



***HYPERICUM OLYMPICUM* L. SUBSP. *OLYMPICUM* (HYPERICACEAE)**

ÜZERİNDE FARMASÖTİK BOTANİK ÇALIŞMALAR

Yüksek Lisans Tezi

Gülnur İVGEN

Eskişehir 2024

***HYPERICUM OLYMPICUM* L. SUBSP. *OLYMPICUM* (HYPERICACEAE)**

ÜZERİNDE FARMASÖTİK BOTANİK ÇALIŞMALAR

Gölnur İVGEN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Farmasötik Botanik Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Fatma Pınar KAFA

Eskişehir

Anadolu Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Temmuz 2024

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Gölnur İVGEN'in "*Hypericum olympicum* L. subsp. *olympicum* (Hypericaceae) Üzerinde Farmasötik Botanik Çalışmalar" başlıklı tezi 25/07/2024 tarihinde aşğıdaki jüri tarafından değeriendirilerek "Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğı"nin ilgili maddeleri uyarınca, Farmasötik Botanik Anabilim dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

	<u>Unvanı Adı Soyadı</u>	<u>İmza</u>
Üye (Tez Danışmanı)	:Prof. Dr. Fatma Pınar KAFA	
Üye	:Prof. Dr. Galip AKAYDIN	
Üye	:Dr. Öğr. Üyesi Gözde ÖZTÜRK	

Prof. Dr. Saime ÖNCE

Enstitü Müdürü

ÖZET

HYPERICUM OLYMPICUM L. SUBSP. *OLYMPICUM* (HYPERICACEAE) ÜZERİNDE FARMASÖTİK BOTANİK ÇALIŞMALAR

Gülnur İVGEN

Farmasötik Botanik Anabilim Dalı

Anadolu Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Temmuz 2024

Danışman: Prof. Dr. Fatma Pınar KAFA

Hypericum L. (Hypericaceae) türleri, daha çok antidepresan ve yara iyileştirici özellikleri ile bilinmekle beraber, pek çok rahatsızlığın tedavisinde kullanılmaktadır. Literatürde, ofisinal tür olan, kültürü yapılan ve Dünya tıbbi bitki ve bitkisel ürün ticaretinde en önde gelen bitkilerden olan *H. perforatum*'un kimyasal içeriği ve biyolojik aktiviteleri ile ilgili pek çok çalışma bulunmaktadır. Ancak diğer *Hypericum* türleri üzerindeki çalışmalar sınırlı sayıdadır.

Bu tez çalışması kapsamında Balıkesir-Sındırgı'dan toplanan *H. olympicum* L. subsp. *olympicum*'un topraküstü kısımlarından hazırlanan ekstrelerin, toplam fenolik madde içeriği, DPPH' radikal süpürücü aktivitesi, MCF7 (İnsan meme adenokarsinoma), A549 (İnsan akciğer karsinoma) ve NIH3T3 (fare embriyo fibroblast) hücre dizileri üzerinde sitotoksik aktiviteleri incelenmiş, ekstrelerin kimyasal kompozisyonları LC-MS/MS analizi ile ortaya konmuştur.

Anahtar Sözcükler: *Hypericum*, fenolik, DPPH, sitotoksisite, LC-MS/MS

ABSTRACT

PHARMACEUTICAL BOTANICAL STUDIES ON *HYPERICUM OLYMPICUM* L. SUBSP. *OLYMPICUM* (HYPERICACEAE)

Glnur İVGEN

Department of Pharmaceutical Botany

Anadolu University, Postgraduate Education Institute, February 2024

Advisor: Prof. Dr. Fatma Pınar KAFA

Hypericum L. (Hypericaceae) species are used in the treatment of many ailments, especially for their antidepressant and wound healing properties. In the literature, there are many reports on the chemical content and biological activities of *H. perforiatum*, which is officinal species, cultivated and one of the leading plants in the world trade of medicinal plants and herbal products. However, studies on other *Hypericum* species are still limited.

Within the scope of this thesis study, extracts obtained from aerial parts of *H. olympicum* L. subsp. *olympicum*, collected from Balıkesir-Sındırgı, were investigated in terms of their total phenolic content, DPPH radical scavenging activity, cytotoxic activities on MCF7 (Human breast adenocarcinoma), A549 (Human lung carcinoma) and NIH3T3 (mouse embryo fibroblast) cell lines, in addition, chemical composition of extracts were examined by LC-MS/MS analysis.

Keywords: *Hypericum*, phenolics, DPPH, cytotoxicity, LC-MS/MS.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezim boyunca bana rehberlik eden, engin akademik bilgisi, desteği ve tecrübesiyle yanımda olan Prof. Dr. Fatma Pınar KAFA'ya en içten teşekkürlerimi sunarım. Bana vermiş olduğu motivasyon ve değerli yönlendirmeleri bu tezi başarıyla tamamlamamı sağladı.

Sitotoksik aktivite deneylerinin yapılmasında katkıları olan kıymetli hocam Doç. Dr. Derya OSMANİYE'ye,

Tez çalışmamın her aşamasında akademik bilgisi ve tecrübesi ile yardımcı olup desteğini esirgemeyen, Uzm. Bio. Merve HAS'a teşekkürlerimi sunuyorum.

Son olarak akademik hayatım boyunca her konuda ve şartta beni destekleyip yanımda olan sevgili annem Sevim ŞANVER, sevgili babam Nüsret ŞANVER ve tüm sevdiklerime çok teşekkür ediyorum. Ailemin desteği olmadan bu tezi tamamlamam mümkün olamazdı.

Emeği geçen herkese sonsuz teşekkür ve şükranlarımı sunuyorum...

....../....../20...

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.

.....
Gölnur İVGEN

İÇİNDEKİLER

Sayfa

BAŞLIK SAYFASI	i
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI.....	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT.....	iv
TEŞEKKÜR	v
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
TABLolar DİZİNİ.....	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
GÖRSELLER DİZİNİ	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Botanik Bilgiler.....	4
2.1.1. Hypericaceae familyasının genel özellikleri	4
2.1.2. <i>Hypericum</i> L. cinsinin sistematığı, yayılışı ve taksonomik özellikleri	5
2.1.3. <i>Hypericum</i> L. cinsinin botanik özellikleri.....	6
2.1.4. <i>Olympia</i> (Spach) Endl. Seksiyonu.....	7
2.1.5. <i>H. olympicum</i> L.....	7
2.2. Etnobotanik çalışmalar	9
2.3. <i>Hypericum</i> L. Türlerinin Fitokimyasal Özellikleri	11
2.3.1. Naftodiantronlar	11
2.3.2. Floroglusinoller	12
2.3.3. Flavonoidler	13

2.3.4. Uçucu yağlar.....	13
2.3.5. Diğer bileşikler	15
2.4. <i>Hypericum</i> L. Cinsinin Biyolojik Aktiviteleri	15
2.4.1. Serbest radikaller ve antioksidan aktivite.....	15
2.4.2. Kanser ve sitotoksik aktivite.....	17
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	21
3.1. Bitkisel Materyal	21
3.2. Kullanılan Kimyasallar	22
3.3. Kullanılan Aletler.....	22
3.4. Bitki Ekstrelerinin Hazırlanması.....	23
3.5. Miktar Tayini ve Kimyasal Çalışmalar.....	25
3.5.1. Toplam fenolik madde miktar tayini	25
3.5.2. LC-MS/MS analizi	25
3.6. Biyolojik Aktivite Çalışmaları.....	26
3.6.1. DPPH* (1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil) radikalini süpürücü aktivite.....	26
3.6.2. Sitotoksik aktivite çalışmaları.....	27
3.6.2.1. MTT yöntemi sitotoksik aktivitenin belirlenmesi.....	27
3.6.2.1.1. Hücrelerin çoğaltılması	27
3.6.2.1.2. Hücrelerin plakalara ekilmesi.....	27
3.6.2.1.3. MTT sitotoksikite testinin uygulanması	28
4. BULGULAR.....	29
4.1. Miktar Tayini ve Kimyasal Bulgular	29
4.1.1. Ekstraksiyon verimleri.....	29
4.1.2. Toplam fenolik madde miktar tayini	29
4.1.3. LC-MS/MS analizi	30
4.2. Biyolojik Aktivite Bulguları	32
4.2.1. Antioksidan aktivite bulguları.....	32

4.2.2. Sitotoksik aktivite bulguları.....	32
5. SONUÇ VE TARTIŞMA	34
5.1. Toplam Fenolik Madde Miktarı	34
5.2. LC-MS/MS Analizi.....	34
5.3. Antioksidan Aktivite	35
5.4. Sitotoksik Aktivite.....	35
KAYNAKÇA	36

ÖZGEÇMİŞ



TABLÖLAR DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Tablo 3.1. Kullanılan kimyasal madde ve çözücüler	22
Tablo 3.2. Kullanılan aletler	22
Tablo 4.1. Ekstraksiyon verimleri	29
Tablo 4.2. Ekstrelerin toplam fenolik madde miktarları (mg GAE/gekstre).....	30
Tablo 4.3. LC-MS/MS Analiz Sonuçları	30
Tablo 4.4. Ekstrelerin DPPH [•] radikal süpürücü aktiviteleri.....	32
Tablo 4.5. Ekstrelerin A549, MCF-7 ve NIH3T3 hücre hatlarına ait IC ₅₀ değerleri (µg/mL).....	33

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1. <i>Hypericum</i> cinsine ait yayılış haritası	5
Şekil 2.2. <i>H. olympicum</i> subsp. <i>olympicum</i> 'un Türkiye'deki yayılışı	9
Şekil 2.3. <i>Hypericum</i> türlerinde bulunan başlıca naftodiantron türevleri.....	12
Şekil 2.4. <i>Hypericum</i> türlerinde bulunan başlıca floroglusinoller	13
Şekil 2.5. <i>Hypericum</i> türlerinde bulunan başlıca flavonoidler	14
Şekil 4.1. Gallik asit kalibrasyon grafiği	29
Şekil 4.2. LC-MS/MS kromatogramı	31

GÖRSELLER DİZİNİ

Sayfa

Görsel 3.1. <i>H. olympicum</i> L. subsp. <i>olympicum</i>	21
Görsel 3.2. Ekstrelerin hazırlanması aşamaları	24
Görsel 3.3. Toplam fenolik madde miktar tayini deney plağı	25
Görsel 3.4. DPPH' süpürücü aktivite plağı	26



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

BHT	Butillenmiş Hidroksi Toluen
DMSO	Dimetilsülfoksit
DPPH•	1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH•) radikalini süpürücü aktivite tayini
ESSE	Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu
EtOAc	Etil asetat
EtOH	Etanol
FCR	Folin-Ciocalteau reaktifi
g	Gram
GAE	Gallik asite eşdeğer miktar
GC/MS	Gaz Kromatografisi Kütle Spektrometresi
IC ₅₀	Yüzde elliye inhibe eden konsantrasyon
LC-MS/MS	Sıvı kromatografi-kütle spektrometresi/kütle spektrometresi
<i>m/z</i>	Kütle/yük
MeOH	Metanol
mg	Miligram
µl	Mikrolitre
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
WFO	World Flora Online

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Bitkilerin, insanlık tarihiyle birlikte, binlerce yıldır hastalıkların tedavisinde ve hastalıklardan korunmak için kullanıldığını bilinen bir gerçektir. *Hypericum* L. (Hypericaceae, Guttiferae, Clusiaceae) cinsine ait bazı türler de, halk arasında çeşitli farmakolojik etkileri nedeni ile çok eski yıllardan beri kullanılan, bazı toplumlarda kutsal sayılan, monograflarda, farmakopelerde yer alan önemli bitkiler olarak dikkati çekmektedir. Dünya genelinde, en çok bilinen ve en yaygın olan *Hypericum* türü ise, ofisinal olan *H. perforatum* (sarı kantaron, St. John's Wort) türüdür.

Hypericum türleri üzerindeki bilinen ilk bilgiler *H. perforatum* üzerinde olup, MS 1. yy'da Anadolu'da yaşamış olan hekim Dioscorides, De Materia Medica adlı eserinde *H. perforatum*'un yara iyileştirici, analjezik, antimalaryal ve diüretik etkilerinden bahseder (Istikoglou vd., 2010). İlk çağlardan beri bitkinin en çok bilinen etkisi yara iyi edici etkidir ve geçmişten günümüze, farklı coğrafyalarda, halk arasında gerek hayvanların gerekse insanların yara ve yanık gibi deri hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır. Daha sonra, 16. yy'da, modern tıbbın öncülerinden kabul edilen İsviçreli hekim ve kimyager olan Paracelsus (1493-1541), ilk defa *H. perforatum*'un psikiyatrik rahatsızlıklarda kullanılabileceğini belirtmiştir (Galeotti, 2017). Günümüzde ise antiderpesan etkisi nedeniyle, gıda takviyesi veya ruhsatlı ilaç olarak satışı yapılmakta olan *H. perforatum* müstahzarları, piyasada en çok kullanılan bitkisel ürünler arasında yer almaktadır (Linde, 2009). Bu sebeple, pek çok ülkede bitkinin tarımı yapılmakta, bitkinin üretiminin yapıldığı önemli ülkeler arasında Almanya, Polonya ve İspanya yer almaktadırlar (Gärber ve Schenk, 2004; Crockett ve Robson, 2011).

Hypericum ve St. John's Wort adlarının etimolojisine dair literatürde çeşitli bilgiler yer almaktadır. *Hypericum* adının, Yunanca hyper (over) ve eikon (image) sözcüklerinden türediği ve "ikonanın üstünde" anlamında olduğu ve kötü ruhları kovduğu inancı öne sürülmektedir. Eski çağlarda, depresyon gibi psikiyatrik hastalıklar kötü ruhların ya da şeytanın etkisi olarak kabul edilmekteydi. *Hypericum* da depresyonda etkili bir bitkiydi (Nürk, 2011). İngilizce adı olan "St. John's wort" de "Aziz Yahya otu" olarak bilinir. 24 Haziran günü St. John (Aziz Yahya) bayramıdır ve bu tarih aynı zamanda Kuzey Yarımküre'de *Hypericum*'un çiçek açtığı tarihtir (Başer, 2007). Diğer bir inanışa göre ise, bitki geçmişte St. John şövalyeleri tarafından savaş yaralanmalarında kullanıldığı için bu ismi almıştır (Istikoglou vd., 2010).

36 seksiyonda bulunan, yaklaşık 500 adet çok yıllık otsu ve çalımsı bitki ve ağaçlar içeriren *Hypericum* L. cinsi, Hypericaceae (Guttiferae, Clusiaceae) familyasının en geniş cinsidir. Çok farklı coğrafyalarda yayılış göstermekle birlikte, Asya, Avrupa ve Kuzey Afrika kıtalarında daha yaygın olduğu rapor edilmiştir (Crockett ve Robson, 2011; Walker vd., 2001).

Ülkemizde doğal olarak yetişen *Hypericum* türleri incelendiğinde, Türkiye ve Doğu Ege Adaları Florası'nda 69 türün kayıtlı olduğu görülmektedir (Robson, 1967). Daha sonra yapılan çalışmalar ile yeni taksonlar tanımlanmış ve son verilere göre ülkemizde *Hypericum* cinsinin 20 seksiyo altında, 111 takson ile temsil edildiği bildirilmiştir. Endemizm oranı ise %48 olup, *Hypericum* türleri bakımından yurdumuz önemli bir gen merkezi konumundadır (Fırat ve Eroğlu, 2023; Yıldız, 2024)

Türkiye'nin İran-Turan, Avrupa-Sibirya ve Akdeniz Floristik Bölgeleri olmak üzere üç farklı floristik bölgede yer alması, sahip olduğu çeşitli ekolojik ve jeolojik özellikleri, iklimsel ve topografik çeşitlilikleri vb. ülkemizin oldukça zengin bir flora ve biyoçeşitliğe sahip olmasını açıklamaktadır (Seçmen vd., 2004; Yıldız, 2024).

Hypericum L. türleri, ülkemiz bitkisel halk ilaçları arasında ayrı bir öneme sahiptir. Anadolu'da en çok binbirdelik otu, sarı kantaron, kantaron olmak üzere, mayasıl otu, kan otu, yara otu, sarı çiçek, kılıç otu, koyun kıran, kuzu kıran, mide otu, püren vb. değişik adlarla anılan çeşitli *Hypericum* türlerinin, toprak üstü kısımları, çiçekli dalları ve çiçekleri ülkemizde halk ilacı olarak geniş bir kullanım alanına sahiptir. Anadolu tıbbında yara ve yanık tedavisinde haricen en yaygın kullanılan bitkisel ürün kantaron yağı (sarı kantaron yağı) adı bile bilinen, bitkinin zeytinyağında bekletilerek hazırlanan maserasyonudur. *Hypericum* türlerinden hazırlanan infüzyon ve dekoksionların, dahilen, sedatif olarak, ayrıca peptik ülser, bağırsak ve böbrek hastalıklarında, kardiyovasküler ve menstural rahatsızlıkların tedavisinde, iştah açıcı ve kurt düşürücü olarak, kabızlık, hazımsızlık, diyabet, romatizma, hemoroid vb. rahatsızlıklarda kullanıldığı kayıtlıdır (Baytop, 1999; Varel, 2011; Nobakht vd., 2022).

Biyolojik aktivite çalışmaları, *Hypericum* türlerinin, antidepresan ve yara iyi edici aktiviteler yanında, antioksidan, anti-aging, antistres, antimikrobiyal, anti-*Helicobacter pylori*, antifungal, antiviral, antikanser, sitotoksik, hepatoprotektif, antienflamatuvar, analjezik, antinosiseptif vb. etkilere sahip olduğunu göstermiştir (Williamson, 2001; Kumar vd., 2001a; Kumar vd., 2001b; Agostinis vd., 2002; Saddiqe vd., 2010; Moon

vd., 2011; Bayramoğlu vd., 2014; Sun vd., 2014; Hu vd., 2016; Boran, 2018; Tocci vd., 2018; Dellafiora vd., 2018; Al-Anee vd., 2023).

Hypericum türleri üzerinde yapılan fitokimyasal çalışmalar, türlerin naftodiantronlar (hiperisin, psödohiperisin vd.), floroglusinol türevleri (hiperforin, furohiperforin, adhiperforin vd.), flavonoidler (rutin, hiperozit, izokersitrin, kersetin, kersitrin, kemferol, biapigenin vd.) bakımından zengin olduğunu, ayrıca uçucu yağlar, fenolik asitler, kateşik ve kondanse tanenler, ksantonlar, fenilpropanoitler, A ve C vitaminleri, steroller vb. biyoaktif maddeleri taşıdığını ortaya koymuştur (Bilia vd., 2002; Pellati vd., 2005; Hostettmann ve Wolfender, 2005; Varel, 2011).

Literatür taramaları, çalışmaların ofisinal tür olan *H. perforatum* üzerinde yoğunlaştığı, bitkinin depresyon belirtilerinin hafifletilmesi de dahil olmak üzere, onaylanmış pek çok biyolojik aktiviteye sahip olduğu ve içerdiği başta naftodiantron ve açılfloroglusinol türevi bileşiklerin aktiviteden sorumlu bileşikler olduğunu göstermektedir. Diğer *Hypericum* türleri ise daha az incelenmiştir veya hiç incelenmemiştir ve *Hypericum* cinsinin tam olarak karakterize edilmesi için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

Bu sebeple, bu tez çalışmasında Balıkesir-Sındırgı civarında yetişen *H. olympicum* L. subsp. *olympicum*'un topraküstü kısımlarının toplam fenolik madde içeriği, DPPH* radikal süpürücü ve sitotoksik aktivitelerinin incelenmesi ve kimyasal kompozisyonunun belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Botanik Bilgiler

2.1.1. Hypericaceae familyasının genel özellikleri

Linnaeus zamanından beri, doğal bir taksonomik birim olarak kabul edilen *Hypericum* cinsinin, Clusiaceae (Guttiferae) familyasına mı dahil edilmesi gerektiği, yoksa ayrı bir familya olarak mı ele alınacağı tartışma konusu olmuştur. Son yıllarda geniş çaplı yapılan filogenetik analizler, *Hypericum* cinsinin de dahil olduğu Hypericaceae familyasının, Clusiaceae familyasının diğer taksonlarından ayrı sınıflandırılması gerektiğini göstermiştir (Crockett ve Robson, 2011).

En son ve güncel kayıtlara göre (<http-1>), Hypericaceae familyası toplam 6 cinsten oluşmaktadır:

1. *Vismia* Vand.,
2. *Cratoxylum* Blume,
3. *Harungana* Lam.,
4. *Eliea* Cambess.,
5. *Psorospermum* Spach
6. *Hypericum* L. olmak üzere

Hypericaceae familyası ağaçlar, çalılar, çok yıllık otsular veya nadiren tek yıllıklar; tüysüz veya trikomlu bitkilerdir. Yapraklar opozit, vertisillat veya alternan; düz, genellikle glandular noktalı ve/veya kanallı. Çiçek durumu, terminal tirsus veya dikasyum, simoz-panikula, bazen rasemoz benzeri veya çiçekler tek başına. Sepaller 5 veya nadiren 4, genellikle glandlı. Petaller 5 veya nadiren 4, bazen asimmetrik, serbest, burulmuş, imbrikat veya (4 olduğunda) tomurcukta dekusat, genellikle sarıdan turuncuya veya beyaz, genellikle koyu, kırmızımsı veya yarı saydam glandlı ve/veya kanallı. Stamenler genellikle çok sayıda, çoğunlukla tabanda bir halka halinde birleşmiş veya daha yaygın olarak 3 veya 5 antipetalus demeti halinde; anterler küçük, izodiametrik; ovaryum üst durumlu, 1-5 lokuluslu; stilus serbest veya tabanda birleşmiş, stigma yok veya hafifçe gelişmiş; plasentalanma sentral veya parietal. Meyveler septisidal kapsula, bakka veya drupa. Tohumlar çoğunlukla küçük ve çok sayıda, bazen

kanatlı, endospermasız (http-2).

2.1.2. *Hypericum* L. cinsinin sistematığı, yayılışı ve taksonomik özellikleri

Hypericum L., 36 seksiyona ayrılmış yaklaşık 500 türüyle, kozmopolitan bir cinstir. Hypericaceae familyasının en zengin cinsi olan *Hypericum* cinsinin sistematikteki yeri aşağıda verilmiştir (http-3).

Alem (Regnum)	:Plantae
Bölüm (Divisio)	:Streptophyta
Sınıf (Classis)	:Equisetopsida
Altsınıf (Subclassis)	:Magnoliidae
Takım (Ordo)	:Malpighiales
Aile (Familia)	:Hypericaceae
Cins (Genus)	: <i>Hypericum</i>

Geniş bir yayılışa sahip olan *Hypericum* cinsinin Dünya üzerinde yayılış haritası Şekil 2.1’de gösterilmiştir (http-4).



Şekil 2.1. *Hypericum* cinsine ait yayılış haritası

■ Doğal ■ Kültür

Anadolu’da önemli bir yayılışa sahip *Hypericum* cinsi, 20 seksiyona ait 111 takson ile ülkemizde temsil edilmektedir ve endemizim oranı %48’tir. *Hypericum* cinsinin dünyaya, Türkiye’nin doğusu ve Transkafkasya üzerinden dağıldığı düşünülmektedir (Fırat ve Eroğlu, 2023).

2.1.3. *Hypericum* L. cinsinin botanik özellikleri

Ağaçlar (yaklaşık 12 m’ye kadar), çalılar, çok veya tek yıllık otlar, tüysüz veya basit bir sıralı tüylü; reçine, uçucu yağ ve sıklıkla hiperisin ve psödohiperisin içeren salgı kanalları veya salgı boşlukları olan bitkilerdir. Gövdeler yeşilden sarı-kahverengiye kadar veya kırmızı, tüysüz veya tüy örtülü; salgısız veya açıktan koyu renkliye kadar glandlı veya glandiferöz, basit veya nadiren dallanmış. Yapraklar opozit, dekusat, bazen alternan-halka dizilişli, stipulasız, sesilden kısa ve kademeli petiollüye kadar, bazen tabanda eklemli, serbest veya $\pm$ birleşmiş, Lamina tam veya bazen tabanda veya kulakçıkları saçak şeklinde (fringed) glandlı, nadiren tamamı glandular-dentikulat veya fimbriat, glandlar linear veya nokta şeklinde, soluk ve/veya koyu renkli; lamina kenarından ortasına kadar; tüy örtüsü yok veya var. Çiçekler iki eşeyli, aktinomorfik. Sepaller 4-5, kenarları düz veya glandular-dentikulattan glandular-fimbriat veya salgısız-fimbriata kadar. Petaller 4-5, limon sarısından altın sarısına veya turuncu nadiren krem veya beyaza kadar, genellikle hafif kırmızı veya sırtta kırmızı damarlı, birbirini örtecek şekilde, eşit, serbest, kalıcı veya düşücü, asimetrik, kenarları düz veya sapsız glandlı veya glandular-siliat. Stamen demetleri 4-5, antipetalus, serbest veya farklı şekillerde birleşmiş. Ovaryum 2-5 gözlü, tüysüz; stiluslar 2-5, uzun, serbest veya kısmen veya tamamen birleşmiş. Meyveler kapsula, 2-5 çenetli. Tohumlar küçük (0-3-2 mm uzunluğunda), darca silindirikten ovatça-silindirik veya elipsoite kadar, hafifçe kavisli veya genellikle düz, endospermasız (Robson 1967; [http-5](http://5)).

Türkiye Florası’nda *Hypericum* cinsi 7 grup altında (Grup A-G) incelenmekte olup tez konusunu teşkil eden *H. olympicum* subsp. *olympicum* taksonunun yer aldığı *Olympia* seksiyonu F grubundadır. Bu grup, yaprakların aurikulat ve saçak şeklinde (fringed) glandlı olması veya sepallerin tam ve genişçe imbrikatlı olmasıyla diğer gruplardan ayrılır.

Türkiye Florası eserine göre Grup F’nin teşhis anahtarı aşağıda verilmiştir (Robson, 1967).

1. Yapraklar saçak şeklinde (fringed) glandlı, aurikulat (Sect. *Crossophyllum*)

2. Bitki siyah glandlı; yaprak ve sepal kenarları fimbriat glandlı

57. *adenotrichum*

2. Bitki siyah glandsız; yaprak ve sepal kenarları dentikulat glandlı

58. *orientale*

1. Yapraklar tam, aurikulat değil

3. Gövde, yapraklar ve sepaller tüysüz; kapsula dik (Sect. *Olympia*)

4. Sepaller $\pm$ uzun akuminat; sepaller ve petaller genellikle siyah noktasız;
yapraklar düzensiz intramarjinal siyah glandlı veya değil

59. *olympicum*

4. Sepaller apikulat veya akuttan yuvarlağa kadar; sepaller ve petaller genellikle
siyah noktalı; yapraklar düzenli intramarjinal siyah glandlı

60. *polyphyllum*

3. Gövde, yapraklar ve sepaller pubescent; kapsula sarkık (Sect. *Campylopus*)

61. *cerastoides*

2.1.4. *Olympia* (Spach) Endl. Seksiyonu

Genellikle tabanda çalimsı olan çok yıllık otlar, tüysüz; anterler ve bazen yapraklar, sepal ve petaller siyah glandlı. Gövdelerin genellikle koltuk altı sürgünleri yok. Petaller ve stamenler kalıcı. Petaller bazen yüzeysel siyah glandlı. Stamen demetleri 3, stiluslar 3. Kapsula çenetleri pürüzsüz veya nadiren hafifçe uzunlamasına çizgili. Tohumlar sık ve düzensiz linear-foveolar (Robson, 1967).

2.1.5. *H. olympicum* L.

Gövdeler 10-15 cm, dikten dekumbente kadar, nadiren toprak üstünde yatık şeklindedir. Yapraklar 5-31 mm, eliptik veya lanseolattan lineara kadar, kuneat veya nadiren trunkat, düzensiz sıralı intramarjinal siyah glandlar var veya yok. Sepaller $\pm$ eşit değil, genişçe imbrikat, genişçe ovat veya eliptikten lanseolata kadar, $\pm$ uzun akuminat, düz, genellikle siyah glandsız, nadiren apikalde bir tane şeklinde. Petaller 15-30 mm,

siyah glandsız veya nadiren apikalde bir adet glandlı veya kenarda birkaç adet glandlı. Kapsula 5-10 mm, ovoidden küremsiye kadar.

Bu tür Türkiye Florası eserine göre ülkemizde 2 alt türden oluşmaktadır (Robson, 1967).

1. Sepaller kuneat veya nadiren tabanda trunkat; yapraklar eliptikten lineara kadar

subsp. *olympicum*

1. Sepaller kordat veya tabanda kulakçıklı; yapraklar lanseolattan lineara kadar

subsp. *auriculatum*

H. olympicum* subsp. *olympicum

Syn: *H. macrocalyx* Freyn

H. olympicum var. *latifolium* Stef.

H. olympicum var. *prostratum* & *stenophyllum* Stef.

Çiçeklenme zamanı: Mayıs-Temmuz ayları.

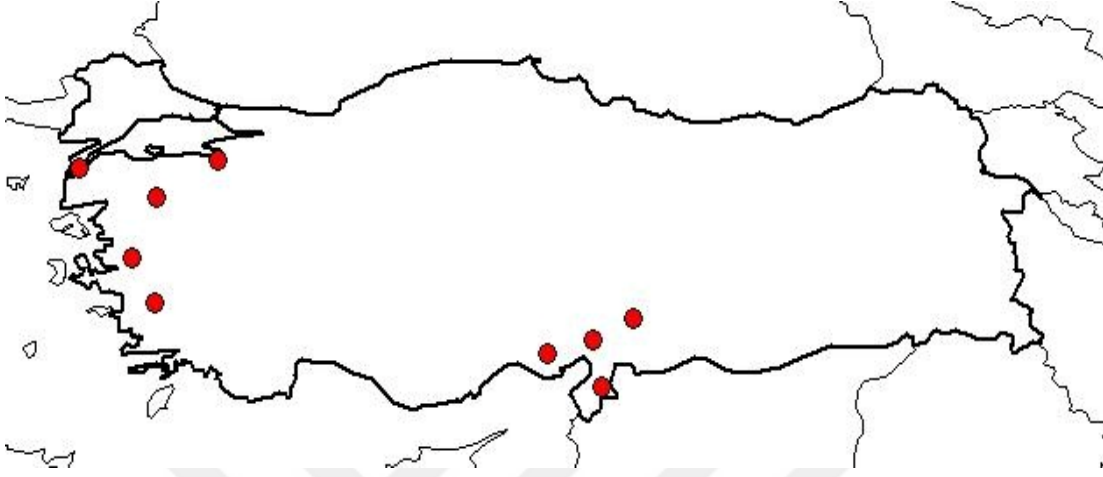
Habitat: Kayalar arasında (genellikle asitli kayalar) ve taşlı yerlerde.

Yükseklik: Deniz seviyesinden 1000 m'ye kadar.

Tip Örneği: [Türkiye A2 Bursa] Asya'da Olimpos Dağı'nda yetişir (Hb. Cliff!).

Yayılışı: A1 Çanakkale: Çanakkale Boğazı, Caluert!, A2 Bursa: Bursa'nın üstü, vii 1873, Pichler!, B1 Balıkesir: Kaz Dağı, 600-800 m, Dudley, D. 34808!, B2 Manisa: Sardes'in üstü, vii 1842, Boiss.! , B6 Seyhan: Hacın (Saimbeyli), Maniss. 825 (*H. macrocalyx* tip örneği)!, C1 Aydın: Mesogis (Aydın Da.), Boiss., C4 İçel: Anamur, Péronin 12 (*H. olympicum* var. *stenophyllum* tip örneği)!, C5 Seyhan: Süphandere-Belanköy arası, 1000 m, D.19549!, C6 Seyhan: d. Bahçe, Haruniye'nin Kuzeyi, 400 m, Hub.-Mor. 12099!, Ada: Bozcaada, Forsskah!, Ikaria, Fors.-Maj. 688!

Türkiye ve Doğu Ege Adaları Florası eserinde, bitkinin Doğu Akdeniz elementi olduğu, A5 Amasya: Amasya (Maniss. 196) kaydının hatalı olabileceği belirtilmiştir.



Şekil 2.2. *H. olympicum* subsp. *olympicum*'un Türkiye'deki yayılışı

2.2. Etnobotanik çalışmalar

Hypericum türleri ile ilgili en eski bilgiler *H. perforatum* üzerindedir. *H. perforatum*, ilk çağlardan beri yara iyi edici etkisi nedeniyle en çok bilinen tıbbi bitkilerden biridir ve geçmişten günümüze, farklı coğrafyalarda, halk arasında hayvanların ve insanların yara ve yanık tedavisinde kullanılmıştır.

Ülkemiz zengin bir bitki örtüsüne ve biyolojik çeşitliliğe sahip olup, Anadolu'nun eski çağlardan beri pek çok farklı kültüre evsahipliği yapmış olmasının etkisiyle aynı zamanda kadim bir etnobotanik ve halk ilacı kültürüne sahiptir.

İlk olarak, 1. yy'da Anadolu'da yaşamış bir hekim olan Dioscorides, De Materia Medica adlı eserinde *H. perforatum*'un yara iyi edici, antimalaryal, analjezik ve diüretik ve etkilerinden söz eder (Istikoglou vd., 2010).

H. perforatum'un psikiyatrik rahatsızlıklarda kullanılabileceği ile ilgili ilk bilgi ise, 16. yy'da, modern tıbbın öncülerinden kabul edilen İsviçreli hekim ve kimyager Paracelsus (1493-1541)'a aittir (Yesilada vd., 1993).

Yabancı kaynaklarda, *H. perforatum*'un halk arasında genellikle herbasından

hazırlanan infüzyon ve dekoksiyonları ile yağlarının, dahilen depresyon, sindirim sistemi ve karaciğer rahatsızlıkları, solunum yolları enfeksiyonları, haricen ise cilt hastalıkları ve kas ağrılarına karşı kullanıldığı rapor edilmiştir (Petkeviciute vd., 2010; Cavero ve Calvo, 2015; Savić vd., 2019; Živković vd., 2021).

Türk halk tıbbında ise bitkinin herbası, dalları, yaprakları, çiçekleri, meyveleri ve tohumlarının dahilen yatıştırıcı, iştah açıcı, spazm giderici, kurt düşürücü ishal kesici, olarak; hemoroitte, ülser, mide-bağırsak, böbrek hastalıklarının tedavisinde, prostat, sistit, ürogenital enfeksiyonlar, diyabet, romatizma, bademcik ve soğuk algınlığında, nevralsi, kalp hastalıkları, nefes darlığı vb. durumlarda, öksürük giderici, balgam söktürücü, idrar söktürücü vb. olarak; haricen de yara ve yanıklarda, romatizma, kas-eklem ağrılarında, diş ağrılarında vb. kullanıldığı kayıtlıdır (Yesilada vd., 1993; Yesilada vd., 1995; Yesilada vd., 1998; Tuzlacı ve Aymaz, 2001; Varel, 2011).

Ülkemizde *H. perforatum* yanında diğer bazı *Hypericum* türleri de tedavi edici özellikleri nedeniyle halk arasında kullanılmaktadır. Bu türlerden *H. triquetrifolium*'un toprak üstü kısımlarından hazırlanan infüzyonlar dahilen safra kesesi hastalıklarında; dekoksiyonlar dahilen diyabette kullanılmaktadır. Bitkinin yağı ise haricen romatizmal ağrılarındaki halk arasında kullanılmaktadır (Gürdal ve Kültür, 2013; Arasan ve Kaya, 2015).

H. scabrum'un herbasından hazırlanan infüzyonların da hemoroit, öksürük, ishal ve kolikte, ayrıca yatıştırıcı olarak dahilen ve haricen kullanıldığı bildirilmiştir (Cakilcioglu ve Turkoglu, 2010; Özdemir ve Alpınar, 2015).

H. empetrifolium herbasından hazırlanan infüzyonlar dahilen, ağrı kesici olarak, diyabet, yara ve yanık tedavisinde; bitkiden hazırlanan yağ ise haricen romatizmal ağrılarda kullanılmaktadır (Gürdal ve Kültür, 2013). Ayrıca Batı Anadolu'da, bitkinin çiçeklerinin kumaşları sarı renge boyamada kullanıldığı belirtilmiştir (Baytop, 1999).

H. montbrettii'nin toprak üstü kısımlarının zeytin yağında bekletilmesi ile hazırlanan yağları haricen, infüzyonlarının ise dahilen mide ağrısında kullanıldığı kayıtlıdır (Gürdal ve Kültür, 2013).

H. atomarium'un topraküstü kısımlarından hazırlanan dekoksiyonların dahilen mide ağrılarında kullanıldığı bildirilmiştir (Tuzlacı ve Aymaz, 2001).

H. lydium'un çiçek ve herbasından hazırlanan dekoksiyon ve çayların dahilen

hazımsızlıkta, zeytinyağında bekletilerek yazırlanan yağlarının da haricen yara iyi edici olarak kullanıldığı kayıtlıdır (Yesilada vd., 1995).

Tez konusunu teşkil eden *H. olympicum* subsp. *olympicum* ise Türk halk tıbbında "Sarı kantaron" olarak adlandırılır. *H. olympicum* subsp. *olympicum*'un toprak üstü kısımlarından hazırlanan dekoksiyonlar, dahilen mide ağrısının, haricen ise iltihaplı yaralar ve kesiklerin tedavisinde kullanılmaktadır (Tuzlacı ve Aymaz, 2001; Kırıcı vd., 2023).

2.3. *Hypericum* L. Türlerinin Fitokimyasal Özellikleri

Hypericum türlerinin içerdiği kimyasal bileşikler oldukça çeşitlidir ve kompleks yapıdadır. Özellikle en çok kullanılan ve ofisinal tür olan *H. perforatum*'un kimyasal yapısının detaylı bir şekilde ortaya konması amacıyla günümüze kadar pekçok bilimsel çalışma yapılmıştır.

Ham drog (Hyperici herba) ve ticari preparatların kimyasal kompozisyonu iyi bir şekilde ortaya konmuş ve farmakolojik etkilerden sorumlu başlıca bileşenler tanımlanmıştır. Sonuç olarak, ticari fitopreparatların ruhsatlandırılabilmesi için %0,1–0,3 naftodiantronlar (hiperisin ve türevleri), %6'ya kadar floroglusinol türevleri (hiperforin olarak ifade edilen) ve %2–4 flavonoidler (hiperozit) içermesi gereklidir (Božin vd., 2013).

Hypericum türleri üzerinde yapılan kimyasal çalışmalar, Anadolu Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Botanik Anabilim Dalı'nda daha önce yapılmış olan tez çalışmasında derlenmiştir (Yıldız, 2024). Bu çalışmaya göre *Hypericum* türlerinin içerdiği biyoaktif kimyasal metabolitler aşağıda verilmiştir:

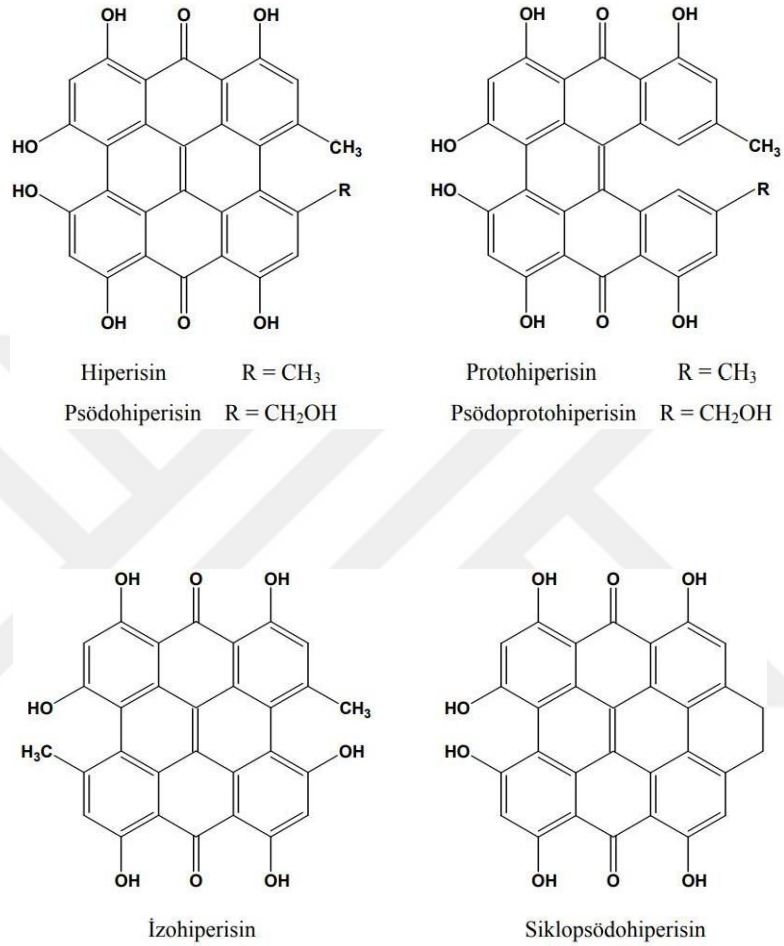
2.3.1. Naftodiantronlar

Hypericum türlerinde en çok rastlanılan bileşikler naftodiantronlardır. Bitkinin en fazla çiçeklerinde ve yapraklarında görülür. *Hypericum* türlerinin antidepresan ve anksiyolitik etkisinden sorumlu oldukları düşünülmektedir.

Hypericum cinsinde en çok rastlanılan naftodiantron yapısındaki bileşikler Şekil 2.3.'te verilmiştir.

Hiperisin ve psödohiperisin antrakınon türevi bileşiklerdir ve ışığın etkisi ile oluşan protohiperisin ve psödoprototyperisin'in ürünleridir. Hiperisin ve psödohiperisin, yaprakların ve çiçeklerin esmer glandlarında akümüle olur ve bu bileşiklerin varlığı

Hypericum cinsinin *Hypericum* seksiyonu üyeleri için tipiktir. Her iki bileşik de diğer sekonder metabolitlere göre daha yüksek miktarlarda üretilir ve bitkideki üretimleri çevresel koşullarla oldukça ilişkilidir (Kakouri vd., 2023).



Şekil 2.3. *Hypericum* türlerinde bulunan başlıca naftodiantron türevleri

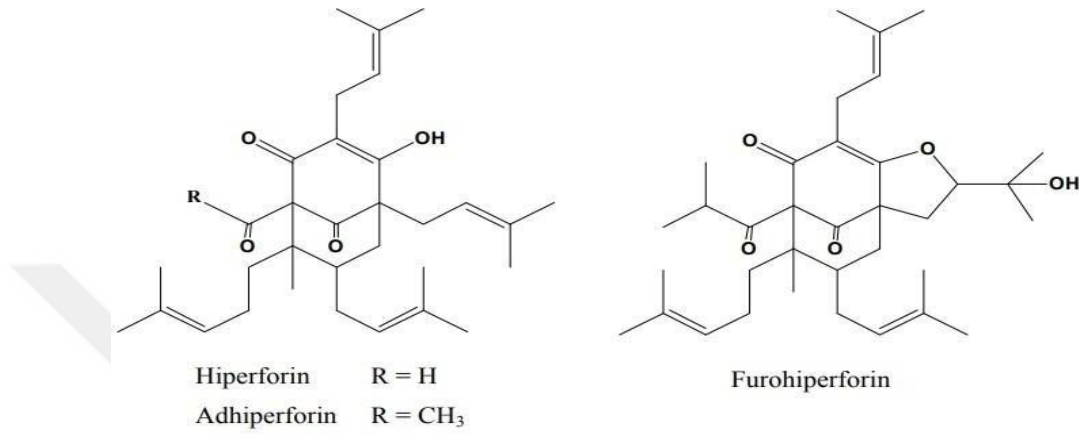
2.3.2. Floroglusinoller

Floroglusinoller bitkinin topraküstü kısımlarında, özellikle meyvelerde ve çiçeklerde bulunur. Bu bileşiklerin üretimi, meyveler yeterince olgunlaştığında önemli ölçüde artar. *Hypericum* cinsi için kemotaksonomik önemi vardır. Nitekim Robson *Hypericum* taksonlarını sınıflandırırken, içerdikleri floroglusinol türevi bileşiklerindeki farklılıklardan yararlanmışır (Robson, 1977; Robson, 2002)

Naftodiantronlar yanında açılfloroglusinol türevi bileşikler, *Hypericum* türlerinin antidepresan ve anksiyolitik etkilerinden sorumlu bileşikler olarak kabul edilmekte ve

bu nedenle de önem teşkil etmektedir. (Kakouri vd., 2023). *Hypericum* türlerinin çiçeklerinde ve olgun meyvelerinde, çok sayıda floroglusinol türevi bileşik bulunmaktadır (Schmidt ve Heilmann, 2013).

Hypericum türlerinin yapısında bulunan önemli bazı floroglusinollerin açık formülleri Şekil 2.4'te gösterilmiştir.



Şekil 2.4. *Hypericum* türlerinde bulunan başlıca floroglusinoller

2.3.3. Flavonoidler

Hypericum türlerinde majör flavonoid olarak genellikle kersetin ve glikozitleri izole edilmiştir. Bu bileşiklerden “hiperisin”, kersetin-3-galaktozit yapısındadır. Bileşiğin adı daha sonra glikozit yapısından dolayı “hiperozit” olarak değiştirilmiştir. Kersitrin (kersetin-3-O-ramnozit), izokersitrin (kersetin-3-O-glikozit) ve rutin (kersetin-3-O-rutinozit) *Hypericum* türlerinde bulunan diğer kersetin türevleridir. Minör flavonoid aglikonları ise, dihidrokersetin, luteolin, kemferol ve mirsetindir. Ayrıca, biapigenin ve amentoflavon gibi biflavonlar da izole edilmiştir.

Şekil 2.5'te *Hypericum* türlerinden izole edilen önemli bazı flavonoidler verilmiştir.

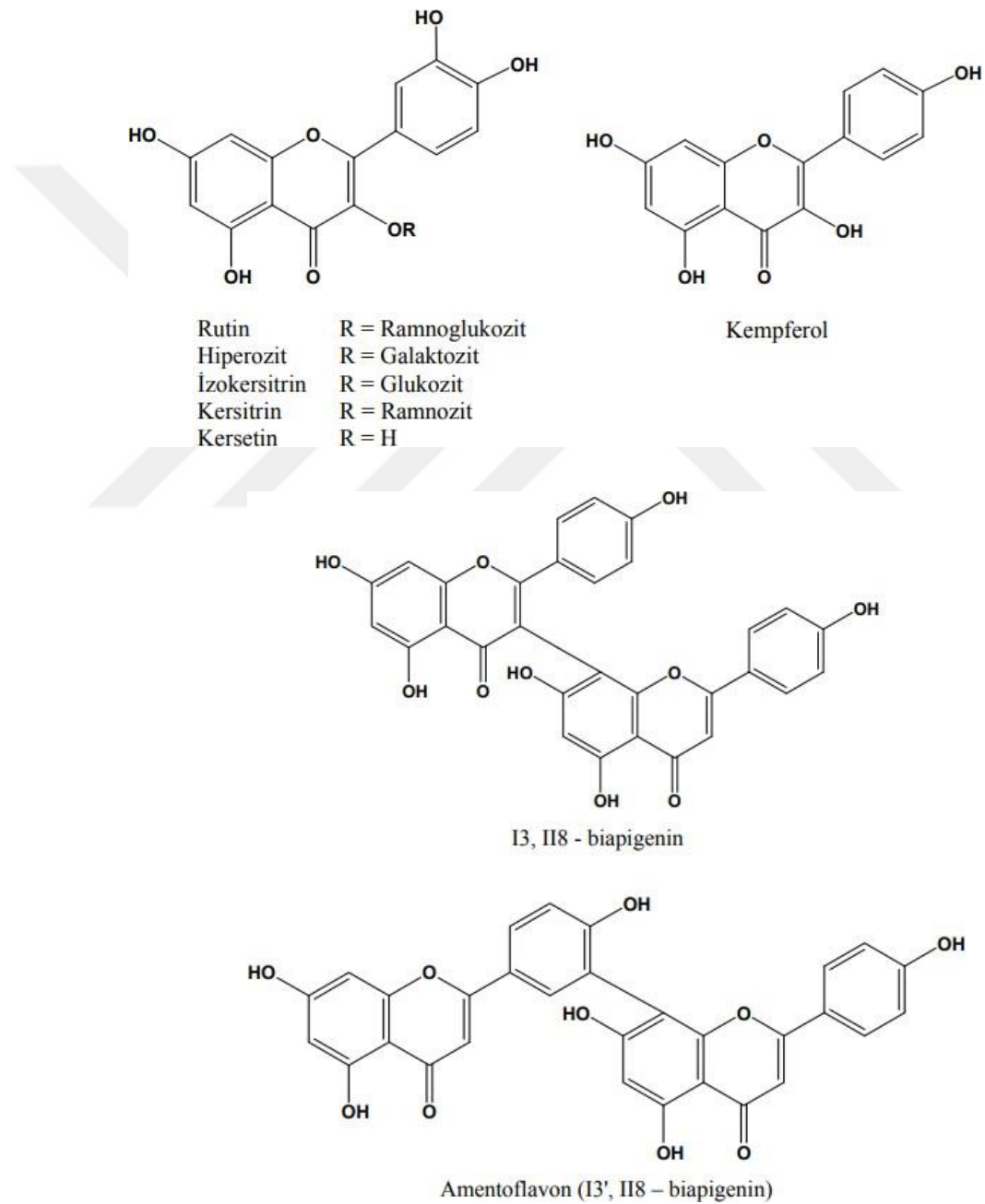
2.3.4. Uçucu yağlar

Hypericum cinsi, genellikle uçucu yağlar bakımından zengin olarak değerlendirilmezler ancak, antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteler yönünden uçucu yağların önemli oldukları rapor edilmiştir (Crockett, 2010).

Hypericum türlerinde uçucu yağlar genellikle yaprak ve çiçeklerde bulunan deliğe benzer glandlarda bulunur ve bu yapılarda bulunan uçucu yağ miktarı bitkinin

çiçeklenme zamanına göre değişebilmektedir (Nahrstedt ve Butterweck, 1997). Uçucu yağ kompozisyonunda ise, ekolojik şartlar, coğrafi dağılım, mevsim, uçucu yağın üretildiği ve biriktiği organa göre farklılıklar görülebilmektedir (Guedes vd., 2012).

Genel olarak, *Hypericum* türleri üzerinde yapılan çalışmalar, uçucu yağların hidrokarbonlar, monoterpen ve seskiterpenler bakımından zengin olduğunu göstermektedir (Preedy, 2015).



Şekil 2.5. *Hypericum* türlerinde bulunan başlıca flavonoitler

2.3.5. Diğer bileşikler

Hypericum türlerinde bulunan diğer bileşikler ise kafeik asit, ferulik asit, klorojenik asit gibi fenolik asitler, kateşin, epikateşin ve lökosiyanidin gibi kateşik ve kondanse tanenler, ksantonlar, steroller, fenilpropanoitler, A ve C vitaminleri vb. olarak rapor edilmiştir (Varel, 2011; Kakouri vd., 2023; Yıldız, 2024).

2.4. *Hypericum* L. Türlerinin Biyolojik Aktiviteleri

Biyoaktivite çalışmaları *Hypericum* türlerinin, antidepresan, antistres, anti-aging, antioksidan, antiviral, anti-*Helicobacter pylori*, antifungal, antimikrobiyal, antikanser sitotoksik hepatoprotektif antienflamatuvar, analjezik, antinosiseptif vb. çeşitli aktivitelere sahip olduklarını göstermiş, bu çalışmalar anabilim dalımızda yapılan önceki tez çalışmasında derlenmiştir (Yıldız, 2024).

2.4.1. Serbest radikaller ve antioksidan aktivite

Antioksidanlar, serbest radikallerin neden olduğu oksidatif hasarı ortadan kaldırma veya azaltma özelliği olan moleküllerdir. Serbest radikallerin vücuttaki hücrelere zarar vermesini engelleyerek, birçok kronik hastalığın gelişimini ve yaşlanmayı yavaşlatmada önemli bir rol oynarlar. Bu sebeple literatürde sentetik ve doğal kaynakların antioksidan özelliğinin araştırıldığı pek çok çalışma mevcuttur (Singh ve Downing, 1995).

Serbest radikaller, dış orbitallerinde eşleşmemiş bir veya daha fazla elektrona sahip, eşlenmemiş elektron bulundurmalarından dolayı kararsız bir yapı gösteren ve bu sebeple kimyasal reaksiyonlara girmeye oldukça eğilimli olan moleküller, atomlar veya iyonlardır. Serbest radikaller nitrojen temelli (RNT, reaktif nitrojen türleri) veya oksijen kaynaklı (ROT, reaktif oksijen türleri) olabilir. Hidroksil (OH[•]), süperoksit anyon (O₂^{•-}), alkoksil (RO[•]) ve peroksil (ROO[•]) gibi yapılar ROT'a örnek olarak gösterilebilir.

Hücrelerimizde doğal olarak meydana gelen biyokimyasal süreçlerin bir yan ürünü olarak oluşabilir veya çevresel faktörler (örneğin, sigara dumanı, hava kirliliği, radyasyon vb.) sonucu ortaya çıkabilirler (Kostova ve ark., 2011; Altan vd., 2006).

Vücudumuzda reaktif oksijen türleri ile antioksidanlar bir denge halindedir. Serbest radikallerin aşırı üretimi, vücudun antioksidan savunma mekanizmalarını aşarak oksidatif strese yol açar. Serbest radikaller, hücre zarlarını, DNA'yı, proteinleri ve diğer biyomolekülleri oksitleyerek hücresel hasara neden olabilirler. Bu durum, hücresel

fonksiyonların bozulmasına ve kardiyovasküler hastalıklardan diyabete, nörodejeneratif hastalıklarından kansere kadar çeşitli hastalıklara yol açabilir. Oksidatif stres, ayrıca obezitenin gelişiminde önemli rol oynamakta ve yaşlanma sürecini hızlandırabilmektedir (Karabulut ve Gülay, 2016; Pérez -Torres vd., 2021).

Flavonoitler ve fenolik asitler başta olmak üzere, bitkilerde bulunan fenolik bileşiklerin serbest radikalleri süpürücü ve antioksidan özellikleri bilinmektedir. Oksidasyon süreçlerini önlemedeki önemli rolleri ve sağlık üzerindeki olumlu etkileri nedeniyle fenolik bileşikler önemli bir araştırma konusudur (Baysal vd., 2021).

Hypericum türlerinin zengin fenolik içeriğinden dolayı genel olarak antioksidan aktivite gösterdikleri söylenebilir. Nitekim önceki çalışmalarda da bazı *Hypericum* türlerinin antioksidan ve radikal süpürücü özellikleri ortaya konmuştur.

Eskişehir’de yetişen 3 *Hypericum* türünün (*H. perforatum*, *H. montbretti*, *H. origanifolium*) yaprak ve çiçeklerinin MeOH, su ve EtOAc ekstraktları üzerinde yapılan çalışmada, en yüksek antioksidan aktivite tespit edilen ekstraktlar sırasıyla *H. origanifolium* yaprak EtOAc ekstresi ($IC_{50}=3,37$ mg/ml) > *H. montbretti* yaprak EtOAc ekstresi ($IC_{50}=2,84$ mg/ml) > *H. perforatum* çiçek EtOAc ekstresi ($IC_{50}=2,63$ mg/ml) olarak bildirilmiştir. Genel olarak en yüksek antioksidan aktivite EtOAc > MeOH > su ekstraktlarında görülmüştür (Öztürk vd., 2009).

Eskişehir’de yetişen *H. aviculariifolium* ve *H. bithynicum*’un MeOH ve su ekstraktlarının antioksidan aktivitesinin incelendiği bir başka çalışmada, *H. aviculariifolium* MeOH ekstresi $IC_{50}=0,16$ mg/ml değeri ile en yüksek antioksidan aktiviteyi göstermiştir. *H. bithynicum* su ekstresi ise $IC_{50}=0,21$ mg/ml değeri ile en zayıf antioksidan aktiviteyi gösteren ekstrakt ise) olmuştur (Türkten, 2022).

H. perforatum, *H. scabrum* ve *H. origanifolium*’un toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanollü-sulu ekstraktlarının DPPH• süpürücü aktivitelerinin incelendiği çalışmada, *H. perforatum* ($IC_{50}=3,17 \pm 0,23$ µg/mL) en güçlü aktiviteyi gösterirken, *H. origanifolium* ($IC_{50}=3,17 \pm 0,27$ µg/mL) en düşük aktiviteyi göstermiştir (Seyrekoğlu vd., 2022).

H. perforatum, *H. salsugineum* ve *H. aviculariifolium* subsp. *depilatum* var. *depilatum*’un 0,5 mg/ml konsantrasyonundaki MeOH ekstraktları antioksidan aktiviteleri bakımından incelenmiş, yüksekten düşüğe antioksidan aktiviteler sırasıyla *H.*

salsugineum ($88,29 \pm 0,96$ mg/ml) > *H. aviculariifolium* ($86,88 \pm 0,87$ mg/ml) > *H. perforatum* ($81,21 \pm 0,58$ mg/ml) olarak bulunmuştur. Çalışılan ekstreler standart bileşikler olan BHT ve BHA'dan daha az antioksidan aktivite göstermişlerdir (Malta vd., 2013).

Yunanistan'da yetişen 9 *Hypericum* türünün incelendiği çalışmada, *H. olympicum* yaprak, çiçek ve gövdesinden (topraküstü) hazırlanan metanol ekstresinin DPPH radikal süpürücü aktivitesi $IC_{50}=14.1 \pm 0,94$ µg/mL olarak bildirilmiştir. ABTS deneyinde ise bitkinin ekstresi $IC_{50} = 3.92 \pm 0.73$ µg/mL değerini vermiştir (Kakouri ve ark., 2023)

Birleşik Krallık'ta yapılan bir çalışmada, kültürü yapılan *H. olympicum*'un MeOH ekstresi ve bu ekstreden hazırlanan n-hexane, CH₂Cl₂, EtOAc n-BuOH ve su fraksiyonlarının DPPH radikal süpürücü aktiviteleri % inhibisyon olarak sırasıyla 82.295, 190.404, 32.749, 87.098, 73.917 ve 40.983 olarak bildirilmiştir (Saddiqe vd., 2020).

Balkanlarda yapılan bir çalışmada, *H. olympicum*'un %70'lik etanol ile hazırlanan maserasyonunun $IC_{50}=3.80 \pm 0.04$ µg/mL değeri ile güçlü DPPH radikal süpürücü aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Božin vd., 2013).

Bulgaristan, Rodop'tan toplanan *H. olympicum*'un topraküstü kısımları sırasıyla önce CHCl₃ sonra MeOH ile muamele edilmiş, elde edilen metanolik ekstrenin DPPH radikalini 58.8 ± 0.1 inhibe ettiği bildirilmiştir (Zheleva-Dimitrova vd., 2010).

Ülkemizde yapılan, *in vitro* sindirim prosedürünün uygulandığı bir çalışmada ise *H. olympicum*'un topraküstü kısımlarının %80 MeOH ekstraktlarının antioksidan özellikleri bakır iyonu indirgeme antioksidan kapasitesi (CUPRAC) ve demir iyonu indirgeme antioxidant gücü (FRAP) incelenmiş ve sırasıyla 133.19 ± 3.39 ve 1.00 ± 0.09 olarak rapor edilmiştir (Akyüz vd., 2021)

2.4.2. Kanser ve sitotoksik aktivite

Kanser, vüsdaki sağlıklı hücreleri malign hücrelere dönüştüren kompleks ve çok basamaklı bir süreçte oluşmaktadır (Boland ve Goel, 2005). Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'ne göre, 2022 yılında dünya genelinde yaklaşık 20 milyon yeni kanser vakası rapor edilmiş ve 9,7 milyon kişi kanser nedeniyle hayatını kaybetmiştir. Kanser teşhisinden sonraki 5 yıl içinde hayatta kalan kişi sayısının 53,5 milyon olduğu tahmin edilmektedir. İnsanların yaklaşık 5'te 1'i tüm yaşamları boyunca kansere yakalanmakta,

yaklaşık her 9 erkekten 1'i ve her 12 kadından 1'i bu hastalıktan ölmektedir.

IARC'nin (Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı) Global Kanser Gözlemevi'ndeki en son tahminler, 2022'de dünya genelindeki yeni kanser vakalarının ve ölümlerin yaklaşık üçte ikisini 10 kanser türünün oluşturduğunu göstermektedir. Veriler, 185 ülke ve 36 kanser türünü kapsamaktadır.

Akciğer kanseri, en sık görülen kanser türü olup, 2,5 milyon yeni vaka ile toplam yeni vakaların %12,4'ünü oluşturmaktadır. Kadınlarda meme kanseri 2,3 milyon vaka (%11,6) ile ikinci sırada yer almakta, bunu 1,9 milyon vaka (%9,6) ile kolorektal kanser, 1,5 milyon vaka (%7,3) ile prostat kanseri ve 970.000 vaka (%4,9) ile mide kanseri takip etmektedir (http-6).

Günümüze kadar antikanser ilaç olarak sentetik ve doğal orijinli pekçok kemoterapötik ajan geliştirilmiştir. Ancak bunların çoğu kanser hücreleri yanında normal hücrelere karşı da yüksek toksisite göstermesi nedeniyle kanser tedavisine uygun olmamakta ya da yetersiz kalmaktadır. Kanser tedavisinde görülen yan etkilerin majör sebebi kullanılan antikanser ajanların kanser hücrelerine spesifik olmamasıdır. Bu nedenle, kanser hücrelerine daha spesifik, normal hücrelere daha az toksik ve yan etkilerinden arındırılmış yeni kemoterapik ajanların geliştirilmesi bilim dünyasının en önde gelen araştırma konularından birini teşkil etmektedir.

ABD'de bitkisel takviyelerin akciğer ve kolorektal kanser riskini nasıl etkilediği araştırılmıştır. 7000 kişi üzerinde 5 sene boyunca yapılan çalışmada, *H. perforatum*'un düzenli kullanımının akciğer kanserine karşı koruyucu bir etkisi gözlenmemiş, ancak kolorektal kanserinin riskini %65 oranında bir azalttığı bildirilmiştir (Satia vd., 2009).

Hypericum türlerinin ana flavonoidlerinden olan kersetin-3-O- β -D-galaktopiranozitin antioksidan ve antienflamatuvar aktivitesi yanında antikanser etkisinin de olduğu bilinmektedir (Kong vd., 2020).

H. perforatum'un majör bileşeni olan hiperforinin, kanserojen maddelerin genotoksik etkilerini önlediği bildirilmiştir. Hiperforin, kanser hastalarında reaktif oksijen türleri oluşumunu azaltmakta, inflamasyon araçlarını yavaşlatmakta ve vücuttaki pH dengesizliğini gidermektedir (Menegazzi vd., 2020). Hiperforin hücre içi çeşitli hedefler üzerine yönelenerek neoplastik hastalıklarda etki eder, antitümör ve antianjiyogenik aktiviteleri hem tedavi hem de hastalığın oluşmasını önlenmesinde önemlidir. Tümör oluşumunu ve büyümesini engelleyen sinyal yollarına etki etmektedir (Deng vd., 2020).

Hiperisin ise prostat kanseri hücre hatlarında önemli sitotoksik aktivite göstermiştir (Xie vd., 2001).

H. perforatum MeOH ekstresinin prostat kanserinin erken teşhisinde önemli parametrelerden biri olan serotonin hormonunun alınmasını inhibe ettiği bildirilmiştir. Yapılan çalışmalarda bitkinin ana metabolitleri olan hiperisin, hiperforin ve kersetinin sitotoksik aktivite göstererek kanserli hücreleri öldürdüğü tespit edilmiştir. Bu sebeple *H. perforatum*'un prostat kanseri için umut vadettiği bildirilmiştir (Martarelli vd., 2004)

H. perforatum, *H. montbrettii* ve *H. origanifolium*'un çiçek ve yaprak ekstralarının HeLa, A549 ve NIH3T3 hücreleri üzerinde sitotoksik ve antiproliferatif aktiviteleri incelenmiştir. 100 µg/ml dozda, *H. montbrettii* çiçek ekstresi, A549 hücrelerini ikinci günde % 45,2683 ± 1,0253 inhibe etmiştir. *H. montbrettii* yaprak ekstresi ise üçüncü günde % 51,5308 ± 2,9960 inhibisyon göstermiştir. Çiçek ve yaprak ekstraları, HeLa hücrelerine karşı 250 µg/ml dozda dördüncü günde maksimum sitotoksik göstermişlerdir (sırasıyla, % 15,7500 ± 0,6160 ve % 26,0700 ± 1,8520). *H. montbrettii* çiçek ekstresinin sağlıklı olan NIH3T3 hücrelerinde DMSO'ya oldukça yakın aktivite gösterdiği, maksimum sonucun (% 12,8938 ± 5,9829 µg/ml) 250 µg/ml dozda dördüncü günde gösterdiği görülmüştür. NIH3T3 hücrelerinde, *H. montbrettii* yaprak ekstresi 250 µg/ml dozda dördüncü günde DMSO'ya yakın bir şekilde (% 11,7300 ± 2,3256) inhibisyon göstermiştir.

H. origanifolium çiçek ekstresi, A549 hücrelerinde 100 µg/ml dozda üçüncü günde maksimum sitotoksik aktivite (% 34,3650 ± 0,4879) göstermiştir. HeLa ve NIH3T3 hücrelerinde ise maksimum sitotoksik aktivite (sırasıyla % 20,7250 ± 1,6330 ve % 22,0875 ± 2,359) 250 µg/ml dozda dördüncü günde gözlenmiştir. Yaprak ekstresi ise, A549 ve HeLa hücrelerinde en yüksek sitotoksik aktiviteyi 250 µg/ml dozda (sırasıyla % 55,9588 ± 1,4989 ve % 27,3863 ± 2,7658) dördüncü günde göstermiştir. NIH3T3 hücrelerinde doza bağlı sitotoksik aktivite gözlenmiştir. Maksimum inhibisyon (% 16,0125 ± 2,3256) 250 µg/ml dozda dördüncü gün gözlenmiştir.

H. perforatum çiçek ve yaprak ekstraları, 250 µg/ml dozda üçüncü günde A549 ve HeLa hücrelerinde, maksimum sitotoksik aktivite (sırasıyla, % 40,1358 ± 1,1194 ve % 18,3413 ± 1,1708) göstermişlerdir. Sağlıklı NIH3T3 hücrelerinde doza bağlı toksisite görülüş, maksimum aktivite 250 µg/ml dozda dördüncü günde (% 11,7850 ± 0,3409) tespit edilmiştir (Güzey, 2007).

H. olympicum üzerinde yapılan çalışmalar incelendiğinde; daha çok bitkiden izole edilen metabolitlerin sitotoksik aktivitelerinin incelendiği çalışmalara rastlanılmaktadır.

H. olympicum'un toprak üstü kısımlarından ikisi yeni (olimpiforin A ve B) üç bilinen floroglusinol türevi bileşiğin izole edildiği çalışmada, tüm bileşiklerin MDA-MB-231, EJ, K-562, HL-60 ve HL-60/DOX hücre hatlarında *in vitro* sitotoksik aktivite gösterdiği, katı tümörlerden veya hemoblastozlardan köken alan farklı hücre hatlarında 1,11-24,94 μM konsantrasyon aralığında maksimum sitotoksik aktivite gösterdiği, olimpiforin B'nin bu çalışmada tümör hücre hatları üzerinde en belirgin etkiye sahip olduğu ($\text{IC}_{50}=1,16\text{--}1,71 \mu\text{M}$) bildirilmiştir (Ilieva vd., 2023).

Bir başka çalışmada, *H. olympicum*'un gövde çiçek metanolik ekstresinin MCF-7 ve MDA-MB-231 meme kanseri hücre hatlarına karşı sitotoksik aktiviteleri, 72 saatlik muameleden sonra ATP canlılığı deneyi ile incelenmiş, ekstrenin MCF-7 ve MDA-MB-hücrelerinin büyümesini doza bağlı bir şekilde önemli ölçüde inhibe ettiği bildirilmiştir. $\text{IC}_{50}=26,3 \mu\text{g/ml}$ ve %90 inhibitör konsantrasyonu $=91,2 \mu\text{g/ml}$ olarak hesaplanmıştır (Balıkcı vd., 2020).

A549 and PC3 akciğer kanser hücre hatlarında *H. olympicum*'un metanol ekstresinin etkisinin incelendiği bir başka çalışmada, ekstrenin A549 hücre hattında $\text{IC}_{50}>100 \mu\text{g/ml}$ $\text{IC}_{90}>100 \mu\text{g/ml}$, PC3 hücre hattında ise $\text{IC}_{50}=74.7 \mu\text{g/ml}$, $\text{IC}_{90}>100 \mu\text{g/ml}$ değerleri tespit edilmiş, insan akciğer kanseri hücreleri üzerinde önemli bir büyüme engelleyici etki gösterdiği ve PC3 akciğer kanseri hücrelerinde apoptoz benzeri hücre ölümünü indüklediği bulunmuştur (Aztopal vd., 2016).

Diğer yandan, *H. olympicum*'un metanol ekstresinin, DNA hasarını doza bağlı olarak iyileştirdiği bildirilmiştir. Yapılan çalışmada, metanolik ekstrenin matriksmetalloproteinaz-9 (MMP-9)'un enzimatik aktivitesinin, 1,5 mg/mL'lik dozda neredeyse %100 inhibe ettiği kayıtlıdır. Aynı zamanda hücre çoğalmasını da arttırdığı ve ekstrenin ayrıca antioksidan aktiviteye sahip olduğu da gösterilmiştir. Metanol ekstresinin majör metabolitleri klorojenik asit ve kersetin glikozitleri (rutin, hiperosid, izokersitrin) olarak tanımlanmıştır (Kurt-Celep vd., 2020)

3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1. Bitkisel Materyal

H. olympicum subsp. *olympicum*, bitki çiçekli iken, Balıkesir'e yapılan arazi çalışmaları sırasında toplanmıştır. Bitki usulüne uygun şekilde kurutularak, herbaryum numunesi hazırlanmıştır. Tayini, "Türkiye ve Doğu Ege Adaları Florası" (Robson, 1967) eserlerinden yararlanılarak Uzm. Bio. Merve Has ve Prof. Dr. Galip Akaydın tarafından yapılmıştır. Herbaryum örneği Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu'na kaydedilmiştir. Herbaryum kaydı aşağıda verilmiştir:

***H. olympicum* L. subsp. *olympicum*:** B1 Balıkesir, Sındırgı, Kürendere Köyü civarından, 18.06.2022 tarihinde, 910 m., ESSE 15896.

Bitkiye ait arazi çalışmaları sırasında çekilmiş fotoğraflar Görsel 3.1.'de verilmiştir.



Görsel 3.1. *H. olympicum* L. subsp. *olympicum*.

3.2. Kullanılan Kimyasallar

Tablo 3.1’de deneylerin gerçekleştirilmesinde kullanılan kimyasal maddeler belirtilmiştir.

Tablo 3.1. *Kullanılan kimyasal madde ve çözücüler*

Madde	Marka
2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH, 1gr)	SAFC®
5,5’-Ditiyobis-(2-nitrobenzoik asit) (DTNB)	Sigma, Almanya
Dipotasyum hidrojen fosfat	Merck
Donepezil	Sigma, Almanya
Gallik asit (100 g)	SAFC®
Folin-Ciocalteu’s phenol reagent (1L)	SAFC®
Sodyum karbonat (500 g)	SAFC®
DMSO	Merck
Potasyum dihidrojen fosfat	Sigma, Almanya
Absolu etanol (2.5 lt)	Supelco
Metanol (2.5 lt) HPLC, gradient grade, ≥99.9%	SAFC®
Tween 80	Merck
EtOAc	Carlo Erba
MeOH	Merck
MCF-7 Hücre Hattı	ATCC, USA
A549 Hücre Hattı	ATCC, USA
NIH3T3 Hücre Hattı	ATCC, USA

3.3. Kullanılan Aletler

Tablo 3.2’de deneylerin gerçekleştirilmesinde kullanılan aletler belirtilmiştir.

Tablo 3.2. *Kullanılan aletler*

Marka ve Aletler	Amacı
Mettler Toledo/ hassas terazisi	Örneklerin tartımı
BINDER marka etüv	Ekipmanları kurutma işlemi
Elmasonic S 100 (H)/Ultrasonik su banyosu	Ekstre hazırlama, Ekstre çözme işlemi
GFL® 1086/Çalkalamalı su banyosu	Ekstraksiyon
Heidolph marka rotavapor	Ekstrelerin konsantre edilmesi
WTW marka pH ölçer	Tampon çözeltisinin pH ayarlama işlemi
Heidolph reaxtop marka vortex cihazı	Sıvı örneklerin çözünmesi için karıştırılması
Buzdolabı	Numunelerin saklanması
Mikroplate okuyucu	Absorbans okuma

Tablo 3.2. Kullanılan aletler(Devam)

Marka ve Aletler	Amacı
Otoklav	Sterilizasyon
Otomatik tekli ve çoklu pipetler	Sıvıların alımı
Steril kabin	Hücre kültürlerinin hazırlanması
Ultra derin doldurucu	Hücrelerin saklanması
Öğütücü	Bitkisel materyalin parçalanması

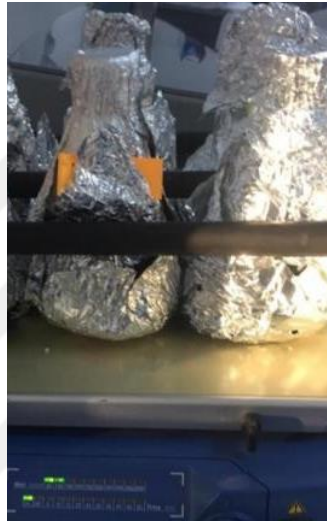
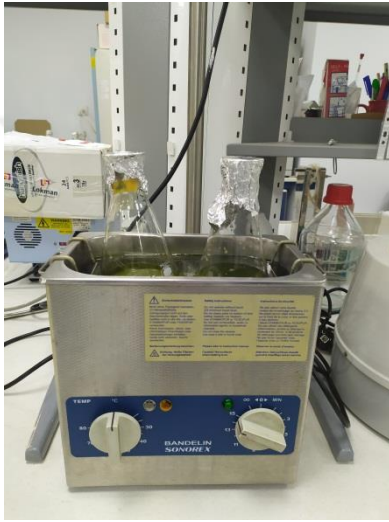
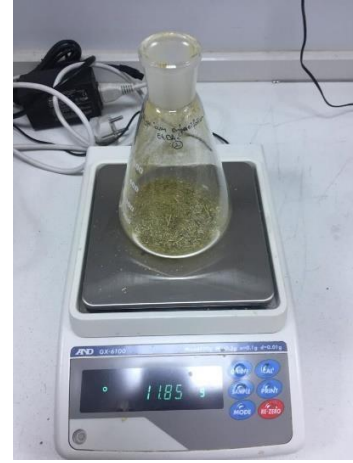
3.4. Bitki Ekstrelerinin Hazırlanması

Bitkinin toprak üstü kısımları laboratuvarında, serin, nem olmayan, karanlık bir ortamda kurutulmuştur. Kurutulan bitkiler öğütücü kullanılarak toz haline getirilmiştir. Aynı erlenlerde MeOH ve EtOAc ekstraksiyonu yapılmıştır. Bunun için, 12,20 g toz bitki tartılmış, üzerine 200 ml MeOH eklenerek 15 dakika ultrasonik banyoda tutulup, daha sonra 15 dakika yatay çalkalayıcıda ekstraksiyon işlemi yapılmıştır. Bir başka erlene, 10,25 g toz bitki tartılarak alınmış, üzerine 200 ml EtOAc eklenerek yukarıdaki şekilde ekstraksiyon yapılmıştır. Tüm bu işlemler 3 kez tekrarlanmıştır. Bu işlemlerden sonra ekstraktlar pileli süzgeç kağıdından süzölmüştür. MeOH ekstraktları ve EtOAc ekstraktları ayrı ayrı birleştirilip, rotavaporda alçak basınç altında kuruluğa kadar uçurulmuştur (< 45°C). Kuru ekstraktlar +4 °C de buzdolabında saklanmıştır ve % a/a olarak verimleri hesaplanmıştır. Yapılan işlemler sırasıyla Görsel3.2’de verilmiştir.

Elde edilen ekstraktlar aşağıdaki şekilde isimlendirilmiştir:

HOL-MeOH : *H. olympicum subsp. olympicum* MeOH ekstresi

HOL-EtOAc : *H. olympicum subsp. olympicum* EtOAc ekstresi

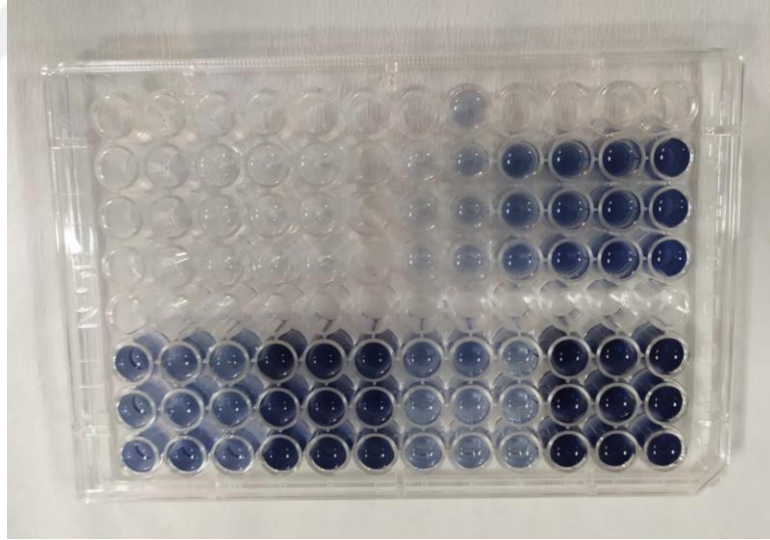


Görsel 3.2. Ekstrelerin hazırlanması aşamaları

3.5. Miktar Tayini ve Kimyasal Çalışmalar

3.5.1. Toplam fenolik madde miktar tayini

Bitki ekstrelerindeki toplam fenolik madde miktarını bulabilmek amacıyla, Folin-Ciocalteu reaktifi (FCR) kullanılıp gallik asite eşdeğer olarak hesaplanmıştır. Bu amaçla, 20 µl bitki ekstresi mikropalak kuyucuklara eklenmiştir. Ardından 20 µl GA (Gallik asit) koyulmuştur. Kontrol olarak 20 µl MeOH koyulurken tüm 96- kuyucuklu mikropalağa 1560 µl distile su eklenmiştir. 100 µl FCR’de koyulup karışım, 1-2 dakika bekletildikten sonra 300 µl %20’lik Na₂CO₃ çözeltisi ile deney tamamlanmıştır. Oda sıcaklığında karanlık bir ortamda 2 saat bekletildikten sonra oluşan karışım 300 µl’lik 96-kuyucuklu mikropalağa alınıp 760 nm’de absorbansına bakılmıştır (Görsel 3.3). Gallik asidin kalibrasyon eğrisi 1mg/ml, 0.8 mg/ml, 0.6 mg/ml, 0.4 mg/ml, 0.2 mg/ml ve 0.1 mg/ml konsantrasyonlarına göre ayarlanarak diğer örneklerle kıyaslanmıştır. Yapılan deneyler 3 kez tekrarlanarak, bitki ekstrelerindeki toplam fenol madde miktar tayinine bakılmıştır (Singleton vd., 1999).



Görsel 3.3. Toplam fenolik madde miktar tayini deney plağı

3.5.2. LC-MS/MS analizi

Yüksek performanslı sıvı kromatografi tandem kütle spektrometresi tekniği kullanılarak 15 fitokimyasal kantitatif olarak araştırılmıştır (Akdeniz vd., 2020).

Kullanılan sistem: Shimadzu marka LC–MS-8040.

Kolon parametreleri: 150 mm×4.6 mm, 2.7 µm

Kolon sıcaklığı: 40 °C.

Mobil fazlar: A: su, 5 mM amonyum formiat ve %0,15 formik asit;

B: MeOH, 5 mM amonyum formiat ve %0,15 formik asit

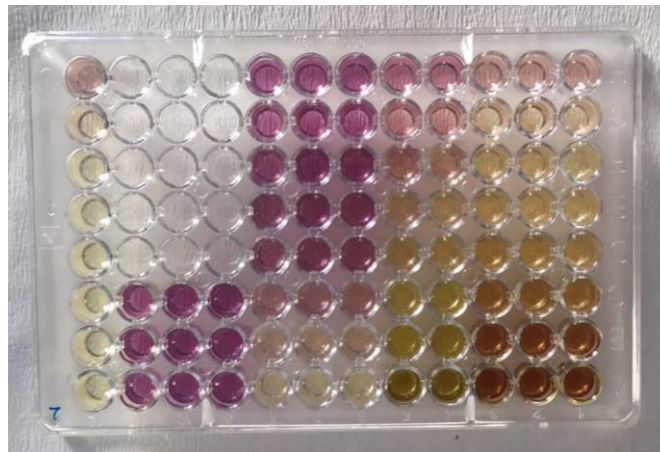
Gradyan programı: 20–100% B (0–25 dakika), 100% B (25–35 dakika), 20% B (35–45 dakika).

3.6. Biyolojik Aktivite Çalışmaları

3.6.1. DPPH[•] (1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil) radikalini süpürücü aktivite

DPPH[•] moleküler diziliminde tek bir elektron olan serbest radikaldır. Mor renkli olan bu radikal çözeltiye konduğunda antioksidanların rengini sarı ya da renksiz bir hale gelmektedir. Deney sonucu değişen bu rengi ise DPPH[•] radikal süpürücü aktivitesi ile spektrofotometrede ölçülmektedir. İlk olarak mikropiğin tüm kuyucuklarına 200 µl bitki ekstratlarından koyulmuştur. Ardından kalan kuyucukların tümüne 100 µl MeOH eklenip seri dilüsyon işlemine geçilip kontrol grubu için 100 µl MeOH ile DPPH[•] eklenmiştir. BHT pozitif kontrol olarak kullanılıp 200 µl koyulmuştur. En son 96-lı mikropiğin her kuyucuğuna 100 µl DPPH[•] eklenerek 30 dakika karanlıkta inkübeye bırakılmıştır. Mikropiğe spektrofotometresi ile 517 nm'de oda sıcaklığı şartlarında UV absorbansı ölçülüp kaydedilmiştir (Görsel 3.4). Çıkan sonuçlar ortalama ± standart sapma ile değerlendirilmiştir. Deneyler 3 kez tekrarlanıp % inhibisyon değerleri aşağıda verilen formül ile hesaplanmıştır (Kumarasamy vd. 2007):

$$\% \text{ İnhibisyon} = [(Abs \text{ kontrol} - Abs \text{ örnek}) / Abs \text{ kontrol}] \times 100$$



Görsel 3.4. DPPH[•] süpürücü aktivite plağı

3.6.2. Sitotoksik aktivite çalışmaları

Bitki ekstralarının sitotoksik aktivitesinin araştırılmasında MCF7 (İnsan meme adenokarsinoma) ve A549 (İnsan akciğer karsinoma) hücre dizileri ile çalışılmıştır. Selektivitesi için NIH3T3 (fare embriyo fibroblast) hücre dizisi tercih edilmiştir.

Besiyerine fetal buzağı serumu ile 100 mg/mL streptomisin ve penisilin eklenmiştir. MCF7 ve A549 için RPMI 1640 ve NIH3T3 için DMEM tercih edilmiştir. Bitki ekstralarındaki bileşiklerin sitotoksik aktivitelerinin karşılaştırılabilmesi amacıyla günümüzde kanser tedavisinde en sık kullanılan doksorubisin MTT testlerinde çalışılmıştır.

3.6.2.1. MTT yöntemi sitotoksik aktivitenin belirlenmesi

3.6.2.1.1. Hücrelerin çoğaltılması

MCF7, A549 ve NIH3T3 hücre dizileri, deney hazırlık aşamasında 2-3 günde bir pasajlanmıştır. Önceden inkübatöre konmuş olan hücre flaskı alınarak, besiyeri çözeltisi içine geçmesi beklenen ölü hücreler hafif bir şekilde çalkalanır ardından steril olan bir pipet yardımıyla besiyeri hücre flaskının içinden alınıp uzaklaştırılmıştır.

Flaska 5 ml fosfat tamponu eklenerek hücrelerin yıkanması sağlanmıştır sonra bu yıkama çözeltisi şişeden atılmıştır. Yine içerisine EDTA çözeltisi (1X) eklenerek hafif bir şekilde çalkalandıktan sonra 5 dakika kadar inkübatörde tutulmuştur. İnkübatör koşulları ise %5 CO₂, %95 nem ve 37⁰C'dir. Hücre flaskı inkübatörden çıkartıldıktan sonra içine 20-25 mL besiyeri eklenerek hücreler süpanse hale getirilip 1:2, 1:3 oranlarında bölünerek yeni hücre flasklarına aktarılmıştır. İşlem sonunda hazırlanan hücre flaskları inkübatörde yine aynı koşullar sağlanarak yerleştirilmiştir.

3.6.2.1.2. Hücrelerin plakalara ekilmesi

İnkübatöre bırakılan hücreler alınır ve ardından ölmüş hücrelerin hazırlanan besiyeri çözeltisine geçebilmesi amacıyla hafif bir şekilde çalkalanır ve steril pipet ile flask içindeki besiyerinden alınıp uzaklaştırılmıştır.

Flasklara tripsin-EDTA çözeltisi eklenerek hafif bir şekilde çalkalanıp inkübatörde 5 dakika kadar yine aynı koşullarda bekletilmiştir. Daha sonra inkübatörden flasklara besiyeri eklenerek steril pipetle santrifüj tüpüne aktarılmıştır. Hücre süspansiyonunun içinde bulunduğu santrifüj tüpü biraz çalkalanıp içinden 10 µL alınarak otomatik hücre sayma cihazında sayılma işlemi yapılmıştır. Ardından hücre süspansiyonu küvetlere

alınmıştır ve 200 µL/kuyucuk şeklinde 96-kuyucuklu hücre kültür plakasına konarak 24 saat süreyle %5 CO₂, %95 nem ve 37°C şartlarında inkübasyona bırakılmıştır.

3.6.2.1.3. MTT sitotoksikite testinin uygulanması

İnkübasyondan sonra hazırlanan plakalar ters çevrilerek besiyerlerinin uzaklaştırılması sağlanmıştır. Bitki ekstralarının 0.0000316 mM-1 mM 10 seri konsantrasyonu pozitif kontrollerle beraber plakalara eklenmiştir. Arından %5 CO₂, %95 nem ve 37 °C şartlarında 24 saat inkübasyona bırakılıp sonrasında hücre kültürlerinin üst kısmı tersine getirilerek atılmıştır. Hücreler fosfat tamponu ile yıkandıktan sonra tampon atılmıştır. Deney için MTT çözeltisi (5 mg/mL) ve besiyeri 1:10 oranında karıştırılıp hazırlanmıştır. Plakalara 100 µL/kuyucuk olacak şekilde hazırlanan karışımdan eklenerek 3 saat süreyle aynı koşullar altında inkübasyon işlemi uygulanmıştır. Süre bitiminde plakalar ters çevrilerek üst kısmı uzaklaştırılmıştır. DMSO'dan 100 µL/kuyucuk şeklinde eklenmiş, sonra ELISA cihazında 540 nm'de OD değerleri ölçülmüştür. Bitki ekstralarının bütün konsantrasyonlarda % inhibisyon değerleri ve IC₅₀ değerleri hesaplanmış ve ekstraların sitotoksik aktiviteleri değerlendirilmiştir (Sağlık vd., 2016; Osmaniye vd., 2022).

4. BULGULAR

4.1. Miktar Tayini ve Kimyasal Bulgular

4.1.1. Ekstraksiyon verimleri

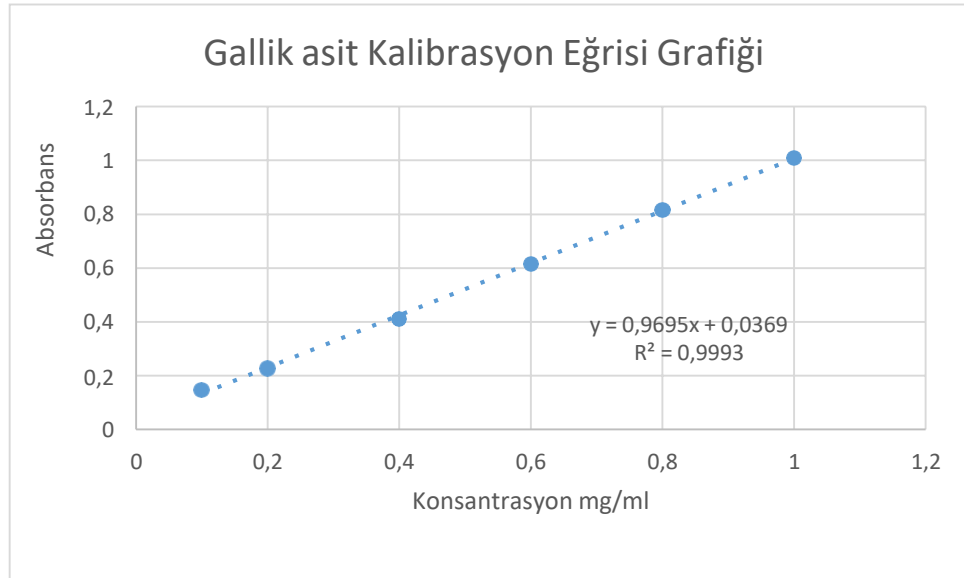
H. olympicum subsp. *olympicum*'um HOL-MEOH ve HOL-EtOAc ekstrelerine ait % verimler (a/a) Tablo 4.1'de verilmiştir.

Tablo 4.1. Ekstraksiyon verimleri

Ekstreler	% Verim (a/a)
HOL-MeOH	29,565
HOL-EtOAc	6,814

4.1.2. Toplam fenolik madde miktar tayini

Standart gallik asite ait kalibrasyon eğrisi grafiği hesaplanarak Şekil 4.1'de verilmiştir. Deneyler 3 kez tekrarlanmıştır. HOL-MEOH ve HOL-EtOAc ekstrelerinin toplam fenolik madde miktarları, standart eğri denklemine göre hesaplanmıştır.



Şekil 4.1. Gallik asit kalibrasyon grafiği

Tablo 4.2. Ekstrelerin toplam fenolik madde miktarları (mg GAE/gekstre)

Türler	Toplam Fenolik Madde Miktarı (mg GAE/g ekstre)
HOL-MeOH	205,26 ± 10,52
HOL-EtOAc	151,37 ± 4,66

4.1.3. LC-MS/MS analizi

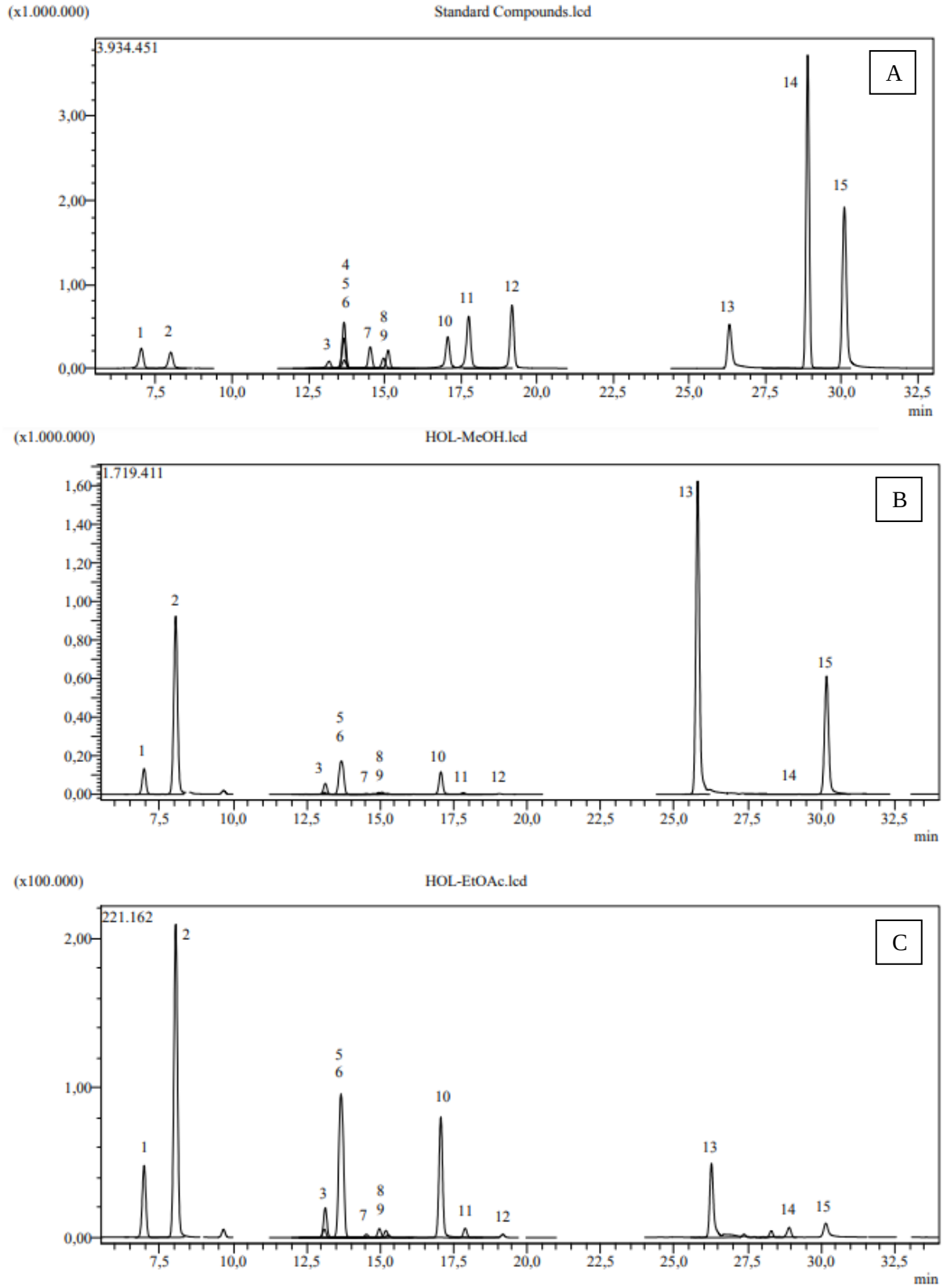
HOL-MEOH ve HOL-EtOAc, *Hypericum* cinsi için önemli olan 15 fenolik bileşik bakımından LC-MS/MS analizi yapılarak kalitatif ve kantitatif olarak incelenmiştir (Tablo 4.3, Şekil.4.2.).

Tablo 4.3. LC-MS/MS Analiz Sonuçları

Kantitatif analiz (mg /kg ekstre)				
No	Analytes	R.T.(dak)	HOL-MeOH	HOL-EtOAc
1	Protokateşik asit	7	3597,42	1302,15
2	Klorojenik asit	8,03	20179,92	3487,32
3	Luteolin-7-glukozit	13,2	77,54	49,67
4	Rutin	13,67	N.D.	N.D.
5	Hesperidin	13,68	56,33	28,45
6	Hiperozit	13,69	7143,28	3873,35
7	Apigetrin	14,54	21,31	12,06
8	Kersitrin	14,98	2195,66	103,25
9	Astragalin	15,13	48,55	26,02
10	Kersetin	17,1	440,87	324,71
11	Luteolin	17,78	39,61	28,09
12	Apigenin	19,2	7,22	6,02
13	Psödohiperisin	26,34	3842,81	115,88
14	Hiperforin	28,97	0,06	0,25
15	Hiperisin	30,18	494,72	9,86

R.T.: Alıkonma zamanı (dak.)

N.D.: Tespit edilmedi



Şekil 4.2. LC-MS/MS kromatogramı **A:** Standart maddeler, **B:** HOL-MeOH, **C:** HOL-EtOAc

1-Protokateşik asit, 2-Klorojenik asit, 3-Luteolin-7-glukozit, 4-Rutin, 5-Hesperidin, 6-Hiperozit, 7-Apigetrin, 8-Kersitrin, 9-Astragalin, 10-Kersetin, 11-Luteolin, 12-Apigenin, 13-Psödohiperisin, 14-Hiperforin, 15-Hiperisin

4.2. Biyolojik Aktivite Bulguları

4.2.1. Antioksidan aktivite bulguları

Ekstrelerin DPPH[•] radikalini süpürücü aktiviteleri gallik asit pozitif kontrol olarak kullanılarak spektrofotometrik yöntemle analiz edilmiştir. Sonuçlar % inhibisyon olarak hesaplanmıştır. Deney dört tekrarlı yapılmış, veriler standart sapma değerleriyle birlikte Tablo 4.4.'de gösterilmiştir.

Antioksidan aktivite çalışmalarında en yüksek aktivite tüm türlerde 125 µg/ml konsantrasyonda görülmüş olup HOL-MeOH ekstresi (% İn_h= 81,652 ± 0,251) en aktif çıkan ekstre olmuştur (BHT'nin % İn_h= 88,396 ± 0,155).

Tablo 4.4. Ekstrelerin DPPH[•] radikal süpürücü aktiviteleri

Konsantrasyon (µg/ml)	Ort % İnhibisyon		
	HOL-MeOH	HOL-EtOAc	BHT
125	81,652 ± 0,251	70,718 ± 0,694	88,396 ± 0,155
62,5	78,751 ± 0,309	58,488 ± 0,503	72,110 ± 0,605
31,3	56,364 ± 0,224	42,848 ± 0,673	56,317 ± 0,134
15,6	31,513 ± 0,359	25,622 ± 0,429	34,409 ± 0,134
7,8	16,817 ± 0,457	19,647 ± 0,518	26,411 ± 0,336

4.2.2. Sitotoksik aktivite bulguları

Ekstrelerin sitotoksik aktiviteleri A549 ve MCF7 hücre dizileri üzerinde araştırılmıştır. Ayrıca ekstrelerin sağlıklı hücrelere etkisi, NIH3T3 fare fibroblast hücreleri üzerinde incelenmiştir. Standart olarak dokrorubisin kullanılmıştır. Hesaplanan IC₅₀ değerleri (µg/mL) Tablo 4.5'te verilmiştir.

Tablo 4.5. Ekstrelerin A549, MCF-7 ve NIH3T3 hücre hatlarına ait IC₅₀ değerleri (µg/mL)

Ekstreler	IC ₅₀ (µg/mL)		
	A549	MCF-7	NIH3T3
HOL-MeOH	96.549±2.102	45.648±1.821	288.221±5.036
HOL-EtOAc	>1000	175.302±3.157	>1000
Doksorubisin	11,265 ± 0,488	5,927 ± 0,975	185,320 ± 5,418

A549 hücre hattı üzerinde en güçlü aktiviteyi HOL-MeOH ekstresi IC₅₀=96,549±2,102 µg/mL değeri ile göstermiştir.

MCF-7 hücre hattında da en güçlü sitotoksik aktivite gösteren HOL-MeOH ekstresi (IC₅₀=45.648±1.821 µg/mL) olmuştur.

Sağlıklı hücreler olan, NIH3T3 hücre hattında, doksorubisinin IC₅₀ değeri 185,320 ± 5,418 µg/mL olarak tespit edilirken, HOL-MeOH ekstresinin doksorubisinden daha yüksek IC₅₀ değeri (288.221±5.036 µg/mL) ile daha az sitotoksik aktivite gösterdiği tespit edilmiştir.

5. SONUÇ VE TARTIŞMA

Bu tez çalışmasında *H. olympicum* subsp. *olympicum* (HOL) üzerinde kimyasal ve biyolojik aktivite çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla bitkinin topraküstü kısımlarından MeOH ve EtOAc ekstreleri hazırlanmıştır. Ekstrelerin, toplam fenolik madde miktarları, DPPH• radikal süpürücü ve sitotoksik aktiviteleri araştırılmıştır. Ekstrelerin kimyasal kompozisyonları kalitatif ve kantitatif olarak LC-MS/MS analizi ile incelenmiştir.

5.1. Toplam Fenolik Madde Miktarı

Tez kapsamında sonuçları değerlendirmek gerekirse toplam fenolik madde miktarı HOL-MeOH ekstresinde ($205,26 \pm 10,52$ GAE/g), HOL-EtOAc ($151,37 \pm 4,66$ GAE/g) ekstresinden daha fazla bulunmuştur.

Anabilim dalımızda *H. origanifolium* var. *origanifolium* (HOR) ve *H. origanifolium* var. *depilatum* (HOD)'un MeOH ve EtOAc ekstreleri üzerinde daha önce yapılan tez çalışmasında, en yüksek toplam fenolik madde miktarı sırasıyla HOD-MeOH ($245,46 \pm 9,41$ GAE/g) > HOR-MeOH ($186,92 \pm 11,01$ GAE/g) > HOR-EtOAc ($179,57 \pm 4,90$ GAE/g) > HOD-EtOAc ($128,77 \pm 5,77$ GAE/g) ekstrelerinde görülmüştür (Yıldız, 2024).

5.2. LC-MS/MS Analizi

HOL-MeOH ekstresindeki yüksek miktardaki fenolik asit yapısındaki klorojenik asit ($20179,92$ mg/kg) ve flavonoit yapısındaki hiperozit ($7143,28$ mg/kg) içeriği dikkat çekmektedir. Psödohiperisin ($3842,81$ mg/kg) ve protokateşik asit ($3597,42$ mg/kg) de yüksek oranlarda bulunmuştur.

HOL-EtOAc ekstresinde ise klorojenik asit ($3487,32$ mg/kg) ve hiperozit ($3873,35$ mg/kg) en yüksek tespit edilen bileşikler olmuştur.

H. origanifolium var. *origanifolium* (HOR) ve *H. origanifolium* var. *depilatum* (HOD) üzerinde daha önce yapılan tez çalışmasında (Yıldız, 2024), HOD-MeOH ($75741,45$ mg/kg) ve HOD-EtOAc ($42331,12$ mg/kg)'de en yüksek miktarda tespit edilen kimyasal bileşik hiperozit olmuştur. HOR-MeOH ekstresi de yüksek miktarda hiperozit içermektedir ($10367,36$ mg/kg). İkinci en yüksek miktarda tespit edilen bileşik isekersitrindir (HOR-MeOH'de $35712,48$ mg/kg ve HOR-EtOAc'ta $15123,88$ mg/kg).

5.3. Antioksidan Aktivite

DPPH' radikalini süpürücü aktivite çalışmalarında, en yüksek aktivite 125 µg/ml konsantrasyonda görülmüş olup, HOL-MeOH ekstresi (% İnh= 81,652 ± 0,251) en aktif çıkan ekstre olmuştur (BHT'nin % İnh= 88,396 ± 0,155).

HOD ve HOR üzerinde yapılan önceki çalışmalarda da benzer şekilde, 125 µg/ml konsantrasyonda DPPH radikal süpürücü aktivite HOD-MeOH > HOR-MeOH > HOR-EtOAc > HOD-EtOAc (sırasıyla, 84,852 ± 0,089; 82,967 ± 0,223; 76,785 ± 0,753; 62,269 ± 0,527 ve BHT: 88,396 ± 0,155) olarak sıralanmaktadır (Yıldız, 2024).

5.4. Sitotoksik Aktivite

Çalışılan ekstreler arasında, en yüksek sitotoksik aktiviteyi, hem A549, hem de MCF-7 hücre hattında, HOL-MeOH ekstresi (sırasıyla, IC₅₀=96.549±2.102µg/mL ve IC₅₀=45.648±1.821µg/mL) göstermiştir. HOL-MeOH'ün sağlıklı hücreler olan, NIH3T3 hücre hattında daki düşük toksisite göstermesi (IC₅₀=288.221±5.036 µg/mL) dikkat çekicidir. HOL-EtOAc ise A549 hücre hattında etkili bulunmazken, MCF-7 hücrelerini (IC₅₀=175.302±3.157µg/mL) dozta inhibe etmiş, NIH3T3 hücrelerine toksisite göstermemiştir.

HOD ve HOR üzerinde yapılan önceki çalışmada (Yıldız, 2024), HOR-EtOAc ekstresi hem A549 hücre hattında hem de MCF-7 hücre hattında, en güçlü sitotoksik aktiviteyi (sırasıyla, IC₅₀=24,658 ± 1,035 µg/mL ve IC₅₀=13,364 ± 0,563 µg/mL) göstermiştir. HOD-MeOH ekstresi, çalışılan kanser hücre hatlarında HOR-EtOAc'den daha az sitotoksikite göstermiş olmasına rağmen, (A549: IC₅₀=56,528 ± 1,023 µg/mL; MCF-7: IC₅₀=30,967 ± 0,974 µg/mL), sağlıklı hücrelerde sitotoksitesinin doksorubisinden daha az olması sebebiyle dikkat çekmiştir (NIH3T3: IC₅₀=193,418 ± 5,974 µg/mL).

KAYNAKÇA

- Agostinis P., Vantieghem A., Merlevede W. and de Witte P.A. (2002). Hypericin In Cancer Treatment: More Light On The Way. *Int J Of Biochem Cell Biol.* 34, 221–41.
- Akdeniz, M., Yilmaz, M. A., Ertas, A., Yener, I., Firat, M., Aydin, F., and Kolak, U. (2020). Method validation of 15 phytochemicals in *Hypericum lysimachioides* var. *spathulatum* by LC–MS/MS, and fatty acid, essential oil, and aroma profiles with biological activities. *J Food Measu. and Charac*, 14, 3194-3205.
- Akyüz, S., Kurt-Celep, I., İnan, Y., Özdemir, O. E., Celep, E., & Yesilada, E. (2021). In vitro evaluation of the bioactivity and bioaccessibility of *Hypericum olympicum* L. *South African Journal of Botany*, 142, 316-324.
- Al-Anee, R. S., Al-Ani, E. H., & Omran, Z. S. (2023). Cytotoxic Activity of *Hypericum triquetrifolium* Turra Methanolic Extract Against Cancer Cell Lines. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention: APJCP*, 24(10), 3599.
- Altan N., Dinçel A.Ş. and Koca C., (2006), Diabetes mellitus ve oksidatif stres. *Turk J Biochem.*31(2), 51-56.
- Arasan, S., & Kaya, I. (2015). Some important plants used against diabetes in folkloric medicine in Savur (Mardin/Turkey) area and their application areas. *Scientific Papers–Series A, Agronomy*, 58, 128-131.
- Aztopal, N., Erkisa, M., Celikler, S., Ulukaya, E., & Ari, F. (2016). Antigrowth and apoptosis inducing effects of *Hypericum olympicum* L. and *Hypericum adenotrichum* Spach. on lung cancer cells in vitro: Involvement of DNA damage. *Journal of Food Biochemistry*, 40(4), 559-566.
- Balikci, N., Sarimahmut, M., Ari, F., Aztopal, N., Özel, M. Z., Ulukaya, E., & Celikler, S. (2020). Toxicity assessment of *Hypericum olympicum* subsp. *olympicum* L. on human lymphocytes and breast cancer cell lines. *Journal of Applied Biomedicine*, 18(1), 18-25.
- Başer, K.H.C. (2007). Sarı kantaron (*Hypericum perforatum* L.). *Bağbahçe*, (13), 28-29.
- Bayramoğlu, G., Bayramoğlu, A., Engur, S., Şentürk, H., Öztürk, N. and Çolak, S. (2014). The Hepatoprotective Effects Of *Hypericum perforatum* L. On Hepatic

- Ischemia/Reperfusion Injury In Rats. *Cytotechnology*, 66(3), 443-448. doi: 10.1007/s10616-013-9595-x. Epub 2013 Haz. 23.
- Baysal, I., Ekizoglu, M., Ertas, A., Temiz, B., Agalar, H.G., Yabanoglu-Ciftci, S., Temel, H., Ucar, G., Turkmenoglu, F.P. (2021). Identification of Phenolic Compounds by LC-MS/MS and Evaluation of Bioactive Properties of Two Edible Halophytes: *Limonium effusum* and *L. sinuatum*. *Molecules*. 26, 4040.
- Baytop, T. (1999). Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi. (2nd ed.). İstanbul, Nobel Tıp Kitabevi.
- Bilia, A. R., Gallori, S. and Vincieri, F. F. (2002). St. John’s Wort And Depression: Efficacy, Safety And Tolerability-an Update. *Life Sci.*, 70, 3077–3096.
- Boland, C. R., & Goel, A. (2005). Somatic evolution of cancer cells. In *Seminars in cancer biology*.15(6), 436-450.
- Boran, R. (2018). Investigations of anti-aging potential of *Hypericum origanifolium* Willd. for skincare formulations. *Industrial Crops and Products*, 118, 290-295.
- Božin, B., Kladar, N., Grujić, N., Anačkov, G., Samojlik, I., Gavarić, N., & Čonić, B. S. (2013). Impact of origin and biological source on chemical composition, anticholinesterase and antioxidant properties of some St. John’s wort species (*Hypericum* spp., Hypericaceae) from the Central Balkans. *Molecules*, 18(10), 11733-11750.
- Cakilcioglu, U., and Turkoglu, I. (2010). An ethnobotanical survey of medicinal plants in Sivrice (Elazığ-Turkey). *J Ethnop*, 132(1), 165-175.
- Cavero, R. Y., & Calvo, M. I. (2015). Medicinal plants used for musculoskeletal disorders in Navarra and their pharmacological validation. *Journal of ethnopharmacology*, 168, 255-259.
- Crockett, S. L. (2010). Essential oil and volatile components of the genus *Hypericum* (Hypericaceae). *NPC*, 5(9), 1493-1506.
- Crockett, S.L. and Robson, N.K.B. (2011). Taxonomy And Chemotaxonomy Of The Genus *Hypericum*. *Medic and Aro Plant Sci and Biotech*, 5 (1), 1-13.
- Dellafiora, L., Galaverna, G., Cruciani, G., Dall'Asta, C. and Bruni, R. (2018). On the Mechanism of Action of Anti-Inflammatory Activity of Hypericin: An In Silico Study Pointing to the Relevance of Janus Kinases Inhibition. *Mole*. 23(12), 3058.

- Firat, M. and Eroğlu H. (2023). *Hypericum celikaensis* (Hypericaceae), a new species from southeastern Anatolia (Adıyaman–Turkey). *Candollea* 78, 79–87.
- Galeotti, N. (2017). *Hypericum perforatum* (St John's wort) beyond depression: A therapeutic perspective for pain conditions. *Journal of ethnopharmacology*, 200, 136-146.
- Gärber, U. and Schenk, R. (2004). Johanniskrautwelke, *Colletotrichum* cf. *gloeosporioides*–Ergebnisse mehrjähriger Forschungsarbeiten im Überblick. *Drogenreport*. 16, 23–28.
- Guedes, A. P., Franklin, G. and Fernandes Ferraria, M. (2012). *Hypericum* sp.: essential oil composition and biological activities. *Phytochem Rev*, 11, 127–52.
- Gürdal, B. and Kültür, Ş. (2013). An ethnobotanical study of medicinal plants in Marmaris (Muğla, Turkey). *J Ethnop*, 146(1), 113-126.
- Güzey, G. (2007). A549, HeLa ve NIH3T3 hücre kültürlerinde *Hypericum perforatum*, *Hypericum montbrettii* ve *Hypericum origanifolium* türlerinin sitotoksik ve antiproliferatif etkileri. Doktora Tezi. Anadolu Üniversitesi / Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Hostettmann, K. and Wolfender, J. L. (2005). St. John's Wort and its Active Principles in Depression and Anxiety. Basel: Birkhäuser Verlag. *Phytochem*, 5-20.
- Hu, L., Xue, Y., Zhang, J., Zhu, H., Chen, C., Li, X. N., Liu, J., Wang, Z., Zhang, Y. and Zhang, Y. (2016). (±)-Japonicols A-D, Acylphloroglucinol-Based Meroterpenoid *Hypericum perforatum* L. *Indian J Exp Biol*. 39(4), 344-349.
- Ilieva, Y., Momekov, G., Zaharieva, M. M., Marinov, T., Kokanova-Nedialkova, Z., Najdenski, H., & Nedialkov, P. T. (2023). Cytotoxic and Antibacterial Prenylated Acylphloroglucinols from *Hypericum olympicum* L. *Plants*, 12(7), 1500.
- Istikoglou, C.L., Mavreas, V. and Geroulanos, G. (2010). History And Therapeutic Properties Of *Hypericum perforatum* From Antiquity Until Today. *Psyc*, 21(4), 8-332.
- Kakouri, E., Trigas, P., Daferera, D., Skotti, E., Tarantilis, P. A., & Kanakis, C. (2023). Chemical characterization and antioxidant activity of nine *Hypericum* species from Greece. *Antioxidants*, 12(4), 899.

- Karabulut, H., & Gülay, M. Ş. (2016). Antioksidanlar. *Veterinary Journal of Mehmet Akif Ersoy University*, 1(1), 65-76.
- Kırcı D, Köse YB, Demirci, B. (2023). Chemical compositions of aerial parts and root of *Hypericum olympicum* L. essential oils, and their antimicrobial activity screening, *Journal of Research in Pharmacy*, 27(5): 2153-2159.
- Kong, Y., Sun, W., & Wu, P. (2020). Hyperoside exerts potent anticancer activity in skin cancer. *Frontiers in Bioscience-Landmark*, 25(3), 463-479.
- 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.
- Kumar V., Singh P.N. and Bhattacharya S.K. (2001a). Anti-stress activity of Indian *Hypericum perforatum* L. *Indian Journal of Experimental Biology*. (39), 344 - 349
- Kumar, V., Singh, P. N. and Bhattacharya, S. K. (2001b). Anti-inflammatory And Analgesic Activity Of Indian *Hypericum perforatum* L. *Indian J Exp Biol.*, 39(4), 339-43.
- Kumarasamy, Y., Byres, M., Cox, P. J., Jaspars, M., Nahar, L. and Sarker, S. D. (2007). Screening seeds of some Scottish plants for free radical scavenging activity. *Phytother Res*, 21(7), 615-621.
- Kurt-Celep, İ., Celep, E., Akyüz, S., İnan, Y., Barak, TH, Akaydın, G., Telci D., & Yesilada, E. (2020). *Hypericum olympicum* L. recovers DNA damage and prevents MMP-9 activation induced by UVB in human dermal fibroblasts. *Journal of Ethnopharmacology*, 246:112202.
- Linde, K. (2009). St. John's wort—an overview. *Comp Med Res*, 16(3), 146-155.
- Maltas Çağıl, E., Uysal, A., Yıldıztuğay, E., Aladağ, M., Yıldız, S. and Küçükoduk, M. (2013). Investigation of antioxidant and antibacterial activities of some *Hypericum* species. *Fre env bull*, 22(3a), 862-869.
- Martarelli, D., Martarelli, B., Pediconi, D., Nabissi, M. I., Perfumi, M., & Pompei, P. (2004). *Hypericum perforatum* methanolic extract inhibits growth of human prostatic carcinoma cell line orthotopically implanted in nude mice. *Cancer letters*, 210(1), 27-33.
- Menegazzi, M., Masiello, P., & Novelli, M. (2020). Anti-tumor activity of *Hypericum*

- perforatum* L. and hyperforin through modulation of inflammatory signaling, ROS generation and proton dynamics. *Antioxidants*, 10(1), 18.
- Moon, H. I., Lee, Y. C. and Lee, J. H. (2011). Phenol glycosides with in vitro anti-*Helicobacter pylori* activity from *Hypericum erectum* Thunb. *Phytother Res.* 25(9), 1389-1391.
- Nahrstedt, A. and Butterweck, V. (1997). Biologically active and other chemical constituents of the herb of *Hypericum perforatum* L. *Pharmacop*, 30(2), 129-134.
- Nobakht, S. Z., Akaberi, M., Mohammadpour, A. H., Tafazoli Moghadam, A. and Emami, S. A. (2022). *Hypericum perforatum*: Traditional uses, clinical trials, and drug interactions. *Iran J Basic Med Sci.*, 25(9), 1045-1058.
- Nürk, N.M. (2011). Phylogenetic analyses in St. John's Wort (*Hypericum*), Inferring Character Evolution and Historical Biogeography. Doktora Tezi.
- Osmaniye, D., Hıdır, A., Sağlık, B.N., Levent, S., Özkay, Y. and Kaplancıklı, Z.A.(2022) Synthesis of new pyrimidine-triazole derivatives and investigation of their anticancer activities, *Chem & Bio.* 19(8), e202200216.
- Özdemir, E. and Alpınar, K. (2015). An ethnobotanical survey of medicinal plants in western part of central Taurus Mountains: Aladaglar (Nigde–Turkey). *J Ethnop*, 166, 53-65.
- Öztürk, N., Tunçel, M. and Potoğlu Erkara İ. (2009). Phenolic compounds and antioxidant activities of some *Hypericum* species: A comparative study with *H. perforatum*. *Pharma Bio*, 47(2), 120-127.
- Pellati, F., Benvenuti, S. and Melegari, M. (2005). Chromatographic performance of a new polar poly (ethylene glycol) bonded phase for the phytochemical analysis of *Hypericum perforatum* L. *J Chromatogr A*, 1088(1-2), 205-217.
- Pérez-Torres, I., Castrejón-Téllez, V., Soto, M. E., Rubio-Ruiz, M. E., Manzano-Pech, L., & Guarner-Lans, V. (2021). Oxidative stress, plant natural antioxidants, and obesity. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(4), 1786.
- Petkeviciute, Z., Savickiene, N., Savickas, A., Bernatoniene, J., Simaitiene, Z., Kalveniene, Z. and Mekas, T. A. (2010). Urban ethnobotany study in Samogitia region, Lithuania. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(1), 064-071. Phenolic Compounds, *Trends in Plant Sci*, 2, 152-159.

- Preedy, V. R. (Ed.). (2015). *Essential oils in food preservation, flavor and safety*. Academic press.
- Robson, N. K. B. (1967) *Hypericum* L. In: Davis PH, ed. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Edinburgh: Edinburgh University Press; 1967: 355-401.
- 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. (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.
- Saddiqe, Z., Naeem, I. and Maimoona, A. (2010). A review of the antibacterial activity of *Hypericum perforatum* L. *J Ethnopharmacol.*, 131, 511-521.
- Saddiqe, Z., Naeem, I., Hellio, C., Patel, A. V., & Abbas, G. (2020). Phytochemical profile, antioxidant and antibacterial activity of four *Hypericum* species from the UK. *South African Journal of Botany*, 133, 45-53.
- Sağlık, B.N. (2016). Donepezil analogu içeren yeni indan-1-on türevlerinin sentezleri ve kolinesteraz enzimleri üzerindeki etkilerinin araştırılması. Farmasötik Kimya Ana Bilim Dalı. Anadolu Üniversitesi / Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Satia, J. A., Littman, A., Slatore, C. G., Galanko, J. A. and White, E. (2009). Associations of herbal and specialty supplements with lung and colorectal cancer risk in the Vitamins and Lifestyle study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.*, 18(5), 1419- 28
- Savić, J., Mačukanović-Jocić, M., and Jarić, S. (2019). Medical ethnobotany on the Javor mountain (Bosnia and Herzegovina). *Euro J Int Med*, 27, 52-64.
- Schmidt, S. and Heilmann, J. (2013). Review: The genus *Hypericum* and its acylphloroglucinols. Unpublished internal data.
- Seçmen Ö., Gemicı Y., Görk, G., Bekat, L. ve Leblebici E., 2004. Tohumlu Bitkiler Sistematığı. İzmir: Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kitaplar Serisi, No: 116.
- Seyrekoğlu, F., Temiz, H., Eser, F. and Yıldırım, C. (2022). Comparison of the antioxidant activities and major constituents of three *Hypericum* species (*H. perforatum*, *H. scabrum* and *H. organifolium*) from Turkey. *S Afr J Bot*, 146,

723- 727.

- Singh, R. B. and Downing, D. (1995). Antioxidants and coronary artery disease. *J Nut & Env Med*, 5(3), 219-224.
- Singleton, V.L., Orthofer, R. and Lamuela-Raventós, R.M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent, *Methods in Enzymology*. 299, 152-178.
- Sun, Q., Schmidt, S., Tremmel, M., Heilmann, J. and König, B. (2014). Synthesis of natural-like acylphloroglucinols with anti-proliferative, anti-oxidative and tube-formation inhibitory activity. *Eur. J. Med. Chem.*, 85, 621-628.
- Tocci N., Perenzoni D., Iamónico D., Fava F., Weil T. and Mattivi F. (2018). Extracts From *Hypericum hircinum* subsp. *majus* Exert Antifungal Activity Against a Panel of Sensitive and Drug-Resistant Clinical Strains. *Front Pharmacol*. 9, 382.
- Tuzlacı, E. ve Aymaz, P.E. (2001). Turkish folk medicinal plants, Part IV: Gönen (Balıkesir), *Fitoterapia*, 72, 4.
- Türkten, V. (2022). Endemik *Hypericum aviculariifolium* Jaub. Et Spach ve *Hypericum bithynicum* Boiss. Türleri Üzerine Farmasötik Botanik Araştırmalar. Yüksek Lisans Tezi. Anadolu Üniversitesi / Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Varel, M. (2011). *Hypericum perforatum* Binbirdelikotu, Sarı Kantaron. L. O. Demirezer (Ed.). *FFD Monografıları Tedavide Kullanılan Bitkiler* içinde (s. 309-319). Ankara: MN Medikal & Nobel Tıp Kitap Sarayı.
- Walker, L., Sirvent, T., Gibson, G. and Vance, N., (2001). Regional Differences In Hypericin And Pseudohypericin Concentrations And Five Morphological Traits Among *Hypericum perforatum* Plants In The Northwestern United States. *Can J Bot.*, 79, 1248-1251.
- Williamson, E.M. (2001). Synergy And Other Interactions In Phytomedicines. *Phytomedicine*, 8(5), 401-409.
- Xie, X., Hudson, J. B., & Guns, E. S. (2001). Tumor-specific and photodependent cytotoxicity of hypericin in the human LNCaP prostate tumor model. *Photochemistry and photobiology*, 74(2), 221-225.
- Yesilada, E., Honda, G., Sezik, E., Tabata, M., Goto, K., Ikeshiro, Y. (1993). Traditional medicine in Turkey. IV. Folk medicine in the Mediterranean

- subdivision. Journal of Ethnopharmacology 39, 31–38.
- Yesilada, E., Honda, G., Sezik, E., Tabata, M., Fujita, T., Tanaka, T., Takeda, Y., Takaishi, Y. (1995). Traditional medicine in Turkey. V. Folk medicine in the inner Taurus Mountains. Journal of Ethnopharmacology 46, 133–152.
- Yesilada, E., Gurbuz, I., (1998). Evaluation of the anti-ulcerogenic effect of the flowering herbs of *Hypericum perforatum*. Journal of Faculty of Pharmacy of Gazi University 15, 25–31.
- Yıldız, E. (2024). Bazı *Hypericum* L. Türleri Üzerinde Biyolojik Aktivite Çalışmaları. Yüksek Lisans Tezi. Anadolu Üniversitesi / Lisansüstü Eğitim Enstitüsü.
- Zheleva-Dimitrova, D., Nedialkov, P., & Kitanov, G. (2010). Radical scavenging and antioxidant activities of methanolic extracts from *Hypericum* species growing in Bulgaria. Pharmacognosy magazine, 6(22), 74.
- Živković, J., Ilić, M., Zdunić, G., Jovanović-Lješkov, N., Menković, N. and Šavikin, K. (2021). Traditional use of medicinal plants in Jablanica district (south-eastern Serbia): ethnobotanical survey and comparison with scientific data. Genetic Res and Crop Evo, 68(4), 1655-1674.

İNTERNET KAYNAKLARI

- http-1:<https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:30001287-2>
(Erişim tarihi 12.03.2024)
- http-2:<https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:30001287-2/general-information#source-FTEA> (Erişim tarihi 09.05.2024)
- http-3:<https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:30002180-2#higher-classification> (Erişim tarihi: 29.06.2024)
- http-4: <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:30002180-2> (Erişim tarihi 30.06.2024)
- http-5:<https://hypericum.myspecies.info/taxonomy/term/484> (Erişim tarihi 29.06.2024)
- http-6:<https://www.who.int/news/item/01-02-2024-global-cancer-burden->

growing--amidst-mounting-need-for

services#:~:text=In%202022%2C%20there%20were%20an,women

%20die%20from%20the%20disease (Erişim tarihi 29.06.2024)



ÖZGEÇMİŞ

Adı-Soyadı : Gülnur İVGEN

Yabancı Dil : İngilizce

Eğitim:

- Lisans: 2016, Anadolu Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji.
- Önlisans:2008, Dumlupınar Üniversitesi, Söğüt Meslek Yüksekokulu, Seramik Bölümü

Mesleki Geçmiş:

- 2015-2016, Stajyer Öğretmen, Eskişehir Gazi Mesleki ve Teknik Anadolu Lisesi

Sertifikalar:

- 2016, Anadolu Üniversitesi Pedagojik Formasyon
- 2006, T.C. Milli Eğitim Bakanlığı, Bilgisayar Meslek Dalı Eğitim Programları Kurs Sertifikası