektedir (40). *H. perforatum* üzerinde hiperforin konsantrasyonunun en fazla olduğu kısımların çiçek ve meyvalar olduğu yapılan çalışmalar sonucu belirlenmiştir (38). Antidepresan etkiden büyük oranda sorumlu bileşik olan hiperforinin etki mekanizması üzerinde yapılan çalışmalarda sinir hücreleri arasındaki serotonin, dopamin, nöradrenalin, glutamat ve γ-amino bütirik asit (GABA) geri alımını engellediği ve böylece bu nörotransmitterlerin beyindeki konsantrasyonunu arttırdığı görülmüştür (41). Bu etkiyi doğrudan değil dolaylı olarak hücrelerarası Na^+ konsantrasyonunu arttırarak meydana getirdiği saptanmıştır (42). Sentetik antidepresanların nörotransmitterlerle yarışmalı olarak nöroreseptörlere bağlanıp etki gösterdiği göz önüne alındığında hiperforinin yeni nesil bir antidepresan olduğu düşünülebilir.

H. perforatum'da antidepresan etkinin farklı mekanizmasına hiperforinin yanısıra hiperisin ve flavonoitlerin de katkıda bulunduğu tartışılmaktadır (43). 1990 yılına kadar flavonların santral sinir sistemi üzerine herhangi bir etkisi olmadığı düşünülmüş olsa da günümüzde *H. perforatum*'un antidepresan aktivitesi üzerinde rol oynadığı bilinmektedir (10). Biflavonoit olan amentoflavonun $GABA_A$ (γ-aminobütirik asit-A) ve $GABA_B$ (γ-aminobütirik asit-B) reseptörleri üzerinde güçlü inhibitör etkisi antidepresan aktiviteye olan katkısı yönünde bir örnektir (44, 45). Sonuç olarak *Hypericum perforatum* ekstresinde antidepresan aktiviteden tek bir bileşiğin değil ekstre içindeki birkaç bileşiğin sorumlu olduğu düşüncesinde birleşilmiştir (9, 38, 46).

2.3.2. Antimikrobiyel Etkisi

Hypericum perforatum'un eski zamanlardan günümüze kadar kullanım alanlarına bakıldığında antimikrobiyel etkisinin uzun yıllardır bilindiği görülmektedir. Bu konuda yapılan çalışmalardan biri çiçekli ya da meyveli durumdaki bitkinin petrol eteri ve aseton ile hazırlanan ekstrelerinin *Staphylococcus aureus*'a karşı etkili olduğunu göstermiştir (47). Diğer bir çalışmada çiçekli bitkinin petrol eteri, metanol, kloroform ve su ile hazırlanan ekstreleri kullanılmış Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere karşı aktivitesi ölçülmüştür. En yüksek aktivite petrol eteri ekstresinde gözlenirken metanol ve kloroform ekstreleri daha düşük aktivite göstermiştir. Su ile hazırlanan ekstrede ise aktivite görülmemiştir (48).

H. perforatum'un antimikrobiyel aktivitesi dikkate alınarak Rusya'da bitkinin aseton ekstresinden oluşan "Novoimanine" adlı bir preparat üretilmiştir. Aseton ekstresinden etkiden sorumlu bileşik izole edilmiş ve hiperforin olduğu görülmüştür (49, 50). Yapılan araştırmalarda hiperforinin *Staphylococcus aureus* üzerine güçlü antibakteriyel etki gösterdiği, diğer Gram pozitif bakterilere karşı da etkili olduğu, ancak Gram negatif bakterilere ve mantarlara karşı etki göstermediği saptanmıştır (47, 51). Diğer bir çalışmada *H. perforatum*'dan deoksihiperforin, furohiperforin, furoadhiperforin, furohiperforin A, piranohiperforin gibi hiperforin türevi bileşikler izole edilmiş ve Gram pozitiflerden *S. aureus*, *Bacillus subtilis* spor formu, Gram

negatiflerden *Escherichia coli* ve mantarlardan *Candida albicans*'a karşı agar difüzyon metoduyla antibakteriyel aktivitelerine bakılmıştır. Gram negatiflere ve Gram pozitiflerden *B. subtilis* spor formuna karşı hiçbir bileşik etki göstermezken *S. aureus*'a karşı furohiperforin A etki göstermiştir. *C. albicans*'a karşı hiperforinin ve furohiperforinin etkili olmadığı görülmüş, ancak metabolitlerinden piranohiperforinin anlamlı, furohiperforin A'nın ise zayıf etki gösterdiği saptanmıştır (52).

Hypericum perforatum'un antimikrobiyel aktiviteye sahip olması farklı *Hypericum* türleri üzerinde de araştırmalar yapılmasına neden olmuştur. *H. brasiliense, H. scabrum, H. hircinum, H. hookerianum, H. canariense, H. maculatum, H. mysorense* ve *H. patulum*'un ekstrelerine ve bunlardan elde edilen saf bileşiklerin antimikrobiyel aktivitelerine bakılmıştır. Sonuç olarak ekstrelerin çoğunda aktivite gözlenmiş saf bileşiklerde ise ya çok zayıf aktivite görülmüş ya da hiç görülmemiştir (53-59). Yine farklı *Hypericum* türleriyle ilgili bir çalışmada *H. alpinum*, *H. barbatum*, *H. rumeliacum*, *H. maculatum*, *H. perforatum*, *H. hirsutum* uçucu yağlarının antibakteriyel ve antifungal aktivitesine *Bacillus cereus, Micrococcus luteus, Sarcina lutea*, *Staphylococcus aureus*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas tolaasii*, *Salmonella enteritidis*, *Candida albicans*'a karşı bakılmıştır. En yüksek aktivite *H.barbatum*'dan elde edilen uçucu yağda görülmüş*, H. alpinum* ve *H. hirsutum'*un *P. mirabilis*, *P. aeruginosa* ve *C. albicans*'a karşı hiç etkisinin olmadığı saptanmıştır (60).

Türkiye'de yapılan iki ayrı çalışmadan birinde *Hypericum hyssopifolium* ve *Hypericum lysimachioides*'in uçucu yağlarının 9 farklı mikroorganizma üzerinde çok iyi aktivite gösterdiği *Candida albicans*'a karşı ise iyi aktivite gösterdiği sonucuna varılmıştır (61). Diğer çalışmada ise endemik türlerden *Hypericum kazdaghensis*'in aseton, kloroform ve metanol ekstrelerinin *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella thyphimurium* ve *Staphylococcus aureus*'a karşı antibakteriyel aktivitesi gentamisinle karşılaştırılmıştır. *Hypericum kazdaghensis*'in tüm ekstrelerin çok güçlü antibakteriyel etki gösterdiği, ayrıca *Pseudomonas aeruginosa* ve *Bacillus subtilis*'e karşı duyarlı oldukları saptanmıştır (62).

Yine Türkiye'de yapılan bir çalışmada, halk arasında mide rahatsızlıklarında kullanımı olan 7 farklı bitkinin *Helicobacter pylori*'ye karşı gösterdiği antibakteriyel aktiviteye bakılmıştır. İçlerinden *Hypericum perforatum*'un butanol ve kloroform ekstrelerinin yüksek aktivite gösterdiği bildirilmiştir (63).

Hypericum peforatum'un antiviral aktivitesi üzerinde de çalışmalar yapılmaktadır. Bu çalışmalardan birinde *Hypericum perforatum*'un total metanol ekstresi ve fraksiyonlarının gansiklovire karşı Human Cytomegalo Virus (HCMV)'e etkisi araştırılmıştır. Sonuçlara bakıldığında bir fraksiyon hariç tüm fraksiyonların ve total metanol ekstresinin antiviral etki gösterdiği, bir fraksiyonun ise gansiklovirden daha iyi antiviral etkiye sahip olduğu görülmüştür (64). *H. perforatum*'un antiviral etkisi üzerine yapılan çalışmalar *in vitro* koşullarda devam etmektedir. Özellikle Human Immunodefficiency Virus (HIV)'e karşı etkili olabileceği düşünülerek araştırmalar yoğunlaşmıştır (65, 66).

2.3.3. Antioksidan Etkisi

Serbest radikaller bir ya da birden fazla eşleşmemiş elektron taşıyan ve diğer moleküllerden elektron koparma eğiliminde olan atom veya moleküllerdir. Bu tip maddeler ortaklanmamış elektronlarından dolayı reaktif yapıya sahip olduklarından biyolojik sistemde lipid, protein, DNA, karbonhidrat ve enzim gibi önemli unsurlara geri dönüşümsüz zarar verebilirler. Antioksidan özellikteki maddeler peroksit, hidroperoksit veya lipid peroksit gibi serbest radikalleri süpürerek hasara neden olan oksidatif mekanizmayı inhibe ederler. Bu nedenle antioksidan maddeler hastalıklardan korunmada önemli rol üstlenirler. Yapılan araştırmalar antioksidan kullanımının kronik hastalıklara yakalanma olasılığını azalttığını göstermiştir (64, 67-69).

Hypericum perforatum ekstresinin içerdiği rutin, kersetin ve kersitrin gibi flavonoit bileşikleri nedeniyle sıçanlarda antioksidan aktivite gösterdiği saptanmış, kersetinin bu etkiyi beyin lipid peroksidasyonunu inhibe ederek meydana getirdiği açıklanmıştır (7).

Başka bir çalışmada ise *H. triquetrifolium*'un metanol ekstresinden elde edilen 5 farklı maddenin antioksidan aktivitelerine bakılmış ve hiperisinin en düşük (I3, II8) biapigeninin ise en yüksek etkiyi gösterdiği saptanmıştır (71).

H. perforatum'un sahip olduğu antioksidan etki nedeniyle demans hastalarında kullanılabileceği, genelde depresyonla birlikte gelişen demans durumu varlığında depresyon tedavisinde de etkili olan *H. perforatum* kullanımının uygun olduğu düşünülmektedir. *H. perforatum* yan etki profilinin düşük olması ve antioksidan aktiviteye sahip olması nedeniyle yaşlı hastalarda diğer antidepresanlara karşı iyi bir alternatif oluşturmaktadır (70).

Hypericum perforatum esktrelerinin gösterdiği güçlü antioksidan etki nedeniyle farklı *Hypericum* türleri üzerinde farklı metotlarla yapılan çalışmalar devam etmektedir.

2.3.4. Yara İyileştirici Etkisi

Hypericum perforatum'un halk arasındaki geleneksel kullanımları içerisinde yara ve yanık tedavisi de yer almaktadır (72). Bitkinin taze çiçeklerinin zeytinyağı ile güneş ışığında bekletilmesiyle hazırlanan yağın cilt hastalıklarında topikal olarak kullanıldığı ve bu yağın aktivitesinin içerdiği hiperforinden kaynaklandığı bilinmektedir (5, 19).

Konu ile ilgili yapılan çalışmalardan birinde, atopik dermatitte *Hypericum perforatum* ekstresinin etkisine bakılmıştır. %1,5 hiperforin içeren standardize *H. perforatum* ekstresiyle hazırlanan kremin plaseboya karşı aktivitesi değerlendirilmiş plaseboya karşı anlamlı bir üstünlük gösterdiği belirlenmiştir (73). Diğer bir çalışmada *Hypericum* ve *Calendula* bitkilerinden hazırlanan tentürlerin sıçanlar üzerinde yara iyi edici etkisine bakılmış, her iki bitkinin de aktivitesinin yüksek olduğu ancak *Hypericum* tentürünün aktivitesinin *Calendula* tentürüne göre daha iyi olduğu saptanmıştır (74). Farklı bir *Hypericum* türüyle *in vivo* olarak yürütülen bir çalışmada *Hypericum patulum*

bitkisinin yapraklarından hazırlanan metanol esktresi %5 ve %10 oranlarında taşıyıcı merhem içine alınmış standart bir etken madde olan nitrofurazon içeren merhemle karşılaştırılmıştır. %10 oranında ekstre içeren merhem standart ilaç gibi etkisini 4 günde göstermeye başlayıp 18 gün sonunda tam bir iyileşme sağlarken %5 oranında ekstre içeren merhem etkisini 8 gün içinde göstermeye başlayıp 20 günde yaraların tam olarak iyileşmesini sağlamıştır (75).

Halk arasında yaygın kullanımı olan *Hypericum* türlerinin yara iyileştirici etkileri yapılan çalışmalarla da onaylanmış görünmektedir.

2.3.5. Antienflamatuar Etkisi

Enflamasyon, organizmanın zararlı ve yabancı yıkıcı etkilere karşı verdiği, birçok hücre ve mediyatörlerin karıştığı doğal bir savunma mekanizmasıdır. Enflamatuar yanıt, organizmayı korumaya yönelik fizyolojik ve yararlı bir reaksiyon olmasına karşın, bazen enflamasyonun kontrol edilememesi ve başlatan neden ortadan kalktıktan sonra da olayın devam etmesi sürekli bir enflamatuar cevaba ve organizmada hasar meydana gelmesine yol açmaktadır. Enflamatuar reaksiyonlarda, o bölgede salınan mediyatörlerin etkisiyle, kızarıklık, şişlik, ısı artışı, ağrı ve fonksiyonlarda azalma semptomları ortaya çıkmaktadır. Myoleperoksidaz (MPO) enzimi enflamasyonun oluşmasında ve devamında önemli rol oynar. Çoğu ilacın antienflamatuar aktivitesi MPO'un inhibisyonuna bağlanmaktadır. Bu bilgiye dayanılarak *in vitro* koşullarda *Hypericum perforatum, Hypericum empetrifolium* ve *Hypericum triquetrifolium*'a ait metanol ekstrelerinin MPO üzerine etkisine bakılmıştır. Sonuç olarak bu üç bitkinin antienflamatuar aktivitesinin MPO enzim inhibisyonuyla bağlantılı olduğu saptanmıştır (76).

2.3.6. Analjezik Etkisi

Ağrı meydana getiren uyarıların beyindeki ilgili merkeze iletimini durduran ajanlara antinosiseptif adı verilir. *Hypericum* türlerinin antinosiseptif etkisi üzerine yapılan çalışmalar bulunmaktadır. Bunlardan biri İran'da doğal olarak yetişen *Hypericum perforatum*'dan elde edilen metanol ekstresi kullanılarak 3 farklı metotla yapılan analjezik aktivite tayinidir. Sonuç olarak antinosiseptif etki görülmüş ancak etki mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır (77). Benzer bir çalışmada Türkiye'de halk arasında yaygın olarak kullanılan *Hypericum triquetrifolium* türünde antinosiseptif etki görülmüş ancak mekanizması açıklanamamıştır (78). *Hypericum reflexum* ile yapılan daha kapsamlı bir çalışmada bitkinin çiçeklerinin metanol ekstresi hazırlanmış ve sıçanlar üzerindeki analjezik etkisine bakılmıştır. Merkezi ve periferal analjezik aktiviteye sahip olduğu belirlenmiş olmasına rağmen etki mekanizması çözümlenememiştir (79).

2.3.7. Antikanser Etkisi

Kanser tedavisinde yeni bir yaklaşım olarak öne sürülen fotodinamik tedavi kanser hücrelerini öldürmek için ilaç ve belirli tipte lazer ışığı kullanılan bir tedavidir. Tedavinin esası kanser hücrelerinin normal hücrelerden daha fazla ilaç biriktirmesine dayanır. İlaç toplardamardan enjekte edildikten sonra ışıkla karşılaşıncaya kadar aktif değildir. Kanser hücrelerine lazer ışığı gönderildiğinde ilaç aktive olarak hücreleri öldürür. Kanser hücreleri üzerinde öldürücü etki meydana getiren fotodinamik tedavi sağlıklı dokuda küçük bir hasara yol açar. Tedavi, noninvasiv oluşu, yan etkilerinin yok denecek kadar az olması ve uygulanabilirliğinin kolaylığı ile kemoterapi, radyoterapi ve cerrahiye alternatif bir kanser tedavisi yöntemidir. *Hypericum perforatum* ekstresinde bulunan hiperisinin fotosensibilizan yapıda olması fotodinamik tedavide etkili olabileceğini göstermektedir (80). Hiperisin ile farklı kanser hücreleri modellerinde yapılan *in vitro* ve *in vivo* çalışmalar olumlu sonuçlar vermiştir. Ovaryum kanseri tedavisinde sıçanlarda yapılan bir çalışmada etkinliği görülmüş, mesane kanseri tedavisinde yüksek hassasiyet ve spesifiklik gösterdiği belirlenmiştir (81).

Hypericum perforatum ekstresi içerisindeki hiperisin ve hiperforinin prostat kanseri üzerindeki sitotoksik aktivitesine bakılan bir çalışmada ise bitki ekstresinin kanser hücrelerinin büyümesini engellediği ve apoptozise neden olduğu görülmüştür (82). *Hypericum perforatum* ekstresinin malignan tümörlere olan etkisiyle ilgili bir çalışma çok düşük sitotoksik aktivite göstermesiyle sonuçlanmıştır. Değişik tümör hücrelerine karşı etkinliğine yönelik araştırmalar halen devam etmektedir (83).

2.3.8. Sigara Bağımlılığı ve Alkolizm Tedavisine Etkisi

Antidepresan aktiviteye sahip bir bitki olan *Hypericum perforatum* ile antidepresan bir ilaç olan aynı zamanda sigarayı bırakmaya yardımcı olarak kullanılan bupropiyonun etki mekanizmalarının paralel olması *Hypericum perforatum*'un sigara bağımlılığı tedavisinde etkili olabileceğini düşündürmüştür. Sigara bağımlısı hastalar üzerinde plaseboya karşı yürütülen faz II çalışmanın sonucunda elde edilen istatistikler *Hypericum perforatum*'un sigarayı bırakmaya yardımcı olduğunu göstermektedir (84).

Hypericum perforatum'un antidepresan aktivitesini beyindeki serotonin, dopamin ve norepinefrin seviyesini arttırarak ya da santral sinir sistemindeki sigma ve opioid reseptörleri stimüle ederek meydana getirdiği düşünülmektedir. Bu etki mekanizmasına bakılarak bitkinin serotonerjik bileşikler taşıdığı öne sürülmüş, serotonerjik bileşiklerin alkol alımını azalttığı gerçeği doğrultusunda sıçanlar üzerinde çalışmalar yapılmıştır. Yüksek dozda alkol uygulanan sıçanlarda depresyon benzeri etkilerin oluştuğu gözlenmiş antidepresan özellikte ilaç uygulanmasının alkol alımını azaltacağı düşünülmüştür. Antidepresan ilaç olarak *Hypericum perforatum*'un kullanıldığı çalışmada alkol alımının yarıya indiği gözlenmiştir (85-87).

2.3.9. Farmakokinetik Özellikleri

%0.3 oranında hiperisine göre standardize edilen *Hypericum perforatum* ekstresinin tavsiye edilen günlük kullanım dozu 900mg'dır. Ekstrenin biyoyararlanımı %15-20 arasında olup eliminasyon süresi uzundur. Etki birkaç hafta içinde ortaya çıkar, tedavi süresi 4-6 haftadır. Hiperisin maksimum konsantrasyona 4-6 saatte ulaşır, plazma yarılanma ömrü yaklaşık 25 saattir. Beyindeki konsantrasyonu plazma konsantrasyonunun %5'i kadar olan hiperisinin beyin dokusundaki yarılanma ömrü çok uzundur. Tavsiye edilen günlük dozdaki hiperforin miktarı 14.8mg'dır. Hiperforin 150µg/l olan maksimum plazma konsantrasyonunu 3.5 saatte ulaşır. Yarılanma ömrü 9 saat, eliminasyon süresi ise 12 saattir (88-91).

2.3.10. Yan Etkileri ve Kontrendikasyonları

Günlük önerilen dozda alınan *Hypericum perforatum* ekstrelerinin çok ciddi yan etkileri bulunmamaktadır. Işığa duyarlı bir bileşik olan hiperisinden dolayı deride kızarıklık ve kaşıntıyla ortaya çıkan fotosensibilizasyona neden olabilir. Ancak fotosensibilizasyon reaksiyonlarının yüksek dozda kullanım sonucu meydana geldiği belirlenmiştir. Santral sinir sistemi ile ilgili yapılan bir araştırmada *Hypericum perforatum* ile depresyon tedavisi gören 3250 hasta incelenmiştir. Hastaların %0.3'ünde huzursuzluk, %0.4'ünde ise yorgunluk belirtileri rapor edilmiştir. Yine benzer bir çalışmada tedavi başladıktan sonra meydana gelen semptomlar %5 yorgunluk, %6 huzursuzluk ve %7 başağrısı olarak belirlenmiştir (88, 92). 3250 hasta ile yapılan çalışmada hastalara günde 3 defa 300mg *Hypericum* ekstresi verilmiş sonucunda gastrointestinal sistemde oluşan yan etkilere bakılmıştır. Bu çalışmaya göre %0.55 iştahsızlık, %0.55 diyare, %0.55 bulantı ve %0.55 mide ağrısı gözlenirken %3 ağız kuruluğu, %5 de ekstrenin içerdiği tanen nedeniyle konstipasyon şikayetleri belirlenmiştir. Yüksek konsantrasyonlarda alınan *Hypericum perforatum* ekstresinin *in vitro* koşullarda sperm hücreleri ve yumurtalıklarda mutajenik etki gösterdiği üreme hücrelerinde zarara neden olduğu gösterilmiştir (92).

Hypericum ekstresinin hamilelerde ve çocuk emziren annelerde kullanımı önerilmez. Uzun süre kullanımı ile ilgili veri bulunmadığından uzun süreli kullanımı tavsiye edilmez. Antidepresan ilaçlarla birlikte kullanımı kontrendikedir. Majör depresyon durumunda ve intihara eğilimli kişilerde kullanılmamalıdır (88, 92).

2.3.11. İlaç Etkileşimleri

Hypericum perforatum'un monoamin oksidaz (MAO) inhibitörleri ile birlikte kullanımı ile etki artışı ve hipertansif kriz meydana gelebilir. Beta-sempatomimetik aminlerle ve psödoefedrinle birlikte kullanımından benzer etkiler meydana gelebileceği için kaçınılmalıdır. Fluoksetin, paroksetin, sertralin, fluvoksamin ya da sitoplam gibi selektif serotonin reuptake inhibitörleri (SSRI) ile birlikte kullanımında etki artışı ve toksik etki görülebilir. Toksik etki sinir hücreleri arasında aşırı miktarda serotonin birikimi sonucu terleme, titreme, konfüzyon ve ajitasyonla meydana gelen "serotonin sendromu"dur. Ayrıca paroksetin ile birlikte kullanılması sonucunda sedatif/hipnotik sendroma neden olduğu rapor edilmiştir. *Hypericum perforatum* ekstreleri tannik asit taşıdığından dolayı demir emilimini engelleyebilir, bu nedenle demir eksikliğinde kullanılan preparatlarla birlikte kullanılmamalıdır. İçeriğindeki hiperisin nedeniyle tetrasiklin, sülfonamidler, tiazidler, kinolonlar, piroksikam ve diğer fotosensibilizan ajanlarla kullanımı sonucu ciltte güneş yanığı benzeri semptomlar görülebilir (92).

Hypericum perforatum ekstresiyle yapılan *in vitro* çalışmalar, karaciğerde bulunan sitokrom P-450 3A4 izoenzimini redüklediğini göstermiştir. Sitokrom P-450 3A4 enzimi HIV proteaz inhibitörleri, sedasyona neden olmayan antihistaminikler, kalsiyum kanal blokerleri, koenzim-A redüktaz inhibitörleri, benzodiazepinler, östrojenler, makrolit antibiyotikler, siklosporinler, karbamazepin, ketokonazol ve kortizon gibi ilaçların metabolizasyonunu arttırarak plazma konsantrasyonlarının terapötik değerin altında kalmasına neden olmaktadır. *Hypericum perforatum* ekstresinin bu ilaçlarla kullanımı sonucu kandaki ilaç konsantrasyonunda artış görülebilir (93-95).

2.3.12. Toksisitesi

Günlük önerilen dozda kullanılan *Hypericum perforatum* ekstresinin toksisitesi yine günlük önerilen dozlarda kullanılan trisiklik antidepresanlar ve selektif serotonin reuptake inhibitörlerine oranla daha düşüktür. Yüksek dozda kullanımı sonucunda ise antikolinerjik ve kardiyotoksik yan etkilerinin diğer antidepresanlara oranla daha düşük olduğu belirlenmiştir (88).

Hypericum perforatum ekstresi ve trisiklik antidepresan kullanan hastalar üzerinde yapılan bir çalışmada ilaç kullanımından önce ve sonra çekilen elektrokardiyogramlar karşılaştırılmıştır. Trisiklik antidepresan kullanan hastaların sonuçlarında değişim gözlenirken *Hypericum perforatum* ekstresi kullanan hastaların sonuçlarında bir değişim gözlenmemiştir (96).

Hayvanlarda yapılan toksisite çalışmalarında yüksek dozda kullanılan *Hypericum perforatum* ekstresinin karaciğer ve böbrek üzerinde herhangi bir toksik etkisi görülmemiştir. Ayrıca *Hypericum perforatum* ekstresi kullanan 386 hastanın kan testleri, karaciğer fonksiyon testleri ve serum kreatinin düzeylerinde değişime rastlanmamıştır (97).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Hypericum pamphylicum Robson et Davis örnekleri 09.06.2005 tarihinde meyveli (ISTE 83383) olarak ve 15.05.2006 tarihinde çiçekli (ISTE 83903) olarak Antalya – Alarahan, Alarahan kalesi altından toplandı. Oda ısısında gölgede kurutuldu ve değirmende toz edildi.

3.2. Genel Metotlar

3.2.1. Fitokimyasal Ön Denemeler

5g kaba toz edilmiş materyal üzerine 100ml sıcak su konuldu ve karışım 30 dakika sıcak su banyosu üzerinde bekletildi. Soğuduktan sonra pamuktan süzüldü ve bu infüzyonda flavon, alkaloit, antrasen, saponin ve tanen türevleri arandı.

3.2.1.1. Flavon Türevlerinin Aranması

5ml infüzyon üzerine 5ml hidroklorik asitli etanol (Shibata belirteci: 1k derişik hidroklorik asit, 1k su, 1k etanol) ve biraz magnezyum talaşı ilave edildi. Pembe, turuncu veya mor bir rengin meydana gelip gelmediği gözlendi (Shibata reaksiyonu = Siyanidin reaksiyonu).

3.2.1.2. Antrasen Türevlerinin Aranması

10ml infüzyon üzerine 5 damla derişik sülfürik asit konuldu. Karışım 15 dakika sıcak su banyosunda tutuldu ve bu şekilde glikozitler hidroliz edildi. Karışım soğuduktan sonra 5ml toluen ile çalkalandı. Toluenli tabaka pipet yardımıyla başka bir tüpe aktarıldı ve üzerine 3ml %10'luk amonyak çözeltisi ilave edildi. Kırmızı bir rengin meydana gelip gelmediği gözlendi.

3.2.1.3. Saponin Aranması

10ml infüzyon bir deney tüpüne konuldu. Tüp baş parmak ile sıkıca kapatıldıktan sonra yatay olarak 30 saniye kuvvetle çalkalandı ve dinlenmeye bırakıldı. 15 dakika sonra tüpte en az 15cm yükseklikte kalıcı bir köpüğün oluşup oluşmadığı gözlendi.

3.2.1.4. Tanen Bileşiklerinin Aranması

10ml infüzyon üzerine 2ml tuzlu jelatin çözeltisi (sodyum klorür ile doyurulmuş %1'lik jelatin çözeltisi) ilave edildi. Krem rengi bir çökeleğin oluşup oluşmadığı gözlendi.

Gallik ve kateşik tanenin ayrılması: 5ml infüzyon üzerine 3 damla %5'lik $FeCl_3$ çözeltisi ilave edildi. Mavi siyah (gallik tanen) veya esmer zeytin yeşili (kateşik tanen) rengin oluşup oluşmadığı gözlendi.

Gallik ve kateşik tanenlerin birlikte bulundukları durumlarda ayrılması: 10ml infüzyon üzerine 5ml hidroklorik asitli formol (%30 formol 100ml + derişik hidroklorik asit 50ml) konuldu ve karışım 80ºC civarında ısıtılmış su banyosunda 30 dakika tutuldu. Parçalar halinde bir çökelek (kateşik tanen) oluşup oluşmadığı gözlendi. Karışım tamamen soğuduktan sonra berrak olarak süzüldü. Süzüntüden 3ml alınıp sodyum

asetat ilavesiyle doyuruldu. Doymuş çözelti üzerine 3 damla seyreltik $FeCl_3$ çözeltisi ilave edilip mavi-siyah bir rengin (gallik tanen) oluşup oluşmadığı gözlendi.

3.2.1.5. Alkaloit Aranması

5ml infüzyon üzerine %3'lük H_2SO_4 ve 3 damla Mayer reaktifi konuldu. Süt rengi bir çökelek oluşup oluşmadığı gözlendi.

3.2.2. Miktar Tayini Yöntemleri

3.2.2.1. Su Miktar Tayini

Sabit vezne getirilmiş bir cam tartı kabı içine 1g kaba toz halde drog konulup tam olarak tartıldı. 2 saat 100-105ºC'lik etüvde kurutuldu ve bir desikatörde soğutulduktan sonra tartıldı.

3.2.2.2. Kül Miktar Tayini

Sabit ağırlığa getirilmiş bir porselen krözede 1g drog tam olarak tartıldı. Önce alçak ısıda sonra 800ºC'yi geçmeyen bir ısıda 30 dakika yakıldı. Desikatörde soğutulup tartıldı.

3.2.2.3. Total Flavonoit Miktar Tayini

0,3g toz edilmiş drog 100ml'lik bir balon jojeye alındı. Üzerine 0,5ml %0,5'lik metenamin çözeltisi, 30ml aseton ve 1 ml %25'lik HCl çözeltisi ilave edildi. 45 dakika geri çeviren soğutucu altında kaynatıldı. Karışım henüz sıcakken az miktarda pamuktan 50ml'lik bir balon jojeye süzüldü. Soğuduktan sonra asetonla 50ml'ye tamamlandı.

Bu çözeltiden 10ml bir ayırma hunisine alındı. 1 kere 10ml ve 3 kere 5ml etil asetatla çalkalandı. Birleştirilen etil asetat çözeltileri tekrar bir ayırma hunisinde 2 kere 25ml su ile yıkandı. Sonunda 25ml'lik bir balon jojeye alındı ve etil asetatla 25ml'ye tamamlandı.

Bu çözeltiden 5ml alındı, üzerine 0,5ml alüminyum klorür reaktifi ilave edildi ve %5'lik asetik asitli metanol ile 12,5ml'ye tamamlandı (incelenecek çözelti). Aynı şekilde 5ml çözeltiye sadece %5'lik asetik asitli metanol ilave edilerek 12,5ml'ye tamamlandı (şahit çözelti). 30 dakika sonra incelenecek çözeltinin 425 nm'deki absorpsiyonu şahite karşı okundu.

Hesaplama:

$$C = \frac{A \times 10}{500 \times 1} \qquad \% \text{ Flavonoit} = \frac{C \times 100}{0,3}$$

C = 0,3g drogtaki flavonoit miktarı

3.2.2.4. Kateşik Tanen ve Kateşin Miktar Tayini

5g drog 100 ml kaynar su ile 30 dakika su banyosunda bekletilerek infüzyon hazırlandı. Sıcakken balon jojeye süzüldü, soğuduktan sonra distile su ile 100ml'ye tamamlandı. 50ml alındı, üzerine 20ml tuzlu jelatin çözeltisi (NaCl ile doyurulmuş %1'lik jelatin çözeltisi) ilave edildi. Oluşan krem renkli çökelek süzüldü ve süzüntüye 25ml Stiasny Belirteci (Hidroklorik asitli formol - %30 formol 100ml + der. HCl 50ml) konuldu ve karışım 80ºC'de çeker ocak altındaki su banyosunda bekletildi. Parçalar

halindeki çökelek eşit ağırlığa getirilen iki süzgeç kağıdından süzüldü ve etüvde kurutularak tartım farkı alındı. Tartımlar arasındaki fark kateşin miktarını verdi.

Yeniden hazırlanan infüzyonun 50ml'si üzerine sadece 25ml Stiasny Belirteci ilave edildi ve 80ºC'de çeker ocak altındaki su banyosunda 30 dakika bekletildi. Oluşan parçalar halindeki çökelek eşit ağırlığa getirilmiş iki süzgeç kağıdından süzüldü ve etüvde kurutularak tartım farkı alındı. Bu fark infüzyon içerisindeki kateşik tanen ve kateşin total miktarını verdi. Kateşin miktarı bu değerden çıkarılarak kateşik tanen miktarı bulundu.

3.2.3. Flavon Bileşiklerinin Tüketilmesi ve Ayrılması

100g meyveli, 100g çiçekli bitki toz edildikten sonra ayrı ayrı Soxhlet apareyinde önce petrol eteri ile tüketilerek lipofil maddelerden arındırıldı.

Materyal kurutularak çözücüsü uzaklaştırıldı ve Soxhlet apareyinde %96'lık etanolle tüketildi. Alkollü ekstre alçak baskıda hacminin dörtte birine yoğunlaştırıldıktan sonra su ile seyreltildi ve bir ayırma hunisinde sırasıyla toluen, kloroform ve etil asetat ile tüketildi.

Ekstreler susuz Na_2SO_4 ile muamele edilerek içerdikleri sudan kurtarıldı ve alçak baskıda yoğunlaştırıldı. Elde edilen ekstreler kağıt kromatografisiyle çeşitli çözücü sistemlerinde incelendi ve flavon bileşiklerince zengin ekstreler Schleicher&Schuell 3469 tipi kağıtla preparatif olarak izole edildi.

<u>Renk Reaksiyonu (Shibata Reaksiyonu = Siyanidin Reaksiyonu):</u> Flavon yapısında olduğu düşünülen maddenin etanoldeki çözeltisinin 2ml'si üzerine 2 ml hidroklorik asitli etanol (1k der. HCl + 1k su + 1k etanol) ilave edildi. Birkaç parça magnezyum talaşı atıldıktan sonra meydana gelen renkler incelendi. Bu reaksiyon sonunda flavonlar turuncu, flavonoller kırmızı, flavononlar ise mor bir renk verirler.

3.2.4. Ayrılan Saf Flavon Bileşiklerinin Tanınması

İzole edilen saf flavon bileşiklerinin tanınmasında kağıt ve ince tabaka kromatografisi yöntemlerinden geniş ölçüde yararlanıldı. Flavon bileşiklerinin değişik çözücü sistemlerindeki Rf değerleri, UV ışığında ve çeşitli belirteçlerdeki renkleri incelendi.

Maddelerin farklı ortamlarda UV spektrumları alınarak absorbsiyon bantlarındaki kaymaları araştırıldı ve böylece yapıları tayin edilmeye çalışıldı. Yapısı tayin edilen flavon bileşiklerinin bir kez de IR spektrumları alınarak yapıları doğrulandı.

Elde edilen glikozitler asit hidrolize tabi tutuldu, ayrılan aglikon ve şekerler kromatografik ve spektroskopik olarak incelendi.

Flavon glikozitlerinin asit hidrolizi: Glikozit metanolde çözüldü ve üzerine %6'lık HCl çözeltisi ilave edildi. Karışım hidroliz balonuna alındı, kaynar su banyosunda geri çeviren soğutucu altında 6 saat hidroliz edildi. Böylece glikozit yapısı gösterdiği düşünülen flavon bileşikleri asit hidroliz ile aglikon ve şeker fraksiyonlarına ayrıldı. Çözelti soğutulduktan sonra küçük bir ayırma hunisinde eterle tüketildi. Eter fraksiyonunda aglikonların, sulu çözeltide ise şekerlerin varlığı kromatografik olarak saptandı.

3.2.5. Kromatografik Yöntemler

3.2.5.1. İnce Tabaka Kromatografisi (İTK)

Flavonların teşhisi için hazır silikajel plaklar kullanıldı.
(Merck / 25 DC-Alufolien 20x20 cm Kieselgel 60 F_{254})

Flavonoit Teşhisi İçin İTK'da Kullanılan Çözücü Sistemleri ve Oranları:

AGLİKONLAR İÇİN;

Tablo 3-1: İTK'da aglikonlar için kullanılan çözücü sistemleri

No	Çözücü Sistemleri	Çözücü Oranları
I	kloroform : aseton : formik asit	9 : 2 : 1
II	toluen : etil asetat : formik asit	5 : 4 : 1
III	benzen : etanol	8 : 2

GLİKOZİTLER İÇİN;

Tablo 3-2: İTK'da glikozitler için kullanılan çözücü sistemleri

No	Çözücü Sistemleri	Çözücü Oranları
IV	etil asetat : etil metil keton : formik asit : su	5 : 3 : 1 : 1
V	benzen : etanol : formik asit	9 : 7 : 4
VI	benzen : etanol	2 : 1

ŞEKERLER İÇİN;

Tablo 3-3: İTK'da şekerler için kullanılan çözücü sistemleri

No	Çözücü Sistemleri	Çözücü Oranları
VII	n-butanol : izopropanol : su	5 : 3 : 1

3.2.5.2. Kağıt Kromatografisi (KK)

Flavon bileşiklerinin ve şekerlerin tanınması, flavon bileşiklerinin preparatif yoluyla saflaştırılmasında kullanıldı. (Schleicher & Schuell 3469)

Flavonoit Teşhisi İçin KK'da Kullanılan Çözücü Sistemleri ve Oranları:

AGLİKONLAR İÇİN;

Tablo 3-4: KK'da aglikonlar için kullanılan çözücü sistemleri

No	Çözücü Sistemleri	Çözücü Oranları
VIII	n-butanol : asetik asit : su	4 : 1 : 5
IX	asetik asit : su	40 : 60
X	asetik asit : su	60 : 40

GLİKOZİTLER İÇİN;

Tablo 3-5: KK'da glikozitler için kullanılan çözücü sistemleri

No	Çözücü Sistemleri	Çözücü Oranları
VIII	n-butanol : asetik asit : su	4 : 1 : 5
XI	asetik asit : su	15 : 85

ŞEKERLER İÇİN;

Tablo 3-6: KK'da şekerler için kullanılan çözücü sistemleri

No	Çözücü Sistemleri	Çözücü Oranları
VIII	n-butanol : asetik asit : su	4 : 1 : 5

İTK ve KK'da Kullanılan Belirteçler:

Flavon Bileşikleri İçin;

NA Belirteci (Naturstoffreagenz A: Difenil borik asit β-amino etil ester): 100mg NA tozu 100ml saf metanolde çözülerek hazırlandı.

Şekerler İçin;

0,4ml anilin, 2ml fosforik asit, 2g timol bir miktar etanolde çözüldü ve etanolle 150ml'ye tamamlanarak hazırlandı.

Kağıt, belirteç püskürtüldükten sonra 100 ºC'lik etüvde 15 dakika bekletildi.

3.2.6. Sütun Kromatografisi

Sephadeks Sütun: Adsorban olarak Sephadeks LH-20 içeren sütun maddelerin saflaştırılmasında kullanıldı.

3.2.7. Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi

Hiperisin ve Hiperforin'in Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (YBSK) İle Analizi:

Bu çalışmada aynı bölgeden farklı zamanlarda toplanan *Hypericum pamphylicum* Robson & Davis türünün çiçekli toprak üstü ve meyveli toprak üstü kısımlarının içerdiği hiperisin ve hiperforin miktarları YBSK yöntemi ile karşılaştırmalı olarak saptanmıştır.

Hiperisin ve türevleriyle ilgili yapılan çalışmalar incelendiğinde, genellikle karşıt fazlı kromatografik sistemlerde analiz edildikleri görülmüştür (98, 99, 100, 101, 102). Yapılan ön denemeler sonucu analize en uygun çözücülerin metanol, fosforik asit, asetonitril ve su olduğu anlaşılmıştır. Bu denemelerde 0,1mg/ml konsantrasyonundaki hiperisinin metanoldeki çözeltisinden ve 0,1µg/ml konsantrasyonundaki hiperforinin metanoldeki çözeltisinden 10µl kolona uygulanarak uygun sıcaklık, mobil faz bileşimi, hiperisin ve hiperforin alıkonma zamanları belirlendi. Bölüm 3.2.7.1.'de anlatıldığı gibi hazırlanan ekstreler 40ºC'deki Tracer Excel 120 ODSA 5 um (150 x 4,6 mm) (Teknokroma) kolona uygulandı.

Aletin Özellikleri:

YBSK yönteminde DGU – 20AT SHIMADZU aletinden yararlanıldı. Kullanılan aletin özellikleri ve çalışma koşulları aşağıda belirtilmiştir.

Pompa: LC – 20 AT
Enjektör: Hamilton 710 $_{NR}$ - 100µl
Dedektör: SPD – M20A
Kolon: Tracer Excel 120 ODSA 5 um (150 x 4,6 mm) (Teknokroma)

Çalışma Koşulları:

Çözücü:

Mobil Faz A: Fosforik asit / asetonitril (3 : 1000 V/V)
Mobil Faz B: Fosforik asit / su (3:1000 V/V)

Kolon:

Tracer Excel 120 ODSA 5 um (150 x 4,6 mm) (Teknokroma)

Dedektör dalga boyu: Hiperisin için 590nm
Hiperforin için 275nm

Akış hızı: 1ml/dak

Kolon sıcaklığı: 40ºC

Enjeksiyon hacmi: 10µl

Kullanılan çözücüler: Merck HPLC Grade Metanol, Asetonitril, Fosforik asit

Standart maddeler: Hiperisin 1mg (FLUKA – 56690)
Hiperforin 250µg/250µl (SIGMA – H 5160)

Metot:

Aşağıdaki tabloda ayrıntıları verilen gradient yöntemle çalışıldı.

Tablo 3-7: *Hypericum* türleri için YBSK'da kullanılan gradient yöntem

Zaman (dakika)	Mobil Faz A (% v/v)	Mobil Faz B (% v/v)
0 – 8	82	18
8 – 18	82 → 47	18 → 53
18 – 18.1	47 → 3	53 → 97
18.1 – 19	3	97
19 – 29	3	97
29 – 30	3 → 82	97 → 18
30 - 40	82	18

3.2.7.1. Örnek Çözeltilerin Hazırlanması

5g *Hypericum pamphylicum* Robson & Davis türünün çiçekli toprak üstü kısımları, oda sıcaklığında ultrasonik banyoda 100ml metanol ile 30 dakika bekletilerek tüketildi. Metanollü ekstre süzülerek ayrıldı. Kalan materyalin çözücüsü çeker ocak altında tamamen uçurulduktan sonra 100ml aseton ile aynı koşullar altında tekrar tüketildi. Metanol ve aseton ekstreleri birleştirilerek alçak baskıda kuruluğa kadar uçuruldu. Kuru ekstreden 0,1mg/ml konsantrasyonunda çözelti hazırlandı. *H. pamphylicum*'da hiperisin ve hiperforin miktar tayini bu ekstre ile yapıldı.

5g *Hypericum pamphylicum* Robson & Davis türünün meyveli toprak üstü kısımları yukarıdaki yöntemle tüketildikten sonra, kuru ekstreden 0,1mg/ml konsantrasyonunda çözelti hazırlandı, hiperisin ve hiperforin miktar tayini bu ekstre ile yapıldı. Ekstreler enjeksiyon öncesi taze olarak hazırlandı.

3.2.7.2. Standart Çözeltilerin Hazırlanması

1mg hiperisin ultrasonik banyoda metanolde çözündürülerek 10ml'lik bir balon jojeye aktarıldı. 10ml'ye metanol ile tamamlanan bu çözelti stok çözelti olarak kullanıldı. Hiperforin şahiti 1µg/ml'lik konsantrasyonda metanolde çözünmüş olarak geldiğinden direkt stok çözelti olarak kullanıldı.

Hiperisine ait ölçü eğrisi hazırlanırken 0,1mg/ml konsantrasyonunda hiperisin içeren stok çözeltiden 0,01mg/ml, 0,001mg/ml, 0,0001mg/ml konsantrasyonlarında hiperisin içeren standart madde çözeltileri hazırlandı. Metanol ile hacimlerine tamamlanan standart madde çözeltileri kolona uygulandı.

3.2.7.3. Ölçü Eğrisi Hazırlanması

Bölüm 3.2.7.2.'de belirtildiği gibi hazırlanan standart çözeltilerden hiperisin için 590nm'de dedektör ile saptanan piklerin alanları hesaplatıldı. Her çözelti 3 kez çalışıldı. Pik alanlarına karşılık gelen konsantrasyon değerlerinden geçen ölçü eğrisi hazırlandı.

3.2.7.4. Hesaplamalar

<u>Hiperisin yüzdesinin hesaplanması:</u>

$$\% \text{ Hiperisin} = \frac{A_E}{A_S} \times \frac{m_O}{m} \times 100$$

A_E : Örnek çözeltisindeki hiperisin pikine ait alan

A_S : Saf hiperisin pikine ait alan

m_o : Örnek çözeltideki toz edilmiş materyal miktarı (mg)

m : Standart çözeltideki hiperisin miktarı

Standart Sapma ve Bağıl Standart Sapma Değerlerinin Hesaplanması:

$$SD = \frac{\sqrt{\sum \left(A - \overline{A}\right)^2}}{N - 1}$$

$$RSD = \frac{SD}{\overline{A}} \times 100$$

SD: Standart sapma

A: Pik alanı

Ā: Ortalama pik alanı

N: Deney sayısı

RSD: Bağıl standart sapma

3.2.8. Spektroskopik Metotlar

3.2.8.1. UV Spektrumu

SHIMADZU UV-1601 spektrofotometresi kullanıldı. Spektrumlar 1cm'lik kuvartz küvetlerde alındı. Flavon türevlerinin kayma spektrumları aşağıda belirtilen kayma belirteçleri kullanılarak alındı. Alınan spektrumlardaki kaymalar değerlendirilerek yapıları tayin edilmeye çalışıldı.

- Maddenin metanoldeki çözeltisinin spektrumu alındı.
- Metanol üzerine 3 damla NaOMe çözeltisi damlatılarak spektrum alındı. (Bozunma olup olmadığını anlamak için 5 dakika sonra tekrar spektrum alındı.)

- Maddenin metanoldeki çözeltisine 6 damla $AlCl_3$ damlatılarak spektrum alındı.

- $AlCl_3$ içeren çözelti üzerine 3 damla HCl damlatılarak spektrum alındı.

- Maddenin metanoldeki çözeltisine katı NaOAc ilave edilerek çözelti doyuruldu ve spektrum alındı.

- Maddenin NaOAc içeren metanoldeki çözeltisine katı/sıvı H_3BO_3 ilave edilerek spektrum alındı.

3.2.8.2. IR Spektrumu

PERKIN ELMER 1600 FTIR aleti kullanıldı. Maddenin KBr tabletleri ile spektrum alındı.

3.2.9. Antimikrobiyel Etki Araştırması

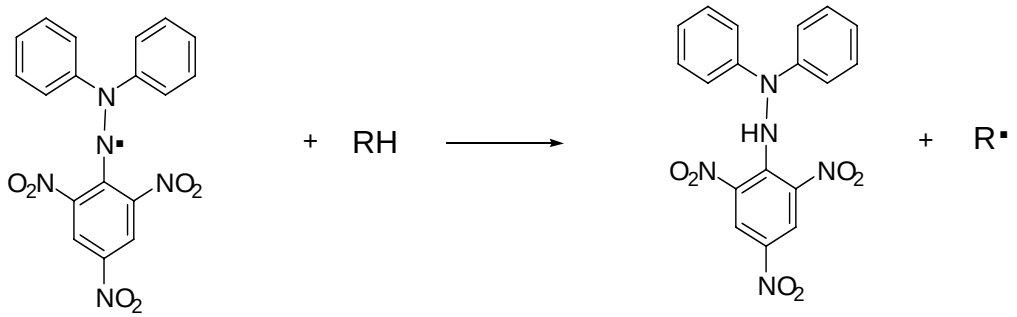
50g *Hypericum pamphylicum* Robson & Davis türünün çiçekli ve meyveli toprak üstü kısımları ayrı ayrı, sırasıyla petrol eteri, eter, kloroform, aseton ve metanol ile Soxhlet apareyinde tüketilerek her biri için 5 çeşit ekstre hazırlandı. Bölüm 3.2.7.1.'de anlatıldığı gibi her iki bitki de ayrı ayrı ultrasonik banyoda önce metanol sonra asetonla tüketildi. Bu şekilde bir bitki için hazırlanan toplam 6 çeşit kuru ekstreden 10'ar mg tartılarak antimikrobiyel aktivite tayini yapıldı.

Antimikrobiyel aktivite testinde Clinical ans Laboratory Standards Institute (CLSI) kriterleri doğrultusunda mikrodilüsyon yöntemi kullanılmıştır (103). Ekstrelerin *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 4352, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 1539, *Salmonella typhi*, *Shigella flexneri*, *Proteus mirabilis* ATCC 14153'e karşı Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MİK) değerleri saptanmıştır. Ekstrelerin *Candida albicans* ATCC 10231'e karşı antifungal aktivitesi ise yine CLSI kriterleri doğrultusunda dilüsyon yöntemiyle saptanmıştır (104). Çalışmada kullanılan bakterilerin inokulumu Mueller-Hinton Broth (Difco, Detroid, USA) besiyerindeki 4-6

h'lik kültüründen $5x10^5$ kob/ml (koloni oluşturan birim), *Candida albicans* ATCC 10231 için ise RPMI-1640 (Sigma) besiyerindeki 24h'lık kültüründen $0,5\text{-}2,5x10^3$ kob/ml olacak şekilde hazırlanmıştır. Ekim yapılmış mikroplaklar bakteriler için 35ºC'de 18-24h, *Candida albicans* ATCC 10231 için ise 35 ºC'de 48h inkübe edilmiştir. Gözle görülür üremenin olmadığı en düşük madde konsantrasyonu MİK değeri olarak belirlenmiştir.

3.2.10. Serbest Radikallerin Süpürücü Etki Araştırması

Maddelerin antioksidan etkilerini ölçmek amacıyla geliştirilen DPPH metodu, stabil bir serbest radikal olan 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) molekülünün yapısında taşıdığı eşleşmemiş elektrona antioksidan özellik taşıyan maddelerin protonlarını vermesi sonucu ortamdaki radikallerin yok edilmesi esasına dayanır. DPPH molekülündeki eşleşmemiş elektron 517 nm'de mor renkli kuvvetli bir absorbsiyon gösterir (105, 106). Bu renk DPPH radikalinin antioksidan maddenin protonunu alarak DPPH-H molekülüne redüklenmesi sonucu sarıya döner.



DPPH DPPH-H

Anabilim Dalımızda denenen değişik metotlar sonucunda T. Kulisic ve arkadaşlarının geliştirdiği hızlı sonuç veren metodun uygun olduğu düşünülmüştür (105). Bu metotta, *Hypericum pamphylicum*'un hem çiçekli hem de meyveli toprak üstü kısımlarından bölüm 3.2.7.1.'de anlatıldığı gibi hazırlanan ekstreler kullanıldı. Farklı konsantrasyonlarda stok çözeltiler (0.015625, 0.03125, 0.0625, 0.125, 0.25, 0.5, 1, 2, 4

mg/ml) hazırlandı. Bu stok çözeltilerin 50 µl'si, metanolde günlük olarak hazırlanmış $6x10^{-5}$ M DPPH çözeltisinden alınan 2 ml solüsyonun üzerine ilave edildi ve kuvvetle çalkalandı. Çalkanan karışım 1 saat süreyle karanlıkta bekletildi. Karışımın karanlıkta bekletilmesinin amacı, Blois'in de belirttiği gibi uygun olmayan ortam şartlarında çabuk bozulan DPPH molekülünün stabilitesini korumaktı (106). SHIMADZU UV-1210 marka spektrofotometre kullanılarak 517 nm'de karışımın absorbansındaki düşme ölçüldü. Metanol spektrofotometrenin sıfırlanması amacıyla kullanıldı. Antioksidan içermeyen DPPH radikalinin absorbansı (kontrol) günlük ölçüldü. Karşılaştırma için bilinen antioksidan askorbik asit kullanıldı. Deneyler üçer defa tekrar edildi. DPPH radikalinin inhibisyon yüzdesi Yen ve Duh (1994) tarafından bildirilen formül yardımıyla hesaplandı (107).

$$\% \text{ inhibisyon} = ((A_{C(0)} - A_{A(t)}) / A_{C(0)}) \times 100$$

$A_{C(0)}$: Kontrolün t = 0 zamanındaki absorbansı

$A_{A(t)}$: Antioksidanın t = 1 saatteki absorbansı

Grafik çizimleri ve IC_{50} değerlerinin hesaplanması GraphPad Prism programı ile yapıldı.

4. BULGULAR

4.1. Fitokimyasal Ön Deneme Sonuçları

09.06.2005 tarihinde meyveli ve 15.05.2006 tarihinde çiçekli olarak Antalya-Alarahan'dan toplanan *Hypericum pamphylicum* bitkisine ait fitokimyasal ön deneme sonuçları aşağıdaki tabloda gösterilmiştir.

Tablo 4-1: Fitokimyasal ön deneme sonuçları

	Fitokimyasal Ön Deneme Sonuçları	
Etken Madde Grubu	***H. pamphylicum* Çiçek**	***H. pamphylicum* Meyve**
Flavon Türevleri	+	+
Antrasen Türevleri	-	-
Saponin	-	-
Alkaloit	-	-
Tanen → **Gallik**	-	-
Tanen → **Kateşik**	+	+

4.2. Miktar Tayinlerinin Sonuçları

4.2.1. Su Miktar Tayini Sonuçları

Su miktar tayini sonuçları aşağıdaki tabloda verilmiştir.

Tablo 4-2: Su miktar tayini sonuçları

Örnek	Su Miktar Tayini Sonuçları (%)
H. pamphylicum **Meyve**	%6,12
H. pamphylicum **Çiçek**	%6,53

4.2.2. Kül Miktar Tayini Sonuçları

Kül miktar tayini sonuçları aşağıdaki tabloda verilmiştir.

Tablo 4-3: Kül miktar tayini sonuçları

Örnek	Kül Miktar Tayini Sonuçları (%)
H. pamphylicum **Meyve**	%7,19
H. pamphylicum **Çiçek**	%6,07

4.2.3. Total Flavonoit Miktar Tayini Sonuçları

Total flavonoit miktar tayini sonuçları aşağıdaki tabloda verilmiştir.

Tablo 4-4: Total flavonoit miktar tayini sonuçları

Örnek	Total Flavonoit Miktar Tayini Sonuçları (%)
H. pamphylicum **Meyve**	% 1.53
H. pamphylicum **Çiçek**	% 2.31

4.2.4. Kateşik Tanen ve Kateşin Miktar Tayini Sonuçları

Kateşik tanen ve kateşin miktar tayini sonuçları aşağıdaki tabloda verilmiştir.

Tablo 4-5: Kateşik tanen ve kateşin miktar tayini sonuçları

Örnek	Kateşik Tanen + Kateşin (%)	Kateşik Tanen (%)	Kateşin (%)
H. pamphylicum **Meyve**	% 3,35	% 1,23	% 2,13
H. pamphylicum **Çiçek**	% 4,60	% 1,68	% 2,93

4.3. Flavon Bileşiklerinin Tüketilmesi ve Ayrılması

Meyveli ve çiçekli örneklerden toz edilen 100g materyal genel metotlar kısmında anlatıldığı gibi önce 800ml petrol eteri sonra da 800ml etanol ile tüketildi. Meyveli ve çiçekli örneklere ait etanollü ekstreler 200ml kalıncaya kadar yoğunlaştrıldı ve üzerine 100ml distile su ilave edildi. Bir ayırma hunisinde önce toluenle tüketildi. Toluenli kısım üzerinde Shibata belirteci ile kontrol yapıldı, ancak flavon varlığı görülmedi. *Hypericum* türlerinde lipofilik flavonların bulunmadığı da göz önüne alınarak toluenli kısım üzerinde daha fazla çalışma yapılmadı. Toluenli kısımdan ayrılan etanollü ekstre ayırma hunisinde kloroform ile tüketildi, alçak baskıda kuruluğa kadar

uçurulduktan sonra meyveli örnekten 2,58g (A_M) ekstre çiçekli örnekten 3,78g ($A_Ç$) ekstre elde edildi. Kloroformlu kısımdan ayrılan etanollü ekstre son olarak etil asetat ile tüketildi ve bu ekstrenin bir kısmı yoğunlaştıktan sonra çöktü, çöken kısım meyveli örnekte 4,52g (B_{M1}) çiçekli örnekte 7,40g ($B_{Ç1}$) olarak tartıldı. Geri kalan kısım alçak baskıda kuruluğa kadar uçuruldu ve meyveli örnekten 2,24g (B_{M2}) çiçekli örnekten 5,68g ($B_{Ç2}$) ekstre elde edildi.

Ekstreler üzerinde yapılan Shibata belirteci ile kontrol sonuçları aşağıdaki tabloda verilmiştir.

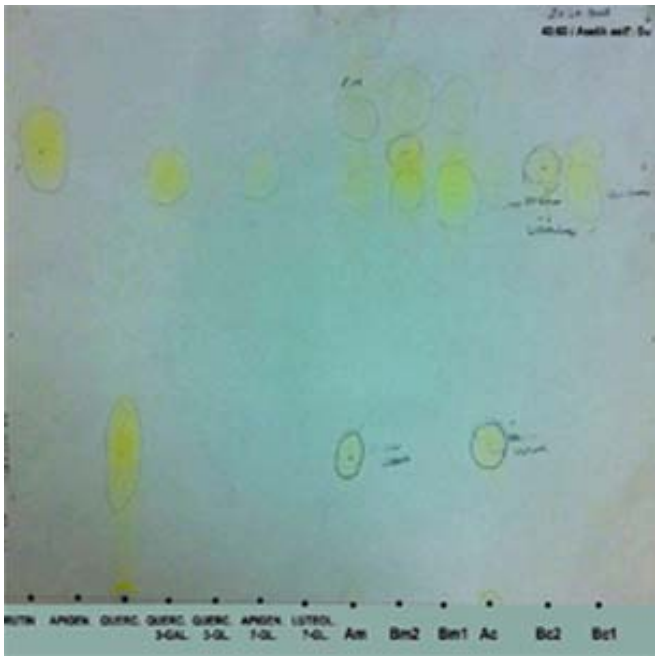
Tablo 4-6: Flavon ekstreleri üzerinde yapılan redüksiyon testi sonuçları

Ekstre	Redüksiyon Testi
Toluenli ekstre (meyveli örnek)	-
Toluenli ekstre (çiçekli örnek)	-
A_M	+
$A_Ç$	+
B_{M1}	+
$B_{Ç1}$	+
B_{M2}	+
$B_{Ç2}$	+

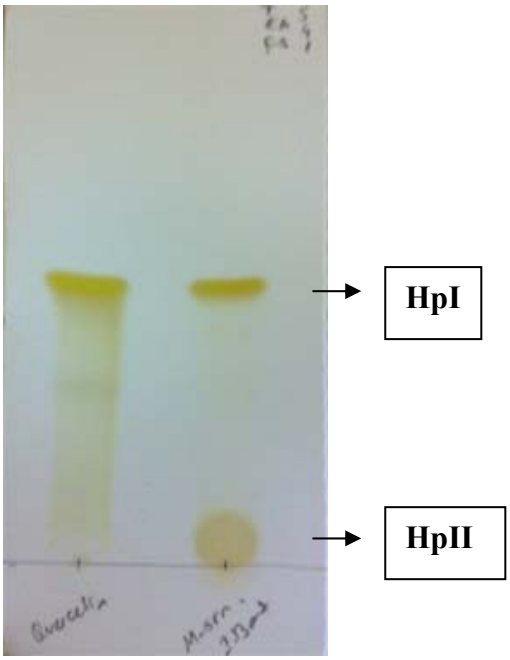
Deneysel bölümde belirtilen farklı İTK ve KK sistemleriyle şahit maddeler varlığında yapılan kontroller sonucunda A_M, $A_Ç$, B_{M1}, $B_{Ç1}$, B_{M2}, $B_{Ç2}$ ekstrelerinin çeşitli flavon bileşikleri taşıdığı belirlendi. UV ışığı altında 254 ve 366 nm'lerde incelenen kağıtlara N/A belirteci püskürtüldü ve renklenme izlendi. A_M ekstresinde kersetin ile aynı R*f*'te belirgin leke veren bileşiğin ana aglikon olduğu düşünüldüğünden, preparatif KK ile elde edilmesi uygun görüldü (Şekil I). Preparatif ayrım için en ideal sistemin IX no'lu çözücü sistemi olduğu yapılan denemeler sonucu belirlendi.

A_M ekstresinin 1g'ı KK ile IX no'lu sistemde preparatif olarak ayrıldı. UV ışık altında Bant I ve Bant II olarak işaretlenen 2 ana bant kesilerek küçük parçalara bölündü, metanol ilavesi ile ultrasonik banyoda 1 saat bekletildi. Alçak baskıda uzaklaştırılan metanol sonrası Bant I'den elde edilen 0,21g (%2,1) (HpI) maddenin saflığı şahite karşı İTK ile II no'lu sistemde kontrol edildi (Şekil II). Temizlemek amacıyla Sefadeksten geçirildikten sonra elde edilen iki bileşikten biri kersetin olduğu düşünülen HpI, diğeri ise yapılan kontroller sonucunda Kersetin 3-glikozit olduğu düşünülen HpII olarak ayrıldı. Saf olarak elde edilen HpI 22mg (%10,48), HpII ise10mg (%4,76) olarak tartıldı. Bant II üzerinde yapılan kontroller sonucunda Kersetin 3-galaktozit (HpIII) varlığı kromatografik olarak tespit edildi ancak saf olarak elde edilemedi.

Şekil 1: IX no'lu sistemde kloroform ve etil asetat ekstrelerine ait İTK



Şekil 2: II no'lu sistemde Bant I'e ait İTK



4.4. Ayrılan Saf Flavon Bileşiklerinin Tanınması

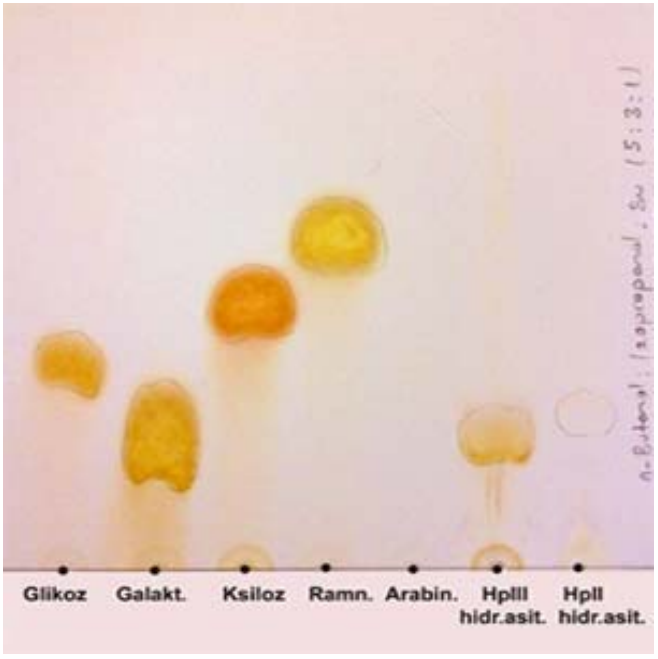
Flavon bileşiklerini saf olarak elde ettikten sonra farklı sistemlerde şahit madde varlığında İTK yapıldı. HpI'in I, II ve III no'lu sistemlerde kersetin ile aynı R*f*'te leke vermesi üzerine farklı ortamlardaki UV spektrumları alınarak absorbsiyon bantlarındaki kaymaları araştırıldı (Spektrum I). HpI'e ait spektrum sonuçları kersetin ile uyum gösterdi ve HpI olarak kodlanan maddenin kersetin olduğu anlaşıldı. IR spektrumu da alınarak yapısı doğrulandı (Spektrum II).

Bant I'den elde edilen ikinci saf madde olan HpII'nin IV, V ve VI no'lu sistemlerde kersetin 3-glikozit ile eşit R*f* değerlerine sahip olduğu görüldü. Aglikon ve şekerinin ayrı ayrı teşhis edilebilmesi için bir kısmı hidroliz edildi. Eterli kısma geçen aglikonu I, II, III no'lu sistemlerde kersetin ile paralel R*f*'te leke verdi. VII no'lu sistemde şahit şekerlerin varlığında yapılan İTK'da ise şeker kısmın glikozit olduğu anlaşıldı (Şekil 3).

Şekil 3: IV no'lu sistemde HpIII'e ait İTK



Şekil 4: VII no'lu sistemde HpII ve HpIII hidrolizi ile elde edilen şeker gruplarına ait İTK



HpII'nin farklı ortamlardaki UV spektrumları alınarak absorbsiyon bantlarındaki kaymaları araştırıldı (Spektrum III). HpII'e ait spektrum sonuçları kersetin 3-glikozit ile uyum gösterdi ve HpII olarak kodlanan maddenin kersetin 3-glikozit olduğu anlaşıldı. IR spektrumu da alınarak yapısı doğrulandı (Spektrum IV).

Bant II şahit maddeler varlığında IV, V, VI no'lu sistemlerde kromatografik olarak incelendiğinde içerisindeki majör bileşiğin kersetin 3-galaktozit olduğu düşünüldü (Şekil 3). Aglikon ve şekerlerine ayırmak amacıyla hidroliz yapıldı. Hidroliz sonucu eterli kısma geçen aglikon I, II, III no'lu sistemlerde kersetin ile paralel R*f*'te leke verdi. Asitli kısımda kalan şekerin ise VII no'lu sistemde galaktozit ile aynı R*f* değerine sahip olması HpIII'ün kersetin 3-galaktozit olduğunu düşündürdü (Şekil 4). HpIII'ün farklı ortamlardaki UV spektrumları alınarak absorbsiyon bantlarındaki kaymaları araştırıldı (Spektrum V). HpIII'e ait spektrum sonuçları kersetin 3-galaktozit ile uyum gösterdi ve HpIII olarak kodlanan maddenin kersetin 3-galaktozit olduğu anlaşıldı. IR spektrumu da alınarak yapısı doğrulandı (Spektrum VI).

HpI Bileşiğinin Tanınması:

Renk reaksiyonları:

Redüksiyon testi: kiraz kırmızısı

$FeCl_3$: yeşil

KOH: sarı

UV ışıkta inceleme: UV (366 nm): sarı

UV/NH_3 (366 nm): sarı

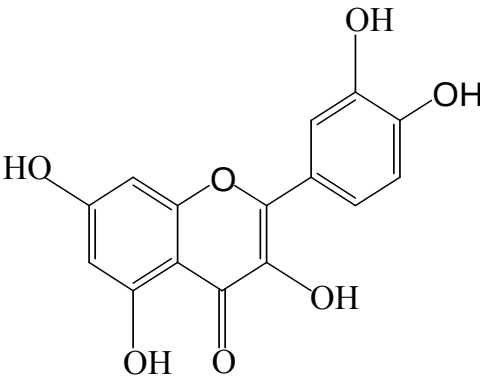
UV/NA (254 nm): turuncu

UV Spektrumu:

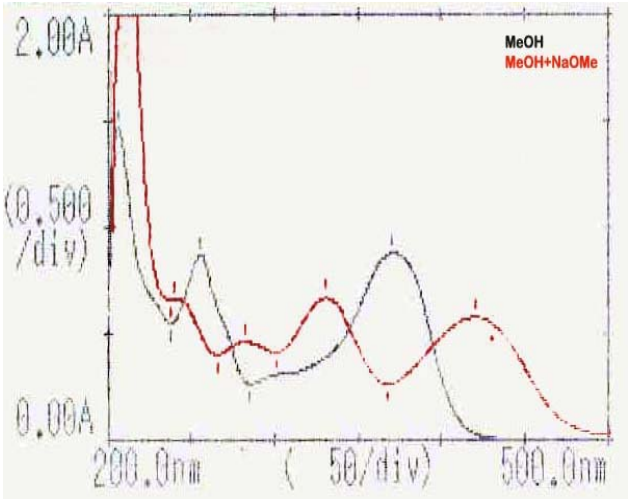
Tablo 4-7: HpI bileşiğine ait absorbsiyon bantları

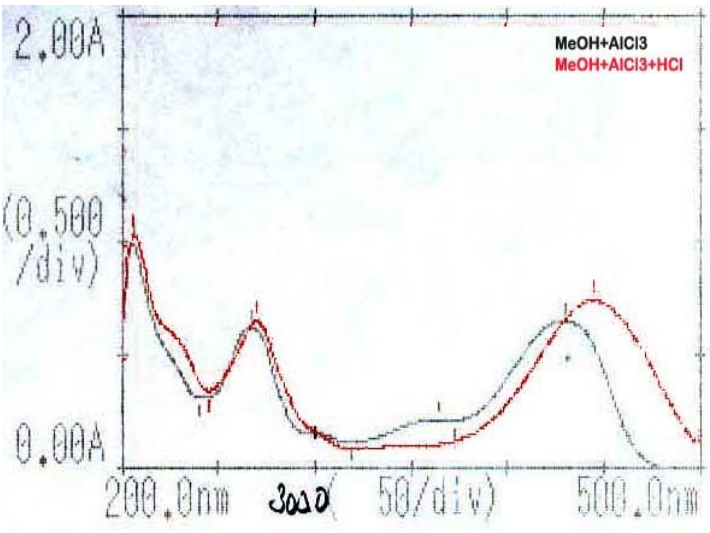
	Bant I (λ_{max}, nm)	**Bant II (λ_{max}, nm)**	**Yorum**
MeOH	371	307 om., 280 om., 256	Flavonol
MeOH+NaOMe	332 (bozunma)	244 om.	3, 3', 4'–OH
MeOH+$AlCl_3$	446, 335	285 om., 271	5-OH
MeOH+$AlCl_3$+HCl	430, 300	300 om., 267	orto-dihidroksi var
MeOH+NaOAc	397 (bozunma), 335	297, 261 om.	7-OH
MeOH+NaOAc+H_3BO_3	376	295 om., 260	orto-dihidroksi var

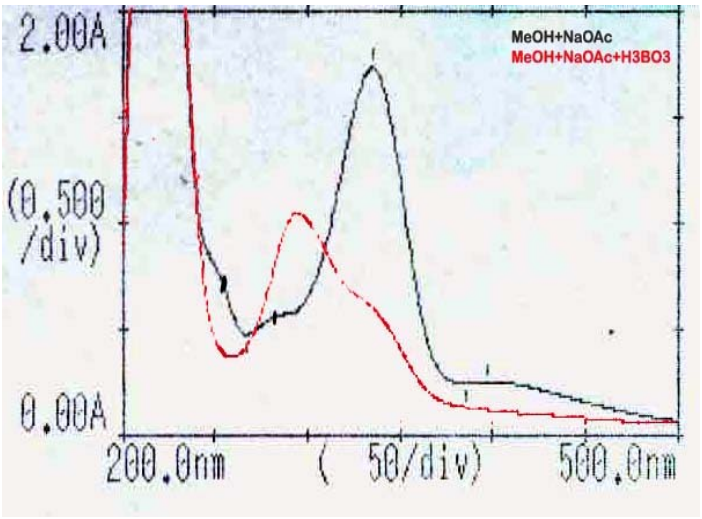
Absorbsiyon bantları kersetin için literatürlerde verilen değerlere uymaktadır (108).



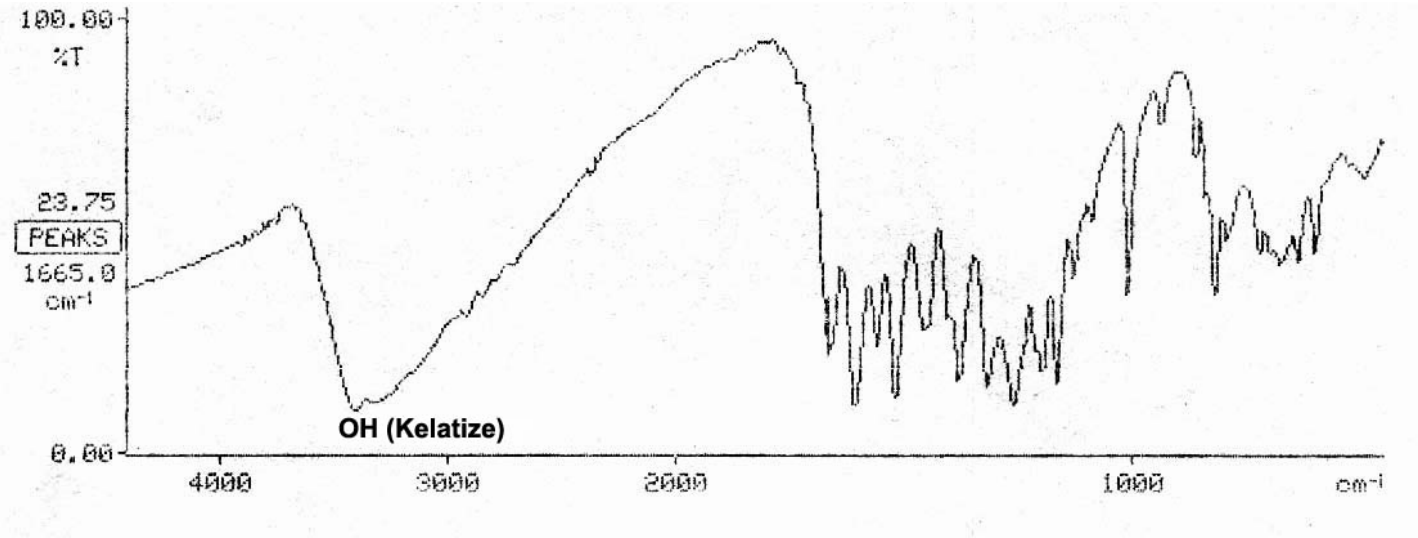
KERSETIN







Spektrum I – Kersetin UV Spektrumu



3400 cm^{-1} → OH (Kelatize)

Spektrum II- Kersetin IR Spektrumu

HpII Bileşiğinin Tanınması:

Renk reaksiyonları:

Redüksiyon testi: Kiraz kırmızısı

$FeCl_3$: yeşil

KOH: sarı

UV ışıkta inceleme: UV (366 nm): mor

UV/NH_3 (366 nm): sarı

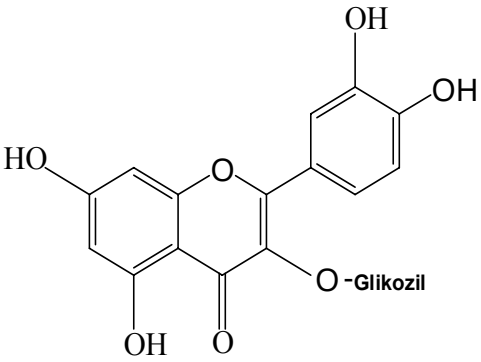
UV/NA (254 nm): turuncu

UV Spektrumu:

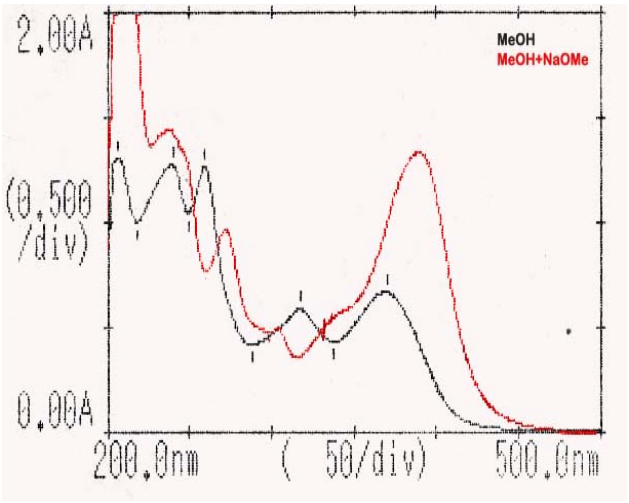
Tablo 4-8: HpII bileşiğine ait absorbsiyon bantları

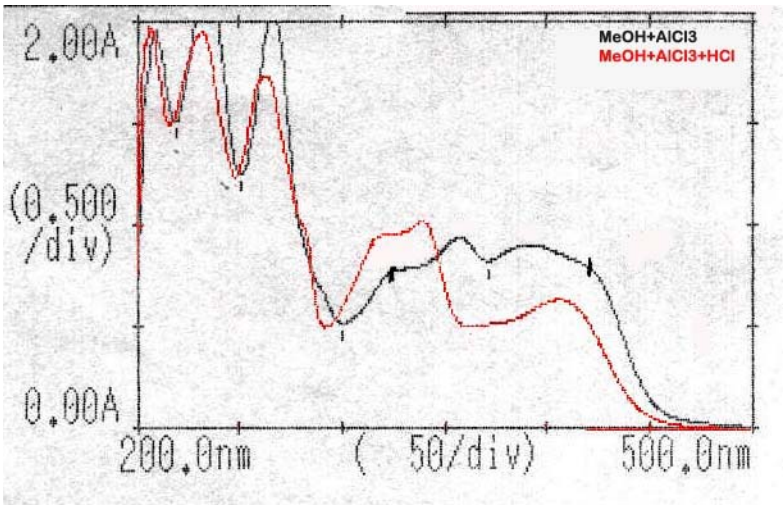
	Bant I (λ_{max}, nm)	**Bant II (λ_{max}, nm)**	**Yorum**
MeOH	370	317, 259 om., 240	Flavonol
MeOH+NaOMe	↑390, 335	272	4'-OH
MeOH+$AlCl_3$	420, 322	305 om., 267	5-OH
MeOH+$AlCl_3$+HCl	406, 339	297 om., 263	orto-dihidroksi var
MeOH+NaOAc	393, 340	271	7-OH
MeOH+NaOAc+H_3BO_3	371	298 om., 263	orto-dihidroksi var

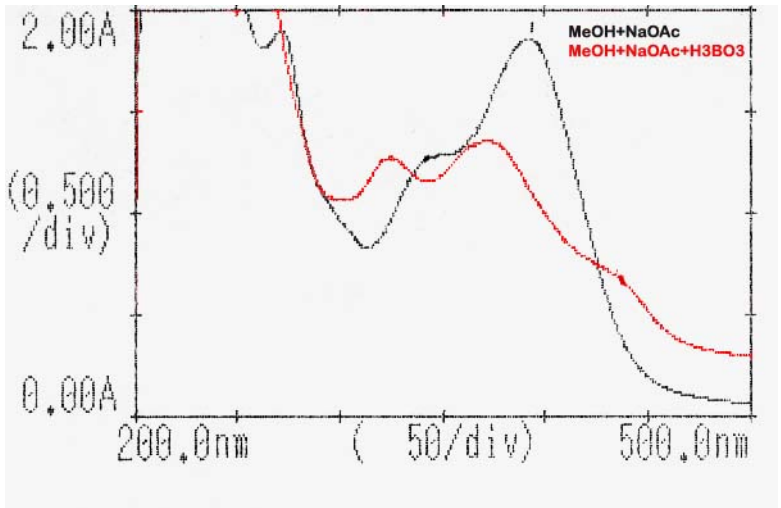
Absorbsiyon bantları kersetin 3-glikozit için literatürlerde verilen değerlere uymaktadır (108).



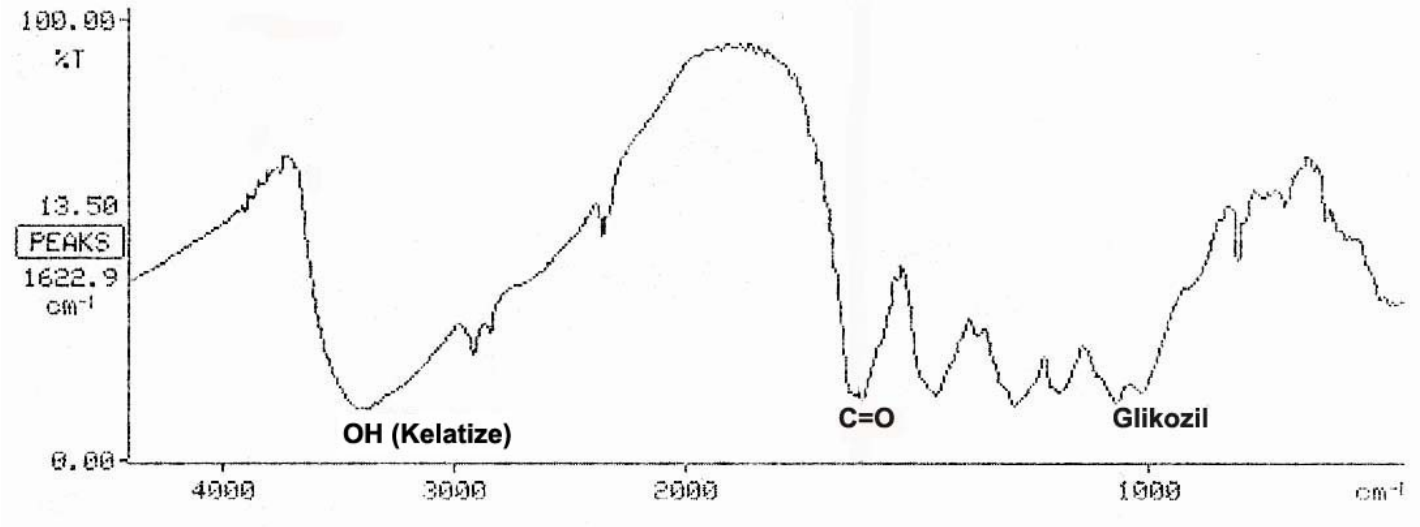
KERSETIN 3-O-Glikozit







Spektrum III – Kersetin 3-glikozit UV Spektrumu



3400 cm^{-1} → OH(Kelatize)

1600 cm^{-1} → C = O

1100 cm^{-1} → Glikozil

Spektrum IV- Kersetin 3-glikozit IR Spektrumu

HpIII Bileşiğinin Tanınması:

Renk reaksiyonları:

Redüksiyon testi: Kiraz kırmızısı

$FeCl_3$: yeşil

KOH: sarı

UV ışıkta inceleme: UV (366 nm): mor

UV/NH_3 (366 nm): sarı

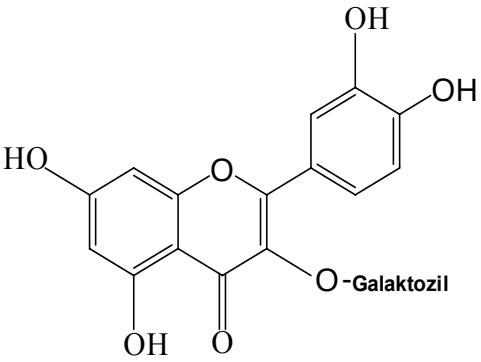
UV/NA (254 nm): turuncu

UV Spektrumu:

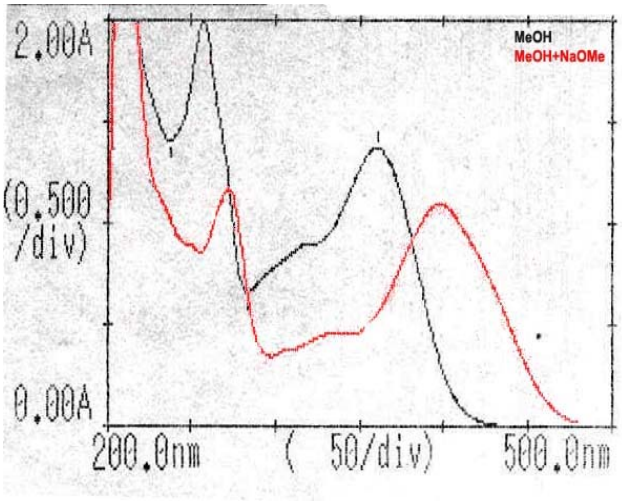
Tablo 4-9: HpIII bileşiğine ait absorbsiyon bantları

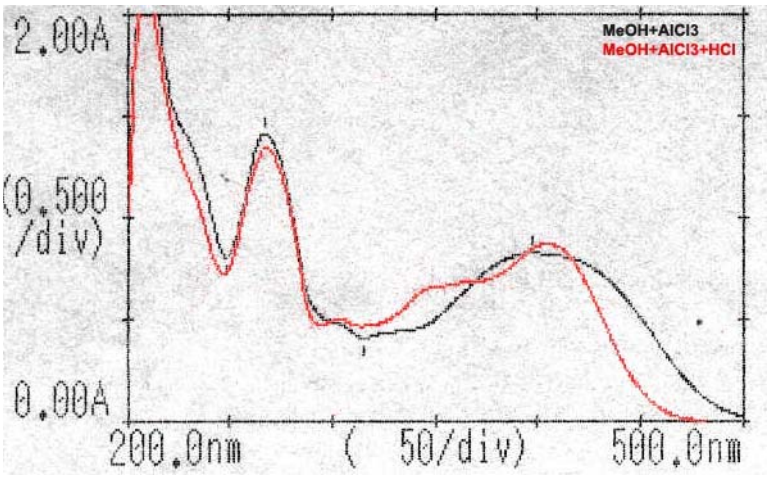
	Bant I (λ_{max}, nm)	**Bant II (λ_{max}, nm)**	**Yorum**
MeOH	361	314, 257 om., 240	Flavonol
MeOH+NaOMe	↑398, 336	272	4'-OH
MeOH+$AlCl_3$	397, 327	305 om., 267	5-OH
MeOH+$AlCl_3$+HCl	405, 332	303 om., 268	orto-dihidroksi var
MeOH+NaOAc	395, 341	271	7-OH
MeOH+NaOAc+H_3BO_3	371	297 om., 262	orto-dihidroksi var

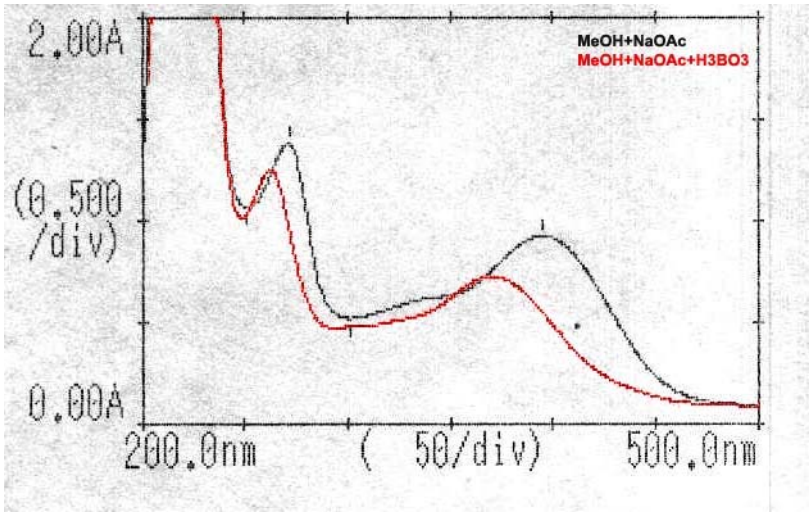
Absorbsiyon bantları kersetin 3-galaktozit için literatürlerde verilen değerlere uymaktadır (108).



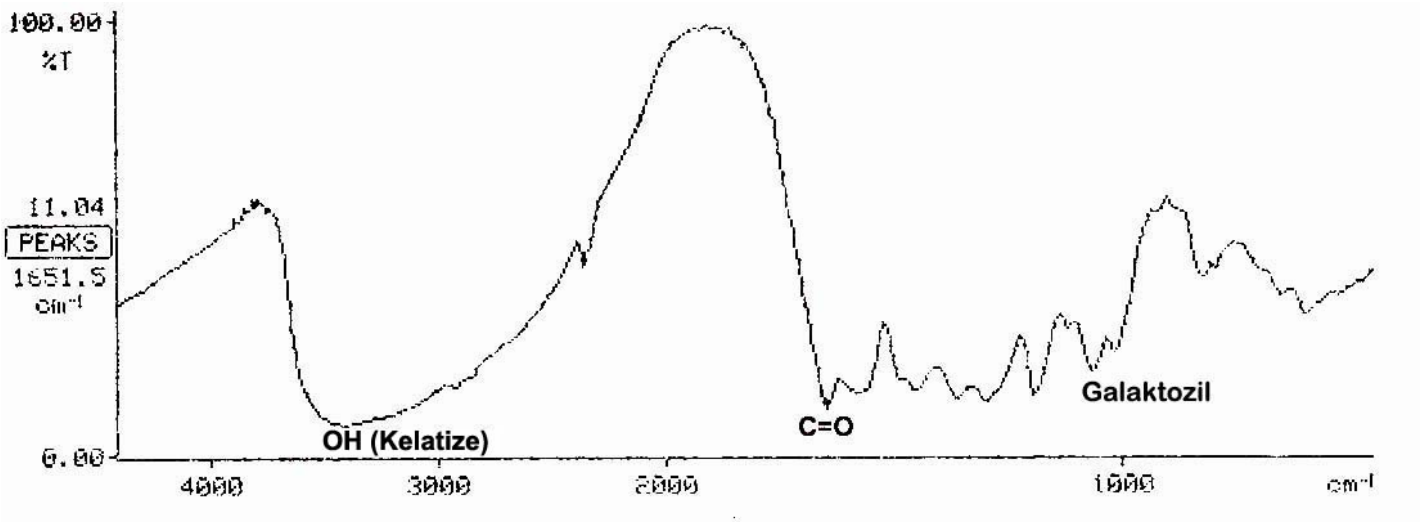
KERSETIN 3-O-Galaktozit







Spektrum V- Kersetin 3-galaktozit UV Spektrumu



3400 cm^{-1} → OH(Kelatize)

1600 cm^{-1} → C = O

1100 cm^{-1} → Galaktozil

Spektrum VI- Kersetin 3-galaktozit IR Spektrumu

4.5. YBSK ile Hiperisin ve Hiperforin Miktar Tayini Sonuçları

YBSK ile Hiperisin Miktar Tayini Sonuçları

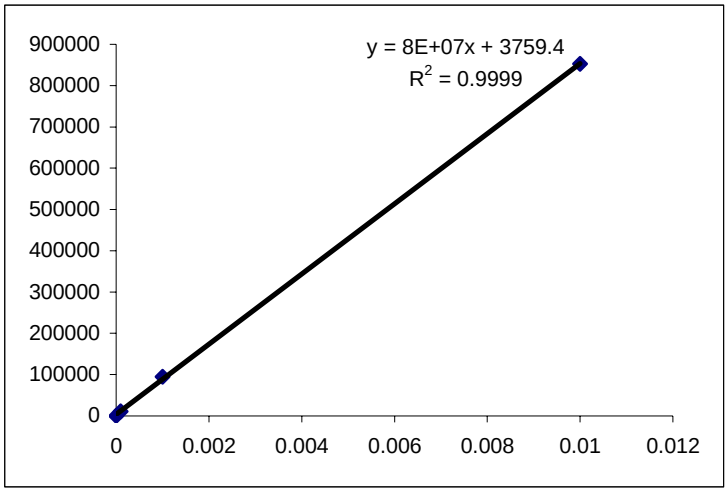
Bölüm 3.2.7.2.'de anlatıldığı gibi hazırlanan hiperisin standartı 3 farklı konsantrasyonda kolona enjekte edildi. Kromatogramların değerlendirilmesinde otomatik olarak YBSK cihazının hesapladığı pik alanı değerleri kullanıldı. Kolona enjekte edilen standart hiperisinin retansiyon zamanı 13.25 dakika olarak belirlendi. Hiperisine ait konsantrasyon ve pik alanı (A) değerleri Tablo 4-10'da gösterilmiştir.

Tablo 4-10: Hiperisine ait konsantrasyon-pik alanı şeması

Konsantrasyon (mg/mL)	Alan
0	0
0.0001	10778
0.001	94532
0.01	852886

Bu değerler esas alınarak hiperisine ait ölçü eğrisi hazırlanmış ve doğru denklemi belirlenmiştir (Şekil5).

Şekil 5: Hiperisine ait ölçü eğrisi



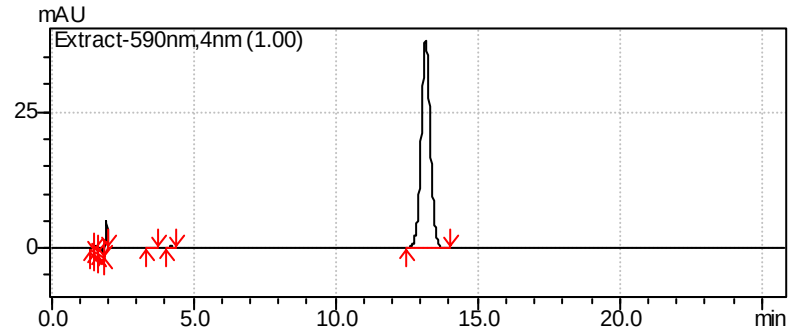
Hesaplanan doğru denklemi:

y= (8*10^7)*x+3759,4

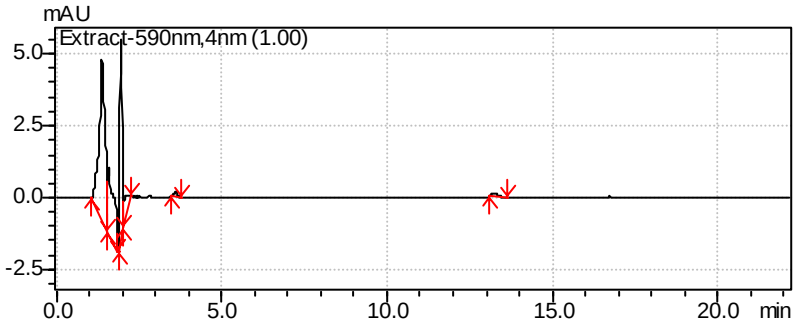
R^2 = 0,9999

Hiperisin standartı ile doğru denklemi belirlendikten sonra Bölüm 3.2.7.1.'de anlatıldığı gibi *Hypericum pamphylicum*'un meyveli ve çiçekli toprak üstü kısımlarından hazırlanan ekstreler kolona enjekte edildi. Elde edilen kromatogramlardan hiperisine ait kromatogram Şekil 6'da, meyveli ekstreye ait kromatogram Şekil 7'de ve çiçekli ekstreye ait kromatogram Şekil 8'de gösterilmiştir.

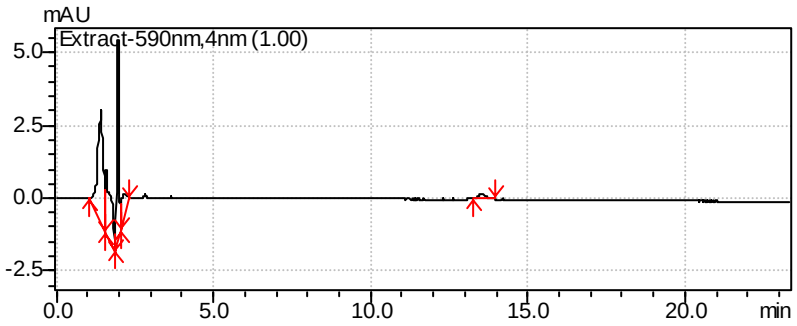
Şekil 6: Hiperisin standartına ait kromatogram



Şekil 7: Meyveli ekstreye ait kromatogram



Şekil 8: Çiçekli ekstreye ait kromatogram



***Hypericum pamphylicum* meyveli ekstresine ait değerler:**

	Konsantrasyon (mg/mL)	**Alan**	**x* (mg/ml)**
Meyveli 1	28,35	4243	0,000006
Meyveli 2	27,2	4058	0,000004
Meyveli 3	28,85	4150,5	0,000005

(*): x = 1 ml enjekte edilen numune içerisindeki hiperisin miktarının mg cinsinden değeridir.

	ekstre verimi (%)	**e* (%)**	**e_{ort} ± SD**
Meyveli 1	19,84	0,000021	
Meyveli 2	22,12	0,000014	0,000017 ± 0,000004
Meyveli 3	17,65	0,000017	

(*): e = Ekstre içerisindeki hiperisin miktarının % değeridir.

	h* (%)	**h_{ort} ± SD**
Meyveli 1	0,000004	
Meyveli 2	0,000003	0,000003 ± 0,000001
Meyveli 3	0,000003	

(*): h = Bitki içerisindeki hiperisin miktarının % değeridir.

***Hypericum pamphylicum* çiçekli ekstresine ait değerler:**

	Konsantrasyon (mg/mL)	**Alan**	**x* (mg/ml)**
Çiçekli 1	28,75	5417	0,000021
Çiçekli 2	28,8	5369	0,000020
Çiçekli 3	29,3	5269	0,000019

(*): x = 1 ml enjekte edilen numune içerisindeki hiperisin miktarının mg cinsinden değeridir.

	ekstre verimi (%)	**e* (%)**	**e_{ort} ± SD**
Çiçekli 1	22,6	0,000072	
Çiçekli 2	23,84	0,000070	0,000070 ± 0,000004
Çiçekli 3	23,52	0,000064	

(*): e = Ekstre içerisindeki hiperisin miktarının % değeridir.

	h* (%)	**h_{ort} ± SD**
Çiçekli 1	0,000016	
Çiçekli 2	0,000017	0,000016 ± 0,000001
Çiçekli 3	0,000015	

(*): h = Bitki içerisindeki hiperisin miktarının % değeridir.

Hypericum pamphylicum Robson & Davis türünün meyveli toprak üstü kısmı ve çiçekli toprak üstü kısımlarının metanollü ekstreleri ile yapılan analizler sonucunda ölçü eğrisi yardımı ile Bölüm 3.2.7.4.'te belirtildiği gibi hesaplanan hiperisin yüzdeleri Tablo 4-11'de verilmiştir.

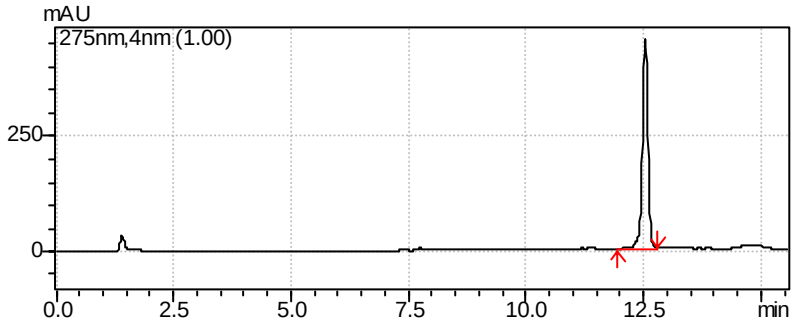
Tablo 4-11: Analizi yapılan örneklerin hiperisin yüzdeleri

	% Hiperisin
***Hypericum pamphylicum* meyveli**	0,000003
***Hypericum pamphylicum* çiçekli**	0,000016

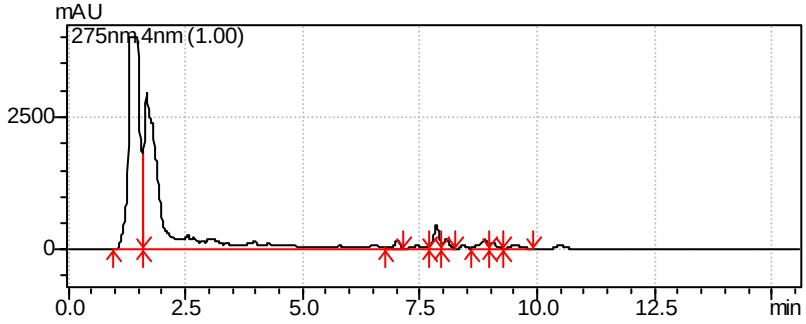
YBSK ile Hiperforin Miktar Tayini Sonuçları

Hiperforin standartı ile Bölüm 3.7.2.1.'de anlatıldığı gibi *Hypericum pamphylicum*'un meyveli ve çiçekli toprak üstü kısımlarından hazırlanan ekstreler kolona enjekte edildi. Elde edilen kromatogramlardan hiperforine ait kromatogram Şekil 9'da, meyveli ekstreye ait kromatogram Şekil 10'da ve çiçekli ekstreye ait kromatogram Şekil 11'de gösterilmiştir.

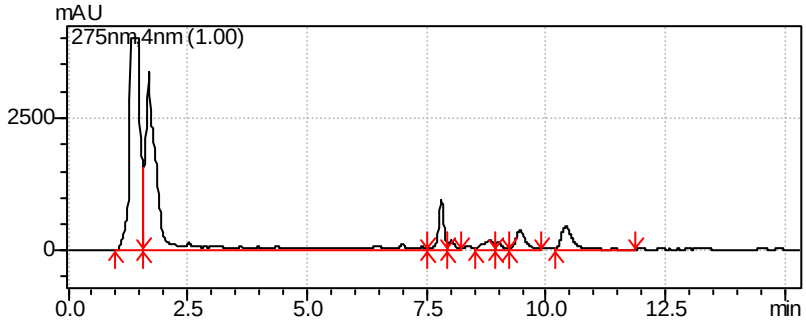
Şekil 9: Hiperforin standartına ait kromatogram



Şekil 10: Meyveli ekstreye ait kromatogram



Şekil 11: Çiçekli ekstreye ait kromatogram



Şekil 9'daki kromatogramda görüldüğü gibi kolona enjekte edilen standart hiperforinin retansiyon zamanı 12.5 dakika olarak belirlendi. Şekil 10'da görülen meyveli ekstreye ait kromatogramda hiperforin ile aynı retansiyon zamanına sahip herhangi bir pik saptanmadı. Meyveli bitkinin kimyasal bileşiminde hiperforin bulunmadığı sonucuna varıldı. Şekil 11'de görülen çiçekli ekstreye ait kromatogramda hiperforin ile aynı retansiyon zamanına ait, alanı hesaplanamayacak kadar küçük bir pik saptandı. Çiçekli bitkinin kimyasal bileşiminde eser miktarda hiperforin olduğu sonucuna varıldı.

4.6. Antimikrobiyel Aktivite Sonuçları

Bölüm 3.2.9'da anlatıldığı gibi hazırlanan 6 farklı ekstrede; *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 4352, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 1539, *Salmonella typhi*, *Shigella flexneri*, *Proteus mirabilis* ATCC 14153'e karşı antibakteriyel aktivite tayini yapıldı. Aynı ekstrelerde; *Candida albicans* ATCC 10231'e karşı antifungal aktivite tayini yapıldı. Gözle görülür üremenin olmadığı en düşük madde konsantrasyonu MİK değeri olarak belirlenmiştir. Bunlara ait sonuçlar aşağıda tablolar halinde verilmiştir (Tablo 4-12 ve Tablo 4-13). Tablolarda kullanılan 1 metanol+aseton total ekstresini, 2 petrol eteri, 3 dietil eter, 4 kloroform, 5 aseton ve 6 metanol ekstrelerini ifade etmektedir.

Tablo 4-12: Meyveli *Hypericum pamphylicum* örneklerinden hazırlanan ekstreler üzerinde yapılan antimikrobiyel aktivite

DENENEN MADDELER (mg/l)							REFERANS DEĞERLER (mg/l)		
MİKROORGANİZMA	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**SEFUROKSİM**	**SEFTAZİDİM**	**KLOTRİMAZOL**
Staphylococcus aureus ATCC 6538	-	-	-	-	-	-	1.2	------	------
Staphylococcus epidermidis ATCC 12228	-	-	-	-	-	-	9.8	------	------
Escherichia coli ATCC 8739	-	-	-	-	-	-	4.9	------	------
Klebsiella pneumoniae ATCC 4352	-	-	-	-	-	-	4.9	------	------
Pseudomonas aeruginosa ATCC 1539	-	-	-	-	-	-	------	2.4	------
Salmonella thypi	625	625	-	-	1250	1250	------	------	------
Shigella flexneri	1250	625	-	625	1250	-	4.9	------	------
Proteus mirabilis ATCC 14153	-	-	-	-	-	-	2.4	------	------
Candida albicans ATCC 10231	-	-	-	-	-	-	------	------	4.9

Tablo 4-13: Çiçekli *Hypericum pamphylicum* örneklerinden hazırlanan ekstreler üzerinde yapılan antimikrobiyel aktivite

DENENEN MADDELER (mg/l)							REFERANS DEĞERLER (mg/l)		
MİKROORGANİZMA	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**SEFUROKSİM**	**SEFTAZİDİM**	**KLOTRİMAZOL**
Staphylococcus aureus ATCC 6538	625	78.12	312.5	625	625	19.52	1.2	------	------
Staphylococcus epidermidis ATCC 12228	625	1250	312.5	625	625	625	9.8	------	------
Escherichia coli ATCC 8739	1250	-	1250	1250	1250	1250	4.9	------	------
Klebsiella pneumoniae ATCC 4352	1250	1250	1250	1250	1250	1250	4.9	------	------
Pseudomonas aeruginosa ATCC 1539	625	625	625	-	-	-	------	2.4	------
Salmonella thypi	1250	1250	625	1250	1250	1250	2.4	------	------
Shigella flexneri	625	625	312.5	-	2500	2500	4.9	------	------
Proteus mirabilis ATCC 14153	1250	-	1250	1250	1250	1250	2.4	------	------
Candida albicans ATCC 10231	625	625	625	625	-	1250	------	------	4.9

4.7. Serbest Radikal Süpürücü Etki Sonuçları

Hypericum pamphylicum'un hem meyveli hem de çiçekli toprak üstü kısımlarından Bölüm 3.7.2.1.'de anlatıldığı gibi hazırlanan ekstrelerin antioksidan etkileri DPPH metodu kullanılarak belirlendi. Kontrol amacıyla askorbik asit kullanıldı.

Hypericum pamphylicum **Meyveli Ekstresi**

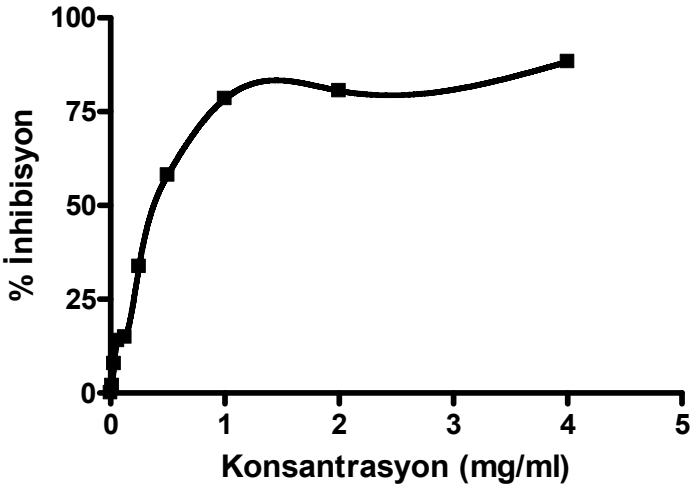
Aşağıdaki tabloda okunan absorbans değerlerinin ortalamaları, standart sapmaları ve % inhibisyon değerleri gösterilmiştir (Tablo 4-14).

Tablo 4-14: Meyveli ekstre ile DPPH yöntemine göre elde edilen absorbans ve % inhibisyon değerleri

Konsantrasyon (mg/ml)	Ortalama absorbans (517 nm) ± SD	% İnhibisyon
0,015625	0,645 ± 0,0035	1,98
0,03125	0,607 ± 0,002	7,75
0,0625	0,566 ± 0,0036	13,98
0,125	0,560 ± 0,004	14,89
0,25	0,436 ± 0,0040	33,74
0,5	0,276 ± 0,0032	58,05
1	0,142 ± 0,0015	78,42
2	0,128 ± 0,0015	80,55
4	0,077 ± 0,0046	88,30
Kontrol	0,658 ± 0,0040	0

GraphPad Prism programında apsise % inhibisyon değerleri, ordinata ekstrenin konsantrasyonları yerleştirilerek grafik çizildi ve IC_{50} değeri hesaplandı.

Konst. (mg/ml)	% inhibisyon
0,408	50,00
IC_{50} = 0,408 mg/ml	



***Hypericum pamphylicum* Çiçekli Ekstresi**

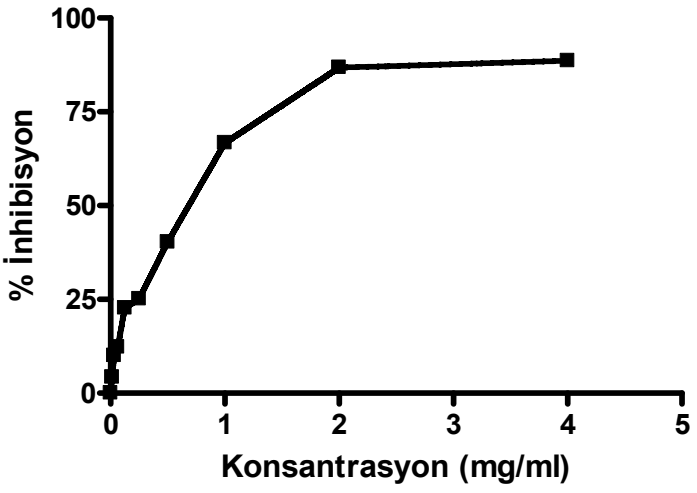
Aşağıdaki tabloda okunan absorbans değerlerinin ortalamaları, standart sapmaları ve % inhibisyon değerleri gösterilmiştir (Tablo 4-15).

Tablo 4-15: Çiçekli ekstre ile DPPH yöntemine göre elde edilen absorbans ve % inhibisyon değerleri

Konsantrasyon (mg/ml)	Ortalama absorbans (517 nm) ± SD	% İnhibisyon
0,015625	0,468 ± 0,0026	4,29
0,03125	0,440 ± 0,0020	10,02
0,0625	0,429 ± 0,0025	12,27
0,125	0,378 ± 0,0025	22,70
0,25	0,366 ± 0,0020	25,15
0,5	0,292 ± 0,0015	40,29
1	0,163 ± 0,0025	66,67
2	0,065 ± 0,0020	86,77
4	0,056 ± 0,0020	88,61
Kontrol	0,489 ± 0,0010	0

GraphPad Prism programında apsise % inhibisyon değerleri, ordinata ekstrenin konsantrasyonları yerleştirilerek grafik çizildi ve IC_{50} değeri hesaplandı.

Konst. (mg/ml)	% inhibisyon
0,612	50,00
IC_{50} = 0,612 mg/ml	



Askorbik asit

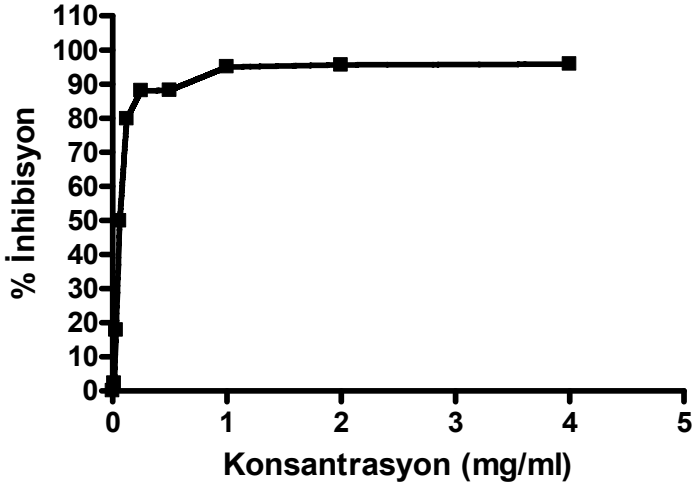
Aşağıdaki tabloda okunan absorbans değerlerinin ortalamaları, standart sapmaları ve % inhibisyon değerleri gösterilmiştir (Tablo 4-16).

Tablo 4-16: Askorbik asit ile DPPH yöntemine göre elde edilen absorbans ve % inhibisyon değerleri

Konsantrasyon (mg/ml)	Ortalama absorbans (517 nm) ± SD	% İnhibisyon
0,015625	0,525 ± 0,0035	2,29
0,03125	0,442 ± 0,0015	17,79
0,0625	0,270 ± 0,0032	49,80
0,125	0,109 ± 0,0006	79,79
0,25	0,064 ± 0,0006	88,03
0,5	0,064 ± 0,0015	88,14
1	0,027 ± 0,0020	94,97
2	0,024 ± 0,0011	95,59
4	0,022 ± 0,0006	95,85
Kontrol	0,537 ± 0,0023	0

GraphPad Prism programında apsise % inhibisyon değerleri, ordinata ekstrenin konsantrasyonları yerleştirilerek grafik çizildi ve IC_{50} değeri hesaplandı.

Konst. (mg/ml)	% inhibisyon
0,066	50,00
IC_{50} = 0,066 mg/ml	



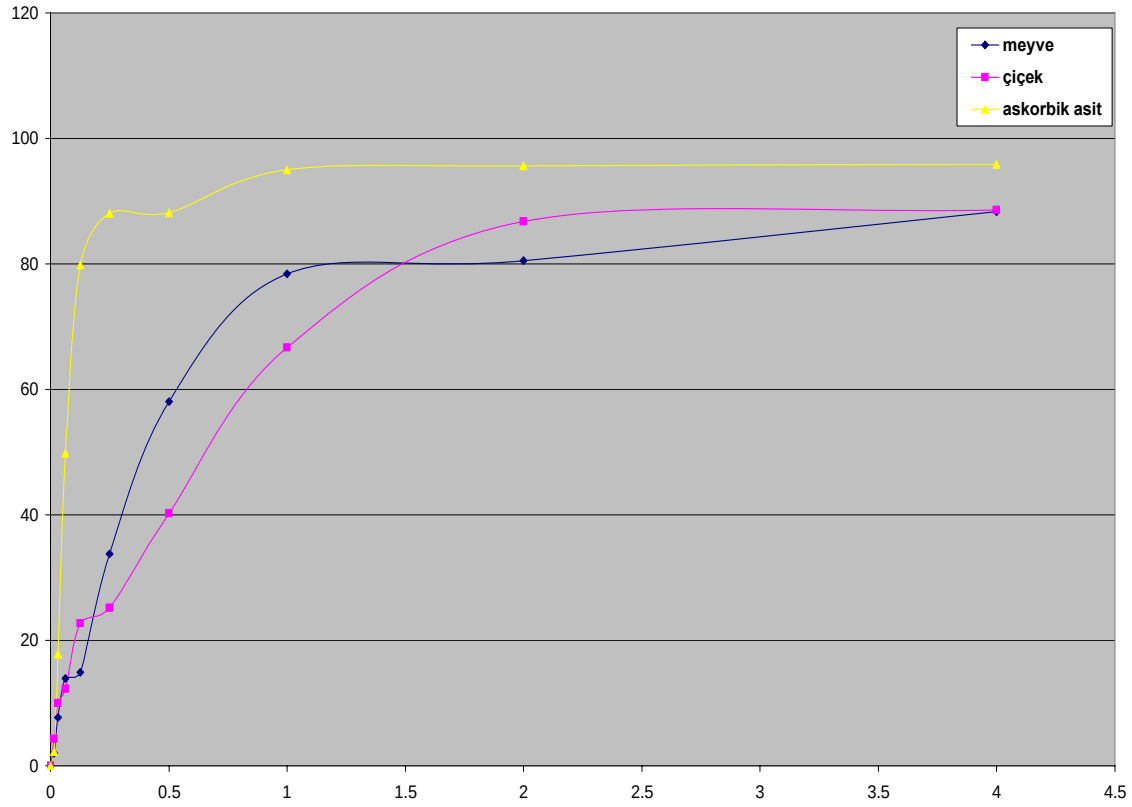
Aşağıdaki tabloda ekstrelerin ve kontrol maddesinin hesaplanan IC_{50} değerleri karşılaştırmalı olarak gösterilmiştir (Tablo 4-17).

Tablo 4-17: Ekstrelerin ve kontrol maddesinin hesaplanan IC_{50} değerleri

Madde	IC_{50} (mg/ml)
Hypericum pamphylicum Meyveli Ekstresi	0,408
Hypericum pamphylicum Çiçekli Ekstresi	0,612
Askorbik asit	0,066

Aşağıda ekstrelerin ve kontrol maddesinin grafikleri üst üste, karşılaştırmalı olarak verilmiştir (Şekil 12).

Şekil 12: Antiokisan aktivite tayininde ekstrelerin ve kontrol maddesinin karşılaştırmalı grafiği



5. TARTIŞMA

Bu çalışma, Türkiye'de yetişen *Hypericum* türlerinin kimyasal içeriğinin aydınlatılması ve farmakolojik değerlerinin ortaya konulmasına katkıda bulunmak amacıyla yapılmıştır. Antalya – Alarahan'da endemik bir tür olarak yetişen ve daha önce üzerinde araştırma yapılmamış olan *Hypericum pamphylicum* türünün meyveli ve çiçekli toprak üstü kısımları ile çalışılmıştır. Her iki kısım hiperisin ve hiperforin içeriği açısından YBSK ile incelenmiş, flavonoitleri yönünden değerlendirilmiştir. Ayrıca bitki ekstreleri üzerinde antimikrobiyel aktivite ve serbest radikal süpürücü etki tayini yapılmıştır.

Hypericum pamphylicum örnekleri 09.06.2005 tarihinde meyveli halde ve 15.05.2006 tarihinde çiçekli halde toplanmıştır. Bitki örneklerinden metanol ve aseton ile tüketilerek hazırlanan ekstrelerle YBSK yöntemi ile elde edilen bitkideki hiperisin ve hiperforin miktarının sonuçları aşağıdaki tabloda verilmiştir.

Bitki Örneği	**% Hiperisin**	**% Hiperforin**
Hypericum pamphylicum - meyveli toprak üstü kısım	0,000003	-
Hypericum pamphylicum - çiçekli toprak üstü kısım	0,000016	eser miktarda

Hypericum pamphylicum türü hem meyveli hem de çiçekli durumdayken incelenmiş hiperisin ve hiperforin miktarının çiçekli döneminde daha fazla olduğu gözlenmiştir. *Hypericum* türlerinde hiperisin ve hiperforin miktarının vejetasyon dönemine göre değiştiği literatürlerde de kayıtlıdır (109-112).

Avrupa Farmakopesi 2001'de *Hypericum perforatum* türü için istenilen hiperisin miktarı % 0.3 olarak verilmiştir (113).

Türkiye'de yetişen bazı *Hypericum* türleriyle yapılmış hiperisin miktar tayini çalışmaları mevcuttur. Bu çalışmaların sonuçlarına göre *H. perforatum* % 0.21, *H.*

empetrifolium % 0.15, *H. triquetrifolium* % 0.14, *H. scabrum* % 0.00046 ve *H. montbretii* % 0.135 oranında hiperisin içermektedir (114-116). Bu türler ile karşılaştırıldığında *Hypericum pamphylicum* türünün hiperisin içeriğinin en az miktarda olduğu görülmektedir.

Avrupa Farmakopesi'nde hiperisin için verilen standart değer esas alındığında *Hypericum pamphylicum* türünün *Hypericum perforatum*'un yerine kullanılamayacağı açıkca görülmektedir.

Hypericum türlerinin flavonoit bileşikleri açısından zengin olduğu bilindiğinden *Hypericum pamphylicum* türünün taşıdığı flavonoit bileşikleri üzerine de çalışma yapılmıştır. Bitkiden izole edilen kersetin ve kersetin 3-glikozitin yapısı kromatografik olarak şahit maddelerle karşılaştırılarak ve UV, IR gibi spektral yöntemlerle aydınlatılmıştır. Ayrıca kromatografik ve spektroskopik olarak kersetin 3-galaktozitin varlığı da tespit edilmiştir.

Yapılan antimikrobiyel etki tayini sonucuna göre meyveli bitki örneklerinin metanol-aseton total, petrol eteri, aseton ve metanol ekstrelerinin *Salmonella thypi*'ye; metanol-aseton total, petrol eteri, kloroform ve aseton ekstrelerinin ise *Shigella flexneri*'ye karşı antimikrobiyel aktivite gösterdiği görülmüştür. Hiçbir ekstre antifungal aktivite göstermemiştir. Çiçekli bitki örneklerinin neredeyse tüm ekstrelerinin *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 4352, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 1539, *Salmonella thypi*, *Shigella flexneri*, *Proteus mirabilis* ATCC 14153 standart kökenlerine karşı antibakteriyel etki gösterdiği belirlenmiştir. Aseton ekstresi haricindeki tüm ekstrelerin ise *Candida albicans* ATCC 10231'e karşı antifungal etki gösterdiği saptanmıştır. Elde edilen bu sonuçlar literatür bilgileri ile uyum göstermektedir (117, 118).

Meyveli ve çiçekli *Hypericum pamphylicum* örneklerinin askorbik asit ile karşılaştırmalı olarak DPPH metodu ile saptanan serbest radikal süpürücü etki sonuçları aşağıda verilmiştir.

Madde	**IC_{50} (mg/ml)**
Hypericum pamphylicum - meyveli ekstresi	0.408
Hypericum pamphylicum - çiçekli ekstresi	0.612
Askorbik asit	0.066

Yukarıdaki sonuçlar incelendiğinde *Hypericum pamphylicum* türünün meyveli durumunun çiçekli durumundan daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Literatürlere göre IC_{50} değeri 0.50 mg/ml'den düşük olan bitkilerin kuvvetli antioksidan aktiviteye sahip olduğu kabul edilmektedir (119, 120). Sonuç olarak incelediğimiz örneklerin askorbik asite göre çok düşük oranda da olsa antioksidan aktiviteye sahip olduğunu söyleyebiliriz.

KAYNAKLAR

1) Griggs, B. *Green Pharmacy, The History and Evolution of Western Herbal Medicine*. Healing Arts Press, Rochester, Vermont 1997; 1-14.
2) Baytop, T. *Türkiye'de Bitkilerle Tedavi* 2. Basım. Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul 1999; 3-5.
3) Meriçli, F., *Eczacılıkta Bitkilerden Yararlanma Şekilleri*. In: Bitkilerle Tedavi. İstanbul Eczacı Odası Yayınları, No: 14, (Misep X) İstanbul, 1994: 6-33.
4) Bombardelli, E., Morazzoni, P. *Hypericum perforatum*. *Fitoterapia* 1995; 66(1): 43-68.
5) Blumenthal, M., Goldberg, A., Brinckmann, J. *Herbal Medicine*. Integrative Medicine Communications, Newton 2000; 359-366.
6) Davis, P.H., Mill, R.R. and Tan, K. *Flora of Turkey and the East Aegean Islands* Volume X. Edinburgh University Press, Edinburgh, 1988; 96-103
7) Di Carlo, G., Borrelli, F., Ernst, E., Izzo, A.A. St. John's wort: Prozac from the plant kingdom. *Trends in Pharmacological Sciences* 2001; 22(6): 292-297.
8) Bruneton, J. *Pharmacognosy, Phytochemistry, Medicinal Plants*. Lavoisier Publishing, Paris 1995; 367-370.
9) Hippius, H. St John's Wort (*Hypericum perforatum*) – a herbal antidepressant. Current Medicinal Research & Opinion 1998; 14(3): 171-184.
10) Butterveck, V., Christoffel, V., Nahrstedt, A., Petereit, F., Spengler, B. and Winterhoff, H. Step by step removal of hyperforin and hipericin: activity profile of different *Hypericum* preparations in behavioral models. *Life Sciences* 2003; 73(5): 627-639.
11) Menini, T. and Gobbi, M. The antidepressant mechanism of *Hypericum perforatum*. *Life Sciences* 2004; 75(9): 1021-1027.
12) Robson, N.K.B., Davis, P.H., Cullen, J., Coode, M.J.E. *Flora of Turkey and the East Aegean Island* Volume II. Edinburgh University Press, Edinburgh, 1966; 355-401.
13) Güner, A., Özhatay, N., Ekim, T., Başer, K.H.C. *Flora of Turkey and the East Aegean Island* Volume XI. Edinburgh University Pres, Edinburgh, 2000; 71-72.
14) Özhatay, N., Kültür, Ş. Check-List of Additional Taxa to the Supplement Flora of Turkey III. *Turkish Journal of Botany* 2006; 30: 281-316.
15) Delaey, E.M., Kamuhabwa, A.R., Vandenbogaerde, A.L., Witte, P.A. Photocytotoxicity of protohypericin after photoconversion to hypericin. *Planta Medica* 1999; 65: 719-722.
16) Poutaraud, A., Gregorio, F.D., Tin, V.C.F., Girardin, P. Effect of Light on Hypericin Contents in Fresh Flowering Top Parts and in a Extract of St. John's Wort (*Hypericum perforatum*). *Planta Medica* 2001; 67: 254-259.
17) Bilia, A.L., Gallori, S., Vincieri, F.F. St. John's wort and depression, efficacy, safety and tolerability-an update. *Life Sciences* 2002; 70: 3077-3096.
18) Herba Hyperici. *Who Monographs on Selected Medicinal Plants* Vol 2. World Health Organization, Geneva, 2002; 149-171.
19) Maisenbacher, P., Kovar, K.A. Analysis and stability of Hyperici Oleum. *Planta Medica* 1992; 58: 351-354.

20) *Hypericum*. *European Pharmacopeia* Fourth Edition, Council of Europa, Strasbourg, 2001: 1353-1354.
21) Eroğlu, L. *Psikiyatrik Bozuklukların Tedavisinde Kullanılan İlaçlar II*: Depresyon ve mani tedavisinde kullanılan ilaçlar. In: Bökesoy, T.A., Çakıcı, İ., Melli, M.(Ed). Farmakoloji Ders Kitabı. Gazi Kitabevi Tic. Ltd. Şti., Ankara, 2000; 305-306.
22) Linde, K., Ramirez, G., Mulrow, C.D., Pauls, A., Weidenhammer, W., Melchart, D. St. John's wort for depression--an overview and meta-analysis of randomised clinical trials. *British Medical Journal* 1996; 313: 253-258.
23) Kasper, S. *Hypericum perforatum*—a review of clinical studies. *Pharmacopsychiatry* 2001; 34(Suppl 1): 51-55.
24) Schulz, V., Clinical trials with *Hypericum* extracts in patients with deppression—results, comparisons, conclusions for therapy with antidepressant drugs. *Phytomedicine* 2002;9(5): 468-474.
25) Rey, J.M., Walter, G. *Hypericum perforatum* (St. John's wort) in depression: pest or blessing? *The Medical Journal of Australia* 1998; 169(11-12): 583-586.
26) Woelk, H. Comparison of St. John's wort and imipramine for treating depression: randomised controlled trial. *British Medical Journal* 2000; 321: 583-586.
27) Kaufeler, R., Meier, B., Brattstrom, A. Efficacy and tolerability of Ze 117 St. John's wort extract in comparison with placebo, imipramine and fluoxetine for the treatment of mild to moderate depression according to ICD-10. An overview. *Pharmacopsychiatry* 2001; 34(Suppl 1): 49-50.
28) Schrader, E., Equivalence of St. John's wort extract (Ze 117) and fluoxetine: a randomized, controlled study in mild to moderate depression. *International Clinical Psychopharmacology* 2000; 15(2): 61-68.
29) Friede, M., Henneicke von Zapelin, H.H., Freudenstein, J. Differential therapy of mild to moderate depressive episodes (ICD-10 F 32.0; F 32.1) with St. John's wort. *Pharmacopsychiatry* 2001; 34(Suppl 1): 38-41.
30) Brenner, R., Azbel, V., Madhusoodanan, S., Pawlowska, M. Comparison of an extract of *Hypericum* (LI 160) and sertraline in the treatment of depression: a double-blind, randomized pilot study. *Clinical Pharmacology & Therapeutics* 2000; 22(4): 411-419.
31) Neary, J.T., Bu, Y. *Hypericum* L1 160 inhibits uptake of serotonin and norepinephrine in astrocytes. *Brain Research* 1999; 816: 358-363.
32) Stevinson, C., Ernst, E. *Hypericum* for depression An update of the clinical evidence. *European Neuropsychopharmacology* 1999; 9: 501-505.
33) Muller, W.E. current St John's wort research from mode of action to clinical efficacy. *Pharmacological Researc* 2003; 47(2): 101-109.
34) Barnes, J., Anderson, L.A., Phillipson, J.D. *Herbal Medicines* Second Edition. Pharmaceuticals Press UK 2002; 444-458.
35) Suzuki, O., Katsumata, Y., Oya, M., Bladt, S., Wagner, H. Inhibition of monoamine oxidase by hipericin. *Planta Medica* 1984; 50(3): 272-274.
36) Vandenbogaerde, A., Zanoli, P., Puia, G., Truzzi, C., Kamuhabwa, A., Witte, P. De, Merlewede, W. and Baraldi, M. Evidence That Total Extract of *Hypericum perforatum* Affects Exploratory Behaviour and Exerts Anxiolytic Effects in Rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 2000; 65(4): 627-633.
37) Müller, W.E., Singer, A. and Wonneman, M. Hyperforin - Antidepressant Activity by a Novel Mechanism of Action. *Pharmacopsychiatry* 2001; 34(Suppl 1): 98-102.
38) Beerhues, L. Hyperforin. *Phytochemistry* 2006; 67(20): 2201-2207.

39) Medina, M.A., Martínez-Poveda, B., Amores-Sánchez, B.I. and Quesada, A.R. Hyperforin: More than an antidepressant bioactive compound? *Life Sciences* 2006; 79: 105–111.

40) Smelcerovic, A. and Spiteller, M. Phytochemical analysis of nine *Hypericum* L. species from Serbia and the F.Y.R. Macedonia. *Pharmazie* 2006; 61: 251–252.

41) Müller, W.E. Current St. John's wort research from mode of action to clinical efficacy. *Pharmacological Research* 2003; 47: 101-109.

42) Treiber, K., Singer, A., Henke, B. and Müller, W.E. Hyperforin activates nonselective cation channels (NSCCs). *British Journal of Pharmacology* 2005; 145: 75-83.

43) Butterweck, V. Mechanism of action of St. John's wort in depression, *CNS Drugs* 2003; 17: 539-562.

44) Baureithel, K.H., Buter, K.B., Engesser, A. Burkard, W., Schaffner, W. Inhibition of benzodiazepine binding *in vitro* by amentoflavone, a constituent of various species of *Hypericum*. *Pharmaceutica Acta Helvetiae* 1997; 72(3): 153-157.

45) Hanrahan, J.R., Chebib, M., Davucheron, N.L., Hall, B.J. Johnston, G.A. Semisynthetic preparation of amentoflavone: A negative modulator at GABA(A) receptors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 2003; 13(14): 2281-2284.

46) Simmen, U., Bobirnac, I., Ullmer, C., Lübbert, H., Büter, K. B., Schaffner, W. and Schoeffter, P. Antagonist effect of pseudohypericin at CRF receptors. *Journal of Pharmacology* 2003; 458(3): 251-256.

47) Reichling, J., Weseler, A., Saller, R. A current review of the antimicrobial activity of *Hypericum perforatum* L. *Pharmacopsychiatry* 2001; 34(Suppl): 116-118.

48) Barbagallo, C., Chisari, G. Antimicrobial activity of three *Hypericum* species. *Fitoterapia* 1987; 58: 175-177.

49) Bystrov, N.S., Chernov, B.K., Dobrynin, V.N., Kolosov, M.N. The structure of hyperforin. *Tetrahedron Letters* 1975; 32: 2791-2794.

50) Gurevich, A.I., Dobrynin, V.N., Kolosov, M.N., Popravko, S.A., Riabova, I.D. Antibiotic hyperforin from *Hypericum perforatum* L. *Antibiotiki* 1971; 16:510-513.

51) Schempp, C.M., Pelz, K., Wittmer, A., Schopf, E., Simon J.C. Antibacterial activity of hyperforin from St John's wort, against multiresistant *Staphylococcus aureus* and gram-positive bacteria. *Lancet* 1999; 353: 2129.

52) Vajs, V., Vugdelija, S., Trifunović, S., Karadžić, I., Juranić, N., Macura, S., and Milosavljević, S. Further degradation product of hyperforin from *Hypericum perforatum* (St. John's Wort). *Fitoterapia* 2003; 74: 439-444.

53) Mukherjee, P.K., Saritha, G.S., Suresh, B. Antibacterial spectrum of *Hypericum hookerianum. Fitoterapia* 2001; 72(5): 558-560.

54) Pistelli, L., Bertoli, A., Zucconelli, S., Morelli, I., Panizzi, L., Menichini, F. Antimicrobial activity of crude extracts and pure compounds of *Hypericum hircinum*. *Fitoterapia* 2000; 71(Suppl): 138-140.

55) Rabanal, R.M., Arias, A., Prado, B., Hermandez-Perez, M., Sanchez-Mateo, C.C. Antimicrobial studies on three species of *Hypericum* from the Canary Islands. *Journal of Ethnopharmacology* 2002; 81(2): 287-292.

56) Rocha, L., Marston, A., Potterat, O., Kaplan, M. A. C., Hostettmann, K. More phloroglucinols from *Hypericum brasiliense*. *Phytochemistry* 1996; 42(1): 185-188.

57) Matsuhisa, M., Shikishima, Y., Takaishi, Y., Honda, G., Ito, M., Takeda, Y., Shibata, H., Higuti, T., Kodzhimatov, O.K., Ashurmetov, O. Benzoylphloroglucinol derivatives from *Hypericum scabrum*. *Journal of Natural Products* 2002; 65(3): 290-294.

58) Rocha, L., Marston, A., Potterat, O., Kaplan, M. A. C., Evans, H.S., Hostettmann, K. Antibacterial phloroglucinols and flavonoids from *Hypericum brasiliense*. *Phytochemistry* 1995; 40(5): 1447-1452.
59) Mukherjee, P.K., Saritha, G.S., Suresh, B. Antimicrobial potential of two different *Hypericum* species available in India. *Phytotherapy Research* 2002; 16(7): 692-695.
60) Saroglou, V., Marin, P.D., Rancic, A., Veljic, M. and Skaltsa, H. Composition and antimicrobial activity of the essential oil of six *Hypericum* species from Serbia. *Biochemical Systematics and Ecology* 2007; 35(3): 146-152.
61) Toker, Z., Kızıl, G., Özen, H.Ç., Kızıl, M. and Ertekin, S. Compositions and antimicrobial activities of the essential oils of two *Hypericum* species from Turkey. *Fitoterapia* 2006; 77(1): 57-60.
62) Dulger, B. and Gonuz, A. Antibacterial activity of the endemic *Hypericum kazdaghensis. Fitoterapia* 2005; 76(2): 237-239.
63) Yeşilada, E., Gurbuz, I., Shibata, H. Screening of Turkish anti-ulcerogenic folk remedies for anti-*Helicobacter pylori* activity. *Journal of Ethnopharmacology* 1999; 66(3): 289-293.
64) Buttke, T.M., Sandstrom, P.A. Oxidative stres as a mediator of apoptosis. *Immunology Today* 1994; 15(1): 7-10.
65) Farnet, C.M., Wang, B., Hansen, M., Lipford, J.R., Zalokw, L., Robinson, W.E., Siegel, J., Bushman, F. Human immunodeficiency virus type 1 cDNA integration: new aromatic hydroxylated inhibitors and studies of the inhibition mechanism. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1998; 42(9): 2245-2253.
66) Kraus, G.A., Pratt, D., Tossberg, J., Carpenter, S. Antiretroviral activity of synthetic hipericin and related analogs. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 1990; 172(1): 149-153.
67) Akkuş, I. *Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri*. Mimoza Yayınları, Konya, 1995; 1-32.
68) Jankov, R.P., Negus, A., Tanswell, A.K. Antioxidants as therapy in the newborn: some words of caution. *Pediatric Research* 2001; 50(6): 681-687.
69) Koleva, I.I., Van Beek, T.A., Linssen, J.P., De Groot, A., Evstatieva, L.N. Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. *Phytochemical Analysis* 2002; 13(1): 8-17.
70) El-Sherbiny, D.A., Khalifa, A.E., Attia, A.S. and Eldenshary, E.S. *Hypericum perforatum* extract demonstrates antioxidant properties against elevated rat brain oxidative status induced by amnestic dose of scopolamine. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 2003; 76(3-4): 525-533.
71) Conforti, F., Statti, G.A., Tundis, R., Menichini, F., Houghton, P. Antioxidant activity of methanolic extract of *Hypericum triquetrifolium* Tura aerial part. *Fitoterapia* 2002; 73(6): 479-483.
72) Schempp, C.M., Müler, K.A., Winghofer, B., Schöpf, E. And Simon, J.C. Johanniskraut (*Hypericum perforatum* L.). *Der Hautartz* 2002; 53(5): 309-369.
73) Schempp, C.M., Windeck, T., Hezel, S. And Simon, J.C. Topical treatment of atopic dermatitis with St. John's wort cream – a randomized, placebo controlled, double blind half-side comparison. *Phytomedicine* 2003; 10(4): 31-37.
74) Rao, S.G., Udupa, S.L., Rao, P.G.M., Rao, G., Kulkarni, D.R. *Calendula* and *Hypericum*: two homeopathic drugs promoting wound healing in rats. *Fitoterapia* 1991; 62(6): 508-510.

75) Mukherjee, P.K., Verpoorte, R., Suresh, B. Evaluation if in-vivo wound healing activity of *Hypericum patulum* (Family: Hypericaceae) leaf extract on different wound model in rats. *Journal of Ethnopharmacology* 2000; 70(3): 315-321.
76) Pabuçcuoğlu, A., Konyalıoğlu, S., Baş, M. and Meral, G.E. The *in vitro* effects of *Hypericum specie*s on human leukocyte myeloperoxidase activity. *Journal of Ethnopharmacology* 2003; 87(1): 89-92.
77) Morteza-Semnani, K., Mahmoudi, M., Saeedi, M. and Javanmardi, A. 324 Analgesic activity of Iranian *Hypericum perforatum*. *Toxicology Letters* 2003; 144(Suppl 1): 88.
78) Apaydın, S., Zeybek, U., Ince, I., Elgin, G., Karamenderes, C., Öztürk, B., Tuğlular, I. *Hypericum triquetrifolium* Turra. Extract exhibits antinociceptive activity in the mouse. *Journal of Ethnopharmacology* 1999; 67(3): 307-312.
79) Sánchez-Mateo, C.C., Bonkanka, C.X., Hernández-Pérez, M. and Rabanal, R.M. Evaluation of the analgesic and topical anti-inflammatory effects of *Hypericum reflexum* L. fil. *Journal of Ethnopharmacology* 2006; 107(1): 1-6.
80) Agostinis, P., Vantieghem, A., Merlevede, W., De Witte, P.A. Hypericin in cancer treatment: more light on the way. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 2002; 34(3): 221-241.
81) Zeisser-Labouèbe, M., Lange, N., Gurny, R. and Delie, F. Hypericin-loaded nanoparticles for the photodynamic treatment of ovarian cancer. International *Journal of Pharmaceutics* 2006; 326(1-2): 174-181.
82) Martarelli, D., Martarelli, B., Pediconi, D., Nabissi, M.I., Perfumi, M. and Pompei, P. *Hypericum perforatum* methanolic extract inhibits growth of human prostatic carcinoma cell line orthotopically implanted in nude mice. *Cancer Letters* 2004; 210(1): 27-33.
83) Hostanska, K., Reichling, J., Bommer, S., Weber, M. and Saller, R. Hyperforin a constituent of St John's wort (*Hypericum perforatum* L.) extract induces apoptosis by triggering activation of caspases and with hypericin synergistically exerts cytotoxicity towards human malignant cell lines. European *Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 2003; 56(1): 121-132.
84) Lawvere, S., Mahoney, M.C., Cummings, K.M., Kepner, J.L., Hyland, A., Lawrence, D.D. and Murphy, J.M. A Phase II study of St. John's Wort for smoking cessation. *Complementary Therapies in Medicine* 2006; 14(3): 175-184.
85) Rezvani, A.H., Overstreet, D.H., Perfumi, M. and Massi, M. Plant derivatives in the treatment of alcohol dependency. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 2003; 75(3): 593-606.
86) Panocka, I., Perfumi, M., Angeletti, S., Ciccocioppo, R., Massi, M. Effects of *Hypericum perforatum* extract to ethanol intake and on behavioral despair: a search for the neurochemical systems involved. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 2000; 66(1); 105-111.
87) Carai, M.A., Agabio, R., Bombardelli, E., Bourov, I., Gessa, G.L., Lobina, C., Morazzoni, P., Pani, M., Reali, R., Vacca, G., Colombo, G. Potential use of the medicinal plants in the treatment of alcoholism. *Fitoterapia* 2000; 71(Suppl 1): 38-42.
88) Greeson, J.M., Sanford, B., Monti, D.A. St. John's wort (*Hypericum perforatum*): a review of the current pharmacological, toxicological and clinical literature. *Psychopharmacology* 2001; 153(4): 402-414.
89) Jacobson, J. M., Feinman, L., Liebes, L., Ostrow, N., Koslowski, V., Tobia, A., Cabana, B. E., Lee, D.-H., Spritzler, J., Prince, A. M. Pharmacokinetics, Safety, and

Antiviral Effects of Hypericin, a Derivative of St John's Wort Plant, in Patients With Chronic Hepatitis C Virus Infection. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2001; 45(2): 517-524.

90) Cervo, L., Rozio, M., Ekalle-Soppo, C. B., Guiso, G. Morazzoni, P., Caccia, S. Role of hyperforin in the antidepressant-like activity of *Hypericum perforatum* extracts. *Psychopharmacology* 2002; 164(4): 423-428.

91) Vitello, B. *Hypericum perforatum* extracts as potential antidepressant. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 1999; 51(5): 513-517.

92) *PDR For Herbal Medicine* Second Edition. Medical Economics Company, New Jersey, 2000.

93) Jobst, K.A., McIntyre, M., St George, D., Whitelegg, M. Safety of St John's wort (*Hypericum perforatum*) *Lancet* 2000; 355-375.

94) Izzo, A.A., Borrelli, F., Capasso, R. Herbal Medicine: the dangers of drug interaction. *Trends in Pharmacological Sciences* 2002; 23(8): 358-359.

95) Biffignandi, P.M., Bilia, A.R. The growing knowledge of St. John's wort (*Hypericum perforatum*) drug interactions and their clinical significance. *Current Therapy Research* 2000; 61(70): 389-394.

96) Czekalla, J., Gastpar, M., Hubner, W.D., Jager, D. The effect of *Hypericum* extract on cardiac conduction as seen in the electrocardiogram compared to that of imipramine. *Pharmacopsychiatry* 1997; 30(Suppl 2): 86-88.

97) Gaster, B., Holroyd, J. St John's wort for deppression: a systematic review. *Archives and Internal Medicine* 2000; 160(2): 152-156.

98) De los Reyes, G.C., Koda, R.T. Development a simple, rapid and reproducible HPLC assay for the simultaneous determination of hypericins and stabilized hyperforin in commercial St. John's wort preparations. *Journal of Pharmaceutical Biomedical Analysis* 2001; 26(5-6): 959-965.

99) Liu, F.F., Ang, C.Y.W., Heinze, T.M., Rankin, J.D., Beger, R.D., Freeman, J.P., Lay Jr, J.O. Evaluation of major active components in St. John's wort dietary supplements by high-performance liquid chromatography with photodiode array detection and electrospray mass spectrometric confirmation. *Journal of Chromatography A* 2000;888(1-2):85-92.

100) Brolis, M., Gabetta, B., Fuzzati, N., Pace, R., Panzeri, F., Peterlongo, F. Identification by high-performance liquid chromatograpy-diode array detection-mass spectrometry and quantification by high-performance liquid chromatography-UV absorbance detection of active constituents of *Hypericum perforatum*. *Journal of Chromatography A* 1998; 825:9-16.

101) Jensen, A.G., Cornett, C., Gudiksen, L., Hansen, S.H. Characterisation of Extracts of *Hypericum perforatum* L. using an On-line HPLC System with UV/Visible and Fluorescence Detection Prior to and after Photochemical Conversion of the Effluent. *Phytochemical Analysis* 2000; 11: 387-394.

102) Ganzera, M., Zhao, J., Khan, I.A. *Hypericum perforatum*-Chemical Profiling and Quantitative Results of St. John's wort Products by an Improved High-Performance Liquid Chromatography Method. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 2002; 91(3): 623-630.

103) Clinical ans Laboratory Standards Institute (CLSI) Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically: Approved Standard M7-A5. Wayne, PA, 2000.

104) Clinical ans Laboratory Standards Institute (CLSI) 2000. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Standart M27-A NCCLS, Wayne, Pennsylvania, 2000.
105) Kulisic, T. Radonic, A., Katalinic, V., Milos, M. Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. *Food Chemistry* 2004; 85: 633-640.
106) Blois, M.S. Antioxidant Determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 1998; 181: 1199-1200.
107) Yen, G.C., Duh, P.D. Scavenging effect of methanolic extracts of peanut hulls on free-radical and active oxygen species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 1994; 42: 629-632.
108) Mabry, T.J., Markham, K.R. and Thomas, M.B. *The Systematic Identification of Flavonoids*. Springer-Verlag New York Inc. 1970; 65-67.
109) Tekelova, D., Repcak, M., Zemkova, E., Toth, J. Quantative changes of dianthrones, hyperforin and flavonoids content in the flower ontogenesis of *Hypericum perforatum*. *Planta Medica* 2000; 66(8): 778-780.
110) Southwell, I.A., Campbell, M.H. Hypericin content variation in *Hypericum perforatum* in Australia. *Phytochemistry* 1991; 30: 475-478.
111) Southwell, I.A., Bourke, C.A. Seasonal variation in hypericin content of *Hypericum perforatum* L. (St. John's Wort). *Phytochemistry* 2001; 56(5): 437-441.
112) Kitanov, G.M. Hypericin and pseudohypericin in some *Hypericum* species. *Biochemical Systematics and Ecology* 2001; 29(2): 171-178.
113) *Hypericum*. *European Pharmacopoeia* Fourth Edition, Council of Europa, Strasbourg, 2001; 1353-1354.).
114) Şerbetçi, T., Sarıyar, G., Mat, A., Özhatay, N., Ötük, G. Investigations on *Hypericum scabrum*. *Journal of Faculty of Pharmacy of İstanbul* 2002-2003; 35-36(2): 139-144.
115) Elgin, G.E., İnce, İ., Ertaş, H. *Hypericum perforatum*, *H. triquetrifolium*, *H. empetrifolium* bitkilerinde hiperisin miktarının YBSK metodu ile tayini. XIII. *Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı Bildiri Kitabı*, İstanbul, 2000; 167-171.
116) Oktayoğlu, E.E. *Hypericum montbretii* Spach. Türünün Hiperisin Miktarı ve Biyolojik Aktivite Yönünden İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, 2004.
117) Schempp, C.M., Pelz, K., Wittmer, A., Schopf, E., Simon, J.C. Antibacterial ativity of hyperforin from St John's wort, against multiresistant *Staphylococcus aureus* and gram-positive bacteria. *The Lancet* 1999; 353: 2129.
118) Gibbsons, S., Ohlendorf, B., Johnsen, I. The genus *Hypericum*—a valuable resource of anti-Staphylococcal leads. *Fitoterapia* 2002; 73(4): 300-304.
119) Lee, S., Hwang, H.J., Ha, J.S., Jeong, H.S., Kim, J.H. Screening of medicinal plant extracts for antioxidant activity. *Life Sciences* 2003; 73(2): 167-179.
120) Hu, F., Lu, R., Huang, B., Liang, M. Free radical scavenging activity of extracts prepared from fresh leaves of selected Chinese medicinal plants. *Fitoterapia* 2004; 75(1): 14-23.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Esra	**Soyadı**	EROĞLU
Doğ.Yeri	Zonguldak	**Doğ.Tar.**	24.05.1981
Uyruğu	T.C.	**TC Kim No**	15982054026
Email	eseroglu@istanbul.edu.tr	**Tel**	532 5023380

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	**Mez. Yılı**
Yük.Lis.	İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	2007
Lisans	İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	2003
Lise	Ataköy Cumhuriyet Lisesi	1998

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	**Kurum**	**Süre (Yıl - Yıl)**
1.	Araştırma Görevlisi	İstanbul Üniversitesi	2004 - ….
2.	Ruhsatlandırma Sorumlusu	Yeni İlaç ve Ham. San. Ve Tic. A.Ş.	2003 - 2004

Yabancı Dilleri	**Okuduğunu Anlama***	**Konuşma***	**Yazma***	**KPDS/ÜDS Puanı**	**(Diğer) Puanı**
İngilizce	İyi	İyi	İyi	56.250	-

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	**Eşit Ağırlık**	**Sözel**
LES Puanı	67.889	71.671	76.451
(Diğer) Puanı	-	-	-

Bilgisayar Bilgisi

Program	**Kullanma becerisi**
Office 2003	İyi
GraphPad Prism 4	İyi
Adobe Photoshop 7.0	İyi

Yayınları/Tebligleri Sertifikaları/Ödülleri

Future trends in phytochemistry - A Young Scientists Meeting 2006 – Poster Bildiri

Özel İlgi Alanları (Hobileri):

Tiyatro, Gezi, Fotoğrafçılık.