



**ENDEMİK *HYPERICUM AVICULARIIFOLIUM* Jaub. et Spach ve
HYPERICUM BITHYNICUM Boiss. TÜRLERİ ÜZERİNE
FARMASÖTİK BOTANİK ARAŞTIRMALAR
Yüksek Lisans Tezi**

Vesile TÜRKTEN

Eskişehir 2022

ENDEMİK *HYPERICUM AVICULARIIFOLIUM* Jaub. et Spach ve *HYPERICUM BITHYNICUM* Boiss. TÜRLERİ ÜZERİNE FARMASÖTİK BOTANİK ARAŞTIRMALAR

Vesile TÜRK TEN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Farmasötik Botanik Ana Bilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Yavuz Bülent KÖSE

**Eskişehir
Anadolu Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Ocak 2022**

ÖZET

ENDEMİK *HYPERICUM AVICULARIIFOLIUM* Jaub. et Spach VE *HYPERICUM BITHYNICUM* Boiss. TÜRLERİ ÜZERİNE FARMASÖTİK BOTANİK ARAŞTIRMALAR
Vesile TÜRK TEN

Farmasötik Botanik Anabilim Dalı
Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ocak 2022
Danışman: Prof. Dr. Yavuz Bülent KÖSE

Bu tez çalışmasında endemik *Hypericum aviculariifolium* Jaub. et Spach ve *Hypericum bithynicum* Boiss. türlerinin morfolojik, anatomik, kimyasal ve antimikrobiyal özellikleri araştırılmış ve farmasötik botanik yönden incelenmiştir.

Morfolojik çalışmalarda türlerin ayrıntılı incelemesi yapılmıştır. Gövde, yaprak ve çiçek ölçümleri Türkiye florasında verilen deskripsiyonlarla verilen tanımlamaları ile karşılaştırılmıştır. Anatomik çalışmalarda gövdeden enine kesit, yapraktan ise enine kesit ve yüzeysel kesitler alınarak anatomik yapıları incelenmiştir.

Kimyasal çalışmalarda, türlerin toprak üstü ekstreleri su ve metanol içeren çözücülerde çalışılmış ve toplam fenolik madde miktarları belirlenmiştir. Türlerin 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil radikalini (DPPH•) süpürücü etki tayini ve 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit radikal katyonu (ABTS^{•+}) süpürücü etki ile antioksidan özelliği, yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (YBSK) ile fenolik bileşiklerinin kompozisyonu açıklanmıştır. Kimyasal sonuçlara göre *H. aviculariifolium*'un metanol ekstresinin antioksidan aktivitesi ve toplam fenolik madde miktarı, *H. bithynicum*'un metanol ve su ekstrelerinden fazladır. (ABTS^{•+}) süpürücü etki ise ekstrelerin konsantrasyonları ile doğru orantılı şekilde artmaktadır. Antimikrobiyal aktivite gösteren ekstrelerin minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri mikro dilüsyon yöntemi ile belirlenmiştir. Antikandidal etkinin belirlenmesinde CLSI (eski ismiyle NCCLS) M27-A2, sıvı mikro dilüsyon protokolü kullanılmıştır. Ekstreler antimikrobiyal sonuçlara kıyaslandığında, ekstrelerin tümünün daha kuvvetli antifungal etkiler gösterdikleri ortaya konmuştur.

Anahtar Sözcükler: *Hypericum*, Morfoloji, Anatomi, Antioksidan aktivite, Antimikrobiyal aktivite.

ABSTRACT

ENDEMIC *HYPERICUM AVICULARIIFOLIUM* Jaub. et Spach AND *HYPERICUM BITHYNICUM* Boiss. PHARMACEUTICAL BOTANICAL EXAMINATION OF ITS SPECIES

Vesile TÜRKTEN

Department of Pharmaceutical Botany
Anadolu University, Graduate School of Health Sciences, January 2022
Advisor: Prof. Dr. Yavuz Bulent KÖSE

In this thesis study, endemic *Hypericum aviculariifolium* Jaub. et Spach and *Hypericum bithynicum* Boiss. The morphological, anatomical, chemical and antimicrobial properties of the species were investigated and examined in terms of pharmaceutical botany.

In morphological studies, detailed examination of the species was made. Stem, leaf and flower measurements were compared with the descriptions given in the flora of Turkey. In anatomical studies, cross-sections from the stem, cross-sections and superficial sections from the leaf were taken and their anatomical structures were examined.

In chemical studies, the above-ground extracts of the species were studied in solvents containing water and methanol, and the total phenolic substance amounts were determined. Determination of the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil radical (DPPH•) scavenging effect of the species and 2,2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid radical cation (ABTS^{•+}) scavenging effect and antioxidant properties, high Phenolic compounds were investigated by pressure liquid chromatography (HPLC). According to chemical results, antioxidant activity and total phenolic substance content of *H. aviculariifolium* methanol extract is higher than that of *H. bithynicum* . (ABTS^{•+}) scavenging effect increases in direct proportion to the concentrations of the extracts. The minimum inhibitory concentration (MIC) values of the extracts showing antimicrobial activity were determined by microdilution method. CLSI (formerly NCCLS) M27-A2 liquid microdilution protocol was used to determine the anticandidal effect. When comparing the antimicrobial results of the extracts, it was revealed that all of the extracts showed stronger antifungal effects.

Keywords: *Hypericum*, Morphology, Anatomy, Antioxidant activity, Antimicrobial activity.

ÖNSÖZ

Tez sürecinde, bana yol gösteren, her zaman sabır ve anlayışla karşılayan ve yardımını esirgemeyen değerli hocam, tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Yavuz Bülent KÖSE'ye,

Bitkilerimin toplanması ve teşhisinde yardımcı olan sayın hocalarım, Prof. Dr. Atilla Ocak ve Öğr. Gör. Dr. Derviş ÖZTÜRK'e,

Deneysel çalışmalarına değerli katkılar sağlayan ve yardımcı olan kıymetli hocalarım, Prof. Dr. Gökâl İŞCAN ve Doç. Dr. Fatih GÖGER'e,

Değerli vaktini ayıran sorularımı her zaman yanıtlayan sayın hocam, Öğr. Gör. Dr. Nagehan SALTAN'a,

Laboratuvar olanaklarından yararlandığım Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Botanik ve Farmakognozi Anabilim dallarına,

Azmini ve başarısını her zaman örnek aldığım kıymetli dostum Arş. Gör. Ezgi EREN'e ve sorularımı her zaman ilgiyle yanıtlayan bölüm arkadaşlarıma,

Öğrencilik hayatım boyunca maddi ve manevi her zaman yanımda olan canım annem ve kardeşlerime,

Bana hep inanan, sevgili eşim Yüksek Makina Mühendisi Nevzat TÜRK TEN'e
Sonsuz teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Vesile TÜRK TEN

Ocak 2022

13.01.2022

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; bu çalışmanın Anadolu Üniversitesi tarafından kullanılan “bilimsel intihal tespit programı”yla tarandığını ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

.....

(İmza)

Vesile TÜRK TEN

STATEMENT OF COMPLIANCE WITH ETHICAL PRINCIPLES AND RULES

I hereby truthfully declare that this thesis is an original work prepared by me; that I have behaved in accordance with the scientific ethical principles and rules throughout the stages of preparation, data collection, analysis and presentation of my work; that I have cited the sources of all the data and information that could be obtained within the scope of this study, and included these sources in the references section; and that this study has been scanned for plagiarism with “scientific plagiarism detection program” used by Anadolu University, and that “it does not have any plagiarism” whatsoever. I also declare that, if a case contrary to my declaration is detected in my work at any time, I hereby express my consent to all the ethical and legal consequences that are involved.

.....

(Signature)

Vesile TÜRK TEN

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
BAŞLIK SAYFASI	i
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI.....	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT.....	iv
ÖNSÖZ	v
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ.....	vi
İÇİNDEKİLER	viii
TABLolar DİZİNİ.....	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xiv
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2.1. Hypericaceae (Guttiferae) ile İlgili Genel Bilgiler.....	5
2.1.1. Hypericaceae familyasının sistematigi.....	5
2.1.2. Hypericaceae familyasının taksonomik özellikleri.....	5
2.1.3. Hypericum cinsinin taksonomik özellikleri	6
2.1.4. Hypericum cinsinin anatomik ve morfolojik özellikleri:.....	7
2.1.5. Hypericaceae familyasının Dünya’da ve Türkiye’deki yayılışı.....	8
2.2. Çalışılan Cinslerin Sistematigi ve Betimi.....	9
2.2.1. Türkiye florası <i>H.aviculariifolium</i> ’un alt türlerinin ayırım anahtarı.....	9
2.2.2. <i>Hypericum bithynicum</i> ’un taksonomik olarak sınıflandırılması	11
2.2.3. <i>Hypericum</i> türlerinin ekonomik ve tıbbi açıdan önemi	12
2.2.4. Etnobotanik.....	13
2.3. Kimyasal Bileşenleri.....	14
2.3.1. Naftodiantronlar	14
2.3.2. Floroglusinoller.....	15
2.3.3. Flavonoitler	15
2.3.4. Biflavonlar.....	16
2.3.5. Tanenler ve proantosiyanidinler	16

	<u>Sayfa</u>
2.3.6. Uçucu Yağlar	16
2.4. Antioksidan Etki	17
2.5. <i>Hypericum</i> Cinsinin Antimikrobiyal Aktivitesi	19
2.5.1. Antibakteriyal etki	19
2.5.2. Antifungal etki	21
2.5.3. Antiviral Aktivite.....	21
2.6. Diğer Çalışmalar	22
3. YÖNTEM	24
3.1. Materyal ve Gereçler	24
3.1.1. Bitkisel materyal.....	24
3.1.2. Cihaz bilgileri.....	27
3.2. Deneysel İncelemeler.....	27
3.2.1. Morfolojik inceleme	27
3.2.2. Anatomik incelemeler	28
3.2.3. Kimyasal incelemeler	29
3.2.3.1. <i>Ekstrelerin hazırlanması</i>	29
3.2.4. Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi/kütle spektrometresi (YBSK/KS) ile fenolik bileşiklerin belirlenmesi	30
3.2.4.1. <i>Toplam fenolik madde miktar tayini</i>	30
3.2.5. Antioksidan aktivite tayin teknikleri.....	31
3.2.5.1. <i>(DPPH•) 1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil radikalini süpürücü etki tekniki</i>	31
3.2.5.2. <i>(ABTS^{•+}) 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit radikal katyonu süpürücü etki tekniği</i>	33
3.3. Antimikrobiyal Aktivite Tayini	33
3.3.1. Kullanılan suşlar ve suş numaraları:	34
4. BULGULAR.....	35
4.1. Morfolojik İncelemeler	35
4.1.1. <i>Hypericum aviculariifolium</i> JAUB. ET SPACH.....	35
4.1.2. <i>Hypericum bithynicum</i> Boiss.	36
4.2. Anatomik Bulgular	37
4.2.1. <i>H. aviculariifolium</i> JAUB. ET SPACH.....	37

	<u>Sayfa</u>
4.2.1.1. <i>Gövde</i>	37
4.2.1.2. <i>Yaprak</i>	38
4.2.1.3. <i>Stoma ve epiderma hücrelerinin özellikleri</i>	39
4.2.2. <i>Hypericum bithynicum</i> Boiss.	39
4.2.2.1. <i>Gövde</i>	39
4.2.2.2. <i>Yaprak</i>	40
4.2.2.3. <i>Stoma ve epiderma hücrelerinin özellikleri</i>	41
4.3. Kimyasal Bulgular	41
4.3.1. Toplam fenolik madde miktar tayini.....	41
4.3.2. Antioksidan kapasite deneyi.....	43
4.3.3. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi/Kütle Spektrometresi (YBSK/MS) ile Belirlenen Fenolik bileşikler.....	45
4.3.4. Antimikrobiyal Etki Bulguları.....	57
5. SONUÇ VE TARTIŞMA	60
5.1. Morfolojik Sonuçlar ve Tartışma	60
5.2. Anatomik Sonuçlar ve Tartışma.....	61
5.3. Kimyasal Sonuçlar ve Tartışma.....	63
5.4. Antimikrobiyal Sonuç ve Tartışma	65
5.5. Genel Sonuç	66
KAYNAKÇA.....	68
ÖZGEÇMİŞ	

TABLÖLAR DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Tablo 2.1. <i>Hypericum aviculariifolium</i> 'un taksonomik olarak sınıflandırılması	9
Tablo 3.1. <i>H. bithynicum</i> ve <i>H. aviculariifolium</i> türlerinin lokalite ve herbaryum numaraları	24
Tablo 4.1. <i>H. aviculariifolium</i> morfolojik ölçümler	35
Tablo 4.2. <i>Hypericum bithynicum</i> morfolojik ölçümler	36
Tablo 4.3. Total fenolik madde miktarı	42
Tablo 4.4. Elde edilen inhibisyon verileri.....	43
Tablo 4.5. Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi/Kütle Spektrometresi (HPLC/MS) ile belirlenen maddeler.....	45
Tablo 4.6. Antimikrobiyal sonuçlara ait değerler	57
Tablo 4.7. Antifungal sonuçları çizelgesi	59
Tablo 5.1. Bazı <i>Hypericum</i> türlerinden izole edilen fenolik bileşikler.....	64

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1.1.	<i>Hypericum aviculariifolium</i>	2
Şekil 1.2.	<i>Hypericum bithynicum</i>	3
Şekil 2.1.	<i>Hypericum</i> L. Türlerinin Dünya Üzerindeki Yayılışı.....	8
Şekil 2.2.	Türkiye üzerindeki dağılımını gösteren harita.....	11
Şekil 2.3.	Haritada gösterilen iller Bolu, Zonguldak, Artvin, Bursa, Giresun, Trabzon.....	12
Şekil 3.1.	<i>Hypericum aviculariifolium</i> herbaryum örneği.....	25
Şekil 3.2.	<i>Hypericum bithynicum</i> herbaryum örneği.....	26
Şekil 3.3.	WILD TYP 181300 stereo mikroskobu	28
Şekil 3.4.	Trinokuler mikroskop ve Kameram görüntüleme sistemi.....	29
Şekil 3.5.	Evaporatör ile metanollü kısmın uzaklaştırılması.....	30
Şekil 3.6.	Toplam fenolik miktarını gösteren 96-kuyucuklu plak görüntüsü	31
Şekil 3.7.	DPPH sonucu, 96 kuyucuklu petri	32
Şekil 4.1.	<i>H. aviculariifolium</i>	35
Şekil 4.2.	<i>Hypericum bithynicum</i>	36
Şekil 4.3.	<i>H. avicularium</i> gövdeden alınmış enine kesit görseli	38
Şekil 4.4.	<i>H. aviculariifolium</i> yaprak enine kesiti	38
Şekil 4.5.	(A) <i>H. avicularifolium</i> yaprak alt yüzey, st: stoma e: epiderma hücreleri, (B) <i>H. avicularifolium</i> yaprak üst yüzey, hücreleri, e: epiderma st: stoma	39
Şekil 4.6.	<i>Hypericum bithynicum</i> BOISS. gövde enine kesiti	40
Şekil 4.7.	<i>Hypericum bithynicum</i> yaprak enine kesiti	40
Şekil 4.8.	(A) <i>Hypericum bithynicum</i> yaprak alt kısım, e: epidermis hücreleri st: stoma. (B) <i>Hypericum bithynicum</i> yaprak üst kısım, e: epiderma hücreleri.....	41
Şekil 4.9.	GA eğrisini gösteren grafik	42
Şekil 4.10.	Örneklerin GAE olduğunu belirten sütun grafiği	42
Şekil 4.11.	Ekstrelerin IC50 değerlerini gösteren sütun grafiği	43
Şekil 4.12.	Hesaplama da kullanılan eğri ve denklemi.....	44
Şekil 4.13.	Ekstrelerin mM TEAC değerleri	44
Şekil 4.14.	HaM: ekstresine ait DAD kromatogramı	46

Şekil 4.15.	HbM: ekstresine ait DAD kromatogramı	46
Şekil 4.16.	HaM, HbM çakıştırılmış DAD kromatogramı	47
Şekil 4.17.	HaL ekstresine ait DAD kromatogramı	47
Şekil 4.18.	HbL ekstresine ait DAD kromatogramı	48
Şekil 4.19.	HaL ve HbL çakıştırılmış DAD kromatogramı	48
Şekil 4.20.	Şikimik asit kütle spektrumu	49
Şekil 4.21.	Galaktonik veya glukonik asit kütle spektrumu	49
Şekil 4.22.	Kinik asit kütle spektrumu	50
Şekil 4.23.	3-kaffeoilkinik asit kütle spektrumu	50
Şekil 4.24.	Mangiferin kütle spektrumu	51
Şekil 4.25.	Mangiferin m/z 301 iyonu ayrıntılı parçalanmaları	51
Şekil 4.26.	Kateşin kütle spektrumu	52
Şekil 4.27.	Luteolin-C-glukozit kütle spektrumu	52
Şekil 4.28.	Viteksin veya isoviteksin kütle spektrumu	53
Şekil 4.29.	m/z 275 hiperforin parçalanma ürünü olabileceği düşünülen kütle içeren spektrum	53
Şekil 4.30.	Quercetin galaktozit kütle spektrumu	54
Şekil 4.31.	Kersetin galakturonit kütle spektrumu	54
Şekil 4.32.	Kersetin ramnozid kütle spektrumu	55
Şekil 4.33.	Apigenin glukozit kütle spektrumu (eser miktar)	55
Şekil 4.34.	Hiperisin parçalanma ürünü olduğu düşünülen maddeye ait kütle spektrumu	56
Şekil 4.35.	Kersetin kütle spektrumu	56
Şekil 4.36.	Antimikrobiyal etki bulguları çizelgesi	58
Şekil 4.37.	Antifungal etki sonuçları, 96 kuyucuklu petri	58

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ABTS	: 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit
ABTS ^{•+}	: 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit radikal katyonu
ae	: Alt epiderma
CLSI	: Klasik Laboratuvar Standartları Enstitüsü
dk.	: Dakika
DPPH	: 1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil
DPPH [•]	: 1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil radikali
e	: Epidermis
en	: Endoderma
fl	: Floem
GA	: Gallik Asit
GAE	: Gallik Asit Eşdeğeri
Ha	: Hypericum aviculariifolium,
Hb	: Hypericum bithynicum
HCMV	: Human Cytomegalovirus
HPLC- MS/MS	: Sıvı kromatografi-kütle spektrometresi/kütle spektrometresi
HPLC	: Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi
HPLC/MS	: Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi/Kütle Spektrometresi
IC ₅₀	: %50 İnhibe Eden Konsantrasyon
kp	: korteks parankiması,
ks	: Ksilem
m/z	: Kütle/yük
Maks.	: Maksimum
MCMV	: Mısır Klorotik Mozaik Virüsü
MeOH	: Metanol
MİK	: Minimum İnhibitör Konsantrasyon
Min.	: Minimum
n	: Veri Sayısı
NCCLS	: Standardization in Clinical Laboratory Automation and Information Systems
Ort.	: Ortalama

pp	: Palizat parankiması
sk	: salgı kanalı,
sp	: Sünger parankiması,
st	: Stoma
subsp.	: Subspecies (Alt tür)
TEAC	: Trolox equivalence antioxidant capacity
TEAK	: Troloks Eşdeğer Antioksidan Kapasite
tR	: Tutunma zamanı
vd.	: Ve devamı, ve diğerleri



1. GİRİŞ VE AMAÇ

İnsanoğlunun yıllar süren kullandıkları tedavi yöntemlerinin başında tıbbi bitkiler yer almaktadır. Tıbbi bitkilere artan bu ilgi ve ihtiyaç daha çok araştırma konusu olmasını sağlamaktadır.

Türkiye sahip olduğu konum neticesinde, kuzeyinde Avrupa-Sibirya Flora Bölgesi, batısı ve güneyinde Akdeniz Flora Bölgesi, İç, Doğu ve Güneydoğu Anadolu'yu içeren İran-Turan flora Bölgesi ile 3 farklı tipte floristik zenginlik ve çeşitlilik sunmaktadır (Öztürk & Ocak 2020). Ülkemiz bulundurduğu ekolojik özellikleri ile sahip olduğu iklimsel çeşitlilik, jeolojik ve jeomorfolojik özellik, topoğrafik çeşitlilikler, 0-4500 metre arasında değişen yükseklik değerleri ve 3 farklı bitki coğrafyasının birleştiği yerde olması floramızın bu denli zengin olmasının sebeplerindendir (Seçmen vd., 2004).

Ülkemizde yapılan Flora çalışmaları incelendiğinde yapılmış en detaylı çalışma olan “*Flora of Turkey and The East Aegean Islands*” bitki çeşitliliğimizi gözler önüne sermektedir. Türkiye’de 174 familyaya ait 1251 cins ve 12.000’den fazla tür ve tür altı taksonu ile dünyada en zengin floraya sahip ülkelerden biridir (Güner ve Aslan, 2012).

Bitki çeşitliliği bakımından oldukça zengin olan ülkemiz birçok familyaya ev sahipliği yapmaktadır. Bitkilerle tedavi denildiğinde ilk akla gelen familya şüphesiz ki Hypericaceae familyasıdır. *Hypericum* türleri; Hypericaceae familyasına ait, çok yıllık otsu veya çalimsı bitkilerdir. Dünyada güncel olarak varolan 500’den fazla *Hypericum* türü olduğu bilinmektedir (Crockett ve Robson, 2011; Dauncey vd., 2019).

Yüksek dağ ve sıradağlara sahip olan Türkiye’de 20 seksiyon bulunur. Bunlardan 49’u endemiktir, yüksek endemizm oranına iklim çeşitliliği en büyük etkidir. 107 takson ile temsil edilmektedir (Dündar, 2018; Ersoy, 2020). *Hypericum* türleri arasında en çok kullanılan, *Hypericum perforatum* (sarı kantaron)’dur (Cırak ve Dursun 2014).

Hypericum türlerinin içerdiği değerli sekonder bileşikler olan hiperforin, hiperisin, fenolikler, psödohiperisin, kuersitin, rutin gibi kimyasal metabolitler aracılığıyla çeşitli antiviral, antifungal, antibakteriyel, antiinflamatuvar, antiülser, sedatif, antidepresan ve antioksidan özellikler gösterdiği bilinmektedir (Süntar vd., 2010; Verotta, Appendino, Bombardelli, ve Brun, 2007).

Hypericum cinsi, Clusiaceae familyası ve Hypericoideae alt familyasına aittir (Meseguer ve Sanmartín, 2012). Genel olarak, *Hypericum* dünyanın ılıman bölgelerinde yetişen büyük bir bitki veya çalı cinsi olarak tanımlanabilmektedir (Cırak vd., 2007).

Avrupa, Asya ve Amerika dahil olmak üzere dünyanın birçok kıtasında yetişebilmektedir (Brutovská vd., 2000).

Hypericum aviculariifolium Jaub. & Spach subsp. *depilatum* (Frey & Bornm.) Robson var. *depilatum* cinsi (*H. aviculariifolium*), Türkiye’de bulunan endemik bir türdür (Güner ve Aslan, 2012) . Türkiye’ de bazı kuru taşlı veya kayalık ve kalkerli bölgelerinde yetişen yabani bir bitki olan *H. aviculariifolium* Şekil 1.1’de görselleştirilmiştir.



Şekil 1.1. *Hypericum aviculariifolium* (Öğr. Gör. Dr. Derviş ÖZTÜRK)

H. aviculariifolium ’un çiçekleri sarı renkte ve yapraklarının üzerinde yoğun siyah noktalar bulunmaktadır. Kapsüllerin çapı 5-10 mm, yaprakları 5–35 mm ve sapı 5–60 cm uzunluğundadır. Yapraklar, oblongtan eliptiğe veya daha çok obovattır (Cırak vd., 2007; Davis, 1970).

Türkiye’de yetişen ve içerisinde *Hypericum aviculariifolium*’un yer aldığı toplamda 17 *Hypericum* türünün sekonder metabolit içerikleri araştırılmış ve yapılan çalışma sonuçlarına göre, *Hypericum aviculariifolium* türünün psödohiperisin, hiperisin, hiperforin, rutin, hiperosid, kersitrin ve kersetin içerdiği tespit edilmiştir. Öte yandan, *H. aviculariifolium* ekstresinde en büyük kersetin içeriğine rastlanılırken, hiperosid ve kersetin içeriği oldukça düşüktür (Smelcerovic vd., 2008; Cırak vd., 2007). Bu çalışmada,

Türkiye’de farklı lokasyonlarda yetişen 7 farklı *Hypericum* türünün hiperisin, psödohiperisin, klorojenik asit, rutin, hiperosid, apigenin-7-O-kuersitrin, kerselin ve viteksin içeriğini belirlemiş ve *H. aviculariifolium*un hiperisin miktarının iyi bilinen ve ticari bir hiperisin kaynağı olan *H. perforatum*’unkinden daha fazla olduğunu belirlemişlerdir.

Hypericum türleri üzerinde yapılan araştırmalar neticesinde, bu türlerin naftodiantronlar, floroglusinoller ve flavonoidler gibi bileşiklere sahip olduğunu göstermiştir. Naftodiantronlar olarak bilinen pseudohyperisin ve hyperisin, *Hypericum* türlerinin yaprakları ve gövdesinde bulunan küçük siyah bez yapılar içinde bulunabilmektedir. Cırak vd., (2006) yaptıkları çalışmalarıyla, *H. perforatum* ve *H. pruinatum* türlerine göre *H. aviculariifolium*’un hiperisin içeriğinin tüm bitki ve yapraklarında daha fazla sayıda siyah renkli bez yapısına sahip olması nedeniyle yüksek olduğunu bildirmektedir. İçerdiği flavonoidler sayesinde, yüksek hiperisin ve flavonoid içeriğine sahip *H. aviculariifolium* türünün farmasötik potansiyele sahip olabileceği literatürde vurgulanmaktadır. (Küçük vd., (2015).



Şekil 1.2. *Hypericum bithynicum* (Öğr. Gör. Dr. Derviş ÖZTÜRK)

Benzer şekilde, Hypericaceae familyasına ait *Hypericum bithynicum* Şekil 1.2.’de verilmiştir. Türkiye’nin orta yükseklikteki güney bölgelerinde sıklıkla rastlanılmakla

birlikte, akarsuların yanı sıra nemli, gölgeli yerlerde doğal olarak yetişmektedir (Cırak vd., 2016).

H. bithynicum, *H. calycinum* ve *H. cardiophyllum* türlerinin amentoflavon ve mangiferin içeriklerini araştıran bir çalışma sonuçları, *H. bithynicum*un yapraklarında (1,72 mg/g DM/yapraklar) ve çiçeklerinde (0,25 mg/g DM/çiçekler) az miktarda mangiferin bileşiğine sahip olduğunu göstermiştir. Mangiferin bileşiğinin antialerjik, antioksidan, antiviral ve antidiyabetik gibi birçok farmakolojik özellik sağladığı bildirilmiştir (Cırak vd.,2017; Lee vd., 2009; Wang vd., 2011).

Bu çalışmasının amacı, *H. aviculariifolium* ve *H. bithynicum* türlerinin farmasötik botanik yönden incelenmesidir. Tez çalışmasının araştırma çerçevesi:

- 1) Anatomik incelemelerin gerçekleştirilmesi,
- 2) Morfolojik incelemeler gerçekleştirilmesi,
- 3) Deneysel çalışmaların yapılması,
 - a. Antioksidan çalışması
 - Toplam fenolik madde miktar tayinin yapılması
 - *H. aviculariifolium* ve *H. bithynicum* türlerinin kimyasal çalışmalarda 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH[•]) radikalini süpürücü etki tayini,
 - 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit radikal katyonu (ABTS^{•+}) süpürücü etki ile antioksidan özelliğinin belirlenmesi,
 - Kimyasal içeriğinin belirlenmesi YBSK/KS analizi,
 - b. Antimikrobiyal aktivite
 - Klinik Laboratuvar Standartları Enstitüsü'nün (CLSI) standart protokollerine göre ekstrelerin antikandida ve antibakteriyal etkileri 7 patojen mikroorganizmaya karşı belirlenmesi,
- 4) Elde edilen bulguların farmasötik botanik yönünden değerlendirilmesi, şeklinde dört aşamadan oluşmaktadır.

Literatürde *Hypericum* türlerinin son yıllarda araştırmacılar tarafından ilgi gördüğü ve kimyasal bileşenlerinin sıklıkla incelendiği gözlenmiştir. Bununla birlikte, *H. aviculariifolium* ve *H. bithynicum* türlerinin farmasötik botanik bakış açısından inceleyen ayrıntılı bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Dolayısıyla yapılacak bu tez çalışmasının, *H. aviculariifolium* ve *H. bithynicum* ile ilgili literatürde yer alan önemli bir boşluğu dolduracağı düşünülmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Hypericaceae (Guttiferae) ile İlgili Genel Bilgiler

2.1.1. Hypericaceae familyasının sistematığı

Alem (Kingdom): Plantae

Alt alem (Subkingdom): Tracheobionta

Bölüm (Division): Magnoliophyta

Sınıf (Class): Magnoliopsida

Altsınıf (Subclass): Dillenidae

Takım (Order): Theales

Aile (Family): Hypericaceae

Hypericum cinsine ait bitkilerin Hypericaceae adlı ayrı bir familyaya ait olduğunu savunurken bazı görüşler, genel görüş Clusiaceae (Guttiferae) familyasına ait alt bir cins olarak değerlendirilmesi gerektiği şeklinde olmuştur. Yeni yapılan moleküler düzeydeki filogenetik analizler ise Hypericaceae familyasının Clusiaceae (Guttiferae) familyasının diğer üyelerinden ayrı sınıflandırılması gereken bir familya olduğunu ve *Hypericum* cinsinin de bu familyaya dahil olduğunu savunan hipotezi kanıtlar niteliktedir (Crockett ve Robson, 2011).

Hypericaceae familyası toplam dokuz cinsten oluşur (Robson, 1981).

- *Vismia* Vand (52 tür)
- *Harungana* Lamarck (50 tür)
- *Hypericum* L. (Yaklaşık 500 tür)
- *Lianthus* N. Robson (1 tür)
- *Triadenum* Rafinesque (6 tür)
- *Thornea* Breedlove & McClintock (2 tür)
- *Santomasia* N. Robson (1 tür)
- *Cratoxylum* Blume (6 tür)
- *Eliea* Cambess (1 tür)

2.1.2. Hypericaceae familyasının taksonomik özellikleri

Hypericaceae familyasının genel morfolojik özellikleri şu şekildedir; kırmızı, siyah veya şeffaf renkli glandlar taşıyan herdem yeşil ve kışın yaprağını döken otsu ve çalimsı

formda bitkilidir. (Crockett ve ark. 2011) Bu glandlar bileşiminde hiperisin ve uçucu yağlar ihtiva etmektedir. (Cicarelli, 2001). Yapraklar basit, karşılıklı veya nadiren dairesel şeklinde dizilidir. Sepaller 5 tomurcuklarda imbrikat, petaller 5 serbest tomurcuklarda büzülmüştür. Stamenler demetler halinde, çok sayıda olup, ovaryum üst durumludur. Plasentalanma eksensel veya çeperseldir ve tohumlar endospermasızdır (Robson 1966).

2.1.3. *Hypericum* cinsinin taksonomik özellikleri

Yapılan en güncel flora çalışması olan N.K.B. Robson'ın “*Hypericum*'un Monografisi” (Robson, 2010) adlı incelemesinde, *Hypericum* cinsi 30 seksiyonla temsil edildiği belirtilmiştir. Bu seksiyonlar;

- Seksiyon 1 *Campylosporus*
- Seksiyon 2 *Psorophytum*
- Seksiyon 3 *Ascyreia*,
- Seksiyon 4 *Takasagoya*
- Seksiyon 5 *Androsaemum*,
- Seksiyon 6 *Inodora*,
- Seksiyon 7 *Bupleuroides*,
- Seksiyon 8 *Hypericum*,
- Seksiyon 9 *Olympia*,
- Seksiyon 10 *Campylopus*,
- Seksiyon 11 *Origanifolia*,
- Seksiyon 12 *Drosocarpium*,
- Seksiyon 13 *Oligostema*,
- Seksiyon 14 *Thasia*,
- Seksiyon 15 *Crossophyllum*,
- Seksiyon 16 *Hirtella*,
- Seksiyon 17 *Taeniocarpium*,
- Seksiyon 18 *Coridium*,
- Seksiyon 19 *Myriandra*,
- Seksiyon 20 *Webbia*,
- Seksiyon 21 *Arthrophyllum*,
- Seksiyon 22 *Triadenioides*,

Seksiyon 23 *Heterophylla*,
Seksiyon 24 *Adenotrias*,
Seksiyon 25 *Humifusoideum*,
Seksiyon 26 *Adenosepalum*,
Seksiyon 27 *Elodes*,
Seksiyon 28 *Brathys*,
Seksiyon 29 *Spachium*
Seksiyon 30 *Trigynobrathys*

Tez çalışması kapsamında incelenen türler *Theales* seksiyonu içinde gruplandırılmıştır.

2.1.4. *Hypericum* cinsinin anatomik ve morfolojik özellikleri:

Hypericum cinsinin morfolojik özellikleri şöyle özetlenebilir; çiçekler iki eşeyli, sepaller ve petaller 5 adet olup petaller çoğunlukla hafif kırmızı renkli veya kırmızı damarlı, genellikle sarı renklidir. Nektaryumlar nadiren uzantılıdır. Stamenler 5'li demetler halinde petallerin önündedir. Nadiren verimsiz demetler oluşturan 125 stamenden 4'ü sepallerin önünde, 2 tanesinde çiftler halinde birleşerek demetler oluşturmuş haldedir. Ovaryum 3-5 gözlüdür. Her plasentada 2'den fazla ovül bulunmakta ve birleşik 1 gözlüdür. Stiluslar 3-5 serbest, ince. Meyve resin taşıyan salgı cepli veya keseli septisit kapsuladır. Durupa nadiren etlenmiş ve açılmayandır (Robson 1966).

En belirgin özelliği **şizogen salgı kanalları** olup bütün türlerinde opak veya şeffaf glandlar olarak yapraklarda görülmektedir. Bu kanallar renkli yağlar içermektedir. Yağların içeriğini antosiyanidin ve pelargonidin gibi sekonder metabolitler oluşturmaktadır. Salgı kanalları floemde bazen de primer korteks, periskl, petiyol ve yaprak damarlarında görülmektedir. Yaprak genellikle dorsiventral, stoma hücreleri 2 veya daha fazla hücre ile çevrelenmiştir. Bazı nadir türler hariç yaprağın alt yüzeyinde daha fazla bulunmaktadır. Gövdenin enine kesitinde ksilem ve floem halkalarının yakınında dar fakat iyi tanımlanmış medüller ışınlar gözlenmektedir. Korteks *Hypericum* cinsinde daralmış ve salgı kanalları içermektedir. Salgı kanalları ayrıca floem ve öz bölgesinde de bulunmaktadır. Periskl sklerankimatik liflerden oluşan halkalar sahiptir. Tek ve kümelenmiş kalsiyum oksalat kristalleri oluşmaktadır. Genellikle glandular tüyler bulunmaktadır. Tüyler basit ve tek hücrelidir. Kutikula ince olmakla birlikte sert yapraklı türlerde genellikle kalındır. *Hypericum* taksonunda stomalar genellikle 3 veya daha fazla hücre ile çevrilmiştir. Mezofil tek veya iki tabakalı palizat dokusuna sahiptir.

Hypericum cinsinde korteks genellikle dar olup şizogen salgı kanalları içermektedir. Bu salgı kanalları öz bölgesi ve floemde de bulunmaktadır. Odun özellikleri göz önüne alındığında diğer cinslerden farklı olarak *Hypericum*; parankimasız, tamamen uniseriat ışınlı ve bölmeli fibrilli, spiral şekilli kalınlaşmış trakeler içerir. Otsu türlerde ise ksilem ve floem gelişmiş olmasına rağmen, ksilem ve floem dar bir tabaka oluşturmaktadır.

Odunsu ve yarı odunsu *Hypericum* türlerinde ise korteks dardır. Otsu türlerde sklerenkimatik halka gözlenmez. *Hypericum* cinsinde ksilem ve floem halkaları iç içedir. Öz bölgesi otsu türlerde daha fazla gelişmiştir. Trakeler basit perforasyon tablasına sahiptir. Dar medular ışın hücreleri salgı materyali ile doludur. Bazen öz bölgesi, perisikl ve primer korteksin dış kısmı da salgı kanalları içermesine rağmen, genellikle sekonder floemde görülmektedir (Metcalf, 1957; Davis, 1967).

2.1.5. Hypericaceae familyasının Dünya’da ve Türkiye’deki yayılışı

Hypericum türlerinin genel formu çalı ya da otsu bitkiler olup, Afrika’da yetişen bazı türler odunsu gövdeye sahip olabilir. Yeryüzünde ılıman kuşakta yayılış gösteren *Hypericum* türlerinin sayısı en son çalışmalara göre 500 türü olduğu bilinmektedir (Yüce ve ark. 2017). Soğuk kuşakta yükseltisi daha az olan yerlerinde bulunurken, sıcak ve tropik iklim kuşağında deniz seviyesinden yüksek alanlarında bu bitkilere rastlanmaktadır (Nürk, 2011).

Türkiye’de 20 sekiyon içerisinde 49’u endemik olan ve 107 takson ile temsil edilmektedir (Dündar, 2018; Ersoy, 2020).



Şekil 2.1. *Hypericum* L. Türlerinin Dünya Üzerindeki Yayılışı (Nürk, 2011)

2.2. Çalışılan Cinslerin Sistematığı ve Betimi

Hypericum aviculariifolium Jaub. et Spach

Tablo 2.1. *Hypericum aviculariifolium* 'un taksonomik olarak sınıflandırılması

Kingdom	Plantae
Subkingdom	Tracheobionta
Divisio	Magnoliophyta
Clasis	Magnoliopsida
Subclasis	Dilleniidae
Ordo	Theales
Familya	Clusiaceae
Genus (Cins)	<i>Hypericum</i>
Species (Tür)	<i>Hypericum aviculariifolium</i>

Gövdesi 5-60 cm yüksekliğinde, dik ya da toprak üzerinde yatık otsu bitkilerdir. Tüysüz veya kısa yumuşak tüyleri bulunmaktadır. Yapraklar 5-35 mm uzunluğunda, oblong veya eliptikten obovata değişik şekillerde olabilir, kenar altlarında genellikle yüzeyde siyah guddeler bulunur. Sepaller, oblongdan lanseolata veya akut ile yuvarlak, kirpikleri guddeli veya sayısız çizgili guddeleri bulunur ve tüysüzdür. Petaller 8-15 mm, kenarlarında siyah veya amber rengi yüzeysel guddeleri vardır. Kapsula 5-10 mm, ovoid, sırtta salgı kanalları ile yanlarda kabarcıklar bulunur (Davis, 1982).

H.aviculariifolium endemik ve çok polimorfik bir tür olup *H.ortanifolium* ile yakından ilişkilidir.

2.2.1. Türkiye florası *H.aviculariifolium* 'un alt türlerinin ayırım anahtarı

1. Gövdesi kısa sert tüylü

subsp. *byzantinum*

1. Gövdesi tüysüz

2. Yapraklar kısa yumuşak tüylü; petallerin kenarı genellikle siyah guddeli

subsp. *uniflorum*

2. Yapraklar tüysüz, papillalı; petaller sadece siyah noktalı guddeli

3. Gövde genellikle dik, (15-)30-60 cm; yapraklar dikdörtgenimsi şeritsi (uzunluğun/ genişliğe oranı 3-6); çiçeklenme çok fazla şekli dardan piramidal silindirik

4. Sepaller, boyuna dairemsi veya tepesi küçük sert uçlu salgı bezli; yapraklar 20-35 mm, petaller bazen beyaz veya pembemsi

subsp. *aviculariifolium* var. *albiflorum*

4. Sepallerin yerleşimi, sivri veya hemen hemen sivri yapraklar; 10-15 mm petaller her zaman sarı bazen kırmızımsı

subsp. *aviculariifolium* var. *avicularifolium*

3. Gövde genellikle eğik toprak üzerinde yatık, 5-20(-28) cm; yapraklar dikdörtgen veya eliptikten dikdörtgene doğru (uzunluğun/ genişliğe oranı 1.5-3(-4); çiçeklenme birkaç tane piramidal veya silindirikten şemsiyeye

5. Gövde hemem hemen yükselici, çiçeklenme genellikle çok fazla piramidalden silindirik

subsp. *depilatum* var. *depilatum*

5. Gövde eğik ve toprak üzerinde yatık; çiçeklenme genellikle yalancı şemsiye şeklide

1- çiçeklenme

6. Sepaller sivri

subsp. *depilatum* var. *leprosum*

6. Sepaller sivri ila yuvarlak arası (bitki genellikle çok küçük)

subsp. *depilatum* var. *bourgaei*

Türkiye’de yayılış alanları:

Çiçeklenme: Mayıs- Haziran

Habitat: Çam ve meşe ormanları, kireç taşlı ve kayalık alanlardır.

Hypericum aviculariifolium, Türkiye endemik bir tür olup genel dağılımı B. Ve G. Anadolu bölgeleridir.



Şekil 2.2. Türkiye üzerindeki dağılımını gösteren harita

Haritada; Antalya, Burdur, Denizli, İzmir ve Muğla olarak bulunduğu illeridir.

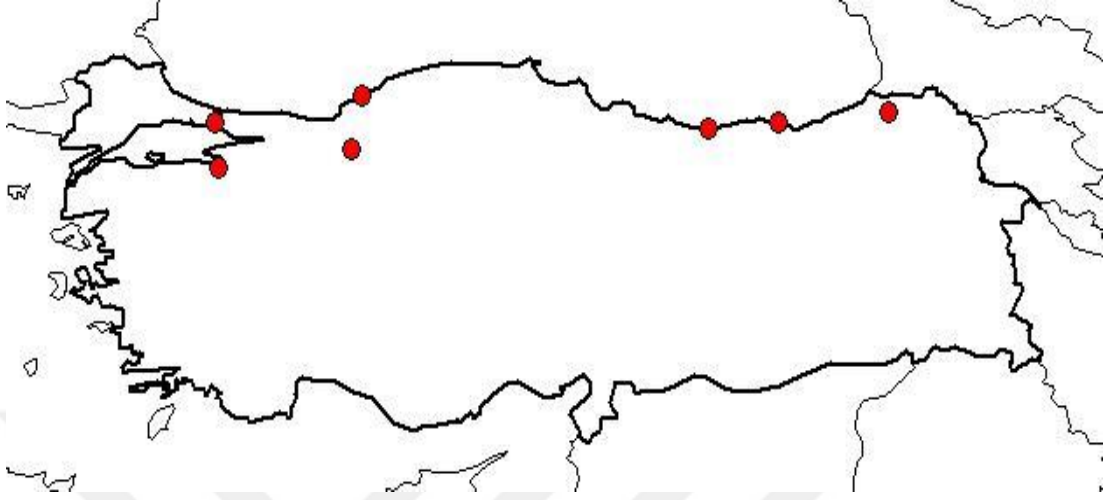
2.2.2. *Hypericum bithynicum*'un taksonomik olarak sınıflandırılması

Kingdom	Plantae
Subkingdom	Tracheobionta
Divisio	Magnoliophyta
Clasis	Magnoliopsida
Subclasis	Dilleniidae
Ordo	Theales
Familya	Clusiaceae
Genus (Cins)	Hypericum
Species (Tür)	<i>Hypericum bithynicum</i>

Gövde 10-60 yüksekliğinde, dik ve dallar yükselidir. Yapraklar (10-)15-55 mm uzunluğunda, ovat ya da ovat-oblong ile suborbikülere kadar değişik şekillerde olabilir. Yapraklarda ağsı damarlanma belirgin olup yüzeyde şeffaf bazen de siyah guddeler bulunmaktadır. Sepaller lanseolattan oblonga ve glandular dentikulat, fimbriat veya nadiren bütün yapıdadır ve yüzeysel siyah noktalar bulunmaktadır. Petaller 10-13 mm ve tüm yüzey siyah noktalıdır. Kapsula 6-7mm, dar, oval, yuvarlak ve uzun vezikülüdür. (Davis, 1982, Rabson, 1968).

Deniz seviyesinden 2300 m'ye kadar nemli çayırlar, bodur ormanlıklar ve yaprak dökken koruluklarda bulunur. (Davis, 1982). Çiçeklenme zamanı Mayıs'da başlayıp Ekim'e kadar devam eder.

Türkiye’de K. Anadolu Dünya’da ise Gürcistan ve B.Kafkasya’da yayılım göstermektedir.



Şekil 2.3. Haritada gösterilen iller Bolu, Zonguldak, Artvin, Bursa, Giresun, Trabzon illeridir.

2.2.3. *Hypericum* türlerinin ekonomik ve tıbbi açıdan önemi

Hypericum cinsinin önemli fitokimyasal bileşikler içerdiği bilinmektedir. Bu nedenle Avrupa’da en çok tercih edilen bitki ekstreleri içerisinde yer almakta olup, ekonomik değeri açısından ne derece kıymetli olduğunu göstermektedir (Yaylacı vd., 2013). Tedavi edici kullanımda ilk sıralarda yer alan *Hypericum* türleri, en çok tercih edilen kullanım özelliği olan yara iyileştirici özelliği başta olmak üzere ve orta dereceli depresyon tedavisinde tercih edilmektedir. Ülkemiz *Hypericum* türleri bakımından içermiş olduğu zenginliği ile gen merkezi konumundadır (Şatana ve Arslan, 2012). Ülkemizde halk arasında sıklıkla kullanılan *H. perforatum* türüdür (Öztürk ve Ocak 2020). Günümüzde Rusya, Sibiry ve Çin başta olmak üzere dünyanın farklı bölgelerinde tarımı yapılmaktadır. Fitokimyasal içerik bakımından *H. perforatum* ile benzerlikleri son yapılan çalışmalarla ortaya konmuş *H. brasiliense*, *H. androsaemum* ve *H. angustifolium* gibi diğer *Hypericum* türlerinin de dünyanın farklı bölgelerinde kültüre alınmışlardır. Karadeniz Bölgesi’nde sıklıkla kullanılan *H. perforatum* türü ve benzer diğer türleri doğadan toplanıp yurtiçi ve yurtdışı pazarlara satılmaktadır. (Şatana ve Arslan 2012).

ABD, Avustralya ve Yeni Zelanda’da kültürü yapılan *Hypericum* türleri bulunmaktadır (Groenteman ve ark. 2011).

Hypericum müstahzarları, Avrupa da ruhsatlı olduğu gibi ruhsatsız da satılabilmekte olup, kullanım amacı açısından daha çok gıda takviyesi olarak tercih

edilmektedir. (Linde, 2009). 2004 yılında, *H. perforatum* içeren ekstreler Almanya’da bir yılda 70 milyon Euro’dan fazla katkı payı sağladığı bilinmektedir (Bäcker vd., 2005; Crockett ve Robson, 2011). *Hypericum* üretiminde başı çeken ülke Almanya’dır. 2003 yılında Almanya’da 600 hektardan daha büyük bir arazide *Hypericum* türlerinin tarımının yapılmakta olduğu belirtilmiştir. Polonya ve İspanya’nın Mallorca şehri de *H. perforatum* üretiminde ilk sıralarda yer almaktadır (Gärber ve Schenk, 2004).

Günümüzde *H. perforatum* ekstraktlarının hafif ve orta şiddette depresyon tedavisinde antidepresan olarak tüm dünyada yaygın kullanımdadır ve hazırlanan farklı formlardaki ürünlerinin dünyadaki satış değeri yılda 570 milyon doları aştığı kayıtlara geçmiştir (Sirvent, 2002). *Hypericum* türlerinden elde edilen ekstratlar; ateşli hastalıklarda, mide rahatsızlıklarında, diş eti iltihaplanmalarında, kabuk oluşturabilecek yaralarda iltihap kurutucu olarak, özellikle ayakta oluşan mantarda, sinüzitte, basurda ve özellikle depresyon tedavisinde kullanılmaktadır (Volz, 1997).

Standart antidepresan ilaçların yerine alternatif olarak geçebilen *Hypericum* özütleri, hafif ve orta şiddetteki depresyon tedavisinde diğer antidepresanlara oranla içerik bakımından daha doğal oluşu kullanımı artırmakla birlikte (Butterweck 2003), maliyetide önemli ölçüde düşürdüğü rapor edilmiştir (Sirment vd., 2002)

2.2.4. Etnobotanik

Ülkemiz bitkilerinin, halk arasında kullanımı çok eski zamanlara dayanmaktadır ve geleneksel kullanımına dair çalışmalar artarak devam etmektedir.

Yazılmış en eski tedavi edici bitkilere dair eser “De Materia Medica” adlı kitaptır, burada *Hypericum* cinsine de yer verilmekte ve yer alan türler geleneksel kullanım arasında kılıç otu, yaraotu, binbirdelik otu ve kan otu, gibi farklı halk arasında isimlendirilmektedir (Baytop, 1999). Koyun gibi hayvanların derilerinde hassasiyete neden olduğu için halk arasında kuzukıran olarak adlandırılır, fazla yediklerinde ise ciddi zehirlenmelere sebep olur (Uzun, 2009)

Halk dilinde çiçeklerinin sarı olması nedeniyle, yaygın olacak sarı kantaron olarak bilinen *Hypericum* türlerinin çeşitli kullanım yöntemleri bulunmaktadır. Örneğin; *H. empetrifolium* ve *H. scabrum* türlerinin çiçekleri Anadolu’da kumaşları sarıya boyamak için kullanılır (Baytop 1984). Çiçekli dallarından yapılan infüzyonu (%1) içilmekte, kantaron dekoksasyonu ve kantaron yağı ise yaralara sürülmektedir. Ayrıca tentürü ve ekstresi gibi ciltte oluşan yanık ve yaralara direkt olarak sürülebildiği kullanım şekilleri

vardır (Çırak ve Kurt 2014). Orta Anadolu’da, soğuk algınlığı gibi rahatsızlıklarda da kantoran çayı içilmektedir ve bağırsakta oluşan şişkinliklerde ve mide yanmalarında sıklıkla kullanılmaktadır (Sezik vd., 2001). Boğaz ağrılarında, safra kanalı rahatsızlıklarında, ve daha çok çocuklarda görülen sarılık tedavisinde halk arasında yaygın kullanımı olduğu belirtilmiştir (Gap, 2011).

Ülkemizde’de geleneksel tedavide infüzyon, dekoksasyon, oleat veya merhem şeklinde çeşitli hastalıklarda harici/dahili olarak kullanılmaktadır. Kantaron genellikle halk arasında zeytinyağı içerisine bekletilip haricen kullanılmaktadır (Mukherjee vd., 2000).

Halk arasında kullanımının bu kadar yaygın olması, bitkiye özgü kimyasal bileşenlerinin etkilerinin incelenmesi açısından bir çok araştırmacıya çalışma konusu olmuştur. Cinsin türlerinin yağı antiseptik özellikte olup, mantar ve bakteri enfeksiyonlarında kullanılmakta ve ayrıca virüslere karşı da etkili olduğu son yapılan çalışmalarda ortaya konmuştur (Meral, 2002; Çakır vd., 2004; Duman, 2012; Toker, 2002; Akgöz, 2013)

2.3. Kimyasal Bileşenleri

Hypericum türleri yapılan araştırmalar neticesinde, bu türlerin başlıca sorumlu bileşikleri naftodiantronlar, floroglusinoller, flavonoidler gibi değerli kimyasal bileşikler içermekte ve ek olarak; ksantonlar, tanenler, uçucu yağlar, fenolik asitler, proantosiyanidinler ve biflavonoidler (biapigenin ve amentoflavon)’gibi önemli bileşikler tanımlanmıştır (Camas vd., 2014; Williamson, Driver ve Baxter, 2009).

2.3.1. Naftodiantronlar

Bitkinin daha çok çiçeklerinde ve yapraklarında görülen naftodiantronlar, gün ışığında bakıldığında delik, siyah ve nokta görümlü hatta bazen beyaz guddelerde bulunan ve toprak üstü kısımlardan çıkarılan yağına has olan kırmızıdan ambere dönük renginden sorumlu olduğu bilinen bileşenlerdir. Yapılan çalışmalarda *Hypericum* türlerinde en fazla bulunan bileşikler naftodiantronlardır. Farmakolojik etkilere sahip olduğu bilinen Hiperisin ise yüksek miktarda bulunmasına rağmen türlerin çeşidine göre, Psödohiperisin 4 kata kadar fazla bulunmaktadır (Saddiqe, Naeem ve Maimoona, 2010). Bu bileşenlerin faydalarının olduğu gibi ciddi yan etkileri de vardır, koyun gibi hayvanlarda fazla yenildiğinde deri direkt güneş ışığına maruz kalındığında kızarıklık

gibi hassasiyete sebebiyet vermekte olup, literatürde bu hiperisizm olarak isimlendirilmektedir (Çırak ve Kurt, 2014). Hiperisin antidepresan, antiviral, antitümöral gibi önemli etkilere sahiptir. (Meruelo vd., 1988; Jacobson vd., 16 2001; Barnes vd., 2007). Hiperisin güçlü fotosensibilizan kaynağı olup bu bağlamda kanser tedavisinde etkili olan antitümöral fotodinamik terapide kullanılabilecek potansiyel bir madde olarak değerlendirilmektedir (Potacka, 2003).

2.3.2. Floroglusinoller

Bitkinin içerdiği fluoroglusinol bileşiğinin yapısal farklılıkları bitkinin biyolojik aktivitesini belirler ve kemotaksonomik sınıflandırmada bu farklılıklardan da yararlanılmaktadır. Norman Robson, *Hypericum* türlerini sınıflandırırken içerdikleri floroglusinol bileşiklerinden de faydalanmıştır (Robson 1977; Robson 2002). Hiperforin, sarı kantaronun çiçeklerinde ve yapraklarında yaygın olarak yer alan biyoaktif bileşiktir (Schmidt ve Heilmann, 2013). Hiperforinler lipofiliktir, ısıya ve ışığa karşı kararsızdır (Patočka, 2003). Hiperforin bu bileşikler içinde en önemli olanıdır. Yapılan çalışmalarda hiperforinin antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur (Altan vd., 2015).

2.3.3. Flavonoidler

Bitkilerde yaygın olarak bulunan sekonder bileşiklerdir. Renkli bileşikler oldukları için, bitkiye renk vererek polen taşıyıcılar için cazip hale getirme görevleri vardır. Yapraklarda ise, bitkiyi bazı patojen mantarlardan ve UV-B radyasyondan korurlar. Ayrıca flavonoidler, enerji transferinde, fotosensibilizasyon reaksiyonlarında, bitki büyüme hormonlarının kontrolünde ve fotosentezde de rol almaktadır. Bölümlere ayrılmasında hetero halkaların konumlanması baz alınmaktadır böylelikle flavanonlar, antosiyanidinler, flavonlar, auronlar gibi bölümlere ayrılıp, sınıflandırılabilir (Cushnie ve Lamb, 2005). Flavonoidler bitkinin çiçek ve yapraklarında bulunurlar (Gaedcke, 2003; Linde vd., 1996). *Hypericum* türlerindeki flavonoidlerin genellikle flavonol türevi olan kersetin ve heterozitleri olduğu bildirilmiştir (Altan vd., 2015).

Napoli ve arkadaşlarının 2018 yılında yaptığı güncel bir çalışmada toplam 11 adet *Hypericum* türünün flavon bileşikleri incelenmiş (*H.hirsutum*, *H. pubescens*, *H. tetrapterum*, *H. patulum* *H.montanum*, (*H. aegypticum*, *H. perforatum*, *H. calycinum*, *H. hircinum*, *H. androsaemum*, *H. perforiatum*,) türlerin içerikleri; kersetin-3-O-galaktozit, kersetin-3-O-rutinozit, kersetin-3-O-ramnozit, kersetin-3-O-glukozit, kateşin, ve kersetin

içerik varlığı bulunmuştur. Bu içeriklerin yanı sıra mirsetin-3-O-ramnozid, çalışılan türler arasında *H. perfoliatum*'da bulunmaktadır (Napoli vd., 2018)

2.3.4. Biflavonlar

Bitkilerde nadiren bulunan biflavonlar, sadece çiçeklerde ve tomurcuklarda bulunur (Berghofer ve Holzl, 1987). *Hypericum* türlerinde çok az biflavon varlığı bilinmektedir. Bulunanlar; 6', 8''-dikersetin' ve amentoflavonlardır (Nahrstedt ve Butterweck, 1997). Amentoflavon'un iyi bir ağrı kesici özelliğinin bulunmasının yanı sıra, mide ülserlerinin ve infilyasyonu önlemede önemli etkileri olduğu bilinmektedir (Çırak ve Kurt, 2014; Patočka, 2003).

2.3.5. Tanenler ve proantosiyanidinler

Proantosiyanidinler, *Hypericum* türlerinin daha çok toprak üstü kısımlarında ve gövdede bulunduğu bilinmektedir Gaedcke, 2003; Linde vd., 1996).

Hypericum türlerinde, kondanse tanen bileşikler yüksek oranda (%16'ya kadar) bulunur (Kartnig vd., 1989). *H. perforatum* türünün kimyasal bileşiminde sürgünlerinde %3,8 en az olup, yapraklarında %12,4 ve yoğun olarak çiçeklerinde %16,2 oranında bulunmuştur (Ernst, 2003).

Tanenlerin bilinen özellikleri, bakteri, mantar ve virüsler üzerinde de etkili olduğu bunun yanı sıra, mutajen maddelerin mutajenik etkisini azalttığı bilinmektedir. Bu etkiler tanenlerin antioksidan özelliğinden kaynaklanmaktadır (Chung vd., 1998).

2.3.6. Uçucu Yağlar

Hypericum türlerinde yüksek oranda bulunan uçucu bileşenleri genellikle yaprak ve çiçeklerde bulunan delik görümlü guddelerde bulunmaktadır, bu organlarda bulunan yağ oranı, çiçeklenmenin başında ve tam çiçeklenme zamanı gibi dönemlerde değişkenlik göstermektedir. Örneğin; çiçeklenmeden hemen önce %0,12 oranında yağ verimi görülürken bu oran tam çiçeklenme aşamasında %0,35'e kadar çıkmaktadır (Nahrstedt ve Butterweck, 1997). *Hypericum* türlerinde yüksek oranda bulunan bileşenler; seskiterpenler (β -karyofillen ve karyofillenoksit) ve monoterpenler (α -pinen, β -pinen, limonen ve mirsen) dir. Bununla birlikte uçucu yağda alifatik bileşiklerde içermektedir (Crockett, 2010).

Hypericum türleriyle yapılan uçucu yağ çalışmalarında bileşenler oldukça farklılık göstermekle beraber, 2017 yılında Yüce-Babacan ve arkadaşlarının incelemiş olduğu *H. lydium* Boiss ve *H. uniglandulosum* Hausskn. ex. Bornm. türlerinde ana bileşen α -pinen olarak tespit edilmiştir (Yüce-Babacan vd., 2017). Ana komponenti belirlemek için yapılan başka türlerdeki çalışmalarda ilk olarak α -pinen ve ikinci olarak β -pinen bileşeni olan *H. dogonbdanicum*, *H. myrianthum* ve *H. scabrum* türlerinde ortaya konmuştur (Ferraz vd., 2005; Javidnia vd., 2008).

2.4. Antioksidan Etki

Serbest radikaller, diğer moleküller ile kimyasal reaksiyonlara giren kararsız ve oldukça aktif eşleşmemiş elektronlu atomlar, moleküller veya iyonlardır (Kostova ve ark., 2011; Altan ve ark., 2006) Biyolojik sistemde meydana gelen oksidatif hasarı önlemede etkili olan moleküllere antioksidan denilmektedir. Doğal kökenli antioksidan etkili maddelerin kullanılmasıyla bu hasarların iyileştirilmesi veya ortadan kaldırılmasını ile ilgili çalışmalar yapılmaktadır (Singh ve Downing, 1995). Neredeyse her flavonoid grubu antioksidan görevi görme kapasitesine sahiptir. Flavonların ve kateşinlerin, vücudu reaktif oksijen türlerine karşı korumak için en güçlü flavonoidler olduğu bildirilmiştir (Panche ve ark., 2016) *Hypericum* türleri içerdikleri çeşitli fenolik bileşiklerden dolayı antioksidan etkisi bulunduğu literatür çalışmaları yer almaktadır.

H. perforatum türüyle yapılan çalışmada ekstrelerin antioksidan aktiviteleri fenolik bileşiklerle ilişkilendirilmektedir. *H. perforatum* türünden hazırlanan etanol ekstresinin hiperisin, hiperforin ve türevleri, hidroksisinnamik asitler, rutin, hiperozit, kersetin, klorojenik asit, flavonoller ve flavonlar gibi birçok fenolik bileşikler içerdiği bildirilmiştir ve bu bileşiklerin ekstrenin antioksidan aktivitesinden sorumlu olabilecekleri öne sürülmüştür (Conforti ve ark, 2002; Zou ve ark, 2004; Silva ve ark, 2005).

Balkanlarda yetişen 9 farklı *Hypericum* türünün metanol ekstrelerinin *in vitro* antimikrobiyal ve antioksidan aktivitelerinin araştırıldığı bir çalışmada ise, *H. perforatum* türünün çiçeklerinden hazırlanan ekstre ile *H. barbatum* türünün toprak üstü kısımlarından hazırlanan ekstrenin en yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğu saptanmıştır (Radulovic ve ark, 2007).

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

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

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

H. hircinum türü ile yapılan bir çalışmada bitkinin etanol ekstresi ve toplam altı fraksiyonu üzerinde antioksidan aktivite deneyleri yapılmıştır. Buna göre ekstrenin ve fraksiyonların etkinliğinin birbirine yakın ve oldukça yüksek olduğu tespit edilmiştir (Mandrone ve ark. 2015).

H. perforatum ve *H. calycinum* türleriyle yapılan başka bir çalışmada DPPH metoduna göre *H. calycinum* türünün etkinliğinin $50,61 \pm 2,8$ inhibisyon oranıyla, $44,85 \pm 1,8$ oranında inhibisyon gösteren *H. perforatum* türüne göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu durumun nedeninin *H. calycinum* türünün toplam fenolik bileşik içeriğinin (313,94 mg gallik asit ekivalanı/100 g) *H. perforatum* türünden daha yüksek olmasıyla (308,83 mg gallik asit ekivalanı/100 g) açıklanmaktadır (Öztürk ve Kıyan, 2016).

2018 yılında İtalya’da yapılan bir çalışmada Sicilya’da yetişen 11 farklı *Hypericum* türünün (*H. perforatum* L., *H. calycinum* L., *H. aegypticum* L., *H. androsaemum* L., *H. patulum* Thunb., *H. perforatum* L., *H. pubescens* Boiss., *H. tetrapterum* Fr., *H. hircinum* L., *H. hirsutum* L., *H. montanum* L.). Antioksidan özellikleri değerlendirilmiştir. Türlerin hepsinde antioksidan ve serbest radikal giderici aktivite saptandığı belirtilmiştir. Folin-Ciocalteu yöntemine göre en etkili türler sırasıyla *H. perforatum*, *H. androsaemum*, *H. tetrapterum* ve *H. calycinum* türleridir (Napoli ve ark. 2018).

2018 yılında Gitea ve arkadaşları tarafından Romanya’da yürütülen çalışmada Transilvanya’nın kuzeybatısında bulunan çeşitli bölgelerden toplanan *H. perforatum*, *H. maculatum*, *H. hirsutum* ve *H. tetrapterum* türlerinin polifenolik bileşikler ve hiperisin içeriği ile antioksidan aktiviteleri karşılaştırılmıştır. *H. maculatum* ve *H. perforatum* FRAP yöntemine göre en yüksek antioksidan aktivite gösteren türler olarak belirlenmiştir (Gitea ve ark. 2018).

2018 yılında Eroğlu Özkan ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada *H. neurocalycinum* ve *H. malatyanum* türlerinin antioksidan aktiveleri incelenmiştir. *H. neurocalycinum* türünün, *H. malatyanum* türüne göre DPPH• serbest radikal giderici (EC₅₀ değeri: 2,49 ± 0,09 mg/mL) süperoksit anyon giderici (EC₅₀ değeri: 0,613±0,05 mg/mL), ve lipid peroksidasyon inhibe edici (EC₅₀ değeri: 2,49 ± 0,09 mg/mL) etkisi daha yüksek sonucu ortaya konmuştur. Aktivitedeki bu farklılığın *H. neurocalycinum* türündeki antioksidan etkili rutin, kersetin, kempferol gibi flavonoit bileşiklerinin diğer türe göre daha yüksek miktarda bulunmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (Eroğlu Özkan ve ark. 2018).

2.5. *Hypericum* Cinsinin Antimikrobiyal Aktivitesi

2.5.1. Antibakteriyel etki

H. perforatum türünün antik zamanlardan bu yana yara iyileştirici olarak kullanılması antibakteriyel etkisiyle ilişkilendirilmektedir. Orta çağ'da doktorların ameliyat yaralarını ve enfekte yaraları *H. perforatum* yağı ile tedavi ettiği bilinmektedir. Rusya'da *H. perforatum* bitkisinden elde edilen “Novoimanin” ve “İmanin” isimli ilaçlar uzun yıllardır antibakteriyel olarak hekimler tarafında reçete edilmektedir. Bu ilaçların *in vivo* ve *in vitro* testlerle *Staphylococcus aureus* enfeksiyonlarında, sulfanilamide göre daha etkili olduğu tespit edilmiştir (Derbentseva ve Robinovich, 1968; Aizenman, 1969).

H. perforatum türünün çay halinde kullanımı olduğu gibi bu çayın antibakteriyel etkinliği ile ilgili yapılan çalışmalar da vardır. 2001 yılında Reichling ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada *H. perforatum* ile hazırlanan çayların su ile seyreltilmiş halde özellikle metisiline karşı dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) suşuna karşı etkili olduğu saptanmıştır. Aynı zamanda diğer Gram-pozitif bakterilere karşı da etkili olduğu tespit edilmiştir (Reichling ve ark. 2001).

Güney İtalya'da yapılan bir çalışmada, çeşitli etnobotanik kullanımları olan 104 bitki türünden hazırlanan toplam 168 ekstrenin, metisiline karşı dirençli *Staphylococcus aureus* (ATCC 33593) suşları üzerindeki etkinliği incelenmiştir. *H. perforatum* ekstrelerinin MİK değeri 256 µg/mL ve IC₅₀ değeri 128 µg/mL olarak bulunmuştur (Quave ve ark. 2008).

Endemik *Hypericum* türlerinden (*H. rupestre* Jaub. ve Spach., *H. vacciniifolium* Hayek ve Siehe. ve *H. imbricatum* Poulter) elde edilen sulu ve etanolik ekstrelerinin,

metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*'u (MRSA) inhibe edebilme kabiliyetleri araştırılmıştır. Bitkilerin hem sulu hem de etanolü ekstreleri MRSA üzerinde etkili olmuştur. En büyük antibakteriyel aktiviteye *H. imbricatum* 'un etanolik ekstresinin sahip olduğu bulunmuştur (Dulger, ve Hacıoglu, 2009).

Türkiye'nin güneydoğusundan toplanan üç *Hypericum* (*H. scabrum*, *H. lysimachioides* Boiss. var. *lysimachioides*, *H. retusum* Aucher) türünün etanol ekstrelerinin antimikrobiyal aktivitelerinin test edildiği bir çalışmada, hazırlanan ekstreler test edilen mikroorganizmalara karşı farklı antibakteriyel aktivite göstermiştir. Tüm ekstrelerin *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* ve *Pseudomonas aeruginosa* karşı güçlü antibakteriyel etkililiğe sahip olduğu bulunmuştur. İncelenen tüm *Hypericum* ekstreleri arasında, *H. scabrum*'un etanol ekstresi, test edilen tüm mikroorganizmalara karşı en güçlü antimikrobiyal etkinliği göstermiştir (Barış vd., 2011).

Hypericum atomarium Boiss. çiçeklerinden hazırlanan kloroform, metanol ve su ekstrelerinin *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus haemolyticus* ve *Staphylococcus epidermidis* üzerindeki antibakteriyel etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, ekstrelerin çalışılan tüm izolatlar üzerinde farklı oranlarda güçlü antibakteriyel etkisinin olduğu tespit edilmiştir. İzolatlar üzerinde en güçlü antibakteriyel etki kloroform ekstresinde gözlenmiş, en az etki ise su ekstresinde saptanmıştır. Bu çalışma *H. atomarium*'un *Stafilokok* enfeksiyonlarına karşı kullanılabileceğini ortaya koymuştur (Ebru ve Çevikbaş, 2018).

Hypericum japonicum türüyle yapılan bir çalışmada bitkinin içeriğinde yer alan antibakteriyel etkili dimerik açılfloroglusinol türevi dokuz farklı bileşiğin *E. coli* (ATCC 11775), *Salmonella typhimurium* (ATCC 6539), *S. aureus* (ATCC 25922) ve *E. faecalis* (ATCC 10541) suşlarına karşı sefotaksim sodyum ile karşılıklı olarak etkinliği test edilmiştir. Buna göre, bu çalışma sırasında ilk kez bulunan dört bileşiğin (Hiperjaponikol A-D), 0,8–3,4 µM MİK değerleriyle tüm suşlara karşı etkili olduğu saptanmıştır. (Li ve ark. 2018).

Bazı endemik *Hypericum* türlerinin (*H. thymbrifolium* Boiss. ve *H. spectabile* Boreau, *H. pseudolaeye* Robson, *H. neurocalycinum* Boiss., *H. malatyanum* Peşmen) ve *H. perforatum*'un petrol eteri, dietil eter, kloroform, aseton, metanol ve total metanol ekstreleri, çeşitli mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktivite için analiz yapılmıştır. Tüm ekstrelerin test edilen Gram pozitif bakterilere (*Staphylococcus aureus*, Metisilin

dirençli *Staphylococcus aureus* ve *Staphylococcus epidermidis*) karşı aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (Eroğlu vd., 2019).

2.5.2. Antifungal etki

Hypericum cinsi, mantarların neden olduğu enflamasyonlar gibi patolojik ve enfeksiyonel durumları tedavi etmek için kullanılan birçok bileşeni içermektedir (Tocci ve diğerleri, 2018).

Floroglusinol türevleri açısından zengin olan *Hypericum carinatum* Griseb. lipofilik fraksiyonunun ve flukonazol (antifungal bir ilaç) ile ilişkisinin mayalara karşı etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, *H. carinatum* lipofilik fraksiyonu ile flukonazol arasındaki sinerjistik aktivitenin etkisi, *Candida krusei* ve *Candida famata* izolatlarına karşı tek başına flukonazolün etkisinden daha yüksek olmuştur. Bu durum, *H. carinatum* lipofilik fraksiyon bileşiklerinin bu ilacın etkisini kolaylaştırdığını düşündürmektedir (Meirelles ve diğerleri, 2017).

H. linarioides Bosse türüyle hem uçucu yağı hem de ekstralarının antifungal potansiyelini belirlemek amaçlanan çalışmada, uçucu yağın *A. solani*, *F. oxysporium* ve *F. solani* suşları üzerinde fungustatik etkisinin olduğu belirlenmiştir. Aynı zamanda bitkinin aseton ve metanol ekstralarının bazı fitopatojenik suşların üremesinde ciddi bir inhibitör etkisinin olduğu belirtilmiştir (Çakır ve ark. 2003).

2.5.3. Antiviral Aktivite

H. perforatum bitkisinin antiviral etkili bileşikleri, hiperisin ve psödohiperisinin olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (Kubin ve ark. 2005).

H. perforatum'un metanollü ekstresi ve ekstrenin kromatografik fraksiyonları insan sitomegalovirüs (human cytomegalovirus, HCMV) AD-169 laboratuvar suşuna karşı antiviral etkinlikleri açısından araştırılmıştır. Sonuçlara göre fraksiyonlardan birinin, HCMV'ye karşı en güçlü antiviral aktiviteye sahip olduğu ve referans olarak kullanılan gansiklovirden daha üstün etki gösterdiği tespit edilmiştir (Axarlis vd., 1998).

HIV ve HSV virüslerine karşı etkili sentetik ilaçların çok ciddi yan etki profilleri bulunmaktadır ve hiperisinin her iki suşa karşı etkili olduğu saptanmıştır (Lavie vd.,1995).

(Cohen vd., 1996) yılında yaptığı çalışmada hiperisinin genital Herpes simplex-2 virüsüne karşı 1 mg/mL konsantrasyondaki ED50 değeri 0,0039 mg/mL olarak tespit edilmiştir. (Cohen ve ark. 1996).

Hiperisinin ayrıca fare sitomegalovirüsü (MCMV), Sindbis virüsü ve Hepatit C virüsüne karşı etkili olduğu belirtilmiştir (Barnes ve ark. 2001). Buna karşın, Jacobson ve arkadaşlarının 2001 yılında kronik Hepatit C hastası kişilerle yürüttüğü çalışmada 12 hastaya günde 0,05 mg/kg ve 7 hastaya günde 0,10 mg/kg toplam 8 hafta boyunca hiperisin uygulanmış ve Hepatit C virüsüne karşı herhangi bir aktivite bulunamamıştır. Bu ve bunun gibi bazı çalışmalar daha detaylı incelendiğinde hiperisinin aktivitesinde ışık faktörünün çok büyük rol oynadığı, ışıktan yoksunluk durumunda hiperisinin antiviral etkisinin bulunmadığı görülmektedir. Ayrıca yüksek doz hiperisin uygulamalarında hastalarda fototoksikite görülmektedir. Bu nedenler viral enfeksiyonlarda hiperisin kullanımını sınırlamaktadır (Jacobson ve ark. 2001).

Farklı bitki ekstrelerinin bir enterovirüsün (tip 71, BrCr) inhibisyonu üzerindeki etkisinin araştırıldığı bir çalışmada *Hypericum gaitii*'nin sulu ekstresi en iyi etkinlik gösteren bitkiler arasında bulunmuştur. *H. gaitii*'nin antiviral bileşikler bulmak için uygun olduğu sonucuna varılmıştır. (Panda ve diğerleri, 2017).

2.6. Diğer Çalışmalar

Hashida vd., (2008) tarafından yapılan bir çalışmada *H. ascyron* bitkisinden tomoeon A-H olarak isimlendirilen 8 floroglusinol türevi bileşik izole edilmiş ve bu bileşiklerin insan kanser hücreleri üzerinde sitotoksik aktivitesi değerlendirilmiştir.

Dordevic vd., (2013) tarafından test edilen çalışmada *H. umbellatum* ve *H. rochelii* Griseb ve Schenk'in uçucu yağı analiz sonuçlarından elde edilen bileşenlerle (n-nonan, β -pinen, germakren D , nundekan, α -pinen ve karyofilen oksit) antimikrobiyal etkinliği incelenmiştir. *H. rochelii*'nin ve *H. umbellatum* bileşenlerinin değerli kimyasal bileşenler olduğu ve bununla beraber ilaç ve parfümeri gibi alanlarda kullanılabileceği belirtilmiştir.

Yuce vd., (2012), yaptıkları incelemede, *Hypericum* türlerinden (*H. triquetrifolium* ve *H. aviculariifolium* Jaub et Spach subsp *depilatum* var *depilatum*' un çiçek ve yapraklarından elde edilen uçucu yağın GC ve GC/MS sonuçlarına göre, *H. triquetrifolium*'un uçucu yağında 45 kimyasal bileşen, *H. aviculariifolium* subsp. *depilatum* var. *depilatum* yağında ise 41 bileşen tanımlanmış olup, en fazla bulunan

bileşikler; α -pinen (%52,1), β -pinen (%3,6) ve germakren D (%8,5) olarak tespit edilmiştir.

Ayan vd., (2008) yaptıkları çalışmada, *Hypericum* L. (*H. linarioides* Bosse, *H. monbretii* Spach, *H. orientale* L., *H. origanifolium* Willd., *H. perforatum* L., *H. heterophyllum* Vent, *H. hyssopifolium* L., *H. scabrum* L., ve *H. triquetrifolium* Turra) bitkilerinin toprak üstü kısımlarından, fenolik bileşenleri HPLC cihazı ile analiz edilmiş ve deney sonuçlarına göre, hiperisin ve psödohiperisin içeriği belirlenmiş olup, hiperisin ve psödohiperisin bileşenlerinin oranı, *H. perforatum* ile kıyaslandığında daha yüksek olduğu sonucu ortaya konmuştur.



3. YÖNTEM

3.1. Materyal ve Gereçler

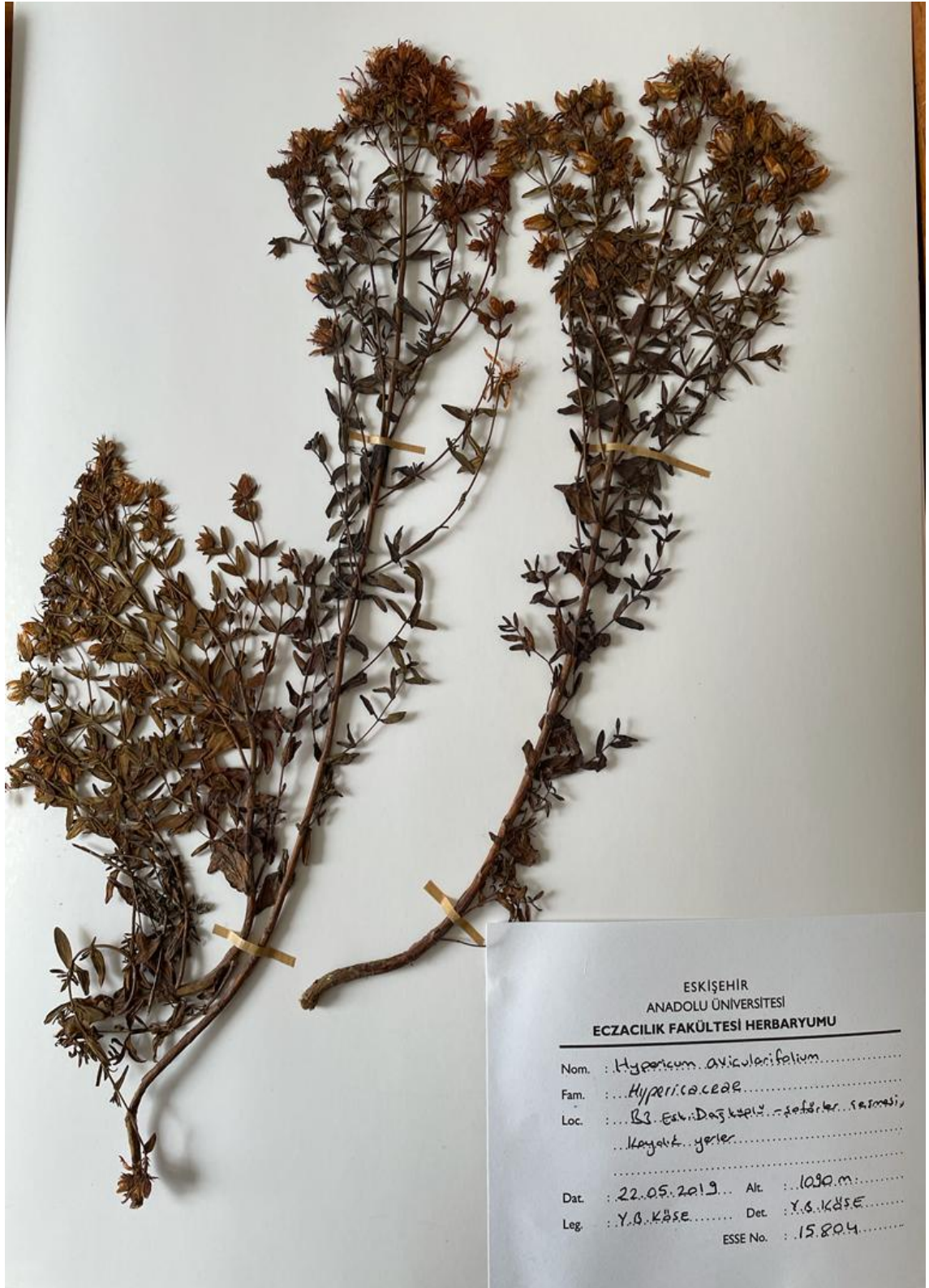
3.1.1. Bitkisel materyal

Bu tez kapsamında kullanılan *Hypericum bithynicum* ve *Hypericum aviculariifolium* bitki materyalleri çiçeklenme dönemlerinde Eskişehir ve Bilecik ilçesinden 2019 yılı, Haziran ayında temin edilmiştir.

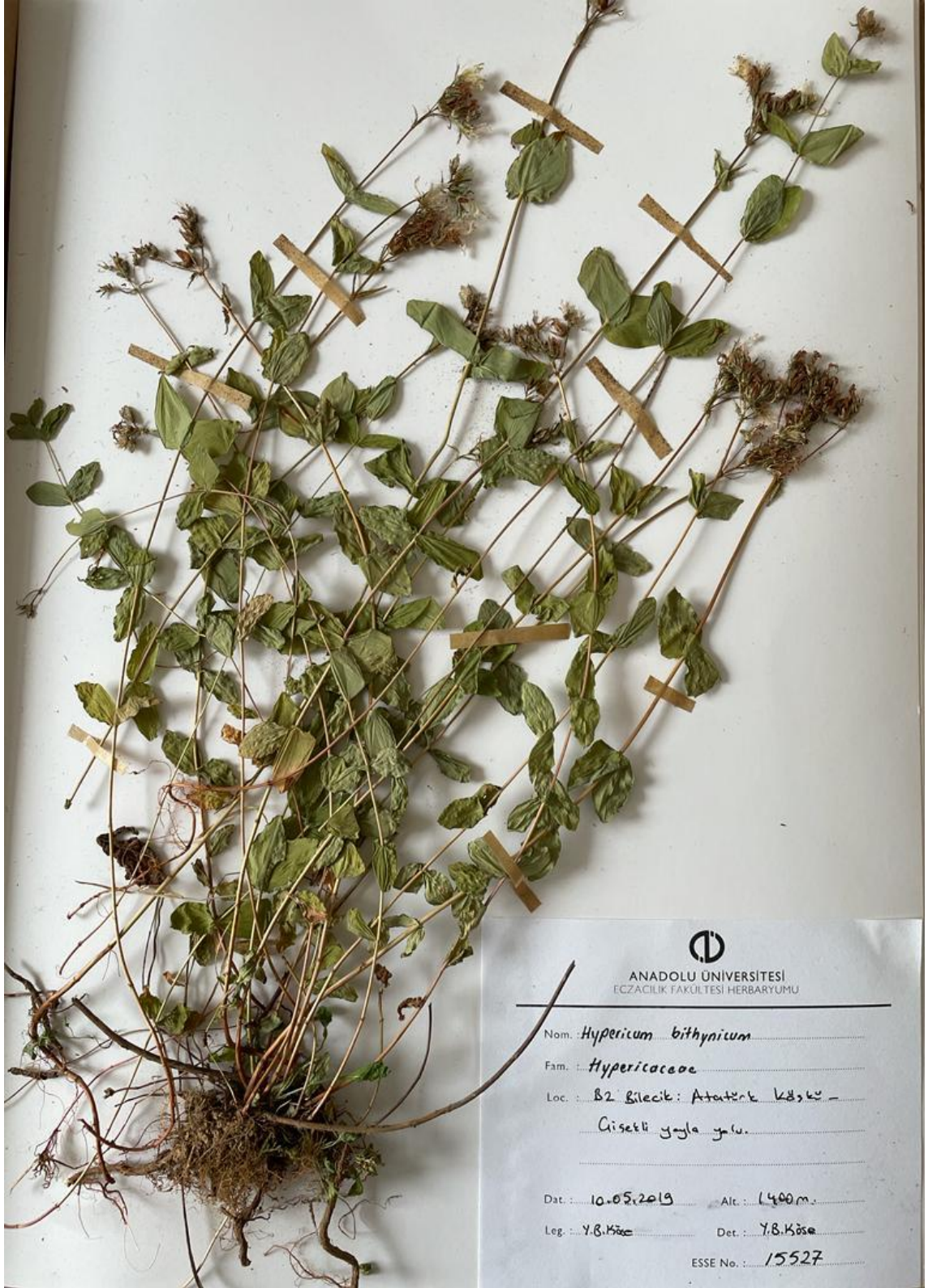
Bitki örnekleri preslenerek oda sıcaklığında kurutulmuş ve herbaryum örneği haline getirilip, Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu'na (ESSE) yerleştirilmiştir. Çalışma konumuz olan *H. bithynicum* ve *H. aviculariifolium* türlerinin lokalasyon bilgileri ve ESSE numarası Tablo 3.1'de verilmiştir. Bitki örneklerinin diğer bir kısmı anatomik çalışmalarda kullanmak üzere %70'lik alkolde etiketlenerek muhafaza edilmiş diğer bir kısmı da kimyasal analizler için ayrılmıştır.

Tablo 3.1. *H. bithynicum* ve *H. aviculariifolium* türlerinin lokalite ve herbaryum numaraları

Bitki Adı	Lokalite	ESSE Numarası
A. <i>H. bithynicum</i>	B2 Bilecik;	15527
	Atatürk köşkü	
	Çiçeli yayla yolu	
	1400 m.	
	39°51'13"N 29°43'10"E	
	10.05.2019	
B. <i>H. aviculariifolium</i>	B3 Eskişehir;	15804
	Dağküplü	
	Şöförler çeşmesi	
	Kayalık yerler	
	1090 m.	
	39°56'53.4"N 30°40'10.8"E	
	22.05.2019	



Şekil 3.1. *Hypericum aviculariifolium* herbaryum örneği



Şekil 3.2. *Hypericum bithynicum* herbarium örneği

3.1.2. Cihaz bilgileri

Binoküler Stereo Mikroskop (WILD TYP 181300)
Diğital Mikroskop kamerası (Kameram 318CU)
Rotary Evaporatör (Döner Buharlaştırıcı) (Vacuum Pump V-100 BUCHI)
Rotator (Çalkalayıcı) (IKA KS 260 basic shaker)
Ultrasonik Banyo (Ultrasonic LC30)
Hassas Terazi (OHAUS Explorer E14130)
ELISA Mikroplaka Okuyucu (Biotek SYNERGY HTX)
HPLC/MS (AB Sciex 3200 Q TRAP)

3.1.3. Kullanılan kimyasallar

CH ₃ OH	Metanol (%99,8'lik)
C ₂ H ₅ OH	Etanol (%70'lik)
Na ₂ CO ₃	Sodyum karbonat (%20'lik)
DPPH	1,1-difenil-2-pikrilhidrazil
ABTS	2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit
Sartur Reaktifi	
Kanada Balsamı	
Gallik Asit Standartı	
Folin-Ciocalteu Reaktifi	

3.2. Deneysel İncelemeler

3.2.1. Morfolojik inceleme

Türlerin morfolojik karakterlerinin tayininde Türkiye Florasının 2. cildinden faydalanılarak karşılaştırmalar yapılmıştır. Bitkilerin çiçeklenme zamanı, habitatı, rakımı ve yayılış alanları hakkında bilgiler verilmiştir.

Çalışılan türlerin deskripsiyonu belirlemek için 20'şer örnek kullanarak minimum, maksimum ve ortalama ölçümleri alınarak, cetvel ve milimetrik kâğıt kullanılarak belirlenmiştir. Deskripsiyonda kullanılacak ölçümler Excel dosyası üzerinde düzenlenmiş ve morfolojik karakterlere ait ölçüler iki tür arasında karşılaştırılmıştır.



Şekil 3.3. WILD TYP 181300 stereo mikroskobu

3.2.2. Anatomik incelemeler

Bu çalışmada her iki türün doğadan toplanıp %70'lik alkolde muhafaza edilen gövde ve yaprakları kullanılmıştır. Jilet yardımı ile gövde enine, yaprakların alt-üst yüzeysel kesitleri ile orta bölgelerinden enine kesitler ve alınmıştır. Alınan kesitler önce kloralhidrat ile saydamlaştırılmış daha sonra sartur reaktifi ile boyanmış ve Kanada balsamı ile sabitlenmiştir. Preparatlar 4x/0.10, 10x/0.25, 20x/0.40 ölçülerinde incelenmiş ve anatomik deskripsiyonlar hazırlanmıştır. Anatomik incelemeler; Kameram görüntüleme sistemi ile fotoğraflanıp, çalışmaya eklenmiştir.



Şekil 3.4. Trinokuler mikroskop ve Kameram görüntüleme sistemi

3.2.3. Kimyasal incelemeler

3.2.3.1. Ekstrelerin hazırlanması

Tez kapsamındaki kurutulmuş bitki türlerinin metanollü ve distile su ekstraktları hazırlanmıştır. İlk olarak araziden toplanan bitkilerin toprak üstü kısımları (yaprak ve çiçek) küçük parçalar haline getirilmiştir. *H. avicularifolium* örneğinden 20, 2810 g tartılarak üzerine %99,8'lik 200 ml metanol eklenmiştir. *H. bithynicum* örneğinden 20,5106 g tartılarak üzerine %99,8'lik 200 ml metanol eklenmiştir aynı işlem distile su örnekleri içinde hazırlanmıştır. Hazırlanan örnekler 150 rpm'de 48 saat oda sıcaklığında maserasyona tabi tutulmuştur. Maseratlar süzgeç kağıdından süzdürüldükten sonra alkollü kısım evaporatör ile düşük basınç altında 30 dk 40°C sıcaklıkta uzaklaştırılmıştır. Distile su ekstraktları -20°'de dondurulmak üzere liyofilizatörde bekletilmiştir.

Ekstreler çalışma sonucunda, *H. bithynicum* ekstratı; 169,05 g, *H. aviculariifolium* ekstratı; 186,86 g tartılmıştır.



Şekil 3.5. Evaporatör ile metanollü kısmın uzaklaştırılması

3.2.4. Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi/kütle spektrometresi (YBSK/KS) ile fenolik bileşiklerin belirlenmesi

Cihaz: Shimadzu 20A Prominace sıvı kromatografisi sistemi

Dedektör: Applied Biosystems 3200 Q-Trap MS/MS

Kolon: Intersil ODS 4,6x150 mm, 3µm

Kolon sıcaklığı: 40 °C

Akım hızı: 0,5 ml/dk.

Hareketli faz A: Asetonitril: su: formik asit (10: 89: 1, v / v / v)

Hareketli faz B: Metanol: Su: Formik asit (89:10:1 h/h/h)

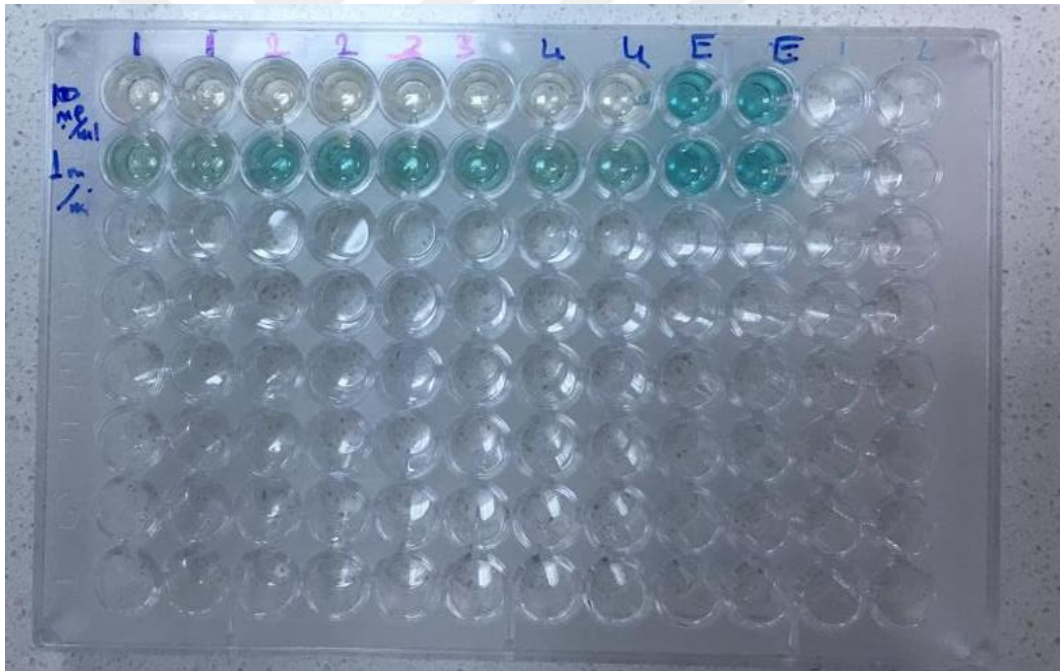
	Zaman (dakika)	B kons
Akış programı	0.5	10
	40.00	100
	43.00	100

3.2.4.1. Toplam fenolik madde miktar tayini

Toplam fenolik madde miktar tayini

Tayin sonucu elde edilen ekstratların tüm fenolik madde sonucu, gallik asite eşdeğer olarak Folin-Ciocalteu yönteminden (Singleton vd., 1999) yararlanılarak

belirlenmiştir. Gallik asit dilüsyonu (1 mg/ml, 0,8 mg/ml, 0,6 mg/ml, 0,4 mg/ml, 0,2 mg/ml, 0,1 mg/ml, 0.01 mg/ml) farklı oranlarda dilüe edilmiştir. Elde edilen bitki ekstralarının metanol ve su çözücülerinde konsantrasyonları hazırlanmıştır *H.bithynicum* ekstresinden 10 mg/ml, *H.avicularifolium* ekstresinden ise 10 mg/ml konsantrasyonda olmak üzere bütün örnekler metanol ve distile su da çözülmüştür. Hazırlanan eppendroflar (Ha, Hal, Hb, Hbl) olmak üzere kodlanmıştır. Deneyde 20 µl'lik numune üzerine 1560 µl distile su, 100 µl Folin-Ciocalteu reaktifi ve 300 µl %20'lik sodyum karbonat çözeltisi (Na₂CO₃) eklenmiştir. Blank olarak içinde herhangi bir karışım içermeyen metanol kullanılmıştır. Karanlık ortamda, 120 dk bekletildikten sonra absorbans 760 nm'de okutulmuştur. Hazırlanan gallik asit standart eğrisi üzerinden, toplam fenol bulunmuştur. Deney üç tekrarlı yapılarak sonuçlar ortalama değerler olarak hesaplanmıştır.



Şekil 3.6. Toplam fenolik miktarını gösteren 96-kuyucuklu plak görüntüsü

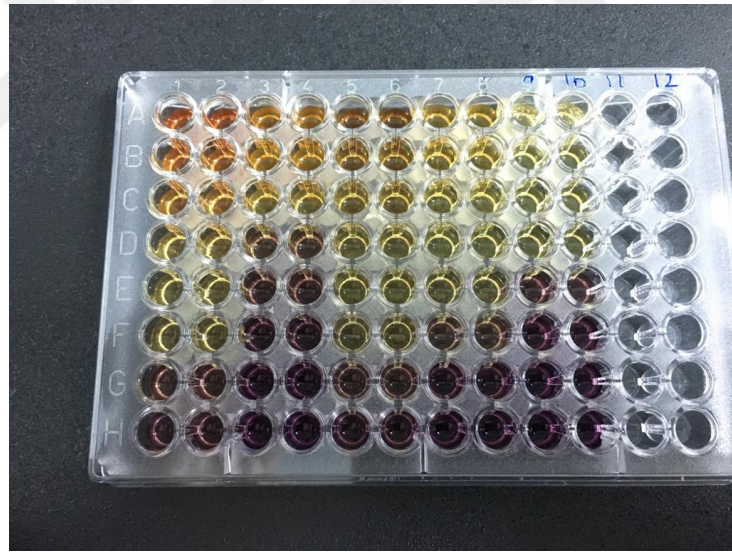
3.2.5. Antioksidan aktivite tayin teknikleri

3.2.5.1. (DPPH•) 1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil radikalini süpürücü etki tekniği

Brand-Williams vd., (1995)'e göre geliştirilmiş olan DPPH süpürme tekniği ile, hazırlayacağımız numunelerin, bir proton veya bir elektron verebilme kapasitesine dayanır. DPPH kimyasalının mor renkli gönümünü açması, reaksiyonu bildirmektedir.

H. avicularifolium ve *H. bithynicum* metanol ve su ekstraktından 1 mg/ml konsantrasyon hazırlanmıştır. Ekstreler (Ha, Hal, Hb, Hbl), ilk olarak 2 ml metanol eklenmiştir. Pozitif kontrol olarak galik asitin 0,1 dilüsyonu, blank olarak hiç bir çözelti içermeyen MeOH kullanılmıştır. Hazırlanan çözeltiler, vorteks cihazı ile homojenize edilmiştir.

Örnekler, 96-kuyucuklu mikrotitrasyon plağına sırasıyla cam kalemi ile numarandırılıp, önce tüm eppendroflardan 200'er µl alınarak kuyucuklara 2 tekrarlı aktarılmıştır. Bir sonraki adımda pipet ile 100'er µl MeOH tüm kuyucuklara eklenmiştir. En baştaki sıradan 100 µl alıp, sıra ile pipetleme yapıp, son sutundan çekilen 100 µl dışarı atılır. Son olarak örnekler üzerine mor renkli olan 100 µl DPPH[•] sıvısı eklenmiştir. (Şekil 3.13). Hazırlanan plak dikkatli bir şekilde oda sıcaklığında, karanlıkta 30 dk. bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası absorbanları 517 nm dalga boyunda okutulmuştur. Analiz üç paralel çalışma ile doğrulanmıştır.



Şekil 3.7. DPPH sonucu, 96 kuyucuklu petri

Sonuçlar, ortalama $\pm$ standart sapma ($n=8$) olarak ifade edilmiş, istatistiksel değerlendirme ve hesaplamalarda Gen5 Data Analysis programı (BioTek) kullanılmıştır. %50 inhibisyon konsantrasyonu değeri (IC_{50}) hesaplanmış olup, reaksiyonu inhibe etme değeri için aşağıdaki formül kullanılmıştır.

$$\% \text{ inhibisyon } (IC_{50}) = ((AK - A0)/A0) \times 100 \quad (\text{Denklem 3.1.})$$

AK: kontrol numunesinin absorbanı,

A0: örneğin absorbanıdır.

3.2.5.2. (ABTS^{•+}) 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit radikal katyonu süpürücü etki tekniği

H. avicularifolium ve *H. bithynicum* metanol ekstralarının ABTS katyon giderme kapasitelerini belirlemek için Re vd., (1999) geliştirmiş olduğu teknikte, standart vitamin E'nin benzeri olan (TEAC) Troloks (6-hidroksi-2, 5, 7, 8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit) ile standart kıyaslanması temeline dayanmaktadır.

Hazırlanan 7 miliMolar (mM) ABTS katyon radikali ve 2,5 mM sodyum persülfat (Na₂S₂O₈) ile çözelti oluşturulup, karanlıkta en az 12 ila 16 saat bırakılarak, tepkimenin gerçekleşmesi sonrası 734 nm'de okutulmuştur. Karışım etanol ile seyreltilip 0,7-0,8 uygun aralığa getirilmiştir.

H. avicularifolium ve *H. bithynicum* ekstresinden 0,1 mg/ml ve 10 mg/ml oranında çözelti hazırlanmış. Gallik asit ise pozitif kontrol olarak kullanılmak üzere 0,1 mg/ml ve 1 mg/ml derişimlerinde hazırlanmıştır. Ha, Hal, Hb, Hbl numunelerinden 10 µl mikroplak kuyucuklarına eklenip, üzerine 990 µl ABTS^{•+} aktarılmıştır. Karanlıkta ve oda sıcaklığında 30 dk. bekletilmiş ve 734 nm'de absorbands değeri ölçülmüştür. Örneklerin % inhibisyonları gösteren denklemlerini oluşturmak için, Troloksa eşdeğer antioksidan aktivite hesabında standartın kalibrasyon eğrisi ile ölçülmüştür.

3.3. Antimikrobiyal Aktivite Tayini

Bu çalışmada *Hypericum* türlerinin; endemik *H. aviculariifolium* ve *H.bithynicum*'un toprak üstü kısımlarının metanol ve su ekstraları ile antibakteriyel ve antifungal etkileri çalışılmıştır.

Antikandial etkinin belirlenmesinde CLSI (eski ismiyle NCCLS) M27-A2 sıvı mikro dilüsyon ve antibakteriyel etkinin belirlenmesinde ise CLSI (NCCLS) M7-A7 protokolü kullanılmıştır. Standart antifungaller ve ekstralar steril DMSO içinde çözülerek kullanılmıştır. Antimikrobiyal aktivite gösteren ekstraların minimum inhibitör konsantrasyon (MİK), değerleri mikro dilüsyon yöntemi ile belirlenmiştir. Antibakteriyal testlerde pozitif kontrol olarak Ampisilin ve Kloramfenikol, antikandial testlerde ise Amfoterisin-B ve Ketokonazol kullanılmıştır.

3.3.1. Kullanılan suşlar ve suş numaraları:

<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231
<i>C. utilis</i>	NRRL Y-900
<i>C. albicans</i>	ATCC 90028
<i>C. tropicalis</i>	ATCC 750
<i>C. parapsilosis</i>	ATCC 22019
<i>C. krusei</i>	ATCC 6258
<i>E. coli</i>	ATCC 8739
<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i>	ATCC 6538
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i>	ATCC® 14028
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC® 29212
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	ATCC® 12228
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC®27853

Ekstreler;

- V1: *H. aviculariifolium* su
- V2: *H. bithynicum* metanol
- V3: *H. bithynicum* su
- V4: *H. aviculariifolium* metanol

4. BULGULAR

4.1. Morfolojik İncelemeler

4.1.1. *Hypericum aviculariifolium* Jaub. et Spach

Bitki çok yıllık olup, ortalama $19,47 \pm 2,90$ cm yüksekliğinde, dik ya da toprak üzerinde yatık otsu bitkilerdir. Tüysüz veya kısa yumuşak tüyleri bulunmaktadır. Yapraklar 5-35 mm uzunluğunda, obovat ya da eliptikten obovata doğru farklı şekillerde olabilir, kenar altlarında genellikle yüzeyinde siyah guddeler bulunur.



Şekil 4.1. *H. aviculariifolium* (Öğr. Gör. Dr. Derviş ÖZTÜRK)

Tablo 4.1. *H. aviculariifolium* morfolojik ölçümler

Bitki Kısım	Özelliği	Min.	Maks.	Ort $\pm$ SD	Yapısal Durumu	Türkiye Florasındaki Ölçümler
Gövde	Boy (cm)	13	23	$19,47 \pm 2,90$	Dik veya Toprak üzerinde yatık	5-60
	Gland					
Yaprak	Boy (mm)	9	15	$12,60 \pm 1,84$	Obovat, Linear Eliptik Var	5-35
	Eni (mm)	1,1	1,7	$1,26 \pm 0,48$		
	Şekli					
	Gland					
Sepal	Boy (mm)	1,9	3,4	$2,18 \pm 0,93$	Lanseolat, akut	
	Rengi					
Petal	Boy (mm)	7	11	$8,73 \pm 1,03$	Ovat	8-15
	Rengi				Sarı	
	Gland				Var	
Capsule	Boy (mm)	6	7	$6,47 \pm 0,52$	Ovoit	5-10

4.1.2. *Hypericum bithynicum* Boiss.

Bitki çok yıllık ve ortalama 40,29±11,27 Yapraklar (10-)15-55 mm uzunluğunda, oval, oblong ve akut suborbikülere kadar değişik şekillerde olabilir. Yapraklarda ağsı damarlanma belirgin olup yüzeyde siyah bazen de şeffaf renkte guddeler bulunmaktadır. Sepaller akut veya lanseolat şeklinde ve yüzeysel siyah guddeler bulunmaktadır.



Şekil 4.2. *Hypericum bithynicum* (Öğr. Gör. Dr. Derviş ÖZTÜRK)

Tablo 4.2. *Hypericum bithynicum* morfolojik ölçümler

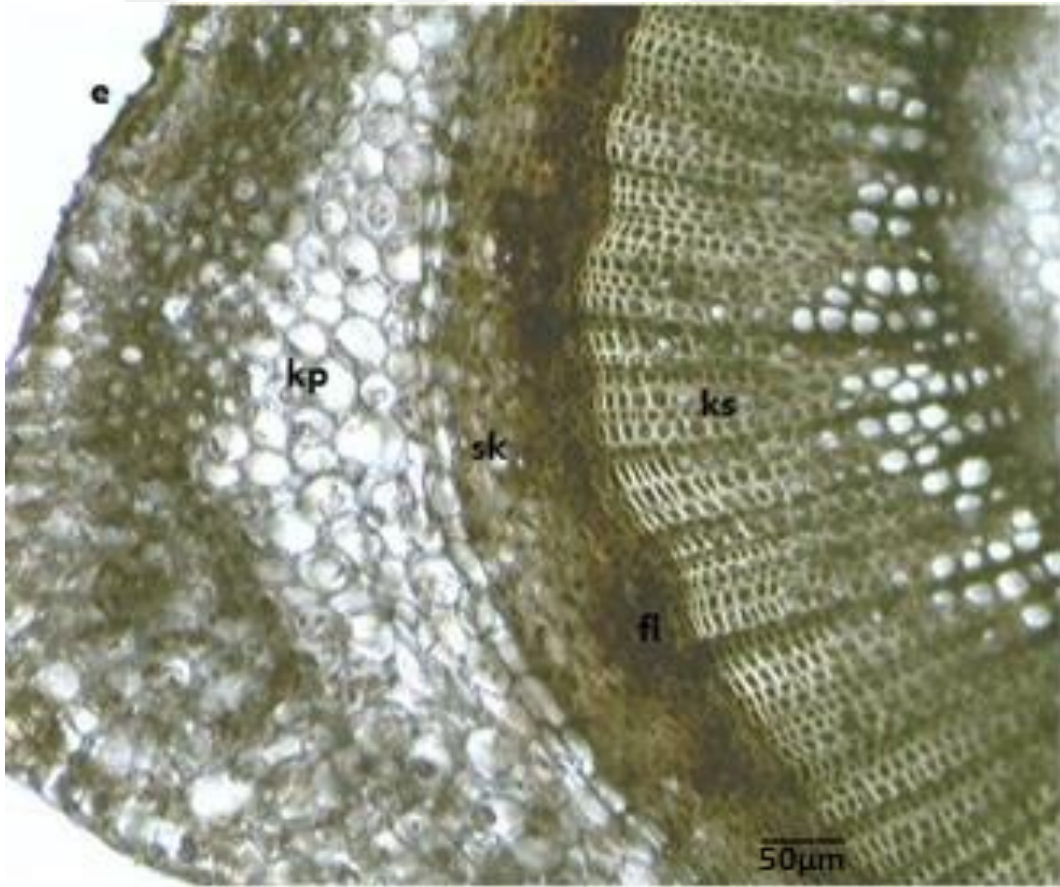
Bitki Kısım	Özelliği	Min.	Maks.	Ort±SD	Yapısal Durumu	Türkiye Florasındaki Ölçümler
Gövde	Boy (cm)	18	55	40,29±11,27		10-60
	Gland				Dik veya yükselici	
Yaprak	Boy (mm)	15	22	19,35±1,84		(10-)15-35
	Eni (mm)	1,3	2,1	1,62±0,57		
	Şekli				Oval, Akut suborbiküler	
	Gland				Var	
Sepal	Boy (mm)	2,8	5,3	3,65±0,89	Lanseolate, akut	
	Rengi				Yeşil	
Petal	Boy (mm)	10	12	11,00±0,61		10-13
	Rengi				Sarı	
	Gland				-	
Capsule	Boy (mm)	6	7	6,41±0,51	Oval, dar uzun veziküllü	6-7

4.2. Anatomik Bulgular

4.2.1. *H. aviculariifolium* Jaub. et Spach

4.2.1.1. *Gövde*

Gövdeden alınan enine kesitte gövdenin en dışında tek sıralı bir epiderma tabakası görülmektedir. Epiderma hücreleri oval şekillidir, epidermanın altında 4-7 sıralı korteks parankiması yer alır. Korteks parankiması hücreleri yuvarlak şekillidir, korteks genellikle dar olup şizogen salgı kanalları içermektedir. Bu doku hücreler arası boşluklar içermektedir. İç kısma doğru 4-5 sıra halinde boyu eninden uzun olan sklerenkima hücreleri gelmektedir. Floem dokusunu sklerenkimadan ayıran tek sıralı endodermis tabakası bulunmaktadır. Öze doğru gidildiğinde sklerenkima dokusu, altında floem tabakası bulunur ve ksilem dokusu izlemektedir. Merkezde parankimatik hücrelerden oluşan öz bölgesi yer almaktadır.

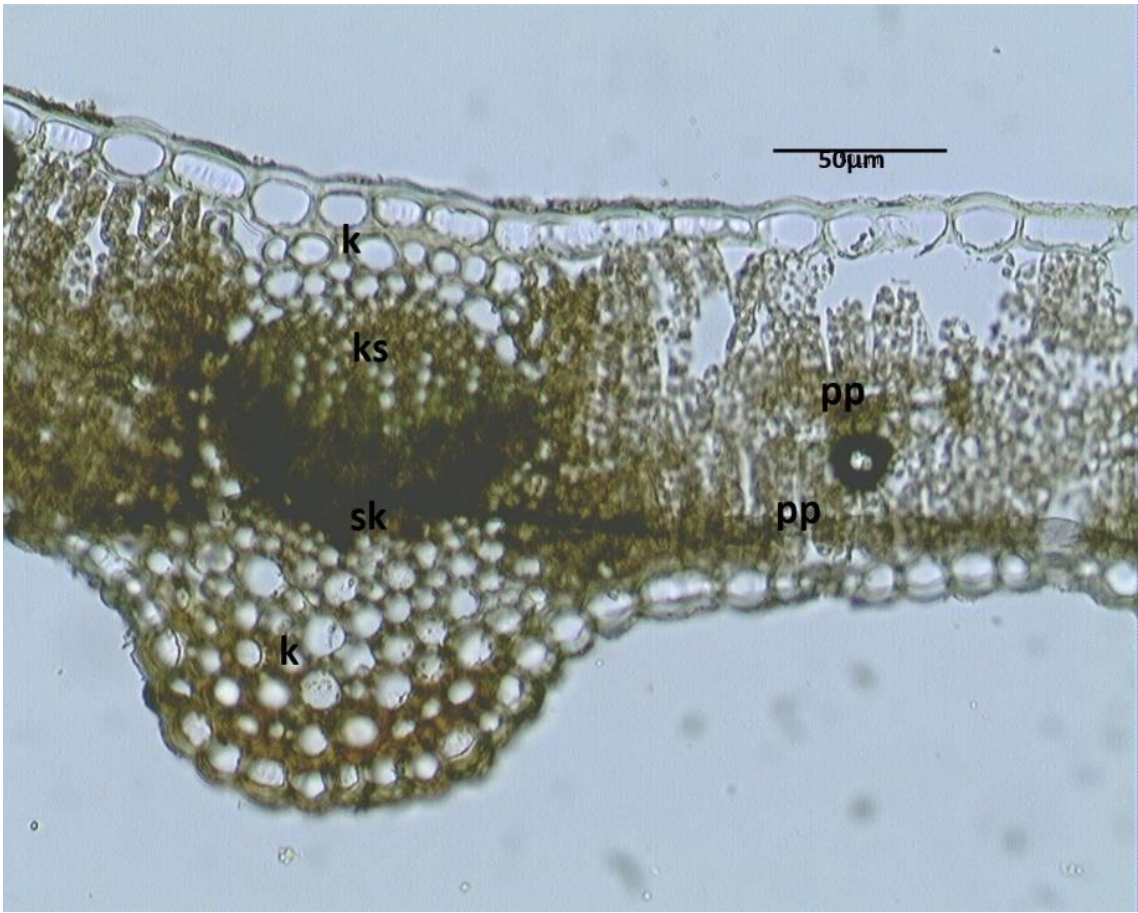


e: epidermis, **kp:** korteks parankiması, **sk:** salgı kanalı, **fl:** floem, **ks:** ksilem

Şekil 4.3. *H. avicularium* gövdeden alınmış enine kesit görseli

4.2.1.2. Yaprak

Yaprak ekvifasiyal şeklinde olup, üst yüzeyde epiderma hücreleri sıralı bir yapı kazanmıştır ve ovoid ya da yassı şekilli hücrelerden meydana gelmiştir. Yaprak üst yüzeyinde epiderma dokusu altında 2-3 sıralı palizat parankiması her iki yüzeyde bulunur. Alt yüzeyde ise epiderma dokusu üstünde ise 1-2 sıralı palizat parankiması bulunmaktadır. Palizat parankiması silindirik şekilli ve bol kloroplastlı hücrelerden meydana gelmiştir. Yaprakta salgı ceplerine rastlanmaktadır. İletim demetlerinin olduğu bölgede ise kollenkima dokusu çok sıralı bir yapıdadır.

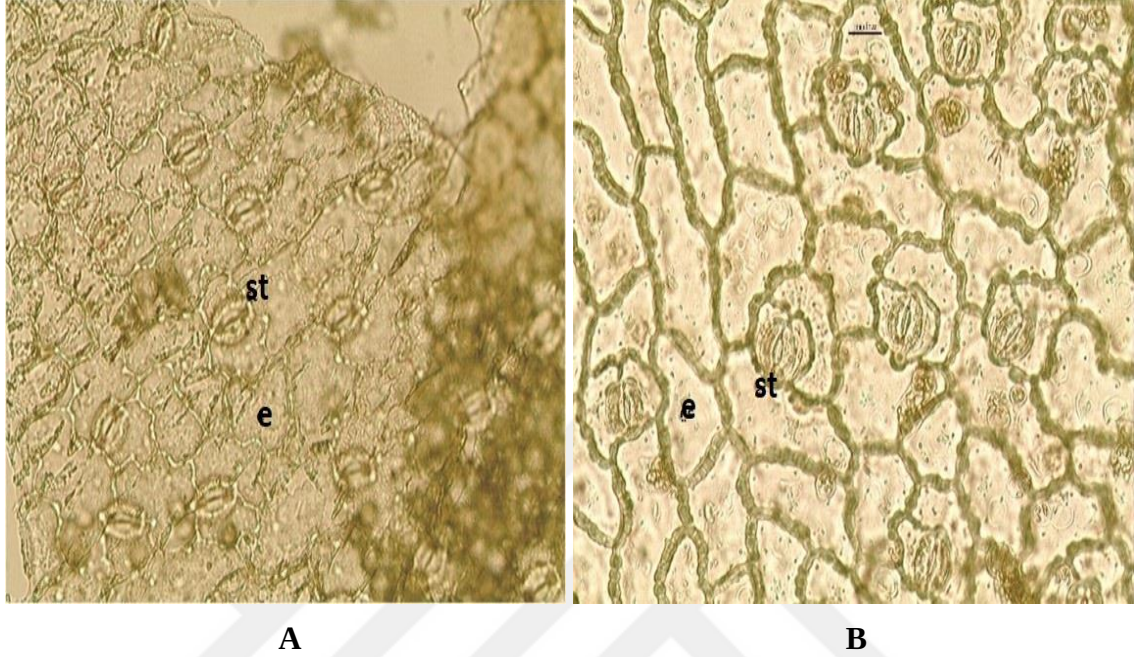


üe: üst epiderma, ae: alt epiderma, sk: salgı kanalı, pp: palizat parankiması

Şekil 4.4. *H. aviculariifolium* yaprak enine kesiti

4.2.1.3. Stoma ve epiderma hücrelerinin özellikleri

Stomalar yaprağın her iki yüzeyinde bulunur. Yaprak amfistomatiktir. Anomositik tipte stomalara da rastlanır. Üst yüzeydeki epiderma hücreleri köşeli yapıdadır.

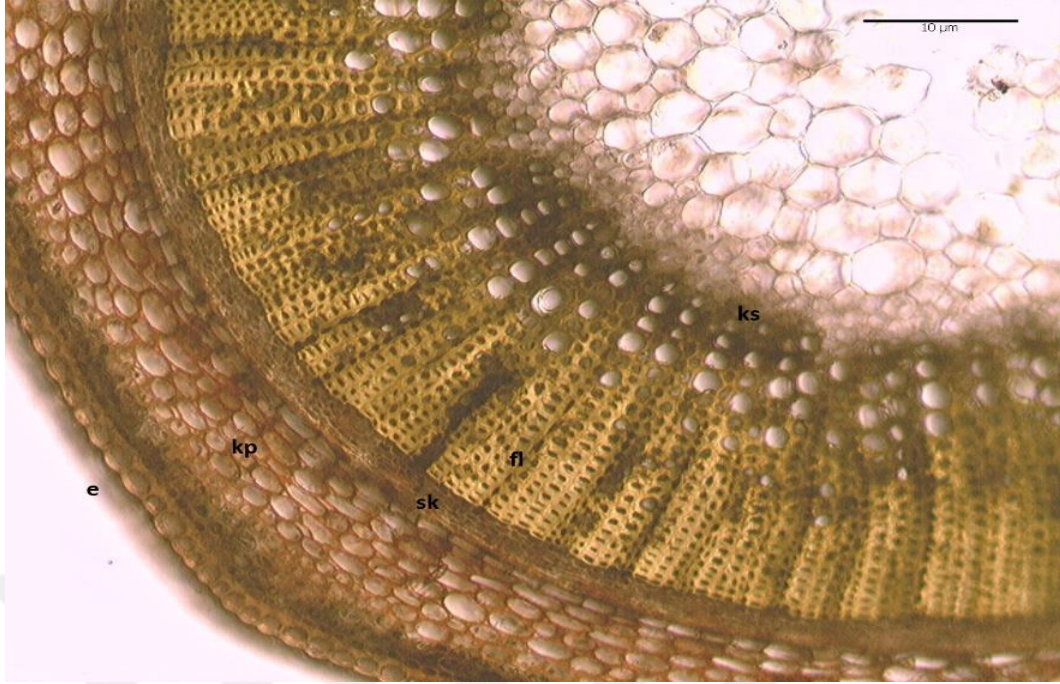


Şekil 4.5. (A) *H. avicularifolium* yaprak alt yüzey, st: stoma e: epiderma hücresi, (B) *H. avicularifolium* yaprak üst yüzey, hücresi, e: epiderma st: stoma

4.2.2. *Hypericum bithynicum* Boiss.

4.2.2.1. Gövde

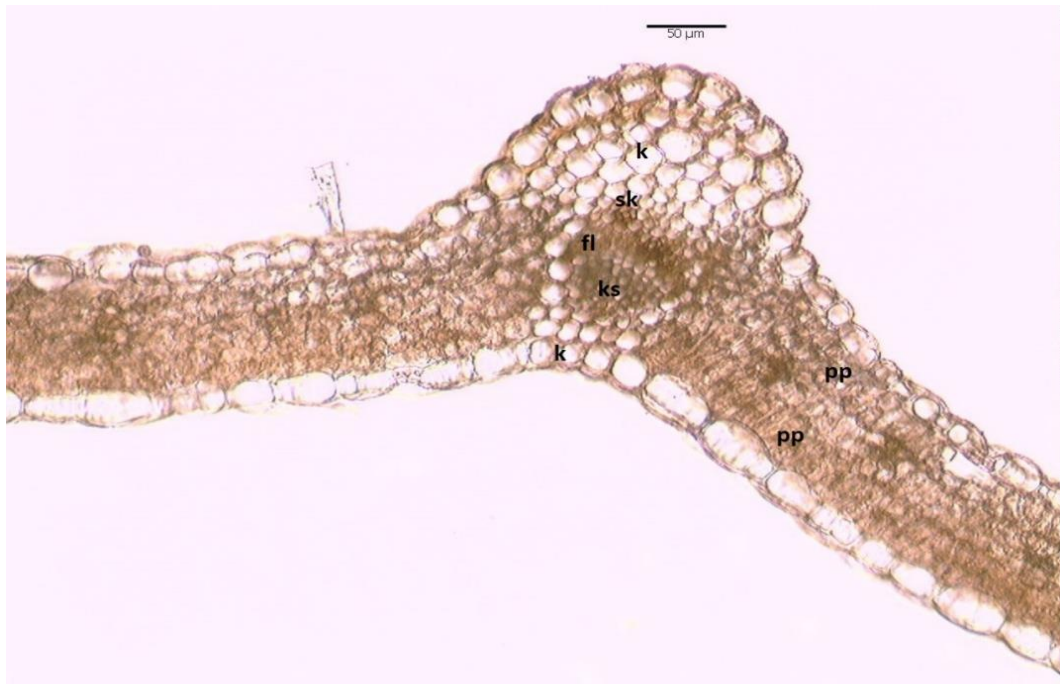
Gövde enine kesitinde en dışında ince bir kütikula tabakası, altında sıralı ve farklı büyüklüklerde epiderma tabakası bulunur. Epidermanın hemen altında 3-4 sıralı korteks parankiması hücreleri bulunur, geniş büyüklüklerde olup, arasında salgı kanalı yer almaktadır. Sklerenkimanın altında yer alan endoderm tabakası, tek sıralı, ince çeperli ve silindirik hücrelerden oluşmuştur. Floem daha küçük hücrelerden meydana gelmiş olup ksilem de ise arasında prankimatik öz ışınları bulunmaktadır.



Şekil 4.6. *Hypericum bithynicum* BOISS. gövde enine kesiti

4.2.2.2. Yaprak

Yaprak enine kesitinde üst ve alt epiderma aynı kalınlıkta olup, farklı büyüklüklerde yuvarlak ya da ovoid hücrelerden oluşmuştur. Yaprığın ortasında iletim demeti hemen altında sıralı sklerankimatik hücreler blunur. Floem dokusu şizogenik tipte salgı kanalı içermektedir.

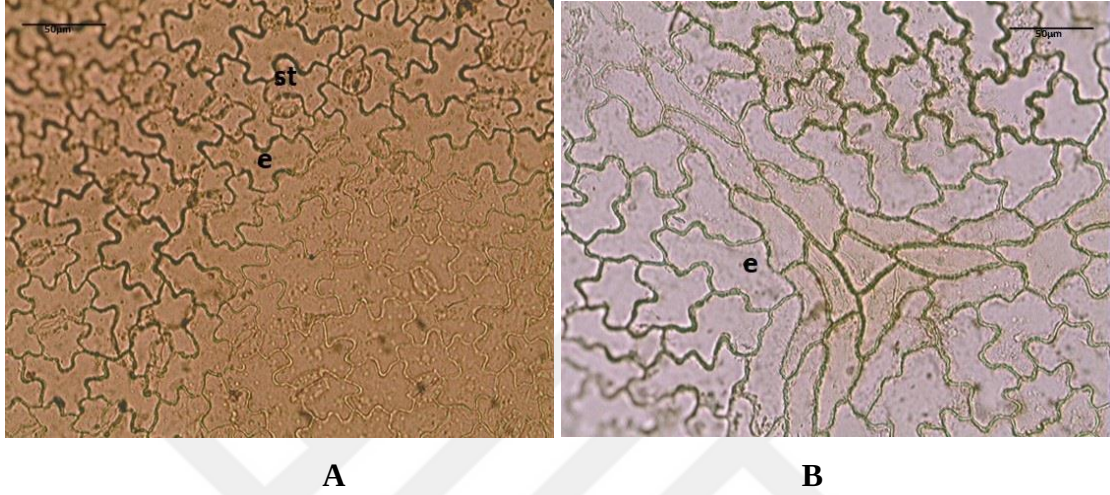


k: kollenkima, **sk:** salgı kanalı, **ks:** ksilem, **fl:** floem, **pp:** palizat parankiması

Şekil 4.7. *Hypericum bithynicum* yaprak enine kesiti

4.2.2.3. Stoma ve epiderma hücrelerinin özellikleri

Stomalar, yalnız yaprağın alt yüzeyinde bulunduğu için yapraklar hipostomatiktir. Stomalar, morfolojik olarak amabilis tiptedir. Stomalar epiderma hücreleri ile aynı mesafede bulunduğundan mesomorf özellik gösterir.



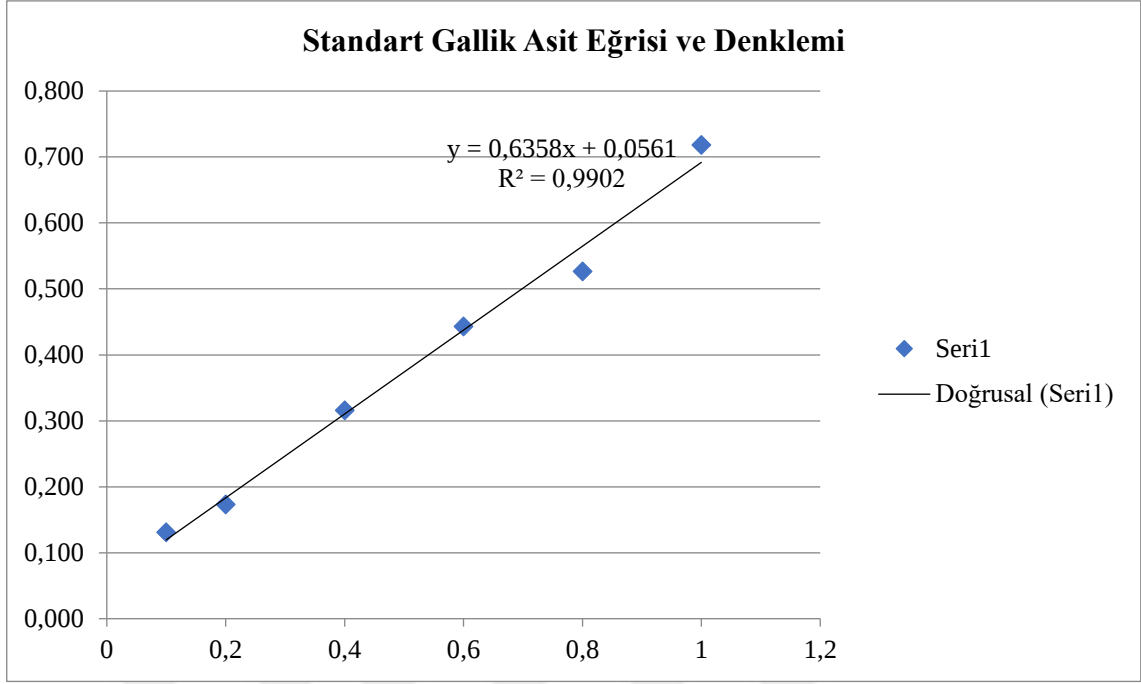
Şekil 4.8. (A) *Hypericum bithynicum* yaprak alt kısmı, e: epidermis hücresi st:stoma. (B) *Hypericum bithynicum* yaprak üst kısmı, e: epiderma hücresi

4.3. Kimyasal Bulgular

Bu kısımda *H. bithynicum* ve *H. aviculariifolium* türlerinin antioksidan kapasite deneyleri ve toplam fenolik madde miktarını belirlemek bununla birlikte kimyasal bileşiklerini açıklamak için elde ettiğimiz veriler aktarılmıştır.

4.3.1. Toplam fenolik madde miktar tayini

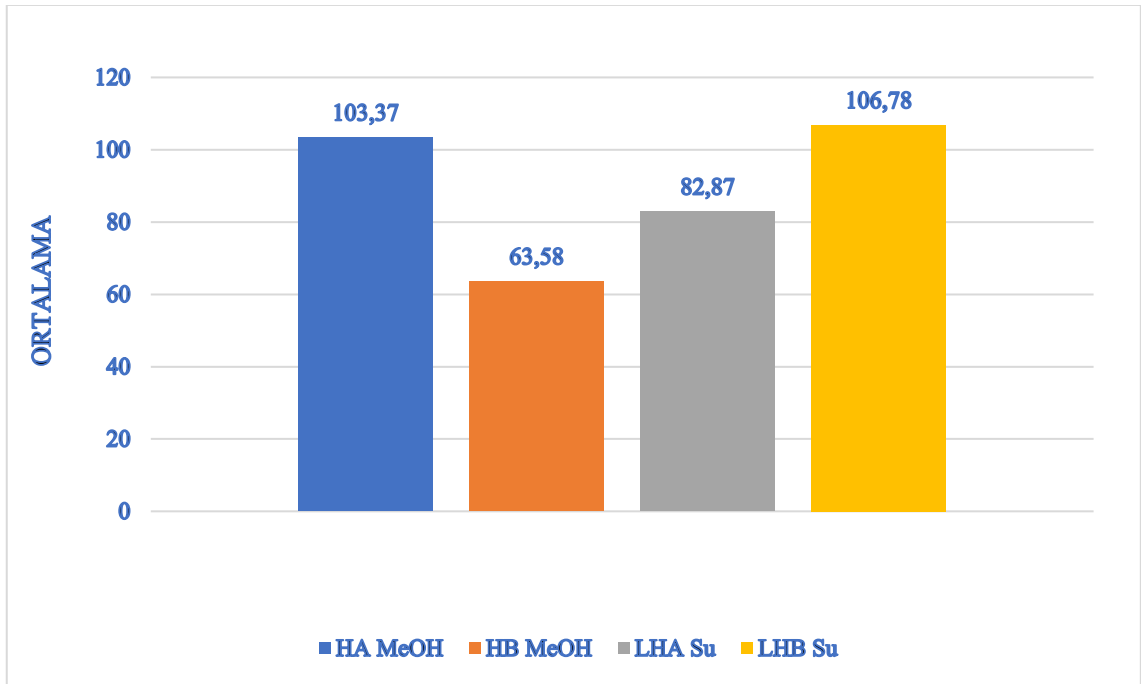
Renk tepkimesine dayanan bu teknik ile, örneklerimizdeki toplam fenolik madde oranı renk koyuluğuna göre fazla olduğu yorumu yapılabilmektedir. Standart gallik asit eğrisi ile sonuç hesaplanmıştır. 1 g *H. aviculariifolium* ekstresinde bulunan fenolik madde miktarı 103 mg gallik asite eşdeğer (GAE), 1 g *H. bithynicum* ekstresinde bulunan miktar ise 63 mg gallik asite eşdeğer (GAE) olduğu sonucu bulunmuştur.



Şekil 4.9. GA eğrisini gösteren grafik

Tablo 4.3. Total fenolik madde miktarı

	Türler	(GAE)
1	<i>H. aviculariifolium</i>	103 mg GAE
2	<i>H. bithynicum</i>	63 mg GAE



Ha: *H. aviculariifolium*, Hb: *H. bithynicum*

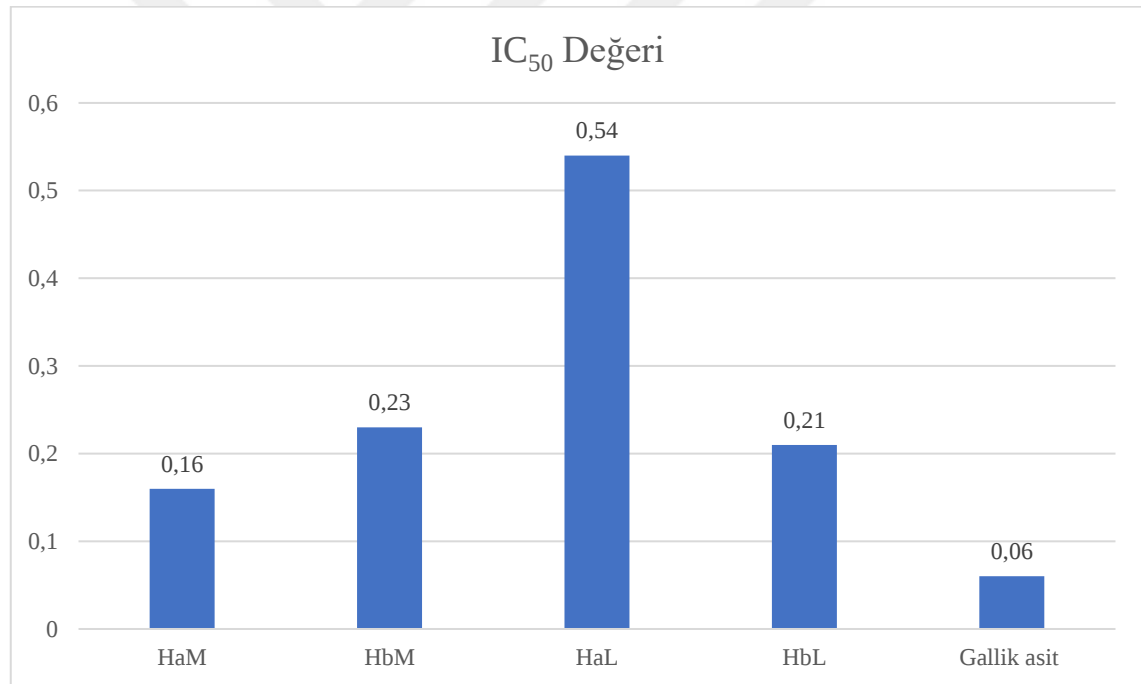
Şekil 4.10. Örneklerin GAE olduğunu belirten sütun grafiği

4.3.2. Antioksidan kapasite deneyi

DPPH radikal süpürücü etki tayini, DPPH %50 inhibisyon konsantrasyonu (IC₅₀) olarak hesaplanmıştır. IC₅₀ değerleri Tablo 4.2’de gösterilmiştir. IC₅₀ değeri ne kadar düşükse radikal süpürme gücü o kadar yüksektir, ekstrele ait sütun grafiği (Şekil 4.9)’da gösterilmiştir.

Tablo 4.4. Elde edilen inhibisyon verileri

	Örnekler	IC ₅₀ değerleri (mg/ml)
1	HaM	0,16
2	HbM	0,23
3	HaL	0,54
4	HbL	0,21
5	Gallik Asit	0,06

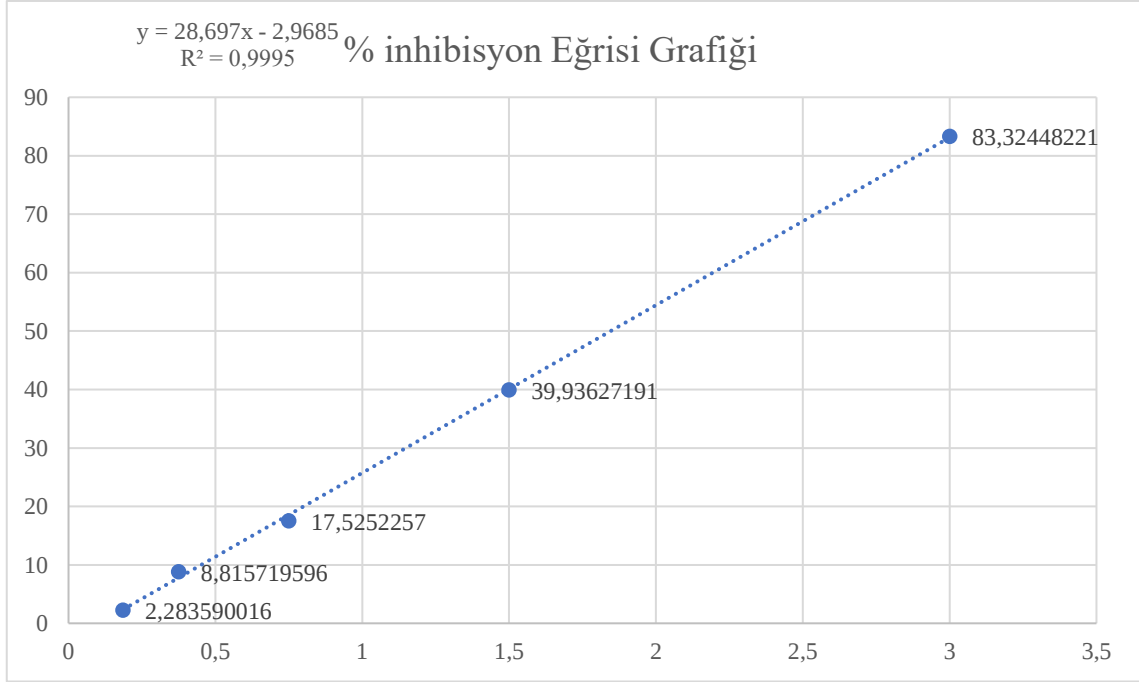


Şekil 4.11. Ekstrelerin IC₅₀ değerlerini gösteren sütun grafiği

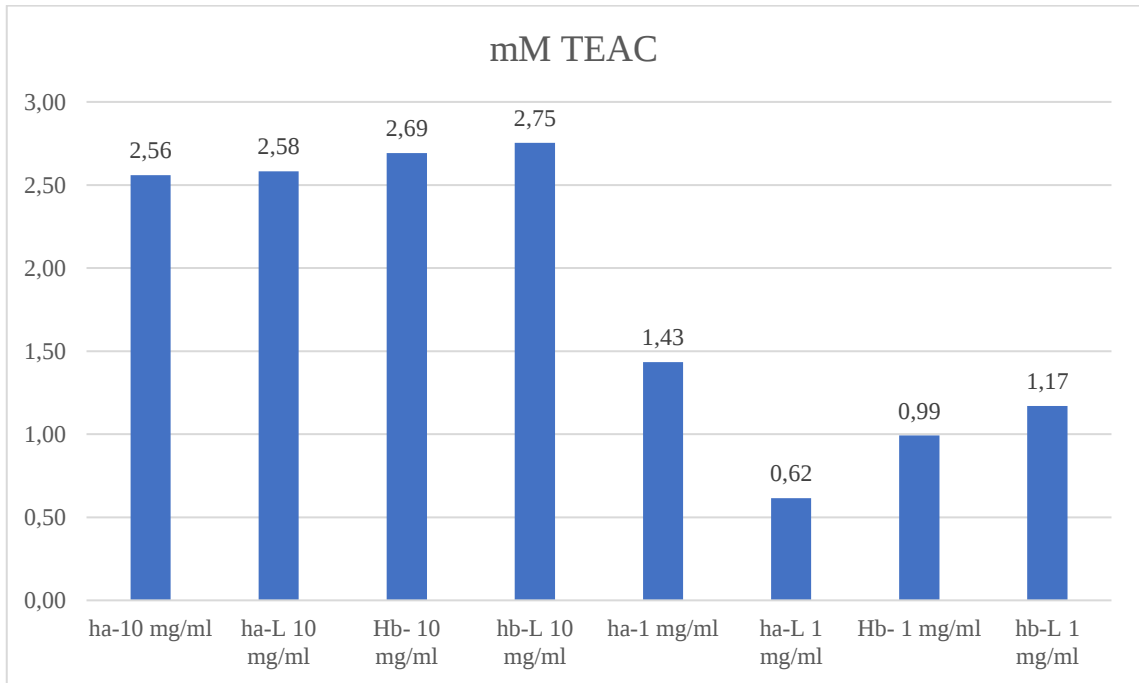
Farklı hacimlerde hazırlanan troloksun % inhibisyon verileri için, örneklerin troloksa eşdeğer antioksidan kapasite (TEAC) tekniği ile bulmuş olduğumuz değerlerle bir denklem hesaplanmıştır. (Şekil 4.12).

Elde edilen değerler standardımızı oluşturan gallik asitin 1 mg/ml üzerinden, 10 mg/ml *H. aviculariium* metanol ekstresi ve 2,56 mM TEAC, 10 mg/ml *H. aviculariifolium* su ekstresi için 2,58 mM TEAC, 10 mg/ml *H.bithynicum* metanol

ekstresi için 2,69 mM TEAC, 10 mg/ml *H.bithynicum* su ekstresi için 2,75 mM TEAC, 1 mg/ml *H. avicularium* metanol ekstresi için 1,43 mM TEAC, 1 mg/ml *H. avicularium* su ekstresi için 0,62 mM TEAC, 1 mg/ml *H.bithynicum* metanol ekstresi için 0,99 mM TEAC, 1 mg/ml *H.bithynicum* su ekstresi için 1,17 mM TEAC olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.11).



Şekil 4.12. Hesaplama da kullanılan eğri ve denklemi



Şekil 4.13. Ekstrelerin mM TEAC değerleri

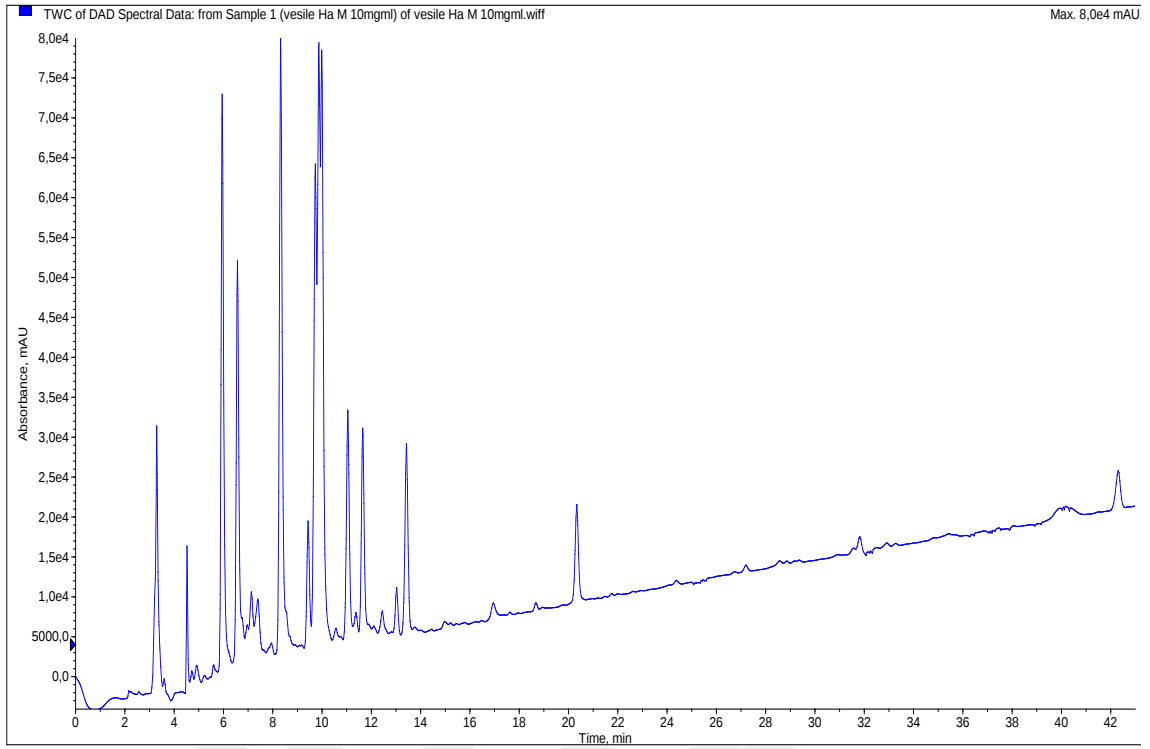
4.3.3. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi/Kütle Spektrometresi (YBSK/KS) ile Belirlenen Fenolik bileşikler

Bu kısımda *H. bithynicum* ve *H. aviculariifolium* türlerinin antioksidan aktiviteleri belirlenmiş olup, antioksidan özelliklerini ortaya koyan fenolik madde kompozisyonlarının tespit edilebilmesi için HPLC cihazı kullanılmıştır.

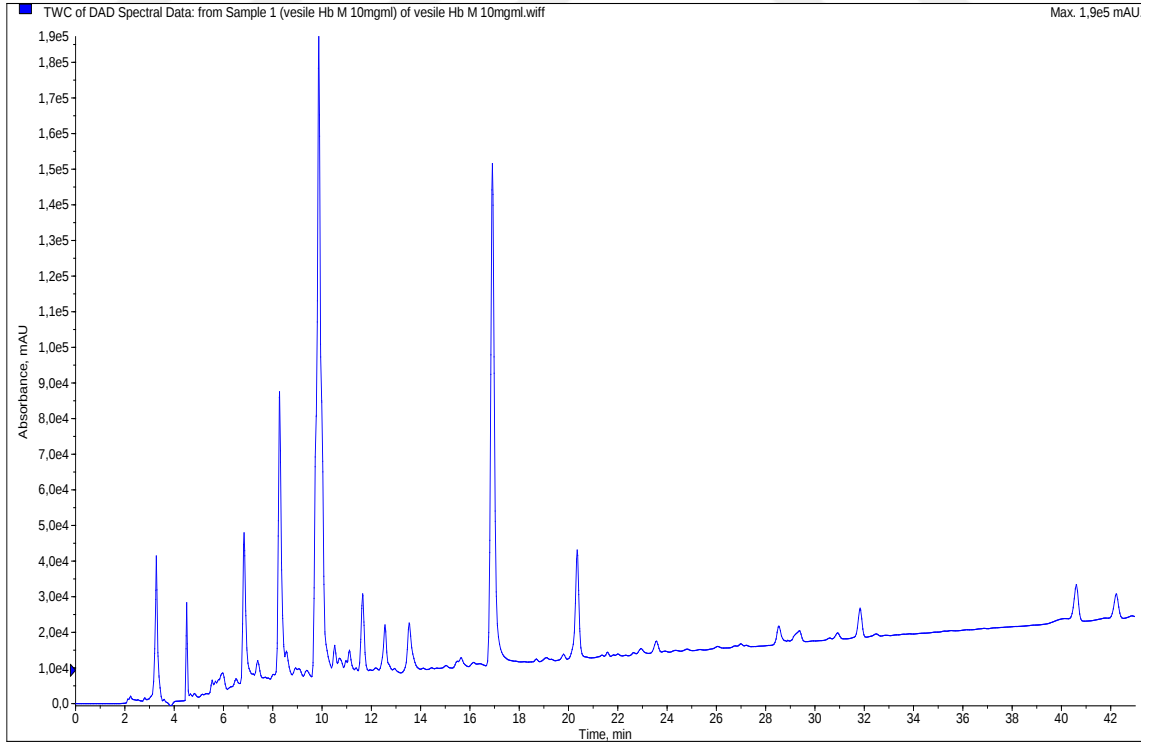
Tablo 4.5. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi/Kütle Spektrometresi (YBSK/MS) ile belirlenen maddeler

No	t _R (dk)	[M-H] ⁻ (m/z)	Ms/Ms (m/z)	Tanımlama	Bitki
1	3,3	173	155, 143, 137, 111	Şikimik asit	HaM, HbM
2	3,3	195	159, 129, 111	Galaktonik asit veya glukonik asit	HaL, HbL
3	4,0	191	173, 127, 109	Kinik asit	HaM, HbM, HbL
4	5,9	353	191, 179, 135	3-Kafeoilkinik asit	HaM, HaL, HbL
5	6,6	421	403, 331, 301, 271	Mangiferin	HaM, HbM, HbL
6	7,4	289	245, 203, 125	Kateşin	HaM, HbM, HbL
7	8,4	447	357, 327, 297, 288	Luteolin-C-glukozit (orientin veya isoorientin)	HaM, HbM, HbL
8	9,5	431	341, 311, 283, 117	Viteksin/ izoviteksin	HaM, HbM, HbL
9	9,9	275	257, 231, 189, 165	Hiperforin parçalanması olabilir	HaM, HbM, HbL
10	10,1	463	300, 271, 255, 179, 151	Kersetin galaktozit (Ana madde)	HaM, HbM, HbL
11	11,1	477	301	Kersetin galakturonit	HaM, HbM, HbL
12	11,7	447	301	Kersetin ramnozit (Kersitrin)	HaM, HbM, HbL
13	13,2	431	269	Apigenin glukozit	HaM
14	13,5	405	229, 113	Hiperisin parçalanması olabilir	HaM, HbL
15	16,9	301	277, 179, 151	Kersetin	HbM

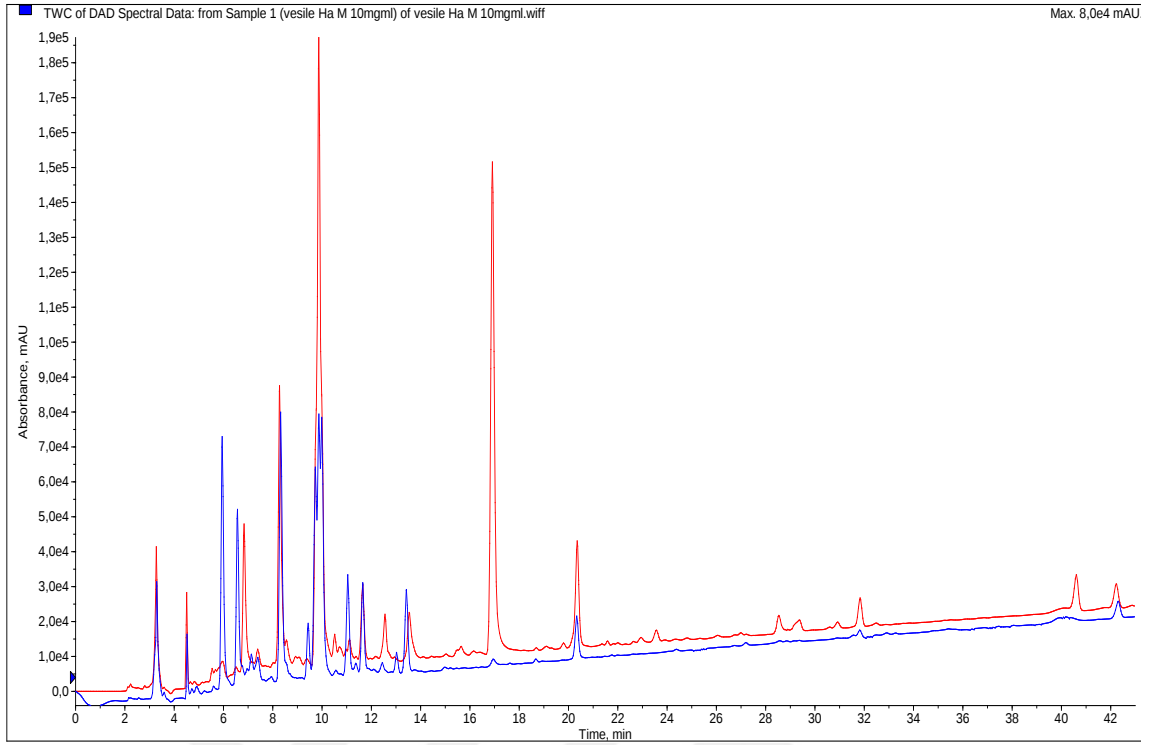
Ha: *H. aviculariifolium*, Hb: *H. bithynicum* M: MeOH, L: Su



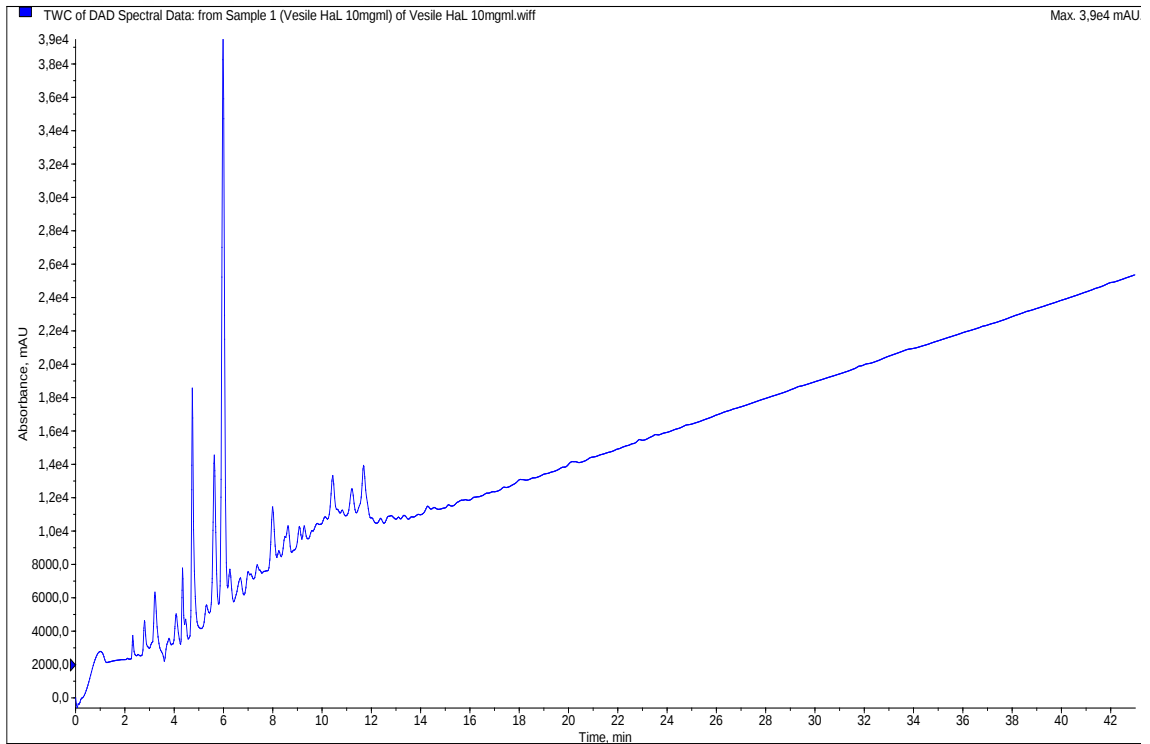
Şekil 4.14. HaM: ekstresine ait DAD kromatogramı



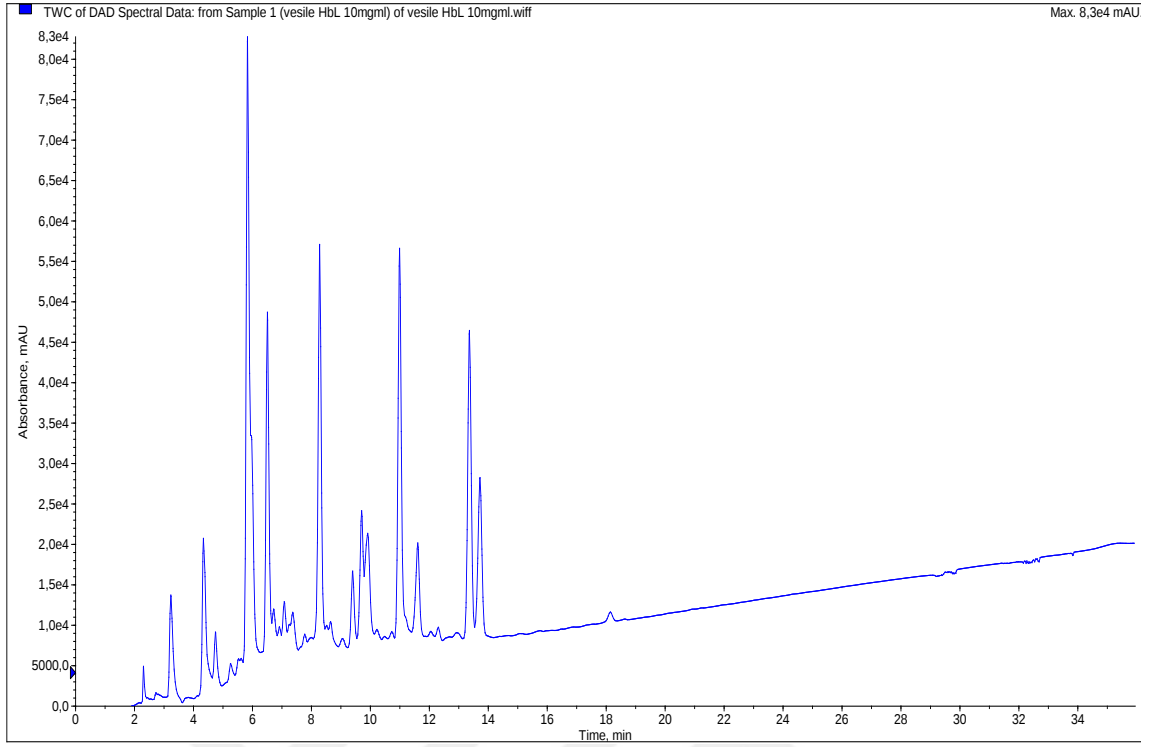
Şekil 4.15. HbM: ekstresine ait DAD kromatogramı



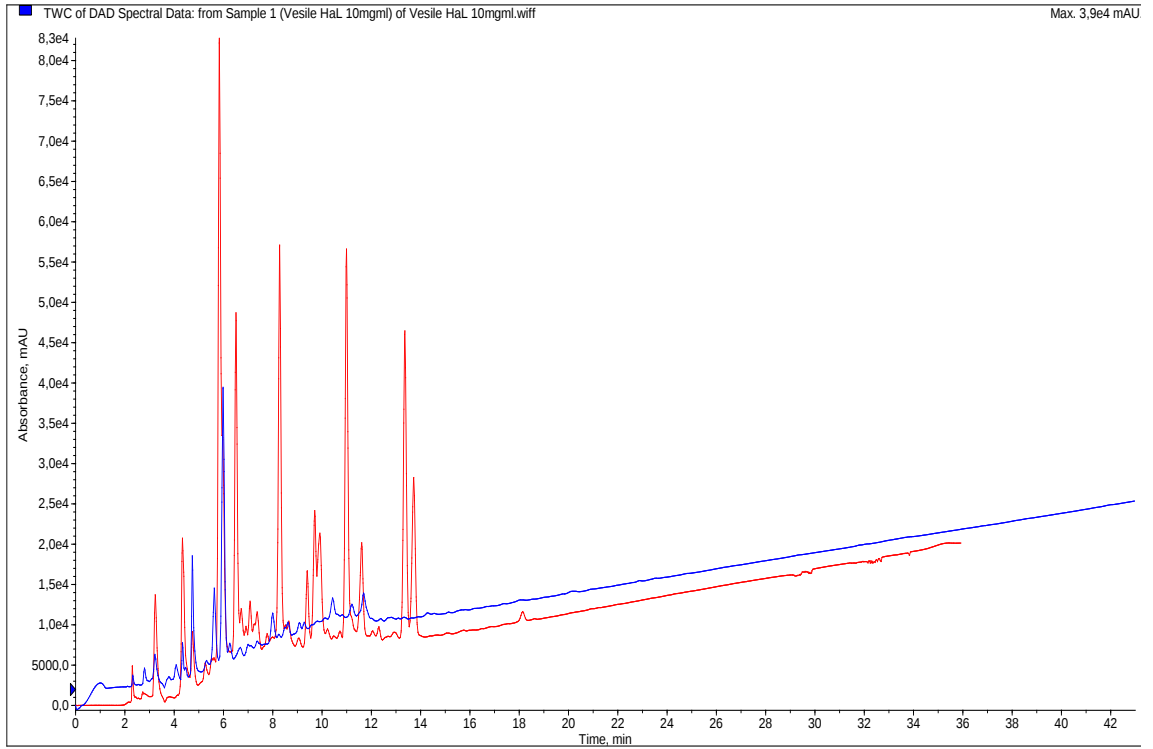
Şekil 4.16. HaM, HbM çakıştırılmış DAD kromatogramı



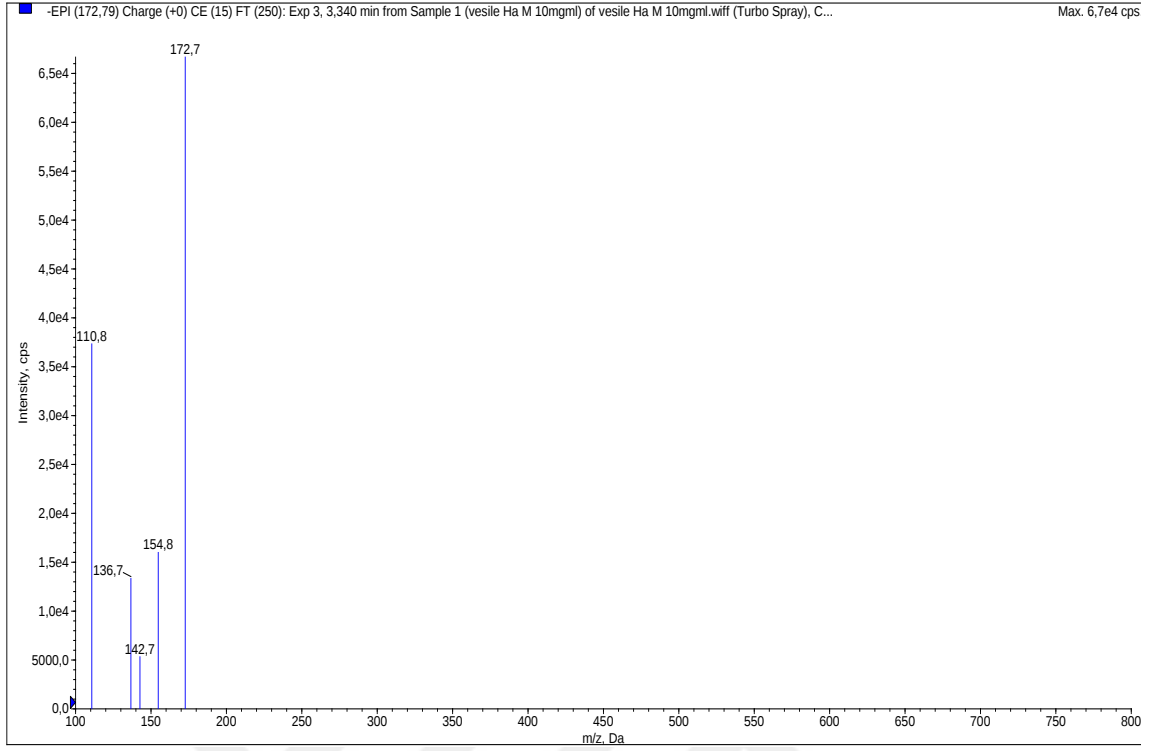
Şekil 4.17. HaL ekstresine ait DAD kromatogramı



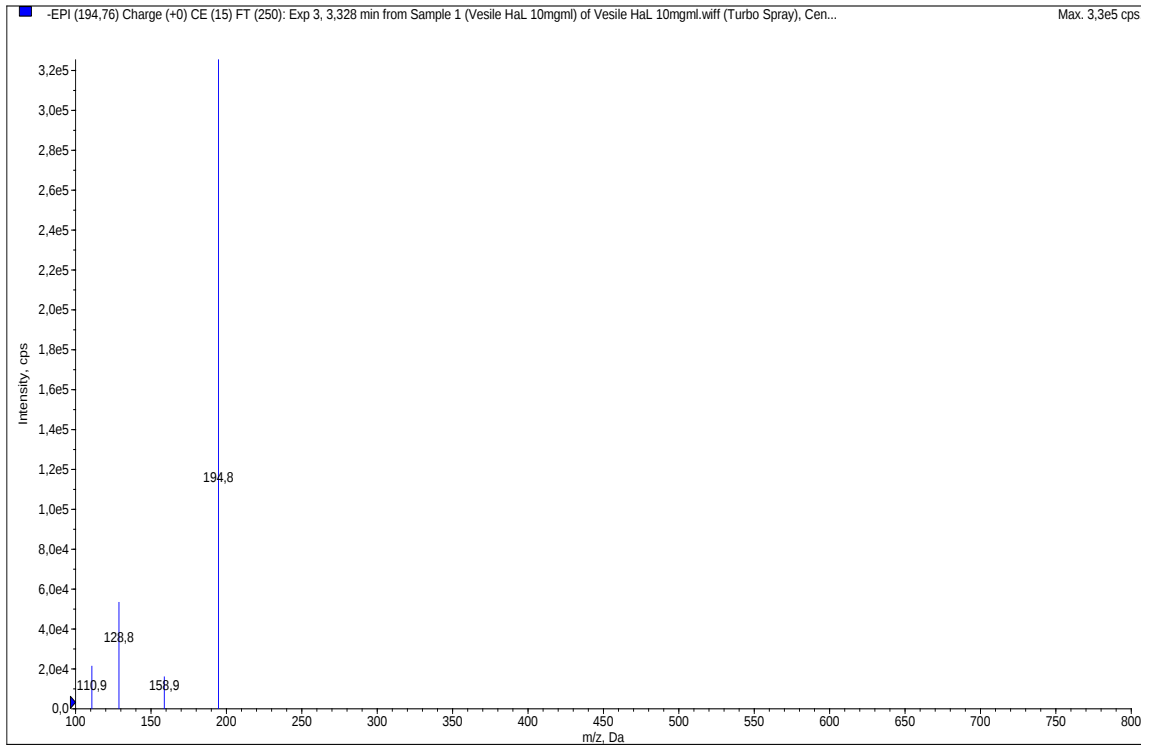
Şekil 4.18. HbL ekstresine ait DAD kromatogramı



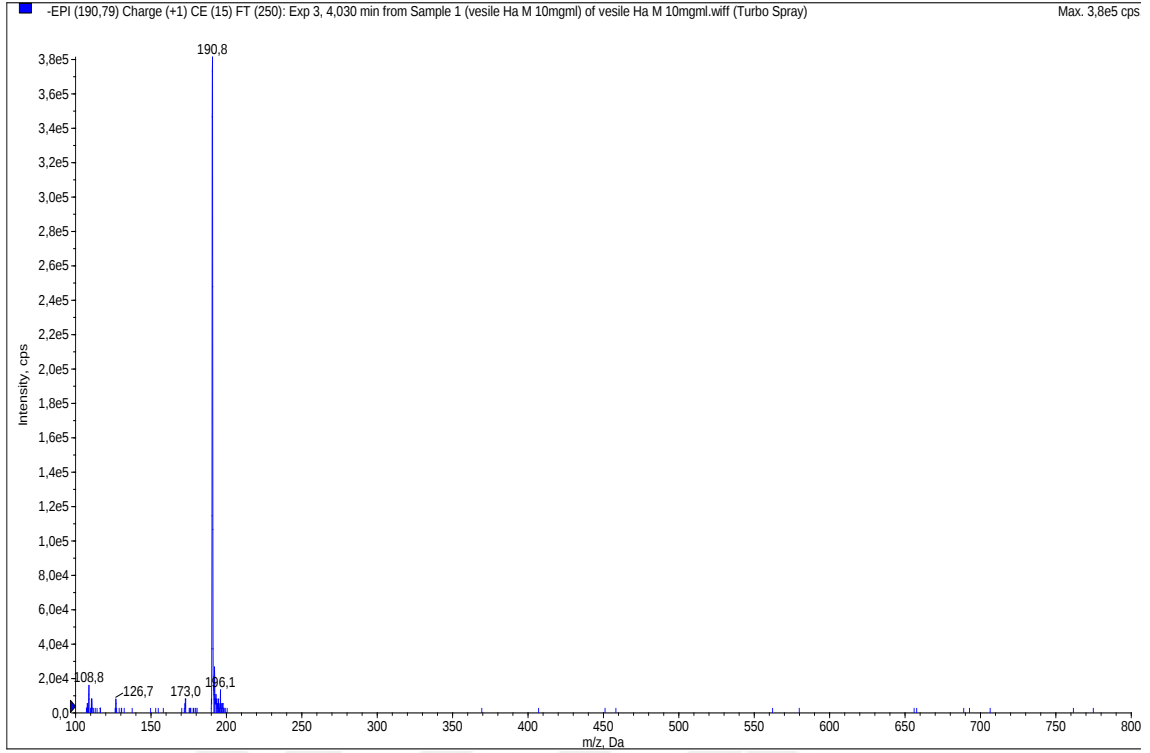
Şekil 4.19. HaL ve HbL çakıştırılmış DAD kromatogramı



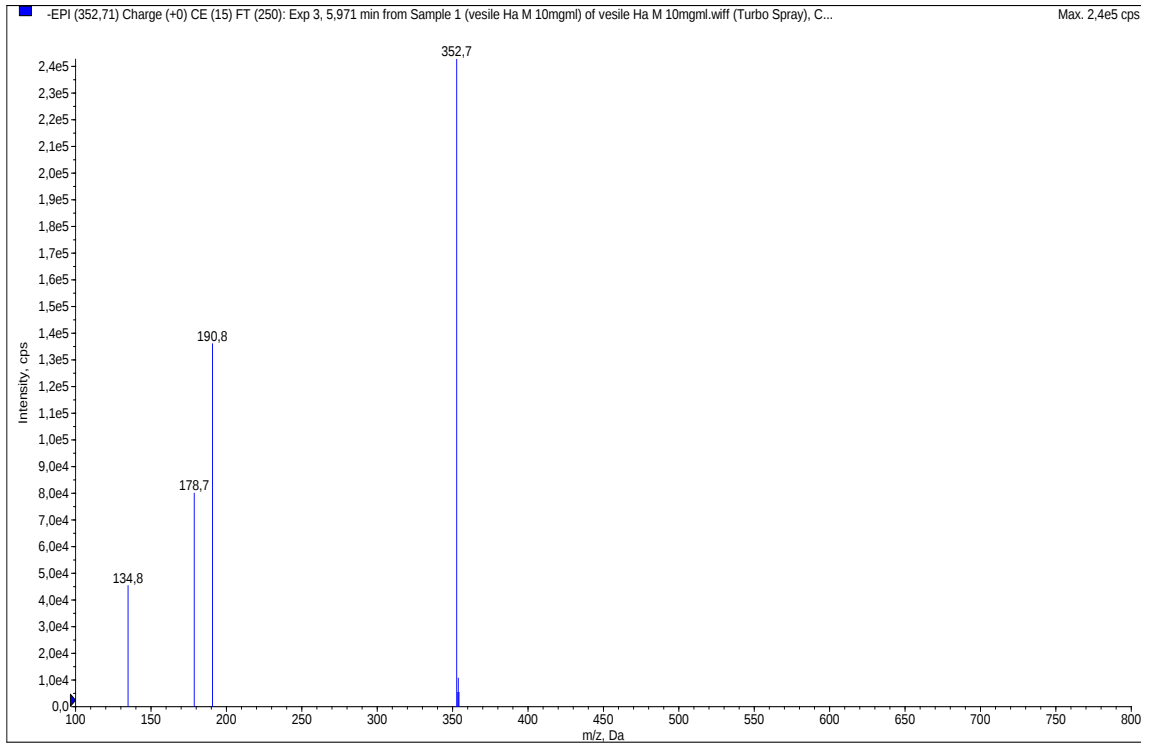
Şekil 4.20. Şikimik asit kütle spektrumu



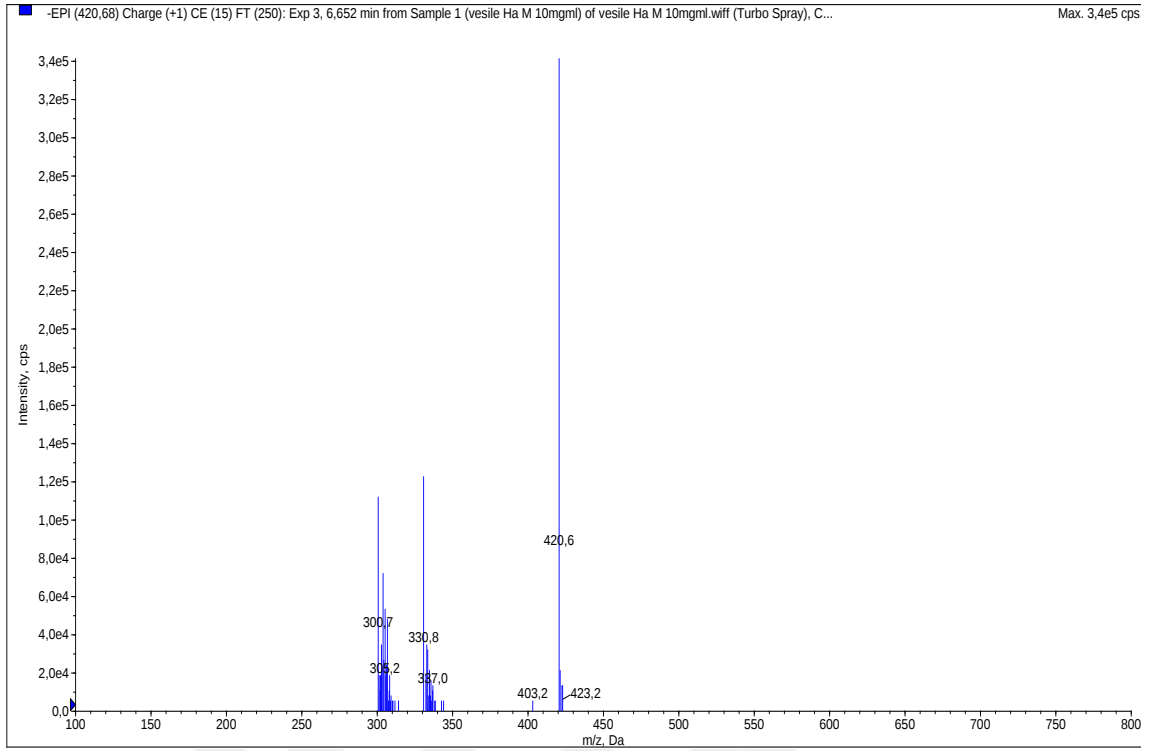
Şekil 4.21. Galaktonik veya glukonik asit kütle spektrumu



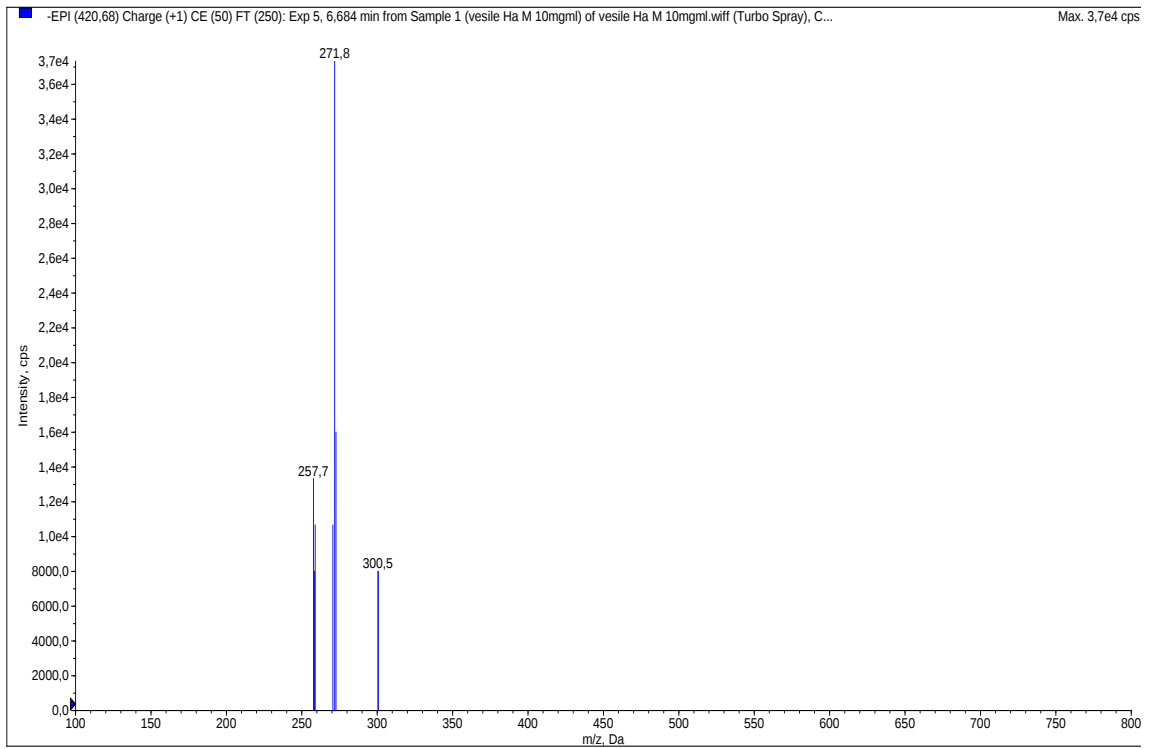
Şekil 4.22. Kinik asit kütle spektrumu



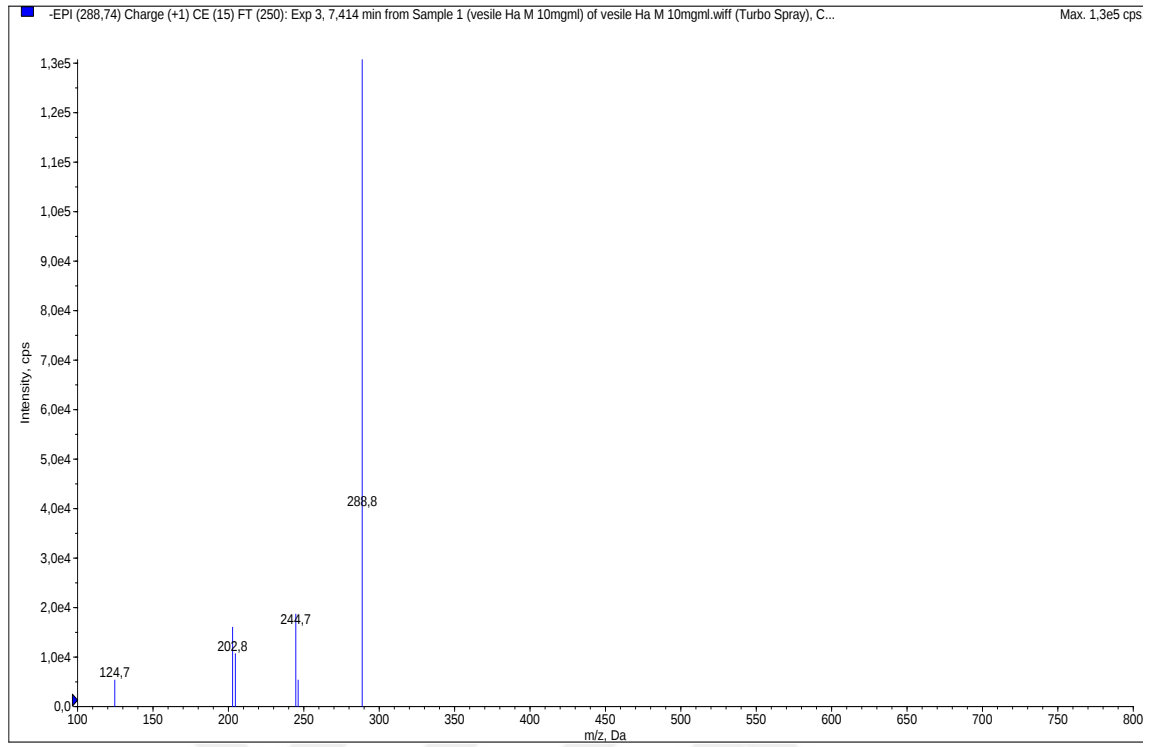
Şekil 4.23. 3-kaffeoilkinik asit kütle spektrumu



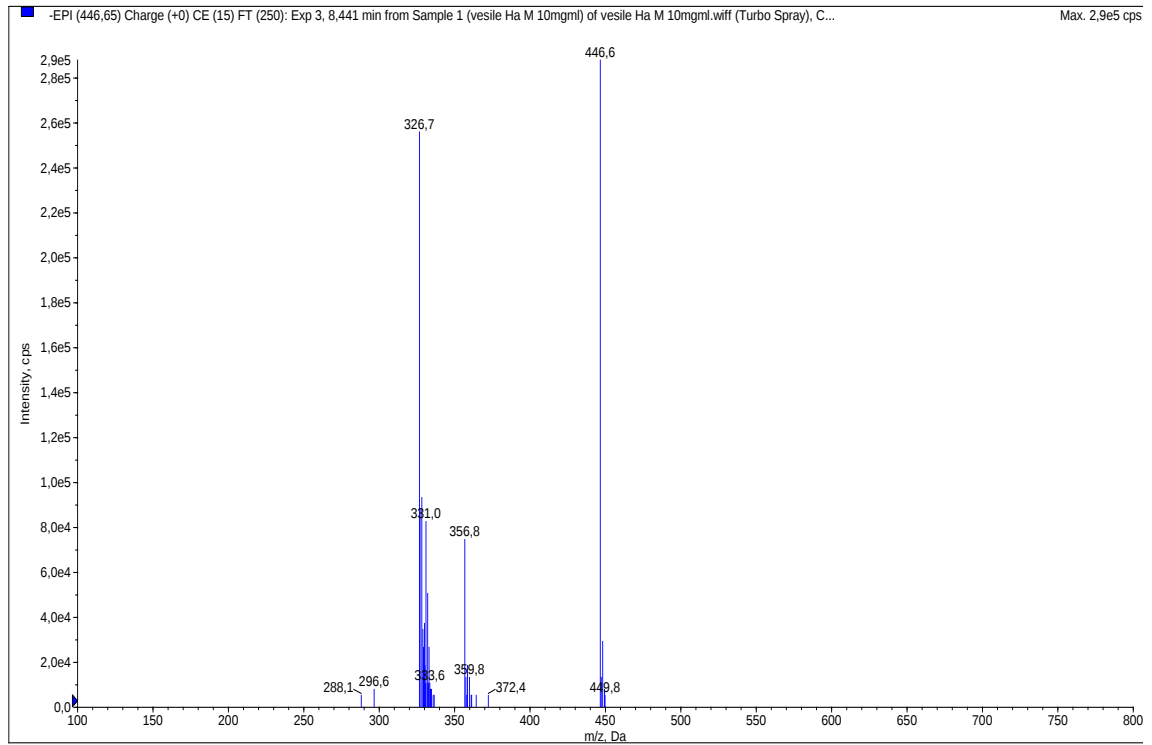
Şekil 4.24. Mangiferin kütleyi içeren spektrum



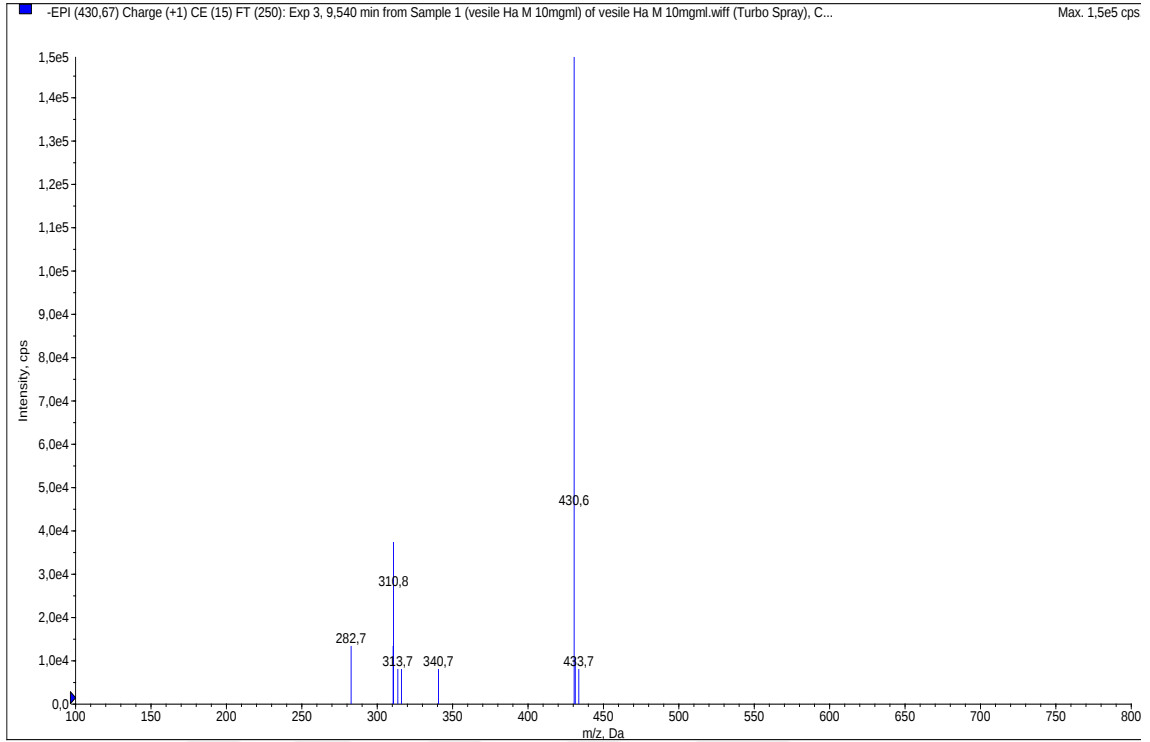
Şekil 4.25. Mangiferin m/z 301 iyonu ayrıntılı parçalanmaları



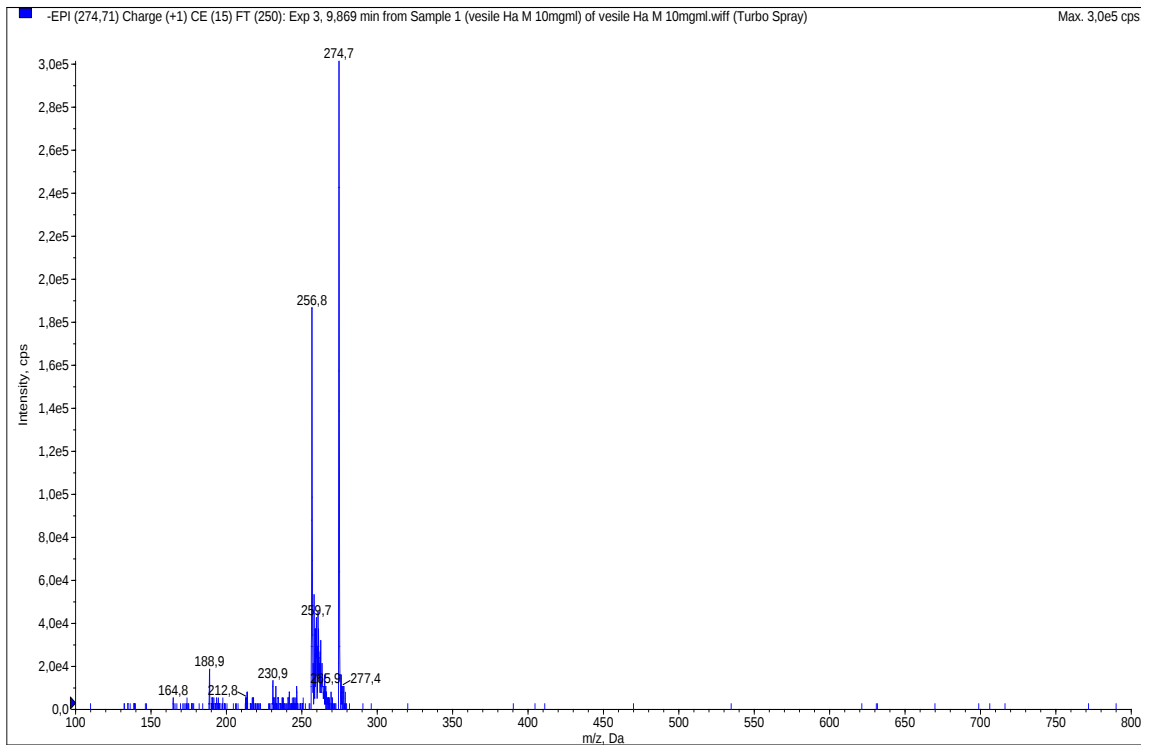
Şekil 4.26. Kateşin kütlesini içeren spektrum



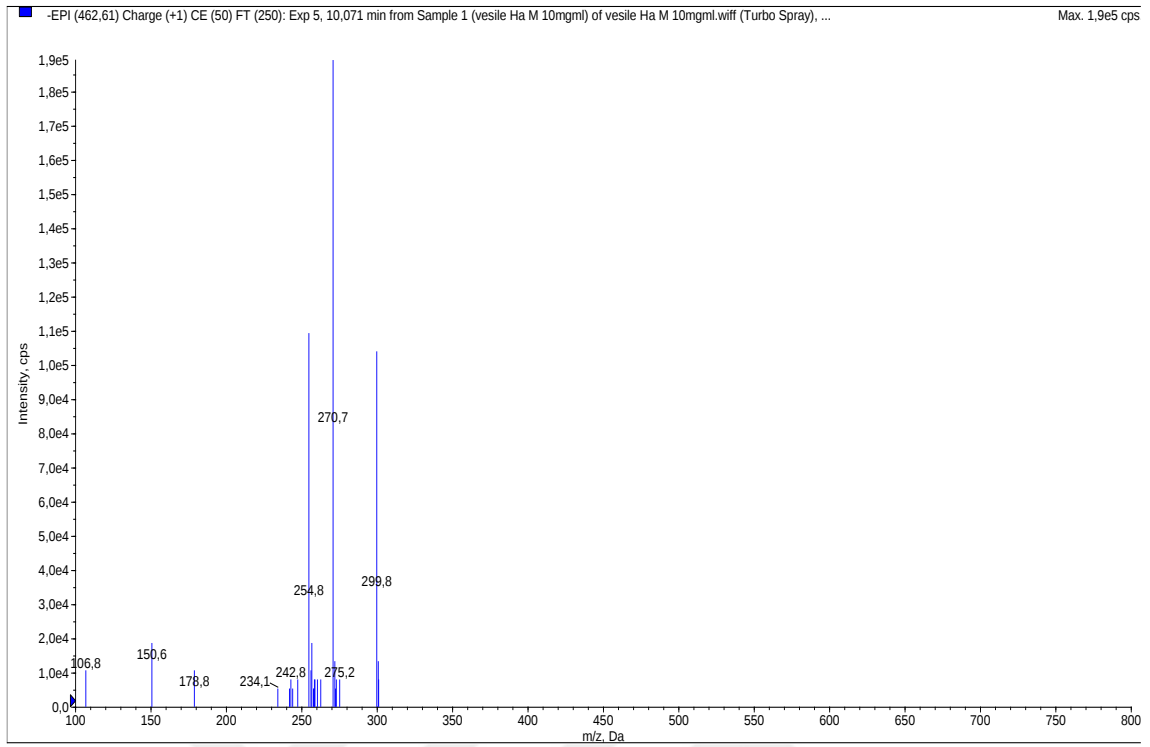
Şekil 4.27. Luteolin-C-glukozit kütlesini içeren spektrum



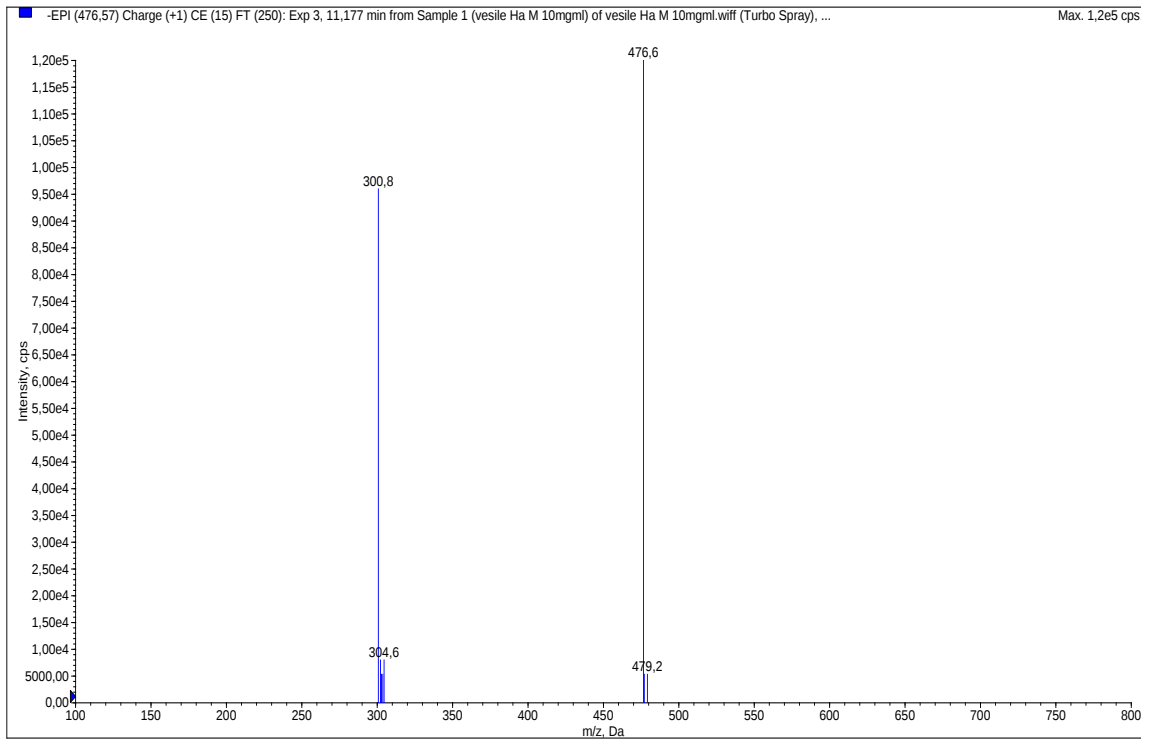
Şekil 4.28. *Viteksin veya isoviteksin kütle spektrumu*



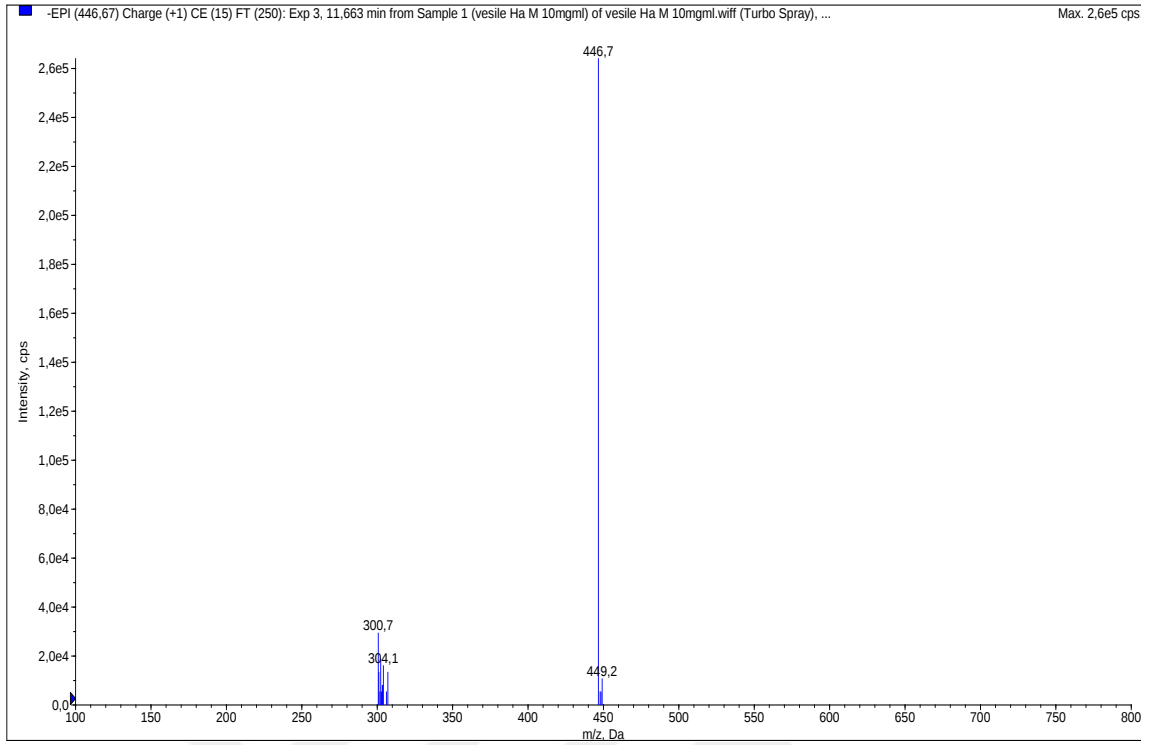
Şekil 4.29. *m/z 275 hiperforin parçalanma ürünü olabileceği düşünülen kütle spektrumu*



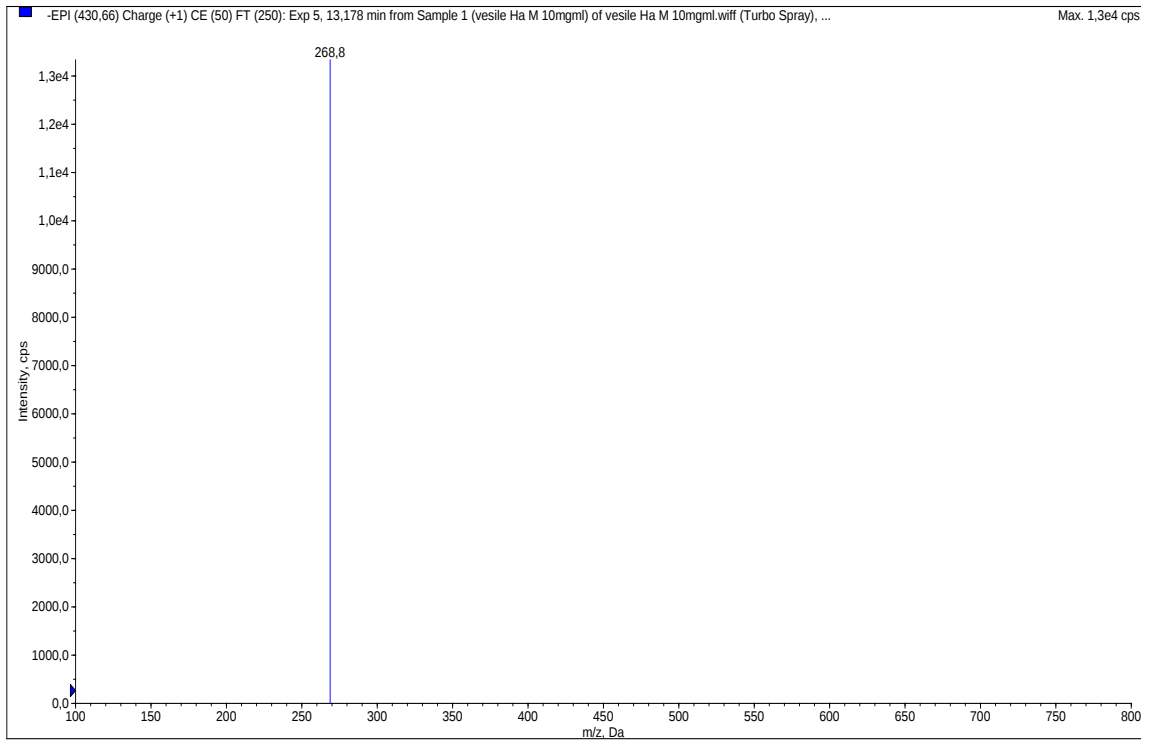
Şekil 4.30. Quercetin galaktozit kütlesini içeren spektrum



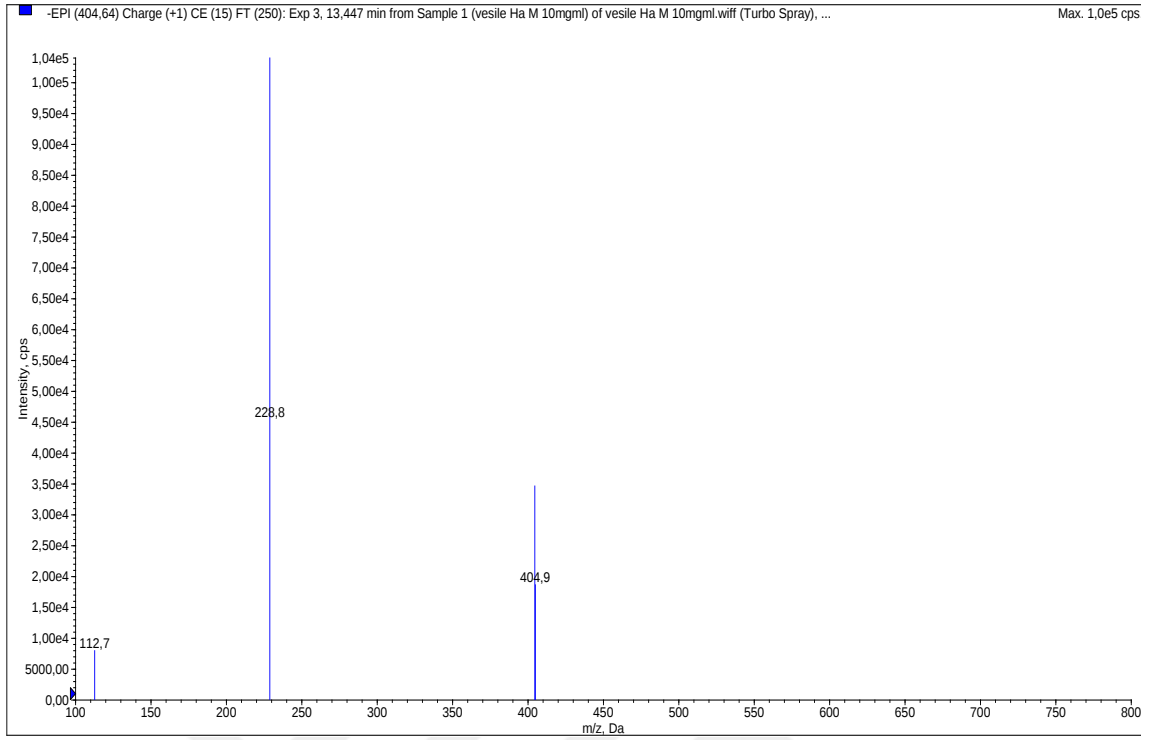
Şekil 4.31. Kersetin galakturonit kütlesini içeren spektrum



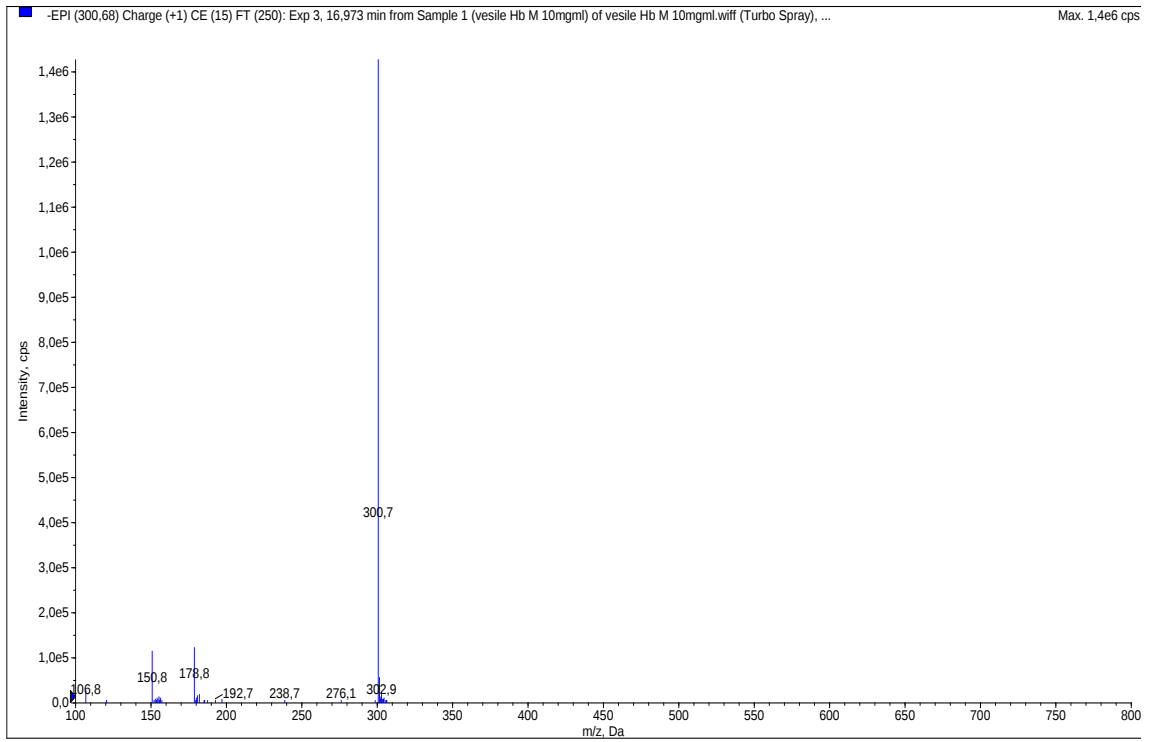
Şekil 4.32. Kersetin ramnozid kütlesini içeren spektrum



Şekil 4.33. Apigenin glukozit kütle spektrumu (eser miktar)



Şekil 4.34. Hiperisin parçalanma ürünü olduğu düşünülen maddeye ait kütle spektrumu



Şekil 4.35. Kersetin kütle spektrumu

4.3.4. Antimikrobiyal Etki Bulguları

Bu çalışmada, Çalışılan *Hypericum* türlerinin metanol ve distile su eksreleri ve *Escherichia coli* ATCC 8739, *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* ATCC 6538, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* ATCC® 14028, *Enterococcus faecalis* ATCC® 14028, *Staphylococcus epidermidis* ATCC® 12228, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC®27853 suşlarına karşı antibakteriyal aktivite, *Candida albicans* ATCC 10231, *C. utilis* NRRL Y-900, *C. albicans* ATCC 90028, *C. tropicalis* ATCC 750, *C. parapsilosis* ATCC 22019, *C. krusei* ATCC 6258 suşlarına karşı ise antifungal aktiviteleri incelenmiştir. Çalışmada gözle görülür üremenin olmadığı en düşük madde konsantrasyonu; MİK, (Minimum inhibitör konsantrasyonu) µg/mL değeri olarak belirlenmiştir.

Antibakteriyal etki sonuçları incelendiğinde, V1-V4 nolu ekstreler 250-4000 µg/mL aralığındaki konsantrasyonlarda inhibe edici etkiler göstermiştir. V4 nolu ekstre diğer ekstrelerden daha kuvvetli etki göstererek test edilen tüm bakterilere karşı ise 250-1000 µg/mL aralığında inhibitör etkiler göstermiştir.

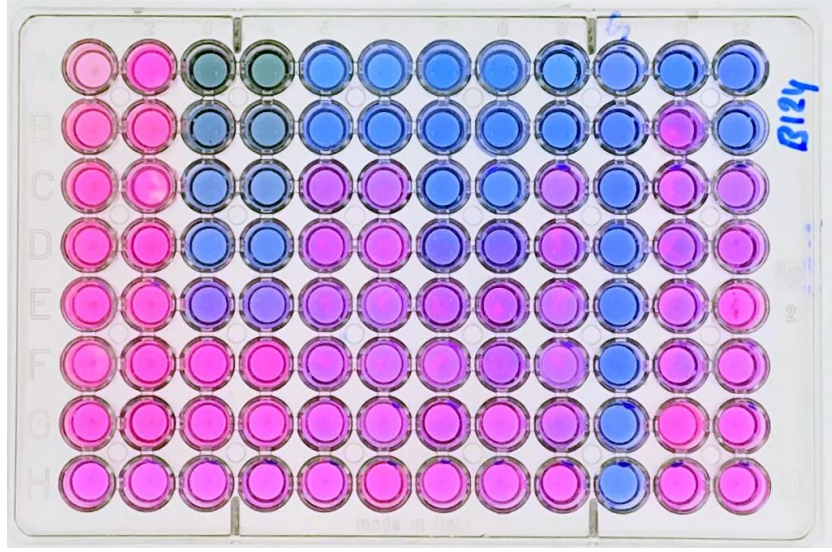
Sonuçlar tablo 4.6’da yer almaktadır.

Tablo 4.6. Antimikrobiyal sonuçlara ait değerler

			V1	V2	V3	V4	Ampisilin	Kloramfenikol
B120	<i>Escherichia coli</i>	ATCC 8739	1000	1000	1000	1000	4	4
B121	<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i>	ATCC 6538	2000	2000	2000	500	4	4
B122	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i>	ATCC® 14028	1000	1000	1000	1000	4	4
B123	<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC® 29212	4000	4000	2000	1000	4	2
B124	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	ATCC® 12228	2000	2000	2000	250	8	4
B3	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC®27853	>8000	>8000	>8000	500	4	8

V4

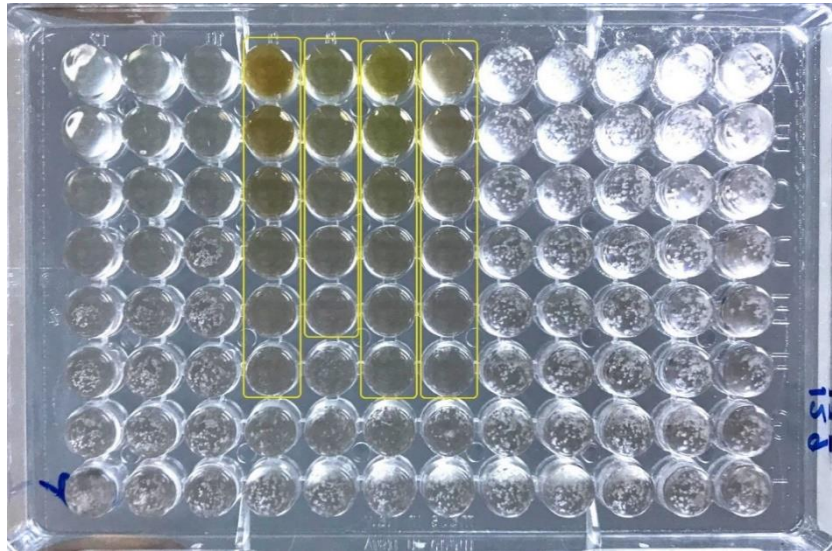
DMSO Str Amp Klr



Şekil 4.36. Antimikrobiyal etki bulguları çizelgesi

Antimikrobiyal aktivite sonuçları değerlendirildiğinde; 1000 µg/mL ve denenen en yüksek doz olan 8000 µg/mL'den daha yüksek MİK değeri saptanmıştır. Bu değer standart antibakteriyaller ile karşılaştırıldıklarında hepsinin zayıf etkili olduğu gözlenmiştir.

Antifungal etki sonuçlarına göre, test edilen *Candida* suşları V1, V2, V3, V4 ekstralarında verdikleri MİK değerleri referans madde Amfoterisin-B ve Ketokonazol konsantrasyondaki MİK değeri karşılaştırıldığında düşük antifungal aktivite gösterdiği gözlemlenmiştir. V1 ve V2 ekstraları *C. utilis*'e karşı 62.5 ve 125 µg/mL MİK değeri ile etkili olurken, *Candida krusei* tüm ekstralar tarafından 62.5 ve 125 µg/mL dozlarda inhibe edilmiştir (Şekil 4.37).



Şekil 4.37. Antifungal etki sonuçları, 96 kuyucuklu petri

Antifungal sonuçlar Tablo 4.7’de açıklanmıştır.

Tablo 4.7. Antifungal sonuçları çizelgesi

M.O.	Suş No	v1	v2	v3	v4	Amp-B	Keto
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231	500	500	500	250	0.03	0.06
<i>C. utilis</i>	NRRL Y-900	62,5	125	500	500	0.03	0.06
<i>C. albicans</i>	ATCC 90028	500	500	500	500	0.5	0.06
<i>C. tropicalis</i>	ATCC 750	500	250	500	250	0.25	0.03
<i>C. parapsilosis</i>	ATCC 22019*	500	250	250	250	0.125	0.03
<i>C. krusei</i>	ATCC 6258*	62,5	62,5	125	62,5	0.25	1,0

Amfoterisin-B, Ketokonazol

Kalite kontrol suşları

**Candida parapsilosis* ATCC® 22019-Amfoterisin-B: 0.25-2.0 µg/mL, Ketokonazol: 0.03-0.25 µg/mL

**Candida krusei* ATCC® 6258- Amfoterisin-B: 0.5-2.0 µg/mL, Ketokonazol: 0.12-1.00 µg/mL

5. SONUÇ VE TARTIŞMA

Bu çalışmada *H. bithynicum* ve endemik *H. aviculariifolium* türlerinin farmasötik botanik açıdan araştırılmıştır. Bu kapsamda bitkilerin morfolojik, anatomik özellikleri araştırılmış, kimyasal çalışmalarla aydınlatılmış olup, türlerin antimikrobiyal etkisi ve bazı kimyasal içeriklerinin incelenmesi de bu çalışmada yapılmıştır aynı zamanda antioksidan aktiviteleri ve toplam fenol içeriklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

5.1. Morfolojik Sonuçlar ve Tartışma

H. aviculariifolium çok yıllık olup, ortalama $19,47 \pm 2,90$ cm yüksekliğinde, dik ya da toprak üzerinde yatık otsu bitkilerdir. Tüysüz veya kısa yumuşak tüyleri bulunmaktadır. Yapraklar 5-35 mm uzunluğunda oblong ya da eliptikten obovata doğru değişik şekillerde olabilir, sepaller lanseolat ya da akut, kenar altlarında genellikle yüzeysel siyah guddeler bulunur (Maggi ve ark. 2004). *H. aviculariifolium* gövdesi 13-23 cm iken, Flora'da 5-60 cm uzunluğundadır. Tüysüz veya kısa yumuşak tüyleri bulunmaktadır. Yapraklar 9-15 mm, Flora'da ise 5-35 mm'dir. Kenar altlarında genellikle yüzeyinde siyah guddeler bulunur. Sepaller 2-3 mm, ölçülmüştür. Petaller 7-11 mm, Flora'da 8-15 mm'dir. Kapsul 6-7 mm, Flora'da 5-10 mm ölçülerinde kayıtlıdır (Davis, 1982).

H. bithynicum çok yıllık ve ortalama $40,29 \pm 11,27$ Yapraklar (10-)15-55 mm uzunluğunda, oval veya oblong, akut suborbikülere kadar değişik şekillerdedir. Yapraklarda ağsı damarlanma belirgin olup yüzeyde şeffaf bazen de siyah noktalar bulunmaktadır. Sepaller akut şekilde ve yüzeysel siyah noktalar vardır (Maggi ve ark. 2004). *H. bithynicum* gövde 18-55 cm iken, Flora'da 10-60 cm'dir. Yapraklar 15-22 mm Flora'da (10-)15-55 mm uzunluğundadır. Sepaller 2-5 mm olup, Flora'ya katkıda bulunulmuştur. Petaller 10-12 mm, Flora'da 10-13 mm'dir. Kapsula 6-7 mm, olup Flora'daki kayıtlı ölçümle aynıdır (Davis, 1982, Rabson, 1968).

Bu çalışmamız sonucunda morfolojik bulgularımızla, *Flora of Turkey*'de yer alan deskripsiyon genellikle paralellik göstermektedir. Buna karşın bazı yapılarda küçük farklılıklar ve tarafımızdan ilk kez tanımlanan ölçümler (Tablo 4.1) ve Tablo 4.2)'de verilmiştir.

5.2. Anatomik Sonuçlar ve Tartışma

İncelenen türlerin anatomik yapıları göz önüne alındığında gövdeden alınan enine kesitlerde *H. aviculariifolium* türünde, tek sıralı bir epiderma tabakası görülmektedir. Epiderma hücreleri oval şekillidir, epidermanın altında 4-7 sıralı korteks parankiması yer alır. Korteks parankiması hücreleri yuvarlak şekillidir, korteks genellikle dar olup şizogen salgı kanalları içermektedir. Bu doku hücreler arası boşluklar içermektedir. İç kısma doğru 4-5 sıra halinde boyu eninden uzun olan sklerenkima hücreleri gelmektedir. Floem dokusunu sklerenkimadan ayıran tek sıralı endodermis tabakası bulunmaktadır. Öze doğru gidildiğinde sklerenkima dokusu, altında floem tabakası bulunur ve ksilem dokusu izlemektedir. Merkezde parankimatik hücrelerden oluşan öz bölgesi yer almaktadır.

Yaprak enine kesitte *H. aviculariifolium*, üst yüzeyde epiderma hücreleri sıralı bir yapı olup, ovoid ya da yassı şekilli hücrelerden meydana gelmiştir. Yaprak üst yüzeyinde epiderma dokusu altında 2-3 sıralı palizat parankiması her iki yüzeyde de bulunur. Alt yüzeyde ise epiderma dokusu üstünde ise 1-2 sıralı palizat parankiması bulunmaktadır. Palizat parankiması silindirik şekilli ve bol kloroplastlı hücrelerden meydana gelmiştir. Yaprakta şizolizigen tipte salgı ceplerine rastlanmaktadır. İletim demetlerinin olduğu bölgede ise kollenkima dokusu çok sıralı bir yapıdadır. Yaprığın alt ve üst yüzeysel kesitinde stoma bulunmaktadır.

Perrone vd., (2013) tarafından yapılan incelemede *H. perforatum* türünün gövde anatomik yapıları incelenmiştir. Çalışma ile bitkini türlerine ait önemli bir ayırt edici özellik olduğu ifade edilmiş, 2 kanat içerdiğini ve klorenkimatik hücrelerin yer aldığını belirtmiştir. Dış tabakadan itibaren floemde *H. perforatum* türünün, Ciccarelli vd., (2001) çalışmalarında yer alan, Tip A ve Tip B salgı kanalları bulunduğunu açıklamıştır.

Ciccarelli vd., (2001) yapmış oldukları çalışmada A tipi kanallarının; karemsi hücrelerle çevrili, ince çeperli ve dar küçük açıklıklardan oluştuğunu B tipi kanalların; büyük bir açıklık kapsadığını bununla birlikte enine kesitlerde saydamsı glandlara benzer yapı olduğunu; C tipi kanalların ise koyu renkli ve ince çeperli hücrelerinden oluşan büyük boşluklar olduğunu açıklamıştır. Bu incelemeye göre çalışılan türlerimizin A ve B tipi salgı kanalı olduğu düşünülmektedir. Potoğlu ve Tokur (2004), *H. perforatum* türünün yaprak yüzeysel kesitinde yer alan stoma varlığı, bizim çalışmamızla uyumlu olduğu görülmüştür. Çalışmamızdaki türlerimizin stomaları anomositik ve anizositik tiptedir.

Potoğlu ve Tokur (2004), *H. perforatum* türünün yaprak yüzeysel anatomik kesitlerinde yer alan stoma varlığı, bizim çalışmalarımızla uyumlu olduğu görülmüştür. Çalışmamızdaki türlerimizin de stomaları anomositik ve anizositik tiptedir.

Polat vd., (2016) yaptıkları farklı *Hypericum* türlerini içeren araştırmada türleri anatomik yönden karşılaştırmış olup, gövde anatomisinin, incelenen tüm türlerde neredeyse benzer olduğunu. fakat yaprak anatomik anatomisinde farklılıklar olduğunu açıklamıştır. Elde edilen bu veriler ile; kanal tipleri (A, B ve C tipi) gibi, gövde kanat yapısı ve bununla birlikte yaprak mezofil şekli ve stomaların yaprak yüzeyinde bulunuşu karakterlerin taksonomik olarak ayırımında belirleyici özellikler olabileceği ortaya konmuştur.

H. bithynicum türüne ait gövde enine kesitinde görünüm en dışında dört kanat açıklığı şeklindedir. İnce bir kütikula tabakası, altında sıralı ve farklı büyüklüklerde epiderma tabakası bulunur. Epidermanın hemen altında 3-4 sıralı korteks parankiması hücreleri bulunur, geniş büyüklüklerde olup, arasında şizogen tipi salgı kanalı yer almaktadır.

Yaprak enine kesitinde *H. bithynicum*, üst ve alt epiderma aynı kalınlıkta olup, farklı büyüklüklerde yuvarlak ya da ovoid hücrelerden oluşmuştur. Yaprığın ortasında iletim demeti hemen altında sıralı sklerankimatik hücreler blunur. Floem dokusu şizogenik tipte salgı kanalı içermektedir. Yaprığın alt ve üst yüzeysel kesitleri incelendiğinde Stomalar, yalnız yaprağın alt yüzeyinde bulunduğu için yapraklar hipostomatik olduğu sonucuna varılmıştır. Stoma tipi anizositik ve anomositik yapıdadır..

Altuntaş (2015), yaptığı çalışmada *Hypericum* türlerine ait stoma varlığını, anizositik ve anomositik olarak bulmuştur. Bu neticede çalışma konumuzu oluşturan *Hypericum* türlerimizde yaprak enine kesitte yer alan stoma varlığına dair bulgumuzu desteklemektedir.

Metcalf ve Chalk, Hypericaceae familyasının hem çift hem de ekvifasiyal yapraklara sahip olduğunu dikkat çekmektedir. Çalışmamızda ki *H.bithynicum* yaprakları dorsiventral tiptedir, *H. triquetrifolium turra*, *H. montbretii* Spach. ve *H. sechmenii* Ocağ ve Koyuncu türleri ekvifasiyal yaprak tiplerine sahiptir (Yaylacı vd., 2013; Patoğlu ve Tokur 2004; Perrone vd., 2013).

Hypericum türleri üzerine yapılan çalışmalara bakıldığında, anatomik incelemelerin diğer çalışmalara oranla az olduğu görülmüştür. Bu neticede çalışmamızın literatüre katkıda bulunacağını ön görmekteyiz.

5.3. Kimyasal Sonuçlar ve Tartışma

Elde ettiğimiz sonuçlar incelendiğinde, *H. bithynicum* ve endemik *H. aviculariifolium* türlerinin toprak üstü kısımları kullanılmış, farklı çözücülerde, total fenolik madde miktarı ve antioksidan kapasitesi belirlenmiş, bununla birlikte türlere ait kimyasal bileşenleri açıklanmıştır.

Çalışmamızda total fenolik madde içeriği sonuçlarına göre; 1 g *H. aviculariifolium* ekstresinde bulunan fenolik madde miktarı 103 mg (GAE) olup, 1 g *H. bithynicum* ekstresinde içerilen total miktarından daha fazla olduğu sonucu elde edilmiştir.

Barış vd., (2011) tarafından yapılan antioksidan giderim deneylerinin konusunu oluşturan *Hypericum* L. (*H. retusum* Auch, *H. scabrum* L., ve *H. lysimachioides* var. *lysimachioides*) türleri üzerinde incelemelerinde *Hypericum* L. türlerinin yüksek antioksidan kapasiteye sahip oldukları, yaptıkları çalışmada vurgulanmıştır.

DPPH tekniği ile elde edilen sonuçlarımızda ise, farklı derişimlerdeki IC₅₀ ölçümleri gallik asit değeri ile karşılaştırılmıştır. Tekniğe göre; Düşük IC₅₀ değeri, yüksek antioksidan kapasitesi içermektedir (Seyhan, 2019). *H. aviculariium* metanol ekstresindeki antioksidan aktivitenin daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Deney sonucumuz, hesaplanılan yüksek total fenol madde içeriği ile uyumluluk sağlamaktadır.

ABTS radikali giderimi tekniğine göre, elde edilen sonuçlara göre 10 mg/ml *H. aviculariium* metanol ekstresi için 2,56 mM TEAC, 10 mg/ml *H. aviculariium* su ekstresi için 2,58 mM TEAC, 10 mg/ml *H. bithynicum* metanol ekstresi için 2,69 mM TEAC, 10 mg/ml *H. bithynicum* su ekstresi için 2,75 mM TEAC, 1 mg/ml *H. aviculariium* metanol ekstresi için 1,43 mM TEAC, 1 mg/ml *H. aviculariium* su ekstresi için 0,62 mM TEAC, 1 mg/ml *H. bithynicum* metanol ekstresi için 0,99 mM TEAC, 1 mg/ml *H. bithynicum* su ekstresi için 1,17 mM TEAC bulunmuştur. Deney verileri incelendiğinde derişim oranı yükseldikçe, radikal giderim gücünde arttığı düşünülebilir.

Zheleva-Dimitrova vd., (2010) Bulgaristan'da yetişen 13 farklı *Hypericum* türlerinin metanolik özütlerinin serbest radikal süpürücü ve antioksidan aktivitelerini, toplam tanen ve toplam flavonoid içeriklerini araştırmışlardır. Antioksidan aktiviteleri DPPH ve ABTS yöntemlerini kullanarak tespit etmişlerdir. Askorbik asit ve butillenmiş hidroksitoluen, pozitif kontroller olarak kullanılmış, *H. cerastoides*, *H. perforatum* ve *H. Maculatum*'un metanolik özütlerinin en yüksek antioksidan aktiviteler gösterdiklerini bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda da metanol eksrelerinin diğer çözücüye karşı daha iyi etki gösterdiği görülmüştür.

Bitkilerin fenolik bileşik kompozisyonunu belirlemek için gerçekleştirilen analiz sonrası elde edilen YBSK kromatogram sonuçlarına göre Tablo 5.1’de verilmiştir.

Tablo 5.1. Bazı *Hypericum* türlerinden izole edilen fenolik bileşikler

Bileşik	Türler	Literatür
Şikimik asit	<i>H. androsaemum</i>	López vd., 2016
Galaktonik asit veya glukonik asit	<i>P. glomerata</i>	Felipe vd., 2014
Kinik asit	<i>H. perforatum</i> , <i>H. albiflorum</i> , <i>H. bithinikum</i> , <i>H. kalisinum</i> <i>H. kardiyofilum</i> <i>H. Elongatum</i> <i>subsp. mikrokalisin</i> <i>H. hirsutum</i> <i>H. xylosteifolium</i>	Tusevski vd., 2013; Cirak vd., 2016
3-Kafeoilkinik asit	<i>H. androsaemum</i>	López vd., 2016
Mangiferin	<i>H. undulatum</i>	Rainha vd., 2013
Kateşin	<i>H. scabrum</i>	Llorent-Martínez vd., 2018
Luteolin-C-glukozit (orientin veya isoorientin)	<i>H. erectum</i>	Jung vd., 1999
Viteksin/ izoviteksin	<i>H. perforatum</i>	Uchida vd., 2021
Hiperforin parçalanması olabilir	<i>H. perforatum</i>	Sleno vd., 2006
Kersetin galaktozit (Ana madde)	<i>H. androsaemum</i> , <i>H. undulatum</i>	López vd., 2016; Rainha vd., 2013
Kersetin galakturonit	<i>H. perforatum</i>	Jürgenliemk vd., 2002
Kersetin ramnozit (Kersitrin)	<i>H. albiflorum</i> , <i>H. bithinikum</i> , <i>H. kalisinum</i> <i>H. kardiyofilum</i> <i>H. elongatum subsp. mikrokalisin</i> <i>H. hirsutum</i> <i>H. xylosteifolium</i> , <i>H. undulatum</i>	Cirak vd., 2016; Rainha vd., 2013
Apigenin glukozit	<i>H. undulatum</i>	Rainha vd., 2013
Hiperisin parçalanması olabilir	<i>H. tetrapterum</i> <i>H. montanum</i> , <i>H. perforatum</i> ,	Kusari vd., 2009
Kersetin	<i>H. albiflorum</i> , <i>H. bithinikum</i> , <i>H. kalisinum</i> <i>H. kardiyofilum</i> <i>H. elongatum subsp. mikrokalisin</i> <i>H. maculatum</i> , <i>H. hirsutum</i> <i>H. xylosteifolium</i>	Cirak vd., 2016

Bu analiz ile daha önce *Hypericum* türlerinde rastlanan bu fenolik bileşenlerinin varlığı belirlenmiş olup, önceki çalışmalar ile paralellik göstermektedir. Galaktonik asit veya glukonik asit bileşiği *Hypericum* türleri içerisinde, bu deneyde ilk kez ortaya konmuştur.

Çirak vd., (2007) yaptığı çalışmada, incelemiş olduğu türler içerisinde *H. aviculariifolium* türünde yer aldığı analizde, kimyasal bileşenlerini belirlemek için

HPLC cihazı ile hiperisin, rutin, hiperozit, apigenin-7-O-glikozit, psödohiperisin, klorojenik asit, kersitrin, kersetin ve viteksinin gibi bileşenlerinin varlığını incelemiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre; *H. aviculariifolium*'da rutin, hiperisin, kersetin ve klorojenik asit bulunmuş olup çalışmamızı desteklemektedir.

Cirak vd. (2017), yaptığı bir çalışmada *Hypericum bithynicum*, *Hypericum cardiophyllum* ve *Hypericum calycinum*' un toprak üstü kısımları amentoflavon ve mangiferin içeriklerini HPLC analiz sonuçlarına göre *Hypericum bithynicum* ve *Hypericum calycinum*' un mangiferin içeriğinin yaprak ve çiçeklerinde yoğun olarak bulunduğu, amentoflavon bakımından en fazla olan *Hypericum cardiophyllum*'un çiçeklerinde (1,01 mg/g DM) olduğu tespit edilmiştir.

Smelcerovic vd., (2008) yaptıkları çalışmada on yedi *Hypericum* türünün, farmakolojik olarak önemli yedi fenolik bileşenin (psödohiperisin, hiperisin, hiperforin, rutin, hiperosid, kersitrin ve kersetin) içerik varlığını belirlemişlerdir. En yüksek hiperisin ve psödohiperisin içeriği, *H. perforatum* ve *Hypericum triquetrifolium* ekstraktlarında gözlemlenmiştir. Ayrıca yapılan bu çalışmada hiperforin farklı oranlarda değişkenlik göstererek çalışılan tüm türlerde (*Hypericum bithynicum*, *Hypericum heterophyllum*, *Hypericum androsaemum*, *Hypericum aviculariifolium*, *Hypericum montbretii*, *Hypericum nummularioides*, *Hypericum orientale*, *H. organifolium* ve *Hypericum perforatum*) bulunduğu sonucuna varmıştır.

Sonuç olarak bu tez çalışması, dünyada ve ülkemizde yaygın bir şekilde halk arasında kullanımı olan *Hypericum* türünün kimyasal içerikleri ve çeşitli aktivitelerinin incelenmiştir. *Hypericum* türlerinin kimyasal bileşiminin taksonomik sınıflandırmada kullanılabileceği de literatürde mevcuttur (Maggi ve ark. 2010).

5.4. Antimikrobiyal Sonuç ve Tartışma

Ülkemiz için endemik olan *H. avicularifolium* ve *H. bithynicum* antifungal ve antibakteriyel aktiviteleri açısından ilk kez değerlendirildiği bu çalışmada, toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanol ve su ekstraktlarından antimikrobiyal ve antifungal aktiviteleri tayin edilmiş; Antibakteriyal etki sonuçları incelendiğinde, V1-V4 nolu ekstraktlar 250-4000 µg/mL aralığındaki konsantrasyonlarda inhibe edici etkiler göstermiştir. V4 nolu ekstre diğer ekstraktlardan daha kuvvetli etki göstererek test edilen tüm bakterilere karşı ise 250-1000 µg/mL aralığında inhibitör etkiler göstermiştir.

Pseudomonas aeruginosa V4 nolu ekstre hariç uygulanan en yüksek doz olan 8000 µg/mL’de etki göstermemiştir. *Staphylococcus epidermidis* V4 tarafından 250 µg/mL dozda inhibe edilmiştir.

Meral ve Karabay (2002) *Hypericum perforatum* ’un metanol ekstraktlarının Gram pozitif ve Gram negatif antibakteriyel aktivitelerini inceledikleri bir araştırmada metanol ekstraktlarının tüm test mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal etki gösterdiklerini bildirmişlerdir. Çalışmamızda elde edilen veriler literatürde belirtilen bu verilere göre antifungal etki daha fazla olarak görülmüştür.

Yapılan bir çalışmada Brezilya’nın güneyinde büyüyen altı *Hypericum* türünün metanolik ekstraktları çeşitli mikroorganizmalara (bakteri ve mantarlar) karşı antimikrobiyal aktiviteleri analiz edilmiştir. En aktif bitkinin, *Staphylococcus aureus*’a karşı aktivite gösteren *H. caprifoliatum* olduğu rapor edilmiştir (Agnol ve ark., 2003).

Antifungal etki sonuçlarına göre, test edilen *Candida* suşları V1, V2, V3, V4 ekstrelerinde verdikleri MİK değerleri referans madde Amfoterisin-B ve Ketokonazol µg/mL konsantrasyondaki MİK değeri karşılaştırıldığında düşük antifungal aktivite gösterdiği belirlenmektedir. V1 ve V2 ekstreleri *C. utilis*’e karşı 62.5 ve 125 µg/mL MİK değeri ile etkili olurken, *Candida krusei* tüm ekstreler tarafından 62.5 ve 125 µg/mL dozlarda inhibe edilmiştir.

Gürbüz vd., (2021); yaptıkları çalışmada Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere karşı *H. bithynicum* metanol ve su ekstrelerinin göstermiş olduğu etki çalışmamızı desteklemektedir. Ekstreler antimikrobiyal sonuçlara karşılaştırıldığında, ekstrelerin tümünün daha kuvvetli antifungal etki gösterdiği sonucuna varılmıştır.

Gürbüz ve ark., (2021); yaptıkları çalışmada Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere karşı *H. bithynicum* metanol ve su ekstrelerinin göstermiş olduğu etki çalışmamızı desteklemektedir. Ekstrelerin antimikrobiyal sonuçlara kıyaslandığında, ekstrelerinin tümünün daha kuvvetli antifungal etkiler göstermiş olup, bu çalışma ile literatüre katkıda bulunacağı düşünülmektedir.

5.5. Genel Sonuç

Bu tez çalışmasında endemik *Hypericum aviculariifolium* Jaub. et Spach ve *Hypericum bithynicum* Boiss. türlerin morfolojik, anatomik, kimyasal ve antimikrobiyal özellikleri araştırılmış ve farmasötik botanik yönden incelenmiştir.

Çalışmada kullanılan *Hypericum* türleri üzerinde gerçekleştirilen morfolojik incelemelerde türlerin gövde, yaprak ve çiçek ölçümleri Türkiye florasında verilen deskripsiyon ile karşılaştırması yapılmıştır.

Anatomik çalışmalarda gövdeden enine kesit ile yapraktan enine ve yüzeysel kesit alınarak anatomik yapıları incelenmiştir.

Kimyasal çalışmalar ABTS ve DPPH yöntemi ile gerçekleştirilmiş olup total fenolik bileşik varlığı tespit edilmiştir. Böylece, çalışmada kullanılan *Hypericum* türlerinin antioksidan özellik gösterdiği ortaya konmuştur. Aynı zamanda, türlerin fenolik bileşik kompozisyonu YBSK/KS kromatogram ile açıklanmıştır.

Antimikrobiyal çalışmalarda, *Hypericum* türlerinin distile su ve metanol ekstratlarının test edilen mikroorganizmalara karşı antibakteriyel ve antifungal aktiviteleri incelenmiştir. Deneysel sonuçlar karşılaştırıldığında, ekstratların tümünün standartlara karşı daha kuvvetli antifungal aktivite gösterdikleri ortaya konmuştur.

Sonuç olarak elde edilen bulgular ışığında;

- *Hypericum aviculariifolium* ve *Hypericum bithynicum* türlerinin farmakolojik etki gösterdiği ve böylece tıbbi kullanım potansiyelinin olabileceği,
- Biyoinformatik analizler ile *Hypericum* türlerinin taksonomik olarak daha ayrıntılı incelenebileceği,
- Kimyasal çalışmalarda yapılan deneysel çalışmalara ek olarak, *Hypericum* türlerinin uçucu yağ analizinin de gerçekleştirilebileceği,
- Antimikrobiyal çalışmalara ek olarak *Hypericum* türlerinin antiviral etkinliğinin araştırılabileceği,

önerileri sunulmaktadır.

KAYNAKÇA

- Aizenman, B.E. (1969). Antibiotic preparations from *Hypericum perforatum*. *Mikrobiologicheskii Zhurnal (Kiev)*, 31, 128–133.
- Akgoz, Y. ve Toker, Z. (2013). Antioxidant and antimicrobial effects of hypericum retusum aucher plant extracts prepared in various solvents. *Fresenius Environmental Bulletin*, 22(2 A), 493-499.
- Akgöz, Y. (2013). Türkiye florası'na Ait *Hypericum* L. cinsinin tehlike kategorileri ve bulunan yeni türleri. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 18 (1-2), 62-69.
- Akgöz, Y., (2009). *Hypericum retusum Aucher bitkisinin farklı çözücülerde hazırlanan ekstraktlarının antioksidan etkileri*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi. Elazığ: Dicle Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Altan N., Dinçel A.Ş. and Koca C., (2006), Diabetes mellitus ve oksidatif stres. *Turkish Journal of Biochemistry*, 31 (2); 51–56.
- Altan, A., Damlar, İ., Aras, M. H. ve Alpaslan, C. (2015). Sarı kantaronun (*Hypericum Perforatum*) yara iyileşmesi üzerine etkisi. *Archives Medical Review Journal*, 24(4), 578-591.
- Altınbaşak, O. (2019) *Türkiye’de Doğal Yayılış Gösteren Bazı Hypericum Türleri Üzerinde Farmasötik Botanik Araştırmalar*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi. İstanbul: İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Axarlis, S., Mentis, A., Demetzos, C., Mitaku, S., Skaltsounis, AL, Marselos, M. and Malamas, M. (1998). *Hypericum perforatum* L. özütünün insan sitomegalovirüsü (HCMV) üzerindeki antiviral in vitro aktivitesi. *Fitoterapi Araştırması: Doğal Ürün Türevlerinin Farmakolojik ve Toksikolojik Değerlendirmesine Adanmış Uluslararası Bir Dergi*, 12 (7), 507-511.
- Ayan, A. K. and Çirak, C. (2008). Hypericin and Pseudohypericin contents in some *Hypericum*. species growing in Turkey. *Pharmaceutical biology*, 46(4), 288-291.

- Bağcı, E. and Yüce, E. (2011). Composition of the essential oil of *Hypericum salsolifolium* Hand.-Mazz. and *Hypericum retusum* Aucher from Turkey. *Acta botanica Gallica*, 158(2), 169-173.
- Bariş, D., Kızıl, M., Aytekin, Ç., Kızıl, G., Yavuz, M., Çeken, B. ve Ertekin, A. S. (2011). In vitro antimicrobial and antioxidant activity of ethanol extract of three *Hypericum* and three *Achillea* species from Turkey. *International Journal of Food Properties*, 14(2), 339-355.
- Barnes, J., Anderson, L.A. and Phillipson, J.D. (2007). *Herbal Medicines*. (3th ed.). London: Pharmaceutical Press.
- Baytop A. (1991). *Farmasötik Botanik Ders Kitabı*, İstanbul: İstanbul Üniversitesi Basımevi ve Film Merkezi.
- Brutovská, R., Čellárová, E. and Schubert, I. (2000). Cytogenetic characterization of three *Hypericum* species by in situ hybridization. *Theoretical and Applied Genetics*, 101(1-2), 46-50.
- Butterweck, V. (2003). Mechanism of action of St John's wort in depression: what is known?, *CNS Drugs* 17, 539–562.
- Cakir, A., Mavi, A., Yıldırım, A., Duru, M. E., Harmandar, M. and Kazaz, C. (2003). Isolation and characterization of antioxidant phenolic compounds from the aerial parts of *Hypericum hyssopifolium* L. by activity-guided fractionation. *Journal of Ethnopharmacology*, 87(1), 73-83.
- Camas, N., Radusiene, J., Ivanauskas, L., Jakstas, V., Kayikci, S. and Cirak, C. (2014). Chemical composition of *Hypericum* species from the *Taeniocarpium* and *Drosanthe* sections. *Plant systematics and evolution*, 300(5), 953-960.
- Chen, C. L., Huang, C. H., and Sung, J. M. (2009). Antioxidants in aerial parts of *Hypericum sampsonii*, *Hypericum japonicum* and *Hypericum perforatum*. *International journal of food science & technology*, 44(11), 2249-2255.
- Chung, K. T., Wong, T. Y., Wei, C. I., Huang, Y. W. and Lin, Y. (1998). Tannins and human health: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 38(6), 421-464.

- Ciccarelli, D., Andreucci, A. C., and Pagni, A. M. (2001). Translucent glands and secretory canals in *Hypericum perforatum* L.(Hypericaceae): morphological, anatomical and histochemical studies during the course of ontogenesis. *Annals of botany*, 88(4), 637-644.
- Cirak, C., Radusiene, J., Jakstas, V., Ivanauskas, L., Seyis, F., and Yayla, F. (2016). Secondary metabolites of seven *Hypericum* species growing in Turkey. *Pharmaceutical biology*, 54(10), 2244-2253.
- Cohen, P. A., Hudson, J. B., and Towers G.H.N. (1996). Antiviral activities of anthraquinones, bianthrone and hypericin derivatives from lichens. *Experientia*, 52(2), 180-183.
- Conforti, F., Statti, G.A., Tundis, R., Menichini, F. and Houghton, P. (2002). Antioxidant activity of methanolic extract of *Hypericum triquetrifolium* Turra. aerial part. *Fitoterapia*, 73, 479-483.
- Crockett, S. L. (2010). Essential oil and volatile components of the genus *Hypericum* (Hypericaceae). *Natural product communications*, 5(9), 19-26.
- Crockett, S.L. and Robson, N.K.B. (2011). Taxonomy and chemotaxonomy of the Genus *Hypericum*. *Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology*, 5 (1), 1-13.
- Cushnie, T. T. and Lamb, A. J. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 26(5), 343-356.
- Çakir A., Kordali S., Zengin H., Izumi S. and Hirata T., (2004). Composition and antifungal activity of essential oils isolated from *Hypericum hyssopifolium* and *Hypericum heterophyllum*. *Flavour Fragr. J.*, 19, 62–68.
- Çırak, C. ve Kurt D., (2014). Önemli Tıbbi Bitkiler Olarak *Hypericum* Türleri. *Anadolu Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 24(1), 38-52.
- Çırak, C., Kevseroğlu, K. and Ayan, A. K. (2007). Breaking of seed dormancy in a Turkish endemic *Hypericum* species: *Hypericum aviculariifolium* subsp. *depilatum* var. *depilatum* by light and some pre-soaking treatments. *Journal of Arid Environments*, 68(1), 159-164.

- Çırak, C., Radusiene, J., Jakstas, V., Ivanauskas, L., Yayla, F., and Kurt, D. (2017). Amentoflavone and mangiferin in *Hypericum calycinum*, *Hypericum cardiophyllum* and *Hypericum bithynicum*. *Research and Reviews: Journal of Herbal Sciences*, 6, 10-13.
- Çırak, C., Radušienė, J., Janulis, V., Ivanauskas, L. and Arslan, B. (2007). Chemical Constituents of Some *Hypericum* Species Growing in Turkey. *Journal of Plant Biology*, 50(6), 632-644.
- Çırak, C., Radusiene, J., Janulis, V., Ivanauskas, L., Camaş, N. and Ayan, A.K. (2011). Phenolic constituents of *Hypericum triquetrifolium* Turra (Guttiferae) growing in Turkey: variation among populations and plant parts. *Turkish Journal of Biology*, 35, 449-456.
- Dall'Agnol, R., Ferraz, A., Bernardi, A. P., Albring, D., Nör, C., Sarmento, L. and Schapoval, E. (2003). Antimicrobial activity of some *Hypericum* species. *Phytomedicine*, 10 (6-7), 511-516.
- Dauncey, E. A., Irving, J.T.W. and Allkin, R. (2019). A review of issues of nomenclature and taxonomy of *Hypericum perforatum* L. and Kew's Medicinal Plant Names Services. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 71(1), 4-14.
- Davis, P.H. (1978). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Edinburg: Edinburg University Press.
- Derbentseva, N.A. and Rabinovich, A. S. (1968). Isolation, purification, and study of some physicochemical properties of no-voimanin. *Novoimanin Ego Lech. In: Solov'eva, AI, Ed., Svoistva, USSR*, 15-18.
- Dimitrova, D., Nedialkov, P. and Kitanov, G., (2010). Radical scavenging and antioxidant activities of methanolic extracts from *Hypericum* species growing in Bulgaria. *Pharmacognosy Magazine*, 6 (22), 74-88.
- Dulger, B. and Hacıoglu, N. (2009). Antibacterial activity of three endemic *Hypericum* species used in folkloric medicine against methicilin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 23(sup1), 763-765.
- Duman R., (2012). Antiherpetic activity of some endemic *Hypericum* species in Turkey, *African Journal of Biotechnology*, 11(5), 1240-1244.

- Dündar, E. (2018). *Hypericum perforatum* L. türünün genetik varyasyonu ve uçucu yağ bileşenlerinin toprak koşulları ile ilişkisi. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi. Eskişehir: Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Ernst, E. (2003). *Hypericum: the genus Hypericum*. Florida: CRC Press.
- Ersoy, E., Özkan, E.E., Boğa, M. and Mat, A. (2020). Evaluation of in vitro biological activities of three *Hypericum* species (*H. calycinum*, *H. confertum*, and *H. perforatum*) from Turkey. *South African Journal of Botany*, 130, 141-147.
- Felipe, D.F., Brambilla, L.Z., Porto, C., Pilau, E.J. and Cortez, D.A. (2014). Phytochemical analysis of *Pfaffia glomerata* inflorescences by LC-ESI-MS/MS. *Molecules*, 19(10), 15720-15734.
- Ferraz, A., Faria, D.H., Benneti, M.N., Brondani da Rocha, A., Schwartzmann, G., Henriques, A. and von Poser, G.L. (2005). Screening for antiproliferative activity of six southern Brazilian species of *Hypericum*. *Phytomedicine*, 12, 112–115.
- Gaedcke, F. ve Steinhoff, B. (2003). *Bitkisel tıbbi ürünler: geliştirme, kalite güvencesi ve pazarlama izni için bilimsel ve düzenleyici temel*. CRC Basın.
- Gap Yöresindeki Endemik ve Tıbbi Bitkiler. (2001). Ankara: Türkiye Çevre Vakfı Yayınları, Yayın No: 143.
- Gärber, U. and Schenk, R. (2004). Johanniskrautwelke, *Colletotrichum* cf. *gloeosporioides*–Ergebnisse mehrjähriger Forschungsarbeiten im Überblick.
- Gitea, D., Vicas, S., Gitea, M. A., Nemeth, S., Tit, D. M., Pasca, B., and Iovan, C. (2018). HPLC screening of bioactives compounds and antioxidant capacity of different *hypericum* species. *Revista de Chimie*, 69(2), 305-309.
- Groenteman, R. (2013). Prospects for the biological control of tutsan (*Hypericum androsaemum* L.) in New Zealand. In *Proceedings of the XIII international symposium of biological control of weeds* (pp. 128-137).
- Güner, A. ve Aslan, S. (2012). *Türkiye bitkileri listesi:(damarlı bitkiler)*. İstanbul: Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi Yayınları.
- Gürbüz, İ., Özçelik, B., Günbatan, T., Akkol, E. K., Şahinöz, M. and Akaydın, G. (2021). Antibacterial, antifungal and enzyme inhibitory effects of selected plants from Turkey. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*, 34(3), 1011-1017.

- Hashida, W., Tanaka, N., Kashiwada, Y., Sekiya, M., Ikeshiro, Y. and Takaishi, Y. (2008). Tomoeones A–H, cytotoxic phloroglucinol derivatives from *Hypericum ascyron*. *Phytochemistry*, 69(11), 2225-2230.
- Jacobson, J.M., Feinman, L., Liebes, L., Ostrow, N., Koslowski, V., Tobia, A., Cabana, B.E., Lee, D., Spritzler, J. and Prince, A.M. (2001). Pharmacokinetics, safety, and antiviral effects of hypericin, a derivative of St John's wort plant, in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Antimicrob Agents Chemother*; 45, 517–524.
- Javidnia, K., Miri, R., Soltani, M., Gholami, M. and Khosravi, A. R. (2008). Essential oil composition of four *Hypericum* species from Iran. *Chemistry of Natural Compounds*, 44(3), 374-377.
- Jung, C. M., Hwang, E. J., Kwon, H. C., Kim, S. Y., Bae, K. H., Zee, O. P., and Lee, K. R. (1999). Antioxidative flavonoids from *Hypericum erectum*. *Korean Journal of Pharmacognosy*, 30(2), 196-201.
- Jürgenliemk, G., and Nahrstedt, A. (2002). Phenolic compounds from *Hypericum perforatum*. *Planta Medica*, 68(01), 88-91.
- Kacar, O., and Azkan, N. (2005). Türkiye'de bulunan bazı *Hypericum* L.(Hypericaceae) üzerinde sayısal taksonomik bir çalışma. *Fırat Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 17 (2), 424-434.
- Kartnig, T.H., Gruber, A., and Sauer, H. (1989). Comparative phytochemical investigations of *Hypericum* species. *Planta Medica*, 55 (02), 215-215.
- Koç, E. (2019). *Hypericum thymopsis boiss.(hypericaceae) türünün bazı fenolik bileşiklerinin, antioksidan kapasitesinin ve uçucu yağ kompozisyonunun belirlenmesi*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi. Malatya: İnönü Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Kostova, I., Bhatia, S., Grigorov, P., Balkansky, S., S Parmar, V., K Prasad, A. and Saso, L. (2011). Coumarins as antioxidants. *Current medicinal chemistry*, 18(25), 3929-3951.

- Kubin, A., Wierrani, F., Burner, U., Alth, G. and Grunberger, W. (2005). Hypericin-the facts about a controversial agent. *Current Pharmaceutical Design*, 11(2), 233-253.
- Li, Y.P., Hu, K., Yang, X.W. and Xu, G. (2018). Antibacterial dimeric acylphloroglucinols from *Hypericum japonicum*. *Journal of natural products*, 81(4), 1098-1102.
- Linde, K. (2009). St. John's wort—an overview. *Complementary Medicine Research*, 16(3), 146-155.
- Linde, K., Ramirez, G., Mulrow, C. D., Pauls, A., Weidenhammer, W. and Melchart, D. (1996). St John's wort for depression—an overview and meta-analysis of randomised clinical trials. *Biochemistry Medicine*, 313(7052), 253-258.
- Llorent-Martínez, E. J., Zengin, G., Lobine, D., Molina-García, L., Mollica, A. and Mahomoodally, M. F. (2018). Phytochemical characterization, in vitro and in silico approaches for three *Hypericum* species. *New Journal of Chemistry*, 42(7), 5204-5214.
- López, V., Les, F., Iannarelli, R., Caprioli, G., and Maggi, F. (2016). *Hypericum androsaemum*'un kırmızı dut benzeri meyvelerinden metanolik ekstrakt: Merkezi sinir sistemi enzimlerinin kimyasal karakterizasyonu ve inhibe edici potansiyeli. *Sanayi Bitkileri ve Ürünleri*, 94, 363-367.
- Maggi, F., Ferretti, G., Pocceschi, N., Menghini, L., and Ricciutelli, M. (2004). Morphological, histochemical and phytochemical investigation of the genus *Hypericum* of the Central Italy. *Fitoterapia*, 75(7-8), 702-711.
- Mandrone, M., Lorenzi, B., Venditti, A., Guarcini, L., Bianco, A., Sanna, C. and Antognoni, F. (2015). Antioxidant and anti-collagenase activity of *Hypericum hircinum* L. *Industrial Crops and Products*, 76, 402-408.
- Meirelles, G.C., Pippi, B., Hatwig, C., Barros, F., de Oliveira, L.F., Poser, G.L.V. and Fuentefria, A.M. (2017). *Hypericum carinatum* ve flukonazolün lipofilik fraksiyonunun sinerjistik antifungal aktivitesi. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 27, 118-123.

- Meral, G. E., and Karabay, N. U. (2002). In vitro antibacterial activities of three *Hypericum* species from West Anatolia. *Turkish Electronic Journal of Biotechnology*, 6-10.
- Meruelo, D., Lavie, G. and Lavie D. (1988). Therapeutic agents with dramatic antiretroviral activity and little toxicity at effective doses: aromatic polycyclic diones hypericin and pseudohypericin. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 85(14), 5230-5234.
- Meseguer, A. S. and Sanmartín, I. (2012). Paleobiology of the genus *Hypericum* (Hypericaceae): a survey of the fossil record and its palaeogeographic implications. Torrossa Online Digital Bookstore.
- Nahrstedt, A., and Butterweck, V. (1997). Biologically active and other chemical constituents of the herb of *Hypericum perforatum* L. *Pharmacopsychiatry*, 30(S 2), 129-134.
- Napoli, E., Siracusa, L., Ruberto, G., Carrubba, A., Lazzara, S., Speciale, A., Cimino, F., Saija, A. and Cristani, M. (2018). Phytochemical profiles, phototoxic and antioxidant properties of eleven *Hypericum* species, A comparative study *Phytochemistry*, 15, 162-173.
- Norman, K.B. (2016). Ve sonra moleküler filogenetik geldi: *Hypericum*'un (Hypericaceae) monografik çalışmasına tepkiler. *Fitotaksa*, 255 (3), 181-198.
- Nürk, N.M. (2011). *Phylogenetic analyses in St. John's Wort (Hypericum), Inferring Character Evolution and Historical Biogeography*. (Unpublished PhD Thesis). Berlin: Freie Universitat.
- Ocak, A., Erkara, İ. P., Koyuncu, O., Osoydan, K., Yaylacı, Ö. K., Özgişi, K. ve Kurt, F. (2013). Türkiye'de doğal olarak yetişen bazı *Hypericum* taksonları (Hypericaceae) üzerinde palinolojik araştırmalar. *Bitki Sistematiği ve Evrimi Dergisi*, 299 (2), 379-388.
- Önem, E. ve Çevikbaş, H. (2018). *Hypericum atomarium* Boiss. farklı çözücü ekstraktlarının klinik stafilokok türleri üzerine antibakteriyel etkisi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Fen Dergisi*, 13(2), 164-172.

- Özkan, E. E., Çelik, B. Ö. ve Afife, M. (2019). Antimicrobial activities of five endemic *Hypericum* species from Anatolia compared with *Hypericum perforatum*. *Journal of Research in Pharmacy*, 23, 114-119.
- Öztürk, D. ve Ocak A. (2020). Bilecik Florasına Katkıları. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 10(3), 1590-1596.
- Öztürk, N. ve Kıyan, H.T. (2016). Evaluation of Biological Activities of *Hypericum perforatum* L. and *Hypericum calycinum* L. Extracts. *Free radical Biology and Medicine*, 100:107-116.
- Panche, A. N., Diwan, A.D., and Chandra, S. R. (2016). Flavonoids: an overview. *Journal of nutritional science*, 5 (47):1-15.
- Panda, S. K., Padhi, L., Leyssen, P., Liu, M., Neyts, J. and Luyten, W. (2017). Antimicrobial, anthelmintic, and antiviral activity of plants traditionally used for treating infectious disease in the Similipal Biosphere Reserve, Odisha, India. *Frontiers in pharmacology*, 8, 658-671.
- Patočka, J. (2003). The chemistry, pharmacology, and toxicology of the biologically active constituents of the herb *Hypericum perforatum* L. *Journal of Applied Biomed*, 1(2), 61–70.
- Perone, R., De Rosa, P., De Castro, O. and Colombo, P. (2013). Leaf and stem anatomy in eight *Hypericum* species (Clusiaceae). *Acta Botanica Croatica*, 72(2), 269-286.
- Polat, R., Türkmen, Z., Hayta, Ş., Çakılcıoğlu, U. and Selvi, S. (2016). Investigation of micromorphological and anatomic characteristics of genus *Hypericum* L.(Hypericaceae) exhibiting distribution in Giresun/Turkey.
- Quave, C.L., Plano, L.R.W., Pantuso, T. and Bennett, B.C. (2008). Effects of extracts from Italian medicinal plants on planktonic growth, biofilm formation and adherence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Ethnopharmacology*, 118, 418–428.
- Radulovic, N., Stankov-Jovanovic, V., Stojanovic, G., Smelcerovic, A., Spiteller, M. and Asakawa, Y. (2007). Screening of in vitro antimicrobial and antioxidant activity of nine *Hypericum* species from the Balkans. *Food Chemistry*, 103 (1), 15-21.

- Rainha, N., Koci, K., Coelho, A. V., Lima, E., Baptista, J., and Fernandes-Ferreira, M. (2013). HPLC–UV–ESI-MS analysis of phenolic compounds and antioxidant properties of *Hypericum undulatum* shoot cultures and wild-growing plants. *Phytochemistry*, 86, 83-91.
- Robson, N.K.B. (1966). *Hypericum*. İçinde P.H. Davis (Ed.), *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Edinburgh: Edinburg University Press, Volume II; 305-401.
- Robson, N.K.B. (1977). Studies in the genus *Hypericum* L. (Guttiferae): 1. Infrageneric classification. *Bulletin of the British Museum (Natural History), Botany*, 5, 291–355.
- Robson, N.K.B. (1981). Studies in the genus *Hypericum* L. (Guttiferae): 2. Characters of the genus. *Bulletin of the British Museum (Natural History), Botany*, 8, 55–226.
- Robson, N.K.B. (2002). Studies in the genus *Hypericum* L. (Guttiferae) 4(2). Section 9. *Hypericum sensu lato* (part 2): subsection 1. *Hypericum* series 1. *Hypericum*. *Bulletin of the Natural History Museum, Botany*, 32, 61–123.
- Robson, N.K.B. (2010). Studies in the genus *Hypericum* L (Hypericaceae) 5(2). Sections 17. *Hirtella* to 19. *Coridium*. *Phytotaxa*, 4, 127–258.
- Robson, N.K.B., Adams P. (1968). Chromosome numbers in *Hypericum* and related genera. *Brittonia* 20, 95–106.
- Saddiqe, Z., Naeem, I. and Maimoona, A. (2010). A review of the antibacterial activity of *Hypericum perforatum* L. *J Ethnopharmacol*, 131(3), 511-521.
- Schmidt, S. and Heilmann, J. (2013). Review: The genus *Hypericum* and its acylphloroglucinols. Unpublished internal data.
- Seçmen Ö., Gemici Y., Görk, G., Bekat, L. ve Leblebici E., 2004. *Tohumlu Bitkiler Sistematigi*. İzmir: Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kitaplar Serisi, No: 116.
- Silva, B. A., Ferreres, F., Malva, J. O., and Dias A. C. P. (2005). Phytochemical and antioxidant characterization of *Hypericum perforatum* alcoholic extracts. *Food Chemistry*, 90, 157-167.
- Singh, R. B. and Downing, D. (1995). Antioxidants and coronary artery disease. *Journal of Nutritional & Environmental Medicine*, 5(3), 219-224.

- Sirvent, T. M., Walker, L., Vance, N. and Gibson, D. M. (2002). Variation in hypericins from wild populations of *Hypericum perforatum* L. in the Pacific Northwest of the USA. *Economic Botany*, 56(1), 41-48.
- Sleno, L., Daneshfar, R., Eckert, G. P., Müller, W. E., and Volmer, D. A. (2006). Mass spectral characterization of phloroglucinol derivatives hyperforin and adhyperforin. *Rapid Communications in Mass Spectrometry: An International Journal Devoted to the Rapid Dissemination of Up-to-the-Minute Research in Mass Spectrometry*, 20(18), 2641-2648.
- Smelcerovic, A., Zuehlke, S., Spiteller, M., Raabe, N., and Özen, T. (2008). Phenolic constituents of 17 *Hypericum* species from Turkey. *Biochemical Systematics and Ecology*, 36(4), 316-319.
- Stojanovic, G., Dordevic, A. and Smelcerovic, A. (2013). Do other *Hypericum* species have medical potential as St. John's wort (*Hypericum perforatum*)?. *Current Medicinal Chemistry*, 20(18), 2273-2295.
- Süntar, I. P., Akkol, E. K., Yılmaz, D., Baykal, T., Kırmızıbekmez, H., Alper, M., and Yeşilada, E. (2010). Investigations on the in vivo wound healing potential of *Hypericum perforatum* L. *Journal of Ethnopharmacology*, 127(2), 468-477.
- Tocci, N., Weil, T., Perenzoni, D., Narduzzi, L., Madriñán, S., Crockett, S., and Mattivi, F. (2018). Phenolic profile, chemical relationship and antifungal activity of Andean *Hypericum* species. *Industrial Crops and Products*, 112, 32-37.
- Tusevski, O., Petreska Stanoeva, J., Stefova, M., and Simic, S. G. (2013). Phenolic profile of dark-grown and photoperiod-exposed *Hypericum perforatum* L. hairy root cultures. *The Scientific World Journal*, 2013.
- Uchida, K., Akashi, T. ve Hirai, MY (2021). *Hypericum perforatum*'da doğrudan ksanton 4-C- glikosilasyonunu katalize eden glikosiltransferazların tanımlanması ve karakterizasyonu. *FEBS harfleri*, 595 (20), 2608-2615.
- Verotta, L., Appendino, G., Bombardelli, E., and Brun, R. (2007). In vitro antimalarial activity of hyperforin, a prenylated acylphloroglucinol. A structure–activity study. *Bioorganic and medicinal chemistry letters*, 17(6), 1544-1548.

- Williamson, E., Driver, S. and Baxter, K. (Ed.). (2009). St John's Wort. Stockley's Herbal Medicines Interactions: A guide to the interactions of herbal medicines, dietary supplements and nutraceuticals with conventional medicines içinde (s. 360- 380). London: Pharmaceutical Press.
- Yaylacı, Ö. K., Özgişi, K., Sezer, O., Orhanoğlu, G., ve Öztürk, D. (2013). Anatomical studies and conservation status of rare endemic *Hypericum sechmenii* Ocak & Koyuncu (Sect: *Adenosepalum*) from Eskişehir-Turkey. *Journal of Selçuk University Natural and Applied Science*, 2(1), 1-11.
- Yuce, E., and Bağcı, E. (2012). The essential oils of the aerial parts of two *Hypericum* taxa (*Hypericum triquetrifolium* and *Hypericum aviculariifolium* subsp. *depilatum* var. *depilatum* (Clusiaceae)) from Turkey. *Natural product research*, 26(21), 1985-1990.
- Yüce-Babacan, E. and Bağcı, E. (2017). Essential oil composition of *Hypericum uniglandulosum* Hausskn. Ex Bornm. and *Hypericum lydium* Boiss. from Turkey *International Journal of Nature and Life Sciences*, 1(1), 12-16.
- Zdunic, G., Godevac, D., Savikin, K., Novakovic, M., Milosavljevic, S., and Petrovic, S. (2011). Isolation and identification of phenolic compounds from *Hypericum richeri* Vill. and their antioxidant capacity. *Natural Product Research*, 25(3), 175-187.
- Zou, Y., Lu, Y. and Wei, D. (2004). Antioxidant activity of a flavonoid-rich extract of *Hypericum perforatum* L. *in vitro*. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 52, 5032-5039.